

植物病原菌 *Lasiodiplodia theobromae* におけるジャスモン酸生合成 に関する研究

バイオマス転換学講座 化学生物学分野

塚田 耕平

【背景と目的】 植物病原菌 *L. theobromae* は植物ホルモンであるジャスモン酸を生産することが知られている。ジャスモン酸は維管束植物や蘚類において遊離のリノレン酸を出発物質として、リノレン酸カスケード(オクタデカノイド経路)で生合成される。この経路はリポキシゲナーゼの作用により分子状の酸素が添加されることによって起こり、AOS (allene oxide synthase) によるエポキシ化、AOC (allene oxide cyclase) による五員環形成、12-oxo-PDA reductase による還元、3度わたる β 酸化を経てジャスモン酸が合成される。しかしながら糸状菌におけるリノレン酸カスケードによるジャスモン酸合成の証明は行われていない。そこで本研究は本菌におけるジャスモン酸生合成経路を明らかにし、ジャスモン酸合成におけるリノレン酸カスケードの普遍性を証明することを目的として行った。

【方法及び結果】 *L. theobromae* の培養液を UPLC-MS/MS を用いて分析し、培養液中に、植物におけるジャスモン酸生合成中間体である OPC-4:0 が存在することを確認した。そこで本菌が植物と同様の生合成機構でジャスモン酸を生産していると推定し、本菌に対し、2種の ^{13}C -標識した酢酸ナトリウムの取り込み実験を行った。 ^{13}C -標識した酢酸ナトリウムを添加した本菌培養液よりジャスモン酸を単離し、メチル化後、 ^{13}C NMR 分析した。その結果、ジャスモン酸に6つの酢酸ユニットが導入され、本菌が植物と同様に脂肪酸生合成経路からジャスモン酸を生合成していることが明らかとなった。さらに、植物におけるジャスモン酸生合成前駆体であるリノレン酸の取り込み実験を計画した。標識化合物として、 $[9,10,12,13,15,16\text{-}^2\text{H}_6]$ -リノレン酸を合成した。炭素鎖 10 のアルキンである dec-2-yn-1-ol を出発物質として、銅を用いたアルキンのカップリング反応、チタンと重水を用いたアルキンの立体選択的還元などの鍵反応を経て、全 7 工程、収率 2.3% で $[9,10,12,13,15,16\text{-}^2\text{H}_6]$ -リノレン酸を合成した。次に合成した $[9,10,12,13,15,16\text{-}^2\text{H}_6]$ -リノレン酸を本菌培養液に添加し、培養液からジャスモン酸を部分精製し、次いでメチル化後、GC-MS 分析した。その結果、分子イオンピークが4または5質量単位ずれた $[^2\text{H}_4]$ - 及び、 $[^2\text{H}_5]$ -ジャスモン酸メチルに相当するピーク (m/z 228 及び 229) が検出され、本菌においてジャスモン酸がリノレン酸より生合成されたことが証明された。また、高分解能 MS 分析及び3種の重水素ジャスモン酸メチル MS 分析結果からジャスモン酸メチルの MS フラグメンテーションを明らかにした。 $[^2\text{H}_5]$ -ジャスモン酸メチルのフラグメントイオンを非標識ジャスモン酸メチルのそれらと比較した結果、シクロペンタン上に3個ないし2個、アルケン側鎖上に2個の重水素の存在が確認された。この標識パターンはジャスモン酸のリノレン酸カスケードによる生成を支持する。

【結論】 本研究では、安定同位体標識した酢酸ナトリウム及びリノレン酸を用いて *L. theobromae* に対する取り込み実験を行った。その結果、本菌が高等植物と同様に、リノレン酸を前駆体としてジャスモン酸を生合成することを支持するデータが得られた。