

論文の内容の要旨

生産・環境生物学専攻

平成14年度博士課程 入学

氏 名 神戸 崇

指導教員 東京大学大学院教授 大杉 立

論文題目 イネにおける染色体断片置換系統群 (CSSL) および戻し交配後代を用いた
有用表現形質に関する量的形質遺伝子座 (QTL) 解析

作物は、人類との関わりの過程で多様な特性を備えた品種に分化し、1950年代からはじまった半矮性遺伝子を導入した耐肥性品種の育成および普及は、世界の作物生産量の飛躍的な増大をもたらした。他方、出穂期や収量性といった農業上重要な形質の多くは、一般に多数の遺伝子が関与する量的形質遺伝子座 (QTL) によって支配されている。近年、QTL解析手法の向上およびマーカー利用選抜 (MAS) の進展に伴い、種々の有用形質関連QTLが発見され、新たなQTL解析用集団が数多く育成されてきた。特に、共優性DNAマーカーによるほぼ飽和した遺伝地図に基づき、微細な染色体断片を置換した染色体断片置換系統群 (CSSL) を用いたQTL解析は、エピスタシスなどの複雑な遺伝子間の交互作用を軽減させ、CSSLと反復親との間の表現型および遺伝子型の差異に基づいて、簡便且つ高い検出力を以ってQTL領域を特定することが可能である。CSSLにおいて検出されたQTLの遺伝地図上における位置の精緻さは、置換された染色体断片の大きさに依存するため、一般に劣る。しかしながら、このようなCSSLの難点である比較的長大なQTL領域は、QTLを保持していたCSSLに反復親を戻し交配して作出した分離集団を用いた後代QTL解析を

行うことにより、容易に克服され、更にQTL上の相加効果、優性効果といった対立遺伝子効果やQTLの寄与率を推定することが可能になる。また、作物学的に重要な生理形質の多くは日変化を伴い、QTL解析には大量な集団に対して同時に迅速な測定や採集を行う必要があり、解析が困難か、多大な労力を要するものが多い。CSSLは、BILやNIL等と比較して比較的少ない系統数（本研究では39）で遺伝解析を行うことが出来、戻し交配後代におけるマーカー解析も、CSSLに移入された供与親由来の染色体領域について行うだけで済む。これらのことから、イネにおいて作物学的に重要な出穂期頃の草型や生理形質に関するQTLを、CSSLを用いれば比較的簡明に解析できることが期待される。

本研究は染色体断片置換系統群（CSSL）を用い、種々の生理、生態学的形質について量的形質遺伝子座（QTL）解析を行い、従来の分離集団を使ったQTL解析と比較して高い検出力と、遺伝的交互作用の低減化、簡明な統計モデルを以って新奇な解析を行ったものである。

1. CSSLおよび後代集団を用いた生育および草型に関するQTL解析

39コシヒカリ/Kasalath交配由来CSSLsを用い、生育や草型に関する形質について圃場試験した結果、種々の形質に広範な変異を示した。3年間の圃場における草丈および茎数の増加パターンの推移を積算成長度日（GDD）からみると、草丈の増加パターンに関する9箇所のQTL、茎数の増加パターンに関する1箇所のQTLを特定した。コシヒカリとの統計的な差異が置換されたKasalath染色体断片の影響に帰することのできるCSSLを用いることによって、このような作物学的形質について品種間差レベル以上の遺伝的解析がはじめて可能になったと考えられた。CSSLにおけるKasalath遺伝子型の置換に鑑みて、染色体別に比較群としANOVAを行ったところ、稈長、草丈、穂数、クロロフィル含量、比葉重といった草型に関する8つのQTLを特定した。作物学的に重要な穂数、クロロフィル含量および比葉重に関するQTLを保持していたCSSL（SL-204、SL-209およびSL-222）にコシヒカリを戻し交配して作出した後代F₂においてQTL解析した結果、穂数に関するQTL *qPV-2*が第2染色体RM3865～RM6378間、クロロフィル含量に関するQTL *qCHL-4-1* および *qCHL-4-2*が第4染色体RM241～RM255およびRM255～RM349間、比葉重に関するQTL *qSLW-7*が第7染色

体RM2752～RM234間において、それぞれ詳細な位置特定がされた。第7染色体RM2752～RM234では、比葉重と同時に葉面積に関するQTL *qFLA-7*が特定され、優性度および偏相関分析の結果に鑑みたところ、比葉重の低下が葉面積の増加を導くことが明らかになった。

2. 作物生理学的有用表現形質に関するQTLの探索

シンク、ソース機能およびそれらの関係性は、禾穀類においてバイオマスおよび収量生産に決定的な影響を及ぼす生理学的要素である。39コシヒカリ/Kasalath交配由来CSSLsおよび戻し交配 F_2 後代を供試し、従来作物生理学的に重要性が指摘されている、出穂期の止葉葉身におけるRuBisCOおよび第3葉鞘におけるNSCに関するQTLについて調査した。第10染色体RM8201～RM5708間において出穂期のRuBisCO含量およびNSC濃度に関するQTL *qRCH-10*, *qNSCLSH-10-1*および *qNSCLSH-10-2*が同時に検出された。これらQTLの効果は共に相加的で、周辺形質とも重要な相関も認められなかったことから育種への応用可能性が示された。また、新たに多収性インド型品種ハバタキを供与親として、ササニシキを反復親として連続戻し交配により育成されたササニシキ/ハバタキ39CSSLおよび戻し交配 F_2 後代を供試し、全国3箇所での連絡試験を行い、多収に繋がる作物生理学的形質に関するQTLの特定を試みた。第5染色体RM3476～RM7452間において、RuBisCO含量、NSC含量に関するQTL *qRCH-5*, *qNSCCH-5-1*および *qNSCCH-5-2*を特定した。このQTL上のハバタキの対立遺伝子の効果は共に相加的で、育種上有望であると考えられた。RM1386～RM5642間では、NSC含量に関するQTLが出穂期および出穂14日後の2時期共に認められた。

3. 遺伝資源としてCSSLを用いたQTLの応用可能性

遺伝資源としてCSSLを用い、今後注目される食味およびバイオマスに関する新奇なQTLについて調査した。コシヒカリ/Kasalath交配由来CSSLは、わが国において作付面積30%以上を占める代表的良食味品種で商業上価値のあるコシヒカリの遺伝的背景にKasalathの染色体断片が置換されており、QTLの特定後、有用QTLを保持するエリートコシヒカリNILの育成が容易である。このため、コシヒカリの遺伝的背景に対する、染色体断片置換の影響を様々な角度から評価することは重要である。近年、良食味系統選抜に

において、自動食味計を利用した、簡便且つ迅速な測定の有効性が報告されている。コシヒカリ/Kasalath39CSSLsにおいて、食味計値に関する13の広範なQTL領域を特定した。そのうち第1, 第2, 第3, 第6, 第9, 第11および第12染色体上の9箇所はKasalath染色体断片置換の影響により食味計値の低下を招いていたが、第4, 第5, 第7および第8染色体上の4箇所においてはKasalath染色体断片の移入がコシヒカリの食味を増加させる可能性を示していた。また、近年、生物資源の高度利用に関して様々な検討が行われ、イネにおけるバイオマスの利用についても注目されている。わが国においても、温室効果ガス低減のために輸送用燃料へのバイオマスエネルギーの利用、農業生産現場における未利用バイオマスの利用促進などを目指す動きが盛んである。コシヒカリ/Kasalath39CSSLを供試し、穂重、藁重およびバイオマスに関するQTLを、第2染色体C499~C747間およびC747~C1470間、第8染色体R1943~C390において計3箇所特定し、バイオマス増加に向けた情報を得た。

以上より、CSSLを用いたQTL解析において、単純な検定によって新たなQTL特定への端緒となる情報が得られること、その後の戻し交配 F_2 後代において完全な再現性があることが特長として示され、また、形質により、CSSLの検出力の高さから新たなQTLの特定に繋がること、既報との対応性が高いこと、CSSLが研究材料としても育種素材としても利用価値があることが示された。CSSLを用いたQTL解析は、QTL上の対立遺伝子の相加効果を固定し、微細な染色体断片を置換したQTL-NILを得ることによって、今後はいまだに行い得なかった作物生理学および生態学的形質の向上を意図した実用品種育成への途を拓き得ると考えられた。