

根寄生雑草ストライガ防除に向けたストリゴラクトン受容体の研究

藤 茂雄 (明治大学農学部)

shigeo_toh@meiji.ac.jp

植物ホルモンとして知られるストリゴラクトン (SL) は、根寄生雑草、ストライガの種子発芽を誘導するアレロパシー物質として発見された。多くの作物では、貧栄養条件 (主にリン欠乏) で SL の合成が促進され、SL は根から土壤に浸出する。SL は菌根菌との共生誘導に必要な分子でもあり、本来は植物に利益をもたらす分子である。ストライガは SL を宿主認識のシグナルとしてハイジャックし、寄生に利用している。アフリカでは、耕作地の実に3分の2がすでにストライガに汚染され、1億人が被害を被っている。本研究では、寄生雑草防除に向けた技術開発の基盤形成を目的に、ストライガの宿主認識に必須な超高感度 SL 受容体の単離同定^{1,2)}、簡便な SL バイオセンサーの開発¹⁾、そして SL 作用を示す発芽促進剤³⁾ と SL 作用を阻害する発芽抑制剤の単離⁴⁾ を行った。その内容についてご紹介したい。

はじめに

内生の植物ホルモンであるストリゴラクトンは、2008年、イネおよびシロイヌナズナにおいて枝分かれを制御するホルモンとしての機能が明らかにされた⁵⁾。さらに、植物の根から放出されるストリゴラクトンはアーバスキュラー菌根菌との共生において重要なシグナルとしてはたらき⁶⁾、じつに80%以上の植物がこれらのシグナルを窒素固定において必要としていると考えられている。そもそも、ストリゴラクトンはストライガとよばれる根寄生植物の発芽を誘導する化学物質として発見された⁷⁾。多くの植物は貧栄養条件にさらされると根から多量のストリゴラクトンを放出し、それにより菌根の形成を促進すると考えられている⁸⁾。つまり、ストライガはこの宿主植物からのシグナルをハイジャックして宿主植物が近くにいることを示すシグナルとして利用し、発芽していることが明らかにされた。実際、ストライガの被害は貧栄養条件にある農作地ほど大きく、ストライガはひとたびストリゴラクトンを受容すると発芽し、すぐに根を宿主植物の根に貫入して栄養を搾取する。ストライガによる被害は国連により食糧問題のなかでも最大の脅威と認定され、とくにアフリカの農業に大きな被害をもたらしている⁹⁾。アフリカの耕作地のじつに2/3がすでにストライガにより汚染されており、その面積は40万km²にも及ぶ。これにより、少なくとも25カ国の1億人が被害をうけているとされている。

ストライガの SL レセプターの機能解析¹⁾

演者らは、モデル植物であるシロイヌナズナを使った遺伝学的、生化学的な実験によって、 α/β hydrolases をコードする *AtHTL* 遺伝子が発芽における SL のレセプターであることを明らかにした。*htl* 機能喪失変異体は、強い休眠性を持ち外生の SL にまったく応答せずに発芽しない。そこでストライガ (*Striga h.*) の転写産物データベースより得られた *ShHTL* 遺伝子ホモログ 11 個すべてをクローニングし、シロイヌナズナの *htl* 遺伝子欠損変異体に形質転換した (相補性検定)。その結果、Group 2 に属するレセプターが SL

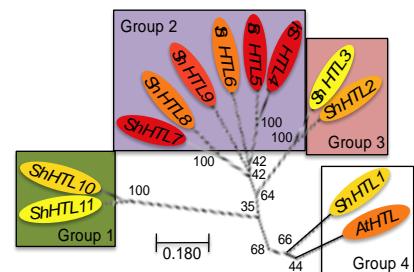


Fig. 1 *ShHTL* 遺伝子系統樹
Group2 が最も活性が強い。色は活性を表し、黄色：弱い、赤：強い

に高い感受性を示すことを明らかにした(Fig. 1)。さらに驚いたことに *ShHTL7* 形質転換体種子は SL に対する感受性がシロイヌナズナの AtHTL よりも 1 万倍以上の低濃度の SL でも発芽が誘導されることを明らかにした (Fig. 2)。実際、ストリガの種子は 100pM~10nM といった非常に低濃度の SL でも発芽が誘導される。つまり、*ShHTL7* 遺伝子がストリガ種子において主要な役割を担っていることを明らかにした¹⁾。

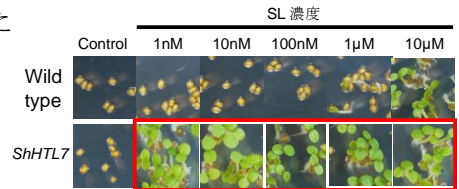


Fig. 2 *ShHTL7* 遺伝子を導入したシロイヌナズナ種子は外生の SL に 10000 倍高感受性を示す

ストライガ SL 受容体の結晶構造解析¹⁾

演者のグループでは、活性の強いレセプターの 1 つである Group 2 に属する ShHTL5 タンパク質の結晶化に成功し、ストリガのレセプターがシロイヌナズナのレセプターよりも 2.5 倍大きい SL 結合ポケットを持っていることを明らかにした。さらに、ShHTL5 の結晶構造をもとに ShHTL7 の結晶構造モデルを作成したところ、ShHTL7 では ShHTL5 よりもさらに大きいポケットを持っていることを明らかにした。(Fig.4)。ShHTL5 タンパク質の結晶構造。興味深いことに、ShHTL5 と ShHTL7 のアミノ酸配列は非常に相同性が高いのに、推定される SL 結合ポケットを調べると、その表面はより小さいアミノ酸且つ、極性の強いアミノ酸へと置換されており、結果として ShHTL7 のほうが ShHTL5 よりもより大きなポケットを持っていることが明らかになった¹⁾。

ストライガのもつストリゴラクトン受容体のバイオセンサーとしての利用¹⁾

ストライガの防除にむけての重要なファクターとして、化合物による発芽の制御および耐性をもつ品種の育種があげられる。しかしながら、さきに述べたとおり、ストライガは実験には不向きであること、また、有害な植物であることから、実際に研究を行える研究機関は限られてしまう。そこで、超高感受性をもつストリゴラクトン受容体である ShHTL7 を利用してシロイヌナズナの種子を使ったバイオアッセイ系を構築できないか検討した。その結果、実際にイネを生育させ、その根のまわりに ShHTL7 を発現させたシロイヌナズナの種子を散布したところ、イネの根からの浸出液によりシロイヌナズナの発芽が促進された。このことから、このバイオアッセイ系により、少なくともイネにおける育種が可能であることが示された (Fig. 3)。

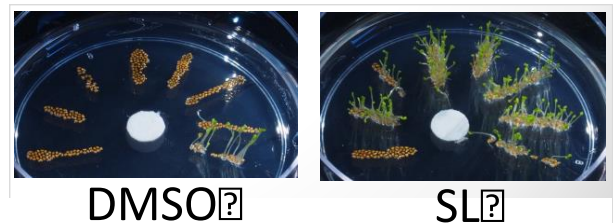


Fig. 3 超高感受度シロイヌナズナを用いたバイオセンサーのモデル図
実際に ShHTL 遺伝子を導入したシロイヌナズナ種子を播種し、中央のろ紙に SL を滴下したもの。SL 処理によって種子が発芽している。

SL 作用を示す化合物と作用を阻害する化合物の開発^{3,4)}

宿主がない状態で発芽させる自殺発芽による寄生植物の防除という観点から、寄生植物の発芽を誘導する化合物の探索が行われてきた。演者らのグループは、SL 受容体と情報伝達に関わる遺伝子の結合を酵母ツーハイブリッド法によりモニターし、2つの因子の結合を促進する化合物のスクリーニングを行った³⁾。また、SL 情報伝達の下流で働くと考えられている遺伝子を μ 過剰 μ に発現したシロイヌナズナを使って SL 作用を阻害する化合物を発見した⁴⁾。

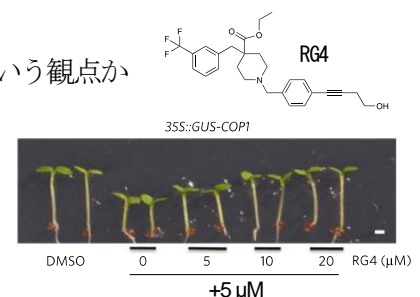


Fig. 4 ストリゴラクトン (SL) が胚軸の伸長を抑制するのに対して、作用を阻害する化合物 (RG4) を与えると胚軸の伸長が回復している様子。

いずれも直接ストライガに効果を示す化合物を発見することができた。

おわりに

本研究では、2015年に根寄生植物ストライガにおけるストリゴラクトン受容体の1つであるShHTL7遺伝子が超高感受性を示し、ストライガが宿主を認識するのに重要な働きを担っていることを明らかにした。この発見により、研究者が標的とすべきストリゴラクトン受容体が明らかにされた。その後、名古屋大学のITbMへと研究の拠点を移られた、土屋博士らによって2018年にShHTL7受容体のみをターゲットする化合物SPL7が開発され報告された¹⁰⁾。SPL7はフェムトモラーという極めて低濃度でストライガの発芽を誘導し、実際に10ナノモラーという低濃度でも土中のストライガに効果を示すことが明らかにされた。現在ではSPL7は東京化成工業にて販売が開始されており、誰でも購入することが可能となっている。2018年から、アフリカのケニアでの実地試験がまさに始まっており、今後の研究に期待が高まっている。

謝辞

学部3年生から現在に至るまで、ご指導いただいている、明治大学農学部 川上直人教授に、心より御礼申し上げます。また、明治大学での研究を発展させる形で、本研究の多くをカナダ・トロント大学のPeter McCourt教授の指導のもと、土屋雄一郎博士（現名古屋大学ITbM特任准教授）とともに行った、心より御礼申し上げます。さらに、本賞の受賞にあたり、推薦していただいた明治大学農学部針谷敏夫農学部長をはじめ大学職員の皆様、日頃の研究遂行で大変お世話になっている研究所、研究室の方々にも、この場をお借りして御礼申し上げます。最後に、演者の研究に理解と惜しみない応援をしてくれている、両親と家族に深甚なる感謝を申し上げます。

引用文献

- 1) Toh, S., Holbrook-Smith, D., Stogios, P., Onopriyenko, O., Lumba, S., Tsuchiya, Y., Savchenko, A., and McCourt, P.: Structure-function analysis identifies highly sensitive strigolactone receptors in *Striga*. *Science*, 350, 203-207 (2015)
- 2) Tsuchiya, Y., Yoshimura, M., Sato, Y., Kuwata, K., Toh, S., Holbrook-Smith, D., Zhang, H., McCourt, P., Itami, K., Kinoshita, T., Hagihara, S.: Probing strigolactone receptors in *Striga hermonthica* with fluorescence. *Science*, 349, 864-868 (2015)
- 3) Toh, S., Holbrook-Smith, D., Stokes, M. et al.: Detection of parasitic plant suicide germination compounds using a high-throughput *Arabidopsis* HTL/KAI2 strigolactone perception system. *Chem. Biol.*, 21, 988-998 (2014)
- 4) Holbrook-Smith, D., Toh, S., Tsuchiya, Y., and McCourt, P.: Small molecule antagonists of germination of the parasitic plant *Striga hermonthica*. *Nature Chem. Biol.* 12, 724~729 (2016)
- 5) Umehara, M., Hanada, A., Yoshida, S. et al.: Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature*, 455, 195-200 (2008)
- 6) Akiyama, K., Matsuzaki, K. & Hayashi, H.: Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 435, 824-827 (2005)
- 7) Cook, C. E., Whichard, L. P., Turner, B. et al.: Germination of witchweed (*Striga lutea* Lour.): isolation and properties of a potent stimulant. *Science*, 154, 1189-1190 (1966)

- 8) Xie, X., Yoneyama, K. & Yoneyama, K.: The strigolactone story. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 48, 93-117 (2010)
- 9) Ejeta, G.: The *Striga* scourge in Africa: a growing pandemic. in Integrating New Technologies for *Striga* Control (Ejeta, G. & Gressel, J. eds.), pp. 3-16, *World Scientific Publishing, Singapore* (2007)
- 10) Uruguchi D., Kuwata K., Hijikata Y. et al.: A femtomolar-range suicide germination stimulant for the parasitic plant *Striga hermonthica*. *Science*, 362, 1301-1305 (2018)