

ジテルペン配糖体フシコクシンと 14-3-3 たんぱく質の直交性ペアの開発

(信州大農¹) ○桐山 寛生¹・大神田 淳子¹

Rational design of an orthogonal pair of diterpene glycoside fusicoccin and 14-3-3 protein
(¹Academic Assembly, Institute of Agriculture, Shinshu Univ.) ○Hironaru Kiriyama¹, Junko Ohkanda¹

Diterpene glycoside fusicoccin (FC) stabilizes the protein-protein interactions (PPIs) between plasma membrane (PM) H⁺-ATPase and 14-3-3 proteins and induces various physiological processes in plants. Aiming to elucidate whether the upregulation of the PPI specifically in guard cells accounts for the stomatal opening induction by FC, an orthogonal bump-and-hole pair of FC-14-3-3 pair was designed and prepared by introducing a bulky substituent to the 16-position of FC and substitution of F129 to a smaller residue in *Arabidopsis* 14-3-3 ϕ . The results of *in vitro* binding assay showed that 16-benzyloxy-FC stabilized the binding of *Arabidopsis* H⁺-ATPase 2 (AHA2) peptide to F129G 14-3-3 but not to the wild-type 14-3-3. This pair may serve as a useful chemical tool to study the detail mechanism of stomatal opening and plant growth induced by FC.

Keywords : Fusicoccin; 14-3-3 Protein; Plasma Membrane H⁺-ATPase; Bump-and-hole

ジテルペン配糖体フシコクシン (FC)は気孔開口と蒸散を過剰に促進し枯死させる毒として知られてきた。一方で、最近我々は FC が孔辺細胞中の細胞膜 (PM) H⁺-ATPase と 14-3-3 の安定な 3 者会合体を形成することで、気孔開口、二酸化炭素吸収量、光合成活性を亢進し、成長を促進させるという通説と相反する結果を見出した[1]。PM H⁺-ATPase と 14-3-3 は植物全体に発現し、気孔開口のみならず、養分吸収、輸送など植物成長のあらゆる局面に関与する。従って理論上全ての PM H⁺-ATPase を活性化し得る FC が、気孔開口を介して成長促進効果にどの程度関与しているかはまだ明らかではない。本研究では、FC による PM H⁺-ATPase 活性化を孔辺細胞に限定し、気孔開口と成長促進効果の相関を詳細に検証する目的で、FC と 14-3-3 の bump-and-hole ペアを開発した。直交性ペアの設計として、FC の 16 位 OMe 基とその近傍に位置する 14-3-3 ϕ の F129 を小さい疎水性アミノ酸残基に点変異させ、空間を充填するような置換基を FC の 16 位に導入することを考えた(Fig. 1)。*In vitro* 結合試験で直交性ペアの探索を行ったところ、16 位に OBn 基を導入した FC 誘導体が野生型と AHA2 ペプチドの相互作用に対して作用しない一方で、F129G 変異体との結合を有意に安定化し、直交性ペアとして機能することが分かった。本ペアは、FC による気孔開口と成長促進機構解明に役立つと期待される。

[1] 特願 2022-029413 (特開 2022-132203)

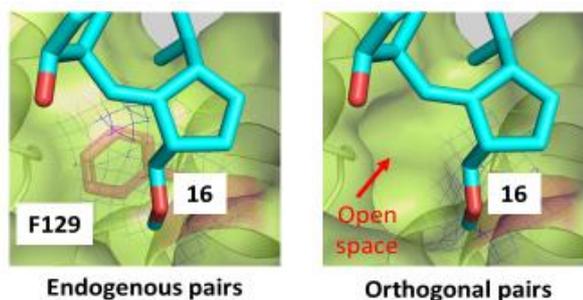


Fig. 1 Orthogonal pair of FC and 14-3-3. PDB :1o9f