



東北大学



宇都宮大学  
UTSUNOMIYA UNIVERSITY



大阪府立大学  
OSAKA PREFECTURE UNIVERSITY

報道機関各位

平成26年11月21日

(同時提供資料)

宮城県政記者会

栃木県政記者クラブ

大阪科学・大学記者クラブ

国立大学法人 東北大学

国立大学法人 宇都宮大学

公立大学法人 大阪府立大学

## 枝分かれ調節ホルモンの新しい分子のかたちを発見

(報道解禁日：11月25日午前5時 ※日本時間)

植物は自身の形づくりのために、体内で「植物ホルモン」とよばれる化学物質を作ります。東北大学、宇都宮大学、大阪府立大学、静岡大学による共同研究グループは、枝分かれ（脇芽の成長）を調節する植物ホルモンであるストリゴラクトンが作られる経路の一つを解明しました。さらに、枝分かれを抑制する新たな物質を発見しました。植物の枝分かれは、最終的な花や種子の数を決める重要な因子です。したがって、本成果は農作物やバイオマスなどの増収を目指した応用発展も期待されます。

本成果は、米国科学アカデミー紀要『*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*』に掲載されるに先立ち、オンライン版が近日掲載されます。

### 〈ポイント〉

- ・ストリゴラクトン生合成経路で働く酵素の機能を解明
- ・酵素生成物の類縁体に枝分かれ抑制活性があることを発見
- ・農作物やバイオマスなどの増収研究への貢献が期待される

### 〈今後、どのように発展していくか〉

植物の枝分かれは、最終的な花や種子の数を決める重要な因子です。したがって、枝分かれを制御することは、作物の生産性や栽培作業の効率化に繋がり、将来的には農作物やバイオマスなどの増収を目指した応用発展も期待されます。

### 〈本共同研究グループについて〉

本研究は、東北大学大学院生命科学研究科の瀬戸義哉助教と山口信次郎教授ら、宇都宮大学バイオサイエンス教育研究センターの野村崇人准教授と米山弘一教授ら、大阪府立大学大学院生命環境科学研究科の秋山康紀教授ら、静岡大学大学院農学研究科の大西利幸准教授との共同研究として実施されました。

※背景・詳細は次ページ以降にて記載

#### ●本研究に関するお問い合わせ先

国立大学法人東北大学  
大学院生命科学研究科  
担当：教授 山口 信次郎  
TEL：022-217-6197  
E-mail：shinjiro@m.tohoku.ac.jp

国立大学法人宇都宮大学  
バイオサイエンス教育研究センター  
担当：准教授 野村 崇人  
TEL：028-649-5152  
E-mail：tnomura@cc.utsunomiya-u.ac.jp

公立大学法人大阪府立大学  
大学院生命環境科学研究科  
担当：教授 秋山 康紀  
TEL：072-254-9471  
E-mail：akiyama@biochem.osakafu-u.ac.jp

## 〈背景〉

植物ホルモン<sup>[1]</sup>の一種であるストリゴラクトンは、植物の枝分かれ（脇芽の成長）を抑制するために働く重要な物質です。加えて、ストリゴラクトンは植物の根から分泌され、菌根菌<sup>[2]</sup>の菌糸を分岐させて共生を促します。一方で、根寄生雑草<sup>[3]</sup>はストリゴラクトンを認識して発芽し、寄生します。このように農業生産性に関わる多様な生理作用（図1）をもつストリゴラクトンですが、その生合成の全貌は明らかにされていません。これまでに、ストリゴラクトンと総称される物質は30種類を超えて単離されています。それらは、3つの環（ABC環）をもち、さらにもう一つの環（D環）が酸素を挟んだかたち（エノールエーテル結合）でつながった構造を基本骨格としています（図2）。AまたはB環における水酸基などの有無による違いがあります。しかしながら、どの化学物質が植物体内で枝分かれ抑制の活性本体として機能しているのか分かっていませんでした。

これまでに、ストリゴラクトンの生合成酵素をコードする遺伝子D27、CCD7、CCD8、およびMAX1が、枝分かれが過剰になったシロイヌナズナ<sup>[4]</sup>やイネなどの突然変異体の原因遺伝子として単離されていました。近年、D27、CCD7およびCCD8酵素により、カロテノイドの一種であるβ-カロテンからカーラクトンとよばれるストリゴラクトンの生合成中間体が生成されることが明らかにされました（図2）。しかしながら、カーラクトンより下流の生合成経路とMAX1タンパク質（シトクロムP450<sup>[5]</sup>に属する）の機能は分かっていませんでした。本研究グループは、シロイヌナズナのmax1変異体においてカーラクトンが異常に蓄積していることを明らかにしていました。このことから、MAX1タンパク質はカーラクトンを基質とするストリゴラクトンの生合成酵素である可能性が示唆されました。

## 〈研究手法と成果〉

本研究では、MAX1タンパク質を酵母において発現させて、カーラクトンを加えてインキュベーションすることにより、代謝物が得られるかどうか液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）<sup>[6]</sup>を用いて調べました。その結果、MAX1タンパク質はカーラクトンのC-19位をカルボキシル基まで酸化してカーラクトン酸を生成する酵素であることが明らかとなりました（図2）。また、カーラクトン酸をシロイヌナズナとイネの植物体からも検出することに成功しました。さらにシロイヌナズナからは、そのメチルエステル体であるカーラクトン酸メチルも検出されました。A環とD環しかもたないカーラクトン酸とカーラクトン酸メチルに枝分かれ抑制活性があるかどうかを調べるために、シロイヌナズナのmax1変異体にそれらを投与しました。その結果、カーラクトン酸とカーラクトン酸メチルは両方ともmax1変異体の過剰な脇芽の成長を抑えました。次いで、カーラクトン酸とカーラクトン酸メチルがそれら自体で活性体として機能しているのか、それとも活性を示すためにはさらに構造変換が必要なのかどうかを明らかにするために、シロイヌナズナのストリゴラクトン受容体として考えられているAtD14タンパク質との相互作用を調べました。方法としては、示差走査型蛍光定量法（differential scanning fluorimetry）<sup>[7]</sup>を用いました。その結果、AtD14タンパク質はカーラクトン酸メチルとだけ相互作用を示しました。以上の結果から、カーラクトン酸はカーラクトン酸メチルに変換されてから枝分かれを抑制していると考えられ、完全なストリゴラクトン骨格をもたないカーラクトン酸メチルが植物体内で枝分かれ抑制ホルモンの活性本体として機能している可能性が示されました（図2）。

## 〈今後の期待〉

植物の枝分かれは、最終的な花や種子の数を決める重要な因子です。したがって、枝分かれを制御することは、作物の生産性や栽培作業の効率化に繋がります。また、農作物やバイオマスなどの増収を目指した応用発展も期待されます。本研究では、ストリゴラクトン生合成経路におけるMAX1酵素の機能を明らかにすることができました。MAX1タンパク質はシトクロムP450酵素であることから、すでに開発されているP450阻害剤のかたちを参考に、MAX1をターゲットにした薬剤を見出すこ

とにより、人為的に枝分かれを調節する技術を新たに開発することも可能になります。また、本研究によって存在が明らかとなったカーラクトン酸メチルは、ストリゴラクトン生合成中間体から分岐した物質ですが、枝分かれを調節するのに十分な構造を有していました。ストリゴラクトンはホルモンとしての作用だけでなく、菌根菌との共生というメリットや根寄生雑草による寄生のデメリットも引き起こす物質です（図1）。カーラクトン酸メチルはストリゴラクトンに比べて根寄生雑草の種子発芽活性が弱いことも明らかにしました。根寄生雑草の防除の一つの有効な手段は、宿主となる植物において、寄生雑草種子の発芽を誘引するストリゴラクトンの生産を抑えるということが挙げられます。しかしながら、同時に枝分かれや菌根菌との共生にも影響を与えてしまいます。カーラクトン酸メチルの生産量を調節することにより、枝分かれ、共生と寄生を別々に制御することが可能になると期待しています（図2）。

### 〈補足情報〉

1. **植物ホルモン**: 植物の成長を制御する内生の化学物質の総称。一般的に植物ホルモンは、植物でごくわずかしか作られない。これまでに、オーキシシン、ジベレリン、サイトカイニン、エチレン、ジャスモン酸、アブシジン酸、ブラシノステロイド、ストリゴラクトン、サリチル酸、CLEペプチドなどが発見されている。
2. **菌根菌**: 菌根を作って植物と共生する菌類。土壌中の糸状菌が、植物の根の表面または内部に着生したものを菌根という。菌根菌は、植物に着生後、土壌中に菌糸を張り巡らし、主にリン酸や窒素を吸収して宿主植物に供給する。代わりにエネルギー源として、植物が光合成により生産した糖などの炭素化合物を得る。そのため、植物は菌根菌と共生することにより、栄養分の乏しい土地での育ちが改善される。
3. **根寄生雑草**: ハマウツボ科植物に属するストライガやオロバンキなど。植物の根から分泌されるストリゴラクトンを認識して発芽して、近くの植物の根に寄生し、宿主植物から栄養を吸収する。ストリゴラクトンがなければ発芽できないが、種子の状態でも何年も休眠したまま生存し続ける。ストライガやオロバンキに寄生された植物は著しく生育が抑制される。特にアフリカでは、ソルガムやトウモロコシなどの農作物におけるストライガの被害が大きく、ストライガの撃退は食糧生産上、重要な課題となっている。
4. **シロイヌナズナ**: 植物のモデル生物として世界中の植物研究者が利用しているアブラナ科植物。2000年に植物として初めて全ゲノムが解読された。一世代が約2ヶ月で沢山の種子を採取できる。遺伝子組換えが容易であり、多くの変異系統も整備されており、研究材料として利用しやすい。
5. **シトクロムP450**: 微生物から植物、動物まで存在する酵素ファミリー。活性部位にヘムをもち、酸素を用いて基質を酸化する酵素である。植物では植物ホルモンを含む多様な二次代謝物の合成に関与しており、全遺伝子の約1%がP450酵素をコードしている。
6. **液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計**: 液体クロマトグラフにより物質を分離して、試料をイオン化し、物質の質量を分析する装置。質量分析計が2台直列に結合されており、1台目の質量分析計でイオンを選択して分解し、生じた2次的イオンを2台目の質量分析計で検出する。高感度な検出が可能であるため、ホルモンのような生体中の微量物質の分析に有効な装置である。
7. **示差走査型蛍光定量法**: タンパク質と低分子化合物との相互作用を検出する手法。タンパク質に相互作用を調べたい物質と蛍光色素を加え、昇温させると、タンパク質の変性に伴って露出する疎水性領域と蛍光色素が結合し蛍光を発する。これを利用して、タンパク質の変性温度を調べることが出来る。一般的に、受容体に生理活性物質（リガンド）が結合すると、受容体タ

ンパク質に構造変化をもたらすので、熱変性温度が変化する。この変性温度の変化により低分子とタンパク質との相互作用を評価することができる。

〈図〉



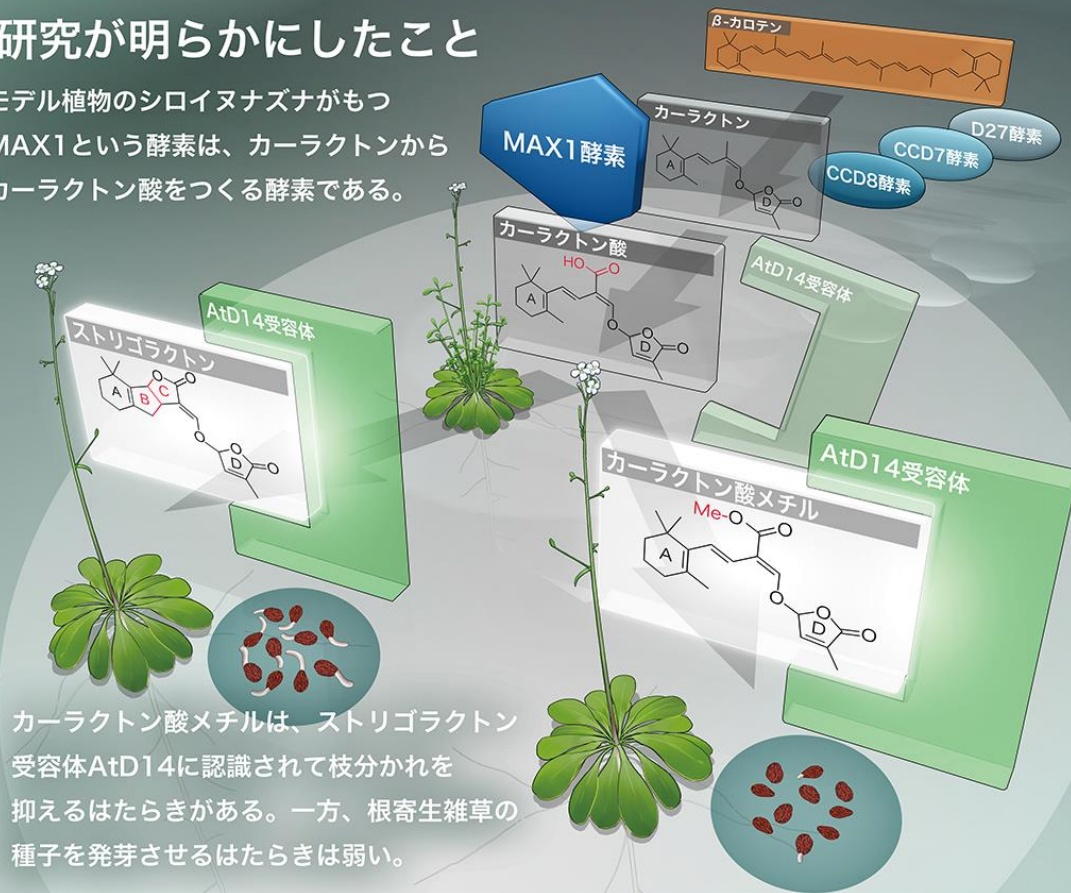
図1 ストリゴラクトンのはたらき

①植物体内でつくられたストリゴラクトンは自身の枝分かれ(脇芽の成長)を抑えるのに使われます。また、②土壌から吸収した栄養(主にリン酸)を植物に分け与えてくれる生物である菌根菌は、植物の根から分泌されたストリゴラクトンを認識して菌糸を枝分かれさせて、共生を始めます。一方で、③根寄生雑草(ストライガやオロバンキなど)は、ストリゴラクトンを認識して種子を発芽させ、根に寄生して栄養を奪います。



## 本研究が明らかにしたこと

モデル植物のシロイヌナズナがもつ  
MAX1という酵素は、カーラクトンから  
カーラクトン酸をつくる酵素である。



カーラクトン酸メチルは、ストリゴラクトン  
受容体AtD14に認識されて枝分かれを  
抑えるはたらきがある。一方、根寄生雑草の  
種子を発芽させるはたらきは弱い。

図2 本研究が明らかにしたこと

ストリゴラクトンはカロテノイドの一種であるβ-カロテンからつくられます。これまでは、前駆物質であるカーラクトンまでの経路しかわかっていませんでした。本研究では、モデル植物のシロイヌナズナがもつMAX1という酵素は、カーラクトンからカーラクトン酸をつくる酵素であることを明らかにしました。さらに、カーラクトン酸がメチル化された物質（カーラクトン酸メチル）には、ストリゴラクトンと同様に、その受容体AtD14に認識されて枝分かれを抑えるはたらきがあることがわかりました。一方で、ストリゴラクトンに比べて、カーラクトン酸メチルは根寄生雑草の種子を発芽させるはたらきが弱いこともわかりました。

### 【論文】

Satoko Abe, Aika Sado, Kai Tanaka, Takaya Kisugi, Kei Asami, Saeko Ota, Hyun Il Kim, Kaori Yoneyama, Xiaonan Xie, Toshiyuki Ohnishi, Yoshiya Seto, Shinjiro Yamaguchi, Kohki Akiyama, Koichi Yoneyama, Takahito Nomura "Carlactone is converted to carlactonoic acid by MAX1 in *Arabidopsis* and its methyl ester can directly interact with AtD14 in vitro" *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*

### 【共同研究グループ】

本研究は、東北大学大学院生命科学研究所の瀬戸義哉助教と山口信次郎教授ら、宇都宮大学バイオサイエンス教育研究センターの野村崇人准教授と米山弘一教授ら、大阪府立大学大学院生命環境科学研究科の秋山康紀教授ら、静岡大学大学院農学研究科の大西利幸准教授との共同研究として実施されました。

### 【研究サポート】

本研究は、科学研究費補助金（文部科学省、日本学術振興会）、イノベーション創出基礎的研究推進事業（生研センター）、CREST（JST）、研究拠点創成ユニットUU-COE（宇都宮大学）のサポートを受けて実施されました。

### 【本研究に関するお問い合わせ先】

国立大学法人東北大学  
大学院生命科学研究科  
担当：教授 山口 信次郎  
TEL：022-217-6197  
E-mail：shinjiro@m.tohoku.ac.jp

国立大学法人宇都宮大学  
バイオサイエンス教育研究センター  
担当：准教授 野村 崇人  
TEL：028-649-5152  
E-mail：tnomura@cc.utsunomiya-u.ac.jp

公立大学法人大阪府立大学  
大学院生命環境科学研究科  
担当：教授 秋山 康紀  
TEL：072-254-9471  
E-mail：akiyama@biochem.osakafu-u.ac.jp

### 【報道担当】

国立大学法人東北大学  
大学院生命科学研究科広報室（担当：高橋）  
TEL：022-217-6193  
FAX：022-217-5704  
E-mail：lifsci-pr@ige.tohoku.ac.jp

国立大学法人宇都宮大学  
企画広報部企画広報課（担当：渡邊）  
TEL：028-649-8178  
FAX：028-649-5026  
E-mail：kkouhou@miya.jm.utsunomiya-u.ac.jp

公立大学法人大阪府立大学  
広報渉外部広報課広報グループ（担当：皆藤）  
TEL：072-254-9103  
FAX：072-254-9129  
E-mail：shori.kaito@ao.osakafu-u.ac.jp