

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 25 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。平成24年度までの研究によって、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。また、昨年度までの研究において、植物感染時に働く浸透圧調節チャネルの機能を阻害することで、ファイトプラズマの増殖を抑えることに成功したが、その効果は部分的であった。その原因の一つとして、浸透圧調節チャネルなどの機能阻害では宿主の生育にも悪影響を与えてしまうため、阻害剤を高濃度に設定できない点が考えられた。そこで今年度は、ファイトプラズマ特有のターゲットを探索する目的で、植物感染時に働く因子の候補の中から、宿主のホメオティック遺伝子産物などと相互作用し、宿主を制御する因子(エフェクター)の探索を試みた。さらに、ファイトプラズマがどのように宿主の代謝系や遺伝子発現をコントロールして寄生しているのかを分子レベルで明らかにするために、エフェクターによる制御メカニズムの解明を目指した。

2. 研究の実施状況

・宿主を操作する因子(エフェクター)の同定

ファイトプラズマは、植物・昆虫という全く異なる宿主環境に合わせて、自身の遺伝子発現を変化させるとともに、宿主をコントロールしていると考えられる。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宿主を制御しているのかを知る必要がある。そこで今年度は、宿主感染時に発現量が増加する遺伝子産物の中から、宿主操作に関与する因子(エフェクター)を探索した。特に、ファイトプラズマは細胞内に寄生するため、宿主の相互作用には分泌タンパク質が深く関与することが示されている。そこで、ゲノムにコードされる約100個の分泌タンパク質を標的としたスクリーニングを行った。また、ファイトプラズマの特徴として、植物宿主に葉化症状などの「形態異常」を伴うユニークな病害をおこす点が挙げられるため、ファイトプラズマの分泌タンパク質遺伝子を植物において恒常的に発現させ、形態異常を引き起こすことを指標にしたスクリーニング系を構築した。その結果、分泌タンパク質の一つであるPhyl1を発現するシロイヌナズナにおいて、萼片の葉化および萼片の内側近傍や雌蕊から新たに花が発生する突き抜

け、それに伴う不稔など葉化症状に酷似した花器官の表現型が観察された。また、他のファイトプラズマ種から Phyl1 ホモログをクローン化し、形質転換植物を作出したところ、いずれも同様の表現型を示した。以上の結果から、Phyl1 がこれまで花器官の葉化誘導エフェクターであると考えられた。

・Phyl1 エフェクターによる宿主操作の分子メカニズムの解明

本研究はホストスイッチングのメカニズムを明らかにすることによって、ホストスイッチングを阻害し病原体の感染を阻害するため基礎知見を得ること目的としている。宿主を操作するエフェクターは、病原体の感染過程に重要な働きをすることが予想されるため、エフェクターの機能を明らかにすることは、ホストスイッチングの阻害剤の開発につながる重要な基礎的知見になると考えられる。そこで、新葉化誘導エフェクターである Phyl1 について、相互作用する宿主側因子のスクリーニングを行い、エフェクターによる宿主操作の分子メカニズムの解明に取り組んだ。Phyl1 をベイトとして宿主 cDNA ライブラリーに対する酵母ツーハイブリッドスクリーニングの系を確立し、エフェクターと相互作用する因子を調べたところ、Phyl1 は花の形態形成に重要な役割を果たす MADSドメイン転写因子群のうち、A クラス、および E クラスの転写因子に結合する性質を持っていることが明らかとなった。そこで、実際に A・E クラスの転写因子を Phyl1 とともに植物細胞に導入したところ、それら転写因子が分解されることが示唆された。また、プロテアソーム阻害剤であらかじめ処理すると A・E クラスの転写因子の分解が阻害されたため、Phyl1 は植物のプロテアソームを利用して MADSドメイン転写因子群を分解していることが示唆された。また、A・E クラスの転写因子は B クラスの転写因子の発現を誘導することが知られているが、Phyl1 を発現させた植物では逆に B クラスの転写因子の発現が抑制されていた。これは、A・E クラスの転写因子が細胞内で分解されたため、B クラスの転写因子の誘導が阻害されたと推定される。以上の結果から、ファイトプラズマは Phyl1 を分泌することで、植物の花器官の形成に必要な転写因子を分解または発現抑制し、これによって花器官の葉化が起こるといふ宿主操作のメカニズムが明らかとなった。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計 6 件
計 8 件	<p>Maejima, K., Iwai, R., Himeno, M., Komatsu, K., Kitazawa, Y., Fujita, N., Ishikawa, K., Fukuoka, M., Minato, N., Yamaji, Y., Oshima, K. &amp; Namba, S. (2014). Recognition of floral homeotic MADS-domain transcription factors by a phytoplasmal effector, phyllogen, induces phyllody. <i>Plant J.</i> (published online, DOI: 10.1111/tbj.12495)</p> <p>Himeno, M., Kitazawa, Y., Yoshida, T., Maejima, K., Yamaji, Y., Oshima, K. &amp; Namba, S. (2014). Purple top symptoms are associated with reduction of leaf cell death in phytoplasma-infected plants. <i>Scientific Rep.</i> 4, 4111.</p> <p>Oshima, K., Maejima, K. &amp; Namba, S. (2013). Genomic and evolutionary aspects of phytoplasmas. <i>Front. Microbiol.</i> 4, Article 230.</p> <p>Sugawara, K., Honma, Y., Komatsu, K., Himeno, M., Oshima, K. &amp; Namba, S. (2013). The alteration of plant morphology by small peptides released from the proteolytic processing of the bacterial peptide TENGU. <i>Plant Physiol.</i> 162, 2005-2014.</p>

様式19 別紙1

	<p>Ishii, Y., Kakizawa, S. &amp; Oshima, K. (2013). New ex vivo reporter assay system reveals that <math>\sigma</math> factors of an unculturable pathogen control gene regulation involved in the host-switching between insects and plants. <i>MicrobiologyOpen</i> 2, 553-565.</p> <p>Takinami, Y., Maejima, K., Takahashi, A., Keima, T., Shiraishi, T., Okano, Y., Komatsu, K., Oshima, K. &amp; Namba, S. (2013). First report of 'Candidatus Phytoplasma asteris' infecting hydrangea showing phyllody in Japan. <i>J. Gen. Plant Pathol.</i> 79, 209-213.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 1 件</p> <p>Oshima, K., Yoshida, T., Haga, S., Maejima, K., and Namba, S. (2013). Novel insight into the application of basic research of phytoplasma to clinical plant technology. <i>Jpn. J. Mycoplasma</i>. 40, 27-29.</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <p>Maejima, K., Oshima, K. &amp; Namba, S. (2014). Exploring the phytoplasmas, plant pathogenic bacteria. <i>J. Gen. Plant Pathol.</i> in press.</p>
<p>会議発表</p> <p>計 5 件</p>	<p>専門家向け 計 3 件</p> <p>大島研郎, 吉田哲也, 芳賀俊亮, 前島健作, 難波成任: ファイトプラズマ基礎研究の臨床への新展開(第40回 日本マイコプラズマ学会, 秋葉原 UDX GALLERY, 2013年5月23-24日)</p> <p>大島研郎: 植物・昆虫に寄生する微生物「ファイトプラズマ」(平成25年度 生命システム科学セミナー, 県立広島大学, 2013年6月26日)</p> <p>難波成任, 大島研郎, 山次康幸, 姫野未紗子, 吉田哲也: ナノ病原体の植物寄生戦略(平成25年感染整理談話会, 石川県小松市, 2013年8月19日)</p> <p>一般向け 計 2 件</p> <p>大島研郎: 植物・昆虫に寄生する不思議な微生物「ファイトプラズマ」(平成25年度 植物防疫所ゼミナール, 那覇港湾合同庁舎, 2013年11月6日)</p> <p>大島研郎: 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(FIRST シンポジウム「科学技術が拓く2030年」へのシナリオ NEXT ポスター展示, ベルサール新宿グランド, 2014年3月1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>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>東京大学植物医科学研究室 <a href="http://papilio.ab.a.u-tokyo.ac.jp/cps/">http://papilio.ab.a.u-tokyo.ac.jp/cps/</a></p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>・2013年11月6日(水)に、沖縄県那覇港湾合同庁舎において、学生、県職員、植物防疫所職員などを対象としたゼミナールを開催した。タイトルは、「植物・昆虫に寄生する不思議な微生物ファイトプラズマ」。参加者は約50名。植物が病気にかかる仕組み、また病気になるメカニズムを明らかにする意義や、ファイトプラズマが植物の形態を操る仕組みに関する研究概要について意見交流を行った。</p>

様式19 別紙1

	<p>・2014年3月1日(土)に、東京都 ペルサール新宿グランドにおいて開催された FIRST シンポジウム「科学技術が拓く 2030 年」へのシナリオに参加し、学生から研究者まで幅広い参加者を対象とした NEXT ポスター展示にて研究成果を発表した。タイトルは、「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」。本プログラムにおける研究成果の紹介や意見交流を行った。</p> <p>また、シンポジウム当日に配布された冊子に本プログラムによる研究成果を掲載した。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計 0 件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成25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	85,470,000	44,530,000	0	0
間接経費	39,000,000	25,641,000	13,359,000	0	0
合計	169,000,000	111,111,000	57,889,000	0	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	239,918	44,530,000	0	44,769,918	44,769,652	266	0
間接経費	20,020,500	13,359,000	0	33,379,500	33,379,500	0	0
合計	20,260,418	57,889,000	0	78,149,418	78,149,152	266	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	36,964,293	微量高速遠心機等
旅費	63,540	研究成果発表旅費(神戸国際会議場)等
謝金・人件費等	1,187,664	学術支援職員人件費等
その他	6,554,155	質量分析受託解析等
直接経費計	44,769,652	
間接経費計	33,379,500	
合計	78,149,152	

## 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
微量高速遠心機	日立工機 CF15 RXII	1	634,725	634,725	2013/6/25	東京大学
共焦点レーザー顕 微鏡高感度検出器	HyD 2ch アップグ レード	1	4,958,667	4,958,667	2013/9/13	東京大学
実体顕微鏡 一式	M165FC-BO 1	1	3,990,000	3,990,000	2013/11/14	東京大学
高速・高感度デジタ ルカラーカメラ	DFC310FX	1	1,469,317	1,469,317	2013/11/14	東京大学
グロースキャビネット	パナソニック, MLR-352-PJ	1	2,935,800	2,935,800	2014/1/23	東京大学
ProFlex PCR S ystem 一式	3x32 well, 4484073	2	1,155,000	2,310,000	2014/2/27	東京大学