

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 27 日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23780111

研究課題名（和文） マコモ植物細胞壁の緩みに関与する細胞壁分解酵素および遺伝子の網羅的解析

研究課題名（英文） Comprehensive analysis of cell wall degrading enzymes and genes involving in loosening of cell wall of *Zizania latifolia*.

研究代表者

中島 将博 (Nakajima Masahiro)

東京理科大学 理工学部 助教

研究者番号：60580727

研究成果の概要（和文）：黒穂病菌に感染したマコモは花茎が異常な伸長肥大成長を示す。この現象には植物細胞壁の部分的分解による緩みが関与すると推測される。黒穂病菌とマコモのゲノムのドラフト配列を解読し、感染マコモ花茎の各肥大成長段階における遺伝子発現を網羅的に解析したところ、黒穂病菌では細胞内局在の糖加水分解酵素の遺伝子と比較して細胞壁分解酵素遺伝子は高い発現量を示した。これら遺伝子のうち、異種発現に成功した β -グルコシダーゼと β -グルカナーゼは、機能解析により β -1,3-グルカン分解酵素であることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Infection of *Ustilago esculenta* to *Zizania latifolia* causes aberrant hypertrophy of flowering stems. This phenomenon is thought to attribute to loosening of plant cell wall by partial degradation of the wall. Draft genome sequences of *Z. latifolia* and *U. esculenta* were analyzed and then comprehensive analysis of gene expression in flowering stems of the infected host during hypertrophy of the stems was carried out. Many genes encoding cell wall degrading enzymes of *U. esculenta* showed higher expression level than those of cytosolic glycosyl hydrolases. β -Glucosidase and β -glucanase, which were successful in heterologous production among them, were β -1,3-glucan degrading enzymes according to enzymatic characterization.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3500000	1050000	4550000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学 応用生物化学

キーワード：マコモ、黒穂病菌

1. 研究開始当初の背景

植物の成長は細胞分裂による細胞数の増加と細胞の体積増加により制御されている。分裂後の細胞の体積は吸水作用により数倍から数百倍に増加するため、植物体の成長は主に吸水作用による細胞成長に依存していると言える。しかし、植物細胞は強固な構造の細胞壁に覆われることでその形体が維持される一方、この細胞壁の機械的強度が自由な吸水による細胞成長を妨げている。

植物細胞壁はセルロース微繊維をヘミセルロースが架橋結合する構造をとる。この構

造が細胞壁に強度と柔軟性を付与している。細胞成長時にはヘミセルロースにより形成された架橋が分泌酵素により切断されることで細胞壁の緩みが生じ、細胞の吸水作用が起こる。双子葉植物では、ヘミセルロースの一種であるキシログルカンが細胞壁の架橋形成や分解による細胞壁の緩みの誘導に深く関わっていることが報告されている。一方、単子葉植物ではグルクロノアラビノキシランや 1,3-1,4- β -グルカンが主要なヘミセルロース糖鎖であり、架橋形成による細胞壁強度の増大や分解による細胞壁の緩みへの関

一方、Lam16A は β -1,3- κ グルカンに対して高い特異性を示した。 β -1,3- κ グルコオリコ糖に対しては 5 糖以上の基質に対して高い活性を示した(図 1(B))。この結果は、Bg13A と Lam16A が協同的に β -1,3- κ グルカンの分解を行う可能性を示唆している。また、Lam16A は C 末に GPI アンカーシグナル配列 (GPI-AS) を持つ。GPI-AS の有無による組換え Lam16A の麹菌における局在を調べた結果、GPI-AS の有無に関わらず Lam16A は培養上清に分泌されていたが、GPI-AS を持つ Lam16A のみ膜への局在が確認された。また、膜画分のホスファチジルイノシトール特異的ホスホリパーゼ C 処理により Lam16A が膜から遊離したことから、Lam16A は GPI アンカーを介して膜に局在することが明らかになった。この結果から、Lam16A がまず黒穂病菌細胞膜に局在して自身の細胞壁の再構築に関わるか、その後菌体外に遊離し、Bg13A とともに外来性の β -1,3- κ グルカンの分解に関与することか推測された。

今後は今回機能解析した細胞壁分解酵素以外の高発現遺伝子がコードする酵素の機能解析を行うことにより、黒穂病菌のマコモ細胞壁分解の能力を明らかにする必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

1.
Masahiro Nakajima, Tetsuro Yamashita, Machiko Takahashi, Yuki Nakano, Takumi Takeda
Identification, cloning, and characterization of β -glucosidase from *Ustilago esculenta*.
Applied Microbiology and Biotechnology
査読有 93, 1989-1998 (2012)
Doi: 10.1007/s00253-011-3538-2

2.
Masahiro Nakajima, Tetsuro Yamashita, Machiko Takahashi, Yuki Nakano, Takumi Takeda
A novel glycosylphosphatidylinositol-anchored glycoside hydrolase from *Ustilago esculenta* functions in β -1,3-glucan degradation.
Applied and Environmental Microbiology
査読有 78, 5682-5689 (2012)
Doi: 10.1128/AEM.00483-12

[学会発表] (計 6 件)

1.
Masahiro Nakajima, Tetsuro Yamashita, Takumi Takeda
Identification and characterization of extracellular β -glucosidase from *Ustilago esculenta*.
21th International Symposium on Glycoconjugates
2011 年 8 月 25 日 Vienna, Austria

2.
中島将博、山下哲郎、竹田匠
黒穂病菌由来分泌型 β - κ グルコシターゼの同定と機能解析
日本応用糖質科学会平成 23 年度大会
2011 年 9 月 28 日 札幌

3.
中島将博、山下哲郎、竹田匠
黒穂病菌由来の新規 κ リコシルホスファチシルイノシトールアンカー β -1,3- κ グルカナーゼ
日本農芸化学学会 2012 年度大会
2012 年 3 月 24 日 京都

4.
Masahiro Nakajima, Tetsuro Yamashita, Takumi Takeda
A novel glycosylphosphatidylinositol-anchored glycoside hydrolase from *Ustilago esculenta* functions in β -1,3-glucan degradation.
26th International Symposium on Glycoconjugates
2012 年 07 月 24 日 Madrid, Spain

5.
中島将博、山下哲郎、竹田匠
新規の黒穂病菌由来 κ リコシルホスファチシルイノシトールアンカー β -1,3- κ グルカナーゼ
日本応用糖質科学会平成 24 年度大会
2012 年 09 月 20 日 東京

6.
中島将博、山下哲郎、竹田匠
黒穂病菌の生産する分泌型 β -1,3- κ グルカン分解酵素の単離同定と機能解析
日本農芸化学学会 2013 年度大会
2013 年 03 月 26 日 仙台

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況（計0件）

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 将博 (Nakajima Masahiro)
東京理科大学 理工学部
応用生物科学科 助教
研究者番号：60580727

(2) 研究分担者

(なし)

研究者番号：

(3) 連携研究者

(なし)

研究者番号：