

2008年11月14日  
独立行政法人 理化学研究所

## 植物二次代謝産物のタンデム型質量分析スペクトルライブラリーを整備

- モデル植物シロイヌナズナで1万以上のスペクトルを収集 -

### ◇ポイント◇

- 植物の有用成分の多様性をキャッチするメタボローム分析系を構築
- 代謝ライブラリーを活用し、破壊遺伝子の機能解明や予測が可能
- 新規有用成分や代謝関連遺伝子の発見で、人類に欠かせない成分確保に期待

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、モデル植物シロイヌナズナの二次代謝産物<sup>\*1</sup>のタンデム型質量分析スペクトル（MS/MS スペクトル）<sup>\*2</sup>ライブラリーを世界で初めて構築しました。理研植物科学研究センター（篠崎一雄センター長）メタボローム基盤研究グループ（斉藤和季グループディレクター）メタボローム解析研究チームの松田史生研究者らによる研究成果です。

植物には、食料やバイオマス生産という役割に加えて、医薬や健康補助などに役立つさまざまな有用成分を生産する能力があります。これは、二次代謝という植物特有の代謝機能に由来し、二次代謝産物と呼びます。二次代謝産物の組成は、植物種ごとに非常に多様性に富んでおり、その中から人類は役に立つ成分を見つけて利用してきました。二次代謝産物が持つ機能をより有効に利用するには、どんな二次代謝産物が、どの植物に、どれくらい含まれているのかを調べる必要があります。これは代謝産物（メタボライト）の総体（オーム）を調べるという意味で、メタボローム分析と呼ばれ、世界中で技術開発が活発に進められています。

研究チームは、液体クロマトグラフィー-タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）<sup>\*3</sup>を用いたメタボローム分析系を構築し、モデル植物であるシロイヌナズナに含まれる二次代謝産物の MS/MS スペクトルを網羅的に取得しました。その結果、合計1万以上のスペクトルからなる代謝産物ライブラリーを世界で初めて構築しました。このライブラリーは、メタボローム分析で検出した二次代謝産物の構造を知るための基盤となります。ライブラリーの情報から、シロイヌナズナの花には、これまで知られていなかった二次代謝産物が多数含まれていることがわかりました。また、当センターが保有するシロイヌナズナの遺伝子破壊株系統のメタボローム分析を行い、どの二次代謝産物が増加、減少したかを調べたところ、ライブラリーを参照することで、容易に破壊された遺伝子の機能を予測できました。

今後、さらに多くの植物種で同様のライブラリーを作成すれば、新たな有用成分やその代謝関連遺伝子を発見し、機能を予測できるようになります。その結果、植物から、より効率的に医、食、工業材料などに利用可能な、人類に欠かせない有用成分を取得できるようになります。

本研究成果は、英国の科学雑誌『*The Plant Journal*』のオンライン版に11月11日に掲載されました。

## 1.背景

植物は、非常に多様な構造の二次代謝産物を生成し、その機能を利用することで、過酷な環境の中を生き抜いていると考えられています。二次代謝産物の中には、花の色に関わるアントシアニン類、抗腫瘍活性を持つインドールアルカロイド類、抗酸化活性を持つフラボノイド類、甘みを持つトリテルペン類など、人類の健康や福祉に役立つ有用成分として古くから利用されてきた産物もあります。植物の二次代謝産物の機能をより深く理解し、利用するためには、どんな二次代謝産物が、どの植物に、どれくらい含まれているのかを調べる必要があります。近年、そのための手法として、メタボローム分析（代謝産物・メタボライト+総体・オームを組み合わせた造語）と呼ばれる手法が利用可能になってきました。この研究により、各植物種は予想よりも多様な二次代謝産物を含んでいることが明らかになってきました。しかし、検出した成分の多くは構造がわかっていません。メタボローム分析の成分同定能力を向上させ、植物の二次代謝産物の多様性をとらえることは、植物の新たな二次代謝産物の機能や関連遺伝子の発見へとつながり、有用物質生産や作物保護などを推進する大きな原動力になると期待できます。

## 2.研究手法と成果

研究チームは、植物の二次代謝産物の網羅的な解析を目指して、複数の分析技術を組み合わせたメタボローム分析パイプラインの構築を行っています。本研究ではその一部として、液体クロマトグラフィー-タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）を用いた、メタボローム分析法を構築しました。この方法により、モデル植物であるシロイヌナズナの葉、茎、花を分析したところ、シロイヌナズナには 20 程度の既知の二次代謝産物に加えて、少なくとも 300 以上の未知の二次代謝産物が含まれているとわかりました。さらに、MS/MS スペクトル情報から成分の構造が推定できることに着目し、検出した多数の二次代謝産物について、系統的な MS/MS スペクトルの取得を行いました。今回、この MS/MS スペクトル情報をまとめ、合計 10,000 以上からなるライブラリーを世界で初めて構築し、（ホームページ：<http://prime.psc.riken.jp/>）を公開しました（図 1）。

研究チームは、このライブラリーを用いることで、シロイヌナズナの花に多量に含まれる 11 種の成分が、シロイヌナズナでは新規発見の成分となるジクマロイルスペルミジンと、その類縁体であることを明らかにしました。ジクマロイルスペルミジンの類縁体は、イネやタバコなど、ほかの植物種の花粉に多く存在することが知られていますが、生理的役割や生合成にかかわる遺伝子は、今のところよくわかっていません。これまで理研が整備してきた、さまざまなシロイヌナズナの研究ツールやリソースを用いることで、イネやタバコでも、その機能の解明が進むと期待できます。

当センターでは、遺伝子の機能探索を行うためのリソースとして、シロイヌナズナのそれぞれの遺伝子に *Ds* トランスポゾン<sup>\*4</sup>が挿入された、遺伝子破壊株のコレクションを保有しています。この中から、二次代謝産物にかかわる糖転移酵素またはメチル基転移酵素の破壊株 60 系統についてメタボローム分析を行ったところ、MS/MS スペクトルライブラリーを参照することで、どのような二次代謝産物が増加、減少したかを容易に突き止めることができました。つまり、MS/MS スペクト

ルの情報を利用すれば、これまでよりも容易に遺伝子の機能を予測できるようになることがわかりました。

### 3.今後の期待

研究チームが構築した LC-MS/MS を用いたメタボローム分析法を用いると、どんな二次代謝産物が、どの植物に、どれくらい含まれているのかを調べることができるようになります。その結果、植物に含まれる有用成分を探したり、その生合成に関わる遺伝子を見つけるなど、さまざまな用途への応用が期待できます。現在、イネ、コムギをはじめとする、さまざまな作物や薬用植物の成分について、MS/MS スペクトルのライブラリーの作成を進めています。ゲノム配列、遺伝子発現、天然物化学などこれまで蓄積されてきた情報と、MS/MS スペクトルの情報を統合することで、植物の二次代謝産物の機能の多様性への理解が深まり、医・食、工業材料など、人類に欠かせない有用成分を植物から取得するための戦略を立てることが可能となります。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

植物科学研究センター

メタボローム基盤研究グループ

グループディレクター 齊藤 和季 (さいとう かずき)

Tel : 045-503-9442 / Fax : 045-503-9489

メタボローム解析研究チーム

研究員 松田 史生 (まつだ ふみお)

Tel : 045-503-9442 / Fax : 045-503-9489

横浜研究推進部 企画課

Tel : 045-503-9117 / Fax : 045-503-9113

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

### <補足説明>

#### ※1 二次代謝産物

植物の生存に必須である糖、有機酸、アミノ酸、脂質などを一次代謝産物、それ以外の多様な構造を持つ成分を二次代謝産物と呼ぶ。植物の外的への防御、ストレス耐性、昆虫の誘引などに関わると考えられている。

## ※2 タンデム型質量分析スペクトル(MS/MS スペクトル)

化合物の重さを調べる分析機器を質量分析計とよび、質量分析スペクトルは質量分析計から得られるデータのこと。質量分析計にもいくつかの方式があり、その1つがタンデム型質量分析計で、そのデータを MS/MS スペクトルと呼んで質量分析スペクトルと区別する。MS/MS スペクトルには、化合物の部分構造の情報がより多く含まれており、その解析から、化合物の構造をある程度推定可能である。

## ※3 液体クロマトグラフィー-タンデム型質量分析装置(LC-MS/MS)

液体クロマトグラフィー (LC) とは、代謝産物を分離する技術の1つ。液体クロマトグラフィーによって分離し、溶液として順次流れ出てくる個々の植物成分の質量を、タンデム型質量分析装置 (MS/MS) を用いて検出する。数千の成分を一度に検出可能である。

## ※4 トランスポゾン

特定の塩基配列を持ちゲノム上を動く DNA 断片のこと。転移因子。植物科学研究センターでは、トウモロコシの Ac/Ds と呼ばれる種類のトランスポゾンを利用して、たくさんの挿入変異体を作製している。今回使用したトランスポゾンは、アメリカの生物学者のバーバラ・マックリントック博士が 1940 年代に発見したものが基になっており、同博士はこの現象の発見により 1983 年に生理学・医学ノーベル賞を受けている。

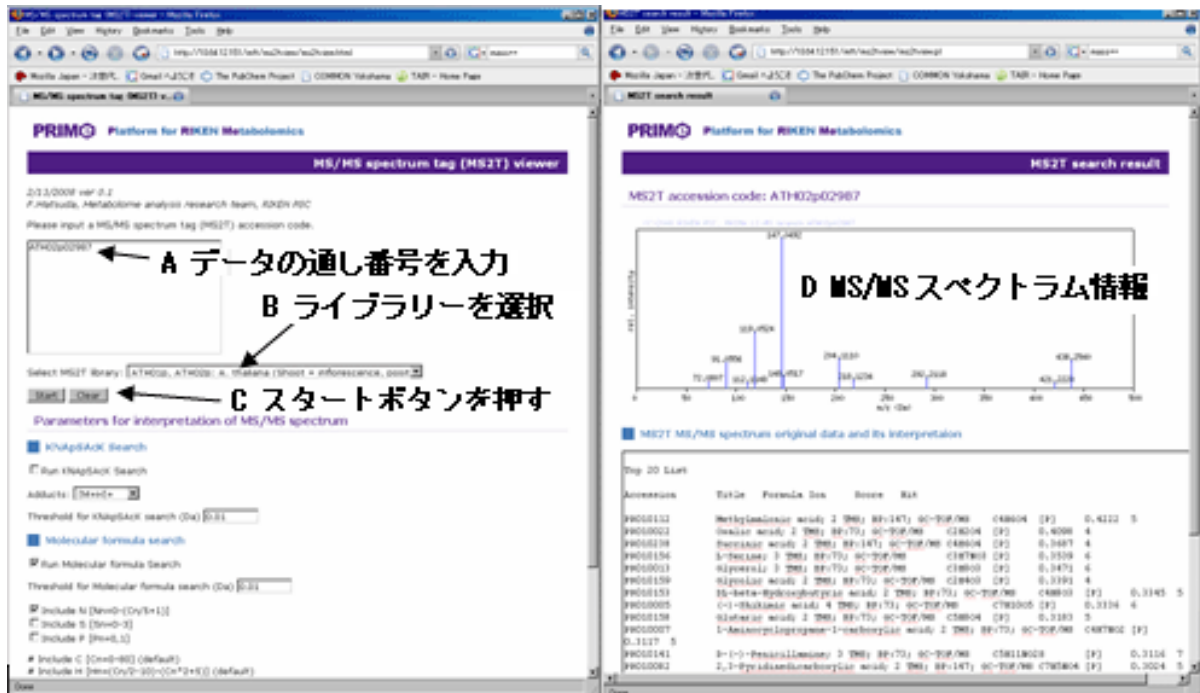


図 1 植物二次代謝産物 MS/MS スペクトルライブラリーの画面例

- (左) MS/MS スペクトルデータの通し番号を入力し (A)、ライブラリーを選択して (B)、ボタンを押す (C)。
- (右) 該当するデータの MS/MS スペクトル情報を表示 (D)。このスペクトルにより、どのような二次代謝産物が、どのくらいの量含まれているかがわかる。このスペクトルライブラリーは、メタボローム基盤研究グループのデータベース (PRIME:<http://prime.psc.riken.jp/>) より公開している。