

機関番号：11301

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20310128

研究課題名 (和文) 植物のイオンチャネル制御に関与する膜タンパク質の生物有機化学

研究課題名 (英文) Bioorganic studies on membrane protein involved in the regulation of plant ion channels

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

研究成果の概要 (和文)：

マメ科植物アメリカネムノキの就眠物質であるジャスモン酸グリコシド (JAG) を基に、Click Chemistry 型プローブを合成し、標的タンパク質 MTJG の段階的タギング実験を行った。また、運動細胞プロトプラストを用いた実験により、天然型 JAG の添加で運動細胞の体積収縮が起こることが確認された。さらに、JAG は植物のストレス応答反応、ジャスモン酸応答性遺伝子発現誘導、エクオリン導入ダイズ細胞でのカルシウム応答を引き起こさないことを明らかにし、JAG はジャスモン酸類と全く異なる分子機構で働くことを示した。

研究成果の概要 (英文)：

We demonstrate that leaf-closure of isolated *Samanea* pinnae is induced upon stereospecific recognition of (-)-LCF, but not by its enantiomer, (+)-*ent*-LCF. (-)-LCF was completely inactive with respect to activation of typical JA responses, such as induction of JA-responsive genes, or accumulation of plant volatiles, generally considered to be mediated by JA-Ile in a COI1-dependent fashion.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2009 年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2010 年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
年度			
年度			
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：天然物有機化学・生物有機化学

科研費の分科・細目：生物分子科学

キーワード：ジャスモン酸グリコシド、コロナチン、分子プローブ、就眠運動、気孔孔辺細胞

## 1. 研究開始当初の背景

植物ホルモンの一種ジャスモン酸の誘導体である就眠物質 ジャスモン酸グリコシド (JAG) は、アメリカネムノキの就眠運動を

引き起こす。上田らは、JAG が運動細胞原形質膜上の膜タンパク質 MTJG に結合することを示した。就眠運動は、イオンチャネルの活性制御によって起こる現象であり、MTJG の分

子量などの情報より、運動細胞のイオンチャネル活性制御には、既知のメカニズム（電位依存性制御や GPCR による制御）とは異なる新規メカニズムの存在が示唆されている。

一方、気孔の開閉現象は、就眠運動と同じく、イオンチャネルの開閉に伴う孔辺細胞の体積変化によって引き起こされる現象としてよく知られており、7-イソジャスモン酸の誘導体コロナチン (COR) は、気孔の開孔を引き起こす。

以上のように、JAG と COR は、同じジャスモン酸の *cis/trans* 異性体の誘導体であるにも関わらず、各々、外向き、内向きのイオンチャネルを活性化し、活性は互いに大きく異なる。植物イオンチャネル制御には、互いに構造類似性をもつ分子が逆の作用をもつという興味深い可能性が示唆された。

## 2. 研究の目的

マメ科植物アメリカネムノキの就眠物質ジャスモン酸グリコシドおよび、植物毒素コロナチンは、ともにジャスモン酸の誘導体である。しかしこれらは、それぞれ植物運動細胞の収縮、気孔孔辺細胞の膨潤と、逆の細胞体積変化を誘導する。これらの体積変化に関与するイオンチャネルに関して、生物有機化学的研究を行う。

## 3. 研究の方法

就眠物質ジャスモン酸グリコシドおよび、植物毒素コロナチンの各々について、分子プローブを含む各種誘導体合成を行う。これらを用いて、生化学、細胞生理学、植物生理学、などの各種視点から応答解析を行う。特に、ジャスモン酸グリコシドについては、生物個体现象の誘導という観点から、化合物の作用部位の特異性に注意した解析を行う。

## 4. 研究成果

マメ科植物アメリカネムノキの就眠物質を基に、Click Chemistry 型プローブの合成を行った。D-糖、および L-糖を含む完全な鏡像体型アジ化プローブ並びに、エピトープペ

プチドである FLAG ユニットを含むアルキンユニットの合成により、標的タンパク質 MTJG の段階的タギング実験を行った。また、運動細胞プロトプラストを用いた実験により、就眠物質の添加で運動細胞の体積収縮が起こることが確認された。収縮は鏡像体では起こらないことから、葉の表面側の extensor 運動細胞に特異的に作用し、葉の裏側に位置する flexor 運動細胞には作用しないことから、リガンドの立体化学を認識する MTJG が、extensor 運動細胞の体積収縮を誘導することで、就眠運動が起こることを確認した。さらに、就眠物質は植物のストレス応答反応である harvibor 放出を誘導しないこと、エクオリン導入ダイズ細胞にカルシウム応答を引き起こさないことを明らかにし、就眠物質とジャスモン酸類が全く異なる分子機構で働くことを示した。

また、植物毒素コロナチンを *exo*-選択的 Diels-Alder 反応を鍵反応として合成することに成功した。コロナファシン酸ならびにコロナナミン酸の両鏡像体から、可能な 4 種の立体異性体を合成し、その気孔開口誘導活性を検討した。天然型のみが顕著な活性を示すことから、コロナチン標的探索にも、エナンチオ・ディファレンシャル法が有効であることを示した。また、非天然型コロナナミン酸に天然型コロナファシン酸を結合させたハイブリッド分子が moderate な活性をもつことから、分子プローブの開発に道を開いた。

## 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 11 件、全て査読有り)

- 1) M. Ueda, T. Tokunaga, M. Okada, Y. Nakamura, N. Takada, R. Suzuki, K. Kondo, Trap-closing Chemical Factors of Venus's Flytrap, *ChemBioChem*, **11**, 2378-2383 (2010).

- 2) Y. Manabe, M. Mukai, S. Ito, N. Kato, M. Ueda, FLAG Tagging by CuAAC and Nano-gram Scale Purification of the Target Protein for Bioactive Metabolite Concerning Circadian Rhythmic Leaf Movement of Leguminosae, *Chem. Commun.*, **46**, 469 – 471 (2010).
- 3) M. Okada, Y. Egoshi, M. Ueda, Azido-coronatine: a Useful Platform for “Click Chemistry”-mediated Probe Synthesis for Bioorganic Studies, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 2092-2095 (2010).
- 4) M. Shoji, E. Suzuki, M. Ueda, Total Synthesis of ( $\pm$ )-5-Deoxystrigol via Reductive Carbon-Carbon Bond Formation, *J. Org. Chem.*, **74**, 3966-3969 (2009).
- 5) M. Okada, S. Ito, A. Matsubara, I. Iwakura, S. Egoshi, M. Ueda, Total Syntheses of Coronatines by *exo*-Selective Diels-Alder Reaction and Their Biological Activities on Stomatal Opening, *Org. Biomol. Chem.*, **7**, 3065–3073 (2009).
- 6) M. Okada, S. Park, T. Koshizawa, M. Ueda, (*R*)-Eucomic Acid, a Leaf-opening Factor of the Model Organism, *Lotus japonicus*, *Tetrahedron*, **65**, 2136-2141 (2009).
- 7) Y. Nakamura, R. Miyatake, M. Ueda, Enantiodifferential Approach for the Detection of the Target Membrane Protein of the Jasmonate Glycoside That Controls the Leaf Movement of *Albizzia saman*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **47**, 7289-7292 (2008).
- 8) E. Kato, T. Sasaki, M. Ueda, Affinity Purification and Characterization of a Key Enzyme Concerning Circadian Rhythmic Control of Nyctinasty in *Lespedeza cuneata* L. *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 4600-4616 (2008).
- 9) Y. Nakamura, R. Miyatake, S. Inomata, M. Ueda, Synthesis of Potassium  $\beta$ -D-Glucopyranosyl 12-Hydroxy Jasmonate and Related Compounds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 2867-2876 (2008).
- 10) M. Okada, A. Matsubara, M. Ueda, Synthesis of Photoaffinity Probe Based on the Leaf-opening Factor from Genus *Albizzia*, *Tetrahedron Lett.*, **49**, 3794-3796 (2008).
- 11) T. Fujii, N. Kato, I. Iwakura, Y. Manabe, M. Ueda, Synthesis of Staudinger-type Molecular probe for Catch-and-release Purification of the Binding Protein for Potassium Isolespedezate, a leaf-closing Substance of Leguminous Plant, *Chem. Lett.*, **37**, 52-53 (2008).
- [学会発表] (計 11 件)
- 1) Minoru Ueda, “Target profiling of bioactive metabolite based on a stereospecific ligand recognition: chemical biology of plant nyctinasty”, Molecular Complex Systems: Reversible Aggregation/Disaggregation of Organic Molecules (#216) in Pacificchem 2010, Honolulu, Hawaii (Dec. 19, 2010).
- 2) 上田 実, 「生物現象を誘起する天然物の作用機構」、化学系学協会東北大会(盛岡)、2010年9月26日。
- 3) 上田 実, 「植物就眠運動のケミカルバイオロジー：天然物有機化学からの展開」、植物学会(春日井)シンポジウム、「ケミカルバイオロジーが拓く植物科学の未来～新奇な生理活性化合物で生命活動を探る～」、2010年9月9日。
- 4) 上田 実, 「生物現象を制御するグリコシル化分子のケミカルバイオロジー」、日本化学会東北支部青森地区講演会(弘前)、2009年11月15日。
- 5) Minoru Ueda, “Chemical genetics of biological phenomenon: Nyctinastic movement of plants”, Chem-Bio-Informatics Society 2009, Busan, Korea (Nov 5, 2009).
- 6) 上田 実, 「ジャスミン香気成分誘導体と植物の就眠運動」、第10回アロマ・サイエンス・フォーラム 2009(東京)、2009年10月12日。

- 7) 上田 実、「植物就眠運動を制御するグリコシド型生物活性分子の化学」、日本生物工学会北日本支部仙台シンポジウム「グライコバイオテクノロジー—糖と酵素が織りなすサイエンスとバイオテクノロジーの魅力と可能性—（仙台）、2009年8月22日。
- 8) Minoru Ueda, “Recent advances on chemical biology of plant nyctinasty”, 2008 RIKEN Conference on Chemical Biology, Narita, Japan (Nov 14, 2008).
- 9) Minoru Ueda, “Chemical Biology of Plant Movements using Bioactive Natural Products”, The 20<sup>th</sup> Naito Conference on Chemical Biology, Hokkaido, Japan (Sep 10, 2008).
- 10) 上田 実、「化学が解き明かす植物の眠りのしくみ」、第6回化学イノベーションシンポジウム:明日をひらく化学のとびら（仙台）、2008年8月6日。
- 11) 上田 実、「エナンチオ・ディファレンシャル法による植物の運動の生物有機化学」、特定領域研究「生体機能分子の創製」とりまとめシンポジウム（東京）、2008年6月15日。

〔図書〕（計2件）

- 1) M. Ueda and Y. Nakamura, Plant Phenolic Compounds Controlling Leaf-movement, in F. Daayf and V. Lattanzio eds. “Recent Advances in Polyphenol Research, Volume 2”, Blackwell Publisher pp.226-237, (2010).
- 2) M. Ueda and Y. Nakamura, Chemical Signaling during Induced Leaf Movements, in Frantisek Baluska eds. “Plant-Environment Interactions”, Springer-Verlag, pp.153-166, (2009).

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）  
なし

○取得状況（計0件）  
なし

〔その他〕

- 1) 上田の研究紹介を主要な内容の一つとする科学ドキュメンタリー番組“L’ esprit des Plantes”がARTE社によって作成され、欧州諸国を中心とする世界50数カ国で放映された。これは、“the 45th International Festival of Science Documentary”において“the Best International Popular Science Documentary Award”を受賞した。
- 2) 米国化学会 C&E News 誌 (Nov 15, 2010, Vol. 88, No. 46, p. 36) において研究紹介。
- 3) 英国 BBC Wildlife magazine 誌 (March 2011, p. 37. において研究紹介。

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

(2) 研究分担者  
なし

(3) 連携研究者  
なし