

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

論文題目 Application of Bioinformatics to Gene Identification
and Breeding
(ゲノム情報利用による有用遺伝子の単離と分子育種)
氏名 矢野 憲司

論文内容の要旨

近年、農学の対象となる植物のゲノム解読の進展は著しいものがある。双子葉植物のモデル植物シロイヌナズナ（アブラナ科）のゲノムが 2000 年に終了して以降、引き続きマメ科植物（ミヤコグサ、タルウマゴヤシ）、イネ科植物（イネ）、林木（ポプラ）、ナス科植物（トマト）などのゲノム解読が終了した。その結果、膨大かつ多様な配列データが集積されてきており、植物ゲノムに関する DNA 配列データベースが整備されるに至った。1979 年に創設された GenBank は、LANL (Los Alamos National Laboratory) の Theoretical Biology and Biophysics Group によって始まり、現在は NCBI (National Center for Biotechnology Information) により維持されている。さらに、1980 年には、EMBL (European Molecular Biology Laboratory)、1984 年には、GenBank, EMBL, DDBJ をまとめた DDBJ (DNA DataBank of Japan) が作られ、植物ゲノムデータもこれらの公的データベースへの蓄積が進められている。

しかしながら、これらのデータベースに登録される膨大な塩基配列の情報は、生命の設計図でしかなく、その配列の意味をそのまま理解できるわけではない。この不完全な情報からゲノムの情報を真の意味で理解するためには、全ゲノムにわたる個々の遺伝子の機能を明らかにし、遺伝子の集まりから生物個体を成立させるシステムを理解する必要がある。遺伝子やタンパク質の機能を理解するために、これまで多くの生命学者が膨大な労力を費やしてきた。この過程で得られる生命科学情報は莫大であるため、近年コンピュータを用いた解析手法が使われるようになった。この情報科学を利用した生命科学に関する解析を行う分野はバイオインフォマティクスと呼ばれ、時間と労力の面での制約を緩和することにより、生命科学研究の急速な進展を可能とした。

近年になり、高性能な次世代 DNA シーケンサーが普及し、広範な生物種のゲノム塩基配列が解読可能となり、遺伝子発現、エピジェネティクス、ゲノムの高次構造な

どの研究にも応用され始めた。このような状況において、今後、バイオインフォマティクスがより重要な役割を果たすことは明らかである。しかしながら、農学において本分野の利用は未開拓の部分が多く、これまでに利用された事例は限られている。本研究では、始めにマイクロアレイ技術や次世代シーケンス技術を農学の分野に応用することにより、その有効な活用法を試みた。本論文の第1章から4章ではイネ (*Oryza sativa* L.) を対象として、バイオインフォマティクスを用いた研究を述べた。イネのゲノム解読は、日本を中心とする国際イネゲノム塩基配列解析プロジェクトにより進められ、2002年に解読終了が宣言された。イネの全ゲノム配列 (Nipponbare of *Oryza sativa* ssp. *japonica*) と全ゲノムにわたる遺伝子予測は、International Rice Genome Sequencing Project (IRGSP, <http://rapdb.dna.affrc.go.jp>) によって提供されており、バイオインフォマティクスの基盤が整っている。そのため、イネはバイオインフォマティクスを用いる対象として扱いやすい。

第1章では、イネの初期生育を制御する量的形質座位 (QTL) の同定と解析について報告した。イネの直播栽培を考えると、初期生育は改良を加えるべき最も重要な形質である。しかし、初期生育を含む多くの農業形質は、複数の遺伝子座によって決定される量的形質であり、それらの原因遺伝子座の同定には多くの労力と時間がかかる。そこで本研究は、QTL マッピングで推定された候補遺伝子群のマイクロアレイ解析による選抜を試みた。このマイクロアレイによる選抜により、イネの生育初期に重要な遺伝子を効率的に選抜できることを実証した。

第2章では、イネの稈が太く倒れにくい性質 (耐倒伏抵抗性) について QTL 解析を行い、制御因子を同定するとともに、マイクロアレイ解析によりその制御機構を明らかにした。今までの倒伏抵抗性に関する育種は、もっぱら *sd1* や *Rht1* と言った半矮性遺伝子により行われてきた。半矮性遺伝子による耐倒伏抵抗性は、草丈が減少することによるなびき型倒伏性の軽減によって成果を上げてきたが、その一方で、挫折抵抗値、バイオマス収量、着粒数の減少などの農業形質上ネガティブな効果も併せ持つ。2010年に大川らは、太稈品種ハバタキを用いた QTL 解析により *SCM2/AP01* を同定し、そのゲノム断片を持つ NIL-*SCM2* を作成した。この系統は、挫折抵抗値、バイオマス収量、着粒数の向上を示し、半矮性遺伝子で生じた負の効果を改善したが、その耐倒伏性は不十分であった。本研究は、さらなる強稈遺伝子を単離し耐倒伏育種に利用するため、強稈系統である中国 117 号を用いて耐倒伏性を制御する QTL の評価とその原因遺伝子の機能解析を試みた。その結果、コシヒカリと中国 117 号の自殖系統を用いた QTL 解析を行い、強稈・耐倒伏抵抗性を制御する *SCM3/OsTB1* を同定した。また、*SCM3/OsTB1* と *SCM2/AP01* を併せ持ったピラミディングラインを作製し、より耐倒伏性を強化した系統を作出した。さらに、*SCM3/OsTB1* と *SCM2/AP01* に制御される強稈性分子機構についてマイクロアレイ解析による網羅的な発現解析を行い、これら遺伝子による太稈制御システムが多くの部分でオーバーラップしていることを突き止めた。

第3章では、マイクロアレイ解析を用いて、イネのアリューロン細胞に GID1 以外のジベレリン (GA) 受容体が機能するか否かについて検討した。GID1 受容体を介した GA

受容と異なり、細胞外で GA を受容しアミラーゼ遺伝子等の転写を促進する GA 受容機構が穀物のアリューロン細胞で以前から提唱されていたが、このシステムの GA 受容変異体を用いた検証は全くなされていなかった。そこで本研究では、イネの GA 信号関連変異体である GA 受容変異体 (*gid1*) と DELLA 抑制因子変異体 (*slr1*) の胚乳を用いて、イネのアミラーゼ遺伝子 (*RAmys*) の発現を調べた。その結果、*RAmys* の発現はこれらの変異体で GA に対する応答が全くなることから、*RAmys* の GA 応答は、GID1-DELLA システムに完全に依存することが確認された。さらに、GA 制御遺伝子の発現制御を網羅的に調べるためマイクロアレイによる解析を行い、GA 制御の様式が複数のパターンに分類されることを明らかにした。

第 4 章では、日本で作出されたイネ 176 品種を用いてゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行った。我が国にイネが渡来して以降、全国各所でその地域に適した品種が選抜され、生産力が高く食味が良い品種が育成されてきた。その過程で生じる遺伝的変異が、日本人にとって有益な形質を生ずる場合、その変異は後代へ残され蓄積される。その結果、日本に現存するイネ品種の DNA の違い (多型) を網羅的に調べることで、形質の違いをもたらす遺伝子候補を予想することが可能となる。この方法は GWAS と呼ばれ、現在ヒトの疾患や家畜の経済形質に関与する遺伝子を予測する技術として広く用いられている。近年、次世代シーケンサーや DNA チップの出現により GWAS がより迅速に行えるようになった。本研究においては、比較的遺伝背景が保存されている日本イネを用いて GWAS を行い、複数の新規遺伝子単離の成功事例を報告した。この結果から、GWAS による原因遺伝子の効率的な単離・同定が可能であることを証した。

本論文の最後では農学を離れて、非モデルシダ植物カニクサ (*Lygodium japonicum*) を用いたゲノム情報解析を行い、造精器誘導のメカニズム解明を試みることで、植物バイオインフォマティクスのより広範囲な可能性を探求した。種子植物と異なりシダ植物の生活環は配偶体世代が独立し、配偶体世代で前葉体と呼ばれる器官を形成する。カニクサの成熟した前葉体は、アンセリジオーゲンと呼ばれる造精器誘導物質を分泌し、周辺の若い前葉体に造精器を作らせる。カニクサのアンセリジオーゲンは、活性型 GA とその構造が類似するが、GA と比較すると、ジベレリン骨格の 3 位に水酸基が無く 6 位のカルボキシル基がメチル化されているため、GA 活性を持たない。一方活性型 GA は、カニクサにおいてアンセリジオーゲンと同様、造精器誘導活性を有し、アンセリジオーゲンによる造精器誘導機構と GA 信号伝達機構との共通性が以前から議論されてきた。そこで本研究では、GA とアンセリジオーゲンに制御される遺伝子群の相同性について、GA とアンセリジオーゲンを処理した前葉体における網羅的な転写産物量を次世代シーケンサーにより比較し、両者に差がないことを示した。さらに分子生物学的な解析も併せて行ない、アンセリジオーゲンによる造精器誘導現象が基本的には種子植物における GA 受容機構と共通していることを明らかにした。