

教室紹介

東北大学 大学院農学研究科 応用生命科学専攻
植物病理学分野

高橋英樹

〒 981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1

TEL: 022-717-8655

FAX: 022-717-8659

E-mail: takahash@bios.tohoku.ac.jp

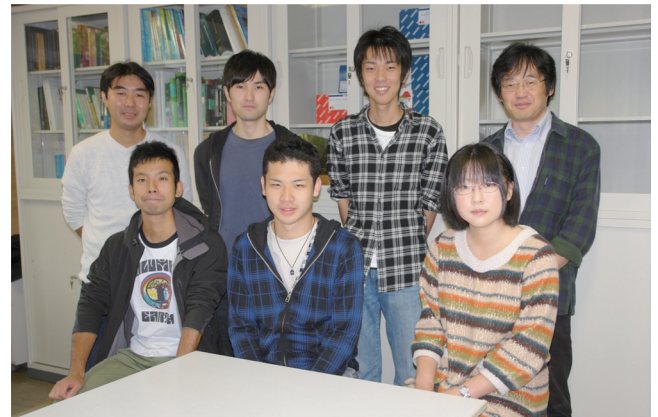
Homepage: [http://www.agri.tohoku.ac.jp/
j030100/id0026.html](http://www.agri.tohoku.ac.jp/j030100/id0026.html)

はじめに

私が担当している植物病理学分野では、これまで、植物に病気を引き起こす病原体の病原性や宿主の防御応答システムに関する基礎的研究から、農業現場における病害防除技術についての応用的研究まで、幅広い課題を対象に研究・教育を行ってきました。植物ウイルスは主要な病原体のひとつですが、農業生産に甚大な被害を与えるにもかかわらず、有効な農薬が存在しません。そこで現在の研究室では、ウイルス感染に対する宿主の防御システムを徹底的に解明し、植物の自然免疫機構を介したウイルス病防除の具体的な手段を見出すことを中心テーマとして、日夜研究を行っています。

研究室の沿革

東北大学農学部は、戦後の昭和22年に、国内における安定した食料生産体制の確立と、その基盤となる農学研究の発展を目的に設立されました。植物病理学講座は、昭和24年4月に同農学部開設された4学科21講座の中のひとつです。植物病理学講座には、農林水産省農業技術研究所から教授として田杉平司氏が、助教授として三澤正生氏が着任され、主に当時の東北地域に発生する各種作物の主要な糸状菌・細菌病害（特にイネいもち病）について多様な研究が進められました。昭和35年、三澤先生の教授昇任を期に、研究室の主要テーマは、有効な防除手段が見出されていない植物ウイルス病の研究へと移行しました。中でも宿主範囲が広く、被害が大きいキュウリモザイクウイルス（CMV）について、侵入から増殖に至る感染機構の研究が行われました。動物ウイルスの世界では、CMVとはもちろんCytomegalovirusですが、植物ウイルスではプラス1本鎖RNA分節ゲノムをもつキュウリモザイクウイルスを示します。昭和52年に山中達教授（3代教授）のもとでは、電子顕微鏡を駆使したCMV感染細胞における組織形態学的な研究が盛んに行われました。昭和59年に



研究室のメンバー

昇任された江原淑夫教授（4代教授）は、CMVの感染・発病機構に関する分子レベルでの研究を展開され、病原性に関わるウイルス遺伝子の同定とコードタンパク質の機能に関する研究が大きく進展しました。その後、池上正人教授（5代教授）を経て、平成11年からは、高橋が研究室を担当しております。現在の研究室は、安藤杉尋助教と私の2名のスタッフに、修士課程の大学院生が4名、学部学生2名で、昨年4月からこの新体制でスタートしたばかりです。

私は、学生時代に江原教授のもとでCMV感染により誘導されるモザイク病徴の発現機構について、分子生理学的なアプローチから研究を行いました。その後、三菱化学(株)植物工学研究所を経て、同植物病理学講座に助手として採用され、CMVの感染・発病機構に関する研究を継続しました。当時は、分子生物学的な手法を用いて、ウイルスゲノムの構造解析や感染性クローンの作成が盛んに行われ始めた時期で、その技術をCMV研究に適用し、病原性や病徴発現に関わるウイルスタンパク質の機能解析を行いました。一方で、宿主の応答をゲノムレベルで解析することが容易ではない時代ではありましたが、ウイルスと宿主の相互作用に興味をもっていたことから、植物においてはじめて全ゲノム塩基配列が決定されたシロイヌナズナを積極的に取り入れ、CMV-シロイヌナズナ感染系を軸に、ウイルスと宿主の両面から研究を展開できるようになりました。平成6年には東京農工大学に転出し、その後米国Rutgers大学ワクスマン研究所のDaniel F. Klessig教授のもとで、ウイルス防御応答に関わるシグナル伝達物質であるサリチル酸の受容体タンパク質について研究を行いました。平成10年にはふたたび東北大学に戻り、それまでの経験をもとに、CMVと宿主の両面から、病原性と抵抗性の分子メ

カニズムに関する基盤研究を展開しています。

研究内容

キュウリモザイクウイルス (CMV) は約 800 種の植物に感染し、農業生産に甚大な被害を及ぼす重要なウイルスで、病原性が異なる様々な系統が存在します。この宿主範囲の広さとウイルス系統の存在が、CMV の病原性と宿主の抵抗性を解析する上で、優れた実験系を提供してくれます。すなわち、宿主植物に異なる応答を誘導する CMV 系統のウイルスゲノムを比較解析すれば、病原性や宿主抵抗性を決定するウイルス遺伝子が決定できますし、ある CMV 系統に異なる応答を示す宿主品種 (野生植物ならば生態型) を比較解析すれば、病徴発現や罹病性応答に関わる宿主因子の同定や CMV 抵抗性遺伝子をクローニングすることが可能になるわけです。

1. CMV 抵抗性遺伝子 *RCY1* の単離

全ゲノム情報が明らかになっているシロイヌナズナは CMV の宿主のひとつです。シロイヌナズナの生態型 Col-0 は CMV (Y) 系統に罹病性ですが、生態型 C24 は抵抗性を示すことから、この Col-0 と C24 の交配後代を用いて Map-based cloning により CMV 抵抗性遺伝子 *RCY1* [*Resistance to CMV (Y)*] を単離しました。この *RCY1* は、Coiled coil (CC) -nucleotide binding (NB) -leucine rich repeat (LRR) ドメインを持つ分子量約 104kDa のタンパク質をコードしており、CMV の外被タンパク質を認識して、ウイルス感染細胞のプログラム細胞死を伴う防御応答を制御していることが明らかになりました。現在では、*RCY1* タンパク質を含む植物の NB-LRR タンパク質群が、動物の自然免疫に関わる NOD タンパク質ファミリーに対応する役割を担っており、ウイルスのみならず植物病原糸状菌・細菌に対する自然免疫機構の鍵となる機能を果たしていると考えられています。この *RCY1* は、ウイルス抵抗性遺伝子の中で、世界的に見ても比較的初期に単離された遺伝子であったことから、その後の私たちは、国外における同分野の研究グループに対して、独自性を生かして優位にウイルス抵抗性の研究を進めることができるようになりました。

2. *RCY1* タンパク質の機能解析

CMV 抵抗性における *RCY1* タンパク質の具体的な機能解明は、植物ウイルス感染に対する宿主の防御応答システムを明らかにする上で、核心となる課題です。そこで現在の研究室メンバーは、この *RCY1* タンパク質の機能解析に精力を注いでいます。その結果、(1) CC, NB, LRR ドメインへの変異導入による機能喪失の解析から、3つのドメインが *RCY1* のはたらきに必須であること、(2) *RCY1* の対立遺伝子であるアブラナ科ベと病菌抵抗性遺伝子 *RPP8* と

のドメイン置換により作成した *RCY1/RPP8* キメラ遺伝子を用いた解析から、LRR ドメインが CMV の認識を決定していること、(3) *RCY1* タンパク質の CMV 認識によってプログラム細胞死を伴う防御システムが活性化されると、*RCY1* タンパク質の自己分解により、同システムの過剰な活性化を抑制する自己制御システムが存在することが明らかになりました。しかし、*RCY1* タンパク質と相互作用することによりその活性を調節している宿主タンパク質や、下流シグナル伝達に関わる宿主タンパク質は未だ同定されておらず、*RCY1* タンパク質複合体の単離とその構成因子の解析が現在進行中です。

3. *RCY1* の下流で機能するシグナル伝達系の解析

シロイヌナズナでは各種シグナル伝達系に異常をきたした変異体が多数単離されていることから、*RCY1* を持ちながらシグナル伝達系に異常をきたした変異体シリーズを作出し、CMV に対する応答を解析してみました。その結果、植物ホルモンであるサリチル酸 (SA) やエチレンを介したシグナル伝達系が、CMV 抵抗性には必要であることや、その SA シグナル伝達系は、ジャスモン酸 (JA) シグナル伝達系と拮抗的にクロストークしているなどの新しい知見が明らかになりました。以上の結果より、CMV 感染シロイヌナズナにおいては、*RCY1* タンパク質が LRR ドメインを介して外被タンパク質を認識することによって引き金が引かれ、SA とエチレンを介したシグナル伝達系の活性化と、JA シグナル伝達系の抑制を介して、一連の防御関連遺伝子の発現が上昇することにより、CMV 抵抗性が誘導されるとの作業仮説を導き出すことができました。シロイヌナズナでは、遺伝子破壊系統やアクティベーション系統が整備され、RNAサイレンシングや非コード RNA を介した遺伝子発現に関わる変異体も充実していることから、今後はそれらを利用して *RCY1* の下流で機能しているシグナル伝達因子をひとつずつ明らかにできるものと期待しています。

4. *RCY1* 形質転換体の作出とウイルス抵抗性評価

単離された *RCY1* 遺伝子を、CMV モザイク病防除のために活用しようと考え、HA タグ配列を付加した *RCY1* をコードするベクター (*RCY1*-HA) を構築し、*RCY1*-HA を安定的に発現する形質転換シロイヌナズナを作出しました。この形質転換体は、すべて CMV 抵抗性を示しましたが、その抵抗性レベルと *RCY1*-HA タンパク質の蓄積量の関係を解析したところ、抵抗性の強度と *RCY1*-HA の蓄積量に正の相関が認められました。すなわち、*RCY1* により制御される CMV (Y) 抵抗性は、植物の健全状態での *RCY1* タンパク質の蓄積量によって特異的に制御されており、その蓄積量を上昇させることにより、CMV 抵抗性の強度を増強させることができると考えられました。現在、

この *RCY1* を他の植物種（ナス科トマト、マメ科ダイズなど）に導入して得られた形質転換体を用いて、植物の“科”を越えて *RCY1* タンパク質が機能するのか、あるいはウイルス抵抗性は付与できるのかについて、さらに研究を進めているところです。

おわりに

日本ウイルス学会の会員の方々の多くは、動物ウイルスを研究対象とされていることと思います。そのような状況の中、植物ウイルスを対象としている私たちの研究室の紹

介をする機会を与えていただいたことに心から感謝申し上げます。ウイルスが感染して病気を引き起こす宿主の種類によって、研究領域が分かれてしまうことは仕方のないことなのかもしれませんが、ウイルスの複製機構や宿主の RNA サイレンシングによる防御システムなど、動物ウイルスと植物ウイルスで共通の視点から研究を行うことができるトピックもあるものと思います。今後、宿主の生物種を越えたウイルス研究が発展し、研究者の交流が活性化されることを心から期待しております。