

Theobroxide 処理による植物応答機構の有機化学的解明

葵 新

応用生物学専攻 生物有機化学分野

第一部 UPLC-ESI-MS/MS を用いた JA 類・SA 類の定量法の確立

植物において病傷害抵抗性に深く寄与しているジャスモン酸 (Jasmonic acid :JA) とサリチル酸 (salicylic acid :SA) は、互いに抑制しあう関係にあると提唱される一方、拮抗関係を否定する報告もなされている。そこで本研究では、JA 類や SA 類について定量を行うために重水素標識した内部標準物質を調製し、UPLC-ESI-MS/MS の MRM モードを用いて簡便かつ一括して行う定量法を構築した。また、実際に各種ストレスを与えた植物体の定量を行い、本法の汎用性を証明した。

第二部 Theobroxide 処理による植物応答機構の解明

[背景・目的]

Theobroxide は植物病原菌 *Lasiodiplodia theobromae* の培養液から単離、構造決定された化合物であり、非誘導条件である長日条件下でのバレイショ塊茎形成誘導、アサガオ花芽形成誘導などの様々な興味深い生理活性が知られている。本研究では、実験植物としてタバコとササゲに theobroxide 処理し、更に UV 処理を行った際に処理前後で SA 生合成にどのような影響を及ぼすか調べた。また、theobroxide 処理により蓄積する化合物の単離、構造決定を行った。

[結果・考察]

<UV 処理時における効果>

1 mM theobroxide 水溶液により灌水処理したタバコ、ササゲでは、コントロールと比較して SA 類の内生量はほぼ同量であった。このことから、theobroxide 処理のみでは SA 量に影響は及ぼさないと考えられる。しかし、UV 処理を行い 48 時間経過した植物体においてはコントロールで SA が増加しているにもかかわらず、theobroxide 処理した植物体では SA の増加が抑制された。そこで、桂皮酸経路の SA 生合成酵素である benzoic acid 2-hydroxylase (BA2H) の粗酵素活性を調べた。この結果、BA2H 活性には有意な差がみられなかったことから、theobroxide は BA2H ではなく、イソコリスミン酸経路における isochorismate synthase (ICS) の活性を抑制しているのではないかと考えられる。

<Theobroxide 処理によって増加する化合物の探索>

1 mM theobroxide 水溶液を灌水処理したササゲを UPLC-TOF-MS に供し多変数解析を行ったところ、 m/z 363 の化合物の増加が顕著に見られた。そこで、この化合物について UPLC-TOF-MS 分析を指標に単離、構造決定を試みたところ theobroxide の配糖体である化合物 (1) (Fig. 1) であることが明らかとなった。分子量 304 の化合物 (1) が、UPLC-TOF-MS (negative ion mode) において m/z 363 のピークとして検出される原因を詳細に解析したところ、移動相に含まれる酢酸由来であることが確認された。

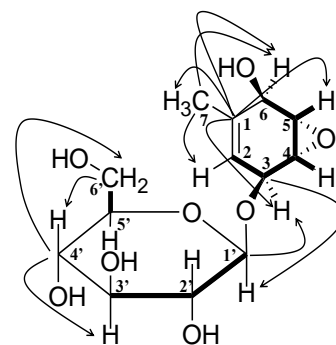


Fig. 1. 化合物 (1) の COSY と重要な HMBC の相関
— COSY
→ HMBC