



## 石油の代替資源としての植物油脂の改良

畠中, 知子

---

**(Citation)**

神戸大学農学部学術報告, 27:32-36

**(Issue Date)**

2003

**(Resource Type)**

departmental bulletin paper

**(Version)**

Version of Record

**(JaLCD0I)**

<https://doi.org/10.24546/00317677>

**(URL)**

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00317677>



[学術記事]

石油の代替資源としての植物油脂の改良

畠中知子

Improvement of plant lipids for industrial uses

Tomoko Hatanaka

1. はじめに

植物の種子は発芽用のエネルギー源としてデンプンや油脂を蓄える。貯蔵油脂（トリアシルグリセロール）を構成する脂肪酸のうち、主なものは炭素数が 16 か 18 の長鎖脂肪酸で、飽和脂肪酸（パルミチン酸、ステアリン酸）やステアリン酸に二重結合が 1〜3 個入った不飽和脂肪酸（オレ

イン酸、リノール酸、リノレン酸）が多い。膜脂質中の脂肪酸組成は環境条件により変化することが知られているが、トリアシルグリセロール中の脂肪酸の組成比率は植物種や部位によってほぼ一定に保たれている（表 1）。

表 1. 植物種による種子脂質中の脂肪酸組成 (%) の違い (Somerville et al., 2000 より抜粋、改変)

|                 | 16:0 | 18:0 | 18:1 | 18:2 | 18:3 | その他      |      |
|-----------------|------|------|------|------|------|----------|------|
| ナタネ             | 4.0  | 1.5  | 17.0 | 13.0 | 9.0  | 20:1     | 14.5 |
|                 |      |      |      |      |      | 22:1     | 41.0 |
| ナタネ<br>(改良種)    | 9.2  | 1.6  | 59.1 | 19.4 | 10.2 | 20:1     | 0.2  |
|                 |      |      |      |      |      | 22:1     | 0.3  |
| ダイズ             | 11.5 | 3.9  | 24.6 | 52.0 | 8.0  | -        | -    |
| オリーブ            | 14.6 | 3.1  | 76.2 | 5.5  | 0.6  | -        | -    |
| アマ              | 6.1  | 3.1  | 16.5 | 14.3 | 60.0 | -        | -    |
| カカオ             | 25.6 | 35.4 | 34.8 | 4.2  | 0.0  | -        | -    |
| アブラヤシ           | 43.0 | 4.1  | 44.2 | 8.7  | 0.0  | -        | -    |
| アブラヤシ<br>(パーム核) | 9.1  | 2.3  | 16.8 | 0.3  | -    | 12:0     | 47.3 |
|                 |      |      |      |      |      | 14:0     | 16.4 |
| ココヤシ            | 9.5  | 2.9  | 6.9  | 0.2  | -    | 12:0     | 47.0 |
|                 |      |      |      |      |      | 14:0     | 18.0 |
| トウゴマ<br>(ヒマ)    | 1.0  | 0.7  | 3.1  | 4.4  | 0.9  | 18:1(OH) | 89.6 |

16:0, パルミチン酸 ; 18:0, ステアリン酸 ; 18:1, オレイン酸 ; 18:2, リノール酸 ; 18:3, リノレン酸 ; 12:0, ラウリン酸 ; 22:1, エルカ酸 ; 18:1(OH), リシノール酸

植物の中には表 1 中の「その他」で示されるような特殊な脂肪酸を蓄えるものがある。この特殊な脂肪酸には、中鎖、超長鎖、共役二重結合、三重結合、水酸基、エポキシ基、といった特徴を持つものが含まれるが、これらの多くは食用以外の利用価値が高い。

中鎖脂肪酸であるラウリン酸は、ヤシ油やパーム核油に多く、特に界面活性剤（洗剤、

セッケン）の主原料となる。アブラナ科植物に見られる超長鎖脂肪酸のエルカ酸（炭素数 22）は潤滑油に適しているが食用にはあまり適さない。そのため、現在主に食用ナタネ油の原料になっているのはエルカ酸を減らしてオレイン酸を増やすように品種改良されたもので、これはキャノーラと呼ばれている。

炭素数 18 個に二重結合 1 つと水酸基を 1 つ

持つものはリシノール酸と呼ばれ、これはいわゆるひまし油の主成分である。ヒマ（トウゴマ）の種子油中ではリシノール酸が約 90% を占めている。このように水酸基を持つものや、エポキシ基、共役二重結合を持つもの（桐油に含まれるエレオステアリン酸など）、あるいは二重結合 3 つのリノレン酸などを含む油

は酸化して乾きやすいという特性を持ち、食用には向かないが、インク、塗料、接着剤、ニス、樹脂、コーティング剤、プラスチック原料としては有用になる（表 2）。

我々の研究は、こういった植物油を石油の代替資源としてより効率的に利用できないか、ということから始まった。

表 2. 植物脂肪酸の食品以外の利用 (Somerville et al., 2000 より改変)

| 脂質のタイプ   | 例                        | 主な原料                  | 主な利用法                |
|----------|--------------------------|-----------------------|----------------------|
| 中鎖       | ラウリン酸<br>(12:0)          | ココヤシ<br>パーム核          | 石鹸、洗剤、<br>界面活性剤      |
| 超長鎖      | エルカ酸<br>(22:1)           | ナタネ                   | 潤滑油、<br>スリップ剤        |
| エポキシ基    | ベルノル酸<br>(12-epoxy-18:1) | エポキシ加工したダイズ油<br>ベルノニア | 可塑剤、塗料、<br>コーティング剤   |
| 水酸基      | リシノール酸<br>(12-OH-18:1)   | トウゴマ（ヒマ）              | コーティング剤、<br>潤滑油、ポリマー |
| 二重結合 3 個 | リノレン酸<br>(18:3)          | アマ                    | 塗料、ニス、<br>コーティング剤    |
| ワックスエステル | ホホバオイル                   | ホホバ                   | 潤滑油、化粧品              |

## 2. エポキシ脂肪酸

現在エポキシ油脂と呼ばれるものは石油から化学合成されるか、代表的な油料作物であるダイズの油を加工して生産されている。しかし、油料作物としての栽培には適さないものの、ある種の植物の中には種子中に高含量のエポキシ脂肪酸を自然に蓄積するものがある。代表的なものはキク科のベルノニア (*Vernonia galamensis*) やストキジア (*Stokesia laevis*) で、種子のトリアシルグリセロール中にエポキシ脂肪酸であるベルノル酸をそれぞれ、80%、60~70%も蓄えることができる (Perdue 1989, Pascal & Correal 1992, Bafor et al. 1993, Thompson et al. 1994)。

ベルノル酸は、前駆物質であるリノール酸からエポキシ化酵素 (epoxygenase) によって一段階で合成される (Bafor et al., 1993 図 1)。この酵素をコードする cDNA は、やはりキク科のクレピス (*Crepis palaestina*) (Lee, et al., 1998) と前述のベルノニア (Hitz, 1998) の未熟種子から単離・同定され、オレイン酸に二つ目の二重結合を加えてリノール酸を生成する、 $\Delta^{12}$  不飽和化酵素 ( $\Delta^{12}$  desaturase) のアナログであることがわかっている。この  $\Delta^{12}$  desaturase ファミリーには他に、アセチル化酵

素 (acetylenase)、水酸化酵素 (hydroxylase)、共役化酵素 (conjugase) も含まれる。

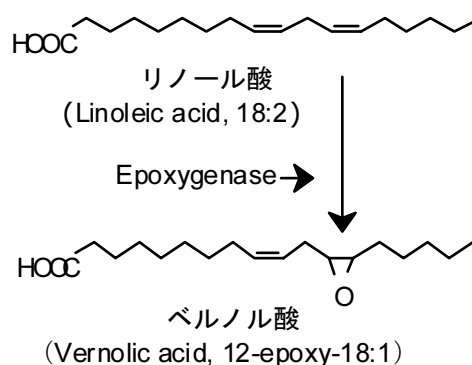


図 1. ベルノル酸はリノール酸の二つ目の二重結合のエポキシ化によって合成される。

### ストキジアの epoxygenase

前述 2 つの epoxygenase 遺伝子にはパテントがかかっていたため、我々は 3 つ目のキク科植物、ストキジアから新たに epoxygenase の遺伝子を単離することとした。決定されたスト

キジアの塩基配列から推測されるタンパク質は 378 アミノ酸から成り、他の $\Delta^{12}$  desaturase ファミリーと高い類似性を示した。

この cDNA の機能はまず酵母の発現系で機能をテストされたが、発現は見られなかった。前述の Lee らの報告でも、クレピスの epoxygenase は酵母では発現せず、アラビドプシスに遺伝子を導入することによって初めてベルノル酸が検出された。通常、アラビドプ

シスはベルノル酸を全く生産しない。我々もストキジアの cDNA を種子特異的に発現するプロモーターにつなぎ、アラビドプシスに導入して調べることにした。その結果、16 個体の形質転換体が独立に得られ、それぞれの T<sub>2</sub> 種子の油脂成分を分析したところ、全ての個体からベルノル酸が検出され、単離した cDNA が epoxygenase であることが確認できた (図 2)。

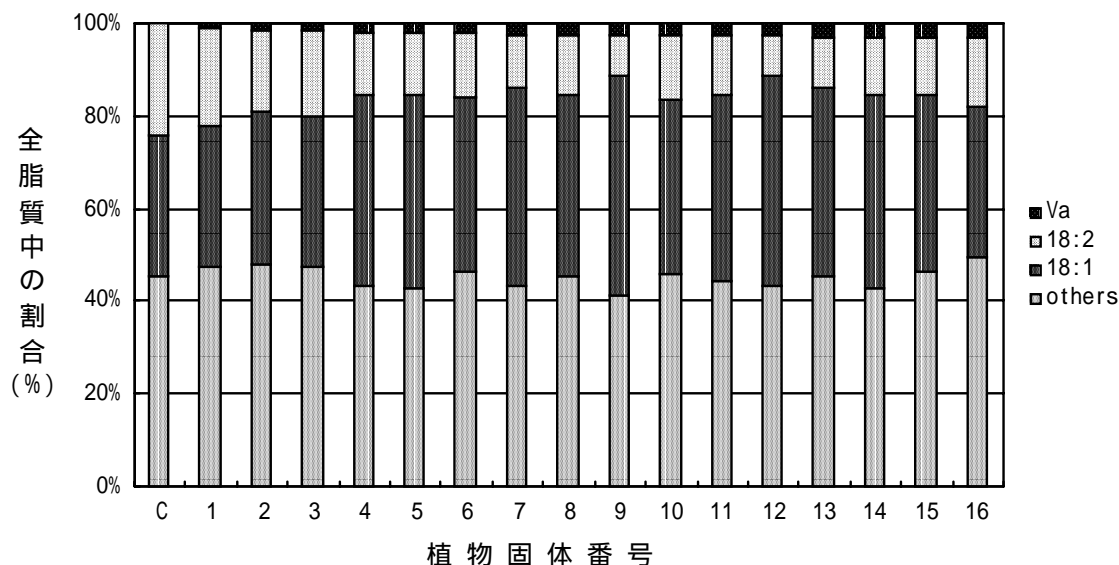


図 2. 形質転換植物の T<sub>2</sub> 種子油中の脂肪酸組成  
 C、コントロール植物；1~16、独立の epoxygenase 遺伝子導入植物  
 Va、ベルノル酸；18:2、リノール酸；18:1、オレイン酸；  
 others にはパルミチン酸、ステアリン酸、リノレン酸、エルカ酸などを含む。

形質転換体によって生成されたベルノル酸の含量は非常に少なく、全脂肪酸中の 1.1~3.1% (平均 2.4%) であったが、これは Lee らの報告でもほぼ同様であった。ちなみに彼らは例外的に 10%を越えるものもあったことを示したが、その系統には成長に障害があったことを後に報告している (Singh et al., 2001)。ベルノニアの epoxygenase 遺伝子を単離した Hitz の所属する DuPont グループは形質転換ダイズ植物でテストしたが、その種子中のベルノル酸含量はやはり 8%に過ぎなかった (Kinney et al., 1998)。筆者もストキジアの epoxygenase をダイズに導入したが、パーティクルガンを用いた形質転換の効率が非常に低いことと、導入遺伝子の影響のためか、その後の成長が障害を受けたために困難を極めた。再分化した胚の子葉部分を分析したが、ベルノル酸はトレース程度しか検出できなかった。また、3つのグループの共通の結果として、

ベルノル酸を生成する形質転換植物では、ベルノル酸の量では説明できないリノール酸の減少とオレイン酸の増加が見られる (Singh et al., 2001, Cahoon, 私信)。つまり、リノール酸を合成するための $\Delta^{12}$  desaturase の活性が落ちていると考えられる。これについては外来タンパク質との相互作用による抑制などが示唆されているが、まだ解明されていない。

これらの結果は、生体膜中のベルノル酸が生理的な障害になる可能性と、トリアシルグリセロールへの蓄積のためにはさらなるステップが必要であるらしいことを示唆している。種子の貯蔵脂質中にベルノル酸を 80%蓄積できるベルノニアでも、膜脂質中のベルノル酸含量は 2~3%に留まっている。つまり、こういった植物は、特殊な脂肪酸を選択的にトリアシルグリセロールに取り込むシステムを持っているのではないかと考えられた。

### 3. トリアシルグリセロールの生合成

貯蔵脂質の実態であるトリアシルグリセロールの生合成については、現在、いくつかの経路があることが示唆されている (Dahlqvist et al., 2000, Voelker et al., 2001)。諸説を紹介するのは避けるが、最も古くから提唱され、多

くの植物種で主な経路になっていると思われるのは、ジアシルグリセロールとアシル CoA を基質とし、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ (DGAT) が触媒する反応である (図 3)。

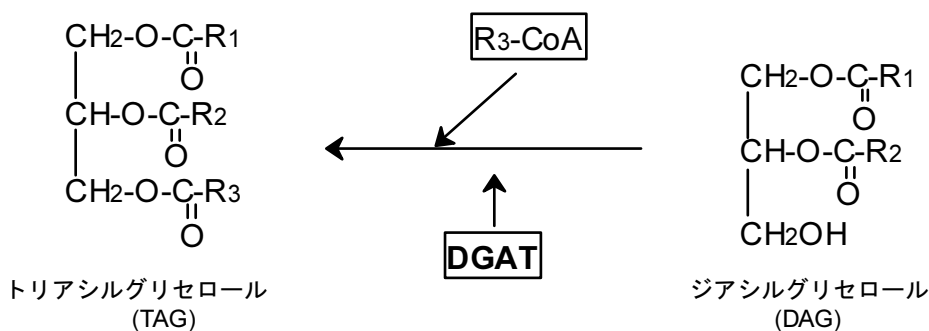


図 3. DGAT (ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ) が触媒するトリアシルグリセロールの合成

最初の DGAT の cDNA はマウスから単離・同定され (Cases, et al., 1998)、その後アラビドプシスを初めとする数種の植物から次々と単離された (Hobbs et al., 1999, Bouvier-Nave et al., 2000, Cahoon et al., 2000, Jako et al., 2001, Nykiforuk et al., 2002)。我々は、この DGAT の基質特異性により、特定の脂肪酸を選択的にトリアシルグリセロールに蓄積できるのではないかと考え、ベルノニアを蓄積するベルノニアからの DGAT の cDNA クローニングを試みた。

DGAT は ER 結合型タンパク質と考えられており、大腸菌では発現しない。最初に単離されたマウス (Cases, et al, 1998) やアラビドプシス (Hobbs, et al., 1999) の DGAT は酵母でも発現せず、バキュロウイルスと昆虫細胞を用いるシステムでようやく発現に成功した。しかし、Bouvier-Nave ら (2000) はアラビドプシス DGAT の酵母での発現に成功しており、我々もまず酵母でテストしたところ、ベルノニアの DGAT を組み込んだ酵母はコン

トロールの 3 倍のトリアシルグリセロールを蓄積することができた。このように、適切な条件を揃えれば酵母で植物由来の DGAT を発現させるのは可能であるらしい。さらにバキュロウイルス-Sf9 昆虫細胞での発現を調べたところ、コントロールの 30 倍以上のトリアシルグリセロールが蓄積された (表 3)。

我々はこのシステムを用いて、ベルノニア DGAT の活性の強さや基質特異性について、他の植物種由来の DGAT と比較したいと考えている。

表 3. Sf9 細胞中の TAG 含量

| 処理         | 平均    | mg / g D.W.<br>(標準偏差) |
|------------|-------|-----------------------|
| コントロール     | 1.34  | (0.16)                |
| ベルノニア DGAT | 40.23 | (5.36)                |

数値は 3 反復の平均と標準偏差を示す。

### 4. おわりに

ダイズは世界で最も多く栽培される油料作物である。元々ダイズ油には二重結合 3 つのリノレン酸やエポキシ加工のための前駆物質であるリノール酸含量が多いことから、現在でもインク材料になっている。ダイズ油由来のインクは分解性に優れ、紙のリサイクルを容易にするので、ダイズインクを使った印

刷物には「SOY INK」と書かれたエコマークがついている。

この研究の最終目標は、ダイズに脂肪酸エポキシ化酵素遺伝子を導入して乾性油としての性質をより強め、石油の代替資源として利用することである。アメリカでは飼料用の形質転換ダイズは既に大々的に栽培されており、

油採取を目的とする場合も、抽出段階でタンパク質を除去しているため、世間一般の抵抗感は少ないと思われる。実際、石鹼の原料になるラウリン酸を高生産するナタネは、商業ベースに乗った最初の形質転換作物の一つであった。最近、形質転換ナタネの花粉による周囲への影響で訴訟も起こっているようであるが、ダイズは開花直前に受粉する自家受精植物であるので、そういった周囲への影響も極めて小さいと考えられる。形質転換作物というものが今後どのように社会に受け入れら

れていくのか、あるいは受け入れられないのか、将来の予想はつかないが、研究は続けていかなければ、というのが筆者の現在での正直な感想である。

#### 謝辞

この研究は、University of Kentucky、Prof. David F. Hildebrand の研究プロジェクトの一環として行われた。筆者に研究の機会を与えてくれた Dr. Hildebrand に感謝の意を表したい。

#### 参考文献

- Bafor, M., Smith, M.A., Jonsson, L., Stobart, K., Stymne, S. (1993) Arch Biochem Biophys 303: 145-151
- Bouvier-Nave, P., Benveniste, P., Oelkers, P., Sturley, S.L., Schaller, H. (2000) Eur. J Biochem 267: 85-96
- Cahoon, E.B., Cahoon, R., Kinney, A.J. (2000) World Patent WO0032756
- Cases, S., Smith, S.J., Zheng, Y-W., Myers, H.M., Lear, S.E., Sande, R., Novak, S., Collins, C., Welch, C.B., Lusi, A.J., Erickson, S.K., Farese, R.V. (1998) PNAS 95: 13018-13023
- Dahlqvist, A., Stahl, U., Lenman, M., Banas, A., Lee, M., Sandager, L., Ronne, H., Stymne, S. (2000) PNAS 97: 6487-6492
- Fritsche, K., Hornung, E., Peitzsch, N., Renz, A., Feussner, I. (1999) FEBS Lett 462: 249-253
- Hitz, W.D. (1998) United States Patent: 5,846,784
- Hobbs, D.H., Lu, C., Hills, M.J. (1999) FEBBS Letters 452: 145-149
- Jako, C., Kuar, A., Wei, Y., Zou, J., Barton, D.L., Giblin, E.M., Covello, P.S., Taylor, D.C. (2001) Plant Physiology 126: 861-874
- Kinney, A.J., Hitz, W.D., Knowlton, S., Cahoon, E.B. (1998) In: J. Sanchez, E. Cerda-Olmedo, E. Martineez-Force, eds. Advances in Plant Lipid Research. Sevilla: Secretariado de Publicaciones, Universidad de Sevilla pp 623-628
- Lee, M., Lenman, M., Banas, A., Bafor, M., Singh, S., Schweizer, M., Nilsson, R., Liljenberg, C., Dahlqvist, A., Gummesson, P-O., Sjobahl, S., Green, A., Stymne, S. (1998) Science 280: 915-918
- Lenman, M., Lee, M., Banas, A., Bafor, M., Singh, S., Schweizer, M., Nilsson, R., Liljenberg, C., Dahlqvist, A., Gummesson, P-O., Sjobahl, S., Green, A., Stymne, S. (1998) In: J. Sanchez, E. Cerda-Olmedo, E. Martineez-Force, eds. Advances in Plant Lipid Research. Sevilla: Secretariado de Publicaciones, Universidad de Sevilla, pp 657-660
- Nykiforuk, C.L., Furusawa-Stoffer, T.L., Huff, P.W., Sarna, M., Lorache, A., Moloney, M.M., Weselake, R.J. (2002) Biochimica Biophysica Acta 1580: 95-109
- Pascal, M.J., Correal, E. (1992) Crop Sci 32: 95-98
- Perdue, R.E., (1989) Agric Engin 70: 11-13
- Smith Jr., C.R. (1970) In: FD Gunstones, ed. Topics in Lipid Chemistry. London: Logos Press, pp 277-368
- Singh, S., Thomaus, S., Lee, M., Stymne, S., Green, A. (2001) Planta 212: 872-879.
- Somerville, C., Browse, J., Jaworski, J.G., Ohlrogge, J.B. (2000) Lipids In: B.B. Buchanan, W. Gruissem, R.L. Jones, eds. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, pp 456-527
- Thompson, A.E., Dierig, D.A., Kleiman, K.R. (1994) Industrial Crops 3: 175-183
- Voelker, T., Kinney, A. (2001) Annu. Rev. Plant Physiol Plant Mol Biol 52: 335-361

---

植物資源学科 資源植物学大講座  
資源植物生産学研究分野