

根寄生雑草被害低減を目指した化学・生物学基盤の構築と応用

Development of basic technology of chemistry and biology for reducing damage by root parasitic weeds



課題番号：18H05266

浅見 忠男（ASAMI TADAO）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究の概要

本研究では、アフリカの作物生産に甚大な被害を与えている根寄生雑草である *Striga* の制御を目指し、化学的制御物質の創製と実用化の可能性を検討する。そのために *Striga* の生理作用に基づき *Striga* 種子の自殺発芽促進剤、*Striga* 種子中のストリゴラクトン受容体制御剤や宿主におけるストリゴラクトンの生合成制御剤の開発とそれら化合物の作用機構の解明を行う。

研究分野：生物制御化学

キーワード：根寄生雑草、ストリゴラクトン、生合成阻害剤、受容体阻害剤、自殺発芽

1. 研究開始当初の背景

植物の枝分かれを抑制する植物ホルモンであるストリゴラクトン(SL)は、根寄生雑草である *Striga* の種子を発芽させ、作物根への寄生を促進する物質である。この寄生の結果農業生産性が著しく低下するために大きな問題となっている。*Striga* による根寄生を抑制するためには、*Striga* 種子を宿主作物が存在しない状態で化学物質により発芽させて土中で枯死させる自殺発芽促進技術が有効であると考えられてきた。しかし一般的にSL類はその構造から環境中で不安定であり、使用方法が制限されるという欠点を有している。一方で宿主作物のSL生合成を抑制させた品種の開発も行われてきたが決定的な解決策となっていない。本研究グループでは、*Striga* 被害低減のための化学的制御法を模索する過程で、ストリゴラクトンミミックによる自殺発芽誘導剤に加えて多様な化学的制御方法が適用可能であることを見出した。しかし化学的な根寄生雑草被害防除方法を開発するために有用な *Striga* に関する生物学的基盤の整備は遅れている状況である。

2. 研究の目的

根寄生雑草の寄生を抑制し農業への被害を低減可能な化合物の創製を目的としている。そのためには根寄生雑草の寄生メカニズムについて、その知見を活用するだけでなく今後の化合物創製のためにより詳細な機構解明が重要である。まず既知の情報に基づき、作物根への寄生を防ぐためには、1) 作物生産性に影響を与えない条件で宿主作物にお

けるSL生合成を化学的・生物学的に制御すること、2) *Striga* 種子のSL受容体アゴニストを創製し宿主作物の存在しない状態で発芽させ寄生させずに枯死させる自殺発芽を誘導すること、3) SL刺激により根寄生雑草中で発生することで最終的な発芽原因物質となっているエチレンのアゴニストを創製し、自殺発芽剤として利用すること、4) *Striga* 種子のSL受容体を特異的に阻害し発芽を抑制すること、が有望な方法であると考えた。そこで上記1)～4)の要件を満たす化合物の創製と作用機構の解析、そして実際の根寄生雑草被害低減効果について検討することを最初の目的とした。続いて得られた化合物を利用することで、根寄生雑草に多数存在するSL受容体と類似した $\alpha/\beta$ -hydrolaseの解析と根寄生雑草の制御を目指してその $\alpha/\beta$ -hydrolase阻害剤の創製を次の目的とした。また5) エチレンアゴニストの設計を容易にするために、エチレン受容体との親和性測定可能な系の開発ならびにエチレン受容体の結晶化も目的とした。

3. 研究の方法

前項の番号に即して説明する。

1) チトクロームP450であるMAX1を仮想標的とするSL生合成阻害剤TIS108の標的部位について、4種類存在するイネMAX1タンパク質への親和性やその機能阻害活性を調べることにより検討するとともに、TIS108がイネ形態に変化を与えない理由についても追究する。またジベレリンがSL生合成を抑制するとの本研究グループの報告に基づき、よ

り安価なジベレリンアゴニストの創製を行うと同時に、ポット試験によりその根寄生雑草被害防除効果についても検討する。

2) SL 生合成中間体であるカーラクトンから派生するカーラクトン酸は SL 活性を有していた。そこでこの構造に基づき新しい SL アゴニストの創製を試みた。合成化合物の構造活性相関を通して SL 受容体への親和性ならびに根寄生雑草発芽誘導活性を検討することで最適化合物を選抜する。

3) 見出したエチレンアゴニストである KUT15 の根寄生雑草防除効果を調べその作用発現機構と実際の有用性を確認するとともに、化合物ライブラリーを用いたスクリーニングにより新たなエチレンアゴニストを発見する。

4) イネ SL 受容体 D14 を標的とする共有結合阻害剤を報告した。この過程で構築した化合物ライブラリーを用いて、D14 と同じ  $\alpha/\beta$ -hydrolase ファミリーに属する根寄生雑草 *Striga* SL 受容体の阻害剤リード化合物の発見とその構造展開を行う。

5) 発現量が高くかつ安定性が高いエチレン受容体 (AtETR1) の組換え体の発現・精製系を確立し、アゴニストと受容体の結合解析を可能にする。また膜タンパク質の結晶化で通常用いられている方法でエチレン受容体結晶化条件の探索と改善を進める。

#### 4. これまでの成果

1) TIS108 のイネ中標的が MAX1 であり、4 種類存在するイネ MAX1 タンパク質中 3 種類に対して高い阻害活性を示すことを明らかにした。またイネ特異的なジベレリンアゴニストを見出すことに成功し、ポット試験による根寄生雑草被害防除効果を検討中である。

2) 内生物質であるメチルカーラクトン酸構造に基づき設計・合成した化合物は強力な SL 活性を有していた。特にエステル部分をアミドに置換した化合物は根寄生雑草発芽誘導活性が優れており、ポット試験においても有望な結果を与えた。

3) KUT15 の詳細な生物試験の結果、この化合物は実用化のための障害の一つであった種子のコンディショニングを必要とせずに発芽促進活性を示すことを見出した。また根寄生雑草防除効果のポット試験で良好な結果を与えたことから、KUT15 は実用化に有望な化合物であると判断できた。また KUT15 と SL を共処理することでコンディショニングなしに SL 効果を得ることが明らかになった。また化合物ライブラリーを用いたスクリーニングにより新たなエチレンアゴニストである ZT 系化合物を発見できた。

4)  $\alpha/\beta$ -hydrolase 共有結合阻害剤ライブラリーを用いて、D14 と同じ  $\alpha/\beta$ -hydrolase ファミリーに属する根寄生雑草 *Striga* SL 受容体の阻害剤リード化合物を発見した。この

化合物は *Striga* 受容体に共有結合を形成することで作用している可能性を示す結果を得ている。

5) エチレン受容体 (AtETR1) 組換え体の発現・精製系の確立という大きな進展があった。

#### 5. 今後の計画

1) 適用作物の対象をひろげると同時に形態と作用部位の関係を明確にする。

2) アミド置換型化合物について SL 受容体に結合して効果を示していることを明確にする一方、SL 中の SL 受容体ファミリーに対して効果を示すアゴニスト・アンタゴニストを創製し生理機能解析に適用する。

3) ZT 系化合物の構造活性相関と作用機構解析を行う。

4) 受容体内の阻害剤結合アミノ酸残基の特定と共結晶化による結合様式の解析を行う。

5) エチレンアゴニストとの結合観察条件と受容体結晶化条件の探索と改善を進める。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1) Jamil M et al. (2020) A new series of carlactonoic acid based strigolactone analogs for fundamental and applied research. *Frontiers in Plant Sci*, 11:434.

2) Kawada K et al. (2019) Synthesis and biological evaluation of novel triazole derivatives as strigolactone biosynthesis inhibitors. *J Agric Food Chem*, 67(22):6143-6149.

3) Fukui K et al. (2019) Synthetic agonist of HTL/KAI2 shows potent stimulating activity for Arabidopsis seed germination. *Bioorg Med Chem Lett*, 29(17):2487-2492.

4) Yoneyama K et al. (2019) Regulation of biosynthesis, perception, and functions of strigolactones for promoting arbuscular mycorrhizal symbiosis and managing root parasitic weeds, *Pest Manag Sci*, 75(9):2353-2359.

5) Nakamura H et al. (2019) Triazole ureas ovalently bind to strigolactone receptor and antagonize strigolactone responses. *Mol Plant*, 12:44-58.

6) Jamil M et al. (2019) Methylation at the C-3' in D-Ring of strigolactone analogs reduces biological activity in root parasitic plants and rice, *Frontiers Plant Sci*, 10:353

7) Kountche BA et al. (2019) Suicidal germination as a control strategy for *Striga hermonthica* (Benth.) in smallholder farms of sub-Saharan Africa. *Plants People Planet*, 1: 107-118.

#### 7. ホームページ等

<http://pgr.ch.a.u-tokyo.ac.jp>