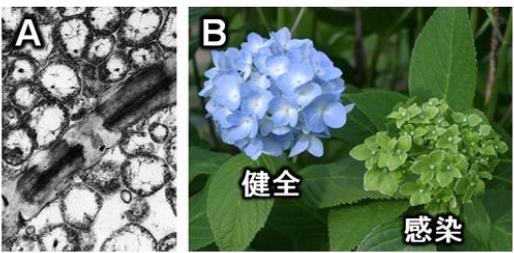
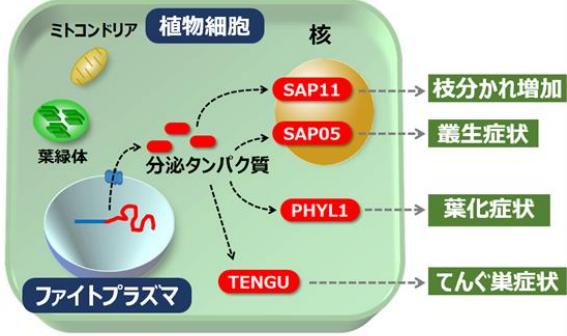


2024年度若手研究者共同研究プロジェクト実施報告書

法政大学総長 殿

以下のとおり研究実施報告書を提出します。

基 本 情 報	研究課題名 : アジサイ葉化病ファイトプラズマの病原性因子の探索と機能解析
	研究代表者氏名 : 遠藤 藍
	【在籍者】 研究科・専攻・学年 :
	【修了者】 所属・職種 : 生命科学部 応用植物科学科・教務助手
	指導教員(所属・職・氏名) : (※在籍者のみ記入)
	共同研究者(所属・職・氏名) : 生命科学部 応用植物科学科・教授・大島 研郎 (※指導教員と同人の場合は記入不要)
	その他 研究分担者 :
	研究期間 : 2024年度 ~ 2026年度 (※研究終了年度を記載)
	※研究計画の進捗状況を中心に今年度の研究実施状況を記載してください。 ファイトプラズマ (<i>Phytoplasma</i> 属細菌) は、植物の師部細胞に寄生して病気を引き起こす、植物病原細菌である。1000種以上の植物に感染し、世界中で深刻な被害を与えている。さらに、花を葉に変える「葉化病」や、枝分かれを増やす「てんぐ巣病」など、植物の形を変えるユニークな特徴を有している(図1)。
	年間の研究実施概要 ファイトプラズマはどのように植物の形態を操り、病気を引き起こしているのか? その宿主を操作する分子的なメカニズムには、長年にわたり興味が持たれている。ファイトプラズマは植物の細胞内に寄生して様々な病徴を引き起こすことから、ファイトプラズマが分泌するタンパク質が宿主の細胞質で直接的に機能することによって、病原性に関与すると考えられている(図2)。
	
図1. ファイトプラズマの細胞と病徴 A. 植物細胞内に寄生するファイトプラズマ B. 左: 健全なアジサイ、右: ファイトプラズマ感染により葉化したアジサイ	図2. 分泌タンパク質の働き ファイトプラズマは植物細胞内にタンパク質を分泌することにより、植物に病気を引き起こす。

本研究で扱うアジサイ葉化病ファイトプラズマ *Candidatus Phytoplasma japonicum*, Japanese *Hydrangea phyllody* phytoplasma strain (JHP) は、アジサイに感染し、がくや花弁に葉化などの症状を引き起こす(図1)。本研究では、未だ病原性因子が不明なアジサイ葉化病に焦点を当て、植物の形態形成に影響を与える新たな分泌タンパク質の機能を解明することを目的とした。

本研究では JHP の遺伝子情報から発見した分泌タンパク質 HYDE5 の機能を解析した。まず、HYDE5 が植物細胞内のどこで機能しているのかを調べるために、HYDE5 の細胞内局在を解析した。HYDE5 と黄色蛍光タンパク質 YFP の融合タンパク質を発現するプラスミドを作製し、アグロバクテリウムに導入した。アグロバクテリウムは植物に感染すると、自身が持つ遺伝子の一部を植物の染色体に組換える性質を持つ。この性質を利用して、モデル植物であるタバコにアグロバクテリウムを感染させ HYDE5-YFP 融合タンパク質を発現させた。YFP 蛍光を観察した結果、HYDE5 は主に細胞質に局在することが示された。次に、酵母ツーハイブリッド法により宿主因子の探索を行った。この過程では、モデル植物のシロイスナズナが発現する様々なタンパク質と HYDE5 が相互作用するのかを試験した。その結果、HYDE5 は GATA 転写因子のひとつである HAN と相互作用することが示唆された。酵母細胞内での相互作用が確認できしたことから、BiFC 法を用いて植物細胞内における相互作用の観察を試みた。HYDE5 と HAN をタバコ細胞内で同時に発現させ、タンパク質が結合すれば YFP 蛍光が観察されると考えられたが、蛍光は観察されなかった。そこで、ウェスタンブロッティング法により HAN を検出した結果、HYDE5 は HAN の分解を誘導することが示唆された。

通常、細胞内でタンパク質を分解する際には、不要なタンパク質にユビキチンが結合し、プロテアソームを介することで分解が行われる。そこで、HAN の分解にプロテアソームが関与しているのか調べるために、プロテアソーム阻害剤を用いた分解能試験を行った。また、酵母ツーハイブリッド法によるプロテアソーム構成因子との相互作用試験を行った。この結果、HYDE5 は プロテアソーム構成因子 RPN10 と直接結合し、ユビキチン化を介さずにプロテアソームへと導くことで HAN の分解を誘導する可能性が示唆された。

さらに、フラワーディップ法により HYDE5 を発現する遺伝子組換えシロイスナズナを作出したところ、花弁や雄蕊が減少するなどの表現型が観察された。以上の結果より、HYDE5 は HAN などの GATA 転写因子を分解することで、花器官の形成に影響を及ぼす可能性が示唆された(図3)。

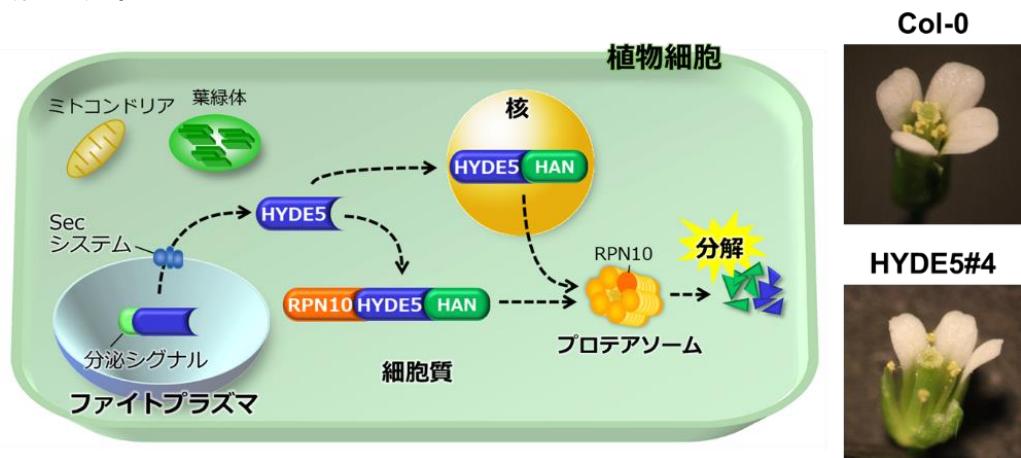


図3. JHP による HAN の分解メカニズム概略

HYDE5 は HAN の分解を誘導することにより、花器官の形成異常に関与すると考えられる。

今後は、HYDE5 の分解メカニズムをより詳細に解析するとともに、形態形成に影響を与える新たな分泌タンパク質を探査し、その機能を解明したい。

研究業績	成果発表（学会・論文・研究会等）		
	学会・論文・研究会等の別	タイトル	発行または発表年月
	The International Phytoplasmologist Working Group Workshop 2025 （国際学会）	Characterization of the membrane protein of onion yellows phytoplasma that has a domain of Deg/HtrA family protease	2025年2月
その他（アピールすることがあればご記入ください。）			