

平成 30 年 5 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04616

研究課題名(和文)地球規模での異常気象に対抗するイネ新規遺伝子資源の開発

研究課題名(英文)Development of new genetic resources of rice against global climate change

研究代表者

東谷 篤志(Higashitani, Atsushi)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：40212162

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：冷害ならびに穂もち病に脆弱な「ササニシキ」と、より抵抗性の「ひとめぼれ」のゲノム・ポストゲノム解析を行ない、冷害の抵抗性に関わる第7染色体qCT-7領域といもち病の抵抗性に関わる領域は異なること、また、第11染色体のイモチ病抵抗性遺伝子Pi54を含む周辺領域が両品種間では大きく異なることを見出した。Pi54遺伝子は特定のインド型イネにおいて、広範なイモチ病抵抗性を示す重要な遺伝子である。一方、ほとんどの日本型イネにおいてはその機能が欠失していることが知られていたが、今回、野生イネゲノムとの比較において、その起源や進化の過程についても解明することができ、新たな遺伝資源としての重要性を見出した。

研究成果の概要(英文)：We performed genome and post genome analyses using *Oryza sativa japonica* cv. "Sasanishiki" and "Hitomebore". The former is susceptible to cold injury and panicle blast disease, and the latter is tolerant to both injuries. We here found that qCT-7 involved in the tolerance to cold injury did not link to the tolerance against panicle blast disease. In addition,

Through these studies, we aim to develop new genetic resources that contribute to the stable supply of rice under abnormal weather on a global scale.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：イネ冷害 ストレス応答 病害抵抗性 いもち病

1. 研究開始当初の背景

地球規模での温暖化が進むなかで、海水温の大きな年次変化、エルニーニョとラニーニャが繰返され、エルニーニョの夏は太平洋高気圧の張り出しが弱まり、低温寒気団が夏季前半に日本に到来すれば、東北地方の太平洋側ではイネの低温障害(冷害)の発生が高まり、低温寒気団が夏季後半の登熟期に到来すれば、日本各地でみられる長雨により穂いもち病の被害が拡大する。イネ新品種の開発では、作柄に最も影響を与えるこれら二つの重要リスク冷害といもち病の抵抗性を強化することが、強く求められてきたが、現時点では利用可能な染色体遺伝子座が限定しているため、その効果は不十分で、安定性についても不明な点が多い。今後、抵抗性の効果を十分に発揮させ、持続や安定性を確保し、それぞれの原料米となる品種の特質(加工性、食味や多収性など)を維持しながらの品種改良では、個々の遺伝子レベルでの多型を判断して、有効な遺伝子資源となる抵抗性のみを集積することが最も有効といえる。米の消費量は生活習慣の変化や食生活の多様化により減少傾向にあるものの、業務用米、米粉加工製品、酒造用米など加工用の需要は増加し、これらに抵抗性を集積することは緊急の課題といえる。

2. 研究の目的

そこで、本研究ではこれら二つのイネ重要リスクに関わる耐性遺伝資源に関わる研究を、特に、冷害に関してはコシヒカリにおいて見出されている第7染色体上のqCT-7領域ならびに、2014年に当研究室で見出した、ジベレリン合成酵素遺伝子GA20ox3とGA3ox1のコード領域とプロモーター領域の多型の有無について、さらに、いもち病抵抗性に関しては、第11染色体上でTetepなどのインド型イネ品種において見出されているPi54遺伝子領域の日本型イネ品種における多型について主に研究を進め、遺伝資源としての有用性について検証した。

3. 研究の方法

本研究で実施した低温処理は、完全な人工環境下ならびに宮城県古川農業試験場の冷水かけ流し圃場を利用した野外での低温処理の両方で、材料としては「コシヒカリ」と「日本晴」、それらの染色体部分置換系統「SL622」、「SL623」、「SL624」、「SL826」、「SL827」、「SL828」を用いて評価を行った。人工環境としては、27°C(昼)/22°C(夜)の12時間日長で設定した大型環境調節実験室バイオクライトロン(エスペック株式会社、製品番号:TGE-9HS、大阪)内で、二次枝梗分化後まで育成(発達ステージは幼穂長をもとに判断)後、同じバイオクライトロン内に常温区として設定した常温コンテナと冷温区として設定した冷温コンテナにポットごと移植した。

常温コンテナは、内容量200リットルのコンテナ(三甲株式会社、商品名:ジャンボックス#200、東京)に水道水を加え、バイオクライトロン内で一日インキュベートしたものである。冷温コンテナでは、同様のコンテナ内に水道水を入れたうえで、コンテナ側壁内側をらせん状に沿うアルミ管を設置し、そのアルミ管に冷却水循環装置(東京理科器械株式会社、製品番号:CA-1114、東京)から排出される冷水を循環させることで、コンテナ内の水を約20°Cに冷やした。両コンテナにおいては、ポットを入れた際に、土壌表面までの水深が25cmとなるようにした。冷温コンテナでは、出穂後に冷水循環を停止させて冷温処理を停止し、常温コンテナと同様の条件で育成を続けた。両コンテナとも開花40日後に給水をとめて、種子を登熟させた。

また、「コシヒカリ」、「日本晴」および「SL827」を第三葉齢まで育成し、播種後13日目に30°C(昼)/22°C(夜)の12時間日長で設定した大型環境調節実験室バイオクライトロン(エスペック株式会社、製品番号:TGE-9HS、大阪)内に設置した常温区である常温コンテナと冷温区である冷温コンテナに、水深23cmの水位を保ち栽培した。両コンテナ内で72時間栽培した植物体を採取し、mRNA sequence法による網羅的な遺伝子発現の解析を実施した。

GA20ox3とGA3ox1のコード領域とプロモーター領域の多型についても、耐冷性が弱い「ササニシキ」と耐冷性が強い「ひとめぼれ」、極強の「里のゆき」などの品種について、DNA塩基配列の多型の有無を調べた。

広範ないもち病抵抗性遺伝子Pi54遺伝子ならびにその周辺領域に関して、いもち病抵抗性が弱い「ササニシキ」、より抵抗性を示す「ひとめぼれ」をゲノム情報が解読されている「日本晴」、各種野生イネについて比較検討した。

4. 研究成果

(1) イネ耐冷性に関わるqCT-7遺伝子座に関する研究

第7染色体下腕部にコシヒカリ由来のqCT-7領域を含む「SL622」、qCT-7領域を含まず上腕の一部と下腕の一部がコシヒカリ由来の「SL623」、qCT-7領域を含まず上腕と下腕の一部がコシヒカリ由来の「SL624」のいずれも、親系統である「コシヒカリ」と同様に、冷温条件下でも高い種子稔実率を示し、日本晴由来のqCT-7領域を導入しても耐冷性の低下は確認されなかった。一方、第7染色体上腕からqCT-7領域を含まず下腕の一部がコシヒカリ由来の「SL826」では日本晴と比較して耐冷性の回復はみられなかったが、qCT-7領域を含む下腕の一部がコシヒカリ由来の「SL827」、およびqCT-7領域を含まず第7染色体下部末端がコシヒカリ由来の「SL828」は、「日本晴」と比較して耐冷性が有意に回

復していた。また、古川農業試験場の耐冷性検定水槽、および耐冷性検定圃場で行った野外実験においては、「SL826」と、人工気象室で耐冷性の回復が見られた「SL828」で耐冷性の回復はみられなかったが、「SL827」は野外でも「コシヒカリ」と同程度の強い耐冷性をことが確認された。以上の結果から、Takeuchiら(2001)が別の系統を用いたQTL解析と同様に、冷温感受性品種である「日本晴」の遺伝的背景に耐冷性品種である「コシヒカリ」のqCT-7領域を置換することで耐冷性の増強がみられるが、一方、「コシヒカリ」の遺伝的背景に「日本晴」のqCT-7領域を染色体置換しても負の影響が生じないという、単純な一遺伝子支配による優劣の制御ではないと考察された。

(2) qCT-7 領域の染色体置換が及ぼす遺伝子発現変動

上記の結果から、qCT-7 領域をコシヒカリ型に置換することで、日本晴染色体上に多数散在する耐冷性に関わる量的形質遺伝子座が活性化され、「コシヒカリ」と同様の応答を行うという作業仮説を立てた。そこで、この作業仮説を証明すべく、「コシヒカリ」、「日本晴」、「SL827」の3系統を三葉齢まで育成した植物体を用いて、19°Cの72時間の冷温処理により、「コシヒカリ」と「SL827」において共通に発現変動し、「日本晴」では大きく変動しない遺伝子群が存在するか、RNA-Seqによる網羅的なトランスクリプトーム解析を実施した。その結果、約15,000遺伝子の発現を確認し、18遺伝子は「コシヒカリ」と「SL827」において冷温で2倍以上発現上昇がみられるが、「日本晴」では2倍より少なくかつ「SL827」のレベルを下回るものが見出された。これらの中には、低温馴化に関わるタンパク質やデンプンの合成や代謝に関わる酵素遺伝子群が含まれていた。また、33遺伝子は「コシヒカリ」と「SL827」で発現が1/2以下に低下するが、「日本晴」では低下レベルが抑えられ「SL827」のレベル以上で発現しているものが見出された。すなわち、これら18遺伝子と33遺伝子には、イネ染色体上に散在する耐冷性に関わる量的遺伝子が含まれている可能性が考えられ、qCT-7領域がコシヒカリ型に置換することによって、日本晴染色体上の遺伝子も冷温によって発現誘導または抑制が生じ、耐冷性を付与できたものと考察された。

(3) GA20ox3 と GA3ox1 のコード領域とプロモーター領域の多型

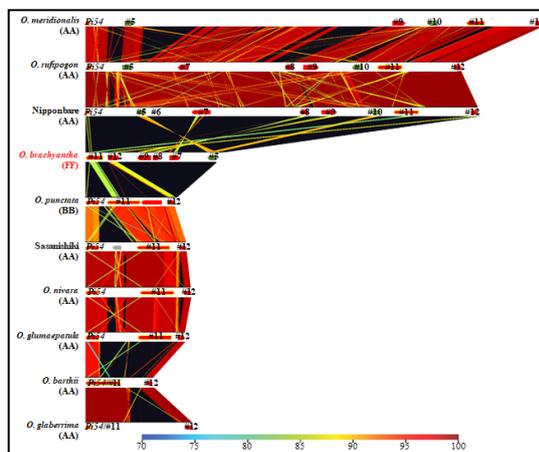
私たちの先行研究において、葯特異的かつ低温障害時にその転写レベルに低下がみられた活性型ジベレリン合成酵素 GA20ox3 と GA3ox1 (Sakata et al. 2014 Plant Physiol 164(4):2011-9. doi: 10.1104/pp.113.234401.) のコード領域とプロモーター領域のDNA塩基配列について、複数の品種を用いて解析した。

その結果、耐冷性の程度ならびに冷害発症時に発現量に違いがみられた「ササニシキ」と「ひとめぼれ」、「日本晴」、「里のゆき」などいずれにおいてもCDS領域ならびにプロモーター領域においても、SNPsを観察することができず、これらの遺伝子の発現が品種間で異なる機構には、その上流の制御やエピジェネティックな制御機構が存在する可能性が強く示唆された。

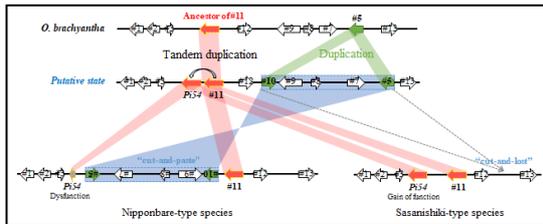
(4) イネいもち病抵抗性遺伝子 Pi54 の解析

Pi54 遺伝子は、インド型イネ Tetep など一部の品種において見出され、イネいもち病菌の広範なレースに対する抵抗性遺伝子である。一方、日本型イネにおいては、ほとんどの品種において、その遺伝子発現ならびに機能は失われていることが報告されている。そこで、この Pi54 遺伝子領域の日本型イネ品種における多型について調べるとともに、ゲノム情報が解読された野生型イネの複数の系統についても比較検討した。その結果、この領域は、日本型イネのなかでも「日本晴」ならびに「ひとめぼれ」の Pi54 遺伝子座と、「ササニシキ」の Pi54 遺伝子座では、前者が約90 kb、後者が約25 kbと大きく異なることを見出した(図1)。さらに、この違いは、野生型イネにおいても生じていること、また、相同性の解析から、FFゲノムの祖先型野生イネにおいては Pi54 遺伝子の起源となる R 遺伝子しか観察されず、その起源遺伝子が重複することで Pi54 遺伝子が進化してきたことが強く示唆された(図2)。また、いずれの日本型イネにおいても多数のリピータ配列、トランスポゾン様配列の同遺伝子座への挿入を確認し、アジアへのイネの栽培に伴って Pi54 遺伝子の機能が喪失したものと考察された。

今後、地球規模での異常気象に伴い、インドやアフリカ等において被害が生じているいもち病レースがアジアにおいても蔓延する可能性が示唆されており、活性のある Pi54 遺伝子を日本型イネに導入することは大変意義があり、本研究成果が Pi54 遺伝子の新たな遺伝資源としての利用に資する基礎となることを期待している。



(図1) イネ野生系統も含めた Pi54 遺伝子領域の相同性の比較解析



(図2) Pi54 遺伝子重複進化のモデル

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1件)

- (1) 東谷 篤志. 高温ならびに低温障害と植物ホルモン—花粉形成がこれらストレスになぜ脆弱か—. 植物の生長調節 Regulation of Plant Growth & Development Vol. 50, No. 2, 162-165, 2015. https://doi.org/10.18978/jscrp.50.2_162 査読有

[学会発表] (計4件)

- (1) Lin Zhang, Yusuke Nakagomi, Takashi Endo, Mika Teranishi, Shusei Sato, Jun Hidema, Atsushi Higashitani. Origin of two divergent NBS-LRR clusters on chromosome 11 in modern *Oryza sativa* ssp. japonica cultivars. 日本遺伝学会 第89回大会 2017(岡山)
- (2) 東谷 篤志. イネの冷害と植物ホルモン・ジベレリンの関係. 日本農業気象学会全国大会およびISAM2017 シンポジウム(招待講演)(国際学会) 2017 (青森)
- (3) 細沼信孝, 小田晋, 友田文, 寺西美佳, 東谷篤志. Low-Temperature Tolerance via Carbohydrate Metabolism in rice. 第57回日本植物生理学会年会 2016 (岩手)
- (4) 邵震華, 泉正範, 東谷篤志. A Role of Autophagy in Vegetative and Reproductive Growth under High-temperature Condition in *Arabidopsis thaliana*. 第57回日本植物生理学会年会 2016 (岩手)

[その他]

ホームページ

<https://www.lifesci.tohoku.ac.jp/research/fields/laboratory.html?id=2550>

6. 研究組織

(1)研究代表者

東谷 篤志 (HIGASHITANI, Atsushi)
 東北大学・大学院生命科学研究科・教授
 研究者番号：40212162

(2)研究分担者

寺西 美佳 (TERANISHI, Mika)

東北大学・大学院生命科学研究科・助教
 研究者番号：10333832

日出間 純 (HIDEMA, Jun)

東北大学・大学院生命科学研究科・准教授
 研究者番号：20250855

佐藤 修正 (SATO, Shusei)

東北大学・大学院生命科学研究科・准教授
 研究者番号：70370921

(3)連携研究者

(4)研究協力者

東北大学・大学院生命科学研究科・大学院生

小田 晋 (ODA, Susumu)

友田 文 (TOMODA, Aya)

細沼 信孝 (HOSONUMA, Nobutaka)

邵 震華 (SHAO, Zhenhua)

張 琳 (ZHANG, Lin)