

令和 5 年 10 月 30 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07633

研究課題名(和文) イネの温度感受性雄性不稔系統の解析と高温不稔との比較

研究課題名(英文) Molecular analyses of temperature-sensitive male sterility in rice

研究代表者

川岸 万紀子 (Kawagishi-Kobayashi, Makiko)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門・上級研究員

研究者番号：50355707

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：イネの温度感受性雄性不稔系統の解析から新規遺伝子を同定した。この遺伝子を欠損させることにより温度感受性雄性不稔植物を作出することができ、この遺伝子の機能は植物の生育や通常の栽培温度条件下での花粉形成には必須ではないが、高温条件下での花粉形成に必要であることが示された。さらに、この遺伝子が広く植物に保存されており、さまざまな作物育種に有用であると考えられることから、特許を出願した。今後は、この遺伝子の機能メカニズムの解明と他作物への技術適用を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

温度感受性雄性不稔は作物育種に非常に有用な形質である。本研究で同定した新規遺伝子を欠損させることで温度感受性雄性不稔植物を簡便に作出することができ、栽培温度を切り替えるだけで自殖性作物を他殖性へと変換できる画期的な育種技術となる。さらに、この遺伝子の機能を明らかにすることは、高温条件が花粉形成に及ぼす影響を分子レベルで理解することにつながり、作物の高温不稔の被害低減へ向けた戦略の基礎となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We have identified a novel gene from rice as a responsible gene of a temperature-sensitive male sterile line. Disruption of this gene by CRISPR/Cas9 mediated genome editing resulted in temperature-sensitive male sterility indicating that this gene is not essential for plant growth and pollen development under normal temperature conditions but is required for pollen development under high temperature conditions. Since this gene is conserved among angiosperms, it is simple and convenient to produce temperature sensitive male sterility lines in wide variety of crops by disruption of the orthologs.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：雄性不稔 イネ 温度感受性 花粉形成 高温ストレス 環境応答

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

作物の稔実率を低下させる高温ストレスに関しては、地球規模での温暖化の進行に伴って被害の拡大が懸念されており、今後のさらなる気温上昇と人口増加に対応するため、高温でも安定して稔る作物の開発は喫緊の課題である。イネの高温不稔においては、開花期とともに減数分裂期から小孢子期にかけての期間が感受性期とされ¹⁾、これらの時期の高温障害を軽減する対策が求められている。

私達はイネの高温不稔に関して、早くからその重要性に着目した研究を行ってきた。おしべの葯壁のタペート組織における遺伝子制御が高温の影響を受け、その結果として花粉の質が低下することが、高温不稔の主な原因であることを報告している²⁾。

本研究で解析するイネの温度感受性雄性不稔系統 PL12 は、栽培温度が、許容温度 (28) では正常に花粉が発達して結実するが、制限温度 (33) 以上では花粉が形成されず不稔となる (図 1)。葉などの栄養器官やめしべには顕著な異常は認められず、また、出穂前 20 日前後の数日間の高温が雄性不稔を引き起こすと報告されている³⁾。これは前述の高温不稔に感受性の時期とも重なり、出穂前の時期の葯における遺伝子制御の解明が花粉形成過程の温度感応の全容の理解に非常に重要であると考えられる。

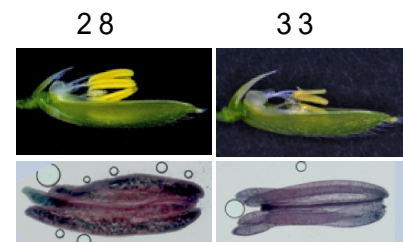


図1. 温度感受性変異系統「PL12」の表現型
許容温度(28)と制限温度(33)における
開花期の穎花の外観(上)と葯の染色像(下)。

2. 研究の目的

本研究では、イネの雄性不稔を主題として、花粉形成の分子制御機構と温度感応システムを明らかにすることを目的とする。イネの温度感受性雄性不稔変異系統 PL12 を材料とし、その責任変異の候補として同定されている領域から、責任因子を特定し、花粉形成における機能を明らかにすることを目指す。さらに、温度感受性系統の制限温度下での不稔と高温ストレスによる高温不稔との比較解析を通じて、花粉形成過程において、温度の影響を受けやすいポイントを検出し、雄性不稔が起こるしくみを考察する。本研究から得られる知見は、高温不稔の発生機作の解明と高温不稔の被害を受けにくい作物の開発へとつながると期待される。

3. 研究の方法

(1) イネの温度感受性雄性不稔系統 PL12 について、マッピングと形質転換、ゲノム編集などの技術を組み合わせ、その責任因子を明らかにする。同定された遺伝子の特性を解析するとともに、当該新規遺伝子に変異を導入して、常温と高温とで花粉形成の状態などの表現型を比較解析する。

(2) 上記新規遺伝子の変異による温度感受性雄性不稔について、野生型品種が高温障害により雄性不稔となる高温不稔との比較を行う。以前の研究から、高温不稔条件下で発現が低下する遺伝子を同定しているため、温度感受性雄性不稔因子の欠損による雄性不稔においても、これらの遺伝子の発現が変化しているかどうか調べる。

4. 研究成果

イネの温度感受性雄性不稔系統 PL12 のマッピング解析から、第 7 染色体の約 1.8 Mb の領域に責任変異があることがわかってきたが、それ以上に候補領域を狭めることができなかった。次世代シーケンサーによる全ゲノムシーケンス解析の結果、当該領域の内部におよそ 150 kb にわたる欠失があることがわかった。この領域の内部を、CRISPR/Cas9 システムによるゲノム編集技術を用いて細分化することによって候補領域を狭め、最終的に 1 つの遺伝子が原因であることを突き止めた。

CRISPR/Cas9 システムを利用して、この遺伝子に変異を導入して機能を欠損したゲノム編集システムを作出した。図 2 に示すように、野生型品種「日本晴」では 28 度でも 33 度でも正常に花粉が形成される。しかし、作出したゲノム編集システムでは、28 度では正常に花粉ができるが、33 度以上では花粉が形成されず不稔となり、もとの温度感受性雄性不稔系統 PL12 と同様に温度感

受性雄性不稔となることが示された。野生型の花粉を交配すると正常に結実することから、雄性不稔であることも確認している。

さらに、高温不稔条件下で発現が低下する遺伝子の一部について、このゲノム編集システムでも制限温度条件下で発現が低下していることがわかった。今後は、花粉の発達過程のどのステップで以上が起こるのかについて詳細な解析を行い、高温条件に影響を受けやすい分子反応の特定を目指す。

この遺伝子はこれまでに報告のない新規遺伝子であるが、植物に広く保存されていることがわかった。この遺伝子をゲノム編集等の技術を用いて欠損させることにより、温度感受性雄性不稔植物を作り出すことができる。温度感受性雄性不稔は、作物育種に非常に有用な形質である。通常の栽培条件では、稔実するので系統の維持に労力がかからず、温度条件を高温に切り替えれば花粉が欠損した状態になることから、簡便に他品種との交配ができる。イネだけでなく、他の植物でもこの遺伝子が保存されていることから、さまざまな作物種のハイブリッド育種に有用であると考え、特許を出願した。今後は、他の植物種でのゲノム編集システムの作出と解析を通じて、技術の有用性を示すとともに、実際の品種開発やハイブリッド種子生産の現場で利用されやすくすることを目標に技術の改良を進める。

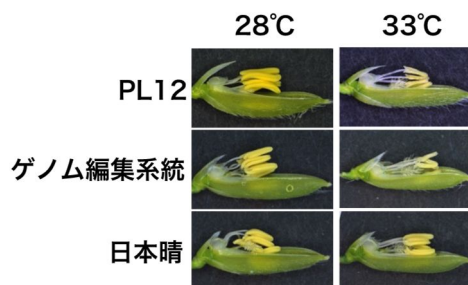


図2. 新規遺伝子欠損ゲノム編集系統の表現型
ゲノム編集により新規遺伝子を欠損した系統は、もとの温度感受性雄性不稔系統「PL12」と同様に、28°Cでは正常に花粉が形成されて黄色く充実した葯となるのに対し、33°Cでは花粉が発達せず、葯の形態や色が異常となる。標準品種「日本晴」では、温度によらず正常に花粉が形成される。

<引用文献>

- 1) Satake *et al.* *Jpn. J Crop Sci.* 1978
- 2) Endo *et al.* *Plant Cell Physiol.* 2009
- 3) Yamaguchi *et al.* *Breeding Sci.* 1997

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川岸万紀子、東谷篤志
2. 発表標題 イネの高温不稔条件における葯での遺伝子の発現と機能
3. 学会等名 日本作物学会第249回講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川岸万紀子、東谷篤志
2. 発表標題 イネの高温不稔条件における葯での遺伝子発現動態
3. 学会等名 日本作物学会第247回講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川岸万紀子、東谷篤志
2. 発表標題 イネの高温不稔条件下での葯における遺伝子発現の変化
3. 学会等名 日本作物学会第245回講演会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 温度感受性雄性不稔植物の製造方法	発明者 川岸万紀子、佐々木健太郎	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-056381	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------