

## 令和7年度 育英費受給者の研究報告概要

佐伯 靖将（東京農業大学大学院生命科学研究科博士後期課程 指導教員：矢嶋 俊介）

『ダイズシストセンチュウ防除に向けた宿主認識攪乱物質の構造活性相関研究』

阪田 さわ子（法政大学大学院理工学研究科修士課程 指導教員：大島 研郎）

『アジサイ葉化病ファイトプラズマの分泌タンパク質 HYDE5 の機能解析』

木村 莉央（茨城大学大学院農学研究科修士課程 指導教員：中島 雅己）

『L-メチオニン処理したキュウリにおける抵抗性発現機構に関する研究』

田中 智也（福井県立大学大学院生物資源研究科博士後期課程 指導教員：仲下 英雄）

『サリチル酸受容体非依存的な病害抵抗性シグナルの発現メカニズムの解析』

## ダイズシストセンチュウ防除に向けた宿主認識攪乱物質の構造活性相関研究

東京農業大学大学院 生命科学研究所 バイオサイエンス専攻

博士後期課程2年 佐伯靖将

ダイズシストセンチュウ (*Heterodera glycines*) はダイズやアズキなどのマメ科作物に寄生し、収量を大幅に低下させる重要害虫である。近年は薬剤抵抗性系統や抵抗性品種打破個体群の出現が問題となっており、新たな作用機構に基づく防除法が求められている。私はこれまでに、ダイズシストセンチュウの宿主認識受容体候補 rGCY-1a を標的として、宿主認識を攪乱する化合物 YS-1 を見出してきた。

本年度は YS-1 をもとに構造活性相関研究を進め、誘導体を設計・合成した。その結果、親化合物より EC50 ベースで約3倍高い活性を示す新規化合物 YSK-121 を作製した。さらに、YSK-121 はダイズシストセンチュウに対して高い活性を示す一方で、ネコブセンチュウには効果を示さず、極めて高い特異性を有することを確認した。

本成果は、シストセンチュウの宿主認識機構を選択的に標的化できる可能性を示すものであり、従来の防除技術を補完する新規作用機構型防除剤の開発につながる。今後は作用機構の詳細解明と土壌・ポット系での検証を進め、実用化を目指す。

## アジサイ葉化病ファイトプラズマの分泌タンパク質 HYDE5 の機能解析

法政大学大学院理工学研究科修士課程 2 年 阪田 さわ子

アジサイ葉化病ファイトプラズマ (*Candidatus Phytoplasma japonicum* JHP strain) はアジサイに感染し、がくや花卉に葉化などの症状を引き起こす師部局在性の病原細菌であり、タンパク質分泌システムの 1 つである Sec システムを利用して分泌タンパク質 HYDE5 を分泌し、植物に花器の異常を引き起こすことが知られている。卒業研究において、HYDE5 は植物の GATA 転写因子 (HAN, HANL1) をプロテアソームを介して、ユビキチン非依存的に分解することが明らかとなっていた。HYDE5 のホモログである AY-WB ファイトプラズマの分泌タンパク質 SAP05 も同様の機能を持っていることが知られている。さらに、HYDE5 は分解する宿主因子が限定的であるのに対して、SAP05 は幅広く相互作用、分解するという特徴を持つ。HYDE5 と SAP05 はそれぞれ、異なるファイトプラズマによって分泌されるエフェクターであるが、類似した機能を持つという点から発想を得て、HYDE5 と SAP05 の違いについて調べることを目的として、実験を進めることとした。

まず、HYDE5 発現株と SAP05 発現株の作出し、HYDE5 および SAP05 が植物に及ぼす影響を調査した。HYDE5 および SAP05 を接種した株ではコントロールと比較して草丈が有意に短くなっており、矮化症状が確認された。また、HYDE5 および SAP05 を接種した株では叢生症状が認められ、コントロールと比較して有意に枝分かれの回数が増加した。さらに、HYDE5 と SAP05 の間にも枝分かれの回数に有意な差があることも明らかとなった。

続いて、HYDE5 と SAP05 との間で枝分かれの回数に差があるということに着目し、その要因を探るため、SAP05 と HYDE5 の相互作用する宿主因子の違いを調べることにした。植物転写因子である GATA および SPL6 をいくつかの転写因子をピックアップし、酵母ツーハイブリッド法により SAP05 との相互作用を調べた。その結果、HYDE5 では相互作用が確認されなかった GATA8, 21, 24, 27 と SAP05 は相互作用することが示唆された。GATA 転写因子は個々の機能は不明な点が多く残されているが、植物の成長や形態に関わると考えられており、HYDE5 と SAP05 が引き起こす叢生症状の強さの違いは、この相互作用相手の数の違いに起因していることが推測される。

加えて、HYDE5 や SAP05 を接種したタバコでは、蕾が形成されても枯れてしまうという結果も得られた。これは花の器官形成に関わる HAN および HANL1 が HYDE5 によって分解されることが原因である可能性が考えられる。これらの結果から、HYDE5 には植物の生殖成長を阻害し、自身の感染する宿主が枯れないように長続きさせるというファイトプラズマならではの機能があると考察された。

## L-メチオニン処理したキュウリにおける抵抗性発現機構に関する研究

茨城大学大学院 農学研究科 修士課程2年 木村莉央

L-メチオニン (L-Met) 溶液の葉面散布処理は複数の植物で抵抗性を誘導し、発病抑制効果を示すことが報告されている。また、L-Met は病原菌に直接作用しないことから、耐性菌が現れるリスクが低く環境に配慮した防除ができる可能性を有している。本研究では、キュウリ植物の主要な病害である灰色かび病、つる割病、炭疽病を対象として、L-Met 処理による発病抑制効果と抵抗性発現機構について調査した。

灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*) を用いた接種試験では、100 ppm の L-Met 処理区で灰色かび病の病斑径が有意に縮小した。同処理区では *B. cinerea* の侵入率が有意に低下しており、接種部位において過酸化水素の蓄積がより多く見られた。さらに、活性酸素を消去するアスコルビン酸を接種液に添加したところ、L-Met 処理の効果が抑制される結果が得られた。RT-qPCR 解析で抵抗性関連遺伝子の発現を調査したところ、対照処理区と L-Met 処理区の発現レベルに有意差は見られなかった。以上の結果より、L-Met 処理による灰色かび病抵抗性は感染時における過酸化水素の蓄積促進によることが示唆された。

キュウリつる割病菌 (*Fusarium cugenangence*) を用いた接種試験では、接種前みのみの L-Met 処理では発病抑制効果が見られなかった。そこで、病原菌接種後も L-Met 処理を1週間間隔で継続的に行なったところ、100 ppm の L-Met 処理区でつる割病の発病が有意に抑制された。病原菌接種後のキュウリ根における過酸化水素を検出したところ、接種 24, 48 時間後では L-Met 処理区で過酸化水素のより多い蓄積が観察されたが、接種 72 時間後では対照処理区と同程度の蓄積であった。以上の結果から、キュウリへの L-Met 処理はつる割病に対する抑制効果を示し、その効果は長期間持続しないことが示唆された。

キュウリ炭疽病菌 (*Colletotrichum orbiculare*) を用いた接種試験では、100 ppm の L-Met 処理区で炭疽病の病斑進展抑制が確認された。同処理区では付着器を形成した *C. orbiculare* 分生子の割合が減少しており、接種部位において過酸化水素の蓄積がより広範囲に見られた。以上より、L-Met 処理によって感染部位での活性酸素の産生が促進され、付着器形成率が低下することで病斑の進展が抑制された可能性が推察された。

## 報告書(要約版)

福井県立大学大学院 生物資源学研究科 田中智也

### 【研究テーマ】

サリチル酸受容体非依存的な病害抵抗性シグナルの発現メカニズムの解析

### 【研究成績概要】

植物に対する一過的な高温処理 (HS 処理) は、サリチル酸 (SA) シグナルを介した病害抵抗性を誘導することが明らかとなっており、これを利用した病害防除技術が施設園芸で利用されている。HS 処理は SA 受容体である NPR1 非依存的な病害抵抗性を誘導するが、そのメカニズムは未解明である。これまでに、NPR1 のパラログである NPR3 および NPR4 が NPR1 非依存的なシグナルを抑制することを明らかにしている。そこで、本研究では NPR3 および NPR4 による NPR1 非依存的シグナルの抑制メカニズムを明らかにすることを目的とした。

*npr1* バックグラウンドにおける NPR3、NPR4 の過剰発現株 (*35S::NPR3 npr1*、*35S::NPR4 npr1*) および三重変異株 *npr1/npr3/npr4* を用いた解析の結果、NPR3 および NPR4 は NPR1 非依存的シグナルにおける SA の生合成を抑制することが明らかとなった。RNA-seq による *npr1* 株および過剰発現株間の遺伝子発現プロファイルの比較解析から、NPR3 および NPR4 が NPR1 非依存的シグナルを直接抑制する可能性に加え、ABA シグナルを活性化することによりシグナルを抑制する可能性が示された。また NPR3 および NPR4 は芳香族アミノ酸や GSH 代謝を抑制することにより NPR1 非依存的シグナルを抑制することが示唆された。これらの研究結果から、NPR3 および NPR4 による NPR1 非依存的病害抵抗性シグナルの抑制機構の一端が示され、NPR1 非依存的な病害抵抗性の発現には、NPR3 および NPR4 によるこれらの抑制機構が働かないことが重要であると考えられた。