ブラシノステロイドの合成： 生合成および変異体解析に 果した有機合成化学の役割

高津戸 秀*

渡辺 剛

Synthesis of Brassinosteroids: Roles of Synthetic Organic Chemistry in Clarification of Brassinolide Biosynthesis and Analysis of Brassinosteroid Mutants

Suguru Takatsuto* and Tsuyoshi Watanabe

Overview of the recent progress in the research of brassinosteroids, a new class of phytohormones, is described. This article covers 1) the chemical synthesis of natural C₂₈ brassinosteroids and their deuterio-labeled compounds and precursor sterols, 2) related brassinosteroid analogs and their biological activity, 3) the role of synthetic organic chemistry in the clarification of brassinolide biosynthesis, and 4) its role in the analysis of brassinosteroid dwarf mutants.

Key words: brassinosteroid, brassinolide, castasterone, synthesis, activity, deuterio-labeled compound, biosynthesis, brassinosteroid dwarf mutant, biosynthetic mutant, insensitive mutant

はじめに

ブラシノステロイド (Brassinosteroids, 以下 BRs と略す) とは, 1979 年に Grove らによりセイヨウアブラナの花粉より発見された brassinolide (BL) および関連するステロイド系化合物の総称である。現在までに約 40 種もの BRs が植物から見いだされ, それらの分布は高等植物から藻類まで広い。BL は発見当時, 微量で細胞伸長と分裂を促進し, 植物の生育を促進することから新しい植物ホルモンではと注目を集めた。しかし, その生理活性が多様であり, 生長・分化における特有な役割が不明であったことから植物ホルモンの仲間入りは長く見送られていた。最近の BL 生合成の解明およびシロイヌナズナの BRs 生合成欠損矮性突然変異体と BRs 非感受性矮性突然変異体の発見により, 今日 BRs は第 6 番目の植物ホルモンとして認知されるに至った。

BL の構造が発表されてから 20 年経た記念すべき年に, BRs に関する本が 2 冊出版された。研究全般についての本が Springer-Verlag から, 合成と活性を中心にした本が Academic Press より出版されたので^{1,2)}, 是非参照されることをお勧めしたい。本総説では最近の BRs 合成と BL の生合成解明や突然変異体の解析に果した有機合成化学の役割という, これまでの総説や本の内容とは異なった観点から解説する。なお, 文献は 1995 年以降のものを主に取り上げたが, 上記の本の内容やそ

れらに引用された総説と一部重複するところもあるが, お許し願いたい。

1. 天然型 C₂₈ BRs の合成

BL の構造上の特徴は 4 個の水酸基と B 環にラクトン環を有することであり, B 環にケトンをもつ 6-オキソ系のものとして castasterone (CS) が, B 環に官能基を持たない 6-デオキシ系のものとして 6-deoxocastasterone (6-deoxoCS) が, また, 側鎖に水酸基 1 個を持つものとして cathasterone (CT) が代表例として知られている (図 1)。BL 発見当時と同様に, 最近の合成上の興味は側鎖部の構築にある。目的に応じて stigmaterol 等から調製される 22 位にアルデヒド基を持つ化合物 I-IV (図 1) が主に側鎖部構築に用いられている。

次に, 最近の天然型 C₂₈ BRs の合成について解説する。A/B 環の変換については本^{1,2)} や個々の文献を参照されたい。

1.1 1995 年以降の BL 側鎖部構築法

最近 5 年間に絞っても様々な BL 側鎖部構築法 (図 2) が報告されている。Koreeda と Wu (method A) は 2-lithio-1,3-dithiane を, I と立体選択的に反応させた後 C-23 アルデヒドを合成し, 1-lithio-2-methyl-1-propene を反応させ, *syn*-diol-mono-MOM ether を 72% で合成している。次に, bromomethylsilyl ether 化した後ラジカル環化させ, BL 側鎖を 31 % の収率で得ている³⁾。この方法ではすでに筆者が 1983 年に関連する C-22 アルデヒドから全く同じ一連の反応により C-23 アルデヒドを調製し, キレーション制御 Grignard 反応によって BL 関連の天然物 dolicholide と dolichosterone

* 上越教育大学自然系化学教室

* Department of Chemistry, Joetsu University of Education (■)

Fig. 1 Structures of typical brassinosteroids and steroidal C-22 aldehydes.

の合成を報告している⁴⁾。Hazra ら(method B)は I に 3-methyl-2-oxobutylidimethyl phosphonate を立体選択的に反応させ、MeLi を付加させた後 PCC 酸化して BL 合成中間体の α,β -不飽和ケトン を収率 42% で得ている⁵⁾。以後の反応は既知⁶⁾であり BL の形式合成を達成している。McMorris らのグループ(method C)は、以前彼らが行った方法⁷⁾に改良を加えた。III を使用し、3-isopropylbut-2-enolide から誘導したアニオンを縮合させ、その後接触還元や LAH 還元等を行い BL 側鎖を総収率 32% で得ている⁸⁾。Werner ら(method D)は IV に propenyltriphenylarsonium tetrafluoroborate を縮合させ、DIBAH を用いて二重結合の転位を伴いながらエポキシドを還元的に開き、BL 合成中間体である *trans*-アリルアルコールを 73% の収率で得ている⁹⁾。以後の反応は既知¹⁰⁾であり BL の形式合成を達成している。Back ら(method E)は IV に 1,1-bis(phenylseleno)propane より調製したアニオンを反応させ、過酸化水素処理で *trans*-アリルアルコールを得、不斉エポキシ化、Grignard 反

応を行い BL 側鎖の構築を総収率 37% で行っている¹¹⁾。

以前、Thompson らによって大量の oyster より抽出した crinosterol と brassicasterol の混合物より BL が合成されたが¹²⁾、当時は OsO₄ による (22*R*, 23*R*)-ジオールへの選択性が非常に悪かったので crinosterol を用いる合成法は非効率であった。その後、Sharpless らにより不斉ジオール化反応が開発され¹³⁾、その BRs 合成への適用が盛んに報告され、crinosterol は再び BL 合成用として注目された。Crinosterol 側鎖の構築法の改良が最近いくつか報告されている。Marino ら(method F)は I と (*R*_s)-vinyl sulfoxide との縮合により 22*R*-アリルアルコールを収率 52% で得、S_N2' 反応と還元的 desulfurization を経て、crinosterol 側鎖を総収率 32% で得ている¹⁴⁾。Schmittberger ら(method G)は I より 4 工程で得られる thiol 体に、(*R*)-hydroxyisobutyric acid より調製した iodide 体を反応させ、Ramberg-Bäcklund 転位反応により crinosterol 側鎖を 46% で得ている¹⁵⁾。筆者ら(method H)は I と 1-bromo-1*Z*-propene から調製した Grignard 試薬によりアリルアルコールを収率 61% で得た後、Claisen 転位反応等を行い crinosterol 側鎖を総収率 50% で得た¹⁶⁾。

Crinosterol 側鎖を有する化合物は不斉ジオール化反応により BL 側鎖へと変換されている。Sun らはキラルな配位子として dihydroquinidine-*p*-chlorobenzoate を用い 89 : 11 の比率で (22*R*, 23*R*)-ジオール体を得ている¹⁷⁾。Marino らは 1,4-bis(9-*O*-dihydroquinidine)phthalazine を用い完全に立体を制御している¹⁴⁾。しかしながら筆者らの実験では、前者の配位子を用いた場合 57 : 43 であり¹⁶⁾、後者の場合 90 : 10 の選択性であった¹⁸⁾。我々は上記の Grignard 反応と Claisen 転位反応を II に適用して crinosterol 側鎖を構築し、不斉ジオール化反応を用いて原料の stigmaterol より CS を総収率 22% で合成し、BL の形式合成も達成した¹⁸⁾。以上の改良により、現在では BL の合成標品が大量かつ容易に入手可能となった。

また、我々は上記の方法で BL 側鎖を構築した化合物の A/B 環部を修飾して BL 生合成中間体 teasterone (TE)、3-dehydroteasterone (3-DT) および typhasterol (TY) をも合成した¹⁹⁾。

なお最近、スギの花粉/葯中に C₂₈ の新規物質が見いだされた²⁰⁾。BL から推定化合物の合成を行い、GC-MS による標品との直接比較によってその物質を同定して cryptolide と命名した²¹⁾。Cryptolide は BL の C-23 位水酸基がケトン基に変わった構造を有する。

1.2 6-デオキシ系 BRs の合成

6-デオキシ系の 6-deoxoCS は植物から見いだされていたが、対応する 6-オキシ系の CS に比べて 1/200 以下の極めて弱い活性しか示さないことから、生合成の dead end product と考えられ、興味ある合成ターゲット

Method A

Reagents: i, *n*-BuLi, 1,3-dithiane, THF; ii, MOMCl, EtN(*i*-Pr)₂, CH₂Cl₂; iii, HgO, BF₃/Et₂O, THF/H₂O; iv, 1-Lithio-2-methyl-1-propene, Et₂O; v, BrCH₂Si(CH₃)₂Cl, Et₃N, CH₂Cl₂; vi, (*n*-Bu)₃SnCl, NaBH₃CN, AIBN (cat.), *t*-BuOH; vii, (*n*-Bu)₄NF, DMF; viii, *p*-TsOH (cat.), DME/H₂O.

Method B

Reagents: i, (EtO)₂P(O)CH₂C(O)CHMe₂, NaH, C₆H₆; ii, MeLi, THF; iii, PCC, CH₂Cl₂.

Method C

Reagents: i, LDA, *n*-BuLi, THF; ii, aq. NH₄Cl; iii, H₂/Pd/C, THF, EtOH, pyridine; iv, LiAlH₄, THF, v, acetone, CSA; vi, CrO₃-pyridine, CH₂Cl₂; vii, [(C₆H₅)₃P]₃RhCl, C₆H₆; viii, TFA, MeOH.

Method D

Ph₃As⁺, BF₄⁻

Reagents: i, *n*-BuLi, THF; ii, DIBAL, hexane, CH₂Cl₂.

Method E

Reagents: i, *n*-BuLi, THF; ii, excess H₂O₂; iii, Ti(O-*i*-Pr)₄, L-(+)-diethyl tartrate, cumene hydroperoxide, CH₂Cl₂; iv, *i*-PrMgCl, CuCN (cat.), Et₂O.

Method F

Reagents: i, LDA, THF; ii, Ms₂O, pyridine; iii, MeCuCNLi, THF; iv, *t*-BuLi, THF; v, K₂OsO₂(OH)₄, (DHQD)₂-PHAL, K₃Fe(CN)₆, K₂CO₃, MeSO₂NH₂, *t*-BuOH/H₂O.

Method G

Reagents: i, LiAlH₄, THF; ii, PPh₃-I₂-imidazole, Et₂O, MeCN; iii, sodium thioacetate, acetone; iv, LiAlH₄, THF; v, NaH, DMF; vi, NCS, CCl₄; vii, *m*CPBA, NaHCO₃, CH₂Cl₂; viii, *t*-BuOK, THF.

Fig. 2 Construction of the side chain of brassinolide.

ではなかった。最近, Griffiths らによって 6-デオキシ系 BRs がアリゾナイトスギの花粉から見いだされた²²⁾。これらは構造的に 6-deoxoCS の前駆体と考えられ, すでに解明されていた TE → CS とパラレルな生合成経路の存在が示唆された。そこで, 筆者らは先の BL 側鎖の構築法を用い, A/B 環部を修飾して 6-デオキシ系 BRs, 6-deoxoteasterone (6-deoxoTE), 3-dehydro-6-deoxoteasterone (6-deoxo-3-DT), 6-deoxotyphasterol (6-deoxoTY) および 6-deoxoCS を合成した¹⁶⁾。これらはその後の天然物の同定や後に述べる BL の生合成研究 (早期 C 6 酸化経路と後期 C 6 酸化経路の発見) と BRs 矮性変異体の解析に大いに役立った。活性がないからといってこれらの 6-デオキシ系化合物を合成しなかったならば, その後の BRs 研究はずいぶんと遅れたであろう。

1.3 Cathasterone および関連化合物の合成

生合成の共同研究の過程において, 6-oxocampesanol から TE への中間体として, 側鎖部の C-22 または 23 位に水酸基を 1 つ有する化合物の存在が予想され, ニチニチソウ培養細胞での検索を行い, 22 α -OH 体 (cathasterone, CT) を同定した²³⁾。重水素標識体の代謝実験により CT は TE へ変換された²³⁾。この合成では crinosterol 側鎖から得た (22*R*, 23*R*)-エポキシドの HBr による開環反応を用いて 22-OH 体と 23-OH 体を 1 : 3 の比で得たが (図 3)²³⁾, 22-OH 体がマイナーであったため, AlH₃ による還元で選択性を 45 : 55 へと改善して, CT および関連化合物である 22 α -hydroxycampesterol, 6-deoxoCT, 6 α -OHCT の合成を行った²⁴⁾。しかし,

Reagents: i, 47% HBr, CHCl₃; ii, Ac₂O, DMAP, pyridine; iii, (*n*-Bu)₃SnH, AIBIN, xylene; iv, 5% KOH/MeOH, THF; v, LiAlH₄-AlCl₃, THF; vi, 2,3-dimethylbutylmagnesium bromide, THF.

Fig. 3 Construction of the side chain of cathasterone.

crinosterol 側鎖の構築や反応の選択性を考えると効率的ではないので, I に対する Grignard 反応による一段階での CT 側鎖構築を行い (図 3), 後の変異体解析に必要な関連化合物の合成をも報告した²⁵⁾。この反応では, ラセミ体の Grignard 試薬を使用した, 天然型の (24*R*)-異性体への選択性が見られたことは興味深い。

2. 関連化合物の合成と活性

BL 関連化合物の合成も数多く行われ, 構造活性相関についてもイネ葉身屈曲試験やインゲン第 2 節間伸長試験等により多くの研究者によって調べられ, 総説にまとめられている²⁶⁾。構造活性相関は極めて厳密で, A 環に 2 α , 3 α -ジオール基, B 環は 7-オキサラクトン基, 側鎖部には (22*R*, 23*R*) 立体配置のジオール基, さらに, (24*S*)-メチル基が高い活性発現には必須であった。すなわち, BL の構造そのものであり, BL が種々のバイオアッセイにおいて一番活性が強い。BL や関連化合物の合成および活性については総説や最近出版された BRs の本にこれまでの大部分が収録されている^{1,2,26)}。ここではそれらに収録されていないものを中心に最近 5 年間に絞って解説する (図 4)。なお, BL の生合成中間体の活性については後の生合成および変異体の項で述べる。

BRs の B 環にヘテロ原子を導入した関連化合物も岸らによる化合物 1a-c²⁷⁾以降, 最近いくつか合成されている。Baron らによる 2a-f²⁸⁾, 瀬戸らによる 3a, b²⁹⁾の化合物はいずれも対応する天然型より活性は弱い。一方, 瀬戸らは BL の A/B 環のトランス結合に注目して A/B-シス異性体 4, 5 を合成したが, 活性は著しく弱く, A/B 環の結合はトランスが必須であることが 5-epiBL を用いて初めて確実に解明された^{30,31)}。

代謝経路解明のために, 最近筆者らが合成した BL および 28-homoBL の A 環 2,3-ジオール異性体 6a-f や³²⁾, 瀬戸らの合成した BL 側鎖にさらに水酸基を導入した化合物 7a-g³³⁾も活性は弱かった。このことから, A 環 2,3-ジオール基のエピメリ化や側鎖部の水酸化は不活性化のステップと考えられた。このように BL の構造を修飾してもバイオアッセイレベルでは BL を越える活性を示すものは未だ見いだせない。唯一, 森と竹内が合成した 25-methylBL 8 がイネ葉身屈曲試験において BL に匹敵する³⁴⁾。

BL を凌ぐ活性を有する化合物の合成は有機合成化学

Fig. 4 Structures of synthetic brassinolide analogs.

者の1つの目標ではあるが、最近代謝や生合成の観点から種々の関連化合物の合成がいくつか行われている。Lichtblauらは24-epiBLの代謝実験を基に側鎖にジオキソナンを持つ化合物9を合成しているが、活性は不明である³⁵⁾。同様に、代謝による水酸基のグリコシド化を防ぐ目的で、メチルエーテル基を導入した化合物10a-dがLouらにより合成されたが、イネ葉身屈曲試験の活性はそれほど強くなかった³⁶⁾。我々は生合成を阻害する目的で3位にメトキシ基や塩素を導入した化合物11a-

dを合成したが、活性は非常に弱く、阻害活性も見られなかった³⁷⁾。

BrosaらはBLの活性発現に関わる化学構造を三次元的にとらえたQSARによる1つの方法論を確立している³⁸⁾。これによりBLに近い構造を持ち、かつ、実用化を目指すため合成的にも有利な化合物の探索を行った結果化合物12を見いだした。圃場試験において12は小麦の収量を15%増加させたと報告されている^{38a)}。

現在までに多くの関連化合物の合成が行われ、一部

(28-homoBL と 24-epiBL) は実用化へと踏み出した。しかしながら、これらの化合物は作用持続性が短いために実験室での効果が必ずしも圃場では見られず、安定した結果が得られなかったため日本を含めた先進国での開発は見送られた。筆者らは農業での実用場面を考慮して 2-3 週間程度の作用持続性を有する化合物のドラッグデザインを行い、先に化合物 13 を報告した³⁹⁾。その後、13 をリード化合物として多数の関連化合物を合成し、それらの中から最終的に TS 303 14 を選抜した⁴⁰⁾。原料の stigmasterol から 7 工程総収率 26% で TS 303 を合成した⁴⁰⁾。TS 303 はイネ葉身屈曲試験等の実験室内で短期間に活性を調べるバイオアッセイでは活性は示さないが、圃場試験においては徐々に活性が発現し、BL や 24-epiBL を凌ぐ効果を示した⁴⁰⁾。TS 303 の選抜過程や国内外で行われた公的機関による試験結果が禰と高津戸の総説にまとめられている^{41,42)}。TS 303 は 1995 年以降日本および世界各国の公的機関等で登録用の試験が開始された。中国では TS 303 とジャスモン酸誘導体との混合剤(TNZ-303)⁴²⁾がすでに登録されている。さらに、日本を含め世界各国での登録試験も順調に進行している。また、Brosa らは我々のエポキシド化合物をヒントに、A 環にもエポキシド基を有する化合物 15 を合成した⁴³⁾、活性の詳細については不明であったので、筆者らも合成法を改良して 15 を合成した⁴⁴⁾。現在 15 を含めた関連化合物の活性試験を行っている。

3. BL の生合成解明に果たした有機合成化学の役割

BL の生合成研究はニチニチソウの培養細胞が比較的高レベルの BRs を生産することが理研の桜井、藤岡両博士らによって見いだされたことが契機となって開始された。筆者は帝京大の横田教授とともに生合成解明の研

究へ加わり、生合成中間体およびそれらの重水素標識体の合成を担当した。重水素標識体は内生量を定量する際の内部標準物質として、また、代謝実験においては基質として必須であり、これら標識体なしには生合成研究も後に述べる BRs 突然変異体の解析に関する研究も行えない。

古い文献で恐縮だが、重水素を高純度で側鎖部に導入する筆者らの方法を紹介する(図 5)。I にアセチレンを付加させ、(22*R*)-アルコールを主生成物として得、CD₃I を導入し、部分接触還元後 Claisen 転位反応により (22*E*, 24*S*)-26-エステル体を得、エステル基を *d*₃-メチル基へ変換して *d*₆-crinosterol 側鎖部を合成した⁴⁵⁾。次に、(22*R*, 23*R*)-エポキシドを経由する方法で(22*R*, 23*R*)-ジオール基を導入して BL 側鎖部を完成させ、A/B 環部を構築して標識体の TE, TY, CS および BL を *d*₆ の純度 99% 以上で合成した⁴⁶⁾。この合成法は多段階の反応を要したが、今日では不斉ジオール化反応により工程数もより短く好収率でこれら標識体の合成が行える。6-デオキシ系 BRs の 6-deoxoTE, 6-deoxoTY, 6-deoxoCS 等の標識体も、前述の 6-デオキシ系 BRs の合成と同様に側鎖部の不斉ジオール化反応、それに続く A/B 環部の構築により合成された⁴⁷⁾。また、*d*₆-CT および *d*₆-6-deoxoCT も図 3 と同じ方法により *d*₆-crinosterol 誘導体から合成された⁴⁷⁾。最近、BL 側鎖に重水素を導入する方法が瀬戸らによって報告されたが重水素の純度が 60% と低い⁴⁸⁾。

ニチニチソウ培養細胞から内生の生合成中間体を同定し、次に培養細胞系に標識体を投与し、その代謝物を分離・精製して GC-MS で同定することにより、campesterol (CR) から campestanol (CN) および CS を経由して BL へ至る 2 つの生合成経路、すなわち、CN の B 環の

Fig. 5 Synthesis of deuterio-labeled brassinosteroids.

Fig. 6 Biosynthesis of brassinolide marked with steps blocked in the various mutants.

C-6 位がまず酸化されて、次に側鎖部と A 環部が水酸化されて CS が生合成される早期 C6 酸化経路と、最初に CN の側鎖部と A 環が水酸化された後に B 環の C-6 位が酸化されて CS が生合成される後期 C6 酸化経路とが解明された(図 6)。詳細は桜井と藤岡の総説^{49,50)}を参照されたい。また、これまで未解明であった C-22 位水酸化および 6-deoxoCS $\rightarrow$ 6 α -OHCS $\rightarrow$ CS のステップも最近化学的に証明され、生合成経路全体が解明された⁵¹⁾。シロイヌナズナの幼苗においても内生 BRs の分析⁵²⁾および代謝実験から、この生合成経路が機能していることが最近解明された⁵³⁾。

生合成経路上の中間体をイネ葉身屈曲試験で調べた結果、生合成の進行とともに活性が増加することが観察され、BL が最も活性が強いので活性型 BRs と考えられる^{37,54)}。また、6-oxoCN $\rightarrow$ CT と CN $\rightarrow$ 6-deoxoCT の間に活性の最も大きなギャップがあった^{37,54)}。ニチニチソウ培養細胞中の内生量もこれら 22 α -水酸化の段階で大きな差が見られたので²³⁾、BL の生合成経路の律速段階はこの 22 α -水酸化の段階であると考えられる^{23,37,54)}。その後、後に述べる CR から CN への変換は 3 種の中間体を經由することが証明されて最終的に 図 6 に示す BL の生合成経路が解明された。

4. BRs 突然変異体の解析に果たした有機合成化学の役割

1996 年以降 BRs 生合成欠損による矮性突然変異体が相次いで発見された。これらは、暗所では、胚軸の伸長抑制、子葉の展開、光誘導性遺伝子の発現等が見られ、明所でも、矮性、縦方向の細胞長の著しい短縮、頂芽優勢の減少、雄性不稔、維管組織の異常生長、葉の形態異常等の興味深い形質を示す。また、BRs に対して非感受性の矮性突然変異体も発見されている。これらの発見は、BRs が植物の成長調節に必須の役割を果たしている重要なホルモンであることを示す。BRs 生合成欠損変異体は基本的に生合成欠損部位以降の中間体の投与によってその表現型が野生型へと回復する変異体であり、一方、BRs 非感受性変異体は、理論的にその表現型は BRs 生合成欠損変異体と同じであるが、BRs の投与によってその表現型が野生型へと回復せず、活性型 BRs の受容体あるいはシグナル伝達系に欠損がある変異体である。

Feldmann らはシロイヌナズナの BRs 関連の矮性突然変異体を多数単離し、それらを *dwarf1-8* (*dwf1-8*) の 8 種に大別している。また、Chory ら、Koncz ら、Chua ら、Bishop ら、Clouse らおよび Ephritikhine らもシロイヌナズナとトマトの変異体を単離しており、横田らもエンドウの変異体を見いだしている。筆者は非標識体の BL 生合成中間体すべて(回復実験用に必須)とそれらの重水素標識体(内生 BRs の定量分析および代謝実験用に

必須)を用意して、藤岡、野口とともにこれらのグループと BRs 変異体の解析を行う共同研究をスタートさせた。BRs 変異体の解析はこの共同研究の独壇場となっている。次に個々の変異体の解析を例に有機合成化学が果たした役割について解説していく。研究の年代順ではなく、生合成経路(図 6)の順に述べる。

4.1 BRs 生合成欠損矮性突然変異体の解析

Feldmann らによって単離されたシロイヌナズナの矮性変異体 *dwf5* と *dwf7* は BRs 生合成の非常に早い段階に欠損があることが回復実験で明らかにされた。この実験では筆者らの合成した 22 α -hydroxycampesterol (22 α -OHCR)が重要な役割を果たした。CR や CN 等の生合成初期の中間体は回復実験において、活性型への変換効率が悪いために回復効果がみられない。22 α -水酸化は BL 生合成経路の律速段階と考えられているので、この段階を迂回し、さらに、後に述べる 22 α -水酸化に欠損のある *dwf4* 以外の変異体で、22 α -OHCR でその矮性の表現型を野生型へと回復させることができた場合は、その変異体は CR で回復したとみなせることである。*dwf5* と *dwf7* の回復実験では 22 α -OHCR、6-deoxoCT および BL の投与でそれらの表現型を野生型へと回復させることができたので、欠損部位は CR より前である。定量分析の結果、24-methylenecholesterol (24-MC)、CR および CN は野生型と比べ、*dwf5* と *dwf7* では著しく減少していた。従って、*dwf5* と *dwf7* の欠損部位は 24-MC よりも上流である。そこで、メバロン酸生合成阻害剤である compactin を共存させて内生メバロン酸の生成を抑え、¹³C-メバロン酸の取り込み実験を行い、生成した ¹³C 標識ステロールの GC-MS による構造解析を行った結果、*dwf5* と *dwf7* はそれぞれ 5-dehydroepisterol $\rightarrow$ 24-MC ($\Delta^{5,7}$ -steroid-C 7-reduction) と episterol $\rightarrow$ 5-dehydroepisterol (Δ^7 -steroid-C 5-desaturation)の段階に欠損があることが解明された^{55,56)}。この構造解析においても標品の化学合成が必要であった⁵⁷⁾。22 α -OHCR は変異体の欠損部位特定の初期段階における有用なツールである。

シロイヌナズナの変異体 *dwf1* は Feldmann らによって 1989 年に発見され、原因遺伝子 *DWF1* はクローニングされたが、その機能は当時不明であった⁵⁸⁾。その後、Chua らと Kauschmann らによってその対立遺伝子 *dim* と *cbb1* が単離された^{59,60)}。*dwf1/dim* は BRs の投与によってのみその矮性の表現型を野生型へと回復させた。定量実験において、*dwf1/dim* では野生型と比べて BRs が極端に減少し、さらに、*dwf1/dim* は野生型と比べ、24-MC が著しく増加し、CR は劇的に減少していた。一方、エンドウの矮性変異体 *lkb* も BRs 生合成欠損の変異体であり、回復および定量実験より *dwf1/dim* と同様な結果が得られた。従って、*dwf1/dim* と *lkb* は 24-MC から CR への変換に欠損がある。そこで、コレ

Reagents: i, DHP, *p*-TsOH, THF; ii, LiAlH₄, THF; iii, PCC/AcONa, CH₂Cl₂; iv, d₇-isopropylmagnesium bromide, THF; v, Tebbe reagent, THF; vi, 2 M HCl, THF/MeOH; vii, methylmagnesium bromide, THF; viii, POCl₃, pyridine.

Fig. 7 Synthesis of deuterio-labeled 24-methylenecholesterol and 24-methylidesmosterol.

ン酸から重水素標識 24-MC および 24-methylidesmosterol を重水素の純度 99% 以上で合成した(図 7)⁶¹⁾。C-25 位に重水素を導入したところが本標識体のポイントである。これら標識体を用いた代謝実験において、野生型では CR や CN への変換が認められたのに対し、*dim* では変換されなかったことより、DWF 1/DIM は 24-MC から CR への変換、24-MC の C-24(28)二重結合の C-24(25)への異性化および還元という連続した 2 つの反応に関与していることが解明された。さらに、生化学的研究および配列解析の結果から DWF 1/DIM はステロイド $\Delta^{24(28)}$ 異性化および還元に関与する小胞体の膜に結合した酵素であった^{62,63)}。同様に、エンドウの野生型では d₇-24-MC の代謝実験において d₆-CR が検出されたが、*lkb* では変換されなかったことより、LKB は DWF 1/DIM と同じ機能を有することが明らかとなった⁶⁴⁾。

Ephritikhine らによって単離されたシロイヌナズナの矮性変異体 *sax1* は植物ホルモンに対する感受性において、根の成長ではアブシジン酸とオーキシシンに対しては hypersensitive で、下胚軸の成長ではジベレリンとエチレンに対して insensitive である。その異常な感受性と矮性は BRs の投与によって回復する。回復実験から、欠損部位は 6-deoxoTE や TE よりも上流であり、かつ、*sax1* と後に述べる *dwf4* は対立遺伝子ではないことから CN よりも上流である。そこで、22 α -OHCR を用いた *dwf5* および *dwf7* の場合と同様に、22 α -水酸化を迂回する目的で CR から CN の間の中間体 (次の *det2* を参照) に対応する 22 α -水酸基を有する化合物(図 8)を新たに合成した²⁵⁾。22 α -OH 体の 4-en-3-one, 5 α -3-one および 6-deoxoCT の投与で、*sax1* の表現型は回復し、22 α -OHCR では回復しなかったことより、*sax1* は生合成上の 5-en-3 β -ol から 4-en-3-one への変換に欠損があることが判明した⁶⁵⁾。この結果から、CR から CN への

変換に関わる一連の酵素は対応する 22 α -水酸基を有する化合物をも同様に認識していることと、CR から 22 α -OH 体の 22 α -OHCR, 22 α -OH-4-en-3 β -ol, 22 α -OH-4-en-3-one および 22 α -OH-5 α -3-one を経由して 6-deoxoCT へ繋がるバイパスの存在が考えられた⁶⁵⁾。

Chory らによってシロイヌナズナの矮性変異体 *det2* の原因遺伝子 *DET2* がクローニングされ、哺乳動物のステロイド 5 α -レダクターゼと高い相同性を有し、*det2* は BRs のみによってその表現型が野生型へと回復した⁶⁶⁾。さらに、ヒトのステロイド 5 α -レダクターゼを *det2* で発現させると野生型へ回復し、逆に、*DET2* をヒトの腎臓培養細胞で発現させると動物ステロイドの 5 α -還元を触媒することから、DET2 はヒトのステロイド 5 α -レダクターゼと同じ機能を有する⁶⁷⁾。定量的結果、野生型に比べ、*det2* では BRs が著しく減少していた。中間体による回復実験から変異部位は上流のステロールで、DET2 が関与する段階は CR から CN の間であると考えられた⁶⁸⁾。この実験で、6-デオキシ系 BRs は明条件で育てた *det2* の回復には、6-オキシ系 BRs よりも効果的であり、逆に、暗条件で育てた *det2* の回復には 6-オキシ系 BRsの方が6-デオキシ系 BRs よりも有効であるという興味ある知見が得られた。

CR から CN 間の解明のために、中間体検索用の推定化合物の合成、重水素標識体の合成、内生量の定量および標識体の代謝実験を行った。生合成経路の初期段階として、CR $\rightarrow$ (24R)-24-methylcholest-4-en-3 β -ol $\rightarrow$ (24R)-24-methylcholest-4-en-3-one $\rightarrow$ (24R)-24-methyl-5 α -cholestan-3-one $\rightarrow$ CN の経路(図 6)を解明するとともに、*det2* の変異部位は(24R)-24-methylcholest-4-en-3-one から(24R)-24-methyl-5 α -cholestan-3-one への変換であることが証明された⁶⁹⁾。この CR から CN 間の経路はニチニチソウの培養細胞系でも証明さ

れた⁶⁹⁾。また、中間体の検索により、単子葉植物のコムギおよびアワ中にもこの経路の存在が示唆されたことから⁷⁰⁾、この経路は広く植物で機能していると考えられる。同様にエンドウの矮性変異体 *lk* も生合成欠損による変異体であり、変異部位は代謝実験により *det2* と同じところであった⁷¹⁾。これらの研究に使用した非標識体および重水素標識体(図 8)は crinosterol およびその d_6 体から誘導した CR およびその d_6 体を経由し、A/B 環部を変換して合成された⁶⁹⁾。

Fig. 8 Structures of 6-deoxocathasterone related compounds and campesterol related compounds.

Feldmann らの単離した矮性変異体 *dwf4* の原因遺伝子がクローニングされ、配列解析の結果、*DWF4* はシトクロム P 450 モノオキシゲナーゼ(CYP 90 B 1)をコードし、*CPD* と 43% の相同性を示した⁷²⁾。生合成中間体を用いた回復実験の結果、C 22 α 位に水酸基を有する化合物では回復するが、それら以前の C 22 α 位に水酸基を持たない化合物では回復しないことが判明した。さらに、22 α -OHCR は *dwf4* の表現型を野生型へと回復させた。従って、*dwf4* は 22 α -水酸化に欠損のある BRs 生合成変異体である⁷²⁾。この実験において、*det2* の場合と同様に、明条件で育てた *dwf4* の回復には 6-デオキシ系 BRs の方が 6-オキシ系 BRs よりも有効であり、逆に、暗条件で育てた *dwf4* の回復には 6-オキシ系 BRs の方が 6-デオキシ系 BRs よりも効果的であった。バックグラウンド(ecotype)の異なる変異体[*det2*, Columbia; *dwf4-1*, Wassiliewskija (Ws-2); *dwf4-3*, Enkheim (En-2)]において同じ現象が観察されたことから、明条件では BRs 生合成の後期 C 6 酸化経路が、暗条件では早期 C 6 酸化経路が優先的に機能しているという光による両経路の制御が考えられた。先に述べたよう

に、現在この 22 α -水酸化の段階は BL 生合成の律速段階と考えられている。*dwf4* における内生 BRs の定量や代謝実験は現在進行中である。

det2 と表現型が類似の *cpd* が Koncz らによって 1996 年に見いだされ、その原因遺伝子がクローニングされ、*CPD* はシトクロム P 450 モノオキシゲナーゼ(CYP 90 A 1)と高い相同性を有していた。回復実験から *cpd* は 23 α -水酸化に欠損のある変異体であった⁷³⁾。この実験に使用した生合成中間体は筆者が合成したものであるが、共同研究は成立せず、残念な思いをした。この変異体の化学的な根拠はまだ得られていない。なお、その後、*CPD* の転写は BRs のみによって負のフィードバック制御を受けて調節されていることが解明された⁷⁴⁾。最近、Clouse らとの共同研究により、トマトの矮性変異体 *dpy* も *cpd* と同じ部位に欠損がある生合成変異体であることが回復実験と内生 BRs の定量から解明された⁷⁵⁾。

Bishop らにより単離されたトマトの矮性変異体 *dwarf* (*d*)の原因遺伝子がクローニングされ、配列解析の結果、*D* はシトクロム P 450 モノオキシゲナーゼ(CYP 85)をコードしており、*CPD* と 38% の相同性を有し、BRs 生合成変異体の可能性が示唆された⁷⁶⁾。その後、中間体を用いた回復実験によって、*dwarf* の対立遺伝子 *extreme dwarf* (*d^x*)は 6-deoxoCS から CS への変換に欠損があることが判明した。野生型、*d^x* および *D* 遺伝子過剰発現体の内生 BRs の同定と定量を行った。内生 BRs として 6-デオキシ系 BRs と CS が存在し、他の 6-オキシ系 BRs および BL は検出されなかったことから、トマトでは BRs 生合成の後期 C 6 酸化経路が優先的に機能し、活性型 BRs は CS であると考えられた^{77,78)}。*d^x* は野生型に比べ、6-deoxoCS が異常に蓄積し、CS は極端に減少していた。これは回復実験の結果と一致していた。さらに、*D* 遺伝子過剰発現体では野生型に比べ、6-deoxoCS が減少し、CS が増加していたことから *D* は 6-deoxoCS から CS への変換に関与していることが支持された⁷⁷⁾。そこで、*D* を組み込んだ酵母中で *D* を発現させる系を用いて重水素標識体の代謝実験を行い、直接的な証拠を得ることになった。6-deoxoCS から CS への変換には中間体として 6 α -OH 体の存在が考えられたので、重水素標識 d_6 -CS の Birch 還元によって d_6 -6 α -OHCS の合成を行った⁵²⁾。実験の結果、 d_6 -6-deoxoCS は d_6 -6 α -OHCS と d_6 -CS とへ変換され、 d_6 -6 α -OHCS も d_6 -CS へ変換されたことから、*D* 遺伝子は 6-deoxoCS $\rightarrow$ 6 α -OHCS $\rightarrow$ CS の連続する 2 段階の反応に関与することが確実に証明された⁷⁷⁾。6-Deoxo-CS から CS への変換に伴いバイオアッセイでの活性は大きく増加するので、この段階も生合成の律速段階と考えられている⁷⁷⁾。

4.2 BRs 非感受性矮性突然変異体の解析

植物ホルモンに対して非感受性の突然変異体の発見はホルモン受容体やシグナル伝達機構の解明に重要な手掛かりを与える。BRs 非感受性の矮性変異体もシロイヌナズナ、エンドウおよびトマトから見いだされている。シロイヌナズナの変異体 *bri1* が Clouse らによって 1996 年に単離された⁷⁹⁾。Kauschmann らおよび Chory らも BRs 非感受性変異体を発見したが、それらはそれぞれ *bri1* の対立遺伝子 *cbb2* と *bin1* であった^{60,80)}。*bri1* は極端な矮性、暗緑色の葉、頂芽優勢の減少、雄性不稔等 *cpd* や *dwf4* に見られる典型的な表現型を示したが、BRs の投与によってその表現型が野生型へと回復しない。この変異体は活性型 BRs の受容体あるいはシグナル伝達系に欠損があり、BRI1 は活性型 BRs のシグナルの受容や伝達機構において重要な役割を果たしていると考えられる。*BRI1* のクローニングは Li と Chory によって行われ、予想に反して、*BRI1* は動物のステロイドホルモンのレセプターと異なり、細胞外にロイシンリッチリピートを有する膜貫通型のレセプターキナーゼ様タンパクをコードしていた⁸⁰⁾。BRI1 はレセプターキナーゼに必要な、N 末端のシグナルペプチド、ロイシンジッパーモチーフ、ロイシンリッチリピートを含む細胞外ドメイン、膜貫通型ドメインおよび細胞内キナーゼドメインというすべての構成要素を持っている。

Feldmann のグループも *bri1* の対立遺伝子 *dwf2* を単離している。*bri1/dwf2* について内生 BRs に関する情報は得られていないので、新たに単離した *bri1* の対立遺伝子 3 種について内生 BRs の定量を行った。Ws-2 をバックグラウンドとして程度の異なる *bri1-4* と *bri1-5* を比較すると、矮性の程度が顕著な *bri1-4* の方が内生 BL と CS の蓄積がより顕著であり、その比率は BL および CS でそれぞれ 57:22:1 と 128:51:1 (*bri1-4*:*bri1-5*:野生型 Ws-2) であった。En-2 をバックグラウンドとして *bri1-5* と同程度の矮性を示す *bri1-6* においても同様の内生 BRs の蓄積が認められた。*BRI1* 遺伝子の変異により、活性型 BRs の異常な蓄積が見られたことから、BRI1 は BRs 生合成のフィードバック調節に関わっていることが示唆された⁸¹⁾。エンドウとトマトの BRs 非感受性矮性変異体 *lka*⁶⁴⁾ と *cu-3*⁸²⁾ も同様に、CS の顕著な蓄積が見られ、これらの植物では CS が活性型 BRs であると考えられている。

おわりに

以上、1995 年以降の BRs 研究の中から天然型 C₂₈BRs の合成、重水素標識体の合成、関連化合物と活性、さらに、生合成の解明と矮性変異体の解析に果した有機合成化学の役割について解説した。ちょうど 20 年前の発見から、BRs という一群のステロイドは様々な分野の多くの科学者を魅惑し続け、やっと植物ホルモンの仲間入

りを果たした。BRs 研究のさらなる進展が期待される。本稿の後半部で紹介した生合成および変異体の研究は、本誌の大部分の読者にはあまり馴染みのない話で恐縮しているが、共同研究が非常にうまくいった 1 つの例ではないかと思うし、有機合成化学がこういう分野にも役立っていることをご理解いただければ幸いである。この共同研究の諸氏（本文および文献に記載）に感謝申し上げる。また、筆者の 1 人高津戸は大学院で恩師池川信夫先生（東工大名誉教授、現新潟薬科大学長）の指導の下 BL の合成に着手してから延々と BRs の研究に携わり、今年で 20 年目を迎えた。この時期に本稿を書く機会を与えて下さった編集委員会の先生方にお礼申し上げる。

(1999 年 9 月 29 日受理)

文 献

- 1) Brassinosteroids, ed. by A. Sakurai, T. Yokota, S. D. Clouse, Springer-Verlag, Tokyo, 1999
- 2) Brassinosteroids, ed. by V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, A. E. de Groot, Academic Press, California, 1999
- 3) M. Koreeda, J. Wu, *Synlett*, 1995, 850
- 4) S. Takatsuto, N. Ikekawa, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1983, 2133
- 5) B. G. Hazra, T. P. Kumar, V. S. Pore, *J. Chem. Res.*, (S): 536 (1996)
- 6) (a) S. Fung, J. B. Siddall, *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 6580 (1980); (b) T. Takahashi, A. Ootake, H. Yamada, J. Tsuji, *Tetrahedron Lett.*, 26, 69 (1985)
- 7) J. R. Donaubauer, A. M. Greaves, T. C. McMorris, *J. Org. Chem.*, 49, 2833 (1984)
- 8) T. C. McMorris, R. G. Chavez, P. A. Patil, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1996, 295
- 9) F. Werner, G. Parmentier, B. Luu, L. Dinan, *Tetrahedron*, 52, 5525 (1996)
- 10) T. G. Back, P. G. Blazecka, M. V. Krishna, *Can. J. Chem.*, 71, 931 (1993)
- 11) T. G. Back, D. L. Baron, W. Luo, S. K. Nakajima, *J. Org. Chem.*, 62, 1179 (1997)
- 12) M. J. Thompson, N. B. Mandava, W. J. Meudt, W. R. Lusby, D. W. Spaulding, *Steroids*, 38, 567 (1981)
- 13) (a) H. -L. Kwong, C. Sorato, Y. Ogino, H. Chen, K. B. Sharpless, *Tetrahedron Lett.*, 31, 2999 (1990); (b) K. B. Sharpless, W. Amberg, Y. L. Bennani, G. A. Crispino, J. Hartung, K. -S. Joong, H. -L. Kwong, K. Morisaki, Z. -M. Wang, D. Xu, X. -L. Zhang, *J. Org. Chem.*, 57, 2768 (1992)
- 14) J. P. Marino, A. Dios, L. J. Anna, R. F. Pradilla, *J. Org. Chem.*, 61, 109 (1997)
- 15) T. Schmittberger, D. Uguen, *Tetrahedron Lett.*, 38, 2837 (1997)
- 16) S. Takatsuto, T. Watanabe, S. Fujioka, A. Sakurai, *J. Chem. Res.*, (S): 134, (M): 0901 (1997)
- 17) L. -Q. Sun, W. -S. Zhou, X. -F. Pan, *Tetrahedron Asymmetry*, 2, 973 (1991)
- 18) T. Watanabe, S. Takatsuto, S. Fujioka, A. Sakurai, *J. Chem. Res.*, (S): 360 (1997)
- 19) T. Watanabe, S. Takatsuto, unpublished work.
- 20) T. Yokota, K. Higuchi, N. Takahashi, Y. Kamuro, T. Watanabe, S. Takatsuto, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 62, 526 (1998)
- 21) T. Watanabe, T. Yokota, K. Shibata, T. Nomura, H. Seto, S. Takatsuto, *J. Chem. Res.*, in press.
- 22) P. G. Griffiths, J. M. Sasse, T. Yokota, D. W. Cameron, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 59, 956 (1995)
- 23) S. Fujioka, T. Inoue, S. Takatsuto, T. Yanagisawa, T. Yokota, A. Sakurai, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 59, 1973 (1995)

- 24) S. Takatsuto, H. Kuriyama, T. Noguchi, H. Suganuma, S. Fujioka, A. Sakurai, *J. Chem. Res.*, (S): 418 (1997)
- 25) S. Takatsuto, T. Watanabe, C. Gotoh, H. Kuriyama, T. Noguchi, S. Fujioka, *J. Chem. Res.*, (S): 176, (M): 0844 (1998)
- 26) T. Yokota, K. Mori, Molecular Structure and Biological Activity of Steroids, ed. W. L. Duax, M. Bohl, CRC Press, Boca Raton, FL, p 317 (1992)
- 27) T. Kishi, K. Wada, S. Marumo, K. Mori, *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1821 (1986)
- 28) D. L. Baron, W. Luo, L. Janzen, R. P. Pharis, T. G. Back, *Phytochemistry*, 49, 1849 (1998)
- 29) H. Seto, S. Fujioka, M. Koshino, H. Hayashi, T. Shimizu, S. Yoshida, T. Watanabe, *Tetrahedron Lett.*, 40, 2359, (1999)
- 30) H. Seto, S. Fujioka, H. Koshino, T. Suenaga, S. Yoshida, T. Watanabe, S. Takatsuto, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1998, 3355
- 31) H. Seto, S. Fujioka, H. Koshino, T. Suenaga, S. Yoshida, T. Watanabe, S. Takatsuto, *Phytochemistry*, 52, 815 (1999)
- 32) T. Watanabe, S. Fujioka, T. Yokota, S. Takatsuto, *J. Chem. Res.*, (S): 744, (M): 3301 (1998)
- 33) H. Seto, S. Fujioka, M. Koshino, S. Yoshida, M. Tsubuki, T. Honda, *Tetrahedron*, 55, 8341 (1999)
- 34) K. Mori, T. Takeuchi, *Liebigs Ann. Chem.*, 1988, 815
- 35) D. Lichtblau, A. Porzel, J. Schmidt, B. Voigt, G. Adam, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1999, 53
- 36) W. Luo, L. Janzen, R. P. Pharis, T. G. Back, *Phytochemistry*, 49, 637 (1998)
- 37) S. Fujioka, T. Noguchi, S. Takatsuto, S. Yoshida, *Phytochemistry*, 49, 1841 (1998)
- 38) (a) C. Brosa, L. Soca, E. Terricabras, J. C. Ferrer, A. Alsina, *Tetrahedron*, 54, 12337 (1998); (b) C. Brosa, Brassinosteroids, ed. A. Sakurai, T. Yokota, S. D. Clouse, Springer-Verlag, Tokyo, p 191 (1999)
- 39) (a) T. Kakiuchi, Y. Kamuro, S. Takatsuto, K. Kobayashi, *Agric. Biol. Chem.*, 52, 2381 (1988); (b) 禿泰雄, 高津戸秀, 植物の化学調節, 23, 142 (1988)
- 40) S. Takatsuto, Y. Kamuro, T. Watanabe, T. Noguchi, H. Kuriyama, *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 23, 15 (1996)
- 41) 高津戸秀, 植物の化学調節, 29, 23 (1994)
- 42) Y. Kamuro, S. Takatsuto, Brassinosteroids, ed. A. Sakurai, T. Yokota, S. D. Clouse, Springer-Verlag, Tokyo, p 223 (1999)
- 43) C. Brosa, X. Miro, *Tetrahedron*, 53, 11347 (1997)
- 44) T. Watanabe, S. Takatsuto, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, in press.
- 45) S. Takatsuto, N. Ikekawa, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1986, 591
- 46) S. Takatsuto, N. Ikekawa, *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 4045 (1986)
- 47) T. Watanabe, H. Kuriyama, T. Noguchi, S. Fujioka, S. Takatsuto, unpublished data.
- 48) H. Seto, S. Fujioka, H. Koshino, S. Yoshida, T. Watanabe, S. Takatsuto, *Tetrahedron Lett.*, 39, 7525 (1998)
- 49) A. Sakurai, S. Fujioka, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 61, 757 (1997)
- 50) S. Fujioka, A. Sakurai, *Nat. Prod. Rep.*, 14, 1 (1997)
- 51) S. Fujioka, T. Noguchi, T. Watanabe, S. Takatsuto, S. Yoshida, *Phytochemistry*, in press.
- 52) S. Fujioka, T. Noguchi, T. Yokota, S. Takatsuto, S. Yoshida, *Phytochemistry*, 48, 595 (1998)
- 53) T. Noguchi, S. Fujioka, S. Takatsuto, S. Yoshida, S. Choe, K. A. Feldmann, unpublished data.
- 54) S. Fujioka, T. Inoue, S. Takatsuto, T. Yanagisawa, T. Yokota, A. Sakurai, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 59, 1543 (1995)
- 55) S. Choe, A. Tanaka, T. Noguchi, S. Fujioka, S. Takatsuto, A. S. Ross, F. E. Tax, S. Yoshida, K. A. Feldmann, *Plant J.*, accepted.
- 56) S. Choe, T. Noguchi, S. Fujioka, S. Takatsuto, C. P. Tissier, B. D. Gregory, A. S. Ross, A. Tanaka, S. Yoshida, F. E. Tax, K. A. Feldmann, *Plant Cell*, 11, 207 (1999)
- 57) S. Takatsuto, C. Gotoh, T. Noguchi, S. Fujioka, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 48, 37 (1999)
- 58) K. A. Feldmann, D. M. Marks, M. L. Christianson, R. S. Quatrano, *Science*, 243, 1351 (1989)
- 59) T. Takahashi, A. Gasch, N. Nishizawa, N. -H. Chua, *Genes Dev.*, 9, 97 (1995)
- 60) A. Kauschmann, A. Jessop, C. Koncz, M. Szekeres, L. Willmitzer, T. Altmann, *Plant J.*, 9, 701 (1996)
- 61) S. Takatsuto, C. Gotoh, T. Noguchi, T. Nomura, S. Fujioka, T. Yokota, *J. Chem. Res.*, (S): 206 (1998)
- 62) U. Klahre, T. Noguchi, S. Fujioka, S. Takatsuto, T. Yokota, T. Nomura, S. Yoshida, N. -H. Chua, *Plant Cell*, 10, 1677 (1998)
- 63) S. Choe, B. P. Dilkes, B. D. Gregory, A. S. Ross, H. Yuan, T. Noguchi, S. Fujioka, S. Takatsuto, A. Tanaka, S. Yoshida, F. E. Tax, K. A. Feldmann, *Plant Physiol.*, 119, 897 (1999)
- 64) T. Nomura, Y. Kitasaka, S. Takatsuto, J. B. Reid, M. Fukami, T. Yokota, *Plant Physiol.*, 119, 1517 (1999)
- 65) G. Ephritikhine, S. Pagant, S. Fujioka, S. Takatsuto, D. Lapous, M. Caboche, D. Kendrick, H. Barbier-Brygoo, *Plant J.*, 18, 315 (1999)
- 66) J. Li, P. Nagpal, V. Vitart, T. C. McMorris, J. Chory, *Science*, 272, 398 (1996)
- 67) J. Li, M. G. Biwas, A. Chao, D. W. Russell, J. Chory, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 94, 3554 (1997)
- 68) S. Fujioka, J. Li, Y. -H. Choi, H. Seto, S. Takatsuto, T. Noguchi, T. Watanabe, H. Kuriyama, T. Yokota, J. Chory, A. Sakurai, *Plant Cell*, 9, 1951 (1997)
- 69) T. Noguchi, S. Fujioka, S. Takatsuto, A. Sakurai, S. Yoshida, L. Li, J. Chory, *Plant Physiol.*, 120, 833 (1999).
- 70) S. Takatsuto, N. Kosuga, B. Abe, T. Noguchi, S. Fujioka, T. Yokota, *J. Plant Res.*, 112, 27 (1999)
- 71) Y. Kitasaka, T. Nomura, J. B. Reid, S. Takatsuto, S. Fujioka, T. Yokota, *Abstract of the 16th International Conference on Plant Growth Substances* (Makuhari Messe, Chiba, Japan), p 152 (1998)
- 72) S. Choe, B. P. Dilkes, S. Fujioka, S. Takatsuto, A. Sakurai, K. A. Feldmann, *Plant Cell*, 10, 231 (1998)
- 73) M. Szekeres, K. Nemeth, Z. Koncz-Kalman, J. Mathur, A. Kauschmann, T. Altmann, G. P. Redei, F. Nagy, J. Schell, C. Koncz, *Cell*, 85, 171 (1996)
- 74) J. Mathur, G. Molnar, S. Fujioka, S. Takatsuto, A. Sakurai, T. Yokota, G. Adam, B. Voigt, F. Nagy, C. Maas, J. Schell, C. Koncz, M. Szekeres, *Plant J.*, 14, 593 (1998).
- 75) C. V. Koka, R. E. Cerny, R. G. Gardner, T. Noguchi, S. Fujioka, S. Yoshida, S. Takatsuto, S. D. Clouse, *Plant Physiol.*, 122, 85 (2000)
- 76) G. J. Bishop, K. Harrison, J. D. G. Jones, *Plant Cell*, 8, 959 (1996)
- 77) G. J. Bishop, T. Nomura, T. Yokota, K. Harrison, T. Noguchi, S. Fujioka, S. Takatsuto, J. D. G. Jones, Y. Kamiya, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 96, 1761 (1999)
- 78) T. Nomura, G. J. Bishop, Y. Kamiya, S. Takatsuto, T. Yokota, *Plant Cell Physiol.*, accepted.
- 79) S. D. Clouse, M. Langford, T. C. McMorris, *Plant Physiol.*, 111, 671 (1996)
- 80) L. Li, J. Chory, *Cell*, 90, 929 (1997)
- 81) T. Noguchi, S. Fujioka, S. Choe, S. Takatsuto, S. Yoshida, H. Yuan, K. A. Feldmann, F. E. Tax, *Plant Physiol.*, 121, 743 (1999)
- 82) 野村崇人, 星野和行, Gerard J. Bishop, 高津戸秀, 横田孝雄, 植物化学調節学会第 34 回大会 (鳥取), 研究発表記録集, p 100 (1999)

PROFILE

高津戸 秀 上越教育大学自然系化学教室助
教授 理学博士
〔経歴〕 1980 年早稲田大学理工学部卒, 1985
年東京工業大学大学院理工学研究科博士課程
修了, 同年上越教育大学自然系化学教室助手,
1987 年同講師, 1989 年から現職。〔専門〕 天
然物化学, 有機化学

渡辺 剛 タマ生化学株式会社研開技術部
〔経歴〕 1985 年日本大学文理学部卒, 同年タ
マ生化学株式会社入社。〔専門〕 有機合成化
学。〔連絡先〕 [REDACTED]

他機関賞のお知らせ

研究助成・林フェロー・国際交流について

林女性自然科学者研究助成基金では, 平成 12 年度助成対象者を公募しています。

対 象 者: 国公立大学, 国公立または非営利事業財団等の研究機関において, 自然科学 (化学およびそれ
に関連ある物理学・生物学) の基礎研究に従事する若手女性研究者 (国籍を問わない)

助成の種類: ①研究助成: 10 数件, 総額約 2,000 万円, ②林フェロー: 博士号を目指す若手研究者 (100 万
円×数名, 2 年間助成), ③国際研究交流助成 (国際研究集会での研究発表, 海外での共同研究の
ための渡航): 年 10 件程度, 総額 150 万円。

申 込 締 切: 平成 12 年 3 月 31 日

詳細問合せは下記事務局まで。

東京都中央区日本橋室町 2-1-1 三井信託銀行本店営業第一部公益信託室 (TEL 03-3277-7500,
FAX 03-3279-4522)