

機関番号：11301

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18075002

研究課題名（和文） イネ細胞質雄性不稔に見られる核とミトコンドリアのゲノム障害

研究課題名（英文） Genome barrier between nucleus and mitochondria exemplified by cytoplasmic male sterility in rice

研究代表者

鳥山 欽哉 (TORIYAMA KINYA)

東北大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：20183882

研究成果の概要（和文）：

F1 ハイブリッドライス（一代雑種品種）は超多収のため、世界の稲栽培面積の 12% で栽培されている。この育種には、細胞質雄性不稔性と稔性回復遺伝子が使われている。本研究では、イネにおける 3 種類の細胞質雄性不稔発現機構および稔性回復機構を解明した。ミトコンドリアゲノムが花粉の運命を決定していることや、核ゲノムとミトコンドリアゲノムのせめぎ合いと和解のメカニズムを明らかにするとともに、ハイブリッドライス育種へ応用するための分子基盤を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

F1 hybrid rice, which promises high yielding, has been planted in 12% of rice-cultivated area. For F1 hybrid rice breeding, cytoplasmic male sterility and fertility restoration system has been widely utilized. We analyzed the occurrence and restoration mechanism of three kinds of cytoplasmic male sterility in rice. Our finding provides new insights into the study of F1 hybrid breeding as well as reconciliation of a conflict between nuclear and mitochondrial genomes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	18,000,000	0	18,000,000
2007 年度	22,000,000	0	22,000,000
2008 年度	15,600,000	0	15,600,000
2009 年度	14,500,000	0	14,500,000
2010 年度	14,500,000	0	14,500,000
総計	84,600,000	0	84,600,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：イネ・生殖・細胞質雄性不稔・稔性回復・ミトコンドリア・ゲノム

1. 研究開始当初の背景

ハイブリッドライス（一代雑種イネ）は 15% から 20% の収量増が期待される。中国では 16 百万ヘクタールで栽培され、イネ栽培面積の半分を占めている。さらに、東南アジ

ア各国や米国でも栽培され、世界全体でのハイブリッドライス作付け率は 12% となっている。ハイブリッドライスの育種には雄性不稔系統が使われるが、全体の 95% が WA 型雄性不稔細胞質 (WA-CMS) を利用している。

世界のイネ全栽培面積の1割が単一の細胞質に依存していることになり、遺伝的脆弱性が危惧されている。しかも、WA-CMSは、細胞質の原因遺伝子、核の稔性回復遺伝子の正体も明らかにされていない。分子基盤が解明されないまま使われている。遺伝的脆弱性の克服にはCMS細胞質の多様化が必要である。また、多くの系統に有効な雄性不稔細胞質と稔性回復系統の開発および、メカニズムの解明が望まれている。

2. 研究の目的

細胞質雄性不稔性は、ミトコンドリアゲノムと核ゲノムの特定の組み合わせで花粉発育障害が起きる現象である。核ゲノムとミトコンドリアゲノムの間に存在するゲノム障壁ととらえることができる。雄性不稔細胞質のミトコンドリアには雄性不稔の原因となるキメラ遺伝子が存在し、一方、核コードの稔性回復遺伝子はキメラ遺伝子産物の修飾を行なって障壁を回避していると考えられている。本研究では、イネにおける3種類の細胞質雄性不稔/稔性回復遺伝子(BT-CMS/*Rf1*, LD-CMS/*Rf2*, CW-CMS/*Rf17*)を材料とし、それぞれ、雄性不稔発現機構および稔性回復機構の解明を行なうことを目的とする。

3. 研究の方法

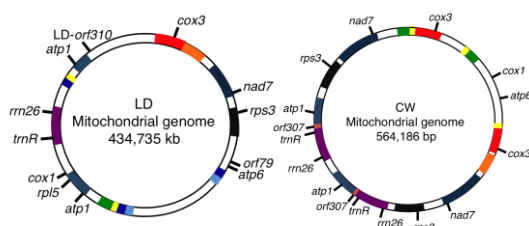
ミトコンドリアの全塩基配列を決定し、新規のorfを見つけ出す。稔性回復遺伝子の有無によって発現パターンが変化するミトコンドリア遺伝子を探索して候補遺伝子とし、タンパク質レベルで解析する。そのタンパク質がミトコンドリアに与える影響について調査する。

核遺伝子とミトコンドリア遺伝子の発現をアレイ解析により網羅的に比較し、雄性不稔発現機構を明らかにする。

それぞれの稔性回復遺伝子産物に結合するRNAとタンパク質を同定し、稔性回復遺伝子の作用機構を考察する。

4. 研究成果

(1)ミトコンドリアのCMS原因遺伝子の解明に関わる研究:BT-CMSの原因遺伝子と考えられるORF79タンパク質の蓄積を調査し、ORF79がミトコンドリア膜に蓄積することを明らかにした。



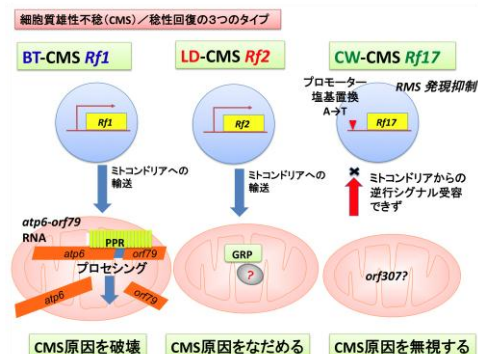
LD-CMS と CW-CMS についてミトコンドリアゲノムの全塩基配列を決定し、DDBJ に登録した(登録番号 AP011076 および AP011077)。CW-CMS ミトコンドリアゲノムに特有の遺伝子構造として、*ORF307*を見出した。

(2) 雄性不稔発現機構についての研究:発育段階別の薬を用いてアレイ解析を行い、それぞれのCMSに特徴的な発現プロファイルを示す遺伝子、共通する特徴を示す遺伝子等を明らかにした。CW-CMSの雄性不稔発現に関与するプロテインファスファターゼ遺伝子 DCW11などを明らかにした。5種類のCMS系統の花粉形態、ミトコンドリア遺伝子のRFLP、および、核遺伝子発現のアレイ解析を比較することで、ミトコンドリアゲノムの類似度が核遺伝子の発現パターンと花粉形態の類似度に極めてよく関連していることを示し、ミトコンドリアが花粉の運命を決定していると結論した。

(3) 稔性回復機構の解析:BT-CMSの稔性回復遺伝子 *Rf1* は RNA プロセッシングを通してORF79の翻訳を阻害することを明らかにした。

CW-CMSの稔性回復は、機能不明の遺伝子 *RMS* の発現減少によることを示した。*RMS* は acyl-carrier protein synthase ドメインの一部を持つ機能不明のタンパク質をコードしていた。*RMS* はミトコンドリアから核への逆行シグナル制御(レトログレード制御)による制御を受けることが示唆されたため、**RETROGRADE-REGULATED MALE STERILITY (RMS)**と命名した。*RMS*の発現抑制によって稔性回復を引き起こすという、他種を含めてこれまで知られていないユニークな稔性回復システムを発見することができた。

LD-CMSの稔性回復遺伝子 *Rf2* は、152アミノ酸からなるグリシンリッチタンパク質をコードしていることを明らかにした。*Rf2* はRNA結合モチーフを持たず、*Rf1*とは異なる新しい仕組みの稔性回復機構が存在することを明らかにした。



(4) <位置づけ、インパクト、今後の展望> 本研究により、雄性不稔発現機構と稔性回復

機構をミトコンドリアから核へのレトログレードシグナリングによって連結することができた。イネの細胞質雄性不稔と稔性回復のメカニズムに新たな知見を与えるのみならず、植物ミトコンドリアにおけるレトログレードシグナリングに関する先駆的な研究となった。

BT-CMS/Rf1は「CMS原因を破壊するタイプ」、LD-CMS/Rf2は「CMS原因をなだめるタイプ」、CW-CMS/Rf17は「CMS原因を無視するタイプ」というモデルを提唱した。本研究は、核とミトコンドリアのゲノム障壁を分子遺伝学手に明らかにするとともに、ハイブリッドライスの育種に貢献するものである。

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 21 件)

1. Itabashi E, Iwata N, Fujii S, Kazama T, Toriyama K (2011) Fertility restorer gene, *Rf2*, for Lead Rice-type cytoplasmic male sterility of rice encodes a mitochondrial glycine-rich protein. *Plant J* 65: 359-367 (査読有り)

2. Fujii S, Kazama T, Yamada M, Toriyama K (2010) Discovery of global genomic re-organization based on comparison of two newly sequenced rice mitochondrial genomes with cytoplasmic male sterility-related genes *BMC Genomics* 2010, 11: 209. (査読有り)

3. Fujii S, Yamada M, Fujita M, Itabashi E, Hamada K, Yano K, Kurata N, Toriyama K (2010) Cytoplasmic-nuclear genomic barriers in rice pollen development revealed by comparison of global gene expression profiles among five independent cytoplasmic male sterile lines. *Plant Cell Physiol* 51: 610-620 (査読有り)

4. Kojima H, Kazama T, Fujii S, Toriyama K (2010) Cytoplasmic male sterility-associated ORF79 is toxic to plant regeneration when expressed with mitochondrial targeting sequence of ATPase gamma subunit. *Plant Biotechnology* 27: 111-114 (査読有り)

5. Fujii S, Toriyama K (2009) Suppressed expression of *RETROGRADE-REGULATED MALE STERILITY* restores pollen fertility in cytoplasmic male sterile rice plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:9513-9518 (査読有り)

6. Fujii S, Yamada M, Toriyama K (2009) Cytoplasmic male sterility-related protein kinase,

OsNek3, is regulated downstream of mitochondrial protein phosphatase 2C, DCW11. *Plant Cell Physiol* 50: 828-837 (査読有り)

7. Itabashi E, Kazama T, Toriyama K (2009) Characterization of cytoplasmic male sterility of rice with Lead Rice cytoplasm in comparison with that with Chinsurah Boro II cytoplasm. *Plant Cell Reports* 28: 233-239 (査読有り)

8. Fujii S, Toriyama K (2008) Genome barriers between nuclei and mitochondria exemplified by cytoplasmic male sterility. *Plant Cell Physiol* 49: 1484-1494 (査読有り) (招待総説)

9. Kazama T, Nakamura T, Watanabe M, Sugita M, Toriyama K (2008) Suppression mechanism of mitochondrial ORF79 accumulation by Rf1 protein, in BT-type cytoplasmic male sterile rice. *Plant J* 55: 619-628 (査読有り)

10. Fujii S, Toriyama K (2008) DCW11, Down-regulated gene 11 in CW-type cytoplasmic male sterile (CMS) rice, encoding mitochondrial protein phosphatase 2C is related to CMS. *Plant Cell Physiol* 49:633-640 (査読有り)

11. Fujii S, Komatsu S, Toriyama K (2007) Retrograde regulation of nuclear gene expression in CW-CMS of rice. *Plant Mol Biol* 63: 405-417 (査読有り)

12. Okuzaki A, Shimizu T, Kaku K, Kawai K, Toriyama K (2007) A novel mutated actolactate synthase gene conferring specific resistance to pyrimidinyl carboxy herbicides in rice. *Plant Mol Biol* 64: 219-224 (査読有り)

13. Kawanabe T, Ariizumi T, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Toriyama K (2006) Abolition of the tapetum suicide program ruins microsporogenesis. *Plant Cell Physiol* 47:784-787 (査読有り)

[学会発表] (計 109 件)

1. Toriyama K, Fujii S, Itabashi E, Kazama T (2010) Molecular comparison of fertility restorer genes, *Rf1*, *Rf2* and *Rf17*, for cytoplasmic male sterility in rice. 3rd International Rice Congress. Nov. 8-12 2010, Hanoi, Vietnam. (口頭発表)

2. Toriyama K, Fujii S (2009) A new resource for hybrid rice breeding---cloning of fertility restorer gene *Rf17* for CW-CMS. 6th International Rice Genetics Symposium 2009, 16-19 Nov 2009. Manila, Philippine (口頭発表)

3. Toriyama K, Fujii S, Toda T, Itabashi E, Yamada M, Kazama T (2009) Molecular analysis of CW-type cytoplasmic male sterility and Rf17-mediated fertility restoration for hybrid rice breeding. The 14th Australian Plant Breeding Conference and 11th Society for the Advancement of Breeding Research in Asia and Oceania (SABRAO) Congress 2009, 10-14, Aug., 2009, Cairns, Australia, (口頭発表)

4. Toriyama K (2009) Comparative study on BT-, LD, and CW-type CMS/fertility restoration in rice. International Conference for Plant Mitochondrial Biology. May 9-14, 2009 Lake Tahoe, USA (招待講演)

5. 風間智彦・藤井壮太・鳥山欽哉 (2009) 細胞質雄性不稔イネの解析から見えてきたもの。第50回日本植物生理学会年会サテライトミーティング、第11回植物オルガネラワークショップ (名古屋大学、名古屋、3月20日) (招待講演)

6. Toriyama K, Fujii S, Itabashi E, Kazama K (2008) Molecular Studies on BT-, LD- and CW-types of cytoplasmic Male Sterility in Rice. Frontiers in Sexual Plant Reproduction III, Oct 17-19, 2008, Tucson, Arizona, USA (口頭発表)

7. Toriyama K (2008) Toward understanding the molecular mechanism of cytoplasmic male sterility/fertility restoration in rice. Rice mini-symposium July 23rd, 2008, Cornell University, Ithaca, NY, USA (招待講演)

8. 風間智彦・鳥山欽哉 (2008) イネの花粉形成に関するPPR遺伝子の解析。要旨集 p. 88, 第49回日本植物生理学会 (札幌コンベンションセンター、札幌、3月21日) (招待講演)

9. 鳥山欽哉 (2008) イネ稔性回復遺伝子のクローニングと機能解析。育種学研究 10(別2) p. 28, 日本育種学会シンポジウム (滋賀県立大学、彦根、10月11日) (招待講演)

10. Toriyama K (2007) Molecular analysis of BT, LD, CW-type cytoplasmic male sterility in rice. The 5th International Symposium of Rice Functional Genomics. Oct. 15-17, 2007 Tsukuba Japan (口頭発表)

11. Toriyama K, Kazama T, Fujii S, Itabashi E, Iwata N (2007) Toward understanding genome barriers between nuclei and mitochondria

exemplified by cytoplasmic male sterility in rice. International Congress on Plant Mitochondrial Biology. Nara, Japan June 25-29, 2007 (招待講演)

12. Toriyama K (2006) Molecular study on cytoplasmic male sterility in rice The 100th Anniversary of Tohoku University, International Symposium Frontiers in Rice Science- from Gene to Field. Nov. 6-8 Sendai (招待講演)

[図書] (計4件)

1. 鳥山欽哉、植物にとっての花粉アレルゲン 植物まるかじり叢書 3 花はなぜ咲くの? 化学同人 西村尚子著 日本植物生理学会監修 担当コラム著者 (2008)

2. Fujii S, Kazama T, Toriyama K (2008) Molecular studies on cytoplasmic male sterility-related genes and restorer genes in rice. In Rice Biology in Genomics Era, Biotechnology in Agriculture and Forestry 62, 205-215, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany

[産業財産権]

○出願状況 (計5件)

1. 名称: イネ CW 型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子及び稔性回復方法
発明者: 鳥山欽哉・藤井壮太
権利者: 鳥山欽哉・藤井壮太
種類: 特許
番号: 特願 2008-062879
出願年月日: 2008年3月12日
国内外の別: 国内

2. 名称: イネ CW 型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子及び稔性回復方法
発明者: 鳥山欽哉・藤井壮太
権利者: 鳥山欽哉・藤井壮太
種類: 特許
番号: PCT/JP2009/000753
出願年月日: 2009年2月21日
国内外の別: 国外

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/bioadp/PukiWiki/index.php?FrontPage>

テレビ放送 「花粉の不思議を解明」東日本放送 「東北大学の新世紀」2007年12月3日
アーカイブ URL
<http://www.tohoku100-tv.jp/thisweek/071>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鳥山 欽哉 (TORIYAMA KINYA)
東北大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号：20183882

(2) 研究分担者 無し

(3) 連携研究者

風間 智彦 (KAZAMA TOMOHIKO)
東北大学・大学院農学研究科・助教
研究者番号：30431464