

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：82104

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14467

研究課題名（和文）植物病原菌のゲノムマイニングを加速する新手法・生合成時期改変法の確立

研究課題名（英文）Study on modification of secondary metabolite biosynthesis of plant pathogens

研究代表者

柏 毅（Kashiwa, Takeshi）

国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生物資源・利用領域・任期付研究員

研究者番号：60766400

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：微生物は、二次代謝によって様々な化合物を生産する。本研究では、植物に対して病気を引き起こす糸状菌が生産する二次代謝産物に関して、植物感染時の機能を解析するための手法を検討した。また、ゲノム情報が十分に整理されていない植物病原菌のゲノム解析等を進めた。加えて、効率的に植物体で病気を再現する手法の検討や、研究に適した宿主植物の系統の選抜を進めた。これらは、植物病原菌における二次代謝産物研究の基盤的情報としての利用が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年のゲノム科学技術の発展から、様々な微生物のゲノム配列情報が入手できるようになった。ゲノム配列からは大量の遺伝子の情報がもたらされるが、個々の遺伝子がどのような現象に関与するか、明らかになっていない場合がある。植物病原菌は、様々な病原性因子を利用して宿主への感染を確立すると考えられている。本研究成果は、植物病原菌における機能未知遺伝子の解析を進める上で、1つの有効な手段となり得る。

研究成果の概要（英文）：Microbes produce various small molecules by secondary metabolism. In this research, we tested the method to study secondary metabolite genes identified from plant pathogenic fungus. Also, genomic information for some plant pathogenic fungus was obtained. We designed new inoculation method to observe symptoms on host plants effectively. We selected appropriate plant varieties for the research. Taken together, we obtained basic knowledge for studying secondary metabolism of plant pathogenic fungus.

研究分野：植物病理学

キーワード：植物病原菌 二次代謝 ゲノム情報

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

微生物のゲノム情報は幅広い種で取得されており、オンラインデータベース等で公開され、利用可能となっている。植物に病気を引き起こす微生物に関しても、ゲノム情報が多数公開されており、これら情報を利用した研究が進められている。

ゲノム研究を推進するためには、ゲノム情報の取得だけにとどまらず、その情報を活用するための実験手法を確立する必要がある。具体的には、ゲノム情報から予測された遺伝子にコードされるタンパク質の活性をスクリーニングする手法や、それに適した研究材料の整備が挙げられる。これらの確立によって、植物と病原微生物の相関関係の理解を、より深化させることができる。

植物病原系状菌のゲノム中からは、他の系状菌と同様に、多数の二次代謝関連遺伝子の候補が見いだされる。しかし、最終生産物が明らかになっている遺伝子は一部である。植物病原系状菌が生産する二次代謝産物の中には、宿主への感染に利用される毒素等も含まれる。これらに加えて、未知の二次代謝産物が、植物と病原微生物の相関関係に影響を与えることも想定される。

これまで、機能未知遺伝子の解析には、遺伝子破壊によって病原菌の感染挙動が変化するかを確認する方法が中心的に用いられてきた。しかし、遺伝子産物の機能が重複、もしくは類似した遺伝子が同時期に発現し、感染に利用される場合、上記手法では表現型があらわれない場合がある。

本課題では、特に二次代謝関連遺伝子に関して、遺伝子にコードされる酵素群から生み出される化合物の活性をスクリーニングする新たな手法を検討した。また、病原菌の宿主植物への効率的な接種方法の検討、植物側の反応の解析を行いやすい宿主植物の系統の選定を進めた。

2. 研究の目的

本研究では、特に植物病原系状菌の二次代謝関連遺伝子に関して、生産物の植物に対する活性を調査する方法を検討した。また、様々な植物病原系状菌へ二次代謝研究を展開するために、これまでにゲノム情報が十分に収集されていない種を中心に、ゲノムシーケンスを取得、二次代謝研究の基盤を構築することを目的とした。このため、植物病原菌で二次代謝の研究を推進する際に必要な実験系の検討、および基盤情報の収集を進めた。

3. 研究の方法

1) 植物病原菌の二次代謝関連遺伝子の解析方法の検討

病原菌と宿主植物のゲノム情報等が十分に整備されているモデル実験系を利用した。病原菌の二次代謝改変株を植物に接種し、野生株と感染挙動を比較することで、生産される二次代謝産物の生物活性を推定した。

2) ゲノム情報の整備

ゲノム情報が公開されていない植物病原菌を中心として、ゲノム配列の取得を進めた。この際、ダイズの病原菌のゲノム情報を収集した。

3) 宿主植物を利用したスクリーニング系の構築

宿主植物(ダイズ)を利用した病気の再現手法が十分に確立されていないダイズ紫斑病菌を対象として、ダイズの葉における紫斑病の再現に時間がかかる問題を解消するため、ダイズの葉を切り取ってから温室で維持し、病気を短期間で再現する手法(葉片接種)を検討した。

4) スクリーニング系に利用できるダイズ品種の選定

ダイズ病原菌における変異株スクリーニング等を効率良く進めるため、病原菌に対して感受性を示す品種を選抜した。

4. 研究成果

1) 植物病原菌の二次代謝関連遺伝子の解析方法の検討

生産物が既知の二次代謝関連遺伝子に関して、生合成時期を改変した株を取得し、宿主植物における感染挙動等を調査した。その結果、生合成時期改変によって、野生株と比較して病原性が変化するケースを見出した。

2) ゲノム情報の整備

ダイズに感染する糸状菌のゲノム情報を収集し、それぞれのゲノムシーケンスから、二次代謝に関与することが推定される遺伝子を選抜した。

3) 宿主植物を利用したスクリーニング系の構築

葉片接種法では、病原菌接種から 10 日間ほどで、ダイズの葉に形成された紫斑病を観察することができる。病原菌の感染を短期間で再現できる手法は、変異株スクリーニング等の効率化に繋がる。

4) スクリーニング系に利用できるダイズ品種の選定

農研機構農業生物資源遺伝子バンクから分譲された 80 系統のダイズから、葉片接種で紫斑病が観察されやすい系統を選抜した。

ダイズは、様々な系統が存在し、個々に病原菌に対する反応性などが異なっている。このため、病原菌との相関関係の研究を実施するには、病原菌に対して感受性の系統を選抜する必要があった。本成果によって、今後の研究の基盤となる情報を整理することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Kashiwa Takeshi, Muraki Yukie, Yamanaka Naoki | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Near-isogenic soybean lines carrying Asian soybean rust resistance genes for practical pathogenicity validation | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 13270 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-70188-7 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|--|------------------|
| 1. 著者名 Kashiwa Takeshi, Lavilla Miguel Angel, Paleo Antonio Diaz, Ivancovich Antonio Juan Gerardo, Yamanaka Naoki | 4. 巻 未定 |
| 2. 論文標題 The use of detached leaf inoculation for selecting Cercospora kikuchii resistance in soybean genotypes | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 PhytoFrontiers | 6. 最初と最後の頁 未定 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1094/PHYTOFR-01-21-0002-TA | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 柏毅, 山中直樹 |
| 2. 発表標題 ダイズさび病抵抗性遺伝子の準同質遺伝子系統を利用したさび病菌の病原性比較 |
| 3. 学会等名 平成31年度日本植物病理学会大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|----------------------------------|
| 1. 発表者名 柏毅 |
| 2. 発表標題 世界中をフィールドとした微生物研究 |
| 3. 学会等名 日本植物病理学会関東部会 第15回若手の会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|