

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 10 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23658039

研究課題名（和文） 病原性因子を標的としたファイトプラズマ病の新規治療薬の開発

研究課題名（英文） Development of pesticide for phytoplasma disease targeting a virulence factor

研究代表者

難波 成任 (Shigetou Namba)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：50189221

研究成果の概要（和文）：ファイトプラズマの植物宿主への感染に関わる因子の一つである浸透圧チャンネル MscL を標的とした機能阻害実験を行ったところ、阻害剤処理後 3 週間において、ファイトプラズマ増殖量の部分的な減少が観察された。この結果は、MscL チャンネルの阻害が、ファイトプラズマ病の新規防除技術の開発につながる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We investigated a phytoplasma population in a plant host treated with an inhibitor of a mechanosensitive channel MscL. As a result, compared with the phytoplasma-infected plant supplied with inhibitor-free water, the growth of phytoplasma was partially suppressed by the inhibitor treatment at three weeks after phytoplasma infection. This suggests that the inhibition of MscL channel may contribute to the development of novel pest controls.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・植物病理学

キーワード：病害防除

1. 研究開始当初の背景

ファイトプラズマ (Phytoplasma 属細菌) は植物の篩部細胞内に寄生する病原細菌である。700 種以上の植物に感染する植物病原細菌であり、国内外で農業生産に甚大な被害を与えている。例えば 2001 年にはヨーロッパのリンゴ農園にファイトプラズマが大発生し、ドイツだけで 2 億 5,000 万ユーロ、イタリアでも 1 億ユーロの損失を与えた。早急な防除法の確立が求められているものの、培養が困難なことから形質転換系が利用できず、その生物学的性状の解明は立ち遅れていた。

2. 研究の目的

ファイトプラズマ病には特効薬が無く、また抵抗性品種も知られていないため、有効な

防除法が切望されている。本研究ではファイトプラズマの病原性に関わる因子を標的とし、その機能を阻害する低分子化合物を探索することで、ファイトプラズマ病に対する新規治療薬剤の開発に向けた基盤を構築することを目的とする。

3. 研究の方法

ファイトプラズマは植物・昆虫の両者に細胞内寄生し、昆虫（おもにヨコバイ）を介して植物から植物へと伝搬される。ファイトプラズマは宿主に応じて自身の遺伝子発現を調節していることが考えられたため、ファイトプラズマ感染植物、および感染昆虫より抽出した RNA を用いてマイクロアレイ解析を行った。その結果、多くの膜輸送体遺伝子群の発現変動が認められ、中でも遺伝子発現変動

の大きかった機械刺激受容チャネル MscL に焦点を当てた。ファイトプラズマは多くの代謝系遺伝子を欠失している一方で、膜輸送体遺伝子を複数コピー保持している。このことから、ファイトプラズマの膜輸送体は宿主細胞との物質的なやりとりを通じ、宿主との相互作用に重要な役割を果たしていることが考えられる。この仮説を検証するため、MscL の阻害剤である塩化ガドリニウム溶液 (1 mM) を植物体に底面給水させ、ファイトプラズマを接種した際の、菌体増殖量に与える影響を調査した。実験は3反復行い、ファイトプラズマ接種後4週間目まで7日ごとに葉を採取した。菌体増殖量は、tuf 遺伝子を標的とした定量 PCR によって測定した。塩化ガドリニウム非処理区におけるファイトプラズマ菌体量をコントロールとして比較解析を行った。

4. 研究成果

マイクロアレイ解析の結果、いくつかの膜輸送体遺伝子が植物感染時または昆虫感染時に発現が上昇していることが明らかとなった。中でも浸透圧調節に関わる機械刺激受容チャネル遺伝子 MscL の発現変動は顕著であり、昆虫感染時と比較して植物感染時で5倍高かった。このため MscL は、ファイトプラズマが植物篩部細胞内の浸透圧に適応するために重要な役割を果たしていることが考えられた。

そこで、ファイトプラズマの植物宿主への感染に関わる因子の一つである MscL を標的とした機能阻害実験を行った。MscL は、浸透圧調節に関わる機械刺激受容チャネルである。MscL チャネルの機能を阻害する塩化ガドリニウムを底面給水によって宿主植物へ投与し、ファイトプラズマ増殖量を定量 PCR を用いて測定したところ、阻害剤処理後3週間において、ファイトプラズマ増殖量の部分的な減少が観察された。この結果は、MscL チャネルが植物感染時におけるファイトプラズマの生存に重要な役割を果たしていることを示していると同時に、本研究により、感染・病原性に関わる因子の阻害が、ファイトプラズマ病の新規防除技術の開発につながる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計6件)

1. Miura, C., Sugawara, K., Neriya, Y., Minato, N., Keima, T., Himeno, M., Maejima, K., Komatsu, K., Yamaji, Y., Oshima, K., and Namba, S. (2012). Functional characterization and gene expression profiling of superoxide dismutase from

plant pathogenic phytoplasma. *Gene*, 510, 107-112. DOI: 10.1016/j.gene.2012.09.001

2. Sugawara, K., Himeno, M., Keima, T., Kitazawa, Y., Maejima, K., Oshima, K., and Namba, S. (2012). Rapid and reliable detection of phytoplasma by loop-mediated isothermal amplification targeting a housekeeping gene. *J. Gen. Plant Pathol.*, 78, 389-397. DOI: 10.1007/s10327-012-0403-9
3. Neriya, Y., Sugawara, K., Maejima, K., Hashimoto, M., Komatsu, K., Minato, N., Miura, C., Kakizawa, S., Yamaji, Y., Oshima, K., and Namba, S. (2011). Cloning, expression analysis, and sequence diversity of genes encoding two different immunodominant membrane proteins in poinsettia branch-inducing phytoplasma (PoiBI). *FEMS Microbiol. Lett.*, 324, 38-47. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2011.02384.x
4. Himeno, M., Neriya, Y., Minato, N., Miura, C., Sugawara, K., Ishii, Y., Yamaji, Y., Kakizawa, S., Oshima, K., and Namba, S. (2011). Unique morphological changes in plant pathogenic phytoplasma-infected petunia flowers are related to transcriptional regulation of floral homeotic genes in an organ-specific manner. *Plant J.*, 67, 971-979. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2011.04650.x
5. Oshima, K., Ishii, Y., Kakizawa, S., Sugawara, K., Neriya, Y., Himeno, M., Minato, N., Miura, C., Shiraiishi, T., Yamaji, Y., and Namba, S. (2011). Dramatic transcriptional changes in an intracellular parasite enable host switching between plant and insect. *PLoS One*, 6, e23242. DOI: 10.1371/journal.pone.0023242
6. Mitrovic, J., Kakizawa, S., Duduk, B., Oshima, K., Namba, S., and Bertaccini, A. (2011). The groEL gene as an additional marker for finer differentiation of 'Candidatus Phytoplasma asteris'-related strains. *Ann. Appl. Biol.*, 159, 41-48. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2011.00472.x

[学会発表] (計15件)

1. 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 Candidatus Phytoplasma asteris 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)
2. 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)
 3. 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)
 4. Namba S.: Molecular biological studies on phytoplasmal pathogenicity. (XV International congress of molecular plant-microbe interactions, 国立京都国際会館, 2012年07月29日~2012年08月02日)
 5. 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ー宿主スイッチングにおける網羅的遺伝子発現解析ー(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)
 6. 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)
 7. 煉谷裕太郎, 岩井涼, 滝波祐輔, 桂馬拓也, 前島健作, 大島研郎, 難波成任: poinsettia branch-inducing phytoplasma (PoiBI) の主要抗原膜タンパク質の発現解析(平成24年度日本植物病理学会大会, 福岡国際会議場, 2012年3月28-30日)
 8. 岩井涼, 姫野未紗子, 菅原杏子, 煉谷裕太郎, 小松健, 大島研郎, 難波成任: ファイトプラズマ感染ペチュニアにおける花芽分裂組織決定遺伝子の発現変動(平成24年度日本植物病理学会大会, 福岡国際会議場, 2012年3月28-30日)
 9. 姫野未紗子, 菅原杏子, 岩井涼, 煉谷裕太郎, 小松健, 大島研郎, 難波成任: ファイトプラズマ感染が花のホメオティック遺伝子の発現に与える影響(平成24年度日本植物病理学会大会, 福岡国際会議場, 2012年3月28-30日)
 10. 大島研郎, 三浦千裕, 湊菜未, 北沢優悟, 姫野未紗子, 前島健作, 難波成任: ファイトプラズマの網羅的遺伝子発現解析系の確立(平成24年度日本植物病理学会大会, 福岡国際会議場, 2012年3月28-30日)
 11. 三浦千裕, 湊菜未, 北沢優悟, 前島健作, 大島研郎, 難波成任: ファイトプラズマの植物-昆虫ホストスイッチングに伴う網羅的発現変動解析(平成24年度日本植物病理学会大会, 福岡国際会議場, 2012年3月28-30日)
 12. 湊菜未, 三浦千裕, 桂馬拓也, 北沢優悟, 前島健作, 大島研郎, 難波成任: ファイトプラズマ防除における機械刺激受容チャネル阻害の有効性(平成24年度日本植物病理学会大会, 福岡国際会議場, 2012年3月28-30日)
 13. Namba S.: New Developments in Molecular Biological Research on Plant-Pathogenic Mollicutes: A Tiny Phytoplasma with a Reduced Genome tricks a Giant Plant Industry. (5th Meeting of the Asian Organization for Mycoplasmaology, Nagasaki ken Medical Association, Japan, 2011年10月19-21日)
 14. Oshima, K., Minato, N., Miura, C., Neriya, Y., Shiraishi, T., Sugawara, K., Himeno, M., Kakizawa, S., Namba, S.: Molecular biological studies on phytoplasmal pathogenicity. (5th Meeting of the Asian Organization for Mycoplasmaology, Nagasaki ken Medical Association, Japan, 2011年10月19-21日)
 15. Oshima, K., Sugawara, K., Himeno, M., Adachi, T., Ishikawa, K., Takinami, Y., Namba, S.: Molecular mechanisms underlying the pathogenicity of phytoplasma (XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, Sapporo, Japan, 2011年9月6-10日)

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://papilio.ab.a.u-tokyo.ac.jp/planpath/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

難波成任（Shigetou Namba）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：50189221