

Rhizoctonia solani の感受性株と非感受性株を用いて検討した。生合成の前駆体となる各種の ^{14}C 化合物の取込み試験の結果はいずれも否定的であった。一方 carbendazim は感受性株、非感受性株を問わず同様に特徴的な菌糸の異常分岐を起こした。Pencycuron は感受性株だけに同様の形態変化を示した。各株の粗タンパク分画と ^{14}C -pencycuron との binding assay を行なったところ感受性の高い株程 binding が強く起こったので、形態形成に必要なタンパクと pencycuron が結合して作用を発現している可能性が示された。

Arimoto (理研) らはキュウリのうどんこ病における硫黄の分布を X 線マイクロアナライザーを用いて解析した。

Fry (ICI, イギリス) らは Anti-Oomycetes fungicides の作用機構の研究に GC または GC/MS 法による菌体成分のプロフィールを利用する試みを行なった結果、ステロール生合成のような作用点が 2 次代謝部位にある場合は成功するが、主代謝経路で他経路との連絡点において阻害が起きている場合などは代謝物のプロフィールのパターンが大きく変わり説明困難となりやすいことを示した。

(日本特殊農薬製造㈱ 黒河内伸)

4 B Modes of Herbicide Action

除草剤の作用機構をテーマとして 35 題の発表があった。その中の Peroxidation and protoporphyrinogen oxidase に関する分野では、主にジフェニルエーテル系除草剤 (DPE) の作用機構に関与しており、近年その作用機構については、筆者が所属していた神戸大学の研究室をはじめ、幾つかの研究グループによって、急速に解明が進められてきている。本大会においては、DPE の作用機構に関する有力な研究グループが、ほぼ勢ぞろいした感があった。

発表のうちわけは以下のとおりである。筆者を含めた神戸大グループより 2 報、三菱化成、玉川大グループより 2 報、S. O. Deuk を中心とする USDA のグループより 1 報、P. Boger を中心とする西ドイツ、Konstanz 大学のグループより 1 報、Schering AG より 1 報、そしてフランスの INRA より 1 報であった。各グループとも、それぞれに工夫を凝らし充実した内容であったが、INRA のグループ、および USDA のグループの発表について紹介する。

フランス、INRA のグループは、M. Matringe, R. Scalla を中心に活動しており、DPE の作用機構において、DPE

による Protoporphyrin IX の蓄積や, Protoporphyrinogen oxidase の阻害等の報告をいち早く行なってきた先駆的なグループである。彼らのタイトルは, “*In vitro* Studies of Protoporphyrinogen Oxidase Inhibition by Peroxidizing Herbicides” であり, objective として, ① DPE による protoporphyrinogen oxidase の阻害様式の characterization, そして, ② DPE とはその化学的な基本骨格が異なる, 幾つかの薬剤 (環状イミド系除草剤等) が, この酵素を阻害するのはなぜかを解明することを掲げていた。内容としては, 主に *in vitro* における, DPE と他の peroxidizing herbicide の protoporphyrinogen oxidase に対する作用を, kinetics を用いて解析しようとしたものであった。供試薬剤としては, acifluorfen methyl, oxadiazon, LS 82556, そして M & B 39279 を用いていた。

まず corn の etioplast と mitochondria における protoporphyrinogen oxidase に対する acifluorfen methyl の阻害様式を調べた結果, 阻害は競争的であり, etioplast と mitochondria の protoporphyrinogen oxidase に対する K_i 値は, それぞれ 0.7 nM, 0.8 nM であった。次に, ^3H -acifluorfen methyl を他の 3 薬剤それぞれとともに, corn の etioplast membrane に処理し, その binding に対する競争的な interaction を観察していた。まず, ^3H -acifluorfen methyl 単独での binding constant = K 値と, その binding number = X 値はそれぞれ, $K = 13.6 \pm 4.1$ nM, $X_t = 15.8 \pm 1.8$ pmol/mg protein であった。また cold の acifluorfen methyl 添加によって, ^3H -acifluorfen methyl の specific binding は, 低下していた。他の peroxidizing herbicide の添加によっても ^3H -acifluorfen methyl の specific binding は低下したが, DCMU は何ら影響を与えなかった。また protoporphyrinogen oxidase の基質である protoporphyrinogen の添加によって, ^3H -acifluorfen methyl の specific binding は完全に消失した。以上より, (1) acifluorfen methyl は corn の etioplast と mitochondria における protoporphyrinogen oxidase に対する競争的な阻害剤であり, その親和性は, etioplast と mitochondria に対する K_i 値とも nM のレンジにあり, 非常に高いものである。(2) ^3H -acifluorfen methyl の corn の etioplast membrane に対する specific な binding は, その constant が 13.6 ± 4.1 nM と, 非常に高い親和性をもっていた。(3) 他の三つの peroxidizing herbicide の添加によって ^3H -acifluorfen methyl の specific binding が低下したことから, これら四つの薬剤は, 同じ binding site を有している。また, 光合成阻害剤である DCMU は何ら影響をもたない。そして, 基質である protoporphyrinogen

表 4-1 Effects of acifluorfen (10 μ M) or acifluorfenmethyl (1 μ M) on porphyrin contents of green cucumber cotyledon discs or green *Lemna pausicostata* in darkness.

Porphyrin	Cucumber		<i>L. pausicostata</i>	
	Control (pmoles/g fr wt)	Treated	Control (pmoles/50 colonies)	Treated
Uroporphyrin III	16	25	23	27
Coproporphyrin III	4	4	4	9
Protoporphyrin IX	8	1100	5	772
Mg-Protoporphyrin IX	31	32	7	5
Mg-Protoporphyrin IX monomethyl ester	0	0	0	0
Protochlorophyllide	741	406	1760	1601

rinogen の添加によって ^3H -acifluorfen methyl の specific binding は完全に消失したことにより, acifluorfen methyl は確実に protoporphyrinogen oxidase に bind しており, おそらく, その binding site は触媒部位に近接している, と考察していた.

今回の彼らの報告は, 今までの仕事の延長線上にあり,それほど目新しいものではないと思われる. しかし, その中でも興味を引くのは, 環状イミド系等の peroxidizing herbicide が, DPE と全く同じ作用部位を競争的に阻害することである. これは, これら protoporphyrinogen oxidase を阻害する除草剤のグループが, 構造的に何かしらの共通性をもつことを示唆していると考えられる. この点に関して, '90 の農薬学会で Osabe らが, DPE 等の peroxidizing herbicide はその構造に, ある相関性をもつという興味深い報告を行っており, 今後の peroxidizing herbicide の drug design 等に重要な知見を与えるものと考えられる.

USDA のグループは, S.O.Duke を中心として, 長い間, DPE の研究を行ってきたグループである. 今回の彼らの発表題目は, "Protoporphyrin IX's Role in the Mechanism of Action of Diphenyl Ether Herbicides" であり, 内容としては, DPE 処理した植物体における, protoporphyrin IX の蓄積部位, 定量およびその除草活性との相関などについての検討を行っていた. protoporphyrin IX の蓄積部位についてであるが, fluorescence microscopy を用いて, DPE 処理した組織における protoporphyrin IX の蓄積を観察し, acifluorfen 処理した組織には, 過剰の protoporphyrin IX が蓄積しており, その蓄積部位は, 細胞内全体に及ぶ. また, 蓄積するテトラピロール類としては, キュウリ緑葉および浮草緑葉ではそのほとんどが protoporphyrin IX であると示している (表 4-1). この結果は, われわれが, キュウリ黄化葉を用い

て行なった実験で, protochlorophyllide も蓄積するという報告と異っており, われわれは緑化と黄化の組織の違いではないかと考察している. ただ, 彼らの考えでは, protochlorophyllide の蓄積は否定的であり, その蓄積量は有意ではないと示している. さらに, protoporphyrin IX の蓄積量と除草活性の間には高い相関があることを示しており, このことも彼らにとって protochlorophyllide の蓄積説に異をとなえる理由の一つのようである. しかし, 幾つかの種に対する, DPE の除草活性と protoporphyrin IX の蓄積量の間には必ずしも相関関係はないと示している. Duke は, このことに関して, それぞれの植物体をもつ活性酵素消費系等の活性が異なるのではないかと考察していた.

Protoporphyrin IX の蓄積量と除草活性との相関性については, 現在われわれを含む幾つかの研究者の間でも問題となっており, その解明が急がれるところである. ただ, 基本的な DPE の作用機構の解釈については, 今回出席した研究者の間では, ほぼ一致したようである. すなわち, DPE が protoporphyrinogen oxidase を阻害することにより, 植物体内に protoporphyrinogen IX が蓄積する. 蓄積した protoporphyrinogen IX は自動酸化により protoporphyrin IX に変換し, 系外に蓄積する. この protoporphyrin IX が光照射下で活性酸素を発生させ, 細胞膜の過酸化を誘導し, 植物体を枯死にいたらしめる. また, 今回われわれは, このようにして蓄積した protoporphyrin IX は, 本来のクロロフィルムやヘムの合成には用いられず, 5-アミノレブリン酸合成にフィードバック制御を与えているヘムが減少する. その結果, protoporphyrinogen IX の基質である 5-アミノレブリン酸の合成が促進され, 連鎖反応的に過剰の protoporphyrin IX が蓄積することを報告した (図 4-1).

今後, 各グループがどのような方向性をもって研究を

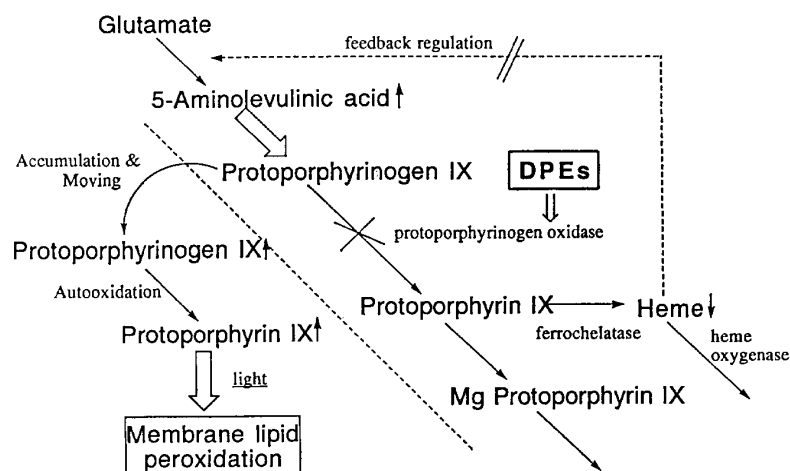


図 4-1 Possible mechanism of action of DPEs.

進めていくかはわからないが、おそらく分子レベルでの解析を進め、最終的に遺伝子操作により抵抗性株を育種する方向に進むことが予想され、大いに期待したいと思う。また、Matsunaka により提唱されているように、DPE が阻害する protoporphyrinogen oxidase という酵素は、動物達もちろん有しており、さらに Mtringe らは、DPE が *in vitro* で mouse mitochondria の protoporphyrinogen oxidase を阻害することを報告している。したがって、安全性の面からも、DPE が動物に与える影響を解明することは大変重要であると考えられる。

(京都大学理学部 増田 建)

4 C Modes of Insecticide Action

殺虫剤の作用機構に関するこの section で神経機能阻害について 21 課題が報告された。その中で、イオンチャンネルとオクトパミン受容体について紹介する。GABA 受容体クロライドチャンネルについて、Gant ら (USA) はラット脳とイエバエ頭の神経系では更なった機能をもつことを、*t*-butylbicyclophosphorothionate, エンドリン, 4-*t*-butyl-1-4-(4-cyanophenyl)-2, 6, 7-trioxabicyclo [2. 2. 2] octane との結合性から解明した。3 化合物は、哺乳動物系では GABA 受容体クロライドチャンネルの同じ部位に結合するが、イエバエでは異なる部位であることを明らかにした。さらに、GABA 受容体クロライドチャンネルに作用する殺虫剤の作用点における結合性を研究するために、強力な殺虫活性をもつ ³H 標識化合物 1-(4-ethynylphenyl)-4-*n*-[2, 3-³H₂] propyl-2, 6, 7-trioxabicyclo [2. 2. 2] octane による結合部位での親和性を解

明することが、Deng ら (USA) により提案された。

Benson (Switzerland) はアセチルコリン受容体アンタゴニストについて報告した。nitromethylene heterocycles (NMHs) は強力な殺虫力をもっているが、NMHs を 2 種の受容体—ニコチン型 (ACh 1) とムスカリン型 (ACh 2)—に関連した電気生理学的実験を行なうことによって、NMHs は、① ACh 1 のみが受容体になりうることを、② ニコチン型受容体を遮断することによる選択性の高いニコチン型アンタゴニストである、③ 高濃度で処理した場合にはアゴニストとして作用することを明らかにした。Brackley ら (USA) は、トリの脳から抽出した *Xenopus* の卵母細胞でのグルタミン酸とニコチン型アセチルコリン受容体の阻害について発表した。阻害実験にはポリアミドとポリアミンアミドを供試化合物として、二つの受容体での反応性を処理薬量、電圧などの効果から検討した結果、Philanthotoxin-343 が最も強力にグルタミン酸反応を阻害するが、二つの受容体の拮抗的アンタゴニストではなく、また、チャンネルでのイオン選択性にも作用しないことを報告した。Fukami ら (明薬大) は、mealworm 神経接合部におけるクモとミツバチ毒の作用について発表した。これらの毒素は、無脊椎動物神経系でグルタミン酸応答をかなりの低濃度で遮断することが知られているが、これらの毒物の生物的・生理的機能について $10^{-5} \sim 10^{-8} \text{ M}$ 濃度で実験が行なわれた。女郎グモ毒素 (JSTX) と *Nephia maculata* 毒素 (NSTXIII) は、①両者は興奮性シナプス電位とグルタミン酸誘導の脱分極を抑えるが膜電位には影響しない、②毒作用として NSTXIII が可逆的であるのに対し JSTX は不可逆的であることを明らかにした。

(上路雅子)