

平成 27 年度農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業 計画書

【シーズ創出ステージ】

27004A

耐病性向上および根寄生雑草防除に活用するための菌根菌共生最適化技術の開発

研究実施期間	平成 27 年度～平成 29 年度（3 年間）
代表機関	国立大学法人 宇都宮大学 バイオサイエンス教育研究センター
研究総括者	米山 弘一
共同研究機関	国立大学法人 東京大学 大学院 農学生命研究科
	公立大学法人 大阪府立大学 大学院 生命環境科学研究科
	公立大学法人 福井県立大学 生物資源学部
研究支援者	国立大学法人 宇都宮大学 地域共生研究開発センターURA室 桑江 良昇
研究総括者 連絡先	TEL : 028-649-5152 FAX : 028-649-5155 E-mail : yoneyama@cc.utsunomiya-u.ac.jp 住所 : 〒321-8505 栃木県宇都宮市峰町 350

- I. 試験研究の全体研究計画 1 頁～ 11 頁
II. 平成 27 年度細部研究計画 12 頁～ 19 頁

I. 試験研究の全体研究計画

I-1. 研究目的

植物の根から分泌されるシンビオラクトン(SBL)は、アーバスキュラー菌根菌による共生および根寄生雑草による寄生のシグナルであり、植物体内では植物の形態形成などを調節する植物ホルモンとして働いている。本申請研究では、SBLの生合成制御機構の解明に基づいて、アゴニスト、生合成阻害剤、機能阻害剤の創製を行い、耐病性向上と根寄生雑草防除に活用するための菌根菌共生最適化技術を開発する。

リン肥料原料の100%を輸入している日本では、持続可能な農業生産に向けて、土壌中のリン資源の効率的な利用が不可欠である。そのためには土壌中に張り巡らせた菌糸ネットワークによって吸収したリンを植物に供給する菌根菌を活用すべきである。しかし、通常施肥管理の行われている圃場では、植物の根からのSBLの分泌量が低下し、菌根菌共生が抑制されている。SBL合成欠損変異体の菌根菌共生率は低いが、根圏へのSBL投与により回復する。すなわち、アゴニスト処理による菌根菌共生の促進が可能である。また、SBL生合成・機能阻害剤によって、過剰な菌根菌感染を防止し、菌根共生の最適化を行うことにより、リン施肥量の低減に加えて過剰なリン施肥による環境汚染を防止することができる。さらに植物は菌根菌共生によって耐病性・ストレス耐性(mycorrhiza-induced resistance, MIR)を獲得するので、SBL制御剤は幅広い作物種で利用可能な新しい作用性の抵抗性誘導剤として利用可能であり、環境生物への影響が比較的大きい殺菌剤施用量の低減が期待できる。

一方SBLは、世界の農業生産に甚大な被害を及ぼしている根寄生雑草の寄生シグナルでもある。特にオロバンキ(*Orobanch*)類の根寄生雑草は、農業先進国に侵入し、大きな被害を与えており、日本農業にとっても潜在的な脅威である。SBL制御剤は、根寄生雑草の特殊な種子発芽要求性をターゲットとするので、SBL制御剤を活用した画期的な根寄生雑草防除法の開発が期待される。

さらにSBL制御剤は、植物地上部および地下部の形態制御などを司る植物ホルモン機能の制御も可能であり、枝分かれの調節による花や果実数の最適化など、花卉園芸分野の技術革新にもつながる。

このため、本研究では、

1. シンビオラクトン生合成制御機構の解明
2. シンビオラクトンアゴニストの創製
3. シンビオラクトン生合成・機能阻害剤の創製
4. シンビオラクトン制御剤の利用による菌根菌共生の最適化を介した耐病性向上技術の開発

により、SBL制御剤の創製と、それを利用した菌根菌共生の最適化技術の開発を目標とする。

その結果、

1. 殺菌剤使用量、施肥量の低減によるコスト削減と省力化
2. 安全で高品質な食料の安定供給
3. 農薬、化学肥料による環境負荷の低減の結果としての環境保全

が期待される。

I-2. 研究内容

本申請研究では3環性（ABC環）の母核にブテナライドのD環がエノールエーテルを介して結合している「典型的な」ストリゴラクトン（SL）と、SLの生合成中間体であるCLから派生している3環性（ABC環）の母核を持たないCL誘導体を併せてシンビオラクトン（SBL）と総称する。

1. シンビオラクトン生合成制御機構の解明

未解明のまま残されているカーラクトン（CL）下流のSBL生合成ステップを解明し、SBL生合成阻害剤、機能阻害剤、アゴニストの創製研究への基盤的な情報を提供する。インビトロ生合成系を用いた非天然SBLの作出も視野に入れる。

（1）生合成中間体の構造解析

CL下流のSBL生合成ステップにおける生合成中間体の構造解析を行う。具体的には、すでに小課題（2）で構築済みのMAX1反応系により、CLから生成する生合成中間体を単離・構造決定する。なお、酵素反応の基質であるCLおよび推定生合成中間体を含むCL関連化合物は大阪府立大学グループ（中課題3）から提供されるため、生合成中間体の構造決定は合成物との比較によって効率的に進めることができる。また、東京大学グループ（中課題2）から供給される生合成阻害剤を用いた生合成中間体の解析を行う。なお、MAX1の下流と想定される酵素についてはChristine Beveridge教授（University of Queensland, Australia）のグループから提供されている。解析結果を中課題2および中課題3にフィードバックする。

（2）インビトロ生合成系の構築

本小課題では、小課題3と一部は共同で、酵母や大腸菌で発現させた生合成酵素を用いたインビトロ生合成系を構築する。これまでの研究から特徴的な構造を有するSLおよびCL関連化合物を生産することが分かっているナス科植物のトマトやタバコ（A環がベンゼン環のsolanacolを生産する）、イネ科植物のエンバク（既知のSLを全く生産せず、CL関連化合物を比較的大量に生産している）、トウモロコシ（既知のSLとCL関連化合物の両方を生産している）などを材料として行う。例えばsolanacolのベンゼン環がカロテノイド由来なのか、SL骨格ができてから形成されるのかを調べる。なお、典型的なSLとCL関連化合物への生合成の分岐点はCLの下流であると考えられるので、インビトロ生合成系の構築はCLの下流に重点を置くが、生合成上流の酵素（D27, CCD7, CCD8）についても数種類の植物について検討する。構築したインビトロ系を使った生合成中間体の探索は、小課題（1）と共同で行う。解析結果は小課題（1）および小課題（3）に提供する。

（3）仮想中間体などの投与実験

中課題3から提供される仮想生合成中間体を無傷植物（イネ、トマトなど）を用いたインビトロ系及び大腸菌や酵母で発現させた生合成酵素によるインビトロ生合成系を用いて投与実験を行う。この投与実験は、生合成経路の解明の他、自殺基質の探索を兼ねる。無傷植物を用いる場合には変換効率を上げるために、中課題3から提供される生合成阻害剤および機能阻害剤を利用することによって、内生の基質含量を低下させておく。投与した仮想中間体の代謝生成物を解析するだけでなく、植物体への投与では、植物体の生長・分化・形態形成および菌根菌共生に及ぼす影響を精査する。興味深いフェノタイプが確認された場合には、新しい植物生長調節剤としての作用性

も検討する。

2. シンビオラクトンアゴニストの創製

本中課題は、CL関連化合物の合成に実績のある大阪府立大学グループが担当するが、SLアゴニストの創製研究では、既に実績のある東京大学グループが、菌根菌の共生シグナルに特化したSBLアゴニストの創製を目指す。大阪府立大学グループは、CLを母核とするCLアゴニストの創製研究と仮想生合成中間体の合成を担当する。合成化合物の菌根菌菌糸分岐誘導活性は大阪府立大学が、根寄生雑草種子発芽刺激活性は宇都宮大学グループがそれぞれ生物試験により評価する。なお、仮想生合成中間体は中課題1を担当する宇都宮大学グループに供給し、不安定と予想される生合成中間体の単離・構造解析を効率的に推進する。

(1) SLアゴニストの創製 (SLは典型的なSLを指す)

東京大学グループが保有する、あるいは新たに取得するケミカルライブラリーについて菌根菌共生促進活性を検定する。迅速に行うため、一次スクリーニングとして菌糸分岐誘導活性を評価する。本活性評価は大阪府立大学グループが行う。得られた高活性誘導体をリードとして構造最適化を行う。

(2) CLアゴニストの創製

構造既知のCL関連化合物及び中課題1の成果として得られる天然のCL関連化合物をリードとした構造改変により高活性化合物を探索する。得られた化合物の菌糸分岐誘導活性と根寄生雑草種子発芽刺激活性(宇都宮大学が担当)を検定する。

(3) 仮想中間体の合成

仮想生合成中間体がSBL生合成中間体であることを実証するためには、安定同位体(^{13}C , ^2H) 標識化合物を用いた取り込み実験を行う必要があるので、標識化合物の合成を行う。

3. シンビオラクトン生合成・機能阻害剤の創製

大腸菌で発現させたSBL生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)を用いたインビトロ生合成系を構築し、基質特異性を解明するとともに、同系を用いた迅速なアッセイ系による生合成阻害剤を探索・創製する。更に、活性を示した化合物についてはその生理作用を解析する。生合成阻害剤については中課題1と中課題3に提供し、生理活性を詳細に評価する。生合成阻害剤以外に、例えば、受容体であるD14の加水分解活性の阻害剤やシグナル伝達阻害剤などの機能阻害剤の創製も目標に含める。なお、中課題2と同様に、中課題4と連携して、耐病性への活用に関する構造の最適化も進める。

(1) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)の基質特異性解明

大腸菌で発現させたシロイヌナズナ、イネのSBL生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)を用いたインビトロ生合成系を構築し、各種の基質および合成類縁体を投与することによって基質特異性を解明する。インビトロ生合成系の構築では、中課題1と協力し、情報を共有しながら行う。次いで、同系を利用した迅速なアッセイ系を確立し、既存の阻害剤を元にデザインした合成化合物あるいは化合物ライブラリーの阻害活性を検定する。活性を示した化合物について類縁体合成を進め、構造最適化を行い、SBL生合成阻害剤を創製する。このようにして得られた高活性化合物および特異性の高い化合物について根寄生雑草種子に対する発芽刺激活性、AM菌菌糸分岐誘導活性、植物

带格式的：突出显示

地上部の枝分かれ抑制活性などの生理作用を詳細に解析する。

(2) 生合成酵素 (CCD7, CCD8, MAX1) の阻害剤および機能阻害剤の開発

小課題 (1) で構築したインビトロ生合成系を利用して迅速なアッセイ系を確立する。このアッセイ系を用いて既存の阻害剤を元にデザインした合成化合物あるいは化合物ライブラリーの阻害活性を検定する。活性を示した化合物について類縁体合成を進め、構造最適化を行い、SBL生合成阻害剤を創製する。これまで報告されている生合成阻害剤のうちCCD7もしくはCCD8の阻害剤は高濃度でないと効果を示さないことから高活性阻害剤の開発を試みる。東大グループは既にCCD7やCCD8同じカロテノイド開裂酵素に属するNCEDがトリアゾール化合物により阻害されることを見出している。そこで新たなトリアゾール系化合物を中心としたスクリーニングを行い、CCD7もしくはCCD8を阻害する化合物を見出す。また、植物におけるSBLの受容体であるD14の加水分解活性あるいはシグナル伝達系を阻害する機能阻害剤の探索も行う。

(3) 生合成酵素 (CCD7, CCD8, MAX1) の阻害剤の生理作用の解析

MAX1阻害剤の候補化合物TIS108の作用部位が明確でないことからこの同定を行う。またTIS108はイネSBLの生合成を低濃度で阻害するがイネ分げつ誘導活性を示さない一方、シロイヌナズナでは枝分かれを誘導するという不思議な性質をもっていることから、中間体の蓄積とイネ形態、シロイヌナズナ形態の関連を調べることでTIS108の作用機構についてその全貌を解明する。また、小課題 (2) で得られた阻害剤について根寄生雑草種子に対する発芽刺激活性、AM菌糸分岐誘導活性、植物地上部の枝分かれ抑制活性などの生理作用を詳細に解析する。

根寄生雑草感受性/耐性トウモロコシを用いた解析では、根から放出されるSBLの総量は品種間で差が無いものの、感受性種は化学的に比較的安定なnon-hydroxy-SBLを、耐性種は比較的不安定なhydroxy-SBLを主要な発芽刺激物質として分泌していた。感受性/耐性トウモロコシ品種間で菌根菌感染率、主要な菌種に変動が認められなかったことから、SBL水酸化活性を上昇させることによって、菌根菌共生に影響を与えずに根寄生雑草による寄生を低減させることができるものと考えられた。そこで、SBL制御剤候補化合物処理後にSBL分泌の質的な変動が起きるかどうか精査し、hydroxy-SBLが増加する場合には、その物質をリード化合物として構造最適化を行う。

4. シンビオラクトン制御剤の利用による菌根菌共生最適化を介した耐病性向上技術の開発

菌根菌共生による抵抗性誘導を将来的に実用化可能とするために、抵抗性誘導機構に関する基礎的知見の収集を目的とするとともに、既存の抵抗性誘導技術との併用および代替の可能性を検討する。さらに、菌根菌共生レベルの制御と耐病性レベルの相関関係を解析することにより、実用的な耐病性誘導に向けた菌根菌共生の最適化技術に関する知見を得ることを目的とする。

(1) シンビオラクトンによる耐病性への影響の解析

SBLがイネおよびトマト等の作物の耐病性に及ぼす効果を解析し、本中課題で利用する耐病性試験のモデルを構築する。イネではいもち病および白葉枯病、トマトでは灰色かび病、葉かび病、斑点細菌病に加えて、根部から感染するフザリウム病、等の感染機構の異なる病害について、SBL投与の効果を解析し、検定系の最適化を行う。この際、フザリウム病等の感染の判別が困難な病害および菌根菌共生については、デ

デジタルPCRを用いて植物体内の微生物量を定量的に計測して評価する。また、検定系確立後には、SBL投与後の抵抗性発現組織における病害応答関連遺伝子や植物ホルモン濃度を詳細に分析することにより、耐病性発現機構についても明らかにする。

(2) シンビオラクトンの全身獲得抵抗性への影響の解析

全身獲得抵抗性へのSBLの影響を解析することにより、菌根菌共生最適化による耐病性誘導の実用化への基礎的知見を得る。全身獲得抵抗性誘導剤が利用されているイネを用いて、SBLが全身獲得抵抗性の誘導および効果に及ぼす影響について、病害関連遺伝子の発現、サリチル酸シグナルの活性化、病原菌感染防除効果の解析を行う。また、トマト等でも同様の解析を行うとともに、全身獲得抵抗性シグナルへのSBLのみの効果についてシロイヌナズナを用いた解析も行う。これらの解析により、菌根菌共生の最適化と全身獲得抵抗性の併用の可能性について、独立して相加的または相乗的であるか、あるいは拮抗的（部分的を含む）であるかを、明らかにする。両者が拮抗的である場合は、その分子機構の解析を行うことにより、相互の影響を減らすための基礎的知見を得る。

(3) シンビオラクトン制御剤による耐病性の最適化

中課題2、3より提供されるSBL制御剤を利用することにより、耐病性に関する菌根菌共生の最適化に関する基礎的データを取得する。小課題(1)(2)で得られる実験系および知見を基にして、SBL制御剤の耐病性への効果を解析する。効果的な耐病性が得られるSBL制御剤処理については、デジタルPCRによる菌根菌共生レベルの分析、植物体内耐病性シグナルの解析を行い、作物および対象病原体に最適なSBL制御剤処理に関する知見を取得する。

I-3. 達成目標及び進捗目標（本研究における最終目標・技術的成果）

1. 本研究における最終目標・技術的成果

本申請研究の最終目標は、SBLの生合成経路の完全解明と、その情報に基づいたSBLの生合成・機能阻害剤と特異的なアゴニストの創製である。この最終目標を達成するために、SBLのインビトロ生合成系を構築し、合成化合物の迅速なスクリーニングによって高活性・高特異性阻害剤およびアゴニストを選抜するとともに、構造活性相関の解析結果を踏まえて、さらに高活性で特異性の高い化合物の分子設計を行う。こうして得られた新しいSBL制御剤は、AM菌の共生促進、植物への耐病性、環境ストレス耐性の付与、根寄生雑草の防除が可能な新しい技術的成果として、食料・バイオマス生産の向上に利用できる。

既に述べてきたように、本申請研究の成果は、1つにはSBL制御剤の活用による菌根菌共生最適化による耐病性、環境ストレス耐性の付与とリン吸収の効率化である。菌根菌共生による耐病性の向上は、栽培環境や作物種によって異なるものの農業全体の5%~60%を占める殺菌剤の使用量低減にも寄与する。また、本研究の成果から開発される抵抗性誘導技術は、これまでに活用されていない病害性抵抗メカニズムを利用する新規作用を有する技術であるため、適した防除体系が確立できていない難防除性病害に対する効果も期待できる。

日本ではリン肥料の原料は100%輸入に頼っているが、世界のリン資源は数十年以内に枯渇する。そこで、植物が利用できない形態で土壤中に含まれているリンを効率的に吸収し植物に与える菌根菌共生を積極的に活用した環境保全型農業の重要性が今後ますます高

まることになる。農業生産経費の約10%を占める肥料代の節約は同時に過剰なリン施肥による環境汚染を防止することとなる。

本研究の成果は他方では、有効な防除法のない根寄生雑草の新しい防除法あるいは回避法を提供する。根寄生雑草はアフリカ諸国の農業生産だけで年間70億ドルの被害を与えており、農業先進国における被害が顕在化しつつある。根寄生雑草の種子は多くの国で輸入禁止品であるため、根寄生雑草が侵入した圃場からの農作物は輸出はもちろん、汚染された圃場外への移動も制限される場合が多い。そのため、先進国の農業にとっても重大な問題であると捉えられるようになり、根寄生雑草は日本の農業にとっても潜在的な脅威である。アメリカ南北カロライナ州に根寄生雑草の1種、*Striga asiatica*が侵入し、徹底的な防除作業が開始されてから50年以上が経過し、その間3億ドルの経費を費やしたにも拘わらず、未だに駆逐されていない事実を見ても、根寄生雑草は一旦侵入を許すと、その完全排除には多額の経費と年月が必要となる。以上は、本申請研究の重要性を裏付けるものである。

更に、本研究の成果として提供される新しいSBL制御剤の利用により、植物地上部および地下部の形態制御などを司る植物ホルモンとしての機能の制御も可能であり、枝分かれの調節による花や果実数の最適化など、花卉園芸分野の技術革新にもつながるものと期待される。

2. 研究開発の中間時（平成29年1月末時点）における研究の進捗目標値

（1）シンビオラクトン生合成制御機構の解明： 70%

シロイヌナズナのMAX1反応系を構築済みであり、MAX1の基質および生成物の同定も完了している。なお、シロイヌナズナのMAX1単独ではCLを5-deoxystrigolや4-deoxyorobancholなどの典型的なSLまで変換できないことから、MAX1の下流に別の酵素が関与していることも確認している。候補となる酵素は既に提供されている。シロイヌナズナのMAX1反応系と同様に、トマト、トウモロコシなど数種類の植物を材料として、東京大学グループと情報交換・協力しながらMAX1反応系を構築し、CL下流の生合成中間体（CL酸化産物）の同定を完了する。特にA環にベンゼン環を有するSLであるsolanacolを生産するトマトの生合成系については中間時までには立ち上げる予定である。これまでの解析結果から、MAX1の基質であるCLおよび関連化合物は化学的に不安定であると推定されることから、大阪府大のグループから提供される合成化合物とのLC-MS/MS、GC-MSによる比較によって効率的に進める。各種植物由来のMAX1の反応生成物を同定した後で、MAX1の下流と想定される酵素についての解析を開始する。

（2）シンビオラクトンアゴニストの創製： 60%

すでにSLミミックとしてdebranoneを開発しており、ベンゼン環の置換基の種類と置換位置によって、AM菌菌糸分岐誘導活性、根寄生雑草種子発芽刺激性、植物地上部の枝分れ阻害活性をそれぞれ単独に調節できる可能性があるため、それぞれの活性における構造最適化も可能であると考えている。なお、化合物ライブラリーのスクリーニングも終了する予定であるが、新しいライブラリーが入手できた場合にはスクリーニングをさらに継続する。

CL誘導体からのアゴニストの創製では、GR24などの合成SLの構造活性相関データを参考に活性向上と化学的安定性向上に向けた分子デザインを行っている。仮想生

合成中間体の合成を含めて、関連化合物の合成戦略にもある程度めどがついたので、中間時までには数系統のCLアゴニストを創製できると考えている。これまでに、シロイヌナズナのMAX1によるCL酸化産物の候補化合物の合成を完了し、投与実験などによってMAX1反応生成物の構造をカラクトン酸(CLA)と同定した。

宇都宮大学のグループでは最近、CLの18位メチル基が酸化されたと考えられるCL類縁体を単離しているので、18位の酸化体も合成する予定である。A環が芳香環になったsolanacolタイプのCLおよびCL酸化体の合成を完了し、インビボおよびインビトロ系でSBL骨格への変換が起きるかどうか調べる。これらに加えて、C環のみを欠いたAB-D環タイプの環化産物の合成と投与実験も予定している。合成化合物の生理作用の解析は並行して行う。以上が完了した場合には、非天然型SBLの創製へと展開する。

(3) シンビオラクトン生合成阻害剤および機能阻害剤の創製：60%

大腸菌で発現させたシロイヌナズナのSL生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)を用いたインビトロ生合成系の構築を完了する。各酵素の基質特異性については、阻害剤候補化合物の合成と並行して進めることになるので、合成化合物の種類と数が増えるに従って情報も充実する。大腸菌に発現させたCCD7, CCD8 (カナダのグループから入手) を持っており、現在、D27をクローニングしているので、インビトロ生合成系の構築は可能と考えている。この系が上手く動かない場合には、Science of carlactoneの論文の著者であるAl-Babili教授から分与して頂く。機能阻害剤についてはリード化合物を見いだしているので、その類縁体合成によって最適なリード化合物を選抜する。

(4) シンビオラクトン制御剤の利用による菌根菌共生最適化を介した耐病性向上技術の開発：50%

耐病性シグナルの解析や全身獲得抵抗性の評価については研究手法が確立しており、SBL制御による菌根菌共生最適化の耐病性への有効性の評価、全身獲得抵抗性との併用または代替の可能性評価を中間時までには達成する。また、それらの研究成果を活用することにより、菌根菌共生レベルと耐病性の相関を解析して、最終的に、目標であるSBL制御剤による耐病性の最適化を達成可能である。

I-4. 研究成果により期待されるマクロ的な経済効果

本申請研究の成果により期待されるマクロ的な経済効果が明確になるまでには多少時間が掛かると予想される。その理由として、根寄生雑草の防除については、現時点では日本国内では問題になっていないからであり、AM菌の利用もあまり進んでいない。植物生長調節剤の市場規模もそれほど大きくない。しかし、根寄生雑草については、いつ日本国内に侵入してもおかしくない状況であり、その危険性は極めて高いと言える。最近、トマトなど根寄生雑草の被害が大きな作物を国外で栽培し輸入している企業から根寄生雑草の防除法について複数の問い合わせがあった。リン資源の枯渇が迫っている状況では、植物が利用できない形態で土壌中に存在しているリンをAM菌との共生によって効率的に利用することは極めて重要な農業技術であり、一刻も早く実用的なレベルまで研究を展開する必要がある。もちろん、枝分れの制御による花数・果実数の最適化や園芸植物への植物生長調節剤としてのSBL生合成制御剤の利用も重要であり、将来的に大きな経済効果が期待される。

植物の免疫の活性化は種々の病害に持続的な効果があり、これを活性化できる新規の作用点を有する薬剤の開発は、殺菌剤使用量の大幅な削減が望める。現在の殺菌剤使用額（イネ124億円、

野菜類390億円)の20%を削減できた場合には合計約100億円のコスト削減となる。特に、菌根菌共生最適化による耐病性付与効果が期待できる野菜類だけでも約80億円のコスト削減が可能である。また、日本国内で現在年間4000億円程度使用されている肥料についても、リン吸収の効率化による使用量の10%程度(約400億円のコスト削減)の低減と同時に環境負荷の低減も期待される。

根寄生雑草の被害は正確な推定が困難であるが、アメリカでは、根寄生雑草*Striga asiatica*によるトウモロコシ、サトウキビなどのイネ科作物への被害が過去50年間で200億ドル以上と推定されている。日本国内では沖縄などの温暖地域におけるサトウキビ栽培などが*Striga*の被害を受ける可能性が高い。九州以北では、*Orobanch*類による野菜(トマト、キュウリ、ジャガイモ、ナス、ニンジン、メロン、スイカ、タバコなど)への被害が危惧される。地中海沿岸諸国における*Orobanch*の被害程度から推定すると、特に野菜類の収量が、軽微な寄生率でも10%程度低下するものと予想される。もちろん根寄生雑草の発生率が高くなれば収穫皆無になる場合もありうる。また、寄生による品質の低下も著しいので、損失額は収量からだけでは算出できないが、10%以上の損失となることは間違いない。すなわち、野菜生産額2.3兆円の10%、2300億円の損失が予想される。

以上のように、本申請研究の成果は、10年、20年先の日本農業にとって極めて大きな経済効果をもたらすものと考えている。

I-5. 行政施策等への貢献

本申請研究の成果は、菌根菌共生の最適化を介した作物への耐病性とストレス耐性の付与による殺菌剤使用量の削減、原料を100%輸入しており数十年以内に枯渇と言われるリン資源の利用効率化によるリン肥料使用量の低減と過剰なリン施肥による環境汚染の防止、さらには日本農業に対する潜在的な脅威である根寄生雑草防除および農産物の付加価値を高めるための新しい資材・技術として利用される。本研究の成果は日本国内ばかりではなく、根寄生雑草の被害が著しい地域や国々、肥料成分に乏しい土壌、地域、さらには恒温、乾燥など環境ストレスが激しい地域、国々における農業生産性の向上に貢献するものと期待される。すなわち、行政施策への貢献度は極めて高いと考えている。

I-6. 農林水産業・食品産業等や社会・経済への貢献

(1) 研究成果の活用イメージ及び効果

研究の研究成果は、①菌根菌による共生促進による耐病性・ストレス耐性の向上、②根寄生雑草の防除、さらには③植物の形態形成の制御に活用される。すでに述べたように、①の菌根菌共生による植物生産性の向上、耐病性・ストレス耐性の付与効果などの有効性は確認されているものの、共生促進の技術開発が遅れている。これまでSBL類などを菌根菌共生促進に利用した例はないが、特異的なSBLアゴニストをもちいることによって成功する可能性が高まるものと考えている。②の根寄生雑草の被害については未だに日本国内では報告されていないが、近い将来、日本の農業に大きな被害を与える可能性が極めて高い。中国を始めとするアジア諸国でも根寄生雑草による被害が顕在化しているので、シミュレーションとしてアジア諸国で本研究の成果であるSBL制御剤の有効性を試験することができるであろう。③については植物種(作物種)によって最適な枝分かれの程度などが異なるので制御が難しいと予想されるが、SBL生合成阻害剤とアゴニストを適切な時期に処理することによって制御が可能である。なお、同様の手法は、①菌根菌の共生促進と②根寄生雑草の防除にも適用可能である。

植物の誘導抵抗性は環境低負荷な防除技術として要望されているが、イネ以外では科学的実証のある技術は実用化できていない。そのため、菌根菌共生レベルの制御による耐病性付与技術は、イネに加えて、農業使用量が多い園芸作物では、殺菌剤使用量の削減

と農作業の省力化を可能とする革新的技術となることが期待される。

具体的活用イメージとしては以下のとおりである：

○トマト、キュウリ等の苗の栽培時に、SBL制御剤を利用して菌根菌共生レベルを制御して出荷する。

○施設栽培等でSBL制御剤により菌根菌共生レベルを制御した栽培体系を確立する。

○作物種子にSBL制御剤を浸透処理あるいは粉衣処理し、圃場における菌根共生促進技術を確立する。

効果としては：

農業従事者にとって、抵抗性誘導剤は様々な病害に利用できるもので、農作業の省力化、コスト削減が可能となる。そして、低農薬、無農薬により農作物のブランド化が可能である。リンの施肥量の削減もコスト低減につながる。

（２）研究成果の活用に向け想定される取組や体制

本申請研究の研究目的は、SBL制御剤（生合成阻害剤、アゴニスト、機能阻害剤）の創製であり、研究成果として得られたSBL制御剤を農園芸業や緑化産業の実用場面で活用するためには次のような準備、取り組みが必要である。

まず、SBL制御剤が、菌根菌共生促進剤、根寄生雑草防除剤あるいは植物生長調節剤として最適の化合物であるかどうかを温室内ポット試験を始めとして最終的には圃場レベルで確認する必要がある。そのためには、大量合成のための合成法の改良・開発と、小規模から大規模な圃場試験実施に向けて企業との共同研究が必須である。化学構造の最適化が終了後は、通常の農薬開発と同じように有効性試験を行い、最適な薬剤を選抜して、毒性試験など、農薬登録に向けた作業を進めることになる。研究代表者の米山、研究分担者の浅見が農薬・植物生長調節物質関連学会の役員を務めており、企業との共同研究体制の構築には全く問題は無い。また、栃木県や福井県では、県農業試験場、草地試験場などとの連携も容易である。

圃場レベルにおける根寄生雑草防除試験や、菌根菌の共生促進試験については、国外での実施が効率的であり、国際的な共同研究へと発展させる必要がある。特に根寄生雑草防除試験については国内では実施不可能であるが、研究代表者の米山が国際寄生植物学会(International Parasitic Plant Society)の会長を務めているので、そのネットワークを利用して効率的に進めることができる。菌根菌の共生促進試験についても類似のネットワークが利用可能である。

I－7. 国民生活への貢献

安心・安全な食料の確保は国民生活にとって最も重要であり、関心も高い。残念ながら食料自給率を上昇させることは将来的にも難しいが、「質」の高い農産物を栽培する技術を確立し、その技術を食料輸出国へと移転すること、また、「高品質」な農産物を日本から輸出することによって、国際的に流通する食料の安全性を高めることが重要である。そのための技術開発に向けて、本申請研究は大きく寄与すると考えている。結果として、国民生活への貢献度も高い。

本申請研究の成果は、殺菌剤使用量の削減により、消費者にとっては食の安心・安全を提供することができる。さらに、リン資源の有効利用により、リン施肥量削減や河川、地下水へのリン流出量の抑制などによる生態系への影響を減らし、環境保全に貢献するものである。

I－8. 年次計画

研究項目	平成27年度	平成28年度	平成29年度
1. シンビオラクソン生成制御機構の解明			
(1) 生合成中間体の構造解析	← (1) 生合成中間体の構造解析 (宇都宮大学・バイオサイエンス)		→
(2) シンビオラクソン生成系による解析	← (2) シンビオラクソン生成系による解析 (宇都宮大学・バイオサイエンス)		→
(3) 仮想中間体などの投与実験	← (3) 仮想中間体などの投与実験 (宇都宮大学・バイオサイエンス)		→
2. シンビオラクソンアゴニストの創製			
(1) SLアゴニストの創製	← (1) SLアゴニストの創製 (東京大学・農学生命)		→
(2) CLアゴニストの創製	← (2) CLアゴニストの創製 (大阪府立大・生命環境)		→
(3) 仮想生合成中間体の合成	← (3) 仮想生合成中間体の合成 (大阪府立大・生命環境)		→
3. シンビオラクソン生成・機能阻害剤の創製			
(1) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)の基質特異性解明	← (1) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)の基質特異性解明 (東京大学・農学生命)		→
(2) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)の阻害剤および機能阻害剤の開発	← (2) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)の阻害剤および機能阻害剤の開発 (東京大学・農学生命)		→
(3) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)の阻害剤の生理作用の解析	← (3) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)の阻害剤の生理作用の解析 (東京大学・農学生命)		→
4. シンビオラクソン制御剤の利用による菌根菌共生最適化を介した耐病性向上技術の開発			
(1) シンビオラクソンによる耐病性への影響の解析	← (1) シンビオラクソンによる耐病性への影響の解析 (福井県立大学・生物資源)		→
(2) シンビオラクソンの全身獲得抵抗性への影響の解析	← (2) シンビオラクソンの全身獲得抵抗性への影響の解析 (福井県立大学・生物資源)		→
(3) シンビオラクソン制御剤による耐病性の最適化	← (3) シンビオラクソン制御剤による耐病性の最適化 (福井県立大学・生物資源)		→
所要経費(合計)	4, 8 5 0 千円	4, 8 5 0 千円	4, 8 5 0 千円

II. 平成27年度細部研究計画

II-1. 研究計画

1. シンビオラクトン生成制御機構の解明

(1) 生成中間体の構造解析

1) 研究の進捗状態

CL下流のSBL生成ステップにおける生成中間体の構造解析を行う。具体的には、小課題(2)で構築済みおよび新たに構築するMAX1反応系により、CLから生成する生成中間体を単離・構造決定する。酵素反応の基質であるCLおよび推定生成中間体を含むCL関連化合物は大阪府立大学グループ(中課題3)から提供される。また、東京大学グループ(中課題2)から供給される生成阻害剤を用いた生成中間体の解析を行う。

2) 平成27年度の研究目的

シロイヌナズナ、トウモロコシ、トマト、イネなどのMAX1を酵母で発現させ、基質であるCLを投与し酵素反応生成物の構造決定を行う。また、機能未知の酵素であるLB0の反応生成物の構造決定を行う。

3) 平成27年度の達成目標

年度内に、小課題(2)で構築する未だに酵素機能が不明なトウモロコシ、トマトなどのMAX1ホモログによるインビトロ生成系を使って、CLの代謝産物を分析し、構造を解明する。MAX1の下流を触媒するとされるLB0の反応生成物の構造を解析する。

4) 平成27年度研究内容

CL下流のSBL生成ステップにおける生成中間体の構造解析を行う。具体的には、小課題(2)で構築済みおよび新たに構築するMAX1反応系により、CLから生成する生成中間体を単離・構造決定する。酵素反応の基質であるCLおよび推定生成中間体を含むCL関連化合物は大阪府立大学グループ(中課題3)から提供される。また、東京大学グループ(中課題2)から供給される生成阻害剤を用いた生成中間体の解析を行う。

(2) インビトロ生成系の構築

1) 研究の進捗状態

特徴的な構造を有するSLおよびCL関連化合物を生産することが分かっているナス科植物のトマトやタバコ、イネ科植物のエンバク、トウモロコシなどを材料としてMAX1ホモログをクローニングし、酵母や大腸菌などに異種発現させて機能解析を行う。生成上流の酵素(D27, CCD7, CCD8)についても数種類の植物について検討する。構築したインビトロ系を使った生成中間体の探索は、小課題(1)と共同で行う。解析結果は小課題(1)および小課題(3)に提供する。

2) 平成27年度の研究目的

トマト、タバコ、エンバク、トウモロコシのMAX1ホモログをクローニングし、酵母や大腸菌などに異種発現させて機能解析を行うためのインビトロ反応系を構築する。生成上流の酵素(D27, CCD7, CCD8)についても予備的な検討を行う。

3) 平成27年度の達成目標

年度内に、トマト、タバコ、エンバク、トウモロコシのインビトロMAX1反応系を構

築する。生合成上流の酵素（D27, CCD7, CCD8）については、シロイヌナズナおよびイネを材料としてクローニングし、インビトロ反応系を構築するための予備的な検討を行う。

4) 平成27年度研究内容

トマト、タバコ、エンバク、トウモロコシのMAX1ホモログをクローニングし、酵母あるいは大腸菌で発現させる。構築したインビトロ反応系にCLおよびその誘導体を投与し、酵素反応が正常に進行することを確認する。D27, CCD7, CCD8ホモログのシロイヌナズナおよびイネからのクローニングは報告されているので、その方法に準じて行う。

2. シンビオラクトンアゴニストの創製

(1) SLアゴニストの創製

1) 研究の進捗状態

東京大学グループが保有する、あるいは新たに取得するケミカルライブラリーについて菌根菌共生促進活性を検定する。迅速に行うため、一次スクリーニングとして菌糸分岐誘導活性を評価する。本活性評価は大阪府立大学グループが行う。得られた高活性誘導体をリードとして構造最適化を行う。

2) 平成27年度の研究目的

これまでの検討から、根寄生雑草種子発芽刺激活性と菌根菌菌糸分岐誘導活性におけるSBLの構造要求性にはある程度の類似性が認められているので、前者の活性が高い化合物について後者の活性を測定し、アゴニストのリード化合物を選抜する。

3) 平成27年度の達成目標

年度内に、ケミカルライブラリーのスクリーニングから少なくとも複数のアゴニストのリード化合物を選抜する。また、既に開発済みのdebranoneの構造改変によるアゴニストの創製を試みる。

4) 平成27年度研究内容

比較的簡単に且つ対数のサンプルを処理可能な発芽試験によってケミカルライブラリーのスクリーニングを行う。活性の確認された化合物について処理濃度を変えて活性を調査し、高活性化合物は菌糸分岐誘導活性を検定する。Debranoneの構造改変も同様の戦略で行う。

(2) CLアゴニストの創製

1) 研究の進捗状態

構造既知のCL関連化合物及び中課題1の成果として得られる天然のCL関連化合物をリードとした構造改変により高活性化合物を探索する。得られた化合物の菌糸分岐誘導活性と根寄生雑草種子発芽刺激活性（宇都宮大学が担当）を検定する。

2) 平成27年度の研究目的

天然のCL関連化合物の内、まず、合成の難易度が低いと想定される化合物をターゲットとして合成を進める。また、A環にベンゼン環を導入したCL誘導体の合成を行う。

3) 平成27年度の達成目標

年度内に、数種類の天然CL関連化合物およびその誘導体を合成する。また、A環にベンゼン環を導入したCL誘導体を合成する。合成した化合物についてはその生理活性を検定する。

4) 平成27年度研究内容

天然のCL関連化合物の合成法を確立する。CL関連化合物の合成戦略は典型的なSLと

はかなり異なるので、固有の構造に特化した合成戦略を考察する必要がある。そのため、モデル化合物を用いた実験系などにより、効率的に研究を推進する。中課題1で得られた新規CL誘導体について、合成法を検討する。

(3) 仮想中間体の合成

1) 研究の進捗状態

仮想生成中間体がSBL生成中間体であることを実証するためには、安定同位体(^{13}C , ^2H) 標識化合物を用いた取り込み実験を行う必要があるので、標識化合物の合成を行う。

2) 平成27年度の研究目的

CLおよびその酸化生成物であるカーラクトン酸(CLA)、カーラクトン酸(MeCLA)については既に ^{13}C 誘導体を合成済みであるので、それらから更に酸化反応によって生成すると想定される水酸化体、ケトン体などを合成する。また、CLのA環が酸化された化合物について検討する。

3) 平成27年度の達成目標

年度内に、数種類の仮想中間体およびその誘導体とそれらの安定同位体標識体を調製する。

4) 平成27年度研究内容

小課題(2)で開発した合成戦略を活用して仮想中間体を調製する。それらの仮想中間体を中課題1に提供し、実際に中間体であることを確認する。中間体では無かった場合には、化学構造を再検討し、別の仮想中間体候補化合物を合成する。

3. シンビオラクトン生成・機能阻害剤の創製

(1) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX)の基質特異性解明

1) 研究の進捗状態

大腸菌で発現させたシロイヌナズナ、イネのSBL生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)を用いたインビトロ生合成系を構築し、各種の基質および合成類縁体を投与することによって基質特異性を解明する。インビトロ生合成系の構築では、中課題1と協力し、情報を共有しながら行う。

2) 平成27年度の研究目的

これまでに、大腸菌で発現させたシロイヌナズナのSBL生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)を用いたインビトロ生合成の構築を進める。さらに上流に位置するD27のクローニングもほぼ終了しているので、同様にインビトロ生合成系を構築する。また同時に基質特異性を調べるための基質および類縁体の合成を進める。

3) 平成27年度の達成目標

年度内に、大腸菌で発現させたシロイヌナズナのSBL生合成酵素によるインビトロ生合成系の構築を目指す。基質および類縁体について各酵素の酵素(阻害)活性を検定し、基質特異性を解析する。

4) 平成27年度研究内容

まずシロイヌナズナのSBL生合成酵素をクローニングし、大腸菌で発現させる。粗酵素あるいは部分的に生成した酵素を用いたインビトロ系を構築する。各酵素の基質および類縁体について酵素(阻害)活性を検定し、基質特異性を解析する。

(2) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX)の阻害剤および機能阻害剤の開発

1) 研究の進捗状態

小課題（1）で構築したインビトロ生合成系を利用して迅速なアッセイ系を確立する。このアッセイ系を用いて既存の阻害剤を元にデザインした合成化合物あるいは化合物ライブラリーの阻害活性を検定する。活性を示した化合物について類縁体合成を進め、構造最適化を行い、SBL生合成阻害剤を創製する。CCD7やCCD8同じカロテノイド開裂酵素に属するNCEDがトリアゾール化合物により阻害されるので、新たなトリアゾール系化合物を中心としたスクリーニングを行い、CCD7もしくはCCD8を阻害する化合物を見出す。また、植物におけるSBLの受容体であるD14の加水分解活性あるいはシグナル伝達系を阻害する機能阻害剤の探索も行う。

2) 平成27年度の研究目的

インビトロ生合成系を利用した迅速なアッセイ系を確立する。新たなトリアゾール系化合物を合成し、阻害活性を検定し、CCD7あるいはCCD8阻害剤リード化合物を探索する。また、SBL機能阻害剤の探索では既に候補化合物を得ているので、類縁体合成により活性増強を目指す。

3) 平成27年度の達成目標

年度内に、インビトロ生合成系を用いた迅速なアッセイ系を構築し、トリアゾール系化合物のスクリーニングから複数のCCD7あるいはCCD8阻害剤リード化合物を見いだす。数種類の天然CL関連化合物およびその誘導体を合成する。SBL機能阻害剤候補化合物の合成展開も並行して行う。

4) 平成27年度研究内容

インビトロ系を用いて多数のサンプルを短時間で処理可能なアッセイ系を構築する。新規トリアゾール系化合物の合成を行う。代表的な既存のトリアゾール系化合物についてその阻害活性を評価し、構造活性相関を解析し、高活性化合物の分子デザインを行う。機能阻害剤については類縁体合成とともに、その作用機構の解析を進める。

(3) 生合成酵素 (CCD7, CCD8, MAX) の阻害剤の生理作用の解析

1) 研究の進捗状態

MAX1阻害剤の候補化合物TIS108の作用部位が明確でないことから、まずその同定を行う。またTIS108はイネSBLの生合成を低濃度で阻害するがイネ分げつ誘導活性を示さない一方、シロイヌナズナでは枝分かれを誘導するという不思議な性質をもっていることから、中間体の蓄積とイネ形態、シロイヌナズナ形態の関連を調べることでTIS108の作用機構についてその全貌を解明する。また、小課題（2）で得られた阻害剤について根寄生雑草種子に対する発芽刺激性、AM菌菌糸分岐誘導活性、植物地上部の枝分かれ抑制活性などの生理作用を詳細に解析する。さらに、これらの阻害剤処理によるSBLの量的変化だけではなく、質的变化も解析する。

2) 平成27年度の研究目的

MAX1阻害剤のリード化合物でもあるTIS108の作用部位を明らかにする。具体的には小課題（1）で構築したインビトロ生合成系を利用して、TIS108処理後の生合成中間体の蓄積を解析する。イネとシロイヌナズナで作用性が違うので、それぞれについて別々に解析する。また、小課題（2）で得られた阻害剤について、その生理作用を詳しく調べる。

3) 平成27年度の達成目標

年度内に、シロイヌナズナおよびイネにおけるTIS108の作用部位を明らかにする。

また、選抜された複数のトリアゾール系化合物について、根寄生雑草種子発芽刺激性、菌根菌菌糸分岐誘導活性、枝分れ抑制活性、根の形態（側根誘導、根毛伸長）に対する影響を調べる。

4) 平成27年度研究内容

小課題（1）で構築したインビトロ生合成系を利用してTIS108およびその他のトリアゾール系化合物の作用部位を解明する。また、それらの阻害剤について、根寄生雑草種子発芽、菌根菌菌糸分岐、植物地上部の枝分れおよび根の形態に対する影響をそれぞれ調査する。なお、シロイヌナズナとイネにおけるTIS108処理後のSBLの量的変化だけではなく、質的变化も解析する。

4. シンビオラクトン制御剤の利用による菌根菌共生最適化を介した耐病性向上技術の開発

（1）シンビオラクトンによる耐病性への影響の解析

1) 研究の進捗状態

SBLがイネおよびトマト等の作物の耐病性に及ぼす効果を解析し、本中課題で利用する耐病性試験のモデルを構築する。イネではいもち病および白葉枯病、トマトでは灰色かび病、葉かび病、斑点細菌病に加えて、根部から感染するフザリウム病、等の感染機構の異なる病害について、SBL投与の効果を解析し、検定系の最適化を行う。この際、フザリウム病等の感染の判別が困難な病害および菌根菌共生については、デジタルPCRを用いて植物体内の微生物量を定量的に計測して評価する。また、検定系確立後には、SBL投与後の抵抗性発現組織における病害応答関連遺伝子や植物ホルモン濃度を詳細に分析することにより、耐病性発現機構についても明らかにする。

2) 平成27年度の研究目的

イネのいもち病および白葉枯病、トマトの灰色かび病、葉かび病、斑点細菌病に加えて、根部から感染するフザリウム病、等の感染機構の異なる病害について、SBL投与の効果を解析し、検定系の最適化を行う。SBLとしてはまず合成SLであるGR24を用いる。

3) 平成27年度の達成目標

年度内に、耐病性試験のモデルを構築する。作物は、既存の全身獲得抵抗性誘導剤（プラントアクチベーター）が使用されているイネとそれらの薬剤が薬害のために使用できないトマトを用いる。

4) 平成27年度研究内容

イネとトマトを用いて、それぞれの代表的な病原菌の感染に対するSBLの影響を解析するための検定系を確立し最適化する。病徴が現れにくい病害と菌根菌共生率は、微生物量を定量的に計測して評価する。

（2）シンビオラクトンの全身獲得抵抗性への影響の解析

1) 研究の進捗状態

全身獲得抵抗性へのSBLの影響を解析することにより、菌根菌共生最適化による耐病性誘導の実用化への基礎的知見を得る。全身獲得抵抗性誘導剤が利用されているイネを用いて、SBLが全身獲得抵抗性の誘導および効果に及ぼす影響について、病害関連遺伝子の発現、サリチル酸およびジャスモン酸シグナルの活性化、病原菌感染防除効果の解析を行う。また、トマト等でも同様の解析を行うとともに、全身獲得抵抗性シグナルへのSBLのみの効果についてシロイヌナズナを用いた解析も行う。これらの解析により、菌根菌共生の最適化と全身獲得抵抗性の併用の可能性について、独立して相加

的または相乗的であるか、あるいは拮抗的（部分的を含む）であるかを、明らかにする。両者が拮抗的である場合は、その分子機構の解析を行うことにより、相互の影響を減らすための基礎的知見を得る。

2) 平成27年度の研究目的

合成SBLであるGR24を用いて全身獲得抵抗性への影響を解析する。特にイネでは全身獲得抵抗性誘導剤が実用化され、そのメカニズムについても詳しく解析されている。そこで、イネへのGR24処理による病害関連遺伝子の発現、サリチル酸およびジャスモン酸シグナルの活性化を解析する。トマトについても同様の解析を行う。また、菌根菌共生最適化と全身獲得抵抗性の相互作用についても予備的な解析を開始する。

3) 平成27年度の達成目標

年度内に、イネおよびトマトへのGR24処理による病害関連遺伝子の発現、サリチル酸およびジャスモン酸シグナルの活性化の解析を終了する。また、菌根菌共生最適化と全身獲得抵抗性の相互作用に関する情報を。

4) 平成27年度研究内容

全身獲得抵抗性誘導剤が利用されているイネを用いて、SBLが全身獲得抵抗性の誘導および効果に及ぼす影響について、病害関連遺伝子の発現、サリチル酸およびジャスモン酸シグナルの活性化、病原菌感染防除効果の解析を行う。また、トマト等でも同様の解析を行うとともに、全身獲得抵抗性シグナルへのSBLのみの効果についてシロイヌナズナを用いた解析も行う。

(3) シンビオラクトン制御剤による耐病性の最適化（平成27年度は行わない）

II-2. 研究成果の活用に向けた計画や想定される取組や体制

本申請研究の研究目的は、SBL制御剤（生合成阻害剤、アゴニスト、機能阻害剤）の創製であり、研究成果として得られたSBL制御剤を農園芸業や緑化産業の実用場面で活用するためには次のような準備、取り組みが必要である。

まず、SBL制御剤が、菌根菌共生促進剤、根寄生雑草防除剤あるいは植物生長調節剤として最適の化合物であるかどうかを温室内ポット試験を始めとして最終的には圃場レベルで確認する必要がある。そのためには、大量合成のための合成法の改良・開発と、小規模から大規模な圃場試験実施に向けて企業との共同研究が必須である。

平成27年度は、SBL制御剤の創製に向けたリード化合物の発掘と最適化の段階ではあるが、既に見出しているSBLアゴニストであるdebranone誘導体や生合成阻害剤TIS108などを用いて、温室内ポット試験によって菌根菌共生への影響の解析を行う予定である。有効性が確認された場合には特許申請を目指す。

Ⅱ－３．実施体制

研究項目	担当機関	研究担当者	エフォート (%)
研究総括者	宇都宮大・バイオサイエンス教育研究センター	◎ 米山弘一	25
1. シンビオライトン生合成制御機構の解明 (1) 生合成中間体の構造解析 (2) イントロ生合成系による解析 (3) 仮想中間体などの投与実験	宇都宮大・バイオサイエンス教育研究センター	○ 米山弘一 △ 米山弘一 未定(研究補助A) △ 野村崇人 米山香織(RPD) 未定(研究補助B) △ 謝 肖男 未定(研究補助A)	前出 前出 100 10 25 100 10 前出
2. シンビオライトンコアニストの創製 (1) SLコアニストの創製 (2) CLコアニストの創製 (3) 生合成中間体の合成	阪府大大学院・生命環境科学研究科 東大大学院・農学生命科学研究科 阪府大大学院・生命環境科学研究科	○ 秋山康紀 △ 浅見忠男 姜凱(ポスドク) △ 秋山康紀 △ 秋山康紀	8 15 100 前出 前出
3. シンビオライトン生合成機能阻害剤の創製 (1) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)の基質特異性解明 (2) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)阻害剤および機能阻害剤の開発 (3) 生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)阻害剤の生理作用の解析	東大大学院・農学生命科学研究科	○ 浅見忠男 △ 浅見忠男 姜凱(ポスドク) △ 浅見忠男 姜凱(ポスドク) △ 浅見忠男 姜凱(ポスドク)	前出 前出 前出 前出 前出 前出
4. シンビオライトン制御剤の利用による菌根菌共生最適化を介した耐病性向上技術の開発 (1) シンビオライトンによる耐病性への影響の解析 (2) シンビオライトンの全身獲得抵抗性への影響の解析 (3) シンビオライトン制御剤による耐病性の最適化	福井県立大・生物環境学部	○ 仲下英雄 △ 仲下英雄 未定(ポスドクB) △ 仲下英雄 未定(ポスドクB) △ 仲下英雄 未定(ポスドクB)	15 100 前出 前出 前出

(注1) この研究課題を遂行する研究者及び研究補助者を列記し、研究総括者には◎、中課題責任者には○、小課題責任者には△を付すこと。

また、中課題及び小課題の責任者は、各課題の研究遂行に対して責任を有する者になること。

(注2) 代表機関及び共同研究機関並びに研究総括者の変更を行う必要が生じた場合はその理由を明記した書面を添付すること。

Ⅱ－４．平成２７年度所用経費

研究項目	実施機関	配分額（千円）
１．シビ [®] オクトン [®] 生合成制御機構の解明	宇都宮大・バイオサイエンス教育研究センター	１３，７００
（１）生合成中間体の構造解析	宇都宮大・バイオサイエンス教育研究センター	４５，２００
（２）インビトロ生合成系による解析	宇都宮大・バイオサイエンス教育研究センター	４５，０００
（３）仮想中間体などの投与実験	宇都宮大・バイオサイエンス教育研究センター	４５，０００
２．シビ [®] オクトン [®] アロ [®] ニストの創製	阪府大、東大	１４，５００
（１）SLアロ [®] ニストの創製	東大大学院・農業生命科学研究科	２，９００
（２）CLアロ [®] ニストの創製	阪府大大学院・生命環境科学研究科	５，８００
（３）仮想生合成中間体の合成	阪府大大学院・生命環境科学研究科	５，８００
３．シビ [®] オクトン [®] 生合成・機能阻害剤の創製	東大大学院・農業生命科学研究科	８，７００
（１）生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)の基質特異性解明	東大大学院・農業生命科学研究科	２，９００
（２）生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)の阻害剤および機能阻害剤の開発	東大大学院・農業生命科学研究科	２，９００
（３）生合成酵素(CCD7, CCD8, MAX1)の阻害剤の生理作用の解析	東大大学院・農業生命科学研究科	２，９００
４．シビ [®] オクトン [®] 制御剤の利用による菌根菌共生最適化を介した耐病性向上技術の開発	福井県立大・生物資源学部	１１，６００
（１）シビ [®] オクトン [®] による耐病性への影響の解析	福井県立大・生物資源学部	５，８００
（２）シビ [®] オクトン [®] の全身獲得抵抗性への影響の解析	福井県立大・生物資源学部	５，８００
（２）シビ [®] オクトン [®] 制御剤による耐病性の最適化	福井県立大・生物資源学部	０
研究機関別の所要経費の合計額	宇都宮大・バイオサイエンス教育研究センター	１３，７００
	東大大学院・農業生命科学研究科	１１，６００

	阪府大大学院・生命環境科学研究科	1 1, 6 0 0
	福井県立大・生物資源学部	1 1, 6 0 0

チェックシート （最後に別紙で添付下さい）

- ・ 規定書式に従いましたか。□
- ・ 色文字は消去しましたか。□
- ・ 中課題名、小課題名は I 全体計画の研究目的、研究内容、年次計画表、II 27度細部研究計画の研究計画、実施体制、所用経費においてすべて一致していますか。□