

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月8日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2010～2011

課題番号：22688009

研究課題名（和文）

全く新しい根寄生雑草の選択的防除法の確立

研究課題名（英文）

Establishment of an entirely new method for selective control of root parasitic weeds

研究代表者

岡澤 敦司 (OKAZAWA ATSUSHI)

大阪大学・大学院工学研究科・助授

研究者番号：10294042

研究成果の概要（和文）：ハマウツボ科の根寄生植物にはアフリカおよび地中海沿岸部の農業に甚大な被害を与える強害雑草種が存在する。しかし、現状ではこれら強害雑草の実質的な選択的防除法は確立されていない。本課題では代謝研究に基づく全く新しい根寄生雑草選択的防除法を提案し、その開発のためのトランスレーショナル・リサーチを行った。その結果、根寄生雑草の防除標的となる代謝経路および関連酵素を明らかにすることが出来た。

研究成果の概要（英文）：Several species of root parasitic plants in Orobanchaceae cause serious problem in agriculture in Africa or Mediterranean region. Unfortunately, there is no practical method for selective control of these noxious weeds. In this project, we have proposed a novel method for selective control of the parasites based on metabolomics and conducted translational research to develop the protocol. Accordingly, a unique metabolic pathway and related enzymes were found as possible targets for selective control

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	9,000,000	2,700,000	11,700,000
2011年度	8,100,000	2,430,000	10,530,000
年度			
年度			
年度			
総計	17,100,000	5,130,000	22,230,000

研究分野：生物有機化学

科研費の分科・細目：農芸化学・生物生産化学, 生物有機化学

キーワード：環境調和型農林水産, 酵素, 生体分子, 植物, 糖

## 1. 研究開始当初の背景

2010年9月の時点で、国連食糧農業機関は世界の飢餓人口が9億2500万人であることを発表した。本課題の研究対象であるハマウツボ科の根寄生雑草は、アフリカで主食となっているソルガムなどに寄生することで農業に甚大に被害を与えており、3億人の生活に影響を与えていると見積もられている。世界的な食糧需給の安定化や人道的な立場

からその防除法の確立が急務である。多くの研究者が寄生雑草の効果的な防除法の確立を試みているが、実質的なものは未確立であった。

## 2. 研究の目的

本課題では新しい寄生雑草の防除戦略の構築を目的とした。そのために、根寄生雑草の特徴的な生活環に着目し、これらの植物に固

有の代謝経路を阻害することで、全く新しい防除法を確立することが出来ると考えた。

### 3. 研究の方法

研究代表者は寄生雑草ヤセウツボの種子の発芽過程についてメタボローム解析を行っており、ヤセウツボ種子に特徴的な代謝物である三糖の存在を明らかにしていた。この三糖は通常の植物種子でデンプンとして貯蔵されている発芽に必要な炭素源であることが推測された。また、糖加水分解酵素の阻害剤であるノジリマイシンの投与によって、ヤセウツボ種子の発芽が著しく阻害されることを明らかにしていた。そこで、本課題では当該代謝物の代謝経路、ならびに、その代謝に関わる酵素についての生化学的な解析を行った。まず、乾燥種子の糖についてUPLC-ELSDによるプロファイリングを行った。また、寄生雑草の発芽を抑制することを実験的に明らかにしたノジリマイシンの処理による糖の含有量の変化を解析した。また、酵素については大規模トランスクリプトーム解析によりその候補遺伝子の取得を試みた。取得した遺伝子について、発芽種子中での発現量の変化を調べるとともに、大腸菌での発現、酵素活性の測定を試みた。同時に種子より調製した酵素の活性を電気泳動ゲル内で評価するザイモグラフィーを試みた。

### 4. 研究成果

ヤセウツボ種子に含まれる代謝物および種々の代謝阻害剤を用いた詳細な解析により、特徴的な代謝物が希少三糖であることを明らかにした。さらにこの希少三糖がハマウツボ科の寄生雑草五種の種子 (*Orobanche minor*, *Striga gesnerioides*, *Striga hermonthica*, *Orobanche crenata*, *Phelipanche aegyptiaca*) に普遍的に含まれている可能性を示した (図1)。また、阻害剤を用いた実験により、目的とした防除標的はこの三糖の中間代謝産物である二糖の加水分解酵素が妥当であることを明らかにした (図2)。また、大規模トランスクリプトーム解析により当該酵素の候補遺伝子の取得に成功した。さらに、ヤセウツボの発芽種子より調製した粗酵素画分を用いたザイモグラフィーにより、糖加水分解活性を確認した (図3)。特に細胞壁もしくは細胞膜に結合している酵素画分の糖加水分解酵素の活性がヤセウツボの発芽の進行とともに上昇することが明らかとなった (図4)。このことは、この酵素が発芽に重要であることを裏付ける物であり、防除剤のターゲットとして妥当であることを強く示している。また、この酵素が細胞壁もしくは細胞膜に結合して

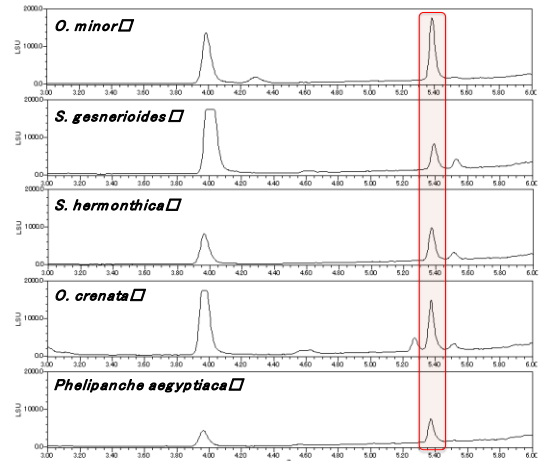


図1. 寄生雑草に普遍的に含まれていると考えられる三糖のUPLC-ELSDクロマトグラム。

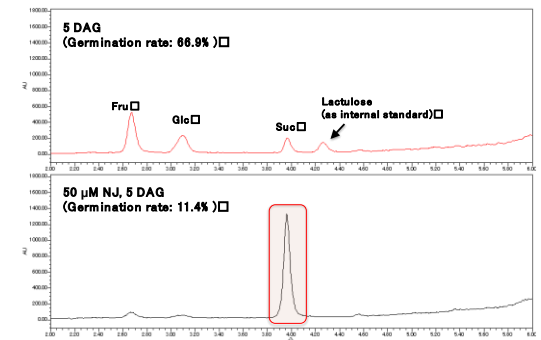


図2. ノジリマイシン処理による二糖の蓄積

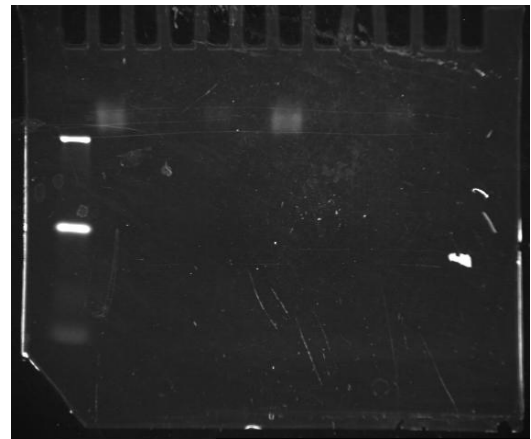


図3. 糖加水分解のザイモグラフィー

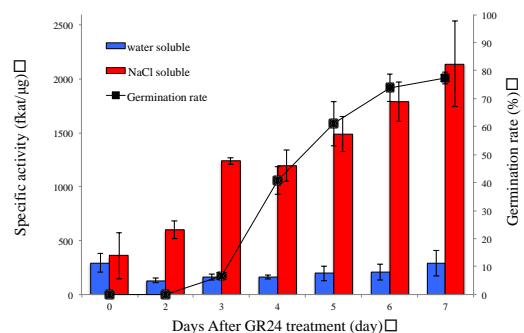


図4. 発芽に伴う糖加水分解の活性上昇

いたことから、寄生雑草に特徴的な三糖が輸送、代謝されていることが予想された。シロイヌナズナの細胞壁結合型インペルターゼはアポプラストから細胞内への糖の輸送に関わっているとされており、ヤセウツボの発芽種子においてもアポプラストからの糖の取込みが重要であると考えられる。

#### 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 0 件)

[学会発表] (計 15 件)

1. 岡澤敦司, 寄生雑草の発芽を特異的に阻害するノジリマイシンの作用機構の解明と選択的除草剤への展開, 2012 年度日本農芸化学会産学官学術交流委員会フォーラム, 2012. 3. 24, 京都

2. Wakabayashi, T., Benesh, J., Higashikubo, R., Yasumoto, S., Harada, K., Muranaka, S., Takeuchi, Y., Yoneyama K., Sugimoto, Y., Muranaka, S., Okazawa, A., A novel strategy of parasitic weed control focusing on specific metabolism, Japan-Korea Joint Seminar on Plant Biotechnology for the Next Generation, 2011. 12. 3, Narita, Chiba, Japan

3. 若林孝俊, 東久保諒, 安本周平, 竹内安智, 米山弘一, 杉本幸裕, 村中俊哉, 岡澤敦司, 根寄生植物ヤセウツボの発芽を阻害するノジリマイシンの作用点, 植物科学調節学会第 46 回大会, 2011. 11. 2, 宇都宮

4. 黒野友理香, 長澤沙弥, 小田知佳, 松浦秀幸, 東久保諒, 若林孝俊, 吉本千壽, 野村早紀, 村中聡, 杉本幸裕, 岡澤敦司, 原田和生, 平田収正, 放線菌 *Streptomyces ficellus* による寄生植物種子発芽阻害剤ノジリマイシンの生産, 第 63 回日本生物工学会大会, 2011. 9. 27, 東京

5. 若林孝俊, 東久保諒, 米山弘一, 杉本幸裕, 村中俊哉, 岡澤敦司, 根寄生植物ヤセウツボの発芽種子における希少三糖ゲンチアノースの代謝経路の解明, 第 63 回日本生物工学会大会, 2011. 9. 27, 東京

6. 若林孝俊, 東久保諒, 米山弘一, 竹内安智, 杉本幸裕, 村中俊哉, 岡澤敦司, 根寄生植物ヤセウツボの発芽種子におけるゲンチアノース代謝経路の解明, 第 29 回日本植物細胞分子生物学会 (福岡) 大会・シンポジウ

ム, 2011. 9. 7, 福岡

7. Okazawa, A., Wakabayashi, T., Harada, K., Muranaka, S., Muranaka, T., Takeuchi, Y., Yoneyama, K., Sugimoto, Y., Sugar metabolism during germination of *Orobancha minor* as a novel target for selective control, 11<sup>th</sup> World Congress on Parasitic Plants, 2011. 6. 8, Martina Franca, Italy

8. 若林孝俊, Benesh Joseph, 東久保諒, 米山弘一, 竹内安智, 杉本幸裕, 村中俊哉, 岡澤敦司, 寄生雑草ヤセウツボの発芽に関与するゲンチアノース代謝関連酵素の解析, 日本農芸化学会 2011 年度 (平成 23 年度) 大会, 2011. 3. 26, 京都

9. 若林孝俊, Benesh Joseph, 米山弘一, 竹内安智, 杉本幸裕, 村中俊哉, 岡澤敦司, 寄生雑草ヤセウツボの発芽時に活性化されるゲンチアノース代謝関連酵素の解析, 日本農芸化学会 関西支部第 467 回講演会, 2010. 12. 4, 神戸

10. 岡澤敦司, 代謝プロファイリングに基づいた寄生雑草に選択的な防除戦略の構築, 日本農芸化学会 関西支部第 467 回講演会, 2010. 12. 4, 神戸

11. 岡澤敦司, メタボロミクスによる寄生雑草選択的な防除ターゲットの同定とその応用展開, 第 8 回農薬バイオサイエンス研究会, 2010. 12. 3, 京都

12. 若林孝俊, Benesh, Joseph, 米山弘一, 竹内安智, 杉本幸裕, 村中俊哉, 岡澤敦司, 寄生雑草ヤセウツボ種子の発芽とゲンチアノース代謝活性の相関解析, 第 62 回日本生物工学会大会, 2010. 10. 28, 宮崎

13. 若林孝俊, Benesh, Joseph, 米山弘一, 竹内安智, 杉本幸裕, 村中俊哉, 岡澤敦司, 寄生雑草ヤセウツボの発芽に関与するゲンチアノース分解酵素に関する研究, 第 28 回日本植物細胞分子生物学会 (仙台) 大会・シンポジウム, 2010. 9. 2, 仙台

14. Wakabayashi, T., Benesh, J., Yoneyama, K., Takeuchi, Y., Sugimoto, Y., Okazawa, A., Study of oligosaccharide-degrading enzyme involved in parasitic weed seed germination, 20<sup>th</sup> International Conference on Plant Growth Substances, 2010. 7. 1, Tarragona, Spain

15. 若林孝俊, Benesh, Joseph, 東久保諒,

米山弘一，竹内安智，杉本幸裕，村中俊哉，  
岡澤敦司，寄生雑草ヤセウツボの発芽に關与  
する糖分解酵素に關する研究，日本農薬学会  
第 35 回大会，2010. 5. 30，札幌

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岡澤 敦司 (OKAZAWA ATSUSHI)

大阪大学・大学院工学研究科・助授

研究者番号：10294042