

平成21年5月29日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2006 ～ 2008

課題番号：18780008

研究課題名（和文）：虫害耐性を高めた植物の開発

研究課題名（英文）：Development of herbivore resistant plant

研究代表者

安部 洋 (ABE Hiroshi)

独立行政法人理化学研究所・実験植物開発室・専任研究員

研究者番号：90360479

研究成果の概要：

本研究は植物が本来有する害虫に対する免疫機構を強化することで「害虫に強い植物」の開発を目指すものである。具体的には害虫に対する免疫機構を制御している有用な転写制御因子を選抜し、利用することで「害虫に強い植物」の開発を目指した。その結果、転写因子候補を遺伝子導入した幾つかのラインにおいて実際にアザミウマによる虫害に対する耐性度の上昇が認められ、「害虫に強い植物」の開発の道筋を確立することができた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,200,000	0	1,200,000
2007年度	1,100,000	0	1,100,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,100,000	240,000	3340,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：植物分子育種、虫害応答、アザミウマ

## 1. 研究開始当初の背景

「農業は害虫との戦い」とよく言われる。世界の農業に最も甚大な被害を与えているのが害虫である。地球の温暖化もあいまって一部の害虫が冬を越冬できるようになってきており、害虫による被害は深刻さを増している。害虫防除は今後の食糧生産や環境維持において重大な問題である。現在、害虫駆除のほとんどが農薬の使用に依存しているが、農薬の安全性や残留農薬などの問題は尽きない。そのような状況の中、土壌細菌である

*Bacillus thuringiensis* が産出する、ある種の害虫に対する毒素タンパク質 (Bt toxin) をコードする遺伝子を導入した形質転換植物が開発された。この技術はトウモロコシやワタ、ジャガイモなどに応用されており実際の農業において大きな効果をあげている。Bt toxin を産生する植物を食べた害虫は繁殖することなく死滅するためである。しかし、細菌が産出する毒素を植物に作らせるという倫理的な面、また Bt toxin に耐性を獲得した害虫の新たな出現が危惧されている。その

ため、現在、新たな「害虫に強い植物」の開発が望まれている。

## 2. 研究の目的

農業は食糧生産の根幹であるとともに、地球環境の維持にとっても重大な要因である。農業生産において害虫による被害は甚大であり、その経済的損失は病害よりも大きい。現在の害虫防除は化学農薬を中心に行われているが、薬剤抵抗性を獲得した害虫の出現は後を絶たない。同時に化学農薬による環境や生物多様性への影響、健康への影響といった安心・安全に関する危惧も高い。本研究は植物が本来有する害虫に対する免疫機構を強化することで「害虫に強い植物」の開発を目指した。具体的には害虫に対する免疫機構を制御している有用な転写制御因子を選抜し、利用することで「害虫に強い植物」の開発を目指した。転写制御因子は遺伝子発現のスイッチであり、1つの転写制御因子で数多くの遺伝子発現を同時にコントロールすることができる因子である。害虫の食害を受けた植物は数多くの遺伝子発現を変動させることが明らかになっている。このような遺伝子群の中には害虫へ作用する忌避物質の生合成に関わっているものがあり、害虫に対する免疫応答を展開している。科学研究費の交付期間において、「害虫に強い植物」の開発に有用な転写制御因子の選抜を行い、実際に遺伝子導入を行った植物の「害虫に対する強さ」を評価することで安全・安心な虫害防除シズとして、「害虫に強い植物」の開発の道筋を確立を目指した。

## 3. 研究の方法

以下の3点について着目して解析を進めた。

(1) 「害虫に強い植物」の分子育種に有用な転写因子とプロモーターの単離と遺伝子導入 (2) 遺伝子が効率よく発現している形質転換体のライン化と害虫に対する抵抗性が向上している「害虫に強い植物」の選抜。 (3) 害虫の食害に対する植物の免疫応答のメカニズムを解析

それぞれについて研究方法を記す。

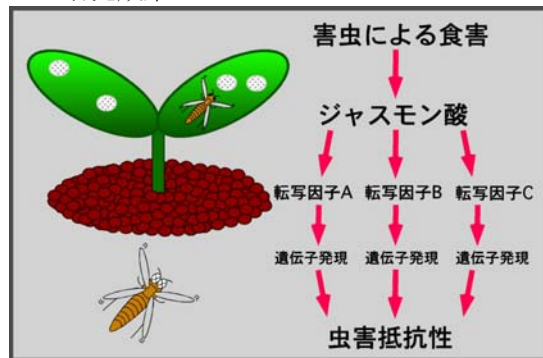
(1) 本実験では宿主植物としてシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)、害虫としてミカンキイロアザミウマ (*Frankliniella occidentalis*) を用いる。ミカンキイロアザミウマによる食害を受けたシロイヌナズナ植物での網羅的な遺伝子発現を gene chip を用いて解析した。遺伝子発現が食害を受けてから劇的に増大する遺伝子群から転写制御因子をコードする遺伝子を選抜した。次に、時間空間的な発現パターンを詳細に解析することにより有用な転写制御因子の候補を選抜した。また、選抜された転写制御因子については遺伝子破壊株を取得した。選抜単離

した転写制御因子はシロイヌナズナに遺伝子導入した。

(2) 得られた形質転換体において、導入遺伝子が食害を受けた植物体で効率よく発現するラインの選抜を発現解析により行った。ライン化された植物体より次世代の十分量の種を取得した。選抜された植物を用いてミカンキイロアザミウマに対する抵抗性が向上している「害虫に強い植物」を更に選抜した。「害虫に強い植物」の選抜は食痕の頻度、他の食害応答性遺伝子発現の強さを解析することにより行った。ミカンキイロアザミウマに対する抵抗性を付与できる転写制御因子については遺伝子破壊株を用いて、ミカンキイロアザミウマに対する抵抗性の変化について評価を行った。

(3) モデル実験植物シロイヌナズナのゲノム情報やゲノムリソース、抵抗性が向上した「害虫に強い植物」を用いることで、ミカンキイロアザミウマの食害抵抗性のメカニズムについて解析を行った。植物ホルモンとの関連性には特に着目して解析を行った。

## 4. 研究成果



ミカンキイロアザミウマの食害を受けたモデル実験植物シロイヌナズナを用いて、詳細な遺伝子発現解析を Affymetrix 社のシロイヌナズナ ATH1 ゲノムアレイを用いて行った。その中からミカンキイロアザミウマ虫害により誘導される複数の転写因子を同定することができた。これらの中には bHLH 型、MYB 型、WRKY 型、NAC 型などの様々なタイプの転写因子が含まれていた。そこでこれら、転写因子に着目し、「害虫に強い植物」を作出するうえでの候補因子とした。これら候補因子はシロイヌナズナ植物中で過剰発現させ、それぞれをライン化した。この際に、恒常的に候補転写因子を発現させる系統や、ミカンキイロアザミウマの食害に反応して発現させる系統などを作成した。遺伝子導入した幾つかのラインにおいて実際にミカンキイロアザミウマによる虫害に対する耐性度が上昇したり、減少するといった変化が認められた。そこでそれら植物体などを用いて、実際の植

物のミカンキイロアザミウマ抵抗性のメカニズムについて詳細な解析を行った。その結果、植物ホルモンジャスモン酸がミカンキイロアザミウマ抵抗性に主要な働きをしていることが明らかとなった。以上により「害虫に強い植物」の開発の道筋を確立することができた。虫害応答は病害応答に対して分子レベルにおいて協調的にも拮抗的にも制御されていることが最近になって報告されている。これまでに、害虫被害を受けた植物は病気にかかりやすくなるという報告などがなされており、植物の病害虫に対する防御応答は予想以上に複雑なネットワークにより、制御されていると考え始められている。農業現場では虫害と病害は同時に起こることから、今後、病害抵抗性をも考慮した虫害耐性付与戦略が必要となってくるであろう。

#### 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 Y, Narusaka M, Abe H, Hosaka N, Kobayashi M, Shiraishi T, Iwabuchi M  
:High-throughput screening for plant defense activators using a beta-glucuronidase-reporter gene assay in *Arabidopsis*

**Plant Biotechnology** (in Press)

査読有り

②Leon-Reyes A, Spoel S.H, De Lange E. S, Abe H, Kobayashi M, Tsuda S, Millenaar F. F, Welschen R. A. M, Ritsema T, Pieterse C. M. J: Ethylene modulates the role of nonexpressor of pathogenesis-related gene1 in cross talk between salicylate and jasmonate signaling.

**Plant Physiology** 149, 1797-1809 (2009)

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 and Cell Physiology** 49, 68-80 (2008)

査読有り

④Abe 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 and Behavior** 3, 446-447 (2008)

査読有り

⑤Narusaka M, Abe H, Kobayashi M, Kubo Y, Kawai K, Izawa N, Narusaka Y.

:A model system to screen for candidate plant activators using an immune-induction system in *Arabidopsis*

**Plant Biotechnology** 23 321-327 (2006)

査読有り

⑥Narusaka M, Abe H, Kobayashi M, Kubo Y, Narusaka Y.

:Comparative analysis of expression profiles of counterpart gene sets between *Brassica rapa* and *Arabidopsis thaliana* during fungal pathogen *Colletotrichum higginsianum* infection

**Plant Biotechnology** 23 503-508 (2006)

査読有り

[学会発表] (計8件)

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

①Hiroshi ABE, Jun Ohnishi, Mari NARUSAKA, Shigemi SEO, Yoshihiro NARUSAKA, Shinya TSUDA and Masatomo KOBAYASHI

Analyses of plant response to insect damage by western flower thrips

10<sup>th</sup> Gordon research conference on Plant Herbivore Interactions (アメリカ・カリフォルニア、2007.2.18-23)

②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に関する解析

第48回日本植物生理学会年会(愛媛、2007.3.28-30)

③Hiroshi ABE, Jun Ohnishi, Mari NARUSAKA, Shigemi SEO, Yoshihiro NARUSAKA, Shinya TSUDA and Masatomo KOBAYASHI

Analyses of plant response to thrips feeding using Arabidopsis system

4th Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology (つくば、2007.9.12)

④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(札幌、2008.3.20-22)

⑤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 52 回日本応用動物昆虫学会（宇都宮、  
2008. 3. 26-28）

⑥Hiroshi 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 (カナダ・モントリオ  
ール、2008. 7. 23-27)

⑦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（名古屋、  
2009. 3. 21-24）

⑧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（札幌、  
2009. 3. 28-30）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 2 件）

①-(1) 名称：アザミウマ防除剤及び防除方法  
発明者：安部洋、瀬戸秀春、小林正智、下田  
武志、津田新哉

権利者：独立行政法人・理化学研究所、独立  
行政法人・農業食品産業技術総合研究機構  
番号：特願 2008-84223

出願年月日：平成20年3月27日

国内外の別：国内

①-(2) (①-(1)に対する国内優先権出願)

名称：アザミウマ防除剤及び防除方法  
発明者：安部洋、瀬戸秀春、小林正智、下田  
武志、津田新哉

権利者：独立行政法人・理化学研究所、独立  
行政法人・農業食品産業技術総合研究機構  
番号：特願 2008-291328

出願年月日：平成20年11月13日

国内外の別：国内

②名称：ハモグリバエ防除剤及び防除方法

発明者：安部洋、瀬戸秀春、小林正智、立石  
剣、今野浩太郎

権利者：独立行政法人・理化学研究所、独立

行政法人・農業生物資源研究所

番号：特願 2008-334620

出願年月日：平成20年12月26日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安部 洋 (ABE Hiroshi)

独立行政法人・理化学研究所・実験植物開発  
室・専任研究員

研究者番号：90360479