

細胞内寄生植物病原細菌のポストゲノミクス

Postgenomics of plant pathogenic microorganisms that live intracellularly.

難波 成任 (NAMBA SHIGETOU)

東京大学・大学院 農学生命科学研究科・教授



研究の概要

細胞内寄生性植物病原細菌のモデルであるファイトプラズマを対象に、世界に先駆け行った全ゲノム解読による配列データに基づき、ポストゲノミクス解析を多方面から行った。その結果、ファイトプラズマの宿主特異性決定の分子機構を解明した。また、ファイトプラズマよりこれまで未知の病原因子を単離した。

研究分野： 農学

科研費の分科・細目： 植物病理学

キーワード： 細胞内寄生, ポストゲノム, 宿主特異性, 病原性

1. 研究開始当初の背景

細胞内寄生性の植物病原細菌は、農業生産上甚大な被害を引き起こす昆虫媒介性の細菌の一群である。なかでもファイトプラズマ属の細菌は、国内外を問わず農業上甚大な被害を与えており、培養困難であることからその病理の分子レベルでの解明は遅れていた。近年、この微生物に分子レベルのメスを入れることが可能となり、その全ゲノム解読に向けた研究が各国で活発に行われていた。これらの研究が進めば、これまで不明であった多くの知見が明らかになることが期待されていた。

2. 研究の目的

申請者らは、世界に先駆け全ゲノム解読に成功したファイトプラズマのゲノムデータに基づき、宿主特異性決定の分子機構を解明するとともに、病原性の分子機構を解明することを目的に本研究を行った。

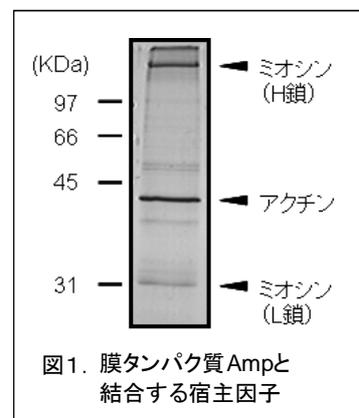
3. 研究の方法

ファイトプラズマの全ゲノム解読を進め、得られた配列情報をもとに、宿主特異性決定に関わる因子を、宿主因子との相互作用を手掛かりに探索する。また、宿主植物の病原性決定に関わるファイトプラズマの病原因子を明らかにし、その病原性発現の分子機構を解析する。

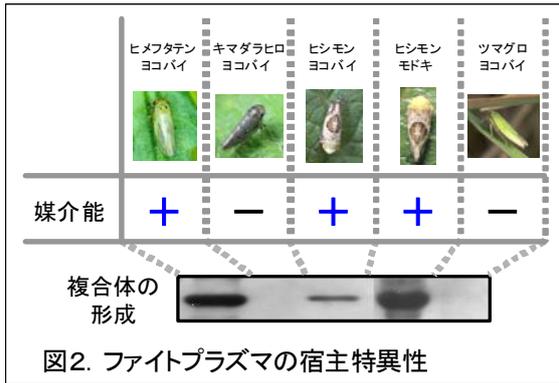
4. 研究の主な成果

ファイトプラズマは、特定のヨコバイによって媒介され、他のヨコバイによって媒介されないという宿主特異性を持つが、その特異性を決めているメカニズムはこれまで不明であった。

この特異性の分子メカニズムを解明する目的で、ファイトプラズマの主要抗原膜タンパク質 (Amp) と結合する昆虫宿主因子を単離・同定したところ、Amp は、細胞骨格であるマイクロフィラメントを構成するアクチンやミオシンと複合体を形成することが明らかとなった (図1)。さらに、ファイトプラズマ媒介能のある昆虫ではこの Amp-マイクロフィラメント複合体の形成が観察されたが、ファイトプラズマを媒介しない昆虫では複合体の形成が認められなかった (図2)。これらの結果は、Amp-マイクロフィラメント複合体の形成は、ファイトプラズマの媒介昆虫決定に大きく関与することを示している。



〔4. 研究の主な成果（続き）〕



植物病原体は植物に感染して病徴を引き起こし、農作物の収量や品質に大きな影響を及ぼすことから、その病徴発現メカニズムの解明は農学における最重要テーマの一つである。しかし、ファイトプラズマなどが引き起こす萎縮・叢生・黄化などの病徴に関しては、その病原性因子や病徴発現メカニズムも不明であった。

今回、ファイトプラズマが持つ分泌タンパク質に注目し、植物体において発現を行ったところ、ファイトプラズマに特徴的な病徴を引き起こす全く新規の誘導因子を見出した。また、ファイトプラズマ感染植物組織における病原性因子の動態を調べたところ、植物の茎頂分裂組織（成長点）や側芽の分枝領域の細胞にまで移行していることが分かった。ファイトプラズマは篩部局在性であることから、この病原性因子はファイトプラズマから分泌された後、篩管細胞より隣接細胞を経て、多くの植物組織へ輸送されていることが示唆された。

次にこの遺伝子を形質転換したシロイヌナズナを作出したところ、ファイトプラズマの感染により現れる病徴が確認された。この病原性因子は、植物に形態変化を誘導する植物病原細菌由来の因子としては、まったく新規なものであり、この発見は非常に大きな意義を持つ。

また、ファイトプラズマの強毒系統と弱毒系統とのゲノム配列を比較したところ、解糖系遺伝子群において顕著な差が認められた。弱毒系統では5つの解糖系遺伝子を含む約30 kbpの領域を1コピーのみ持つのに対し、強毒系統ではこの領域がタンデムに2コピー重複していた。これにより、植物宿主より取り込んだ糖を積極的に利用することと激しい病原性との関連している可能性が考えられた。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

宿主特異性の分子メカニズムの解明に関しては、植物病原細菌のみならず、ヒトや動物へ感染する病原細菌も含め、昆虫宿主の決定因子が単離されたのはこれが初めてであり、学術的な意義も大きく、農学・医学・疫学などの領域に広く貢献することが期待される。

病原性因子の同定は、植物病理学や植物生理学の分野に大きなインパクトを与えるものである。病原性細菌由来の同様の因子はこれまで例がないため、学術的にも非常に興味深い。また、植物バイオテクノロジーへの利用も期待される。

6. 主な発表論文

- Hoshi, A., Oshima, K., Kakizawa, S., Ishii, Y., Ozeki, J., Hashimoto, M., Komatsu, K., Kagiwada, S., Yamaji, Y. & Namba, S. (2009) A unique virulence factor for proliferation and dwarfism in plants identified from a phytopathogenic bacterium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. in press.
- Oshima, K., Kakizawa, S., Arashida, R., Ishii, Y., Hoshi, A., Hayashi, Y., Kagiwada, S. & Namba, S. (2007) Presence of two glycolytic gene clusters in a severe pathogenic line of *Candidatus Phytoplasma asteris*. *Mol Plant Pathol* 8: 481-489.
- Kakizawa, S., Oshima, K., Jung, H. Y., Suzuki, S., Nishigawa, H., Arashida, R., Miyata, S., Ugaki, M., Kishino, H. & Namba, S. (2006) Positive selection acting on a surface membrane protein of the plant-pathogenic phytoplasmas. *J Bacteriol* 188: 3424-3428.
- Suzuki, S., Oshima, K., Kakizawa, S., Arashida, R., Jung, H. Y., Yamaji, Y., Nishigawa, H., Ugaki, M. & Namba, S. (2006) Interaction between the membrane protein of a pathogen and insect microfilament complex determines insect-vector specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 4252-4257.
- Oshima, K., Kakizawa, S., Nishigawa, H., Jung, H. Y., Wei, W., Suzuki, S., Arashida, R., Nakata, D., Miyata, S., Ugaki, M. & Namba, S. (2004) Reductive evolution suggested from the complete genome sequence of a plant-pathogenic phytoplasma. *Nature Genet* 36: 27-29.

ホームページ等

<http://papilio.ab.a.u-tokyo.ac.jp/planpath/>