

植物成分を微生物に作ってもらう

棟方 涼介^{1*}

Microbes are new producers of phytochemicals

Ryosuke MUNAKATA^{1*}

概要

お茶やコーヒーの覚醒成分カフェインや、バラの放つ香り成分、薬用植物が貯める薬効成分など、植物が作る化合物は私たちの生活の至る所で活躍している。植物成分は100万種にも及ぶとされ^{1,2)}、持続型社会を支える天然資源として活用拡大が期待されている。しかしながら、植物の有用成分の中には特定の植物種に微量にしか含まれない、また原料植物の大規模育成が困難である場合も多いなど、植物成分の大量生産に向けて植物ならではの課題が残っているのが現状である。この解決に向けて、植物成分を植物ではなく微生物に作らせるという手法が近年注目を浴びている。本原稿ではこの新しい生産方法の持つポテンシャルについて紹介する。

1. はじめに ～人の生活を彩る植物成分～

コーヒーを片手にこの要旨を読み始めた方、その中には、カフェインによる覚醒作用を期待している方もおられるのではないだろうか(図1)。カフェインは身近な植物成分の代表ともいえる化合物である。他にも、調理の際には辛み付けに唐辛子を加えるが、この辛さの素となる成分はカプサイシンである(図1)。薬効本体として植物成分やその誘導体が含まれる薬も多種存在する。さらには、香り成分や天然色素、ビタミン、また機能性成分として植物成分が活用されている。このように植物成分は我々の生活を様々な面で彩っている(図1)³⁾。近年、化石資源依存からの脱却が世界的に進められており、植物成分は未来の持続可能型社会の構築に貢献しうる天然資源として注目を浴びている⁴⁾。しかしながら、植物成分の種類は100万種とも推定されているものの、いまだその多くが未利用なのが現状である。

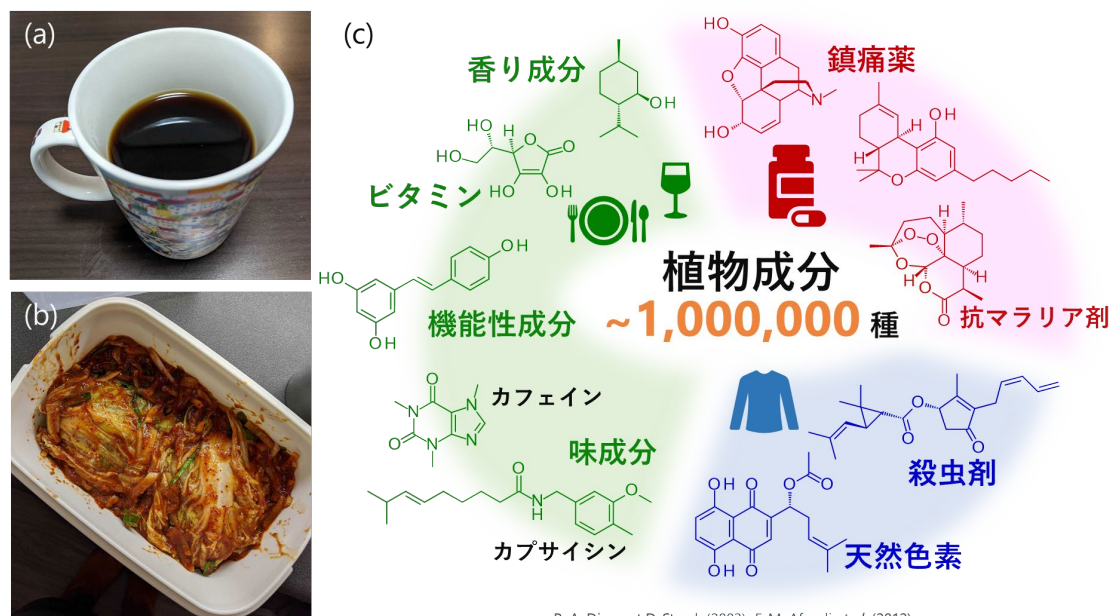
2. 植物成分の利用に向けた課題と新潮流

植物成分の利用拡大にはまだ多くの課題が残されている。その1つとして、目的成分について産業利用するだけの量をどのようにして手に入れるかが挙げられる。植物成分を取得しようとする際に用いられる手段の1つが、目的成分を含有する植物からの抽出である。この場合、原料となる植物の栽培が簡単で、収穫量が多く、またダイズ種子に含まれるタンパク質のように目的成分が豊富に含まれていることが好ましく、植物成分が安価で多く取得可能となる。しかしながら、植物成分の中には植物体に微量しか含まれない場合もしばしばである。例えば、抗がん剤として用いられているパクリタ

2022年1月21日受理。

¹〒611-0011 宇治市五ヶ庄 京都大学 生存圏研究所 森林圏遺伝子統御分野。

* E-mail: ryosuke_munakata@rish.kyoto-u.ac.jp



R. A. Dixon et D. Strack (2003); F. M. Afendi et al. (2012)

図 1：生活に身近な植物成分。(a) 覚醒成分カフェインが含まれるコーヒー。(b) 辛み成分カプサイシンが含まれるキムチ。(c) 植物成分の化学構造と機能・用途の例

キセルはイチイ属植物の樹皮から抽出されるが、その含量は樹皮乾燥重あたりわずか 0.01%程度である (図 2a) ⁵⁾。また、イネやダイズなど農業利用が定着している種とは異なり、大量栽培が困難な植物種も多い。その例がムラサキ科の薬用植物ムラサキである (図 2b)。ムラサキの根を乾燥させたものは紫根と呼ばれ、この生薬の薬効成分はシコニン類である ^{3,6)}。しかしムラサキはウイルスに弱く、実用可能な個体まで栽培するのが極めて困難である上に、自生する個体数が激減して現在は絶滅危惧種に指定されている。その他、天気などの環境要因によって目的成分の含量が大きく変動してしまうのも植物に広くみられる現象である。

化学合成も私たちの社会を支える重要な技術で、自動車の部品や合成洗剤、家電など、非常に多様なものを作るのに用いられているが、植物成分の合成も可能である。このメリットとして、植物の成分を作るといっても人工的に作るのも、植物に依存しないという点がある。つまり、環境要因に対して生産性が安定的である。さらに、植物から取り出す際には、目的成分以外の成分を除去する工程がとて煩雑であるが、化学合成の場合はその点、精製が一般的に簡単とされている。ただし、この手法はしばしば、高温、高圧下、極端な pH、また重金属存在下など環境負荷の高い反応条件が必要となる。さらに、複雑な化学構造を持つ植物成分を合成する際にも障壁が出てくる。

これらの従来の生産法の課題を解決する新たな方法が近年脚光を浴びている。植物が持つ”有用成分を作る能力”を、微生物に付与することで、微生物に植物成分を作ってもらえるものである ⁷⁾。これは新たな能力を持つ生物を創る・デザインするという観点から、合成生物学的な生産法とも呼ばれている。

3. 植物成分の微生物による生産法の特徴と利点

3.1 酵素のチカラ

”有用成分を作る能力”の主役が「酵素」である。一般的に酵素はタンパク質に分類される。タンパ

ク質と聞くとお肉や卵などから摂取できる成分と思われるかもしれないが、タンパク質には栄養源以外の働きもあり、その一つが酵素である。酵素はすべての生物、私たち人間も持っている。例えば、食事の際には食べた野菜やお肉、お米を胃や腸で消化・分解して吸収を助けるのも酵素の役割である。本論文では、分解から成分を変換する（変える）というように解釈を広げて、（あいまいな表現ではあるが）「酵素は化合物を別の化合物に高効率で変えてくれるタンパク質」と認識していただきたい。ここで変換される元の化合物を基質、基質が変換されて作られる化合物を生成物と称する。酵素の種類によって基質となる化合物の化学構造（形）、また同じ基質からでも酵素変換されてできてくる生成物が異なり、これらはそれぞれ基質特異性、生成物特異性（反応特異性）という重要な酵素化学的な特徴である（図 3a）⁸⁾。



図 2: 生理活性成分を持つ植物。(a) 抗がん剤パクリタキセルを持つイチイ属植物（京都大学・生存圏研究所 草野博彰博士より提供）(b) 抗炎症成分シコニンを持つムラサキの地上部と根（京都大学生存圏研究所 矢崎一史教授及び李豪氏より提供）。根表皮がシコニンの蓄積部位。

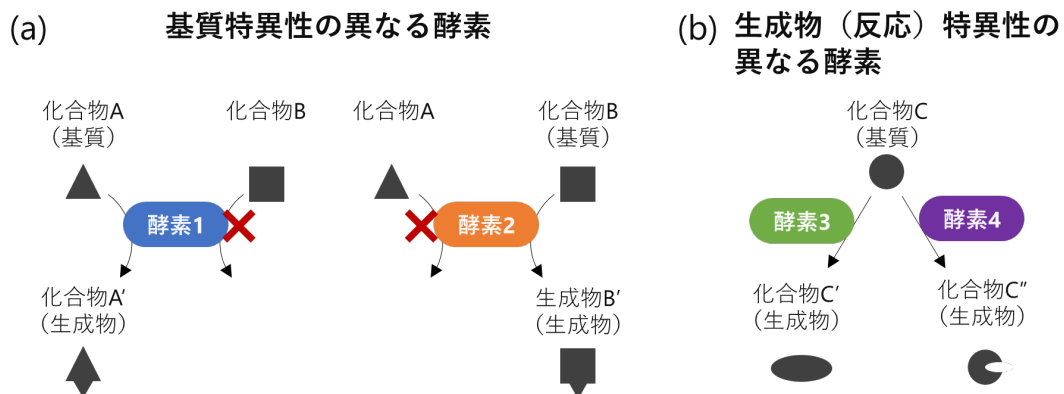


図 3: 植物成分を多様化させる酵素の性質。(a) 基質特異性。酵素 1 と酵素 2 は基質として認識する化合物の構造（形）が異なる。(b) 生成物（反応）特異性。酵素 3 と酵素 4 は同じ化合物を基質とするが、行う反応が異なるため、生成物となる化合物の構造が互いに異なる。

主に酵素は生きた細胞の中で働いているため、酵素反応が進行する条件は常温・常圧など穏やかで環境負荷が小さいとされる。また、酵素は高い基質特異性・生成物特異性を示すものが多く、概して複雑な化学構造をもつ化合物でも正確に作ることが得意である。酵素のこれらの利点は、前述した化学合成としばしば対比される。

これまでの研究で、植物は様々な酵素を獲得することで、100万種にも及ぶとされる成分の多様性を生み出していることがわかってきた⁹⁾。多様な酵素が存在すると、様々な化合物が基質として酵素反応に用いられ、またその変換のされ方も多様になるため生成物の種類が多くなる。加えて、生成物が別の酵素の基質としてさらに変換されていく。このように様々な酵素反応に支えられて植物成分の多様性が高まってゆく。

ここで興味深いのは、植物種ごとに酵素のバリエーションが異なるということである。この差異により、成分にも種ごとの個性が生まれてくる。冒頭の例を用いると、カフェインだけではなくカフェインを作るための酵素(群)もコーヒーノキ(コーヒー豆の原料となる植物名)に特有なものである。

3.2. 微生物のチカラ

植物由来の酵素を利用して微生物に植物成分を作ってもらう際には、酵素そのものではなく、酵素の設計図である遺伝子を微生物に導入する。すると微生物が培養されている間に設計図を基に転写・翻訳といった過程を通じて体内で酵素を生産し、その酵素が目的成分を作る(図4)。そのため、植物が必要となるのは、設計図となる遺伝子を探索する段階だけで、場合によっては冷凍保存しておいた葉っぱ1枚あれば目的の遺伝子が取得できてしまう。また、この生産法では、培養や化合物生産制御が容易、また遺伝子導入法が確立されている、酵素生産技術が充実しているといった、扱いが簡便な微生物種を用いることが多い¹⁰⁾。大量生産をこのような微生物種に任せることは、栽培困難な植物種が有する成分や、植物における含量が変動しやすい成分をターゲットとする際に大きな利点となると考えられる。

出芽酵母や大腸菌が植物成分の生産に最もよく用いられているが、他種の例も報告されている。日本人に縁のあるものとしては、日本食に欠かせない麹菌が、酵素生産が得意な種として近年注目されている。また、緑藻や珪藻といった光合成可能な微生物種を用いることで、光合成で得たエネルギー、炭素源から植物成分を生産させる研究も進められている^{11,12)}。

4. 植物成分の微生物による生産の例(図5)

最も有名な成功例の1つが、キク科クソニンジンが持つ抗マラリア剤アルテミシニンの前駆体成分を出芽酵母に生産させた研究である¹³⁾。クソニンジン由来の複数の酵素遺伝子の導入、及び出芽酵母が元々有する酵素反応の強化などを通じて、出芽酵母に培地の基礎成分からアルテミシニン前駆体を生産させることに成功している。その生産性は培地1リットル当たり25グラムである。これは2013年の例だが、2021年現在の他の植物成分の微生物生産の報告例と比較しても非常に優れたものである。医薬品原料としては、イチイ属植物が持つ抗がん剤パクリタキセルの前駆体の大腸菌及び出芽酵母による生産例¹⁴⁾も報告されている。さらに、モルヒネに代表されるケシの鎮痛剤オピエート類も出芽酵母で生産することが可能となった¹⁵⁾。この研究では、植物の酵素と共に細菌由来酵素を同時に出芽酵母で働かせるという工夫を加えることで、より高付加価値の化合物を作り出すことにも成功している。

微生物により生産可能となった化合物は医薬品原料だけではない。柑橘の香りリモネンやバラの香りゲラニオールといった香気成分、ブドウなどに含まれるポリフェノール的一种レスベラトロールや、キク科植物に含まれる抗肥満作用を示すアルテピリンCといった機能性成分など、多様な用途の植物成分について微生物生産例が報告されている^{10,16)}。

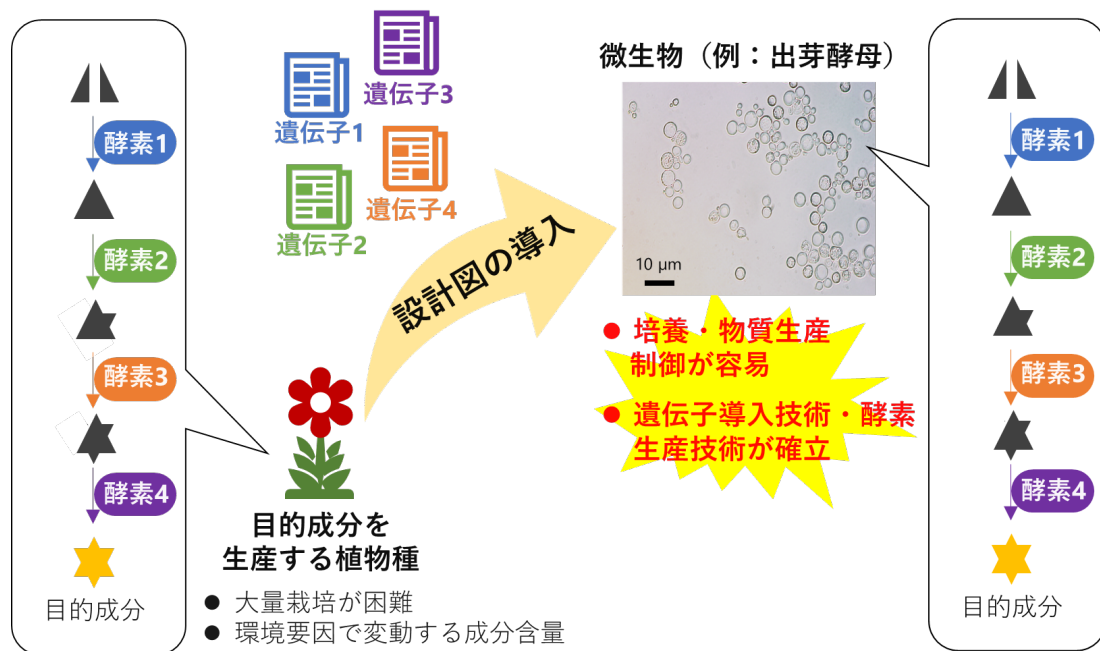


図4：植物の酵素を利用した植物成分の微生物生産法の概念図。目的成分を含有する植物種から、その生産に必要な酵素1-4の設計図となる遺伝子1-4を取得し、微生物に導入する。導入された微生物は目的成分の生産能を獲得する。

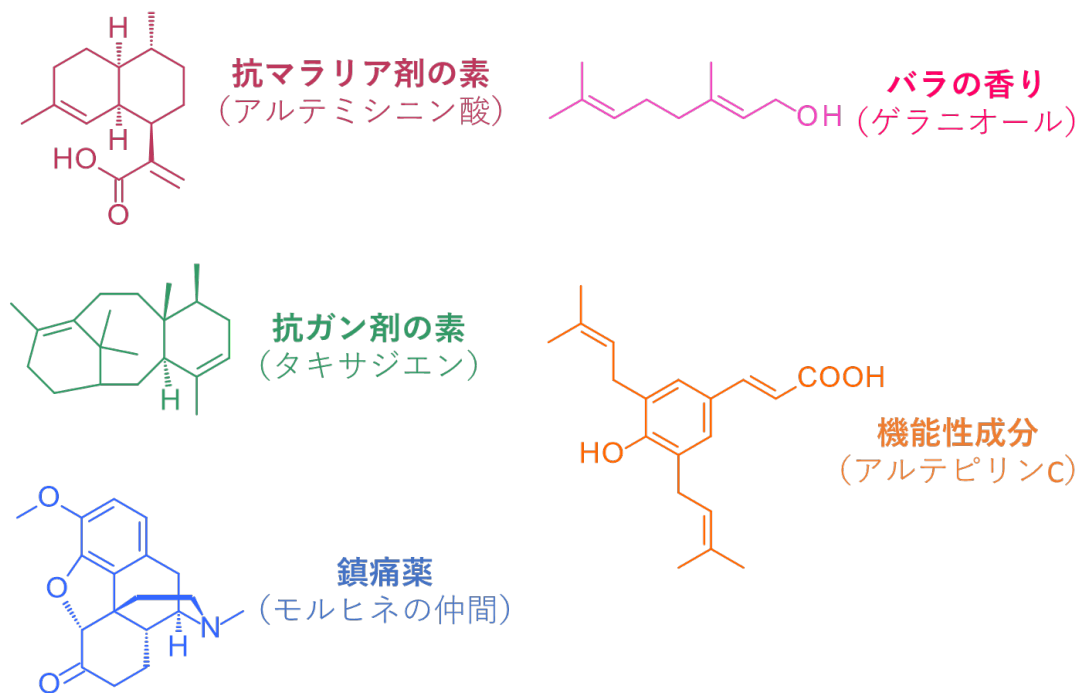


図5：微生物によって生産された植物成分の例。化学構造式と用途、また化合物名を記載。

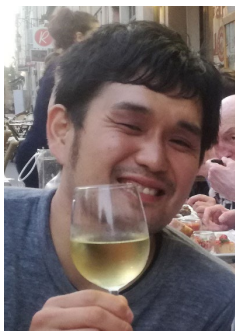
5. おわりに

本総説で紹介した植物成分の微生物による生産法は、従来の手法の欠点を補う特徴があることから、近年急速に研究が進んでいる。しかしながらこの手法もいまだ乗り越えなければならない課題が多い。というのも、単に植物の設計図を微生物に入れても、目的成分の生産量がほんの僅かという結果に留まることが多く、産業利用可能なレベルまで生産性が高められたケースは現状ごくわずかである。この原因として例えば、植物の遺伝子を微生物という全く異なる生物種に導入することになるため、微生物が植物の設計図から酵素を正確に作ることができず目的成分の生産が認められない、また微生物内で生産された目的成分が微生物自身に毒性を示すといった現象が報告されている。今後、酵素を改変する、最適な微生物種を発見する・デザインするなど、様々な観点で改良を重ねることで、将来微生物が植物成分の新たな供給源として社会に浸透していくと期待される。

参考文献

- 1) Dixon, R.A. et Strack D., Phytochemistry meets genome analysis, and beyond, *Phytochemistry*, **62**, pp. 815-816, 2003.
- 2) Afendi F.M. et al., KNAPSAcK family databases: integrated metabolite-plant species databases for multifaceted plant research, *Plant Cell Physiol.*, **53**, p. e1, 2012.
- 3) 飯島陽子、田口悟朗、食品成分・薬用成分・毒、“基礎から学ぶ植物代謝性化学”，水谷正治 編、羊土社、2018、pp. 283-300
- 4) https://www.mext.go.jp/b_menu/houdou/2020/mext_00488.html
- 5) Vidensek N. et al., Taxol content in bark, wood, root, leaf, twig, and seedling from several *Taxus* species, *J. Nat. Prod.*, **33**, pp. 1609-1610, 1990
- 6) 矢崎一史、ムラサキ科植物におけるシコニン生合成研究の新潮流、*ファルマシア*, **57**, pp. 705-709, 2021
- 7) 棟方涼介、マイクロ・ビオな植物成分の生産、*バイオメディア*,”*生物工学会誌*”, **99**, p. 83, 2021
- 8) 水谷正治、大西利幸、生合成概論、“基礎から学ぶ植物代謝性化学”，水谷正治 編、羊土社、2018、pp. 145-172
- 9) 小埜栄一郎 他、進化、“基礎から学ぶ植物代謝性化学”，水谷正治 編、羊土社、2018、pp.270-282
- 10) Pyne M. E, et al., Engineering plant secondary metabolism in microbial systems, *Plant Physiol.*, **179**, pp. 844-861, 2019
- 11) Vavitsas K. et al., The synthetic biology toolkit for photosynthetic microorganisms, *Plant Physiol.*, **181**, pp. 14-27, 2019
- 12) Kajikawa M., Production of ricinoleic acid-containing monoestolide triacylglycerides in an oleaginous diatom, *Chaetoceros gracilis*, *Sci. Rep.*, **6**, Article No., 36809, 2016
- 13) Paddon, C. J. et al. High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin, *Nature*, **496**, 528–532, 2013
- 14) Ajikumar P. K. et al., Isoprenoid pathway optimization for taxol precursor overproduction in *Escherichia coli*, *Science*, **330**, pp. 70-74, 2010
- 15) Galanie et al., Complete biosynthesis of opioids in yeast, *Science*, **349**, pp. 1095-1100, 2015
- 16) Munakata R. et al., Isolation of *Artemisia capillaris* membrane-bound di-prenyltransferase for phenylpropanoids and redesign of artemillin C in yeast, *Commun. Biol.*, **2**, Article No., 384, 2019

著者プロフィール



棟方 涼介 (Ryosuke MUNAKATA)

<略歴> 2011 年京都大学農学部応用生命科学科卒業／2016 年京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻博士後期課程修了(農学博士)／京都大学生存圏研究所、フランス・ロレーヌ大学にて研究に従事し、現在に至る。<研究テーマと抱負>代謝の研究を通じて植物に詳しくなる。<趣味など>サッカー、スキー、野球などスポーツ(観戦)と読書(主に漫画)。