

## 光合成電子伝達系の特異的阻害剤に関する生合理研究

Biorational approaches to finding specific inhibitors of the photosynthetic electron flow

- 代表研究者 宇都宮大学農学部教授 高橋 信 孝  
Faculty of Agriculture, Utsunomiya Univ.  
Nobutaka TAKAHASHI
- 協同研究者 理化学研究所薬剤作用研究室主任研究員 吉田 茂 男  
Chief Researcher, Chemical Regulation of Biomechanisms Lab.,  
The Institute of Physical and Chemical Research  
Shigeo YOSHIDA
- 理化学研究所太陽光エネルギー科学研究グループ主任研究員 井上 頼 直  
Chief Researcher, Solar Energy Research Group, The Institute of  
Physical and Chemical Research  
Yorinao INOUE
- 姫路工科大学理学部助教授 小池 裕 幸  
Assoc. Prof., Faculty of Science, Himeji Univ. of Technology  
Hiroyuki KOIKE

Inhibitors of the photosynthetic electron transport (PET) system have been studied to introduce a biorational approach for herbicides, since accumulated knowledge of the biological system has already reached a satisfactory level for detail explanation of their behaviors.

An effective molecular design of potent PET inhibitors has been established by consideration of the function of PQ at D1 protein. New PET-inhibitory structures were also discovered in natural products. Binding studies of the PET inhibitors are very important in this type of research since it is rather difficult to understand their structure-activity correlation in cases when a minor structural modification causes a dramatic change in their attacking sites.

The PET inhibitors should be modified for the installation of herbicidal potency, which might require chemical parameters additional to those of the optimized structures at the binding site. Thus, it is also necessary to devise quick and reliable assay methods for herbicide screening in order to get accurate information about the structural effects, and with this strategy the bioassay using cultured cells has been proven to be a useful tool of structure-activity studies to detect the herbicidal requisites in the structures of PET inhibitors.

### 研究の目的

我々人類は、地球規模の環境を共通の福祉にかかわる問題として真剣に考えなければならない時期にさしかかった。特に今世紀後半に著しい発展を遂げた農業の大量使用を前提とした農業は環境汚染の元凶の一つと決め付けられる事態にいた

り、この問題を中心にジャーナリズムなどで自然生態系と文明の関係について多くの議論が喚起されている。つまり、人類の生存が食糧の確保に依存していることは明白であるが、食糧を生産するための農業という人為的営みが自然生態系に近いこと（自然農法など）を理想とする本質的に矛盾

した感情論が沸き立っている。このジレンマに対して科学的側面から解決の糸口を見出すためには、生物制御剤の研究者が薬物・化学物質と生理機構の因果関係を論理的に認識することが必須の事柄であろう。そこで本課題研究者らは、植物に生理活性を示す物質について分子生物学・分子生理学・生化学・生物有機化学・バイオテクノロジーなどを包括した新しい研究姿勢で取り組むことにより、21世紀の除草剤や植物成長調節剤を模索することを提唱している。

本研究では、前述の方針を具現化するために主要な除草剤の作用部位である光合成電子伝達(PET=Photosynthetic Electron Transport)機構に着目し、薬剤の作用により引き起こされるこの機構の生理的素過程や薬剤分子の生体内における挙動などを詳しく解析することによって、生物の仕組みを無理なく利用した安全な除草剤の創製研究につながる道を求めた。

## 研究経過

### 1) 新型 PET 阻害剤の分子設計

#### a. プラストキノン機能の考察に基づく分子設計

かつて本課題研究者らは、呼吸鎖電子伝達系で電子担体として機能するユビキノンの作用部位を特異的に阻害するピエリジジンについて構造活性研究を行った。その結果としてキノン型電子担体と構造的に類似したヘテロ環化合物により特異的な電子伝達阻害が引き起こされることが示唆された。そこで、PET系電子担体であるプラストキノン(PQ, 1)の化学的特性を考察して導かれたピリドン化合物(2)の活性を調べたところ、弱いながらも特異的なPET阻害を発現することが判明した。このリード阻害剤の活性を向上させるために、すでに知られている各種PET阻害剤の構造を比較したところ、分子内における電子求引基の導入することとその配置が重要であると予想された。こうして検討された合成化合物のなかからブロモピリドン誘導体(3, 4)が高い活性を示す阻害剤として選抜された。これらの構造的特徴をPQや最近発見されたシアノアクリレート系阻害剤(5)と比較すると、PET阻害を発現するための一

般構造として環状エナミン誘導体(6)が想定できる。さらに考察を進めるとエナミン部分を環外に配置し、立体空間的にコンパクトな環状ジケトン電子求引基に利用する組み合わせ(7)が有力な阻害発現構造の候補として浮上した。実際にこれらの検討を通じてシクロヘキサジオン誘導体(8)、ピランジオン誘導体(9)、ピラントリオン誘導体(10)などの強力な新型PET阻害剤が発見された。

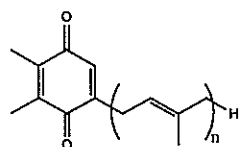
#### b. 天然のPET阻害活性物質をリードとする分子設計

最近、ユーカリ樹 *Eucalyptus grandis* に含まれるG-インヒビター(11)のPET阻害活性がオーストラリアの研究者らによって報告された。しかし本課題研究者らが純粋な11の合成物を用いてその活性を追試した結果、活性本体は11ではなく天然物中にごくわずか含まれるグランジノール類(12)であることを明確に示した。フロログルシノールを母核とする12の類縁体についてPET阻害活性を調べたところ、イ)強度の差がある二個の電子求引基が核上に存在すること、ロ)それら置換基がフェノール水酸基と水素結合を形成すること、ハ)弱い電子求引基側に適当な脂溶性を備えることの三条件を満たす化合物は極めて強い活性を発現することが判明し、新型阻害剤のシリーズ(13~16)が得られた。

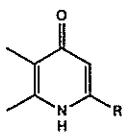
#### ii) 新型PET阻害剤の阻害様式解析

前述の新型阻害剤は、すべてPET系の同一機能タンパク質に作用していることが簡単な蛍光誘導測定法により確認できた。このタンパク質は光反応系II(PSII)を構成するD1タンパク質であり、PQに電子を供与する機能を担っている。D1タンパク質の内部には阻害剤の化学的特性によって仕分けられる数個所の阻害剤結合部位が存在する。したがって種類の異なるPET阻害剤の構造活性相関を論ずるためには、それらが同一部位に結合したことを確認する必要がある。従来はこの問題を解明するために熟練を要する精密な生化学的手法が駆使されたが、より簡便で高精度が期待される新しい阻害様式解析法の開発を試みた。

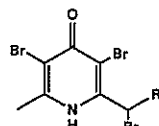
#### a. 熱発光グローブ曲線解析



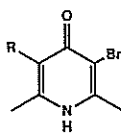
1



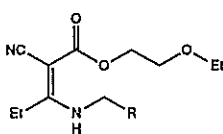
2



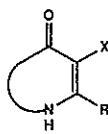
3



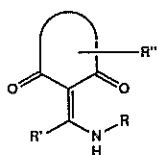
4



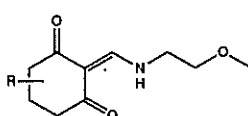
5



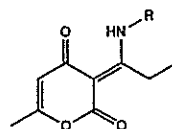
6



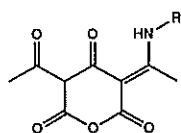
7



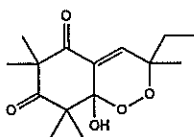
8



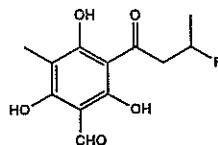
9



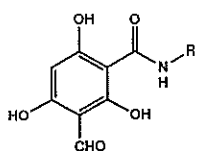
10



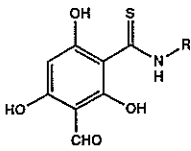
11



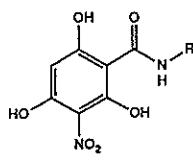
12



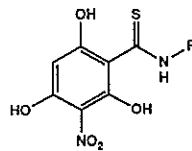
13



14



15



16

PET系に暗所でパルス光を与えた直後に液体窒素で凍結し、これを徐々に加熱すると一定の温度に到達したときに微弱な発光現象が観察できる。これは照射によってPSII内部で励起されてプラスとマイナス両電荷に分極化したエネルギーが液体窒素温度で凍結され、それが解凍されると逆反応による再結合が生じて発光するものである。すなわち、この現象はD1タンパク質の内部で発生するエネルギー変化と直接関連している

のでPET阻害剤の結合による状態変化が忠実に反映されるはずである。

b. D1タンパク質変異株による交差活性解析

PET系にはD1タンパク質をはじめとして葉緑体遺伝子の支配を受けるタンパク質が多い。葉緑体の全遺伝子配列はすでに解読されているので、このようなタンパク質における変異個所は簡単に決定できる。光合成阻害型除草剤に対して抵抗性を示す葉緑体では、D1タンパク質のアミノ

酸配列が1~2箇所変化していることが最近になって明らかにされた。このような変異による抵抗性の現われかたは阻害剤の種類によって程度に差があるので、複数種の変異株をもちいて抵抗性を解析すると阻害剤のタイプを仕分けられる。

### iii) 新型 PET 阻害剤の除草活性解析

新型 PET 阻害剤の葉緑体レベルにおける生理検定(ヒル反応)結果は除草活性と無相関であることが多い。この原因は阻害剤が植物個体の表面から組織膜や細胞壁を通過して D1 タンパク質に至るあいだにいろいろな化学構造・官能基的な制約を受けるためであると考えられる。そこで葉緑体と植物個体の中間に位置づけられる緑色培養細胞(光合成機能を保持している)を材料とし細胞壁(膜)を透過するために必要な化学パラメータを解析した。

### 研究成果

本研究の遂行によって我が国の当該分野研究が国際的評価を得たことは最大の研究成果である。これは、1989年にドイツで開催された「葉緑体に作用する除草剤に関する国際会議」において基調講演(招待)をしたことや、韓国で開かれた「アジア・太平洋雑草学会」における研究発表が表彰されたことと、1992年に「葉緑体に作用する除草剤に関する国際会議」が日本で開かれることとなり本課題研究者らによる主催が依頼されたことなどとなって示されている。

#### i) 新型 PET 阻害剤の分子設計

本課題研究により確立されたプロモビリドン誘導体(3, 4)、シクロヘキサジオン誘導体(8)、ピランジオン誘導体(9)、ピラントリオン誘導体(10)、フロログルシノール誘導体(13~16)などの強力な新型 PET 阻害剤は除草剤への応用的な見地から期待されているだけでなく、光合成生理機構の化学特性を調べるために有効な分子プローブ(探り針)として基礎研究面でも高い評価を得ている。また、これらの活性物質に至った分子設計思想は生物学と化学の学際領域に位置するユニークなものとして認知されている。

#### ii) 新型 PET 阻害剤の阻害様式解析

熱発光グローブ曲線解析法は阻害剤自体が特殊な

分光学的性質を帯びている場合(13~16など)に不明確な結果を与えるが、一般的には結合様式の微妙な差異をはっきりと区別する優れた方法であることが判明した。これにより3, 4はイオキシニル(17)と、5, 8はジウロン(DCMU, 18)やアトラジン(19)と類似した結合様式を有するが、9および10は全く新しいタイプであることが示された。

上記の結果は D1 タンパク質変異株による交差活性解析によってさらに確実に裏付けられた。また、この方法は熱発光法が適用できない化合物種についても明確な結果を与えることが13~16の例により示された。変異株を用いる生理検定結果は阻害剤結合部における個々のアミノ酸残基の機能に関する情報を含んでいるので、阻害剤の構造活性相関研究上きわめて重要な解析法であることが改めて確認された。

本研究を通じて「光合成阻害型除草剤の構造活性相関について異種化合物間の比較は、それらが同一部位に結合した場合に限り意味がある」という新しいコンセプトを除草剤研究者に与えた。この問題を解明するためには、バイオサイエンスの最新技術を取り入れて簡便で高精度の阻害様式解析法を積極的に開発することの重要性が示された。また、こうして得られる複雑な情報を詳しく解析するためには、コンピュータグラフィクスなどを包含する革新的なシステムを構築すべきであることも示された。

#### iii) 新型 PET 阻害剤の除草活性解析

緑色培養細胞の内、無機培地中で炭酸ガスと光によって増殖する光独立栄養細胞は光合成機能依存度が高いために光合成阻害型除草剤に対して鋭敏な感受性を有することが判明した。また、この細胞を用いて除草剤スクリーニングを行なえることが新型 PET 阻害剤を実例として示し、内外研究者の関心を集めた。

一方、特殊化した光独立栄養培養細胞は植物細胞の特色である分化全能性を喪失しているが、光合成阻害剤に対する抵抗性の発現遺伝子を選抜するために絶好の材料であることも示された。

## 今後の課題と発展

本課題の初年度（1988年）には光合成細菌のPET機構をX線結晶解析法により解明した研究に対してノーベル化学賞が授けられた。これは、本課題研究者らが提起しているPET機構の制御にかかわる問題点が学術の本質に触れていることを象徴することとして感銘深い出来事であった。また、特殊化した光独立栄養培養細胞は植物細胞の特色である分化全能性を喪失しているが、光合成阻害剤に対する抵抗性変異を有する葉緑体遺伝子を選抜するための優れた材料であることもつい最近になって植物細胞生理学の成果として示された。これらの事実は、植物科学が生物科学のなかでは分子生物学的進展の遅れている分野であるという従来の一般的見解が見直されて、少なくとも光合成生理については先鋭的バイオサイエンス研究の場になっていることを意味する。

我々人類は植物生態の制御という問題についてどのような解決策を求めるべきであろうか。これは、もはや農業上の限定された問題ではなく、炭酸ガス対策を含めた地球環境の保全にかかわる重要な命題として人類の英知を集めて考えなければならない。このような立場から、除草剤という人工的で自由に構造改変のできる生理活性物質と植物生理機構の間の相互作用解析を通じて、生理反応（生命）と科学物質の関連を解き明かそうとする本研究課題の主旨は、クロロフィル生合成阻害型やアミノ酸生合成阻害型除草剤あるいは植物ホルモン剤などの研究にも影響力を及ぼすものと考えられる。

最後に日産科学振興財団の2年間にわたる研究助成について、本課題研究者一同は深く感謝いたします。

## 発表論文

- 1) T. Asami, H. Koike, Y. Inoue, N. Takahashi and S. Yoshida: Structure-activity relationships and physiological aspects of new photosynthetic electron transport inhibitors, 3-alkylamino-alkyliden-2H-pyran-2,4(3H)-diones (AP), *Z. Naturforsch.*, **43c**, 857 (1988).
- 2) S. Yoshida, T. Asami, T. Kawano, K. Yoneyama, W. D. Crow, D. M. Paton and N. Takahashi: Photosynthetic inhibitors in *Eucalyptus*

- grandis*, *Phytochemistry*, **27**, 1943 (1988).
- 3) 吉田茂男: “生体電子伝達阻害剤と農薬開発研究”, *化学と生物*, **26**, 506 (1988).
- 4) S. Yoshida, T. Asami, Y. Tsuchihashi, M. Ujiie, K. Yoneyama and N. Takahashi: Biological activity of nitrophenol derivatives, *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 229 (1989).
- 5) K. Yoneyama, T. Asami, W. D. Crow, N. Takahashi and S. Yoshida: Photosynthetic electron transport inhibition by phenol derivatives, *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 471 (1989).
- 6) H. Koike, T. Asami, S. Yoshida, N. Takahashi and Y. Inoue: A new type photosystem II inhibitor which blocks electron transport in water-oxidation system, *Z. Naturforsch.*, **44c**, 271 (1989).
- 7) K. Yoneyama, M. Konnai, T. Takematsu, H. Iwamura, T. Asami, N. Takahashi and S. Yoshida: Photosynthetic electron transport inhibition by 3-acyl-2,4,6-trihydroxy-benzamide derivatives, *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 1953 (1989).
- 8) K. Yoneyama, M. Konnai, T. Takematsu, T. Asami, N. Takahashi and S. Yoshida: Inhibition of photosynthesis by 3-Acyl-2,4,6-trihydroxy-thiobenzamide derivatives, *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2281 (1989).
- 9) S. S. Kwak, K. Ichinose, M. Kishida, S. Yoshida, N. Takahashi, F. Sato and Y. Yamada: A Simple and Rapid Screening Method for Herbicidal Photosynthetic Electron Transport Inhibitors Using Liverwort Photoautotrophic Cultured Cells, *Proceedings of the 12th Asian-Pacific Weed Science Society Conference*, Vol. 2, 581 (1989).
- 10) 吉田茂男: “除草剤研究における最近の動向”, *日本農芸化学会誌*, **63**, 1615 (1989).
- 11) I. Honda, K. Yoneyama, M. Konnai, N. Takahashi and S. Yoshida: Syntheses of 3-nitro-2,4,6-trihydroxybenzamide and thiobenzamide derivatives as highly potent inhibitors of photosynthetic electron transport, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1071 (1990).
- 12) I. Honda, K. Yoneyama, M. Konnai, H. Iwamura, N. Takahashi and S. Yoshida: Structure-activity relationship of 3-nitro-2,4,6-trihydroxybenzamide derivatives photosynthetic electron transport inhibition, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1227 (1990).
- 13) K. Yoneyama, M. Konnai, I. Honda, S. Yoshida, N. Takahashi, H. Koike and Y. Inoue: Phloroglucinol derivatives as potent photosystem II inhibitors, *Z. Naturforsch.*, **45c**, 317 (1990).
- 14) S. Yoshida: Heuristic approaches to finding

- new herbicides active in the chloroplast, *Z. Naturforsch.*, **45c**, 329 (1990).
- 15) H. M. Gleiter, N. Ohad, J. Hirschberg, R. Fromme, G. Renger, H. Koike and Y. Inoue: An application of thermoluminescence to herbicide studies, *Z. Naturforsch.*, **45c**, 353 (1990).
  - 16) S. Shochat, N. Adir, A. Gal, Y. Inoue, L. Mets and I. Ohad: Photoinactivation of photosystem II and degradation of the D1 protein are reduced in a cytochrome *b<sub>6</sub>/f*-less mutant of *Chlamydomonas reinhardtii*, *Z. Naturforsch.*, **45c**, 395 (1990).
  - 17) N. Ohad, D. Amir-Shapira, H. Koike, Y. Inoue, I. Phad and J. Hirschberg: Photoinactivation of photosystem II and degradation of the D1 protein are reduced in a cytochrome *b<sub>6</sub>/f*-less mutant of *Chlamydomonas reinhardtii*, *Z. Naturforsch.*, **45c**, 402 (1990).
- 口頭発表
- 1) 米山弘一, 近内誠登, 竹松哲夫, 本多一郎, 浅見忠男, 吉田茂男, 高橋信孝: テトラヒドロピラン-2,4,6-トリオン系化合物の植物生理活性, 日本農芸化学会昭和63年度大会, 名古屋, 4月, 昭63(1988).
  - 2) 針谷康明, 吉田茂男, 高橋信孝: 新型呼吸鎖電子伝達系阻害剤の検索, 日本農芸化学会昭和63年度大会, 名古屋, 4月, 昭63(1988). 馬場正紀, 浅見忠男, 吉田茂男, 井上頼直, 高橋信孝: プロモピリドン型光合成電子伝達阻害剤の構造活性研究, 日本農芸化学会昭和63年度大会, 名古屋, 4月, 昭63(1988).
  - 3) 松江英樹, 浅見忠男, 吉田茂男, 小池弘幸, 井上頼直, 高橋信孝: ピランジオン型光合成電子伝達阻害剤の構造活性研究とその阻害様式, 日本農芸化学会昭和63年度大会, 名古屋, 4月, 昭63(1988). 岸田満浩, 浅見忠男, 吉田茂男, 井上頼直: シクロヘキササンジオン系化合物の光合成電子伝達阻害活性と殺草活性, 日本農芸化学会昭和63年度大会, 名古屋, 4月, 昭63(1988).
  - 4) 本多一郎, 吉田茂男, 高橋信孝, 米山弘一, 近内誠登: 3-ニトロ-2,4,6-トリヒドロキシベンズアミド系化合物の光合成電子伝達阻害活性, 日本農芸化学会昭和63年度大会, 名古屋, 4月, 昭63(1988).
  - 5) 佐藤良, 大塩裕幸, 井上頼直, 吉田茂男, 高橋信孝: 光要求性除草剤 S-23142 による蛍光色素の細胞内蓄積と光合成系の変化, 第23回植物化学調節学会大会, 仙台, 10月, 昭63(1988).
  - 6) 本多一郎, 米山弘一, 近内誠登, 井上頼直, 吉田茂男, 高橋信孝: フロログルシノール誘導体 PNO, PNS の殺草活性と光合成阻害活性, 第23回植物化学調節学会大会, 仙台, 10月, 昭63(1988).
  - 7) 馬場正紀, 小池裕幸, 井上頼直, 吉田茂男, 高橋信孝: 4-ピリジノール誘導体の光合成電子伝達阻害活性と阻害部位, 第23回植物化学調節学会大会, 仙台, 10月, 昭63(1988).
  - 8) 松江英樹, 郭尚洙, 一瀬勝紀, 小池裕幸, 井上頼直, 吉田茂男, 高橋信孝: 2,4-ピロン誘導体 AP の植物に及ぼす影響, 第23回植物化学調節学会大会, 仙台, 10月, 昭63(1988).
  - 9) 岸田満浩, 佐藤文彦, 山田康之, 郭尚洙, 一瀬勝紀, 吉田茂男, 高橋信孝: シクロヘキササンジオン型光合成電子伝達阻害剤の構造活性研究, 第23回植物化学調節学会大会, 仙台, 10月, 昭63(1988).
  - 10) 郭尚洙, 一瀬勝紀, 吉田茂男, 高橋信孝, 佐藤文彦, 山田康之: 除草剤作用の検索システムとしての植物培養細胞(第2報), 第23回植物化学調節学会大会, 仙台, 10月, 昭63(1988).
  - 11) S. Yoshida, S. S. Kwak and N. Takahashi: Bio-rational Approaches in Herbicides in Herbicide Screenings for Economic Weed Control, 12th Asian-Pacific Weed Science Society Conference, Seoul, Korea, August (1989).
  - 12) S. S. Kwak K. Ichinose, M. Kishida, N. Takahashi, F. Sato and Y. Yamada: A Simple and Rapid Screening Method for Herbicidal Photosynthetic Electron Transport Inhibitors Using Liverwort Photoautotrophic Cultured Cells, 12th Asian-Pacific Weed Science Society Conference, Seoul, Korea, August (1989).
  - 13) S. Yoshida: Heuristic Approaches to Finding Herbicides Active in the Chloroplast, Herbicide Active in The Chloroplast; Satellite Meeting of 12th International Congress of Photosynthesis, Monheim, FRG, August (1989).
  - 14) K. Yoneyama, M. Konnai, S. Yoshida, N. Takahashi, H. Koike and Y. Inoue: Phloroglucinol Derivatives as Potent PSII Inhibitors, Herbicide Active in The Chloroplast; Satellite Meeting of 12th International Congress of Photosynthesis, Monheim, FRG, August (1989).
  - 15) F. Sato, Y. Yamada, S. S. Kwak, K. Ichinose, N. Takahashi, H. Koike and Y. Inoue: Responses of Photoautotrophic, Photomixotrophic and Heterotrophic Cells to Photosynthetic Inhibitors, Herbicide Active in the Chloroplast; Satellite Meeting of 12th International Congress of Photosynthesis, Monheim, FRG, August (1989).
  - 16) 岸田満浩, 郭尚洙, 一瀬勝紀, 井上頼直, 吉田茂男, 高橋信孝: シクロヘキササンジオン系化合物のヒル反応阻害活性に対する置換効果に関する考察, 日本農芸化学会平成元年度大会, 新潟, 4月, 平元(1989).
  - 17) 米山弘一, 本多一郎, 近内誠登, 吉田茂男, 高橋

- 信孝：フロログルシノール誘導体の構造と PET 阻害活性，日本農芸化学会平成元年度大会，新潟，4月，平元(1989).
- 18) 馬場正紀，郭 尚洙，一瀬勝紀，井上頼直，吉田茂男，高橋信孝：4-ピリジノール誘導体の光合成電子伝達阻害活性，日本農芸化学会平成元年度大会，新潟，4月，平元(1989).
- 19) 一瀬勝紀，郭 尚洙，吉田茂男，高橋信孝，佐藤文彦，山田康之：光独立栄養細胞による光合成阻害型除草剤の検索，日本農芸化学会平成元年度大会，新潟，4月，平元(1989).
- 20) 郭 尚洙，一瀬勝紀，木谷 緑，吉田茂男，高橋信孝，佐藤文彦，山田康之：光独立栄養細胞による光合成阻害型除草剤の検索(第2報)，植物化学調節学会平成元年度大会，和光市，10月，平元(1989).
- 21) 本多一郎，米山弘一，近内誠登，吉田茂男，高橋信孝，岩村 俊：光合成阻害活性を有する PNO 類の構造活性相関，植物化学調節学会平成元年度大会，和光市，10月，(1989).
- 22) 佐藤 良，大塩裕陸，吉田茂男，高橋信孝：光要求型除草剤 S-23142 の第一次作用機構，蓄積するポルフィリンの分析，日本農薬学会第15回大会，町田市，3月，平2(1990).
- 23) 一瀬勝紀，郭 尚洙，木谷 緑，吉田茂男，高橋信孝，小谷裕幸，井上頼直，佐藤文彦，山田康之，J. Hirschberg：除草剤耐性 D1 タンパク変異葉緑体を用いた新型光合成阻害剤の作用機構の解析，日本農芸化学会平成2年度大会，福岡，4月，平2(1990).
- 24) 米山弘一，浅見忠男，近内誠登，高橋信孝，吉田茂男：ピラントリオン系化合物の光合成電子伝達阻害活性，日本農芸化学会平成2年度大会，福岡，4月，平2(1990).
- 25) 小柳 弘，郭 尚洙，吉田茂男，高橋信孝：カーバメイト型光合成電子伝達系阻害剤の検索，日本農芸化学会平成2年度大会，福岡，4月，平2(1990).
- 26) S. Yoshida, S. S. Kwak, N. Takahashi, H. Koike, Y. Inoue, I. Honda and K. Yoneyama: Modes of Action of Phloroglucinol PS II Inhibitors, 7th International Congress of Pesticide Chemistry, Hamburg, FRG, August (1990).