

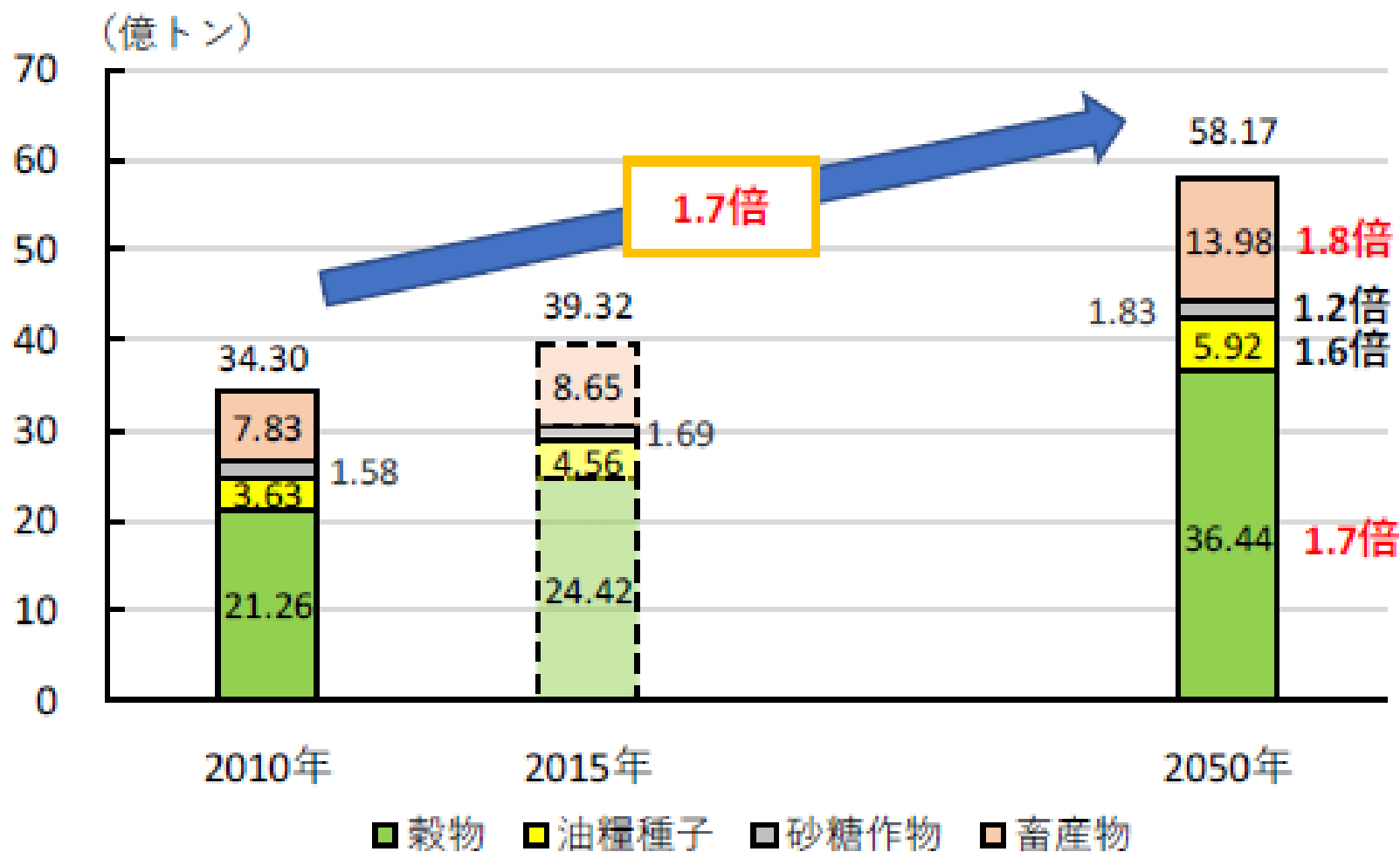
施設栽培に適した 高汎用性の植物成長調節剤

信州大学 農学部 農学生命科学科

教授 大神田 淳子

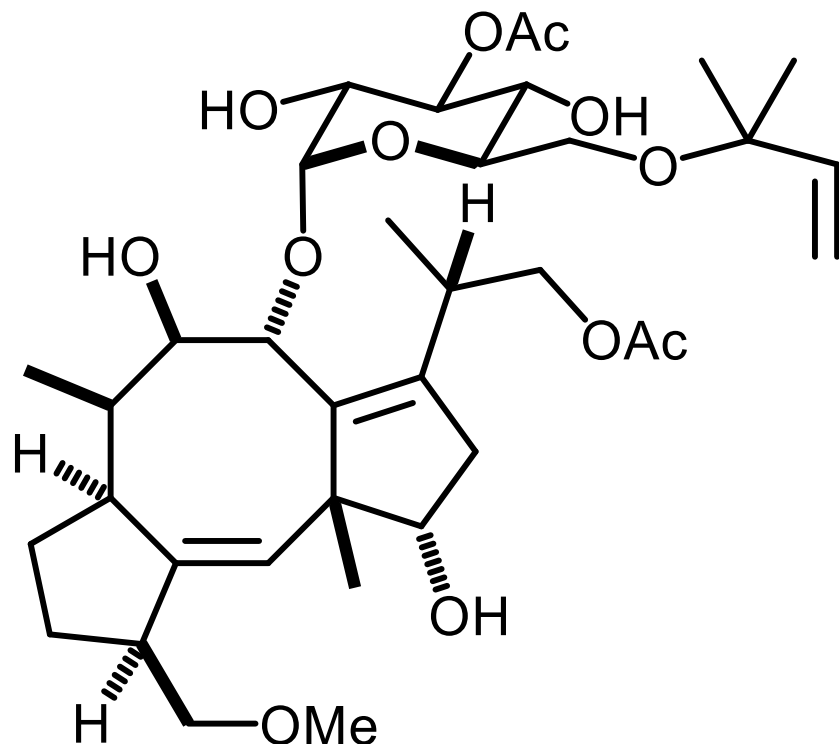
2021年8月3日

世界の食料需要量の見通し



令和元年9月 農林水産省大臣官房政策課食糧安全保障室 「2050年における世界の食料需給見通し」 より

フシコクシン-A (Fusicoccin A)



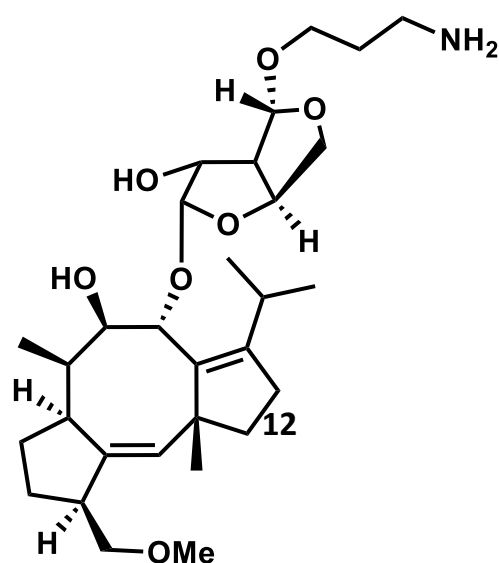
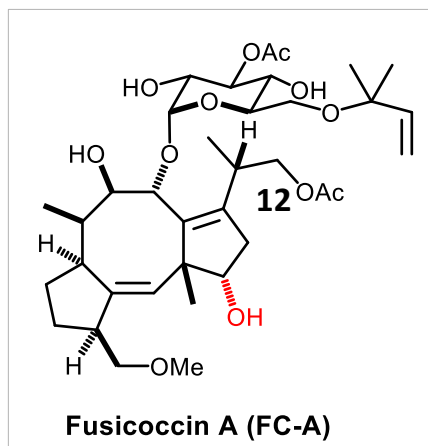
Fusicoccin A (FC-A)

Produced by Phomopsis amygdali
Ballio et al. *Nature*, **1964**, 203, 297.

モモ、アーモンドの葉

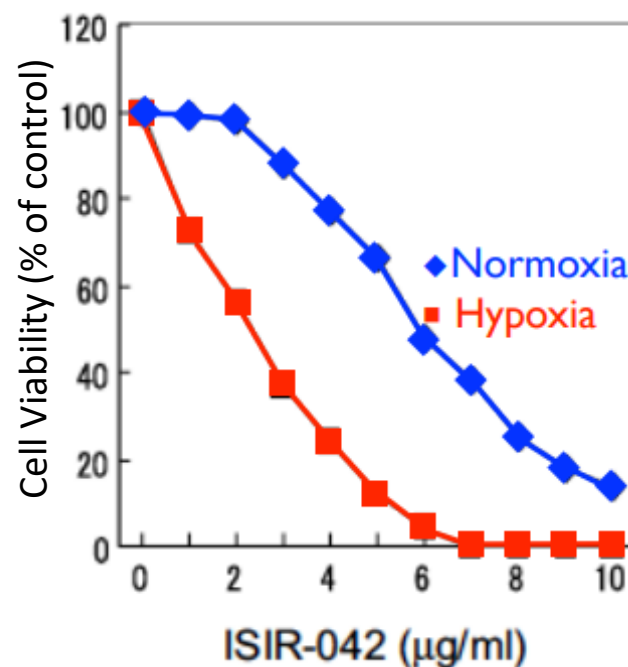
アーモンド等の木に寄生する真菌の代謝産物として単離されたジテルペン配糖体。植物細胞膜のH⁺-ATPaseを活性化させることで、気孔を不可逆的に開口し、連続的な蒸散を誘導して、植物体を枯死させる、という報告がある。

Removal of 12-Hydroxy Group Results in Antitumor FC Derivatives

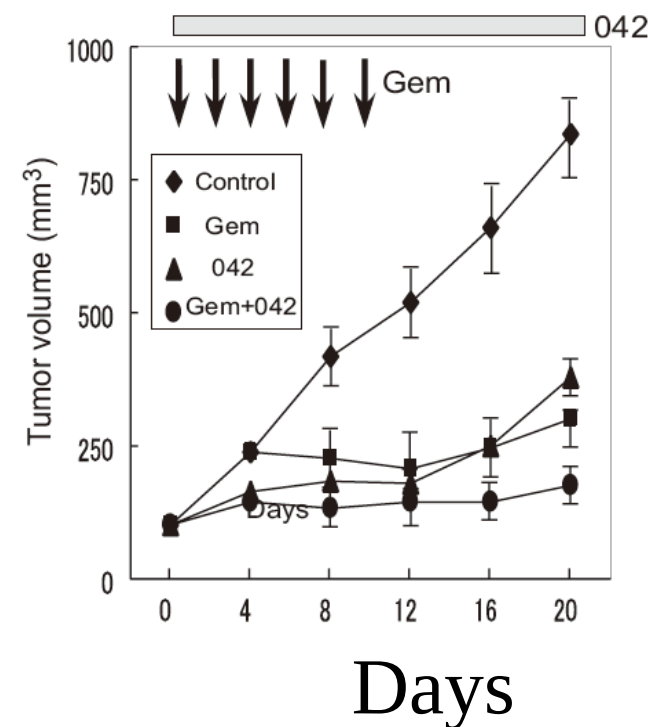


Antiproliferative

MIAPaca-2 cells

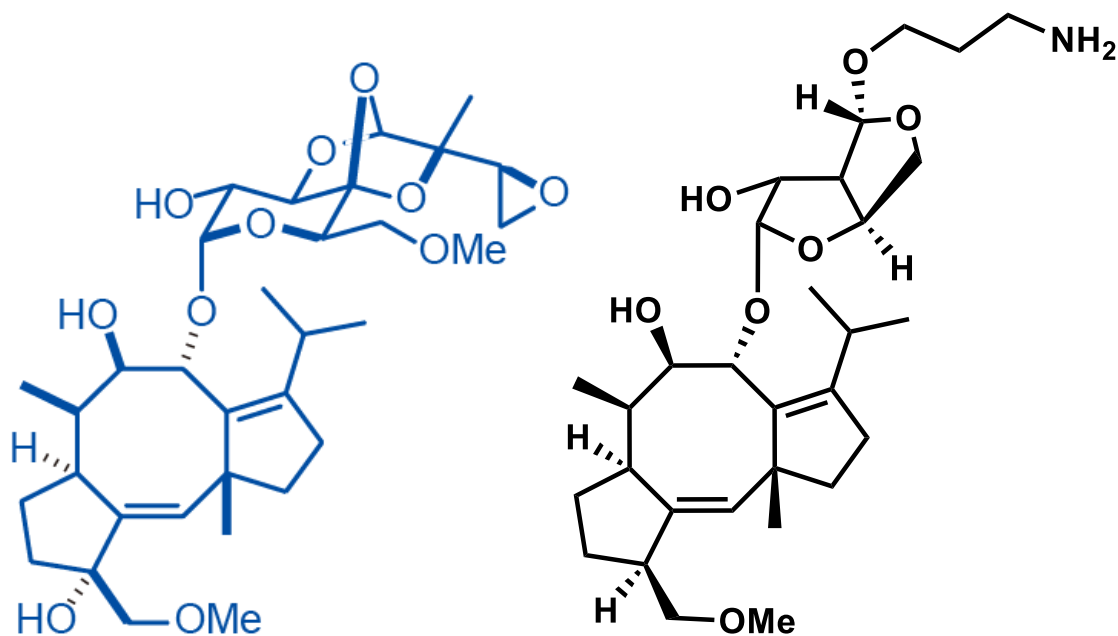


Xenograft mice



- Effective under **Hypoxia condition**
- **Suppresses tumour growth** in xenografts models

フシコクシン類縁体による抗がん剤研究



Cotylenin (CN) Sassa et al. *Nature* **1970**, 227, 379.

Anticancer Agents Med. Chem. **2012**, 12, 791.

- Induces differentiation of HL-60 cells

- Induces apoptosis with IFN- α

Honma et al. *Cancer Res.* **2003**, 63, 3659.

- Cladosporium* sp. 501-7W lost proliferation ability



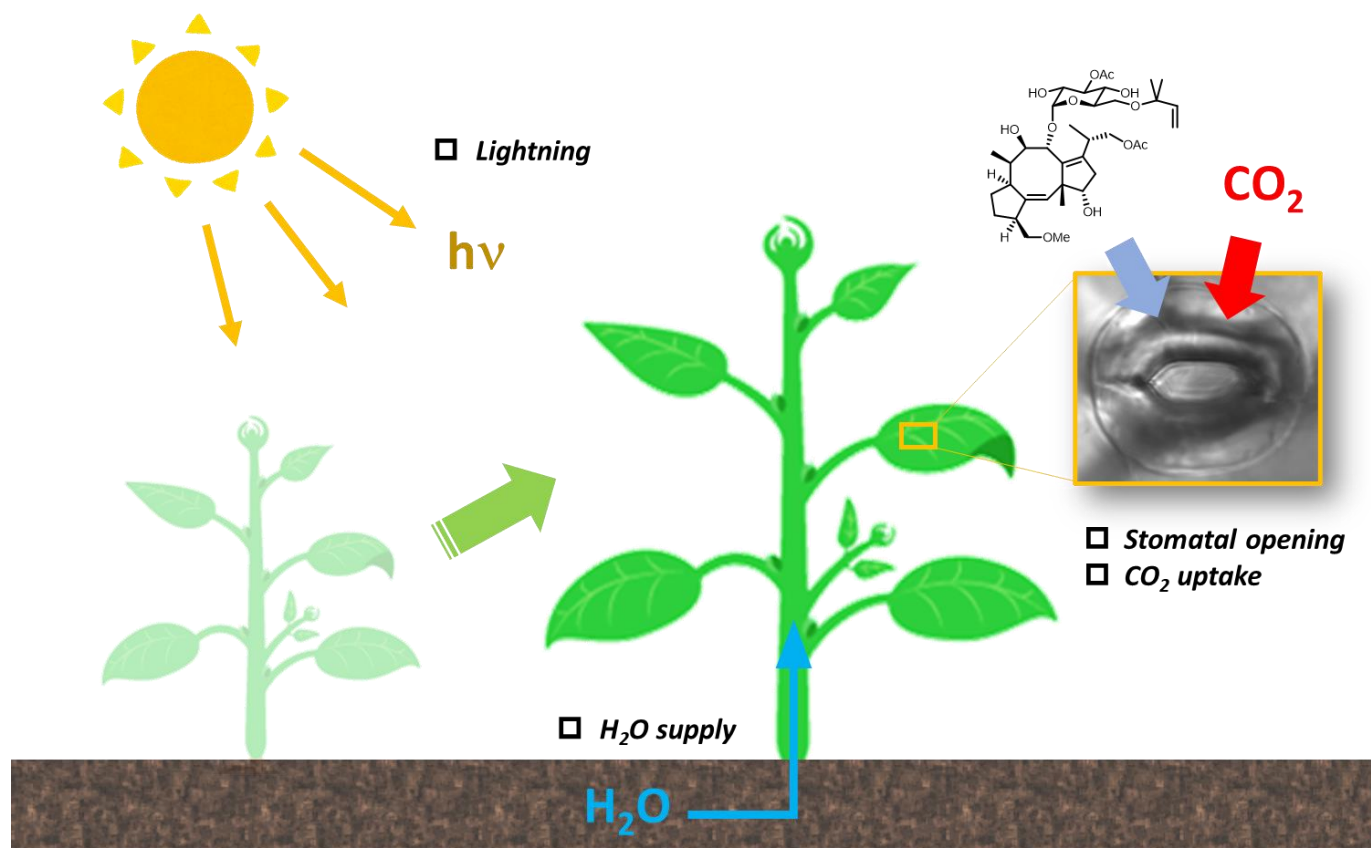
Control



After 12 days

Human ovarian carcinoma xenograft were treated with CN and IFN- α .

フシコクシン類縁体は植物成長を促進する



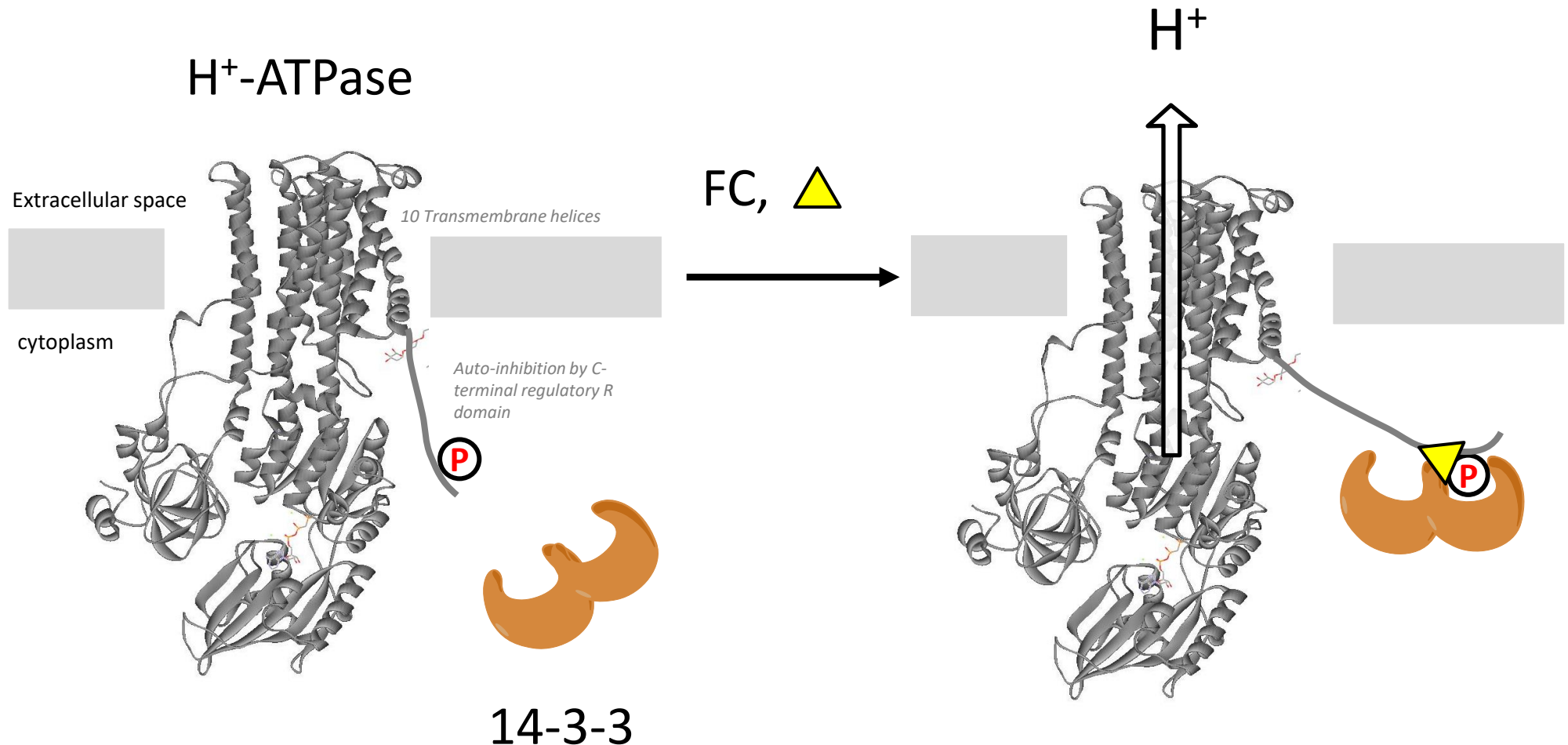
研究総括：大神田 淳子（信州大）

植物病理学：入枝泰樹（信州大）

作物栽培：春日重光（信州大）

植物生理学：木下俊則（名古屋大）

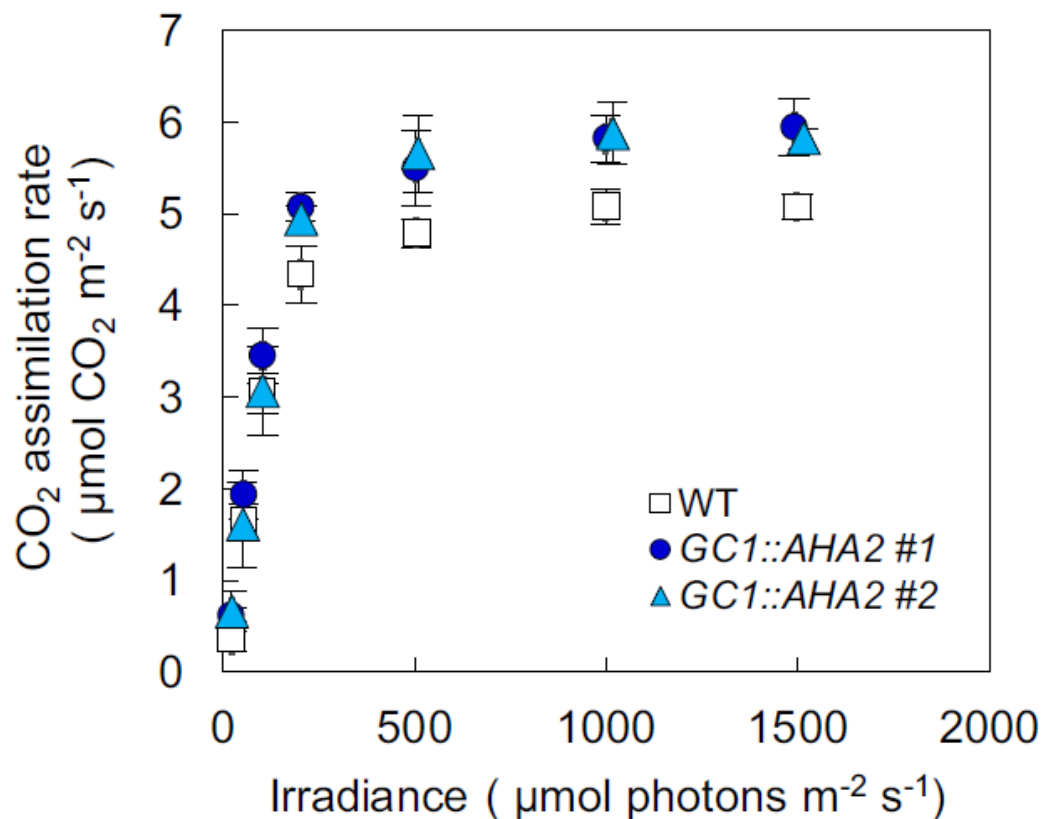
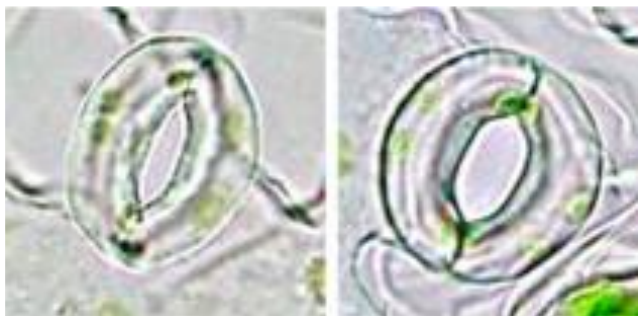
FC-A が気孔開口を促進する分子機序



植物H⁺-ATPaseのC末端がリン酸化し、14-3-3が結合

H⁺-ATPaseの構造変化によりATPaseが活性化。
FCは14-3-3とATPaseの疎水性間隙に結合して安定化し、気孔開口を亢進

H⁺-ATPaseを過剰発現すると植物の生長が促進する



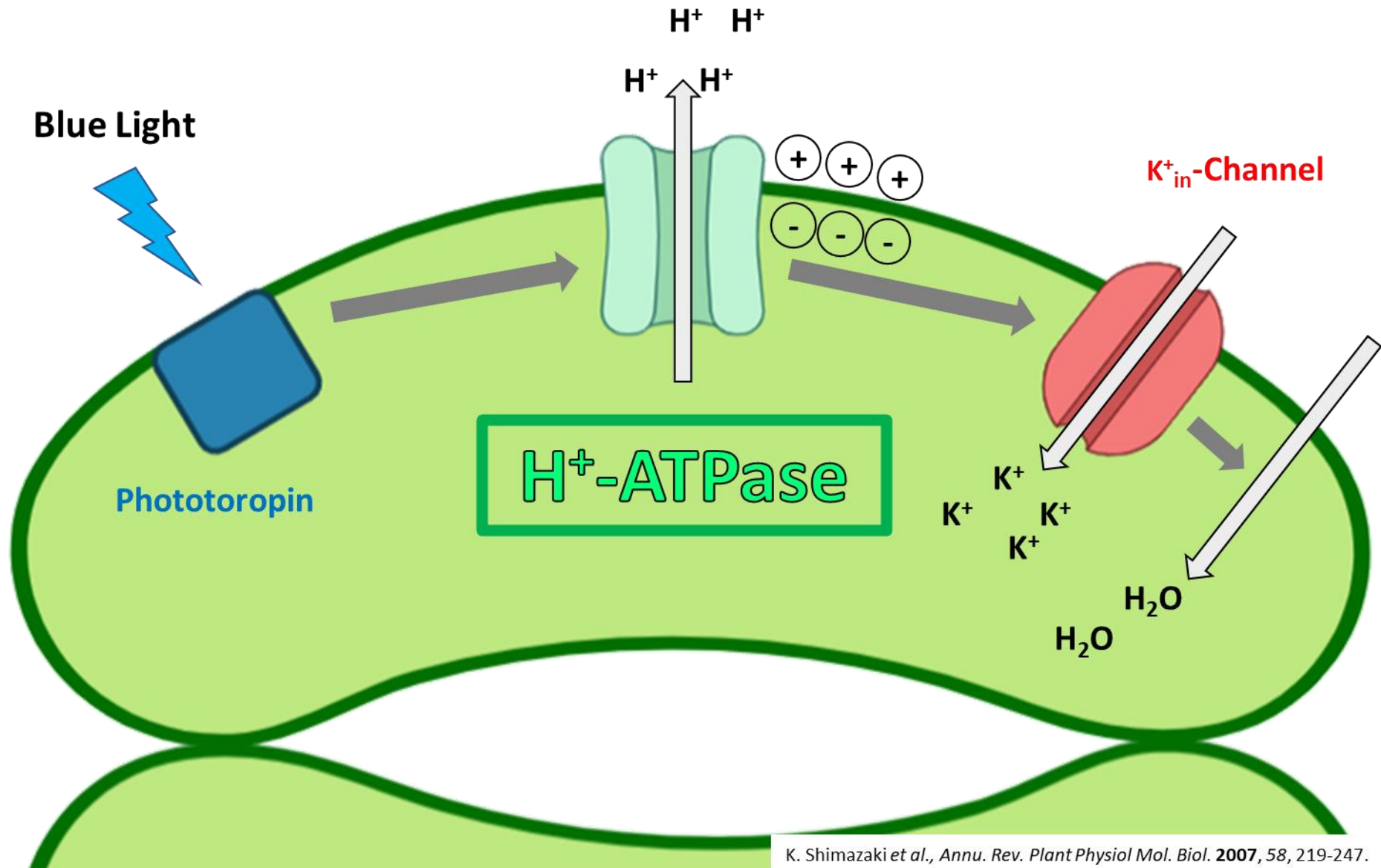
CO₂ uptake: ~15% increased



WT GC1::AHA2 #1

36-41% greater than control

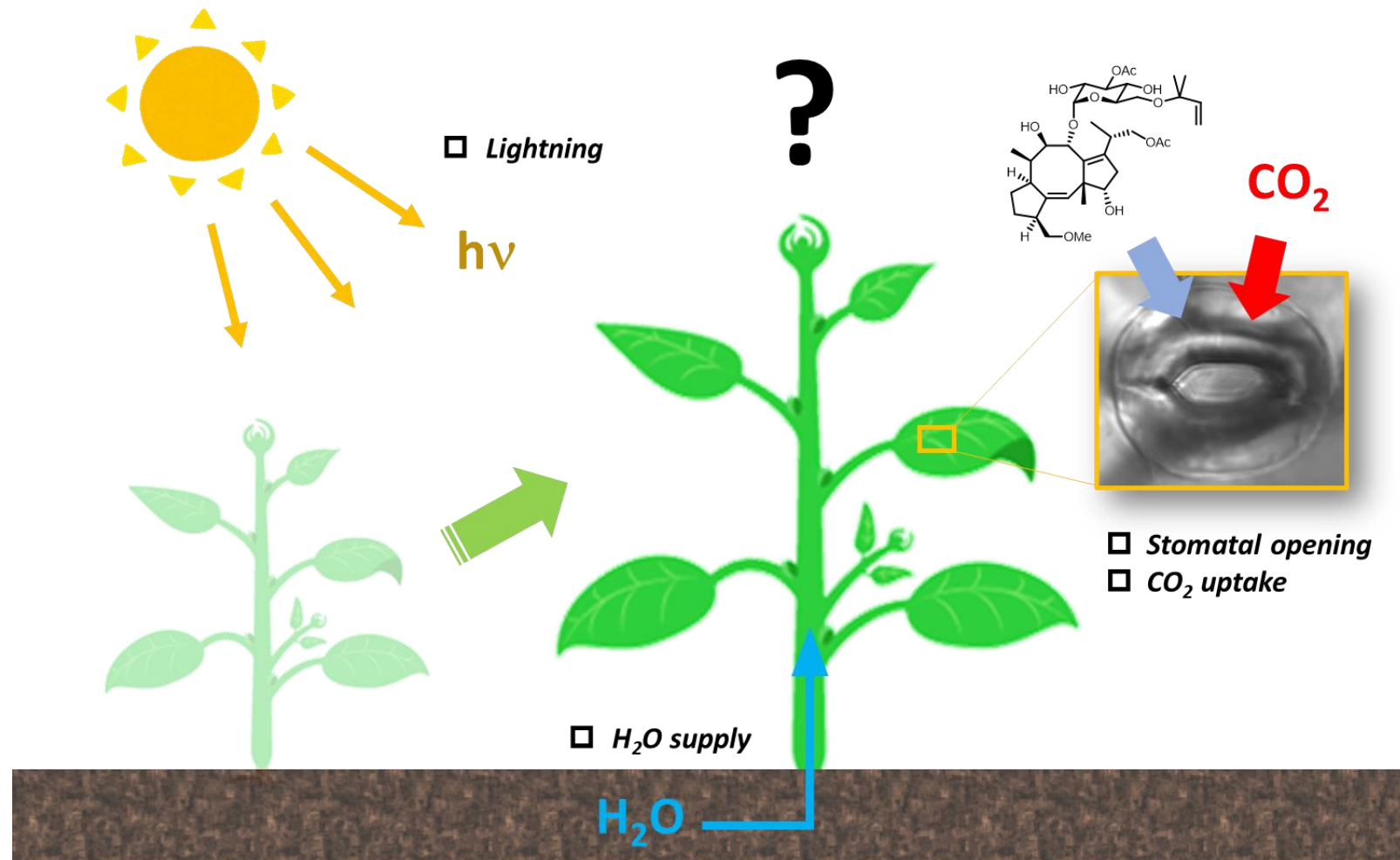
ATPaseの活性が気孔開口の制限要因



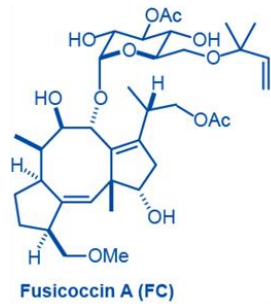
K. Shimazaki et al., *Annu. Rev. Plant Physiol Mol. Biol.* **2007**, 58, 219-247.

作業仮説:

水耕栽培条件下では、むしろFCがCO₂ 吸収を促進し、植物の成長を促進するのではないか？



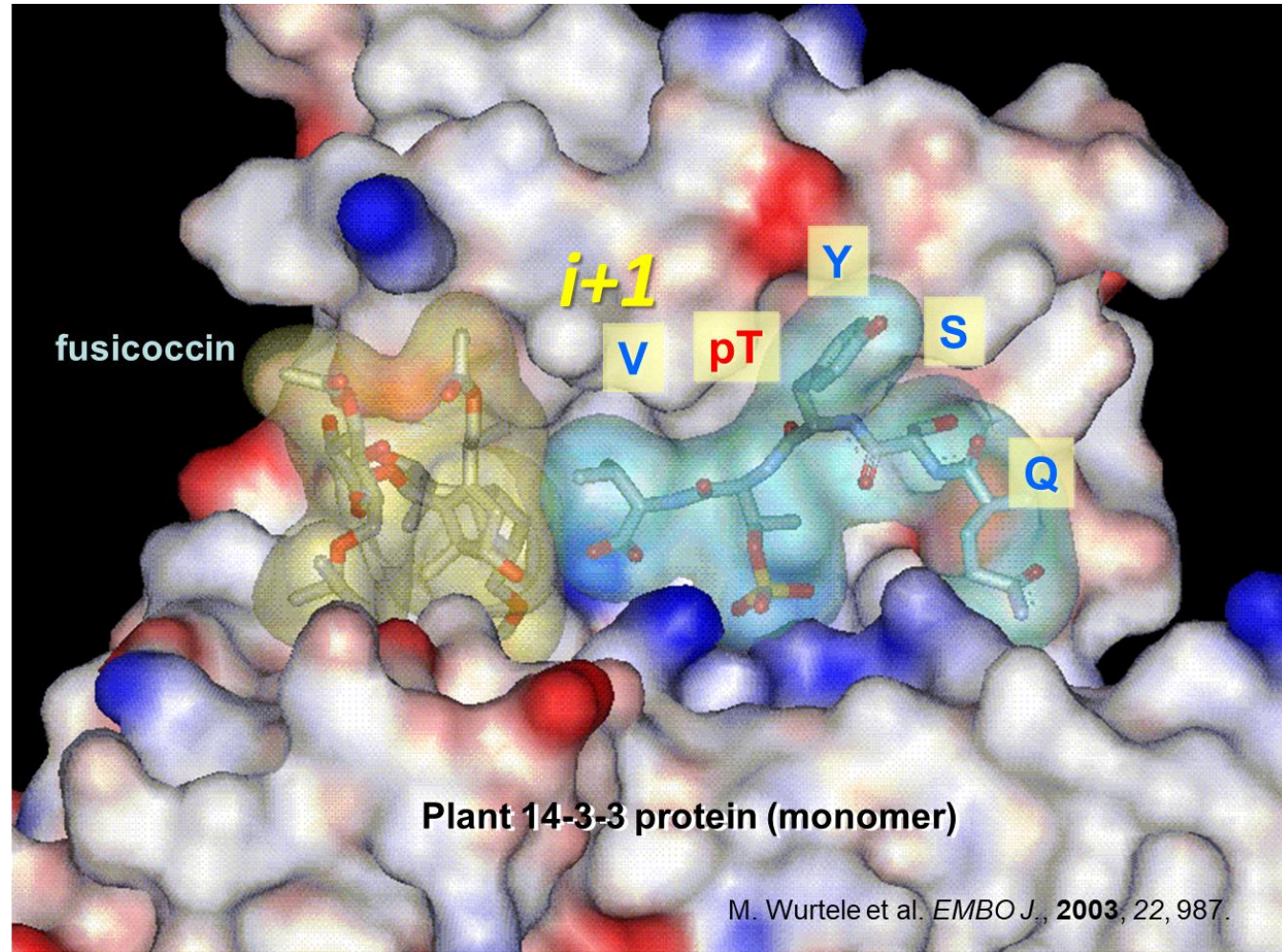
フシコクシンは植物14-3-3とH⁺-ATPaseの相互作用を安定化する



$$K_d = 66 \mu\text{M}$$



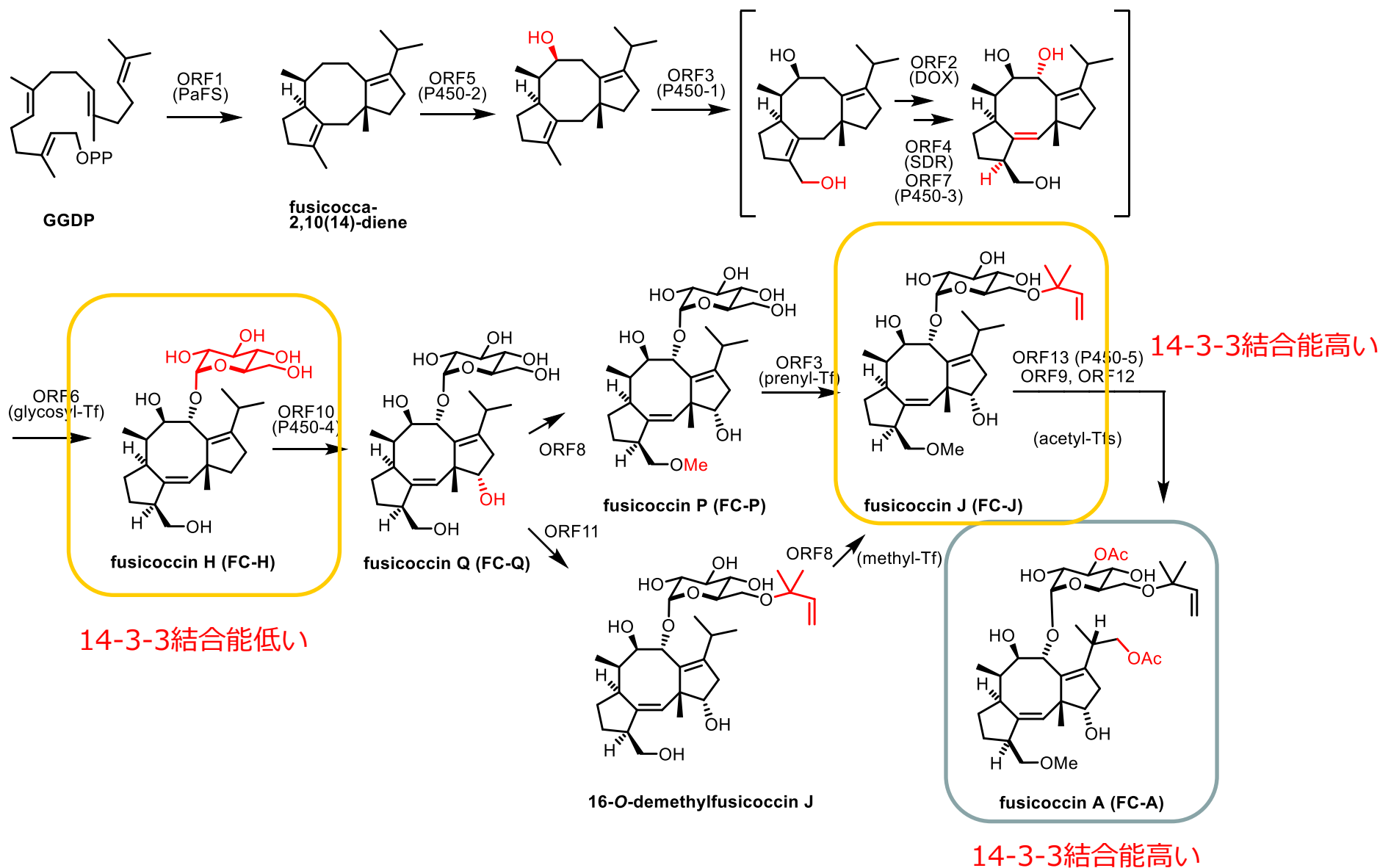
$$K_d = 0.5 \mu\text{M}$$



$$\text{QSYpTV} : K_d = 2.5 \mu\text{M} \rightarrow 0.027 \mu\text{M}$$

フシコクシンの化学構造は14-3-3と植物H⁺-ATPase複合体安定化に重要

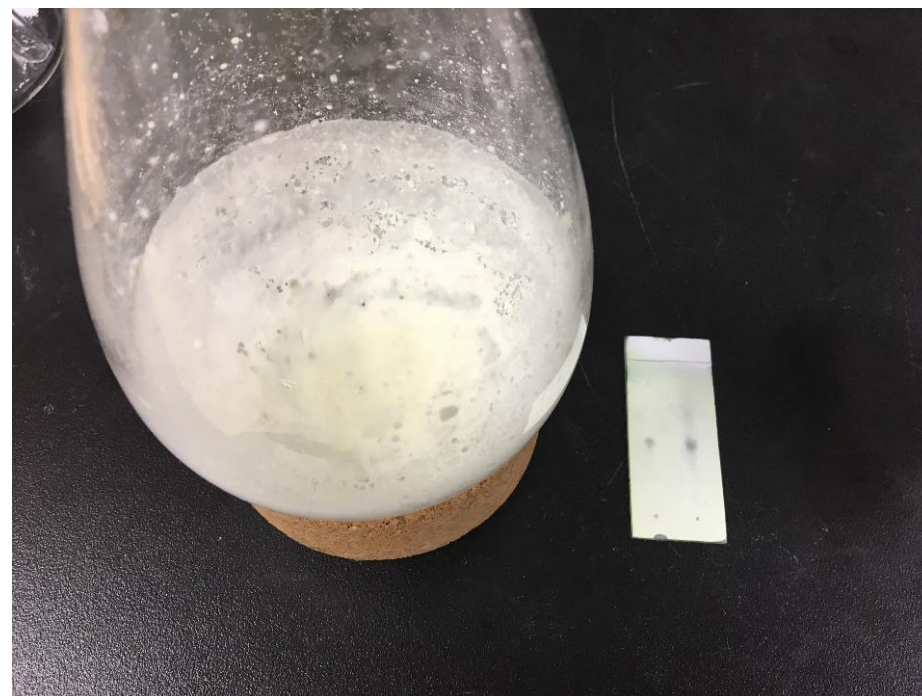
フシコクシンの生合成経路



各種フシコクシンは生産培養により大量に取得可能

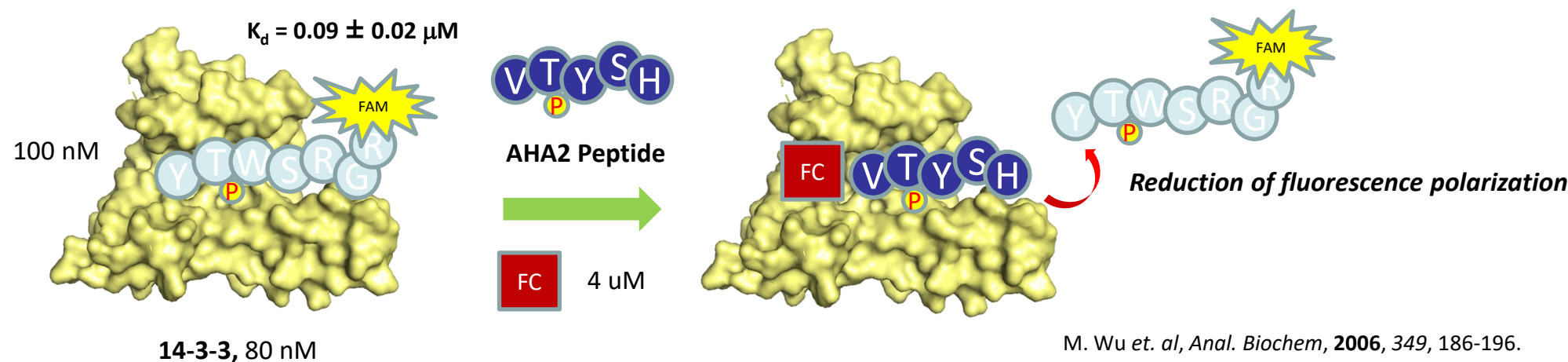


FC-J の大量生産



3Lカルチャーから~2 g程度取得可能
再結晶により容易に精製可能

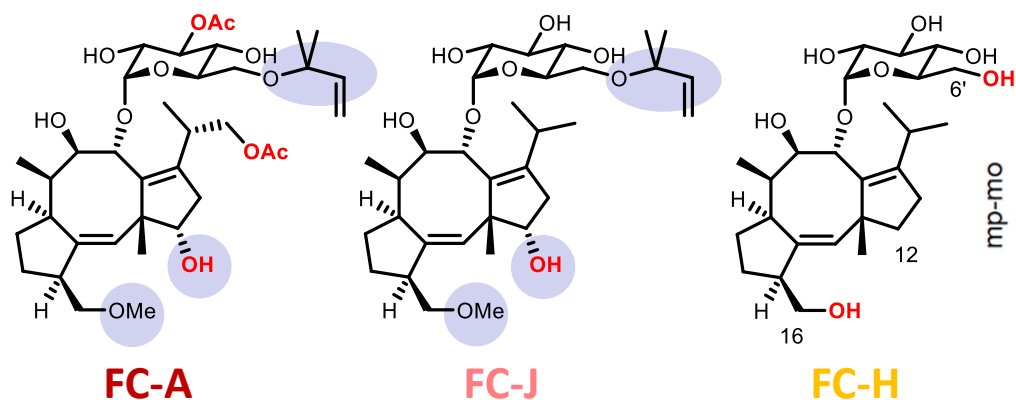
FCの化学構造の差異により効果が変調する



蛍光偏光滴定実験によりH⁺-ATPaseペプチドと14-3-3
の相互作用に与える化合物の効果を検証

FCの化学構造の差異により効果が変調する

Fluorescence polarization binding assay

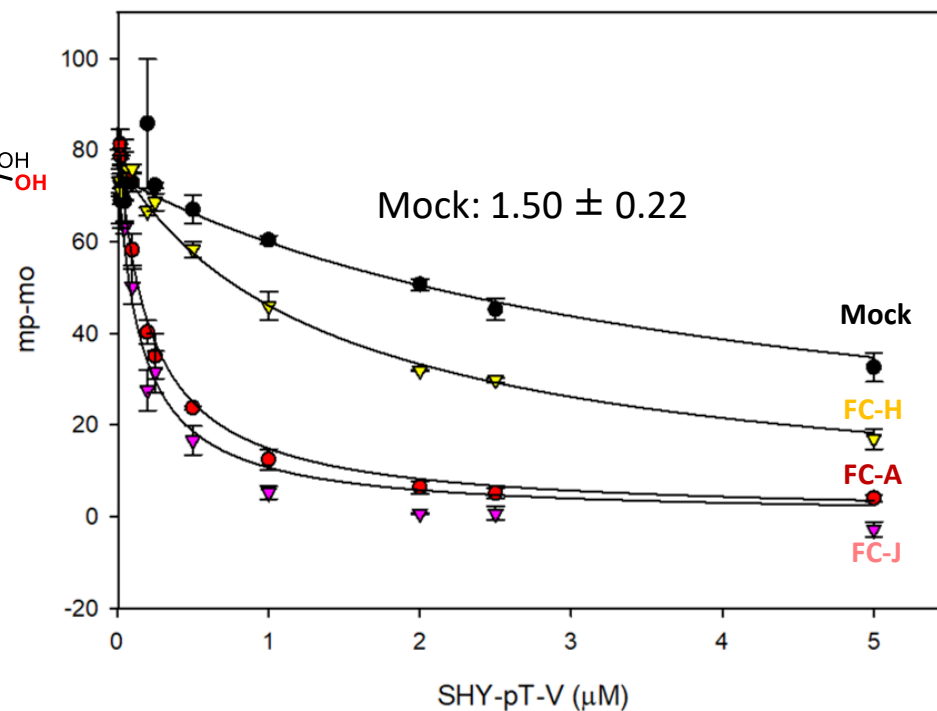


Apparent
 K_d (μM)

0.10 ± 0.01

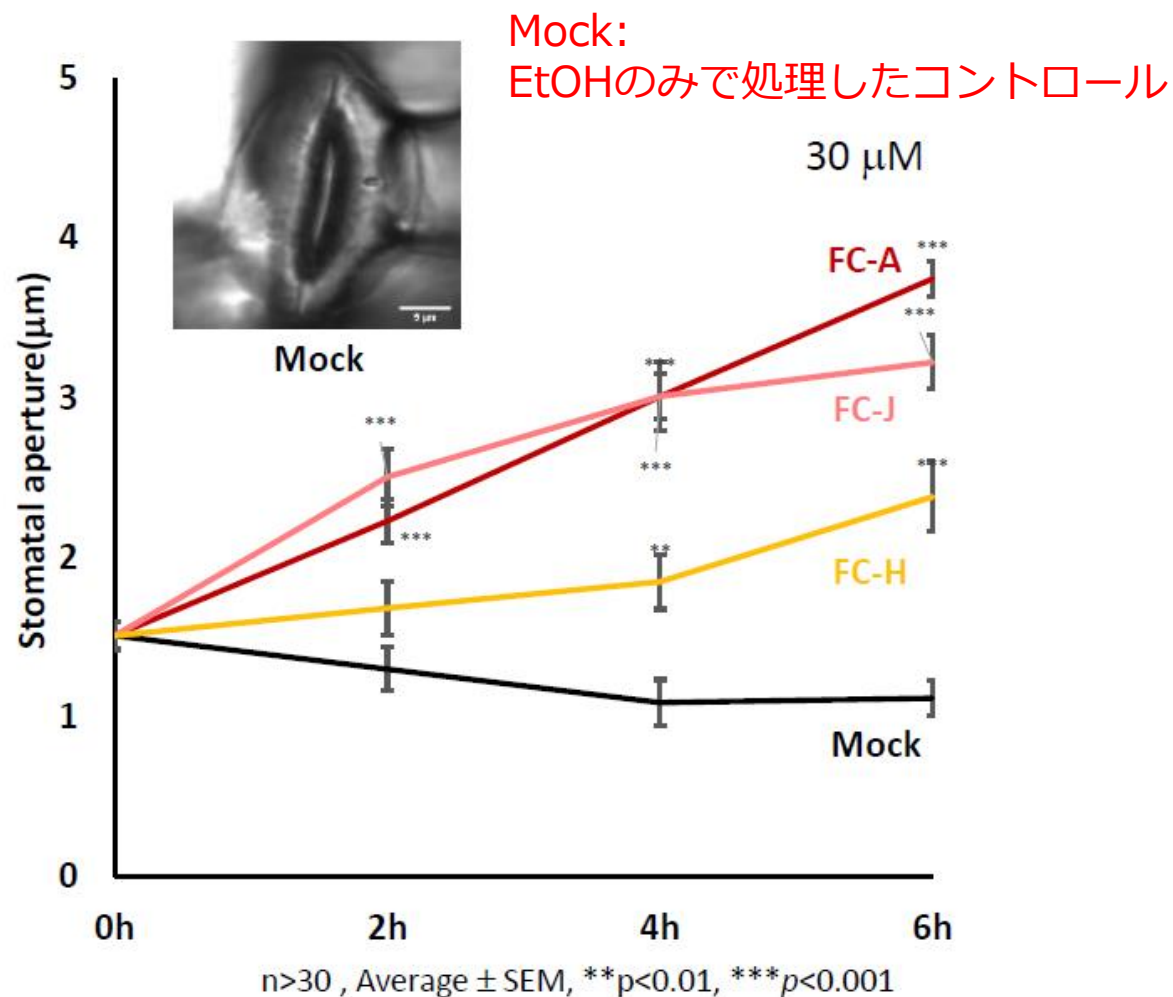
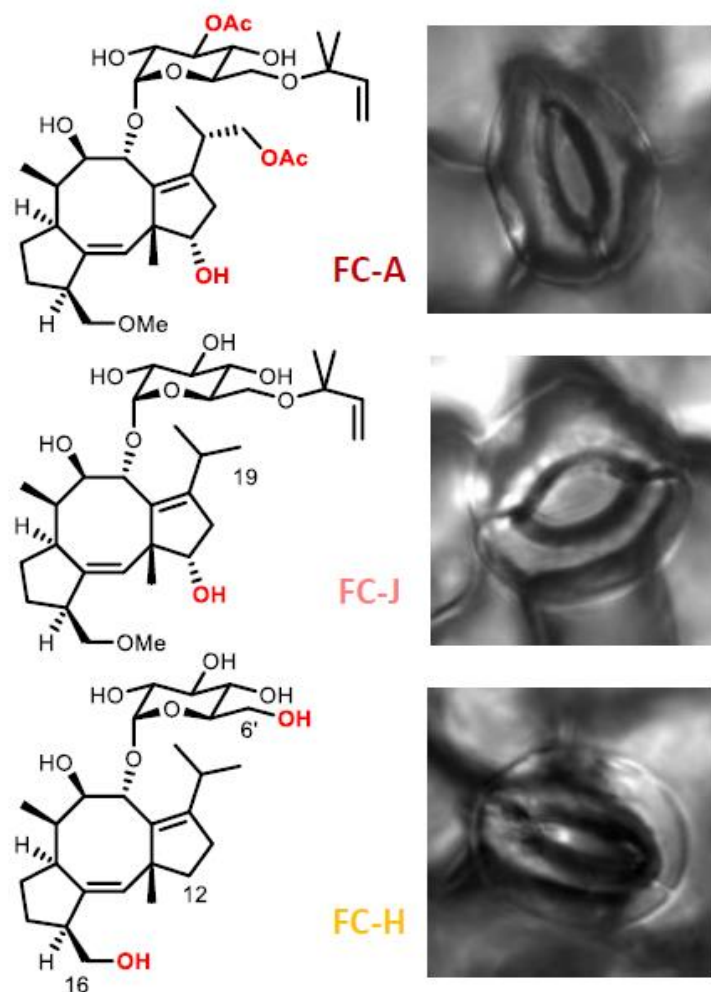
0.06 ± 0.01

0.60 ± 0.08



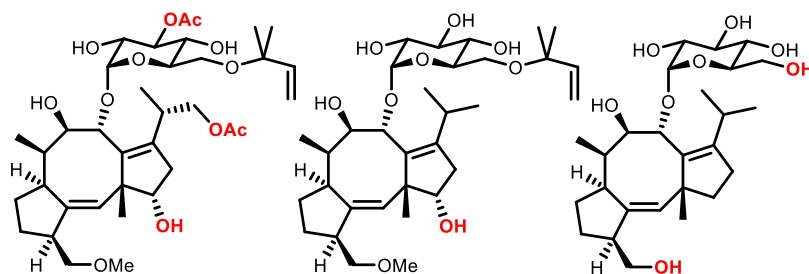
FC-AとFC-Jは同定度の安定化効果を示す。FC-Hの効果は1/10程度

FC誘導体は気孔開口を促進する



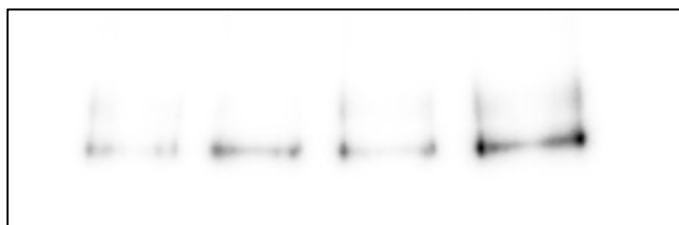
最大200%程度の開口促進効果が認められた

FC誘導体は14-3-3-H+-ATPase相互作用を亢進する

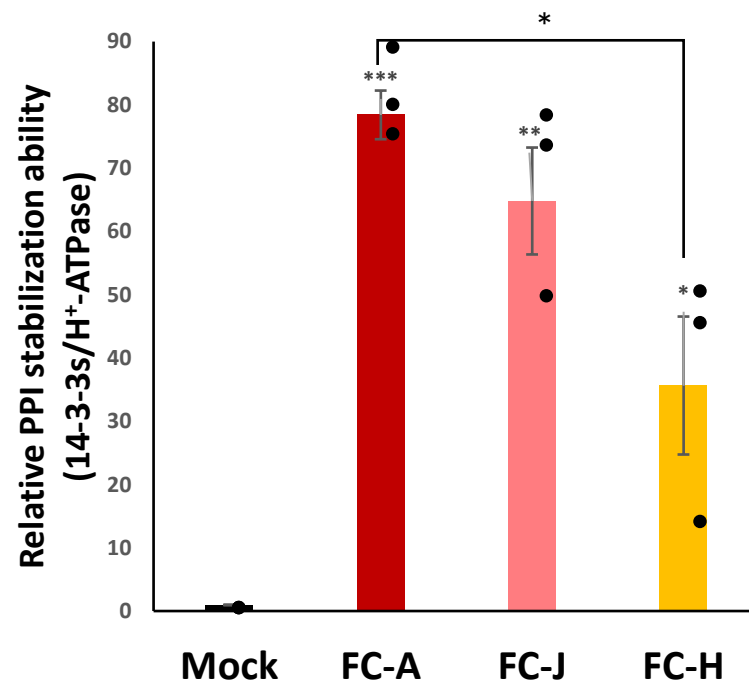
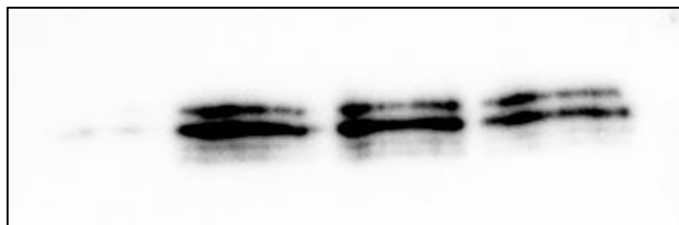


Mock FC-A FC-J FC-H

IP: anti AHA2
IB: anti AHA2



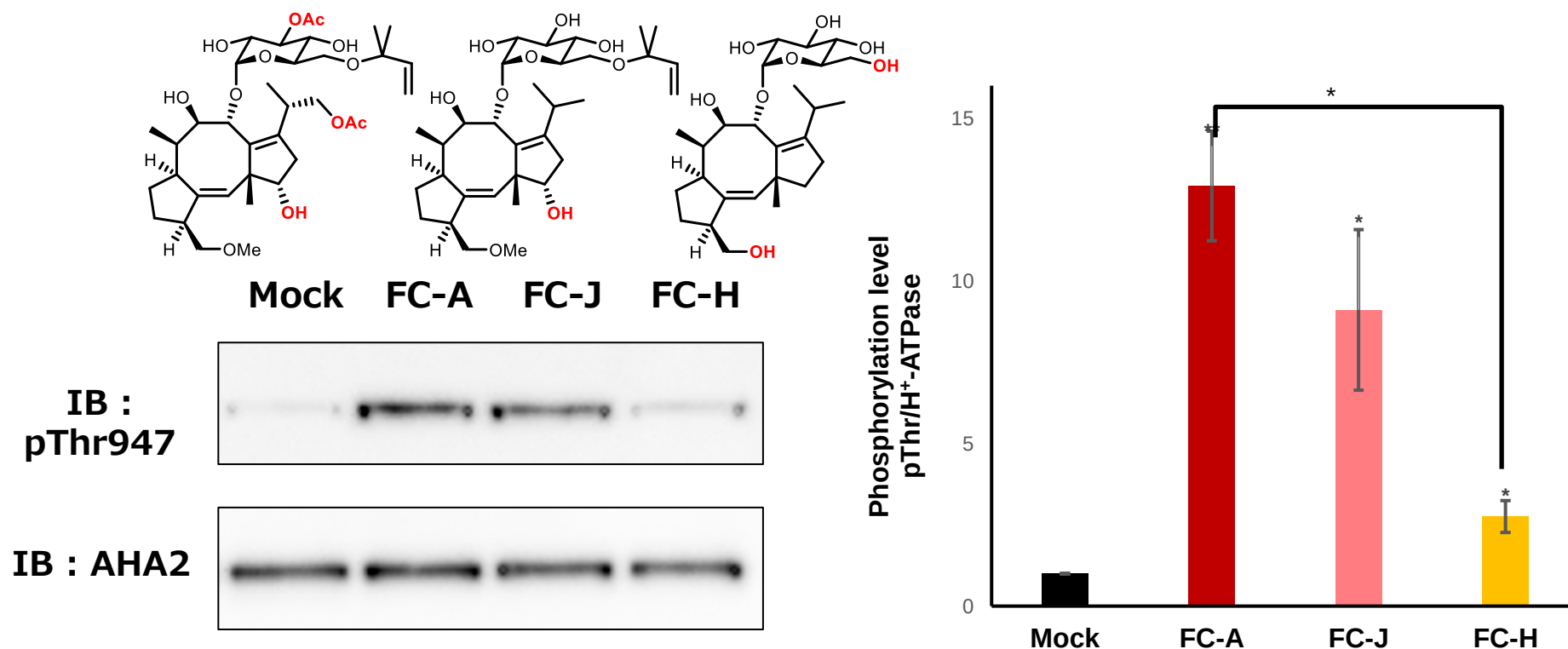
CoIP: anti
AHA2
IB: anti 14-
3-3



n=3 , Average $\pm$ SEM, * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001

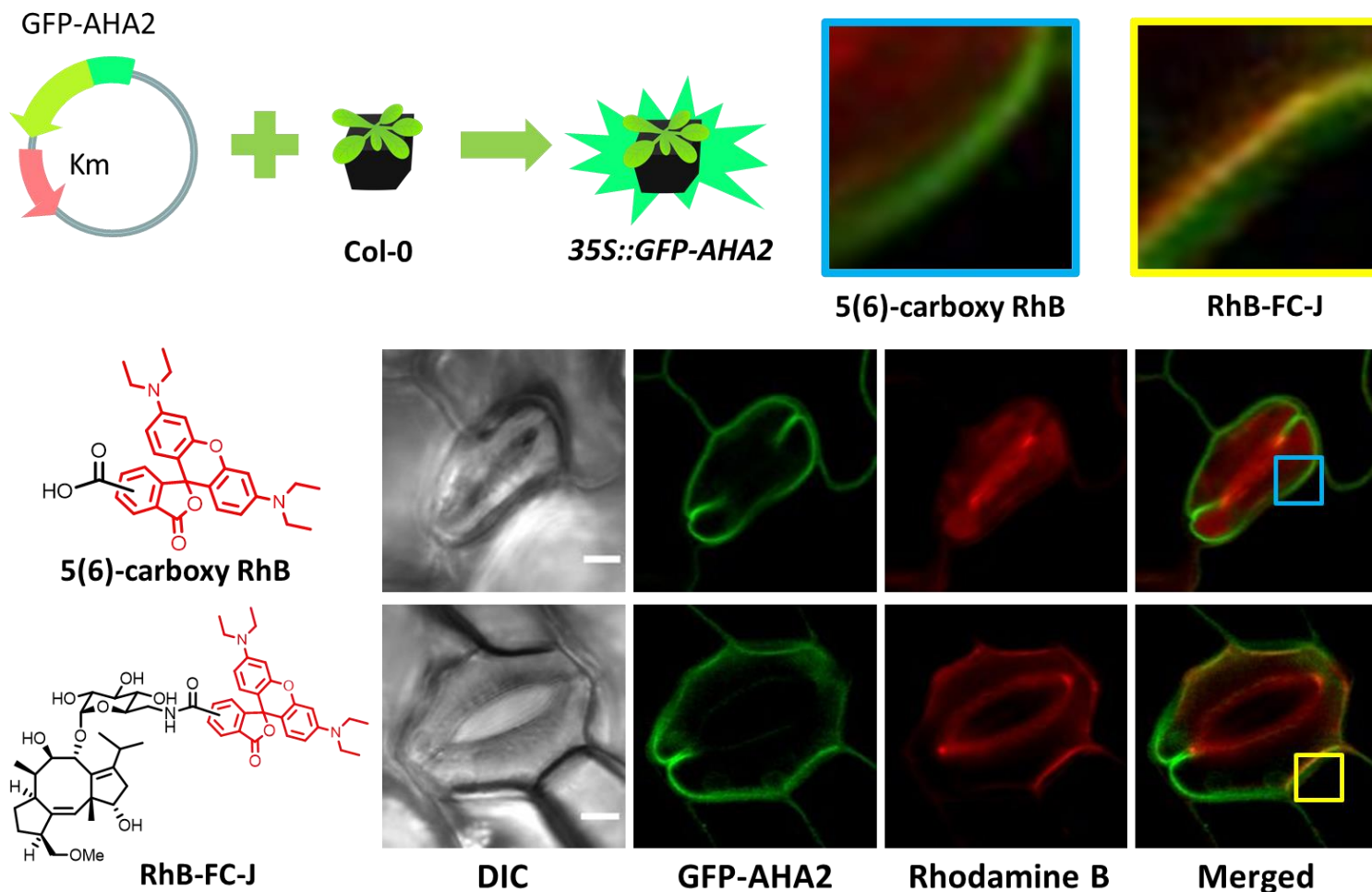
化合物がAHA2(シロイヌナズナ由来H⁺ATPase)と14-3-3の相互作用を亢進した

FC誘導体はAHA2のリン酸化状態を安定化する



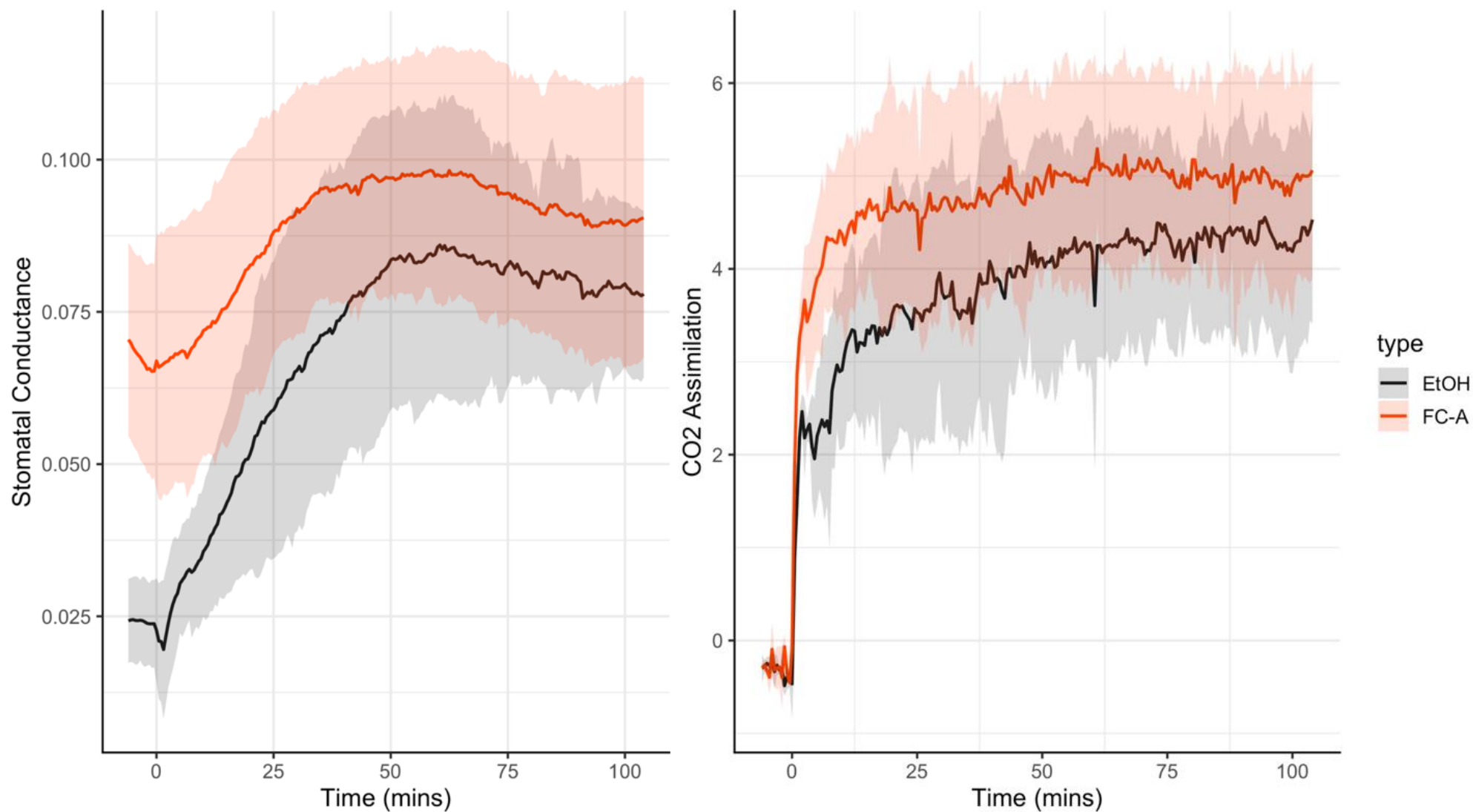
リン酸化AHA2と14-3-3の相互作用が亢進し、脱リン酸化が起こりにくくなることを示す

FC誘導体は孔辺細胞の内膜に局在化する

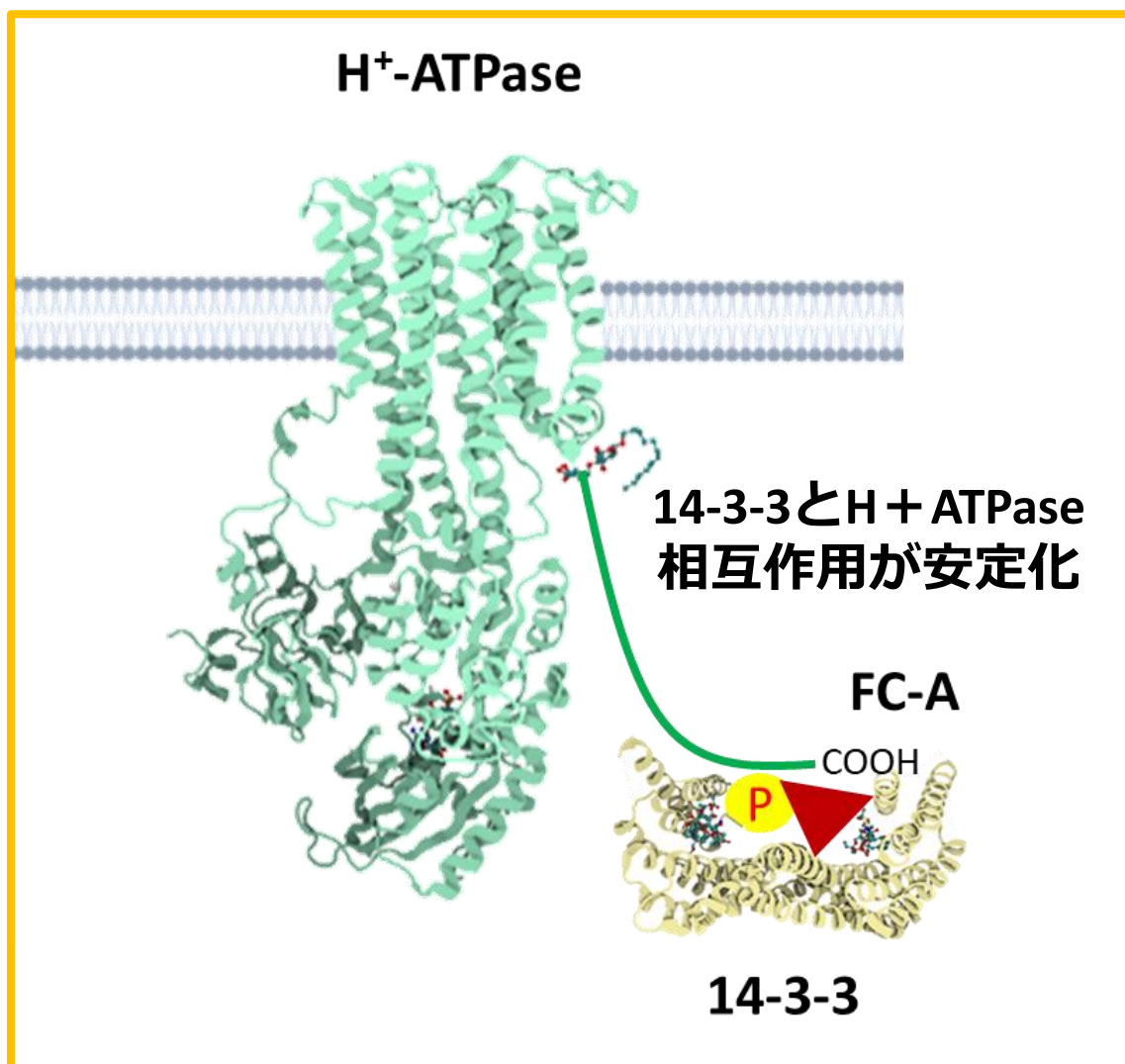


蛍光性FCが孔辺細胞内でH⁺-ATPaseと共局在化し、14-3-3と3者会合体を形成することが示唆された

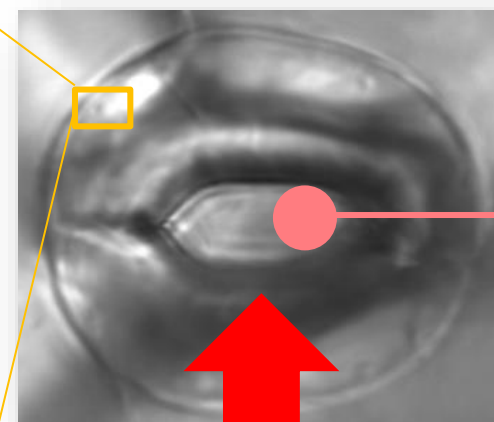
FCによる気孔開口の亢進によりCO₂吸収と光合成効率が向上する



FCは14-3-3-H⁺-ATPase相互作用を安定化し 気孔開口と光合成活性を亢進する



気孔開口が亢進



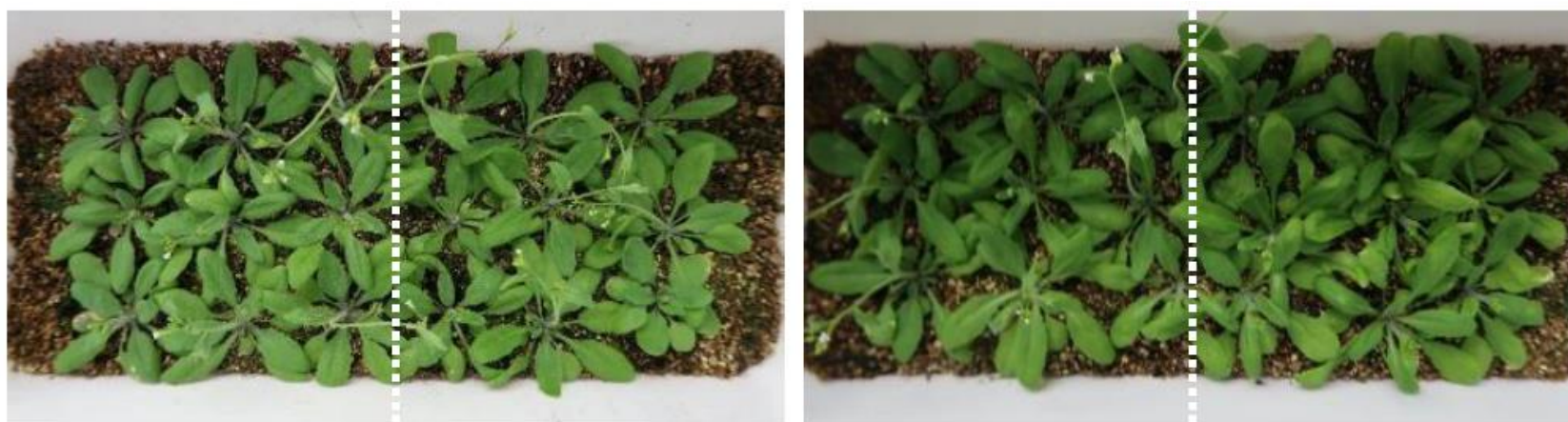
CO₂

光合成活性が向上

FCの継続的な投与によりシロイヌナズナの生長が亢進する

葉の密度が増えていることが分かる

シロイヌナズナ
(アブラナ科)



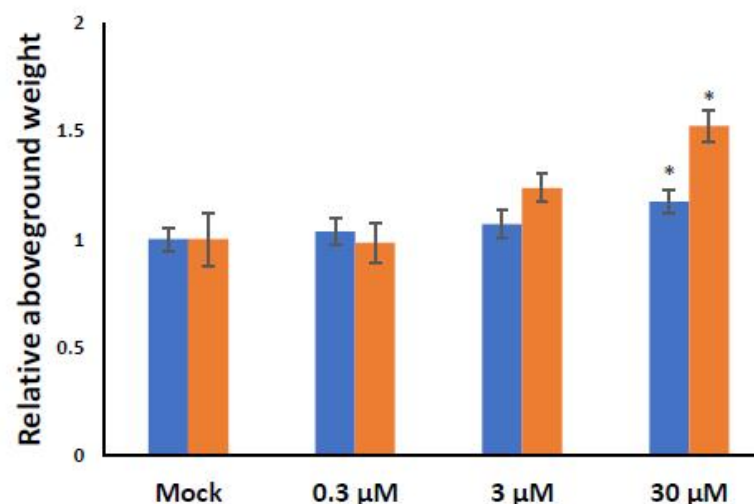
Mock

0.3 μ M

3 μ M

30 μ M

15日間ランダムに選
択した葉2枚にFCを
滴下した。



植物の新鮮重と乾燥重をコントロ
ールと比較。FC処理区で重量が最大
40%程度増加した。

■ Fresh weight
■ Dry weight

n=9, Average $\pm$ SEM, * p <0.05

FCの継続的な投与によりコマツナの実生が亢進する



control

0.3 μM
4.8 pmol/plant

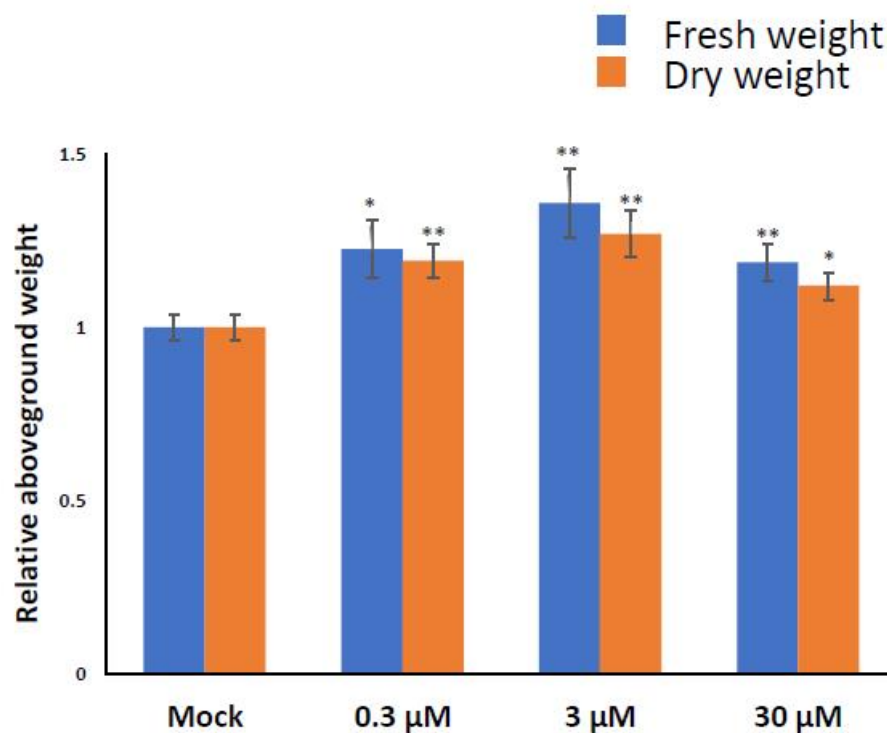
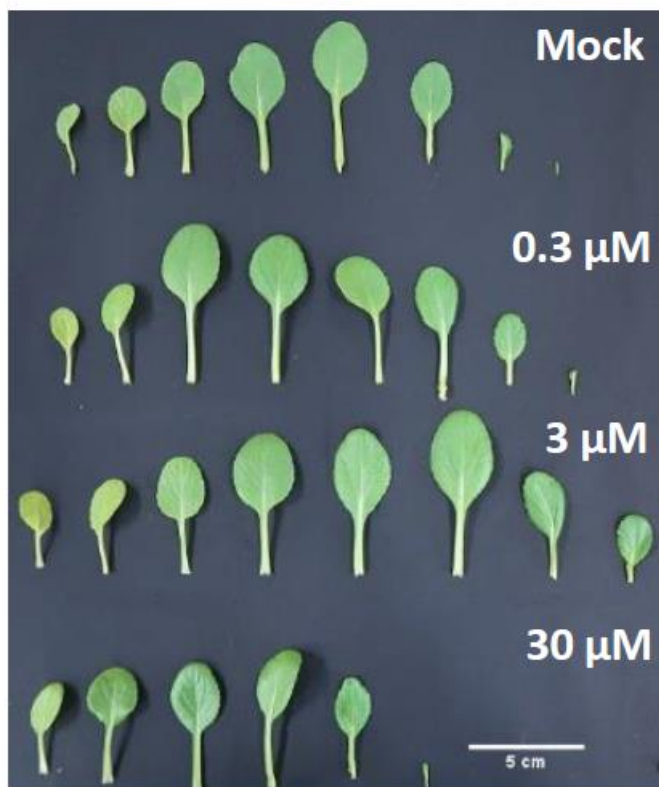
3 μM
48 pmol/plant

30 μM
480 pmol / plant

播種10日後から1枚の葉につきFC水溶液(0, 0.3, 3, 30 μM , 0.1% v/v EtOH)を8 μL ずつ2枚の葉上に滴下した。この操作を週6日間4週間繰り返した。

FCの継続的な投与によりコマツナの実生が亢進する

コマツナ(アブラナ科)



n = 16, Average ± SEM, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

各処理区の代表的な植物を選び、古い葉から順に新芽に向けて外して並べた写真。

最大30%程度の重量増が認められた。

FCの継続的な投与によりセロリの生長が亢進する

セロリ(セリ科)

11/27/2020



control



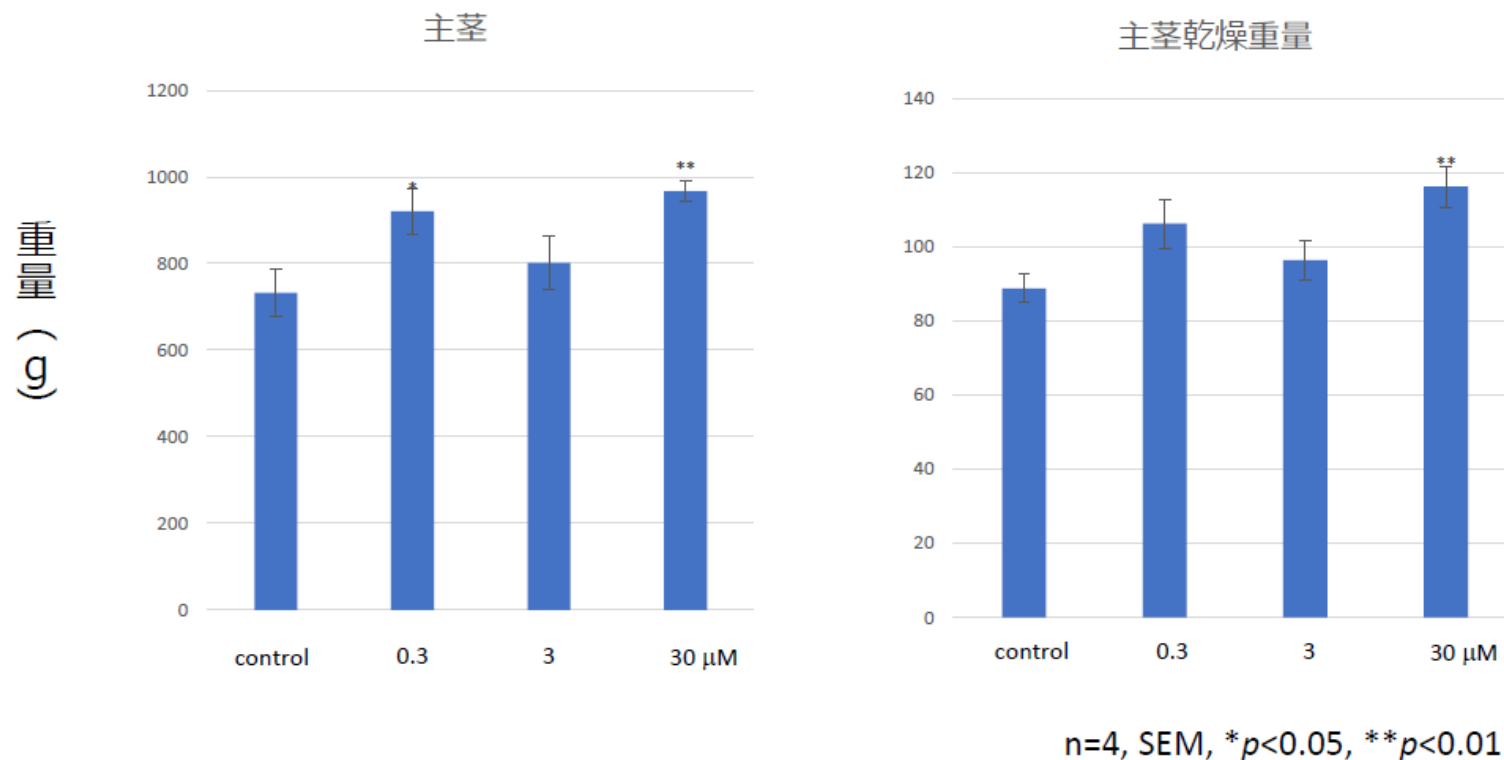
30 μ M

10/19-11/27/2020, n=4, 2~10 ml/plant/day.

週5日2~10ml/個体をスプレーした。

FCの継続的な投与によりセロリの生長が亢進する

セロリ(セリ科)



コントロールに比べてFC-J処理区で最大30%程度の重量差が認められた

新技術のまとめ

- ①FC誘導体は気孔開口を促進する
- ②FCの気孔開口促進効果は14-3-3-H⁺-ATPase相互作用の安定化に基づく
- ③FCの化学構造の差異により効果が変調する
- ④FCによる気孔開口の亢進によりCO₂吸収と光合成効率が向上する
- ⑤FCの継続的な投与によりシロイヌナズナ、コマツナ、セロリの生長が亢進する

以上により、FCはH⁺-ATPase活性の亢進作用に基づく植物成長剤として機能することを明らかにした。

新技術の特徴・従来技術との比較

従来技術は気孔開口を制御する技術が多く、特別な環境でなくともある程度の植物生長促進がみられた。

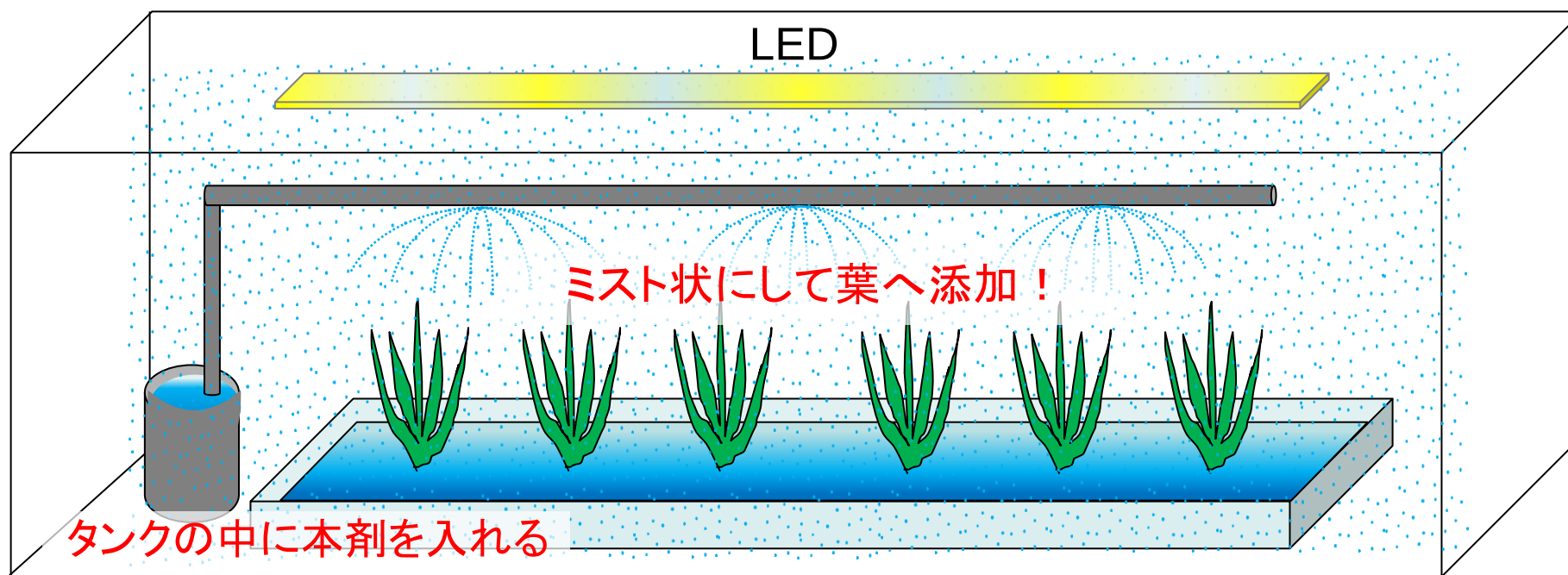
本発明は、気孔の開口を適度に促進させるため、施設内で光と水を制御する栽培で優位性があり、水耕栽培に適した複数種の葉物野菜で実験結果が出ていることから、高汎用性も期待される。

想定される用途

本技術の特徴(十分な水と光の供給下で植物生産を増強させる)を生かすためには、施設園芸、特に水耕栽培で農作物の葉に与える「植物成長調節剤」としての活用が考えられる。

(濃度によっては「成長促進」でなく「成長抑制」(雑草対策)も考えられる。)

【植物工場の例】



実用化に向けた課題

- より長期での経時的な変化の観察
- 散布の回数や手法の検討
- 他の科の植物への応用の検討

などに取り組む予定。

大学側では、化合物の合成、植物病理学的観点を含めたメカニズムの解明、実験室やキャンパス内圃場での検証等が可能。

企業への期待

- 農作物向け（特に施設園芸関係）の植物成長調節剤のメーカーと、製品化を目指した共同研究を希望。
- 施設園芸（植物工場）の資材メーカーと、実証実験をふまえた共同研究を希望。
- 企業側からのご意見をお待ちしております。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : フシコクシンを含む
植物生産増強剤
- 出願番号 : 特願2021-30759
- 出願人 : 信州大学
東海国立大学機構(名古屋大学)
- 発明者 : 大神田淳子、春日重光、入枝泰樹
木下俊則

お問い合わせ先

株式会社信州TLO



T E L 0268－25－5181

F A X 0268－25－5188

e-mail info@shinshu-tlo.co.jp