

論文内容の要旨

応用生命化学 専攻

平成 24 年度博士課程 進学

氏 名 福井 康祐

指導教員名 浅見 忠男

論文題目

ストリゴラクトンシグナルの分子調節を目的とした化合物創製研究

1. 背景及び目的

ストリゴラクトン (SLs) は、ストライガやオロバンキといったハマウツボ科に属する根寄生植物の種子発芽誘導物質として発見されたラクトン骨格を有するアポカロテノイドの総称である。初めて発見された SL は根寄生植物の宿主とはならないワタの根の滲出液から発見された。そのため、SL には根寄生植物の種子発芽の誘導以外にも何か役割があるのではないかと考えられていた。SL の発見から数十年間、この SL の根寄生植物の種子発芽誘導以外の役割は謎のままであったが、2000 年代に入って二つの研究からその役割が明らかとなった。一つは、地上の植物の約 80%と共生されている根共生菌の一種である、アーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) の菌糸分岐を誘導する作用であり、このことから植物が根から SL を放出するのは AM 菌と共生することによって自身が窒素やリンなどの無機栄養素や水を獲得しやすくするためであると一般的に認識されるようになった。もう一つは、植物ホルモンとしての作用であり、枝分かれの抑制を含む多くの形態形成に関わることが明らかとなってきた。最近では、新規植物ホルモンである SL に関する研究が急速に進み、生合成経路や情報伝達経路に関する知見が次々に報告されている。

これまで植物ホルモン研究の成果は様々な点で農業生産に貢献してきた。例えば、所謂『緑の革命』では植物の徒長を促進するジベレリンの生合成や情報伝達レベルが低下した半矮性の穀類を用いることで、肥料の栄養を徒長ではなく穀物生産量の飛躍的向上に結びつけることに成功してきた。このように、植物ホルモンの研究過程で得られる様々な遺伝子機能の情報や、成長制御剤は、直接に農業生産の質や量の向上に結びつきやすい。そこで、本研究では新たに植物ホルモン作用が報告された SL を対象として新規 SL ミミックの

探索を行なうとともに、SL の多様な機能の一つ一つを理解しやすくするために機能特異的な SL ミミックを創製することを目的として、研究を行った。

2. 新規ストリゴラクトンミミックの創製と作用解析

これまでの SL アゴニスト創製は SL が根寄生植物の種子発芽誘導物質として発見されたこともあり、根寄生植物の種子発芽誘導活性を指標として探索されてきた。しかし、根寄生植物を対象とした化合物探索で提唱されていた活性発現に必要な最小限の構造を構築するには多段階の反応を要し、圃場などで多量に用いるために大量合成することが困難であった。そこで、新たに植物ホルモンとしての SL の枝分かれ抑制活性を指標に SL ミミックの探索を行なうことで、合成簡便で使い勝手の良い新規物質の探索が出来るのではないかと考え、化合物の探索を行なった。筆者の所属する研究室でジベレリンの受容体 **GID1** の阻害剤として *in silico* スクリーニングでヒットしていた物質が SL と部分構造の一致を見せたことから、より SL の構造に近くなるよう一部構造改変したものを合成し、SL 生合成遺伝子の欠損変異体イネ *d10* への処理を試みた。その結果、イネの枝分かれである分げつの伸長を強く抑制することを見いだした。そこで、本化合物 **1a** をリード化合物として合成展開し、構造活性相関研究の過程で最も強い枝分かれ抑制活性化合物を選抜することとした。リード化合物が 4-クロロフェノールと 5-ブロモ-3-メチル-2(5*H*)-フラノンから合成されるため、フェノールの 4 位の置換基を様々検討した。その結果、ハロゲン性置換基を有する化合物の分げつ抑制活性が比較的高く、代表化合物として 4-ブロモフェノールから合成される化合物 **1c** を選抜した。化合物 **1c** を用いて、イネに対して長期処理した場合の副作用の有無や、SL 非感受性変異体への効果、SL 応答性遺伝子の発現量の変化、SL 内生量に与える影響を評価したところ、処理濃度における副作用は観察されず、それ以外は既に報告されている SL アゴニストである GR24 処理と同様の結果を示した。従って、化合物 **1c** は SL として作用しイネの分げつ伸長を抑制していると考えた。更に、シロイヌナズナの SL 生合成遺伝子の欠損変異体と SL 非感受性変異体を用いて同様に枝分かれ抑制効果を調べたところ、シロイヌナズナにおいても生合成遺伝子の欠損変異体でのみ枝分かれを抑制し、非感受性変異体の枝数の減少は観察されなかった。以上から、化合物 **1c** は植物に対して広く SL として作用し、枝分かれを抑制する化合物と判断した。次に、化合物 **1c** の枝分かれ抑制以外の SL 生理作用を評価するためシロイヌナズナの根毛伸長促進など根の形態形成に与える影響を評価した。その結果、根の形態形成に与える影響は GR24 と比較して弱く、若干の作用

は見られるものの枝分かれ抑制活性ほど強くはなかった。また、根寄生植物の種子発芽誘導活性も評価した結果、化合物 **1c** は GR24 と比較して著しく活性が低く非常に高濃度でのみ根寄生植物の一種である *Striga hermonthica* の種子発芽を誘導することが明らかとなった。以上のことから、本章で創製した新規 SL ミミックは植物の枝分かれ抑制に特異性を有する化合物であると考えた。このようなフェノールとフラノン環から合成される化合物を、その構造と活性から枝分かれを減らすフラノンという意味でデブラノン (de-branching furanone) と呼称することとした。また、この枝分かれ抑制効果に特化した化合物の応用法として、SL 生合成変異体を用いた新規な根寄生植物防除法を考案した。

3. 機能選択的デブラノンの創製

前章で創製した化合物 **1c** の様に SL の様々な作用を選択的にミミックできる化合物は研究上にも実用上にも利便性が高いと考え、本章ではデブラノン類の選択性と構造の相関関係を詳細に調べることにした。活性の評価には、比較的短期間で結果の得られるイネの第2分げつ伸長抑制試験と根寄生植物 *S. hermonthica* の種子発芽試験を用いた。その結果、原料となるフェノールのベンゼン環上の置換基の位置と、官能基の種類によって選択性が制御できることが明らかとなった。置換基の位置と官能基の種類を適切に選択することにより、イネの分げつ伸長抑制に関して選抜した化合物では 10 倍以上の活性の向上と若干の選択性の向上が達成された。一方、*S. hermonthica* の種子発芽誘導選択的に作用する化合物の創製も検討した結果、1 μM ではイネの第二分げつ伸長をほとんど抑制しないが、100 nM でも *S. hermonthica* の種子発芽を誘導する化合物の取得に成功した。これら二つの機能選択的化合物について、イネにおける分げつ伸長抑制以外の SL 活性試験として、SL 欠損変異体で低下が見られるクロロフィル含量の回復試験を行ったところ、SL によるイネのクロロフィル含量の回復は分げつ伸長抑制と同様の情報伝達系で制御されていることが明らかとなった。

4. デブラノン類の機能選択性に関する詳察

前章までにデブラノン類がその構造によって SL の様々な作用の各々を選択的にミミックできる可能性を示してきた。本章では、前章で選抜した代表化合物がシロイヌナズナにおいて報告されている様々な SL 生理作用に対して与える影響を評価した。その結果、イネや *S. hermonthica* に対する選択性と完全には一致しないことが明らかとなった。そこで、シ

ロイヌナズナにおいて報告されている SL 生理作用に対する化合物の効果を再評価することとした。その結果、イネや *S.hermonthica* に対する活性の傾向とは異なるものの、シロイヌナズナにおける各生理作用間で、相関があることが明らかとなった。また、化合物のキラリティーが各活性に与える影響も評価するため、前章で選抜した代表化合物を光学分割し、イネの分げつ伸長抑制試験や、シロイヌナズナの高温種子発芽試験などに供し、何れのエナンチオマーが活性を示すのかを調べた。その結果、いくつかの試験間では高い活性を示すエナンチオマーが異なることを見いだした。従って、各 SL 受容体に対する親和性が各エナンチオマーによっても異なることが示されたと考える。

5. まとめ

新規 SL ミミックであるデブラノンとは各種フェノール類とプロモフラノン環から 1 ステップで収率よく合成でき、ベンゼン環上の官能基の位置と種類を適切に選択することで、様々な生理作用に対して特化した活性を示す。これら様々な活性を有する化合物を用いることにより、これまで天然型 SL では解明できなかった各作用における情報伝達経路の違いなどを明らかできると考えられる。SL は枝分かれなど穀物の生産量やバイオマスに直接結びつく形態を制御しているだけでなく、根寄生植物の発根を促進し寄生を促すことで世界の諸地域における寄生被害による作物生産量の減少の要因ともなっていることから、今後人類が直面すると言われている食料問題やエネルギー問題に少しでも本研究が貢献できることを期待している。

- 1) Fukui, K., Ito, S., Ueno, K., Yamaguchi, S., Kyojima J. & Asami, T. New branching inhibitors and their potential as strigolactone mimics in rice. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **21**, 4905-4908 (2011).
- 2) Fukui, K., Ito, S. & Asami, T. Selective mimics of strigolactone actions and their potential use for controlling damage caused by root parasitic weeds. *Mol. Plant* **6**, 88–99 (2013).