

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K05575

研究課題名（和文）イネ脱粒性遺伝子を用いた栽培化における種子脱離現象の解明

研究課題名（英文）Elucidation of seed detachment phenomenon in domestication using seed shattering gene in rice

研究代表者

小西 左江子（杉田左江子）（Konishi-Sugita, Saeko）

香川大学・農学部・准教授

研究者番号：10574634

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：脱粒性は自然界で種子の拡散に重要ですが、作物においては収穫量の減少につながるため、重要な農業形質です。本研究では、次の2つのアプローチによって、イネの種子脱離現象を解析しました。まず、ガンマ線照射で得た変異体から脱粒性の変異系統を選抜し、詳細な観察を行いました。次に、これら変異体と野生型を交配し、F2個体での脱粒性分離を調査しました。さらに、MutMap解析で候補遺伝子を特定し、ゲノム編集によりその機能の証明を目指しました。また、qSH1遺伝子のSNP改変により、望まれる脱粒性のイネ品種を作出することを目指しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、イネの脱粒性に関する新規遺伝子の特定と、その機能を明らかにした点にあります。ガンマ線照射とMutMap解析を用いたアプローチは、他の作物の改良にも応用可能であり、遺伝子編集技術の発展にも寄与します。社会的意義としては、収穫量の向上と安定供給に貢献する脱粒性制御の技術開発が挙げられます。これにより、農業生産性が向上し、食料安全保障に貢献するだけでなく、農家の経済的負担の軽減にも寄与します。さらに、多様な環境や市場のニーズに応じた品種改良が可能となり、持続可能な農業の実現に寄与します。

研究成果の概要（英文）：Shattering is crucial for seed dispersal in nature, but it leads to reduced yields in crops, making it an important agricultural trait. In this study, we analyzed the shattering phenomenon in rice seeds using two approaches. First, we selected shattering-related mutant lines from gamma-ray irradiated mutants and conducted detailed observations. Next, we crossed these mutants with wild-type rice and investigated the segregation of shattering traits in F2 progeny. Furthermore, we identified candidate genes through MutMap analysis and plan to validate their functions using genome editing. Additionally, we aimed to develop rice varieties with desired shattering traits by modifying SNPs in the qSH1 gene.

研究分野：植物分子育種学

キーワード：イネ 脱粒性 収量性 離層形成

1. 研究開始当初の背景

脱粒性とは、穂から種子が脱粒する性質であり、自然界では、種子の拡散による繁殖戦略として重要な性質である。一方、作物として考えた場合、強い脱粒性は収穫量の減少につながる。そのため、栽培化の過程で、脱粒性は、古代人によって最初の選抜の対象となった農業形質であると考えられてきた。また、脱粒性は脱穀技術との関連が深いことから、今日でも重要な農業形質の1つである。

これまでに、イネの農業形質と関わりのある栽培化遺伝子の単離および置換系統の作出においては、申請者らは、イネの脱粒性を制御する遺伝子として、栽培ジャポニカイネ品種「日本晴」と栽培インディカイネ品種「カサラス」の品種間差を利用した交雑後代を用いた QTL (Quantitative Trait Loci: 量的遺伝子座) 解析から、脱粒性に関する QTL を明らかにしている。また、QTL の中で作用力が最も大きい第一染色体長腕上に座乗する *qSH1* 遺伝子をマップベースクローニング法により単離・同定し、単離した *qSH1* 遺伝子が、種子の基部の離層形成に必須であることを明らかにしている。このケースにおける脱粒性の原因となる変異は、遺伝子転写開始点上流の約 12kb の位置に生じる SNP (1塩基多型) による組織特異的な遺伝子発現の変化で決定されるということを示唆することを明らかにし、古代人が転写制御に影響を与える SNP を選抜していたことを示唆する結果を発表している (1. Konishi et al., 2006)。脱粒性に関しては、同時期に別のグループによって、野生イネ由来の別の脱粒性に関する *sh4* 遺伝子が単離・同定されている (3. Li et al., 2006)。その後、野生イネや雑草イネを用いて、*qSH1* と *sh4* の遺伝解析が行われている (4. Ishikawa et al., 2010, 5. Akasaka et al., 2011)。また、野生イネのイントログレッション系統を用いた解析により、新規の脱粒性遺伝子 *SHAT1* が同定され、*AP2* 様転写因子であることが報告されている (6. Zhou et al., 2012)。さらに、*qSH1* 遺伝子のパラログである *SH5* が、離層の形成に関与しているとの報告も行われている (7. Yoon et al., 2014)。また、野生イネより、新規脱粒性遺伝子 *qSH3* が単離されている (8. Htun et al., 2014)。さらに、申請者らの研究により、脱粒性遺伝子 *qSH1* の準同質遺伝子系統 NIL (*qSH1*) を用いて、レーザーマイクロダイセクション法を利用した離層部位特異的なマイクロレイ解析を行い、*qSH1* の下流で働く候補遺伝子 *OSH15* を見いだしている。さらに、候補遺伝子 *OSH15* の機能解析および組織特異的な発現解析等を行うことにより、*qSH1* 遺伝子および *OSH15* 遺伝子の脱粒性における役割を明らかにしている。

このように、近年、脱粒性に関する遺伝子が複数単離され、各遺伝子間の相互作用や離層形成への関与について、少しずつ明らかになってきている。その一方で、最初に単離・同定された作用力の大きい野生イネ由来の *sh4* 遺伝子と *qSH1* 遺伝子との関係や作用のタイミング、離層形成およびその後の離層の崩壊についての詳細な分子機構に関しては、野生イネ由来の遺伝子の解析の難しさもあり、不明な点も多く残っている。

2. 研究の目的

本研究では、脱粒性遺伝子 *qSH1* のイネ品種「日本晴」の遺伝的背景をもつ準同質遺伝子系統である NIL (*qSH1*) を用いてガンマ線照射を行った突然変異系統を解析することで、新規脱粒性遺伝子の探索を行い、脱粒性の遺伝子ネットワークを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究目的を達成するために、脱粒性遺伝子 *qSH1* の準同質遺伝子系統である NIL(*qSH1*) を用いてガンマ線照射による突然変異体を選抜している。そこで、本研究では、突然変異体の脱粒性に関する詳細な表現型を以下の方法で調査した。パラフィン切片を用いた組織解剖学的な解析及び走査型電子顕微鏡を用いたイネ種子と小枝梗の接続部の詳細な形態観察を行った。また、出穂直後から収穫期までの脱粒性程度について穀粒脱粒性試験装置を用いて定量的に測定を行った。

4. 研究成果

1) 「難脱粒性系統の脱粒性の定量化」

野生型 (機能型 *qSH1* 領域を含むイネ品種日本晴背景 NIL(*qSH1*)) と変異系統の脱粒性程度の比較を穀粒脱粒性試験装置を用いて行った(図1、図2)。その結果、コントロールの野生型と異なり、収穫期においても難脱粒性系統では脱粒しにくいことを数値化できた。

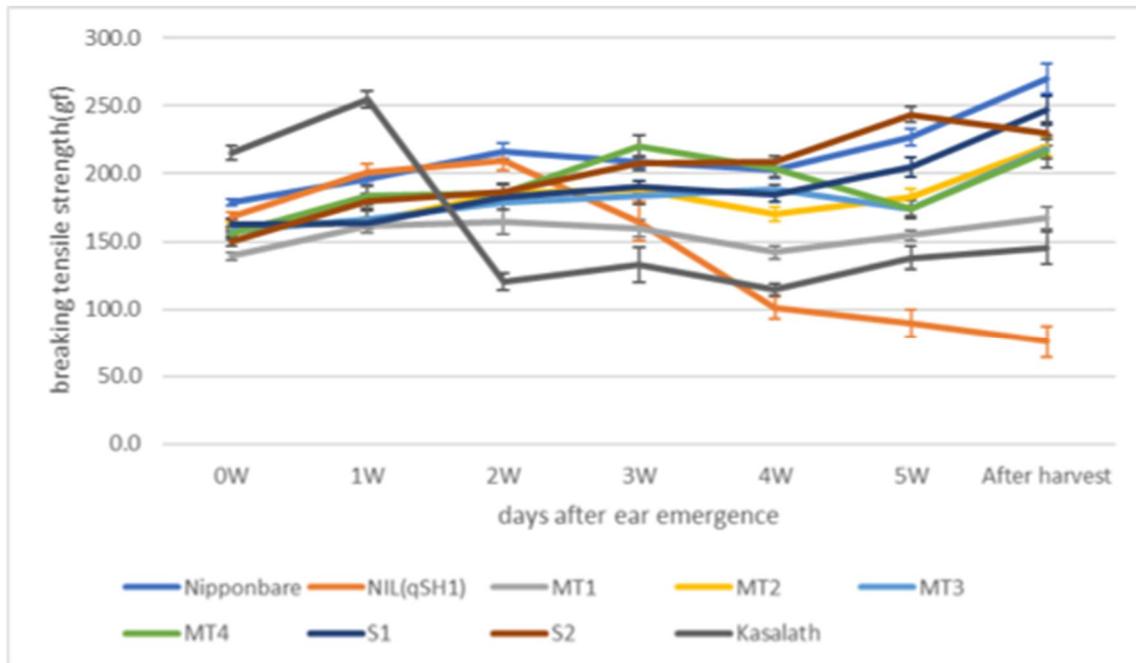


図1 野生型と変異体の出穂後から1週間毎の経時的な脱粒性程度の比較

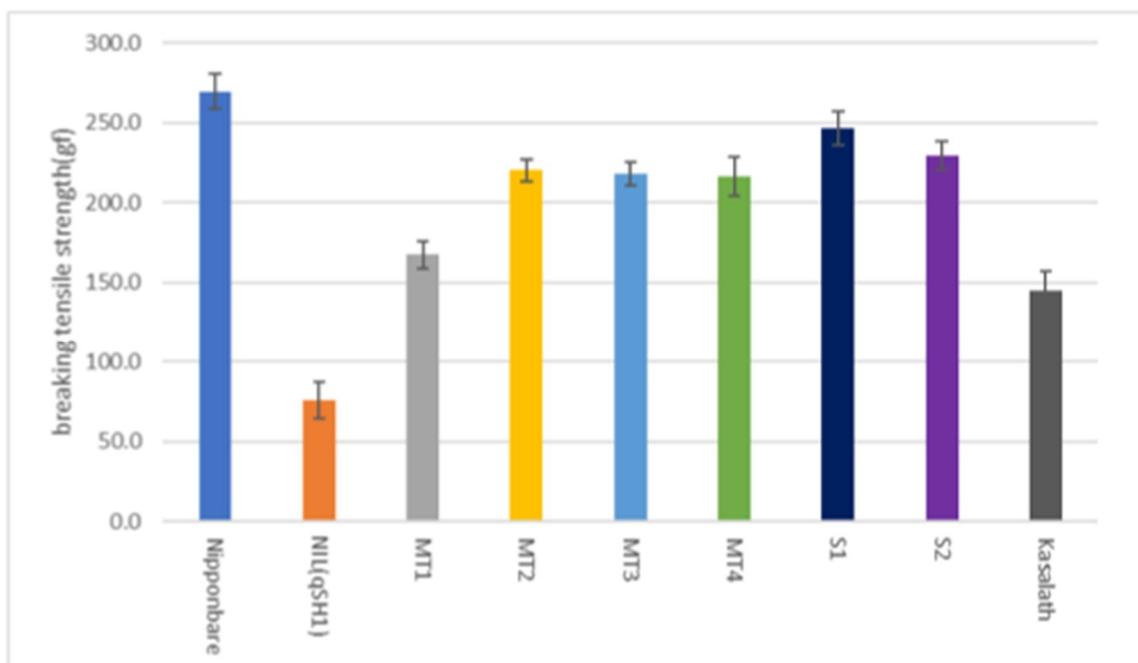


図2 野生型と変異体の収穫後の脱粒性程度の比較

2) 「難脱粒性系統の組織解剖学的解析」:機能型 *qSH1* 領域を含むイネ品種日本晴背景 NIL(*qSH1*)とその難脱粒性変異体系統を用いて、出穂直後の種子基部の離層の組織解剖学的観察を行った。その結果、コントロールの日本晴や NIL(*qSH1*)と比較して、異なる微細構造をしていることが明らかになった(図 3)。出穂直後の難脱粒性変異体の種子基部について、パラフィン切片を用いた組織学的解析の結果を図 4A~F にまとめた。MT1 ではカサラスと同様、outer に離層が形成されている(図 3A)ことが確認された。MT2、MT3、S1 でははっきりとした離層は観察されなかった(図 3B、3C、3E)。MT4、S2 では多くのサンプルにおいて outer の一部に離層の形成が確認された(図 3D、3F)。

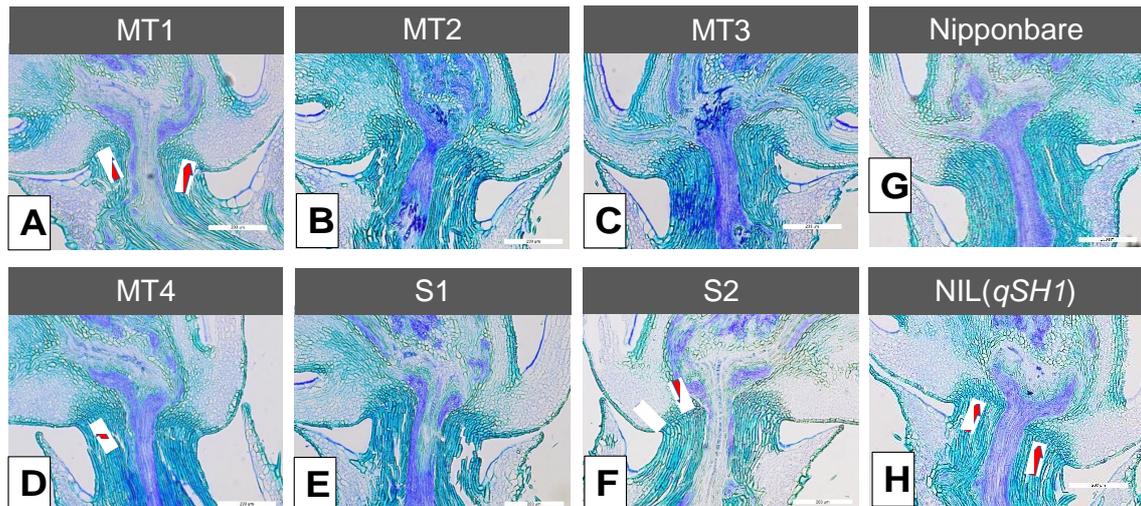


図 3 野生型と変異体の種子基部の離層形成

6つの難脱粒性変異系統の脱粒性を定量的に測定した結果、脱粒性の程度に応じた経時的な脱粒性の推移が見られた。また、種子基部の離層部位の組織解剖学的な解析の結果、一部の難脱粒性変異系統においても部分離層を示す系統があることが明らかとなった。走査型電子顕微鏡を用いたイネ種子接続部の詳細な形態観察の結果、カサラスでは部分離層が規則的であるのに対し、難脱粒性変異系統のいくつかでは不規則であることが明らかになった。これらの結果より、脱粒性の決定には離層の有無に加え、離層が崩壊するタイミングや形成様式も重要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Konishi-Sugita Saeko, Sato Kayo, Mori Etsuko, Abe Yuko, Hazebayashi Miho, Gomi Kenji, Tabuchi Mitsuaki, Kisaki Gan, Fukuda Tetsuo, Manabe Tetsuro, Hamano Kohei, Ohtani Mamoru, Suezawa Katsuhiko, Akimitsu Kazuya, Kataoka Ikuo	4. 巻 91
2. 論文標題 Development of Genome-wide SSR Markers in Kiwifruit Using Sequence Information from a Public Database	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 453 ~ 466
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hortj.UTD-340	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kisaki, G., Shimagami, T., Matsudaira K., Tsugi Y., Moriguchi K., Nakashima K., Morimoto, T., Sugita-Konishi S., Tabuchi M., Gomi K., Ichimura K., Hamano K., Suezawa K., Otani M., Fukuda T., Manabe T., Kataoka I., Akimitsu K.	4. 巻 101(4)
2. 論文標題 A kiwifruit cultivar crossbred with Actinidia chinensis and Actinide rufa has practical tolerance to Pseudomonas syringae pv. Actinidiae biovar 3	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 1211-1214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 0件／うち国際学会 8件）

1. 発表者名 Taiga Inamo, Masaki Endo, Katsuya Negishi, Seiichi Toki, Saeko Konishi-Sugita
2. 発表標題 Molecular genetic studies for increasing yield potential focusing on rice seed shattering
3. 学会等名 Kagawa International Forum on Advanced Genomics, Environmental and Resource Genomics and Life Sciences (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Koichiro Nishikawa, Taiga Inamo, Saeko Konishi-Sugita
2. 発表標題 Molecular genetic studies using non- shattering mutants in rice
3. 学会等名 Kagawa International Forum on Advanced Genomics, Environmental and Resource Genomics and Life Sciences (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名	Molecular biological studies on the timing of separation layer formation of seed shattering in rice
2. 発表標題	Nao Komatsu, Rinsei Tanimoto and Saeko Konishi-Sugita
3. 学会等名	Kagawa International Forum on Advanced Genomics, Environmental and Resource Genomics and Life Sciences (国際学会)
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	Yoshino Nakayama, Rinsei Tanimoto, Saeko Konishi-Sugita
2. 発表標題	Molecular biological studies on the timing of separation layer detachment of seed shattering in rice
3. 学会等名	Kagawa International Forum on Advanced Genomics, Environmental and Resource Genomics and Life Sciences (国際学会)
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	Akane Saka, Yuki Mizushima, Tomohiro Yoshida, Taiga Inamo, Yuya Tamaoki, Rinsei Tanimoto, Koichiro Nishikawa, Kota Matsuda, Nao Komatsu, Yoshino Nakayama, Izumi Ando, Yuko Abe, Saeko Konishi-Sugita
2. 発表標題	Taste sensory test of rice using good-tasting varieties grown at the Faculty of Agriculture
3. 学会等名	Kagawa International Forum on Advanced Genomics, Environmental and Resource Genomics and Life Sciences (国際学会)
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	杉田(小西)左江子, 佐藤佳代, 森悦子, 安倍優子, 櫛林美穂, 五味剣二, 田淵光昭, 生咲巖, 福田哲生, 真鍋徹郎, 濱野康平, 大谷衛, 未澤克彦, 秋光和也, 片岡郁雄.
2. 発表標題	キウイフルーツのゲノムワイドSSRマーカーの作成
3. 学会等名	園芸学会令和4年度秋季大会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名 谷本 凜生, 杉田(小西)左江子
2. 発表標題 イネ難脱粒性変異体を用いた離層形成の分子生物学的解析
3. 学会等名 日本育種学会第142回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉田(小西)左江子, 稲毛 大賀, 谷本 凜生, 西川 広一郎
2. 発表標題 新規イネ脱粒性遺伝子単離に向けた分子遺伝学的解析
3. 学会等名 日本育種学会第142回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西川広一郎, 稲毛大賀, 杉田(小西)左江子
2. 発表標題 イネ難脱粒性変異体を用いた分子遺伝学的研究
3. 学会等名 日本育種学会四国談話会第86回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 稲毛大賀, 遠藤真咲, 根岸克弥, 土岐精一, 杉田(小西)左江子
2. 発表標題 イネ種子脱粒性に着目した収量性増加に向けた分子遺伝学的研究
3. 学会等名 日本育種学会四国談話会第86回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 稲毛大賀、遠藤真咲、土岐精一、杉田(小西)左江子
2. 発表標題 イネ種子脱粒性遺伝子に関する分子育種学的研究
3. 学会等名 Phytogene Symposium XIII
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷本凜生、杉田(小西)左江子
2. 発表標題 イネ難脱粒性変異体を用いた種子脱粒性に関する分子遺伝学的研究
3. 学会等名 Phytogene Symposium XIII
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西川広一郎、杉田(小西)左江子
2. 発表標題 難脱粒性変異体を用いた新規イネ脱粒性遺伝子単離に向けた分子育種学的研究
3. 学会等名 Phytogene Symposium XIII
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉田 左江子
2. 発表標題 キウイフルーツの次世代品種選抜に向けたDNAマーカー開発
3. 学会等名 Phytogene Symposium XIII
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Okase, Y., Konishi-Sugita, S.
2. 発表標題 Genetic analysis of seed shattering using Shiranui mutants in rice.
3. 学会等名 Phytogene Symposium X (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Konishi, S., Konishi-Sugita, S.
2. 発表標題 Genetic analysis for gene isolation of new shattering genes using Nanjing 11 in rice.
3. 学会等名 Phytogene Symposium X (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoneshima, A., Konishi-Sugita, S.
2. 発表標題 Genetic analysis for gene isolation of new shattering gene using Ai-Jio-Nan-Te (AJNT) in rice.
3. 学会等名 Phytogene Symposium X (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔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

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
---------	---------