

講演番号：2J30a06

講演日時：3月18日 10:45～ J校舎 30会場

日本型イネ由来の新規除草剤抵抗性遺伝子 *HIS1* の機能解析

Characterization of a novel herbicide resistance gene, *HIS1*, derived from japonica rice

○戸澤 譲¹、泉 厚志²、武井 里美¹、山崎 明彦³、関野 景介³、山田 祐司³、村田 和優⁴、前田 英郎⁵、廣瀬 咲子⁶、川岸 万紀子⁶、谷口 洋二郎⁶、川田 元滋⁶、吉田 均⁶、大島 正弘⁶、加藤 浩⁷(¹埼玉大院理工、²富山県大、³株) エス・ディー・エス バイオテック、⁴富山県・農林水産総合技術センター、⁵農研機構・中央研、⁶農研機構・生物機能部門、⁷農研機構・作物開発センター)

○Yuzuru TOZAWA¹, Atsushi IZUMI², Satomi TAKEI¹, Akihiko YAMAZAKI³, Keisuke SEKINO³, Yuji YAMADA³, Kazumasa MURATA⁴, Hideo MAEDA⁵, Sakiko HIROSE⁶, Makiko KAWAGISHI-KOBAYASHI⁶, Yojiro TANIGUCHI⁶, Motoshige KAWATA⁶, Hitoshi YOSHIDA⁶, Masahiro OHSHIMA⁶, Hiroshi KATO⁷ (¹Saitama Univ., ²Toyama Pref. Univ., ³SDS Biotech K.K., ⁴Toyama Pref. AFFRC, ⁵NARO CARC, ⁶NARO NIAS, ⁷NARO NICS)

【目的】 *HIS1* は 4-HPPD 阻害型除草剤への抵抗性原因遺伝子として日本型イネに見出され、既知の除草剤抵抗性遺伝子との類似性がないイネ科植物に固有のタンパク質をコードしている。本研究では *HIS1* の機能を明らかにするため、遺伝子組換え植物を作出し、水稲用除草剤ベンゾビシクロン (BBC) を含むトリケトン系 4-HPPD 阻害型除草剤に対する *HIS1* の作用を解析するとともに、試験管内翻訳系を利用して *HIS1* タンパク質の機能解明を進めた。

【材料及び方法】 *HIS1* を BBC 感受性のイネおよびシロイヌナズナに導入した組換え体を作成し、BBC ならびに BBC と同一作用機作で化学構造の異なる 4-HPPD 阻害型除草剤に対する感受性検定を実施した。並行して、*HIS1* タンパク質をコムギ胚芽試験管内翻訳系により調製し、BBC の活性本体である加水分解体 (BBC-OH) を基質とした代謝解析を行い、*HIS1* の基本的な酵素機能を明らかにした。

【結果及び考察】 *HIS1* 発現個体は、イネおよびシロイヌナズナともに感受性原品種が完全白化する BBC 濃度でも抵抗性を示し正常に生育した。BBC と化学構造の異なる 4-HPPD 阻害型除草剤に対しても同様の抵抗性を示し、*HIS1* の抵抗性付与効果はビシクロオクタンジオン (BOD) 系薬剤だけではなく、シクロヘキサジオン (CHD) 系薬剤に対しても同様に確認された。

HIS1 タンパク質のアミノ酸配列には、鉄配位および 2-オキシグルタル酸 (2OG) 結合部位を含む酸化還元ドメインの存在が予想されたことから、合成 *HIS1* タンパク質を二価鉄イオンおよび 2OG の存在下で BBC-OH と反応させ、反応液を HPLC で解析した。合成 GFP を用いた対照区では BBC-OH の残存が観察されたのに対し、*HIS1* 反応液では BBC-OH ピークの消失が確認された。代わりに出現した BBC-OH 代謝物の構造解析を進めた結果、*HIS1* タンパク質は BBC-OH の酸化修飾を触媒する Fe(II)/2OG オキシゲナーゼとして機能することで、その 4-HPPD 阻害活性を不活化し、イネに BBC 抵抗性を付与するものと推論した。さらに、*HIS1* の対象化合物は BBC に限定されず、CHD 骨格を有する既存 4-HPPD 阻害型除草剤も同様に不活化されることを HPLC 解析により確認した。

我々は、以上の結果より、イネ品種間の交配による *HIS1* 遺伝子座の導入のみならず、遺伝子組換え法でも *HIS1* 遺伝子による感受性作物への除草剤抵抗性の付与が可能であることを示し、かつ水田・畑地を問わずに利用可能な除草剤の選択肢が複数あることを明らかにした。これは、イネ由来の *HIS1* 遺伝子が、新たな除草剤抵抗性遺伝子のツールとして、イネ以外の主要作物においても広く利用可能であることを示している。

rice, herbicide resistance gene, oxygenase

発表責任者：戸澤譲 (tozawa@mail.saitama-u.ac.jp)