

植物の害虫に対する誘導防衛の制御機構

京大大学生態学研究センター 教授 高林 純示

1 研究実施の概要

研究の構想

植物は害虫に食われたとき、害虫の種特異的な匂いを食害誘導的に生産・放出する。この「匂い（揮発性の化学情報）」は食害している害虫特異的な天敵を誘引する機能がある。この現象は、食害を受けた植物が「SOS」信号を出して、天敵をボディーガードとして雇っているという図式と考えることができる。従って、この現象は植物の「誘導的間接防衛戦略」と位置づけられている。我々は申請前にすでに以下の系で植物の誘導防衛に関する研究を行ってきた。

- ①リマメメ-ハダニ類（害虫）-ハダニ補食性天敵（チリカブリダニ、ケナガカブリダニ、補食性アザミウマ、補食性ハネカクシ等）三者系、
- ②アブラナ科植物-アブラナ科スペシャリスト害虫（コナガ幼虫及びモンシロチョウ幼虫）-各害虫に特異的な寄生蜂（コナガコマユバチおよびアオムシコマユバチ）三者系、
- ③イネ科植物-アワヨトウ幼虫-寄生蜂（カリヤコマユバチ）三者系

その結果、上記三者間の相互作用では、複数の揮発性テルペノイド等が食害誘導的に植物から放出され、それが天敵誘引において重要な役割を果たしていることが明らかになった。さらに植物は、食害している害虫の種によって異なったブレンドの揮発性テルペノイドを放出する。その結果、食害している害虫種特異的な天敵の誘引が実現する。すなわち、植物は限られた数の揮発性テルペノイドの組み替えることにより、害虫種に特異的な天敵誘引を実現していることを明らかにした。

さらに研究代表者は研究分担者の西岡と共同で、食害を受けた植物がどのようなシグナル伝達系を活性化し、上記のような特異的な揮発性テルペノイドのブレンドの放出を行っているのかに関してリマメメ-ナミハダニ系、リマメメ-シロイチモジヨトウ系を用い、研究を進めてきた。その結果、ジャスモン酸、サリチル酸、エチレン等が植食者種特異的な揮発性テルペノイドの生産に関与していることが明らかになった。

さらに我々は、ナミハダニの食害を受けたリマメ株から放出される揮発性のテルペノイドが風下の健全株によって受容された場合、外見的变化はないが、あたかも食害を受けたかのように防衛に関わる遺伝子の発現レベルが大きく変化することを世界にさきがけて発見し、報告した[Arimura, G., Ozawa, R., Shimoda, T., Nishioka, T., Boland, W. and Takabayashi, J. (2000) *Nature* 6795: 512-515]。これは、防衛に関する植物間のコミュニケーションであり、この場合の揮発性テルペノイドは「植物フェロモン」と定義できる。

以上のように、研究代表者らは天敵を誘引する誘導的間接防衛の分子レベルでのアプローチを行うための多くの知見を得ており、それらは世界的に見ても最先端に位置する成果である。

しかし、これらの知見はまだ植物の誘導防衛という氷山の一角であると考えられる。植物の誘導的間接防衛に関わる機能の全体像の解明は「植物の機能と制御」においてもっとも興味深いテーマの一つである。この成果は、天敵を有効利用した持続的農業技術開発につながり、環境の保全に大きく貢献する。このテーマは国際的にも重要であると認識されており、国外では活発な研究が開始されている。植物間のコミュニケーションの分子レベルでの解明は、我々のグループがプライオリティーを持って推進すべき課題である。今まで植物は「動けない」「受け身の」存在として認識されてきたが、本機能の解明により、積極的に環境との相互作用をする生物としての新たな側面が浮き彫りになる。

実施、成果に至るまでの研究全体概要

以下の2項目について研究を行った。

- ①植物の害虫誘導性の間接防衛機能の解明 誘導的に植物が生産する揮発性テルペノイドから成る化学情報の生産メカニズムの詳細と、誘導的間接防衛との関連性に注目する。また、植物の間接防衛の制御機構の解明は「誘導的間接防衛機能の高い植物（＝天敵をより効率よく誘引して自己防衛する植物）」の作出のための技術開発につながる大きな成果となる。誘導的間接防衛能力の高い作物の作出が可能になれば、土着の天敵を有効に利用し、

農薬の使用量を減らす事が可能になる。

本研究項目の5年間の研究の結果以下のような研究成果が得られた。

植物の害虫誘導性の間接防衛機能の解明グループでは、食害誘導性の天敵誘引物質生産に関わるエリシターの探索と誘導メカニズムの解明を進めた。また、食害で誘導される直接防衛の関連についても解析を行った。

エリシター探索に関しては、リママメを食害するナミハダニで腸内共生微生物由来のエリシターの関与を示した。また主要な共生微生物として酵母様微生物(*Pseudozyma* SP.)一種を同定した。これは、ハダニ共生微生物と植物との高次の共生関係の可能性が考えられる。

誘導メカニズムの解明に関しては、揮発性テルペノイドである β -オシメンの合成酵素遺伝子について、モデル植物であるシロイヌナズナおよびミヤコグサを用いて同定した。ミヤコグサについては、ストレスに応答した転写活性と放出量の比較を行い、転写後制御の可能性が示唆された。また、植物ホルモンであるジャスモン酸処理によるトウモロコシ株での匂い生産誘導と天敵誘引能力向上を実証した。さらに、変異のある植食者や植物を用いて間接防衛の誘導メカニズムの解析を進めた。植食者であるカンザワハダニについては、植物に異なる反応を誘導する系統の選抜を行い、これを用いて食害で誘導される防御反応や天敵誘引物質の定量を行った。植物については、シロイヌナズナの匂いの生合成遺伝子の突然変異体・形質転換体を用いて、食害で誘導される天敵誘引物質の定量や被害植物の匂いに対する天敵の反応の比較を行い、緑のかおりが天敵誘引の鍵物質の1つであることを発見した。

また、食害で誘導される直接防衛については、植物の植食者に対する直接防衛として有効なトライコームの誘導的な形成について、突然変異体を用いた有効な検出方法を創出し、トライコームの誘導的な形成メカニズムの解析を行った。以上の成果は、害虫食害特異的な匂い物質生産メカニズムの解明につながる。

応用を視野に入れ、植食者誘導性揮発性物質の天敵以外の生物への影響について解析をおこなったところ、トウモロコシの匂いが植食者であるアワヨトウ幼虫の行動に影響を及ぼすことが明らかとなった。

被害植物が生産するエリシターの分子機構解明グループでは、ナミハダニによる食害によってリママメ葉が揮発成分を生成する際、ナミハダニ由来のエリシターに加え、それによって生じるリママメ葉由来の内生エリシターの存在が示唆されている。両エリシターの単離・同定を試みたが、生物検定による揮発成分誘導活性の再現性がなく、それらの単離には至らなかった。内生エリシターを推定するため、食害葉と非食害葉の水耕液成分の比較分析を行った結果、食害によって水耕液中の乳酸カルシウムが1.5倍、アブシシン酸(ABA)が約2倍に増加することが判明した。乳酸カルシウムには揮発成分誘導活性がほとんどなかったが、ABAには同活性が認められた。そこでABAの生物検定を繰り返したが、活性に再現性がなく、ABAをエリシター候補と結論することはできなかった。ハダニ由来エリシター解明の一環として、リママメ葉の食痕を赤くするとともに酸性キチナーゼを誘導するカンザワハダニのエリシター分析も行った。赤色を示すカンザワハダニの抽出物による酸性キチナーゼ誘導活性には再現性が認められなかったため、食痕が白色を示す酸性キチナーゼ非誘導系統のカンザワハダニ抽出物と成分の比較分析を行った。その結果、白色系統よりも赤色系統に多く含まれている成分を3種類認め、それらを精製し構造解析したところ、いずれもクロロフィル分解物であることがわかった。赤系統のカンザワハダニは白系統のものよりもクロロフィルの分解が遅く、排泄されたクロロフィル分解物が酸性キチナーゼを誘導している可能性が考えられる。今回の研究によって揮発成分誘導活性を示す確実なエリシターを同定することはできなかったが、揮発成分誘導エリシターは依然として作物を虫害から保護できる可能性を秘めている。今後とも同エリシターの解明に向け、生物検定法の確立などを行うことが重要である。

② 植物の誘導防衛に関わるコミュニケーションの分子メカニズム 植物が揮発性物質を

受容する能力は、我々が発見した新規の植物機能でありその分子レベルでの解明は急務の課題である。また、揮発性情報シグナルから誘導される防衛機能を解明・制御することは植物の防衛機能の有効利用への可能性につながり、①と同じく低農薬持続的農業における新技術の開発が期待できる。本研究課題では、植物がどのようにして匂い刺激を受容しているのかに焦点をしばって、揮発性化学物質の受容体蛋白質の同定をおこなう。これまで動物や微生物では嗅覚や化学走行性などの現象に基づいて化学受容に関わる蛋白質が同定されている。それに対して、植物ではそのような化学受容現象が観察されなかったこともあり、シロイヌナズナのゲノム解析にもかかわらず化学受容体遺伝子の探索ははじまったばかりである。特に、膜貫通型蛋白質遺伝子の探索は配列の類似性だけで検索することは困難であり、配列の物理化学的性質を考慮した探索が必要である。さらに、受容体の活性測定法も工夫を要する。

本研究項目の5年間の研究の結果以下のような研究成果が得られた。

植物間コミュニケーションの分子機構解明グループでは、植物がHIVを受容しているタンパク質はGタンパク質共役型受容体（GPCR）である、という作業仮説のもとに実験をおこなった。シロイヌナズナには6つのGPCRと、1つのGタンパク質があることが知られている。シロイヌナズナがHIVを受容すると、細胞内のCa⁺イオンが上昇した。しかし、Gタンパク質を欠損したシロイヌナズナ変異体でもHIVを受容するとCa⁺イオンが上昇した。このことは、HIV受容のシグナル伝達はGタンパク質とは共役していない、すなわち、HIV受容体はGPCRである、という作業仮説を否定する実験結果であると思われた。

それに対して、HIVを受容する天敵の嗅覚受容体GPCRのモデルとして、カイコガの性フェロモン受容体遺伝子の単離、同定をおこなって、成功した。これはカイコガの性フェロモンであるボンピコールが同定されたいり約65年後の快挙であった。この受容体遺伝子をアフリカツメガエルの卵母細胞で発現させて、高いリガンド特異性と高感度なりガンド応答を再現することによって、性フェロモン受容（=嗅覚受容）の分子機構を明らかにした。その分子機構によると、性フェロモン受容体はGPCRであるにもかかわらず、Gタンパク質が無くてもNa⁺やK⁺イオンの細胞内濃度が上昇する（=カチオン電流が流れる）ことを見つけた。すなわちGPCRが匂いを受容したというシグナルの伝達は、Gタンパク質とは共役していない、という発見である。これは従来から考えられていたGPCRのシグナル伝達機構を完全に否定する分子機構である。

昆虫の嗅覚受容体のシグナル伝達機構がシロイヌナズナのHIV受容にもあてはまるとすれば、Gタンパク質を欠損したシロイヌナズナ変異体でもCa²⁺イオンが上昇した、という我々の実験結果は、シロイヌナズナのHIV受容体はGPCRであるという作業仮説と矛盾していない。しかし、シロイヌナズナのHIV受容体の同定を本プロジェクトの期限内に終えることができず今後の課題となった。

植物の匂い応答関連遺伝子探索グループでは、植物組織が草食昆虫の食害を受けると一過的に合成、放散される揮発性化合物のうち、みどりの香りと呼ばれる成分に着目して研究を進めた。健全な無傷植物（シロイヌナズナ）をみどりの香りの蒸気に曝露すると植物防御関連遺伝子群が顕著に誘導されることを明らかにした。この時、同時に細胞壁のリグニン化、抗菌物質の蓄積なども誘導され、その結果として腐生性植物病原菌の灰色カビ病菌に対する抵抗性が高まることを見いだした。次いで、みどりの香り曝露による誘導防御の分子機構を明らかにするため種々のシロイヌナズナ信号伝達系変異体を用いて検討を進めた。その結果、ジャスモン酸、エチレン、およびグルタチオンを介した信号伝達系がみどりの香り処理により活性化されることを実証できた。中でも、グルタチオン生合成能を欠如した変異体ではみどりの香り曝露に対する応答がほぼ完全に消失しており、グルタチオンを介した信号伝達経路がこうした匂い受容に必須であることを初めて示した。進行中の研究成果も併せて、現在では植物は葉の表面（おそらくはクチクラ層）で匂い物質を集積し、細胞内でグルタチオンとの包合体を形成、これが引き金となって誘導防御反応を活性化していることが示唆された。一方、灰色カビ病に罹病した植物に隣接して健全植物を置くと健全植物においてみどりの香り曝露によって引き起こされる誘導防御反応と同様

の反応が引き起こされることも明らかになった。病原菌感染特異的に放散された揮発性化合物でも誘導防衛反応を引き起こすことができることを初めて示した。

アブシジン酸受容体のアンタゴニスト探索設計グループでは、ムラサキツユクサ表皮の気孔開度をマイクロスコープにて測定する方法を確立した。この条件において、天然型 ABA [(+)-ABA] は 1 nM で気孔開口を 50% 阻害し、非天然型 ABA [(-)-ABA] は阻害活性を有しないことを確認した。これまでに 21 種類の ABA アナログについてアンタゴニスト活性を測定した結果、有意なアンタゴニスト活性を有する 2 種の ABA アナログ、(+)-5'-、9'-cyclo-ABA と (-)-8'-ethyl-ABA を見出した。これら 2 種のアナログは、ABA 受容体には結合するが ABA 活性を誘導しないという、ABA 受容体アンタゴニストとしての条件を満たしており、今後のアンタゴニスト開発におけるリード化合物として有用な分子であることがわかった。ただし、ABA の活性を阻害するのに、ABA の 100~1000 倍量を必要とするため、受容体との親和性はまだまだかなり低い。今後のリード最適化によって親和性を増大させる必要がある。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

研究開始時に目指した目標

①植物の害虫誘導性の間接防衛機能の解明 誘導的に植物が生産する揮発性テルペノイドから成る化学情報の生産メカニズムの詳細と、誘導的直接防衛との関連性に注目する。また、植物の間接防衛の制御機構の解明は「誘導的間接防衛機能の高い植物 (=天敵をより効率よく誘引して自己防衛する植物)」の作出のための技術開発につながる大きな成果となる。誘導間接防衛能力の高い作物の作出が可能になれば、土着の天敵を有効に利用し、農薬の使用量を減らす事が可能になる。

② 植物の誘導防衛に関わるコミュニケーションの分子メカニズム 植物が揮発性物質を受容する能力は、我々が発見した新規の植物機能でありその分子レベルでの解明は急務の課題である。また、揮発性情報シグナルから誘導される防衛機能を解明・制御することは植物の防衛機能の有効利用への可能性につながり、①と同じく低農薬持続的農業における新技術の開発が期待できる。本研究課題では、植物がどの様にして匂い刺激を受容しているのかに焦点をしばって、揮発性化学物質の受容体蛋白質の同定をおこなう。これまで動物や微生物では嗅覚や化学走行性などの現象に基づいて化学受容に関わる蛋白質が同定されている。それに対して、植物ではそのような化学受容現象が観察されなかったこともあり、シロイヌナズナのゲノム解析にもかかわらず化学受容体遺伝子の探索ははじまったばかりである。特に、膜貫通型蛋白質遺伝子の探索は配列の類似性だけで検索することは困難であり、配列の物理化学的性質を考慮した探索が必要である。さらに、受容体の活性測定法も工夫を要する。

立案した 5 年間の研究計画

①植物の害虫誘導性の間接防衛機能の解明

①-1 エリシターの解明 植物の害虫誘導性防衛反応は、植食者が食害する際に唾液中に存在する物質 (エリシター) が植物細胞内のシグナル伝達系を刺激することにより開始すると考えられる。ナミハダニ、モンシロチョウ幼虫、コナガ幼虫の唾液中に存在するエリシターの構造を解析する。

モンシロチョウ、コナガ幼虫、ナミハダニ雌成虫の唾液成分を採集し、それに含まれる成分の分析と生理活性の測定を行う。分析には既設のキャピラリー電気泳動装置、高速液体クロマトグラフィー、飛行時間型質量分析計を利用する。生理活性の測定は、葉に傷を付け、そこに唾液成分を塗布し一定時間後に葉から放出される匂い成分の分析を行う。分析には本研究費で導入する揮発性物質専用キャピラリーガスクロマトグラフィー質量分析計を用いる。幼虫の食害で誘導される匂いブレンドと同じブレンドが誘導されるか否かを判定基準とし、精製を進める。

エリシターは、食害で誘導される植物のシグナル伝達系の研究を行う際に重要なアプローチとなる。すなわち、実際の害虫を用いて植物に食害ストレスを与える場合、植物に対する害虫の食害率を実験処理区間で一定にすることは、様々な要因（植物の種、品種、生育段階に由来する堅さなど、物理的な要因や化学的な要因）があるため困難である。エリシターの場合、傷を付けた部分に一定量塗布することで、食害のストレスを再現でき、植物に同じ食害ストレスを与えることができるので、比較などの研究が厳密に行える。従って、エリシターの研究はシグナル系の解明には非常に有効と考えられる。そのため、エリシターの精製を研究の前半2年間に集中して行う。

①-2 揮発性化学情報であるテルペン化合物合成遺伝子の単離 植物が傷害をうけると、細胞死が引き起こされ、ヘキサナール関連化合物（「緑の香り」）とテルペン関連化合物などを成分とする匂いの放出が数分以内に始まり1〜数日間続く。このような応答には合成酵素の蛋白質レベルでの活性制御と酵素遺伝子発現の制御の2つの制御系が関与していると推定される。本研究では、単離したエリシターを用い **geranyl pyrophosphate** 以降、テルペン化合物に至る合成酵素遺伝子の単離同定と、酵素遺伝子発現制御を解析するためにプロモータ配列の解析をおこなう。

①-2-1. DNA microarray chip による合成酵素遺伝子の探索 テルペン合成酵素は基礎代謝に用いられている各種酵素のパラログであると推定される。これらは、機械的な傷害や害虫による食害によって特異的に発現するものと期待される。シロイヌナズナの市販 DNA microarray chip を用いて、傷害、エリシター処理や食害時に特異的に発現している酵素遺伝子を網羅的に探索する。リママメについては、これまでに申請者のグループで収集してきた cDNA ライブラリー約 2,000 クローンをもとにして、カスタム DNA microarray chip を作成する。今マメテルペン合成酵素遺伝子の探索にはこの chip を利用する。酵素遺伝子の同定はシロイヌナズナゲノムコンソシアムの同定や Motif データベースを利用する。

①-2-2. 合成酵素活性の測定と同定 上の探索で見つけられた合成酵素候補遺伝子を *in vitro* 発現系あるいは大腸菌で定法どおり発現させて、蛋白質を精製する。次に、**geranyl pyrophosphate** および主要代謝中間物質をカスタム合成したものを基質として、酵素活性の測定をおこない合成酵素であることを確認する。生成物の同定は HPLC/MS でおこなう。

①-2-3. プロモータ配列の解析 確認された合成酵素遺伝子のプロモータ配列を解析する。これはシロイヌナズンについて集中的におこなう。それによって、合成酵素遺伝子の発現がどのような制御系の支配にあるか推定することができる。

② 植物の誘導防衛に関わるコミュニケーションの分子メカニズム

②-1. 受容体蛋白質候補のデータベース検索 植物における揮発性化学物質の受容体として次の3つのタイプ、すなわち、動物の嗅覚受容体タイプ、イオンチャネル型グルタミン酸受容体タイプ、そして植物ホルモンであるエチレン受容体タイプ、を仮定してシロイヌナズナゲノム DNA 塩基配列データベースからそれぞれの受容体候補遺伝子を探索する。

動物の嗅覚受容体は、いずれも G 蛋白質共役型7回膜貫通型蛋白質である。これまでに Pfam モチーフ帰属と PSI-BLAST 検索、膜貫通ヘリックス予測 (SOSUI) を組み合わせた検索をおこなって、化学受容体であることが高い確度で推定された候補遺伝子を4つ見つけている。この受容体を共役する植物の G 蛋白質遺伝子は既知である。

イオンチャネル型グルタミン酸受容体蛋白質候補遺伝子はすでに20個見つけた。これらは最近、Lacombe ら (Lacombe et al. 2001) が報告したものと一致している。これらの配列を参照してグルタミン酸以外のイオンチャネル型受容体蛋白質候補遺伝子の検索をおこなっているところである。

植物ホルモンであるエチレン受容体は two-component system 型のヒスチジンキナーゼ型膜蛋白質であることが知られている。エチレン同様ガス状の揮発性化学物質受容体もこれらのホモログである可能性が高い。現在、ヒスチジンキナーゼ型膜蛋白質遺伝子の網羅的検索を進めているところである。

これら3つのタイプの受容体活性はそれぞれ以下の方法で測定する。

②-2. 化学物質受容後の細胞内 Ca イオン濃度の測定 動物の嗅覚受容では匂い物質の結合にともなってもなるともなると、細胞内の Ca イオン濃度が上昇する。植物においても化学物質の曝露によって細胞内 Ca イオン濃度が上昇するかどうか調べる。シロイヌナズナの葉表組織を単離し、Ca イオン感受性蛍光色素 Fura-2 を気孔孔辺細胞の細胞質に導入する Allen らの方法 (Allen et al. 1999) で細胞内 Ca イオン濃度を観察する。b-ocimen などの揮発性テルペノイドや hexanal など揮発性物質のガスに組織を暴露し、レーザー共焦点顕微鏡で蛍光変化を観察する。

Ca イオン濃度に変化がなければ受容体は G 蛋白質共役型 7 回膜貫通型蛋白質ではなく、次に述べる イオンチャンネル型受容体あるいはヒスチジinkinナーゼ型の受容体が関与している可能性が高い。

②-3. 葉表面接触電位の測定 イオンチャンネル型受容体が揮発性化学物質の受容をおこなっているとすれば、揮発性物質のガスにシロイヌナズナを暴露すると葉の表面電位が変動するものと期待される。葉の表面電位は接触電極を用いた千田らの方法 (Senda 1989) で測定する。表面電位は温度、光に敏感に反応するので、これらの厳密な制御をおこなって揮発性物質に曝露をおこなう。

②-4. 酵母を用いたヒスチジinkinナーゼ型膜蛋白質の受容活性の測定 最近 Kakimoto ら (Inoue et al. 2001) によって報告されたヒスチジinkinナーゼ欠損酵母を用いる方法で活性の測定をおこなう。まず、エチレン受容体様ヒスチジinkinナーゼ型膜蛋白質遺伝子をシロイヌナズナ cDNA ライブラリーから RT-PCR によりクローニングする。酵母発現ベクター p415CYC に遺伝子 cDNA を挿入し、ヒスチジinkinナーゼ欠損酵母 (snl1D) を形質転換する。揮発性物質のガス溶液で酵母の増殖を観察し、ヒスチジinkinナーゼ型膜蛋白質が活性化されるとすれば、活性化された酵母だけがコロニー形成をおこなうことによって判定する。

②-5. T-DNA 挿入変異体の選抜 以上の測定方法で化学受容体候補の絞込みをおこなうことができる。次に、これら候補受容体の遺伝子破壊株を利用してさらなる確認をおこなう。目的とする遺伝子破壊株は、カズサ DNA 研究所や ABRC 他のシロイヌナズナタグライン共同利用システムを利用して遺伝子特異的および T-DNA 特異的プライマーを用いて定法にしたがって選抜、取得する。それぞれの遺伝子破壊株について 1-2 から 1-4 の各測定をおこなって野生型との比較をおこなう。

以上の方法を組み合わせることによって、シロイヌナズナにおける揮発性化学物質受容体の同定と受容、識別機構を明らかにすることができるものと期待される。また、同定された受容体をもとにして、リママメにおけるオルソログ遺伝子のクローニング、同定をおこなう予定である。

その後の新展開から生まれた目標は以下の3点である。

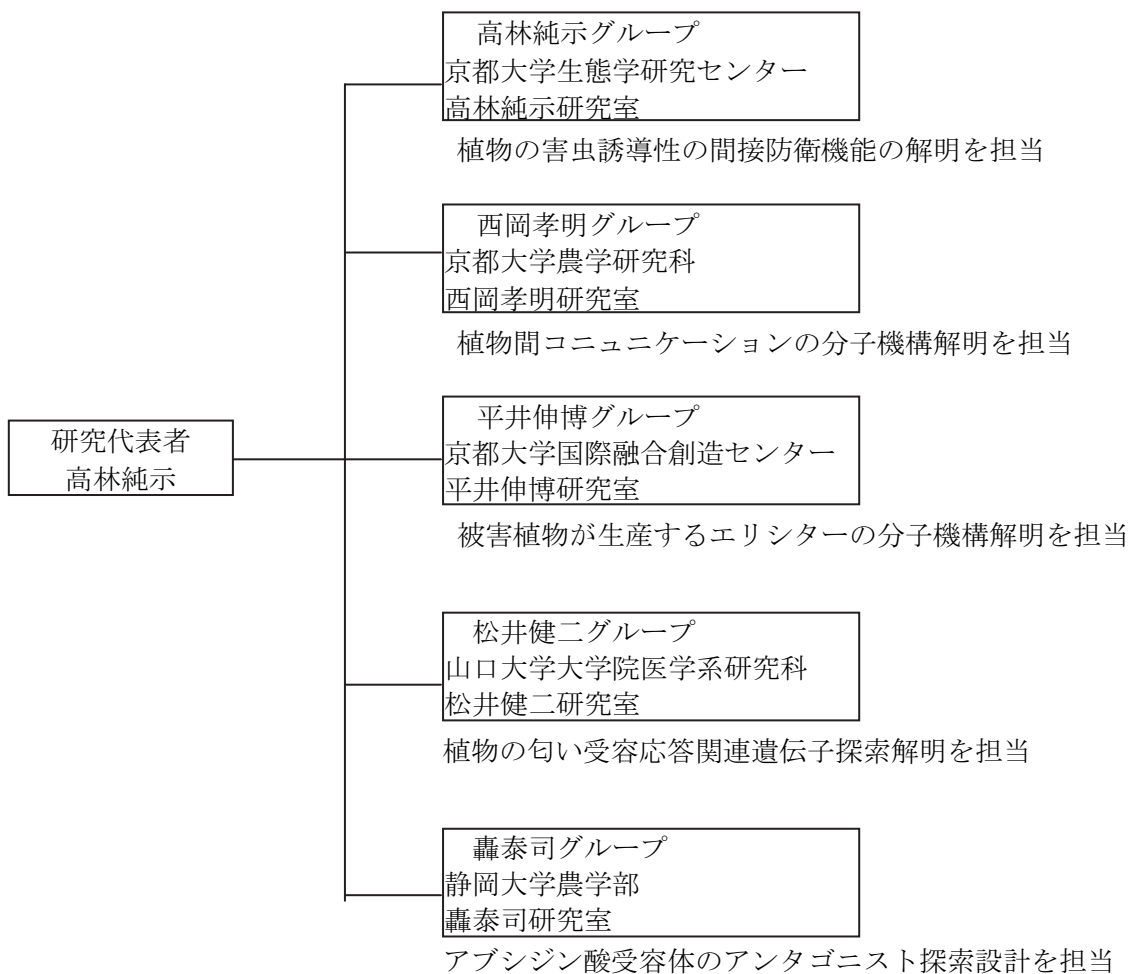
1. HIV の受容体を探索する研究の1つとして、シロイヌナズナ個体に及ぼす生理作用、特に植物の組織や形態に及ぼす作用について、詳細な観察をおこなった。そのような観察によって、HIV が発芽したシロイヌナズナの幼根の伸張を抑制することや根毛の形態変化を誘導する効果や、気孔の開閉を阻害する効果があることを見つけた。そこで HIV がアブシジン酸など植物ホルモンの受容体と相互作用している可能性について研究をおこなうことにした。

2. 本研究によって見出された ABA 受容体アンタゴニストのリード化合物を最適化することによって、より活性の強い ABA 受容体アンタゴニストを作出する。これにより、害虫による傷害応答を含む様々な生理現象における ABA の役割を、植物細胞による ABA 認識という観点から探求する。また、ABA 受容体アンタゴニストは、ABA の生理作用を一時的にノックアウトする分子であることから、ABA が関与する様々な生理現象の自在な制御を可能にする植物調節剤としての応用を検討する。具体的には、アブシジン酸 (ABA) のエリシター活性を制御するツールとして ABA 受容体のアゴニストを設計し合成する。約 50 種類の既知

ABA アナログを対象として、それらの中に ABA 活性を阻害する物質がないか否かを調べる。検定系としてムラサキツユクサ表皮切片を用いた気孔開口阻害試験を用いる。アンタゴニスト活性を示した物質をリード化合物としてさらなる構造改変を行い、アンタゴニスト活性の最適化を行う。

3. HIV を受容する天敵の嗅覚受容体 GPCR のモデルとして、カイコガの性フェロモン受容体遺伝子の単離、同定をおこなうことにした。特に天敵の嗅覚受容体のリガンド特異性や高感度受容の分子機構を研究するモデルとして、性フェロモンに対する特異性が高く、高感度で性フェロモンを受容するカイコガのボンビコール受容体は最適である。また、クローニングした性フェロモン受容体のリガンド特異性を試験するためにアフリカツメガエル卵母細胞の発現系を確立することは、天敵の嗅覚受容機構を研究することにも応用できると期待された。

(2) 研究グループごとの役割分担



3 研究実施内容及び成果

3. 1 植物の害虫誘導性の間接防衛機能の解明（京都大学 高林グループ）

植物の間接防衛機能を誘導する害虫由来のエリシターの探索

植物の害虫誘導性防衛反応は、植食者が食害する際に唾液中に存在する物質（エリシター）が植物細胞内のシグナル伝達系を刺激することにより開始すると考えられる。植食者の違いによる植物の防衛反応の違いの要因の 1 つは、植食者ごとにエリシターが異なるためと予想される。ナミハダニがリママメ葉を食害した際には通常病原菌などの微生物により活性化されるサリチル酸誘導性のシグナル伝達系が活性化されるが、チョウ目幼虫の食害では活性化されないことを既に明らかにした。また、植食性の節足動物は腸内に共生微生物を持っているが、それらは葉の表面に存在する微生物相と同一の場合が多い。それゆえ本研究グループでは、ナミハダニ由来のエリシターの起源として共生微生物由来である可能性について検討した。

まず、リママメおよびナミハダニの無菌飼育方法を確立した。ナミハダニの卵を採取しエタノールと次亜塩素酸で滅菌した後、無菌植物に接種しコロニーを得た。無菌飼育のハダニと通常飼育のハダニについて、食害特異的な匂い成分の生産を比較したところ成分比の違いが認められた。また、それぞれの被害植物から放出される匂いに対してナミハダニの捕食性天敵であるチリカブリダニの反応は異なっていた。さらに、通常飼育したハダニから、原因となる共生微生物の単離を試みた。ハダニにパラフィルムを介して培地を摂食させることにより、ハダニの口吻から分泌される微生物の分離を行った。その結果、通常飼育したナミハダニからは優先種として酵母様微生物(*Pseudozyma SP.*)が検出されたが、これは無菌飼育したものからは検出されなかった。すなわちナミハダニの場合、植食者の共生微生物が害虫由来のエリシターの一つとして食害応答性の匂い生産に影響を与えている可能性を示した。

植食者由来のエリシターに関しては、これまでオオモンシロチョウ幼虫からは、ベータ・グルコシダーゼが、数種のチョウ目幼虫からは脂肪酸-アミノ酸複合体が報告されている。脂肪酸-アミノ酸複合体の生産には、腸内微生物が関わっているという報告もあるが、この点に関してはいまだ明らかではない。今回の研究はナミハダニの腸内に存在する微生物そのものが、エリシターとして働く可能性を示したものであり、これらの研究とは一線を画する。また、節足動物の共生微生物の機能としてもこれまでにない新規なものである。

揮発性化学情報であるテルペン化合物合成遺伝子の単離

植物が食害をうけると、ヘキサナール関連化合物（「緑の香り」）やテルペン関連化合物などを成分とする匂いの放出が数分以内に始まり 1～数日間続く。このような応答には生合成酵素の蛋白質レベルでの活性制御と酵素遺伝子発現の制御の 2 つの制御系が関与していると推定される。本研究グループでは、食害誘導的に植物が生産する揮発性テルペノイドから成る化学情報の生産メカニズム解明のために、geranyl pyrophosphate 以降、テルペン化合物に至る生合成酵素遺伝子の単離同定と、食害およびエリシター処理による発現解析を行った。

材料として、アブラナ科のモデル植物であるシロイヌナズナおよびマメ科のモデル植物であるミヤコグサを用いた。シロイヌナズナでは、テルペン合成酵素のうち、AtTPS03 を大腸菌で発現させ基質を与えることで生合成されるテルペンを同定した。AtTPS03 遺伝子がコードする蛋白は(E)- β -ocimene (94%)、(Z)- β -ocimene (4%)、myrcene (2%)を生産し、(E)- β -ocimene 特異的合成酵素であることを明らかにした。本遺伝子は、ジャスモン酸処理や傷処理により転写が誘導され、これらの処理で(E)- β -ocimene の放出も誘導された (Fäldt et al. 2003)。ミヤコグサについても、 β -ocimene 合成酵素遺伝子を同定した。

この遺伝子は(E)体を特異的(E:Z=98:2)に生産する酵素をコードしていた。(E)- β -ocimeneは、マメ科などを食害するナミハダニの捕食性天敵であるチリカブリダニの誘引物質として報告されている。ミヤコグサがナミハダニ食害された場合、酵素遺伝子の転写活性が増加すると、生産物である(E)- β -ocimeneの放出量も増加したが、人工的な傷や微生物由来のエリシターであるアラメシチンを処理した場合、遺伝子の転写活性は増大したものの、(E)- β -ocimeneはあまり放出されなかった。このことから、ハダニの食害と、傷やエリシター処理では異なる制御機構が存在する可能性が示唆された(図1; Arimura et al. 2005)。

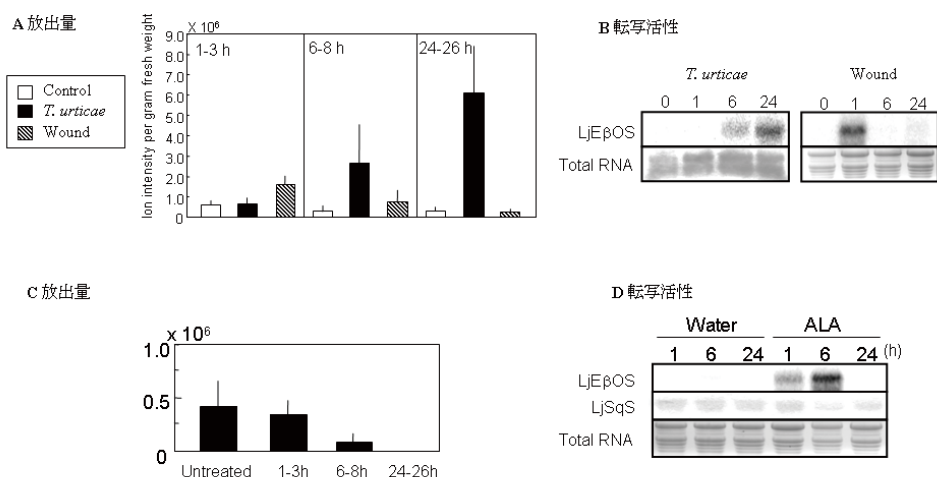


図1 ミヤコグサ(E)- β -ocimene合成酵素(LjE β OS)遺伝子の転写活性と(E)- β -ocimene放出量

ハダニ食害および機械傷による(E)- β -ocimene放出量(A)と転写活性(B)、微生物由来エリシター(アラメシチン; ALA)の処理による(E)- β -ocimeneの放出量(C)と転写活性(D)。

植物および植食者の変異による間接防衛機能への影響の解析

植物の間接防衛の制御機構の解明は「誘導的間接防衛機能の高い植物(=天敵をより効率よく誘引して自己防衛する植物)」の作出のための技術開発につながる大きな成果となりうる。このため、本研究グループでは、食害時に誘導的に生産されるヘキサナール関連化合物(「緑の香り」)の生合成遺伝子の組み換え植物を用い、天敵誘引性に及ぼす影響の解析を行った。また、植物に異なる防衛反応を引き起こす植食者の系統を選抜し、食害誘導性の揮発性物質の生産能力を解析した。

「緑の香り」の生合成酵素であるヒドロキシペルオキシドリアーゼ(HPL)について、シロイヌナズナの過剰発現体を用いて、植食者であるモンシロチョウ幼虫の天敵寄生蜂(アオムシコマユバチ)の反応を調べた。過剰発現体の食害による「緑の香り」の量は、野生型植物に比べて増加し、アオムシコマユバチに対する誘引性が野生型に比べて高まった。その結果モンシロチョウ幼虫の寄生による死亡率も高まり、「緑の香り」が天敵の誘引に重要であることが示された。このことは、本酵素遺伝子の発現抑制体を用いた実験で、アオムシコマユバチに対する誘引性が野生型に比べて低下したことから確認された。さらに、松井グループと共同で、これらの組み換え植物を用い、「緑の香り」の生産の活性化が、植物病原菌である灰色カビ病菌の生育を抑えることも見出した(Shiojiri et al. 2006)。

HPL遺伝子を発現抑制したジャガイモでは、アブラムシの吸汁に対する抵抗性が低下することが報告されている。しかし、本研究はHPL遺伝子の過剰発現が、害虫に対する間接的な抵抗性を高めると同時に、病原菌に対する抵抗性も高めることから、香りの生産能力を改変することにより、植物の多岐にわたる自然な抵抗力を高める可能性を示したものであり、植物が持つ害虫や病気ストレスに対する抵抗性を人為的に高めるためのユニークなアプロ

一チである (図2)。

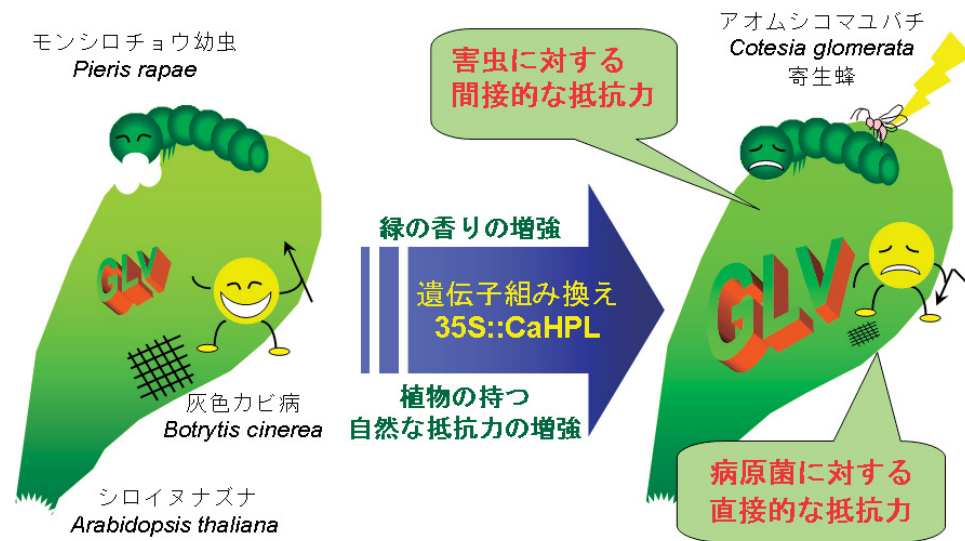


図2 遺伝子組み換えにより、植物の香り（緑の香り）の生産能力を高めることによって、害虫に対する間接的な抵抗力と病原菌に対する直接的な抵抗力を高めることができた。これは、植物が持つ害虫や病気ストレスに対する自然な抵抗力を人為的に高めるためのユニークなアプローチである。

植食者に関しては、植物に異なる食害応答を誘導するハダニ系統の選抜を行い、各系統の生物学的性質や、各系統に食害を受けたリマメ葉のシグナル伝達物質量の測定および病害応答性遺伝子 (PR遺伝子) の発現解析を行った。植物の過敏感反応において感染部が褐色に変化する現象はよく知られている。また、植食性のカンザワハダニの食害痕には、褐色のものと白色のものが存在する。そこで、我々はリマメに対するカンザワハダニの食害痕の色の違いは、植物に誘導された防衛反応の違いであると考え、各食害痕を誘導する系統を選抜し、遺伝的解析を行ったところ、褐色の食害痕を誘導する形質は遺伝的に優性であることが明らかとなった。さらに、各系統の食害により活性化されるシグナル伝達系および誘導される揮発性物質を比較したところ、ジャスモン酸関連のシグナル伝達系の活性化により発現が誘導される塩基性PR (pathogenesis related) 遺伝子の発現は、白色の食痕を誘導する系統 (白系統) と褐色の食痕を誘導する系統 (赤系統) とで大きな違いは見られなかった。しかし、サリチル酸関連のシグナル伝達系の活性化で誘導される酸性PR遺伝子の発現は、赤系統のみで認められた。さらに、内生のサリチル酸量も赤系統の食害で白系統の食害よりも有意に多量であることが明らかとなり、白系統の食害ではジャスモン酸経路が主に誘導されるが、赤系統の食害ではジャスモン酸経路とサリチル酸系路の両方が誘導されることが示された。また、いくつかの揮発性物質が、赤系統の食害で白系統の食害よりも有意に多く誘導されることが明らかとなり、これらことから、食害で活性化されるシグナル伝達系の組み合わせによって、揮発性物質のブレンドが変化することが示唆された (Matsushima et al. 2006)。

異なる種の植食者により植物から放出される揮発性物質が異なる例は、de Moraesら (1999) などいくつか報告が見られるが、本研究では、同種の植食者においても、防御遺伝子の発現や揮発性物質放出ブレンドなど、植物に異なる反応を引き起こす場合があることを示した。異なるブレンドを生産するメカニズムや天敵誘引との関連は今後の課題であるが、遺伝的に近い同種でこのような現象が発見できたことは、こうした課題の解明の一助になると考えられる。

シグナル伝達物質—ジャスモン酸—の間接防衛および直接防衛への関与

ジャスモン酸 (JA) は植物の傷害応答性シグナル伝達物質の1つであり、植食者加害時に生産され、植物防衛反応に関わる重要な物質である。植物の加害種特異的な天敵誘引性揮発性物質の生産にも JA が関与していると考えられている。それゆえ、ジャスモン酸の天敵の行動に与える影響を詳細に調べるために、JA の処理が寄生蜂の誘引性や寄生率に与える効果について検討した。また、JA の生合成前駆体についても同様に検討し、作用機作の違いについて考察した。トウモロコシの健全株に JA を処理すると、アワヨトウ加害時と同じ匂い成分が誘導された。さらに、アワヨトウ幼虫に加害させる前に JA 処理を行った場合、JA 処理後にアワヨトウの加害を受けた株の匂い放出量は未処理被害株のそれより多くなり、処理被害株は未処理被害株に比べ寄生蜂をより多く誘引し、寄生蜂の寄生率も上昇した。また、JA の生合成前駆体であるリノレン酸のメチルエステル体 (MeLin) も同様の誘引効果を示すことを確認した。しかし、MeLin 処理により放出される匂い成分は、JA 処理のときとは異なっていた。すなわち、MeLin は JA とは異なる作用機作で天敵誘引性を高めると考えられた (Ozawa et al. 2004)。本研究は、実際の害虫制御への応用も視野に入れた基礎研究である。

植物の植食者に対する構造的な防衛の1つにトライコーム (星状毛) がある。最近、シロイヌナズナに機械傷を与えると、それ以後に展開する葉のトライコーム密度が増加することが報告された。ストレスに応じてトライコーム密度を誘導的に変化させることで、より効率の良い防衛を行なうためと考えられるが、その発生学的メカニズムは全く不明である。我々は傷害応答と表皮細胞分化のクロストークを明らかにすることを目指し、分子遺伝学的な解析を行なった。

まず傷害シグナル伝達に関わる植物ホルモンの関与を検討したところ、無傷の植物であっても気体のジャスモン酸メチルで処理することにより、トライコーム密度が増加することを見いだした。また、*g11-2* 突然変異体は通常のトライコーム形成が抑制されているため無毛に近いが、機械傷処理に応答してトライコーム形成が部分的に回復することも見出した。この *g11-2* 変異体にジャスモン酸メチル (MeJA) を揮発させて処理したところ、野生型と同程度のトライコーム形成が認められた。このようにして、無毛の植物が有毛へと変化し、実体顕微鏡ないし肉眼観察でその違いを明瞭に区別できる簡便なアッセイ系を確立できた。食害により MeJA を放出が誘導される植物もあることから、この現象は実際の植物間コミュニケーションにおいて機能している可能性がある。匂いを受容した植物の形態形成が変化し、誘導防衛となる例はこれまでに報告がなく、学術的にも興味深い。また、このアッセイ系を用いて、MeJA 以外の植物揮発性物質の効果も検討することも可能である。

傷害応答によるトライコーム形成における JA の関与については、ジャスモン酸生合成を欠損した *aos* 変異体及び、JA に非感受性の *coi1-1* 変異体では機械傷を与えてもトライコームの増加が起こらなくなることから確認できた。そして、傷害に応答した JA の生合成と、SCF^{COI1} 複合体を介した JA のシグナル伝達がトライコーム密度増加において必須であることが示された。これはシロイヌナズナの形態形成における JA の新規な生理作用の発見である。一方で、エチレン及びアブシジン酸が傷に応答したトライコームの密度制御に関与するという証拠は得られなかった。

植物揮発性物質の天敵以外の生物への影響の解析

我々は、植物揮発性物質に植食者の天敵を誘引されることを、害虫防除に応用しようと研究を進めてきた。植物揮発性物質が天敵以外の昆虫の行動にどのような影響を及ぼすかは、応用を考える上で重要な要素の1つである。そこで、植食者誘導性揮発性物質の天敵

以外の昆虫への影響について解析をおこなった。アワヨトウ幼虫はイネ科の害虫であり、トウモロコシを食害する。その被害植物は、アワヨトウ幼虫の天敵寄生蜂を誘引することが既に明らかである。本研究では、トウモロコシから放出される揮発性物質がアワヨトウ幼虫の行動に及ぼす影響について調べた。暗状態あるいは明状態にあるトウモロコシの揮発性物質を、暗状態あるいは明状態のアワヨトウ幼虫にそれぞれ与え、幼虫がシェルター内に隠れるという行動を観察した。植物の揮発性物質が存在しない場合は、幼虫の隠れる数は明暗ともに同等であった。明状態の植物の揮発性物質を与えると、幼虫の明暗状態に関わらず隠れる数が増加した。一方、暗状態の揮発性物質を与えると、幼虫の隠れる数は減少した。また、この結果は植物が食害されているか否かに依存しなかった (Shiojiri et al. 2006)。アワヨトウ幼虫は夜行性と報告されており、暗期に植物体上で食害し、明期には、葉の陰や土の中に潜んでいる。これまで、幼虫のこうした行動は光周期によるものと考えられてきたが、今回の観察の結果から、光よりもむしろ植物から放出される揮発性物質により決定されるという興味深い結果が得られた。この活性を持つ揮発性物質の特定は今後の課題である。

(2) 研究成果の今後期待される効果

今回の成果である植物揮発性物質を誘導するエリシターあるいは揮発性化学情報物質 (揮発性テルペノイド) 生合成遺伝子の解析は、誘導間接防衛機能の解明のためのツールとなりうる。植物の間接防衛の制御機構の解明は「誘導的間接防衛機能の高い植物 (=天敵をより効率よく誘引して自己防衛する植物)」の作出のための技術開発につながると考えられるが、害虫誘導性の情報化学物質である「緑のかおり」の生合成については、その生合成遺伝子の組み換え植物が、実際に天敵誘引効果を示すと同時に、植物病原菌へ抵抗性を示すことを検証でき、病害虫防除への応用に 1 歩近づいたと言える。また、ジャスモン酸やリノレン酸メチルの処理が害虫存在の有無に関わらず、天敵誘引の効果を上げ、持続性も保持していることが確認できたことも、野外への応用に役立つ知見である。今後は、エリシター、テルペノイド生合成遺伝子も同様に利用し、植物抵抗性の増強を目指すことが課題となる。本研究の目指すところは、植物の持つ自然の抵抗力 (免疫力) を増強することにより、病害虫に対する抵抗力を上げようとするものである。今回の成果を、耕種の防除法と組みあわせることによって、将来的に減農薬につながる新たな害虫管理システムを構築することが期待できる。そのためには、今後は野外も含め、さらに大きなスペースでの実験を進めることが重要である。

また、傷害誘導性のトライコームの形成にジャスモン酸が関与していることが証明されたが、同時に揮発性物質に対する応答に関して、新たなアッセイ系を確立することができた。このアッセイ系を用いて、モデル植物シロイヌナズナを用いた分子遺伝学的手法、より具体的には揮発性物質の受容およびシグナル伝達に不全のある突然変異体をスクリーニングし、その表現型および原因遺伝子の機能を解析するというアプローチから、植物間コミュニケーションのメカニズムに関して多くの興味深い知見が得られると期待できる。

植物揮発性物質が幼虫の行動に影響を与えるという新規の知見については、今後さらに、他昆虫においても研究を進め、幼虫種、行動、揮発性物質の関連を明らかにし、生態学的意義について追究することが今後の課題である。

3. 2 植物間コミュニケーションの分子機構解明 (京都大学 西岡グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

① シロイヌナズナ GPCR の機能解析

シロイヌナズナのゲノムには 7 回膜貫通型 G タンパク質共役型受容体 (GPCR) 遺伝子

と推定される遺伝子が6つあったので、これらを匂い受容体候補して機能解析をおこなった。GPCR はリガンドと結合して応答すると細胞内 Ca²⁺イオンが増加するので、シロイヌナズナに植物が食害応答として放出する揮発性成分 (HIV) を暴露して細胞内 Ca²⁺イオン濃度の変化を調べることにした。Ca²⁺イオンの検出には、Ca²⁺イオン濃度に依存して発光するタンパク質エクオリンの遺伝子を組替えたシロイヌナズナ(AQ 株)を用いて、HIV を暴露することによって生ずる発光を測定した。

その結果、ocimene、 β -myrcene、linalool、bornyl acetate、(+)- α -pinene、(-)- α -pinene、(-)- β -pinene、(E)-2-hexenal、(E)-2-hexen-1-ol、(Z)-3-hexenyl acetate、(E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene(E-DMNT)の気体それぞれに AQ 株を暴露するとエクオリンの発光が観測されたので、細胞質の Ca²⁺イオンが増加していることになる。次にこの Ca²⁺イオン増加に、GPCR と共役して HIV 受容シグナルを伝達することが知られている G タンパク質が関与しているかどうか検証した。G α タンパク質遺伝子はシロイヌナズナのゲノムに1つ (*GPA1*) だけコードされている。そこで、*GPA1* を欠損したシロイヌナズナ変異体 *gpa1* 株と AQ 株を掛け合わせた *gpa1*-AQ 株を用いて、HIV 気体への暴露後に細胞質 Ca²⁺イオン濃度の変化を調べたところ、*gpa1*-AQ 株でも AQ 株と同様に細胞質 Ca²⁺イオンが上昇した。すなわち、HIV 受容による細胞質 Ca²⁺イオンの増加には G α タンパク質が関与していないことになる。さらに、GPCR 受容シグナルの伝達に関わる因子である adenylyl cyclase やホスホリパーゼ C についても、Ca²⁺イオンの増加と関連しているかどうかを次のように検証した。adenylyl cyclase とホスホリパーゼ C、それぞれの阻害剤をあらかじめ処理した AQ 株に対して HIV の気体を暴露して、細胞質 Ca²⁺イオン濃度の変化を調べたところ、阻害剤の有無に関わらず細胞質 Ca²⁺イオンの濃度が上昇した。以上の結果を総合すると、HIV ガスの暴露に伴う細胞質 Ca²⁺イオンの増加に、動物の匂い受容で観察されたような GPCR シグナル伝達系を経由している可能性は否定された。

②細胞質 Ca²⁺イオンの増加に関与するシグナル伝達因子

HIV に暴露したシロイヌナズナにおいて観察された細胞質 Ca²⁺イオンの増加にはどのような匂い応答シグナル伝達が関与しているのか、を明らかにするためにこれまでに知られている細胞内シグナル伝達因子について解析した。細胞内シグナル伝達因子の1つとして活性酸素が関与している可能性を検証した。スーパーオキシド検出試薬である CLA であらかじめ処理した野生型シロイヌナズナ Col-0 に(E)-2-hexenal 気体を暴露すると、発光した。さらに、活性酸素の消去剤である Tiron やアスコルビン酸であらかじめ処理をしておくと(E)-2-hexenal による発光は観察されなかった。これらの結果から、シロイヌナズナに(E)-2-hexenal 気体を暴露すると活性酸素が生成することがわかった。この活性酸素の生成が、HIV による暴露にともなう細胞質 Ca²⁺濃度上昇に関与しているかどうか、を次のように調べた。アスコルビン酸存在下で AQ 株に(E)-2-hexenal 気体を暴露し、Ca²⁺由来の発光を計測した。その結果(E)-2-hexenal 気体の暴露によるエクオリンの発光が、アスコルビン酸の存在下では抑えられた。この結果から (E)-2-hexenal を受容したシロイヌナズナでは、まず活性酸素が生成し、ついで細胞質 Ca²⁺イオンが上昇することがわかった。

次に、上昇した細胞質 Ca²⁺イオンが細胞の内か外か、どちらに由来するのかを調べた。細胞外 Ca²⁺イオンのキレーターである BAPTA あるいはオルガネラからの Ca²⁺イオンの放出を阻害するルテニウムレッドのいずれかであらかじめ処理した AQ 株を ocimene や E-DMNT、(E)-2-hexenal の気体で暴露した。ocimene や E-DMNT の気体に暴露すると、ルテニウムレッドで処理した AQ 株の発光が無処理 AQ 株と比べて抑制された。すなわち、この2つの気体に暴露したことによって細胞質で増加した Ca²⁺イオンは、オルガネラに由来する内在性の Ca²⁺イオンである。これに対して、(E)-2-hexenal の気体に暴露すると、BAPTA あるいはルテニウムレッドで処理した AQ 株の発光は、ともに無処理 AQ 株と比べて抑制された。すなわち、(E)-2-hexenal の気体に暴露したことによって細胞質で増加した Ca²⁺イオンは、内在性および細胞外に由来する Ca²⁺イオンである。

これらの実験結果は HIV の化学成分は細胞内 Ca^{2+} イオンの濃度上昇をもたらすが、ocimene や E-DMNT と(E)-2-hexenal によって Ca^{2+} イオンの源（由来）が異なっていることを示している。すなわち、受容応答の伝達にかかわるシグナル伝達因子が匂いの種類によって異なることを示唆している。

③アブシジン酸受容体の探索

シロイヌナズナのゲノムにコードされている6つの GPCR オルソログ遺伝子 *GPCR1*~*6* はいずれもシロイヌナズナで発現していたので偽遺伝子ではないことを確認した。植物の組織ごとに分けて発現解析を行ったところ、*GPCR1*、*6* は花・蕾で発現量が少なく、齢が進むにつれて発現量が増加する傾向があった。この傾向は3量体Gタンパク質の α サブユニットである *GPA1* と組織分布や生育期依存性が似ていた。これに対して、*GPCR2*、*5* は花・蕾で、*GPCR3* は葉で、*GPCR4* は茎、葉で、それぞれ他組織よりも発現が多かった。

これらの GPCR が植物ホルモン受容体として機能しているかどうか調べるために、T-DNA 挿入型欠損変異体について植物ホルモンに対する応答を調べた。*GPCR4* の T-DNA 挿入型欠損変異体 *gpcr4* 株が植物ホルモンのうち、アブシジン酸に対する感受性を失っていると推定される結果が得られた。そこで、気孔の開度を指標として、*gpcr4* 株と野生型 Col-0 株についてアブシジン酸に対する感受性を詳細に調べたが、両株で再現性ある有意な差は得られなかった。また、発芽抑制を指標としてアブシジン酸に対する感受性も調べたが、両株で応答に差は見られなかった。

④HIV が植物に与える生理作用の探索

HIV の受容体を探索する方法の1つとして、HIV がシロイヌナズナに与える生理作用を調べることにした。HIV による特異な生理作用を見つかることができると、その作用から HIV 受容体を特定することができる、という戦略である。

シロイヌナズナを HIV に暴露してさまざまな観察をおこなった。それらのうち、シロイヌナズナ幼根を HIV に暴露すると、幼根の伸長や形状に顕著な影響を与えることがわかった。試験した HIV のうち、とくに bornyl acetate が根の波状伸長を、borneol が根の先端の肥大化・分化を誘導した。borneol の気体に暴露すると、根の先端がふくらみ、根の先端にまで根毛が生えていた。これは glycosyl phosphatidylinositol (GPI) に T-DNA が挿入されている COBRA ミュータントの根の伸長ととてもよく似ていた。その他に根の伸長抑制効果も現れた。Trans-2-hexenal も根の伸長抑制効果を持つことが知られているが、根の先端を太くする効果はなかった。ボルネオールは Trans-2-hexenal とは異なる経路に働いていると思われる。

根の伸長や分化に関する推定される遺伝子の発現に対する bornyl acetate と borneol の効果を調べたが、遺伝子発現に対して有意な影響は認められなかった。そこで、この2つの HIV 成分の遺伝子発現への影響を網羅的に調べるため、両化合物の気体に暴露したシロイヌナズナ幼苗から total RNA を精製し、DNA マイクロアレイを用いて発現量の変化する遺伝子を特定した。その結果、使用した DNA チップ上配置されていた 14,000 遺伝子のうち 354 遺伝子の発現量に変化しており、bornyl acetate では 73 遺伝子が発現量が増加、61 遺伝子の発現量が減少した。borneol では 89 遺伝子の発現量が増加、201 遺伝子の発現量が減少した。この中には bornyl acetate で発現量が増加し、borneol で減少する 9 遺伝子や、bornyl acetate で発現量が減少し、borneol で増加する 3 遺伝子があった。これらの遺伝子がコードしているタンパク質は、いずれも植物でこれまでに知られている受容体やキナーゼ型シグナル伝達系タンパク質とは配列やモチーフの類似性はなかった。

また、根に対する効果が受容タンパク質を介したものであるかどうかを次のような実験で調べた。bornyl acetate と borneol それぞれの光学異性体、(+)体と(-)体、の気体を暴露させると、根の伸長作用はいずれの化合物についても、(+)体が(-)体と比較してより強い効果

を与えた。このような光学異性体の違いが生ずることは、HIV の作用がタンパク質に結合することによって発現していると推定された。

次にシロイヌナズナの EMS (Ethyl methanesulfonate) 突然変異体及び T-DNA 挿入型欠損変異体に対して bornyl acetate、borneol 処理を行い、根の形態変化を指標として両化合物に対する非感受性株の選抜を行った。その結果、bornyl acetate 非感受性株が 3 株、borneol 非感受性株が 3 株得られた。これらの変異体の変異部位を特定しようとしたが、本プロジェクトの終了までには間に合わなかった。

⑤カイコガの性フェロモン受容体遺伝子の単離と機能解析

植物が HIV を受容する分子機構を解明する研究を進める過程で、天敵などの昆虫が匂いを受容する分子機構を明らかにしておく必要性を強く感じた。特に、匂いとその受容体が明瞭に関係付けられていることが、受容の分子機構の研究には不可欠である。これまでにショウジョウバエの匂い受容について多くの研究がなされた結果、1つの嗅覚受容体はいろいろな匂いを受容することができる、という関係にあることがわかっている。すなわち、1つの匂いは多くの嗅覚受容体によって受容され、多くの匂いが1つの嗅覚受容体によって受容される、という関係にある。このような関係があると匂い受容機構の研究にとって不都合である。そこで、匂いと嗅覚受容体が1:1の関係にあると推定される性フェロモンの受容体に着目した。なぜならば、性フェロモンは種の保存を維持するために種特異的な匂い物質であり、その受容体も他種の性フェロモンを誤って受容しないように同種の性フェロモンだけを受容するリガンド選択性が高いと期待されるからである。

そこで、古くから多くの研究がなされているカイコガの性フェロモンの主成分であるボンピコールの受容体遺伝子をクローニングすることにした。

カイコガの性フェロモン受容体は雄の触角特異的に発現していると考え、オス蛾の触角の cDNA ライブラリー (約 3000 クローン) を作成した。ショウジョウバエの嗅覚受容体の DNA 塩基配列を参考にして PCR プライマーを設計して、このライブラリーから嗅覚受容体遺伝子 cDNA を増幅しようとしたが失敗した。後に、嗅覚受容体遺伝子の DNA 塩基配列が多様であるためにショウジョウバエとカイコでは配列の類似性がほとんどなかったことが失敗の原因であることがわかった。次に、オス蛾の他の組織やメス蛾の組織から cDNA ライブラリーを作製して、オス蛾の触角の cDNA ライブラリーとの差をとるディファレンシャルスクリーニングを用いてオス蛾の触角だけで発現している遺伝子断片 112 クローンを単離した。これらの塩基配列を決定し、隠れマルコフモデルによる膜貫通部位予測 (TMHMM) を用いて予測したところ、7回膜貫通型 G タンパク質共役型受容体 (GPCR) と推定される遺伝子断片を1つだけ得た。

この遺伝子断片から、RACE 法を用いて cDNA 全長配列を決定し *BmOR1* と命名した (DDBJ 登録番号 AB059431)。*BmOR1* はゲノム上で8つのエクソンにコードされ、全長 9870bp、430 アミノ酸残基からなる GPCR と推定した。この遺伝子をカイコゲノムの BAC ライブラリーに対してマッピングしたところ、性染色体 (オス; ZZ、メス; ZW) の Z 染色体に座乗していた。カイコガのオスは ZZ であるので、この遺伝子はオス優先的に発現していると推定した。この遺伝子の発現をカイコの各組織 (触角、頭部、脚、翅、胸部、腹部) について各成長段階ごとに調べたところ、推定どおりオス蛾の触角で特異的に発現していた。*BmOR1* は羽化 4 日前から転写産物が検出され、成虫期を通して恒常的に雄触角で特異的に発現していた。GenBank に登録されている遺伝子を対象にして、BLASTx を用いて *BmOR1* 塩基配列を相同性検索すると、オオタバコガのオス触角で特異的に発現する性フェロモン受容体候補遺伝子 *HR13* と最も類似性が高く、41.3%のアミノ酸残基が一致した。また、昆虫の嗅覚受容体遺伝子とともに分子系統樹を作成したところ、*BmOR1* は *HR13* を含むいくつかのオオタバコガの嗅覚受容体候補遺伝子とともに独立したクラスターを形成した。

さらに触角切片を用いて性フェロモン結合タンパク質遺伝子 *BmPBP* との二重標識 *in situ* ハイブリダイゼーションを行うと、*BmOR1* を発現している細胞は性フェロモン結合タンパク

質遺伝子 *BmPBP* を発現している細胞に囲まれていた (図 1)。この空間配置は、これまでにオス蛾触角にある性フェロモン受容ニューロンの電子顕微鏡観察の空間配置と一致していたので、*BmOR1* は性フェロモン受容ニューロンで特異的に発現していると結論した。

タンパク質 *BmOR1* の機能がカイコガ性フェロモンであるボンビコールの受容体であることを確認するために次のような実験をおこなった。*BmOR1* が本来発現していないメス蛾でこのタンパク質を発現させて、このメス蛾がボンビコールに応答するかどうか確かめることにした。カイコガに感染するウイルスであるバキュロウイルスに *BmOR1* と蛍光タンパク質遺伝子 *GFP* との融合遺伝子を組替え、カイコガのメス蛹に感染させて、強制発現させた。5 日後にこの蛹から羽化したカイコガのメス触角で、*GFP* に由来する蛍光を観察できたので、遺伝子の発現、翻訳を確認した。そこで、遺伝子 *BmOR1* を組替えたバキュロウイルス (*HyBmOR1*) を蛹に感染させて、羽化したメス蛾を得た。

このメス蛾の触角を切り取って、ボンビコールを含む空気を流して触角電位 (EAG、electroantennogram) を記録した。*BmOR1* 遺伝子組み換えバキュロウイルス *HyBmOR1* で感染したメス蛾の触角はボンビコールにだけ応答し、もう 1 つの性フェロモン成分であるボンビカルには応答しなかった (図 2)。これらの結果は、*BmOR1* がカイコガの性フェロモンであるボンビコールの受容体であることを強く支持した。

オス蛾の触角から、さらに 2 つの GPCR 遺伝子をクローニングし、*BmOR83* (DDBJ 登録番号 AB100454)、*BmOR3* (DDBJ 登録番号 AB186505) と命名した。*BmOR8b* はさまざまな昆虫種昆虫のほぼすべての嗅覚受容ニューロンで発現しており、配列が保存されている嗅覚受容体遺伝子 *OR83b* のオルソログである。昆虫 G タンパク質 $G\alpha q$ の縮重プライマーを用いた RT-PCR により、カイコガ触角で発現する遺伝子 *BmG\alpha q* (DDBJ 登録番号 AB105070) を単離した。*BmG\alpha q* は $G\alpha q$ タンパク質のオルソログである。

⑥カイコガ性フェロモン受容体のアフリカツメガエル卵細胞遺伝子系を用いた機能解析

カイコガ性フェロモン受容体 *BmOR1* の詳細な機能解析は、一般に受容体遺伝子をアフリカツメガエル (*Xenopus*) 卵細胞で発現させて、電気生理学実験によっておこなわれている。そこで、CREST のメンバーではないが、この分野の第一人者である東京大学・東原和成助教授と共同研究をおこなった。

カイコガから単離した G タンパク質 α サブユニットである *BmG\alpha q* とともに *BmOR1* を発現させた卵母細胞は、ボンビカルをはじめこれまでオス蛾が応答することが知られている 47 の匂いには応答せず、ボンビコールだけに濃度依存的な応答をした。性フェロモン受容体の高いリガンド特異性を証明することができた。しかし、*BmOR1* のボンビコールに対する閾値は $10 \mu M$ であり、ショウジョウバエから単離した通常の嗅覚受容体の匂いに対する閾値とほとんどかわらなかった。すなわち、性フェロモン受容体の特徴である超高感度受容を再現することはできなかった。性フェロモン受容にかかわる何かの因子が不足していると考え

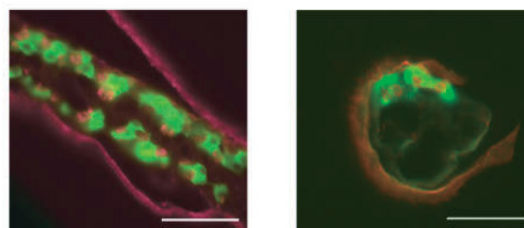


図 1 *BmOR1* と *BmPBP* の蛍光二重標識 *in situ* ハイブリダイゼーション。*BmOR1* 陽性細胞 (赤) は *BmPBP* 陽性細胞 (緑) に囲まれている。左図：水平パラフィン切片。右図：垂直パラフィン切片。scale bar; $50 \mu m$ 。Sakurai et al. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**: 16653-16658 より転載。

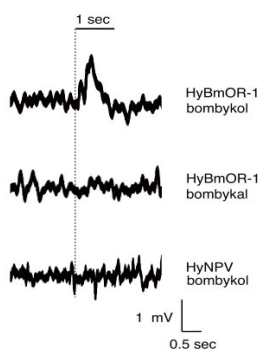


図 2 *HyBmOR1* 感染メス触角のボンビコールに対する EAG 応答。ボンビコールもしくはボンビカルを与えたときの EAG 応答。Sakurai et al. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**: 16653-16658 より転載。

えられた。ここで我々が注目したのは Or83b 蛋白質ファミリーである。一般に動物の嗅細胞では 1 種類の嗅覚受容体だけが発現している。しかし、ショウジョウバエの嗅覚受容体遺伝子として単離された *Or83b* 遺伝子は、ほとんど全ての嗅覚受容神経細胞で他の 1 種類の嗅覚受容細胞と共発現している。そこで、オス蛾の触角で *BmOR1* と *BmOr83* の蛍光二重標識 *in situ* hybridization をおこなってみると、*BmOR1* の転写産物が検出された性フェロモン嗅覚受容細胞の全てに *BmOR83* の転写産物が検出できた。性フェロモン嗅覚受容細胞では *BmOR1* が必ず *BmOr83* と共発現していることになる。そこで、*BmOR1* と *BmOr83b* それぞれの cRNA の混合物をアフリカツメガエルの卵細胞に注入した。この卵細胞では細胞膜における *BmOR1* の発現量が明らかに増加していた。さらに、ボンビコール刺激に対して、*BmOR1* と *BmGq* を共発現させた場合には Ca^{2+} 依存性 Cl^{-} 電流が発生したのに対して、*BmOR1* と *BmOR83* を共発現させた場合には非選択性カチオン電流がボンビコール濃度依存的に発生した。このとき、電流値は数 μA に達し、ボンビコール受容の閾値は 30 nM であった。これはこれまでに知られている *in vitro* における匂い受容の閾値のどれよりも数百倍近く感度が高い。これらのアフリカツメガエル卵母細胞系を用いた実験結果は、*BmOR1* がボンビコールを高い選択性と超高感度で受容することを再現したものであり、*BmOR1* が間違いなくボンビコールの受容体であると結論することができた。また、同様にして *BmOR3* がカイコガ性フェロモンの微量成分であるボンビカルの受容体であることも証明した。

⑦ その他の鱗翅目昆虫の性フェロモン受容体遺伝子の単離と機能解析

平成 17 年度の CREST 物品費でアフリカツメガエル卵細胞系の神経生理測定装置一式を購入したので、これを用いてその他の鱗翅目昆虫についても性フェロモン受容体遺伝子のクローニングと機能解析をおこなった。

カイコガの性フェロモン受容体 *BmOR1* のアミノ酸配列から設計した縮重プライマーを用いて RT-PCR を行い、コナガ (*Plutella xylostella*)、エリサン (*Samia cynthia*)、アワヨトウ (*Mythimna separata*)、ウリノメイガ (*Diaphania indica*) からそれぞれ 3、2、2、2 種類ずつ遺伝子断片を得た。これらの断片から RACE 法を用いて cDNA 全長配列を決定し、コナガから得られた配列を *PxOR1*、*PxOR3*、*PxOR4*、エリサンから *ScrOR1*、アワヨトウから *MsOR1*、*MsOR3*、ウリノメイガから *DiOR1*、*DiOR3* と名づけた。これらから推定されるアミノ酸配列はカイコガの性フェロモン受容体 *BmOR1* と 34-46% のアミノ酸残基が一致したので性フェロモン受容体候補遺伝子とした。同様にしてそれぞれの蛾からフェロモン結合タンパク質 PBP 遺伝子 *PxPBP*、*ScrPBP*、*MsPBP*、*DiPBP* をクローニングした。これらから推定されるアミノ酸配列は知られている鱗翅目昆虫の PBP と 36-86% のアミノ酸残基で一致したので、フェロモン結合タンパク質のオルソログ遺伝子であると結論した。さらに OR83b ファミリータンパク質のオルソログ遺伝子をクローニングし、それぞれ *PxOR83*、*ScrOR83*、*MsOR83*、*DiOR83* と名づけた。これらから推定されるアミノ酸配列はキイロショウジョウバエ *DOr83b* と 61-65%、カイコガの *BmOR83* と 79-83% のアミノ酸残基で一致した。

性フェロモン受容体候補遺伝子についてオスとメス各組織における発現の特異性を解析したところ、*PxOR1*、*PxOR4*、*ScrOR1*、*MsOR1*、*MsOR3*、*DiOR1* はオスの触角に特異的、*PxOR3*、*DiOR3* はメスの触角でも発現は確認できるがオスの触角で優勢的に発現していることを確認した。PBP 類似遺伝子と OR83 類似遺伝子はいずれもオスとメス両方の触角で同程度に転写されていることを確認した。

次に性フェロモン受容体候補遺伝子と PBP オルソログ遺伝子との二重標識 *in situ* ハイブリダイゼーションを行った。*PxOR1*、*ScrOR1*、*MsOR1*、*DiOR1* と同種由来の PBP 類似遺伝子はオスの触角の性フェロモン受容に特化した長い毛状感覚子で受容体候補遺伝子と PBP 類似遺伝子のシグナルを確認した。また共焦点レーザー顕微鏡観察で詳細に観察したところ、受容体候補遺伝子は PBP オルソログ発現細胞によって囲まれていたので、性フェロモン受容体候補遺伝子は嗅覚受容ニューロンで特異的に発現していることから、性フェロモン受容体遺伝子であることは間違いないと結論した。

また受容体遺伝子と OR83 オルソログ遺伝子の発現細胞の位置関係についても、二重標識 *in situ* ハイブリダイゼーションをおこなった。受容体遺伝子を発現している細胞では例外なく Or83b オルソログ遺伝子が発現していた。OR83 オルソログを発現している細胞に対する性フェロモン受容体遺伝子を発現している細胞の割合は、*PxOR1* で 57%、*ScrOR1* で 94%、*MsOR1* で 54%、*DiOR1* で 62%であった。OR83 オルソログ発現を発現している細胞の半数以上で性フェロモン受容体遺伝子が発現していた。すなわち、オス蛾の嗅覚受容神経細胞の半数以上が性フェロモン受容機能を担っていることになる。

次にアフリカツメガエル卵母細胞で受容体遺伝子と OR83 オルソログ遺伝子を共発現させた卵母細胞を用いて、同種のメスが放出する性フェロモン成分で刺激し、電気応答を測定した。*PxOR1* と *PxOR83* を共発現させた卵母細胞はコナガの 3 種の性フェロモン成分（(Z)11-hexadecenal（Z11-16A1d）、(Z)11-hexadecenyl acetate（Z11-16Ac）、(Z)11-hexadeceno1（Z11-16OH））それぞれで刺激したところ、Z11-16A1d に特異的に応答した。共発現細胞は Z11-16A1d に濃度依存的に応答し、EC50 値が 0.83 μ M、閾値が 100 nM であった。*PxOR1* をカイコガ OR83b ファミリーである *BmOR83* と共発現させた卵母細胞でも同様に Z11-16A1d に特異的な応答を示した。また本研究でクローニングした OR83b ファミリーである *ScrOR83*、*MsOR83*、*DiOR83* それぞれと共発現させた場合にも、Z11-16A1d だけに応答した。*PxOR1*、*PxOR83* 共発現細胞はコナガの性フェロモン成分の混合物（Z11-16A1d:Z11-16Ac:Z11-16OH=50:50:1）に対しても Z11-16A1d 単独と同程度の応答がみられたことから、コナガの性フェロモン受容は各成分ごとに特異的な受容体があって、それらが受容していると考えられる。以上の結果から、*PxOR1* はコナガの性フェロモン成分の 1 つである Z11-16A1d に特異的な受容体であると結論した。他の性フェロモン受容体についても、アフリカツメガエル卵母細胞系を用いてリガンドを決定しているところである。

これまでに知られている昆虫由来の嗅覚受容体 108 遺伝子のアミノ酸配列すべてについて、系統樹を作成してみると、配列が極めて多様なためにほとんどクラスター化することはできなかった。それに対して、これまでに報告されている、あるいは CREST 高林プロジェクトでクローニング・機能同定した性フェロモン受容体あるいはその候補遺伝子は、生物種にかかわらず全て独立なクラスターを形成した。一般の嗅覚受容体が多くの嗅覚受容体からランダムに分化してきたのに対して、鱗翅目昆虫の性フェロモン受容体は共通な 1 つの祖先型嗅覚受容体から進化してきたものと、推定できる。

(2)研究成果の今後期待される効果

①植物の HIV 受容体は GPCR かもしれない

シロイヌナズナのゲノムにコードされている 6 つの GPCR が HIV 受容体である、という作業仮説のもとに研究をすすめた。HIV に暴露することによって Ca²⁺イオンが上昇した。これは GPCR のシグナル伝達系が活性化されていることをうかがわせるものであった。しかし、GPCR のシグナル伝達で重要な働きをしている G タンパク質の α サブユニットをコードしている *GPA1G* 遺伝子を欠損したシロイヌナズナでも、Ca²⁺イオンが上昇した。シロイヌナズナにはただ 1 つある G タンパク質の α サブユニットを欠損していてもシグナル伝達された、ことになって「HIV 受容体は GPCR である」という作業仮説は否定されたように思われた。

しかし、カイコガの性フェロモン受容体は GPCR であるにもかかわらず、ボンビコールを受容すると Na⁺イオンや K⁺イオンなど、カチオンに非選択的な電流が流れることを見つけた。これは従来の GPCR の G タンパク質によるシグナル伝達機構を否定する、新しいシグナル伝達機構である。

したがって、シロイヌナズナの HIV 受容体は、最初の仮説どおり GPCR かもしれない。今後、シロイヌナズナの GPCR 遺伝子をクローニングして、アフリカツメガエル卵母細胞を用いて、HIV 受容能力があるのかどうか、確認をする研究もおこなってみたい。

②天敵の HIV 受容体について

カイコガをはじめとする多くの鱗翅目昆虫は 2 つ以上の化学物質の混合物を性フェロモンとして利用している。本研究課題においても、1 つの生物種から複数の性フェロモン受容体候補遺伝子をクローニングしている。これらについてアフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いてリガンドの同定を進めているところである。

これまでに機能を同定することができたカイコガやコナガの性フェロモン受容体では、1 つの受容体が 1 つの性フェロモンだけを特異的に受容していることがわかった。おそらく他の性フェロモン成分それぞれについても、特異的な受容体があるものと考えられる。性フェロモン成分の化学構造の類似性や多様性と、それらの受容体アミノ酸配列の類似性や多様性という対応関係を明らかにすることが可能になるであろう。

性フェロモン受容体に対して、キイロショウジョウバエの嗅覚受容体のリガンド特異性は極めて広い(低い)。これは、キイロショウジョウバエのゲノムにコードされている嗅覚受容体遺伝子は 62 個であるのに対して、普通の匂い物質ははるかに多いためと推定されている。

天敵の嗅覚受容体の HIV リガンド特異性はどうか？ 天敵であるハチ類の嗅覚受容体が数十種類であると仮定すると、植物が放出する HIV の化学成分の数とほぼ同じことになる。そうすると、性フェロモン受容体のように、HIV の化学組成 1 つについて 1 つの嗅覚受容体があるかもしれない。天敵の嗅覚受容体のリガンド特異性をぜひ調べてみたいものである。

3. 3 被害植物が生産するエリシターの分子機構解明 (京都大学 平井グループ)

(1)研究実施内容及び成果

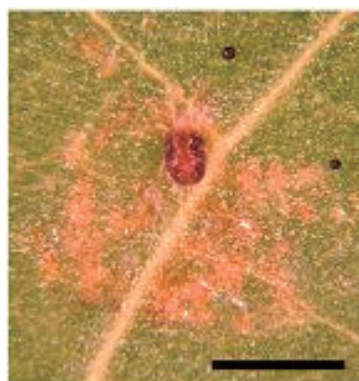
マメ科植物-食植性ダニ-捕食性ダニの三者相互作用系は、植物を中心とする生物間相互作用系の好モデル系である。この系では、マメの葉が食植性ダニに食害を受けると、捕食性ダニを誘引する揮発成分を放出し、捕食性ダニにエサとなる食植性ダニの居場所を知らせる。揮発成分として、オシメンなどのテルペノイドとサリチル酸メチルが同定されている。マメの葉に物理的な傷害を与えても、揮発成分は誘導されないことから、食植性ダニが食害時にマメの葉に揮発成分を生成させるエリシターを分泌している可能性が示唆されている。さらに、食害葉だけでなく、同じ個体の未食害葉からも揮発成分が発生することから、食植性ダニ由来のエリシターの作用によって食害葉の中で生じ、個体内を移動して未食害葉にも揮発成分を誘導するマメの内生エリシターの存在も示唆されている。これらのエリシターの研究は、植物の自己防御機構の解明に寄与するとともに、虫害から農作物を保護する技術に応用することが可能である。そこで本研究では、これらのエリシターを解明することを主たる目的とした。

ナミハダニ由来のエリシターを精製するために、その排泄物とともに虫体を抽出し、その揮発成分誘導活性を測定した。メタノール抽出物に一度弱い活性が認められたものの、数度調製した試料には活性の再現性が認められなかった。次にリママメ内生のエリシターを精製するために、食害葉水耕液および食害葉抽出液を調製し、揮発成分誘導活性を測定した。しかしながら、これらの試料も活性に再現性が乏しく、活性を指標として試料からエリシターを精製することは極めて困難であった。そこで、移動性のリママメ内生エリシターが含まれると推定される食害葉水耕液の成分を非食害葉水耕液のものと比較分析した。水耕液を直接¹H NMRならびにFAB MS分析した結果、主成分として乳酸カルシウムが約 0.2 ppm含まれていることがわかった。乳酸濃度はハダニ食害葉では非食害葉に比べて約 1.6 倍高かった。しかし、揮発性分誘導活性を示す乳酸カルシウムの濃度が 1,000 ppmであったことから、乳酸がエリシターとは考えにくい。乳酸は嫌気条件における解糖系の代謝産物であるので、ナミハダニ食害葉では嫌気ストレスがかかり、その結果として乳酸が増加し

た可能性がある。

ハダニに食害されたリマメ葉では、表皮組織が損傷して水分が失われることにより乾燥ストレスがかかると考えられる。そこで次に、リマメの内生エリシター候補物質として、乾燥ストレスによって増加する植物ホルモン・アブシシン酸 (ABA) に着目した。ナミハダニに食害された葉における ABA の含量変化と揮発成分の誘導活性を調べた結果、食害葉では水耕液中の ABA が約 2 倍増加することが認められた。このことは、ABA が移動性の内生エリシター候補であることを示唆している。そこで、天然型(+)-ABA の活性を試験するとともに、比較のため通常天然型よりも生理活性の低い非天然型(-)-ABA の活性も調べた。初回の活性試験では、天然型(+)-ABA はナミハダニ食害ほど強くはないが 1 μ M 以上で有意な揮発成分の誘導活性を示した。葉の ABA 濃度が約 7 μ M であるので、ABA は実際に揮発成分の誘導に関わっている可能性が考えられた。しかし、再現性を確認するために、その後 3 回繰り返した活性試験では使用したリマメ葉の個体差が大きく、(+)-ABA に有意な揮発成分誘導活性を認めることはできなかった。非天然型の(-)-ABA にも活性は認められなかった。これらの結果より、ABA には揮発成分誘導活性がわずかに認められるものの再現性に乏しく、内生エリシターと断定することはできなかった。食害葉を置いた含水脱脂綿より回収した水耕液にも、エリシター活性は認められなかった。今後とも、材料の調製方法や揮発物質誘導活性試験法を検討する必要がある。

ここまで、ナミハダニに由来する揮発成分誘導エリシターならびにリマメ葉に由来する内生エリシターの追跡を行ってきたが、活性検定に再現性がないことや試料が微量であることなどからその精製には至らなかった。しかるに、揮発成分誘導エリシター解明のための関連情報として、研究代表者の高林らによって、カンザワハダニの系統にリマメ葉の食痕が赤色を呈するものと白色を呈するものがあること (下図)、赤色を呈する葉では PR タンパクの一種である酸性キチナーゼが白色を呈するものより多く発現していることなどが教示された。このことは、赤色を呈するカンザワハダニ系統は酸性キチナーゼのエリシターを分泌しており、その分泌量は白色系統のものよりも多いことを示唆している。そこで、ナミハダニのエリシター研究の参考とするため、このエリシターの解明を試みた。



赤系統カンザワハダニ



白系統カンザワハダニ

図 カンザワハダニによるリマメ葉食害 (写真提供 高林・小澤)

カンザワハダニの赤色系統と白色系統のメタノール抽出物を傷害を与えたリマメ葉に塗布し、酸性キチナーゼ誘導活性試験を行った。その結果、赤色系統と白色系統で酸性キチナーゼ誘導量の差が認められたこともあったが、その結果には再現性がなく、酸性キチナーゼ誘導活性を指標としてエリシターの精製を行うことは困難であった。そこで酸性キチナーゼ誘導エリシターの量は赤色系統の方が白色系統のものよりも多いと仮定し、両系統カンザワハダニ抽出物の比較分析を行った。HPLCとTLCによる比較分析の結果、赤色系統と白色系統で量的に差異のある成分を複数認めた。特にTLC分析で赤色系統に明らかに多く存在する成分を 3 種類 (化合物 1-3) 検出することができた。それらを分取TLC後、分取HPLCによって精製した。化合物 2 および 3 は、¹H NMRならびに可視紫外外部吸収スペクトル分析

の結果、いずれもクロロフィル関連化合物と推定された。TLC分析により標品と比較した結果、化合物 2 はクロロフィルaの分解物、化合物 3 はフェオフィチンa, bの分解物と一致することが判明した。ただし、試料が微量のため化学構造の確認までには至らなかった。化合物 1 は超微量のためスペクトルを測定することはできなかったが、それ自身が赤色を呈すこと、クロロフィルの分解物の中にも同様の色をもつものがあることから、化合物 1 もクロロフィル分解物であると推定された。これらの結果は、赤系統のカンザワハダニは白系統のものよりもクロロフィルの分解が遅いことを示唆している。クロロフィルは植物自身の成分であるため、それ自身がエリシターである可能性は低い、その分解物がエリシターになる可能性は否定できない。すなわち赤色系統のカンザワハダニから排泄されたクロロフィル分解物が酸性キチナーゼを誘導している可能性もある。

(2)研究成果の今後期待される効果

本研究では、揮発成分を誘導するナミハダニ由来エリシターとリママメの内生エリシターならびに、酸性キチナーゼを誘導するカンザワハダニ由来エリシターの解明に挑戦したが、いずれも化学的同定に至ることはできなかった。したがって農作物保護に使うことのできるエリシターの開発に発展できる成果は得られていない。しかしながら、揮発成分を誘導するエリシターは依然として農作物保護剤のひとつとして有望であることは間違いない。今後とも同エリシターを化学的に研究するためには、揮発成分の誘導活性を安定かつ簡便に検定できる生物検定系の確立が必要と思われる。また本研究で有効性を確認することはできなかったが、ABA は確実な生物検定系を用いて再度その揮発成分誘導活性を調べてみる価値があると思われる。乾燥ストレス耐性反応を誘導する植物ホルモンである ABA が同時に揮発成分誘導活性も有していれば、農作物に耐乾性を付与するだけでなく、農作物をハダニ被害から防護することもできる。今後とも、エリシターの化学的同定とともに ABA のエリシター作用を検討する必要がある。

3. 4 植物の匂い受容応答関連遺伝子探索解明 (山口大学 松井グループ)

(1)研究実施内容及び成果

植物が害虫等の食害を受けた時、特定の揮発性化合物を放散し、その天敵となる食肉昆虫を誘引するが、ここで放散される揮発性化合物は食害を受けていない周囲の植物に危険を知らせるシグナルとしても機能している事が示唆されている。本研究グループはそうした植物-植物コミュニケーションの分子機構の解明を目指している。具体的には、(i) 揮発性化合物に応答する植物遺伝子の同定、(ii) それぞれの応答遺伝子の揮発性化合物に対する応答機構の解明、(iii) 植物が揮発性化合物を感じる分子機構の解明、(iv) より野外生態系条件に近い実験条件化での植物-植物コミュニケーションの解明、である。

① 揮発性化合物に応答する植物遺伝子の同定

シロイヌナズナは揮発性化合物に応答して防衛反応を誘導する事が知られているため、モデル植物としてシロイヌナズナを用いた。また、誘導防衛に関与することがこれまでに明らかとなっている防御関連遺伝子群のうち、12 種の遺伝子をモニター対象として選んだ。揮発性化合物としてその生合成経路が明らかになっているヘキセナール等の脂肪酸由来短鎖化合物群、およびモノテルペンをそれぞれ単独で植物体に曝露し、遺伝子特異的なプライマーを用いる定量的 RT-PCR によって各遺伝子の発現量を精細に解析した。

これまでに解析した遺伝子の内、一般に傷害で誘導される事が知られている遺伝子群が揮発性化合物曝露に強く応答する事が明らかとなった (Fig. 1)。一方、PR タンパク質遺伝子等、病害抵抗性に関連するとされる遺伝子群は殆ど応答しなかった。一方、揮発性化合

物曝露後の植物体の灰色カビ病に対する抵抗性が高まっている事を見いだした。この抵抗性誘導の際、細胞壁や維管束系のリグニン化、フィトアレキシンなどの抗菌性物質の蓄積が顕著に誘導されていることを明らかにし、揮発性化合物曝露が複数の信号伝達経路を活性化することによって多面的な応答を引き起こしていることを明らかにした。また、サリチル酸メチル以外の揮発性化合物への応答によって病原菌に対する抵抗性が高まることを報告したのは我々が初めてであり、揮発性化合物による誘導防衛が傷害や草食動物による食害以外にも広範囲の生物的、非生物的ストレスに対する抵抗性の付与に寄与している可能性が示唆された。

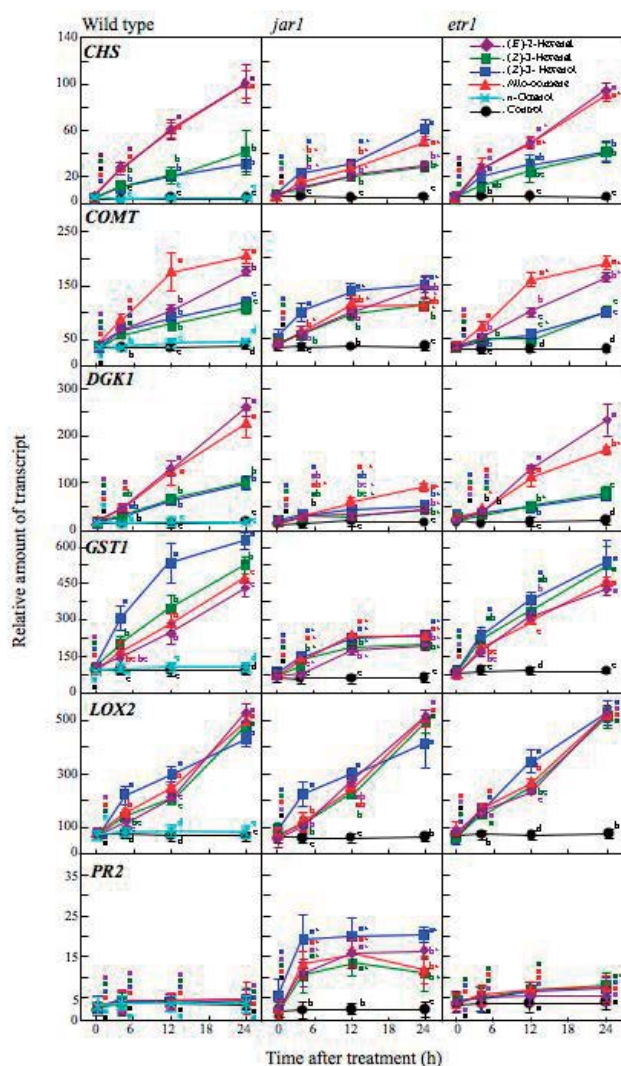


Fig. 1 Volatile compounds induced the expressions of defense genes. Arabidopsis plants were treated with (*E*)-2-hexenal, (*Z*)-3-hexenal, allo-ocimene, (*Z*)-3-hexenol or *n*-octanol, and the leaves were harvested at a given time to extract RNA. The relative amount of each transcript against the amount of *Aac1* were estimated by semi-quantitative RT-PCR. Different letters at a given time in each panel indicate significant differences at $P < 0.05$ (Tukey's-test, $n = 3$). Asterisks given with *jar1* and *etr1* indicate that the values are significantly different from the corresponding values of the wild type plants at $P < 0.05$ (Dunnett's-test, $n = 3$).

② 揮発性化合物応答遺伝子の揮発性化合物に対する応答機構の解明

(i)で応答が明らかになった遺伝子群についてはシロイヌナズナの信号伝達経路に関する変異体を用い、同様の揮発性化合物曝露-RT-PCR 実験により変異による応答プロファイルの違いを精査した。

遺伝子の傷害誘導にはジャスモン酸等のオキシリピン類、及びエチレンが重要な信号伝達物質である事が知られている。また、多くの寄生性植物病原菌に対する抵抗性誘導にはサリチル酸を介した信号伝達経路が重要であることが知られている。そこで、ジャスモン酸非感受性変異体 *jar1* とエチレン非感受性変異体 *etr1*、およびサリチル酸信号伝達経路の因子の一つを欠いた *npr1* を用いて揮発性化合物応答遺伝子の誘導プロファイルを野生株と比較した。その結果、揮発性化合物応答の一部はジャスモン酸信号伝達系を必須とするが、エチレンは必ずしも必須でない事が明らかとなった。但し、ジャスモン酸は全ての揮発性化合物応答に関与している訳ではなく、*LOX2* など傷害誘導時にはジャスモン酸信号伝達経路を介していることが知られている遺伝子でさえも揮発性化合物応答時にはジャスモン酸が関与していない事が明らかとなった。また、*npr1* では揮発性化合物誘導性は野生株とほとんど変わらず、サリチル酸を介した信号伝達経路がこの誘導には関与していないことが明らかとなった。実際、サリチル酸の支配下にある遺伝子、*PR2* は野生株でも揮発性化合物処理で誘導されない。但し、*jar1* では *PR2* が揮発性化合物で顕著に誘導されたことから、サリチル酸を介した信号伝達経路は野生株においてはジャスモン酸を介した信号伝達経路で抑制されているが、そうした抑制のない状態では揮発性化合物処理によりサリチル酸を介した信号伝達経路もある程度活性化されることが示唆された。こうした結果は揮発性化合物分子-遺伝子発現に至る信号伝達経路は少なくとも複数存在し、それぞれがクロストークを介して厳密で精細な発現制御を行っている事を示唆する。

こうした様々な変異体を用いた解析の中で、シロイヌナズナのフィトアレキシン生合成能を失った変異体 *pad2* が揮発性化合物処理に全く応答しないことを見いだした。この変異体はグルタチオン代謝と関連していることが示唆されていたため、グルタチオンシンターゼ 1 (*GSH1*) の機能を失った変異体 *cad2* について同様に揮発性化合物処理を行って、その遺伝子誘導様式を解析した。その結果、防御関連遺伝子発現、灰色カビ病菌抵抗性の誘導に関して *cad2* は明らかにその応答性を失っていた。このことから揮発性化合物による防御応答にグルタチオンが重要な因子として機能していることが強く示唆される。そこで、揮発性化合物処理による *GSH1* の誘導様式を検討したが、*GSH1* の発現は揮発性化合物処理によっては誘導されなかった。また、揮発性化合物処理後のシロイヌナズナ葉における総グルタチオン量の推移を解析したところ、これもほとんど有為な変化は起こさなかった。こうしたことから総グルタチオン量の変化は揮発性化合物処理による誘導には直接関与していないことが示された。多くの場合、グルタチオンは還元型と酸化型の平衡状態にあり、その平衡点の調節により、様々な代謝系を制御していることが知られている。また、こうした制御は細胞質内での制御と、葉緑体 (プラスチド) 内での制御の二つの独立した制御系が存在している。このレドックス制御の最も重要な酵素はグルタチオンレダクターゼであり、それぞれ、細胞質型 (*GR1*) と葉緑体型 (*GR2*) の 2 種が知られている。そこで、揮発性化合物処理による *GR1* と *GR2* 発現量について検討した結果、*GR2* が有為に変動することが明らかとなった。また、*GR2* の T-DNA 破壊株について揮発性化合物処理に対する応答性を評価したところ、*pad2* で見られたのと同様にその応答性を著しく失っていることが明らかとなった。こうした知見は葉緑体内でのグルタチオンレドックス状態の制御が揮発性化合物に対する応答性を支配する必須な因子の一つであることを強く指示する。

一方で、動物では多くの揮発性化合物はGタンパク質共役型受容体により受容され、Gタンパク質の活性化、引き続きcAMPの増加、Ca²⁺流入によりそのシグナルが伝達されることがよく知られている。シロイヌナズナにはGタンパク質共役型受容体と共役していると考えられるGタンパク質のうち、アルファサブユニットをコードする遺伝子は1コピーしか存在しない、と言われている。そこで、この遺伝子を破壊した変異体を用いて揮発性化合物への応答性を検討したところ、その応答性は野生株と比較して有為な変化が認められなかった。このことはシロイヌナズナにおける揮発性化合物受容にGタンパク質共役型受容体が関与

していない可能性を示唆している。

こうした一連の検討結果から、シロイヌナズナを揮発性化合物で処理したとき、揮発性化合物は葉の上側クチクラ層である程度濃縮され、それが表皮細胞に浸潤し（この根拠については次節を参照）、そこで、何らかの仕組みでその刺激が葉緑体（プラスチド）に伝達され、葉緑体（プラスチド）内でのグルタチオンレドックス状態を乱すものと考えられる。こうしたグルタチオンレドックス状態の乱れが引き金となって防御遺伝子群の誘導されるのであろう。*npr1* はそうしたレドックス状態のセンサーとして機能していることが最近明らかになったが、我々の検討結果では揮発性化合物に対する応答に NPR1 は関与していないことが示されており、これとは別のセンサーが機能しているはずである。

③ 植物が揮発性化合物を感じる分子機構の解明

(i)、及び(ii)で揮発性化合物応答が明確な遺伝子についてそのプロモーターと β -グルクロニダーゼ、ルシフェラーゼ等のレポーター遺伝子を融合し、シロイヌナズナを形質転換した。この組換え体について揮発性化合物応答を確認した上で化学変異剤を用いてランダムに変異を導入し、揮発性化合物応答性プロモーターの応答性が変化した組換え体の効率的なスクリーニングシステムを確立した。

揮発性化合物応答性の高い遺伝子としてアレンオキシド合成酵素(*AOS*)、栄養組織貯蔵タンパク質(*VSP*)およびカルコン合成酵素(*CHS*)の発現を β -グルクロニダーゼ、ルシフェラーゼをレポーター遺伝子として組織化学的、あるいは非破壊的に解析した。その結果、*VSP*は揮発性化合物に応答して葉、特に葉柄の基部で誘導され、揮発性化合物応答系が基部の分裂組織近傍に多く存在している事が明らかとなった(Fig. 2)。一方、*AOS*は揮発性化合物に応答して気孔周辺で誘導される事が示されたが、現在、その再現性を確認しつつある。更に、*CHS*は揮発性化合物処理により葉の上側表皮細胞で特異的に発現していた。これらの結果はそれぞれの遺伝子プロモーターに揮発性化合物処理の有無にかかわらず組織特異的に発現する因子が存在している可能性が否定できないため、早計な結論は出せないが、他の処理による発現様式、組織特異性を精細に比較検討することで揮発性化合物処理に応答する組織、あるいはその成長ステージを明らかにできると考えている。

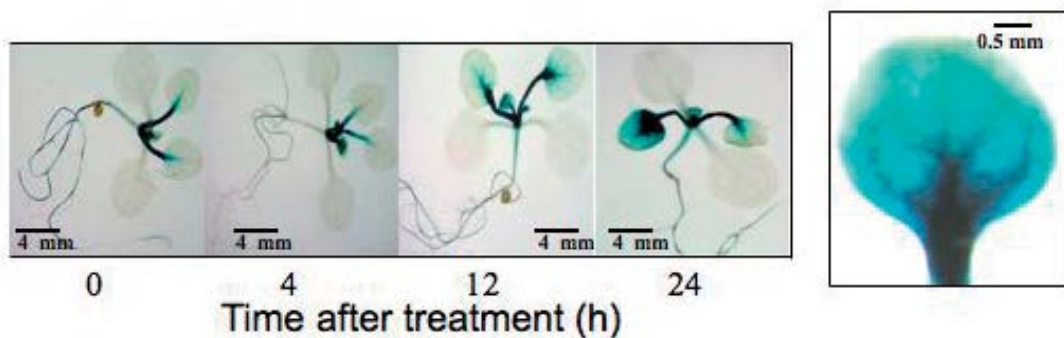


Fig. 2. Activation of the promoter of *VSP1* gene in *Arabidopsis* after treating with volatile methyl jasmonate. A transgenic *Arabidopsis* harboring *pVSP::GUS* was exposed to vaporized methyl jasmonate, then, GUS activity was detected by staining.

一方、揮発性化合物応答が顕著であった *VSP::ルシフェラーゼ* 組み換え植物体を化学変異剤 EMS でランダムに変異をかけ、その M2 世代の種子プールを得た。現在、この変異体プールについて揮発性化合物応答性を失った変異株をスクリーニングしつつある。これまでに数百株についてスクリーニングを進め、数個体の候補株を得ている。これら候補株の多くは顕著な生育不全を示す変異体であり、応答性の消失が主たる原因となっているのか、あるいは生育不全の結果として二次的に消失したのかについて更に詳細に検討する必要がある。また、*CHS::グルクロニダーゼ* についても EMS 変異を導入し、スクリーニングを進めて

おり、VSP とは違った変異体が得られるものと期待している。

④ より野外生態系条件に近い実験条件化での植物-植物コミュニケーションの解明

これまでの検討はシロイヌナズナ幼植物を 1 L 程度の容積のガラス容器に入れ、合成揮発性化合物の蒸気で処理する実験系を用いていた。この実験系では再現性よく植物を処理することができる。しかし、実際の野外生態系での状況を必ずしも反映しているとは言えない。そこで、より野外生態系に近い条件として開放系での実験システムの導入を試みた。また、これまでに植物が罹病した際にその原因菌に特異的に揮発性化合物を放出することが知られているため、この実験系ではそうした罹病植物から放散される自然な揮発性化合物群に健全植物を曝すことによる誘導性抵抗反応について検討した。

上部を開け放ったガラス容器に灰色カビ病菌を接種して病徴が明らかになったシロイヌナズナを置き、その横に健全なシロイヌナズナをお互いに直接接しない様に置いた。その後、健全植物を別の容器に移し、灰色カビ病菌への抵抗性を評価したところ、健全な植物の横に置いたコントロール植物体 비해、罹病植物の横に置いた植物では明らかにその抵抗性が高まっていることが示された。また、その時の防御遺伝子の誘導様式は先に合成揮発性化合物群で健全植物を処理した場合と同様に誘導されていた (Fig. 3)。

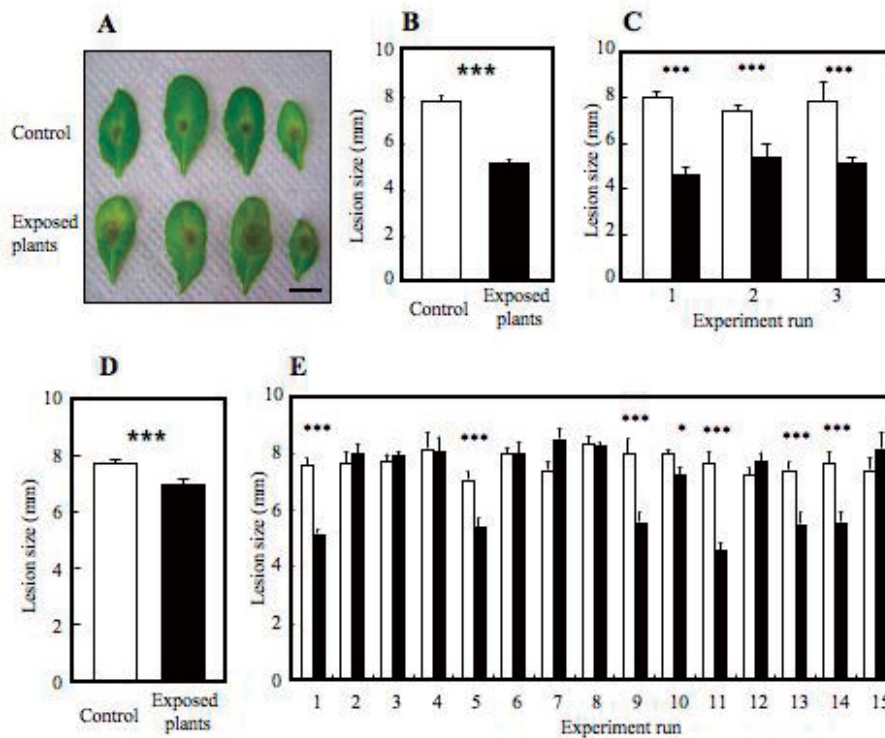


Fig. 3. Disease symptoms caused by gray mold (*B. cinerea*) on Arabidopsis leaves previously placed nearby *B. cinerea*-infected Arabidopsis. Healthy plants were exposed to the volatiles emitted from *B. cinerea*-infected plants (exposed plants) or from uninfected healthy plants (control) for 12 h in a glass vessel, then, 5 μ l of the suspension of gray mold conidia (1×10^5 cfu ml⁻¹) was placed onto the center of each leaf. Necrotic symptom (A) and diameter of necrotic lesion (B) of the leaves 2 days after infection was recorded. Error bars indicate \pm S.E. ($n = 13$). Asterisk indicates significant difference at $P < 0.05$ (t -test). Healthy plants were exposed to the volatiles from the uninfected (white bars) or from the infected plants (black bars) for 12 h without the glass vessel, then, they were infected with *B. cinerea* (C). After 2 days of inoculation, the diameters of necrotic lesions on the leaves were measured. Error bars indicate \pm

S.E. ($n = 6$). Different letters indicate significant difference at $P < 0.05$ (Tukey's-test).

こうした結果はシロイヌナズナは罹病植物から特異的に放散される揮発性化合物を受容し、近くに病原菌が接近している、という情報を読み取ることで適切な抵抗性を誘導することができることを示唆している。そこで、SPME-GC-MSにより、罹病植物から放散される揮発性化合物の組成を分析したところ、(Z)-3-hexenol や (Z)-3-hexenyl acetate などの植物由来の揮発性化合物と同時に 1-penten-3-ol、1-octen-3-ol、benzaldehyde などのおそらくは菌由来、または菌が植物に感染した結果の相互作用として生成したと思われる揮発性化合物群が検出された (Fig. 4)。これら揮発性化合物群を実際に罹病植物から放散される量と組成に調整して健全植物を曝露したところ、罹病植物の横に置いた植物体で見られたのと同様の抵抗性反応が誘導されていた。このことから、罹病植物から放散された揮発性化合物が健全植物によって受容され、適切な防御応答反応を誘導していることを示している。

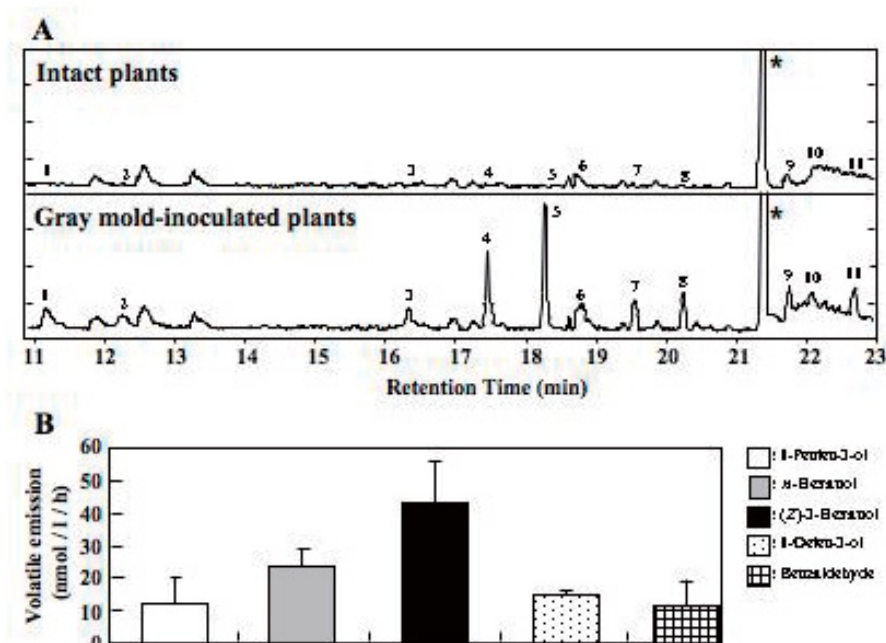


Fig. 4. Composition of volatile organic compounds (VOCs) emitted from gray mold-infected *Arabidopsis*. The plant was inoculated with gray mold conidial suspension (1×10^5 cfu ml⁻¹). Two days after the inoculation, VOCs were collected by SPME fiber for 1 h, and analyzed with GC-MS (A). Peaks 1: 1-penten-3-ol, 2: 2-ethyl hexenal, 3: (Z)-3-hexenyl acetate and/or (E)-2-hexenol (they were not separated under the GC condition employed here), 4: n-hexanol, 5: (Z)-3-hexenol, 6: unidentified sesquiterpene (C₁₅H₂₄), 7: unknown compound, 8: 1-octen-3-ol, 9: unidentified sesquiterpene (C₁₅H₂₄), 10: Benzaldehyde, 11: 4-methylpentylisothiocyanate *: contamination. The amounts of the five major VOCs emitted from the infected plant were determined as described in Method section (B). Error bars indicate \pm S.E. ($n = 3$).

この誘導反応は罹病植物と健全植物をある程度背の高いガラス容器（但し、上部は開放している）に置くと、ほぼ 100%の確率で見られた。これはある程度重い罹病植物由来揮発性化合物が放散後ガラス容器内に貯まることで濃縮され、より効率的に抵抗性反応を誘導できたため、と考えられる。しかしながら、こうしたガラス容器を外して、揮発性化合物を自由に放散させた場合でも 40%程度の確率で応答反応が見られ、シロイヌナズナの揮発性化合物感受性は思いのほか高いことが示唆された。

(2) 研究成果の今後期待される効果

本研究において、植物が揮発性化合物を介してコミュニケーションしていることを分子レベルで明らかにすることができた。現時点ではモデル植物としてのシロイヌナズナだけのデータではあるが、海外の研究例を総合すると多くの植物で一般的に見られる現象であると考えて良い。今後、我が国の主要作物であり、また、ゲノム構造が明らかとなり様々な分子遺伝学的アプローチを適用できるイネなどを用いてこうしたコミュニケーションの実態を明らかにすることで、今後持続的農業への転換を促進できる新たな理論的基盤に立った方策を提唱できる可能性がある。また、植物の揮発性化合物受容機構は動物の受容機構とは明らかに異なっており、全く新しい概念の導入を必要とする可能性を秘めている。今後この機構を分子レベルで明らかにすることにより、生物のとり環境モニターによる生存戦略の新しい形態を提示できると期待している。

3. 5 アブシジン酸受容体のアンタゴニスト探索設計 (静岡大学 轟グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

約 50 種類の既知アブシジン酸 (ABA) アナログを対象として、それらの中に ABA 活性を阻害する物質がないか否かを、検定系としてムラサキツユクサ表皮切片を用いた気孔開口阻害試験を用いて調べ、アンタゴニスト活性を示した物質をリード化合物として見出し、これの最適化を行うことを目標に研究を行った。

① ムラサキツユクサ気孔開口阻害試験の確立

被検液に使用する緩衝液の検討を詳細に行った。孔辺細胞はイオンバランスを調節することで浸透圧を変化させ、気孔の開閉を制御している。そこで、緩衝液中のカリウムイオン、ナトリウムイオンおよび塩化物イオンの濃度を種々変化させて最適条件を探索した。その結果、12.5 mM の NaCl と 37.5 mM の KCl を含有した、pH 5.5 の 10 mM クエン酸緩衝液が、気孔開口阻害試験に最も適していることが明らかになった。また、反応温度と暗処理時間についても同時に検討を行い、18°C で 4 時間暗処理後、同温度で 20 klx 照明下 3 時間培養した後にマイクロスコープにて気孔開度を測定する方法を確立した。この条件において、天然型 ABA [(+)-ABA] は 1 nM で気孔開口を 50%阻害し、非天然型 ABA [(-)-ABA] は阻害活性を有しないことを確認した。アンタゴニスト活性は、気孔開口を 80~90%程度阻害する濃度 (3 nM) の ABA 存在下、その 30~1000 倍量の ABA アナログを加え、ABA による気孔開口阻害に対する抑制率を測定することで評価した。また、アンタゴニストは ABA 活性を有しないことが望ましいため、ABA アナログ単独処理時の気孔開口阻害活性についても同時に測定した。

② 天然型 ABA [(+)-ABA] の気孔開口阻害作用を抑制する ABA アナログの探索

これまでに 21 種類の ABA アナログについてアンタゴニスト活性を測定した。その結果、有意なアンタゴニスト活性が 3 種のアナログに見出された。これらについて単独処理時の気孔開口阻害活性を測定したところ、(+)-5' β ,9'-cyclo-ABA と (-)-8'-ethyl-ABA にはほとんど活性が認められなかった。したがって、これら 2 種のアナログは、ABA 受容体には結合するが ABA 活性を誘導しないという、ABA 受容体アンタゴニストとしての条件を満たしており、今後のアンタゴニスト開発におけるリード化合物として有用な分子であることがわかった。ただし、ABA の活性を阻害するのに、ABA の 100~1000 倍量を必要とするため、受容体との親和性はまだまだかなり低い。今後のリード最適化によって親和性を増大させる必要がある。

(2) 研究成果の今後期待される効果

本研究によって見出されたリード化合物を最適化することによって、より活性の強いアブシジン酸 (ABA) 受容体アンタゴニストを作出することが可能になる。ABA 受容体アンタゴニストは、ABA 受容体の探索および作用機構や生理的意義の探求において強力なツールとなり、害虫による傷害応答を含む様々な生理現象における ABA の役割を、植物細胞による ABA 認識という観点から探求することを可能にする。また、ABA 受容体アンタゴニストは、ABA の生理作用を一時的にロックアウトする分子であることから、ABA が関与する様々な生理現象の自在な制御を可能にする植物調節剤としての応用が強く期待される。

4 研究参加者

①高林純示グループ (植物の害虫誘導性の間接防衛機能の解明の研究)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
高林 純示	京大大学生態学研究センター	教授	研究の総括・植物間接防衛機能の解明	平成 13 年 12 月～平成 19 年 3 月
清水 勇	京大大学生態学研究センター	教授	植物間接防衛機能の解明	平成 13 年 12 月～平成 19 年 3 月
小澤 理香	京大大学生態学研究センター	JST/CREST 研究員	エリシターの解析と遺伝子の発現制御機構の解明	平成 14 年 4 月～平成 18 年 3 月
〃	京大大学生態学研究センター	研究員	〃	平成 18 年 4 月～平成 19 年 3 月
塩尻 かおり	京大大学生態学研究センター	JST/CREST 研究補助員	エリシターの精製	平成 14 年 4 月～平成 14 年 9 月
伊東 京子	京大大学生態学研究センター	JST/CREST チーム事務員	研究チームの事務	平成 14 年 4 月～平成 19 年 3 月
宇野 美由紀	京大大学生態学研究センター	JST/CREST 研究補助員	揮発性成分の質量分析	平成 14 年 11 月～平成 16 年 12 月
小野 肇	京大大学生態学研究センター	研修員	エリシターの解析	平成 16 年 4 月～平成 16 年 9 月
松島 良	京大大学生態学研究センター	研究員	ハダニ誘導性の植物応答の解析	平成 16 年 4 月～平成 17 年 3 月
長 泰行	京大大学生態学研究センター	研修員	植物間接防衛機能の解明	平成 16 年 4 月～平成 18 年 3 月

寺尾 恵美	京大大学生態学研究センター	JST/CRE ST 研究補助員	揮発性成分の質量分析	平成 17 年 1 月～平成 19 年 3 月
佐々木 若奈	京大大学生態学研究センター	D2	植物間接防衛機能の解明	平成 17 年 4 月～平成 18 年 3 月
吉田 祐樹	京大大学生態学研究センター	M2	植物間接防衛機能の解明	平成 17 年 4 月～平成 18 年 3 月
米谷 衣代	京大大学生態学研究センター	M2	植物間接防衛機能の解明	平成 17 年 4 月～平成 18 年 3 月
崎山 弘樹	京大大学生態学研究センター	M2	植物間接防衛機能の解明	平成 17 年 4 月～平成 18 年 3 月

②西岡孝明グループ（植物間コミュニケーションの分子機構解明の研究）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
西岡孝明	京都大学農学研究科	教授	匂い受容のバイオフィフォナティックス	平成 13 年 12 月～平成 19 年 3 月
浅井尚子	京都大学農学研究科	JST/CRE ST 研究員	匂い受容におけるカルシウムイオンの測定	平成 14 年 5 月～平成 18 年 3 月
堀内 淳一郎	京都大学農学研究科	D3	根を用いた匂い受容機構	平成 14 年 4 月～平成 16 年 3 月
櫻井 健志	京都大学農学研究科	D4	匂い応答の電気生理学的測定	平成 14 年 5 月～平成 17 年 3 月
光野 秀文	京都大学農学研究科	D4	昆虫の嗅覚受容体の同定	平成 15 年 4 月～平成 19 年 3 月
室井 敦	京都大学農学研究科	D4	GPCR 変異体の環境、ホルモン応答の解析	平成 15 年 4 月～平成 19 年 3 月
油野 洋子	京都大学農学研究科	M2	受容体遺伝子挿入変異株の機能解析	平成 16 年 4 月～平成 17 年 3 月
橋本 裕子	京都大学農学研究科	M2	受容体遺伝子の探索、単離	平成 14 年 5 月～平成 18 年 3 月

③平井伸博グループ（被害植物が生産するエリシターの分子機構解明の研究）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
平井 伸博	京都大学国際融合創造センター	教授	被害植物が生産するエリシターの単離、同定	平成14年4月～平成19年3月
猪俣 正広	京都大学国際融合創造センター	JST/CREST 研究員	エリシターの検出、精製	平成16年6月～平成16年9月

④松井健二グループ（植物の匂い受容応答関連遺伝子探索解明の研究）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
松井健二	山口大学大学院医学系研究科	教授	匂い受容応答系の分子遺伝子学	平成14年4月～平成19年3月
岸本久太郎	山口大学大学院医学系研究科	JST/CREST 研究員	匂い応答遺伝子レポートシステムの構築	平成14年6月～平成18年3月
〃	〃	研究員	〃	平成18年4月～平成18年10月

⑤轟 泰司グループ（植物の匂い受容応答関連遺伝子探索解明の研究）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
轟 泰司	静岡大学農学部	助教授	リード化合物を基にしたアンタゴニスト設計	平成18年4月～平成19年3月
上野琴巳	岐阜大学連合農学研究科	D2	アンタゴニストの合成とスクリーニング	平成18年4月～平成19年3月
荒木義晴	静岡大学農学部	M2	アンタゴニストの合成	平成18年4月～平成19年3月
米山英高	静岡大学農学部	M2	アンタゴニストの合成	平成18年4月～平成19年3月

5 招聘した研究者等

氏名(所属、役職)	招聘の目的	滞在先	滞在期間
Massimo Maffei(トリノ大学・教授)	国際シンポジウムに出席のため	ヨーロッパ 京都	H16.11.15 ~ 11.21
Mark Dixon(サンプトン大学・助教授)	国際シンポジウムに出席のため	ヨーロッパ 京都	H16.11.16 ~ 11.21
Andre Kessler(アメリカコーネル大学・助教授)	国際シンポジウムに出席のため	ヨーロッパ 京都	H16.11.16 ~ 11.21
Johnathan Andrew Napier(ロサムステット研究所・プロジェクトリーダー)	国際シンポジウムに出席のため	ヨーロッパ 京都	H16.11.16 ~ 11.21
John Pickett(ロサムステット研究所・教授)	国際シンポジウムに出席のため	ヨーロッパ 京都	H16.11.16 ~ 11.21
Guy Poppy(サンプトン大学・教授)	国際シンポジウムに出席のため	ヨーロッパ 京都	H16.11.16 ~ 11.21
Wilf Powell(ロサムステット研究所・プロジェクトリーダー)	国際シンポジウムに出席のため	ヨーロッパ 京都	H16.11.16 ~ 11.21
John Rossiter(インペリアル大学・助教授)	国際シンポジウムに出席のため	ヨーロッパ 京都	H16.11.16 ~ 11.21
Timothy John Stirrup (サンプトン大学・プロジェクトリーダー)	国際シンポジウムに出席のため	ヨーロッパ 京都	H16.11.16 ~ 11.21
John Turner(イーストアングリア大学・教授)	国際シンポジウムに出席のため	ヨーロッパ 京都	H16.11.16 ~ 11.21
Petra Dietrich Erlangen(大学・教授)	セミナー講演のため	ホテルイン 京都	H17.3.29~4.1

6 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内誌 0件、国際誌 26件)

Jenny Fäldt, Gen-ichiro Arimura, Jonathan Gershenzon, Junji Takabayashi, Jörg Bohlmann

Function identification of AtTPS03 as (E)- β -ocimene synthase: A new monoterpene synthase catalyzing jasmonate- and wound-induced volatile formation in *Arabidopsis thaliana*

Planta 216 : 745-751 (2003)

Jun-Ichiro Horiuchi, Gen-Ichiro Arimura, Rika Ozawa, Takeshi Shimoda, Junji Takabayashi, Takaaki Nishioka

A comparison of the responses of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) to volatiles emitted from lima bean leaves with different levels of damage made by *T. urticae* or *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae)

Applied Entomology and Zoology 38 : 109-116 (2003)

Jun-Ichiro Horiuchi, Gen-Ichiro Arimura, Rika Ozawa, Takeshi Shimoda, Marcel Dicke, Junji Takabayashi, Takaaki Nishioka

Lima bean leaves exposed to herbivore-induced conspecific plant volatiles attract herbivores in addition to carnivores

Applied Entomology and Zoology 38 : 365-368 (2003)

Takeshi Sakurai, Takao Nakagawa, Hidefumi Mitsuno, Hajime Mori, Yasuhisa Endo, Shintarou Tanoue, Yuji Yasukouchi, Kazushige Touhara, Takaaki Nishioka
Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silkworm *Bombyx mori*.

Proceedings of Natural Academy of Science, USA 101: 16653-16658 (2004)

Choh Y, Ozawa R, Takabayashi J

Effects of exogenous Jasmonic acid and benzo (1,2,3) thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester (BTH), a functional analogue of salicylic acid, on the egg production of a herbivorous mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae).

Applied Entomology and Zoology 39:313-316(2004)

Gen-Ichiro Arimura, Rika Ozawa, Sohich Kugimiya, Junji Takabayashi Jörg Bohlmann.
Herbivory induced de novo synthesis of (E)- β -ocimene in a model legume, *Lotus japonicus*.

Plant Physiology 135 : 1976-1983 (2004)

Rika Ozawa, Kairo Shiojiri, Maurice W. Sabelis, Gen-Ichiro Arimura, Takaaki Nishioka and Junji Takabayashi

Corn plants treated with jasmonic acid attract more specialist parasitoids, thereby increasing parasitization of the common armyworm.

Journal of Chemical Ecology 30 : 1305-1317 (2004)

Yasuyuki Choh, Takeshi Shimoda, Rika Ozawa, Marcel Dicke, Junji Takabayashi

Exposure of lima bean leaves to volatiles from herbivore-induced conspecific plants results in emission of carnivore attractants: active or passive process?

Journal of Chemical ecology 30 : 1797-1808 (2004)

Kaori Shiojiri, Junji Takabayashi

Effects of oil droplets by *Pieris* caterpillars against generalist and specialist carnivores.

Ecological Research 20 : 695-700 (2005)

Takao Nakagawa, Takeshi Sakurai, Takaaki Nishioka, Kazushige Touhara

Insect sex-pheromone signals mediated by specific combinations of olfactory receptors.

Science 307 : 1638-1642 (2005)

Kyutaro Kishimoto, Kenji Matsui, Rika Ozawa, Junji Takabayashi

Volatile C6-aldehydes and allo-ocimene activate defense genes and induce resistance against *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*

Plant and Cell Physiology 46(7)1093-1102 (2005)

Maolin Hou, Junji Takabayashi, Yooichi Kinoh

Effects of leaf age on flight response of a parasitic wasp *Cotesia kariyai* (Hymenoptera: Braconidae) to a plant-herbivore complex

Applied Entomology and Zoology 40(1)113-117 (2005)

Taro Maeda, Junji Takabayashi

Effects of Foraging Experiences on Residence Time of the Predatory Mite *Neoseiulus womersleyi* in a Prey Patch

Journal of Insect Behavior 18 : 323-333 (2005)

Yasuyuki Choh, Soichi Kugimiya, Junji Takabayashi
Induced production of extrafloral nectar in intact lima bean plants in response to volatiles from spider mite-infested conspecific plants as a possible indirect defense against spider mites.
Oecologia 147(3):455-460(2006)

Junji Takabayashi, Maurice Sabelis, Arne Janssen, Kaori Shiojiri and Michiel van Wijk.
Can plants betray the presence of multiple herbivore species to predators and parasitoids? The role of learning in phytochemical information networks.
Ecological Research 21 : 3-8(2006)

Kyutaro Kishimoto, Kenji Matsui, Rika Ozawa, Junji Takabayashi
Components of C6-aldehyde-induced resistance in *Arabidopsis thaliana* against a necrotrophic fungal pathogen, *Botrytis cinerea*
Plant Science 170: 715-723 (2006)

Kaori Shiojiri, Rika Ozawa, Kenji Matsui, Kyutaro Kishimoto, Soichi Kugimiya and Junji Takabayashi
Role of lipoxygenase/lyase pathway of host-food plants in host searching behavior of two parasitoid species, *Cotesia glomerata* and *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae).
Journal of Chemical Ecology 32 : 969-979 (2006)

Kairo Shiojiri, Rika Ozawa, Junji Takabayashi
Plant volatiles rather than light determine the nocturnal behavior of the caterpillar
PLOS Biology 4: 1044-1047 (2006)

Kyutaro Kishimoto, Kenji Matsui, Rika Ozawa, Junji Takabayashi
Analysis of defensive responses activated by volatile allo-ocimene treatment in *Arabidopsis thaliana*.
Phytochemistry 67: 1520-1529 (2006)

Kyutaro Kishimoto, Kenji Matsui, Rika Ozawa, Junji Takabayashi
ETR1-, JAR1- and PAD2-dependent signaling pathways are involved in C6-aldehyde-induced defense responses of *Arabidopsis*"
Plant Science 171: 415-423 (2006)

Yasuyuki Choh, Junji Takabayashi
Intact lima bean plants exposed to herbivore-induced plant volatiles attract predatory mites and spider mites at different levels according to plant parts.
Applied Entomology and Zoology 41: 537-542 (2006)

Yasuyuki Choh, Junji Takabayashi
Herbivore-induced extrafloral nectar production in lima bean plants enhanced by previous exposure of volatiles from infested conspecifics.
Journal of Chemical Ecology 32: 2073-2077(2006)

Ryo Matsushima, Rika Ozawa, Masayoshi Uefune, Tetsuo Goto, Junji Takabayashi
Intraspecific variation in Kanzawa spider mites differentially affects induced defense response in lima bean plants.
Journal of Chemical Ecology 32: 2501-2512 (2006)

Kaori Shiojiri, Kyutaro Kishimoto, Rika Ozawa, Soichi Kugimiya, Soichi Urashimo, Genichiro Arimura, Junichiro Horiuchi, Takaaki Nishioka, Kenji Matsui, Junji Takabayashi

Changing green leaf volatile biosynthesis in plants: An approach for improving plant resistance against both herbivores and pathogens.

Proceedings of Natural Academy of Science USA 103(45)16672-16676(2006)

Yasuyuki Choh, Junji Takabayashi

Predator avoidance in phytophagous mites: response to present danger depends on alternative host quality

Oecologia (in press)

Yasuyuki Choh and Junji Takabayashi (2007) Timing of two indirect plant defenses primed by exposure to herbivore-induced plant volatiles.

Plant Signaling & Behavior (in press)

(2)その他の著作物

小澤理香

植物の揮発性物質の捕集、分析

植物防疫 56(9)22-26 (2002)

高林純示、塩尻かおり

キャベツ畑でくり広げられる複雑な生物間相互作用ネットワーク

蛋白質核酸酵素 48 (13)1779-1785 (2003)

小澤理香

植食者誘導性植物揮発性物質の生産に関する生理活性物質

蛋白質核酸酵素 48 (13)1786-1792 (2003)

堀内淳一郎、西岡孝明

匂いが媒介する植物間コミュニケーションの分子基盤

蛋白質核酸酵素 48 (13)1801-1807 (2003)

松井健二、有村源一郎

情報化学物質として機能する植物揮発性成分の合成と制御

蛋白質核酸酵素 48 (13)1793-1800 (2003)

櫻井健志、仲川喬雄、東原和成、西岡孝明、

物質同定から半世紀、ついに見つけたカイコガ性フェロモン受容体遺伝子：絹王国日本が
一番乗り

細胞工学 24(2)150-151 (2005)

仲川喬雄、櫻井健志、西岡孝明、東原和成

昆虫における高感度・高選択性の性フェロモン受容機構の解明

実験医学 23(8)1210-1212 (2005)

仲川喬雄、櫻井健志、西岡孝明、東原和成

昆虫における性フェロモン受容のメカニズム

蛋白質・核酸・酵素 50(12) 1563-1570 (2005)

岸本久太郎、松井健二
植物における香りと生体防御
AROMA RESEARCH 6(3)36-46(2005)

松井健二
植物が匂いを感じている？揮発性化合物を介した植物内／植物間コミュニケーション
化学と生物 日本農芸化学会和文誌 6(10)634-636 (2005)

高林純示、塩尻かおり、小澤理香
光ではなく植物のかおりがイモムシの夜行性を決定する
バイオインダストリー 23: 96-102 (2006)

Junji Takabayashi
Indirect defense of plants using interspecific interaction: its application in pest control.
Farming Japan 40: 16-21 (2006)

高林純示、塩尻かおり、小澤理香
アワヨトウはトウモロコシが出すかおりで昼夜の別を判断
ブレインテクノニュース 118: 22-25 (2006)

高林純示・塩尻かおり・小澤理香
アワヨトウの夜行性はトウモロコシ株が出すかおりが決め手
化学と生物 in press

高林純示
緑のかおりで害虫の天敵を誘引—植物の改変により病害虫に対する抵抗力を上げる試み—
バオイニクス in press

(3)学会発表 (国際学会発表及び主要な国内学会発表)

Junji Takabayashi (CER Kyoto Univ.・JST/CREST) ; Kaori Shiojiri (JST/CREST) ; Rika Ozawa (JST/CREST) ; Gen-Ichiro Arimura (Biotechnology Laboratory ,Univ. of British Columbia) ; Kenji Matsui (Department of Biological Chemistry, Faculty of Agriculture,Yamaguchi Univ.・JST/CREST)
How to enhance effectiveness of carnivorous natural enemies in tritrophic systems
第19回国際化学生態学会議 (ドイツ ハンブルグ) 2002年8月4日

Kaori Shiojiri (JST/CREST) ; Rika Ozawa (JST/CREST) ; Junji Takabayashi (CER Kyoto Univ.・JST/CREST)
Daily periodicity in production of plant volatiles affects daily rhythm of herbivorous and carnivorous insects
第19回国際化学生態学会議 (ドイツ ハンブルグ) 2002年8月4日

Rika Ozawa (JST/CREST) ; Gen-ichiro Arimura (Biotechnology Laboratory Univ. of British Columbia) ; Atsushi Muroi (Laboratory of Biofunction Chemistry, Graduate School of Agriculture, Kyoto Univ.・JST/CREST) ; Jun-ichiro Horiuchi (Laboratory of Biofunction Chemistry, Graduate School of Agriculture, Kyoto Univ.・JST/CREST) ;

Takaaki Nishioka (Laboratory of Biofunction Chemistry, Graduate School of Agriculture, Kyoto Univ. • JST/CREST) ; Junji Takabayashi (CER Kyoto Univ. • JST/CREST)
Synergistic effects of exogenous spermine and jasmonic acid on the volatile production in lima bean leaves
第 19 回国際化学生態学会議 (ドイツ ハンブルグ) 2002 年 8 月 6 日

Kaori Shiojiri(JST/CREST) ; Rika Ozawa(JST/CREST) ; Junji Takabayashi(CER Kyoto Univ. • JST/CREST)
Daily periodicity in production of plant volatiles affects daily rhythm of herbivorous and carnivorous insects
第 3 回世界アレロパシー会議 (文部科学省研究交流センター) 2002 年 8 月 27 日

Rika Ozawa(JST/CREST) ; Gen-ichiro Arimura (Biotechnology Laboratory Univ. of British Columbia) Jun-ichiro Horiuchi (Laboratory of Biofunction Chemistry, Graduate School of Agriculture, Kyoto Univ. • JST/CREST) ; Junji Takabayashi (CER Kyoto Univ. • JST/CREST)
Involvement of jasmonate, salicylate and ethylene in the production of herbivore induced volatiles in lima bean
第 3 回世界アレロパシー会議 (文部科学省研究交流センター) 2002 年 8 月 29 日

小澤理香 (JST/CREST) ; 有村源一郎 (ブリティッシュコロロンビア大学) ; 室井敦 (京大院農、JST/CREST) ; 堀内淳一郎 (京大院農、JST/CREST) ; 西岡孝明 (京大院農、JST/CREST) ; 高林純示 (京大生態研、JST/CREST)
植食者誘導性植物揮発性物質の生産におけるジャスモン酸とスベルミンの協力効果
植物化学調節学会第 37 回大会 (北海道大学) 2002 年 10 月 29 日

Kenji Matsui (JST/CREST, Department of Biological Chemistry, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University) ; Kyutaro Kishimoto (JST/CREST) ; Junji Takabayashi (CER Kyoto Univ. • JST/CREST) ; Tadahiko Kajiwara (Department of Biological Chemistry, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University)
Short chain aldehydes: airborne signal molecules?
The 3rd Joint Seminar on Development of Thermotolerant Microbial resources and their Applications (Chiang Mai, Thailand) 2002 年 11 月 19 日

岸本久太郎 (JST/CREST) ; 松井健二 (山口大農、JST/CREST、)
オクタデカノイド曝露によるシロイヌナズナの生体防御関連遺伝子の誘導
第 15 回植物脂質シンポジウム (東京工業大学) 2002 年 11 月 29 日

小澤理香 (JST/CREST) ; 塩尻かおり (京大生態研) ; 有村源一郎 (ブリティッシュコロロンビア大学)、高林純示 (京大生態研、JST/CREST)
植物ホルモンの処理による天敵誘引の可能性
第 12 回天敵利用研究会 (キャンパスプラザ・京都) 2002 年 11 月 29 日

高林純示 (京大生態研、JST/CREST)
天敵の行動制御技術開発の現状と展望
第 1 回環境保全型農業技術研究会 (つくば農林ホール) 2003 年 3 月 4 日

高林純示 (京大生態研、JST/CREST)
植物—植食者—捕食者三者の生物間相互作用のネットワーク
日本農薬学会第 28 回大会 (名城大学天白キャンパス) 2003 年 3 月 22 日

小澤理香 (JST/CREST) ; 塩尻かおり(京大生態研) ; 高林純示 (京大生態研、JST/CREST)
アワヨトウ由来の物質のトウモロコシの匂い生成に対する作用
第 47 回日本応用動物昆虫学会大会 (岩手大学) 2003 年 3 月 26 日

長泰行 (京大生態研) ; 高林純示 (京大生態研、JST/CREST)
匂いを介した植物間相互作用が植食者に及ぼす影響
第 47 回日本応用動物昆虫学会 (岩手大学) 2003 年 3 月 26 日

堀内淳一郎 (京大院農、JST/CREST) ; 高林純示 (京大生態研、JST/CREST) ; 西岡孝明
(京大院農、JST/CREST)

Growth pattern of Arabidopsis root under monoterpene vapors

日本植物生理学会 2003 年度年会 (近畿大学本部キャンパス) 2003 年 3 月 27 日~29 日

岸本久太郎 (JST/CREST)、阿久津克巳 (茨城大農)、松井健二 (山口大農、JST/CREST)
C₆-アルデヒドやイソプレノイドの曝露により誘導されるシロイヌナズナの生体防御関連遺
伝子と抗菌性物質

平成 15 年度日本植物病理学会大会 (明治大学) 2003 年 3 月 28 日~30 日

岡正樹 (京大院農)、平井伸博 (京大国際融合創造センター、JST/CREST)、
小澤理香 (JST/CREST)、高林純示 (京大生態研、JST/CREST)、大東肇 (京大院農)
揮発物質の生成を誘導するリマメ内生エリシターの解明
農芸化学会大会 (日本大学湘南キャンパス) 2003 年 3 月 31 日~4 月 3 日

Kenji Matsui (Department of Biological Chemistry, Faculty of Agriculture, Yamaguchi
University、JST/CREST) ; Junji Takabayashi (CER Kyoto Univ.・JST/CREST) Kyutaro
Kishimoto (JST/CREST)

Short chain aldehyde-forming systems in plants: biochemistry and physiological role
Plant Oxylipins (Goettingen University) 2003 年 6 月 13 日

Kyutaro Kishimoto (JST/CREST) ; Kenji MATSUI (Department of Biological Chemistry,
Faculty of Agriculture, Yamaguchi University、JST/CREST) ; Junji Takabayashi (CER
Kyoto Univ.・JST/CREST)

Effect of airborne C₆-aldehyde and isoprenoid treatment in Arabidopsis thaliana on
gray mold (Botrytis cinerea)

Plant Oxylipins (Goettingen University) 2003 年 6 月 13 日

Horiuchi, Jun-ichiro (Laboratory of Biofunction Chemistry, Graduate School of
Agriculture, Kyoto University、JST/CREST) ; Nishioka, Takaaki (Laboratory of
Biofunction Chemistry, Graduate School of Agriculture, Kyoto University、
JST/CREST) ; Takabayashi, Junji (CER Kyoto Univ.・JST/CREST)

Volatiles of two monoterpenoids, borneol and bornyl acetate, induce different root
growth patterns to Arabidopsis seedlings

Plant Biology 2003 meeting in Honolulu (Hawaii Convention Center, Honolulu)

2003 年 7 月 25 日~30 日

高林純示(京大生態研、JST/CREST)

生態系における生物間相互作用ネットワークの階層性

日本進化学会福岡大会 2003 (九州大学六本松キャンパス) 2003 年 8 月 3 日

小澤理香(JST/CREST) ; 有村源一郎(ブリティッシュコロンビア大学) ; 室井敦(京大院農、JST/CREST) ; 堀内淳一郎(京大院農、JST/CREST) ; 西岡孝明(京大院農、JST/CREST) ; 高林純示(京大生態研、JST/CREST)

植食者誘導性植物揮発性物質の生産におけるジャスモン酸とスペルミンの協力効果

第13回ドリコールおよびイソプレノイド研究会(理化学研究所横浜研究所)

2003年9月4日

高林純示(京大生態研、JST/CREST)

害虫の天敵を呼び寄せて身を守る:植物の間接防衛戦略

第6回RIBSバイオサイエンスシンポジウム(岡山国際交流センター)2003年10月31日

小澤理香(JST/CREST) ; 塩尻かおり(京大生態研) ; 松井健二(山口大農、JST/CREST) ; 岸本久太郎(JST/CREST) ; 高林純示(京大生態研、JST/CREST)

みどりの香りがモンシロチョウ幼虫の寄生蜂の行動に及ぼす影響

第16回植物脂質シンポジウム(KKR山口あさくら)2003年11月28日

岸本久太郎(JST/CREST)

C6-アルデヒドやイソプレノイドの曝露によるシロイヌナズナの灰色かび病抵抗性の増強

第16回植物脂質シンポジウム(KKR山口あさくら)2003年11月28日

岸本久太郎(JST/CREST) ; 松井健二(山口大農、JST/CREST) ; 高林純示(京大生態研、JST/CREST)

C6-Aldehydes induce some plant defense genes and enhance resistance against a necrotrophic pathogen, *Botrytis cinerea*, in *Arabidopsis thaliana*

NIAS-COE/PROBRAIN/TOKUTEI 合同国際シンポジウム「植物免疫 - 抵抗性獲得への情報伝達」(つくば国際会議場)2004年3月4日~5日

小澤理香(JST/CREST) ; 有村源一郎(ブリティッシュコロンビア大学) ; 室井敦(京大院農、JST/CREST) ; 堀内淳一郎(京大院農、CREST) ; 西岡孝明(京大院農、JST/CREST) ; 高林純示(京大生態研、JST/CREST)

Synergistic Effects of Exogenous Spermine and Jasmonic Acid on the Volatile Production in Lima Bean Leaves

NIAS-COE/PROBRAIN/TOKUTEI 合同国際シンポジウム「植物免疫 - 抵抗性獲得への情報伝達」(つくば国際会議場)2004年3月4日~5日

小澤理香(JST/CREST) ; 塩尻かおり(京大生態研) ; 松井健二(山口大農、JST/CREST) ; 高林純示(京大生態研、JST/CREST)

みどりの香りがモンシロチョウ幼虫の寄生蜂の行動に及ぼす影響

第48回日本応用動物昆虫学会大会(京都工芸繊維大学)2004年3月27日

長泰行(京大院生態研) ; 高林純示(京大生態研、JST/CREST)

植食者および捕食者は植物間相互作用系においてどのように行動するか?

第48回日本応用動物昆虫学会大会(京都工芸繊維大学)2004年3月28日

岸本久太郎(JST/CREST) ; 松井健二(山口大農、JST/CREST) ; 高林純示(京大生態研、JST/CREST)

C6-アルデヒドやモノテルペンによって誘導されるシロイヌナズナの灰色かび病抵抗性

平成16年度植物病理学会大会2004年3月30日

Takeshi Sakurai(京大院農、JST/CREST), Yasuhisa Endo(京工繊大), Shintaro Tanoue(京

大院農), Yuji Yasukochi(農生資研), Takaaki Nishioka(京大院農、JST/CREST)
Cloning of a male specific olfactory receptor-like gene expressed in sex pheromone
receptor neurons from *Bombyx mori*
18th International Symposium on olfaction and taste
38th Japanese association for taste and smell (Kyoto international conference hall)
2004年7月5日～9日

佐々木若奈(近大農), 小笠理恵(近大農), 松田一彦(近大農), 小澤理香(JST/CREST), 高林純
示(京大生態研、JST/CREST)
Possible involvement of microorganisms in the production of *Tetranychus*
urticae-induced lima bean leaf volatiles
X X II International Congress of Entomology (Australia, the Brisbane Convention and
Exhibition Centre) 2004年8月18日

小澤理香(JST/CREST), 塩尻かおり(京大生態研), 松井健二(山口大・JST/CREST), 有村
源一郎(ブリティッシュコロンビア大学), 西岡孝明(京大院農、JST/CREST), 高林純示(京
大生態研、JST/CREST)
Amount of green leaf volatiles emitted from *Arabidopsis* plants affects their
attractiveness to parasitic wasps of cabbage butterfly larvae
X X II International Congress of Entomology (Australia, the Brisbane Convention and
Exhibition Centre) 2004年8月16日～21日

長泰行(京大生態研)、高林純示(京大生態研・JST/CREST)
Plant-plant interactions affect the behavior of herbivorous and predatory mites in a
tritrophic context.
X X II International Congress of Entomology(Australia, the Brisbane Convention and
Exhibition Centre) 2004年8月17日

高林純示(京大生態研・JST/CREST)
Specificity of herbivore-induced volatiles in information transfer in multitrophic
interactions.
X X II International Congress of Entomology(Australia, the Brisbane Convention and
Exhibition Centre) 2004年16日～21日

高林純示(京大生態研・JST/CREST)
Gene expressions in bean plants induced by spider mites.
X X II International Congress of Entomology(Australia, the Brisbane Convention and
Exhibition Centre) 2004年16日～21日

高林純示(京大生態研・JST/CREST)
Application of synthetic HIPV in greenhouse
BBSRC-JST/CREST Joint International Workshop (コープイン京都)
2004年11月17日～19日

岸本久太郎(JST/CREST)、松井健二(山口大・JST/CREST)、小澤理香(JST/CREST)、高林
純示(京大生態研・JST/CREST)
Perception of volatile compounds by plants –Are they intra- and inter-plant
communication tools?–
BBSRC-JST/CREST Joint International Workshop (コープイン京都)
2004年11月17日～19日

小澤理香(JST/CREST)

Olfactory Responses of Parasitic Wasps to Transgenic Plants

BBSRC-JST/CREST Joint International Workshop (コープイン京都)

2004年11月17日～19日

岸本久太郎(JST/CREST)、松井健二(山口大、JST/CREST)、小澤理香(JST/CREST)、高林純示(京大生態研、JST/CREST)

C6-アルデヒドが誘導するシロイヌナズナの防御応答

第17回植物脂質シンポジウム(つくば市 産業技術総合研究所) 2004年11月26日

高林純示(京大生態研、JST/CREST)

植物のかおりが媒介する生態系生物間相互作用ネットワーク

昆虫学会近畿支部会(琵琶湖博物館) 2005年3月5日

光野秀文(京大院農、JST/CREST)、櫻井健志(京大院農、JST/CREST)、一田昌利(京工繊大)、安田哲也(農生研)、釘宮聡一(京大生態研)、小澤理香(JST/CREST)、高林純示(京大生態研、JST/CREST)、西岡孝明(京大院農、JST/CREST)

蛾類の性フェロモン受容体候補遺伝子の単離

第49回 日本応用動物昆虫学会(玉川大学) 2005年3月24日～26日

小澤理香(JST/CREST)、塩尻かおり(京大生態研)、松井健二(山口大、JST/CREST)、岸本久太郎(JST/CREST)、高林純示(京大生態研、JST/CREST)

形質転換したシロイヌナズナに対する寄生蜂の選好性

第49回日本応用動物昆虫学会大会(玉川大学) 2005年3月26日

長泰行(京大生態研、JST/CREST)・高林純示(京大生態研、JST/CREST)

HIPVを介した被害植物—健全植物間相互作用系:HIPV受容健全植物に誘引された捕食者はボディーガードになりうるか?

第49回日本応用動物昆虫学会大会(玉川大学) 2005年3月26日

室井敦(京大院農、JST/CREST)、油野洋子(京大院農、JST/CREST)、堀内淳一郎(京大院農、JST/CREST)、浅井尚子(JST/CREST)、諏訪牧子(産総研・CBRC)、高林純示(京大生態研、JST/CREST)、西岡孝明(京大院農、JST/CREST)

シロイヌナズナ GPCR 候補遺伝子の機能解析

第46回 日本植物生理学会年会、新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ

2005年3月24日～26日

岸本久太郎(JST/CREST)、松井健二(山口大、JST/CREST)、小澤理香(JST/CREST)、高林純示(京大生態研、JST/CREST)

C6-アルデヒド・アルコールはシロイヌナズナの防御応答を促すシグナル因子か?

平成17年度日本植物病理学会大会(静岡グランシップ) 2005年3月29日

Junji Takabayashi(京大生態研、JST/CREST)

Complex chemical information networks in tritrophic communities.

第52回日本生態学会(大阪国際会議場) 2005年3月30日

高林純示(JST/CREST・京大生態研)

かおりの生態学—植物揮発性物質が媒介する生物間相互作用ネットワーク—

日本農芸化学学会中四国支部若手研究交流シンポジウム(山口大学学生会館)

2005年5月20日

松井健二 (JST/CREST・山大農)、岸本久太郎 (JST/CREST)
イントロダクション 生物活性物質としての香り、植物—植物コミュニケーションを例に
日本農芸化学学会中四国支部若手研究交流シンポジウム (山口大学大学会館)
2005年5月20日

松島良 (京大生態研)、小澤理香 (JST/CREST)、上船雅義 (京大生態研)、高林純示
(JST/CREST・京大生態研)
Presence of two sympatric strains in Kanzawa spider mites *Tetranychus kanzawai*:
difference in their ability to induced defensive gene expressions in lima bean leaves.
21st Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology (USA)
2005年7月22日~27日

長 泰行 (京大生態研)、高林 純示 (JST/CREST・京大生態研)
Induced production of extrafloral nectar in intact lima bean plants in response to
volatiles from spider mite-infested conspecific plants as a possible indirect defense
against spider mites.
21st Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology (USA)
2005年7月27日

吉田祐樹 (京大生態研)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)
シロイヌナズナの環境に応答したトライコーム密度制御におけるジャスモン酸の関与
イネ・シロイヌナズナ合同ワークショップ (奈良県文化会館)
2005年7月6日

高林純示 (JST/CREST・京大生態研)
かおりの生態学 —生物間相互作用が関与する植物成分とその機能について—
地球環境大学2005講座 (環境学習センター) 2005年9月3日

高林純示 (JST/CREST・京大生態研)
かおりの生態学—生物間の相互作用に関与する植物成分とその機能について
フィトンチッドフォーラム (東京大学 弥生講堂) 2005年9月7日

松井健二 (JST/CREST・山大農)、小澤理香 (JST/CREST)、高林純示 (JST/CREST・京
大生態研)
シロイヌナズナにおける13-ヒドロペルオキシドリアーゼ遺伝子の過剰発現は、灰色かび病
抵抗性を高める
平成17年度日本植物病理学会 関西部会 (名城大学) 2005年9月18日

松島 良 (京大生態研)、小澤理香 (JST/CREST)、上船雅義 (京大生態研)、高林純示
(JST/CREST・京大生態研)
リママメに異なる匂いブレンドを誘導するカンザワハダニの系統
研究領域「植物の機能と制御」第3回公開シンポジウム (コクヨホール)
2005年9月27日

吉田祐樹 (京大生態研)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)
気体のジャスモン酸メチルはシロイヌナズナのトライコーム密度を増加させる
研究領域「植物の機能と制御」第3回公開シンポジウム (コクヨホール)
2005年9月27日

浅井尚子 (JST/CREST)、室井敦 (京大院農)、古市卓也 (名大院医)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)、西岡孝明 (JST/CREST・京大院農)
シロイヌナズナにおける揮発性化合物の受容・伝達メカニズムの解明
研究領域「植物の機能と制御」第3回公開シンポジウム (コクヨホール)
2005年9月27日

松井健二 (JST/CREST・山大農)、植田茉莉(山大農)、岸本久太郎 (JST/CREST)、小澤理香 (JST/CREST)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)
みどりの香り生成能欠損変異体 *all84* の単離とその性質
研究領域「植物の機能と制御」第3回公開シンポジウム (コクヨホール)
2005年9月27日

松井健二 (JST/CREST・山大農)、小澤理香 (JST/CREST)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)
遺伝子工学的手法で植物のみどりの香り産生能を高めると菌類病抵抗性が誘導される
研究領域「植物の機能と制御」第3回公開シンポジウム (コクヨホール)
2005年9月27日

Kaori Shiojiri (UC Davis)、Rika Ozawa (JST/CREST) and Junji Takabayashi (JST/CREST・京大生態研)
Host Plant Volatiles rather than Light Determines the Nocturnal Behavior of a Caterpillar
The Fifth Asia-Pacific Congress of Entomology (Ramada Plaza Jeju Hotel, Jeju, South Korea)2005年10月21日

Kyutaro Kishimoto (JST/CREST)、Rika Ozawa (JST/CREST)、Junji Takabayashi (JST/CREST・京大生態研) and Kenji Matsui (JST/CREST・山大農)
The overexpression or suppression of 13-hydroperoxide lyase in *Arabidopsis* affects the resistance against *Botrytis cinerea*.
First Asian Symposium on Plant Lipids (東京大学駒場キャンパス)2005年11月27日

岸本久太郎 (JST/CREST)、松井健二 (JST/CREST・山大農)、小澤理香 (JST/CREST)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)
プラントトークによる灰色カビ病抵抗性の強化
研究領域「植物の機能と制御」第4回公開シンポジウム (コクヨホール)
2006年1月23日

浅井尚子 (JST/CREST)、室井敦 (JST/CREST・京大院農)、古市卓也 (名大院医)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)、西岡孝明 (JST/CREST・京大院農)
シロイヌナズナにおける揮発性化合物の受容・伝達メカニズムの解明
研究領域「植物の機能と制御」第4回公開シンポジウム (コクヨホール)
2006年1月23日

塩尻かおり (カリフォルニア大学)、岸本久太郎 (JST/CREST)、小澤理香 (JST/CREST)、松井健二 (JST/CREST・山大農)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)
「みどりの香り」は植物の食害および感染に対する防衛に関わる
研究領域「植物の機能と制御」第4回公開シンポジウム (コクヨホール)
2006年1月23日

吉田祐樹 (京大生態研)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)

傷害に応答して可塑的に変化するシロイヌナズナのトライコーム密度制御の遺伝学的解析
第 47 回日本植物生理学会年会 (筑波大学) 2006 年 3 月 20 日

浅井尚子 (JST/CREST)、古市卓也 (名大院医)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)、
西岡孝明 (JST/CREST・京大院農)

シロイヌナズナにおける揮発性化合物の受容・伝達メカニズムの研究
第 47 回日本植物生理学会年会 (筑波大学) 2006 年 3 月 21 日

西岡孝明 (JST/CREST・京大院農)

カイコガにおける性フェロモン受容機構

日本農芸化学会大会シンポジウム (京都女子大学) 2006 年 3 月 28 日

長 泰行 (京大生態研)、高林 純示 (JST/CREST・京大生態研)

ナミハダニ食害リママメの花外蜜生産は食害前の HIPV 受容によって増加する

第 50 回日本応用動物昆虫学会大会 (筑波大学) 2006 年 3 月 29 日

光野秀文 (京大院農)、櫻井健志 (東大情報理工)、一田昌利 (京工繊大)、安田哲也 (中央
農研)、釘宮聡一 (京大生態研)、小澤理香 (JST/CREST)、高林純示 (JST/CREST・京大
生態研)、西岡孝明 (JST/CREST・京大院農)

蛾類の性フェロモン受容体遺伝子の単離と機能解析

第 50 回日本応用動物昆虫学会大会 (筑波大学) 2006 年 3 月 29 日

岸本久太郎 (山大農)、松井健二 (JST/CREST・山大農)、小澤理香 (京大生態研)、高林純
示 (JST/CREST・京大生態研)

灰色かび病を罹病したシロイヌナズナから放出される揮発成分は、近接するシロイヌナズ
ナの防御応答を活性化する

平成 18 年度日本植物病理学会大会 (札幌コンベンションセンター) 2006 年 6 月 4 日

光野秀文 (京大院農・JST/CREST)、櫻井健志 (東大先端研)、一田昌利 (京工繊大)、安
田哲也 (中央農研)、釘宮聡一 (京大生態研)、小澤理香 (京大生態研)、高林純示 (京大生
態研・JST/CREST)、西岡孝明 (京大院農・JST/CREST)

蛾類の性フェロモン受容体遺伝子の単離と機能解析

日本味と匂学会第 40 回大会(九州大学医学部百年講堂)2006 年 7 月 11~13 日

塩尻かおり (京大生態研)、小澤理香 (京大生態研)、岸本久太郎 (山大農)、松井健二
(JST/CREST・山大農)、釘宮聡一 (京大生態研)、有村源一郎(ブリティッシュコロロンビア
大学)、西岡孝明 (JST/CREST・京大院農)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)

Genetic Modification of Green Leaf Volatile Biosynthesis in Plants: Its Potential in
Integrated Pest Management.

22st Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology (バルセロナ大学)
2006 年 7 月 15 日~19 日

Kyutaro Kishimoto(山大農)、Rika Ozawa (京大生態研)、Junji Takabayashi
(JST/CREST・京大生態研)、Kenji Matsui (JST/CREST・山大農)

PAD2-dependent signaling pathway takes an essential role in C₆-aldehyde-induced
defensive response in Arabidopsis thaliana

The 17th International Symposium on Plant Lipids (Michigan State University)

2006 年 7 月 16~21 日

Kyutaro Kishimoto (山大農)、Kenji Matsui (JST/CREST・山大農)、Rika Ozawa (京大

生態研)、Junji Takabayashi (JST/CREST・京大生態研)
Green leaf volatiles are involved in direct and indirect defense in Arabidopsis
17th International Symposium on Plant Lipids (Michigan State University)
2006年7月16~21日

松井健二 (JST/CREST・山大農)、南朱里 (山大農)、Ellen Hornung (Goettingen University, Goettingen, Germany)、柴田英俊 (山大農)、岸本久太郎 (山大農)、Volker Ahnert (Philipps-University, Marburg, Germany)、Helmut Kindl (Philipps-University, Marburg, Germany)、梶原忠彦 (山大農)、Ivo Feussner (Goettingen University, Goettingen, Germany)

キュウリにおいてオキシリピンアルデヒドは機械傷で誘導され、抗菌性を示す
研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム・日本植物細胞分子生物学会 (筑波大学) 2006年7月30日

岸本久太郎 (山大農)、松井健二 (JST/CREST・山大農)、小澤理香 (京大生態研)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)

灰色かび病を罹病したシロイヌナズナから放出される揮発成分は、近接するシロイヌナズナの防御応答を活性化する

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム・日本植物細胞分子生物学会 (筑波大学) 2006年7月30日

岸本久太郎 (山大農)、松井健二 (JST/CREST・山大農)、小澤理香 (京大生態研)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)

みどりの香りは植物の防御応答を活性化し菌類病抵抗性を誘導する

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム・日本植物細胞分子生物学会 (筑波大学) 2006年7月30日

岸本久太郎 (山大農)、松井健二 (JST/CREST・山大農)、小澤理香 (京大生態研)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)

みどりの香り合成経路の改変は植物の菌類病抵抗性に影響を及ぼす

「植物の機能と制御」研究領域 第5回公開シンポジウム・日本植物細胞分子生物学会 (筑波大学) 2006年7月30日

松島 良 (京大生態研)、小澤理香 (京大生態研)、上船雅義 (京大生態研)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)

リママメに異なる匂いブレンドを誘導するカンザワハダニの系統

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム・日本植物細胞分子生物学会 (筑波大学) 2006年7月30日

塩尻かおり (京大生態研)、岸本久太郎 (山大農)、小澤理香 (京大生態研)、松井健二 (JST/CREST・山大農)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)

「みどりの香り」は植物の食害および感染に対する防衛に関わる

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム・日本植物細胞分子生物学会 (筑波大学) 2006年7月30日

塩尻かおり (京大生態研)、小澤理香 (京大生態研)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)
植物の匂い生産日周性と昆虫の日周活動性との関係—トウモロコシ—アワヨトウ—カリヤコマユバチにおいて—

研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム・日本植物細胞分子生物学会 (筑波大学) 2006年7月30日

波大学) 2006年7月30日

室井敦 (JST/CREST・京大院農)、油野洋子 (京大院農)、堀内淳一郎 (京大院農)、浅井尚子 (京大院農)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)、西岡孝明 (JST/CREST・京大院農)
シロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana* における匂い受容体の探索及び GPCR 候補遺伝子の機能解析
研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム・日本植物細胞分子生物学会 (筑波大学) 2006年7月30日

浅井尚子 (JST/CREST)、古市卓也 (名大院農)、室井敦 (JST/CREST・京大院農)、高林純示 (JST/CREST・京大生態研)、西岡孝明 (JST/CREST・京大院農)
シロイヌナズナにおける食害で発生する揮発性化合物の受容・伝達機構に関する研究
研究領域「植物の機能と制御」第5回公開シンポジウム・日本植物細胞分子生物学会 (筑波大学) 2006年7月30日

光野秀文 (JST/CREST・京大院農)、櫻井健志 (東大先端研)、一田昌利 (京工繊大)、安田哲也 (中央農研)、釘宮聡一 (京大生態研)、小澤理香 (京大生態研)、高林純示 (京大生態研・JST/CREST)、西岡孝明 (京大院農・JST/CREST)
蛾類の性フェロモン受容体遺伝子の単離と機能解析
昆虫ワークショップ06 (金沢石川県青少年総合研修センター「ユースパルいしかわ」)
2006年9月13~15日

- | | |
|----------|---------------------|
| ① 招待講演 | (国内会議 11件、国際会議 3件) |
| ② 口頭発表 | (国内会議 18件、国際会議 12件) |
| ③ ポスター発表 | (国内会議 25件、国際会議 14件) |

(4) 特許出願

① 国内出願 (4件)

1. 発明の名称：植物における害虫の天敵誘引機能の向上方法

発明者：高林純示、西岡孝明、小澤理香、有村源一郎、堀内淳一郎、室井敦

出願人：科学技術振興事業団

出願日：平成14年10月28日

出願番号：2002-313334

2. 発明の名称：植物用抵抗性誘導剤、植物の抵抗性誘導方法、及び植物の病害・予防方法

発明者：松井健二、岸本久太郎、高林純示

出願人：科学技術振興事業団

出願日：平成15年7月22日

出願番号：2003-199977

3. 発明の名称(特願)：昆虫性フェロモン受容体タンパク質及びその利用

発明者：西岡 孝明、櫻井 健志、高林 純示、森 肇、遠藤 泰久、東原 和成、
安河内 祐二

出願人：科学技術振興事業団

出願日：平成15年7月31日

出願番号：2003-204926

4. 発明の名称：害虫行動抑制成分、およびその利用
発明者：高林純示、小澤理香、塩尻かおり
出願人：独立行政法人科学技術振興機構
出願日：平成16年8月31日
出願番号：2004-249226

②海外出願（0件）

(5)受賞等

①受賞
該当なし

②新聞報道
西岡 孝明
カイコガの性フェロモン受容体の遺伝子特定
平成16年11月16日 毎日、朝日、読売、中日、産経、京都等各紙夕刊
平成16年11月17日 朝日

高林純示
PLOS Biology 誌に掲載されたアワヨトウの夜行性を決める要因が植物のかおりである、
という研究成果に関する解説
平成18年5月7日 日経
平成18年5月15日 NHK 京都放送局
平成18年5月16日 朝日、毎日、読売、産経、中日、京都、共同通信等各紙夕刊
平成18年6月4日 赤旗新聞

高林純示
Proceedings of Natural Academy of Science 誌に掲載された緑色植物にみられる「緑
の香り」成分が植物の病気に抵抗力をもつ、という研究成果に関する解説
平成18年10月31日 朝日、日経、京都等各紙
平成18年11月1日 日刊工業
平成18年11月3日

③その他
該当なし。

(6)その他特記事項

該当なし。

7 研究期間中の主な活動

(1)ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
H14.11.25	JST/CREST 高林チームの研究の進捗状況を検討する。	京都大学農学部	15人	各グループより、これまでの成果について報告があり、今後の展開について議論した。
H15. 7.16	研究進捗状況検討会議	京都大学大学院農学研究科	11人	これまでの成果についての報告と今後の展開について議論した。
H15.11.29	研究連絡会議	山口大学農学部	7人	これまでの成果についての報告と今後の展開について議論した。
H16.11.17 ～11.19	今後の共同研究の立ち上げを行うための国際シンポジウム	コープイン京都	100人	BBSRC-JST/CREST JOINT INTERNATIONAL WORKSHOP “A post-genomic approach to understanding and exploiting multitrophic interactions.”イギリスからの参加者は Poppy 博士他 8 名である。またアメリカより Kessler 博士、イタリアより Maffei 教授が参加した。さらに生態学研究センターに客員教授として滞在中の McNeil 教授も参加し、議論した。
H17.1.20	研究連絡会議	京都大学大学院農学研究科	11人	これまでの研究成果についての報告と今後の計画について議論した。
H17.3.31	今後の研究に役立つ情報収集のためのセミナー	京都大学大学院農学研究科	20人	植物における外的刺激受容に関与するイオンチャネルの電気生理学的解析のセミナーを行った。
H17.12.5	研究連絡会議	京都大学大学院農学研究科	10人	これまでの研究成果についての報告と今後の計画について議論した。

8 結び

植物は植食性の節足動物（害虫）の食害を受けると、特異的な揮発性成分を誘導的に生産し、その害虫の天敵を誘引する。これは植物の誘導的な間接防衛と考えることができる。本研究グループの目標の一つは、この間接誘導防衛の制御機構を解明することであった。具体的には、揮発性成分の誘導的生産のキーとなる害虫由来の因子（エリシター）の解明と、揮発性物質を構成するテルペン化合物合成遺伝子の単離と制御機構の解明が当初の目的であった。エリシターに関しては、重要害虫であるナミハダニをターゲットとして研究を行い共生微生物がエリシターとして関与していることを示した。エリシターが単一の二次代謝産物であるという考え方を覆す興味深い成果である。また詳細な研究の詰めが残るため、期間内の学術誌への投稿は間に合わなかった。制御機構では、ミヤコグサ、シロイヌナズナで、害虫の食害誘導的に生産が始まるオシメンの合成酵素を同定した。ミヤコグサでこの酵素の転写後制御の可能性を示したのは興味深い成果であったが、その後更に踏み込んだ研究に展開するにはさらに数年の期間が必要であろう。一方、食害応答で生産される緑の香りの生合成を制御しているヒドロペルオキシドリアーゼのセンス体、アンチセンス体を用いて緑の香りが植物の誘導防衛に深く関わっていることを実証したのは大きな成果といえる。また、ポリアミンが誘導防衛に関与している事実も発見し、現在イタリアトリノ大学と共同で研究を進めている。ポリアミンの誘導防衛における関与は新規の事実であり、重要な発見である。また研究を遂行している間に次々と新たな知見が得られたが、それらも適切に実験計画に取り込んだ。具体的には ABA に関する研究、カンザワハダニの 2 型を用いたシグナル伝達の研究などがあげられる。

本研究グループのもう一つの柱は、植物間のコミュニケーションの分子メカニズムの解明である。これに関しては、シロイヌナズナを用いて新たな知見が数多く得られている。植物間のコミュニケーションで化学情報をどの様に植物が受容するのか、についての研究を進めたが、その研究と並行して行われた昆虫の性フェロモン受容体の解明は、それ自体新規性が極めて高いものであるだけでなく、植物の揮発性物質受容の研究にも大きく貢献する成果であった。さらにグルタチオンも受容体の候補として検出できたことは特筆すべき成果と言える。グルタチオンに関しても、それが関与する植物揮発性物質の受容機構の解明にはまだ数年の研究の継続が不可欠である。さらに植物間コミュニケーションで活性化する遺伝子群を詳細に調べることで、コミュニケーションが非常に複雑なものであることも明らかにできた。

本プロジェクトにおいては、各研究チームが有機的に共同研究を行い、様々な新規の知見を得ることができた。またその知見から新たな研究シーズが次々と得られた点非常に有意義な研究期間を過ごすことができたと考える。研究の進展が後半に顕著で、その成果の論文化を今後優先して進めることが肝要であると考えます。

最後に、鈴木統括ならびに井上技術参事には本研究の推進にあたって数多くのご指導を賜りました。深く御礼申し上げます。また「植物の機能と制御」領域事務局の方々および科学技術振興機構に感謝いたします。

写真 BBSRC-CREST 共催日英シンポジウム 遺伝子から解き明かす生態系生物間相互作用
-基礎研究から応用まで-



オーガナイザー 高林、Poppy、戒能