

委託プロジェクト研究
「ゲノム情報を活用した農産物の次世代生産基盤技術の開発」
平成29年度 最終年度報告書

13405896

麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発(TRS)

研究実施期間	平成25年度～平成29年度（5年間）
代表機関	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 次世代作物開発研究センター
研究開発責任者	呉 健忠
共同研究機関	国立大学法人 岡山大学資源植物科学研究所 国立大学法人 帯広畜産大学地域環境学研究部門 国立大学法人 三重大学大学院生物資源学研究科 国立大学法人 千葉大学大学院園芸学研究科 国立大学法人 金沢大学学際科学実験センター 国立大学法人 信州大学農学部 国立大学法人 名古屋大学生物機能開発利用研究センター 公立大学法人 秋田県立大学生物資源科学部 公立大学法人 横浜市立大学木原生物学研究所
	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構（畜産研究部門、九州沖縄農業研究センター）
	北海道立総合研究機構（中央農業試験場、北見農業試験場） 福岡県農林業総合試験場
	ホクレン農業総合研究所作物生産研究部
普及・実用化支援組織	栃木県農業試験場
研究開発責任者連絡先	TEL : 029-838-6148 FAX : 029-838-7408 E-mail : jzwu@affrc.go.jp

<別紙様式3. 最終年度報告書>

I-1. 年次計画

研究課題	研究年度					担当研究機関・研究室		
	25	26	27	28	29	機関	研究室	
1. 麦類穂発芽耐性遺伝子の単離と形質発現機構解明 (1) オオムギ種子休眠QTL <i>SD2</i> 座、コムギ <i>MFT</i> 遺伝子、オオムギ変異体の解析	← 遺伝子単離、機能解明、育種素材開発 →					次世代作物開発センター	麦類形質評価ユニット	
	← 遺伝子機能解明、オオムギ遺伝子情報の活用によるコムギ休眠性向上 →							
	(2) オオムギ種子休眠QTL <i>Qsd1</i> の解析	← 遺伝子単離、機能解明、育種素材開発 →					岡山大学資源植物科学研究所	大麦・野生植物資源研究センター
		← 遺伝子機能解明、オオムギ遺伝子情報の活用によるコムギ休眠性向上 →						
(3) コムギ休眠性遺伝子 <i>Phs1</i> の単離とアレル探索・穂発芽関連QTL探索	← 遺伝子単離、機能解明、育種素材開発 →					ホクレン農業総合研究所	ホ畑作物開発課	
	← 遺伝子機能解明、オオムギ遺伝子情報の活用によるコムギ休眠性向上 →							
(4) オオムギ種子休眠QTL <i>Qsd1</i> のコムギ相同遺伝子解析・コムギ種子休眠QTLの探索	← 遺伝子単離、機能解明、育種素材開発 →					帯広畜産大学	植物生産学分野	
	← 遺伝子機能解明、オオムギ遺伝子情報の活用によるコムギ休眠性向上 →							
2. 麦類形態形成遺伝子の単離と形質発現機構解明 (1) 六条性遺伝子 <i>vrs1</i>	← <i>vrs1</i> 単離、育種素材開発 →					次世代作物開発センター	遺伝子機能解析ユニット	
	← <i>vrs1.c</i> 遺伝子単離、機能解析 →							
	← <i>vrs1</i> 機能解析 →					横浜市立大学木原生物学研究所	植物ゲノム科学部門	
	← 遺伝子結合DNA同定、相互作用調査 →							
	(2) 麦類閉花性	← オオムギ閉花性解析(<i>clt1</i>) →					次世代作物開発センター	遺伝子機能解析ユニット
		← コムギ閉花性解析(<i>AP2</i>) →						
		← 遺伝子単離、機能解明、育種素材開発 →						
	(3) 細胞質雄性不稔性回復遺伝子	← 遺伝子単離、機能解明、育種素材開発 →					次世代作物開発センター	遺伝子機能解析ユニット
		← 遺伝子機能解明、オオムギ遺伝子情報の活用によるコムギ休眠性向上 →						
	(4) クチクラ形成遺伝子	← 遺伝子単離、機能解明、育種素材開発 →					次世代作物開発センター	遺伝子機能解析ユニット
← 遺伝子機能解明、オオムギ遺伝子情報の活用によるコムギ休眠性向上 →								

(5) 深播耐性遺伝子	遺伝と相補性検定材料養成	秋田県立大学	育種グループ
3. 麦類形態形成遺伝子の単離と形質発現機構解明 (1) コムギ縞萎縮病抵抗性	<i>YmMD, YmMD2</i> 領域遺伝解析	北海道立総合研究機構中央農業試験場	生物工学グループ
	解析材料養成	北海道立総合研究機構北見農業試験場	麦類グループ
	検定方法検討、DNAマーカー開発	次世代作物開発センター	遺伝子機能解析ユニット
(2) オオムギ縞萎縮病抵抗性	<i>rym3, rym2</i> の高精度マッピング	岡山大学資源植物科学研究所	大麦・野生植物資源研究センター
	<i>Rym17</i> の高精度マッピング	福岡県農林業総合試験場	麦類育種チーム
4. コムギ赤かび病抵抗性遺伝子の単離と機能解明 (1) 6B染色体上の抵抗性遺伝子マッピング	材料育成、マーカー充実、遺伝解析 (6B, 5A)	ホクレン農業総合研究所	畑作物開発課
	接種検定	九州沖縄農業研究センター	病害グループ
	検定手法開発、遺伝解析(6B, 2D)	北海道立総合研究機構中央農業試験場	生物工学グループ
	材料養成、抵抗性検定、農業形質評価	北海道立総合研究機構北見農業試験場	麦類グループ
(2) AP2同祖体の解析による閉花性形質の発現機構解明	AP2遺伝子変異体解析(オオムギ、コムギ)、機能評価、マーカー開発	三重大学	植物生産学分野

5. オオムギ赤かび病抵抗性遺伝子の単離と機能解明 (1) オオムギ赤かび病毒素低減化及び抵抗性遺伝子単離と機能解明及び育種素材開発	←	材料養成、遺伝解析、形質転換体作成	→	岡山大学源植物科学研究所	大麦・野生植物資源研究センター
	←	遺伝子同定とタンパク質解析、病害防除への応用	→	金沢大学	遺伝子研究施設
	←	<i>cly1</i> 発現解析、 <i>miR172</i> 遺伝子単離、発現、タンパク質解析	→	次世代作物開発センター	遺伝子機能解析ユニット
6. 麦類カドミウム集積性遺伝子の単離と機能解明 (1) オオムギカドミウム	←	カドミウム集積、耐性関連QTLマッピング、機能解析	→	岡山大学源植物科学研究所	大麦・野生植物資源研究センター
	←	コムギ遺伝資源調査、QTLマッピング	→	九州沖縄農業研究センター	大麦育種グループ
7. 麦類耐湿性遺伝子の単離と機能解明 (1) 耐湿性評価法確立	←	評価方法検討	→	畜産研究部門	育種工学研究グループ
	←	マーカー充実、遺伝解析	→	畜産研究部門	育種工学研究グループ
	←	集団養成	→	秋田県立大学	植物遺伝・育種グループ
8. ソルガム茎葉の形態形成遺伝子の単離と機能解明 (1) ソルガム葉長・葉幅QTL	←	高精度マッピング、候補遺伝子特定	→	次世代作物開発センター	遺伝子機能解析ユニット
	←	高精度マッピング	→	次世代作物開発センター	遺伝子機能解析ユニット
	←	戻し交配	→	信州大学	栽培学研究室
9. ソルガム穂の形態形成遺伝子の単離と機能解明 (1) 穂型の構造解析と遺伝子単離	←	集団育成、遺伝子QTLマッピング	→	名古屋大学	植物分子育種分野
	←	集団育成、遺伝子QTLマッピング	→	名古屋大学	植物分子育種分野

I - 2. 実施体制

課題 番号	研究項目	担当研究機関・研究室		研究担当者	
		機関	研究室		
TRS 1001	麦類穂発芽耐性遺伝子の単離と形質発現機構解明	農研機構 次世代作物開発研究センター	ゲノム育種推進室		◎ 呉 健忠 (H27～H29)
		農業生物資源研究所	農業生物先端ゲノム研究センター	作物ゲノム研究ユニット	◎ 小松田 隆夫 (H25～H26)
		農研機構 次世代作物開発研究センター	麦研究領域	麦類形質評価ユニット	○ 中村 信吾 (H25～H29)
		ホクレン農業総合研究所	作物機能開発課		忠村 一毅 (H26)
		ホクレン農業総合研究所	作物生産研究部	畑作物開発課	梶田 淳史 (H25～H29)
		ホクレン農業総合研究所	作物生産研究部	畑作物開発課	小池 倫也 (H25～H29)
		岡山大学	資源植物科学研究所	大麦・野生植物資源研究センター	佐藤 和広 (H25～H29)
		作物研究所	麦研究領域		芦川 育夫 (H25)
		帯広畜産大学	地域環境学研究部門	植物生産学分野	大西 一光 (H25～H29)
		農研機構 次世代作物開発研究センター	ゲノム育種推進室		呉 健忠 (H25～H29)
		農研機構 次世代作物開発研究センター	基盤研究領域	遺伝子機能解析ユニット	小松田 隆夫 (H25～H29)
		農研機構 次世代作物開発研究センター	基盤研究領域	情報解析ユニット	田中 剛 (H25～H29)
農研機構 次世代作物開発研究センター	麦研究領域	小麦・大麦育種ユニット	乙部 千雅子 (H25～H28)		
農研機構 次世代作物開発研究センター	麦研究領域	小麦・大麦育種ユニット	青木 恵美子 (H27～H29)		

TRS 1002	麦類形態形成遺伝子の 単離と形質発現機構解 明	農研機構 次 世代作物開発 研究センター	麦研究領域	小麦・大麦育 種ユニット	小島 久代 (H25～H29)
		農研機構 次 世代作物開発 研究センター	麦研究領域	小麦・大麦育 種ユニット	高山 敏之 (H25～H28)
		農研機構 次 世代作物開発 研究センター	麦研究領域	麦類形質評価 ユニット	安倍 史高 (H25～H29)
		農研機構 次 世代作物開発 研究センター	麦研究領域	麦類形質評価 ユニット	蝶野 真喜子 (H25～H29)
		農研機構 次 世代作物開発 研究センター	麦研究領域	麦類形質評価 ユニット	藤田 由美子 (H25～H29)
		農研機構 生 物機能利用研 究部門	植物・微生物 機能利用研究 領域	植物微生物機 能ユニット	瀬尾 茂美 (H26～H29)
		農研機構 次 世代作物開発 研究センター	基盤研究領域	遺伝子機能解 析ユニット	○ 小松田 隆夫 (H25～H29)
		横浜市立大学	木原生物学研 究所	植物ゲノム科 学部門	佐久間 俊 (H25～H27)
		岡山大学	資源植物科学 研究所	大麦・野生植 物資源研究セ ンター 大麦 グループ	最相 大輔 (H25～H29)
		三重大学	大学院生物資 源学研究科	分子遺伝育種 学研究室	掛田 克行 (H25～H26)
		秋田県立大学	生物資源科学 部	植物遺伝・育 種グループ	高橋 秀和 (H25～H26)
		千葉大学	大学院園芸学 研究科	遺伝育種学研 究室	木庭 卓人 (H25～H29)
		千葉大学	大学院園芸学 研究科	遺伝育種学研 究室	菊池 真司 (H25～H29)
千葉大学	大学院園芸学 研究科	遺伝育種学研 究室	佐々 英徳 (H25～H29)		
農業生物資源 研究所	農業生物先端 ゲノム研究セ ンター	作物ゲノム研 究ユニット	半田 裕一 (H25～H27)		

TRS 1003	麦類縞萎縮病抵抗性遺伝子の単離と機能解明	農研機構 次世代作物開発研究センター	ゲノム育種推進室		呉 健忠 (H29)
		農研機構 次世代作物開発研究センター	基盤研究領域	遺伝子機能解析ユニット	川東 広幸 (H28~H29)
		農研機構 次世代作物開発研究センター	基盤研究領域	育種素材開発ユニット	大野 陽子 (H27~H29)
		北海道立総合研究機構 中央農業試験場	作物開発部	生物工学グループ	○ 鈴木 孝子 (H25~H27)
		農研機構 次世代作物開発研究センター	基盤研究領域	遺伝子機能解析ユニット	○ 小松田 隆夫 (H28~H29)
		岡山大学	資源植物科学研究所	大麦・野生植物資源研究センター	氷見 英子 (H25)
		岡山大学	資源植物科学研究所	大麦・野生植物資源研究センター 遺伝資源機能解析グループ	武田 真 (H25~H27)
		北海道立総合研究機構 中央農業試験場	作物開発部	生物工学グループ	小倉 玲奈 (H25)
		北海道立総合研究機構 中央農業試験場	作物開発部	生物工学グループ	堀田 治邦 (H26~H27)
		北海道立総合研究機構北見農業試験場	研究部	麦類グループ	吉村 康弘 (H25~H26)
		北海道立総合研究機構北見農業試験場	研究部	麦類グループ	粕谷 雅志 (H25~H27)
		北海道立総合研究機構北見農業試験場	研究部	麦類グループ	神野 裕信 (H25~H27)
北海道立総合研究機構北見農業試験場	研究部	麦類グループ	大西 志全 (H27)		
農業生物資源研究所	農業生物先端ゲノム研究センター	作物ゲノム研究ユニット	小松田 隆夫 (H25~H27)		

TRS 1004	コムギ赤かび病抵抗性 遺伝子の単離と機能解 明	農研機構 次 世代作物開発 研究センター	ゲノム育種推 進室		呉 健忠 (H28~H29)
		農研機構 次 世代作物開発 研究センター	基盤研究領域	育種法開発ユ ニット	小林 史典 (H27~H29)
		福岡県農林業 総合試験場	農産部	麦類育種チー ム	甲斐 浩臣 (H25~H27)
		福岡県農林業 総合試験場	農産部	麦類育種チー ム	原口 雄飛 (H25~H27)
		福岡県農林業 総合試験場	農産部	麦類育種チー ム	濱田 美智雄 (H25~H27)
		ホクレン農業 総合研究所	作物生産研究 部	畑作物開発課	○ 帛田 淳史 (H25~H29)
		ホクレン農業 総合研究所	作物生産研究 部	畑作物開発課	小池 倫也 (H25~H29)
		ホクレン農業 総合研究所	畑作物開発課		忠村 一毅 (H27)
		九州沖縄農業 研究センター	生産環境研究 領域	病害グループ	笹谷 孝英 (H25~H26)
		九州沖縄農業 研究センター	生産環境研究 領域	病害グループ	川上 顕 (H25~H26)
		三重大学	大学院生物資 源学研究科	分子遺伝育種 学研究室	掛田 克行 (H27~H29)
		北海道立総合 研究機構 中 央農業試験場	作物開発部	生物工学グル ープ	鈴木 孝子 (H25~H26)
		北海道立総合 研究機構 中 央農業試験場	作物開発部	生物工学グル ープ	山下 陽子 (H25~H26)
		北海道立総合 研究機構北見 農業試験場	研究部	麦類グループ	吉村 康弘 (H25~H26)
北海道立総合 研究機構北見 農業試験場	研究部	麦類グループ	足利 奈奈 (H25~H26)		
北海道立総合 研究機構北見 農業試験場	研究部	麦類グループ	大西 志全 (H25~H26)		

TRS 1005	オオムギ赤かび病抵抗性遺伝子の単離と機能解明	岡山大学	資源植物科学研究所	大麦・野生植物資源研究センター	○ 佐藤 和広 (H25～H29)
		金沢大学	学際科学実験センター	遺伝子研究施設	西内 巧 (H25～H27)
		農研機構 次世代作物開発研究センター	基盤研究領域	遺伝子機能解析ユニット	小松田 隆夫 (H27～H29)
		農研機構 次世代作物開発研究センター	基盤研究領域	育種素材開発ユニット	大野 陽子 (H27～H29)
TRS 1006	麦類カドミウム集積性遺伝子の単離と機能解明	岡山大学	資源植物科学研究所	植物ストレス学グループ	○ 馬 建鋒 (H25～H29)
		九州沖縄農業研究センター	水田作・園芸研究領域	小麦・大麦育種グループ	松中 仁 (H25～H26)
		九州沖縄農業研究センター	水田作・園芸研究領域	小麦・大麦育種グループ	中村 和弘 (H25～H26)
		九州沖縄農業研究センター	水田作・園芸研究領域	小麦・大麦育種グループ	岡見 翠 (H25～H26)
TRS 1007	麦類耐湿性遺伝子の単離と機能解明	畜産草地研究所	飼料作物研究領域	育種工学研究グループ	○ 間野 吉郎 (H25～H27)
		秋田県立大学	生物資源科学部	植物遺伝・育種グループ	高橋 秀和 (H27)
TRS 1008	ソルガム茎葉の形態形成遺伝子の単離と機能解明	農研機構 次世代作物開発研究センター	基盤研究領域	遺伝子機能解析ユニット	○ 川東 広幸 (H25～H29)
		信州大学	農学部附属アルプス圏フィールド科学教育研究センター	栽培学研究室	春日 重光 (H25～H29)
		農研機構 次世代作物開発研究センター	基盤研究領域	育種法開発ユニット	米丸 淳一 (H25～H29)
TRS 1009	ソルガム穂の形態形成遺伝子の単離と機能解明	名古屋大学	生物機能開発利用研究センター	植物分子育種分野	○ 佐塚 隆志 (H25～H26)
		名古屋大学	生物機能開発利用研究センター	有用農業形質保存分野	北野 英己 (H25～H26)

(注1) 研究開発責任者には◎、小課題責任者には○、実行課題責任者には△を付すこと。

中課題番号	13405896	研究期間	平成25～29年度
大課題名	ゲノム情報を活用した農産物の次世代生産基盤技術の開発		
中課題名	麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発		
代表機関・研究開発責任者名	国立研究開発法人農業 食品産業技術総合研究機構 次世代作物開発研究センター・呉 健忠		

I-1. 研究目的

日本人一人あたりの年間麦類消費量は小麦が49kg、大麦は18kgであり、その合計は米の消費量72kgにほぼ匹敵する。日本国民は思ったより大量の麦類を消費している。しかし我が国の麦類生産量は消費量の一割程度とあまりに少なく、そのため「食料・農業・農村基本計画」では麦類の栽培面積の拡大と同時に品種開発研究による問題解決を計っている。本研究課題では日本における麦類の安定生産と消費を実現するため、これまで蓄積されてきた研究材料と遺伝資源及びゲノム情報等を活用して生産性や品質維持に関わる有用遺伝子を同定して機能を解明し、DNAマーカーとして品種開発に役立てる。また、飼料作物として重要であるソルガムの生産性に関する遺伝子を同定し、高バイオマス・低コスト資源作物の開発を行う。

このため、本研究では、

1. 麦類穂発芽耐性遺伝子の単離と形質発現機構解明(TRS1001)
2. 麦類形態形成遺伝子の単離と形質発現機構解明(TRS1002)
3. 麦類縞萎縮病抵抗性遺伝子の単離と機能解明(TRS1003)
4. コムギ赤かび病抵抗性遺伝子の単離と機能解明(TRS1004)
5. オオムギ赤かび病抵抗性遺伝子の単離と機能解明(TRS1005)
6. 麦類カドミウム集積性遺伝子の単離と機能解明(TRS1006)
7. 麦類耐湿性遺伝子の単離と機能解明(TRS1007)
8. ソルガム茎葉の形態形成遺伝子の単離と機能解明(TRS1008)
9. ソルガム穂の形態形成遺伝子の単離と機能解明(TRS1009)

により、我が国の麦類と飼料作物の生産性及び品質維持に関わる農業上重要な形態形質の遺伝要因と制御機構を遺伝子同定や機能証明等によって解明し、選抜育種に利用可能な高精度DNAマーカーまたは育種技術及び素材の開発を目標とする。

その結果、

1. 農業上有用形態形質の発現機構に対する科学的知見の獲得及びそれに基づくゲノム編集技術活用等による画期的な農産物の作出への貢献
2. 育種においてDNAマーカーを使った正確な遺伝子型判定、選抜及び集積による麦類及びソルガム品種育成過程の加速化
3. 安定多収及び品質維持関連遺伝子の導入及び集積による育種素材または新品種の開発と利用を通じた穂発芽、赤カビ病、縞萎縮病等被害の低減及び克服
4. 麦類及びソルガムの生産者における生産コストの削減・農作物の安定多収及び消費者における安全・安心な食生活の維持が期待される。

I-2. 研究結果

本課題では、日本における麦類の安定生産、品質維持と多収にとって重要な性質である穂発芽耐性、縞萎縮病抵抗性、赤かび病抵抗性、重金属低蓄積、湿害耐性、六条性、細胞質雄性不稔回復とソルガムのバイオマス生産向上に関わる葉面積または穂型を支配する遺伝子の同定や発現機構解明及び選抜育種用高精度DNAマーカー設計等の研究開発を国内複数の研究組織のもとで実施した（図1）。また、都道府県と私人的研究機関及び企業との協力を通じて、開発されたDNAマーカーの実用化（現場実証等）を推進するとともに、突然変異系統の作出と選抜及び利用による育種素材の養成や重要農業資材の研究開発にも力を入れて進めてきた（図2）。以下、課題実施期間中に取得した主要な結果について記載する。



図1 研究開発の対象である麦及びソルガムの形態形質及び課題構成 (TRS1001-1009)



図2 育種素材開発の内容とDNAマーカー実用化の実施機関

麦類の穂発芽発生は品質低下を招くので、直接に減収に繋がる。この穂発芽被害を根本的に

なくすには、品種に強い休眠性を与えることが最も重要である。本課題においては、今までに蓄積され、または新たに養成されてきた遺伝材料を用いて、高精度マッピングによる候補遺伝子の絞り込み、対象遺伝子領域における塩基配列解読、遺伝子発現解析、遺伝子産物であるタンパク質の活性測定、遺伝子導入に基づく相補性検定などを行った。その結果、主要な種子休眠QTL遺伝子として、オオムギから*SD1* (5H染色体に座乗し、alanine aminotransferaseをコードする)と*SD2* (5H染色体に座乗し、mitogen-activated protein kinase kinase 3をコードする)、コムギから*Phs1* (4A染色体に座乗し、オオムギ*SD2*のコムギ相同遺伝子)の単離及び機能解明に成功し、得られた成果を著名な雑誌を通して公表した(図3)。また、国内外から集められ

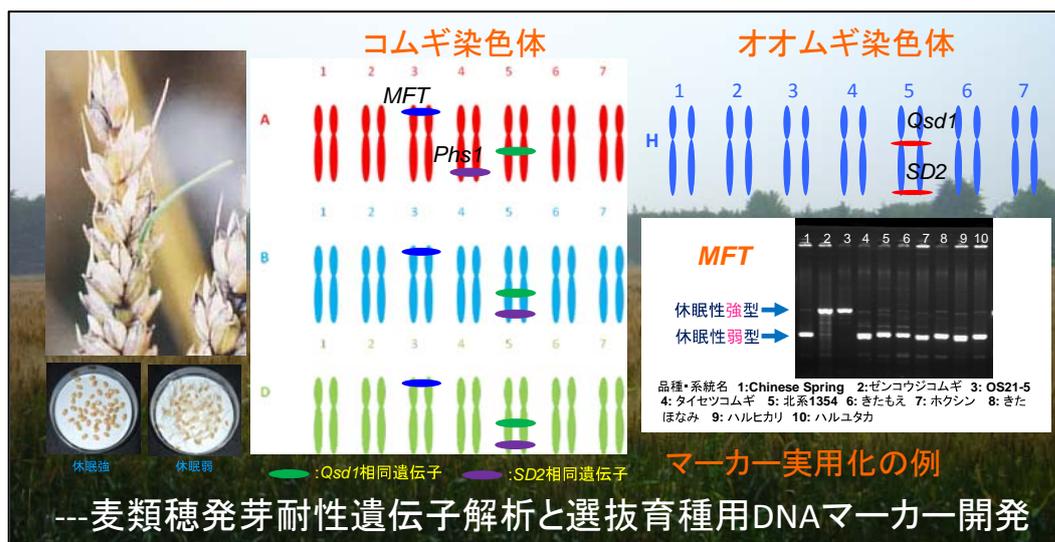


図3 単離された麦類種子休眠性関連遺伝子種類、座乗染色体情報及びDNAマーカー設計結果

たオオムギまたはコムギ品種を用いて、以前に単離されたコムギ種子休眠遺伝子*MFT*(3A染色体に座乗し、転写因子であるMOTHER OF FT AND TFL1をコードする)とともに同定された*SD1*、*SD2*及び*Phs1*遺伝子の塩基配列多様性調査を実施し、これらの遺伝子が持つ変異アレル構成と機能解析または地域分布状況を明らかにした。同時に、応用を目指す研究として、それぞれの種子休眠関連遺伝子ゲノム領域から高精度のDNAマーカーを開発し、特に*MFT*については既に穂発芽耐性コムギ品種改良の現場で活用されているほか、*SD1*についても遺伝子自然変異の活用(*SD1*休眠型アレル導入)によるオオムギ新品種開発に成功した(種苗登録申請済)。さらに、新規育種素材の養成を推進するため、6倍体であるコムギA、B、Dゲノムそれぞれに座乗している種子休眠遺伝子(*Phs1*、オオムギ*SD2*の同祖遺伝子)またはオオムギ*SD1*のコムギ相同遺伝子の同定を行い、複数の変異系統(アミノ酸置換や遺伝子欠失)の選抜に成功した。交配による3重変異遺伝子集積系統作出の見通しが立ったことにより、遺伝変異の組み合わせに基づくこれまでになく強いレベルの種子休眠性を持つコムギ系統の開発が現実的になった。今後における麦類穂発芽耐性品種育成を促進するには、より多くの遺伝資源が必要とされるので、オオムギ及びコムギにおける新規種子休眠遺伝子の同定と機能解明を目指した研究開発も実施した。それによって複数染色体から有意な効果を示すQTLを検出し、これからにおける高精度マッピングによる原因遺伝子の同定を可能にした。(TRS1001)

麦類赤かび病は収量低下をもたらすだけでなく、種子中に有害な毒素を蓄積するので、世界でもよく知られている大きな病害のひとつである(図4)。本課題では、交配集団や組み

換え固定系統などの遺伝解析用材料を用いた圃場検定及びゲノム塩基配列情報を活用したDNAマーカー拡充を進めた結果、コムギ2D、5A、6B染色体上にある抵抗性遺伝子領域の遺伝マップを作成することに成功した。特に6B染色体上の抵抗性遺伝子を0.8cMの域内にマッピングすることができた。強い赤かび病抵抗性を持つコムギ品種改良または新品種創出に有効利用できる育種素材を作出するために、課題途中から3B、5A、6B染色体に座乗する抵抗性遺伝子を集積する系統の育成をDNAマーカー選抜によって積極的に進めた。オオムギにおいては、課題期間中、遺伝解析やゲノム塩基配列情報の活用等によって少なくとも5種類のカビ病菌進展抵抗性(*NFXL1*, *HvMNAT*)またはカビ毒集積抵抗性(*HvRG2*, *HvRPS27A*)等に関連する遺伝子を探索し、それらを導入したオオムギ形質転換体の作成に成功した。温室における検定の結果、一部の形質転換体から導入遺伝子による赤かび病抑制と思われる効果を観察した。また、オオムギ種子におけるカビ毒抑制候補物質特定にも成功し、重要農業資材(オオムギ赤かび病毒素低減化薬剤)を開発するために特許申請後も企業との共同研究を進めている。一方、オオムギ変異体を用いた解析によって閉花性遺伝子*cly1*(2H染色体に座乗し、AP2 domainを有する転写因子をコードする)の調節領域を明らかにした。同時に、*cly1*の発現を制御する遺伝子*miR172*の単離及び機能解析を実施し、*miR172*成熟分子と*cly1*mRNAとの直接作用及びそれらの作用場所を見出した。「オオムギからコムギへ」の遺伝子の有効利用を推進するため、オオムギ閉花性関連遺



図4 麦類赤かび被害と閉花性遺伝子を利用する病害抵抗性研究

伝子*cly1*のコムギ相同遺伝子の同定と遺伝子変異系統の選抜及び表現型の解析に成功した。現在、変異系統間の交配による3重(A, B, Dゲノム)変異集積及び形態形質を評価する現場実証を通じて、赤かび病感染を回避することができる完全閉花性コムギ系統作出を目指して研究開発を推進している(図4)。(TRS1002, TRS1004, TRS1005)

穂型の改良やハイブリッド品種の開発が麦類の増収を達成するために重要である。また、安定生産を続けるには、縞萎縮病、乾燥、湿害のような環境ストレスに強い抵抗性または耐性を持つ麦品種が必要となる。本課題では、既に単離したオオムギ六条性遺伝子*vrs1*(2H染色体に座乗し、転写因子である*Hox1*をコードする)のアリルを解析することによって一つのアミノ酸変異が穂型に変化をもたらすことを明らかにし、遺伝子変異の利用による穀粒サイズの改良が可能であることを実例で示した。また、ChIP-seqやRNA-seqなどの解析手法を活用して、*vrs1*下流遺伝子、VRS1タンパク質が結合するDNA配列を複数同定したとともに、共同研究によって、オオムギ条性に関連する遺伝子*vrs2*、*vrs4*及び*vrs1.a4*を単離することにも成功した。オオム

ギ有用遺伝子のコムギへの有効利用をめざす研究の一環として、オオムギ *vrs1* のコムギ相同遺伝子 (A, B, Dゲノム) の単離と穂型に及ぼす影響に関する調査を進めたのみならず、遺伝子変異系統の選抜及び形質評価も積極的に行い (それによって粒数増加が観察された)、コムギにおける新規育種素材の開発に向けた有意義な一步を踏み出すことができた。ハイブリッド品種の開発をめざす研究では、オオムギ細胞質雄性不稔回復遺伝子 *Rfm1* のゲノム領域の高精度マッピング、候補ゲノム領域におけるBAC物理地図の作成及び塩基配列解読等を進めた結果、候補原因遺伝子を二つまで絞り込むことに成功し、現在相補試験による遺伝子の機能証明に向かって研究を進めている。コムギ縞萎縮病抵抗性における研究では、QTL解析によって二つの抵抗性遺伝子 *YmMD* (2D染色体) と *YmMD2* (3B染色体) の座乗領域を同定した (図5)。特に、*YmMD2* 遺伝

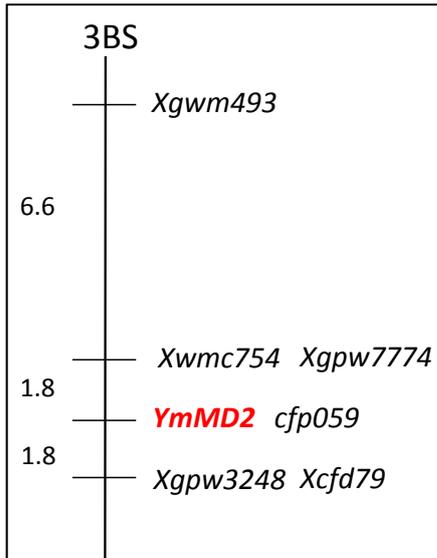


図5 コムギ3B染色体にマッピングされた縞萎縮病抵抗性遺伝子

子については、ゲノム領域を約150kb範囲まで絞り込んだ結果、有力な候補原因遺伝子を二つ見つけることができて、機能証明の段階までに来ている。また、*YmMD* と *YmMD2* ゲノム領域のDNAマーカーを用いた現場育種選抜を推進した結果、一つのコムギ縞萎縮病抵抗性系統を育成した (新品種候補として登録する予定)。オオムギにおいては、縞萎縮病抵抗性遺伝子 *rym2*, *rym3*, *rym15*, *Rym17* 領域の基本マップ作成とDNAマーカー拡充による高精度マッピングを行って、今後の原因遺伝子単離に向けた研究基盤を固めることができた。乾燥耐性に関する研究では、オオムギからクチクラ層形成遺伝子 *cer-zv* と *cer-zh* を単離し、その成果を雑誌を通じて公表した。湿害耐性における研究については、オオムギDH系統の育成を進めると同時に、有効な評価方法の確立及び遺伝マーカーの拡充によるQTLマッピングを実施し、遺伝子の候補ゲノム領域を数箇所同定した。(TRS1002, TRS1003, TRS1007)

高濃度の重金属摂取が人体にとって有害であるため、穀類可食部カドミウム濃度を抑えることは食品の安全性の観点から極めて重要である。遺伝解析集団を用いたQTL解析によって、オオムギカドミウム集積関連遺伝子が座するゲノム領域を二ヶ所同定した (4H及び5H染色体)。候補ゲノム領域における高精度マッピング、イネカドミウム集積関連遺伝子解析の成果活用による候補遺伝子の絞り込み及び機能解析を進めた結果から、イオン輸送体や地上部へのカドミウム低集積に関連する二つの遺伝子 (4H染色体より *HvNramp5*, 5H染色体より *HvHMA3*) を同定することに成功した。また、オオムギカドミウム耐性関連遺伝子のQTLマッピングも実施し、6H染

色体に大きな作用力を持つ遺伝子座の存在を明らかにして、今後における原因遺伝子の単離と機能解明及び遺伝子資源の育種への応用を加速させていくことを可能にした。(TRS1006)

ソルガムは、同じ長大型作物のトウモロコシと比べ、低温伸長性や栽培適応性等に関して劣るものの、バイオマス資源作物としての乾物生産性の高さや再生能力は高いものとして知られている。また、ソルガムを家畜飼料として利用する場合、可消化養分総量 (Total Digestible Nutrients, TDN) が重要な指標となる。全バイオマス中に占める子実重量の比率が高いほどTDNは大きくなり、栄養価の高い家畜飼料となるが、その子実収量はソルガムの場合、その多様な穂型に大きく依存する。本課題においては、マッピング集団の養成や遺伝解析の実施によって、ソルガム第10染色体に葉長増大関連QTL遺伝子を検出した。高精度マッピングを進めた結果、原因遺伝子が座乗するゲノム領域を3.5Mb程度まで絞り込むことができた。候補ゲノム領域の塩基配列情報等に基づく原因遺伝子の探索を進めたと同時に、DNAマーカーの開発を有効に利用し、高バイオマス生産性ソルガムの育成に有望な育種母本となる一つの準同質系統を選抜することにも成功した。一方、交配集団の作成と穂型の構造及び遺伝解析の実施によって、第1と第7染色体にそれぞれ穂型遺伝子*qPBL1*と穂部割合遺伝子*qCL7b*をマッピングすることができて、近い将来における原因遺伝子の同定を可能にした。(TRS1008, TRS1009)

最後に、本課題に取り込まれたゲノム解析支援については、塩基配列解読による遺伝子型判定、原因遺伝子候補領域における物理地図の作成と塩基配列解読及び変異比較、次世代塩基配列解読装置の活用による大規模な塩基配列解読または遺伝子発現分析等のような業務を合計50件近く随時に且つ効率的に実施し、課題全体の研究開発の成功に大きく貢献した。(TRS1001)

I-3. 今後の課題

本課題の実施により、今まで大変難しいとされてきた麦類や飼料作物の安定多収と品質維持に関わる遺伝子単離と機能解明が大きく前進した。その上、同定できた様々な有用遺伝子から育種選抜利用可能な高精度DNAマーカーも設計された。今後は特に開発されたDNAマーカーを活用し、農業生産現場で厳しい環境ストレスを受けても減収や品質低下が生じない、または生じにくいように品種を改良したり、新品種の創出を行ったりして、いわば社会実装を加速化していくことが最も重要な課題である。新品種の開発には遺伝資源が欠かせないので、地球上に既存の遺伝子自然変異を探索するのみならず、人為突然変異体の作出と選抜及び利用も大きな課題の一つになる。一方、近年に開発されたゲノム編集技術を活用することによって、生物における遺伝子機能改変がより効率的にできるようになっている。重要な農業形質を支配する原因遺伝子をより多く単離することは直接にゲノム編集技術を用いた画期的な作物開発にも繋がるので、続けて積極的に進めていく必要がある。

「麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発」最終年度報告書

中課題番号: 13405896

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

中課題名: 麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発 (TRS)

小課題番号: TRS1001

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

小課題名: 麦類穂発芽耐性遺伝子の単離と形質発現機構解明

小課題代表研究機関・研究室・研究者名: 農研機構 次世代作物開発研究センター・麦研究領域・麦類形質評価ユニット・中村信吾

1) 研究目的

我が国では、コムギの収穫期が雨の多い梅雨の時期と重なるため、大規模な穂発芽被害が発生しやすく、麦作安定生産上の大きな障害となっている。この穂発芽被害を根本的になくすには、品種に強い休眠性を付与すること以外に方法はない。本課題では、コムギの休眠性を強くするために必要な遺伝子の単離と機能解析を進める。この際に、6倍体コムギのモデル植物として2倍体のオオムギを有効活用する。単離した遺伝子については、その自然変異や人為変異を探索し利用可能にすることで、これまでになく強いレベルの種子休眠性を持つコムギ品種を開発するための研究開発をおこなう。

2) 研究成果

本課題の実施により、オオムギ、コムギの3つの主要な種子休眠 QTL の原因遺伝子を明らかにすることができた(表1)。オオムギは、作用力の非常に大きな種子休眠 QTL を5H染色体上に2つ持つことが知られていたが、今回のプロジェクトにより、その2つのQTL、SD1 および SD2、の原因遺伝子が *AlaAT* 遺伝子および *MKK3* 遺伝子であることを明らかにすることができた。また、コムギでは、種子休眠性に関与することが知られている4A染色体長腕上のQTL *Phs1* の原因遺伝子がオオムギのSD2と同じ *MKK3* 遺伝子であることも明らかにすることができた。オオムギ、コムギで種子休眠の強さの調節に関わるQTLに共通の遺伝子が利用されていることを示した初めての結果で、オオムギの種子休眠QTLの研究が、コムギの穂発芽耐性の研究にも役立つことを示すことができた。単離したオオムギの遺伝子に対するコムギ相同遺伝子の変異系統も探索し、6倍体であるコムギのA、B、Dゲノムそれぞれの相同遺伝子の破壊系統の探索を行い、それぞれの変異を集積した3重変異系統の作出を進めた。

表1	プロジェクト期間中に単離した種子休眠QTLの原因遺伝子		
作物	オオムギ	オオムギ	コムギ
QTL	<i>Qsd1</i>	<i>Qsd2-AK</i>	<i>Phs1</i>
座乗染色体	5H-セントロメア付近	5H-長腕末端	4A-長腕
原因遺伝子	<i>Alanine aminotransferase (AlaAT)</i>	<i>Mitogen-activated Protein Kinase Kinase 3 (MKK3)</i>	<i>Mitogen-activated Protein Kinase Kinase 3 (MKK3)</i>
論文	Sato <i>et al.</i> (2016) Nature Communications 7: 11625	Nakamura <i>et al.</i> (2016) Current Biology 26: 775-781	Torada <i>et al.</i> (2016) Current Biology 26: 782-787

(1) オオムギ種子休眠 QTLSD2 および新規遺伝子座の解析

栽培オオムギの中では、比較的休眠の強い品種「アズマムギ」とビール用オオムギで休眠の弱い品種「関東中生ゴールド」間の休眠性の差異の主要な原因として種子休眠 QTL *Qsd2-AK* を同定した

(図1)。 *Qsd2-AK* の原因遺伝子として *MKK3* 遺伝子をマップベースクローニング法により単離した。また、その原因となる配列多型が、リン酸化ドメインの進化上保存された260番目のアミノ酸残基に変異を起こす一塩基多型であることを明らかにした(図2)。この一塩基多型は、DNAマーカーによって選抜でき育種に利用できる(図3)。

非常に休眠性の強い野生オオムギの強い休眠性の原因として、同じく *SD2* 座が原因となることを示すとともに、これまで報告されていない新たなQTL *Qsdw-5H* も同定して、論文として公表した。また、これら野生オオムギのQTLの原因配列多型を明らかにするため、ゲノム上でのQTL領域の絞り込みを始めた。

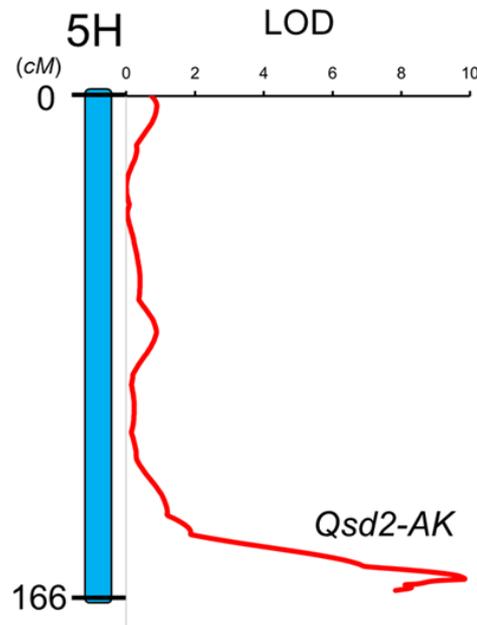


図1. 種子休眠QTL *Qsd2-AK*
 LOD: logarithm of odds、cM:センチモルガン、
 組換え近交系99系統(2005年発芽試験データ)

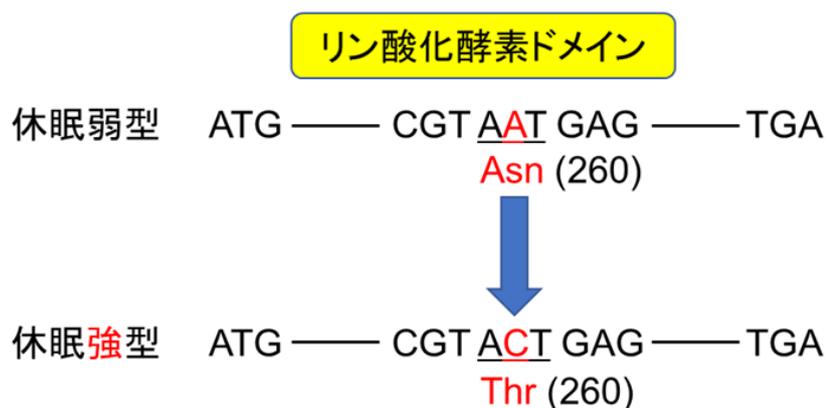
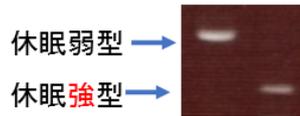


図2. 休眠弱型及び休眠強型 *MKK3* 遺伝子塩基配列の違い
 アミノ酸残基 N: アスパラギン T: トレオニン



(アガロース電気泳動写真)

図3. 休眠強型MKK3遺伝子を識別するDNAマーカー

休眠強型(穂発芽耐性)MKK3遺伝子をもつ系統を選抜できる

(2) オオムギ種子休眠 QTL *Qsd1* の解析

野生オオムギに存在する主要な種子休眠性に関わる *Qsd1* の DNA 配列をマップベース法により単離し、*Qsd1* がアラニンアミノ酸転移酵素を制御することを発見した(図4)。休眠性が短くなった品種では同じ部分の配列が変異してアミノ酸が変わり、その多くは醸造用オオムギとして改良された際に休眠性が短くなったことが判明した(図5)。また、*Qsd1* は胚で特異的に作用することで、アラニンの代謝を制御し、種子の休眠の長さを調節する仕組みを持つことを発見した(図6)。育種の素材として活用するために、醸造用オオムギに休眠型のアレルを置換した品種を種苗登録申請した(図7)。

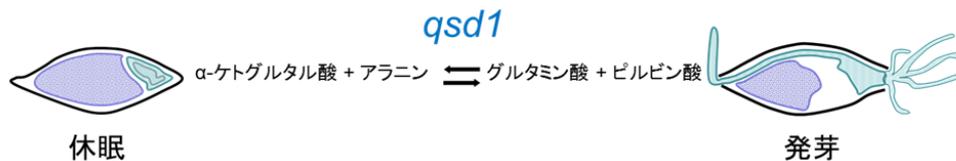


図4 野生オオムギH602が有する*qsd1*によるオオムギの種子休眠に関するモデル。オオムギは*qsd1*が胚で特異的に作用することでアラニンの代謝を制御し種子の休眠の長さを調節する。



図5 成熟5週間後の発芽率の分離。左:H602型(*qsd1*)、右:はるな二条型(*Qsd1*)。

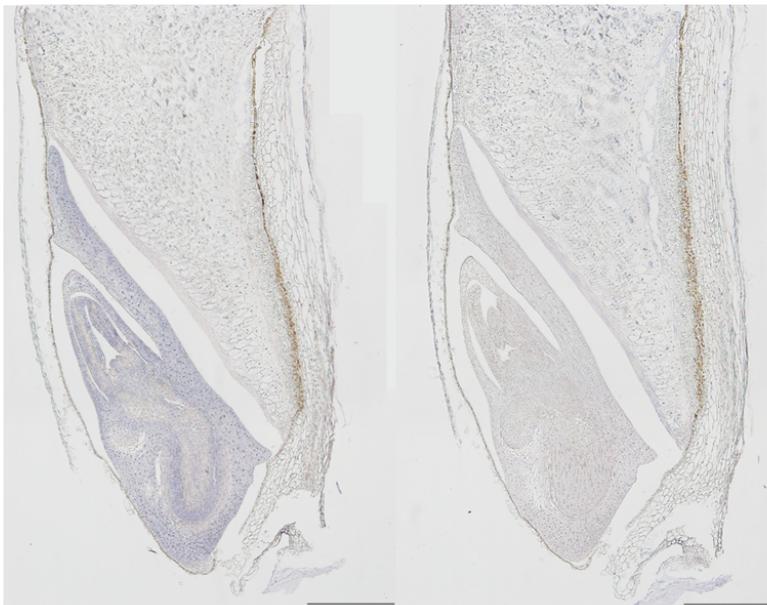


図6 受精後19日目のH602の種子。分子交雑で着色した*Qsd1*は胚で働く。



図7 「はるな二条」 (左) と種子休眠性の長い「はるな二条Qsd1」 (右) の草姿と穂型

さらに、オオムギコムギ *Qsd1* の配列を利用して、コムギの *Qsd1* オルソログ配列を3つのゲノムについて解読して、品種間差異のあることを確認した。また「春よ恋」のガンマー線変異原処理(250Gy)後代由来の突然変異体集団および「きたほなみ」の突然変異集団を用いて変異体の選抜を行った。その結果、「春よ恋」および「きたほなみ」背景のBゲノム相同遺伝子の欠失変異体で発芽率の低下が見られた(図8)。「春よ恋」についてはAおよびDゲノム相同遺伝子の欠失変異体も得られており、今後交雑により集積を進める。

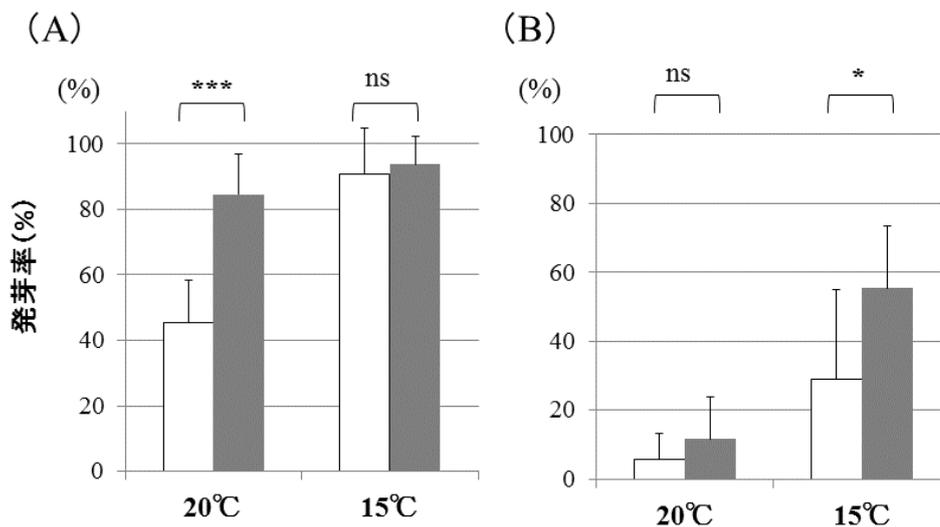


図8 「春よ恋」と「きたほなみ」の*TaQsd1-B*欠失変異体における種子休眠性の評価。(A)「春よ恋」遺伝背景、(B)「きたほなみ」遺伝背景。白抜き：欠失変異体、灰色：原品種。成熟期に15°Cと20°Cで10日間の発芽試験を行った。

(3) コムギ休眠遺伝子 *Phs1* の単離と変異アリルの探索

コムギ 4A 染色体に座乗する種子休眠性遺伝子座 *Phs1* の候補遺伝子 (*MKK3*) について、「春よ恋」(休眠弱) のゲノム DNA を「Leader」(休眠強) へ導入した形質転換体の種子休眠性評価を行った。分離した null 固定系統では「Leader」と同様に発芽率が低く休眠が維持されていたが、導入遺伝子が固定した系統の発芽率は高く、休眠が覚醒していた(図9)。null 系統と導入遺伝子が固定された系統間で明瞭な休眠性の違いが認められたことから、*MKK3* 遺伝子が *Phs1* の原因遺伝子と考えられた。*Phs1* は、アミノ酸置換を伴う変異が休眠の差異に影響を与えられられるが、加えて遺伝子発現量の変化により、休眠程度が変化する可能性が示唆された。生物研のジーンバンクから入手した 95 品種・系統のコアコレクションを用いて、*Phs1* 遺伝子の多様性を調査した。種子休眠性の原因変異と考えられる 1 塩基多型は、22 % が非休眠型、78 % が休眠型であった。95 品種・系統内に、休眠性の変異をもたらす原因 SNP 以外にアミノ酸置換を伴う変異は見いだされなかった。そこで、*Phs1* の新たな変異を探索するため、「春よ恋」にガンマー線により変異原処理 (250Gy) を行い、突然変異集団の養成を進めた。A ゲノムもしくは B ゲノム上の遺伝子が欠失した変異個体が計 5 個体 (A ゲノム 2 個体、B ゲノム 3 個体) 得られた(図10)。A ゲノム遺伝子を欠失した「春よ恋」変異個体の休眠性が変化したことから、*MKK3* が原因遺伝子あることが改めて実証された。また、「きたほなみ」変異集団から、欠失変異体が 2 個体 (B ゲノム) と非同義置換を伴う変異体が 3 個体 (A、B ゲノム) 認められた。

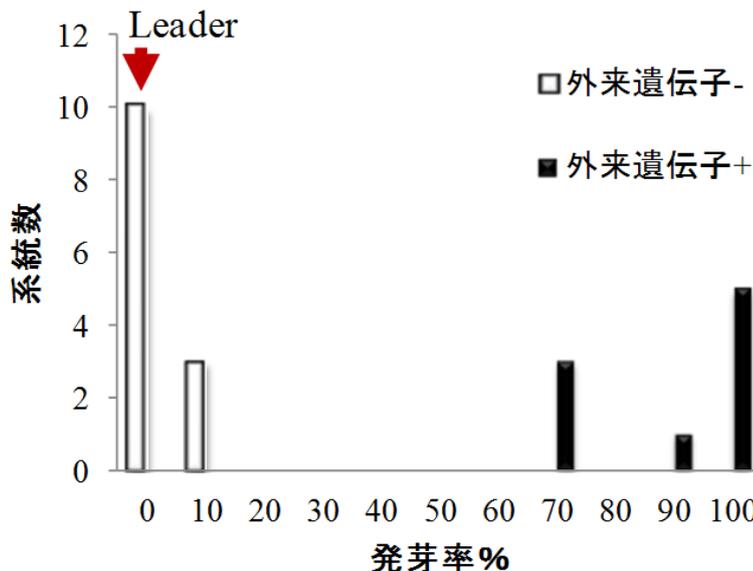


図9 コムギ種子休眠性遺伝子 *Phs1* 候補遺伝子 (*MKK3*) 導入系統の発芽
 休眠強品種「Leader」に休眠弱品種「春よ恋」のゲノム断片を導入した
 外来遺伝子+; T₂世代で導入したゲノム遺伝子が固定した系統
 外来遺伝子-; T₂世代で導入したゲノム遺伝子が分離してnullに固定した系統

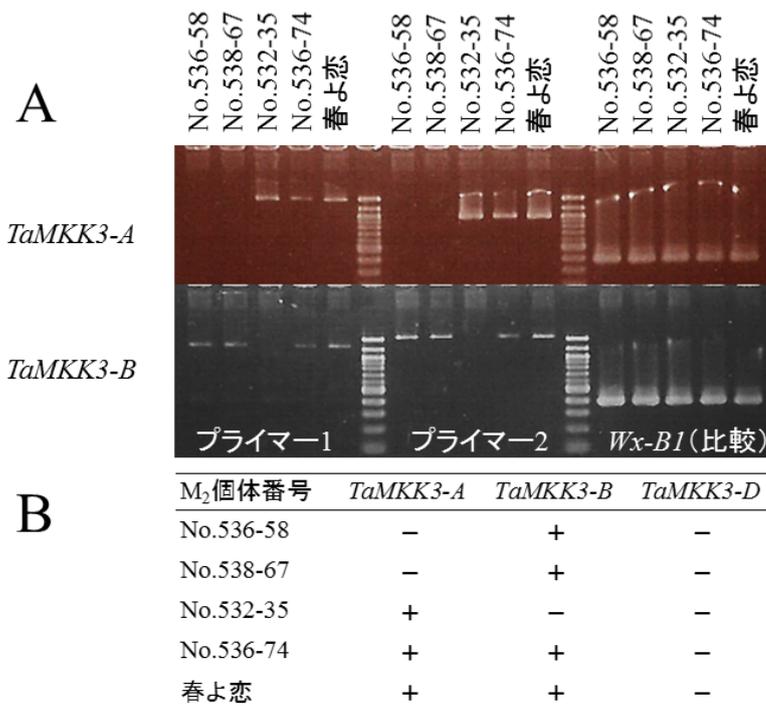


図10コムギ品種「春よ恋」のガンマー線照射M₂集団から得られた*Phs1*(*MKK3*) 遺伝子の欠失変異体候補

A: 候補個体のPCR電気泳動図 B: 候補個体の同祖遺伝子の遺伝子型

(4) コムギ穂発芽関連 QTL のマッピング

Phs1 と *QPhs-3AS* (*MFT*) 以外の QTL を探索するため、「春よ恋 NIL3A4A」と休眠性極強系統「OS21-5」間から得られた半数体倍加 (DH) 系統を用いて、未熟発芽および種子休眠性を評価した。218 座からなる全長 2,361cM の連鎖地図を構築し、2 力年 (2013、2014 年) の未熟発芽および種子休眠性について QTL 解析を行った。QTL が計 9 箇所を検出され、8 箇所の QTL は「OS21-5」のアリルが、1 箇所の QTL は「春よ恋 NIL3A4A」のアリルが発芽率を下げる効果を示した。続いて、複数年の評価を通じて未熟発芽および種子休眠性に優れた DH 系統 (DH411) に「春よ恋 NIL3A4A」を再度交配し、新たな DH 系統を作出した。これらの DH 系統を用いて検出された QTL の効果検証を行ったところ、3 領域に有意な効果が認められた。

ゼンコウジコムギと Chinese Spring の組換え自殖系統を用いて新規 QTL の探索を行ったところ、*QPhs-3AS* (*MFT*) 以外に 1B 染色体 (Chinese Spring 型で発芽率を下げる) と 4A 染色体 (ゼンコウジコムギ型で発芽率を下げる) に二つの QTL を同定した。また戻し交雑により準同質遺伝子系統 (BC₅) を育成して効果を確認した。さらにマッピングを行った結果、4A 染色体については、約 4.4cM の領域に座乗することが示唆されたが、複数年の評価により結果の再現性の確認が必要であると考えられた。

(5) 研究支援

プロジェクト全期間中において、計 49 件のゲノム解析支援を行った (表 2) 具体的には、麦類穂発芽耐性や六条性関連遺伝子等を含めた遺伝子型判定 (ジェノタイプング) が 20 件あり、延べ 2.3 万の供試体の塩基配列解読を実施した。麦類細胞質雄性不稔回復と縞萎縮病抵抗性及びソルガム高バイオマス性関連原因遺伝子単離のため、7 品種の BAC ライブラリーを構築し延べ 4 品種における候

補 BAC クローンの塩基配列解読を進めた。次世代塩基配列解読装置の活用による RNA-Seq(GAIIx=2 ラン, MiSeq=6 ラン) や ChIP(MiSeq=2 ラン) 解析を通じて、全ゲノムまたは特定領域上における発現遺伝子の配列多型と発現能力及び発現遺伝子ネットワークなどの情報を効率的に収集し麦類穂発芽耐性、六条性、縞萎縮病抵抗性等遺伝子の特定や機能解明に貢献した。麦類突然変異集団から麦類穂発芽耐性関連遺伝子の変異体を複数選抜し、将来における新品種開発のための育種素材開発の材料として提供することができた。

表2 プロジェクト実施期間中の支援内容と件数

支援内容	サンガ法による大規模遺伝子型判定	次世代シーケンサーによるRNA-seqとChIP解析	BACライブラリー構築	BAC候補クローン選抜と塩基配列解読	情報解析とデータベース構築	変異体選抜と変異塩基配列同定
対象形態形質	麦類穂発芽耐性、六条性、細胞質雄性不稔回復	麦類穂発芽耐性、六条性	麦類質細胞雄性不稔回復と縞萎縮病抵抗性、ソルガム高バイオマス性	麦類細胞質雄性不稔回復と縞萎縮病抵抗性、ソルガム高バイオマス性	麦類穂発芽耐性、六条性、細胞質雄性不稔回復、縞萎縮病抵抗性、赤カビ病抵抗性	麦類穂発芽耐性
小課題	TRS1001, 1002	TRS1001, 0002	TRS1002, 1003, 1008, 1009	TRS0002, 0003, 0008	TRS1001, 0002, 0003, 0004	TRS1001
実施件数	20	6	7	6	7	3

3) 成果活用における留意点

単離した *AlaAT* 遺伝子、*MKK3* 遺伝子の種子休眠の強弱を制御する原因と考えられる配列多型が明らかになったので、原因多型を判別するマーカーとしてこれら遺伝子のマーカーを品種育成の現場で穂発芽耐性形質の改良に利用することができるようになった。すでに多数の品種、系統の遺伝子型を分析済みで、データは、公表されるか、育種関係者に提供されている。ただし、オオムギの *AlaAT* 遺伝子および *MKK3* 遺伝子の場合、これら遺伝子の他の変異も休眠に関与している可能性があるため、その可能性を考慮の上、利用する必要がある。

4) 今後の課題

オオムギ、コムギの主要な種子休眠 QTL の原因遺伝子を明らかにすることができたが、休眠に関わる重要な QTL 遺伝子は、まだ、他にもある。本プロジェクトでも、新たな QTL が、オオムギ、コムギで複数見つかってきている。こうした QTL の原因遺伝子についても、今後、原因遺伝子を単離、さらに原因となる配列多型を同定し穂発芽耐性の改良に利用できるようにしていく必要がある。単離された遺伝子については、同定した配列多型以外の他の変異が休眠に関与していることも考えられるので、その解析を進める必要がある。

また、コムギの A、B、D ゲノム上の *ALaAT* 遺伝子および *MKK3* 遺伝子それぞれに遺伝子変異が入った系統を集積、3 重変異体を作成する作業は完了していないので、今後、変異の集積をさらに進め、休眠性の変化を見極める必要がある。遺伝子の機能が完全に失われた変異を持つ系統を用いて集積しているが、*MKK3* 遺伝子などは植物体全体で発現しているため遺伝子が完全に壊れると生育等に悪影響がでる可能性があり、特異的な変異の導入の検討が必要になる可能性もある。

「麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発」最終年度報告書

中課題番号: 13405896

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

中課題名: 麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発 (TRS)

小課題番号: TRS1002

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

小課題名: 麦類形態形成遺伝子の単離と形質発現機構解明

小課題代表研究機関・研究室・研究者名: 農研機構 次世代作物開発研究センター・基盤研究領域・遺伝子機能解析ユニット・小松田隆夫

1) 研究目的

穀類の多収性品種は一様にシンク能が優れており、麦類においても穂はシンクとして最も重要な収量構成要因である。麦類の増収を達成するためには穂型の改良が重要であるが、これまでに穂型を理論的に改変し増収を達成する方法は存在しなかった。本研究課題では六条性遺伝子、閉花性遺伝子、細胞質雄性不稔性回復遺伝子のほか、ソース能としては麦類の乾燥耐性に重要なクチクラ形成遺伝子と深播耐性遺伝子も解析対象に加え、麦類の収量増に向けた形態形成遺伝子の研究を展開する。

オオムギは世界各地で広く栽培される主要穀物で、穂の形によって二条オオムギと六条オオムギに分けることができる。二条オオムギはビール醸造用として、六条オオムギは食品や飼料に利用されている。二条と六条の違いは、転写因子をコードする *Vrs1* 遺伝子によって制御される。*Vrs1* 遺伝子が正常に機能する二条オオムギでは、側列小花の発達抑制され、種子を作ることができない。一方、六条オオムギは *Vrs1* 遺伝子の機能が失われているため、側列小花が発達して種子を作ることができる。イギリスでは最近、通常二条オオムギより主列の穀粒サイズが有意に大きく、かわりに側列小花が極端に小さい“deficiens”と呼ばれる穂を持つオオムギ(図1)が優先的に育種されている。deficiens は *Vrs1* 対立遺伝子の1つと考えられてきたが、その原因となる遺伝変異は長く不明のままだった。そこで種子大粒化のため、deficiens の原因を解明する。*vrs1* の4つの対立遺伝子のうち、まだ原因変異が同定されていない *vrs1.c* (*vrs1.a4*) の原因としての *Vrs1* の発現制御因子の同定に向けたマッピングをおこなう。また *vrs1* 以外の六条性遺伝子である *vrs4* を同定する。本課題ではさらに閉花性遺伝子 *cly1* の発現調節因子を明らかにする。稔性回復遺伝子 *Rfm1* を単離し機能を明らかにする。乾燥耐性遺伝子 *cer-zv* を単離し機能を明らかにする。深播耐性遺伝子を QTL 法によりマッピングするための系統を作出する。

2) 研究成果

オオムギで大粒をもたらす deficiens は *Vrs1* 対立遺伝子の1つと考えられてきたが、その原因となる遺伝変異は長く不明のままだった。遺伝子マッピングによる deficiens 原因変異の絞り込み、deficiens 候補遺伝子の突然変異体 DNA 塩基配列の比較、および RNA in situ ハイブリダイゼーション実験、収量形質調査、RNA-seq によるトランスクリプトーム解析を実施した。その結果、*VRS1* 転写因子の1つのアミノ酸が変異することによって deficiens の形が決まることが明らかになった。野生型ではリン酸化を受けやすいサイトであることから、アミノ酸が置換されることによりリン酸化を受けにくくなりタンパク質のターンオーバーが長くなったものと推測した。本研究によって、オオムギの穂の形を変えることで穀粒サイズを改良できることがわかった。特定した遺伝変異はDNAマーカーとして育種利用することが可能である (Sakuma et al. 2017 Plant Physiology として論文発表)。

vrs1.c を同定するため DNA マーカーを作成し精密マッピングを進めた結果、*HvHox1* 遺伝子近傍の約 21kb の領域内に位置づけられた。マッピングの両親系統を材料に、約 21kb の領域を Long PCR 法により増幅し、NGS を用いた Amplicon-seq により塩基配列を取得した。約 21kb の領域内で見出された Indel 多型を用いてマッピングを進めた結果、*vrs1.a4* アリルの原因変異さらに約 3kb の領域に絞り込まれた。この領域には両親系統の間で 17 の SNP が見出された。精密マッピングに用いる個体の中から、*HvHox1* 遺伝子は H602 アリル (二条性) で固定し且つ遺伝子下流の原因変異近傍

がヘテロ型の F2 個体を一個体見出した。後代検定の結果，原因変異の近傍領域の分離と条性形質が共分離することを確認した。以上の様に *vrs1.c* を絞り込むことに成功した（未発表）。

vrs1 とは別座である *vrs4* 突然変異体の幼穂を走査型電子顕微鏡で観察した。野生型の二条オオムギにおいて、*Vrs4* は *Vrs1* の発現量を高める遺伝子である。マップベース法で *vrs4* を単離した。その結果、*vrs4* は単に六条性を示すだけでなく、付加的な小穂および付加的な小花を形成する突然変異であることを再確認した。この事は野生型の *Vrs4* は 3 小穂、1 小花の数が増えないように制御する遺伝子である事を示す。*Vrs4* は LOB ドメインおよび RA2 ドメインを持つ転写因子をコードする遺伝子であった。*Vrs4* は幼穂発達の最初のステージで既に明瞭な発現が観察されたことは、*Vrs4* が *Vrs1* を制御する遺伝子である事とよく一致した（Koppolu et al.2014 PNAS として論文発表）。

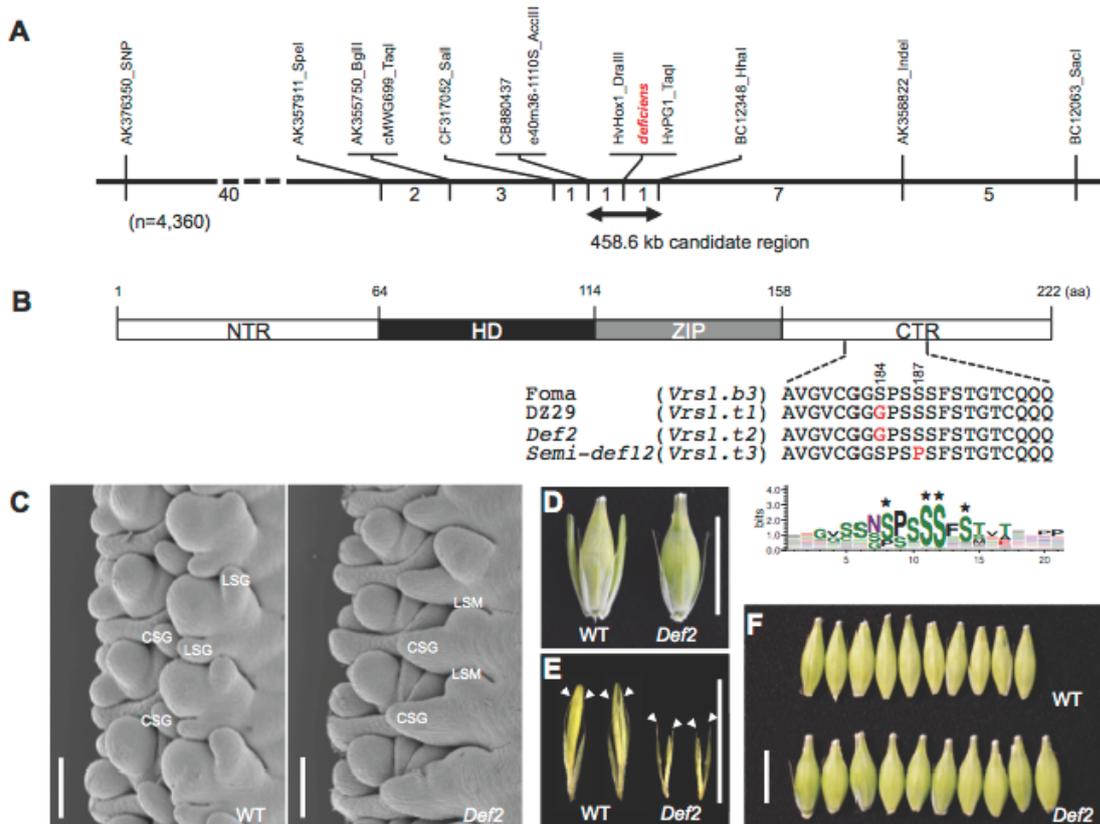


図 1. *deficiens* の同定 (A) *deficiens* の詳細マップ。(B) *deficiens* 自然変異 (DZ29) および突然変異 (Def2, Semi-def12) における *VRS1* の C 末端アミノ酸置換。(C-F) 野生型と突然変異の間での形質比較

閉花性遺伝子 *cly1* の発現制御に関わるシス領域を同定するため、転写開始地点から-244bp のメチレーションレベルを比較した。この CpG サイトのメチレーションレベルは閉花性品種関東中生ゴール (*cly1.b*) で中程度、同じ閉花型遺伝子型の DNA 配列を持つが鱗被を発達・膨潤する自然変異系統 SV235 (“France 1” = OUU326, *cly1.b2*) で最も強く、閉花性の別アレルを持つ品種 SV230 (“Badajoy” = OUU305, *cly1.c*) では全くメチレーションを受けない事を昨年度見いだしている。今年度、幼穂各発達ステージでの変化を調べた結果、メチレーション程度は鱗被の発達時期である葯原基期で最も高く、幼穂発達ステージの進行とともに低下した。またメチレーション程度の品種間差は

どのステージでも認められた。以上の結果からこのサイトがメチレーションを受けることによって閉花性遺伝子 *cly1* の発現を抑制するサイトである事が明らかになった (Wang et. al 2014 Genetics として論文発表)。

細胞質雄性不稔性回復遺伝子 *Rfm1* 同定のため、*Rf* 系統の *Rfm1* 遺伝子領域を構成する BAC クローンの塩基配列を確定して pseudomolecule を作成した。得られた pseudomolecule については、*Rf* 系統と *rf* 系統との詳細な比較解析を進めた。その結果、二つの候補遺伝子が存在し、その配列を稔性回復系統 *Rf* と野生型系統 *rf* とで比較したところ、いずれの遺伝子でも構造変異が見つかった。*Rf* 系統由来の遺伝子を導入した形質転換系統の作成を進めている。以上のように研究の進捗は極めて順調であった (未発表)。

クチクラ形成遺伝子 *Eceriferum* (*cer-zv*) 単離のため、1) RNA-seq によって野生型と突然変異体の間での DNA 塩基配列多型を網羅的に検出し、2) 変異多型を示す発現遺伝子を *cer-zv* 遺伝子領域 (4H 染色体端腕) ヘマッピングして絞り込み、3) 候補遺伝子を複数の *cer-zv* 突然変異体で DNA 塩基配列解析し遺伝子を同定した。通常の方法では不可能な、組換えが抑制された動原体周囲領域から遺伝子を単離する手法をこの *cer-zv* 遺伝子をモデルに開発した。その結果、遺伝子連鎖地図で *cer-zv* は両端に 0.014 cM と 0.028 cM のマーカーの間に位置した。RNA-seq の結果、葉の発現遺伝子 36,313 個のうち 7,052 個が野生型と突然変異体間で DNA 塩基配列多型をしめした。GenomeZipper を利用してこれらの遺伝子をオオムギゲノム塩基配列へ *in silico* マップした結果わずかに 80 の遺伝子が *cer-zv* 遺伝子座乗領域 (4H 染色体短腕部) ヘマップされた。最終的には、*cer-zv* が GDSL モチーフを持つタンパク質をコードすることを明らかにした (Li et al. 2017 Plant Direct として論文発表)。同じく *cer-zh* も単離に成功した (Li et al. 2018 Plant Cell Physiology として論文発表)。

初年度「紅芒麦」を共通親に 2 組の DH 系統の育成を進めていたが、「紅芒麦」×「ドーソン 1 号」の DH 系統育成効率が極めて低かったため、組合せを「紅芒麦」×「Chinese Spring」のみに絞り F1 の 362 粒から DH 系統を育成した。地下部器官伸長能を評価するために、寒天 (床土) 上に催芽種子を置き、その上に市販の培養土 (覆土) を 12cm 被せ、深播き栽培からの出芽率、子葉鞘長および第 1 節間長を測定した。子葉鞘長と第 1 節間長は「紅芒麦」が 14cm と 13cm、「Chinese Spring」が 13cm と 9cm であった。両品種間で子葉鞘には差が認められなかったが、第 1 節間長には差がみられた。出芽率は「紅芒麦」が 100%、「Chinese Spring」が 98% であった。新たな DH 系統の親品種を選定するために、日本産コムギ品種「あやひかり」と「ユメシホウ」を上記の条件で深播き栽培した。「あやひかり」の子葉鞘長は 11cm、第 1 節間長は 10cm、「ユメシホウ」は子葉鞘長と第 1 節間長の両形質ともに 8cm で、ともに「紅芒麦」、「Chinese Spring」より有意に短かった。出芽率は両品種ともに 94% であった (未発表)。

3) 成果活用における留意点

オオムギ六条性遺伝子情報を活用して作成された多収性コムギに関しては知財化、ライセンス化する予定である。知財は国立、公立、民間の育成機関において活用し、品種登録をおこなう。細胞質雄性不稔性回復遺伝子は成果を知財化する予定はなく、単離同定後は速やかに論文として公開する予定である。

4) 今後の課題

オオムギで得られた知見をコムギの改良に役立てる研究を今後も継続することが重要である。

「麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発」最終年度報告書

中課題番号: 13405896

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

中課題名: 麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発 (TRS)

小課題番号: TRS1003

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

小課題名: 麦類縞萎縮病抵抗性遺伝子の単離と機能解明

小課題代表研究機関・研究室・研究者名: 農研機構 次世代作物開発研究センター・基盤研究領域・遺伝子機能解析ユニット・小松田隆夫

1) 研究目的

オオムギ縞萎縮病およびコムギ縞萎縮病は、ともに *Polymyxa graminis* によって媒介される土壌伝染性の病害であり、それぞれオオムギ縞萎縮ウイルス、コムギ縞萎縮ウイルスを病原とする。薬剤防除はコスト面、安全面から実施が困難であり、休眠孢子で長期間生存できる *Polymyxa graminis* に対しては耕種的な対策は効果が低い。そのため最も有効な対策は抵抗性品種の育成である。本研究ではコムギ縞萎縮ウイルス抵抗性遺伝子の単離とDNAマーカー開発をおこなう。

2) 研究成果

供試された抵抗性コムギ品種 Madsen と感受性品種 Hokushin は二つの遺伝子座 *YmMD* (2DL) と *YmMD2* (3BS) の遺伝子型が異なり、その二つの遺伝子は感染率（あるいは発病率）に関する量的効果を持つことを明らかにした。遺伝子の優性度は完全優性（ヘテロ接合体は優性ホモ接合体と同等の表現型）を示すことを明らかにした (Suzuki et al. 2015 TAG で論文発表)。

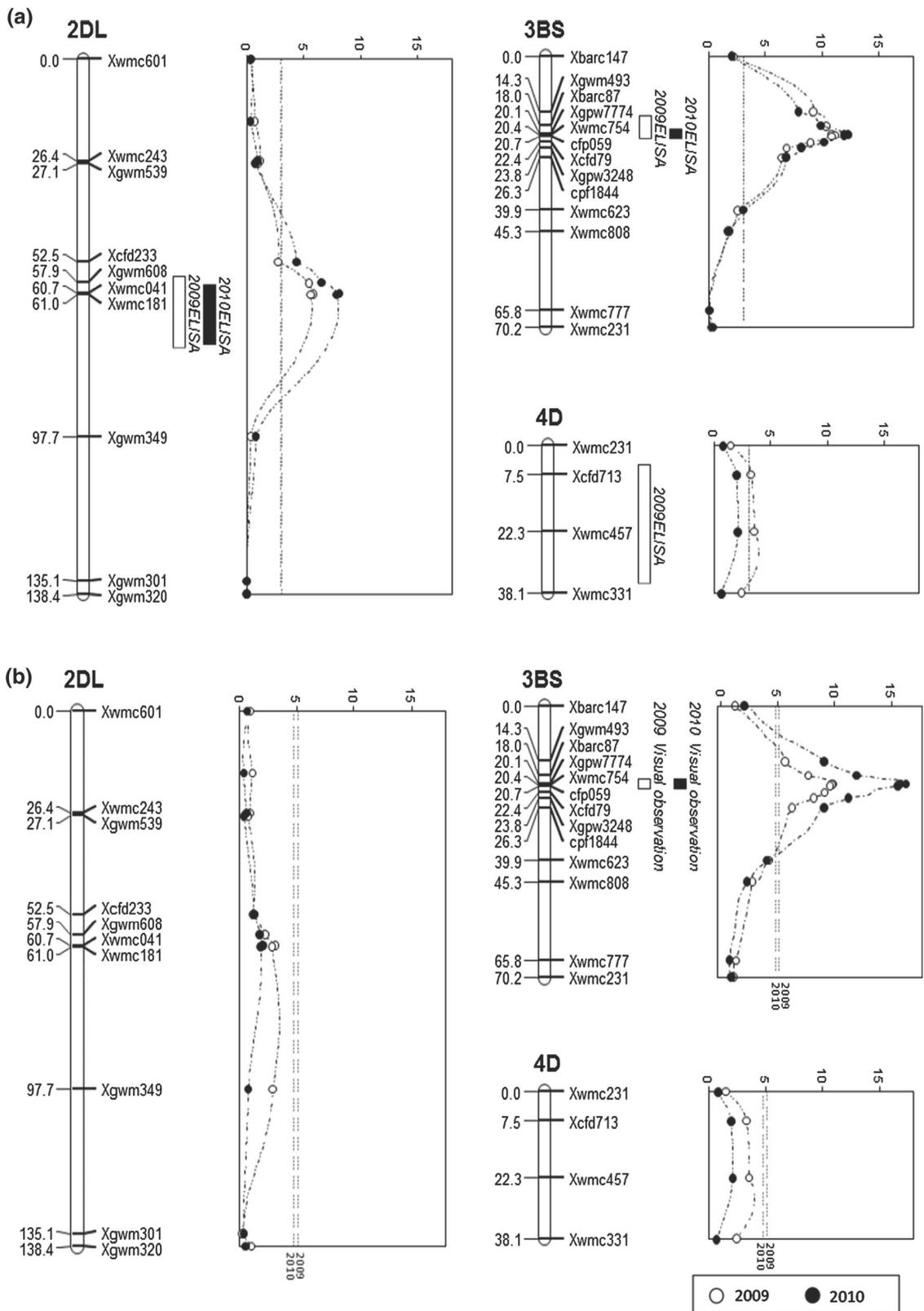
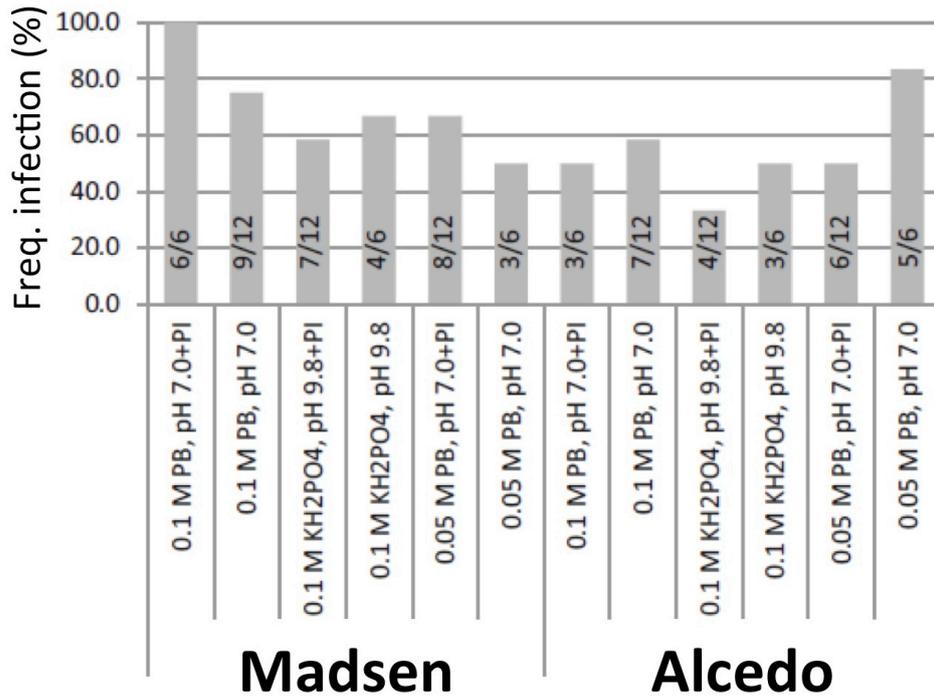


図 1. コムギ縮萎病ウイルス抵抗性 QTL *YmMD* (2DL) と *YmMD2* (3BS) のマッピング

葉に WYMV を人工接種し、接種 6 週間後に ELISA をおこなったところ、予想に反して抵抗性品種 Madsen、罹病性品種 Alcedo のいずれも同等の感染率を示した (図 2 上)。人工接種に用いたバッファの違いもなかった。これらの結果は Madsen の葉はウィルスの増殖を許す事を示した新知見を与えた。さらに接種 8 週間後に RT-PCR 法で葉と根の WYMV 検出をおこなったところ、抵抗性品種 Madsen では葉で病斑が生じ RT-PCR 陽性だったが、根では陰性であった (図 2 下)。しかし Alcedo では葉、根とも陽性で、葉から根へ WYMV が移動した事を示している。この事は Madsen では WYMV の地上部から地下部への移動が妨げられる、あるいは根で WYMV の増殖が妨げられるためと解釈できる。Madsen の抵抗性は根におけるウイルス増殖抑制で説明する事が可能になった (Liu et al. 2016 J Gen Plant Pathol で論文発表)。



葉へのWYMV人工接種



Leaf → Root

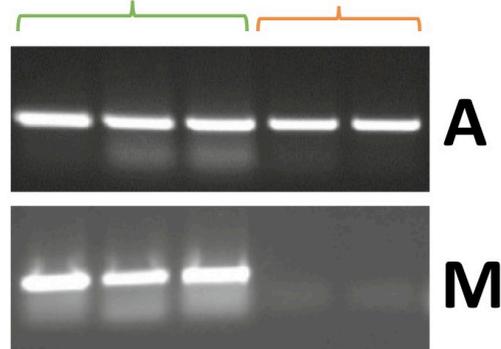


図 2. Madsen の根特異的な WYMV 抵抗性の発現。(上) 葉への WYMV 人工接種 6 週間後の葉の ELISA 分析。(下) 人工接種 8 週間後の葉および根の RT-PCR 分析。S:罹病性品種 Alcedo、R:抵抗性品種 Madsen

コムギ参照 DNA 塩基配列に基づく DNA マーカー作成、F2:F3 分離集団におけるマッピング、ホモ接合組み換え型の選抜とその系統の抵抗性に関する形質調査、候補遺伝子の多型調査、根の RNA-seq 解析、抵抗性並びに感受性品種のため作成した BAC スクリーニング、パーティクルガンによる遺伝子組み換えなどを実施した。その結果、遺伝的な絞り込みと多型調査により候補遺伝子が 5 個にしばられ、さらに遺伝子発現解析により、二つの候補に絞り込むことができた（未発表）。

オオムギ縞萎縮病抵抗性に関しては rym2 (7H), rym3 (5H), rym15 (6H), Rym17 (3H) のマーカーの開発と高精度マップ作成を実施した（未発表）。

3) 成果活用における留意点

単離した抵抗性遺伝子の配列情報及びその情報から開発した選抜用 DNA マーカーについては、国内に限らず必要とされる地域での利用が見込まれることから、特許出願のための公的な財政支援の獲得を視野に入れつつ、知財化に取り組むことを目指す。利用に際しては、遺伝子組換えに資する抵抗性遺伝子そのものを知財化、抵抗性遺伝子を有する遺伝資源と選抜用 DNA マーカーをセットで、抵抗性品種育成法として知財化等が考えられる。加えて本研究の技術を利用して、優良な麦類縞萎縮病抵抗性品種が育成されれば、品種登録等による育成者の権利保護や育成機関における内部規定等に基づき知的財産の適正な管理と活用を進める。

4) 今後の課題

育種システムへの活用を図ること。

「麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発」最終年度報告書

中課題番号: 13405896

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

中課題名: 麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発 (TRS)

小課題番号: TRS1004

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

小課題名: コムギ赤かび病抵抗性遺伝子の単離と機能解明

小課題代表研究機関・研究室・研究者名: ホクレン農業総合研究所・作物生産研究部・畑作物開発課・厩田淳史

1) 研究目的

コムギ赤かび病は菌が穂や種子に感染・拡大することにより収量低下をもたらすだけでなく、種子中に有害な毒素を蓄積する。本病害は世界的にも大きな問題となっているが、日本のような湿潤な気象環境においては特に発生リスクが高い。本研究では北海道で栽培されている3品種(きたほなみ、はるきらり、春よ恋)を遺伝背景とした準同質遺伝子系統(NIL)と分離集団について、複数の検定条件下で赤かび病抵抗性を評価することにより、赤かび病抵抗性に優れる「蘇麦3号」に由来する6B、5A、2D染色体に座乗する抵抗性遺伝子を正確にマッピングする。また、赤かび病菌の穂への侵入抵抗性が期待される、閉花性の形質発現機構を解明するため、オオムギ閉花性遺伝子のコムギオルソログである3つのAP2同祖体の開花・閉花性形質への寄与を評価する。

2) 研究成果

(1) 抵抗性遺伝子のマッピングと農業形質との関係

ア. 6B染色体領域の抵抗性遺伝子(春よ恋NIL、はるきらりNIL)

抵抗性遺伝子をマッピングするため、NILに由来する分離集団および組み換え固定系統を赤かび病検定に供試した。F2集団の検定から寄与率12.3%のQTLが検出された(図1、はるきらりNIL集団)。組み換え固定系統の抵抗性検定の結果から、抵抗性遺伝子は0.8cM(0.6cM)の域内に座乗することが示唆された(図1、春よ恋NIL集団)。導入領域のマーカー密度を高めるため、新たにゲノム配列情報を利用してSSRマーカーの作出を行った結果、24種のSSRマーカー(KGSFHマーカー)を6B連鎖地図上にマップすることができた(図1、春よ恋NIL集団)。ゲノム配列から特定の領域へSSRマーカーが作出できることは有用なツールとなる。

6B領域により穂の形態に関わる穂長や1穂の小穂数への影響は認められなかったが、千粒重が軽くなる可能性が示唆された(表1、図2)。また、検定精度向上のため、定量PCR法による菌体量測定手法を確立した。接種後7日目の穂軸菌体DNA量が顕著に増加し、穂軸褐変数が増加する程、菌体DNA量が増加した(図3)。

イ. 2D染色体領域の抵抗性遺伝子(きたほなみNIL)

NILを用いた抵抗性検定から2D領域の抵抗性への効果が認められた。また、2DのQTLが存在することによって進展抵抗性が向上したが、既知の進展抵抗性に関わる遺伝子Fhb1(3B)と比較してその効果は小さかった(図4)。農業特性については、2D領域が存在することによって千粒重は軽くなり、子実重も軽くなった。稈長、穂長、穂数については「蘇麦3号」由来の2D領域の影響は認められなかった(表2)。きたほなみBC4F2個体を利用して、新たなSSRマーカーを加えた8マーカーからなるマップを作成した。

ウ. 5A染色体領域の抵抗性遺伝子(春よ恋NIL)

NILを用いて噴霧接種後の部位別の菌体量を測定したところ、5A抵抗性遺伝子の効果は接種後の小穂で最も顕著に認められ、穂軸での抑制効果は認められなかった(図5)。5A領域による穂の形態に関わる穂長や1穂の小穂数への影響は認められなかったが、稈長が長くなる影響が認められた(表1)。

エ. 集積系統の育成(春よ恋NIL)

3領域(3B、5A、6B)が単独で「蘇麦3号」型の春よ恋NIL系統を用いて、それぞれ2領域ずつ集積させた春よ恋NIL系統(3B5A、3B6B、5A6B)を交配およびDNAマーカーにより選抜・養成した。3領域(3B、5A、6B)が単独で「蘇麦3号」型(抵抗性)の系統および2領域ずつ集積させた系統(3B5A、3B6B、5A6B)について抵抗性の評価を行ったところ、明確な集積効果は認められなかったものの、2領域を集積させた系統は、単独の系統よりも発病が低い傾向が認められた。さらに、2領域を集積させたNIL系統の交配から3領域が集積した個体の選抜を進めている。

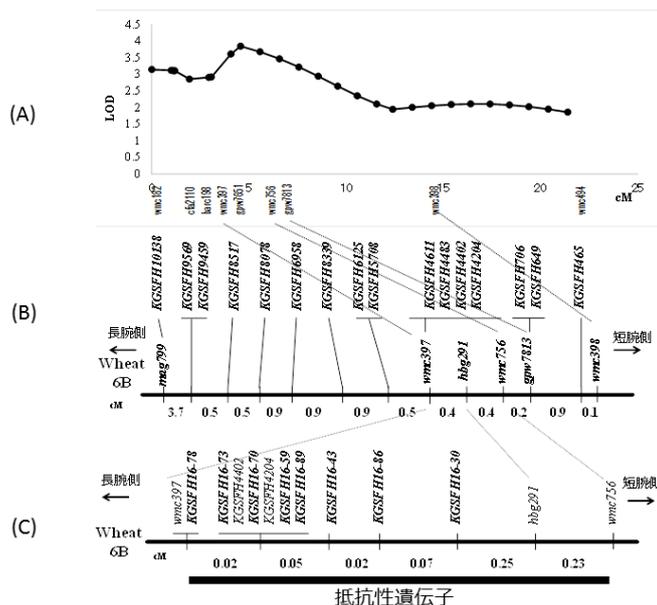


図1. NIL由来の分離集団および組み換え固定系統を用いた抵抗性遺伝子とSSRマーカーのマッピング(6B) (A)は「はるきりり」集団、(B)(C)は「春よ恋」集団

表1. 「春よ恋」遺伝背景における蘇麦3号由来5Aおよび6B領域の農業形質への効果

品種・系統	圃場2年目		圃場1年目		
	稈長 (cm)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	小穂数	1穂粒数
春よ恋NIL5A蘇麦型	103	104	9.3	14	48
春よ恋NIL5A春よ恋型	101	100	9.2	14	47
春よ恋NIL6B蘇麦型	89	86	8.4	13	42
春よ恋NIL6B春よ恋型	89	88	8.6	13	41
春よ恋	102	98	8.8	13	45
蘇麦3号	105	116	8.8	15	41

*: 5%水準で有意、***: 0.1%水準で有意、n.s.: 有意差なし
いずれも蘇麦型と春よ恋型間のt検定による

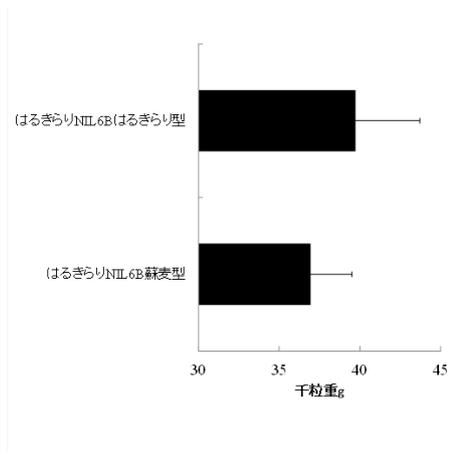


図2. 「はるぎりNIL」における6B領域の千粒重への影響

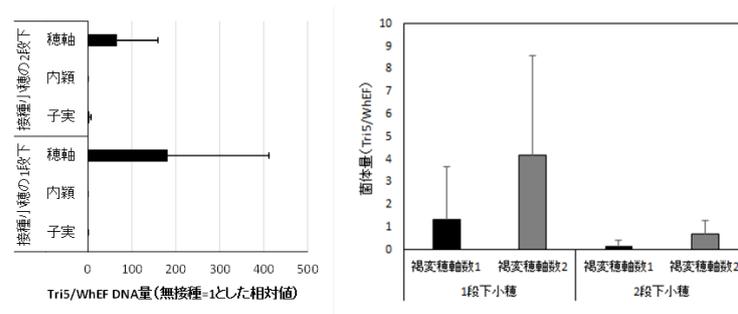


図3. ポイント接種による菌体DNA量の部位別(左)および穂軸褐変数(右)による差異

接種した小穂から1段下、2段下の穂軸の菌体量を測定
 菌体量はトリコテセン5 (Tris) 遺伝子量をコムギの翻訳伸張因子 (WhEF) 遺伝子量で割った相対値。エラーバーは標準偏差。

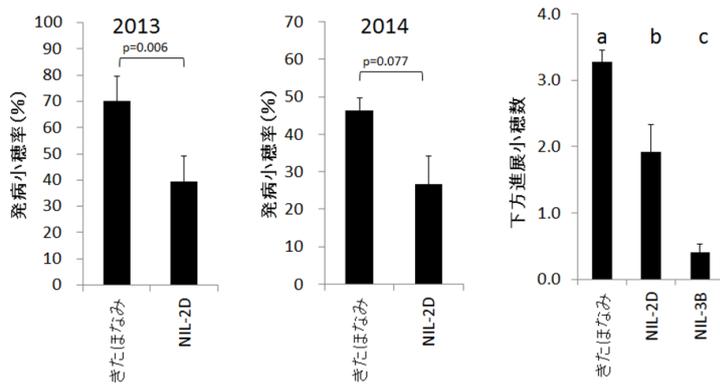


図4. きたほなみNIL (2D導入) の赤かび病抵抗性の圃場評価 (左: 2013年、中: 2014年) と温室における進展抵抗性検定 (右: ポイント接種)
 ※エラーバーは標準誤差、p値は対応のあるt検定による。異なるアルファベット間はTukeyの検定 (5%水準) で有意差があることを示す。

表2. きたほなみNIL (2Dおよび3B導入) の農業特性

系統名	成熟期 (月/日)	稈長 (cm)	穂数 (本/m ²)	穂長 (cm)	子実重 (kg/10a)	きたほ なみ比 (%)	千粒重 (g)
NIL-2DL	7/23	76	590	8.2	658	91	39.0
NIL-3BS	7/22	78	563	8.7	678	94	42.8
きたほなみ	7/22	77	566	8.7	722	100	45.0

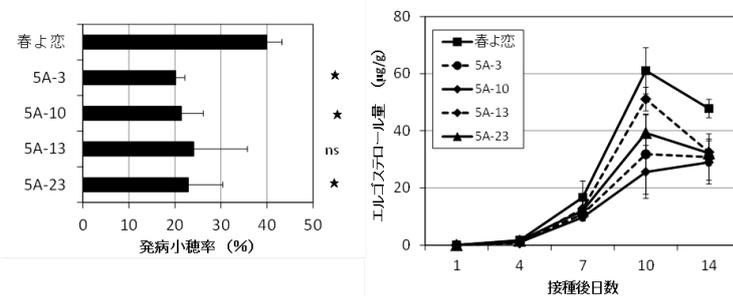


図5. 「春よ恋」と「春よ恋NIL5A蘇麦型」4系統の噴霧接種による発病小穂率 (左) および小穂中に含まれるエルゴステロール量の経時変化 (右)

(2) AP2 変異体の解析による閉花性形質の発現機構解明

ア. AP2 遺伝子の変異体解析 (オオムギ)

オオムギの閉花性品種から得られた閉花性突然変異体 (MGC) において、閉花性変異が劣性一遺伝子支配であることを明らかにした。MGC 変異体の AP2 遺伝子 (閉花性遺伝子 *cly1*) の塩基配列解析においてエキソン内に 2 箇所塩基置換 (非同義置換) を同定し、さらに連鎖解析によって MGC 変異体の原因変異が *cly1* 遺伝子に起因することを明らかにした。MGC 変異体と原品種の間で、*cly1* 遺伝子のプロモーター領域 (4.4kb) の塩基配列に変異はなく、幼穂における発現量にも有意な差はみられなかった。以上のことから、MGC 変異体では、変異 *cly1* アリルから産生される AP2 タンパク質の機能が低下あるいは欠損することで、鱗被発達の抑制が解除され、閉花性になると推察された。

イ. AP2 同祖体の変異体解析および機能評価 (コムギ)

オオムギ閉花性遺伝子 *cly1* のコムギオルソログである 3 つの AP2 同祖体 (AP2-A, B, D) の各種変異体を用いて、コムギの開花・閉花性の形質発現に及ぼす AP2 遺伝子変異の機能評価を行った。

3 つの AP2 同祖体のいずれか 1 つを欠失させた系統では、開閉性表現型ならびに鱗被の膨張に対する有意な影響が認められなかったことから、AP2 同祖体の中で機能補償が働いていることが示された。次に、2 つの AP2 同祖体を欠失させた二重欠失変異体では、AP2-B および -D の二重欠失 (以下、Del-(B+D)) によって、著しい生育不良と完全不稔性が生じたことから、閉花性に限らず、コムギの正常な発達に AP2-B または -D 遺伝子のいずれかが必須であることが示唆された。他の 2 つの二重欠失変異体 Del-(A+B) および Del-(D+A) では、閉花性が保たれたものの、鱗被サイズが減少し、開花程度が抑制されることが認められた。

オオムギ *cly1* 遺伝子における閉花性原因変異は、microRNA(miR172) 結合サイト内の一塩基置換 (SNP) である。これと同様の miR172 サイト内 SNP 変異を有するコムギ AP2-A 変異体 1 系統 (SNP-A1)、および AP2-D 変異体 2 系統 (SNP-D1, SNP-D2) が新たに同定された。これらの SNP 変異体において、閉花性は保たれたが、鱗被サイズの有意な減少が認められた。とくに SNP-D2 変異体では、顕著な影響がみられ、開花程度の抑制も認められた。

上記の欠失変異体および SNP 変異体の相互交配を行い、F2 集団から種々の変異集積遺伝子型のスクリーニングを進めている。これらのスクリーニングにあたって、各 AP2 同祖体の欠失アリルおよび SNP アリルを検出する PCR マーカーを整備した。今後、これらの AP2 同祖体の変異集積によって、従来のコムギにはない閉花性形質の発現が期待される。

3) 成果活用における留意点

組み換えが抑制されている領域は不良形質との連鎖解消やマップベースでの遺伝子同定が困難な場合が考えられる。また、組み合わせや検定法の違いにより抵抗性効果や不良形質との関係も変動する可能性を考慮する必要がある。

4) 今後の課題

高度な抵抗性を付与するためには集積系統の育成や集積効果の検証が必要となる。また、不良形質との詳細な連鎖関係を解明し、それを解消することが課題として残されている。

「麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発」最終年度報告書

中課題番号: 13405896

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

中課題名: 麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発 (TRS)

小課題番号: TRS1005

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

小課題名: オオムギ赤かび病抵抗性遺伝子の単離と機能解明

小課題代表研究機関・研究室・研究者名: 岡山大学・資源植物科学研究所・大麦・野生植物資源研究センター・佐藤和広

1) 研究目的

オオムギ赤かび病は穂や種子に感染することにより収量低下をもたらすだけでなく、種子中に有害な毒素(デオキシニバレノール(DON)等のトリコテセン系カビ毒)を蓄積するので、被害粒を家畜に給餌すると下痢などの症状が現れる。毒素蓄積の低い品種で高発現している毒素の細胞外排出や化学修飾に関わる候補遺伝子について、その座乗位置をマップ集団およびオオムギゲノム配列情報によってマッピングし、QTLの検出された位置と比較を行う。候補遺伝子のコードするタンパク質について、生化学的解析を行い、毒素低減化のメカニズムを明らかにする。

開閉花性遺伝子 *clt1* によって赤かび病抵抗性を制御するため *clt1* を制御する Hv-miR172 遺伝子の単離と発現解析をおこなう、*clt1* の形質発現機構を解明する、新たな *clt1* 相同遺伝子および新たな閉花性遺伝子の機能を形態学的に明らかにする。

2) 研究成果

1) マップ集団の作成

赤かび病に抵抗性の Russia 6 と罹病性の H.E.S 4 を両親とする RIL 集団で検出された条性遺伝子近傍、開閉花性遺伝子近傍および 5H 染色体短腕に位置する 3 種類の抵抗性領域近傍を同定可能なマーカーを開発して、QTL が単独で分離する集団を開発した (H26 年度で中止)。

2) 形質転換体作成

形質転換可能で罹病性のオオムギ品種「Golden Promise」に、平成 27 年度までに金沢大学で同定した 5 種類の毒素低減化候補および抵抗性候補遺伝子を導入した形質転換体を作成した。導入個体の少ない遺伝子についてはアグロバクテリウムの感染ならびに形質転換体の選抜を継続している。抵抗性候補遺伝子のうちニコチンアミンモノヌクレオチド (NMN: 抵抗性誘導剤) については産生物質の施用による赤かび病の病徴、菌の DNA 量、デオキシニバレノールの蓄積量の差異について論文公開した。

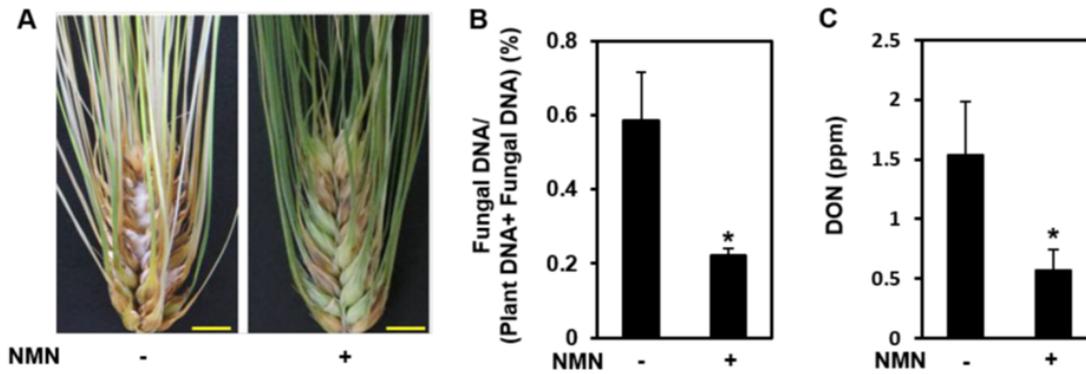


図1 ニコチンアミンモノヌクレオチド（NMN）赤かび病の抑制に効果のあることが判明した。

A：赤かび病に感受性のオオムギ系統H.E.S.4にNMNを噴霧して4時間後に赤かび病菌を接種し、1週間後に判定した結果、差異が認められた。

B：赤かび病菌のゲノムDNAをqPCRで定量し有意差が認められた。C：デオキシニバレノールの定量で有意差が認められた。

Miwa, Sato, Nishiuch et al. (2017) Scientific Reports 7: 6389

3) 形質転換体の解析

抵抗性関連遺伝子のひとつを高発現させたオオムギ品種「Golden Promise」の形質転換体を育成して2イベントについて赤かび病菌を接種し、1週間後に判定した結果、病徴ならびに菌のゲノムDNAのqPCRでの測定値に有意差が認められた。また、別の遺伝子をノックダウンしたオオムギ品種「Golden Promise」の形質転換体を育成して2イベントについて赤かび病菌を接種し、1週間後に判定した結果、病徴ならびに菌のゲノムDNAのqPCRでの測定値に有意差が認められた。

4) 閉花性に関わる miR172 の機能解析

開花型 miR172a/*Cly1.a* ホモ接合 (WT) と比較して Ds-miR172a/*Cly1.a* ホモ接合 (DS) の鱗被は痕跡程度にしか発達しなかった (図 2A,B)。このことは miR172a が *cly1* の発現を抑制している事とあっている。DS の鱗被サイズは通常の開花型品種 miR172a/*cly1.b* のそれよりも明らかに小さかった (図 2B,C)。この事は、通常の開花型の *cly1.b* mRNA がもつ miR172 ターゲット内の塩基置換によって miR172a との結合は弱められているものの、なお幾分残る結合により *cly1* 機能は僅かに低下し、それによって幾分の鱗被発達を許容しているものと思われる。

cly1 転写物の量を見ると WT と DS の間に有意な差は認められず、miR172a の有無は *cly1* 転写物の量に影響しない (図 2D)。一方、DS は WT の二倍以上の CLY1 濃度を示した (図 2E)。以上の結果、miR172a はこれまで言われていた *cly1* 転写後切断よりも翻訳抑制によって *cly1* の機能を低下させていると結論づけた。

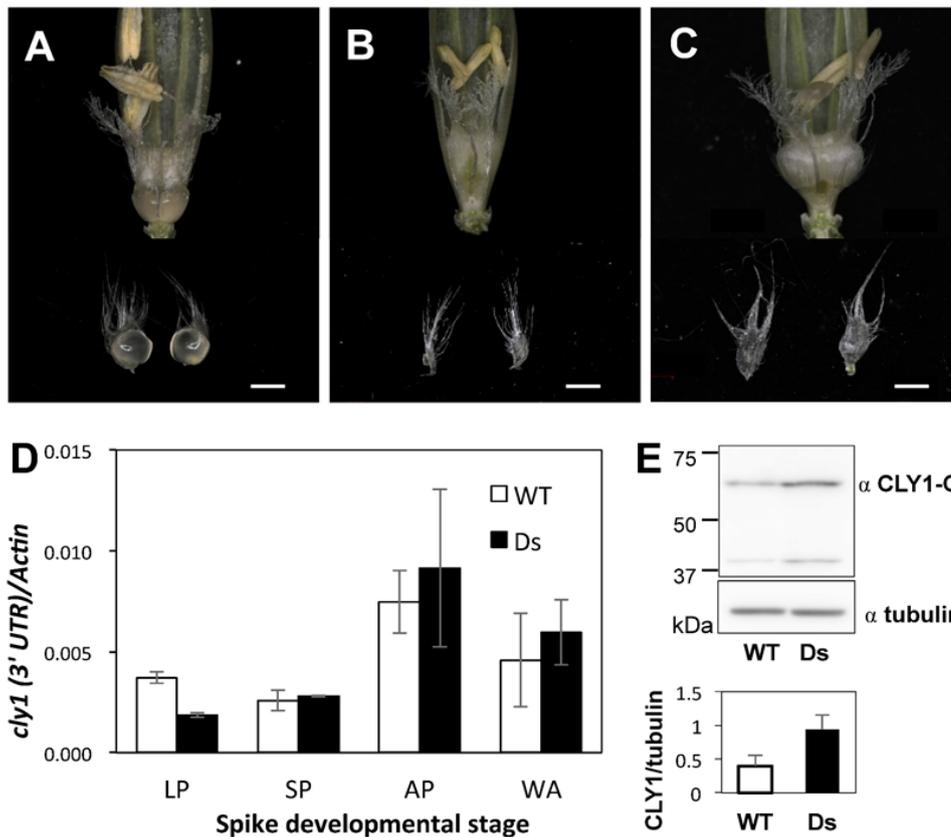


図 2 miR172a 遺伝子に DS が挿入し miR172a が産生されない植物の表現型。(A-C) 開花期の小花と鱗被。(A) miR172a/*Cly1.a* ホモ接合, (B) Ds-miR172a/*Cly1.a* ホモ接合, (C) miR172a/*cly1.b* ホモ接合. Bars 1 mm. (D) *cly1* 発現量 (qRT-PCR). (E) CLY1 のウエスタンブロットと相対定量値. WT:野生型, Ds: Ds-miR172a/*Cly1.a*. 3 反復による平均と標準誤差

成熟型 miR172 の RNA in situ ハイブリの結果、miR172 isoform-a および b の両方の分子が鱗被に局在した (図 3A,B)。ネガティブプローブではシグナルが出なかった (図 3C)。 *cly1* のシグナルも既に報告したのと同様今回も鱗被に局在したことから (図 3D)、miR172 成熟分子は *cly1* mRNA と直接作用していると考えられる (図 3D)。一方 Ds-miR172a では miR172 のシグナルは認められなかった (図 3E,F)。この DS 変異体では miR172 成熟分子が形成されない事を裏付ける結果となった。

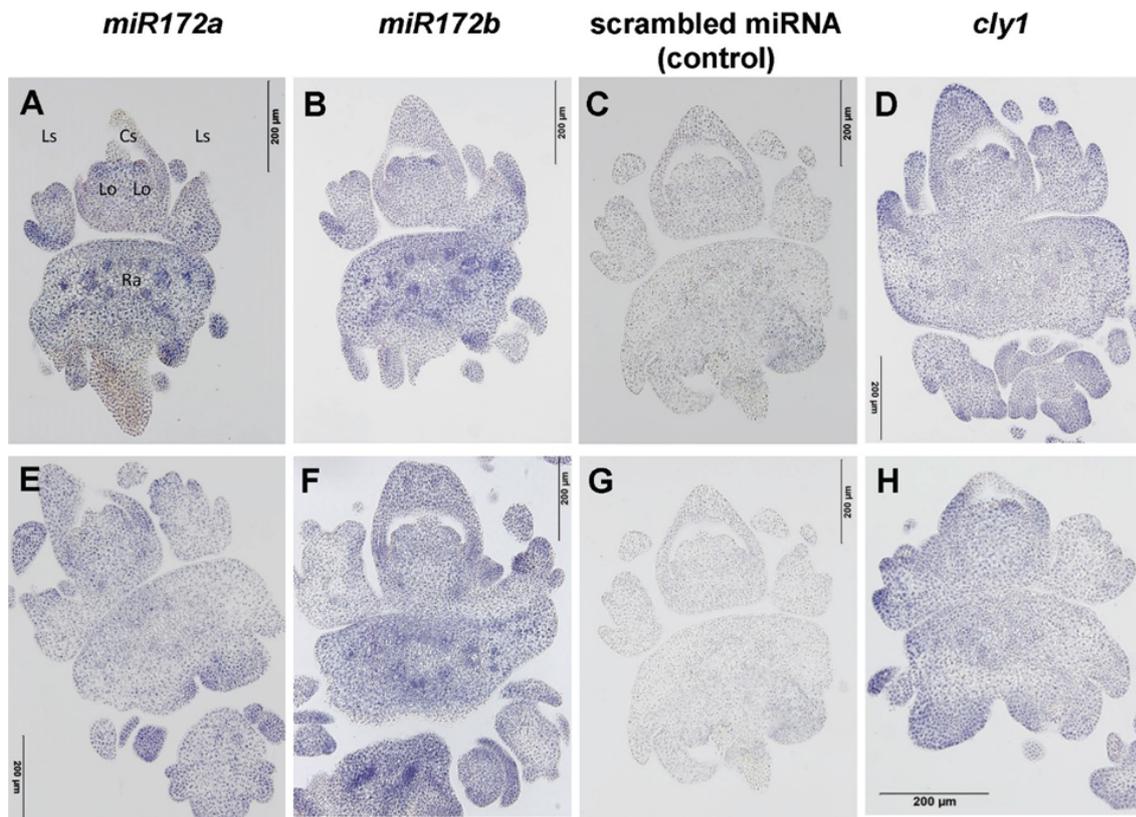


図3 成熟型 miR172 と *cly1* の発現に対する miR172a-DS 挿入による影響の RNA in situ 分析 (awn primordium stage). 遺伝子型は上段 A-D が miR172a/*Cly1.a*, 下段 E-H が Ds-miR172a/*Cly1.a*. プローブは (A,E) miR172a, (B,F) miR172b, (C,G) scrambled miRNA (negative control), (D,H) *cly1*. Cs: central spikelet, Ls: lateral spikelet, Lo: lodicule, Ra: rachis. スケール: 0.2 mm.

3) 成果活用における留意点

形質転換実験によってかび毒抑制に作用すると判断された遺伝子については、その代謝物を農業資材として活用可能と考えられ、特許申請後農薬会社との共同研究が進められている。閉花性の遺伝子の制御は赤かび病の感染回避の有力な手法と考えられており、そのメカニズムが明らかになることは有意義であるが、穂の形態を変化させるなどのマイナスの要因がないことを確認する必要がある。

4) 今後の課題

形質転換によってかび毒抑制効果のある遺伝子が確認できたので、それらについての自然変異を確認して変異を有する系統の形質評価を行う必要がある。また、突然変異によってかび毒抑制効果を期待できる遺伝子も存在するので、実用的な系統の開発の可能性も期待できる。閉花性については自然変異の存在するオオムギの情報を活用して、より複雑な制御機構を有するとみられる六倍体コムギの閉花性の獲得に向けてさらに研究を継続する必要がある。

「麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発」最終年度報告書

中課題番号: 13405896

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

中課題名: 麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発 (TRS)

小課題番号: TRS1006

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

小課題名: 麦類カドミウム集積性遺伝子の単離と機能解明

小課題代表研究機関・研究室・研究者名: 岡山大学・資源植物科学研究所・植物ストレス学グループ・馬建鋒

1) 研究目的

工業的に広く使われているカドミウムは環境中に放出されると、食物連鎖を介して我々の健康に悪影響を与える。公害病の一つであるイタイイタイ病は高濃度のカドミウムを含むコメを摂取し続けたことが原因とされている。可食部のカドミウム濃度を低減させることは食品の安全性の観点からきわめて重要かつ緊急の課題である。

オオムギのカドミウム基準値は穀類の中で最も厳しいが、そのカドミウム集積機構についてはほとんど解明されていない。本課題の目的はオオムギのカドミウム集積の品種間差を調べ、それに関する QTL 解析を行う。またその原因遺伝子を単離し、機能を解明。最終的にこれらの遺伝子発現等を制御することにより、カドミウム低集積オオムギ品種の作出を試み、安全で安心な麦類作りに貢献したい。

2) 研究成果

1. オオムギカドミウム集積の品種間差

世界各地のオオムギ 100 品種を同一条件下で土耕または水耕栽培して、ICP-MS で地上部のカドミウム濃度の品種間差を調べた。その結果、地上部のカドミウム濃度は 10 ~ 45 mg/kg の変動があった (図 1)。また association 解析を行った結果、寄与率が 20 % 程度で 4 番染色体のマーカー ABC12417-1-1-46 と連鎖するピークが検出された。

2. オオムギカドミウム集積に関する QTL 解析と QTL 遺伝子のマッピング

選抜したカドミウム低集積品種 BCS318 とカドミウム中程度集積品種はなる二条を交配して得た F2 94 個体を用いて、カドミウム汚染土壌で栽培し、QTL 解析を行った。その結果、穀粒中のカドミウム含量に関しては、染色体 4 H と 5 H にそれぞれ QTL が検出された (図 2)。両 QTL の寄与率は 15.1 と 23.7 % であった。また藁中のカドミウムに関する QTL をも解析した結果、同じく染色体 5 H に検出された。この 5 H に座乗する QTL は association 解析で得た QTL の位置とはほぼ同じである。

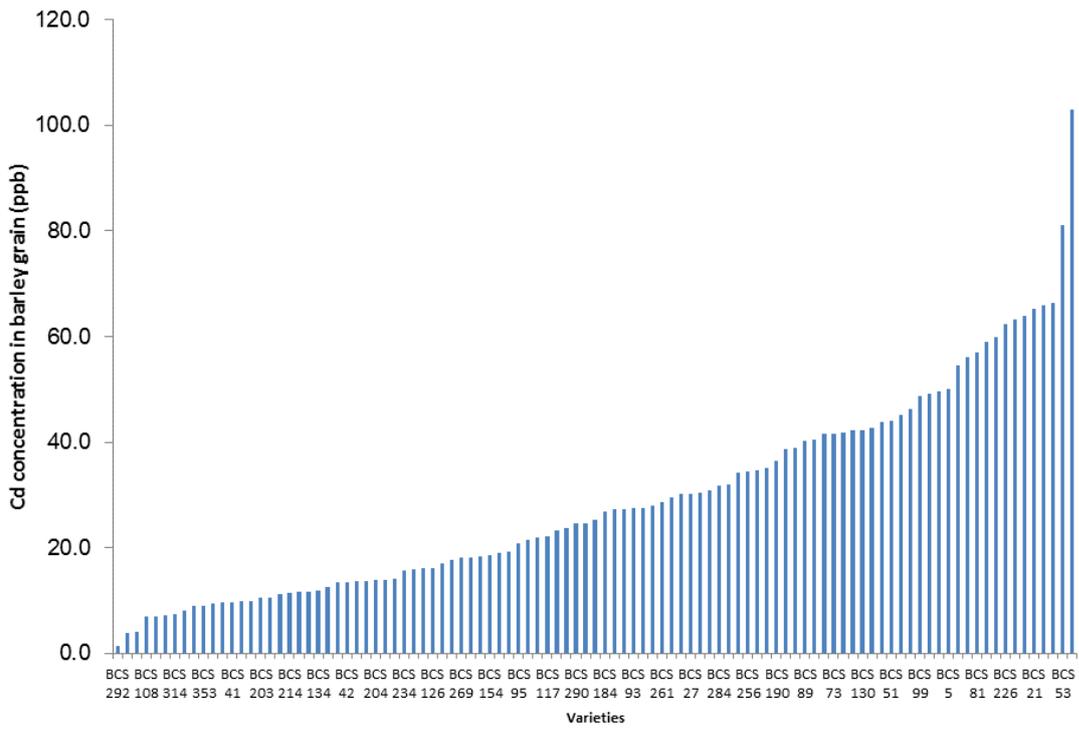


図1 オオムギ穀粒中のカドミウム濃度の品種間差

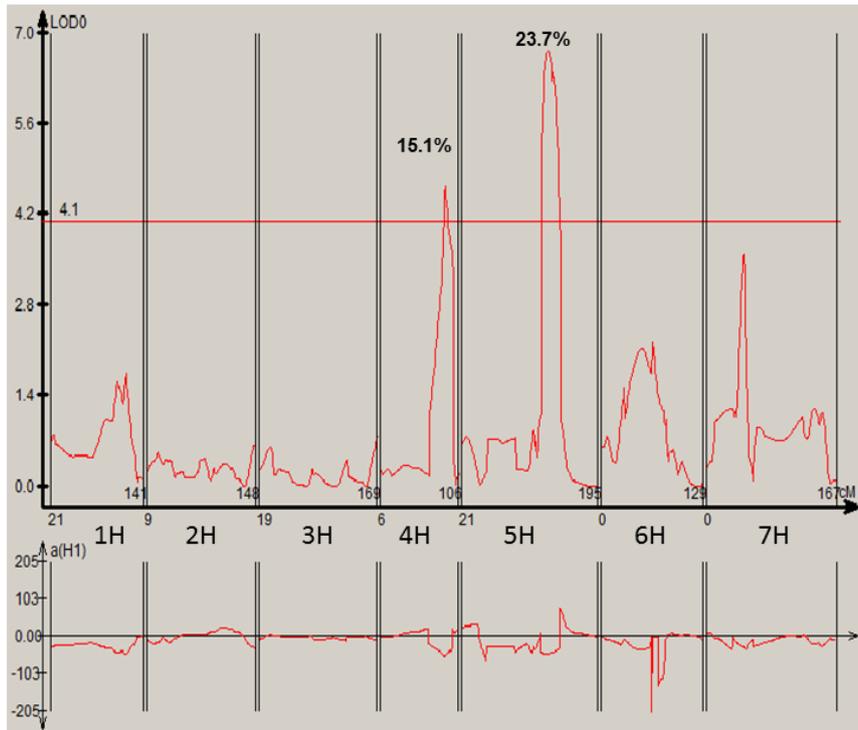


図2 穀粒中のカドミウム集積に関するQTL解析
BCS318xはるな二条のF2 96個体をカドミウム汚染土壤に栽培して解析を行った。

染色体 5 H にあるカドミウム QTL の領域を狭めるために、新たな CAPS マーカーを開発した。これらのマーカーを用いて、F5 と F6 集団をタイピングした結果、QTL 遺伝子は CAPS-6 (592,332,252) とマーカー OPT3 (598,320,670) の間に位置していた (図 3)。この領域は凡そ 5,988 kb あり、126 個の遺伝子があることが推測された。

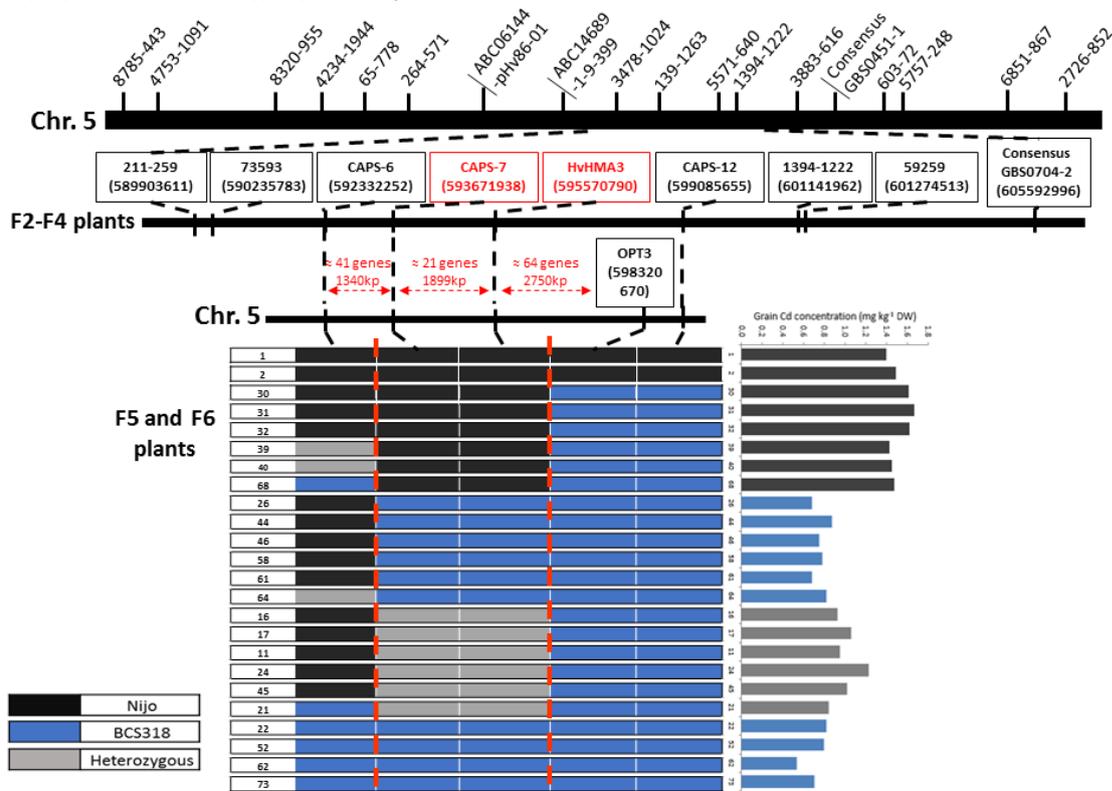


図3 5Hにあるカドミウム集積QTL遺伝子のファインマッピング

3. カドミウム集積に関する遺伝子の機能解析

イネで同定されたカドミウム集積遺伝子の情報を利用して、カドミウム集積の異なる2品種BCS318とはるな二条での発現を比較した。その結果、カドミウム低集積品種 BCS318 での HvHMA3 の発現がはるな二条の約2倍高いことが分かった。しかし、ほかの3遺伝子 (HvIRT1, HvNramp5 と HvNramp3) の発現に品種間の差は認められなかった。

イネで同定されたカドミウム吸収に関わる輸送体 OsNramp5 と84%の相同性を示す HvNramp5 を単離した。発現解析を行った結果、HvNramp5 は主に根で発現していることがわかった。また根の先端 (0-1 cm) と基部 (1-2 cm) で同レベルの発現をしていた。HvNramp5 の発現はカドミウム処理や、亜鉛、マンガン、銅の欠乏によって変わらなかったが、鉄欠乏によって少し上昇した。HvNramp5 の細胞内局在を調べた結果、細胞膜に局在していた (図4)。また酵母に HvNramp5 を発現させて、金属の輸送活性をアッセイした結果、カドミウムやマンガンに対して輸送活性を示したが、鉄に対しては認められなかった。HvNramp5 の発現を低下させた RNAi 株を用いて解析した結果、低マンガン濃度条件下で、RNAi 株の生育が野生型と比べ低下した。またマンガンをカドミウムの吸収も減少した。これらの結果は HvNramp5 がオオムギにおいてマンガンをカドミウムの吸収を司る主な輸送体であることを示している。また HvNramp5 に比べ、イネの OsNramp5 の発現は数倍高いことが分かった。さらにオオムギ11品種を用いて解析したところ、根の HvNramp5 の発現が地上部のカドミウム濃度と正の相関があることを明らかにした。

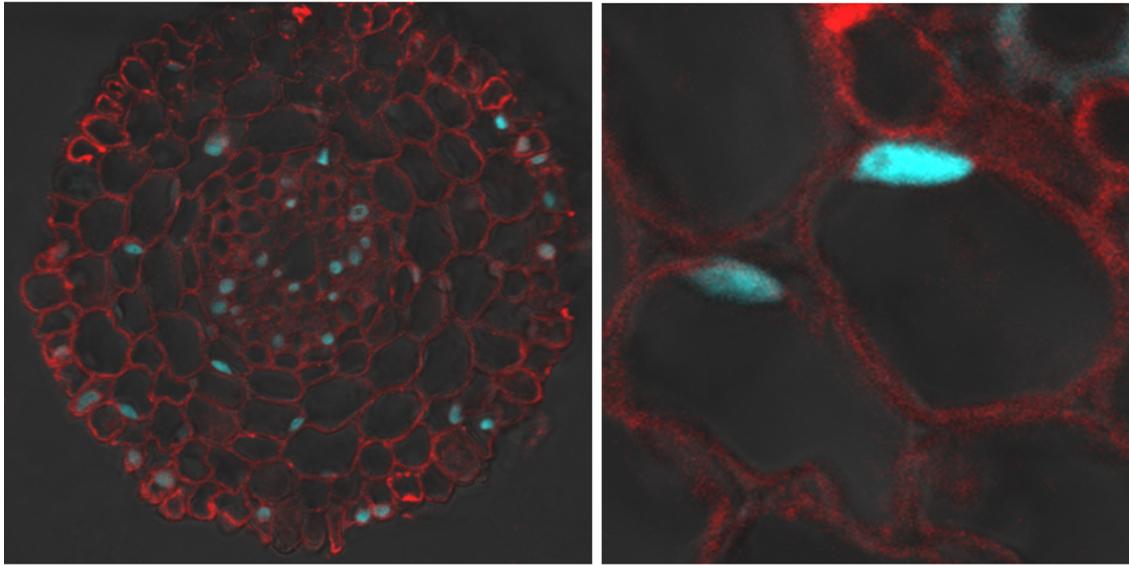


図4 HvNramp5の組織局在と細胞内局在

一方、イネのカドミウム集積遺伝子 OsHMA3 と高い相同性 (78%) を持つオオムギ遺伝子 HvHMA3 についてもその機能解析を行った。HvHMA3 と GFP の融合タンパク質をタマネギ表皮細胞で発現させたところ、液胞膜に局在している事がわかった。またレーザーマイクロダイセクション (LMD) で中心柱とそのほかの組織を切り分けて、RNA 抽出後、HvHMA3 の発現量を定量的 PCR で測定した結果、基部側の皮層で発現が高かった。

また HvHMA3 の機能解析を行う為に HvHMA3 遺伝子破壊オオムギの作製を試みた。HvHMA3 遺伝子破壊オオムギは CRISPR/Cas9 システムを利用して遺伝子破壊するコンストラクト (pZD-CRISPR-HvHMA3) を Golden Promise に導入し形質転換体を多数作製した。しかし、変異が入っているものは 0 個体だった。そこで、HvHMA3 の発現抑制株 (RNAi) を作成した。発現抑制株の HvHMA3 の発現量は野生型オオムギ (GP) の半分以下だった。栄養生長期において、地上部のカドミウム濃度が有意に増加した。またカドミウム汚染土壌で栽培して、RNAi 株の藁と種子中のカドミウム濃度を野生型オオムギと比較した結果、いずれも数倍増加していた (図 5)。これらのことは HvHMA3 が根細胞の液胞にカドミウムを隔離することによってカドミウムの集積に関与していることを示している。

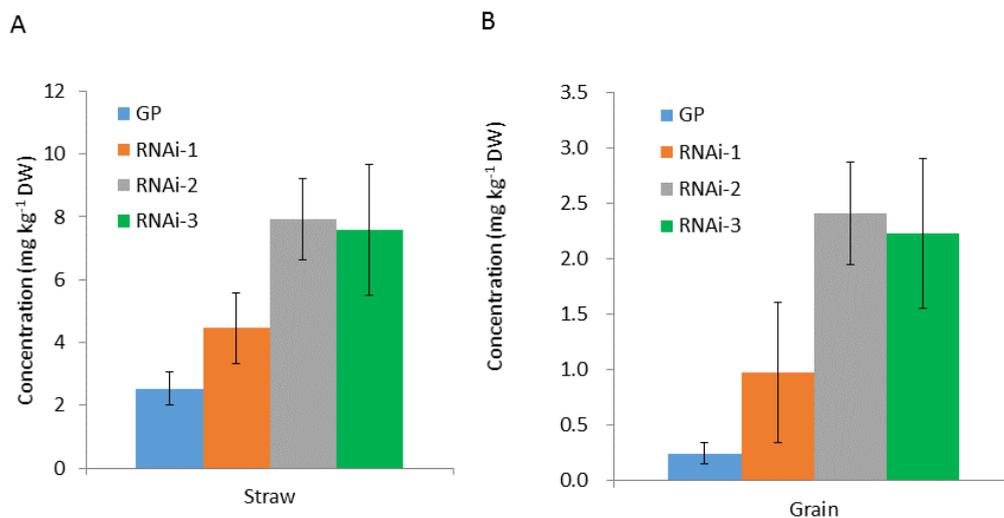


図5 野生型ムギ(GP)とHvHMA3発現抑制株における藁(A)と穀粒(B)中のカドミウム濃度

さらに、HvHMA3発現の品種間差を明らかにするために、はるな二条とBCS318のHvHMA3プロモーター配列を比較した。その結果、BCS318のHvHMA3の300bp上流にはSukkula like transposon LTRと高い相同性(91%)を持った配列が2kb以上存在した。一方はるな二条にはこのような配列は見られなかった。このトランスポゾンがHvHMA3の発現増加に関わっているか調べる為にHvHMA3の5'-RACEを行い、転写開始点の位置を特定した。はるな二条では転写開始点が1か所であったのに対し、BCS318は転写開始点が3か所に増えていた。この結果は、トランスポゾンが挿入されることでプロモーターに何らかの変化が起こり転写開始点の数が変わったと考えられる。HvHMA3は根の液胞へのカドミウムの隔離に関与しているため、この遺伝子の高発現は地上部のカドミウムの低集積に寄与すると考えられる。

4. カドミウム耐性に関するQTL解析とQTL遺伝子のマッピング

カドミウム毒性に対する耐性が異なる2品種を用いて、生理学的な解析を行った。その結果、同じカドミウムの処理濃度で、TokakがHamidiyeより強いカドミウム耐性を示したが、地上部並びに導管液中のカドミウム濃度は両品種間で差が見られなかった。また葉位別のカドミウム濃度も比較したが、両品種間で差がなかった。一方、他の金属(亜鉛、銅、マンガン)に対する耐性は両品種間でほとんど同じであった。さらにカドミウム無毒化に関与すると思われる三つの遺伝子(HvHMA3, HvPCS1, HvABCC1)の発現量を調べたが、両品種間で差がなかった。

カドミウム毒性の感受性品種Hamidiyeと耐性品種はるな二条と交配し、F₂のマッピング集団を得た。F₂ 92個体を用いて、カドミウム毒性の形質調査を行って、QTL解析を行ったところ、染色体6Hに大きなQTLが検出された(図6)。

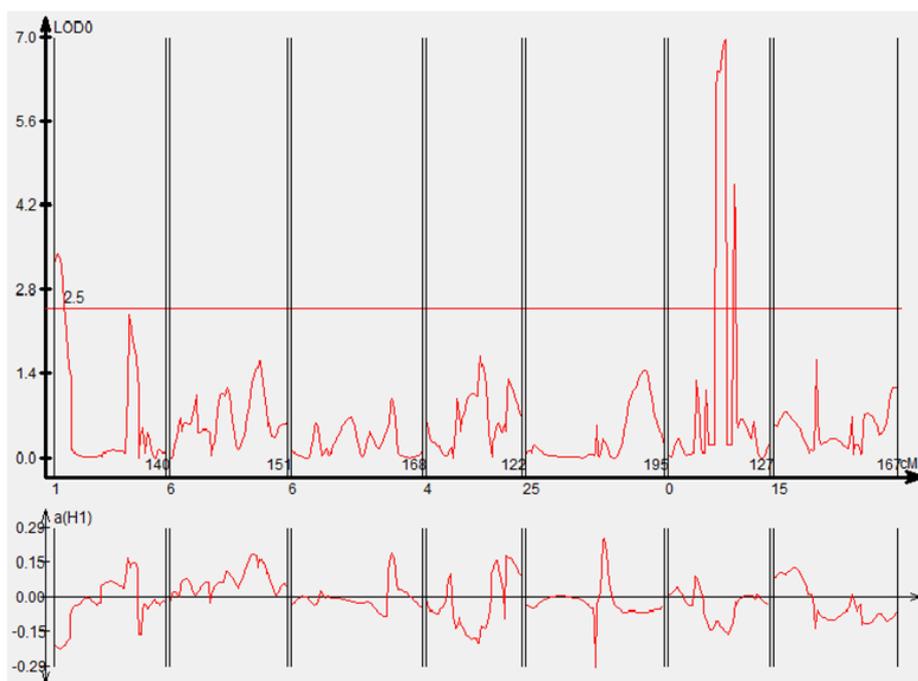


図6 カドミウム耐性に関するQTL解析
 カドミウム毒性の感受性品種Hamidiyeと耐性品種はるな二条との交配集団を用いて解析を行った。

この QTL 遺伝子のマッピングを行うために、マーカーを作成して、F3 と F4 集団の計 1337 個体のタイピングを行った。その結果、候補領域が Marker-51 (201,393,445) と Marker-36 (326,574,418) の間に位置していることが分かった。この領域の距離は凡そ 125,181kb で、230 個の遺伝子の存在が予測された。

3) 成果活用における留意点

本課題で開発したマーカーの一部は低カドミウムオオムギ品種の育成に用いられる。引き続き近傍のマーカーの開発が望ましい。

4) 今後の課題

引き続き、集団を拡大してカドミウム集積に関する QTL 遺伝子の単離と機能解析、他のオオムギ品種への低カドミウム集積アレルの導入などが必要である。

「麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発」最終年度報告書

中課題番号：13405896

研究期間：平成25～29年度

中課題名：麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発(TRS)

小課題番号：TRS1007

研究期間：平成25～27年度

小課題名：麦類耐湿性遺伝子の単離と機能解明

小課題代表研究機関・研究室・研究者名：畜産草地研究所・飼料作物研究領域・育種工学研究グループ・間野吉郎

1) 研究目的

わが国の麦類の栽培において湿害は収量と品質を低下させている大きな要因である。しかしながら、耐湿性は関与する要因が複数存在する難関形質であるため、麦類の実用的な耐湿性品種は国内外で開発された例がない。オオムギにおいては1989年に岡山大学資源植物科学研究所で耐湿性遺伝資源が報告されており、最近になって畜産草地研究所で再現性のある検定方法が得られている。

本研究ではオオムギ耐湿性遺伝子の単離に必要な量的形質遺伝子座 (QTL) に密接に連鎖するDNAマーカーを探索する前段階として、耐湿性が異なるオオムギ品種の倍加半数体 (DH) 系統の養成と高密度連鎖地図の作成、さらには耐湿性遺伝子のQTLマッピングを行うことを目的とした。オオムギにおいて将来的に耐湿性遺伝子を単離することが出来れば、コムギなどの他のイネ科畑作物に遺伝子導入することで畑作物の耐湿性品種の開発が可能となる。

2) 研究成果

研究方法

(1) DH系統の養成と高密度連鎖地図の作成

幼植物における耐湿性が強い品種 (Byng (OUA301), キカイハダカ (OUJ820)) と弱い品種 (はるな二条 (OUJ247), Compana (OUA002)) の交雑F1から薬培養によりDH系統の養成を行った。なお、いずれの系統も岡山大学資源植物科学研究所大麦・野生植物資源研究センターより分譲を受けたものである。

次にOUA301×OUJ247とOUA002×OUJ820のDH系統でBarley 9K Infinium Array analysisを行った。各DH系統の9K SNP Infinium assayのSNPデータ (A, C, G, T) を種子親型 (A) と花粉親型 (B) に変換し、MapDisto (<http://mapdisto.free.fr/>) を用いてマーカーの重複と二重組換えを除き、R/qt1 (<http://www.rqt1.org/>) を用いて系統の重複を除き欠測値のない連鎖地図を構築した。OUA301×OUJ247では135系統、OUA002×OUJ820で128系統についての解析を行った。

(2) QTL解析

種子の増殖が完了しているOUA301×OUJ247のDH88系統について、582マーカーの連鎖地図を用いて耐湿性に関連する4形質についてWinQTLCartおよびR/qt1を用いてQTL解析を行った。耐湿性の形質評価は、本研究において再現性が高いことが確認されている以下の方法で行った。すなわち1.5～1.8葉期の植物体に0.1%デンプン溶液による湛水・還元処理区を行い処理後9～11日目に葉枯れ程度、第1葉のSPAD値の対照区比、第2葉のSPAD値の対照区比、地上部乾物重の対照区比の4形質を測定した (4反復)。

研究結果

(1) DH系統の高密度連鎖地図の作成

9K SNP Infinium assayによって7,864のSNP箇所を解析した結果、OUA301×OUJ247とOUA002×OUJ820の両親間に2,610 (33.2%)と2,839 (36.1%)の多型が検出され、欠測値の少ない遺伝子型データが得られた(表1)。これらのデータをもとに連鎖解析を行い、OUA301×OUJ247では135系統によって1,025.3 cM (582マーカー)の、OUA002×OUJ820では128系統によって1,114.8 cM (239マーカー)の連鎖地図を構築した(図1、表2)。OUA002×OUJ820のDH系統では、組換え頻度がOUA301×OUJ247よりも高かったため、OUA002×OUJ820と共通の239マーカーを選んだ。

表1 9K SNP Infinium assayにより得られた連鎖地図作成のためのマーカー

	OUA301 x OUJ247		OUA002 x OUJ820	
	マーカー数	%	マーカー数	%
多型あり	2,610	33.2	2,839	36.1
欠損値なし	2,477	31.5	2,658	33.8
連鎖地図作成に使用	582	7.4	239	3.0
多型なし	4,307	54.8	4,058	51.6
その他	947	12.0	967	12.3
全体	7,864		7,864	

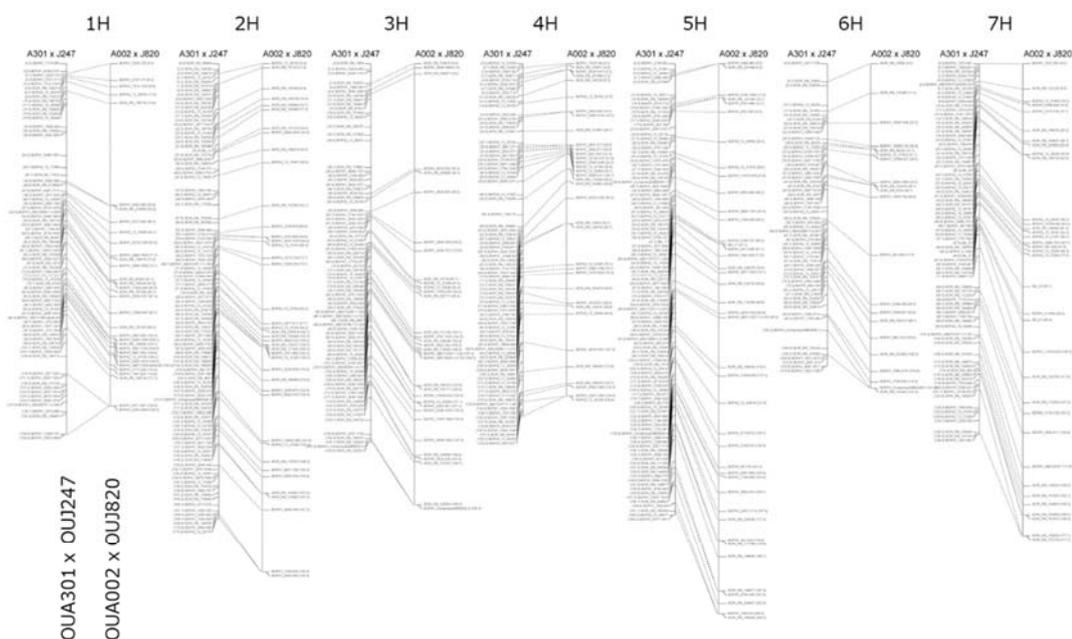


図1 OUA301×OUJ247(左)とOUA002×OUJ820(右)の比較連鎖地図。二重組換えが多いOUA002×OUJ820はOUA301×OUJ247と共通なマーカーのみを表示して線で結んだ。

表2 2組み合わせのDH系統で作成した連鎖地図の地図距離と平均距離

交雑組み合わせ	マーカー数	距離 (cM)	平均距離 (cM)
OUA301×OUJ247	582	1025.3	1.8
1H	73	139.6	1.9
2H	104	172.1	1.7
3H	79	147.0	1.9
4H	81	137.3	1.7
5H	105	170.0	1.6
6H	59	119.6	2.1
7H	81	139.7	1.7
OUA002×OUJ820	239	1114.8	4.8
1H	33	128.6	4.0
2H	41	190.8	4.8
3H	33	165.3	5.2
4H	35	124.8	3.7
5H	41	206.5	5.2
6H	21	121.8	6.1
7H	35	177.1	5.2

(2) QTL解析

OUA301×OUJ247のDH88系統によるQTL解析の結果、すべての形質において有意なQTLが検出された(図2、表3)。特に、第1葉のSPAD値の対照区比を指標とした耐湿性においては5H染色体のSCRI_RS_157941マーカー付近に効果の大きいQTLが検出された。このQTLのLOD値は8.4、相加効果は0.11(OUA301型の対立遺伝子が耐湿性を高める)、寄与率は0.21である。

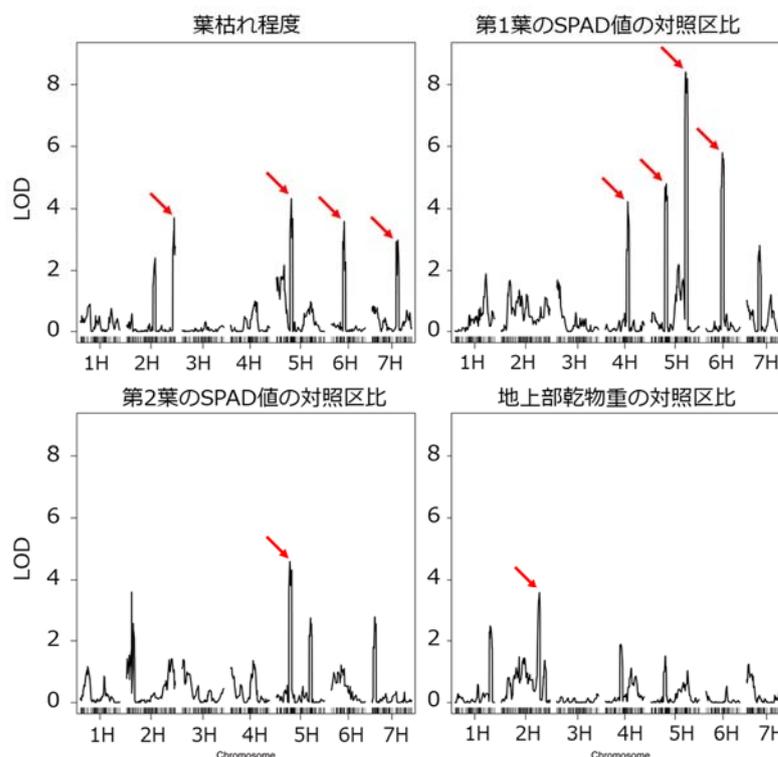


図2 OUA301×OUJ247のDH88系統において見出された幼植物における耐湿性関連形質のQTL。1.5~1.8葉期の植物体に0.1%デンブリン溶液による湛水・還元処理区を行い処理後9~11日目4形質を測定(4反復)。

表3 OUA301×OUJ247のDH88系統で見出された耐湿性に関連する4形質のQTL。1.5～1.8葉期の植物体に0.1%デンプン溶液による湛水・還元処理区を行い処理後9～11日目に形質を評価した(4反復)。WinQTLCartで計算した。

形質	染色体	マーカー	位置 (cM)	LOD	相加効果	作用の方向	寄与率 (r ²)
葉枯れ程度				2.8 ¹⁾			0.48
	2H	BOPA1_3450-692	168.4	3.7	-0.09	OUA301	0.10
	5H	BOPA2_12_31217	52.72	4.3	-0.10	OUA301	0.12
	6H	BOPA1_1899-739	45.33	3.6	0.08	OUJ247	0.10
	7H	SCRI_RS_189409	90.44	3.0	-0.08	OUA301	0.08
第1葉のSPAD値の対照区比				2.9 ¹⁾			0.54
	4H	BOPA1_1375-2534	79.39	4.2	-0.07	OUJ247	0.10
	5H	BOPA1_3412-579	53.46	4.8	0.07	OUA301	0.11
	5H	SCRI_RS_157941	121.7	8.4	0.11	OUA301	0.21
	6H	SCRI_RS_125526	57.97	5.8	-0.08	OUJ247	0.14
第2葉のSPAD値の対照区比				2.8 ¹⁾			0.10
	5H	BOPA1_4686-1281	47.53	4.6	0.02	OUA301	0.10
地上部乾物重の対照区比				2.8 ¹⁾			0.13
	2H	BOPA1_3271-1422	135	3.6	-0.03	OUJ247	0.13

1) 1000回のpremutationにより閾値を決定。

3) 成果活用における留意点

今回5H染色体に見出された効果の大きいQTLは、OUA301×OUJ247の組み合わせの一部の系統を用いた解析結果により得られたものである。遺伝子単離の対象とするQTLを選定する際には、現在解析を進めているOUA301×OUJ247とOUA002×OUJ820の2組み合わせのDH全系統を用いた検定結果をもとに検討する必要がある。

4) 今後の課題

今後耐湿性の遺伝子単離を行うために、2組み合わせのDH全系統の解析結果をもとに単離を行うQTLを選定するとともに、単離に必要なQTLに密接に連鎖するDNAマーカーを探索する。

本研究では、温室のポット試験で湛水・還元条件下における幼植物の葉枯れを対象にして評価を行ったが、育種現場を見据えて生育量を指標とした耐湿性を向上させるためには別の指標（例えば根の通気組織形成能）も検討するとともに複数の形質を集積することを考慮する必要がある。

「麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発」最終年度報告書

中課題番号: 13405896

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

中課題名: 麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発 (TRS)

小課題番号: TRS1008

研究期間: 平成 25 ~ 29 年度

小課題名: ソルガム茎葉の形態形成遺伝子の単離と機能解明

小課題代表研究機関・研究室・研究者名: 農研機構 次世代作物開発研究センター・基盤研究領域・遺伝子機能解析ユニット・川東広幸

1) 研究目的

ソルガム (*Sorghum bicolor* L) は、同じ長大型作物のトウモロコシと比べ、低温伸長性や栽培適性などに関して劣るものの、バイオマス資源作物としての乾物生産性の高さや再生力は極めて高い。この研究では茎の太さ、最大展開葉の幅、葉身長、および全体の草型に関係する出穂期と葉の傾斜角度に関する QTL 解析を行う。また検出された遺伝子作用の大きな QTL について、QTL の準同質遺伝子系統の作出、ならび高精度連鎖解析による QTL の候補ゲノム領域の絞り込みを行い、最終的には候補遺伝子を特定する。

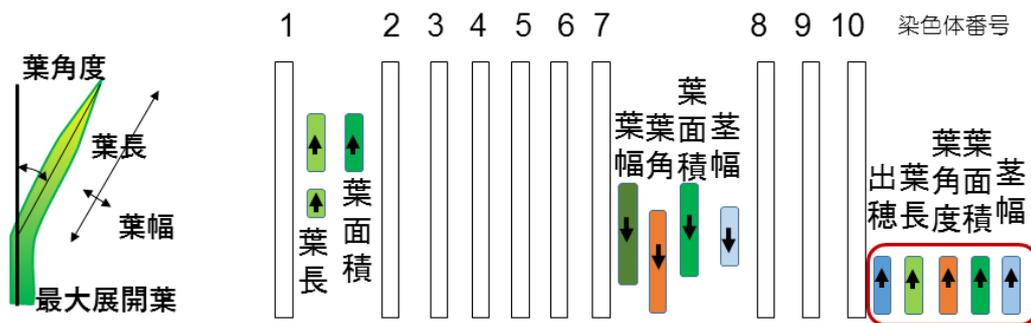
2) 研究成果

ソルガムは、高い乾物生産性を示し、また再生力も極めて高く、バイオマス資源作物や国産飼料作物として重要な作物である。本研究では茎葉部の収量を上げるため、それに関わる茎の太さ、最大展開葉の幅、葉長、および出穂期と葉の傾斜角度に関する QTL 解析を行い、最終的には候補遺伝子を特定することを目標に研究を行った。

解析集団としてソルガム (那系 MS-3B) とスーダングラス (Greenleaf) の交雑後代 F7 集団、およびソルガム (那系 MS-3B) とソルガム (JN43) 間の交雑後代 F5 集団を用いた。ソルガムの栽培は信州大学農学部圃場にて各個体の間隔を畝幅 75cm、株間 8cm とし、施肥を成分比 (N-P-K) で、1.64-1.36-0.96kg/a とした。各系統 5 個体ずつ栽培し、形質評価を行い、平均値を各系統の測定値とした。形質評価は出穂期において、それぞれの個体より、上段から 5 葉目まで、それぞれの葉の長さ、葉幅を測定し、また稈長、茎幅、出穂期の調査も同時に測定した。測定結果より、葉面積を算出し、それぞれの個体の最大葉面積を示す葉の測定値を用いた。

2 集団の交雑後代からは DNA の抽出、ソルガム SSR マーカーによるホールゲノム解析を実施した。計測した最大展開葉の幅、葉長、稈径、葉の傾斜角度、および出穂期に関する QTL 解析を実施した。ソルガム (那系 MS-3B) とスーダングラス (Greenleaf) の交雑後代 F7 集団の QTL 解析の結果、出穂期・茎葉の形態については重複した領域に主要な 3 つの QTL が見出された (図 1 上)。第 10 染色体の QTL は、Greenleaf アリルが晩生、葉面積 (葉身長) を拡大させ、着生角度を小さくする効果を示した。第 7 染色体の QTL は、那系 MS-3B アリルが葉面積 (葉幅) を拡大させ、着生角度を小さくする効果を示した。また、第 1 染色体の QTL は、Greenleaf アリルが葉面積 (葉身長) を拡大させる効果を示した。第 10 染色体の QTL には出穂関連遺伝子 Ma4 が存在することが知られており、出穂遺伝子と他の形質との関連が注目された。また第 7 染色体の QTL には dw3 遺伝子があり、この遺伝子の効果と葉身幅を増大させる遺伝子との関連を解析する必要があると考えられた。

ソルガム（那系MS-3B）とスーダングラス(Greenleaf)間で検出されたQTL(2013)



ソルガム間（那系MS-3B x JN43）で検出された2ヶ年共通QTL (2013,2014)

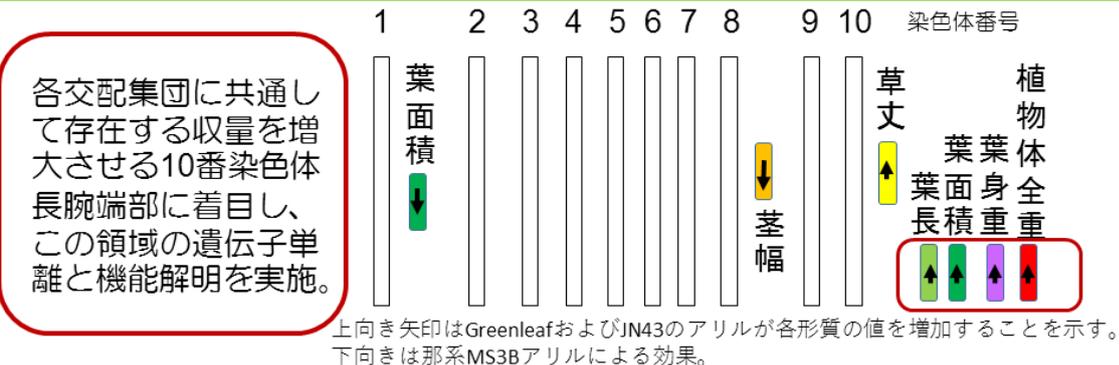


図1 ソルガムにおける茎葉増大形質のQTL

ソルガム（那系 MS-3B）とソルガム（JN43）間の交雑後代 F5 集団について 2 カ年にわたって調査し、その表現型を用いて QTL 解析を行った（図 1 下）。JN43 側にソルガム全体の重量を増加させる QTL ピークが 2 カ年共通して第 10 染色体に見いだされた。葉長・葉面積・葉重量の QTL と同様の位置に見いだされ、全体重量の増加は葉重量・葉面積の増加、即ち葉長の伸張によってもたらされていると考えられた。この領域はソルガム（那系 MS-3B）とスーダングラス（Greenleaf）の後代集団による QTL 解析でも Greenleaf 側に見いだされていたものであった。また、葉の傾斜角度・出穂日については有意な QTL のピークは見いだされなかった。このことから、出穂と無関係に葉面積・葉長・葉重量を増大させる QTL が両集団に共通して存在することが判明した。

また、那系 MS-3B で茎の太さを増大させる QTL が第 8 染色体に見いだされた。那系 MS-3B と Greenleaf の集団の解析で第 7 染色体に茎幅や葉面積を増大させる QTL が存在することが明らかとなった。茎を太くすることにより、耐倒伏性が上昇するが、ソルガムは倒伏することにより飼料品質の低下、収量の低下がもたらされるため、茎の太さは耐倒伏性という観点から重要な形質である。収量性をあげるために、Greenleaf、JN43 で見いだされた第 10 染色体の QTL を那系 MS-3B に導入し、那系 MS-3B の持つ第 7 染色体および第 8 染色体の QTL を組みあわせることにより有効に収量を増大させうると考えられた。

新規ソルガムゲノムのアノテーションを利用して、第 10 染色体の QTL 領域の候補遺伝子を検索したところ、GASR7 - Gibberellin-regulated GASA/GAST/Snakin family タンパク質が見いだされ、理化学研究所の MOROKOSHI データベースの検索結果から、この遺伝子はソルガムの種子で多く発現し、またシュートで発現していることが明らかとなった。この遺伝子のイネのオーソログ (GSR1) は、ジベレリンで誘導され、ブラシノステロイドを合成する経路に参与していることが知られている。また、この遺伝子の RNAi 形質転換体では、葉長が短くなり短稈化する。これはブラシ

ノステロイドの投与で回復することが明らかとなっている (Wang, et.al Plant journal, 2008) (図2)。有望な候補遺伝子として、葉長の短い那系 MS-3B、葉長の長い JN43、Greenleaf のシュートをを用いて、この候補遺伝子の発現を調査した。那系 MS3B で遺伝子発現量の低下を期待したが、いずれの品種でも遺伝子が発現しているという結果が得られた。また、JN43 のゲノム塩基配列解析の結果、当該遺伝子の変異が那系 MS-3B と同様に存在したことから、遺伝子の存在場所が候補領域から外れたこと、から候補遺伝子からは除外した。

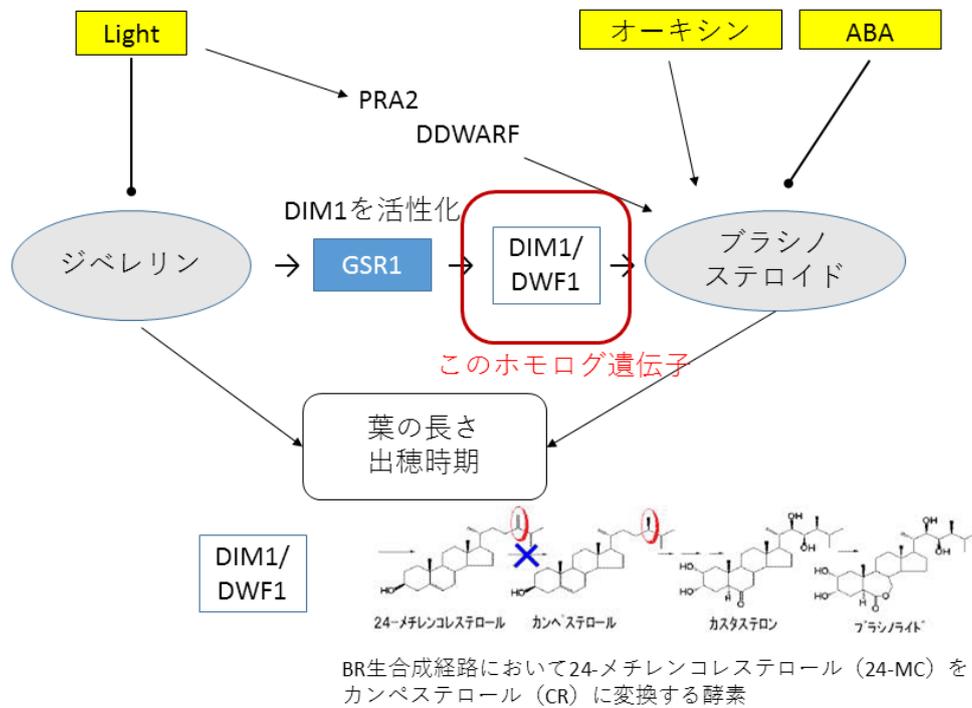


図2 葉長を伸ばす有力候補遺伝子ホモログのイネにおける作用

研究期間を通じて葉長に関連する第 10 染色体の QTL の詳細マッピングを実施した。2014 年度には那系 MS-3B と Greenleaf 集団の解析の結果、候補領域を 14Mb から 8Mb にまで狭めることができた。2015 年度には、那系 MS-3B と JN43 の F5 残存 RIL 集団を用いて、さらに連鎖解析を行った結果、候補領域が約 5Mb の範囲にまで狭められた。2016 年度は那系 MS-3B と JN43 の交配集団より RIL を選抜し、那系 MS-3B との戻し交配をして得られた F2 集団を用いて解析を実施した。第 10 染色体の葉長・葉幅の QTL 領域の絞り込みを行ったところ、およそ候補領域を 3.5M 程度にまで絞り込んだ。さらに、第 10 染色体の葉長・葉幅の QTL について候補ゲノム領域に indel マーカーによるマッピングを実施したところ、この QTL 領域における組換え頻度が非常に低いと推定されたが、最終的に 2017 年度には 3.2M の領域にまで候補領域を狭めることができた。

第 10 染色体上の Ma4 の位置にはソルガム CO ホモログ遺伝子が存在することから、Ma4 は CO 遺伝子ホモログであると考えられたため、ソルガム CO 遺伝子の配列解析を行った。その結果、那系 MS-3B、JN43 では BTx623 と同様の機能型遺伝子を持つと考えられた。Greenleaf アリルはエキソン内部に 80bp の欠失が存在し機能欠失型であることが示唆された。Greenleaf 型アリルにおいてはソルガム CO の機能欠失により、出穂期の晩生化が起きると考えられた。また、プロモーター領域においても、約 1kb の領域に渡って他の品種と異なる配列の存在が見いだされた。ソルガム CO の DNA 識別マーカーを作成し、日本で育種に使用される栽培品種を調査したところ、少なくとも 3 種類のア

リルが存在することが明らかとなった。

COの分類

- ① 1型 バンド一番上 GL同じ変異 不活性 遺伝子欠失あり
- ② 2型 バンド中 BT x 623と同じ 活性型
- ③ 3型 バンド下 SIL-05と同じ 不活性型 Q231→stop (SIL-05)

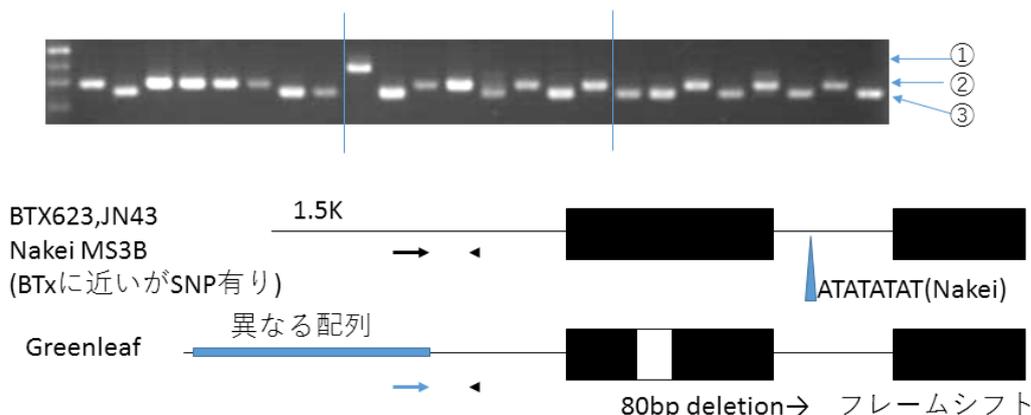


図3 COのプロモーター部分のマーカによる分類

那系 MS3B と JN43 の交配集団の中から紫斑点病に抵抗性を持ち、第 10 染色体が JN43 型である RIL181 は草型がよく、準同質系統作出の候補として選抜した。2 年間による栽培試験の結果、有望系統である RIL181 は那系 MS-3B と比較して葉長で 1.15-1.2 倍、葉幅で約 1.1 倍、面積としては約 1.25 倍に増大していたほか、葉の厚みも増しており、3 次元いずれの方向にも増大が観察された。有望系統 RIL181 と那系 MS3B 親系統の差は再現性よく観察されたため、この系統は高収量型の育種母本として活用できると考えられた。

3) 成果活用における留意点

特になし

4) 今後の課題

収量年度までに葉長を伸ばす遺伝子の候補領域を 1 Mbp 程度にまで絞込む計画であったが、集団内の組換え頻度が低かったこと、また形質が分離しなかったことから達成目標に至らなかった。那系 MS-3B と JN43 の交配集団の RIL に戻し交配を行った F2 集団より得られた候補領域を広く含む F3 残存ヘテロラインを多数用いて、indel マーカーを用いた高精度連鎖解析によって候補ゲノム領域を絞込む予定である。

また、収量形質については比較的災害の少ない長野県で栽培を行っているが、台風、爆弾低気圧等の被害による植物体へのダメージにより測定データの年次変動が大きく出ることがあり、数年次の栽培検討が必要と考えられた。

RIL 有望系統については、今後も栽培試験を行い、必要に応じて戻し交配などを実施し育種に活用していく予定である。

「麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発」最終年度報告書

中課題番号：13405896

研究期間：平成25～29年度

中課題名：麦及び飼料作物の有用遺伝子の同定とDNAマーカーの開発(TRS)

小課題番号：TRS1009

研究期間：平成25～26年度

小課題名：ソルガム穂の形態形成遺伝子の単離と機能解明

小課題代表研究機関・研究室・研究者名：名古屋大学・生物機能開発利用研究センター・植物分子育種分野・佐塚隆司

1) 研究目的

日本を含む多くの国々でソルガムの高バイオマス性が注目され、茎葉部分を家畜飼料とする営利栽培が行われており、大規模栽培における栽培体系と機械化収穫が確立している。ソルガムを家畜飼料として利用する場合、可消化養分総量 (Total Digestible Nutrients, TDN) が重要な指標となる。全バイオマス中に占める子実重量の比率が高いほどTDNは大きくなり、栄養価の高い家畜飼料となるが、その子実収量はソルガムの場合、その多様な穂型に大きく依存する。そこで、本研究課題ではこのソルガムの穂型の多様性に注目し、遺伝学的、分子遺伝学的アプローチによって穂型を支配している遺伝子を同定し、その機能を解析し、ソルガムの穂形成の制御機構を解明することで、ソルガムの穂型育種の基盤を創生する。

2) 研究成果

1. 研究方法

(1) 穂型の構造解析、及び穂型を決定する遺伝子の単離

本研究課題では、ソルガムの多様な穂型の要素のうち、まず一次枝梗長に注目し、遺伝的多様性のあるソルガムのコアコレクション91系統について調査を行った。ソルガムの穂という立体的空間において、一次枝梗長は子実の空間配置に重要であり、特に多湿な地域では、長い一次枝梗は穂の空間内における子実の疎な配置を生み出すことで、穂内の通気性を高め、種子のカビ被害低減に直結する重要な形質である(Morrisら)¹⁾。そこで、遺伝的多様性のあるソルガムのコアコレクション91系統について一次枝梗長を調査した。また、一次枝梗長を支配する遺伝子座を解析するため、一次枝梗が特に長いホウキ型の穂を形成する系統BRC1と、一次枝梗が短い楕円体型の穂を形成する系統SIL-05を交配した。得られたF₁個体を自植することでF₂種子を得て、F₂世代185個体を用いたQTL解析を行った。

(2) 子実割合と稈長の解析

穂部割合に注目し、その制御遺伝子を明らかにするため、穂部割合の異なる2つのF₁品種維持系統であるMS79B及びMS138Bを交配して作出した雑種集団 (F₂) 約140個体を供試し、穂長及び稈長のQTL解析することで、穂部割合を制御する遺伝子座の同定を行った。

2. 研究結果

(1) 穂型の構造解析、及び穂型を決定する遺伝子の単離

平成25年度は、ソルガムのコアコレクション91系統の一次枝梗長を測定した。その結果、ホウキ型の穂型を示すソルガムは特に一次枝梗が長いことが明らかとなった。上述のように、一次枝梗長は子実の空間配置の重要な要素であり、また種子のカビ被害を低減し、子実重量に大きな影響を与えることから、この長い一次枝梗に注目し解析を進めた。

図1に示すようにホウキ型の穂型の系統であるBRC1は、一次枝梗が特に長い（特に第一節間が伸長していた）、一方で楕円体型の穂型の系統SIL-05は一次枝梗長が短かった。

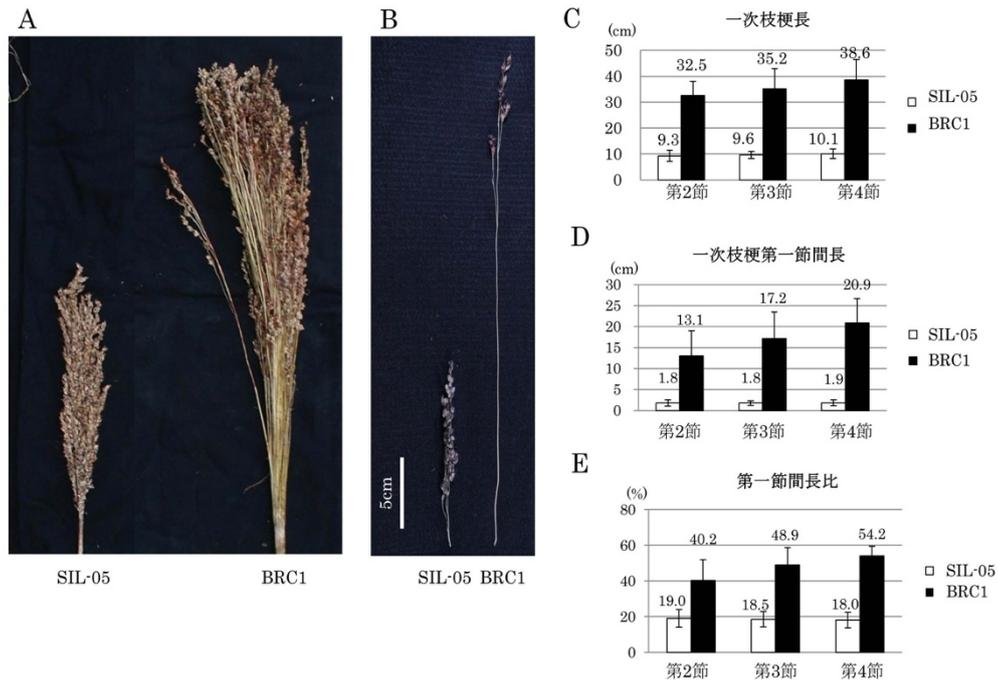


図1 SIL-05とBRC1の穂型の比較

SIL-05とBRC1の穂型(A)、一次枝梗の形態(B)、及び一次枝梗長(C)、一次枝梗第一節間長(D)、第一節間長比(E)。(C), (D), (E)では穂軸第2節、第3節、そこで、SIL-05×BRC1(F₂)集団を作出し、これを材料としたQTL解析を行った。まず、BRC1とSIL-05のゲノムDNA間で多型を示すSSRマーカーなどを探索した結果、116のSSRマーカー

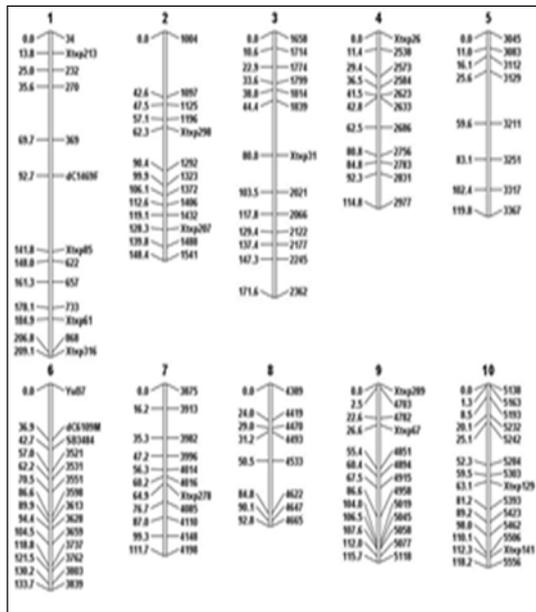


図2 SIL-05 x BRC1 (F₂)を用いた遺伝学的地図

SIL-05とBRC1の間で多型を示すSSRマーカーなどを118個選抜し、SIL-05 x BRC1 (F₂) 185個体の遺伝子型を決定することで、遺伝学的地図を作製した。白線は染色体を示し、白線の上の数字は染色体番号を示す。白線の左の数字は遺伝的距離(cM)を示し、白線の右の文字はDNAマーカー名を示す。

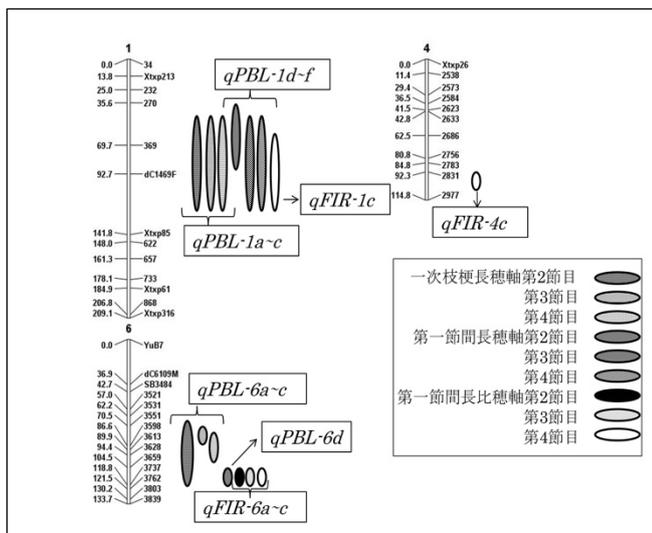


図3 一次枝梗長に関連するQTL解析の結果

SIL-05 x BRC1 (F₂) 185個体を用いたQTL解析の結果を連鎖地図上に示した。

にQTLが検出された(図3、表1)。いずれのQTLでもBRC1が一次枝梗、第一節間を長くし、第一節間長比を大きくした(表1)。

表1 SIL-05 x BRC1 (F₂) のQTL解析結果

形質名	QTL ^a	染色体	近傍マーカー	位置 (cM)	LOD	PVE ^b	add ^c	dom ^d	d/a ^e	DPE ^f	
一次枝梗長 (cm)	第2節	<i>qPBL-1a</i>	1	dC1469F	92	5.70	10.92	3.15	-0.19	-0.06	BRC1
	第3節	<i>qPBL-6a</i>	6	3762	122	4.38	8.06	3.25	1.55	0.47	BRC1
		<i>qPBL-1b</i>	1	dC1315H	77	8.08	12.96	3.90	-1.23	-0.31	BRC1
	第4節	<i>qPBL-6b</i>	6	3551	76	3.54	4.52	2.80	0.98	0.35	BRC1
<i>qPBL-1c</i>		1	dC1315H	78	9.85	15.19	4.43	-0.08	-0.02	BRC1	
一次枝梗	第2節	<i>qPBL-6c</i>	6	3551	76	4.94	5.84	3.43	1.17	0.34	BRC1
		<i>qPBL-6d</i>	6	3762	125	4.64	9.79	1.56	0.13	0.08	BRC1
第一節間長 (cm)	第3節	<i>qPBL-1e</i>	1	dC1315H	78	4.43	8.75	1.80	-0.73	-0.41	BRC1
	第4節	<i>qPBL-1f</i>	1	dC1315H	80	9.01	15.85	2.78	-0.30	-0.11	BRC1
		<i>qFIR-6a</i>	6	3762	126	3.64	8.33	3.64	-0.56	-0.15	BRC1
一次枝梗長における一次枝梗	第3節	<i>qFIR-6b</i>	6	3762	126	3.59	8.49	4.83	0.53	0.11	BRC1
	第4節	<i>qFIR-1c</i>	1	dC1469F	90	7.09	10.16	6.59	0.15	0.02	BRC1
第一節間長が占める割合 (%)	第4節	<i>qFIR-4c</i>	4	2977	104	3.66	3.99	3.91	-3.00	-0.77	BRC1
		<i>qFIR-6c</i>	6	3762	122	4.51	8.31	5.55	-0.09	-0.02	BRC1

^aQTL名は各形質の英名と染色体番号を元に命名した。

^b寄与率 (Percentage of Variance Explained)

^cBRC1アリの相加効果 (additive effect)

^d優勢効果 (dominance effect)

^e優勢効果/相加効果

^f表現型効果の方向性 (Direction of Phenotypic Effect)

イネでは穂型の制御に関わる遺伝子が多数同定されている。そこで、これら遺伝子のソルガムのオルソログ遺伝子の遺伝子座と、今回同定されたQTLsを比較した。しかし、これらの遺伝子座は一致せず、今回同定されたQTLsは新規の遺伝子座であることが示唆された。

平成26年度では平成25年度のQTL解析で同定した*qPBL-1*について詳細なマッピングを進めた。供試材料として、昨年と同じ一次枝梗長が長いホウキ型系統BRC1と一次枝梗長が短い系統SIL-05を用い、この雑種集団 (F₃) 系統の内、*qPBL-6*がホモ型に固定され、*qPBL-1*の候補領域で組換えを起こした12個体をDNAマーカーによって選抜した。次に、この後代

と2つのdCAPSマーカーが多型を示すことが明らかとなり、全ゲノムをカバーするSSRマーカーなどが整備された。次に、SIL-05 x BRC1 (F₂) 185個体を圃場に展開し、各個体の遺伝子型を決定することで連鎖地図を作成した(図2)。

また、F₂集団の各個体の第2, 第3, 第4穂軸節から分枝している一次枝梗長、第一節間長、第一節間長比を測定し、QTL解析を行った。その結果、各穂軸節の一次枝梗長、第一節間長、第一節間長比のいずれにおいても、第1, 第6染色体のほぼ同じ位置

(F₄)のうち、*qPBL-1*の組換え領域のヘテロ側が、BRC1型、もしくはSIL-05型に固定した個体を選抜し、これらの個体 (F₄) を供試した。

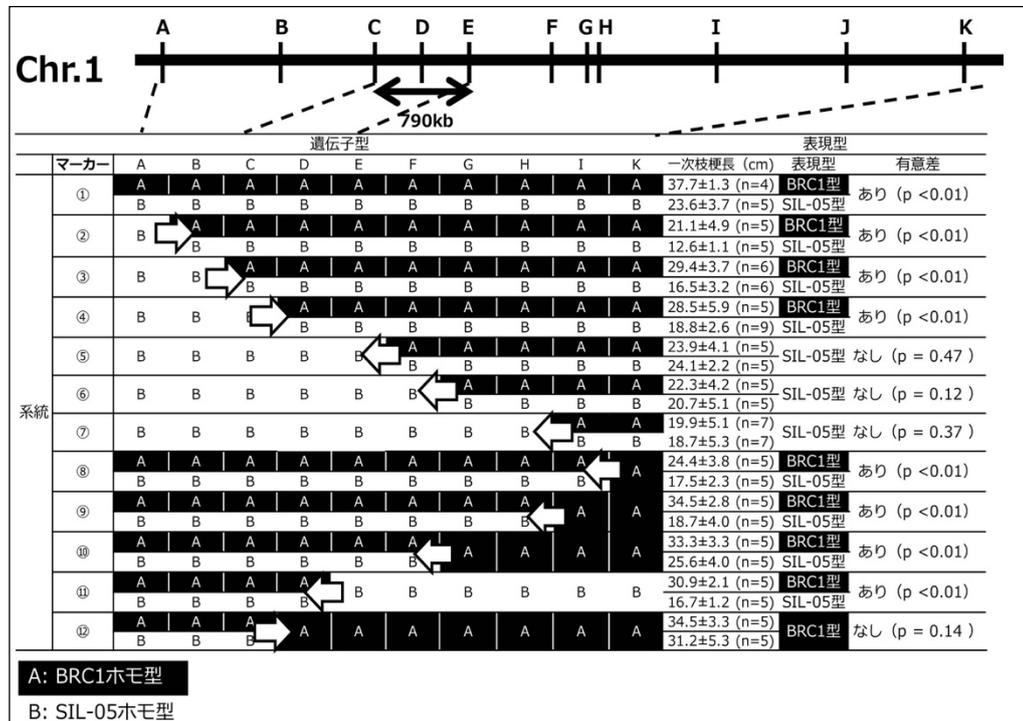


図4 *qPBL-1*責任遺伝子のマッピング

選抜12系統後代の遺伝子型及び一次枝梗長の評価による後代検定の結果を示した。遺伝子型A はBRC1ホモ型、BはSIL-05ホモ型を示す。t検定の結果、p値が0.01未満のものを有意差「あり」と評価した。

この選抜12集団を圃場展開し、*qPBL-1*遺伝子座の候補領域の絞り込みを行った。その結果、まず一次枝梗長の表現型として、12系統のうち8系統は分離、3系統はSIL-05型（短一次枝梗型）に固定、1系統はBRC1型（長一次枝梗型）に固定であることが確認された（図4）。この後代検定個体の分離・固定の表現型と遺伝子型との連鎖解析から、*qPBL-1*遺伝子候補領域をマーカーCとEの間、約790kbの領域に絞り込むことに成功した（図4）。

(2) 子実割合と稈長の解析

MS79BとMS138Bは、それぞれF₁品種の天高、風立の種子親維持系統である（図5A, B）。この2品種は子実割合の異なる系統である。本研究では、穂部割合（本課題では穂長+稈長に対する穂長の割合とする）を子実割合の指標として研究を進め、遺伝学的解析を行った。まず、この2品種について稈長、穂長、子実重、千粒重を評価した（図5C, D, E, F）。稈長はMS79BがMS138Bに比べかなり長い（23.2cm）が、穂長はMS138Bの方がやや長い（2.0cm）程度であった（図5C, D）。このことから、穂部割合の違いは、主に稈長の違いに起因することが明らかとなった。一方、子実重、千粒重については両品種ともほぼ同じことが明らかとなった（図5E, F）。次に、この二品種を交配し作出したMS79B×MS138B雑種集団 (F₂)

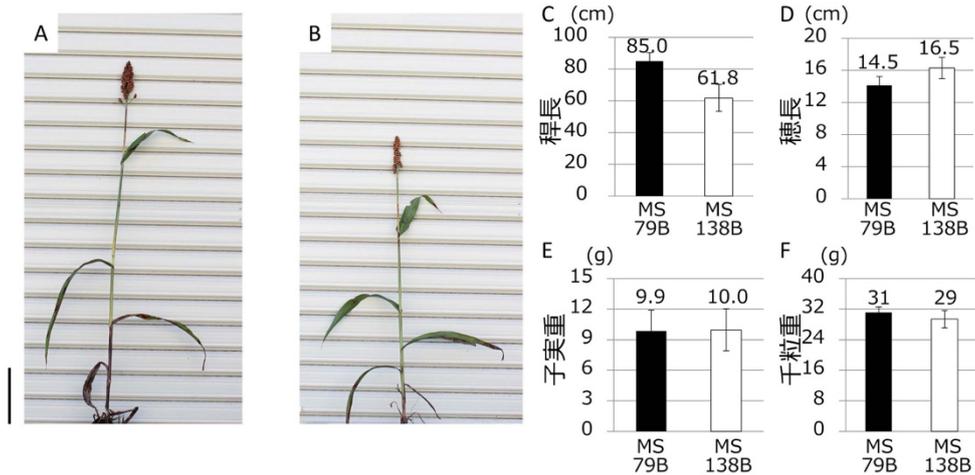


図5 本実験に供試した材料

A; MS79B, B; MS138B. C, D, E, Fは稈長、穂長、子実重、千粒重を示す。MS138BはMS79Bに比べ、稈長が短いため、相対的に穂部割合が大きい。

を用い、稈長のQTL解析を行った。その結果、第7染色体に主働遺伝子座 $qCL-7$ が検出された(図6A、表2)。次に $qCL-7$ 近傍マーカーで分類した集団内の各個体の稈長を比較した。

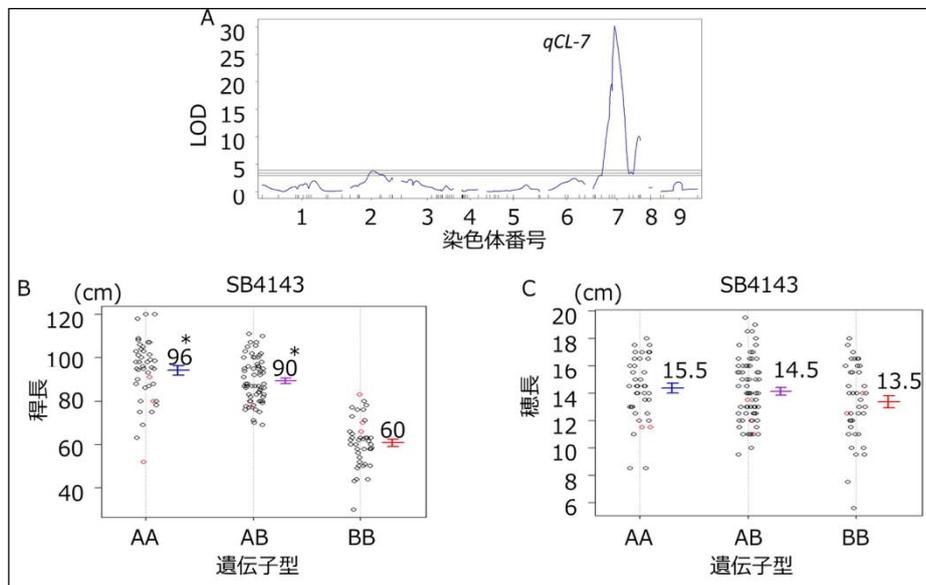


図6 MS79B x MS138B (F_2) 雑種集団の解析の結果

(A) MS79B x MS138B (F_2) 集団の稈長のQTL解析の結果。主働遺伝子 $qCL-7$ が検出された。(B) $qCL-7$ 近傍マーカーで分類した集団内の各個体の稈長。

(C) $qCL-7$ 近傍マーカーの遺伝型で分類した集団内の各個体の穂長。AAはMS79Bホモ型、ABはヘテロ型、BBはMS138Bホモ型を示す。*は、BBに対するt検定の結果 ($P < 0.001$)。

その結果、 $qCL-7$ 領域がMS79Bホモ型、ヘテロ型はそれぞれ96, 90cmであるのに対し、MS138Bホモ型の60cmであり短縮していた(図6B)。同様に、穂長を比較したところ、MS79Bホモ型、

ヘテロ型、MS138Bホモ型はそれぞれ15.5, 14.5, 13.5cmとほぼ同じであった(図6C)。以上の結果から、(1) MS138Bの*qCL-7*の原因遺伝子は劣性の矮性遺伝子であること、(2) この遺伝子は穂長にほとんど影響がないことの二点が示唆された。つまり、*qCL-7*は、穂長は短縮させず、稈長のみを短縮させることで穂部割合を増加させる優れた農業有用遺伝子であることが明らかとなった。

表2 SIL-05 x BRC1(F₂)のQTL解析結果

形質名	QTL ^a	染色体	位置(cM)	LOD	PVE ^b	add ^c	dom ^d	d/a ^e	DPE ^f
稈長	<i>qCL-7</i>	7	64	30.8	63.1	17.9	12.0	0.67	MS79B

^aQTLは各形質の名前と染色体番号を元に命名。
^b寄与率 (Percentage of Variance Explained)。
^cMS79Bアレルの相加効果 (additive effect)。
^d優勢効果 (dominance effect)。
^e優勢効果/相加効果。
^f表現型効果の方向性 (Direction of Phenotypic Effect)。

3) 成果活用における留意点

特になし

4) 今後の課題

(1) 穂型を決定する遺伝子の単離

ソルガムの穂型に重要な一次枝梗長制御遺伝子*qPBL-1*のクローニングを目指し、ファインマッピングを行うことが今後の課題である。材料として、平成26年度に選抜した12系統(F₃)のうち、後代(F₄)で分離が明確であった系統を選抜し、F₄世代で候補領域がヘテロの個体をさらに選抜する。そして、その後代(F₅)分離世代をファインマッピングに供試する。この世代はゲノム背景がほぼ固定したHeterozygous Inbred Families(HIFs)(ヘテロ残存RILsとも呼ばれる)であるので、平成26年度より詳細なマッピングが期待される。また、遺伝子単離に際しては、リファレンスゲノムであるBTx623は典型的な短い一次枝型の穂型であり、*qPBL-1*が不完全優性を示していることを考えれば、責任遺伝子はBTx623ゲノムにはないかもしれない。この状況を踏まえ、BRC1のBACライブラリー作製を進める必要がある。もし、BTx623ゲノムに候補遺伝子らしきものが見つからない場合は、BRC1のBACライブラリーから候補領域のクローンを選抜しシーケンスすることで、候補遺伝子同定を行うことができる。

(2) 子実割合と稈長の解析

穂部割合を増加させる遺伝子座*qCL-7*については、原因遺伝子の同定が今後の課題である。前述のように、この遺伝子座近傍には子実型ソルガムの短稈化育種で使われた*dw3*遺伝子が座乗している。そこでこの*Dw3*遺伝子をシーケンスする必要がある。これまで他のグループからの報告として、育種に用いられた劣性変異型の*dw3*は、蛋白コード領域内に882 bpのDNA重複変異があることが報告されている。この比較的長い重複領域はPCRでの増幅が難しいと

されている。そこでこの増幅について条件検討を行う。そして、この条件を用いてMS138B アリル（劣性変異が起きていると考えられるアリル）を調べる。もし、この重複アリルとは異なる変異の場合には、遺伝子領域全域に渡りシーケンスを行う。

引用文献

1) Morris, Geoffrey P., et al. "Population genomic and genome-wide association studies of agroclimatic traits in sorghum. (2013) Proc Natl Acad Sci USA. 110, 453-458.

成果等の集計数

課題番号	学術論文		学会等発表(口頭またはポスター)		出版図書	国内特許権等		国際特許権等		報道件数	普及する成果	発表会の主催(シンポジウム・セミナー)	アウトリーチ活動
	和文	欧文	国内	国際		出願	取得	出願	取得				
13405896	1	30	43	18	6	1	2	0	0	2	3	1	0

(1)学術論文

区分: ①原著論文、②その他論文

整理番号	区分	機関名	タイトル	著者	掲載誌	巻(号)	掲載ページ	発行年	発行月
1	①	農業生物資源研究所	Simultaneous transcriptome analysis of Sorghum and Bipolaris sorghicola by using RNA-seq in combination with de novo transcriptome assembly	T. Yazawa, H. Kawahigashi, T. Matsumoto, H. Mizuno	PLoS One	8(4)	e62460	2013	4
2	①	農業生物資源研究所、信州大学	A novel waxy allele in sorghum landraces in East Asia	Kawahigashi H, Oshima M, Nishikawa T, Okuizumi H, Kasuga S, Yonemaru J	Plant Breeding	132(3)	305-310	2013	4
3	①	農業生物資源研究所	Genomic inversion caused by gamma irradiation contributes to downregulation of a WBC11 homolog in bloomless sorghum	H. Mizuno, H. Kawahigashi, J. Ogata, H. Minami, H. Kanamori, H. Nakagawa, T. Matsumoto	Theor Appl Genet	126(6)	1513-1520	2013	6
4	①	横浜市立大学、農業生物資源研究所	Six-rowed spike4 (Vrs4) controls spikelet determinacy and row-type in barley	R. Koppolu, N. Anwar, S. Sakuma, A. Tagiri, U. Lundqvist, M. Pourkheirandish, T. Rutten, C. Seiler, A. Himmelbach, R. Ariyadasa, H. M. Youssef, N. Stein, N. Sreenivasulu, T. Komatsuda, T. Schnurbusch	Proc Natl Acad Sci U S A	110(32)	13198-13203	2013	8
5	①	横浜市立大学、農業生物資源研究所、千葉大学	Variation in the wheat AP2 homoeologs, the genes underlying lodicule development	S. Ning, N. Wang, S. Sakuma, M. Pourkheirandish, T. Koba, T. Komatsuda	Breed Sci	63(3)	255-266	2013	9

6	①	農業生物資源研究所	An alternative mechanism for cleistogamy in barley	N. Wang, S. Ning, M. Pourkheirandish, I. Honda, T. Komatsuda	Theor Appl Genet	126(11)	2753 – 2762	2013	11
7	①	農業生物資源研究所、作物研究所、他	bex-db: Bioinformatics workbench for comprehensive analysis of barley-expressed genes	T. Tanaka, H. Sakai, N. Fujii, F. Kobayashi, S. Nakamura, T. Itoh, T. Matsumoto, J. Wu	Breed Sci	63(4)	430-434	2013	12
8	①	農業生物資源研究所、岡山大学、作物研究所	Transcriptome analysis of barley identifies heat shock and HD-Zip I transcription factors up-regulated in response to multiple abiotic stresses	Takashi Matsumoto, Hiromi Morishige, Tsuyoshi Tanaka, Hiroyuki Kanamori, Takao Komatsuda, Kazuhiro Sato, Takeshi Itoh, Jianzhong Wu, Shingo Nakamura	Mol. Breed.	34	761-768	2014	8
9	①	信州大学、農業生物資源研究所	Expression level of a flavonoid 3'-hydroxylase gene determines pathogen-induced color variation in sorghum	H. Mizuno, T. Yazawa, S. Kasuga, Y. Sawada, J. Ogata, T. Ando, H. Kanamori, J. Yonemaru, J. Wu, M. Y. Hirai, T. Matsumoto, H. Kawahigashi	BMC Res Notes	7	761	2014	10
10	①	農業生物資源研究所	An Epiallele at cly1 Affects the Expression of Floret Closing (Cleistogamy) in Barley	N. Wang, S. Ning, J. Wu, A. Tagiri, T. Komatsuda	Genetics	199(1)	95-104	2015	1
11	①	作物研究所、農業生物資源研究所	Diversification of the promoter sequences of wheat Mother of FT and TFL1 on chromosome 3A	Shingo Nakamura, Chono Makiko, Zdenek Stehno, Vojtech Holubec, Hiromi Morishige, Mohammad Pourkheirandish, Hiroyuki Kanamori, Jianzhong Wu, Takashi Matsumoto, Takao Komatsuda	Mol. Breed.	35	164-172	2015	7
12	①	道総研中央農業試験場、道総研北見農業試験場、農業生物資源研究所	Resistance to wheat yellow mosaic virus in Madsen wheat is controlled by two major complementary QTLs	T. Suzuki, M. N. Murai, T. Hayashi, S. Nasuda, Y. Yoshimura, T. Komatsuda	Theor Appl Genet	128(8)	1569 – 1578	2015	8

13	②	金沢大学, 岡山大学	ムギ類赤かび病菌が産生するトリコテセン系かび毒の植物における作用機構と低減化へのアプローチ	西内 巧, 木村 真, 佐藤 和広	JSM Mycotoxins	65	143-147	2015	9
14	①	岡山大学	Genome-wide association mapping of cadmium accumulation in different organs of barley	D. Wu, K. Sato, J. F. Ma	New Phytol	208(3)	817-829	2015	11
15	①	ホクレン農業総合研究所	A causal gene for seed dormancy on wheat chromosome 4A encodes a MAP kinase kinase	Atsushi Torada, Michiya Koike, Taiichi Ogawa, Yu Takenouchi, Kazuki Tadamura, Jianzhong Wu, Takashi Matsumoto, Kanako Kawaura, Yasunari Ogihara	Curr Biol	26(6)	782-787	2016	3
16	①	農研機構 次世代作物開発研究センター	Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 3 Regulates Seed Dormancy in Barley.	Shingo Nakamura, Mohammad Pourkheirandish, Hiromi Morishige, Yuta Kubo, Masako Nakamura, Kazuya Ichimura, Shigemi Seo, Hiroyuki Kanamori, Jianzhong Wu, Tsuyu Ando, Goetz Hensel, Mohammad Sameri, Nils Stein, Kazuhiro Sato, Takashi Matsumoto, Masahiro Yano,	Curr Biol	26(6)	775-781	2016	3
17	①	帯広畜産大学	Detection of QTLs for traits associated with pre-harvest sprouting resistance in bread wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.)	Liangzi Cao, Kazuki Hayashi, Mayumi Tokui, Masahiko Mori, Hideho Miura, Kazumitsu Onishi	Breed. Sci.	66(2)	260-270	2016	4
18	②	岡山大学	Toxic Heavy Metal and Metalloid Accumulation in Crop Plants and Foods	Clemens, S., J. F. Ma	Annu. Rev. Plant Biol.	67	489-512	2016	4
19	①	NICS	The sorghum gene for leaf color changes upon wounding (P) encodes a flavanone 4-reductase in the 3-deoxyanthocyanidin biosynthesis pathway	Kawahigashi H, Kasuga S, Sawada Y, Yonemaru J, Ando T, Kanamori H, Wu J, Mizuno H, Momma M, Fujimoto Z, Yokota Hirai M, Matsumoto T	G3: Genes, Genomes, Genetics	6(5)	1439-1447	2016	5

20	①	岡山大学, 農研機構 次世代作物開発研究センター	Alanine aminotransferase controls seed dormancy in barley.	Kazuhiro Sato, Miki Yamane, Nami Yamaji, Hiroyuki Kanamori, Akemi Tagiri, Julian G. Schwerdt, Geoffrey B. Fincher, Takashi Matsumoto, Kazuyoshi Takeda, Takao Komatsuda	Nat Commun	7	1162 5	2016	5
21	①	農研機構 次世代作物開発研究センター	Wheat yellow mosaic virus resistance in wheat cultivar Madsen acts in roots but not in leaves	Cheng Liu, Takako Suzuki, Kohei Mishina, Antje Habekuss, Angelika Ziegler, Chao Li, Shun Sakuma, Guoxiong Chen, Mohammad Pourkheirandish, Takao Komatsuda	J. Gen. Plant Pathol.	82(5)	261- 267	2016	9
22	①	IPK, 農研機構	VRS2 regulates hormone-mediated inflorescence patterning in barley	Toussier HM, Eggert K, Koppolu R, Alqudah AM, Poursarebani N, Fazeli A, Sakuma S, Tagiri A, Rutten T, Govind G, Lundqvist U, Graner A, Komatsuda T, Sreenivasulu N, Schnurbusch T	Nat Genet	49(1)	157- 161	2016	11
23	①	NICS	Expression of Flavone Synthase II and Flavonoid 3'-Hydroxylase is Associated with Color Variation in Tan-colored Injured Leaves of Sorghum	Takayuki Yazawa Hiroshi Mizuno, Yuji Sawada Shigemitsu Kasuga, Yuko Ogo Hiroyuki Kanamori, Masami Y. Hirai, Takashi Matsumoto, Hiroyuki Kawahigashi	Frontiers in Plant Science	7	1718	2016	11
24	①	岡山大学資源植物科学研究所	The HvNramp5 Transporter Mediates Uptake of Cadmium and Manganese, But Not Iron	Dezhi Wu, Naoki Yamaji, Miki Yamane, Miho Kashino-Fujii, Kazuhiro Sato, Jian Feng Ma	Plant Physiol	172	1899 - 1910	2016	11
25	①	次世代作物センター	Characterization and genetic mapping of the β -diketone deficient eceriferum-b barley mutant	Qin Zhou, Chao Li, Kohei Mishina, Jiecai Zhao, Jiwei Zhang, Ruijun Duan, Xiaoying Ma, Aidong Wang, Qianxiang Meng, Takao Komatsuda, Guoxiong Chen	Theor Appl Genet	130(6)	1169 - 1178	####	3

26	①	岡山大学、帯広畜産大学	Sequence differences in the seed dormancy gene Qsd1 among various wheat genomes	Kazumitsu Onishi, Miki Yamane, Nami Yamaji, Mayumi Tokui, Hiroyuki Kanamori, Jianzhong Wu, Takao Komatsuda and Kazuhiro Sato	BMC Genomics	18	497	####	4
27	①	岡山大学、金沢大学	Nicotinamide mononucleotide and related metabolites induce disease resistance against fungal phytopathogens in Arabidopsis and barley.	Miwa A, Sawada Y, Tamaoki D, Yokota Hirai M, Kimura M, Sato K, Nishiuchi T	Scientific Reports	7(1)	####	####	7
28	①	農研機構 次世代作物開発センター、岡山大学	Quantitative trait loci and maternal effects affecting the strong grain dormancy of wild barley (<i>Hordeum vulgare</i> ssp. <i>spontaneum</i>)	Nakamura, S., M. Pourkheirandish, H. Morishige, M. Sameri, K. Sato and T. Komatsuda	Frontiers in Plant Sci.	8	####	####	10
29	①	次世代作物センター	A GDSL-Motif Esterase/ Acyltransferase/Lipase is responsible for leaf water retention in barley	Chao Li, Guoxiong Chen, Kohei Mishina, Naoki Yamaji, Jian Feng Ma, Fumiko Yukuhiro, Akemi Tagiri, Cheng Liu, Mohammad Pourkheirandish, Nadia Anwar, Masaru Ohta, Pengshan, Zhao, Udda Lundqvist, Xinrong Li and Takao Komatsuda	Plant Direct	1(5)	e00025	####	11
30	①	次世代作物センター	Extreme suppression of lateral floret development by a single amino acid change in the VRS1	Shun Sakuma, Udda Lundqvist, Yusuke Kakei, Venkatasubbu Thirulogachandar, Takako Suzuki, Kiyosumi Hori, Jianzhong Wu, Akemi Tagiri, Twan Rutten, Ravi Koppolu, Yukihiisa Shimada, Kelly Houston, William T. B. Thomas, Robbie Waugh, Thorsten Schnurbusch, Takao	Plant Physiol	175(4)	1720-1731	####	11
31	①	次世代作物センター	Elucidation of the origin of “agriocrithon” based on domestication genes questions the hypothesis that Tibet is one of the centers of barley domestication	Pourkheirandish, Mohammad; Kanamori, Hiroyuki; Wu, Jianzhong; Sakuma, Shun; Blattner, Frank; Komatsuda, Takao	The Plant Journal		Accepted		

(2)学会等発表(口頭またはポスター)

整理番号	タイトル	発表者名	機関名	学会等名	発行年	発行月
1	bex-db: Bioinformatics workbench for comprehensive study of barley expressed genes	Tanaka T, Sakai H, Fujii N, Nakamura S, Matsumoto T, Itoh T, Wu J	農業生物資源研究所, 作物研究所	Plant & Animal Genome Asia 2013	2013	3
2	Characterization of cleistogamous flowering and TaAP2 homoeologs in wheat	K. Kakeda, K. Ishigaki, S. Ning, M. Tomokazu, T. Komatsuda	三重大学, 農業生物資源研究所	12th International Wheat Genetics Symposium (IWGS)	2013	9
3	ソルガム紫斑点病の病斑色を決定する遺伝子の解析	川東広幸, 春日重光, 澤田有司, 安藤露, 米丸淳一	農業生物資源研究所, 信州大学	第31回日本植物細胞分子生物学会講演要旨	2013	9
4	A Wheat Homologue of MOTHER OF FT AND TFL1 acts in the regulation of germination	中村信吾	作物研究所	6th Crop Science Seminar in East Asia 2013	2013	10
5	Six-rowed spike 4 (vrs4)はオオムギ小穂および小花の決定性を制御する	小松田 隆夫, 佐久間 俊, Anwar Nadia, Koppolu Ravi, Pourkheirandish Mohammad, 田切明美, Schnurbusch Thorsten	農業生物資源研究所, 横浜市立大学	日本育種学会第124回講演会 講演要旨集 育種学研究	2013	10
6	オオムギの閉花受粉性の分子機構	小松田 隆夫, 王 寧	農業生物資源研究所	日本育種学会第124回講演会 講演要旨集 育種学研究	2013	10
7	オオムギ野生種の自家不和合性における雌性S候補因子のハプロタイプ特異的花粉阻害効果の検証	橋本 翔, 浅原 亮介, 平松 拓実, 岩野 恵, 掛田 克行	三重大学	日本育種学会第124回講演会 講演要旨集 育種学研究	2013	10
8	オオムギ野生種の二遺伝子座(S-Z)自家不和合性機構	掛田克行	三重大学	日本育種学会第124回講演会 講演要旨集 育種学研究	2013	10

9	ソルガムにおける紫斑点病の病斑色の遺伝子の解析	川東広幸, 春日重光, 澤田有司, 安藤露, 米丸淳一	農業生物資源研究所, 信州大学	日本育種学会第124回講演会 講演要旨集 育種学研究	2013	10
10	Genotypic difference in tolerance and accumulation of cadmium in barley	呉 徳志, 馬 建鋒	岡山大学	第109回日本土壤肥料学会関西支部講演会	2013	11
11	A novel waxy allele in sorghum landraces in Taiwan and Japan	Kawahigashi H, Oshima M, Nishikawa T, Okuizumi H, Kasuga S, Yonemaru J	信州大学, 農業生物資源研究所	Symposium of Molecular Breeding of Forage and Turf	2014	1
12	Polymorphisms in the wheat AP2 homoeologs orthologous to the barley cleistogamy gene Cly1	K. Kakeda, S. Ning, T. Komatsuda	三重大学, 農業生物資源研究所	XXII Plant and Animal Genome	2014	1
13	ソルガムの成葉色P遺伝子のマップベースクローニング	川東広幸, 春日重光, 米丸淳一, 安藤露, 金森裕之, 呉健忠, 水野浩志, 門間充, 藤本瑞, 松本隆	農業生物資源研究所, 信州大学	第60回 草地学会宮崎大会	2014	1
14	ソルガム類の茎葉関連形質の評価	北原茉依, 川東広幸, 米丸淳一, 春日重光	農業生物資源研究所, 信州大学	第60回 草地学会宮崎大会	2014	1
15	6B染色体に座乗する「蘇麦3号」由来の赤かび病抵抗性QTL	鈴木孝子, 足利奈奈, 神野裕信	道総研 中央農業試験場	日本育種学会第125回講演会 講演要旨集 育種学研究	2014	3
16	ニコチンアミドモノヌクレオチドによる植物の病害抵抗性誘導の解析	三輪晃敬, 澤田有司, 平井優美, 佐藤和広, 西内巧	岡山大学, 金沢大学	日本植物生理学会	2014	3

17	麦類の種子休眠制御遺伝子の解析	中村信吾, Mohammad Pourkheirandish, 森重弘美, 久保佑 太, 中村雅子, 市村 和也, 川東広幸, Goetz Hensel, Mohammad Sameri, 安倍史高, 佐藤和 広, 金森裕之, 吳 健忠, 松本隆, 矢野 昌裕, 小松田隆夫	作物研究所, 岡山大学, 農業 生物資源研究所	第55回日本植物生 理学会年会	2014	3
18	Bex-db:A barley full-length cDNA sequence and expression database for Triticeae genome analysis	Tanaka T, Yazawa T, Sakai H, Fujii N, Kobayashi F, Nakamura S, Itoh T, Matsumoto T, Wu J	農業生物資源研究所, 作物 研究所	2014 CSHL Meeting on The Biology of Genomes	2014	5
19	Development of bioinformatics workbench, bex-db, available for comprehensive analysis of barley expressed genes	Wu J, Tanaka T, Yazawa T, Sakai H, Fujii N, Kobayashi F, Nakamura S, Itoh T, Matsumoto T	農業生物資源研究所, 作物 研究所	Joint EUCARPIA Cereal Section & ITMI Conference	2014	6
20	Identification of the Seed dormancy Gene SD2 in Barley, using a TILLING approach	Mohammad Pourkheirandish, Nils Stein, Mohammad Sameri, Takao Komatsuda, Shingo Nakamura	農業生物資源研究所, 作物 研究所	(1st International Workshop on Barley Mutant Research	2014	6
21	Regulatory role of microRNA172 in barley flower opening	N Anwar, T Yazawa, A Tagiri, M Sakuma, M Pourkheirandish, T Nussbaumer, T Komatsuda	農業生物資源研究所, 横浜 市立大学	EUCARPIA Cereal Section & ITMI Conference 2014	2014	6

22	Six-rowed spike genes regulatory network in barley	Shun Sakuma, Shinji Kikuchi, Hiroyuki Kanamori, Takayuki Yazawa, Youko Oono, Jianzhong Wu, Takao Komatsuda	千葉大学, 横浜市立大学, 農業生物資源研究所	EUCARPIA Cereals Section – ITMI Joint Conference, Book of Abstracts	2014	6
23	ニコチンアミドモノヌクレオチドによる植物の病害抵抗性誘導の解析	三輪晃敬, 澤田有司, 平井優美, 佐藤和広, 西内巧	岡山大学, 金沢大学	植物病理学会大会	2014	6
24	赤かび病抵抗性及びかび毒感受性に関わるUBQ/RPS27a遺伝子の機能解析	佐々木亮輔, 三輪晃敬, 加藤智朗, 古賀博則, 木村真, 佐藤和広, 西内巧	岡山大学, 金沢大学	植物病理学会大会	2014	6
25	ホウキモロコシ (<i>Sorghum vulgare</i>) の穂型に関する遺伝学的解析	保崎翼, 中村(荒木)聡子, 松岡信, 北野英己, 佐塚隆志	名古屋大学	日本育種学会第126回講演会 講演要旨集 育種学研究	2014	9
26	ELISAによるコムギ根からのコムギ縮萎縮ウイルスの検出	堀田治邦, 鈴木孝子, 小倉玲奈	道総研 中央農業試験場	日本植物病理学会北海道部会	2014	10
27	Identification of cer-zv, a gene responsible for cutin formation in the barley leaf cuticle.	Chao Li, Guoxiong Chen, Kohei Mishina, Mohammad Pourkheirandish, Cheng Liu, Nadia Anwar, Pengshan Zhao, Udda Lundqvist, Christiane Nawrath, Takashi R. Endo, Takao Komatsuda	農業生物資源研究所	Plant and Animal Genome XXIII	2015	1

28	Cadmium uptake is mediated by a manganese transporter, HvNramp5 in barley	Dezhi Wu, Naoki Yamaji, Miki Yamane, Miho Kashino, Kazuhiro Sato, Jian Feng Ma	岡山大学	日本植物生理学会第56回年会	2015	3
29	コムギ種子休眠性遺伝子座Phs1の同定	厩田淳史, 小池倫也, 小川泰一, 竹之内悠, 呉健忠, 忠村一毅, 松本隆, 川浦加奈子, 荻原保成	ホクレン農業総合研究所, 農業生物資源研究所	日本育種学会第127回講演会	2015	3
30	マップベースクローニングによるオオムギ種子休眠QTL SD2の原因遺伝子の単離	中村信吾, Mohammad Pourkheirandish, 森重弘美, 久保佑太, 中村雅子, 市村和也, 瀬尾茂美, 金森裕之, 呉健忠, 安藤露, Goetz Hensel, Mohammad Sameri, Nils Stein, 佐藤和広, 松本隆, 矢野昌裕, 小松田隆夫	作物研究所, 岡山大学, 農業生物資源研究所	日本育種学会第127回講演会	2015	3
31	信大育成系統12RIL3の茎葉関連形質および乾物生産性の評価	北原茉依, 川東広幸, 米丸淳一, 春日重光	農業生物資源研究所, 信州大学	日本草地学会誌	2015	3
32	オオムギ種子休眠性Qsd1の同定と解析	佐藤和広	岡山大学	第19回穂発芽研究会	2015	6
33	休眠制御に関わるMFT遺伝子とSD2遺伝子の同定と育種への応用	中村信吾	作物研究所	第19回穂発芽研究会	2015	6
34	Molecular mechanisms of cadmium accumulation in cereal crops	J. F. Ma, N Yamaji, A Sasaki, D. Ueno, D. Wu	岡山大学	13th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements	2015	7

35	ソルガムの紫斑点病感染時における多様な葉の色は、Flavonoid 3'-hydroxylase遺伝子の発現量で決まる	水野浩志, 谷澤隆之, 春日重光, 澤田有司, 緒方旬, 安藤露, 金森裕之, 米丸淳一, 呉健忠, 平井優美, 松本隆, 川東広幸	信州大学, 農業生物資源研究所	育種学研究	2015	9
36	ソルガム茎葉のバイオマス関連遺伝子のQTL解析	川東広幸, 米丸淳一, 北原茉依, 春日重光	農業生物資源研究所, 信州大学	育種学研究	2015	9
37	コムギの葉および根におけるコムギ縞萎縮ウイルスの検出推移	堀田治邦, 鈴木孝子	道総研 中央農業試験場	平成27年度日本植物病理学会北海道部会	2015	10
38	コムギ縞萎縮病汚染圃場で栽培したコムギ品種におけるウイルスの定量	鈴木孝子, 堀田治邦	道総研 中央農業試験場	平成27年度日本植物病理学会北海道部会	2015	10
39	コムギ4A染色体上における芒抑制遺伝子座(Hd座)近傍に検出された種子休眠性QTL	吉川光貴, 曹良子, 三浦秀穂, 大西一光	帯広畜産大学	日本育種学会・日本作物学会 北海道談話会	2015	12
40	An cly1 epiallele affects the expression of floret closing (cleistogamy) in barley.	Takao Komatsuda	生物研	第57回日本植物生理学会年会シンポジウム	2016	3
41	オオムギcly1座における閉花性から開花性への復帰突然変異の解析	掛田克行, 友員正博, 王寧, 劉成, 小松田隆夫	三重大学, 生物研	日本育種学会第129回講演会	2016	3
42	オオムギのmiR172による閉花性遺伝子cly1の翻訳抑制について	Anwar Nadia, 太田賢, 谷澤隆之, 佐藤豊, 田切明美, 佐久間麻里, Nussbaumer Thomas, Bregitzer Phil, Pourkheirandish Mohammad, 呉健忠, 小松田隆夫	生物研, MIPS(ドイツ), USDA-ARS, National Small Grains Germplasm Research Facility(米国)	日本育種学会第129回講演会	2016	3

43	Gene regulation and editing of the barley cleistogamy 1.	Takao Komatsuda, N. Anwar, M. Ohta, T. Yazawa, A. Tagiri, M. Sakuma, T. Nussbaumer, M. Pourkheirandish	農研機構、MIPS(ドイツ)、USDA-ARS, National Small Grains Germplasm Research Facility(米国)	The 12th International Barley Genetics Symposium	2016	6
44	Isolation of seed dormancy QTL Qsd1 in barley	Kazuhiro Sato, Kazuyoshi Takeda, Takashi Matsumoto, Takao Komatsuda	岡山大学、次世代作物開発センター	12th International barley genetics symposium	2016	6
45	Dual expressional regulation of cly1 for cleistogamy (florete closing) in barley.	Takao Komatsuda	農研機構	7th International Crop Science Congress	2016	8
46	Grain in the rain: East Asia as a nursery for PHS tolerance genes in wheat and barley	Shingo Nakamura	次世代作物開発センター	13th International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals	2016	9
47	オオムギのカドミウム集積QTLの同定	呉徳志, 藤井美帆, 佐藤和広, 馬建鋒	岡山大学	日本土壌肥料学会	2016	9
48	オオムギ種子休眠性QTL Qsd1の単離と機能解析	佐藤和広, 武田和義, 松本隆, 小松田隆夫	岡山大学、次世代作物開発センター	日本育種学会第130回講演会	2016	9
49	ソルガムの障害応答時の成葉色P/tan遺伝子のマップベースクローニング	川東広幸, 春日重光, 米丸淳一, 安藤露, 金森裕之, 呉健忠, 水野浩志, 門間充, 藤本瑞, 松本隆	NICS	日本育種学会	2016	9
50	East Asia is a nursery for Pre-Harvest Sprouting (PHS) tolerance genes in wheat and barley	Shingo Nakamura	次世代作物開発センター	8th Crop Science Seminar in East Asia 2016	2016	10

51	The potential of barley/wheat orthology to advance cereal grain yield	Takao Komatsuda	次世代作物センター	4th International Scientific Conference "Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology (Plantgen2017)	2017	5
52	Resistance to wheat yellow mosaic virus in Madsen wheat is controlled by two major complementary QTLs.	Takako Suzuki	Agricultural Research Department, Hokkaido Research Organization, Hokkaido, Japan	4th International Scientific Conference "Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology" (Plantgen2017)	2017	5
53	The acquisition of rachis brittleness in the evolution of Triticeae	Takao Komatsuda	次世代作物センター	8th International Triticeae Symposium	2017	6
54	Mapping of a gene responsible for Cd tolerance in barley	Gui Jie Lei, De Zhi Wu, Kazuhiro Sato and Jian Feng Ma	岡山大学資源植物科学研究所	日本土壌肥料学会	2017	9
55	ムギ類の穂発芽耐性	中村信吾	農研機構 次世代作物開発研究センター	第132回日本育種学会講演会	2017	10
56	Structure and function of a major seed dormancy gene in barley	Kazuhiro Sato and Takao Komatsuda	岡山大学	育種学会第132回講演会	2017	10
57	Isolation of a resistance gene against wheat yellow mosaic virus.	Takako Suzuki	Hokkaido Research Organization, Sapporo, Japan	Japanese Society of Breeding, International Workshop – Barley and wheat orthologous genes, their structure, function and application.	2017	10

58	Precision mutagenesis of miRNA172 target sequence involved in cleistogamy in rice.	Namie Ohtsuki, Takao Komatsuda, Hitoshi Yoshida, Ayako Nishizawa-Yokoi, Keishi Osakabe, Hiroaki Saika, Seiichi Toki	農研機構 次世代作物開発研究センター	International Workshop- Barley and wheat orthologous genes, their structure, function and application. Japanese Society of Breeding	2017	10
59	The acquisition of rachis brittleness in the evolution of Triticeae	Takao Komatsuda	次世代作物センター	4th International Vavilov Conference	2017	11
60	Fining mapping of a QTL gene for Cd accumulation in barley	Gui Jie Lei, Miho Fujii-Kashino, De Zhi Wu, Naoki Yamaji, Kazuhiro Sato and Jian Feng Ma	岡山大学資源植物科学研究所	日本植物生理学会	2018	3
61	ソルガム茎葉形質のQTL解析	川東広幸・米丸淳一・北原茉依・春日重光	次世代作物開発センター	草地学会	2018	3

(3) 出版図書

区分：①出版著書、②雑誌(注)(1)学術論文に記載したものを除く、重複記載をしない。)、③年報、④広報誌、⑤その他

整理番号	区分	著書名(タイトル)	著者名	機関名	出版社	発行年	発行月
1	②	化学と生物(コムギの種子休眠性を制御する遺伝子-MFT遺伝子の発芽抑制能-)	中村信吾	作物研究所		2013	5
2	②	化学(オオムギの種子休眠制御のしくみを解明)	佐藤和広	岡山大学		2016	
3	②	ニューカントリー(穂発芽遺伝子を発見)	席田淳史	ホクレン農業総合研究所		2016	9
4	②	米麦改良(ムギ類の穂発芽耐性に関与するMKK3遺伝子)	中村信吾	次世代作物開発センター		2016	9
5	②	グリーンテクノ情報(小麦の穂発芽に関わる種子休眠性遺伝子)	席田淳史, 小池倫也	ホクレン農業総合研究所		2016	12
6	②	バイオサイエンスとインダストリー(オオムギ種子休眠遺伝子の発見で変わる麦芽製造)	佐藤和広	岡山大学		2017	1

(4)国内特許権等

整理番号	特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	機関名	特許権 等の種 類	番号	出願年月日	取得年月 日
1	小麦種子休眠に関するMFT 遺伝子及びその利用	中村信吾, 三浦秀穂, 荻原保成, 松本隆	生物研	生物研	特許権	特許第5339506号	2008年9月25日	2013年11月13日
1	1に係る共同出願	同上	作物研	作物研	同上	同上	同上	同上
1	1に係る共同出願	同上	帯広畜産大	帯広畜産大	同上	同上	同上	同上
1	1に係る共同出願	同上	横浜市立大	横浜市立大	同上	同上	同上	同上
2	植物の種子休眠性を支配する 遺伝子およびその利用	小松田 隆夫, 松本 隆, 中村 信吾, 席田 淳史, 小池 倫也	農業生物資源研究 所	農業生物資源研究 所	特許権	特許第5776958号	2010年11月30日	2015年7月17日
2	2に係る共同出願	同上	農業・食品産業技 術総合研究機構	農業・食品産業技 術総合研究機構	同上	同上	同上	同上
2	2に係る共同出願	同上	ホクレン農業協同 組合連合会	ホクレン農業協同 組合連合会	同上	同上	同上	同上
3	はるな二条Qsd1	佐藤和広	岡山大学	岡山大学	特許権	第325656号	2017/11/2	

(5)国際特許権等

整理番号	特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	機関名	特許権 等の種 類	番号	出願年月日	取得年月 日	出願国
	「該当無し」								

(6)報道等

区分:①プレスリリース、②新聞記事、③テレビ放映、④その他

区分	記事等の名称	掲載紙・放送社名等	掲載年	掲載月	掲載日	機関名	備考
①	ムギ類の穂発芽に関する遺伝子を発見－ 穂発芽(ほはつが)しにくい品種の開発が効 率的に－		2016	3	31	作物研究所、農業生物資源 研究所、ホクレン農業総合研 究所、横浜市立大学	
①	オオムギの休眠を制御する新たな仕組みを 発見－降雨による収穫前の発芽防止が可能 に－		2016	5	16	岡山大学、農研機構次世代 作物開発研究センター	

(7) 普及に移しうる成果

区分: ①普及に移されたもの、製品化して普及できるもの、②普及のめどがたったもの、製品化して普及のめどがたったもの、③主要成果として外部評価を受けたもの

区分	成果の名称	機関名	普及(製品化) 年月		主な利用場面	普及状況
			年	月		
③	第72回山陽新聞賞(学術功労)	岡山大学	2014	1		
③	日本醸造協会技術賞(ビールの泡品質を良くするためのプロテオーム解析とそのビール大麦育種への応用)	岡山大学	2017	10		

(8) 発表会の主催の状況

(シンポジウム・セミナー等を記載する。)

整理番号	発表会の名称	年月日			開催場所	参加者数	機関名	備考
1	「該当無し」							
2	ムギ類に共通する有用遺伝子の構造と機能	2017	10	7	岩手大学	100	農研機構 次世代作物開発センター、岡山大学	
3	International Workshop - Barley and wheat orthologous genes, their structure, function and application.	2017	10	7	Iwate University, Morioka	60	NICS, NIAS, NARO	

(9) アウトリーチ活動の状況

当事業の研究課題におけるアウトリーチ活動の内容は以下のとおり。

区分: ①一般市民向けのシンポジウム、講演会及び公開講座、サイエンスカフェ等、②展示会及びフェアへの出展、大学及び研究所等の一般公開への参画、

③その他(子供向け出前授業等)

整理番号	区分	アウトリーチ活動	年月日			開催場所	参加者数	主な参加者	機関名	備考
1		「該当無し」								