

成績概要書（2004年1月作成）

研究課題：イネいもち病真性抵抗性遺伝子 *Pii* に連鎖した DNA マーカーの開発
（ゲノム情報を活用したイネいもち病抵抗性育種技術の開発）

担当部署：中央農業試験場 農産工学部 遺伝子工学科

協力分担：

予算区分：道費（初動研究）

研究期間：2002年度（平成14年度）

1．目的

イネゲノム塩基配列データを活用することにより、*Pii* 遺伝子の座乗染色体を決定し、*Pii* 遺伝子と密接に連鎖した DNA マーカーを作出する。

2．方法

供試材料：いもち病真性抵抗性遺伝子型が明らかとされている北海道および本州の品種・系統 131 種類。

データベース：日本 DNA データバンク DDBJ (DNA Data Bank of Japan)、RGP (Rice Genome Research Program)

3．成果の概要

- 1) 梶ら(2001)の報告にしたがって RAPD プライマー CA05 を用いて、*Pii* を持つ「石狩白毛」、「藤坂5号」および「ほしのゆめ」の DNA を鋳型に PCR を行い、約 1.6kb の特異断片を得た。
- 2) 特異断片 1660 bp の全塩基配列を決定し、日本 DNA データバンク DDBJ にアクセスして塩基配列の相同性検索を行った結果、Accession number AP005811 内の配列に 98.288% の相同性で一致し、*Pii* 遺伝子は第 9 染色体に座乗していることが明らかとなった。
- 3) 特異断片 1660bp と AP005811 の塩基配列情報を比較解析し、特異的 PCR となる SACR (Sequence Characterized Amplified Regions) マーカーを作成した(図1)。
- 4) さらに、CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) マーカーを作成し(図1)、このマーカーを SPI-1 と名付けた。CAPS マーカーの優点として以下のことが挙げられる。
 - (1) DNA 精製度の影響が少ないため、簡易抽出法による DNA でも使用できる。
 - (2) 再現性が高い。
 - (3) ホモ型とヘテロ型との区別が可能である。
- 5) 北海道および本州品種・系統 131 種類を用いて、CAPS マーカーによる解析を行った結果、*Pii* を持つ品種と持たない品種が完全に区別することができ、DNA マーカーによる *Pii* 遺伝子の有無の判別が可能となった(表1)。
- 6) RGP のデータベースから AP005811 近傍のクローンの配列を得て、SSR (Simple Sequence Repeat) 配列を探索した。SSR マーカーによる解析により、*Pii* 遺伝子の領域は、第 9 染色体の 26.7 ~ 34.4cM、約 1,800kb に絞り込むことができた。
- 7) イネゲノムデータベースを有効活用することにより、イネいもち病真性抵抗性遺伝子 *Pii* に連鎖した DNA マーカー SPI-1 を極めて短期間に開発できた。SPI-1 を利用することにより、育成系統など多数の材料について、*Pii* 遺伝子の判定を効率良く行うことができ、育種現場で有効である。

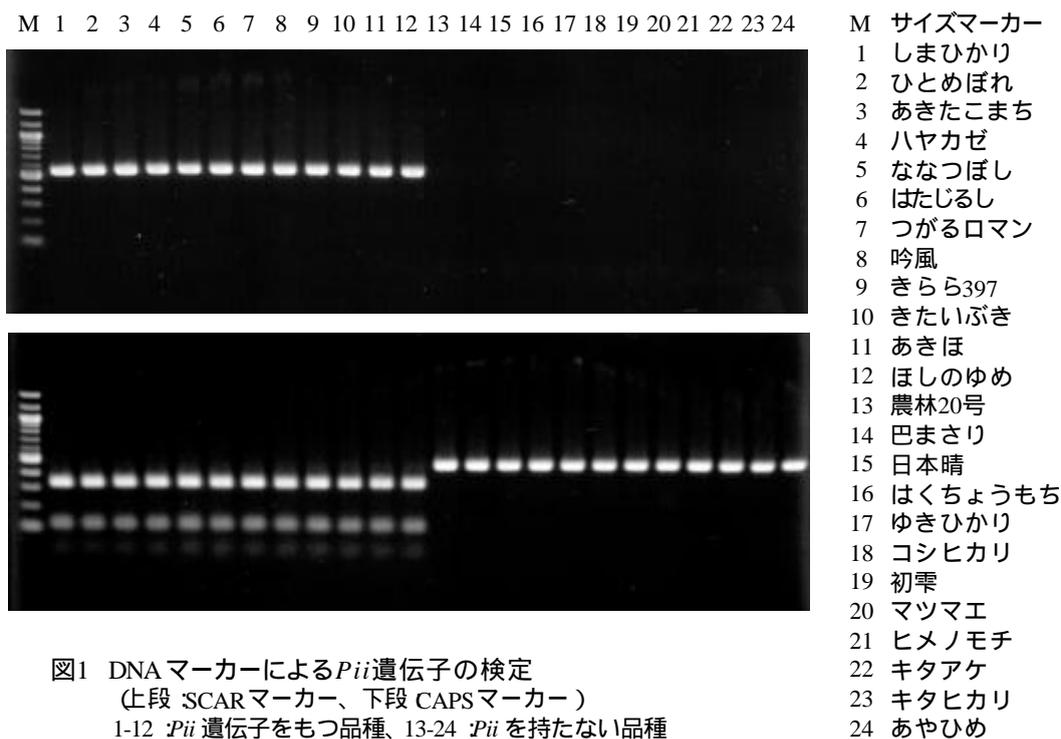


図1 DNA マーカーによる*Pii*遺伝子の検定
 (上段 SCAR マーカー、下段 CAPS マーカー)
 1-12 *Pii* 遺伝子をもつ品種、13-24 *Pii* を持たない品種

表1 抵抗性遺伝子型別のマーカー検定

真性抵抗性 遺伝子型	供試数	マーカー 検定*	品種および系統
+	8	0	はつとかち、照錦、北海112号、南栄、上育436号、農林20号、巴まさり、日本晴 札系96096、早生錦、はくちょうもち、空系97153、たんねもち、なるかぜ、 ゆきひかり、風の子もち、かむいもち、きたこがね、渡系8135、ひめほなみ、 渡育239号、栄光、上育糯439号、ユキモチ、空系97183、彩、空系97169、しおかり、 トヨニシキ、ヤマビコ、金南風、愛知旭、早生富国、コシヒカリ
<i>Pia</i>	26	0	初雫、マツマエ、関東51号、ヒメノモチ、タツミモチ、サカキモチ、ムツニシキ、 マンゲツモチ、クサブエ、新2号
<i>Pik</i>	10	0	美深もち78、美深もち80、渡系8215、空系96060、イシカリ、キタアケ、はなぶさ、 空系97188、渡系8128、空系96086、渡系8129、そらち、キタヒカリ、テイネ、 ユーカラ、みちこがね、ともゆたか、道北5号、上育393号、あやひめ
<i>Pia, Pik</i>	20	0	岩系15号、上育232号、空育9号、北海178号、徳穂、しまひかり、大雪、上育236号、 松本糯、福糯、石狩白毛、ひとめぼれ、ひめむすび、まなむすめ、藤坂5号、 あきたこまち、キヌヒカリ、こいむすび、たきたて、関東IL7号
<i>Pii</i>	20	20	ハヤカゼ、空系97327、緑系96101、空系97075、かちほなみ、ななつぼし、 空育162号、新雪、ほのか224、空系97265、空育169号、胆振白毛、うりゅう、北斗、 はたじるし、東北L2、つがるロマン、ゆめあかり、アネコモチ、ユキモチ、 上育430号、栄糯、道北14号
<i>Pia, Pii</i>	23	23	吟風、きらら397、上育394号
<i>Pii, Pik</i>	3	3	札系97109、札系96005、きたいぶき、札系96069、空系96011、空系96010、ゆきまる、 あきほ、ほしのゆめ、空系97053、空系97006、渡育235号、空系97210、上育404号、 ほしたろう、はやまさり、はやこがね、空育125号、空育168号、上育438号、 上育435号

* マーカー検定で*Pii*遺伝子をもつと判定されたもの

+ 真性抵抗性遺伝子型を持たない

4. 成果の活用面と留意点

- 1) 水稻の品種・系統における *Pii* 遺伝子の判定に用いる。
- 2) 遺伝子型の確定には、接種検定を行う必要がある。

5. 残された問題とその対応

Pii 遺伝子の単離。