

トチュウを用いたトランスポリイソプレン増産技術開発

Technological Development to Enhance *Trans*-polyisoprene Production for *Eucommia ulmoides*



鈴木 伸 昭 Nobuaki Suzuki ①
 梶 浦 裕 之 Hiroyuki Kajiura ②
 山 本 直 樹 Naoki Yamamoto ③
 原 田 陽 子 Yoko Harada ④
 中 澤 慶 久 Yoshihisa Nakazawa ⑤

あ ら ま し

トランスポリイソプレンは陸上高等植物中で産出されるポリマー（分子量～1000万）で、それらを工業原料化することが出来れば、再生可能資源由来の新たな炭化水素源となる。トチュウは組織内に多量のトランスポリイソプレンを蓄積する植物であり、かつ高い耐乾燥性を保有する。このため温帯ステップ荒地等への大規模植林が容易であり工業的利用価値が高い。しかし、トチュウ由来トランスポリイソプレンの利用拡大を図るには、さらなる生産性の向上が必要とされる。このことから本研究グループでは、トチュウトランスポリイソプレンの生産性向上を目的に、その生成機構の解明と改良に取り組んでいる。本稿ではこれらの活動の中から最近の研究成果の一部を紹介する。

Abstract

High molecular weight *trans*-polyisoprene, with a molecular weight of ~10,000 kDa, is one of the most important industrial raw materials, and can be produced from both fossil resources and plants. In recent years, interest in the use of biologically synthesized *trans*-polyisoprene has increased due to concerns about global warming and anticipated exhaustion of global oil resources. The herbal tree *Eucommia ulmoides* is one of the best-known *trans*-polyisoprene producers, and the tissues in fruit, bark and leaf, abundantly accumulate high molecular weight *trans*-polyisoprene, however further improvement of its productivity in *E. ulmoides* is strongly required in order to decline the production price of the *trans*-polyisoprene. Therefore, the synthetic mechanism of *trans*-polyisoprene in *E. ulmoides* was analyzed, and genes and metabolic pathways involving in *trans*-polyisoprene synthesis were partially revealed. We discussed the synthetic mechanisms of these chemicals in this study.

1. 緒 言

トランスポリイソプレンはイソプレン分子が重合したポリマーで、化学的にはナフサの熱分解産物から製造される。また天然物ではトチュウ (*Eucommia ulmoides*)、グツタペルカノキ (*Palaquim gutta*) 等の植物が生成するこ

とが知られている。現在、工業的に利用されるトランスポリイソプレンは多くが化学合成品であるが、化学合成のトランスポリイソプレンは植物由来のポリマーに比べて分子量が低く、このため利用は添加剤等の用途に留まる。一方、植物由来トランスポリイソプレンは、高分子量かつ構造選択性の高さから用途範囲が広く、石油化学産業の隆盛以前は海底電線の被覆材等として用いられた。このため近年、バイオエタノールや植物性油脂とともに石油に代わる再生可能原料として再び注目されるようになった。既に歯科用充填剤やゴルフボールの外皮、電子機器部材等の高級ポリマーへの利用が検討されている。今後、安定的な供給体制の確立と、さらなる物性改良

① Hitz日立造船(株) 技術開発本部 開発プロジェクト部 バイオプロジェクト室 博士(バイオサイエンス)

② Hitz日立造船(株) 技術開発本部 開発プロジェクト部 バイオプロジェクト室 博士(工学)

③ Hitz日立造船(株) 技術開発本部 開発プロジェクト部 バイオプロジェクト室 博士(生命科学)

④ Hitz日立造船(株) 技術開発本部 開発プロジェクト部 バイオプロジェクト室

⑤ Hitz日立造船(株) 技術開発本部 開発プロジェクト部 バイオプロジェクト室 博士(農学)



図1 トチュウ果皮におけるトランスポリイソプレン蓄積

により工業利用が進んだ場合、市場規模は数十億円に達するとも予想される。

トランスポリイソプレン生産植物のうち、トチュウは温帯性の落葉高木で葉、樹皮、果実等に多量のトランスポリイソプレンを蓄積できる¹⁾。特に果皮におけるトランスポリイソプレン含量は高い。果皮は春先に雌花が開花した後、めしべの一部が子房として発達することにより形成され、成熟後の果皮に含まれるトランスポリイソプレンの含量は最大約30%にも達する¹⁾ (図1)。またトチュウは耐乾燥性が高く、国内耕作放棄地や温帯ステップ周辺荒廃地への大規模植林が可能であり、モノカルチャーによるポリマー生産植物として好ましい性質を持つ。しかし、トランスポリイソプレン生産事業を大規模に推進するには、トチュウトランスポリイソプレンのさらなる生産性向上及び物性改良が必要である。このため本研究グループでは、これまでトチュウを材料にトランスポリイソプレン合成関連遺伝子の単離²⁾や関連化合物の抽出法、分析法の確立³⁾、トチュウ農園管理技術の開発に取り組んできた。また、2009年には世界で初めてトランスポリイソプレン合成酵素を単離し、日本、米国等での国際特許の取得を行った⁴⁾。本酵素はトランスポリイソプレン生成のキーステップと考えられるが、その反応メカニズムはよく分かっていない。このため本酵素の機能解析と改良

及びその利用は、トランスポリイソプレン高生産植物を開発するブレイクスルーになり得る。

一方、トチュウトランスポリイソプレンは上記の工業的用途を持つが、さらなる用途拡大に向け、トチュウトランスポリイソプレンの有用プラスチックへの変換技術がもう一つの重要な開発課題となっている。

類似の高分子化合物である天然ゴム(シスポリイソプレン)と異なり、トランスポリイソプレンは結晶性(融点: 54.5°C)を示す特徴を持つ。このため、融点近傍で熱可塑性を示し、成形加工性に優れるという特徴がある。この特性を利用しつつ、化学修飾等により多様な性質を付与することが出来れば、複合材料、特殊用途部品の製造原料としての用途が広がる。これらの具体的な研究開発方向としては、ポリマー内の結晶性配向を高めてトランスポリイソプレンを高性能化する成形加工技術開発、異なる樹脂との親和性を高める誘導化技術開発、熱可塑性樹脂の特性を変化、高機能化させる動的架橋技術開発などが考えられる。

なお、これらのトチュウトランスポリイソプレンの物性等に関する取り組みは、本誌掲載の別稿により記載のため、本稿では分子生物学分野におけるトチュウトランスポリイソプレン増産技術開発の研究成果を記載する。

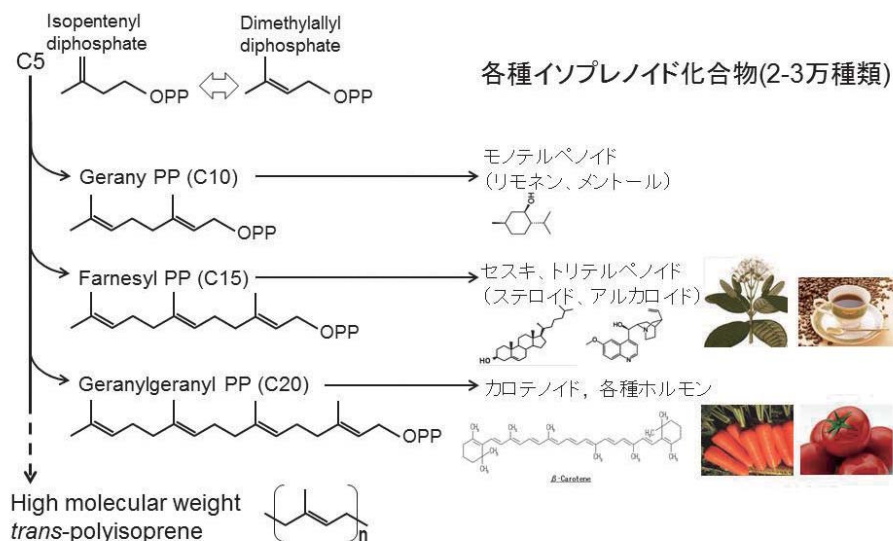


図2 イソプレノイド化合物の生合成

2. トランスポリイソプレン 生合成機構の解析

イソプレンを構成単位とする天然化合物の一群は、イソプレノイドもしくはテルペノイドと総称される。トランスポリイソプレンもこれらのイソプレノイド化合物の一つである。イソプレノイド化合物にはこのほか、カフェインやコレステロール等、多くの重要な生体化合物が含まれる。これらのイソプレノイド化合物は化学的にはイソプレン分子の重合により合成されるが、生体内ではイソプレン分子にリン酸基が付与されたイソペンテニル2リン酸 (IPP) とその異性体のジメチルアリル2リン酸 (DMAPP) が酵素触媒反応によって重合することにより合成される⁵⁾ (図2)。

また、イソペンテニル2リン酸とジメチルアリル2リン酸は、細胞内ではメバロン酸経路とMEP経路と称される2つの代謝経路により合成される⁶⁾ (図3)。メバロン酸経路はアセチルCoAを基質に6段階の反応ステップを経てイソペンテニル2リン酸を合成し、一方でMEP経路はピルビン酸とグリセルアルデヒド3リン酸を基質にした7段階の反応を通じてイソペンテニル2リン酸を合成する。両経路に共通性はなく、生物は進化の過程でこれらの二つの代謝経路を独立並行して進化させたと考えられている⁶⁾。

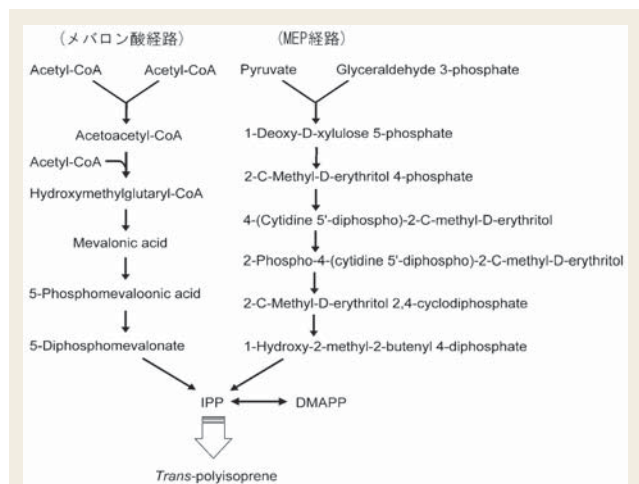


図3 細胞内におけるIPPの生合成経路

メバロン酸経路は主にヒトや動物、菌類等の真核生物と、海底熱水鉱床等の特殊な環境下での生息が多いアーキアという微生物群に見出される。またMEP経路は大腸菌、乳酸菌などのバクテリアに広く保有される。興味深いことに、植物にはメバロン酸経路とMEP経路の双方が存在し、ともにイソプレノイド化合物の合成に機能することがモデル植物等を用いた実験で示されている^{7, 8)}。植物は進化・発生学的には、真核生物の細胞に光合成機能を保有するシアノバクテリアの一種が共生して発生したと考えられており、真核生物が保有するメバロン酸経路とバクテリアが保有するMEP経路の双方が植物細胞内に存在し機能していることは、植物細胞における真核生物とシアノバクテリアとの共生を示す証拠のひとつとも言える。

本研究グループでは、トチュウのトランスポリイソプレン合成能の強化を目的に、トチュウ細胞内におけるメバロン酸経路、MEP経路についてその存在と機能を調べた。その結果、トチュウにはモデル植物と同様に、メバロン酸経路、MEP経路の双方の代謝経路が存在し、トランスポリイソプレンの合成に際して、両方の経路からイソペンテニル2リン酸が合成されトランスポリイソプレン合成に使用されていることが、安定同位体元素と質量分析器を用いた分析により明らかとなった³⁾。なお、目的化合物の生合成経路を明らかにすることは、生物機能を用いた物質生産では収量増を図るための非常に重要な情報である。上記研究から、代謝改変によりトチュウでトランスポリイソプレン合成量の向上を行うには、双方の経路を強化する必要があることが示唆される結果となった。

3. トチュウ TPI 合成関連遺伝子ライブラリーの作製

全ての生物は細胞内で、ゲノムに記載された遺伝子情報に基づいて様々な生化学反応を進行させる。トチュウのトランスポリイソプレン合成に関わる酵素反応も同様であり、トチュウゲノムに記載された遺伝子情報に基づいて、様々な酵素触媒が合成され、トランスポリイソプレン生合成反応が進められる。これらの遺伝子情報や酵素触媒を体系的に解析するには、その生物の全ゲノム解読を行うことが望ましい。しかし全ゲノム解読には、通常、膨大な費用と時間が必要とされ、困難なケースも多い。

表1 EST解析により取得されたトチュウの傷害応答関連遺伝子やゴム合成に関わる遺伝子

Unigene ID ^a	No. of ESTs ^b	Similar protein	E-value ^c
Contig251	360	Metallothionein type 2	1.00E-36
Contig274	308	Major latex protein (MLP)	1.00E-39
Contig1621	144	Dehydrin	1.00E-26
Contig2531	93	Glutamate-rich protein	3.00E-17
Contig271	83	γ-Thionin	1.00E-26
Contig1726	77	Auxin-repressed/dormancy-associated protein	6.00E-47
Contig2894	63	Arabinogalactan-protein	1.00E-67
Contig347	54	Glycine-rich RNA-binding protein	3.00E-65
Contig192	51	Cold-induced plasma membrane protein	2.00E-22
Contig1073	31	Rubber particle membrane protein	4E-17
Contig2579	5	Rubber particle membrane protein	2E-22
Contig2846	10	Rubber particle membrane protein	3E-4
Contig4112	2	Rubber particle membrane protein	2E-4
RB047_K12	1	Rubber particle membrane protein	8E-04
Contig196	6	Rubber particle membrane protein	3E-6

a. Unigene ID は単離した際に付けた DNA 分子名、b. No. of ESTs は単離された DNA 分子の数、E-value は既知遺伝子との類似度を示す

このため本研究グループでは、トチュウのトランスポリイソプレン合成に関わる酵素・遺伝子情報の取得にターゲットを絞り、特定の細胞内で機能している遺伝子を網羅的に単離・分析する分子生物学的手法である「EST解析」を実施した。

EST解析とは、ある特定の細胞について、その細胞内で必要な様々な生化学反応を行うためにゲノムから読み出された遺伝子を、DNA、RNA分子の形で取り出して解析する方法である。通常、細胞内では何万という遺伝子がゲノムより読み出され機能している。このため、生物の持つ全ての遺伝子情報を読み出す全ゲノム解読ほどではないが、EST解析法においても多くの遺伝子情報の中から目的遺伝子を見つける作業が必要となる。

本研究では、ほ場で栽培中のメスのトチュウ樹から、盛んにトランスポリイソプレン形成が行われている組織である当年枝の外皮、師部を採取し、遺伝子、DNA、RNAの抽出とEST解析を行った。結果として、これらの組織で機能している計約38000個の遺伝子断片を分離したうえでその塩基配列を明らかにした⁹⁾。また、解読した遺伝子断片のDNA配列は、世界中から集められた遺伝子情報の共通データベースを用いて比較分析をし、それぞれの遺伝子断片が保有していると考えられる遺伝子機能情報の取得を行った。

**表2 トチュウより見いだされた
イソプレノイド化合物合成に関わる遺伝子**

Designated Gene name	Actual or putative product
Mevalonate pathway	
<i>EuACAT1</i>	Acetyl-CoA acetyltransferase
<i>EuACAT2</i>	Acetyl-CoA acetyltransferase
<i>EuHMGS1</i>	HMG-CoA synthase
<i>EuHMGS2</i>	HMG-CoA synthase
<i>EuHMGR1</i>	HMG-CoA reductase
<i>EuHMGR2</i>	HMG-CoA reductase
<i>EuMVK1</i>	Mevalonate kinase
<i>EuMVD1</i>	diphosphomevalonate decarboxylase
<i>EuIDI1</i>	IPP isomerase
MEP pathway	
<i>EuDXS1</i>	DXP synthase
<i>EuDXS2</i>	DXP synthase
<i>EuDXS3</i>	DXP synthase
<i>EuDXS4</i>	DXP synthase
Trans-isoprenyl diphosphate synthase	
<i>EuTIDS6</i>	GPP synthase putative
<i>EuTIDS7</i>	GPP synthase (small subunit)
<i>EuTIDS8</i>	GPP synthase (large subunit)/GGPP synthase
<i>EuTIDS9</i>	GGPP synthase-related protein
<i>EuTIDS2</i>	FPP synthase putative
<i>EuTIDS4</i>	FPP synthase putative
<i>EuTIDS1</i>	FPP synthase-like
<i>EuTIDS5</i>	FPP synthase-like
<i>EuTIDS3</i>	FPP synthase-like

その結果、植物の幹の合成に関わる遺伝子や病傷害応答関連遺伝子など多様な遺伝子を取得することが出来、また、本研究で対象とするトランスポリイソプレン合成については、天然ゴムの生産樹木であるパラゴムノキ (*Hevea brasiliensis*) で見られる、天然ゴム合成の効率

化に関わる遺伝子に相同性の高い遺伝子が多数、トチュウから見出された (表1)。これはトランス体とシス体との違いはあるものの、どちらもポリイソプレン合成を行う植物であることから、生体内におけるポリイソプレン合成に関してトチュウとパラゴムノキに共通する遺伝子、反応メカニズムが存在することが示唆された。

このほか、2章で記載したメバロン酸経路およびMEP経路の反応を触媒する多数の酵素遺伝子を取得することが出来た (表2)。さらに、ファルネシル2リン酸、ゲラニル2リン酸といった短鎖のトランスポリイソプレン分子の合成能を持つ酵素遺伝子に類似した遺伝子を複数個得ることが出来た。

4. トランスポリイソプレン合成関連 遺伝子の解析

トチュウは多量のトランス体ポリイソプレンを合成する植物であるが、自然界ではその他にも多様な動植物、微生物がトランス体もしくはシス体のポリイソプレンを合成する。

このような生体内でのポリイソプレン合成を可能にする酵素触媒については、これまで多様な生物種から数十種類ものポリイソプレン合成酵素 (ポリイソプレニル2リン酸合成酵素) が単離されてきた¹⁰⁾。これらは反応生成物の鎖長及び立体構造から、短鎖trans (~ C25)、中鎖trans (~ C35)、長鎖trans (~ C50)、高分子trans、高分子cisの合成酵素に大別される¹⁰⁾。これらの酵素は2000年代に入り、国内外の研究グループより相次いで反応機構の解析や結晶構造等が報告された^{11, 12, 13, 14)}。しかし本研究グループで対象とする高分子transのポリイソプレン合成酵素はまだ同定されておらず、遺伝子配列等も全く不明である。

本研究グループでは、その遺伝子機能やDNA配列の解析から、表2のTrans-isoprenyl diphosphate synthaseの中に高分子transのポリイソプレン合成酵素があることが考えられたためEST解析により取得したこれらの遺伝子をEuTIDS (*E. ulmoides trans-isoprenyl diphosphate synthase*) と名付け、現在、詳細な解析を進めている。これまでにEuTIDS1 ~ 9のうち、EuTIDS2、4は短鎖transのトランスポリイソプレン合成能を保有することが分かり解析対象から外した。残りの遺伝子の中に高分子transのトランスポリイソプレン合成能を持つ酵素がないか、引き続き解析を続けている。

一方、今回単離したEuTIDS遺伝子についてトランスポリイソプレン合成との関係を知るために、植物細胞内でこれらの遺伝子が機能し、酵素触媒を合成する時期を、実際にフィールドに植栽されたトチュウから採取した組織を材料に解析した。トチュウの若枝、成熟した枝、芽、発生したばかりの葉、成熟した葉について、EuTIDS1 ~ 5の遺伝子発現量を調べた結果、遺伝子発現量はそれぞれ特徴的な発現様式を示し (図4)、植物細胞内で異なる役割を担っている可能性が示唆された。特に、

TIDS1は全ての葉で発現量が高く、EuTIDS5は発生したばかりの葉、EuTIDS4は芽で高発現していることが分かった(図4)。

トチュウは葉にも数%程度のトランスポリイソプレンの蓄積が見られることから、EuTIDS1や5が高分子transのポリイソプレン合成能を示さないか、現在、研究を続けているところである。

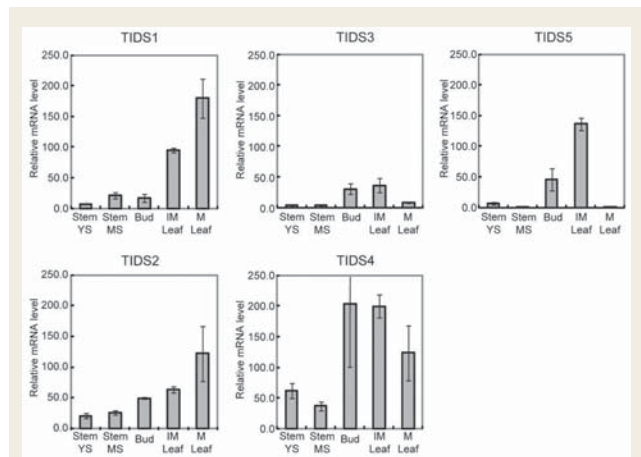


図4 EuTIDSのトチュウ組織における遺伝子発現量。使用した試料は左から若枝(YS)、成熟枝(MS)、芽(Bud)、未熟葉(IM)、成熟葉(M)となる。縦軸は細胞内の遺伝子発現量(mRNA量)の相対比を示す。

5. トランスポリイソプレン合成酵素のメカニズム

X線結晶構造解析による短鎖transのイソプレン合成酵素の構造学的研究から、短鎖~中鎖のトランスポリイソプレン合成酵素は通常、2量体を形成し、分子間に形成されるクレバス構造内にイソペンテニル2リン酸を取り込んで重合させ、合成された短鎖~中鎖transのポリイソプレンを排出することが明らかにされている^{11, 12, 13, 14}。一方、トランスポリイソプレンは分子量の増大に応じて疎水性が著しく高まるため、高分子transのトランスポリイソプレン合成酵素は親水性基質のイソペンテニル2リン酸を酵素内に取り込み、形成した疎水性のトランスポリイソプレンポリマーを酵素分子外に排出する機構を持つと推定される。

植物細胞は通常、水と親水性の溶質で満たされており、大量の疎水性分子の細胞内への蓄積は、細胞機能に良くない影響を及ぼす。このため、高分子transのポリイソプレン合成酵素は、基質の取り込み口である酵素上部を親水性の領域に置き、また反応産物の出口部分は疎水性領域になっている可能性が高い。生物では、このような酵素は細胞内の疎水性膜に結合して機能するケースが多く、高分子transのポリイソプレン合成酵素も膜タンパク質として機能することが考えられる。

一方、シスポリイソプレンが主成分の天然ゴムの生産樹であるパラゴムノキをはじめ、同様の疎水性高分子ポリマーを蓄積する植物は、多くが植物体内に乳管と呼ば

れる特殊な組織を発達させ、乳管を形成する細胞(乳管細胞)内にこれらの化合物を蓄積する。植物生理学的には乳管組織の存在意義はまだ明確になっていないが、通常の細胞では貯蔵が難しい疎水性化合物や抗菌性物質等の貯蔵が機能のひとつとして考えられている¹⁵。

植物の乳管組織は、その構造・由来からarticulated型とnon-articulated型の二つに分類される¹⁶。articulated型乳管は、複数の細胞が融合して形成され、乳管の分枝や乳管組織を形成する細胞間に壁孔が存在する。一方、non-articulated型乳管は一つの細胞が伸長して形成され、分枝や壁孔は一般に見られない。articulated型乳管を保有する植物としては、パラゴムノキ、マニホットゴムノキ(*Manihot glaziovii*)、キョウチクトウ科の*Vinca sardoa*やガガイモ科のペリプロカ(*Periploca sepium*)が知られている。またnon-articulated型乳管では、イリオモテニシキソウ(*Chamaesyce thymifolia*)やポインセチア(*Euphorbia pulcherrima*)、イチジク(*Ficus carica*)などがある。なお、これらの乳管組織は多くの植物系統に渡って種を超えて存在することが確認されており、進化の過程で複数回発生した可能性が高い。

一方、トチュウでは、これまで本研究グループの研究からnon-articulated型乳管を保有し、トランスポリイソプレンの合成は乳管内で行われることが明らかにされている¹⁷。またトランスポリイソプレンはトチュウの乳管細胞内で、当初は顆粒状に合成され、やがて組織の成長に伴ってトランスポリイソプレンの蓄積が進み、最終的には顆粒状のトランスポリイソプレンが乳管細胞内を埋め尽くし、融合して繊維状のトランスポリイソプレンファイバーを形成することを示す結果が得られている¹⁷。

これらのことからトチュウの高分子transのポリイソプレン合成酵素は、トチュウ乳管細胞内の膜上に存在し、親水性の細胞質から基質であるイソペンテニル2リン酸を取り込み、トランスポリイソプレン合成を行うことにより顆粒状のトランスポリイソプレンが乳管内に出現すると考えられる。上記スキームに従って、本研究グループで見出したEuTIDS遺伝子がトチュウの乳管細胞内で見出せないか、現在、解析を続けているところである。

6. 結言

トチュウを用いたトランスポリイソプレンの生産技術開発は、植物由来の新たな工業原料の開発であり、生産されたトランスポリイソプレンは高級ポリマー原料等、様々な素材への利用が可能である。また、再生可能資源由来の産物のため、グリーン素材であり、石油を代替するプラスチック原料としての利用も期待される。

トチュウによるトランスポリイソプレン生産は、現在、事業化に向けた取り組みが進められているところであり、平成23年にはトランスポリイソプレン生産の拠点となる海外現地法人が中国西部地域に設立され、トチュウ育種用のHZY試験林、トランスポリイソプレン採取用トチュウ農園の整備も急ピッチで進められている(図5)。また、



図5 中国に整備したトチュウ育種用試験林。
約1.2haの広さがある。

平成25年を目途に、トチュウ由来トランスポリイソプレンを工業原料として生産・販売する事業が開始される予定である。

一方、国内における研究開発体制としては、大阪大学の産学連携体制を利用することで大阪大学内にトチュウ研究を専門とする研究組織「Hitz(バイオ)協働研究所」を設置し、分子生物学、化学工学を基盤とした研究開発を進めている。本論文の多くは大阪大学内における研究により得られたものである。またHitz(バイオ)協働研究所のユニークな点は、通常分子生物学、化学工学の研究に加え、研究組織内にタンパク質結晶工学、高分子化学、薬学、さらには経済学を専門とする大学研究者も入って研究開発を進めている点にある。

このほかトチュウによるトランスポリイソプレン生産の取り組みは、企業としての事業活動に加え、再生可能資源由来の工業原料を既存化学工業界に供給することにより石油代替を進め、大気中CO₂排出量削減に寄与する環境保全事業としての側面も大きい。生産されたトランスポリイソプレンの利用によりダイレクトに石油使用量の削減が達成されるほか、トランスポリイソプレン採取用トチュウ農園では、トチュウの成長に応じて毎年相当量の大気中CO₂の植物体内への固定が見込める。

現在の我が国年間CO₂排出量は、EDMC/エネルギー経済統計によると約12億トンに達し、またIPCCの報告書等によると、急激な気候変動を抑え、全球平均気温の上昇を数度程度に留めるには、2050年までに大気中へのCO₂排出量を現在より半減させる必要があると試算されている。本事業の推進は、これらの諸問題の解決に寄与できると考えられる。

7. 謝 辞

本研究開発は、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の受託事業及び、研究協力事業費助成金を受け実施したものである。プロジェクトリーダーの新名惇彦博士(奈良先端科学技術大学院大学副学長)、副リーダーの柴田大輔博士(かずさDNA研究所)、手厚い研究指導を頂いた小林昭雄博士(大阪大学名誉教授)、福崎英一郎博士(大阪大学工学研究科教授)をはじめとする関係諸先生方々に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Nakazawa, Y. et al. : Production of *Eucommia*-rubber from *Eucommia ulmoides* Oliv. (Hardy Rubber Tree) , *Plant Biotechnology*, **2009**, 26, 71-79.
- 2) 日立造船株式会社他, トチュウのメバロン酸経路の酵素をコードする遺伝子, 特開2009-000046, **2009**-1-8.
- 3) Bamba, T. et al. : Contribution of Mevalonate and Methylerythritol Phosphate Pathways to Polyisoprenoid Biosynthesis in the Rubber-Producing Plant *Eucommia ulmoides* Oliver, *Z Naturforsch, C.*, **2010**, 65, 363-372.
- 4) 日立造船株式会社他, 長鎖トランス型プレニルニリン酸合成酵素遺伝子, 特許公開**2010**-193770, 2010-9-9.
- 5) Dorothea, T. : Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism, *Current Opinion in Plant Biology*, **2006**, 9, 297-304.
- 6) Kuzuyama, T. : Mevalonate and nonmevalonate pathways for the biosynthesis of isoprene units, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2002**, 66, 1619-1627.
- 7) Skorupinska-Tudek, K. et al. : Contribution of the mevalonate and methylerythritol phosphate pathways to the biosynthesis of dolichols in plants, *J. Biol. Chem.*, **2008**, 283, 21024-21035.
- 8) Chow, K.S. et al. : Metabolic routes affecting rubber biosynthesis in *Hevea brasiliensis* latex, *J. Exp. Bot.*, **2012**, 63, 1863-1871.
- 9) Suzuki, N. et al. : Construction and analysis of EST libraries of the trans-polyisoprene producing plant, *Eucommia ulmoides* Oliver, *Planta*, **2012**, 236, 1405-1417.
- 10) Ogura, K. and Koyama, T. : Enzymatic Aspects of Isoprenoid Chain Elongation, *Chem Rev.*, **1998**, 98, 1263-1276.
- 11) Chang, T.H. et al. : Crystal structure of type-III geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Saccharomyces cerevisiae* and the mechanism of product chain length determination, *J. Biol. Chem.*, **2006**, 281, 14991-5000.
- 12) Hsieh, F.L. et al. : Structure and mechanism of an *Arabidopsis* medium/long-chain-length prenyl pyrophosphate synthase, *Plant Physiol.*, **2011**, 155, 1079-1090.
- 13) Sasaki, D. et al. : Crystal structure of heterodimeric hexaprenyl diphosphate synthase from *Micrococcus luteus* B-P 26 reveals that the small subunit is directly involved in the product chain length regulation, *J. Biol. Chem.*, **2011**, 286, 3729-3740.

- 14) Wang, K. and Ohnuma, S. : Chain-length determination mechanism of isoprenyl diphosphate synthases and implications for molecular evolution, Trends Biochem. Sci., **1999**, 24, 445-451.
- 15) Dussourd, D.E. and Eisner, T. : Vein-cutting behavior: insect counterploy to the latex defense of plants, Science, **1987**, 237, 898-901.
- 16) Hagel, J.M. et al. : Got milk? The secret life of laticifers, Trends Plant Sci., **2008**, 13, 631-639.
- 17) 中澤慶久ほか:新素材トチュウエラストマー, Hitz技報, **2010**, 71 (1), 38-47

【文責者連絡先】

Hitz日立造船(株) 技術開発本部
 開発プロジェクト部 バイオプロジェクト室
 鈴木 伸昭
 Tel : 06-6879-4165 Fax : 06-6879-4165
 e-mail : suzuki_n@hitachizosen.co.jp

Hitachi Zosen Corporation
 Technology Development Headquarters,
 Product Development Project Division
 Nobuaki Suzuki
 Tel : +81-6-6879-4165 Fax : +81-6-6879-4165
 e-mail : suzuki_n@hitachizosen.co.jp



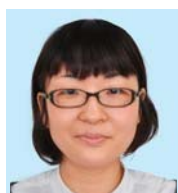
鈴木 伸昭



梶 浦 裕 之



山 本 直 樹



原 田 陽 子



中 澤 慶 久