

## キンクロラックと合成オーキシシン剤のシロイヌナズナにおける作用性比較

氏名：河野 裕之（筑波大学 生物学類）

指導教員：松本 宏（筑波大学 生命環境系）

### 背景・目的

キンクロラックは、オーキシシン型除草剤に分類されている水稻・芝地用の薬剤である。本剤を広葉植物に処理すると、オーキシシンと同様の症状が観察されることから、オーキシシン剤として分類されている。しかしながら、イネ科植物での症状や作用は他の合成オーキシシン剤と同一でないことや、他のオーキシシン剤とは異なりイネ科植物間に非常に高い選択性を有することから、キンクロラックのイネ科植物での作用機構はオーキシシン剤と同一でない可能性が考えられる。

オーキシシンは、transport inhibitor response 1 (TIR1)/auxin-related F-box proteins (AFB)、およびオーキシシン結合タンパク質 1 (ABP1) によって受容される。TIR1/AFB 受容体では、オーキシシンが結合するとユビキチンリガーゼ複合体が転写抑制因子 auxin/indole-3-acetic acid (AUX/IAA) の分解を促進して、オーキシシン応答が現れる。

合成オーキシシン剤が TIR1/AFB 受容体群の中のいずれと親和性が高いかは、化合物ごとに異なっていることが次第に明らかとなってきた。シロイヌナズナを用いた試験では、ピクロラム（オーキシシン型除草剤）は AFB4 や AFB5 との結合が除草活性の作用発現に関係していることが報告されている。しかし、キンクロラックについては、作用発現における TIR1/AFB 受容体の役割については不明であった。

また、本研究の先行研究において、2,4-D（オーキシシン型除草剤）はトウモロコシのオーキシシン結合タンパク質 (ABPs) と結合活性が高いのに対して、キンクロラックはほとんど結合活性がなかったことから、キンクロラックのオーキシシン受容体との親和性は他の合成オーキシシン剤と異なることが考えられた。

そこで本研究では、まずシロイヌナズナを用いて、キンクロラックの作用特性と作用発現における TIR1/AFB 受容体の役割について、代表的な合成オーキシシン剤である 2,4-D と比較しながら検討することを目的とした。

### 材料

#### 供試植物：

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* L. Heynh)

#### 供試薬剤：

キンクロラック (3,7-Dichloro-8-quinolinecarboxylic acid)  
2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid)

### 実験方法

#### 1. 薬剤の生育阻害活性

MS 寒天培地にキンクロラックおよび 2,4-D 溶液を添加し、シロイヌナズナを播種後 10 日間生育させた後、根長を測定し、各薬剤の 50% 生育阻害濃度 (GR<sub>50</sub> 値) を算出した。

#### 2. 生育阻害作用における TIR1/AFB 受容体アンタゴニストの添加効果

MS 寒天培地で発芽させたシロイヌナズナを、GR<sub>50</sub> 濃度のキンクロラックおよび 2,4-D 溶液、さらに PEO-IAA (TIR1/AFB 受容体アンタゴニスト) を添加した MS 寒天培地に移植し、7 日間生育させた。その後、根長を薬剤単独処理区とアンタゴニスト混合処理区で比較した。

#### 3. オーキシシン誘導性レポーター遺伝子 (*DR5::GUS* および *BA3::GUS*) を導入したシロイヌナズナ形質転換体での薬剤処理後の GUS 染色

それぞれのシロイヌナズナ形質転換体を MS 培地で 10 日間生育させ、キンクロラック溶液 (0、5、50、100、500 μM) および 2,4-D 溶液 (0、5、50 μM) に根部を 7h 浸漬する処理を行った。その後、GUS 染色液に一晩浸漬し、70% エタノールで植物体の色素を取り除き、顕微鏡を用いて *DR5::GUS* および *BA3::GUS* の発現パターンを観察した。

### 結果・考察

#### 1. 薬剤の生育阻害活性とアンタゴニストの添加効果

薬剤を添加した MS 寒天培地にて生育させたシロイヌナズナでの GR<sub>50</sub> 値は、キンクロラックで 25 μM、2,4-D で 0.05 μM であり、感受性に大きな違いが認められた。

また、キンクロラックおよび 2,4-D のいずれでも、単独処理区で認められた根部での生育抑制が、TIR1/AFB 受容体アンタゴニストの添加によって回復したことから、キンクロラックと 2,4-D の両薬剤のシロイヌナズナでの作用発現には、TIR1/AFB 受容体への結合が関与しているものと考えられた。

#### 2. オーキシシン誘導性レポーター遺伝子を導入したシロイヌナズナ形質転換体での薬剤処理後の GUS 染色

*DR5::GUS* を導入したシロイヌナズナ形質転換体では、2,4-D 処理では 5 μM 以上で、根部全体および第 2 葉において GUS の発現が見られたが、キンクロラック処理では 500 μM の高濃度でようやく第 2 葉のみに GUS の発現が見られた。このことから、キンクロラックのオーキシシンとしての主な作用部位は、2,4-D とは異なり、根部ではなく葉部であると考えられ、それが 2,4-D との大きな感受性差に繋がっているものと考えられた。また、*BA3::GUS* を導入したシロイヌナズナ形質転換体では、2,4-D は 5 μM 以上で、茎葉部において GUS の発現が見られたが、キンクロラック処理では 500 μM の高濃度でも GUS の発現誘導は見られなかった。このことから両薬剤で結合する受容体が同一ではない可能性も考えられたが、さらなる検討が必要である。

### 今後の展望

キンクロラックの除草活性の作用発現に関与している TIR1/AFB 受容体の詳細の検討と、ABP1 の関与についても検討する。