

令和元年6月17日現在

機関番号：23401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19273

研究課題名(和文)「溶けやすさ」を指標としたイネのデンプンの質を制御する遺伝資源の探索

研究課題名(英文) Screening of genes regulating quality of grain starch in rice.

研究代表者

三浦 孝太郎 (Miura, Kotaro)

福井県立大学・生物資源学部・准教授

研究者番号：70571561

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：日本酒の原料となる酒米の重要な形質にデンプン溶解度がある。本研究では、イネの胚乳デンプンの溶けやすさを制御する遺伝子を同定するために、日本のイネ栽培品種を用いたGWASを行った。その結果、デンプン溶解度と第1染色体上の新奇遺伝子に非常に強い相関がある事が明らかになった。この遺伝子には2種類のハプロタイプが存在し、ハプロタイプAはバリンを指定するGTTでデンプン溶解温度が高く、ハプロタイプBはイソロイシンを指定するATTでデンプン溶解温度が有意に低くなっていた。ハプロタイプA型にB型を形質転換したところ、溶解温度が有意に低くなり、この遺伝子はデンプンの溶解性を制御する遺伝子であると結論した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本酒醸造における酒米品種のデンプン溶解度は、酒の風味に大きく影響する、デンプンが溶けやすい品種では味と香りが良く深みのある酒になるが、溶けにくい品種ではあっさりとした軽い風味の酒になってしまう。日本の最高ブランド酒米である山田錦はそのデンプンの溶けやすさから非常に評価が高く、醸造された日本酒も高い評価を受ける場合が多い。本研究課題では、酒米のデンプン溶解性を制御する遺伝子を見出す事に成功した、この成果は、今後の酒米育種においてマーカー育種を用いてデンプン溶解性をコントロールする事を可能にするため、商業的に非常に意義のある成果であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Starch solubility is one of important traits of Brewing-rice cultivars in Japan. In this study, we performed GWAS using Japanese rice varieties to identify novel genes regulating starch solubility. As the results, we found a novel gene locates on chromosome 1, which highly associates with starch solubility. This gene has two haplotypes and haplotype A possessing GTT (valine) and haplotype B possessing ATT (isoleucine) show higher and lower starch solubility, respectively. Since transformant induced haplotype B into haplotype A background show lower starch solubility, we concluded that this gene regulates starch solubility of rice grain.

研究分野：植物分子育種

キーワード：イネ GWAS デンプン溶解性

1. 研究開始当初の背景

イネの可食部である胚乳が含むデンプンには、グルコースが直鎖状に結合したアミロースとグルコースが枝分かれして結合したアミロペクチンがあり、さらにこれらのデンプンにはグルコース鎖長の長い分子と短い分子が存在する。特に、アミロペクチンの鎖長が長いデンプンの場合、不溶性デンプンとなり、糖化するためには高温で溶解させることが必要となる。イネにおいて、鎖長が短く低温でも溶けやすいデンプンを多く含む胚乳を形成することは、日本酒を製造する上で重要視される形質の一つであり、「溶けやすい」米を生産する酒造用イネ品種の育成が全国の農業試験場で試みられている。

2. 研究の目的

本研究課題では、「溶けやすさ」を指標としてイネの有用遺伝資源を探索し、イネの胚乳に含まれるデンプンの質を制御する遺伝子の同定を目指す。

3. 研究の方法

本研究課題では、イネの胚乳に含まれるデンプンの質を制御する遺伝子を同定する目的を達成する為に、以下の3つの小課題を設定した。

小課題1. 酒米及び食用米を含む日本のイネ栽培品種コレクションを用いた「溶けやすさ」を指標とした有用遺伝資源の探索

本課題では、日本のイネ栽培品種コレクションを用いて「溶けやすさ」を指標として有用な形質を有する品種を見出す事を目指す。273系統からなる日本のイネ栽培品種コレクションを福井県立大学実験水田にて栽培し、各系統の開花日、開花日から収穫日までの平均気温、胚乳の「溶けやすさ」との相関を調査する。また、35℃以上の高温条件に設定した温室内でも同コレクションを栽培し、高温栽培条件下でも「溶けやすさ」を維持している品種の選抜を行う。「溶けやすさ」の評価は、1-2%の水酸化カリウム溶液に浸漬することでコメのデンプン崩壊性を比較する「アルカリ崩壊法」及び、水溶液中のデンプンを徐々に高温にする事で糊化温度を決定する糊化温度決定法により測定する。

小課題2. ゲノムワイド関連解析による「溶けやすさ」と関連する遺伝子変異の探索

小課題1の実験で得られた形質データと、SNP情報の関連性をこれまでに構築したプログラムを用いたゲノムワイド関連解析を行う。これにより、「溶けやすさ」を決定づける重要な遺伝子変異を検出した場合は、遺伝子組換えや遺伝子編集技術を用いて当該遺伝子の相補性検定や遺伝子破壊による機能の証明実験を行う。

小課題3. 山田錦早生変異体コレクションを用いた胚乳登熟気温と「溶けやすさ」の相関解析

これまでに、山田錦に変異原処理を行った変異体ライブラリより、山田錦よりも40日から1週間まで開花が早くなる早生変異体を10系統見出している。山田錦及び山田錦早生変異体10系統を実験水田にて栽培し、各系統の開花日、開花日から収穫日までの平均気温、「胚乳の溶けやすさ」を調査する。各系統から成熟途中の胚乳のRNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いた遺伝子発現解析を行い、気温と胚乳の溶けやすさと連動して発現が変動する遺伝子を見つける。

4. 研究成果

本研究課題では、コメ胚乳に含まれるデンプンの「溶けやすさ」を指標としてイネの有用遺伝資源を探索し、デンプンの質を制御する遺伝子の同定を目指し、以下の3つの小課題を実施した。

1. 酒米及び食用米を含む日本のイネ栽培品種コレクションを用いた「溶けやすさ」を指標とした有用遺伝資源の探索

2. ゲノムワイド関連解析による「溶けやすさ」と関連する遺伝子変異の探索
 3. 山田錦早生変異体コレクションを用いた胚乳登熟気温と「溶けやすさ」の相関解析

小課題1および2では、273系統からなるイネ栽培品種コレクションを用いてGWASを行う事により、デンプンの溶けやすさと関連のある遺伝子の特定を目指して研究を実施した。圃場で育てた栽培品種コレクションの胚乳を用いてデンプン溶解度との関連を調査したところ、高い相関を示す10遺伝子座を検出した(図1)。これらの遺伝子座の内、第1染色体上の新奇遺伝子が最も高い相関がある事が明らかになったため、さらに詳細に解析を行った。

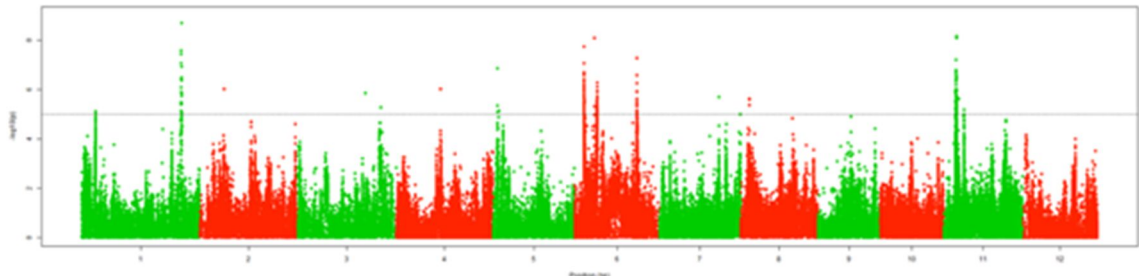


図1.デンプン溶解度と相関のある遺伝子座のマンハッタンプロット
 横軸は染色体上の DNA 多型位置、縦軸は-logP 値を示す。

この第1染色体の遺伝子には、2種類のプロタイプが存在し、プロタイプAはバリンを指定するGTTでデンプン溶解温度が高く、プロタイプBはイソロイシンを指定するATTでデンプン溶解温度が顕著に低くなっていた。(図2)デンプン溶解度が変化すると同時に、この遺伝子は出穂期も変化させており、プロタイプAはBに比べて早く出穂していることも明らかになった(図3A)。プロタイプA型にプロタイプBを形質転換したところ、デンプン溶解度が低くなるとともに出穂が有意に遅くなり(図3B)、この遺伝子はプロタイプBが機能型で出穂を抑制する因子であることが明らかになった。この結果から、この遺伝子はデンプン溶解度と同時に出穂期も制御する遺伝子であると結論づけた。

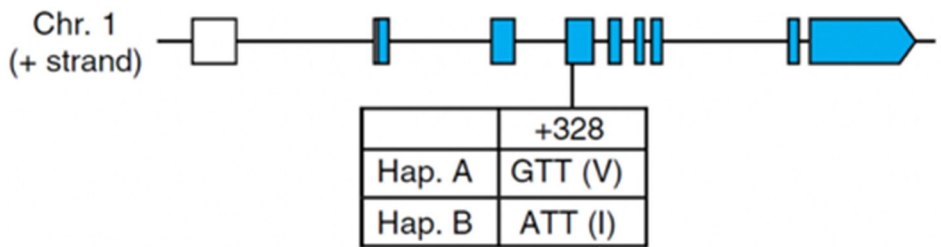


図2.第1染色体に検出された遺伝子座の構造とDNA塩基多型の位置
 この遺伝子には2つのプロタイプAとBが存在し、アミノ酸置換が生じていた。

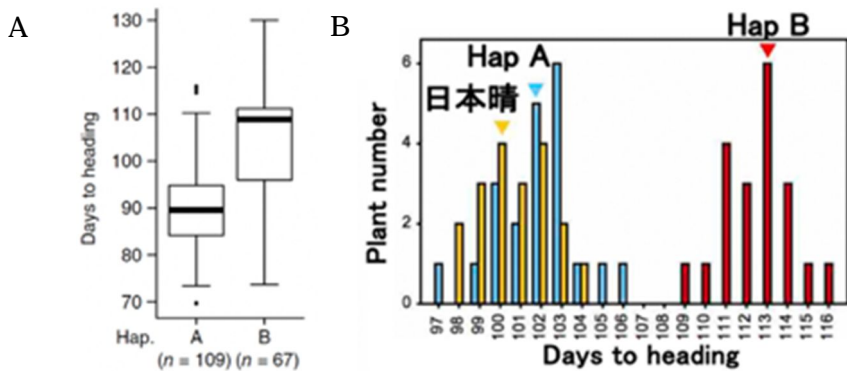


図3.プロタイプ毎の到穂日数の検証
 (A)第1染色体に検出された遺伝子プロタイプ毎の到穂日数の平均値。
 (B)日本晴にプロタイプAとBの遺伝子をそれぞれ導入した形質転換体の到穂日数。
 コントロールは Empty vector を導入した形質転換体(日本晴)。

小課題3では、山田錦背景の早生変異体群を用いてデンプンの溶けやすさが成熟気温に左右される形質かどうかを調査したが、出穂期および出穂後20日間の気温と、デンプン溶解温度は非常に高い相関を示し、 $R^2=0.84$ となり、デンプンの溶けやすさは山田錦においてもほぼ気温によって制御されていると結論づけた(図4)。

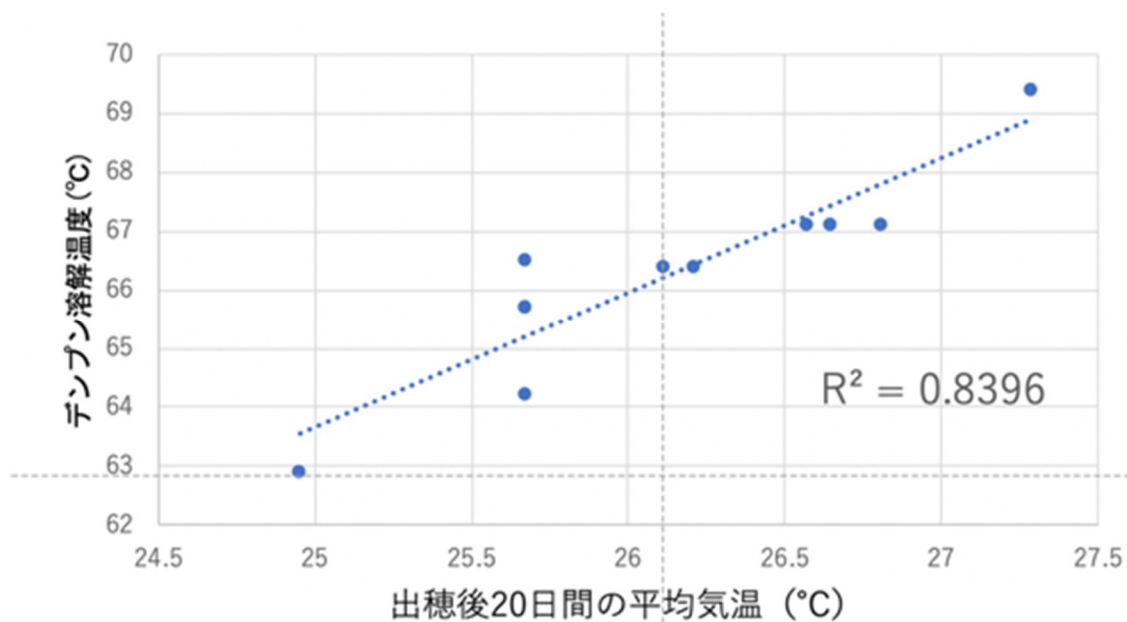


図4.山田錦早生変異体群とデンプン溶解温度と気温の相関
縦軸はデンプン用意会温度、横軸は出穂後20日の平均気温を示す。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1 件)

1. 山口航平、竹原佳那、木戸慎太郎、高城啓一、岩崎行玄、**三浦孝太郎**
福井県に適した山田錦突然変異体の選抜と有用性評価
日本育種学会第133回講演会(九州大学 2018年3月25-26日)