

NBRP イネ

03

NATIONAL BIORESOURCE PROJECT RICE NEWSLETTER

Feb 2020



Contents

第4期NBRPイネの3年目の
報告 2

コラム 3
海外学術調査のお作法

NBRPイネ遺伝資源を利用
した最新論文成果概説 5
Leaf Gas Film1 (LGF1) 遺伝子
は葉の水中におけるガス交換
を促進してイネに耐水性を付
与する

Technical Tips 7
野生イネ栽培の基本：出穂と
日長について

2019年度 活動報告 8

2020年度 イベント案内 8

短日処理が可能な水田で生
育するOryza属の各種野生イ
ネ。脱粒性を示すものが多く、
種子の収穫には袋掛けが必
要である。

第4期NBRPイネの3年目の報告

国立遺伝学研究所 ゲノム・進化研究系 植物遺伝研究室
ナショナルバイオリソースプロジェクト・イネ 課題管理者
佐藤 豊

2017年度にスタートした第4期ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)は3年目が終了しようとしています。おかげさまでのこのニュースレターも本号で3号を発行したことになります。今年度は、5年間の第4期プロジェクトの中間評価の年でした。すでにご存知の方も多いかと思いますが、残念ながらNBRPイネの評価は必ずしも高評価と言えるものではありません。今後も安定してNBRPイネのサービス事業を継続するには、評価を上げて行く必要があります。私共、中核機関である遺伝研(佐藤研・野々村研)と分担機関である九州大(安井研・熊丸研)で協力して、一層イネ研究者コミュニティの皆様へNBRPイネリソースを基礎研究にご活用いただけるよう、NBRPイネの活動に取り組む所存です。

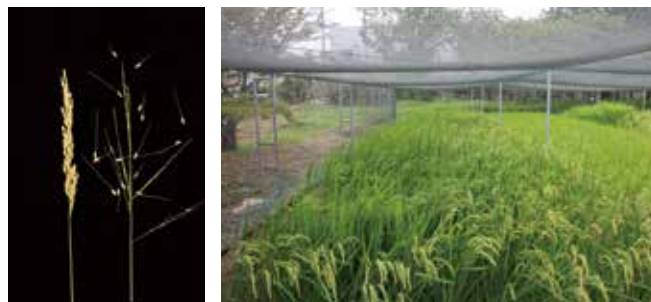
ここで、NBRPの評価がどのように行われているのかを、読者の皆様とも共有したいと思い、私が理解している部分を紹介させていただきます。第4期NBRPでは、30のバイオリソースの整備事業、ならびにそれらに関する情報の中核拠点整備が進められています。これらの事業活動の評価は、各リソースを利用する研究コミュニティがどの程度NBRPリソースを利用し、研究成果として公表しているかが評価されています。具体的には、年度ごとにNBRPリソースを利用した研究者の数、配布した系統数、NBRPリソースを利用して出版された論文などの情報に加え、リソースの利活用をプロモートする事業者の活動が評価されているようです。NBRPイネの場合、リソースを利用した研究者数が少ない点がネックになっているようです。一方、リソースを利用した研究成果である論文公表について、その質の高さはアピールできていると感じています。この点については、利用者の皆様にこの場にて感謝申し上げるとともに、同じイネ研究者としても刺激になりますし嬉しくも思います。

さて、事業者の活動という点では、本ニュースレターの発行やオープンフィールド見学会などを通して、NBRPイネリソースの紹介を行っています。また、より多くの研究者にご利用いただけるよう魅力ある新規リソースの収集も続けています。具体的には、各種染色体断片置換系統群(CSSL)や突然変異系統群の収集を続けています。新規リソースの収集は、基本的には研究コミュニティの皆様からの寄託によるものになります。CSSL群や突然変異系統など論文出版後にコミュニティで共

有できるイネリソースをお持ちの研究者の方は、是非NBRPイネに寄託していただきたいと思います。NBRPイネで配布を代行できますし、長期の保存が可能です。

また、現在保有しているリソースに関わる形質やゲノム情報の開示により、リソースその物の利用度を高める取り組みも進めています。各系統のゲノム情報や形質情報は、Oryzabase(<https://shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/>)から公開しています。是非ご覧ください。野生イネリソースのゲノム情報については、今後順次増強していく予定です。具体的には、栽培イネの直接の祖先と言われている*Oryza rufipogon*について、遺伝研が保有している約600系統のイルミナによる15x程度のリード情報を公開する予定になっています。様々な研究への活用が想定できますので、是非ご期待ください。また、野生イネを用いた分子遺伝学を可能にする未熟胚を用いた形質転換法等も詳細な情報をOryzabaseから公開する予定にしています。我々の調査によると、多くの近縁野生種に加え一部の遠縁野生種も形質転換が可能なようです。こちらもご期待ください。

昨年末になりますが、遺伝研で野生イネに関する研究会「*Oryza*属ゲノム情報を活用した遺伝的多様性研究の推進」が開催されました。多くの若い研究者にご参加いただき、興味深い発表とともに活発な議論がありました。NBRPイネリソースのうち遺伝研が保有する野生イネリソースは多くが1950~80年代に岡教授・森島教授らにより収集されたものですが、すでに収集から数十年が経ちましたが、ますます魅力ある研究材料として多くの研究者を惹きつけているようです。これらの材料を活用したイネ研究コミュニティがさらに広がり活発な研究活動が行われることをNBRPイネも応援していきたいと思っています。



写真左：左が栽培イネ系統の穂、右は脱粒が激しい野生イネ系統の穂
写真右：野生イネ由来の染色体断片置換系統群(CSSL)

Column

海外学術調査のお作法

東北大学大学院 農学研究科
佐藤 雅志

インド型や日本型イネなどを研究材料としていても海外学術調査とは無縁であった私が、遺伝学研究所の森島先生が率いる海外学術調査班の班員として、タイとバングラデッシュのイネの調査にはじめて同行したのは、30年前の1989年12月でした。それから何度か森島先生と南アジア地域のイネの調査に参加させていただきました。イネの野外調査、ましてや海外学術調査など、どの様にすすめたらよいのか分からなかった私に、森島先生は「海外学術調査のお作法」を教えてくださいました。以下に、森島先生から伝授された「お作法」を紹介します。

「海外学術調査は出向く前の準備が大切なので、成果の良し悪しは準備が来ているか否かにかかっているのよ」と森島先生からやんわりと言われたことを覚えています。この準備とは、文献資料や対象国の研究者から情報を入手し、何処で、何を、どの様に調査す

るのか計画を立てることです。さらに、調査対象国の研究機関と調査日程、調査地、同行研究者、移動手段、宿泊地などについて、出向く前に調整しておくこともあげられます。インターネットの普及により、情報の収集、対象国研究機関との打ち合わせが容易に出来る今日とは異なり、森島先生が調査された時代は、準備にときには年単位の時間を要したこともあったと聞いています。訪問国の研究者から情報を入手し打ち合わせする手段は、手紙または電話でした。手紙が訪問国に届くまで航空便でも1週間はかかり、手紙が届いていなかったことも珍しくなかった時代でした。国際電話も、交換手に申し込んで回線がつながるまでに1時間も待たされることもありました。森島先生から宿泊予約を頼まれたのですが、電話を入れたものの、予約出来ているか否か確認できず、ホテルに到着するまで不安だったことを思い出します。



バングラデッシュイネ種子遺伝資源研究室前で、向かって左端が筆者、左から2番目が森島先生

森島先生は移動の車の中で居眠りしていても、時々スーと起きだして道路沿いの溝に自生している野生イネを見つけ「止めて!」とコールしていました。車が止まってからやっと野生イネを認識できた私に「野生イネがあったら、車止めていいのよ!」とよく言われました。と言われて、野生イネを見つけたと車を止めてはみたものの、栽培イネであればまだよいのですが雑草であったりすることも多々あり、走行中の車の中から野生イネを見つけることが出来るようになったのは複数回の調査を経験してからです。限られた研究費で短期間に出来るだけ広い地域を調査するためには移動しながら調査地を見ることが必須だったので、野生イネを走る車の中から見極めることも、身につけなければならない「お作法」の一つでした。

「海外学術調査は現地の理解と協力を得て成果を共有することが大切」とも森島先生から言われていました。タイのバンコクに到着した次の日、森島先生と班員は事前に連絡していたイネ研究所に向き、調査目的および内容などについて説明して理解と協力を求めました。バングラデッシュでも、同様にイネ種子遺伝資源研究室を訪問して調査への理解とイネ研究者の同行について許可を得て、ダッカ周辺だけでなく北部および南部の地域を無事に調査することができました。調査で採集したイネ種子や植物体は、調査国の研究機関と共有することを「お作法」としておりました。この調査に持参したフィールドノートには、野生イネおよび栽培イネの調査すべき項目が書かれており、調査地に滞在する短い時間に手分けして入手した情報を記入しなければなりません。GPSデータの入手が容易な今日とは異なり、一番苦労したのが調査地点の位置を記入することでした。車の走行距離メーターを常にメモしておいて、橋や大きな建物からどの方向に何キロと記入するのが新人の仕事でした。このノートへの記入は、同行する訪問国のイネ研究者および研究機関と調査情報を共有するため英語での記入が「お作法」でした。

ところで、野生イネも含め遺伝資源の調査に関わる国際条約としては、1993年に発効した生物多様性条約や2017年に発効した名古屋議定書などがあります。これらの条約は「生物多様性の保全、生物多様性の持続可能な利用、遺伝資源の利用から生じ

る利益の公正かつ衡平な分配」を趣旨としています。名古屋議定書の締結によって遺伝資源の提供国および入手国での手続きが明確になり、研究機関間で調査に先立ちMemorandum of Understandingを、採集物の移動についてはMaterial Transport Agreementを取り交わすことが推奨されています。また、国際遵守証明書により国際的なお墨付きを得なければなくなっています。森島先生が班長を務めた野生イネの海外学術調査は生物多様性条約が発効する1993年以前ですが、先生の「海外学術調査のお作法」はその趣旨を尊重しておりました。収集し保存されている野生イネ遺伝資源についても、提供国との間で「利益の公正かつ衡平な分配」をすすめることも、先生の「お作法」ではないでしょうか。



調査写真を撮ろうとする森島先生に寄ってきた子供たち

Leaf Gas Film1 (LGF1)遺伝子は葉の水中におけるガス交換を促進してイネに耐水性を付与する

名古屋大学大学院 生命農学研究科 植物遺伝育種学研究室
黒川 裕介

はじめに

イネなどの超撥水性を示す葉が水没した際に葉の周囲に形成される空気層のことをガスフィルムという(図1A)。冠水時にガスフィルムは水中におけるCO₂/O₂とのガス交換を促進し、水中においても光合成/呼吸を行うことを可能にすることで、耐水性を付与している(図1B)。これまでのガスフィルムに関する研究は界面活性剤を用いてガスフィルムを除去した場合の生理学的な研究に終始しており、ガスフィルムを制御する遺伝的な要因については解明されていなかった¹⁾。通常、イネの葉は高い撥水性を示すのに対して、*dripping wet leaf7* (*drp7*)変異体(Kinmaze由来)は葉の撥水性を消失した表現型を示す²⁾。そこで、本研究では*drp7*変異体がガスフィルムの形成もしくは維持に異常があると仮説を立て、生理学的解析と分子遺伝学的解析を行い、ガスフィルムと葉の撥水性の関連性の解明および原因遺伝子の単離を目指した。

Kinmaze (野生型) と *drp7*変異体を用いた生理学的解析

冠水直後に両イネはガスフィルムを形成していたが、野生型のKinmazeは冠水1日後にガスフィルムを維持していたのに対して、*drp7*変異体は冠水1日後にガスフィルムが消失した(図1C)。冠水1日後にガスフィルムが消失した原因が*drp7*変異体葉身の表面構造の異常にあるものと予想し、走査型電子顕微鏡を用いて観察を行った。Kinmazeでは葉の表面と乳頭状突起の周りに多数のワックス結晶が沈着していたのに対して、*drp7*変異体ではワックス結晶が大幅に減少していた(図1D)。このことから、水中でのガスフィルム維持にはワックス結晶が重要であることが示唆された。次に、酸素電極を用いて水中での葉身の光合成量を定量したところ、*drp7*変異体の冠水後のガスフィルム消失に伴って、水中での光合成量は冠水前と比べて大きく減少していた(図1E)。また*drp7*変異体を用いて水田での生存率を調査したところ、田植え移植3週間後に*drp7*変異体は溺死した(図1F)。これらの結果から、イネはガスフィルムを長く維持し、水中での光合成を促進することが1つの要因となっており、耐水性を獲得していることが考えられた。

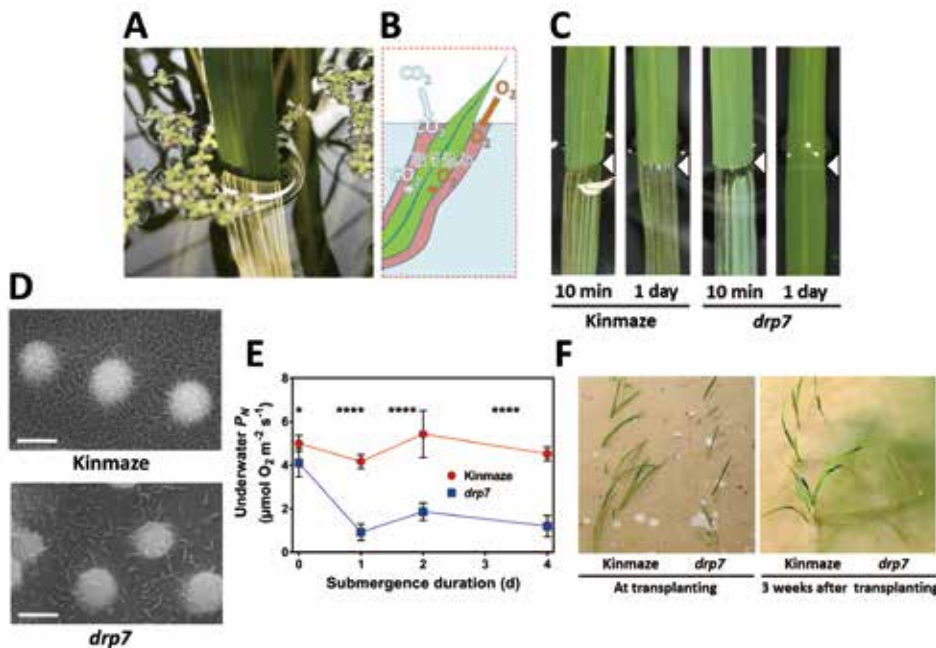


図1. Kinmazeと*drp7*変異体を用いたガスフィルム維持、葉身の表面構造、水中光合成量と水田生存率の比較
(A,B) 水没した葉身の周りに形成される空気層(銀色)をガスフィルムと呼び(A)、葉の水中におけるガス交換を促進する(B)。
(C) 冠水10分後と冠水1日後のガスフィルムの観察。矢頭(白色)は水面を表す。
(D) 走査型電子顕微鏡を用いたイネ葉身の表面構造の観察。白いドーム状構造の乳頭状突起と、結晶化したワックスがみられる(Bar=5μm)。
(E) 酸素電極を用いたイネ葉身の水中光合成量の測定
(F) 田植え直後と田植え3週間後の生存率の評価

ガスフィルム維持を制御する遺伝子の同定

*drp7*変異体 (*japonica*) と *Kasalath* (*indica*) の交配により得られたF₂集団5,300個体を用いてポジショナルクローニングを行ったところ、*drp7*変異体とKinmazeゲノム間でShort chain Dehydrogenase/ Reductase (SDR) ファミリーに属する*OsHSD1*遺伝子に1塩基置換が検出された (図2A)。*drp7*変異体はガスフィルムを消失することからその原因遺伝子を*Leaf Gas Film1* (*LGF1*)と命名した。*drp7*変異体にKinmaze型の*LGF1*遺伝子を過剰発現させた組換え個体を作出した結果、ベクターコントロール (*pUb(VC)/drp7*) で観察された冠水1日後のガスフィルムの消失、水中での光合成量の減少、ならびにワックス結晶の欠損の表現型が過剰発現体 (*pUb::LGF1/drp7*) において相補した (図2B-2D)。これらの結果より、*LGF1*はガスフィルムの維持を制御する遺伝子であることが明らかとなった³⁾。

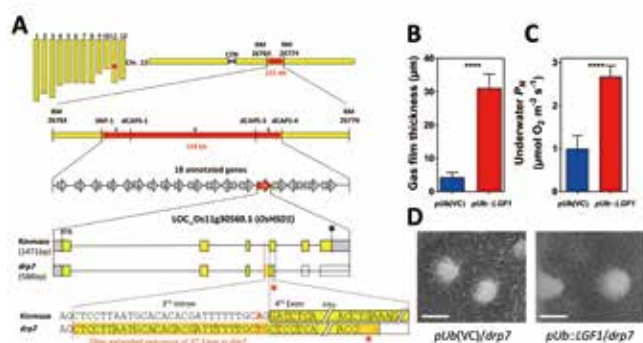


図2. ポジショナルクローニング法を用いた *drp7* 原因遺伝子の単離および相補性試験による原因遺伝子の同定

(A) *drp7* 変異体と *Kasalath* の F₂ 交雑集団を用いた遺伝子マッピングの結果
(B, C) 相補個体を用いた葉身のガスフィルムの厚さ (B) と水中光合成量 (C) の測定
(D) 相補個体を用いた葉身の表面構造の観察 (Bar=5µm)

謝辞

本研究で用いた *drp7* 変異体は九州大学の熊丸敏博教授と吉村淳教授に分譲頂きました。また、ガスフィルムと水中光合成量の測定には、コペンハーゲン大学の Ole Pedersen 教授と、西オーストラリア大学の Timothy David Colmer 教授、Al Imran Malik 研究員に指導を受けました。イネ葉身のワックス構成成分解析には、東工大生命理工学コースの太田啓之教授、下嶋美恵准教授、佐々木 (関本) 結子研究員、島崎航介さんに協力を頂きました。葉の撥水性検定には東京大学育種学研究室の伊藤純一准教授、相賀彩織さんにお世話になりました。最後に、本研究に関わった名古屋大学植物遺伝子機能研究室の芦苺基行教授、永井啓祐助教、黒羽剛研究員、戸田陽介研究員、Phung Danh Huan 氏、Huangqi Qu 氏、森欣順氏に感謝を申し上げます。

参考文献

1, Pedersen O, Colmer TD, Sand-Jensen KAJ. (2013) Underwater photosynthesis of submerged plants—recent advances and methods. *Frontiers in Plant Science* 4: 140.
2, Satoh H, Iwata N, Omura T. (1983) Gene analysis of some *dripping-wet leaf* mutants

in rice. *Japanese Journal of Breeding* 33: 242–243.
3, Kurokawa Y, Nagai K, Huan PD, Shimazaki K, Qu H, Mori Y, Toda Y, Kuroha T, Hayashi N, Aiga S, Itoh J, Yoshimura A, Sasaki-Sekimoto Y, Ohta H, Shimojima M, Malik AI, Pedersen

O, Colmer TD and Ashikari M. (2018) Rice leaf hydrophobicity and gas films are conferred by a wax synthesis gene (*LGF1*) and contribute to flood tolerance. *New Phytologist* 218 (4): 1558–1569.

イネ葉身のワックス構成成分解析

イネの葉身のワックス結晶は複数の構成成分により形成されていることが知られているが、その中でどの構成成分、もしくはどの構成量比がガスフィルムの維持に重要であるかを明らかにするため、Kinmaze と *drp7* 変異体および *pUb::LGF1/drp7* と *pUb(VC)/drp7* の葉身の各種表層ワックス組成を定量比較した (図3A, 3B)。*drp7* 変異体および *pUb(VC)/drp7* では Kinmaze と比べて炭素数 (C) 30:1 級アルコール量が減少したのに対して、C30:アルデヒド量が増加した (図3)。一方、*pUb::LGF1/drp7* でこれらの構成量が Kinmaze と同様の結果を示したことから (図3)、*LGF1* は C30:アルデヒドから C30:1級アルコールへの変換に関与しており、イネの葉のガスフィルム維持には C30:1級アルコールと C30:アルデヒド量のバランスが極めて重要であることが考えられた。本研究により、ガスフィルムの形質を制御する遺伝子が世界で初めて同定され、その分子メカニズムの一端が明らかにされた。

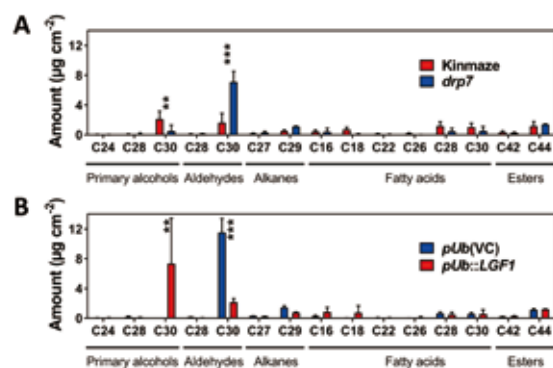


図3. Kinmaze と *drp7* 変異体および *LGF1* 過剰発現体 (*pUb::LGF1/drp7*) とベクターコントロール (*pUb(VC)/drp7*) における各種ワックス構成成分の比較

(A, B) イネ葉身のワックス構成成分である極長鎖の第1級アルコール、アルデヒド、アルカン、脂肪酸、ワックスエステル量の Kinmaze と *drp7* 変異体間における比較 (A) および *pUb(VC)/drp7* と *pUb::LGF1/drp7* 間における比較 (B)

野生イネ栽培の基本：出穂と日長について

国立遺伝学研究所 技術課（植物遺伝研究室）
古海 弘康

1. 野生イネを日本で栽培する際の大きな壁：出穂

野生イネを日本で出穂させることができなかつた、という声を聞くことは珍しくない。自生地と環境が異なる日本で野生イネを出穂させられないのは、花芽分化に影響する日長を露地でコントロールするのが簡単ではないことが一因と考えられる。今回、野生イネの栽培現場から、採種の必要条件である出穂を左右する日長に関わる実務経験を紹介したい。

2. 短日処理

野生イネは基本的に短日性植物に分類され、日長が短くなるのに反応して花芽分化すると考えられている。遺伝研で野生イネを出穂させるための標準短日処理条件は明期11時間30分であり、日本の夏の日長はこれよりかなり長いので、夏に野生イネを出穂させるためには人工的な短日処理が必要である。遺伝研には8基の遮光装置つき水田（図）があり、毎年フル稼働している。これは、設定した時間に自動で鉄の箱（写真では右側に位置する）がレールを移動し遮光することで水田を短日条件にするスグレモノであり、役割上は短日処理装置なので短日水田と呼んでいる。多くの野生イネは短日処理後30～40日で出穂する。また、アフリカの栽培イネ *O. glaberrima* 約20系統を同じ日に短日水田と露地水田に移植し、栽培した時は、短日水田では処理後30日前後で100%出穂したが、露地水田では稲刈り時期の10月になっても出穂しなかつた。この経験から、これらの系統は一応栽培イネに分類されてはいるものの出穂には短日処理が必要であることがわかった。

短日処理を人力でやらざるを得ない場合もある。筆者も短日水田が不足した時に経験したが、毎日決まった時間に光漏れに注意しながら暗幕を開け閉めする手作業は楽ではなかつた。人力で短日処理を行う場合は最低必要日数を事前に調査した方が得策かもしれない。*O. rufipogon* のある系統で短日処理日数を変えて、最低必要な短日処理日数を調査したところ、1週間でも効果が認められた。参考になれば幸いである。

3. 自然日長ではどうか？

長日条件である日本の夏に短日処理せずに野生イネは出穂しないかというそうとは限らない。*O. rufipogon* の中でも日本の夏の自然日長で出穂するものもあるし、*O. punctata* (2X) や GG ゲノム種などではそれが普通ですらある。

また、温室等の冬でも加温できる施設内で野生イネを栽培すれば、自然日長が短日条件になった後に出穂し採種もできる。かつて鹿児島県指宿市にある九州大学農学部附属指宿試験地の温泉加温式ビニールハウスで、バケツ植え栽培した74系統の *O. rufipogon* の出穂期を5年間調査した。調査した74系統のうち50%は11月中・下旬に出穂し、10月中旬から12月上旬まで含めると実に70%の系統が出穂した。指宿市で日長が11時間30分になるのは10月中旬なので、多くの系統は自然日長が短くなることに反応して出穂していることが確認できた。（これらのデータ収集に多大なご協力を頂いた、同試験地の太田幸一技術専門職員におかれましては2019年1月に急逝されました。野生イネの栽培管理でお世話になったことに対し、深い感謝の意を表すとともに、衷心よりご冥福をお祈りいたします。）

4. 終わりに

野生イネを日本で出穂させるには短日処理が重要だが、必須でない場合もある。また、同一系統や株分けクローン間であっても、栽培年度や個体の違いで出穂の有無がばらつくことがあり、栄養成長期の諸条件の関与も考えられ、野生イネの出穂の調節は単純でない場合もある。自生地ですら出穂がばらつくと言われる野生イネをヒトの都合の良い時期に出穂させることが難しいのは、「野生」の性質上は当然のこととも言える。気難しい野生イネを出穂させる挑戦には、ドン・キホーテ精神が必要なかもしれない。



図・短日処理のスグレモノ：遮光装置つき水田（短日水田）
遺伝研にはこの「短日水田」8基が毎年フル稼働し野生イネの栽培に使用されている。右側に位置する鉄の箱が設定した時間に自動運転で開閉することで短日処理を行っている。

2019 年度 活動報告

オープンフィールド見学会

本年度はオープンフィールド(野生イネ遺伝資源見学会)を遺伝研では9月に、九州大学では8月-10月に開催しました。見学希望者の日程に合わせて開催したことで、国内外の多くの方に野生イネ及び野生イネ由来の実験系統を見学いただけました。



オープンフィールド (九大)



オープンフィールド (遺伝研)

CGIAR Genebank 関係者による野生イネ遺伝資源の見学

2019年10月10日に、CGIAR Genebank関係者である、Dr. Charlotte Lusty (Crop Trust)、Dr. Thomas Payne (CIMMYT)、Dr. Noelle Anglin (CIP) が遺伝研の野生イネ遺伝資源を見学されました。野生イネ遺伝資源の今後の活用についても意見交換を行いました。



CGIAR Genebank 関係者による野生イネ見学

学会での広報活動

イネ遺伝学・分子生物学ワークショップ 2019
(7月に筑波産学連携支援センターにて)

第42回日本分子生物学会年会
(12月にマリンメッセ福岡にて)

第61回日本植物生理学会年会
(3月に大阪大学にて (予定))

遺伝研研究会「Oryza 属ゲノム情報を活用した遺伝的多様性研究の推進」

2019年12月13日に遺伝研にて、イネ属近縁種を用いた遺伝学に従事している研究者が一堂に会して、研究会を開催しました。野生イネ研究の今後の方向性・展望について活発な議論が交わされました。研究会の最後には、NBRPイネ若手WGメンバーが主体となって、NBRPリソースに対する要望を参加者から集めました。



若手 WG メンバーによる NBRP リソースに対する要望調査

NBRP イネ運営委員会

本年度は、12月11日に情報・システム研究機構において、NBRPイネ運営委員会を開催しました。

2020 年度 イベント案内

オープンフィールド
見学会

2020年度のオープンフィールドは遺伝研と九州大学に加えて、11月にミャンマーでも開催する予定です。NBRP系統の中で、圃場において実際の植物を観察・調査したい系統などございましたら、メール (nig_openfield@nig.ac.jp) にてご連絡いただければ、極力ご希望に応えたいと思います。

NBRP
イネ広報活動

各種学会等で展示会を行う予定です。ご興味のある方はぜひお立ち寄りください。

バックナンバーに
ついて

本ニュースレターのバックナンバーや英語版はOryzabase (<https://shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/>) よりご覧いただけます。

ナショナルバイオリソースプロジェクト
国立遺伝学研究所

〒411-8540 静岡県三島市谷田1111

NBRP



2020年2月 発行

発行者
佐藤 豊