



プレスリリース

平成28年6月21日
内閣府
政策統括官(科学技術・イノベーション担当)

イネの品種改良につながる4つの新たな遺伝子を発見

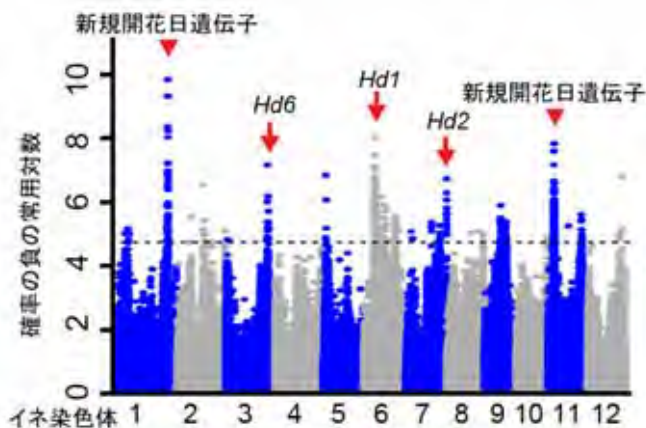
戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「次世代農林水産業創造技術」において、神戸大学農学研究科附属食資源教育研究センターの山崎将紀准教授、元名古屋大学生物機能開発利用研究センターの矢野憲司氏(現東京大学農学生命科学研究科、日本学術振興会特別研究員)と名古屋大学生物機能開発利用研究センターの松岡信教授、農業・食品産業技術総合研究機構の山本英司主任研究員らの研究グループは、ヒトの遺伝子分析に使用される解析手法を用いてイネの遺伝子を解析し、農業上重要な新規遺伝子を4つ発見しました。今後、品種改良への活用により、世界人口の増加による食糧難などへの貢献が期待されます。この研究成果は6月21日(日本時間)に英国科学雑誌「Nature Genetics」にオンライン掲載されました(詳細に関しては添付資料をご覧ください)。

論文掲載先：
Nature Genetics

掲載論文：
“Genome-wide association study using whole-genome sequencing rapidly identifies new genes influencing agronomic traits in rice.”

著者：
Kenji Yano, Eiji Yamamoto, Koichiro Aya, Hideyuki Takeuchi, Pei-ching Lo, Li Hu, Masanori Yamasaki, Shinya Yoshida, Hideki Kitano, Ko Hirano, and Makoto Matsuoka

研究助成：
科学研究費、戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「次世代農林水産業創造技術」、
日本学術振興会



図：開花日に関するゲノムワイド関連解析(GWAS)の結果。既知遺伝子(Hd1, Hd2, Hd6)の他、2つの開花日遺伝子の同定に成功。

(内閣府問合せ先)
政策統括官(科学技術・イノベーション担当) 付
戦略的イノベーション創造プログラム担当 前田
電話：03-6257-1332(直通)
FAX：03-3581-9288

<研究の背景>

植物遺伝学や植物育種学を基礎とする作物の品種改良は、増加し続けている世界の人口を支え続けるために絶対に欠かせない技術となっています。新品種育成を効率的に実施するためには、収量などの農業上重要な形質(以降、農業形質と呼ぶことにします)に関連する遺伝子を速く同定し、その特徴を分析する必要があります。

しかし、これまでの農業形質の遺伝解析の主流であるQTL(量的形質遺伝子座)解析には、長い時間や多大な労力が必要でした(図1左)。2つの親品種のみを対象としており、実験材料を育成するのに時間がかかります。一方、ヒトの遺伝子同定で多用されているゲノムワイド関連解析(Genome-wide Association Study: GWAS)は現存している多数の品種を使って、早く遺伝解析が開始できる優れた方法です(図1右)。しかし、この方法にも欠点があります。①アジア栽培イネは、一般に日本型イネ品種群(*japonica*)とインド型イネ品種群(*indica*)の2つに大別されています。この2つの品種群を一緒にGWASを行うと、*japonica*と*indica*との間の分化に起因すると偽の関連が多数検出されます。これが集団構造と呼ばれ、GWASで大きな障害となっています。これを克服する遺伝統計的方法が提案されていますが、集団構造を完全に制御することは非常に困難であることがわかってきました。②イネは自殖性植物のため、組換えの頻度が低くて連鎖不平衡の範囲が広く(複数の遺伝子座が1組合せ/ブロックとなっている)、その結果候補となる遺伝子が多数であることも遺伝子同定への大きな障害となっていました。

この GWAS は他の植物でも盛んに実施されていますが、その成功例は極めて少なく GWAS に対する否定的な意見も少なくありません。しかし、GWAS を一から検討し直し、様々な工夫や改良を行うことで、迅速な遺伝子同定に成功することができました。

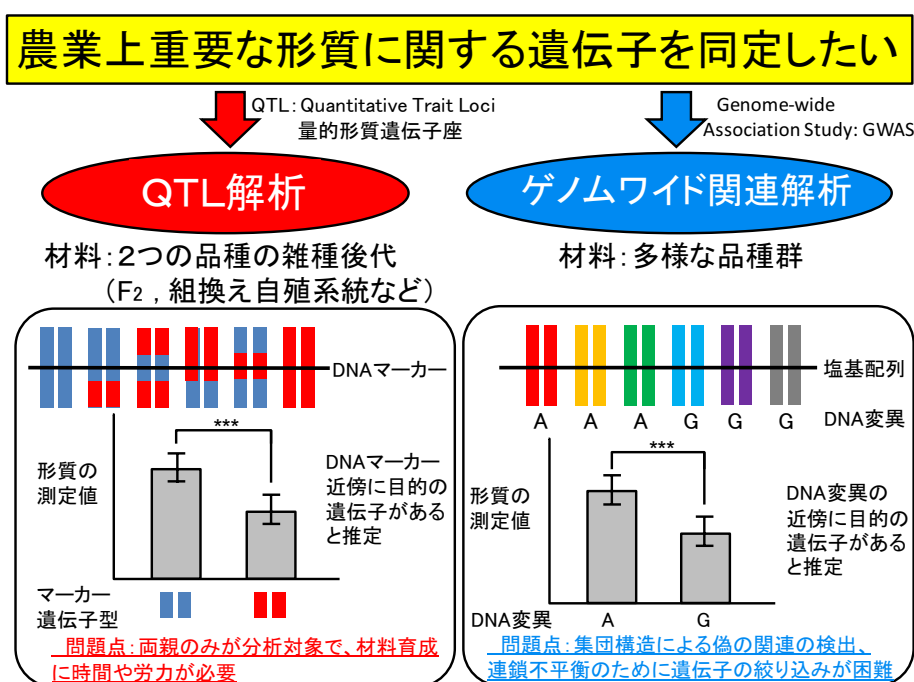


図1 2つの主要な遺伝子同定法: QTL解析とゲノムワイド関連解析(GWAS)。今回はGWASに注目しました。

<研究内容>

まず GWAS のためのイネ集団を見直した結果、176 品種から構成される日本水稻品種集団を使うことにしました。この集団は、神戸大学が長年収集と保存をしていた酒米を含んでおり、GWAS の問題点の一つである集団構造はなく、4つの農業形質(開花日、草丈、穂の長さ、葉の幅)に多様性が観測されました(図2)。一方、次世代シーケンサーによる各品種の全塩基配列がほぼ決定され、合計 493,881 箇所の DNA 塩基配列の差異が発見されました。

次に開花日 GWAS の結果、3つの既知遺伝子(*Hd1*, *Hd2*, *Hd6*)が同定され、イネ染色体1と11に新規遺伝子も同定できました(図3)。連鎖不平衡解析の結果、染色体1の新規遺伝子は 346kb の領域に絞り込まれました(図4)。図4で見られるように候補遺伝子領域に強い連鎖不平衡が認められましたが、遺伝子構造や機能の変異を調べたところ、候補遺伝子が1つに絞り込まれました(図5)。その遺伝子を導入した形質転換実験でも、候補遺伝子によって開花日を変動させる効果が認められ、遺伝子同定に成功しました。同様の方法で染色体11の遺伝子も同定され、開花日だけでなく、草丈や穂の長さにも効果がある新規遺伝子でした。また、別の遺伝子が染色体4にもあり、穂の数、葉の幅、籾の数に影響していました。

Hd1 遺伝子の周辺領域について詳しく見ていくと、実は GWAS のピークと *Hd1* 遺伝子の位置が約 1000kb 離れていました(図6左)。このような現象は他の植物でも報告されていました。この日本水稻集団の *Hd1* には11もの遺伝子タイプ(ハプロタイプといいます)があり、正常型や機能欠損型、中間型なども確認され非常に多様であることがわかりました。*Hd1* 遺伝子には開花日に寄与する複数の変異があったため、通常 DNA 変異による GWAS だと、2つのタイプのみ(例えば塩基配列アデニンタイプとシトシンタイプとの比較)での解析のため *Hd1* 遺伝子の検出が困難でした。そこで遺伝子単位で複数のタイプに分類し、GWAS を行うと *Hd1* 遺伝子が検出できるようになりました(図6右)。この方法で芒(のげ)の長さに関わる遺伝子が同定できました(図7)。イネの種子に付いている芒の存在は収穫の妨げになるので、育種過程で芒が無い品種が選抜されたと考えられています。

GWAS の問題点であった集団構造と広範な連鎖不平衡について、取り扱うイネ集団の精査、各イネ品種の全塩基配列決定と遺伝子構造・機能の変異解析、遺伝子タイプによる GWAS 手法によって克服でき、GWAS は遺伝子同定に有用な手法であることが今回明らかになりました。しかし、QTL 解析自体が否定されるものではありません。両手法を上手く使い熟すことで、高速な遺伝子同定と新品種育成が促進されると考えられます。今回の GWAS の事例が他の動植物の遺伝子同定への加速化につながり、本研究で使用された日本水稻品種集団は貴重な遺伝資源として、他の遺伝子同定や新品種育成にも今後活用できると期待されます。



図2 今回実験で使用したイネ集団。開花中の品種もあれば、収穫直前の品種も観察されます。グラフは開花日の分布を示しており、黄色棒が今回使った日本水稲 176 品種、灰色棒は世界から収集したイネ 413 品種 (Zhao et al. 2011)です。日本水稲品種群が世界イネ品種群と同じくらいの変動を示しました。

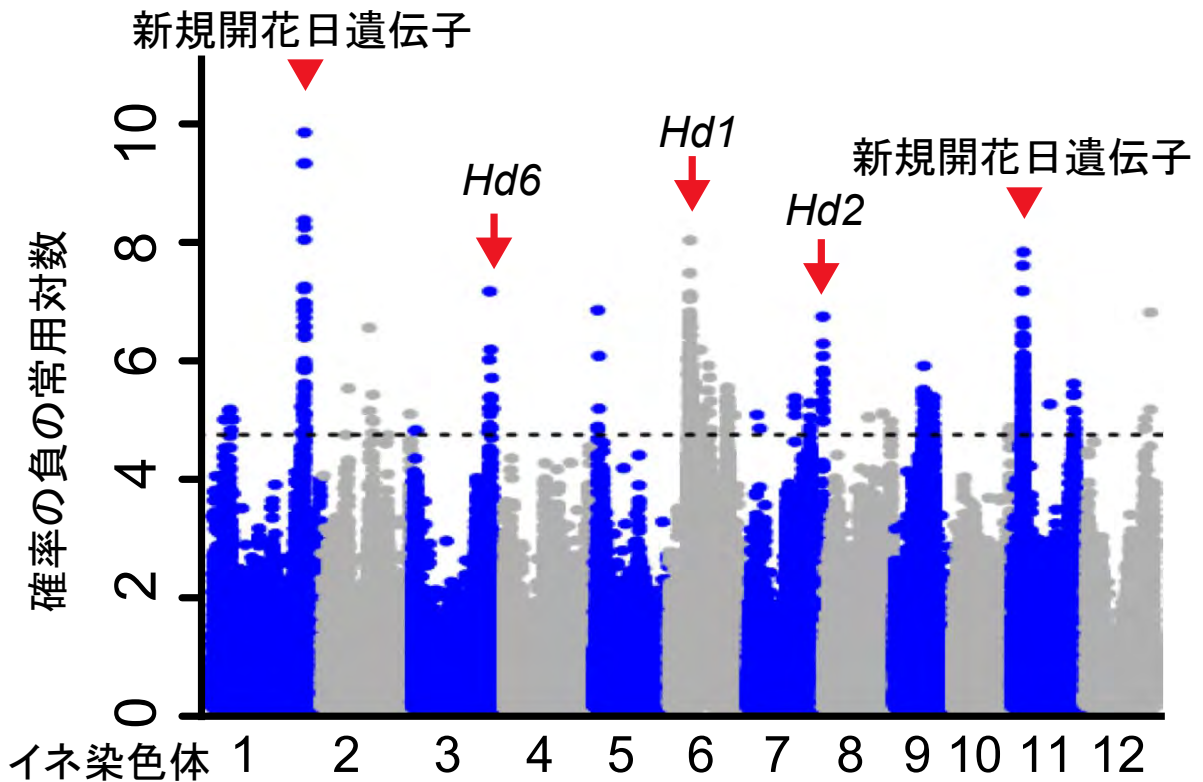


図3 開花日 GWAS の結果。既知遺伝子 *Hd1*, *Hd2*, *Hd6* が同定でき、2つの新規開花日遺伝子も同定できました。

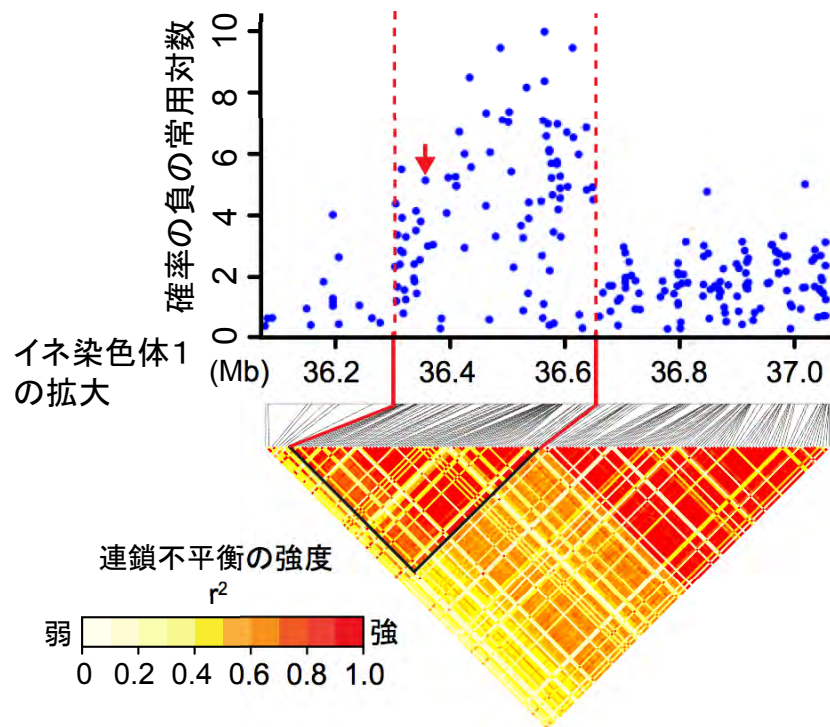
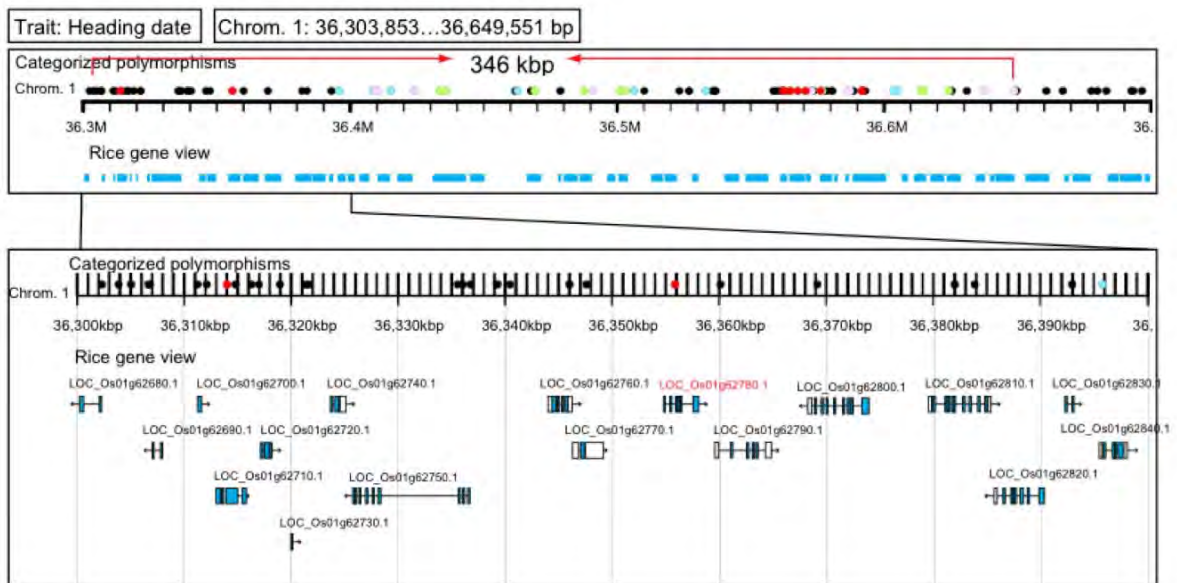


図4 染色体1の開花日遺伝子領域の拡大図。連鎖不平衡解析により、候補領域は346kbに絞り込まれました。赤い矢印が開花日遺伝子 *LOC_Os01g62780* の位置を示しています。

a



b

Group I (8 polymorphisms in 7 genes)

Chr.	Position (bp)	P-value	Ref.	Alt.	Gene ID	Region	Ref.codon	Alt.codon	Ref.aa	Alt.aa	Annotation
1	36,313,992	5.40	C	G	LOC_Os01g62710	CDS	GAC	GAG	D	E	transposon protein, putative, unclassified
1	36,355,847	5.02	G	A	LOC_Os01g62780	CDS	GTT	ATT	V	I	nucleotidyl transferase
1	36,562,296	7.07	-	CTT	LOC_Os01g63090	CDS	AAG	AAAAGG	K	KR	retrotransposon protein, putative, Ty3-gypsy subclass, expressed
1	36,564,715	10.06	T	A	LOC_Os01g63100	CDS	ATC	AAC	I	N	retrotransposon protein, putative, unclassified, expressed
1	36,567,638	6.53	A	G	LOC_Os01g63100	CDS	AGC	GGC	S	G	retrotransposon protein, putative, unclassified, expressed
1	36,570,586	6.94	G	A	LOC_Os01g63110	CDS	GCG	GTG	A	V	retrotransposon protein, putative, unclassified
1	36,576,147	5.60	A	G	LOC_Os01g63120	CDS	TAG	CAG	*	Q	retrotransposon protein, putative, Ty3-gypsy subclass, expressed
1	36,591,721	5.16	T	C	LOC_Os01g63150	CDS	AGC	GGC	S	G	retrotransposon protein, putative, Ty3-gypsy subclass, expressed

図5 染色体1の開花日遺伝子領域の遺伝子構造や機能の変異情報解析。この領域に座乗する遺伝子のうち、遺伝子構造や機能の変異により、候補遺伝子を *LOC_Os01g62780* に絞り込みました。

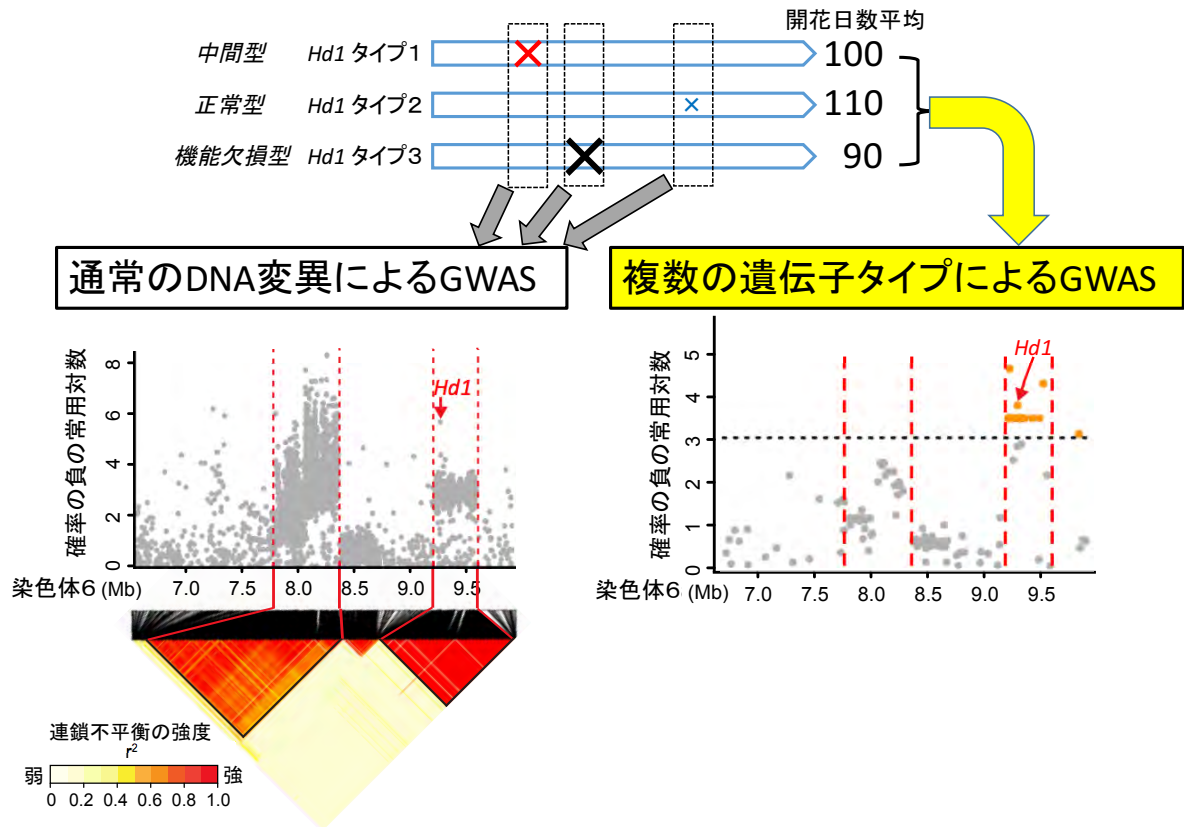


図6 *Hd1* の GWAS の結果。*Hd1* 遺伝子には複数の変異(「×」で示されている)があり、開花日数に多様性がありました。左:通常の DNA 変異を使った GWAS、右:複数の遺伝子タイプで分類した GWAS によって *Hd1* が検出できました。



図7 形質転換実験による、染色体8に座乗する芒(のげ)遺伝子の効果。(左)無芒である品種「日本晴」に、形質転換ベクターのみを導入した系統の種子、(中)無芒にする遺伝子タイプを「日本晴」に導入した系統の種子、(右)有芒にする遺伝子タイプを「日本晴」に導入した系統の種子。白い棒は15mm。

<発表雑誌> Nature Genetics, doi:10.1038/ng.3596

Title: **Genome-wide association study using whole-genome sequencing rapidly identifies new genes influencing agronomic traits in rice.**

Kenji Yano, Eiji Yamamoto, Koichiro Aya, Hideyuki Takeuchi, Pei-ching Lo, Li Hu, Masanori Yamasaki, Shinya Yoshida, Hideki Kitano, Ko Hirano, and Makoto Matsuoka

<共同研究者>

矢野 憲司・名古屋大学生物機能開発利用研究センター、現在東京大学・特別研究員

山本 英司・農業・食品産業技術総合研究機構・研究員

安益 公一郎・名古屋大学生物機能開発利用研究センター・特任助教

竹内 秀征・名古屋大学生物機能開発利用研究センター・大学院生

羅 珮菁・名古屋大学生物機能開発利用研究センター・大学院生

胡 麗・名古屋大学生物機能開発利用研究センター・大学院生

山崎 将紀・神戸大学大学院農学研究科附属食資源教育研究センター・准教授

吉田 晋弥・兵庫県農林水産技術総合センター・研究主幹(神戸大 元教授)

北野 英己・名古屋大学生物機能開発利用研究センター・教授

平野 恒・名古屋大学生物機能開発利用研究センター・研究員

松岡 信・名古屋大学生物機能開発利用研究センター・教授

本資料中の図は Nature Genetics 誌提供のものを一部改変しています。

<お問い合わせ>

神戸大学大学院農学研究科附属食資源教育研究センター

山崎 将紀(やまさき まさのり) Email: yamasakim@tiger.kobe-u.ac.jp

東京大学農学生命科学研究科 日本学術振興会特別研究員

矢野 憲司(やの けんじ) Email: a-kyano@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp