

氏名	加 藤 敏 朗		
授与した学位	博	士	
専攻分野の名称	学	術	
学位授与番号	博 甲 第 1245 号		
学位授与の日付	平成 6 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	自然科学研究科生産開発科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)		
学位論文題目	エンドウ褐紋病菌サプレッサーの構造と作用機構		
論文審査委員	教授 白石 友紀	教授 井上 成信	教授 中筋 房夫
	教授 佐藤 公行	教授 篠田 純男	

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

植物は諸々の病原微生物の感染行動に対する複数の防御機構を備えているが、他方、病原菌は特定の植物（宿主）の防御機構を乗り越えて、寄生に成功するものと考えられている。奥ら（1977）は、エンドウ褐紋病菌が宿主の防御反応を制御する物質を生産していることを見出し、サプレッサーと定義した。その後、他の植物病原菌についてもサプレッサーの生産が認められるようになったが、そそれの構造や作用機作の詳細については長らく不明であった。著者は本研究において、エンドウ褐紋病菌の生産するサプレッサーの精製と構造解析、活性を担う化学構造の特定と作用機構の解析を行った。

褐紋病菌柄孢子発芽液より、2種類のサプレッサーを精製し、その化学構造をGalNAc-Ser-Ser-Gly(Suppresscin A)、Gal-GalNAc-Ser-Ser-Gly-Asp-Glu-Thr(Suppresscin B)と決定した。両者ともエリシターによって誘導されるファイトアレキシン蓄積を抑制したが、原形質膜ATPase活性阻害と非病原菌の感染促進の効果は後者にのみ認められた。構成成分の作用機構の解析を行った結果、もとの糖ペプチドより弱いながらもペプチド部分だけでサプレッサー活性が認められた。一方、構成糖類にはサプレッサーの作用を低減させ、また、褐紋病菌の感染を阻害する効果が認められた。以上の結果はATPase等の標的分子への結合に糖鎖や特異な立体構造が重要であることを示唆している。Suppresscinないしその部分ペプチドが、分離したエンドウ原形質膜画分のATPase活性を阻害したことは、本酸素がサプレッサーの直接の作用点の1つであることを示している。そこで、本酸素の遺伝子をクローニングし、塩基配列を決定した結果、活性部位のアミノ酸配列は他

種植物の配列と完全に一致し、この部位とSuppressinのアミノ酸配列に類似性がみられたことから両者の直接的な相互作用の可能性が推察された。

以上の結果より、エンドウ褐紋病菌は感染初期に宿主エンドウの基本的代謝系を乱す物質を分泌し、抵抗性の発現を回避して感染に成功するものと考察した。

論文審査の結果の要旨

作物の発病の仕組みを解明することは、病害防除を行う上でも、生物の環境応答という根本的な性質を解明するためにも重要な知見を与えるものと考えられる。本論文は、エンドウの病原菌が生産する抵抗性抑制因子（サプレッサー）に注目し、この精製・構造決定に加えて詳細な作用機構について解析している。

1975年以降、8種の病原菌からサプレッサーが見出だされたが、何れも精製・構造決定には成功していなかった。このような状況の中で、エンドウ褐紋病菌の生産する2種のサプレッサー（ムチン型糖ペプチド）の構造をGal-GalNAc-Ser-Ser-Gly-Asp-Glu-Thr（サプレッシンB）及びGalNAc-Ser-Ser-Gly（サプレッシンA）と決定した意義は大きい。本論文では、決定された構造中の活性部位を探索するため、糖とアミノ酸及び合成ペプチドを用いて、それらの感染・抵抗性・原形質膜ATPaseに対する作用を解析し、これの結果から、ペプチド部分が生理活性を担うことを明らかにした。ATPaseについては、さらに詳細な解析を行い、阻害特性から、Ser-Ser-Gly配列がATP結合部位に、また、Asp-Glu配列がホスファターゼ部位に作用することを解明した。また、GalやGalNAcの処理によって、サプレッサーの活性が減少することから、糖鎖部分は、サプレッサーの立体構造の維持だけでなく、標的分子への結合に重要な役割を果たしている点も示唆している。さらに、サプレッサーの標的分子であるエンドウ原形質膜ATPase遺伝子のクローニングを行い、塩基配列を決定し、ATPase中の活性部位とサプレッサーに存在するアミノ酸配列の類似性を明らかにして、直接的な相互作用の可能性を論じている。

以上のように、本論文は、今まで不明であったサプレッサーの構造を明らかにし、その作用点を詳細に解明しており、学位論文に十分値する。なお、これらの内容はPlant Cell Physiol. 誌に2編、総説に1編に公表されており、著書1編は印刷中、また1編はBiochem.J. に投稿中である。