



Tokyo Tech

2022 年 2 月 14 日

報道機関各位

東京工業大学

植物の生長調節物質 KODA の生化学的な新規生産手法を開発

—植物由来の肥料・農薬の低価格での安定生産に期待—

【要点】

- 植物葉を用いた安定的で高効率な KODA 生産手法の開発に成功
- KODA 研究の推進と将来的な肥料・農薬としての利用促進に期待
- α -リノレン酸を出発物質とする他の生理活性物質生産への応用も可能

【概要】

東京工業大学 生命理工学院 生命理工学系の井原雄太研究員、若松孝幸大学院生（研究当時）、太田啓之教授、下嶋美恵准教授と東京農工大学 大学院農学研究院 横山峰幸客員教授、癸巳化成株式会社 前澤大介代表取締役らの研究グループは、植物の生長調節に関わる低分子化合物 9,10- α -ケトールリノレン酸（KODA）の新規合成手法の開発に成功した。

KODA は植物の開花、発根やストレス回復に寄与する植物由来の生理活性物質として知られており、農業上の利用価値が高いと期待されてきたが、安定的で高効率な KODA 生産方法は確立されていなかった。今回、KODA 生合成の基質である α -リノレン酸を豊富に含む植物葉に着目し、KODA 生合成に関わる 2 つの酵素タンパク質が細胞内で葉緑体に局在するように過剰発現させた**形質転換植物体**（用語 1）を作出した。さらに、新たに見出した KODA 生成を促進する葉の処理方法を組み合わせることで、植物葉を用いた KODA の高生産が可能となった。この植物を用いた KODA の安定的な生産法は、植物体そのものの肥料利用だけでなく、KODA の作用機序の完全解明を目指した研究進展と将来的な農薬としての利用普及へとつながることが期待される。

研究成果は 2 月 14 日発行の英国科学雑誌「ジャーナル オブ エクスペリメンタル ボタニー（*Journal of Experimental Botany*）」に掲載された。

●背景

植物の生長調節作用を持つ **KODA** は、植物由来の生理活性物質であり、約 20 年前に日本で初めて発見された。これまでに、植物の開花や発根の促進、病原体への抵抗力増大といったさまざまな生理作用を持つことが明らかになっており、小麦の収量増加に寄与することも報告されている。アオウキクサという植物に **KODA** が比較的多く含まれることが知られており、この植物の粗抽出液をもとにした肥料が現在市販され、実際に利用されている。**KODA** を用いた農薬の普及や、作用機序などに関する研究がさらに進められることに期待が寄せられている一方、生産効率の低さと生産コストの高さが課題となっている。特に、試薬として市販されている純度の高い **KODA** は原料である α -リノレン酸の価格の高さ、化学合成プロセスの複雑さが高価格の要因となっている。

そこで本研究では、より低コストでの **KODA** の安定生産を目指し、 α -リノレン酸を多量に含む植物の葉を活用して生化学的に **KODA** を生成させる新手法の開発を試みた。

●研究成果

本研究グループは今回、形質転換によって植物の **KODA** 生成能を人為的に高め、もともと葉に含まれる α -リノレン酸から **KODA** を高効率で生成させることに成功した。また、各種条件の違いが生成量に与える影響を検討した (図 1)。

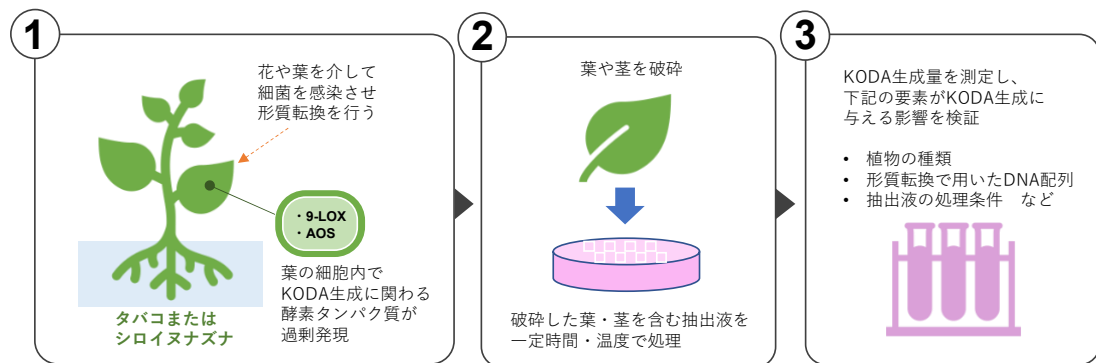


図 1. 今回の研究フローの概要

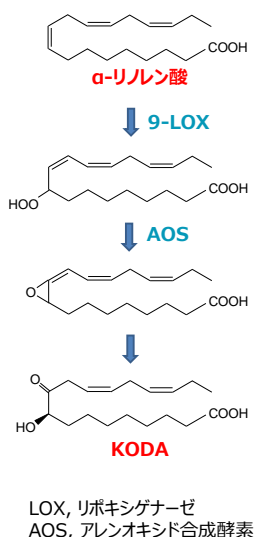
植物内で **KODA** が生合成される際は、 α -リノレン酸を出発物質として、2 つの酵素 9-リポキシゲナーゼ (9-LOX) とアレノオキシドシンターゼ (AOS) による反応が必須である (図 2 左)。しかし、 α -リノレン酸は他のオキシリピン (用語 2) 生合成の共通基質でもあることから、通常では **KODA** 生成量は非常に低い。そこで、これまでに特に活性が高いことが報告されているアオウキクサ由来の 9-LOX と AOS が過剰に発現するように形質転換を行い、 α -リノレン酸を **KODA** 生成に消費しやすい植物体を作成することで、**KODA** の生産量が高まるのではないかと考えた。

植物形質転換体として、(ベンサミアナ) タバコの一過的発現系 (用語 3) ならびにシロイヌナズナの形質転換植物体を作成し用いた。形質転換においては、9-LOX および AOS 発現に関する DNA を導入する際に、DNA 配列を 4 パターン作成した。配列の違いは、酵素タンパク質が働く細胞内の場所や、タンパク質同士の複合体形成の有無に影響し、それらによる KODA 生成量の変化についても検討した。

その結果、タバコ葉の一過的発現系においては、2 つの酵素タンパク質が高発現していれば KODA は生成され、細胞内局在や複合体形成はその生成量に大きな影響を与えないことがわかった。一方、シロイヌナズナの形質転換植物体を作成して KODA 生産を行う場合は、2 つの酵素タンパク質を葉緑体に局在させることが必要であることがわかった (図 2 右)。

ただし、上記いずれの場合も、多量の KODA を生成させるには、葉の破碎液を 1 時間以上室温処理する必要があることがわかった。以上の結果から、植物で安定的に KODA を生産するには、高活性型 9-LOX と AOS を葉緑体において恒常的に高発現するような形質転換植物体をまず作出し、その葉を破碎して 1 時間以上室温処理を加える方法が有効であることが示された。

植物に内在するKODA生成経路



2つの遺伝子を導入した形質転換体の葉の細胞 (葉緑体局在の例)

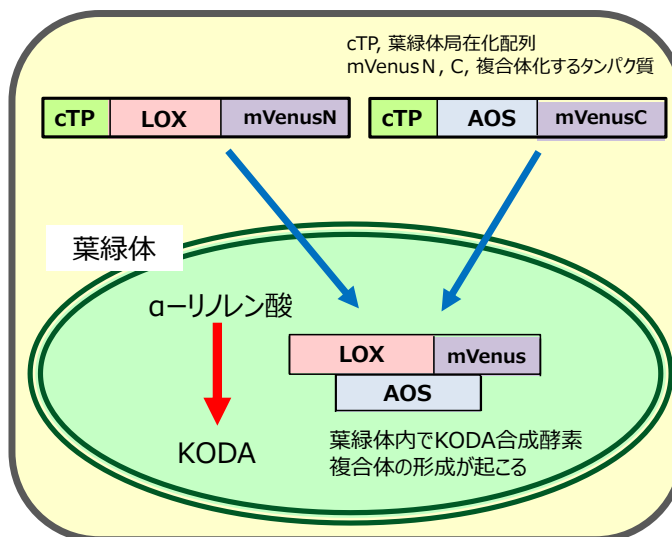


図 2. 植物における KODA 生合成経路 (左) と葉緑体局在化配列および複合体化配列を付加した 9-LOX および AOS を発現させたシロイヌナズナ形質転換体の細胞内における KODA 生成の模式図。(ただし、複合体の形成が必須であるかどうかについては、今後詳細な検討が必要。)

●今後の展開

植物由来の生理活性物質を、植物で生産し、それを植物の生育促進に活用することで、将来的には循環的な植物生育が可能となることが期待できる。今回はモデル植物であるシロイヌナズナ形質転換植物体での KODA 高生産を達成したが、一過的発現系ではあるが同じ方法でタバコ葉でも KODA が生産されたことから、本研究で開発した KODA 生産法は他の植物にも適用できる可能性が高い。将来的には、レタスなどの植物工場で生育可能な実用植物に適用して、大規模な KODA 生産系の構築を目指したいと考えている。また、本方法は、 α -リノレン酸を出発物質として生成される他の生理活性物質の生産にも適用可能な知見を含んでおり、天然由来の肥料や農薬の開発への応用に期待がかかる。

●付記

この研究は、主に科学技術振興機構 産学共創プラットフォーム共同研究推進プログラム (OPERA) 「ゲノム編集による革新的な有用細胞・生物作成技術の創出」研究領域 (研究総括：山本卓 (広島大学教授)) における研究の一環として行われた。

【用語説明】

- (1) **形質転換**：遺伝子工学における基本技術のひとつで、DNA 分子を細胞に導入することで起こる遺伝現象を指す。今回は、アオウキクサが遺伝的に持つ機能を、異なる植物に遺伝させることを試みた。
- (2) **オキシリピン**：脂肪酸の過酸化を介して作られる脂質の総称。植物ではプロスタグランジン類似の植物ホルモンであるジャスモン酸などが含まれる。
- (3) **一過的発現系**：形質転換で導入された遺伝情報が次の世代には受け継がれず、形質転換が行われた生体の細胞内で一定期間のみ発現する系を指す。

【論文情報】

掲載誌：*Journal of Experimental Botany*

論文タイトル：Developing a platform for production of the oxylipin KODA in plants

著者：Yuta Ihara, Takayuki Wakamatsu, Mineyuki Yokoyama, Daisuke Maezawa, Hiroyuki Ohta, Mie Shimojima

DOI：10.1093/jxb/erab557

【問い合わせ先】

東京工業大学 生命理工学院 生命理工学系 准教授
下嶋美恵

Email: shimojima.m.aa@m.titech.ac.jp

TEL: 045-924-5527 FAX: 045-924-5527

【取材申し込み先】

東京工業大学 総務部 広報課

Email: media@jim.titech.ac.jp

TEL: 03-5734-2975 FAX: 03-5734-3661