



宿主特異的毒素

— 生物-化学の国際協力研究 —

はじめに

植物と微生物の間には、数多くの相互作用が観察されている。その中で最も人間生活に関係の深い現象が栽培植物の病気である。植物が病原菌の感染を受けると種々の形で健全な生育が阻害され、結果的に大きな減収につながる。これらの病原菌に関する研究は古くからなされており、その中でも代表的な研究がジベレリン（稲馬鹿苗病菌より単離された植物の生長に関与する物質；後に植物ホルモンであることが分かった。）などにみられる病徴発現物質の解明であった。しかし近年になって、植物と病原菌の相互作用のなかで最も重要な問題点の一つとして、“なぜ、特定の病原菌が特定の植物にのみ病気を起こすのか？”という問題が注目されるようになってきた。つまり植物は、それぞれある特定の病原菌におかされるが、むしろその現象は、無数にある

病原菌ということを考慮すれば、非常に特異的な現象ということになる。このような特異的現象がほとんどあらゆる栽培植物において観察されている。これらをさらに細分化すると、栽培植物の品種間においても、抵抗性と病性という区別がなされている。この品種間における差を病原菌の代謝毒素で説明できる場合が、現在梨の黒斑病菌などを含めて14種類の糸状菌について認められている。これらの毒素を宿主特異的毒素（Host-specific toxin）とよんで、従来の病徴発現物質である他の代謝毒素と区別している。



ごま葉枯病（トウモロコシ）

宿主特異的毒素とは

宿主特異的毒素は、以下のように考えられている。

- i) 毒素生産量の多少によって、病原菌の病原力の強弱が説明できる。

- ii) 植物の病原菌に対する抵抗性（または、り病性）の強弱の差は、毒素に対する抵抗性（または、り病性）の強弱の差で説明できる。
- iii) 病原菌の感染によって宿主にみられる生化学的変化は、毒素処理によって再現できる。
- iv) このような毒素は、非常に高い生理活性をもち、宿主以外の植物、微生物、動物などには、ほとんど作用しない。

このような宿主特異的毒素を生産する病原菌の出現は、栽培植物の品種と深い関係がある。つまり、育種によってある病原菌に強い抵抗性をもつ品種が選別され、それが広範囲に栽培されたとき、旧品種に対して病原性をもたずに土中で腐生生活を送っていた微生物が、突然活物寄生を行うようになって、新しい病気がまん延することがある。それは、この微生物が新品種に対して特異的に作用する毒素を生産する能力をもっていたためである。このようなことから、別名“人間のつくった病気”といわれている。現在までに発見されている宿主特異的毒素生産菌は、主としてアルタナリア属とヘルミントスポリウム属にみられ、これらの中で、リンゴの斑点落葉病菌が生産するAM-毒素、トウモロコシのごま葉枯病菌の生産するHMT-毒素、サトウキビの眼点病菌の生産するHS-毒素について化学構造が報告されている。

宿主特異的毒素HMT-毒素との出会い とこれまでの研究

トウモロコシのごま葉枯病は、1970年から1971年にかけてアメリカの中南部で大流行し、大きな被害をもたらした。トウモロコシは、飼料作物としてアメリカでは一番重要な位置を占めていることから、その病害による減収は大問題であった。その原因がヘルミントスポリウム・メイデス・レースTによって生産される毒素（HMT-毒素）によることが分かり、アメリカで精力的に研究が進められていた。

我々の研究室は植物自体の内生ホルモンの検索を目指して研究を進める一方、ジベレリンの研究にみられるように、植物に影響を与える病原菌の

代謝産物から植物自体の生理を追求する道をも模索していた。

1975年から、たまたまHMT-毒素に関する研究をネブラスカ大学（米国）のディリー教授のもとで行うことになった。当時、ディリー教授らは、HMT-毒素の生産量は光の存在下で培養することにより10倍量近く増加すること、また暗期における炭酸ガスの固定量を調べることによって毒素の定量が可能なこと、また生理作用として、毒素の作用が光によって著しく促進されることなどを明らかにしていた。ディリー教授の研究室に到着後、早速HMT-毒素の培養から始めることになった。しかし培養を始めた直後に、菌の毒素生産能が $\frac{1}{10}$ 以下に落ちてしまうという問題にぶつかった。この問題は、結局毒素生産能の高い菌の新鮮な孢子を使用することによって、最終的に解決された。特に重要な点は、常にトウモロコシの葉に菌を感染させ、葉にできた病斑を分離し、その病斑から孢子を形成させて用いるという方法であった。このように毒素生産量の不安定な現象はよくみられることであるが、結局半年以上は生産能の低い菌からの抽出、精製という仕事に追われた。常法により、カラムクロマトグラフィーを用いて分離を進めていったが、活性はあがらず、粗毒素の量だけが減少してしまうというやっかいな問題にぶつかった。この常法による精製が通用しなかったことは、毒素が不安定であったためであることがあとで明らかになった。この精製法を続けて一年近く経過したとき、偶然非常に生産能の高い菌株に出合っ、比較的簡単な方法で粗毒素を得る方法が見つかった。しかしこの粗毒素が曲者であった。シリカゲルのカラムクロマトグラフィーで精製しようとして、クロロフォルムに溶解したところ、大部分が変化してしまっ、元にもどらない。しかも変化は連続的で最終生成物は、いかなる溶媒にも不溶で、化学的に検討を加える余地がないという代物であった。結局、メタノール再沈澱法、アセチル誘導体にしての分離という方法で検討を加えた結果、毒素はポリケト・ポリアルコールであることが予測された。しかし生産菌の

問題は一年以上経過したにもかかわらず、依然として安定した粗毒素の供給ができないままであった。そこで帰国後は、当植物化学研究室とネブラスカ大学の国際共同研究の形で研究を継続することになり、1977年当初から毒素の精製と構造解析の研究を再開した。1978年4月までは十分な量の粗毒素が手に入らず、あまり進展はみられなかった。その後、生産菌の問題が解決され、100 mg単位で粗毒素が入手できるようになった。それと同時に微量の毒素を還元して毒素の骨格である炭化水素に導くことに成功し、粗毒素の構成成分の全容が明らかになった。粗毒素の構成成分の骨格は、炭素数35から49までの直鎖の炭化水素であった(図1)。このことから、毒素は直鎖の炭化水素に水

酸基、カルボニル基が結合したものであることが容易に推定された。また、各毒素を誘導体にしないうで、シリカゲルの薄層クロマトグラフィーによって単離する方法も確立された。それ以後、シリルエーテル化物の高分解能質量分析により、各成分の分子量を決定すると同時に、核磁気共鳴法を用いた水素原子、炭素原子の分析、分解反応などによって、1979年に推定構造式を提出することができた。その後還元反応で生成する副生成物を分析することにより、図2のような化学構造を明らかにすることができた。以上の成果は、植物病理学を追求する研究室と天然生理活性物質の解明を追求する研究室が国際的に協力し合って得られたものである。また、HMT-毒素はAM-毒素と

ともに世界に先駆けて構造が明らかにされた宿主特異的毒素である。

なお、次いで当研究室の鈴木研究員が渡米し、ディリー教授のもとで合成的研究を行い、これまでに数種のHMT-毒素類縁化合物の合成に成功している。この合成的研究により、HMT-毒素の炭素1から10までの部分構造が確認され、さらに炭素6と炭素8の水酸基はシスの関係にあることが明らかになった。また、数種類の生理活性を有する化合物の合成にも成功しており、その成果の発表が期待される。

現在、当研究室では国際共同研究の一環として、他の類縁体毒素の単離、構造解析を進める一方、合成的手法を用いて生理活性と構造の関係を解明

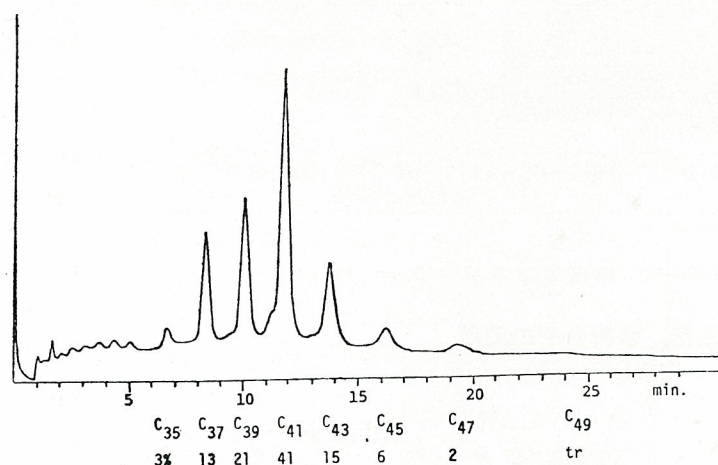


図1 HMT-毒素の炭素骨格(直鎖 $C_{35}H_{72}$ から $C_{49}H_{100}$)のガスクロマトグラフィーによる分析(0V-1カラム, $250^{\circ}\rightarrow 300^{\circ}\text{C}$, 昇温 $5^{\circ}\text{C}/\text{分}$)

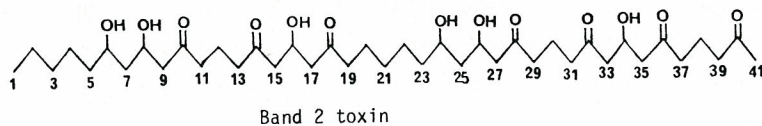
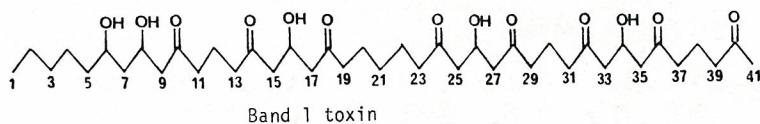


図2 HMT-毒素の構造

することを目標として研究を進めている。

宿主特異的毒素研究の意義

宿主特異的毒素の単離は、育種学的見地からみると非常に重要な意義をもっている。例えば、単離した毒素を幼苗に作用させるだけで、容易にこの病原菌に対して抵抗性品種か、感受性品種かを判別できることになり、これまでできなかったべく大なスクリーニングを容易に処理することが可能になることである。

また、宿主特異的毒素の化学構造、特異的な作

用機作、病原菌の感染機構などを解明することは、植物生理、病理、育種などの研究面からも興味ある問題であると同時に、新しい型の除草剤開発のためにも主要な情報を提供するものとして期待される。さらに、雑草に感染する宿主特異的毒素生産菌が発見されれば、最も選択性の高い安全な除草剤に結びつく応用面での可能性も夢ではないと考えている。

植物化学研究室

研究員 河野 芳樹

「太陽エネルギー変換」シンポジウム

☒ 光触媒による水素ガス発生

と き 1月20日(火) 13:00～17:00

ところ 理化学研究所レーザー棟会議室

参加費無料

(問い合わせ先：0484-62-1111内線2305 開発調査室まで)

理研シンポジウム

☒ 粒子形状の測定、解析とその応用

と き 1月28日(水) 10:30～17:00

ところ 理化学研究所レーザー棟会議室

参加費：共催学会々員 ¥3,000.-，会員外 ¥4,000.-

(問い合わせ先：0484-62-1111内線3133 粉粒体工学研究室まで)

☒ 界面を通して見た表面層の探究

と き 1月30日(金) 9:50～17:20

ところ 理化学研究所第2会議室

参加費無料

(問い合わせ先：0484-62-1111内線3124 摩擦工学研究室まで)

☒ 最近の光学計測 — レーザー応用を中心として —

と き 1月30日(金) 10:00～17:00

ところ 理化学研究所レーザー棟会議室

参加費無料

(問い合わせ先：0484-62-1111内線3243 光学計測研究室まで)

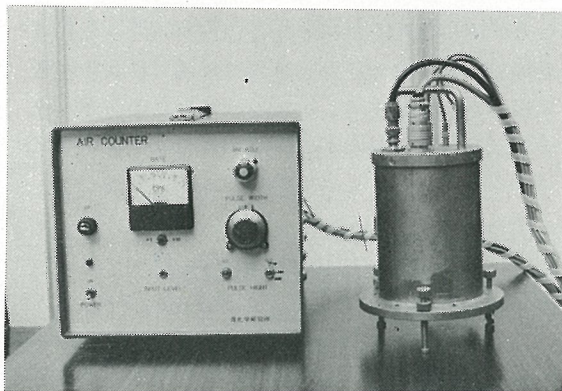
開発テーマ

空気カウンター

— ガス漏れ検知など防災への応用 —

はじめに

最近理研で新しいタイプのカウンターを開発した。正確には、空気中で働く電子カウンター（Electron Counter Operated in Air）とよぶべきであるが、便宜上表題のように空気カウンターと略記する。このカウンターには非常に広い用途が期待されるが、昨今の安全対策や、防災という時代の要請にこたえて、ガス漏れ検知器や航空機の破損予知検出器などとしての応用例を紹介する。



空気カウンターの原理

これまで、放出電子の計数には、特殊な例外を除けば電子の放出体を真空中に入れるか、アルゴンに少量の有機物を混入した、いわゆる混合ガスに入れ、電子の増倍作用と停止作用を利用してきた。しかし、多くの身近な現象は大気中で起こるため、現象の正確な把握のためには、電子の計数を大気で行う必要がある。ところが、カウンターガスとして空気を使うと、入力信号を何倍かに増幅する、いわゆる電子増倍作用こそ優れているが、何倍かになったら増倍作用を停止するという一種の自作用に欠けていた。そこでこの長所は生かし、後者の欠点を補うことを試みた。

理研で試作した空気カウンターと、その電源・計数系の外観を写真に、またカウンターの内部構造の模式図を図1に示した。図中①はループ型陽極、②は連続放電停止用グリッド、③はプリアンプ、④は陽イオン衝突防止用グリッド、⑤は試料で、固体、液体、気体の別を問わない。また、⑥はカウンターの外壁、⑦はカウンターの窓、⑧は運搬用取手、⑨は必要な時のガス導入口であり、⑩は支えの足である。

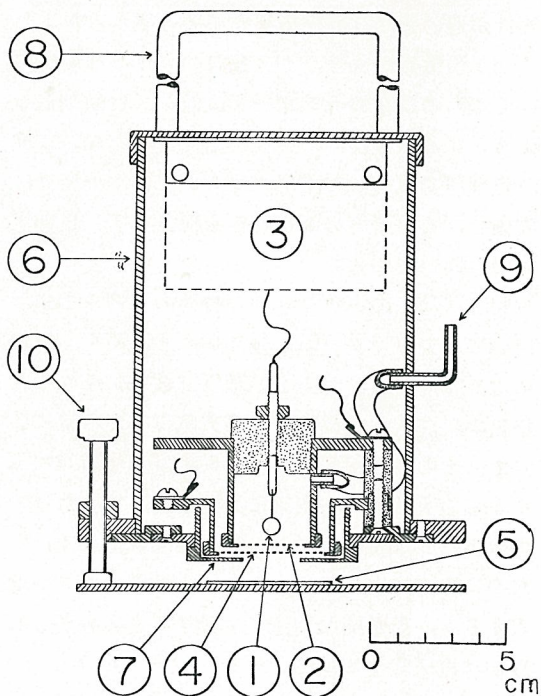


図1 空気カウンターの構造

グリッド②に、あらかじめ100Vの電圧をかけておき、試料から飛び出してきた電子が例えば小さな運動のエネルギーしか持っていないと、このカウンター中にすべての放出電子を取り込む。導入された電子が気体増倍作用により、計数に必要かつ十分な量まで増えた瞬間、②の電圧を400Vまで高め、陽極①とグリッド②との間の電位差を300Vだけ減少させ、放電を中断させる。つまり、カウンター作用を止める。この中断時間は数msecに設定する。この一連の動作の繰返しにより、放出電子の数を数える。したがって、このカウンターの応答時間は数msecのオーダーとなる。

ガス漏れの検知

……静岡地下街の災害を繰返さないために……

ガス検知器としては、センサーへのガスの吸着熱あるいは燃焼熱を電気抵抗変化に変えるタイプのもものが、現在最も多く使われている。また、コロナ放電を利用して、ガス漏れ量を検知することも可能ではある。しかし、これらの方法には、応答性が遅いとか、高圧電源を必要とするとか、いくつかの欠点があり、ガス漏れのしそうな場所に、いくつもの既存のセンサーを設置し、自動制御しようとする試みは、それ程容易とはいえない。その点理研で試作した空気カウンターは、小型で、安価で、それほどの高電圧を必要とせず、自動制御にも向いている。

図2にはこのカウンターの特性の1例を示す。横軸にはカウンターの両極に加える電圧を、縦軸には各電圧で数えた電子の数(計数率)をとると空气中に混入した都市ガス(天然ガス)の量に応じて、その特性が変化する。例えば、体積当たり0.4%の天然ガスを空気に混ぜると、空気だけの場合より、ほんのわずかの電圧増加に対して、計数率は急速に上昇する。一方、1.6%のガスを混入すると、計数開始電圧が上昇するとともに、計数率は電圧変化に鈍感となる。

カウンターに加える電圧を例えば2.95kVに固定すると、混入ガス濃度によって計数率は図3のように変化する。つまり、ガス濃度が0.2~0.7

%の間ではカウンターのメーターは振り切れてしまい、1.4%を越えると、全く計数しない。電圧を変えると、メーターが振り切れたり、計数しないガス濃度の範囲が移動する。こんな性質を利用すれば、任意のガス濃度を容易に検知でき、例えば、ガス濃度が0.5%に達すると赤ランプがつき、1%になるとブザーが鳴り、2%になった瞬間近くのガス供給弁が閉じ、2.5%を越えるとガス本管の弁が閉じるというような自動制御も可能となる。なお、天然ガスの爆発限界濃度は約5%であり、このカウンターの検出下限0.1%より充

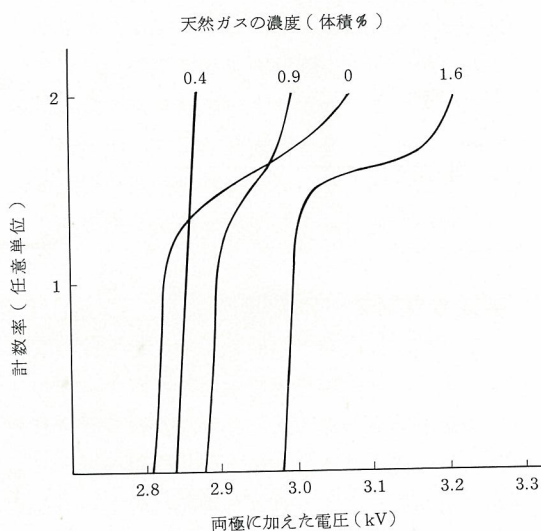


図2 天然ガスの濃度とカウンター特性との関係

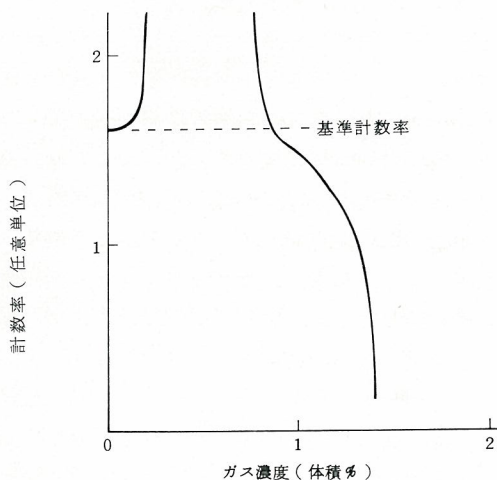


図3 カウンター電圧を2.95kVに固定した時のガス濃度と計数率の関係

分大きい。また、このカウンターは天然ガスに限らず、他の多くのガス検知器としても使える。このことは時に長所でもあるが、欠点にもなり得る。まだ調べてはいないが、サンマの煙に感じられては困る。検出ガスの選択性を調べるには工業界の協力が不可欠であろう。

航空機事故の予防

………小さな初期傷の検出………

エンジントラブルはもち論のこと、航空機の機体や翼にキレツが入ると大事故につながる。航空機の主要部分アルミニウム合金でできているから、アルミニウムに発生した小さな初期傷を、キレツにまで発達する以前に見つけることができれば、航空機事故は半減するはずである。傷の探索にはX線や超音波法など、いろいろな方法が用いられているが、ここで試作した空気カウンターもその役に立つ。

電子を金属中から真空中や大気中に引張り出すためには、伝導電子という名の、原子に最も緩く結合している電子でさえも、あるエネルギーを必要とする。このエネルギーつまり仕事量のことを仕事関数という。金属アルミニウムに対しては、可視光程度のエネルギーでも充分この仕事関数を越え、電子を外に引き出すことができる。ところが、大気中にさらされているアルミニウムやその合金は、その表面が薄い酸化物で覆われている。これがアルミニウムのさび難い原因にもなるのだが、一方では金属表面の仕事関数を大きくし、可視光程度の刺激ではもはや真空中や大気中に電子を放出しなくなる。つまり電子（光電子という）は検出できなくなる。

金属中の傷が表面に顔を出し、傷が進行すると、時々刻々表面の酸化皮膜は破れ、下地の金属が表面に露出してくる。とすれば、傷の進行中に光電子の放出を観測できるはずである。これが航空機に発生する小さな傷の検出原理である。空気カウンターを用いれば、ナイフやエメリー紙で軽く傷をつけたアルミニウム表面と、傷のない表面とを容易に区別することもできる。

その他の用途

水蒸気もガスの一種であるから、容易に検出でき、空気カウンターは湿度計としても使える。また、電場があると、電子やイオンは空気中でも加速されるから、フランクリンの検電器のように、このカウンターで静電場の強さを計ることもできる。少し変わった用途としては、気圧の変化や、ピトー管の原理にもとづく風速計としても使える。

これまで用途を応用面にだけ限ってきたが、空気カウンターは基礎科学の研究にも役立つ。動植物の大気中での電子の授受、細胞の死と電子放出とのかわり、原爆やガン治療用X線照射によるケロイド状火傷と放出電子との関係、ジャガイモのガンマ線照射による発芽組織の選択的破壊と電子構造との関係など空気カウンターで測定してみたい題材は多い。しかし、生命現象にかかわる問題には水が必ず関与してくる。そのためカウンターの壁材料の選択が難しい。その点水を含まない系には理研で試作した空気カウンターで容易に接近できる。

金属材料の表面処理、変形、塑性加工、研磨条件などの変化と放出電子との関係、塗料の密着性と鋼材表面の電子放出依存性、触媒活性と表面電子の移動度との関係など、空気カウンターを使って調べられる問題は多い。

一言で空気カウンターの特徴を述べると、“ネズミ算的に電子がカウンター中でとめどなく増え続けられないよう、カウンターの両極に加える電圧をパルス状にした”ことである。

こんな工夫で新しいカウンターができた。用途の広がるのを期待している。

固体化学研究室

研究員 宇田 応之



豪州日記

第8回世界コンピューター会議（IFIP Congress-80）にプログラム委員として出席のため豪州を訪れた。この会議は、前半が東京で10月初頭の情報週間に開催され、後半は次週にメルボルンで開催されるという、太平洋地域2か国共催であった。どの国でも初訪問の印象が最も強烈であり、今回もそうであった。また、会議の運営面では、両国の国民性の差異が感じられ面白かった。

豪州の国旗は、ユニオンジャックに南十字星をあしらったものである。その南十字星は、同国滞在中は曇っていたり、地平線に半分かくれたりしてよく見えなかった。少しもロマンチックではないが、帰路の飛行機の上からは実にはっきり見ることができた。

外国人参加者の Home Visit 希望者を数人自宅に招待するというのも面白い。日本人参加者50人中約半数は、これに参加したが、豪州人の家庭の雰囲気になれることができたことと好評であった。日本で開催される国際会議でこのようなことを大規模で行うことは、兎小屋の狭さや語学の問題などあって残念ながら困難であろう。

東京会議では、発表者に対する時間の経過を知らせる装置を設け、スライド映写係、照明係などを配置して万全をつくした。メルボルンでは、スイッチの近くに座った参加者が照明係を務める会場もあり、発表時間経過も座長がその場で紙に書いて見せたり、発表者の肩をたたいて残り時間を知らせたり、座長が各人各様のやり方をとっていた。座長がスライド係を兼ねざるを得ない会場もあり、「座長（chairman）が役立つと知ったのは、はじめてだ。」という発表者のジョークは爆笑をよんだ。このように会場の雰囲気は、所内、学内のセミナーに近いものであった。公用語が英語のみの国際会議の英語圏開催なので気軽なものであろう。

動物園のコアラベア、カモノハシ、エミューは一見の価値があり、カンガルーをなでてみたのも初めてである。動物園には、ロシア人参加者4人を同道したが、大の大人がキャット、キャットと大喜び、ただし、モスクワ動物園の象の方が立派などとも言っているらしかった。本当の牧場で、2頭の犬が数百頭の羊の群を誘導する光景、羊がおとなしく毛を刈られるところなども印象的である。

豪州人は国産ワイン党、ビール党であるらしい。特にビールは、日本の地酒のように町ごとに違った銘柄のものがあり、外販しなければビールを自家用に作ることは公認されているという。町々のタクシーの運ちゃん、ビール会社の前を通ると、このビールは豪州で一番うまいビールを作っていると自慢するが、どれが本当の一番か、飲みくらべる時間の余裕がなかったのは残念であった。

情報科学研究室

主任研究員 後藤 英一