

不安定な化学構造の植物ホルモンを植物内に大量蓄積させることに成功

植物ホルモンなどの二次代謝産物は、構造が複雑で化学合成が難しく、植物内で大量に蓄積することも困難な化合物です。その一つであるストリゴラクトンは、植物の構造や発達を制御する植物ホルモンで、根圏における重要なシグナル伝達分子としてはたります。しかし、植物における蓄積量が非常に少ない上に、中性 pH 条件下では分解されやすいという、非常に不安定な性質を持っています。

本研究グループでは、2018年に、植物におけるタンパク質大量発現を可能にする技術「つくばシステム」を開発しており、今回、これを使って、ストリゴラクトンの代謝に関わる酵素を過剰発現させることに成功しました。ストリゴラクトンの1つである4-デオキシオロバンコール(4DO)はβカロテンを出発物質として、D27、CCD7、CCD8、CYP711A2の一連の酵素によって代謝されることから、これらの酵素をつくばシステムにより、ベンサミアナタバコ葉に大量発現させたところ、2.1 μg/g新鮮重の4DO蓄積が認められました。これは、これまでの蓄積量の1,750倍に相当します。また、このベンサミアナタバコ葉を80°Cで16時間乾燥すると、乾燥直後には1.0 μg/g新鮮重の4DOが蓄積されていましたが、その後1か月間、室温にて放置しても、0.9 μg/g新鮮重が残存しており、ほとんど分解されないことが示されました。

これらの結果から、つくばシステムにより4DOを高蓄積でき、しかも長期間にわたって安定的に保存できることが明らかとなりました。

研究代表者

筑波大学生命環境系

三浦 謙治 教授

宇都宮大学バイオサイエンス教育研究センター

野村 崇人 准教授

研究の背景

代謝産物は、代謝酵素によって生体内での蓄積が促進されますが、植物ホルモンなどの二次代謝産物は、恒常性の観点から、その蓄積量が抑えられています。植物ホルモンの一つであるストリゴラクトンは、植物の構造や発達を制御するはたらきがあり、根圏における重要なシグナル伝達分子です。土壌中のアーバスキュラー菌根菌を誘引し、共生を行うことで、広い範囲から水や栄養（特にリン）の吸収を促進できることが知られており、農業への応用が期待されています。しかしながら、植物における蓄積量が非常に低い上に、化学構造が不安定であり、化学合成品は非常に高価であるため、実用的な規模での利用には適しません。いくつかの植物種においてストリゴラクトンの蓄積が試みられてきましたが、イネを用いた場合は 50 pg/g 新鮮重^{注1)} 程度、イネのストリゴラクトン受容体変異体 *d14* においても 1.2 ng/g 新鮮重と、非常に少ない量しか蓄積できないことが知られていました。

研究内容と成果

本研究グループは、2018 年に植物におけるタンパク質大量発現を可能にする技術「つくばシステム」を開発しています。今回、このシステムを用いて、植物内に代謝酵素を過剰発現させることで、代謝産物としてのストリゴラクトンの蓄積を促進させることを試みました。ストリゴラクトンの 1 種、4-デオキシオロバンコール (4DO) は、 β -カロテンを出発物質として、D27、CCD7、CCD8、CYP711A2 という一連の酵素によって代謝されます (図 1)。そこで、つくばシステムにより、これらの一連の酵素を、ベンサミアナタバコ^{注2)} 葉内でアグロインフィルトレーション法^{注3)} により過剰発現させました。葉における 4DO の蓄積量を調べたところ、2.1 $\mu\text{g/g}$ 新鮮重の蓄積が認められました (図 2)。この量はイネ変異体 *d14* を用いた場合と比較して 1750 倍に相当し、これまでに、植物において 4DO をこれだけ大量に蓄積した例はありません。

次に、4DO は化学的に不安定であると考えられることから、ベンサミアナタバコ葉に蓄積された 4DO の安定性を確かめました。アグロバクテリウムを死滅させるため、4DO を蓄積させたベンサミアナタバコ葉を 80°C で 16 時間乾燥させた後 (図 3)、室温で 1 か月放置し、4DO の蓄積量の変化を調べました。その結果、乾燥処理の直後は、1.0 $\mu\text{g/g}$ 新鮮重と、乾燥処理前と比較して半減しましたが、その後 1 か月間、室温で放置しても 0.9 $\mu\text{g/g}$ 新鮮重と、ほとんど変化がありませんでした。すなわち、乾燥されたベンサミアナタバコ葉において、4DO は安定的に存在することが示されました。

これらの結果から、つくばシステムにより 4DO を植物内に高蓄積できること、4DO は乾燥ベンサミアナタバコ葉において、長期間にわたって安定的に保存できることが分かりました。

今後の展開

本研究により、つくばシステムを用いて植物内に代謝酵素を一過的に高発現させることで、代謝産物を高蓄積できることが明らかとなりました。また、この代謝産物は、乾燥ベンサミアナタバコ葉において室温で長期間にわたって保存できるため、農業利用を考える際に、低温保存の必要がないというメリットがあります。今後、実用化を視野に、このようにして得られた 4DO が、実際にアーバスキュラー菌根菌の誘引ができるかの確認を進める予定です。

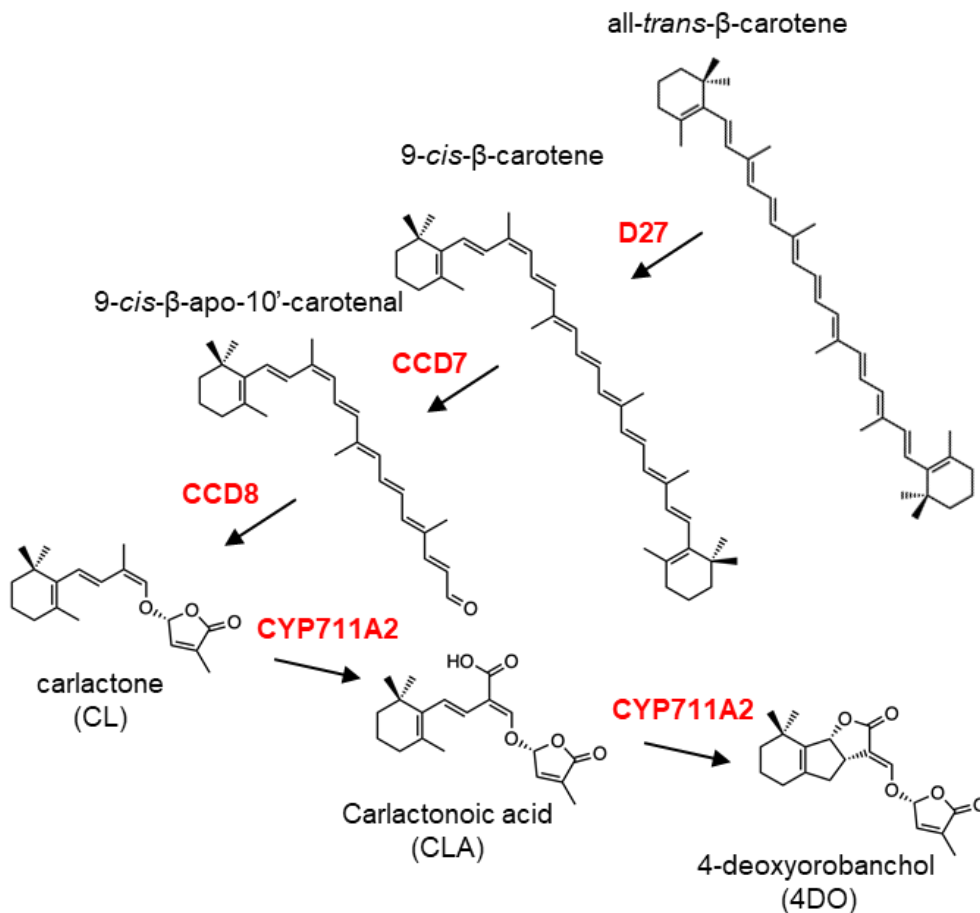


図1. βカロテンから4-デオキシオロバンコール(4DO)の生合成経路。βカロテンは酵素D27、CCD7、CCD8によってカーラクトン(CL)に変換される。イネでは酵素CYP711A2がCLから4DOへの変換を触媒する。

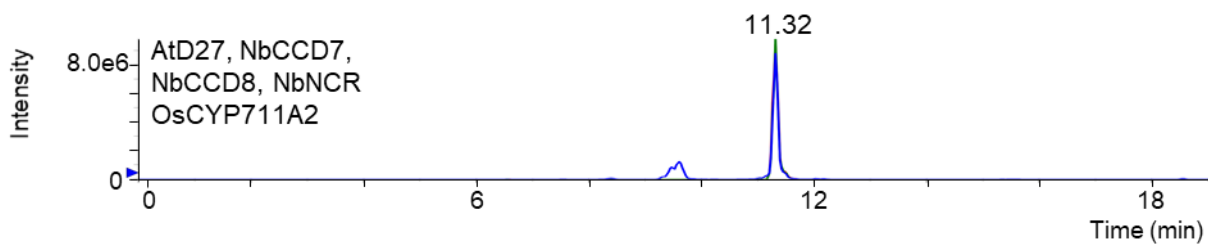


図2. ベンサミアナタバコ葉において発現した化合物の液体クロマトグラフィー質量分析の結果。4DOがシャープなピークで検出されている。

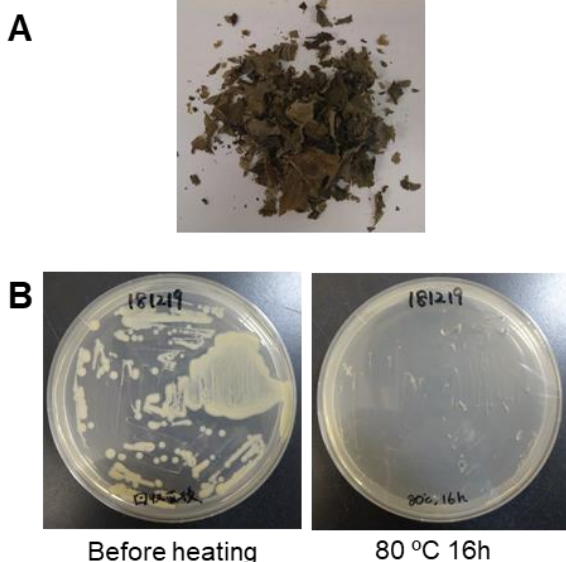


図3. 4DOを高蓄積させた後に80°Cで16時間乾燥させたベンサミアナタバコ葉(A)。乾燥前ではアグロバクテリウム(白色部分)が生存しているが(B左)、乾燥処理後はアグロバクテリウムの生育が認められない(B右)。

用語解説

注1) 新鮮重

新鮮な植物の重さ。

注2) ベンサミアナタバコ

タバコ植物の仲間。病原菌感染を予防する植物免疫システムに欠陥があることから、病原菌感染の実験やアグロインフィルトレーション法に用いられる。

注3) アグロインフィルトレーション法

アグロバクテリウムと呼ばれる、植物に対する病原性をもつ細菌を、植物体の一部分に感染させる方法。アグロバクテリウムは植物細胞に感染してT-DNAを植物細胞核内へ送り込むことができるため、当該遺伝子の発現を調べることが可能です。

研究資金

本研究は、科学研究費補助金(19H04637)、日本科学技術振興機構(JST)・産学共創プラットフォーム共同研究推進プログラム(OPERA, JPMJOP1851)、T-PIRC 遺伝子実験センター「形質転換植物デザイン研究拠点」の一部によって実施されました。

掲載論文

【題名】 Production and stably maintenance of strigolactone by transient expression of biosynthetic enzymes in *Nicotiana benthamiana*

(代謝酵素の一時的発現により、ベンサミアナタバコにおいてストリゴラクトンの生産と安定的な保存が可能に)

【著者名】 Akira Yata, Shohei Nosaki, Akiyoshi Yoda, Takahito Nomura, Kenji Miura

【掲載誌】 Frontiers in Plant Sciences

【掲載日】 2022年10月28日

【DOI】 10.3389/fpls.2022.1027004

問合わせ先

【研究に関すること】

三浦 謙治（みうら けんじ）

筑波大学生命環境系／つくば機能植物イノベーション研究センター 教授

Tel: 029-853-6401

E-mail: miura.kenji.ga@u.tsukuba.ac.jp

URL: <https://trios.tsukuba.ac.jp/researcher/0000001424>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp

宇都宮大学広報室

Tel: 028-649-5201

E-mail: kkouhou@miya.jm.utsunomiya-u.ac.jp