

シンポジウム

## 第8回農薬バイオサイエンス研究会 「農薬科学の未来を考える—植物・微生物研究の最前線」

日時：平成22年12月3日（金）

場所：京都大学理学部セミナーハウス

主催：日本農薬学会 農薬バイオサイエンス研究会

(2011年8月8日受理)

第8回農薬バイオサイエンス研究会では、植物・微生物科学領域における最先端の研究にたずさわる4人の講師による講演が行われた。幅広い内容であったが、いずれの講演も興味深く、活発な質疑応答が行われた。さらに、講演終了後の交流会においても、引き続き情報交換ならびに研究者間交流が行われ、盛会のうちに研究会を終えることができた。以下にそれぞれの講演の概要を記す。

### 演題1「遺伝子ターゲティングによる新規変異体作出とその利用」

雑賀啓明<sup>1</sup>，遠藤真咲<sup>1</sup>，土岐精一<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> 農業生物資源研究所植物科学研究領域，

<sup>2</sup> 横浜市大木原生研)

Bispyribac Na (BS) は、アセト乳酸合成酵素 (ALS) を阻害する除草剤である。これまでに BS 耐性を示すイネの変異培養細胞が単離されており、その培養細胞では ALS 遺伝子に2つのアミノ酸置換を引き起こす変異が生じていることが知られている。この培養細胞から植物体に再生させることは不可能であったが、演者らは標的配列を計画通りに改変することができる遺伝子ターゲティング (GT) 技術を利用して、ALS 遺伝子にこの2点変異を導入した個体を得ることに成功した。獲得した改変型ホモの個体は顕著な BS 耐性を獲得しており、BS 感受性型の ALS が発現していないことが耐性の発現に必要なと考えられた。以上の結果は、除草剤耐性を付与するアミノ酸変異などの情報があらかじめ得られている場合、GT 技術が除草剤耐性作物の育種において極めて有効であることを示している。また、除草剤の標的タンパク質の構造が保存されている場合、除草剤耐性を付与する変異は予想可能と考えられ、例えば異種の植物や微生物で得られた除草剤耐性に関わる情報をもとに、GT により計画的に除草剤耐性作物を作出することも可能である。さらに標的タンパク質と除草剤の結合様式が

モデリングや結晶構造などを通して明らかになれば、除草剤耐性を付与するタンパク質を新規にデザインし、GT 技術によってこれを発現する作物を作出することもできると考えられる。演者らはこの考えに基づき、タンパク質工学から得られた情報を利用して、GT 技術による代謝改変を行い、トリプトファンを高蓄積するイネを作出することに成功した研究例についても示した。

### 演題2「メタボミクスによる寄生雑草選択的な防除ターゲットの同定とその応用展開」

岡澤敦司 (大阪大学大学院工学研究科  
生命先端工学専攻)

寄生雑草はアフリカを始めとする乾燥地帯を中心に、世界中の食糧生産に甚大な被害を与えている。人道的かつ経済的な見地から、世界中の研究者が、寄生雑草の制御について種々の試みを行っている。これらの試みにより寄生雑草の防除に関して、ある程度の成果が得られているが、その被害の根本的な解決法の策定には未だ至っていない。演者らは、特殊な生活環を有する寄生雑草に固有の代謝経路を阻害することで寄生雑草選択的な防除法の確立が可能であると考えた。本講演では、寄生雑草の発芽過程におけるメタボミクスから得られた固有代謝経路ならびにその阻害による発芽抑制効果についての最新の研究成果が示された。

ヤセウツボ (*Orobancha minor*) の発芽過程についてメタボミクスを行ったところ、いくつかの特徴的な代謝物の量が、寄生雑草の発芽刺激物質である合成ストリゴラクトン GR24 の投与後に顕著に変動することが見出された。これらの代謝物のうち、希少三糖であるゲンチアノースは GR24 投与後に著しく減少し、同時にその構成単糖であるグルコースおよびフルクトースが増加していた。ゲンチアノースは構造中に特徴的な  $\beta$ 1→6 結合を有していることか

ら、GR24 投与時に  $\beta$  グルコシダーゼの阻害剤であるノジリマイシン亜硫酸付加物 (NJ) を同時に投与したところ、ヤセウツボの発芽が NJ の濃度依存的に阻害されることが明らかになった。また、NJ の発芽阻害活性は寄生雑草のみに示され、ヤセウツボの宿主であるアカクローバーやモデル植物であるシロイヌナズナの発芽にはその影響が見られなかった。これらの結果から、ゲンチアノースの代謝阻害剤は寄生雑草選択的な除草剤として展開できる可能性が示された。さらに、NJ の作用点であると想定されるゲンチアノースの代謝経路やそれに関わる酵素についての最近の研究成果も紹介された。

### 演題 3 「植物病原糸状菌における感染戦略の理解と防除の試み」

池田健一 (神戸大学大学院農学研究科  
細胞機能構造学研究室)

植物病害を防除するために、これまで多様な農薬や抵抗性植物が開発されてきた。一方、病原菌は変異を繰り返しながらそれら防御網を掻い潜る進化を遂げ、薬剤耐性菌の出現や抵抗性品種の崩壊現象が繰り返している。この状況を克服するためには、植物病原菌の感染戦略を理解し、多様な作用点からなる多数の防除手段を用意する必要がある。

演者らは胞子伝搬性の植物病原糸状菌について、感染初期の宿主への接着と侵入の場面に着目し、病原性発現機構の解明を試みている。多くの植物病原糸状菌は宿主表面に胞子が接地後、発芽管伸長、付着器形成などの形態変化を駆使しながら植物細胞に侵入する。この一連の過程において、病原菌は宿主上に接着し続ける能力を発達させていた。この接着能力は、ヒドロフォビンや繊維状物質により生み出されることが、細胞学・分子生物学的手法により明らかにされた。この接着は、糖タンパク質分解酵素により剥離することができ、また、外界環境条件を制御することによっても、接着関連タンパク質の発現パターンを攪乱できることから、病原菌を剥離するという新たなアプローチによる防除法の可能性が示された。

さらに、演者らは病原菌の宿主への侵入過程に着目し、侵入部位の病原菌細胞において活性酸素 (ROS) が生成されていることを明らかにした。これまでに植物側の病害抵抗性反応における ROS 生成の重要性は示されてきたが、植物病原菌における ROS の機能はほとんど解析されてこなかった。ROS 生成阻害剤を処理すると病原性が失われたことから、ROS 生成が病原性に重要であることが判明し、さらに、遺伝子破壊実験により NADPH oxidase が宿主侵入に

関与していることが示された。

また、胞子伝搬せずに菌糸を伸展しながら感染を続ける紋羽病菌に対する防除法の研究についても紹介され、病原力低下作用を有する菌類ウイルスの利用

(Virocontrol; ヴァイロコントロール) に関する研究成果が示された。

### 演題 4 「植物病原糸状菌における二次代謝産物生合成と病原性—ゲノム解析からみた多様性と進化—」

児玉基一郎<sup>1,2</sup>, 赤木靖典<sup>1</sup>, 柘植尚志<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>鳥取大学農学部,

<sup>2</sup>農学部附属菌類きのご遺伝資源研究センター,

<sup>3</sup>名古屋大学大学院生命農学研究科)

地球上に存在する多種多様の菌類の中で、特定の植物病原菌が生物学的に大きなコストをかけて寄生能力を進化させてきた要因は、宿主植物というニッチを占有することの利点にある。本講演では、植物病原菌の病原性発現に関わる因子のうち、宿主特異的毒素 (host-specific toxin, HST) に焦点が当てられ、本因子の生合成の分子機構と多様性、および進化についての最新の研究成果が示された。トマトアルターナリア茎枯病菌 (*Alternaria alternata* tomato pathotype) が生産する AAL 毒素はポリケチド化合物であり、*Fusarium* 属菌由来マイコトキシンのフモニシンに化学構造・生物活性が類似している。AAL 毒素は感受性細胞にアポトーシスを誘起し感染を導くが、寄生植物オロバンキに対する除草剤としての活用も提案されている。AAL 毒素生合成遺伝子 (*ALT*) クラスターは、PKS 遺伝子 (*ALT1*) などを含む少なくとも 13 遺伝子群から構成されている。遺伝子ターゲティングの結果より、クラスター上のいくつかの遺伝子は、毒素生合成と同時に病原性発現に直接関与することが確認され、“毒素生合成遺伝子 = 病原性遺伝子”であることが証明された。*ALT* クラスターは、茎枯病菌系統が特異的に保有する 1.0 Mb の小型染色体に座乗していたが、本染色体は conditionally dispensable 染色体 (CDC) であり、HST 生産菌における“病原性染色体”と呼ぶにふさわしい。演者らは HST 依存植物病原菌の病原性の進化と多様性形成過程に、CDC の水平移動 (伝播) が関与しているとの作業仮説 (染色体水平移動説) を提唱しており、茎枯病菌 CDC の全塩基配列を決定することによって、病原性染色体の進化と病理学的役割について考察した。さらに、本菌全ゲノムのドラフトシーケンズ解析も進められており、ゲノムワイドでの二次代謝産物生合成・病原性関連遺伝子の同定に関する最新の研究成果が紹介された。

(宮下正弘 京都大学農学研究科)