



記者発表資料

独立行政法人 農業技術研究機構
中央農業総合研究センター（北陸研究センター）

「いもち病と白葉枯病に強い、複合病害抵抗性組換えイネ系統の作出に成功！」

1. 発表日時
平成13年10月3日（水）11：00～12：00
2. 発表場所北陸研究センター2階会議室（上越市稲田1-2-1）
3. 発表者
研究管理者：北陸地域基盤研究部部长 黒田 秧
研究担当者：北陸地域基盤研究部上席研究官 福本文良
 同上 主任研究官 川田元滋
 北陸水田利用部病害研究室長 中島敏彦

1. 研究成果の発表内容

「いもち病と白葉枯病に強い、複合病害抵抗性組換えイネ系統の作出に成功！」

2. 発表の要旨

独立行政法人農業技術研究機構中央農業総合研究センターの北陸研究センターでは、農薬の使用量を減らし高品質な米を生産するため、遺伝子組換え技術を用いて、病気や害虫に強いイネ系統の開発に取り組んできました。キャベツとコマツナから抗菌作用のあるタンパク質（ディフェンシン）をつくる遺伝子を取り出して（単離して）イネの遺伝子に組み込んだところ、重要病害であるいもち病と白葉枯病に対して強い複合病害抵抗性を示し、その病害抵抗性は後代に安定的に遺伝することがわかりました。また、ディフェンシン遺伝子の抗菌活性領域を特定することができました。

3. 研究の背景とねらい

イネはわが国の基幹作物であり、主要な食料です。米の輸入自由化、米価の低迷、大幅な生産調整など、わが国の米生産を巡る状況は厳しく、生産費の低減と高品質化による国際競争力の強化と米の需要拡大に結びつく画期的なイネ品種の開発が期待されています。こうした課題に対処するための革新的な技術の一つとして遺伝子組換え技術が注目されており、当センターでも病虫害抵抗性組換えイネ系統の開発に取り組んでいます。特に減農薬栽培を可能にする複合病害抵抗性の付与は、環境保全と消費者ニーズの観点からも重要です。

複合病害抵抗性イネ系統の開発により、イネのいもち病をはじめ紋枯病（以上は糸状菌病）、白葉枯病・もみ枯細菌病・苗立枯細菌病（以上は細菌病）などの大幅な被害軽減が期待できます。特にいもち病は全国の栽培面積の約4割で恒常的に被害が発生し、その防除のために年間約500億円の農薬が散布される最重要病害です。いもち病を含めたイネの重要な病気の被害の軽減に有効な複合病害抵抗性遺伝子はこれまで確認されていないことから、当研究センターでは平成10年度から、食用の野菜自身もつ病害抵抗性反応としての抗菌タンパク質（ディフェンシン）をつくる遺伝子に着目し、この遺伝子の単離を行い、遺伝子組換え体を作成して複合病害抵抗性を実証することにしました。

4. 導入遺伝子の特徴

- 1) ディフェンシンは約80個のアミノ酸から構成され、システインに富む構造を特徴とする抗菌タンパク質の総称です。
- 2) ディフェンシンはアブラナ科野菜の種や葉に含まれるが、イネには存在せず、わずかなアミノ酸置換による構造変化で抗菌活性が大きく変化します。
- 3) ディフェンシンをコードする遺伝子には、シグナル領域と抗菌活性領域があります。
- 4) ディフェンシン遺伝子はカイコやカブトムシ、ウサギなど多様な生物種に存在します

が、アブラナ科のディフェンシンとはその構造、活性範囲および活性強度が異なります。
5) 北陸研究センターではキャベツ、コマツナ、ノザワナ、ハクサイ、カブ、カラシナ、ワサビダイコンおよびナタネの計8種類のアブテナ科野菜からディフェンシン遺伝子を単離してその遺伝子構造を解明し、由来する野菜によって少しずつ構造が異なることを既に明らかにしました。

5. 研究方法

- 1) イネに導入したディフェンシン遺伝子は、独自に単離したキャベツおよびコマツナ由来の遺伝子と、それらの一部分を改変した遺伝子の合計4種類を供試しました。
- 2) 極良食味イネ品種「どんとこい」への遺伝子導入は、アグロバクテリウム法で行い、各遺伝子とも約300個体のイネを作出しました。
- 3) イネいもち病抵抗性検定は、菌懸濁液（レース007, 孢子数 8×10^5 /ml）の葉面噴霧法で行い、いもち病に対する抵抗性の指標はイネいもち病発病指数を用いました。
- 4) イネ白葉枯病に対する抵抗性検定は、組換えイネの成葉を用いて行いました。白葉枯病菌（III群, T7133, 菌濃度 10^6 cfu/ml）の接種は剪葉切除法で行い、抵抗性検定は白葉枯病菌の感染によって出現する病徴の進展の距離で評価しました。
- 5) いもち病および白葉枯病の抵抗性個体を採種して次世代で再度抵抗性検定を行い、病害抵抗性が後代に安定的に遺伝する組換えイネ系統を選抜しました。

6. 研究成果の概要

- 1) キャベツとコマツナ由来の各々のディフェンシン遺伝子を導入して得たイネ組換え体の病害抵抗性検定の結果、いもち病または白葉枯病に抵抗性を示す組換え体、および両方に強い複合病害抵抗性を示す組換え体が多数得られました。
- 2) キャベツとコマツナ由来の各々のディフェンシン遺伝子の一部分を改変した遺伝子を導入したイネ組換え体に、同様の病害抵抗性検定を行ったところ、組換え体はより一層強力な複合病害抵抗性を示しました。
- 3) 選抜した組換え体（各遺伝子とも約60個体）から採種した次世代で同様の病害抵抗性検定を行った結果、各々の病害抵抗性は後代に安定的に遺伝することがわかりました。
- 4) コマツナ由来のディフェンシン遺伝子をもとに、13種類の改変遺伝子を人工的に作成して、ディフェンシン遺伝子の抗菌活性領域の解析を *in vitro* で大腸菌を供試して行い、抗菌活性領域の5ヶ所のアミノ酸が独立に、また異なる領域の4ヶ所のアミノ酸が相互に強調して抗菌活性の発現に関わることを明らかにしました。
- 5) ディフェンシン遺伝子とその複合病害抵抗性の機能については、9月18日に特許出願を行いました。

7. 学会発表（予定）

- 学会名： 第100回日本育種学会（10月7～8日；於、九州大学）
- 発表演題名： 「ディフェンシン遺伝子を導入した組換えイネ系統は複合病害抵抗性を示す」
- 発表者： 川田元滋、中島敏彦、森 浩一、松村葉子、木水真由美、及川鉄男、福本文良、黒田 秧