オリザレキシン合成における酸化酵素の働き 化学構造の多様性はどのようにもたらされるか？

植物は絶えず病原菌の脅威にさらされている。植物はそれら病原菌に対する巧みな防御応答機構を有しており、その一つに抗菌性化合物の生産がある。抗菌性化合物のうち病原菌などの感染によって生産が誘導されるものはファイトアレキシンと称されるが、その化学種は植物種によって様々である。イネ (*Oryza sativa*) は10種類以上のジテルペノイドを防御応答物質として生合成しており、それらの多くは日本の研究者によって単離構造決定された化合物である^(1, 2)。ジテルペノイド型ファイトアレキシンの多様性は、「炭素骨格」と「水酸基やカルボニル基などの官能基」によってもたらされる。「炭素骨格」はジテルペン環化酵素によって形成され、イネのファイトアレキシンの生合成にかかわるジテルペン環化酵素の多くは同定されている^(2, 3)。「水酸基やカルボニル基などの官能基」はシトクロムP450 (CYP) や短鎖型脱水素酵素／還元酵素 (SDR) などの酸化酵素によって導入される。ファイトアレキシンの生合成にかかわると予想されるCYPの酵素活性は数多く同定されている一方で⁽⁴⁾、イネのジテルペノイドの生合成にかかわるSDRの酵素活性については、モミラクトンA生合成の最終段階を触媒するモミラクトンA合成酵素が同定されているのみであった^(2, 3)。興味深いことに、イネのジ

テルペノイド型ファイトアレキシンのうち、ファイトカサンおよびモミラクトンの生合成遺伝子群は、それぞれ2番染色体上と4番染色体上で遺伝子クラスターを形成している^(2, 3, 5, 6)。本稿ではイネのファイトアレキシンの一つであるオリザレキシンの生合成について、最近明らかとなったCYPおよびSDRによる官能基の導入機構に焦点を当てて説明したい。

オリザレキシン類は現在までにイネより6化合物が同定されており、環状炭化水素である *ent*-sandaracopimaradiene が酸化修飾を受け各化合物が生合成される (図1)。*ent*-sandaracopimaradiene の水酸化を触媒する酵素として、CYP76M5, CYP76M6, CYP76M8, およびCYP701A8 が同定されている⁽⁴⁾。ファイトカサン生合成遺伝子クラスターに存在するCYP76M5, CYP76M6, およびCYP76M8 は、*ent*-sandaracopimaradiene の7位水酸化を触媒する (図1)。ジベレリンの生合成酵素である *ent*-kaurene 酸化酵素のパラログである *CYP701A8* は、*ent*-sandaracopimaradiene の3位水酸化を触媒する (図1)。以上より、*ent*-sandaracopimaradiene 生合成遺伝子群とともに、*CYP701A8* とCYP76Mサブファミリーに属する遺伝子を導入した大腸菌では、3位と7位に水酸基が導入されたオリザレキシンDが生成することが予想された。しか

図1 ■ イネにおけるオリザレキシンの生合成経路

し、CYP701A8とCYP76M8を共発現した大腸菌では予想どおりオリザレキシンDが生成したものの、CYP701A8とCYP76M6を共発現した大腸菌では3位と9位に水酸基が存在するオリザレキシンEが生成した⁽⁴⁾ (図1)。オリザレキシンDの3位と7位の水酸基はカルボニル基へとさらに酸化されることにより、オリザレキシンA, B, Cへと変換される。そこで、水酸基からカルボニル基への酸化反応を触媒し、モミラクトン合成酵素が属するSDRに着目し、キチンエリターによって遺伝子発現が誘導されるSDRを候補として検討した。その結果、モミラクトン合成酵素と同じクレードに存在するOsSDR110C-MS3がオリザレキシンDを基質としてオリザレキシンA, B, Cの混合生成物を与える一方で、モミラクトン合成酵素とは異なるクレードに属するOsSDR110C-MI3がオリザレキシンDの3位水酸基の酸化反応を触媒しオリザレキシンBを与えることが明らかになった⁽⁷⁾ (図1)。

上記の酵素のうち、CYP76M8やCYP701A8はオリザレキシン以外のファイトアレキシン生合成経路における酵素機能も報告されており⁽⁴⁾、「同一の酸化酵素」が「異なるファイトアレキシンの生合成」にかかわる可能性がある。テルペン環化酵素の機能が分化した際に、既存の酸化酵素によってさまざまな修飾基を有するジテルペノイドが複数生み出されてきたのかもしれない。本稿で説明したオリザレキシンの生合成経路は、大腸菌を宿主として発現させた組換えタンパク質を用いた酵素活性試験から提唱されたものである。各生合成遺伝子の発現抑制株や破壊株におけるファイトアレキシンおよびその生合成中間体の内生量分析を行うことにより、植物体内での生合成機構の全体像が明らかになるであろう。

近年、栽培イネの祖先種および近縁種との比較ゲノム解析を用いたファイトアレキシン生合成遺伝子クラスター形成における進化モデルの提唱⁽⁸⁾、コケ植物ハイゴケ (*Hypnum plumaeforme*) におけるモミラクトン生合成に関与する遺伝子の単離と生物学的な機能の解明⁽⁹⁾、

さらにはイネのジテルペノイド型ファイトアレキシン生合成の制御を司るbHLH型転写因子の同定⁽¹⁰⁾など興味深い研究結果が次々と報告されている。その一方で、モミラクトンやファイトカサンの生合成経路の全容はわかっておらず、イネのジテルペノイド型ファイトアレキシン研究には未解明の部分が存在する。今後の研究の行方を楽しみにしている。

- 1) 赤塚尹巳：植物の化学調節，**28**, 145 (1993).
- 2) H. Yamane: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 1141 (2013).
- 3) 豊増知伸：植物の生長調節，**51**, 8 (2016).
- 4) N. Kitaoka, X. Lu, B. Yang & R. J. Peters: *Mol. Plant*, **8**, 6 (2015).
- 5) 岡田憲典：化学と生物，**47**, 43 (2009).
- 6) 宮本皓司，岡田憲典：化学と生物，**51**, 310 (2013).
- 7) N. Kitaoka, Y. Wu, J. Zi & R. J. Peters: *Plant J.*, **88**, 271 (2016).
- 8) K. Miyamoto, M. Fujita, M. R. Shenton, S. Akashi, C. Sugawara, A. Sakai, K. Horie, M. Hasegawa, H. Kawaide, W. Mitsuhashi *et al.*: *Plant J.*, **87**, 293 (2016).
- 9) K. Okada, H. Kawaide, K. Miyamoto, S. Miyazaki, R. Kainuma, H. Kimura, K. Fujiwara, M. Natsume, H. Nojiri, M. Nakajima *et al.*: *Sci. Rep.*, **6**, 25316 (2016).
- 10) C. Yamamura, E. Mizutan, K. Okada, H. Nakagawa, S. Fukushima, A. Tanaka, S. Maeda, T. Kamakura, H. Yamane, H. Takatsuji *et al.*: *Plant J.*, **84**, 1100 (2015).

(北岡直樹，富山県立大学工学部生物工学科)

プロフィール

北岡 直樹 (Naoki KITAOKA)

<略歴>2008年北海道大学農学部生物機能化学科卒業/2012年同大学大学院農学院応用生物科学専攻博士課程修了/同年アイオワ州立大学博士研究員/2014年東北大学生命科学研究科産学官連携研究員(博士研究員)/2017年富山県立大学工学部生物工学科助教<研究テーマと抱負>生合成研究を通して植物の生理活性物質の機能と起源を明らかにしたい<趣味>ランニング，スポーツ観戦

Copyright © 2017 公益社団法人日本農芸化学会
DOI: 10.1271/kagakutoseibutsu.55.585