

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：32675

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14643

研究課題名(和文) 共生細菌のゲノムにコードされるアンチエイジング因子の探索

研究課題名(英文) Search for anti-aging factors encoded in the genome of symbiotic bacteria

研究代表者

大島 研郎 (OSHIMA, Kenro)

法政大学・生命科学部・教授

研究者番号：00401183

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ファイトプラズマは昆虫媒介性の植物病原細菌であり、宿主と媒介昆虫との2つの生物に細胞内寄生する。ファイトプラズマは700種以上の植物に感染し、感染した植物は花が葉に変化する葉化や、萎縮・叢生などの特徴的な病徴を呈する。本研究では、ファイトプラズマのアンチエイジング効果に関わるメカニズムを解明することを目的とした。まず、宿主操作に関わる分泌タンパク質(エフェクター)遺伝子を探索し、葉化を引き起こすPHYL1ホモログを4種16系統のファイトプラズマから単離した。また、PHYL1がペチュニアやヒマワリ、アスターの各植物において花器官の葉化を誘導することを明らかにした。

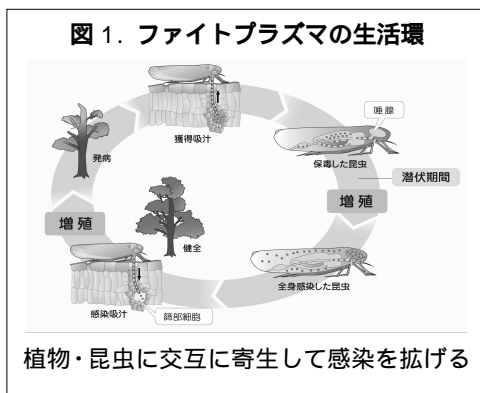
研究成果の概要(英文)：Phytoplasmas are bacterial plant pathogens that have devastating effects on the yields of crops and plants worldwide. They are intracellular parasites of both plants and insects, and are spread among plants by insects. Phytoplasmas infect more than 700 plant species and bring about marked changes in plant development, including witches' broom, dwarfism, and phyllody. The aim of this study is to clarify the molecular mechanism of the host-parasite interaction. We identified 16 PHYL1 proteins, which induce a phyllody symptom, from 16 phytoplasmas belonging to four distinct candidate species. Moreover, we evaluated whether PHYL1 can induce phyllody in plants other than *A. thaliana*. As a result, PHYL1 was shown to cause phyllody phenotypes in several eudicot species belonging to three different families.

研究分野：植物病理学

キーワード：ファイトプラズマ ゲノム エフェクター

1. 研究開始当初の背景

ファイトプラズマ (*Candidatus Phytoplasma* 属細菌) は植物の細胞内に寄生して病気を引き起こす病原細菌である。イタリアのリンゴ生産だけでも年間1億ユーロの被害が出ており、予防法の確立が切望されているものの、人工培養できない微生物であるため、現在でも研究が難しい病原体の一つである。ファイトプラズマが感染した植物は花が葉に変化する葉化や、種子形成が異常になる不稔症状などの特徴的な病徴を呈する。これは宿主植物が生殖ステージに移行するのを抑制し、宿主を延命させるためのファイトプラズマによる宿主操作ではないかと考えられている。また、ファイトプラズマは植物以外に昆虫(ヨコバイ類)にも細胞内寄生し、昆虫を介して植物から植物へと伝搬される(図1)。ファイトプラズマが感染した媒介昆虫は寿命が伸びたり、高齢になっても産卵数が維持される。このようなファイトプラズマのアンチエイジング効果に関わるメカニズムには興味を持たれているが、その全容は謎に包まれていた。



2. 研究の目的

ファイトプラズマが感染した植物は葉化や不稔症状などの特徴的な病徴を呈する。これは宿主植物が生殖ステージに移行するのを抑制し、宿主を延命させるためのファイトプラズマによる宿主操作ではないかと考えられている。また、ファイトプラズマが感染した媒介昆虫には寿命の伸長や産卵数の増加が認められる。本研究は、こうしたファイトプラズマのアンチエイジング効果に関わる宿主操作のメカニズムを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究は、アンチエイジング活性を有する因子をファイトプラズマゲノムより探索するとともに、その作用機作を明らかにすることを目的とした。まず、次世代シーケンサー等を活用して、数種類のファイトプラズマについてドラフトゲノム配列を取得するとともに、宿主操作に関わる分泌タンパク質(エフェクター)をコードする遺伝子を探索した。

これらの遺伝子を宿主内で発現させ、宿主の表現型や宿主因子の影響を観察した。また、得られたエフェクターをリンゴ小球形潜在ウイルスベクターを用いて様々な植物で発現させ、エフェクターが効果を示す宿主範囲を特定した。

4. 研究成果

平成28年度は、次世代シーケンサーや保存領域を増幅するPCR解析により、宿主操作に関わる分泌タンパク質(エフェクター)をコードする遺伝子を探索した。その結果、葉化に関わるエフェクターである PHYL1 ホモログを4種16系統のファイトプラズマから単離することに成功した。*Phytoplasma asteris* PYR系統のホモログのみC末端側30アミノ酸を欠失しており、宿主因子である SEP3 への結合能・分解能を失っていたが、他のホモログは全長にわたって保存性が極めて高く、SEP3 への結合能・分解能を示した。また、叢生症状に関わるエフェクターである TENGU の形質転換植物の花器官を詳細に解析したところ、莢の発達に妨げられる軽度の不稔症状に加え、蕾が開花せずに莢の形成まで至らない重度の不稔症状が認められ、TENGU と不稔症状との関連性が示唆された。平成29年度は、PHYL1 がアブラナ科以外の植物に対して広く花器官の葉化を誘導するかどうかについて検証するため、リンゴ小球形潜在ウイルスベクターを用いて様々な植物でファイトプラズマを発現させた。その結果、ペチュニアや *Nicotiana benthamiana*、ゴマ、ヒマワリ、アスターの各植物において花器官の葉化が誘導された。さらに、ペチュニアやゴマでは雌蕊から新たに花が生じる突き抜けも観察された。これらの結果より、PHYL1 は少なくとも4科6種の植物に花器官の葉化を誘導することが明らかとなり、広範な植物を宿主操作する普遍的な機能を有することが示された。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計4件)

- Iwabuchi, N., Endo, A., Kameyama, N., Satoh, M., Miyazaki, A., Koinuma, H., Kitazawa, Y., Maejima, K., Yamaji, Y., Oshima, K., Namba, S. (2018). First report of 'Candidatus Phytoplasma malaysianum' associated with *Elaeocarpus* yellows of *Elaeocarpus zollingeri*. J. Gen. Plant Pathol. 84, 160-164. [査読あり]
<https://doi.org/10.1007/s10327-017-0761-4>
- Nijo, T., Neriya, Y., Koinuma, H., Iwabuchi, N., Kitazawa, Y., Tanno, K., Okano, Y., Maejima, K., Yamaji, Y., Oshima, K., Namba, S. (2017). Genome-wide analysis of the transcription start sites and promoter motifs of phytoplasmas. DNA Cell Biol. 36, 1081-1092. [査読あり]

<https://doi.org/10.1089/dna.2016.3616>
Kitazawa, Y., Iwabuchi, N., Himeno, M., Sasano, M., Koinuma, H., Nijo, T., Tomomitsu, T., Yoshida, T., Okano, Y., Yoshikawa, N., Maejima, K., Oshima, K., Namba, S. (2017). Phytoplasma-conserved phylogen proteins induce phyllody across the Plantae by degrading floral MADS domain proteins. J. Exp. Bot. 68, 2799-2811. [査読あり]
<https://doi.org/10.1093/jxb/erx158>
Bertaccini, A., Oshima, K., Kakizawa, S., Duduk, B., Namba, S. (2016). Dissecting the multifaceted mechanisms that drive leafhopper host-phytoplasma specificity. Vector-Mediated Transmission of Plant Pathogens 21-28. [査読あり]
<http://dx.doi.org/10.1094/9780890545355.002>

〔学会発表〕(計 13 件)

遠藤 藍, 岩渕 望, 前島健作, 亀山統一, 佐藤征弥, 難波成任, 大島研郎: ホルトノキ萎黄病を引き起こすファイトプラズマの同定(樹木医学会第 22 回大会, 東京都小金井市, 2017 年 11 月 11-13 日)
大島研郎: 樹木ファイトプラズマ病の病徴, 診断法, および発生実態について(樹木医学会第 22 回大会, 東京都小金井市, 2017 年 11 月 11-13 日)
大島研郎, 前島健作, 難波成任: ファイトプラズマ病の診断予防治療に向けた分子生物学的研究(日本マイコプラズマ学会第 44 回学術集会, 千葉県千葉市, 2017 年 5 月 26-27 日)
岩渕望, 北沢優悟, 渡邊聖斗, 藤本祐司, 細江尚唯, 鯉沼宏章, 前島健作, 大島研郎, 難波成任: ファイトプラズマの葉化誘導因子による多様な植物の花の葉化(日本マイコプラズマ学会第 44 回学術集会, 千葉県千葉市, 2017 年 5 月 26-27 日)
渡邊聖斗, 北沢優悟, 岩渕望, 細江尚唯, 藤本祐司, 鯉沼宏章, 前島健作, 大島研郎, 難波成任: ファイロジェンによる多様な植物の花の葉化の共通分子メカニズム(日本マイコプラズマ学会第 44 回学術集会, 千葉県千葉市, 2017 年 5 月 26-27 日)
石曾根翔子, 畔上耕児, 濱本 宏, 大島研郎: イネ苗立枯細菌病菌 *Burkholderia plantarii* のトロポロン産生能に関わる遺伝子の探索(平成 29 年度日本植物病理学会大会, 岩手県盛岡市, 2017 年 4 月 26-28 日)
高松由希菜, 濱本 宏, 大島研郎: 野菜類軟腐病菌 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* の病原性因子の探索(平成 29 年度日本植物病理学会大会,

岩手県盛岡市, 2017 年 4 月 26-28 日)
北沢優悟, 岩渕 望, 渡邊聖斗, 鯉沼宏章, 丹野和幸, 二條貴通, 前島健作, 大島研郎, 難波成任: ファイロジェンは広範な植物の MADS ドメイン転写因子の分解を誘導する(平成 29 年度日本植物病理学会大会, 岩手県盛岡市, 2017 年 4 月 26-28 日)
岩渕 望, 北沢優悟, 鯉沼宏章, 二條貴通, 吉田哲也, 吉川信幸, 前島健作, 大島研郎, 難波成任: 花器官の葉化誘導因子ファイロジェンは異なる複数の科の植物に葉化を誘導する(平成 29 年度日本植物病理学会大会, 岩手県盛岡市, 2017 年 4 月 26-28 日)
萩原悠理, 前島健作, 難波成任, 大島研郎: ファイトプラズマの recA 遺伝子の偽遺伝子化に関する変異解析(平成 29 年度日本植物病理学会大会, 岩手県盛岡市, 2017 年 4 月 26-28 日)
遠藤 藍, 岩渕 望, 前島健作, 亀山統一, 佐藤征弥, 難波成任, 大島研郎: ホルトノキ萎黄病ファイトプラズマの種の同定(平成 29 年度日本植物病理学会大会, 岩手県盛岡市, 2017 年 4 月 26-28 日)
大島研郎, 前島健作, 難波成任: ファイトプラズマが植物形態を制御する分子メカニズム(第 27 回 植物細菌病談話会, 京都府京都市, 2016 年 10 月 24-25 日)
Maejima, K., Miura, C., Koinuma, H., Iwabuchi, N., Nijo, T., Kitazawa, Y., Neriya, Y., Himeno, M., Oshima, K., Namba, S.: Functional analysis of RpoD, a principle sigma factor conserved among sigma factor conserved among phytoplasmas, via an in vitro transcription assay. (21st International Congress of the International Organization for Mycoplasmaology, Brisbane, Australia, 2016 年 7 月 3-8 日)

〔図書〕(計 3 件)

前島健作, 大島研郎, 難波成任 (2016). ファイトプラズマの分類、性状 最新マイコプラズマ学, 近代出版, 61-65.
大島研郎, 前島健作, 難波成任 (2016). ファイトプラズマの植物病理 最新マイコプラズマ学, 近代出版, 66-71.
大島研郎 他 26 名 (2016). 植物医科学実験マニュアル, 大誠社, 422-432 (編集: 堀江博道, 橋本光司, 西尾 健)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

大島 研郎 (OSHIMA, Kenro)

法政大学・生命科学部・教授
研究者番号：00401183

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()