

## メタチロシンによるレタス根部における活性酸素発生機構

中村 真之 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 松本 宏 (筑波大学 生命環境系)

## 背景および目的

環境への影響と生物への安全性を考慮した持続可能な農業のために、低薬量で効果が大きく、高選択性かつ高分解性の除草剤が求められている。天然に存在する物質は環境で容易に分解されることが期待されるため、除草剤の開発で注目されており、その候補物質群として一つの植物が離れて生活している他の植物に影響を与える現象の原因物質、アレロケミカルがある。本研究室において、植物毒性をもつアレロケミカルである L-DOPA と類似の構造をもつ化合物物について検討した結果、メタチロシンにも植物毒性があることが示された。後に、メタチロシンは fescue という植物の根から滲出し、他の植物に影響することがわかり、アレロケミカルであると認識されるようになった。また、メタチロシンの植物毒性の作用機構は、L-DOPA と異なる可能性も示されている。これまでに L-DOPA による植物毒性がアスコルビン酸によって軽減されることが確認され、メラニン合成中間体 (ドーパキノンドーパミンキノン) 生成時に発生する活性酸素が L-DOPA による植物毒性に関与している可能性が示されている。なお、植物体におけるドーパキノンドーパミンキノン生成にはポリフェノールオキシダーゼ(PPO)が深く関与していることが知られている。

本研究では、先行研究でメタチロシンに感受性とされたレタスを用い、メタチロシンによる植物毒性への活性酸素の関与を検討し、さらに活性酸素の発生機構に迫ることを目的とした。

## 材料

## 供試植物

レタス (*Lactuca sativa* L. cv. Great Lakes 366)

## 供試薬剤

メタチロシン(3-hydroxy-L-phenylalanine)

L-DOPA(3,4-dihydroxy-L-phenylalanine)

フェニルアラニン

アスコルビン酸

ケイ皮酸(3-phenyl-2-propenoic acid)

## 実験方法

## ・生物試験

発芽させた種子を、プラントボックスに作成した 0.5%寒天培地、0.1 mM メタチロシンを含む 0.5%寒天培地、0.1 mM メタチロシンと 1 mM フェニルアラニンを含む 0.5%寒天培地、0.1 mM L-DOPA を含む 0.5%寒天培地、0.1 mM L-DOPA と 1 mM フェニルアラニンを含む 0.5%寒天培地にそれぞれ移植し、グロースチャンパー(昼/夜: 12h/12h, 25°C/20°C)において生育させ、処理後 3 日目の根部長を測定した。

## ・TBARS 試験

薬剤処理後 3 日目の植物の根部を採取し、液体窒素を用いて磨砕した。これに 0.1% TCA を加えホモジナイズ後、10,000 × g・4°C で 20 分間遠心し、上清 500 μl に 0.5% TBA を含む 20% TCA 1 ml を加え、98°C で 30 分間静置した。その後氷上で 5 分間静置し、再度 10,000 × g・4°C で 5 分間遠心した後、532 nm と 600 nm の吸光度から TBARS 量を算出した。

## ・ポリフェノールオキシダーゼ阻害剤の添加

発芽させた種子を、プラントボックスに作成した 0.5%寒天培地、0.1 mM メタチロシンを含む 0.5%寒天培地、0.1 mM メタチロシンと 100 μM アスコルビン酸を含む 0.5%寒天培地、0.1 mM メタチロシンとケイ皮酸を含む 0.5%寒天培地にそれぞれ移植し、グロースチャンパー(昼/夜: 12h/12h, 25°C/20°C)において生育させ、処理後 3 日目の根部長を測定した。

## 結果および考察

## ・生物試験

レタスの根部はメタチロシン、L-DOPA 処理により生育が抑制された。またメタチロシンとフェニルアラニンを同時処理すると根長にコントロールとの差が見られなくなった。この結果はフェニルアラニンがメタチロシン処理時における生育抑制の軽減させる作用をもつことを示している。一方で L-DOPA とフェニルアラニンを同時処理してもフェニルアラニンを同時処理しなかった場合と根長に差は見られなかった。

## ・TBSRS 試験

メタチロシンに感受性とされたレタスにおいて、メタチロシン処理後 3 日目に TBARS 量の増加が見られた。また、レタスにフェニルアラニンを同時処理すると TBARS 量にコントロールとの差が見られなくなった。この結果はメタチロシン処理によってレタス根部における過酸化脂質が増加していること、フェニルアラニンがメタチロシン処理時における過酸化脂質の増加を抑制していることを示している。

## ・ポリフェノールオキシダーゼ阻害剤の添加

メタチロシンとアスコルビン酸およびメタチロシンとケイ皮酸を同時処理しても、これらを同時処理しなかった場合と根長に差は見られなかった。この結果はメタチロシンによる活性酸素発生がメラニン合成中間体生成と関与していない可能性を示している。

## 今後の予定

L-DOPA とポリフェノールオキシダーゼ阻害剤を同時処理した場合における、メタチロシンとの作用性比較を行う。さらにメラニン合成中間体生成以外の活性酸素発生機構の検討を行うことで、メタチロシンの植物毒性作用の解明に迫る。