

植物の枝分かれ抑制ホルモン「ストリゴラクトン」

植物調節剤としての可能性と今後の展開

(独)理化学研究所 植物科学研究センター
促進制御研究チーム 梅原三貴久・山口信次郎

はじめに

植物の枝分かれは、地上部の形態を決める重要な要因のひとつであり、最終的には花、果実、種子の数や質に影響することから、農業や園芸の分野において重要な形質である。とは言え、単純に枝分かれを増やそうとすれば、果実や種子の数は増えるかもしれないが、個々の品質は低下する。逆に、枝分かれを少なくしすぎると、それは収量の低下につながる。したがって、枝分かれの数は、いちがいに多ければよい、あるいは少なければよいというものではない。植物の枝分かれの数は、光、重力、栄養などさまざまな環境要因の影響を受けることから、植物はそうした自然環境の変化を認識し、その環境に適した枝分かれの数になるように調節している。それでは、どのようにして植物の枝分かれが起こるのか？

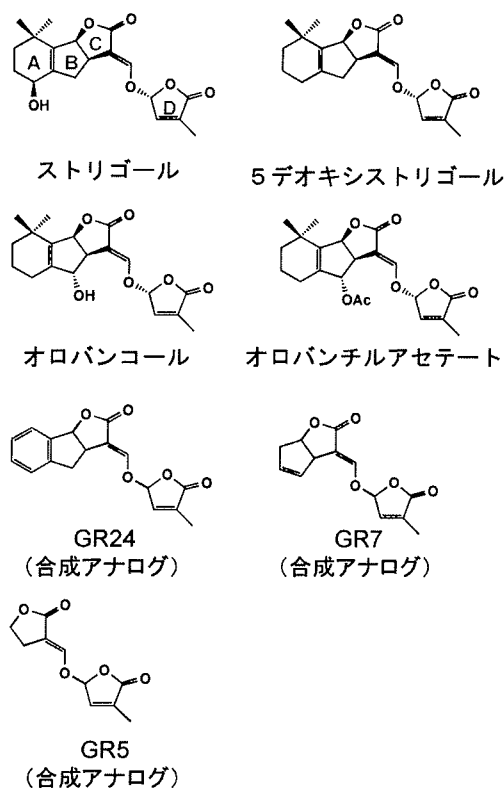
枝分かれが増えるためには、まず葉の付け根に腋芽の原基が作られる。腋芽はしばらく休眠した状態を維持するが、一定の生育段階に到達するあるいは一定の環境条件が整うと、休眠中の腋芽が伸長を開始し、それが枝となる。腋芽が休眠から解放されて伸長するかどうか、その制御には植物ホルモンが深く関与している。植物ホルモンとは、植物体内で生産され、きわめて微量で作用して一定の変化を与える化学物質の総称で、さまざまな植物で普遍的に存在する。

植物の枝分かれにおいては、主にオーキシンとサイトカイニンという2種類の植物ホルモンによって制御されると古くから考えられてきた。

植物の一番上に位置する芽を頂芽と呼ぶ。通常、頂芽が生長しているときは、腋芽は休眠状態にあり、これを「頂芽優勢」という。頂芽を除去すると「頂芽優勢」が機能しなくなり、頂芽のすぐ下の腋芽が生長を開始する。この現象は、頂芽を切り取った後の切り口にオーキシンを処理することで回避でき、頂芽がなくても腋芽の伸長は抑制される。ただし、頂芽で作られたオーキシンは休眠中の腋芽に移動せず、また頂芽を除去した後の腋芽にオーキシンを直接与えても休眠は維持できない。したがって、オーキシンは腋芽に直接作用するのではなく、頂芽で合成されたこのホルモンの上から下への移動が間接的に腋芽伸長を抑制すると考えられている。これに対して、サイトカイニンを直接腋芽に処理すると、頂芽が存在していても腋芽が伸長する。

ところが、1990年半ば以降、シロイヌナズナ、エンドウ、イネ、ペチュニアの「枝分かれ過剰突然変異体」の遺伝学的な解析から、植物の枝分かれを抑制する第3のホルモンの存在が示唆されていた²⁾。しばらくその実体は不明であったが、現在ではその有力な候補としてストリゴラクトンと呼ばれる4つの環構造をもった

低分子性の有機化合物が注目されている（図－1）。

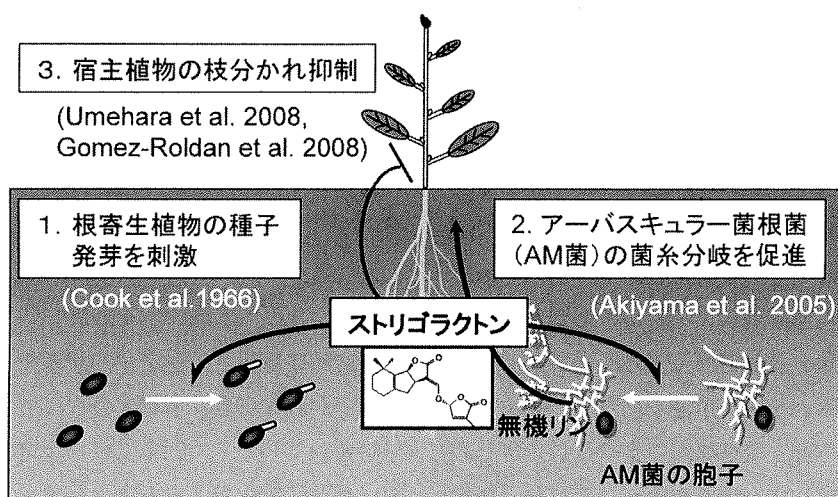


図－1 代表的な天然型および合成ストリゴラクトンの化学構造

1. 根圏シグナル物質として知られていたストリゴラクトン

ストリゴラクトンは、実は根圏におけるシグナル物質としてよく知られていた（図－2）。ハマウツボ科 (Orobanchaceae) に属するストライガ (*Striga*) やオロバンキ (*Orobanche*) といった根寄生雑草の種子発芽を刺激する物質としてはじめて単離された。ストリゴール（図－1）がワタの根浸出液から発見されて以降³⁾、さまざまな植物でストリゴラクトンが生産されていることが明らかにされた。ストライガやオロバンキの種子は、地中で宿主植物の存在を待ち続け、宿主植物の根から分泌されるストリゴラクトンを感じて発芽してその根に寄生する⁴⁾。寄生された宿主植物は、栄養や水分を奪われて著しく生育が阻害される。しかし、なぜ宿主植物は根寄生雑草による寄生の危険を冒してまでストリゴラクトンを分泌するのか、その理由を説明することができなかった。

その後、Akiyamaらによって、ストリゴラクトンがアーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) の菌



図－2 これまでに明らかとなっているストリゴラクトンの生理作用

系分岐を促進し、AM菌を活性化させるシグナルとして機能していることが明らかにされた⁵⁾。AM菌は、宿主植物へ無機栄養や水分を供給し、自身は糖などのエネルギー源を宿主植物に依存している共生菌として知られている。したがって、宿主植物はAM菌との共生関係を強固なものとするために分泌しており、根寄生雑草は分泌されたストリゴラクトンを宿主探索シグナルとして利用していると言える。ところが、AM菌と共生しない植物もストリゴラクトンを生産していることが最近明らかとなった。このことは、ストリゴラクトンが宿主植物においてさまざまな植物で共通した未知の生理的な役割を担っている可能性を示唆していた。

2. 枝分かれ抑制ホルモンとしてのストリゴラクトン

2008年、著者らの研究グループとフランスの研究グループによって、ストリゴラクトンが枝分かれを抑制する作用をもつことが報告された^{6,7)}。本研究における遺伝学的な背景や化合物同定に至る過程については、別の解説論文で詳細に書かれているので^{8,9)}、ここではストリゴラクトンの分析と生物活性検定法について紹介する。

両グループは、いずれも「枝分かれ過剰突然変異体」を生物活性検定に用い、ストリゴラクトンの生産量がごく微量であることから質量分析計(LC/MS-MS)を用いて分析した。この分析機器は、極めて高感度・高分解能で、pgのオーダーの既知物質を定性・定量分析することが可能である。この分析機器を用いて、フランスの研究グループは、エンドウを実験材料に用いて解析を行っており、主要な内生のストリゴラクトンとしてオロパンチルアセテート(図-1)

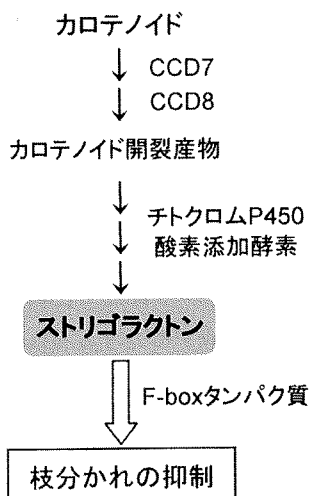


図-3 ストリゴラクトンの推定生成経路

ストリゴラクトンは、カロテノイドが酸化開裂および酸素添加反応を経て合成され、その受容・伝達にはF-boxタンパク質が関与する。CCD: カロテノイド酸化開裂酵素(carotenoid cleavage dioxygenase)

を同定した。一方、我々のグループはイネを中心に用いて解析しており、5デオキシストリゴール(図-1)の立体異性体を同定した。ストリゴラクトンはカロテノイドが酸化開裂して合成されると考えられている(図-3)。どちらのグループも野生型に比べて、カロテノイド酸化開裂酵素(carotenoid cleavage dioxygenase, CCD)のうち、CCD7あるいはCCD8に欠損をもつ「枝分かれ過剰突然変異体」では、ストリゴラクトンの生産量が極めて少ないことを示した。したがって、CCD7およびCCD8欠損変異体は、ストリゴラクトンを合成できない変異体でもあると言える。

また、これらの変異体にストリゴラクトンを与えると、過剰な枝分かれが抑えられる。さらに、シロイヌナズナの「枝分かれ過剰突然変異体」の解析から、ストリゴラクトンの生合成にはCCD7やCCD8だけでなく、チトクロムP450酸素添加酵素も関与することが知られており

(図-3), この酵素が欠損した変異体にストリゴラクトンを処理すると、やはり過剰な枝分かれが抑制される。一方、F-box タンパク質が欠損した「枝分かれ過剰突然変異体」は、ストリゴラクトンを処理しても腋芽を抑制することはできない。したがって、この変異体はストリゴラクトンのシグナルを認識できないために過剰な枝分かれを形成すると考えられる。

3. イネの「枝分かれ過剰突然変異体」を用いた生物活性検定法

実際、どのような生物検定法を行ったのかについて、もう少し詳しく紹介する。通常、植物の枝分かれは、生育段階初期ではほとんど起こらない。そのため、なるべく早く枝分かれを観察でき、簡便な実験系を立ち上げることが重要である。著者らの研究室では、イネの「枝分かれ過剰突然変異体」を用いたストリゴラクトンの生物活性検定法を確立した⁷⁾。

まず、枝分かれ抑制活性検定法の概略を説明する(図-4)。イネの野生型および「枝分かれ

過剰突然変異体」の種子を滅菌して2日間28℃で吸水させる。発芽した種子を寒天で固めた培地(水耕栽培で用いた水耕液と同じ組成)に埋め込み、5日間25℃で前培養する。その後、健全に生育した幼苗にスポンジを巻き付けて、13 mlの水耕液を入れた褐色のバイアル瓶に差し込み、7日間25℃で水耕栽培する。ストリゴラクトンは水耕栽培時の水耕液に添加している。1回のアッセイでだいたい14日を要する。このアッセイの利点は、1) ストリゴラクトンが合成できない変異体(CCD7あるいはCCD8欠損変異体)を使うことで、ストリゴラクトンに対する感度が高い実験系となっていること、2) 枝分かれが起こらない野生型、ストリゴラクトン非感受性の変異体(F-boxタンパク質欠損変異体)をそれぞれネガティブコントロール、ポジティブコントロールとして用いることによって、非特異的な枝分かれ抑制を排除して評価できることである。実際にイネにおけるストリゴラクトンの枝分かれ抑制作用を示した例を図-5に示す。ストリゴラクトンの処理によっ

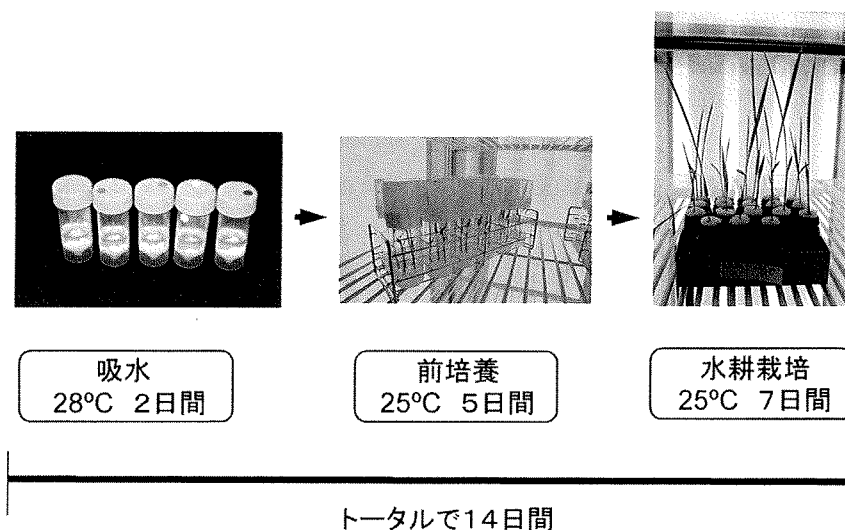
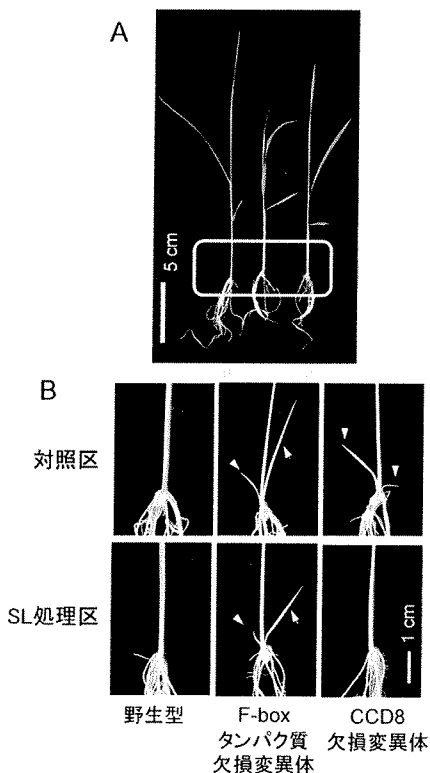


図-4 イネを用いたストリゴラクトンの枝分かれ抑制検定法



図ー5 ストリゴラクトン (SL) の枝分かれ抑制作用

(A) 図ー3の方法で栽培した実際のイネの幼苗。左から、発芽後2週間目の野生型、F-boxタンパク質欠損変異体、CCD8欠損変異体。(B) (A)の白枠で囲った部分を拡大。通常のイネでは枝分かれ(白矢印)が起こらないが、枝分かれ過剰突然変異体では枝分かれが観察される。このうち、CCD8が欠損した変異体では、SLを処理することによって枝分かれを抑制することができる。

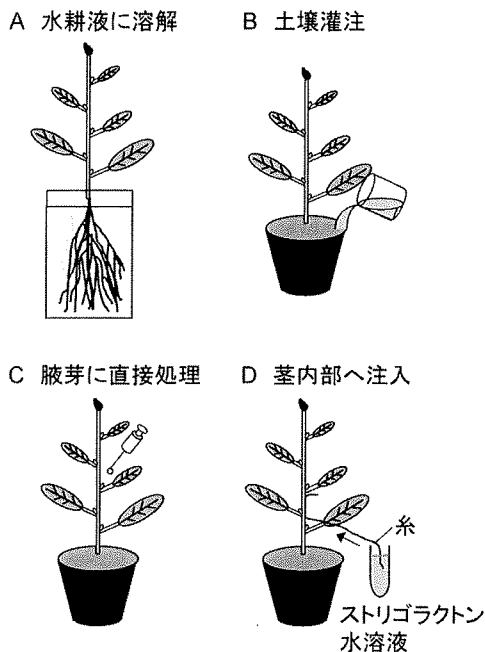
て、CCD8欠損変異体の枝分かれは抑えられるが、F-boxタンパク質欠損変異体の枝分かれは抑えられない。

ストリゴラクトンの処理方法としては、水耕栽培で根から吸わせる以外もいくつか考えられる(図ー6)。土耕栽培で生育させている植物にストリゴラクトン水溶液を土壌灌注で投与しても枝分かれを抑制することが可能である(unpublished data)。ただし、水耕栽培に比べて活性が10～100倍低下するので、土壌中での物理的安定性、土壌細菌による分解などの懸

念がある。また、フランスのグループは、腋芽に直接ストリゴラクトン水溶液を塗布したり、ストリゴラクトン水溶液に浸した糸を茎内部に通し、直接植物体内に入るような処理も行っている⁶⁾。

4. ストリゴラクトンの植物調節剤としての応用

ストリゴラクトンを植物の生長調節剤として利用できないだろうか？植物の枝分かれは、冒頭に挙げたように農業や園芸の分野では重要な形質であり、作物の生産性、栽培作業の効率、園芸作物の観賞価値などに影響する。我々の結果では、ストリゴラクトン欠損変異体だけでなく、野生型植物においてもストリゴラクトンを高濃度で処理し続けると、枝分かれが抑制される。このときストリゴラクトンは、葉や根の伸長には見かけ上大きな影響はなく、特異的に枝分か



図ー6 ストリゴラクトンの処理方法(実例)

れを抑制した。したがって、ストリゴラクトンは腋芽伸長を抑制する新たな植物の生長調節剤としての利用が期待できる。腋芽伸長抑制剤は、従来オーキシンに関連するものが多かった。しかしながら、オーキシンは植物の生育段階のさまざまな部分で重要な役割を果たしており、長期間の投与は植物の生育に影響を及ぼす可能性がある。タバコの腋芽抑制には、マレイン酸ヒドラジド (MH) がよく使われていた¹⁰⁾。MH自体の毒性は低いが、分解産物のヒドラジンが発ガン性を示すことから、現在は利用が規制されている。こうしたことから、環境にやさしくて選択的に機能する新たな腋芽抑制剤が求められていた。タバコの他にも、ナス科の植物ではトマトやナス、花きでは輪ギクの栽培において腋芽を抑制することが好まれる。腋芽の除去は人力に頼るところが大きく、ストリゴラクトンの使用が実用化できれば、農作業の省力化につながるものと期待できる。

現在、ストリゴラクトンの研究現場では、合成アナログ化合物のGR24 (図-1) がよく用いられているが、植物調節剤への利用に関しては、四環型ストリゴラクトンのGR24や天然体型ストリゴラクトンをそのまま利用することは難しいだろう。これらの化合物の利用は、化学合成には何段階もの反応が必要であるため、コストと手間がかかるからである。根寄生植物の種子発芽刺激活性におけるストリゴラクトンの構造要求性がよく調べられている。GR7やGR5のような簡単な化合物 (図-1) でも、GR24のような四環型ストリゴラクトンに比較すると活性は弱い、発芽刺激活性を示すことがわかっている。また、GR7やGR5は根寄生植物以外にカラスミギやレタスの種子発芽を促進し、その活性はGR24よりも強いことが報告されている

^{11,12)}。さらに、ストリゴラクトンにおける活性で重要な部分はC環とD環をつなぐ部分 (この部分をエノールエーテルと言う) だと言われており、実際、図-1に挙げたストリゴラクトンを見比べてみると、C環とD環をつなぐ部分は共通のパーツだと言える。まずは、さまざまなストリゴラクトン類縁化合物の構造要求性を詳細に調査してストリゴラクトンの活性に必要な部位を特定し、より簡易な構造の活性型化合物を見出すことで合成のコストを下げることが必要である。GR5のような簡易合成が可能なストリゴラクトンに十分な活性があれば、将来多量に合成して大型の実用作物での試験も可能となるだろう。

5. 今後の研究展開

ストリゴラクトンを植物の生長調節剤という観点で見た場合、課題のひとつは、被検体植物の種類がまだ少ないことである。イネ、エンドウ、シロイヌナズナに投与した結果はすでに報告されているが、他の実用作物でも枝分かれ抑制作用を示すかどうかはまだわからない。もうひとつはストリゴラクトン生合成阻害剤の開発である。ストリゴラクトンを投与してその効果が持続すれば、植物の枝分かれを抑制することは可能である。しかしながら、実用作物における枝分かれの制御は、植物種によって異なると考えられる。花や果実を増やして総収量を増加させるために、枝分かれが多い状態を望む場合もあるだろう。植物調節剤においては、ジベレリンのように、ジベレリンそのものを溶液で投与する場合と、ジベレリンの生合成阻害剤であるユニコナゾールやパクロブトラゾールを与えて植物体内の内生ジベレリンレベルを抑える場合がある。枝分かれに関しても、ストリゴラク

トンの生合成阻害剤が必要であると考え。最近, CCDを標的とした阻害剤の開発例が報告されている¹³⁾。しかしながら, その効力に関しては, その特異性や枝分かれの増え方が弱いことから, まだ改良の余地があると見ている。また, CCDに限らず, チトクロムP450を標的とした阻害剤も開発されるかもしれない。近い将来, ストリゴラクトンあるいはその生合成阻害剤が植物調節剤としての地位を獲得し, 多くの人が気軽に利用できる日が到来すると信じている。

引用文献

- 1) 森仁志. 2007. 頂芽優勢. 植物ホルモンの分子細胞生物学 (小柴共一・神谷勇治・勝見允之・編) 講談社 p. 170-179
- 2) Ongaro, V. and O. Leyser 2008. Hormonal control of shoot branching. *J. Exp. Bot.*, 59: 67-74
- 3) Cook, C. E., L. P. Whichard, B. Turner, M. E. Wall and G. H. Egley 1966. Germination of witchweed (*Striga lutea* Lour.): Isolation and properties of a potent stimulant. *Science*, 154: 1189-1190
- 4) 竹内安智. 2009. 根寄生雑草の生理生態と制御. 植調, 43: 3-12
- 5) Akiyama, K., K. Matsuzaki and H. Hayashi 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 435: 824-827
- 6) Gomez-Roldan, V., S. Fermas, P. B. Brewer, V. Puech-Pages, E. A. Dun, J. P. Pillot, F. Letisse, R. Matusova, S. Danoun, J. C. Portais, H. Bouwmeester, G. Becard, C. A. Beveridge, C. Rameau and S. F. Rochange 2008. Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature*, 455: 189-194
- 7) Umehara, M., A. Hanada, S. Yoshida, K. Akiyama, T. Arite, N. Takeda-Kamiya, H. Magome, Y. Kamiya, K. Shirasu, K. Yoneyama, J. Kyojuka and S. Yamaguchi 2008. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature*, 455: 195-200
- 8) 梅原三貴久・山口信次郎. 2009. 植物の枝分かれ抑制ホルモンの発見. 化学と生物, 47: 678-683
- 9) 山口信次郎. 2009. 植物の枝分かれを制御するカロテノイド由来の新しいホルモン: ストリゴラクトン. 蛋白質 核酸 酵素, 54:1197-1202
- 10) 日本ヒドラジン工業株式会社開発部. 1987. マレイン酸ヒドラジドコリンの毒性試験の概要. 日本農薬学会誌, 12: 771-774
- 11) Bradow, J. M., W. J. Connick and A. B. Pepperman 1988. Comparison of the seed germination effects of synthetic analogs of strigol, gibberellic acid, cytokinins and other plant growth regulators. *J. Plant Growth Regul.*, 7: 227-239
- 12) Bradow, J. M., W. J. Connick Jr, A. B. Pepperman and L. H. Wartelle 1990. Germination stimulation in wild oats (*Avena fatua* L.) by synthetic strigol analogues and gibberellic acid. *J. Plant Growth Regul.*, 9: 35-41
- 13) Sergeant, M. J., J. J. Li, C. Fox, N. Brookbank, D. Rea, T. D. H. Bugg and A. J. Thompson 2009. Selective Inhibition of Carotenoid Cleavage Dioxygenases PHENOTYPIC EFFECTS ON SHOOT BRANCHING. *J. Biol. Chem.*, 284: 5257-5264