

**ナノ病原体の統合生物学 —宿主細胞内絶対寄生の  
複合生命体としての理解に向けて—**  
The Integrated Biology of Nanopathogens:  
towards understanding intracellular obligate parasites  
as a united living organism

課題番号：25221201

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

ナノ病原体の病原性決定因子の機能解析や植物の抵抗性遺伝子解析を通じてナノ病原体の統合生物学的理解を目指す。具体的には、ナノ病原体に対する植物の抵抗性遺伝子の特定と機能解析、ナノ病原体の *in vitro* 増殖・転写系の確立とその阻害因子の特定、病原性遺伝子を介した病原性発現機構の解明、これらを実現する為のナノ病原体の逆遺伝学的解析手法の開発を行う。

研究分野：農学

キーワード：植物-病原体相互作用

1. 研究開始当初の背景

ファイトプラズマは植物の篩部細胞に寄生する絶対寄生性の病原性細菌である。約 0.1-1  $\mu\text{m}$  の不定形であり、またゲノムサイズも約 600-900 kbp と、いずれも他の細菌と比較して極めて小さい。ファイトプラズマは 700 種以上の農作物を含む各種植物に感染し、劇的な形態変化を伴う特徴的な病徴を引き起こす。

植物ウイルスもまた絶対寄生性の病原体であるが、自身の代謝系を持たない無生物である。球状や棒状など様々な粒子構造をとるが概して約 800 nm 以下の粒子サイズである。ゲノムサイズもファイトプラズマ同様に極めて小さく、極めて限られた遺伝子しか持たないため、植物宿主因子を巧みに利用しながら感染・増殖するものと考えられる。植物ウイルスは植物体全体の形態変化を伴う様々な病徴を引き起こし、作物生産に甚大な被害を与えている。

2. 研究の目的

ファイトプラズマと植物ウイルスは生物と無生物という違いはあるものの、ともに絶対寄生性であり、篩部を通じて植物体に全身感染する。また、多くの植物ウイルスとファイトプラズマは昆虫によって伝搬される。さらにファイトプラズマと植物ウイルスは似た病徴を示す。特に植物の形態異常を伴う病徴は似ており、萎縮、黄化、叢生、葉化は共通した病徴である。このように両者はいくつかの点で似た性質を示し、いずれもナノメートルオーダーの病原体であることから、私達はこれらを新たに「ナノ病原体」と名付け、研究対象としている。本研究では、ナノ病原体が生存に必要な因子の大半を宿主に依存していることに着目し、ナノ病原体が寄生した宿主細胞を複合生命体としてとらえて統

合生物学的研究を展開するとともに、植物病理学における新たなパラダイムの構築を目指す。

3. 研究の方法

本研究ではナノ病原体の統合的解明に必要な研究基盤の構築を図る。具体的には、多数の植物にナノ病原体を接種し、ナノ病原体に抵抗性を示す植物のスクリーニングを通じて抵抗性遺伝子の単離とその機能解析を行う。同時に、ナノ病原体の増殖に必要な宿主遺伝子の単離と機能解析を行う。また、ナノ病原体の *in vitro* 増殖系の確立を行い、ナノ病原体増殖制御因子の探索を試みる。さらにファイトプラズマ分泌・膜タンパク質ならびに植物ウイルスタンパク質を植物に形質転換し、発現させ、植物の形態変化に関わる病原性因子を明らかにする。さらに、ナノ病原体を利用したベクター構築を通じて、宿主特異性決定因子、病原性因子の逆遺伝学的解析を行う。以上の研究を通じて、ナノ病原体の感染機構・病原性誘導機構、宿主植物の耐性機構を包括的に解明し、ナノ病原体の統合的理解に迫る。

4. これまでの成果

・ファイトプラズマ病徴誘導機構の解明  
ファイトプラズマ感染により花が葉に変わる葉化症状の原因遺伝子として、ファイトプラズマの分泌タンパク質ファイロジェンを発見した。ファイロジェンの作用機作が、植物の花器官の形成を制御する MADS ドメイン転写因子群への結合とプロテアソームによる分解誘導であることを解明した。ファイロジェンの利用により、病原体に感染させることなく緑色の花を咲かせる新たな園芸品種の開発が期待される。

また、ファイトプラズマ感染により植物体

が紫色に変色するパープルトップ症状の誘導機構を分子レベルで初めて明らかにした。

さらに、天狗巣症状の病原性因子 TENGU (38 アミノ酸) が植物体内でプロセッシングを受け、さらに短いペプチド断片として機能することを明らかにし、最小機能領域が 11 アミノ酸であることを明らかにした。また、TENGU が不稔症状の病原性因子でもあることを明らかにし、ジャスモン酸経路が関わることを明らかにした。TENGU 機能領域の解明は TENGU 作用機作の全容解明に大きく貢献すると期待され、また 2 つの病徴に関わることを示した点でも新規性が高い。

・植物ウイルスの RNA サイレncing サプレッサー TGBp1 の機能解析

植物ウイルスのタンパク質 (TGBp1) が植物において二本鎖 RNA 合成の過程を阻害するタンパク質であることを初めて明らかにした。本研究結果により、RNA サイレncing サプレッサーの標的薬剤を開発すれば、植物免疫を強化する、これまでと異なる新たなウイルス特効薬を開発し、病気に強い作物を作ることが可能になると期待される。

・抵抗性遺伝子 JAX1 の機能解析

研究代表者らが発見したウイルス抵抗性遺伝子 JAX1 による新規抵抗性機構「レクチン抵抗性」に関与するウイルス側因子が複製酵素であることを明らかにした。レクチン抵抗性に関わるウイルス側因子の解明は初めてであり、メカニズムの解明に大きく寄与すると期待される。

・ファイトプラズマの *in vitro* 遺伝子発現制御系の確立

本研究ではファイトプラズマに共通して保存される転写開始因子 (シグマ因子) RpoD に着目し、*in vitro* 転写系を開発し、RpoD により転写制御される遺伝子の網羅的特定に成功した。本研究は、動物に感染するナノ病原体の遺伝子発現解析においても有効な解析手法として期待される。

・ファイトプラズマの宿主接着因子の同定

ファイトプラズマゲノムにおいて宿主細胞接着因子として pam289 (P38) を同定した。P38 はファイトプラズマの複数の系統で高い配列保存性を示し、P38 の昆虫への接着は保存モチーフ配列依存的であることが明らかになった。本研究により初めてファイトプラズマの接着因子を明らかにした。

## 5. 今後の計画

ナノ病原体に対する耐性機構の解明に向けて、抵抗性遺伝子、感受性遺伝子の同定と機能解析を引き続き行い、ナノ病原体の防除・治療に向けた分子生物学的基盤を構築する。また、これまでに同定したナノ病原体の病原性因子について、宿主側のターゲットやその下流経路を解析し、病原性誘導経路の全容解明を目指す。さらに *in vitro* 系や遺伝子発現ベクターを駆使して、ウイルス・ファイトプラズマ・植物・昆虫を統合的に解析し、ナノ病原体の統合的理解を目指す。

## 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Miura C., Komatsu K., Maejima K., Nijo T., Kitazawa Y., Tomomitsu T.,

Yusa A., Himeno M., Oshima K., Namba S. Functional characterization of the principal sigma factor RpoD of phytoplasmas via an *in vitro* transcription assay. *Scientific Reports* 5, 11893, 2015.

2. Minato N., Himeno M., Hoshi A., Maejima K., Komatsu K., Takebayashi Y., Kasahara H., Yusa A., Yamaji Y., Oshima K., Kamiya Y., Namba S. The phytoplasmal virulence factor TENGU causes plant sterility by downregulating of the jasmonic acid and auxin pathways. *Scientific Reports* 4, 7399, 2014.
3. Okano Y., Senshu H., Hashimoto M., Neriya Y., Netsu O., Minato N., Yoshida T., Maejima K., Oshima K., Komatsu K., Yamaji Y., Namba S. In planta recognition of a double-stranded RNA synthesis protein complex by a potyviral RNA silencing suppressor. *The Plant Cell* 26, 2168-2183, 2014.
4. Maejima K., Iwai R., Himeno M., Komatsu K., Kitazawa Y., Fujita N., Ishikawa K., Fukuoka M., Minato N., Yamaji Y., Oshima K., Namba S. Recognition of floral homeotic MADS-domain transcription factors by a phytoplasmal effector, phyllogen, induces phyllody. *The Plant Journal* 78, 541-554, 2014.
5. Sugawara K., Honma Y., Komatsu K., Himeno M., Oshima K., Namba S. The alteration of plant morphology by small peptides released from the proteolytic processing of the bacterial peptide TENGU. *Plant Physiology* 162, 2005-2014, 2013.

他 15 報

1. 難波成任 米国微生物アカデミー会員, 2015 年 4 月
2. 難波成任 日本農学賞・読売農学賞, 2014 年 3 月
3. 難波成任 紫綬褒章, 2013 年 11 月

ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/ae-b/planpath/index.html>

・「怠け者細菌」ファイトプラズマの謎を解く (プレスリリース)

<http://www.u-tokyo.ac.jp/ja/utokyo-research/feature-stories/elucidating-the-mystery-of-phytoplasmas-the-ultimate-idler-bacteria.html>

・宿主のウイルス排除網をかいくぐれ ~ 宿主発の分解指令を阻止するウイルスタンパク質発見: 阻止の様子可視化に成功~ (プレスリリース)

<http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2014/20140610-1.html>

・「花」を「葉」に変える病気の謎を解く - 原因遺伝子の発見と発症メカニズムの解明 - (プレスリリース)

<http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2014/20140318-3.html>