

理研ニュース

No. 188 February 1997

理化学研究所

2 ● 研究最前線

・農薬から究める植物と病原菌の関係

6 ● SPOT NEWS

・マルチトレーサー法で探る植物の元素吸収

7 ● TOPICS

・R1ビームファクトリー計画の模型等を出展
・国際親善新年パーティーの開催

8 ● 原酒

・播磨から



ブラストサイジンS耐性植物 (記事は3頁から)



農薬から究める植物と病原菌の関係

国連の統計によると1996年の世界人口は58.4億人で、2000年には61.6億人、2025年には83億人になることが予想される。一方、米、小麦、トウモロコシなど世界の穀類生産量は20億トン弱で、今後も生産量の大幅な増大は望めそうもない。21世紀には食糧が大幅に不足するであろうことが、ここ数年強く指摘されている。「現在でも穀物生産の三割程度が病虫害でやられています。ですから、いかにして作物を病原菌や害虫から守るかということが再びクローズアップされています」と、微生物制御研究室の山口勇主任研究員は言う。同時に農薬研究の分野では、病原菌と植物がお互いをどのようにして相手を認識し、前者はいかにして植物に侵入をはかり、後者はいかに病原菌の防御に努めるのかという、両者の相互作用の分子・遺伝子レベルでの追究という新しい領域が切り開かれつつある。そして、手法の難しさゆえに動物に比べて遅れていた植物の情報伝達系の解明が、生体防御機構の研究から進みつつある。

理研が切開いた農業用抗生物質研究

農薬といえば、1960年代に食品・環境汚染や人体への影響が社会問題となったDDT、BHCなどの印象が強く、どうも悪役のイメージを与えられているようだ。「現在では厳しい登録基準がいろいろとあり、適正に使ってれば問題は少ないのですが、それでもより安全で、環境中でより早く分解されるものが望ましい。そこで、化学合成したものより生物由来

のものの方がよいのではないか、ということが考えられます。そしてこの分野で最も研究が進んでいるのは日本であり、じつは理研はこの面で大きな貢献をしてきたんです」と山口主任研究員は生物由来の農薬、つまり微生物の生産物を利用した農業用抗生物質について話しはじめた。

フレミングによってペニシリンが発見されて以来、日本でも結核菌など人間の病原菌に対する新しい抗生物質の探求が精力的に開始された。そして1950年代半ばにブラジルでの微生物学会に出席した住木主任研究員(後の理研副理事長、故人)は、その席で聞いた「結核用のストレプトマイシンが植物の病気にも有効である」という報告に強く引かれた。

当時はイネいもち病を防ぐために水銀剤が使用されていたのだが、人体への影響が懸念されていた。そこで帰国後、住木主任研究員は「水銀剤にかわるものを微生物生産物の中に探せ」と大号令をかけたのである。そして米原弘東大教授、見里朝正主任研究員らによって世界初の農業用抗生物質ブラストサイジンSが発見され、1961年に実用化された。

ブラストサイジンSはいもち病菌のタンパク合成を阻害する。人間をはじめ動物にとっての病原体はバクテリアやウイルスが多いが、植物にとっての主な病原体は菌は菌でも糸状菌、つまりカビである。いもち病菌もカビの一種だ。

その後、1964年には鈴木三郎・磯野清主任研究員らがイネ紋枯病やナ

シの黒斑病を引き起こすカビに有効な抗生物質ポリオキシンを発見し、科研製薬が従来の有機ヒ素剤にかわるものとして67年に実用化した。その他にも日本の医薬品メーカーや食品メーカーによって、いもち病、紋枯病、うどんこ病などに効く抗生物質が開発され、殺虫剤、除草剤としての抗生物質も実用化されている。医薬用以外の抗生物質(微生物源農薬)はすべて日本で開発されたものだ。「現在は、生物のつくる物質を手本にして、さらによいものを人工的に合成しようというのが世界的潮流になっています。」

植物の病害用抗生物質を山口主任研究員たちは「微生物源植物病害制御剤」と位置づけ、直接的な応用面以外にも新しい用途を切り開こうとしている。その一つが遺伝子組み換えにおけるマーカーとしてのほたらきだ。

遺伝子組み換えの旗印

山口主任研究員たちは先の農業用抗生物質ブラストサイジンSの環境中での変化を調べているうちに、この物質を分解

実用化されている主な微生物源農薬	
微生物源農薬	主な対象病害虫など
ブラストサイジンS*	イネいもち病
カスガマイシン*	イネいもち病
ポリオキシニン*	イネ紋枯病、 果樹、野菜の糸状菌病
バリダマイシン*	イネ紋枯病など
ミルディオマイシン*	バラなどのうどんこ病
ジヒドロストレプトマイシン	果樹、野菜の細菌病
オキシテトラサイクリン	
ポリナクチン*	果樹、茶のダニ
ミルベメクチン*	果樹、茶、ナスなどのダニ
ピアラホス*	果樹園、桑畑などの下草雑草
ジベレリン*	ブドウの単為結果促進など
*日本で開発された微生物源農薬	

するカビとバクテリアをみつけた。

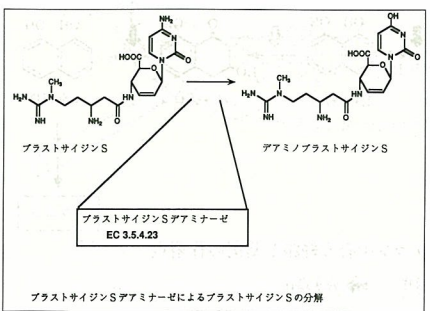
カビのほうはコウジ菌の仲間であり、バクテリアは枯草菌の一種だ。両者ともプラストサイジンSのかなり強力なタンパク合成阻害作用を瞬間に失わせてしまう。両者を調べていくうちに不活化する新規な酵素が見つかった。

カビ由来の不活化酵素はプラストサイジンSデアミナーゼ (BSD)、バクテリア由来のものはBSRと命名された。両酵素ともプラストサイジンSに含まれる核酸塩基のシトシンをウラシルに換えてしまう。

さて、これらの酵素のアミノ酸や遺伝子レベルでの研究は後で触れることにし、まず山口主任研究員たちが開発したその応用法を紹介しよう。

遺伝子組み換えでは、遺伝子が細胞に入って、きちんと目的とする物質をつくっているかどうかを効率よく見極める必要がある。1万個の細胞に遺伝子の導入をはかり、そのうち100個に入って発現した場合、いかに早く、簡便に、確実にその100個を選別できるかが、実験の効率を左右することがある。

そこで山口主任研究員たちは、BSDやBSRの遺伝子を遺伝子組み換えの目印(マーカー)に使うことを考えた。つまり導入したい遺伝子にBSDやBSRの遺伝子を繋いで細胞に入れるのである。導入後、プラストサイジンSの入った



シトシン核デアミナーゼ酵素ファミリーに見られるアミノ酸保存配列			
[II] シチジンデアミナーゼ			
<i>Escherichia coli</i>	98 - 108	QQTVRAEQSAI	124 - 137
<i>Bacillus subtilis</i>	49 - 59	SMCNCAERTAL	81 - 94
Human	60 - 70	PLGICAEERTAI	93 - 106
[III] デオキシシチジル酸デアミナーゼ			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	229 - 239	CLCLRAENAL	255 - 268
T4 phage	100 - 110	KNEIRAEINAI	127 - 140
Human	80 - 90	PYVCRAEINAI	105 - 118
[III] プラストサイジンSデアミナーゼ			
<i>Aspergillus terreus</i>	50 - 60	TGGPCAELWVL	83 - 96
<i>Bacillus cereus</i>	55 - 65	RVTVCAEAIAT	95 - 108
[IV] アポリポタンパク質B mRNA エディンゲンデアミナーゼ			
Rat	57 - 67	NTNKAEVNFPI	88 - 101
Human	57 - 67	NTNKADEVNFPI	88 - 101
[V] 機能未知のタンパク			
"ORF17" <i>Bacillus subtilis</i>	49 - 59	RSIARAEMLVI	78 - 91
"ORF178" <i>Escherichia coli</i>	64 - 74	DPTARAEIMAL	93 - 106
"ORF2" <i>Bacillus subtilis</i>	66 - 76	ARTIRAEINAI	93 - 106
"16.6 kD" <i>Vivrio fischeri</i>	63 - 73	LKTLRAEENAI	87 - 100

シャーレにそれらの細胞に播くとBSDやBSRの遺伝子が発現された細胞では、プラストサイジンSの毒作用は失われ、その細胞は生き残る。反対にBSDやBSRの遺伝子がきちんと入らなかった、あるいは入ってもうまく発現しなかった細胞は、タンパク合成を阻害されて死んでしまう。「いわば、BSDやBSRは観光ガイドさんの旗のようなもので、旗があればその後には観光客がいるだろうと……。」

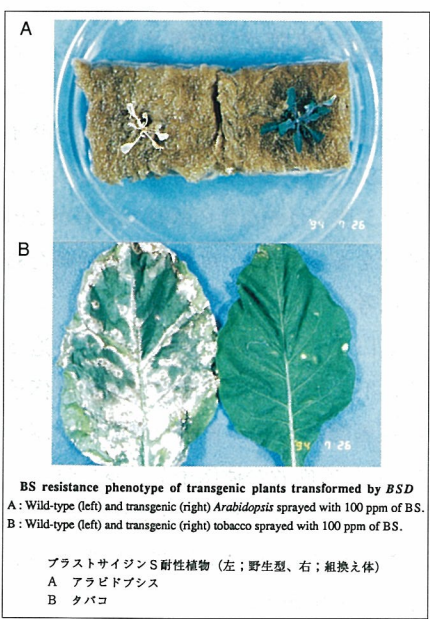
山口主任研究員たちが、BSDやBSRを動物細胞、バクテリア、カビなどに導入してみたところ、従来のマーカーに優るとも劣らない成果を上げた。さらに都合のよいことに、発現したBSDやBSRの活性の強さは簡単に測ることができる。それはBSDやBSRはプラストサイジンSのシトシンをウラシルに換えるので紫外線の吸収が著しく変化し、その変化の勾配から活性の強さが導かれるからである。「試用して頂いた研究者からは予想以上に好評を得ていますが、さらに工夫すればより多くの方に興味を持って頂けると考えています。」

薬剤と不活化酵素との組合せ

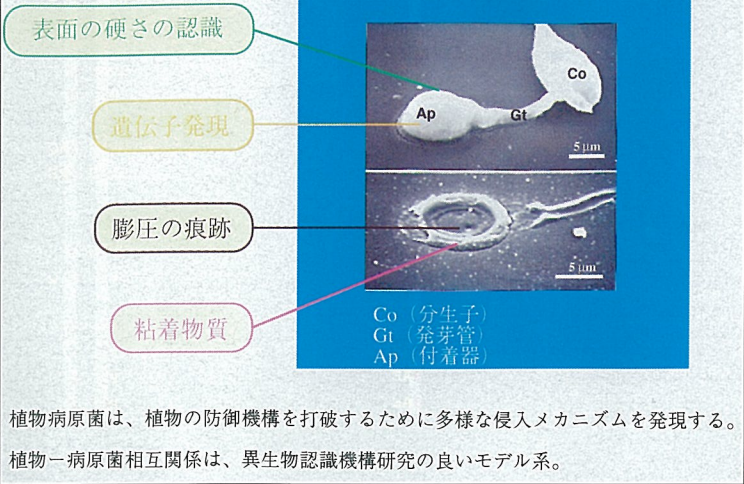
その他の応用法としては、BSDやBSRとプラストサイジンSをセットとして用いることが考えられている。プラストサ

イジンSは、いもち病菌だけでなくいろいろな細胞のタンパク合成を阻害する。しかし、その作用が強いために、イネのように表面が非常に硬く強いものはともかく、タバコなどの植物には薬害を生じる。また動物の目に入ると炎症を引き起こすこともある。

そこで、植物の中にプラストサイジンSを不活化するBSDやBSRの遺伝子を導入し、植物体にはプラストサイジンSの働きが及ばないようにした上で、農薬としてプラストサイジンSを散布するということが考えられる。「解毒剤をあらかじめ植物に飲ませておくといったところですね。実験でも上手くいきました。」



イネいもち病菌の付着器形成



植物病原菌は、植物の防御機構を打破するために多様な侵入メカニズムを発現する。植物-病原菌相互関係は、異生物認識機構研究の良いモデル系。

これは、原核生物（細胞に核をもたない）であるバクテリアと真核生物（核をもつ）

とも考えられます。一般的な酵素との相関を追究していけば、進化という面でも面白い展開になるのではないかと期待しているところです」

シチジンデアミナーゼのほうは数年前にX線構造解析の結果が出されており、BSDもX線構造解析を行なえるという段階にまできている。

病原菌侵入の仕組み

さて、山口主任研究員たちの仕事を紹介してきたが、それらの研究の基盤には、「病原菌はどのようにして植物に感染するのか。いかにして植物側はそれを防ぐことができるのか」という相互作用の問題がある。

この点を明らかにした一例に、いもち病菌の侵入を阻害する薬剤の作用機構の解明がある。

いもち病菌の胞子は梅雨時の夜中に風によって運ばれてきてイネに付着する。明け方に温度が下がりイネの表面に水滴ができると、その中でいもち病菌は発芽をはじめます。

BSDやBSRの遺伝子を導入したタバコやシロイヌナズナに、ブラストサイジンSをスプレーしたところ、通常は数日で枯れてしまうのにもかかわらず、形質変換した植物ではまったく変化が見られなかった。こういった応用法は、ブラストサイジンSの適用範囲を広げるだけでなく、植物の薬剤残留性をゼロにするという面もある。米国の大手化学・農薬メーカーでは、除草剤とその耐性遺伝子を導入した作物種子とをセットにしたものをすでに販売している。「この除草剤は生物起源ではなく化学合成によるものですが、いずれにしろ種子とのセットでの応用開発は今後かなり大きなシェアを占めるでしょうね。」

不活化酵素の起源を追う

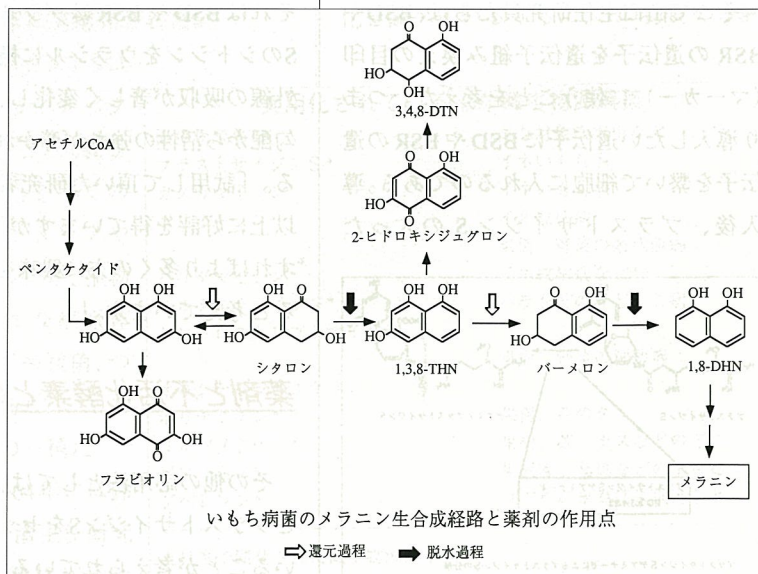
なぜカビやバクテリアがブラストサイジンSの不活化酵素をもっているのか？コウジ菌ではかなりの種類のもがこの酵素をもっており、単に薬剤耐性のためとは考えにくい。

山口主任研究員たちはその謎を追って、不活化酵素のBSDやBSRの遺伝子の塩基配列とそのアミノ酸配列を調べた。そして両者が遺伝子レベルではほとんど似ていないにもかかわらず、アミノ酸レベルでは27%程度の類似性があることを確かめた。

のカビとでは、アミノ酸をコードするコドン（遺伝暗号）の使用頻度に違いがあるためだ。例えば、イソロイシンというアミノ酸をコードするコドンにはAAU、AUC、AUA(Aはアデニン、Uはウラシル)の三種あるが、ブラストサイジンSデアミナーゼの場合、カビに比べてバクテリアではAAUの使用頻度が極端に高いのである。

アミノ酸レベルでの配列は、両者とも不活化に重要な部位ではことに似ていた。そしてこの配列がシチジンを代謝するシチジンデアミナーゼなどのシトシン/シチジンヌクレオチドファミリーに共通した重要な部位とも似ていることが明らかになった。シチジンは核酸の構成要素であり、生体内には普通に存在し、そのデアミ

ナーゼも普遍的なものである。「BSDやBSRといった不活化酵素は、もともと一般的な酵素から薬剤耐性に合うように進化してきたもの



いもち病菌のメラニン合成経路と薬剤の作用点



山口主任研究員

発芽管は、イネのように表面が非常に硬く、ワックスで覆われたものであるとき、その先端が分化して別の細胞にかわる。これを付着器というが、感染に必須の器官細胞で、細胞壁と細胞膜の間に特徴的な黒色のメラニン層を形成するとともに、粘着物質を分泌してイネにしっかりとくっつく。

付着器は外から水を吸収し、その細胞内に生成する高い膨圧によって葉に0.1ミクロン程度の細い孔を開け、ここから菌はイネの中に侵入していく。イネ表面のクチクラを分解する酵素なども出すが、侵入のメインは膨圧という物理的な力であると考えられている。

付着器の構造を支え、ハイヒールで踏みつける以上の圧力（約8メガパスカル）の発生を可能にしているのは、上に述べた付着器の細胞壁と細胞膜の間に蓄積したメラニンである。このメラニンの合成阻害剤を農薬としたものがいくつかあり、山口主任研究員たちがその作用機

構を調べたところ、メラニンは還元脱水の繰り返しで生成されるが、従来の阻害剤（トリシクラゾール、ピロキユロン、フサライドなど）は還元反応を阻害していることがわかった。

最近、ドイツの大手薬品メーカーが脱水反応を阻害する新薬を開発し、山口主任研究員たちは同社と共同でこの脱水阻害を引き起こす酵素の詳細な研究にも着手している。すでに酵素遺伝子の大量発現に成功し、酵素のX線結晶解析を始めたところだ。「メラニン阻害剤のような農薬は菌を殺すのではなく、その感染力を失わせるものです。非殺菌性植物病害制御剤といいますが、今後の一つの大きな流れとなるでしょうね。」

非殺菌性剤は対象となる菌のある作用に対してだけ働き、他の生物を含め環境への影響が非常に小さいと考えられる。冒頭で紹介した農業用抗生物質の場合も、その作用が菌の生存に重大な影響を及ぼす場合は耐性菌の出現という問題が生じたことがある。一方、カビの正常な伸長を乱すだけで殺菌的でない抗生物質バリダマイシンの場合、25年余り使用されているにもかかわらず耐性菌は出ていない。『生かさず殺さず』というのが新農薬開発の極意になるのかもしれない。」

植物の生体防御反応とは？

最後に山口主任研究員が現在最も興味を持っているテーマについて触れよう。

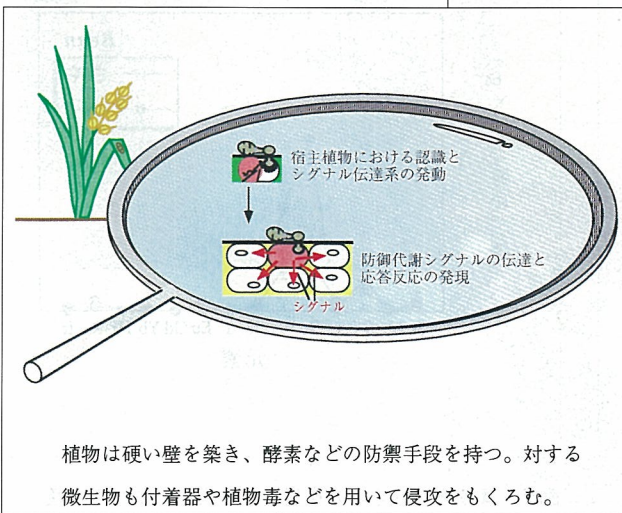
菌は植物への侵入に

さまざまな手段を講じているが、進化的に植物のほうもこれに対抗するシステムをもっている。

ひとつは植物の体がクチクラなどで覆われて硬いということであり、また、植物の体内に、菌にとっては毒となる物質をもっているものも多い。

さらに、菌が侵入した時に起こる動的抵抗性という主要な防衛システムもある。それは、病原菌などが感染しようとした時に、初めて発動する生体防御系で、植物の細胞壁がリグニン化してより硬くなったり、低分子の抗菌性物質（ファイトアレキシン）や菌の構成物質を分解する酵素などが生産される。また、スーパーオキシドなどを発生して、感染した細胞に「死ね」という指令を出して、侵入した菌をそこに封じ込めたりする。「このような生体防御反応を引き起こす一連の情報の流れを、菌と出会う最初の段階から突き止めたいというのが今の夢です。植物は動物と比べて分子・遺伝子レベルでの研究手法が難しく、なかなか情報分野に手がつけられなかった。それがバイオテクノロジーの発展で、現在では可能になってきています。さらに植物と微生物の相互作用によって環境浄化研究へとつながる可能性もあって、研究者としていい時代に居合わせているのかもしれない。」

文責：広報室
監修：微生物制御研究室
主任研究員 山口 勇
取材・構成：由利伸子



マルチトレーサー法で探る植物の元素吸収

理研リングサイクロトロンを使って高エネルギーの重イオンで金属箔を照射すると、核反応により多くの元素のラジオアイソトープが同時に生成します。これを利用し、いろいろな実験で多種類の元素の挙動を同時に追跡するのがマルチトレーサー法です。マルチトレーサーを用いる利点の一つは、多くの元素の挙動が同時に分かり、したがって完全に同一条件のもとにデータが得られることです。植物による微量元素の吸収・移行・分布の研究は植物生理学や栄養学としても大事な分野ですが、さらに環境科学の観点からも重要です。人間の生産活動にと

もない種々の重金属による環境汚染が問題になっています。悪いことにこれら人為的に環境に放出された元素は、もともとから土壌に存在しているものに比べ植物に吸収されやすいとも言われています。そこで植物が根や葉を通してどのような元素を吸収・蓄積するかを、我々の開発したマルチトレーサー法を用いて研究を行っております。金ターゲットから得られたマルチトレーサーにはベリリウムからイリジウムまでの約30元素のトレーサーが含まれています。大豆をマルチトレーサーを含む土壌で栽培すると、可食部である種子にはマン

ガン、亜鉛、セレン、ルビジウム、ストロンチウムが見いだされました。また葉からの元素吸収を調べるために、図1に示すようにマルチトレーサーを吸着させたセルロース粉の中で大豆を種子ができるまで育成し、種子に取り込まれた元素を調べました。種子にはコバルト、セレン、ルビジウム、ストロンチウム、レニウムの蓄積が観測されました(図2)。根から吸収されやすい元素は葉からも吸収されやすく、吸収後これらは葉から種子に移行することが分かりました。葉においても根と同様な選択吸収能が備わっていることを示しています。セレン、ルビジウムは根や葉から吸収され速やかに植物体内を移行することが特徴的です。最近、植物の微量元素の吸収に対する酸性雨の影響についての研究を開始しました。詳しいことは省きますが、必須元素マグネシウム、カルシウムの吸収が阻害されることおよび放射性元素テクネチウムの吸収が変化することなど興味深い結果が得られております。

無機化学物理研究室
 前任研究員 安部静子

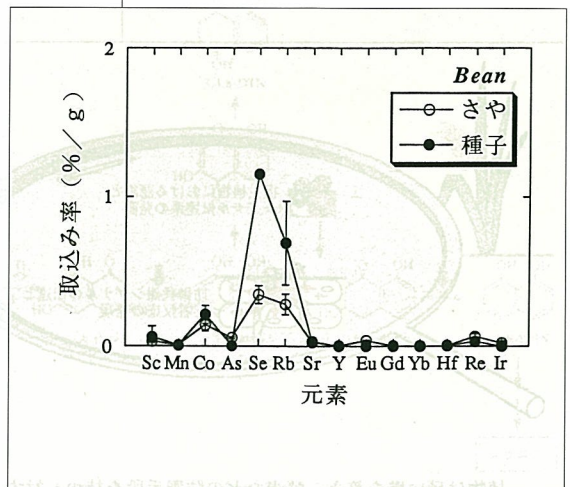
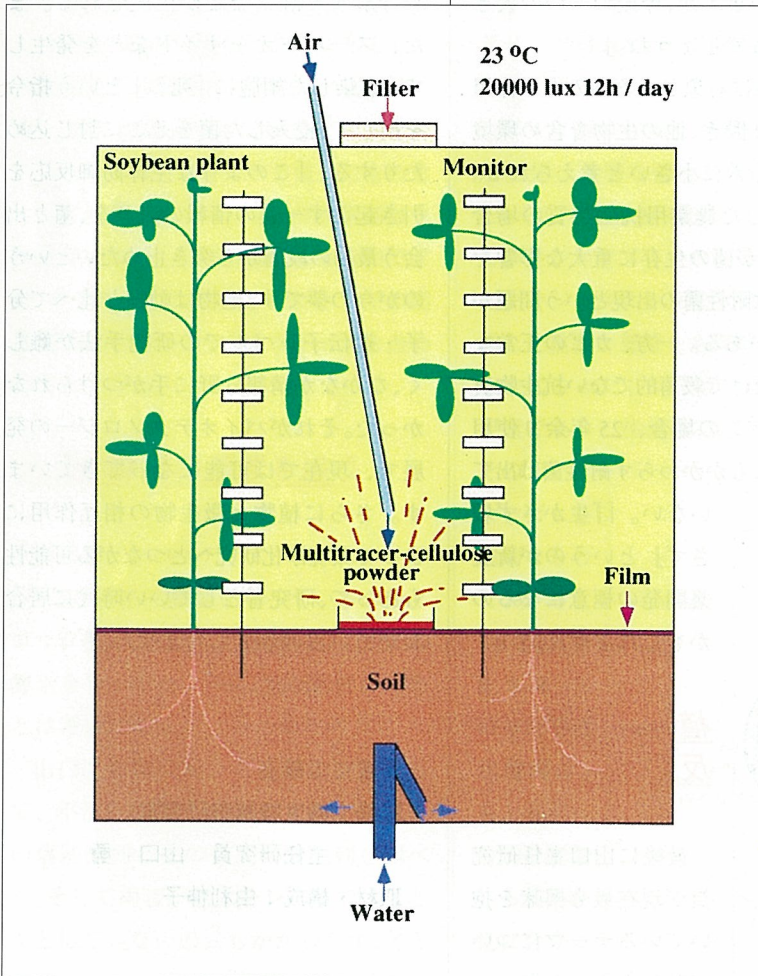


図1 大豆の葉からの微量元素吸収実験

図2 葉から吸収された微量元素の大豆種子への蓄積

R I ビームファクトリー計画の模型等を出展

日本アイソトープ・放射線総合会議が、横浜市のパシフィコ横浜において、12月17日～19日の3日間にわたり開催されました。今回は「アイソトープ・放射線の高度利用に向けた新たな展開—躍進する加速器利用と将来—」を基調テーマに、様々な講演が行われました。理研からは、「大型加速器計画とビーム利用」のセッションに上坪理事と矢野主任研究員（サイクロトロン研究室）が座長や講師を、また、「環境中における元素、物

質の動きを探る」のセッションに安部主任研究員（無機化学物理研究室）が講師を務めました。また、本会議に併催された展示会に、主催者の要請に応じて当研究所も初めて参加し、R I ビームファクトリー計画の模型や理研リングサイクロトロン関係のパネルなどを展示して、理研における加速器科学研究の一端を紹介しました。参加者は約800人に及び、展示場で説明にあたった当所の研究者と熱心な質疑応答がなされました。



国際親善新年パーティーの開催

国際交流を積極的に推進している当研究所は、平成9年1月1日現在、34カ国・228名におよぶ外国からの研究者を受け入れており、その家族を合わせると常時約400名の外国の人々が滞在しています。

これらの人々が相互の交流をはかり、同時に理研の職員等をはじめ、日頃お世話になっている学校や病院の先生、市役所の方々などと親睦を深めるために、国

際親善新年パーティーを開催しています。

本年の新年パーティーは、1月17日（金）に和光本所で、午後6時から理事長の挨拶とともに始まりました。田中市長にもご参加頂いた外国人研究者による鏡割や各国の美しい民族衣装で会場も華やき、理研茶道部の協力によるお茶会は日本の伝統文化に触れる良い機会となりました。

アイスクリームコーナーに何度も並ぶ子供たちの流暢な日本語に感心したり、あつという間にカラになった酒樽に驚いたり、普段は聞く機会の少ない各国の様子に耳を傾けたりと、言葉や国の垣根を越え、時間が経つのも忘れるほどの談笑が続きました。

参加人数も419名とこれまでの最高人数となり、国際親善の輪の一層の広がりが感じられました。





播磨から

大型放射光施設 SPring-8、そして播磨研究所が建設されている播磨科学公園都市は、兵庫県赤穂郡上郡町、揖保郡新宮町、佐用郡三日月町の三町に跨り展開している。SPring-8はこの「新都市」の中核施設であるが、他に兵庫県立姫路工業大学理学部を始めとする県立施設が点在し、また民間企業の研究施設も完成しているもの、建設中のものを合わせ幾つか存在する。

SPring-8の敷地内に三町の境界があり記念碑が立てられている。これは同時に三郡の境界でもあり、数年前までは間違いなく「山間僻地」であったことの証しであろう。和光からは、東京駅に出て新幹線に乗って姫路の次の相生で下車し（この間約4時間）、そこから車で20km（約20分）走るとSPring-8に到着する。瀬戸内海に面して温暖な気候であり、また旧くから天然の良港として知られた相生から北に向けて車を走らすと、10分程で相生市北端の三濃山にさしかかる。ここの標高は海拔約300mであり、耳の気圧計が十分に動作しはじめる高度となっている。長さ700mのトンネルを抜けると、そこが播磨科学公園都市である。播磨在住者の中には、瀬戸内海側（山陽）と日本海側（山陰）を隔てているのは三濃山であると真剣に信じている者もあり、今ごろの時期に運が良ければ川端康成のかの「雪国」冒頭の感動を追体験することもできる。

SPring-8本体も本年10月の一般供用開始を控えて急速な整備が進められている。この放射光施設は、ヨーロッパ連合(ESRF)、アメリカ(APS)に次ぐ世界で3台目の「第三世代X線放射光施設」であるが、光源加速器となる蓄積リングのエネルギーが8GeVと最大であること、長い挿入光源装置を設置可能な長直線部を備えていること、光源から1000m離れた場所まで放射光ビームを引き出すビームライン用地が確保されていること等、ハードウェア完成時に確実に「世界最高」を称せる要件を備えている。

放射光実験施設としてのSPring-8の建設は、ご存じのように理化学研究所と日本原子力研究所が「共同チーム」を作って進めてきた。加速器建設では両者の間に入射系（線型加速器・ブースターシンクロトロン）を原研が、光源蓄積リングを理研が建設するというかなり明白な区分が存在したが、北村主任と私が担当している挿入光源以下の放射光ビームライン建設では実際上両研究所の担当境界線を引くことは現実的ではなく、かなりの部分で一体となった運営がなされている。

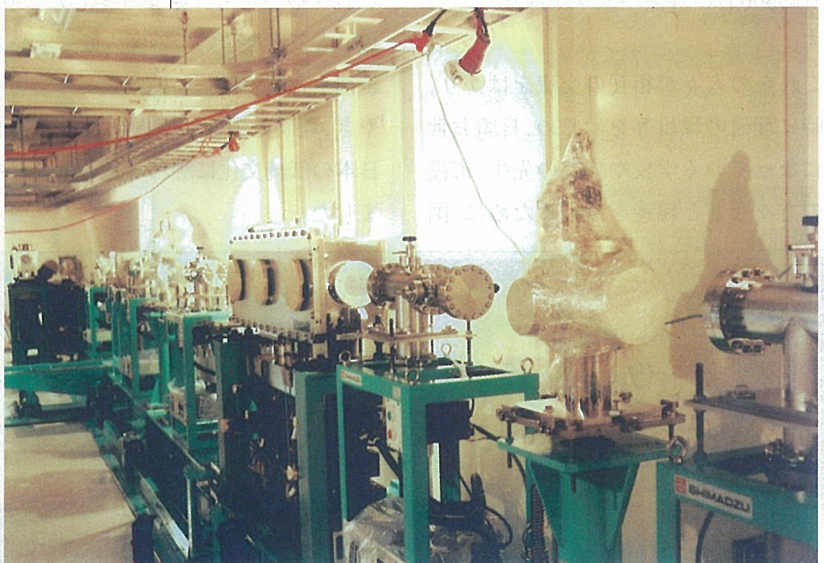


筆者近影

一方で、ビームライン・実験装置を含む「利用系」は、その背後に全国規模の産・官・学の研究者からなる「共同利用者」が控えており、様々な異なる文化・論理が混合し、融合していく場となっている。最終的には「共同利用施設」として生きていくべきSPring-8では、利用系の論理が全体の論理として敷衍していくことは不可避であり、その時に「播磨の文化」が誕生するような気がしているが、世界一のハードウェアに対応する世界一の利用ソフトウェアを整備していくことが我々の課題であろう。

現在、第I期建設の最終段階に入ったSPring-8では、特に蓄積リング棟実験ホール内の「景色」は一週間単位で変化していく。ここでは、昨年12月に撮影した建設途上の放射光ビームラインの写真を紹介するが、今では全てが接続され動作試験が始まろうとしている。「播磨」には、新しい「皮袋」ができあがりつつあるのだが、そこに入れられる内容物はまだ「原酒」以前の「もろみ」の状態であり、これから時間をかけて醗酵させる必要があろう。熟成した「古酒」を詰め込みたくなる誘惑に負けないようにと自戒するこの頃である。

マイクロ波物理研究室
主任研究員 石川哲也



建設中の放射光ビームライン

理研ニュース No.188 February 1997

発行日：平成9年2月15日

編集発行：理化学研究所総務部広報室

〒351-01 埼玉県和光市広沢2番1号

電話 (048) 467-9272 (ダイヤルイン) Fax (048) 462-4715

制作協力：株式会社 スリーアイ パブリケーション