



NBRP イネ

01

NATIONAL BIORESOURCE PROJECT RICE NEWSLETTER

Feb 2018



栽培イネ (*O. sativa*)

O. rufipogon

Contents

NBRP イネの概要 2

コラム 3

「森島先生と多様性の畑」

Oryzabase Now 4

「新 OryzaGenome の使い方」

NBRP イネ遺伝資源を利用した
最新論文成果概説 5

Technical tips 7

「野生イネの分譲、栽培現場
から」

2017年度 活動報告 8

2018年度 イベント案内 8

栽培イネ (*O. sativa*) の野生祖先種とされる *O. rufipogon* の穂と種子。アジア・オセアニア地域の熱帯から亜熱帯にかけて広く自生し、長い芒や赤米など多くの野生イネに共通した特徴を持つ。

NBRPイネの概要

国立遺伝学研究所 系統生物研究センター
ナショナルバイオリソース・イネ 課題管理者
佐藤 豊

ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)は、ライフサイエンスの基盤となる29の動植物微生物等のバイオリソースの収集・保存・提供業務を行なっています。NBRPイネは、世界各国から収集された野生イネ系統ならびに各種実験系統を収集・保存しており、これらリソースを国内外のイネ研究者に提供しています。ますます多様化する研究者ニーズに応えられるリソース整備を継続するとともに、利用者の皆様の研究に役立つことを目指してNBRPイネは活動しています。

NBRPイネは2002年度にスタートし、5年ごとに内容を見直しながら2017年度に第4期に入りました。第4期は国立遺伝学研究所を中核機関、九州大学を分担機関という体制で事業を進めております。第4期NBRPイネの最大のミッションは、「多くの研究者にイネリソースを利用していただくこと」の一言に尽きます。この目標を達成するために、いくつかの新しい試みをスタートさせています。このニュースレター刊行もその一つです。ニュースレターでは、NBRPイネが保有する様々なリソースに関する情報や野生イネ育成に関する技術的なTipsなどを今後も年一回のペースで紹介する予定です。また、NBRPイネリソースを実際に観察することができるオープンフィールド見学会を、2017年夏に国立遺伝学研究所ならびに九州大学の水田でそれぞれ2回開催しました。オープンフィールドでは、野生イネや野生イネ染色体断片が栽培系統染色体と置換した系統群(染色体断片置換系統群:wCSSL)等の生育状況を実際に見ることができます。今後も、毎年オープンフィールドを開催する予定です。このような様々な情報提供を通して、利用者の皆様にNBRPイネリソースを活用した研究のアイデアを持っていただくことが我々の活動の目的です。

NBRPイネリソースに関する情報については、Oryzabase (<https://shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/>)から随時発信しております。Oryzabaseでは、野生イネのゲノム情報を多数公開しています。トップページにあるOryzaGenomeから様々な野生イネゲノムに関する情報にアクセスできるようになっております。詳しくは、本ニュースレターのOryzabase Now (p. 4)をご覧ください。今後もOryzabaseならびにOryzaGenomeの内容をアップデートし、NBRPイネリソース

を用いた研究に役立てる情報を公開する予定です。

NBRPイネでは、50年以上も前に世界各国から収集された野生イネ系統を多数保存しています。これらは、一度絶えてしまうと二度と復元できない材料です。また、新たに野生イネ遺伝資源を外国から日本に導入することも以前ほど易しくはない時代になっています。ゲノム等の情報基盤整備が進んだ今こそ、NBRPイネが保有する遺伝資源をご利用いただき、利用者の皆様の研究に役立てていただければと思います。今後も、本プロジェクトへのご支援を賜りますようよろしくお願いいたします。

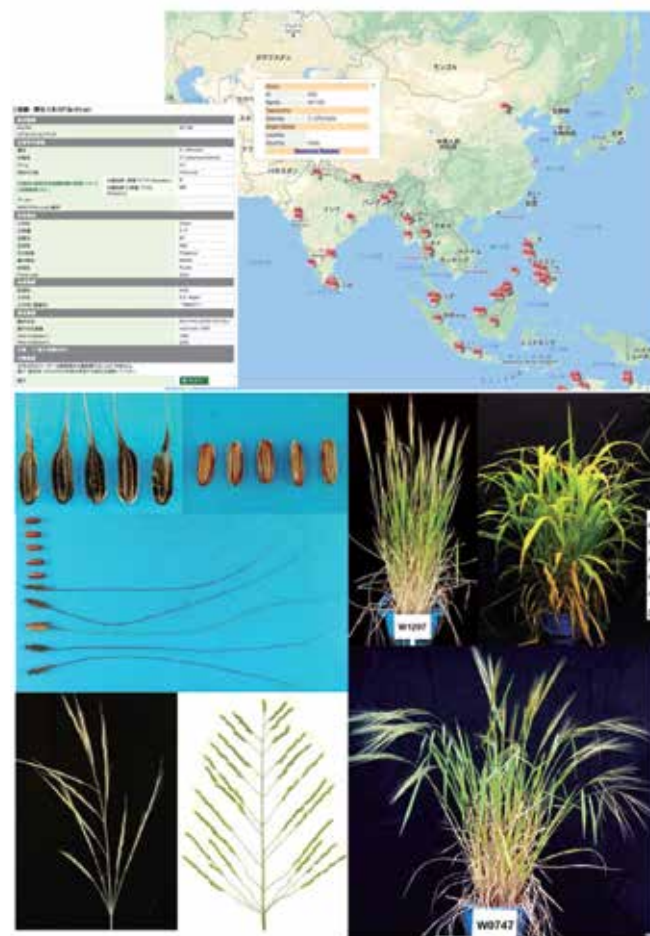


図 Oryzabase では、野生イネの採集地を地図表記することもできる。また、形質情報も閲覧することができる。

Column

森島先生と多様性の畑

国立大学法人帯広畜産大学 畜産学部

秋本 正博

国立遺伝学研究所の森島啓子先生のもとで学生時代を過ごしたのは今から20年も昔になります。もともとは北海道で野生イネの研究を行っていたのですが、うだつが上がらないを見かねてか大学の教授から相撲さながらに出稽古を命じられました。そんな不埒な私を受け入れてくれたのが、森島先生が教授を務め、イネの生態進化や育種の研究を行っていた国立遺伝学研究所の育種遺伝研究室だったので。森島先生は見た目こそ華奢な女性でしたが、体と口がよく動く活力と情熱の塊のような人でした。1950年代から、先代の教授である岡彦一先生と世界中を渡り歩き、当時まだ学術情報の乏しかった野生イネについて分布や生態、遺伝的特徴を明らかにしてきました。森島先生が精力的に野生イネの現地調査を行っていた時代は交通手段や地理情報がまだまだ不十分で、野生イネを探し求めるためには熱帯のただれるような暑さのなかをひたすら歩き回るしかなかったそうです。そのような苦勞の末に採集された系統が、後にイネの研究の発展に多大な貢献を果たしたことは筆舌に尽くし難いところです。野生イネのコアコレクションとしてNBRPに整備されている系統の多くも森島先生と岡先生により採集されたものです。

研究のかたわら、森島先生がしばしば私に話してくださったことがあります。「生き物にはtypical (典型的) なものもなく、全てがユニークな存在なのだ」、「出会いとは導きによる必然的なもので、すべて"Guided by Buddha"なのだ」。後で聞くと、これは師である岡先生の思想を森島先生が意識したものだそうです。お二人とも無神論者であることを公言していましたが、日本人の本質というか、とても仏教的な禅の説法のような言葉です。森島先生は常に多様性の重要さを口にしていました。日々必然として出会う"typicalなもののない生き物たち"の間のわずかな違いを見つけ、その意味を考えることが多様性を理解することであり、生き物を学ぶ者にとって最も大切なことなのだ。

国立遺伝学研究所の実験圃場では、毎年研究や保存系統

の種子更新のため世界中の様々なイネが一堂に栽培されました。赤いものや黒いもの、背の高いものやずんぐりしているもの、眺めていると全てがユニークだという意味が分かります。森島先生はこの実験圃場のことを「多様性の畑」と呼ぶことがありました。栽培されているものの中には、人間活動による攪乱の影響で現地ではすでに絶滅してしまったものも含まれています。もはや自然界では見る事のかなわない多様性がそこにあったのです。

近年、農業の多様性喪失が問題視されています。合理化の追求により、少数の系統から派生したエリート育成品種

が好んで栽培され、先進国などではどこへ行っても立毛が齊一になりました。作物管理の利便性や生産性が向上し、世界の食料供給量が増加したことは確かです。しかし、その代償として病虫害や環境障害に対する柔軟性が失われてしまいました。数年来に見る大豊作か凶作かという作況パターンはその現状を如実に表すものです。さらに日本では、主要農作物種子法の廃

止を受けて、この傾向に拍車がかかることが懸念されています。農業が経済活動である以上仕方がないことではあるのですが、世界が標榜する持続的かつ環境調和型の食料生産を実践するためには、農業が本来持つべき多様性の回復が必要です。これからの育種と品種の多様化にNBRPに整備されている多様な植物系統が必ず貢献していくはずですが、また、そのような活用を図ることが苦勞の末に遺伝資源を採集された先生方の望みなのではないかと思えます。

残念ながら、森島先生はすでに故人となられました。森島先生の葬儀は無神論者らしくとても簡素なものでした。しきたりめいたことは何もなく僧侶もいなければ牧師もいない、森島先生が納棺された棺に参列者が一人ひとり自分のやり方でお祈りをして花を手向けていく、ただそれだけでした。私も当時の研究室のメンバーと一緒に、研究室で育てた稲穂を棺に収めお別れを告げました。棺の中の森島先生は眠っているように静かでしたが、参列者が捧げた色とりどりの植物に囲まれ、あたかも多様性の畑にいるようでした。



パラグアイでの野生イネ調査 (1997)
右から3番目が筆者、4番目が森島先生

新OryzaGenomeの使い方

東京大学大学院 農学生命科学研究科
鐘ヶ江 弘美

Oryzabaseは主にナショナルバイオリソースイネに関わるリソースの情報を提供しています。Oryzabaseの中にあるOryzaGenomeでは、特に野生イネの系統間の進化関係や栽培化に関する解析を支援するため、野生イネのゲノム情報の整備を進めています。次世代シーケンサー(NGS)による近縁遠縁野生イネ19種・栽培イネ2種、208系統のゲノム情報が格納され、条件を指定して検索することが可能です。種(species)レベル、AA・BB・CC・BBCC・CCDD・EE・FF・GGなどのゲノムの種類、一年生・多年生、コアコレクションにおけるRank、原産国の情報を調べることができます(図1)。これらの野生イネゲノムリソース情報は、系統間の多様性解析や進化研究の情報基盤としての活用も期待されます。

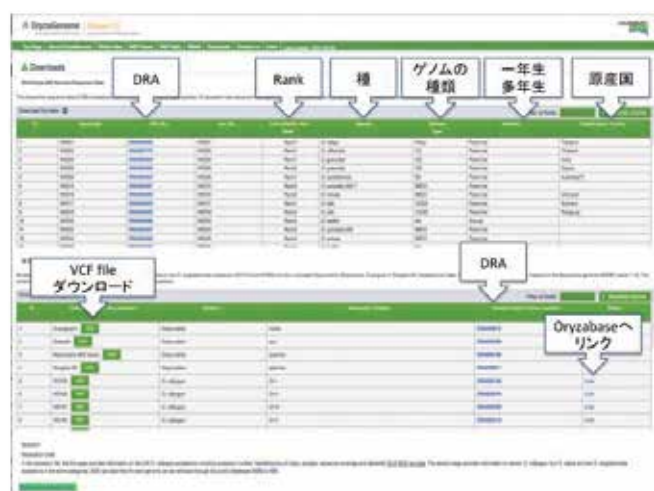


図1. OryzaGenome のダウンロード画面

Downloadsでは*O. rufipogon* 16系統、*O. longistaminata* 2系統、栽培イネ4系統(Nipponbare, Guangluai-4, Nongken-58, Kasalath)、合計36系統の深く読んだNGSデータと、多型情報としてVCF形式のファイルを提供しています(図1)。Oryzabaseとリンクすることで生物学的情報も得ることが出来るだけでなく、系統によってはそのまま分譲依頼も可能です。野生イネ*O. rufipogon* 446系統の欠測を補完した遺伝子型データが公開されており、GWASに利用されています。今後は、表現型情報やGWASの結果もまとめて公開することで、GWASの基盤を整備する予定です。

NGSから出力された大規模なリシーケンシングデータを可視化するため、OryzaGenomeではSNP ViewerとSNP Tableを公開しています。

SNP ViewerではHuangらが2012年にNatureで発表したデータに基づき、選択的なスweepの起こったゲノム領域と、染色体において変

異率の高い領域を表示させています。これらの情報は栽培化の過程で強い選択圧が働いているゲノム領域を調べる上で有効です。また、RAPやMSUのgene modelだけでなく、SD1やGW5などのCGSNL遺伝子名も表示されており、SNP Viewerから遺伝子の情報をすぐに得ることができます。表示の例として図2にGW5遺伝子周辺領域を示していますが、この領域では栽培化において選択圧が働いていることが示されています(図2)。



図2. SNP Viewer によるGW5遺伝子周辺領域の表示
全体で選択圧が働いているゲノム領域を赤線で、*indica* 集団で選択圧が働いているゲノム領域を黄色の線で表示

GWASを行う上で、候補領域中の全ての遺伝子座やSNPと表現型の相関を検出し、原因遺伝子を特定するにはこれまで時間がかかっていました。候補遺伝子の絞り込みを効率化するため、SNP Tableを利用することで、バイオインフォマティクスの知識を必要としないシステムを構築しました。候補領域内に存在するSNPのリスト、SNPの効果、変異をもつ系統のリストを自動的に作成することができます。遺伝子型多型解析において、対象となる遺伝子上のどの位置にSNPが存在しているかを知ることは重要です。翻訳領域にSNPが位置している場合、アレルの違いによるアミノ酸変異の有無を表示しています。またSNPの位置をマップ表示しているために、SNPの種類を視覚的にとらえることが可能です。すでに機能解析が進んでいる栽培化遺伝子について、機能に影響を及ぼすと思われるSNPを簡単に絞り込むことが出来ます。これにより、遺伝子型と表現型との関係を正確に調べることに大きく貢献することが期待されます。

OryzaGenomeでは世界各国から収集された多様な野生イネ系統の比較ゲノム解析やGWASによる重要形質関連遺伝子の同定を高速化するためのリソースの整備に重点を置いています。

オーストラリアの野生イネ *Oryza meridionalis* を利用したイネ種子亜鉛濃度を向上させる遺伝子座の検出

神戸大学大学院 農学研究科 植物育種学研究室
石川 亮

はじめに

亜鉛 (Zn) は多くの動植物を通じて必須の微量栄養元素である。ヒトは日々の食事によって亜鉛を摂取しているが、不足した場合は亜鉛欠乏症が起り人体に悪い影響を及ぼす¹⁾。主要作物の1つであるイネ (*Oryza sativa*) は、他の穀物に比べ種子亜鉛濃度が低く、亜鉛欠乏症が散見されるアジア地域で多く栽培されている。したがって、栽培イネの種子亜鉛濃度を向上させることができれば亜鉛欠乏症の予防に貢献すると考えられる。そこで本研究では、まず遺伝的多様性に富むイネ属近縁野生種を用いて種子亜鉛濃度の比較を行った。そして、それら野生種の中から、オーストラリアの野生イネ *O. meridionalis* が持つ高い種子亜鉛濃度に着目し、原因となる遺伝子座の検出、ならびにその効果について検証を行った。

1. 栽培イネ (*O. sativa*) とイネ属近縁野生種の種子亜鉛濃度の比較

イネ属には20種以上の野生種が存在し、これらには多くの有用農業形質が潜在することが示唆されている。とりわけ栽培イネと同じAゲノムを持つ野生種は、栽培イネとの交雑により次世代が得られることから、育種への即戦力となりうる。Aゲノムを持つ野生イネは、アジアの *O. rufipogon*、南米の *O. glumaepatula*、オーストラリ

アの *O. meridionalis*、アフリカの *O. barthii* と *O. longistaminata* の5種である²⁾。これら野生種のうち、主に栄養繁殖をする *O. longistaminata* を除く4種と栽培イネ2品種 (ジャポニカ型 '日本晴' とインディカ型 'IR36') の種子亜鉛濃度を比較した。その結果、*O. meridionalis* W1627 が最も高い種子亜鉛濃度を示すことが明らかになった (図1A、1B)³⁾。さらに、ナショナルバイオリソース (イネ) により維持されている *O. meridionalis* の他の10系統の種子亜鉛濃度を測定したところ、いずれの系統においても日本晴に比べて高い種子亜鉛濃度を示したことから、*O. meridionalis* の高種子亜鉛濃度は種内で共通することが判明した (図1C、1D)³⁾。

2. *O. sativa* 日本晴と *O. meridionalis* W1627 を用いた戻し交雑自殖系統群の作出

O. meridionalis が持つ高い種子亜鉛濃度を支配する遺伝子座を遺伝学的に同定するために、栽培イネ *O. sativa* 日本晴と *O. meridionalis* W1627 の交配によって作出された戻し交雑自殖系統群を利用した。両者のF₁植物は完全不稔となるため、日本晴で2回戻し交雑を行った後に、単粒系統法によって *O. meridionalis* の導入された染色体断片領域の固定を進めた。得られた日本晴の遺伝背景を持つ戻し交雑自殖系統群159系統について、全ゲノムをカ

パーする計164の分子マーカーを用いて *O. meridionalis* 由来の染色体断片が存在する領域を調査したところ、平均して4.5%の割合で *O. meridionalis* 染色体断片が残存していることが確認された (図2A)³⁾。また、いくつかのマーカー座では、*O. meridionalis* の遺伝子型が全く検出されなかった。これは、近傍に稔性や出穂性を支配する遺伝子座が連鎖しているため、どの系統にも残らなかった

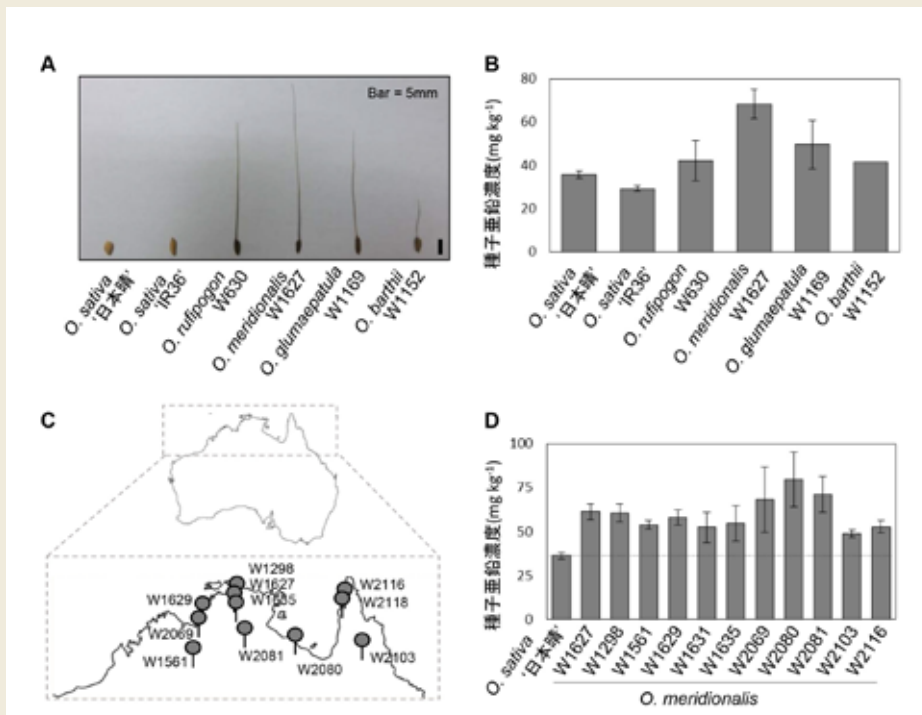
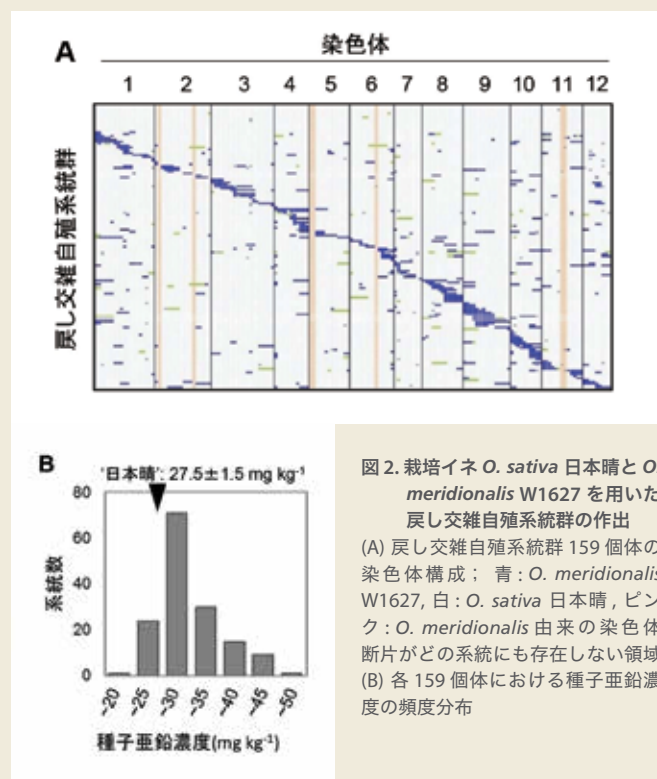


図1. ナショナルバイオリソース (野生イネ遺伝資源) を用いた種子亜鉛濃度の比較 (A, B) 栽培イネ *Oryza sativa* と Aゲノムを持つ野生イネ各系統の種子写真 (A) と種子亜鉛濃度 (B) (C, D) オーストラリア各地にて採種された *O. meridionalis* 系統の位置情報 (C) と種子亜鉛濃度 (D) (注) *O. meridionalis* 各系統の位置情報は Oryzabase より引用 (都市名の場合は付近を表示)

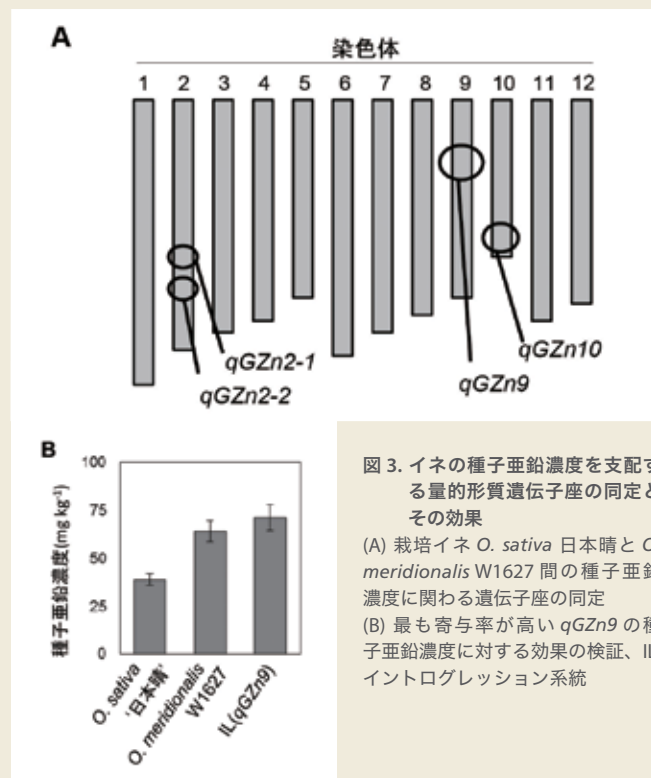
染色体領域であると考えられる。これら戻し交雑自殖系統群の種子亜鉛濃度を測定したところ系統間で種子亜鉛濃度に分離が見られた(図2B)³⁾。



3. イネ種子亜鉛濃度を向上させる量的形質遺伝子座の検出と検証

戻し交雑自殖系統群の種子亜鉛濃度と分子マーカー座の情報に基づいて種子亜鉛濃度に関わる遺伝子座(*qGZn*: *QTLs for Grain Zinc concentration*)の同定を試みたところ、計4つの遺伝子座が検出された(図3A)³⁾。さらに、最も寄与率の大きい遺伝子座 *qGZn9* について、効果の検証を行った。日本晴の遺伝背景において *qGZn9* 領域を野生イネ *O. meridionalis* W1627の染色体断片で持つ系統では、日本晴に比べて高い種子亜鉛濃度を示した(図3B)³⁾。以上の

結果より *qGZn9* 座における *O. meridionalis* W1627の対立遺伝子には有用変異を持つことが推定された。今後は、これらの系統を用いた原因変異の同定、ならびに *O. meridionalis*の対立遺伝子を活用した高種子亜鉛濃度を持つイネの作出が期待される。



謝辞

本研究で用いた各種野生イネ系統は、国立遺伝学研究所(NBRP イネ)から分譲を受けました。また、種子亜鉛濃度の測定は岡山大学資源植物科学研究所による共同研究事業の支援を受け、馬建鋒教授、力石早苗さん、森田明美さんに大変お世話になりました。本研究に関わった神戸大学大学院農学研究科植物育種学研究室の石井尊生教授、岩田雅英氏、谷古健太氏、門田剛太郎氏、宮崎直哉氏、Orn Chhourm 氏、辻村雄紀氏、吉田周作氏らに感謝申し上げます。

参考文献

1, Swamy BPM, Rahman MA, Inabangan-Asilo MA, Amparado A, Manito C, Chadha-Mohanty P, Reinke R, Slamet-Loedin IH. (2016) Advances in breeding for high grain Zinc in rice. *Rice* 9: 49.

2, Doi K, Yasui H, Yoshimura A (2008) Genetic variation in rice. *Curr Opin Plant Biol* 11: 144-148.

3, Ishikawa R, Iwata M, Taniko K, Monden G, Miyazaki N, Orn C, Tsujimura Y, Yoshida S, Ma

JF, Ishii T. (2017) Detection of quantitative trait loci controlling grain zinc concentration using Australian wild rice, *Oryza meridionalis*, a potential genetic resource for biofortification of rice. *PLoS One* 12: e0187224.

野生イネの分譲、栽培現場から

国立遺伝学研究所 技術課 (植物遺伝研究室)
古海 弘康

1. 野生イネの分譲：「Oryzabase」から

NBRP 野生イネ事業は、岡先生、森島先生など遺伝研の先達によって1950年代から収集、増殖、保存されてきた野生イネコレクションを基盤とし、種子、植物体、DNAの分譲を行っている。遺伝研保有の *Oryza* 属20種はもちろん、かつて *Oryza* 属に分類されていた近縁3属の分譲も行っている。

分譲は、Websiteである「Oryzabase」から受け付けている (図1)。注文後は、MTA締結、実費支払い等の手続きが必要だが、ご不明な点はOryzabaseの「ご意見・ご要望はこちら」からお気軽にお問合せのほどを (図1)。

2. 野生イネ栽培：扱いにくい面白い?

野生イネの栽培は面倒なことが少なくない。Oryzabaseに基本的な protocol を掲載している (図1) が、それは万能の処方箋ではない。種間差に加え、種内、アクセスン内にも個体間差があり、目的によってはケースバイケースな対応が必要である。

原生地と異なる環境の日本で野生イネを栽培するには工夫が必要である。その一例として、短日処理だけでは出穂しにくい場合に効果のある「長期温室栽培法」を紹介したい。これは、春先から夏の短日処理開始直前まで温室内で育てることで積算温度を増す方法だ。この方法を試すヒントは、株分けクローン間でも出穂の有無が生じる *O. longistaminata* (W1413) を観察し、出穂した株の方が大きく見えたことと、遺伝研・三島で出穂しなかった幾つかの *O. rufipogon* でも九大附属試験地・鹿児島県指宿では出穂したこと、の2つだった。「長期温室栽培法」をW1413で試したところ、今までせいぜい1~2割だったのを100%出穂させることに成功し、*O. rufipogon* の多くの系統でも出穂効率がアップ (中には殆ど0のものまで出穂) した。

その他、遺伝研で栽培している *O. rufipogon* のいくつかのアク

セッションで観察・調査中のものに、常に1~3穂しか出穂しない (有効分蘗10%未満) 個体や、安定して低い種子稔性 (常に5~10%) の個体等がある。人間には困った性質だが、種子繁殖と栄養繁殖のバランスを取りつつ生きる野生イネには畏敬の念を抱いてしまう。野生イネは、人間の保護と引き換えに栽培イネが失った能力 (野生の生命力?) や遺伝的多様性を持つがゆえに扱いにくい、裏を返せば、その環境に対する柔軟な応答性 (一見「ワイルド」とは真逆の繊細さ) に面白さを抱くのは私だけ?

3. 今後も野生イネに学びながら

最近報告された国際自然保護連合 (IUCN) レッドリストに野生イネ3種が登録された。貴重な野生イネ遺伝資源を多くの研究者に利用して頂き、より一層野生イネの価値が認知されることこそ、その存在を支えるために必要であろう。私も業務を通じてその一助になれるよう、今後も野生イネに学びながら、日々精進していきたい。

野生イネ栽培代行や利用者へのアフターケアも可能な範囲で受けているので、お気軽にOryzabaseからご連絡ください。

図1: Oryzabase

2017年度 活動報告

オープンフィールド見学会

本年度は初めてオープンフィールド（野生イネ遺伝資源見学会）を開催しました。遺伝研と九州大学の実験圃場において7月と9月に開催し、参加者の方々は野生イネ及び野生イネ由来の実験系統を実際にご覧いただきました。野生イネを実際に手にとった参加者からは、施肥方法等の野生イネの育て方について質問があり、担当者がそれに答える場面も見られました。



オープンフィールド (7/21 遺伝研)



オープンフィールド (9/28 九大)

NBRP イネ運営委員会

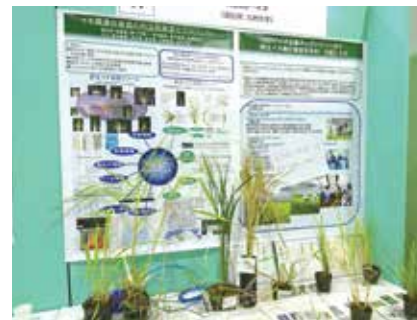
本年度は、11月29日に国立遺伝学研究所において、NBRP イネ運営委員会を開催した。

学会での広報活動

日本植物学会第81回大会
(9月に東京理科大学にて)

ConBio2017
(12月に神戸国際会議場にて)

第133回日本育種学会講演会
(3月に九州大学にて (予定))



NBRP イネ展示会 (12/5 ConBio2017)

2018年度 イベント案内

オープンフィールド
見学会

2018年度もオープンフィールドを国立遺伝学研究所で開催する予定です。野生イネ及び野生イネ由来の実験系統の見学ができるように準備する予定です。もし、実際の植物を観察したいNBRP系統などございましたら、メール (nig_openfield@nig.ac.jp) にてご連絡いただければ、極力ご希望に応えたいと思います。

イネ遺伝学・
分子生物学
ワークショップ

イネ遺伝学・分子生物学ワークショップが7月に国立遺伝学研究所で開催されます。野生イネの特別企画も盛り込む予定です。皆さまのご参加をお待ちしております。

イネ遺伝学・分子生物学ワークショップ2018

2018年7月5日(木)～7月6日(金) 国立遺伝学研究所 講堂

OryzaGenome 講習会も同時開催予定!

NBRPイネ
広報活動

日本育種学会講演会等の学会で展示会を行う予定です。また「国際植物生殖会議2018 (25th ICSPR)」においてNBRPによるスポンサーセッションならびに展示も行います。

「国際植物生殖会議2018 (25th ICSPR)」

2018年6月11日～16日 岐阜県長良川国際会議場

ご興味のある方はぜひお立ち寄りください。

ナショナルバイオリソースプロジェクト
国立遺伝学研究所

〒411-8540 静岡県三島市谷田1111

NBRP



2018年2月 発行

発行者
佐藤 豊