

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名：植物の害虫に対する誘導防衛の制御機構

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

高林 純示 (京都大学生態学研究センター 教授)

主たる共同研究者

西岡 孝明 (京都大学大学院農学研究科 教授)

平井 伸博 (京都大学国際融合創造センター 教授) (平成14年4月～)

松井 健二 (山口大学医学系研究科 教授) (平成14年4月～)

轟 泰司 (静岡大学農学部応用生物化学科 助教授) (平成18年4月～)

3. 研究内容及び成果:

3-1. 研究内容

植物は害虫に食われたとき、害虫の種特異的な匂いを食害誘導的に生産・放出する。この「匂い(揮発性の化学情報)」は食害している害虫特異的な天敵を誘引する機能がある。この現象は植物の「誘導的間接防衛戦略」と位置づけられている。例えば、①リママメーハダニ類(害虫)ーハダニ補食性天敵(チリカブリダニ、ケナガカブリダニ、補食性アザミウマ、補食性ハネカクシ等)三者系、②アブラナ科植物ーアブラナ科スペシャリスト害虫(コナガ幼虫及びモンシロチョウ幼虫)ー各害虫に特異的な寄生蜂(コナガコマユバチおよびアオムシコマユバチ)三者系、③イネ科植物ーアワヨトウ幼虫ー寄生蜂(カリヤコマユバチ)三者系などの三者間の相互作用では、複数の揮発性テルペノイド等が食害誘導的に植物から放出され、それが天敵誘引において重要な役割を果たしていることが明らかにされている。さらに植物は、食害している害虫の種によって異なったブレンドの揮発性テルペノイドを放出する。その結果、害虫種に特異的な天敵誘引を実現していることが明らかにされている。本研究はそれら現象を、①植物の害虫誘導性の間接防衛機能および②植物の誘導防衛に関わるコミュニケーションの分子メカニズムの観点から解明を試みた。以下本研究により得られた主要成果を述べる。

3-2. 研究成果

①植物の害虫誘導性の間接防衛機能の解明

誘導的に植物が生産する揮発性テルペノイドから成る化学情報の生産メカニズムの詳細と、誘導的 direct 防衛との関連性に注目し、食害誘導性の天敵誘引物質生産に関わるエリシターの探索と誘導メカニズムの解明を進めた。また、食害で誘導される直接防衛の関連についても解析を行った。

○エリシター探索に関しては、リママメを食害するナミハダニで腸内共生微生物由来のエリシターの関与を示した。また主要な共生微生物として酵母様微生物(Pseudozyma SP.)一種を同定した。(高林グループ)

○誘導メカニズムの解明に関しては、揮発性テルペノイドであるβ-オシメンの合成酵素遺伝子について、モデル植物であるシロイヌナズナおよびミヤコグサを用いて同定した。ミヤコグサについては、ストレスに応答した転写活性と放出量の比較を行い、転写後制御の可能性が示唆された。また、植物ホルモンであるジャスモン酸処理によるトウモロコシ株での匂い生産誘導と天敵誘引能力向上を実証した。(高林グループ)

○変異のある植食者や植物を用いて間接防衛の誘導メカニズムの解析を進めた。植食者であるカンザワハダニについては、植物に異なる反応を誘導する系統の選抜を行い、これを用いて食害で誘導される防御反応や天敵誘引物質の定量を行った。植物については、シロイヌナズナの匂いの生合成遺伝子の突然変異体・形質転

換体を用いて、食害で誘導される天敵誘引物質の定量や被害植物の匂いに対する天敵の反応の比較を行い、緑のかおりが天敵誘引の鍵物質の1つであることを発見した。(高林グループ)

○食害で誘導される直接防衛については、植物の植食者に対する直接防衛として有効なトライコームの誘導的な形成について、突然変異体を用いた有効な検出方法を創出し、トライコームの誘導的な形成メカニズムの解析を行った。(高林グループ)

○応用を視野に入れ、植食者誘導性揮発性物質の天敵以外の生物への影響について解析をおこなったところ、トウモロコシの匂いが植食者であるアワヨトウ幼虫の行動に影響を及ぼすことを明らかにした。(高林グループ)

○ナミハダニによる食害によってリマママメ葉が揮発成分を生成する際、ナミハダニ由来のエリシターに加え、それによって生じるリマママメ葉由来の内生エリシターの存在が示唆されている。両エリシターの単離・同定を試みたが、生物検定による揮発成分誘導活性の再現性がなく、それらの単離には至らなかった。内生エリシターを推定するため、乳酸カルシウム、アブシシン酸(ABA)を検討したがエリシター候補と結論することはできなかった。また、リマママメ葉の食痕を赤くするとともに酸性キチナーゼを誘導するカンザワハダニのエリシター分析も行った。しかし、赤色を示すカンザワハダニの抽出物による酸性キチナーゼ誘導活性には再現性が認められなかった。今回の研究によって揮発成分誘導活性を示す確実なエリシターを同定することはできなかったが、揮発成分誘導エリシターは依然として作物を虫害から保護できる可能性を秘めている。(平井グループ)

②植物の誘導防衛に関わるコミュニケーションの分子メカニズム

植物がどの様にして匂い刺激を受容しているのかに焦点をしばって、揮発性化学物質(HIV)の受容体蛋白質はG蛋白質共役受容体であるとの作業仮説を立て、その同定を試みた。

○シロイヌナズナには6つのGPCRと、1つのGタンパク質があることが知られている。シロイヌナズナがHIVを受容すると、細胞内のCa⁺イオンが上昇した。しかし、Gタンパク質を欠損したシロイヌナズナ変異体でもHIVを受容するとCa⁺イオンが上昇した。このことは、HIV受容のシグナル伝達はGタンパク質とは共役していない、すなわち、HIV受容体はGPCRである、という作業仮説を否定する実験結果となった。(西岡グループ)

○HIVを受容する天敵の嗅覚受容体GPCRのモデルとして、さらに、カイコガの性フェロモン受容体遺伝子の単離、同定を試み、受容体遺伝子を決定した。高いリガンド特異性と高感度なリガンド応答を再現することによって、性フェロモン受容(=嗅覚受容)の分子機構を明らかにした。(西岡グループ)

○その分子機構によると、性フェロモン受容体はGPCRであるにもかかわらず、Gタンパク質が無くてもNa⁺やK⁺イオンの細胞内濃度が上昇する(=カチオン電流が流れる)ことを見つけた。すなわちGPCRが匂いを受容したというシグナルの伝達は、Gタンパク質とは共役していない、という発見である。これは従来から考えられていたGPCRのシグナル伝達機構を完全に否定する分子機構である。(西岡グループ)

○植物組織が草食昆虫の食害を受けると一過的に合成、放散される揮発性化合物のうち、緑のかおりと呼ばれる成分に着目して研究を進めた。健全な無傷植物(シロイヌナズナ)を緑のかおりの蒸気に曝露すると植物防御関連遺伝子群が顕著に誘導されることを明らかにした。この時、同時に細胞壁のリグニン化、抗菌物質の蓄積なども誘導され、その結果として腐生性植物病原菌の灰色カビ病菌に対する抵抗性が高まることを見いだした。(松井グループ)

○次いで、緑のかおり曝露による誘導防衛の分子機構を明らかにするため種々のシロイヌナズナ信号伝達系変異体を用いて検討を進めた。その結果、ジャスモン酸、エチレン、およびグルタチオンを介した信号伝達系が緑のかおり処理により活性化されることを実証した。中でも、グルタチオン生合成能を欠如した変異体では緑のかおり曝露に対する応答がほぼ完全に消失しており、グルタチオンを介した信号伝達経路がこうした匂い受容に必須であることを初めて示した。(松井グループ)

○植物は葉の表面(おそらくはクチクラ層)で匂い物質を集積し、細胞内でグルタチオンとの包合体を形成、こ

れが引き金となって誘導防衛反応を活性化していることが示唆された。一方、灰色カビ病に罹病した植物に隣接して健全植物を置くと健全植物において緑のかおり曝露によって引き起こされる誘導防衛反応と同様の反応が引き起こされることも明らかになった。病原菌感染特異的に放散された揮発性化合物でも誘導防衛反応を引き起こすことができることを初めて示した。(松井グループ)

○アブシジン酸と他成分との複合作用により、揮散成分誘導を発現する内生エリシターの探索を検討した。アブシジン酸受容体のアンタゴニストを効率的に探索する系として、ムラサキツユクサ表皮の気孔開度で測定する系を確立した。(轟グループ)

○21種類のABAアナログについてアンタゴニスト活性を測定した結果、有意なアンタゴニスト活性を有する2種のABAアナログ、(+)-5'-、9'-cyclo-ABAと(-)-8'-ethyl-ABAを見出した。これら2種のアナログは、ABA受容体には結合するがABA活性を誘導しないという、ABA受容体アンタゴニストとしての条件を満たしており、今後のアンタゴニスト開発におけるリード化合物として有用な分子であることがわかった。(轟グループ)

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

論文発表		招待・口頭・ポスター		報道	特許	
国内	国外	国内	国外		国内	海外
15	27	54	29	22	4	0

○論文数は多いとは言えないが、PNASやScience等のハイインパクトな雑誌に数報出ていることは評価できる。

○特許出願は4件で、最終的な出口として「天敵を有効利用した持続的農業技術の開発」を目指した研究としてはやや少ない。実用化までには未だかなりのギャップがあるが、重要な部分は権利化されていることから実用へ繋げることを期待する。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

○総合的には、植物の匂い物質生産による誘導的間接防衛機構に関して、優れた観察眼を元に独創的な研究を展開してきたことは評価できる。具体的には、害虫の生産するエリシターが共生する腸内微生物により分泌されていることを発見し、植物の誘導的間接防衛をこれまでの植物-植食者-補食者の三者系から、微生物が加わった四者系で捕らえ直すことを提案することとなった。また、植物が生産するシグナル物質に関しては、緑のかおりが植物の誘導防衛の重要なコミュニケーション物質であることや異種植物による立ち聞き現象を示すとともに、従来光の影響と考えられていたアワヨトウの行動に植物成分が関与していることを見いだした。植物の匂い受容に関しては、グルタチオンを介したシグナル伝達が重要な役割を果たしていることを初めて示した。さらに、昆虫や植物の匂い受容体を探索する過程で、カイコガの性フェロモン受容体遺伝子のクローニングに成功したことは、自然科学の進展に大きく寄与する成果と言える。

これら個々の課題については成果が見られ、植物の害虫に対する誘導防衛の機構に関する理解は深まったものの、それぞれの成果が繋がらず全貌解明には至らなかった。しかし、これまでに報告のない植物の匂い受容体の探索や極微量にしか存在しないエリシターの同定に挑戦する等、生物間のコミュニケーションを分子レベルで解明する方向性を示したことは評価できる。

○科学技術への貢献に関しては、カイコガの性フェロモン受容体遺伝子の単離に成功したことが特筆すべき成果である。この成果は本課題の内容と直接は関係しないが、将来的には昆虫の匂い受容機構解明へ発展する可能性がある。

優れた観察眼を元に独創的な研究を展開しており、国内外においてリーディンググループのひとつと言える。

緑のかおりの天敵誘引性に関しては国外においても研究が進んでおり、他の遺伝子を用いた研究が先行して報告された。その中で緑のかおりの生合成の鍵酵素であるヒドロペルオキシドリアーゼ(HPL)過剰発現によるモンシロチョウ幼虫の天敵寄生蜂誘引が実証できたことは評価できる。

当初は実験室レベルの知見が圃場レベルや自然の生態系においても共通するのかが懸念されたが、プロジェクト後半には、スケールアップした条件において植物が揮発性化学物質でコミュニケーションしていることを示すことができたことは、今後の農業技術開発への応用が期待できる成果といえる。

○今後の展開としては、揮発性物質の応答に関するアッセイ系の確立が鍵を握るものと考えられる。アッセイ系が確立できれば推測の段階にあるエリシターや匂い受容体に関する成果に物質的基盤を与えることができる。エリシターとしての確証が得られなかったABAや受容体候補のGPCRについても、アッセイ系を確立することで新たな展開をもたらす可能性もある。植物の害虫に対する防御機構は、病原菌が感染したときの防御機構との共通性も考えられることから、今後は病理分野との連携も図り研究を展開していく必要がある。現場での応用ということではまだ隔たりがあるが、最終的には新しい生物農薬やバイオセンサーの開発等、農業技術への応用に繋がるような研究の展開を期待したい。

4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

○日本農学進歩賞2006(塩尻かおりの)1件。