

令和 4 年 4 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2018～2021

課題番号：18KK0162

研究課題名（和文）天然物立体異性体を用いる植物ホルモン活性制御

研究課題名（英文）Regulation of plant hormone receptor using stereochemical isomers of a natural product

研究代表者

上田 実 (UEDA, Minoru)

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号：60265931

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：植物毒素の立体異性体ライブラリーを化学合成によって構築し、これらの植物ホルモン受容体サブタイプへの親和性の網羅的評価と、その生物活性をスペインCNB-CSICとの国際共同研究によって実施した。立体異性体ライブラリーの評価を、シロイヌナズナ、トマト、イネの3種の植物を用いて行い、核受容体サブタイプにユニークな選択的親和性を示す立体異性体をそれぞれ見出すことに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

通常では、植物の病原菌感染耐性は、植物の生長阻害とトレードオフの関係にあるが、本手法ではこれらを切り離して活性化できることが明らかになり、既存の遺伝学的手法と比較して、ケミカルバイオロジー手法の優れた点を示すことができた。本分子は植物ホルモンのシグナル伝達の内の一部のみを選択的に活性化する一方で、遺伝子発現の抑制は歩と度起こさないことが明らかになった。これによって、植物の生長防御には、細胞壁の生合成を抑制する遺伝子群の発現が関与することが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：A stereoisomer library of phytotoxins was constructed by chemical synthesis, and a comprehensive evaluation of their affinity for phytohormone receptor subtypes and their biological activity was conducted in an international collaboration with CNB-CSIC, Spain. The stereoisomer library was evaluated using three plant species, *Arabidopsis thaliana*, tomato, and rice, and we succeeded in finding stereoisomers each showing unique selective affinity to nuclear receptor subtypes.

In this study, we focused on stereoisomers that showed affinity to the receptor subtypes in *Arabidopsis thaliana* and analyzed their mechanisms of action in detail. As a result, we succeeded in developing molecules that selectively activate receptor subtypes of phytohormone receptors that are involved in the induction of plant resistance to microbial infection. The molecule selectively activates only a portion of phytohormone signaling, while suppression of gene expression does not occur to any degree.

研究分野：天然物ケミカルバイオロジー

キーワード：植物ホルモン ジャスモン酸 受容体 遺伝的冗長性

### 1. 研究開始当初の背景

大村博士のノーベル生理学医学賞受賞に見られるように、天然物は極めて強力かつ魅力的な生物活性を持つ。古くから天然物は「鍵と鍵穴」の関係で、生体内の受容体に特異的に作用すると考えられてきた(図1)。しかし近年、その標的タンパク質の同定と作用機構解明が進み、多くの天然物は複数のオフターゲット(「外れ」標的)に結合して副作用を示すことが明らかになった。天然物は、複数の標的分子との結合に必要な構造要素を兼ね備えており、「鍵束」のように複数の標的に結合する(図1、*Chem. Lett.*, 2012, 7, 658)。このため、生物研究を革新するツール分子として天然物を利用するには、その標的選択性をチューニングし、副作用を低減させるなど、生物活性を自在に制御する手法が必須である。

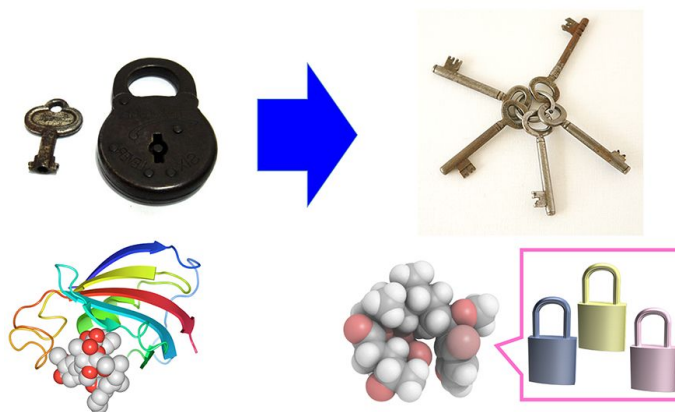


図1 天然物は「鍵束」として作用する

### 2. 研究の目的

JA-Ile は、植物の病原菌感染耐性や食虫害耐性の強化(植物免疫)、二次代謝産物の生産誘導など魅力的な活性を持つが、その代償として生長の抑制を引き起こす。このトレードオフ関係が、JA-Ile の農業応用を大きく制限している。JA-Ile が植物免疫と生長阻害を同時に引き起こす理由は、これらのシグナル伝達の統合的制御を担うユニークな受容体(COII-JAZ 共受容体)にある。JA-Ile は、F-box タンパク質 COII とリプレッサータンパク質 JAZ 間の相互作用(PPI; Protein-Protein Interaction)を誘導する「糊」として働き、13種存在するJAZサブタイプとCOII間にPPIを誘導する。各JAZサブタイプは、特定の転写因子と相互作用して、それぞれ異なる生理応答の制御に関与するため、上記トレードオフ関係を含む多様な応答が同時に誘起される。

### 3. 研究の方法

申請者らは、JA-Ile の構造ミミック天然物コロナチン ( 図 2、COR ) の 4 種の立体異性体から、2 種の JAZ サブタイプに選択性を示す分子 NOPh を開発した。NOPh は、副作用である生長抑制を伴うことなく植物免疫を活性化した。JAZ サブタイプ選択的な PPI アゴニスト NOPh は、これまで不可避と考えられていた「生長抑制」と「免疫強化」のトレードオフを解決し、画期的な植物機能調節剤の実現が期待される。本研究では、海外研究機関との密な連携によって、1 の全 16 立体異性体ライブラリを用いた「ligand point mutation」を詳細に検討し、天然物の示す多様な生物活性を自在に制御する化学的新概念を創出すると共に、有用分子の開発を行う。天然物の立体異性体を用いる標的選択性チューニング ligand point mutation は、過去に例のない独創的な方法論である。

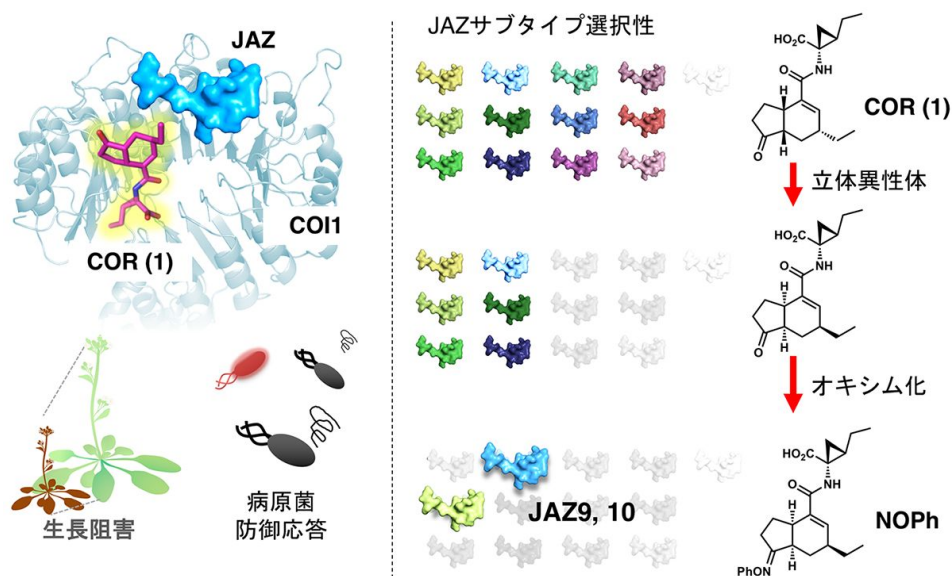


図 2 コロナチン ( 1 ) の標的選択性と生物活性のチューニングに成功

#### 4 . 研究成果

申請者らは、JA-Ile の構造ミミック天然物コロナチン ( 図 2、COR ) の構成成分であるコロナファシン酸、コロナミン酸の大量合成法を確立し、これを用いて COR の全 16 種類の立体異性体からなる化合物ライブラリーを構築した。その、シロイヌナズナの COI1-JAZ 共受容体ペア ( 13 種 )、トマトの SiCOI1-SiJAZ 共受容体ペア ( 13 種 )、イネの OsCOI1s-OsJAZs 共受容体ペア ( 45 種 ) に対する親和性を網羅的に評価した結果、それぞれにおいて、受容体サブタイプに高い選択性をもつ立体異性体を見出した。特にシロイヌナズナに関しては、1 種類の受容体サブタイプに特異的に作用する異性体を見出し、その植物体内における作用と遺伝子発現を解析した。その成果より、遺伝的に冗長に機能する JAZ のうち、ただ 1 種類の JAZ が制御する遺伝子発現を明らかにすることに成功した。成果は現在、論文投稿中である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takaoka Yousuke, Miyagawa Saki, Nakamura Akinobu, Egoshi Syusuke, Tsukiji Shinya, Ueda Minoru	4. 巻 10
2. 論文標題 Hoechst-tagged Fluorescein Diacetate for the Fluorescence Imaging-based Assessment of Stomatal Dynamics in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5333
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-62239-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kato Nobuki, Miyagawa Saki, Nomoto Haruna, Nakayama Misuzu, Iwashita Makoto, Ueda Minoru	4. 巻 32
2. 論文標題 A scalable synthesis of (+) coronafacic acid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chirality	6. 最初と最後の頁 423 ~ 430
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/chir.23172	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Watanabe Raku, Kato Nobuki, Hayashi Kengo, Tozawa Sho, Ogura Yusuke, Kuwahara Shigefumi, Ueda Minoru	4. 巻 9
2. 論文標題 Stereoselective Syntheses of all the Possible Stereoisomers of Coronafacic Acid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ChemistryOpen	6. 最初と最後の頁 1008 ~ 1017
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/open.202000210	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Wang Jianxin, Sakurai Haruka, Kato Nobuki, Kaji Takuya, Ueda Minoru	4. 巻 11
2. 論文標題 Syntheses of dinor-cis/iso-12-oxo-phytodienoic acid (dn-cis/iso-OPDAs), ancestral jasmonate phytohormones of the bryophyte Marchantia polymorpha L., and their catabolites	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2033
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-81575-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 N. Kato, S. Miyagawa, H. Nomoto, M. Nakayama, M. Iwashita, M. Ueda	4. 巻 32
2. 論文標題 Scalable synthesis of (+)-coronafacic acid,	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chirality	6. 最初と最後の頁 423-430
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chir.23172	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y. Takaoka, S. Miyagawa, A. Nakamura, S. Egoshi, S. Tsukiji, M. Ueda	4. 巻 10
2. 論文標題 Hoechst-tagged Fluorescein Diacetate for Fluorescence Imaging-based Assessment of Stomatal Dynamics in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 5333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-62239-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岡田 憲典 (Okada Kazunori) (20312241)	東京大学・生物生産工学研究センター・准教授  (12601)	
研究分担者	高岡 洋輔 (Takaoka Yosuke) (80599762)	東北大学・理学研究科・講師  (11301)	
研究分担者	宮本 皓司 (Miyamoto Kuji) (90721514)	帝京大学・理工学部・講師  (32643)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	加治 拓哉  (Kaji Takuya)  (80835520)	東北大学・理学研究科・助教     (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関