

## 薬用資源植物の化学的多様性のゲノム起源

### Genomic origin of chemodiversity in medicinal plants

課題番号：19H05652

齊藤 和季 (SAITO Kazuki)

理化学研究所・環境資源科学研究センター・センター長



#### 研究の概要（4行以内）

医薬学や医療分野において重要性が増加している薬用資源植物について、ゲノム、メタボローム等を解読し、その化学的多様性のゲノム起源を明らかにする。得られた知見を「持続可能な開発目標」SDGsにも貢献する植物資源の持続的利用に応用し、同時に人類の知の地平線を拡大する。今後10～20年の薬用植物資源開発においてゲノム多様性を有効利用する道を拓く。

研究分野：薬学およびその関連分野、環境および天然医薬資源学関連

キーワード：薬用植物、ゲノム、メタボローム

#### 1. 研究開始当初の背景

医薬の源泉となる植物メタボロームの多様性は動物などを遙かに凌駕しているが、そのゲノム起源は未解明であり根源的な課題である。また、医師の9割が漢方を処方しており、さらに高齢化社会における健康寿命の延伸に向けて植物医薬への期待が大きい。一方、生薬の多くが輸入に依存している中で、名古屋議定書により公正な利益配分を求めるようになったが、むしろ国内栽培されてきた薬用植物のゲノム解明と知財防衛への大きなチャンスである。加えて、2015年に国連で採択された「持続可能な開発目標」SDGs (Sustainable Development Goals)において、生物多様性資源の保全とその持続的利用は地球規模での焦眉の課題である。また、技術的背景として、ゲノム科学関連技術の急速な進展がある。

#### 2. 研究の目的

本研究では、薬用資源植物のゲノム、メタボローム等を解読して、統合ゲノム科学によりその化学的多様性の起源を明らかにするとともに、その知見を植物資源の持続的利用に応用する。

#### 3. 研究の方法

漢方処方に最も頻繁に用いられ、最大の生産量などからも、生薬として最も重要な甘草について、その主要有効成分であるグリチルリチンを含む植物種、含まない種の高品質ゲノム配列を決定し、さらに成分パターンの異なる変種系統をリシークエンスし、変異情報

を得る。次に、トランスクリプトームやメタボロームデータも取得して、これらの共起性ネットワーク解析や、ゲノムワイドアソシエーション解析 (GWAS)によって、成分パターンを決めている遺伝子、ゲノム領域、変異を特定する。次に、これらの遺伝子機能を同定し、将来的にはゲノム編集・合成生物学などのバイオテクノロジーによって、甘草の分子育種や有効成分の生産に応用する。

同時に、この基本的な手法を甘草以外の重要な薬用資源植物のゲノム機能科学にも展開し、植物二次代謝に関する新規遺伝子の同定、メタボロームアノテーションの高度化なども進める。図1に本研究の概要を示す。

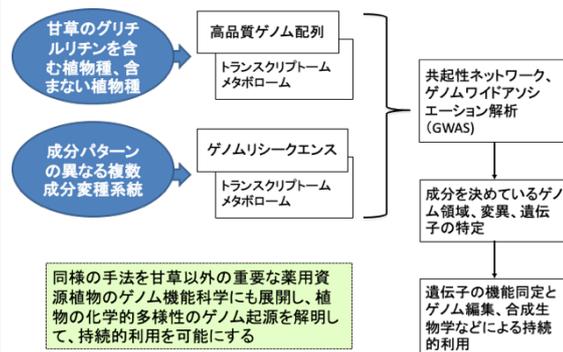


図1 本研究の概要

#### 4. これまでの成果

国内栽培されてきたウラル甘草 (*Glycyrrhiza uralensis*) (染色体数:2n=16, ゲノムサイズ:401Mb)について、主成分のグリチルリチン含量の異なる4系統について高品質

ゲノム配列のアッセンブリまで完了した。これらの高度に連結したゲノムアッセンブリは、単一 DNA 分子を鋳型とする第三世代のシーケンシング法に加え、最新鋭のナノテクノロジーを応用した Hi-C 法なども取り入れて、本研究で確立した複数プラットフォームを組み合わせることに伴う新たな手法の確立による成果である。これにより遺伝子クラスターの発見に必須な断片化が最小限の高精度のゲノムアッセンブリを実現することができた。これを最初に重要な薬用資源植物における抗癌性アルカロイド成分生産に関する遺伝子クラスターの発見と化学的多様性進化の考察に適用した。

さらに、スペイン甘草 (*G. glabra*) と新疆甘草 (*G. inflata*) について、それぞれ 1 系統ずつについて高品質のゲノム配列を決定した。スペイン甘草については、ほぼ染色体レベルの 13 個のスケパフォルドにまで連結した極めて高品質のゲノム配列を決定できた。

上記の甘草属植物について、トランスクリプトーム、メタボローム解析を進めつつ、安定同位体を用いたメタボロームのアノテーション手法を共起性ネットワークなども用いて高度化した。また、イメージング質量分析の手法も開発し、薬用資源植物における特異的二次代謝産物の局在性解析に適用した。

甘草のグリチルリチン生産に関する新規の遺伝子機能同定として、トリテルペン母核であるβ-アミリンの 11 位を酸化してグリチルリチン型 (ケト型) に変換するか、非グリチルリチン型に変換するかを決定する CYP88D ファミリーの遺伝子機能を酵母を用いた合成生物学的手法で同定した。グリチルリチンを生産する甘草種と生産しない甘草種からの、この P450 分子種がグリチルリチン生産の有無に関わっていることが証明された。また、薬用資源植物の多くに含まれる特異な生物活性を有するネオリグナン化合物の生合成遺伝子を、世界で初めて同定した。この成果は、甘草などの重要な薬用資源植物におけるネオリグナン類生産などの制御機構解明の基礎となる。

甘草と同じマメ科植物の重要生薬「苦参」の基原植物であるクララ (*Sohora flavescens*) (染色体数:  $2n=18$ , 推定ゲノムサイズ: 1,935Mb) について、97.3% をカバーするゲノム配列を決定できた。さらに、甘草と同様にサポニンを薬効成分とするサンシュユ (山茱萸) (*Cornus officinalis*) についても、トランスクリプトームとメタボローム解析を行い、それらの共起性ネットワーク解析などによって、成分生産に関する候補遺伝子を同定した。

## 5. 今後の計画

グリチルリチンを含有する 3 種の甘草種 (および同一種の複数系統) について、ゲノム、トランスクリプトーム、メタボロームを統合した「汎ゲノム解析」を進め、GWAS 解析などにより、有効成分の生産に関わる遺伝子変異を同定する。同時に、他の重要な薬用資源植物についても統合ゲノム研究を進め、これらの化学的多様性の起源を明らかにするとともに、合成生物学的な手法によって薬効成分の高生産に応用する。

## 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. A. Rai, H. Hirakawa, R. Nakabayashi, S. Kikuchi, K. Hayashi, M. Rai, H. Tsugawa, T. Nakaya, T. Mori, H. Nagasaki, R. Fukushi, Y. Kusuya, H. Takahashi, H. Uchiyama, A. Toyoda, S. Hikosaka, E. Goto, K. Saito, M. Yamazaki: Chromosome-level genome assembly of *Ophiorrhiza pumila* reveals the evolution of camptothecin biosynthesis: *Nature Commun.*, **12**, 405 (2021)
2. M. Z. Fanani, S. Sawai, H. Seki, M. Ishimori, K. Ohyama, E. O. Fukushima, H. Sudo, K. Saito, T. Muranaka: Allylic hydroxylation activity is a source of saponin chemodiversity in the genus *glycyrrhiza*. *Plant Cell Physiol.*, in press (2021)
3. K. Yonekura-Sakakibara, M. Yamamura, F. Matsuda, E. Ono, R. Nakabayashi, S. Sugawara, T. Mori, Y. Tobimatsu, T. Umezawa, K. Saito: Seed-coat protective neolignans are produced by the dirigent protein AtDP1 and the laccase AtLAC5 in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **33**, 129-152 (2021)
4. A. Rai, M. Rai, H. Kamochi, T. Mori, R. Nakabayashi, M. Nakamura, H. Suzuki, K. Saito, M. Yamazaki: Multiomics-based characterization of specialized metabolites biosynthesis in *Cornus officinalis*. *DNA Res.*, **27**, dsaa009, <https://doi.org/10.1093/dnares/dsaa009> (2020)
5. S. Y. Chung, H. Seki, Y. Fujisawa, Y. Shimoda, S. Hiraga, Y. Nomura, K. Saito, M. Ishimoto, T. Muranaka: A cellulose synthase-derived enzyme catalyses 3-O-glucuronosylation in saponin biosynthesis. *Nature Commun.*, **11**, 5664 (2020)
6. R. Nakabayashi, K. Saito: Higher dimensional metabolomics using stable isotope labeling for identifying the missing specialized metabolism in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **55**, 84-92 (2020)
7. R. Nakabayashi, T. Mori, N. Takeda, K. Toyooka, H. Sudo, H. Tsugawa, K. Saito: Metabolomics with  $^{15}\text{N}$  labeling for characterizing missing monoterpene indole alkaloids in plants. *Anal. Chem.*, **92**, 5670-5675 (2020)
8. (受賞) K. Saito: Highly Cited Researchers 2019 & 2020 (*Plant & Animal Science*)

## 7. ホームページ等

<http://metabolomics.riken.jp/>