



植物フラボノイドの生合成と構造的多様性に関する酵素科学的研究

東北大学大学院工学研究科バイオ工学専攻 中山 亨

はじめに

現在、地球上にはおよそ27万種もの陸上植物(コケ植物, シダ植物, 裸子植物, 被子植物)が存在する。これらは、もとをたどれば1種類の水生の藻類(シヤジクモ藻類に近い原始植物)から進化して多様化したと考えられている。植物の上陸は今からおよそ4億7000万年前に起こったとされ、陸上に出現した最初の原始植物は現生のコケ植物に近縁のものであったと推定されている。その頃の地球の大気中酸素濃度は現在とほぼ同レベルに達していたと推定されるので、この原始陸上植物は、水中とは異なり高濃度の酸素の存在下で紫外線を含む太陽光に直接的に曝露され、酸化的ストレスや乾燥ストレスを受けながらの生育を余儀なくされたと考えられる。フラボノイドは、陸上植物がこうした環境ストレスや生物的ストレスに適応するために作り始めた戦略的化学物質である。現在でも、フラボノイドは陸上植物によって普遍的に生産され、C₆-C₃-C₆の基本骨格を基盤にして植物種ごとに異なる酵素的修飾を受けることによりその構造的多様性を増し、その種類は少なくとも8000を超えると考えられている。現生陸上植物において、フラボノイドは、花色発現や稔性関連のメカニズムを介して植物の生殖に関わり、紫外線や他の環境ストレスに対するストレス応答物質、微生物や動物との相互作用におけるシグナル分子としても作用し、その生理的役割も植物種ごとに異なっている。その多彩な生理的役割から、フラボノイドを植物の「スイスアーミーナイフ」に喩える研究者もいる。フラボノイドはまた、ヒトに対しても健康に有益で多彩な生理活性を示すバイオフィクターとしても作用する。

筆者は大学生のときに、異性化糖製造の酵素学的基礎を築かれた故・山中啓先生の研究に触れ、酵素科学の面白さ、奥深さ、幅広さ、そして重要さを知った。大学院に進学し、左右田健次先生の御指導のもと、化学研究所という「化学の海」のなかでさらに広い視野で酵素科学研究の研鑽を積みながら、先生の標榜されていた研究の「処女峰主義」¹⁾に大いに感化された。学位取

得後、8年間の民間企業(サントリー)勤務を経てアカデミアに参入したが、その後もサントリーの皆様と研究を続けることができたのは極めて幸いなことであった。この度の受賞の対象となった研究業績にはその共同研究の成果が多数含まれている。

1990年頃までに、フラボノイドの生合成経路は、主として遺伝学的・分子生物学的アプローチにより、一部の経路を残してその大枠が解明されていた。しかしながら酵素レベルでは、植物組織に活性は認められるものの、活性の本体の化学的実体や特性、細胞内での局在性や動態などの解明が未着手のものがほとんどであった。共同研究を通じてこの植物科学分野に初めて参入した一酵素屋にとって、それはあたかも、未踏峰の山々が目の前にいくつも連なっているかのようであった。このようにして筆者は、陸上植物の進化に大きく貢献したフラボノイドの生合成やその構造的多様性発現の仕組みの解明に向けて、1990年代半ば頃頃から酵素科学的アプローチによる研究を開始した。その結果、フラボノイドの新規生合成経路の発見に関わり、構造的多様性をもたらす修飾酵素の数々を開拓し、生合成酵素の複合体(フラボノイドメタボロン)の実体に肉迫できた。また、すべての陸上植物の生存を支える普遍的なフラボノイド代謝戦略を明らかにした。それらの業績を以下に記述する。

1. オーロン生合成経路の解明と花色改変技術への応用

オーロン(図1A)は、ダリアやキンギョソウの鮮やかな黄色の原因となるフラボノイドである。オーロン生合成経路は黄色系の花色調節に有用であろうと期待されていたが、先人の多くの努力にもかかわらず「オーロン合成酵素」の実体は謎に包まれたままであった。候補者はそれまでに培ってきた独自の酵素単離精製技術を駆使してオーロン合成酵素を純化した。驚くべきことに同酵素(aureusidin synthase)は植物組織の褐変現象をつかさどるポリフェノールオキシダーゼ(PPO)のホモログであり、PPOとしては初の液相局在型の酵素であった。この発見によりオーロンの生合成経路が解明されただけでなく、生物的功能が不明であったPPOに花色発現という明確な生物学

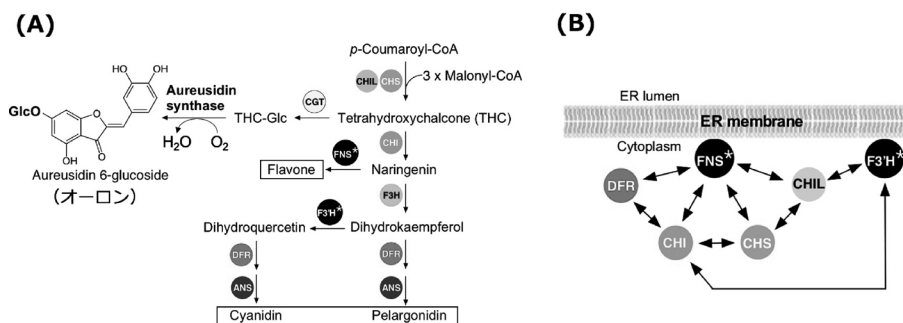


図1. キンギョソウのフラボノイド生合成経路(A)とフラボン・アントシアニン生合成メタボロン(B)。アルファベット付の○は酵素やタンパク質を表す。フラボンとアントシアニンを四角で囲んだ。Glc, β-D-グルコシル基

的機能があることが初めて示された。さらにこの発見が契機となって黄色花の作出技術が確立され、本技術によるトレニアやアサガオなどの新しい黄色品種の創出が実現している。

なお、その後、aureusidin synthase には EC 1.21.3.6 という EC 番号が付与された。EC 番号とは、反応特異性や基質特異性に基づいて国際生化学分子生物学連合の命名法委員会によって付与される酵素の ID 番号である。新しい EC 番号の付与は、新しい酵素機能の発見の国際的な「お墨付き」となる。生化学の長い歴史の中で、新しい EC 番号の登録は容易ではなくなっているため、研究の未踏峰初登頂を目指す酵素屋として大変うれしかった。

2. フラボノイドの構造的多様性を生み出す修飾酵素群の発見と多様性発現の分子機構の解明

上述のようにフラボノイドは一般にグリコシル化やアシル化を受けることによりその構造的多様性を増大させ、それはこの化合物群の生理活性の多様性に密接に関係する。したがってフラボノイド修飾技術は、この化合物群の活性制御と産業的利用において重要な役割を果たす。筆者はフラボノイド修飾に関わるユニークな特異性をもつ糖転移酵素遺伝子やアシル基転移酵素遺伝子をさまざまな植物種から多数取得し酵素機能解析を行った。ダイズのイソフラボノイドに対する糖転移酵素、およびその配糖体を脱修飾する加水分解酵素も発見した。その当時は世界的にフラボノイド修飾酵素学の研究の黎明期にあつて、筆者らは新規な特異性をもつ酵素を多数、世界に先駆けて報告することができた。それらのいくつかにも新しい EC 番号が付与されている。

筆者はまた、フラボノイド修飾酵素の触媒機構や特異性発現の分子機構の解明にも成果を上げることができた。たとえば糖転移酵素については、ブドウの生理活性フラボノールの糖転移酵素遺伝子群を網羅的に解析し、フラボノールの配糖体化の特異性(グルコシル化:グルクロン酸化:ガラクトシル化)の違いを酵素触媒機構および酵素の分子進化(収斂進化と分散進化)との関連で明らかにした。またアシル基転移酵素については、キク花卉のアントシアニンアシル基転移酵素について、植物アシル基転移酵素ファミリーの酵素として初めて、酵素基質複合体の結晶構造を明らかにし、アシル基供与体と受容体が酵素分子の互いに反対側の面からアプローチするユニークな一般酸塩基触媒アシル基転移反応機構を初めて確立した。

3. フラボノイドメタボロンの解明

キンギョソウ、トレニア、ダイズなど、系統的に異なるいくつかの植物のフラボノイド生合成について酵素間相互作用を網羅的に解析し、シトクロム P450 を核にしたフラボノイドメタボロンの形成を立証した(図 1B)。さらに、こうしたメタボロンの形成が、フラボノイドの構造的多様性の拡大になぜ重要なのかを初めて示すことができた。

4. 陸上植物の生存を支える普遍的な代謝戦略の発見

フラボノイド経路に関わる酵素は一次代謝酵素から進化したとされ、その特異性が厳密でないものが多い。フラボノイド経路の初発鍵酵素であるカルコン合成酵素(CHS)の生成物特異性も、試験管内ではあいまいであり、植物種によっては 90 mol% の副成物を与える。筆者は、フラボノイドメタボロンの中に CHS の特異性のあいまいさを矯正し、もっぱらカルコンのみを生成するように仕向けるタンパク質(CHIL)を見い

だし、この CHIL の機能が、コケ植物から種子植物にいたるすべての陸上植物に普遍的であることを示した。フラボノイドはすべての陸上植物の生存を支える戦略物質であるため、この機能は、フラボノイド合成を円滑に促すことを通じて、全陸上植物の生存を支える重要な仕組みとなっていると考えられた。

おわりに

フラボノイドの生合成や構造的多様性発現の仕組みを酵素科学の切り口で明らかにしようと試みてきた。その結果、4億7千万年に及ぶ陸上植物の進化を支えてきた可能性のある現象にたどり着いた。この発見はまた、酵素の特異性制御におけるタンパク質間相互作用の重要性を示唆するものであり、タンパク質間相互作用能の獲得は酵素進化のひとつの姿でもある。フラボノイド生合成というテーマで研究を続けてきたが、結局、筆者は、30 数億年におよぶ生命の歴史の中で酵素がどのように進化しそれによってまた生物がどのように進化できたのか、を無意識のうちに問い続けてきたと思う。そして大小さまざまな発見を通じて生命や自然のからくりを垣間見るたびに、アイザック・ニュートンの次の言葉が思い起こされてきた。

I was like a boy playing on the sea-shore, and diverting myself now and then finding a smoother pebble or a prettier shell than ordinary, whilst the great ocean of truth lay all undiscovered before me.

今後も引き続き、この問いの答えに一歩でも近づけるように精進していきたいと願っている。

(引用文献)

- 1) 化学, Vol. 50, 3, p 119-123, (1995)

謝辞 学生時代に研究の基礎や研究者としてのあるべき姿をお教えいただき、卒業後も暖かく見守り下さりご指導下さいました故・山中啓先生(筑波大学名誉教授)、左右田健次先生(京都大学名誉教授)、田中英彦先生(岡山大学名誉教授)、江崎信芳先生(京都大学名誉教授)、谷澤克行先生(大阪大学名誉教授)に心より御礼申し上げます。本研究は、筆者が奉職した神戸学院大学栄養学部と東北大学大学院工学研究科において、四半世紀にわたって行ってきたものです。それぞれの職場での直属の上司であり、アカデミアで研究を始めて間もない筆者を終始励まして下さり正しい方向に導いて下さった故・上田隆史先生(神戸学院大学名誉教授)ならびに西野徳三先生(東北大学名誉教授)に心より感謝申し上げます。本研究は、サントリーの他、理化学研究所、基礎生物学研究所、南九州大学、金沢大学、山梨大学、長崎大学、名城大学、名古屋大学、大阪大学、東京農業大学、東京農工大学、日本大学、オーボアカデミー大学(フィンランド)等、数多くの大学や研究機関の皆様との共同での研究が基盤となっています。有益で楽しいディスカッションが研究を続けるのに非常に役立ちました。これらの共同研究者の皆様にご心から厚く御礼申し上げます。また、本研究は、東北大学大学院工学研究科バイオ工学専攻応用生命化学講座の高橋征司准教授、和氣駿之助教、下山武文助教、邊見久助手(当時:現・名古屋大学准教授)のほか、数多くの学生、博士研究員、研究補助員、秘書の方々、および神戸学院大学の学生の方々のご協力のもとでなされました。紙面の都合でお名前を挙げることはできませんが、関係された全ての皆様にご心から感謝の意を表し、ともに受賞の喜びを分かち合いたいと思います。