

琉球大学学術リポジトリ

ガジュマル乳液由来の抗カビタンパク質

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大泊, 敦子, 下地, 真紀子, 平良, 東紀, 石原, 昌信 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016675

ガジュマル乳液由来の抗カビタンパク質

○大泊敦子, 下地真紀子, 平良東紀, 石原昌信
(琉球大学 農学部)

【目的】病原菌抵抗性作物の創出は将来の食料を確保する上で重要であると考えられている。植物の感染症の80%以上はカビによって引き起こされる。カビの細胞壁はキチンやグルカンを主な構成成分としており、これらを分解するタンパク質やこれらに結合するペプチドが抗カビ作用を示すことが知られている。我々は熱帯・亜熱帯の植物遺伝子資源よりキチナーゼ（キチン分解酵素）等の抗カビタンパク質の探索を行っている。今回、ガジュマル (*Ficus microcarpa*) の乳液より2種類のキチナーゼを精製し、その諸性質と抗カビ活性について調べた。

【方法】抗カビ活性の測定はPDAプレート中央に *Trichoderma viride* を接種し、同プレートの所定の位置をコルクボーラーで打ち抜いたウェルに試料を添加して一定時間培養した後、ウェル周辺の菌糸伸長阻害の程度を観察することによって行った。抗カビタンパク質の精製は、ガジュマル乳液から超遠心分離後に得られた上清液をキチン親和性カラムクロマトグラフィーに続いて各種クロマトグラフィーに供与することによって行った。精製タンパク質の純度および分子量測定にはSDS-ポリアクリルアミド電気泳動法を用いた。N-末端アミノ酸配列は気相シーケンサー法により決定した。

【結果】キチン親和性カラム非吸着画分および吸着画分よりキチナーゼ活性を有する抗カビタンパク質が精製され、それぞれ *Ficus microcarpa*-Antifungal protein-a (Fm-AFP-a) および-b (Fm-AFP-b) とした。Fm-AFP-a および-b の分子量はそれぞれ27,000と32,000と算出され、等電点は10以上と9.3であった。N-末端アミノ酸配列の相同性検索により、Fm-AFP-aは触媒ドメインのみから成る植物クラスIIキチナーゼ、Fm-AFP-bはN-末端にキチン結合ドメインを有する植物クラスIキチナーゼに分類されることが示唆された (図1)。Fm-AFP-a および-b はいずれも pmol オーダーで抗カビ活性を示したが、その阻止線の形状は異なっていた (図2)。また、Fm-AFP-a の抗カビ活性は培地の塩濃度の上昇に伴い減少したが、Fm-AFP-b の活性は変化しないことがわかった。これは両タンパク質の構造の違い、すなわちキチン結合ドメインの有無に起因するものと推察された。

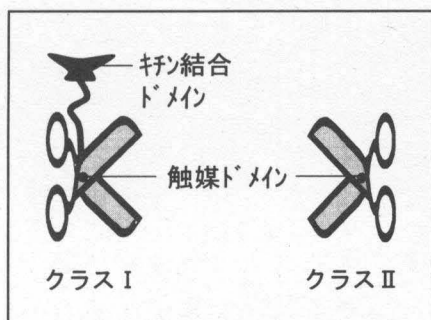
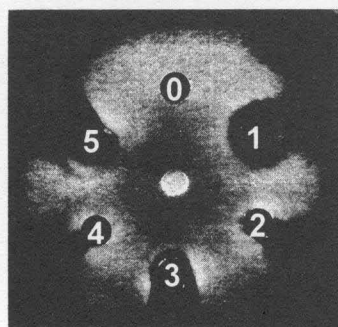


図1. 植物キチナーゼの構造

Fm-AFP-aはクラスIIキチナーゼに、Fm-AFP-bはクラスIキチナーゼに分類される。



- 0, 滅菌水
- 1, Fm-AFP-a (50)
- 2, Fm-AFP-a (10)
- 3, Fm-AFP-a (25) + b (25)
- 4, Fm-AFP-b (10)
- 5, Fm-AFP-b (50)
- ※ () 内は pmol / 10 μ l

図2. Fm-AFP-a および-b によるカビ菌糸伸長阻害

Fm-AFP-a と Fm-AFP-b (ウェル1とウェル5) では阻止線の形状が大きく異なっている。