

## 事後評価報告書（日南ア）

1. 研究課題名：感染症克服に向けた南ア固有植物への価値付与のための分子遺伝学的研究

2. 研究代表者名

2-1. 日本側研究代表者：

村中 俊哉（理化学研究所 植物科学研究センター チームリーダー）

2-2. 南アフリカ側研究代表者

JJ Marion Meyer（プレトリア大学 植物学部 教授）

総合評価：優

3. 研究交流実施内容および成果：

本課題では、南アで風邪・インフルエンザの治療用薬用植物として用いられているヨモギ属の南ア固有植物アルテミシア・アフラ (*Artemisia afra*、以下アフラと呼ぶ) に、抗マラリア成分（アルテミシニン）産生という付加価値を付けることを目的として、ヨモギ属植物のテルペノイド成分分析、ヨモギ属植物の分子遺伝学ツール整備と利用、ヨモギ属植物の形質転換植物の作出、を目指した研究交流が以下の通り実施された。

○ヨモギ属植物のテルペノイド成分分析

アフラは、アルテミシニン産生能を有するアルテミシア・アヌア (*Artemisia annua*、以下アヌアと呼ぶ) と同じヨモギ属であるため、アルテミシニンと類似のテルペノイド中間体を含有している可能性があるが、これまでアフラに関しての当該類似物質に関する知見はなかった。

日本／南ア両チームの研究交流を通じて、アフラはアルテミシニンを含有しないが、類似物質を含有することが証明された。また日本チームは、セスキテルペノイドの微量定量分析法を確立し、分析の結果、アヌアから 24 種、アフラから 12 種のセスキテルペンを同定し、アフラでのみ検出されるセスキテルペンが 3 種あることを初めて見出した。また本分析に関して南アチームの博士研究員が 4 週間日本に滞在し、技術交流を行った。

○ヨモギ属植物の分子遺伝学ツール整備と利用

日本チームは、アヌアおよびアフラの葉からそれぞれ RNA を調製し、MEGASORT 法（磁気ビーズを用いた DNA 分画法）により、アヌアにおいて発現が高い新規 P450 遺伝子を単離した。本遺伝子は、アルテミシニン生合成に関与している可能性がある。

アヌアにおいて、ファルネシルピロリン酸からアルテミシン酸に至る反応は、セスキテルペン環化酵素の一つの ADS と、P450 である CYP71AV によって触媒されており、両遺伝子はすでにクローニングされている。そこで日本チームは、これらの遺伝子配列情報を基

にアフラから相同遺伝子の単離を試みた所、ADS 相同遺伝子の発現は検出できなかったが、CYP71AV 相同遺伝子を検出した。この結果は、アフラの形質転換系が確立できれば、アフラで ADS を過剰発現させることにより、アフラで少なくともアルテミシニン酸まで人工的に合成させることを意味する。さらに種々の条件検討により、アヌアからは ADS を含むセスキテルペン環化酵素遺伝子を 6 種類、アフラからはセスキテルペン環化酵素遺伝子を 4 種類単離した。一方南アチームは、アフラ、アヌアで蓄積するタンパク質のプロテオーム解析を行った。数種の候補タンパクを TOF-MS 解析したが、いずれも光合成関連タンパク質であった。

また、南アチームから博士課程学生が 4 週間日本に滞在し、日本／南ア両チームの共同作業によって、セスキテルペン環化酵素の機能同定に向けての大腸菌発現ベクターの構築を行った。

#### ○ヨモギ属植物の形質転換植物の作出

日本チームは、アヌアの種子を国内から、アフラの種子を南アチームから入手し、グリーンハウスで維持するとともに、無菌播種により試験管苗を作出した。次に、南アチームから博士課程学生が 4 週間日本に滞在し、これらの材料を基に、日本／南ア両チームの共同作業によってレポーター遺伝子 GFP の発現ベクターを保持するアグロバクテリウム・リゾゲネス菌処理を行った。その結果、アヌア、アフラそれぞれの形質転換毛状根を誘導することができた。一方、アフラの形質転換植物作出は南アチームの担当であったが、プロジェクト途中で担当者が転出したことなどもあり、プロジェクト期間内に形質転換系の確立までに至らなかった。

#### ○「アフリカ資源高度利用アフリカ・日本植物科学者合同シンポジウム」の開催

2007 年 11 月 20 日に、理研（横浜）にて「アフリカ資源高度利用アフリカ・日本植物科学者合同シンポジウム」が開催された。本国際シンポジウムは、JST、JSPS、理研、横浜市立大学、横浜市、外務省、JICA が協力して行われ、第 4 回アフリカ開発会議（TICADIV）（2008 年 5 月、横浜市で開催）のプレ企画として位置づけられた。のべ 100 名近くが参加し、活発な質疑応答がなされた。本規模のアフリカ植物に関する国際会議は本邦初である。

## 4. 事後評価結果

### 4-1 総合評価

本課題では、キニーネ耐性マラリアに抜群の薬効性を示すアルテミシニン産生能を有するアヌアと、同属であるが薬効性を示さない南アフリカ固有種のアフラの比較解析を行っている。その結果、発現遺伝子のリソース確立やアルテミシニン生合成酵素遺伝子候補の単離やセスキテルペン類分離分析技術の開発など、今後のアフラ研究の進展につながる画期的な研究成果が得られた。応用性の観点においても、得られた結果は生合成を利用した

アルテミシニンの大量生産に発展する可能性を秘めており、本研究交流の社会への波及効果、特に熱帯地方におけるマラリア治療への貢献度は高く、優れた研究交流といえる。また、今後ますます重要性を増すであろう、アフリカとの研究交流への端緒が得られた意義も大きい。

将来的には、さらに地道に条件検討を進め、アヌア・アフラの形質転換系を確立することが重要と考えられる。アルテミシニン生合成酵素に関してはタイの研究者も推進しているので、今後はこれらの研究者を含めた研究交流に発展することが望ましい。また、遺伝子进行操作する分子育種だけに限定するのではなく、昔ながらのオーソドックスな交配を含めた育種研究を進展させることも期待される。

#### 4-2 研究交流の有効性

南ア固有種のアフラでは、アジア原産のアヌアが有するアルテミシニン生合成遺伝子群の一部が欠損していることを発見し、アフラがアルテミシニンを産生しない理由が遺伝子レベルで明らかになった。この発見により、キニーネ耐性マラリア克服への期待が高まった。また、セスキテルペノイドの微量分析法を確立し、アヌアから24種、アフラから12種のセスキテルペンを同定し、アフラでのみ検出されるセスキテルペンが3種あることを発見したことも評価できる。

将来的には、アフラとアヌアの交配、あるいは、本研究でサーチされた生合成酵素遺伝子レベルでの育種により、アフリカの地でも栽培可能な品種育成の可能性が示されており、新しい研究領域の提示に寄与したといえる。

今後は、アヌア・アフラの形質転換系を確立することが重要と考えられる。また類似セスキテルペンの構造決定、CYP71AV 類縁体の酵素機能の同定までには至っておらず、早急に、構造決定、酵素機能の同定を行い、論文として公表されることを期待したい。

人材育成の観点からは、相互の訪問や、南アフリカの博士課程学生が1ヶ月日本に滞在し研究を行うなど、大学院生やポスドク、教員などの幅広い人的交流が行われており、今後の研究交流につながる基盤となる人材が育成されている。

今後の双方の研究者による研究交流が、南アフリカの豊富な遺伝資源研究に基づいた、新たな医薬品や機能性食品の開発に繋がることが期待できる。

#### 4-3 当初目標の達成度

南アフリカの研究者の異動で研究体制の若干の弱体化はあったものの、両国のチームは、いずれも若手研究者を含む多様な研究分野の研究者からなっていて、技術・情報交流のための人的交流も綿密に計画されており、研究交流のための実施体制は大筋で適切であったと考えられる。

相互派遣等の交流はほぼ計画通りに実施され、十分な交流がなされたと考えられる。また、アフリカ資源高度利用アフリカ・日本植物科学者合同シンポジウムの開催は、今後の

アフリカとの研究交流における人材の育成に大きく貢献したと考えられ、高く評価される。