

C 310

二重結合開裂型ジオキシゲナーゼ阻害剤の開発

韓善榮¹、斎藤臣男²、小林正智²、吉田茂男^{1,3}、○浅見忠男³(¹埼玉大学大学院、²理化学研究所バイオリソースセンター、³理化学研究所・植物機能)

【目的】 アブシジン酸は植物ホルモンとして蒸散作用、発芽、休眠、環境ストレス応答に密接に関与している。アブシジン酸の多様な植物における生理機能を明らかにするには、簡便にアブシジン酸欠損状態を作りだすことができるアブシジン酸生合成阻害剤の利用が有効であるが、いまだ特異的な生合成阻害剤は報告されていない。今までに知られているアブシジン酸生合成阻害剤としてはnorflurazonやfluridone等のフィトエン不飽和化酵素阻害剤が挙げられるが、いずれも植物生育に必須な成分であるカロチノイドの生合成を阻害することから、植物に対するダメージが大きく純粋にアブシジン酸の機能を調べるためには不相当であった。そこで特異的なアブシジン酸生合成阻害剤を得ることを目的として、zeaxanthinからアブシジン酸までの生合成経路のうち、酸素を利用した二重結合開裂型酵素である9-cis-epoxycarotenoid dioxygenaseに着目し、この部位を標的とする阻害剤を開発することにした。この反応はアブシジン酸生合成の鍵段階と考えられており、この反応を制御することによりアブシジン酸生合成の制御が容易に行えると考えた。

【方法及び結果】 大腸菌に発現させた標的酵素を用いたイン・ビトロ試験系を用いて生理活性を調べた。まず数多くの抗酸化剤に着目しスクリーニングを行った結果、NDGAが酵素活性を100 μ Mで完全に阻害することを見いだした。一方、アブシジン酸は気孔を閉じる活性を有するので、生理活性試験には気孔細胞に乾燥ストレスを与えてアブシジン酸が生合成される条件を用いた。マンニトールは細胞の膨圧を下げる効果があり、アブシジン酸を植物細胞中に蓄積させる効果がある。このアブシジン酸生合成促進条件でNDGAを処理したところ気孔の閉鎖が阻害されたが、その後のアブシジン酸を添加しても気孔が閉鎖されなかった。この事実はNDGAは生合成の阻害剤であるが細胞活性を失わせる毒性を有していることを示唆している。そこで、NDGAの構造に基づいた構造修飾を行い、多くの合成化合物を得て活性試験に供した。その結果、合成化合物中に特異的にアブシジン酸生合成系を阻害する化合物を見いだすことができた。この化合物はイン・ビトロの系で酵素活性阻害剤として作用するだけでなく、気孔細胞にストレスを与えた場合の閉鎖を阻害し、アブシジン酸を系に添加することにより効果が打ち消された。また、アブシジン酸誘導条件での内生量測定の結果、この化合物を処理した植物は無処理の植物と比較してアブシジン酸含量が減少していた。以上より新規合成化合物はアブシジン酸生合成阻害剤として機能していると考えた。

Development of specific inhibitors for double-bond cleaving dioxygenase

Sun Young HAN¹, Tamio SAITO², Masatomo KOBAYASHI², Shigeo YOSHIDA^{1,3}, Tadao ASAMI³(¹Saitama University, ²RIKEN Bioresource Center, ³RIKEN Plant Functions Lab.)