

植物ホルモン機能制御剤による新しい植物保護を目指して —ストリゴラクトン, ジベレリン, エチレン制御剤の創製・発見

東京大学大学院農学生命科学研究科 浅見忠男, 福井康祐,
伊藤晋作, 下高原宏明, 大谷征史, 北畑信隆

1. はじめに

現在の食糧安定供給には農業が必須であるが、機械化や灌漑等と比較して投下エネルギーが格段に小さいこともあり、今後も有用な農業資材として使用されることが予測される。ただしこれまでの農業は食糧の生産に不必要な生物(雑草, 害虫, 病原菌)を生産の場から取り除くということが主眼となっており、植物が有する機能そのものを利用して食糧増産に結びつける化合物の開発は積極的に行われてこなかった。しかし、植物が本来もっている機能を制御して作物価値を高めることができるようなタイプの農業である植物成長調節剤は、現在の市場は小さいが先進国型農業では今後さらに発展が期待できる分野と予想している。現在でも植物ホルモン機能を利用した倒伏防止剤や果樹の色付き促進剤等多様な化合物が商品化されている。今後新しい植物ホルモンの発見やそれらの生合成系や情報伝達系の解明に伴い、多くの植物生長調節剤候補化合物の発見・創製が可能になり、さらにそのような化合物を利用するために従来の使用法だけでなく新しい知見を用いた利用法の開発も必要になるであろう。

化学物質による生産能力や商品性の上昇は20世紀の農業を大きく変貌させたが、20世紀末から21世紀の農業を大きく変貌させつつあるのが遺伝子組換え技術の農業への応用である。現在生産されている遺伝子組換え作物は除草剤耐性遺伝子や殺虫性タンパク質遺伝子が高発現状態になるような性質を持っていることが大きな特徴であるが、今後は環境ストレス耐性を高めた作物が市場に現れ、非耕地の耕地化が可能になるであろう。食糧事情や経済状況を考慮すると組換え作物栽培面積の増加傾向は今後も続き、安定した食糧やエネルギーの供給に不可欠な技術となることが予想できる。しかし遺伝子の組換え作物だけで作物の減収要因が全て解消できるわけではなく、耕地面積の増加に伴う農業や植物生長調節剤の重要性がますます高まってくると予想している。

このような状況下、東京大学大学院の生物制御化学研究室では多くの研究者・機関と共同研究を行い、植物保護や植物強化を薬剤のみ、遺伝子のみで行うのではなく各々の長所を伸ばし欠点を補いあうような作物栽培法を目指した基礎研究に取り組んでいる(図-1)。特に植物ホ

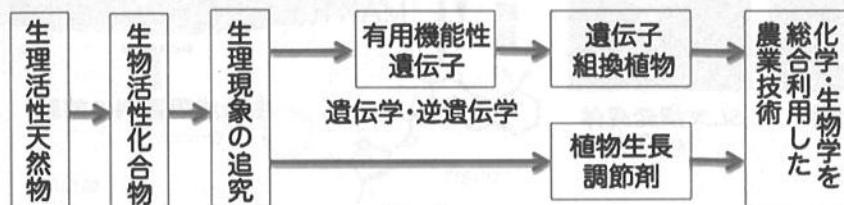


図-1

ルモンに着目し、その制御剤の開発と応用を行い植物成長制御剤としての可能性を検討するとともに、ケミカルバイオロジー研究の一環として開発した制御剤を応用した新しい遺伝子探索と機能解明を行い、それら遺伝子を食糧やエネルギーの安定生産に応用するだけでなく、制御剤や遺伝子を同時に利用することを視野にいたれた研究を行っている。以下我々が行っている具体的な研究例としてストリゴラクトン機能制御について説明する。

2. ストリゴラクトン機能制御剤

ストリゴラクトン (SL) 類 (図-2 に代表的なストリゴラクトン類の構造を示す。GR24 は非天然型化合物である。) は根寄生植物の発芽刺激物質¹⁾、共生菌であるアーバスキュラー菌根菌の菌糸分岐誘導物質²⁾、植物の枝分かれ制御物質³⁾、として働くことが知られている。植物の枝分かれは食糧・バイオマスの生産増加に直結する重要な形質であり、収量増加を考える場合、この枝分か

れを制御する意義は大きい。また根寄生植物は特にアフリカのサブサハラ地方で穀物収量を減少させる雑草として大きな問題になっており、根寄生雑草の退治法、根寄生雑草の感染を防ぐ栽培法の開発に期待が持たれているが、未だ有効な解決策は見つかっていない。これら現象を制御している鍵化合物はSLであることから、まずSL生合成を制御する物質の創製を行った。

2-1. ストリゴラクトン生合成阻害剤

SL 欠損状態の植物は枝分かれが多くなるが (図-3)、その形態はSL ミミックであるGR24 の処理により回復する。SL 生合成阻害剤にはSL の生理機能の解明や遺伝学への適用という植物科学への応用展開以外にも植物の枝分かれ促進効果や寄生雑草発芽抑制効果を利用した実用化の可能性が期待できることからSL 生合成阻害剤の創製を試みることにした。SL の生合成には少なくとも二つのカロテノイド酸化開裂酵素 (CCD7 及び CCD8) と一つのシトクロム P450

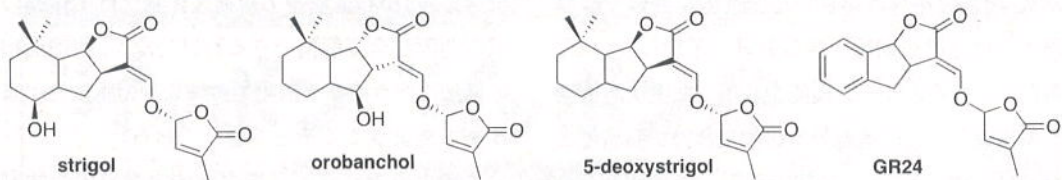


図-2

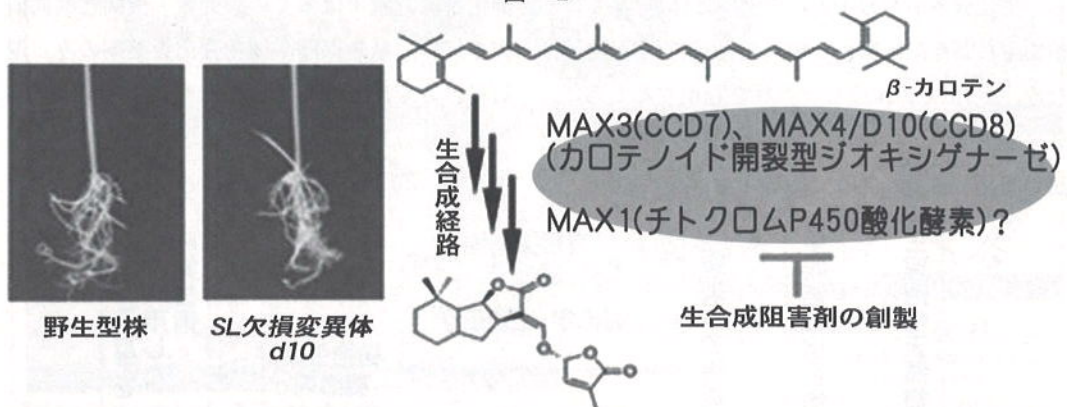


図-3

酸化酵素が関わっていることが示唆されている (図-3)⁴⁾。SLの生合成に関与するCCD7, CCD8はアブシジン酸生合成に関与するNCEDや揮発性香気成分の合成に関与するCCD1に反応機構が類似しているため、当研究室で開発し報告してきたジオキシゲナーゼ阻害剤^{5), 6)} NCED阻害剤^{7) 9)} やその類縁体中にCCD7やCCD8の阻害剤が存在するのではないかと考えられる。またチトクロームP450に対しては、トリアゾール化合物が阻害効果を示すことが予想される。そこで研究室で構築した化合物ライブラリーを対象に阻害活性化合物のスクリーニングを行うことにした。各化合物処理したイネについて分けつ(枝分かれ)促進活性と、水耕液へのSL滲出量の減少を評価することによりSL生合成阻害活性を検討した。続いて見出した活性化合物について構造活性相関研究を行い、最終的にアバミン¹⁰⁾ やCCD1阻害剤類縁体であるAKT17¹¹⁾、そしてトリアゾール化合物であるTIS13¹²⁾を見いだした(図-4)。これら初期に見出したリード化合物を処理したイネはSL内

生量の減少とイネ第二分けつの伸長が観察されただけでなく、SLミミックであるGR24と共処理することで分けつ異常が一部回復することから、TIS13, AKT17, アバミンはSL生合成阻害活性を有していると考えた。これら化合物中で最も活性が高い化合物はTIS13である。しかしこの化合物はイネに対して予想以上の矮化誘導活性を示したことから、副作用としてジベレリンやブラシノステロイド生合成に対する阻害効果を示すことが予想された。そこでTIS13の構造に基づいて構造活性相関研究を行い(図-5)、より活性や特異性を高めたSL生合成阻害剤を見出すことにした。

これまでの研究でトリアゾール化合物中にある α -ブチル基をフェニル基へと置換すること、水酸基をケトン基へと変換することによりジベレリン生合成阻害活性を減少できることを知見としてもっていたことから、この部分を中心に構造改変を行い、イネに対して高活性・高特異性を示す化合物TIS102を見出すことができた¹³⁾。これら一連のSL生合成阻害剤は内生

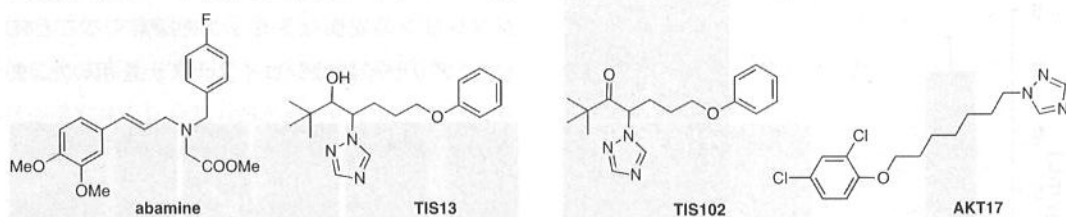


図-4

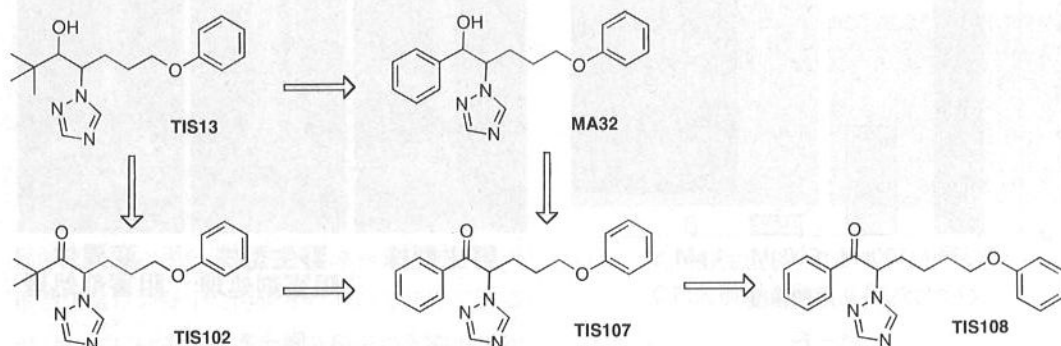


図-5

のSL量を減少させるだけでなくイネ分げつ促進活性を有している。そこでこれら化合物を strigazole (Stz) と命名し、以後の研究に用いている。例えば Stz102 (= TIS102) をイネに長期間処理したところ、バイオマスが2倍以上に増加することを見出した。今後使用法を検討することにより新しい穀物生産の増加法を提示することができる可能性があると考えている。またシロイヌナズナに対して高活性・高特異性を示す Stz108 (TIS108) を見出すことが出来た。Stz108はシロイヌナズナに対して効果的な薬剤であり、枝分かれ促進的に働く。この化合物は広く双子葉類に効果的であり今後の花き園芸等への応用が期待できる。

さて、現在筆者らのグループでは TIS13 を用いた遺伝学的研究にも取り組み TIS13 に対して抵抗性を示すイネ変異体を見出すことに成功している (図-7)。野生型株に TIS13 を処理する

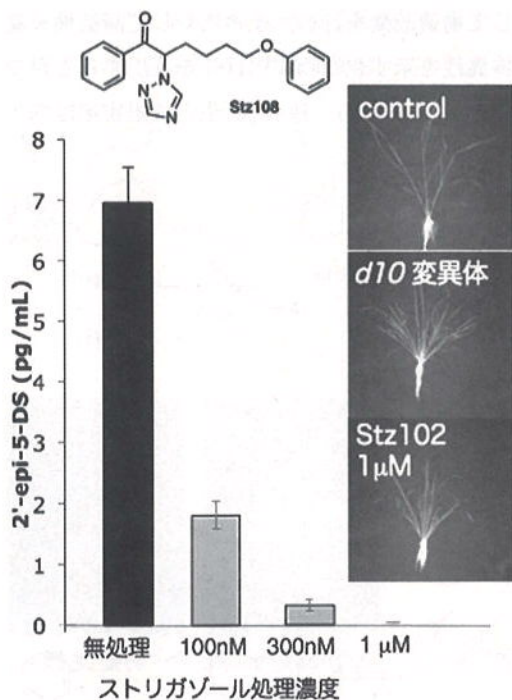


図-6

ことにより第2分げつの伸長 (図中白い矢印で示した) が観察されるようになる。しかし阻害剤非感受性変異体では TIS13 を処理しても分げつが増えてこない。これら変異体中では SL 生合成酵素や情報伝達因子をコードする遺伝子が変異しているのであろう。今後変異体原因遺伝子の追究を行うことにより、SL による植物生長の仕組みを分子レベルで解き明かすことができるだけでなく、見出した遺伝子を応用することによる新しい作物の増収が可能になると期待している。またこれら阻害剤を処理した植物への根寄生雑草の感染率が大きく減少していることから、SL 生合成阻害剤は根寄生雑草被害の低減にも役立つと期待できる。

さて、上記阻害剤の副作用の追究過程でジベレリンが SL 生合成を著しく抑制することを見出した。この結果はジベレリン処理による根寄生雑草の発芽過程の制御が可能であることを示唆している。しかしジベレリンは高価であるためにアフリカの大地に散布することはコスト的に問題がある。そこでこの問題を解決するためにジベレリンの安価なミミックを探索することにした。アッセイにはシロイヌナズナを用いた。ま

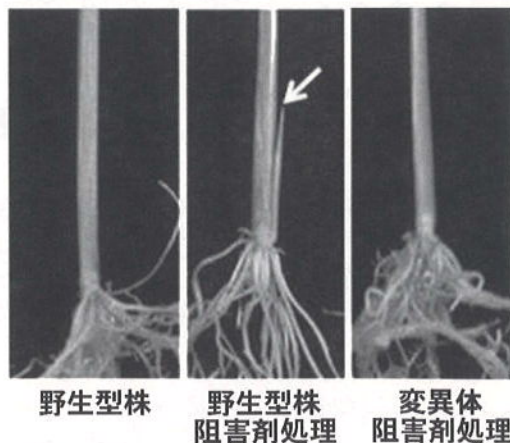


図-7

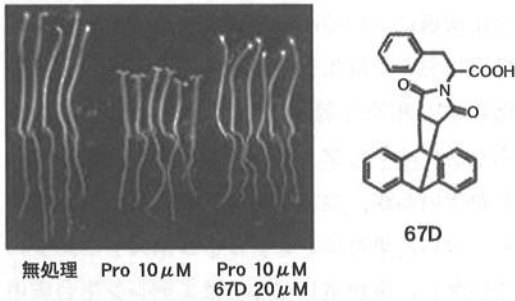


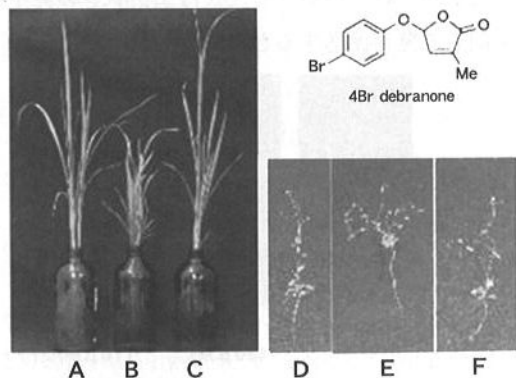
図-9

ず生育が抑制された状態になるようなジベレリン生合成阻害剤濃度を決定し、次に化合物ライブラリー中からジベレリン生合成阻害剤と共処理することで抑制状態から回復させる効果を持つ化合物67Dを発見した(図-9 この写真はジオキシゲナーゼを標的とする prohexadione 処理の場合であるが、チトクロームP450を標的とするバクロプロトラゾールの場合も同様の結果を与える。)。この67Dは作用部位の異なる2種類のジベレリン生合成阻害剤に対して同様の回復効果を示したことよりジベレリン受容以降の情報伝達系に作用していると予測している。この化合物はインシリコ解析ではジベレリン受容体のポケットに親和性を持ち¹⁴⁾、安価にかつ簡便に合成可能である¹⁵⁾。予備的試験ではジベレリン受容体と結合能力があるとの結果が得られていることから、今後は構造活性相関研究と併せてSL生合成に対する影響を調べていく予定である。

2-2. ストリゴラクトンミミック

新しく植物ホルモンとして認識されるようになったSLであるが、その農業への応用はこれからの課題である。現在期待されている利用法はアフリカで問題になっている根寄生雑草被害の軽減である。現在アフリカでは多くの耕作地が根寄生雑草の種子に汚染されている状態であるが¹⁶⁾、SLはその根寄生雑草種子の発芽促進物

質として知られている。そのような耕作地ではホストとなる作物が生産したSLが根から放出されると、それを感知した寄生雑草は発芽できるようになり、ホスト植物の根に感染し寄生することによりホスト植物の正常な成長を妨害するために収量が著しく減少する。そこで有力な防除法の一つとして期待されているのが、作物種子を播種する前にSLミミック処理をすることにより、土壤中に広がる根寄生雑草の自殺発芽を促進して作物への寄生を防除する方法である。一方、SLを作物、園芸植物へと応用する新しい利用法も期待されている。しかしながら大量、安価にSL活性を有する化合物を供給できないことが新しい利用法の検討を難しくしている一つの理由である。そこでこの点を解決するために新しいストリゴラクトンミミックの創製に取り組んだ。その結果ストリゴラクトンD環のプテノライドとフェノールを結合させた化合物(debranoneと命名した。一例として4Br debranoneを挙げる。)が、これまでストリゴラクトンアナログの標準品として用いられてきたGR24¹⁷⁾より強い活性を有することを見いだした(図-8)¹⁸⁾。



A,D:野生型株、B,E:SL欠損変異体、C,F:欠損型変異体に化合物を処理

図-8

この化合物をSL欠損変異体であるd10変異体に処理することにより、d10変異体の多分げつ矮化形態が野生型と同様の形態に回復した。またシロイヌナズナにおけるSL欠損変異体であるmax3に対して同様の効果を示すことを確認した。以上の結果よりdebranoneがストリゴラクトンアゴニストとして機能していると考えている。この化合物は簡便かつ安価に合成できることから、SLの農業利用に新しい展望を開くことができる可能性を期待している。またデブロン型化合物は根寄生雑草種子の発芽促進活性が構造により大きく異なるので、植物ホルモン活性と発芽促進活性を任意に調節することが可能という特徴を有している。またSLミミックを用いた変異体探索はまだ行っていないが、シロイヌナズナに対してSL過剰投与を行うと暗所光形態形成（ブラシノステロイド生合成阻害剤を処理した場合のような形態）を示すことが報告されていることから、この条件下でSL抵抗性を示す変異体は容易に選抜できると考えている。

2.3. エチレンミミック

エチレンは根寄生雑草の種子発芽を促進することが知られている¹⁹⁾。SLはエチレンの発生を促して発芽促進するとの報告もあるが、その

作用機構についてはまだ確定していない。アメリカにおいてはエチレン処理による自殺発芽促進による根寄生雑草の駆除が実際に効果的であったため²⁰⁾、アフリカでも有効な方法と考えられているが、コスト等の問題から実用化されていない。またエチレンのアゴニストも知られていない。実験室レベルではエチレン生合成中間体であるACCがエチレン代替物として自殺発芽に効果的であることが報告されているが²¹⁾、やはり実用化されていない。このような状況下、我々は安価にかつ簡便に合成できるエチレンミミックの開発に取り組んだ。暗所条件下で育てられた植物はエチレン処理によりトリプルレスポンスと呼ばれる矮化、下胚軸肥大、根の伸長抑制といった形態変化を示す。そこでこの形態を指標としてエチレンと同様な植物応答を誘導する化合物の探索を行った結果、目的の化合物HJ2を見出すことができた（図-10）²²⁾。この化合物はシロイヌナズナにトリプルレスポンスを誘導するだけでなく、根寄生雑草の発芽も誘導したことからエチレンミミックとして機能していると考えている。今後、作用部位の特定と併せ、根寄生雑草の駆除を目的とした生理実験と構造活性相関研究を進めていく予定である。また新しい植物ホルモン活性物質としてエチレ

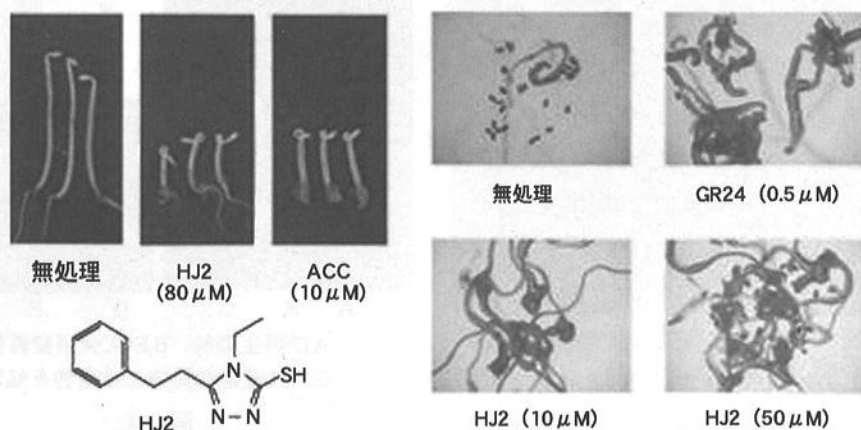


図-10

ンの新しい利用法の開発も可能であろう。

3. 最後に

これまで得られた化合物と遺伝子組換え植物の組み合わせの一例を挙げたい。例えばSL生合成変異体を利用する事により根寄生雑草による被害はかなり減少させることができるはずであるが、SL生合成変異体では枝分かれが多くなりすぎて収量も大きく減少してしまう。しかしSL生合成変異体と植物ホルモンとしてSL活性は強いが根寄生雑草の発芽促進活性は弱いデブロン型化合物を併せて用いることにより、任意の枝分かれと根寄生雑草からの被害を制御できるはずである。上記は一例であるが、化合物と遺伝子組換え植物を組み合わせることにより自由な発想が可能になり、新しい農業技術の開発が可能になる事を期待している。

謝辞

本論文の作成にあたり使用したデータは理化学研究所、東大における研究協力者そして多岐にわたる共同研究者の尽力による成果です。お世話になった多くの関係者の方々に感謝いたします。また成果の一部は生物系特定産業技術研究支援センターイノベーション創出基礎的研究推進事業の支援を受けて行われました。

4. 参考文献

- 1) C. E. Cook, L. P. Whichard, B. Turner, M. E. Wall, G. H. Egley, *Science*, 154, 1189 (1966)
- 2) K. Akiyama, K. Matsuzaki, H. Hayashi, *Nature*, 435, 824 (2005)
- 3) M. Umehara, A. Hanada, S. Yoshida, K. Akiyama, T. Arite, N. Takeda-Kamiya, H. Magome, Y. Kamiya, K. Shirasu, K. Yoneyama, J. Kyojuka, S. Yamaguchi, *Nature*, 455, 195 (2008)
- 4) C. A. Beveridge, J. Kyojuka, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 13, 34 (2010)
- 5) S. Han, H. Inoue, T. Terada, S. Kamoda, Y. Saburi, K. Sekimata, T. Saito, M. Kobayashi, K. Shinozaki, S. Yoshida, T. Asami, *Bioorg Med Chem Lett*, 12, 1139 (2002)
- 6) S. Han, H. Inoue, T. Terada, S. Kamoda, Y. Saburi, K. Sekimata, T. Saito, M. Kobayashi, K. Shinozaki, S. Yoshida, T. Asami, *J Enzym Inhibit Med Chem*, 18, 279 (2003)
- 7) S. Han, N. Kitahata, T. Saito, M. Kobayashi, K. Shinozaki, S. Yoshida, T. Asami, *Bioorg Med Chem Lett*, 14, 3033 (2004)
- 8) S. Han, N. Kitahata, K. Sekimata, T. Saito, M. Kobayashi, K. Nakashima, K. Yamaguchi-Shinozaki, K. Shinozaki, S. Yoshida, T. Asami, *Plant Physiol*, 135, 1574 (2004)
- 9) N. Kitahata, S. Y. Han, N. Noji, T. Saito, M. Kobayashi, T. Nakano, K. Kuchitsu, K. Shinozaki, S. Yoshida, S. Matsumoto, M. Tsujimoto, T. Asami, *Bioorg MedChem*, 14, 5555 (2006)
- 10) N. Kitahata, S. Ito, A. Kato, T. Asami, *J Pestic Sci*, 34, 319 (2009)
- 11) 加藤敦隆, 修士論文 (2009)
- 12) S. Ito, N. Kitahata, M. Umehara, A. Hanada, A. Kato, K. Ueno, K. Mashiguchi, J. Kyojuka, K. Yoneyama, S. Yamaguchi, T. Asami, *Plant Cell Physiol*, 51, 1143 (2010)
- 13) S. Ito, M. Umehara, A. Hanada, N. Kitahata, H. Hayase, S. Yamaguchi, T. Asami, *PLoS One*, 6, e21723 (2011)
- 14) K. Murase, Y. Hirano, T. P. Sun, T. Hakoshima,

- Nature*, 456, 459 (2008)
- 15) 下高原宏明ら, 2012年農芸化学会大会講演要旨
- 16) C. Parker, *Pest Manage Sci*, 65, 453 (2009)
- 17) E. M. Mangnus, B. Zwanenburg, *J Agric Food Chem*, 40, 697 (1992)
- 18) K. Fukui, S. Ito, K. Ueno, S. Yamaguchi, J. Kyojzuka, T. Asami, *Bioorg Med Chem Lett*, 21, 4905 (2011)
- 19) G. H. Egley, J. E. Dale, *Weed Sci*, 18, 586 (1970)
- 20) G. H. Egley, R. E. Eplee, R. S. Norris, In P. Sand, R. E. Eplee, R. G. Westbrooks (eds) *Witchweed Research and Control in the United States*, 56 (1990)
- 21) K.J. Rugutt, J. K. Rugutt, D. K. Berner, *Natural Product Research*, 17, 47 (2003)
- 22) 北畑信隆ら, 2012年農芸化学会大会講演要旨

豊かな稔りに貢献する 石原の水稲用除草剤

SU抵抗性雑草に優れた効果を発揮

非SU系水稲用初期除草剤

プレキープ[®]フロアブル

・湿水直播の播種前後にも使用可能!

長期間安定した効果を発揮

石原
ドクジガード[®]

フロアブル/1キロ粒剤

- ・SU抵抗性雑草、難防除雑草にも優れた効果!
- ・クログワイの発根やランナー形成を抑制!
- ・田植同時処理が可能!

高葉齢のノビエに優れた効き目



フルセトスルフロン剤
ラインナップ



スクガキ 1キロ粒剤

フルチャーシ
1キロ粒剤・ジャンボ

フルアース
1キロ粒剤

フルニング
1キロ粒剤

ナイスエドール
1キロ粒剤

そのまま散布ができる

乾田直播専用

アンホマン
DF

ハードパンチ
DF

ISK 石原産業株式会社
〒550-0002 大阪市西区江戸堀1丁目3番15号

販売 ISK 石原バイオサイエンス株式会社
〒112-0004 東京都文京区後楽1丁目4番14号