

課題番号	GS028
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	イネの持続的病害抵抗性の増強を目指したいもち病罹病性の分子機構の解明
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人農業生物資源研究所・遺伝子組換え研究センター 耐病性作物研究 開発ユニット・上級研究員
氏名	西澤 洋子

1. 当該年度の研究目的

本研究は、A(いもち病菌側の解析)、B(イネ側の解析)、C(解析手法の開発)の3つの中課題に分けて実施し、それぞれから得られる知見を総合して、いもち病抵抗性分子育種の新戦略の構築を図る。平成23年度の研究目的は以下の通りである。

- ・イネの防御応答に及ぼす 2-dU の効果を分子生物学的、生理学的、細胞学的に明らかにする。また、6種類のエフェクター様いもち病菌遺伝子の中から、病原性寄与率の高い遺伝子を選抜する。
- ・イネの OsWRKY76 遺伝子や EL5 遺伝子による発病促進現象を細胞生物学、生理学的に詳細に把握する。また、これらの遺伝子の機能発現機能の解析に資する各種形質転換イネの作製を開始する。
- ・タンパク質間相互作用や、感染に伴うイネ細胞内の生理反応をリアルタイムに観察する系の構築を開始する。

2. 研究の実施状況

(A) 感染時の発現誘導が 2-dU 存在下で亢進する 2 種類のエフェクター候補遺伝子について、邦産いもち病菌を対象に、遺伝子破壊株をそれぞれ 2 系統ずつ単離した。それらをイネ葉に接種したところ病原性の著しい低下が観察された。これらの遺伝子産物の感染時の局在性を解析するための種々のバイナリーベクターの作製を開始した。

(B-1) OsWRKY76 を強発現するイネではいもち病抵抗性が葉身、葉鞘のいずれにおいても低下した。この組換えイネではファイトアレキシン生合成遺伝子の発現量、ならびに、ファイトアレキシン蓄積の低下が認められ、OsWRKY76 がファイトアレキシン生合成を負に制御する転写因子であることが示唆された。

(B-2) EL5 遺伝子の発現は、いもち病菌接種後に抵抗性反応でも罹病性反応でも増加した。EL5 遺伝子の発現は傷害や低温などのストレスによっても誘導され、EL5 はストレス応答にも関与している可能性が示唆された。水耕栽培した EL5 過剰発現イネの大きさや生育速度は親品種と変わらず正常であったが、葉の老化の進行(下位葉の枯れ上がり)が早いことが明らかになった。この老化の進行はサイトカイニン処理によって抑えられ、EL5 は葉の黄変という病徴発現にサイトカイニンを介して促進的に作用している可能性が示唆された。

様式19 別紙1

(C)共焦点レーザー顕微鏡を用いたリアルタイム観察系の改良を行い、振動に強く、迷走光や自家蛍光が抑制された鮮明な像が得られるようになった。また、高速共焦点レーザー顕微鏡を導入し、いもち病菌の侵入と、それに伴うイネオルガネラの動態解析を可能にした。

その他、科学コミュニケーションのノウハウを学ぶために、科学コミュニケーターの専門家から研修を受けた。また、高校生を対象に研究目的・内容を分かりやすく紹介する講演を2回行った。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計5件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計3件 Sugihiro Ando, Yuko Sato, Hideyuki Shigemori, Takafumi Shimizu, Kazunori Okada, Hisakazu Yamane, Yusuke Jikumaru, Yuji Kamiya, Kosumi Yamada, Chiharu Akimoto-Tomiya, Shigeru Tanabe, Yoko Nishizawa, Eiichi Minami (2011) Identification and characterization of 2'-deoxyuridine from the supernatant of conidial suspensions of rice blast fungus as an infection-promoting factor in rice plants. <i>Molecular Plant-Microbe Interactions</i> 24, 519-532. Susumu Mochizuki, Ken-ichiro Saitoh, Eiichi Minami, Yoko Nishizawa (2011) Localization of probe-accessible chitin and characterization of genes encoding chitin-binding domains during rice-<i>Magnaporthe oryzae</i> interactions. <i>Journal of General Plant Pathology</i> 77, 163-173. Yusuke Kouzai, Susumu Mochizuki, Akihiro Saito, Akikazu Ando, Eiichi Minami, Yoko Nishizawa (2012) Expression of a bacterial chitosanase in rice plants improves disease resistance to the rice blast fungus <i>Magnaporthe oryzae</i>. <i>Plant Cell Reports</i> 31, 629-636. (掲載済み一査読無し) 計2件 岸本久太郎・香西雄介・西澤洋子(2011)植物の免疫機能の強化による病害抵抗性向上の試み. 植物防疫 65 (11), 659-663. 西澤洋子・香西雄介・岸本久太郎(2011)パターン認識受容体の改変による植物の耐病性向上の試み. 過敏細胞死を誘導するキメラ受容体の構築. 化学と生物49 (12), 812-814. (未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計7件</p>	<p>専門家向け 計7件 望月進・南栄一・西澤洋子(2011)イネ剥離葉鞘裏面細胞を用いたもち病菌感染初期における細胞内構造変化のリアルタイムイメージング法の構築. 日本植物病理学会報 77(3), 213(平成23年度本大会、東京農工大学) 香西雄介・望月進・齋藤明広・安藤昭一・南栄一・西澤洋子(2011)キトサン分解能を付与した形質転換イネの作出とそのもち病抵抗性の解析. 植物病理学会報 78(1), 26 (平成23年度関東部会、つくば、研究交流センター) 香西雄介・賀来華江・渋谷直人・南栄一・西澤洋子(2012)イネのキチンオリゴ糖受容体 CEBiP の改変によるもち病抵抗性の向上. 第53回日本植物生理学会年会要旨集 p.313(3/16、京都産業大) 望月進・中島恵美・軸丸裕介・神谷勇治・南栄一・西澤洋子(2012)高濃度窒素条件下におけるイネユビキチンリガーゼ EL5 の機能解析. 第53回日本植物生理学会年会要旨集 p.306(3/16、京都産業大) 横谷尚起・佐藤祐子・田部茂・中条哲也・清水崇史・岡田憲典・山根久和・霜野真幸・菅野正治・高辻博志・加来久敏・西澤洋子・南栄一(2012)もち病抵抗性に関する転写因子 OsWRKY76 の解析. 第53回日本植物生理学会年会要旨集 p.372(3/16、京都産業大) 香西雄介・望月進・齋藤明広・安藤昭一・南栄一・西澤洋子(2012)細菌キトサナーゼを発現するイネの作製とそのもち病抵抗性の解析. 日本農芸化学会 2012 年度大会 2A30p17(3/23、京都女子大学) Yoko Nishizawa, Eiichi Minami (2011) Improvement of disease resistance by engineering MAMPs recognition receptors. International Symposium "Future prospects of plant biotechnology" Abstract 9-10. (招待講演、11/15、東京大学) 一般向け 計0件</p>
<p>図書 計1件</p>	<p>Yoko Nishizawa, Susumu Mochizuki, Ken-ichiro Saitoh, Kyutaro Kishimoto, Yusuke Kouzai, Eiichi Minami (2011) Defense mechanisms mediated by chitin in rice-blast interactions. <i>Genome-Enabled Analysis of Plant-Pathogen Interactions</i> pp.121-129 (ISBN: 978-0-89054-393-1)</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>農業生物資源研究所の研究活動 http://www.nias.affrc.go.jp/researchactivities/</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>『遺伝子組換え技術を用いて有用農作物を作出する研究』実施日:2011年7月25日、場所:農業生物資源研究所、対象者:埼玉県立熊谷女子高等学校、参加人数:生徒15名、教師5名。サイエンスパートナープロジェクト「遺伝子組換え実験を通して形質発現の仕組みと遺伝子組換え作物の現状を学ぶ」の一環で、植物と病原菌の相互作用研究ならびに分子育種技術について約1時間講義した。 『遺伝子組換え技術を用いて有用農作物を作出する研究』実施日:2011年8月17日、場所:農業生物資源研究所、対象者:東京都立西高等学校、参加人数:生徒11名、教師1名。土曜講座「生命科学講座」受講生の研究現場訪問で、植物と病原菌の相互作用研究ならびに分子育種技術について約1時間講義した。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

(特になし)

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	109,000,000	53,432,000	0	55,568,000	0
間接経費	32,700,000	16,029,600	0	16,670,400	0
合計	141,700,000	69,461,600	0	72,238,400	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	53,182,000	0	0	53,182,000	48,559,869	4,622,131	0
間接経費	15,954,600	0	0	15,954,600	15,954,600	0	0
合計	69,136,600	0	0	69,136,600	64,514,469	4,622,131	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	36,498,025	リアルタイム共焦点顕微鏡システム、実験試薬等
旅費	520,560	研究成果発表旅費(京都産業大学)等
謝金・人件費等	10,982,887	博士研究員等人件費、英文校閲
その他	558,397	論文オープンアクセス代、学会参加費等
直接経費計	48,559,869	
間接経費計	15,954,600	
合計	64,514,469	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
リアルタイム共焦点 顕微鏡システム	横河電気 CSU1010- Frontier-SP25	1	31,720,500	31,720,500	2011/12/7	独立行政法人 農業生物資源 研究所