



植物に含まれる生理活性物質の化学と生理機能に関する研究

東京大学生物生産工学研究センター 環境保全工学部門 教授 山根久和

1960年代に開発された半矮性のイネやコムギは倒伏に強く多収で、当時人口の急増により危惧されていた世界的な食糧危機を回避することに大きく貢献した。これら多収品種の開発は「緑の革命」と呼ばれ、この革命を起こした原因遺伝子は植物ホルモンであるジベレリンの生合成や情報伝達に関わる遺伝子であることが最近の研究で解明された。このことから明らかに、植物に含まれる生理活性物質を同定するとともに生合成や作用発現機構を解明し、その成果を植物の利活用に応用することは、人類が抱える食糧、環境、エネルギー問題の解決のためには極めて重要である。

私はこのような視点に立って、植物ホルモンやイネの抗菌性二次代謝産物等の生理活性物質の化学と生理機能に関する研究を最先端の超微量分析法やゲノム情報を駆使して展開した。以下に、主要な成果の概要を紹介する。

1. ジベレリンの化学と生理機能に関する研究

ジベレリン (GA) は多種類の同族体から構成されており、

天然に存在する GA を単離同定することは、その生合成経路や生理機能の研究を進めるうえでの基盤情報となる。現在、GA₁ ~ GA₁₃₆ までが明らかにされているが、われわれはそれらのうちの 14 種を単離・同定し、加えて、7 種の同定にも深く関与するなど GA の構造と分布の解明に大きく貢献した。これらの多くはナノグラムレベルで単離し、キャピラリー GC-MS 解析から得られる構造情報を駆使して構造決定に成功したもので、10⁻¹⁴ M という極めて低い濃度で *Lygodium* 属のシダにおける雄性生殖器官 (造精器) 形成を誘導し、9,11-didehydro 構造を有する初めての GA である GA₇₃ メチルエステルや *Anemia* 属のシダの造精器誘導物質あるいはその前駆体で、3員環構造を含む GA_{103/104/107} など特異な構造を有する GA が含まれている。また、フサシダ科 (*Lygodium* 属, *Anemia* 属を含む) のシダ植物由来の十数種の造精器誘導物質の生合成経路の全容の解明にも成功した (図 1)。

このように天然には多様な構造の GA が多数存在するが、

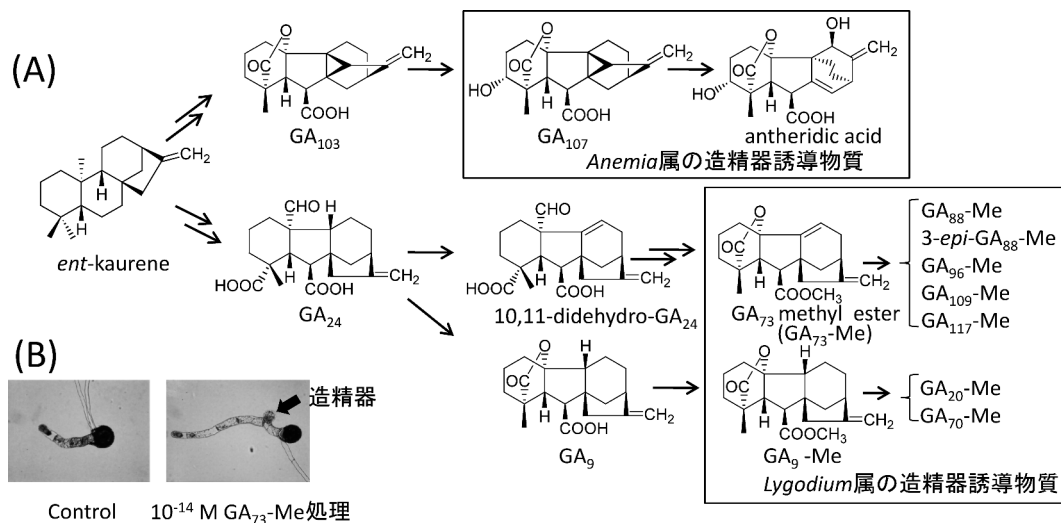


図 1 フサシダ科シダ植物の造精器誘導物質の生合成経路の全容 (A) と *Lygodium japonicum* 原系体における GA₇₃-Me の造精器誘導活性 (B)

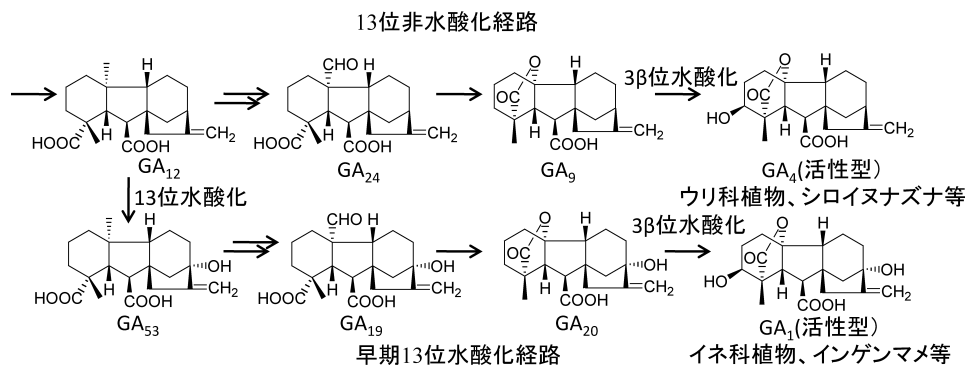


図 2 栄養生長時の高等植物における GA の主要生合成経路と活性型 GA

Phinney は、栄養生長時のトウモロコシの茎部においては、GA₁₂ から 13 位水酸化、20 位酸化 (3 段階)、3β 水酸化を経て GA₁ へ至る早期 13 位水酸化経路が主に機能していることを示すとともに、活性型 GA は経路末端の GA₁ であるという活性型 GA 仮説を提唱した。一方、ウリ科植物では、未熟種子において多種多様な GA が存在するが、栄養生長時の茎部では、GA₁₂ から 20 位酸化 (3 段階)、3β 水酸化を経て GA₄ へ至る 13 位非水酸化経路が主に機能しており、GA₄ が活性型であることを見いだした。以上の結果から、早期 13 位水酸化、13 位非水酸化いずれの経路においても 3β 水酸化が活性型 GA を生成する最終段階であると結論し、Phinney の活性型 GA 仮説を拡張・普遍化した (図 2)。「活性型 GA」は、その後の GA 研究の基盤的概念となり、受容体の同定を含む、GA 情報伝達機構解明研究の進展に大きく貢献した。

一方、Fujioka, Katsumi, Phinney らとの共同研究により、トウモロコシの GA 非感受性矮性変異体である *D8* の茎部に野生型より数十倍高いレベルの GA が存在することが明らかになった。*D8* は、後に GA の情報伝達因子の変異であることが判明し、この発見は、GA 生合成のフィードバック制御が機能しないため高濃度の GA が蓄積することを実証した最初の研究例となった。

2. イネのファイトアレキシン生合成経路とその制御機構の解明

イネの病原菌感染に対する代表的な防御応答の一つとしてジテルペン型ファイトアレキシン (ファイトカサン類、モミラクトン類を主要成分とする、4 系統 14 種の化合物) の生産が挙げられる。われわれは、これらのファイトアレキシンが GA と類似の経路で生合成される可能性を考え、GA 生合成酵素の遺伝子情報を足がかりに、マイクロアレイ解析を含む分子生物学的手法・生化学的手法を駆使して生合成経路のほぼ全容を明らかにした (山形大学グループ等との共同研究)。また、その過程で、ファイトカサン類やモミラクトン類などの主要ファイトアレキシンの生合成遺伝子がクラスターを形成していること、病原菌感染シグナルとして機能するキチンエリシターにより当該クラスターが同調的に発現誘導されることを発見した。高等植物において、二次代謝産物の生合成遺伝子がクラスターを形成している例はいくつか報告されているが、いずれも恒常的に発現しており、誘導的発現制御を受ける遺伝子クラスターとしては、われわれの発見が最初の研究例となった。さらに、これら生合成系全体を制御するマスター転写因子である *OsTGAP1* の同定に成功し、*OsTGAP1* 過剰発現体培養細胞においては、キチンエリシター処理によりジテルペン型ファイトアレキシンの生産が劇的に増大することを発見した (図 3)。また、*OsTGAP1* 過剰発現株培養細胞を用いて ChIP-seq 解析を行い、*OsTGAP1* の結合領域の網羅的同定を行った。その結果、遺伝子間領域およびジテルペン型ファイトアレキシン生合成遺伝子

クラスター領域の両端に強い結合が見いだされるなど、*OsTGAP1* が関与する転写制御機構を考えるうえで重要な足がかりとなる知見が得られた。

また、領域横断的な連携研究を展開し (明治大学、農業生物資源研究所グループとの共同研究)、イネにおけるキチンエリシター誘導のファイトアレキシン生産には、キチンエリシター受容体 *OsCERK1*、および MAPK カスケード (*MKK4-MAPK6*) が関与することを示し、ジテルペン型ファイトアレキシン生産に至るシグナル伝達系の主要因子を明らかにした。

一方、イネのもう 1 種の主要ファイトアレキシンである、フラボノイド型のサクラネチンの生合成の鍵酵素遺伝子で長年未同定であったイネ *naringenin-7-O-methyltransferase* (*OsNOMT*) 遺伝子の同定に成功し (図 4)、イネにおける全系統のファイトアレキシンの生合成鍵酵素を遺伝子レベルで解明した。*OsNOMT* 遺伝子の発見は、耐病性も期待できるサクラネチン高含有イネの作出だけでなく、サクラネチンの微生物による大量生産を可能にするものと考えられる。サクラネチンは、さまざまな有用薬理作用を有しており、医薬品開発への応用も期待できる。

3. ジャスモン酸の生理機能の解明

ジャスモン酸 (JA) は、もともとジャスミンの花の香気成分としてメチルエステルの形で同定されていた物質である。われわれは、GA 探索研究の過程で数種の植物から新規生長阻害物質として遊離酸型の JA を同定し、JA が広く植物界に分布している可能性を示すとともに、JA が GA の生長促進作用は抑制するが、オーキシンの作用は抑制しないなど、特異な生理活性を有することを発見した。この知見とジャガイモの塊茎誘導物質として JA 類が同定されたことがヒントとなって、JA の細胞表層微小管の形成阻害作用の発見へとつながった (Shibaoka らとの共同研究)。以上の成果は、JA の生理機能に関する先駆的業績として高く評価されており、JA が植物ホルモンとして認知される基盤的知見となった。

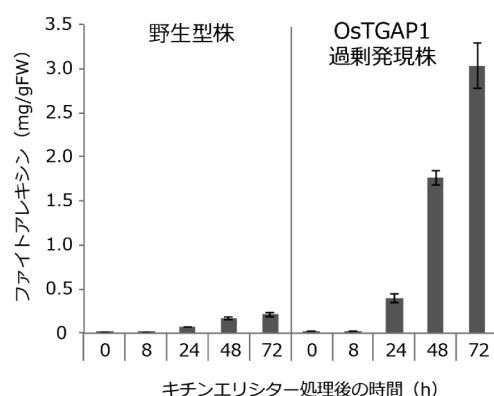


図 3 キチンエリシター処理した *OsTGAP1* 過剰発現株培養細胞におけるジテルペン型ファイトアレキシン蓄積量

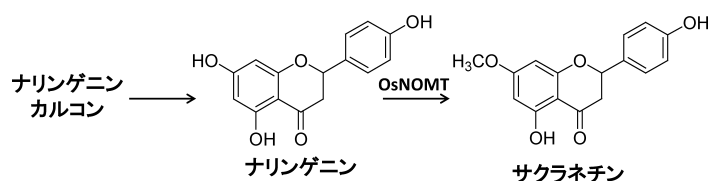


図 4 イネにおけるサクラネチンの生合成経路

一方、イネにおいては、有用な JA 生合成変異体が得られておらず、JA の生理機能の解析は進展していなかった。われわれは、最近得られた JA 生合成変異体候補である *cpm2* や *hebiba* について、原因遺伝子の機能同定、内生 JA 類の定量分析を行い、それらが JA 欠損であることを明らかにした（大阪市大グループとの共同研究）。また、それらの変異体を用いて、JA 類がサクラネチン生産をはじめとする病害抵抗性反応の制御に関与することを実証した。さらに、JA 類の存在部位を可視化する方法を開発し、病原菌感染細胞およびその周辺に JA 類が局在していることを示し、JA 類がイネの病害抵抗性発現において二次シグナルとして重要な機能を果たしていることを明らかにした。

おわりに

以上に述べたように、これまで植物に含まれる生理活性物質の単離・同定、生合成経路、生理機能等に関する研究を行ってきた。現在は、イネを主要な研究対象とし、ファイトアレキシンの生合成制御機構をはじめとして病害抵抗性に関するシグナル伝達機構の研究も併せて行っているが、その過程で未知のシ

グナル伝達因子の存在が示唆されている。今後も、それらの因子の単離・機能同定を行い、その成果を病害抵抗性イネの作出等の農業分野、生理活性テルペノイド等の有用物質生産へと応用したいと考えている。

謝 辞 学生時代から現在に至るまで、現 東京大学名誉教授の高橋信孝先生、室伏 旭先生、大森俊雄先生、元 UCLA 教授の故 B. O. Phinney 先生、オーストラリア国立大学教授の L. N. Mander 先生をはじめとする多くの先生方からご指導ご鞭撻をいただきました。心より感謝いたします。本研究は、東京大学農学部農芸化学科農薬学研究室、生物生産工学研究センター生物制御工学、生物構造工学、環境保全工学研究室内の教員、卒業生、在校生、ならびに学内外の多くの共同研究者のご協力をいただいております。この場をお借りして心より御礼申し上げます。最後になりましたが、本賞にご推薦くださいました山口大学名誉教授の畑中顯和先生に厚く御礼申し上げます。