

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24651236

研究課題名(和文) 内因性天然物リガンドを用いる食虫植物の活動電位発生機構に関する化学的研究

研究課題名(英文) Molecular mechanism of trap-snapping movement of carnivorous plant

研究代表者

上田 実 (Ueda, Minoru)

東北大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60265931

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：ハエトリソウの捕虫運動とアメリカネムノキの就眠運動は同一の内因性化学物質ジャスモン酸グルコシド(JAG)で引き起こされる。これを用いたエナンチオディファレンシャル実験を行うために、立体化学の異なる4種のハイブリッド型化学プローブを合成した。

また、運動細胞をモデル系として、JAGによる活性酸素生産を確認した。また、活性酸素によって活性化されるカリウムチャンネルの同定も進んだ。しかし、このチャンネルの速度論的解析から捕虫運動のような早い運動には別のカリウムチャンネルが関与するシステムを考える必要も示唆された。

研究成果の概要(英文)：We synthesized four stereo-hybrids of molecular probe based on the structure of JAG. JAG promotes ROS production in *Samanea* motor cell, a model motor cell of plant, and then activate outward-directed K⁺-channel. However, different mechanism can be involved in the rapid leaf-closure of *Dionaea*.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：食虫植物 ハエトリソウ ジャスモン酸グルコシド

1. 研究開始当初の背景

食虫植物ハエトリソウは、特異な2枚の捕虫葉で昆虫を挟むように捕らえ、消化する最も有名な食虫植物である。進化論のダーウィンは、晩年、植物の研究に没頭したことがよく知られているが、彼はハエトリソウを「世界で最も不思議な生物」と呼び、集中的に研究を行った。ハエトリソウの捕虫運動は、捕虫葉中の「感覚毛」に30秒以内に二回触れると起こり、一回の刺激では決して起こらない。これは、植物における「記憶」とも言うべき現象である。1873年に、Burdon-Sanderson(ロンドン大)によって、ハエトリソウの運動に伴って活動電位が発生する事が報告されたが(Proc. Royal Soc, London. 1873, 21, 495.)、その後130年、活動電位発生と「記憶」現象に関する検討は行われなかった。ごく最近申請者らは、ハエトリソウの運動を引き起こす配糖体分子 β -D-glucopyranosyl 12-hydroxyjasmonic acid の同定に成功した(ChemBioChem, 2010, 11, 2378.)。2回の刺激によって段階的に分泌された1の濃度が閾値を超え、活動電位発生を経て運動が起こることが、「記憶」の分子的本質と考えられる。

2. 研究の目的

動物とは異なる進化を経た植物の一部に、生物種を超えて「神経伝達」のような生物現象が見られる。これは、一部の植物に、生物普遍的な生理機能のプロトタイプが保存されていることを示す。本申請では、食虫植物に見られる「活動電位」のプロトタイプとも言うべき生物現象を起点に、その制御に関与する生理活性分子をツールとして用い、食虫植物中のプロトタイプ神経細胞の探索および、「神経伝達」の基本的メカニズムに関する生物有機化学的研究を行う。

ハエトリソウと高等動物における活動電位発生機構は互いに酷似しており、いずれの場合にも、化学物質の蓄積が一定の閾値に達すると活動電位が発生する。動物とは遺伝的に異なる食虫植物に、特異な「記憶」現象が見られることから、これは遺伝的に保存された神経伝達現象のプロトタイプであると推定される。しかし、「記憶」現象の解析や、高等動物神経伝達との比較を行うには、食虫植物の神経細胞に相当する組織の同定と、それを用いた実験系の確立が必要である。

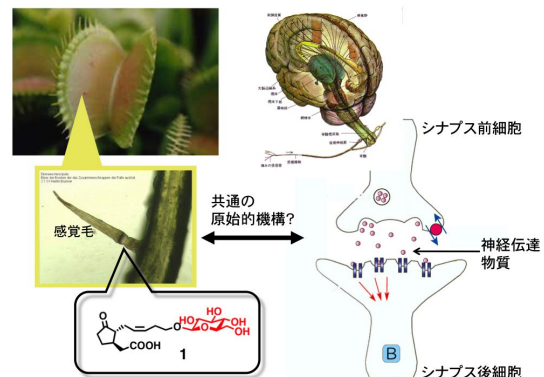
ハエトリソウの捕虫運動は、感覚毛への複数回の刺激による活動電位の発生後、電位が葉全体に伝播することで誘導される。この過程には、活動電位を伝える“神経”細胞が関与すると考えられるが、未だその実体は不明である。本研究では、最近同定した β -D-glucopyranosyl 12-hydroxyjasmonic acid を用いた標的細胞探索により、未知の“植物神経細胞”の発見を目指す。配糖体が、直接的/間接的にイオンチャネルを活性化する機構を明らかにすることで、食虫植物の原始

的な「記憶」現象の解明に挑戦する。

3. 研究の方法

申請者らが同定した β -D-glucopyranosyl β -D-glucopyranosyl 12-hydroxyjasmonic acid は、ハエトリソウの葉の運動を引き起こすが、その鏡像体には活性がない(ChemBioChem, 2010, 11, 2378.)。配糖体1は、標的細胞に作用して活動電位発生を誘導すると考えられる。我々が開発したエナンチオディファレンシャル蛍光標識化法(Tetrahedron, 2006)を用いて標的細胞の同定を目指す。

予備実験として、アメリカネムノキ運動細胞を用いる系での各種検証実験を行った。本系は、既に実験系として確立されており、細胞収縮誘導によって、合成した分子プローブの生物学的評価をおこなうことが出来る。 β -D-glucopyranosyl 12-hydroxyjasmonic acid は、アグリコン部位、グリコン部位の各々が光学活性体であり、各々の鏡像体を組み合わせて、4種の立体科学的ハイブリッドを合成することが出来る。これらを合成し、上記の系で生物学的評価を行う。これと並行して、アメリカネムノキ運動細胞系において、 β -D-glucopyranosyl 12-hydroxyjasmonic acid が誘導する細胞応答を調べる。特に本系において機能するイオンチャネルの特定は、運動を直接的に引き起こす原因となることから重要である。

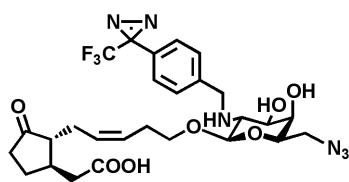


4. 研究成果

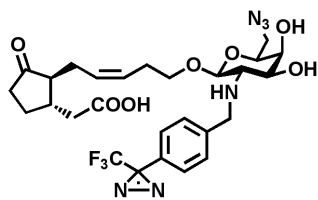
ハエトリソウの捕虫運動とアメリカネムノキの就眠運動は同一の内因性化学物質 β -D-glucopyranosyl β -D-glucopyranosyl 12-hydroxyjasmonic acid (JAG) で引き起こされる。これを用いたエナンチオディファレンシャル実験を行うために、立体化学の異なる4種のハイブリッド型化学プローブ、すなわち、 β -D-galactopyranosyl 12-OHJA 型(2)、 β -L-galactopyranosyl 12-OHJA 型(3)、 β -D-galactopyranosyl ent-12-OHJA 型(4)、 β -L-galactopyranosyl ent-12-OHJA 型(5)を合成した(次ページ)。これらを、アメリカネムノキ運動細胞を用いる細胞収縮実験に付したところ、天然型のみが細胞収縮を誘導した

(下図)。この結果は、アグリコン部分のみならず、グリコン部分の立体化学も細胞収縮活性に大きく寄与することを示す興味深い結果であった。

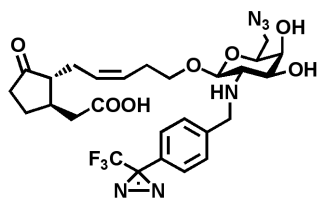
引き続き、運動細胞をモデル系としたシグナ



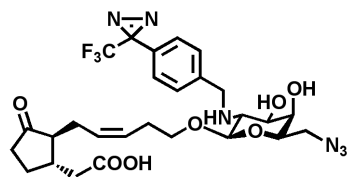
1



2



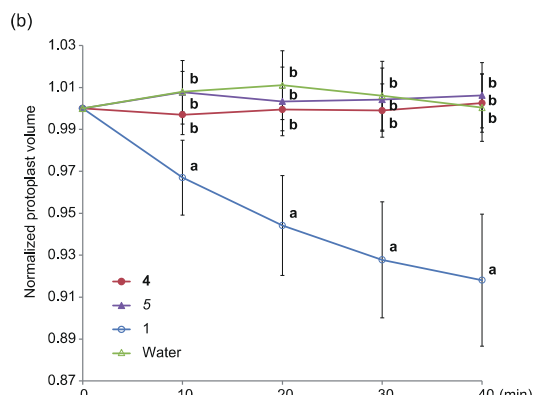
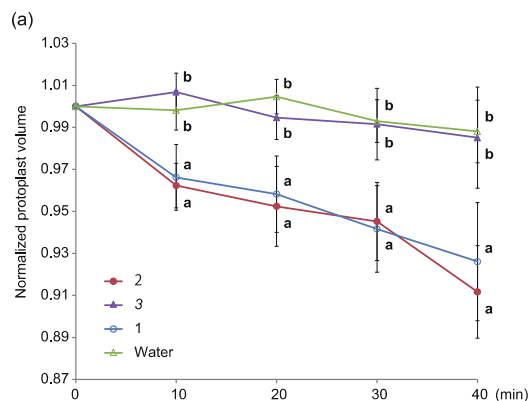
3



4

ル伝達に関する研究を行い、JAGには活性酸素発生を促進する機能が見いだされた。また、活性酸素種によって活性化されるカリウムチャンネルの同定も進んだ。本チャンネルは、カリウムイオン選択的であるが、その輸送速度には非常に特徴的な遅延が認められた。この遅延は、ハエトリソウの捕虫運動のような素早い運動には確認できないことから、捕虫運動を直接的に誘導するチャンネルはこれとは別であると推定された。素早い運動とゆっくりした運動にそれぞれ異なるチャンネルが関与することを初めて物質レベルで証明できた。

しかし、素早い運動に関与するシステムを探索するには、ハエトリソウの全ゲノム情報、あるいはトランスクリプトーム解析が必要であり、今後の重要な課題であると考えた。



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2件)

S. Tamura, S. Inomata, M. Ebine, T. Genji, I. Iwakura, M. Mukai, M. Shoji, T. Sugai, M. Ueda. Triazolyl-phenyl linker system enhancing the aqueous solubility of a molecular probe and its efficiency in affinity labeling of a target protein for jasmonate glucoside *Bioorg Med Chem Lett* 査読有 23 (188-193) 2013

DOI 10.1016/j.bmcl.2012.10.124

M. Ueda, G. Yang, Y. Ishimaru, S.

Tamura, T. Itabashi, K. Kiyota, S. Kuwahara, S. Inomata, M. Shoji, T. Sugai

Hybrid Stereoisomers of Compact Molecular Probes Based on Jasmonic Acid Glucoside: Syntheses and Biological Evaluations, *Bioorg. Med. Chem.*, 査読有 2(5832-5843) 2012 DOI

2012 DOI

dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2012.08.003

(学会発表)(計4件)

Tayaka Oikawa, Yasuhiro Ishimaru, Shin Hamamoto, Nobuyuki Uozumi, Minoru Ueda :

Study on the Effects of Silyl Substituents of Diphenylprolinol Silyl Ethers in Organocatalyst-mediated Asymmetric Reactions (ポスター)

平成 25 年度化学系学協会東北大会及び日本化学会東北支部 70 周年記念国際会議 2013 年 9 月 30 日仙台 (東北大学)

Haruka Oishi, Maiko Okada, Satoru Tamura, Minoru Ueda:

Comprehensive analysis of potassium channels in Samanea saman (ポスター) 平成 25 年度化学系学協会東北大会及び日本化学会東北支部 70 周年記念国際会議 2013 年 9 月 30 日仙台 (東北大学)

Ryo Tashita, Syusuke Egoshi, Minoru Ueda: Detection and Purification of Jasmonate Glucoside Target Protein (優秀ポスター) 平成 25 年度化学系学協会東北大会及び日本化学会東北支部 70 周年記念国際会議 2013 年 9 月 30 日仙台 (東北大学)

上田 実: 「植物の運動」の化学生物学 第 12 回学習院大学生命科学シンポジウム(招待講演)2012 年 11 月 20 日東京(学習院大学)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等 該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上田 実 (Ueda Minoru)
東北大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号: 60265931

研究者番号:

(2) 研究分担者
該当なし ()

研究者番号:

(3) 連携研究者
該当なし ()

研究者番号: