

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18625

研究課題名(和文) イネの早朝開花性に関わる遺伝子の同定

研究課題名(英文) Identification of a candidate gene responsible for early morning flowering trait in rice

研究代表者

佐々木 和浩 (Sasaki, Kazuhiro)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・助教

研究者番号：70513688

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：イネは高温ストレスによって不稔穂が発生し、収量の低下が問題になってきている。本研究では、気温が涼しい早朝に開花させることで、日中の高温を避けるイネを開発し、その原因となる遺伝子の特定を進めている。本課題の成果により、新規早朝開花系統を作出するためのDNAマーカーが開発され、さらに、候補遺伝子は10数個に絞られ、開花メカニズムの解明が期待される。

研究成果の概要(英文)：In rice, heat stress at flowering seriously affects spikelet fertility and cause yield reduction. The shift in flowering of time to cooler early morning was proposed to be effective in heat escape at flowering. In this study, I aimed to identify a candidate gene responsible for early morning flowering (EMF) trait. DNA markers were developed for marker assisted selection of new EMF line. Moreover, candidate genes were succeeded to select.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：イネ 早朝開花性 QTL

1. 研究開始当初の背景

イネは、世界人口の約半数が主食としている主要な作物である。近年、生産現場では、気候変動の影響により、収量および品質の低下が起こっている。日本では、登熟期の高温ストレスにより白未熟粒が増加し、玄米品質の低下が問題となっている。一方、世界に目を向けてみると、熱帯地域では、さらなる高温ストレスによって不稔粒が発生し、収量の低下が報告されている (Matsushima et al. 1982)。高温による不稔粒は、開花時に 32-36 以上の高温にさらされることで、増加する (Satake and Yoshida 1978)。現在、高温不稔を軽減する品種育成や栽培技術開発は、熱帯地域での需要が高い。また、IPCC (2013) の報告によると、今後ほとんどの陸域において、栽培時期に高温がより頻繁になり、長く続く可能性が高いとされている。高温不稔が起こる地域は、熱帯地域だけでなく、増々広範囲になっていく懸念がある。こうした高温不稔に対し、申請者の研究グループでは、イネの開花時刻を早め、気温が涼しい早朝に開花させることで、日中の高温を避ける、というストレス回避型の戦略に着目している。

栽培イネは午前中に開花し、正午までには開花が終了する。栽培イネでの開花時間の変異は非常に小さい。しかし、野生イネの開花時刻は多様に富んでおり、早朝から開花する系統も存在する (Sheehy et al. 2005)。そこで、早朝開花性をもつ野生イネ (*O. officinalis*) のイントログレッションラインに着目し、コシヒカリを遺伝背景とした早朝開花系統を選抜した。早朝開花性を持つ系統 (EMF20) は、コシヒカリに比較し、1~2 時間ほど早く開花する。さらに、不稔を引き起こす温度に設定された温室栽培試験の結果、EMF20 では不稔が軽減されていた。これらの結果により、高温不稔に対する育種戦略の概念でしかなかった早朝開花性が、実際に高温不稔を回避できることが証明されたのである。 (Ishimaru et al. 2010)。その後、早朝開花性に関わる量的形質遺伝子座 (QTL; quantitative trait loci) 解析が進められた。EMF20 と Nanjing 11 の交雑後代 F2 集団を用いて、第 3、8 染色体に QTL (*qEMF3*, *qEMF8*) が検出された (Hirabayashi et al. 2013、図 2)。このうち、*qEMF3* についての Nanjing 11 を遺伝背景とした準同質遺伝子系統 (Nanjing 11+*qEMF3*) の作出に成功した (図 1)。Nanjing 11+*qEMF3* は Nanjing 11 に比較し、1.5~2 時間ほど、開花時間が早まった (図 2)。EMF20 と同様の温室栽培試験により、Nanjing 11+*qEMF3* は、早朝に開花することで、高温不稔を回避することが証明された (Hirabayashi et al. 2013、図 3)。すなわち、*qEMF3* は開花時刻を早めることで、高温不稔を回避できる有用な QTL であると言える。

加えて、*qEMF3* に強く連鎖する DNA マーカーの開発は、将来の気候変動で懸念される高温不稔回避に向けた早朝開花性の育種を加速させる成果である。



図1 Nanjing 11+*qEMF3*の開花の様子。親品種Nanjing 11 (左) は開花していないが、Nanjing 11+*qEMF3* (右) は開花のピークを迎えている

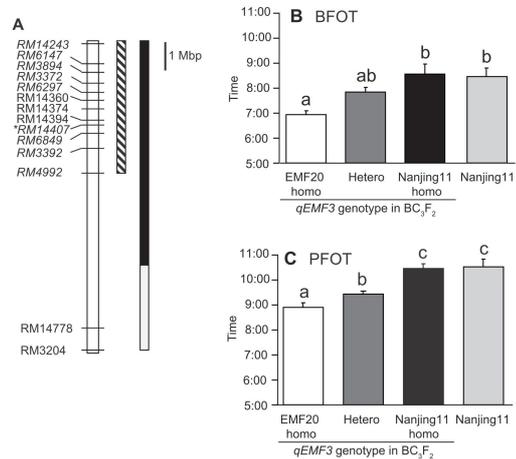


図 2 *qEMF3* の染色体位置 (A) とその効果 (B, C)

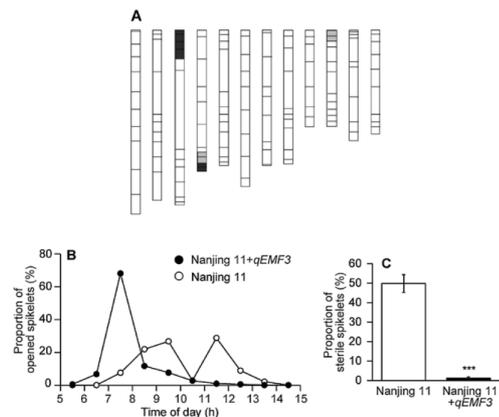


図 3 Nanjing 11+*qEMF3* の遺伝子型 (A)、開花パターン (B) および、高温温室化での不稔率 (C)

2. 研究の目的

申請者の研究グループでは、*qEMF3* 原因遺伝子の単離を最終目標としている。本課題では、*qEMF3* が座上しているゲノム領域を特定し、原因となる候補遺伝子の同定を行う。

(1) 高精度連鎖解析によるゲノム領域の特

定：ゲノム領域の絞り込みには、Nanjing 11+*qEMF3* に戻し交雑して得られた F2 集団を用い、DNA マーカーを用いた遺伝子型決定と開花時刻の表現型を調査する。遺伝子型と表現型を基に高精度連鎖地図を作成し、ゲノム領域を特定する。

(2)*qEMF3* ゲノム領域の塩基配列解読と遺伝子予測：特定されたゲノム領域内の塩基配列を解読し、遺伝子を予測する。また、Nanjing 11 と Nanjing 11+*qEMF3* 間の塩基多型を検出する。

### 3. 研究の方法

(1)ゲノム領域を特定するために、Nanjing 11 と Nanjing 11+*qEMF3* の交配後代 F2 集団を用いて行った。集団の遺伝子型と表現型の調査を基に、高精度連鎖地図を作成した。

(2)特定されたゲノム領域について、Nanjing 11 と Nanjing 11+*qEMF3* の塩基配列を解読し、塩基多型を明らかにする。データベースを用い、遺伝子を予測した。

### 4. 研究成果

(1)Nanjing 11 と Nanjing 11+*qEMF3* の交配 F2 集団を用いて、*qEMF3* の座上領域を推定するために、組み換え個体を選抜した。約 5000 個体の F2 集団から DNA を抽出し、第 3 染色体短腕の *qEMF3* を挟み込むマーカーで遺伝子型を決定し、選抜マーカー間で組み換えが起こっている約 120 個体を選抜した。選抜個体の開花パターンは、朝 7 時から 30 分おきに調査し、開花した穎花にマーキングしていった。選抜マーカーからさらに候補領域側のマーカーを作成し、選抜した組換え個体の遺伝子型を決定した。組換え個体の遺伝子型と、開花パターンを基に *qEMF3* の高精度連鎖地図を作成した。

(2)*qEMF3* の高密度連鎖地図を完成させ、ゲノム領域を特定した。特定したゲノム領域は、日本晴のゲノムでは約 80kbp の塩基配列であった。この領域について、早朝開花系統と親系統のゲノムを次世代シーケンズで解読した。早朝開花性が野生イネ由来であることから、塩基の変異が大きい欠失や挿入であることが予想されたため、日本晴ゲノムへのマッピングではなく、得られたリードを基にスキャフォールドを構築した。予想に反して、大きい欠失や挿入は確認されず、1 塩基置換や数塩基の挿入欠失の変異にとどまっていた。そこで、イネゲノムアノテーションデータベース RAP-DB ([rapdb.dna.affrc.go.jp/](http://rapdb.dna.affrc.go.jp/)) のプログラムを用いて、遺伝子を予測した。また、Nanjing 11 と Nanjing 11+*qEMF3* 間では、遺伝子の翻訳領域には多型が認められなかった。このことから、早朝開花系統は、アミノ酸変

異ではなく、遺伝子発現によって早朝開花性となっていることが推察された。

これまで、イネの早朝開花性を持った準同質遺伝子系統の育成に成功しているのは、申請者の研究グループのみである。突然変異体の研究も含め、イネの開花時刻に関わる遺伝子は単離されていない。本課題での、*qEMF3* 高精度連鎖地図の作製は、世界初の原因遺伝子の同定に向かう、基礎となる研究である。開花の研究は花き類で進んでおり、概日リズムとの関係が報告されている。しかし、イネ科植物で開花制御に切り込んだ研究は無く、早朝開花に関わる遺伝子を明らかにすることは、研究が進んでいないイネ科植物の開花メカニズムの解明につながると考えている。さらには、概日リズムとの関係を明らかにすることも今後の重要な課題である。

学術的な成果に加えて、高精度連鎖解析で得られた DNA マーカー情報および塩基配列情報は、高温不稔を回避するマーカー育種へと応用が可能である。マーカー育種では幼苗での遺伝子導入系統の選抜が可能のため、選抜のための表現型調査を必要としない。そのため、従来の表現型選抜を基礎とした育種法に比較し、簡便かつ迅速に新品種を育成することができる。また、熱帯地域各国のメガ品種と開花時刻を比較した場合、Nanjing 11+*qEMF3* が最も早く開花した (Hirabayashi et al. 2013、図 4)。このことは、*qEMF3* の導入によって、メガ品種に早朝開花性を付与できる可能性を示している。育成した品種は、共同研究先の国際稲研究所を通して、熱帯アジア地域へ広く発信し、品種登録される、もしくは各国での育種母本になると期待される。*qEMF3* が食糧問題の解決に貢献できると期待している。

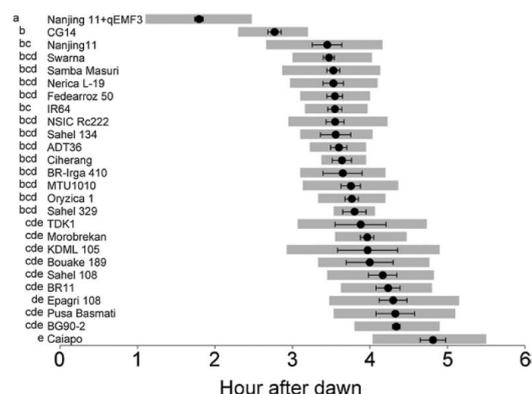


図 4 Nanjing 11+*qEMF3* と熱帯地域各国のメガ品種の開花時刻。黒丸が開花ピーク時刻になる。

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1件)

1. T Ishimaru, H Hirabayashi, K Sasaki, C Ye, A Kobayashi. Breeding efforts to mitigate damage by heat stress to spikelet sterility and grain quality. Plant Production Science 19:12-21  
査読有 DOI: 10.1080/1343943X.2015.1128113

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.isas.a.u-tokyo.ac.jp/>

6．研究組織

(1)研究代表者

佐々木 和浩 (Sasaki Kazuhiro)

東京大学大学院・農学生命科学研究科・助教  
研究者番号：70513688