

植物香気成分の生合成分子機構の解明と代謝改変に関する研究

Elucidation and modification of molecular mechanisms underlying the biosynthesis of plant volatiles

肥塚 崇男

山口大学大学院 創成科学研究科

植物は、生育環境に適応するため多様な特化代謝産物（二次代謝産物）を作り出す能力を進化の過程で獲得し、発達させてきたと考えられている。特に、揮発性の香気成分は他の代謝産物と異なり、空間的に離れた生物間のコミュニケーション媒体として知られ、受粉媒介者や植食者の天敵を誘引するなど情報化学物質として機能する。私たちは、ほぼすべての種子植物が普遍的に生産する「脂肪族香気成分」ならびに構造多様性が豊富な「芳香族香気成分」を研究対象として、化学構造を規定する生合成酵素の機能解析に取組み、香気成分の生合成酵素の機能進化と反応制御機構の全容解明を目指し研究を進めてきた。さらに、得られた生合成酵素遺伝子を活用し、植物内在性基質に着目した合理的代謝工学による有用香気成分の物質生産を指向したモノづくりにも研究を展開している。

脂肪酸に由来する香気成分の生合成研究

膜脂質から酸化反応により生成される脂肪族化合物は、動物細胞では炎症や免疫を制御し、植物では生体防御応答や生育制御を駆動する脂質メディエーターとして機能する。その中でも、炭素数 6 の短鎖アルデヒドや炭素数 15~17 の長鎖アルデヒドは、それぞれ「みどりの香り」や「磯の香り」と呼ばれ、植物界に広く分布している。短鎖アルデヒドは、脂肪酸がリポキシゲナーゼ (LOX) によって酸素添加され、その後、シトクロム P450 (CYP74) ファミリーの脂肪酸ヒドロペルオキシドリアーゼ (HPL) による開裂反応により生合成される。このような生合成系を植物が進化の過程でいつ獲得したのか定かではなかった。みどりの香りを生成する鍵酵素である CYP74 ファミリーについて *in silico* によるゲノム解析や酵素化学的解析、ゲノム編集を用いた統合的解析を行ったところ、車軸藻類のクレブソルミEDIUMや苔類ゼニゴケで HPL ホモログが見つかるものの、短鎖アルデヒド生成活性はなく、ジャスモン酸 (JA) 前駆体を生成し、食害抵抗性応答に関わる CYP74 であることが明らかとなった[1]。これらの結果から、植物は進化の過程で最初に植物ホルモン (OPDA・JA) を介した食害防御機構を獲得し、陸上進出した後、蘚類以降に、揮発性のシグナル分子として短鎖アルデヒドを作り出すために CYP74 ファミリーの酵素機能、代謝系を進化させたことが示唆された。一方、イネから単離した長鎖アルデヒド生成に関わる α -ジオキシゲナーゼ (DOX) の構造が哺乳動物のプロスタグランジン H 合成酵素 (PGHS) と類似するものの、脂肪酸への酸素添加の位置特異性やペルオキシダーゼ活性に違いがあるなど独自の触媒機構を持つことを明らかにした。これら一連の研究は、植物が進化の過程でどのように香気成分の生合成酵素を機能進化させたかを分子レベルで実証したものである。

芳香族香気成分の生合成研究

分子内にベンゼン環 (C6) を有する芳香族香気成分は、わずかな化学構造の違いでその香気特性や生理活性が変化することが知られており、シルクロードにより東西貿易が盛んになった時代から、植物を原料とする防腐剤や香辛料の有効成分として注目されてきた。一方で、その生合成経路は細胞壁構成成分のリグニンや機能性成分として知られるフラボノイドなどと同様にフェニルアラニンに由来するものの、一部の中間体の構造を除いて未解明であった。そのような中、放射性同位体を用いた酵素活性測定法を用いて、様々な植物から芳香族香気成分の構造多様性や揮発性、貯蔵・蓄積に関わる転移酵素（メチル基転移酵素、糖転移酵素）を多数同定することに成功した[2]。さらに、化合物種を問わず多様な基質に対する酵素活性評価ができるという本測定法の特徴を活かして香気成分だけでなく、抗酸化物質のスチルベノイドや植物ホルモンに対するメチル基転移酵素の発見にも成功した[3]。これら生合成酵素が基質構造の違いを厳密に識別することで各植物種の香気組成を決定していることが考えられた。さらに、香気成分が葉表面のトライコームなど器官特異的に生合成、蓄積する、また、日周リズムに従って生合成されるという時間特異性に着目し、芳香族香気成分のアリル型、プロペニル型骨格の形成を制御する酵素を単離し、構造生物学的解析から酵素活性中心を明らかにすることで、キノンメチド中間体を介する反応制御機構を提唱した。一方で、芳香族香気成分変種のペチュニア野生種を対象とした実験では、1つの生合成遺伝子の変異がバイパス経路を活性化させ新たな香気成分の生成に影響することを分子レベルで初めて示し、自然界において環境適応の結果生じた特化代謝産物のナチュラルバリエーションの理解に大きな影響を与えた。他方、現在までに同定した生合成酵素遺伝子を利用し、代謝経路の分岐点に着目した代謝フロースイッチングにより香料や医薬品原料として有用な機能性芳香族化合物の生産プラットフォームの構築を目指した組換え植物の作出にも成功している[4]。

本研究を進めるにあたり、多くの方々から多大なるご指導ならびにご支援を賜りました。ご協力賜りました皆様方に、心より御礼を申し上げます。

引用文献

1. Koeduka T, Takaishi M, Suzuki M, Nishihama R, Kohchi T, Uefune M, Matsui K. CRISPR/Cas9-mediated disruption of *ALLENE OXIDE SYNTHASE* results in defective 12-oxo-phytodienoic acid (OPDA) accumulation and reduced defense against spider mite in liverwort (*Marchantia polymorpha*). *Plant Biotechnology*. (in press)
2. Koeduka T, Ueyama Y, Kitajima S, Ohnishi T, Matsui K. Molecular cloning and characterization of UDP-glucose:volatile benzenoid/phenylpropanoid glucosyltransferase in petunia flowers. *Journal of Plant Physiology*. 2020; 252, 153245.
3. Koeduka T, Suzuki H, Taguchi G, Matsui K. Biochemical characterization of the jasmonic acid methyltransferase gene from wasabi (*Eutrema japonicum*). *Plant Biotechnology*. 2020; 37, 389-392.
4. Koeduka T, Takarada S, Fujii K, Sugiyama A, Yazaki K, Nishihara M, Matsui K. Production of raspberry ketone by redirecting the metabolic flux to the phenylpropanoid pathway in tobacco plants. *Metabolic Engineering Communications*. 2021; 13, e001800.