

学位論文内容の要旨

博士 (環境科学)

氏名 長野宏則

学位論文題名

イネ科植物におけるシーケンス情報からみた自然変異と作物育種への利用
(Natural variations from sequence information in the family Poaceae, and their utilization for crop breeding)

イネ科植物は、イネ (*Oryza sativa*) に代表されるような食糧として、また、近年ではススキ属植物 (*Miscanthus* spp.) のようなバイオマス資源作物としても有益な植物である。今後予想される地球上の人口増加、ならびに地球温暖化による気象変動の対応には、イネ科植物の果たす役割は大きく、そのための優良品種の開発が必要不可欠である。本研究では、イネとその近縁野生種ならびにススキにおいて、主要な農業形質に関連する遺伝子等についてシーケンス解析を行い、ゲノムの自然変異を調査した。その結果、植物集団中には自然変異が豊富に保存されていることを明らかにでき、今後の新品種開発において、集団にみられる自然変異を利用することの重要性を示唆した。

食糧増産を目的とした 1960 年代のイネの「緑の革命」において、半矮性遺伝子 *Semi-dwarf1* (*Sd1*) の変異アリルを用いた短稈の高収量品種群が開発された。高窒素施肥下における短稈形態は、耐倒伏性と高い種子生産性をもたらす。*Sd1* 遺伝子はジベレリン生合成酵素の 1 つである GA20 酸化酵素 (*OsGA20ox-2*) をコードする。*Sd1* には、インディカ品種の低脚烏尖 (DGWG) 由来の機能欠失型、およびジャポニカ品種の十石由来の漏出型の 2 つの自然変異アリルが存在する。これらのアリルの由来を調査するため、野生イネ 8 系統および栽培イネ 2 系統の計 256 系統において、系統樹解析を行った。その結果、DGWG アリルは栽培イネだけでなく、野生イネ (*O. rufipogon*) の系統 W1944 からも検出された。*Sd1* 座から数 cM の距離にある塩基配列を比較したところ、DGWG アリルを含む染色体領域が、高収量品種群から W1944 へ最近交雑浸透したのではなく、野生祖先種に由来する可能性が示された。一般的に自然界では、半矮性形質は日照条件などの面で、競争力に乏しく不利な弱有害形質であると考えられている。しかしながら、栽培イネ系統 A58(*Sd1/Sd1*) と W1944(*sd1/sd1*) との F₅ 交雑集団 95 個体の解析から、DGWG アリルをホモ接合で有する個体であっても、高稈長を示す分離個体が観察された。量的形質遺伝子座 (QTL) の組み合わせ次第で DGWG アリルが隠れた変異として野生イネ集団内に長く受け継がれ、近代農法に適した半矮性に貢献する変異アリルの一つとして利用されてきた状況が示唆された。

栽培イネ *O. sativa* にはインディカとジャポニカの亜種が存在し、インディカ系統がジャポニカ系統の稈長よりも平均して高いという一般的な傾向がイネ研究者の間で認識されていた。そこで、反復親に IR36 (インディカ品種) を用いた連続戻し交雑により、インディカ

およびジャポニカ由来の *Sd1* 座をそれぞれ有する 5 つの準同質遺伝子系統を作出し、稈長形質を調査した。札幌市および高知県南国市における 2 つの試験地での観察の結果、いずれもインディカ由来の *Sd1* 座を有する系統が、ジャポニカ由来の *Sd1* 座の系統よりも長稈を示した。*Sd1* 座の塩基配列を比較したところ、エクソン 1 とエクソン 3 にそれぞれ一箇所の非同義置換が認められた。これはジャポニカ由来の *Sd1* 座に生じた弱い漏出型変異であると考えられ、それぞれを *SD1-in* (t) および *SD1-ja* (t) と名付けて両者を区別した。

ススキ属(*Miscanthus* spp.)は、東アジア原産の多年生 C₄ 植物であり、冷涼地域における有望なバイオマス資源作物である。開花は、地域や季節への適応を左右する重要な形質であり、バイオマス生産量を改善するための育種上、重要な標的形質でもある。開花調節に中心的な役割を果たす *CONSTANS/Heading date1 (Hd1)* 遺伝子のホモログを、二倍体植物であるススキ (*M. sinensis*) ゲノムからクローン化し、*MsiHd1* と名付けた。更に、日本列島由来のススキ 23 系統と、中国大陸由来の 17 系統を用い、合計で 131 のホモログをクローニングし、塩基配列を決定した。各系統からは 2~5 種類の *MsiHd1* アリルを同定できたことから、ススキゲノムには少なくとも 3 つの *MsiHd1* 座の存在が示唆された。遺伝子系統樹の構築から、座の一つは独立したクレードを形成する偽遺伝子座であると考えられ、*MsiHd1b* と名付けた。残りのクレードに属する *MsiHd1a* は興味深いことに、日本由来のほぼ全ての系統(22/23)が少なくとも 1 つ以上の機能欠失型アリルを持つのに対し、中国大陸由来の系統は全て(17/17)が機能的なアリルしか持っていなかった。これらの結果より、ススキ *MsiHd1* 座は中国大陸と日本列島由来の系統間では、開花調節機能への依存度が大きく異なる可能性が示唆された。

イネ *Waxy (Wx)* 座は、胚乳と花粉のアミロース合成に関わる顆粒結合型デンプン合成酵素をコードする。*Wx* 座近傍 200kb の物理地図構築が計画され、構築の過程で行われたサザンブロット解析と BLAST 解析は、この領域に存在する 75 個もの反復配列を明らかにした。反復性転移因子の一種である Miniature inverted repeat transposable elements (MITEs) がこの領域の主要な反復配列 (45/75) であり、末端構造配列の特徴から、5 つの新規 MITE を同定した。また、野生イネ 5 系統、栽培イネ 2 系統を用いたサザンブロット解析は、*Wx* 座上流 50kb に存在する Rice Tungro Bacilliform Virus (RTBV) 様配列がアジア種ゲノムにおいて反復性を示すのに対し、アフリカやアメリカ大陸由来の種では低コピー数であることを明らかにした。MITE 配列は、ススキ *MsiHd1* 遺伝子内にも 5 種類の *MsiMITE1* ~*MsiMITE5* として同定された。このうち *MsiMITE3* ~*MsiMITE5* の 3 種の MITE は、データベース検索により、ソルガム、サトウキビ、スイッチグラスのゲノムにも 78~90% の高い相同性を持つ配列が存在した。以上の結果は、MITE がイネ科ゲノムにおいて広く分布することを示唆している。

本研究において、シーケンス解析の結果から、イネ科植物が保有する豊富な遺伝的多型、変異アリルの来歴および地理的分布、そして反復性配列の存在を明らかにすることができた。野生集団が保有する多様な自然変異が、未だ有効な育種素材として利用できる可能性を再認識できた。自然変異が持つシーケンス情報の活用は、さらなる多収性や気象変動に対応した環境ストレス耐性等の新しい形質を備えた品種開発に貢献できると期待される。