

## 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：32643

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380064

研究課題名(和文) 高等および下等植物におけるプロゲステロンの存在と生殖器形成調節機能

研究課題名(英文) Occurrence of progesterone in higher and lower plants and its role in sexual organ differentiation

研究代表者

横田 孝雄 (YOKOTA, Takao)

帝京大学・理工学部・教授

研究者番号：40011986

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：プロゲステロンは高等植物からシダ、コケさらには微生物にも存在することを明らかにした。また、シロイヌナズナ、タバコ、トウモロコシを用いて、プロゲステロンがプレグネノロンから合成されることを明らかにした。トウモロコシTS2遺伝子が、プロゲステロン生合成遺伝子である可能性を示した。ジャスモン酸がプロゲステロンの生合成に影響を与える可能性があると考えられる。タバコにおいて、プロゲステロンの合成能は花部において高いことが判明した。また、プロゲステロンは5 $\alpha$ -ジヒドロプロゲステロン、アロプレグナノロン、エピアロプレグナノロンに代謝されることも明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Occurrence of progesterone was found to spread widely in the plant kingdom ranging from higher plants to lower plants including mosses and ferns. Furthermore some species of microorganisms were found to produce progesterone. Deuterated pregnenolone and progesterone were synthesized to clarify the synthesis and metabolism of progesterone. Using these deuterated steroids, it was found that pregnenolone is converted to progesterone which, in turn, is further metabolized to 5 $\alpha$ -dihydroprogesterone, allopregnanolone and epiallopregnanolone. It seems that the maize gene TS2 is involved in the synthesis of progesterone. It was also found that jasmonic acid influences the synthesis of progesterone. In addition, tobacco flowers have higher ability to convert pregnenolone to progesterone than leaves.

研究分野：植物ホルモン

キーワード：プロゲステロン 性分化 トウモロコシ 生合成 代謝 ステロイド

## 1. 研究開始当初の背景

(1) プロゲステロンはヒトの黄体ホルモンであるが、植物に広く存在し、またヒトのプロゲステロン受容体のホモログと考えられる遺伝子が植物に存在することを明らかにしてきた。また、プロゲステロンの生合成前駆体であるプレグネノロンならびにその還元代謝と考えられる 5 $\beta$ -ジヒドロプロゲステロン、アロプレグナノロンおよびエピアロプレグナノロンも植物に内在していることを明らかにしてきた。

(2) プロゲステロンの植物における生理作用に関しては、このステロイドがヒトにおいては黄体ホルモンであるとの観点から、植物における生殖成長、特に生殖器分化に関する生理活性を探索してきた。その結果、プロゲステロンはシダ(カニクサ)の造精器誘導阻害作用を数マイクロモルの濃度で示すことを明らかにした。この作用は、他の動物ステロイドホルモンやブラシノステロイドには全く認められないことから、プロゲステロンに特有な現象である。

## 2. 研究の目的

(1) プロゲステロンの生合成・代謝経路はジギタリスや数種の微生物では知られているが、それ以外の植物ではほとんど不明である。そこで、プロゲステロンの生合成代謝経路を明らかにするとともに、生合成代謝に係る遺伝子を明らかにする。

(2) プロゲステロンの植物における生理作用、特にトウモロコシにおけるオス花とメス花の分化におけるプロゲステロンの役割についても追究する。

## 3. 研究の方法

(1) プロゲステロンの生合成および代謝経路を確実に証明するために重水素標識体を

つくり、タバコやトウモロコシなどを用いて代謝実験を行なって、代謝物を LC-MS/MS または GC-MS などの質量分析法により同定定量する。

(2) プレグネノロンをプロゲステロンに酸化する酵素と推定されるトウモロコシ TS2 タンパク質について組み替え酵素を作り、プレグネノロンをプロゲステロンに酸化する機能があるか調べる。

(3) プロゲステロンの生理作用解明のためには、トウモロコシの雄花の雌性化変異体 tasselseed 1 (ts1) や tasselseed 2 (ts2) に処理して、雄花に戻るか調べる。

## 4. 研究成果

(1) プロゲステロンの生合成と代謝  
アラビドプシスに D<sub>3</sub>-プレグネノロンおよび D<sub>3</sub>-プロゲステロンを代謝させることにより、プレグネノロンはプロゲステロンに代謝され、プロゲステロンは 5 $\beta$ -ジヒドロプロゲステロン、アロプレグナノロンおよびエピアロプレグナノロンに代謝されることが分かった。一方、タバコにおいても同様な結果が得られたが、プレグネノロンからプロゲステロンへの代謝能は花部において高く、葉の約 3 倍に達した。

(2) ジギタリスや緑膿菌におけるプレグネノロンからプロゲステロン合成酵素と推定されている 3 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼと相同性の高い遺伝子としてトウモロコシの TS2 遺伝子が検索された。そこで、大腸菌組み替え体を作成してプレグネノロンを代謝させたところプロゲステロンへの変換が認められた。このことから、トウモロコシでは TS2 遺伝子がプロゲステロン合成酵素と考えられる。

(3) ts2 変異体では頂花がメス花に変異する。したがって、プロゲステロンはトウモロコシの頂花がオス花に分化するために重要な役割をもっていることが考えられる。しかしながら、ts2 変異体にたいしてプロゲステロン処理を行なってもオス花化は認められなかった。これはプロゲステロンが適切な溶媒に難溶なこと、与える時期を特定することが困難なこと、茎頂分裂部位へ到達させるのが難しいことなどによると考えられる。現在再試験をくり返している。

(4) プロゲステロンの合成はジャスモン酸の影響を受ける可能性がある。トウモロコシの ts1 変異体はジャスモン酸欠損であることが知られている。TS1 遺伝子は TS2 遺伝子の発現を助長することが知られている。したがって、現在のところ、プロゲステロンの合成はジャスモン酸によって支配されていると仮定している。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計6件)

M. Tamiru, J.R. Undan, H. Takagi, A. Abe, K. Yoshida, J. Q. Undan, S. Natsume, A. Uemura, H. Saitoh, H. Matsumura, N. Urasaki, T. Yokota, R. Terauchi, A cytochrome P450, OsDSS1, is involved in growth and drought stress responses in rice (*Oryza sativa* L.), Plant Mol. Biol., 査読有, Vol.88, 2015, pp.85-99, DOI : 10.1007/s11103-015-0310-5

T. Wagatsuma, Md. S. H. Khan, T. Watanabe, E. Maejima, H. Sekimoto, T. Yokota, T. Nakano, T. Toyomasu, K. Tawaraya, H. Koyama, M. Uemura, S. Ishikawa, T. Ikka, A. Ishikawa, T. Kawamura, S. Murakami, N. Ueki, A.

Umetsu, and T. Kannari, Higher sterols content regulated by CYP51 with concomitant lower phospholipids content in membranes is a common strategy for aluminium tolerance in several plant species, J. Exp. Bot., 査読有, Vol.66, No.3, 2014, pp.907-918, DOI : 10.1093/jxb/eru455

M. Asahina, Y. Tamaki, T. Sakamoto, K. Shibata, T. Nomura, T. Yokota, Blue light-promoted rice leaf bending and unrolling are due to up-regulated brassinosteroid biosynthesis genes accompanied by accumulation of castasterone. Phytochemistry, 査読有, Vol.104, 2014, pp.21-29, DOI : org/10.1016/j.phytochem.2014.04.017

M. Tamiru, A. Abe, Utsushi H, K. Yoshida, H. Takagi, K. Fujisaki, J.R. Undan, S. Rakshit, S. Takaichi, Y. Jikumaru, T. Yokota, M.J. Terry, R. Terauchi, The tillering phenotype of the rice plastid terminal oxidase (PTOX) loss-of-function mutant is associated with strigolactone deficiency, New Phytol., 査読有, Vol.201, 2014, pp.116-131, DOI 10.1111/nph.12630

山根久和、横田孝雄、浅見忠男、植物ホルモンのアゴニストとアンタゴニスト、植物の生長調節、査読有、Vol.48、No.1、2013、pp.79-92

T. Ohnishi, B. Watanabe, S. Fujioaka, B. Godza, L. Hategan, K. Shibata, T. Yokota, M. Szekeres, M. Mizutani, CYP90A1/CPD, a brassinosteroid biosynthetic cytochrome P450 of Arabidopsis, catalyzes C-3

oxidation, J. Biol. Chem., 査読有, Vol. 287, 2012, pp.31551-31560, DOI 10.1074/jbc.M112.392720

〔学会発表〕(計4件)

横田孝雄、湯本絵美、柴田恭美、ブラシノステロイドによるジャスモン酸の生合成の調節、植物化学調節学会第49回大会、2014年10月17日～10月19日、京都大学(京都府、京都市)

内田健一、横田孝雄、重水素化プロゲステロンおよび関連する重水素化誘導体の合成、植物化学調節学会第48回大会、2013年10月31日、11月1日、新潟大学(新潟県、新潟市)

湯本絵美、柴田恭美、内田健一、横田孝雄、高等植物におけるプロゲステロンの生合成と代謝、植物化学調節学会第48回大会、2013年10月31日、11月1日、新潟大学(新潟県、新潟市)

大西利幸、B. Godza、渡辺文太、藤岡昭三、L.Hategan、柴田恭美、横田孝雄、M. Szekeres、水谷正治、シトクロム P450 酵素 CYP90A1 はブラシノステロイド C-3 位酸化酵素である、植物化学調節学会第47回大会、2012年10月27日、28日、山形大学(山形県鶴岡市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

横田 孝雄 (YOKOTA, Takao)  
帝京大学・理工学部・教授  
研究者番号: 40011986

### (2) 研究分担者

なし