

植物代謝から見た除草剤の作用点 (3) アセチルCoAカルボキシラーゼ

今から四半世紀前の1999年、雑草リスク評価 (Weed Risk Assessment) のモデルに関するPheloungらの論文が Journal of Environmental Management に掲載された。この年、国内では“雑草魂”で有名な上原選手が巨人に入団したが、「だんご3兄弟」が流行ったのもこの年である。除草剤の作用点として脂肪酸生合成に関与するものが3つある (Dayan, 2019)。アセチルCoAカルボキシラーゼ (ACCase, HRACコード:1), 脂肪酸チオエステラーゼ (FAT, HRACコード:30), 超長鎖脂肪酸伸長酵素 (VLCFAE, HRACコード:15) である。「だんご3兄弟」をモジって、さらに3と酸をかければ“脂肪酸兄弟”である (図-1)。

前回までに、植物代謝系全体における既存除草剤の作用点の大まかな場所 (與語 2023a) と、作用点の酵素と代謝系 (與語 2023b) について概説した。今回からは個別の作

用点について解説する。最初は、脂肪酸兄弟の一つ、アセチルCoAカルボキシラーゼを紹介する。

1. 脂肪酸の種類と役割

我々が日々摂取すべき栄養素に、脂質、糖質、タンパク質があるが、そのうち水に溶けにくい物質と定義されている脂質は、貯蔵エネルギーとしてのトリアシルグリセロールや、膜成分としてのリン脂質等が生物共通に存在する。一方、植物には動物にあるコレステロールは無く、いわゆる植物ステロールがある。植物の部位別にみると、葉において、脂質は数%を占めるがそのほとんどが膜成分であり、種子には発芽のエネルギー源としての脂質が蓄積されている。また、植物の細胞内小器官として動物にはない葉緑体があり、この膜成分にガラクトシルジグリセリド類が多く含まれる糖脂質がある。

“脂肪酸”は脂質の主成分であり、これも動植物に共通して重要な物質である。脂肪酸は、脂質と異なり水に溶けやすい性質を有する。それは炭素が直鎖状に繋がった分子の一方の端にカルボキシル基 (-COOH) が付いているためである。その脂肪酸は、炭素鎖の長さ (短鎖~超長鎖) や炭素の二重結合 (不飽和化) の違いによって、植物では約100種類ある。炭素鎖の長さはC₁₆とC₁₈が最も多く、葉にはC₁₆のパルミチン酸、種子にはC₁₈のステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、α-リノレン酸が多い。植物の脂肪酸

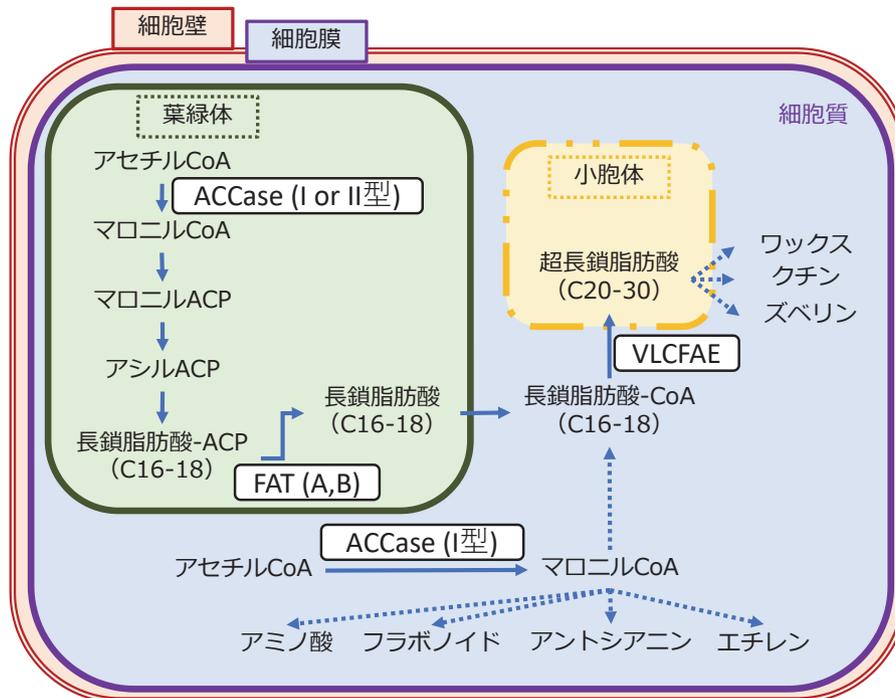


図-1 脂肪酸生合成阻害と除草剤の作用点

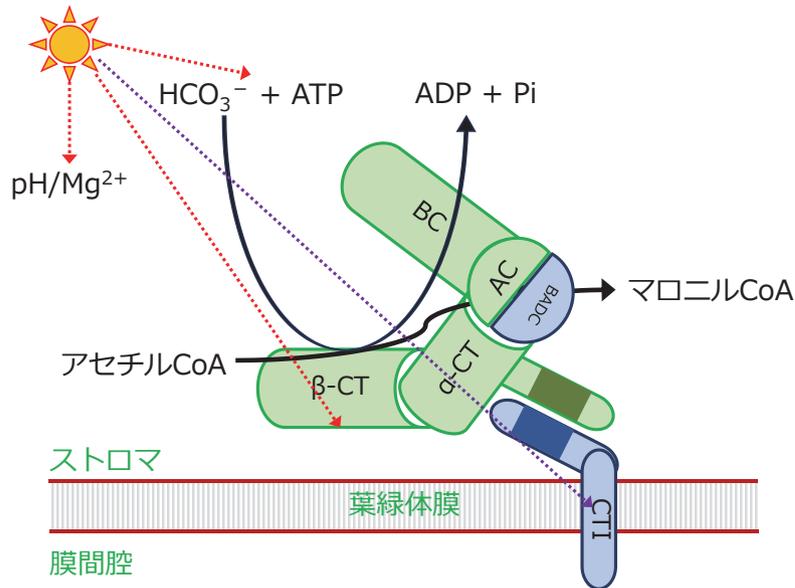


図-2 アセチル CoA カルボキシラーゼ (ACCCase II型)

は、細胞膜やエネルギー源となる脂質の構成成分として利用される以外に、アミノ酸、フラボノイド、アントシアニン、エチレン等にも関与し、長鎖化すればクチクラ、ワックス、ズベリン等にもなる。さらに、植物では、成長の調節、病害等の生物的または温度等の非生物学的ストレス耐性への寄与も示唆されている。

このように、脂肪酸やそれから構成される脂質は、植物の生存や成長調節にとって欠かせない存在である。因みに植物の脂肪酸のうち、多価不飽和脂肪酸であるリノール酸や α -リノレン酸等は、動物では生合成できないため、必須脂肪酸に分類されている。

2. 脂肪酸生合成

動物における脂肪酸生合成は、ミトコンドリア内で生成されたクエン酸を起点に、最初の段階のアセチルCoAの合成から長鎖化まで全て細胞質において行われる。一方、植物における生合成は、一つは動物と同様だが、もう一つは葉緑体で行われる(図-1)。何れの場合も、その最初の反応であるアセチルCoAからマロニルCoAを触媒するのが、アセチルCoAカルボキシラーゼ (ACCCase, EC 6.4.1.2)，“脂肪酸兄弟”の長男である。葉緑体からの流れでは、次いで次男のFATおよびその周辺の“脂肪酸合成酵素(脂肪酸シンターゼ, FAS)”が働き、マロニルCoAから飽和脂肪酸合成までの酵素反応を触媒する。最後に三男のVLCFAEが働き、ワックス、クチン、ズベリンなどの合成を担う。

「全ての道はローマに通ず」という諺があるが、これまでの説明からもわかるように、多くの道、すなわち代謝系が

ACCCaseに通じており、生体において要となる酵素の一つである。

3. アセチルCoAカルボキシラーゼ (acetyl-CoA carboxylase (ACCCase), EC 6.4.1.2)

ACCCaseは、自然界に真核生物型や動物型と言われるI型と、原核生物型や大腸菌型と言われるII型の2種類が存在する(Sasaki and Nagano 2004)。後者のII型は、酵素(ビオチンカルボキシラーゼ(BC)、カルボキシルトランスフェラーゼ(α -CT, β -CT))と、ビオチンカルボキシルキャリアタンパク質(BCCP, 以下アシルキャリアタンパク質(ACP)とする)から構成される多酵素複合体である(図-2, Ye *et al.* 2020)。これに対してI型は、1つのペプチドにII型の機能を全て含んだ多機能酵素である。

① BCが触媒する反応：



② CTが触媒する反応：



実は、多くの植物の細胞質にはI型が存在し、フラボノイド合成や脂肪酸鎖延長に必要なマロニルCoAを供給している。一方、葉緑体にはII型が存在し、脂肪酸合成に必要なマロニルCoAを供給している。植物におけるACCCaseの80%がII型と言われている。しかし、イネ科植物にはI型しかなく、細胞質と葉緑体の両方に存在する。

少し話は変わるが、生命は水中で誕生し、まず小さな細菌のような生物から始まり、その後植物や動物に進化した

表-1 アセチル CoA カルボキシラーゼ (ACCCase) 阻害剤

構造分類	有効成分名
シクロヘキサジオン (ジム/DIM 系)	アロキシジム, クレトジム, クロプロキシジム, シクロキシジム, セトキシジム, テプラロキシジム, トラルコキシジム, プトロキシジム, プロホキシジム
アリルオキシフェノキシ プロピオン酸 (ホップ/FOP 系)	イソキサピリホップ, キザロホップ, クロジナホップ, クロホップ, クロラジホップ, ジクロホップ, シハロホップ, トリホップ, ハロキシホップ, フェノキサプロップ, フェンチアプロップ, フルアジホップ, プロパキサホップ, メタミホップ
フェニルピラゾリン (DEN 系)	ピノキサデン
フェノキシカルボン酸	トリホプシム

と考えられている。そんな視点から、ACCCaseを捉えたと、I型とII型は、どちらが先にまたはどのようにして分離したのか、なぜ同じ陸上草本の中で、イネ科植物と双子葉植物で違うのか、さらに言えば、何故イネは動物のACCCase (I型)しか有していないのか、同じI型でもアイソザイムの違いがあるのかとても興味深い。

なお、この脂肪酸合成は明暗で変化するが、ACCCaseのうちカルボキシルトランスフェラーゼのシステインが、光刺激で酸化または還元されることによって、酵素活性が変化するためである。

4. HRACコードと除草剤

ACCCase阻害剤のHRAC (Herbicide Resistance Action Committee) コードは“1”である。そこを作用点とする除草剤の化学構造は、シクロヘキサジオン系と、アリルオキシフェノキシプロピオン酸系に大別される。前者は、有効成分の一般名の最後がクレトジムのように“ジム”となることから、“DIM”と略される。一方、後者は一般名の最後がキザロホップのように“ホップ”となることから、“FOP”と言われている (表-1)。これらはほぼ半世紀前に上市された。一方、ACCCase阻害剤にはこれら以外に2つの化合物群が知られている。そのうちフェニルピラゾリン (フェニルピラゾール) 系は“DEN”と省略されるが、2006に上市された。なお、フェノキシカルボン酸のトリホプシムは、HRACコードにはまだリストされていない。

近年、ホップ系では最後に“P”が付くものが増えている。農業は一般にラセミ体が多いものの、当該活性を有するのは限られた光学異性体である。合成方法の改良によって、活性がある異性体の割合を大幅に増やすまたはそれだけにすることが可能となり、そのようなものに“P”が付いている。

前述のように、植物のACCCaseには2つの形態が存在する。実はほとんどの植物においてそのいずれの形態もACCCase阻害剤で酵素活性は阻害されない。しかし、例外的にイネ科植物と一部のアブラナ科植物が有するI型のACCCaseの活性だけがACCCase阻害剤によって阻害される。そのことを利用したのがACCCase阻害剤のイネ科植物と双子葉植物間の選択性であり、感受性のACCCaseを有する植物種だけがこの阻害剤に対して感受性を示す。

また、複数の酵素が組み合わさったACCCaseのII型に対して、ACCCase阻害剤はそのうちCT部位をACCCaseの基質に対して拮抗的に阻害する。さらに詳細に見れば、“ジム”や“ホップ”の結合部位は、698番目のセリンや194番目のスレオニンである。また、“DEN”も同様の部位に結合すると考えられている。一方、ATP, Mg^{2+} , HCO_3^{-} に対しては、非拮抗的に阻害する。

ACCCaseは脂肪酸生合成の一番初めに位置するため、感受性植物においては、その生合成を阻害することで、それに続く脂質や各種二次代謝産物の生合成を抑制する。結果として、細胞膜が破壊され、細胞内の生体成分が細胞外に溶出し、細胞が死ぬことでクロロシス (黄化, 白化) が起こる。もう少しマクロでみると、莖葉処理されたACCCase阻害剤は、莖葉部の成長部位に移行して生長点を阻害することで、ネクロシス (壊死) とともに、新葉の展開抑制等の症状を示し、最終的に植物全体が枯死する。この効果発現には大凡1週間程度を要するが、薬剤の莖葉部内移行が関与するため、湿度の違いによって、除草効果変動する。なお、これらのACCCase阻害剤は、一般に土壤吸着性が高いため、土壤に処理しても残効性はほとんどない。

ここでも何故動物に対する毒性はなぜ低いのか等の疑問が生じる。動物のACCCaseはACCCase阻害剤に対して感受性なのか? 感受性としたら、農作物を通じて経口摂取された

ACCase阻害剤は、動物において比較的速やかに糞尿排泄されるとともに、動植物体内の代謝も比較的速いため毒性が発現しないと推測される。

5. ACCase阻害剤抵抗性機構

ACCase阻害剤抵抗性機構については、作用点抵抗性と非作用点抵抗性がある。ここでは極簡単に触れるが、作用点抵抗性には、ACCase阻害剤との親和性が低い作用点や、ACCaseのコピー数増加がある。一方、非作用点抵抗性には、阻害剤の解毒以外にも植物体への吸収や作用点への移行の減少が知られている (Takano *et al.* 2021)。

FOP やDIMとの親和性の低いACCaseについては、7ヶ所で16の変異が知られており、例えば1781および2041番目のイソロイシン、1999および2027番目のトリプシン、2078番目のアスパラギン酸、2088番目のシステイン、2096番目のグリシン等が別のアミノ酸に置換することで抵抗性を発現している。変異によっては、DIMとFOPの両方またはFOPだけに抵抗性を示す、またFOPの中でも感受性が異なる場合もある。一方、非作用点抵抗性のうち解毒代謝については、第1相反応のP450や、第2相反応のグルタチオン-S-トランスフェラーゼやグルコシル-S-トランスフェラーゼが知られている。これらについては、詳細に調べてから「緒」に掲載したい。

今回、除草剤の作用点についてコラム「緒」で取り上げる最初として、アセチルCoAカルボキシラーゼ (ACCase) について、俯瞰的に捉えることに挑戦した。調べれば調べ

るほど、このように代謝の要となる酵素の阻害では、続いて起こるカスケード反応が多岐にわたり、その詳細まで調べ切ることにはできず、若干尻切れトンボになった。今後も、除草剤の作用点の類型化は何を意味するのか、また類型化した阻害剤ごとにその効果的利用や抵抗性雑草管理はどのように考えたらよいか、自らに問いかけていきたい。

参考文献等

- 日本生化学会編 1997. 細胞機能と代謝マップ I. 細胞の代謝・物質の動態. 東京化学同人, PP.302.
- Dayan, F. E. 2019. Current Status and Future Prospects in Herbicide Discovery. *Plants* 8, 341.
- Sasaki, Y. and Y. Nagano 2004. Plant Acetyl-CoA Carboxylase: Structure, Biosynthesis, Regulation, and Gene Manipulation for Plant Breeding. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68(6), 1175-1184.
- Takano, H. K. *et al.* 2021. ACCase-inhibiting herbicides: mechanism of action, resistance evolution and stewardship. *Scientia Agricola* 78(1), e20190102
- Ye, Y. *et al.* 2020. Docking of acetyl-CoA carboxylase to the plastid envelope membrane attenuates fatty acid production in plants, *Nature Communications* 11, 6191.
- 與語靖洋 2023a. 植物代謝から見た除草剤の作用点 (1) 代謝マップ (俯瞰図 (素案)). *植調* 57(4), 21-23
- 與語靖洋 2023b. 植物代謝から見た除草剤の作用点 (2) 代謝と酵素. *植調* 57(6), 30-32.