



# NBRP イネ

# 04

NATIONAL BIORESOURCE PROJECT RICE NEWSLETTER

Feb 2021

## Contents

第4期NBRPイネの4年目の活動について ..... 2

コラム ..... 3  
イネ遺伝資源と共に  
～染色体からゲノムまで

NBRPイネ遺伝資源を  
利用した最新論文成果概説 ..... 6  
Cゲノムを持つ野生イネ  
*Oryza officinalis* の  
リファレンスゲノム

Oryzabase Now ..... 9  
野生イネゲノムの  
公開データの現状

Technical Tips ..... 11  
野生イネの未熟胚を用いた  
形質転換体の作出

2020年度 活動報告 ..... 12

2021年度 イベント案内 ..... 12



栽培イネ(中央)と野生イネの種子。野生イネは赤米が多く、種子の形やサイズは多様性に富んでいる。

## 第4期NBRPイネの4年目の活動について

国立遺伝学研究所 ゲノム・進化研究系 植物遺伝研究室  
ナショナルバイオリソースプロジェクト・イネ 課題管理者  
佐藤 豊

2020年度は、コロナ禍により日々の暮らしにも大きな影響が生じた一年になりました。皆様はいかがお過ごしでしょうか。NBRPイネが保有するリソースについては、コロナ禍においても安定的に維持されており、この点についての影響は現在までのところ出ておりませんのでご安心ください。一方で、NBRPイネの活動そのものは、コロナ禍への対応もあり当初の計画通りには進みませんでした。NBRPイネは、国立遺伝学研究所が保有する野生イネ遺伝資源や、九州大学が保有する各種突然変異系統などをイネ研究コミュニティの皆様にも有効に利用していただくことを目的に活動をおこなっています。この活動の一環として、オープンフィールド見学会を毎年実施しています。オープンフィールド見学会はNBRPイネが保有する遺伝資源を実際に見ることにより、研究者の皆さんの実験に利用されることを期待しています。

今年度は、国立遺伝学研究所ならびに九州大学における例年通りのオープンフィールド見学会に加えて、

海外でのオープンフィールド見学会（海外オープンフィールド）を開催する予定でした。海外オープンフィールドは、九州大学の安井先生らのご尽力のもと準備を進めておりました。ミャンマーにおいて現地研究者の協力も得て、NBRPイネの看板リソースでもあるwCSSL系統（AAゲノム野生イネの染色体の大部分をカバーする染色体断片を栽培系統背景に導入したシリーズ）を現地で育成し、日本と異なる環境におけるwCSSL系統を観察できる予定でした。また、ミャンマーで自生する野生イネを観察する機会も設けたいと考えていました。参加を希望する国内研究者を募り、現地を訪れる予定でしたが、残念ながら企画は中止となりました。今後、海外渡航を含め人の往来に不安を感じることがない状況になれば、再び企画したいと考えています。ご期待ください。

NBRPイネは、公的研究費のサポートを受けて実施している事業であるため毎年活動実績を記録・報告しております。中



でも、利用者実績が重要な項目なので、月ごとの利用者数の推移を長期間記録にとっています。このNBRPイネの利用者実績からもコロナ禍の影響は見て取れます。材料がイネであることもあり、例年春先に種子のリクエストが多い傾向にあります。しかし、2020年度は4月が1回目の緊急事態宣言の時期であったこともあり、例年よりこの時期の利用者数は大きく減少しました。一方、7月以降リソースのリクエストはある程度回復しているような推移をたどっています。NBRPイネの利用者数ですら、コロナ禍の影響と思える変化が見えるのですから、飲食店業に限らず研究教育活動含めあらゆるところで影

響が出ているのでしょうか。本稿執筆時点で、2回目の緊急事態宣言が発出されており、今後どうなるか先行きが見えません。1日も早く日常を取り戻すことを祈らずにはおれません。

この1年、科学や科学者と社会との関わりを日々考えさせられました。科学が十分に予見可能な将来の帰結を社会に発信できる機会も

多々あったようにも思えますが、それがどう機能し社会がどう受容したのかきちんと検証されるべきでしょう。基礎科学の底力を感じた局面もありました。ワクチン開発は予想を超えるペースで進んだのではないのでしょうか。初のRNAワクチン接種も近い将来始まるようです。RNAワクチンは、RNAの安定化やデリバリーなど様々な要素技術が組み合わされて開発されています。まさに基礎研究の成果です。コロナウィルスに対するRNAワクチンに使われるmRNAですが、5'端にキャップ構造が付いているそうです。このキャップ構造、1975年に古市泰宏先生らが、カイコのRNAウィルスを用いた解析から見つけて報告した構造です。基礎研究が、他の知見や技術と結びついてさらなるブレイクスルーを生み出す現場を目撃できたことに、基礎科学の力を感じるとともに基礎研究に取り組む勇気をもらいました。ちょっとだけポジティブな話題で筆を擱きます。

## Column

## イネ遺伝資源と共に～染色体からゲノムまで

国立遺伝学研究所 名誉教授  
倉田 のり

ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) が 2002年に開始されてから早や19年が経過した。国立遺伝学研究所で「イネ」の中核機関として、第1期から第3期までの14年あまりイネプロジェクトを担い、それが私の研究者人生の締めくくりとも重なった。私のイネとの出会いは、1975年の大学院時代に遡る。その頃染色体に興味があった私は、博士課程から当時小型で核型がほとんど明らかにされていなかったイネに材料を変え、染色体を観察することから再出発した。とにかく小さい。通常法のsquash methodではほとんど観察できず、根端組織の細胞壁を消化して低張化し、さらにflame dry 標本とすることで、やっと体細胞染色体の核型が明らかになった。当時発達していた動物細胞の染色体標本化法を取り入れたことが成功への鍵であった。イネの核型の決定は世界初となったが、12本 ( $n=12$ ) の染色体はほとんどが中央部近傍に動原体を持つ染色体であり、かつ12本の長さが連続的に変化

しており、個々の識別はかなり困難であった。これらの問題の解決に寄与したのが、イネのトリソミクスシリーズであった。二倍体の植物に染色体を1本ずつ添加したトリソミクス (動物でのトリソミーと同義) のシリーズは、九州大学育種学研究室で年月をかけて作成、保存の途上にあった貴重な遺伝資源であった。加えて、形態形質を支配する様々な遺伝子を持つ系統群が九州大学、北海道大学、その他多くの研究者と機関が関わって作成され、遺伝子連鎖群の解析が行われていた。並行して遺伝子連鎖群とトリソミクスとの対応づけも行われており、これらの遺伝資源を用いることができたことにより、それぞれの遺伝子連鎖群がどの染色体に担われているかの対応関係のほとんどを解明することができた。



写真 1. 1986 年 IRRI で開催された国際イネ遺伝学シンポジウムにて。左より岡彦一先生、筆者、Dr. G.S. Kush、岩田伸夫先生

その後、体細胞染色体より細部の観察に適していた減数分裂パキテン期（太糸期）染色体の解析も並行して進めた。*Oryza sativa* ジャポニカイネ（AAゲノム）だけではなく、BBゲノム、CCゲノム、FFゲノムを持つ野生種 *O. punctata*, *O. officinalis*, *O. brachyantha* などのパキテン期染色体を用いて、相互の構造の比較解析を行った。1985、86年には、未だ未解決の部分が残る染色体同定の問題を解決すべく、国際イネ研究所（IRRI: International Rice Research Institute）のKush博士（IRRI 育種部長）に招聘され、一月づつ2回ほどIRRIに招聘研究員として滞在し共同研究を行った。IRRIでの染色体番号の統一化を目指した共同研究も、岡先生、木下先生（北大教授）、岩田先生（九大教授）、Kush, G. S. 博士などの合意による提案であった（写真1）。この間、国際機関での遺伝資源の保存や栽培の規模や方法に触れる機会を得た（写真2）。また、この時すでにBrar, D. S. 博士は交配により栽培イネに異種ゲノム（BB 及びCCゲノム種）を取り込む試みを進めていたことも思い出す。1980年代は、イネの形質遺伝子の命名、遺伝子連鎖群、染色体命名などの国際的な統一化を目指して、国際的なイネ遺伝学協議会が発足し、その機関誌としてのRice Genetics Newsletter が遺伝研の岡彦一先生のご尽力により遺伝研から発刊された。途中から協議会のメンバーの編集により、2010年にその幕を閉じるまでNBRPイネプロジェクトへと引き継がれた。

私自身は、ポスドク時代以降1980年代の10年間は、動物や微生物を用いた分子生物学の分野に身をおいしたが、1990年からは農水省で開始されたイネゲノムプロジェクトに参加することとなった。イネゲノムプロジェクトで遺伝地図と物理地図のチームを立ち上げ、高密度、高精度の遺伝子連鎖地図を作成することができた。連鎖地図の作成後、1995年には研究の場を遺伝研に移したため、プロジェクトからは離れたが、この高精度地図があったから、2004年にイネ全塩基配列を完成させることが可能であったとの評価をいただいたのは、望外の喜びであった。イネゲノムプロジェクトを立ち上げ、かつ私を再びイネの研究へ向かわせてくれたのは、農水省のジーンバンクを設立し、ジーンバンク長、その後に農業生物資源研究所の所長を務めら

れた中川原捷洋氏であった。氏の育種学、遺伝学、遺伝資源学に通じた視野が、これらの分野の研究や事業の大きな原動力となったことは間違いない。

ゲノム塩基配列決定後10年ほどは、国内のみならず世界中でゲノム配列を用いた様々な遺伝子の単離や、染色体断片置換系統群の作成、多様な突然変異系統の作成や探索法の確立、育種系統作成の理論化など、多くの方法論や素材遺伝子系統群の開発が活発に繰り広げられた。直近7-8年に至ってはDNA配列解析が長足の進歩を遂げ、コスト、時間ともに大幅な縮減が実現した。これらの進歩により、多くの遺伝資源の系統（栽培系統、在来種、野生種、変異系統など）が短時間で解析可能な時代となり、多数の系統間でのゲノム配列の差を比較し、系統ごとの特徴を効率よく検出し、利用できる時代となった。

遺伝研で長年にわたり岡先生、森島先生をはじめとする多くの研究者により収集されてきた野生イネ



写真2. 1986年当時のIRRIのイネ育種種子および遺伝資源種子整理室の様子

は、NBRP第1期と第2期で栽培、増殖、確認、保存され、NBRPの遺伝資源として整理された。第3期においては、これらの貴重な遺伝資源を用いて、野生イネの栽培化起源を探る研究(文献1)や、AA, BB, CC, EE, FF, GGHH, HHKK, KKLLゲノムなどの相互の進化関係を解析する研究(文献2)、CCゲノムを持つ多種の野生種の進化やゲノム構造差を解析する研究(文献3)など、広く国際連携により成果を上げることができた。これらの基礎知見をもとに、これからの更なる遺伝資源の利用が広がることを期待したい。

かつて染色体の写真を撮るのに、他の研究室の高性能顕微鏡を借り歩き、写真のプリントを自分で現像していた大学院時代には、自分の研究者人生の間にイネの全塩基配列が解明されようとは夢にも思わなかった。研究者人生を閉じつつある今、学生時代の世界とは隔世の感がある。これからの50年がどのように進むのか、植物やイネに限らず、生物の研究がどのように展開していくのか大きな期待がある。今後の研究の中

で確固としてその存在意義を示すのは、生物遺伝資源に違いない。世界中のイネ研究も、遺伝資源なしには決して進むことはない。どのような時代にあっても、自然界の生物はその進化を止めることはなく、ナマモノの生物としての遺伝資源の価値はより貴重なものとなる。Covid-19は世界を変えるインパクトを与え、そのことを疑いようもなく我々に突きつけている。遺伝資源をどのような規模でどのように収集し、研究基盤整備と最大利用の両方の成果を目指すのか、様々な知見を再度見直し、遺伝資源研究および事業の再構築を行うことは、常に必要なことである。世界の食料としての重要性を担う遺伝資源として、その多様性を生かし、新たな展開を目指したイネ遺伝資源事業の進化を期待したい。



#### 参考文献

- 1, Huang X, Kurata N, et al. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature*. 490:497-501. 2012.
- 2, Stein JC, et al. Genomes of 13 domesticated and wild rice relatives highlight genetic conservation, turnover and innovation across the genus *Oryza*. *Nat Genet*. 50:285-296. 2018.
- 3, Shenton M, et al. Evolution and Diversity of the Wild Rice *Oryza officinalis* Complex, across Continents, Genome Types, and Ploidy Levels. *Genome Biol Evol*. 12:413-428. 2020.

## NBRPイネ遺伝資源を利用した最新論文成果概説

# Cゲノムを持つ野生イネ*Oryza officinalis*の リファレンスゲノム

農研機構 次世代作物開発研究センター 育種素材開発ユニット  
Matt Shenton

## はじめに

栽培化により作物種の遺伝的多様性は低下してきた。地球環境の変化に伴い、変動する環境下で作物の収量を維持または増加させるために、新規または外来のアリルを栽培種に導入する必要がある。イネの野生種のような作物の祖先種は遺伝的多様性を持ち、これを利用することで新規のアリルを栽培種に導入できる。イネの栽培種 (*Oryza sativa* L. と *O. glaberrima* Steud) はAゲノムを持つが、*Oryza*属の複数の種はCゲノムを持つため、これらの種から栽培種へ遺伝子を導入することはAゲノムを持つ種と比べてより難しくなっている。*Oryza*属の他のゲノムを持つ種とともにCゲノムを持つ種について理解を深めることは、*Oryza*属が異なる環境に適応してきた進化の過程について新たな見解を提供することにつながる。そして、この新たな見解は、変動する環境下で生育する新品種の作出を可能にする革新的な育種技術の開発に役立つ。本研究で私たちはCゲノムを持つ野生イネ*Oryza officinalis*のリファレンスゲノムを作成し、国立遺伝学研究所の遺伝資源センターにある野生イネ系統のリシーケンスデータを用いてBゲノムとCゲノムを持つ種の多様性について調査した。

## 背景

*Oryza*属は10種類のゲノムタイプからなる21種の野生種から構成されており、21種の野生種はそれぞれの特徴に基づいて複数のコンプレックスに分類されている。最も大きいコンプレックスが*Oryza officinalis*コンプレックスであり、B、C、D、Eゲノムを異なる組合せで持つ2倍体と異質4倍体の種で構成されている。国立遺伝学研究所（遺伝研）の遺伝資源センターは、これらの種に含まれる数多くの系統を遺伝資源として保存している。これらの遺伝資源は、1950年代に始まった世界の異なる地域に出かける先駆的な研究探索旅行を敢行した遺伝研の元メンバーにより集められた。*Oryza*属に含まれる種は世界の熱帯と亜熱帯地域の大部分に分布しており、この広い分布域はこれらの種の表現型の多様性に反映されている。Cゲノム種の中では*O. officinalis*が南アジアから東南アジアにかけて最も広い分布域を示し、*O. officinalis*のゲノムでは生息環境への適応や病害抵抗性に関する複数の遺伝子座がすでに同定されている。よって、私たちは*O. officinalis*のゲノムに着目し、*O. officinalis*コンプレックスの中のゲノム配列とゲノム構造の多様性を調査することでゲノムの進化についてより理解を深めようとした<sup>(1)</sup>。

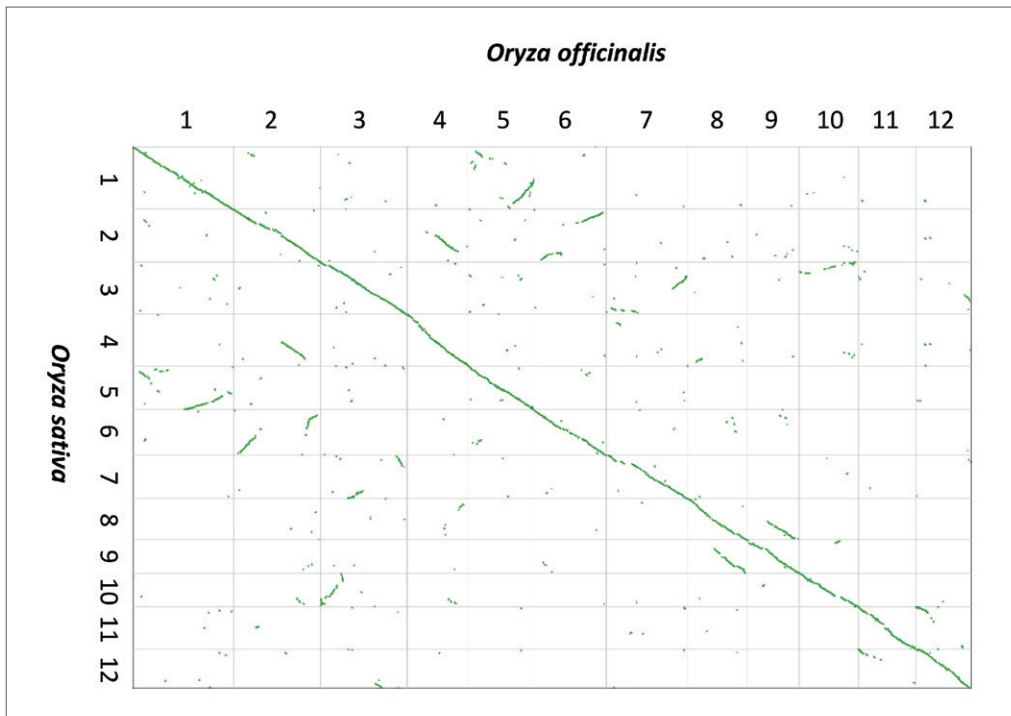


図 1. *Oryza officinalis* と *Oryza sativa* ゲノムの構造類似性

アノテーション済みの *Oryza officinalis* と *Oryza sativa* のゲノム配列を CoGe (<https://genomeevolution.org/coge/>) サイトのソフトウェア “SynMap” を用いてシンテニー領域のアライメントを作成し、そのアライメントをもとに構築したドットプロット図。

## リファレンスゲノムの作成

私たちはPacbioのロングリードと、複数の異なるライブラリ由来のIlluminaのショートリードを用いて、de novo アセンブリによりCゲノムのリファレンスを作成した。先行研究でArizona Genomics Institute がBACライブラリのクローンの両端の配列をもとに作成した物理地図があったため、de novo アセンブリにより得られた短い配列 scaffold は、物理地図をもとに染色体レベルにつなげた長い配列 chromosome pseudomolecules として再構築した。その結果、大多数の *O. officinalis* の scaffold を12本の染色体に関連づけることができた。これらの12本の染色体は全て *O. sativa* の対応する染色体と比べてかなり長かったが、染色体上の遺伝子の配置や順番は *O. sativa* やCゲノム以外のゲノムを持つ種と比較して高いレベルで保存されていた (図1)。

## *Oryza* 属と *O. officinalis* コンプレックスにおける多様性と進化

遺伝研で保存している野生イネ系統は系統的に整理・分類され、その一部が *Oryza* 属を研究するための野生イネのコアコレクションとして整備されている<sup>(2)</sup>。最近になって、*Oryza* 属の19の種に由来する200系統について、全ゲノム配列を解読するためにNGS解析が行われ、ショートリードのNGSデータがNBRPにより整備され、利用可能になった。また本研究で作成した *O. officinalis* のCゲノムのリファレンスに加えて、海外の研究グループにより *Oryza* 属の他の種のリファレンスゲノムが相次いで作成された<sup>(3)</sup>。これらのゲノムとアノテーション情報、およびNBRPの *O. officinalis* コンプレックスに含まれる77系統のリシーケンスデータに基づき、私たちは *Oryza* 属と *O. officinalis* コンプレックスにおけるゲノムの進化と系統発生について調査した。

*O. officinalis* のゲノムは栽培化された *O. sativa* のAゲノムと比較して1.6倍長く、この違いはGypsyタイプのLTR(long-terminal repeat)型レトロトランスポゾンの増殖が主な原因であると結論づけた。一方、*O. officinalis* のゲノム全体のシンテニーは *Oryza* 属の他の種 (Aゲノム、Bゲノム、Fゲノムを持つ種) と同じように保存されていた。私たち

は2倍体Cゲノム種のうち、残る2つの種である *Oryza eichingeri* と *Oryza rhizomatis* のドラフトゲノムアセンブリを用いることで、*Oryza* 属の中で2倍体Cゲノム種の分岐時間を推定した (図2)。BゲノムやCゲノムを持つ他の種や系統のリシーケンスで得られたショートリードのデータを解析した結果 (図3)、Cゲノムの祖先種が分岐した後、DNA型トランスポゾンとLTR型レトロトランスポゾンが共に増殖と欠失を起こしたことでCゲノムを持つ種間で多くの変異が生じたことを明らかにした。

## 今後の展望

Cゲノムのリファレンスゲノムは今日では栽培イネの分子育種を促進するツールとして利用できるようになり、*O. officinalis* コンプレックスが示すストレスに耐性のある特徴を育種に活用できる可能性が出てきた。Cゲノムの全ゲノム配列情報は、多様な野生イネ資源をより効果的にイネの育種に活用し更なる品種改良を進めるために役立つことが期待される。*Oryza* 属のCゲノムはダイナミックに変化しているように見えるが、これはトランスポゾンにより引き起こされた最近の変異や倍数化によるゲノムの導入に起因する。植物の育種という観点からは、相対的に変異の起こりやすいCゲノムは将来のイネの改良に非常に有益な多様な遺伝資源を私たちにもたらすであろう。

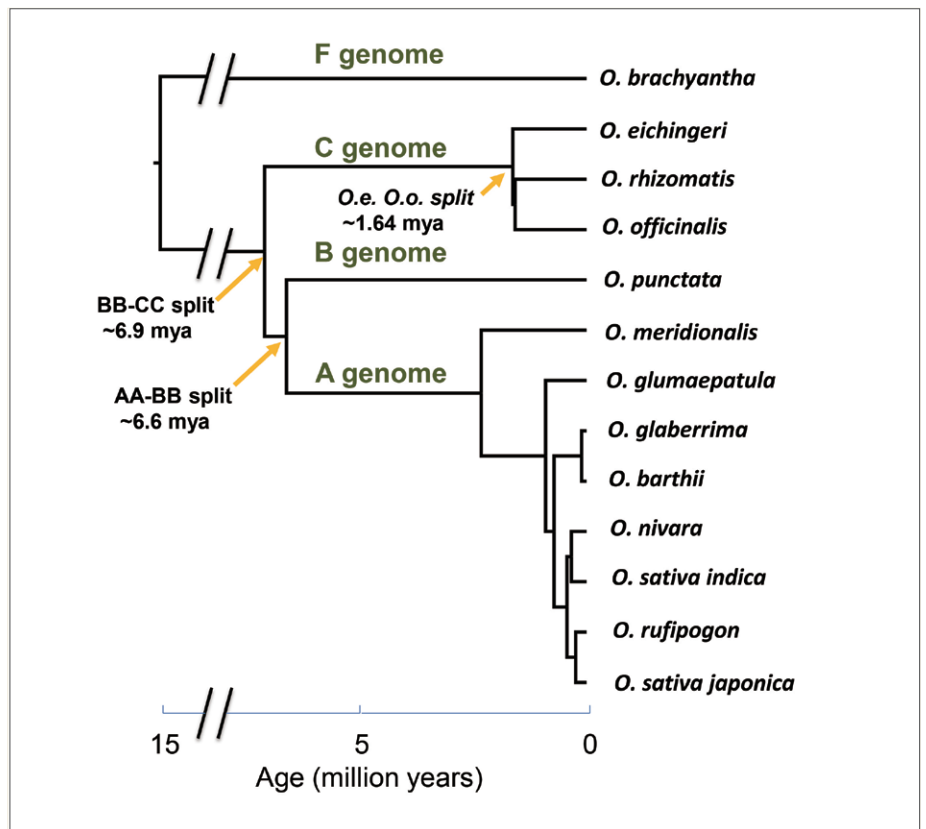


図2. *Oryza* 属における各グループの分岐時間  
シングルコピーのオルソログ遺伝子群のゲノム配列をもとに作成した *Oryza* 属に含まれる種の系統樹。

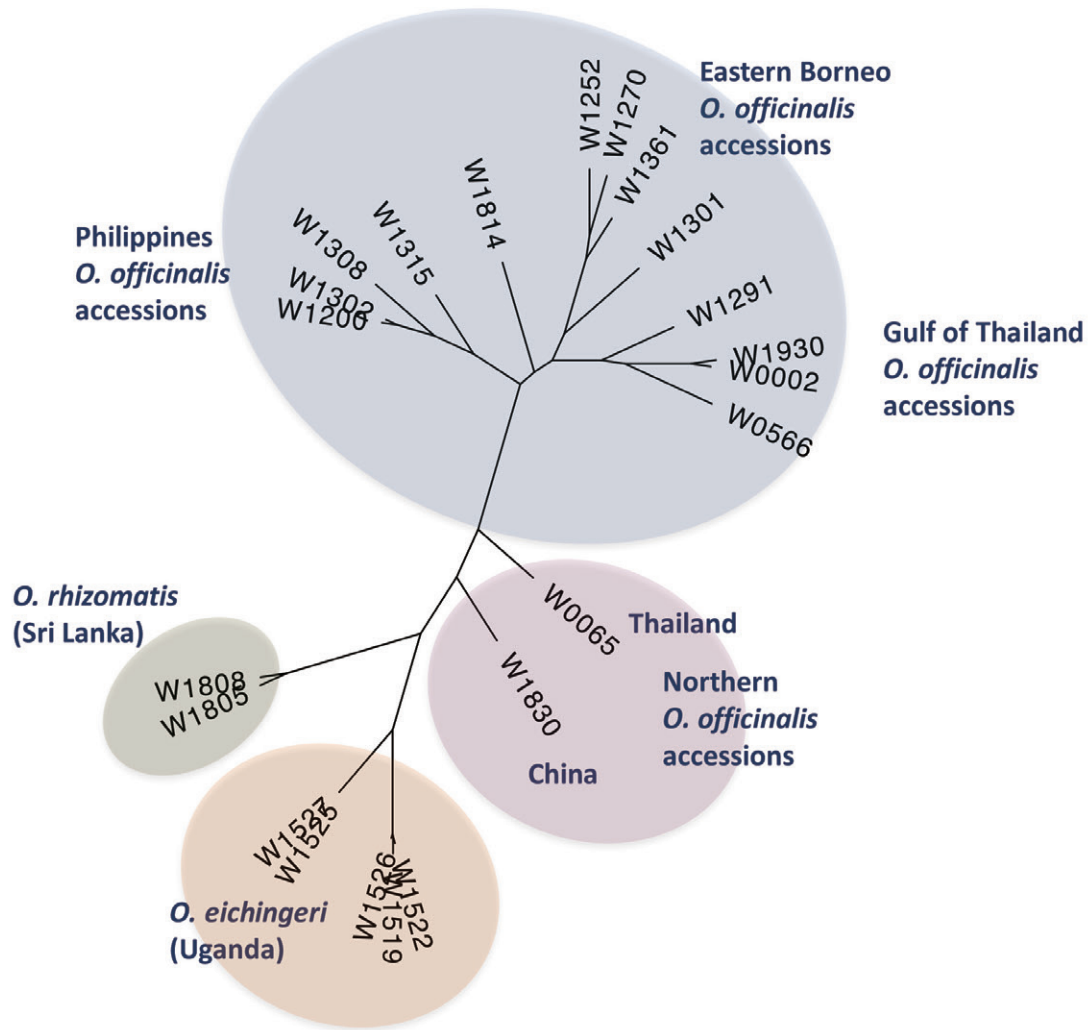


図 3. *Oryza* 属の二倍体 C ゲノム種に含まれる系統の系統関係  
二倍体 C ゲノム種に含まれる系統のゲノム配列を *O. officinalis* のリファレンスゲノムにマップした際に検出される代表的な SNP をもとに最尤法により推定された無根樹。

## 謝辞

本研究は国立遺伝学研究所(NBRP イネ)から分譲された野生イネ資源を用いて実施されました。本プロジェクトの策定から結論を得られるまでの運営にご尽力いただいた国立遺伝学研究所の倉田のり名誉教授、佐藤豊教授に感謝申し上げます。また、かけがえのないご支援とご協力をいただいた明治大学の大柳一研究員、矢野健太郎教授に感謝申し上げます。日本国内と海外の共著者の皆様にも感謝申し上げます。最後に計り知れない恩義を受けた Arizona Genomics Institute の共同研究者である Dario Copetti 氏と Rod Wing 所長に感謝申し上げます。

### 参考文献

- Shenton M, Kobayashi M, Terashima S, Ohyanagi H, Copetti D, Hernández-Hernández T, et al. (2020) Evolution and Diversity of the Wild Rice *Oryza officinalis* Complex, across Continents, Genome Types, and Ploidy Levels. *Genome Biol Evol* 12(4): 413–428.
- Ohyanagi H, Ebata T, Huang X, Gong H, Fujita M, Mochizuki T, et al. (2016) OryzaGenome: Genome Diversity Database of Wild *Oryza* Species. *Plant and Cell Physiology* 57(1): e1–e1.
- Stein JC, Yu Y, Copetti D, Zwickl DJ, Zhang L, Zhang C, et al. (2018) Genomes of 13 domesticated and wild rice relatives highlight genetic conservation, turnover and innovation across the genus *Oryza*. *Nature Genetics* 50(2): 285–296.



## 野生イネゲノムの公開データの現状

国立遺伝学研究所 遺伝形質研究系 植物細胞遺伝研究室  
津田 勝利

### 野生イネ WGS データの山を眺める

ゲノム配列は生物学研究をおこなう上で最も重要な情報の一つで、今日では次世代シーケンサー (NGS) の発展により様々なタイプの全ゲノムシーケンス (Whole genome sequencing : WGS) データが生み出されるようになりました。私たち遺伝研では、これまでさまざまな野生イネの WGS データを公開してきましたが、国際的に見ても実に多くのデータ・論文が生み出されており、その全体像は掴みきれませんでした。

NCBI の Sequence Read Archive を調査したところ、2020年4月の時点で1629件の野生イネ WGS データが見つかりました。データの75%はアジア栽培イネの祖先種である *Oryza rufipogon*, *O. nivara*, およびアフリカ栽培イネの祖先種 *O. barthii* のものであり、栽培化過程の研究や重要形質に関わる遺伝子単離が盛んに行われていることが背景にあると考えられます (表1)。裏を返せば、他種を扱った研究はまだ未踏の領域と言えます。ほとんどのデータは中国・日本・アメリカ・フランス・韓国の5カ国28研究機関から登録されており、これらの国々でのイネ研究アクティビティの高さが伺えました (表2)。

一概に WGS データと言っても、出てくる配列長 (数十 bp~100kb 以上) や読み込まれた深さ (depth) はさまざまであり、適した用途や信頼度も異なります。野生イネでは、Illumina ショートリードで一

塩基多型 (SNP) や InDel を検出し、系統解析や QTL 解析・GWAS に用いることが多いため、データのほとんどがショートリード (96.6%) となっています。また、多型検出の信頼度に関わるリードの depth は 0.04~178.4 と大きなばらつきがありました。遺伝研のデータは、およそ9割が5x以上のdepthで読まれており、品質の高いデータを公開している点特徴です (表2)。さらに、全データのうち約6割は遺伝研 (48.7%) と IIRI (12.4%) の系統であり、これらの SNP 情報と採取地・形質データなどの紐付けや、リクエストによる種子や DNA などの実験材料の入手が可能なおも重要な点です。

### リファレンスゲノムの整備状況

*O. rufipogon* などの栽培イネに近い AA ゲノム種の場合、ショートリードを日本晴ゲノムにマッピングして解析します。しかし、遠縁になればなるほどリードのマッピング率は低下し、多型頻度の高い領域や日本晴には存在しない遺伝子領域に由来するリードは解析の対象から外れてしまいます。こうした問題を回避し、野生イネゲノムの多様性を精度良く解析するためには、種ごとのリファレンスゲノムの整備が重要です。最近では PacBio や Nanopore などのロングリードシーケンサーを使ったリファレンスゲノムの構築例も増えており、*Oryza* 属の10種26系統の野生イネでリファレンスゲノムが公開され

Genome	Species	Number of WGS data
AA	<i>O. barthii</i>	244 (15 %)
	<i>O. glumaepatula</i>	50 (3.1 %)
	<i>O. longistaminata</i>	76 (4.7 %)
	<i>O. meridionalis</i>	48 (2.9 %)
	<i>O. nivara</i>	321 (19.7 %)
	<i>O. rufipogon</i>	656 (40.3 %)
BB	<i>O. punctata</i>	45 (2.8 %)
BBCC	<i>O. minuta</i>	5 (0.3 %)
	<i>O. punctata 'tetraploid'</i>	8 (0.5 %)
CC	<i>O. eichingeri</i>	9 (0.6 %)
	<i>O. rhizomatis</i>	34 (2.1 %)
	<i>O. officinalis</i>	31 (1.9 %)
CCDD	<i>O. alta</i>	3 (0.2 %)
	<i>O. grandiglumis</i>	7 (0.4 %)
	<i>O. latifolia</i>	7 (0.4 %)
EE	<i>O. australiensis</i>	8 (0.5 %)
FF	<i>O. brachyantha</i>	33 (2 %)
GG	<i>O. meyeriana</i>	5 (0.3 %)
	<i>O. meyeriana var. granulata</i>	31 (1.9 %)
HHJJ	<i>O. longiglumis</i>	5 (0.3 %)
	<i>O. ridleyi</i>	3 (0.2 %)

表 1. 野生イネ種別 WGS データ数

ています (表3)。リファレンスゲノムを用いることで、アジアイネの栽培化過程や、*O. sativa*–*rufipogon* complexのパンゲノム、ゲノム進化の研究が進んでいます。一方でこれらリファレンスゲノムのコンティグ数は1632~145,408 (日本晴は302) と完成度に関しては玉石混淆のようで、シーケンサーやアセンブル法の発展により今後

より改善されていくことが期待されます。

現在、NBRPイネで整備を進めているデータベース OryzaGenome2.1では、NGSデータをもとにしたSNP情報はじめとするさまざまな情報を公開しています。今後ますますコンテンツを拡充していく予定ですので是非ご活用ください。

Institute (Country)	Number of WGS data	
	Depth < x5 (*)	Depth > x5 (*)
BGI (China)	18 (15)	19 (16)
CAS (China)	34 (31)	68 (13)
GSC (France)	1 (0)	85 (0)
NCGR (China)	446 (446)	29 (28)
NEW YORK UNIV. (USA)	0 (0)	16 (16)
NIG (Japan)	29 (29)	248 (248)
SAGC (China)	0 (0)	45 (0)
SEOUL NATIONAL UNIV. (Korea)	14 (8)	0 (0)
UNIV. ARIZONA (USA)	103 (40)	62 (40)
UNIV. WUHAN (China)	19 (19)	11 (11)
YUNNAN AGRI. UNIV. (China)	21 (0)	2 (0)
ZHEJIANG UNIV. (China)	1 (0)	277 (0)
Others	0 (0)	81 (35)
Subtotal	686 (588)	943 (407)
Total		1629 (995)

\*Number of WGS data whose material strains are maintained in NIG or IRRI.

表 2. 研究機関 (国) 別の野生イネ WGS データ数

Genome	Species	Acc. No.
AA	<i>O. barthii</i>	IRGC105608
	<i>O. glumaepatula</i>	GEN1233
	<i>O. longistaminata</i>	W11, IRGC110404, NA
	<i>O. meridionalis</i>	W2112, Taxon B
	<i>O. nivara</i>	IRGC100897
	<i>O. rufipogon</i>	W1943, W0123-1, W0141, W0170, W1687, W1698, W1739, W1754, W1777, W1979, W2012, W3078-2, W3095-2, Taxon A
BB	<i>O. punctata</i>	IRGC105690
CC	<i>O. officinalis</i>	W0002
FF	<i>O. brachyantha</i>	IRGC101232
GG	<i>O. granulata</i>	IRGC102117

表 3. リファレンスゲノムが公開されている野生イネ系統

## 野生イネの未熟胚を用いた形質転換体の作出

国立遺伝学研究所 遺伝形質研究系 植物細胞遺伝研究室  
佐藤 (志水) 佐江

野生イネは遺伝的多様性を有するため、基礎科学や育種の分野で研究材料としての需要が近年高まっている。完熟種子より誘導したカルスを用いた遺伝子導入法で形質転換できない野生イネも多い。筆者らは未熟胚を用いることにより野生イネの多くの系統で形質転換体の作出に成功した (Shimizu-Sato et al. 2020)。ここでは、野生イネへの遺伝子導入を行う上での留意点について紹介する。

### 1. 概要

最も重要な点は「良好な未熟胚を単離する」ことである。そのためには健康な野生イネを育成する必要がある。筆者らは1系統につき短日装置がある水田では1株、人工気象器では3株を育成している。約30の子房から20個程度の良好な未熟胚が得られる。念のため、感染は独立して2回行っているが、1回の感染で数系統の形質転換野生イネを得ることができる。

### 2. 野生イネの育成

野生イネは短日装置がある水田で育成しても、人工気象器で育成してもよい。人工気象器の場合は、実生を直径5センチ、高さ9センチ程度のポットに植え、根の張りが良くなるようにポットの底に6個程度追加で穴を開ける。育成条件は、明期11時間 (温度30度、湿度70%)、暗期13時間 (温度25度、湿度70%)。系統に依存するが、吸

水約50日から90日後に出穂を始める場合が多い。基本的に受粉10日前後の子房から未熟胚を単離する。系統によっては不稔の花が多い場合や受粉10日後では子房の発達が不十分な場合もある。筆者らは開花した日付を記したマスキングテープを穂につけ、最初の花が開花10-12日後に穂ごと採取し、ライトボックスで籾を透かすことにより子房の発達状態を確認しながらサンプリングしている (写真1)。

### 3. 未熟胚の単離

写真2は典型的な野生イネの子房を示した。左から受粉1、3、5、8日後の子房である。サンプリングに適した子房は、籾の中いっばいに発達しており胚乳が液体状である。胚乳が固化しているものは熟し過ぎである。子房を滅菌する際、次亜塩素酸の処理時間が長すぎると未熟胚が死滅してしまうので注意が必要である。滅菌後、クリーンベンチ内に設置した実体顕微鏡下で子房から未熟胚を単離する。感染に適した良好な未熟胚はきれいに取り出すことができる (写真3)。

### 4. 補足

ここで紹介できなかった、感染、カルス誘導、再分化に関する留意点もあるので、興味をお持ちの方はNBRP (<https://shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/about/contactUs>) まで問い合わせていただきたい。



写真1. 野生イネの穂  
ライトボックスで下から光を当て、十分に発達した子房（赤丸で示した）を選ぶ。



写真2. 野生イネの子房の発達の様子  
左から、受粉1, 3, 5, 8日後の子房。8日後の子房から未熟胚を単離する。

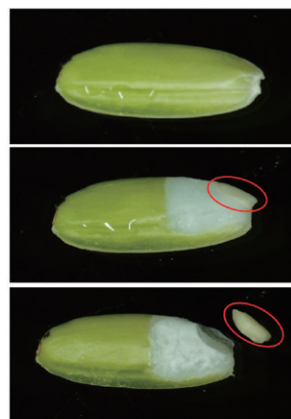


写真3. 子房から未熟胚を単離する様子  
果皮と種皮をピンセットで取り除き、未熟胚を単離する。感染に適した未熟胚は、胚の形がしっかりしており、胚乳からきれいに単離できる。

#### 参考文献

Shimizu-Sato S. et al. (2020) *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of wild *Oryza* species using immature embryos. *Rice* 13:33.

## 2020 年度 活動報告

### 学会での広報活動

日本植物学会第84回大会  
(9月にオンライン開催にて)

第43回日本分子生物学会年会  
(12月にオンライン開催にて)



第 43 回日本分子生物学会年会にて (NBRP イネのオンラインブース)

### NBRP イネ運営委員会

本年度は、12月15日にウェブ会議にて、  
NBRP イネ運営委員会を開催しました。

## 2021 年度 イベント案内

### NBRP イネ広報活動

NBRP イネの遺伝資源を紹介するシンポジウムやオープンフィールド (見学会) 等のイベントをオンライン開催も含めて検討中です。詳細が決まり次第、お知らせします。

## バックナンバーについて

本ニュースレターのバックナンバーや英語版はOryzabase (<https://shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/>) よりご覧ください。

### Vol.1



- コラム「森島先生と多様性の畑」
- Oryzabase Now 「新 OryzaGenome の使い方」
- NBRP イネ遺伝資源を利用した最新論文成果概説「オーストラリアの野生イネ *Oryza meridionalis* を利用したイネ種子亜鉛濃度を向上させる遺伝子座の検出」
- Technical tips 「野生イネの分譲、栽培現場から」

### Vol.2



- コラム「耐虫性のイネ遺伝資源」
- Oryzabase Now 「Oryzabase の歴史と今」
- NBRP イネ遺伝資源を利用した最新論文成果概説「系統特異的な遺伝子の有無が種間の雑種不稔性に関与する」
- Technical tips 「野生イネ栽培の基本・発芽について」

### Vol.3



- コラム「海外学術調査のお作法」
- NBRP イネ遺伝資源を利用した最新論文成果概説「*LGF1* 遺伝子は葉の水中におけるガス交換を促進してイネに耐水性を付与する」
- Technical tips 「野生イネ栽培の基本：出穂と日長について」

ナショナルバイオリソースプロジェクト  
国立遺伝学研究所

〒411-8540 静岡県三島市谷田 1111

NBRP



2021 年 2 月 発行

発行者  
佐藤 豊