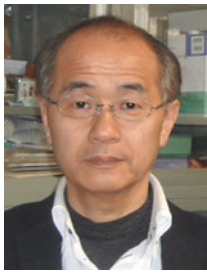


【基盤研究(S)】

大区分F



研究課題名 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

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

あさみ ただお
浅見 忠男

研究課題番号：18H05266 研究者番号：90231901

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

【研究の背景・目的】

世界的に広がる根寄生雑草 (*Striga*) による農業被害を低減するための基礎研究を展開し、防除のための植物ホルモン制御技術の基盤を構築する。

植物の枝分かれを抑制する植物ホルモン候補物質であるストリゴラクトン (SL) は、一方でアフリカの作物生産に甚大な被害を与えている *Striga* の種子を発芽させ、作物根への寄生を促進する物質でもある。その結果、*Striga* は宿主作物を枯死させる。この *Striga* による根寄生を抑制するためには、宿主作物の SL 生合成や *Striga* の SL 受容体制御技術が必要である。また *Striga* 種子を宿主作物が存在しない状態で発芽させて土中で枯死させる自殺発芽促進技術も有効である。しかしこれら根寄生雑草被害防除技術開発のための化学的・生物学的基盤の整備は遅れている。本研究では、SL 生合成阻害技術の開発に加えて、SL 受容体のリガンド認識機構・活性発現機構、そして植物ホルモン間クロストークにより SL 機能を制御可能なジベレリンやエチレン両ホルモン受容体の認識機構を、新規リガンド開発と結晶構造学を中心に解明し、*Striga* 制御技術開発基盤の構築と展開を行う。

【研究の方法】

根寄生雑草の寄生メカニズムに基づくと、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) *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。そこで 1) の解決策として、形態変化を誘導せずに SL 生合成を阻害できる TIS108 の作用機構を追究し、優れた選択性を有する新たな生合成阻害剤の開発や形態変化を誘導しない遺伝子ノックアウト法の開発を行う。またジベレリンがストリゴラクトン生合成を抑制することを見出した。また植物体内移行性の低いジベレリンアゴニストとして、AC94377 ならびに D67 を発見・報告した。そこでジベレリンアゴニストの効率的分子設計を可能にするために、これら両化合物とイネジベレリン受容体 *GID1* との共結晶化を行い、活性発現必須官能基を解明し、合成による高活性化を行う。2) の自殺発芽誘導剤開発のために、SL の受容メカニズムと情報伝達機構を解明する。SL は受容体による加水分解により生じた D 環部分

とイネ SL 受容体との共結晶構造に基づいた二つの経路 (図 1) が提唱されており、まだ決着していない。そこで活性中心と共有結合を形成するアゴニストとして D53 との結合を誘導する

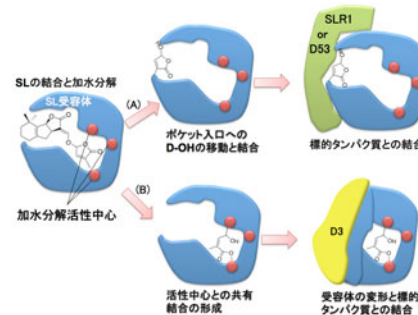


図 1 SL 受容体の活性化機構

活性型化合物 AGOL とイネ SL 受容体との共結晶化により、AGOL は SL 受容体の変形を誘導しないで受容体を活性化できることを示す。またエチレンアゴニストが自殺発芽誘導剤として働くことを見出したが、その作用機構は不明である。そこでエチレン受容体タンパク質とアゴニストの共結晶化を行う。

3) の受容体阻害剤開発のために、*Striga* の SL 受容体特異的阻害剤を創製する。

【期待される成果と意義】

ストリゴラクトン、エチレン、ジベレリン各受容体とリガンドの相互作用研究を行うことで受容体メカニズムを解明できる。その結果、SL 受容体を化学的もしくは遺伝的に制御し根寄生雑草被害を防除するための方法が開発可能となる。同様のアプローチで SL 生合成の制御も可能となる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Nakamura H, et al., Molecular mechanism of strigolactone perception by DWARF14. *Nature Comm.* 4: 2613 (2013).
- ・ Zhou F et al., D14-SCFD3-dependent degradation of D53 regulates strigolactone signaling. *Nature*, 504: 406-410 (2013).

【研究期間と研究経費】

平成 30 年度 - 34 年度
151,600 千円

【ホームページ等】

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

【基盤研究(S)】

大区分F



研究課題名 哺乳類におけるプライマーフェロモンの同定と神経生理基盤の解明

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

とうはら かずしげ
東原 和成

研究課題番号：18H05267 研究者番号：00280925

キーワード：フェロモン、嗅覚、受容体、神経回路、生殖

【研究の背景・目的】

フェロモンは、行動を引き起こすリリーサーフェロモンと生理変化を引き起こすプライマーフェロモンに大別される。リリーサーフェロモンの研究は、昆虫やマウスにおいて、分子から受容体、神経回路レベルに至るまでかなり進んできているが、ヒトを含む哺乳類ではより重要と考えられているプライマーフェロモンに関しての知見はほとんどない。本研究では、マウス及びヒトにおいて、発情、性周期、妊娠など生殖機能へ影響するプライマーフェロモン群を同定し、それらの受容体、神経回路、内分泌変化機構を明らかにすることを目的とする。具体的には、マウスの生殖機能へ影響するプライマーフェロモン群の構造を決定する。それらの受容体を同定し、生理効果に至る神経回路・内分泌経路を明らかにする。ヒトのプライマーフェロモンを同定し、脳内の情報処理部位を明らかにする。分子、受容器、脳・生理の多階層のアプローチで、フェロモン分子から生殖機能へと至る分子神経メカニズムの全貌を明らかにする。

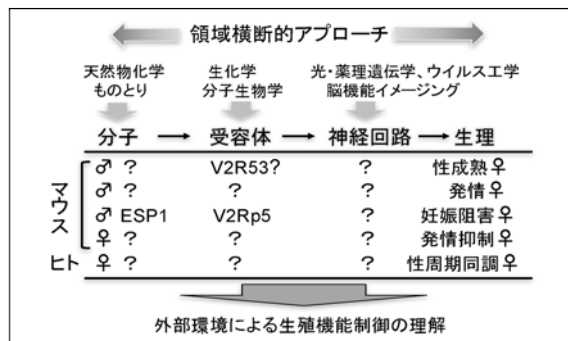


図 本研究の目的とアプローチ

【研究の方法】

マウスのプライマーフェロモンに関しては、光ファイバーを用いた生殖中枢 *in vivo* Ca²⁺イメージング法を確立し、各種 HPLC カラムで尿中活性物質を分画・精製し、GC-MS, LC-MS 解析で構造を推測し、有機合成してフェロモン構造を決定する。受容体に関しては、*double in situ hybridization* 法を用いて、鋤鼻器官に発現する約 300 種類の鋤鼻受容体ファミリーの中から同定する。フェロモン効果に至る脳神経回路に関しては、ウイルス工学、光遺伝学、薬理遺伝学的手法を用いる。ヒトに関しては、脳機能イメージング法や自律神経・内分泌系などの非侵襲的な測定法で、体臭の中からフェロモン物質を探索する。

【期待される成果と意義】

1980年代に Novotony らが報告したマウスプライマーフェロモンは、2011年の Stowers グループの報告で否定され、現在までに真の実態は明らかになっていない。ヒトについても、1971年に McClintock が女性同士の性周期同調作用を発表したが、その原因フェロモン物質は発見されていない。哺乳類で唯一の報告は、2014年、村田らによるヤギのメスの発情を促すオスフェロモンの同定のみである。つまり、本研究で行う、プライマーフェロモン、受容体、神経回路の同定は、動物の行動や生殖活動を理解する上で貴重な情報となるだけでなく、ヒトでは初めての物質レベルのフェロモン研究となる。また、物質の構造決定から受容機構の解明、脳中枢作用の解析といった、天然物化学からシグナル伝達、そして脳科学まで、化学と生物の境界を超えた領域横断的な視点とアプローチをもって取り組む点において、学術的にも波及効果が大きい。応用的には、ヒトをはじめとする哺乳類の生殖制御・機能障害解決に向けて、有用な基礎的知見となることが期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Hattori, T., Osakada, T., Masaoka, T., Oyama, R., Horio, N., Mogi, K., Nagasawa, M., Haga-Yamanaka, S., Touhara, K.* and Kikusui, T.* "Exocrine gland-secreting peptide 1 is a key chemosensory signal responsible for the Bruce effect in mice" *Current Biology* 27, 3197-3201 (2017)
- Ishii, K., Osakada, T., Mori, H., Miyasaka, N., Yoshihara, Y., Miyamichi, K.*, and Touhara, K.* "A Labeled-Line Neural Circuit for Pheromone-Mediated Sexual Behaviors in Mice" *Neuron* 95, 123-137 (2017)

【研究期間と研究経費】

平成 30 年度 - 34 年度
147,600 千円

【ホームページ等】

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/biological-chemistry/>



研究課題名 極限寿命生物の活動的長寿を支える抗老化システム

京都大学・大学院農学研究科・教授 まつうら けんじ
松浦 健二

研究課題番号：18H05268 研究者番号：40379821

キーワード：寿命、抗老化、シロアリ、代謝、社会性昆虫

【研究の背景・目的】

なぜ生物は老いるのか？この問いに答えることは、至近要因的にも進化的・究極要因的にも生物学の最重要課題である。科学の歴史において、極限を知ることが、その物事の本質を理解する上で重要な役割を果たしてきた。長寿の仕組みを理解することは、人類史上、最大の課題の一つである。長寿の極限を知るとは、寿命に関する理解を飛躍的に深めるだろう。我々は、その長寿の極限をシロアリの王に見出した。

シロアリには、強力な長寿化選択の結果、王の寿命が数十年以上、つまり単独性昆虫の数百倍にもなった種が存在する。さらに、彼らは生物一般にみられる「繁殖と寿命のトレードオフ」を打破しており、巣の中で最も生殖活動を行う個体でありながら最も長命である。このような他に類を見ない「活動的長寿」を実現するシステムとはどのようなものなのか。本研究では、極限寿命をもつシロアリの王の活動的長寿を支える社会システムと分子・生理機構を最先端の分析手法を駆使して解明し、従来の短命なモデル生物の研究では到達しえない寿命研究の全く新しい領域を開拓する。

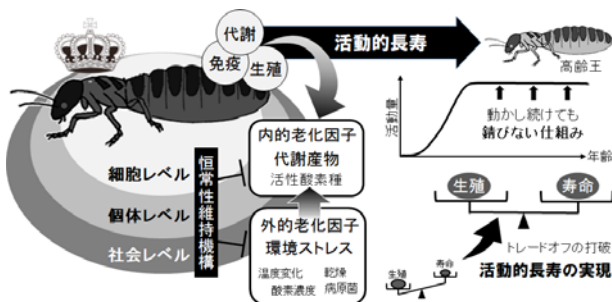


図1 全体スキーム

【研究の方法】

王の代謝活性は全体として年齢とともに変化するか、また、どの代謝経路が駆動しているのかを判別するために代謝フラックス解析を行う。水同位体比アナライザーを用いた二重標識水法により、王のエネルギー代謝を正確かつ定量的に測定する。また、¹³C 標識化合物を用いた代謝経路の特定を行う。

王や女王は後腸に共生原生生物を保有しておらず、栄養供給は専らワーカーからの給餌によってなされている。我々は巣内の長時間行動モニタリングによ

り、ヤマトシロアリのワーカーが王と女王に対して特殊な餌（ロイヤルフード）を給餌していることを発見した。このロイヤルフードの成分を特定し、その機能を明らかにする。

王室は巣外や王室以外の部屋に比べて酸素濃度が低いことが明らかになっている。王室の低酸素環境が王の活動的長寿にどのように関係しているかを明らかにするため、マルチガスインキュベータを用いて酸素濃度の異なる環境で王を維持し、代謝の比較解析を行う。

【期待される成果と意義】

昆虫という短命な分類群において、数十年に及ぶ長寿を実現するにはきわめて強力な抗老化メカニズムが必要である。しかも、それはヒトを含む哺乳動物の長寿化とは全く独立に進化したものであり、いわば長寿をもたらす未知の要因が数多く残された巨大な鉱脈である。

生物一般に、生殖活動は生体分子への酸化傷害や資源枯渇などのコストを伴うため、寿命とはトレードオフの関係にある。しかし、シロアリの王は巣の中で最も性的に活発でありながら最も長寿であり、この「活動的長寿」を実現している。活動的長寿、すなわち健康的な生活を長く持続することは、我々が追い求めている人間社会のひとつの理想である。本研究を通して、「寿命の極限」を知ることにより新規の長寿因子の特定、また幅広い生物に共通した抗老化因子の特定など多くの重要な研究成果が期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Matsuura K. et al. (2018) A genomic imprinting model of termite caste determination: Not genetic but epigenetic inheritance influences offspring caste fate. . Am Nat 191: 677-690.
- Matsuura, K. et al. (2009) Queen succession through asexual reproduction in termites. Science 323:1687.

【研究期間と研究経費】

平成 30 年度－34 年度
149,600 千円

【ホームページ等】

<http://www.insecteco.kais.kyoto-u.ac.jp/>
kenjijpn@kais.kyoto-u.ac.jp



研究課題名 脂質輸送型 ABC 蛋白質の謎に迫る

京都大学・大学院農学研究科・教授

うえだ かずみつ
植田 和光

研究課題番号：18H05269 研究者番号：10151789

キーワード：ABC 蛋白質、コレステロール、トランスポーター、動脈硬化症

【研究の背景・目的】

ヒトにおいて48種類のメンバーによって構成されるATP依存輸送体「ABC蛋白質」は、20以上のメンバーの異常が疾患と関係する。代表者は、多剤排出ポンプMDR1(ABCB1)を単離して以来、ABC蛋白質の研究を30年間積み重ね、詳細な構造解析に基づいてMDR1の作用機構を明らかにし、ABC蛋白質研究のプラットフォームを構築した。

本研究では、動脈硬化症と関連するABCA1を中心に、脂質輸送型ABC蛋白質の作用機構を、生化学的解析、細胞生物学的解析、1分子イメージング解析、クライオ電子顕微鏡解析、結晶構造解析、高速AFM観察、モデル生物など多面的な解析を統合することによって解明する。さらに、細胞膜中の膜脂質の局在をABC蛋白質が制御することで、増殖や移動などの細胞の基本的な機能を調節するしくみを明らかにする。本研究は、代表者の築いた土台の上に様々な技術をもつ共同研究者が参画することで、ABC蛋白質の作用機構と生理的役割を根本的に捉えなおし、本分野の未解明の謎を解くことを目標とする。

【研究の方法】

ABCA1はHDL(いわゆる善玉コレステロール)産生を介してコレステロール恒常性の鍵をにぎるトランスポーターである。しかし、ABCA1がどのような機構でHDLを形成するかについては、議論が大きく分かれている。本研究では、細胞生物学的解析、1分子イメージング、高速AFMなどさまざまな技術を用いた解析を重層的に行うことによって、我々が提唱している「ABCA1がコレステロールとリン脂質をアポA-Iに直接載せる」というHDL産生機構を証明する。

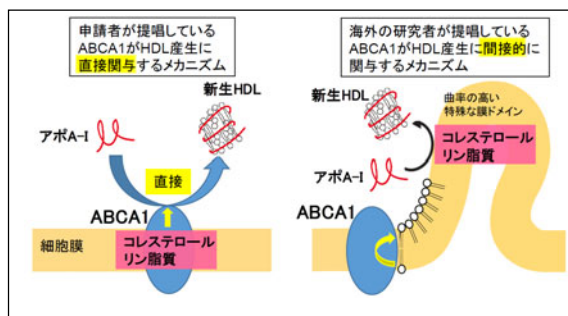


図1 HDL産生機構

代表者は、これまでにHDL産生時にABCA1が二量体化することを見出しているが、その生理的意味はいまだ不明である。モデル生物を用いてその生理的意味を解明する。さらに、代表者はABCA1が細胞膜脂質二重層中のコレステロールの分布を変化させることによって、細胞の増殖や移動などを調節していることを最近明らかにした。ABCA1の二つの活性(HDL産生活性とコレステロール分布調節活性)がどのように制御されているかを解明する。

脂質輸送型ABC蛋白質は、アルツハイマー病などの精神疾患との関連が示唆されているが、その実態はいまだ不明である。細胞生物学的解析、モデル生物を用いた解析によって、脂質輸送型ABC蛋白質と精神疾患の関連を解明する。

【期待される成果と意義】

コレステロール恒常性の破綻は、さまざまな疾患を引き起こすため、現代社会にとって大きな問題となっている。しかし、HDLの産生機構やコレステロールの生理的役割に関しては、いまだ正確に理解されているとは言い難い。本研究は、それらを正確に理解することによって、動脈硬化症、糖尿病、アルツハイマー病などの予防法や治療法の開発につながる事が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Nagata KO, et al. ABCA1 dimer-monomer interconversion during HDL generation revealed by single-molecule imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 5034-5039 (2013)
- Liu SL, et al. Orthogonal lipid sensors identify transbilayer asymmetry of plasma membrane cholesterol. *Nature Chem Biol* 13, 268-274 (2017)
- Ishigami M, et al. Temporary sequestration of cholesterol and phosphatidylcholine within extracellular domains of ABCA1 during nascent HDL generation. *Sci Rep*. 8:6170 (2018)

【研究期間と研究経費】

平成30年度-34年度
148,900千円

【ホームページ等】

<http://www.biochemistry.kais.kyoto-u.ac.jp/uedak@kais.kyoto-u.jp>