

植物ホルモンの代謝に関連するシロイヌナズナ由来 β -グルコシダーゼ

およびモノオキシゲナーゼの機能・発現に関する研究

応用生物科学専攻 生命分子化学講座

生物化学 谷口 沙希

1) 緒言 植物ホルモンは配糖化や水酸化により生理活性が調節される。シロイヌナズナでは、病傷害応答に関与するジャスモン酸イソロイシンが CYP94B3 および CYP94C1 により水酸化されて不活性化される。これらの酵素遺伝子の発現に対するジャスモン酸類による影響は明らかではない。イネにおいてツベロン酸グルコシド (TAG) β -グルコシダーゼ (OsTAGG2) が、病害応答を制御するサリチル酸 (SA) の配糖体サリチル酸グルコシド (SAG) に高い活性を示すことが明らかになったが、他の植物の SAG 分解酵素は不明である。本研究では、ジャスモン酸メチルの CYP94B3 および CYP94C1 の発現への影響を明らかにすることと、シロイヌナズナにおける SAG 分解酵素の同定を目的とした。

2) 結果と考察 傷害および 10 μ M ジャスモン酸メチル (MeJA) 処理を施したシロイヌナズナにおける CYP94B3 および CYP94C1 の発現量を調べた。ロゼット葉における CYP94C1 および CYP94B3 の発現はいずれも傷害処理で誘導されたが、MeJA 処理では CYP94C1 の発現量のみが増加した。気化させた MeJA での処理でも CYP94C1 の発現量の増加が見られた。MeJA 処理を施したシロイヌナズナ抽出物から MeJA の水酸化物は検出されなかったことから、CYP94C1 に MeJA 水酸化活性はないと考えられた。低濃度の MeJA 処理により誘導されるジャスモン酸バリンに対しても、組換え CYP94C1 は水酸化活性を示さなかった。

シロイヌナズナ SAG 分解酵素の探索を行った。OsTAGG2 とアミノ酸配列同一性が高いシロイヌナズナ β -グルコシダーゼ様タンパク質 AtBGLU12, AtBGLU13, AtBGLU15, AtBGLU16 および AtBGLU17 を SAG 分解酵素の候補とした。大腸菌により可溶性タンパク質として生産された組換え AtBGLU13, AtBGLU15 および AtBGLU16 を精製し、諸性質を調べた。2 mM *p*-ニトロフェニル β -グルコシドに対する比活性は、AtBGLU13 が 3.07 U/mg, AtBGLU15 が 4.18 U/mg であったのに対し、AtBGLU16 は 0.076 U/mg と低値であった。組換え AtBGLU13, AtBGLU15 および AtBGLU16 は SAG 加水分解活性を示した。シロイヌナズナの抽出液に SAG 分解活性が見られたことから、これらの酵素がシロイヌナズナの SAG 分解活性の一部を担う可能性がある。いずれの酵素もヘリシンや β -1,3 結合からなるラミナリビオースに対して SAG よりも高い k_{cat}/K_m を示した。ヘリシンは SAG のカルボキシレート基がアルデヒドに置換された構造を持つことから、SAG のカルボキシレート基が酵素との結合に好ましくない可能性が考えられた。また、AtBGLU15 は細胞壁への局在が報告されており、AtBGLU13 および AtBGLU16 も AtBGLU15 と同様に N 末端シグナルペプチドを有していることからアポプラストへの局在が唆される。AtBGLU13, AtBGLU15 および AtBGLU16 の β -1,3 グルコシド結合への高い加水分解活性から、これらがアポプラストに局在し、ストレスによって蓄積が誘導される β -1,3-グルカンの代謝にも関与すると考えられた。