

多様な骨格を持つストリゴラク톤の生合成経路

米山香織

愛媛大学農学研究科
〒790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7

Biosynthetic pathway of structurally diverse strigolactones

Kaori Yoneyama

Graduate School of Agriculture, Ehime University,
3-5-7 Tarumi, Matsuyama, Ehime, 790-8566, Japan

Keywords: plant hormone, root parasitic plant, strigolactone

DOI: 10.24480/bsj-review.13b5.00228

1. はじめに

ストリゴラク톤は、1966年、アメリカのUSDAのグループによって、根寄生雑草 *Striga* の発芽を誘導する発芽刺激物質としてワタの根浸出液から単離構造決定された (Cook et al. 1966)。植物が寄生されるリスクを冒してまで発芽刺激物質ストリゴラク톤を分泌する理由は長い間不明であったが、2005年に大阪府立大学の秋山らは、ミヤコグサの根浸出液から、絶対共生菌であるアーバスキュラー菌根 (AM) 菌の菌糸分岐誘導物質としてストリゴラク톤を単離し (Akiyama et al. 2005)、ストリゴラク톤の根圏シグナルとしての重要性が明らかとなった。AM 菌は、宿主植物の根の近傍でのみ菌糸を激しく分岐させ、共生の準備を整える。すなわち植物は、菌糸分岐誘導物質であるストリゴラク톤を、AM 菌の宿主認識シグナルとして分泌していると考えられるようになった。一方、同じ年にオランダのグループは、ストリゴラク톤と ABA の構造類似性から、ストリゴラク톤は ABA と同様にプラスチドのカロテノイドから生合成されるという仮説を建て、カロテノイド生合成阻害剤やカロテノイド生合成変異体を用いた実験から、仮説の正当性を示した (Matusova et al. 2005)。また、ホワイトルーピンやシロイヌナズナなどのような AM 共生しない植物も、ストリゴラク톤を生産していることが明らかとなり、ストリゴラク톤の新しい機能の存在が示唆された (Goldwasser et al. 2008; Yoneyama et al. 2008)。そして 2008 年、過剰な地上部枝分かれの表現型が見られる変異体を用いた実験により、ストリゴラク톤は植物の地上部枝分かれを抑制する新奇植物ホルモンであることが 2つのグループから同時に報告された (Gomez-Roldan et al. 2008; Umehara et al. 2008)。その後、ストリゴラク톤欠損変異体と合成ストリゴラク톤 (GR24) を利用した実験により、地上部だけでなく地下部の形態形成制御に、AM 菌だけでなく根粒菌共生に、ストリゴラク톤が関与していることが次々に報告された (図 1)。

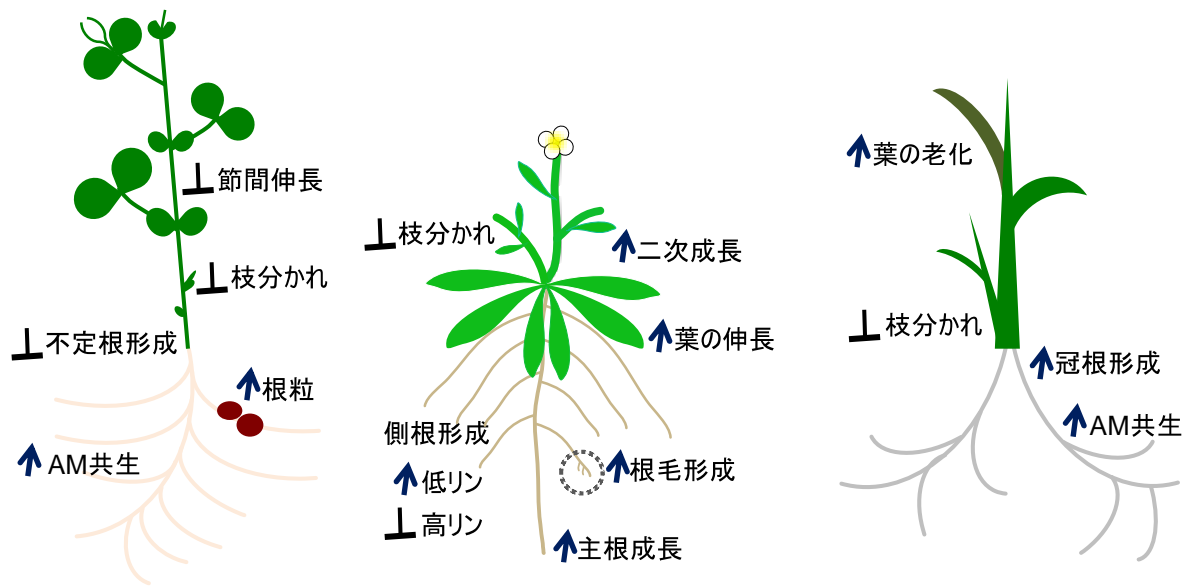


図1 植物成長におけるストリゴラクトンの機能

青の矢印は促進、黒のバーは抑制を示している。エンドウ、シロイヌナズナ、イネのストリゴラクトン生合成・受容シグナル伝達欠損変異体の表現型や、合成ストリゴラクトンを与えることによる表現型の回復を詳細に調べることにより、これらの機能は明らかにされてきた (Yoneyama, 2019)。

2. ストリゴラクトンの基本骨格

ストリゴラクトンは、現在、その構造の違いから、典型的ストリゴラクトンと非典型的ストリゴラクトンとに大別されている (図2)。すなわち、根寄生雑草 *Striga* の発芽刺激物質として単離構造決定された strigol の様に、6あるいは7員環 (A環) と5員環 (B環)、ラクトン (C環) から構成される3環性ラクトンとメチルフラノン (D環) がエノールエーテル結合した構造を持つものが、典型的ストリゴラクトンと呼ばれ、一方、完全な3環性ラクトンを持たず、D環とエノールエーテル結合した構造だけを持つものは、非典型的ストリゴラクトンと呼ばれている。典型的ストリゴラクトンのC環の立体配置が、 α 配位 (orobanchol-type) か、 β 配位 (strigol-type)であるかによっても生合成経路は微妙に異なっている (図3)。

これまでにストリゴラクトンは、主に根寄生雑草の発芽刺激物質の活性を指標として、30種類以上が単離・構造決定されている。また、少なくとも10種類以上の構造未知のストリゴラクトンの存在が示唆されている。そして興味深いことに、1つの植物は少なくとも3つ以上のストリゴラクトンの混合物を分泌しているが、その理由は不明である (Yoneyama and Brewer, 2021)。

Orobanchol は、日本にも帰化している根寄生植物 *Orobanche minor* の発芽刺激物質として、アカクローバーの根浸出液から単離構造決定された (Yokota et al. 1998)。その後、ダイズ、エンドウのようなマメ科植物、マリーゴールド、レタスのようなキク科植物、ナス科のトマト、単子葉類のイネなどの根浸出液からも同定された (Yoneyama et al. 2008; Umehara et al. 2008;

Yoneyama et al. 2011)。Orobanchol 同様、ソルガムの根浸出液から単離構造決定された sorgomol (Xie et al. 2008)も、マメ科のレンゲ、キク科のコスモスから同定され、様々な植物種に広く分布している (Yoneyama et al. 2008; Yoneyama et al. 2011)。一方、タバコの根浸出液から単離構造決定された solanacol (Xie et al. 2007) は、トマトやベンサミアーナタバコとナス科のみでしか確認されておらず、エンドウの根浸出液から単離構造決定された fabacyl acetate (Xie et al. 2009)は、ソラマメのみと、特定のマメ科でのみしか確認されていない (Trabelsi et al. 2017)。Zealactone は、トウモロコシの根浸出液から単離構造決定された、ABC 環を持たない非典型的ストリゴラクトンであるが、イネ、ソルガム、ミレットなどの他のイネ科植物からは検出されていない (Xie et al. 2017)。

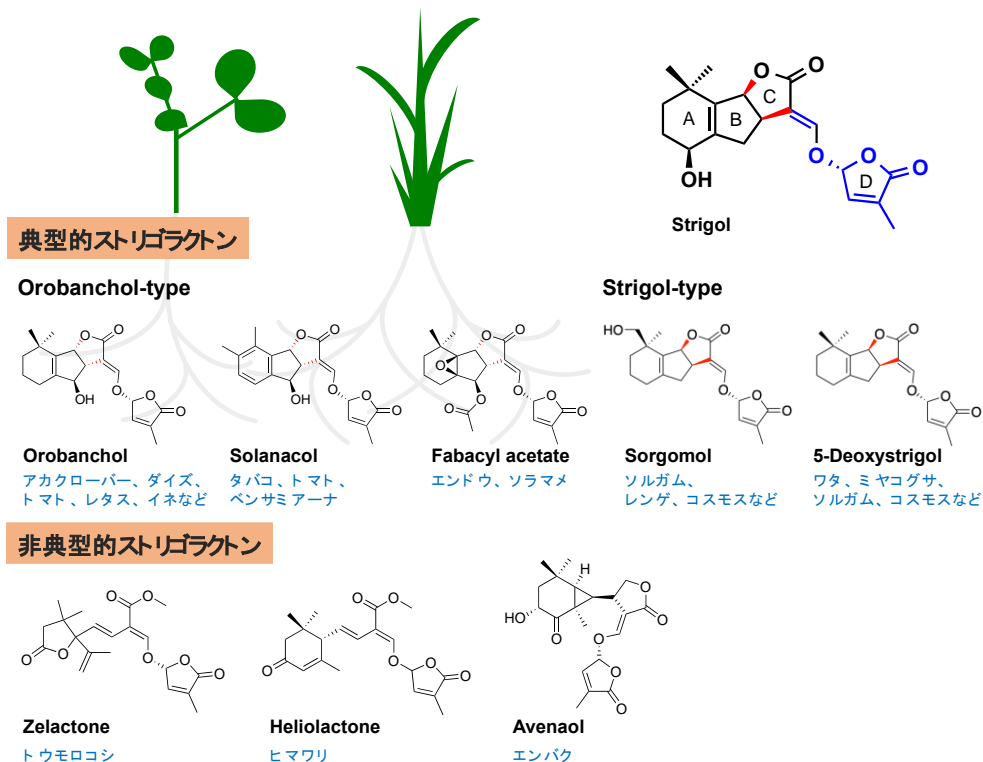


図2 天然ストリゴラクトンの構造

ストリゴラクトンは、エノールエーテル結合およびD環を共通の骨格としてもつ(strigolの青の線)。この部分は活性に必須な構造である。典型的ストリゴラクトンのC環の立体配置の違いを赤で示した。Strigol-typeはC環が β 配位, orobanchol-typeは α 配位となっている。非典型的ストリゴラクトンのheliolactoneは、ヒマワリの根浸出液から単離構造決定された (Ueno et al. 2014)。BC環部分は閉環していないが、ストリゴラクトン前駆体である carlactone (図3)に類似した構造であるのに対し、zealactoneやエンバクから単離構造決定された avenaol (Kim et al. 2014)は、その前駆体が予想できないほど自由な構造をしており、多種多様なストリゴラクトンが潜在的に多数存在することが予想される。

3. ストリゴラクトンの生合成経路

過剰な地上部枝分かれの原因遺伝子が、シロイヌナズナ、エンドウ、イネ、ペチュニアから同定され、それぞれ、*MORE AXILLARY GROWTH (MAX)*, *RMOSUS (RMS)*, *DWARF (D)*,

DECREASED APICAL DOMINANCE (DAD) と名付けられ、機能解析が行われた。その結果、ストリゴラクトンは共通した主要合成経路をもっており、カロテノイド異性化酵素、2つのカロテノイド酸化開裂酵素の連続的な反応により、カロテノイドから非典型的ストリゴラクトンである carlactone (CL) が生成される (図3)。CL は、大腸菌を用いた *in vitro* 系により同定されたが (Alder et al. 2012), その後、イネやシロイヌナズナに内生物質として存在することが確認された (Seto et al. 2014)。

シトクロム P450 をコードする CYP711A は、CL から carlactonoic acid (CLA) への変換を触媒する (Abe et al. 2014)。この CL から CLA への変換は、既述の植物4種だけでなく、ソルガム、トウモロコシ、トマトなどの主要作物、下等植物のイヌカタヒバ、モデル樹木のポプラの CYP711A も全て触媒することが明らかにされており、植物界に高く保存されていることがわかる (Yoneyama et al. 2018)。興味深いことに、植物種によっては、CYP711A が、CLA からさらに典型的ストリゴラクトンへの変換を触媒する。例えば、シロイヌナズナは、CYP711A1 の1つしか持っていないが、イネ (*Oryza sativa*) は5つの CYP711A を持っている。そのうちの1つ、CYP711A2 は、CL をイネの主要なストリゴラクトンの1つである 4-deoxyorobanchol (4DO) へと変換する (Zhang et al. 2014)。さらにもう1つの CYP711A3 は、4DO を orobanchol へと変換する (Zhang et al. 2014)。CYP711A の機能を調べた植物種の中で、4DO を生産・分泌する事が確認されている植物の CYP711A は、CL から CLA を経て 4DO を生成する。しかし、orobanchol を生産しているが、4DO を生産していない植物の CYP711A は、4DO を基質として与えても、イネの CYP711A3 のように orobanchol を生成しない事がわかった。しかし、トウモロコシは、4DO も orobanchol も生産・分泌する事が確認できないにも関わらず、3つの CYP711A のうち、CYP711A18 が、4DO から orobanchol へと変換する能力を持っている事がわかった。これらのことから、植物のストリゴラクトン生産能力は、本来備わっている特性だけでなく、基質の有無によっても決定されることが示唆された (Yoneyama et al. 2018)。

最近では、逆遺伝学的手法により、CLA 以降の合成経路の解明が急激に進んでいる。シロイヌナズナでは、メチルトランスフェラーゼにより、CLA から methyl carlactonoate (MeCLA) へ (Wakabayashi et al. 2021b)、2-オキシグルタル酸/鉄依存性ジオキシゲナーゼにより、MeCLA から hydroxymethyl carlactonoate (1'-OH-MeCLA) へと変換される (Yoneyama et al. 2020)。さらに、CYP711A 以外のシトクロム P450 の関与も次々に報告されている。CYP722C は、CYP711A とは全く異なるクレイドに位置するが、ササゲやトマトの CYP722C は、CLA を直接 orobanchol へと変換する事が明らかにされた (Wakabayashi et al. 2019)。一方、ワタの CYP722C は、CLA から 5-deoxystrigol への変換を触媒した (Wakabayashi et al. 2020)。別のクレイドに位置するソルガムの CYP728B35 は、リン酸欠乏によって発現が上昇することにより選抜され、5-deoxystrigol から sorgomol への変換に関与する (Wakabayashi et al. 2021a)。さらに、多様なストリゴラクトン生成には、CL の下流だけでなく、カロテノイドか

ら枝分かれた上流も重要であることが示唆されている (Baz et al. 2018, 図 3 のライトブルー背景)。

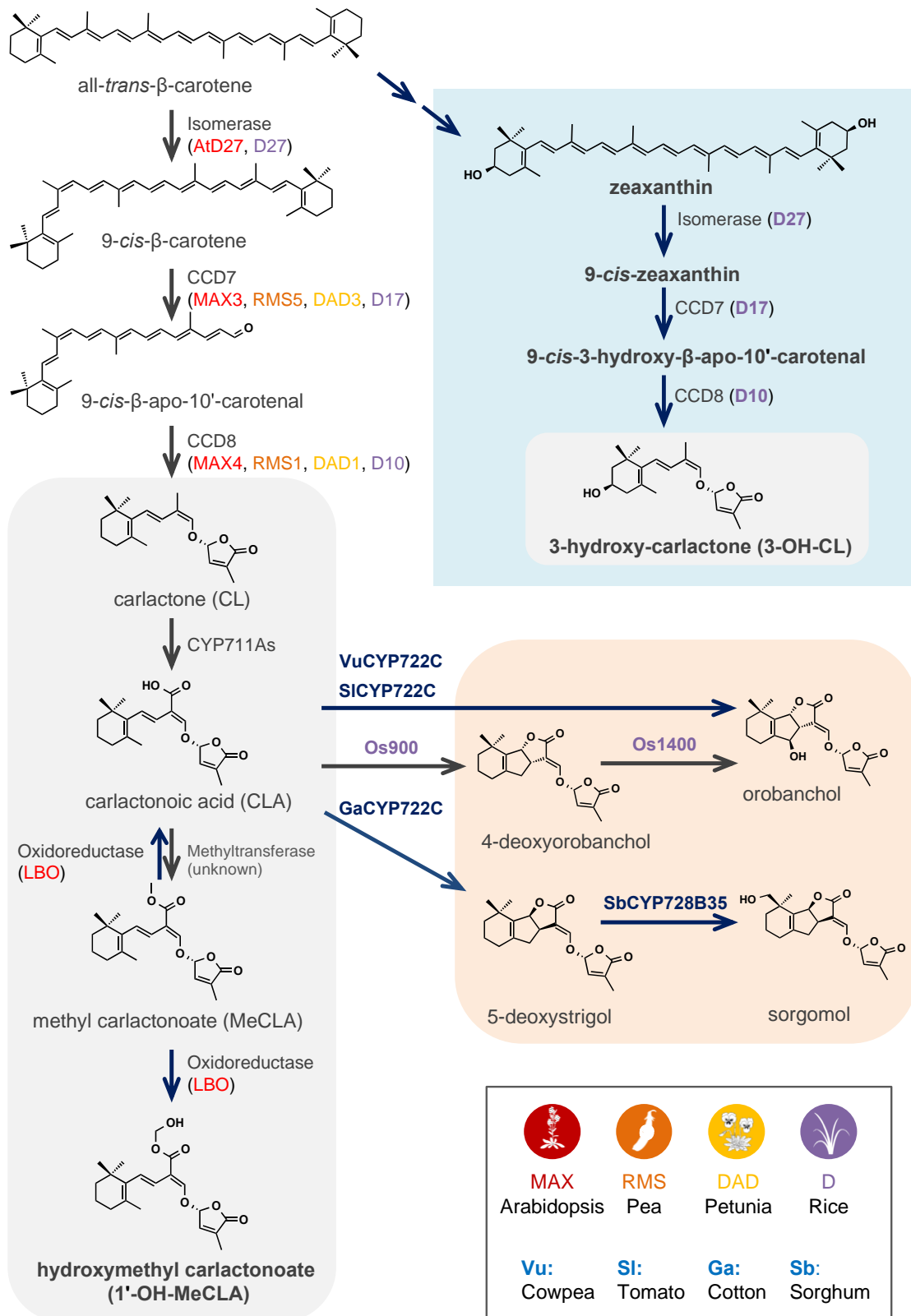


図 3 ストリゴラクトンの生合成経路 (Yoneyama and Brewer 2021)

4. 養分条件によるストリゴラクトンの生産・分泌制御

AM 菌と共生する植物において、ストリゴラクトンの生産・分泌量は植物の養分状況に強く依存する。AM 菌による宿主植物への養分供給において、最も重要視されている養分はリン酸であるが、これまで調べられた AM 菌の宿主植物は、共通してリン酸欠乏によってストリゴラクトンの生産・分泌が顕著に促進される。一方、ソルガム、トウモロコシ、レタス、マリーゴールドなどは、リン酸欠乏だけでなく窒素欠乏によってもそれぞれのストリゴラクトン生産・分泌が促進される。しかし、アカクローバー、アルファルファは、窒素欠乏では促進されない。根粒菌と共生関係を形成するマメ科植物は、AM 菌による窒素供給を期待せず、ストリゴラクトン分泌が窒素欠乏には応答しない可能性が考えられたが、同じマメ科のレンゲは、窒素欠乏でもストリゴラクトンの分泌が顕著に促進された。また、非マメ科のトマトは窒素欠乏には応答しなかった (Yoneyama et al. 2012; Yoneyama. 2019)。このような養分欠乏に対する異なるストリゴラクトン分泌応答の理由は不明のままである。さらに、AM 共生しないマメ科のホワイトルーピンやシロイヌナズナは、窒素欠乏でもリン酸欠乏でもストリゴラクトンの分泌は促進されない (Yoneyama et al. 2008; Seto et al. 2014)。AM 菌の非宿主植物が養分欠乏によるストリゴラクトン分泌促進が認められないことは合理的であるが、シロイヌナズナでは、窒素欠乏やリン酸欠乏によって地上部枝分かれ抑制が認められることから (de Jong et al. 2014; Kohlen et al. 2011)、養分欠乏がストリゴラクトン生産に影響を与えている可能性は否定できない。窒素欠乏によって、シロイヌナズナのストリゴラクトン生合成遺伝子の発現が増加するという報告はある (Ito et al. 2016) が、どのストリゴラクトンの内生量が上昇するのかは明らかになっていない。少なくともリン酸欠乏による CL の内生量増加は認められなかった (Seto et al. 2014)。

5. 今後の展望

多種多様なストリゴラクトンがどのように生合成され、分泌されるのか、その仕組みを解明することにより、なぜ、植物は多種多様なストリゴラクトンを生産・分泌するのか、その理由解明につながることを期待される。

謝辞

シンポジウムの企画に際しては、オーガナイザーとして瀬尾光範博士（理化学研究所）と岡本昌憲博士（宇都宮大学）にご尽力頂きました。感謝申し上げます。

本研究は、JST さきがけ（JPMJPR17QA）および科研費（15J40043, 16K18560）の助成を受けたものです。

引用文献

- Abe S, Sado A, Tanaka K, Kisugi T, Asami K, Ota S, Kim HI, Yoneyama K, Xie X, Ohnishi T et al. (2014) Carlactone is converted to carlactonoic acid by *MAX1* in *Arabidopsis* and its methyl ester can directly interact with AtD14 *in vitro*. Proc Natl Acad Sci U S A 111: 18084-18089. doi.org/10.1073/pnas.1410801111

- Akiyama K, Matsuzaki K, Hayashi H. (2005) Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 435: 824–827. doi:10.1038/nature03608
- Alder A, Jamil M, Marzorati M, Bruno M, Vermathen M, Bigler P, Ghisia S, Bouwmeester H, Beyer P, Al-Babili S. (2012) The path from β -carotene to carlactone, a strigolactone-like plant hormone. *Science* 335: 1348-1351. doi. 10.1126/science.1218094
- Baz L, Mori N, Mi J, Jamil M, Kountche BA, Guo X, Balakrishna A, Jia KP, Vermathen M, Akiyama K et al. (2018) 3-Hydroxycarlactone, a novel product of the strigolactone biosynthesis core pathway. *Mol Plant* 11: 1312-1314. doi.org/10.1016/j.molp.2018.06.008
- Cook CE, Whichard LP, Turner B, Wall ME, Egley GH. (1966) Germination of witchweed (*Striga lutea* Lour.): isolation and properties of a potent stimulant. *Science* 154:1189-1190. doi.org/10.1126/science.154.3753.1189
- de Jong, George G, Ongaro V, Williamson L, Willetts B, Ljung K, McCulloch H, Leyser O. (2014) Auxin and strigolactone signaling are required for modulation of *Arabidopsis* shoot branching by nitrogen supply. *Plant Physiol* 166: 384-395. doi.org/10.1104/pp.114.242388
- Goldwasser Y, Yoneyama K, Xie X, Yoneyama K. (2008) Production of strigolactones by *Arabidopsis thaliana* responsible for *Orobanchae aegyptiaca* seed germination. *Plant Growth Regul* 55: 21-28. doi.org/10.1007/s10725-008-9253-z
- Gomez-Roldan V, Fermas S, Brewer PB, Puech-Pages V, Dun EA, Pillot JP, Letisse F, Matussova R, Danoun S, Portais JC et al. (2008) Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* 455: 189-194. doi:10.1038/nature07271
- Ito S, Ito K, Abe N, Takahashi R, Sakai Y, Yajima S. (2016) Effects of strigolactone signaling on *Arabidopsis* growth under nitrogen deficient stress condition. *Plant signaling & behavior* 11: e1126031. doi.org/10.1080/15592324.2015.1126031
- Kim HI, Kisugi T, Khetkam P, Xie X, Yoneyama K, Uchida K, Yokota T, Nomura T, McErlean CSP, Yoneyama K. (2014) Avenaol, a germination stimulant for root parasitic plants from *Avena strigosa*. *Phytochemistry* 103: 85-88. doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.03.030
- Kohlen W, Charnikhova T, Liu Q, Bours R, Domagalska MA, Beguerie S, Verstappen F, Leyser O, Bouwmeester H, Ruyter-Spira C. (2011) Strigolactones are transported through the xylem and play a key role in shoot architectural response to phosphate deficiency in nonarbuscular mycorrhizal host *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 155: 974-987. doi.org/10.1104/pp.110.164640
- Matussova R, Rani K, Verstappen FWA, Franssen MCR, Beale MH, Bouwmeester HJ. (2005) The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic *Striga* and *Orobanchae* spp. are derived from the carotenoid pathway. *Plant Physiol* 139: 920-934. doi.org/10.1104/pp.105.061382
- Seto Y, Sado A, Asami K, Hanada A, Umehara M, Akiyama K, Yamaguchi S. (2014) Carlactone is an endogenous biosynthetic precursor for strigolactones. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111: 1640–1645. doi.org/10.1073/pnas.1314805111
- Trabelsi I, Yoneyama K, Abbes Z, Amri M, Xie X, Kisugi T, Kim HI, Kharrat M, Yoneyama K. (2017) Characterization of strigolactones produced by *Orobanchae foetida* and *Orobanchae crenata* resistant faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes and effects of phosphorus, nitrogen, and potassium deficiencies

- on strigolactone production. South African Journal Botany 108: 15-22. doi.org/10.1016/j.sajb.2016.09.009
- Ueno K, Furumoto T, Umeda S, Mizutani M, Takikawa H, Batchvarova R, Sugimoto Y. (2014) Heliolactone, a non-sesquiterpene lactone germination stimulant for root parasitic weeds from sunflower. *Phytochemistry* 108: 122-128. doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.09.018
- Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda-Kamiya N, Magome H, Kamiya Y, Shirasu K, Yoneyama K et al. (2008) Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature* 455: 195–200. doi:10.1038/nature07272
- Wakabayashi T, Hamana M, Mori A, Akiyama R, Ueno K, Osakabe K, Osakabe Y, Suzuki H, Takikawa H, Mizutani M et al. (2019) Direct conversion of carlactonoic acid to orobanchol by cytochrome P450 CYP722C in strigolactone biosynthesis. *Sci Adv* 5: eaax9067. doi: 10.1126/sciadv.aax9067
- Wakabayashi T, Ishiwa S, Shida K, Motonami N, Suzuki H, Takikawa H, Mizutani M, Sugimoto Y. (2021a) Identification and characterization of sorgomol synthase in sorghum strigolactone biosynthesis. *Plant Physiol* 185: 902-913. doi.org/10.1093/plphys/kiaa113
- Wakabayashi T, Shida K, Kitano Y, Takikawa H, Mizutani M, Sugimoto Y. (2020) CYP722C from *Gossypium arboreum* catalyzes the conversion of carlactonoic acid to 5-deoxystrigol. *Planta* 251: 97. doi.org/10.1007/s00425-020-03390-6
- Wakabayashi T, Yasuhara R, Miura K, Takikawa H, Mizutani M, Sugimoto Y. (2021b) Specific methylation of (1R)-carlactonoic acid by an Arabidopsis SABATH methyltransferase. *Planta* 254:88 doi.org/10.1007/s00425-021-03738-6
- Xie X, Kisugi T, Yoneyama K, Nomura T, Akiyama K, Uchida K, Yokota T, McErlean CSP, Yoneyama K (2017) Methyl zealactonoate, a novel germination stimulant for root parasitic weeds produced by maize. *J. Pest. Sci.* 42: 58-61. doi.org/10.1584/jpestics.D16-103
- Xie X, Kusumoto D, Takeuchi Y, Yoneyama K, Yamada Y, Yoneyama K. (2007) 2-epi-orobanchol and solanacol, two unique strigolactones, germination stimulants for root parasitic weeds, produced by tobacco. *J Agric Food Chem* 55: 8067-8072. doi.org/10.1021/jf0715121
- Xie X, Yoneyama K, Harada Y, Fusegi N, Yamada Y, Ito S, Yokota T, Takeuchi Y, Yoneyama K. (2009) Fabacyl acetate, a germination stimulant for root parasitic plants from *Pisum sativum*. *Phytochemistry* 70: 211-215. doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.12.013
- Xie X, Yoneyama K, Kusumoto D, Yamada Y, Takeuchi Y, Sugimoto Y, Yoneyama K. (2008) Sorgomol, germination stimulant for root parasitic plants, produced by *Sorghum bicolor*. *Tetrahedron Letters* 49: 2066-2068. doi.org/10.1016/j.tetlet.2008.01.131
- Yokota T, Sakai H, Okuno K, Yoneyama K, Takeuchi Y (1998) Alectrol and orobanchol, germination stimulants for *Orobanche minor*, from its host red clover. *Phytochemistry* 49: 1967-1973. doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00419-1
- Yoneyama K. (2019) How do strigolactones ameliorate nutrient deficiencies in plants? *Engineering plants for agriculture* 11. doi.10.1101/cshperspect.a034686

- Yoneyama K, Akiyama K, Brewer PB, Mori N, Kawano-Kawada M, Haruta S, Nishiwaki H, Yamauchi S, Xie X, Umehara M et al. (2020) Hydroxyl carlactone derivatives are predominant strigolactones in *Arabidopsis*. *Plant Direct* 4: e00219. doi.org/10.1002/pld3.219
- Yoneyama K and Brewer PB. (2021) Strigolactones, how are they synthesized to regulate plant growth and development? *Curr Opin Plant Biol* 63: 102072. doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102072
- Yoneyama K, Mori N, Sato T, Yoda A, Xie X, Okamoto M, Iwanaga M, Ohnishi T, Nishiwaki H, Asami T. et al. (2018) Conversion of carlactone to carlactonoic acid is a conserved function of MAX1 homologs in strigolactone biosynthesis. *New Phytol* 218: 1522–1533. doi.org/10.1111/nph.15055
- Yoneyama K, Xie X, Kim HI, Kisugi T, Nomura T, Sekimoto H, Yokota T, Yoneyama K. (2012) How do nitrogen and phosphorus deficiencies affect strigolactone production and exudation? *Planta* 235: 1197-207. doi.10.1007/s00425-011-1568-8
- Yoneyama K, Xie X, Kisugi T, Nomura T, Sekimoto H, Yokota T, Yoneyama K. (2011) Characterization of strigolactones exuded by Asteraceae plants. *Plant Growth Regul.* 65: 495-504. doi.10.1007/s10725-011-9620-z
- Yoneyama K, Xie X, Sekimoto H, Takeuchi Y, Ogasawara S, Akiyama K, Hayashi H, Yoneyama K. (2008) Strigolactones, host recognition signals for root parasitic plants and arbuscular mycorrhizal fungi, from Fabaceae plants. *New Phytol* 179: 484-494. doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02462.x
- Zhang Y, van Dijk AD, Scaffidi A, Flematti GR, Hofmann M, Charnikhova T, Verstappen F, Hepworth J, van der Krol S, Leyser O et al. (2014) Rice cytochrome P450 MAX1 homologs catalyze distinct steps in strigolactone biosynthesis. *Nat Chem Biol* 10:1028-1033. doi.10.1038/NCHEMBIO.1660