

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

Basic studies for characterizing *Phytophthora* mating hormone receptor

論文題目 (疫病菌交配ホルモン受容体の解析に向けた基盤的研究)

氏名 張 莉

論文内容の要旨

疫病菌はジャガイモなど重要農作物に感染し甚大な被害を与える *Phytophthora* 属の植物感染糸状菌で、世界3大植物病害の1つに数えられる。疫病菌の多くは有性生殖を行うことで耐久性と遺伝的多様性を獲得した有性胞子を作るため、有性生殖の分子メカニズムの解明は農林業分野にとって疫病菌制御に繋がる重要課題である。有性生殖には交配ホルモン ($\alpha 1$ と $\alpha 2$) が関与しており、その解明は長年の懸案であったが、2005年に $\alpha 1$ が、2011年に $\alpha 2$ が解明された。構造解明に加え、これまでに両ホルモンの生合成経路、構造活性相関、普遍性が検討され化学的解析がほぼ完了し、今後、ケミカルバイオロジー的な研究、すなわち交配ホルモンの受容体の同定、性分化の機構、生合成機構の解明などが疫病菌有性生殖の分子基盤の解明には必須となる (Fig. 1)。本研究では $\alpha 1$ 受容体の同定を目指した。

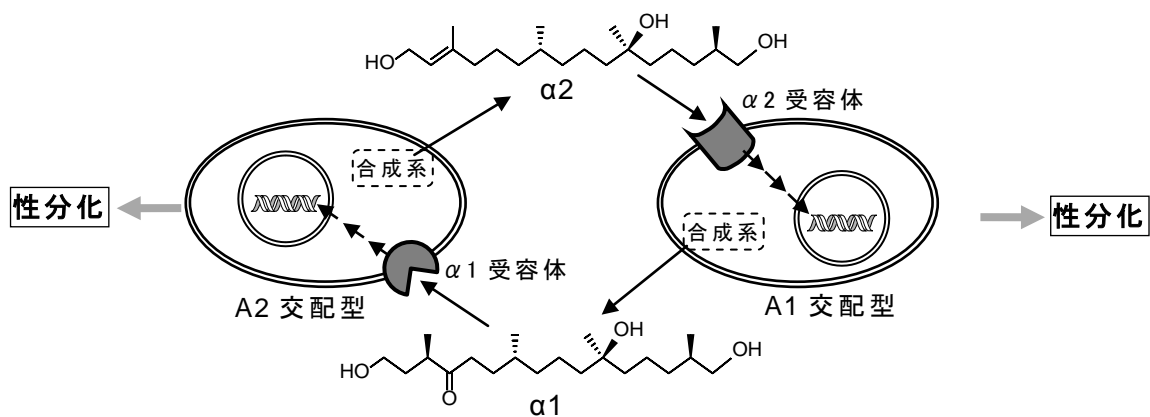


Fig. 1. 疫病菌の有性生殖システム
交配ホルモン $\alpha 1$, $\alpha 2$ が有性生殖を誘導。受容体、生合成機構は未定。

有性生殖に相手交配型を要求するヘテロタリックな疫病菌では、A1 交配型が分泌する $\alpha 1$ が A2 交配型の有性生殖を、A2 型が分泌する $\alpha 2$ が A1 型の有性生殖を誘導する (Fig. 1)。これは各交配型が相手ホルモンを認識する特異的受容体をもつことを示唆するが、ホルモン実験の過程で、 $\alpha 2$ 存在下では $\alpha 1$ に誘導される A2 型の有性生殖が抑制される予想外の現象を見出した。この現象を詳しく解析するため、以下の実験を行った。まず、 $\alpha 1$ (30 ng/disk) と $\alpha 2$ (0~100 ng/disk) を A2 型に同時に投与した結果、 $\alpha 2$ 濃度依存的に $\alpha 1$ のホルモン活性が阻害された。構造活性相関を調べるため 7 種の $\alpha 2$ 誘導體と 3 種の $\alpha 1$ のホルモン活性抑制効果を調べたところ、 $\alpha 2$ の二重結合や 3 級アルコールが重要であることが判明した。また、 $\alpha 1:\alpha 2=1:1$ の時、阻害活性は約 50% になったことから、 $\alpha 2$ は $\alpha 1$ 受容体にアンタゴニストとして強く結合し、 $\alpha 1$ と共通の構造を介して認識されるがケトン基のない $\alpha 2$ はシグナル伝達が進まず有性生殖が阻害される推定した (Fig. 2)。以上のことから、 $\alpha 1$ 受容体の探索において $\alpha 2$ をアンタゴニストとして利用できることが初めて明らかになった。

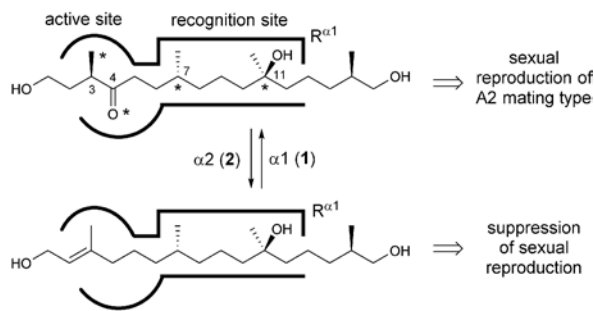


Fig. 2. $\alpha 2$ による $\alpha 1$ ホルモン活性阻害の推定機構

ホルモン活性に重要な構造 (*) のうちケトン以外は $\alpha 1$ 受容体認識に必須、ケトンはその後のシグナル伝達に重要。

次に、共同研究者により合成されたプローブを用いて $\alpha 1$ 受容体の探索を試みた。プローブには、菌体における受容体分布を調べる 3 種の蛍光プローブ、アフィニティー精製のための磁気ビーズプローブ、2 種の光親和性標識プローブを用意した (Fig. 3)。まず、蛍光プローブで生きた菌体を染色したところ A1, A2 両交配型も蛍光強度に差が無かった。遊離の $\alpha 1$ を共存させても傾向が減弱しないことから、非特異的染色であることが判った。磁気ビーズプローブで菌体抽出物から結合タンパクの精製を試みたが特異的結合タンパクは検出できなかった。さらに、光親和性プローブを用いて特異的結合タンパクの探索を行ったが、成功しなかった。今後、高いレベルで受容体を発現する菌体の調製など、工夫が必要であることが判った。

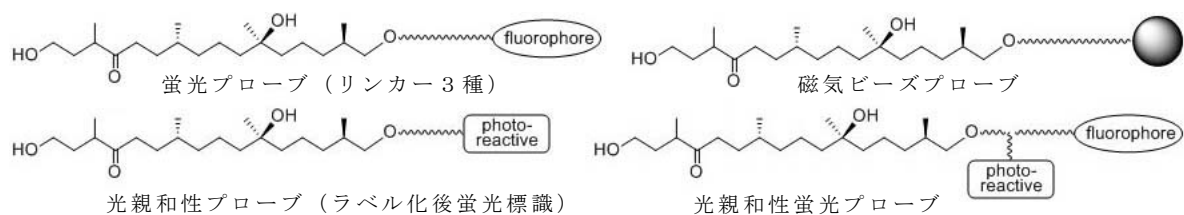


Fig. 3. 疫病菌交配ホルモン $\alpha 1$ 受容体探索プローブ