



Title	イネの低温ストレスによる攪乱反応の理解と育種学的ゲノミクス研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	山森, 晃一
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14811号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/85555">https://hdl.handle.net/2115/85555</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Yamamori_Koichi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



# 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称： 博士（農学）

氏名 山森晃一

## 学位論文題名

イネの低温ストレスによる攪乱反応の理解と育種学的ゲノミクス研究

本論文ではイネ (*Oryza sativa* L.) の穂ばらみ期における、低温ストレスによる攪乱反応の理解を目的に、葯の形態観察とゲノミクス解析を行った。穂ばらみ期は葯の内部で花粉が発達する時期で、低温ストレスを受けると不稔花粉が発生し、結果として収量の低下を招く。これまでイネの穂ばらみ期耐冷性に関わる研究は多く行われてきたが、その多くは明確に異なる低温感受性程度を示す 2 品種の比較によって行われている。本論文では主に、極端に強い耐冷性を示す北海道品種を含む 10 以上の品種を用いて研究を行うことで、より多くの遺伝的バックグラウンドで共通するメカニズムに迫った。以下に各章の要約をまとめる。

第 2 章では、多様な遺伝的背景を持つ 13 品種のイネにおいて、穂ばらみ期の低温ストレスによって生じる葯の形態的異常と花粉稔性の関係を調べた。すべての品種について、穂ばらみ期と開花期に低温処理を行ったサンプルとそうでないサンプルの葯を観察し、葯の形態的な異常を分類した。穂ばらみ期および開花期の葯の内部構造の異常は 8 つに大別され、これらの葯室関連異常 (LRA: Locule-Related Abnormalities) は、葯の特定の部位で発生していた。LRA には、これまで穂ばらみ期における低温障害の発生原因とされてきたタペート肥大も含まれたが、本結果では不稔花粉の発生との相関関係は見いだせなかった。一方、低温処理後の不稔花粉の程度は、LRA 全体の発生頻度や葯長と正の相関を示した。これらの結果から、イネのタペート肥大は、穂ばらみ期の低温ストレスによる花粉不稔の指標にはなり得ないことがわかった。また、低温処理によって一定以上の不稔花粉が発生するにもかかわらず、葯の構造に異常が発生しない品種を発見した。このように、低温ストレスによる不稔花粉の発生と葯構造の関係は、タペート肥大の発生だけで説明できるほど単純な要因によるものではないことが本研究から示された。さらに、本研究の結果から、葯の異常構造と花粉稔性の複数の要因が関係する新たなモデルを構築することができた。

第 3 章では、栄養器官の葉と生殖器官の葯において特異的な H3K9me2 の分布パターンを明らかにすることで、体細胞と生殖細胞におけるエピジェネティックな発現制御機構の差異の検出を試みた。H3K9me2 はヒストン修飾の 1 つで、主に反復配列の発現抑制に関わり、ゲノム全体の安定性に寄与する。葯と葉で共通した傾向として、H3K9me2 は遺伝子よりも反復配列において圧倒的に多くみられ、これは多くの生物で報告されている傾向と一

致した。反復配列の種類ごとでみると、セントロメアリピートやレトロトランスポゾンでは高い頻度で H3K9me2 の分布がみられ、反対に MITE などのトランスポゾンでは分布頻度が低かった。葯と葉で比較すると、葯で特異的に H3K9me2 が分布する領域の塩基長は葉で特異的な領域のおよそ 2 倍で、葯でより多くの反復配列が H3K9me2 によって抑制されていることが判った。葯と葉でそれぞれ特異的に H3K9me2 が分布している反復配列の種類ごとの内訳を比べると、葯では葉よりも MITE に H3K9me2 が分布する頻度が高いことが判った。また、器官特異的に H3K9me2 が分布する反復配列のうち、遺伝子のプロモーター領域に存在する配列の割合は葉の方が多かった。遺伝子のプロモーター領域に存在する反復配列に H3K9me2 が集積すると下流の遺伝子発現が抑制される。本件研究でも、実際に発現が抑制されている遺伝子を複数確認できた。本研究で明らかになった葯と葉の H3K9me2 の分布パターンの違いは、器官特有の発現パターンを形成することが考えられ、今後は低温ストレスによる遺伝子発現変動との関係が明らかになることを期待する。

第 4 章では、多様な遺伝的背景を持つイネ 14 品種を用いて穂ばらみ期の葯におけるトランスクリプトーム解析を行い、低温ストレスによる遺伝子発現の攪乱と耐冷性の関係を調査した。14 品種の葯におけるトランスクリプトーム解析にはイネの全遺伝子を網羅するように設計されたマイクロアレイを用いた。14 品種それぞれで発現変動因子を検出すると、その数や種類は品種ごとに固有のパターンを示したが、14 品種すべてで同様の発現変動が検出できた因子も複数存在した。14 品種で発現変動が共通した因子は、穂ばらみ期のイネの葯において普遍的に低温応答を示す可能性が高い。そのため、低温応答メカニズムの理解につながるだけでなく、低温応答の指標としての応用も期待できる。次に、イネの穂ばらみ期耐冷性に関わる遺伝子を選抜するため、遺伝子発現変動と耐冷性の相関関係を調査した。その結果、耐性品種ほど発現変動が大きい因子よりも変動が小さい因子が多く選抜され、耐冷性品種は感受性品種に比べてゲノム全体の発現変動が小さい傾向にあることが判った。また似たような傾向として、低温区における遺伝子発現量と耐冷性の相関分析から、耐性品種で高発現する因子よりも低発現する因子の方が多く選抜された。興味深いことに、穂ばらみ期耐冷性遺伝子として知られる *CTB1* や、過剰発現によって耐冷性を誘導する *OsMYB4* などの遺伝子は低温感受性品種ほど高発現を示した。以上のことから、低温耐性品種ほど低温ストレスへの応答が少なく、むしろ低温感受性品種ほどストレスに過敏に反応していることが言えた。耐冷性品種が示す、'低温鈍感力' とも呼べる低温ストレスに対する応答の低さを解明することは、穂ばらみ期耐冷性品種を育成するにあたって新たな戦略を提供できる。また、本研究を通して、穂ばらみ期耐冷性と発現パターンが顕著な相関関係を示す 100 以上の遺伝子を選抜しており、それらのほとんどはこれまでに穂ばらみ期耐冷性との関連が示されていない。これらの穂ばらみ期耐冷性候補遺伝子に注目することで、低温鈍感力をもたらす仕組みの解明に期待する。