



生物工学者の植物バイオテクノロジーへの挑戦

新名 惇彦

1. 発酵工学, 生物工学

私は1965年に大阪大学工学部醗酵工学科を卒業し、大学院工学研究科醗酵工学専攻に進学し、1970年に修了した。恩師は本学会の会長として発酵工学を牽引されてきた照井堯造先生である。入学した頃は発酵生理学、醸造学、殺菌工学が主たる学問分野であったが、これは全国の農学部農芸化学科でも教授・研究されていた。農学部を持たない阪大では工学部に属していたことが特徴であった。科目では数学のウエイトが高かったし、機械・電気・化学工学や、機械設計・製図などの実習もあった。1972年に京都で開催された第4回国際発酵学会議で、学生の教育に関するパネル討論で、日本の学生は数学、化学工学に長けているが何故かという質問があった。照井教授の「簡単だ。カリキュラムに入れて試験でダメなのは落とせばいいのだ」との明快な回答に場内が笑いに包まれた。

その頃から生物化学工学という概念が生まれ、発酵工学は化学工学の一分野で、微生物を対象としたものづくりの工学であり、物資収支と定量的取扱いが基本であるとの考えが定着しつつあった。後日談であるが、照井先生が定年退官されて3年後に、私は岡田弘輔先生の講座の助手をしていたが、タイの留学生のワタナライさん達と *Bacillus pumilus* のキシラナーゼ遺伝子のショットガンクローニングに成功した¹⁾。照井先生に、世界で初めてキシラナーゼ遺伝子を取りました、と意気込んで報告したところ、「それで幾ら儲かるのかね」と即座に返され、やはり私は先生から工学・実学を教わったのだと実感した。この考えは植物バイオテクノロジーに移っても変わらなかった。

2. 植物の組織・細胞培養

大学院博士課程の頃に、植物の細胞をフラスコで培養できるという話を聞いた。そこで、私が責任者をしていて1968年の第2回目の発酵工学若手の会に、当事者の

京都大学の山田康之先生（当時、助教授、のちに奈良先端科学技術大学院大学・第2代学長、2012年文化勲章受章）にお越し頂いた。微生物とは別世界のように思っていたニンジンの切片に植物ホルモンを調整して加えると脱分化したカルスになり、個体・液体培地で分裂増殖するのである。しかも植物細胞に色素や生理活性物質を作らせることを狙っているとのことだった。これが私の植物との最初の出会いであった。その後、1980年頃に大学から近い大阪府茨木市にある日東電工（株）が朝鮮ニンジンの細胞培養で生薬原料を生産する事業を開始された。栽培に5、6年かかる朝鮮ニンジンの根の組織を培養し、1987年に20トンタンクで実生産に成功し、1991年に商品化された。土方社長に懇意にしていた関係で事業の全貌を見せて頂いた。同じ頃に三井石油化学はムラサキの組織培養で赤色素のシコニンの実用生産に成功した。

3. 植物の遺伝子組換え技術の登場

高校、大学の同級生に、今や日本の代表的なバイオの特許事務所を運営されている山本秀策さんがいる。1980年代に入るとアグロバクテリウムのTiプラスミド、それをを用いた植物の遺伝子組換え技術に関する特許が欧米で続々と出てきた。これらの日本への出願依頼が山本さんの事務所に連日、舞い込んできた。英語の特許出願書を日本語に翻訳して特許庁へ提出するのが事務所の仕事であるが、その翻訳を依頼された。膨大な量で期日に追われる仕事である。学生のチームを作り引き受け、彼らが訳した文章を斜め読みしながら形を整えていたが、特許明細書には発明の背景、研究の現状が詳しく述べてある。2年くらい続いたであろうか、毎週末にそれらを読み、植物の遺伝子組換えの全貌を詳しく理解できた。多細胞で重複遺伝子が多い植物では突然変異で表現型を変えるのは至難の業であるが、遺伝子組換え技術を使えば形質が画期的に変えることを実感した。

4. 植物細胞工学への転身

1980年代には動物・植物細胞の発酵タンクでの培養が始まった。阪大でも高等生物細胞も対象にしたらどうかという議論が学科内で始まった。分子生物学も活発になり、生物学が大きく変わろうとしていた時期であり、私が植物細胞をやりたいと手をあげ、1985年に高野光男教授の講座で助教授を拝命し、植物細胞工学を担当することになった。テーマには、植物由来の有用酵素遺伝子のcDNAクローニングと植物細胞培養による物質生産の二つを設定した。

有用酵素には西洋ワサビのペルオキシダーゼとキュウリのアスコルビン酸オキシダーゼを取り上げた。前者は今でも酵素免疫法で広く使われている。当時、東洋紡と京大・山田康之教授がペルオキシダーゼを高生産する西洋ワサビの培養細胞をお持ちだったので、mRNA調製用に供与して頂いた。デンマークのWelinder教授が西洋ワサビの多くのアイソザイムの中でCl_aペルオキシダーゼを長年かけて精製し、全アミノ酸配列を報告されていたので、その一部をプローブ設計に用いた。学生の藤山和仁君（現、阪大生物工学国際交流センター教授）がcDNAクローニングに成功してくれた²⁾。得られた全長cDNAから見た酵素のアミノ酸配列はWelinder教授の報告と見事に一致した。後日、デンマークでお会いした時、酵素のアミノ酸配列に不安があったが、それが解消されて大変嬉しいと喜んでくれた。

cDNAをもとに西洋ワサビのゲノム遺伝子が5個取れた。なぜ、植物は同様の遺伝子を多く持っているのか、それぞれのプロモーター、機能などを調べた。詳細は割愛するが、その内の一つ、*prxCla*遺伝子は植物細胞を伸張させ背丈を伸ばす興味深い表現型を示した³⁾。シロイヌナズナやイネのペルオキシダーゼ遺伝子も単離し、発現調節機構を比較しながら、植物生理学・分子生物学の知識を学んでいった。

キュウリのアスコルビン酸オキシダーゼは血中のコレステロール定量の際、妨害物質のアスコルビン酸を除去するのに使われ、数社がキュウリから精製している。この酵素は銅4原子をもつ青色タンパク質としても有名で銅に配位する保存アミノ酸配列からプローブを作成し、キュウリ組織からcDNAを単離した。これは故・岡田尚輔助手達が成功してくれた⁴⁾。ミュンヘンのマックス・プランク研究所のR. Huber博士はこの銅タンパク質の結晶構造解析を進めておられたが、私達がcDNAクローニングを試みていることを知り、酵素の1次元構造が分

かれば構造解析が進むということで、cDNAの配列が決定する前に、一部でも教えて欲しいと言ってこられた。1987年に研究所を訪問し、セミナーでcDNAの部分配列を紹介したが、大変喜んで頂き歓迎を受けた。その翌年、Huber博士は光合成のタンパク質複合体の三次元構造の解明でノーベル化学賞を受賞されたことに驚き、すぐに祝電を打った。

この二つの酵素の研究で論文が出だしたので、科学研究費の重点領域研究班に加えていただき、研究費が取れだしたのは有難かったが、植物科学の多くの研究者に知り合えたのがその後の研究に大きな助けになった。

5. 奈良先端科学技術大学院大学に移動して

5.1 植物細胞培養による物質生産 1992年に阪大・工・応用生物工学科の教授に就任したが、1994年に新設の奈良先端大に移った。バイオサイエンス研究科は動植物を対象とする講座が多く、蒼々たる教授陣であった。阪大時代には植物の研究者は周りにいなかったもので、植物研究の環境が一気に整った。ただ、工学部出身者は私だけだったので、あくまでも工学、応用科学に視点を置いた。

植物を始めた時からのもう一つのテーマは植物細胞培養による物質生産である。この分野では、たとえば赤色素生産を目指す時には対象植物の約1万個の細胞から成る寒天培地上のカルス（脱分化細胞集団）の中で比較的赤色の濃い部分を切り出し、新鮮培地に移し、大きくなったカルスの中からさらに色の濃い部分を選抜していく方法が取られる。そして有望なカルスを用いて培地組成、培養条件を最適化しスケールアップして実用に供する手順を踏んでいた。微生物では、土壌中から有望菌株を選ぶと、まず突然変異操作を繰り返し、生産性が向上したものを選ぶ。植物では上述のように、突然変異体の取得が困難なのでこのステップを飛ばすのである。これでは、実用生産は覚束ないことに気が付いた。これを打開するには培養細胞に有用外来遺伝子を導入することである。その宿主に植物細胞の中でもっとも増殖の速いタバコ (*Nicotiana tabacum*) BY2細胞を基礎生物学研究所の長田敏行先生（後の東大教授）に頂いた。酵母よりかなり遅いが、世代時間は10時間、1週間で細胞量は50倍に増える。植物培養細胞のモデルとして基礎研究が進んでいた。大腸菌はかつて遺伝子解析用の実験菌であったが、ヒト成長ホルモンやインシュリン生産の工業微生物になったように、BY2細胞を工業植物細胞に変えることを目指した。まず、手を付けたのはBY2細胞

に導入する外来遺伝子を高発現させるプロモーターの探索であった。物質生産が活発なのは細胞濃度が高く、増殖が衰えている培養後期であろうと、この時期に活性の強いプロモーターを探索した。この研究は主に阪大醗酵出身の加藤晃助教が担当し、いくつか候補が取れてきたが、タバコのアルコールデヒドロゲナーゼ (ADH) 遺伝子の上流配列をマーカー遺伝子のβ-グルクロニダーゼ (GUS) 遺伝子の上流につなぐとタバコBY2細胞でGUS生産量が約100倍になった。機能領域はプロモーターではなく、翻訳開始点の上流の5'-UTR (mRNAの5'非翻訳領域) が翻訳を上げることが分かった。シロイヌナズナの培養細胞でもほぼ同等の効果があつたが、単子葉植物のイネでは効果はわずかであった。そこでイネのADH遺伝子の5'-UTRを調べると予想通り単子葉植物で翻訳増大効果があつた。現在、国内ではタカラバイオ社、海外ではクローンテック社の市販ベクターに組み込まれ、世界で重宝がられている。加藤助教はゲノム情報から網羅的に5'-UTRをスクリーニングするとともに、なぜ翻訳を高めるのかの機構解明を行っている。

5.2 細胞周期制御と耐塩性植物の分子育種 植物研究を始めたときから植物細胞の増殖がもっと速くならないかと思っていた。高等生物の細胞周期はG1, S, G2, M期からなる。この周期を制御しているサイクリン依存性キナーゼとサイクリンについてタバコ、シロイヌナズナの遺伝子解析を東大理学部から参加してくれた関根政実助教 (現、石川県立大教授) のグループが精力的に取り組み、ほぼ全貌を明らかにした。これらの過剰発現、発現抑制により、少しでも細胞増殖が速まらないかと期待している。

阪大では高野光男教授がタイの塩土から好塩性細菌、*Halomonas elongata* を分離されていた。この細菌は海水と同じ3%の食塩濃度で最適の増殖を示し、15%でも旺盛に増殖した。培地の食塩濃度に対抗するための適合溶質がエクトインであり、その生合成に必要な3遺伝子をタバコBY2細胞に導入すると耐塩性が上がった。耐塩性植物の育種にはこれに加えて、有害なナトリウムイオンの侵入を抑えるあるいは排出するイオンチャネルの制御が必要である。これには、阪大から奈良先端大に一緒に来てくれた故・吉田和哉助教がリーダーになり、学生の仲山英樹君 (現、長崎大学准教授) と堀江智明君 (現、信州大学准教授) 達が取り組み、現在も続けている。

6. NEDOプロジェクト

1996年頃、経済産業省で植物による物質生産技術開

発の国家プロジェクトを立ち上げる議論が始まった。ものつくりなので、工学博士で植物研究をしているということで、プロジェクトリーダーに指名された。2年間の先導研究を経て、NEDOの「植物利用エネルギー合理化工業原料生産技術開発」(1999–2005)の7年間プロジェクトが始まった。i) 工業原料生産のための植物代謝利用技術、ii) 植物の環境ストレス耐性向上技術、iii) 植物への多重遺伝子導入技術および発現制御技術、の3課題を設定し、企業8社、約10大学・研究機関が参加した大所帯である。パルプ原料のストレス耐性ユーカリ、大豆による長鎖不飽和脂肪酸生産、トチュウによるゴム生産、ストレス耐性サツマイモなどが個別テーマであったが、基盤技術として、植物に複数の形質を一気に付与するには、数十のDNA断片を安易に連結する技術を作ろうと、iii) のテーマをあげ、企業派遣研究者、ポスドクが奈良先端大に集まる集中研究室を設置した。かずさDNA研究所の柴田大輔室長と奈良先端大の若手教員が指導に当たった。プロジェクト終了時には30DNA断片を1週間で連結するロボットが完成した。当時の国家プロジェクトは受託した企業が年2回ほど報告会をする体制であったが、常に研究の進捗を把握したいこと、東京での報告会に参加しない企業の技術補佐員とも顔を合わせてプロジェクトの意義を理解して頂きたく、私の提案で企業を訪問する分科会を頻繁に行った。その結果、経産省・NEDOの担当者も含めた大きな和やかなチームができた。

このプロジェクト進行中に経産省ではもう一つのプロジェクト「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」(2002–2009)が立ち上がり、このリーダーも任された。集中研究室をかずさDNA研に置き、柴田大輔さんがサブリーダーであった。ここでは、シロイヌナズナの培養細胞と植物体で網羅的転写物、代謝物解析を行い、参加企業8社が「実用植物を用いた物質生産技術の開発」と密接な連携を取りながら進めた。ユーカリのセルロース生産性向上、ジャガイモによるヒアルロン酸生産、ナタネによるアスタキサンチン生産、パラゴムのゴム生産の遺伝子・代謝物解析など、多くの成果が得られた。植物研究を始めて20年が過ぎ、応用、実用研究に関われた充実した11年間であった。この間に刊行した「植物代謝工学ハンドブック」⁵⁾と新潮選書「植物力」⁶⁾に思いが込められている。

植物を農学ではなく工学的見地から見ると、“植物は理想の物質生産工場”である。動力源は太陽光、原料は二酸化炭素と無機イオン、生産物は工業原料、生理活性

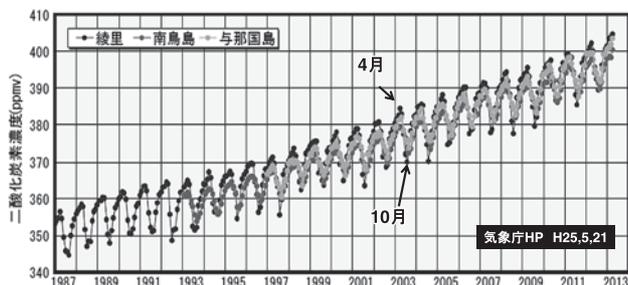


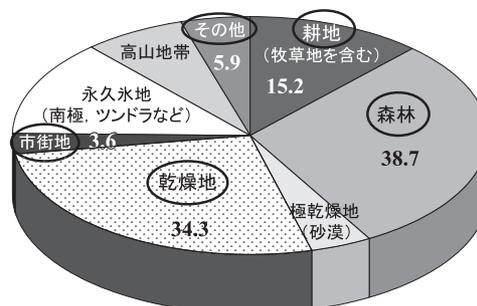
図1. 日本上空の二酸化炭素濃度の変遷

物質、酵素などさまざまある。何を作るかは必要な遺伝子と制御配列を導入すればよく、生産が終われば生分解する工場である。今では植物で医用タンパク質を作らせることも可能である。遺伝子を組み込んだタバコ、レタス、イネなどで作れば、生産コストはきわめて安価である。冷蔵庫、コールドチェーンのない途上国でも近くで栽培して供給できる。経口投与できるワクチンを食品になる植物で生産すれば、精製が不要なので圧倒的に安価になる。

7. 地球温暖化防止

20世紀の化石燃料の大量消費に伴う地球温暖化が深刻である。これまで地球温暖化は大気中のCO₂増加によるものではなく、太陽活動の一環であるなど議論があったが、一昨年9月の気候変動に関する政府間パネル(IPCC)の第5次評価報告書では、地球温暖化は人間活動つまりCO₂増加が原因であると断言した。今世紀末には地球の平均気温が最大4.8°C上昇すると懸念されている。すでに海水温の上昇に伴う大気中の水蒸気量の増加により、わが国でも巨大台風、集中豪雨、日本海側の豪雪などの異常気象が顕在化し、北海道は稲作の好適地になった。再生可能エネルギーによる発電が叫ばれているが、発電効率、コスト、安定供給面から遅々として進んでいない。一方、北米中心にシェールガスの開発が進み出し、わが国ではメタンハイドレートが期待されている。これでは産油国は生き残れないと、原油価格の暴落に甘んじている結果、シェールガスの一部が危機に面している。わが国のように非産油国は原油の低価格は大歓迎であるが、石油もシェールガスやメタンハイドレートも化石燃料であり、これでは地球温暖化に拍車がかかる。現実の経済優先か、子孫の環境を守るのかの選択を迫られている。

ここで、植物の力を見直したい。図1は気象庁が出しているわが国の上空のCO₂濃度の変遷である。都市化



数字:面積(億ha), ○印:植物の生育が可能
世界の統計2007(総務省)

図2. 地球上の全陸地面積 128億 ha (水域を除く)

の影響の少ない3地点、三陸の綾里、最南端の南鳥島、最西端の与那国島での測定値であるが、上下動を繰り返しながら1987年の約350 ppmが2014年には400 ppmになった。年間の最高値は4月で最低値は10月と、夏場に減少し、冬場に上昇する。これは日本列島の樹木の光合成によるCO₂固定が夏に活発になることを示し、半年で15~20 ppm減少する。世界中で樹木を増やせば大気中のCO₂は減少するのである。

では、どれくらい樹木を増やせばいいのだろうか。大気中の400 ppmのCO₂は7000億トンの炭素量である。一方、地球の陸上植物が貯留している炭素量は2兆1500億トンと、ちょうど大気中の3倍である。陸上植物の90%は樹木である。現在の大気中のCO₂濃度が500 ppmへと25%増えるのを大規模植林で吸収するには樹木を8%程度増やせばいいのである。地球全体で8%は勿論、膨大な量である。

地球の陸地(128億 ha)でもっとも面積の大きいのは森林(38.7億 ha)で30%を占めている(図2)。これを8%増やす、言い換えれば森林面積を32.4%にすればいいのである。砂漠の周辺のブッシュなどが生えている乾燥地は陸地の27%もある。遺伝子組換え技術で乾燥耐性樹木を作り、その一部を緑化するのが分りやすい。陸地の12%は食糧生産に貴重な農耕地であるが、その42%は酸性土壌、35%はアルカリ性土壌でフルに活用できていない。森林にも酸性土壌、アルカリ性土壌は多い。すでに酸性土壌耐性のユーカリやアルカリ性土壌耐性のイネができています。耐塩性樹木も可能である。遺伝子組換えでも樹木では時間がかかるが、20世紀を謳歌した我々は50年かけて樹木を8%増やす義務があり、植物バイオテクノロジーへの期待は大きい。

文 献

- 1) Panbangred, W. *et al.*: *Mol. Gen. Genet.*, **192**, 335 (1983).
- 2) Fujiyama, K. *et al.*: *Eur. J. Biochem.*, **173**, 681 (1988).
- 3) Kawaoka, A. *et al.*: *J. Ferment. Biotechnol.*, **78**, 49 (1994).
- 4) Ohkawa, J. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 1239 (1989).
- 5) 新名惇彦, 吉田和哉 (監修): 植物代謝工学ハンドブック, エヌ・ティー・エス (2002).
- 6) 新名惇彦: 植物力, 新潮社 (2006).

<略歴> 1965年 大阪大学工学部醗酵工学科卒業, 1970年 大阪大学大学院工学研究科醗酵工学専攻博士課程修了 (工学博士), 1970年 大阪大学工学部醗酵工学科・助手, 1977年 米国マサチューセッツ工科大学・博士研究員 (1978年まで), 1985年 大阪大学工学部醗酵工学科・助教授, 1992年 大阪大学工学部応用生物工学科・教授, 1994年 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科・教授, 2008年 奈良先端科学技術大学院大学停年退職, 名誉教授, 2009年 奈良先端科学技術大学院大学 理事・副学長 (2013年まで), 2013年 奈良先端科学技術大学院大学・特任教授
2012年～ NPO法人近畿バイオインダストリー振興会議 理事長, 2013年～ 滋賀バイオ産業推進機構 理事長
2003-2005年 日本生物工学会会長, 2002年 有馬啓記念バイオインダストリー協会賞, 2006年 日本生物工学会 生物工学賞

<趣味> 旅行, 阪神タイガースの応援