

課題番号	GS005
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 24 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	昆虫媒介性病原体のホストスイッチング機構の解明と新規防除戦略の構築
研究機関・ 部局・職名	東京大学大学院農学生命科学研究科 特任准教授
氏名	大島 研郎

1. 当該年度の研究目的

昆虫によって媒介される植物病原体は、植物と昆虫の2種類の宿主に交互に寄生する「ホストスイッチング」により感染を拡大する。本研究で主に扱うファイトプラズマ (*Phytoplasma asteris*) は、植物の篩部細胞内に寄生し、病気を引き起こす植物病原細菌である。また、昆虫を介して他の植物へと伝搬され、植物・昆虫という全く異なる宿主間を行き来する「ホストスイッチング」によって生活環を成り立たせている。これまでの研究から、ファイトプラズマは植物宿主と昆虫宿主とを交代するたびに、ゲノム全体の約 1/3 に相当する遺伝子の発現量を変化させていることが明らかになった。平成24年度は、ファイトプラズマがどのように植物・昆虫宿主の細胞内環境に応答して遺伝子発現を変化させているのかを明らかにするため、ファイトプラズマ転写因子による遺伝子発現制御メカニズムを解析することを目的とする。また、ファイトプラズマ感染が宿主に与える影響を調べるため、感染宿主側の遺伝子発現変動解析を行う。

2. 研究の実施状況

ファイトプラズマのホストスイッチング機構の解明には、ファイトプラズマがどのようにして遺伝子発現を調節し、昆虫と植物という異なる生物界の宿主に適応しているのかを知る必要がある。平成23年度に実施したファイトプラズマの網羅的遺伝子発現解析の結果、ファイトプラズマは植物宿主と昆虫宿主とを交代するたびに、ゲノム全体の約 1/3 に相当する遺伝子の発現量を変化させていることが明らかになった。ファイトプラズマゲノムには2つの転写因子 (rpoD、および fliA) がコードされており、これらの転写因子が遺伝子発現を調節していると考えられる。これらの転写因子が制御するプロモーター領域を調べるために、大腸菌を利用して、ファイトプラズマの rpoD、および fliA の転写活性を in vivo で測定するための実験系を確立した。解析の結果、rpoD は PAM289 など主に植物で発現上昇する遺伝子のプロモーターを活性化し、一方、fliA は mdlB など主に昆虫で発現上昇する遺伝子のプロモーターを活性化することが明らかとなった。

また、ファイトプラズマ感染に伴う宿主側の遺伝子発現変動について解析を行った。ファイトプラズマに感染した植物は様々な病徴を示すが、特に花が葉になる「葉化」や、花から若芽が出現する「つき抜け」などのユニークな病徴を引き起こすことが知られている。被子植物の花は一般に、がく、花びら、雄しべ、雌しべの 4 つの独立した花器官からなり、植物細胞がどの花器官になるかは、ホメオティック遺伝子と呼ばれる 5 種類の遺伝子 (A、B、C、D、E 遺伝子) の組み合わせで決まると考えられている。ファイトプラズマ感染

様式19 別紙1

植物よりRNAを抽出して各ホメオティック遺伝子の発現量を測定した結果、萼片、花卉、雌蕊では、それぞれの器官形成に必要なAクラス、Bクラス、Dクラスの遺伝子が有意に発現減少していた。これらの結果から、ファイトプラズマ感染によるホメオティック遺伝子の発現変動は花器官ごとに異なり、葉化症状を伴う花器官の形態異常は、その器官形成に必要なホメオティック遺伝子が発現抑制によって引き起こされることが示唆された。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計5件
計8件	<p>Miura, C., Sugawara, K., Neriya, Y., Minato, N., Keima, T., Himeno, M., Maejima, K., Komatsu, K., Yamaji, Y., Oshima, K. & Namba, S. (2012). Functional characterization and gene expression profiling of superoxide dismutase from plant pathogenic phytoplasma. <i>Gene</i> 510, 107-112.</p> <p>Nishida, H., Kondo, S., Nojiri, H., Noma, K. & Oshima, K. (2012). Evolutionary mechanisms of microbial genomes 2012. <i>Int. J. Evol. Biol.</i>, ID872768.</p> <p>Sugawara, K., Himeno, M., Keima, T., Kitazawa, Y., Maejima, K., Oshima, K. & Namba, S. (2012). Rapid and reliable detection of phytoplasma by loop-mediated isothermal amplification targeting a housekeeping gene. <i>J. Gen. Plant Pathol.</i> 78, 389-397.</p> <p>Oshima, K., Chiba, Y., Igarashi, Y., Arai, H. & Ishii, M. (2012). Phylogenetic position of <i>Aquificales</i> based on the whole genome sequences of six <i>Aquificales</i> species. <i>Int. J. Evol. Biol.</i> 2012, Article ID 859264.</p> <p>Chiba, Y., Oshima, K., Arai, H., Ishii, M. & Igarashi, Y. (2012). Discovery and analysis of cofactor-dependent phosphoglycerate mutase homologs as novel phosphoserine phosphatases in <i>Hydrogenobacter thermophilus</i>. <i>J. Biol. Chem.</i> 287, 11934-11941.</p>
	(掲載済み一査読無し) 計2件
	<p>Oshima, K., Miura, C., Minato, N., Neriya, Y., Ishikawa, K., Kitazawa, Y., Nijo, T., Watanabe, T., Maejima, K., Namba, S. (2012). Post genomics of phytoplasma: global gene expression analysis of phytoplasma in host switching. <i>Jpn. J. Mycoplasmol.</i> 39, 1-3.</p>
	<p>Himeno, M., Minato, N., Neriya, Y., Miura, C., Ishikawa, K., Keima, T., Maejima, K., Oshima, K., Namba, S. (2012). Impact on floral development gene expression by phytoplasma infection. <i>Jpn. J. Mycoplasmol.</i> 39, 30-33.</p>
	(未掲載) 計1件
	<p>Ishii, Y., Kakizawa, S. & Oshima, K. New <i>ex vivo</i> reporter assay system reveals that σ factors of an unculturable pathogen control gene regulation involved in the host-switching between insects and plants. <i>MicrobiologyOpen</i> (in press).</p>

様式19 別紙1

<p>会議発表</p> <p>計 12 件</p>	<p>専門家向け 計 12 件</p> <p>桂馬拓也, 高橋 厚, 滝波祐輔, 岡野夕香里, 前島健作, 大島研郎, 難波成任: 葉化症状を示すアジサイより検出された <i>Candidatus Phytoplasma asteris</i> HP 系統の分子遺伝学的解析 (平成 25 年度日本植物病理学会大会, 岐阜大学, 2013 年 3 月 27-29 日)</p> <p>大島研郎, 前島健作, 難波成任: 植物-昆虫への寄生を切り替える病原体「ファイトプラズマ」のホストスイッチング機構 (第 155 回日本獣医学会学術集会, 東京大学駒場キャンパス, 2013 年 3 月 28-30 日)</p> <p>大島研郎, 前島健作, 難波成任: ファイトプラズマのエフェクターによる植物の形態形成の制御 (第54回 日本植物生理学会, 岡山大学, 2013 年 3 月 21-23 日)</p> <p>大島研郎, 前島健作, 難波成任: ファイトプラズマ属細菌の植物-昆虫ホストスイッチングに伴う網羅的発現変動解析 (第 35 回日本分子生物学会年会, 福岡国際会議場, 2012 年 12 月 11-14 日)</p> <p>大島研郎: 植物の形を変える微生物ファイトプラズマ (高知大学植物健康基礎医学 公開セミナー, 高知大学, 2012 年 12 月 26 日)</p> <p>前島健作, 岩井 涼, 藤田尚子, 姫野未紗子, 山次康幸, 大島研郎, 難波成任: 葉化症状を引き起こすファイトプラズマのエフェクターについて (平成 24 年度日本植物病理学会関東部会, 法政大学市ヶ谷キャンパス, 2012 年 9 月 13-14 日)</p> <p>菅原杏子, 湊菜未, 小松健, 大島研郎, 難波成任: 植物病原細菌ファイトプラズマのペプチド性エフェクター TENGU の機能解析 (日本植物学会第 76 回大会, 兵庫県立大学, 2012 年 9 月 15-17 日)</p> <p>大島研郎: <i>Phytoplasma</i> の分類について (横浜植物防疫所平成 24 年度所内ゼミナール, 横浜植物防疫所, 2012 年 7 月 19 日)</p> <p>Oshima, K., Miura, C., Ishikawa, K., Neriya, Y., Minato, N., Maejima, K., Namba, S., : Global gene expression analysis of phytoplasma in the host switching between plant and insect. (22nd International Conference on Virus and Other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops (ICVF), Rome, Italy, 2012 年 6 月 3-8 日)</p> <p>Miura, C., Keima, T., Watanabe, T., Nijo, T., Maejima, K., Oshima, K., Namba, S., : Detection of two strains of 'Candidatus phytoplasma asteris' from peach and apricot using loop-mediated isothermal amplification. (22nd International Conference on Virus and Other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops (ICVF), Rome, Italy, 2012 年 6 月 3-8 日)</p> <p>大島研郎, 三浦千裕, 湊菜未, 煉谷裕太郎, 石川一也, 北沢優悟, 二條貴通, 渡邊翼, 前島健作, 難波成任: ファイトプラズマのポストゲノム生物学 - 宿主スイッチングにおける網羅的遺伝子発現解析 - (日本マイコプラズマ学会第 39 回学術集会, アイーナいわて県民情報交流センター, 2012 年 5 月 24-25 日)</p> <p>姫野未紗子, 湊菜未, 煉谷裕太郎, 三浦千裕, 石川一也, 桂馬拓也, 前島健作, 大島研郎, 難波成任: ファイトプラズマ感染が花の形態形成遺伝子の発現へ与える影響 (日本マイコプラズマ学会第 39 回学術集会, アイーナいわて県民情報交流センター, 2012 年 5 月 24-25 日)</p>
<p>図 書</p> <p>計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	http://papilio.ab.a.u-tokyo.ac.jp/cps/
国民との科学・技術対話の実施状況	<p>・2012年6月30日(土)に、私立巣鴨高等学校において出張授業を開催した。タイトルは、「植物を病気から守る ～ 植物に寄生する微生物のヒミツに迫る! ～」。植物が病気にかかる仕組み、また病気になる機構を明らかにする意義や、これまでのファイトプラズマに関する研究概要の紹介を行うとともに、植物病原体の顕微鏡観察や、イムノクロマトを利用した病原体の検出実験を行った。</p> <p>また、後日、内容に関する感想をアンケート形式で回収した(http://lne.st/2012_oshima-lecture/)。</p> <p>・2013年1月12日(土)に、東京都立両国高等学校附属中学校において出張授業を開催した。タイトルは、「植物の中で暮らす不思議な微生物 ～ 「ファイトプラズマ」のヒミツに迫る! ～」。植物が病気にかかる仕組み、また病気になる機構を明らかにする意義や、ファイトプラズマに関する研究概要の紹介を行った。また、後日、内容に関する感想をアンケート形式で回収した。</p>
新聞・一般雑誌等掲載 計1件	<p>産学連携推進マガジン『BioGARAGE』14号 pp.23</p> <p>「東京大学 大島准教授 出張授業 植物を病気から守る～植物に寄生する微生物のヒミツに迫る!～」</p>
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	130,000,000	37,470,000	48,000,000	44,530,000	0
間接経費	39,000,000	11,241,000	14,400,000	13,359,000	0
合計	169,000,000	48,711,000	62,400,000	57,889,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	19,272,359	48,000,000	0	67,272,359	67,032,441	239,918	0
間接経費	11,241,000	14,400,000	0	25,641,000	5,620,500	20,020,500	0
合計	30,513,359	62,400,000	0	92,913,359	72,652,941	20,260,418	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	63,528,537	MiSeqシステム、透過型電子顕微鏡等
旅費	804,270	研究成果発表旅費(いわて県民情報交流セン ター)等
謝金・人件費等	1,205,224	学術支援職員人件費等
その他	1,494,410	質量分析受託解析等
直接経費計	67,032,441	
間接経費計	5,620,500	
合計	72,652,941	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
顕微鏡用デジタル カメラセット	DS-Fi2-L3	1	538,450	538,450	2012/4/18	東京大学
Veriti96wellサーマ ルサイクラー	Veriti200	1	926,100	926,100	2012/4/9	東京大学
次世代シーケン サーMiSeq	MS-TUOK-001	1	14,857,500	14,857,500	2012/5/15	東京大学
小型超遠心機	himac CS120F NX	1	4,987,500	4,987,500	2012/5/14	東京大学
透過型電子顕微鏡 システム	JEM-1400Plus	1	39,960,900	39,960,900	2012/12/21	東京大学