

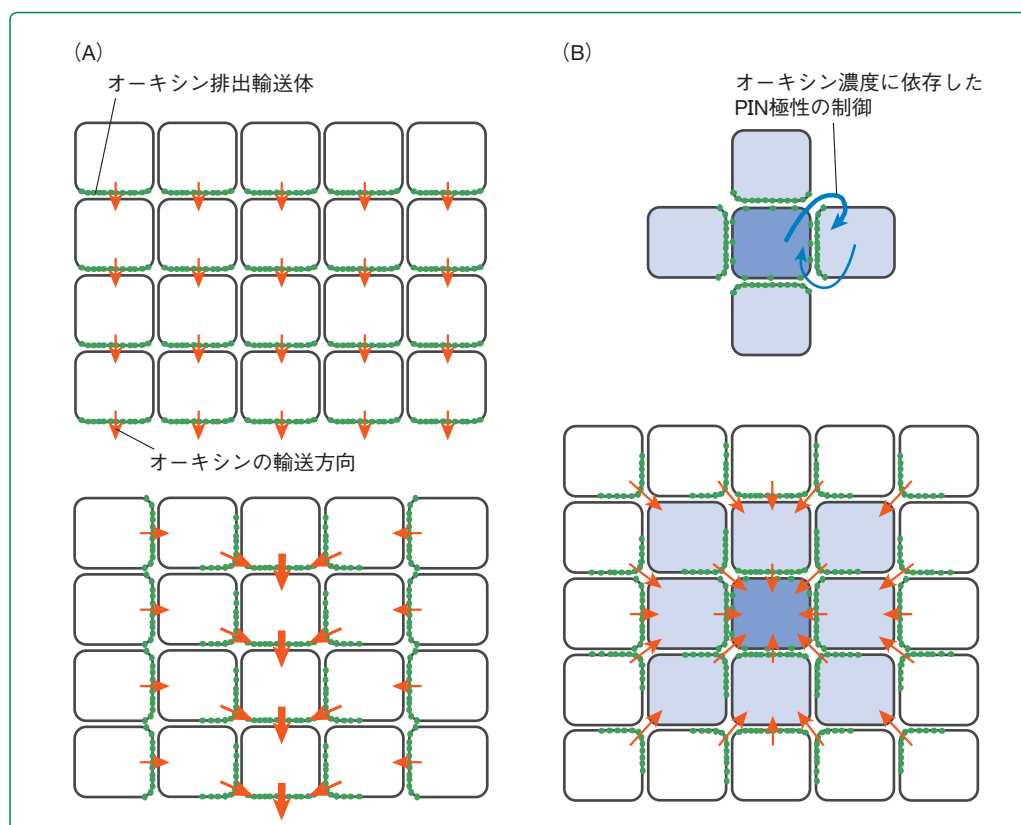
付録CD

補足2.1	オーキシンの輸送方向.....	02
補足2.2	内部標準法.....	03
補足3.1	サイトカイニン研究の歴史.....	04
補足3.2	コケにおけるサイトカイニンの働き.....	05
補足3.3	ウイルスフリーの植物.....	05
補足4.1	ジベレリンの定量.....	08
補足4.2	活性型ジベレリンの再定義.....	08
補足4.3	シダ植物の性分化制御物質の正体はジベレリンだった.....	09
補足5.1	水生植物の葉の形態形成.....	10
補足5.2	トキソプラズマ原虫.....	10
補足5.3	無性芽の形成と休眠.....	10
補足5.4	アブシシン酸受容体の発見.....	11
補足5.5	アブシシン酸受容体の局在性.....	11
補足5.6	アブシシン酸による遺伝子発現誘導に関わるbZIP型転写制御因子.....	11
補足5.7	MAPキナーゼカスケードとアブシシン酸情報伝達.....	12
補足5.8	アブシシン酸合成に関わる酵素と遺伝子.....	13
補足5.9	単量体および二量体を形成するアブシシン酸受容体分子種.....	13
補足5.10	Gタンパク質によるアブシシン酸情報伝達の制御.....	14
補足5.11	RNA, タンパク質の安定性とアブシシン酸応答.....	14
補足5.12	アブシシン酸を組織レベルで生きたまま可視化できる 革新的なアブシシン酸センサー.....	15
補足5.13	器官脱離：離層 (abscission zone) 形成.....	15
補足7.1	置換基の異なるさまざまなブラシノステロイド.....	17
補足8.1	ジャスモン酸の合成と代謝.....	20
補足11.1	ストリゴラクトンの抽出と定量.....	27
補足11.2	ストリゴラクトンの生合成経路.....	27

補足2.1 オーキシンの輸送方向

PINの偏在がどのように決められるのかという問題に対して、古くから実験だけではなく理論的観点からも研究が行われてきた。オーキシン極性輸送を説明する仮説がいくつも提唱され、そのなかでも最近の実験結果と相性が良いものとして「オーキシン運河説」と「up-the-gradientモデル」があげられる。

オーキシン運河説は、1980年代にサックスによって提唱された。オーキシンの流れがより促進されるようにオーキシンの流れ（PINの偏在）が決定されることを想定するモデルで、葉脈の形成過程をうまく説明できる（補図2.1A）。up-the-gradientモデルは、2006年に複数の研究グループによって提唱された数理モデルである。細胞内オーキシン濃度に比例して隣接する細胞膜にPINを偏在させることを想定しており、葉や花といった器官が発生する場所にオーキシンスピークを形成する過程をうまく説明できる（補図2.1B）。ただし、いずれもモデルを支持する決定的な実験データはいまだ得られておらず、今後の研究が待たれる。



補図2.1 オーキシンによるPINの偏在化モデル

(A) オーキシン運河説、一様なオーキシンの流れから、収束されたオーキシンの流れが生み出される。

(B) up-the-gradientモデル、水色はオーキシン濃度を示し、濃い色ほどオーキシン濃度は高い、わずかにオーキシン濃度が高い細胞があれば、隣接する細胞においてPINはその細胞側に偏在し、さらにオーキシン濃度を上昇させる。結果として、1つの細胞に収束したPINの偏在性が生み出され、オーキシンスピークが形成される。

補足2.2 内部標準法

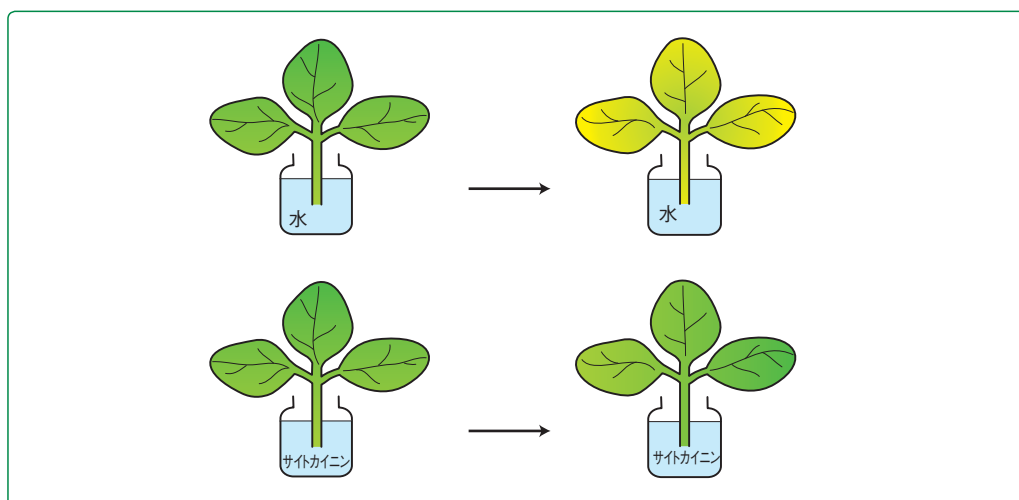
定量には、外部標準法と内部標準法があり、どちらも検量線を用いて行う。外部標準法では、標準試料で検量線を作成し、未知試料を定量する。内部標準法では、標準試料で検量線を作成する際に内部標準物質を一定量添加し、濃度比vsピーク面積比で検量線を作成し、定量を行う。内部標準物質としては、実試料中に含まれていない成分で、夾雑成分のピークと完全分離でき、定量目的成分に近い位置で溶出し、化学的、物理的に安定で高純度な成分であることが必要である。内部標準法のメリットは、注入量や溶解溶媒の揮発による誤差を防ぐことができる点である。

[参考：日本分光のホームページ <https://www.jasco.co.jp/jpn/technique/internet-seminar/hplc/hplc5.html>]

補足3.1 サイトカイニン研究の歴史 [詳細バージョン]

1940年代には、ウイスコンシン大学のスクーグ (Skoog) のグループは植物組織培養で継続的に細胞を増殖させる方法を探索していた。タバコの茎切片にオーキシンを与えただけでは切片の細胞の増殖を引き起こすことはできないが、ヤシの実の内乳 (胚乳) 抽出液などを同時に与えると細胞が増殖する。スクーグ研究室では、ヤシの内乳などからの活性物質の精製を試みていた。スクーグ研の博士研究員であったミラー (Miller) は、研究室に保管されていたニシン精子のDNAに強い活性物質が含まれていることを見出したため、大量の新しいDNAを購入したところ、そこからは活性抽出物が得られなかった。彼らはその理由を考え、DNAが古くなると活性を示すことに気づいた。そこで、彼らは、酸性条件下でオートクレーブしたDNAの抽出物をイオン交換樹脂などで精製し、活性物質を結晶化、カイネチンと名づけた。物質の分子量と性質から構造を推測し、同じ大学のストロングが化学合成することにより、カイネチンの構造が証明され、1956年に論文が発表された。カイネチンはアデニンの6位の窒素にフルフリル基 (2-メチルフラン) が結合したものである (書籍の図3.1B参照)。この研究の過程で、カイネチンは細胞増殖を誘導するばかりでなく、低濃度オーキシン/高濃度カイネチン条件ではシュート (芽, 茎, 葉) を誘導することを見出している (書籍の図3.2参照)。

しかし、カイネチンは植物体内存在する物質ではない。そこで、植物が持っているカイネチン様物質の発見に向けた競争が始まった。インディアナ大学に移ったミラーとニュージーランドのリーサム (Letham) は、独立に、トウモロコシの未熟種子の抽出物から活性物質を精製した。1964年にはリーサムが活性物質であるゼアチンを結晶化し、質量分析等の結果から化学構造を提案した。スクーグ、ストロング (Strong)、ミラーによって、ゼアチンやカイネチン様の生理活性を持つ物質 (オーキシン存在下で細胞増殖を誘導し、また、カルスからのシュート誘導能を持つ物質、およびこれらと作用機構が同じであると



補図3.1 サイトカイニンの老化抑制作用

ダイズの枝を水に挿しておくと、葉は老化して黄色くなるが、サイトカイニンは老化を抑制する。

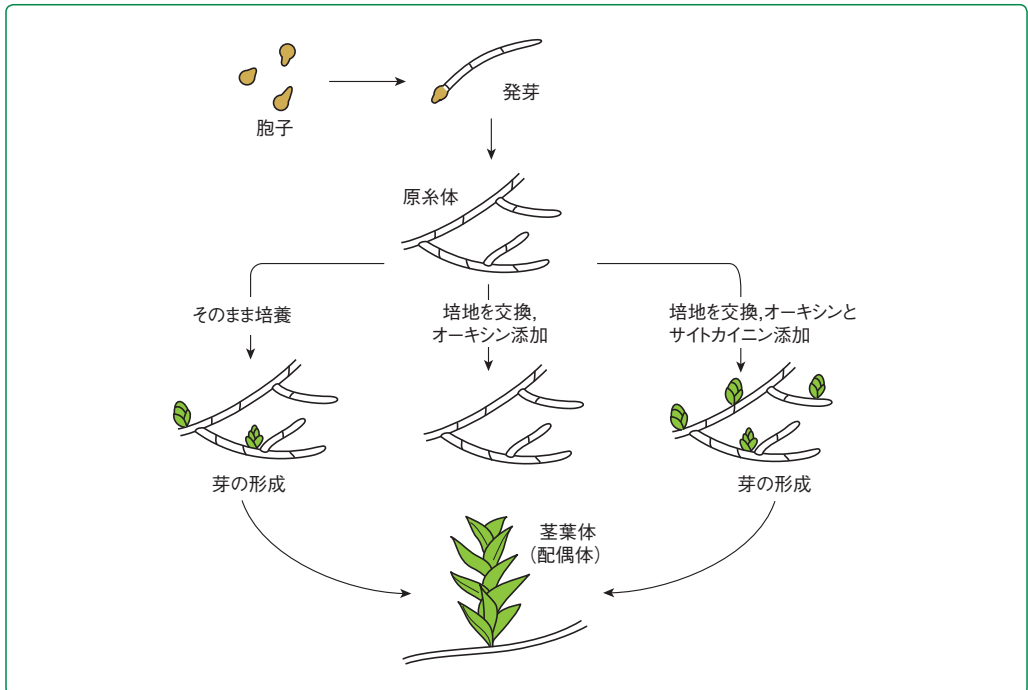
考えられる物質)はサイトカイニンと名づけられた(書籍の図3.1参照)。リーサムがゼアチンの正しい構造を示したことにより、天然サイトカイニンの発見者とされている。ミラーも1963年にはゼアチンを高度に精製し、化学的性質からはほぼ正しい構造を推定し、生物学的活性も調べていたが、質量分析の結果がなかったため、構造は確定できなかった。

補足3.2 コケにおけるサイトカイニンの働き

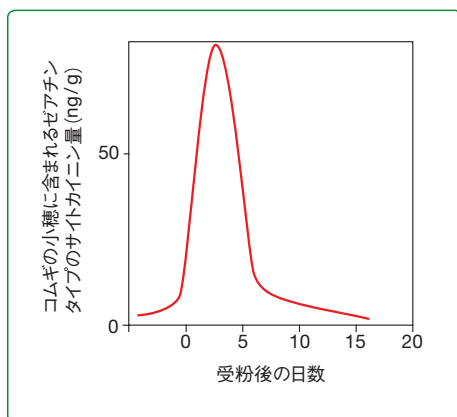
コケにおいてもサイトカイニンは重要な働きを持っている。セン類の一種であるヒメツリガネゴケでは、胞子が発芽すると1列に細胞が連なった原糸体として成長する。原糸体の密度が上昇すると、環境中に原糸体が分泌するサイトカイニンの濃度が高まり、芽が形成されて茎葉体と呼ばれる配偶体を形成する。培養液を交換し続けていると茎葉体は形成されなくなるが、そこにサイトカイニンとオーキシンとを添加すると、茎葉体が形成される(補図3.2)。これらのことから、ヒメツリガネゴケはサイトカイニンによって自身の密度をモニターし、茎葉分化のタイミングを計っていると考えられる。

補足3.3 ウイルスフリーの植物

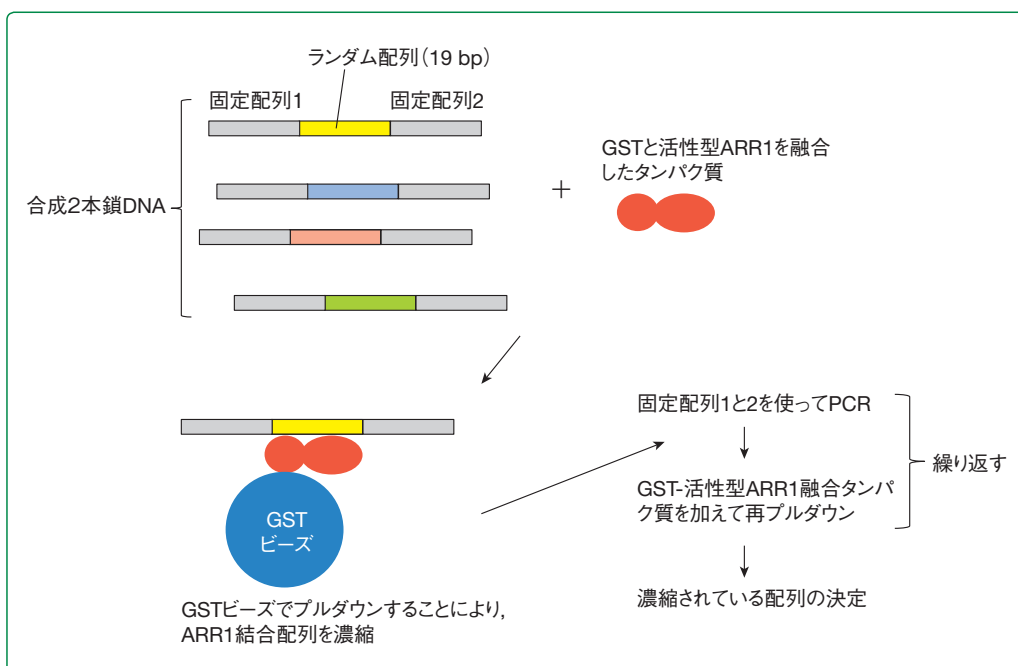
イチゴやジャガイモなどの作物を栄養繁殖させていると、ウイルスがはびこることがある。ウイルスに感染した作物でも、茎頂分裂組織は感染していないことが多いので、茎頂分裂組織をとり出して培養して増殖させ、ウイルスフリーの菌をつくるのが一般的に行われている。ランの苗などもこの方法で増やすことが行われている。培養の際に、植物に応じてサイトカイン、オーキシン、ジベレリンなどが加えられる。



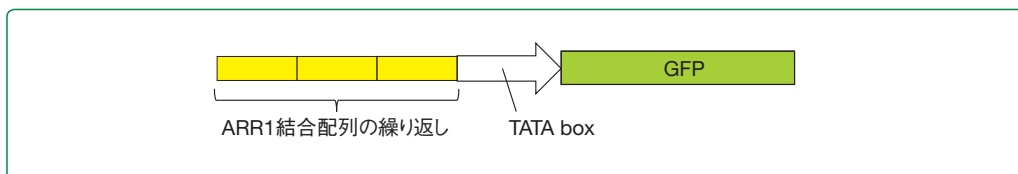
補図3.2 サイトカイニンによるコケの茎葉体(配偶体)の形成誘導



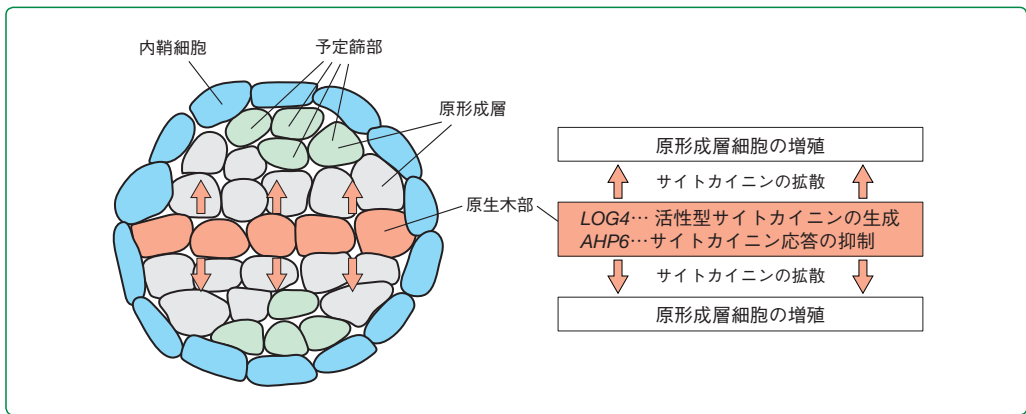
補図3.3 コムギの小穂のサイトカイニン量
未熟種子には高濃度のサイトカイニンが含まれる。



補図3.4 SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment) によるARR1結合配列の決定



補図3.5 ARR1結合モチーフを用いたサイトカイニン応答マーカ (TCS)
ARR1結合DNA配列をダンデムにつないだ人工プロモーターにGFP遺伝子を連結している。植物に導入すればサイトカイニンに応答してGFPが発現するので、サイトカイニンの多い組織(厳密にはサイトカイニンに反応している組織)がわかる。

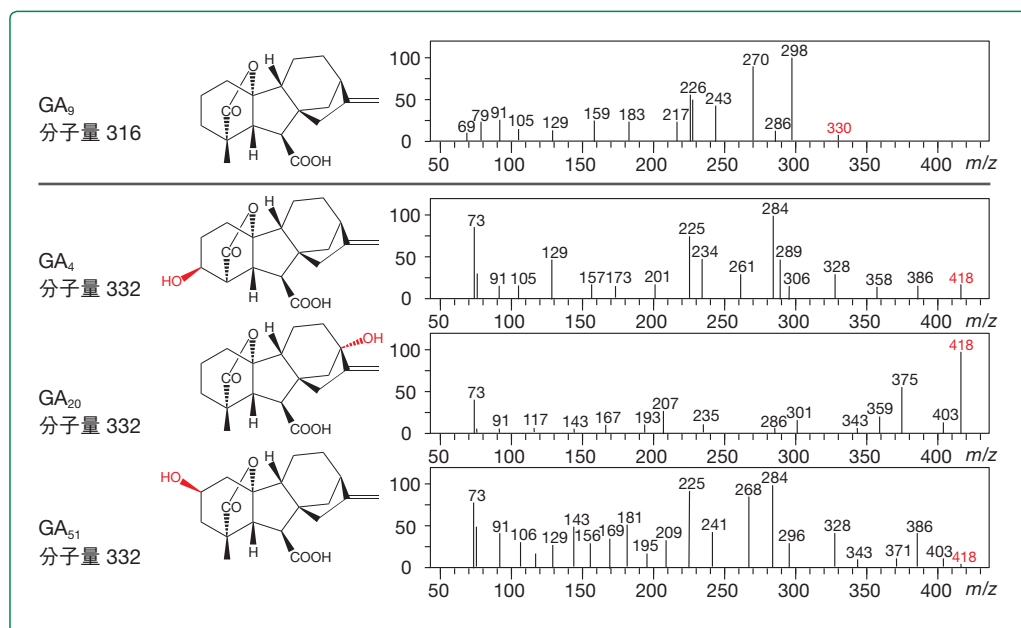


補図3.6 シロイヌナズナの根の中心柱のパターン形成におけるサイトカインの役割

根の分裂領域の中心柱の横断面の模式図。この外にある内皮、皮層、表皮、側方根冠は描いていない。原生木部ではサイトカニン活性化酵素遺伝子*LOG4*と*AHP6*が発現している。活性型サイトカニンが拡散し、予定篩部領域を含む原形成層 (procambium) の細胞列を増やす細胞分裂を促進する。一方、原生木部ではサイトカニン情報伝達の阻害タンパク質*AHP6*が発現しており、原生木部の分裂を抑制するとともに、適切に木部に分化させる。

補足4.1 ジベレリンの定量

ジベレリンは、未熟種子など比較的豊富に含む材料でg新鮮重あたり数 μg 程度、一般にはより少なくg新鮮重あたり1ng未満しか植物体中に含まれない。このようなジベレリンを同定するため、質量分析にもっぱらGC-MSが用られた時代には1kgかそれ以上の材料が必要であった。近年LC-MS/MSが普及し、1g程度の材料を用いて検出や定量が可能になってきており、材料の必要量減少に伴い、精製過程も大きく単純化する傾向にある。ただし、検出されたジベレリンが何であるかを定める作業（同定という）を行う際は、参照可能な情報が豊富に蓄積されているGC-MSが現在でも威力を発揮する（補図4.1）。



補図4.1 構造の似ているジベレリンのマスフラグメント比較 (GC-MS)

分子内のカルボキシ基をメチルエステル化 (+14) し、また、分子内の水酸基はトリメチルシリルエーテル化 (+72) した誘導体を分析対象としている。したがって、たとえばGA₄に対する誘導体の分子量は418 (= 332 + 14 + 72)となる。GA₂₀やGA₅₁に対する誘導体の分子量も418となるが、互いにフラグメントパターンが異なるため区別可能である。

補足4.2 活性型ジベレリンの再定義

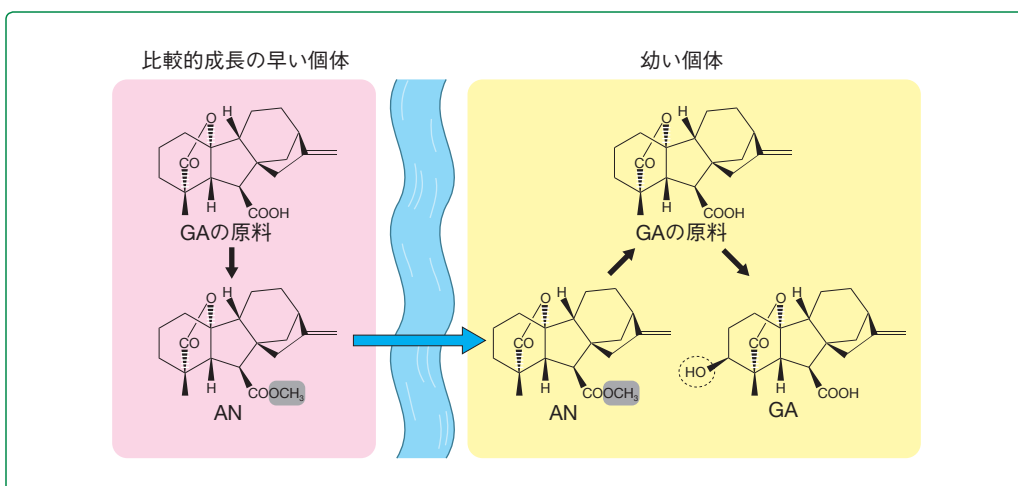
ジベレリン受容体の結晶構造解析に伴って、ジベレリン分子内の各部位とGID1のどのアミノ酸残基とが結合するのかを検証した結果、活性型ジベレリンが再定義された。すなわち、炭素数19の*ent*-20-ノルジベレラン骨格で構成され、1) C-3位 β 面に水酸基を持ち、2) C-6位に遊離のカルボキシ基を持ち、3) γ -ラクトン環を有し、4) C-2位に水酸基を持たない構造のジベレリンのみが受容体と結合できるため、そのままこれらの構造要求性が活性型ジベレリンとしての必要条件となった（書籍の図4.2参照）。さらに、いままでに解析された植物のジベレリン受容体は、すべてGA1よりもGA4に強く結合することもわかってきた。GA4よりはむしろGA1を活性型ジベレリンとして利用する植物が多いにもかかわらず、なぜジベレリン受容体はGA4により高い親和性を持つのか、今後の研究が待たれる。

補表4.1 DELLAタンパク質との相互作用で制御される転写因子

転写因子	ファミリー	生理作用
PIFs	bHLH	胚軸の細胞伸長, カロテノイド, クロロフィル合成
ALC	bHLH	莢での細胞分化
SPLs	SBP-box	栄養成長から生殖成長への転換
EIN3	EIL	フック(かぎ状部)の形成
BZR1	BES/BZR1	胚軸の細胞伸長
MYC2	MYC2	セスキテルペンの生合成
GL3, EGL3	bHLH	トライコーム(毛状突起)の形成
GL1	MYB	トライコーム(毛状突起)の形成
ARFs	ARF	胚軸の細胞伸長
TCPs	TCP	茎頂での細胞分裂
SCL22, 27	GRAS	クロロフィル合成
ATML1, PDF2	HD-ZIP	吸水による発芽誘導

補足4.3 シダ植物の性分化制御物質の正体はジベレリンだった

高等植物の出現よりも前に地球上に存在していたシダ植物の体内からは、ジベレリン(GA)が検出される。しかし、茎を伸長させる作用など明瞭でなく、その生理的役割はよくわからなかった。他方、シダ植物には分子構造がGAとよく似たアンセリディオゲン(AN)も存在し、まだ♂/♀が決まらない若い個体に対する♂器官(造精器)の誘導活性を持つことが知られていた。最近になり、ANは比較的、成熟個体から分泌され、水を介して未成熟個体に到達するとGAに変換されることが明らかとなり、つまり造精器誘導の活性本体はGAであることが判明した。シダ植物はGA原料の分子内カルボキシ基を巧妙に保護/脱保護することによりGA生合成の過程を途中で中断するとともに、個体間の移動という「橋渡し」のミッションをANに担わせたと理解することができる(補図4.2)。



補図4.2 ANによる「橋渡し」のミッション

補足5.1 水生植物の葉の形態形成

水生植物の葉は水中と空気中でその形態が大きく異なる異型葉を形成し、それぞれ水中葉、気中葉と呼ばれる。水中葉は水の流れによる物理的傷害を受けにくい形態を持ち、比較的細長く、柔軟性が高い。水中葉の表皮は薄く、クチクラがないか、あまり発達していない。また、水中葉では気孔を構成する孔辺細胞も少数であるか、消失している。このような形態や気孔密度を持つ水中葉の形成にはエチレンが働く。水中では植物体内にエチレンが蓄積するが、エチレン受容阻害剤を与えると水中葉の形成が阻害される。また、空気中でエチレンを処理すると水中葉の特徴を示す葉が形成される。一方、気中葉の形成にはアブシシン酸が働く。空気中ではエチレン内生量が低下してアブシシン酸内生量が増加し、アブシシン酸の作用により気中葉の形成が誘導される。水中ではエチレンの作用によりアブシシン酸内生量が低下するが、アブシシン酸を処理すると水中でも気中葉の特徴を示す葉が形成されることが示されている。

補足5.2 トキソプラズマ原虫

ヒトを含む温血脊椎動物に感染してトキソプラズマ症を引き起こす寄生性原生動物のトキソプラズマ原虫もアブシシン酸を合成する。アブシシン酸は細胞質カルシウムイオン濃度を上昇させ、トキソプラズマ原虫の宿主細胞からの脱出を促すため、周囲の細胞への感染拡大をもたらす。面白いことに、アブシシン酸合成を人為的に阻害すると、原虫は宿主細胞内で休眠状態に移行する。トキソプラズマ原虫は、紅藻由来のプラスチド（色素体）であるアピコプラストを持ち、植物と同様な経路でアブシシン酸を合成すると考えられている。

補足5.3 無性芽の形成と休眠

アブシシン酸は、水生の被子植物であるウキクサやコケ植物の無性生殖形態形成、休眠の形成や維持に関わることが示されている。ウキクサをアブシシン酸で処理すると、葉状体の成長が抑制されるとともに、休眠芽（turion）の形成が誘導される。自然条件では、休眠芽は夏から秋にかけて形成され、水底で冬を越し、春に成長を再開する。休眠芽の細胞は多数の澱粉粒を蓄積し、細胞壁が厚く、タンニンやアントシアニンを蓄積している。

セン類の原糸体をアブシシン酸で処理すると、その成長が抑制され、無性生殖形態の brood cell が形成される。brood cell は強い乾燥耐性を持ち、環境悪化に耐え、繁殖を可能としている。タイ類（ミカヅキゼニゴケ）の無性芽（gemmae）から葉状体への成長はアブシシン酸処理によって抑制される。ただし、ミカヅキゼニゴケではアブシシン酸ではなく、主にルヌラリン酸が内生の成長抑制に働くと考えられている。また、ゼニゴケではオーキシンが無性芽の休眠形成に働くことが示されたが、アブシシン酸の関与は不明である。近年、コケ植物のゲノム情報が解読され、種子植物と共通のアブシシン酸合成遺伝子やアブシシン酸情報伝達遺伝子の存在が示されている。また、生活環の大部分が半数体（配偶体）であることなどから、遺伝子破壊による機能解析が容易であり、種子植物との共通性や独自性が明らかにされつつある。コケ植物無性芽の休眠形成・維持におけるアブシシン

酸の合成や反応の分子機構の解析が待たれる。

補足5.4 アブシシン酸受容体の発見

アブシシン酸受容体を単離・同定する試みは、アブシシン酸結合タンパク質の精製、アブシシン酸感受性突然変異体の選抜と解析などから長年にわたって行われてきた。これらの研究からいくつかのタンパク質がアブシシン酸受容体候補として報告されたが、受容体として広く認められているものはPYR/PYL/RCARタンパク質のみである。

アブシシン酸受容体のPYR/PYL/RCARの発見は、数万の化合物が登録されているライブラリーを用いた発芽抑制物質ピラバクチンの探索と、酵母を用いたPP2C結合タンパク質の探索の両面からもたらされた。シロイヌナズナゲノムには、この受容体遺伝子が14個見出されている。アブシシン酸受容体の発見は、生きた状態でアブシシン酸の組織・細胞局在性を可視化したり、作用の制御メカニズムを探る革新的な技術開発をもたらし、作物の成長調節やストレス耐性付与剤の開発にも貢献することが期待されている。

アブシシン酸受容体は、アブシシン酸依存的にタンパク質脱リン酸化酵素であるPP2Cに結合する。このアブシシン酸依存的な結合は酵母細胞内でも再現でき、また単離したタンパク質を用いて試験管内でも再現できる。酵母のツーハイブリッド系(Y2H)は、タンパク質間の相互作用を遺伝子発現誘導による最少培地における酵母の増殖や発色で検出する方法である。Y2Hを利用すると、アブシシン酸受容体とPP2Cを発現させた酵母細胞はアブシシン酸依存的に増殖・発色する。この方法を用い、低濃度のアブシシン酸を積極的に酵母細胞内に取り込む活性を持つシロイヌナズナのアブシシン酸輸送体NFP4.6が単離・同定された。また、化合物のライブラリーから、植物に乾燥耐性を付与する化合物(アブシシン酸のアゴニスト)が選抜されている。

補足5.5 アブシシン酸受容体の局在性

アブシシン酸受容体のPYR/PYL/RCARタンパク質は可溶性で、細胞質および核に局在する。最近、この受容体タンパク質の一つが、他のタンパク質(CAR)を介して膜に局在し、アブシシン酸反応に重要な役割を果たしていることが示された。CARタンパク質は、シロイヌナズナのアブシシン酸受容体分子の一つであるPYL4に結合するタンパク質として見出された。CARタンパク質は、カルシウムイオンの濃度上昇に依存して細胞膜のリン脂質に結合する。このため、カルシウムイオン濃度の上昇に伴い、アブシシン酸受容体分子も細胞膜に局在するようになる。アブシシン酸受容体分子とCARタンパク質の結合はアブシシン酸に依存しないが、CARタンパク質をコードする複数の遺伝子の機能が失われた突然変異体の芽生えでは、アブシシン酸低感受性を示すことから、CARタンパク質はアブシシン酸応答に働くことが確認されている。

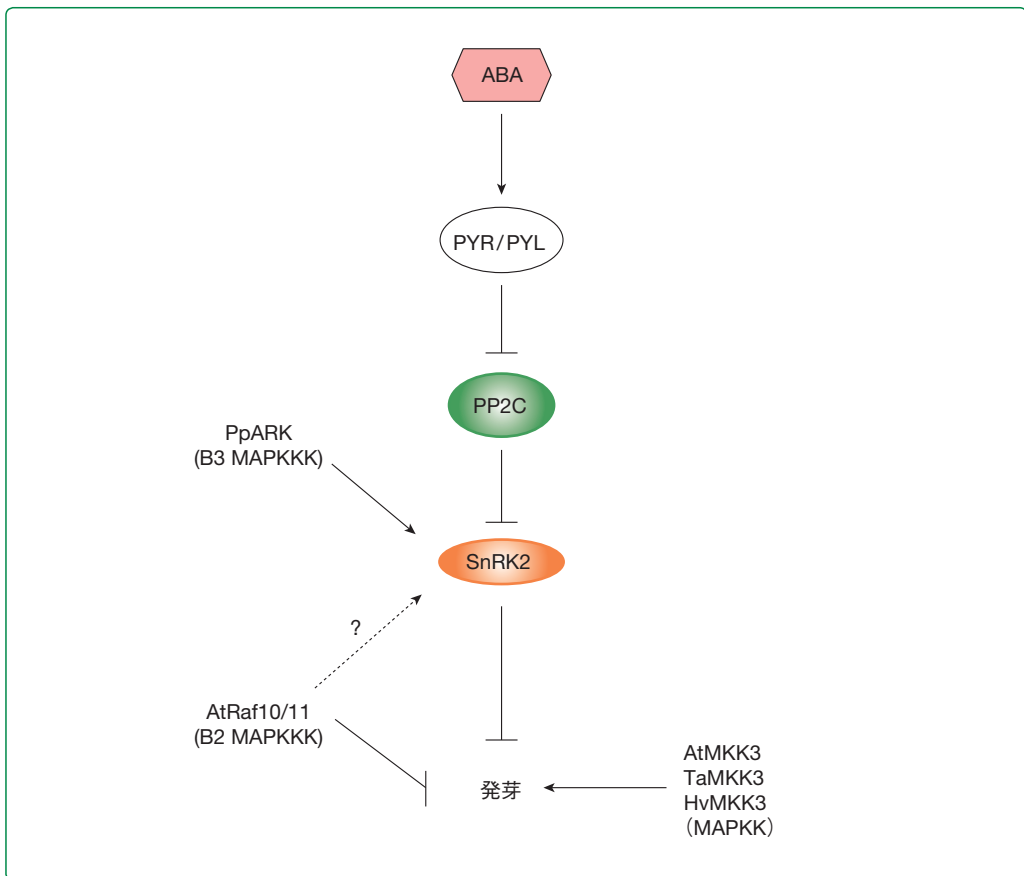
補足5.6 アブシシン酸による遺伝子発現誘導に関わるbZIP型転写制御因子

シロイヌナズナにおいて、アブシシン酸誘導性遺伝子の発現を制御するbZIP型転写制御因子は、主に種子で働くABI5サブファミリーと、主に植物体で働くAREB/ABFサブ

ファミリーに分かれる。いずれも二量体として機能し、SnRK2によるリン酸化を受けて活性化される。水ストレスを受けた植物において、AREB/ABFはSnRK2だけでなく、カルシウム依存性タンパク質リン酸化酵素であるCPKによりリン酸化され、その活性が高まる。

補足5.7 MAPキナーゼカスケードとアブシシン酸情報伝達

MAPキナーゼによるタンパク質リン酸化カスケードは、環境やホルモンに応答した反応に関与することが知られている。アブシシン酸の情報伝達経路において、MAPキナーゼカスケードが働く可能性が示されている。シロイヌナズナのMAPキナーゼカスケードを構成するMKK3は、アブシシン酸による種子発芽の抑制を緩和する働きを持つことが示されている。成熟期のコムギ種子が、降雨などの多湿な環境により収穫前に発芽してしまうと、胚で合成されたジベレリンにより胚乳のデンプンやタンパク質を分解する酵素が誘導され、小麦粉の品質を著しく低下させてしまう。最近、コムギとオオムギの穂発芽耐性遺伝子の探索と解析から、両者のMKK3遺伝子の変異が種子休眠に寄与することが明らかにされた。穂発芽を防止するため、種子の休眠性を高めることを目的とした育種が行わ



補図5.1 アブシシン酸情報伝達におけるMAPキナーゼの関与

Ppはヒメツリガネゴケ, Atはシロイヌナズナ, Taはコムギ, Hvはオオムギのタンパク質であることを示す。

れているが、これらの遺伝子の情報は育種にも役立つことが期待されている。

最近、コケ（ヒメツリガネゴケ）において、SnRK2の活性化にB3型MAPKKKによるリン酸化が関わることを示された。シロイヌナズナでは、B2型MAPKKKのRaf10とRaf11がアブシシン酸による発芽抑制に働くことが示されている。ただし、この作用がSnRK2の活性化を介するかどうかは知られていない。

補足5.8 アブシシン酸合成に関わる酵素と遺伝子(補表5.1, 書籍の図5.4参照)

ネオキサントシン合成酵素は、ジベレリン合成阻害剤を与えても発芽するシロイヌナズナの アブシシン酸欠損突然変異体の解析から明らかにされた。ネオキサントシン合成酵素は、ロドプシン（β-カロテンを前駆体とするレチノールを結合して網膜における光受容に関わる）と一次構造（アミノ酸配列）は異なるが、二次構造における親水性/疎水性アミノ酸のパターンに共通性が見られ、類似の立体構造を持つと考えられている。

ピオラキサントシンの9位、ネオキサントシンの9位の二重結合をトランス位からシス位に異性化する反応を触媒する酵素については、タンパク質、遺伝子ともに不明である。ただし、この異性化はアブシシン酸の活性発現に必須で重要な反応である。

シロイヌナズナのABA3は、アルデヒド酸化酵素の活性発現に必要なモリブデンコファクターの合成に関わる、モリブデン補因子硫化酵素である。

補足5.9 単量体および二量体を形成するアブシシン酸受容体分子種

アブシシン酸受容体タンパク質であるPYR/PYL/RCARには、アブシシン酸との親和性が比較的 low、アブシシン酸が結合していない状態では二量体を形成しているタイプと、アブシシン酸との親和性が高く、アブシシン酸が結合していない状態でも単量体で存在するタイプの2タイプが知られている。二量体を形成しているタイプの受容体分子は、アブシシン酸と結合することにより単量体となり、PP2Cと結合してアブシシン酸反応を誘導する。二量体を形成する受容体分子の多重変異体はアブシシン酸反応が大きく低下するこ

補表5.1 アブシシン酸合成に欠損を持つ突然変異体

突然変異体(植物種)	ABA合成経路における欠損反応	コードするタンパク質(酵素の略称)
<i>aba2</i> (タバコ) <i>aba1</i> (シロイヌナズナ)	ゼアキサントシン、アンテラキサントシンのエポキシ化	ゼアキサントシンエポキシダーゼ(ZEP)
<i>aba4</i> (シロイヌナズナ)	ピオラキサントシンからネオキサントシンへの変換	ネオキサントシン合成酵素(NSY)
<i>vp14</i> (トウモロコシ) <i>notabilis</i> (トマト)	エポキシカロテノイドの酸化開裂	9- <i>cis</i> -エポキシカロテノイドジオキシゲナーゼ(NCED)
<i>aba2</i> (シロイヌナズナ)	キサントキシンからアブシシンアルデヒドへの変換	キサントキシン脱水素酵素(SDR; ショートチェーンデヒドロゲナーゼレダクターゼ)
<i>aao3</i> (シロイヌナズナ) <i>sitiens</i> (トマト)	アブシシンアルデヒドの酸化	アブシシンアルデヒド酸化酵素(ABAO)
<i>aba3</i> (シロイヌナズナ) <i>aba1</i> (タバコ) <i>flacca</i> (トマト)	アブシシンアルデヒドの酸化(アルデヒド酸化酵素の活性に必要なモリブデン補因子合成)	モリブデン補因子硫化酵素

とから、アブシシン酸内生量の上昇に応じた反応の調節に重要な役割を持つと考えられている。一方、単量体タイプの受容体分子は、アブシシン酸がなくてもPP2Cと結合し、その活性を抑制する。ただし、PP2C活性の抑制能力は、アブシシン酸が結合すると大きく上昇する。単量体タイプの受容体はアブシシン酸内生量の低い、すなわちストレスを受けていない組織におけるアブシシン酸反応に働いているのかもしれない。

補足5.10 Gタンパク質によるアブシシン酸情報伝達の制御

アブシシン酸作用の制御には、GTP結合・分解酵素活性を持つGタンパク質の関与が報告されている。三量体Gタンパク質は細胞膜の細胞質側表層に存在し、 α 、 β 、 γ の3種のサブユニットで構成される。動物細胞では、膜に存在する受容体タンパク質の、Gタンパク質共役受容体(GPCR)が細胞外の情報をGタンパク質に伝える。シロイヌナズナでは、 $G\alpha$ と $G\beta$ サブユニットはアブシシン酸の作用を抑える働きを持つ。また、シロイヌナズナのGPCR候補として見出されたGCR1にもアブシシン酸の作用を抑制する働きが示されている。さらに、Gタンパク質の下流で働くホスファチジン酸とスフィンゴシンリン酸が、アブシシン酸により制御されることも知られている。

シロイヌナズナから見出されたGPCRに似た構造を持つGタンパク質GTGは、三量体Gタンパク質とは逆に、アブシシン酸作用を高める働きを持つ。GTGの作用は、Gタンパク質 α サブユニットによって抑制される可能性が示されている。また、GTGにはアブシシン酸が直接結合する可能性が示されているが、結合に関わる分子は全体のごく一部であり、受容体として働くことには疑問が提示されている。

補足5.11 RNA、タンパク質の安定性とアブシシン酸応答

遺伝子の働きは転写だけでなく、mRNAの安定性、翻訳、タンパク質の修飾や分解など、さまざまなレベルで調節される。アブシシン酸応答に異常を持つシロイヌナズナ突然変異体の解析から、mRNAのプロセッシング、輸送、分解に関わるさまざまな因子がアブシシン酸作用に関わることを示されている。たとえば、mRNAのスプライシング、核から細胞質への輸送、そして分解に関わるSm様snRNP(SAD1)は、発芽や根の伸長においてアブシシン酸作用を抑制する。また、mRNAのスプライシングや核から細胞質への輸送に関わるキャップ構造結合タンパク質(ABH1)も、アブシシン酸作用を抑制する。さらに、mRNAのポリ(A)鎖に特異的なRNA分解酵素(AHG2)もアブシシン酸作用を抑制することが示されており、mRNAの安定性の制御がアブシシン酸情報伝達に重要な役割を持つと考えられている。

特定のタンパク質の選択的な分解や安定化は、オーキシンやジベレリンのみでなく、アブシシン酸作用の制御にも関わる。真核生物に普遍的に存在することから「ユビキチン」と名づけられた低分子のタンパク質は、ユビキチン活性化酵素(E1, E2, E3)の働きで特定のタンパク質に結合し、その分解の目印となったり、逆に安定化させたり、活性に影響を与えたりする。標的となるタンパク質にユビキチンを結合させるE3ユビキチン活性化酵素を構成するサブユニットのうち、標的タンパク質に直接結合するサブユニットの遺

伝子は多数存在し、タンパク質ごとに別のサブユニットが対応すると考えられている。シロイヌナズナのE3ユビキチンリガーゼの一つ（AIP2）は、アブシシン酸誘導性遺伝子の転写制御因子（ABI3）の分解を介して、アブシシン酸作用を抑制する。浸透圧・塩・乾燥ストレスによって発現が高まるシロイヌナズナのRINGフィンガータンパク質（XERICO）はユビキチン化複合体を構成し、アブシシン酸合成を高める働きを持つ。XERICO遺伝子の発現はジベレリンによって抑制されることから、アブシシン酸とジベレリンの相互作用において重要な接点として働くと考えられている。アブシシン酸誘導性遺伝子の転写誘導に関わるbZIP型転写制御因子、ABI5タンパク質の分解にも、RINGフィンガータンパク質（AFP1）が関わることが示されている。

補足5.12 アブシシン酸を組織レベルで生きたまま可視化できる革新的なアブシシン酸センサー

植物組織のどこに、どの程度のアブシシン酸が存在し、それが環境条件や時間によりどのように変化するかを知ることは、植物の環境応答やアブシシン酸作用をより深く理解するために重要である。従来、アブシシン酸誘導性遺伝子の転写制御領域にレポーター遺伝子をつなぎ、形質転換植物における発現を見ることにより、遺伝子発現誘導を介した間接的な方法で、組織におけるアブシシン酸の分布が検出されてきた。

一方、アブシシン酸に依存したアブシシン酸受容体とPP2Cの結合は物理的で直接的な現象である。最近、この結合によるタンパク質の構造変化を蛍光タンパク質間の蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）として検出する方法が開発された。この方法では、2種の蛍光タンパク質、受容体、PP2Cをつなげて1つの融合タンパク質として植物体内で発現させ、励起光の変化から生きた植物組織のアブシシン酸の局在、移動を検出している。この特異的で直接的なアブシシン酸「センサー」を利用することにより、アブシシン酸の輸送のしくみや、アブシシン酸合成の細胞・組織特異性、アブシシン酸作用の時間的・空間的解析が容易になると期待される。また、アブシシン酸作用を制御するさまざまな薬剤のスクリーニングや開発にも利用が期待される。

補足5.13 器官脱離：離層（abscission zone）形成

葉や花の器官脱離は、通常、器官の老化の最終段階に起こるが、過剰に付いた未受精花、未熟果実なども器官脱離により落花・落果する。植物体から特定の器官や組織が離れるには、まず脱離の前提となる離層が形成され、次に器官や組織が分離する場所（分離層細胞）における細胞壁の分解、水分の喪失や病原菌の感染を防ぐ防御層の形成が引き起こされ、最終的に脱離に至る。

通常、離層は器官が成熟する以前の発達過程で形成される。葉柄の基部に形成される離層は周囲の細胞より小型で、液胞が発達しない数層から数十層程度の細胞で構成される。離層のうち、葉身側の一部の細胞層（分離層 separation layer）で細胞どうしが分離し、脱離に至る。分離層における細胞の分離は、セルラーゼやポリガラクトクロナーゼによる細胞壁の分解によって引き起こされる。器官脱離は葉の老化と同様、転写および翻訳阻害

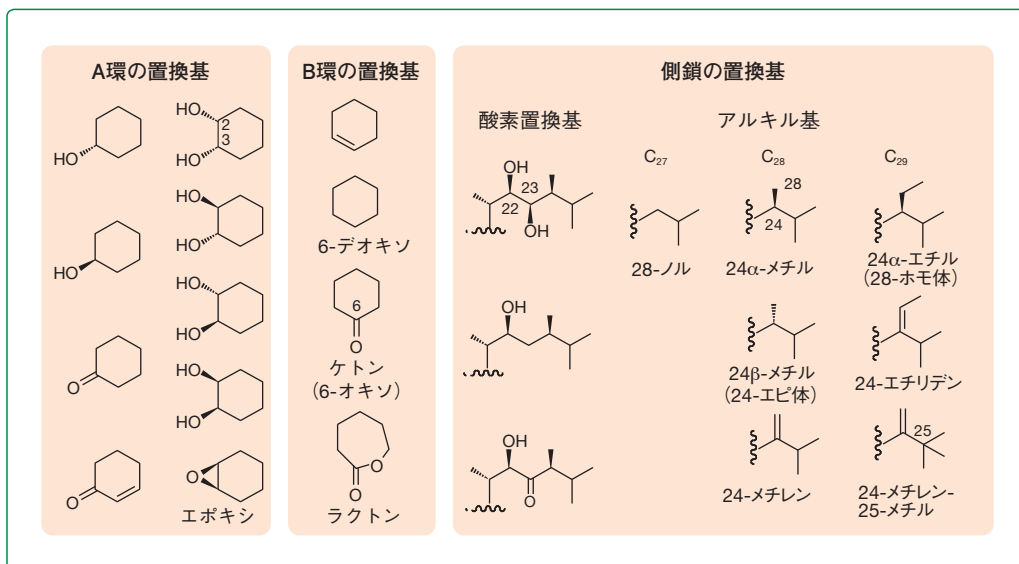
剤により抑制される。

エチレンは、分離層におけるこれら加水分解酵素遺伝子の発現を誘導することにより、葉の脱離をもたらす。茎側の植物体に残る離層では、脱離が起こる前に細胞の拡張などの形態的变化や、防御タンパク質の合成などの生化学的变化、水分喪失を防ぐ周皮の形成を伴う防御層の形成が起きる。ワタを含む多くの植物では、アブシシン酸は老化促進作用を介してエチレンの合成あるいはエチレン感受性の上昇をもたらす、葉の分離層における細胞分離を間接的に誘導する。葉の脱離は老化だけでなく、乾燥ストレスによってももたらされる。オレンジの葉では、乾燥により誘導されたアブシシン酸がエチレン生成に関与し、器官脱離が誘導されると考えられている。一方、エチレン処理によるワタの子葉の脱離は、アブシシン酸合成阻害剤処理によって抑制されることから、アブシシン酸自身も葉の脱離に寄与している可能性が指摘されている。

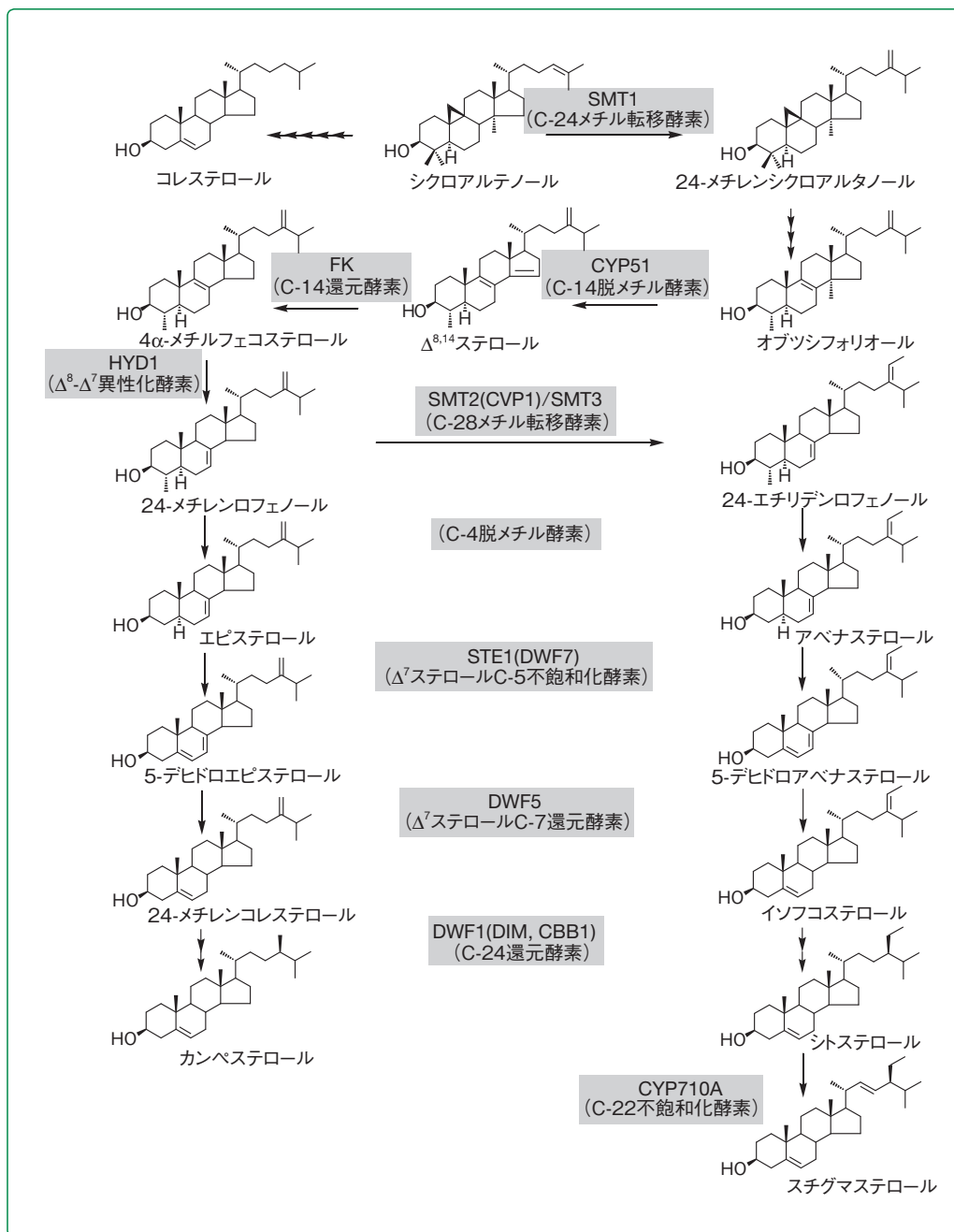
離層は組織・器官の発達後に形成されることもある。この際、アブシシン酸が離層の形成に関与する例が報告されている。ココアの小花柄では、受粉後に離層の形成が起こる。このとき、アブシシン酸合成を阻害すると離層形成と未受精花の脱離の両者が阻害されるが、エチレン合成を阻害しても離層は形成され、器官脱離も起こる。このため、ココアの花の脱離には、主にアブシシン酸が働くと考えられている。また、エチレン処理による器官脱離が認められていない植物種も多く、植物や器官により、エチレン以外の因子が器官脱離に重要な働きを持つ可能性が考えられている。

補足7.1 置換基の異なるさまざまなブラシノステロイド

植物には、置換基の異なるさまざまなブラシノステロイドが含まれる（補図7.1）。種子や花粉では、多くの種類のブラシノステロイドが存在することがあるが、シュート（茎や葉）では24 α -メチル型が主である。C-24の置換基の異なるブラシノステロイドは、一般的にそれと同じC-24置換基を持つステロール（補図7.2）から合成されると考えられている。



補図7.1 ブラシノステロイドのさまざまな置換基



補図7.2 植物ステロールの生合成経路

カンバステロール、シトステロールおよびスチグマステロールは植物の主要なステロールである。ブラシノステロイドは主としてカンバステロールから生合成される。関係する酵素(シロイヌナズナ)を矢印の近くに示す。

補表7.1 ブラシノステロイドの作用に関係する遺伝子とその機能

遺伝子(植物)*	遺伝子産物あるいはその働き
ブラシノステロイドによって発現が促進される遺伝子	
<i>BRU1</i> (ダイズ)	キシログルカンエンドトランスグリコシラーゼ
<i>TCH4</i>	キシログルカンエンドトランスグリコシラーゼ
<i>OsXTR1</i> (イネ)	キシログルカンエンドトランスグリコシラーゼ
<i>CanTUB</i> (ヒヨコマメ)	β チューブリン(細胞の伸長方向の決定)
<i>CycD3</i>	D型サイクリン(細胞周期の進行制御)
<i>CDC2b</i>	サイクリン依存性キナーゼ(暗所で発現)
<i>OPR3</i>	12-オキソファイトジエン酸還元酵素(ジャスモン酸生成)
<i>ACO2</i>	アミノシクロプロパンカルボン酸合成酵素(エチレン生成)
<i>KCS1</i>	3-ケトアシル-CoA 合成酵素1(長鎖脂肪酸伸長酵素)
<i>Lin6</i> (トマト)	細胞膜結合性インベルターゼ
<i>Sus4</i> (トマト)	ショ糖の可逆的分解
<i>Hsp101</i> (セイヨウアブラナ)	熱ショックタンパク質(耐暑性上昇)
<i>Hsp70</i>	熱ショックタンパク質
<i>IAA3</i>	オーキシシン早期応答性遺伝子
<i>IAA5</i>	オーキシシン早期応答性遺伝子
<i>IAA19</i>	オーキシシン早期応答性遺伝子
<i>SAUR-AC1</i>	オーキシシン早期応答性遺伝子
<i>BU1</i> (イネ)	ブラシノステロイド情報伝達因子(イネ葉身屈曲)
<i>PvTRIP-1</i> (インゲンマメ)	WD-リピートタンパク質(遺伝子発現調節)
<i>Lin6</i> (トマト)	細胞膜結合性インベルターゼ
<i>BAS1</i>	ブラシノステロイド C-26位水酸化酵素CYP734A1(不活性化)
ブラシノステロイドによって発現が抑制される遺伝子	
<i>BRI1</i>	ブラシノステロイド受容体
<i>BRS1</i>	ブラシノステロイド結合タンパク質の合成酵素?
<i>CPD</i>	ブラシノステロイドC-3位酸化酵素CYP90A1
<i>CYP85A1/CYP85A2</i>	ブラシノステロイドC-6位酸化酵素CYP85A1/CYP85A2
<i>DWF4</i>	ブラシノステロイドC-22位水酸化酵素CYP90B1
<i>ROT3/CYP90D1</i>	ブラシノステロイドC-23位水酸化酵素CYP90C1/CYP90D1
<i>AKT2</i>	カリウムの膜通過(チャネル)
<i>AtKUP1</i>	カリウムの膜通過(輸送体)
<i>DET3</i>	V-ATPアーゼのサブユニット(プロトン分泌)
<i>ROP2</i>	低分子量Gタンパク質(情報伝達因子)
<i>ERF1</i>	エチレン応答シス配列に結合する転写因子
<i>PAP1/IAA26</i>	オーキシシン応答シス配列に結合する転写因子ARFの抑制

*植物名を示していない場合はシロイヌナズナの遺伝子である。

補足8.1 ジャスモン酸の合成と代謝 [詳細バージョン]

8.4.1 ジャスモン酸の生合成の開始と代謝

8.3節で述べたように、さまざまなストレス応答や形態形成の過程でジャスモン酸生合成の活性化が引き起こされる。傷害・食害・病害・環境ストレスに由来するシグナルの受容から活性型ジャスモン酸の蓄積に至る過程には、カルシウムイオン、活性酸素、MAPキナーゼカスケードなどによる情報伝達に関わっていることが示されている（図8.5参照）。しかし、これらの情報伝達経路と葉緑体内で開始されるジャスモン酸生合成反応の活性化との関連についてはまだよくわかっておらず、今後のさらなる研究の発展が待たれる。

葉緑体などのプラスチド膜（色素体膜）を構成する膜脂質のグリセロール骨格には、リノレン酸やヘキサデカトリエン酸のような二重結合を3つ持つトリエン脂肪酸がエステル結合した状態で存在している。プラスチドの主要膜構成成分であるモノガラクトシルジアシルグリセロール（MGDG）やジガラクトシルジアシルグリセロール（DGDG）などの糖脂質には、細胞に存在するトリエン脂肪酸の大部分が蓄積されている。トマトの脂肪酸不飽和化酵素の突然変異体 *spr2* の解析から、葉緑体のトリエン脂肪酸がジャスモン酸合成の基質として重要であることが示されている。

通常、細胞内の遊離のトリエン脂肪酸は少ないが、葉に傷害などのストレスを与えると一過的な遊離リノレン酸量の増加とそれに伴ったジャスモン酸の蓄積が起こることが知られている。このため、リパーゼなどの作用による、基質となるトリエン脂肪酸の供給がジャスモン酸合成の律速段階であると考えられている。ジャスモン酸合成遺伝子のクローニングと局在解析の結果から、リパーゼによるトリエン脂肪酸の切り出しはプラスチド（色素体）で行われ、遊離のリノレン酸から3段階の酵素反応を経て18炭素よりなるOPDAが合成されると考えられてきた。リノレン酸から合成されるOPDAとは別に、ヘキサデカトリエン酸を出発物質として生成する16炭素よりなるdinor OPDA（図8.2）もジャスモン酸合成の前駆体となる可能性が示唆されている。OPDAやdinor OPDAはペルオキシソームへ輸送され、5員環部分の還元とアシル基の β 酸化を受けてジャスモン酸になった後、細胞質でイソロイシンとの縮合体（ジャスモン酸イソロイシン）を形成する。現在考えられている活性型ジャスモン酸合成と代謝のモデルを図8.4と補図8.1に示す。

A. 活性型ジャスモン酸の生合成経路

a. リパーゼ 雄しべの発達に異常が生じた突然変異体 *dad1* では、花と蕾のジャスモン酸含量が野生株の1/5程度に減少するが、雄性不稔の表現型はジャスモン酸やリノレン酸を与えることで回復する。DAD1タンパク質はプラスチドに局在すること、糖脂質よりリン脂質に対して高い脂質分解活性を示すことから、雄しべの発達時のジャスモン酸合成に関わるプラスチド型リパーゼであると考えられた。一方、*dad1*の葉に傷害を与えると、ジャスモン酸の蓄積やジャスモン酸応答遺伝子の発現が見られる。このため、ジャスモン酸合成の起こる組織や、合成を引き起こす刺激の違いによって、異なるリパーゼが関わっていることが示唆されている。

b. リポキシゲナーゼ ジャスモン酸を含む過酸化脂質（オキシリピン）の生成は、リポキシゲナーゼ（LOX）がリノレン酸などの多価不飽和脂肪酸の *cis, cis*-ペンタジエン構造部分に分子状酸素を添加する反応によって開始される。LOXの反応生成物は種々のオキ

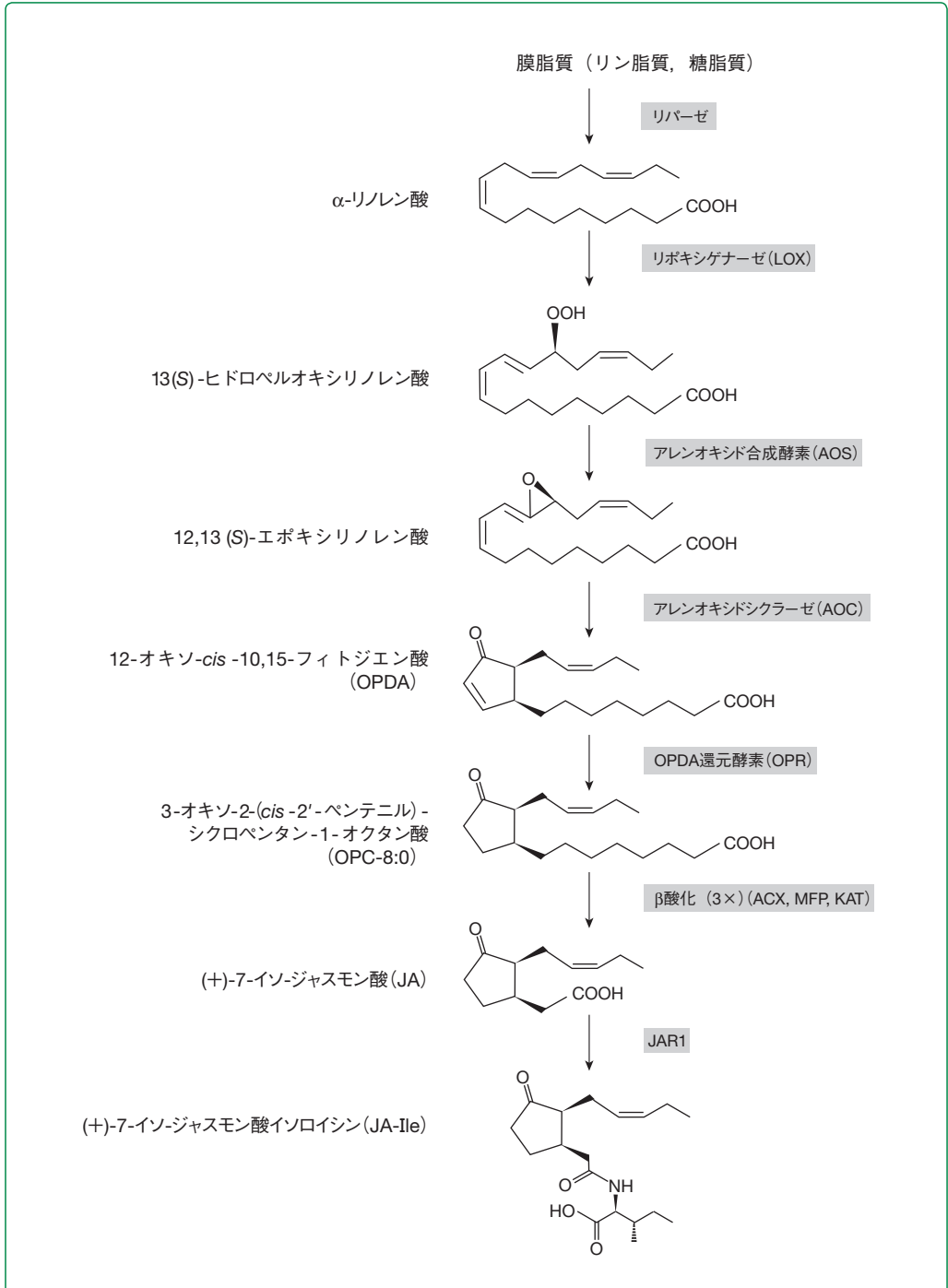
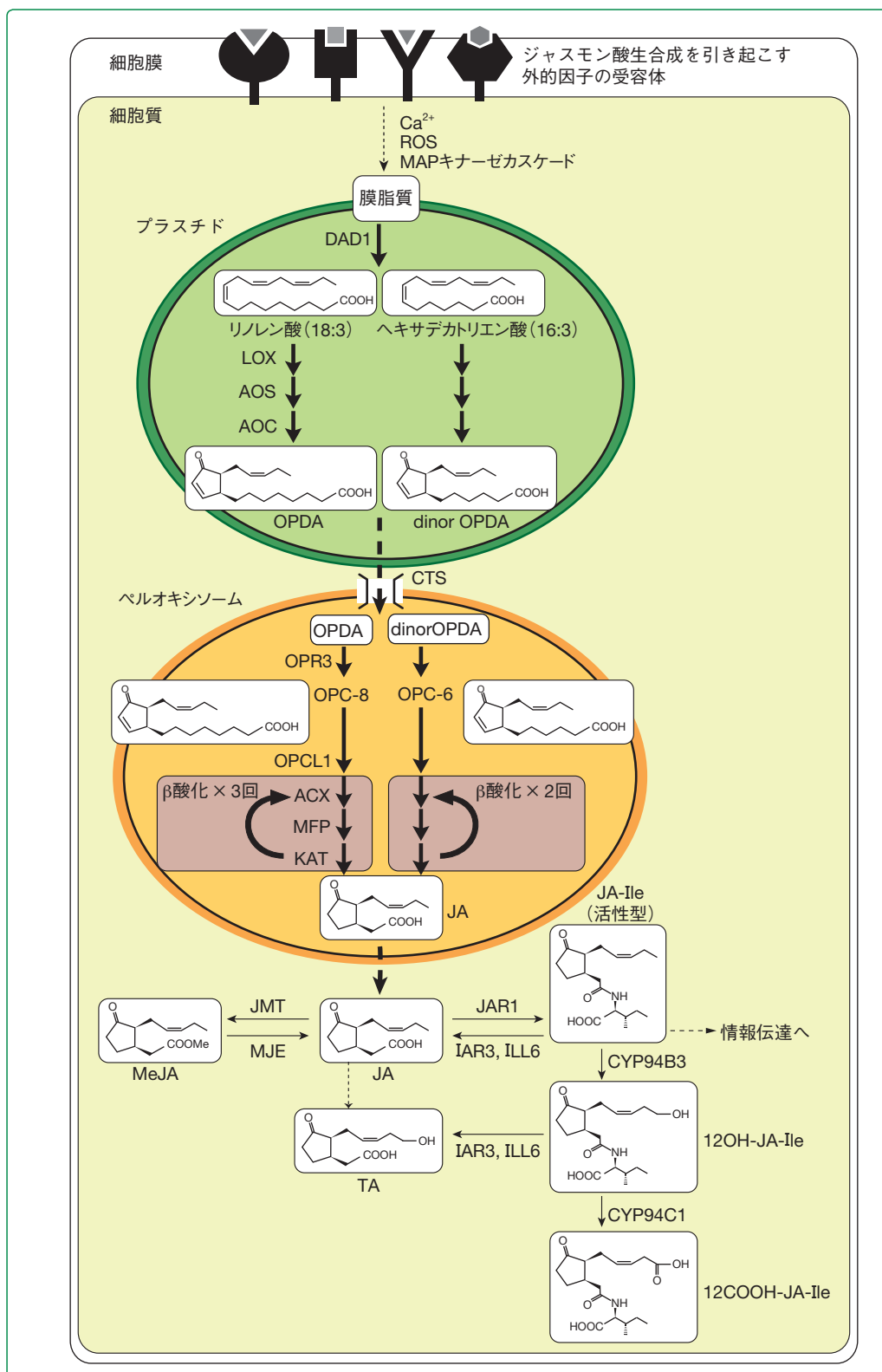


図8.4 活性型ジャスモン酸合成経路 [書籍の図8.4を再掲]



補図8.1 ジャスモン酸合成のモデル図 [書籍の図8.5の詳細バージョン]

情報伝達の過程は細点線で、酵素反応は実線矢印で、輸送の過程は太点線で示し、対応する酵素の略称を太字で示した。合成の過程で生じる化合物を長方形で囲んで示した。

シリピンに代謝されるが、ジャスモン酸はカルボキシ基側から数えて13位が過酸化されたりノレン酸（13-ヒドロペルオキシリノレン酸）から合成される。13-ヒドロペルオキシリノレン酸の生成を担う13-LOXは、シロイヌナズナには4つ（LOX2, LOX3, LOX4, LOX6）存在しており、いずれもプラスチドへの移行シグナルを持つ。LOX2は傷害時に生成するジャスモン酸の大半の量の合成を担っていると考えられている一方で、花芽でのジャスモン酸合成にはほとんど関与していない。LOX3とLOX4は花芽でのジャスモン酸生合成に、LOX6は傷害部位から離れた場所で起こるジャスモン酸生合成（8.3.1項A参照）に重要であると考えられている。

c. アレンオキシド合成酵素 アレンオキシド合成酵素（AOS）は、ジャスモン酸生合成に特異的な反応経路の初発段階を触媒する。この酵素は13-ヒドロペルオキシリノレン酸に作用して、非常に不安定な化合物であるアレンオキシドを生成する。AOSはシトクロムP450の一種であり、アマの種子から初めてクローニングされた。その後数多くの植物からAOSの塩基配列が得られているが、それらのほぼすべてにプラスチドへの移行シグナルが見られる。AOSがプラスチドに局在することは、複数の研究グループから報告されており、ゲノム解析が終了したシロイヌナズナではAOS遺伝子はプラスチドに局在するタイプの1種類しか見つかっていない。したがって、この反応もプラスチドで起こっていると考えられる。また、アレンオキシド合成酵素の変異体であるシロイヌナズナの *aos* は雄性不稔となり、蕾にジャスモン酸を処理することによってその表現型が回復する。

d. アレンオキシドシクラーゼ AOSによって生成したアレンオキシドは、室温で数秒以内に α -ケトールあるいは γ -ケトールに自発的に変換するが、アレンオキシドシクラーゼ（AOC）が作用すると環化反応が起こり、シス型の12-オキソ-フィットジエン酸（OPDA）が生成する。AOCは、トマトから初めて精製され、クローニングがなされた酵素であり、シロイヌナズナやトマトではAOSと同様にプラスチドに局在する。

e. OPDA還元酵素 OPDA還元酵素（OPR）は、OPDAの5員環部分の二重結合を還元する反応を触媒して、3-オキソ-2- (*cis*-2'-ペンテニル) -シクロペンタン-1-オクタン酸（OPC-8:0）を生成する。シロイヌナズナとトマトにはOPRのパラログが3つ以上存在するが、OPDAを基質として活性型の（+）-7-イソ-ジャスモン酸の生成に導く酵素はOPR3だけである。OPR3は、ペルオキシソームに局在することが示されている。また葯の裂開の時期が異常に遅く雄性不稔になる変異体 *opr3* は、*aos* と同様に蕾にジャスモン酸を与えることで表現型が回復する。

f. β 酸化 acyl-activating enzymeファミリーの一つであるOPC-8:0 CoAリガーゼ1（OPCL1）によってアシル基にCoAが付加されたOPC-8:0は、ペルオキシソームの β 酸化経路で炭素が2個ずつ3回減少し、12炭素で構成されるジャスモン酸になる。炭素2個の減少は、アシル-CoA オキシダーゼ（ACX）、4頭酵素（MFP：ヒドロリアーゼ、デヒドロゲナーゼ、エピメラゼ、イソメラゼの4つの活性を持つ酵素）、ケトアシル-CoAチオラーゼ（KAT）の連続した反応によって行われる。トマトのACX1を欠損した変異体 *acx1* では傷害時のジャスモン酸蓄積が見られなくなり、OPDAが蓄積していることが明らかになった。シロイヌナズナの *acx1/acx5* 二重変異体、MFPの変異体（*aim1*, *pex6*）

*KAT2*のアンチセンス株でも、傷害時のジャスモン酸含量の低下が報告されている。以上の結果より、 β 酸化経路がジャスモン酸合成に重要であることが明らかになった。

g. ジャスモン酸イソロイシン合成酵素 (JAR1) ジャスモン酸はさらに代謝されてアミノ酸縮合体となる。ジャスモン酸とイソロイシンの縮合体であるジャスモン酸イソロイシンは、葉・花などから検出されており、浸透圧ストレスや傷害などによって含量が増加する。また、その構造は *P. syringae* から得られた植物毒素であるコロナチンと類似していることが知られている (図8.1)。

ジャスモン酸からジャスモン酸イソロイシンを合成する反応を触媒する酵素は、細胞質に局在すると考えられているJAR1である。JAR1は、ジャスモン酸による根の伸長阻害に対して非感受性となる変異体 *jar1* の原因遺伝子であり、ATP依存型ジャスモン酸-アミド合成酵素をコードしている。*jar1* のジャスモン酸イソロイシン含量は野生株の1/7に減少しており、種々の病原体に対して感受性になるが、雄性不稔の表現型は示さない。近年の研究からジャスモン酸イソロイシンは、活性型ジャスモン酸の受容体であるCOI1-JAZ複合体 (8.5.2項C参照) の形成に必須であることが示された。

B. ジャスモン酸の代謝

a. ジャスモン酸イソロイシンの不活性化 傷害を受けた葉では、ジャスモン酸イソロイシンのペンテニル基の末端がヒドロキシ化した類縁体 (12-OH-JA-Ile)、もしくはカルボキシ化した類縁体 (12-COOH-JA-Ile) の含量が増加する (図8.1, 図8.5)。これらの代謝産物は、シトクロムP450酵素であるCYP94B3とCYP94C1によって、ジャスモン酸イソロイシンが段階的に酸化されることで生成する。12-OH-JA-Ileでは、COI1とJAZの結合を促進する活性はジャスモン酸イソロイシンより弱い完全に失われている。そのため、12-OH-JA-Ileから12-COOH-JA-Ileへのさらなる酸化が完全な不活性化には必要であると考えられる。

また、ジャスモン酸イソロイシンのアミド結合を加水分解する酵素IAR3とILL6の存在も明らかになった。この反応はJAR1によるジャスモン酸とイソロイシンの縮合反応の逆反応であるため、縮合反応と加水分解反応の相対活性が細胞内ジャスモン酸イソロイシン含量を制御するために重要であると考えられる。

b. ジャスモン酸のメチル化とジャスモン酸メチルの脱メチル化 ジャスモン酸のメチル化は、細胞質に存在すると考えられるジャスモン酸カルボキシメチルトランスフェラーゼ (JMT) によって行われる。シロイヌナズナからは、この過程に関わる酵素がクローニングされている。

一方、ジャスモン酸メチルからジャスモン酸を生成する活性を持つメチルジャスモン酸エステラーゼ (MJE) がタバコ (*N. attenuata*) からクローニングされており、外部から与えられたメチルジャスモン酸は、MJEによる加水分解でジャスモン酸に変換された後、活性型へと代謝されて遺伝子発現の誘導を引き起こすと考えられている。

c. チュベロン酸, チュベロン酸グルコシド, 12-HSO₄-JA 幸田らは、ジャガイモの葉を短日処理すると塊茎形成が誘導される現象に着目し、その誘導物質を単離した。単離さ

れた2つの物質は、(+)-7-イソ-ジャスモン酸のC-12位の炭素にOH基のついた化合物(チュベロン酸)とそのO-グルコシドであり(図8.1), これらはいずれも強い塊茎形成誘導活性を示す。チュベロン酸やチュベロン酸グルコシドは短日処理した葉に多量に蓄積しているが, 長日処理した葉での存在量はわずかである。興味深いことに, 塊茎形成部位でもチュベロン酸の蓄積が認められるが, 葉とは異なりチュベロン酸グルコシドの蓄積はほとんど見られない。チュベロン酸グルコシドは, チュベロン酸やジャスモン酸を短日処理した葉から塊茎形成部位まで輸送する形態であり, 塊茎形成部位では糖部分が切断されてチュベロン酸となっている可能性がある。葉に放射性標識したジャスモン酸を与えると, 10日以内にほとんどすべてチュベロン酸グルコシドに変換され, 植物体のさまざまな場所に輸送されることが示されている。また, チュベロン酸はジャガイモだけでなく, シロイヌナズナを含む種々の植物中にも存在する。傷害を受けたシロイヌナズナでは, IAR3とILL6による12-OH-JA-Ileの加水分解によりチュベロン酸が蓄積する(図8.5)。

また, アメリカネムノキの就眠運動時に葉を閉じさせる生理活性物質として, (-)-チュベロン酸グルコシドが同定された(図8.5)。ジャスモン酸, ジャスモン酸イソロイシン, コロナチンにはこのような生理活性は見られないこと, チュベロン酸グルコシドをシロイヌナズナに処理しても, ジャスモン酸応答遺伝子群の発現誘導を引き起こさないことから, この現象はCOI1非依存的な経路によって制御されていると考えられる。

12-HSO₄-JAは, 傷害時にチュベロン酸, 12-OH-JA-Ile, 12-COOH-JA-Ileとともに蓄積する。12-HSO₄-JA合成に関わるスルホトランスフェラーゼであるAtST2aは, チュベロン酸を基質として12-HSO₄-JAを生成する。またトマトにおいてもST2aのホモログの存在が報告されているが, その生理機能についてはよくわかっていない。

d. OPDAとその構造類縁体 OPDAは葉緑体内の酵素反応によって生成するジャスモン酸の生合成中間体である。ブリオニア(*Bryonia dioica*)では, 蔓^{つる}の巻きつきを誘導する活性はジャスモン酸よりもOPDAのほうが高く, また巻きつき時には内生のOPDAの含量が一過的に増大することが知られている。また, トマトの胚形成やシロイヌナズナの種子の発芽制御においても, ジャスモン酸類ではなくOPDAが主に関わっていることが示されている。

OPDAをシロイヌナズナに処理すると, ジャスモン酸処理とは異なる遺伝子グループの発現変化が引き起こされる(8.5.1項参照)。また, 活性酸素種による非酵素的な脂肪酸の自動酸化によってもOPDAと類似した構造を持つフィトプロスタン類(図8.2)が生成する。フィトプロスタン類を植物に与えるとOPDAと似た遺伝子発現応答を引き起こす。

8.4.2 ジャスモン酸類の輸送

ジャスモン酸生合成の前半は葉緑体で, 後半はペルオキシソームで行われる。ペルオキシソームへのOPDAの取り込みにはABC輸送体であるCOMATOSE(CTS)が関与していることが明らかになっている。CTSはペルオキシソームでβ酸化を受ける種々の物質のペルオキシソームへの取り込みに関与しており, OPDAの取り込みを特異的に行っているわけではないが, *cts*変異体では稔性が低下していること, 発芽率が低下している

ことが報告されている。

ジャスモン酸イソロイシンの輸送については、まだ不明な点が多い。シロイヌナズナにおいて防御物質であるグルコシノレートや活性型ジベレリンの輸送体として機能するGTR1は、ジャスモン酸イソロイシンを輸送する活性も示すことが報告されている。

補足 11.1 ストリゴラクトンの抽出と定量

ストリゴラクトンは有機溶媒に可溶性中性物質である。他の植物ホルモンの場合と同様に、溶媒分画やカラムクロマトグラフィーで精製後、LC-MS/MSなどの質量分析装置で検出することが一般的である。ストリゴラクトンは、根圏シグナル物質として長年研究されていたため、主に根寄生植物に対する発芽刺激活性を指標にして、根滲出液（培養液、水耕液など）を材料にその探索が進められた。根滲出液は植物組織の粗抽出物と比べて不純物が圧倒的に少ないため、比較的簡便な精製の後に質量分析装置に供することが可能である。

一方、植物ホルモンとしての機能を研究する場合には、ストリゴラクトンの植物体内における変動や分布を調べるのが重要になる。それには他の植物ホルモンの場合と同様に、安定同位体標識体を内部標準として用いた定量分析を行うことが理想的であるが、そのような方法での分析例はこれまで限られていた。しかし、11.4.1項で述べた最近のストリゴラクトン生合成研究などでは、各種ストリゴラクトン（もしくは生合成中間体）の安定同位体標識体を用いた内生量分析が、作業仮説の証明に重要な役割を担っている。

補足 11.2 ストリゴラクトンの生合成経路 [詳細バージョン]

カロテノイドの生合成欠損変異体や生合成酵素阻害剤を用いた実験によって、ストリゴラクトンはカロテノイド（ C_{40} ：炭素数40の意）の開裂産物から生合成されることが示唆されていた。枝分かれ抑制ホルモンの仮想経路（図11.1）にCCD7とCCD8が関与することは、この仮説と一致していたものの、詳細は不明のままであった。2009年に中国の王らのグループが、ストリゴラクトン（4-デオキシオロバンコール）を生合成することができないイネの分げつ矮性変異体 *d27* の原因遺伝子として、葉緑体局在の鉄結合性D27タンパク質を同定したことによって生合成研究は大きく進展した。2012年に、ドイツのアル・バビリ（Al-Babili）らの研究グループは、D27、CCD7、CCD8の組み換えタンパク質を用いて試験管内で酵素反応実験を行った。その結果、D27は、*all-trans-β*-カロテン（ C_{40} ）を9-*cis-β*-カロテン（ C_{40} ）に異性化することを明らかにした。続いて、CCD7は、9-*cis-β*-カロテンを酸化的に開裂して9-*cis-β*-アポ-10'-カロテナル（ C_{27} ）を生成し、CCD8は、さらにそれを基質として酸化反応による分子内の環化反応によって「カーラクトン」と命名された C_{19} の化合物を生成することを報告した（図11.6）。2014年には、実際にカーラクトンがシロイヌナズナやイネの生体内に存在することや、カーラクトンが4-デオキシオロバンコールやオロバンコールにイネ体内で変換されることが証明された。

同2014年には、日本とオランダの研究グループから、シトクロムP450酸素添加酵素であるシロイヌナズナのCYP711A1（MAX1）とイネのMAX1ホモログ（CYP711A2とCYP711A3）の機能も相次いで報告された。まずシロイヌナズナでは、MAX1の組み換えタンパク質が、3段階の酸化反応によって、カーラクトンからカルボキシ基を持つカーラクトン酸を生成することが示された（図11.6）。一方、イネのCYP711A2はカーラクトンを基質にして、4-デオキシオロバンコールを生成することが示された（図11.6）。詳細

な反応機構は未解明であるが、CYP711A2はカーラクトンの酸化反応と分子内環化反応を単独で触媒すると予想される。さらに、イネのCYP711A3は4-デオキシオロバンコールを水酸化して、オロバンコール（図11.2）を生成することも示されている。しかし、イネにおいてもカーラクトン酸が検出されていることなどがあり、CYP711Aファミリーの酵素機能については未解明の部分が多い。植物種もしくは酵素ごとに触媒する反応が異なるため、さまざまな植物で多様なストリゴラクトン（図11.2）が生合成されているのかもしれない。

また、シロイヌナズナでは、カーラクトン酸は、そのメチルエステル体であるカーラクトン酸メチルに変換されることが明らかになっている（図11.6）。このカーラクトン酸メチルは、上流のカーラクトンやカーラクトン酸と同様に、*max4*変異体の枝分かれを抑制することなどから、未知の枝分かれ抑制ホルモンの本体、もしくはその中間体である可能性が考えられる。さまざまな植物におけるカーラクトン以降の生合成経路の全容が解明されることによって、枝分かれ抑制ホルモンの化学構造も明らかになるであろう。