

植物の合成生物学

草野 博彰^{1*}

Synthetic Biology in Plant

Hiroaki Kusano^{1*}

概要

合成生物学は、生命システムを人工的に構築するアプローチでその仕組みを理解しようとする若い学問分野である。未だ代表的な学術団体や権威ある学術雑誌も無く、その理想的な姿を体現するような研究報告例も僅かだが、昨今の人工知能技術や次世代シーケンサー技術、またそれらを組み込んで自動的に生命システムを構築する技術の発達により、そのアプローチは徐々に現実的になりつつある。植物に関する合成生物学研究の中には、有用で希少な植物の機能を大規模に実用化した例もある。また、医薬品の生産や循環型資源システムの創造を目指すものなどは「生存圏の科学」との関わりも深い。本稿では、植物の合成生物学のこれまでの成果や技術的な課題、および著者や生存圏研究所における取り組みについて紹介する。

1. はじめに

西暦 2000 年代の初頭、人工合成 DNA によるマイコプラズマゲノムの置換実験や、植物由来の抗マラリア薬アルテミシニンの半合成法が発表され、合成生物学(Synthetic Biology)という言葉が世に知られるようになった¹。合成生物学とは生命現象を理解・証明するために生命システムを人工的に構築する学問分野であり、応用科学的な側面もその学術的發展を理解する上では欠かせない。微生物発酵によるアルテミシニンの半合成技術は、植物二次代謝物の生合成システムの理解につながる意外な知見を与えただけでなく、感染症の急拡大にも対応できる抗マラリア薬の安定した供給を可能にした。一方、植物の合成生物学には微生物とは異なる産業的なメリットがある。植物は無菌操作などの高度な技術や特殊な設備、電力などの近代的インフラがない地域での生産も可能であり、実際に、前述のアルテミシニンについては微生物発酵での生産供給が可能になった現在でもアフリカなどの国での大規模な畑作が主な供給源となっている。このほかにも石油代替資源の創造など、大規模な光合成ができることを活かした炭素循環型の社会の構築に貢献することが期待できる。

2. 合成生物学とは

伝統的な分子生物学では、遺伝子や酵素などの生命システムの構成要素を個別にミクロな視点から解明することで生命システムの姿を推測してきた。この学理が分解的・還元的なアプローチであることに対して、合成生物学では合成的・構築的なアプローチで生命システムの姿を証明しようとする。具体的には、天然の生命システムを人工的に再構築し、その構成要素を削除・追加・改変した場合の

2021 年 6 月 23 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: kusano@rish.kyoto-u.ac.jp

変化を観察する。これにより、生命システムの動作に必要な構成要素の最低セットを解明したり、個々の構成要素の役割を探ったり、生命システム全体の挙動を記述しようとする。

2.1 生命システムを構築するための方法論

生命の仕組みには未だ人智の及ばない部分が多く、生命システムを人工的に再構築することも容易ではない。植物由来の抗マラリア薬であるアルテミシニンの生合成系の一部を酵母で再構成した研究は、人間の理解を超えた生命システムの構築を可能にする概念的な原理を実現した例である²⁾。この研究では Design-Build-Test-Learn (DBTL) サイクルとよばれる方法で、産業的に実用可能な水準の合成生物を誕生させている。この研究手法では生命システムの設計と評価を繰り返すことで生命システムをチューニングしていく (図1)。具体的には、前のサイクルで選抜された設計に対して追加要素をランダムとする実装を無数に構築し、その測定結果を評価することで次のサイクルに渡すデザインを弾き出す。これを繰り返すことで遺伝子と形質の関係性データを蓄積し、複雑な生命システムの仕組みを人工知能で理解しようとする。

アルテミシニンの合成生物学研究では、微生物における化合物の生産効率を高めるためにメバロン酸経路が DBTL サイクルによってチューニングされた。メバロン酸経路は広く生物界に普遍的な生合成経路で、多くの二次代謝物の生合成に関わる生命システムである。このメバロン酸経路に含まれる遺伝子群は、大腸菌内で同時に発現できるようにベクター上で直列に配置された。この各遺伝子の発現量の比は、各遺伝子の間に挟まれた塩基配列によって調節することができる。DBTL サイクルではこの遺伝子間の塩基配列について、その立体構造、配置、組み合わせ、突然変異などをランダムとする無数のデザインが試され、結果的に7倍の効率でメバロン酸を生産できるデザインが生まれた。これらのデザインと機能の関係について蓄積された膨大なデータは、実に驚くべきことに、重要な酵素の発現を強化するのではなく逆に抑制することで多量のメバロン酸が生成することを示唆していた。また、中間産物の蓄積が主な阻害要因であることも示唆されている³⁾。このような遺伝子の発現量をチューニングするタイプの DBTL サイクルについては、機械化により Build を含む全プロセスの自動化が試みられている⁴⁾。例えば柑橘などの代表的な香り成分であるリモネンを生産する試みでは、メバロン酸経路を最適化するときと同様に酵素の発現効率がターゲットとされ、機械学習の活用により開発期間の短期化や Build や Test の規模の削減に成功している⁵⁾。DBTL サイクルのようなマンパワーに依存しない原理に基づく合成生物学研究の例は、次世代シーケンサーや人工知能技術の発達に伴って今後増加していくだろう。

一方、これまでの合成生物学研究では、既存の分子生物学の知見を元に人間が構想し、遺伝子を組み合わせで生命システムを構築することが主に行われてきた。DBTL サイクルにおいてはそのような生命システムを「最初のデザイン」として利用することも考えられる。マサチューセッツ工科大学で毎年開催されているアイジェム(iGEM, international genetically engineered machine competition)では、人間がデザインする生命システムの構築を支援するために、各個の遺伝子資源を共通の形式で収集・整備する試みが行われている。iGEM は生命システムの設計アイデアを競う、主に学生を中心とするチ

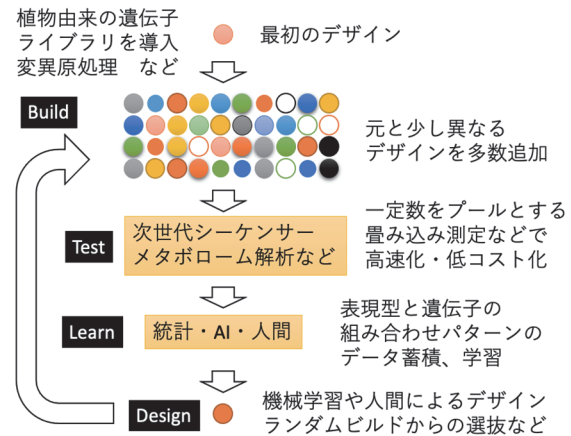


図1: DBTL サイクル

無数の生命システムをランダムに構築し、その機能をオミックス解析で測定してデザインと機能の関係性を示すデータを得る。これをコンピューターで解析し、次のサイクルの元にするデザインを決定する。これを繰り返すことで生命システムのデザインを強化・創造すると共に、蓄積された膨大なデータを元に生命システムを理解しようとする。

ームによる合成生物学の大会である。この iGEM では合成生物を構築するために大会で使用するパーツとしての遺伝子群を組み合わせ可能な形で整備しており、新たに発表されたものを毎年追加更新して BioBrick として参加団体に配布している。

2.2 持続的な人類生存圏の構築を目指す植物の合成生物学研究

ワクチンや抗体のような医療用タンパク質や植物二次代謝物の製造のほか、食糧や繊維を生産するための農作物の育種、燃料・プラスチック・繊維などの石油に代わる循環型資源の創造など、人類生存圏の構築を目指す多様な取り組みにも植物の合成生物学の技術を応用した研究が進められている。

特に石油資源に代わる炭素循環型資源の技術は、持続的な人類生存圏の確立に欠かせない。バイオプラスチックは植物由来の糖などから微生物発酵などで製造できるプラスチックであり、石油由来のプラスチックに代わる循環型資源のひとつである。このうち生分解性を有するものは未だ高価だが、廃棄時の環境汚染を小さいことが注目されている。短鎖長ポリヒドロキシアルカン酸(PHA)はこの生分解性プラスチックのひとつである(図2)。PHAは側鎖長(図中で x で表される部分)の異なるモノマーからなり、各モノマーがそれぞれどの程度の比率で含まれるかで物性が異なる。このため、この比率を調整することで用途に合わせた物性のプラスチックを創生することができる⁶⁾。これまでに、PHAの生合成に必要な酵素を植物に導入した研究から、PHAを植物で生産することは可能であると示されている⁷⁾。これを最初のデザインとして、DBTL サイクルのような手法でチューニングを進めていくことで、実用水準の生産性や物性を達成する研究が期待される。

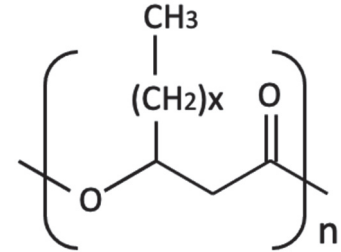


図2: ポリヒドロキシアルカン酸(PHA)の構造。鎖長 n のほか、側鎖長 x およびそのポリマー内での存在比により物性が異なる。このほか天然には側鎖に芳香環を含むものなど多様な構造のPHAが存在する。ララストニア・ユートロファなど、これを貯蔵物質として蓄積し栄養飢餓時に分解して養分とする微生物が天然に存在するため生分解性を有する。

3. 植物の合成生物学研究の課題と展望

3.1 DBTL サイクルによる生命システムの構築に加え得る新たな材料

アルテミシニンの半合成システムの開発でDBTLサイクルによりチューニングされたのは主に酵素遺伝子の発現量であった。DBTLサイクルのBuildのステップでランダムに与える要素には遺伝子発現の調節領域の他にも遺伝子そのものなど多様なものが考えられる。天然の生合成経路の構成要素には酵素遺伝子のほかにも、生合成系一連の酵素をつなぎとめる基板、調節因子、膜トランスポーターなど多様な制御因子をコードする遺伝子が含まれる。また、まったく未知の構成要素が存在する可能性もある。Buildのステップでこれらを与えることで、現状の人間の予想を超えた生命システムの姿の理解につながる可能性がある。例えばアルテミシニンの生産システムについての未解決な課題の中には、酵母が中間体を細胞外に排出してしまう点があり、最終産物であるアルテミシニンを得るためには化学合成のプロセスが必要である。このことは化合物の空間的な調節は、生合成系についての合成生物学研究の重要なテーマとなることを示唆している。天然の生命システムについての分子生物学研究からも、ニチニチソウのビンカアルカロイドの生合成系が膜トランスポーターを介していくつかの区画に分けられて進行することが最近報告された⁸⁾。

3.2 DBTL サイクルによる合成植物のデザインにつながる要素技術

植物を使ってDBTLサイクルを回す研究例はまだない。植物は微生物に比べて世代時間が長いので、

植物科学の一般的な技術では **Build** のステップに数ヶ月以上もの時間が必要である。ウイルスベクター技術では、生育中の植物にウイルスを感染させることで遺伝子を発現させることができるので世代時間が問題にならず、一般的な安定形質転換体植物を作成する技術と比べて **Build** のステップにかかる時間コストを飛躍的に圧縮できる。このため、微生物の培養を伴う場合と同等の早さで DBTL サイクルを回すことが可能になる。

ウイルスベクター系を **Build** のステップに利用するにはいくつかの課題がある。ウイルスベクターは植物への病原性を持つものから開発されている例が多いので、ウイルス感染そのものによる影響が現れてしまう可能性がある。また、供試個体数に対して少なくとも数十%程度の確率の感染力を持つ必要があるため、宿主ごとに適切なウイルスを選択する必要がある。さらに、多くのウイルスベクター系は挿入できる塩基配列の長さが数百塩基程度と短いため、任意の遺伝子を発現させるコンセプトでの利用は難しい。ウイルス誘導性ジーンサイレンシングは短鎖な塩基配列の導入でも遺伝子発現を調節することができるため DBTL サイクルでの利用が期待でき、遺伝子ライブラリーを構築する研究も進められている⁹⁾。また、ワクチンの製造への応用などを想定して、全長タンパク質の発現が可能なウイルスを使った植物での遺伝子発現の研究も進められている¹⁰⁾。

一方、アグロバクテリウムを植物体に接種することで外来遺伝子の発現を実現する技術（アグロインフィルトレーション法）についても合成生物学研究への応用が期待できる¹¹⁾。アグロバクテリウムは植物細胞に長鎖の DNA 断片を注入することができるため、ウイルスベクターと異なり遺伝子のサイズに関係なく任意の遺伝子を発現させることができる。アグロバクテリウムには接種部位から植物全体に移動する性質がないため遺伝子発現は接種部位に限られるが、隣接した個体への伝染性がない点は優れた特徴である。この技術については接種作業を機械化する産業技術がワクチンの製造などで使われており、マンパワーの限界を超えた規模での接種も現実的である。

3.3 人工ゲノムによる生命の設計

生命を成立させる最小の遺伝子セット（ミニマムゲノム）をゼロから人工的にデザインすることも試みられている。ミニマムゲノムを持った人工的な生命体をベースとして、二次代謝系などの研究対象となる生命現象を構築することにより、天然の基本システムの持つ不確定要素にとらわれずに生命システムを解析することができる。微生物を使った研究で、人工的に合成した超長鎖 DNA がゲノムとして機能し得ることが初めて証明されたのは 2010 年のことである¹²⁾。また酵母のゲノムの一部をトランスポゾンなどの不安定な要素を取り除いたもので置換した研究が報告されているなど、大腸菌や酵母のゲノム合成に向けて大規模な研究プロジェクトが進行している¹³⁾。

しかしながら、合成生物のベースとなるべき最小の遺伝子セットを機能既知の遺伝子のみで機能させた例は、植物はもちろん微生物についてもまだ報告例は無い。2016 年の報告では、マイコプラズマの合成ゲノム 0.5 メガ塩基に含まれる 473 個の遺伝子のうち、149 個が機能未知遺伝子である¹⁴⁾。このマイコプラズマの元のゲノムサイズは 1.1 メガ塩基、大腸菌のゲノムサイズが 4.6 メガ塩基であるのに対して、最小クラスのゲノムサイズを持つ植物シロイヌナズナのゲノムは 125 メガ塩基、遺伝子数は 2.6 万個と 2 桁ほど大きい。ゼロから設計された合成植物を基本システムとする合成生物学が可能になるのは、まだしばらく先の話かもしれない。

4. 著者と生存圏研究所における植物の合成生物学に関する取り組み

著者らは、および生存圏研究所は植物の合成生物学に関する多様な取り組みを実施している。以前本誌でも解説したが¹⁵⁾、著者も参加したイネ高温登熟障害に関する研究は、安定した食糧生産の実現を目指して複雑な生命現象の解明に挑んだ合成生物学研究である。イネ高温登熟障害とは、日本の栽培種が夏場の高気温に曝されたとき、胚乳での物質貯蔵が不十分となり穀粒の外観品質の低下や収量

の減少を引き起こす現象である。この生命現象についてのオミックス解析では主に一次代謝系に関連する多様な異常が認められた。このうちミトコンドリア型アデノシン三リン酸合成酵素の不足、デンブ分解酵素の高発現、活性酸素種の異常生成などについては、これを改善する生命システムのデザインが考案され、そのいずれもが成功している。このことは、高温環境での稲作には多様なチューニングが可能であったことを示唆している。

4.1 遺伝子機能の量的・空間的制御に関する研究

植物に導入した外来の遺伝子が機能するまでには、転写・翻訳・輸送などいくつかのステップが期待通りに動作する必要がある。植物で任意の遺伝子を機能させようとする研究では、タンパク質発現量が不足する問題がしばしば生じる。この問題について著者は、イネの **Mac** 遺伝子ファミリーに含まれる 5'UTR 部分に注目した。このうち **OsMac3** 遺伝子の 5'UTR 部分に含まれる 161 塩基の塩基配列 (**dMac3**) は、タンパク質コード領域の上流に配置することで下流タンパク質の翻訳効率を高める性質があることがわかった¹⁶⁾。このような強化因子を使って遺伝子ライブラリーのベースとなる発現ベクターを強化できれば、より高い確率で有効なクローンを含む遺伝子ライブラリーの構築が可能となり、より効率のよいスクリーニングの実現が期待できる。

化合物の生合成システムの細胞内での空間的な制御については、著者らは植物におけるコエンザイム Q (CoQ) の生合成をモデルとして研究してきた¹⁷⁾。CoQ には生物種によって鎖長の異なる (ポリ) プレニル基が付加されている。そこで著者は、9 単位のポリプレニル側鎖を持つイネに対して、10 単位のポリプレニル側鎖を供給できる微生物由来の酵素 **DdsA**¹⁸⁾ を導入する実験を行った。この側鎖の長さを測定することでイネの生命システムにおける **DdsA** の挙動をモニターすることができる。この **DdsA** にミトコンドリア局在型とゴルジ体局在型のシグナルペプチドをそれぞれ付加したところ、ミトコンドリア型では **CoQ10** が合成されたが、ゴルジ体型ではイネの生育が阻害され、シグナルペプチドのない型では **CoQ9** が合成された。このことは、植物の CoQ の生合成ではポリプレニル側鎖の合成酵素はミトコンドリア局在型でないと機能しないことを示唆している¹⁷⁾。このようなものを最初のデザインとして DBTL サイクルのような研究を実施することで、予想もしなかったような生命システムの理解につながる可能性がある。

4.2 合成生物学研究技術の開発に関する研究

植物の合成生物学では遺伝子の導入操作や社会実装に向けた植物品種の作出にかかる年単位の時間コストは重要なボトルネックである。著者は薬用植物ムラサキにおけるシコニンの生合成系を合成生物学的アプローチで理解するための要素技術として、ウイルスベクター技術の適用を検討した¹⁹⁾。著者の研究事例では、3 種類のウイルスベクター系をムラサキに適用したところ、このうちのひとつリンゴ小球形潜在ウイルス (ALSV) が供試個体の約 30% を罹患させる感染力を持ち、かつシコニンの生合成には目立った影響が現れないことがわかった¹⁹⁾。この ALSV は多くの宿主植物で病原性を示さないことや、個体間で伝染しないことから理想的なウイルスベクターとして期待されており²⁰⁾、ムラサキを使った合成生物学研究の要素技術としても優れていると考えられる。

合成生物学研究などから得られた知見を作物育種に応用し社会に役立てるための技術としてゲノム編集技術がある。著者は前述の **dMac3** をゲノム編集技術の強化に応用できるか試すため、ジャガイモの **granule bound starch synthase (GBSS)** 遺伝子をモデルとした実験を行った²¹⁾。ジャガイモは 4 倍体ゲノムを持つ植物であるため、遺伝子の機能欠損変異体を作成するためには 4 個の相同遺伝子すべてに機能欠損変異を付与する必要がある。ジャガイモのゲノム上に 4 つある **GBSS** 遺伝子のうち 1 個または 2 個の遺伝子に標的変異を生じさせた従来法の **CRISPR/Cas9** ベクター系に **dMac3** を適用したところ、4 遺伝子のすべてに変異を持つ個体が出現するようになった。また、1 個以上の遺伝子に変異を持つ個体が出現する割合も約 30% から約 80% まで改善した。また、従来法でも強力な活性を持つ

CRISPR/Cas9 ベクター系に dMac3 を適用した場合でも、4 遺伝子のすべてに変異を持つ個体の割合は約 5%から約 30%にまで改善した。これにより一度のゲノム編集操作でジャガイモの欠損変異体を作出することができるようになった。GBSS 遺伝子の欠損変異体はモチ米などでよく知られるアミロースフリーのデンプンを蓄積するため、食感や酵素消化性が異なる他、アミロペクチンを利用する製紙原料など工業用デンプンの原料としても利用が期待される。

4.3 合成生物の材料としての植物遺伝子の探索

著者らおよび生存圏研究所では、植物の形質に関わる遺伝子を探索するために遺伝子の進化に注目した研究が行われている。合成生物学では多様な生物種に由来する遺伝子を組み合わせる新たな生命システムを人工的に創造しようとするが、実は自然界でも異種生物由来の遺伝子で生命システムが構成されていることはそれほど珍しくない。生存圏研究所では、リゾビウム属細菌に由来するサントパイン生合成酵素がタバコ本来の成分であるニコチンと共に根圏における特定の細菌叢を形成することが明らかにされた²²⁾。合成生物学研究の過程で人工的に構築される生命システムは、実は未だ発見されていないだけで既に天然に存在していることも十分に考えられる。このように一般的な系統進化とは異なる進化を辿った遺伝子は塩基配列の解析などで見出すことができる。また、二次代謝など狭い範囲の系統に限定された機能に関わる遺伝子が独得の様式の進化をしてきたことなどが明らかにされている。これらのことは生命システムの構築に利用すべき植物遺伝子の探索にヒントを与える。

ムラサキのシコニン生合成系に含まれる PGT 遺伝子は、前述の CoQ にポリプレニル側鎖を付加する酵素 PPT から発達進化したと考えられている。著者らの研究では、ムラサキのゲノムには PGT に似た遺伝子が多数含まれており、また、これまでに酵素活性が同定された PGT 遺伝子にはイントロンが無いという特徴があることがわかった²³⁾。同様に、天然の抗がん薬として利用されているパクリタキセルの生合成についても 5 つの重要な既知遺伝子を含むアシル転移酵素遺伝子族のひとつに多コピー化が認められた。このことはひとつの多重遺伝子族から誕生する遺伝子の数はひとつとは限らず、未解析な近縁遺伝子の中にも重要な機能を持つものが存在する可能性を示唆している。これらのことは遺伝子の系統進化から未知の構成要素を抽出できる可能性、さらには既知のステップについても生命システムのチューニングに有用な遺伝資源が天然に眠っている可能性を示唆している。

グレープフルーツは高コレステロール血症治療薬と同時に摂取してはならないことなどで知られているが、この原因である O-プレニル型クマリンは前述の PGT 遺伝子から派生した酵素 O-PT をその生合成経路に持っている。この O-プレニル型クマリンは進化的に遠く離れたセリ科とミカン科の植物から見つかったが、これらふたつの科の O-PT はそれぞれ進化的に独立して発達したものであることが明らかにされた²⁴⁾。このことは、ひとつの代謝系を構築しようとするとき、まったく独立して誕生した複数の天然の生命システムが構成要素の材料となりえることを示唆している。また、この遺伝子ファミリーからみつかったカラヨモギの AcPT 遺伝子を利用することで、健康補助食品プロポリスの主成分のひとつアルテピリン C の生合成系を酵母で再構成することにも成功している²⁵⁾。

5. おわりに

合成生物学においては生物の世界で成立し得る生命システムを理解するため、その姿を具現化するアプローチを取る。その産業的価値や新しいアプローチへの期待から大規模な投資も行われているが、2021 年現在でもまだ代表的と言える学術団体や権威ある学術雑誌は無いのが現状である。植物の合成生物学には持続可能な産業社会の創造につながる可能性があり、学術と社会の接点から合成生物学という学問分野の発展を牽引する大切な役割がある。すでに基礎・応用の両面で多様な研究例が報告されており、特に食糧生産や医薬品の製造、石油代替資源などに関する研究は合成生物学の社会的価値を示す上で重要な役割を演じている。ウイルスベクターなど技術開発によるボトルネックの解消や、

人工知能やロボティクスを活用した自動化は、分子生物学と人間によるデザインに依存した現在の植物の合成生物学に新しい時代をもたらすだろう。

参考文献

- 1) Cameron, D.E., Bashor, C.J. and Collins, J.J., A brief history of synthetic biology, *Nat. Rev. Microbiol.* **12**, 381-390, 2014.
- 2) Paddon, C.J. and Keasling, J.D., Semi-synthetic artemisinin: a model for the use of synthetic biology in pharmaceutical development, *Nat. Rev. Microbiol.*, **12**, 355-367, 2014.
- 3) Pfleger, B.F., Pitera, D.J., Smolke, C.D. and Keasling, J.D., Combinatorial engineering of intergenic regions in operons tunes expression of multiple genes, *Nat. Biotechnol.*, **24**, 1027-1032, 2006.
- 4) Carbonell, P., Le Feuvre, R., Takano, E. and Scrutton, N.S., *In silico* design and automated learning to boost next-generation smart biomanufacturing, *Synth. Biol. (Oxf)*, **5**, ysa020, 2020.
- 5) Jervis, A.J., Carbonell, P., Vinaixa, M., Dunstan, M.S., Hollywood, K.A., Robinson, C.J., Rattray, N.J.W., Yan, C., Swainston, N., Currin, A., Sung, R., Toogood, H., Taylor, S., Faulon, J.L., Breitling, R., Takano, E. and Scrutton, N.S., Machine learning of designed translational control allows predictive pathway optimization in *Escherichia coli*, *ACS Synth. Biol.*, **8**, 127-136, 2019.
- 6) 田口精一, 多種多芸の微生物バイオポリマー: 透明で硬軟多様で接着性も, *日本接着学会誌*, **52**, 44-49, 2016.
- 7) Matsumoto, K., Murata, T., Nagao, R., Nomura, C.T., Arai, S., Arai, Y., Takase, K., Nakashita, H., Taguchi, S. and Shimada, H., Production of short-chain-length/medium-chain-length polyhydroxyalkanoate (PHA) copolymer in the plastid of *Arabidopsis thaliana* using an engineered 3-ketoacyl-acyl carrier protein synthase III., *Biomacromolecules*, **10**, 686-690, 2009.
- 8) Payne, R.M., Xu, D., Foureau, E., Teto Carqueijeiro, M.I., Oudin, A., Bernonville, T.D., Novak, V., Burow, M., Olsen, C.E., Jones, D.M., Tatsis, E.C., Pendle, A., Ann Halkier, B., Geu-Flores, F., Courdavault, V., Nour-Eldin, H.H. and O'Connor, S.E., An NPF transporter exports a central monoterpene indole alkaloid intermediate from the vacuole, *Nat. Plants*, **3**, 16208, 2017.
- 9) Liu, E., and Page, J.E., Optimized cDNA libraries for virus-induced gene silencing (VIGS) using tobacco rattle virus., *Plant Methods*, **4**, 5, 2008.
- 10) Bamogo, P.K.A., Brugidou, C., Séréme, D., Tiendrébéogo, F., Djigma, F.W., Simpore, J. and Lacombe, S., Virus-based pharmaceutical production in plants: an opportunity to reduce health problems in Africa, *Virol J.*, **16**, 167, 2019.
- 11) Sainsbury, F., Innovation in plant-based transient protein expression for infectious disease prevention and preparedness, *Curr Opin Biotechnol.*, **61**, 110-115, 2020.
- 12) Gibson, D.G., Glass, J.I., Lartigue, C., Noskov, V.N., Chuang, R.Y., Algire, M.A., Benders, G.A., Montague, M.G., Ma, L., Moodie, M.M., Merryman, C., Vashee, S., Krishnakumar, R., Assad-Garcia, N., Andrews-Pfannkoch, C., Denisova, E.A., Young, L., Qi, Z.Q., Segall-Shapiro, T.H., Calvey, C.H., Parmar, P.P., Hutchison, C.A. 3rd, Smith, H.O. and Venter, J.C., Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome, *Science*, **329**, 52-56, 2010.
- 13) Dymond, J.S., Richardson, S.M., Coombes, C.E., Babatz, T., Muller, H., Annaluru, N., Blake, W.J., Schwerzmann, J.W., Dai, J., Lindstrom, D.L., Boeke, A.C., Gottschling, D.E., Chandrasegaran, S., Bader, J.S. and Boeke, J.D., Synthetic chromosome arms function in yeast and generate phenotypic diversity by design, *Nature*, **477**, 471-476, 2011.
- 14) Hutchison, C.A. 3rd, Chuang, R.Y., Noskov, V.N., Assad-Garcia, N., Deerinck, T.J., Ellisman, M.H., Gill, J., Kannan, K., Karas, B.J., Ma, L., Pelletier, J.F., Qi, Z.Q., Richter, R.A., Strychalski, E.A., Sun, L., Suzuki, Y., Tsvetanova, B., Wise, K.S., Smith, H.O., Glass, J.I., Merryman, C., Gibson, D.G. and Venter, J.C., Design and synthesis of a minimal bacterial genome, *Science*, **351**, 1414 (aad6253), 2016.
- 15) 草野博彰, おコメの夏バテ遺伝子, *生存圏研究*, **13**, 39-42, 2017
- 16) Aoki, H., Teramura, H., Schepetilnikov, M., Ryabova, L.A., Kusano, H. and Shimada, H., Enhanced translation of the

- downstream ORF attributed to a long 5' untranslated region in the *OsMac1* gene family members, *OsMac2* and *OsMac3*, *Plant Biotechnol. (Tokyo)*, **31**, 221-228, 2014.
- 17) Takahashi, S., Ogiyama, Y., Kusano, H., Shimada, H., Kawamukai, M. and Kadowaki, K., Metabolic engineering of coenzyme Q by modification of isoprenoid side chain in plant, *FEBS Lett.*, **580**, 955-959, 2006.
 - 18) Okada, K., Kainou, T., Tanaka, K., Nakagawa, T., Matsuda, H. and Kawamukai, M., Molecular cloning and mutational analysis of the *ddsA* gene encoding decaprenyl diphosphate synthase from *Gluconobacter suboxydans*, *Eur J Biochem.*, **255**, 52-59, 1998.
 - 19) Izuishi, Y., Isaka, N., Li, H., Nakanishi, K., Kageyama, J., Ishikawa, K., Shimada, T., Masuta, C., Yoshikawa, N., Kusano, H. and Yazaki, K., Apple latent spherical virus (ALSV)-induced gene silencing in a medicinal plant, *Lithospermum erythrorhizon*, *Sci. Rep.*, **10**, 13555, 2020.
 - 20) Igarashi, A., Yamagata, K., Sugai, T., Takahashi, Y., Sugawara, E., Tamura, A., Yaegashi, H., Yamagishi, N., Takahashi, T., Isogai, M., Takahashi, H. and Yoshikawa, N., *Apple latent spherical virus* vectors for reliable and effective virus-induced gene silencing among a broad range of plants including tobacco, tomato, *Arabidopsis thaliana*, cucurbits, and legumes, *Virology*, **386**, 407-416, 2009.
 - 21) Kusano, H., Ohnuma, M., Mutsuro-Aoki, H., Asahi, T., Ichinosawa, D., Onodera, H., Asano, K., Noda, T., Horie, T., Fukumoto, K., Kihira, M., Teramura, H., Yazaki, K., Umamoto, N., Muranaka, T. and Shimada, H., Establishment of a modified CRISPR/Cas9 system with increased mutagenesis frequency using the translational enhancer dMac3 and multiple guide RNAs in potato, *Sci Rep.*, **8**, 13753, 2018.
 - 22) Shimasaki, T., Masuda, S., Garrido-Oter, R., Kawasaki, T., Aoki, Y., Shibata, A., Suda, W., Shirasu, K., Yazaki, K., Nakano, R.T. and Sugiyama, A., Species-specific assembly of root-associated bacterial microbiota mediated by a combination of plant specialized metabolites, *mBio*, **12**, e00846-21
 - 23) Kusano, H., Li, H., Minami, H., Kato, Y., Tabata, H. and Yazaki, K., Evolutionary developments in plant specialized metabolism, exemplified by two transferase families, *Front Plant Sci.*, **10**, 794, 2019.
 - 24) Munakata, R., Kitajima, S., Nuttens, A., Tatsumi, K., Takemura, T., Ichino, T., Galati, G., Vautrin, S., Bergès, H., Grosjean, J., Bourgaud, F., Sugiyama, A., Hehn, A. and Yazaki, K., Convergent evolution of the UbiA prenyltransferase family underlies the independent acquisition of furanocoumarins in plants, *New Phytol.* **225**, 2166-2182, 2020.
 - 25) Munakata, R., Takemura, T., Tatsumi, K., Moriyoshi, E., Yanagihara, K., Sugiyama, A., Suzuki, H., Seki, H., Muranaka, T., Kawano, N., Yoshimatsu, K., Kawahara, N., Yamaura, T., Grosjean, J., Bourgaud, F., Hehn, A. and Yazaki, K., Isolation of *Artemisia capillaris* membrane-bound di-prenyltransferase for phenylpropanoids and redesign of artemillin C in yeast, *Commun Biol.*, **2**, 384, 2019.

著者プロフィール



草野 博彰 (Hiroaki Kusano)

＜略歴＞ 2000 年東京理科大学基礎工学部生物工学科卒業／2005 年東京理科大学大学院基礎工学研究科博士後期課程修了、博士（工学）／同年京都大学化学研究所講師（研究機関研究員）／2008 年東京理科大学基礎工学部ポスドク／2010 年理化学研究所基礎科学特別研究員／2012 年東京理科大学基礎工学部助教／2016 年京都大学生存圏研究所特任助教、現在に至る＜研究テーマと抱負＞実用植物の特性に関わる遺伝子の研究＜趣味など＞サイクリング、料理