

花粉数を減少させる遺伝子を発見 ～進化理論の実証から育種技術へ～

横浜市立大学 木原生物学研究所 清水健太郎 客員教授（チューリッヒ大学 教授兼任）、千葉大学 土松隆志 客員准教授（東京大学大学院理学系研究科 准教授兼任）、新潟大学 角井宏行 特任助教（前横浜市立大学 特任助教）らの研究グループは、名古屋大学、ドイツ、オーストリアの研究機関を含む国際的な共同研究で、植物の花粉数を制御する遺伝子 *RDPI* を同定しました。また、ゲノム編集を用いて系統（品種）間の量的な形質（*1）のわずかな差を検出する方法を確立しました。*RDPI* 遺伝子の系統間でのわずかな機能の違いを、この方法により定量的に示すことに成功しました。さらに、ゲノム配列中の変異の頻度を系統間で比較することにより、自家生殖（*2）する植物では、精細胞の数つまり花粉の数を減らすことが有利になりうるという進化生物学の理論を裏付けました。

花粉の数を制御することは、効率的な交配のために花粉数を増やしたり、花粉症への対策のために花粉数を減らしたりといった実用化が期待され、農学的な視点からも医学的な視点からも注目を集めています。今後、本研究によって同定された *RDPI* 遺伝子を利用して植物の花粉数を制御する育種技術の開発が期待されます。

※本研究は『*Nature Communications*』に掲載されました。（日本時間 6月8日 18時付オンライン）

研究成果のポイント

- 植物の花粉数を制御する遺伝子の同定に成功
- ゲノム編集を用いて量的形質の僅かな差を検出する新手法を確立
- 精細胞を減らすことが自家生殖種では有利という進化理論を実証
- 植物の花粉数を自在に制御するために *RDPI* 遺伝子を用いた育種技術の開発が期待される

研究の背景

進化生物学の観点からは、配偶子（*3）の数は子孫の数に直結する重要な形質であると考えられています。19世紀にダーウィンが、精細胞や精子といったオスの配偶子の数に個体間や種間での差があることを論じて以来、オスの配偶子の数の違いに関してさまざまな研究が行われてきました。特に植物の進化生物学の分野では、同一個体内で自殖する植物種では花粉の数が少ない方がエネルギーを種子生産などに投資することができるため有利である、という理論が提唱されています。実際、栽培化が進んでいるイネなどの作物品種では、野生種に比べて花粉数が減っていると言われていました。また、育種学の観点からは交配に必要な花粉数を十分に確保するために花粉の多い品種が求められている一方、医学の分野では花粉症患者の増加から花粉の少ない品種の作出に期待が集まっています。

このように、さまざまな分野で花粉数を制御する技術が期待されていますが、花粉数のような量的形質は遺伝子の同定が難しいとされていました。これは量的形質が 1) 形質を評価するために必要なデータ数が多い、2) 多数の遺伝子や環境条件が関与して決定づけられているため、一つの遺伝子が表現型に与える影響が小さいことが原因と考えられています。このような研究上の難しさがある一方で、育種の対象となるような形質の多くは量的形質であることが知られています。

研究の内容

花粉数という量的形質を制御する遺伝子を同定するには多くのデータ数が必要であったため、我々は、まず多検体の花粉数を短時間で計測できる実験系を確立しました（図1）。モデル植物であるシロイヌナズナの系統毎の花粉数を調べたところ、系統の違いによって1花あたりの花粉の数が2,000粒のものから8,000粒のものまで幅があることを明らかにしました（図2）。次に、SNP（*4 一塩基多型：

Single Nucleotide Polymorphism) と呼ばれるゲノム中の DNA 配列の系統間の違いと花粉数の相関に注目しました。系統間の花粉数の違いと相関する染色体上の SNP の位置を複数特定し、最も相関の高い SNP について、その周辺に位置する遺伝子を 3 つ選抜しました。このような手法はゲノムワイド関連解析 (Genome-Wide Association Studies, GWAS *5) と呼ばれます (図 3)。こうして選抜した 3 つの遺伝子について、ゲノム編集技術 (*6) を用いてそれぞれの遺伝子の機能を破壊して解析したところ、ある一つの遺伝子の変異体で有意に花粉数が減少し、花粉数を制御する遺伝子を特定できました。我々は、花粉数が減少するという表現型から、この遺伝子を *REDUCED POLLEN NUMBER1* (*RDPI*) と名付けました (図 4)。

続いて、花粉数が多い系統と少ない系統で *RDPI* 遺伝子の機能がどの程度違うのかについて検証を行いました。先述の通り、花粉数のような量的形質はさまざまな要因が複合しているため、それぞれの系統で *RDPI* 遺伝子を破壊した結果からだけではその遺伝子の機能の強弱を比較できません。これは *RDPI* 以外のゲノム配列にも系統間で異なる部分が多々あるからです。そこで、まずそれぞれの系統の *RDPI* 遺伝子をゲノム編集で破壊した変異体を作製し、それらを交配することで、*RDPI* 遺伝子以外のゲノム配列を全て揃えた検体を用意しました。この検体を用い、*RDPI* 遺伝子の違いと花粉数の相関について調べた結果、系統間の *RDPI* の機能の僅かな違いによって、花粉数が異なることを示すことに成功しました。

さらに、*RDPI* 遺伝子周辺のゲノム配列の変異を系統間で比較したところ、花粉数の少ない系統の *RDPI* 遺伝子の周辺には変異が少なかったことから、花粉数を少なくする *RDPI* 遺伝子が進化の過程で選択されて来た形跡を検出できました。これらの結果から、自殖植物であるシロイヌナズナにおいて、花粉の数が減っていることが進化上有利であったという理論を具体的に支持する結果を得ました。

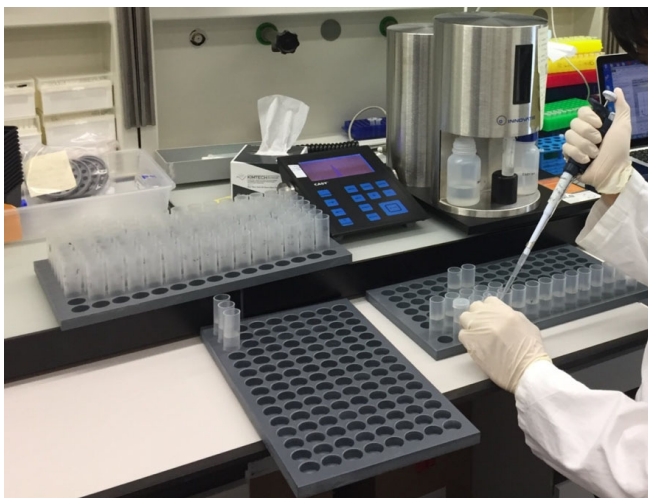


図1 花粉数計測中の風景 量的形質である花粉数の違いを検出するため、多検体を短時間で計測できる実験系を確立した。これまでの顕微鏡下で花粉数を数えていた場合に比べて5倍以上の効率を実現した。

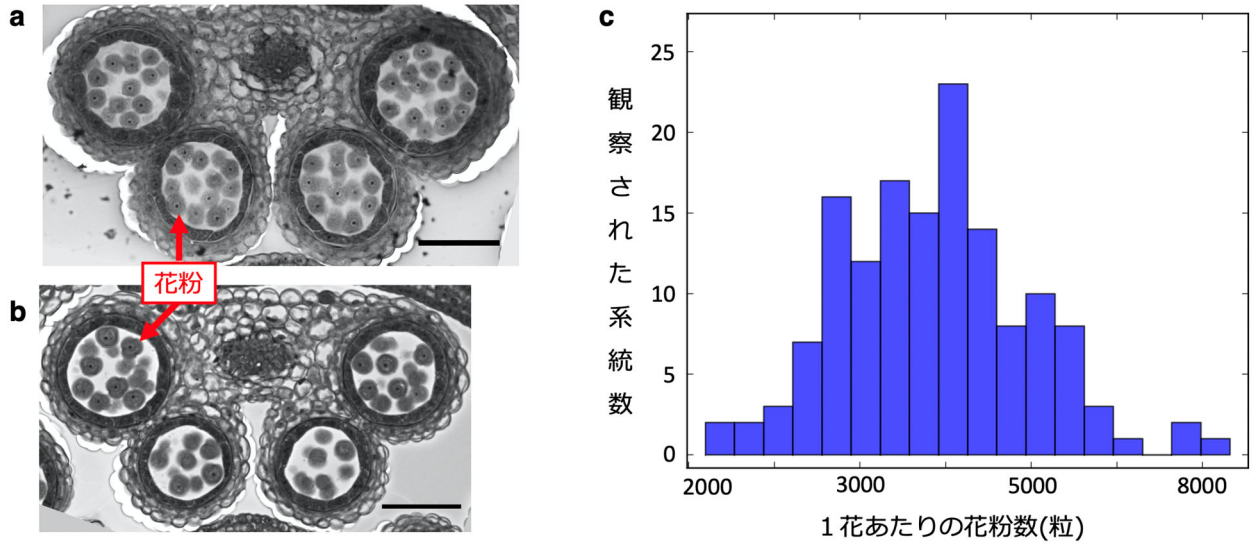


図2 シロイヌナズナにおける花粉数の分布 花粉数の多い系統 (a) と少ない系統 (b) の雄しべの切片画像。(c) 144 系統を調べた結果の種内のばらつき。横軸は対数表示。(1 花あたりの花粉数は 2000-8000 粒と差がみられる。(論文より)

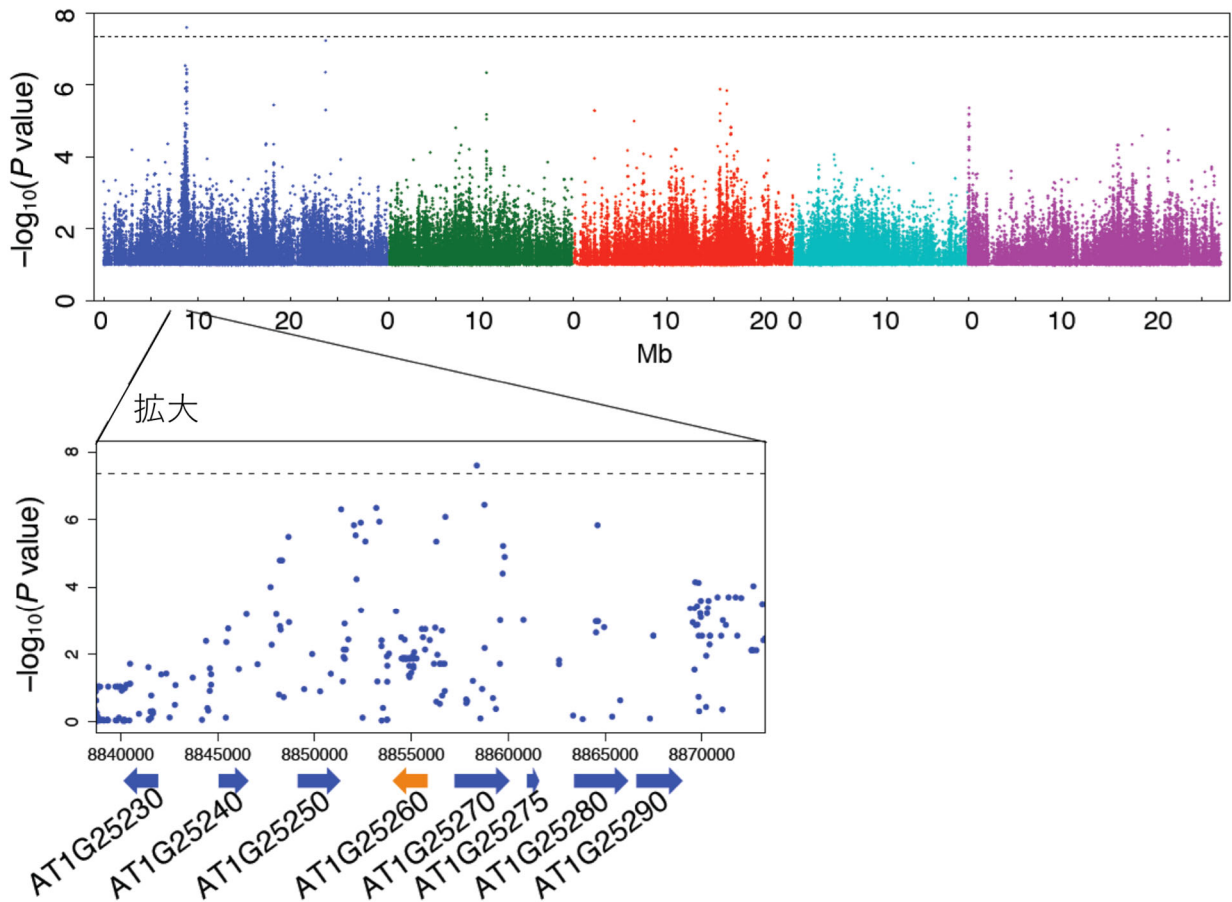


図3 GWAS の結果を示すマンハッタンプロット 1つの点を使用した SNP に対応している。色の違いは染色体の違い。高い位置にあればあるほどその SNP の違いと表現型 (今回は花粉数) の違いの相関が高い、つまり原因遺伝子が近傍にある可能性が高いことを示している。今回、有意だった場所以外にも何箇所か高い相関を示すところがあり、他の遺伝子の関与も予想される。拡大図中の矢印は遺伝子の位置と方向を示している。オレンジの遺伝子が今回の発見となった *RDPI* 遺伝子。

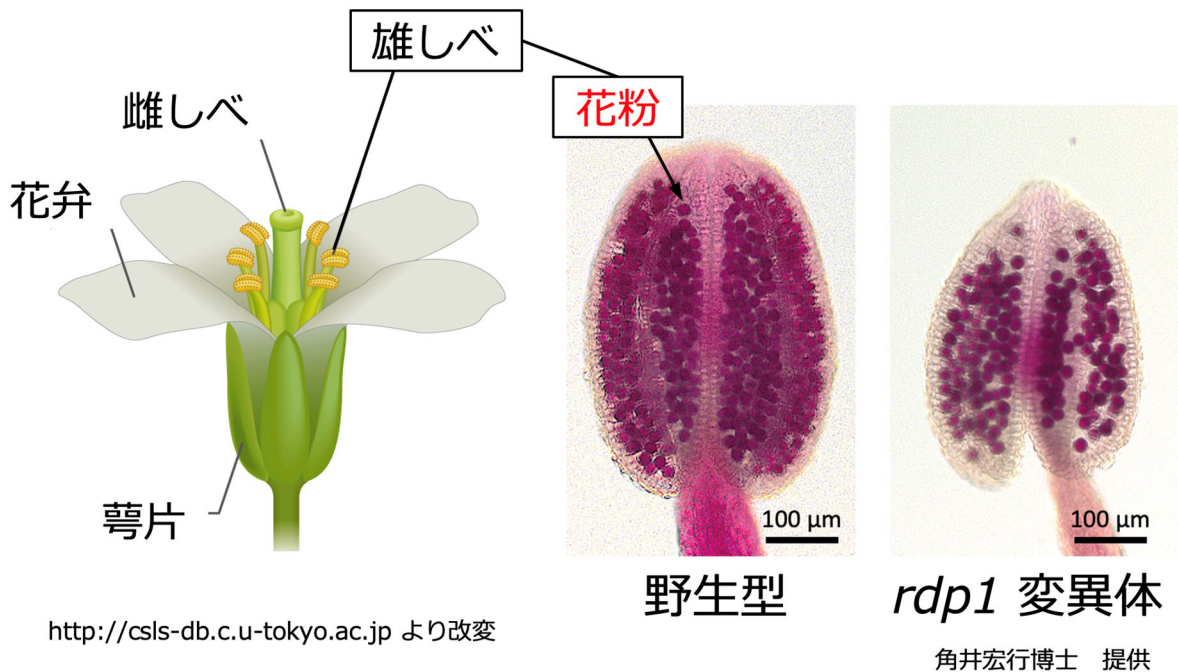


図4 シロイヌナズナの花の構造 (左) と雄しべのアレキサンダー染色画像 (右)。生きた花粉が紫色に染色されている。野生型と比較すると *rdp1* 変異体の雄しべ内の花粉が顕著に減少していることが観察された。

今後の展開

花粉の数を制御することは、効率的な交配のために花粉数を増やしたり、花粉症への対策のために花粉数を減らしたりといった実用化が期待され、農学的な視点からも医学的な視点からも重要であり、本研究によって同定された *RDPI* 遺伝子は育種の有力な標的遺伝子として見込みがあります。

花粉の数を制御する遺伝子は複数存在することが、本研究の結果から示されました。今後花粉数を制御する *RDPI* 以外の因子の研究が進めば、それらの因子の組合せにより、花粉の数を自在に制御することで育種や医療への応用利用に発展すると考えられます。

また、本研究で我々が確立した同一種内の系統間の量的な僅かな違いを検出する手法は、動物植物問わず、他の実験生物にも使用できます。量的形質の花粉数以外の例としては、乳用牛の繁殖性や肉用牛の食味、穀物の収量などが挙げられます。これらの形質について相関の見られる遺伝子を同定し、その遺伝子の機能の系統 (品種) 間での僅かな違いを検出することで、その知見を育種へと応用できるものと期待されます。

用語説明

*1 量的形質

ヒトの背の高さやコメの粒数といった連続的な値を取る形質。複数の遺伝子の効果の総和によって決定されていることが多い。ABO 式血液型やエンドウマメの形が丸いか、しわがあるかといった非連続で容易に区別できる形質は質的形質という。質的形質は1つまたは2つ程度の少数の遺伝子で決定されていることが多い。花粉数という量的形質は質的形質に比べて、制御する遺伝子を同定することは困難で、例えば花粉を全く作らなくなる原因の遺伝子はこれまでも同定されていたが、花粉の数が多、少ないというような形質に関わる遺伝子はこれまで同定されていなかった。

*2 自家生殖

同一の植物個体のなかで受粉し起こる生殖の仕組み。自殖ともいう。別の個体間で起こる生殖の仕組みは他殖と呼ばれる。

*3 配偶子（はいぐうし）

生物の生殖細胞の中で、接合して新しい個体を作るものを配偶子という。種子植物の場合は胚珠内の卵細胞と花粉内の精細胞を指す。ヒトの場合、成熟した卵子と精子のことを指す。

*4 SNP 一塩基多型（Single Nucleotide Polymorphism）

同じ種の集団の中に存在するゲノム配列内の違いの中で、一塩基の違いをこう呼ぶ。読み方はスニップ。

*5 ゲノムワイド関連解析（Genome-Wide Association Studies, GWAS）

表現型の違いと DNA の違い（特に SNP）の関連を調べることにより、興味のある表現型と関連する SNP を検出する手法。読み方はジーワス。

*6 ゲノム編集技術

人工の DNA 切断システムを利用して、標的遺伝子の DNA 配列を高い精度で編集・改変する技術。本研究では、CRISPR/Cas9 というゲノム編集手法を用いた。

論文情報

タイトル: **Adaptive reduction of male gamete number in the selfing plant *Arabidopsis thaliana***

著者: Takashi Tsuchimatsu*, Hiroyuki Kakui*, Misako Yamazaki, Cindy Marona, Hiroki Tsutsui, Afif Hedhly, Dazhe Meng, Yutaka Sato, Thomas Städler, Ueli Grossniklaus, Masahiro M. Kanaoka, Michael Lenhard, Magnus Nordborg and Kentaro K. Shimizu (* は共に筆頭著者)

掲載誌: *Nature Communications* DOI: 10.1038/s41467-020-16679-7

※本研究は、科学技術振興機構（JST）CREST「環境変動に対する植物の頑健性の解明と応用に向けた基盤技術の創出」、文部科学省科研費 新学術領域研究「植物新種誕生の原理」などの支援を受けてスイス、日本、ドイツ、オーストリアの4カ国、計8研究機関の国際的研究として遂行しました。

参考：横浜市立大学記者発表資料