

琉球大学学術リポジトリ

リュウキュウイノモトソウ (Pteris ryukyuensis)由来キチナーゼの構造と抗真菌活性

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学21世紀プログラム 公開日: 2007-07-10 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 平良, 東紀, 翁長, 彰子, 石原, 昌信, Taira, Touki, Ishihara, Masanobu メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/780

PG-4 リュウキュウイノモトソウ (*Pteris ryukyuensis*) 由来
キチナーゼの構造と抗真菌活性

平良 東紀・翁長 彰子・石原 昌信

琉球大学農学部生物資源科学科

【目的】 現在、農業や医療現場において、有効で安全な抗真菌剤が求められている。我々は琉球列島に自生する多様な植物の遺伝子資源を利用した抗真菌剤の開発を目指している。我々は抗真菌剤の候補としてキチナーゼ（キチン分解酵素）に注目している。植物のキチナーゼは病原性真菌の主な細胞壁構成成分であるキチンを分解することによって、真菌の侵入および生育を抑制する生体防御タンパク質であると考えられている。真菌の細胞壁成分をターゲットとした抗真菌剤は、同じ真核生物に属する動物細胞には細胞壁が存在しないため、副作用を引き起こしにくいより安全なものである。これまでに、被子植物であるガジュマルやパイナップル、裸子植物であるソテツ等からキチナーゼおよびその遺伝子を単離している。本研究では、シダ植物からキチナーゼおよびその遺伝子の単離、その構造と抗真菌活性との相関について調べた。

【方法および結果】 12属 16種のシダ植物についてキチン分解活性を調べた結果、イノモトソウ属に高い活性が認められた。中でも比較的活性の高かったリュウキュウイノモトソウの葉よりキチナーゼ (*Pteris ryukyuensis* Chitinase, Pr Chi) を単離した。Pr Chi の分子量は約42,000であった。Pr Chi は *Trichoderma viride* に対して抗真菌活性を示した。Pr Chi の N 末端アミノ酸配列はペプチドグリカン（細菌の細胞壁成分）結合能を有する LysM ドメインと相同性が認められた。mRNA を調製し、RT-PCR 法により Pr Chi の遺伝子クローニングを行った結果、Pr Chi は N 端側から 2 個の LysM ドメインと 1 個の触媒ドメインから成り、ドメイン間はセリン、スレオニン、プロリンに富む領域で連結されていることがわかった。この構造は植物由来キチナーゼとしては新奇のものであることがわかった。本酵素における LysM ドメインの抗真菌活性に及ぼす役割について調べるために、Pr Chi の全長および LysM ドメインを欠失した変異体をそれぞれ大腸菌で発現させ精製した。LysM ドメインを欠失した変異体は全長を含みコンビナントタンパク質と比較して、同程度のキチン分解活性を示したが、抗真菌活性は著しく低下した。これらのことから LysM ドメインが Pr Chi の抗真菌活性の発現に大きく寄与していることがわかった。