

未来をひらく木質の形成制御

京大生生存基盤科学研究ユニット 鈴木史朗

はじめに

樹木の細胞壁は大変強固で、このような強固な細胞壁から構成されている木材は建材として利用されているほか、樹木の細胞壁からは良い繊維が取れるので、紙の原料としても利用されています。一方、エネルギー問題や地球環境問題の対策として、カーボンニュートラルな植物バイオマスを生産する動きが近年高まっており、蓄積量の多い樹木や、コスト面で有利なイネ科植物の細胞壁の集合体（木質、またはセルロース系バイオマス）が原料として注目されています（図1）。

もともと成長の良い樹木（ポプラ、ユーカリ、アカシアなどの早生樹）やイネ科植物（ススキやソルガムなど）の木質の組成や構造を自在に制御する技術がで

きれば、使用目的に適した木質を生産することができ、省資源・環境低負荷型社会を構築することが可能と考えられます。例えば、木質の改変技術により、比重が高く、強固な木材ができれば、必要木材量を減らすことができますし、運搬に必要な燃料の節約にもつながります。また、単糖への転換効率の良い木質を形成させることができれば、木質からの燃料や化学品生産において、エネルギー効率やコストを改善することが可能になると期待されます。このような観点から、私達のグループでは、木質の形成を制御する技術の確立を目指し、木質形成機構の解明とその応用に関する研究を行っています。

木質の形成

木質は、主にセルロース、ヘミセルロース、リグニンという3大成分から構成されています（図2）。いずれもポリマーで巨大な分子です。木質は多数の細胞壁からなりますが、提案されている細胞壁



図1 生長の良い東南アジアのアカシア

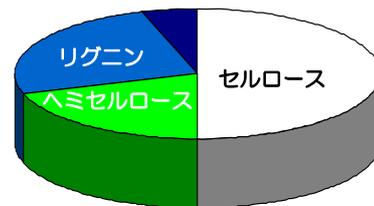


図2 木質の成分比

のモデル（図3）では、まずセルロースマイクロフィブリルというセルロース分子36個からなる束が、細胞の周りを同じ方向に走っていて、次にヘミセルロースがそれぞれのマイクロフィブリルを網目状に取り囲み、最後にリグニンがその隙間を埋め、細胞壁が完成する、となっています。セルロースを鉄骨、ヘミセルロースを鉄筋、リグニンをコンクリートと例えると、植物細胞壁はまるで鉄骨鉄筋コンクリート造のようです。

セルロースは、セルロース合成酵素という酵素のはたらきでUDP-グルコースのグルコース単位が重合することで合成されています。ヘミセルロースは、いくつかの糖転移酵素のはたらきで、UDP-キシロースやGDP-マンノースの糖単位が重合することで合成されます。リグニンは、モノリグノールと呼ばれる化合物からペルオキシダーゼという酵素のはたらきで重合します。

細胞壁の形成過程を詳細に観察すると、セルロース、ヘミセルロース、リグニンの合成はそれぞれ別個に起こっているのではなく、連続的に協調して起こっているように見えます。このような協調的制御の鍵となるのが遺伝子のはたらきです。

木質形成過程における遺伝子発現の役割

シロイヌナズナという小さな植物では、1億3千万のA、T、C、Gの塩基配列からなるDNAに生命のプログラムが書きこまれています。例えばリグニンの合成過程について考えてみましょう。この膨大な領域のうち、リグニン合成に必要なごく一部の配列情報がmRNA（メッセンジャーRNA）にコピーされ、続いて

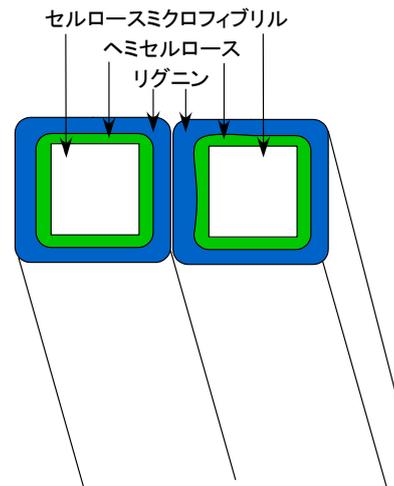


図3 セルロースマイクロフィブリルの周囲をヘミセルロース、リグニンが取り囲んでいる

mRNAがタンパク質合成装置であるリボソームへ送り込まれ、mRNAの配列に従ってタンパク質が合成されます。タンパク質は、触媒活性を持つ酵素や、細胞内器官を構成するために必要な構造タンパク質、後述のように遺伝子発現を制御する転写因子など、様々な種類があります。なお、3つの連続した塩基配列（コドン）が1つのアミノ酸に対応してタンパク質が合成されます（図4）。

以上の一連の遺伝子発現の流れ中で、鍵となる段階がDNAの配列情報がmRNAにコピー（転写）される段階です。というのは、多くの場合、mRNA量の多少が、タンパク質の量を左右し、従って代謝物の量を左右すると考えられており、例えばリグニンの合成量を調節するからです。この転写を調節する機構は色々あ

アミノ酸	M	S	T	A	G	K	V
塩基	atg	agc	aca	gca	gga	aaa	gta

図4 今宵もお世話になる(?) ヒトのアルコール分解酵素遺伝子の一部配列

りますが、中でも重要なのは転写因子と呼ばれるタンパク質による転写調節です。

転写因子のはたらきに学ぶ

転写因子は、特定のDNA配列を認識して結合し、結合部位の近傍にある配列情報のmRNAへの転写を促進したり、抑制したりします。転写される配列情報には、たとえば酵素のアミノ酸に対応したコドン（酵素遺伝子）が含まれているので、転写因子が転写を制御することによって、酵素の合成を制御することができます。また、一種類の転写因子はDNA上の異なる複数の結合部位を認識して同時に複数の転写を制御することができるので、例えばリグニン合成という代謝活動に必要な一連の酵素の合成量を調節することができるのです（図5）。ですから、このような生物に自然に備わっている転写因子のはたらきを理解し、人為的に制御することによって、望ましい構造や組成を持つ木質を生み出すことができるのではないかと考えています。

機能ゲノム解析

シロイヌナズナはたった5本の染色体、1億3千万塩基のDNAから成り立って

いますが、そのなかでタンパク質に変換されうる配列の種類（これを通常遺伝子と呼んでいます）は2万6千個といわれています。これら2万6千個の遺伝子のDNA配列（とアミノ酸に変換した配列）は全てわかっていますが、はたらきが実験的に明確に証明されたものはごくわずかです。しかし、既にはたらきの分かった遺伝子のアミノ酸配列を手がかりに、はたらきが未知の遺伝子のアミノ酸配列を類似性に基づいて検索すると、沢山の遺伝子がお互いに似ていることがわかります。またこれらは、はたらきの分かっている遺伝子に、はたらきが似ているのではないかという推測が成り立ちます。

しかし、このような推測では多くの場合「親戚の親戚は親戚」ともいえる判断を行わざるを得ないのが現状です。例えば、はたらきが実験的にわかっている転写因子によく似た配列を持つ遺伝子はシロイヌナズナに通常沢山ありますが、現時点では、配列情報だけではこれらの遺伝子のはたらきは「転写因子」だろう、ということしか予想できません。つまり、配列情報だけでは、私たちの求めている木質を制御する転写因子であるかどうかは予測できないのです。そこで、このよ

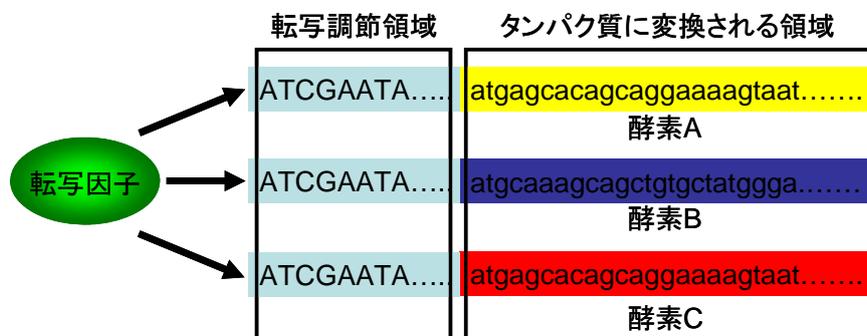


図5 転写因子は異なる遺伝子間に共通な転写調節領域内の特定の配列を認識して結合し、複数の酵素の合成量を同時に制御できる

うな「親戚の親戚」を含む大量の機能のよく分からない遺伝子のはたらきを一つ一つ決めてゆく作業（機能ゲノム解析）が必要となります。その膨大な作業において鍵となるのが、網羅的な遺伝子発現解析です。

マイクロアレイと定量RT-PCR

マイクロアレイとは、スライドガラスの上に大量の遺伝子（数万種類）のDNAの一部を貼り付けたもので、シロイヌナズナやイネといった植物では、このようなスライドガラス数枚で全遺伝子をカバーします。マイクロアレイを使うことで、例えば、ある組織においてどのmRNA（遺伝子）がどれだけ発現しているかを網羅的に調べることができます。

定量RT-PCRも、原理は異なりますが、ある組織においてどの遺伝子がどれだけ発現しているかを調べることができる強力な方法です。マイクロアレイよりもより厳密に調べることができますが、非常に多種類の遺伝子を一齐に分析するには不向きです。

マイクロアレイや定量RT-PCRを使った分析によって、木質形成時期に多く発現している遺伝子を見つけることができれば、この遺伝子が木質形成に関与している可能性が高いと推測することができますので、これらは木質形成に関わる未知遺伝子のはたらきを推測するための強力なツールとなります。

木質形成を制御する転写因子を見つける

話が横道にそれましたが、では木質形成を制御する転写因子を見つけ出すにはどのようにアプローチしたらいいでしょ

うか。一つの方法は、定量 RT-PCR を用いて転写因子遺伝子の中から、木質形成時に特異的に発現する遺伝子を見つけ出す方法です。具体的には、遺伝子配列のわかっている植物種の全 DNA 配列から、ある転写因子に特徴的なアミノ酸配列を手がかりに類似性検索を行い、転写因子遺伝子を探し出します。次に、これらの組織別の遺伝子発現量を定量 RT-PCR を使って詳細に調べます。例えば、ポプラを用いた場合は、葉や樹皮、木部などに分けて、個々の転写因子の遺伝子発現量を組織間で比較します。樹木の木質形成を促進する転写因子であれば、木部でとりわけ沢山発現しているはずですので、このことを念頭において解析すると、いくつかの転写因子の遺伝子発現量が木部で非常に高いという結果が得られ、木質形成を制御する転写因子の候補がいくつか見つかっています。

コンピューターで予測する

先ほど、1つの転写因子はある代謝に関わる複数の酵素遺伝子の転写を制御する場合がある、ということ述べました。このことは、ある代謝の複数の酵素遺伝

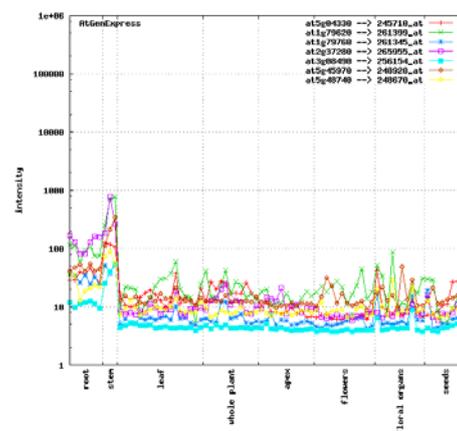


図6 木質形成関連酵素遺伝子と発現が同期する転写因子遺伝子群

子の発現パターンが未知の転写因子遺伝子の発現パターンと同様な挙動を示していれば、この未知の転写因子はこの代謝を制御している可能性がある、と考えられます。この仮説に基づき、沢山のマイクロアレイのデータをコンピュータプログラムで計算して、リグニンやセルロース、ヘミセルロースなどの木質形成に関わる酵素遺伝子の発現と同様な挙動を示す転写因子遺伝子を選び出すという共同研究を行っています（図6）。

遺伝子のはたらきを実験的に証明する

以上のような方法で木質形成を制御する転写因子の候補が絞られてきたならば、これらの転写因子が実際にリグニンや、セルロース、ヘミセルロースの合成を制御するかどうかを実験的に証明する必要があります。例えば、遺伝子組換え技術を使って、この転写因子を過剰発現させたり、発現抑制したりした個体を作製し、その個体の木質の形態的变化や、木質形成に関連する酵素遺伝子の発現量の変化、木質成分・代謝物の変化を調べることによって評価できます。こうすることで、未知の転写因子の機能が初めて明らかになり、望ましい構造や組成を持つ木質を人為的に制御するための方策が初めて見えてくるのです。

実用植物への展開

以上のように解明された木質の形成機構を、実用植物の育種へ展開するため、私たちは東南アジアの主要な早生樹であるアカシア・マンギウムで発現している遺伝子の配列情報をデータベース化するという共同研究プロジェクトも進めています。また、将来、ススキなどの大型イネ科植物がエネルギー作物として重要となることも想定して、木質成分を改変したイネを作出する研究も進めています。

おわりに

私は植物が幼少のころから好きで、植物の持つ不思議さにとりこになった一人です。なぜ樹木が数千年も生きられるのか。どのようにして複雑な木質は作られているのか。このような植物のもつ不思議に対する答えは膨大な DNA 配列情報の中に埋もれているに違いありません。ですから、未知の遺伝子のはたらきを同定してゆくことは、暗号解読のような興奮と面白さがあります。そして、解明された遺伝子の仕組みが、実社会でも活かされるのであれば、これ以上に勝る幸せはありません。ゲノム科学と木質科学を融合させた私達の研究が、地球環境問題やエネルギー・資源問題の解決に少しでも貢献できたらと、切に願っています。