

おコメの夏バテ遺伝子

草野 博彰^{1*}

Genes involved in heat fatigue in rice

Hiroaki Kusano^{1*}

概要

イネの高温登熟障害は登熟期に異常な高気温に見舞われたイネが白未熟粒を実らせる現象であり、近年の気候変動に伴って我が国のコメ生産現場で頻発している。このため、高温登熟障害も我々人類の生存圏の維持に必要な食糧生産上の重要な問題のひとつと考えられるようになってきた。この白未熟粒はコメが実る仕組みに関わる遺伝子を知るために古くから利用されており、高温登熟障害についても研究成果が蓄積している。本稿ではイネ高温登熟障害に関わる分子の機構について解説する。

1. はじめに

食糧生産は我々人類の生存を支える重要な活動であり、気候変動に適応できる頑健な食糧生産体制を構築することは生存圏研究の重要な課題のひとつである。我が国でも夏の異常な高気温による影響は水稻における白未熟粒の発生、ブドウやリンゴの日焼け果の発生、トマトの着果実不良、乳用牛の繁殖成績の低下などに現れている（平成 27 年地球温暖化影響調査レポート、農林水産省 HP より）。イネでは植え付け時期を工夫して登熟期を高温期からずらすことや、水管理、施肥の調節などでの対策が採られているが、高温下での登熟に強いイネ品種の開発・普及は特に重要な課題として位置づけられている。イネは元来、熱帯原産で真夏に登熟する作物であるが、我が国では東北地方や北海道など寒冷地域での生産に適した育種が長年続けられてきた。また、地域ブランドとしての良食味品種の作出を目的として現在の主要品種のほとんどがコシヒカリを遺伝的背景としている。

白未熟粒とは白く濁った乳白部を含む米粒のことである。白未熟粒の乳白部では胚乳のデンプン顆粒間に空隙が生じており透過光を乱反射する

（図 1）。完全粒では胚乳組織を埋め尽くすまでにデンプン顆粒が発達するため透過した外観となる。山田錦などの品種でみられる芯白も乳白部であるが、こちらは酒造好適米の重要な特徴のひとつである。このように白未熟は単に収量を低下させる問題としてだけでなく、食味に関わる品種特性と考えることもできるため、次世代の品種育成、コメの品質を支配する遺伝子の同定などにもつながる魅力的な研究対象である。



図 1：白未熟粒の外観

(A) 完全粒 と (B) 白未熟粒を透過光を使用して撮影した。白未熟粒では乳白部が影として観察される。

2017 年 5 月 29 日受理。

¹〒611-0011 宇治市五ヶ庄 京都大学生存圏研究所森林園遺伝子統御分野

* E-mail: kusano@rishi.kyoto-u.ac.jp

2. 白未熟を呈する突然変異体を利用した遺伝子の同定

デンプン顆粒間の間隙はデンプン顆粒の発達が不十分となることで発生するため、遺伝的な突然変異で白未熟を呈する変異体イネはデンプン顆粒の発達に関わる遺伝子を同定するヒントとなる。佐藤ら (1981) はイネ栽培品種「金南風」と「台中 65 号」を変異原処理することで、白未熟の形質を持ったイネの変異体群を作出し、これらの中から "*floury endosperm*" と名付けられた変異体群を 5 種類 (*flol-flo5*) に分類した¹⁾。このうち *flo5* 変異の原因遺伝子がデンプン合成酵素をコードする *SSIIIa* 遺伝子であることが明らかにされた²⁻³⁾。このことは種子でのデンプン生合成の異常が白未熟の発生につながることを示唆している。また *flo4* 変異の原因遺伝子は細胞質型 PPDK (CyPPDK) をコードすることが明らかにされた⁴⁾。PPDK というのは C4 光合成を行う植物の葉で総可溶タンパク質の 10% を占め、C4 炭素固定の基質であるホスホエノールピルビン酸を葉緑体で合成する葉緑体型 PPDK が知られている。細胞質型 PPDK はこの葉緑体型 PPDK の原型であり古細菌から高等生物まで普遍的に存在するが、C4 光合成を行わない植物での細胞質型 PPDK の役割は明らかにされていない⁵⁾。高温登熟障害を起こす環境では、イネの種子に含まれる細胞質型 PPDK の量が減少していることも報告された⁶⁾。このため PPDK はイネの胚乳で何らかの生理的役割を演じていると考えられる。一方で、筆者らは *flo2* 変異の原因遺伝子をマップベースクローニングにより同定した⁷⁾。この *flo2* 変異の原因遺伝子は機能未同定の遺伝子であった。そこで生理的役割を明らかにするため高温登熟障害が起きる環境での栽培を行ったところ、*flo2* 変異により高温登熟障害が発生しやすくなることが明らかになった⁷⁾。また、*floury* 変異体群の母本となった「金南風」が高温登熟障害を発生させにくい系統であることも明らかとなった。*PPDK* や *FLO2* 遺伝子が具体的にどのように高温登熟障害と関わるのかはいまだ明らかでないが、これらの知見はいずれもコメの品質を決める未知の仕組みが存在することを示唆している。

3. 高温登熟障害に関する生理学的知見

イネの高温登熟障害は登熟初期（開花後 5～15 日目）の穂だけを高温に曝した実験でも発生することが報告されている⁸⁻⁹⁾。また、温暖化に伴うイネの収量減少は夜間の高気温と相関することも報告されている¹⁰⁾。これらのことから高温登熟障害における機能不全は葉や根ではなく、デンプンの合成・蓄積が起こる種子で起こっていると考えられる。この高温登熟障害を起こす環境下の種子に対するトランスクリプトーム解析とメタボローム解析では、 α -アミラーゼ (α -Amy) などのデンプン分解系と一次代謝系が亢進し、デンプン生合成とミトコンドリア呼吸鎖が抑制されていることが示唆されている¹¹⁻¹²⁾。この α -アミラーゼ遺伝子を遺伝的改変により抑制した実験では高温登熟障害を緩和できることが明らかにされた¹³⁾。このことから、高温登熟障害で白未熟粒が生じる原因のひとつは一旦合成されたデンプンが分解されてしまうためだと考えられる。これら一連の解析で観察された生理応答はエネルギー飢餓状態の解消を目指しているように見えるが、ミトコンドリア呼吸鎖が抑制されている点は不自然である。筆者らは登熟初期のイネ種子における ATP 含量を調査したところ、高温登熟障害に脆弱な栽培種「日本晴」では大きく低下していた一方で、高温登熟障害を発生させにくい「金南風」では有意な差異は認められなかった¹⁴⁾。このことからイネの種子で観察された生理応答はエネルギー飢餓状態の解消には至っていない可能性が考えられた。筆者らは一次代謝系の亢進に合わせてミトコンドリア呼吸鎖の機能を補うことで高温登熟障害を緩和できる可能性について検討するため、高温登熟障害が発生する環境でも影響を受けずに発現するグルテリン B4 遺伝子のプロモーターに F 型 ATP 合成酵素複合体 β サブユニット遺伝子 (*GluB4::F1-ATPaseB*) をつないで「日本晴」に導入した。この系統では高温環境下でも *GluB4::F1-ATPaseB* を導入していない「日本晴」より白未熟が発生しにくいことがわかった¹⁵⁾。筆者らは高温登熟障害に関わる遺伝的要因を探るため、多様な栽培品種について高温登熟障害実験を行ったところ、解析に供した品種中で最も古い「神力」が白未熟粒・ATP 含量ともに差が小さかった一方で、「日本晴」と「コシヒカリ」の祖先にあたる「農林 22 号」は高温登熟障

害の影響が大きかった。その他の品種は多様な反応を示したため、高温登熟障害に脆弱な形質は単一の遺伝子の欠損によるものではなく、多様な遺伝的要因が絡み合った複雑な現象であると考えられた¹⁶⁾。また、高温登熟障害の程度が異なる品種を利用したプロテオーム解析から、高温登熟障害が起こりにくい「トドロキワセ」ではマンガン型スーパーオキシドディスムターゼ (Mn-SOD) が高温に応答して蓄積することが見出され、これをコードする遺伝子の導入で「日本晴」の高温登熟障害を緩和できることが明らかにされた¹⁷⁾。このように高温登熟障害に対する抵抗性には多様な遺伝的要因が関わっていると考えられる。

3. おわりに

これまでの研究からイネ高温登熟障害で白未熟粒が生じる仕組みが少しずつ明らかにされてきた。以上の知見をまとめると、登熟初期の種子が高気温に曝されると何らかの必要のために ATP が消費され、これを補償するために一次代謝経路がデンプン合成・蓄積とは逆方向へ転換していると考えられる。しかし、高温登熟障害に脆弱な栽培種では呼吸鎖がこの転換に同調しないため ATP 濃度の回復に至らず、余ったエネルギーがラジカルとして蓄積する現象が生じていることが考えられる (図2)。この過程に関わる遺伝子の導入・抑制実験ではこの転換を抑制したり、呼吸鎖の異常を補償することで白未熟の発生を緩和することに成功しているため、高温登熟障害に対する脆弱性は単純な機能欠損ではなく多数の遺伝子が相乗的に関わる複雑な現象であるのかもしれない。高温登熟障害に強い品種はどのように気候変動に適応しているのか、また呼吸鎖のシグナル伝達異常が寒冷地への適応や食味の向上を目指す育種に伴って生じたものであるのかは、気候変動に適応する品種を育成する上で重要な問題である。幸いなことにイネのように重点的な育種対象とされてきた実用植物は進化の系譜が明らかで利用できる遺伝資源も豊富である。これらの遺伝資源はお米の夏バテ遺伝子を同定するための重要なヒントになるのかもしれない。

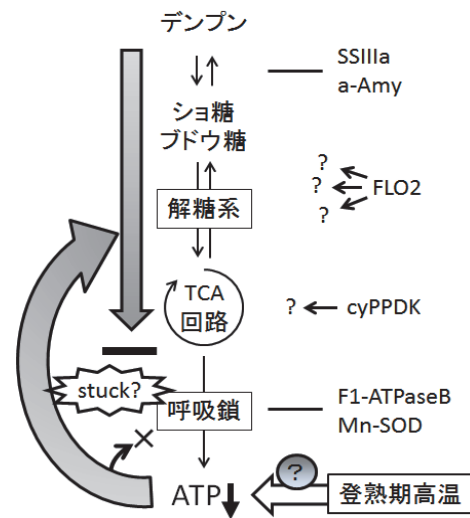


図2: これまでの知見から推定されるイネ高温登熟障害と白未熟粒の発生に関わる一次代謝系の応答

参考文献

- 1) Satoh, H., Omura, T., New endosperm mutations induced by chemical mutagenesis in rice, *Oryza sativa* L., *Jpn. J. Breed.*, **31**, 316-326, 1981.
- 2) Fujita, N., Yoshida, M., Kondo T., Saito K., Utsumi, Y., Tokunaga, T., Nishi, A., Satoh, H., Park, J.H., Jane, J.L., Miyao, A., Hirochika, H., Nakamura, Y. Characterization of SSIIIa-deficiency mutants of rice: The function of SSIIIa and pleiotropic effects by SSIIIa deficiency in the rice endosperm, *Plant Physiol.*, **144**, 2009-2023, 2007.
- 3) Ryoo, N., Yu, C., Park, C.S., Baik, M.Y., Park, I.M., Cho, M.H., Bhoo, S.H., An, G., Hahn, T.R., Jeon, J.S. Knockout of a starch synthase gene *OsSSIIIa/Flo5* causes white-core floury endosperm in rice (*Oryza sativa* L.), *Plant Cell Rep.*, **26**, 1083-1095, 2007.
- 4) Kang, H.G., Park, S., Matsuoka, M., An, G., White-core endosperm floury endosperm-4 in rice is generated by knockout mutations in the C-type pyruvate orthophosphate dikinase gene (*OsPPDKB*), *Plant J.*, **42**, 901-911, 2005.
- 5) Chastain, C.J., Falling, C.J., Manandhar, L., Zimmerman, M.A., Lakner, M.M., Nguyen T.H.T., Functional evolution of C4 pyruvate orthophosphate dikinase, *J. Exp. Bot.*, **62**, 3083-3091, 2011.

- 6) Wang, Z.M., Li, H.X., Liu, X.F., He, Y., Zeng, H.L., Reduction of pyruvate orthophosphate dikinase activity is associated with high temperature-induced chalkiness in rice grains, *Plant Physiol. Biochem.*, **89**, 76-84, 2015.
- 7) She, K.C., Kusano, H., Koizumi, K., Yamakawa, H., Hakata, M., Imamura, T., Fukuda, M., Naito, N., Tsurumaki, Y., Yaeshima, M., Tsuge, T., Matsumoto, K., Kudoh, M., Itoh, E., Kikuchi, S., Kishimoto, N., Yazaki, J., Ando, T., Yano, M., Aoyama, T., Sasaki, T., Satoh, H., Shimada H., *Plant Cell*, **22**, 3280-3294, 2010.
- 8) Tashiro, T., Wardlaw, I.F., The effect of high temperature on kernel dimensions and the type and occurrence of kernel damage in rice *Aust. J. Agric. Res.*, **42**, 485-496, 1991.
- 9) Morita, S., Shiratsuchi, H., Takanashi, J., Fujita, K., Effect of high temperature on grain ripening in rice plants: Analysis of the effects of high night and high day temperature applied to the panicle and other parts of the plant, *Jpn. J. Crop Sci.*, **73**, 77-83, 2004.
- 10) Peng, S., Huang, J., Sheehy, J.E., Laza, R.C., Visperas, R.M., Zhong, X., Centeno, G.S., Khush, G.S., Cassman, K.G., Rice yields decline with higher night temperature from global warming, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **101**, 9971-9975
- 11) Yamakawa, H., Hirose, T., Kuroda, M., Yamaguchi, T., Comprehensive expression profiling of rice grain filling-related genes under high temperature using DNA microarray, *Plant Physiol.*, **144**, 258-277, 2007.
- 12) Yamakawa, H., Hakata, M., Atlas of rice grain filling-related metabolism under high temperature: Joint analysis of metabolome and transcriptome demonstrated inhibition of starch accumulation and induction of amino acid accumulation, *Plant Cell Physiol.*, **51**, 795-809, 2010.
- 13) Hakata, M., Kuroda, M., Miyashita, T., Yamaguchi, T., Kojima, M., Sakakibara, H., Mitsui, T., Yamakawa, H., Suppression of α -amylase genes improves quality of rice grain ripened under high temperature, *Plant Biotechnol. J.*, **10**, 1110-1117, 2012.
- 14) She, K.C., Kusano, H., Yaeshima, M., Sasaki, T., Satoh, H., Shimada, H., Reduced rice grain production under high-temperature stress closely correlates with ATP shortage during seed development, *Plant Biotechnol.*, **27**, 67-73, 2010.
- 15) Kusano, H., Arisu, H., Nakajima, J., Yaeshima, M., She, K.C., Shimada, H., Implications of the gene for F1-ATPase B subunit (*AtpB*) for the grain quality of rice matured in a high-temperature environment, *Plant Biotechnol.*, **33**, 169-175, 2016.
- 16) She, K.C., Yaeshima, M., Koumoto, T., Ohnuma, M., Hiromasa, T., Hirai, M., Matsunaga, T., Tashiro, R., Sasaki, T., Kusano, H., Shimada, H., High-temperature stress susceptibility of representative japonica rice cultivars derived from Norin-22: Inadequate ATP supply during seed development may lead to severe damage, *Plant Biotechnol.*, **29**, 465-471, 2012.
- 17) Shiraya, T., Mori, T., Maruyama, T., Sasaki, M., Takamatsu, T., Oikawa, K., Itoh, K., Kaneko, K., Ichikawa, H., Mitsui T., Golgi/plastid-type manganese superoxide dismutase involved in heat-stress tolerance during grain filling of rice, *Plant Biotechnol. J.*, **13**, 1251-1263, 2015.

著者プロフィール



草野 博彰 (Hiroaki Kusano)

＜略歴＞ 2000 年東京理科大学基礎工学部生物工学科卒業／2005 年東京理科大学基礎工学研究科博士後期課程修了（博士（工学））／同年京都大学化学研究所講師（研究機関研究員）／2008 年東京理科大学基礎工学部ポスドクトラル研究員／2010 年理化学研究所基礎科学特別研究員／2012 年東京理科大学基礎工学部助教／2016 年京大生存圏研究所特任助教、現在に至る。＜研究テーマと抱負＞実用植物の特性に関わる遺伝子の研究＜趣味など＞ご当地 T シャツ、フクロウ、料理、分子生物学