

# 抗菌蛋白質ディフェンシンの多様な機能特性

川田元滋\*1, 黒田 秧\*2, 田中宥司\*1

抗菌蛋白質として多数の生物種に存在するディフェンシンは、共通の特徴を保持しつつ構造的な多様性をもつ。近年、イネへの複合病害抵抗性の付与効果や抗 HIV 活性および腫瘍免疫誘導への関与など、ディフェンシンの有用性が明らかとなってきた。アブラナ科野菜由来のディフェンシンを中心に、多様な機能的特性に関わる解析研究の最新成果と、それを基盤とした応用研究への展開について紹介する。

## 抗菌蛋白質

植物や動物を問わず広く生物種に分布する抗菌蛋白質は、病原菌などに対する防御機構の一つとして重要な役割を担ってきたと考えられる。抗菌蛋白質は一般的に、糸状菌、細菌、ウイルスなどに対して効果を示すが、その活性強度や活性スペクトラムは多様である。現在までに 500 種以上の抗菌蛋白質が知られているが、その機能的特性および構造上の特徴は多様であり、アミノ酸配列や二次構造の共通性によって分類される<sup>(1)</sup>。大きくは $\alpha$ ヘリックス構造の有無で分類され、現在知られている抗

菌蛋白質の多くは $\alpha$ ヘリックス構造をとる。また、1~4 個のジスルフィド結合 (SS 結合) をもつ場合が多いことも抗菌蛋白質の特徴である。アミノ酸として 2~9 kDa といった非常に短い構造をとることも共通している。

高等動物は病原菌などに対する非常に高度な防御機構として免疫系などを備えているが、昆虫や植物、とりわけその性質上移動の困難な植物については、外敵からの攻撃に対する抗菌蛋白質の重要性は大きいと考えられる。現在までに、コムギ由来のピュロインドリン<sup>(2)</sup>、オムギ由来のチオニン<sup>(3)</sup>、アブラナ科野菜由来の植物型ディフェンシン<sup>(4)</sup>をはじめ、数種類の植物由来の抗菌蛋白質が知られており、その抗菌活性の研究が進められている。ここでは、その中から糸状菌や細菌に対して幅広い抗菌活性を示し、病害抵抗性付与や新規抗菌剤としての応用の可能性が注目され、幅広く解析研究が進められている植物型ディフェンシンに焦点を当て、ディフェンシンのもつ多様な機能特性に関わる解析研究の最新成果と、それを基盤とした応用研究への展開を紹介し、抗菌蛋白質のもつポテンシャルについて解説したい。

Functional Properties of Defensin as Antimicrobial Protein  
Motoshige KAWATA\*1, Shigeru KURODA\*2, Hiroshi TANAKA\*1, \*1独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構中央農業総合研究センター北陸地域基盤研究部, \*2同研究機構作物研究所

## ディフェンシン

ディフェンシンは生物種を問わず広く存在する抗菌蛋

を導入したイネ<sup>(3)</sup>や、コムギ由来のピュロインドリン遺伝子を導入したイネ<sup>(18)</sup>などの報告がある。また、昆虫のカイコ由来のセクロピン遺伝子を導入したイネ<sup>(19)</sup>にイネ白葉枯病菌 (*Xanthomonas oryzae*) に対する抵抗性が付与されたとの報告がある。植物型ディフェンシンについては、ダイコン由来のディフェンシン (Rs-AFP2) を導入したタバコ<sup>(4)</sup>がアルタナリア属の病原菌に対して抵抗性が付与されたという報告がある。さらに、アルファルファ由来のディフェンシンがジャガイモの主要病害の原因菌 (*Verticillium dahliae*) に対して抵抗性を付与する効果があることも知られている<sup>(20)</sup>。

筆者らは、いもち病菌や紋枯病菌といったイネの複数の重要病害の原因菌に対する増殖抑制効果を示すことを *in vitro* の抗菌活性試験によって明らかにするとともに、カラシナ由来のディフェンシン遺伝子を導入した組換えイネを作出し、複合病害抵抗性検定を実施した。その結果、いもち病や白葉枯病をはじめ、複数の糸状菌病と細菌病に対して抵抗性付与効果があること確認した<sup>(21)</sup>。現在、紋枯病など他病害に対する抵抗性検定を進めている。

作物の病害抵抗性育種を目指す際に常に問題となる大きな問題の一つとして、病原菌の変異による抵抗性崩壊 (ブレイクダウン) があげられる。イネ育種の場合でも、特に真性抵抗性遺伝子をもつ系統・品種は、しばしばこの問題に直面することが知られている。ディフェンシン遺伝子を導入した組換えイネもまた、抵抗性崩壊をひき起こすのだろうか。抗生物質などと比較して、抗菌蛋白質は一般的に病原菌に対して「穏やか」に作用すると考えられている。また、抗菌蛋白質が細胞膜に作用するという特性上、病原菌が細胞膜の構造を劇的に変化させることで抗菌蛋白質の攻撃を「解決」するにはあまりに大きな遺伝的変化を必要とするため<sup>(1)</sup>、抗生物質や農薬の主成分である薬剤と比較して、抗菌蛋白質では抵抗性崩壊の懸念は低いと考えられている。筆者らは現在、ディフェンシン、抗生物質および農薬の有効成分を用いて耐性菌の出現頻度の比較解析研究を進めている。

### ディフェンシンの可能性

これまで述べてきたように、アブラナ科由来のディフェンシンは多様な糸状菌・細菌に対する抗菌活性を有するため、病害抵抗性付与に有用な蛋白質として解析研究が進められている。その一方で、抗菌蛋白質を天然型の抗菌剤と位置づけた利活用の可能性を考えることができる。環境にやさしく安全性が高い天然抗菌剤に対する

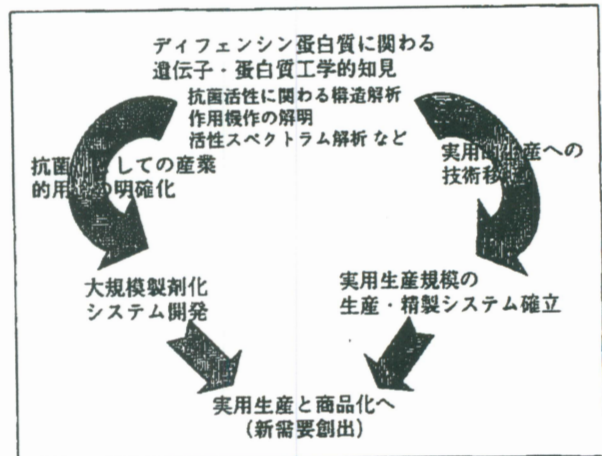


図4 ■ 植物由来のディフェンシン蛋白質を利用した新規抗菌剤の開発

消費者の潜在的需要は大きく、植物由来のディフェンシン蛋白質の実用化により、天然抗菌剤の市場占有率向上や抗菌剤市場規模の拡大といった短・中期的な経済への貢献とともに、天然成分の有効性の再認識といった社会への波及効果とそれに伴う長期的・持続的な市場活性効果も期待できる。しかし、少ない原料抽出量と低い生産性が大きな問題となり、実用規模での生産が行なわれた例はない。そこで、アブラナ科作物由来のディフェンシン遺伝子の構造解析、多様な植物病原菌に対する増殖抑制効果、遺伝子改変による機能増強など、これまでに蓄積されてきた研究成果を基盤として、産業的生産に技術移転できる解析研究と、製剤化技術開発や低コスト・大量生産システム開発との融合により、潜在的需要を喚起できる天然型新規抗菌剤の開発を目指して筆者らは研究を開始している (図4)。

植物由来のディフェンシン蛋白質は発見から日が浅く、まだまだ未知の領域が多いが、現在ではその特性に注目が集まり、基礎的研究から開発研究まで幅広く多方面での解析研究が進められている。今後、新たな科学的知見が蓄積されることによって、ディフェンシンの特性がさらに明確となり、その活用の場面が広がることが期待される。

本研究は、独立行政法人農薬・生物系特定産業技術研究機構の融合研究および独立行政法人農薬・生物系特定産業技術研究機構生物系特定産業技術研究支援センターの「生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業」の援助を受けて行なわれた。

### 文献

- 1) M. Zasloff : *Nature*, 415, 389 (2002).
- 2) J. E. Blochet, C. Chevalier, E. Forest, E. Pebay-Peyroula, M. F. Gautier, P. Joudrier, M. Pezolet & D. Marion : *FEBS Lett.*, 329, 336 (1993).