

植物の細胞質雄性不稔性と核遺伝子による稔性の制御について

板橋悦子¹・川辺隆大²・藤本 龍^{3*}

(平成24年1月11日受付)

要 約

細胞質雄性不稔性 (Cytoplasmic male sterility; CMS) は、ミトコンドリアゲノム上に存在する特有の *orf* によって引き起こされ、母性遺伝する形質である。多くの場合、核ゲノムにコードされる稔性回復遺伝子 (*Restorer of fertility; Rf*) の存在下で、稔性が回復する。CMS と CMS の維持系統、*Rf* 遺伝子を保持する稔性回復系統を組合せて利用する事で一代雑種育種を行う事ができるため、CMS やその稔性回復は農業上重要な現象である。これまでに同定されている *Rf* 遺伝子の多くは、ミトコンドリアに局在する pentatricopeptide repeat (PPR) タンパク質をコードしており、CMS 関連ミトコンドリア遺伝子の発現を抑制している。

新大農研報, 64(2):135-142, 2012

キーワード：細胞質雄性不稔性、ミトコンドリア、稔性回復遺伝子、一代雑種育種

1. はじめに

植物の細胞内において、ミトコンドリアは核ゲノムとは異なる独自のゲノムを保持している。ミトコンドリアの起源は細胞内に共生した好気性細菌であるという説が提唱されており、共生の過程で多くのミトコンドリア遺伝子が核ゲノムに移行していったと考えられている。そのため、ミトコンドリアが正常に機能するためには、核とミトコンドリアの2種類のゲノムが協調的に働く必要があると考えられる。また、ミトコンドリアは細胞内におけるエネルギー生産の場でもあり、生物にとって必須なオルガネラ (細胞小器官) である。よって、細胞内において核とミトコンドリアが相互に依存し合い、様々な生命現象に

関与している事が伺える。

この核-ミトコンドリア間の相互作用が、植物における雄性生殖器官の発達や機能に重要な役割を果たしている事を示唆する現象として、細胞質雄性不稔性 (Cytoplasmic male sterility; CMS) がある。CMS は、遠縁品種間の核置換系統などにおいて、核ゲノムとミトコンドリアゲノムの間に不和合が生じた結果現れると考えられている (図1) (Schnable and Wise, 1998, Hanson and Bentolila, 2004)。CMS の植物では、雄ずいの位置に花弁や心皮が形成されるホメオティックな変異や葯の形成不全、葯は形成されるがその内部で花粉が正常に発達しない、といった多様な表現型が見られる (Chase, 2007)。これらはミトコンドリアゲノムにコードされる遺伝子の作用によって引き起こされ、細胞質遺伝を介して次代に受け継がれる。また、CMS の特徴として核ゲノムにコードされる稔性回復遺伝子 (*Restorer of fertility; Rf*) の存在が挙げられる。核ゲノムに *Rf* 遺伝子をもつ稔性回復系統においては、その遺伝子産物が CMS 関連ミトコンドリア遺伝子の作用を阻害し、稔性を回復させる (図1) (Hanson and Bentolila, 2004)。CMS 系統と稔性回復系統を利用する事で、一代雑種育種を効率的に行う事ができるため、CMS は農業的に重要な形質である。さらに、CMS とその稔性回復機構は、「核遺伝子によるミトコンドリアの制御」のモデルとして学術的にも非常に興味深い分野である。これまで、複数の植物において CMS 関連遺伝子や *Rf* 遺伝子の探索が試みられてきた。本総説では、CMS とその稔性回復機構について、これまでに同定されている様々な CMS 関連遺伝子と *Rf* 遺伝子の例を挙げ、特にモデル植物であるイネの CMS の例を詳しく取り上げ、紹介する。

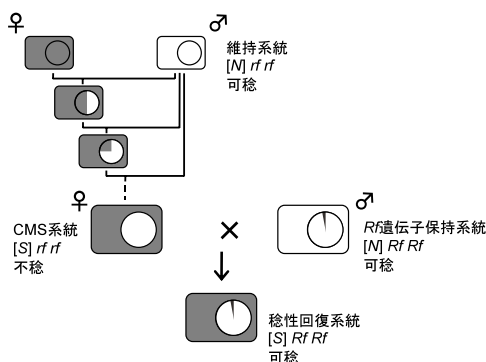


図1 連続戻し交配による CMS 系統の作出及び、CMS 細胞質と *Rf* 遺伝子座の組合せによる花粉稔性の有無。CMS 系統を維持するために、*Rf* 遺伝子を持たず正常型の細胞質を持つ系統 (維持系統) を用いる。CMS 型の細胞質を [S]、正常型の細胞質を [M] と示す。

2. CMS 関連遺伝子と *Rf* 遺伝子の探索

2-1. CMS 関連遺伝子

CMS 関連遺伝子は、正常型の細胞質には見られない新規の

¹ メルボルン大学

² 株式会社渡辺採種場

³ 新潟大学大学院自然科学研究科

*代表者: leo@agr.niigata-u.ac.jp

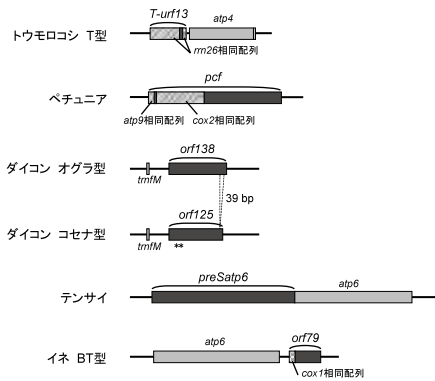


図2 これまでに同定されている CMS 関連遺伝子の模式図。既報の CMS 関連遺伝子は、ミトコンドリア遺伝子の近傍で起こった組換えにより生じたキメラ構造をとる例が多い。ミトコンドリア遺伝子と相同性を示す部分を斜線で示した。*は一塩基多型を示す。orf138と orf125は2カ所の一塩基多型と1カ所の挿入・欠失以外は同一の配列を持つ。preSATP6はミトコンドリアへの移行後に切断され、preSATP6と成熟ATP6に分断される。Hanson and Bentolila (2004) より図を引用 (一部改編)。

orfであり、これらはミトコンドリアゲノムにおいて頻繁に起こる組換えによって生じたと考えられている (Hanson and Bentolila, 2004)。これまで CMS 関連遺伝子として同定された orf には、由来不明の配列と、ミトコンドリアゲノムにコードされた遺伝子に相同性を示す領域とのキメラ構造をとるものが多い (Hanson and Bentolila, 2004)。CMS 関連遺伝子の探索方法としては、CMS を示す細胞質と正常型の細胞質との間で構造や発現パターンに差があるミトコンドリア遺伝子を探す方法が挙げられる。また、CMS 関連遺伝子は Rf 遺伝子の存在によってその発現パターンが変化するものが多いことから、CMS 細胞質と稔性回復系統の細胞質との間で比較を行い、探索する方法もある。

図2に、これまでに同定されている CMS 関連遺伝子の例を示す。トウモロコシの T 型 CMS 系統においては、正常型細胞質には見られない T-urf13が見出された (Dewey *et al.*, 1987)。核ゲノムに稔性回復遺伝子 Rf1 を持つ個体では、T-urf13 mRNA のプロセッシングパターンに差が見られ、ミトコンドリア内膜における T-URF13 の蓄積量が減少する (Wise *et al.*, 1987, 1996)。また、ペチュニアの CMS 系統では pcfが見出され、この遺伝子領域に由来するタンパク質の蓄積量が稔性回復系統において減少する事が知られている (Nivison *et al.*, 1994)。オグラダイコンにおいては orf138が、コセナダイコンにおいては orf138 遺伝子内の 39 塩基の欠失によって 125 アミノ酸をコードする orf125が見出され、いずれも稔性回復系統においてその翻訳産物の蓄積が抑制されている (Bonhomme *et al.*, 1992, Krishnasamy and Makaroff, 1994, Iwabuchi *et al.*, 1999)。さらに、テンサイ Owen 型 CMS 系統のミトコンドリアゲノムには、正常型のミトコンドリアゲノムには存在しない preSatp6が見出されている (Satoh *et al.*, 2004)。preSatp6の遺伝子産物である preSATP6はミトコンドリア内膜に局在しホモオリゴマーを形成するが、稔性回復遺伝子 Rf1 の存在下で複合体の形成が壊れるという知見がある (Yamamoto *et al.*, 2005, 久

表1 これまでにクローニングされている Rf 遺伝子

植物種	遺伝子名	コードするタンパク質
トウモロコシ (T型)	Rf2	ALDH (aldehyde dehydrogenase)
ペチュニア	Rf-PPR592	PPR (pentatricopeptide repeat) タンパク質
ダイコン (Ogura/Kosena型)	Rfo / Rfk	PPR タンパク質
イネ (BT 型)	Rf1	PPR タンパク質
イネ (BT 型)	Rf1b	PPR タンパク質
イネ (CW 型)	Rf17	ACPS (acyl-carrier protein synthase) 様タンパク質
イネ (LD 型)	Rf2	GRP (Glycine-rich protein)

保ら, 2008)。このことから、CMS 関連遺伝子産物のミトコンドリアにおける局在や複合体形成の有無といった生化学的な解析が重要である事が分かる。また、相互作用因子の有無なども興味深い点であり、今後の研究の進展が待たれる。

2-2. Rf 遺伝子

表1にこれまでに同定されている Rf 遺伝子を示す。トウモロコシの T 型 CMS に対しては、Rf1、Rf2 という2種類の Rf 遺伝子が稔性回復に必要とされる。このうち Rf2が単離され、これが Rf 遺伝子の同定の最初の報告となった (Cui *et al.*, 1996)。RF2はミトコンドリアのマトリックスに局在する可溶性のタンパク質であり、ミトコンドリア型アルデヒド脱水素酵素に75%の相同性を示していた (Cui *et al.*, 1996, Liu *et al.*, 2001)。このことから、T 型 CMS 系統の雄性生殖器官では、不稔性を誘発する何らかのアルデヒド様物質が生産されるが、RF2が酸化反応の触媒に関与する事でそれを回避している、という可能性が考察され、発現タンパク質を用いてその酵素活性も確認された (Cui *et al.*, 1996, Liu *et al.*, 2001)。しかし、その後、この仮説を支持するデータは示されておらず、CMS 関連遺伝子産物 T-URF13 との関連も含めさらなる解析が必要であると考えられる。

トウモロコシの例に続いて、ペチュニアの CMS に対する Rf 遺伝子である Rf-PPR592が単離され、pentatricopeptide repeat (PPR) タンパク質をコードする事が示された (Bentolila *et al.*, 2002)。PPR タンパク質とは、35 アミノ酸の同方向繰り返し配列から成る PPR モチーフをもつタンパク質であり、そのほとんどがミトコンドリアや葉緑体といったオルガネラにおいて、転写後制御や翻訳制御に関与すると考えられている (Small and Peeters, 2000, Lurin *et al.*, 2004)。その際、標的となる核酸 (主に mRNA) に PPR モチーフを介して配列特異的に結合する (Small and Peeters, 2000, Lurin *et al.*, 2004)。Rf-PPR592単離の報告後、オグラダイコン、コセナダイコンの CMS に対する Rf 遺伝子、Rfo、Rfk がそれぞれマップベースクローニング法により、ほぼ同時期に単離された (Koizuka *et al.*, 2003, Brown *et al.*, 2003)。これらは共に PPR タンパク質をコードしており、アミノ酸配列の比較の結果、同一の遺伝子である事が分かった (Brown *et al.*, 2003)。さらに、(2-1) で述べた様に、Rfo/Rfk は ORF138 および ORF125 の蓄積を抑制するが、その際、orf138 mRNA および orf125 mRNA の量は減少しないことから、Rfo/Rfk の存在下では、それぞれの CMS

関連遺伝子の翻訳が抑制されると考えられている (Krishnasamy and Makaroff, 1994, Iwabuchi *et al.*, 1999, Koizuka *et al.*, 2003, Uyttewaal *et al.*, 2008)。

3. イネの CMS

3-1. イネの CMS 関連遺伝子

モデル植物として研究基盤が整っているイネにおいても、細胞質の由来を異にする複数の CMS 系統の存在が報告されており、雄性不稔性の表現型も様々である (Kinoshita *et al.*, 1997, Fujii *et al.*, 2010a) (図 3)。これらの CMS 系統は、互いに異なるミトコンドリアゲノムを保持し、それぞれ作用する *Rf* 遺伝子も異なる (Fujii *et al.*, 2008, Fujii *et al.*, 2010a)。

イネの CMS の中で最も解析が進んでいるのは、インディカ品種「Chinsurah Boro II」の細胞質を持つ BT 型 CMS である (Shinryo, 1969)。また、BT 型 CMS に対して効果的な *Rf* 遺伝子として *Rf1* が定義されている (Shinryo, 1975)。BT 型 CMS 系統では、葯内で花粉粒が十分に成熟できずに不稔性を示すが、*Rf1* を保持するとこれが回復する。

イネの CMS で最初に CMS 関連遺伝子が同定されたのは BT 型 CMS である (Iwabuchi *et al.*, 1993, Akagi *et al.*, 1994)。正常型の細胞質では、ミトコンドリアゲノムに 1 コピーの *atp6* 遺伝子 (*N-atp6*) が存在する (Notsu *et al.*, 2002)。しかし、BT 型細胞質においては、*N-atp6* の他にもう 1 コピーの *atp6* (*B-atp6*) がコードされている (Kadowaki *et al.*, 1990, 図 4)。*B-atp6* の下流には 79 アミノ酸から成るタンパク質をコードする *orf79* が存在しており、*B-atp6* と一続きの転写産物として共転写される (Iwabuchi *et al.*, 1993, Akagi *et al.*, 1994)。そして、核ゲノムに *Rf1* を持つ場合、*B-atp6-orf79* mRNA のプロセッシングが起こり、ORF79 のミトコンドリアへの蓄積が見られ

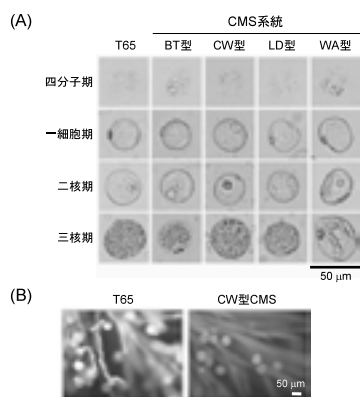


図 3 Taichung 65 (T65) および、異なる細胞質に由来する 4 種類の CMS 系統における減数分裂後の花粉発達の様子。T65 は正常型細胞質を持ち、図中の 4 種類の CMS に対する維持系統として用いる事ができる。T65 では、一細胞期から三核期にかけて花粉粒の内部にデンプンが蓄積していき (A 左列)、受粉後は柱頭上で花粉管が伸長する (B 左写真)。WA 型 CMS 系統では、一細胞期で花粉がつぶれ、これ以降花粉の成熟が進まない。BT 型および LD 型 CMS 系統では、花粉が十分に成熟せず、三核期におけるデンプンの蓄積量が少ない。CW 型 CMS 系統では、一見三核期の花粉は正常であるが、柱頭上での花粉管の発芽が見られない (B 右写真)。Fujii *et al.* (2010a) より図を引用 (一部改編)。

なくなる事が報告されている (Iwabuchi *et al.*, 1993, Kazama and Toriyama, 2003, Wang *et al.*, 2006, Kazama *et al.*, 2008)。これらの事から、BT 型 CMS には、ORF79 のミトコンドリアへの蓄積が関与していると考えられている。Wang ら (2006) は、ORF79 を大腸菌に発現させた場合に細胞毒性を示す事、*B-atp6-orf79* の転写は恒常的であるが、ORF79 の蓄積は花粉に特異的なものであるという事を報告している (Wang *et al.*, 2006)。さらに、ORF79 は膜局在のタンパク質であり、ORF79 をミトコンドリア内膜に蓄積させる形質転換体の作出を試みた際に、その作出効率がコントロールの系統 (ORF79 の代わりに GFP を蓄積させた) に比べて有意に低下した事が報告されている (Kojima *et al.*, 2010)。以上の知見から、植物細胞にとって何らかの障害をもたらす ORF79 のミトコンドリア膜への蓄積が花粉特異的に起こる事で BT 型 CMS が引き起こされる、というモデルが考えられる。しかし、*orf79* の転写以降、どの段階で、どのような機構によって花粉特異性が付与されるのかという点は明らかにされておらず、ORF79 が不稔性を引き起こす機構についても未解明な点が多く残されている。*orf79* の N 末端側の領域がミトコンドリア遺伝子の *cox1* に対して相同性を持つ事も分かっているが (図 2) (Iwabuchi *et al.*, 1993, Akagi *et al.*, 1994)、この事と ORF79 の作用機構との関連性も見出されていない。

HL 型 CMS イネのミトコンドリアゲノムは、*atp6* 遺伝子の構造が BT 型細胞質と非常に似ており、2 コピーの *atp6* 遺伝子をコードしている (Yi *et al.*, 2002)。一方は *N-atp6* であるが、もう一方は *atp6* (*H-atp6*) の下流に 79 アミノ酸から成るタンパク質をコードする *orfH79* を持ち、*orf79* と高い相同性を示す事が明らかにされた (Yi *et al.*, 2002)。稔性回復系統において、*H-atp6-orfH79* mRNA の分解が起こる事から、*H-atp6-orfH79* が HL 型 CMS に関連していると考えられている (Zhang *et al.*, 2007)。*atp6* は、ミトコンドリア内膜に存在する ATP 合成酵素のサブユニットの一つをコードする遺伝子である。HL 型 CMS 系統では ATP 合成酵素の活性が低下し、稔性回復系統でその活性が回復するという報告がある (Zhang *et al.*, 2007)。ヒマワリの *pet1* 型 CMS 系統においても ATP 合成酵素活性が

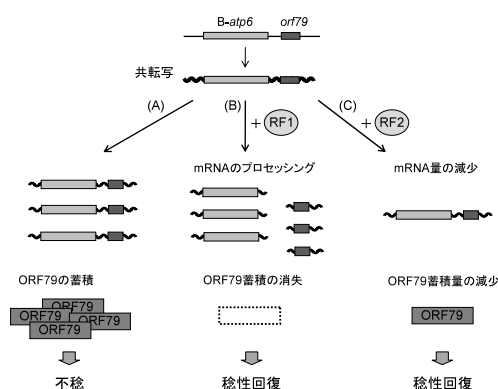


図 4 BT 型 CMS における稔性回復機構の模式図。(A) CMS 系統では、*B-atp6-orf79* の共転写産物から ORF79 が翻訳されミトコンドリアに蓄積する。(B) *Rf1* の存在下では、共転写産物のプロセッシングが起こり、ORF79 の翻訳が阻害される。(C) *Rf2* の存在下でも ORF79 の蓄積量が減少するが、プロセッシングは起こらず共転写産物量が減少する。

低下する事が知られており (Sabar *et al.*, 2003)、ミトコンドリアにおけるエネルギー生産効率と CMS の関連性についても検討する価値があると言える。

3-2. イネの *Rf* 遺伝子

BT 型 CMS の稔性回復遺伝子 *Rf1* はマップベースクローニング法により同定され、*Rf-PPR592* や *Rfo/Rfk* と同様に PPR タンパク質をコードする事が明らかにされた (Kazama and Toriyama, 2003, Komori *et al.*, 2004, Akagi *et al.*, 2004)。RF1 はミトコンドリアに局在し、前述の通り、その存在下では *B-atp6-orf79* mRNA がプロセッシングを受け、*B-atp6* 領域と *orf79* 領域に分断される (Iwabuchi *et al.*, 1993, Kazama and Toriyama, 2003, Wang *et al.*, 2006) (図4)。また、プロセッシングを受けた *orf79* mRNA はプロセッシングを受けていない *B-atp6-orf79* mRNA よりもポリソームに取り込まれる効率が低下する事が分かっている (Kazama *et al.*, 2008)。よって、ORF79 の翻訳効率が低下し、ミトコンドリアへの蓄積が抑制されると考えられている。さらに、RF1 が *B-atp6* と *orf79* の遺伝子間領域の配列に直接結合する事が *in vitro* で示されている (Kazama *et al.*, 2008)。

Rf1 の他にも BT 型 CMS に対して効果的な *Rf* 遺伝子が存在しており、稔性回復系統「Minghui63」に由来する *Rf1b* が単離されている (Wang *et al.*, 2006)。*Rf1b* は、*Rf1* と同様にミトコンドリア局在の PPR タンパク質をコードしていた (Wang *et al.*, 2006)。また、RF1b は RF1 とアミノ酸レベルで約 70% の相同性を示すが、RF1 と異なり、*B-atp6-orf79* mRNA のプロセッシングではなく分解を誘導する事で、ORF79 の蓄積を抑制する事が示唆された (Wang *et al.*, 2006)。

LD 型 CMS は、ビルマ品種「Lead Rice」の細胞質を持ち、稔性回復遺伝子 *Rf2* が作用する事で稔性が回復する (渡辺ら 1968, 新城ら 1974)。最近、*Rf2* もマップベースクローニング法により単離され、glycine-rich domain を持つ glycine-rich protein (GRP) をコードする事が明らかにされた (Itabashi *et al.*, 2011)。細胞内局在を調べた結果、RF2 はミトコンドリアに局在する事が分かり (Itabashi *et al.*, 2011)、既報の *Rf* 因子と同様に、CMS 関連遺伝子の発現制御に関与する可能性が考えられた。*Rf* 遺伝子の機能を考察する上で、標的となる CMS 関連遺伝子に対する作用を調べる事は有効であるが、LD 型の CMS 関連遺伝子は同定されていない。しかし、*Rf2* は LD 型 CMS だけではなく、BT 型 CMS に対しても弱い稔性回復効果を持つ事が示されており (新城ら 1974)、*Rf2* 存在下の BT 型細胞質においては、*B-atp6-orf79* の mRNA 量、ORF79 の蓄積量が減少していた (板橋と鳥山, 2009)。GRP の中には核酸に結合するタイプのものが存在しており、N 末端側に RNA recognition motif (RRM) を、C 末端側にグリシンリッチな領域 (glycine-rich domain) を持つという共通の特徴を持っている (Sachetto-Martins *et al.*, 2000)。*B-atp6-orf79* の発現制御に関与すると考えられる事から、RF2 は核酸結合型の GRP である可能性が考えられたが、RF2 の構造内に RRM をはじめ既知の RNA 結合モチーフは見つかっていない。よって、RF2 は PPR タンパク質の様に CMS 関連遺伝子の mRNA に直接結合しない可能性が高い。GRP は glycine-rich domain を介して他のタンパク質や高分子と相互作用すると考えられており (Sachetto-Martins *et al.*, 2000)、RF2 が核酸結合型の他の因子と複合体を形成して協調的に作用する可能性が考えられる。しかし、そのような因子は今のところ同定されていない。

トウモロコシの *Rf2* の例を除くと、*Rf* 遺伝子は CMS 関連遺伝子の発現を抑制するタイプのものが多い。それに対し、CW 型 CMS イネの *Rf* 遺伝子 *Rf17* は、まったく新しいタイプの *Rf* 因子として単離された。*Rf17* は acyl-carrier protein synthase ドメインの一部を持つ機能不明のタンパク質をコードしていた (Fujii and Toriyama, 2009)。*Rf17* (稔性回復系統側のアリルとする) と *rf17* (CMS 系統側のアリルとする) の間に、アミノ酸の置換を伴う塩基多型は見られなかったが、プロモーター領域に一塩基の多型が存在しており、*rf17* アリルに比べて *Rf17* アリルの発現が低下する事が分かった (Fujii and Toriyama, 2009) (図5)。さらに、CMS 系統における *rf17* の発現を RNAi 法でノックダウンさせると稔性が回復する事が示された (Fujii and Toriyama, 2009)。よって、CW 型 CMS においては、*rf17* の発現が不稔性を引き起こし、その発現抑制が稔性回復をもたらすと考えられた。また、*rf17* の発現量は細胞質の違いも反映しており、正常型細胞質では低い発現レベルを保っている (図5)。以上の事から、CW 型 CMS 系統では、細胞質において生じたミトコンドリアとの不和合のシグナルが核に伝わり、*rf17* の発現が増加して不稔性が引き起こされるが、*Rf* 遺伝子座が *Rf17* 型アリルだった場合は、そのシグナルが無視されるため可稔となる、というモデルが提唱された (Fujii and Toriyama, 2009)。

イネにおいては既に複数のタイプの *Rf* 遺伝子が単離されており、CMS の稔性回復機構の解明に向けて、少しずつ前進していると言える。この他にも、様々な *Rf* 遺伝子のマップベースクローニングが進行中であり、その例を以下に記す。ハイブリッドライスの作出に広く利用されている WA 型 CMS は野生イネの雄性不稔株に由来しており、2つの *Rf* 遺伝子、*Rf3* および *Rf4* がそれぞれ第1染色体、第10染色体に座乗する事が分かっている (Yao *et al.*, 1997, Zhang *et al.*, 1997, Ahmadikhah and Karlov, 2006)。HL 型 CMS に対する *Rf5* お

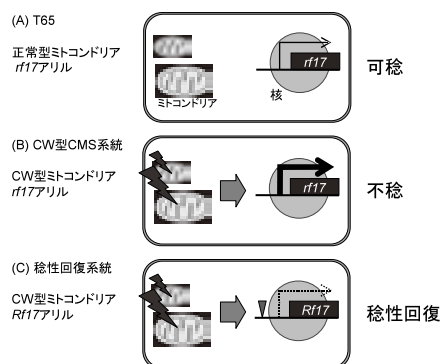


図5 *Rf17/rf17*によるCW型CMSの花粉稔性制御のモデル図。(A, B)CW型CMS系統では、T65と同様に *Rf* 遺伝子座は *rf17*型アリルであるが、T65に比べて *rf17* の発現量が有意に増加する。(C) *Rf* 遺伝子座が *Rf17* 型アリルの場合、*Rf17* の発現量の増加は見られない。これらの事は、*Rf17* (*rf17*) の発現レベルに関して、細胞質の違いを反映するミトコンドリアからのシグナルを仮定する事で説明ができる。(C)において、CW型ミトコンドリアを背景に持っても *Rf17* アリルの発現の増加が抑制されるのは、プロモーター領域に存在する一塩基多型(三角)の影響である。

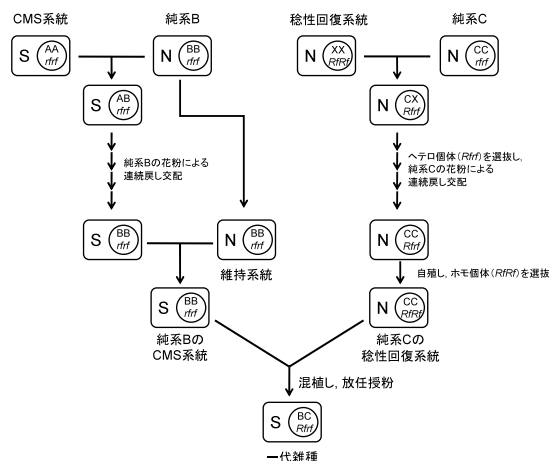


図6 細胞質雄性不稔性を利用した一代雑種育種法。二つの純系BとCとのF₁が一代雑種品種となる場合、Bについて雄性不稔系統とその維持系統を、Cについては稔性回復遺伝子 *Rf* を有する稔性回復系統を育成する。雄性不稔系統はCMS型の細胞質をもつ以外は、維持系統と同じ同質遺伝子系統である。育成した純系Bの雄性不稔系統と純系Cの稔性回復系統を混植し、採種を行う。CMS型の細胞質を[S]、正常型の細胞質を[N]と示す。

よび *Rf6(t)*、さらに、D1型CMSに対する *Rf-DI(t)* はいずれも第10染色体に遺伝子座が絞込まれている (Liu *et al.*, 2004, Tan *et al.*, 2004)。今後単離されるであろう、これらの *Rf* 遺伝子の解析結果を合わせて包括的に眺める事で、CMS機構の全体像の解明が近づく事を期待したい。

4. 育種への利用

F₁雑種個体は、しばしば生長、繁殖性等で生活力が増すことがある。この現象はヘテロシス(雑種強勢)と呼ばれており、このヘテロシスを利用して、栄養体や種実の生産性の向上をはかる手法が一代雑種育種である。一代雑種育種はトウモロコシ、ソルガム等で大きな成果をあげ、野菜などの他殖性作物では広く行われている。

一代雑種育種では、素材集団の中から、生育、熟期、病害抵抗性、ストレス耐性等の育種目標にかなった近交系を作成し、近交系統間で、組合せ能力(交雑した際に優れた雑種を生み出す能力)を検定し、育種目標にかなったF₁雑種を作出する両親系統を選抜する。F₁品種の採種においては、両親系統間の交配が必要で、かつ自殖種子の混入を防ぐ必要がある。トウモロコシの初期の育種では、農業労働者の手作業により母株の雄ずいを除いていたが、労力とコストがかかることから、遺伝的に正常な花粉を生産しない雄性不稔性の植物が母株として用いられるようになった。雄性不稔性を用いたF₁雑種の作成は、自殖性植物、特に、両性花で小さな穎の中に雄ずいと雌ずいが共存しており、除雄が困難なイネ等には効果的である。一方、他殖性植物では、自家不和合性等の他殖性植物が本来有する機構を利用することで、F₁雑種の採種を行うことができる (Fujimoto and Nishio, 2007, 藤本ら, 2011)。

雄性不稔性には、不稔性に核遺伝子だけが関与する核遺伝子

型雄性不稔性(Nuclear genic male sterility; GMS)と細胞質が関与するCMSがある。GMSの多くは劣性変異(*ms ms*)によることが多いため、母株を用意するには、雄性不稔性個体(*ms ms*)に可稔性ヘテロ接合体(*Ms ms*)を交配した後代から得るか、あるいは、可稔性ヘテロ接合体(*Ms ms*)の自殖後代から得る必要がある。その際、後代の分離集団の中から雄性不稔性個体(*ms ms*)を選抜する必要があり、手間と労力がかかるため一般的には使われていない。ただし、一部のGMSは日長や温度等の環境条件により雄性不稔性が回復するため、このような環境感応性GMSはF₁雑種の採種に利用できる可能性が示唆されている。一方、CMSを利用したF₁雑種の採種は既に幾つかの作物で実用化されている。F₁雑種の採種には、CMS系統を母株に用い、CMS系統の維持は、維持系統と交配することで行う。イネなどの種子が生産の対象となる作物においては、雄性不稔系統、維持系統に加え、F₁雑種の植物の稔性を回復させる(*Rf*遺伝子を有する)稔性回復系統の三種の系統が必要である。しかし、野菜のように栄養体を生産の対象とする作物では稔性回復系統を育成する必要はない。

5. おわりに

CMSは150種以上もの植物において報告されており、この事は、植物の雄性生殖器官の発達における核-ミトコンドリア間の相互作用の重要性が普遍的である事を示唆している。植物はどのようにして、CMS/*Rf*の様なミトコンドリアと核の相互の制御システムをここまで進化させてきたのか非常に興味深い。PPR遺伝子は植物において大きな遺伝子ファミリーを形成しており、進化の過程でその数を膨大に増やしてきた (Small and Peeters, 2000, Lurin *et al.*, 2004)。本総説内でも述べた様に、これまでに報告されている *Rf* 遺伝子は、CMS関連遺伝子の発現を抑制するタイプのものが多い。CMS関連遺伝子産物がミトコンドリアに蓄積し、何らかの障害が起こってから対処するよりも、遺伝子発現のレベルで制御する方が、エネルギー効率が良いのかもしれない。この事は、CMSを示すミトコンドリアが *Rf* 遺伝子と共に進化する過程で、PPR遺伝子を *Rf* 遺伝子として採用するメリットの一つかもしれない。

近年の、シークエンス解析技術の著しい発展により、未同定のCMS関連遺伝子や *Rf* 遺伝子の同定のスピードが上がる事が期待されている。イネのCW型CMS系統とLD型CMS系統において、ミトコンドリアゲノムの塩基配列が既に解読されている (Fujii *et al.*, 2010b)。それぞれの細胞質において、正常型細胞質には見られない様な特有の *orf* がいくつか見出されており、その中にCMS関連遺伝子が含まれる可能性が十分考えられる。複数のCMS関連遺伝子が、複数の *Rf* 遺伝子のアレルの比較を行う事で、CMS型ミトコンドリアと *Rf* 遺伝子の進化といった観点から、新たな知見が蓄積されていこう。

謝辞

本原稿の作成において、貴重な助言を頂きました風間智彦博士と藤井壯太博士に深く感謝いたします。

引用文献

Ahmadikhah, A. and G. I. Karlov. 2006. Molecular mapping of the fertility-restoration gene *Rf4* for WA-cytoplasmic

- male sterility in rice. *Plant Breeding*, **125**: 363-367.
- Akagi, H., M. Sakamoto, C. Shinjyo, H. Shimada and T. Fujimura. 1994. A unique sequence located downstream from the rice mitochondrial *atp6* may cause male sterility. *Curr. Genet.*, **25**: 52-58.
- Akagi, H., A. Nakamura, Y. Yokozeki-Misono, A. Inagaki, H. Takahashi, K. Mori and T. Fujimura. 2004. Positional cloning of the rice *Rf-1* gene, a restorer of BT-type cytoplasmic male sterility that encodes a mitochondria-targeting PPR protein. *Theor. Appl. Genet.*, **108**: 1449-1457.
- Bentolila, S., A. Alfonso and M. R. Hanson. 2002. A pentatricopeptide repeat-containing gene restores fertility to cytoplasmic male-sterile plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**: 10887-10892.
- Bonhomme, S., F. Budar, D. Lancelin, I. Small, M. C. Defrance and G. Pelletier. 1992. Sequence and transcript analysis of the *Nco2.5* Ogura-specific fragment correlated with cytoplasmic male sterility in *Brassica* hybrids. *Mol. Gen. Genet.*, **235**: 340-348.
- Brown, G. G., N. Formanova, H. Jin, R. Wargachuk, C. Dendy, P. Patil, M. Laforest, J. Zhang, W. Y. Cheung and B. S. Landry. 2003. The radish *Rfo* restorer gene of Ogura cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats. *Plant J.*, **35**: 262-272.
- Chase, C. D. 2007. Cytoplasmic male sterility: a window to the world of plant mitochondrial-nuclear interactions. *Trends Genet.*, **23**: 81-90.
- Cui, X., R. P. Wise and P. S. Schnable. 1996. The *rf2* nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. *Science*, **272**: 1334-1336.
- Dewey, R. E., D. H. Timothy and C. S. 3rd. Levings. 1987. A mitochondrial protein associated with cytoplasmic male sterility in the T cytoplasm of maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**: 5374-5378.
- Fujii, S., T. Kazama and K. Toriyama. 2008. Molecular studies on cytoplasmic male sterility-associated genes and restorer genes in rice. *Rice Biology in Genomics Era, Biotechnology in Agriculture and Forestry*, **62**: 205-215.
- Fujii, S. and K. Toriyama. 2009. Suppressed expression of *RETROGRADE-REGULATED MALE STERILITY* restores pollen fertility in cytoplasmic male sterile rice plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**: 9513-9518.
- Fujii, S., M. Yamada, M. Fujita, E. Itabashi, K. Hamada, K. Yano, N. Kurata and K. Toriyama. 2010a. Cytoplasmic nuclear genomic barriers in rice pollen development revealed by comparison of global gene expression profiles among five independent cytoplasmic male sterile lines. *Plant Cell Physiol.*, **51**: 610-620.
- Fujii, S., T. Kazama, M. Yamada and K. Toriyama. 2010b. Discovery of global genomic re-organization based on comparison of two newly sequenced rice mitochondrial genomes with cytoplasmic male sterility-related genes. *BMC Genomics*, **11**: 209-223.
- Fujimoto, R. and T. Nishio. 2007. Self-incompatibility. *Adv. Bot. Res.*, **45**: 139-154.
- 藤本龍・川辺隆大・佐々木卓・岡崎桂一. 2011. アブラナ科植物の雄性側の自家不和合性決定遺伝子の優劣性について. *新大農研報*, **64**: 17-25.
- Hanson, M. R. and S. Bentolila. 2004. Interaction of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. *Plant Cell*, **16**: S154-S169.
- 板橋悦子・鳥山欽哉. 2009. インディカ品種 Kasalath 由来の BT 型 CMS に対する稔性回復遺伝子の解析. *日本育種学会誌*, **11(別2)**: 389.
- Itabashi, E., N. Iwata, S. Fujii, T. Kazama and K. Toriyama. 2011. The fertility restorer gene, *Rf2*, for Lead Rice-type cytoplasmic male sterility of rice encodes a mitochondrial glycine-rich protein. *Plant J.*, **65**: 359-367.
- Iwabuchi, M., J. Kyojuka and Shimamoto K. 1993. Processing followed by complete editing of an altered mitochondrial *atp6* RNA restores fertility of cytoplasmic male sterile rice. *EMBO J.*, **12**: 1437-1446.
- Iwabuchi, M., N. Koizuka, H. Fujimoto, T. Sakai and J. Imamura. 1999. Identification and expression of the kosen radish (*Raphanus sativus* cv. Kosen) homologue of the ogura radish CMS-associated gene, *orf138*. *Plant Mol. Biol.*, **39**: 183-188.
- Kadowaki, K., T. Suzuki and S. Kazama. 1990. A chimeric gene containing the 5' portion of *atp6* is associated with cytoplasmic male-sterility of rice. *Mol. Gen. Genet.*, **224**: 10-16.
- Kazama, T. and K. Toriyama. 2003. A penpatricopeptide repeat-containing gene that promotes the processing of aberrant *atp6* RNA of cytoplasmic male sterile-rice. *FEBS Lett.*, **544**: 99-102.
- Kazama, T., T. Nakamura, M. Watanabe, M. Sugita and K. Toriyama. 2008. Suppression mechanism of mitochondrial ORF79 accumulation by *Rf1* protein in BT-type cytoplasmic male sterile rice. *Plant J.*, **55**: 619-628.
- Kinoshita, T. 1997. Gene symbols and information on male sterility. *Rice Genet. Newsl.*, **14**: 13-22.
- Koizuka, N., R. Imai, H. Fujimoto, K. Hayakawa, Y. Kimura, J. Kohno-Murase, T. Sakai, S. Kawasaki and J. Imamura. 2003. Genetic characterization of a pentatricopeptide repeat protein gene, *orf687*, that restores fertility in the cytoplasmic male-sterile Kosen radish. *Plant J.*, **34**: 407-415.
- Kojima, H., T. Kazama, S. Fujii and K. Toriyama. 2010. Cytoplasmic male sterility-associated ORF79 is toxic to plant regeneration when expressed with mitochondrial targeting sequence of ATPase gamma subunit. *Plant Biotechnol.*, **27**: 111-114.
- Komori, T., S. Ohta, N. Murai, Y. Takakura, Y. Kuraya, S. Suzuki, Y. Hiei, H. Imaseki and N. Nitta. 2004. Map-based cloning of a fertility restorer gene, *Rf-1* in rice (*Oryza sativa* L.) *Plant J.*, **37**: 315-325.
- Krishnasamy, S. and C. A. Makaroff. 1994. Organ-specific reduction in the abundance of a mitochondrial protein accompanies fertility restoration in cytoplasmic male-sterile radish. *Plant Mol. Biol.*, **26**: 935-946.
- 久保友彦・松平洋明・北崎一義・亀井陽子・三上哲夫. 2008.

- ユニークな遺伝子を採用したテンサイ稔性回復メカニズム. *日本育種学会誌*, **10**(別2): 30.
- Liu, F., X. Cui, H. T. Horner, H. Weiner and P. S. Schnable. 2001. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity is required for male fertility in maize. *Plant Cell*, **13**: 1063-1078.
- Liu, X. Q., X. Xu, Y. P. Tan, S. Q. Li, J. Hu, J. Y. Huang, D.C. Yang, Y. S. Li and Y. G. Zhu. 2004. Inheritance and molecular mapping of two fertility-restoring loci for Honglian gametophytic cytoplasmic male sterility in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Genet. Genomics*, **271**: 586-594.
- Lurin, C., C. Andres, S. Aubourg, M. Bellaoui, F. Bitton, C. Bruyere, M. Caboche, C. Debast, J. Gualberto, B. Hoffmann, A. Lechamy, M. Le Ret, M. L. Martin-Magniette, H. Mireau, N. Peeters, J. P. Renou, B. Szurek, L. Taconnat and I. Small. 2004. Genome-wide analysis of *Arabidopsis* pentatricopeptide repeat proteins reveals their essential role in organelle biogenesis. *Plant Cell*, **16**: 2089-2103.
- Nivison, H. T., C. A. Sutton, R. K. Wilson and M. R. Hanson. 1994. Sequencing, processing, and localization of the petunia CMS-associated mitochondrial protein. *Plant J.*, **5**: 613-623.
- Notsu, Y., S. Masood, T. Nishikawa, N. Kubo, G. Akiduki, M. Nakazono and K. Kadowaki. 2002. The complete sequence of the rice (*Oryza sativa* L.) mitochondrial genome: frequent DNA sequence acquisition and loss during the evolution of flowering plants. *Mol. Genet. Genomics*, **268**: 434-445.
- Sabar, M., D. Gagliardi, J. Balk and C. J. Leaver. 2003. ORFB is a subunit of F1F0-ATP synthase: insight into the basis of cytoplasmic male sterility in sunflower. *EMBO Rep.*, **4**: 381-386.
- Sachetto-Martins, G., L. O. Franco and D. E. de Oliveira. 2000. Plant glycine-rich proteins: a family or just proteins with a common motif? *Biochimica et Biophysica Acta-Genes Structure and Expression*, **1492**: 1-14.
- Satoh, M., T. Kubo, S. Nishizawa, A. Estiati, N. Itchoda and T. Mikami. 2004. The cytoplasmic male-sterile type and normal type mitochondrial genomes of sugar beet share the same complement of genes of known function but differ in the content of expressed ORFs. *Mol. Gen. Genomics*, **272**: 247-256.
- Schnable, P. S. and R. P. Wise. 1998. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends Plant Sci.*, **3**: 175-180.
- Shinjyo, C. 1969. Cytoplasmic-genetic male sterility in cultivated rice, *Oryza sativa* L.. *Japan J. Genet.*, **44**: 149-156.
- Shinjyo, C. 1975. Genetical studies of cytoplasmic male sterility and fertility reatoration in rice, *Oryza sativa* L. *Sci. Bull. Coll. Agric. Univ. Ryukyuu*, **22**: 1-57.
- 新城長有 1992. イネの稔性回復遺伝子 *Rf-2* の連鎖分析. *育種学研究*, **42**: 156-157.
- 新城長有・西銘龍蔵・渡辺好郎. 1974. Lead Rice 細胞質中における稔性回復遺伝子 *Rfx* と *Rf* の遺伝 (予報). *育種学研究*, **24**: 130-131.
- Small, I. and N. Peeters. 2000. The PPR motif-a TPR-related motif prevalent in plant organellar proteins. *Trends Biochem. Sci.*, **25**: 46-47.
- Tan, X. L., Y. L. Tan, Y. H. Zhao, X. M. Zhang, R. K. Hong, S. L. Jin, X. R. Liu and D. J. Huang. 2004. Identification of the *Rf* gene conferring fertility restoration of the CMS Dian-type 1 in rice by using simple sequence repeat markers and advanced inbred lines of restorer and maintainer. *Plant Breeding*, **123**: 338-341.
- Uyttewaal, M., N. Arnal, M. Quadrado, A. Martin-Canadell, N. Vrielynck, S. Hiard, H. Gherbi, A. Bendahmane, F. Budar and H. Mireau. 2008. Characterization of *Raphanus sativus* pentatricopeptide repeat proteins encoded by the fertility restorer locus for Ogura cytoplasmic male sterility. *Plant Cell*, **20**: 3331-3345.
- Wang, Z., Y. Zou, X. Li, Q. Zang, L. Chen, H. Wu, D. Su, Y. Chen, J. Guo, D. Luo, Y. Long, Y. Zhong and Y-G. Liu. 2006. Cytoplasmic male sterility of rice with Boro II cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing. *Plant Cell*, **18**: 676-687.
- 渡辺好郎・坂口進・工藤政明. 1968. ビルマ稲 Lead Rice の細胞質を有する雄性不稔生について. *育種学研究*, **18**: 77-78.
- Wise, R. P., A. E. Fliss, D. R. Pring and B. G. Gengenbach. 1987. *urf13-T* of T cytoplasm maize mitochondria encodes a 13 kD polypeptide. *Plant Mol. Biol.*, **9**: 121-126.
- Wise, R. P., L. D. Carren and S. S. Patrick. 1996. Mutator-induced mutatuins of the *rfl* nuclear fertility restorer of T-cytoplasm maize alter the accumulation of T-*urf13* mitochondrial transcripts. *Genetics*, **143**: 1383-1394.
- Yamamoto, M. P., T. Kubo and T. Mikami. 2005. The 5'-leader sequence of sugar beet mitochondrial *atp6* encodes a novel polypeptide that is characteristic of Owen cytoplasmic male sterility. *Mol. Gen. Genomics*, **273**: 342-349.
- Yao, F. Y., C. G. Xu, S. B. Yu, J. X. Li, Y. J. Gao, X. H. Li and Q. Zhang. 1997. Mapping and genetic analysis of two fertility restorer loci in the wild-abortive cytoplasmic male sterility system of rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, **98**: 183-187.
- Yi, P., L. Wang, Q. Sun and Y. Zhu. 2002. Discovery of mitochondrial chimeric-gene associated with cytoplasmic male sterility of HL-rice. *Chinese Science Bulletin*, **47**: 906-909.
- Zhang, G., T. S. Bharaji, Y. Lu, S. S. Virmani and N. Huang. 1997. Mapping of *Rf-3* nuclear fertility-restoring gene for WA cytoplasmic male sterility in rice using RAPD and RFLP markers. *Theor. Appl. Genet.*, **94**: 27-33.
- Zhang, H., S. Li, P. Yi, W. Cuixiang, C. Zuyu and Z. Yingguo. 2007. A Honglian CMS line of rice displays aberrant F₀ of F₀F₁-ATPase. *Plant Cell Rep.*, **26**: 1065-1071.

Cytoplasmic Male Sterility and Control of Fertility by a Nuclear-encoded Gene in Plants

Etsuko ITABASHI¹, Takahiro KAWANABE² and Ryo FUJIMOTO^{3*}

(Received January 11, 2012)

Summary

Cytoplasmic male sterility (CMS) is a maternally inherited trait that results in the inability to produce functional pollen and is often associated with an unusual open reading frame found in mitochondrial genome. In many CMS lines, pollen fertility is restored by a nuclear-encoded fertility restorer (*Rf*) gene. CMS and its fertility restoration are agriculturally important phenomena because the combination of CMS line, a CMS maintainer line and a restorer line carrying the *Rf* gene can be utilized in the F₁ hybrid breeding. Most of *Rf* genes that have been identified encode mitochondrial pentatricopeptide repeat (PPR) protein and repress the expression of mRNAs or proteins derived from a CMS-associated mitochondrial gene.

Bull. Facul. Agric. Niigata Univ., 64(2):135-142, 2012

Key words : Cytoplasmic male sterility, mitochondria, fertility restorer gene, F₁ hybrid breeding

¹ University of Melbourne

² Watanabe Seed Co., Ltd.

³ Graduate School of Science and Technology, Niigata University