

LEDを用いた植物の代謝応答解析から有用物質生産へ

岡澤 敦司^{1*}・鶴本 智大^{2,3}

はじめに

光は、植物に光合成のエネルギーとして利用されるだけでなく、環境の状態を把握するためのシグナルとして受容される。植物生理学の教科書において、植物の光応答の導入部で必ず紹介される話として、ダーウィンによる光屈性の発見¹⁾がある。光屈性は、植物が光源に向かって曲がって成長する性質であり、光合成に必要な光を受けられるように成長を制御できる機構として理解される。光屈性の発見は、後の時代に、この生理応答を支える分子として植物ホルモンのオーキシンや青色光受容体フォトトロピン (phototropin, phot) の同定へとつながった。

このような植物の光応答、光形態形成の分子機構については、モデル植物のシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いた分子遺伝学研究によって、かなり詳細に明らかになっている。しかし、植物工場をはじめとする近代の施設園芸、あるいは、植物バイオテクノロジーによる物質生産に、これらの知見が十分活用されているかを問われれば、未だ試行錯誤の段階であると答えざるを得ない。この理由として、遺伝子の機能と形態の関係を中心に解析されてきた植物の光応答について、随伴する代謝変動が十分に理解されていないこと、また、研究が、いわば雑草であるシロイヌナズナを中心に行われてきたことがあげられる。

筆者らは、植物の光応答を代謝プロファイルの変化として捉え、その分子機構を明らかにすることで、植物生理学と植物代謝工学を繋げることが可能になると考え、研究を推進している。これらの研究では、光源として、従来用いられてきたものより省電力で、より細かな波長の選択が可能な発光ダイオード (LED) を用いている。LEDを用いることで、植物の波長ごとの光応答を簡便に解析することが可能となり、これまで知られていなかった代謝応答の波長特性が明らかになりつつある。以下では、まず植物の光受容体タンパク質について簡単に解説したのち、これまで行ってきた、また、現在行っている研究について概要を紹介する。

植物の光受容体

植物は、シグナルとして赤/遠赤色光 (620–850 nm)、青色光 (350–500 nm)、および、紫外線 (UV) を認識していることが明らかになっている。赤と青の間の緑色光に対する植物の応答も調べられているものの、その光受容体タンパク質は、これまで同定されていない。植物工場などでLEDを利用する場合、赤および青を中心に選択される場合が多いが、現在知られている植物のシグナル伝達経路の情報に基づくものと思われる。ここでは、赤色光、青色光の光受容体とその機能について概説する。なお、UVの光受容体については後述する。

フィトクロム (phytochrome, phy) は、赤/遠赤色可逆的な光反応を制御する光受容体タンパク質である。赤/遠赤色可逆的な光反応の例として、レタスの発芽が有名である。レタスの種子は暗所では発芽しないが、赤色光照射によって発芽が誘導される。しかし、赤色光を照射した後に、遠赤色光を照射すると赤色光の効果がキャンセルされ発芽しなくなる。詳細は省略するが、一部の植物の花成においても同様の可逆性が確認されている。このことから、フィトクロムは光可逆的な分子スイッチと称されることもある^{2,3)}。フィトクロムは転写因子などと直接相互作用し、非常に多くの遺伝子の発現制御を行い、花成など植物の発生発達を制御している⁴⁾。

植物には、主要な青色光受容体として、フォトトロピンとクリプトクロム (cryptochrome, cry) が存在する⁵⁾。フォトトロピンは、前述の光屈性のほか、気孔の開閉や光の強度に応じて葉緑体の細胞内の配置を変える葉緑体定位運動を制御することから、光合成を効率良く行うために中心的な役割を果たしていると考えられる⁶⁾。クリプトクロムは、植物以外の生物にも広く存在し、概日リズムの制御に関わることが知られているが、近年、磁覚受容体としての役割が注目されている⁷⁾。植物中では、フィトクロムと協調的に花成などの形態形成を制御している⁸⁾。

光によるポリアミン代謝制御

シロイヌナズナのフィトクロムには、フィトクロムAからフィトクロムEの5分子種が存在するが、フィトク

* 著者紹介 ¹大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生物科学専攻 (准教授) E-mail: okazawa@plant.osakafu-u.ac.jp

²大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生物科学専攻, ³日亜化学工業株式会社横浜研究所

ロム A は遠赤色光 (far-red light, FR) の連続照射に対する反応を特異的に誘導する光受容体として知られている。筆者らは、この FR 連続照射に対する代謝変動をシロイヌナズナのフィトクロム A 変異体 (*phyA* 変異体) と野生型 (WT) の黄化芽生え (発芽後、暗所で育ててもやし状に育った芽生え) を用いて解析した⁹⁾。黄化芽生えに FR (>700 nm) を連続照射することによって、WT では子葉の展開や胚軸の伸長抑制 (脱黄化) が誘導されるが、*phyA* 変異体ではこの応答が起こらない。GC/TOF-MS を用いた一次代謝プロファイリングの結果、WT では FR に応答して、スクロースやヘキソース、多くのアミノ酸量が減少することが明らかになった。この結果は光合成が行えない遠赤色下で、脱黄化反応に必要な代謝が亢進されていることを示すものと考えられた。

代謝プロファイリングの結果、糖やアミノ酸に加え、ポリアミンのプトレシンが減少することも明らかになった。この研究まで、光と植物のポリアミン代謝の関係について解析した報告がなかったため、qRT-PCR によりポリアミン生合成に関わる酵素遺伝子の発現解析を行ったところ、ポリアミン生合成の起点となるアルギニンからアグマチンへの脱炭酸反応を触媒するアルギニンデカルボキシラーゼ 2 (ADC2) 遺伝子の転写量が FR によって顕著に抑制されることが明らかになった。興味深いことに、この抑制は、白色光照射下においてもフィトクロム A 特異的であることが示され、この光受容体によるポリアミン生合成制御系の存在が明らかになった (図 1)。

また、詳細は省略するが、イネのすべてのフィトクロム欠損変異体 (*phyA phyB phyC* 変異体) についてメタボローム解析を行い、*phyA phyB phyC* 変異体の幼葉において、ヘキソースが野生型の 20 倍以上含まれていることを明らかにした。この研究によって、イネのフィトクロムが糖の転流や分配に重要な役割を果たしていることが示された¹⁰⁾。その後の、多くの研究でフィトクロムが光合成関連の多くの代謝物の生合成を制御していることが示されている¹¹⁾。

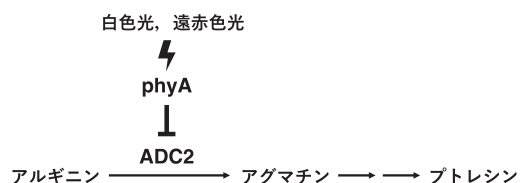


図 1. フィトクロム A (*phyA*) によるポリアミン生合成制御。白色光あるいは遠赤色光の照射により、*phyA* 特異的に *ADC2* の発現が抑制されることで脱黄化芽生えにおけるプトレシン量が減少する。

青色光によるリグナン生合成促進

リグナンは植物の芳香族化合物に分類される二次代謝産物であり、サプリメントとして市販されているゴマリグナンのセサミンに代表されるように、人の健康維持や医薬品原料として有用な化合物が知られている。セサミンは、もちろんゴマ抽出物として得られるものの、その量は期待されるほど多くはない。

筆者らは、これまで種子以外は注目されてこなかったゴマについて、改めてそのセサミン含量を測定したところ、わずかながら葉にもセサミンが含まれていることを明らかにした¹²⁾。また、種子のセサミン含量が高い品種において、その葉におけるセサミン合成酵素遺伝子 *CYP81Q1* の発現量とセサミン含量が、一般的な品種と比較して高いことも明らかになった¹²⁾。

そこで、植物工場でのゴマ栽培を視野に入れ、その水耕栽培法を確立した。日長とゴマ葉中のセサミンの関係を検討したところ、ゴマ葉中のセサミン含量は明期の長さとともに増加することが明らかになった¹³⁾。驚いたことに、暗期をなくした連続光下で栽培したゴマ葉中のセサミン含量は、12 h 明期で栽培したものと比較して 250 倍以上であった¹³⁾。

次に、LED を用いて光質とセサミン含量の関係を検討した。その結果、青色 LED 光 (470 nm) の連続照射によって、蛍光灯連続光下で栽培したゴマ葉中のセサミン含量の 2 倍まで増加することが示された¹⁴⁾。一方、赤色 LED 光 (670 nm) では、逆にセサミン含量が 1/2 に減少することが明らかになった。青色 LED 光照射によるリグナンの増進は、セサミン合成酵素遺伝子を導入した高リグナン含有植物チョウセンレンギョウ (*Forsythia koreana*) の培養細胞においても確認された¹⁵⁾。このことから、青色 LED が植物全般のリグナン含量の増進に応用できる可能性が示された。

これら非モデル植物を用いた場合に常に生じる課題ではあるが、残念ながら青色 LED 光によるリグナン増進の分子機構は未解明のままである。筆者らは、シロイヌナズナ中のリグナン類のプロファイリング法についても確立している¹⁶⁾。今後、モデル植物での光質とリグナン生合成の関係を検討することで、その分子機構にも迫りたい。

UV-B による芳香族化合物生合成促進

UV-B (280–315 nm) は、地表に届く太陽光の中でもっとも波長が短い光であり、生体分子と反応して DNA の損傷といった悪影響を及ぼすことが知られている。一方、

植物では、UV-Bに応答して芳香族化合物含量が増加することが知られている。これは、有害なUV-Bに対して、この光を吸収できる化合物を合成し、生体分子を保護する機能として理解されている。また、UV-Bは種々の活性酸素種を発生させることも知られているが、芳香族化合物は一般にラジカル消去能、抗酸化作用に優れるため、その生合成の活性化は、非常に理にかなったUV-Bストレス応答といえる。

このUV-Bに対する生理応答には、UVR8と呼ばれる光受容体タンパク質が作用していることが明らかとなり¹⁷⁾、その後、UV-B応答についてのメタボローム解析などによって、UVR8によって芳香族化合物であるアントシアニンの生合成が制御されていることが確認された¹⁸⁾。しかし、これまでのUV-B応答についての研究は、ほとんどが波長域の広いUV-Bランプを用いて行ったものであり、特にアントシアニンなどの芳香族化合物の代謝に対する波長ごとの影響についての解析事例はなかった。前述のように、植物の芳香族化合物には、多くの有用物質が知られている。芳香族化合物含量の増加に寄与する波長域を特定することができれば、UV-Bによる生体への悪影響を低減しつつ、芳香族化合物含量を効率的に増加

させることができる可能性があると考えた。そこで、植物中の芳香族化合物含量を効率的に増加させることを念頭に、波長域が狭いLEDを光源に用いて、各波長のUV-Bが芳香族化合物生合成に及ぼす影響について検討を行った。

ピーク波長が270, 280, 300, および310 nmのLED光(図2)を同じ光量子束密度で15 minシロイヌナズナに照射し、24 h暗所に保った後、アントシアニン含量を測定したところ、280 nmのLED光照射時のみアントシアニン含量が増加することが明らかになった(図3)¹⁹⁾。

そこで、この機構を明らかにするために、280および310 nm LED光を照射したシロイヌナズナ中の代謝プロファイルとトランスクリプトームを分析したところ、次のような興味深い知見を得た。①280 nm LED光を15および45 min照射したシロイヌナズナでは、310 nm LED光を照射したものよりフェニルアラニン含量が増加しており、ケイ皮酸と思われる化合物の含量も増加していた。すなわち、280 nm LED光は、フェニルプロパノイドの生合成の上流から活性化し、芳香族化合物を増加させた。②UVR8シグナル伝達経路において、最上流に位置すると考えられている転写因子HY5については、いずれの波長によっても遺伝子発現が誘導され、この傾向はケイ皮酸/モノリグノール生合成経路中のPAL1や、フラボノイド生合成に関わるCHSなどの遺伝子群においても同様であった。しかし、フラボノイド生合成の下流に位置するアントシアニン生合成を制御する転写因子MYB75やDFRAやUGT75C1などの生合成酵素については、280 nm LED光照射によってのみ、それらの遺伝

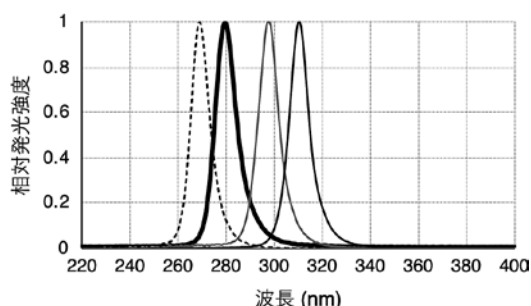


図2. 実験に用いた各UV-B LEDの発光スペクトル

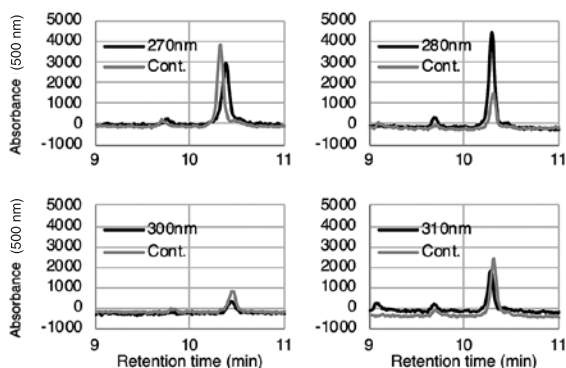


図3. 各UV-B LED光を照射したシロイヌナズナのアントシアニンのHPLCクロマトグラム。280 nm照射したサンプルでのみコントロールと比較してアントシアニン含量が増加した。

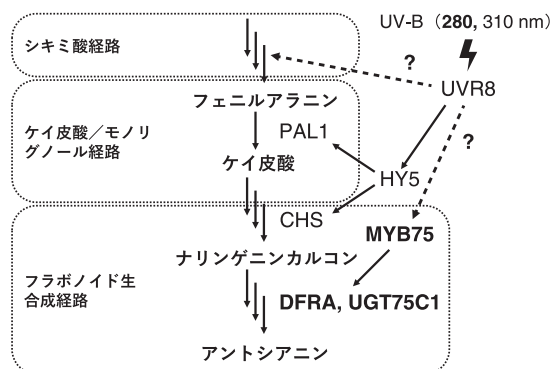


図4. UV-Bによる芳香族化合物の生合成制御。280, 310 nmのLED光照射によって、HY5, PAL1, CHSなどの上流の遺伝子群の発現が誘導される一方、下流でアントシアニンの生合成に関わるMYB75, DFRA, GT75Cは280 nm照射でのみ発現が誘導される。また、280 nm LED光照射により、フェニルアラニン、ケイ皮酸およびアントシアニン含量が特異的に増加する。

表1. UV-B LED 光照射で発現量が増加した遺伝子の例

遺伝子	280 nm	310 nm
<i>HY5</i>	2.6	3.3
<i>PAL1</i>	1.1	0.8
<i>CHS</i>	2.0	1.7
<i>DFRA</i>	1.8	-2.6
<i>UGT75C1</i>	1.5	-0.8
<i>MYB75</i>	2.3	-1.1

非照射との遺伝子発現量の差を $\log_2$ FPKM 値で表記した。

子発現が誘導された (図4, 表1)。

このように, 280, 310 nmのUV-Bはともに*HY5*を誘導できるものの, 芳香族化合物の生合成経路において280 nmによってのみ誘導される遺伝子群があることが示された¹⁹⁾。このことは, 植物がUV-Bに含まれる光のわずか10–20 nmの波長の違いを感知しており, 芳香族化合物の生合成を波長ごとに制御していること, および, UV-Bシグナル伝達経路には, これまでに知られていない280 nm UV-Bに特異的に応答する因子が存在することを示唆している。今後, 取得したトランスクリプトームデータより, 候補となる遺伝子を絞り込み, その機能について解析することで, アントシアニン生合成の制御に関わる新たなUV-Bシグナル伝達因子を同定することが可能になると期待される。さらには, UV-B波長ごとのメタボロミクスおよびトランスクリプトミクスにより, 植物のUV-B応答の波長特性の全体像を描くことで, UV-B LEDによる植物代謝の精密な制御を可能にしたい。

おわりに

本稿では, 筆者らのいくつかの研究事例を, 遠赤色光, 青色光, UV-Bの順に紹介した。最後に取り上げた, UV-Bに対する代謝応答の研究事例のように, 仮に10 nmごとに280–750 nmのLEDを揃えたとすると, 48種類のLEDが必要となる。これらのLEDに対する植物の代謝応答を網羅的に解析することで, 光による植物の代謝制御に関する重要な知見が得られるであろうか。筆者らの研究によって, 植物はUV-Bに対しては少なくとも30 nmの違いを認識していることが明らかになった。しかし, 既存の知見からは, この応答の違いを分子レベルで説明できない。であれば, UV-Bに限らず紫外から遠赤色まで48種類のLEDを揃える価値はありそう

である。はたして, これらのLEDに対する植物の代謝応答を解析したうえで, 人工知能の助けを借りることで, 植物の代謝を自由自在に制御することができる日はやってくるだろうか。その日がくるとしたら, それは何年後ぐらいだろうか。コロナ禍でどこにも行けず, お酒の力を借りて夢物語を放談する機会も失われている状況においても, 妄想は力なりと信じて研究を進めたい。

謝 辞

本稿で紹介した研究は, 多くの共同研究者と行ったものである。シロイヌナズナの遠赤色光応答については, 大阪大学大学院工学研究科の小林昭雄名誉教授, 福崎英一郎教授, 馬場健史博士 (現, 九州大学大学院医学研究科), Kanokwan Jumtee博士をはじめとする共同研究者の皆様, ゴマの青色光応答については, 同研究科の畑直樹博士 (現, 滋賀県立大学農学部) およびサントリー生命科学財団の佐竹炎博士, サントリーグローバルイノベーションセンターの小埜栄一郎博士をはじめとする共同研究者の皆様, シロイヌナズナのUV-B応答については, 日本フォトリソス協会関西 (JPCK) アグリバイオフォトリソス産業化 (ABPI) 研究会のプロジェクトメンバーの皆様, 特に, 日亜化学工業の藤川康夫氏, および, 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科の太田大策教授をはじめとする研究室のメンバー各位に感謝の意を表したい。

文 献

- 1) Darwin, C.: *The Power of Movement in Plants*, D. Appleton and Company (1897).
- 2) Quail, P. H.: *Annu. Rev. Genet.*, **25**, 389 (1991).
- 3) Sharrock, R. A.: *Genome Biol.*, **9**, 230 (2008).
- 4) Wang, H. and Wang, H.: *Mol. Plant*, **8**, 540 (2015).
- 5) Christie, J. M. and Briggs, W. R.: *J. Biol. Chem.*, **276**, 11457 (2001).
- 6) Suetsugu, N. and Wada, M.: *Plant Cell Physiol.*, **54**, 8 (2013).
- 7) Dodson, C. A. *et al.*: *Trends Biochem. Sci.*, **38**, 435 (2013).
- 8) Li, Q.-H. and Yamg, H.-Q.: *Photochem. Photobiol.*, **83**, 94 (2007).
- 9) Jumtee, K. *et al.*: *J. Exp. Bot.*, **59**, 1187 (2008).
- 10) Jumtee, K. *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **108**, 151 (2009).
- 11) Krahmer, J., *et al.*: *Plant Physiol.*, **176**, 1039 (2018).
- 12) Hata, N. *et al.*: *Plant Sci.*, **178**, 510 (2010).
- 13) Hata, N. *et al.*: *Environ. Exp. Bot.*, **75**, 212 (2012).
- 14) Hata, N. *et al.*: *Plant Biotechnol.*, **30**, 1 (2013).
- 15) Morimoto, K. *et al.*: *Plant Biotechnol.*, **28**, 331 (2011).
- 16) Okazawa, A. *et al.*: *Plant Biotechnol.*, **28**, 287 (2011).
- 17) Favory, J.-J., *et al.*: *EMBO J.*, **28**, 591 (2009).
- 18) Kusano, M., *et al.*: *Plant J.*, **67**, 354 (2011).
- 19) 国際公開番号 WO2018/199307