

研究区分	教員特別研究推進（地域振興）
------	----------------

研 究 テーマ	化学/生物合成を基盤としたシストセンチュウ孵化誘因物質の生合成解明と生物活性評価				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部、生薬学分野・助教	氏名	渡邊 正悟
	研究協力者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	岸本 真治
		所属・職名	薬学部・教授	氏名	渡辺 賢二
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部、生薬学分野・助教	氏名	渡邊 正悟

講演題目
シストセンチュウ孵化誘因物質の推定生合成中間体の化学/生物合成と生合成酵素の機能解析
研究の目的、成果及び今後の展望 ナス科植物に寄生するジャガイモシストセンチュウ（PCN）やマメ科植物に寄生するダイズシストセンチュウ（SCN）は、世界中で甚大な被害を引き起こす農害線虫であるが、その効果的な防除策の開発は重要課題の一つである。中でも、天然から単離されたシストセンチュウ孵化誘因物質ソラノエクレピンA（SEA）およびグリシノエクレピンA（GEA）は、それぞれPCNとSCN特異的に強力な孵化誘因活性を示すことから農薬への応用が期待されている。しかし、天然から単離される量が極僅かであり、また、化学合成も非常に困難であることから現在でもその量的供給法の確立が強く望まれている。このような現状を背景に我々のグループでは、孵化誘因物質の生合成機構を解明し、生物合成による化合物の供給や生合成遺伝子のノックアウトによる耐性作物の分子育種を目指し研究を行ってきた。 我々はSEAとGEAの化学構造の共通点から、共通生合成中間体を經由して生合成経路が途中で分岐することによりこれら天然物が生成する仮説を提唱し、これらを証明することを目指した。これまでに、植物由来のシクロアルテノールを出発物質に用いて、C17位の位置選択的な水酸化を開始として、脱水-骨格転位による推定生合成中間体を合成することに成功した。令和7年度では、これが実際の生合成に関与するかに焦点をあてて研究に取り組むこととした。そこで着目したのが、2023年に神戸大学の研究グループによって報告された5つのSEA生合成遺伝子であるが、これらの詳細な機能は全く分かっておらず、また、生合成中間体についても一切捉えることができていなかった。我々は、合成した化合物が「真の生合成中間体」、そうでなくとも、天然物に類似した化学構造を有する「疑似生合成中間体」として働けば、生合成酵素によって認識され何らかの代謝を受けるものと期待して<i>in vitro</i>での酵素反応を実施することとした。 その結果、5つの中で2つの酵素が特異的に酸化反応を触媒し、新たな化合物を与えることを見出した。そこで、検出された生成物をHPLCによって分離・精製することで単一の化合物として得た。これらを、NMRによる構造解析を行い、ステロールのB環に相当する炭素が酸化されていることを明らかにした。この酸化部位はSEAにも含まれる部分構造であることから、生合成酵素の機能を強く示唆する結果だと考えられた。さらに、酵素反応によって、B環部分が酸化的に開環した生成物を得ることもでき、このものは、GEAの生合成中間体に相当するものと考えられた。そこで、マメ科植物のゲノムより、SEA生合成遺伝子のオーソログを探索し、異種宿主発現と酵素反応により同様の特異的な酸化反応を触媒することを確認できた。以上より、合成した推定生合成中間体を使って、これまで未解明であったエクレピン生合成遺伝子の機能推定が可能であることを実証することができた。現在は、未知のSEA生合成遺伝子の特定と生合成経路の解明に向けて研究を進めている。