

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：25406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06098

研究課題名(和文) 遺伝資源保全のための、ゲノム情報を用いたアワ在来品種・実験系統の多様性解析

研究課題名(英文) Analyses of diversity of foxtail millet landraces and experimental strains using genome information for conservation of genetic resources

研究代表者

福永 健二 (Fukunaga, Kenji)

県立広島大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：50435533

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：アワ遺伝資源について組換え近交系などのマッピング集団を用いて形質に関わる候補遺伝子を同定した。それら遺伝子や次世代シーケンサーを用いてのゲノム全体の多様性評価を行った。アワ遺伝資源の類縁関係や集団構造を明らかにするとともに、形質の多様化や分布の拡大に関わった遺伝子を同定した。アワの在来品種は地域性が明瞭であることを明らかになった。出穂期に関わるPRR37などは分布拡大に関わった遺伝子であると考えられる。その他多様化に関わる遺伝子についても同定して詳細な解析を行っている。また、数品種についてはナノポアシーケンサーでゲノムを解読し形質の変異に関わるトランスポゾンを検出できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

農学的にも、農耕文化史的にも重要であり、新しいモデル植物として注目されているアワについて、世界的なコレクションについて類縁関係を把握し多様化や分布の拡大に関わる遺伝子を同定したことは意義あることと思われる。これはアワという作物そのものだけでなく、作物がどのようにして多様化してきたのかというモデルにもなりうる。また、地球環境の変動などで先の見えない状態において、乾燥に強く栄養価も高い遺伝資源についてこのような遺伝子・ゲノムレベルで解析を行うことは、人類のこれからの食糧問題についても貢献しうると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Candidate genes for some traits were identified using mapping populations such as recombinant inbred lines for foxtail millet genetic resources. Genome-wide diversity was evaluated using these genes and next-generation sequencing. Phylogenetic relationships and population structure of foxtail millet genetic resources were clarified, and genes involved in diversification of morphological traits and expansion of distribution were identified. Foxtail millet landraces were found to have distinct regional characteristics. Genes involved in the expansion of distribution, such as PRR37, which is related to the heading date, are considered to be genes involved in the geographical expansion of foxtail millet. Other genes involved in diversification were also identified and are being analyzed in detail. In addition, the genomes of several landraces were determined using a nanopore sequencing, and transposons involved in trait variation were detected.

研究分野：遺伝資源

キーワード：アワ 在来品種 作物進化 トランスポゾン 遺伝資源 遺伝的多様性 ドメスティケーション 次世代シーケンサー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アワ (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) はユーラシアで古くから栽培されてきた、いわゆる“雑穀類”のひとつである。古くは黄河文明の主食であったと考えられ、日本でも焼畑や常畑で栽培され、モチアワは特に上質なものとされていた。世界的に見れば、形態的にもさまざまな品種が知られており、温帯 - 熱帯、高地 低地などさまざまな環境に適応し、人為選択にさらされ多様化したと考えられる。また、今日でも、岩手県で 2014 年に交雑育種によりモチアワ品種‘ゆいこがね’が育成されるなど作物としての価値は依然高い。さらに、 C_4 植物であり、将来的に危惧される温暖化や乾燥化に対しても有望な遺伝資源と言える。

アワのゲノムシーケンスは 2012 年に公開されている (Bennetzen et al. 2012, Zhang et al. 2012)。上記のように乾燥地農業において重要であることもひとつであるが、2 倍体であること、ゲノムサイズが小さいこと (約 400Mb)、栽培が容易であることなどモデル植物としてもすぐれている。ゲノムシーケンスの解読により遺伝子のクローニングが容易になり、マーカーの作成や QTL-seq 等の次世代シーケンサーを用いたマッピングも容易となった。

これまでに実際に、研究代表者のグループは、アワの穂の形質に着目し、穂の形質であるネコデについて QTL-seq 解析を行い、その座乗染色体領域を特定し、ポジショナルクローニングを行おうとしている (Masumoto et al. 2016)。また、研究分担者の阿部のグループでも日本品種間の出穂期の QTL-seq 解析を行い候補遺伝子を得ている (Yoshitsu et al. 2017)。また、世界的に見ても中国のグループなども次世代シーケンサーを用いての QTL 解析が行われている。これらのことからアワのリファレンスシーケンスは十分に実際の解析にたえうるだけの精度をもっていることも明らかとなっている。

われわれはアワの遺伝資源 600 系統ほどを保有しており、その系統関係などを調査してきたが、より精度の高い方法での系統関係の調査を行う必要がある。次世代シーケンサーの技術を用いて、代表的な品種についての解析を行うこととした。

また、われわれはマッピング集団を 10 年以上かけて育成してきた。この集団は、日本の宮崎県の在来品種と台湾南部の在来品種の交配に由来する F_{11} 集団 (Recombinant inbred lines=RILs) である。この品種間では出穂期、茎の色、胚乳デンプン、穂の刺毛の形質などに明確な違いがある。既に片親の台湾品種についてはリシーケンシングしており、穂の刺毛の形質については QTL-seq を行った実績もある。

このようにアワゲノムの解読や次世代シーケンサー技術の発展、われわれが解析してきた在来品種やこれまでに年数をかけて作成してきたマッピング集団などがそろい本研究にいたった。

2. 研究の目的

農学において、多くの研究者はイネ、コムギ、オオムギ、ダイズなどのメジャークロップについての研究に取り組んでおり、遺伝資源についてもこれら作物では多くの成果をあげている。しかしながら、これからの地球環境の温暖化・乾燥化といった問題に対し、これらメジャークロップだけでは不十分である。雑穀の中でも特にアワは、 C_4 植物で乾燥に強く少ない肥料でも栽培できるうえに、食味も良好であり有望である。遺伝資源としても農研機構ジーンバンクに約 1300 点、岩手県に約 100 点保存されているが、まだ多様性については評価しきれていない。世界的に見ても、海外のグループもアワ遺伝資源を保有しているが、中国のグループは中国の品種、イン

ドのグループはインドの品種を主に用いており、世界的なアワ在来品種や日本の在来品種については研究が不十分である。特に、日本の品種には四国のシモカツギと呼ばれる半わい性品種など世界に類をみない在来品種も含まれており、出穂期も早生のものから晩生のものまできわめて多様性に富んでいる。本研究では、一つ目として代表的な品種の ddRAD-seq による系統解析を行い、世界のアワの系統関係の解明を主な目的とした。日本品種については特に詳細に系統解析を行った。

また、日本の品種と台湾品種の組換え近交系について、出穂期や刺毛が花になる形質 (spikelet-tipped bristles=stb)、葉鞘のアントシアニン着色について調査し、ddRAD-seq で連鎖地図を作成し原因遺伝子を絞り込むことも目標とした。さらに、これら得られた候補遺伝子についても遺伝資源における個別の遺伝子の進化や多様性についての解析を行った。いくつかの品種についてはリシークエンシングを行い、特にマッピングに用いている品種についてはナノポアシークエンサーによるリシークエンシングも行った。

3．研究の方法

- (1) アワ 239 品種及びエノコログサ 11 系統について ddRAD-seq による系統解析・集団構造解析を行った。
- (2) 日本品種と台湾品種の間の組換え近交系 90 系統について ddRAD-seq により連鎖地図を作成し、葉鞘色、刺毛の先が花になる形質 (spikelet-tipped bristles=stb)、出穂日について連鎖解析及び候補遺伝子の割り出しを行った。候補遺伝子については多数の品種を用いてジェノタイピングを行った。また、その他、既知の脱粒性遺伝子についても多型解析を行った。
- (3) アワ品種の代表的なものについてイルミナシークエンサーでリシークエンシングを行い、さらにマッピングなどに使う品種いくつかについてはナノポアシークエンサーを用いてシークエンシングを行った。

4．研究成果

(1) エノコログサに対してアワは単系統であることが示され、アワ品種は地理的にまとまる傾向があることが明らかとなった。また、一部遠縁の品種で交雑が起こっていることも明らかとなった。この成果については現在論文投稿準備中である。

(2) 葉鞘色については Myb 転写因子である *C* 遺伝子が候補遺伝子であることが示された。緑色の葉鞘の台湾品種ではこの遺伝子にトランスポゾン挿入があることが明らかになった。また、基準品種である Yugu1 についてはこの遺伝子の異なる位置に異なるトランスポゾン挿入があり、赤から緑への進化は複数回独立に起こったことが明らかとなった (図 1)。刺毛の先が花になる形質 (spikelet-tipped bristles=stb) については *Hox14* 遺伝子が候補であることが明らかとなった。この遺伝子はオオムギで二条・六条の違いを決める遺伝子とホモロジーが高い。同様な形質を示すエノコログサ突然変異体も見つかっているので同座性検定なども行った。また、出穂迄日数に大きな効果のある *PRR37* 遺伝子を検出した (図 2)。台湾の品種はこの遺伝子のイントロンにトランスポゾンを含むことが明らかとなった。代表的な品種についてこのトランスポゾン挿入の有無について調べたところ、台湾や東南アジアや南アジアの品種のほとんどと東アジアの一部の品種が挿入を持つことが明らかとなった (図 3)。この遺伝子へのトランスポゾン挿入による機能欠失が南北への品種の拡散に重要な役割を果たしたことが明らかとなった。この結果は Scientific Reports に掲載された (Fukunaga et al. 2022)。*PRR37* 遺伝子は 480 品種につ

いて詳細な調査を行い論文投稿準備中である。また、*C* 遺伝子については南方の品種は別のトランスポゾン挿入があることが明らかとなった。また他の遺伝子が葉鞘色に関わっていることも明らかになりつつあり解析中である。また、脱粒性に関わる既知遺伝子 *SvLes1* についても解析を行い、栽培化との関係について調査した(Fukunaga et al.2021)。

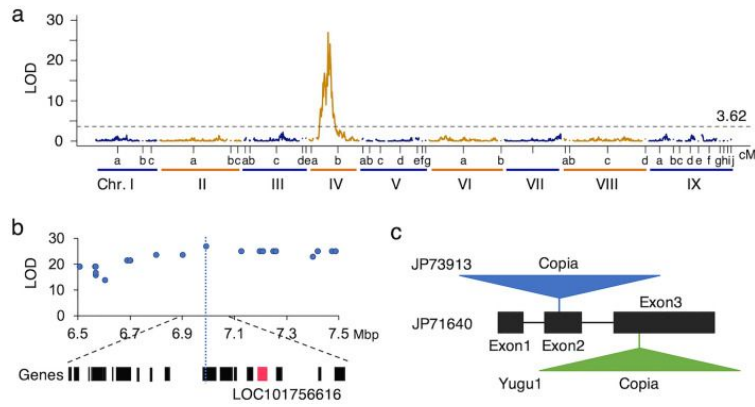


図 1. 葉鞘色のマッピング .候補遺伝子は *C* 遺伝子であり緑葉鞘の品種にはトランスポゾン挿入があることが明らかとなった。

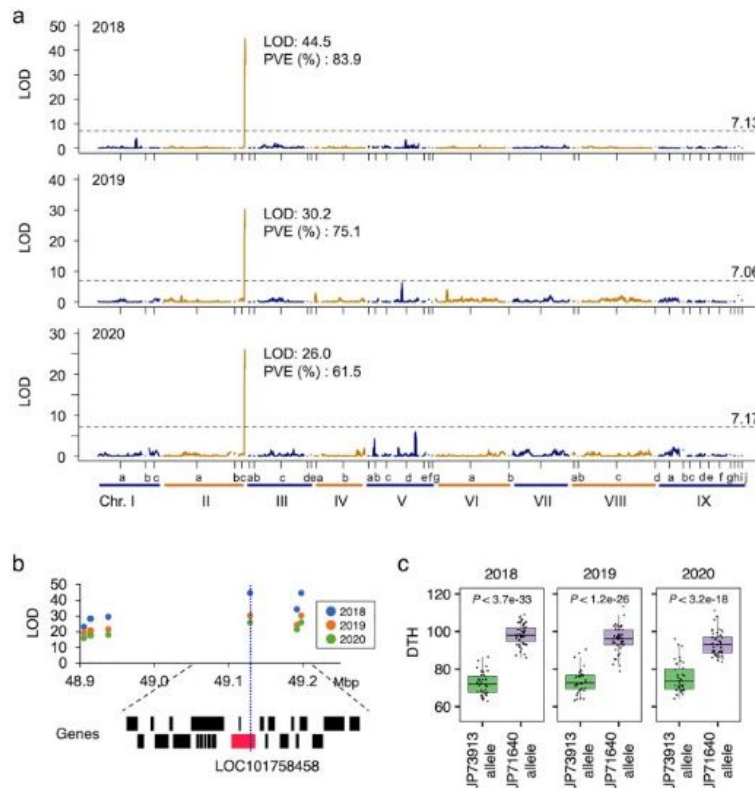


図 2. 出穂期に効果の大きな遺伝子のマッピング .第 2 染色体に座乗する *PRR37* 遺伝子であることが明らかとなった。

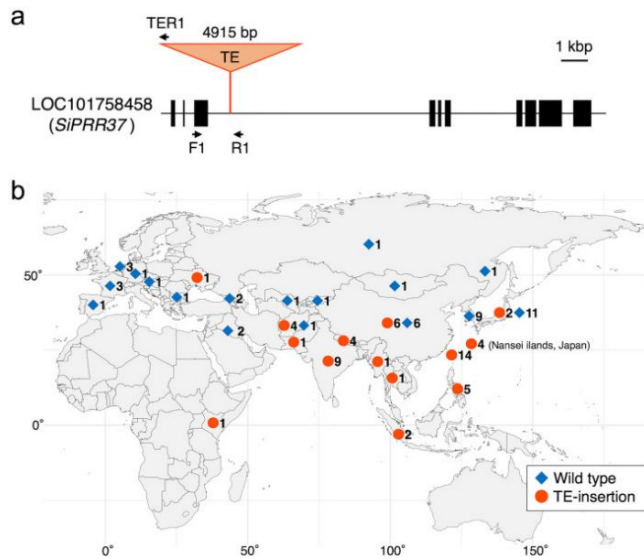


図3. PRR37遺伝子とトランスポゾン挿入及び挿入型の地理的分布

(3) 代表的なアワ品種についてリシークエンシングを行った。これらは今後系統解析などを行うとともに、遺伝子のマッピングなどに用いていく。特にナノポアシークエンサーは、アワに数多く見つけているトランスポゾン挿入変異の検出に有効であることが明らかとなった。上記、マッピング集団での候補遺伝子の絞り込みにも有効であった。また、他の形態形質の遺伝子のマッピングにも有効に活用できており解析が進んでいる。これら配列は将来的には公開する予定である。

2023年はFAOの定める国際雑穀年でもあり、記念シンポジウムで講演を行った。また、日本育種学会でもゾーンベイ主催のランチョンセミナーでも研究を紹介するなど、研究者や社会に向けて研究成果を発信している。現在、投稿準備中やデータ追加中のものなどの成果を発表していく予定である。

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 1件）

1. 著者名 Fukunaga, Abe, Mukainari, Komori, Tanaka, Fujihara, Yaegashi, Kobayashi, Ito, Ohsako, Kawase	4. 巻 12
2. 論文標題 Recombinant inbred lines and next-generation sequencing enable rapid identification of candidate genes involved in morphological and agronomic traits in foxtail millet	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-04012-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Fukunaga Kenji, Matsuyama Sarasa, Abe Akira, Kobayashi Michie, Ito Kazue	4. 巻 68
2. 論文標題 Insertion of a transposable element in Less Shattering1 (SvLes1) gene is not always involved in foxtail millet (<i>Setaria italica</i>) domestication	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genetic Resources and Crop Evolution	6. 最初と最後の頁 2923-2930
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10722-021-01165-w	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 福永健二	4. 巻 38
2. 論文標題 アワの遺伝学 - これまでの進展と雑穀のゲノム研究	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 雑穀研究	6. 最初と最後の頁 10-17
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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 4件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 辻誠也、松山さらさ、阿部陽、福永健二
2. 発表標題 アワの葉鞘色に関わるC遺伝子の異なるトランスポゾン挿入型の地理的分布
3. 学会等名 第13回中国地域育種談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 滝口央基、齋藤佑真、阿部陽、福永健二
2. 発表標題 QTL-seqとDNAマーカーによるアワのサルデ遺伝子の探索
3. 学会等名 第13回中国地域育種談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福永健二, 向成洋平, 田中啓介, 阿部陽, 八重樫弘樹, 小森果穂, 河瀬眞琴
2. 発表標題 Flexible ddRAD-seq法によるアワ組換え近交系の連鎖地図作成と形質のマッピング
3. 学会等名 日本育種学会第138回講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福永健二, 松山さらさ, 阿部陽, 小林光智衣, 伊藤和江
2. 発表標題 アワにおける脱粒性関連遺伝子 <i>SiLes1</i> の変異
3. 学会等名 日本育種学会第139回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福永健二
2. 発表標題 新たなモデル植物 <i>Setaria</i> (アワとエノコログサ)
3. 学会等名 関東雑草研究会『第4回関東雑草オンライン雑草学講座』(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 辻誠也, 阿部陽, 福永健二
2. 発表標題 アワ葉鞘のアントシアニン形成を制御するR-S遺伝子の構造解析
3. 学会等名 第14回中国地域育種談話会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福永健二
2. 発表標題 アワ・エノコログサの刺毛に関する遺伝子
3. 学会等名 イネ科作物の穂先突起の形態を制御する遺伝子 岡山大学植物研 共同研究拠点ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福永健二
2. 発表標題 アワの遺伝学
3. 学会等名 国際雑穀年記念シンポジウム 「雑穀の新たな潮流」 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福永健二
2. 発表標題 アワの作物進化研究へのNGSの応用
3. 学会等名 日本育種学会春季大会・第143回講演会ランチョンセミナー (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福永 健二, 阿部 陽, 田中 啓介, 辻 誠也, 河瀬眞琴
2. 発表標題 ddRAD-seq によるアワ在来品種の系統解析及び PRR37 遺伝子トランスポゾン挿入型の地理的分布
3. 学会等名 日本育種学会春季大会・第143回講演会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	阿部 陽 (Abe Akira) (80503606)	公益財団法人岩手生物工学研究センター・ゲノム育種研究部・主席研究員 (81202)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------