

令和 6 年 1 月 18 日
岡 山 大 学
農 研 機 構
理 化 学 研 究 所
九 州 大 学
岡 山 県

ブドウを根頭がんしゅ病から守る！ 拮抗細菌が根頭がんしゅ病を抑制する仕組みを解明 ～病原細菌に感染する頭部を欠いたファージ尾部様粒子 rhizoviticin を発見～

◆発表のポイント

- ・根頭がんしゅ病は病原細菌によって引き起こされるブドウの重要病害です。岡山県農林水産総合センターでは、この病原細菌に対し抗菌効果を持ち、同病を抑制できる拮抗細菌を特定していましたが、その作用機序は不明でした。
- ・今回、その抗菌効果の実体が、頭部を欠いたファージ尾部様粒子（通称 テイロシン）であることを突き止め、rhizoviticin（リゾビティシン）と命名しました。
- ・本研究は、テイロシンが拮抗細菌の防除効果の原因であることを示した初めての例です。拮抗細菌の生物農薬としての利用促進、さらなる有用細菌の選抜、テイロシンによる防除法開発などが期待されます。
- ・rhizoviticin はアルファプロテオバクテリア綱では初のテイロシン発見例で、そのゲノム構造は既知のテイロシンと異なることから、テイロシンの起源や進化を知る鍵になりえます。

岡山大学大学院環境生命科学研究科の石井智也大学院生（当時）、齋藤晶大学院生（当時）、Niarsi Merry Hemelda 大学院生（博士後期課程 3 年）、農学部の土田菜月学部生（当時）、大学院環境生命自然科学研究科の包継源大学院生（博士後期課程 1 年）、学術研究院環境生命自然科学学域（農）の渡邊恵非常勤研究員（当時）、能年義輝教授と農研機構西日本農業研究センターの川口章上級研究員、理化学研究所環境資源科学研究センターの佐藤繭子技師、豊岡公德上級技師、石濱伸明研究員、白須賢副センター長、九州大学大学院医学研究院の林哲也教授らの共同研究グループは、ブドウの重要病害である根頭がんしゅ病を抑制できる拮抗細菌が、頭部を欠いたファージ尾部様粒子によって根頭がんしゅ病の病原細菌を溶菌することで防除能を発揮する仕組みを明らかにしました。本成果は日本時間 1 月 18 日午前 9 時、国際微生物生態学会の科学雑誌「*The ISME Journal*」にオンライン掲載されました。

根頭がんしゅ病は土壌に生息する植物病原細菌によって引き起こされ、化学農薬での防除が難しい病害です。このような病害には拮抗微生物（生物農薬）が有効です。岡山県農林水産総合センターではブドウ根頭がんしゅ病を極めて強力に抑制する拮抗細菌を特定していましたが、今回その作用機序が明らかになったことで、拮抗細菌の生物農薬としての利用や、さらに有望な菌株の単離に道が拓け、世界のブドウやワイン生産の安定化への貢献が期待されます。

PRESS RELEASE

◆研究者からのひとこと

岡山県農林水産総合センターが誇る有用微生物である拮抗細菌の作用メカニズムを、多くの学生のバトンリレーと強力な共同研究者のご協力により、ようやく解明することができました。責任を果たせてホッとしています。今回見出したテイロシンはその構造や特徴がユニークで、基礎科学的にも重要な発見を世界に発信できたことは研究者冥利に尽きます。農業現場は研究材料の宝庫ですね。各データを振り返ると、それぞれの学生が困難を乗り越えて捻出した発見の日々が思い出され、大学教員として人生に刻まれる感慨深い研究成果になりました。



能年教授

■発表内容

＜現状＞

ブドウは生食やワイン原料として世界的に重要な果樹であり、バナナとリンゴに次ぐ生産量を誇ります。このブドウ生産を脅かす植物病害のひとつが根頭がんしゅ病です（図1）。根頭がんしゅ病はブドウ以外にも様々な植物種で発生しますが、原因は土壌に生息するリゾビウム属（アグロバクテリウム）の病原細菌です。この細菌は植物の傷口から侵入し、その後全身に移行して、各所で病原性に関する遺伝子群を植物細胞内に送り込んでゲノムに挿入します（なお、この能力は植物の遺伝子組換えに利用されています）。そしてその働きによって、植物細胞は植物ホルモンを合成させられて異常増殖（がん化）し、そこで細菌の餌も作られます。これにより植物は弱り、枯死に至ります。圃場において病気が発生した植物は排除されますが、樹木は生長に時間を要するため、新たな樹を補填することができず、生産量が低下し改植時期にも影響します。

化学農薬は散布しても土中に届かないため、同病の防除には不向きです。そのような病害に対しては生物農薬が有効な場合があります。これは病原微生物にダメージを与える微生物を用い、病原微生物を駆逐することで病気の発生を抑制する方法です。バラ、キク、リンゴなどの根頭がんしゅ病に有効なバクテローズという生物農薬があります。これは病原細菌と同じリゾビウム属の細菌を利用した農薬ですが、病原性を持たないもので、抗菌性の化合物により病原細菌を殺します。ただしブドウに対する効果は弱いため使えませんでした。一方、岡山県農林水産総合センターではブドウ根頭がんしゅ病の原因細菌調査の過程で、同病を抑制する活性を持つ拮抗細菌を複数特定していました。そのうちのひとつが、病原細菌（*Allorhizobium vitis* Ti 株）と同属同種で非病原性の菌株 *Allorhizobium vitis* VAR03-1 です（参考文献1）。能年教授らのグループは、これまでの研究において、同菌が病原細菌を溶菌させる物質を放出しており、それが巨大なタンパク質複合体と推定されるところまで明らかにしていましたが、その実体は未解明でした（参考文献2）。

＜研究成果の内容＞

今回、能年教授らのグループは、拮抗細菌が頭部を欠いたファージ尾部様粒子（通称 テイロ

PRESS RELEASE

シン)によって病原細菌を溶菌することで病害防除効果を発揮していることを突き止め、rhizoviticin (リゾビティシン)と命名しました。自然界において、特に栄養源や生息域を同じくする同属同種の細菌同士はせめぎ合っており、互いの生育を抑える抗菌性の化学物質やバクテリオシン(近縁種に作用する抗菌性ペプチドやタンパク質)を発達させています。テイロシンは、ファージ(細菌に感染するウイルス)がバクテリオシンに進化したものです。ファージには様々なタイプが存在しますが、多くは遺伝情報を収納する頭部(ヘッド、カプシド)と尾部(テイル)(筒状の鞘と細胞に取り付くための尾繊維)で構成されます(図2)。各要素は複数のタンパク質で構成され、それらをコードする遺伝子はファージゲノムに連なって座乗し、その上流域によって発現が制御されます(図2)。ファージゲノムはしばしば細菌のゲノム中に組み込まれて潜んでいます(溶原化、プロファージ)、テイロシンは異なる2つのプロファージが組換えを起こし、偶然ヘッドに相当する遺伝子群が欠落することで生じたと考えられています(図2)。この筒状のテイロシンは、近縁細菌種に取りつくと細胞内外を貫通する穴となるため、通常ファージとは異なり、細菌を死滅させる程の毒性を発揮します(図3)。このrhizoviticinに関連する遺伝子を欠損させたVAR03-1株を用いて実験したところ、病原細菌に対する溶菌活性を喪失し、植物上(トマトとブドウ)でのがんしゅ抑制能も大きく低減することが分かりました(図3)。

Rhizoviticinはアルファプロテオバクテリア綱という細菌の分類群では初のテイロシンの発見例です。これまでに知られているテイロシンの遺伝子発現制御領域は数個の遺伝子のみからなる短いものでしたが、rhizoviticinのそれは長く、ファージの複製に関わるような遺伝子群も含まれており、それらもテイル関連遺伝子群の発現に必要でした(図2)。また、ファージゲノムの溶原化に関わる組換え酵素(インテグラーゼ)遺伝子の痕跡も残っていました。この事実から、rhizoviticinはおそらく比較的最近誕生したもので、不要な部分が削ぎ落とされた成熟テイロシンになる途上に位置づけられるものと推測されました。植物病害を抑制できる拮抗細菌のうち、これまでに調べられたものの責任因子はいずれも抗菌性化合物でしたが、今回の発見により、テイロシンも拮抗細菌の有効成分になることが示されました。

<社会的な意義>

テイロシンの発見は、1960年代に日本人研究者である景山真博士らが中心となって精製・解明した*Pseudomonas*属細菌のpyocinに遡ります。非柔軟性テイル(真っ直ぐなテイルと大きなファイバーを持つ宇宙船のような見慣れたファージ)を持つR型pyocinに加え、柔軟性テイルを持つF型pyocinが発見され(参考文献3)、その後複数のテイロシンが報告されてきました。これまでに知られたテイロシンの多くはR型であり、rhizoviticinは3例目のF型テイロシンです。環境中のゲノム配列を網羅的に取得できるようになったことで、自然界のマイクロバイーム(細菌集団)やバイローム(ウイルス集団)の様相が明らかになりつつあります。rhizoviticinは、テイロシンの起源や進化に加え、テイロシンやバクテリオファージの遺伝子発現調節機構の解析材料になるとともに、新たなテイロシンの発見やバイロームの理解の礎となることが期待されます。

微生物農薬は自然界の微生物同士の競合作用を利用する病害防除法です。拮抗細菌には、宿主植物の根圏や表面に定着し、そこで防除対象となる病原細菌に対する抗菌作用を発揮する能力が求められます。今回、テイロシンが生物防除法の有効成分として機能することが明らかになったことか

PRESS RELEASE

ら、対象作物の根圏から病原細菌と同属同種でテイロシンを持つ菌株を探せば有用細菌の迅速選抜が可能になるかもしれません。また、テイロシンは特定の細菌のみに限定的に作用するタンパク質性の因子であり、環境微生物や人体への影響が比較的少なく見積もられることも利用促進の好材料になりそうです。その意味では、テイロシン自体を利用したファージセラピーのような防除法の検討も考えられるでしょう。

■参考文献

1. 川口章. ブドウ根頭がんしゅ病の診断と生物的防除および病原細菌の系統解析に関する研究. *岡山県農試研報*. 2009;27: 63–124.
2. Kirara Saito, Megumi Watanabe, Hidenori Matsui, Mikihiro Yamamoto, Yuki Ichinose, Kazuhiro Toyoda, Akira Kawaguchi, Yoshiteru Noutoshi, Characterization of the suppressive effects of the biological control strain VAR03-1 of *Rhizobium vitis* on the virulence of tumorigenic *R. vitis*. *Journal of General Plant Pathology* 2018;84: 58–64.
3. Keisuke Nakayama, Kayoko Takashima, Hiroshi Ishihara, Tomoyuki Shinomiya, Makoto Kageyama, Shigehiko Kanaya, Makoto Ohnishi, Takahiro Murata, Hirotsada Mori, Tetsuya Hayashi, The R-type pyocin of *Pseudomonas aeruginosa* is related to P2 phage, and the F-type is related to lambda phage. *Molecular Microbiology* 2000;38: 213–231.

■論文情報

論文名 : Rhizoviticin is an alphaproteobacterial tailocin that mediates biocontrol of grapevine crown gall disease

掲載紙 : *The ISME Journal*

著者 : Tomoya Ishii, Natsuki Tsuchida, Niarsi Merry Hemelda, Kirara Saito, Jiyuan Bao, Megumi Watanabe, Atsushi Toyoda, Takehiro Matsubara, Mayuko Sato, Kiminori Toyooka, Nobuaki Ishihama, Ken Shirasu, Hidenori Matsui, Kazuhiro Toyoda, Yuki Ichinose, Tetsuya Hayashi, Akira Kawaguchi, and Yoshiteru Noutoshi

DOI : 10.1093/ismejo/wrad003

URL : <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrad003>

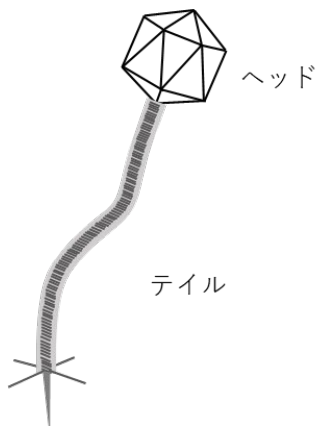
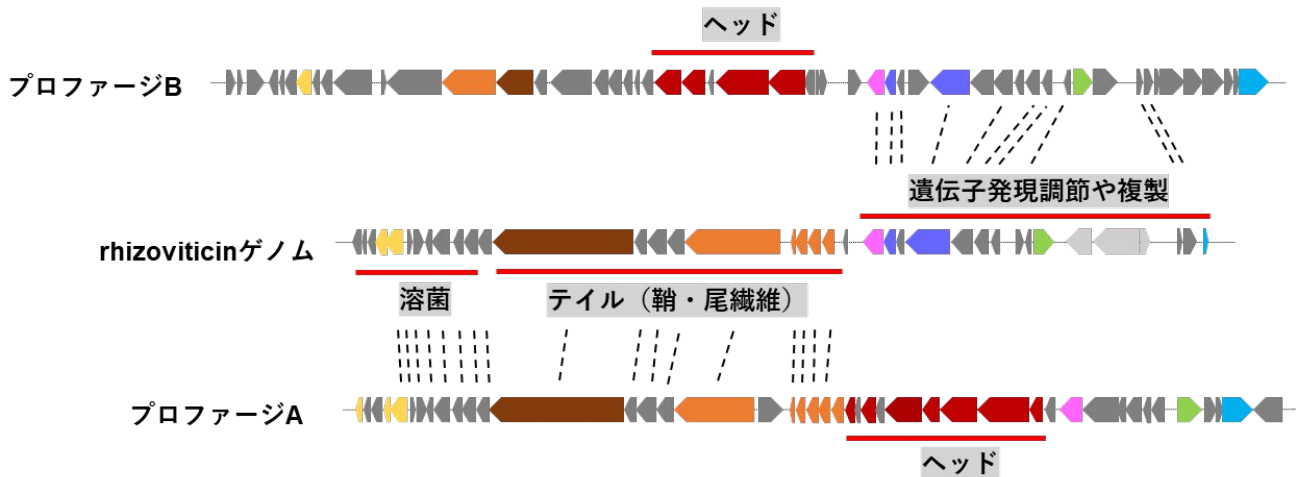
■研究資金

本研究は、科学研究費補助金（JP17H03778、JP17H06172、JP20K20572）の助成と先進ゲノム支援（PAGS : JP16H06279）の支援を受け実施しました。

PRESS RELEASE



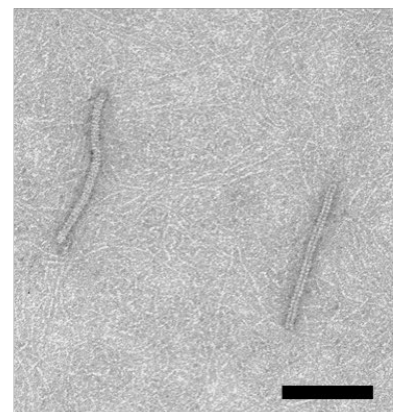
図1: ブドウの苗木に発生した根頭がんしゅ病



ファージAの模式図



rhizoviticinの模式図
テイルがフレキシブル (F) 型



電子顕微鏡で観察されたrhizoviticin
Bar = 100 nm

図2: rhizoviticin 及びその由来となったと考えられるファージのゲノム構造 (上) と模式図 (下左)、および実際に電子顕微鏡で観察された rhizoviticin (下右)
rhizoviticin は、ファージ A のテイルとファイバーの遺伝子領域が、ファージ B に由来する遺伝子発現調節や複製関連の遺伝子群と融合 (組換え) した際に、ヘッドに関連する領域を失って誕生したと考えられる。

PRESS RELEASE

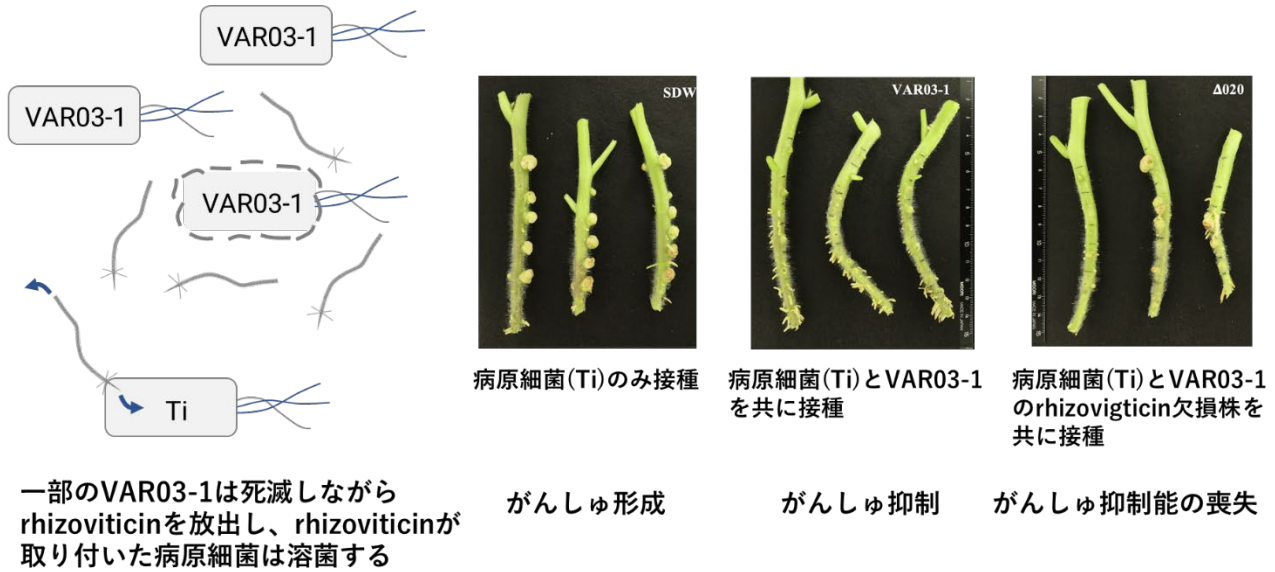


図 3：拮抗細菌（VAR03-1）が rhizovitin を放出して病原細菌を溶菌する仕組み（左）、rhizovitin を欠損した拮抗細菌のがんしゅ形成抑制能の低下（右、トマトの茎での検証接種実験）

<お問い合わせ>

岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域（農）

教授 能年 義輝（ノウトシ ヨシテル）

（電話番号）086-251-8356

（メール）noutoshi@okayama-u.ac.jp