

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2014

課題番号：23248018

研究課題名(和文) ストリゴラクトン機能制御剤の創製と受容機構の解明

研究課題名(英文) Development of strigolactone function regulators and elucidation of strigolactone perception mechanisms

研究代表者

浅見 忠男 (Asami, Tadao)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号：90231901

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 38,500,000円

研究成果の概要(和文)：新植物ホルモンであるストリゴラクトンは植物の枝分かれを制御する機能を有していることから、その機能の化学的もしくは遺伝子的制御法を開発することにより、穀物の収量増加やバイオマス生産増加に利用することが可能である。本研究では、まず、D14タンパク質がストリゴラクトンを受容後加水分解し、生じたストリゴラクトンD環由来物質が活性本体としてD14と結合した結果、D14とジベレリン情報伝達因子として考えられていたDELLAタンパク質との結合を促進するというメカニズムを明らかにした。またストリゴラクトンミミックとして合成が容易でかつ活性がこれまで用いられていたGR24より活性が高いデブランオン類を開発した。

研究成果の概要(英文)：In plants, strigolactones (SLs) function as a phytohormone inhibiting shoot branching. An alpha/beta-hydrolase protein, DWARF14 (D14), and an F-box protein, DWARF3 (D3)/MAX2, have been shown to be involved in SL-signaling, although precise functions of them are largely unknown. Here we show the SL-dependent interaction of D14 with SLR1, a repressor of gibberellin signaling, the direct binding of SL to rice D14 (OsD14) protein, and the degradation of SL in vitro by D14. In addition, the X-ray crystallographic analyses of OsD14 demonstrate the existence of open cavity sufficient for perceiving SLs, the binding of hydroxy D-ring, a putative product of SL hydrolysis by D14, to the cavity, and the amino acid residues critical for the interaction with the hydroxy D-ring. Our results present a novel model for the mechanism of SL recognition and signal transduction by D14. We found debranones as new chemicals possessing SL-like activity against the rice d10-1 mutant.

研究分野：農学

キーワード：生理活性 植物 有機化学 農林水産物 遺伝子 受容体

1. 研究開始当初の背景

ストリゴラクトン (SL) は寄生雑草種子発芽促進活性・AM 菌菌糸誘導活性を有し、植物の枝分かれ抑制活性を示す植物ホルモンである。開始当初 SL の生合成経路、情報伝達経路、植物における機能等多くの点が不明であったが、一方で SL の農産業への応用については大きな期待がもたれていた。

2. 研究の目的

高特異的 SL 生合成阻害剤や高活性を示しかつ効力持続型の SL ミミックを創製・活用し、モデル植物を含む多様な植物における SL 生理機能の解明を行う。またこれまでの研究で得た SL 受容体に関する研究成果、そして本研究で創製予定の活性化化合物を利用した化学遺伝学・バイオインフォマティクスを併せ活用することにより、受容体・生合成経路・情報伝達経路の解明を行うことを目的とする。得られた成果は寄生雑草被害防除の基盤技術として応用する。

3. 研究の方法

(1) 生合成阻害剤であるが SL 合成経路に係わる酵素を標的とする。チトクローム P450 阻害剤としてはトリアゾール誘導体を合成し、カロテノイド開裂阻害剤としては NCED 阻害剤であるアバミンをリード化合物とする。活性試験は LC/MSMS による内生 SL 量の定量分析法を応用する。

(2) 高活性ストリゴラクトンミミックとしてはストリゴラクトン ABC 環部分を他の構造に置き換えてかつ D 環部分との結合構造であるエノールエーテル部分を他の構造に置換した化合物の創製を行う。活性測定は SL 欠損変異体であるイネ d10 変異体を用いて、その多分げつ形態からの回復を指標とする。

(3) ストリゴラクトン受容体として加水分解高である D14 を想定し、D14 へのストリゴラクトン結合活性や D14 の酵素活性を調べる。続いて SL 依存的に D14 と結合するタンパク質を調べるために Y2H を用いたスクリーニングを行う。得られた候補タンパク質については BiFC 法、プルダウン法を用いて解析を行う。

4. 研究成果

(1) カロテノイド開裂阻害剤でありアブジン酸生合成阻害剤であるアバミンが SL 内生量を減少させることを見出した。また合成したトリアゾール誘導体である TIS108 が強力な SL 生合成阻害能を有することを見出した。TIS108 をシロイヌナズナに処理した結果、枝分かれが増加することを確認した。

(2) 高活性型ストリゴラクトンミミックとして ABC 環部分にベンゼン環を有しエノールエーテル結合ではなく、エノール結合で直接 D 環と結合したデブラノン類が SL アゴニストとして効果を示すことを見出した (図 1)。

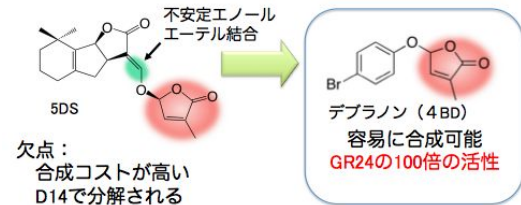


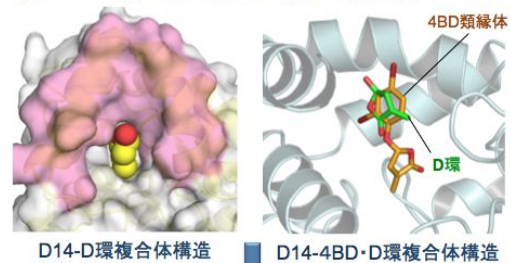
図 1

この化合物はストリゴラクトンの標準品として用いられていた GR24 の 100 倍の活性を示した。またこの化合物はイネの分げつ特異的に活性を示し、根寄生雑草発が活性は著しく低いことを明らかにした。この特性を利用した今後の作物生産法についても提案した。

(3)

D14 タンパク質にはストリゴラクトンを加水分解する活性があること、加水分解によって生じた水酸化 D 環は D14 タンパク質中で他の部位に移動して結合し、ストリゴラクトン活性を示すことを明らかにした (図 2、図 3)。これまでストリゴラクトンの加水分解により生じた水酸化 D 環には活性が無いと信じられていたが、この常識を覆す成果であった。

D 環や 4BD 類の結合様式：新化合物創製のヒント



アゴニスト、アンタゴニストの *in silico* 設計が可能

図 2

D14によるSL受容のモデル図：活性本体braninの重要性

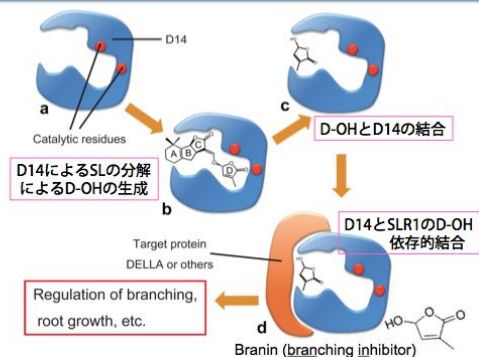


図 3

D14 タンパク質はストリゴラクトンの加水分解後に生じる水酸化 D 環依存的に DELLA タ

ンパク質と結合することを見出した。これまで DELLA タンパク質はジベレリンシグナル特異的に機能するタンパク質として知られていた常識を覆す成果である(図3)。

イネ多分げつ変異体である d53 の原因遺伝子の解析の結果シャペロンである D53 タンパク質を同定した。D53 はストリゴラクトン依存的に D14 と結合することによって SCF 複合体によりユビキチン化されプロテアソーム分解系により分解される結果、ストリゴラクトンシグナルが伝達されることが明らかとなった。つまり D53 はストリゴラクトンシグナル伝達の抑制因子であることを示している。以上の結果からこのシステムはジベレリンにおける DELLA タンパク質の機能と非常に類似していることが明らかになった。

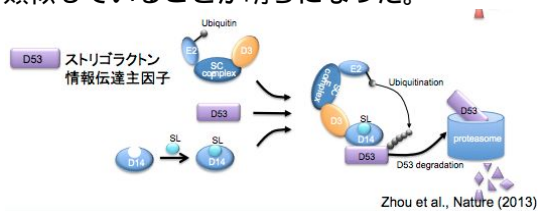


図 4

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 13 件)

Shimada, S., Komatsu, T., Yamagami, A., Nakazawa, M., Matsui, M., Kawaide, H., Natsume, M., Osada, H., Asami, T., Nakano, T. Formation and dissociation of BSS1 protein complex regulates plant development via brassinosteroid signaling. *Plant Cell* 27: 375-390 (2015) doi: 10.1105/tpc.114.131508

Ito S, Nozoe T, Sasaki E, Imai, M, Shiwa Y, Hatta M, Ishige T, Fukui K, Ito K, Sasaki Y, Nakanishi H, Nishizawa NK, Yajima S and Asami T (2015) Function of strigolactone as chemical regulator of phosphate starvation signaling. *PLoS ONE*, 10(3):e0119724. doi: 10.1371/journal.pone.0119724.

Jaroensanti N, Yoon JM, Nakai Y, Shirai I, Otani M, Park SH, Hayashi K, Nakajima M and Asami T (2014) Does the brassinosteroid signal pathway in photomorphogenesis overlap with the gravitropic response caused by auxin? *Biosci Biotech Biochem*, 78: 1839-1849.

Miyaji, T., Yamagami, A., Nakaya, Y., Sakuta, M., Osada, H., Asami, T., Arimoto, Y., Nakano, T. A master transcription factor BIL1/BZR1 in brassinosteroid signalling increases resistance against plant feeding by insect. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 78: 960-8. (2014) doi:

10.1080/09168451.2014.910093.

Fukui K, Ito S, and Asami T (2013) Selective mimics of strigolactone actions and their potential use for controlling damage caused by root parasitic weeds. *Mol Plant*, 6: 88-99.

doi: 10.1093/mp/sss138.

Yoon JM, Nakajima M, Mashiguchi K, Park SH, Otani M, and Asami T (2013) Chemical screening of an inhibitor for gibberellin receptors based on a yeast two-hybrid system. *Bioorg Med Chem Lett*, 23: 1096-1098.

doi:10.1016/j.bmcl.2012.12.007

Ito S, Umehara M, Hanada A, Yamaguchi S, and Asami T (2013) Effects of strigolactone-biosynthesis inhibitor TIS108 on *Arabidopsis*. *Plant Signaling Behavior*, 8: e24193.

doi: 10.4161/psb.24193.

Ito S, Umehara M, Hanada A, Yamaguchi S, and Asami T (2013) Tebuconazole derivatives are potent inhibitors of strigolactone biosynthesis. *J Pest Sci*, 38: 147-151. doi: 10.1584/jpestics.D13-011.

Nakamura H, Xue YL, Miyagawa T, Hou F, Qin HM, Fukui K, Shi Xuan, Ito E, Ito S, Park SH, Miyauchi Y, Asano A, Totsuka N, Ueda T, Tanokura M, and Asami T (2013) Molecular mechanism of strigolactone perception by DWARF14. *Nature Comm*, 4: 2613. doi: 10.1038/ncomms3613 (2013).

Zhou F, Lin Q, Zhu L, Ren Y, Zhou K, Shabek N, Wu F, Mao H, Dong W, Gan L, Ma W, Gao H, Chen J, Yang C, Wang D, Tan J, Zhang X, Guo X, Wang J, Jiang L, Liu X, Chen W, Chu J, Yan C, Ueno K, Ito S, Asami T, Cheng Z, Wang J, Lei C, Zhai H, Wu C, Wang H, Zheng N and Wan J (2013) D14-SCFD3-dependent degradation of D53 regulates strigolactone signaling. *Nature*, 504: 406-410. doi:10.1038/nature12878.

Ito S, Umehara M, Hanada A, Kitahata N, Hayase H, Yamaguchi S, and Asami T (2011) Effects of triazole derivatives on strigolactone levels and growth retardation in rice. *PLoS ONE*, 6: e21723. doi:10.1371/journal.pone.0021723 .

Kitahata N, Ito S, Kato A, Yoneyama K, Ueno K, Nakano T, Yoneyama K, and Asami T (2011) Abamine as a basis for new designs in regulators of strigolactone production. *J Pestic Sci*, 36: 53-57.

doi: 10.1584/jpestics.G10-72.

Fukui K, Ito S, Ueno K, Yamaguchi S, Kyojuka J, and Asami T (2011) New branching inhibitors and their potential as strigolactone mimics in rice *Bioorg Med*

〔学会発表〕(計 38 件)

1. 鈴木優志, 白井郁也, 浅見忠男, 新規オーキシン受容阻害剤の開発と解析, 第 56 回日本植物生理学会年会, 東京, 2015.3.16-18
2. 間下大樹志, 中村英光, 浅見忠男, ストリゴラクトン受容体阻害剤の探索, 日本農薬学会第 40 回大会, 東京, 2015.3.18-20
3. 小石原暉, 浅見忠男, 植物生長制御を目的としたカロテノイド酸化開裂酵素阻害剤の探索, 日本農薬学会第 40 回大会, 東京, 2015.3.18-20
4. 堅固山裕子, 北畑信隆, 鈴木優志, 安藤卓也, 浅見忠男, 新奇エチレン様活性物質 KUT15 の生理作用解析, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山, 2015.3.25-29
5. 栗本 哲哉, 姜 凱, 徐 銀卿, 中村 英光, 浅見 忠男, 植物病害抵抗性の抑制化合物の構造展開, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山, 2015.3.25-29
6. 福井康祐, 間下大樹志, 中村英光, 浅見忠男, 機能選択的ストリゴラクトンミミック『デブラン』の選択性に関する詳察, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山, 2015.3.25-29
7. Tadao ASAMI, Perception Mechanism of Strigolactones and approach for agricultural problems, PGRSA, アメリカサンフランシスコ, 2014.7.13-17 <http://www.pgrsa.org/sites/default/files/2014-invitation.pdf>
8. Tadao Asami, Selective chemicals that mimic each of SL functions, 1st International Congress on Strigolactones, オランダ ワーゲニンゲン, 2015.3.1-6 <http://www.strigolactones.org/Program/Invited-Speakers>
9. Tadao Asami, Is strigolactone an active form or a biosynthetic intermediate, 東京, 2015.3.13-15 <http://esplant.net/images/2nd%20conf.%20poster.pdf>
10. Tadao Asami, Acylpolyamines: in search of novel chemicals that improve our life, King Abdulaziz University, ジェッダ(サウジアラビア), 2014.12.4
11. 戸塚直哉, 太田鋼, 石玄, 侯峰, 宮川拓也, 福井康祐, 田之倉優, 中村英光, 浅見忠男, 加水分解酵素 D14 によるストリゴラクトン受容機構に関する研究, 日本農薬学会(2014)
12. 福井康祐, 加藤雄太, 山上大智, 中村 秀光, 浅見忠男, デブラン類はストリゴラクトンの複数の作用を個別にミミックできる, 日本植物生理学会(2014)
13. 中村英光, 薛友林, 宮川拓也, 侯峰, 秦慧民, 福井康祐, 石玄, 伊藤瑛海, 伊藤晋作, Park Seung-Hyun, 宮内裕美子, 浅野敦子, 戸塚直哉, 上田貴志, 田之倉優, 浅見忠男, ストリゴラクトン受容・シグナル伝達における D14 の機能とその分子メカニズムの解析, 日本植物生理学会(2014)
14. 永井優子, 中村英光, 長江未有, 増口潔, 山上あゆみ, 光田展隆, 高木優, 中野雄司, 浅見忠男, シロイヌナズナの光応答におけるストリゴラクトン誘導性転写因子の機能解析, 日本農芸化学会(2014)
15. 吉澤真人, 中村英光, PARK Seung-Hyun, 伊藤晋作, 福井康祐, 伊藤瑛海, 上田貴志, 宮川拓也, 田之倉優, 浅見忠男, ストリゴラクトンシグナル因子 D14 と DELLA タンパク質の相互作用の解析, 日本農芸化学会(2014)
16. 福井康祐, 加藤雄太, 山上大智, 中村英光, 浅見忠男, デブラン類はストリゴラクトンの複数の作用を個別にミミックできる, 日本農芸化学会(2014)
17. 福井康祐, 山上大智, 間下大樹志, 中村英光, 秋山康紀, 浅見忠男, ストリゴラクトンミミック『デブラン』の機能選択性に関する詳察, 植物化学調節学会第 49 回大会, 京都, 2014.10.18-19
18. 高橋郁夫, 福井康祐, 中村英光, 浅見忠男, ストリゴラクトンがハツカダイコン肥大根の成長に及ぼす影響, 植物化学調節学会第 49 回大会, 京都, 2014.10.18-19
19. 中村英光, 永井優子, 長江未有, 増口潔, 山上あゆみ, 光田展隆, 高木 優, 中野雄司, 浅見忠男, ストリゴラクトン誘導性転写因子の機能解析, 植物化学調節学会第 49 回大会, 京都, 2014.10.18-19
20. 堅固山裕子, 北畑信隆, 安藤卓也, 浅見忠男, 新奇エチレン様活性物質 KUT15 の生理作用解析, 植物化学調節学会第 49 回大会, 京都, 2014.10.18-19
21. 戸塚直哉, 加藤雄太, 侯峰, 石玄, 宮川拓也, 福井康祐, 中村英光, 田之倉優, 浅見忠男, ストリゴラクトンシグナル因子 D14 による加水分解と植物の分げつ抑制活性の関係, 日本農芸化学会(2013)
22. 福井康祐, 浅見忠男, シロイヌナズナの根毛伸長におけるストリゴラクトンミミック debranone の作用解析, 日本農芸化学会(2013)
23. 中村英光, 伊藤瑛海, Park Seung-Hyun, 伊藤 晋作, 福井 康祐, 吉澤 真人, 侯峰, 石玄, 宮川拓也, 上田貴志, 田之倉優, 浅見忠男, 枝分かれ抑制におけるストリゴラクトンとジベレリンのクロストーク, 日本農芸化学会(2013)
24. 永井優子, 長江未有, 増口潔, 中村英光, 浅見忠男, ストリゴラクトンにより誘導

- される転写因子の光応答シグナルにおける機能の解析、日本農芸化学会(2013)
25. 伊藤晋作、野副朋子、石毛太一郎、志波優、今井美咲、中西啓仁、西澤直子、浅見忠男、矢嶋俊介、シロイヌナズナにおけるリン酸欠乏とストリゴラクトンの関係、日本農芸化学会(2013)
 26. Kosuke Fukui, Shinsaku Ito, Tadao Asami, Actions of Newly Developed Alternative Strigolactone Mimics Debranones, IPGSA (2013)
 27. Kosuke Fukui, Shinsaku Ito, Tadao Asami, Debranones partially and selectively mimic strigolactone function, IPGSA (2013)
 28. 戸塚直哉、加藤雄太、侯峰、石玄、宮川拓也、福井康祐、田之倉優、中村英光、浅見忠男、ストリゴラクトン(SL)シグナル因子D14によるSL加水分解と植物、植物化学調節学会(2013)
 29. 中村英光、薛友林、宮川拓也、侯峰、秦慧民、福井康祐、石玄、伊藤晋作、戸塚直哉、宮内裕美子、浅野敦子、田之倉優、浅見忠男、ストリゴラクトン受容・シグナル伝達におけるD14の機能とその分子メカニズムの解析、植物化学調節学会(2013)
 30. 吉澤真人、中村英光、Park Seung-Hyun、伊藤晋作、福井康祐、伊藤瑛海、上田貴志、浅見忠男、ストリゴラクトンシグナル因子D14とDELLAタンパク質の相互作用の解析、植物化学調節学会(2013)
 31. H. Nakamura, Y.L. Xue, F. Hou, H.M. Qin, K. Fukui, X. Shi, T. Asami, Molecular mechanism of strigolactone perception by DWARF14, The 1st Stream Meeting COST Action FA1206(2013)
 32. 福井康祐、伊藤晋作、浅見忠男、新規ストリゴラクトンアナログ Debranone の構造展開、植物化学調節学会第46回大会(2011)
 33. 戸塚直哉、伊藤晋作、浅見忠男、P450阻害剤処理に伴うストリゴラクトン内生量の変動、農薬デザイン研究会(2012)
 34. シロイヌナズナの根の形態形成における新規ストリゴラクトンミミックの作用解析、福井康祐、白井郁也、林謙一郎、浅見忠男、日本植物生理学会(2012)
 35. Fukui K., Ito S., Nakamura H., Kyoizuka J., Yoneyama K., Yamaguchi S., Asami T. Target selective strigolactone analogues. 11th World Congress on Parasitic Plants(2011)
 36. Nakamura H., Nagae M., Ito E., Mashiguchi K., Ueda T., Asami T. Screening and identification of MAX2-interacting factors for the isolation of novel strigolactone-signaling factors. 11th World Congress on Parasitic Plants (2011)
- 〔図書〕(計 4件)
- Nakano Takeshi and Tadao Asami, "Brassinosteroid signaling and biosynthesis", in Plant Chemical Biology, Eds by Dominique Audenaert and Paul Overvoorde, Wiley (2014) ISBN: 978-0-470-94669-5.
- Nakamura H and Asami T (2014) Target Sites for chemical regulation of strigolactone signaling. Front Plant Sci, 5: 623.
- 中村英光、宮川拓哉、田之倉優、浅見忠男、「ストリゴラクトン受容体の構造とシグナル伝達のしくみ」、化学と生物、53:171-176、2015.
- 浅見忠男「変化する植物ホルモンの定義と研究最前線」、比較内分泌学、41: 16-19, 2015.
- 〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)
- 〔その他〕
ホームページ等
<http://pgr.ch.a.u-tokyo.ac.jp/>
6. 研究組織
(1)研究代表者
東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授 浅見忠男 (ASAMI, Tadao)
- 研究者番号：90231901