

有用物質をつくる植物の開発に向けて



研究ノート

村 中 俊 哉*

Metabolic pathways and engineering in plants

Key Words : Metabolic pathways, engineering in plants

1. はじめに

植物は20万種類にもおよぶ多種多様な低分子化合物を産生し、その中には、医薬、機能性食品、香料、工業原料として利用されているものが多数ある。これら低分子化合物を産生する植物はごく一部の植物種に限定される場合が多い。また、植物体全体に含まれるわけではなく蓄積の場が一部の組織・細胞に限られているため、多くの場合、生産性が低い。たとえば、抗マラリア剤として現在非常に注目されているアルテシニンは、キク科ヨモギ属の一種（アルテシニア・アヌア）の、葉の裏のトライコームという特殊な組織でのみに蓄積される。また、天然の甘味成分であり、肝機能補強作用があるグリチルリチンは、マメ科カンゾウ属の一部の植物のみが、肥大した根、ストロン（走出茎）にのみ蓄積される。グリチルリチンの含量は比較的高いものの、肥大根（甘草根とよばれる）が生長するのに数年以上もかかり、乾燥地に生えているため収穫による砂漠化の進行、資源の枯渇化などの問題がある。昨年、名古屋で開催されたCOP10でも甘草根の主要原産国である中国からの輸入が減少傾向にあることが指摘された。このように有用植物資源は、ある意味、植物版レアアースとも言え、いかに有用植物資源を確保するかが大きな課題となっている。

本稿では、グリチルリチンを例にあげ、グリチルリチン生合成遺伝子取得の取り組み、それを踏まえ、「代謝スイッチング」により有用物質を作る植物の研究プロジェクトについて紹介する。

2. グリチルリチン生合成遺伝子の取得

グリチルリチンは、「トリテルペノイドサポニン」と呼ばれる一群の化合物の一つである。マメ科植物の多くが、その種に応じてさまざまなトリテルペノイドサポニンを産生する。トリテルペノイドサポニンは、植物界に広く一般に含まれている β -アミリン、 α -アミリン、ルペオールなどを出発物質として、主として酸化反応ならびに、配糖化反応を経て生合成される。酸化反応にはチトクローム P450 酸化酵素（以下、P450 と略）が、また、酸化反応にはUDP糖転移酵素が重要な役割を持つ。しかしながら、これらの酵素をコードする遺伝子は大きな遺伝子ファミリーを形成することから、サポニン生合成に関わる分子種の特異性は容易ではない。実際わたしたちがカンゾウのグリチルリチン生合成遺伝子を発見する以前には、ダイズのソヤサポニン生合成に関わる P450(CYP93E1) が唯一同定されていたに過ぎない¹⁾。

グリチルリチンは、 β -アミリンの11位および30位の酸化反応と3位水酸基への配糖化反応を経て生合成される。わたしたちは、ウラルカンゾウのストロン由来の完全長 cDNA ライブラリーを構築し、この中から、56,000 個の発現している遺伝子の一部の配列の解析を行い、約1万個の重複しない遺伝子配列のセット（非重複 EST）を得た²⁾。遺伝子配列から推定されるアミノ酸配列の相同性検索により、この1万の非重複 EST から P450 をコードする cDNA をスクリーニングし、約40種類の全長 cDNA を得た。植物の低分子化合物の生合成では、



*Toshiya MURANAKA

1960年3月生
京都大学大学院農学研究科 農芸化学専攻修士課程修了（1985年）
博士（農学）（1993年）
現在、大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学専攻 細胞工学領域 教授 博士（農学） 植物代謝生化学、植物代謝工学
TEL : 06-6879-7423
FAX : 06-6879-7426
E-mail : muranaka@bio.eng.osaka-u.ac.jp



図1. グリチルリチンの生合成

一般に遺伝子の発現と代謝物の蓄積が正の相関にある。カンゾウの地上部ではグリチルリチンが検出限界以下であることから、約40種類の全長cDNAについて、地上部では発現せず、地下部で強い発現をするcDNAを5種に絞り込んだ。さらにこれらの5種の候補cDNAをバキュロウイルス-昆虫細胞による遺伝子発現系、ならびに、酵母による遺伝子発現系を用いて解析した結果、まず、 β -アミリンの11位を酸化する酵素遺伝子(CYP88D6)を取得することに成功した³⁾。続いて、同様の手法により30位の酸化反応を触媒する酵素遺伝子についても特定し、CYP88D6とは異なるファミリーに属する新規P450であることを明らかとした。これら2種の遺伝子を酵母内で発現させることにより、グリチルリチンの非糖部(アグリコン)であるグリチルレチン酸を微量ではあるが産生させることに成功した⁴⁾。グリチルレチン酸には甘味はないが、抗炎症・肝臓保護薬の活性本体であり、酵母で微量ながらこれら活性本体が産生できたことは、今後、酵母を用いたグリチルレチン酸製造への大きな第一歩であると言える。

3. 代謝スイッチングの研究コンセプト

マメ科植物に種々のトリテルペノイドサポニンが含まれている。マメ科ダイズのソヤサポニンは抗脂血、抗酸化など様々な薬理作用を持つ一方で、このうちグループAサポニンは苦味・収斂味といった不快味の主要原因となることから、食品としてのダイズにおいては不要とされる物質である。ダイズが産生するソヤサポニンとカンゾウが産生するグリチルリチンは、共にトリテルペン骨格の β -アミリンを共通の中間体とし、その後、 β -アミリンの異なる部位が酸化されることで生合成経路が分岐する。

前項の通り、 β -アミリンからソヤサポニン、あるいは、グリチルリチンへの経路を触媒する酸化酵素がダイズとカンゾウからそれぞれ明らかにされた。

すなわち「ダイズのソヤサポニン経路を、 β -アミリンの下流からグリチルリチン経路にスイッチングする」ための分子ツールがすでに得られている。

このような「代謝のスイッチング」は、ステロイドアルカロイド(窒素原子を分子内に持つステロイド)を産生するジャガイモやトマトにも適用できる。ジャガイモの新芽や皮に含まれるソラニンや、トマトの未熟果実に含まれるトマチンといったステロイドアルカロイド配糖体は、不快な苦味を持つ上に食中毒の原因となる物質である。トリテルペノイドとステロイドは、オキシドスクアレンを共通の前駆体とし、異なる閉環様式によって生合成経路が分岐する。したがって、ジャガイモが本来有するソラニン経路を、オキシドスクアレンの下流からグリチルリチン経路にスイッチングすることが原理的に可能である。また、ステロイドアルカロイドとは異なり、窒素原子を分子内に持たないステロイドサポニンには、ヤムイモに含まれ医薬用ステロイド薬剤の原料として重要であるジオシン(ジオスゲニン配糖体)やジギタリス由来の強心配糖体など、薬理作用をもつ化合物が数多く見いだされている。したがって、ジャガイモのソラニン経路を、ジオシンと共通の前駆体物質であるコレステロールの下流からジオシン経路にスイッチングすることも原理的に可能である(図2)。

このように、「代謝のスイッチング」により、ダイズおよびジャガイモに含まれる食品にとって好ましくない成分を除去し、代わりに付加価値の高い機能性成分を生産させることで、新たな機能性食品素材あるいは医薬品原料を創出できると考えた。一方、このような代謝スイッチングを起こした時に、実際どのような代謝産物が蓄積するか—すなわち、メタボローム解析を行うことが、将来的な安全性評価に向けて必要である。

以上の研究コンセプトのもと、私たちは、平成

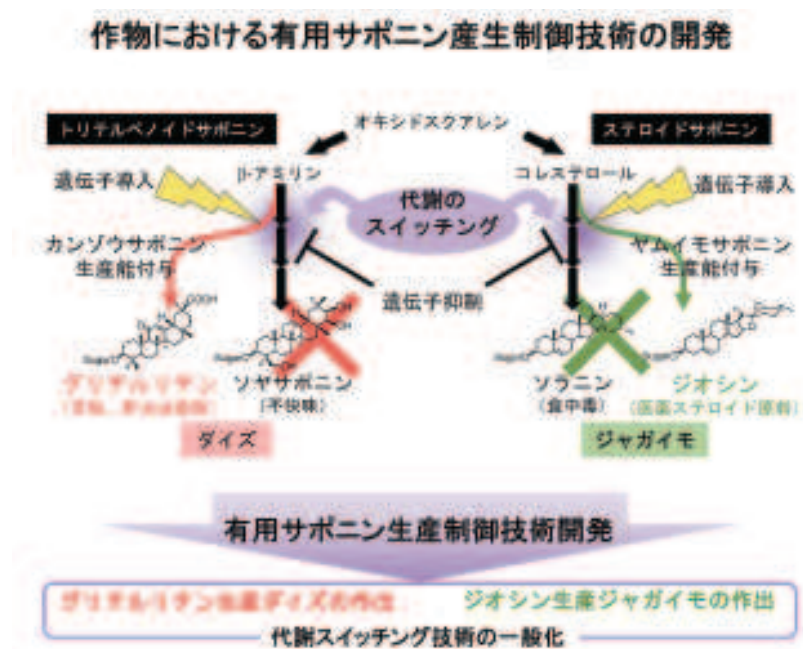


図2. 研究コンセプト図

22年度より、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センターのイノベーション創出基礎的研究推進事業として、大阪大学、理化学研究所、神戸大学、農業生物資源研究所、キリンホールディングスとの共同で、「作物における有用サポニン産生制御技術の開発〔研究代表者：村中俊哉〕」を実施している。

4. おわりに

本稿では、グリチルリチンを例に挙げ、生合成遺伝子取得ならびに「代謝のスイッチング」による有用物質をつくる植物の開発に向けた研究プロジェクトについて紹介した。サポニン類には、グリチルリチンに留まらず、チョウセンニンジン、ジンセノサイド、ミシマサイコのサイコサポニンなど多数の有用物質があることから、本研究を通して「サポニン代謝工学」と呼べる新研究領域の開拓が大いに期待される。我が国では、従来、天然物の構造解析を得意とするが、これまでは代謝工学研究がほとんど手つかずであった。本研究をきっかけに、国内の研究者間で種々の有用物質についての、新産業につながるシーズ研究が活性化されることが望まれる。

参考文献

1) Shibuya M, Katsube Y, Otsuka M, Zhang H,

Tansakul P, Xiang T and Ebizuka, Y (2008) Identification of a product specific β -amyrin synthase from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol. Biochem.* 47: 26-30

2) Sudo H, Seki H, Sakurai N, Suzuki H, Shibata D, Toyoda A, Totoki Y, Sakaki Y, Iida O, Shibata T, Kojima M, Muranaka T and Saito K (2009) Expression sequence tags from rhizomes of *Glycyrrhiza uralensis*. *Plant Biotechnol.* 26:105-108

3) Seki H, Ohyama K, Sawai S, Mizutani M, Ohnishi T, Sudo H, Akashi T, Aoki T, Saito K and Muranaka T (2008) Licorice β -amyrin 11-oxidase, a cytochrome P450 with a key role in the biosynthesis of the triterpene sweetener glycyrrhizin. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 105: 14204-14209

4) Seki H, Sawai S, Ohyama K, Mizutani M, Ohnishi T, Sudo H, Fukushima EO, Akashi T, Aoki T, Saito K and Muranaka T: Triterpene functional genomics in licorice for identification of CYP72A154 involved in the biosynthesis of glycyrrhizin (submitting)