

イネ品種 Rathu Heenati におけるトビイロウンカ抵抗性遺伝子のマッピング

孫立広¹⁾・蘇昌潮¹⁾・王春明¹⁾・翟虎渠²⁾・万建民^{1,2)}

(¹⁾南京農業大学・作物遺伝育種国家実験室, ²⁾中国農業科学院・作物科学研究所)

スリランカのイネ (*Oryza sativa* L.) *indica* 品種 Rathu Heenati は、トビイロウンカ (*Nilaparvata lugens* Stål) の4つのパイオタイプすべてに対して抵抗性であることが確認された。本研究において、我々は、Rathu Heenati と感受性品種 02428 の交配に由来する F₂ 集団を用いて連鎖地図を作製し、トビイロウンカ抵抗性の遺伝子座を同定した。156 の F_{2,3} 系統を用い、それらのトビイロウンカ抵抗性を検定することによって、対応する F₂ 個体の遺伝子型を推定した。QTL 解析の結果、3つの遺伝子座が、第3、第4、第10染色体上に検出された。これら3つの QTL の表

現型分散から、第4染色体上の QTL は Rathu Heenati のトビイロウンカ抵抗性における主働遺伝子であると認められた。連鎖分析の結果、このトビイロウンカ抵抗性遺伝子は第4染色体短腕上の2つの SSR マーカー、RM8213 と RM5953 の間に位置し、それらとの地図距離は 3.6 cM および 3.2 cM であった。暫定的に *Bph17* と名付けるこの遺伝子は、マーカー選抜育種によるトビイロウンカ抵抗性品種育成に有用であると考えられる。

Breeding Science 55: 391–396 (2005)

自殖性植物の2つの通常育種法である世代促進育種と半数体育種の効率を上げる手法としてのマーカー選抜の効果

米澤勝衛¹⁾・石井卓朗²⁾

(¹⁾京都産業大学・工学部, ²⁾茨城県農業研究センター)

自殖性植物の代表的育種法である世代促進育種と半数体育種に DNA マーカー選抜を組み込んだ場合の効果、成功確率(育種目標を満たす優良遺伝子型が獲得される確率)の増加量によって検討した。通常無選抜で経過する世代促進育種の F₂ と F₃ 世代にマーカー選抜を適用した場合、その効果は育種目標に関与する遺伝子(座)の総数と、そのうちのマーカー選抜が行える遺伝子の数に依存し、関与する遺伝子数が12以上でそのうちの数個以上についてマーカー選抜が可能な場合は成功確率が顕著に増加する。このような場合、F₂ と F₃ で供試する個体数が100くらいであっても、2000個体で無選抜で世代を進める通常の世代促進育種よりも成功確率が高い。マーカー選抜を組み込むことの効果は、優良形質遺伝子の間に相反連鎖があるほど大きく相引連鎖があるほど小さい。ほとんどの場合、共優性マーカーのほうが優性マーカーよりも有効であるが、関与する遺伝子数が少なくかつ優良形質遺伝子の多くが相引連鎖している場合

は、後者のほうが効果的である。共優性マーカーを数個以上使ってマーカー選抜を行う場合は、選抜するマーカー遺伝子型の範囲をある程度広げることが大切である。すなわち、最善のマーカー遺伝子型だけでなく部分的にヘテロな次善あるいは次々善のマーカー遺伝子型も選抜すべきである。使えるマーカーの数が多い場合は、各マーカーと形質遺伝子の連鎖は完全である必要はなく、両者の距離が10 cM くらいあってもマーカー選抜は有効である。マーカーで標識された優良形質遺伝子が相反連鎖している場合は、F₁ 個体から作った倍加半数体の中から望ましくない不要な個体を圃場テスト前の幼苗期に除去したり、交配後 F₂ まで進めた集団の中から倍加半数体の育成に適した個体を選抜するなどの場面でマーカー選抜を用いることによって、育種効率を向上させることができる。

Breeding Science 55: 397–407 (2005)

雑草イネと栽培イネ品種との雑種不稔性遺伝子のマッピング

朱 速松¹⁾・江 鈴¹⁾・王 春明¹⁾・翟 虎渠²⁾・李 丹亭¹⁾・万 建民^{1,2)}

(¹⁾南京農業大学・作物遺伝育種国家実験室, (²⁾中国農業科学院・作物科学研究所)

江蘇省に分布している雑草イネ櫛稻はインド型品種 IR36 と交雑するとその F₁ が半不稔性を現わす。本研究では IR36/櫛稻 //IR36 の戻し交雑集団を用いて、稲の 12 個の染色体に分布している 151 個の SSR マーカーを利用して、雑種不稔性と関係している遺伝子座を検出した。その結果、IR36/櫛稻の雑種不稔性は第 6 染色体の S-10 と第 3 染色体にある新しい遺伝子 S-30 (t) に

よることが明らかになった。S-30 (t) 遺伝子座では、IR36 は S-30i、櫛稻は S-30j の複対立遺伝子を持ち、S-30i/S-30j の遺伝子型では、S-30j を持つ配偶子が部分致死のため、半不稔性が現れる。一方、ジャワ型品種 Kctan Nangka は IR36 および櫛稻との F₁ は稔性であり、S-30n の広親和性遺伝子を持つことが推定された。

Breeding Science 55: 409–414 (2005)

SSR マーカーに基づくサクラ (*Prunus* subgenus *Cerasus*) の遺伝的変異

太田 智^{1,2,3)}・勝木俊雄⁴⁾・田中孝尚⁵⁾・林 建樹³⁾・佐藤洋一郎¹⁾・山本俊哉³⁾

(¹⁾岐阜大学大学院・連合農学研究科, (²⁾静岡大学・農学部, (³⁾果樹研究所, (⁴⁾森林総合研究所・多摩森林科学園, (⁵⁾東北大学大学院・生命科学研究科, (⁶⁾総合地球環境学研究所)

モモ、甘果オウトウおよび酸果オウトウで開発された SSR マーカーを用い、観賞用のサクラ (*Prunus* subgenus *Cerasus*) 15 分類群 144 個体の遺伝的変異を調査した。85 の SSR マーカーのうち 25 マーカー (29%) において、試した全てのサンプルで増幅がみられた。したがって、近縁種由来の SSR マーカーが、観賞用のサクラに利用可能であることが示された。一方、増幅のみられない SSR マーカーは 25 マーカーであった。解析に用いた 9 つの SSR 座について、対立遺伝子数 (n_a) および対立遺伝子の有効数 (n_e) を求めたところ、平均はそれぞれ 17.3 および 7.3 であった。また、9 つの SSR 座によって 2 個体を除く全ての個体が識別できた。モモおよびオウトウの栽培品種と比較したところ、野生のサクラは遺伝的変異に富んでいた。一方、各分類群

にみられた対立遺伝子数は、1.9–7.7 であったことから、各分類群が占める変異の割合は、サクラ亜属全体に対して小さいことが示された。SSR の解析結果から、144 個体の樹形図と 14 分類群の樹形図を作成した。その結果、多くの分類群は、それぞれの属する節にまとまった。マメザクラ節の 4 つの分類群は近縁となった。チョウジザクラ節の 2 つの分類群も近縁であった。ミヤマザクラとエドヒガンは、他の日本産の分類群とは遠縁となった。これらの結果は、形態的な分類とよく一致していた。本研究により、近縁種由来の SSR マーカーは、観賞用のサクラにおける遺伝的変異の評価や分類に有効であることが示唆された。

Breeding Science 55: 415–424 (2005)

栽培イネ *Oryza sativa* のジャポニカ亜種とインディカ亜種の分子細胞学的多様性

中山繁樹

(農業生物資源研究所)

栽培イネ *Oryza sativa* の分子細胞学的な多様性を明らかにするためにジャポニカとインディカの両方の亜種を含む 16 系統に対してタンデム型反復配列 *Os48* を用いた蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) を行った。*O. sativa* 種内の多様性は可視化された遺伝子座である FISH シグナルの数の違いによって評価した。可視化された *Os48* 遺伝子座数はジャポニカ亜種の系統間では 2–3 個で変異が小さかったが、インディカ亜種の系統間では 4–7 個と大きな変異を示した。このような違いは *O. sativa* 種内の染色体構造の違いを反映しており、ジャポニカ

亜種系統間の細胞学的な多様性がインディカ亜種系統間の多様性より小さいことを示している。さらに、*Os48* と rDNA の 2 種類の配列を用いた二色 FISH により、これらの遺伝子座の位置関係がジャポニカ亜種とインディカ亜種の間で大きく異なり、これらの亜種内で染色体の構造が明瞭に異なることも明らかにした。FISH 法により明らかになった亜種内の細胞遺伝学的な多様性の違いと亜種間の染色体構造の違いは、栽培イネ *O. sativa* の栽培化について重要な示唆を与える。

Breeding Science 55: 425–430 (2005)

RFLP に基づく栽培イネ多様性研究遺伝資源セットの構築

小島洋一朗^{1,2)}・江花薫子¹⁾・福岡修一¹⁾・長峰 司^{1,3)}・河瀬真琴¹⁾

(¹⁾農業生物資源研究所, ²⁾富山県農業試験場, ³⁾近畿中国四国農業研究センター)

アジア栽培イネ (*Oryza sativa* L.) 種内の多様性を明らかにするための研究材料として、イネ多様性研究遺伝資源セット Rice Diversity Research Set of Germplasm (RDRS) を作成した。農業生物資源研究所ジーンバンクの栽培イネアクセッションからパスポートデータに基づいて選んだ 332 品種について、179 座の RFLP マーカー変異を調査し、クラスター解析結果をもとに 19ヶ国原産の 69 品種からなる品種セットを選抜した。用いた品種

は、日本型イネ 1 グループ、インド型イネ 2 グループの 3 群に大きく分けられた。選んだ 69 品種は、332 品種で検出された RFLP 変異の 91% を含み、一次形質についても母集団の変異を含んでいた。この研究用セットは、栽培イネにおける形質の多様性の把握や、詳細な解析に利用しうる。

Breeding Science 55: 431–440 (2005)

四国山地西部のダイズ地域品種の遺伝的変異

Nguyen Van Huan・杉本秀樹・原田 光

(愛媛大学・農学部)

四国山地西部の愛媛県および高知県にまたがる 37 の地域の農家からダイズの地域品種を 54 系統収集し、RAPD マーカーを用いて遺伝的変異の解析を行った。これらには黄色種皮のものが 25 系統、黒色種皮のものが 19 系統 (2 系統の茶色種皮のものを含む) および緑色種皮のものが 10 系統含まれた。21 種類のランダムプライマーを用いて解析したところ、138 本のバンドが得られ、そのうち 68 本 (49.3%) のバンドが多型性を示した。黄色、黒色および緑色系統それぞれの系統内遺伝的距離は 0.114 ± 0.0273 , 0.0969 ± 0.0333 および 0.0840 ± 0.0309 となり、これらの間の違いは統計的に有意 ($P < 0.01$) であった。また全体の平均は 0.114 ± 0.0336 となった。遺伝子多様度についても同様に計算し、3 種皮系統間の遺伝的分化の指数、 G_{ST} を求めたところ 0.174 となり、種皮系統間で大きな遺伝的分化が生じていることが示された。遺伝的距離にもとづいて近隣接合 (NJ) 系統樹を作

成したところ、主に黄色および黒色種皮系統からなる 2 つのクラスターと、黄色、黒色および緑色種皮の混合した 1 つのクラスターの合計 3 つのクラスターが認められた。ただしこの樹形に対するブートストラップ値は低いものであった。非常に小さな遺伝的距離を示す同色種皮系統の組がいくつか見出されたが、系統間の遺伝的距離と地理的距離の間には明確な関係は見られなかった。これらのダイズの地域品種は焼畑作物として地域環境の中で育成されてきたものであるが、全体として比較的大きな遺伝的変異を保有することが示された。種皮による単系統性が示されなかったことから、同一種皮でも起源の異なる種皮系統が存在し、またそれらの間でしばしば交雑が起こったことが示唆される。

Breeding Science 55: 441–446 (2005)

コムギ脱共役タンパク質 UCP のミトコンドリアへのタンパク質輸送主要シグナルは中央領域に存在するが、両端領域にも輸送能力がある

村山誠治¹⁾・半田裕一^{2,3)}

(¹⁾北海道農業研究センター, ²⁾農業生物資源研究所, ³⁾筑波大学大学院・生命環境科学研究科)

ミトコンドリア脱共役タンパク質 (UCP) のミトコンドリアへのタンパク質輸送に関わる領域を同定するために、コムギ UCP タンパク質を 3 つの領域 (D1, D2, D3) に分割し、それぞれを N 末端シグナル配列として緑色蛍光タンパク質 (GFP) と融合した。in vivo におけるミトコンドリアへのタンパク質輸送を観察するために、4 種類の融合タンパク質 (WhUCP::GFP, (D#)::GFP) を酵母細胞中で発現させた結果、4 種類すべての融合タンパク質

がミトコンドリアに局在することが、GFP 蛍光をレポーターとして確認された。ウェスタンブロット解析でも、融合タンパク質がミトコンドリアに輸送されることが明らかになった。UCP の中央領域 (D2) が、最も高いタンパク質輸送能力を持っていたが、その他の領域 (D1, D3) にもタンパク質輸送能力が見られた。D2 領域を内部シグナル配列として作製された融合タンパク質 (DSR::D2::GFP) も、ミトコンドリアに輸送された。これ

らの結果から、コムギ UCP の D2 領域が3つの領域中、ミトコンドリアへの最も高いタンパク質輸送能力を持っていること、そして、D2 領域のタンパク質輸送能力は融合タンパク質内での

D2 領域の配置場所には関係していないことが示された。
Breeding Science 55: 447-452 (2005)

サツマイモデンプン枝切り酵素遺伝子 (*IbIsal*) のクローニングおよびその発現解析

Kim Sun-Hyung・濱田達朗・大谷基泰・島田多喜子
(石川県立大学・生物資源工学研究所)

デンプンは分岐構造のアミロペクチンと基本的に直鎖構造のアミロースの二成分からなり、これらの構造と含量がデンプン全体の固有の性質・機能の発現に関連している。アミロペクチン合成には、澱粉合成酵素、枝つくり酵素が関与しており、また、枝切り酵素 (イソアミラーゼ) も関与していることが示唆されている。我々は、サツマイモデンプンの改変を目的に、サツマイモイソアミラーゼ遺伝子 (*IbIsal*) のクローニングを行った。ジャガイモイソアミラーゼ遺伝子 (*StIsal*) の塩基配列をもとにサツマイモ (*Ipomoea batatas* L. cv. Kokei 14) 塊根 mRNA 由来の 1st strand cDNA を鋳型にして RACE-PCR を行い、*IbIsal* cDNA を単離した。塩基配列から推定される *IbIsal* のアミノ酸配列はシロイヌナズナの *AtIsal* と 70%、ジャガイモの *StIsal* と

79% の相同性があった。サザン分析の結果、サツマイモゲノムには少なくとも 2 コピーの *IbIsal* が存在することが示唆された。また、花、葉、茎、細根、梗根および塊根における *IbIsal* の発現を RT-PCR によって調査した結果、塊根で強く発現することが分かった。一葉挿し法 (rooted single-leaf cuttings) を用いて、*IbIsal* の生育段階における転写レベルを調査したところ、挿し葉後 15 から 40 日目までは転写レベルは非常に低く、塊根が殆ど完全に形成される 50 日で増加していた。これは、*IbIsal* がデンプン粒形成の初期段階で *AGPase* (ADP glucose pyrophosphorylase) large subunit, *GBSSI* (granule bound starch synthase I), *SBEII* (starch branching enzyme II) とともに働いていることを示唆する。
Breeding Science 55: 453-458 (2005)

新疆ウイグル自治区原産のコムギ地方品種に見出された新しい *Glu-D1* 座のサブユニットおよび播性との関係

叢 花^{1,2,3}・高田兼則²⁾・章 艶風¹⁾・池田達哉²⁾・谷中美貴子²⁾・長峰 司²⁾・藤巻 宏³⁾

(¹⁾中国新疆農業科学院・農作物品種資源研究所, ²⁾農業・生物系特定産業技術研究機構・近畿中国四国農業研究センター, ³⁾東京農業大学大学院・農学研究科)

中国の西北端に位置する新疆ウイグル自治区のコムギ地方品種 282 点における高分子量グルテニン・サブユニットをコードする対立遺伝子の変異を SDS ポリアクリルアミド電気泳動法で明らかにし、その変異と播性との関係を調査した。*Glu-A1* 遺伝子座では、*Glu-A1c* (75.5%) と *Glu-A1b* (22.3%) の頻度が最も高く、これら 2 つの対立遺伝子が *Glu-A1* 遺伝子座の主要対立遺伝子であった。また、春播性と秋播性品種の間には、*Glu-A1* 座に関して対立遺伝子の頻度に大差はなく、播性との関係は見られなかった。*Glu-B1* 遺伝子座では、地方品種を特徴づける対立遺伝子は *Glu-B1b* (90.8%) であった。この対立遺伝子頻度は、秋播性品種でやや高く、頻度分布には播性による顕著な差異は見られなかった。*Glu-D1* 遺伝子座では、サブユニット 2.2 より分

子量大きいサブユニット 2.6 (仮称) を新たに発見した。サブユニット 2.2+12 をコードする *Glu-D1f* は、新疆地方品種には発見できなかった。この遺伝子座では、サブユニット 2+12 をコードする *Glu-D1a* が最多の対立遺伝子 (72.0%) であり、次いでサブユニット 2.6+12 (24.5%) をコードする新しい対立遺伝子であった。春播性品種の対立遺伝子は、ほとんどが *Glu-D1a* (94.5%) であり、他方、秋播性品種では 2.6+12 (58.5%) および *Glu-D1a* (40.7%) であり、播性の違いにより対立遺伝子の頻度に明瞭な差異がみられ、品種分化が生じていることが明らかとなった。新疆地方品種にはサブユニット *Glu-D1f* を持つものが見つからなかったため、日本のコムギとの関連は明らかではなかった。
Breeding Science 55: 459-463 (2005)

ウイスキー法と超音波処理を組み合わせた効率的な遺伝子導入

寺川輝彦・長谷川久和・山口将憲

(北興化学工業・開発研究所)

イネ細胞への直接的遺伝子導入法としてウイスキー（針状結晶）と超音波処理を組み合わせた方法（WSS法）を確立した。このWSS法は懸濁培養細胞およびウイスキー、プラスミドDNAをチューブ（1.5 ml 容）に入れて混合し、超音波処理を行うことによってチタン酸カリウム製ウイスキーを細胞に突き刺して遺伝子導入する方法である。まず、GUS 遺伝子を利用して超音波出力条件について検討した結果、出力 40 W（処理時間 1 分間）の場合に、最も良好な一過的発現を示した。さらに、超音波処理前に遠心処理を行うことにより、GUS 発現が増加する傾向があった。この導入条件でイネ細胞へプラスミド pCH (*hpt*: ハイグロマイシン耐性遺伝子保有) の単独および pCH+pBI221 (GUS

遺伝子) のコトランスフォーメーションを試みたところ、ハイグロマイシン耐性カサの選抜効率は 6.2% (試験 4 回の平均) で、さらに 373 個の耐性カサから再生植物体 248 個体が得られた。また、コトランスフォーメーション効率は 63% ~ 81% であった。形質転換体のサザンハイブリダイゼーション解析を行った結果、大部分は 1 ないし数コピーの導入遺伝子を有していたが、マルチコピーの個体も認められた。このようにウイスキーに超音波処理を組み合わせることにより、安定的で効率の高いイネの遺伝子導入法を確立した。

Breeding Science 55: 465-468 (2005)