

令和 6 年 9 月 24 日  
愛 媛 大 学

## アサガオの花の寿命を延ばす化合物を発見 ～花卉の老化調節因子を標的とした機能阻害化合物の選抜に成功～

このたび、愛媛大学プロテオサイエンスセンター 野澤 彰准教授および国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 渋谷 健市博士らの研究グループは、コムギ無細胞系を利用した化合物スクリーニングにより、アサガオの花の寿命を制御する転写因子 EPHEMERAL1 (EPH1) の標的 DNA 配列への結合を阻害する化合物 Everlastin1 および Everlastin2 の単離に成功しました。また、これらの化合物は、切り花にしたアサガオの花の寿命を約 2 倍に延長する効果を示すことが確認されたほか、EPH1 の二量体化を阻害することで EPH1 の DNA 結合能を低下させ、生体内での機能を抑制していることが明らかになりました。EPH1 の類縁タンパク質はユリなどの主要な切り花の老化にも関与していると考えられており、今回と同様のアプローチにより、これらの花についても寿命を延長する薬剤の開発が進むことが期待されます。

なお、本研究の成果は、令和 6 年 8 月 29 日付で Nature Plants 誌に掲載されました。

つきましては、下記のとおり記者説明会を実施しますので、ぜひ取材くださいますようお願いいたします。

### 記

日 時：令和 6 年 10 月 1 日（火）11 時 00 分～

場 所：愛媛大学学術支援センター応用タンパク質研究支援部門棟 4 階会議室  
（添付の地図をご覧ください。）

会見者：愛媛大学プロテオサイエンスセンター センター長・教授 澤崎 達也  
愛媛大学プロテオサイエンスセンター 准教授 野澤 彰

駐車場：有（添付の地図をご覧ください。）

※正門の守衛室でお申し出の上、来客用駐車場をご利用ください。

本件に関する問い合わせ先

愛媛大学プロテオサイエンスセンター  
准教授 野澤 彰

TEL：089-927-8275

Mail：nozawa.akira.my@ehime-u.ac.jp

※送付資料 7 枚（本紙を含む）

# アサガオの花の寿命を延ばす化合物を発見

～ 花卉の老化調節因子を標的とした機能阻害化合物の選抜に成功 ～

このたび、愛媛大学プロテオサイエンスセンター（以下、「PROS」）野澤 彰准教授および国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構（以下、「NARO」）渋谷 健市博士らの研究グループは、コムギ無細胞系を利用した化合物スクリーニングにより、アサガオの花の寿命を制御する転写因子 EPHEMERAL I (EPHI) の標的 DNA 配列への結合を阻害する化合物 Everlastin I および Everlastin 2 の単離に成功しました。これらの化合物は、切り花にしたアサガオの花の寿命を約 2 倍に延長する効果を示すことが確認されたほか、EPHI の二量体化を阻害することで EPHI の DNA 結合能を低下させ、生体内での機能を抑制していることが明らかになりました。EPHI の類縁タンパク質はユリなどの主要な切り花の老化にも関与していると考えられており、今回と同様のアプローチにより、これらの花についても寿命を延長する薬剤の開発が進むことが期待されます。

なお、本研究の成果は、令和 6 年 8 月 29 日付で Nature Plants 誌に掲載されました。

## 1. 背景

植物の花の寿命は、遺伝的にプログラムされた機構により制御されています。開花後一定の時間が経過すると、プログラム細胞死に関連する遺伝子の発現が誘導され、タンパク質や核酸などの細胞成分の分解を伴い、花はしおれ枯れていきます。園芸分野では、花の寿命は観賞用植物の商品価値を左右する重要な形質であり、花を長持ちさせる技術の開発が望まれています。

我々は、これまでの研究において、アサガオの花の寿命を制御する転写因子 EPHEMERAL I を特定しており(図 1)、EPHEMERAL I の働きを抑える薬剤を見つけ出せれば、それを投与することで花の寿命を伸ばすことが可能になると考えられました。

## 2. 研究成果

本研究では、PROS が独自に開発してきたコムギ無細胞タンパク質合成システムと分子間相互作用解析技術である AlphaScreen システムを利用することで、EPHI と DNA との結合を検出できるアッセイ系の構築に成功しました(図 2)。そして、このアッセイ系を利用した化合物スクリーニングにより、EPHI と DNA との結合を阻害する化合物 Everlastin I と Everlastin 2 を単離することに成功しました(図 3)。AlphaScreen システムを利用した解析の結果、EPHI は二量体化することで DNA と結合することと、Everlastin I および Everlastin 2 は、この EPHI の二量体化を阻害することで EPHI の DNA への結合能を低下させていることが明らかになりました。Everlastin I および Everlastin 2 を溶かした水にアサガオの切り花を浮かべると、DNA やタンパク質の分解が抑制され、花の寿命が約 2 倍に延長されることが確認されました(図 4)。

## 3. 波及効果

転写因子は一般に合成および精製が難しく、薬剤の開発が非常に難しいタンパク質と考えられていました。今回の研究では、PROS で開発されたあらゆるタンパク質を高効率で合成可能なコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系と未精製タンパク質を用いてタンパク質と DNA の結合を解析できる

AlphaScreen システムを用いることで、転写因子 EPH1 の合成と、EPH1 と DNA との結合解析系の構築に成功しました。本研究では、これらの技術を利用することで転写因子を標的とした化合物スクリーニングを行うことが可能となり、植物の転写因子の機能を阻害する化合物のスクリーニングに世界で初めて成功しました。本研究で使用した方法を利用することで、これまで「Undruggable (薬の開発に利用できない)」と考えられていた転写因子を標的とした薬剤開発が活性化されると期待されます。また、本研究で標的とした転写因子 EPH1 の類縁タンパク質はユリなどの主要な切り花の寿命にも関与していると考えられており、今回と同様のアプローチにより、花屋さんで販売されている色とりどりの花についても寿命を延長する薬剤の開発が進むことが期待されます。

#### 4. 研究体制と支援

本研究は、PROS と NARO との共同研究としておこなわれました。

本研究は、主に農林水産省委託プロジェクト研究「収益力向上のための研究開発」(JP15650941)、日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業「コムギ無細胞系による構造解析に適した複合体タンパク質生産・調製技術と低分子抗体作製技術の創出」(JP21am0101086 支援番号 1590、JP21am0101077 支援番号 1144)、新学術領域研究「分子間相互作用に基づくシグナル伝達網解析のための無細胞プロテオーム技術の開発」(JP16H06579)、日本学術振興会(JSPS)科学研究費(21K05589、19H03218、19K05815)の支援を受けおこなわれました。

##### <論文情報>

タイトル : A chemical approach to extend flower longevity of Japanese morning glory via inhibition of master senescence regulator EPHEMERAL I

(和訳) 老化制御因子 EPHEMERAL I の阻害によるアサガオの花の寿命延長を目指した化学的アプローチ

著者 : Kenichi Shibuya, Akira Nozawa, Chikako Takahashi, Tatsuya Sawasaki

掲載誌 : Nature Plants

DOI: 10.1038/s41477-024-01767-z

掲載日 : 2024 年 8 月 29 日 18:00 (日本時間)

##### <参考>

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構プレスリリース :

[https://www.naro.go.jp/publicity\\_report/press/laboratory/nivfs/165852.html](https://www.naro.go.jp/publicity_report/press/laboratory/nivfs/165852.html)

## プログラム細胞死連遺伝子の発現を活性化

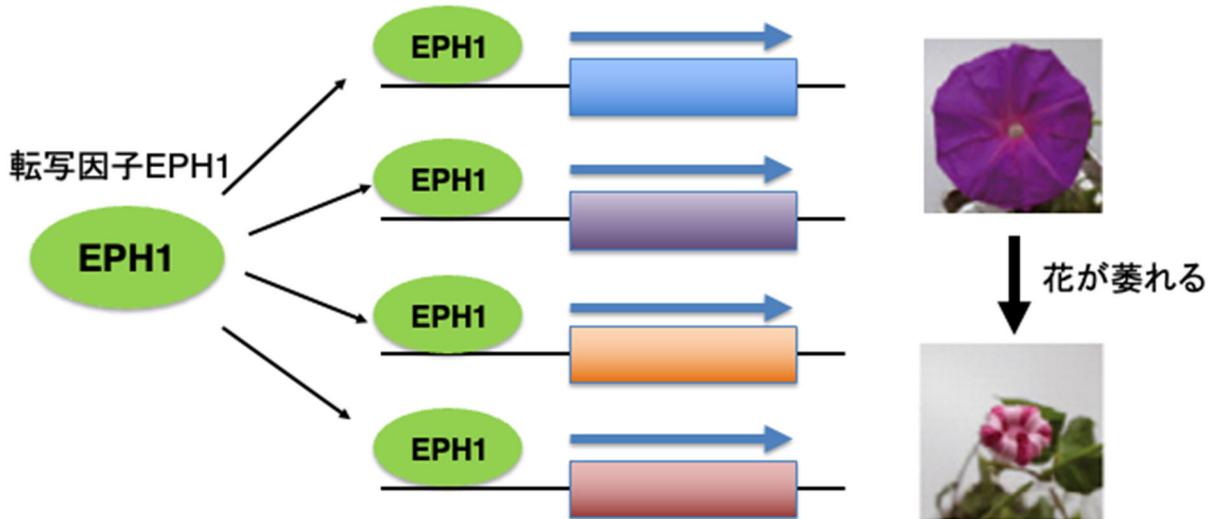
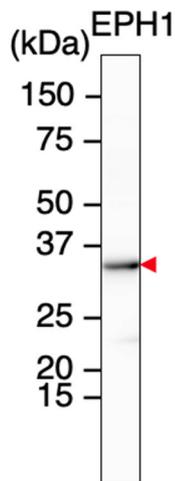


図1. アサガオの花の寿命を制御する EPH1

アサガオの転写因子 EPH1 は花の開花後一定の時間が経過するとプログラム細胞死に関連する遺伝子の近傍に結合し、それらの遺伝子の発現を活性化する。プログラム細胞死関連の遺伝子が活性化されると花の細胞においてタンパク質や核酸の分解が誘導され、花は萎れてしまう。(アサガオの写真は NARO 提供)

## 無細胞系での EPH1 の合成



## EPH1 と DNA の結合解析系

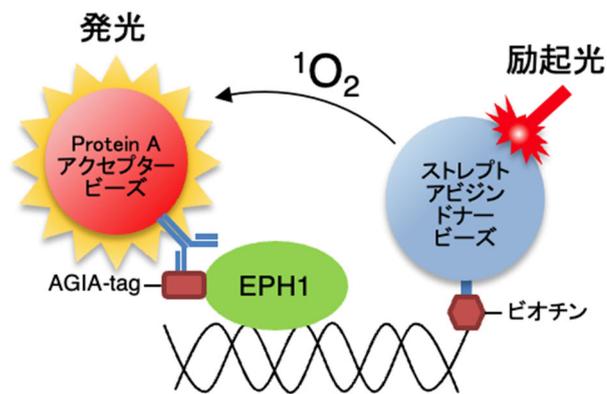


図2. AlphaScreen システムを利用した EPH1 と DNA との結合解析系の構築

コムギ無細胞系を利用して EPH1 の合成に成功した。また、Alphascreen システムを利用することで EPH1 と DNA との結合を検出することに成功した。

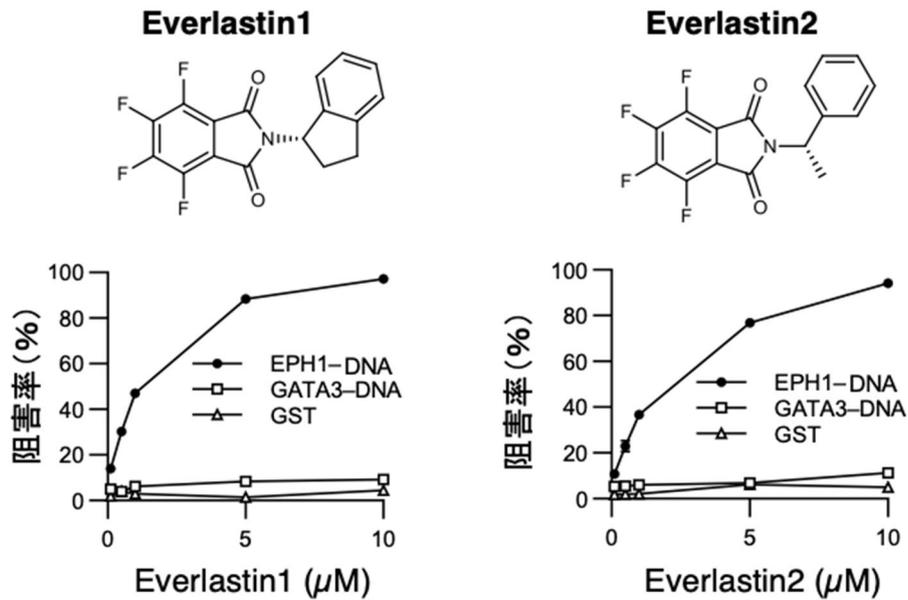


図3. Everlastin1 と Everlastin2 の構造とそれらの EPH1 と DNA との結合阻害効果

AlphaScreen システムを利用し、Everlastin1 と Everlastin2 の EPH1 と DNA との結合阻害効果を解析した。どちらも濃度を高くすると阻害効果が高まり、10 μM でほぼ 100% の阻害効果を示した。GATA3 は EPH1 とは異なる転写因子であり、Everlastin1 と Everlastin2 は GATA3 と DNA との結合は阻害しない。GST は Everlastin1 と Everlastin2 が AlphaScreen のシステム自体を阻害している可能性を調べる対象実験に用いた。

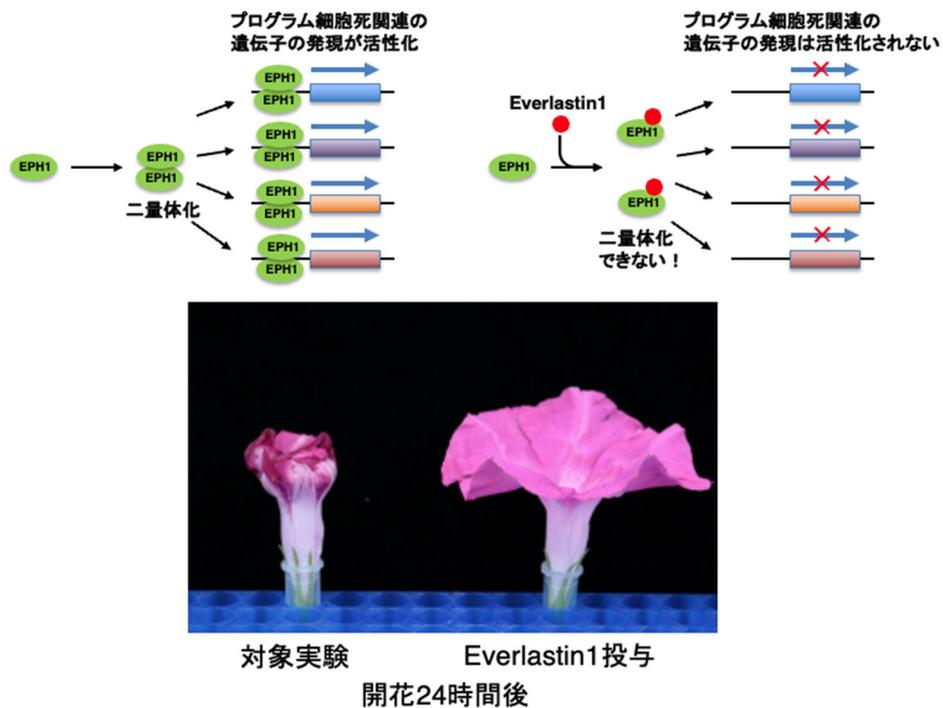


図4. Everlastin1 のアサガオの花の寿命延長効果

Everlastin1 を投与したアサガオの花では、Everlastin1 により EPH1 の二量体化が阻害され EPH1 は標的 DNA 配列に結合できなくなる。その結果、細胞死関連遺伝子の活性化が抑えられ花の寿命が延びることとなった。Everlastin1 の投与によりアサガオの花の寿命は約2倍に延長された。(Everlastin1 処理を行ったアサガオの写真は NARO 提供)

## 用語説明

### 花の寿命

植物の花の寿命は遺伝的なプログラムにより植物種ごとに決まっている。アサガオやハイビスカスなどの花は咲いたその日のうちに枯れてしまい一日花と呼ばれる。一方、胡蝶蘭などの花は1ヶ月以上の寿命を持っている。

### 転写因子

ゲノム DNA に結合し、その近傍の遺伝子の発現を制御するタンパク質。転写因子ごとに結合する DNA の配列は異なっており、結合した配列の近傍の遺伝子の発現を活性化、あるいは不活性化することで生物の発生、細胞周期、シグナル伝達、環境応答など多様な生命現象の調節に関与している。

### EPHEMERAL1 タンパク質

アサガオの花弁の老化を制御する転写因子。本研究の著者の一人、NARO の渋谷健市博士らにより 2014 年に発見された。EPHI 遺伝子の発現を抑制することでアサガオの花弁の寿命が約 2 倍に延長されることが確認されている。NAC 転写因子ファミリーに属しており、他の植物の類縁タンパク質にも花弁の老化や葉の老化に関与するものが知られている。この名前は、「はかない」を意味する英語「ephemeral」に由来する。

### Everlastin1、Everlastin2

本研究で単離された EPHI と DNA の相互作用を阻害する化合物。解析の結果、EPHI の二量体化を阻害することで EPHI の DNA への結合を阻害していることが明らかになった。これらの名前は、「永遠」や「不朽」を意味する英語「everlasting」に由来する。

### スクリーニング

スクリーニングは「ふるい分けること」を意味し、大量のものを検査して、条件に合うものを選び出すことである。本研究では東京大学大学院薬学系研究科附属創薬機構が所有する約 28 万種類（研究実施時）の薬剤の中から、AlphaScreen システムを利用して EPHI と DNA の結合を阻害する薬剤、Everlastin1 と Everlastin2 を選び出すことに成功した。

### コムギ無細胞タンパク質合成系

愛媛大学の遠藤弥重太特別栄誉教授らによって開発されたコムギ胚芽抽出液を用いた in vitro タンパク質合成システム。タンパク質合成阻害物質を除去したコムギ胚芽抽出液に、アミノ酸などの基質と目的タンパク質をコードする mRNA を加えるだけで、微生物から高等生物、さらに人工タンパク質に至るまで安定して高効率にタンパク質を合成する技術。

### AlphaScreen システム

パーキンエルマー社（現 Revvity 社）が開発した分子間相互作用を解析する技術。異なる標的分子を補足したビーズ同士の距離が近接したときのみ起こる化学エネルギー移動を、発光により検出することで、標的分子間の相互作用を定量的に解析する技術。

