

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 11 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02924

研究課題名(和文) 根寄生雑草による宿主光合成産物収奪代謝メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of metabolic mechanisms of carbon translocation from hosts to root parasitic weeds

研究代表者

岡澤 敦司 (Okazawa, Atsushi)

大阪公立大学・大学院農学研究科 准教授

研究者番号：10294042

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)：ハマウツボ科の根寄生雑草は、世界の農業に甚大な被害をもたらしている。特に、アフリカの乾燥地におけるストライガによる被害は深刻で、1兆円近くの経済的損失をもたらしていると見積られ、その影響が3億人の生活に及んでいると考えられている。SDGsの「貧困」と「飢餓」の撲滅には、根寄生雑草による被害の克服が必須である。

本研究では、根寄生雑草の代謝を理解し、その制御法を確立することで根寄生雑草防除に繋がる知見を獲得することを目的とした。発芽に必要なエネルギーの供給経路を解明し、これを阻害することで根寄生雑草の生育を抑制できることを示すことに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

根寄生雑草ヤセウツボにおいて発芽に必要なエネルギーを供給する貯蔵糖として三糖ブランテオースが、胚の周囲の胚乳などに蓄えられていることを明らかにした。また、ブランテオースは発芽時に胚の周囲で $\alpha$ -ガラクトシダーゼ OmAGAL2 によって加水分解を受けることを明らかにした。15,000化合物の中から28のOmAGAL2阻害剤を見出し、これが実際にヤセウツボの生育を抑制することを示すことが出来た。この知見は、根寄生雑草の防除に応用できると期待される。また、ヤセウツボがどのように宿主であるムラサキツメクサの光合成産物を奪っているかについても解析し、重要な知見を取得した。

研究成果の概要(英文)：Orobanchaceae root parasitic weeds are causing serious damage to agriculture worldwide. To eradicate "poverty" and "hunger" in SDGs, it is essential to overcome the damage caused by the root parasitic weeds. The objective of this study was to understand the metabolism of root parasitic weeds and to establish methods to control them, thereby gaining knowledge that will lead to the control of root parasitic weeds. We've succeeded in elucidating the energy-supplying metabolic pathway necessary for germination and showing that inhibiting the metabolic pathway can suppress the growth of root parasitic weeds.

研究分野：作物保護化学

キーワード：根寄生雑草 ヤセウツボ ハマウツボ科 貯蔵糖 ブランテオース 質量分析イメージング メタボロミクス  $\alpha$ -ガラクトシダーゼ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

ハマウツボ科 (Orobanchaceae) の根寄生雑草は、世界の農業に甚大な被害をもたらしている。特に、アフリカの乾燥地におけるストライガ (*Striga hermonthica*) による被害は深刻で、1兆円近くの経済的損失をもたらしていると思われ、その影響が3億人の生活に及んでいると考えられている。持続可能な開発目標 (SDGs) のうち、「貧困」と「飢餓」の撲滅には、根寄生雑草による被害の克服が必須である。また、炭素循環の持続可能性という観点から考えると、根寄生雑草による被害の本質は、宿主である作物が光合成によって固定した有用な炭素資源を、根寄生雑草が利用価値のない炭素に変換してしまう点にある。さらに、根寄生雑草は大量の種子を産生するため、炭素資源の無価値化は次世代で拡大してしまう。

## 2. 研究の目的

本研究では、根寄生雑草の炭素代謝を理解し、その制御法を確立することで、根寄生雑草に妨害されている宿主作物を介する炭素循環を再び健全な状態に戻せるかを問うている。本研究課題の期間内には、根寄生雑草の炭素代謝を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) ヤセウツボ発芽時の炭素代謝の理解とその制御

実験植物としてハマウツボ科ヤセウツボ (*Orobanche minor*) を用いた。発芽時の炭素代謝として研究代表者らが明らかにしていた三糖プランテオースに着目し、その種子内の分布について質量分析イメージングを用いて調べた。また、これまでに取得していたトランスクリプトームデータよりプランテオースの加水分解を触媒すると予測した酵素 OmAGAL2 の遺伝子配列を取得し、異種発現によってプランテオース加水分解活性を測定した。プランテオース代謝を制御するために OmAGAL2 の阻害剤をスクリーニングし、得られた化合物について類縁体の合成を行った。合成した化合物について、それらがヤセウツボの生育に及ぼす影響を評価した。

### (2) ムラサキツメクサに寄生したヤセウツボの炭素代謝の理解

ムラサキツメクサ (*Trifolium pratense*) に寄生させたヤセウツボをサンプリングし、GC-MS によるメタボロミクスを実施した。

## 4. 研究成果

(1) 質量分析イメージングによって、プランテオースが種子内で胚の周囲の胚乳に貯蔵されていることを明らかにした (図1)。この結果は、プランテオースが発芽に必要な貯蔵糖であることを示唆した。プランテオース代謝の最初のステップは、 $\beta$ -ガラクトシド結合の加水分解であるため、トランスクリプトームデータより  $\beta$ -ガラクトシダーゼをコードすると予想される遺伝子配列を取得した。そのうち OmAGAL2 と名付けた遺伝子を大腸菌で発現させたところ、酸性条件でのプランテオース加水分解活性を確認した。また、OmAGAL2 を mCherry 蛍光タンパク質との融合タンパク質としてシロイヌナズナで発現させたところ、その局在が細胞外 (アポプラスト) であることが確認された (図2)。その他の生化学的な解析などによって、ヤセウツボの発芽におけるプランテオースの代謝動態を明らかにした (図3)。

OmAGAL2 阻害剤を取得するために15,000化合物のライブラリーをスクリーニングしたところ、28化合物に OmAGAL2 活性を確認した。それらのうち PI-28 と名付けた芳香族チオウレアに着目し、その類縁体の二段階からなる合成方法を確立した (図4)。さらにこの合成をワンポットで行えることを確認した。

PI-28 およびその類縁体をヤセウツボに処理したところ、一部の化合物がその幼根伸長を著しく抑制することが明らかになった (論文投稿中)。

以上の結果から、ヤセウツボ発芽におけるプランテオース代謝 (炭素代謝) を明らかにし、これを化合物によって制御することで、ヤセウツボの生育を抑制できることを示すことに成功した。この成果は、根寄生雑草の新たな防除法の開発につながると期待される。

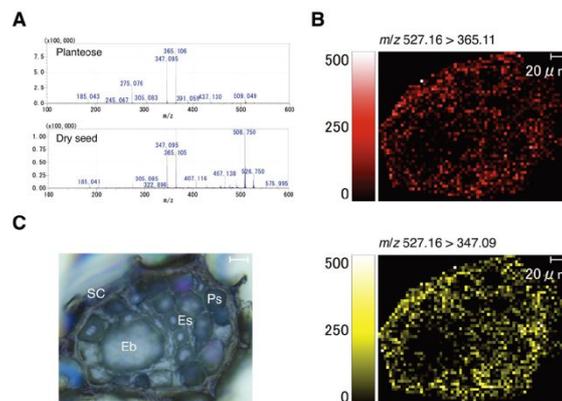


図1. ヤセウツボ種子中のプランテオースの質量分析イメージング (Okazawa et al., 2022)

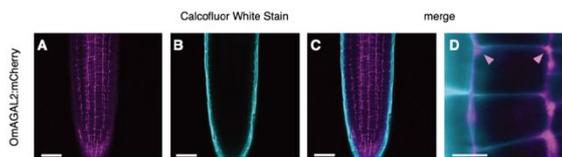


図2. OmAGAL2 の局在解析 (Okazawa et al., 2022)

(2) 角形シャーレ内にロックウールを敷き、防根シートでカバーをした上で、ムラサキツメクサを生育させ、その根系に発芽したヤセウツボを付着させた。寄生が成立し、ある程度の大きさの植物体が形成された段階で宿主のムラサキツメクサとヤセウツボを採取し、GC-MSにてメタボロミクスを行った。その結果、宿主であるムラサキツメクサと宿主より炭素を収奪しているヤセウツボでは、そのメタボロームが明確に区別された。従って、ヤセウツボは独自の炭素代謝によって、ムラサキツメクサが固定した炭素を収奪していると示唆された。

主成分分析によって、ヤセウツボで特徴的に多く含まれる代謝物が明らかとなった。主成分1(PC1)への寄与率が最も大きかったガラクチノールは、植物内の糖の転流を駆動するためのラフィノース生合成基質であり、この篩部転流様式はポリマートラッピングモデルと呼ばれている。ヤセウツボがムラサキツメクサの炭素を収奪する際にも、同様のモデルが働いている可能性が示された。

その他、キナ酸、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸およびニコチン酸もヤセウツボにより多く含まれることが明らかになった。今後これらの代謝物の機能や、代謝物への炭素の流れを解析することで、ヤセウツボの炭素代謝の理解が進むと期待される。

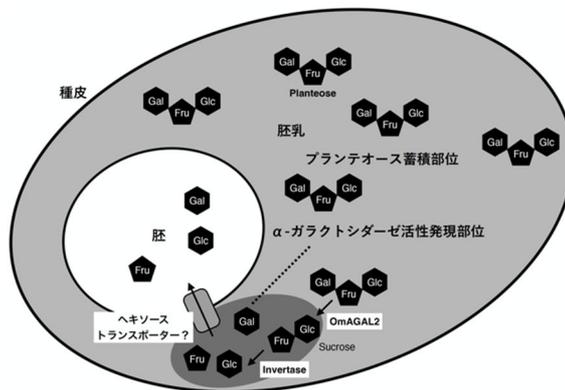


図3. ヤセウツボの発芽におけるプランテオース代謝動態モデル

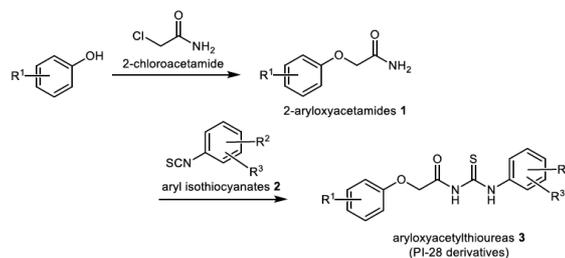


図4. OmAGAL2 阻害剤 PI-28 およびその類縁体の合成スキーム (Sonoda et al., 2023)

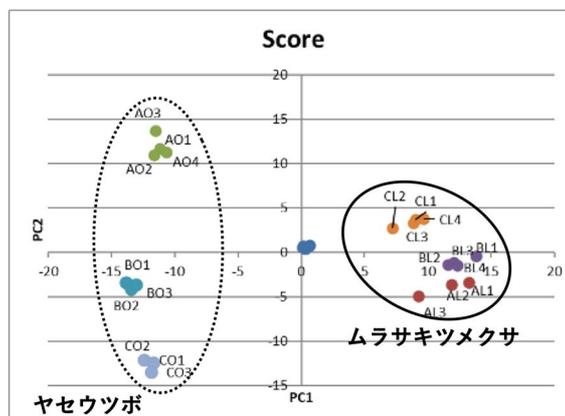


図5. ムラサキツメクサおよびヤセウツボのメタボロームの主成分分析

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Okazawa Atsushi, Baba Atsuya, Okano Hikaru, Tokunaga Tomoya, Nakaue Tsubasa, Ogawa Takumi, Shimma Shuichi, Sugimoto Yukihiro, Ohta Daisaku	4. 巻 73
2. 論文標題 Involvement of $\alpha$ -galactosidase OmAGAL2 in planteose hydrolysis during seed germination of <i>Orobanche minor</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Botany	6. 最初と最後の頁 1992 ~ 2004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jxb/erab527	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 Sonoda Motohiro, Mimura Yusuke, Noda Shizuki, Okazawa Atsushi	4. 巻 135
2. 論文標題 Synthesis of aryloxyacetylthiourea derivatives for the development of radicle elongation inhibitor of parasitic weeds	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 133333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2023.133333	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Atsushi Okazawa, Takatoshi Wakabayashi, Hiroaki Samejima, Kazuo Harada, Shigeru Kitani, Yukihiro Sugimoto, Daisaku Ohta
2. 発表標題 Actinomycete metabolites for control of Orobanchaceae root parasitic weeds
3. 学会等名 Pacifichem2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡澤敦司、岡野ひかる、小川拓水、新聞秀一、杉本幸裕、太田大策
2. 発表標題 ヤセウツボ発芽種子におけるプランテオース代謝の局在
3. 学会等名 第38回日本植物バイオテクノロジー学会 (つくば) 大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三村勇介、野田鎮希、岡澤敦司、園田素啓
2. 発表標題 根寄生雑草の幼根伸長阻害活性が期待される芳香族チオウレアの合成
3. 学会等名 日本農薬学会第48回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡澤敦司、三村勇介、野田鎮希、藤野宏太郎、若林孝俊、杉本幸裕、太田大策、園田素啓
2. 発表標題 ヤセウツボ幼根伸長を阻害する芳香族チオウレアの構造活性相関
3. 学会等名 日本農薬学会第48回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Atsushi Okazawa, Shizuki Noda, Yusuke Mimura, Kotaro Fujino, Takatoshi Wakabayashi, Daisaku Ohta, Yukihiro Sugimoto, Motohiro Sonoda
2. 発表標題 Effect of aromatic carbonyl thioureas on radicle elongation of a root parasitic plant Orobanche minor
3. 学会等名 15th IUPAC International Congress of Crop Protection Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Atsushi Okazawa, Shizuki Noda, Daisaku Ohta, Yukihiro Sugimoto, Motohiro Sonoda
2. 発表標題 Structure-activity relationship of aromatic carbonyl thioureas for inhibition of Orobanche minor radicle elongation
3. 学会等名 16th World Congress on Parasitic Plants (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

プレスリリース：根寄生雑草防除の標的となる代謝酵素を特定 アフリカの飢餓克服への貢献をめざして  
<https://www.osakafu-u.ac.jp/press-release/pr20211220/>

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	太田 大策  (Ohta Daisaku)  (10305659)	大阪公立大学・大学院農学研究科 ・教授   (24405)	
研究分担者	新間 秀一  (Shimma Shuichi)  (30515896)	大阪大学・工学研究科・准教授   (14401)	
研究分担者	園田 素啓  (Sonoda Motohiro)  (90314400)	大阪公立大学・大学院農学研究科 ・准教授   (24405)	

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		
スーダン	National Centre for Research		