

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 矢野 憲司

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)

論文審査担当者

主査	名古屋大学教授	松岡	信
委員	名古屋大学教授	北野	英己
委員	名古屋大学准教授	佐塚	隆志

論文審査の結果の要旨

本論文は、現在、急速に進みつつある生物学関連の情報（特にゲノムの塩基配列情報）の有効利用を目的として、植物科学の様々な局面に於いて情報科学を適用することにより、効率的に研究の進展を図ることができる事例を纏めた物である。具体的には、第1章から4章ではモデル作物であるイネ (*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ており、第5章は非モデル作物のシダ植物であるカニクサを利用した植物情報科学の展開を述べている。以下に各章における概略を記述する。

第1章において矢野は、イネの初期生育を制御する量的形質座位 (QTL) の同定と解析の結果について報告した。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。このように、矢野は従来の QTL 解析に、急速に蓄積しつつあるトランスクリプトーム情報を加味することで効果的且つ迅速に QTL の原因遺伝子の予測が可能であることを示した。

第2章は、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述べている。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。矢野の研究以前に、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。そこで矢野は、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。この研究により、矢野は情報科学を用いて太稈制御メカニズムを比較し、そのメカニズムを組み合わせることでさらなる強稈化が達成

できることを示した。

第3章は、マイクロアレイ解析を用いて、イネのアリユーロン細胞に GID1 以外のジベレリン (GA) 受容体が機能しない結果を報告している。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ユ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。そこで矢野は、イネの GA 信号関連変異体である GA 受容変異体 (*gidi*) 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) の結果を報告している。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關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。このような状況に鑑み、矢野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に成功した。さらにこの結果から、矢野は 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。

最後章で、矢野は、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。

以上のように、矢野は、モデル作物であるイネや非モデル植物であるカニクサを用いて、QTL の原因遺伝子の迅速な同定・太稈制御メカニズムの解析・GA 受容システムの解析・GWAS 利用による QTL 原因遺伝子の同定・アンセリジオーゲンによる造精器誘導機構解明など、様々な生命現象に関して、インフォマティクスの利用により、これまで困難とされてきた課題を解決することに成功した。このことから、審査委員会は、本論文が博士(農学)の学位論文として十分な価値があると認め、論文審査に合格と判定した。