

## 植物の病害虫防衛戦略：免疫(2)

東京農業大学総合研究所 みつ い たかし  
満 井 香

### III システミン (Systemin)

トマトやジャガイモの葉は、害虫の加害や機械的損傷によって proteinase inhibitors (PIs) を合成する (GREEN and RYAN, 1972)。このタンパクを誘導する分子は、植物や菌に由来する oligosaccharides (エリシター)、サリチル酸, Jasmonic acid (JA) などと考えられていた。このうち, oligosaccharides は感染部位の近くでファイトアレキシンの生合成を誘導するので, PIs を誘導するシグナルとしても働くであろうと考えられたが, 植物細胞壁から oligosaccharides を放出するのに必要な酵素はトマト葉には存在しない。そのうえ, oligosaccharides は植物中での移動性がない。これらのことから, oligosaccharides 以外のシグナル分子が探索された結果, アミノ酸 18 個から成るペプチドが分離・精製された。その構造は, 以下のようであり, システミンと名付けられた。



合成したシステミン 40 fmol の低濃度をトマトに処理すると, serine proteinase inhibitors の発現が誘導され, これは oligosaccharides の  $10^5$  倍の活性であった。また, システミンによって誘導されるタンパクは, 食害や機械的損傷によって発現する proteinase inhibitor I (MW 8,100) と proteinase inhibitor II (MW 12,300) と同じであった。したがって, システミンも oligosaccharides や Jasmonic acid と同じシグナル伝達経路をたどると推察された。Proteinase inhibitor I と II (PI-I, PI-II) は, 共に害虫の消化能を低下させるので, その機能は害虫から身を守るための防衛物質と考えられている。

$^{14}\text{C}$ -Ala-systemin を合成して, トマトの傷口に処理すると 30 分以内に葉全体に広がり, 1~2 時間で篩管液に検出される (PEARCE et al., 1991)。このことから, システミンは篩管を通して全身に移動が可能であることがわかる。

システミンは, 植物のホルモン様調節機能を持つ唯一のペプチドで, その遺伝子が最近トマトの葉からクローニングされた (McGURL et al., 1992)。システミンはアミノ酸 200 個のプロシステミンからプロセッシングを受けて, C 末端部分から切り出されてできる。プロシステミンの mRNA は, 食害や損傷によって根を除いて, 地上部のどこにでも発現する。システミン cDNA のアンチセンス DNA を挿入した組換え体トマトでは, システミンの *in vivo* での発現は強く阻害され, PI-I と II の合成は著しく減少する。以上の結果から, システミンの PIs 誘導メカニズムは, 図-4 に示す経路が提唱されている (DOATES et al., 1995)。

システミンも oligosaccharides もエリシターとして働き, 細胞内でリパーゼを活性化し, リノレン酸を放出する。しかし, リノレン酸のオリジンとその生産のメカニズムは, 依然不明である。

上の経路の阻害剤として, sodium p-chloromercuribenzenesulfonate (PCMBs), sodium diethyldithiocarbamate (DIECA), サリチル酸が見つかる。PCMBs は, 上の経路を直接阻害するのではなく, システミンの移動を阻害する。この阻害は, cysteine, dithiothreitol, glutathione などの還元剤で回復する。DIECA は, リノレン酸から JA への経路を脇道に導くことによって遮断する。サリチル酸は, リノレン酸から JA を阻害するとともに, JA による PI 遺伝子の活性化をも阻害することが最近示されている。したがって, 病原体の感染によって生じるサリチル酸は PR タンパクの合成は誘導するが, 上のリノレン酸から PIs の経路を阻害するので, PIs 合成は実質的には起こらない。

一つの葉を傷つけただけで, 全身にシステミンの mRNA が現れるので, システミンはそれ自体の移動のほかに, 他のシグナルが傷口から全身へ伝わって, そこでシステミン遺伝子の転写が誘導されるとも考えられる (図-5)。ではそのシグナル分子は何か? まだ多くが謎として残されている。

### IV ジャスモン酸 (Jasmonic Acid) と ジャスモン酸メチル (Methyl-Jasmonate)

Jasmonic acid (JA), 3-oxo-2-[2'-cis-pentyl]-cyclopentane-1-acetate, とそのメチルエステル (Me-

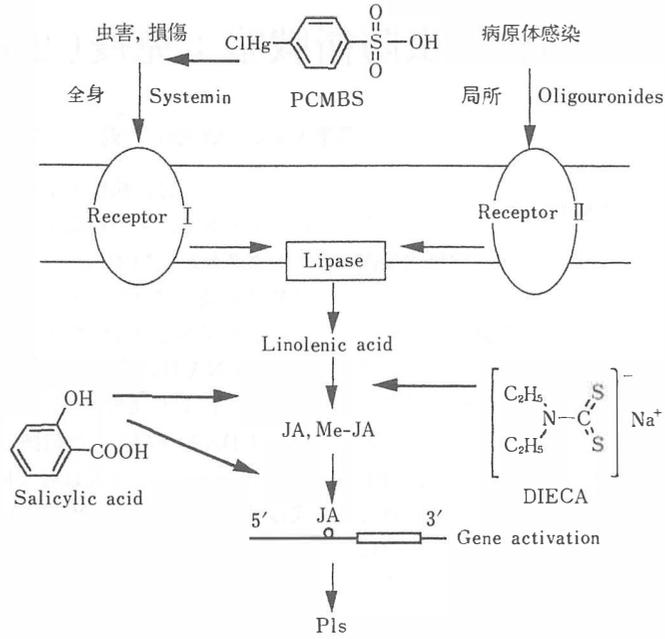


図-4 システミンおよび Oligouronides の PIs 誘導メカニズム

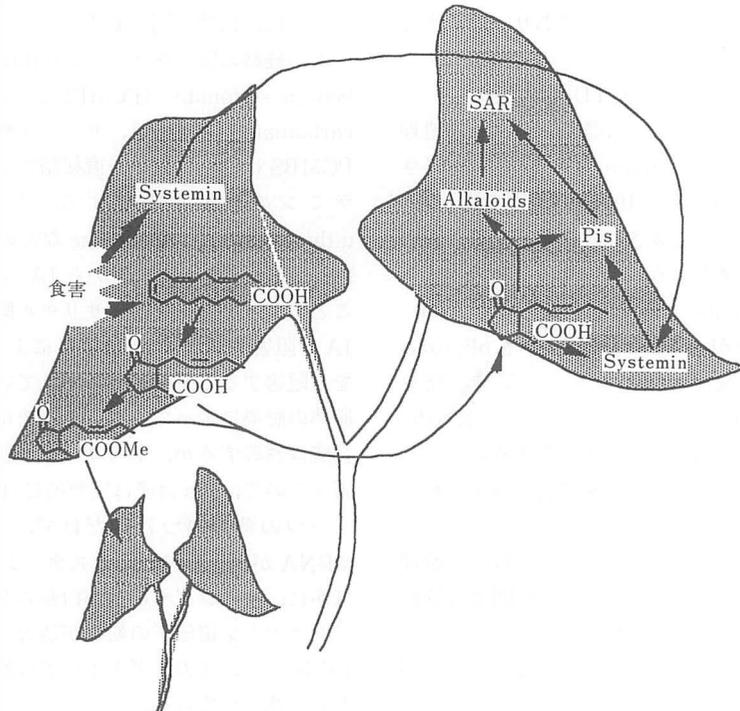


図-5 システミン, Me-JA, JA の役割

害虫につけられた傷は、部分的に、多分全身に、システミンを合成する。システミンは、18個のアミノ酸から成るペプチドで、篩管を通じて移動し、proteinase inhibitor I と II を誘導する。さらに、害虫がつけた傷は、リノレン酸の放出を起こさせる膜酵素 lipase を活性化する。リノレン酸は、jasmonic acid (JA) とともに揮発性の高い Me-JA に変わる。JA は、篩管を通じて移動し、同一植物体の他の組織で proteinase inhibitors を直接または、システミン発現を介して誘導する。Me-JA は、空気中を通じて未加害組織あるいは、近く他植物個体に拡散し、直接または、JA に変化して作用する。

JA) は、多くの植物に普通にみられる化合物で、花、生殖組織に多く、根や葉には少ない。これらの誘導体は葉の老化、落葉、塊茎の形成を促し、発芽や根の生長を抑えるなど、多くの生理活性を持っているにもかかわらず、食害や機械的損傷が活性化させる全身獲得抵抗性の誘導物質であることがわかったのは、ごく最近のことである (FARMER and RYAN, 1992)。

植物の葉に食害あるいは機械的損傷を与えると、その部位ばかりでなく離れた部位にも PIs が合成される。この PIs 遺伝子発現を調節する物質として、エリシター (植物や菌の細胞壁由来の oligosaccharides)、システミンのほかに jasmonate がある。JA の生合成は、図-6 に示すように、 $\alpha$ -linolenic acid から octadecanoid product である 13(S)-hydro-peroxylinolenic acid と 12-oxo-phytodienoic acid の二つの中間体を経て行われる。トマト葉にリノレン酸や JA を処理すると、処理葉のみならず、未処理葉の細胞中にも PI-I と PI-II の生合成が誘導される。また、JA は篩管内を移動することも認められている。Me-JA は揮発性で、低濃度のガス体 Me-JA は、ダイズで 94 Kd の植物性貯蔵タンパクの蓄積を誘導することが知られ、このタンパクは、lipoxygenase (LOX) であろうと考えられている。LOX は図-6 のように、JA 生合成の第一段階の  $\alpha$ -linolenic acid から 13(S)-hydroperoxy linolenic acid への変換を触媒する。したがって、Me-JA は LOX を

誘導することによって、自分自身の生合成を高めている。

植物細胞に Me-JA を処理すると、防御関連化合物の遺伝子の発現が高まる。例えば、250  $\mu$ M の Me-JA をダイズ細胞懸濁液に加えると、PAL 活性が高まる。Me-JA をカリフォルニアポピーの細胞懸濁液に加えると、種々のアルカロイドの生合成を促す。これらのアルカロイドは、カビのエリシターに反応してもできる防御物質である。トマトの葉をガス状の Me-JA にさらすか、Me-JA 液をスプレーすると、食害や機械的損傷で誘導されるのと同じ防御反応が起き、無処理健全葉に PI-I と PI-II の合成を誘導する。Me-JA に反応して蓄積した PIs は、濃度依存的で、単なる機械的損傷よりも多い。

*Artemisia* 属 (ヨモギ) は Me-JA を葉に多く含んでおり、葉の表面から放出する。そこでヨモギとトマトを一緒にして、密閉容器に閉じこめておくと、トマトの葉に PI-I および PI-II が誘導される (FARMER and RYAN, 1991)。Me-JA が病害虫に対する SAR のシグナル分子として働くことを確かめるため、トマト 2 葉期に、一方の葉を隔離し Me-JA 蒸気を処理すると、PI-I が両方の葉に蓄積することが確かめられている (FARMER et al., 1992)。このように、Me-JA はガス体で植物葉に PI-I および II の遺伝子を発現させ、mRNA が末梢の葉に出現する。

Me-JA は植物体内で一部は加水分解を受けて JA を生じる。したがって、植物が Me-JA の蒸気に触れると、細胞内で JA に変化し、PI 遺伝子を活性化するとともに、一部は篩管中を移動して植物全体にシグナル分子が行き渡る。

食害や機械的損傷でどのようにして JA や Me-JA の濃度が高まってくるのか？ Me-JA はシステミン遺伝子の発現をも誘導するので (図-5)、食害では細胞質膜でシステミンを介して JA や Me-JA が蓄積し、機械的損傷では、色素体の膜で上の経路がスタートすると考えられているが、そのメカニズムは明らかではない (GREELMAN and MULLET, 1995)。

## V エチレン (Ethylene)

エチレンはガス状の植物ホルモンで、多くの生理過程を調節している。病原体を植物に接種すると、エチレンの放出が高まることから、エチレンも SAR に関与しているのではないかと考えられるようになった。例えば、TMV を Samsun NN タバコの葉に接種すると、エチレンの放出量は 10 倍になる。接種後 48 時間で病斑が出る

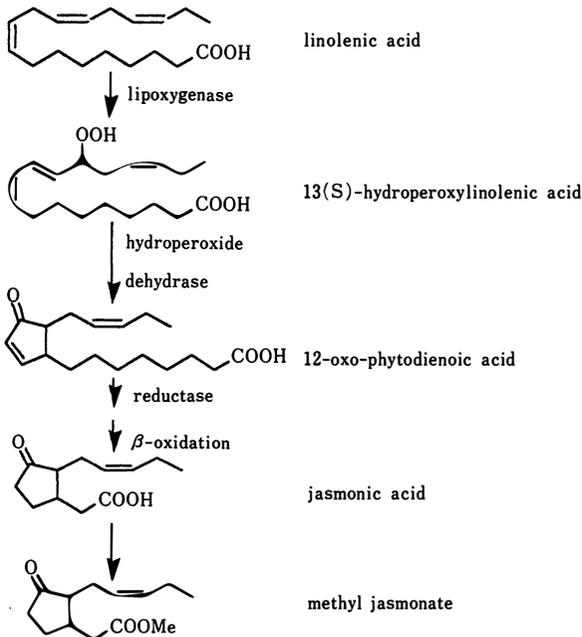


図-6 Octadecanoid シグナル伝達経路

が、病斑が出る数時間前にエチレン生産が最大となる。

カビや植物細胞壁に由来するエリシターもエチレン発散を高め、種々のPRタンパク質を誘導し、病害から身を守ると考えられている。エチレン発生物質, ethephon, をタバコに処理したときに種々のPRタンパク質が誘導される。キチナーゼやグルカナナーゼは、多くの植物でエチレンで誘導される。エチレンで誘導されるマメのキチナーゼ遺伝子を導入した組換えタバコは、キチンを持つカビ, *Rhizoctonia solani* (黒あざ病) には高い抵抗性を示すが、キチンを持たない *Pythium aphanidermatum* (綿腐病) には抵抗性がない。キチナーゼやグルカナナーゼのようなPRタンパク質はカビの細胞壁を加水分解し、エリシターを放出し、これがリグニン化を誘導する。病原体や害虫の攻撃で、細胞壁が強くなり、病原体が植物中に広がるのを防いでいる。これもエチレンが関与している。しかし、エチレンが誘導する構造的変化は、感染や損傷部位のごく近傍に限られるので、SARに貢献しているとは思えない。

病原体の感染によってエチレンが増加することは確かではあるが、これが全身獲得抵抗性を誘導するかどうか明らかではない。①エチレンは、感染部位から容易に拡散する。②病原体攻撃の間、エチレンの合成は高まる。③エチレンは、PRタンパクを誘導する、などから、エチレンのSAR関与は否定できないが、最近の研究によ

ると、エチレンは感染部位の周辺の局所的抵抗性にのみ関与しているとされている。エチレン合成や認識を欠いた *Arabidopsis thaliana* の突然変異株も分離されているし、エチレン合成を調節する酵素の遺伝子のクローニングもされている。また、転写は、アンチセンスを用いてブロックすることもできるので、これらの技術や変異株を利用して、エチレンのSAR関与は近い将来明らかにされていくであろう。

#### 主な引用文献

- 1) CHEN, Z. et al. (1995): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 4134.
- 2) DOATES S. H. et al. (1995): ibid. 92: 4095.
- 3) ENYEDI, A. J. et al. (1992): Cell 70: 879.
- 4) FARMER E. E. and C. A. RYAN (1992): Plant Cell. 4: 129.
- 5) ——— and ——— (1991): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 7713.
- 6) ——— et al. (1992): Plant Physiol. 98: 995.
- 7) GÖRLACH, J. et al. (1996): Plant Cell 8: 629.
- 8) GREELMAN R. A. and J. E. MULLET (1995): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 4114.
- 9) GREEN, T. R. and C. A. RYAN (1972): Science 175: 776.
- 10) MAUCH-MANI, B. and SLUSARENKO (1996): Plant Cell 8: 203.
- 11) MCGURL B. et al. (1992): Science 255: 1570.
- 12) PEARCE, G. et al. (1991): ibid. 253: 895.
- 13) RYALS, J. et al. (1994): Plant Physiol. 104: 1109.
- 14) RYALS, J. et al. (1995): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 4202.
- 15) UKNES, S. et al. (1992): Plant Cell 4: 645.

### 本 会 発 行 図 書

## 農林有害動物・昆虫名鑑

日本応用動物昆虫学会 編

本体 3,300円(税別) 送料 340円 A5版 本文 379ページ 並製

日本応用動物昆虫学会の創立30周年記念出版として刊行されたもので、害虫名の指針として広く利用されてきた、前版「農林害虫名鑑」を全面的に改訂した名鑑である。あらたに哺乳類・鳥類が加わり、収録種数も、2,450種と大幅に増補され、一層充実した内容となっている。全体の構成は前版と同様に、第1部—有害動物・昆虫分類表、第2部—作物別有害動物・昆虫名、第3部—学名・英名索引となっている。簡明、便利、かつ信頼して使える有害動物・昆虫名鑑であり、植物防疫関係者にとって必携の書である。

お申し込みは前金(現金書留・郵便振替)で直接本会までお申し込み下さい。