

CRISPR-Cas9によるOsDREB1Cのノックアップは、穀粒の品質を損なうことなくイネの収量を向上させる

文献情報

論文名: CRISPR-Cas9-mediated knockup of OsDREB1C enhances rice yield without compromising grain quality

著者: Guanqi Wang, Qunen Liu, Yue Zhang, Xihong Shen, Guzi Li, Daibo Chen, Yongbo Hong, Weixun Wu, Shihua Cheng, Guoyou Ye, Gang Pan, Liyong Cao

ジャーナル: Plant Communications 6, 101433, October 13 2025

<https://doi.org/10.1016/j.xplc.2025.101433>

ゲノム編集技術は特定の遺伝子配列に精密かつ効率的に変異を導入して、ノックアウトやノックダウンにより形質を変化させてきた。近年、ゲノム編集技術を用いて遺伝子発現を向上されるという報告があり、今後の育種的利用を広げるものであり、今回紹介する論文もその一つである。

概要

本研究は、イネの収量向上遺伝子 OsDREB1C (Os06g0127100) の発現を、CRISPR-Cas9によるゲノム反転 (inversion) を利用して「knockup」し、収量を高めつつ玄米品質を損なわないことを示したものである。まず、OsDREB1C から約 209 kb 離れ、同じ第 6 染色体上で逆向きに位置するヒストン H1 遺伝子 OsH1 (Os06g0130800) に着目し、データベース解析とノックアウト株の表現型評価から、OsH1 が機能冗長で農業形質への影響が乏しい「ドナー側プロモーター」として利用可能であることを確認した。出穂前段階の発現解析では、OsDREB1C と OsH1 はいずれも広く発現するが、OsH1 の発現量が OsDREB1C より著しく高いことから、両者の 5'UTR 付近に sgRNA を設計し、その間のゲノム断片を反転させてプロモーターを入れ替える戦略を構築した。

プロトプラストおよびカルスに CRISPR-Cas9 を導入後、OsDREB1C-OsH1 間の反転イベントが PCR とシーケンスで検証され、165 個の形質転換カルス中 10 個 (6.06%) で反転陽性となり、そこから得た T₀ 世代 180 個体のうち 78 個体 (43.33%) が反転陽性であった。さらに複数のプライマーセットを用いた PCR で、外来遺伝子である Cas9 およびハイグロマイシン耐性遺伝子が検出されないホモ接合反転個体を選抜した 3 系統 (INV-L1~L3) の T₂ 世代について詳細解析を行った。T₂ ホモ反転個体では、登熟期の止葉における OsDREB1C 発現が野生型および空ベクター対照の少なくとも 10 倍に上昇し、一方で OsH1 発現は約 0.21% まで低下したが、両

遺伝子周辺の隣接遺伝子の発現には顕著な変化が認められなかったことから、プロモーター入れ替えが標的遺伝子に比較的特異的に作用していると考えられた。

杭州の水田圃場で実施した T₂ 世代の形質評価では、INV-L1～L3 において、穂

数、穂あたり粒数、稔実率、千粒重、収穫指数に加え、粒長および粒重が向上し、野生型および空ベクター対照 (EV) と比較して 1 株あたり収量が 21～28.33%、区画あたり収量が約 14.97% 増加したにもかかわらず、栽培適性や生育形質に明確な負の影響は認められなかった。さらに、精米・玄米の外観や品質指標 (粒形、千粒重以外の品質項目) は低下せず、T₃ 世代の海南省瓊海市陵水試験でも同様の収量増加が再現されたことから、本反転アレルの効果と安定性が裏付けられた。

従来のトランスジェニック育種が外来遺伝子のランダム挿入に伴う位置効果や予期せぬ変異を招きうるのに対し、本研究のように CRISPR-Cas9 で内在遺伝子間の標的的反転を誘導し、高発現プロモーターを収量関連遺伝子に「スワップ」することで、野生型の背景のまま遺伝子発現を増強する新しいノックアップ戦略になりうると結論づけている。このアプローチは、機能冗長な遺伝子のプロモーターを活用しつつ、重要形質遺伝子の転写レベルを精密に引き上げる汎用的なゲノム編集育種技術として、他の作物やターゲット遺伝子への応用が期待される。

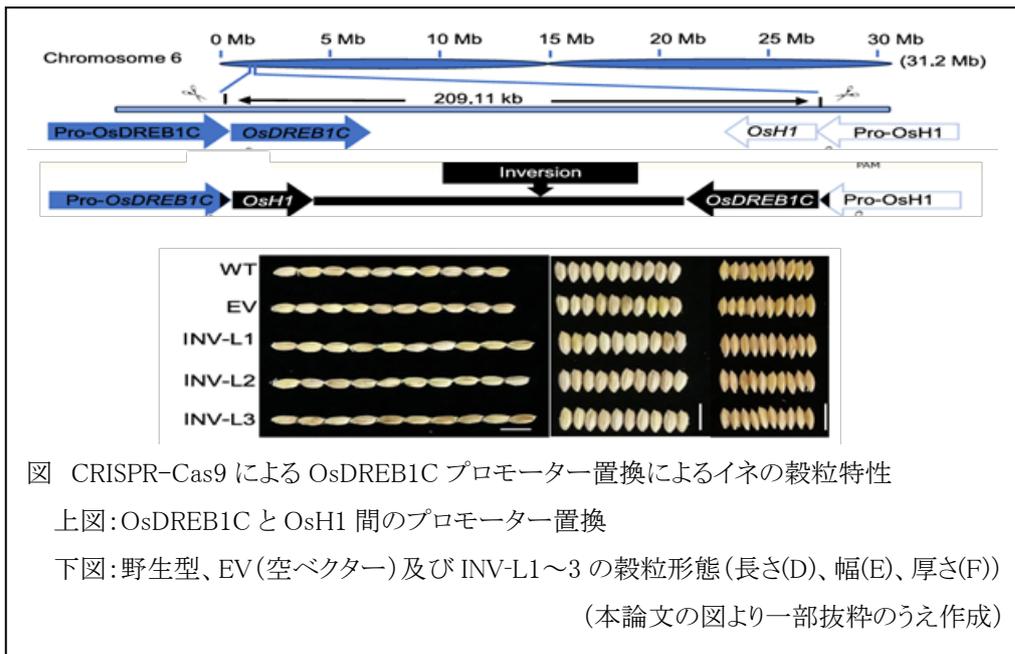


図 CRISPR-Cas9 による *OsDREB1C* プロモーター置換によるイネの穀粒特性

上図: *OsDREB1C* と *OsH1* 間のプロモーター置換

下図: 野生型、EV (空ベクター) 及び INV-L1～3 の穀粒形態 (長さ(D)、幅(E)、厚さ(F))

(本論文の図より一部抜粋のうえ作成)