



平成24年3月13日

国立大学法人 千葉大学
独立行政法人 理化学研究所

「苦い豆」の原因遺伝子を解明

—薬用植物アルカロイドのバイオ生産や創薬に手がかり—

＜研究成果の概要＞

本学大学院薬学研究院の、山崎真巳准教授、ソムヌク・ブンスパ研究員、齊藤和季教授らは、独立行政法人理化学研究所植物科学研究センターと共同で、植物が生産する薬用アルカロイド生産の鍵となる酵素遺伝子を発見しました。

研究グループは、マメ科植物ホソバルピナスのアルカロイド生産品種に特異的に発現するオルニチン脱炭酸酵素ホモログ遺伝子を単離し、この遺伝子にコードされる新しいタンパク質の酵素触媒機能を詳細に調べました。その結果、この新酵素は他のオルニチン脱炭酸酵素に比べてはるかに効率よくリジンを脱炭酸してアルカロイド原料のカダベリンを生成する、新しいリジン脱炭酸酵素である事が示されました。また、この遺伝子を異種植物で発現することによってカダベリン由来のアルカロイド生産を向上させることが明らかになりました。

この酵素の特性は、ホソバルピナスの酵素の活性中心のアミノ酸残基がヒスチジンからフェニルアラニンに置換されていることに因るものでした。このアミノ残基の違いによって活性部位ポケットの大きさが変化し、オルニチンより炭素鎖1つ分長いリジンが酵素に取り込まれて脱炭酸されることが示唆されました。さらに、ホソバルピナスの他にもクララ、イヌクララ、ムラサキセンダイハギ、クソエンドウなど同じようにキノリチジンアルカロイドを含む薬用植物の酵素についても調べたところ、同じ位置のアミノ酸残基がホソバルピナスと共通に置換していることが明らかになりました。このことから、これらのキノリチジンアルカロイドを含むマメ科植物のリジン脱炭酸酵素のアミノ酸残基の変異とアルカロイド生産が共進化したことが推測されます。

これらの成果は、薬用植物の有効成分であるアルカロイドを効率的に安定生産したり、新規の薬理活性を有する創薬シーズとなる新規アルカロイド医薬開発への応用が期待できます。

本研究成果は、米国科学雑誌「The Plant Cell」に掲載されるに先立ち、オンライン版が近日掲載されます。

*本成果の一部は、科学技術振興機構（JST） 戦略的創造研究推進事業 チーム型研究（CREST）、文部科学省科学研究費補助金「新学術領域研究（研究領域提案型）」によって得られました。

<研究の背景と経緯>

植物は、生体防御のために多様な二次代謝成分を作っています。植物の苦味やえぐ味、渋味はこの二次代謝成分によります。その中でも苦味成分の代表がアルカロイドです。アルカロイドは窒素原子を含む化合物の総称で、その多くはアミノ酸から生合成されます。マメ科ルピナス属植物は、アミノ酸のリジンからキノリチジンアルカロイドを生産しますが、大きな豆（＝種子）をつけるので世界各地で食料や飼料として利用されてきました。食料や飼料として利用するには苦いと都合が悪いので、アルカロイドを含む苦い品種（ビター種）に対して、育種によってアルカロイドを含まない品種（スイート種）が作られてきました。これは多くの作物でも行われてきたことです。こうして育種されたスイート種は作物として優良ですが、反面、虫害を受けやすい性質を持っています（図1）。ルピナスの他にも漢方など使われる生薬「苦参（クジン）」の基原植物であるクララなどにもキノリチジンアルカロイドが含まれており、これらは「苦参」の薬用成分とされています。このようにキノリチジンアルカロイドは広範な生理活性を有していますが、これらがどのように前駆体であるアミノ酸から生産されるかそのしくみは長い間謎でした。

<研究の内容>

本研究グループでは、マメ科ルピナス属植物等でアミノ酸からアルカロイドが生産される最初のステップを触媒する酵素であるリジン脱炭酸酵素の遺伝子とその遺伝子産物の機能の解析を行いました。まず、ホソバルピナスのアルカロイドを含むビター種とアルカロイドを含まないスイート種を比較することにより、ビター種に特異的に発現する遺伝子を網羅的にプロファイリングしました。その中にオルニチン脱炭酸酵素に類似した配列を有するホモログ遺伝子が含まれていました。一般的に、植物のオルニチン脱炭酸酵素は副反応としてわずかにリジンを脱炭酸します。調べてみるとこのホソバルピナスの酵素は、他のオルニチン脱炭酸酵素に比べてはるかに効率よくリジンを脱炭酸しアルカロイド生合成の前駆体であるカダベリンを生成することがわかり、新規のリジン脱炭酸酵素であることが示されました。また、この新酵素の遺伝子をシロイヌナズナやタバコで発現させると、これらのトランスジェニック植物はカダベリンやカダベリンに由来するアルカロイドを多く生産するようになることがわかり、この遺伝子が植物体内でリジンを脱炭酸してカダベリンを合成し、リジンを前駆体とするアルカロイド生合成に関与する事が示されました。

このホソバルピナスからの新酵素の触媒的特性は、この酵素の活性中心の1つのアミノ酸残基が異なることに因ることが明らかになりました。通常オルニチン脱炭酸酵素では、基質結合部位の隣のアミノ酸残基はヒスチジンですが、ホソバルピナスの酵素ではフェニルアラニンに置換していました。分子モデリ

ングの結果、このアミノ残基の違いによって活性部位ポケットの‘くぼみ’の大きさが変化し、オルニチンより炭素鎖 1 つ分長いリジンが酵素に取り込まれて脱炭酸されることが示されました（図 2）。ホソバルピナスの他にもクララ、イヌクララ、センダイハギ、ムラサキセンダイハギなどキノリチジンアルカロイドを含む薬用植物からもこの酵素遺伝子を単離し、アミノ酸配列と酵素活性を調べてみました。するとやはりリジン脱炭酸活性を有し、また同じ位置のアミノ酸残基がホソバルピナスの酵素と共通してフェニルアラニンに置換していることが明らかになりました。このように複数種でアルカロイド生産と酵素のアミノ酸置換と触媒特性が一致していることから、この酵素の触媒的特性によりこれらの植物はアルカロイドを生産するようになったと推測されました。

これらの成果によって植物でのアルカロイド生産の分子基盤が明らかになり、将来、医薬品や農薬など生理活性物質の安定生産やアルカロイド創薬へ展開などへの応用が期待されます。

<今後の展開>

植物を初めとする天然生物資源から多くの新薬が生み出されています。さらにこの豊富な天然資源をエンジニアすることにより、より有効な新薬が得られると期待されています。今回の研究ではリジン由来アルカロイド生合成の第一段階の重要な酵素遺伝子を同定する事ができました。この遺伝子を応用することにより、天然からは未だ得られていませんが新しい構造と生物活性を有する「非天然天然アルカロイド」を遺伝子組換え植物によって生産できるようになると期待されます。また、キノリチジンアルカロイドの他にもリジンを原料として生産される多様な植物アルカロイドが知られています。これらの中にはアルツハイマー治療薬など医薬品資源として重要な化合物も知られています。今回の成果がこれらの薬用アルカロイドの効率的な安定生産や遺伝子組換えによる新薬理活性アルカロイドの発見など先端的創薬に応用展開されることが期待されます。

<掲載論文名および著者名>

‘Lysine decarboxylase catalyzes the first step of quinolizidine alkaloid biosynthesis and coevolved with alkaloid production in Leguminosae’

（リジン脱炭酸酵素はキノリチジンアルカロイド生合成の第一段階を触媒しマメ科のアルカロイド生産と共進化した）

The Plant Cell, Vol. 24: March 2012

www.plantcell.org/cgi//doi/10.1105/tpc.112.095885

Somnuk Bunsupa, Kae Katayama, Emi Ikeura, Akira Oikawa, Kiminori Toyooka, Kazuki Saito, and Mami Yamazaki

(ソムヌク・ブンスパ、片山賀恵、池浦衣美、及川彰、豊岡公德、斉藤和季、山崎真巳)

<参考図>



図1 ツチイナゴとホソバルピナス
アルカロイドを含まないスイート品
種（手前）はイナゴの食害を受けて
葉がほとんど残っていないがアルカ
ロイドを含有するビター品種（奥）
には葉が残っている。

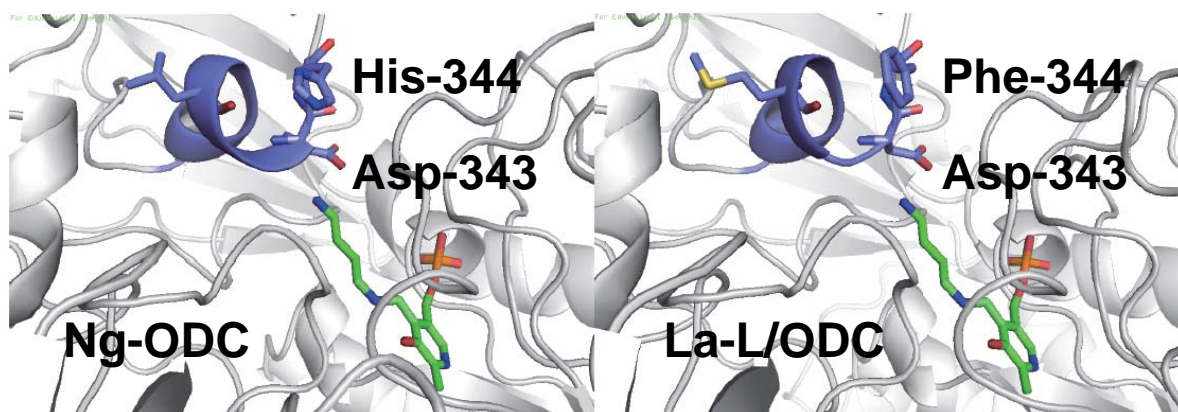


図2 リジン／オルニチン脱炭酸酵素の活性中心の構造
タバコのオルニチン脱炭酸酵素（左）では、基質結合残基 (Asp-343) の隣のアミ
ノ酸残基はヒスチジン (His-344) で、長いヘリックス構造 (青色のリボンで示す)
が形成されている。一方、ホソバルピナスの酵素 (右) ではこの部分がフェニル

アラニン(Phe-344)でヘリックス構造が短く、基質の入るポケットの‘くぼみ’が少し大きい。この違いによって、オルニチンより1炭素原子分大きなリジンが酵素に取り込まれて脱炭酸される。