

## 穀物重要形質遺伝子の単離及びその育種学的利用

芦荻基行（名古屋大学 生物機能開発利用研究センター）

ashi@agr.nagoya-u.ac.jp

世界人口の急激な増加と砂漠化による耕地の減少により食糧危機が懸念されている。イネ、コムギ、トウモロコシは全人類の 50% のエネルギーを供給しており、これら穀物の生産性向上が食糧危機の対策として求められている。穀物の短稈化や着粒数の増加は収量増加に直結する重要な農業形質である。そこで、これらを支配する短稈化遺伝子および着粒数制御遺伝子を同定し、これらの遺伝子を分子マーカー選抜法を用いてコシヒカリに集積し効率的なテーラーメイド育種を行った。

### はじめに

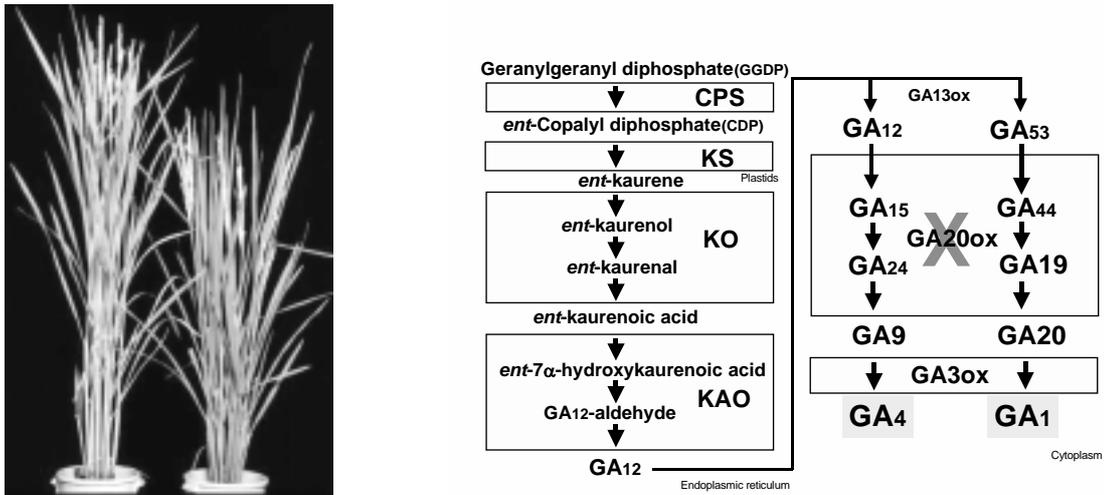
現在、アジア・アフリカを中心に慢性的かつ深刻な食糧不足が続いており、8 億人の人々が栄養不足の状態にある。世界人口は爆発的に増加しており、国連の人口予測では 2050 年には総人口が 89 億人に達するとされている。また、環境変動による急激な砂漠化・耕地の減少に伴い、食糧不足は世界的かつ深刻なレベルに達すると懸念されている。イネ、コムギ、トウモロコシといった 3 大穀類は人類の主食であるばかりか、家畜の主要なエネルギー源となっており、全人類の 50% のエネルギーを供給している最も重要な植物である。人口増加に伴い懸念される食糧不足を回避するためには、現在の世界穀物生産量を 2025 年までに 50% 増産しなければならず、主要穀類の収量（生産力）増加につながる研究成果が求められている。

イネはこれら穀類中でゲノムサイズが最も小さく、形質転換技術も普及していることなどから、主要穀類であると同時に単子葉のモデル植物として位置づけられている。また、イネでの研究成果は自身の品種育成のみならず、ゲノム構造上の類似性（ゲノムシンテニー）を有する他の穀類（トウモロコシ、コムギなど）にも応用できる可能性を秘めている。これらの理由から日本を中心とした国際イネゲノム解読プロジェクトが推進され、2004 年にイネの全塩基配列が解読された。これまでに開発された種々の研究ツールやゲノム情報を利用して、生産性向上につながる有用農業形質遺伝子の同定と育種学的利用を試みた。

### 草丈制御に関わる遺伝子の同定

背丈が低下した品種は、背丈が高い品種に比べて倒れにくくなることから、肥料を多量に与えることが可能になると同時に、茎や葉に対する子実の比率が高まるために単位面積当たりの収量を高める。1960 年代後半、フィリピンの国際イネ研究所（IRRI）はイネの草丈を低くする半矮性遺伝子 *sd1* を利用した品種「IR8」を育成した（図 1）。ミラクルライスと呼ばれた「IR8」は、単位面積当たりの収量を画期的に向上させ、またその普及によってアジアでの食糧危機を救い「緑の革命」をもたらした。このミラクルライスに最も寄与した遺伝子が *sd1* である。現在、世界で栽培されている多くのイネ品種がこの *sd1* 遺伝子を利用しており、*sd1* はイネ育種において必要不可欠な遺伝子となっている。そこで、このイネ *SD1* 遺伝子の同定を試み、*SD1* 遺伝子が植物ホルモンであるジベレリン（GA）の生合成酵素の 1 つ GA20 酸化酵素（GA20ox-2）の情報をコードしていることを明らかにした<sup>1)</sup>。GA は発芽、茎葉伸長、花芽形成など多くの生長過程に関与している。「緑の革命」に利用された品種（IR8）では、GA20 酸化酵素遺伝子（GA20ox-2）に塩基の欠失があることが明らかとなった。イネには複数の GA20 酸化酵素遺伝子が存在するが、緑の革命に必須だった *SD1* 遺伝子は特に茎や葉の伸長に働く GA20 酸化酵素遺伝子（GA20ox-2）であり、この遺伝子に突然変異が起こることで、野生型と同等量の GA が茎や葉で生産されず草丈が低くなると結論した。植物ホルモンの GA が草型制御に重要であることが明

らかになったので、イネ GA 関連変異体を選抜すると共にその原因遺伝子を単離し<sup>2-4)</sup>、機能解析を行い育種への応用を試みている。

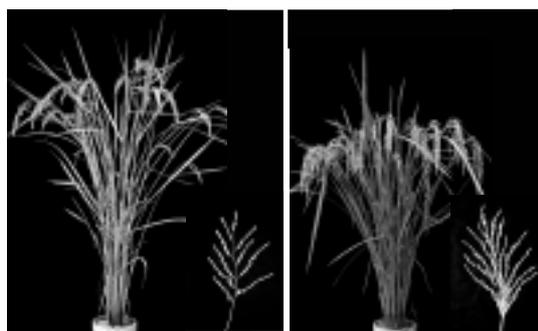


(図1) 左：野生型と *sd1* 遺伝子を保持する半矮性品種 (IR8)、右：ジベレリン生合成経路  
IR8 品種ではイネゲノムに存在する複数の *GA20ox* 遺伝子のうちの1つ *GA20ox-2* に欠失変異を有していた。

### 収量に関わる遺伝子の同定

ジャポニカ米のコシヒカリに比べ、インディカ米のハバタキは着粒数が多い(図2)。この着粒数を制御する遺伝子を同定するため、2種を交雑した雑種集団を作成し、関与する遺伝子の検出を行った。その結果、着粒数 (Grain number) に影響を与える量的形質遺伝子座 (QTL) を5つ (*Gn1-Gn5*) 見いだした。このうち、第1染色体上腕部に座乗する *Gn1* が最も強い効果を示し、詳しいマッピングを行ったところ、さらに *Gn1a* と *Gn1b* という2つの QTL に分離できることが明らかになった。両 QTL は着粒数増加に対し、ほぼ同等の効果を持つ。そこでまず *Gn1a* に着目しさらに解析を進め、最終的に *Gn1a* という QTL はサイトカイニン(CK)の分解反応を触媒するサイトカイニンオキシダーゼ/デヒドロゲナーゼ遺伝子(*OsCKX2*)をコードしていることを突き止めた<sup>5)</sup>。

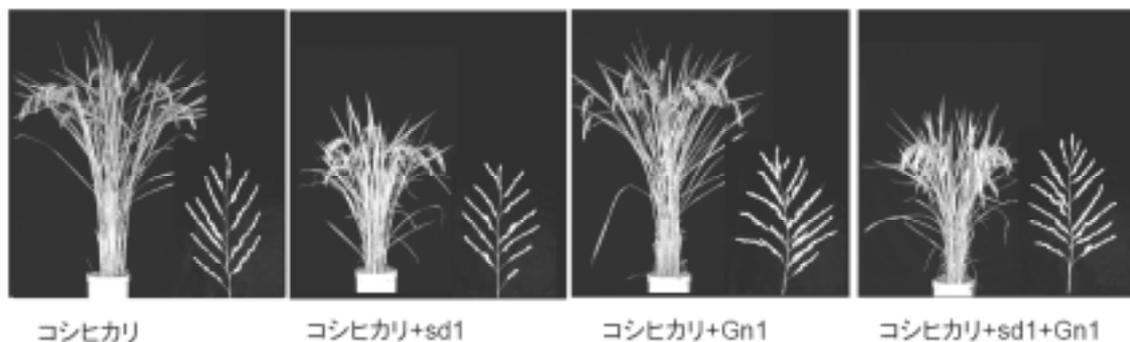
CK は細胞分裂の促進、細胞周期の調節、老化阻害、腋芽の活性化など多様な生理活性を持つ植物ホルモンの1種である。イネゲノム上には *CKX* 遺伝子が11個 (*OsCKX1-OsCKX11*) 見いだされているが、着粒数の多いハバタキでは *Gn1a* として同定された *OsCKX2* のみの発現レベルが下がっていた。この *OsCKX2* 遺伝子はイネの花の分裂組織などで発現しており、実際にハバタキとコシヒカリの花芽の部分のみを採取しCK含量を測定したところ、ハバタキの含量の方が高いことが明らかとなった。ハバタキでは *OsCKX2* 遺伝子の発現レベルが下がることで花芽の分裂組織中のCK分解活性が低くなるため、CK含量が局所的に増加し、細胞分裂活性を高めたことから花の数が増加し、結果的にイネの子実粒数が増加したものと結論した。



(図2) コシヒカリ (左) とハバタキ (右)

## 有用農業形質遺伝子の育種利用

イネ品種間での形質の違いを決める遺伝子が明らかになれば、その遺伝子を育種的手法によって従来品種に導入することが可能である。そこで今回の研究で明らかとなった *sd1* 遺伝子と *Gn1* というハバタキの QTL 遺伝子を交雑と分子マーカー選抜法により効率的にコシヒカリに導入した。その結果、*sd1* をコシヒカリに導入したイネでは草丈が矮化し、*Gn1* をコシヒカリに導入したイネでは着粒数が増加した。さらにそれらを掛け合わせ *sd1* と *Gn1* を併せ持つラインを作出したところ、従来品種のコシヒカリに比べ草丈は約 18% 低く、着粒数が約 20% 増加した（図 3）。これは有用な農業形質遺伝子が見いだせれば、分子マーカー選抜法を用いて従来品種にその形質のみを同時に複数導入することが可能であることを実験的に証明した最初の例であると同時に、消費者や育種家のニーズに合った効率的な育種が可能になることを示唆している。



（図 3）QTL の組み合わせによるコシヒカリへの有用遺伝子の共導入

従来品種のコシヒカリに草丈を低くする *sd1* と子実粒数を増やす *Gn1* を共導入すると、双方の形質が付与された。

## 今後の展開

本研究で、イネ草丈の制御に重要な半矮性遺伝子 *sd1* が植物ホルモンの GA の生合成遺伝子であり、イネ着粒数を制御する *Gn1a* が植物ホルモンの CK の分解反応を触媒する遺伝子であることを世界で初めて明らかにした。これらの研究成果は穀物育種において GA が穀類の草丈の制御に、また CK が直接収量（着粒数）に極めて重要なターゲットであることを示した。また、遺伝子や QTL の組み合わせにより目的にあった「テーラード分子育種」が可能であることも実証された。イネは長年の人の手による育種過程の中で、耐病性や環境耐性などに関わる遺伝子を失った可能性がある。一方でイネは野生種を含め世界中に特徴のある様々な品種がコレクションされており、これらの中から生産性向上に関わる遺伝子の探索を行い、従来品種に導入すればさらなる増収が望める。本研究により来るべき食糧危機を回避するべく「第 2 の緑の革命」を起こすための基盤技術が提供できたものと考えている。

## 謝辞

終始格別のご指導とご高配を賜りました松岡信先生、北野英己先生に心から感謝致します。本研究は名古屋大学生物機能開発利用研究センター及び生命農学研究科の皆様と育種学会会員諸氏の暖かいご支援とご助言の下で進展してものでありこの場を借りて厚く御礼申し上げます。

## 引用文献

- 1) Sasaki, A., Ashikari, M., Ueguchi-Tanaka, M., Itoh, H., Nishimura, A., Datta, S., Ishiyama, K., Saito, T., Kobayashi, M., G. S. Khush, Kitano, H. and Matsuoka, M. (2002) Rice gibberellin synthesis gene. *Nature*. 416: 701-702.
- 2) Ashikari, M., Wu, J., Yano, M., Sasaki, T. and Yoshimura, A. (1999) Rice gibberellin-insensitive dwarf mutant gene *Dwarf 1* encodes a subunit of GTP-binding protein. *PNAS*. 96: 10284-10289.
- 3) Sasaki, A., Itoh, H., Gomi, K., Ueguchi-Tanaka, M., Ishiyama, K., Kobayashi, M., Jeong, D.H., An, G., Kitano, H., Ashikari, M. and Matsuoka, M. (2003) Accumulation of phosphorylated repressor for gibberellin signaling in an F-box mutant. *Science* 299: 1896-1898.
- 4) Ueguchi-Tanaka, M., Ashikari, M., Nakajima M., Itoh H., Katoh E., Kobayashi M., Chow T., Hsing Y., Kitano H., Yamaguchi I. And Matsuoka M. (2005) Gibberellin insensitive dwarf 1 encodes soluble receptor for gibberellin. *Nature* 437, 693-698.
- 5) Ashikari, M., Sakakibara H., Lin S., Yamamoto T., Takashi T., Nishimura A, Angeles., Qian Q., Kitano H, Matsuoka M.(2005) Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science* 309, 741-745.

### Isolation of important agronomic trait genes in cereal and their usage for breeding

Motoyuki Ashikari (Nagoya University, Bioscience and Biotechnology Center)

ashi@agr.nagoya-u.ac.jp