

ユーカリの形質転換による代謝工学*

矢崎 一史**

Metabolic engineering in transgenic *Eucalyptus* species*

Kazufumi Yazaki**

概要

本我が国の主たるパルプ原料として重要なユーカリはオーストラリアで対規模栽培されるが、その葉から取れる精油も貴重な芳香資源として使われている。本稿では、ユーカリを使ったバイオテクノロジーの例として、ユーカリオイルの主成分であるモノテルペンの代謝工学について紹介する。

ユーカリのバイオテクノロジー

ユーカリはフトモモ科に属する常緑樹木であり、コアラの主食としても有名だが、主にオーストラリアに分布している。ユーカリは、我が国の主立った製紙会社が主たるパルプ原料として大規模に商業栽培することで知られるが、一方でその葉から取れる精油（ユーカリオイル）は香料の重要な原料として利用され、飲食品やアロマセラピーに用いられている。実際、ユーカリオイルには鎮痛作用、抗炎症作用、抗菌作用、抗ウイルス作用などの生理活性が報告されている。オーストラリアの先住民はこうした効果を経験的に知っていたのか、傷を癒すのにユーカリの葉を利用したとされる。また、現代においてもユーカリの葉そのものはハーブティーとしても利用され、さらに最近では、ユーカリオイルは抗アレルギーグッズに広く利用されるなど、その用途は非常に広い。このように有用性が認識されるユーカリオイルも、他の植物の精油と同様に組織当りの含有量は高くないため、非常に高価に取引されている。一方で、遺伝子工学の発展により、植物体内で精油成分が作られる際に働く酵素遺伝子の単離が可能になった。近年では、そうした遺伝子を分子ツールに用いた遺伝子組換えにより、植物が生産する精油成分の蓄積量を向上させる研究が可能となってきた。ただし、こうした試みのいずれもが草本植物を対象とした報告であり、ユーカリのような樹木で遺伝子組換えによる香りのエン지니어リングを行った例はなかった。そこで我々は、ユーカリを材料に遺伝子工学を応用し、従来の育種と比較して短期間での飛躍的な精油含有量の向上を目指したユーカリオイルの代謝工学を行った。なお、本研究でユーカリ (*Eucalyptus camaldulensis*) の形質転換に関しては、日本製紙株式会社にご協力を頂いた。

精油には揮発性の有機化合物が多種類含まれるが、主たる成分となっているのは炭素 10 個から成るモノテルペンと総称される化合物である。ユーカリオイルにも、ユーカリプトール (1,8-シネオール)、 α -ピネンのようなモノテルペンが含まれ、清涼感のある特徴的な香りの本体となっており、これらはまたユーカリオイルの様々な生理活性にも大きく寄与している。我々は、ユーカリにおける代謝工学のターゲット化合物として、元来ユーカリが生産するモノテルペンの一つであるリモネンを選択した。

リモネンの基質は炭素数 10 のゲラニルピリン酸 (GPP) で、植物細胞の中で GPP は主にプラスチ

*2011 年 9 月 13 日受理

**〒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: yazaki@rishi.kyoto-u.ac.jp

ドで供給される。我々は、リモネンを高生産させるための分子ツールとして、香料植物の 1 種であるシソから単離されたリモネン合成酵素遺伝子 (PFLS) を用いた¹⁾。PFLS は炭素数 10 の GPP から 1 反応でリモネンを作る酵素蛋白質であり、色素体に移行するのに必要なシグナル配列をその N 末端に有し、通常は他のモノテルペン合成酵素同様に色素体に存在している。この研究で我々は、プラスチドのみならず、PFLS の N 末端を改変し細胞質に局在するようにデザインした酵素もユーカリで発現させた。PFLS の発現には構成的発現プロモータである CaMV35S プロモータを用いた。その結果、色素体局在型 17 クローン、細胞質局在型 34 クローンの遺伝子組換えユーカリを得た。得られた組換えユーカリは、いずれも通常の生育を示し、形なども野生型と比べ特に差が認められなかった²⁾。

リモネンの蓄積量を確認するため、組換えユーカリのクローンの緑葉からヘキサンを用いて揮発成分を抽出し、ガスクロマトグラフィー (GC) による分析を行ったところ、野生型ユーカリのリモネン蓄積量は平均で 22.9 $\mu\text{g/g}$ であるのに対し、プラスチド型 PFLS を高発現した 9 クローンでは平均が 72.4 $\mu\text{g/g}$ 、最も高いクローンでは 190 $\mu\text{g/g}$ であり、いずれも野生型よりも高い蓄積量を示した (図 1)。さらに、細胞質型 PFLS を発現した 7 クローンの平均では 120 $\mu\text{g/g}$ 、最も高いクローンでは 327 $\mu\text{g/g}$ にまで増加し、プラスチド型 PFLS を発現したクローンよりも高いリモネン蓄積量が認められた。これは野生型の 5 倍近いリモネン量に相当する。

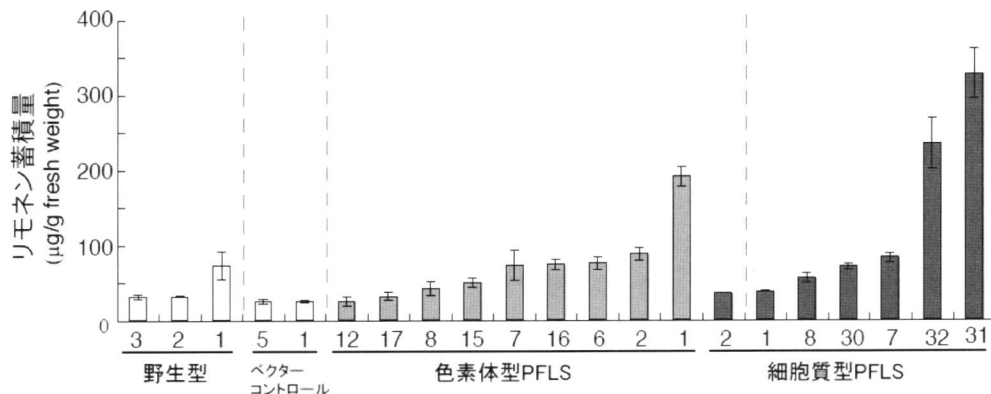


図 1 : PFLS 導入ユーカリの葉におけるリモネン生産量

ここで興味深かったのは、本来モノテルペンの生産が行われるプラスチドにリモネン合成酵素をこう発現させた時よりも、非天然型の細胞内局在部位である細胞質にこのシソ由来の外來蛋白質を発現させた方が、最終産物であるリモネンの生産レベルは高いクローンが得られたことである。これは単に、細胞質で FPP の生合成中間体として作られる GPP をリモネン合成酵素がトラップできた、という事実のみでなく、非天然型の細胞内コンパートメントに生合成酵素を局在させることが、最終的な物質の蓄積にとってメリットがあることを示唆している。そのメカニズムの解明は今後の解析を待たねばならないが、本研究は樹木を使った遺伝子組換えによる香りのエンジニアリングの最初の例となった。

参考文献

- 1) Yuba, A., Yazaki, K., Tabata, M., Honda, G. and Croteau, R., cDNA cloning, characterization, and functional expression of 4S(-)-limonene synthase from *Perilla frutescens*, *Arch. Biochem. Biophys.*, **332**, 280-287, 1996.
- 2) Ohara, K., Matsunaga, E., Nanto, K., Yamamoto, K., Sasaki, K., Ebinuma, H. and Yazaki, K., Monoterpene engineering in a woody plant *Eucalyptus camaldulensis* using a limonene synthase cDNA, *Plant Biotechnol. J.*, **8**, 28-37, 2010.