

ミトコンドリアゲノム編集法によりナスの細胞質雄性不稔の原因遺伝子の機能証明に成功

配 信 先：京都大学記者クラブ、宗教記者クラブ、滋賀県教育記者クラブ、
文部科学記者会、科学記者会、在阪民放四社京都支局協議会、大阪科学・大学記者クラブ、
農政クラブ、農林記者会、農業技術クラブ、筑波研究学園都市記者会

【本件のポイント】

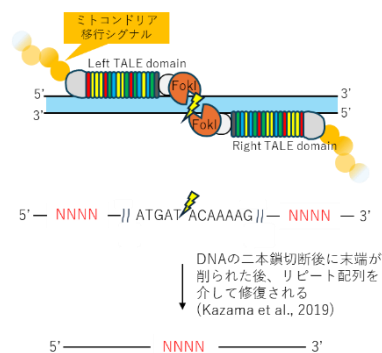
- ・ mitoTALEN 法及び mitoTALECD 法を用い、ナスのミトコンドリア遺伝子のゲノム編集に世界で初めて成功した。
- ・ ターゲットにした細胞質雄性不稔 (CMS) 遺伝子 *orf218* の DNA 配列を改変することで、このミトコンドリア遺伝子のノックアウト系統を作出できた。
- ・ *orf218* のノックアウト系統では雄性不稔性が消失し、形成された花粉により自殖後代を得ることができた。
- ・ ナスの CMS の原因遺伝子は、ミトコンドリアの *orf218* であることが証明された。

【研究成果の概要】

高等植物には正常な花粉が形成されない「細胞質雄性不稔 (Cytoplasmic Male Sterility; CMS)」と呼ばれる形質が存在します。この形質の原因遺伝子はミトコンドリアゲノムに存在する遺伝子であることが多くの植物で示唆されていますが、ほとんどの場合、直接的な証明はなされていません。一般に、ある形質の原因遺伝子を最終的に特定するには、その遺伝子の変異体を得る、あるいはその遺伝子を形質転換により導入して、表現型が変化するか調べるなどの実験を実施する必要があります。しかし植物のミトコンドリアゲノムの遺伝子を直接改変することは不可能でしたし、ミトコンドリアの形質転換の成功例は皆無でした。したがって CMS の原因遺伝子も、長らく「候補」の状態に留まっていました。しかしながら、2019 年に初めて、TALEN 法を応用した植物のミトコンドリア遺伝子のゲノム編集が成功し、ミトコンドリアゲノムの改変が可能となりました (Kazama et al., 2019)。

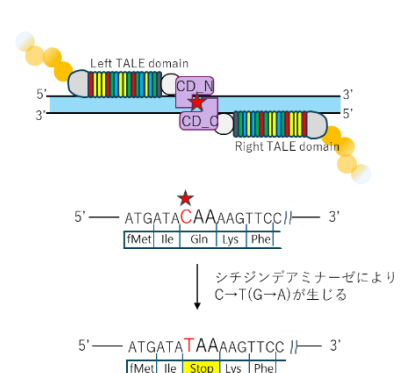
現在、ゲノム編集では、CRISPR-Cas9 法を用いることが一般的ですが、ガイド RNA をミトコンドリア内部に輸送できないため、この方法はミトコンドリア遺伝子の編集には適用できません。そこで DNA 結合モジュールがタンパク質で構成される TALE にミトコンドリア移行シグナルを付加した mitoTALE が開発され、FokI を介した DNA 切断による編集法 (mitoTALEN 法) と、FokI の代わりにシチジンデアミナーゼを用いた C→T (相補鎖では G→A) の 1 塩基置換による編集法 (mitoTALECD 法) が確立されました。

mitoTALEN



遺伝子領域のフレームシフト又は欠失

mitoTALECD



翻訳停止コドンの作成

図1 ミトコンドリアゲノム編集法

本研究の材料であるナスには、花粉が形成されない CMS (PN 型 CMS) が存在します。この原因遺伝子は、いくつかの実験的証拠から、ミトコンドリアゲノムにある *orf218* という遺伝子であることが推定されていました(Yoshimi et al., 2013)。今回、この *orf218* をターゲットに、ミトコンドリアゲノム編集を行いました。

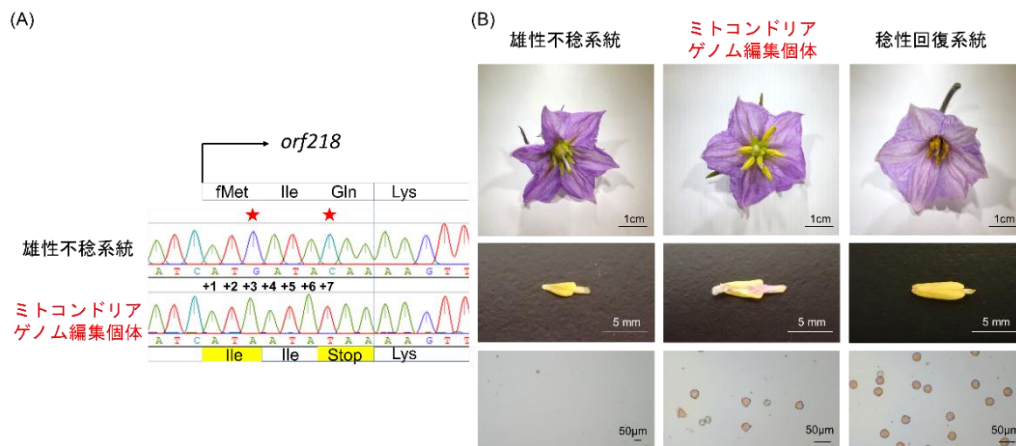


図2 ナスにおけるミトコンドリアゲノム編集

A; ターゲット配列(*orf218*)内の塩基置換箇所. +3 と+7 で G→A および C→T の変異が生じている.

B; ミトコンドリアゲノム編集個体の花粉観察結果. 雄性的不稔系統では葯内に花粉が存在しないが、編集個体では花粉が認められた.

mitoTALEN 法と mitoTALECD 法の 2 つの方法を試した結果、どちらの方法でもミトコンドリアゲノムに改変が生じていることが認められました。特に mitoTALECD 法では、得られた編集個体の *orf218* の塩基配列の 10 か所に塩基置換が生じていたとともに、開始コドンの消失によって *orf218* はもはやタンパク質として発現しないことが予測されました。この編集個体を開花するまで育成し、葯の内部を観察したところ、内部に花粉が生じていることが見いだされました。

さらに、この花粉を用いた交配実験では、着果と種子形成が認められました。

以上の結果から、ミトコンドリアの *orf218* が、ナスにおける PN 型 CMS の原因遺伝子であることが証明されました。

【今後の展開】

今回の実験に用いた PN 型 CMS では、雄性的不稔性を回復させる稔性回復遺伝子 (*Rf* 遺伝子) が別系統のナスの核ゲノムに存在することが明らかになっています。これまでの実験結果から、この *Rf* 遺伝子は *orf218* の転写産物を切断する働きを持っていることが示されています。しかしその実体はまだわかっていません。今回、PN 型 CMS の原因であると証明されたミトコンドリア *orf218* と相互作用する核の遺伝子を絞り込むことで、*Rf* 遺伝子の同定が進むことが期待されます。

また、ナスには別種の CMS として、花粉はできるものの葯が正常に開かない雄性的不稔ナス (AI 型 CMS) が存在します。この AI 型 CMS についても今回と同様のアプローチで原因遺伝子を特定することができれば、ナスにおける CMS の全体像を体系的に理解できるものと思われます。

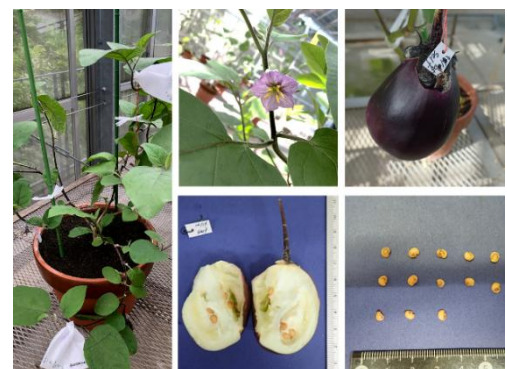


図3 ミトコンドリアゲノム編集個体の花粉を使った交配実験

【研究の背景】

CMS は、F₁ 品種の生産に欠かせない形質です。ダイコンやブロッコリーなどのアブラナ科植物や、タマネギ、トウモロコシなど様々な作物で CMS が採種に利用されています。一般的に栽培されているナスも F₁ 品種です。ナスは自殖する植物ですが、一花あたりの種子数が多いため、これまでは人工的な除雄とその後の交配により種子を生産することが可能でした。しかし近年の労働力単価の上昇に伴い、効率的な採種のために CMS が求められています。また、CMS と、受粉せずに果実肥大が生じる、いわゆる単為結果性とを組み合わせることで、種なしナスの作出も可能となります。このような背景から、我々はナスの CMS の研究を進めてきました。

【研究資金】

本研究は、JSPS 科研費 20H05680 および京都産業大学植物科学研究センター研究費の助成を受けて実施されました。

【論文情報】

論文名：Knocking out of the mitochondrial gene *orf218* using mitoTALECD restores cytoplasmic male sterility in eggplant

和訳：ナスの細胞質雄性不稔系統では、ミトコンドリアの遺伝子 *orf218* を mitoTALECD 法でノックアウトすると稔性が回復する

著者名：辻村真衣（責任著者）a、静貴子 b、宮田暉大 c、須佐見朝日 c、齊藤 猛雄 d、宮武 宏治 d、有村慎一 e、山岸博（責任著者）c、寺地徹（責任著者）c

所属：a 龍谷大学農学部、b 京都産業大学植物科学研究センター、c 京都産業大学生命科学部、d 農研機構、e 東京大学農学部

掲載誌：Physiologia Plantarum (John Wiley & Sons 社)

公開日：2025 年 8 月 9 日

URL：<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ppl.70446>