

令和 4 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05565

研究課題名(和文) 倍数化による雑種不稔緩和現象の遺伝的基盤解明

研究課題名(英文) Understanding of genetic basis on differences in sterility in hybrids of diploid and tetraploid rice

研究代表者

小出 陽平 (Koide, Yohei)

北海道大学・農学研究院・助教

研究者番号：70712008

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)：日本人の主食であるイネは2倍体の植物である。一方、コルヒチン等の化学物質の処理により、染色体の数を倍に増やした4倍体のイネを作ることが可能である。この研究では、将来的に4倍体のイネを品種改良に利用することを目的として、遺伝的多様性の幅を広げるための研究を行った。4倍体では、2倍体と比べて、雑種を作った際の種子稔性が向上することが示唆されていたが、本研究では、4倍体雑種における種子低稔性以外の栄養成長期の発育異常が見いだされ、新たな育種障壁となることが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

将来にわたり、食糧の安定的な供給を維持するためには、イネの品種改良、特に利用可能なイネ遺伝資源の開発が欠かせない。本研究ではこれまでにほとんど利用されていない、イネの4倍体を利用して、品種改良に役立てるための基礎研究を行った。その結果、4倍体イネの雑種では、栄養成長期の発育異常が生じるものもあり、この異常の克服が今後の4倍体イネ利用において重要であることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Rice, the staple food of the Japanese, is a diploid plant. On the other hand, it is possible to produce tetraploid rice, in which the number of chromosomes is doubled, by treatment with chemical substances such as colchicine. Although it has been suggested that tetraploid rice plants have higher seed fertility when hybridized compared to diploid rice plants, this study found abnormal vegetative growth other than low seed fertility in tetraploid hybrids, which may be a new breeding barrier.

研究分野：遺伝育種学

キーワード：イネ 雑種 倍数性

1. 研究開始当初の背景

雑種不稔性は、生殖隔離機構を成立させる主要因として、多くの動植物で観察される普遍的な現象である。ショウジョウバエ、マウス、イネなどいくつかの動植物では特定の対立遺伝子を持つ配偶子の選択的致死が雑種不稔性を引き起こすことが示されている。このような配偶子の選択的致死は、密接に連鎖する2つ以上の遺伝子の相互作用により引き起こされることが、多くの研究より示唆されている。これら2つの遺伝子は、胞子体的に働き、配偶子の致死を誘導する何らかのシグナルをコントロールする「キラー遺伝子」と、配偶体的に働き、キラー遺伝子による致死シグナルから配偶子を守る「プロテクター遺伝子」と呼ばれ、プロテクター遺伝子を持たない配偶子の選択的致死が引き起こされる(図1)。

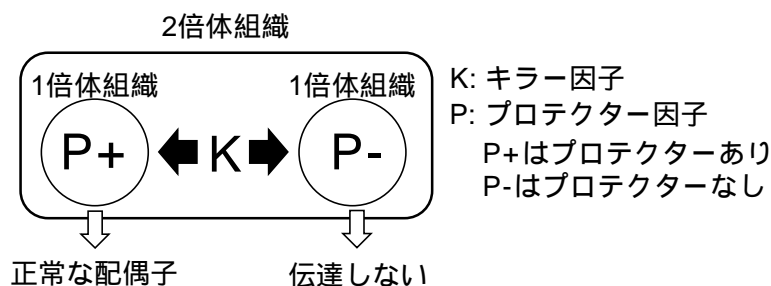


図1 キラーとプロテクターの相互作用により生じる選択的配偶子致死

イネの品種改良において、雑種不稔性は大きな障壁の一つである。イネでは、これまでに50以上の雑種不稔遺伝子の存在が報告されている。これらの多くは配偶子の選択的致死を引き起こすこともわかっている。したがって、配偶子の選択的致死および雑種不稔性を克服することは、イネの育種において重要であると考えられる。

Oka (1968)の報告では、イネの4倍体雑種では、2倍体雑種と比べ、雑種不稔性が緩和されることが示唆されている。しかしながら、この研究はその後の詳細な調査はなされていない。キラー遺伝子とプロテクター遺伝子の相互作用を考えた場合、2倍体の雑種では、プロテクター対立遺伝子を持たない配偶子は50%存在し、そのため、約半数の花粉および胚のうが致死となることが期待される。一方、4倍体雑種では、プロテクター対立遺伝子を持たない配偶子の頻度は25%に低下する。このことにより、4倍体雑種では、雑種不稔性が緩和されていることが考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、アジアイネとアフリカイネの種間雑種における雑種不稔性の主要因の一つであるS1複合遺伝子座に焦点を当て、雑種不稔性の誘導機構及び、倍数性の違いによる雑種不稔性の効果の違いを明らかにすることを目的とする。具体的には、S1複合遺伝子座の詳細な解剖により、キラー遺伝子およびプロテクター遺伝子に対応する遺伝子を明らかにする。また、これら遺伝子の器官特異的発現パターンから、配偶子致死に関わる機構を調査する。さらに、4倍体雑種を用いて、S1複合遺伝子座による雑種不稔性の効果の変化について検証を行う。

3. 研究の方法

2倍体種間雑種において雑種不稔性を支配する主働因子であるS1に着目して研究を進める。申請者はこれまでにペプチダーゼ様遺伝子がキラー因子であることを明らかにしているが、プロテクター因子は未同定である。そこで、形質転換体を用いて、プロテクター因子の同定を行う。これまでの申請者の遺伝子マッピングおよび発現解析から、ペプチダーゼ様遺伝子と緊密に連鎖するF-boxドメインを持つ遺伝子(Gene F)がプロテクター因子の有力な候補として考えられる。すでにアフリカイネ由来のGene Fをアジアイネに導入した形質転換体を作成しており、本研究では、交配実験を行うことでプロテクター因子であるかどうかを検証する。その他、2種類の候補遺伝子があり、これらについて形質転換体の作成を行う。また、4倍体種間雑種の雌雄配偶子形成における組織観察を行い、配偶子が正常に形成されていること、正常配偶子の頻

度調査、異常を持つ配偶子の組織学的特徴づけを行う。これにより、4倍体種間雑種における種子稔性と配偶子致死の関係を明らかにする。次に、正逆交配により、雌雄それぞれの配偶子における分離歪み程度を明らかにする。これにより、雑種不稔緩和現象が性特異的に生じているか否かを明らかにすることができる。

4. 研究成果

(1) S1複合遺伝子座内のプロテクター遺伝子の特定

アフリカイネに由来するS1複合遺伝子座内の候補遺伝子(Gene F)を、形質転換によりアジア栽培イネに導入した系統を作出した。この系統の種子稔性および花粉稔性は正常であった。このことから、この遺伝子は、少なくともキラー遺伝子ではないことが明らかとなった。次に、この遺伝子を導入した系統を、アフリカイネ由来のS1複合遺伝子座をもつ準同質遺伝子系統と交配し、雑種を育成した。この雑種において、種子稔性および花粉稔性が高いことが示された。このことは、遺伝子導入により、雑種不稔性が緩和したことを示唆しており、この候補遺伝子(Gene F)が、プロテクター遺伝子であることを示唆している。また、この遺伝子の発現様式を調べたところ、イネの幼穂で発現していることが明らかとなり、この遺伝子がイネの雑種不稔性に関わることと矛盾しない。これらのことから、本研究において、アジアイネとアフリカイネの雑種不稔性を支配するキラー遺伝子およびプロテクター遺伝子を明らかにすることができたと考えられる。

(2) 4倍体イネ雑種の雑種不稔性に関する調査

4倍体イネ間の雑種において雑種不稔性を調査するために、純系の4倍体イネを用意し、交配を行った。その結果、正常な交配種子をほとんど得ることができず、実験遂行が困難であった。少数得られた日本型イネとインド型イネの雑種においては、雑種不稔性がやや緩和している傾向が見られたものの、供試個体数が少なく、さらなる解析が必要であると考えられる。また、この雑種に対し、戻し交雑を試みたところ、やはり正常な種子形成が行われず、戻し交雑種子を得ることが困難であった。このことは、交雑性に関わる倍数体間の差異があるという点で、新たな研究のシーズとなると考えられる。種子稔性が安定して高かった系統については、後代や雑種集団を得ることができ、さらなる解析材料として利用できると考えられる。

純系4倍体を用いた交雑が困難であったため、アフリカイネ由来のS1複合遺伝子座を持つ準同質遺伝子系統を倍化し、4倍体個体を作成した。しかしながら、作出した4倍体個体は、栄養成長期の生育異常を示し、系統の維持及びさらなる調査が困難であった。異なる種由来のゲノム領域が、4倍体になったときに生育異常を引き起こしていると考えられたため、特定の遺伝子の量的な効果がもたらす発生異常があることが示唆される。

(3) 得られた成果の国内外における位置づけと今後の展望

環境が変動することが考えられる将来において持続的に作物を生産し続けるためには、継続的な品種改良は必須である。品種の遺伝的な改良において、未利用の遺伝資源の効率的利用は欠かせない。本研究では、種間雑種不稔性があるために、ほとんど未利用であるアフリカイネの雑種不稔性の原因遺伝子を明らかにしたことで、アフリカイネの遺伝子をアジアイネに交雑により導入するための基礎を築いたといえる。また、従来2倍体のみ利用されてきたイネにおいて、倍数性を变化させた品種改良を行うことができれば、品種改良の幅が大きく広がると考えられる。本研究は、4倍体のイネに関して、交雑種子の異常や、栄養成長期の異常といった、2倍体では見られない異常性があることを見出し、さらに、特定の遺伝子領域が、それらの異常に関わる可能性も示唆した。このような異常の原因を特定し、克服していくことが将来のイネの倍数性育種に必要であると考えられる。

引用文献

Oka, H. I. (1968). Preferential pairing of chromosomes in a tetraploid hybrid between *Oryza glaberrima* and *O. sativa*. *Can. J. Genet. Cytol.* 10, 527-535.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Koide Yohei, Kuniyoshi Daichi, Kishima Yuji	4. 巻 11
2. 論文標題 Fertile Tetraploids: New Resources for Future Rice Breeding?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1231
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2020.01231	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Zin Mar Myint, Koide Yohei, Ogata Mei, Kuniyoshi Daichi, Tokuyama Yoshiki, Hikichi Kiwamu, Obara Mitsuhiro, Kishima Yuji	4. 巻 11
2. 論文標題 Genetic Mapping of the Gamete Eliminator Locus, S2, Causing Hybrid Sterility and Transmission Ratio Distortion Found between <i>Oryza sativa</i> and <i>Oryza glaberrima</i> Cross Combination	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Agriculture	6. 最初と最後の頁 268 ~ 268
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/agriculture11030268	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kuniyoshi Daichi, Masuda Itaru, Kanaoka Yoshitaka, Shimazaki-Kishi Yuki, Okamoto Yoshihiro, Yasui Hideshi, Yamamoto Toshio, Nagaki Kiyotaka, Hoshino Yoichiro, Koide Yohei, Takamure Itsuro, Kishima Yuji	4. 巻 11
2. 論文標題 Diploid Male Gametes Circumvent Hybrid Sterility Between Asian and African Rice Species	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 579305
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2020.579305	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Koide Yohei	4. 巻 21
2. 論文標題 Genetic and breeding studies on overcoming reproductive isolation barrier in inter-specific hybrids of rice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Breeding Research	6. 最初と最後の頁 141 ~ 145
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1270/jsbbr.19J09	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Koide Yohei	4. 巻 13
2. 論文標題 Evolution of the "Neutral": Diverse Forms of Wide-Compatibility Haplotypes at the Locus for Reproductive Isolation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Plant	6. 最初と最後の頁 539 ~ 540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molp.2020.02.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y. Koide, K. Onishi, Y. Hayashi, T. Abe, Y. Fukuta, Y. Okumoto, A. Kanazawa	4. 巻 52
2. 論文標題 Recent progress in overcoming interspecific hybrid sterility in rice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Riken Accel. Prog. Rep.	6. 最初と最後の頁 25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kanaoka Yoshitaka, Kuniyoshi Daichi, Inada Eri, Koide Yohei, Okamoto Yoshihiro, Yasui Hideshi, Kishima Yuji	4. 巻 14
2. 論文標題 Anther culture in rice proportionally rescues microspores according to gametophytic gene effect and enhances genetic study of hybrid sterility	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant Methods	6. 最初と最後の頁 102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13007-018-0370-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Zin Mar Myint, 緒方 萌衣, 徳山 芳樹, 曳地 究, 貴島 祐治, 小出 陽平
2. 発表標題 イネの種間雑種不稔遺伝子 S2 の遺伝的マッピング
3. 学会等名 日本育種学会第139回講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小出陽平
2. 発表標題 イネの種間雑種不稔に関する種特異的遺伝子
3. 学会等名 イネ遺伝学・分子生物学ワークショップ2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yohei Koide
2. 発表標題 Mutagenesis creates a neutral allele at the interspecific hybrid sterility locus in rice.
3. 学会等名 16th International Symposium on Rice Functional Genomics (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小出陽平
2. 発表標題 イネ雑種不稔遺伝子S1の中立対立遺伝子作出と原因遺伝子の特定
3. 学会等名 日本育種学会第134回講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yohei Koide
2. 発表標題 Overcoming sterility barriers in crops for increased productivity through molecular breeding.
3. 学会等名 Government of India sponsored National Webinar on “Genomics Assisted breeding for developing climate smart crops” (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yohei Koide
2. 発表標題 Genetic analysis on gamete eliminator found in interspecific crosses.
3. 学会等名 The second workshop on the Nature of Reproductive Barrier in Rice (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関