

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（平成 23 年度～平成 27 年度）  
「環境調和を志向した革新的植物アグリバイオ技術の統合型研究拠点の形成」

# アグリバイオ・シンポジウム 2012

未来を切り開くアグリバイオ技術：  
植物機能の基盤解明と人類へのアウトプット

## 講演要旨集

日時：2012年12月8日（土）13：00～17：30

場所：近畿大学農学部新教室棟311教室

## はじめに

近畿大学大学院農学研究科におきましては、平成23年度より私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「環境調和を志向した革新的植物アグリバイオ技術の統合型研究拠点の形成」の支援を受け、植物系、微生物系、昆虫系を統合させ、さらにはそれらを取り巻く環境およびヒトに対して有意に、しかもダイレクトに資するような、アグリバイオ技術のさらなる革新をめざして研究を続けています。そのような中で、より幅広く外部から、著名な先生方を通して最新のアグリバイオに関する知見および技術に関して、教えていただくような機会も模索してまいりました。今回のこの「アグリバイオ・シンポジウム2012」は、そのような趣旨で発案され、開催に至っております。

シンポジストとしてお招きした先生方は、すべて植物に関連する研究で顕著な業績を挙げられている皆さんです。まず最初に東工大の田中先生より、植物の細胞周期におけるオルガネラと核との相互作用について、次に、近畿大の川崎先生より、植物と病原微生物との相互作用を植物免疫の観点から話をさせていただきます。さらに名大の芦苅先生にはイネの収量増大のためのアグリバイオ戦略について、京大の高林先生には植物と昆虫の間の相互作用ネットワークについて話題提供させていただきます。我々人間に対して直接的に関わる話を、京大の河田先生とサントリーの田中先生より行っていただきますが、河田先生からは、ヒトの健康維持に寄与する植物の代謝物について、また田中先生からは、観賞用として用いられている植物のバイオテクノロジーについて話させていただきます。

以上、ミクロな植物細胞から植物を中心として大きく果てしなく広がるヒトを含めた環境の中で、我々が植物に対して何をなすうのか、最先端の話題が提供されます。聴衆の皆さんの活発な討論をお願いする次第です。

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

「環境調和を志向した革新的植物アグリバイオ技術の統合型研究拠点の形成」

代表 深溝 慶

# プログラム

13 : 00～13 : 05 はじめに 深溝 慶 (近畿大院・農)

13 : 05～13 : 45 田中 寛 (東京工大)

葉緑体シグナルが植物の細胞周期を制御する

座長 : 内海龍太郎

13 : 45～14 : 25 川崎努 (近畿大院・農)

病原菌の感染から身を守る植物の免疫機構

座長 : 大沼貴之

14 : 25～15 : 05 芦荊基行 (名大・生物機能開発利用研究センター)

ゲノム情報を利用したイネの分子育種

座長 : 川崎努

\*\*\*\*\*休憩 (15 : 05～15 : 20) \*\*\*\*\*

15 : 20～16 : 00 高林純示 (京大・生態学研究センター)

植物揮発性物質が駆動する生物間情報・相互作用ネットワーク

座長 : 松田一彦

16 : 00～16 : 40 河田照雄 (京大院・農)

植物の代謝物と食品機能

座長 : 森山達哉

16 : 40～17 : 20 田中良和 (サントリー (株) 植物科学研)

バイオテクノロジーによる青い花の開発と実用化

座長 : 田茂井政宏

17 : 20～17 : 30 総括 内海龍太郎 (近畿大院・農)

\*\*\*\*\*懇親会 (近畿大農学部ログハウス 2階にて、18 : 00～) \*\*\*\*\*

# 葉緑体シグナルが植物の細胞周期を制御する

○田中 寛（東工大・資源研・生物資源）

## 1. 緒言

真核細胞は一般的にミトコンドリアを、植物細胞では更に葉緑体を細胞内オルガネラとして含んでいるが、これらは進化的にバクテリアの細胞内共生に由来する。これら共生の成立は少なくとも 10 億年前に遡るが、現在でもミトコンドリアと葉緑体は固有のゲノムと遺伝情報発現系を維持しており、祖先バクテリアの性質を今も多く保持していると考えられる。しかしながら、これらオルガネラのゲノム複製が真核細胞の細胞周期とどのような関係にあるのか、核ゲノム複製とどのような関係にあるのかは殆ど知られてこなかった。通常真核細胞では、細胞内に細胞核が一個だけ存在するのに対して、ミトコンドリアや葉緑体は多数が存在し、細胞周期とも非同調的に DNA 複製や分裂を繰り返している。これではオルガネラと核との関係性を調べるのに不都合な点が多いことから、私達は細胞内にミトコンドリア、葉緑体、細胞核を一個ずつしか含まず、2 分裂で増殖する単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae*（以下、シゾン）を研究材料として用いることにした。シゾンはイタリアの硫酸酸性の温泉から単離された極限環境生物であり、我々を含む日本国内のグループの協力で 2007 年までにミトコンドリア、葉緑体、細胞核の 3 ゲノムの全構造が明らかにされている。

## 2. 葉緑体から放出されるテトラピロール中間体により核ゲノム複製が誘導される

シゾンの細胞周期における ODR、NDR のタイミングを詳細に検討した結果、細胞周期の開始後にまず ODR が、引き続いて NDR が起こることが判明した。この時間的な順序が、ODR の起こることが NDR に必須であるようなチェックポイント制御であるかどうかを調べるため、様々なプロセスに対する阻害剤を用いた検討を行った。G1/S 移行に必要な CDK 複合体としては、CDKA と Cyclin1 が特定される。この CDKA 複合体を特異的阻害剤で阻害したところ、ODR には影響を与えずに NDR のみが阻害された。一方、ODR の特異的阻害剤であるナリジキシン酸の添加では、ODR のみならず CDKA 活性化および NDR が阻害された。これら結果は、NDR に必須である CDKA の活性化が、何らかのメカニズムで ODR が起きたことをチェックして起こっていることを示唆している。その後の実験で、我々は暗所で ODR が不活性な状態でも、培地中にテトラピロール中間体である Mg-ProtoporphyrinIX（以下、MgProto）を添加することにより NDR が活性化されることを発見した。また、NDR の起こる時期に実際に、MgProto の細胞内蓄積が観察された。これらの結果は、ODR が起こることにより葉緑体から MgProto が放出され、これが何らかのメカニズムで CDKA 活性化を引き起こしていることを示すものである（文献 1）。

### 3. MgProto による CDKA 活性化の分子機構

葉緑体で合成される MgProto により、どのように細胞質にある CDKA が活性化されるのだろうか。我々はプロテオソームの阻害剤であるエポキシマイシンが MgProto と同様の NDR 活性化効果を示すことを見だし、最終的に、E3 ユビキチンリガーゼのサブユニットの一つである Fbx3 タンパク質が MgProto の細胞質レセプターであり、MgProto の Fbx3 への結合が、Cyclin1 のポリユビキチン化および特異的分解を阻害することで、CDKA と NDR の活性化を引き起こしていることを見いだした（図1、文献2）。

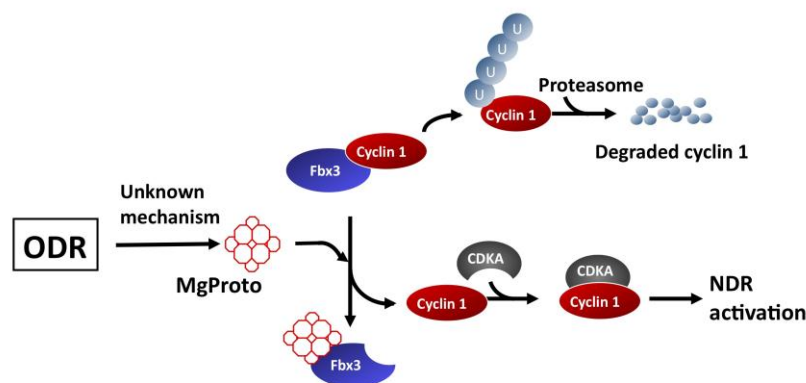


図1 プロテアソームに依存したMgProtoシグナル伝達機構

ODRにより葉緑体から放出されるMgProtoは特異的レセプター（Fbx3）に結合し、Cyclin1を安定化することによりNDRを活性化する。

### 4. 結論

葉緑体の起源は太古のシアノバクテリアの細胞内共生に求められる。この際、それまでは独立に生活していた2種の細胞が、共生により一つの細胞として生き始めた訳で、その際には二つの独立の細胞周期を共役させる必要があったに違いない。細胞内に入ったシアノバクテリアの増殖をモニターして、その情報を基に宿主細胞の細胞周期の開始が制御される分子機構として、今回発見したシグナル伝達機構は進化したと考えられる。

### 5. 引用文献

- 1) Kobayashi, Y. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 803-807 (2009)
- 2) Kobayashi, Y. *et al.*, *Nature Cell Biol.* **13**, 483-487 (2011)

# 病原菌の感染から身を守る植物の免疫機構

○川崎 努、山口公志、石川和也、吉村智美、山田健太、吉村悠矢（近畿大院・農・バイオ）

## 1. 緒言

植物は、病原菌が感染した際、それぞれの病原菌を構成する因子を、病原菌に特有な分子パターン(Pathogen-associated molecular pattern (PAMPs))として認識し、迅速な抵抗性反応を誘導する。この PAMPs の認識は、植物自身もつパターン認識受容体を介して行われる。受容体が認識した情報は速やかに伝達され、様々な防御応答を誘導する引き金となるが、受容体がどのようなタンパク質と相互作用し、どのように伝達しているか、その分子機構については殆ど理解されていない。一方、病原菌は、植物の免疫応答を阻害するため、植物細胞内に分泌タンパク質（以下、エフェクター）を送りこむ。これらのエフェクターの標的となっている宿主因子は、植物免疫反応において極めて重要な働きをしていると考えられている。そこで、我々は、これまで解析を進めてきた植物免疫因子に加え<sup>1), 2)</sup>、エフェクターの標的となっている植物免疫因子を同定し、その機能解析により、植物免疫の信号伝達の分子機構を明らかにした。本シンポジウムでは、パターン認識受容体によって活性化される免疫反応の誘導機構と、エフェクターによる免疫の抑制機構について、最近、得られた研究成果を紹介したい。

## 2. イネ白葉枯病菌のエフェクターの機能

白葉枯病菌は、イネの重要病害の一つであり、現在でもアジアの多くの地域で、その被害が確認されている。白葉枯病菌は、Type III 分泌システムを利用して、エフェクターを細胞内に導入し、宿主の免疫応答を抑制している。そこで、イネ白葉枯病菌の 10 個のエフェクターについて宿主の免疫抑制活性を調べるために、各々のエフェクターを発現する形質転換イネを作出した。これらの形質転換イネの免疫応答を解析した結果、特に 2 個のエフェクター(Xoo1488 と Xoo3222)が強く免疫応答を阻害することがわかった。このことは、これらのエフェクターがイネの主要な免疫因子の活性を阻害していることを示唆している。そこで、Xoo1488 と Xoo3222 が標的としている宿主因子を探索し、Xoo1488 の標的因子として RLCK ファミリーに属する OsRLCK1 と OsRLCK2 を、Xoo3222 の標的として OsPUB44 を単離した。

## 3. 病原菌認識における OsRLCK2 の機能と Xoo1488 による阻害

Xoo1488 の標的因子として同定された OsRLCK2 は、Receptor-Like Cytoplasmic Kinase の VII ファミリーに属し、細胞膜に局在することが明らかになった。さらに、

OsRLCK2 の過剰発現体および発現抑制体を用いて、キチン応答に応答した免疫反応を解析した結果、OsRLCK2 が様々な免疫応答（防御遺伝子の発現や活性酸素生成）を制御していることが明らかになった。OsRLCK2 が細胞膜に存在し、キチン応答を制御していることから、キチン受容体である OsCERK1 との相互作用が示唆された。実際、OsRLCK2 は細胞膜上で OsCERK1 と複合体を形成し、キチンを認識した OsCERK1 によって直接、リン酸化されることが明らかになった。また、OsRLCK2 発現抑制体では、キチンに応答した MAP キナーゼの活性化が抑制されていた。このことは、OsRLCK2 が OsCERK1 から受け取ったシグナルを MAP キナーゼカスケードに伝達していることを示唆している。さらに、Xoo1488 の発現によって、キチンに応答した MAP キナーゼの活性化が阻害されることから、Xoo1488 は OsRLCK2 を阻害することで、キチンに応答した免疫応答を阻害しているものと考えられる。

#### 4. Xoo3222 による免疫抑制機構

Xoo3222 の標的因子として、ユビキチン E3 リガーゼをコードする OsPUB44 が得られた。OsPUB44 は、ユビキチンリガーゼ活性をもつ U-box ドメインとタンパク質間相互作用に関与する Armadillo-repeats (ARM) ドメインをもつタンパク質であり、その構造から ARM ドメインで基質タンパク質と相互作用し、U-box の活性で基質タンパク質にユビキチン修飾を加えるものと考えられる。OsPUB44 は、免疫応答との関連が示唆されている PUB ファミリーに属し、PAMPs 処理により遺伝子発現が誘導されることが明らかになった。OsPUB44 を各ドメインにわけ、Xoo3222 との相互作用を解析したところ、Xoo3222 は、OsPUB44 の U-box ドメインに結合することが明らかになった。そこで、OsPUB44 のユビキチンリガーゼ活性を Xoo3222 が阻害するかについて、*in vitro* 実験系を用いて解析したところ、Xoo3222 が OsPUB44 の酵素活性を阻害することが明らかになった。また、Xoo3222 と OsPUB44 の相互作用は U-box 配列に特異的であり、Xoo3222 は他の PUB ファミリーとは相互作用しないことが明らかになった。このことから、Xoo3222 は、OsPUB44 の活性を調節することで、イネの免疫応答を制御しているものと考えられる。

#### 5. 結論

病原菌のエフェクターを用いて新規な植物免疫因子を同定することに成功した。また、その植物免疫因子の解析により、パターン認識受容体による病原菌認識から MAP キナーゼカスケードの活性化に至る信号伝達系を明らかにした。さらに、エフェクターの機能解析により、植物免疫を抑制する新規な分子機構を解明することができた。

#### 6. 引用文献

- 1) Yamaguchi, K. *et al.*, *Plant J.* **70**, 389-397 (2012)
- 2) Yamaguchi, K. *et al.*, *Plant Signal.Behav.* **7**, 465-468 (2012)

# ゲノム情報を利用したイネの分子育種

○ 芦荻基行（名古屋大学・生物機能開発利用研究センター）

## 1. 緒言

「命の問題」、人類にとってこれほど重要な問題はありません。食糧が十分満たされている日本においては、食糧不足による命の問題が深刻な問題になっていることを実感するのは難しいかもしれませんが、世界では、飢餓やそれに関連する病気のため、毎日2万5千人が命を落としており、そのうち、5歳以下の子どもは1万4千人を占め、6秒に1人、子どもが飢えを原因として命を落としています。先進国では医療技術が発達し平均寿命が劇的に上昇したこの現在にも関わらず、世界に目を向けると、飢餓による死が未だ主要要因となっているのです。現在、68億人の世界人口も、増加の一途をたどっており、2050年には90億を超えると予想され(United Nations, World Population Prospects)、また世界の人口増加率（年1.4%）は食糧増加率（年1%）を超過しているため、今後、食糧問題はますます深刻化すると予想されています。この問題を少しでも軽減するために、我々はイネの生産力増加につながる研究とその成果を利用した分子育種を試みているので紹介したい。

## 2. イネ収量性に関与する遺伝子の同定と機能解析

日本の一般的なイネ品種「日本晴」は穂の1次枝梗数は約10本で、1つの穂に約150粒程度着粒します。一方、名古屋大学・生物機能開発利用研究センターで保存しているイネ多枝梗の系統ST-12は約30本の1次枝梗を持ち、1つの穂に約475粒程度着粒します。両者の収量の差は1次枝梗数に大きく依存しています（図.1）。そこで、この1次枝梗数を制御する遺伝子の同定を試みました。日本晴とST-12を交配して得

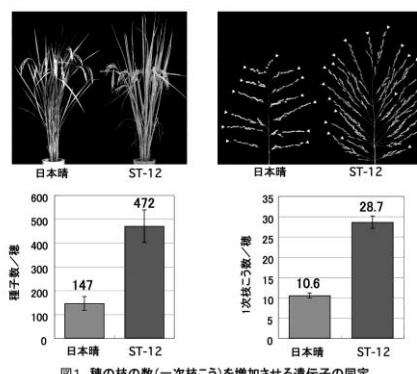


図1 穂の枝の数（一次枝梗）を増加させる遺伝子の同定

られる雑種集団を用いてQTL解析と呼ばれる遺伝学的な解析を行った結果、12本あるイネの染色体の内、第8染色体にこの1次枝梗数の違いを導く遺伝子の存在が明らかとなりました。我々はこの1次枝梗数を制御する遺伝子を、世界の農家の人々が幸せになりますようにという願いを込めWFP (WEALTHY FARMER'S PANICLE) と名づけました<sup>1</sup>。さらに、ポジショナルクローニング法を用いて、WFP遺伝子が転写因子(*OsSPL14*)をコードしていることを見いだしました。ST-12では幼穂を形成する段階で、このWFP遺伝子の発現量が日本晴に比べ10倍近く上昇し、穂における1次枝梗の形成を促進していることが明らかになりました。



### 3. 収量性遺伝子を用いた分子育種

*WFP* 遺伝子の育種への可能性を調査するために、日本晴に交配により ST-12 の *WFP* 遺伝子を導入した系統を作成したところ、日本晴の種子数が上昇しました (図 2)。また、我々の研究グループは 2005 年に *Gn1* と呼ばれる着粒数を増加させる遺伝子 (サイトカイニンオキシダーゼ:CKX) を同定しており<sup>2</sup>、日本晴に *WFP* 遺伝子と *Gn1* 遺伝子を同時に導入した場合、1 穂辺りの収量は劇的に増加に成功しました (図. 2)。

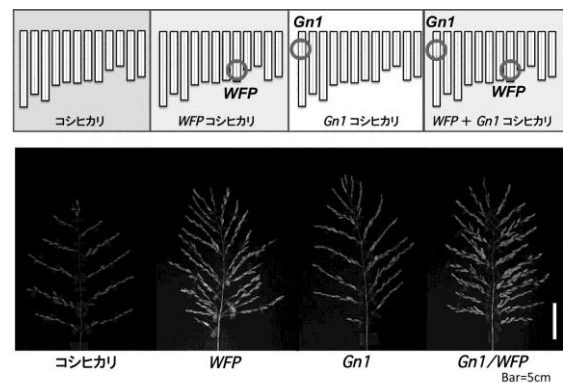


図2 分子育種で改良したイネの穂

### 4. 結論

人類のエネルギー摂取に重要な穀類の収量増加を目指した取り組みは、世界中でいろいろな手法で多岐にわたりますが、収量を劇的に上昇させるのは非常に困難です。今回、我々が見いだした *Gn1* 遺伝子や *WFP* 遺伝子を交配と分子マーカーを利用した分子育種で効率的にイネの収量を増加させることができました。また我々は洪水耐性に関わる遺伝子なども見いだしており<sup>2</sup>、洪水環境下でも、高収量が期待できるイネ系統の作出も進めています。また、日本のイネ研究者によって病虫害抵抗性遺伝子や種々のストレス耐性遺伝子なども見いだされており、共同研究により、これらの遺伝子を利用したイネ系統の作出を進めていきたいと考えています。最後に、農業は、気候、土壌 (肥沃度)、水資源、作物 (の選択)、設備 (灌漑、機械など)、肥料、生産技術 (栽培・収穫技術)、流通・販売など様々なファクターがシステムとして成り立っています。今後、それぞれの領域のプロの方々と協力して行きながら、食糧危機の回避の一躍を担えればと考えています。

### 5. 引用文献

- 1) Miura K. *et al.*, Nat Genet. 2010 42(6): 545-9. (2010)
- 2) Ashikari, M. *et al.*, Science 309, 741-745. (2005)
- 2) Hattori, Y. *et al.*, Nature 460, 1026-1030 (2009)

# 植物揮発性物質が駆動する生物間情報・相互作用ネットワーク

○高林純示（京大生態研）

## 1. 袖すりあうもつづれ織り

生き物たちは「袖すりあう」というような非常に緩やかな関係から、「食う-食われる！」のような命のやり取りを含む関係まで様々にかかわりながら共存しています。それはまさに「生き物たちのつづれ織り」（京都大学 GCOE プログラム 生物の多様性と進化研究のための拠点形成 -ゲノムから生態系まで キャッチコピー）と呼ぶのにふさわしい。地球上には目を見張るような多様な生き物が共存しているのですが、生物の多様性は、そのつづれ織りが生み出したのか、あるいは多様な生物がつづれ織りを紡いでいるのか、どちらが正しいのかわからないし、おそらく両方ともある意味で正しいのだらうと思う。

こういうつづれ織りを解く方法は、それを編むのと同様に無限にありそうな気がする。ノーベル賞を受賞された山中先生の iPS 細胞だって、ひょっとしたら将来生物多様性を解くツールとして使えるかもしれないし……。そんな中で、我々の研究グループ（といっても結構な数の人たちが、いろいろなところでいろいろな研究しているので、すでに「我々の」とか「グループ」とか言えない状態なのだけれど）は、化学生態学というような分野の手法を使ってこのつづれ織りを解いてきた……。などと立派だが、実はそんなものではなく、面白そうな生き物の化学物質を介した関係性を見てきたら、なんとなくつづれ織りが解けそうな気がしてきたぞ、というのが正しい。

## 2. つづれ織りは相互作用だけじゃない

ちょっとここで「生き物のつづれ織り」を強引に「生き物たちはつづれ織りだ」という文に変換したとして、このメタファーから私たちが浮かべるイメージは、なんでしょう。私としては糸と糸の交点では、そのレベルの大小はあるとしても相互作用が発生するでしょう、それが美しい模様（目を見張る多様性）を生み出す、というものじゃないかと思う。さてここで本題です。ここで相互（の）作用というからには、一方の糸が他方に糸に作用（影響）を及ぼし、その作用によって他方の糸も一方の糸に反作用する（影響を返す）ことになるのだと思う。たとえば、ライオンがシマウマに出会った、襲った、食べた、という場合。ライオンが一方の糸でシマウマが他方の糸だとすると、ライオンからの作用は明らかです。シマウマが返す反作用はいろいろあるんだろうけれど、「シマウマの命がライオンンの血となり肉となった」という、いわゆる「栄養の流れ」がひとつ重要な反作用といえます。もう少しわかりやすい例は、植物と食植生昆虫の相互作用で、昆虫が植物を食べるという作用に対し、植物は食わ

れることで誘導的に毒物質なんかを誘導的に作り出したりして、食べている昆虫に反作用を与えるという例は割とあります。

では、この世は相互作用だけかということ、そうでもない。かわいい女の子と袖すり合ったけど（前世の）ご縁はございませんでした、という例の方が絶対に多いはずだという経験的確信があります。じゃそういうのはどう考えるのか。袖が当たった方は「お、今なにか当たったな」という情報は得るので、次からは「すり合わないように（もっとすり合うように（!））しよう」と決意することで別の人に影響を与える、いわば玉突きです。これを相互作用ではなく情報の一方向の流れ、と考えたらどうかと思うわけです。生態系でこんな微妙な話が実際に実証されているのだろうかということ、一応あります。植物と植物が揮発性の情報（匂い情報）を一方向的に伝えている現象がありまして、共同研究者の有村源一郎さんが実証しました（その年、世界同時的に別の2つのグループも実証して、サイエンスの不思議な同調性が垣間見られた年です）[1]。Speaking plants、Listening plant とか、Eavesdropping plant（立ち聞きする植物）と言います（個人的には最初はちょっと違うし、最後はととも気に入っている）。さて、情報と言えば「情報化社会」とか「情報ネットワーク」という言葉があるので、「相互作用ネットワーク」と合わせて「情報・相互作用ネットワーク」としてみました。

### 3. 今回お話ししたいつづれ織り

長々と相互作用と情報について書いてきました。最後に今回お話ししたいことについて述べておきます。

1. 植物とそれを食べる食植性節足動物と、さらに食植者を捕食する天敵節足動物からなる3者系の相互作用と情報のつづれ織り
2. 立ち聞き植物の特異性と感度
3. 相互作用・情報ネットワークの応用

これらについて、遺伝子組み換え植物なども用いて[2]、アブラナ科-コナガ幼虫-コナガサムライコマユバチ三者系、アブラナ科-モンシロ幼虫-アオムシサムライコマユバチ三者系等を用いて研究してきた結果を紹介します。

### 5. 引用文献

- 1) Arimura, G., Ozawa, R., Shimoda, T., Nishioka, T., Boland, W. and Takabayashi, J. (2000) Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature* 6795: 512-515
- 2) Shiojiri, K., Kishimoto, K., Ozawa, R., Kugimiya, S., Urashimo, S., Arimura, G., Horiuchi, J., Nishioka, T., Matsui, K., and Takabayashi, J. (2006) Changing green leaf volatiles biosynthesis in plants: an approach for improving plant resistance against both herbivores and pathogens. *Proceedings of Natural Academy of Science, USA* 103: 16672-16676

# 植物の代謝物と食品機能：肥満・メタボリック症候群へのアプローチ

○河田照雄<sup>\*、\*\*</sup>、後藤剛<sup>\*、\*\*</sup>、高橋信之<sup>\*、\*\*</sup>（\*京都大院・農・食品生物、  
\*\*京都大・学際センター・生理化学研究ユニット）

## 1. 緒言

肥満は世界的レベルで深刻な健康問題となってきた。実に3人に1人が肥満あるいは体重過多とされている。肥満は単なる太ったという「結果」ではなく、それから様々な疾患に派生する「原因」となりうる。高齢社会を迎えた現在、長期にわたって食生活に取り入れることでマイルドに生体機能を調節しうる食品の開発は、個々人の食生活が密接に関連する肥満やメタボリック症候群の予防・改善策として有効性の高い戦略の一つとなりうる。本シンポジウムでは、「食品」の観点から、肥満症およびメタボリック症候群に関する最近の研究動向を概説し、これら病態に対する有効な科学的戦略の一つとして植物代謝物の可能性を紹介したい。

## 2. 肥満・メタボリック症候群の代謝制御と核内受容体リガンド

肥満症やメタボリック症候群に対して有効な食品成分の機能、作用点としては、次のような項目があげられる。①エネルギー基質となる糖・脂質等の吸収抑制作用、②エネルギー消費亢進作用、③摂食抑制作用、④肥満状態の質的改善作用などである。

肥満状態になると、過度な脂肪蓄積が原因で、肝臓や骨格筋において糖・脂質代謝異常が惹起される。この代謝異常は、脂質異常症や糖尿病、さらには動脈硬化にまで進行するため、このような代謝異常は、メタボリック症候群を発症させる直接的なリスクファクターであるといえる。この代謝異常制御に関わる因子としてリガンド依存性転写調節因子であるペルオキシソーム増殖剤応答性受容体（peroxisome proliferator-activated receptor : PPARs）が重要であると考えられている。

とりわけ PPAR $\alpha$  は、肝臓や骨格筋に高発現する、リガンド要求性の核内受容体である。図1に示すように、リガンドの結合に

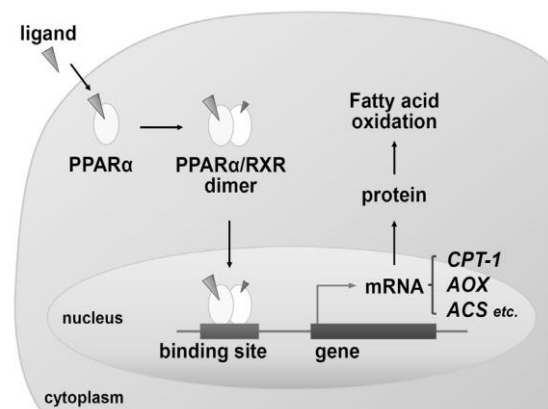


図1 脂肪酸酸化を制御する PPAR $\alpha$  の作用機序

リガンドが結合し活性化した PPAR $\alpha$  は、RXR（retinoid X receptor）と二量体を形成し、核内に移行する。この二量体が DNA 上の特定の領域に結合することにより、標的遺伝子群（CPT-1: carnitine-palmitoyl transferase-1, AOX: acyl-CoA oxidase, ACS: acyl-CoA synthase など）が発現し、その結果、脂肪酸酸化の亢進につながる。

より活性化した PPAR $\alpha$  は、標的遺伝子の発現を亢進させる。この標的遺伝子は脂肪酸酸化に関係するものが多いため、PPAR $\alpha$  の活性化は脂肪燃焼を直接亢進し、体全体の脂質代謝ひいては糖代謝にまで影響する<sup>1)</sup>。実際、肥満に伴う脂質代謝異常改善に有効な薬剤となる PPAR $\alpha$  リガンドが多く開発され、治療に用いられている。また、脂肪細胞に高発現し、細胞分化と機能制御に重要な PPAR $\gamma$  のリガンドも血糖値やインスリン抵抗性改善に重要である。我々はこれまでに植物代謝産物を中心として、多数の化合物について PPARs 活性化能の探索を行ってきた<sup>2)</sup>。以下にその実例を紹介したい。

### 3. 植物代謝物由来の脂肪肝改善作用化合物の同定

我々は、脂質代謝異常の改善につながる PPAR $\alpha$  の活性化に着目し、その一つとしてトマトから新規 PPAR $\alpha$  活性化成分の探索を試みた。トマト果実のエタノール抽出物を逆相 HPLC などにより分画を行なった。得られた画分を、PPAR $\alpha$  レポーターアッセイにより PPAR $\alpha$  活性のある画分をスクリーニングした。その中に、活性を有する画分が存在したので、NMR および LC-MS にて活性成分の同定を行なった。その結果、トマト（特にジュース）に含まれる PPAR $\alpha$  活性化成分として、13-oxo-9, 11-octadecadienoic acid (13-oxo-ODA) が同定された (図 2)<sup>3)</sup>。脂質代謝異常に対する 13-oxo-ODA の有効性を評価するために、肥満・糖尿病モデルマウスである KK-Ay マウスを用いて、機能評価を行なった<sup>2)</sup>。KK-Ay マウスを 0.02%あるいは 0.05%の 13-oxo-ODA を含む高脂肪食で 4 週間飼育した結果、13-oxo-ODA 摂取群は、肝臓における脂肪酸酸化関連遺伝子群の発現増加が認められるとともに、高脂肪食による血中および肝臓中の中性脂肪量の上昇が抑制された<sup>4)</sup>。

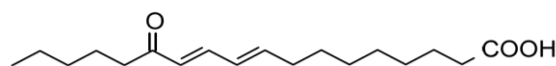


図 2 13-oxo-ODA の構造式

### 4. 結論

香辛料やハーブ、漢方薬など植物由来の代謝物は人類に多大の恩恵をもたらしてきた。しかしながら、未だその活性本体や作用機序の不明なものが多い。さらに、未利用な植物資源、植物機能も多数残されていると推察される。今回我々が示した実例では、LC-MS の技術的進展が大きく貢献している。そのような技術も今後のアグリバイオ技術の一環として極めて重要であろう。植物の代謝物は機能性化合物の宝庫であり、信頼しうる科学的エビデンスが確立されれば、肥満・メタボリック症候群への科学的戦略として強力な突破口となることが期待される。

### 5. 引用文献

- 1) Goto, T. *et al.*, *PPAR Research*, review 2010: article ID 483958 (2010)
- 2) Goto, T. *et al.*, *Mol. Nut. Food Res.* review, in press (2013)
- 3) Kim, YI. *et al.*, *Mol. Nutr. Food Res.* 55, 585-593 (2011).
- 4) Kim, YI. *et al.*, *PLoS One* 7: e31317 (2012)

# バイオテクノロジーによる青い花の開発と実用化

○田中良和（サントリー植物科学研）

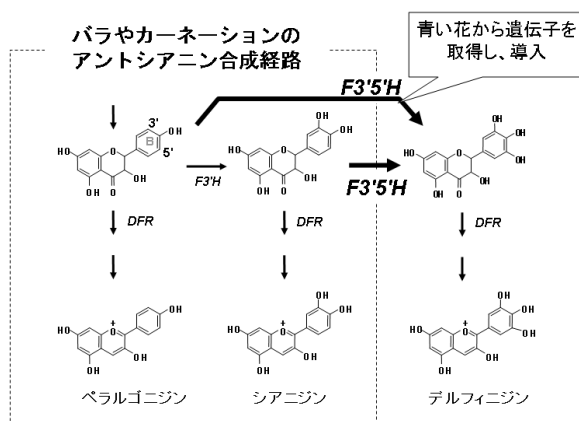
## 1. 緒言

花の色は、その植物が生まれつき（遺伝的に）どのような色素を合成することができるかにより決まることが多い。たとえば、バラやカーネーションは青い色素を合成できず、リンドウやアイリスは赤い色素を合成できないため、交配による品種改良を長年行っても、このような色の品種は得られなかった。

遺伝子組換え技術を用いると、他の生物の遺伝子を用いて品種改良を行うことができるため、交配では作れなかった画期的な植物を作出することができる。一方、遺伝子組換え植物を作製するためには、①必要な遺伝子の取得、②目的の植物の形質転換方法（遺伝子を導入し、遺伝子の入った細胞を選抜し、植物体に再分化させる方法）の確立、③導入した遺伝子の発現制御などの技術開発が必要な上に、商業生産・販売には、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律（通称、カルタヘナ法）」に基づく認可を取得する必要があるため、遺伝子組換えは、高価な品種改良の方法であると言える。

## 2. 花の色の決まる仕組み

サントリーは交配による品種改良によりサフィニアに代表される様々な花（花壇苗、鉢物）を開発してきた。一方で、交配では得ることができない色の花の開発には遺伝子組換えの手法を適応してきた。



花の青や赤の成分は、フラボノイドの仲間であるアントシアニンと総称される化合物に由来する。その色合い、構造は多彩であり、発色機構は複雑である<sup>1)</sup>が、端的に言うと、発色団であるアントシアニジンには、ペラルゴニン（サルビアなどの鮮やかな赤い色の花に含まれる）、シアニン（バラなどの赤や赤紫色の花に含まれる）、デルフィニン（ラベンダーなどの紫や青い花に含まれる）の3種がある。これらのうち、B環の水酸基数（図）が多いデルフィニンがもっとも青いので、花色を青くするためにはデルフィニンを蓄積させればよい。デルフィニンを合成するために必要なB環の水酸化

（図）が多いデルフィニンがもっとも青いので、花色を青くするためにはデルフィニンを蓄積させればよい。デルフィニンを合成するために必要なB環の水酸化

反応を触媒する酵素がフラボノイド 3', 5'-水酸化酵素 (F3' 5' H) である (図)。

### 3. 青い花の作出と商業化

切花として重要なバラ、カーネーション、キクなどは、F3' 5' H 遺伝子を欠くためデルフィニジン合成できないことが、これらに青や紫の品種がない原因である。これらに F3' 5' H 遺伝子を導入すると、デルフィニジン合成できるようになり、花の色は青く変化する。ただし、総アントシアニン中のデルフィニジン含有率を高め、花色を青く見えるようにするためには、適切な種の F3' 5' H 遺伝子の高発現に加え、①シアニンやペラルゴニジン合成する経路を抑制するか、欠損している変異体を宿主として用いる、②デルフィニジン合成に適した基質特異性を持つペチュニアなどのジヒドロフラボノール 4-還元酵素 (DFR、図) 遺伝子と共発現させる、③色は細胞内の様々な条件にも依存するため適切な宿主を選ぶ、といった方策が必要である。

現在ではいろいろな有用遺伝子が入手できるため、植物の形質転換が遺伝子組換え植物の開発の律速となることも多い。効率のよい形質転換方法は植物種ごとに開発する必要があり、効率は品種によっても大きく異なる。形質転換系統ごとに表現型も異なるので、できるだけ多くの形質転換系統を取得し、その中から目的の表現型を示す系統を選抜する必要がある。

バラの場合には適切な品種でパンジーの F3' 5' H 遺伝子を発現させること<sup>2)</sup>、カーネーションの場合には適切な品種で F3' 5' H 遺伝子とペチュニアの DFR 遺伝子を共発現させること<sup>3)</sup>により花色が青く変化した系統が得られた。これらの中から形質が安定していて生育特性がよい系統を選抜し、カルタヘナ法に基づく評価を行い、農林水産省と環境省から商業化に必要な認可を得た。上記のバラ、カーネーションはそれぞれ「アプローズ」(花言葉「夢かなう」)、「ムーンダスト」(花言葉「永遠の幸福」)として販売されている。

### 4. 結論

遺伝子組換え植物が始めて誕生した 1980 年代には、この技術を使うと交配よりも迅速に画期的な植物が開発されると期待されたが、実際には様々なハードルがあり、特に国内では拮抗りに欠けている。植物科学の進展とともに、国民の理解や規制緩和が本分野の発展には必要である。

### 5. 引用文献

- 1) 岩科司 花は不思議、講談社 (2008)
- 2) Katsumoto, Y. *et al. Plant Cell Physiol.*, **48**,1589-1600 (2007)
- 3) Tanaka, Y. *et al. Int. J. Mol. Sci.* **10**, 5350-5369 (2009)

