

<p>作成者</p>	<p>所属（専攻）・氏名 連合農学研究科生物資源科学専攻 寺内 良平 （財）岩手生物工学研究センター 連絡先（内線・メール） 0197-68-2911 terauchi@ibrc.or.jp</p>
<p>研究課題名 （英語名）</p>	<p>植物環境適応の遺伝学的解析 Genetic analysis of plant adaptation to cold environment</p>
<p>研究分野及び キーワード</p>	<p>研究サブグループ：熱に対する生物の生存戦略メカニズム 研究キーワード：（イネ耐冷性）（DNA マーカー）（QTL 解析）</p>
<p>研究協力者 （氏名・所属等）</p>	
<p>研究成果報告</p> <p>目的</p> <p>本担当者は、岩手県北上市にある（財）岩手生物工学研究センターの水稻優良品種開発プロジェクトに所属しており、同センターの研究課題の枠組みの中で COE プロジェクトを担当している。イネは熱帯起源の作物であるが、長期にわたる育種努力を通じて、温帯北部においても栽培可能な系統が多数つくられてきた。これは、低温適応に寄与するような遺伝子をもつイネ系統が選択されてきた結果だと考えられる。このような遺伝子の実態を明らかにすることができれば、より耐冷性の強いイネ開発も可能になる。イネゲノム解析の結果、イネには約3万個の遺伝子があることが分かっている。本プロジェクトでは、こうした多数の遺伝子の中から、低温適応に関係する遺伝子を探し出し、それらの働きを解析することを目標とする。そのため、イネを材料として、あ) 多数の DNA マーカーの開発、い) 耐冷性に連鎖したマーカーの探索、う) 突然変異体の解析、え) 遺伝子発現解析などを行う。本研究の実施にあたっては、イネの耐冷性品種開発を担当している岩手県農業研究センター農産部水稻育種研究室と密接に連携をとりながら研究を進めている。</p> <p>研究結果</p> <p>低温下での発芽速度が速いイネ系統と遅いイネ系統間の交配（品種「Dungan Shalli」 x 「かけはし」）、小孢子期耐冷性の高い系統と低い系統間の交配（「雲冷17号」 x 「ヒデコモチ」）を実施した。これらの交配で得られたF1個体を自殖してF2を得た後、Recombinant Inbred Lines (RILs) を作成し、世代促進の結果、現在F5世代の集団を維持している。F6世代のRILsを用いて、表現型検定を実施する予定にしている。一方、QTLマッピングのために、多数のDNAマーカーを開発している。迅速な連鎖解析を容易にする目的で、TILLING法（Till et al. 2003, Genome Res 13:524-530）を利用してイネ系統間のSNP探索を実施した（別紙図参照）。また、イネ逆遺伝学を簡易化する目的で、TILLING法を適用するためのイネ突然変異系統（品種「ひとめぼれ」および「あきたこまち」）の作出を、EMS処理によって実施した。これらについては、現在M2世代を展開中である。</p> <p>来年度以降に向けての反省点、改善すべき点、そして、対策方法</p> <p>現在作出中の RIL の両親は、いずれの交配組合せにおいても japonica 系統であるため、マッピングに利用できるマーカーが限られている。よりマッピングを効率化する目的で、indica 系統 x japonica 系統の交配を実施して F2 および RIL を得る努力をする必要がある。</p>	

来年度研究計画の概略

既に作出済みの RIL 系統を利用して、低温発芽性および小孢子期耐冷性の形質評価を実施し、マイクロサテライトマーカーで QTL 解析をおこなう。最も効果の大きい QTL を選択し、F3 世代を用いて、fine mapping を実施する。マーカー利用により、目的遺伝子座の位置を 500Kb 以下のゲノム領域に落とすことを目指す。一方、新たに、indica 系統 x japonica 系統の交配を実施して F2 および RIL を得る。イネ逆遺伝学のための突然変異系統作出を継続する。

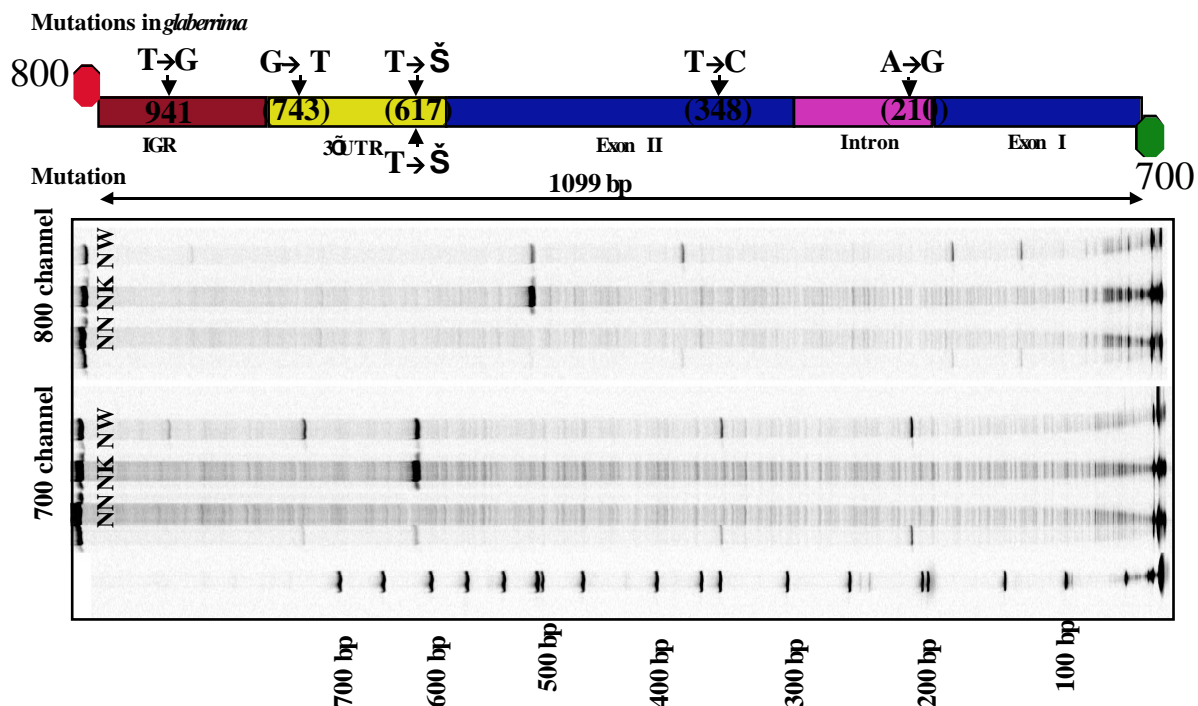
本研究拠点形成に関連して受けた研究助成

生研センター：新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業 50,000 千円

その他特記すべき事項

研究成果

- Fregene, M., Matsumura, H., Akano, A., Dixon, A. and Terauchi, R. 2004. Serial analysis of gene expression (SAGE) of host plant resistance to the Cassava Mosaic Disease (CMD). *Plant Mol. Biol.* **56**:563-571.
- Kahl, G., Winter, P., Matsumura, H., Reuter, M., Kruger, D. and Terauchi, R. 2004. Molekulares wechelspiel von wirt und pathogen: simultane, genomweite transkriptprofilierung zweier organismen mit SuperSAGE. *Biospektrum* **10**:511-513.
- Takahashi, Y., Uehara, Y., Berberich, T., Ito, A., Saitoh, H., Miyazaki, A., Terauchi, R. and Kusano, T. 2004. A subset of hypersensitive response marker genes, including HSR203J, is the downstream target of a spermine signal transduction pathway in tobacco. *Plant J.* **40**:586-595.
- Matsumura, H., Ito, A., Saitoh, H., Winter, P., Kahl, G., Reuter, M., Kruger, D.H. and Terauchi, R. 2005. SuperSAGE. *Cell. Microbiol.* **7**:11-18.



図：TILLING ゲルの実際

上図：遺伝子座 D15704 の塩基配列を DNA シーケンシングによって調べた結果見いだされた突然変異箇所。それぞれの矢印の左側は品種「日本晴」の塩基、右側は、*Oryza glaberrima* (上) および品種「カサラス」(下) の塩基を示す。

下図：対応する領域についての TILLING ゲルの実際。各レーンは、「日本晴」と「日本晴」DNA の混合物 (NN)、「日本晴」と「カサラス」DNA の混合物 (NK)、「日本晴」と *O. glaberrima* DNA の混合物 (NW) を含んでいる。800 channel および 700 channel は、調査領域の末端に付加したラベル (上図参照) を検出した時の波長を示す。塩基配列決定によって見いだされた突然変異が、全て TILLING ゲルにおいて同定されている。TILLING 法による突然変異同定は、塩基配列決定と比較して、はるかに迅速で安価であり、今後のマーカー開発、マッピングに大きく資すると考えられる。