

平成 23 年 3 月 15 日

## 記者会見のお知らせ

(日本育種学会 2011 年春季大会における発表課題)

1. 発表日時：平成 23 年 3 月 22 日（火曜）10：30～11：45  
（本記者発表に関わる記事の解禁は、3 月 22 日の発表後 14：00 からとさせていただきます）
2. 発表場所：東京大学山上会館地下一階・東京大学記者会室（03-5841-2035）  
（<http://www.sanjo.nc.u-tokyo.ac.jp/>）（別紙参照）
3. 出席者  
日本育種学会幹事長 草場 信  
（広島大学・大学院理学研究科 附属植物遺伝子保管実験施設 教授）  
日本育種学会庶務幹事 伊藤純一  
（東京大学・大学院農学生命科学研究科 生産・環境生物学専攻 准教授）

### 4. 発表内容の紹介

育種学は作物の品種改良の技術基盤とその理論を追究する学問領域です。日本育種学会（会員数約 2,000 名）は、その育種学に関する研究および技術の進歩、研究者の交流と協力、および知識の普及をはかることを目的として活動しています。本発表内容は 3 月 29 日（火曜）、30 日（水曜）に横浜市立大学（横浜市）で行われる日本育種学会 2011 年春季大会で発表予定のものです。合計 302 の講演課題の中から選定された 3 課題について発表させていただきます。どうぞよろしく願いいたします。

発表タイトル：

- (1) エピジェネティックな変化を誘導することで遺伝子組換えによらずに形質を変化させた植物体の作出
- (2) 分子マーカー技術と F1 ハイブリッド育種の組み合わせによる超多収・良食味イネの育成
- (3) リグニン生合成酵素 Cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD) 欠損がイネの植物体強度と稲ワラの酵素糖化性に及ぼす影響

※詳細は別紙をご参照ください。講演要旨集は当日配布いたします。

問い合わせ先：

伊藤 純一（東京大学・大学院農学生命科学研究科 生産・環境生物学専攻 准教授）  
電話：03-5841-5064; 090-3814-9655  
FAX : 03-5841-5063  
E-mail: [ajunito@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp](mailto:ajunito@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp)

日本育種学会 第119回講演会プログラム  
2011年春季 横浜市立大学

3月28日 (月)	午後	幹事会 15:00-18:00 (横浜市立大学木原生物学研究所)
--------------	----	----------------------------------

		第1会場 第I講堂	第2会場 本校舎301	第3会場 本校舎302	第4会場 本校舎303	第5会場 本校舎304	第6会場 本校舎306	第7会場 本校舎307	
3月29日(火)	午前	ゲノム解析・DNAマーカー 101-112 9:00-12:00	品質成分 201-210 9:00-12:00	品種育成・育成法 301-312 9:00-12:00	変異創成 401-412 9:00-12:00	抵抗性・耐性 501-513 9:00-12:15	発生 601-612 9:00-12:00	遺伝資源 701-710 9:00-11:30	
	午後	総会・学会賞授賞式 13:30-14:15 (シーガルホール)							育種情報 711-712 11:30-12:00
		学会賞受賞講演 14:30-17:20 (シーガルホール) <b>学会賞</b> 14:30 ◎アブラナ類の小孢子胚形成の遺伝育種学的研究 高畑義人(岩手大学農学部)  ◎コムギ澱粉変異体の作出とその育種利用に関する研究 中村俊樹(農研機構東北農業研究センター・めん用コムギ研究東北サブチーム)  ◎日本各地に適した稲発酵粗飼料および飼料用米向け水稻品種シリーズの開発 「農研機構・飼料用水稻品種の研究開発グループ」(代表者:加藤浩) 16:00 <b>奨励賞</b> 16:20 ◎イネにおける葉の分化パターンの分子遺伝学的研究 伊藤純一(東京大学大学院農学生命科学研究科)  ◎葉老化に関する分子遺伝学的研究 佐藤豊(独立行政法人農業生物資源研究所・ゲノムリソースセンター)  ◎イネの根系形成機構の解明と育種への応用 犬飼義明(名古屋大学大学院生命農学研究科植物遺伝育種学研究分野) 17:20							
懇親会 18:00-20:00 (シーガルセンター)									

3月30日(水)	午前	ポスター奇数番号 9:00-10:30 (総合体育館)						
		ポスター偶数番号 10:30-12:00 (総合体育館)						
		第1会場 第I講堂	第2会場 本校舎301	第3会場 本校舎302	第4会場 本校舎303	第5会場 本校舎304	第6会場 本校舎306	
		ゲノム解析・DNAマーカー 13:00-16:00 113-124	ゲノム解析・DNAマーカー 13:00-16:00 213-224	品種育成・育成法 313-320 13:00-15:00  収量・バイオマス 321-325 15:00-16:15	変異創成 413-424 13:00-16:00	増殖・生殖 514-526 13:00-16:15	発生 613-622 13:00-15:30	
グループ研究集会 16:00-18:15 (本校舎301、303、306、307)								

## 1. 発表タイトル

「エピジェネティックな変化を誘導することで遺伝子組換えによらずに形質を変化させた植物体の作出」

## 2. 発表者

○金澤 章・稲場純一・志村華子・太田垣駿吾・塚原小百合・松澤章彦・金 甫民・後藤一法・増田 税（北海道大学大学院農学研究院）

## 3. 発表概要

植物に感染するウイルスをベクターとして用い、核酸配列の相同性に基づく機構により、遺伝子特異的にエピジェネティックな変化（DNA のメチル化およびヒストン修飾の変化）を誘導し、その遺伝子の転写を抑制することで植物の持つ形質を変化させました。生殖の過程においてウイルスは植物体から排除され、次世代の植物にはウイルスは存在しません。その一方で、生殖過程を経てもエピジェネティックな変化は維持されました。この原理により、次世代において、外来遺伝子を持たずに特定の形質が変化した植物を得ることに、世界で初めて成功しました。

## 4. 発表内容

### 【研究の背景】

遺伝子のプロモーターの塩基配列からなる二本鎖 RNA によって、その遺伝子特異的な転写抑制（transcriptional gene silencing; TGS）を誘導することが可能です。これまでに、この原理に基づき植物のゲノムに導入した外来遺伝子の TGS を行い、その状態が、次世代へ伝達されることを示した報告があります。しかしながら、このような世代を越えて伝達される TGS を、もともと植物が持っている内在性の遺伝子に関して誘導することに成功した例はありませんでした。

### 【結果と考察】

私たちは、キュウリモザイクウイルス (*Cucumber mosaic virus*; CMV) に基づいて作成したベクターを用いて、世代を越えて伝達される内在性遺伝子の TGS の誘導に初めて成功しました。アントシアニン色素合成系のカルコーン合成酵素遺伝子 (*CHS-A*) のプロモーター領域を含むウイルスをペチュニアに感染させたところ、花の模様の変化や雄性不稔等のフラボノイド化合物の減少に伴う表現型の変化が誘導されました。*CHS-A* 遺伝子の mRNA 量が顕著に減少しており、*CHS-A* 遺伝子のプロモーター領域においてシトシンのメチル化ならびにヒストン修飾の変化が検出されました。一般に CMV は生殖の過程において除かれ、次世代へは伝達されません。実際、ウイルスを感染させた次世代においては、

CMV およびそのゲノムに由来する *CHS-A* 遺伝子プロモーターの低分子 RNA (short interfering RNA; siRNA) は検出されませんでした。一方、*CHS-A* 遺伝子の転写が抑制された状態、ヒストン修飾の状態、および、変化した表現型は、次世代においても維持されていました。同様な転写抑制の誘導およびその次世代への伝達は、トマトの果実の成熟に関わる *LeSPL-CNR* 遺伝子等でも可能でした。

私たちは、これまで海外の複数の研究者が他のベクター系を用いて成功していなかったことを、なぜ自分たちが開発したベクターを用いて成功することができたのか、疑問に思い、その理由を明らかにするための研究を行いました。その答えは、私たちの用いたウイルスにありました。私たちの系における効率的な内在性遺伝子の転写抑制は、このウイルスがコードしている 2b タンパク質に依存していました。2b タンパク質は、siRNA との結合能、ならびに、細胞内で核へ移行する性質を持ち、そのため、核内へ siRNA を輸送することが明らかになりました。この性質が、効率よく TGS を行うことに寄与しているものと考えられました。

このような機構によって誘導されたエピジェネティックな変化は、上記のように、その誘導源の核酸が存在しなくても維持されていました。したがって、得られた植物は、『**外来遺伝子を持たずに特定の形質が変化している植物**』です。今後、このような新規な部類の植物には幅広い利用価値があるものと想定されます。

#### 【研究の意義】

本研究における植物の持つ遺伝子の発現状態を改変することは、真核生物が共通に持っているエピジェネティックな遺伝子発現制御を利用したものです。すなわち、自然界で起こっている DNA のメチル化やヒストン修飾の変化といった現象の起きる効率を、特定の遺伝子に対して高めることが、行った改変の本質です。形質を改変した植物は、外来遺伝子を持たないことから、遺伝子組み換え作物に関して存在する社会的受容に関する問題を生じさせないものと考えられます。また、この方法による遺伝子発現状態の改変は、原理的に、このウイルスが感染するさまざまな植物のさまざまな遺伝子を対象として適用可能であるものと考えられます。このウイルスは広い範囲の植物を宿主とするウイルスであり、感染する植物は、例えば、ナス科、キク科、ウリ科、マメ科、アカザ科、ユリ科などに属する植物で、タバコ、トマト、トウガラシ、ジャガイモ、ペチュニア、キュウリ、メロン、カボチャ、エンドウ、ダイズ、ササゲ、インゲン、ホウレンソウ、シュンギク、チシャ、レタス、トウモロコシ、ユリなど、多岐にわたり、その数は 800 種以上とされています。

#### 【研究の実施体制】

本研究は、北海道大学大学院農学研究院准教授の金澤 章の研究グループ、ならびに、同研究院教授の増田 税の研究グループにより、共同で行われました。

## 5. 発表雑誌

本発表の主要な内容は下記の学術雑誌において発表しております。  
*The Plant Journal*、2011年、第65巻、156-168ページ

## 6. 注意事項

特にありません。

## 7. 問合せ先

〒060-8589  
札幌市北区北9条西9丁目  
北海道大学大学院農学研究院  
金澤 章  
Phone: 011-706-3873  
Fax: 011-706-4933  
e-mail: kanazawa@res.agr.hokudai.ac.jp

## 8. 用語解説

### TGS

ジーンサイレンシング、すなわち、核酸の塩基配列の相同性が関与して遺伝子の発現が不活性化される現象には、遺伝子の転写が抑制される現象、ならびに、遺伝子の転写が起きた後に RNA が分解される現象が存在する。前者、後者は、それぞれ、transcriptional gene silencing (TGS)、post-transcriptional gene silencing (PTGS)と呼ばれている。ちなみに RNA 干渉 (RNA interference; RNAi) は後者と同じ機構による。本研究では、TGS の誘導を行った。その機構には、後述する DNA のメチル化やヒストン修飾といったエピジェネティックな遺伝子発現の制御が関与している。

### アントシアニン色素

植物界に広く存在する色素で、フラボノイド化合物の一種。この色素が細胞に蓄積することで、植物の組織は、赤色、紫色、青色、橙色等の色を呈する。

### ウイルスベクター

ウイルスの持つ核酸分子に外来の核酸を挿入し、そのウイルスを感染させることで、動物や植物の細胞に外来の核酸を導入することができる。このように利用されるウイルスをウイルスベクターと呼ぶ。

本研究で用いたキュウリモザイクウイルスは1本鎖の RNA をゲノムとして持つ。ゲノムは3つの分節ゲノム (RNA1、RNA2、RNA3) から構成される。我々は、これらを逆転写して得

た cDNA をプラスミドにクローン化した。このプラスミドを試験管内で転写することにより、ウイルスゲノムの RNA を作成し、それらを植物に接種することで、ウイルスを感染させることができる。我々は、ウイルスの cDNA の一部を改変して、外来の核酸を挿入できるようにし、本研究では、そこに植物の持つ遺伝子のプロモーターの部分配列を挿入した。

ウイルスのゲノム RNA は、複製するときには二本鎖 RNA の構造となる。また、一本鎖の RNA が高次構造をとることによっても部分的に二本鎖 RNA の構造となる。このような二本鎖 RNA は、植物の持つ Dicer-like (DCL) と呼ばれる酵素によって以下に述べる低分子 RNA へと分解される。ウイルスの RNA が分解されるのと同時に、その中に挿入されている植物の遺伝子のプロモーターの RNA も分解され、その低分子 RNA が産生する。

### siRNA

上記の PTGS や RNAi による RNA 分解の反応には低分子の RNA が関与することが知られており、その RNA は short interfering RNA (siRNA) と呼ばれている。siRNA は、塩基配列の相同性に基づいて、RNA 分解に加え、DNA メチル化およびヒストン修飾の変化を引き起こし、TGS を誘導するものと考えられている。ウイルスのゲノムに植物の遺伝子のプロモーターの一部を挿入しておくこと、その配列に対応する siRNA が産生され、これが核内でその遺伝子のプロモーター領域の DNA メチル化およびヒストン修飾の変化を引き起こし、遺伝子の転写を抑制する。

### プロモーター

遺伝子の転写、すなわち、DNA から RNA を合成する反応を開始するはたらき、ならびに、その効率を規程するはたらきをもつ DNA 領域。

### サイレンシングサプレッサータンパク質

ウイルスが植物に感染すると、植物は RNA サイレncing という機構により、ウイルスの RNA を分解し、ウイルスから身を守ろうとする。それに対し、ウイルスは、RNA を分解する反応を阻害するタンパク質を持っており、これはサイレンシングサプレッサーと呼ばれる。本研究で用いたキュウリモザイクウイルスは、2b と呼ばれるサイレンシングサプレッサータンパク質を持っている。このタンパク質は、低分子 RNA に結合すること、および、核に移行する性質を持つ。本研究では、この 2b タンパク質が RNA の分解を阻害するはたらきに加え、結合した低分子 RNA を核に運ぶことで、核内での DNA のメチル化を促進するはたらきがあることを明らかにした。

### エピジェネティックな遺伝子発現制御

エピジェネティクスは「DNA の配列に変化を起こさず、かつ細胞分裂を経て伝達される遺伝子機能の変化やその仕組み」、または、「それらを探求する学問」と定義されている。こうした仕組みによる遺伝子発現の制御機構が存在し、エピジェネティックな遺伝子発現制御と呼ばれる。この制御は、遺伝子の転写段階においてはたらいている。

## DNA のメチル化

DNA は、糖（五炭糖のデオキシリボース）、リン酸、塩基からなるヌクレオチドを単位としており、塩基としてアデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)、チミン(T)の4種が存在する。DNA のメチル化は、このうちのシトシンにおいて起きうる。これは、DNA メチル化酵素が、S-アデノシルメチオニンをメチル基の供与体とし、この物質からメチル基をシトシンに転移させることで、5-メチルシトシンを生成する反応である。シトシンのメチル化は、自然界における DNA の唯一の化学修飾である。植物では、ゲノム中の全シトシンの約 30% がメチル化されている。

## ヒストンの修飾

真核生物において、DNA は、細胞の核内でタンパク質とともにクロマチンと呼ばれる複合体を形成して存在している。その基本単位は、4種類のヒストンタンパク質(H2A、H2B、H3、H4)が各2分子ずつ集合した8量体の周りをDNAが約2回転巻きついた構造である。この一つの単位の中に147 bpのDNAが存在している。この基本単位がDNAを介して数珠状に連なって存在し、さらにこれが高次に折りたたまれた構造をとっている。ヒストンタンパク質は、アセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化、ADPリボシル化、グリコシル化など、さまざまな修飾を受けることが明らかになっている。特に、ヒストンタンパク質のN末端のテイル（尻尾）と呼ばれる部分において起きるアセチル化およびメチル化が転写の調節に深く関わっていることが知られている。

## 内在性遺伝子と外来遺伝子の TGS

アグロバクテリウム等を介して植物のゲノムに導入した外来遺伝子に比べて、植物の内在性遺伝子、すなわち、もともと植物が持っている遺伝子の TGS を誘導することは難しいということが知られていた。TGS を起こしている内在性遺伝子が、TGS の誘導源である低分子 RNA が存在しない状態でも維持されることの報告はこれまでに存在せず、本研究がその初の成功例となった。なぜ、外来遺伝子に対するよりも、内在性遺伝子に対する TGS の誘導が難しいのかは明らかになっていないが、クロマチンの構造が、ゲノムに導入して間もない遺伝子と長い進化の過程を経てきた遺伝子とで異なることによるのかもしれない。

## 9. 添付資料

なし（記者発表当日に配布します）。

1. 発表タイトル :

分子マーカー技術と F<sub>1</sub>ハイブリッド育種の組み合わせによる超多収・良食味イネの育成

2. 発表者 :

地主建志<sup>1</sup>、森中洋一<sup>1</sup>、高師知紀<sup>1</sup>、香村敏郎<sup>2</sup>、松岡信<sup>2</sup>、北野英己<sup>2</sup>

1. (株)ホンダ・リサーチ・インスティテュート・ジャパン, 2. 名古屋大学生物機能開発利用研究センター

3. 発表概要 :

分子マーカー技術を用いて複数の有用遺伝子を組み込んだピラミディング系統を片親とすることにより、イネの F<sub>1</sub>ハイブリッド品種育成における育種効率を向上させ、良食味と多収性を備えた実用的な主食用品種を育成することが出来ました。

4. 発表内容 :

国内稲作の国際競争力向上の必要性が強く求められる現在、「良食味と多収性を両立」させることのできる技術開発、および、それによる主食用品種の育成は、問題解決の鍵となる稲作コストの削減に直接貢献することのできる技術的オプションとして、非常に重要であると考えられます。

近年、多数の有用遺伝子を正確かつ短期間に既存品種に導入することを可能にする分子マーカー技術が、イネゲノムの研究成果の一つとして開発され、利用可能な状況になりつつあります。この度、(株)ホンダ・リサーチ・インスティテュート・ジャパンと名古屋大学の共同研究グループは、超多収性良食味系統の育成を目的に、分子マーカー技術と F<sub>1</sub>ハイブリッド育種を組み合わせた「ピラミディング F<sub>1</sub>ハイブリッド育種」の可能性とその有効性についての検証を行いました。本手法は、①同一の遺伝的背景下での準同質遺伝子系統 (NIL)の育成、②NILの相互交配、および分子マーカー選抜による遺伝子集積系統 (ピラミディング系統)の育成、③細胞質置換による雄性不稔化、④稔性回復系統との組み合わせによる F<sub>1</sub>ハイブリッド系統の育成、の各ステップを通じて行われるものであり、雑種強勢を利用した生産性の向上と分子マーカー技術による効率的な形質改変の両立が期待されるものです。

今回、遺伝子集積に用いたのは、いずれもコシヒカリを遺伝的背景にして独自に育成した *sd1* (耐倒伏性)、*Gn1* (多収性)、*hd1* (出穂期)、*Cr1* (柱頭露出性) および、*Pb1* (いもち病抵抗性) の各有用遺伝子を含む 5 つの NIL、および、コシヒカリの半糯性突然変異体であるミルキークイーンでした。単一領域を含む NIL、4~6 の領域を集積したピラミディング系統、および、それらに対応する雄性不稔系統を供試して圃場試験を行った結果、導入した遺伝子領域が背景親の該当する特定形質の改変に寄与することが確認されました。また、育成され



た雄性不稔系統を片親にした F<sub>1</sub>ハイブリッド系統においても、導入遺伝子領域が有効に機能していることが確認されました。本試験において、分子マーカー技術による改良の対象とした諸形質は、従来の F<sub>1</sub>ハイブリッド育種における解決すべき問題点として指摘されてきたものであります。本結果は、分子マーカー利用による有用遺伝子群の正確且つ短期間の集積技術が、良質で多収な F<sub>1</sub>ハイブリッド系統の育種効率を格段に向上させる可能性を示しています。

さらに、本技術を用いて新たに開発された 4 系統を F<sub>1</sub>ハイブリッド品種「ハイブリッドとうごうシリーズ」と命名し、品種登録申請を行いました。2010 年度の圃場試験において、これらの系統の形質評価を行った結果、早生から中生の熟期、コシヒカリに由来すると思われる良好な食味品質、および、対象比 40-60%増の高い収量性を兼ね備えていることが明らかになりました。さらに、同時に集積された遺伝子群の効果として、いもち病抵抗性、F<sub>1</sub>種子採種効率、および、半糯粒の分離による食味品質の各形質に対する改良効果についても、併せて確認することができました。

超多収良食味品種を普及させ、稲作の生産性を向上させることは、お米の生産コストを削減することのみならず、水田からのメタンガス発生などといった農業による環境負荷を相対的に低減することにもつながります。また、近年報告されている数多くの病害虫抵抗性遺伝子領域は、農薬使用量を減らすことに役立ちます。私たちは今後、「ピラミディング F<sub>1</sub>ハイブリッド育種」という遺伝子組み換えに頼らない新技术を応用し、より多くの有用遺伝子領域の集積を重ねることにより、次の世代の稲作に相応しい、さらなる多収性と環境親和性を兼ね備えた新品种の開発を進めていく予定です。

5. 発表雑誌：準備中

6. 注意事項：なし

7. 問合せ先： 本田技研工業株式会社  
広報部 企業広報ブロック 金子 一  
〒107-8556 東京都港区南青山 2-1-1  
TEL：03-5412-1512 FAX：03-5412-1545  
hajime\_kaneko@hm.honda.co.jp

8. 用語解説：

#### 分子マーカー技術

系統間におけるゲノム DNA の塩基配列の違いを基に作成した分子マーカーを目印とし、系育成の後代分離集団において、各個体の染色体構成を追跡することを可能にした技術です。ある系統のゲノムにおいて、有用形質を付加することのできる遺伝子の近傍に分子マーカーを設定することができれば、たとえば、そこに何度コシヒカリを戻し交配し

ても、その都度分子マーカーで確認することにより、育成の過程でその形質を見失うことはありません。この技術を用いることで、目的形質を特異的に改良したコシヒカリ（準同質遺伝子系統）を容易に育成することができます。

#### 準同質遺伝子系統

特定の目的形質以外は、基本的に反復親系統と同じ形質を示す系統であり、戻し交配とその後代における分子マーカー選抜によって育成される系統です。本報で育成されたものは、有用形質のドナーになった元の系統に対して、コシヒカリを 5 から 6 回程度交配して育成されています。

#### 遺伝子集積系統（ピラミディング系統）

同じ遺伝的背景を有する準同質遺伝子系統どうしを掛け合わせ、その後代集団に対して分子マーカー選抜を行うことによって育成される、複数の形質が特異的に改良された系統です。掛け合わせることでできる準同質遺伝子系統の種類を予め増やしておき、好きなものを選んで遺伝子集積を繰り返すことで、「欲しい形質を数多く備えたコシヒカリ」といった系統を育成することができるとされています。このような育種方法をデザイン育種と呼びます。

#### F<sub>1</sub> ハイブリッド

国内で普及しているイネ品種の多くは自殖品種であり、同じ個体に由来する花粉がめしべに受粉することで結実した種子を、次代の栽培に使用する形をとっています。これに対し、異なる 2 つの系統（一般には、雄性不稔系統と稔性回復系統）を交配して得た種子を栽培に用いるものを F<sub>1</sub> ハイブリッド品種と呼びます。雑種第 1 代の植物は、雑種強勢現象によって生育が旺盛になり収量性が高まることから、ほとんどの野菜、トウモロコシ、さらには食肉用の豚や鶏などもこの方法で育成されています。イネでは、多収性が強く求められる中国の長粒系統で利用が進んでいます。一方、日本国内では、多収性に対する需要が少なかったこと、および、出穂特性や食味品質などといった育成上の課題を解決する技術がなかったことなどが原因で、これまで広く普及することはありませんでした。

#### 柱頭露出性

花器の形態変化により、イネの開花時にめしべの先端である柱頭が穎の外部に露出し、閉穎後もそのままとどまる形質のことです。外部からの花粉を受け取る機会が増えることで、異なる両親の間で種を取らなければならない F<sub>1</sub> ハイブリッドの採種効率向上に繋がる有用形質とされています。主に他殖性の植物に見られるこの形質は、イネの中では長粒種、野生種の系統が有する形質であり、短粒種において高い頻度で見られることはありません。

#### 9. 添付資料：なし（記者発表当日に配布します）

1. 発表タイトル：

「リグニン生合成酵素 Cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD) 欠損がイネの植物体強度と稲ワラの酵素糖化性に及ぼす影響」

2. 発表者：

森中洋一<sup>1</sup>・西村明日香<sup>1</sup>・平野 恒<sup>2</sup>・保浦徳昇<sup>2</sup>・Reynante Ordornio<sup>2</sup>・北野英己<sup>2</sup>・松岡 信<sup>2</sup> (1. (株) ホンダ・リサーチ・インスティテュート・ジャパン, 2.名古屋大学生物機能開発利用研究センター)

3. 発表概要：

イネにおけるリグニン生合成欠損変異の育種的利用価値を検討することを目的として、リグニン前駆体の生合成経路における最終ステップを触媒する酵素 cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD)のうちの1つ (OsCAD2) に機能欠損変異を起こしている突然変異イネと原品種のワラ収量、植物体の強度、細胞壁構成成分の含有量、ワラの酵素糖化率を調査、比較しました。その結果、OsCAD2 機能欠損がワラのリグニン含量 (原品種比 14%減)、ワラに含まれるセルロースの酵素糖化率 (原品種比 22%増) に有意な変化をもたらす一方で、植物体の強度やワラ収量およびリグニン以外の主要な細胞壁成分含量には大きな影響を及ぼさないことが明らかになりました。これはワラのバイオマス利用を視野に入れたイネ育種において OsCAD2 機能欠損の利用が有効であることを示しています。また、この機能欠損型 OsCAD2 をコードする遺伝子上の変異箇所を検出する DNA マーカーを利用することで、「易糖化性」品種の育成が比較的短期間で可能になることが期待されます。

4. 発表内容：

化石燃料の使用は、地球温暖化の原因とされる人為起源 CO<sub>2</sub>の最大の排出源です。特に液体輸送燃料を排出源とする CO<sub>2</sub>は、工業国における CO<sub>2</sub>排出量の約3割にのぼるとされ、液体輸送燃料の使用量削減は CO<sub>2</sub>排出削減において重要な課題であるといえます。液体輸送燃料に由来する CO<sub>2</sub>の削減において、バイオ燃料の導入は燃費改善とともに現実的な可能性を有する数少ない対策のひとつとされています。中でもワラや間伐材などのリグノセルロース系バイオマスを原料とする第2世代バイオエタノールの利用は、植物体の収奪が土壌の劣化や浸食に及ぼす影響など環境影響を鑑みた上で適切に運用されるならば、食糧との競合を避けつつ人為起源 CO<sub>2</sub>排出を削減できる可能性を秘めています。しかしながら、その実用化についてはエネルギー収支やコストの面でまだ課題が多いのが現状です。

第2世代バイオエタノール製造には、まず植物細胞壁の構成成分であるセルロースを化学的ないしは酵素的に分解して発酵性糖であるグルコースを得る工程（糖化）が必要となります。細胞壁構成成分の中でもセルロースおよびヘミセルロースの周囲を強固に覆う難分解性のポリマーであるリグニンは主たる糖化阻害要因と考えられています。育種により原料となる植物体中のリグニン含量や組成を改変することは、糖化効率を高めるための前処理の強度や糖化酵素使用量の削減を通じてバイオエタノール製造におけるエネルギー収支の向上やコスト削減に貢献できると考えられます。一方でリグニンは植物にとって植物体の支持、水の輸送、病傷害耐性などを担う重要な成分であるため、リグニン含量低下や組成の変化が植物体の強度やバイオマス収量にネガティブな作用をもたらす懸念があり、実際にいくつかの植物種のリグニン生合成欠損変異体でこうしたケースも報告されています。イネのリグニン生合成欠損変異に関しては、これまでにリグニン前駆体であるリグニンモノマーの生合成経路の最終段階を触媒する酵素 cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD) の機能欠損変異体が2種類 (*gh2* と *fc1*) 報告されていますが、いずれもワラのバイオマス利用を視野に入れた育種という観点からは変異がもたらす作用が十分把握されているとはいえません。

そこで我々は、イネにおけるリグニン生合成欠損変異が植物体の強度やバイオマス収量、酵素糖化性に及ぼす影響を調査し、その育種的利用価値を検討することにしました。まず、当研究グループで選抜、固定を進めているイネ突然変異系統群から既に報告されているリグニン生合成欠損変異体の表現型などを参考に266系統を選抜しました。このうち1系統は、リグニン生合成関連遺伝子の塩基配列の確認および相補性試験の結果、前述した *gh2* 変異体 (OsCAD2 機能欠損変異) の新規アレルであることが判明し、これを *gh2-2* と名付けました。次に、*gh2-2* と原品種のワラ収量、植物体の強度、細胞壁構成成分の含有量、ワラの酵素糖化率を調査、比較しました。その結果、OsCAD2 機能欠損がワラのリグニン含量（原品種比14%減）、ワラに含まれるセルロースの酵素糖化率（原品種比22%増）に有意な変化をもたらす一方で、植物体の強度やワラ収量およびリグニン以外の主要な細胞壁成分含量には大きな影響を及ぼさないことが分かりました。このことはワラのバイオマス利用を視野に入れたイネ育種において OsCAD2 機能欠損の利用が有効であることを示しています。また、この機能欠損型 OsCAD2 をコードする遺伝子上の変異箇所を検出する DNA マーカーを利用することで、「易糖化性」品種の育成が比較的短期間で可能になることが期待されます。

## 5. 発表雑誌：準備中

6. 注意事項：特になし

7. 問合せ先：

本田技研工業株式会社  
広報部 企業広報ブロック 金子 一  
〒107-8556 東京都港区南青山 2-1-1  
TEL：03-5412-1512 FAX：03-5412-1545  
[hajime\\_kaneko@hm.honda.co.jp](mailto:hajime_kaneko@hm.honda.co.jp)

8. 用語解説：

**リグノセルロース系バイオマス**：草や木、ワラや間伐材などの農林業残渣など主な構成成分としてリグノセルロースを含むバイオマス。リグノセルロースは植物の細胞壁を構成するリグニン、セルロース、ヘミセルロースが複雑に絡み合った物質であり、化学的に非常に安定しているため炭素源としての利用に困難を伴う。バイオマスは広義には光合成により作られるすべての有機物質と定義される（ただし化石資源は含まない）。世界のバイオマス原料の中で、リグノセルロース系バイオマスは最も潜在量が大きいとされる。

**gh2** と **fc1**：イネでこれまで報告されているリグニン生合成欠損変異体。いずれも CAD の機能欠損変異であるが、それぞれ別の CAD である。なお、イネのゲノム上には CAD をコードする遺伝子が 12 個 (*OsCAD1*~7, *OsCAD8A*~8*D*, *OsCAD9*) 存在すると報告されている。Tobias C. & Chow E. (2005) *Planta* 220: 678-688.

**gh2 (gold hull and internode 2)** は *OsCAD2* の機能欠損変異であり、外観上の特徴として籾と稈（茎）に赤褐色の呈色が見られる。本発表で扱った **gh2-2** とは変異箇所が異なる。Zhang K. et al. (2006) *Plant physiol.* 140: 972-983.

**fc1 (flexible culm 1)** は *OsCAD7* の機能欠損変異。変異表現型として、出穂期の遅延、草丈の低下、稈の機械的強度の低下が挙げられる。Li X. et al. (2009) *Plant Mol. Biol.* 69: 685-697.

**相補性試験**：突然変異体の原因遺伝子を同定するために行う試験。突然変異体にその変異表現型の原因と目される遺伝子（正常型）を遺伝子組換えにより直接導入した後、遺伝子組換え体において変異表現型が導入遺伝子により相補されるかどうかを確認する。相補された（すなわち正常な表現型に復帰した）場合は、導入した遺伝子が突然変異体の原因遺伝子であるといえる。変異表現型が劣性遺伝する場合に適用できる。