

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H02963

研究課題名（和文）インド型イネ由来の新規遺伝子座の解析による高温耐性機構の解明と育種利用への展開

研究課題名（英文）Dissection of the mechanism of high-temperature tolerance through analyzing a novel QTL from indica rice cultivar

研究代表者

小川 大輔（Ogawa, Daisuke）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究部門・上級研究員

研究者番号：10456626

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：地球温暖化により、作物を栽培する環境の気温上昇が生育不良をもたらし、作物の安定生産の面で大きな問題となっている。研究代表者らは、主に熱帯や亜熱帯で栽培される「インド型イネ」と温帯で栽培される「日本型イネ」の違いについて研究した。その結果、11番染色体に座上するインド型由来の遺伝子を活用することで、日本型イネに高温耐性をもたらし高温環境でも安定した栽培を可能にすることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題では、熱帯や亜熱帯で栽培されるインド型イネと温帯で栽培される日本型イネの間で温度適応性の違いがあることに着目し、学術的「問い」として「インド型イネはどのような高温耐性機構を有しているのか」を掲示した。インド型イネから同定した高温耐性QTL（qHT11）は、高温に対する反応を一部誘導した。これは、qHT11によりストレス耐性に有効とされるプライミングが誘導されることを意味し、インド型イネの高温耐性機構の解明という点で学術的な意味を持つ。また、qHT11が地球温暖化に対応した作物生産に有効である可能性を示したことは、qHT11を導入した新しい高温耐性品種の創出という社会実装を期待させる。

研究成果の概要（英文）：Due to global warming, high temperature causing poor growth has become a major problem in terms of stable crop production. We studied the differences between Indica-type rice cultivated mainly in the tropics and subtropics and Japonica-type rice cultivated in the temperate zone. As a result, we found that the Indica-type gene located on chromosome 11 can be utilized to bring high temperature tolerance to Japanese rice, enabling stable cultivation even in high-temperature environments.

研究分野：作物育種学

キーワード：イネ 高温 QTL

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

温度環境は、生物が生存繁殖するうえで一つの制限要因となる。温度適応機構の分子メカニズムの解明は、生物の理解と適応システム活用面で重要である。人類は栽培化の過程で、イネの栽培域を熱帯から温帯にまで広げた。研究代表者は、主に熱帯や亜熱帯で栽培される「インド型イネ」と温帯で栽培される「日本型イネ」の間で温度適応性の違いがあることに着目し、水耕栽培系両タイプのイネを親にして作出した複数の単交配集団を用いた遺伝育種学研究により、高温耐性に関わる新奇遺伝子座 *qHT11* を同定した。

本研究では、*qHT11* の準同質遺伝子系統を作出し、その特性調査や原因遺伝子の単離・解析を行うことにより、インド型イネが有する高温適応機構を明らかにする。また、日本型イネ品種の改良に向けた育種利用への可能性について検討する。

### 2. 研究の目的

インド型イネと日本型イネの間で高温耐性が異なることから、インド型イネには日本型イネにはない何らかの高温耐性機構がある。インド型イネと日本型イネを親にした交雑系統群の遺伝解析により同定された高温耐性遺伝子座 (*qHT11*) は、その謎を解く鍵因子といえる。そこで本研究では、*qHT11* の解析を介してイネの高温耐性の分子機構を明らかにし、その育種利用について検討する。具体的には、*qHT11* は高温耐性の分子メカニズムにおいてどのような機能を有し、また他形質に対してどのような作用を持つのかを明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### *qHT11* の高温耐性における作用機作の解明

高温耐性をもたらす遺伝子座 *qHT11* の候補遺伝子を明らかにするため、インド型品種の「ルリアオバ」に対し戻し交配したコシヒカリ系統を作出し評価する。また、オミクス解析を行い、候補遺伝子の類推を進める。候補遺伝子が絞られた時点で、コシヒカリに候補遺伝子を発現させる、あるいはゲノム編集技術を利用して、*qHT11* の責任遺伝子を特定する。またオミクス解析から高温耐性の分子機構を明らかにする。

#### *qHT11* の他形質への作用の解明による稲育種への応用の可能性探索

*qHT11* 準同質遺伝子系統を作出し、茨城県つくば市の観音台圃場にて複数年間の通常栽培を実施し、収量や玄米品質に関わる形質について調査する。また、低温への適応性を調査し、*qHT11* の遺伝子利用が栽培域で制限されるべきかどうかを調査する。

#### *qHT11* 以外の高温耐性遺伝子座の同定

コシヒカリ背景の染色体断片置換系統対象に、栄養成長期の系と生殖成長期の系を用いて高温耐性に関わる新規遺伝子座を同定する。

### 4. 研究成果

高温耐性遺伝子座 (*qHT11*) を有する準同質遺伝子系統を、ルリアオバに対するコシヒカリによる戻し交雑により作出した。ゲノムワイドの DNA マーカー解析により 11 番染色体の 7.3-22.2Mb のみがルリアオバゲノムであることが明らかになった。*qHT11* 準同質遺伝子系統を、図 1 に示す高温耐性評価系で試験したところ、生重量が 7% 以上増加することが明らかとなり、この系統が高温耐性遺伝子座を有していることが実証された。*qHT11* 準同質遺伝子系統は低温への適応性を有していた。

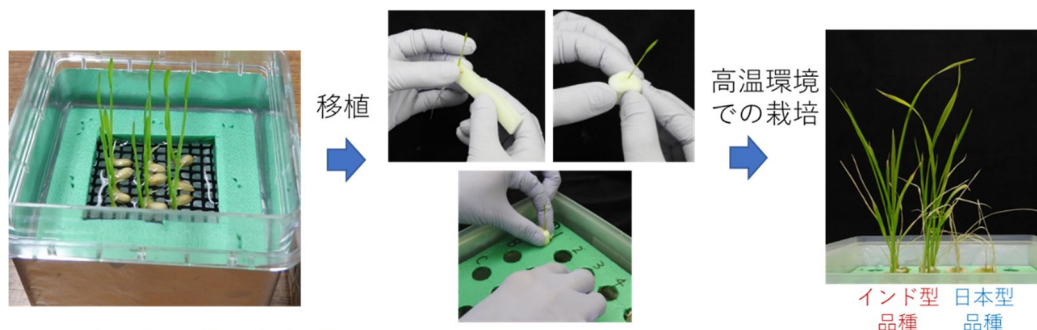


図 1 イネの高温耐性系統評価系

*qHT11*によりもたらされる高温耐性の分子機構を明らかにするため、オミクス解析を実施した。これまでにインド型と日本型を含むイネ 8 品種を、常温あるいは高温で栽培した際の葉のサンプルからプロテオーム解析により 1.5-4 万のペプチドを検出し、500-900 程度のアノテーションされたタンパク質を同定していた。高温耐性品種では 246 タンパク質が常時共通して発現しており、そのうち 13 タンパク質が感受性品種では検出されなかった。その 13 タンパク質のうち 11 タンパク質が高温感受性品種において高温誘導性を示しており、インド型の高温耐性品種は、日本型品種でみられる高温応答の一部が、常温時に誘導されていることを見出していた。

*qHT11*が高温誘導に関わっているのかどうかを明らかにするため、上記の *qHT11* 準同質遺伝子系統とコシヒカリのトランスクリプトーム解析を実施した。25 の常温条件あるいは 45 の高温条件で栽培し、葉身から抽出した RNA を解析に用いた。まず、40,467 のアノテーションされた遺伝子の中から、コシヒカリにおいて高温で発現量が増加する遺伝子（高温誘導性遺伝子）、発現量が減少する遺伝子（高温抑制性遺伝子）をそれぞれ 5011（全体の 12%）、4176（全体の 10%）見出した。*qHT11*により発現が増加する遺伝子 61 のうち 17（28%）が高温誘導性遺伝子で、*qHT11*により発現が低下する遺伝子が 155 のうち 64（41%）が高温抑制性遺伝子であった。このことは、*qHT11*が一部の高温応答を引き起こす可能性を示唆し、この現象が高温耐性の誘導に重要であると推察された。

*qHT11*の責任遺伝子の単離のため、トランスクリプトームデータを解析した。遺伝子座の中で、コシヒカリで発現し、*qHT11*準同質遺伝子系統で発現が完全に消失する遺伝子の一つにストレス抵抗性に寄与することが予想される OsRac 様遺伝子が見つかった。この遺伝子に対するゲノム編集システムの作出を CRISPR-Cas9 のシステムを用いて実施し、標的領域に対し 1-2 塩基欠失や 10 塩基以上の欠失を持つコシヒカリ系統を選抜し、遺伝子破壊系統に位置付けた。この系統を図 1 の高温耐性評価系で評価したが、残念ながら高温耐性の向上は観察されなかった。

*qHT11*の野外での効果について検討した。*qHT11* 遺伝子座の作用を明らかにするため、つくば観音台圃場にて上記の *qHT11* 準同質遺伝子系統の栽培試験を実施した。移植後 14、21、28 日目の圃場画像をドローンを用いて取得し、それぞれの植生被覆率を求めたところ、*qHT11* 準同質遺伝子系統ではコシヒカリよりも初期生育量が向上することが明らかとなった。また、2020 年から 2023 年の 4 年間のつくば圃場での試験結果をまとめると、*qHT11* は、出穂日への効果はないが、草高、稈長、茎葉重の増加をもたらし、生育の向上に寄与した。籾重や整粒粒比については、年や圃場環境にもよるが平均すると増加傾向を与えた。2023 年は高温環境であったためか、*qHT11* 準同質遺伝子系統はコシヒカリに比べて、籾重は 12%、整粒粒比は 29%増加した。この結果は、温暖化傾向にある野外環境での *qHT11* の有用性を示唆した。

本研究課題の中で、*qHT11* 以外の高温耐性遺伝子座の探索を 2 通りの方法で実施した。1 つ目は図 1 で示した栄養成長期の高温耐性を調査する方法で、永田ら（Breeding Science. 65:308-18, 2015；Breeding Science 73:332-342, 2023）が報告した染色体断片置換系統（CSSL）を選抜した。NABA、IR64、Tupa121-3 をドナーとした CSSL を合計 134 系統評価し、その中からコシヒカリより高温環境での生育量が高い系統を 4 系統選抜した。それらについて再試験を行ったところ、有意に生育量の多い系統を 1 選抜し *qHTN1* と名付けた（未発表）。*qHTN1* は *qHT11* とは異なる領域で、新規の遺伝子座と推察される。

2 つ目は、生殖成長期の高温耐性に着目し玄米の登熟を評価した。8 品種（Basilanon、Bei Khe、Bleiyoy、IR64、Kasalath、Muha、Naba、Tupa121-3）をドナーとした CSSL342 系統を観察対象とした。登熟の具合は出穂後の環境に大きく左右されるので、出穂期がコシヒカリとほぼ同程度（ $\pm 1$  日以内）の系統を 148 選抜し、2021 年と 2022 年の 2 年間、玄米の整粒粒比をサタケの穀粒判別機を用いて評価した。148 系統の中には、整粒粒比がコシヒカリより 98%低下したのから 96%増加したのものまで存在した。トップ 10%にあたる 15 系統を選抜し、収量がコシヒカリよりも低下する系統を排除し、DNA レベルでの解析を実施したところ、最終的に 3 遺伝子座（*qAPQ2*: 第 5 染色体、*qAPQ3*: 第 11 染色体、*qAPQ4*: 第 10 染色体）が検出された。この 3 遺伝子座について、顕著な高温環境となった 2023 年に野外で作用を評価したところ、玄米品質向上の効果が検証された。3 遺伝子座は、*qHT11* や、これまでに整粒粒比を向上させることが明らかになっている *APQ1* 遺伝子（Murata et al, Breeding Science. 64:273-81, 2014; Takehara et al. Breeding Science. 68:336-342, 2018）とは異なっていた。

以上をまとめると、本研究により *qHT11* の高温耐性について検証した。*qHT11* は低温への適応性も有し、収量性向上への寄与が認められたことから、*qHT11* について現行の水稻品種へ導入するなどの育種活用が期待される。トランスクリプトーム解析から *qHT11* による高温誘導性遺伝子の一部誘導が見られ、その現象が高温耐性に寄与することが示唆されたが、*qHT11* の責任遺伝子の同定には至らず、高温耐性メカニズムの詳細説明は今後の課題となった。その一方で、*qHT11* とは異なる高温耐性遺伝子座を複数明らかにした。これらの遺伝子座の効果を検証し、ピラミド

ィングにより遺伝子を組み合わせることでイネの高温耐性能をさらに高めることが可能になると期待される。2023 年に地球温暖化の進行を象徴する言葉として「地球沸騰化」という言葉が使われた。こうした温暖環境での持続的な農業を推進するうえで、本課題で検出した遺伝子座が有効な解決策の一つになると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	高橋 史憲  (Takahashi Fuminori)  (00462698)	東京理科大学・先進工学部生命システム工学科・准教授    (32660)	
研究分担者	米丸 淳一  (Yonemaru Jun-ichi)  (40355227)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究部門・グループ長    (82111)	

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