

総合科学技術会議評価専門調査会評価検討会

# 「イネゲノム機能解析研究」評価のための現地調査資料

## 資料－1

平成14年10月7日

(独)農業生物資源研究所

## 目的

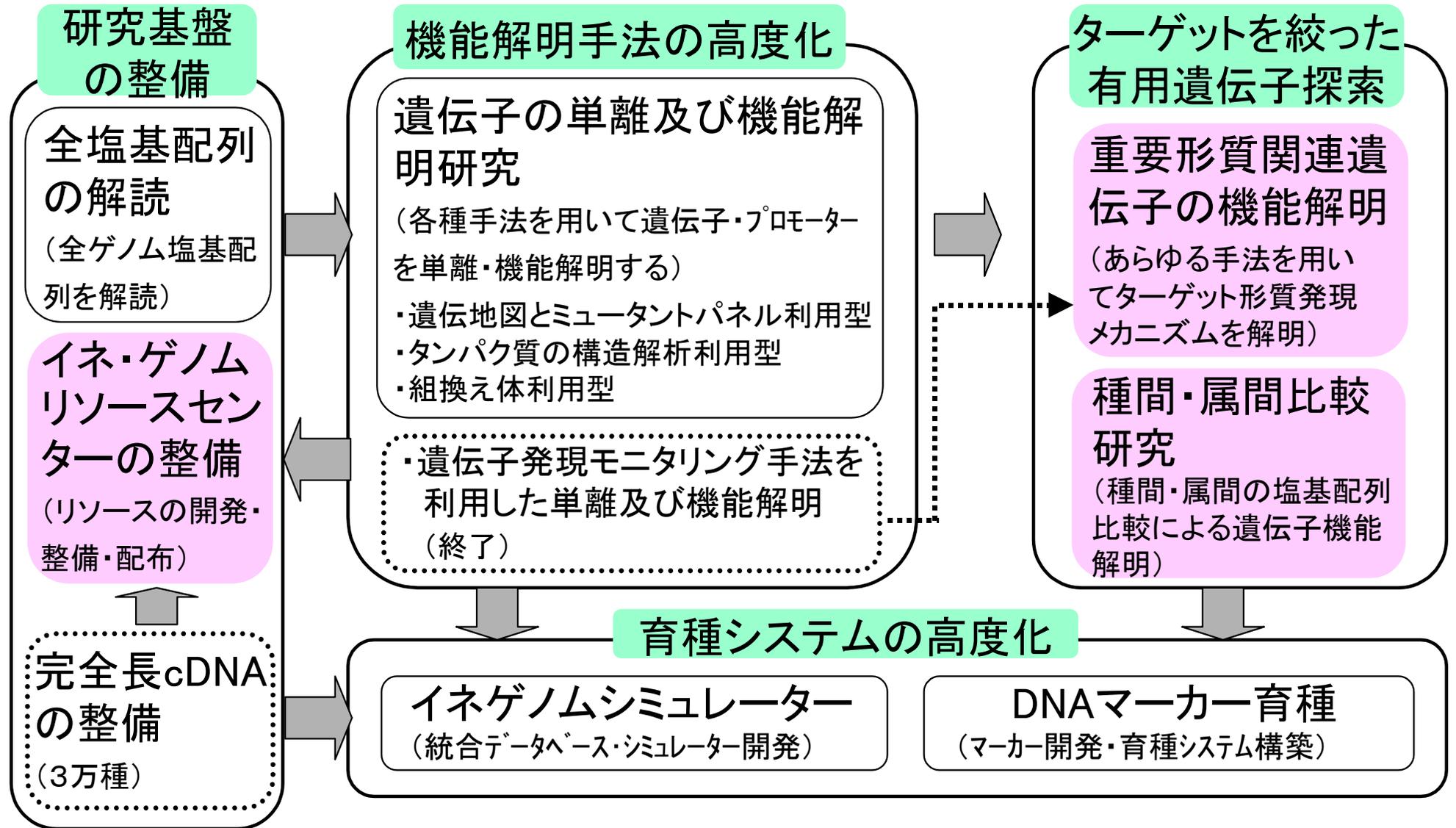
1. イネゲノム塩基配列を解読し、すべての遺伝子を含むゲノムの構造を明らかにして、植物生命科学研究の基盤を作る
2. 有用遺伝子を単離・機能解析し、ゲノムの機能を明らかにして、イネの各種形質の改良、植物工場などの産業利用につなげる

## 目標

1. 国際協力(IRGSP)により、2002年末までにゲノム塩基配列の重要部分の解読(フェーズ2)を終え、可能な限り早くイネゲノム全塩基配列を解読し、単子葉植物ゲノムのゴールデンリファレンスを完成する
2. 塩基配列情報、高精度遺伝子地図、完全長cDNA、レトロトランスポゾンによる遺伝子破壊系統、遺伝子置換系統等のゲノムリソースを整備しつつ、これらを用いて遺伝子を単離・機能解明する手法を開発し、有用遺伝子の機能を解明する
3. イネの重要形質に関わる多数の遺伝子を明らかにし、関与する遺伝子の機能や相互関係等を解析することにより、重要形質を発現するメカニズムの全容を明らかにする
4. ゲノム情報や栽培、育種情報等を統合したデータベースを構築するとともに、イネゲノム機能のシミュレーターを開発する
5. イネなどのゲノム情報を元に、品種間・属間ゲノム比較を行い、多様な表現型をもたらす遺伝機構の解明やイネでは認められない形質等に関する遺伝情報を解明する

# イネゲノム機能解析研究の構成

59



- ・大学研究者を総括リーダーとし、その責任と権限の下、研究を推進
- ・公募により、産業界・大学等の優秀な研究者を結集(9/19公募開始)
- ・海外の研究機関(IRRI、CIMMYT)との連携を強化
- ・研究成果の産業界への移転を促進

# 研究代表者のプロフィール

## 評価委員

大石道夫氏((財)かずさDNA研所長)  
 榎佳之氏(東大医科研教授)  
 杉山達夫氏(理研植物科学センター長)  
 (50音順、このほか大学、民間から29名)

委嘱

農林水産省

研究委託

研究成果

## 主査

中島卓介理事(生物研)  
 農学博士、60歳  
 (主な業績)  
 Curr. Genet. 21, 153-159,  
 1992  
 日本育種学会賞 1995

## 副主査

肥後健一グループ長(生物研)  
 理学博士、59歳  
 (主な業績)  
 Plant Science, 151, 39-46, 2000  
 Plant J., 18, 625-632, 1999  
 Theor. Appl. Genet., 97, 9-19, 1998

評価・助言

独立行政法人農業生物資源研究所(主査研究機関)

独立行政法人農業技術研究機構  
 (主査研究機関)

重要形質関連遺伝子の  
 機能解明(H15~)

総括リーダー(予定)  
 松岡 信教授(名古屋大)  
 農学博士、46歳  
 (主な業績)  
 Nature, 416, 701-702, 2002  
 Plant Cell, 14, 57-70, 2002  
 Proc. Natl. Acad. Sci. USA,  
 98, 8909-8914, 2001  
 植物生理学会奨励賞 1995

全塩基配列の解明  
 (H12~)

総括リーダー  
 佐々木卓治グループ長(生物研)  
 理学博士、55歳  
 (主な業績)  
 Plant Cell, 14: 525-545, 2002  
 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98,  
 7922-7927, 2001  
 Theor. Appl. Genet., 102, 793-800,  
 2001  
 日本育種学会賞 2003

遺伝子の単離及  
 び機能解明研究

イネ・ゲノムシミュレー  
 ターの開発(H13~)

総括リーダー  
 肥後健一グループ長  
 (生物研)  
 理学博士、59歳  
 (主な業績)  
 Plant Science, 151, 39-46,  
 2000  
 Plant J., 18, 625-632, 1999  
 Theor. Appl. Genet., 97, 9-19,  
 1998

DNAマーカーによる効率的な  
 新品種育成システムの開発  
 (H14~)

総括リーダー  
 根本博室長(農研機構)  
 農学博士、44歳  
 (主な業績)  
 Breeding Science, 48, 321-  
 324, 1998  
 Jpn. J. Tropical Agriculture,  
 42, 111-118, 1998

種間・属間比較研究  
 (H15~)

総括リーダー  
 佐々木卓治グループ長  
 (生物研)  
 理学博士、55歳  
 (主な業績)  
 Plant Cell, 14: 525-545, 2002  
 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98,  
 7922-7927, 2001  
 Theor. Appl. Genet., 102, 793-  
 800, 2001  
 日本育種学会賞 2003

イネ・ゲノムリソースセ  
 ンターの整備(H15~)

総括リーダー(予定)  
 長村吉晃バンク長  
 (生物研)  
 農学博士、48歳  
 (主な業績)  
 Genome Research, 9, 825-  
 829, 1999  
 Genetics, 148, 479-494, 1998  
 Plant Mol. Biol., 35, 79-87,  
 1997

遺伝地図法とミュタント  
 パネル利用型(H12~)

総括リーダー  
 廣近洋彦チーム長  
 (生物研)  
 理学博士、49歳  
 (主な業績)  
 Plant Cell, 13, 521-534,  
 2001  
 EMBO J., 15, 992-1002,  
 1999  
 科学技術長官賞 1999

タンパク質の構造解析利用  
 型(H12~)

総括リーダー  
 澁谷直人教授(明治大学)  
 学術博士、57歳  
 (主な業績)  
 Plant J., 30, 447-455, 2002  
 Plant Physiol., 126, 1-12,  
 2001  
 Plant Cell, 12, 817-826, 2000  
 文部科学大臣賞 2001

組換え体利用型(H14~)

総括リーダー  
 田中宥司チーム長  
 (生物研)  
 農学博士、49歳  
 (主な業績)  
 Plant Journal, 30, 1-10, 2002  
 FEBS Letters, 507, 346-350,  
 2001  
 Plant Cell, 11, 1419-1431,  
 1999

# 全塩基配列の解明

**概要:** 世界最大の食糧資源であり、穀類最小のゲノムサイズであるイネのゲノムの塩基配列の効率的な解明を行うため、精密な物理地図と発現遺伝子地図を作成し、それらをもとにイネの全塩基配列を解読することを目的とする。生物研／STAFF研が中心となって国際コンソーシアム(IRGSP)で進めている。

## これまでの成果

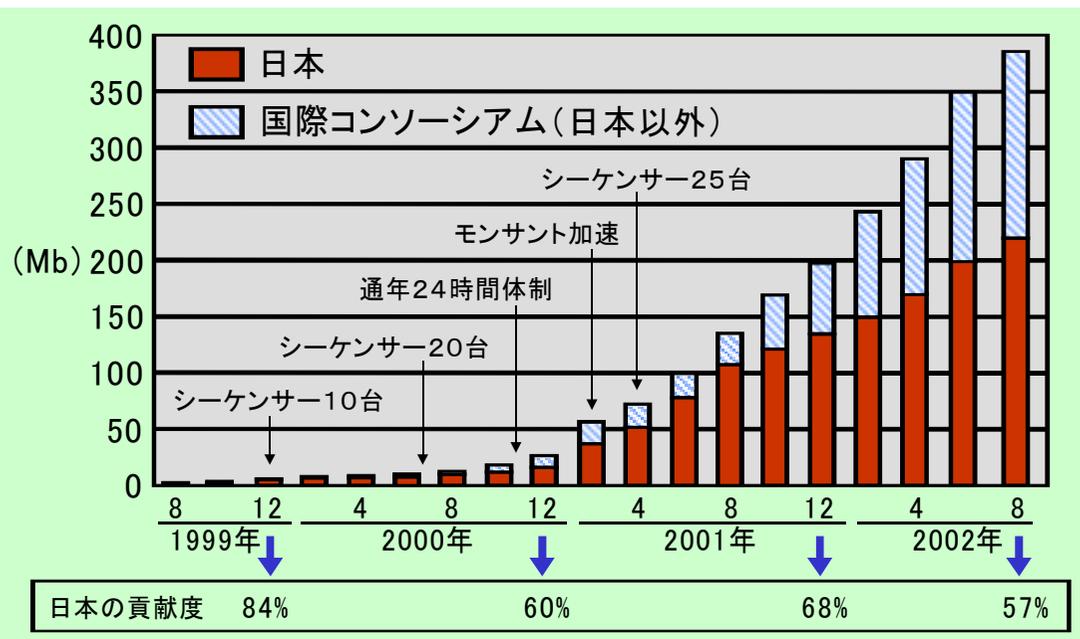
- ・H14.9.15現在延べ399Mbを解読
- ・その内我が国は277Mb(53%)を分担
- ・H14年中にphase2レベルでの解読を終了する予定
- ・第1染色体発現遺伝子地図の作製

## 今後の目標

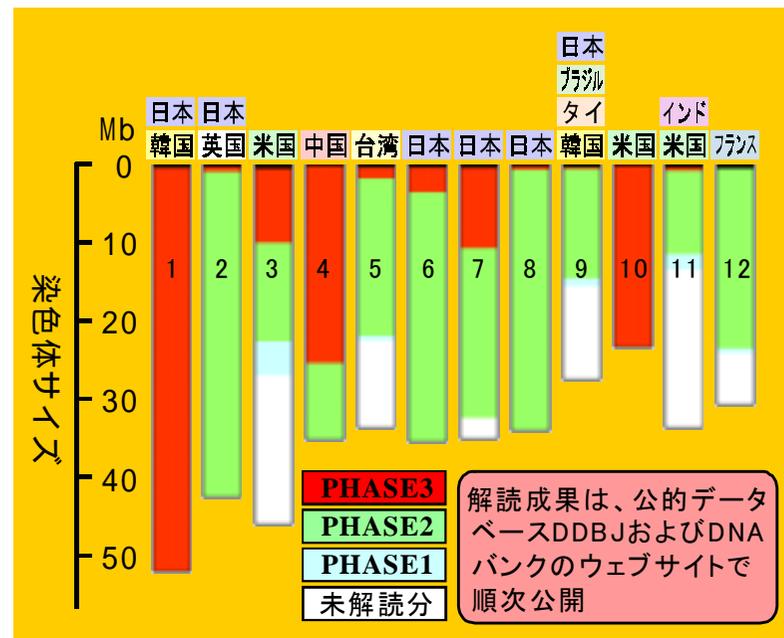
- ・phase2レベルからphase3レベルでの早期完全解読への移行(右下図 ■→■)
- ・テロメア・セントロメアの解析手法の高度化

- ・遺伝子機能解明のための基盤が確立される
- ・人類共通の財産であるイネの染色体全塩基配列情報が公開されることで、植物生命科学の発展に寄与する

61



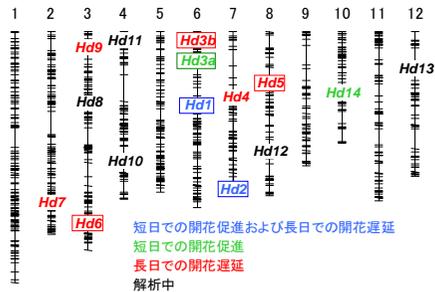
現在のBAC解読コストは3.3円/塩基



## 遺伝地図法

### これまでの成果

- ・わい性遺伝子 *D18* と *D61*
- ・脱粒性遺伝子 *qSH-1*
- ・日長感応性、葉緑体形成、穂の分枝遺伝子、貯蔵タンパク遺伝子など



**概要:** 精密な遺伝子地図とゲノム塩基配列を元にしたイネの量的形質(QTL)のマッピングによる遺伝子単離を行う。

### 今後の目標

- ・いもち病圃場抵抗性遺伝子
- ・ツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子
- ・縞葉枯病抵抗性遺伝子
- ・耐冷性遺伝子
- ・品質、食味関連遺伝子

## タンパク立体構造

### これまでの成果

- ・プロテオーム解析で16,000個スポットを確認、2,634個の部分構造を決定
- ・再分化を制御するカルレティキュリンの機能解明
- ・ジスルフィドプロテオーム解析手法の確立
- ・エリター処理により誘導されるタンパク質EL5の立体構造を解明
- ・細胞内局在予測システムの開発

**概要:** タンパク質レベルの新たな解析手法(立体構造解析、構造・機能推定技術等)を導入することにより、効率的単離と機能解明を行う。

### 今後の目標

- ・構造・機能予測手法の精度向上、データベース構築
- ・完全長cDNA遺伝子産物の立体構造解析・機能解析
- ・タンパク質間相互作用の解明
- ・完全長cDNA情報と質量分析を用いたハイスループット手法の開発

62

## ミュータントパネル

### これまでの成果

- ・ミュータントパネル 5万系統作出
- ・半矮性、光形態形成異常など形態形成やストレス感受性などの原因遺伝子単離

**概要:** 内在性レトロトランスポゾンを用いて遺伝子の機能を破壊(ノックアウト)することによって形態的・生理的变化(草丈等)を生じた系統を作出し、破壊された遺伝子を単離、解析する。

### 今後の目標

- ・根の形態形成、シグナル伝達経路等の生命現象に係わる遺伝子の単離
- ・T-DNAタギング・アクティベーションタギングなどによる変異体飽和によってすべての遺伝子を標的にする突然変異系統の開発
- ・圃場での大規模解析



正常

半矮性

## 大規模機能解析

**概要:** 有用性が高いと期待される遺伝子について、その制御領域や完全長cDNAを導入した組換え体を多種類かつ多数作出し、機能解明を行う。同時に、組換え体作出や遺伝子機能解明に役立つ相同組み換え、RNAi、ジーンサイレンシングなどの現象の解明・応用にも取り組む。

### これまでの成果

- ・相同組換え技術による遺伝子改変作物の作出
- ・草型制御形質転換イネの作出

### 今後の目標

- ・超迅速形質転換法による組換え体の大規模作出
- ・高効率組換え体選抜技術の開発
- ・種々の組換え体作出技術の確立
- ・未知cDNAの機能解明
- ・PAに配慮した組換え技術の開発

# 育種システムの高度化

## DNAマーカーを用いた効率的な育種システムの開発

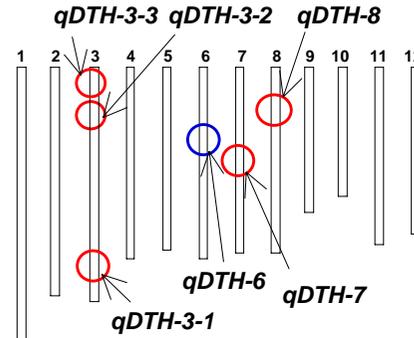
**概要:** イネ、麦類、大豆等の自殖性作物に加えて、果樹、野菜、牧草等の栄養繁殖性作物や他殖性作物について、DNAマーカーの開発を進める。従来の表現型による特性検定に替わるDNAマーカー選抜技術を組み込んだ省力的かつ効率的な育種事業である新品種育成システムの構築を進めることを目標とする。

### これまでの成果

- ・コシヒカリ早生化水稻系統の育成(図1)
- ・いもち病抵抗性水稻系統の育成(図2)
- ・ダイズシストセンチュウ抵抗性育種方法の確立

### 今後の課題

- ・DNAマーカー育種によるさらなる新品種作出
- ・新規DNAマーカーの作出
- ・効率的品種育成システムの構築



- コシヒカリの対立遺伝子が晩生にする
- Kasalathの対立遺伝子が晩生にする



和系154号(NIL(qDTH-6))(左)とコシヒカリ(右)

**図1:** DNAマーカーを利用してコシヒカリの早生化あるいは晩生化を進め、出穂期以外はコシヒカリとほぼ同じ準同質遺伝子系統(NIL)を開発。平成15年からこれらの系統は水稻の奨励品種決定調査に供試される予定。

生物資源研究所 分子遺伝研究グループ 応用遺伝研究チーム  
農業技術研究機構 作物研究所 稲研究部 稲育種研究室

3

## イネ・ゲノムシミュレーターの開発

**概要:** イネゲノム研究から生み出される塩基配列データ、機能解析データ等のゲノム情報に加え、育種現場での特性データ等を再評価・数値化しデータベース化することにより相互に関連づけ統合する。これらをもとにコンピュータ上でイネ等農作物の品種改良実験を可能とするイネ・ゲノムシミュレーター(仮想実験システム)を開発し、イネの遺伝子ネットワークの理解と栽培技術・育種の高度化・迅速化を図る。

### これまでの成果

- ・各種イネゲノムデータベースのプロトタイプ構築(遺伝子予測DB、プロテオームDB、トランスクリプトームDB、メチル化部位DB、品種特性DB、作物学DB、育種学DB)
- ・イネ出穂期予測の指標となる遺伝子候補の発見

### 今後の課題

- ・各種データベースの高度化と相互の関連づけ
- ・集団、個体、組織、細胞、オルガネラ、酵素反応、代謝など各レベルでのシミュレーションプログラム開発
- ・イネゲノムデータ作成のための技術開発(メタボロームDBなど)



**図2:** 「まなむすめ」の同質遺伝子系統のうちいもち病抵抗性遺伝子(Pib)を導入した系統「東北IL21号」は平成13年から、奨励品種決定調査に供試。他の系統も平成16年度には供試される予定。

左「まなむすめ」: 葉いもちにより枯死している。  
中・右「東北IL21号」: 葉いもちの発生が見られない。

宮城県古川農業試験場作物育種研究室  
(農林水産省 大豆育種指定試験地)

# 重要形質関連遺伝子の機能解明

イネ・ゲノム研究のアウトプットとして「生産性・品質の向上」「新機能付与」「環境保全」への貢献が期待されてる。そこで、あらゆるゲノム情報・手法を用いて重要形質の機能解明に取り組み、関連する遺伝子の単離のみならず、応用につなげられるだけのメカニズム全容の高度な理解やその応用をめざす。以下の様な5つの重点領域を設定し、集中化を図る。

## ①高品質なおコメを作る遺伝子の解明



## ②機能性物質を作る遺伝子の解明

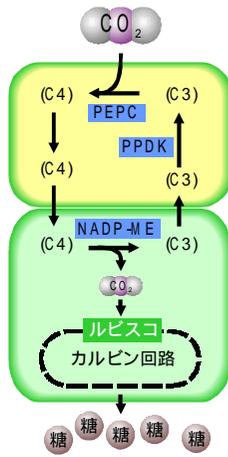


草型制御、直播に求められる形質、穂の形や穀粒の形の制御、発育、生長に関わる遺伝子を単離、解析するとともに、これを利用することで**高収量品種・高品質米品種の開発**に必要な遺伝子の単離・機能解明を行う。

**健康機能性物質**や**医療成分**を種子中に集積させたイネや、**有用酵素**や**プラスチックの原材料**など工業目的に利用できるイネの開発に必要な遺伝子を単離・機能解明する。

## ③光合成能を高める遺伝子の解明

シンクソースバランスの改良や光合成効率の向上による**農産物生産の向上**や**バイオマス生産の増大**につなげるために、イネの炭素代謝や窒素代謝などの制御システムに関与する遺伝子を単離・機能解明する。



## ④不良環境に強い遺伝子の解明

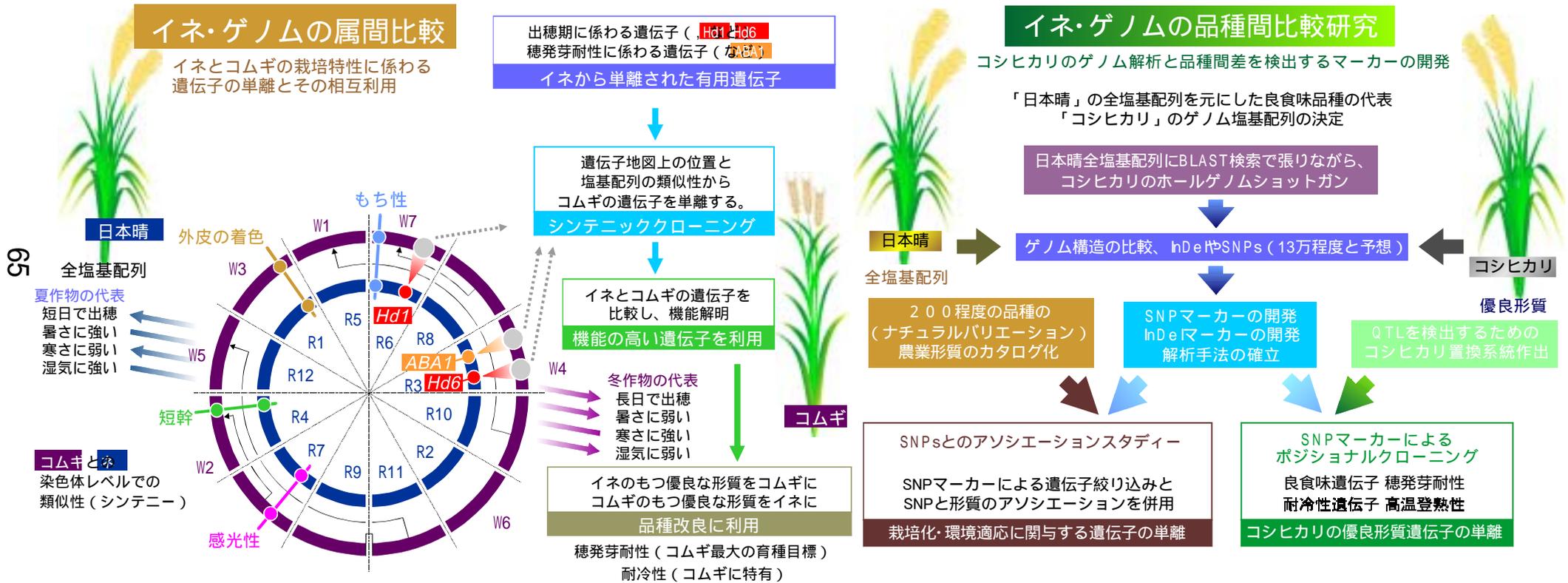
乾燥、塩害、冷温など、環境ストレスによる**不適作地域での栽培が可能な植物**、あるいは**環境浄化能を増強した植物**開発を目指し、ストレス耐性に関する遺伝子を単離・機能解明する。

## ⑤病害虫に強い遺伝子の解明

農薬の低減による低コスト生産、環境負荷の軽減等に有効な**病虫害耐性強化**のために、主に病害虫に対するシグナル伝達経路に係わる遺伝子を単離・機能解明する。

# 種間・属間比較研究

イネ、トウモロコシ、コムギなどの穀物の中でイネは最も小さいゲノムをもつ(トウモロコシの1/6, コムギの1/40)。そのため、全世界の穀物の約3割がイネであるという重要性ばかりでなく、穀物のモデル植物としてイネへの集中的なゲノム研究が行われてきた。イネゲノム全塩基配列の重要部分が今年末に終了予定であることから、モデル植物としてのイネの研究をイネ品種間、インド稲、アフリカ稲、野性イネとの比較、さらには、イネ科植物であるコムギと比較研究へと展開する。

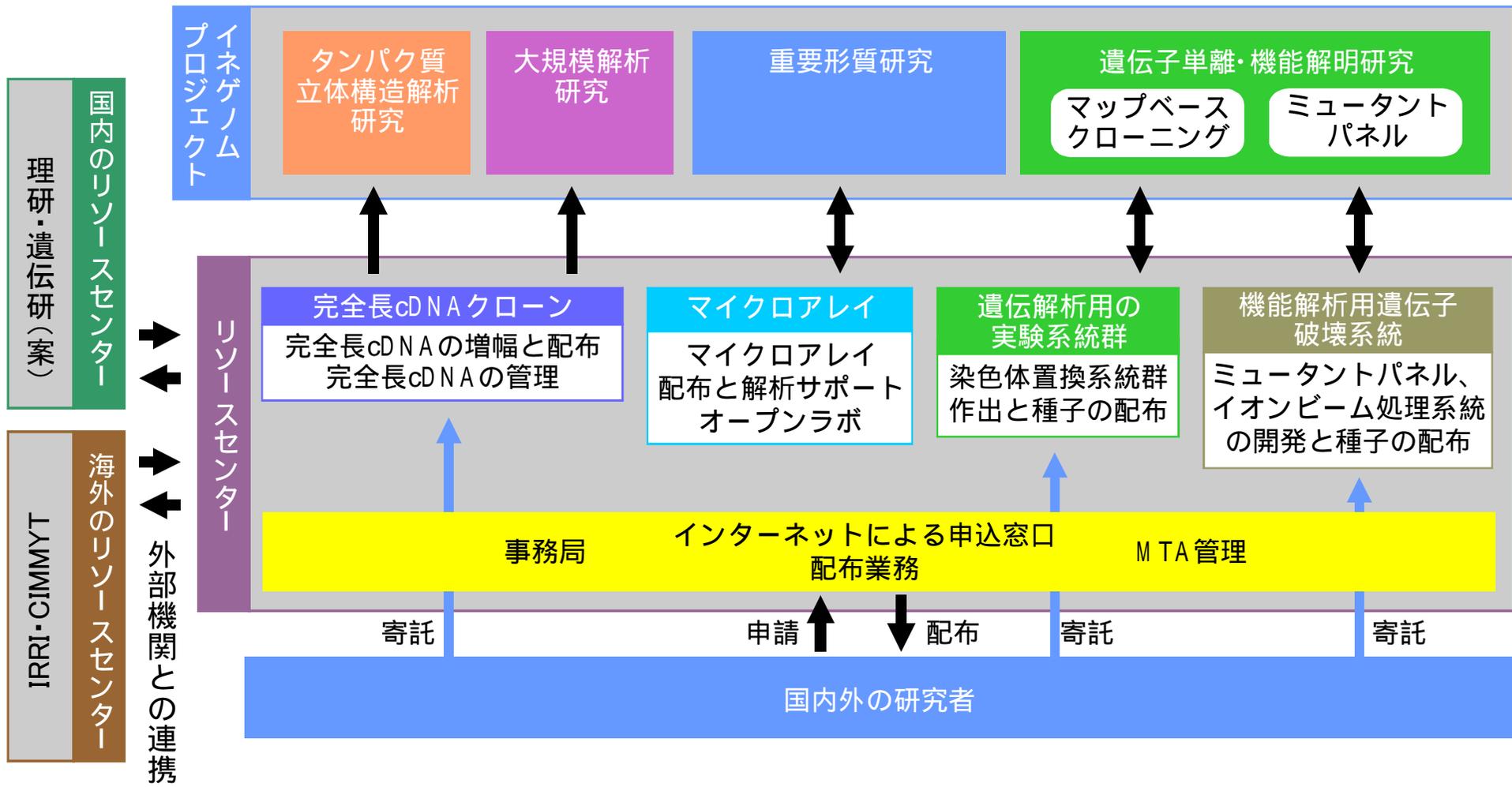


具体的には、イネ品種間差を検出するSNPsマーカー開発と遺伝子単離、ゲノムレベルでの塩基配列の比較(右図)、品種間差の原因となっている遺伝子の単離、コムギとイネの間で見られる、染色体レベルでの遺伝子の並び方、方向性(シンテニー)を利用したコムギ有用遺伝子の単離(左図)、イネとコムギの遺伝子の比較などを行い、育種の過程で捨てられた強い耐病性遺伝子、環境ストレス耐性遺伝子の単離、コムギのもつ耐冷性、オオムギのもつ耐塩性に係わる遺伝子のシンテニーを利用した単離や日長感受性や穂発芽耐性などを比較することで、遺伝子機能解明や品種改良に利用する。

# イネゲノムリソースセンターの整備(新設)

全塩基配列とともにイネゲノム研究の基盤と考えられるイネゲノムリソースを集中管理し、国内外の研究者の利用を促進し、ポストイネゲノム研究を加速する。さらに、絶えず国際的なレベルのリソースを提供するべく、新しいリソースの開発も行う。

99



イネゲノムリソースセンターを中核に、日本国内はもとより海外のリソースセンターと連携し、世界的なリソースネットワークの構築を目指す。さらに、企業との共同開発により完全長cDNAをベースとしたマイクロアレイの開発、事業化を目指す。

# イネゲノム機能解析研究

— イネゲノム解読成果を活用した画期的新作物作出のための基盤技術の開発 —

**研究開発のターゲット:** 植物機能の最大活用に向けたイネ有用遺伝子の機能の解明

**経済・社会での活用に関する具体的ビジョン:** 地球的規模の食糧問題、環境悪化等の解決に向けた技術的対応は喫緊の課題で、植物の機能を最大限に活用することが、問題を解決する上で重要である。イネゲノム塩基配列解読成果を活用したイネゲノムの機能解析研究は、その基盤となる研究である。このため、コムギ、トウモロコシ等主要穀類も視野に入れた、各種形質の改良と新植物産業創出のための基盤研究を行うとともに、知的財産権を握り、我が国の競争力を高める

**研究機関:** 生物研、名古屋大、明治大、理研、農研機構、公立試等

**参加が想定される産業界:** 三菱化学、日立製作所、日本電気、JT等

**研究の概要:** 450億円／5年(15年度概算要求額 103億円)

## ●有用遺伝子単離・機能解明研究の再編・強化

○解析手法の高度化とともに、高品質なコメを作る遺伝子、機能性物質を作る遺伝子、病害虫に強い遺伝子、光合成能を高める遺伝子、不良環境に強い遺伝子等、重要形質関連遺伝子にターゲットを絞り単離・機能解析遺伝子単離・特許化 100個以上(H16)、200個以上(H20)

コメ由来の機能性物質などの医薬品、食品利用の確立、新エネルギー資源、環境修復植物の開発、低アレルゲン等特定疾患専用品種の開発等、産業及び農業への貢献を目指す

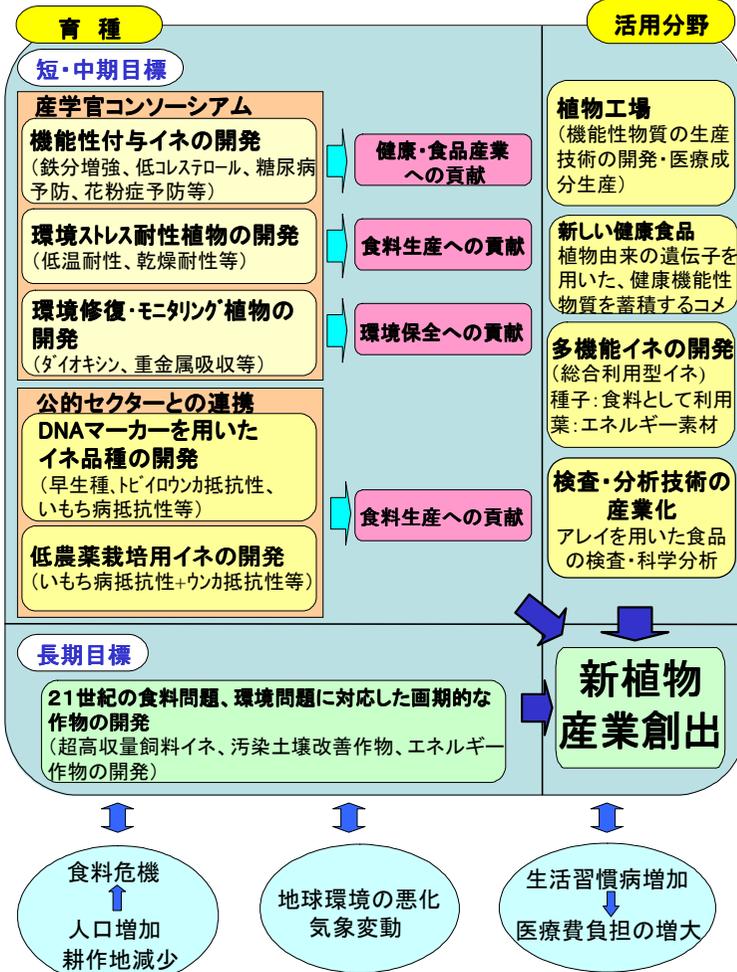
## ●育種・栽培技術の高度化(5年以内に一部実用化)

○高精度DNAマーカー育種システム開発・ゲノム機能シミュレーター開発  
新品種開発期間を1/2に短縮

## ●研究基盤の整備(3年以内にリソースセンターを軌道に乗せる)

○イネゲノムリソースセンターの整備・イネゲノム塩基配列の完全解読  
ゲノム情報と、完全長cDNAや遺伝子破壊系統等ゲノムリソースの整備と配布により国内外の植物生命科学研究の発展を促進

## イネゲノム機能解析研究成果の活用目標



総合科学技術会議評価専門調査会評価検討会

# 「イネゲノム機能解析研究」評価のための現地調査資料

## 資料－2

平成14年10月7日

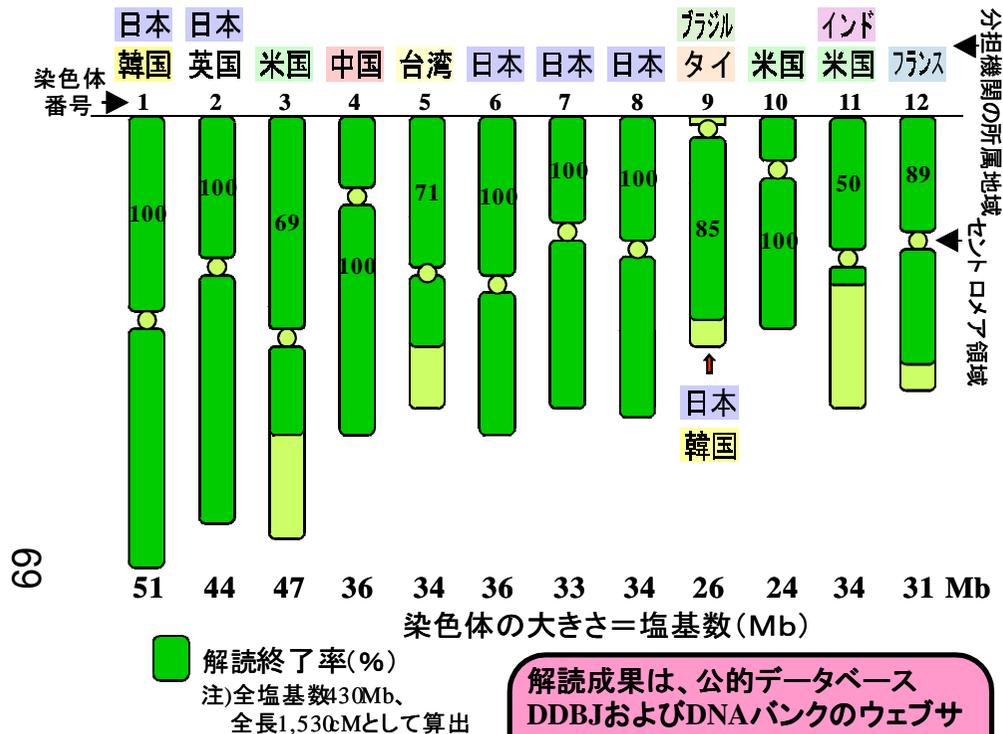
(独)農業生物資源研究所

(独)農業技術研究機構作物研究所

(社)農林水産先端技術研究所



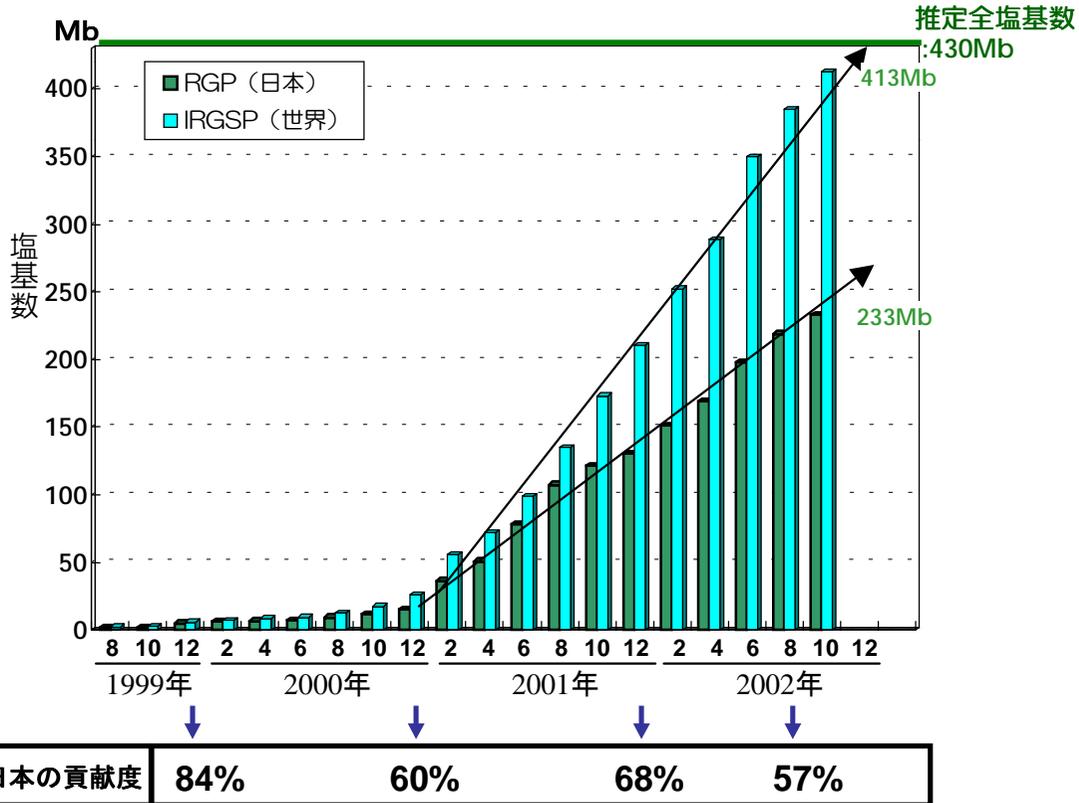
### 国際コンソーシアムの染色体分担と解読状況(2002.9)



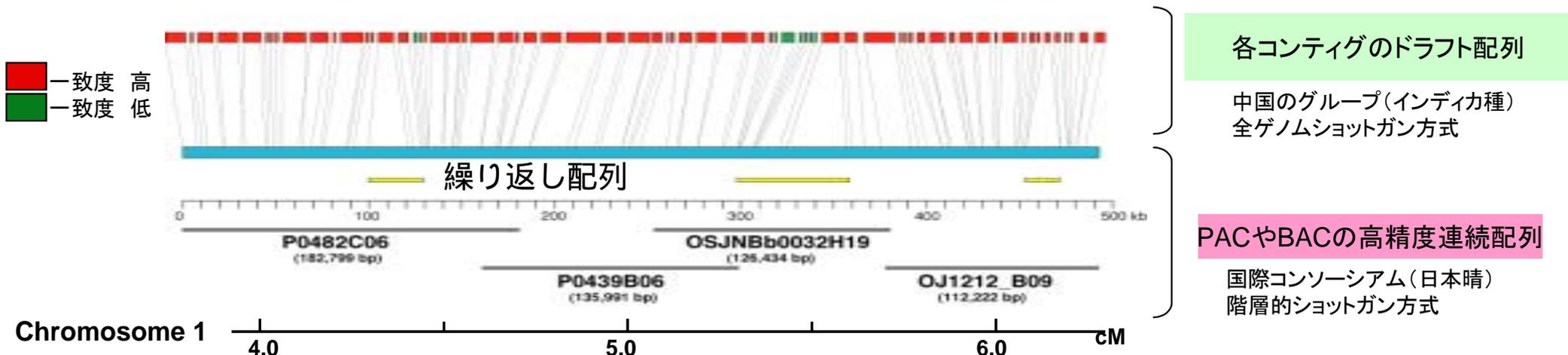
69

解読成果は、公的データベース DDBJおよびDNAバンクのウェブサイトにて順次公開

### イネゲノム塩基配列解析累積(1Mb=百万塩基対)



### 中国によるイネゲノムコンティグと国際コンソーシアムによるイネゲノム高精度配列

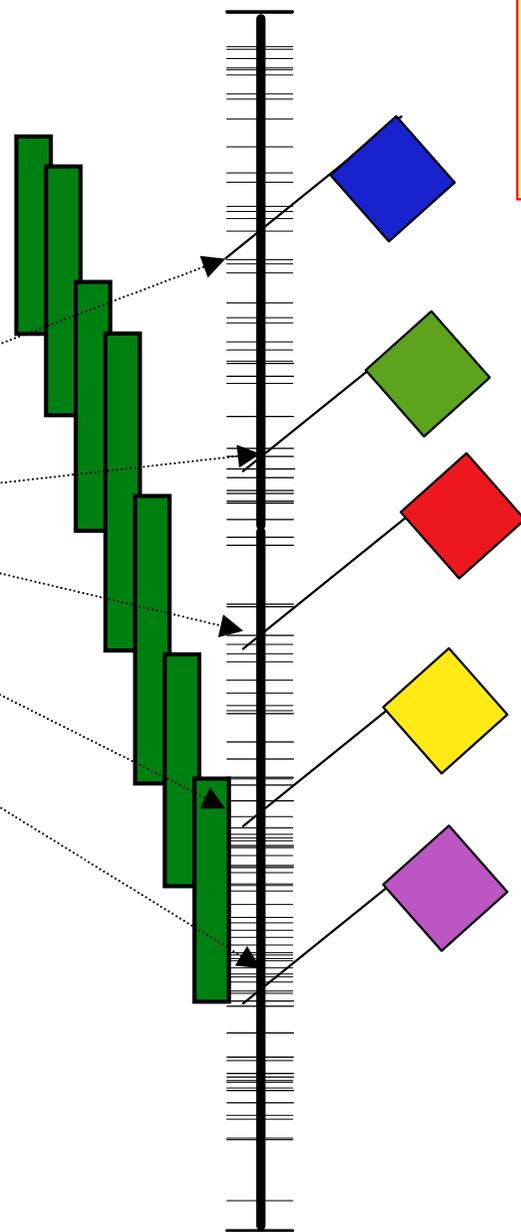
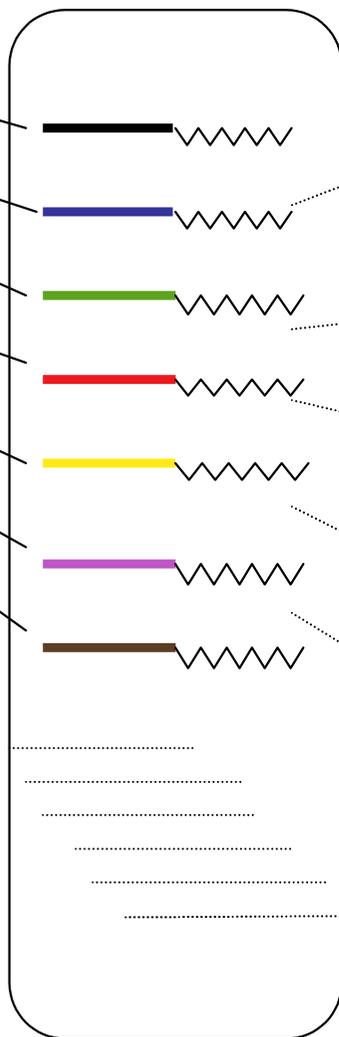
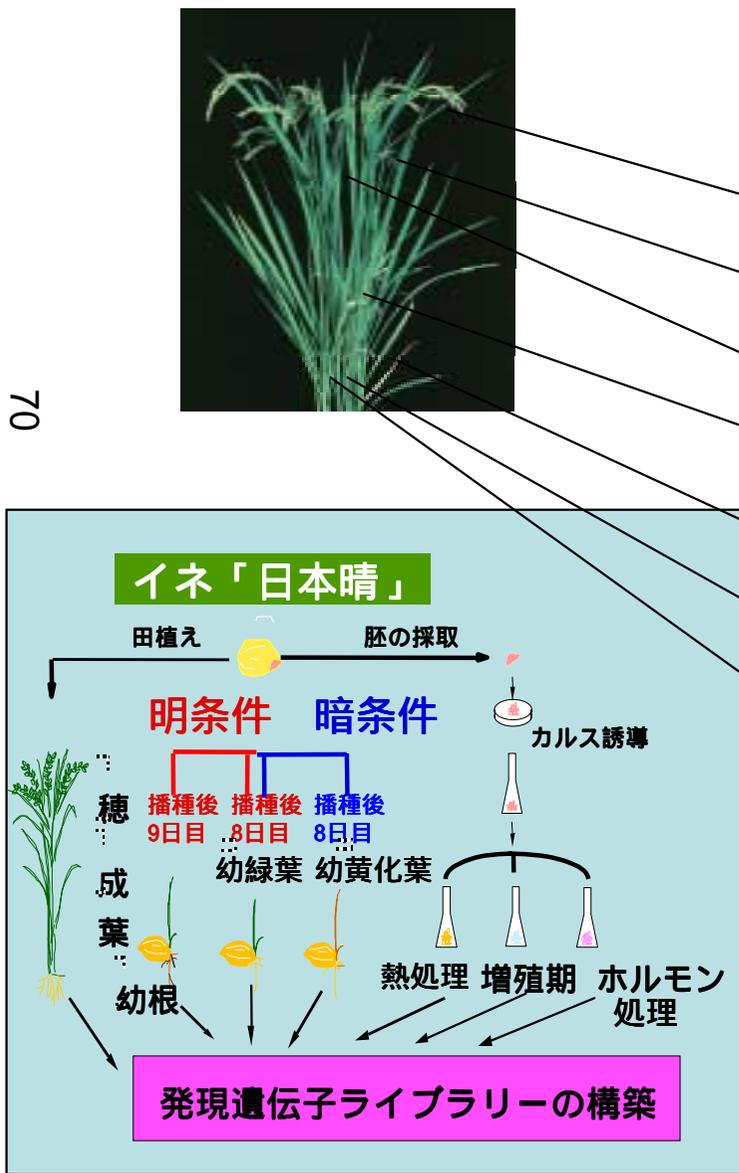


# イネ発現遺伝子地図の作成

各器官・細胞および各種ストレス条件下で  
発現する遺伝子を捕捉

YAC ゲノム地図

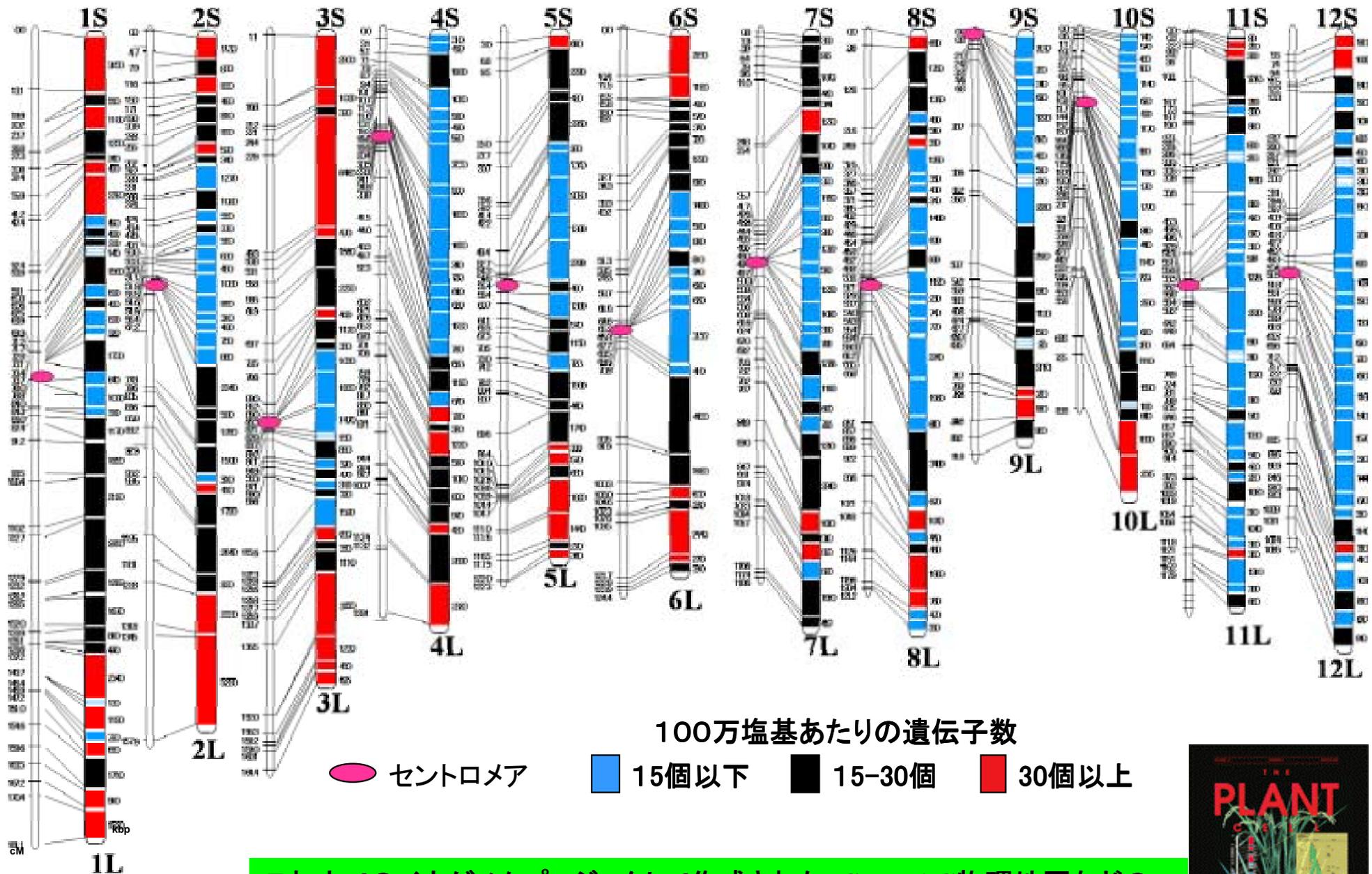
イネの6,591個の  
遺伝子をゲノム上に位置  
付けた



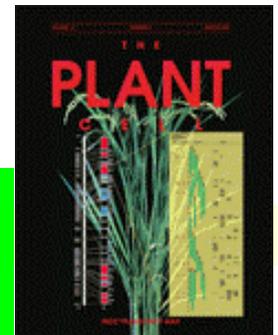
有用遺伝子の  
単離

新品種の  
育成

# イネ発現遺伝子分布



これまでのイネゲノムプロジェクトで作成されたEST・YAC物理地図などの成果をもとに、発現遺伝子6,591個の位置を特定した遺伝子地図を作成し、Plant Cell誌2002年3月号の表紙を飾る



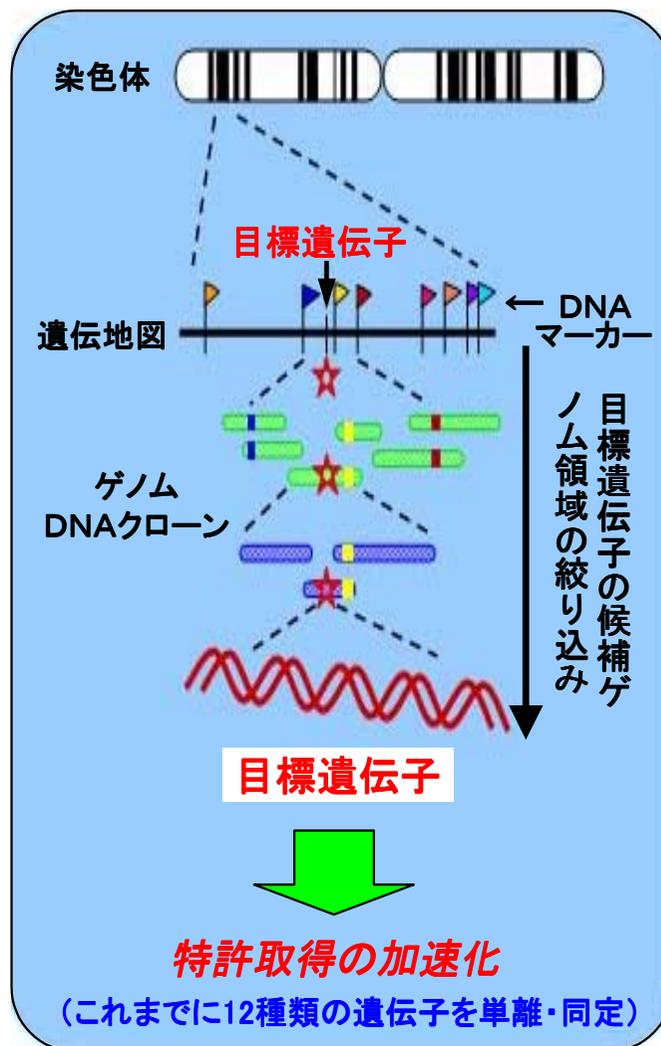


## 遺伝地図とは

染色体上に遺伝子の種類、配列順序と相対的な位置を示した図。同一染色体上の2つの遺伝子間で起こる組換え頻度から両者間の相対的な距離を求める。組換えが100回に1回の頻度で起こるような遺伝子間距離を1cM(センチモルガン)と定義している。DNAマーカーの利用が進み、イネでは数千個のマーカーが載った遺伝地図の作成が可能となった。

## 遺伝地図を利用した単離・機能解明の方法

遺伝地図を利用した遺伝子の単離は、形質の変異によるみその存在が推定され、その翻訳産物や遺伝子構造が不明な遺伝子の単離・同定に利用される。



### 高精度連鎖解析終了

*Lk3*(長粒)、*Fzp*(穂の分枝パターン)、*Are1*(胚発生)  
*Grh2*(ツマグロコバイ抵抗性)  
*Grh3*(ツマグロコバイ抵抗性)  
*Pita2*(いもち病真性抵抗性)  
*Pi21*(いもち病圃場抵抗性)  
*Ctb1*(耐冷性)、*Cpt1*(屈光性)、*Ga2*(花粉の受精能力)

### 候補ゲノム領域を100kb以下に特定

*V3*(葉緑体形成)、*D11*(矮性)、*S1*(不稔)  
*Spk*(株開帳性)、*Rt*(根の形態形成)  
*Stvb-i*(縞葉枯病抵抗性)

### 候補遺伝子特定

*qSW-5*(種子幅)、*qUVR-10*(紫外線耐性)  
*Glup3*(胚乳タンパク質の集積)、*V2*(葉緑体形成)

### 単離・同定

*qSH-1*(脱粒性)\*、*Lax*(穂の分枝構造)\*  
*Sho1*(胚発生)、*Lgc1*(低グルテリン)

\*: 特許出願した遺伝子(2件)

下線: QTL(量的形質遺伝子座)

緑: 13年度前半の成果

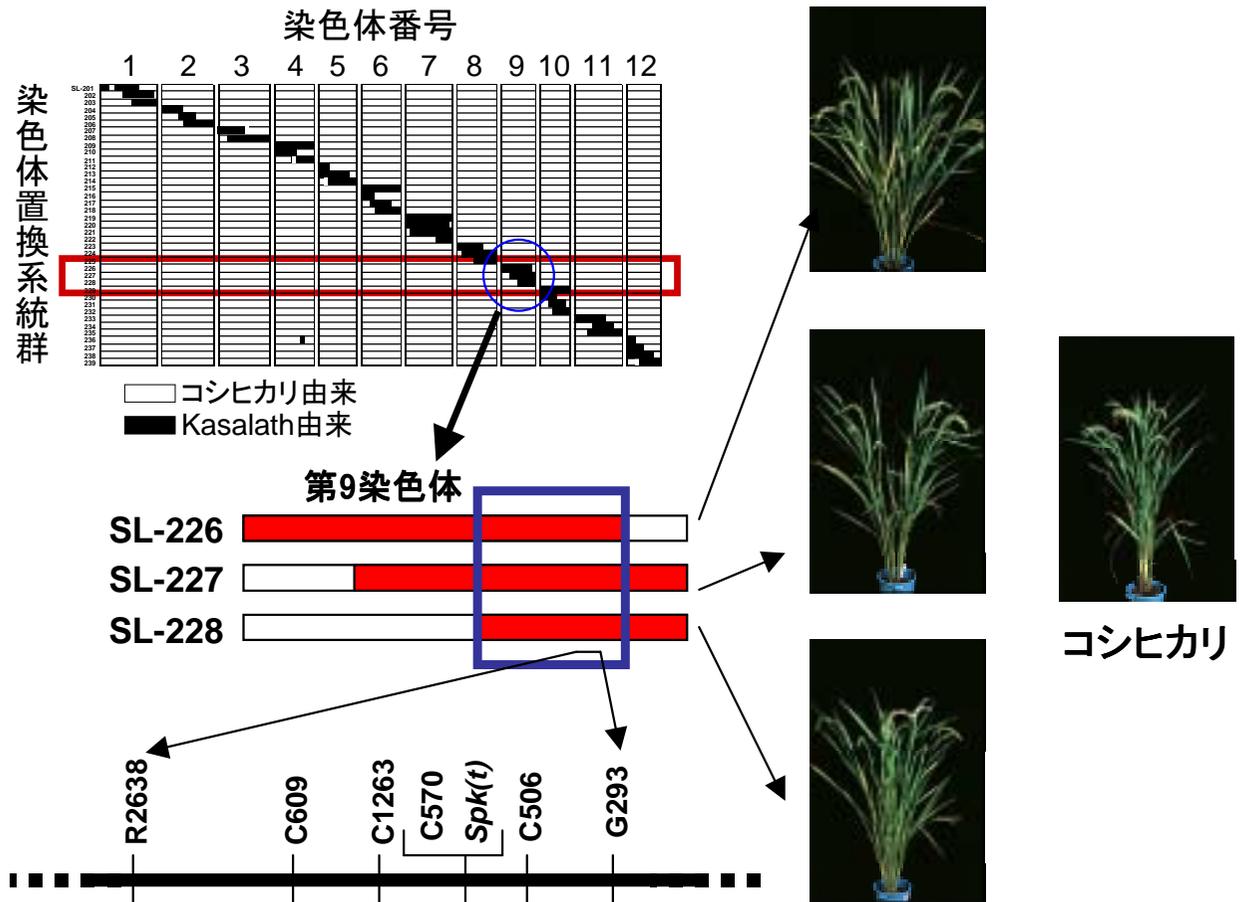
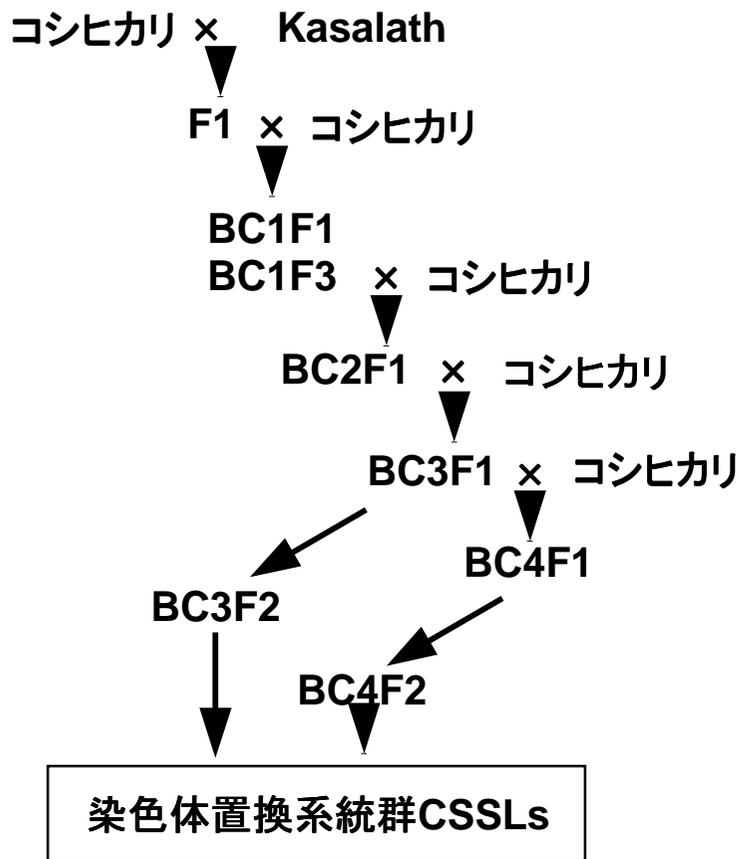
赤: 13年度後半の成果

# 染色体置換系統とは

ある系統の染色体の一部が、別の系統の染色体の相当部分と置き換わった系統をさす。  
染色体部分置換系統を利用して、出穂期など複雑な遺伝様式を示す量的形質遺伝子座(QTL)を解析する手法が確立されている。

## 染色体部分置換系統群の作出とそれを利用したイネの株開帳性に関する遺伝子の単離

73



コシヒカリとKasalathとを交配したF1を、さらにコシヒカリと何代か交配し、DNAマーカーを使用して、それらの子孫の中からコシヒカリ染色体の一部分だけがKasalath由来の染色体と置き換わった系統を選抜し、39系統でコシヒカリの染色体全体をカバーする染色体置換系統群を作成した。  
この染色体置換系統群の形態から、株の開帳性に関わる遺伝子が第9染色体にあることが特定された。



### ミュータントパネルとは

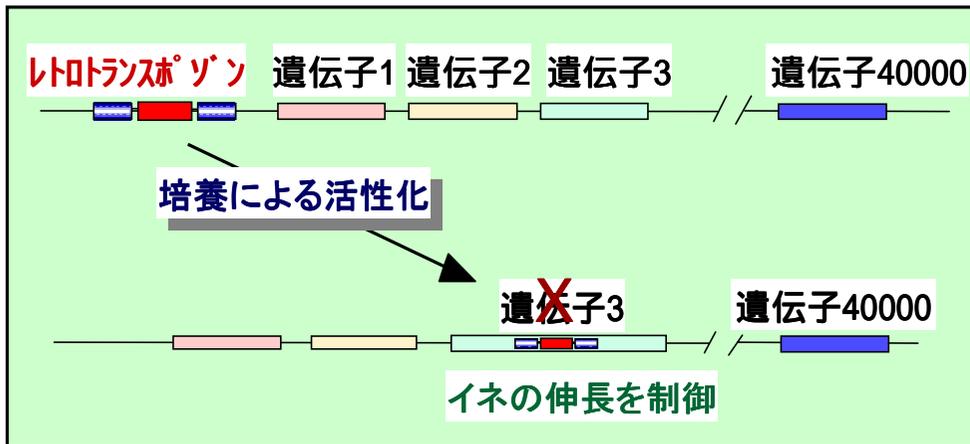
- ・総括リーダー廣近(生物研)はイネに内在するトランスポゾン(動く遺伝子)の一種レトロトランスポゾン  
を多数単離し、そのうちの**Tos17が組織培養によって活性化される**ことを発見。この性質を利用して、**遺伝子破壊とその後の機能解析が可能**であることを明らかにした。
- ・Tos17により作出されたイネの遺伝子破壊系統の一群を**ミュータントパネル**と呼んでおり、現在、**5万系統**を作出している。

### ミュータントパネルの特長

- 多数の遺伝子の機能解析に有効である。  
(イネ遺伝子総数は4万)
- 遺伝子破壊が容易である。  
(イネ全遺伝子を網羅する破壊系統の作出が可能)
- 機能解析を比較的短時間に行うことができる。
- 遺伝子組換えを必要としない。  
(他の系の場合、組換え実験の指針に基づき全ての実験を隔離温室で行う必要あり)

### ミュータントパネルを利用した単離・機能解明の方法

74



### 13年度の成果

#### 遺伝子機能解明

- Ran1Gタンパク : **開花期を制御\***
- デンプン合成酵素 : **新規デンプン作出法の開発\***
- MAPキナーゼ : 胚発生の制御

#### 遺伝子単離

- 塩ストレス耐性に関与する遺伝子 : **新規遺伝子\***
- 生殖細胞の分化を制御する遺伝子 : 受容体型プロテインキナーゼ
- 玄米成分の制御に関与する遺伝子 : 構造解析中

\* 特許出願した遺伝子

### ノックアウトライン (遺伝子破壊系統)とは

特定の遺伝子を破壊して働かなくした系統を**ノックアウトライン**(遺伝子破壊系統)といい、遺伝子の働きを調べたり、新薬の効果を調べたりするのに利用される。遺伝子の破壊には、相同組換えやトランスポゾンなどが利用される。



**プロテオーム解析**

- タンパク質の網羅的解析
- 機能性タンパク質解析
- タンパク質間相互作用解析



二次元電気泳動に基づく  
基礎パターン作製

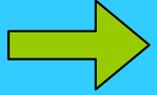
2,634個の部分構造決定  
16,000個の独立スポット確認

**特許出願**

- カルシウム結合タンパク質と相互作用するタンパク質(遺伝子)
- アレルギー関連タンパク質(遺伝子)
- 乾燥・塩で誘導する根特異的タンパク質(遺伝子)

**タンパク質立体構造解析に基づく遺伝子機能の解明**

完全長cDNAの整備



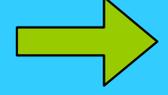
重要な機能が予想される遺伝子産物の立体構造解析と  
機能・機能発現機構の解明

タンパク質の立体構造形成機構及びその制御技術の開発  
新しいアイデアに基づくリフォールディング技術の開発、商業化などの成果をあげている



**研究体制**

センター  
タンパク質の大量発現を組織的に行う



試料の供給

解析担当チーム(大学等)  
X線結晶解析・NMR

**タンパク質立体構造と機能の予測手法の開発**

インフォマティクスを利用してタンパク質の立体構造や機能を予測する手法の開発、タンパク質データベース作成

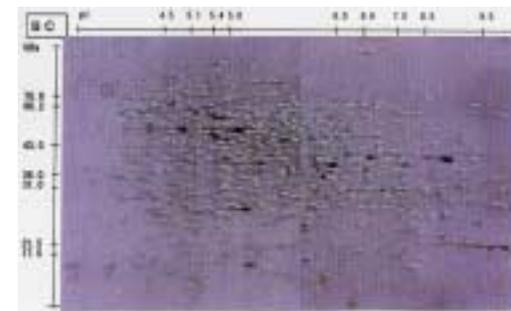
## プロテオームとは

「ゲノム」とは、  
機能的に調和のとれた生活を営むのに  
必要な最小限の遺伝子群を含む染色体  
DNAの1組

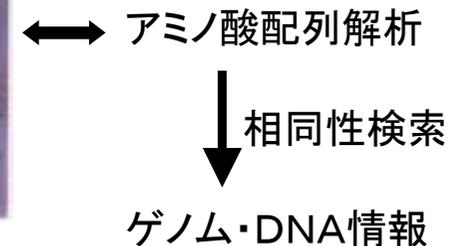
「プロテオーム」とは、  
ゲノムの遺伝子が産生するすべてのタン  
パク質ひと揃いに対してつけられた名称



遺伝子は最終的にはタンパク質に翻訳され、その多くはさらに糖付加やリン酸化などの修飾を受け、タンパク質間相互作用の結果、初めて機能を発揮する。プロテオーム研究では、様々な生育段階や環境条件で実際に機能しているタンパク質を網羅的に解析し、それらに対応する遺伝子および相互作用するタンパク質群を明らかにする。

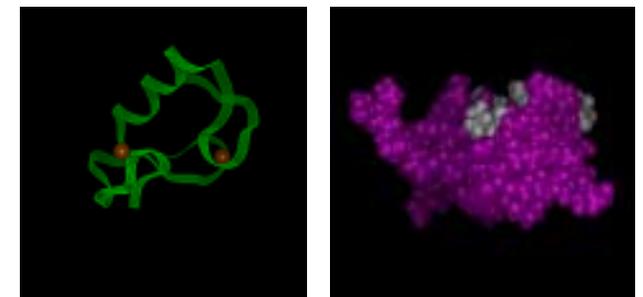


2次元電気泳動



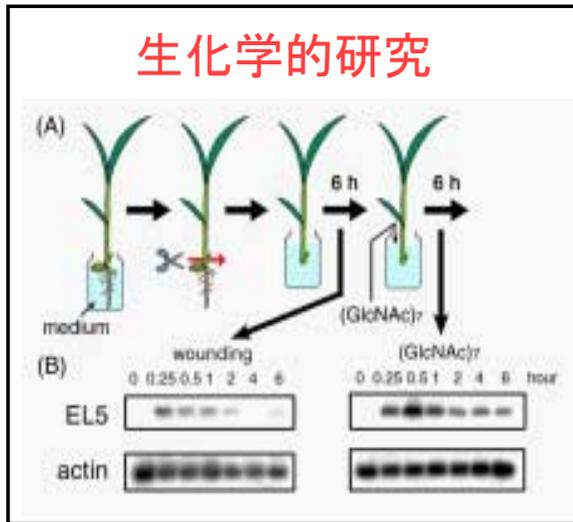
## タンパク質の立体構造解析とは

タンパク質は20種類のアミノ酸がN末端からC末端側に一列に繋がってできており、この鎖が三次元空間上に折りたたまれて、生物活性を持つタンパク質が作られる。この時、配列上では離れて位置する領域が、立体構造上では近接して協同的に働き、ある生物活性を発現させている。したがって、タンパク質の立体構造を明らかにしてはじめて、そのタンパク質の機能発現のメカニズムの全貌を解明することができる。

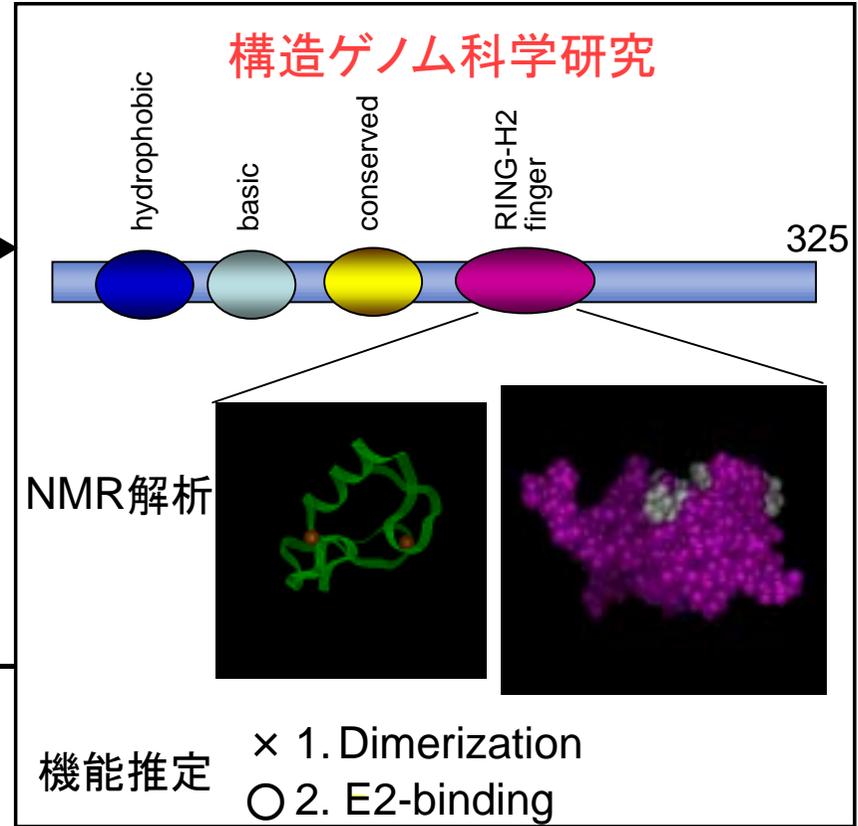


E2 like protein の立体構造

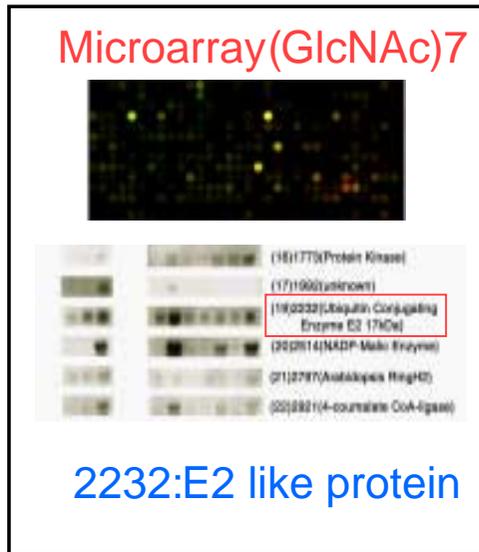
# 研究例: エリシター処理により発現誘導される機能未知タンパク質



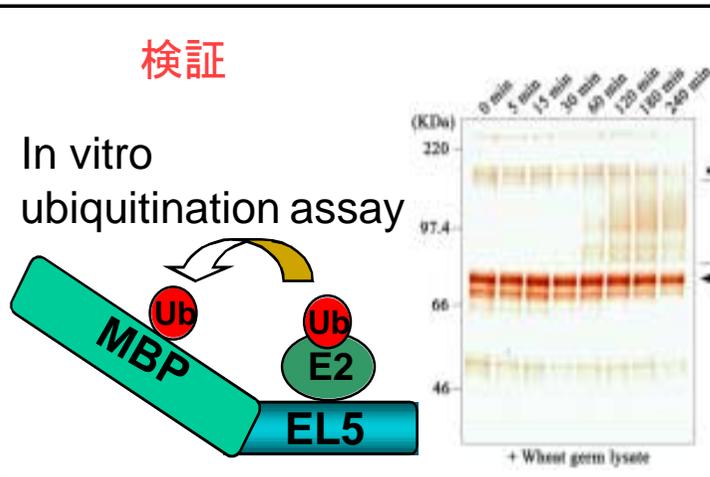
提案



推定機能



検証



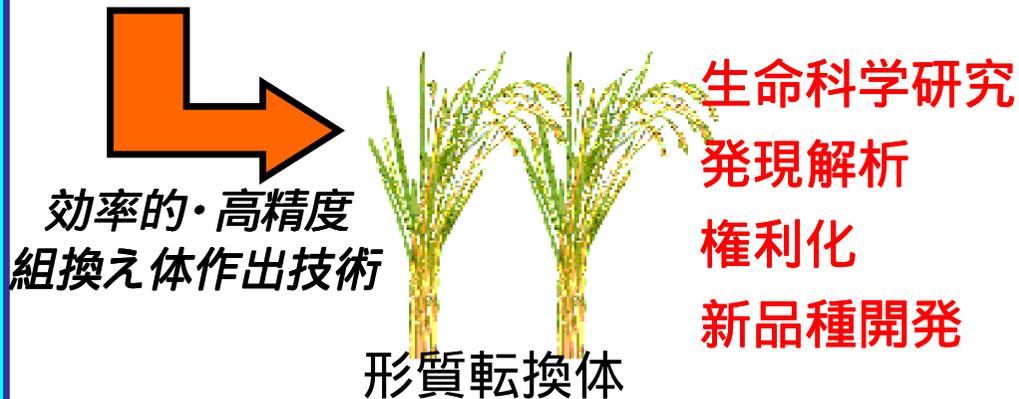
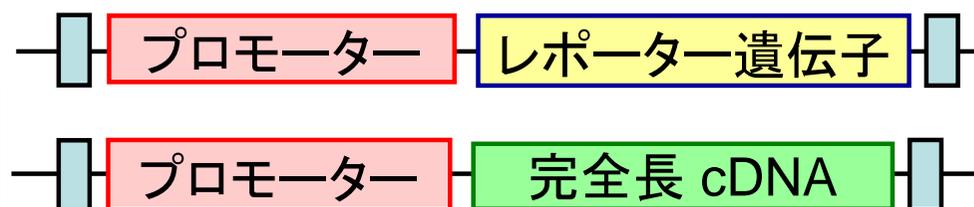
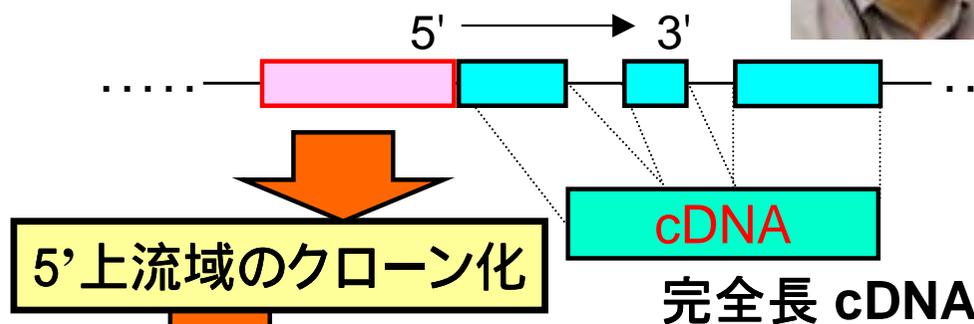
**結論**  
 EL5≡E3  
 2232≡E2



# イネゲノム研究の成果

- ・遺伝子機能解明のため、効率的・高精度組換え体作出技術が必要
- ・農業上重要な作物において有用組換え体作出技術が不可欠

- ①高精度遺伝子導入技術の開発
  - ・核、葉緑体遺伝子の相同組換えによる遺伝子改変
  - ・*In planta* トランスフォーメーション
- ②効率的組換え体選抜技術の開発
  - ・植物由来の選抜マーカーの開発
- ③遺伝子発現制御技術の開発
  - ・ジーンサイレンシング、RNAi
  - ・遺伝子発現誘導技術
  - ・組織特異的プロモーターの開発

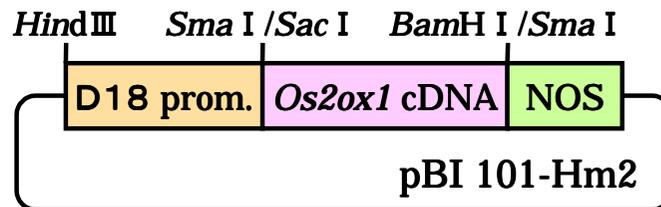


# 植物ホルモン発現調節による草型制御技術の開発

79



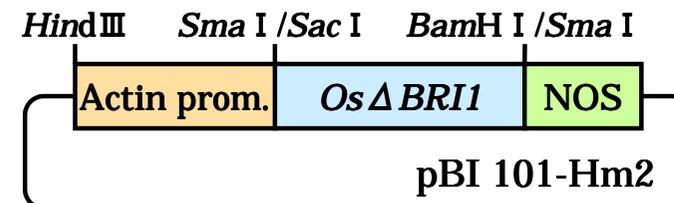
栽培品種 形質転換体(矮化)  
(品種: どんとこい)



ジベレリンを代謝する2-水酸化酵素  
遺伝子を過剰発現



栽培品種 形質転換体(直立葉)  
(品種: どんとこい)



改変したブラシノイドレセプター遺  
伝子を導入(ドミナントネガティブ)

(理研、名古屋大、東大との共同研究)

## 《今後の展開》

- 倒伏耐性、直立葉による受光態勢の向上
- イネ以外へのアプリケーション(果樹、花卉、シバ等)

有用な形質の遺伝子の近くにあるDNAマーカーを作出する。目的の形質を持つ個体を効率よく選抜可能な育種システムを開発する。

イネゲノム研究成果（生物研）  
新たに解読されるイネの塩基配列等



高精度DNAマーカーの作出  
（生物研、農研機構）  
SSR・SNP等、新たなマーカーを作出



マーカーの選抜（農研機構）  
直播適性、耐冷性等有用な形質を決めている  
遺伝子の近くにあるDNAマーカー



新品種育成システムの開発  
（農研機構、公立農業試験場等）  
育種現場で有用形質を持つ個体を効率よく  
選抜する手法を開発

### 13年度成果

- 陸稲由来の縞葉枯病抵抗性遺伝子のDNAマーカーを見いだした（近中四農研）
- DNAマーカーによる直播適性の選抜効果を確認した（北海道上川農試）
- コシヒカリより10日早く出穂する早生系統を作出した（生物研）

### 実用化への取り組み

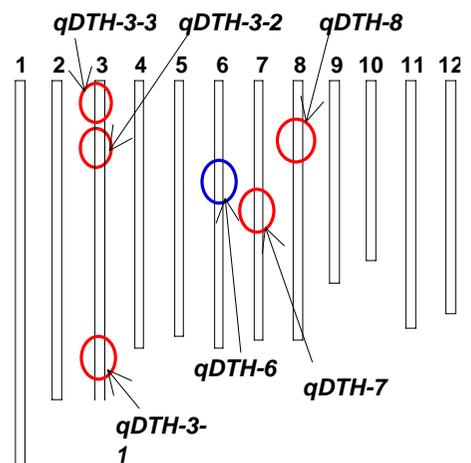
- コシヒカリ早生系統（生物研、作物研）
- トビイロウンカ抵抗性系統（作物研）
- いもち病抵抗性系統（宮城県古川農試）  
（15年度から奨励品種検定試験への供試予定）

# DNAマーカー利用によるコシヒカリの早生化水稻系統の育成

イネの出穂期の改変は、地域適応性や収穫作業の分散化のために重要な育種目標です。遠縁の品種のもつ出穂期に関与する遺伝子を発掘し、それらを効果的に優良品種に導入することによって、出穂期を任意に調節することが、DNAマーカー選抜により可能になりました。

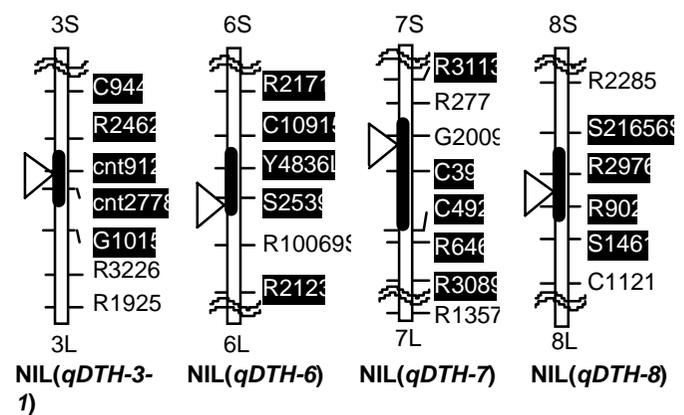


81



- コシヒカリの対立遺伝子が晩生にする
- Kasalathの対立遺伝子が晩生にする

コシヒカリとKasalathの交雑後において見いだされた出穂期関連遺伝子の染色体上の位置。



DNA マーカーを利用したKasalathの出穂期関連遺伝子を含む染色体領域のコシヒカリへの導入(黒の領域がKasalath由来の染色体). 白抜きのマーカーを選抜に用いた。△は出穂期関連遺伝子の位置。



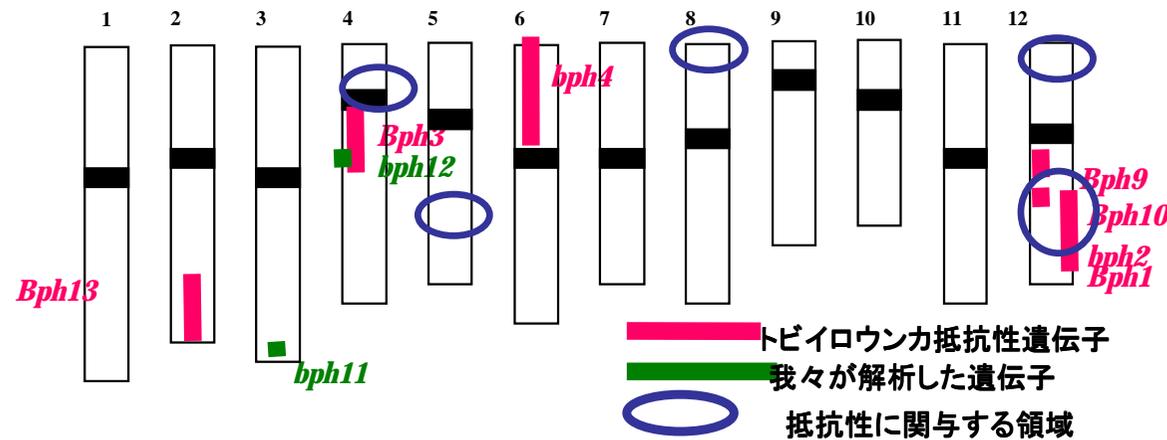
和系154 (NIL(qDTH-6)(左)とコシヒカリ(右)

インド品種Kasalathの出穂期を決める遺伝子の位置を明らかにしました。さらに、その位置を示すDNAマーカーを設定し、マーカーを指標に出穂期の選抜が可能となりました。

DNAマーカーを利用してコシヒカリの早生化あるいは晩生化を進め、出穂期以外はコシヒカリとほぼ同じ準同質遺伝子系統(NIL)を開発しました。平成15年からこれらの系統は水稻の奨励品種決定調査に供試される予定です。

# トビイロウンカ抵抗性遺伝子のマーカー選抜育種

トビイロウンカは中国大陸から飛来し、イネから栄養分を吸汁することにより、イネを衰弱・枯死させる重要害虫であります。これらの抑制には抵抗性品種の利用が望まれます。種々の抵抗性遺伝子について染色体上の座乗領域を明らかにし、それら近傍のマーカーを利用することにより短期間に品種・同質遺伝子系統を育成できるようになりました。



*O. officinalis*由来のトビイロウンカ抵抗性遺伝子を第3、第4染色体上に同定し、*bph11*、*bph12*と命名しました。さらに、トビイロウンカ抵抗性に関連する領域を見出しました。

トビイロウンカ抵抗性遺伝子とQTLの座乗位置

82



GSK178-5  
 HRB2  
 ヒノヒカリ

トビイロウンカ抵抗性検定



ヒノヒカリ

HRB1

HRB2

トビイロウンカ抵抗性系統の試験成績(2000-2001年)									
系統名	出穂期	玄米重	標準比	稈長	穂長	穂数	品質	いもち	BPH
品種名	(月日)	kg/10a		cm	cm	本/m <sup>2</sup>	1-9	0-10	
HRB2	8/28	578	103	89	18.9	364	5	8.3	MR
ヒノヒカリ	8/27	558	100	88	18.8	385	4.3	8.9	S
HRB2 ; ヒノヒカリ*5 / GSK178-5									

戻し交雑およびDNAマーカー選抜により、*O. officinalis*由来*bph11*、*O. australiensis*由来*Bph10*などをイネ品種「ヒノヒカリ」に導入し、同質遺伝子系統を作出しました。



生命科学技術と情報科学技術の融合(バイオインフォマティクス)  
コンピューター上で、イネ等農作物内での遺伝子の機能を予測  
仮想品種改良実験システムの開発

## 14年度目標

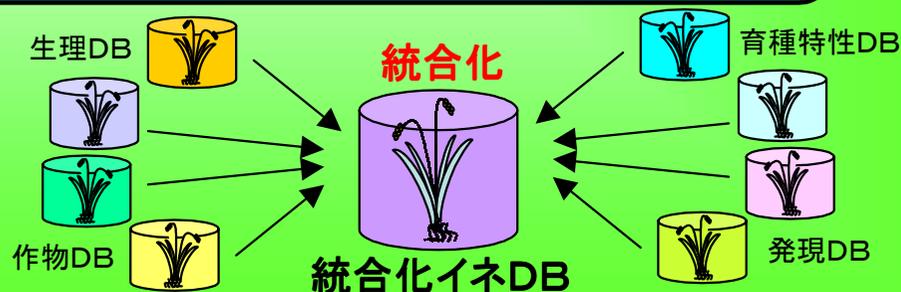
- 研究成果の積極的・迅速な公開……インターネットを有効に活用
- シミュレーションモデル間の階層的な連携の検討・ビジュアル化と課題間の積極的な情報交換によるシミュレーター統合を目指したプロジェクト的な誘導
- イネ・ゲノムシミュレーションシステム(昨年度生物研に設置した本シミュレーターの開発・公開用計算機システム)上での統合へ向けてシステムへの成果(ソフトウェア)の段階的収納とシステムを介した成果の公開

83

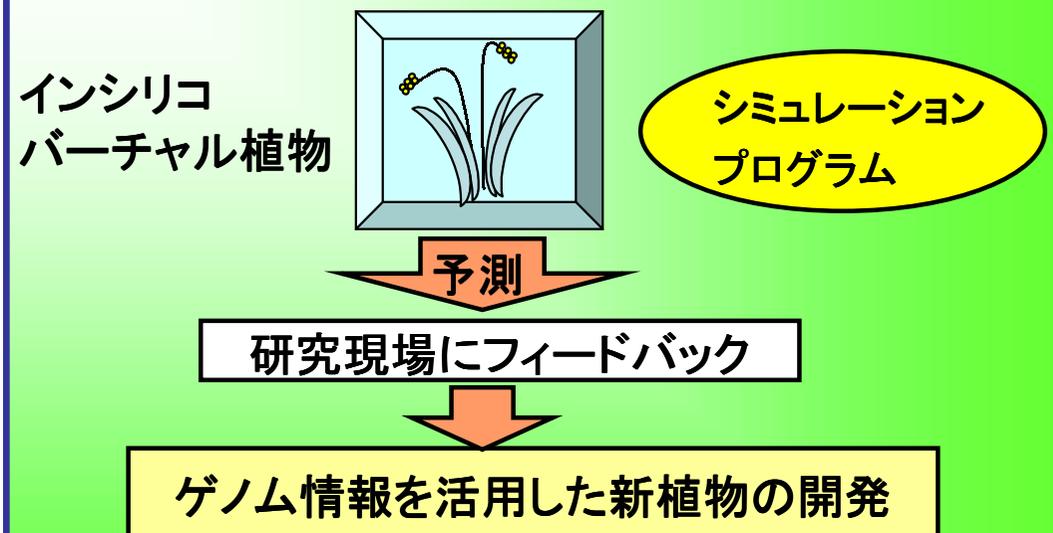
### ① ゲノムインフォマティクスの基盤



### ② イネゲノムデータの統合化

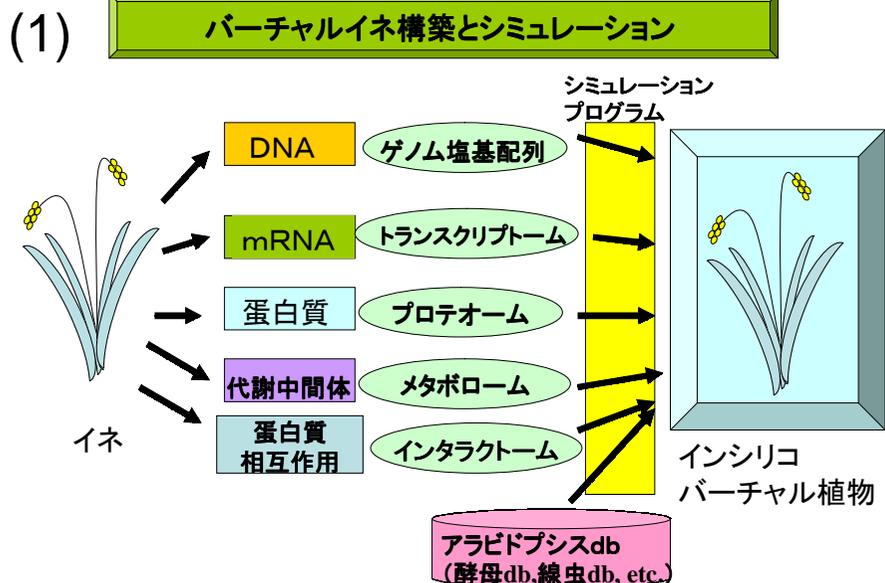


### ③ バーチャルイネ構築とシミュレーション

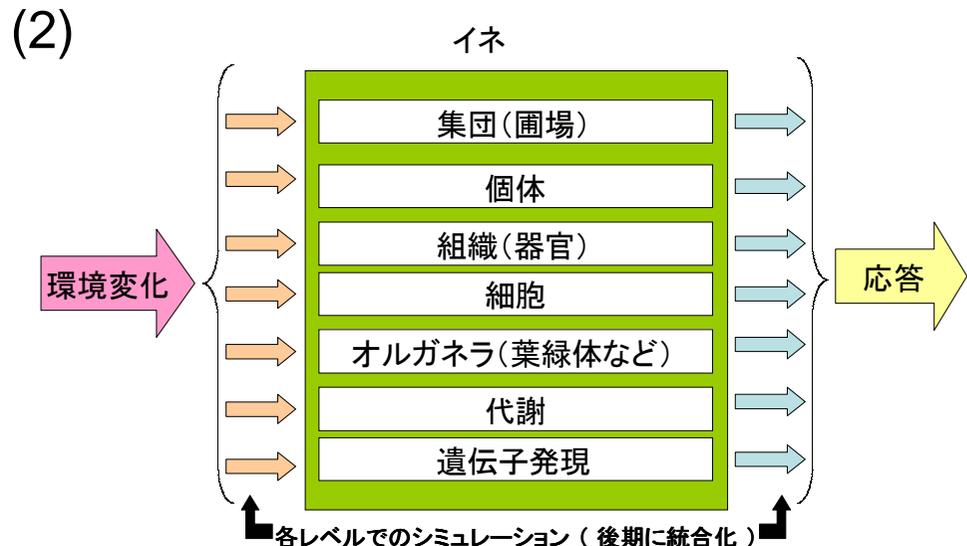


### ④ イネのゲノム機能のシミュレーションに向けて

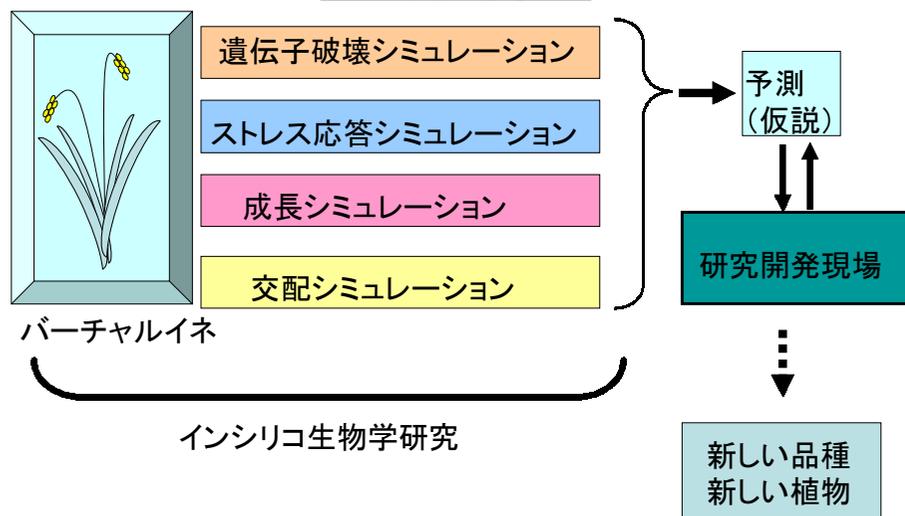
# イネゲノムシミュレータの開発



# イネゲノム機能のシミュレーション



(3) **イネのゲノム機能のシミュレーション  
何が可能になるのか**

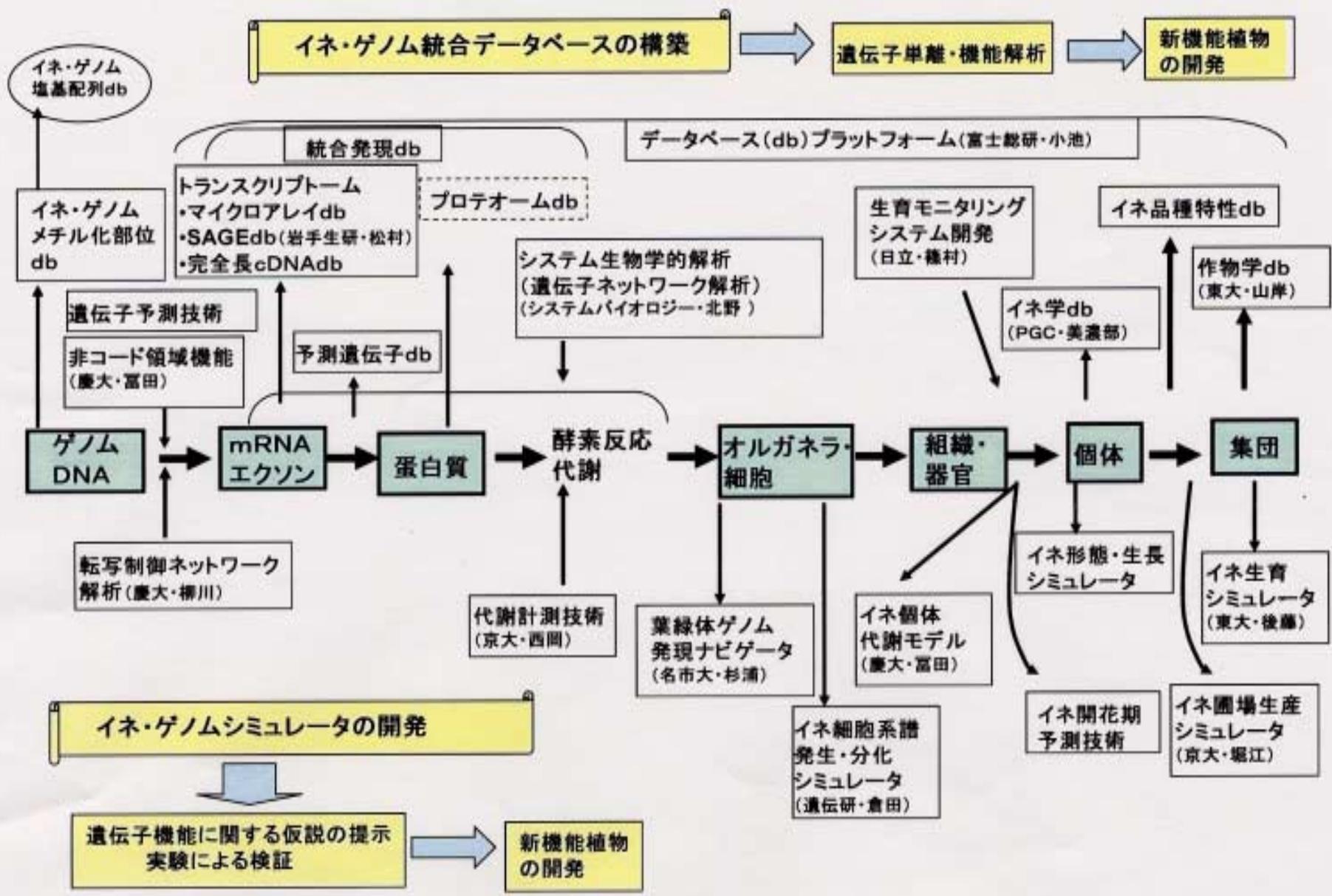


ゲノムDNAの転写、タンパク質合成、タンパク質の立体構造の形成、酵素反応と代謝、細胞分化、組織(器官)形成、分化発生、生長、繁殖、老化などの全てを一連の反応として計算機内に方程式で記述するのに必要な定量的なデータがまだ不足しており、また、計算機のパワーも膨大なものが要求される。

そこで、本プロジェクトでは、まず分子レベル、細胞レベル、組織レベル、個体レベル、集団レベルの各レベル(階層)に分けてシミュレータを開発する。既にある程度そろっている酵素化学的なデータを用いて植物細胞における代謝シミュレータや、代表的なイネ品種の圃場での生産性と栽培条件や環境との関係のシミュレータなどから開発に着手している。データが不足している分野については、データ作成も行っている。例えば植物体内の代謝中間体の動的な変化を測定してより高度なシミュレーションを行うために、メタボローム解析技術の開発も進めている。メタボローム解析のデータを集積したメタボロームデータベースは、イネゲノム統合データベースの中でも遺伝子の分子機能と固体での機能を繋ぐ位置として重要である。

シミュレーションプログラムの連結を目指したインターフェース開発も平成14年度から着出しているが、本格的なシミュレータ連結運転は後期になる。

これらのシミュレータにより、遺伝子破壊や遺伝子発現の人為的な制御の効果の予測、低温や乾燥などの環境変化に対する植物の応答の予測、交配の結果の予測、あるいは、品種改良のための組み合わせの提案などを計算機を用いて可能にする。



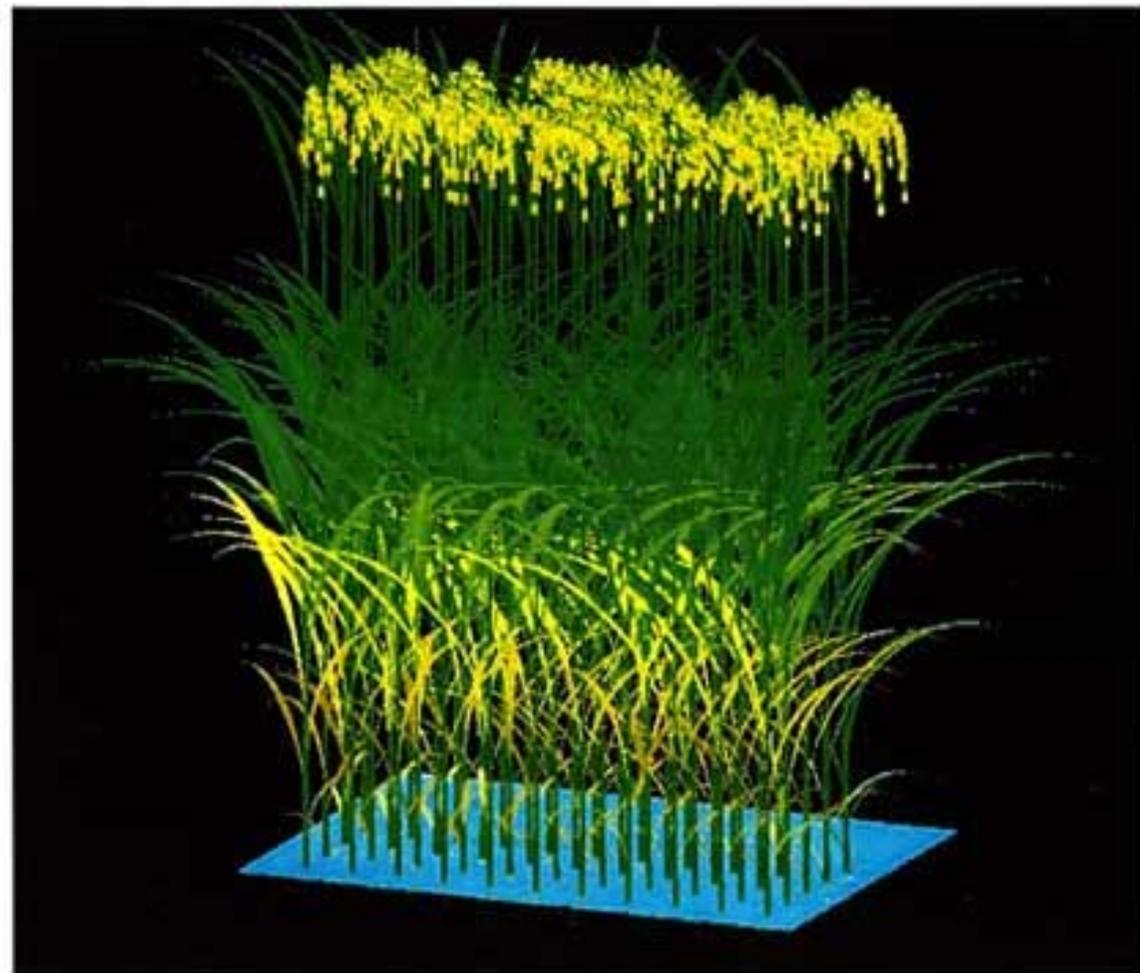


図1 作成された仮想稲（左）と仮想水田イメージ（右）

# イネゲノム研究リソースの整備状況

	これまでの整備状況	今後の整備方向
塩基配列	<ul style="list-style-type: none"> <li>○233Mbを解読(平成14年9月30日)</li> <li>○国際コンソーシアム全体での解読は413Mb(イネ全ゲノム430Mbの96%)</li> <li>○BAC5万クローン、PAC7万クローン</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○我が国が担当した染色体のPhase2解読</li> <li>○国際コンソーシアムとして平成14年末までに全染色体のPhase2解読完了</li> <li>○フィニッシングを効率化し、Phase3解読</li> </ul>
完全長cDNA	<ul style="list-style-type: none"> <li>○完全長cDNA29,000種解読</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○30,000種解読と利用体制整備</li> </ul>
染色体部分置換系統	<ul style="list-style-type: none"> <li>○150系統を作出</li> <li>○遺伝子マッピング用実験系統約1,000</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○系統の拡充</li> <li>○遺伝地図、物理地図の精密化</li> </ul>
ミュータントパネル	<ul style="list-style-type: none"> <li>○50,000系統のミュータントパネル作出</li> <li>○破壊遺伝子データベースを1万件公開</li> <li>○2,000系統の表現系データベース化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ミュータントパネル大規模表現型解析</li> <li>○隣接塩基配列の解析</li> <li>○Tos17以外の遺伝子破壊解析系構築</li> </ul>
プロテオーム	<ul style="list-style-type: none"> <li>○2,634個の部分構造決定(16,000個の独立スポット確認)</li> <li>○気相プロテインシーケンサー 1,128個</li> <li>○質量分析計 1,506個</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○細胞内小器官タンパク質スポットの網羅的解析とデータベース構築</li> <li>○タンパク質立体構造解析の加速</li> <li>○完全長cDNAの大量発現と機能解明</li> </ul>
マイクロアレイ	<ul style="list-style-type: none"> <li>○約9,000スポットアレイ作製・利用</li> <li>○モニタリングシステムの整備</li> <li>○21,000アレイ整備済み</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○高密度化21,000アレイの利用開始</li> <li>○アレイ解析システムの高感度化</li> <li>○遺伝子発現データベースの構築</li> </ul>
データベース	<ul style="list-style-type: none"> <li>○INE(イネゲノム統合データベース)</li> <li>○RiceGAAS(イネゲノムアノテーションデータベース)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○イネ学データベースの充実</li> <li>○作物学データベースの作成、公開</li> <li>○各種リソースのデータベース統合</li> </ul>

(農業生物資源DNAバンクで、cDNA 65,313クローン、RFLPマーカー1,713クローン、7,606クローンYACフィルター等を配布中)

# イネ遺伝子の単離及び機能解明の進捗状況

遺伝子の機能	特許(出願中を含む)			利用研究
	単離した遺伝子の機能	特許数	合計	
病虫害	いもち病抵抗性	1	4	・遺伝子組換えによるいもち病抵抗性系統作出と抵抗性機作の解明
	白葉枯病抵抗性	1		
	病害抵抗性	2		
ストレス応答	高温・低温耐性	2	4	・遺伝子組換えによる抵抗性系統作出と前処理による耐性付与機構解明
	耐塩性・耐乾燥性	2		
形態・生理機能	脱粒性・穂発芽抑制	3	18	<ul style="list-style-type: none"> <li>・遺伝子そのものをマーカーとした出穂時期の異なる系統群の育成</li> <li>・遺伝子組換え半わい性系統作出による草型育種</li> <li>・受光体勢の改善による光合成効率の向上</li> </ul>
	出穂時期制御	6		
	わい性	6		
	葉の形態制御	1		
	形態と収量の制御	2		
種子品質	タンパク質発現抑制	1	4	<ul style="list-style-type: none"> <li>・遺伝子組換えによる機能性米の開発</li> <li>・低アレルギー米の育成・利用</li> </ul>
	デンプン合成	2		
	低アレルギー	1		
基盤技術	酵素反応等	1	7	・組織特異的プロモーター利用による遺伝子組換え体の開発
	プロモーター等	6		
遺伝子機能特許 合計		37	54	(平成14年8月31日現在)
遺伝子マーカーの特許		3		
手法・プログラムに関する特許		14		