

## 「穂ばらみ期に冷温応答する花粉形成制御遺伝子の発現解析」

農業・食品産業技術総合研究機構 東北農業研究センター 山口知哉

冷温下で花粉形成を制御することが予想されるイネ葯冷温応答遺伝子について、発現部位をプロモーター：GUS 導入形質転換体の解析及び *in situ* ハイブリダイゼーションにより詳細に解析し、発現調節を担うプロモーターの機能を明らかにした。

### 【研究の背景・ねらい】

イネの穂ばらみ期冷害に関して、冷温感受性が最も高くなる小孢子初期から小孢子中期にかけてイネ葯で冷温に応答して発現が変動する遺伝子を見いだした。これらのイネ葯冷温応答遺伝子が冷温下の花粉形成機能の維持あるいは花粉発育障害発生過程において果たす役割を解明することは、穂ばらみ期冷害を克服するための飛躍的な耐冷性増強手法の開発につながると考えられる。そこで、イネ葯冷温応答遺伝子の発現調節機構および遺伝子機能の解析をおこなった。

### 【研究の成果】

#### 1) 花粉形成制御遺伝子の発現調節機構の解明

イネ葯冷温応答遺伝子のプロモーター配列を GUS に連結したコンストラクトを作製し、アグロバクテリウムを介して形質転換体イネを作出した。人工気象室で育成して(冷温処理区ではイネの葯が最も冷温感受性となる穂ばらみ期に冷温処理を施した後)、幼穂等の器官を採取した。発色基質 X-Gluc に浸して染色して観察し、遺伝子発現の器官・時期特異性や冷温応答性を調査した。その結果、イネ葯冷温応答遺伝子の発現が、冷温に応答して誘導・抑制されることが確かめられ、発現調節を担うプロモーターの機能の詳細が明らかになった。また、遺伝子の発現部位を特定するための *in situ* ハイブリダイゼーション実験系を確立し、同法を用いてイネ葯冷温応答遺伝子の発現部位を詳細に解析して、小孢子初期から中期の葯のタペート組織付近での発現を組織化学的にも確認した。

#### 2) 冷温応答遺伝子の機能解明

冷温応答遺伝子 cDNA のセンス配列を 35S プロモーター制御下で過剰発現するためのコンストラクトを構築し、アグロバクテリウムを介して形質転換体イネを作出した。冷温により発現が増加するポリアミン生合成遺伝子 SAMDC1 および冷温により発現が減少するジャスモン酸生合成遺伝子 OPDAR1 を過剰発現させるためのコンストラクトをイネ品種「はやゆき」に導入したところ、SAMDC1 過剰発現イネの生育・稔実が他の形質転換体と比べて著しく悪い表現型を示した。冷温応答遺伝子の発現を操作した形質転換体イネの解析が可能となった。

「形態・生理」課題名：穂ばらみ期に冷温応答する花粉形成制御遺伝子の発現調節機構および機能の解明

問い合わせ先：東北農業研究センターやませ気象変動研究チーム

(E-mail: [www-tohoku@naro.affrc.go.jp](mailto:www-tohoku@naro.affrc.go.jp))

主な発表論文、特許等：Yamaguchi, T., et al. Promoter analysis of rice anther genes up- or down-regulated by cool temperature at the early microspore stage (in preparation)