

平成21年 6月20日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19580053
 研究課題名（和文） アブラナ科の実験植物と作物間の遺伝子発現プロファイルの比較解析と病害応答への適用
 研究課題名（英文） Comparative analysis of expression profiles of counterpart gene sets between *Brassica rapa* and *Arabidopsis thaliana*
 研究代表者
 鳴坂 義弘 (NARUSAKA YOSHIHIRO)
 岡山県生物科学総合研究所・研究員
 研究者番号：20335459

研究成果の概要：

モデル実験植物から農作物への技術移管のモデルケースを提案することを目的として、ゲノム配列が明らかになっているシロイヌナズナとアブラナ科作物のハクサイについて遺伝子レベルでの比較解析を行った。ハクサイの遺伝子ライブラリーを作製して2000個以上のハクサイ遺伝子を得、これら遺伝子を用いてマイクロアレイを作製し、遺伝子発現解析を行った。その結果、両植物間で機能が類似する遺伝子の存在が示唆され、技術移管に向けた重要なデータが得られた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：植物病理学、植物生理学

科研費の分科・細目：農学・植物病理学

キーワード：遺伝子、シグナル伝達、ストレス、マイクロアレイ、比較ゲノム、アブラナ科、ハクサイ、シロイヌナズナ

1. 研究開始当初の背景

農作物ハクサイとモデル実験植物シロイヌナズナは同じアブラナ科植物であるが、その形状、大きさ、生活環は大きく異なる。シロイヌナズナは2000年12月に全ゲノム塩基配列の解析が終了し、ゲノムサイズが125Mbで28,000遺伝子と見積もられている。これに対してハクサイのゲノムは韓国と欧米諸国により解析中であり、ゲノムサイズは529Mbで50,000遺伝子と想定されている。

研究代表者および分担者はシロイヌナズ

ナ完全長 cDNA マイクロアレイにより、病害および環境ストレス下におけるトランスクリプトーム解析を遂行し、比較ゲノムおよび機能ゲノムの基盤となるデータを蓄積した。さらに、予備的なハクサイ・マイクロアレイにより、アブラナ科野菜類炭そ病菌に対するハクサイの遺伝子発現解析を行い、ハクサイ-シロイヌナズナ間のカウンターパート候補遺伝子について発現比較解析を遂行した。このように、モデル実験植物から農作物への技術移管のための研究基盤は構築できており、

本研究課題の提案に至った。

2. 研究の目的

本研究は基礎研究分野と応用研究分野の融合を図り、モデル実験植物から農作物への技術移管のモデルケースを提案することを目的とする。

これまでに、モデル実験植物を用いた基礎研究により、ゲノム配列の解読、トランスクリプトミクス、プロテオミクスおよびメタボロミクスが遂行されている。モデル実験植物としてはシロイヌナズナ、イネ、マメ科のミヤコグサ、ナス科のトマトが基礎研究に用いられている。このような中、モデル実験植物で得られた有用知見の作物への応用展開が望まれている。そこで研究代表者らはシロイヌナズナが属するアブラナ科作物に着目し研究を遂行する。

アブラナ科植物のハクサイは我が国の3大生産野菜の一つである。しかし、ハクサイは根こぶ病、軟腐病、ウイルス病、炭そ病など多くの病害に弱く、耐病性品種の育成に向けた有用遺伝子資源の探索と、病害抵抗性機構の解明が切望されている。ハクサイに感染する病原体の多くはシロイヌナズナにも感染することができる。したがって、シロイヌナズナと同じアブラナ科植物での比較ゲノムおよび機能ゲノム解析は、植物病理学的な観点から、同一の病原体感染系を利用でき、モデル実験植物で得た知見を最大限利用できる点で極めて有効である。

本研究により、シロイヌナズナとハクサイ間のカウンターパート遺伝子に着目して、遺伝子機能を比較解析し、モデル実験植物から農作物への技術移管のための知見を得る。

3. 研究の方法

(1) 病害ストレス時の遺伝子発現データの集積とデータベースの構築

ハクサイ遺伝子ライブラリーからカウンターパート候補遺伝子を多数加えたマイクロアレイを作製し、遺伝子発現解析に用いた。ハクサイを用いて、病原菌接種、シグナル物質および植物ホルモン (SA, JA, ET, アブシジン酸)、活性酸素誘導剤 (パラコート、ローズベンガル) 処理について、マイクロアレイ解析を行ってデータを集積し、ハクサイ・マイクロアレイデータベースを構築した。

(2) ハクサイとシロイヌナズナ間の発現遺伝子の比較ゲノムおよび機能ゲノム解析

シロイヌナズナ・アレイデータベースと本研究で得られたハクサイ・アレイデータベースの比較解析を行った。まず、病害ストレス下におけるハクサイとシロイヌナズナ間のカウンターパートまたはオーソログ候補遺伝子の発現について比較解析を行った。

(3) ハクサイ遺伝子の機能注釈付け

ハクサイ・マイクロアレイのデータとシロイヌナズナの情報を利用し、以下の研究を推進した。

① ハクサイ cDNA の配列決定作業

② シロイヌナズナとの比較ゲノム解析…シロイヌナズナのゲノム情報や公的データベースを利用し、特に病害抵抗性関連遺伝子のオーソログ遺伝子を中心にアノテーションを付与した。

③ ハクサイとシロイヌナズナ間のアミノ酸配列の比較…ハクサイ cDNA の推定アミノ酸配列とシロイヌナズナとの比較を行い、タンパク質ドメイン、タンパク質配列モチーフをもとに遺伝子の機能注釈付けを行った。

4. 研究成果

(1) 病害ストレス時の遺伝子発現データの集積とデータベースの構築

ハクサイ遺伝子発現ライブラリーからシロイヌナズナに対応するオーソログ候補遺伝子を多数加えたマイクロアレイを作製し、遺伝子発現解析を行った。ハクサイに病原菌接種、シグナル物質および植物ホルモン、活性酸素誘導剤の処理について、マイクロアレイ解析を行い、データを蓄積した。本データはハクサイの遺伝子機能解析に有効である。

(2) ハクサイとシロイヌナズナ間の発現遺伝子の比較ゲノムおよび機能ゲノム解析

これまでに構築したシロイヌナズナ・アレイデータベースと本研究で得られたハクサイ・アレイデータを比較解析した。今後、ハクサイとシロイヌナズナ間のカウンターパートまたはオーソログ候補遺伝子の発現について詳細な比較解析を行うことで、両者の共通性と特異性を解析することができる。

(3) ハクサイ遺伝子資源の確保…ハクサイ遺伝子発現ライブラリーから得たクローンの5'末端側の塩基配列を決定し、2000 遺伝子を同定した。

(4) 異種ゲノム環境下での遺伝子の挙動

塩基配列が明らかになった遺伝子について、アブラナ科作物 (ハクサイ) におけるシロイヌナズナ病害防御応答遺伝子のカウンターパートを探索し、遺伝子を獲得した。また、いくつかのハクサイ遺伝子についてシロイヌナズナへの形質転換を試みた。形質転換植物は現在育成中である。

(5) ハクサイ遺伝子の機能注釈付け

本研究課題で得た遺伝子について全長の塩基配列の決定を試みた。これらの遺伝子についてシロイヌナズナのゲノム情報や公的データベースを利用し、特に病害防御応答遺伝子のカウンターパート遺伝子を中心にアノテーションを付与した。また、ハクサイ完全長 cDNA の推定アミノ酸配列とシロイヌナズナとの比較を行い、タンパク質ドメイン、

タンパク質配列モチーフをもとに遺伝子の機能注釈付けを行った。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

①Narusaka, M., Kawai, K., Izawa, N., Seki, M., Shinozaki, K., Seo, S., Kobayashi, M., Shiraishi, T., Narusaka, Y. Gene coding for SigA-binding protein from *Arabidopsis* appears to be transcriptionally upregulated by salicylic acid and NPR1-dependent mechanisms. *Journal of General Plant Pathology*, 74, 345-354 (2008) (査読有り)

②Abe, H., Ohnishi, J., Narusaka, M., Seo, S., Narusaka, Y., Tsuda, S., Kobayashi, M. *Arabidopsis*-thrips system for analysis of plant response to insect feeding. *Plant Signaling & Behavior*, 3(7), 1-2 (2008) (査読有り)

③Abe, H., Ohnishi, J., Narusaka, M., Seo, S., Narusaka, Y., Tsuda, S., Kobayashi, M. Function of jasmonate in response and tolerance of *Arabidopsis* to thrips feeding. *Plant Cell Physiol*, 49, 68-80 (2008) (査読有り)

④鳴坂義弘, 鳴坂真理, 白石友紀, 河合清, 井沢典彦, 畠山勝徳, 安部洋, 小林正智. ハクサイ炭疽病および黒すす病に対するプラントアクティベーターの効果と影響. 日本農薬学会誌, 33(2), 196-200 (2008) (査読有り)

⑤Miya, A., Albert, P., Shinya, T., Desaki, Y., Ichimura, K., Shirasu, K., Narusaka, Y., Kawakami, N., Kaku, H., Shibuya, N. CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104, 19613-19618 (2007) (査読有り)

⑥鳴坂義弘, 鳴坂真理, 白石友紀, 畠山勝徳, 安部洋, 小林正智. ハクサイにおけるアブラナ科野菜類炭疽病および黒すす病に対するプラントアクティベーターの効果の評価. 岡山県生物科学総合研究所 平成 19 年研究年報, pp81-87 (2008) (査読無し)

[学会発表] (計 21 件)

①安部洋, 立石剣, 下田武志, 大西純, 釘宮聡一, 鳴坂真理, 瀬尾茂美, 今野浩太郎, 服部誠, 鳴坂義弘, 津田新哉, 小林正智. モデル実験植物シ

ロイヌナズナを用いた植物-昆虫間相互作用研究. 第 53 回日本応用動物昆虫学会大会, 2009 年 3 月 28-30 日 (北海道)

②安部洋, 下田武志, 大西純, 釘宮聡一, 鳴坂真理, 瀬尾茂美, 鳴坂義弘, 津田新哉, 小林正智. 微小昆虫アザミウマの食害に対するシロイヌナズナの防御応答. 第 50 回日本植物生理学会年会, 2009 年 3 月 21-24 日 (名古屋)

③小林正智, 佐々木一誠, 鳴坂真理, 畠山勝徳, 深海-小林薫, 鳴坂義弘, 安部洋. シロイヌナズナゲノム情報を利用したハクサイ cDNA リソース整備とデータベース開発. 育種学会・作物学会合同講演会, 平成 21 年 3 月 27-28 日 (つくば)

④鳴坂義弘. モデル実験植物の知見を農作物へ!-プラントアクティベーターによる病害防除戦略-. 第 10 回 RIBS バイオサイエンスシンポジウム「食糧・バイオマス生産性の飛躍的向上に向けて」、平成 20 年 10 月 31 日 (岡山)

⑤鳴坂義弘. アブラナ科作物ゲノムリソースおよびプラントアクティベーターを利用した新規病害防除法の開発. 第 29 回日本植物病理学会関西地区若手の会, 平成 20 年 9 月 19 日 (和歌山)

⑥鳴坂真理, 安部洋, 小林正智, 白石友紀, 鳴坂義弘. ハクサイ-シロイヌナズナ間の比較ゲノム解析によるハクサイの病害防御機構解明の試み. 平成 20 年度日本植物病理学会関西西部会, 平成 20 年 9 月 18 日 (和歌山)

⑦小林正智, 安部洋, 鳴坂義弘, 田村卓郎, 太田聡史, 深海薫. 作物研究に向けたシロイヌナズナからの発信の試み. 日本育種学会平成 20 年度秋季講演会シンポジウム, 平成 20 年 10 月 12 日 (彦根)

⑧小林正智, 鳴坂真理, 鳴坂義弘, 安部洋. ゲノムリソースと情報を農学分野で活用する. 第 26 回日本植物細胞分子生物学会 (大阪) 大会平成 20 年 9 月 2 日 (大阪)

⑨Hiroshi ABE, Jun OHNISHI, Mari NARUSAKA, Shigemi SEO, Takeshi SHIMODA, Sohichi KUGIMIYA, Yoshihiro NARUSAKA, Shinya TSUDA and Masatomo KOBAYASHI. Analyses of *Arabidopsis* response to thrips feeding. 19th International Conference on

Arabidopsis Research、2008年7月23-27日
カナダ・モントリオール

⑩鳴坂義弘, 鳴坂真理, 安部洋, 小林正智, 畠山勝徳, 宇野久仁子, 白石友紀. シロイヌナズナのゲノム情報を利用したアブラナ科作物の病害防御機構解明の試み. 平成20年度日本植物病理学会大会、平成20年4月28日(松江)

⑪安部洋, 立石剣, 大西純, 鳴坂真理, 下田武志, 瀬尾茂美, 今野浩太郎, 服部誠, 鳴坂義弘, 津田新哉, 小林正智. モデル実験植物シロイヌナズナを用いた植物-昆虫間相互作用研究. 日本応用動物昆虫学会、2008年3月26-28日(宇都宮)

⑫安部洋, 大西純, 鳴坂真理, 瀬尾茂美, 下田武志, 鳴坂義弘, 津田新哉, 小林正智. 微小昆虫アザミウマの食害に対するシロイヌナズナの応答機構. 第49回日本植物生理学会年会、平成20年3月20日(札幌)

⑬安部洋, 佐々木一誠, 鳴坂真理, 深海薫, 畠山勝徳, 鳴坂義弘, 小林正智. シロイヌナズナのゲノム情報を利用したハクサイ cDNA の整備. 第49回日本植物生理学会年会シンポジウム「モデル植物の“ゲノム”情報をどのように利用するか」、平成20年3月22日(札幌)

⑭宇野久仁子, 鳴坂真理, 平塚和之, 安部洋, 畠山勝徳, 白石友紀, 鳴坂義弘. ハイスループットスクリーニングシステムによる新規 Plant activator の探索. 第49回日本植物生理学会年会、平成20年3月20-22日(札幌)

⑮鳴坂真理, 白須賢, 井内聖, 宇野久仁子, 小林正智, 白石友紀, 鳴坂義弘. アブラナ科野菜類炭そ病菌に対するシロイヌナズナ抵抗性遺伝子の同定. 第49回日本植物生理学会年会、平成20年3月20-22日(札幌)

⑯鳴坂義弘, 鳴坂真理, 安部洋, 畠山勝徳, 宇野久仁子, 白石友紀, 小林正智. シロイヌナズナのゲノム情報からアブラナ科作物の病害応答を診断する. 第49回日本植物生理学会年会シンポジウム「モデル植物の“ゲノム”情報をどのように利用するか」、平成20年3月22日(札幌)

⑰鳴坂義弘. マイクロアレイを利用した高等植物の病害応答機構解析の試み. 第22回岡山植物病理セミナー、平成19年12月8日(岡山大学)

⑱鳴坂義弘. プラントアクティベーターを利用した環境負荷低減型病害防除法の開発. 第9回RIBSバイオサイエンスシンポジウム「植物の病気を科学する-病原菌の感染戦略、植物の防御戦略、農業における病害防除戦略-」、平成19年10月26日(岡山)

⑲鳴坂真理, 安部洋, 小林正智, 白石友紀, 鳴坂義弘. フォーカスマイクロアレイを用いたプラントアクティベーターの評価と病害応答診断技術の開発. 平成19年度日本植物病理学会関西支部会、2007年10月6-7日(岐阜)

⑳鳴坂義弘, 鳴坂真理, 安部洋, 小林正智, 畠山勝徳, 白石友紀. プラントアクティベーターを利用したハクサイに発生する病害の防除. 平成19年度日本植物病理学会関西支部会、2007年10月6-7日(岐阜)

㉑Hiroshi ABE, Jun Ohnishi, Mari NARUSAKA, Shigemi SEO, Yoshihiro NARUSAKA, Shinya TSUDA, Masatomo KOBAYASHI. Analyses of plant response to thrips feeding using *Arabidopsis* system. 4th Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology (主催 Asia-Pacific Association of Chemical) September 10-14, 2007 (筑波)

[その他]
新聞報道: 渋谷直人, 宮彩子, 賀来華江, 川上直人, Albert Premkumar, 新屋友規, 出崎能丈, 白須賢, 市村和也, 鳴坂義弘. 「植物の免疫受容体 カビ認識たん白確認」 化学工業日報、2007年12月3日掲載(その他、日本農業新聞等掲載)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鳴坂義弘 (NARUSAKA YOSHIHIRO)
岡山県生物科学総合研究所・研究員
研究者番号: 20335459

(2) 研究分担者

安部洋 (ABE HIROSHI)
理化学研究所・実験植物開発室・研究員
研究者番号: 90360479

(3) 連携研究者

該当なし