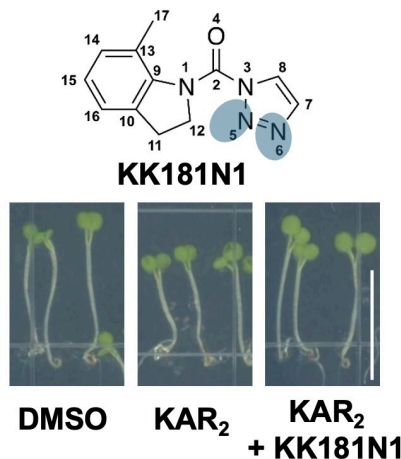


# KAI2 由来生理現象解明を可能にする KAI2 阻害剤を発見

## ——作物の潜在的な能力応用へ——

### 発表のポイント

- ◆植物が燃焼する際に生じる煙由来分子として植物の成長と発達を制御するカリキン (KARs) の受容体 KAI2 に選択的に作用する世界初の阻害剤 KK181N1 を開発し、その結合様式を明らかにすることで KAI2 機能解明を可能にただけでなく、さらなる高活性型 KAI2 阻害剤創製の道筋を示すことに成功しました。
- ◆KAI2 阻害剤の発見により、互いの作用が似ているためにこれまでは単独の機能解析が困難であった KARs 信号とストリゴラクトン (SLs) 信号により生じる生理現象の違いを明確に示すことを可能にする世界初の化学ツールを提供することができました。
- ◆この化合物を応用して多様な作物における KAI2 受容体の機能を解明することで、作物の生育を促進させたり、ストレス耐性を高めたりといった、作物の潜在的な能力を引き出すことが期待できます。



KAI2 阻害剤 KK181N1 の構造 (上段) とカリキン (KAR<sub>2</sub>) の胚軸伸長抑制効果を打ち消す KK181N1 の効果 (下段)

### 概要

東京大学大学院農学生命科学研究科の浅見忠男特任研究員 (横浜市立大学木原生物学研究所客員教授兼東京大学名誉教授) と京都大学大学院生命科学研究科の宮川拓也准教授らによる研究グループは、煙由来分子カリキン (KARs) の受容体「KAI2」(注1) を選択的に阻害する最初の化合物を開発し、その結合様式を明らかにしました。このトリアゾールウレア型化合物である「KK181N1」は、KAI2 に非共有結合的に結合し、モデル植物であるシロイヌナズナの KARs 誘導性形質を選択的に抑制することができます。さらに、KK181N1 は KARs 受容体と類似した機能や化合物受容性を持つストリゴラクトン (SLs) 受容体「D14」(注1) を介した SLs 信号には作用せず、KARs 信号に特異的に拮抗することが確認されました。この発見により、類似した作用を示す KARs と SLs の生理機能を区別することが可能となります。本研究は、KARs の基礎研究および農業応用への新たな展望を示しています。

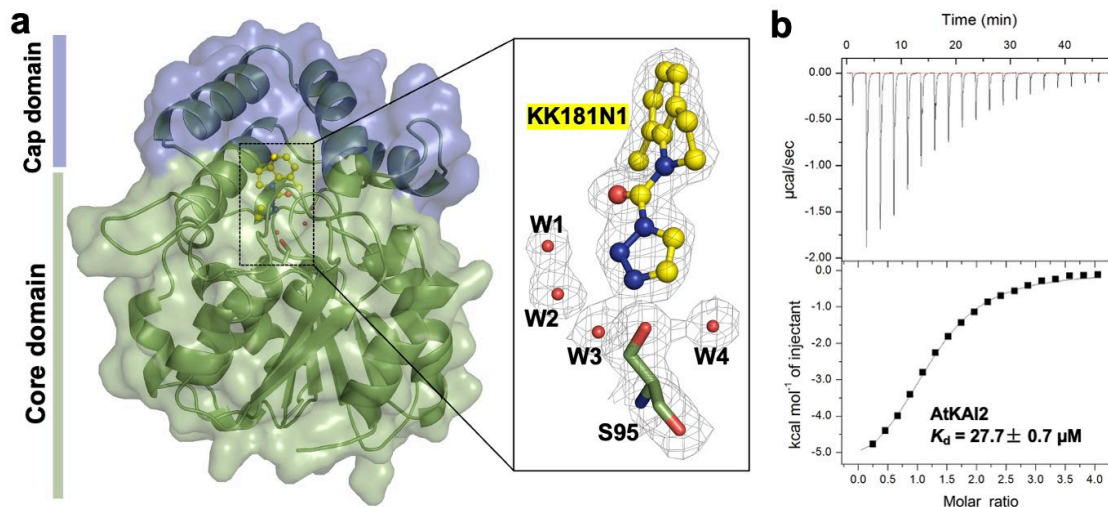


図 1 : KAI2 による KK181N1 の認識

- a) シロイヌナズナ由来 KAI2 (AtKAI2) と KK181N1 の複合体結晶構造  
 b) AtKAI2 に対する KK181N1 の結合を示す ITC (等温滴定熱量測定) 熱量曲線

## 発表内容

これまでの先行研究では生理活性物質であるカリキン (KARs) とストリゴラクトン (SLs) に誘導される生理現象が互いに似ているだけでなく、各々の受容体である KAI2 と D14 の性質も似ているために、各々の物質により誘導される生理現象を区別することが難しいという問題点が挙げられていました。このたび、本研究チームはトリアゾールウレア型 D14 共有結合阻害剤で得た結果に着想を得て、世界で初めて KAI2 受容体選択的な阻害剤である「KK181N1」の創製に成功しました。

まず、KAI2 阻害剤を見つけるため、トリアゾールウレア化合物を含むライブラリーを用いた化学スクリーニングを実施しました。その結果、モデル植物であるシロイヌナズナの KARs 誘発性形質 (胚軸伸長の抑制) を選択的に抑制する KK181N1 を特定しました。さらに、KAI2 との結合様式を結晶構造解析により解明し、KK181N1 が非共有結合的に KAI2 の触媒ポケットに結合することを明らかにしました。この結合には、KK181N1 におけるインドール環のメチル基の配向を制御するポケット内部の疎水性残基の配置に加え、ポケット底部の水分子を介した水素結合ネットワークや周辺残基が重要な役割を果たしており、特に触媒三残基 (S95-H246-D217) の形成が鍵となっていました (図 2)。こうした相互作用により、KK181N1 は KAI2 に対して高い親和性を示し、KARs と拮抗的に作用すると考えられます。この知見に基づき、KK181N1 のより高効率な誘導體 KKT3054 を設計し、その強力な KARs 阻害活性を実証しました (図 3)。

また、KK181N1 は高温環境下での種子発芽の抑制を逆転させる KARs 効果を阻害し、シロイヌナズナやレタスでの胚軸伸長や種子発芽を効果的に抑えることが示されました。一方で、SL 異存的に発芽する寄生植物 (*Striga hermonthica*) においては発芽抑制作用を示すことはなく、KK181N1 が KARs 信号に特化した阻害剤であることを確認しました。

本研究は、化学ツール設計において水分子ネットワークを操作する重要性を強調し、KARs 生物学のさらなる理解を促進する新しい手法を提案しています。この KK181N1 およびその誘導体は、KARs と SLs 信号を区別するための強力なツールとして、植物科学研究および農業への応用に貢献できます。

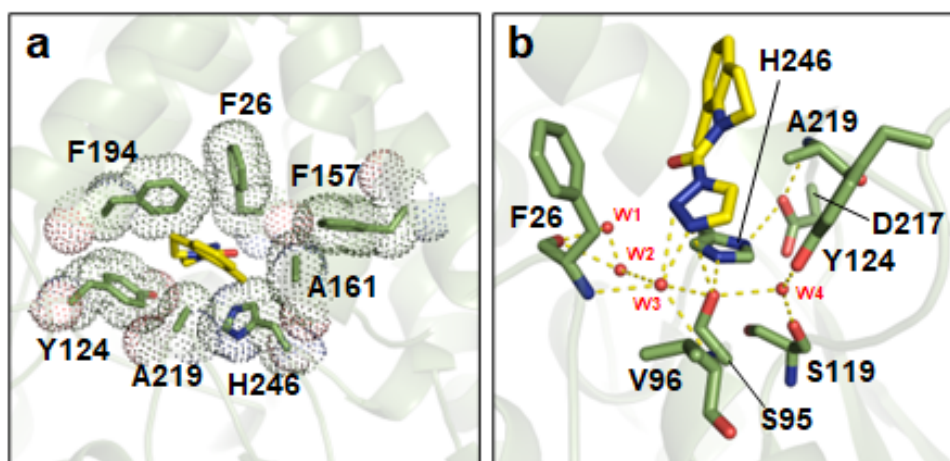


図 2 : KK181N1 の結合様式

- a) AtKAI2 の触媒ポケットにおいて KK181N1 のインドール環と接触する疎水性残基  
 b) ポケット底部で KK181N1 と水素結合ネットワークを形成する残基と水分子 (W1-W4)

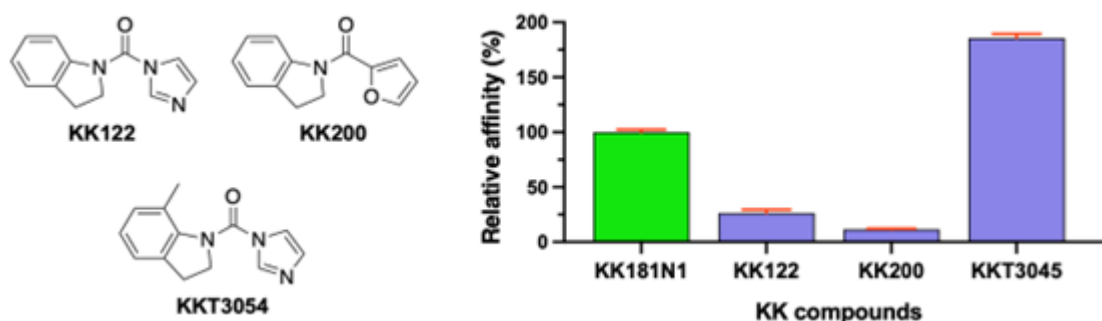


図 3 : 結晶構造に基づいて設計・合成された化合物の構造と活性

ITC により測定した AtKAI2 と KK 化合物の結合親和性 ( $K_d$  値) を用いて算出した相対親和性

## 発表者・研究者等情報

東京大学大学院農学生命科学研究科

浅見 忠男 特任研究員 (兼 : 横浜市立大学木原生物学研究所客員教授 東京大学名誉教授)

研究当時 : 東京大学大学院農学生命科学研究科 教授

王 建文 研究当時 : 博士課程

高橋 郁夫 特任研究員

京都大学大学院生命科学研究科

宮川 拓也 准教授

研究当時 : 東京大学大学院農学生命科学研究科 特任准教授

## 論文情報

雑誌名 : Nature Communications

題名 : Identification and structure-guided development of triazole urea-based selective antagonists of Arabidopsis karrikin signaling

著者名 : Jianwen Wang, Ikuo Takahashi, Ko Kikuzato, Toshihiko Sakai, Zhangliang Zhu, Kai Jiang, Hidemitsu Nakamura, Takeshi Nakano, Masaru Tanokura, \*Takuya Miyakawa & \*Tadao Asami

DOI: 10.1038/s41467-024-54801-1

URL: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-54801-1>

## 研究助成

本研究は、科研費「基盤 S (課題番号 : JP18H05266)」、「基盤 A (課題番号 : JP18H03939)」、CREST、AMED 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS) (課題番号 : JPama121010) の支援により実施されました。

## 用語解説

(注 1) カリキン受容体とストリゴラクトン受容体

KARs 受容体 KAI2 と SLs 受容体 D14 はともに  $\alpha/\beta$ -hydrolase に属する系統的に似た機能と構造をもつ受容体です。また KARs と SLs はその機能が似ているだけでなく、SLs 誘導体の異性体は KAI2 を活性化できます。そのためにこれまではその生理機能の違いは変異体を用いて解析されてきました。しかし KAI2 変異体が知られていない作物では、KARs と SLs の違いを明確にすることは難しいという状況がありました。今回の発見により多様な作物における KAI2 受容体の機能解析ができるようになり、得られた知見を作物増収に応用することが可能になります。