

2F-2

培養系における植物とバクテリアの相互作用

庄野邦彦 (東大・教養・基礎科)

Agrobacterium は植物腫瘍のクラウンゴールを, また, *Rhizobium* はマメ科植物の根粒を形成する細菌であるが, どちらも *Rhizobiaceae* に属し, *V* じょうに近縁な種類である。また, *Agrobacterium* は植物細胞の天然での形質転換, *Rhizobium* は細胞内共生というちがった形ではあるが, どちらの菌も高等植物と緊密な関係を有する。われわれの研究室ではこれら *Rhizobiaceae* に属する細菌と植物細胞の相互作用について研究を進めているが, その一つの方法としてしばしば培養系を用いて相互作用を解析することと試みてきた。培養系にも無菌芽生之や各種器官, あるいは, 組織切片などを用いる系もあるが今回は細胞レベルでの相互作用について話題を提供する。この培養系を用いる場合の一つの方向は天然で知られている現象を *in vitro* で再現して, 解析しやすい系を作ろうとするものである。

A. tumefaciens の感染力を利用した *in vitro* の形質転換系である共存培養法もそのような方向の一つである。利点としては単細胞系であるので得られた形質転換細胞はクローンであると期待される。われわれはタバコ葉肉細胞を用いた共存培養法で種々の形状を示す形質転換株を分離し, 形状と T-DNA の組み込まれ方, サイトカイニン量, ノパリン合成酵素活性との間に相互関連のあることを見出した。一方, この系では感染が同時に高頻度でおきることが期待される。ニチニチソウとイネの細胞壁を再生したプロトプラストを用いて接着と感染性との間の関係を解析した。その結果, イネにクラウンゴールができるのは菌の細胞壁への接着過程にあるのではないという結論を得た。同様な手法は *Rhizobium* の感染過程の解析にも応用できるとであろう。われわれの観察では *Rhizobium* の根粒形成能と細胞壁への接着との関係は認められたが, *Rhizobium* はニチニチソウ, イネなどの非マメ科植物細胞にも接着し, 宿主特異性と接着との関連は認められなかった。

この培養系を用いるもう一つの方向は天然に見出されている系を作ることである。天然で宿主関係が知られている植物細胞に菌を導入する方法として, *Rhizobium* をすでに細胞内に含有している根粒の細胞と植物細胞の融合や, 菌体あるいは菌のスフェロプラストを植物細胞に導入する方法も試みてきた。植物のプロトプラストとしてニチニチソウやタバコを用いて *A. tumefaciens* のスフェロプラスト導入による形質転換系を確立し, その系を用いることで *A. tumefaciens* が感染できるイネの細胞でも形質転換したと考えられる株を分離できた。近年, 植物細胞への遺伝子の直接導入が可能であることが示された。このことから, ベクターの開発が進んでいる *E. coli* スフェロプラスト法を適用できれば形質転換法として意味があるだろう。

もう一つの方法は培養細胞と細菌の混合培養である。Slow growing *Rhizobium* で非共生状態で窒素固定活性の誘導がおきることがはじめて明らかにされたのは, この方法を用いて非マメ科植物細胞と *Rhizobium* の混合培養から得られた結果であった。われわれは *A. tumefaciens* と植物細胞の混合培養を行なっているが, 時間が許せばこの結果についてもふれたい。