

イネの側根原基サイズを制御する仕組みを解明 ～乾燥ストレス耐性品種の育成に向けた新たな道筋～

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学農学国際教育研究センターの犬飼 義明 教授、名古屋大学大学院生命農学研究科の河合 翼 博士後期課程学生（名古屋大学・西オーストラリア大学国際連携生命農学専攻 博士後期課程ジョイント・ディグリープログラム在籍）、中園 幹生 教授（西オーストラリア大学兼務）、山内 章 教授らの研究チームは、国立遺伝学研究所の佐藤 豊 教授、フィリピン稲研究所（フィリピン）のロエル・スラルタ 博士、西オーストラリア大学（オーストラリア）のカダンボ・シディック 教授らとの共同研究において、イネの側根形態を特徴づける側根原基^{注1)}サイズが、2つの転写制御因子^{注2)}によって制御されるメカニズムを明らかにしました。

地球規模での気候変動により、乾燥によるイネ収量の減少が問題となっており、イネの耐乾性向上は喫緊の課題です。側根の可塑的な形態変化が、イネの乾燥ストレス耐性に重要であると考えられます。

本研究では、優れた乾燥耐性をもつ作物品種の育成に向けた重要な手がかりが得られました。

本研究成果は、2021年12月28日午前5時（日本時間）付アメリカ科学雑誌「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America」オンライン版に掲載されました。

本研究は、日本学術振興会（JSPS）科学研究費補助金、科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業（さきがけ）、日本国際協力機構（JICA）/JST 地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム（SATREPS）の支援のもとで行われました。

【ポイント】

- ・イネの側根原基サイズ制御に、2つの WOX 転写因子^{注3)}が作用することを解明した。
- ・OsWOX10 遺伝子が側根原基サイズを正に制御することを明らかにした。
- ・QHB/OsWOX5 は抑制型の転写因子であり、OsWOX10 遺伝子の発現増加を抑制することで、側根原基サイズを負に制御することが分かった。
- ・イネのもつ可塑的に側根形態を変化させる能力を強化して、高い乾燥ストレス耐性をもつ品種を育成するための有用な手がかりが得られた。

【研究背景と内容】

世界的にイネは、日本のような灌漑設備が整った水田だけでなく、東南アジアなどに広く分布する、灌漑設備のない天水田とよばれる環境下でも栽培されています。天水田でのイネ栽培は降雨のみに依存するため、土壌の乾燥による収量の低下がしばしば生じます。地球規模の気候変動により、降雨パターンは今後も変化すると予想されていることから、イネの耐乾性向上は喫緊の課題となっています。



図 1. 環境変化に応答したイネの可塑的な側根発育

(左) 乾燥ストレス耐性に優れる品種における湛水、土壌乾燥条件下での側根形態の違い。

(右) 野生型イネ (台中 65 号)における種子根の根端切除処理に応答した側根形態の変化。

矢印: 種子根上に形成された S・L 型側根の例。

これまでに、不安定な水分環境条件下において生育を維持できるイネ品種は、土壌の乾燥に応じて可塑的に側根の発育を促進させる能力が高く、土壌中の限られた水分を効率的に獲得できることを明らかにしてきました (図 1 左)。イネ科作物には、双子葉植物のモデル植物であるシロイヌナズナなどとは異なり、大きさの異なる 2 種類の側根 (S 型側根、L 型側根) が存在することが半世紀以上前から知られています。L 型側根は S 型側根に比べて直径が大きく、長く伸長し、さらに高次の側根を形成する (図 1 右) ことから、L 型側根の形成が耐乾性向上に重要であると考えられています。側根は種子根や冠根^{注4)}といった親根から二次的に形成され、側根のタイプは、側根が未だ

親根の内部に存在する側根原基のサイズによって決定づけられます。しかしながら、土壌中に生長する根の可塑的な形態変化を捉えることは難しく、これまで側根原基サイズの制御機構は明らかではありませんでした。私たちの先行研究により、水耕栽培したイネ実生の種子根の根端を切除することで、L型側根形成を実験的に誘導できることが明らかとなったため（図1右）、この方法を用いて、イネ側根原基サイズの制御機構解明を目指しました。

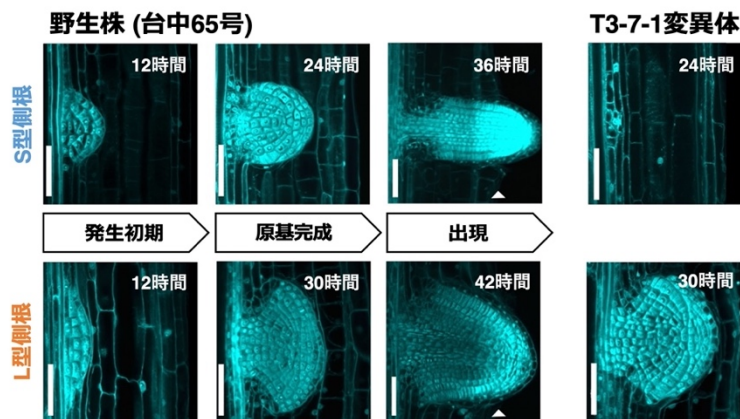
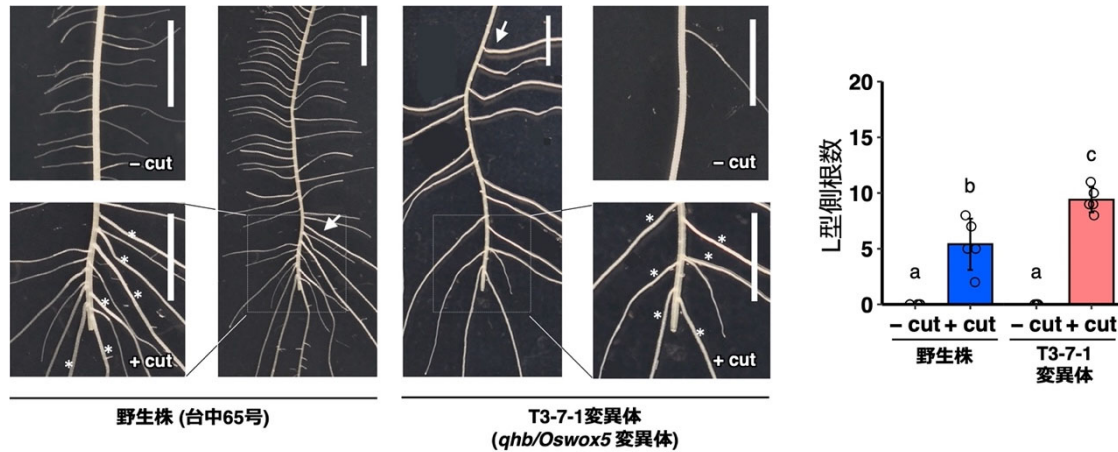


図2. イネ種子根における根端切除に応答した側根形態の変化

野生株と T3-7-1 変異体において側根形態の解析を行なった。(左上) 根端切除の有無条件下における側根形態、*: L型側根、矢印: 切断部から最も離れた位置に形成された L型側根、スケールバー: 5mm。(右上) 切断部 0~25mm における L型側根数 (直径 $\geq 150 \mu\text{m}$)。 (下) 側根原基形態の観察。矢尻: 側根出現時の種子根の表皮細胞の位置、スケールバー: $50 \mu\text{m}$ 。

はじめに、根端切除処理後に野生型イネ（台中 65 号）とは異なる側根形態を示すイネ変異体 T3-7-1 を選抜しました。本変異体は、通常条件下では側根をほとんど形成しませんが、根端切除後には野生株よりも多くの L 型側根を発生させました（図 2 上）。マップベースクローニング^{注5)}によって、T3-7-1 変異体の原因遺伝子として植物特有の WOX ファミリー転写因子をコードする QHB/OsWOX5 遺伝子を同定しました。主にシロイヌナズナにおいて、WOX5 は根端分裂組織^{注6)}の維持に重要な機能をもつことが知られていましたが、側根の形成における機能はほとんど分かっていませんでした。経時

的な側根原基形態の観察から、本変異体は S 型側根原基の形成に異常をもつことが分かりました (図 2 下)。一方、根端切除処理により変異体での側根原基の形成異常が回復し、さらに野生株よりも多くの L 型側根を発生させました (図 2 下、右上)。このことから QHB/OsWOX5 は側根原基サイズを負に制御する可能性が考えられました。

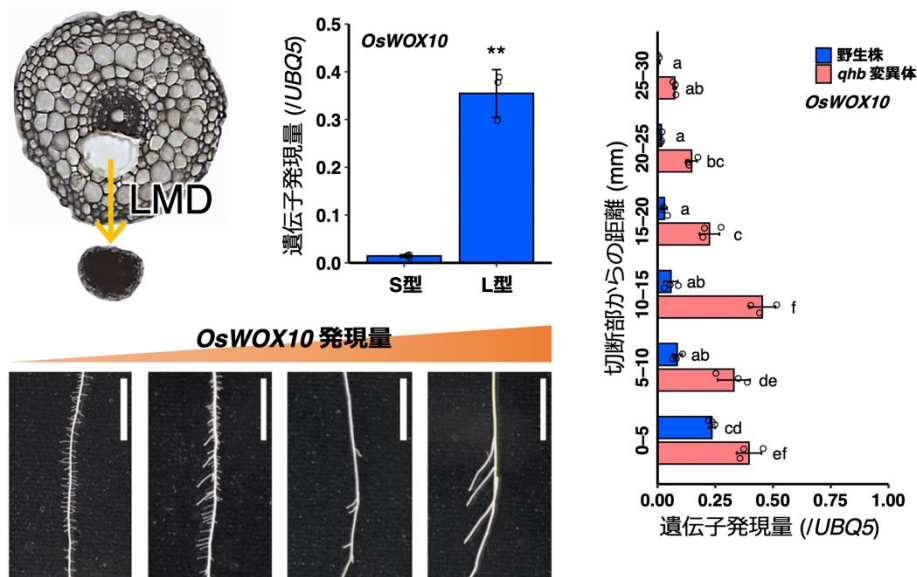


図 3. QHB/OsWOX5 と OsWOX10 による側根原基サイズ制御機構の解析

(左上) レーザーマイクロダイセクション (LMD) による側根原基の単離。(上中央) S・L 型側根原基での OsWOX10 遺伝子発現量。(左下) 側根原基における OsWOX10 過剰発現体 (pQHB-OsWOX10) の側根形態、スケールバー: 1cm。(右) 野生株、qhb/Oswox5 変異体における根端切除後の切断部近傍での OsWOX10 遺伝子発現量。

次に、側根原基サイズを正に制御する遺伝子を明らかにするために、レーザーマイクロダイセクション法^{注7)}により S・L 型側根原基を単離し、RNA-seq 解析^{注8)}により S 型・L 型側根原基間で発現量が異なる遺伝子を同定しました (図 3 左上)。L 型側根原基において発現が上昇した遺伝子には、植物ホルモンの一種であるオーキシン^{注9)}により誘導される遺伝子が多く含まれており、その一つであり、QHB/OsWOX5 遺伝子と同じ WOX ファミリー遺伝子に属する OsWOX10 遺伝子は、L 型側根原基で発現量が特に大きく増加していました (図 3 上中央)。OsWOX10 の側根形成における機能を解析するために、OsWOX10 遺伝子を野生株の側根原基において過剰発現させたところ、OsWOX10 遺伝子の発現量依存的に側根直径が増大しました (図 3 左下)。さらに CRISPR/Cas9^{注10)}によって作成した Oswox10 変異体では、乾燥ストレス条件下において、側根直径が野生株よりも低下したことから、OsWOX10 は側根原基サイズを正に制御すると考えられました。また、根端切除後に野生株よりも多くの L 型側根を形成した qhb/Oswox5 変異体では、OsWOX10 遺伝子の発現量が野生株よりも上昇していました (図 3 右)。加えて、QHB/OsWOX5 が下流遺伝子の発現を抑制する転写因子として機能し、OsWOX10 遺伝子の発現制御領域に結合することを明らかにしました。以上のことから、QHB/OsWOX5 は OsWOX10 遺伝子の発現を直接的に負に制御することで、側根原基サイズの増加を抑制すると考えられました。

次に、野生株および *qhb/Oswox5* 変異体を湛水および土壌乾燥条件下で栽培したところ、*qhb/Oswox5* 変異体では野生株に比べて根における *OsWOX10* 遺伝子の発現レベルが高く、土壌乾燥条件下でより多くの L 型側根を形成しました（図 4）。このことから、根端切除法により明らかとなった QHB/*OsWOX5* と *OsWOX10* による側根原基サイズ制御は、土壌の乾燥に应答した可塑的な側根発育においても機能すると考えられました。

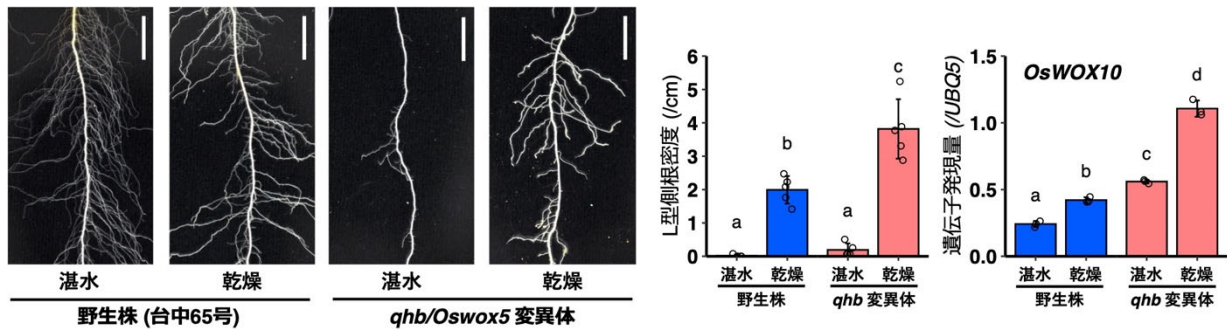


図 4. 土壌条件下での側根発育と *OsWOX10* 遺伝子発現解析

野生株および *qhb/Oswox5* 変異体を湛水および乾燥条件下で栽培した。（左）種子根上に形成された側根の形態，スケールバー：1cm。（右）種子根上の L 型側根密度（直径 $\geq 150\mu\text{m}$ ）および根端 5~35mm における *OsWOX10* 遺伝子発現量。

以上の結果を総合して、2つの WOX ファミリー遺伝子による側根原基サイズ制御のモデルを提唱しました（図 5）。根端切除および土壌乾燥に应答して *OsWOX10* 遺伝子の発現レベルが上昇し、L 型側根の形成を促進します。一方、QHB/*OsWOX5* は *OsWOX10* 遺伝子の発現制御領域に結合し、その発現を抑制することで側根原基サイズを負に制御することが分かりました。

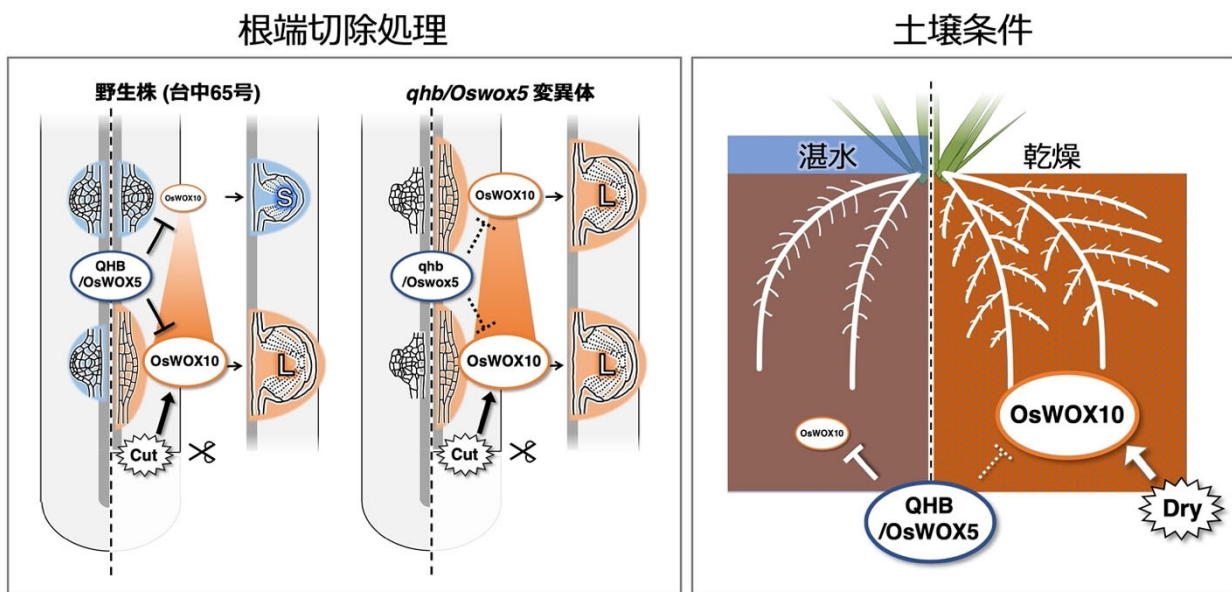


図 5. QHB/*OsWOX5* と *OsWOX10* による側根原基サイズの制御機構

【成果の意義】

側根原基サイズは根系形態を決定する主要な要因であり、乾燥ストレス下での水吸収能を規定することから、側根原基サイズの制御機構解明は不良環境下での安定的なイネ生産の鍵だと考えられてきました。本研究の成果から、イネの根系形態を可塑的に変化させる能力を強化し、乾燥ストレス耐性に優れる品種を作出する上での有用な手がかりが得られました。

本研究成果は、国連の持続可能開発目標（SDGs）「1. 貧困をなくそう」、「2. 飢餓をゼロに」、「13. 気候変動に具体的な対策を」の達成に貢献します。

【用語説明】

注 1) 側根原基：側根の元となる組織で、根端分裂組織を形成する。イネでは種子根や冠根といった主軸根内部の内鞘細胞や内皮細胞から作られる。

注 2) 転写制御因子：ゲノム DNA 上の特異的な塩基配列に結合し、RNA ポリメラーゼによる遺伝子の転写を促進または抑制するタンパク質。

注 3) WOX 転写因子：ホメオドメインを有する植物特有の転写制御因子のグループで、植物の形態形成や幹細胞の維持において重要なはたらきを持つ。イネでは 13 の WOX 転写因子が報告されている。

注 4) 冠根：イネ科作物において基部茎葉節から形成される不定根。節根とも呼ばれる。イネでは生育期間を通じて数百本の冠根を形成し、冠根はさらに側根を形成する。

注 5) マップベースクローニング：ゲノム情報に基づいた原因遺伝子の同定方法。ゲノム上での位置が判明している DNA マーカーと特定の形質との関連を遺伝材料で解析し、原因遺伝子を同定する。

注 6) 根端分裂組織：根の先端に位置する分裂を活発に行う組織。

注 7) レーザーマイクロダイセクション法：レーザーを用いて固定された組織切片から特定の部位（組織）を切り出す手法で、組織特異的な遺伝子やタンパク質の発現解析に用いられる。

注 8) RNA-seq 解析：次世代シーケンサーによって全遺伝子の発現量を網羅的に解析する技術。

注 9) オーキシン：植物ホルモンの一種。植物の様々な組織の発生や成長に関与する。

注 10) CRIPSR/Cas9 : ゲノム DNA 上の特定の配列を編集する技術で、遺伝子の機能
改変に用いられる。

【論文情報】

雑誌名 : Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States
of America

論文タイトル : *WUSCHEL-related homeobox* family genes in rice control lateral
root primordium size

著者 : Tsubasa Kawai, Kyosuke Shibata, Ryosuke Akahoshi, Shunsaku Nishiuchi
(本学教員), Hirokazu Takahashi (本学教員), Mikio Nakazono (本学教員),
Takaaki Kojima (本学教員), Misuzu Nosaka-Takahashi, Yutaka Sato, Atsushi
Toyoda, Nonawin Lucob-Agustin, Mana Kano-Nakata (本学教員), Roel R.
Suralta, Jonathan M. Niones, Yinglong Chen, Kadambot H. M. Siddique, Akira
Yamauchi (本学教員), Yoshiaki Inukai (本学教員)

DOI : 10.1073/pnas.2101846119