

# 希少糖生理活性の作用機構と 生物生産場面での利用に向けて

香川大学農学部 **あきみつ 秋光** **かずや 和也** **ふくもと 福元** **たけし 健志** **たじま 田島** **しげゆき 茂行** **いずもり 何森** **けん 健**  
 三共アグロ(株) **たなか 田中** **けいじ 啓司** **しげまつ 重松** **よしお 由夫**  
 (株)四国総合研究所 **いし 石** **だ 田** **ゆたか 豊**

## はじめに

希少糖とは「自然界にその存在量が少ない単糖とその誘導体」と定義される。香川大学を中心に、この希少糖の大量生産技術の確立に成功した。D-プシコース、D-アロース等の量産体制に入った希少糖のいくつかが、低濃度でイネ・カンキツ等の防御関連遺伝子群の発現を誘導し、さらに生育調節活性を示すことが明らかとなってきた。新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業(生物系特定産業技術研究支援センター)による支援のもとで、マイクロアレイ解析を駆使して希少糖処理で発現が増減するイネ遺伝子を特定し、これらの未知の遺伝子群をイネで発現させ、それぞれの遺伝子の機能解析が進んでいる。本研究により今まで着目されていない経路由来のシグナル伝達を明らかにできる可能性があり、さらに希少糖の生理作用の農業場面での利用の可能性を見いだす研究が、香川大学・三共アグロ(株)・(株)四国総合研究所の共同研究で進展している。

## I 希少糖生産技術の確立

自然界に大量に存在する単糖である「天然型単糖」に対して、微量にしか存在しない単糖を「希少糖」と定義付けている。これらの希少糖の中で、例えばD-プシコースは数年前まで1gが7万円以上、その他のほとんどの希少糖は試薬として販売さえされておらず、実験にも安易に使用できないため、希少糖を用いた研究はほとんど進んでいなかった。このため、希少糖を大量に生産することができれば、全く新しい研究成果が期待できた。

希少糖の大量生産に関する研究は、自然界に大量に存在する天然型単糖を希少糖に変換する新規酵素を香川大学・何森らが発見したことから始まる (IZUMORI et al.,

1993)。何森らは、炭素数6のすべての単糖と、生成酵素の関連を構造化した Izumoring を提唱し (図-1; IZUMORI, 2002; IZUMORI, 2006), 2002年度からは知的クラスター創成事業(文部科学省)に採択され、安価なD-グルコースやD-フラクトースなどから希少糖を大量生産する生産体制を確立した。現時点で既に、希少糖の入り口であるD-プシコースを果糖から生産する方法は確立できており、これを材料としてさらにD-アロースを大量生産している。また、その他の希少糖についても、

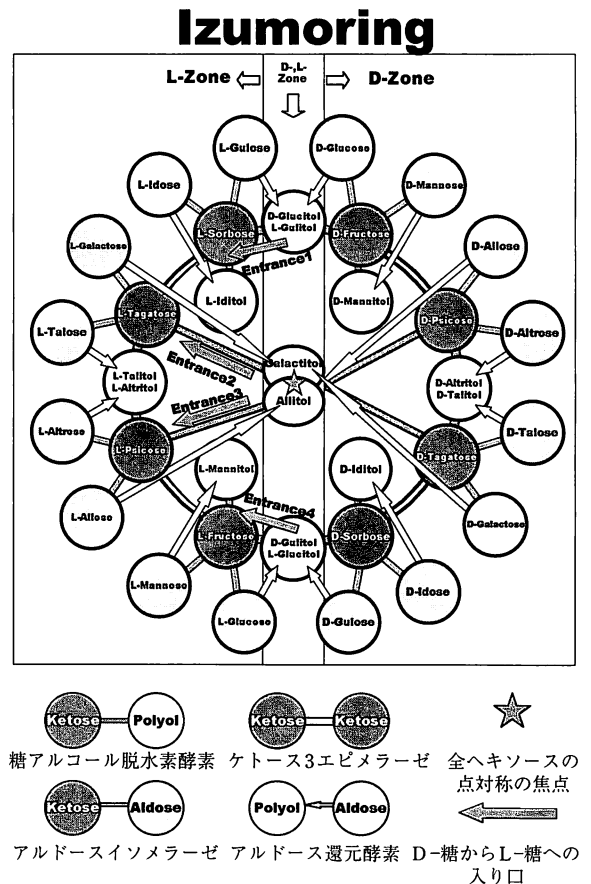


図-1 イズモリング (IZUMORI, 2002; 2006)

Mode of Action of Rare Sugars to Plants toward Application in Agriculture. By Kazuya AKIMITSU, Takeshi FUKUMOTO, Shigeyuki TAJIMA, Ken IZUMORI, Keiji TANAKA, Yoshio SHIGEMATSU and Yutaka ISHIDA

(キーワード: 希少糖, 植物, D-プシコース, D-アロース)

Izumoring の理論のもとに、さらなる生産系の確立が進展中である。

このような希少糖の大量生産系確立の背景のもとに、これまで試されていなかった希少糖の生理活性の探索が可能となり、動物・植物の広いレベルにおける研究が香川大学を中心に進められた。その結果、植物では防御関連遺伝子群の発現誘導や生長調節作用などの特徴的な作用が明らかになった (IZUMORI et al., 2005 ; 秋光ら, 2007)。これらの生理活性を応用に向けてのために、香川大学を中心として糖の安定性や各種毒性試験などが実施され、新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業 (生物系特定産業技術研究支援センター) による支援のもと、農業・肥料等にあげられる生物生産場面で利用される各種薬剤・資材等への応用・実用化を目指した試みが現在進められている。

## II 植物への希少糖の特徴的作用

前章までに述べたような試みの中で明らかになった希少糖の植物に対する作用は特徴的かつ明確である。その一つに希少糖のエリシター活性があげられる。自然界における様々な生物・非生物由来の物質が植物の防御反応を誘導し、これらの物質はエリシターと呼ばれる。病原菌の感染を受けた植物は、感染の過程で植物細胞壁の酵素的・物理的な分解を受け、細胞壁を構成する多糖の分解産物もまたエリシター活性を示すことが明らかとなっている。これらエリシターの初期認識が、病原菌に対する防御機構の開始における重要なステップであることは明らかである。そこで、単糖である各種希少糖のエリシター活性について研究を進めた。まずは香川県の地場産業作物の一つであるカンキツの切り取り葉に、各種希少糖水溶液を定着剤なしで噴霧処理し、植物防御関連遺伝子の発現を調べた。多岐にわたる植物防御機構を網羅的に検定するために、細胞内・細胞間シグナル伝達に関与するいくつかの経路の遺伝子について調べた結果、本処理4時間後を中心として、これらの植物防御関連遺伝子の発現が誘導された。

香川大学で明らかにしたカンキツ防御関連遺伝子の中で、脂質過酸化経路の酵素遺伝子である lipooxygenase (LOX) 遺伝子 (GOMI et al., 2002 a), allene oxide synthase (AOS) 遺伝子 (GOMI et al., 2003 a) や、フラボノイド生合成経路の酵素遺伝子である phenylalanine-ammonia lyase (PAL) (GOMI et al., 2003 b), chalcone synthase (CHS) 遺伝子 (GOMI et al., 2003 b) は、病原菌や傷害などのストレスにより極めて初期に作動し、その結果サリチル酸やジャスモン酸などのシグナル伝達物

質の合成を介して、防御機能を活性化すると考えられる。これらの遺伝子が希少糖処理により起動したことは、植物による希少糖の認識が、ストレス応答反応経路の活性化につながっていることを意味する。また、植物抵抗性誘導時のみ発現する PR タンパク群の中で、植物の防御機構に直結することが知られるプロテアーゼ阻害タンパク (MLP2) (TSUKUDA et al., 2006), キチナーゼ (ChiA) 遺伝子 (GOMI et al., 2002 b) も希少糖処理により起動された。PR タンパク型のプロテアーゼ阻害タンパクは、一般に植物において害虫などに対して消化不良を誘起することによる防御作用をもつことや、キチナーゼが病原糸状菌の主成分の一つであるキチンを分解し、さらにこのキチン分解物が抵抗性誘導活性を保持することも知られている。また筆者らの研究で、シグナル伝達に関与することを明らかにしたモノテルペン合成酵素遺伝子 (YAMASAKI and AKIMITSU, 2007) も起動したことから、希少糖は多岐にわたる抵抗性関連遺伝子発現の制御機構に関与するものと考えられる。希少糖は自然界に存在する天然型単糖と類似構造をもちながら、微量しか存在しない。そのため植物にとって完全に初めて出会う化合物ではないが、大量に吸収・代謝・分解する経路が確立しておらず、何らかのセンサーシステムにより希少糖が異物認識されて、抵抗反応系への伝達機構 (ストレス-シグナリング) を刺激しているのではないかと考えている。

さらに、希少糖は濃度依存性の様々な植物生長調節作用をもつことが明らかになった。これまでにイネ、シロイヌナズナ、ミヤコグサ、トマト等の多くの植物の生長調節に対する希少糖の作用を確認している (IZUMORI et al., 2005)。これらの作用には、①希少糖は低濃度で作用を及ぼし、その作用 (抑制・促進) は濃度依存性を示す、②これらの作用は一過性であり、希少糖存在下では生長調節作用を及ぼすが、希少糖を排除すると生長調節作用は解除され通常の生育に戻るといった共通点が示されている。イネへの希少糖の処理条件とその作用を一例としてあげる。播種後5日目のイネ発芽苗を用いて、各種濃度の D-プシコースを溶かした液肥 (木村氏 B 液) 中で育苗すると、0.1 mM の D-プシコース処理区で約 30% の生長阻害が認められ、0.5 mM 処理区では 10 日間の水耕で苗丈・根長ともに 60% 以上抑制された。この 0.5 mM 処理区の苗を水耕 10 日後に土ポットに移植し、さらに 1 週間 D-プシコースなしで栽培し、葉の totalRNA を用いて防御関連遺伝子の発現様式を検定したところ、イネ病害抵抗性に関与する遺伝子の発現誘導が認められた。また、水耕時に認められた生育抑制は、

D-ブシコース処理時の一過的な作用であり、土に移植後D-ブシコースを処理せずに生育させることにより、約3週間で無処理区の80%以上のサイズにまで回復した。また同様な作用はD-アロースでも確認されたが、これまでに供試したいくつかの他の希少糖やフルクトースなどの天然型単糖ではこのような作用は認められなかった。

希少糖は自然界に約50種存在すると考えられているが、いずれの希少糖も購入価格が極めて高いため、購入不可能であったため、その生理活性についてはこれまで全く研究されていなかった。希少糖の生理活性に関する研究を進めるうえで、今後も継続的に希少糖生産を続ける研究拠点は、世界において香川大学を中心とした当研究グループ以外にはなく、研究材料の供給という点で圧倒的な優位性があると考えられる。これまで研究されていなかった希少糖の生理作用として、希少糖のエリター活性と植物生長調節作用が明らかになった。これらの作用を利用した農業のための試薬・資材としての実用化に向け

て検定試験を進めるとともに、これらの作用を引き起こすメカニズムの解明に向けての基礎研究が現在推進されている(図-2)。

### III 希少糖研究進展の背景

ここでは、希少糖に関する歴史的背景を紹介する。世界最初の希少糖の大量生産とその研究進展は、1974年のキシリトール生産の確立に始まる。キシリトールの大量生産は、植物材料からの中間体の大量抽出とその抽出物をもとにした化学合成により成功を収め、現在ではガムなどの甘味料の一つとして関連産業の飛躍的な生長をもたらした。しかしながら、その他の希少糖に関する飛躍的な研究の歴史は浅く、希少糖研究のすべては本研究グループの何森教授によるIzumoringの提唱と希少糖合成能をもつ酵素の発見による希少糖大量生産戦力の推進とともに進展している。希少糖研究の唯一の国際学会である国際希少糖学会は、2001年4月に香川大学に本部を置く国際学会として設立され(<http://isrs.kagawa-u.ac.jp/index.html>)、過去3回開催された国際希少糖学会はいずれも香川県高松市で開催されている。

香川大学農学部では1970年代中ごろより、何森教授を中心として、単糖類の異性化反応、エピ化反応、酸化還元反応等に関わる糖類変換酵素に関する研究が進められた。先に述べたように新規酵素の発見は、従来不可能であった代表的な天然型単糖D-フラクトースから希少糖D-ブシコースへの変換を可能とした。この優位性から香川大学には2001年10月「希少糖研究センター」が学内措置で設置され(<http://rare-sugar.com/html/intro1.html>)、また香川大学農学部には2006年度の改組で大学院農学研究科に希少糖科学専攻が設置された。同時期、旧香川医科大学においても香川大学との連携の下、希少糖を用いた医薬品などの開発研究が急速に発展し、2002年5月には「希少糖応用研究センター」が学内措置で設置された。2003年10月の旧香川大学・香川医科大学統合を期に、希少糖研究の充実を図り世界的な拠点としてさらなる発展を図ることを目的に、両大学のセンターを統合した新生「希少糖研究センター」が省令施設として認められた。2004年4月の香川大学の国立大学法人化の下、希少糖研究センターも従前の体制で再出発している。本分野は希少糖の生産なしには研究を進展させる術がなく、希少糖研究センターによりこれまで手に入らなかった希少糖を量産できるという点で、本研究チームは圧倒的な優位性を誇る。

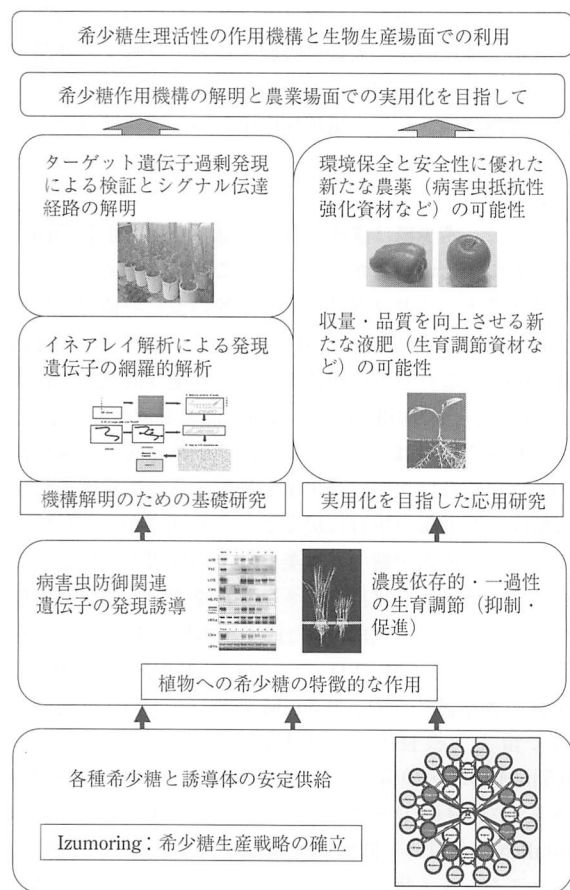


図-2 希少糖研究展開概略図

#### IV 今後の希少糖研究の展開

筆者らの研究グループでは、現時点で明らかになっている D-プシコースと D-アロースの生理活性から、これら希少糖のもつ生理活性は農業場面での応用・実用化へ発展する可能性があると考えている。希少糖は天然物であり土壌中では微生物などの作用により速やかに分解するため、環境に対する安全性も高い。新技術への応用は、耐病性増強、育苗の集約的作業への応用、種子・塊茎の発芽制御剤、抑草・草刈代替剤、果実の糖度向上や鮮度保持効果、植物工場や養液栽培システムにおける肥料養液への混合等、その可能性は大きく広がる。海外から輸入される安価な農産物に対して、国内では味・香り・外観等に特長のある農作物のブランド化が進められている昨今、希少糖は高い付加価値を有する収穫物の安定生産に寄与できる可能性があり、農産物のブランド化による地域の活性化も期待できる。農業関連分野における各種農薬市場は 3 千数百億円が見込まれ、希少糖はこれらの市場の多くの場面での応用が期待できる。

#### おわりに

前章までに述べたような研究動向・研究体制の構築状況は、過去 5 年間にわたり新聞などで報道されてきた。希少糖生産研究の立ち上げ時は、一地方大学からの挑戦ととらえられ、その応用価値の高さは当初から予測されていた。香川県高松地域は 2003 年 4 月に地域限定規制緩和が実施される構造改革特区として糖質バイオクラスター特区に認定された。日経バイオビジネス誌 (2005) の全国バイオクラスターランキングでも、特色創出度ラ

ンキングで高松希少糖バイオクラスターは第 3 位に選出され、医薬品・食品とともに農業への応用が期待されている。本研究の絶対的な独創性・革新性・優位性として、ここまでに繰り返したとおり「希少糖の安定供給」があげられる。これらの優位性をベースに、他に追従できるコンペティターが皆無である状況から、我が国のみならず国際的にも多大なインパクトをもたらし、新たな産業の創成に繋がる可能性をもつと考える。生物系特定産業における希少糖の実用化の可能性を探るに当たり、国内大手農薬メーカーである三共アグロ(株)と、また葉菜類植物工場や果菜類養液栽培システムの開発など施設園芸関連の研究開発で長年培ってきた技術やノウハウをもつ(株)四国総合研究所との共同研究が進んでいる。その成果が有効であり、実用性を兼ね備えていれば、天然物であり環境に対する安全性も高い希少糖を用いた新技術への応用の可能性が大きく広がり、生物系特定産業に新技術・新分野をもたらすと期待している。

#### 引用文献

- 1) 秋光和也ら (2007) : 特許第 4009720 号。
- 2) IZUMORI, K. (2002) : *Naturwissenschaften* 89 : 120 ~ 124.
- 3) ——— (2006) : *J. Biotechnol.* 124 : 717 ~ 722.
- 4) ——— et al. (2002) : *Biosci. Biotech. Biochem.* 57 : 1037 ~ 1039.
- 5) ——— et al. (2005) : 国際出願 PCT/JP2005/009474.
- 6) GOMI, K. et al. (2002 a) : *J. Gen. Plant Pathol.* 68 : 21 ~ 30.
- 7) ——— et al. (2002 b) : *ibid.* 68 : 191 ~ 199.
- 8) ——— et al. (2003 a) : *J. Plant Physiol.* 160 : 1219 ~ 1231.
- 9) ——— et al. (2003 b) : *Plant Mol. Biol.* 53 : 189 ~ 199.
- 10) 日経バイオビジネス (2005) : 第 2 回全国バイオクラスターランキング : 78 ~ 85.
- 11) TSUKUDA, S. et al. (2006) : *Plant Mol. Biol.* 60 : 125 ~ 136.
- 12) YAMASAKI, Y. and K. AKIMITSU (2007) : *J. Plant Physiol.* 164 : 1436 ~ 1448.

(新しく登録された農薬 17 ページからの続き)

#### ●アミスルフロム水和剤

22155 : ライメイフロアブル (日産化学工業) 08/04/30

アミスルフロム : 17.7%

ばれいしょ : 疫病 : 収穫 7 日前まで

だいず : べと病 : 収穫 7 日前まで

トマト : 疫病 : 収穫前日まで

ミニトマト : 疫病 : 収穫前日まで

きゅうり : べと病 : 収穫前日まで

メロン : べと病 : 収穫前日まで

ぶどう : べと病 : 収穫 14 日前まで

#### 「除草剤」

#### ●アジムスルフロム・シハロホップブチル粒剤

22146 : クサファイター 1 キロ粒剤 (三共アグロ) 08/04/09

22147 : デュボンクサファイター 1 キロ粒剤 (デュボン)

08/04/09

アジムスルフロム : 0.18%, シハロホップブチル : 1.8%

移植水稻 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ミズガヤツリ, ウリカワ, ヒルムシロ, セリ (九州を除く)

#### ●イマゾスルフロム・ピラクロニル・プロモブチド粒剤

22148 : バッチリ 1 キロ粒剤 (協友アグリ) 08/04/23

イマゾスルフロム : 0.90%, ピラクロニル : 2.0%, プロモブチド : 9.0%

移植水稻 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ (北海道, 東北), ミズガヤツリ (北海道を除く), ウリカワ, ヒルムシロ, セリ, アオミドロ・藻類による表層はく離 (九州を除く)

#### ●イマゾスルフロム・ピラクロニル・プロモブチド水和剤

22149 : バッチリフロアブル (協友アグリ) 08/04/23

イマゾスルフロム : 1.7%, ピラクロニル : 3.7%, プロモブチド : 16.3%

移植水稻 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ (北海道, 東北, 九州), ミズガヤツリ (北海道を除く), ウリカワ, ヒルムシロ, セリ, アオミドロ・藻類による表層はく離 (北陸, 九州を除く)

#### ●フラザスルフロム水和剤

22150 : シバゲン DF (石原バイオサイエンス) 08/04/23

フラザスルフロム : 25.0%

日本芝 : 一年生雑草, 多年生広葉雑草