

「植物-微生物の見えない相互作用を観る：現在と未来」 企画にあたって

永野惇¹, 佐藤昌直²

¹龍谷大学農学部

520-2194 大津市瀬田大江町横谷 1 番 5

²北海道大学大学院農学研究院

060-8589 札幌市北区北 9 条西 9 丁目

Introduction to “Realizing invisible plant-microbe interactions: current and future perspectives”

Atsushi J. Nagano¹, Masanao Sato²

¹Faculty of Agriculture, Ryukoku University, Yokotani 1-5, Seta Ohe-cho, Otsu, Shiga 520-2194, Japan

²Department of Agriculture, Hokkaido University, Kita 9 Nishi 9, Kitaku, Sapporo, Hokkaido 060-8589, Japan

Key words: plant-microbe interactions, next generation sequencing, imaging

DOI: 10.24480/bsj-review.8a1.00106

1. はじめに：なぜ今、植物-微生物相互作用研究か？

現代の生物学研究はマイクロ・マクロの両方向に展開され、分子生物学的研究から生態学的研究まで広く発展している。その中で生物学的にはマイクロな存在でありながら、時として生態系におけるマクロな現象にも影響を及ぼす多くのウイルス・微生物の存在に注目が集まっている。植物にとって植物内外に存在するウイルス・微生物は動的な環境要因であり、それらとどのように相互作用しているかをマイクロ・マクロな様々な視点から明らかにすることが植物の理解に欠かせない。植物を取り巻くウイルス・微生物の研究はこれまでも行われてきたが、近年それらに特に注目が集まっている背景には以下のポイントがあると考えられる。

第一に、特定のプライマー・プローブ配列に頼らない網羅的な塩基配列決定機器、次世代シーケンサの登場・発達によって、標的を絞らない微生物検出が可能となったことが大きい。加えて、従来のシーケンス法で必要だった DNA クローニング技術からの解放、それによる解析スループットの劇的な向上が個々のウイルス・微生物ゲノムの同定だけでなく、集団としての微生物ゲノム情報の収集を可能とした。さらに実験手法として比較的簡便・安価になったことで、実験室内のみならず、野外圃場・自然環境下のサンプルの解析にも次世代シーケンサが用いられるようになった。

第二に、従来より広い視点で植物-微生物相互作用を捉えようという潮流がある(Bulgarelli, D. *et al.* 2012; Lundberg D.S. *et al.* 2012; Stobble, A.H. & Roossinck, M.J., 2014)。植物研究 (特に植物病理学) におけるウイルス・微生物研究は主に作物に病害を引き起こすウイルス・微生物を研究対象としたものが主流だった。一方で、菌根菌や根粒菌と植物の関係に代表される共生系が古くから良く研究されてお

り、近年では、ウイルス-真菌-植物の三者系相互作用による植物への乾燥耐性の付与 (Márquez, L.M., *et al.* 2007) や、病原体である炭疽病菌と近縁の糸状菌が環境条件依存的に植物に有益な働きをすることも明らかとなってきている (Hiruma *et al.* 2016)。また、次世代シーケンサの登場以後には、植物への影響の有無を問わず植物内・周辺細菌叢を構成する微生物のレパートリーも明らかになりつつあり (Bulgarelli, D. *et al.* 2012; Lundberg D.S. *et al.* 2012)、植物を取り巻くウイルス・微生物研究は急展開を迎えている。

これら2つのポイントに加え、企画者らはこれからの展開が期待される第三のポイントを挙げたい。シーケンス技術に加え、種々のイメージング技術、分子生物学的技術の発達により、植物とウイルス・微生物の相互作用を、その現場でより深く研究できる可能性がある。ここで言う現場には2通りの意味がある。1つ目は相互作用を細胞あるいはそれ以下のレベルで高い時間分解能で調べることに対応する。例えばライブイメージング技術の発達によって、植物とウイルス・微生物の相互作用の現場を高い時空間分解能で観察することが可能となる。2つ目は相互作用が本来起こってきた環境である野外圃場や自然生育地という意味での現場である。RNA-Seq など網羅的解析技術が広く利用できるようになったことで、野外圃場や自然生育地においても、感染しているウイルス・微生物の種類・量だけでなく、宿主植物がそれらに対してどのように応答をしているか、どのような状態にあるかまで網羅的に読み解くことが可能となった。

2. 植物-微生物相互作用研究における新展開

自然界では我々には「見えない」ことから窺い知れなかった、複数微生物による複雑な感染や感染する・される生物間のダイナミックな相互作用が起きていると想像される。現在、植物-微生物相互作用研究は盛り上がりを見せているが、実際には上記3つのポイントに関連して未だ様々な課題が残されており、多くの研究者の取り組みを待っている状況にある。著者らが今回企画したシンポジウムでは、これらの課題の解消に取り組み、新たな展開を生み出している研究者に「『見えない』ものを観る」という視点で話題提供をお願いした。「見えない」という問題は技術的・生物学的な様々な理由で存在する。現在汎用されている方法の原理・網羅性の制約から「見えない」(検出できない)だけでなく、実験室内での限られた観察だけから推定できない、野外の様々な状態における植物-微生物相互作用(生態学的なマクロな現象として捉えないと生物学的意義が理解できない相互作用)や、個体の適応度を左右するにも関わらず、時空間的に局所で起きるため「見えない」相互作用(相互作用の時間・場所が限られるため観察できない相互作用)がある。本特集では次世代シーケンサやイメージングによって見えない相互作用に光を当てた研究、植物-微生物相互作用の研究にこれまで利用されていない最先端技術を紹介する。

関根らの総説では、2本鎖RNA結合タンパク質を用いたウイルスの濃縮・検出の法の説明と、それを用いて農業現場での病害の原因ウイルスの同定を行った研究が紹介される。また、携行可能な小型の高速リアルタイムPCR装置といった、現場で必要とされる技術の開発の展望についても述べられている。

神谷らの総説では、感染植物で必ずしも病徴を示さないウイルスも含めた、野生植物からの網羅的なウイルス検出・宿主トランスクリプトームの同時解析の試みと、そこから明らかになった宿主の自然生育地でのウイルス-ウイルス間、ウイルス-植物間の相互作用について紹介される。

大津らの総説では、最先端のイメージング技術を植物-微生物相互作用の研究に応用した例として、シストセンチュウが感染によって宿主植物細胞から誘導する合胞体の透明化技術・二光子励起顕微鏡をもちいた深部イメージングの結果が紹介される。また、感染過程のライブイメージングに向けた展望についても述べられている。

佐藤らの総説では、器官・組織レベルの広域に渡る透過電顕像を得るための「広域透過電顕像取得システム」と、蛍光タンパク質で標識した対象の超微形態を高分解能走査電顕で可視化する「GFP-走査電子相関顕微鏡法」の開発について紹介される。これらの技術は植物体内の局所で起こる植物-微生物相互作用の現場を広域に走査し、且つ電顕の解像度で捉える強力なツールとなる。

なお、シンポジウムではこれらに加えて、別役らによって、病原微生物の感染時の葉における免疫応答の時空間ダイナミクスをライブイメージングで明らかにした研究の紹介が行われた。

以上の研究から、様々な「見えない」相互作用の片鱗を垣間見ることが出来た。しかしながら、片鱗が見えたことによって、逆に見えない部分の大きさに気付いたとも言える。読者の皆さんには、まずは本特集から「見えない」相互作用を見る楽しさを感じていただければと思う。さらには、もし本特集が皆さんにとって大きな見えない部分に挑むアイデアを練っていただく切っ掛けとなれば、企画者として存外の幸せである。

Bulgarelli, D., Rott, M., Schlaeppi, K., Ver Loren van Themaat, E., Ahmadinejad, N., Assenza, F., Rauf, P., Huettel, B., Reinhardt, R., Schmelzer, E., Peplies, J., Gloeckner, F. O., Amann, R., Eickhorst, T., & Schulze-Lefert, P. (2012). Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*, 488, 91-95.

Hiruma, K., Gerlach, N., Sacristán, S., Nakano, R. T., Hacquard, S., Kracher, B., Neumann, U., Ramírez, D., Bucher, M., O'Connell, R., & Schulze-Lefert, P. 2016. Root endophyte *Colletotrichum tofieldiae* confers plant fitness benefits that are phosphate status-dependent. *Cell* 165, 464-474

Lundberg, D.S., Lebeis, S.L., Herrera-Paredes, S., Yourstone, S., Gehring, J., Malfatti, S., Tremblay, J., Engelbrekston, A., Kunin, V., Glavina del Rio, T., Edgar, R., Eickhorst, T., Ley, R.E., Hugenholtz, P., Tringe, S.G., & Dangl, J.L. 2012. Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. *Nature* 488, 86-90.

Márquez, L.M., Redman, R.S., Rodríguez, R.J., & Roossinck, M.J. 2007. A virus in a fungus in a plant: three-way symbiosis required for thermal tolerance. *Science* 315:513-515.

Stobble, A.H. & Roossinck, M.J. 2014. Plant virus metagenomics: what we know and why we need to know more. *Front Plant Sci.* 5: 150.