

オオムギ縞萎縮ウイルスの可視化と ウイルス抵抗性遺伝子の解析法を確立 ～オオムギのウイルス抵抗性品種の育種が促進～

【発表のポイント】

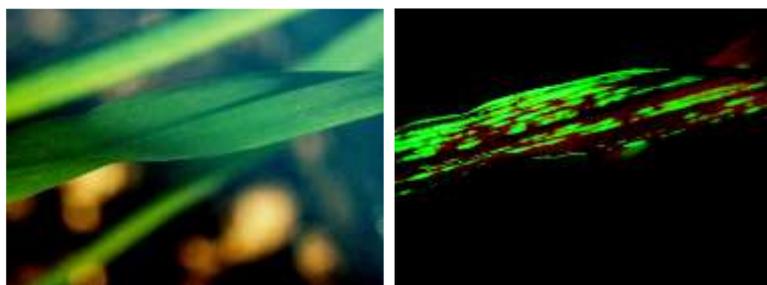
- ・栃木県はオオムギ生産量日本一ですが、人間にウイルス病があるように、オオムギにもオオムギ縞萎縮ウイルスという危険なウイルスがいます。しかし、オオムギにはいくつか抵抗性遺伝子が知られていますが、それらの機能が分からないため、新しいウイルス抵抗性品種を作るにはどの遺伝子を使えばよいか判断が出来ません。
- ・我々はウイルスに緑色蛍光タンパク質を持たせることで、オオムギが活着している状態でウイルスを可視化し確認することに成功しました。
- ・ウイルスの分布などの違いを調べることで、ウイルス抵抗性遺伝子がどこで機能しているのか解析できるようになり、新しい品種で使う抵抗性遺伝子の選定に貢献できます。

■研究概要

宇都宮大学農学部の植物病理学研究室の夏秋知英特命教授、西川尚志准教授らと、栃木県農業試験場の麦類研究室、生物工学研究室の研究グループは、新たなウイルス抵抗性オオムギ品種の作出を目指し、ウイルスに対する抵抗性遺伝子の選抜の手法を確立しました。ウイルスは突然変異により抵抗性を打破するため、新しい品種を作出するためには、複数の抵抗性遺伝子を持たせることが望ましいですが、そもそも抵抗性遺伝子の機能や作用機作が分かっていません。そこで我々は緑色蛍光タンパク質（GFP）を発現するウイルスベクター（注1）を作製しました。植物体のなかで光っている場所やオオムギ品種による違いを解析することで、作用機作が異なる抵抗性遺伝子を分類することが可能になりました。このように、異なる作用機作を持つ抵抗性遺伝子を複数利用することで、ウイルスに強い品種の作出に貢献できると期待できます。

本研究成果は、10月1日、学術誌「Breeding Science」に掲載されました（オンライン版で公開されました）。また、図1は、雑誌のカバー写真としても掲載されました。

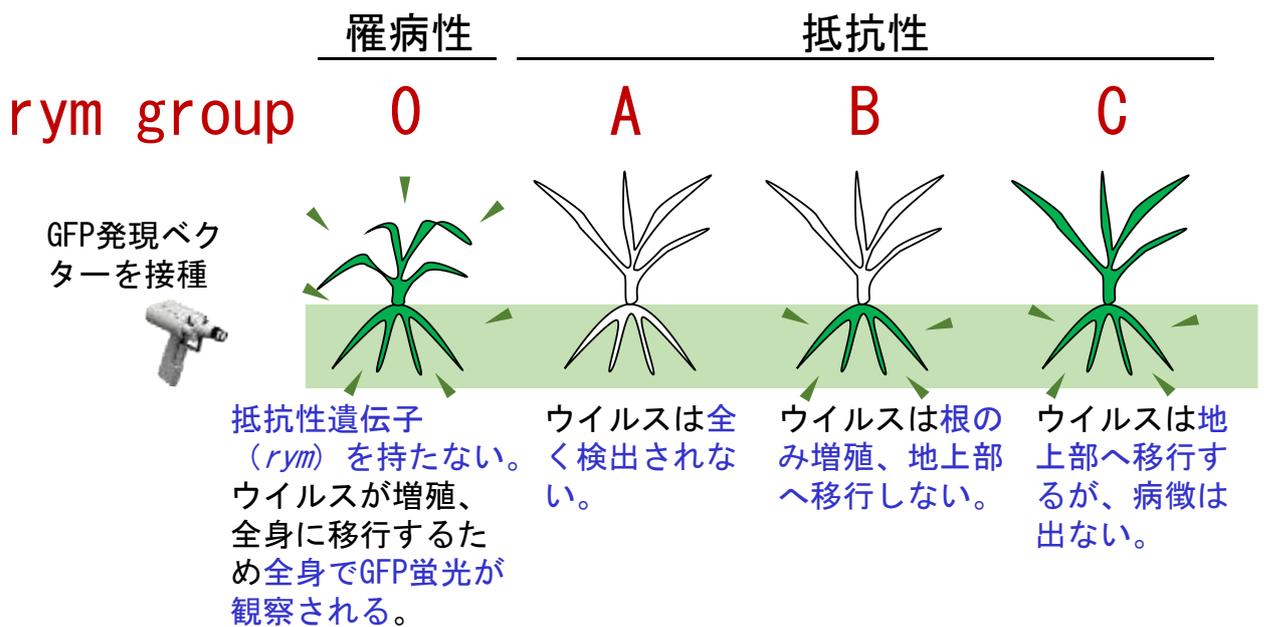
本研究は生物系特定産業技術研究支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」の支援を受けて行いました。



（図1）GFP発現ベクターを接種し、モザイク症状が見られる葉（左）に紫外線を当てるとGFP蛍光が見られることから、その場所でウイルスが増殖していることが分かる（右）。

■研究の背景

栃木県が生産量日本一であるビール麦（二条オオムギ）はオオムギ縞萎縮ウイルスに感染し、収量が落ちることが問題になっています。またウイルスは突然変異により抵抗性遺伝子を打破する系統の出現が知られています。そのため、抵抗性品種には異なる機能をもつ抵抗性遺伝子を複数利用することが有効であると考えられています。抵抗性遺伝子の機能や作用機作はほとんど分かっていません。これまでに19個の抵抗性遺伝子（*rym1*~19）が知られていますが、これらの遺伝子の機能を1つ1つ解析するのは時間がかかるため、現実的ではありません。そこで、手っ取り早く、GFPを発現するウイルス（GFP発現ベクター）を接種することで、これら19個の抵抗性遺伝子を作用機作（作用部位）の違いで分類できるのではないかと考えました（図2）。作用機作の違う遺伝子を組み合わせることで、よりウイルスに強い品種を作ることが可能になります。



（図2）抵抗性品種は抵抗性遺伝子（*rym1*~19）の種類により、図のA, B, Cのいずれかに分類されると予想されます。

■研究方法

日本で発生するオオムギ縞萎縮ウイルスの全5系統（注2）を使い、ウイルスゲノムの各所にGFP遺伝子を挿入し、それらの安定性を調べました。なお、GFPは通常のGFPよりも明るい蛍光を発するsfGFP（注3）を利用しました。また、根への接種やGFP蛍光観察を容易にするため、水耕栽培法を試みました。接種法として、葉、根、基部に対してGFP発現ベクターを遺伝子銃により接種することや、感染植物の汁液の機械接種により効率の良い接種条件を試みました。検定には4種類の抵抗性遺伝子（*rym1*, 3, 5, 12）をそれぞれもつオオムギ品種を用いました。

■研究成果

オオムギ縞萎縮ウイルスの全5系統に対し、安定してGFPを維持するGFP発現ベクターの作製に成功しました。根や基部に接種したときの感染率は高くなかったものの、葉への接種では高く、各ウイルス系統の各抵抗性品種への感染の有無のパターンは圃場での試験結果とほぼ一致していました。

■今後の展望（研究のインパクトや波及効果など）

GFP 蛍光観察より、ウイルス複製や動態解析が可能となりました。また、ウイルス系統と抵抗性品種の組み合わせが「感染しない」組み合わせであっても、「接種部位で増殖しないパターン」や「接種部位で増殖するが広がらないパターン」などの違いがあることから、今後、他の抵抗性遺伝子も用いて、より詳細に解析することで、19 個の抵抗性遺伝子のグループ分けができると期待できます。

■論文情報

論文名 : Utility of a GFP-expressing *Barley yellow mosaic virus* for analyzing disease resistance genes

雑誌名 : Breeding Science

著者 : Mai Tanokami, Wei Qin Wang, Meimi Yamamoto, Tomomi Hagiwara, Mari Yumoto, Aika Tomiyama, Satoru Mine, Yukiko Tamura, Shunichi Kobayashi, Yoshiko Nakazawa, Tsuneo Kato, Tomohide Natsuaki and Hisashi Nishigawa

URL: <https://doi.org/10.1270/jsbbs.21017>

■用語説明

注 1 : 緑色蛍光タンパク質 (GFP) は紫外線を照射することで緑に光るタンパク質。ウイルスにこの GFP を持たせたものが GFP 発現ベクター。接種した植物体内で「ウイルスがどこで増殖しているのか」、ということが一目で分かる。

注 2 : オオムギ縞萎縮ウイルスは下の表のように、オオムギ品種への感染の有無の違いにより 5 系統に分かれています。

圃場試験におけるウイルス系統と各種大麦品種との反応

	抵抗性遺伝子	ウイルス系統に対する感染性				
		I型	II型	III型	IV型	V型
ニューゴールドデン	なし	S	S	S	S	S
新田系68	<i>rym1</i>	R	R	S	S	S
サチホゴールドデン	<i>rym3</i>	R	R	R	S	S
ミカモゴールドデン	<i>rym5</i>	R	R	S	R	R
Muju covered 2	<i>rym12</i>	R	S	S	R/S	R
スカイゴールドデン	<i>rym3, rym5</i>	R	R	R	R	R

S: 罹病性、R: 抵抗性、R/S: 年次により感染の有無が変動

注 3 : sfGFP は GFP の改良版。宇都宮大学バイオサイエンス教育研究センターの児玉教授らが開発したもの。

■英文概要

The soil-borne plasmodiophorid *Polymyxa graminis* is a vector for *Barley yellow mosaic virus* (BaYMV), which can severely damage barley plants. Although 22 disease resistance genes have been identified, only a few have been used for breeding virus-

resistant cultivars. Recently, BaYMV strains capable of overcoming the effects of some of these genes have been detected. In this study, green fluorescent protein (GFP)-expressing BaYMV was constructed and used to examine viral dynamics in inoculated barley plants. Leaf inoculations resulted in higher infection rates than root or crown inoculations. Additionally, inoculations of some resistant cultivars produced infections that were similar to those observed in a field test. The results of this study indicate that the GFP-expressing virus is a useful tool for visualizing virus replication and dynamics, and for understanding resistance mechanisms.

本件に関する問い合わせ

(研究内容について)

国立大学法人 宇都宮大学 学術院 准教授 西川 尚志

TEL : 028-649-5449 FAX : 028-649-5449 E-mail : nishigawa@cc.utsunomiya-u.ac.jp

(報道対応)

国立大学法人 宇都宮大学 広報室 (広報係)

TEL : 028-649-5201 FAX : 028-649-5026 E-mail : kkouhou@miya.jm.utsunomiya-u.ac.jp