

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25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25年度の中課題別研究目的は以下の通りである。

(A) DRP1の標的となるイネの耐病性関連経路を明らかにする。
 (B) OsWRKY76やEL5を過剰発現するイネにおける罹病性亢進の分子機構を明らかにする。
 (C) 確立した生細胞イメージング手法を用いて、感染時におけるエフェクター様遺伝子の機能発現機構の一端を明らかにする。

2. 研究の実施状況

(A) 前年度までの研究から、いもち病菌のDRP1タンパク質はいもち病菌がイネ細胞に侵入する時に作られ、いもち病菌からイネ細胞内に移行すること、DRP1がないといもち病菌はイネに感染できなくなることを明らかにした。今年度は、DRP1がなくても中課題Bで作製した耐病性が低下したOsWRKY76過剰発現イネには感染できることが明らかになった。また、DRP1がないと菌糸に侵入されたイネ細胞が過敏感細胞死を起こしやすくなることが明らかになった。遺伝子発現の網羅的解析からも、いもち病菌は感染時にDRP1を分泌することでイネの免疫応答を抑制して感染を成立させることが強く示唆された。

(B) OsWRKY76過剰発現イネにおいていもち病菌接種後の遺伝子発現誘導が抑制される5つのWRKYやNAC転写因子遺伝子を選び、それらの機能解析を進めた。その結果、4つの転写因子に転写活性化能が認められ、いもち病抵抗性を正に制御することが明らかになった。したがって、OsWRKY76過剰発現イネにおける罹病性亢進の原因は、これらの転写因子の機能不全によって広範囲の遺伝子の発現が影響を受けるためであると考えられた。また、NAC遺伝子を恒常的に発現させることでいもち病抵抗性が高まることを明らかにした。

(C) 前年度までに構築したイネ-いもち病菌相互作用の蛍光イメージング手法を用いて、菌糸の侵入、伸展に伴うイネ細胞の細胞膜、小胞体、細胞質、液胞膜の分布、構造変化を解析した。また、イネの液胞と溶菌の関係を解析し、液胞の崩壊がいもち病菌の感染阻止に重要であることを明らかにした。さらに、イネの細胞内におけるいもち病菌のエフェクタータンパク質の蓄積部位とイネの内膜構造との関係を明らかにした。

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 Naoki Yokotani, Yuko Sato, Shigeru Tanabe, Tetsuya Chujo, Takafumi Shimizu, Kazunori Okada, Hisakazu Yamane, Masaki Shimono, Shoji Sugano, Hiroshi Takatsuji, Hisatoshi Kaku, Eiichi Minami, Yoko Nishizawa (2013) OsWRKY76 is a rice transcriptional repressor playing opposite roles in blast disease resistance and cold stress tolerance. <i>Journal of Experimental Botany</i> 64(16), 5085-5097. Chujo T, Koji Miyamoto, Shimogawa T, Takafumi Shimizu, Yuko Otake, Naoki Yokotani, Yoko Nishizawa, Naoto Shibuya, Hideaki Nojiri, Hisakazu Yamane, Eeiichi Minami, Kazunori Okada (2013) OsWRKY28, a PAMP-responsive transrepressor, negatively regulates innate immune responses in rice against rice blast fungus. <i>Plant Molecular Biology</i> 82, 23-37. Yusuke Kouzai, Keisuke Nakajima, Masahiro Hayafune, Kenjiro Ozawa, Hanae Kaku, Naoto Shibuya, Eiichi Minami, Yoko Nishizawa (2014) CEBiP is the major chitin oligomer-binding protein in rice and plays a main role in the perception of chitin oligomers. <i>Plant Molecular Biology</i> 84(4-5), 519-528.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 2 件 Susumu Mochizuki, Yusuke Jikumaru, Hidemitsu Nakamura, Hanae Koiwai, Keisuke Sasaki, Yuji Kamiya, Hiroaki Ichikawa, Eiichi Minami, Yoko Nishizawa (2014) Ubiquitin ligase EL5 maintains the viability of root meristems by influencing cytokinin-mediated nitrogen effects in rice. <i>Journal of Experimental Botany</i> (in press) Yusuke Kouzai, Susumu Mochizuki, Keisuke Nakajima, Yoshitake Desaki, Masahiro Hayafune, Hideo Miyazaki, Naoki Yokotani, Kenjiro Ozawa, Eiichi Minami, Hanae Kaku, Naoto Shibuya, Yoko Nishizawa (2014) Targeted gene disruption of <i>OsCERK1</i> reveals its indispensable role in chitin perception and involvement in the peptidoglycan response and immunity in rice. <i>Molecular Plant-Microbe Interactions</i> (in press)</p>
<p>会議発表 計 10 件</p>	<p>専門家向け 計 9 件 横谷尚起・榎田(間山)智子・四方雅仁・市川裕章・光田展隆・高木優・西澤洋子・南栄一(2013.8 発行) OsWRKY76 およびその下流の転写因子群による病害抵抗性の制御. <i>日本植物病理学会報</i> 79(3), 164-165. (平成 25 年度日本植物病理学会大会. 岐阜大学) 望月進・西村岳志・南栄一・西澤洋子(2013.8 発行)イネ葉鞘を用いたもち病菌感染初期における遺伝子発現パターンの蛍光リアルタイムイメージング. <i>日本植物病理学会報</i> 79(3), 164. (平成 25 年度日本植物病理学会大会. 岐阜大学) 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(2013.8 発行)ジーンターゲットング法によるキチンエリクター受容体遺伝子破壊イネの作出と解析. <i>日本植物病理学会報</i> 79(3), 164. (平成 25 年度日本植物病理学会大会. 岐阜大学) 西村岳志・望月進・藤澤由紀子・南尚子・寺内良平・南栄一・西澤洋子(2013)イネもち病菌 (<i>Magnaporthe oryzae</i>)エフェクター遺伝子 <i>MoDRP1</i> の機能解析.平成 25 年度感染生理談話会(日本植物病理学会 8 月 20 日石川県加賀) 横谷尚起・榎田(間山)智子・四方雅仁・市川裕章・光田展隆・高木優・西澤洋子・南栄一(2013) OsWRKY76およびその下流の転写因子群による病害抵抗性の制御.平成 25 年度感染生理談話会(日本植物病理学会 8 月 20 日石川県加賀) 望月進・西村岳志・賀来華江・澁谷直人・南栄一・西澤洋子(2013)イネもち病菌侵入に伴うイネ細胞の膜構造変化の蛍光リアルタイムイメージング.平成 25 年度感染生理談話会(日本植物病理学会 8 月 20 日石川県加賀) 西村岳志・望月進・南尚子・藤澤由紀子・寺内良平・南栄一・西澤洋子(2014)イネもち病菌(<i>Magnaporthe oryzae</i>)エフェクター遺伝子 <i>MoDRP1</i> の機能解析. 第 55 回日本植物生理学会年会要旨集 p.320.(3 月 18 日富山大学) 横谷尚起・榎田(間山)智子・市川裕章・光田展隆・高木優・南栄一・西澤洋子(2014)もち病応答性の転写活性化因子 OsNAC111 は防御関連遺伝子の発現制御に関与する. 第 55 回日本植物生理学会年会要旨集 p.379.(3 月 20 日富山大学) 望月進・南栄一・西澤洋子(2014)イネもち病菌侵入に伴うイネ細胞の膜構造変化の蛍光イメージング. 第 55 回日本植物生理学会年会要旨集 p.382.(3 月 20 日富山大学)</p> <p>一般向け 計 1 件 西澤洋子(2014)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. FIRST シンポジウム「科学が拓く 2030 年」へのシナリオ. (東京都新宿、3 月 1 日、早稲田総研イニシアティブ実施)</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>

様式19 別紙1

<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 ～ミクロの世界をのぞいてみると～』実施日:2013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50名。平成 25 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> <p>『植物と病原菌の攻防戦 ～ミクロの世界をのぞいてみると～』実施日:2014年1月28日、場所: 農業生物資源研究所、対象者:一般見学者、参加者数:35名。農業者団体の見学者に対しミニ講演会を行い、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>
<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25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	78,936,000	30,064,000	0	0
間接経費	32,700,000	23,680,800	9,019,200	0	0
合計	141,700,000	102,616,800	39,083,200	0	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	4,698,432	30,064,000	0	34,762,432	34,762,432	0	0
間接経費	1,410,000	9,019,200	0	10,429,200	10,429,200	0	0
合計	6,108,432	39,083,200	0	45,191,632	45,191,632	0	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	7,104,928	実験試薬、遺伝子解析用ソフト等
旅費	506,600	研究成果発表旅費(加賀、富山大学)等
謝金・人件費等	26,006,237	博士研究員等人件費、英文校正
その他	1,144,667	次世代シーケンシング委託、論文投稿料等
直接経費計	34,762,432	
間接経費計	10,429,200	
合計	45,191,632	

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		