

令和 5 年 5 月 15 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K05585

研究課題名(和文) 水稻の気孔伝導度を高める遺伝子の同定と機能解析

研究課題名(英文) Isolation and characterization of the gene for improve the stomatal conductance in rice

研究代表者

上田 忠正 (Ueda, Tadamasa)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究部門・主任研究員

研究者番号：80355750

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：水稻超多収品種タカナリが持つ気孔伝導度が高まった結果、光合成速度が上昇する遺伝子(qHP10)の同定と機能の解析を行なった。タカナリとコシヒカリ(光合成速度標準)の交雑後代集団を用いて、qHP10のゲノム上での位置の絞り込みとゲノム編集個体の作出の結果、qHP10はOsMPK4をコードすることが分かった。タカナリとコシヒカリのOsMPK4の塩基配列を比較したところ、エクソン内に変異は見られなかった。よって発現様式の違いが、光合成速度の違いと考えている。またコシヒカリとコシヒカリにqHP10を交配により導入した系統を圃場において収量調査を行ったところ、後者は収量と玄米品質の上昇が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの高収量イネを作成するために、多くの一穂粒数や粒重を大きくする遺伝子が単離されてきた。しかしながらこれらを導入したイネでは必ずしも収量の増加には繋がらず、光合成能力も同時に改良する必要があることを筆者らは報告してきた。しかしながら光合成能力を改良する遺伝子は多くは単離されてない。本研究で高光合成品種タカナリから単離されたOsMPK4は出穂時期や草型を変えることなく、個葉光合成能力を改良する。この遺伝子を交配によりイネ品種コシヒカリに導入すると光合成能力が改良され、収量及び玄米品質も改良されることから、高収量イネを作成するための一つの材料ができた。

研究成果の概要(英文)：We identified and analyzed the function of a gene (qHP10) that increases photosynthetic rate as a result of increased stomatal conductance in the super high-yielding rice variety Takanari. Using a crossed progeny population of Takanari and Koshihikari (photosynthetic rate standard), we narrowed down the position of qHP10 on the genome and generated genome-edited lines. qHP10 was found to encode OsMPK4. Sequence comparison of OsMPK4 in Takanari and Koshihikari showed no mutation within the exons. Therefore, we believe that the difference in expression pattern causes the difference in photosynthetic rate. Yield studies of Koshihikari and Koshihikari lines introduced with qHP10 by crossing were conducted in the field, and the latter showed an increase in yield and grain quality.

研究分野：遺伝・育種

キーワード：光合成能力 多収イネ タカナリ

1. 研究開始当初の背景

収量性は作物にとって改良すべき最も重要な形質の一つであり、シンクサイズとソース能力によって決定される。イネに関しては多くのシンクサイズに関わる遺伝子が単離・同定されているが、これらを既存の品種に導入しても、必ずしも収量の増大には繋がらない。そこでシンクサイズに関わる遺伝子とソース能力に関わる遺伝子を組み合わせて収量の増加を図るアプローチを検証する必要がある。しかしながらソース能力に関する遺伝子の単離例は少ない。そこで筆者らはイネ品種タカナリ(超多収・光合成速度大)とコシヒカリ(収量標準・光合成速度標準)の交雑後代を用いて、第10染色体長腕にタカナリ由来の気孔伝導度を高める遺伝子(*qHP10*)の存在を確認した。

2. 研究の目的

本研究では筆者らが見出したタカナリ由来の気孔伝導度を高める遺伝子(*qHP10*)の単離・機能解析を行い、新規なソース能力に関する遺伝子として既存のシンクサイズに関わる遺伝子と組み合わせて評価し、収量性の改良の可能性を検証する。

3. 研究の方法

(1) イネ品種タカナリとコシヒカリの交雑後代集団を用いて、*qHP10*のゲノム上での位置の絞り込みを行い。候補遺伝子を決定した(マップベースクローニング)。

(2) *qHP10*のマッピング情報を用いて、*qHP10*に関する準同質遺伝子系統(NIL-*qHP10*)を作成した。

(3) ゲノム編集により、コシヒカリのノックアウト個体を作成し、光合成速度を測定して、原因遺伝子を決定した。タカナリ及びコシヒカリの原因遺伝子の塩基配列を比較し、光合成速度の違いがどの変異に由来するかを調べた。

(4) コシヒカリの遺伝背景に *GN1A* (一穂粒数を多くする遺伝子)、*GW2* (粒重を大きくする遺伝子)のシンクサイズ関連遺伝子に関する準同質遺伝子系統を作成し(それぞれ NIL-*GN1A*、NIL-*GW2*)、これらを NIL-*qHP10* と交配して、ピラミディング系統(PYL)を作成した。コシヒカリ・NIL-*qHP10*・NIL-*GN1A*・NIL-*GW2*・PYL-*GN1A+qHP10*・PYL-*GW2+qHP10*・PYL-*GN1A+GW2*・PYL-*GN1A+GW2+qHP10*の8系統を通常圃場で2年間栽培し、収量・玄米品質を比較した。

4. 研究成果

(1) イネ品種タカナリとコシヒカリの交雑後代集団を用いて、マップベースクローニングを行ったところ、*qHP10*候補領域は約3kbに絞り込まれ、イネゲノムのアノテーション情報によれば、イネマップカイネース(OsMPK4)遺伝子のプロモーター領域に位置づいた(図1)。また同じ位置に気孔伝導度と光合成速度も位置づいたことから、候補遺伝子は気孔伝導度を高めた結果、光合成速度を改良する遺伝子であると考えた。

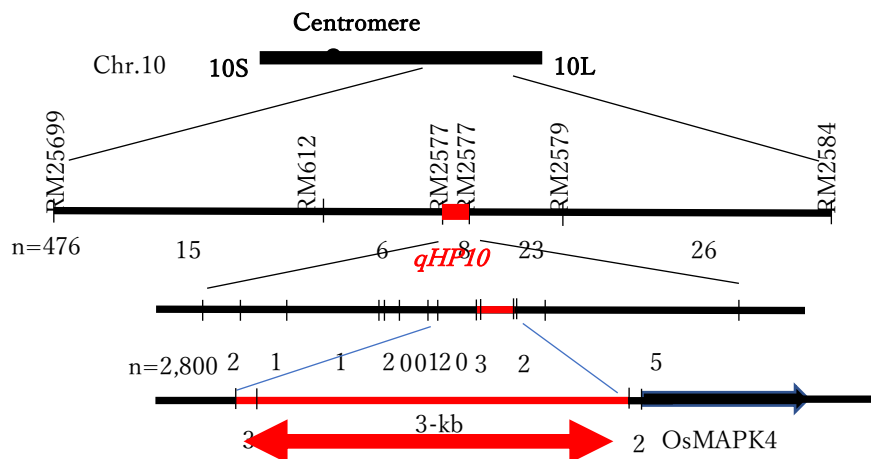


図1. *qHP10*のマップベースクローニング

縦線はマーカーの場所、数字はマーカー間の組換え個体数を表す。

赤は絞り込まれた *qHP10* 領域

(2) コシヒカリを遺伝背景に *qHP10* 領域がタカナリ型 (100-kb 程度) である準同質遺伝子系統 (NIL-*qHP10*) を作出した。

(3) *OsMPK4* のタバコのアナログである *NTMPK4* をサイレンシングにより遺伝子発現を弱めると、タバコの気孔伝導度が高まり、光合成速度も改良されることが既に知られていることから、コシヒカリの *OsMPK4* をゲノム編集して、ノックアウト変異体を作ろうとした。しかし *OsMPK4* はイネの生育に必須の遺伝子で、ノックアウト変異体は得られないとの報告が既にあった。したがって T1 世代で *OsMPK4* が壊れた遺伝子座と正常の遺伝子座を持つヘテロ個体 (#37 と #45) を選抜し、コシヒカリ (ベクターコントロール) と比較した。その結果ヘテロ個体はコシヒカリに比べ有意に光合成速度が増大していた (図 2)。これは正常な *OsMPK4* 転写物が半分しか発現しなかったことによると考えられた。したがって *OsMPK4* は原因遺伝子であることが確認できた。タカナリ及びコシヒカリの *qHP10* 領域の塩基配列を比較したところ、いくつかの一塩基多型と 239-bp の欠失が見られた。現在コシヒカリと NIL-*qHP10* の *OsMPK4* の発現解析を行なっている。

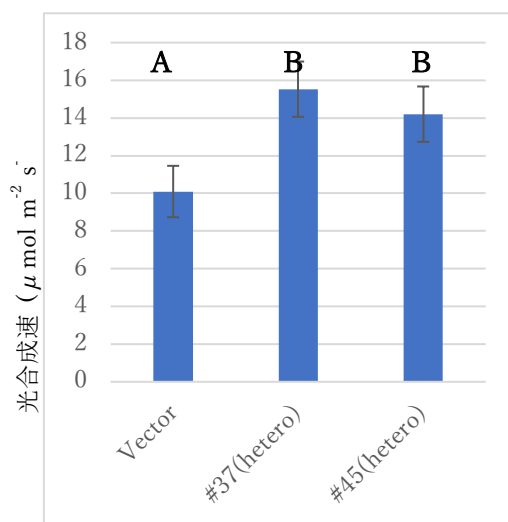


図 2. ゲノム編集個体の光合成速度

(4) コシヒカリと NIL-*qHP10* の収量 (粗玄米重) と玄米品質 (整粒歩合) を比較すると、NIL-*qHP10* の方が平均 7.5%の粗玄米重の増加が見られ、整粒歩合は平均 24%の上昇が見られた。NIL-*GN1A*・NIL-*GW2* 及び *PYL-GN1A+GW2* はシンクサイズがコシヒカリに比べ増大していたが、粗玄米重は同レベルか減少が見られ、整粒歩合は大きく下がっていた。これらに *qHP10* を導入した系統 (*PYL-GN1A+qHP10*・*PYL-GW2+qHP10* 及び *PYL-GN1A+GW2+qHP10*) ではそれぞれそうでない系統に比べ、粗玄米重は同レベルから微増、整粒歩合は 20%程度の上昇が見られた。これらのことからイネの収量の増加はシンクサイズのみを増大しても必ずしも見られず、ソース能力の増加が必要であることが分かった。また新たな知見として、ソース能力の増加により、整粒歩合が増加する可能性があることも分かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	安達 俊輔 (Adachi Shunsuke) (30717103)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授 (12605)	

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