

Coden : NSBGAM
ISSN 0031-9473
Vol. 59 No. 3
June 1993

日本植物病理学会報

*ANNALS OF THE
PHYTOPATHOLOGICAL
SOCIETY OF JAPAN*



日本植物病理学会
東京

THE PHYTOPATHOLOGICAL
SOCIETY OF JAPAN
TOKYO

(163) 田中敬子・古谷暢之・露無慎二・松山伸一*・水島昭二* 大腸菌のポーリン遺伝子とカンキツかいよう病菌の病原性遺伝子との相同性 K. TANAKA, N. FURUTANI, S. TSUYUMU, S. MATSUYAMA and S. MIZUSHIMA : Homology between Pathogenic Gene(s) of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* and Porin Genes of *E. coli* カンキツかいよう病菌の *Tn5* 挿入による病原性欠損変異株 (F1-F10) を分離したことを報告したが(Furutaniら, 1990), これらの変異株の内 F5 及び F7 変異株が数種抗生物質の内テトラサイクリン, クロラムフェニコールに対する MIC が野生型のそれに比べ2~3倍高いことが観察された。このことから, これらの変異株は物質輸送に異常をきたしている可能性が考えられたので, 親水性低分子の受動的な外膜通過を司る大腸菌のポーリン遺伝子 *ompF* 及び *ompC* のクローン化 DNA (pLF4 及び pMAN002) をプローブとして, カンキツかいよう病菌の野生型及び上記病原性欠損変異株の全 DNA についてサザンハイブリダイゼーション解析をおこなった。その結果, F5 及び F7 の場合のみ, 野生型で見られる相同性バンドがシフトしていた。以上の結果より, カンキツかいよう病菌がカンキツ植物体内で感染を成立させるためには, ポーリン様外膜タンパク質が不可欠であり, 親水性病原性関連物質を通過させているものと考えられた。(静大農・*東大応微研)

(164) J. JHONCON・S. TSUYUMU・T. SAKAI* **Determination of the Nucleotide Sequence of the Gene for Polygalacturonase of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*** Previously, we have reported a clone (pEC101) which produced two isozymes of polygalacturonase, from the library of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* strain EC1 (Miura *et al.*, 1991). A subclone, pEC401, of 5.8 kb *EcoRI* fragment of pEC101 showed about equal polygalacturonase activity comparing to the one of pEC101. Serieses of the deletions from two ends of the insert on pEC401 were constructed by digestion with *ExoIII*. The nucleotide sequences of these deletions were determined by Sanger's dideoxy chain termination method mostly by automatic sequencer (Applied Biosystems Model 370A). Ambiguous portions were rechecked manually using ³²P-dCTP. The sequence was compared with those of bacterial, fungal and plant *peh* genes and bacterial *pel*, *pme* and *pnl* genes for overall homology and for the

presence of the common domains.

(静大農・*生物研)

(165) 佐藤 守・難波成任*・且原真木・川北 弘・河部 暹・土崎常男* **PCR 法による黄萎病イネ師管液中の MLO の検出** M. SATO, S. NAMBA, M. KATSUHARA, H. KAWAKITA, S. KAWABE and T. TSUCHIZAKI : Detection of MLO in the Phloem Sap Collected from Rice Plants with Yellow Dwarf Disease Using PCR Method 黄萎病イネの師管液を吸汁中のトビイロウンカの口針をレーザーで切断することにより MLO を含む師管液を採取することが出来る (Kawabeら, 1991)。この微量な師管液中の MLO を PCR 法により検出することを試みた。師管液の 0.5~1 µl を 10~20 µl の蒸留水に懸濁し, 95°C に 5 分間処理し, それをテンプレート DNA とし, その 2.5 µl を実際の DNA 増幅に用いた。既報(難波ら, 1992)のユニバーサルプライマーセット SN910601, SN910502 を用い, MLO の 16S リボソーム RNA を増幅ターゲットとして 94, 60, 72°C の温度サイクル (50 回) で DNA を増幅させた。PCR 生成物は電気泳動により検出した。その結果, 黄萎病イネの師管液からのみ, 対照の MLO DNA と同じ 1,370 bp の DNA が検出された。これらの中には, 100 倍希釈しても検出可能なものもあった。さらに, MLO に対し特異性の高いプライマーを用いても同様な結果であった。健全師管液および師管液関連細菌のいずれにおいても増幅 DNA は全く検出されなかった。以上により生体外に取り出された黄萎病イネ師管液中の MLO の存在が PCR 法により確認された。(蚕昆研・*東大農)

(166) 難波成任・加藤昭輔*・岩波節夫*・土崎常男 **16S rRNA 遺伝子の PCR 増幅による MLO の系統学的分類と検出・診断法について** S. NAMBA, S. KATO, S. IWANAMI and T. TSUCHIZAKI : Phylogenetic Analysis, Detection and Diagnosis of MLO by PCR Amplification of 16S rRNA Genes 16S rRNA 遺伝子の特異的なプライマーを用いた PCR 増幅と, ダイレクトシーケンシングによる遺伝子解析により, 本邦産 MLO が系統学的に異なる I・II・III の各群に分類されることは既に報告した(難波ら, 1992 大会)。そこでさらにこの系統樹を分子進化学解析システム「ODEN」を用いたブートストラップ法により評価したクラスタートポロジーの信頼度を解析した。また, この遺伝子が実際に自然界において安全に保存されているかどうかを調べる目的で, タマネギ萎黄病 MLO の埼玉分離株の 16S rRNA 遺伝子を解析した結果, 既