

令和 2 年 5 月 14 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07564

研究課題名（和文）コシヒカリに由来する炊飯米の良食味遺伝子の同定と機能解明

研究課題名（英文）Identification and functional analysis of QTLs for eating quality of cooked rice grains derived from a Japanese rice cultivar Koshihikari.

研究代表者

堀 清純 (Hori, Kiyosumi)

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・上級研究員

研究者番号：50442827

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000円

研究成果の概要（和文）： 遺伝学的手法を用いて、水稻品種コシヒカリが持つ炊飯米の良食味遺伝子を単離してその機能を調査した。連続戻し交配により、良食味遺伝子を導入した準同質遺伝子系統群を作出して、炊飯米の食味特性を明らかにした。また、古今東西の日本水稻品種群の遺伝子型調査を行い、コシヒカリの良食味遺伝子の起源について調査した。さらに、全ゲノムSNPマーカーおよび日本水稻品種群を用いたゲノムワイド連鎖解析により、約540個の食味QTLを検出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本穀物検定協会が実施している米の食味ランキングでは、各県の「コシヒカリ」以外に北海道の「ななつぼし」や山形県の「つや姫」などの品種が特Aの最高評価を取得している。これらの良食味品種については、アミロースやタンパク質含有量、デンプンの糊化粘度特性、遊離アミノ酸や遊離糖類の含有量など、食品科学工学的な側面からも良食味の原因を探る研究が進められている。しかしながら、炊飯米の食味（おいしさ）を遺伝子レベルで解明した研究例は他には存在しない。本研究では、他の研究に先駆けて日本水稻品種の持つ良食味遺伝子を単離し、育種選抜につながる成果を得ることを目指す。

研究成果の概要（英文）： We previously detected a major effect QTL (quantitative trait locus) for eating quality in the Nipponbare and Koshihikari genetic populations. In this study, we isolated a responsible gene of the QTL associated with eating quality of cooked rice grains by map-based cloning method. And, we also developed a series of near-isogenic lines introducing the Koshihikari QTL allele, which shows superior eating quality of cooked rice grains. The Koshihikari QTL allele is derived from several Japanese rice landraces, and ratio of the Koshihikari QTL allele is increasing in Japanese rice cultivars developed recently. And, genome-wide association analysis revealed about 540 loci involved in eating quality in Japanese rice landraces and cultivars.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：イネ 食味 炊飯米 QTL

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

炊飯した米の食味は気象条件や貯蔵条件などの影響も受けるが、品種間差(遺伝的な違い)が大きく関係している。炊飯米の食味特性については理化学的な分析手法が確立され、米の含有成分を制御する遺伝子の解析が数多く進められてきた(Hori and Yano 2013)。例えば、直鎖状澱粉のアミロース合成遺伝子(*GBSSI*)の変異はアミロース含量を変化させ、もち米や低アミロース品種の作出に利用されている。分枝状澱粉のアミロペクチン形成などにかかわる*SSIIa*(*Aik*)遺伝子の突然変異体は澱粉が糊化せず固まりにくい特性を持ち、*BE11b* 遺伝子の突然変異体は難消化性澱粉を生成するため、米粉用品種や機能性食品としての利用が検討されている。しかしながら、国内の主食用うるち米品種ではこれらの遺伝子の DNA 配列が同一であり(Umemoto et al. 2004 など)澱粉構造の違いだけでは炊飯米の食味の品種間差を完全に説明できない。また、タンパク質、脂質、遊離アミノ酸などの成分含有量も食味と有意な相関を示すことが報告されているが(Okadome 2005 JARQ) 遺伝子の変異と食味の関係を明らかにした研究例はまだ少ない。

これまでに、炊飯米の試食評価(食味官能試験)によりコシヒカリの優れた食味に係る遺伝子座(QTL)をイネの第3染色体の短腕上に見出した(Takeuchi, Hori et al. 2008)。また、日本国内の187 水稻品種における食味評価により、在来品種と比較して、最近の育成品種は炊飯米表層の粘りが強い傾向が観察された(Hori et al. 2015)。この結果は、本研究で単離を目指す良食味遺伝子が、日本水稻品種の育種選抜において非常に重要であり優先的に選択されてきたことを示唆している。

2. 研究の目的

コシヒカリは、35 年間以上にわたり全国一の作付面積を誇る水稻品種である。その一番の理由は、炊飯米の食味が極めて良く、消費者の評判が非常に高いためである。しかしながら、コシヒカリの炊飯米の極良食味を決定している遺伝子は未同定である。また、都道府県を中心に近年は数多くの良食味品種が開発されている。そこで本研究では、良食味遺伝子を検出してその機能を明らかにするために、以下の研究を実施する。

- (1) コシヒカリに由来する炊飯米のおいしさを決定する QTL を検出して、その原因遺伝子を単離して、その機能を明らかにする。
- (2) 在来品種や育成品種群を用いたゲノムワイド関連解析により、新規の食味遺伝子座を検出する。

3. 研究の方法

(1) コシヒカリ等の炊飯米のおいしさを決定する遺伝子を単離・同定するために、研究期間内に以下の点を明らかにする。

- ・突然変異系統や形質転換体を作成して食味形質を評価し、候補遺伝子の効果を証明する。
- ・候補遺伝子が他の種子貯蔵成分に与える影響を調査する。
- ・国内外の品種について候補遺伝子の DNA 配列変異を比較し、良食味遺伝子の起源を探る。
- ・良食味遺伝子を導入した準同質遺伝子系統(NIL)を作成し、遺伝子効果の変動を調査する。

(2) 国内の良食味品種が持つ新規の食味遺伝子座を検出する。

- ・複数年にわたって同一の品種群を栽培して、収穫米の食味特性を評価する。
- ・全ゲノム SNP データを取得して、ゲノムワイド関連解析を実施する。

4. 研究成果

(1) 良食味遺伝子の単離・同定

これまでに見出した炊飯米の食味を向上させる効果を持つ遺伝子座(QTL)の候補遺伝子について、コシヒカリの突然変異体ライブラリーの約3,000 系統の中から、遺伝子内にアミノ酸置換が生じた突然変異系統を取得した。この突然変異系統を圃場栽培して収穫米を取得した。候補遺伝子の発現を強制的に低下させた RNAi ノックダウン形質転換体や過剰発現させた形質転換体を作成し、閉鎖系温室内で栽培して収穫米を取得した。これらの収穫米について炊飯賞味計やテンシプレッサーを用いた機器分析により食味評価を行ったところ、一部の突然変異系統および RNAi ノックダウン形質転換体において、食味値が低下して炊飯米の粘りが小さくなっていた。2 年間の収穫米の評価結果から、候補遺伝子が炊飯米の食味を制御する遺伝子の一つであると証明できたと考えられる。

日本晴とコシヒカリの良食味に関する QTL 領域をコシヒカリ型に固定した日本晴の遺伝的背景の置換系統の収穫米について、GC-MS によるメタボローム解析を実施して、胚乳中に含まれる遊離アミノ酸や遊離糖類の含有量を測定した。コシヒカリ型 QTL を持つ日本晴系統は、日本晴と比較して、一部のアミノ酸や糖類の化合物含有量が多くなっていた。また、コシヒカリ型 QTL を持つ日本晴系統は炊飯中の溶出糖量が増加していた。従って、コシヒカリの良食味 QTL の有無の

違いにより、澱粉やアミノ酸や糖類の一部の穀粒含有成分が変化していると考えられた。

古今東西の日本水稲品種群について候補遺伝子のゲノム塩基配列を調査し、一部の在来品種および最近の育成品種の多くがコシヒカリと同じタイプの遺伝子配列を保持していることを明らかにした。育種選抜の過程で、コシヒカリの良食味遺伝子の利用が拡大している結果であると考えられる。

コシヒカリと複数のインディカ品種を連続戻し交配した後代系統群を作出して、良食味遺伝子座を導入したインディカ品種背景の準同質遺伝子系統群を作出した。

(2) 全ゲノム関連解析による新規の食味 QTL の検出

また、日本水稲品種群の 180 品種について、収穫米の炊飯食味特性に関する胚乳中の多糖分解酵素および細胞壁分解酵素の活性量を測定して、炊飯食味特性との関係を調査した。胚乳内の酵素活性量の低い品種が高い食味値を示す傾向が観察された。全ゲノム DNA マーカーを用いたゲノムワイド関連解析の結果、酵素活性量の値の違いに関係する合計 60 ヶ所の遺伝子座 (QTL) を検出した。一部の遺伝子座近傍には酵素遺伝子が座乗しており、ゲノム塩基配列の品種間多型が存在していた。従って、胚乳中に存在する各種分解酵素の遺伝子配列や酵素活性量の違いが、日本水稲品種の食味の品種間差に関与している可能性が考えられた。

さらに 3,000 以上の SNPs と 200 以上の炊飯米食味評価データ値を用いたゲノムワイド関連解析を行い、食味形質の違いに関係する約 540 ヶ所の遺伝子座 (QTL) を検出した。食味に関与する遺伝子座はイネの全 12 本の染色体すべてに検出されたことから、炊飯米の食味は多数の遺伝子に制御される複雑形質であると確認できた。また、Wx 等の胚乳中で澱粉合成に携わる遺伝子領域にも多くの QTL が見いだされ、これらの遺伝子の自然変異が日本水稲品種の炊飯米の食味の違いに寄与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iijima Ken, Suzuki Keitaro, Hori Kiyosumi, Ebana Kaworu, Kimura Keiichi, Tsujii Yoshimasa, Takano Katsumi	4. 巻 83
2. 論文標題 Endosperm enzyme activity is responsible for texture and eating quality of cooked rice grains in Japanese cultivars	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 502～510
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2018.1547624	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 堀清純	4. 巻 77
2. 論文標題 ごはんのおいしさを決める遺伝子の理化学的特性	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 おいしさの科学ニュース	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kimura Keiichi, Hori Kiyosumi, Yonezawa Kayo, Nishibori Fumiya, Oka Daiki, Iijima Ken, Saito Akihiro, Tsujii Yoshimasa, Takano Katsumi	4. 巻 66
2. 論文標題 Effect of Good Eating Quality Gene Loci of Koshihikari on the Composition of Low Molecular Weight Compounds of Polished and Cooked Rice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi	6. 最初と最後の頁 159～169
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.3136/nskkk.66.159	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 9件／うち国際学会 5件）

1. 発表者名 望月賢太、辻井良政、堀清純、高野克己
2. 発表標題 日本水稻品種群の炊飯特性値と米飯品質との関係性について
3. 学会等名 日本食品科学工学会第65回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kiyosumi Hori
2. 発表標題 Genetic dissection and breeding application for eating and grain quality in Japanese rice cultivar
3. 学会等名 上海市農業科学院作物育種栽培研究所セミナー（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kiyosumi Hori
2. 発表標題 Collecting eating quality QTLs in Japanese temperate japonica rice cultivars.
3. 学会等名 16th International Symposium on Rice Functional Genomics（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀清純
2. 発表標題 ごはんの美味しさを決める遺伝子を見つける
3. 学会等名 東京農業大学 総合研究所研究会 「稲・コメ・ごはん部会」第7回セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀清純
2. 発表標題 日本水稲品種における品質・食味形質の遺伝解析と育種利用
3. 学会等名 SATテクノロジーショーケース2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 辻井良政、木村圭一、米澤加代、齋藤彰宏、堀清純、高野克己
2. 発表標題 コシヒカリに由来する良食味遺伝子座が及ぼす精白米に含まれる低分子量化合物への影響について
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 望月賢太、辻井良政、堀清純、高野克己
2. 発表標題 日本水稲品種における炊飯特性値形質のゲノムワイドアソシエーション解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀清純、飯島健、木村圭一、小俣衣央梨、仁木沙都美、江花薫子、鈴木啓太郎、辻井良政、高野克己
2. 発表標題 日本水稲品種群における米胚乳酵素活性と炊飯米品質との関係
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀清純、飯島健、鈴木啓太郎、辻井良政、木村圭一、朱紅加、江花薫子、高野克己、米丸淳一
2. 発表標題 日本水稲品種群の米胚乳酵素活性量と炊飯食味形質の評価および遺伝子座の検出
3. 学会等名 日本育種学会第133回講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kiyosumi Hori
2. 発表標題 Detection of QTLs for eating quality traits in Japanese temperate japonica rice cultivars
3. 学会等名 中国瀋陽農業大学水稻研究所セミナー（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kiyosumi Hori
2. 発表標題 Eating quality QTLs in Japanese temperate japonica rice cultivars
3. 学会等名 中国科学院東北地理及び農業生態研究所セミナー（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 堀清純
2. 発表標題 「ごはんのおいしさ」を決める遺伝子の検出,
3. 学会等名 ナノ・マイクロ横断型人材育成プロジェクト講演セミナー（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kiyosumi Hori
2. 発表標題 Challenge in Identification of genetic factors controlling eating quality in Japanese rice cultivars
3. 学会等名 China-Japan-Korea Workshop on good eating quality Japonica rice breeding and production（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀清純
2. 発表標題 ごはんの「おいしさ」の違いをCE-TOFMS解析で探る
3. 学会等名 日本食品科学工学会第63回大会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 堀清純・米丸淳一・鈴木啓太郎・飯島健・辻井良政・小俣衣央梨・仁木沙都美・木村圭一・朱紅加・山崎将紀・江花薫子・高野克己
2. 発表標題 日本水稲遺伝資源における炊飯米の食味関連形質のゲノムワイドアソシエーション解析
3. 学会等名 日本育種学会第131回講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kiyosumi Hori
2. 発表標題 3) Identification of QTLs for eating quality in Japanese rice cultivars.
3. 学会等名 安徽省農業科学院水稻研究所セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

所属研究室のホームページ
<http://www.naro.affrc.go.jp/nics-neo/introduction/chart/0604/index.html>
 所属研究室のホームページ
<http://www.naro.affrc.go.jp/nics-neo/introduction/chart/0604/index.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----