

「相同性」に潜む罠—かくも多様な植物二次代謝酵素—

野村 泰治

植物は多種多様な二次代謝産物を産生しており、その総数は20万種類を超えるとも見積もられている。二次代謝産物は本来、防御物質をはじめとして植物自身にとって有用であるがゆえに作られているものであるが、医薬、化粧品、香料、食品などさまざまな分野で利用されており、私たち人間にとっても有用なものである。植物にとっての有用性と人間にとっての有用性のいずれに主眼を置くかにかかわらず、そういった有用な二次代謝産物の生合成経路の解明は、基礎科学の観点からだけでなく、効率的な物質生産法の開発などの応用を図るうえでも重要なものであり、今でも主要な研究命題の一つである。

生合成経路を解明するためには生合成酵素を同定する必要がある。細菌のように、二次代謝生合成遺伝子がゲノム上でクラスターを形成している場合には、取っ掛りとなる遺伝子の一つを捕まえることができれば、同経路上の酵素遺伝子を芋づる式に取り出して、遺伝子破壊や組換え酵素を使った反応の有無を見ることで、合理的な経路を確定することができる。一方、植物の場合には、一部で生合成遺伝子がクラスターを形成しているものも報告されているが、それですら細菌で見られるものほど遺伝子が近接しているものではないし、ほとんどの二次代謝生合成遺伝子はゲノム上に散在しているため、生合成遺伝子をすべて同定するのは容易ではない。目的とする酵素ファミリーが明確な場合には、既知配列との「相同性」があることを予見したうえで、PCRなどによって目的の酵素遺伝子をクローニングすることが広く行われてきた。特に昨今は、次世代シーケンサーによる大規模遺伝子配列データの取得、解析が身近なものになったこともあり、RNA-seq解析で得られた配列に付されたアノテーションを目印として候補遺伝子をピックアップし、その中から「アタリ」を見つけてくるという研究例が多くみられるようになってきている。これも結局は、アノテーションという、データベース中の配列との「相同性」に基づいて付けられる情報が鍵を握っている。

この「相同性」に基づくアプローチは確かに有用だが、盲信するのは禁物である。植物には「このファミリーの酵素がこんな反応するの!？」という例が数多くある。たとえば、カーネーションにおいて、アントシアニン

のモノグルコシドからジグルコシドを生成する糖転移酵素は、グルコシル基転移酵素ではなくグリコシド加水分解酵素と高い相同性を示す¹⁾。それに加えて、この酵素はUDP-グルコースではなく芳香族アシルグルコースを糖供与体とするという特徴を有している。他にも、除虫菊においてアシル-CoAとアルコールからエステルであるピレスリンを生成するのは、アシル基転移酵素ではなく加水分解酵素(GDSLリパーゼ/エステラーゼファミリー)と相同性を示す酵素であることや²⁾、チューリップにおいてチューリップシドとよばれるエステル化合物から分子内エステル転移反応によってチューリップリンとよばれるラクトン化合物を生成する酵素は、アシル基転移酵素ではなく加水分解酵素(カルボキシルエステラーゼファミリー)と相同性を示す酵素であることが報告されている^{3,4)}。

このような「罠」にはまってしまうと、既知のグルコシル基転移酵素やアシル基転移酵素と相同性を示す候補遺伝子をいくら解析しても目的遺伝子に辿り着くことはできず、いたずらに研究費と時間を費やしてしまう。では、これらの「新奇」の酵素がどのようにして発見されたかということ、いずれも植物体からの天然型酵素の精製によるものである。酵素精製というと最近では、「面倒くさい」「古くさい」「このご時勢に……」などと、もっぱら敬遠されるようになってきている。しかし、精製した天然型酵素の解析によって得られる情報が、その後の実験を進めるうえでどれほど有益か、ということも今一度思い返していただきたい。その方が「罠」にもはまりにくいし、「新奇」酵素の発見に結びつく確率は高いのではないだろうか。もちろん、「相同性」という「罠」にはまることなく、オーム解析や遺伝学、分子生物学の手法を総動員することで目的遺伝子に至るスマートなアプローチがあることも事実である。ただし、天然型酵素の精製を経ない場合には、酵素の諸性質は組換え酵素を用いて調べるほかないが、それが天然型酵素のものを再現できている保障はないことは頭の片隅に置いておくべきである。

- 1) Matsuba, Y. *et al.*: *Plant Cell*, **22**, 3374 (2010).
- 2) Kikuta, Y. *et al.*: *Plant J.*, **71**, 183 (2012).
- 3) Nomura, T. *et al.*: *Plant Physiol.*, **159**, 565 (2012).
- 4) Nomura, T. *et al.*: *Plant J.*, **83**, 252 (2015).