

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: 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: 翁長, 彰子, 平良, 東紀 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016746

翁長 彰子, 平良 東紀

琉球大学農学部

【背景と目的】

現在, 農業・医療・食品・化粧品など様々な領域で有効で安全な抗真菌剤が求められている。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。これまでに使用されている抗真菌剤は, 真菌と同じ真核生物である動植物に対して副作用を示すものが多い。キチナーゼは真菌細胞壁な主な構成成分であるキチンを分解することによって抗真菌活性を発揮すると考えられており, キチンを持たない動植物には副作用の少ない抗真菌剤となることが期待される。我々の研究グループでは, より強くより特異な抗真菌活性を有するキチナーゼの探索を, 沖縄に生息する豊富な植物遺伝子資源を対象に行っている。本研究では, 沖縄に生息するシダ植物からキチナーゼおよびその遺伝子の単離し, 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-A, PrChi-A) を単離した。PrChi-A の分子量は約 42,000 であった。PrChi-A は *Trichoderma viride* に対して抗真菌活性を示した。PrChi-A の N 末端アミノ酸配列はペプチドグリカン, キチンオリゴ糖または Nod factor (窒素固定細菌が合成し, マメ科植物の根で受容されるシグナル分子) に結合することが示唆されているモチーフである LysM ドメインと相同性があった。mRNA を調製し, RT-PCR 法により PrChi-A の遺伝子クローニングを行った結果, PrChi-A 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。

PrChi-A のキチン結合活性および抗真菌活性における LysM ドメインの役割について調べるために変異体解析を行った。野生型 PrChi-A は比較的強いキチン結合活性を示し, 抗真菌活性を有していた。LysM ドメイン 1 つを欠失させた変異体では野生型に比べキチン結合活性および抗真菌活性が低下した。LysM ドメインを 2 つとも欠失させた変異体ではキチン結合活性および抗真菌活性はほとんど消失した。これらのことから PrChi-A のキチン結合活性および抗真菌活性に LysM ドメインが大きく寄与していることが明らかとなった。