

シュウ酸カルシウム針状結晶とプロテアーゼとの劇的な相乗的 殺虫効果を発見

ポイント

- ・ キウイフルーツなど多くの植物に含まれるシュウ酸カルシウム針状結晶とタンパク質分解酵素の一種であるシステインプロテアーゼを同時に昆虫に与えると、極めて強い殺虫効果を示すことを発見しました。
- ・ 今後、シュウ酸カルシウム針状結晶を含むものの、システインプロテアーゼの発現量の少ないサトイモ・ブドウなどの作物においてシステインプロテアーゼの発現量の多い系統を育成するなど、この相乗効果を活用した殺虫技術の開発につながるものと期待されます。

概要

1. キウイフルーツ、パイナップル、サトイモ、ヤマノイモ、ブドウ、アロエ、ホウセンカ、ランなどの多くの植物には、「シュウ酸カルシウム」の針状結晶が多量に含まれており、このシュウ酸カルシウム針状結晶¹⁾が害虫の食害から植物を守る働きがあると考えられてきました。一方、タンパク質酵素の一種であるシステインプロテアーゼ²⁾も害虫の食害を防ぐ働きがあり、こうした酵素を多量に含む作物は耐虫性を持つことが知られています。キウイフルーツやパイナップルは非常に強い耐虫性を持つことが知られていますが、これら作物には針状結晶とシステインプロテアーゼの両方が含まれていることから、これら両者の共存により耐虫性が増しているのではないかと推測されていました。
2. 独立行政法人農業生物資源研究所（生物研）は、シュウ酸カルシウム針状結晶と耐虫物質であるシステインプロテアーゼを同時に葉に塗布して昆虫に与えると、相乗作用により極めて強い殺虫効果を示すことを発見しました。
3. シュウ酸カルシウムの砂状の結晶では、システインプロテアーゼとの相乗的な殺虫効果は全く認められませんでした。針状結晶は昆虫の細胞や組織に穴を開けシステインプロテアーゼの体内・細胞内への侵入を容易にすること（針効果）により、殺虫性が示されたものと考えられます。
4. 本研究により、シュウ酸カルシウム針状結晶をもつキウイフルーツ、パイナップル、ブドウ、サトイモ、ヤマノイモ、バナナ、ココヤシなどの食用植物やラン、アマリリス、アロエ、インパチェンス、ベゴニア、シュロ、ポトス、アジサイなどの観賞用植物の耐虫性を理解する上で重要な知見が得られました。今後、本研究が、サトイモ、ブドウなどの作物におけるシステインプロテアーゼの発現量が

多い系統の選抜を通じた耐虫性作物の育成など、害虫による作物の被害を防ぐ新技術の開発につながることを期待されます。

5. この成果は、3月12日に PLOS ONE に発表されました。

予算：運営交付金

問い合わせ先など

研究代表者：	(独)農業生物資源研究所 理事長	廣近 洋彦
研究推進責任者：	(独)農業生物資源研究所 昆虫科学研究領域 加害・耐虫機構研究ユニット長	門野 敬子
研究担当者：	(独)農業生物資源研究所 昆虫科学研究領域 加害・耐虫機構研究ユニット 主任研究員	今野 浩太郎
	電話：029-838-6087 E-mail :konno@affrc.go.jp	
広報担当者：	(独)農業生物資源研究所 広報室長	谷合 幹代子
	電話：029-838-8469	

本資料は文部科学記者会、科学記者会、筑波研究学園都市記者会、農政クラブ、農林記者会、農業技術クラブに配付しています。

開発の社会的背景

キウイフルーツ、パイナップルを含む極めて多くの植物が、葉、茎、根、果実等に「シュウ酸カルシウム」の針状結晶（図1）を多量に含んでいます。植物が多量の針状結晶を含むことは30年以上前から知られており、害虫に対する防御効果（耐虫効果）を示すと考えられてきました。しかし、植物に含まれるシュウ酸カルシウム針状結晶の量と植物の耐虫活性の強さが比例しないことも多く、その役割および作用メカニズムははっきりとはわかっていませんでした。

研究の経緯

キウイフルーツやパイナップルの果実は、シュウ酸カルシウムの針状結晶とともに、高濃度の「システインプロテアーゼ」を含んでいます。私たちの研究グループはこれまでに、システインプロテアーゼが植物を害虫の食害から守る耐虫効果を示すことを明らかにしています。しかし、両者が耐虫活性でどう関連しているか不明でした。

そこで今回、キウイフルーツから純粋なシュウ酸カルシウム針状結晶を精製し、この針状結晶が植物の耐虫活性に果たす役割を、システインプロテアーゼとの関連も含め詳細に検討しました。

研究の内容・意義

遠心分離により、キウイフルーツから純粋で破損のないシュウ酸カルシウム針状結晶を精製しました（図1）。シュウ酸カルシウム針状結晶やシステインプロテアーゼをエサの葉に塗布して「エリサン」という蛾の幼虫に食べさせ、殺虫効果・成長阻害効果を調べました。

- 1) シュウ酸カルシウム針状結晶だけを塗った葉を食べたエリサン幼虫は（図2 B）、何も塗らない葉を食べた幼虫（図2 A）より成長が少し遅くなり、シュウ酸カルシウム針状結晶が弱い成長阻害活性を持つことがわかりました。同様にシステインプロテアーゼだけを塗った葉を食べたエリサン幼虫に食べさせた場合も、（図2 C）何も塗らなかった葉を食べた幼虫（図2）に比べて成長が少し遅くなりました（既知の、システインプロテアーゼが持つ成長阻害効果の確認）。
- 2) 上記と同じ濃度のシュウ酸カルシウム針状結晶とシステインプロテアーゼの両方を同時に塗布した葉を食べたエリサン幼虫は、短時間（数時間～1日）のうちに体が黒変・軟化して死亡してしまい、全く成長しませんでした（図2 D）。この結果から、シュウ酸カルシウム針状結晶とシステインプロテアーゼが同時に作用することで、極めて強い殺虫効果を持つことが明らかになりました。
- 3) 試薬として市販されているシュウ酸カルシウムは、無定形（砂状）の結晶です。この無定形結晶の殺虫効果・成長阻害効果について調べたところ、単独、システインプロテアーゼと同時塗布の場合ともに弱い成長阻害効果しか示しませんでした。シュウ酸カルシウム針状結晶とシステインプロテアーゼが相乗的な殺虫効果を発揮するには、シュウ酸カルシウムの針状の形状が重要であることがわかりました。

シュウ酸カルシウム針状結晶が、害虫の組織や細胞に穴を開けシステインプロテアーゼの体内・細胞内への侵入を容易にする「針効果」によって、システインプロテアーゼの効果を顕著に増強していると考えられます。

今後の予定・期待

シュウ酸カルシウム針状結晶を含む栽培植物は非常に多く、キウイフルーツ、パイナップルの他にも食用植物でブドウ、ヤマノイモ、サトイモ、バナナ、ココヤシなど、工芸作物、観賞用植物ではラン、アブラヤシ、アマリリス、アロエ、インパチェンス、ベゴニア、ポトス、アジサイ、シュロなどがあります。本研究成果は、これらの植物の耐虫性を理解する上で重要な知見であり、今後、これらの作物においてシステインプロテアーゼの発現量が高い系統を選抜することで耐虫性作物を育成するなど害虫による作物の被害を防ぐ新技術の開発へつながることが期待されます。

発表論文

Konno K., Inoue A.T., Nakamura M. (2014) **Synergistic defensive function of raphides and protease through the needle effect.** PLOS ONE 9(3): e91341. DOI:10.1371/journal.pone.0091341

用語の解説

1) シュウ酸カルシウム針状結晶

パイナップル、キウイフルーツ、サトイモ、ヤマノイモ、ブドウ等の多くの植物に含まれるシュウ酸カルシウムからなる鋭い針状の結晶のこと。長さが0.1ミリ前後で両端が鋭く尖っています。サトイモのえぐみ、痛みの原因物質。植物にとっての本来の役割には過剰のカルシウムの蓄積などの説もありますが、植食動物(草食獣、昆虫、ナメクジ他)に対する防御であるという説を支持する結果が得られています。しかし精製したシュウ酸カルシウム針状結晶を用いて動物に対する防御活性とそのメカニズムを調べた研究例はこれまでありませんでした。

2) システインプロテアーゼ

タンパク質分解酵素のことをプロテアーゼと呼びますが、その中で反応活性中心がシステインというアミノ酸からなるものをシステインプロテアーゼといいます。パイナップルやキウイフルーツの茎葉果実や、パパイヤ、イチジクの乳液ではシステインプロテアーゼの活性が高く、含まれるシステインプロテアーゼはそれぞれブロメライン(パイナップル)、アクチニジン(キウイフルーツ)、パパイン(パパイヤ)、フィシン(イチジク)と呼ばれています。研究担当者らによってシステインプロテアーゼが植物の昆虫に対する防御を担うタンパク質であることが、パパイヤ、イチジクを材料とした実験から世界で初めて明らかにされました。

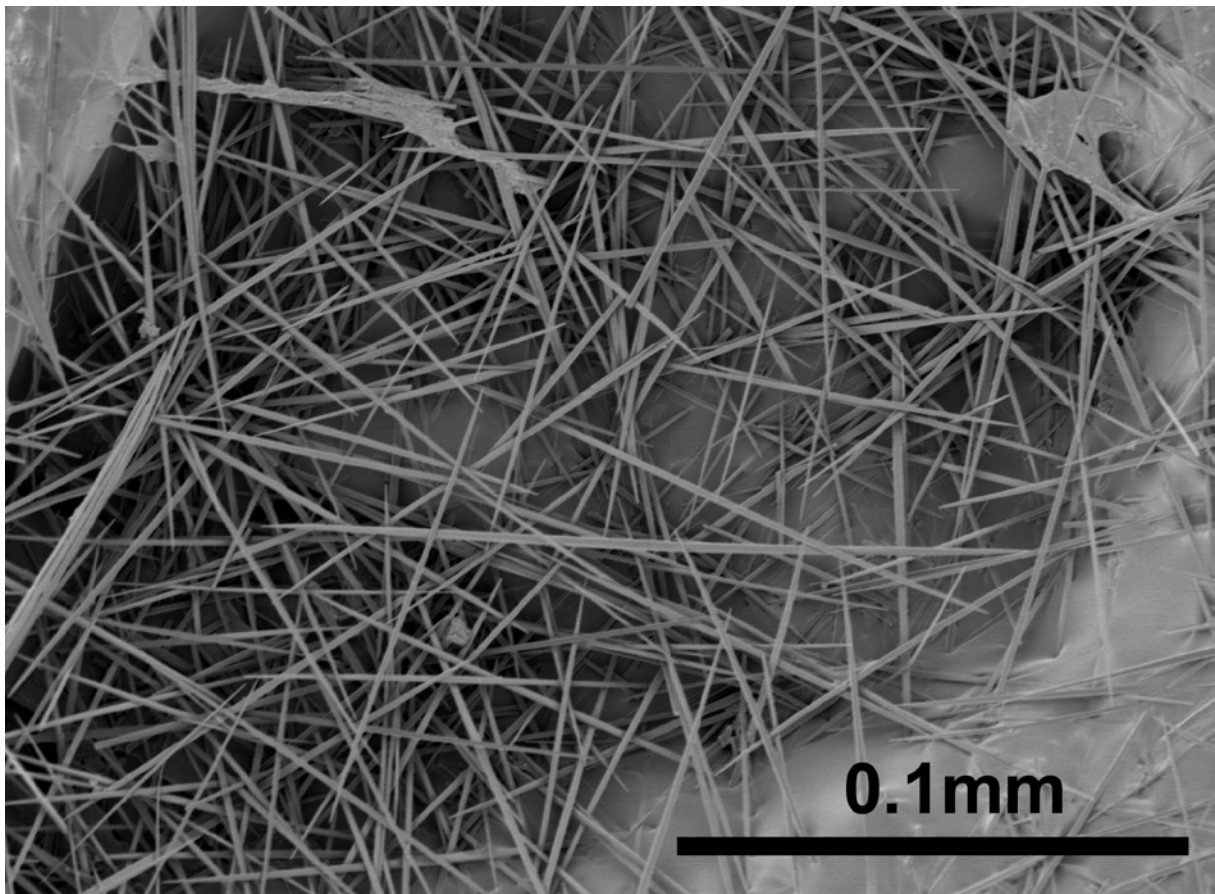


図1 キウイフルーツ果実から精製したシュウ酸カルシウム針状結晶の電子顕微鏡写真。

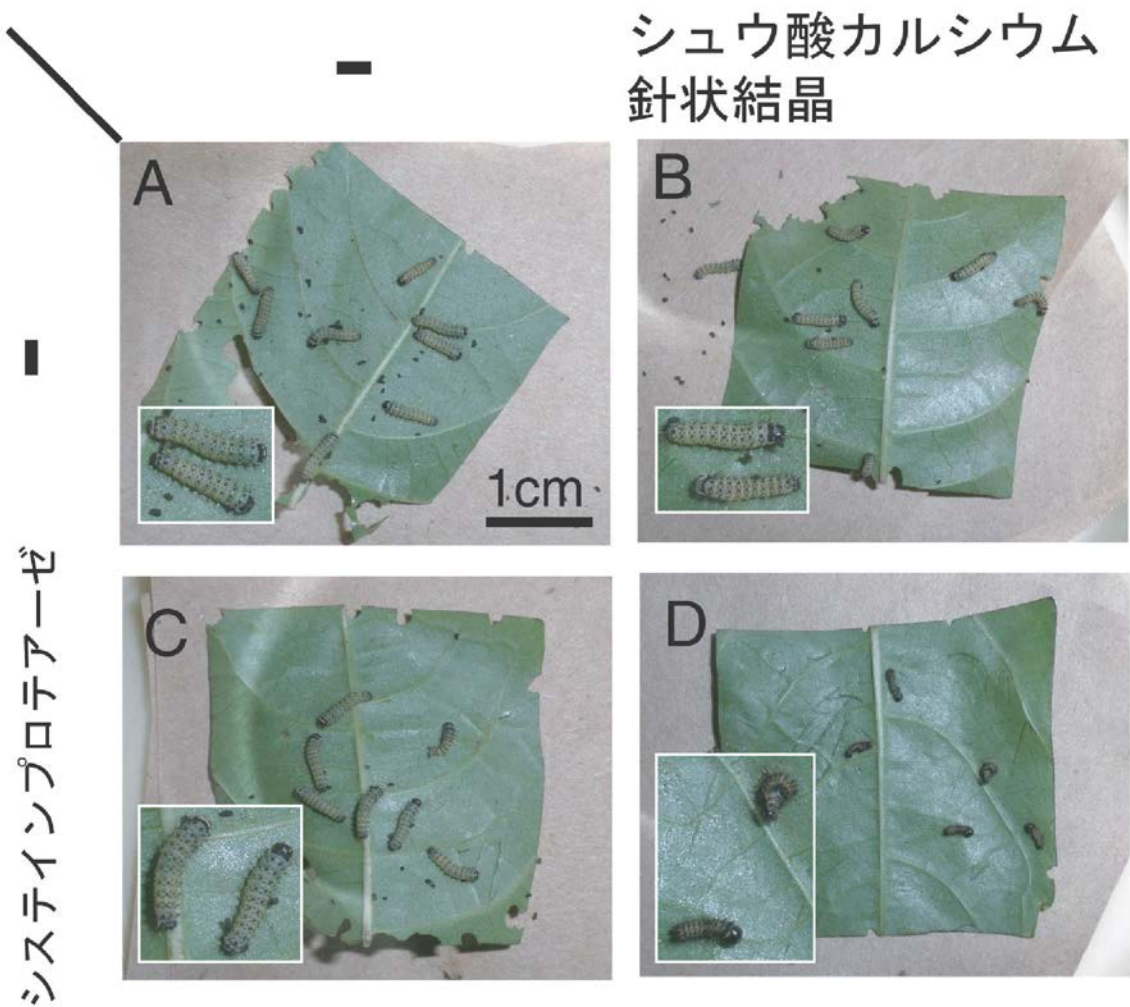


図2. シュウ酸カルシウム針状結晶とシステインプロテアーゼの相乗的な耐虫効果。エリサン幼虫にシステインプロテアーゼ単独、シュウ酸カルシウム針状結晶単独及び、両方同時に塗布した葉を食べさせ、耐虫効果を比較しました。

(A) 何も塗布しない、(B) シュウ酸カルシウム針状結晶を塗布、(C)システインプロテアーゼを塗布、(D) シュウ酸カルシウム針状結晶とシステインプロテアーゼを両方塗布、(D) の両方塗布した場合のみ、顕著な耐虫効果が見られる。