

東京農業大学生命科学部 伊藤 晋作

作物根寄生物による宿主植物認識機構の制御

はじめに

自ら移動できない植物は、病虫害や雑草、環境ストレスなどの外的ストレスに常に晒されている。そのため、様々な化学物質を環境中に分泌し、有用微生物との共生や天敵生物の誘引を行うことでこれらのストレスへ対抗してきた。一方、これらの物質を植物認識シグナルとして利用する雑草や害虫も存在する。著者が研究対象としてきた2種類の作物根寄生物である「根寄生雑草」と「ダイズシストセンチュウ (SCN)」は、作物が生産、分泌する化学物質を宿主認識に利用し、作物に寄生する。寄生後は作物の栄養を奪い取り成長するため多大な農業被害を与えるが、未だ有用な防除法は確立されていない。作物への寄生が両生物の生存に必須であるため、種特有の宿主認識機構を有しているだけでなく、宿主を認識するまでは土壤中で農薬などの化学物質に耐性を持った休眠状態で長期間生存可能であることが、防除が難しい原因とされている。これらの防除には宿主認識機構を攪乱する手法の有効性が提案されているが、実用化に至った例はない。

著者は作物根寄生物による宿主認識を人為的に制御することでこれらによる農作物被害を減少させることを目指して、「根寄生雑草」と「ダイズシストセンチュウ」の宿主認識制御物質の創製と認識制御物質の機能解析を行ってきた。以下にその概要を紹介する。

1. 根寄生雑草宿主認識物質(ストリゴラクトン)の生合成阻害剤の創製

根寄生雑草であるストライガやオロバンキは作物が生産、分泌するストリゴラクトン類 (SL) を認識し発芽する。そのため作物の SL 生合成を阻害する化合物は、根寄生雑草の宿主認識を抑制できると考え、SL 生合成阻害剤を探索した。SL は中間

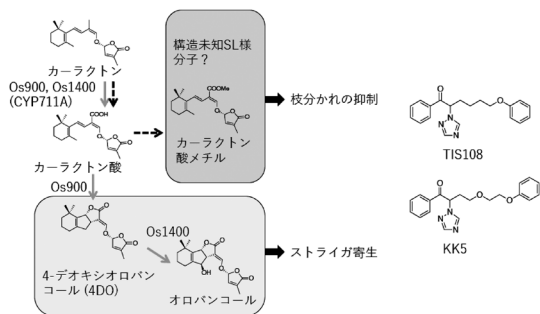


図1. イネにおける SL 生合成経路と創製した SL 生合成阻害剤。灰色矢印は阻害剤の標的タンパク質を示す。阻害剤処理時は 4DO やオロバンコールの合成が阻害されることでストライガの寄生を抑制する。一方、構造未知の SL 様分子やカーラクトン酸メチルの内生量には影響を与えないことから、これらの分子が植物ホルモン活性の維持に作用する。

体カーラクトンを経由し、最終的にシトクロム P450 酸化酵素 (CYP711A) によって合成される。また SL は植物ホルモンとしても作用し植物の枝分かれを負に制御するため、イネの枝分かれ (分けつ) を促進する化合物を P450 阻害剤ライブラリーからスクリーニングし、世界に先駆けて TIS13 など複数の化合物を SL 生合成阻害剤候補として見出したが、これらの化合物は副作用としてジベレリン (GA) 生合成阻害に由来すると考えられる強い矮化誘導活性を有していた。そこで特異性の高い生合成阻害剤を求めて構造展開を行い、TIS108 や KK5 を創製した (図1)。TIS108 および KK5 は TIS13 で観察された矮化作用は示さず、イネの主要な SL である 4-デオキシオロバンコール (4DO) の合成をイネ CYP711A に結合することで阻害する。TIS108 の SL 生合成阻害活性は TIS13 に比べ 10-100 倍程度強く、KK5 に関しては TIS108 よりも 10 倍程度強い活性を有する。KK5 は現在までに報告された中で圧倒的に強力な SL 生合成阻害剤である。

次に TIS108 の植物形態やストライガ防除作用を検討したところ、収量減が懸念される SL 生合成の抑制による多分けつ形態を示さなかった。さらにストライガによる陸稲への寄生を抑制した結果、収量を通常生育条件と同程度に確保できるという理想的な結果を得た。同様の結果がトマトを用いたオロバンキ防除試験でも得られており、SL 生合成阻害剤を用いた根寄生雑草の新たな化学的防除法の有用性を示すことができた。さらに枝分かれ増加形態を誘導しない理由を追究するために、TIS108 により生合成が阻害される 4DO 以外の SL 内生量をイネにおいて測定したところ、非典型的な SL であるカーラクトン酸メチル (MeCLA) の内生量には TIS108 処理により影響がないことを見出した。加えて現在までに構造は未知であるが新規 SL 様分子の蓄積を見出すことができた。MeCLA は植物ホルモン活性を有する SL であることが知られていることから、MeCLA もしくは蓄積した構造未知 SL 様分子により植物形態が保持されていると予想される。これらの結果は、生体内の SL 類による機能の違いを示唆する重要な成果であると考えられる (図1)。

2. ジベレリン (GA) による SL 生合成の制御

GA は植物の伸長生長に関与する植物ホルモンであり、枝分かれにも関与することが知られていた。さらに生化学的手法により SL とのクロストークの存在も明らかにされているが、生理学的なクロストークの存在は示されていなかった。申請者は SL 生合成制御剤の創製過程で「GA 生合成阻害剤がイネの分けつ伸長を促進する」結果を見出した。それに基づき生理学的解析を行なった結果、GA シグナルがイネの分けつ伸長を抑制するにもかかわらず、枝分かれを負に制御する SL 生合成を抑制することを見出した。また GA による SL 内生量の抑制メカニ

ズムは、生体内の GA シグナル量に依存して SL 生合成遺伝子の発現が調節されることで SL 内生量が制御されること、GA が根寄生雑草の寄生を制御できることを明らかにすることができた。分けつ伸長についても新たに SL シグナルと GA シグナルとのクロストークを見出すことができた。

3. 無機栄養欠乏時における SL の機能

植物はリン欠乏状態では SL 生産、分泌量を増加させ、枝分かれを抑制することで生体内でのリン酸の利用量を減少させ、同時に AM 菌との共生を促進しリン酸を獲得する。その他にリン欠乏時に植物は生長の抑制やアントシアニン量の増加を起こし、リン欠乏ストレスに対抗する。加えて根毛伸長の促進、酸性フォスファターゼの分泌促進、リン酸トランスポーターの発現上昇によって根圏からリン酸吸収を促進する。これらのリン欠乏応答における SL の機能を解析した。SL 処理はこれらのリン酸応答を促進し、SL 欠損変異体ではリン欠乏状態でも応答が抑制されていた。さらに SL 処理によって生体内の総リン量が増加した。この結果は SL がリン欠乏の調節因子の一つであり、SL シグナルの制御が AM 菌を介さずリン酸吸収を促進しうることを示唆している。さらに窒素欠乏時における植物生長の抑制も SL が関与していることを見出し、SL が栄養欠乏のシグナルとしても働いていることを明らかにした。

4. ダイズシストセンチュウ (SCN) 行動制御剤の発見

SCN は植物寄生線虫の一種であり、大豆などのマメ科植物の根に寄生する。寄生後、マメ科植物から栄養を奪うことで成長し収穫量を激減される害虫である。土壤中では卵中で休眠状態で存在するが、マメ科植物が根から分泌する孵化促進物質、誘引物質に反応して孵化、宿主根への誘引行動を起こすことが知られている (図2)。孵化促進物質としてはインゲン豆の根より単離されたグリシノエクレピン類 (GEs) が知られているが、これらはインゲン豆においてごく微量しか生産されず、合成も難しい。また誘引物質は由来を問わず全く知られていない。そこで孵化促進物質および誘引物質のスクリーニングを行なった。その結果、孵化促進物質として phenanthroline 類を見出すことができた。Phenanthroline 類による孵化は処理後1日で観察され始める。GEs による孵化が処理後3日程度かかることから phenanthroline は早期に孵化を促進させる活性を有していることを明らかとした。Phenanthroline は二価金属イオンのキレート剤として知られているが、金属イオンとインキュベート後に処理した場合は孵化を促進しなかったことから、SCN の孵化には生体内での金属イオンの濃度変化が関与することを見出した。

さらに硝酸イオンが SCN の誘引物質として機能することを見出した。硝酸イオンによる誘引機構は宿主根への機構とは異なっていたが、宿主根への誘引時と硝酸イオンへの誘引時での SCN の遺伝子発現変動を解析し、宿主根への誘引時のみ特異的に変動する遺伝子として受容体型グアニル酸シクラーゼ (rGCY) を見出した。RNAi により rGCY を機能抑制した SCN は運動性や根への誘引後の寄生過程には影響しなかったが、宿主根への誘引が有意に減少し、rGCY が誘引物質の認識に重要

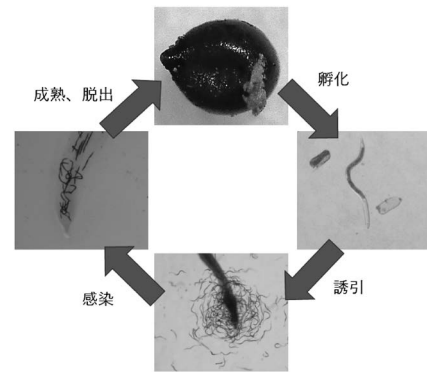


図2. シストセンチュウの生活環。土壤中ではシストと呼ばれる殻の中で休眠しているが、宿主から分泌される孵化促進物質に反応して孵化し、二期幼虫となる。その後、誘引物質を認識することで根へと移動し、感染、成長する。

な働きをすることを明らかとした。SCN の根への寄生に関与する遺伝子は複数見出されているが、それらは SCN の運動性に影響するものがほとんどであり、誘引過程に特異的に影響する初めての遺伝子であった。

おわりに

本研究では、農作物被害を及ぼす根寄生生物の防除を目指して、寄生生物特有の生命現象特異的に制御可能な化合物探索とその機能解析を行ってきた。特に SL 研究においては根寄生雑草特異的な制御物質を見出しつつある。今後は得られた化合物を生物学へと応用し、生命現象の基本的理解を目指すとともに、農業現場への応用可能性も視野に入れた研究を進めていきたい。

謝辞 本研究は、東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻生物制御化学研究室および東京農業大学生命科学バイオサイエンス学科機能性分子解析学研究室において行われたものです。また、現在同研究室でご指導いただいている矢嶋俊介先生、佐々木康幸先生に感謝申し上げます。ストリゴラクトン研究を行う上で必要なホルモン分析やバイオアッセイなどについて様々なご協力、ご助言をいただきました京都大学山口信次郎先生、東洋大学梅原三貴久先生、宇都宮大学野村崇人先生、シストセンチュウ研究を始めるにあたりセンチュウの取り扱い方などご指導いただきました名古屋大学近藤竜彦先生に心より感謝申し上げます。また私が研究をスタートした時の指導教員である茨城大学鈴木義人先生、大学院在籍時に多くのご指導いただきました中嶋正敏先生に篤く御礼申し上げます。その他、多くの共同研究者の先生方より貴重なご意見、ご助言を賜りました。全ての方のお名前を挙げることはできませんが心より御礼申し上げます。また、本研究に参加し、一緒に研究を進めてくれた機能性分子解析学研究室の卒業生、在学生の皆様にも改めて感謝いたします。最後になりましたが、学生時代から現在に至るまでご指導を賜り、本奨励賞にご推薦頂きました東京大学大学院農学生命科学研究科教授浅見忠男先生に篤く御礼申し上げます。