

S 105 微生物細胞壁分解酵素を利用した植物細胞壁の改変
 (三重大生物資源・遺伝子実験施設*)
 ○大宮邦雄 栗冠和郎 荻田修一* 木村哲哉

【目的】植物の細胞壁は浸透圧変化や外敵の侵入から細胞を保護するのみならず、植物の形態形成や細胞増殖を支配している。細胞壁はグルコースが β -1,4 結合したセルロース繊維を基本に、ヘミセルロースやペクチンから構成され、地球上で光合成されるバイオマスのかかなりの部分を占めている。しかし、その強固で複雑な構造ゆえに十分に利用されてはいない。我々は植物細胞壁をエネルギー源として利用するため、嫌気性細菌から細胞壁分解酵素群を単離し解析してきた。さらに、これら酵素を植物細胞で発現させて、細胞壁にゆるみをもたせ、分解効率を高め利用を促進する試みを行ってきた。この一連の研究においてセルロース繊維に吸着するドメインをもつ細胞壁分解酵素の存在が判明した。そこで、このセルロース結合ドメイン (CBD) に種々な触媒ドメインをキメラ化し、植物細胞で発現させ、細胞壁にアンカリングすることにより構造的ゆるみをもたせたり、あるいは高機能化することを本研究の究極の目的とした。

【方法及び結果】(1)細胞壁分解酵素の植物への導入：嫌気性菌の細胞壁分解酵素として、*Ruminococcus albus egI* (セルラーゼ) 遺伝子と *Clostridium stercorarium xynB* (キシラナーゼ) 遺伝子を選び、これらを CaMV35S プロモーター下流につなぎ、エレクトロポレーションでタバコ培養細胞 BY-2 に導入した。*egI* 遺伝子では、分泌シグナルを削れば細胞質で安定に発現したが、分泌シグナルをつけたままでは形質転換体が得られなかったことから、セルラーゼ遺伝子が分泌されると細胞壁合成に致命的な影響を与える可能性が示唆された。一方、*xynB* は分泌シグナルを付けたままでも安定に発現し、培地中にも分泌された。タバコ細胞にはキシラン含量の低いことが関係するのかもしれない。(2)セルロース結合ドメインの細胞壁成分への吸着：我々の単離した *C. stercorarium xynA* の CBD はファミリー VI に分類される。このドメインを欠損した酵素遺伝子が大腸菌で発現させて精製をした。この酵素は不溶性キシランへの吸着能を失っていた。また、不溶性の基質に対して活性が低下した。さらに、*R. albus* EGIV にこの CBD を融合させると、融合酵素はセルロースに吸着するようになった。これらの結果をもとに、培養細胞 BY-2 の細胞壁に対する CBD の吸着実験と CBD 遺伝子を BY-2 で発現させ、アンカリングさせる試みを進めている。

【Keyword】 セルロース結合ドメイン、セルラーゼ、キシラナーゼ、細胞壁アンカリング