

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18630

研究課題名(和文) イネの根伸長角度を制御する遺伝機構の解明

研究課題名(英文) Identification and characterization of gene controlling root growth angle in rice.

研究代表者

木富 悠花 (KITOMI, Yuka)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・契約研究員

研究者番号：70746502

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：作物にとって深根性は、干ばつ時に土壌深層に偏在する水分を獲得する上で重要な形質である。根系改良によるさらなる干ばつ回避能力向上のため、本研究課題では新奇的な根伸長角度QTLs(qSOR1およびDR03)の解析を行った。その結果、qSOR1遺伝子の単離に成功し、その発現パターンを特定することができた。またqSOR1は既報のDR01と同様にオーキシシンシグナル伝達経路で機能するが、両遺伝子は根伸長角度制御に関して独立な遺伝的経路上で機能していると考えられた。DR03は詳細マッピングを試みたが、DR03近傍にはDR03と相反する効果を持つQTLが存在しており、DR03候補領域の絞込みには至らなかった。

研究成果の概要(英文)：Deep root system is important trait to get unevenly-located water in the deeper soil layer in drought condition. To improve the ability of drought avoidance in crops by modifying root system architecture, we studied on newly identified QTLs, qSOR1 and DR03, which control root growth angle in rice. We succeeded in isolation of qSOR1 gene and demonstration of qSOR1 expression levels and patterns in several tissues. qSOR1 works in auxin signaling pathway same as known root growth angle control gene DR01, on the other hand, they regulate root growth angle independently. Fine mapping of DR03 gene was also performed in this project. However, we could not narrow down the candidate region of DR03 due to the other QTL(s) having opposite effect to DR03 located near DR03.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：イネ 根伸長角度 QTL

## 1. 研究開始当初の背景

干ばつは作物生産の現場において最も深刻な問題のひとつである。近年の地球規模での環境変動により干ばつ被害はますます拡大しているものの、耐乾性作物の育種はほとんど進んでいないのが現状である。干ばつ時には土壌水分は一様に失われていくのではなく、土壌表層から消失して土壌下層に偏在した状態となる。したがって、根が浅い品種の場合は根を深く改良して土壌下層の水を吸収できるようにすることが耐乾性の育種戦略として有効であると考えられる。

当研究グループでは深根化による耐乾性の向上をめざし、世界で初めてイネから深根性関連遺伝子 *DEEPER ROOTING 1 (DR1)* の単離に成功した (Uga, Kitomi et al., 2013)。*DR1* は浅根型的水稻品種・IR64 と深根型の陸稲品種・Kinandang Patong (KP) を用いた QTL 解析から、第 9 染色体に見出された。*DR1* が非機能型の IR64 に KP 由来の機能型 *DR1* を導入した準同質遺伝子系統・Dro1-NIL は IR64 に比べて根伸長角度が大きくなり、干ばつ状態で IR64 よりも増収となった。以上の結果から、深根化が耐乾性の向上に非常に有効な手段であることを遺伝学的に証明した (Uga, Kitomi et al., 2013)。また当研究グループでは、*DR1* 以外の根伸長角度に関する QTL を複数見出すに至っている (Uga et al., 2011; Uga, Kitomi et al., 2013; 雑誌論文 ; 雑誌論文 )。

しかし、イネを含め作物における根系関連の QTL は、*DR1* 以外は単離に至っていなかった。そのため、イネの根系分布を制御する遺伝機構の詳細については、ほとんどわかっていないのが現状である。

## 2. 研究の目的

上述のように、複数の遺伝子が深根性に関わっていることから、根伸長角度は遺伝的に複雑に制御されていると考えられる。これまでに浅根品種である IR64 の根伸長角度は *DR1* により深根化することができると実証できたが、それと同時に多くの浅根品種は *DR1* を機能型 (深根型) で保持していることが明らかとなっている (Uga, Kitomi et al., 2013)。したがって、根系改変によるさらなる干ばつ回避能力の向上や、*DR1* の機能欠損が原因でない多くの浅根型品種の深根化は *DR1* だけでは達成できない。

そこで本研究課題では、新たに見出された根伸長角度 QTL である *quantitative loci for SOIL SURFACE ROOTING 1 (qSOR1)* や *DR1* の遺伝系路上にあると推察される *DR3* の解析を進め、イネの根伸長角度に関する遺伝機構の解明をめざす。本成果は根系分布の制御を可能とする遺伝子リソースの開発へとつながり、これまでほとんど進んでいなかった根型育種をゲノムレベルで加速化することが期待できる。

## 3. 研究の方法

本研究ではイネにおける根伸長角度に関する遺伝機構の解明をめざし、以下の 2 課題を実施した。

### (1) 深根性遺伝子 *qSOR1* の機能解析

相補性検定により *qSOR1* 遺伝子を決定し、*qSOR1* の発現量および発現部位と根伸長角度との関連を明らかにする。また、根伸長角度と植物ホルモンであるオーキシンとの関連や、*DR1* との遺伝的相互作用について調査する。

### (2) 深根性遺伝子 *DR3* の詳細マッピング

*DR3* の候補領域を数十 kbp まで絞り込むため、組換え固定系統を作出して連鎖解析を行う。

## 4. 研究成果

### (1) 深根性遺伝子 *qSOR1* の機能解析

#### *qSOR1* 遺伝子の相補性検定

*qSOR1* は地表根 (水田で一部の根が地表上に伸長する) を形成する品種の Gemdjah Beton (GB) と形成しない品種のササニシキとの組換え近交系統群を用いた QTL 解析から、第 7 染色体に見出された QTL である。ササニシキ背景で該当領域のみを GB ホモ型に置換した *qsor1-NIL* を作製し表現型を観察したところ、ササニシキではほとんど形成されない地表根が *qsor1-NIL* では観察された。

詳細マッピングを行った結果、候補領域は約 12 kbp に絞り込まれ、その領域内で変異のある候補遺伝子は 1 つだけであった。GB において *qSOR1* 候補遺伝子はタンパク質コード領域内の 1 塩基置換によりナンセンス変異が生じていたため、GB では本候補遺伝子が非機能型となっていると推測された。そこで上流配列を含むササニシキ型 (機能型) のゲノム配列を *qsor1-NIL* に導入したところ、*qsor1-NIL* の地表根形成が抑制されていることを確認できた。したがって、本候補遺伝子が *qSOR1* であると結論付けられた。

#### *qSOR1* 遺伝子の組織・空間的発現解析

*qSOR1* の組織別発現部位を qRT-PCR で調べたところ、*qSOR1* は根伸長角度に関わるとされる根端に加え、基部茎葉節および花序においても発現していることがわかった。また、根端を伸長角度別に分けて発現量を比較してみたところ、*qSOR1* は浅根の根端よりも深根の根端での発現量が高いということが明らかとなった。

根端における空間的発現パターンを *in situ* hybridization によって詳細に解析した結果、*qSOR1* はコルメラで特異的に発現していることが判明した。コルメラは重力感受に重要な役割を果たしている部位であり、*qSOR1* はコルメラで発現することで根端での重力感受になんらかの影響を及ぼしていると示唆された。*qSOR1* と同様に根伸長角度を制御する *DR1* は根端において分裂帯で発現し、コルメラでの発現は認められないことが

既に報告されている (Uga, Kitomi et al., 2013)。この両遺伝子の発現パターンから、*DRO1*と*qSOR1*はそれぞれ独立に根伸長角度を制御しているのではないかと推察された。

#### *qSOR1* 遺伝子とオーキシンとの関連

*DRO1* は重力屈性に関与するオーキシンにより、その発現を抑制されることが既に明らかとなっている (Uga, Kitomi et al., 2013)。そこで *qSOR1* においてもオーキシンによる発現制御機構が存在するか否かを調べた。2,4-D を処理したイネ幼苗の根端から RNA を抽出し qRT-PCR に供試したところ、*qSOR1* は 2,4-D 処理後 1 時間以内にその発現量が 1/10 程度に低下することがわかった。そのため、*qSOR1* も *DRO1* と同様にオーキシンシグナル伝達経路において機能していると考えられた。

次に、タンパク質合成阻害剤であるシクロヘキシミド存在下でのオーキシンによる発現低下が観察されるかどうかを調べたところ、シクロヘキシミド存在下ではオーキシンによる *qSOR1* の発現量低下は認められなかった。このことから、*qSOR1* のオーキシンによる発現制御は二次的なタンパク質合成を必要としないということが示唆され、*qSOR1* はオーキシンシグナル伝達経路において *DRO1* と同様に ARF タンパク質の直接的な発現制御を受けていると推測された。

#### *qSOR1* と *DRO1* の相互作用の遺伝学的検証

申請者の研究グループで単離・同定した *DRO1* と *qSOR1* の遺伝学的相互作用を解析するため、IR64 背景で両遺伝子の機能型あるいは非機能型をそれぞれ組み合わせた系統を作製し (*DRO1/qSOR1*, *DRO1/qsor1*, *dro1/qSOR1*, *dro1/qsor1*)、畑圃場で育成して表現型を観察した。これまでの表現型解析から、*DRO1* は非機能型になるとすべての冠根が浅根となるのに対し、*qSOR1* は非機能型になると主に細い冠根が浅根となる傾向が認められている。この両遺伝子の根伸長角度に対する作用を踏まえて 4 系統の根伸長角度を調査したところ、*DRO1* と *qSOR1* は根伸長角度に関して相加的な効果を示すことがわかった。

また、これら 4 系統の根端から RNA を抽出し、*DRO1* および *qSOR1* の発現量を調べた。その結果、*DRO1* 背景と *dro1* 背景間での *qSOR1* 発現量、および *qSOR1* 背景と *qsor1* 背景間での *DRO1* 発現量はそれぞれ差が認められず、両遺伝子は互いの発現に影響しあうことがないことが明らかとなった。以上より、*DRO1* と *qSOR1* は根伸長角度制御に関して独立な遺伝的経路上で機能していると考えられた。

#### (2) 深根性遺伝子 *DRO3* の詳細マッピング

*DRO3* は機能型 *DRO1* を持つ *DRO1-NIL* と KP の F<sub>2</sub> を用いた QTL 解析により、第 7 染色体に見出された QTL である。*DRO3* は非機能型 *DRO1* 背景からは検出されなかったことから、*DRO3* は *DRO1* の遺伝経路上に存在し、機能型

*DRO1* 背景でのみ発現する遺伝子であると予想された (雑誌論文 )。

*DRO3* は機能型 *DRO1* 背景でないと機能しないため、*Dro1-NIL* と *DRO3* 候補領域が KP 型の染色体断片置換系統を交配し、*DRO1* は機能型で固定しているが *DRO3* 候補領域で組換えの起こった固定系統を選抜してマッピング用の解析集団の作製を試みた。まず、F<sub>2</sub> 集団を用いたラフマッピングにより、組換え固定系統を作製する上での QTL 座上位置の特定を行った。ラフマッピングの結果、*DRO3* の存在を確認することができた。また、*DRO3* 近傍には *DRO3* の深根化作用に対して負の効果を持つ QTL が存在することが明らかとなった。

詳細マッピング用の組換え固定系統を作製するにあたり、*DRO3* の深根化作用を打ち消す QTL 領域を排除した系統を選抜し、それらの自殖種子を得た。この組換え固定系統を用いた詳細マッピングを行ったが、結果として *DRO3* 候補領域のさらなる絞込みはできなかった。これは *DRO3* 近傍の根伸長角度を浅くする因子の影響を完全に取り除くことができなかったためであると考えられる。

#### < 引用文献 >

Uga et al. (2011) *Dro1*, a major QTL involved in deep rooting of rice under upland field conditions. *J Exp Bot.* 62: 2485-2494.

Uga, Kitomi et al. (2013) Control of root system architecture by *DEEPER ROOTING 1* increases rice yield under drought conditions. *Nat Genet.* 45: 1097-1102.

#### 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)

Yusaku Uga, Ithipong Assaranurak, Yuka Kitomi, Brandon G. Larson, Eric J. Craft, Jon E. Shaff, Susan R. McCouch, Leon V. Kochian. (2018) Genomic regions responsible for seminal and crown root lengths identified by 2D & 3D root system image analysis. *BMC Genomics* 19: 273. DOI: 10.1186/s12864-018-4639-4. (査読有)

Yuka Kitomi, Emari Nakao, Sawako Kawai, Noriko Kanno, Tsuyu Ando, Shuichi Fukuoka, Kenji Irie, Yusaku Uga. (2017) Fine mapping of *QUICK ROOTING 1* and 2, quantitative trait loci increasing root length in rice. *G3-Genes Genomes Genetics* 8: 727-735. DOI: 10.1534/g3.117.300147. (査読有)

宇賀優作, 木富悠花. (2016) 作物生産における根伸長角度の遺伝的改良. *植物科学最前線 (BSJ-Review)* 7E: 250-263.

[http://bsj.or.jp/jpn/general/bsj-review/BSJ-review\\_7E\\_250-263.pdf](http://bsj.or.jp/jpn/general/bsj-review/BSJ-review_7E_250-263.pdf) (査読有)

Yusaku Uga, Yuka Kitomi, Satoru Ishikawa, Masahiro Yano. (2015) Genetic improvement for root growth angle to enhance crop production. *Breeding Science* 65: 111-119. DOI: 10.1270/jsbbs.65.111. (査読有)

Yuka Kitomi, Noriko Kanno, Sawako Kawai, Tatsumi Mizubayashi, Shuichi Fukuoka, Yusaku Uga. (2015) QTLs underlying natural variation of root growth angle among rice cultivars with the same functional allele of *DEEPER ROOTING 1*. *Rice* 8: 16. DOI: 10.1186/s12284-015-0049-2. (査読有)

Yusaku Uga, Yuka Kitomi, Eiji Yamamoto, Noriko Kanno, Sawako Kawai, Tatsumi Mizubayashi, Shuichi Fukuoka. (2015) A QTL for root growth angle on rice chromosome 7 is involved in the genetic pathway of *DEEPER ROOTING 1*. *Rice* 8: 8. DOI: 10.1186/s12284-015-0044-7. (査読有)

〔学会発表〕(計 6件)

木富悠花, 荒井(三王)裕見子, 岡村昌樹, 宇賀優作. 「深根型 *DRO1* の導入がイネ浅根型 CSSLs の収量形質に及ぼす影響」, 日本育種学会第 133 回講演会、2018 年 3 月.

木富悠花, 中尾絵真理, 河合佐和子, 菅野徳子, 安藤露, 福岡修一, 入江憲治, 宇賀優作. 「イネ第 2 および第 6 染色体上に同定した根長 QTL、*QUICK ROOTING 1 & 2*」, 第 46 回根研究集会、2017 年 6 月.

木富悠花, 中尾絵真理, 河合佐和子, 菅野徳子, 安藤露, 福岡修一, 入江憲治, 宇賀優作. 「イネ第 2 および第 6 染色体上に見出された根長に關与する新奇 QTLs のファインマッピング」, 日本育種学会第 131 回講演会、2017 年 3 月.

木富悠花, 半澤栄子, 河合佐和子, 菅野徳子, 藤澤弘子, 金森裕之, 呉健忠, 佐藤雅志, 宇賀優作. 「イネの根伸長角度を制御する新奇な QTL、*qSOR1* の単離」, 日本育種学会第 130 回講演会、2016 年 9 月.

宇賀優作, 木富悠花. 「干ばつ耐性向上をめざした根型育種の有効性と今後の展望」, 第 43 回根研究集会特別シンポジウム (招待講演)、2015 年 9 月.

宇賀優作, Assaranurak I., Larson B.G., Craft E.J., Shaff J.E., 木富悠花, McCouch S.R., Kochian L.V. 「2D & 3D 画像解析によるイネ第 1 染色体の根系発達に關与するゲノ

ム領域の発見」, 日本育種学会第 128 回講演会、2015 年 9 月.

〔図書〕(計 1件)

Yuka Kitomi, Jun-Ichi Itoh, Yusaku Uga. (2018) Genetic Mechanisms Involved in the Formation of Root System Architecture. In *Rice Genomics, Genetics and Breeding* (eds: Takuji Sasaki and Motoyuki Ashikari): 241-274. (Springer Nature, Singapore)

〔その他〕

木富悠花. 「根研究学会優秀発表賞」, 2017 年 6 月.

木富悠花, 半澤栄子, 河合佐和子, 菅野徳子, 藤澤弘子, 金森裕之, 呉健忠, 佐藤雅志, 宇賀優作. 「第 130 回講演会日本育種学会優秀発表賞」, 2016 年 12 月.

木富悠花. 「根研究学会学術奨励賞」, 『イネの冠根形成および伸長成長機構の解明とその育種利用』, 2015 年 9 月.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

木富 悠花 (KITOMI, Yuka)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・契約研究員

研究者番号：70746502

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

宇賀 優作 (UGA, Yusaku)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・上級研究員

研究者番号：00391566