

2008年9月2日

独立行政法人 理化学研究所

植物の抗酸化成分フラボノイドの新規生合成経路を発見

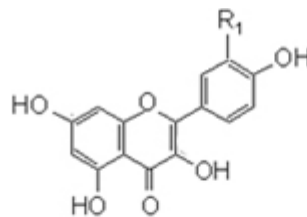
- 詳細な代謝マップにより、成分改変を目指した統合的戦略が可能に -

植物の天然成分のフラボノイドは、身体を酸化させる原因となる活性酸素の除去、高血圧の改善、抗がん作用など健康を増進する機能が注目を集めています。大豆に含まれるイソフラボン、そばのルチン、花や果実の色素成分で赤ワインに含まれるアントシアニン、緑茶のカテキンなどが知られ、現在までに7,000種の構造が明らかとなっています。

このフラボノイドが、植物中で安定に蓄積するためには、配糖化酵素「UGT」が働いてフラボノイドの骨格に糖を付加することが必要です。モデル植物のシロイヌナズナでは、これまでに天然の糖であるグルコースやラムノースを付加するUGTが5つ見つかっていますが、それ以外のUGTは、存在が示唆されながら見つかっておらず、フラボノイド配糖化の詳細な代謝マップは明らかになっていませんでした。

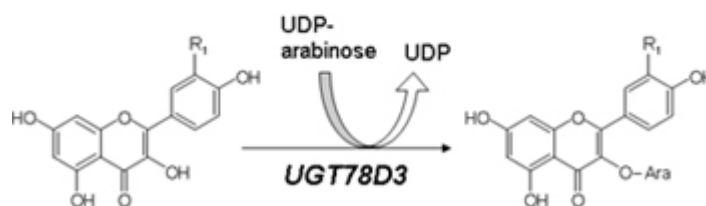
植物科学研究センターの代謝機能研究チームとメタボローム解析研究チームは、シロイヌナズナの葉、花などのいろいろな器官やフラボノイド合成変異体を網羅的に調べ、シロイヌナズナが43種類のフラボノイドを生産していることを突き止めました。また、生合成に関与する遺伝子を探索した結果、フラボノールにアラビノースを転移する酵素遺伝子「*UGT78D3*」を発見しました。同時に、この酵素が関与して生産する3種の新規フラボノイドの構造も明らかにしました。

今回、フラボノイドの新たな代謝経路が明らかとなり、これを利用して今後さらに関連する遺伝子や代謝系が見つかり、医・食、工業材料など人類に欠かせない有用成分を植物の改変で獲得する、俯瞰的な戦略を立てることができると期待されます。



フラボノイドの基本構造

ケンフェロール($R_1 = H$)、ケルセチン($R_1 = OH$)



発見したフラボノールの代謝反応

ケンフェロール($R_1 = H$)、ケルセチン($R_1 = OH$)

2008年9月2日
独立行政法人 理化学研究所

植物の抗酸化成分フラボノイドの新規生合成経路を発見

- 詳細な代謝マップにより、成分改変を目指した統合的戦略が可能に -

◇ポイント◇

- ・シロイヌナズナで、少なくとも43種類のフラボノイドの生産を確認
- ・バイオインフォマティクスを活用し、フラボノール・アラビノース転移酵素を初めて発見
- ・シロイヌナズナが生産する3つの新規フラボノイド成分の構造を同定

独立行政法人理化学研究所(野依良治理事長)は、植物の主要な抗酸化物質^{*1}であるフラボノイドの生合成において、フラボノールにアラビノースを転移する新たな反応経路を初めて発見し、詳細な代謝マップを明らかにしました。これは、理研植物科学研究センター(篠崎一雄センター長)代謝機能研究チームの榊原圭子研究員、メタボローム解析研究チームの峠隆之リサーチアソシエイト(現ドイツ・マックスプランク研究所 博士研究員)および両研究チームのチームリーダーである斉藤和季グループディレクターらによる研究成果です。

フラボノイドは、活性酸素の除去、抗がん作用、抗アレルギー作用、高血圧の改善などの健康増進機能を持つポリフェノールの1種で、花や果実の色素成分であるアントシアニン、ダイズに含まれるイソフラボン、そばのルチン(フラボノール)などが一般的によく知られています。植物中でフラボノイドが安定に蓄積するためには、配糖化酵素^{*2}(UGT)によってフラボノイドの骨格に糖を付加することが必要です。これまで、シロイヌナズナでは、フラボノイドにグルコース、ラムノースなど天然に存在する糖を付加する5種類のUGTが見つかっていましたが、これ以外の糖を付加するUGTの存在も示唆されており、フラボノイドの配糖化の詳細な代謝マップは明らかになっていませんでした。

研究チームは、モデル植物であるシロイヌナズナの葉、花などのいろいろな器官やフラボノイド合成変異体に存在するフラボノイドの種類と量を網羅的に調べ、シロイヌナズナが生産しているフラボノイドが少なくとも43種類あることを解明しました。また、バイオインフォマティクスの重要な手法の1つである遺伝子共発現解析^{*3}を用いて、フラボノイド成分の生合成に関与する遺伝子を網羅的に探し、フラボノイドの1種であるフラボノールにアラビノース(天然に存在する糖の1種)を転移する酵素遺伝子「*UGT78D3*」を初めて発見しました。同時に、この酵素が関与する代謝反応の結果生産される新規フラボノイド成分のうち3つの構造を突き止めました。また、フラボノイド代謝系に供給するUDP-ラムノースを合成するUDP-ラムノース合成酵素遺伝子「*RHM1*」を見つけ、この代謝経路が配糖化様式に影響を与えることを明らかにしました。

今後、さらに多くの関連遺伝子や代謝系を見つけることができると、植物の体内で起きている仕組みを詳細に理解することが進み、医・食、工業材料など人類に欠かせない有用成分を植物の改変で獲得するため、より俯瞰的な見地から戦略を立てることが可能となります。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*The Plant Cell*』(9月号)に掲載されます。

1. 背景

フラボノイドは、活性酸素の除去や抗がん作用、抗アレルギー作用、抗菌・抗ウイルス作用、高血圧の改善など健康増進機能を持つポリフェノールの1種です。古くから、人類は、フラボノイドを含む植物の葉や果実に薬理効果のあることを経験的に認識し、民間薬として利用してきました。花や果実の色素成分であるアントシアニンをはじめ、ダイズに含まれるイソフラボン、そばのルチンもフラボノイドの仲間です。現在までに約7,000種類のフラボノイドの構造が明らかになっています。すでに、フラボノイドの合成にかかわる遺伝子も同定され、遺伝子組み換えを利用してフラボノイドの成分を改変し、花の色を変化させた植物も作り出されています。

しかし、一部分だけを改変しても、思い通りに植物から人類に有用な成分を作り出せるとは限りません。それは、生物が、体内で、外部から取り入れた物質を分解したり変換するといったさまざまな化学反応（代謝）を行い、精密にバランスをとりながら生命を維持しているためです。このため、植物体全体の代謝を考慮して、戦略を立てる必要があります。

また、フラボノイドは、一部の例外を除いて、グルコース、ラムノース、キシロースなど、天然に存在する糖が付加されることによって植物体に蓄積することができます。言い換えれば、糖を付加できないと、植物はフラボノイドを生産する能力があっても蓄積できません。そのため、フラボノイドの配糖化の詳細な代謝マップを明らかにしていくことは、人為的な改変や植物成分による植物フラボノイドによる健康増進機能向上への応用において大変重要です。

2. 研究手法と成果

研究チームは、シロイヌナズナのさまざまな器官（葉、茎、花、根）に存在するフラボノイドや、フラボノイド合成変異体のフラボノイドの成分を分析しました。その結果、シロイヌナズナは、少なくとも43種類ものフラボノイドを生産できることを明らかにしました（図1）。

また、公共データベースを利用した遺伝子共発現解析というバイオインフォマティクスの手法を使い、フラボノイド合成に関与する遺伝子群と発現パターンがよく似た遺伝子を、シロイヌナズナに存在する約27,000遺伝子の中から網羅的に探しました。

この探索で見つけた約140の候補遺伝子の中から、フラボノイドの配糖化のパターンを決める配糖化酵素（UGT）遺伝子の1つである「*UGT78D3*遺伝子」を見いだしました。この*UGT78D3*遺伝子の機能が弱くなった植物体では、アラビノース（糖の1種）が付加したフラボノール（フラボノールアラビシド）が欠損していました（図2A）。大腸菌で発現させた*UGT78D3*組み換えタンパク質はフラボノールアラビシドを合成できたことから、この*UGT78D3*タンパク質がフラボノールの3位にアラビノースを転移する酵素であることを明らかにしました（図3A）。

さらに、同じ共発現解析で、UDP-ラムノース合成酵素遺伝子（*RHM1*）を、フラボノイド生合成関連遺伝子として見つけました。*RHM1*タンパク質が機能しない*RHM1*変異体では、3位にグルコースの付加したフラボノール（フラボノールグルコシド）の増加、ラムノースの付加したフラボノール（フラボノールラムノシド）の減少が観察され（図2B）、*RHM1*タンパク質がフラボノール代謝系にUDP-ラム

ノースの供給を行っていることを明らかにしました (図 3B)。

以上の結果から、目的物質の綿密な分析と遺伝子の発現様式の包括的な解析によって、UGT78D3 タンパク質によって触媒されるフラボノイドにアラビノースを付加する新たな生合成経路 (図 3A) と、シロイヌナズナに存在する 3 種類の UDP-ラムノース合成酵素遺伝子のうち、フラボノイド代謝系に供給する UDP-ラムノースを合成する酵素遺伝子は主に RHM1 であること (図 3B) を明らかにしました。また同時に、反応の結果生じる新規フラボノイド成分のうち 3 つの成分の構造を同定しました (図 4)。

今回のような手法を用いることで、新規の遺伝子機能の同定や、複数の代謝系間の関係が観察できることを示しました。

3. 今後の期待

植物の代謝の研究は、これまで、狭い部分を見た航空写真のように、限られた範囲だけしか観察できませんでした。しかし、ゲノム解読やさまざまな研究ツールが開発されたことで、より網羅的で総合的な研究を進めることができるようになりました。今回の研究で明らかにした、植物フラボノイドの詳細な代謝マップを活用することにより、さらに多くの関連遺伝子や代謝系を見つけることができると、人工衛星から地球を見るように、植物の仕組みが俯瞰できるようになります。植物から有用成分を得るための改変に向けて、より統合的に戦略を立てることが可能になると期待されます (図 5)。

(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

代謝機能研究チーム・メタボローム解析研究チーム

グループディレクター 齊藤 和季 (さいとう かずき)

Tel : 045-503-9488 / Fax : 045-503-9489

代謝機能研究チーム

研究員 榎原 圭子 (さかきばら けいこ)

Tel : 045-503-9491 / 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 抗酸化物質

活性酸素やフリーラジカルなど、生命活動に必須であるが、過剰に産生されると細胞などに損傷を与える物質を除去する働きをもつ物質。

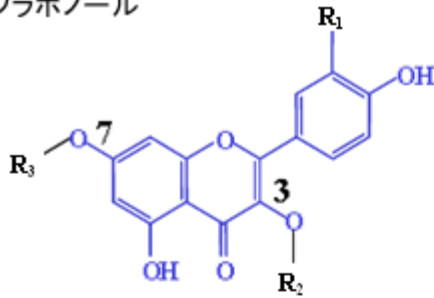
※2 配糖化酵素

配糖化酵素とは天然の化合物（フラボノイド、テルペノイド、植物ホルモンなど）に糖（グルコース、ラムノース、キシロースなど）を転移する酵素。天然の化合物は配糖化により、親水性が増したり、安定化したり、不活性化することから、化合物の蓄積やその機能の制御に関与していると考えられている。

※3 遺伝子共発現解析

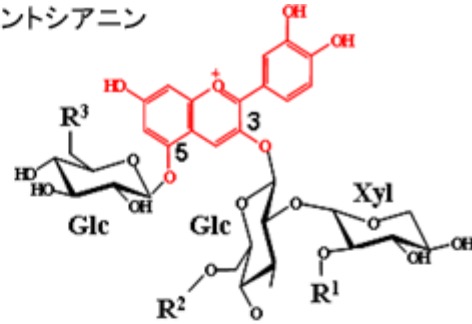
複数の遺伝子の発現パターンの相関の程度（相関係数：+1 から-1 までの数値で表される）を基準として、機能が未同定の遺伝子群から目的の遺伝子を見つけ出す解析手法。多くの場合、同一の生合成経路に属する遺伝子群は協調的に発現することから、相関係数が高い遺伝子群は、同一もしくは近接する経路、あるいは同時期に起こっている反応に関連する可能性が高いと考えられる。

フラボノール



- f1: R₁= H, R₂= rhamnoside, R₃= rhamnoside
- f2: R₁= H, R₂= glucoside, R₃= rhamnoside
- f3: R₁= H, R₂= rhamnosyl(1→2)glucoside, R₃= rhamnoside
- f4: R₁= H, R₂= glucosyl(1→6)glucoside, R₃= rhamnoside
- f5: R₁= OH, R₂= rhamnoside, R₃= rhamnoside
- f6: R₁= OH, R₂= glucoside, R₃= rhamnoside
- f7: R₁= OH, R₂= rhamnoside, R₃= glucoside
- f8: R₁= OH, R₂= rhamnosyl(1→2)glucoside, R₃= rhamnoside
- f9: R₁= H, conjugate
- f10: R₁= H, -hexose-deoxyhexose (*m/z* 595)
- f11: R₁= H, conjugate (*m/z* 741)
- f12: R₁= H, -3-O-rhamnoside conjugate (*m/z* 773)
- f13: R₁= OH, -hexose-deoxyhexose (*m/z* 611)
- f14: R₁= OMe, R₂= glucoside, R₃= rhamnoside
- f15: R₁= OMe, R₂= rhamnoside, R₃= glucoside
- f16: R₁= OH, R₂=glucoside, R₃=H
- f17: R₁= H, R₂=rhamnoside, R₃=H
- f18: R₁= H, R₂=glucoside, R₃=H
- f19: R₁= H, R₂= arabinoside, R₃= rhamnoside
- f20: R₁= H, R₂= rhamnoside, R₃= glucoside
- f21: R₁= H, R₂=glucose, hexose
- f22: R₁= H, R₂=pentose, deoxyhexose R₃=rhamnoside
- f23: R₁= OH, R₂=pentoside(arabinoside), R₃=H
- f24: R₁= OH, R₂=rhamnoside, R₃=H
- f25: R₁= OH, R₂= arabinoside, R₃= rhamnoside
- f26: R₁= OH, R₂=glucose, hexose
- f27: R₁= OMe, R₂=rhamnoside, R₃=H
- f28*: R₁= OMe, R₂= glucoside, R₃= H
- f29: R₁= OMe, R₂= arabinoside, R₃= rhamnoside
- f30: R₁= OMe, R₂= rhamnoside, R₃= rhamnoside
- f31: R₁= OMe, R₂=glucose, hexose
- f32: R₁= OMe, R₂= rhamnosyl(1→2)glucoside, R₃=rhamnose

アントシアニン



- A1: R₁= H, R₂= H, R₃= H
- A2: R₁= H, R₂= H, R₃= malonyl
- A3: R₁= H, R₂= *p*-coumaroyl, R₃= H
- A4: R₁= sinapoyl, R₂= H, R₃= H
- A5: R₁= H, R₂= *p*-coumaroyl, R₃= malonyl
- A6: R₁= H, R₂= -*p*-coumaroyl-Glc, R₃= H
- A7: R₁= sinapoyl, R₂= *p*-coumaroyl, R₃= H
- A8: R₁= H, R₂= -*p*-coumaroyl-Glc, R₃= malonyl
- A9: R₁= sinapoyl, R₂= *p*-coumaroyl, R₃= malonyl
- A10: R₁= sinapoyl, R₂= -*p*-coumaroyl-Glc, R₃= H
- A11: R₁= sinapoyl, R₂= -*p*-coumaroyl-Glc, R₃= malonyl

図 1 シロイヌナズナが生産する 43 種類のフラボノイド

シロイヌナズナは、青色で示したフラボノール基本骨格 (R₁=H ; ケンフェロール、R₁=OH ; ケルセチン、R₁=OMe ; イソラムネチンの 3 種類)、赤色で示したアントシアニン基本骨格 (シアニジン) を持つ。Glc : グルコース、Xyl : キシロース。

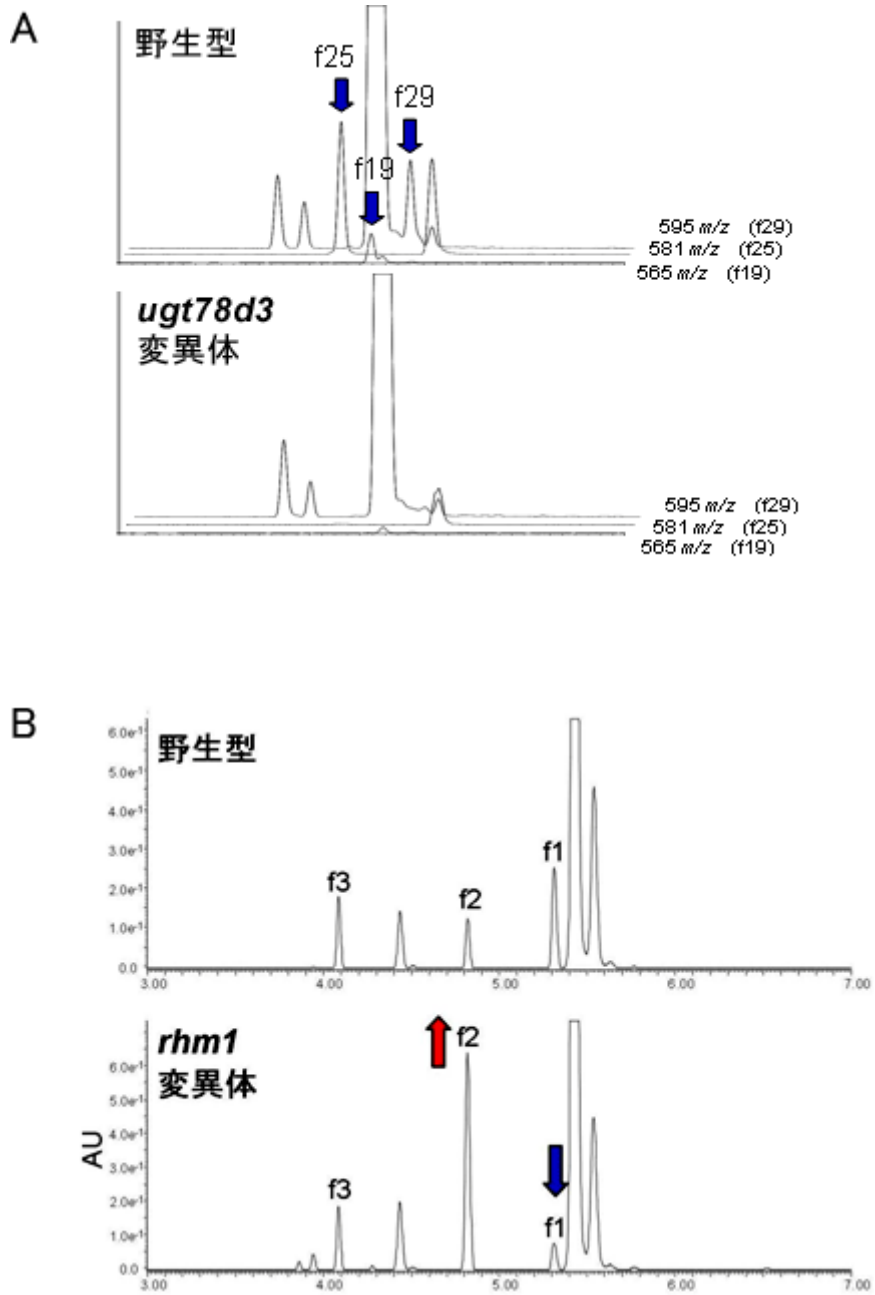


図2 A: 野生型と *ugt78d3* 変異体におけるフラボノールの分析結果
B: 野生型と *rhm1* 変異体におけるフラボノールの分析結果

A: *ugt78d3* 変異体では、フラボノールアラビノシド（ピーク f19、f25、f29：青矢印）が検出できなかった。

B: *rhm1* 変異体では、ピーク f1（ケンフェロール 3 ラムノシド 7 ラムノシド：青矢印）が減少し、ピーク f2（ケンフェロール 3 グルコシド 7 ラムノシド：赤矢印）が増加していることがわかる。

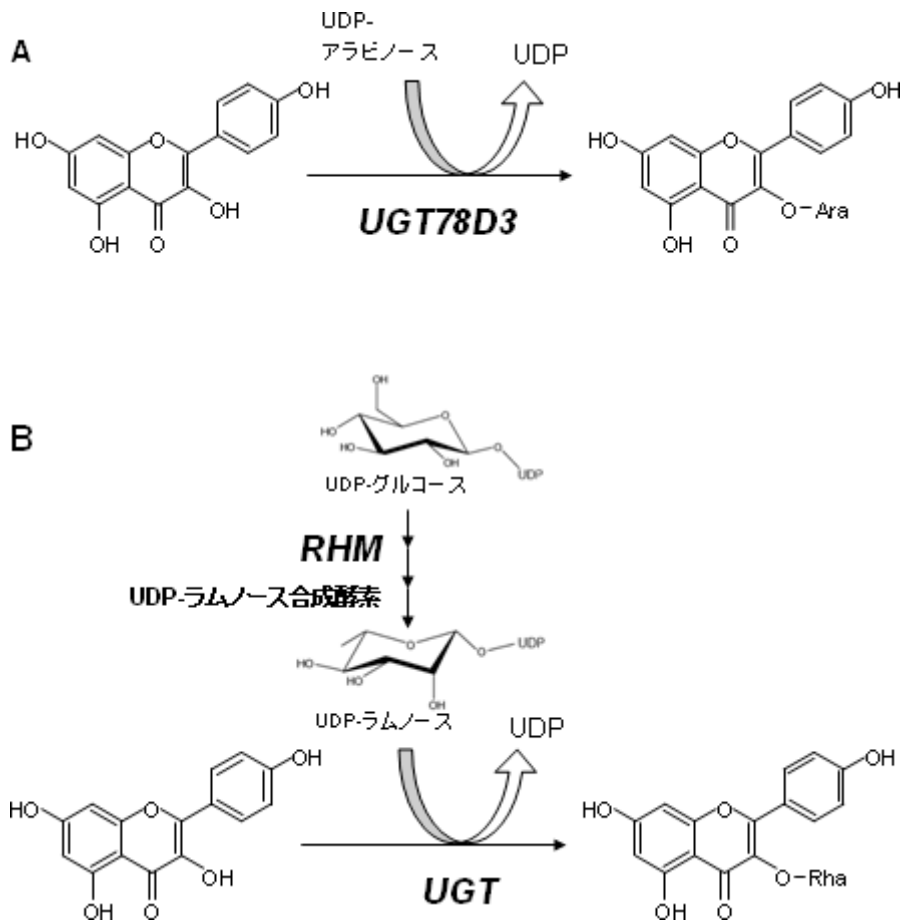


図3 発見したフラボノールの代謝反応

A:フラボノール・アラビノース転移の反応経路。UGT78D3 はフラボノールの3位にアラビノースを転移する反応を触媒する。

B: RHM1 は UDP-ラムノースを合成し、フラボノール代謝系に供給する。

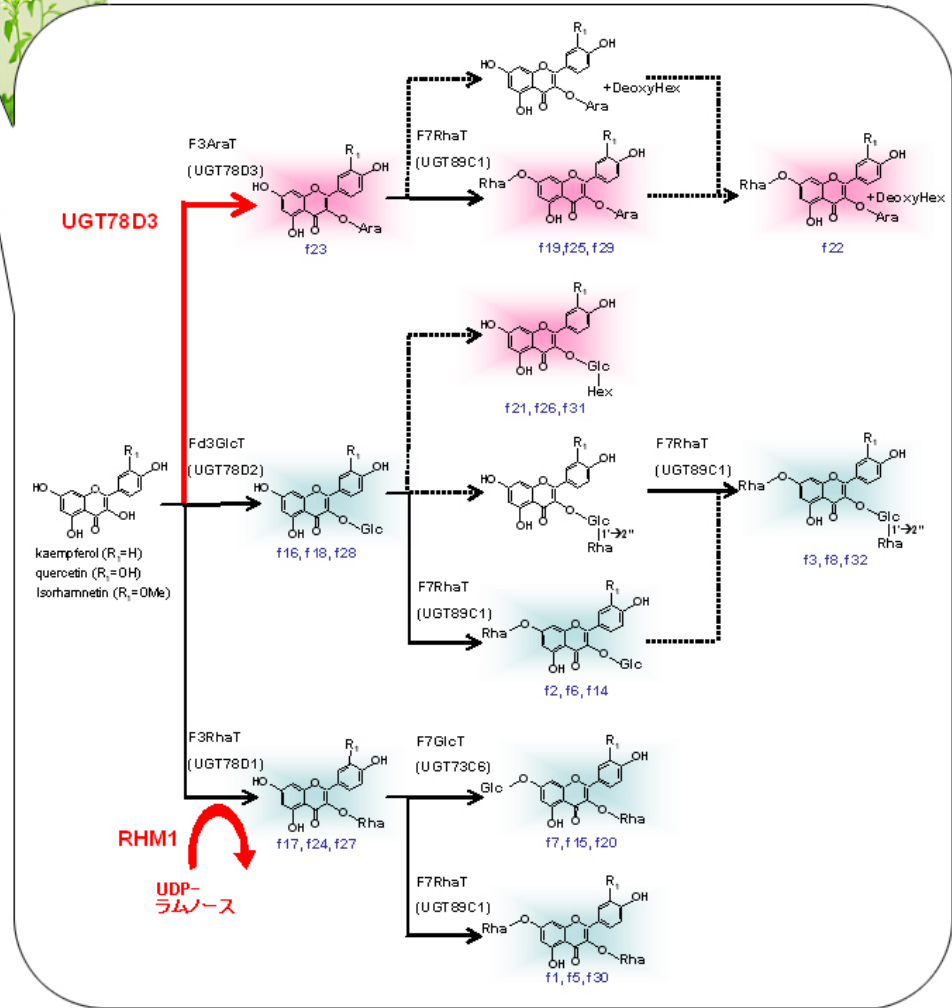


図4 シロイヌナズナの花における推定フラボノール代謝地図

新しく見つけたフラボノール配糖体（赤い背景：f19、21、22、23、25、26、29、31）とアラビノース・フラボノール転移酵素遺伝子の反応経路（青矢印）を示した。既知のフラボノール配糖体は青い背景で示した。今回、構造決定に至ったのは（f19、25、f29）の3つ。それ以外の構造は推定。赤い矢印は、UDP-ラムノースを供給する反応。

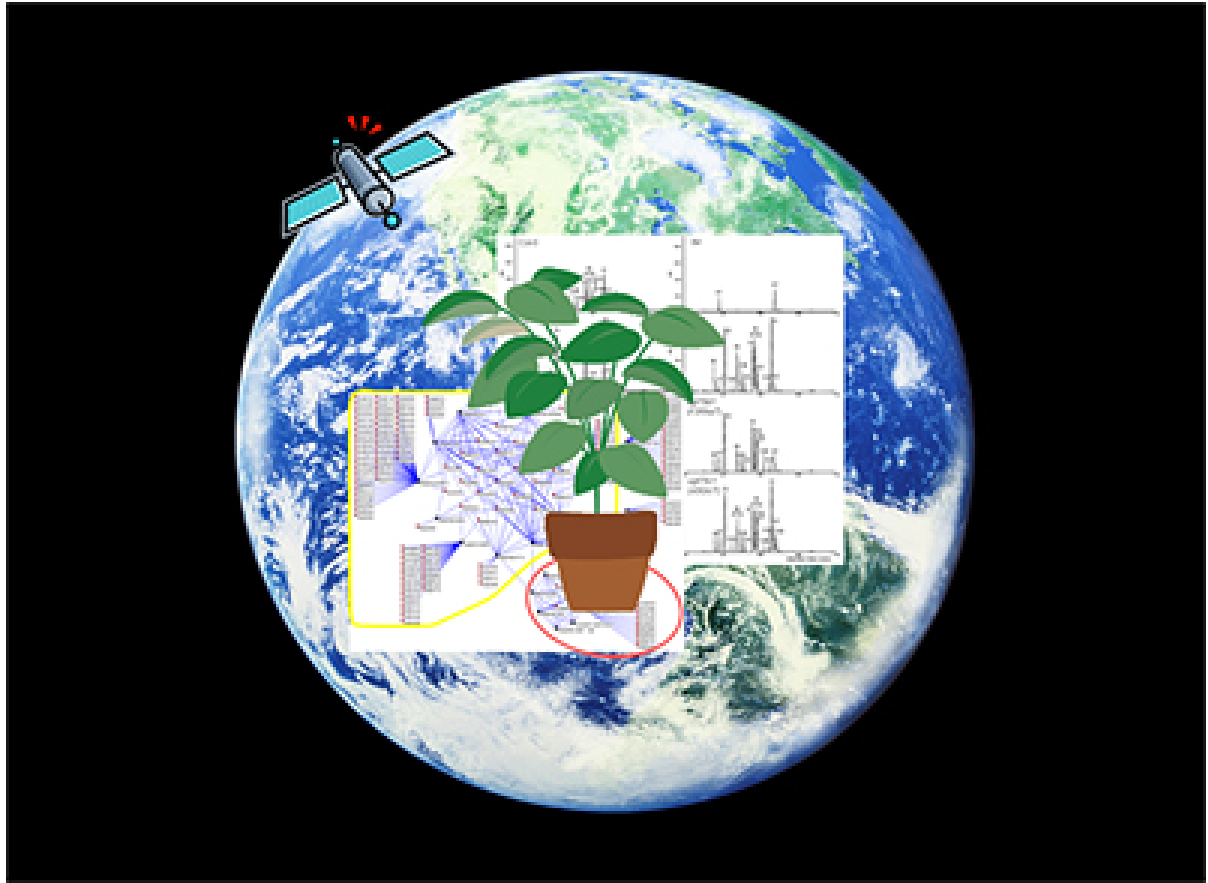


図5 研究のイメージ図

植物の代謝にかかわる因子（遺伝子や代謝系など）を明らかにすることができると、より高い視点から研究戦略を立てることができる。