

ゲノム編集で *OsTB1* 遺伝子の機能を弱めたイネはリン欠乏条件での収量性が高い

イネの分げつ伸張抑制遺伝子 *TEOSINTE BRANCHED1* (*OsTB1*) の機能をゲノム編集により弱めることで、背景品種 X265 に比べて、分げつ数が 2 割増加した変異体が生産される。同変異体は、リン欠乏条件での籾収量が背景品種に比べて 4 割多い。*OsTB1* 遺伝子の機能を調整することで、分げつが抑制されるリン欠乏環境でのイネの生産性向上が期待される。

キーワード：イネ *TEOSINTE BRANCHED1* (*OsTB1*)、インフレーム変異、ゲノム編集、分げつ、リン欠乏

背景・ねらい

分げつはイネの草型や収量を決定する重要な形質である。多くの遺伝子が分げつ数の決定に関与しており、中でもイネの *TEOSINTE BRANCHED1* (*OsTB1*) は分げつ伸張を抑制する重要な遺伝子として知られている。一方、分げつ数に関与する重要な環境要因の一つとして、土壌栄養素であるリンが挙げられる。リン欠乏によるイネの分げつ発生の抑制は、リン欠乏土壌が広く分布するサブサハラアフリカにおいて、イネ生産の大きな制約となっている。本研究では *OsTB1* 遺伝子を標的としたゲノム編集を CRISPR/Cas9 システムを用いて行い、マダガスカル の主要水稻品種 X265 の変異体を生産する。同遺伝子の機能変化がイネの分げつ性およびリン欠乏条件での生産性に及ぼす影響を明らかにする。

成果の内容・特徴

1. CRISPR/Cas9 で作出された *OsTB1* 遺伝子の変異体 #29418 (30 bp 欠失) および変異体 #29430 (1 bp 挿入) の出穂直前の分げつ数は、それぞれ背景品種 X265 (WT) の 1.2 倍および 3.4 倍に増加する (図 1)。この分げつ数の増加は、#29418 においてはインフレーム変異*による *OsTB1* の分げつ抑制機能の弱化、#29430 においてはフレームシフト変異**による *OsTB1* の分げつ抑制機能の喪失によるものと考えられる。
2. #29418 (インフレーム変異体) における *OsTB1* 遺伝子の発現量は WT と同等である (図 2)。一方、*OsTB1* の下流遺伝子の一つである *OsGT1* 遺伝子の発現レベルは WT、#29418、#29430 (フレームシフト変異体) の順に高い (図 2)。このことは、*OsTB1* のフレームシフト変異による機能喪失、およびインフレーム変異による機能弱化を支持する。
3. リン欠乏条件における #29418 の個体当たり籾収量は WT よりも多い (図 3A)。その差はリン施肥量が少ないほど大きく、リン施肥量 0 mg/kg の条件下での #29418 の個体当たり籾収量は WT よりおよそ 4 割多い (図 3A)。

4. #29418 の穂数、穎花数および稔実数は WT よりも多く、千粒重は WT よりも小さい (図 3B)。稔実数の増加量は千粒重の減少に対して相殺以上の効果を持つ。一方、#29430 の個体あたり稔実数は #29418 と同程度であり WT より多いが、千粒重の小ささに相殺され、個体あたり籾収量は WT と同等である (図 3AB)。

* インフレーム変異：3 の倍数の塩基の欠失または挿入による遺伝子変異のことであり、翻訳の際、アミノ酸を指定する 3 塩基が構成する読み枠 (リーディングフレーム) は保存されるため、タンパク質の機能がある程度維持される場合がある。

** フレームシフト変異：3 の倍数以外の塩基の欠失または挿入による遺伝子変異のことであり、アミノ酸を指定する読み枠がずれるため、通常、正常なタンパク質が合成されなくなり、機能が喪失する。

成果の活用面・留意点

1. *OsTB1* 遺伝子のゲノム編集による分げつ性改変は X265 以外の品種においても同様に実行できる。
2. 分げつ性の改変がリン欠乏条件における収量性向上に役立つことが期待できる。
3. 他の形質に関わる遺伝子を、ゲノム編集を用いて改変する場合においても、インフレーム変異により機能が弱化し、表現型がマイルドになる可能性が考えられる。
4. 2023 年現在、インフレーム変異を意図的に誘発することはできないため、インフレーム変異体を獲得するためには複数の変異系統を生産し、選抜する必要がある。

その他

予算区分：交付金プロ [B5 アフリカ稲作システム (第 5 期)]、外部資金 [SATREPS]
研究実施期間：2018~2022 年度
研究担当者：石崎琢磨 (熱帯・島嶼研究拠点)、植田佳明、高井俊之、辻本泰弘 (生産環境・畜産領域)、圓山恭之進 (生物資源・利用領域)
発表論文等：Ishizaki et al. (2023) *Plant Science* 330: 111627
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111627>

A	系統	標的サイトの塩基配列	挿入/欠失
	WT	CCGCTCACGGCCACAGCGACGGG	
	#29418	C-----	30 bp 欠失
	#29430	CCGCTCACGGCCACAGCTGACGGG	1 bp 挿入

図 1 ゲノム編集による *OsTB1* 変異体の作出

(A) 変異した *OsTB1* 遺伝子の塩基配列。WT は背景品種である X265。下線は Cas9 タンパク質に認識される PAM 配列。赤文字は挿入された塩基。赤ダッシュは欠失した塩基。

(B) 出穂前の WT（左）、#29418（インフレーム変異体；中）、および #29430（フレームシフト変異体；右）。各系統の分けつ数の平均値をそれぞれの写真下部に記した。

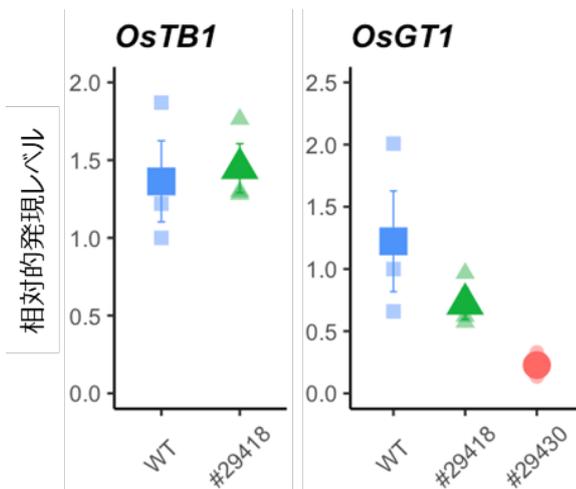


図 2 *OsTB1* 遺伝子および下流遺伝子である *OsGT1* 遺伝子の発現解析

播種後 21 日の植物体の基部から RNA を抽出し、遺伝子発現レベルを qRT-PCR により定量した。*OsTB1* は *OsGT1* 遺伝子のプロモーター領域に直接結合し、発現を誘導する。大きいシンボルは生物学的 3 反復の平均値、小さいシンボルはそれぞれの反復の値を示す。WT は X265、#29418 はインフレーム変異体、#29430 はフレームシフト変異体。

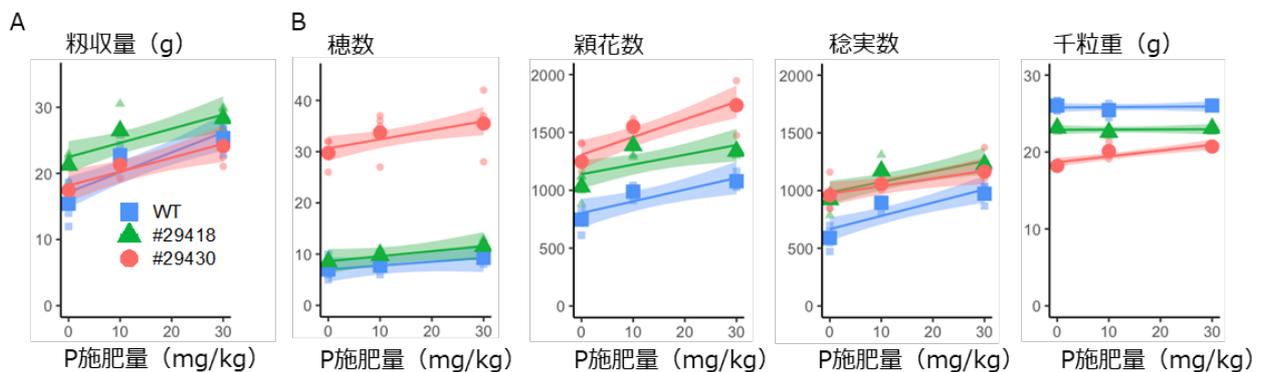


図 3 異なるリン施肥条件下で育成した *OsTB1* 変異体の個体当たりの収量および収量構成要素

#29418（インフレーム変異体）、#29430（フレームシフト変異体）、および WT（X265）を 0、10、または 30 mg/kg のリン施肥条件下で成熟期まで育成した。(A) 個体当たり収量。(B) 収量構成要素。大きいシンボルは 4 反復の平均値、小さいシンボルはそれぞれの反復の値を示す。ANCOVA による推定モデルおよび 95%信頼区間をそれぞれ直線およびシェードで示す。

図は Ishizaki et al. (2023) © The Author(s) 2023 より転載/改変して作成