

## 樹木の分子生物学研究の現状と展望\*1

片山義博\*2

### Advances and Prospects in Molecular Biology of Tree\*1

Yoshihiro KATAYAMA\*2

#### 1. 樹木分子生物学が取り組む重要課題

現在の地球は約27万種の陸上植物が様々な環境に生育している。水圏には約2万種の藻類が生育し、陸上植物はコケ植物（現生種は約2万種）、シダ植物（約1.2万種）、裸子植物（約1000種）被子植物（約23.5万種）である。これらの陸上植物は、現在のコケ植物と同一の系統から進化してきた植物であることが18S rRNA 遺伝子配列比較から支持されている。コケ植物が、維管束植物（シダ植物、裸子植物、被子植物）と異なる点の一つは、維管束がないことである。維管束は、水分や養分の通道と植物体の支持という陸上生活を営む上で重要な働きがある。コケからシダ植物への進化の鍵である維管束形成には、「維管束細胞への新たな細胞分化」と「その細胞壁に沈積する芳香族高分子物質リグニンの生合成経路の形成」を同時に達成する必要がある。「樹木分子生物学」はまず、植物進化の鍵である「リグニン生合成経路の制御や形成」に取り組む基礎科学として位置づけられる。

シダ植物はその後、「一次維管束」を発達させ水分や養分通道と支持機能を増幅して植物の直立と大型化に貢献したが、真の大型化（樹木化）は形成層分裂組織から分化する「二次維管束」の発達によりもたらされる。その形成層の進化は、頂端分裂組織から生じた「前形成層」の一部が一次維管束に分化

せず、その後も分化能を維持するようになり「樹木型形成層」が生じたと考えられる<sup>1)</sup>。化石から、陸上植物が進化のかなり早い時期に二次維管束を発達させて森林を作った事、石炭紀（古生代）には前裸子植物と呼ばれるシダ植物が存在した事が明らかにされている。前裸子植物のうち種子植物への系統は、孢子繁殖から種子繁殖へという生殖様式を変化させ、裸子植物・被子植物を経て草本植物へと形成層を縮小させたと考えられている。樹木の最大の特徴は千年にもおよぶ肥大成長の持続による巨大植物体の形成である。この植物進化の過程で出現した樹木特有のメカニズム「樹木性」は、樹木分子生物学の中心的な研究課題であり、頂端分裂組織から「樹木型形成層」を形成する機構、形成層における細胞分裂と木部への分化、それに協調して進む細胞壁形成機構を分子・細胞・組織・個体レベルで解明する事である。このような樹木分子生物学の進展によって得られる知見は、森林資源生産の増強や森林資源形質の改変、例えば機械的性質の優れた材形成、乾燥や塩害地域への環境適応性の拡大などの課題で、これまでに考えられなかった様な応用技術へと広がる事になる。

#### 2. 樹木分子生物学の形成と発展

樹木分子生物学と呼ばれる研究分野の形成は、大腸菌を中心とした1960年代の分子生物学と1970年代に登場する遺伝子組換え技術の開発を経た1980年代の終わり頃に遡る。1972年秋、スタンフォード大学のバーグらによる組換えDNA実験技術の論文が発表され生物学研究の様相はあらゆる分野で一変する。それは短い論文でSV40と言う動物ウイルスの

\*1 Received July 21, 2004; accepted September 21, 2004.

\*2 東京農工大学大学院共生科学技術研究部 Tokyo University of Agriculture and Technology, Institute of Symbiotic Science and Technology, Koganei 184-8588

DNA と  $\lambda$ dv と言うバクテリアに含まれる DNA を酵素を使って試験管内でつなぎ合わせる事が出来たという論文である。この論文が示したのは、どんな高等動物の遺伝子でも自由に取り出して研究出来るという事である。

高等植物を対象とした遺伝子情報の発現や調節に関する研究が本格化したのは、樹木においては遺伝子導入と遺伝子組換えに関する初めての論文が発表された1986年以降である<sup>2,3)</sup>。樹木の遺伝子組換え技術が開発されたことで、樹木の成長や木部形成さらに木部細胞壁の肥厚過程などを調節している機構、そこに関与する蛋白質や遺伝子、それら蛋白質の局在や遺伝子発現のタイミングに関する新しい研究が可能になった。樹木分子生物学はリグニン生合成研究で先ず大きな成果を上げた。リグニンに関する基礎的研究は、日本木材学会およびリグニン討論会を中心に世界的に見ても優れた研究が数多く取り組まれていた。リグニン生合成と細胞壁蓄積に関しては、京都大学の樋口や島田らによる生化学的研究、名古屋大学の寺島らによる放射性物質を用いた研究などから基本過程はその時期までかなり明らかにされていた。このような状況の中で生まれた樹木分子生物学は、まずリグニン生合成と細胞壁蓄積にかかわる候補遺伝子を単離する事、それらの候補遺伝子が指令する蛋白質が予想された酵素反応を確かに行うこと、それらの候補遺伝子が木部組織でリグニン蓄積が始まっている細胞で発現していることを明らかにした<sup>4,5)</sup>。既に基本原理が示されていたリグニン生合成と細胞壁蓄積というプロセスを、そこに関与する遺伝子とその発現調節という新しい視角から再構成して樹木研究の新しい状況を作り出した。

今日では、樹幹形成層における細胞分裂と木部細胞への分化、それに協調する各細胞壁成分の生合成、各成分の細胞壁への細胞内輸送と分泌、各壁成分の蓄積制御など、樹木特有のメカニズムを従来考えられなかった方法で研究する事が可能になっている。例えば細胞内に注目すると、様々な遺伝子から翻訳された蛋白質が細胞内でどの様に輸送され特定部位に局在するのか？それらの蛋白質は細胞膜で集合して糖やリグニンなど細胞壁成分蓄積の足場を作り、細胞壁の整然とした高次構造をどの様に作り出すのか？そういった細胞壁構築過程の研究を進めるため、多種類の抗体プローブを駆使した免疫電顕技術が構築されている。

### 3. 遺伝子組換えによる樹木育種と樹木分子生物学が直面した新しい事態

リグニン生合成に関する遺伝子とその制御に関する基礎的研究が進む中、樹木のリグニンの生合成過程を遺伝子レベルで人為的に抑制して、リグニン含量を低下させたり脱リグニンしやすい樹木などを育成する実用的な試みが始まった。遺伝子を人為的に抑制する方法としてアンチセンス RNA 法が用いられ、フェニルプロパノイド合成経路を構成する殆ど全ての酵素遺伝子を標的とした遺伝子発現抑制樹木が遺伝子組換え技術を用いて作り出された。この時期の状況は1994年の拙著<sup>6)</sup>を参考に想像していただきたい。例えば1996年から1999年の4年間、CAD (cinnamyl alcohol dehydrogenase) と OMT (O-methyltransferase) を抑制した比較的優良なポプラをそれぞれ2クローンずつ選抜して、イギリスとフランスの野外試験地で4年間栽培し、CAD 抑制個体が野生型ポプラより蒸解されやすくパルプ収率が高くなる事を示した研究<sup>7)</sup>、また4CL (4-coumaric acid : CoA ligase) 遺伝子を標的に遺伝子機能の抑制を試みて、リグニン量の減少とセルロース含量の増加に成功したという研究がある<sup>8)</sup>。これらの研究は、成功例とともに同じ材料と方法で作りに出した遺伝子組み換え樹木の中に、成長抑制が起こったり直立しないなど、予想外の組換え植物がかなり高い頻度で出現する事も同時に明らかにした。

樹木個体を対象にしたリグニン生合成制御を目的とした応用研究は、細胞壁リグニンの減少に留まらず、個体の生長や分化といった正常な生長そのものに重大な影響を及ぼしてしまう可能性を明らかにした。これらの結果は、リグニンという細胞壁成分が樹木個体のなかで、我々が考える以上に植物個体の成長にとって重要な生理的役割を果たしているのではないか？という新しい問題を提起した。植物を正常に成長させながらリグニン生合成を選択的に制御するには、植物個体の生長過程でリグニンが持つ複雑な機能、それに係わる情報ネットワークを明らかにする事が必要である。樹木分子生物学研究は、樹木個体を対象にする応用研究を通して新たな事態に直面する事になる。

### 4. 植物ゲノム解読と樹木分子生物学の新たな展望

1960年代分子生物学は大腸菌など単細胞微生物を用いて構築され、1970年代に入って遺伝子組換え技術が開発され著しい成果を上げた。単細胞微生物研究から構築されてきた分子生物学は、1990年代にな

ると高等動物や植物など多細胞生物を対象にする中でその限界も認識されはじめた。単細胞の分子生物学から多細胞系を対象にした分子生物学の構築へ、その鍵としてヒトや植物ゲノムプロジェクトがスタートした。20世紀の終わりから推進された高等動物のゲノム解読は現在、多細胞生物の新たな研究領域を切り拓いている。解読されたゲノムが明らかにしたのは、蛋白質をコードする遺伝子の領域がゲノム全体の数%の領域にすぎないこと、さらに蛋白質をコードする全ての遺伝子の内これまでの分子生物学から機能が予測可能な遺伝子は半数に過ぎず、残りの約50%の遺伝子は我々の生物学から予測出来ない未知の機能を持つという事実である。言いかえるならば、20世紀後半の分子生物学は生物の一部を説明したに過ぎないこと、我々の想像を超えた生物のメカニズムが解明されないまま残されているという事実である。ゲノム解読が明らかにしたもう一つの重要な事実は、高度な生物であるヒトの遺伝子数がショウジョウバエの2倍程度であるという事である。数少ない遺伝子を用いながらも、その制御にかかわる情報ネットワークを高度に構築する事で生物進化が達成されたとすれば、個々の遺伝子の機能だけでなく、遺伝子を制御する複雑化した情報ネットワークを解明する事、これがゲノム解読後の多細胞生物を対象とする分子生物学の主要課題となってくる。

イネ、アラビドプシスなど植物ゲノム解読を契機に、樹木分子生物学研究に関連のある領域においても新しい研究の流れが始まった。解読されたアラビドプシスのゲノム情報を見ると、例えばリグニン合成経路を構成する酵素遺伝子 CCR (cinnamoyl-CoA:NADPH oxidoreductase) 遺伝子はゲノム中に10種類存在する。これら個々の遺伝子が、植物個体の生長・形成において植物個体の情報ネットワークの中でどの様に制御され役割を果たしているのか。2000年になると新しい研究がイギリスのTurnerらによって報告される<sup>9)</sup>。彼らは、10種類のCCR酵素遺伝子の一つ CCR1 遺伝子の機能を欠損したアラビドプシスの変異株をつくり出してリグニン生合成や植物個体におよぼす影響を解析した。この CCR1 の遺伝子機能を欠損したアラビドプシス変異株は直立で出来なくなってしまう。成長に伴うリグニン蓄積量を見ると、成長の初期には野生型と殆ど差が無い

が、成長の後期になると野生型に比べてリグニン合成が抑制されるようになる。さらに CCR1 遺伝子変異植物では、細胞壁が拡散してしまい細胞内に入り込み正常な構造を取れなくなっており、リグニンそれ自身が細胞壁の組立や壁構造の維持に重要な役割を担っている可能性を示した。この変異植物は、ゲノム上の特定遺伝子であるリグニン生合成酵素遺伝子 CCR1 が植物個体の成長過程で果たす役割、その遺伝子の制御に係わる情報ネットワークの解明を可能にする。

現在、ゲノムが解読され遺伝子地図に基づいた遺伝子解析が可能な植物は、イネとアラビドプシスである。樹木ゲノムもポプラを中心に解読がすすめられているが、樹木ではイネやアラビドプシスのように遺伝子地図に基づいて遺伝子解析を進める事は難しい。現状では、1960年代の分子生物学が大腸菌という単細胞生物を取り扱いながら高等生物の生命現象の本質に迫ったように、イネとアラビドプシスを扱いながら、樹木分子生物学の課題に想像力を持って取り組む事が重要である。ゲノム解読が切り開いた新しい生物研究において樹木研究が担う役割は以前にも増して大きい。それにはイネやアラビドプシスとは異なる多細胞生物樹木の本質に迫る新しい研究方法の開拓が待たれる。

## 文 献

- 1) Gifford, E. M., Foster, A. S.: “維管束植物の形態と進化”, 長谷部光泰, 鈴木 武, 植田邦彦監訳, 文一総合出版, 東京, 2002, pp. 83-97.
- 2) Parsons T. J *et al.*: *BIO/TECHNOLOGY* 4, 533-536 (1986).
- 3) Fillatti J. J *et al.*: *Mol.Gen.Genet* 206, 192-199 (1987).
- 4) Osakabe Y., *et al.*: *Planta* 200, 13-19 (1996).
- 5) Osakabe K., *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 8955-8960 (1999).
- 6) 片山義博: 木材学会誌 40, 785-794 (1994).
- 7) Pilate G., *et al.*: *Nature Biotechnology* 20, 607-612 (2002).
- 8) Kajita S. *et al.*: *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82, 1216-1223 (2002).
- 9) Jones, L., Ennos, R., Turner, S. R.: *The Plant Journal* 26, 205-216 (2001).