

活性酸素種から見た除草剤の作用点

地球上の大気は、現在0.04%弱の二酸化炭素 (CO_2) を含む。半世紀前は CO_2 濃度を0.03%としていたので、毎年2 ppmずつ上昇した計算になる。一方、その他の大気中成分としては、酸素は約21%、窒素は78%、それ以外は1%弱のアルゴンとなり、諸説あるものの、1万年程前から安定している。そのうち、酸素の大部分は光合成生物の酸化反応によって生成したものであり、その後 CO_2 を固定、つまり、炭水化物に還元する。このように酸化還元反応 (oxidation-reduction, oxidoreduction, redox reaction) は植物の体内で通常に行われている。

作用点について情報検索しているときに、ひとつの総説 (Traxler *et al.* 2023) に出会った。この総説において、除草剤の作用点を活性酸素種 (Reactive Oxygen Species, 以下、ROSとする) との関係から整理していたので、ここで紹介する。除草剤の個別の作用点の解説はもう少しお預けになるが、ご容赦願いたい。

1. 酸化と還元

酸化と還元は物質の化学的変化を表す言葉だが、理解しやすくするために、酸化剤と還元剤の違いとして下記に示した (表-1)。酸化剤は相手を酸化する作用を有する物質である。そのため、酸化剤自体は還元される。物質の授受から考えると、相手に酸素を与える (自分は失う)、または相手から水素や電子を受け取る (奪うともいう)。逆に、還元剤は相手を還元する物質なので、還元剤自体は酸化され、相手から酸素を受け取る、または水素や電子を与える。

2. 活性酸素種の種類と電子の流れ

一言で“活性酸素”といっても表-2に示した4種類があり、一般に活性酸素種 (ROS) という。Traxler *et al.* の総説では、ROSは細胞膜、葉緑体、ミトコンドリアで発生するが、過酸化水素 (H_2O_2) だけがペルオキシソームでも発生するとしている。一方、 H_2O_2 以外のROSもペルオキシソームだけでなく、グリオキシソームや小胞体でも発生するとした総説 (Janků *et al.* 2019) もある。また、半減期も論文または条件によって様々であるものの、 H_2O_2 は半減期が長い。といっても1ミリ秒程度で、その他は極めて短命で1 μ 秒程度である。

ROSは、非ラジカル (一重項酸素 ($^1\text{O}_2$), H_2O_2) とフリーラジカル (スーパーオキシド ($\text{O}_2^{\cdot-}$), ヒドロキシラジカル ($^{\cdot}\text{OH}$)) に分かれ、1電子を受け取りながら、非ラジ

表 -1 酸化還元反応 (酸化剤と還元剤)

物質	自分	相手	酸素(授受/数)	水素	電子
酸化剤	還元される	酸化する	与える/減少	受け取る	受け取る
還元剤	酸化される	還元する	受け取る/増加	与える	与える

表 -2 活性酸素種の種類と特徴
(Traxler *et al.* 2023 の Table 1 に若干追記して、和訳した)

種類	スーパーオキシド ($\text{O}_2^{\cdot-}$)	ヒドロキシラジカル ($^{\cdot}\text{OH}$)	過酸化水素 (H_2O_2)	一重項酸素 ($^1\text{O}_2$)
半減期 (μ 秒)	1~4	<1	1000	1~4
細胞内発生源	細胞膜、葉緑体、ミトコンドリア (過酸化水素のみペルオキシソームも発生源)			
作用機構	redox 活性タンパク質 (*1) と反応	全ての生体内分子と強く反応	タンパク質の酸化と $\text{O}_2^{\cdot-}$ からの $^{\cdot}\text{OH}$ の形成	タンパク質、不飽和脂肪酸、DNA の酸化
DNA との反応	なし~極めて低い	極めて高い	なし~極めて低い	極めて高い
タンパク質との反応	鉄 (活性中心) を経由	極めて高い	システイン残基を攻撃	複数のアミノ酸 (*2) 残基を攻撃
生成酵素	オキシゲナーゼ, オキシダーゼ			
スカベンジャー	スーパーオキシドディスムターゼ (SOD)	ビタミン C/E, β カロチン, ポリフェノール類, グルタチオン	カタラーゼ グルタチオンペルオキシダーゼ	カロテノイド類 (α/β カロチン)

*1: redox (酸化還元) 活性を有するタンパク質のこと。鉄硫黄タンパク質等がある。

*2: システイン, チロシン, トリプトファン, ヒスチジン, メチオニン

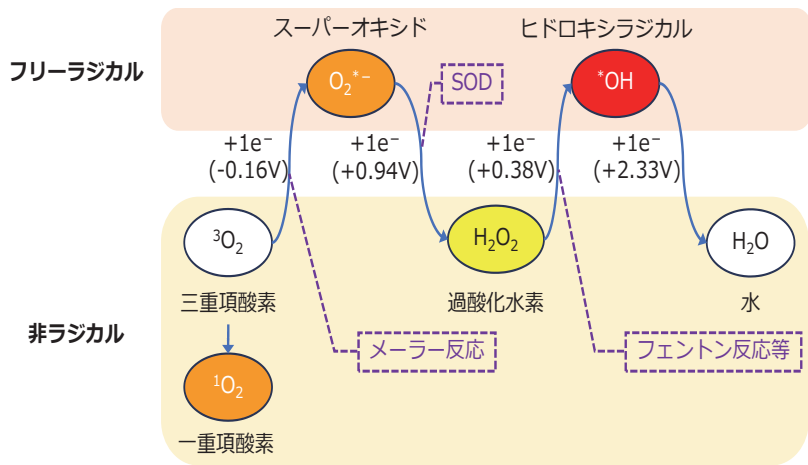


図-1 活性酸素種と電子の流れ
(Traxler *et al.* 2023 の Figure 1. A を和訳し、反応等を追記した)
活性酸素種 (ROS) の色: 全体的な反応性 (黄=低い, オレンジ=中間, 赤=高い)
括弧内に示した還元電位は, Imlay 2003 の研究による。
SOD: スーパーオキシドディスムターゼ

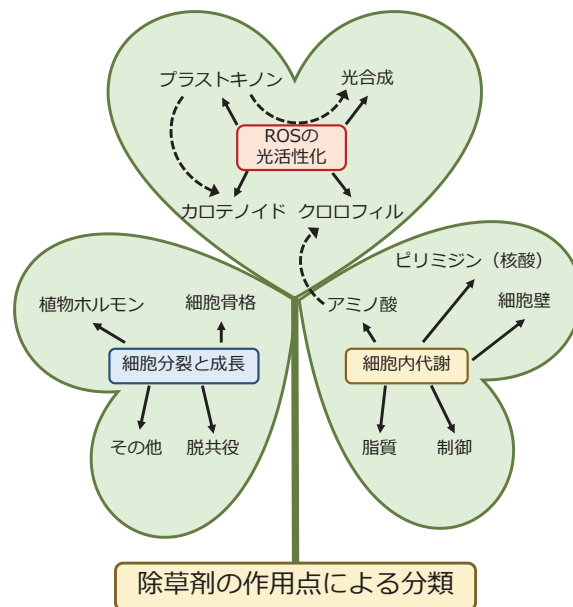


図-2 活性酸素種と電子の流れ
(Traxler *et al.* 2023 の Figure 2 を和訳した)
実線・矢印: 除草剤と表記プロセスとの直接的な相互作用
破線・矢印: 間接的な影響

カルとフリーラジカルが交互に生成し、最終的に水 (H_2O) になる (図-1) (浅田 2003)。つまり、この流れでは“酸化剤”に相当する。なお、酸素分子は基底状態、すなわち最もエネルギーが低い状態では三重項酸素 ($^3\text{O}_2$) である。

ROSは生体内の様々な分子と反応して、それらの機能を喪失させ、膜等の構造を破壊する。そのため、ROSを消去する役割を果たす抗酸化物質（スカベンジャー）の存在が重要となる。スカベンジャーには酵素と低分子化合物があり、それぞれ消去対象となるROSが異なる。

一方、近年、特に植物において、リン酸化酵素とカルシウムイオンによって、ROS生成酵素が活性化され、生じたROSを微生物の感染を防ぐ等に利用することがわかってきた。そのため、健全な生物体内において、ROSは生体内に一定の濃度またはバランスよく存在すると推測されている (橋本ら 2024)。

3. ROSと除草剤の作用点との関係

Traxler *et al.* は、除草剤の作用点を3つに分類している (図-2)。この分類は「緒」No.15 (與語 2023c) で解説したHRACコードのポスターの上部にも示されている。

第一に、ROSの光活性化であり、光合成や関連する色素（カロテノイド、クロロフィル）およびプラストキノン（以下PQとする）が直接または間接的に関与する。間接的としたのは、PQが、光化学系IIの構成要素以外にもカロテ

ノイド生合成の酸化還元の補因子であること、またアミノ酸の一つグルタミン酸から10数ステップを経てクロロフィルが生合成されるためである。

第二に、細胞内代謝であり、各種成分（アミノ酸、脂質、核酸）や細胞壁等が関与する。

第三に、細胞分裂と成長であり、植物ホルモン、細胞骨格および脱共役が関与する。

表-3は、上記の3つの分類に除草剤の作用点（HRACコード）を具体的に当てはめるとともに、酵素（EC）番号の最初である反応の特異性と、一次・二次の代謝レベルを追記したものである。表の一番右の列はROSが植物の生育に負の影響を与える程度を表しており、星の数が多いほど強く関与することを示している。

個別の作用点の中には、EC番号の最初が“1”，つまり反応の特異性が“酸化還元”に分類されているものがある (與語 2023a)。ROSも電子の流れが関与するものの、ROSの光活性化に分類された作用点は必ずしも酸化還元酵素ではない。

4. ROSの光活性化に分類された除草剤

ここに分類された除草剤には1) 光合成阻害剤、2) 色素生合成阻害剤、3) 真の白化剤、4) アミノ酸生合成阻害剤の4つがある。ROSとの関連から大まかに見てみよう。

一番目の光合成阻害剤には、光化学系IとIIを阻害するものがあり、いずれもROSが直接的に関与する。光化学系

表 -3 HRAC による除草剤作用点の分類と活性酸素種 (ROS) との関連
(Traxler *et al.* 2023 の Table 2 を改変・追記して, 和訳した)

大分類	除草剤の作用点	HRAC コード ^d	EC ^a	代謝 ^b	ROS ^c
活性酸素種 (ROS) の光活性化	光合成(光化学系 II, セリン 264)	5	1	1	***
	光合成(光化学系 II, ヒスチジン 215)	6	1	1	***
	グルタミン合成酵素	10	6	1	***
	フィトエン脱飽和酵素	12	1	1	
	1-デオキシ-D-キシルロース-5-リン酸合成酵素	13	2	2	
	プロトポルフィリノーゲン酸化酵素	14	1	1	***
	光合成(光化学系 I): ラジカル形成	22	—	1	***
	4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ	27	1	1	
	ソラネシルニリン酸合成酵素	32	2	1	
	ホモゲンチジン酸ソラネシルトランスフェラーゼ	33	2	1	
細胞内代謝	ACCase アセチル CoA カルボキシラーゼ	1	6	1	*
	ALS アセト乳酸/アセトヒドロキシ酸合成酵素	2	2	1	*
	5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(EPSPS)	9	2	1	*
	超長鎖脂肪酸伸長酵素(細胞分裂)	15	2	1	
	ジヒドロプテロイン酸合成酵素	18	2	1/2	
	ジヒドロオロト酸デヒドロゲナーゼ	28	1	1	
	細胞壁(セルロース)合成	29	2	1	*
	脂肪酸チオエステラーゼ	30	3	1	
	セリン/スレオニン特異的ホスファターゼ	31	3	1	(**)
細胞分裂 と成長	微小管重合阻害	3	—	—	
	インドール酢酸様活性(合成オーキシン)	4	—	—	*
	オーキシン移動阻害	19	—	—	
	有糸分裂/微小管形成阻害	23	—	—	
	脱共役	24	—	—	***

a: EC 番号のうち, 最初の反応の特異性のみ。

それぞれ 1. 酸化還元, 2. 転移, 3. 加水分解, 4. 脱離, 5. 異性化, 6. 合成, 7. 転送

b: 1 = 一次代謝, 2 = 二次代謝

c: 植物の生育に対する ROS の負の影響: 主たる機構 = ***, 二次的機構 = **, 間接的 = *

(注) リコペン β-シクラーゼ (HRAC コード = 34) と作用点不明 (同 = 0) は表から除外した。一方, セリン/スレオニン特異的ホスファターゼ (同 = 31) を追記し, ROS の関与を推定した。

I の阻害, HRACコード=22の代表的な除草剤には, ビピリジウム系のパラコートがある。この酸化還元電位は-300~-700 mVであり, 光化学系 I からNADPHへの電子の流れを奪い取り, O₂⁻やH₂O₂が発生する。また, 光化学系 II の阻害, HRACコード=5と6においては, PQにおける電子の授受の安定と不安定の平衡状態を乱した結果として¹O₂が蓄積する。

二番目の色素生合成阻害剤には, HRACコード=14がある。細胞質内のプロトポルフィリンIXの光励起で¹O₂が発生するため, ROSが細胞質に蓄積し, その後脂質の過酸化が生じる。

三番目の真の白化剤には, 大きく分けて2種類ある。一つは, テルペノイド生合成の直接的阻害剤である。HRAC

コード=12はカロテノイド, HRACコード=13はイソプレノイド1-デオキシ-D-キシルロース-5-リン酸の生合成を阻害する。何れもROSの発生は極めて限定的である。もう一つは, PQの生合成阻害剤である。HRACコード=27はいわゆるHPPD阻害で, PQの前駆物質であるホモゲンチジン酸の生合成を阻害する。HRACコード=32もPQの前駆物質であるソラネシルニリン酸の生合成を阻害する。HRACコード=33は前二者の前駆物質の下流に当たるPQの手前の物質の生合成を阻害する。PQは電子伝達系やカロテノイド生合成に必要であるが, 一部を除いて植物の生育に負の影響反応を引き起こすほどのROQは発生しない。

最後に, とても珍しいのがアミノ酸生合成阻害剤, といっ

でもROSの生成に大きく関与するのはグルホシネートに代表されるHRACコード=10のグルタミン生合成阻害である。グルホシネートはグルタミン生合成だけでなく、光呼吸を阻害する結果として、光存在下で多量のROS蓄積と続く脂質の過酸化が植物の成長を阻害する主な作用となる。

なお、HRACコード=34もここに分類されていたが、HRACコード自体削除された（與語 2023c）。

5. 細胞内代謝に分類された除草剤

ここに分類された作用点には様々な生合成系が含まれる。ここではROSが主たる機構となる作用点はないものの、様々な関係がみられる。

アセチルCoAカルボキシラーゼ（HRACコード=1）阻害剤（與語 2023b）は、脂質の過酸化に関与し、結果としてROS（ H_2O_2 ）が過剰に発生する。アセト乳酸/アセトヒドロキシ酸合成酵素（HRACコード=2）、いわゆるALS阻害剤は、細胞膜や抗酸化酵素には直接影響しないものの、酸化ストレスへの応答力低下の結果としてROS（ H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ ）が増加する。グリホサートは5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素（EPSPS, HRACコード=9）を阻害するが、これも植物体内の酸化状態を変化させた結果としてROS（ H_2O_2 ）を蓄積する。細胞膜（セルロース）合成（HRACコード=29）阻害剤とROSの関係は他と異なる。つまり、少量のROSは植物ホルモンのシグナル伝達分子等として必要である。ここを阻害する除草剤処理で発生するROSは $O_2^{\cdot-}$ である。脂肪酸チオエステラーゼ（HRACコード=30, FAT）阻害剤であるシンメチリンはROSに関与しないものの、メチオゾリンは関与する。それは同じ作用点を阻害するにもかかわらず、阻害様式に違いがあるためと推測されている。セリン/スレオニン特異的ホスファターゼ（HRACコード=31）阻害剤は、エンドタールだけだが、ほぼ全ての細胞過程に関与し、ROSを二次的に蓄積する。

一方、超長鎖脂肪酸伸長酵素（HRACコード=15）やジヒドロプロテイン酸合成酵素（HRACコード=18）、さらにジヒドロオロト酸デヒドロゲナーゼ（HRACコード=28）の阻害剤については、ROSとの関連性は現時点では明らかにされていない。

6. 細胞分裂と成長に分類された除草剤

ここに分類された除草剤は、特定の高分子や植物ホルモンを介した細胞分裂や成長が作用点である。

インドール酢酸様活性、いわゆる合成オーキシシン（HRACコード=4）の阻害剤は、パーオキシソームやミトコンドリア

の機能障害によるROSの過剰生成を引き起こす。その結果、細胞壁や脂質の過酸化によって細胞膜の構造が破壊され、電解質が溶出し、細胞死に至る。一方、2,4-Dの組織特異的な酸化ストレスや他の合成オーキシシンではこのような脂質の過酸化は起こらない。正確には、アセチルCoA酸化酵素による部位特異的なROS（ H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ ）の増加や蓄積はあるものの、抗酸化酵素によって通常状態に戻される。

酸化的リン酸化の脱共役剤（HRACコード=24）では、ROSの多大な蓄積と続く脂質の過酸化による膜破壊が生じる。この阻害剤は、ミトコンドリアだけでなく、葉緑体における光合成電子伝達系や光呼吸にも影響することから、この総説では“ROSの光活性化”に分類しても良いと結論している。

このように除草剤の作用点をROSとの関係から整理すると、HRACコードで取り上げた3つの分類において、ROSの光活性化に分類されている除草剤は必ずしもROSを蓄積しない。一方、細胞内代謝や細胞分裂と成長に分類されている除草剤でも、ROSを直接的または二次的に増加させるものもあり、ROSの観点からは別の分類の方が相応しいものもある。

除草剤の作用点は、本来直接的または一次的なものを示しており、続く二次的、三次的影響がカスケード的に生じた結果として、除草剤は植物を生長阻害または枯死に至らしめる。その一次作用点の観点から考えると、今回取り上げた除草剤分類自体を見直したほうが良いかもしれない。

参考文献等

- 浅田浩二 2003. 植物の活性酸素生物学. 化学と生物, 41, 254-26.
- 橋本貴史ら 2024. 植物の活性酸素種生成酵素の活性化メカニズムを解明. 東京理科大学, プレスリリース, https://www.tus.ac.jp/today/archive/20240124_7312.html
- Imlay, J. A. 2003. Pathways of oxidative damage. Annual Review of Microbiology, 57, 395-418.
- Janků M. *et al.* 2019. On the Origin and Fate of Reactive Oxygen Species in Plant Cell Compartments. Antioxidants, 8, 105.
- Traxler, C. *et al.* 2023. The nexus between reactive oxygen species and the mechanism of action of herbicides. Journal of Biological Chemistry, 299-11, 105267.
- 與語靖洋 2023a. 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.
- 與語靖洋 2023b. 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. 植調 57(11), 17-20.
- 與語靖洋 2023c. HRACにおける作用点分類の更新. 植調 57(12), 11-13.