

報告番号

※甲第 1477 号

# 主論文の要旨

題名

ジャガイモの疫病抵抗性における過  
敏感反応の始動機構に関する研究

氏名 吉市尚高

# 主論文の要旨

報告番号

※甲第

号

氏名

古市尚高

高等植物は侵入して来る病原菌に対し壊死反応により応答し、その侵入を阻止する。この現象を過敏反応とよぶ。この現象は、病原菌と植物の関係が非親和性の組み合わせにおいて普遍的に観察される。過敏反応は、異物排除機構を担う抵抗性現象として、高等植物に特徴的な細胞反応と考えられる。過敏反応が起こるための、感染初期の「異物識別」の機構については、今日まだきわめて不明である。この「識別機構」を明らかにするためには、感染初期の侵入菌と宿主細胞との接触段階の様相を明らかにすることが重要である。

本研究では、ジャガイモとジャガイモ疫病菌 (*Phytophthora infestans*) の系を用い、第一に、ジャガイモ疫病における、宿主細胞の過敏反応性の誘導機構について検討した。

本病においては、抵抗性の強品種、あるいは組織ほど、過敏死に要する時間の短くなることが知られている。したがって、宿主細胞の抵抗性の強弱は、感染細胞の過敏死に到るまでの時間によって実験的に知ることができる。しかし、抵抗性品種でも、切断直後の塊茎組織では、過敏反応性を有さず細胞死が遅れて起こる。本研究では、この切断組織の過敏反応性が切断後加齢とともに徐々に高まり切断15時

報告番号 ※甲第

号 氏名

古市尚高

高等植物は侵入して来る病原菌に対し壊死反応により応答し、その侵入を阻止する。この現象を過敏感反応とよぶ。この現象は病原菌と植物の関係が非親和性の組み合わせにおいて普遍的に観察される。過敏感反応は異物排除機構を担う抵抗性現象として、高等植物に特徴的な細胞反応と考えられる。過敏感反応が起こるための、感染初期の「異物識別」の機構については、今日まだきわめて不明である。この「識別機構」を明らかにするためには、感染初期の侵入菌と宿主細胞との接触段階の様相を明らかにすることが重要である。

本研究では、ジャガイモとジャガイモ疫病菌 (*Phytophthora infestans*) の系を用い、第一に、ジャガイモ疫病における、宿主細胞の過敏感反応性の誘導機構について検討した。

本病においては、抵抗性の強品種、あるいは組織ほど、過敏感死に要する時間の短くなることが知られている。したがって、宿主細胞の抵抗性の強弱は、感染細胞の過敏感死に到るまでの時間によって実験的に知ることができるとする。しかし、抵抗性品種でも、切断直後の塊茎組織では、過敏感反応性を有さず細胞死が遅れて起こる。本研究では、この切断組織の過敏感反応性が切断後加齢とともに徐々に高まり切断15時

本研究では、過敏感死の始動機構解明のための基礎として、菌体表面の糖質と結合する宿主細胞の成分を探索した。すなわち、グルタルアルデヒド固定した疫病菌菌体成分を吸着体としたアフィニティークロマトグラフィーにより、塊基層碎液中より、結合性蛋白質成分を抽出した。そして、免疫学的手法によりその成分の同定を行なった。

ポロブ-ポリアクリルアミドゲル-電気泳動による分析の結果、抵抗性、あるいは、罹病性品種由来の菌体結合性蛋白質は、それぞれ一本のバンドのみを示し、従来報告されている、ジャガイモ・レクテンと等しい分子量をもつことを確認した。次に、抵抗性、罹病性、両品種よりジャガイモ・レクテンを抽出し、それぞれのレクテンの抗体を作製した。塊基由来の菌体結合性蛋白質成分と、純化レクテン-抗血清との間の、二重拡散法による実験の結果、この宿主の菌体結合性蛋白質の主成分は、ジャガイモ・レクテンであると同定した。

さらに、ジャガイモ・レクテンの宿主細胞過敏感細胞死における生理学的機能についても検討を行なった。まず、蛍光色素(FITC)でラベルしたジャガイモ・レクテンを作製し、疫病菌発芽胞子表面、および、発芽管表面、あるいは培養菌体表面にFITC-レクテンが結合するのをその蛍光で観察した。これらの、結合反応は、ジャガイモ・レクテンの阻害糖であるキトビオースによって抑制された。また疫病菌の親知性レースと非親知性レースの間で、この

レクケンに対する結合基の差があるのかどうかを、レクケンによる凝集実験により調べた。その結果、抵抗性品種由来のレクケンによっても、罹病性品種由来のレクケンによっても、両レースは等しく凝集することを明らかにした。また、過敏反応誘導活性をもつ疫病菌菌体壁成分も FITC-ジャガイモ・レクケンと相互反応することを確認した。

本研究では、この菌体壁成分がジャガイモ・プロトプラストに引き起こす細胞質凝集反応が感染による過敏細胞死反応と密接に関連することを確かめ、この系を、宿主細胞の「異物識別機構」を研究するための、モデル系として捉え、プロトプラスト表面と菌体壁成分との相互作用を、ハプテン効果により解析を試みた。この結果、ジャガイモ・レクケンのハプテンである、*N*-アセチルグルコサミン、*N*, *N*-D-キトビオース、*N*, *N*, *N*-D-キトリオースが菌体壁成分に対するジャガイモ・プロトプラストの細胞質凝集反応を強く阻害することを明らかにした。さらに、プロトプラスト膜表面へウサギ赤血球が結合することによって、プロトプラスト表面におけるジャガイモ・レクケンの存在を明らかにした。

抽出ジャガイモ細胞膜小胞が、疫病菌発芽胞子表面にレクケンを追加すると、初めて結合することも確かめた。この結合は、抵抗性品種のレクケンによって

も、罹病性品種のレクテンによっても同じように媒介された。そして非親和性レースでも、親和性レースでも、等しく、この細胞膜小胞の結合反応が観察された。これらのことは、感染の場における非特異的な疫病菌と宿主細胞膜の結合の結果と一致した。

以上の実験結果から、ジャガイモ・レクテンが疫病菌と宿主細胞膜の結合を媒介しており、この結合反応が、宿主細胞の過敏反応を始動する第一義的な要因であると考えた。

以上、本研究において明らかにした実験結果に基づき、植物の抵抗性反応の始動における、過敏反応性の獲得生理反応の重要性と、ジャガイモ疫病菌菌糸表面の糖物質と、ジャガイモ細胞膜に存在するジャガイモ・レクテンとの結合による異物認識反応が重要であることを論じた。