

東京農業大学 先端研究シンポジウム 要旨集

植物の力を引き出す

—未知の機能の解明・利用と新しい機能の付与を目指して—

2008年10月3日（金）

東京農業大学 図書館視聴覚ホール

プログラム

13 : 00～13 : 05 学長挨拶

13 : 05～13 : 15 総研所長挨拶

第一部 先端研究プロジェクト 中間報告会

13 : 15～13 : 45 「不良土壌耐性向上を目指した植物体内金属動態の解明」

樋口恭子（東京農業大学 生物応用化学科）

13 : 45～14 : 15 「植物の環境ストレス応答機構-比較・機能ゲノム学からのアプローチ-」

坂田洋一（東京農業大学 バイオサイエンス学科）

14 : 15～14 : 45 「イネ科植物の耐病性メカニズムとその応用」

須恵雅之（東京農業大学 生物応用化学科）

14 : 45～15 : 00 休憩

第二部 招待講演

15 : 00～15 : 30 「ストレスに応答する二次代謝産物生合成とその利用の可能性」

清水文一（京都大学 化学研究所）

15 : 30～16 : 00 「コメデンプンの改変」

藤田直子（秋田県立大学 生物生産科学科）

16 : 00～16 : 30 「サントリーの植物バイオビジネス-バイオの夢 青いバラ開発物語-」

勝元幸久（サントリー株式会社 植物科学研究所）

16 : 30～17 : 00 総合討論 司会：樋口恭子

不良土壌耐性向上を目指した植物体内金属動態の解明

東京農業大学 生物応用化学科 樋口 恭子

【はじめに】

金属元素は生体高分子の立体構造の維持や機能発現のために、また細胞の浸透圧維持のために常に細胞内で適切な濃度に保たれていなければならない。動物は餌を選ぶことによってある程度これを実現することが出来るが、植物は発芽・生育する場所を選ぶことはできないため、必須金属の欠乏・過剰や有害金属の存在に対する適応機構を発達させている。当然、これらの能力は植物種によって異なり、それはその植物種が進化してきた環境を反映していると思われるが、商業的な農業は必ずしも適地適作に基づいて行われるわけではない。一般作物、特に主食となる作物を不良土壌でも栽培することを目指して、植物の適応機構を解明するべく多くの植物栄養学的研究がなされてきた。

古くから、植物の個体レベル、組織レベルの金属吸収量を測定することにより、金属代謝は植物種ごとに大きく異なることが分かってきた。しかし動物の血液とは違い植物の導管液や篩管液を採取することは容易ではないため、植物の金属動態の詳細はなかなか解明されてこなかった。近年の分子生物学的手法の導入により、多種多数の金属輸送体が組織特異的に、環境条件特異的に機能していることが分かり、植物体内の金属分配機構についてもより具体的な仮説を提示できるようになってきたが、ある輸送体が植物体内で実際に何を輸送し生理的にどのような貢献をしているのかを証明する事は必ずしも容易ではない。植物の現象を見る生理学的観察眼と分子生物学に加えて、生きている植物の局所的な解析技術のさらなる発展も不可欠である。

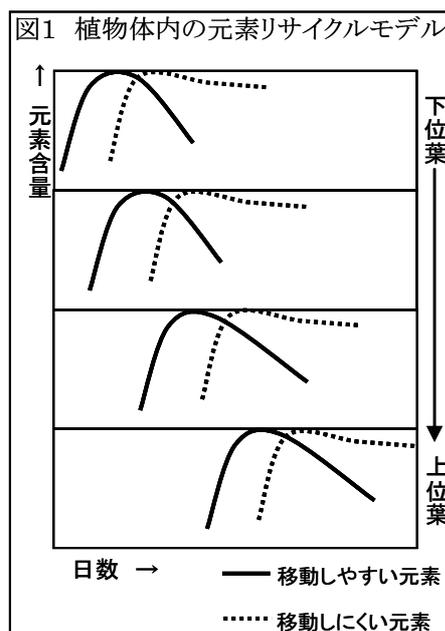
植物の分子生理学は一部のモデル植物を用いて発展してきた。植物全般で普遍的な機能については、モデル植物で得られた知見がそのまま適用できるが、植物種固有の機能については個々に研究していかなければならず、最近では重要な作物についてもゲノムプロジェクトが進められつつある。一方、作物種は収量性、栽培特性、商品価値に重点を置いて選抜されてきたため、野生植物に比べると不良環境耐性は弱い。今後新規の不良土壌耐性作物を開発するためには野生植物の持つ未解明の機能も積極的に利用していく必要がある。

これらのことを踏まえ、我々はモデル植物以外の植物種を用い、古典的植物栄養学と分子生物学と新しい分析手法を用いて、未解明の金属代謝機構の解明を試みてきた。以下にこれまでの成果を紹介する。

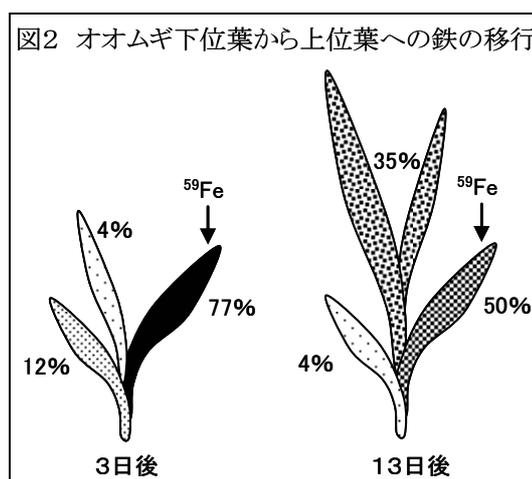
【オオムギの地上部鉄欠乏耐性機構】

鉄は土壌中に4%前後と豊富に存在するものの、通常の畑条件ではその大部分は不溶性であり植物は吸収することが出来ない。中性以上の土壌pHではさらに可給態鉄は減少し、植物は常に鉄欠乏に陥るぎりぎりの状態にあると考えられている。植物中でもっとも鉄を

必要とするのは葉緑体であり、鉄欠乏になると葉緑体の機能が低下し葉は黄色くなる。また鉄は植物体内で移動しにくい元素の典型として知られ（図1点線）、新しい葉（上位葉）を展開させるためには常に十分量の鉄を根から新たに吸収する必要があり、鉄欠乏症状は上位葉に現れる。このため、鉄欠乏耐性研究ではもっぱら根での鉄獲得機構に焦点が向けられていた。一方、窒素は植物体内で移動しやすく（図1実線）、上位葉に優先的に配分されるという特徴があり、窒素欠乏症状は古い葉（下位葉）から現れる。我々は鉄欠乏に強いオオムギが他の植物とは異なり、鉄欠乏条件下で下位葉を早く老化させ上位葉の緑色を回復させる、という現象に着目し、根ではなく地上部の鉄欠乏耐性機構の研究を行ってきた。



オオムギ品種エヒメハダカ No.1 を用い、24日間に渡って葉位別鉄含量の経日変化を調べたところ、鉄十分条件では図1点線のようなパターンになり通常の老化で枯死するときにも鉄含量はあまり減少しなかったが、鉄欠乏条件では図1実線のようなパターンになり前培養中（鉄を与えている）に吸収した鉄を放出してから枯死することが分かった。さらに下位葉に蓄積していた鉄の移行先を特定するために、鉄の放射性同位体 ^{59}Fe を下位葉に投与してから3日後と13日後に葉位別の放射活性を測定したところ、 ^{59}Fe の放射活性は下位葉で減少しその分上位葉の放射活性が上昇していたことから、下位葉から上位葉に鉄が移行することが示された（図2）。なお、オオムギと同じイネ科作物でモデル植物でもあるイネは鉄欠乏に弱いことが知られているが、イネで同様の実験を行ったところ、下位葉から上位葉への鉄の移行は認められるものの、その量は比較的少なかった。イネ科作物の体内生理が栄養生長から生殖生長に切り替わり穂が出るときには鉄も葉から穂へ移行することが分かっているが、栄養生長期の若い植物であっても鉄欠乏によって下位葉から上位葉に積極的に鉄を移行させる例は他には報告がない。



次の課題は下位葉で鉄の放出に関わる分子や、下位葉から上位葉へ移行するときの鉄の化学形態の解明である。我々は鉄欠乏オオムギでは鉄貯蔵タンパク質フェリチンが高発現することを見出している。フェリチンは葉緑体にあり、通常は老化や酸化ストレスに伴って発現が上昇する。葉緑体には他にも多くの鉄タンパク質があり、鉄欠乏時にはそれらの

鉄タンパク質の発現量も変動すると思われる。鉄欠乏によって発現変動するタンパク質の中には、鉄欠乏によるダメージではなく鉄欠乏への積極的な適応や鉄の放出に関わるものがあると考えられる。今後は鉄欠乏下位葉の細胞内、葉緑体内の鉄動態を明らかにする必要がある。

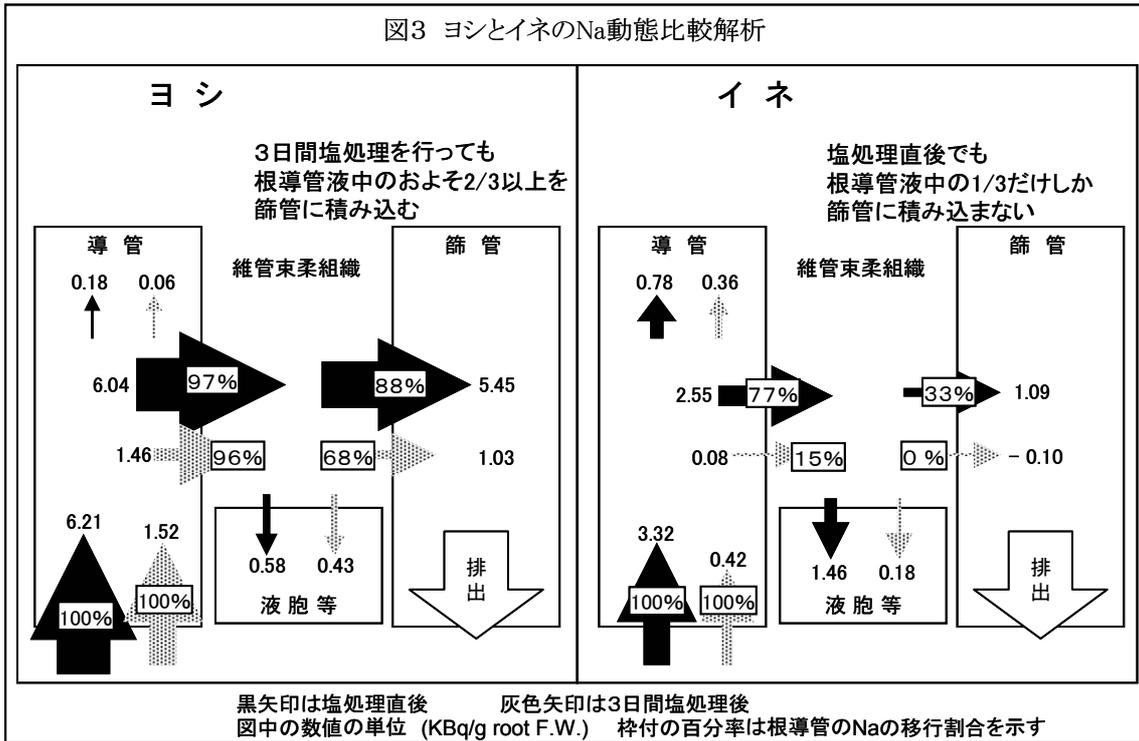
一方上位葉においても、鉄欠乏に強いオオムギは鉄欠乏に弱いイネよりも少ない鉄含量で緑色と葉の展開を維持できることを我々は明らかにした。植物体内においても鉄は不動態になりやすく、組織内の、あるいは細胞内の全ての鉄が生化学反応に有効であるわけではない。生きている細胞中の反応性の高い化学形態の鉄を分別定量することは難しく、植物細胞内の鉄代謝の具体的な機構は仮説として提示されているものの、定量的なデータはほとんどない。上位葉においても細胞内の鉄分配様式が鉄欠乏時にどのように変化するか、定量的に解析する必要がある。

【ヨシの有害金属排除機構】

塩害（主に NaCl の害）は乾燥地や海水をかぶる地域でしばしば問題になるが、多くの作物の塩に対する耐性はさほど強くない。しかしたいの植物は強弱の差はあっても何らかの耐塩性機構を備えており、その機構は様々であることが分かっている。イネ科植物では耐塩性と低い体内 Na 含有率に相関があるといわれ、優れた Na 排除能力が耐塩性向上につながると考えられている。Na を排除する部位として、①根表面、②根維管束、③根と地上部の境界（ここでは維管束が複雑なネットワークをつくり、物質の分配を制御していると考えられている）、④茎葉中の維管束、が挙げられる。これらのうち、①②④については Na 輸送体や能動輸送のためのプロトン勾配を作り出すプロトンポンプや Na と K の両方を輸送し K/Na 比の調節に関与する輸送体が数多く報告され、実際に Na 排除に貢献していることが明らかになったものもある。一方、③については報告例が少ない。

ヨシは環境適応能力が高く、乾燥地から湖沼まで、淡水から汽水域まで幅広く自生しており、塩類土壌においても地上部の Na 含量を極めて低く保つことが知られている。ヨシは上記の③に属し、Na を根に送り返す能力が特に高いと示唆されていたが、その機構についてはほとんど分かっていなかった。選択的に能動的にイオンを迅速に輸送するために輸送体は重要であるが、導管から篩管へ物質を積み替えるために原形質膜の面積が広い転送細胞が存在することが知られているということ、また根と地上部の境界（茎基部）では導管と篩管が入り組んでいることから、ヨシ茎基部の維管束には何か特徴的な構造が存在する可能性があると考え、まず我々は茎基部断面の形態観察を行った。その結果、茎基部の維管束柔細胞には塩誘導的にデンプン顆粒が蓄積することが明らかになった。現在のところ、デンプン顆粒の Na 輸送に果たす役割は不明であるが、Na ストレス特異的に茎基部にのみデンプン顆粒が蓄積すること、塩処理直後のデンプン顆粒が無いときでも Na の地上部への移行は抑制されていることから、長期の塩ストレスにおいて何らかの役割をはたしているのではないかと考えている。

図3 ヨシとイネのNa動態比較解析



さらに、遊離のNaイオンを特異的に検出する蛍光試薬を用いて茎基部を観察したところ、蛍光は形成途中のデンプン顆粒周辺には見られたものの、維管束柔細胞の原形質や液胞にはほとんど蛍光が観察されず、茎基部全体でもNa濃度は低く保たれており、Naは滞留することなく迅速に根に送り返されていることが予想された。そこで我々は茎基部のNa動態を定量的に解析するために、放射性同位体²²Naを用いてトレーサー実験を行った。その際、ヨシと同じイネ科で塩に弱いイネを比較対照として同時に解析した。トレーサー実験としては、採取した導管液中の²²Naの放射活性を直接測定するのに加え、近年植物分野でも用いられるようになったPETIS (Positron Emitting Tracer Imaging System) 法を用いた。本法は無傷の植物体を用いて経時的に放射活性を画像データとして得ることができるため、ヨシ茎基部のような微小な組織の物質動態を解析するには最適である。また実験にはあらかじめ3日間塩処理を行ったものとそうでないものを用いた。これは植物体内から排除されなかったNaは液胞や、ヨシの場合は形成途中のデンプン顆粒にも取り込まれるため、塩処理開始直後と長期の塩処理後ではNa動態が変化する可能性を考慮したためである。解析結果を図3の模式図に示した。ヨシ、イネ、どちらでも地上部から茎基部へ向けてのNaの排出は観察されなかった。また3日間の塩処理によりどちらでも根導管液中の放射活性は減少したが、これは根表面でのNa排除機能が誘導されたためと考えられる。しかし、塩処理開始直後でも塩処理3日後でも、ヨシのNa回収および篩管への輸送能力はイネをおおきく上回っていた。今後は、ヨシ茎基部の迅速なNa回収能力を説明できるNa輸送体の同定を目指し、将来的にはそれをイネに導入することを目標とする。

植物の環境ストレス応答機構 –比較・機能ゲノム学からのアプローチ–

東京農業大学応用生物科学部

バイオサイエンス学科

坂田 洋一、太治輝昭

地球温暖化に代表されるように、我々を取り巻く地球環境は近年大きく変動しており、植物の生態系のみならず、我々の日常生活にも影響を与えつつある。オーストラリアにおける大干ばつによる小麦の凶作から小麦の国際価格が上昇している。さらに、ここ数年の急激な食料品の高騰は、石油資源の枯渇対策として、主に家畜飼料となるダイズやトウモロコシが工業用のバイオエタノール原料として転用され、食料との競合を起こした結果である。我々人類は食料から得るエネルギーの全てを、太陽エネルギーを生物的に唯一化学エネルギーに変換できる植物の光合成能力に頼っている。変動していく環境にも耐え、安定した収量を確保できる作物の開発は、食料問題の解決へ向けて重要な課題である。

近年のモデル植物を用いた分子生物学および分子遺伝学的研究のめざましい発展により、植物の遺伝子レベルでの理解が急速に深まっている。ゲノムプロジェクトからは、植物がもつ遺伝子の数が明らかにされ、マイクロアレーをはじめとするアレー解析からは、器官特異的、発生段階特異的、あるいは環境変化に応じて発現する遺伝子が網羅的に解析されている。さらに、分子遺伝学的手法からは、全てとはいかないが数多くの遺伝子機能が明らかにされている。遺伝子は生命の設計図であるため、植物の環境応答に重要な機能をもつ遺伝子を明らかにし、改変あるいは増強することは植物機能の改変へとつながる。実際に、モデル植物のイネやシロイヌナズナでは、自身の持つ遺伝子改変により環境ストレス耐性が向上することが数多く報告されている。しかしながら、これらのモデル植物は本来特別強い環境ストレス耐性能を持っているわけではなく、その遺伝子改変だけでは実用レベルの環境ストレス耐性付与には至っていないのが現状である。

一方、世界には様々な植物が分布しており、通常の植物では生育が不可能な厳しい環境で生育している植物も数多く存在している。これら植物のゲノムには生存競争に勝つために、特殊な環境で生き抜けるように長い年月をかけて進化してきた歴史が刻まれており、有用な遺伝子資源といえる。ゲノム解読のコストが下がり、そのスピードが上がってきたことから、ここ数年で様々な植物種のゲノムプロジェクトが進行している。さらには、完全長 cDNA を含む EST 情報も加速度的に増加してきている。これらの情報を利用することで、植物の持つ機能がどのような遺伝子の変化で獲得されてきたのかを解析する比較ゲノム学が植物においても適用可能になりつつある。本研究では、この比較ゲノム学と、完全長 cDNA を用いて遺伝子機能を解析

する機能ゲノム学を柱に有用遺伝子の探索を行い、環境ストレス耐性植物の作出を目指している。

ABA シグナル伝達機構の比較ゲノム学

アブシジン酸(ABA)は植物が乾燥ストレスに曝されたときに合成量が上昇し、気孔の閉鎖を誘導するとともに、浸透圧を調節する適合溶質や親水性のタンパク質の蓄積を誘導して植物体を乾燥から守るために重要なホルモンである。また、種子発達とそれに続く乾燥耐性の獲得にも必須のホルモンである。しかしながら、ABA は種子植物のみならず、裸子植物、シダ植物、コケ植物からも広く同定されていることから、陸上植物に必須のホルモンであると考えられている。実際に、これら植物においても、乾燥ストレスにより ABA 合成が高まることが報告されている。陸上植物が環境変化を認知して ABA 合成を行い、シグナル伝達を経て最終的なストレス耐性を獲得する機構を理解することは、植物の環境耐性能を改変する上で重要である。これら陸上植物の中で、コケ植物は進化的にもっとも祖先陸上植物に近い生物と考えられており、種子植物が失った栄養成長時における強力な乾燥耐性を未だに保持している。いわゆる高等植物と比べて、コケ植物は種子形成等の器官分化も進んでおらず、栄養成長時には気孔も持たない。また、植物が初めて乾燥耐性を獲得した祖先植物の形質を保持していることから、進化に伴い複雑化する以前の ABA シグナル伝達機構を解明できることが期待できる。我々は、コケ植物ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*)を用いて、ABA を介したストレス耐性機構の分子機構の解明に着手した。ヒメツリガネゴケは、未だ植物では困難な遺伝子ターゲットニングが容易であり、数種の細胞が単純な組織構造を形成していることからモデル植物として解析が進められてきた。さらに、2万を超える完全長 cDNA クローンが公開されており、2008 年にはゲノムプロジェクトが完了しその配列が公開された。

コケ植物における ABA 研究はほとんど行われていなかったことから、我々は最初にシロイヌナズナにおいて ABA シグナル伝達系に関わる重要因子のヒメツリガネゴケオルソログの解析を行った。その結果、現在までに報告されている ABA 合成系酵素、受容体、リン酸化/脱リン酸化タンパク質、転写因子群のオルソログがヒメツリガネゴケに保存されていることが明らかとなった。このことは、ヒメツリガネゴケが ABA シグナル伝達経路の比較ゲノム学においてモデル植物となりうることを示している。さらに、これらオルソログが実際に ABA シグナル伝達因子として機能しているのかを調べた。シロイヌナズナにおいて ABA シグナル伝達系の上流に位置し負に制御する ABI1 型脱リン酸化酵素(PP2C)は 9 つ存在するが、ヒメツリガネゴケには 2 遺伝子のみ存在していた。このうち、より発現量の高い *PpABI1A* をノックアウトしたところ、ABA 感受性が増加し、凍結耐性や乾燥・塩耐性の向上が認められた。このことから、PP2C は種を超えて ABA シグナル伝達を負に制御していることが明らかとなった。一方、シロイヌナズナの

種子成熟と乾燥耐性の獲得に必須である B3 型転写因子 ABI3 はゲノム中に1コピーであるのに対して、種子を形成しないヒメツリガネゴケには 3 コピーのオルソログ遺伝子が存在していた。そのうちの一つ (*PpABI3A*) を過剰発現したところヒメツリガネゴケの ABA 感受性が増加し、凍結耐性の向上が認められた。逆に 3 遺伝子のトリプルノックアウトでは ABA の感受性が低下し、凍結耐性も低下した。このことから、ABI3 は本来植物の栄養成長時における ABA の感受性と凍結耐性を制御する因子として機能していたことが示唆された。本研究から、ヒメツリガネゴケの単純な細胞群には高等植物と共通する ABA シグナル伝達の基本回路が保存されていることが示された。今後、この生物の ABA シグナル伝達系を詳細に解析することで、未だ不明な部分の多い ABA を介した乾燥応答の分子機構の理解が深まるとともに、植物のストレス耐性の向上につながる技術革新の萌芽を見出したい。

機能ゲノム学的アプローチによる新規ストレス耐性遺伝子の発見

近年発見された塩性植物 *Thellungiella halophila* は塩ストレスに加えて、凍結ストレスや酸化ストレスにも高い耐性をもつことが明らかとなっており、加えて、モデル植物として世界的に研究されているシロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana* と核酸レベルで 90% 程度の相同性を持つ近縁種であることから、比較ゲノム学のモデル植物として注目され、ゲノムプロジェクトが進行中である。また、約1万の独立した完全長 cDNA クローンが作成され、当研究室に保存されている。Full-length cDNA overexpressor gene hunting system (FOX hunting) は、完全長 cDNA を過剰発現させることで機能獲得型変異株を作出・スクリーニングし、ゲノムワイドに有用遺伝子の探索を行う新たな手法である。我々は、環境ストレス耐性の遺伝子資源としての *Thellungiella* に着目し、FOX hunting によりモデル植物シロイヌナズナに様々な環境ストレス耐性を付与する遺伝子の同定を試みている。アプローチとしては、本来の FOX hunting である、ランダムに約1万の cDNA を過剰発現させる方法と、ライブラリーの中からターゲット遺伝子を絞って過剰発現させる方法を平行して行っている。ターゲット遺伝子を絞って行う方法では、塩ストレスに関連すると期待される 433 遺伝子、熱ストレスに応答する 123 遺伝子、あるいは多面的な影響を及ぼすと期待できる 374 の転写因子群等に分けて行っている。現在までに、これら遺伝子をシロイヌナズナにおける過剰発現ベクターに移した FOX プラスミドの作成が完了しつつある。形質転換植物のストレス耐性のスクリーニング条件としては、種子の発芽時における耐性試験と、成長した植物体のストレス耐性試験の二通りで行い、耐塩性と耐熱性については詳細なスクリーニングの条件設定が完了し、形質転換体のスクリーニングを開始した。現在までに、耐塩性が向上するもの、逆に低下するものや、耐熱性が向上した形質転換体が得られつつあり、シンポジウムではその一例を報告する。

FOX hunting は形質転換可能な植物であれば植物種を問わないため、実際に作物に導入し

て環境ストレス耐性を付与することも可能である。そこで、実用性の高いトマトでありながら形質転換が可能で、矮性であるためサイズが小さいことから研究室での取り扱いに優れている品種 Micro-Tom を用いた FOX hunting を試みている。Micro-Tom は FOX hunting ベクターに用いられているカリフラワーモザイクウィルスの 35S プロモーターが効率よく働くため、シロイヌナズナ用に作成した FOX プラスミドは Micro-Tom にそのまま用いることができる。さらに、Micro-Tom は他のトマト品種と交配可能であるため、FOX hunting により得られた有用形質転換体の形質は容易に他品種に導入可能である。すでに Micro-Tom の子葉片由来のカルスを用いた際分化系を確立しており、現在アグロバクテリウムを介したカルスへの遺伝子導入を行っている。

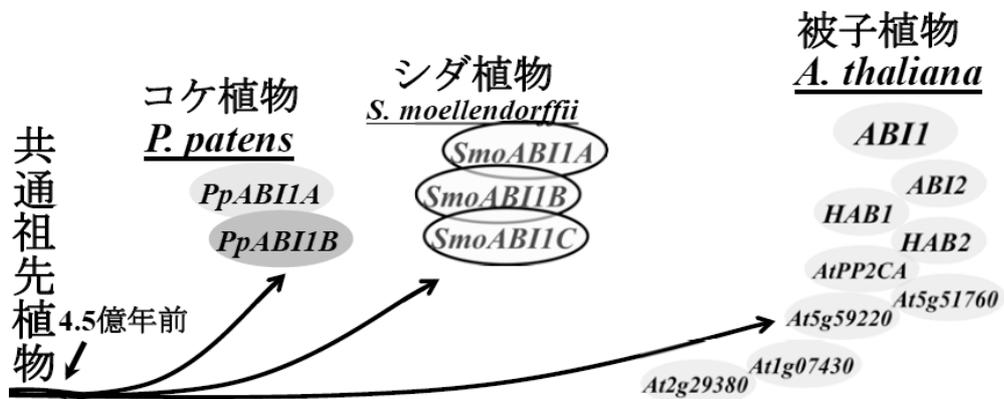


図 1 ABI1 型 PP2C の陸上植物におけるコピー数

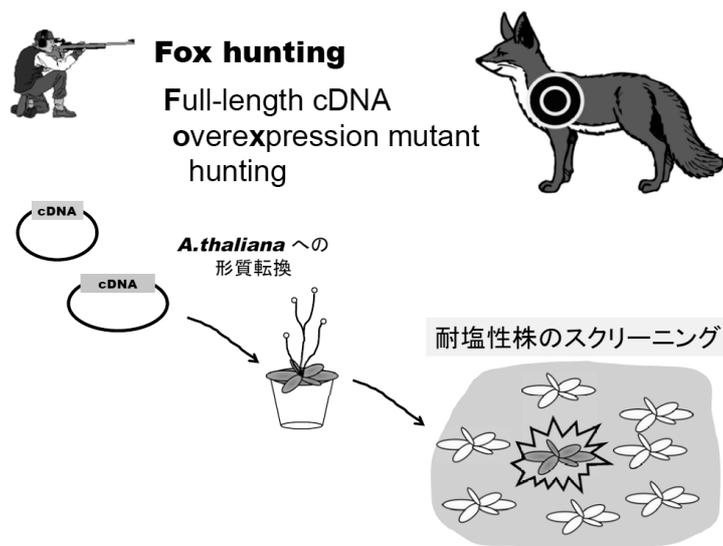


図 2 Fox hunting のイメージ図

イネ科植物の耐病性メカニズムとその応用

東京農業大学生物応用化学科

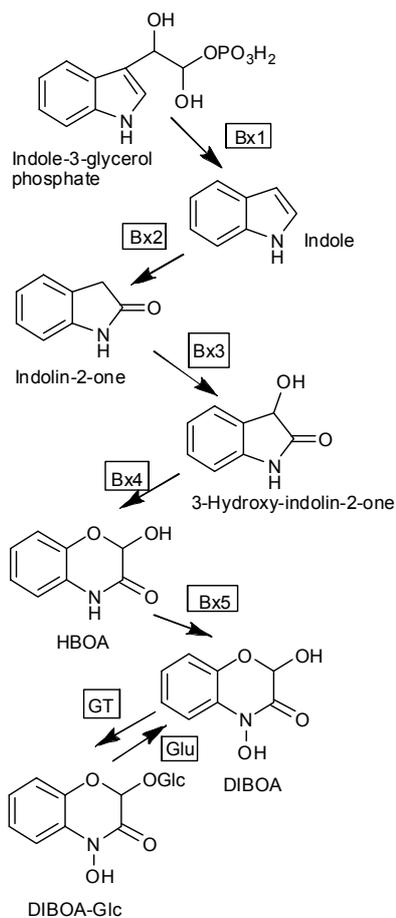
須恵 雅之

植物に対するストレスを大きく 2 つに分類すると、まず、乾燥、低温、高塩濃度などの非生物的ストレス、そして微生物や昆虫などによる感染や咬害といった生物的ストレスにわけることができる。動物と異なり自ら移動することができない植物は、自分の身を守るために種々の形でストレスに対する独自の防御機構を進化の過程で発達させてきている。しかし、農業の長い歴史の中で行われてきた農作物の様々な品種改良は、主に収量・味覚の向上を目指したものであったため、上記のようなストレスに対して原種よりもむしろ弱くなった栽培種も多く存在する結果となっている。さらに、基本的に単一作物の栽培という農業の性格ゆえ、ますます病害が広がりやすい環境が作られることになっている。そこで、近代では農業の開発が進められるとともに、抵抗性の向上を目指した植物育種が行われてきた。しかし、そのような育種は多分に経験に基づくものであり、期待した結果が得られる確率は決して高いものとはいえない。近年、植物における生化学、分子生物学分野の研究がめざましく発展してきており、様々な情報や手段が利用可能となってきてきた。そこで、植物が本来備え持つ種々の防御機構について精密な解析を行い、それを実際の植物に応用することができれば、これまでに比べ効率的な抵抗性植物の作出につながり、作物保護の有効な手段になると期待できる。

本研究では、最初に述べた植物に対するストレスの中で、生物的ストレスに対する防御に関しての報告を行う。病害に対する植物の防御機構の代表的なものの一つに、病原菌や害虫にとって有毒な化合物を蓄積する化学的防御がある。この有毒な化合物は植物の生産する二次代謝化合物で、その構造および生理活性は植物種により非常に様々なものがある。また、この化学物質には、ストレスに応じて誘導されるファイトアレキシン、そしてストレスとは無関係に発現しているファイトアンティシピンがある。主要穀物であるイネでは、現在のところオリザレキシンやモミラクトンをはじめとして数種のファイトアレキシンが知られているが、ファイトアンティシピンに関する情報はほとんどない。一方で、同じイネ科のコムギとオオムギには、それぞれベンゾキサジン類(Bx 類)とグラミン、ホルダチン類がファイトアンティシピンとして有名であるが、ファイトアレキシンに関してはほとんど報告されていない。Bx やホルダチンは若い植物体に多く存在するため、特に若い植物の病害抵抗に関与するものと考えられている。過去数十年の間、これら化合物を常に高いレベルで発現する品種を従来の育種により開発しようと試みられてきたが、いまだその成功例はない。そこで、コムギおよびオオムギにおける耐病性化合物の生合成に関する研究を行い、その発現調節機構に関する知見を得ることを本研究の目的の 1 つとすることにした。また、これら化合物の生合成遺伝子をイネに導入して、Bx やホルダチン関連化合物を生産する能力を獲得したイネの作出し、その耐病性を評価することを目指すことにした。

1) コムギにおける Bx 関連酵素および遺伝子の解析

Bx の生合成経路は、シキミ酸経路からアントラニル酸を経由して合成されるインドール-3-グリセロールリン酸より始まる。右図に示すように Bx1 によりインドールが生合成された後、さらに 4 段階の P450 反応 (Bx2~Bx5) により DIBOA 生合成される。さらに、遊離の Bx は植物体にとっても有毒であるため、グルコース配糖体として無毒な形で液胞内に蓄積される。Bx の発現パターンの特徴としては、発芽後 1~3 日をピークに高濃度で発現し、それ以降減少してゆくことがあげられる。植物より経時的にマイクロソーム画分および細胞質画分を調製し、生合成や代謝に関わる酵素活性を測定したところ、これら酵素活性が Bx の経時変化に同調して増減していることが明らかとなった。



次に、このようなコムギ幼小期特異的な Bx 発現メカニズムを分子レベルで解明するために Bx 関連遺伝子の単離を行うことにした。パンコムギ (*Triticum aestivum*) は 3 つのゲノムを持つ 6 倍体植物 ($2n=6x=42$, ゲノム構成は AABBDD) であるため、ある 1 つの機能を担う遺伝子には最低 3 種の同祖遺伝子があると考えられる。しかし、これら同祖遺伝子がすべて同じような発現プロファイルを示すとは限らない。そこで最初に、上図に示す 7 種すべての酵素遺伝子をコムギの

各ゲノム (A, B, D の 3 ゲノム) より単離をすることにした。まず、cDNA ライブラリーのスクリーニングおよび PCR により、各酵素をコードする cDNA を複数ずつ取得した。次に、これらの配列に特異的なプライマーを用いて種々のコムギ染色体置換系統より調製したゲノム DNA を鋳型として PCR を行ない、座乗染色体の特定を行った。その結果、Bx1 と Bx2 は 4 番染色体、Bx3~Bx5 は 5 番染色体、グルコシダーゼ (Glu) は 2 番染色体、グルコシルトランスフェラーゼは (GT) は 7 番染色体に座乗していることが明らかとなった。

次に、これら遺伝子の発現レベルをリアルタイム PCR により定量したところ、B ゲノムに座乗している遺伝子が強く発現していることが明らかとなった。また、2 倍体のコムギ祖先種 (*T. urartu*: AA, *Ae. speltoides*: BB, *Ae. squarrosa*: DD) における各遺伝子の発現量をノーザン解析により分析したところ、やはり B ゲノムを持つ *Ae. speltoides* において他の 2 種よりも多く発現していることが示され、交雑倍数化する以前の祖先種においても発現量の差が認められること明らかとなった。同祖遺伝子間では 95% 以上の高い配列相同性を示すにもかかわらず、座乗している染色体により大きく発現量が異なることは非常に興味深いといえる。これら遺伝子の発現調節機構の解明は高いレベルで Bx を発現するコムギの開発につながる可能性がある。

2)コムギおよびオオムギの耐病性化合物を発現するイネの作出

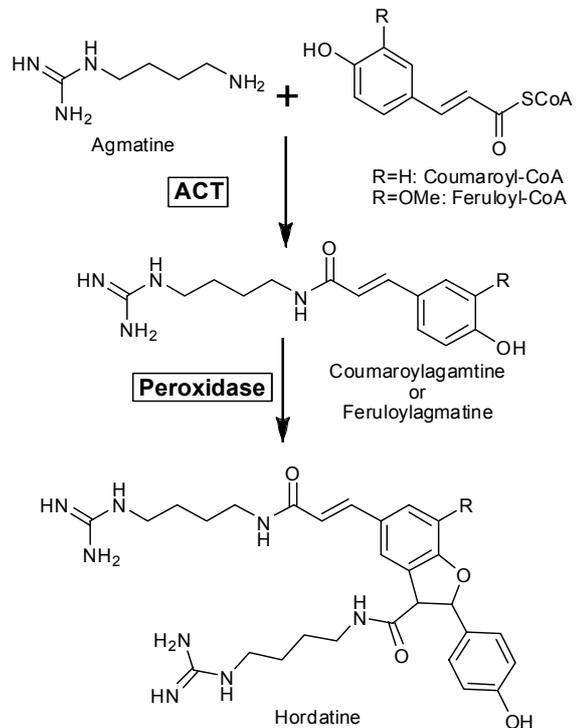
オオムギの防御物質ホルダチンは、斑点病菌や灰星病菌などの糸状菌に対する抗菌活性をもつ化合物である。下図のように、アグマチンとクマロイル CoA (またはフェルロイル CoA) が N-ヒドロキシシナモイルトランスフェラーゼ (ACT) により縮合してクマロイルアグマチン (もしくはフェルロイルアグマチン) となった後、さらにペルオキシダーゼの働きで重合してホルダチンとなる。このペルオキシダーゼに関しては

いまだ植物体より単離・精製の報告は無い。しかし、クマロイルアグマチンがセイヨウワサビ由来ペルオキシダーゼによっても重合してホルダチンとなること、そしてクマロイルアグマチンそのものにも抗菌活性があることから、まずイネに ACT 遺伝子のみを導入してその効果を評価することにした。

コムギにおける Bx は、種々の糸状菌やアワノメイガ、アブラムシなどの昆虫に対する忌避活性、アトラジン系除草剤の解毒活性をもつ化合物である。既に全ゲノムの解析が終了しているイネにおいては、コムギ Bx 生合成酵素遺伝子群と相同性の高いものが存在していないことがわかっている。しかし、Bx2~Bx5 は P450 酵素であり、イネに存在する非常に多様な P450 のなかのいずれかが同等の

機能を発揮する可能性もある。そこで、それぞれの遺伝子を個別に導入したものを作成することを計画した。それに以外に、Bx2~Bx5、GT の 5 遺伝子、さらにそこに Bx1 を加えた 6 遺伝子を同時にイネに導入することも計画している。

いずれの遺伝子も、まず植物体全身で恒常的に発現させるため、プロモーターにはカリフラワーモザイクウイルス由来の 35S プロモーターを用いることにした。また、ターミネーターにはノパリン合成酵素遺伝子のターミネーターを用い、選抜用抗生物質にはカナマイシンおよびハイグロマイシンを用いた。植物から得た上記各遺伝子の ORF 部分を順次バイナリベクターに組み込み、アグロバクテリウムに導入し、続いて、アグロバクテリウムをイネ胚盤カルスに感染させた後に、再分化誘導を行っている段階である。なお、イネの品種は日本晴れを用い、再分化した植物体は、温室内で栽培を行っている。



ストレスに応答する二次代謝産物生合成とその利用の可能性

京都大学 化学研究所 清水文一

植物は、糸状菌、細菌、ウイルス、昆虫による侵入、食害を始めとするさまざまなストレスに常にさらされている。このようなストレスを受けると植物は種々の抵抗反応を誘導することが知られている。その一つに抗菌活性や抗酸化活性を持つ二次代謝産物の蓄積がある。誘導・蓄積パターンやその生理活性から、二次代謝産物の多くは植物のストレス耐性に深く関わっていると考えられる。

今回、植物界に広く存在し一般的にもよく知られているクマリン化合物を例にして、植物二次代謝の農業への積極的利用の可能性と課題について考察したい。

クマリン化合物の生合成経路の解明

クマリン化合物は 2H-1-benzopyran-2-one を基本構造にもつ植物二次代謝産物で、植物界に広く存在し、抗酸化作用と抗菌活性を有する(図1)。クマリン化合物の生合成研究は植物生化学の黎明期・1950年代から行われてきた。その結果、桂皮酸のオルト位水酸化、側鎖のシストランス異性化、そしてラクトン化を経てクマリン骨格が形成されていると考えられている(図2)。特にその鍵段階を触媒する桂皮酸オルト位水酸化酵素については生化学的知見の蓄積がなされたが、近年まで単離同定されていなかった。

演者らは病原菌など侵入者との相互作用によってソライロアサガオやサツマイモにクマリン骨格をもつ scopoletin (7-hydroxy-6-methoxycoumarin) がグルコース配糖体 scopolin として誘導、蓄積されることを見いだした¹⁾。しかし、scopoletin/scopolin が植物体内でどのような機能を果たしているのかは不明である。では、scopoletin 生合成能を欠損したソライロアサガオの病害抵抗性はどのように変化するのだろうか？この疑問がきっかけで scopoletin/scopolin 生合成に興味を持った。

そこでクマリン化合物生合成

に関わる酵素の同定を目的

として、シロイヌナズナを用いたクマリン化合物生合成の研究を行った。シロイヌナズナは

分子生物学的なデータベース

や実験手法の多くが既に確立

されており、生合成酵素遺伝子の探索には好都合な植物材料である。シロイヌナズナ根を

分析したところ、scopoletin が配糖体 scopolin として大量に蓄

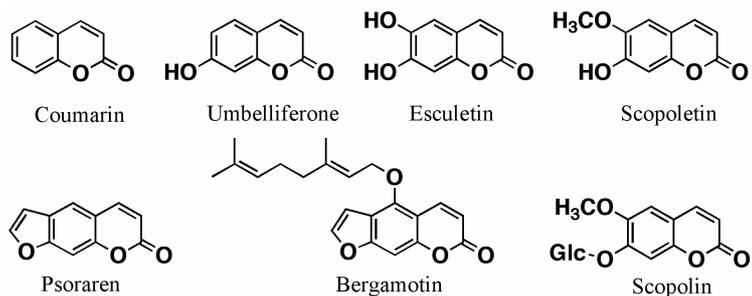


図1. 植物のクマリン化合物

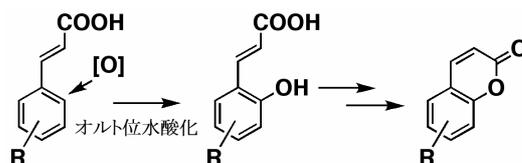


図2. クマリン骨格の形成

積していた(図3)。また 2,4-dichlorophenoxyacetic acid 処理によって地上部でも scopolin の誘導蓄積が認められた²⁾。シロイヌナズナにおける部位別 scopolin 蓄積パターンと類似した発現パターンを示す酸化酵素遺伝子をゲノムから選び出し、候補遺伝子とした。これら候補遺伝子の T-DNA 挿入欠損変異株を逆相 HPLC にて分析したところ、候補遺伝子の一つである

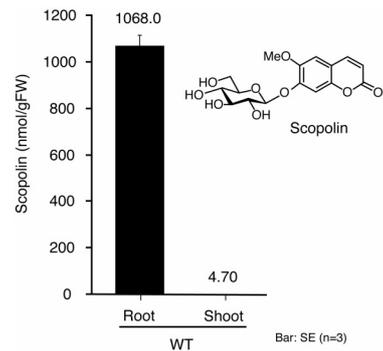


図3. シロイヌナズナにおける scopolin の蓄積

2-oxoglutarate 依存性ジオキシゲナーゼ(2OGD) 遺伝子の欠損株で著しく scopolin 内生量が減少した。この 2OGD タンパク

質を大腸菌にて組み換え酵素として発現させたところ、ferulate は基質としない一方で

feruloyl-CoA に対してオルト(6')位水酸化活性を示した。これらの結果からこの 2OGD を

feruloyl-CoA 6'-水酸化酵素(F6'H1)と同定した³⁾。これと同様の手法にて、scopoletin/scopolin 生合成に関わるメチル化酵素、配糖化酵素の同定を行った(図4)。さらに F6'H1 の触媒反応の後に生ずるラクトン環形成反応についても検討し、非酵素的に反応が進行することを見いだした。現在、演者らは最初の疑問に立ち返るため、サツマイモにおける桂皮酸オルト位水酸化酵素のクローニングを進めている。

- 1) Shimizu, B., et al., *Z. Naturforsch.* **60c**, 83-90 (2005); 2) Kai, K., et al., *Phytochemistry* **67**, 379-386 (2006); 3) Kai, K., et al., *Plant J.* **55**, 989-999 (2008).

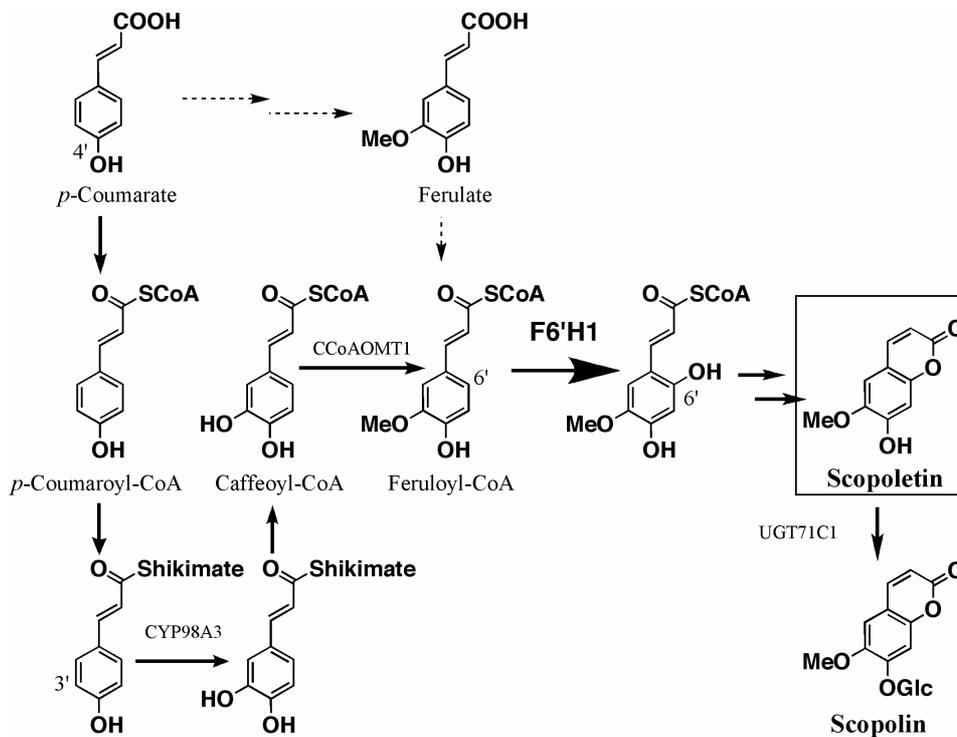
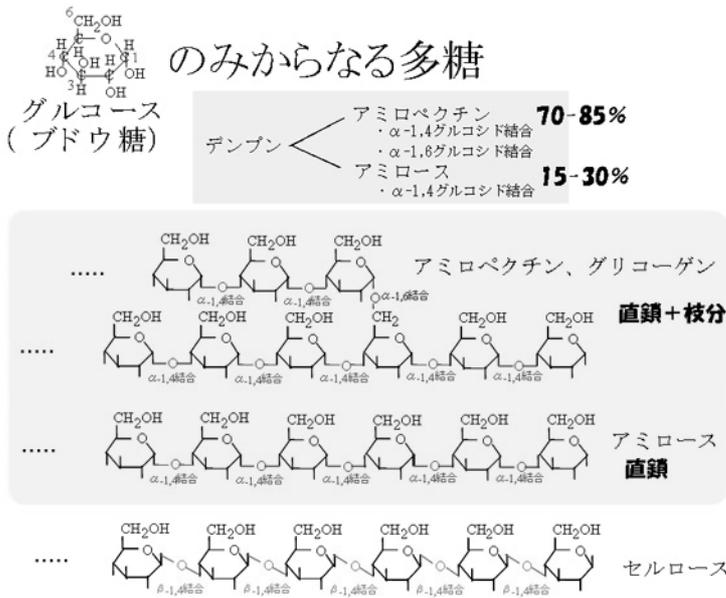


図4. スコポレチン生合成経路

「コメデンプンの改変」

秋田県立大学生物資源科学部 植物分子生理グループ 藤田 直子

デンプンは、植物が生産する多糖であるが、地球上のほとんどの生物がそれらを炭水化物源として依存している。最近、地球温暖化、資源の枯渇の問題などが深刻であるが、これらを解決するために、我々は植物の能力を最大限に引き出す必要がある。植物が生産するデンプンこそ、これまで以上に有効利用していく努力をするべきである。



デンプンは、グルコースのみから構成される重合体であり、生体内物質としては、非常に安定で、反応性も乏しいため、比較的つまらない物質と考えられてきた。しかしながら、デンプンはさまざまな分子量を持つ高分子の集合体であり、また、その構造や成分によって物性が劇的に変化する点で、非常にユニークである。また、その利用範囲は

非常に多岐に渡っている。デンプンといえば、我々は食品をまず連想するが、工業品、例えば、接着剤やコピー用紙の表面コーティングなど、我々の身の回りのさまざまなものに用いられている。食品においても、デンプンを含む食材をそのまま食する以外にも、ジュース等に用いられる甘味料が、元はデンプンから生産されたものであることは意外にも知られていない。

デンプンの研究は、古くから日本人研究者が優れた実績を残してきており、また、現在でも日本人の味に敏感な性質も反映して、特に企業によるデンプンを原料とした物性改良材や添加物等の開発がめざましい。まさに、デンプン研究は日本人のお家芸といっても過言では無い。一方で、デンプンの生合成メカニズムに関しては、ゲノム情報や生化学的手法が成熟し始めた1990年代から各国でさまざまな植物を用いて研究が行われた。我々のグループでは、イネを用いて、デンプン生合成メカニズムの解明を目標に、研究を推進してきた。そして、研究を進めていく中で、以下の重要な事柄に確信を持つようになった。

「デンプンの構造は、遺伝子で制御することが可能であり、
構造が変化したデンプンはユニークな物性を示す」

まず、デンプンの構造について触れておく。デンプンは、直鎖状のアミロースと枝分かれ構造を含むアミロペクチンからなるが、主成分であるアミロペクチンは、葡萄の房がいくつも並んだクラスター構造という複雑な構造（下図参照）をしている。デンプンの物性は、デンプン全体のうちのアミロースの割合（アミロース含量）と、アミロペクチンの枝の長さ等で非常に変化することがわかってきた。アミロペクチンの枝は通常は二重らせん構造を取っているが、水を加えて熱をかけると、このらせんがほどけ、水分子がデンプン分子中に入り込む。この現象がいわゆる「糊化」であり、ドロツとしたデンプン特有の物性を示す。糊化デンプンを低温で放置しておくと、ほどけたらせんが再びらせんを組むようになるが、これがいわゆる「老化」である。デンプンの老化は、食品の劣化の原因にもなるが、餅などが老化すると硬化し、これを利用して菓子等が作られる。デンプンの糊化反応は、不可逆であり、老化デンプンは生デンプンと同様の構造には決して戻れない。「糊化」と「老化」は、デンプンを利用する上で非常に重要な性質であり、これらはデンプンの構造によって左右されることが少しずつ明らかになってきた。

イネの澱粉合成に関わる酵素

基質供給酵素(AGPase)

LSUが4種類
SSUが2種類

枝作り酵素(BE)

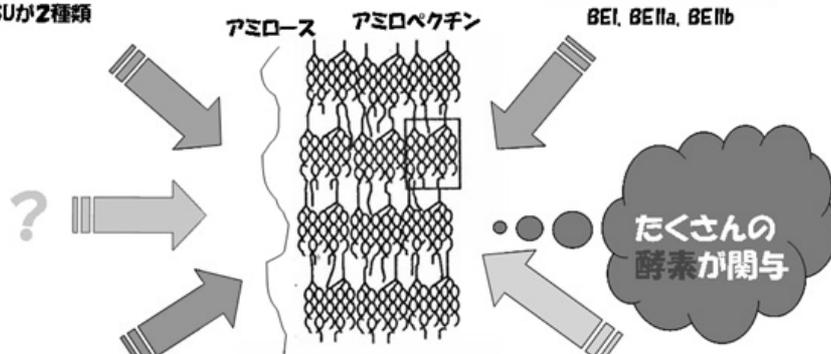
BEI, BEIIa, BEIIb

直鎖伸長酵素(SS)

SSI, SSIIa, SSIIb, SSIIc
SSIIIa, SSIIIb, SSIVa, SSVIb
GBSSI, GBSSII

枝切り酵素(DBE)

ISA1, ISA2, ISA3
PUL



我々が澱粉生合成メカニズムの解明のため、まず解決しなければいけなかったことは、「デンプン生合成に関与する遺伝子にはどんなものがあるか？」である。過去の生化学的研究から、デンプン生合成には、部品（基

質）を供給する ADP グルコースピロホスホリラーゼ(AGPase)、直鎖を伸長するスターチシンターゼ(SS)、枝分かれ構造を形成する枝作り酵素(BE)、余計な枝をトリミングしてアミロペクチンのクラスター構造に形成する枝切り酵素(DBE)の少なくとも 4 種類の酵素が関与している。また、イネ等の高等植物のゲノム情報の充実により、これらの酵素には複数のアイソザイムが存在することがわかってきた（上図参照）。植物の原型といわれるシアノバクテリアなどは、アミロペクチンよりも単純な構造をしたグリコーゲンを蓄積する。一方、高等植物は複雑なアミロペクチンを貯蔵多糖として蓄積するために、多数のアイソザイムを出現させ、それぞれが役割分担するように進化してきたと考えられる。デンプン

生合成メカニズムの解明には、それらのアイソザイムの機能、役割分担を明らかにすることが必須である。そのために、我々が取った方法は、「突然変異体の利用」と「組換え体の作出」である。これらの「*in vivo*における実験」と、実際に酵素を単離し、その生化学的解析の「*in vitro*における実験」をつきあわせることで、各アイソザイムの機能を明確にし、それら知見を蓄積することで、全体のデンプン生合成メカニズムの解明につながると考えており、現在も進行中である。

我々のグループがこれまでに精力的に機能解明したアイソザイムは、直鎖伸長酵素(SS1, SSIIa, SSIIIa), 枝作り酵素(BE1, BEIIa, BEIIb)および枝切り酵素(ISA1, PUL)であり、これらの機能は、最初は全て変異体の解析からわかったことである。その一部を以下に簡単に紹介する。

1. 直鎖伸長酵素 SSIIIa の機能

イネの SS のアイソザイム遺伝子は 10 個存在する。*SSIIIa* 変異体は逆遺伝学的に単離されたが、この変異体は、正常なコメデンプンとはいろいろな意味で異なった性質をもつ。一つは、アミロペクチンの長鎖(DP \geq 33)が激減しており、このことから、*SSIIIa* がアミロペクチンの長鎖の伸長に関与していることが明確になった。一方、DP10-15 の短鎖が増加し、アミロース含量が増加していた。これは、*SSIIIa* の欠失により、他の SS アイソザイムである SS1 と GBSSI 遺伝子の発現が強められたことが原因となっている。登熟胚乳の可溶性画分の SS 活性の 6 割を占めるのが SS1 であり、2-3 割を占めるのが *SSIIIa* であるが、各変異体ではこれらが欠失しているにもかかわらず、種子のデンプン蓄積量がほとんど減少しない。これは、欠失したアイソザイムの機能を他のアイソザイムが相補するからである。一方、アイソザイムによって、機能が微妙に異なることから、正常なデンプンとは構造や成分の異なったデンプンが生産されるのである。

SS 関連文献 : Nakamura et al., (2005) *Plant Mol Biol.* 58: 213-227; Fujita et al., (2006) *Plant Physiol.* 140: 1070-1084; Fujita et al., (2007) *Plant Physiol.* 144: 2009-2023

2. 枝作り酵素 BEIIb の機能

この酵素の変異体は、古くから *amylose-extender* 変異体と呼ばれており、ヨウ素でデンプンを染めたときの青価が非常に高いため、高アミロース変異体と考えられていたが、実際はアミロースが増加するのではなく、アミロペクチンの鎖が正常なデンプンより長いことが明らかになった。これは、*BEIIb* がアミロペクチンの短鎖形成に関わっており、その機能が欠失したために生じたためである。このデンプンは、強い難糊化性を示し、普通のコメよりも高い温度で熱しないと煮えない。この変異体に改めてイネの *BEIIb* 遺伝子を形質転換したところ、その発現量によってアミロペクチンの短鎖の割合と糊化温度が段階的に異なるイネが出現した。まさに、遺伝子でデンプン構造を制御し、物性までも制御できる最良の例である。

BEIIb 関連文献 : Nishi et al., (2001) Plant Physiol. 127: 459-472; Tanaka et al., (2004) Plant Biotechnol J. 2: 507-516

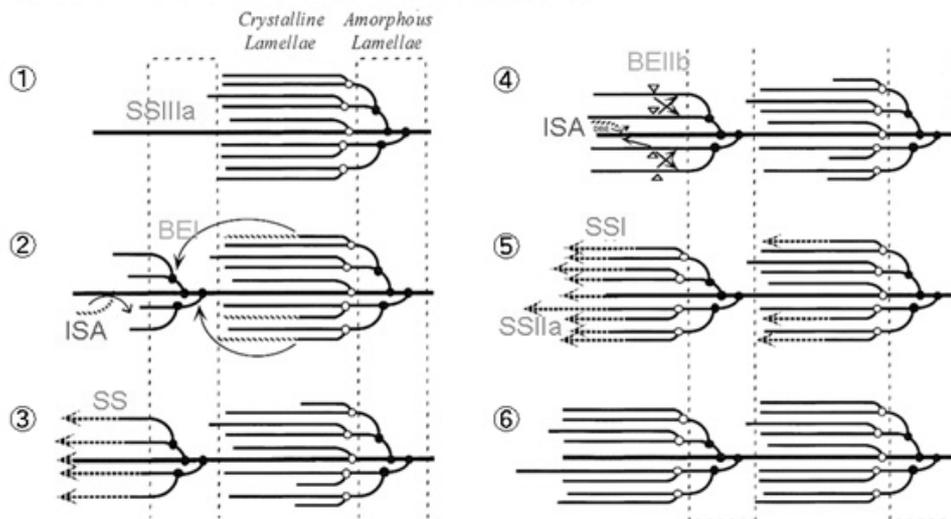
3. 枝切り酵素イソアミラーゼ(ISA)1 の機能

正常なイネの種子は、半透明で、デンプンが十分に詰まっている。古くから知られている *sugary-1* 変異体は、種子がしわしわで、種子断片をヨウ素で染めても紫色に染まらない領域が存在する。この領域には、通常のアミロペクチンより分岐頻度がずっと高いため、あたかもグリコーゲンのような性質を示すフィトグリコーゲンという多糖が蓄積する。この変異体の原因酵素は、枝切り酵素の一つである ISA1 であることがわかった。一見、分解酵素がデンプン生合成に重要な役割を担っていることは、意外にも思えるが、アミロペクチンのような巨大分子を構築するにあたって、枝切りで余計な枝をトリミングして整える行程が入らないと、それ以上高分子にならないというのは、メイクセンスかもしれない。デンプンが不溶性であるのに対し、この変異体の多糖は、水に溶け、吸水性が非常に高い。たった一つの遺伝子の欠失で、水溶性の多糖が合成されることは驚きである。

ISA 関連文献 : Nakamura et al., (1997) Plant J. 12: 143-153; Fujita et al., (1999) Planta 208: 283-293; Kubo et al., (1999) Plant Physiol. 121: 399-409; Fujita et al., (2003) Plant Cell Physiol. 44: 607-618

このように、地道ではあるが、各アイソザイムの機能や役割分担が明確になりつつあり、変異体、組換え体の研究に加えて、*in vitro* の実験からの知見も併せて、アミロペクチン生合成モデルも構築しつつある（下図）。しかしながら、この分野は、未解明な点がたくさん残されており、研究課題は尽きない。一方で、さらにユニークな構造のコメデンプンの開発と同時に、これらの応用研究も推進しており、将来、米飯用以外のユニークなデンプンが実際に利用され、市場に出回ることを夢見ている。

アミロペクチン生合成メカニズムモデル



Nakamura, (2002) Plant Cell Physiol. 43: 718-725を一部改定

サントリーの植物バイオビジネス ―バイオの夢 青いバラ開発物語―

サントリー株式会社 R&D 推進部 植物科学研究所

勝元幸久

1. はじめに

サントリーは 1899 年の創業以来、人々の生活や心を豊かにする酒類や食品、健康食品の開発・製造・販売に携わってきた。また、「利益三分主義」の精神に基づき、美術館、コンサートホールなどの文化事業にも積極的に取り組み、有機化合物の構造決定などを得意とする財団法人サントリー生物有機化学研究所も運営している。

振り返ってみると、無謀とも思えた国産ウイスキーの製造や、寡占状態であったビール事業への参入、発泡酒の発売など、様々な挑戦を繰り返してきた。この挑戦こそが今のサントリーを支えている。社内ではこれを「やってみなはれ」といい、新しいことに挑戦することを良しとする風土がある。1980 年代初めに R&D 型新規事業の模索を開始し、この際に挑戦する分野に選ばれたもののひとつが「花」であった。

「花」は酒類とは無縁のように思えるが、どちらも嗜好品であり、「心の健康」をもたらすものという意味では同じである。そして、酒類の原料はすべて植物である。サントリーにはブドウやオオムギの品種改良に取り組んでいたチームがあり、植物バイオの基盤技術が社内にあった。1989 年にはペチュニアの新品種「サフィニア」を販売し、花苗事業に参入。ガーデニングブームの追い風もあり、多くのお客様の支持をいただくことができた。

交配育種でも優れた品種を生み出すことができるが、さらに独自性の高い画期的な花を作り、差別化を図るためには新しい技術が必要となる。ここで注目したのが 1980 年代から可能になった遺伝子組換えの技術である。

2. 遺伝子組換え植物の開発に必要な技術要素

従来 of 交配による品種改良に比べ、遺伝子組換えによる品種改良は、①異種の植物や生物の遺伝子を利用できる、②狙った性質だけを、他の性質を変えずピンポイントで改良できる、という 2 つの大きな利点があるが、開発にはさまざまな技術が必要となる。有用な遺伝子を取得すること、宿主として適切な品種を選ぶこと、目的の植物の形質転換方法を開発すること、導入遺伝子を適切な組織とタイミングで適切なレベルで発現させることなどがそろって、初めて組換え植物が誕生する。

植物科学の進歩やゲノムプロジェクトなどのおかげで、有用な遺伝子や、プロモーターなどの発現を制御するための分子ツールは比較的たやすく入手できるようになった。また、遺伝子組換え植物を作製する際には、第三者が開発した有用遺伝子、プロモーター、選抜マーカーなども使用することも多いため、必要に応じ、これら実施許諾を得る必要がある場合もある。宿主品種にも、多くの場合、育成者権が伴っているため、自社でそろえるか、実施許諾を受けるか、適切なパートナーを探すことが必要となる。

導入遺伝子の発現レベルは形質転換個体によって異なるため、望ましい発現レベルを示す形質転換個体を得るためには、数多くの形質転換体を取得する必要がある。言い換

えれば、効率のよい形質転換系の開発が必須である。形質転換方法は、目的の植物種や品種に大きく依存するため、効率のよい方法の開発は必ずしも容易ではなく、しばしば組換え植物開発の律速段階となる。

また、導入遺伝子が適切な組織とタイミングで適切なレベルで機能するか否は、なかなか予想できない。ある植物では適切に機能した構造遺伝子、プロモーター、発現カセットが、別の植物では全く機能しないことも往々にして起こる。モデル植物での知見が必ずしも実用植物に水平展開できないことが、組換え植物の開発に時間がかかる一因である。

3. 開発例 遺伝子組換えによる青い花の開発

具体的な開発テーマの設定にあたっては、消費者に接点のある企業らしく、最もわかりやすい形質の一つで、商業上も重要である「花の色」に重点を置くことにした。興味深いことに、ひとつの植物種がすべての色の品種を持つことはむしろ希で、バラやカーネーションには青や紫の品種はなく、ペチュニアにはオレンジ色が、ゼラニウムやバーベナには鮮やかな黄色がない。これは、その植物が持っている能力が特定の色の発色に限定されているからである。中でも青いバラは古くから不可能の象徴として取り上げられてきた。従来の交配では不可能でも、技術革新(遺伝子組換え)をもってすれば不可能ではなくなるはずである。

赤から青色の花の色は、主にアントシアニンとよばれるフラボノイドに属する化合物に由来する。アントシアニンの発色団はアントシアニンジンと呼ばれ、アントシアニンにはおもにペラルゴニンジン、シアニンジン、デルフィニンジンがある。これらの構造を比較してみると、図1のB環に結合する水酸基の数が異なる。この構造の違いが色の大きな違いをもたらし、水酸基が増加すると青くなる。水酸化を触媒する酵素は、フラボノイド 3'-酸化酵素、フラボノイド 3',5'-水酸化酵素(F3'5'H)とよばれ、それぞれシアニンジン、デルフィニジンを合成するために必要な酵素である。多くの青い花は、デルフィニジンを発色団とするアントシアニンを含んでいるが、バラ、カーネーションの花にはデルフィニジンが存在しない。このことが、これらの植物で紫から青の色調を持つ品種がない最大の理由と考えられている。従って、F3'5'H 遺伝子さえこれらの植物に導入することができれば、デルフィニジンが合成され、花の色は青くなることが期待される。

サントリーは Florigene 社(オーストラリア)と共同で青いバラやカーネーションを作るプロジェクトを1990年に開始した。当初の大きな目標は、①ペチュニアからのF3'5'H遺伝子の取得、②バラ、カーネーションの形質転換系の確立であった。

先に形質転換系が開発されたカーネーションは、ペチュニアのF3'5'H遺伝子が花卉でうまく機能したため、デルフィニジンが蓄積した個体を得ることができたが、色を青くするためには一工夫必要であった。すなわち、F3'5'H遺伝子をカーネーションの中で働かせるだけでは、デルフィニジン以外にもシアニンジンやペラルゴニンジンも合成されてしまい、赤い色が混じってしまい、青色化が不十分であった。そこで、シアニンジンやペラルゴニンジンの合成が抑制されている品種に、デルフィニジンだけが合成されるような工夫をほどこした遺伝子を導入することにより、従来の品種にはない青みを帯びた遺伝子組換えカーネーションを

1995年に得ることができた。

このカーネーションを、「ムーンダスト」という商品名で1997年から日本で販売している。このカーネーションは国内で販売された遺伝子組換え植物の第一号となった。現在、色の濃さや形態の異なる、計5品種が国内で販売されている。海外では北米、ヨーロッパ、オーストラリアで販売しており、コロンビア、エクアドルで生産を行っている。ちなみに、両国は、赤道に近いため日照条件がよく、標高が高いため気温もカーネーションなどの花の栽培に適しており、北米向けの切り花の生産拠点となっている。

バラへの遺伝子導入はカーネーションより難航したが、様々な工夫をすることにより遺伝子組換えバラを取得できるようになった。ところが、最初にペチュニアのF3'5'H遺伝子を導入したところ、咲いたバラは青くなるどころかデルフィニジンすら全く生産していなかった。その後、導入した遺伝子がまともに働いてくれないという苦しい時期が長く続いたが、デルフィニジンを蓄積している様々な青い花（リンドウ、チョウマメ、ラベンダー、パンジーなど）から取得したF3'5'H遺伝子をバラに導入したところ、理由は不明であるが、パンジー由来のF3'5'H遺伝子がバラではうまく働き、花卉でデルフィニジンを蓄積させることができた。

見た目にどのくらい青く見えるかには、デルフィニジンの蓄積の他に、バラの品種のもつその他の要素も大切である。多数の品種の中から“青くなりそうな素質”をもつバラを探し出すため、京成バラ園芸株式会社様にご協力いただき、数百品種の市販品種あるいは試作品種の解析を行った。その結果、40品種以上の「青いバラの元になるバラ」を選定し、F3'5'H遺伝子を導入した。そして、述べ10,000系統以上の組換えバラを咲かせた中から、デルフィニジンの含有率がほぼ100%となったバラを取得することができた。その花の色は大きく変化しており、従来のバラの品種にはない青味を呈していた。

このうち2系統のバラについては、カルタヘナ法（遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律）に従って隔離ほ場（小規模な野外試験）における生物多様性評価を行った。これらに基づき、2008年1月31日に国内での栽培、販売に必要な認可を得た。現在、2009年内の発売を目指し、生産、販売体制を整えつつある。

4. おわりに

プロジェクト発足から十数年を経て、ようやく実用化への第一歩が見える段階まで辿り着くことができた。しかし、青いバラの開発物語はこれで終わりではなく、まだまだ序章にすぎない。デルフィニジンの蓄積は、いわば、青い花の「必要条件」であり、「十分条件」ではない。アイリスやリンドウ並の青さを再現するためには、①フラボンなどの強いコピグメントの存在、②好ましくは複数の芳香族アシル基によるデルフィニジンの修飾、③高め（中性付近）の液胞pHなどが必要である。バラの場合はいずれの条件も満たしていない。①、②を制御する酵素（フラボン合成酵素、アントシアニンアシル基転移酵素）の遺伝子についてはすでに得られており、③についてもpH制御に関与する遺伝子が近年報告されてきている。これらをうまく利用することにより、もっともっと青いバラができることが期待される。

青色系カーネーション「ムーンダスト」の花言葉は「永遠の幸福」だが、青いバラも世界中の人々の幸せや平和を象徴するような花になってくれることを願っている。

《参考URL》 * 時間経過等によりリンク切れの場合もあります。ご了承ください。

- 青いバラ <http://www.suntory.co.jp/company/research/blue-rose/index.html>
- ムーンダスト <http://www.moondust.co.jp>
- Florigene 社 <http://www.florigene.com>

- Plant Cell Physiol. 48(11): 1589-1600 (2007)

Engineering of the Rose Flavonoid Biosynthetic Pathway Successfully Generated Blue-Hued Flowers Accumulating Delphinidin

<http://pcp.oxfordjournals.org/cgi/reprint/48/11/1589> *FREE Full Text (PDF)

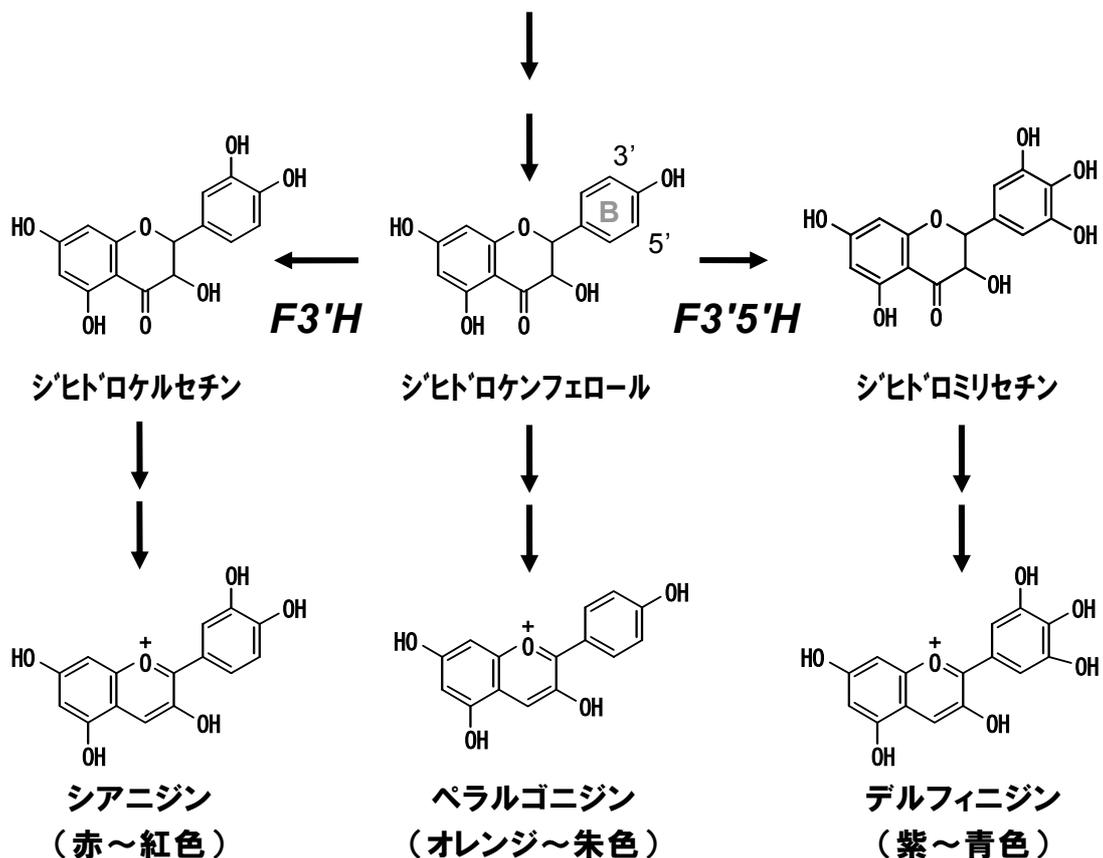


図1. フラボノイド合成経路の一部。

F3'H:フラボノイド 3'-水酸化酵素、 F3'5'H:フラボノイド 3',5'-水酸化酵素