

## 主論文の要約

これまでに、農学の対象となる植物ゲノムの解読が進んでいる。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、それに続き、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）で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、1980年代周辺にDNA配列データベースが相次いで作られた。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）による維持されている。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）（国際核酸塩基配列データベース）が作られた。

しかしながら、これらのデータベースに登録されてい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、これまで多くの研究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アプローチが使われる。このように、情報科学を利用した生命科学に関する解析を行う分野を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、これまでの生命科学分野に関わる研究を促進してきた。さらに、性能の高いシーケンサーがコストの低減により、普及したことで、広範な生物種のゲノム塩基配列が解読されるようになった。また、近年のシーケンサーは、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ている。上記に加え、ゲノミクスの扱うデータ量の増加に伴い、ゲノムデータ解析向けのオープンソースやオープンソース開発ソフトウェアも積極的に開発されている。2001年に始まったBioconductorプロジェクトは、Rプログラム言語を基にしたハイスループットなゲノムデータを解析するツールを数多く提供しており、バイオインフォマティクス分野の発展を促進している。

このような状況において、バイオインフォマティクスが今後、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、農学分野ではまだ未開拓の部分が多く、これまでに利用されてきた用途は限られてきた。そこで本研究では、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検証し

た。今回、第1章から4章にわたり、イネ (*Oryza sativa* L.) を対象として、バイオインフォマティクスを扱う。世界で最も重要な主食の一つであるイネは、イネ科作物の中で比較的ゲノムサイズが小さいため、単子葉類のモデル生物でもある (Shimamoto *et al.* 2002)。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 (Goff *et al.* 2002, Yu *et al.* 2002)。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する。イネの直播栽培において初期生育は農業上重要な形質の一つである。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領域に座乗する遺伝子群の中から、マイクロアレイ解析により遺伝子発現を指標とした遺伝子選抜を試みた。このマイクロアレイによる候補遺伝子選抜により、イネの初期生育に重要な遺伝子の同定をより効率的に行うことを実証した。

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。今までの耐倒伏抵抗性の改良は、もっぱら *sd1* や *Rht1* のような半矮性遺伝子によって行われてきた。半矮性遺伝子による耐倒伏抵抗性は、草丈が低下し、なびき型倒伏性抑えることで成果を上げてきたが、その一方、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を示す。2010年に大川らは、太稈品種であるハバタキを用いた QTL 解析により *SCM2/AP01* が同定され、そのゲノム断片を持つ NIL-*SCM2* が作成された。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ネガティブな効果を改善したが、その耐倒伏性は不十分であった。そこで、本研究では、さらなる強稈遺伝子を単離と、育種におけるその遺伝子の有用性を評価するため、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。コシヒカリと中国 117号の自殖系統を用いた QTL 解析から、強稈・耐倒伏抵抗性を制御する *SCM3/OsTB1* を同定することができた。挫折抵抗値、バイオマス収量、着粒数に対する *SCM3/OsTB1* と *SCM2/AP01* の効果を比較すると、それぞれの貢献度に違いがあることがわかった。この形質に対する効果の違いは、*SCM3/OsTB1* と *SCM2/AP01* に制御される分子メカニズムの違いであると想定し、マイク

ロアレイ解析による網羅的な遺伝子発現量の比較を行い、検証した。

第3章では、マイクロアレイ解析を用いることでイネのアリューロン細胞に、GID1以外のジベレリン(GA)受容体は存在するか検証した。GID1受容体を介したGA受容モデル以外に、以前から細胞の外でGAを受容し、アミラーゼ遺伝子の転写を促進するモデルが穀物のアリューロン細胞で提唱されているが、変異体等を用いたこのモデルの検証は全くなされていなかった。そこで私は、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、全ての $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子(*RAmys*)の発現を調べた。結果、GAによる応答する全*RAmys*遺伝子の発現は、2つの変異体で失われていたため、全*RAmys*遺伝子のGAによる制御は、GID1-DELLAシステムに依存してい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、日本のイネ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、全国至る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に影響する場合、それ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できる。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。GWASを行う際、対象形質に関わる遺伝子に複数の変異・ハプロタイプが存在する場合、検出感度低下や偽陽性シグナルを生じることが、シロイヌナズナやイネで複数例報告されている。今回、イネの到穂日数を対象にGWASを行った所、*Hdl*近傍にピークが検出されたが、*Hdl*座乗位置と約1Mbp離れていた。*Hdl*のハプロタイプを調べてみると複数存在し、これが偽陽性シグナルの原因であることが示唆された。*Hdl*は、イネ育種にとって重要な遺伝子であるため、育種の過程で異なるハプロタイプが複数回選抜されたことが既に知られている。以上の結果は、作物において育種に重要だった形質をGWASの対象とする時、今回のような擬陽性を考慮して解析を行う必要があることを示している。そこで本研究では、このような形質において偽陽性を抑制する解析を試みた。

第5章は、非モデルシダ植物カニクサ(*Lygodium japonicum*)を用いて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た。被子植物とは異なり、シダ植物の生活環は、配偶体世代が独立している。シダ植物は、配偶体世代で前葉体と呼ばれる配偶体を形成する。これまでに前葉体において、興味深い現象が知られている。それは成

熟した前葉体が造精器誘導（雄性個体誘導）を引き起こす物質を分泌し、同種の若い個体に造精器をつくらせる現象である。この現象は、Döpp（1950年）によってワラビ（*Pteridium aquilinum*）で初めてその存在が確認されて以来、18種のシダにおいて同様の現象が報告されている。その後、これらの造精器（Antheridium）誘導物質はその効果が由来となり、アンセリジオーゲン（Antheridiogen）と名付けられた。本研究では、アンセリジオーゲンの存在と造精器誘導の現象が確認されているフサシダ科に属するカニクサを用いて解析を行った。カニクサのアンセリジオーゲンは、GAとその構造が非常によく似ていることが知られているが、GAと比較すると、3位の水酸基が無く、6位のカルボキシル基がメチル化されているといった相違がある。そのため、アンセリジオーゲンは、被子植物に処理してもGA反応を誘導しない。一方GAは、カニクサにおいて、アンセリジオーゲンと同様に造精器を誘導する効果があるため、GA制御シグナルはアンセリジオーゲンと似ていることが予測される。そこで、GAとアンセリジオーゲンに制御される遺伝子群に違いがあるか検証するため、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。