

2024 年度年次報告書

時空間マルチスケール計測に基づく生物の復元あるいは多様化を実現する機構の解明

2024 年度採択研究代表者

岩上 哲史

東京農工大学 大学院農学研究院

准教授

農業活動が駆動する雑草の高速進化メカニズムの解明

研究成果の概要

水田雑草タイヌビエ (*Echinochloa oryzicola*) における解毒型除草剤抵抗性の進化機構を解明するため、日本および米国で採集された系統のゲノム解読を行った。感受性系統 3 株 (新潟県、長野県、カリフォルニア)、抵抗性系統 3 株 (新潟県、宮城県、石川県)、および外群として非農耕地型タイヌビエ 1 株について、PacBio HiFi リードを用い、30~50x の深度でシーケンスした。アセンブリには Hifiasm を用い、得られた contig から真核生物由来のものを Tiara により判定し、およそ 200 本の contig を得た。得られた contig について、以前に解読したほぼ T2T レベルの米国由来タイヌビエのゲノムを参照配列として RagTag により並び替え、18 対の pseudomolecule を構築した。遺伝子アノテーションは、T2T ゲノムの注釈情報を Liftoff により新規ゲノムへ移植した。アノテーションの完全性を BUSCO で評価した結果、完全 BUSCO の割合は 99.2~99.3% に達し、高精度なゲノム情報が得られたと判断した。

2017 年以降に東日本を中心に発見されている抵抗性系統の独立性を検証するため、感受性系統 3 株および抵抗性系統 3 株について、ゲノムワイドな塩基多様度の評価を行った。その結果、両グループ間で大きな違いは認められなかった。この結果は、抵抗性系統間でゲノムワイドな塩基多様度が著しく低かった 1990 年代後半から 2000 年代前半に、カリフォルニア州サクラメント・バレー一帯で確認された抵抗性タイヌビエの事例とは対照的であった。このことから、日本国内における抵抗性の発現は、単一起源ではなく、複数地域で独立に進化した可能性が高いと示唆された。

次に、全系統における遺伝子アノテーションのゲノムワイドな比較を行ったところ、抵抗性系統にのみ存在し、感受性系統には存在しない遺伝子が 2 つ見出された。このうち 1 つは、遺伝学的解析により抵抗性原因変異が存在すると推定された候補ゲノム領域内に位置していた。該当遺伝子の転写レベルは比較的 low、その抵抗性への寄与については慎重な検討が必要である。候補領域に存在する他の遺伝子を系統間で比較したところ、約半数の遺伝子において、抵抗性型と感受性型を区別するアミノ酸置換が確認された。これらの抵抗性特異的な変異が除草剤抵抗性の発現に関与している可能性がある。一方で、外群として用いた非農耕地型のタイヌビエでは、除草剤感受性を示しているにもかかわらず、抵抗性特異的遺伝子およびアミノ酸置換が一部で見られた。発現レベルなども含め、これらの遺伝子については今後詳細な解析が必要である。

候補遺伝子領域はタイヌビエと比較的近縁なイネとの間で高いシニテニーを示していた。そこでイネにおいて該当 150 kb の領域について、40 kb ずつ欠失させた 4 種類の変異体を、CRISPR/Cas9 を用いて作出することを試みた。各変異体について、異なるガイド RNA を用いた 2 種類のコンストラクトを作製し、欠失の有無を PCR により確認した。薬剤耐性カルス約 100 個のうち、およそ 5~15% で目的の欠失が検出された。これらを再分化させた約 50 個体のうち、10~50% の頻度で欠失変異が確認された。現在は、各変異体につき 10 個体ずつ栽培し、次世代種子の獲得を進めている。