

## 研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名: トリプトファン生合成系における一次・二次代謝の制御と利用

2. 研究代表者名: 若狭 暁 ((独)農業・生物系特定産業技術研究機構 室長)

### 3. 研究概要

植物トリプトファン生合成系はトリプトファンと二次代謝産物を合成する。本合成系の鍵酵素であるアントラニル酸合成酵素 サブユニットを改変し、タンパク質と植物体レベル機能を解析する。形質転換作物の代謝産物を解析するとともに、多様な変異体を獲得して、条件により誘導されるトリプトファン合成系ネットワークの解析を行う。これらにより、実用的で安全な高トリプトファン作物が作製され、有用な二次代謝産物の合成制御法開発への展開が期待される。

### 4. 中間評価結果

#### 4 - 1. 研究の進捗状況と今後の見込み

イネアントラニル酸合成酵素 サブユニット改変型遺伝子(OASA1D)による高トリプトファン形質転換体イネを作製し、温室レベルから圃場レベルまでその高生産性を確認し、かつトリプトファン以外の成分についてのプロファイリング評価、安全性評価、マーカーフリー化などについても総合的に検討し、実用化に向け着実に成果を出している。圃場評価において、種子稔性、発芽率低下が認められたことは残念であるが、プロモーターの改変など、今後の検討に期待したい。

また、一連のトリプトファン合成経路の中で、そのアナログである 5 - メチルトリプトファン (5MT) 耐性変異株の原因遺伝子をクローニングし、フィードバック領域の一塩基置換により耐性化が起こることを解明した。また、5MT耐性化により、インドールグリコシノレート、フェニールプロパノイド代謝物が蓄積することを見出すとともに、関連遺伝子(OASA2)の特定部位のアミノ酸変換により、活性が制御される酵素機能改変技術を提案するなど、二次代謝制御への可能性を示したことは評価に値する。今後の展開に期待する。

#### 4 - 2. 研究成果の現状と今後の見込み

高トリプトファン形質転換イネの作製から圃場評価まで一貫した検討を行い、かつ実用化に向けた総合的な評価を実施したことの意義は高い。GM植物の実用化検証の実施例として重要である。今後実用的利用の検証において、コスト計算も重要となる。

またプレフェン酸デヒドラターゼ遺伝子変異体の解析により、5MT耐性が増加することおよびフェニールプロパノイド合成の上昇が誘起されることを見出し、一次・二次代謝のネットワークの新しい Regulation Pointを明らかにした意義は大きい。新しい変異株の解析により、Regulationの解明とその利用が期待される。

#### 4 - 3 . 今後の研究に向けて

高トリプトファン作物の創成という観点からは、企業との競合となり厳しいものを感じられるが、フィードバック阻害の解除という有力なtoolをもって優位にある。イネにおける総合的な技術確立を期待する。

また、プレフェン酸デヒドラターゼ遺伝子変異株の解析により芳香族アミノ酸生合成、二次代謝系の新しいネットワークが解明されつつあり、その代謝系制御の可能性を示したことの意義は高く評価できる。今後の進展に期待する。

#### 4 - 4 . 戦略目標に向けての展望

これまでの成果から、高トリプトファン形質転換イネの実用化に向けた総合的な技術が構築されたことから、他作物での高付加価値化への応用が期待される。

またトリプトファンを事例とした一塩基置換による酵素遺伝子改変により、二次代謝合成系が制御されることを実証し、かつ関連酵素遺伝子改変方法を確立したことから、今後シキミ酸合成経路の制御技術確立への足掛かりができつつある。酵素科学分野への貢献が期待される。

#### 4 - 5 . 総合的評価

イネアントラニル酸合成酵素 サブユニット改変型遺伝子(OASA1D)を導入した形質転換作物の作製から圃場試験まで実施した高トリプトファンイネの総合的技術開発およびその実用性検証は、日本発のGM作物の実施例として重要である。

また5MT耐性イネ変異体の解析から、フィードバック制御領域の一塩基置換により耐性化が起こることを解明し、かつ耐性化により二次代謝物、インドールグリコシノレート類、フェニールプロパノイド化合物が蓄積することを見出し、二次代謝系制御の可能性を示したことは評価される。一方活性的には弱いOASA2遺伝子の特定部位を網羅的に他アミノ酸置換することにより、その機能を制御することが可能となることを実証し、PCRと無細胞蛋白質合成技術を組み合わせた新しい蛋白質機能改変法を確立したことは、今後酵素科学における新分野の方向性を提示するとともに、そのインパクトは大きい。

今後論文等の成果の取り纏めと公表がよりなされることが望まれる。