

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：12201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26850069

研究課題名(和文) ストリゴラクトンの立体構造多様性と植物生理活性の解明

研究課題名(英文) Proposals for definition of strigolactones and description of stereochemistry in biological activities

研究代表者

謝 肖男 (XIE, Xiaonan)

宇都宮大学・バイオサイエンス教育研究センター・助教

研究者番号：30610323

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ストリゴラクトン(SL)はカロテノイドから生合成されるシグナル分子であり、根圏では、共生および寄生に係わる情報交換を媒介するとともに、植物ホルモンとして他の植物ホルモンとのクロストークを通して植物の成長と分化を制御している。本研究では天然SLの立体化学に着目し、植物界におけるSL分布を調査した。その結果、被子植物では、イネやキュウリはorobanchol-type SLを、ワタ、ソルガムとイチゴはstrigol-type SLを、レンゲやタバコは両タイプのSLを生産していることがわかった。また、SLの地下部から地上部へのSLの輸送は、SLの化学構造および立体化学特異的であることも確認した。

研究成果の概要(英文)：Strigolactones (SLs) are carotenoid-derived signaling molecules that mediate symbiotic and parasitic communications in the rhizosphere and plant hormones that regulate the growth and development of plants through crosstalk with other hormones. Natural SLs are classified into two groups based on the stereochemistry of the B-C ring junction. In angiosperms, rice and cucumber produce orobanchol-type SLs, while cotton and strawberry produce strigol-type SLs. By contrast, Chinese milk vetch is a producer of both types of SLs. Tobacco plants also produce both types of SLs, and the ratio of orobanchol- to strigol-type SLs significantly differ between cultivars. In this study, we demonstrate that such species-specific phenomena in SL production also occur in the transport of exogenous SLs from roots to shoots.

研究分野：天然物有機化学

キーワード：ストリゴラクトン 立体化学

1. 研究開始当初の背景

植物が生産・分泌するストリゴラクトン (strigolactone: SL)は、植物体内では地上部の枝分かれを制御する植物ホルモンとして機能し、根圏に放出されるとアーバスキュラー菌根(AM 菌)菌および根寄生植物の宿主認識シグナルとして働いている。さらに最近 SL は植物の根および根毛の成長制御、根粒菌の共生促進、光形態形成など、新たな機能が次々と明らかにされている。このように SL は極めて重要な二次代謝産物であるにもかかわらず、化学的に不安定で、植物からの分泌量・内生量も極微量であるため、単離・構造解析は困難である。最近の研究から、SL の生合成、代謝、生理機能における立体化学の重要性が明確になってきた。しかし、現在までに未発表のものも含めると 30 種類以上の天然 SL が単離・構造解析されているが、ごく一部を除いて立体化学あるいは光学純度については不明である。

2. 研究の目的

本研究では、これまで殆ど検討されていなかった天然 SL の立体化学に着目、植物界および植物内における SL を定性、定量解析し、植物界における SL の起源、本来の生理機能の解明を目的とした。

具体的には 陸上植物を網羅的に分析し、植物界における既知 SL の絶対立体構造を明らかにするとともに、これら植物に含まれる新奇 SL の構造解析を行う。さらに、SL の輸送経路を解明するために、植物の導管液中に SL が存在するかどうかを精査する。

3. 研究の方法

本研究では、各種植物の体外および体内に分泌される主要な SL の立体構造を精査・解明し、植物種における SL の質的、量的な変動を明らかにした。種々の陸上植物を水道水により水耕栽培し、水耕液に含まれる SL を各種機器分析 (特にキラルカラムを備えた LC-MS/MS、CD と NMR) によって立体構造を確定した。また、SL の輸送経路を解明するために、土耕栽培したトマト、イネ等から導管液を大量に集めて導管液中に SL が存在するかどうかを精査した。次に、水耕栽培したトマト、イネ、エンドウに SL 重水素標識体をそれぞれ処理し、一定時間後に地上部を切断し、導管液を採取すると共に植物体を回収し、SL 分析を行った。

4. 研究成果

植物界におけるストリゴラクトンの分布 これまで様々な植物種を対象にそれらが分泌する SL の分析を行ってきた。表 1 にその一部をまとめた。

被子植物では、イネやキュウリは orobanchol-type SL を、ワタ、ソルガムとイチゴは strigol-type SL を、レンゲは両タイプの SL を生産している。タバコも両タイプの SL

を生産するが、品種間で各タイプの SL に顕著な量的差異が認められた。パーレー種タバコのみちのく 1 号では、strigol-type SL と orobanchol-type SL の生産量は同程度であるのに対して、黄色種タバコのつくば 1 号が生産する strigol-type SL は、orobanchol-type SL の 1% に過ぎない。これらの結果は、strigol-type SL および orobanchol-type SL の生合成がそれぞれ個別に制御されていることを示唆している。

		Canonical strigolactones		Non-canonical strigolactones	
Pteridophyte	<i>Selaginella moellendorffii</i>	Orobanchol-type SL	Strigol-type SL		
		4-deoxyorobanchol,		CLA	
Gymnosperm	<i>Pinus thunbergii</i>	orobanchol, orobanchyl acetate,		CLA	
		4-deoxyorobanchol, orobanchol, orobanchyl acetate			
Angiosperm	<i>Oryza sativa</i>	4-deoxyorobanchol, orobanchol, orobanchyl acetate, 7-oxoorobanchyl acetate			
		4-deoxyorobanchol, orobanchol, orobanchyl acetate, fabacol, fabacyl acetate			
	<i>Solanum lycopersicum</i>	4-deoxyorobanchol, orobanchol, solanacol, 7-hydroxyorobanchol			
		4-deoxyorobanchol, orobanchol, orobanchyl acetate, 7-oxoorobanchol, 7-oxoorobanchyl acetate, 7-hydroxyorobanchol, 7-hydroxyorobanchyl acetate			
	<i>Nicotiana tabacum</i>	4-deoxyorobanchol, orobanchol, orobanchyl acetate, solanacol, solanacyl acetate	5-deoxystrigol, 4-hydroxy-5-deoxystrigol, 4-acetoxy-5-deoxystrigol		
		orobanchyl acetate	5-deoxystrigol, sorgomol		
	<i>Gossypium hirsutum</i>		strigol, strigyl acetate		
		<i>Sorghum bicolor</i>		5-deoxystrigol, strigol, strigyl acetate, sorgomol	
	<i>Fragaria nananas</i>			5-deoxystrigol, strigol, strigyl acetate	

表 1. 植物界における SL の分布

ストリゴラクトン根から地上部への移動 枝分かれ抑制ホルモンである SL あるいはその代謝物が、地下部から地上部へと移動する経路としてまず想定されるのが導管である。Kohlen らは、シロイヌナズナとトマトの導管液から orobanchol を同定したと報告している。しかし、多くの研究者が追試をみたものの、導管液から SL を検出できなかった。本研究はトマト、シロイヌナズナを含む数種類の植物種の導管液を大量に集めて高感度 LC-MS/MS によって分析したが、SL が検出できなかった。そこで重水素で標識した SL を根部に投与して 2 時間後および 20 時間後に地上部を回収して分析した結果、2 時間後に回収した地上部には検出されなかったが、20 時間後には根部に投与した SL が検出された。このように、地下部から地上部への SL の移動速度は遅いため、導管経由ではなく、ペチュニアで報告されている ABC トランスポーターなどによる、方向性を持った細胞間輸送によるものと考えられた。なお、その後の研究から、地下部から地上部への SL の輸送は、SL の化学構造および立体化学特異的である

ことも確認した。例えばイネでは、orobanchol-type の SL だけが地下部（根）から地上部に移動するが、strigol を SL 生合成欠損変異体である d10 の根に投与するとフェノタイプが回復することから、地下部から地上部に移動するシグナル分子は、既知の SL では無い可能性が示唆された（図 1）。

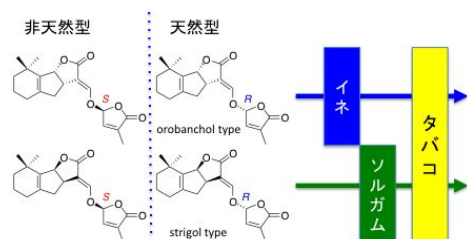


図 1 . 根から地上部への構造および立体化学特異的な輸送

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 18 件) すべて査読あり

Xie X, Kisugi K, Yoneyama K, Nomura T, Akiyama K, Uchida K, Yokota T, McErlean CSP, Yoneyama K. Methyl zealactonoate, a novel germination stimulant for root parasitic weeds produced by maize. *J. Pestic. Sci.*, 42, 58-61 (2017). DOI: 10.1584/jpestics.D16-103
 Morohoshi T, Yamaguchi T, Xie X, Wang W, Takeuchi K, Someya N. Complete genome sequence and analysis of phenazine production by the triplicate quorum-sensing regulation in *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *Aurantiaeca*. *Microbes and Environments*. 32, 47-53 (2017). DOI: 10.1264/jsme2.ME16162

伊藤和子、阿久津智美、渡邊恒夫、謝肖男、小松渡、吉澤史昭、宇田靖 ナス下漬液から得られるナスニン含有粉末の ORAC 値及びヒアルロニダーゼ阻害活性に対するナスニンの寄与評価、日本食品科学工学会誌、第 64 巻 第 1 号 43-49 (2017). DOI: 10.3136/nskkk.64.43

Trabalsi I, Yoneyama K, Abbesa Z, Amria M, Xie X, Kisugi T, Kim HI, Kharrata M, Yoneyama K. Characterization of strigolactones produced by *Orobanche foetida* and *Orobanche crenata* resistant faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes and effects of phosphorous, nitrogen, and potassium deficiencies on strigolactone production. *South African Journal of Botany* 108, 15-22 (2017). DOI: 10.1016/j.sajb.2016.09.009

Worard K, Xie X, Romainum I M, Burana C, Yamane K. Effects of Fluridone Treatment on Seed Germination and Dormancy-associated Gene Expression in an Ornamental Peach (*Prunus persica* (L.) Batsch). *The Horticulture Journal*, (2017). DOI: 10.2503/hortj.OKD-043

Sun H, Bi Y, Tao J, Huang S, Hou M, Xue R, Liang Z, Gu P, Yoneyama K, Xie X, Shen Q,

Xu G, Zhang Y. Strigolactones are required for nitric oxide to induce root elongation in response to nitrogen- and phosphate-deficiency in rice. *Plant Cell & Environment* 39, 1473-1483 (2016). DOI: 10.1111/pce.12709

Xie X, Yoneyama K, Kisugi T, Nomura T, Akiyama K, Asami T, Yoneyama K. Structure- and stereospecific transport of strigolactones from roots to shoots. *J. Pestic. Sci.*, 41, 55-58 (2016). DOI: 10.1584/jpestics.D16-009

Morohoshi T, Okutsu N, Xie X, Ikeda T. Identification of Quorum-Sensing Signal Molecules and a Biosynthetic Gene in *Alicyclophilus* sp. Isolated from Activated Sludge. *Sensors* 16,1218 (2016). DOI: 10.3390/s16081218

Xie X, Yoneyama K, Kisugi T, Nomura T, Akiyama K, Asami T, Yoneyama K. Strigolactones are transported from roots to shoots, although not through the xylem. *J. Pestic. Sci.*, 40, 214-216 (2015). DOI: 10.1584/jpestics.D15-045

Okutsu N, Morohoshi T, Xie X, Kato N, Ikeda T. Characterization of N-Acylhomoserine Lactones Produced by Bacteria Isolated from Industrial Cooling Water Systems. *Sensors*, 16,44-48 (2015). DOI: 10.3390/s16010044

Yoneyama K, Arakawa R, Kisugi T, Xie X, Ezawa T, Nomura T, Yoneyama K. Difference in *Striga*-susceptibility is reflected in strigolactone secretion profile, but not in compatibility and host preference in arbuscular mycorrhizal symbiosis in two maize cultivars. *New Phytol* 206, 983-989 (2015). DOI: 10.1111/nph.13375

Sun H, Tao J, Huang S, Chen S, Xie X, Yoneyama K, Xu G, Zhang Y. A strigolactone signal is required for adventitious root formation in rice. *Ann. Bot.* 115, 1155-1162 (2015). DOI: 10.1093/aob/mcv052

Yoneyama K, Kisugi T, Xie X, Arakawa R, Ezawa T, Nomura T, Yoneyama K. Shoot-derived signals but not auxin are involved in systemic regulation of strigolactone production in roots. *Planta* 241: 687-698 (2014). DOI: 10.1007/s00425-014-2208-x

Abe S, Sado A, Tanaka K, Kisugi T, Asami K, Ota S, Kim HI, Yoneyama K, Xie X, Ohnishi T, Seto Y, Yamaguchi S, Akiyama K, Yoneyama K, Nomura T, Carlactone is converted to carlactonoic acid by MAX1 in *Arabidopsis* and its methyl ester can directly interact with AtD14 in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 111: 18084-18089 (2014). DOI: 10.1073/pnas.1410801111

Sun H, Tao J, Liu S, Huang S, Chen S, Xie X, Yoneyama K, Zhang Y, Xu G, Strigolactones are involved in phosphate- and nitrate-deficiency-induced root development and auxin transport in rice. *J Exp Bot* 65: 6735–6746 (2014). DOI: 10.1093/jxb/eru029

Fernández-Aparicio M, Kisugi T, Xie X, Rubiales D, Yoneyama K, Low strigolactone root exudation: a novel mechanism of broomrape (*Orobanche* and *Phelipanche* spp.) resistance available for faba bean breeding. *J Agric Food Chem* 62: 7063–7071 (2014). DOI: 10.1021/jf5027235

Khetkam P¹, Xie X¹, Kisugi T, Kim HI, Yoneyama K, Nomura T, Yoneyama K, 7 α - and 7 β -Hydroxyorobanchyl acetate as germination stimulants for root parasitic weeds produced by cucumber. *J Pestic Sci* 39: 121–126 (2014). DOI: 10.1584/jpestics.D14-038

Kim HI, Kisugi T, Khetkam P, Xie X, Yoneyama K, Uchida K, Yokota T, Nomura T, McErlean CSP, Yoneyama K, Avenaol, a germination stimulant for root parasitic plants from *Avena strigosa*. *Phytochemistry* 103: 85–88 (2014). DOI: 10.1016/j.phytochem.2014.03.030

〔学会発表〕(計 13 件)

秋山康紀、佐渡愛香、徳永珠美、謝 肖男、米山弘一、ミヤコグサおよびタルウマゴヤシにおけるカーラクトン MAX1 酸化産物のストリゴラクトンへの変換、日本農芸化学会 2015 年度大会 2015 年 3 月 27 日から 29 日 岡山大学(岡山県・岡山市)

森 愛美、謝 肖男、野村崇人、米山弘一、酵母異種発現系によるミヤコグサおよびタルウマゴヤシに MAX1 酵素の機能解析、日本農芸化学会 2015 年度大会 2015 年 3 月 27 日から 29 日 岡山大学 (岡山県・岡山市)

謝 肖男、来生貴也、米山香織、内田健一、横田孝雄、野村崇人、米山弘一、新規ストリゴラクトン zealactone の単離および構造決定、日本農芸化学会 2015 年度大会 2015 年 3 月 27 日から 29 日 岡山大学 (岡山県・岡山市)

Xiaonan Xie, Takaya Kisugi, Kaori Yoneyama, Takahito Nomura, Christopher McErlean, Koichi Yoneyama, Natural strigolactones as germination stimulants for root parasitic plants. 1st International Congress on Strigolactones, 2015 年 3 月 1 日から 6 日 Wageningen, Nederland

阿部聡子、佐渡愛香、来生貴也、金 賢一、米山香織、謝 肖男、大西利幸、秋山康紀、米山弘一、野村崇人、ストリゴラクトン生合成における MAX1 酵素の

機能解析、植物化学調節学会第 49 回大会 2014 年 10 月 17 日から 19 日 京都大学農学部 (京都府・京都市)

杉浦菜月、米山香織、謝 肖男、米山弘一、野村崇人、窒素栄養とストリゴラクトンにより制御されるシロイヌナズナの枝分かれの解析、植物化学調節学会第 49 回大会 2014 年 10 月 17 日から 19 日 京都大学農学部 (京都府・京都市)

徳永 珠美、謝 肖男、米山 弘一、秋山康紀、タルウマゴヤシにおけるストリゴラクトン生合成経路の解析、植物化学調節学会第 49 回大会 2014 年 10 月 17 日から 19 日 京都大学農学部 (京都府・京都市)

謝 肖男 「根寄生雑草種子発芽刺激物質の構造解析研究」日本農薬学会第 41 回大会 (招待講演) 2016 年 3 月 17 日から 19 日 島根大学 (島根県・島根市)

謝 肖男、米山香織、来生貴也、野村崇人、秋山康紀、浅見忠男、米山弘一「根部から地上部への構造・立体化学特異的なストリゴラクトンの輸送」日本農薬学会第 41 回大会 招待講演) 2016 年 3 月 17 日から 19 日 島根大学 (島根県・島根市)

謝 肖男、松下明真、米山香織、内田健一、横田孝雄、野村 崇人、秋山康紀、米山 弘一「ミヤコグサが生産する新規ストリゴラクトンの探索」日本農芸化学会 2016 年度大会 2016 年 3 月 27 日から 30 日 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌)

Koichi Yoneyama, Xiaonan Xie, Kaori Yoneyama, Takahito Nomura, Kohki Akiyama, Christopher SP McErlean, Are non-canonical strigolactones major players? 22nd International Conference on Plant Growth Substances 2016 年 6 月 21 日から 25 日 Toronto, Canada

森 愛美、謝 肖男、米山 弘一、秋山 康紀、タルウマゴヤシにおける medicaol 合成酵素遺伝子の同定に向けた medicaol 生合成経路の確定、植物化学調節学会第 51 回大会 2016 年 10 月 28 日から 30 日 高知大学物部キャンパス(高知県・高知市)

謝 肖男、根寄生植物の種子発芽刺激物質ストリゴラクトンの構造解析研究、第 15 回日本農学進歩賞 2016 年 11 月 25 日 東京大学、弥生講堂 (東京都)

〔その他〕

ホームページ等

<http://c-bio.mine.utsunomiya-u.ac.jp/xie/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

謝 肖男 (XIE XIAONAN)

宇都宮大学・バイオサイエンス教育研究センター・助教

研究者番号 : 30610323