

植物が作る超高分子バイオポリマーの生合成と蓄積機構

梶浦 裕之

はじめに

近年、発現システムの改良により、植物をバイオリクターとするタンパク質生産が注目を浴びている。2012年には、植物で発現させたタンパク質がアメリカ食品医薬品局から初めて承認された¹⁾。また、エボラ出血熱の流行時に植物で発現させて調製した抗エボラウイルス薬が良好な結果を示したことも記憶に新しい²⁾。このように植物を用いた物質生産系の構築と、その利用に関する研究は盛んに行われている。そもそも、以前より私達の生活に植物“資源”は広く利用されており、研究も精力的に行われてきた。研究対象としては、植物が生合成する二次代謝産物や、カーボンニュートラルな植物由来の生分解性ポリマー、近年ではセルロースナノファイバーなどがあげられる。そのような植物資源の中でも、現代の日常生活に欠かすことのできない機能性素材の1つが天然ゴムである。紀元前400年頃から利用されている天然ゴム由来の製品は50,000種にも及んでおり³⁾、天然ゴムは現在商用利用されている唯一の植物由来の素材と言っても過言ではない。石油からなる合成ゴムの台頭にも関わらず、その需要は衰えることがなく、今後もさらに増加することが予想される。ところが、その天然ゴムの生合成、蓄積に関しては複雑な機構が存在し、まだまだ不明な点が残されている。本稿では、そのような天然ゴムをはじめとする植物由来超高分子ポリマーの生合成と蓄積機構を紹介する。

植物が生合成する超高分子ポリマー；ポリイソプレン

天然ゴムの主成分は炭素数が5つからなるイソプレン(C₅)を基本骨格としたユニットが重合したポリイソプレンであり、その分子量は数百万に達する^{3,4)}。このポリイソプレンの構造にはイソプレンユニットがそれぞれ *cis*-、あるいは *trans*-に重合した *cis*-ポリイソプレン(CPI)と、*trans*-ポリイソプレン(TPI)の2種類が存在し、このうち天然ゴムはCPIを主成分とする。自然界にはステロイドなどの二次代謝産物や、脂質分解酵素、タンパク質分解酵素などのタンパク質を含むラテックスを分泌する植物が存在し、天然ゴムはそのラテックス中に含まれており、天然ゴムの生合成する植物は数千種以上にも及ぶとされている⁵⁾。ここで、天然ゴムの主成分がCPIであり、

天然ゴム=CPIではなく、CPIを含むラテックスを凝固させたものが天然ゴムであることを断っておきたい。現在、天然ゴムに関わる研究で利用されているのが、パラゴムノキ (*Hevea brasiliensis*)、イチジク (*Ficus spp.*)、ロシアタンポポ (*Taraxacum koksaghyz*)、北米原産のグアユール (*Parthenium argentatum*) などであり、それぞれ天然ゴムの生産量、分子量、含有量が異なる。中でも、商用品種であるパラゴムノキではゲノム配列解読やトランスクリプトーム解析、さらに天然ゴム生合成酵素の同定などの研究が進んでいる^{6,7)}。

一方、一般的にTPIは分子量数百万にも及ぶ超高分子のポリマーを示さず、ジメチルアリルニリン酸(DMAPP)、ゲラニルニリン酸(GPP)、ファルネシルニリン酸(FPP)、ゲラニルゲラニルニリン酸(GGPP)などの短鎖のアリル基質(短鎖アリルニリン酸)を指すことが多い。前述の通り、超高分子(分子量100万以上)のCPIを生産する植物は数千種類知られているが、超高分子のTPIを生合成する植物は、トチュウやグッタペルカなど4種類程度⁸⁾に限られている。超高分子のTPIは弾性を示すCPIとは異なり、熱可塑性と高い衝撃性を示す硬質なポリマーである。超高分子のTPIは、これまで海底ケーブルやゴルフボールの芯に利用されてきた。しかし、汎用性の高い天然ゴムに比べ、その物性故か利用範囲は狭く、最近では石油由来の高分子ポリマーである合成TPIの台頭により植物由来の超高分子TPIが使用されることは少なくなった。

これらのCPIとTPIの生合成では、受容体、および供与体基質の生合成は共通しているが、イソプレンの伸長反応と蓄積機構は異なっている。次項でその生合成経路を紹介する。

ポリイソプレン生合成機構

イソプレンの伸長反応はプレニルトランスフェラーゼが触媒し、短鎖アリルニリン酸を受容体基質とし、受容体基質側のピロリン酸の脱離を伴いながら、供与体基質であるイソペンテニルニリン酸(IPP)を連続的に付加して、ポリイソプレンポリマーを伸長させる(図1)。CPIとTPIの生合成を触媒するプレニルトランスフェラーゼをそれぞれCPI転移酵素、およびTPI転移酵素と呼ぶ。CPI転移酵素は本特集の高橋の稿“天然ゴム生合

成機構から考える次世代の植物工学”ではcPTと呼ばれていることに注意されたい。植物内においてはCPIとTPIの反応機構は異なることが示唆される。これは後程述べるが、CPI転移酵素とTPI転移酵素のアミノ酸配列には相同性がなく、それぞれが複数の異なるドメインからなる点、基質結合モチーフの違いからも容易に推測される。

CPI転移酵素、TPI転移酵素ともに供与体基質としてIPPを使用する。このIPPはメバロン酸経路(MVA経路)、あるいは非メバロン酸経路(2-C-メチル-D-エリトリール-4-リン酸(MEP)が中間体として生合成されるためMEP経路とも呼ばれる)を通して生合成される。IPPはイソプレンからなるイソプレノイドの前駆体として、植物や昆虫、真菌類のテルペンやテルペノイドなどの天然有機化合物生合成に必須である。植物はどちらのIPP生合成経路も保持しており、主に細胞質ではMVA経路、葉緑体ではMEP経路でIPPが生合成される^{9,10}。IPPはCPIとTPI生合成における供与体基質として働くとともに、異性化酵素によりDMAPPにも変換される。その後、DMAPPにIPPが1-3個転移され、*trans*型でIPPが重合した短鎖アリルニリン酸であるGPP、FPP、GGPPが生合成される(図1)。この短鎖アリルニリン酸を生合成するTPI転移酵素のうち、もっとも研究が進んでいるのがFPP合成酵素(FPS)である(図1)。FPSは基質結合、酵素活性、および鎖長決定に関わる7つの保存領域を有する。また、特徴的な構造として供与体、および受容体両基質結合部位であるDDxxDモチーフがアミノ酸配列上に2か所存在し、ホモダイマーとして存在する¹¹。植物や昆虫はGPP合成酵素を持つが、FPSは金属イオンの種類と濃度依存的にDMAPPから最終産物としてFPP

のみならずGPPも合成できる^{12,13}。このFPSにより合成されるFPPはCPI転移酵素にとっても非常に重要で、CPI転移酵素は出発基質として、もっとも短いイソプレヌユニットであるDMAPPよりも、FPPを基質として選好し、超高分子CPIを生合成する¹⁴。一方、CPI転移酵素はFPSに代表されるTPI転移酵素と異なり5つのドメインからなり、さらにTPI転移酵素に存在する基質結合ドメインDDxxDが存在しない。したがって、CPI転移酵素、TPI転移酵素は同じ基質を利用し、ポリイソプレンを合成するという点では一致しているが、そのタンパク質を構成するアミノ酸の類似性も低いため、まったく異なる機能を果たす酵素と見なすことができる¹⁵。

近年、高橋らの精力的な研究によりCPI生合成経路が明らかにされつつある。詳細に関しては本特集の高橋の稿を参照されたい。一方、これまでIPPを*trans*型に付加する反応に関してはFPPなどの短鎖アリルニリン酸の生合成のみが注目されてきたが、TPIの伸長に関わる生合成酵素の同定においても、大きな進展が見られた。これまでにTPI転移酵素にある2つのDDxxDモチーフのうち、1つ目のモチーフの直前にTPIのイソプレン鎖長を決定する因子が存在することが知られていた。FPSに代表される短鎖アリルニリン酸であるTPIを生合成するTPI転移酵素では、この因子は側鎖が高高いアミノ酸(Tyr, Phe)であり、このアミノ酸をAlaなどの側鎖の小さいアミノ酸に変異させることでC₇₀程度までイソプレン鎖長を伸長することができることが明らかとなった¹⁶。つまり、FPSの数アミノ酸の変異で、FPSは分子量数百万にも及ぶTPIを生合成できる超高分子TPI転移酵素になり得るのではないか?ということが推測された。そこで筆者らは、超高分子TPIを生合成する植物のうち

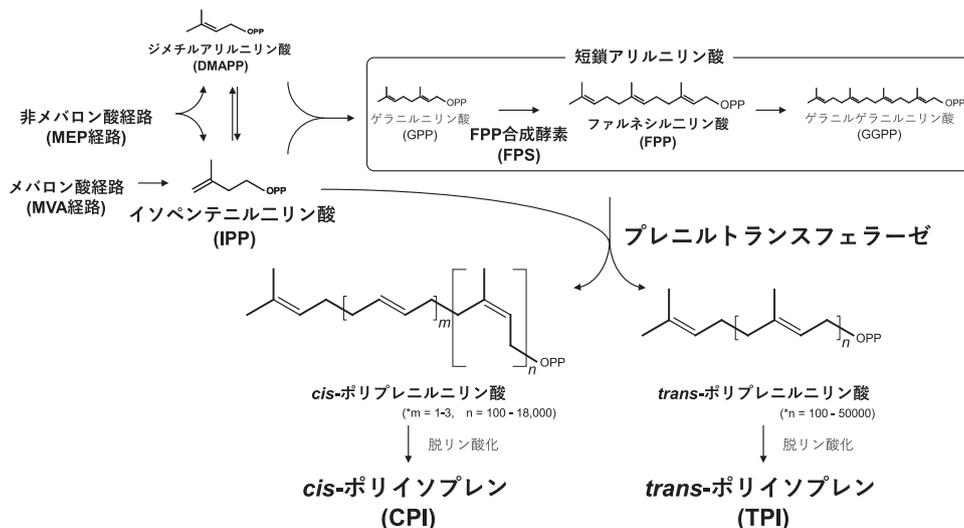


図1. CPI, TPIの生合成経路。植物で合成されるCPIとTPIは短鎖アリルニリン酸とイソペンテニルニリン酸を基質に生合成される。

トチュウに注目した。トチュウの超高分子TPIを合成するTPI転移酵素はFPSに近い構造を持つのではないかと予測し、まずトチュウにあるFPS候補遺伝子を探索した。モデル植物であるシロイヌナズナでは2種類（正確には3種類のアイソザイムをコードする）だったFPS遺伝子が、トチュウには5種類も存在した¹⁷⁾。この5種類はFPSと高い相同性を持ち、そのうち2種類がFPS活性を示した¹³⁾。残りの3種類に注目すると、そのDDxxDモチーフ直前の鎖長決定因子は長鎖のTPIを生合成することが示唆される側鎖の小さいアミノ酸 (Cys-Ala) であり、この3種類のFPS-likeのタンパク質が超高分子のTPI生合成に関わる酵素であると推測された。2018年にWuyunらにより、トチュウで発現量の高い1種類のFPS-likeタンパク質の酵素活性が確かめられ、超高分子TPIを生合成するTPI転移酵素であることが示された¹⁸⁾。残りの2種類に関してもアミノ酸の相同性は高く、同様のTPI転移酵素であることが示唆されるが、現在までのところ酵素活性と反応産物は確認されていない。また、そのFPS-likeタンパク質に関して、DDxxD直前の鎖長決定因子以外の新たな鎖長制御に関わるアミノ酸に関しても今までのところ見いだされていない。

ポリイソプレン蓄積組織

ポリイソプレンは炭素鎖からなり、極性分子を含まない。それ故に親水性の細胞質基質からなる細胞内では安定的に存在できない。現在、CPI、TPIともに、まずは小胞体 (ER) 膜中に生合成され、その後ER膜から“budding”し、脂質の一重膜で覆われた粒子状のラバーパーティクルとして存在するとされている。またCPI生合成では、発生したラバーパーティクルの膜上でもCPIは合成され、合成されたCPIがラバーパーティクル内に蓄積し、ラバーパーティクルが肥大するというモデルも提唱されている¹⁹⁾が、ラバーパーティクルの発生や形態制御機構に関しては未だ議論の余地が残されている。一方、TPIは繊維状体で蓄積することが知られているが²⁰⁾、その生合成から蓄積するまでの機構はトチュウの例を除いて明らかになっていない。

これら超高分子ポリイソプレンを生合成する植物において、形は違えど、共通していることがある。それは疎水性に富んだ超高分子ポリイソプレンを貯蔵する特殊な細胞、つまり乳管細胞などを持っていることである。乳管細胞はラテックスを多量に含む“laticiferous tubes”として1884年にDe Baryにより見いだされ、現在では12,500種以上の植物で確認されている²¹⁾。この乳管細胞は多核の1細胞からなる無節乳管 (non-articulated laticifer) と、複数の細胞がつながった有節乳管 (articulated laticifer) と

いう2種類に大別できる。ホルトソウ (*Euphorbia lathyris*) では無節乳管が存在し、パラゴムノキでは無節乳管と有節乳管の両方が存在する²¹⁻²³⁾。無節乳管は子葉発生時の未成熟胚にある単一の細胞、あるいは原基から形成されるはじめ、種子の発芽後、植物体の成長に伴い、乳管細胞が細胞間を縫って伸長し、また分枝することにより、植物体の各組織全体にいきわたる²⁴⁾。無節乳管においては、乳管の枝分かれ構造を持つか持たないかでその初期胚の原基数は異なる²⁴⁾。有節乳管のもととなる細胞は、主に形成層または頂端分裂組織に存在するとされている^{22,24)}。有節乳管は無節乳管とは異なり、単一の細胞が伸長するのではなく、無数の細胞からなり、節部で有節乳管を構成する各細胞間で同時に分化が始まり、細胞間が融合しつつ細胞間隙を縫うように形成されていく。結果として、無節乳管、有節乳管共に植物の組織に張り巡らされていく。この乳管細胞に溜まるラテックス中に最大50%程度のCPIが含まれることになる²⁵⁾。TPI蓄積に関しては、トチュウでは無節乳管に繊維状のTPIが蓄積するとされているが、分類上ラテックスを含まない細胞を乳管細胞と定義できるかは判断が難しい。しかしながら、数十〜数百μm以上にわたる長い特殊な細胞が繊維状のTPIで満たされていることも事実である。

自然界には乳管細胞とは異なる細胞にCPIを蓄積する植物がある。筆者らは北米南部からメキシコ北部原産とされているグアユールに新たに乳管細胞以外のCPI蓄積細胞、エピセリウム細胞を見いだした²⁶⁾。エピセリウム細胞とはマツ科植物などの樹脂道と呼ばれる細胞間隙周辺に存在する細胞で、樹脂を分泌することが知られている。樹脂道自体は細胞間隙を縫うように伸長しているが、その周辺にあるエピセリウム細胞は単一細胞として存在

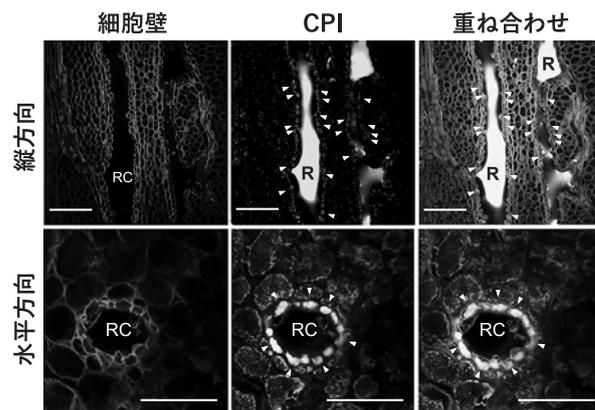


図2. グアユールにあるエピセリウム細胞とCPIの蓄積。グアユールの茎の切片を蛍光染色し、CPIと細胞壁を可視化した。グアユールは多くの天然ゴム産生植物がもつ乳管細胞とは異なる樹脂道 (RC) 周辺の1層のエピセリウム細胞 (白△) にCPIを蓄積する。R:樹脂。Bars: 100 μm。

し、乳管細胞に見られるような細胞の伸長、近接する細胞との融合が見られない (図2)。

グアユールの樹脂道には多量の分泌物が存在するため、このエピセリウム細胞が生産、供給していると考えられるが、グアユールのエピセリウム細胞はCPIを生合成し始めると、細胞内小器官を分解しつつ細胞内に隙間なくラバーパーティクルを蓄積する。もはや、樹脂成分の分泌どころか細胞としての機能も失い、ただCPIを蓄積する細胞として存在する。まるで樹脂の拡散を抑制する天然の“ゴムチューブ”が組織内に形成されているかのようなものである。以前の研究でグアユールにあるCPIを蓄積する細胞の存在は知られてはいたが、組織内でどのような役割を果たしているかまでは明らかではなかった。しかし、筆者らの組織観察により、グアユール内でのエピセリウム細胞の役割の1つ、つまり天然ゴム生合成と蓄積への関与を解明できた。このようなCPIの生合成と蓄積に特化した細胞が自然界に存在するのは非常に興味深い。

ポリイソプレンの機能

植物は他の生物が生合成できない超高分子のCPIやTPIを生合成する。私達が生活する現代社会において特にCPIを主成分とする天然ゴムは欠かすことができないが、植物にとってCPI、TPIを生合成する利点は何であろうか？ホルトソウでは乳管細胞を欠く変異体が存在するが、生育と成長に目立った表現型は確認されない²⁴⁾。つまり、乳管細胞が植物の成長や分化にとって必要不可欠なものではないことは容易に推測できる。

一方、CPIを含むラテックスに注目すれば、抗菌物質や病原体感染時に誘導される感染特異的タンパク質 (pathogenesis-related proteins) を含むため、植物免疫の一端を担えるといえる^{27,28)}。CPIやTPIそれ自体は有害ではないが、外的な刺激により乳管細胞が損傷し凝固した場合、ラテックス中のタンパク質がCPIやTPIとミセルを形成するため、昆虫などの捕食者はラテックス中のタンパク質を栄養源として利用できなくなり、結果的に捕食者から好まれない植物になる²⁸⁾。その他、ラテックス中の成分が昆虫や動物からの捕食に対する防御因子として働くといった効果も考えられるが、その詳細な生理学的意義は不明である。詳細なCPIやTPIの機能解析には、CPIやTPIを生合成しない植物の作製が望まれるが、形質転換系 (再分化系) の確立が難しい植物種もある。また、パラゴムノキなどの商用品種では実際に天然ゴムを合成するまでに5~7年もかかるとされており、研究を実施するうえで適した試料だとは言いがたい。幸いにもCPIを生合成する植物の中には形質転換が可能な天然ゴム合成植物種があり、その植物種での機能解析が有望で

ある。天然ゴム生合成能の向上を目指した研究とともに、現在数例にとどまっている天然ゴム生合成能を失った植物の研究が今後発展することが望まれる。

今後の展望

植物由来の超高分子ポリマーは古くから利用されてきたが、つい最近までその生合成酵素すら同定されていなかった。近年では、プロテオーム解析に加え、トランスクリプトーム解析も盛んに行われており、今後CPIを主とする天然ゴムやTPIの生合成と蓄積機構がさらに解明され、その研究成果が実際に育種や農業分野をはじめとする産業で活かされることが期待される。

謝 辞

本稿執筆にあたり、徳島大学大学院社会産業理工学研究部の中澤慶久教授、日立造船株式会社の鈴木伸明博士、および株式会社ブリヂストンの各位をはじめとする多くの方に深くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Walsh, G.: *Nat Biotechnol.*, **32**, 992 (2014).
- 2) Qiu, X. *et al.*: *Nature*, **514**, 47 (2014).
- 3) Cherian, S. *et al.*: *Plant Biotechnol. J.*, **17**, 2041 (2019).
- 4) Yamashita, S. *et al.*: *Annu. Rev. Biochem.*, **89**, 821 (2020).
- 5) Priyadarshan, P. M.: *Biology of Hevea Rubber*, Springer (2011).
- 6) Tang, C. *et al.*: *Nat. Plants*, **2**, 16073 (2016).
- 7) Yamashita, S. *et al.*: *Elife*, **5**: e19022 (2016).
- 8) Rahimi, A. *et al.*: *Plast. Rubber Compos.*, **42**, 223 (2013).
- 9) Pulido, P. *et al.*: *Mol. Plant*, **5**, 964 (2012).
- 10) Vranová, E. *et al.*: *Annu. Rev. Plant Biol.*, **64**, 665 (2013).
- 11) Vandermoten, S. *et al.*: *Cell Mol. Life Sci.*, **66**, 3685 (2009).
- 12) Frick, S. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 4194 (2013).
- 13) Kajiura, H. *et al.*: *Biochimie*, **139**, 95 (2017).
- 14) Rojruthai, P. *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **109**, 107 (2010).
- 15) Takahashi, S. *et al.*: *Chem Rec.*, **6**, 194 (2006).
- 16) Tarshis, L. C. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 15018 (1996).
- 17) Suzuki, N. *et al.*: *Planta*, **236**, 1405 (2012).
- 18) Wuyun, T. N. *et al.*: *Mol. Plant*, **11**, 429 (2018).
- 19) Qu, Y. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **290**, 1898 (2015).
- 20) Sando, T. *et al.*: *Planta*, **230**, 215 (2009).
- 21) Castelblanque, L. *et al.*: *Plant Signal Behav.*, **12**, e1300743 (2017).
- 22) Castelblanque, L. *et al.*: *Plant Physiol.*, **172**, 1032, (2016).
- 23) Zhao, X. Q.: *J. Nat. Rubb. Res.*, **2**, 94 (1987).
- 24) Hagel, J. M. *et al.*: *Trends Plant Sci.*, **13**, 631 (2008).
- 25) van Beilen, J. B. *et al.*: *Trends Biotechnol.*, **25**, 522 (2007).
- 26) Kajiura, H. *et al.*: *Planta*, **247**, 513 (2018).
- 27) Barbosa, M. S. *et al.*: *Curr. Protein Pept. Sci.*, **21**, 497 (2020).
- 28) Ramos, M. V. *et al.*: *Trends Plant Sci.*, **24**, 553 (2019).