

1Ea11

感染ニンジン培養細胞におけるキチナーゼの誘導

黒崎文也, 田代信彦, 西荒介 (富山医薬大・薬)

微生物の感染に呼応して高等植物が示す防御反応の一つにキチナーゼの誘導がある。本研究ではニンジン培養細胞を用いキチナーゼの誘導と分泌に関わる因子を検討し、また精製したキチナーゼを用いてその生理的役割について知見を得た。

キチナーゼの誘導因子としては不溶性のキチンの他、糸状菌 *Chaetomium globosum* の菌糸壁、キトサン等が強い誘導活性を示し、N-アセチルグルコサミンのペンタマーやヘキサマーは不活性であった。一方、キチンとは化学構造が大きく異なるリケナンやラミナリンが誘導能を示したことから、ニンジン細胞中のキチナーゼの誘導には一定の化学構造が厳格には要求されないことが示唆された。植物細胞に誘導されるキチナーゼの生理的意義は、その基質であるキチンが植物中には見いだせないことから不明の点が多く、侵入する外敵の分解が目的とされていた。当研究室ではこれに加えて、キチナーゼにより加水分解を受けた糸状菌菌糸壁の断片が植物細胞壁のリグニン化を促す可能性を提唱している。*C. globosum* の菌糸壁とニンジン細胞とをインキュベートした場合、キチナーゼに次いでフェニルアラニンアンモニアリアーゼの活性が上昇し、次いでフェノール類の蓄積が観察された。また精製したキチナーゼは *C. globosum* の菌糸壁を分解する活性を有し、その可溶化した分解物はニンジン細胞のフェニルプロバノイド系を活性化する作用があることが示された。これらの結果はいずれも先の仮説を支持するものであった。

ニンジン細胞内に誘導されたキチナーゼは細胞の内部にも存在するが、細胞内と同程度の活性が培地中へも放出されていた。この培地中への放出過程の時間的経過や阻害剤を用いた実験より、細胞外キチナーゼは他の分泌性高分子と同様にゴルジ体を経由して微小管の関与するプロセスによって放出されたものであり過敏細胞死によるニンジン細胞構造の破壊によるものではないことが示された。この細胞外キチナーゼは四つのアイソザイムよりなり、そのいずれもが endo 型の分解活性を示した。これらアイソザイムの混合物によって *C. globosum* の菌糸壁、あるいはキチンを部分加水分解し、生成物をゲル濾過によって分画してそれぞれのフェノール類の誘導活性を比較した。その結果、ファイトアレキシン産生の場合よりも重合度の高い分子が強い誘導活性を示すことが明かとなった。

マメ科の植物においてはエチレン処理によってキチナーゼが誘導されることが示されている。ニンジン培養細胞もエチレン存在下、キチナーゼを生成したが、菌糸壁で誘導した場合異なり、その殆どが培地中へ放出されていた。更にその四つのアイソザイムのうち二つが exo 型の酵素であったことから、エチレンと菌糸壁とは別の機構によってニンジン細胞に作用し、キチナーゼを誘導、分泌させることが示唆された。