

植物成長促進物質 2-Azahypoxanthine (AHX) の標的タンパク質の探索

共生基盤学専攻 バイオマス転換学講座 生物有機化学 桑田 直重

1. はじめに

芝生上に特定の菌類 (*Lepista sordida*) が円状に生え, その円状に芝生が色濃く繁茂するフェアリーリングと呼ばれる現象が存在する。このような菌類から産出される 2-azahypoxanthine (AHX) が植物の繁茂を促す原因物質であることが報告された。芝と分類学上同じ科であるイネの他に, コムギやレタスなど多くの作物においても AHX の成長促進が確認された。また, AHX を与えた植物では成長促進だけでなく乾燥や塩ストレスに対する耐性も認められたため, 本化合物が作物を増産させ, 悪環境下でも作物を栽培可能にする新しい「植物成長調節剤」としての開発が期待されている。しかし, AHX の植物成長促進効果の詳細は未解明である。本研究では, AHX の成長促進作用メカニズムを解明するために AHX の標的タンパク質を同定することとした。

2. 方法

アフィニティーラベル化法を用いて AHX の標的タンパク質の検出を試みた。AHX が結合したアフィニティー担体にイネ由来の粗タンパク質抽出を供し, AHX 結合タンパク質を溶出させた。本溶出液をペプチドマスフィンガープリンティング法により解析し, 標的タンパク質の候補を決定した。大腸菌を用いて, 標的タンパク質である可能性があるタンパク質の組換えタンパク質を作製し, ウェスタンブロッティング法により AHX との結合の有無を検討した。AHX の標的タンパク質の可能性が高いタンパク質の 1 種である V-ATPase の酵素活性に対する AHX の影響を調べた。

3. 結果と考察

ペプチドマスフィンガープリンティング法によって検出された 1378 種類のタンパク質の中から, AHX の標的タンパク質の候補として 13 種類のタンパク質が同定された。ウェスタンブロット法により, V-ATPase B subunit 2, V-ATPase A subunit および eIF-5A-4 の 3 種類のタンパク質が AHX と結合することが明らかとなった。AHX の V-ATPase の酵素活性に対する影響を調べた結果, 2.5 mM 以上の濃度で本化合物が V-ATPase 活性を増強することが明らかとなった。従って, AHX が, V-ATPase B subunit 2 または V-ATPase A subunit ATP に結合し V-ATPase 活性を高めていることが示唆された。

4. まとめ

アフィニティーラベル化法によって, AHX の標的タンパク質の 1 つが V-ATPase であることが示唆された。今後は, イネの V-ATPase サブユニット A または B 遺伝子変異株を作製し, これらの変異株に対する AHX の影響を調べていく必要がある。また, AHX の結合部位を明らかにし V-ATPase 活性上昇のメカニズムを探ることも重要である。