

**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24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24年度の中課題別研究目的は以下の通りである。

(A) 病原性に影響するいもち病菌のエフェクター候補遺伝子について、転写レベルの発現様式、翻訳産物の局在性を明らかにするとともに、標的となるイネの耐病性関連経路の探索を開始する。

(B) OsWRKY76 の標的遺伝子の同定を開始する。また、EL5 の機能発現機構の解析を継続する。

(C) 各種形質転換イネ、いもち病菌の作製を続け、いもち病菌感染時の細胞内生理応答を経時的に可視化する。

2. 研究の実施状況

(A) エフェクター様遺伝子破壊株では病原性が著しく低下するが、ホルモン処理等で病害抵抗性を低下させたイネには感染できることを明らかにした。また、いもち病菌から分泌された後イネ細胞内に移行することを明らかにした。以上の結果等から、本エフェクター様タンパク質はイネの病害抵抗性機構を抑制する機能をもつ可能性が高いと考えられ、相互作用するイネのタンパク質の探索を開始した。

(B) OsWRKY76 は核に局在し、プロモーター中の W-box に結合する転写抑制因子であることを明らかにした。OsWRKY76 の標的遺伝子候補を絞り、それらの機能解析に着手した。また、Gene Targeting 法で OsWRKY76 遺伝子破壊イネを作製した。さらに、OsWRKY76 過剰発現イネでは耐病性が著しく低下する反面、耐冷性は向上することを見だし、生物ストレスと環境ストレスの両立に関する重要な知見が得られた。EL5 過剰発現イネについては、人工気象器では生育阻害(主に黄化)が起こるが、自然光下では正常に生育し、いもち病抵抗性が OsWRKY76 過剰発現イネと同等に低下することがわかった。また、EL5 は窒素シグナル経路の制御に関与することが明らかになり、窒素過多によるいもち病抵抗性低下機構の解明のための有用な材料になると期待された。

(C) 高速共焦点レーザー顕微鏡を用いることにより、感染初期においてイネといもち病菌で起こる細胞内構造や遺伝子発現、タンパク質局在性の変化を48時間以上にわたって撮影することに成功した。その結果、菌糸侵入に伴ってイネの液胞がバーストする様子や、いもち病菌の遺伝子発現がイネの細胞壁通過時にダイナミックに変化すること等が明らかになった。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計3件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計3件 Yusuke Kouzai, Hanae Kaku, Naoto Shibuya, Eiichi Minami, Yoko Nishizawa (2013) Expression of the chimeric receptor between the chitin elicitor receptor CEBiP and the receptor-like protein kinase Pi-d2 leads to enhanced responses to the chitin elicitor and disease resistance against <i>Magnaporthe oryzae</i> in rice. <i>Plant Molecular Biology</i> 81(3), 287-295. Michael Riemann, Ken Haga, Takafumi Shimizu, Kazunori Okada, Sugihiko Ando, Susumu Mochizuki, Yoko Nishizawa, Utako Yamanouchi, Peter Nick, Masahiro Yano, Eiichi Minami, Makoto Takano, Hisakazu Yamane, Moritoshi Iino (2013) Identification of rice ALLENE OXIDE CYCLASE mutants and the function of jasmonate for defence against <i>Magnaporthe oryzae</i>. <i>Plant Journal</i> 74(2), 226-238. Koji Miyamoto, Takafumi Shimizu, Susumu Mochizuki, Yoko Nishizawa, Eiichi Minami, Hideaki Nojiri, Hisakazu Yamane, Kazunori Okada (2013) Stress-induced expression of the transcription factor RERJ1 is tightly regulated in response to jasmonic acid accumulation in rice. <i>Protoplasma</i> 250(1), 241-249. (掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計10件</p>	<p>専門家向け 計10件 望月進・齋藤憲一郎・久保康之・南栄一・西澤洋子(2012.8 発行)イネいもち病菌感染初期過程におけるミトコンドリア凝集反応の観察. 日本植物病理学会会報 78(3), 207(平成24年度日本植物病理学会大会. 福岡国際会議場) 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(2012.8 発行)マイクロアレイによる OsWRKY76 の標的遺伝子の探索. 日本植物病理学会会報 78(3), 209(平成24年度日本植物病理学会大会. 福岡国際会議場) Kouzai Y, Kishimoto K, Kaku H, Shibuya N, Minami E, Nishizawa Y (2012.7) Enhancement of chitin elicitor responses by engineering the chitin elicitor receptor CEBiP improves disease resistance against rice blast fungus. <i>XV International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions</i>, 192-193(第14回国際分子植物-微生物相互作用会議. 京都国際会議場) Mochizuki S, Saito K, Kubo Y, Minami E, Nishizawa Y (2012.7) Imaging analysis of mitochondrial movement in rice cells during rice <i>Magnaporthe oryzae</i> interactions. <i>XV International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions</i>, 255-256(第14回国際分子植物-微生物相互作用会議. 京都国際会議場) Yokotani N, Sato Y, Tanabe S, Chujo T, Shimizu T, Okada K, Yamane H, Shimono M, Sugano S, Takatsuji H, Kaku H, Nishizawa Y, Minami E (2012.7) Roles of rice transcription factor OsWRKY76 in response to the rice blast fungus. <i>XV International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions</i>, 186(第14回国際分子植物-微生物相互作用会議. 京都国際会議場) 望月進・南栄一・西澤洋子(2012.8)イネ剥離葉鞘裏面細胞を用いたい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. 日本植物病理学会平成24年度植物感染生理談話会ポスター発表要旨集第47号 P-29(滋賀県近江八幡市) 横谷尚起・佐藤祐子・田部茂・西澤洋子・南栄一(2012.8)いもち病抵抗性に関する転写因子 OsWRKY76 の解析. 日本植物病理学会平成24年度植物感染生理談話会ポスター発表要旨集第47号 P-30(滋賀県近江八幡市) 香西雄介・小沢憲二郎・中島敬介・賀来華江・澁谷直人・南栄一・西澤洋子(2013)ジーンターゲット法によるキチンエリクター受容体遺伝子破壊イネの作製. 第54回日本植物生理学会年会要旨集 p.354 (3月23日岡山大学) 望月進・南栄一・西澤洋子(2013)イネ葉鞘を用いたいもち病菌感染初期における細胞内構造変化の蛍光リアルタイムイメージング. 第54回日本植物生理学会年会要旨集 p.127 (3月21日岡山大学) 横谷尚起・四方雅仁・市川裕章・光田展隆・高木優・西澤洋子・南栄一(2013)OsWRKY76 の下流に位置する転写因子群の機能解析. 第54回日本植物生理学会年会要旨集 p.283 (3月21日岡山大学) 一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</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>『植物と病原菌の攻防戦 ～植物に味方して～』 実施日:2012年4月20日、場所: 農業生物資源研究所、対象者:一般見学者、参加者数:約40名。平成24年度科学技術週間に研究所が実施する一般公開において、一般向けのミニ講演会(サイエンスカフェ)を行い、質疑応答を含めて約1時間、最新の研究成果を交えてイネといもち病原菌の分子レベルでの相互作用ならびに耐病性分子育種について分かりやすく紹介した。</p>

様式19 別紙1

新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項
(特になし)

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

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	25,504,000	30,064,000	0
間接経費	32,700,000	16,029,600	7,651,200	9,019,200	0
合計	141,700,000	69,461,600	33,155,200	39,083,200	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	4,622,131	25,504,000	0	30,126,131	25,427,699	4,698,432	0
間接経費	0	7,651,200	0	7,651,200	6,241,200	1,410,000	0
合計	4,622,131	33,155,200	0	37,777,331	31,668,899	6,108,432	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	5,401,090	実験試薬、分光フィルター、解析ソフト等
旅費	1,059,820	研究成果発表旅費(岡山大学、岐阜大学)等
謝金・人件費等	18,325,577	博士研究員等人件費、英文校正
その他	641,212	学会参加費、純水製造装置メンテナンス代等
直接経費計	25,427,699	
間接経費計	6,241,200	
合計	31,668,899	

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
				0		
				0		
				0		