



植物ホルモン機能の化学的制御とその応用に関する研究

東京大学大学院農学生命科学研究科 浅見 忠 男

はじめに

植物ホルモン機能を利用した農業技術の成果として、穀物の矮性ジベレリン (GA) 変異体を応用し、発展途上国の穀物生産量を著しく高めた「緑の革命」が知られている。現在ではこの遺伝学的制御に加えて GA 生合成阻害剤による GA 機能の化学的制御も穀物生産性向上に大きく貢献しており、植物ホルモン機能の制御による農業生産性向上可能な新技術創出への期待は大きい。申請者は農業生産性の向上に関わる単独かつ直接的な植物ホルモン機能制御のみならず植物ホルモン間クロストークを利用した機能制御に注目し、その化学的制御法の開発と生理学・遺伝学に加えて実用面での応用を目指してきた。以下、まず創製した化合物とその植物科学への応用について植物ホルモンごとに説明する。続いて創製した制御剤の実用化への取り組みについて述べる。

1. 植物ホルモン機能制御剤の創製と植物科学への応用

1-1. ブラシノステロイド

ブラシノステロイド (BR) は植物に対して生長促進的に効果を示す。BR の機能や情報伝達因子の解明が十分でない時期に、特異的 BR 生合成阻害剤 (Brz) を創出し^{1,2)}、その作用部位が DWF4 (チトクローム P450) であることを明らかにした³⁾。Brz の生理学・生化学への応用は、生合成経路における触媒部位が不確定であった BR 生合成遺伝子の機能を明確にできただけでなく、モデル植物以外へと Brz を応用することで新しい BR 機能の発見へとつながった。特に Brz の活用により BR が有する植物病害抵抗性を付与する効果やワタ繊維発達促進効果が明確になったことは、その後の病害研究やワタ育種へ大きな影響を与えた。また申請者が単離した複数の Brz 抵抗性シロイヌナズナ変異体は、その後の BZR1/BIL1, BES1 等の多数の BR 情報伝達因子の同定と機能の解明ならびに応用に結びついたことにより、阻害剤の植物遺伝学への応用の有効性を示す大きな契機となった^{4,5)}。現在 Brz は試薬として販売され、植物研究の標準物質として時に文献引用無しで広く用いられている。

1-2. アブシシン酸

アブシジン酸 (ABA) は主としてストレス抵抗性を植物に付与する効果を示す。カロテノイドは ABA 生合成の出発物質であるために、その生合成を標的とする既存の ABA 生合成阻害剤は、植物の白化作用という望ましくない副作用を有していた。そこで白化作用を示さない ABA 生合成阻害剤創出のために、ABA 生合成の律速段階であるカロテノイド開裂酵素を標的とする化合物の設計・合成ならびにスクリーニングを行い、ABA 特異的生合成阻害剤であるアバミンならびにアバミン SG を見出した⁶⁾。この化合物は、現在でも唯一の副作用が見られない特異的 ABA 生合成阻害剤であり、この化合物の利用により多くの未知 ABA 機能の解明が可能になった。例えば根粒菌

の感染や植物の病害抵抗性の発現に ABA が関与していることを、この化合物の利用により鮮やかに示すことができた。

1-3. ストリゴラクトン

上記研究基盤を用い、2008年に新植物ホルモンとして見出されたストリゴラクトン (SL) 制御剤の創製を行った。SL は植物ホルモン作用である枝分かれ (イネ科では分げつ) 抑制作用以外にも、AM 菌との共生促進作用や根寄生雑草種子の発芽を促進し寄生を促すことで農作物に多大な被害を生じさせる作用を示す物質であるために、その化学的制御法は応用展開の可能性が高い重要な研究対象であると考えた。まず SL 生合成経路に存在するチトクローム P450 を標的と想定した阻害剤開発を行い、トリアゾール系 SL 生合成阻害剤 Stz (TIS108) を見出した⁷⁾。Stz は nM レベルでイネ中の SL 濃度を検出限界以下に低下させる強力な阻害剤であった。しかしその強力な SL 濃度低下作用にもかかわらず植物種によってはまったく枝分かれを誘導しないことから、生体内で生合成される SL 関連分子種による機能の違いを明確にできる可能性を秘めた化合物であり、作用部位とあわせこの点については今後の検討課題である。この生合成阻害剤創製過程で、ジベレリン (GA) がイネ中の SL 生合成を抑制すること、にもかかわらず分げつを抑制することを見出した。特に枝分かれの抑制効果は野生型のみならず SL 生合成変異体や情報伝達変異体においても観察された。この SL-GA 間の生理レベルでのクロストークの発見は GA の応用展開の可能性を広げたが、この点については後述する。この発見以前に GA 欠損変異体での分げつの増加が報告されていたため、分子レベルでの SL-GA 間クロストークの解明によりこの生理現象が説明できると予想した。そこで SL と GA 情報伝達因子間の相互作用について検討を行い、SL 受容体 D14 と GA 情報伝達因子である SLN1 の SL 依存的な相互作用を見出すことができた⁸⁾。現在のところ、SL 依存的な D14 の結合により成長抑制因子としての SLN1 の機能が抑制を受け、その結果分げつ抑制的な生理現象が起きるというモデルを想定している。

さらにイネ SL 受容体 D14 の阻害剤開発を行い、インシリコスクリーニングにより競争的に受容体 D14 に結合する阻害剤 2MN と、動物の $\alpha\beta$ -加水分解酵素阻害剤に着想を得て設計・合成展開を行い、受容体 D14 に共有結合しイネに多分げつ形態を誘導する阻害剤 KOK1094 を見出した。両化合物の類縁体中には、根寄生雑草の発芽阻害活性を示す化合物も存在していたため、分げつ誘導と発芽阻害の各活性を個別に高める方向で合成展開を行っている。

続いて阻害剤と併用することで自在な SL 制御を可能とする SL アゴニストの合理的な創製を目指し、天然型 SL 類より高活性かつ安価に一段階合成が可能な SL アゴニスト 4BD を見出した⁹⁾。4BD は現在ではイネ試験における標準物質として広

く利用され実用化も検討されているが、イネ分げつ抑制特異的な化合物であり、根寄生雑草 *Striga* 種子発芽促進活性は著しく弱い。そこでこの理由について検討を行う目的で、SL作用機構と受容体リガンド複合体構造の追究を行った。その結果、D14はSL加水分解活性を示すユニークな受容体であること、三次元構造の解析によりSLのD環が加水分解により生じるD-OHがD14との複合体を形成することが明らかとなり、SL分解で生じるD-OHが活性本体であると結論した⁸⁾。この結論はその後他グループによるD-OH-D14-D3複合体結晶構造の報告により裏付けられた。この知見を総合し、加水分解によりD-OHを生じる化合物はSL活性を持つとの発想に基づき多数のSLアゴニストの合成と活性評価を行った結果、D環構造を含み *Striga* 種子発芽促進活性が高いTIT01、2F4CD、KOKを見出した。活性化化合物のD環以外の構造はかなり自由度が高く、ポケットに入らない大きな分子でも活性を示す事から、SL受容体は柔軟性の高い性質を有していると予想している。

2. 植物ホルモン機能制御剤の農業への応用を目指して

これまで創製してきた植物ホルモン機能制御剤は植物科学の進展には貢献できたと考えており、間接的には農業技術開発への貢献もできたのかもしれない。しかしながらより直接的な農業への貢献を目指し、現在では化合物の実用性に着目した展開もいくつか行っている。その中で現在最も活発におこなっている取り組みを紹介したい。

2.1. ストリゴラクトン機能制御剤

創製した制御剤を用いて、アフリカで穀物生産上の大きな問題になっている根寄生雑草被害の低減可能性を検討している。*Striga*を用いたポット試験の結果、合成阻害剤であるStzは宿主の分げつに影響を与えずに根寄生雑草の被害を抑制できた。これはStzの分げつ促進活性を示さない性質によるところが大きい。また、SLアゴニストであるTIT01は宿主が存在しない条件で根寄生雑草種子の自殺発芽を誘導し根寄生雑草被害を軽減できることが明らかとなった。アフリカでのフィールド試験を実施準備中である。

2.2. ジベレリン

SL-GA間クロストークを利用した根寄生雑草被害を軽減可能な活性化化合物の創製にも取り組んだ。GAによるSL合成抑制現象の発見により、GA処理による*Striga*種子発芽誘導の抑制が可能となったが、GAは高価なため土壌処理への応用は実用的でない。そこで代替できるGAアゴニストを探索した結果、安価に合成可能でSL合成抑制効果を示すAC94377並びに67IDを見出した。AC94377は複数のGA受容体を有するシロイヌナズナにおいて受容体選択的に作用することを明らかとした¹⁰⁾。

2.3. エチレンミミック

SLアゴニストは自殺発芽促進剤としての実用化が期待できるものの、加水分解によりD-OHを生成する構造を有するために環境中で不安定である。一方でエチレンが根寄生雑草種子発芽促進活性を示す事が報告されているが、エチレンを利用した技術はコストが高くアフリカでの普及は難しい。そこで環境安

定型自殺発芽誘導剤を開発するためにエチレンの*Striga*種子発芽促進活性に着目した新規化合物の探索と構造展開を行い、安価に合成可能でエチレン受容体に作用して*Striga*発芽促進効果を示すKUT15を創出した。現在これら化合物とSLアゴニストを併用した制御法についても応用可能性について検討中である。

おわりに

植物ホルモン制御剤の創製は、先人達の植物ホルモン研究の成果を利用したいわば「巨人の肩に乗る」研究とも言える。制御剤の利用により新しい生物学的知見を見出すことはできたが、この点がきりがかりであった。そこで現在は新しい、できたら植物普遍的な生理活性物質の探索と性状解析にも力を入れている。研究室の植物ホルモン研究の伝統を引き継いで、今後も研究を継続していくつもりである。

(引用文献)

- 1) Asami T and Yoshida S, Brassinosteroid biosynthesis inhibitor. Trends Plant Sci, Vol. 4, pp 348-353 (1999).
- 2) Asami T et al., Characterization of brassinazole, a specific brassinosteroid biosynthesis inhibitor. Plant Physiol, Vol. 123, pp 93-100 (2000).
- 3) Asami T et al., Selective interaction of triazole derivatives with DWF4, a cytochrome P450 monooxygenase of the brassinosteroid biosynthetic pathway, correlates with brassinosteroid deficiency in *planta*. J Biol Chem, Vol. 276, pp 25687-25691 (2001).
- 4) Yin et al., BES1 accumulates in the nucleus in response to brassinosteroids to regulate gene expression and promote stem elongation. Cell, Vol. 109, pp 181-191 (2002).
- 5) Wang Z et al., BZR1 is a nuclear component of the brassinosteroid signaling pathway. Dev Cell, Vol. 2, pp 505-513 (2002).
- 6) Han et al., A novel inhibitor of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) in abscisic acid biosynthesis in higher plants. Plant Physiol, Vol. 135, pp 1574-1582 (2004).
- 7) Ito S et al., Effects of triazole derivatives on strigolactone levels and growth retardation in rice. PLoS ONE, Vol. 6, e21723 (2011).
- 8) Nakamura H et al., Molecular mechanism of strigolactone perception by DWARF14. Nature Comm, Vol. 4, 2613 (2013).
- 9) Fukui K et al., Selective mimics of strigolactone actions and their potential use for controlling damage caused by root parasitic weeds. Mol Plant, Vol. 6, pp 88-99 (2013).
- 10) Kai J et al., Substituted phthalimide AC94377 is a selective agonist of the gibberellin receptor GID1 in *Arabidopsis*. Plant Physiol, in press

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、理化学研究所植物機能研究室を中心に、国内外の多くの方々の協力を得て初めて遂行が可能になりました。心より御礼を申し上げます。なかでも卒業論文から博士論文の研究までご指導いただいただけでなく、その後もお心配り頂いた故高橋信孝先生には心より感謝申し上げます。ただこの受賞を生前にご報告できなかったことが心残りではありますが、あの世でよろこんでいただけているものと信じております。ご冥福をお祈りいたします。