

論文内容の要旨

申請者氏名 和田 将吾

ハマウツボ科に属する寄生植物ストライガ(*Striga hermonthica*)は、主にアフリカ半乾燥地域で、ソルガムやイネ、トウモロコシなどのイネ科穀物に寄生し、大きな農業被害をもたらしている。ストライガは、宿主植物へ寄生する際に吸器と呼ばれる特殊な寄生器官を形成する。吸器は、吸器誘導物質と呼ばれる宿主植物由来の小分子化合物によって誘導され、吸器誘導物質として2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinon (DMBQ)が知られている。しかし、吸器誘導活性に必要な構造やその作用機構は未解明であった。

本研究では、まず、ケミカルスクリーニングによる新規吸器誘導物質の単離と構造活性相関解析をおこなった。約 10,000 化合物を含むケミカルライブラリーをストライガに加え、吸器誘導活性をもつ化合物の探索を行い、8 化合物を同定した。アナログ化合物の吸器誘導活性を測定したところ、芳香環上に一つのヒドロキシ基と、そのオルト位に一つまたは二つのメトキシ基が位置する構造が吸器誘導活性に必要であることがわかった。また、既知の吸器誘導物質と構造類似性の低い新規吸器誘導物質も単離した。

DMBQ や単離された吸器誘導物質は酸化還元反応に関わる物質であると推測された。そこで、吸器誘導における活性酸素種 (ROS) やペルオキシダーゼの役割を検証した。まず、 H_2O_2 の分解酵素であるカタラーゼを用いた実験により、 H_2O_2 が DMBQ の下流においても必要であることを明らかにした。次に、様々な ROS 阻害剤を用いて吸器誘導への関与を調べ、NADPH オキシダーゼの阻害剤が吸器形成阻害能を示すことを明らかにした。また、ペルオキシダーゼの添加および阻害実験を行い、吸器誘導にペルオキシダーゼが必須なこと、ペルオキシダーゼがシリンガ酸や DMBQ の吸器誘導活性を向上させる作用を持ち、高濃度のペルオキシダーゼはストライガの内在因子に作用して吸器誘導を引き起こすを明らかにした。さらに、ストライガにおける継時的な遺伝子発現解析を行った。吸器形成の過程で発現上昇した遺伝子には酸化還元反応に関する遺伝子が多く含まれていることが明らかとなった。

吸器誘導物質の生成機構を調べるために、吸器誘導を行ったストライガの培養液を LC-MS/MS や HPLC を用いて解析した。興味深いことに、ストライガを DMBQ 溶液で一日培養すると、培養液の DMBQ 濃度は検出限界以下に減少するにも関わらず、高い吸器誘導活性が保持されていることが明らかとなった。すなわち、この培養液には未知の吸器誘導物質が含まれていることが示唆された。培養液の性状解析を行なったところ、未知の吸器誘導物質は 3 kDa 以下のサイズを持つタンパク質性の物質であることが示唆された。

やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 和田 将吾

寄生植物ストライガによる農業被害は世界の食糧供給を脅かす深刻な問題であるが、ストライガの寄生機構についてはまだ未解明な部分が多い。寄生器官である吸器の形成開始には宿主由来の吸器誘導物質が必要であることが知られていたが、吸器誘導に必要な化合物の構造やその作用機構は明らかではなかった。

申請者は、ケミカルスクリーニングを用いてストライガに対する新規な吸器誘導物質をスクリーニングし、いくつかの新規吸器誘導物質を同定した。得られた化合物のアナログ化合物を使った活性試験により、吸器誘導には芳香環上にヒドロキシル基とメトキシ基が隣り合って存在することが重要であることを示した。このような構造活性相関試験はこれまでに行われておらず新規な知見である。さらに、既知の吸器誘導物質と類似した構造を持たない吸器誘導物質を同定した。今後の解析により、吸器誘導に必要な新たな構造の同定が進むと期待される。また、吸器形成阻害作用をもつ化合物も複数同定し、農薬としての応用が期待される。

また、申請者はストライガの吸器形成過程における活性酸素種 (ROS) とペルオキシダーゼの重要性を明らかにした。阻害剤を用いた試験により、NADPH オキシダーゼの活性がストライガの吸器形成に必須であることを示し、ペルオキシダーゼの添加がストライガの吸器形成率を上昇させることを明らかにした。ROS の制御によるストライガ防除法の開発につながる成果であり、研究結果は国際誌に原著論文として掲載された。

さらに、吸器誘導物質 DMBQ の溶液中でストライガを培養すると、培養液中の DMBQ 量が著しく減少するにも関わらず、培養液が高い吸器誘導活性を保持したままであることを発見した。様々な性状解析を行い、この溶液中にはペプチド性の吸器誘導物質が含まれている可能性を示した。ストライガの吸器誘導にペプチドが関わるということはこれまで知られておらず、全く未知の誘導物質である可能性が高い。引き続き解析を進めることにより、DMBQ の下流におけるシグナル伝達に関わる新規なペプチド性吸器誘導物質が同定できると期待される。

以上のように、本論文は寄生植物ストライガの吸器誘導物質の構造特異性と作用機構に関して新規な知見を提供するもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。

- やむを得ない事由 [図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()] により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】