

雑草が獲得した最強の除草剤抵抗性メカニズムの解明

—解毒酵素の一斉活性化—

概要

雑草の管理には除草剤が利用されますが、同じ除草剤が繰り返し利用されると雑草が除草剤に抵抗性を獲得することがあります。中でも、除草剤を解毒することで抵抗性を獲得した「解毒型抵抗性」雑草は、化学骨格が異なる複数の除草剤に対して1個体が同時に抵抗性（多剤抵抗性）を示し、効果的な除草剤がほとんど残っていないケースも知られています。しかし、作物栽培において脅威となるこうした抵抗性の詳細なメカニズムはこれまでほとんど分かっていませんでした。

岩上哲史（京都大学大学院 農学研究科・助教）、宮下正弘（同准教授）、須田宏栄（同修士課程学生・研究当時）、久保朋美（同博士課程学生）らの研究グループは、米国で見つかった多剤抵抗性を示す強害雑草タイヌビエを解析し、多剤抵抗性は除草剤を解毒する複数の酵素遺伝子の一斉活性化によることを明らかにしました。近年日本で見つかった多剤抵抗性タイヌビエも類似のメカニズムを獲得していたことから、タイヌビエでは「一斉制御型の解毒型抵抗性」が生じやすいと考えられました。

本研究成果は、2023年5月17日に国際学術誌「*Plant Physiology*」にオンライン掲載されました。



上) 雑草がしっかり管理された水田。下) タイヌビエが蔓延した水田。収量が大きく低下する。

1. 背景

作物を効率的に生産するためには、除草剤の使用が欠かせません。しかし、同じ除草剤を何度も使うと、雑草がその除草剤に抵抗性を示すようになる場合があります。これを「除草剤抵抗性の進化」と呼びます。抵抗性を示す雑草は農地に広がり、作物の収穫量を減らしてしまいます。中でも問題となるのが、除草剤を迅速に解毒する抵抗性メカニズムを獲得した雑草です。これらの雑草は、全く異なる性質の除草剤も解毒し多剤抵抗性を示すことがあり、効果的な除草剤がほとんど残っていないようなケースも知られています。こうした「最強の抵抗性メカニズム」の詳細は近年まで全く分かっていませんでしたが、私たちはアメリカ・カリフォルニアに出現した多剤抵抗性タイヌビエを解析し、多様な除草剤を解毒できるシトクロム P450 酵素（CYP81A12 と CYP81A21）が活性化（過剰発現）することが多剤抵抗性の鍵であることを明らかにしてきました。しかし、この多剤抵抗性タイヌビエは、これらの酵素では解毒できない除草剤にも抵抗性を示すことが知られており、多剤抵抗性のメカニズムは未だ大きな謎でした。

2. 研究手法・成果

私たちはカリフォルニアで出現した多剤抵抗性タイヌビエの除草剤ジクロホップに対する強烈な抵抗性のメカニズム解明に取り組みました。この除草剤は CYP81A12 と CYP81A21 によって解毒されにくいため、その他のメカニズムの関与が考えられていました。そこで、タイヌビエにジクロホップを処理し、質量分析計（LCMSMS）を使用してジクロホップ代謝物の動態を調べると、抵抗性を示すタイヌビエでは CYP81A12 と CYP81A21 によって変換されるジクロホップの代謝物 M1 だけでなく、別の代謝物 M2 も大量に生成されることが分かりました。次に、代謝物 M2 の生成に関わる遺伝子を同定するために RNA シーケンス解析を行い、12 個の候補遺伝子を同定しました。さらに CYP81A12 と CYP81A21 との共発現性などを考慮して絞り込みを行った結果、新たなシトクロム P450 遺伝子 CYP709C69 がジクロホップを M2 に変換する役割を果たしていることが分かりました。

シトクロム P450 が雑草の除草剤抵抗性に関与していることは以前から知られていましたが、これまでに同定された遺伝子のごくわずかでした。今回の研究で、CYP81A12 と CYP81A21 に加えて CYP709C69 という 3 つ目の P450 遺伝子が抵抗性に関与しており、これら 3 遺伝子を同時に高発現させるメカニズムが示されました（図 1）。これは、1 つの進化イベント（突然変異）によって、複数の除草剤に対して抵抗性を持つ能力が獲得されることを意味しており、これまで予想されていなかったことです。

興味深いことに最近国内で発見された多剤抵抗性型のタイヌビエでもこれら 3 つの遺伝子の過剰発現が認められました。異なる地域で見つかった多剤抵抗性タイヌビエが同じメカニズムによって抵抗性を獲得していることから、このメカニズムがタイヌビエの多剤抵抗性において一般的なものである可能性が考えられます。

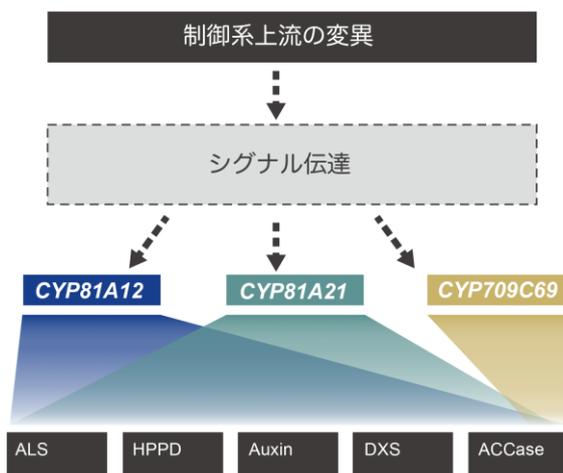


図 1 タイヌビエにおける多剤抵抗性機構

3 つの除草剤解毒遺伝子が一斉に活性化された結果、ジクロホップを含め多様な除草剤を解毒できる。図下の黒のボックスは除草剤の作用機構別の分類。ジクロホップは ACCase 阻害剤。

3. 波及効果、今後の予定

タイヌビエ以外の雑草でも多様な除草剤に抵抗性を示す解毒型抵抗性が多数報告されています。ほとんどのケースでメカニズムの詳細は分かっていませんが、今回明らかになった「解毒酵素の一斉活性化」で説明できるものもあるかもしれません。このメカニズムがタイヌビエにおける多剤抵抗性の進化において一般的であることは、タイヌビエにはその進化に利用できる材料（遺伝子）が限られていることを意味します。このメカニズムの特性をより深く知ることができれば、タイヌビエにおける多剤抵抗性の進化を抑制することや、多剤抵抗性を示すタイヌビエをうまく防除することができるかもしれません。私たちは現在これら3つのP450遺伝子の過剰発現を引き起こす原因を明らかにするために、タイヌビエのゲノムの解読を進めています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会 科学研究費補助金 研究活動スタート支援(15H06072、岩上哲史)、若手研究(B)(17K15234、岩上哲史)、基盤研究(B)(19H02955、22H02347、岩上哲史)、基盤研究(C)(19K0606、内野彰)、東京農業大学生物資源ゲノム解析センター「生物資源ゲノム解析拠点」共同利用・共同研究(岩上哲史、田中啓介、田中聡)、吉田育英会大学院生給与奨学金<マスター 21>(久保朋美)の助成を受けた成果です。また論文出版にあたって JST 世界で活躍できる研究者戦略育成事業 世界視力を備えた次世代トップ研究者育成プログラム L-INSIGHT(岩上哲史)の支援を受けました。

<用語解説>

シトクロム P450 酵素：ほとんどの生物が保有する酵素で、一原子酸素添加反応の触媒が典型的な反応。植物の DNA には異なる機能を持つ P450 遺伝子が数百種類あることが知られている。除草剤解毒機能を示すものも知られるが、詳細はあまり分かっていない。

RNA シーケンス解析：その生物が持つすべての遺伝子について、その転写量（活性の程度）を調べる解析方法。

<研究者のコメント>

本研究で扱ったカリフォルニアの多剤抵抗性タイヌビエは 1997 年に発見され、メカニズム解析が続けられてきたものです。私たちはできるだけ多くのタイヌビエを解析し、抵抗性進化についてメカニズムの多様性や一般性を解明したいと考えています。除草剤の効かないタイヌビエを見かけたらぜひお知らせください。(岩上)

私は雑草における除草剤抵抗性のメカニズムを解析することで、人間が与える強烈的な選択圧「除草剤」に対して「植物がどのように適応進化するのか」を明らかにしたいと思っています。これまでの研究では、個々の集団を対象にしたメカニズム解析が主流でしたが、私は集団間でメカニズムを比較して、抵抗性を駆動する進化的背景に迫っていきたいです。(久保)

<論文タイトルと著者>

タイトル：Transcriptionally-linked simultaneous overexpression of P450 genes for broad-spectrum herbicide resistance (広範な除草剤抵抗性スペクトルをもたらす転写的にリンクする複数の P450 遺伝子の一斉過剰発現)

著者：須田 宏栄 (研究当時：京都大学農学研究科)

久保 朋美 (京都大学農学研究科)

義本 裕介 (研究当時：京都大学農学研究科)

田中 啓介 (研究当時：東京農業大学、現：東京情報大学)

田中 聡 (東京農業大学)

内野 彰 (農研機構中日本農業研究センター農研機構中央農業研究センター)

東 聡志 (新潟県農業総合研究所作物研究センター)

服部 誠 (新潟県農業総合研究所作物研究センター)

山口 拓也 (富山県立大学)

宮下 正弘 (京都大学農学研究科)

富永 達 (京都大学農学研究科)

岩上 哲史 (京都大学農学研究科)

掲載誌：*Plant Physiology*

DOI：<https://doi.org/10.1093/plphys/kiad286>