

サブテーマ名：D 高速分子進化の環境応用 小テーマ名：D3 病虫害耐性植物の分子育種
サブテマリーダー：埼玉大学大学院理工学研究科、教授、定家義人（○：小テーマ代表者） 研究従事者：（財）埼玉県中小企業振興公社、雇用研究員、畠山 吉則（平成15-17） 日本大学生物資源科学部、助教、畠山 吉則（平成18-19） 埼玉県農林総合研究センター、生物機能担当部長、○秋葉 芳男（フェーズⅠ） 生物機能担当部長、○原沢 正美（フェーズⅡ） 生物機能担当、平野 泰志
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>①研究の概要：分子生物学的手法を用いて病虫害耐性能を有したイネ遺伝系統を確実に選抜し、遺伝子導入なしに優良形質を保有した育種を可能にする。そのためにDNAマーカーの検出とその利用技術を開発し、さらに高速分子進化技術を取り入れた突然変異誘発による有用遺伝子強化を目指す。</p> <p>②研究の独自性・新規性：イネの病虫害抵抗性遺伝子を実験科学的に解明する点、非遺伝子組換えによる目的遺伝子の強化的進化を目指すことである。</p> <p>③研究の目標：</p> <p>フェーズⅠ：①水稻のツマグロヨコバイ耐性系統と感受性系統の育苗とF₂個体の生物検定 ②ツマグロヨコバイ耐性の遺伝子解析</p> <p>フェーズⅡ：①NIL系統個体の育成 ②検出されたツマグロヨコバイ耐性株特異的DNA断片の機能解析</p> <p>フェーズⅢ：①複数の分子マーカーを利用した効率的なゲノム育種 ②新規遺伝子検出手法の開発・展開</p>
<p>研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して）</p> <p>フェーズⅠ①, Ⅱ①：水稻のツマグロヨコバイ耐性系統と感受性系統を交配して得たF₂個体について、ツマグロヨコバイを用いた研究室内での精密な生物検定を実施し、個体レベルでの耐性、感受性系統を得た。戻し交雑を繰り返し、有用系統を選抜した。有用な耐性系統同士を人為的に交配し遺伝子の固定化を図り、耐性系統を育成した。</p> <p>フェーズⅠ②, Ⅱ②：高速化RDA法を開発し、水稻遺伝子解析条件を確立した。まずAFLP法による解析の結果、ツマグロヨコバイ耐性に連鎖するマーカー開発の可能性が示唆された。次に祖先系統「関東PL3号」（耐性）と「コシヒカリ」（感受性）のRDA解析により耐性株特異的DNA断片を得た。耐性品種特異的DNA断片を基に耐性品種由来のDNAを特異的に検出する手法を開発するとともに耐性品種特異的DNAマーカーを用いた選抜手法(MAS)を検討した。</p> <p>フェーズⅢ：良好なDNA断片が得られた場合には耐性品種より検出したDNA配列がどのように耐性に影響しているか検討する。</p>
<p>主な成果</p> <p>具体的な成果内容：</p> <p>フェーズⅠ①, Ⅱ①：遺伝子解析用に「関東PL3号」と「コシヒカリ」のF₂系統104個体を育成した。NIL系統を5世代目まで育成し、その後は、耐性遺伝子の固定化を行い有望な3系統を得た。</p> <p>フェーズⅠ②：耐性系統, 感受性系統計10系統を用いRDA解析を行い耐性株に特異的に存在するDNA断片を得た。RDA解析の高速化を目指して新しい手法を開発した。</p> <p>フェーズⅡ②：既存の解析結果を補足するためRAPD解析を継続した。DNA断片の解析結果を基に耐性マーカー候補となる領域を絞り込んだ。また50種類のオリゴヌクレオチドを作成し、実用化へ向けた試行を行った。DNAマーカーの有効性を検討した結果、2プライマーセットで耐性系統にのみ特異的な断片が認められ、DNAマーカーとして利用できる可能性が示唆された。</p> <p>特許件数：0件 論文数：0件 口頭発表件数：6件</p>

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

これまでのツマグロヨコバイ抵抗性因子に関する研究は主に育種現場での生物検定をもとに調査されており、分子マーカーを用いて解析を行った例がない。また、遺伝子組換えを行わずに目的遺伝子の機能強化を進化化学的に行った例も少ない。

2 実用化に向けた波及効果

病害耐性遺伝子を持つ水稻は既に市場に流通しており、本テーマで作成されたツマグロヨコバイ耐性遺伝子マーカーを用いて育成した水稻品種を販売する場合でも実用化には問題がない。また遺伝子マーカーを用いて解析を行うことができるようになれば育種の効率を飛躍的に向上させることが可能である。

残された課題と対応方針について

- ①今回、開発したDNAマーカーと縞葉枯病抵抗性等既存のDNAマーカーを用いた複合抵抗性分子育種を行う。
- ②周辺情報検索によりDNAマーカーの特許出願の可否を検討する。
- ③耐性品種より検出したDNA配列がどのように耐性に影響しているか検討し、耐性遺伝子の断定と耐性機構の解明を目指した機能的解析を行う。

	J S T 負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合 計
	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	H 19	小計	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	H 19	小計	
人件費	64	4,382	6,416	5,989			16,851	488	7,753	5,835	4,500	6,450	2,233	27,259	44,110
設備費	6,605	6,939	1,393				14,937							0	14,937
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	537	3,242	2,647	2,713			9,139	387	1,680	1,800	1,048	2,300	1,400	8,615	17,754
旅費		151	229	149			529				30			30	559
その他		659	518	663			1,840	12,169	387	290	387	387	436	14,056	15,896
小 計	7,206	15,373	11,203	9,514	0	0	43,296	13,044	9,820	7,925	5,965	9,137	4,069	49,960	93,256

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

J S T 負担による設備：P C R 装置、ブロックインキュベータ

地域負担による設備：

※複数の研究課題に共通した経費については按分する。