

機関番号：12501

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2010

課題番号：19201043

研究課題名（和文） ファイトケミカルゲノミクス：植物化学的多様性のゲノム基盤

研究課題名（英文） Phytochemical genomics: Genomic basis for phytochemical diversity

研究代表者

齊藤 和季 (SAITO KAZUKI)

千葉大学・大学院薬学研究院・教授

研究者番号：00146705

研究成果の概要（和文）：

植物は 20 万種に及ぶ化学成分を生産していると考えられ、これらの植物化学成分は医薬品、食料、工業・エネルギー原料として用いられている。本研究では、メタボロミクスとトランスクリプトミクスという手法を用いて、これらの有用植物成分を生産する原理のゲノム基盤を解明した。特に、健康機能を有するフラボノイドや含硫黄植物成分、アルカロイドなどの生合成遺伝子や代謝的なネットワークを解明することができた。

研究成果の概要（英文）：

Plants produce over 200,000 chemical compounds, which are used as the sources of medicines, foods, industrial and energy materials in our daily life. In this project, we have investigated the genomic basis for the production of these plant products by means of metabolomics and transcriptomics. We have identified genes involved in the production of flavonoids, sulfur-containing metabolites and alkaloids, which exhibit health-beneficial activities. We have also elucidated the metabolic networks for the production of these compounds.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	9,500,000	2,850,000	12,350,000
2008年度	8,600,000	2,580,000	11,180,000
2009年度	8,600,000	2,580,000	11,180,000
2010年度	8,600,000	2,580,000	11,180,000
総計	35,300,000	10,590,000	45,890,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：植物成分、二次代謝産物、メタボロミクス、トランスクリプトミクス、ゲノム機能学、生合成

1. 研究開始当初の背景

高等植物のゲノム配列が解読され、その後

のゲノム機能科学が重要なテーマとして注目されていた。ゲノム機能の解明のためには、

網羅的な遺伝子の発現（トランスクリプトミクス）や蛋白質に関する研究（プロテオミクス）に加えて、代謝産物に関する網羅的な研究である‘メタボロミクス’を生物情報学によって統合する必要があった。特に、薬用植物、農作物、工業原料植物など植物の有用性を決めているのは、糖、アミノ酸、脂質、フラボノイド、テルペノイド、アルカロイドなどの代謝産物である。また、植物代謝産物の総数は20万~100万種に達すると言われ、動物よりも100倍も化学的多様性が大きいと考えられている。その化学的多様性のゲノム基盤解明のためにメタボロミクス研究は植物において特に重要である。特に、従来の天然物化学的な構造決定研究と共に、遺伝子と代謝産物間のネットワーク解明などのシステム生物学的な新規アプローチも必要である。

2. 研究の目的

本研究では、メタボロミクスを基盤として植物の有する化学的多様性のゲノム基盤解明を目的とする。そのため、ゲノムモデル植物であるシロイヌナズナのシステム生物学と薬用・健康機能植物での比較メタボロミクスによって、植物化学成分の生合成に関与する新規遺伝子の同定と代謝ネットワークの解明を目的に研究を行う。

3. 研究の方法

(1) モデル植物シロイヌナズナにおけるメタボロームエレメントの網羅的な単離・同定を行う。

(2) シロイヌナズナでのメタボロームおよびトランスクリプトームの共発現解析から成分生産に関与する新規遺伝子の同定、代謝ネットワークの解明を行う。

(3) シロイヌナズナでの手法を薬用および健康機能植物における特異的成分生産の研究に展開する。

4. 研究成果

(1) モデル植物であるシロイヌナズナのメタボロミクス研究において網羅的な代謝産物の単離・構造決定は必須である。そこで、植物メタボロミクスに応用することを目的としてシロイヌナズナ代謝物の網羅的単離、同定を行い、既知成分も含め37個の物質を単離、同定した。特に、シロイヌナズナにおけるアントシアニンおよびフラボノール生合成を制御する転写因子を2個同時発現した遺伝子組換えラインを作成し、そのフラボノイド成分の探索および遺伝子発現ネットワークを解析した。その結果、新規のフラボノイド成分の単離構造決定に成功した。

さらに、この二重転写因子高発現体は環境ストレスに対する耐性能が向上していることが示され、フラボノイド生合成機構とストレス耐性の強い関連性が明らかになった。

(2) シロイヌナズナのフラボノイド生合成

や含硫黄成分生合成の包括的解明を目的として、メタボロミクスとトランスクリプトミクスの統合解析に基づいたフラボノイドおよび含硫黄成分生合成遺伝子の網羅的同定を試みた。フラボノイドの多様性に寄与するアシル化および配糖化酵素遺伝子、グルタチオンS-転移酵素遺伝子などをターゲットとした遺伝子共発現解析を行い、関連遺伝子の絞り込みを行った。相関の高い遺伝子について、一次配列による候補遺伝子の機能推定、該当T-DNA挿入変異体のフラボノイドターゲット分析、組換え蛋白質を用いた生化学実験を行い、これらの酵素をコードしている遺伝子の機能を解明した。また、システイン合成系に関与する複数のセリンアセチル転移酵素およびベータ-置換アラニン類合成酵素遺伝子群の網羅的な解析を多重挿入変異体や組換えタンパク質を用いて行って、それぞれのアイソフォーム遺伝子の機能を同定した。

(3) 薬用植物シソの成分変種である赤ジソと青ジソにおける網羅的ディファレンシャル遺伝子発現プロファイルとアントシアニンなどの二次代謝成分プロファイルの解析から、アントシアニン生合成経路に関わる新規遺伝子を推定した。これらの新規遺伝子の機能を組換えタンパク質を用いた分子生物学および生化学的手法で同定した。

(4) モデル植物シロイヌナズナの知見を元に、比較ゲノム機能科学と分子生物学的・生化学的解析によって、主に薬用および健康機能植物での二次代謝成分生産システム研究に展開した。特に、抗がん性アルカロイドカンプトテシンの生合成系の解明を、網羅的ディファレンシャル遺伝子発現プロファイルと遺伝子発現抑制体の解析を中心に進め、転写抑制に関わる遺伝子および酸化酵素遺伝子の候補が同定された。また、カンプトテシン生産植物において、標的タンパク質の点突然変異が自己耐性の分子機構となっている事を解明した。また、同様の手法でディファレンシャルスクリーニング法を用いて、マメ科植物でのキノリチジンアルカロイド生合成に関する遺伝子の取得と機能解析を推進した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計19件)

1. Mami Yamazaki and Kazuki Saito: Molecular genetic study on the anthocyanins chemotypes of *Perilla frutescens* var. *crispa*. *Nat. Prod. Commun.*, 査読有, 6, 423-427 (2011)
2. Somnuk Bunsupa, Taketo Okada, Kazuki Saito and Mami Yamazaki: An

- acyltransferase-like gene obtained by differential gene expression profiles of quinolizidine alkaloid-producing and nonproducing cultivars of *Lupinus angustifolius*. *Plant Biotech.*, 査読有, 28, 89-94 (2011)
3. Ryo Nakabayashi, Mami Yamazaki and Kazuki Saito: A polyhedral approach including natural products chemistry for understanding flavonoid biosynthesis in *Arabidopsis*. *New Biotechnology*, 査読有, 27, 829-836 (2010)
 4. Kazuki Saito and Fumio Matsuda: Metabolomics for functional genomics, systems biology, and biotechnology. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 査読有, 61, 463-489 (2010)
 5. Mami Yamazaki, Takashi Asano, Yasuyo Yamazaki, Supaart Sirikantaramas, Hiroshi Sudo and Kazuki Saito: Biosynthetic system of camptothecin: an anticancer plant product. *Pure Appl. Chem.* 査読有, 82, 213-218 (2010)
 6. Supaart Sirikantaramas, Mami Yamazaki and Kazuki Saito: The coevolution of the camptothecin biosynthetic pathway and self-resistance mechanism. *Phytochemistry*, 査読有, 70, 1894-1898 (2010)
 7. Mutsumi Watanabe, Hans-Michael Hubberten, Kazuki Saito and Rainer Hoefgen: General regulatory patterns of plant mineral nutrient depletion as revealed by serat quadruple mutants disturbed in cysteine synthesis. *Mol. Plant*, 査読有, 3, 438-466 (2010)
 8. Mami Yamazaki, Takashi Asano, Yasuyo Yamazaki, Supaart Sirikantaramas, Hiroshi Sudo and Kazuki Saito: Biosynthetic system of camptothecin: an anticancer plant product. *Pure Appl. Chem.*, 査読有, 82, 213-218 (2010)
 9. Ryo Nakabayashi, Miyako Kusano, Makoto Kobayashi, Takayuki Tohge, Keiko Yonekura-Sakakibara, Noriyuki Kogure, Mami Yamazaki, Mariko Kitajima, Kazuki Saito and Hiromitsu Takayama: Metabolomics-oriented isolation and structure elucidation of 37 compounds including two new anthocyanins from *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 査読有, 70 1017-1029 (2009)
 10. Sarah G. Mugford, Naoko Yoshimoto, Michael Reichelt, Markus Wirtz, Lionel Hill, Sam T. Mugford, Yoshimi Nakazato, Masaaki Noji, Hideki Takahashi, Robert Kramell, Tamara Gigolashvili, Ulf-Ingo Flügge, Claus Wasternack, Jonathan Gershenzon, Rüdiger Hell, Kazuki Saito and Stanislav Kopriva: Disruption of adenosine-5' -phosphosulphate kinase. in *Arabidopsis* reduces levels of sulphated secondary metabolites. *Plant Cell*, 査読有, 21, 910-927 (2009)
 11. Mutsumi Watanabe, Keiichi Mochida, Tomohiko Kato, Satoshi Tabata, Naoko Yoshimoto, Masaaki Noji and Kazuki Saito: Comparative genomics and reverse genetics analysis reveal indispensable functions of the serine acetyltransferase gene family in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 査読有, 20, 2484-2496 (2008)
 12. Mami Yamazaki, Masahisa Shibata, Yasutaka Nishiyama, Karin Springob, Masahiko Kitayama, Norimoto Shimada, Toshio Aoki, Shin-ichi Ayabe and Kazuki Saito: Differential gene expression profiles of red and green forms of *Perilla frutescens* leading to comprehensive identification of anthocyanin biosynthetic genes. *FEBS J.*, 査読有, 275, 3494-3502 (2008)
 13. Supaart Sirikantaramas, Mami Yamazaki and Kazuki Saito: Mutations in topoisomerase I as a self-resistance mechanism coevolved with the production of the anticancer alkaloid camptothecin in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 査読有, 105, 6782-6786 (2008)
 14. Keiko Yonekura-Sakakibara, Takayuki Tohge, Fumio Matsuda, Ryo Nakabayashi, Hiromitsu Takayama, Rie Niida, Akiko Watanabe-Takahashi, Eri Inoue and Kazuki Saito: Comprehensive Flavonol Profiling and Transcriptome Coexpression Analysis Leading to Decoding Gene-Metabolite Correlation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 査読有, 20, 2160-2176 (2008)
 15. Bunyapa Wangwattana, Yoko Koyama, Yasutaka Nishiyama, Masahiko Kitayama, Mami Yamazaki and Kazuki Saito: Characterization of *PAPI*-upregulated Glutathione *S*-transferase genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnology*, 査読有, 25, 191-196 (2008)
 16. Mutsumi Watanabe, Miyako Kusano, Akira Oikawa, Atsushi Fukushima, Masaaki Noji, and Kazuki Saito: Physiological roles of the α -substituted alanine synthase

- gene family in Arabidopsis. *Plant Physiol.*, 査読有, 146, 310-320 (2008)
17. Jie Luo, Yasutaka Nishiyama, Christine Fuell, Goro Taguchi, Katherine Elliott, Lionel Hill, Yoshikazu Tanaka, Masahiko Kitayama, Mami Yamazaki, Paul Bailey, Adrian Parr, Anthony J. Michael, Kazuki Saito, and Cathie Martin: Convergent evolution in the BAHF family of acyl transferases; identification and characterisation of anthocyanin acyl transferases from *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 査読有, 50, 678-695 (2007)
 18. Supaart Sirikantaramas, Hiroshi Sudo, Takashi Asano, Mami Yamazaki, and Kazuki Saito: Transport of camptothecin in hairy roots of *Ophiorrhiza pumila*. *Phytochemistry*, 査読有, 68, 2881-2886 (2007)
 19. Keiko Yonekura-Sakakibara, Takayuki Tohge, Rie Niida, and Kazuki Saito: Identification of a flavonol 7-O-rhamnosyltransferase gene determining flavonoid pattern in Arabidopsis by transcriptome coexpression and reverse genetics. *J. Biol. Chem.*, 査読有, 282, 14932-14941 (2007)
- [学会発表] (計 19 件)
1. K. Saito: Plant metabolomics for systems biology and crop biotechnology. *Cold Spring Harbor Asia conference From Plant Biology to Crop Biotechnology*. Suzhou, China. October 25 - 29, 2010.
 2. K. Saito: Omics-based understanding of biosynthetic systems of plant specialized products. *European Plant Science Organisation. 5th EPSO Conference 'Plant for Life'*. Kittila (Lapland), Finland. August 28-September 2, 2010.
 3. K. Saito: Plant metabolomics for systems biology - From Arabidopsis to crops. *21st International Conference on Arabidopsis Research.*. Yokohama, Japan. June 6-10, 2010.
 4. 斉藤和季: メタボロミクスを基盤としたファイトケミカルゲノミクス. 日本化学会第90春季年会. 平成22年3月26-29日. 大阪.
 5. 中林亮, 榊原圭子, 松田史生, 峠隆之, 北島満里子, 高山廣光, 山崎真巳, 斉藤和季: シロイヌナズナにおける二つのMYB遺伝子同時過剰発現による遺伝子発現及びフラボノイド蓄積への効果. 第4回メタボロームシンポジウム. 平成21年11月18-19日. 横浜.
 6. S. Sirikantaramas, M. Yamazaki, K. Saito: Why plants can resist their own deadly metabolites: Coevolution of specialized toxin-producing pathway and self-resistance mechanism. 9th International Plant Molecular Biology Congress. St. Louis, Missouri, USA. October 25-30, 2009.
 7. K. Saito: Metabolomics-based functional genomics - From Arabidopsis and beyond. Metabolomics Society's 5th Annual International Conference. Edmonton, Canada. August 30 - September 2, 2009.
 8. 小林可菜英, 浅野孝, 佐々木亮介, 飯島陽子, 青木考, 柴田大輔, 斉藤和季, 山崎真巳: TDCi毛状根の代謝物変動解析に基づくカンプトテシン生合成中間体の探索. 第27回日本植物細胞分子生物学会(藤沢)大会・シンポジウム. 2009年7月30-31日. 藤沢.
 9. 吉本尚子, 東泰弘, 勝沼咲子, 水野新也, 高橋秀樹, 野路征昭, 斉藤和季: シロイヌナズナにおける硫黄同化酵素ATPスルフィラーゼの機能解析. 第27回日本植物細胞分子生物学会(藤沢)大会・シンポジウム. 2009年7月30-31日. 藤沢.
 10. 中林亮, 榊原圭子, 松田史生, 北島満里子, 高山廣光, 山崎真巳, 斉藤和季: 二つのMYB遺伝子の同時過剰発現体におけるトランスクリプトームとフラボノイドプロファイル. 第26回日本植物細胞分子生物学会大阪大会・シンポジウム. 大阪. 2008年9月1-2日.
 11. 榊原圭子, 峠隆之, 新井田理絵, 高橋晶子, 斉藤和季: UDP-糖供給系がフラボノイド代謝系に及ぼす影響. 第26回日本植物細胞分子生物学会大阪大会・シンポジウム. 大阪. 2008年9月1-2日.
 12. R. Nakabayashi, K. Yonekura-Sakakibara, F. Matsuda, T. Tohge, M. Kitajima, H. Takayama, M. Yamazaki, K. Saito: Flavonoid profiling and transcriptome in Arabidopsis overexpressing two MYB genes. 5th International Conference on Plant Metabolomics. Yokohama, Japan. July 15-18, 2008.
 13. M. Yamazaki, J. Okuyama, T. Asano, K. Saito: Characterization of transcription factor expressed in camptothecin producing hairy roots. 5th International Conference on Plant Metabolomics. Yokohama, Japan. July 15-18, 2008.
 14. K. Saito: Integration of metabolomics and transcriptomics

for phytochemical genomics in Arabidopsis and non-model plants. The 1st International Conference on Plant Secondary Metabolism. Kunming, China. June 8-10, 2008.

15. M. Watanabe, M. Kusano, A. Oikawa, A. Fukushima, M. Noji, K. Saito: Roles of gene families of O-acetylserine thiol-lyase and serine acetyltransferase in Arabidopsis: Just redundancy or hidden secret?. 7th Workshop on Sulfur in Plants. Warsaw, Poland. May 13-17, 2008.
16. K. Saito: Camptothecin biosynthetic system - Pathway elucidation, gene discovery and self-resistance. PSE (Phytochemical Society of Europe) Congress. Plants for Human Health in the Post-Genome Era. Helsinki, Finland. August 26-29, 2007.
17. M. Watanabe, M. Kusano, A. Oikawa, A. Fukushima, M. Noji, K. Saito: Roles of gene families of O-acetylserine thiol-lyase and serine acetyltransferase in Arabidopsis: Just redundancy or hidden secret? 10th International Congress on Amino Acids and Proteins. Chalkidiki, Greece. August 21-26, 2007.
18. K. Saito: Phytochemical genomics in Arabidopsis thaliana and towards non-model plants. Integration of metabolomics and transcriptomics. 2007 Phytochemical Society of North America Annual Meeting. St. Louis, Missouri, USA. July 21-25, 2007.
19. K. Saito: Integration of transcriptomics and metabolomics for finding regulatory networks in plant metabolism. Gordon Research Conferences 'Plant Metabolic Engineering'. Tilton, New Hampshire, USA. July 15-20, 2007.

[図書] (計2件)

1. Toshiya Muranaka and Kazuki Saito: Production of Pharmaceuticals by Plant Tissue Cultures. *In*: "Comprehensive Natural Products II Chemistry and Biology" Mander, L., Lui, H.-W., eds.: volume 3, pp.615-628 Elsevier: Oxford, 2010.
2. Takashi Asano, Hiroshi Sudo, Mami Yamazaki, and Kazuki Saito: Camptothecin production by in vitro cultures and plant regeneration in

Ophiorrhiza species. In "Methods in Molecular Biology 547. Protocols for In Vitro Cultures and Secondary Metabolite Analysis of Aromatic and Medicinal Plants" S. Mohan Jain and Praveen K. Saxena, eds: pp.337-345, Humana Press - Springer, New York, 2009.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

<http://www.p.chiba-u.ac.jp/lab/idenishi/index.htm>

- ・ 「第57回日本生薬学会年会と第5回日中韓合同シンポジウムで徳島に計1200人、吉川雅之京都薬大教授が会長講演と学会賞受賞講演、斉藤和季千葉大教授が特別講演」バイオテクノロジージャパンニュース 2010年9月29日
- ・ 斉藤和季、「植物はなぜ薬になる物質を作るのか? 植物の化学的多様性のゲノム基盤解明」研究成果の見える化、千葉大学、2010.10 Ver. 5, pp 3 (2010)
- ・ ネイチャージャパン 特集記事「メタボロミクスで植物の成分を解明、将来の生産につなげたい」平成22年(2010年)5月 <http://www.natureasia.com/japan/jobs/tokushu/detail.php?id=216>
- ・ 「日本薬学会第130年会 ハイライト講演注目の10題紹介 有用物質生産工場としての植物細胞」科学新聞 平成22年(2010年)3月26日
- ・ 千葉大・JSTプレスリリース「植物が自ら作る抗がん物質に対する自己耐性機構を解明—抗がん物質の効率的生産や抗がん剤耐性機構の解明に手がかり—」平成20年(2008年)4月29日。平成20年4月29日 朝日新聞朝刊(全国版)「抗がん剤副作用減に光」、平成20年4月29日 読売新聞朝刊(京葉版)「抗がん物質メカニズム解明」、2008年4月29日 Biotechnology Japan 「千葉大、JST、抗がん性アルカロイドに対する植物の自己耐性機構を解明、標的分子の変異明らかに」、2008年4月30日 アサヒコム(asahi.com)「抗がん剤原料の猛毒もつ植物、なぜ平気?副作用減に道」、2008年4月30日 YAHOO!ニュース「抗がん物質作る木の耐性解明=効率的生産法への応用期待—千葉大」、2008年5月16日 科学新聞「千葉大 植物由来の抗ガン物質自己耐性機構を解明 —効果的な抗ガン剤開発に期待—」、2008年5月12日 薬事日

報「カンプトテシン量産と耐性克服に道
千葉大グループが解明」

6. 研究組織

(1) 研究代表者

斉藤 和季 (SAITO KAZUKI)
千葉大学・大学院薬学研究院・教授
研究者番号：00146705

(2) 研究分担者

山崎 真巳 (YAMAZAKI MAMI)
千葉大学・大学院薬学研究院・准教授
研究者番号：70222370

吉本 尚子 (YOSHIMOTO NAOKO)
千葉大学・大学院薬学研究院・助教
研究者番号：10415333

野路 征昭 (NOJI MASA AKI)
徳島文理大学・生薬研究所・准教授
研究者番号：80271534
(H19→H20：連帯研究者)

高山 廣光 (TAKAYAMA HIROMITSU)
千葉大学・大学院薬学研究院・教授
研究者番号：90171561
(H19→H20：連帯研究者)

金谷 重彦 (KANAYA SHIGEHICO)
奈良先端科学技術大学院大学・情報科学研究科・教授
研究者番号：90224584
(H19→H20：連帯研究者)

草野 都 (KUSANO MIYAKO)
独立行政法人理化学研究所・植物科学研究
センター・研究員
研究者番号：60415148
(H19→H20：連帯研究者)

(3) 連帯研究者

中林 亮 (NAKABAYASHI RYO)
独立行政法人理化学研究所・植物科学研究
センター・特別研究員
研究者番号：30586160

青木 俊夫 (AOKI TOSHIO)
日本大学・生物資源学部・准教授
研究者番号：80287606