

## ゲノム編集によるアサガオ矮性小型品種の分子育種

山下 遼 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 小野 道之 (筑波大学 生命環境系)

## [背景・目的]

矮性品種とは、一般種と比べて小型のまま成熟する品種のことである。矮性化した品種では、倒伏耐性や耐寒性などの有用な形質を持つものが少なからず存在するが、特に矮性化によって栽培スペースが最小限で抑えられることなどから園芸の分野で親しまれている。また、矮性化による可愛らしさはそれだけで人々の目を引き、市場的な価値を生む。

アサガオ(*Ipomoea nil*)は、古来より園芸植物として栽培されており、小学校1年生が一人一鉢を初めて科学的に栽培・観察するなど、日本人にとって親しみ深い植物である。品種改良が進み、色や形が様々な多くの品種が存在する。これらの自殖による固定品種に対して新たな形質を導入するためには、交配後に数世代の戻し交配が必要であり、多大なコストを必要とする。最近、当研究室の先行研究でアサガオに適用したゲノム編集技術は、このコストを大幅に削減すると共に、より確実な品種改良を行うための手段としての活用が期待できる。

アサガオの変異遺伝子の中で、渦(*contracted, ct*)、木立(*dwarf, dw*)は、それぞれ異なる矮性形質を示す。渦は、ブラシノステロイドの生合成経路の欠損により葉が縮まり、小さく分厚くなるという形質を示す。一方、木立はジベレリンの生合成経路の欠損により蔓が伸びず、縦方向への伸長が起きなくなるという形質を示す。最近、これらの原因としてブラシノステロイドの生合成酵素 CYP90C1 とジベレリンの生合成酵素 GA3ox1 をコードする遺伝子にそれぞれトランスポゾンによる機能喪失変異(ノックアウト)が生じていることが明らかになった。特に GA3ox1 に関しては、昨年当研究室の先行研究において 8 kbp ものトランスポゾンが挿入されていることが判明し、これが変異の原因であることを証明しつつある。

本研究では、これら二つの遺伝子について、ゲノム編集技術を用いてノックアウトし、渦及び木立変異のアサガオを再現することで遺伝学的な観点から原因遺伝子を確認する。さらに、これら二つの遺伝子をアサガオ園芸品種において同様にノックアウトすることで、多種多様なアサガオの矮性品種を作出する。これにより、より奇抜で観賞価値の品種を作出するとともに、ゲノム編集技術を活用した分子育種の有効性を実証する。

## [材料]

植物材料は、アサガオ実験系統 Violet に加えて、多種多様な花色を持つ園芸品種 9 種を用いた。園芸品種は、稔性の高いもの、希少価値の高いもの、伝統的なものの観点から選んだ。ゲノム編集には CRISPR/Cas9 gRNA 一体型ベクターを利用し、標的遺伝子ごとに 2 ヶ所もしくは 3 ヶ所の gRNA を設計した。

## [方法]

開花後 2 週間の未熟種子より無菌的に取り出した未熟胚を組織培養して得たアサガオ不定胚に対して、アグロバクテリウム法による目的遺伝子の導入を行った。得られた不定胚はアグロバクテ

リウムと二日間共存培養した後、カナマイシンを含む選抜培地に移植した。その後 2-3 週間後にサイトカニン及びオーキシンを含む培地に移植し、シュートを誘導させた。個体が再生したら、PCR 解析による目的遺伝子の導入を確認した。また、再生した個体は順化させ、表現型を確認した。

## [結果]

詳細は発表会にて報告する。

## [謝辞]

本研究の一部は、内閣府、戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「スマートバイオ産業・農業基盤技術」(管理法人:農研機構生研支援センター)によって実施されました。CRISPR/Cas9 gRNA 一体型ベクターを提供して頂いた遠藤真咲先生と土岐精一先生(農研機構)に感謝いたします。アサガオ種子を提供していただいた変化朝顔研究会の石黒和昭氏と NBRP「アサガオ」の仁田坂英二博士(九州大学)に感謝いたします。