学術奨励賞受賞者研究要旨

宿主特異性決定における植物細胞壁の役割に関する研究[†]

木 場 章 範*

KIBA, A.*: Role of plant cell walls in determining plant-pathogen specificity

植物の病原菌認識機構や宿主特異性決定機構の解明は植物病理学における最重要課題の一つと考えられる。現在、エリシターの受容体の単離や情報伝達系の解明が注目を集めている。しかし、エリシターを生産しない病原菌は見出されていない。従って、病原菌の生産する特異的抵抗性抑制因子（サプレッサー）による植物防御応答の停止の仕組みを解明することが、特異性の解明には必要不可欠と考えた。本研究では、エンドウ褐紋病をモデルに病原菌シグナルの初期認識機構を解析した。これまで、病原菌シグナルは植物の原形質膜上で認識されるものと信じられてきた。しかし、P型 ATPase 活性など原形質膜機能に対するサプレッサーの活性に宿主特異性は見いだせなかった。そこで植物細胞の最外層に位置する細胞壁に着目して解析を進めた。

1. 細胞壁 ATPase に対する病原菌シグナルの作用

これまでに褐紋病菌の生産するサプレッサーの作用として宿主細胞の ATPase を阻害することが明らかとなっている。そこで細胞壁 ATPase 活性について解析したところ、原形質膜 ATPase とは基質特異性、阻害剤感受性などの諸性質が異なる ATPase 活性が存在し、病原菌シグナルに対して厳密に応答すること、特にサプレッサーによって種特異的に制御されることが判った。以上のことから、病原菌認識に関わる分子、特に宿主特異性決定に関わる植物側の因子は細胞壁に存在し、細胞壁 ATPase と密接に

関連することが示唆された。

2. 植物細胞壁と防御応答

無傷エンドウ葉にエリシターを滴下すると速やかな活性酸素の生成や感染阻害物質の生成が認められ、局部的に抵抗化する。この際エリシターは原形質膜や細胞内には到達していないことから初期に起こる一連の防御応答に細胞壁が関わっているものと考えられた。実際に細胞壁タンパク質画分中にはペルオキシダーゼ (POX) に触媒される活性酸素生成系が存在し、本活性酸素生成活性は ATPase 活性同様に病原菌シグナルで厳密に制御されることが判った。以上のことから、細胞壁は病原菌認識のみならず初期防御応答に重要であるものと推察された。

3. 細胞壁-原形質膜間の情報伝達系

動物細胞では、原形質膜に存在するインテグリンが細胞外マトリクス蛋白質内の Arg-Gly-Asp (RGD) 配列を介して、細胞内外の情報交換を行うことが知られている。ウェスタン解析から、エンドウ細胞壁にはヴィトロネクチン様蛋白質、原形質膜にはインテグリン様蛋白質の存在が明らかとなり、ファーウェスタン解析から細胞壁蛋白質と原形質膜蛋白質が RGD 配列を介して相互作用することも判明した。エリシター処理組織に誘導されるファイトアレキシンの蓄積や本生合成系の鍵酵素の遺伝子発現は、RGD 配列を含む合成ペプチドで特異的に阻害されることが判った。これらの結果は、遺伝子発現を伴う防御応答に、インテグリンを介した細胞壁-原形質膜間の情報伝達系が重要な役割を果たしていることを示唆する。

[†] 平成12年4月2日 平成12年度大会で受賞した学術奨励賞研究の要旨

* 岡山大学農学部 Faculty of Agriculture, Okayama University, Okayama 700, Japan

現在：岩手生物工学研究センター Iwate Biotechnology Research Center, Kitakami, Iwate 024-0003, Japan

4. 病原菌シグナル結合タンパク質の単離とその機能

病原菌シグナルに応答性を持つ ATPase 活性を指標にエリシター、サプレッサー結合蛋白質の単離を試みたところ、ATPase, POX, さらにこれら病原菌シグナルに特異的に結合するタンパク質が共精製された。また、病原菌シグナル結合タンパク質の cDNA を単離した結果、Apyrase や NTPase に保存されている Apyrase 保存配列 (ACR) が認められた。大腸菌で発現させた組換えタンパク質は ATPase 活性を有し、エリシターで活性化され、サプレッサーによって阻害されること、さらに両シグナルと特異的に結合する事が明らかとなった。以上の結果から、細胞壁 ATPase 自体が病原菌シグナルの受容体であると考えられた。

このように、エリシターは細胞壁の受容体 (ATPase) で認識され、ATPase を直接活性化し、それと連携する POX による活性酸素生成系を活性化し、感染阻害物質が生成され、局部抵抗性が誘導されること、また、本情報はインテグリン様分子を介して細胞内へ伝達され、遺伝子発現を伴う防御応答の引き金となるものと推察した。一方、病原菌はサプレッサーを分泌することによって ATPase 活性を阻害し、一連の情報伝達系や防御応答の発現を抑制・遅延しているものと考えた。

本研究を進めるにあたり、終始ご指導賜った岡山大学白石友紀教授、山田哲治教授、一瀬勇規助教授、豊田和弘助手をはじめ多くの方々に心から感謝の意を表する。