植物脂質の分子生物学†

西田生郎, 村田紀夫

(岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所)

1980年代の前半までに、植物脂質の代謝経路のおおすじが解明され、脂質代謝におけるプラスチドと小胞体の中心的役割が明らかとなった⁽¹⁾。その後、研究の中心は、代謝経路の主役である酵素およびその遺伝子の解析へと移行し、植物脂質分子生物学とも呼ぶべき学問分野が形成されつつある。このような背景には、植物の生理現象と直結するような脂質分子種の機能がいくつか提唱されるようになり、分子レベルでの検証が急務となってきたこと、および遺伝子操作技術を用いた油糧作物の改良と植物油脂の品質改善など応用面での期待が高まったことなどがあげられる。ここでは、植物脂質分子生物学の現状を植物の低温感受性と植物油脂の改良の2つを中心テーマとして概説する。関連するテーマとしては、ラン藻の低温適応機構における不飽和化酵素の役割がすでに他誌で紹介されている⁽²⁾。なお、植物脂質の遺伝学的研究については、Somerville と Browse の総説⁽³⁾を参照されたい。

1. 植物脂質代謝の概要

図1に植物細胞の脂質代謝の主要経路を示す。植物の脂肪酸はプラスチド内で酢酸から合成されるが、最終産物はアシルキャリアプロテイン (ACP) に結合している^(4,5)。その主要成分は、パルミトイル-ACP とオレオイル-ACP である。これらの脂肪酸は、プラスチドと小胞体でグリセロール 3-リン酸 (G3P) のグリセロール骨格に位置特異的に取り込まれ⁽¹⁾、その後の脂質代謝でさらに不飽和化される⁽⁵⁾。

植物は、モノガラクトシルジアシルグリセロール (MGDG) にオクタデカトリエン酸 (18:3) を含むものと、18:3 とともにヘキサデカトリエン酸 (16:3) を含むものとに分類される。前者を“18:3 植物”、後者を

“16:3 植物”と呼ぶ⁽¹⁾。16:3 植物 (ナス科、アカザ科、アブラナ科など) のプラスチドはホスファチジン酸 (PA) を糖脂質に代謝する経路を備えている (図1)。この経路で合成される MGDG では、sn-2 位でパルミチン酸から 16:3 への不飽和化が起こることがわかっている。

2. 植物の低温感受性と膜脂質分子種生合成の制御

(i) グリセロール 3-リン酸アシルトランスフェラーゼ (図1①): この酵素は、プラスチドのストロマ画分に局在し、アシル-ACP からグリセロール 3-リン酸の1位に脂肪酸を転移する (式1) 酵素である (類似

の活性は、小胞体膜とミトコンドリア膜にも局在するが、これらは、アシル-CoA を基質とする。この酵素は、18:3 植物と 16:3 植物のいずれにおいてもプラスチドのホスファチジルグリセロール (PG) の生合成の最初の反応を担っている。16:3 植物においては、さらに MGDG, ジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG), およびスルホキノボシルジアシルグリセロール (SQDG) の一部の分子種の生合成がこの酵素の触媒する反応を起点として開始される。この酵素はカボチャ (18:3 植物) 子葉から、単一標品にまで精製されている⁽⁶⁾。また、カボチャ⁽⁷⁾およびアラビドプシス (16:3 植物) の酵素⁽⁸⁾の cDNA がクローニングされている。

高等植物の低温傷害は、低温下において生体膜脂質が相転移を起こすことにより引き起こされるとする仮説が提唱されている⁽⁹⁾。われわれは、以前に、低温感受性植物のプラスチド膜の PG が、相転移温度の高い飽和分子種およびトランスモノ不飽和分子種を多く含むことをみつけ、これらの高融点分子種が高等植物における低温傷害の原因物質であると推定している⁽¹⁰⁾。また、プラスチドで生合成される PG の sn-2 位は、パルミチン酸あるいは 3-トランスヘキサデセン酸で占められるので、高

† Molecular Biology of Plant Lipids.

Ikuo NISHIDA and Norio MURATA (National Institute for Basic Biology, Myodaiji-cho, Okazaki-shi 444)

図 1 植物細胞の主要脂質代謝経路

■部分は 16:3 植物のプラスチドにのみ存在する経路である。DG, ジアルグリセロール; DGDG, ジガラクトシルジアルグリセロール; G3P, グリセロール 3-リン酸; MGDG, モノガラクトシルジアルグリセロール; LPA, リゾホスファチジン酸; PA, ホスファチジン酸; PC, ホスファチジルコリン; PE, ホスファチジルエタノールアミン; PI, ホスファチジルイノシトール; SQDG, スルホキノボシルジアルグリセロール; ①, グリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ; ②, ステアロイル-ACP 不飽和化酵素; ③, アシル-ACP ハイドロラーゼ。

融点 PG 分子種の割合を支配する要因は、1 位の脂肪酸転移反応を触媒するグリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼであると推定している⁽¹⁰⁾。この考えを検証するために、低温耐性植物であるアラビドプシスと低温感受性植物であるカボチャの葉緑体のアシルトランスフェラーゼの cDNA を単離し、おのおのをタバコに導入して形質転換植物を作出した。その結果、アラビドプシスの cDNA で形質転換したタバコの PG の高融点分子種の割合は減少したのに対し、カボチャの cDNA で形質転換したタバコの PG では高融点分子種の割合が逆に増加した。現在、形質転換タバコの低温感受性を評価することにより、PG 分子種と低温感受性の因果関係が証明されるものと期待している。

(ii) ステアロイル-ACP 不飽和化酵素 (図 1 ②): この酵素は植物の主要飽和脂肪酸であるパルミチン酸とステアリン酸のうちステアリン酸を選択的に不飽和化してオレイン酸に変換する反応を司る (式 2)。アシル-ACP を基質とする。活性の発現には、分子状酸素と還元

ステアロイル-ACP → オレオイル-ACP (2)

(18:0-ACP) (18:1 (9c)-ACP)

型フェレドキシンを要求する⁽¹¹⁾。アボカド中果皮の酵素が単一標品にまで精製されている⁽¹²⁾。また、ヒマ種子⁽¹²⁾およびダイズ種子⁽¹³⁾の酵素の cDNA がクローニングされている。

極性脂質のステアリン酸含量は、通常の植物組織 (葉や根など) では 1~4% と低いが、葯や葯壁では 15~25% と高い⁽¹⁴⁾。このステアリン酸の増加に伴い生体膜の相転移温度が上昇すると考えられるが、この事実は、葯が他の組織に比べて低温傷害を受けやすい組織であることと関連する可能性を示唆している。われわれは、ホウレンソウおよびアラビドプシスの本酵素について cDNA をクローニングし、イネやトマトで葯のステアリン酸含量の低い形質転換植物を作出し、形質転換植物の低温感受性を評価することを計画している。

3. 植物油脂の改良

植物油脂は、(1) プラスチドにおける脂肪酸合成、

図2 トリアシルグリセロール (TG) の生合成経路

DG に結合したモノ不飽和脂肪酸は PC で多価不飽和脂肪酸へ不飽和化される。PC の *sn*-2 位から遊離される多価不飽和脂肪酸 (図中 18:2 と 18:3) は TG の *sn*-3 位のアシル基転移反応に利用される。LPC, リゾホスファチジルコリン; 16:0, パルミチン酸; 18:0, ステアリン酸; 18:1, オレイン酸; 18:2, リノール酸; 18:3, リノレン酸; 18:X, X=1, 2, 3.

(2) アシル-ACP からの脂肪酸の遊離, (3) 遊離脂肪酸の細胞質への輸送, および (4) グリセロール 3-リン酸のグリセロール骨格への脂肪酸の取り込み (図2参照) という4つの過程を経て生合成される。

(i) アシル-ACP ハイドロラーゼ (図1③): この酵素はプラスチドのストロマ画分に局在し, アシル-ACP を加水分解し脂肪酸を遊離する反応を触媒する (式3)。

生じた遊離脂肪酸は, プラスチド包膜でアシル-CoA に活性化されたのち, 細胞質に輸送されトリアシルグリセロール合成酵素 (膜結合型アシルトランスフェラーゼ) の基質となる。この酵素はアブラナ種子⁽¹⁵⁾およびカボチャ子葉⁽¹⁶⁾から精製されている。いずれも分子量 33,000~38,000 のポリペプチドをサブユニットとするホモダイマーである。これらは, 長鎖脂肪酸 (オレイン酸) に対する選択性が高い。一方, ラウリン酸 (C₁₂) 含量の高いカリフォルニアベイ (*Umbellularia californica*) の種子からは, ラウリン酸とオレイン酸に対してそれぞれ特異的な2種のアシル-ACP ハイドロラーゼが精製されている⁽¹⁷⁾。

アシル-ACP ハイドロラーゼは, アシル-ACP 基質に対して, プラスチドのグリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼと拮抗的に作用する。そこで, プラスチドにおけるハイドロラーゼ活性を高めることにより細胞質におけるトリアシルグリセロールの生産量を増大させる試みが行われている。また, 脂肪酸に対する基質特異性の異なるハイドロラーゼを異種植物で発現させることにより, 植物油脂を改良することも応用的に注目されている。

(ii) アシル脂質不飽和化酵素: この酵素はラン藻⁽¹⁸⁾および高等植物⁽⁵⁾の葉緑体と小胞体に存在し, 極性脂質に結合した脂肪酸に特異的に働き, 不飽和化する (一重結合を二重結合に変換する) (式4)。

体(フェレドキシン⁽²²⁾あるいはチトクロム b_5 ^(23,24))を要求する。植物の多価不飽和脂肪酸は、すべてこのアシル脂質不飽和化酵素によって合成される。最近、当研究室の和田らにより、ラン藻の d^{12} 不飽和化酵素(脂肪酸のカルボキシル基側から数えて 12 番目と 13 番目の炭素間に二重結合を導入する)遺伝子が単離された⁽²⁵⁾。現在、この遺伝子をプローブとしてラン藻の他の不飽和化酵素や高等植物の不飽和化酵素の遺伝子をクローニングする試みが進行している。

植物油脂は、リノール酸、リノレン酸などの多価不飽和脂肪酸をさまざまな割合で含んでいる。高等植物の種類のアシル脂質不飽和化酵素の遺伝子がクローニングされれば、アブラナなどの油糧作物に異種植物の不飽和化酵素遺伝子を導入したり、自身の不飽和化酵素のアンチセンス遺伝子を発現させたりして、不飽和脂肪酸をバランスよく含む植物油脂を生産することが将来可能になることが期待される。

3. おわりに

以上植物脂質分子生物学の直面する 2 つの問題—植物の低温感受性の克服と植物油脂の改良—について、われわれの研究室の取り組みを中心に紹介した。植物脂質分子生物学のめざすところは、生体膜脂質分子種の機能の解明、およびその生成機構の制御にあると考えられる。なぜ、ある種の種子では、デンプンではなく脂質を貯蔵するのか? 植物種による貯蔵脂質蓄積能の違いはなにによるのか? こうした問いに対して、将来、植物脂質分子生物学が答えをだせるかは、若い研究者がどれだけこの分野に興味を持ち研究に参加するかにかかっていると思われる。

- (1) G. Roughan and R. Slack: *Trends Biochem. Sci.*, **9**, 383 (1984).
- (2) 和田 元, 村田紀夫: 蛋白質 核酸 酵素, **36**, 1604, (1991).
- (3) C. Somerville and J. Browse: *Science*, **252**, 80 (1991).
- (4) P. K. Stumpf: "The Biochemistry of Plants," Vol. 9, Academic Press, Orlando, 1987, p. 121.
- (5) J. L. Harwood: *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **39**, 101 (1988).
- (6) I. Nishida, M. Frentzen, O. Ishizaki and N. Murata: *Plant Cell Physiol.*, **28**, 1071 (1987).
- (7) O. Ishizaki, I. Nishida, K. Agata, G. Eguchi and N. Murata: *FEBS Lett.*, **238**, 424 (1988).
- (8) I. Nishida, Y. Tasaka, H. Shiraishi, K. Okada, Y. Shimura, T. Beppu and N. Murata: "Plant Lipid Biochemistry, Structure and Utilization," Portland Press, London, 1990, p. 462.
- (9) J. M. Lyons: *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **24**, 445 (1973).
- (10) N. Murata: *Plant Cell Physiol.*, **24**, 81 (1983).
- (11) J. G. Jaworski and P. K. Stumpf: *Arch. Biochem. Biophys.*, **162**, 158 (1974).
- (12) J. Shanklin and C. Somerville: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **88**, 2510 (1991).
- (13) A. J. Kinney, W. D. Hitz and S. Yadav: "Plant Lipid Biochemistry, Structure and Utilization," Portland Press, London, 1990, p. 126.
- (14) S. Toriyama, K. Hinata, I. Nishida and N. Murata: *Plant Cell Physiol.*, **29**, 615 (1988).
- (15) A. Hellyer and A. Slabas: "Plant Lipid Biochemistry, Structure and Utilization," Portland Press, London, 1990, p. 157.
- (16) H. Imai, I. Nishida and N. Murata: "Plant Lipid Biochemistry, Structure and Utilization," Portland Press, London, 1990, p. 160.
- (17) M. P. Pollard, L. Anderson, C. Fan, D. J. Hawkins and H. M. Davies: *Arch. Biochem. Biophys.*, **284**, 306 (1991).
- (18) N. Sato and N. Murata: *Biochim. Biophys. Acta*, **710**, 279 (1982).
- (19) M. A. Thiede, J. Ozols and P. Strittmatter: *J. Biol. Chem.*, **261**, 13230 (1986).
- (20) J. M. Ntambi, S. A. Buhrow, K. H. Kaestner, R. J. Christy, E. Sibley, T. J. Kelly and M. D. Lane: *J. Biol. Chem.*, **263**, 17291 (1988).
- (21) J. E. Stuckey, V. M. McDonough and C. E. Martin: *J. Biol. Chem.*, **265**, 20144 (1990).
- (22) H. Schmidt and E. Heinz: *Plant Physiol.*, **94**, 214 (1990).
- (23) M. A. Smith, A. R. Cross, O. T. G. Jones, W. T. Griffiths, S. Stymne and K. Stobart: *Biochem. J.*, **272**, 23 (1990).
- (24) E. V. Kerns, S. Hugly and C. R. Somerville: *Arch. Biochem. Biophys.*, **284**, 431 (1991).
- (25) H. Wada, Z. Gombos and N. Murata: *Nature*, **347**, 200 (1990).