

NBRP・コムギ：日本のコムギ遺伝資源センター

那須田周平

京都大学大学院農学研究科 応用生物科学専攻 植物遺伝学分野
〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町

Shuhei Nasuda

National BioResource Project (NBRP)-Wheat: the genebank of wheat and its relatives in Japan

Key words: core collection, genetic diversity, landrace, wheat, wild relatives
Laboratory of Plant Genetics, Graduate School of Agriculture, Kyoto University,
Kitashirakawaoiwake-cho, Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto 606-8502 Japan
DOI: 10.24480/bsj-review.10c11.00171

1. はじめに

2002年に始まった文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)は日本国内の研究機関にある遺伝資源を保全し、ライフサイエンスの研究現場に提供する基盤を形成することを企図している。国内外での長い研究史を反映して豊富な遺伝資源が蓄積しているコムギとその近縁種はNBRP発足以来継続して対象生物種としてサポートを受け続け、現在、約12,000系統の種子系統をストックし、世界各国の研究者に供給している。

我々の遺伝資源は、(1)在来系統・野生種と(2)遺伝学実験系統に大別される。前者は、世界三大穀類の一つであるコムギ(パンコムギとマカロニコムギ)に代表される栽培コムギの世界の各地から採集された近代品種の導入以前に栽培されていた系統(在来系統)および、栽培コムギの祖先である野生コムギ、並びにその近縁野生種(野生種)である。これらは、京都大学が1955年から数次にわたって派遣した探検隊が現地では採集した植物サンプルに源を遡ることができる(総説 阪本 1992)。その後、世界的な気候変動、近代品種の導入、紛争や騒乱によってこれらの在来系統・野生種の採集地の環境は激変しており、我々の保全するストックは*ex situ conservation*として世界的に高い評価を得ている。後者は、100年以上にわたる長いコムギ研究史の中で育成された実験用の系統であり、その時々の研究の潮流を反映する異数体系統や細胞質置換系統や染色体部分欠失系統を含んでいる。

NBRP全体の理念とこれまでの経緯についてはシンポジウムのオーガナイザーによる本総説集の巻頭言に詳しく述べられている(本総説集の山口 & 佐藤 2019 BSJ-Review 10C1)。また、コムギリソース整備については、2009年に細胞工学別冊「バイオリソース&データベース活用術」に当時の状況が記述されている(遠藤ら 2009)。従って、本稿では2009年度以降の整備状況、特にリソースの高品質化に関わる事項について概説する。

2. 保有リソース

国内のコムギ研究者が個別に保存していたリソースを2002年に開始した第1期NBRP以来、NBRP・コムギの実施機関に集約して来た。種子リソースは、京都大学と鳥取大学と横浜市立大学に系統の属性ごとに分散されて収蔵され、また、DNAリソースは横浜市立大学一箇所に収蔵した。第4期になって大幅な組織の改変を行い、種子系統は京都大学に集中し、DNAリソースについては横浜市立大学で保存を継続しているが、リソースの配布自体は休止した。阪神淡路大震災や東日本大震災による甚大被害を教訓として、リソースのバックアップは西日本（京都市 京都大学）と東日本（横浜市 横浜市立大学）で連携して保存している。

2-1. 種子系統

2009年以来、種子系統の保存数に大幅な変化はない。国内外のコムギ研究でいま現在使われている系統の寄託を受け入れて、アクティブな材料を収集・保存・配布することが重要である。フランスのパリで開催されたG20農相会議の合意に基づき、コムギゲノム解読を推進し世界のコムギ研究をコーディネートする目的でWheat Initiative (WI) という研究者組織が形成された。NBRP・コムギの課題管理者はWIの中の専門家ワーキンググループ (Expert Working Group; EWG) であるGlobal wheat germplasm conservation and use communityのメンバーに名を連ねるが、種子保存と利用に関する国際的な協調体制はうまく機能しているとは言い難い。所属するもう一つのEWGであるImproving wheat quality for processing and healthでは小麦粉の品質に関連するコムギの種子貯蔵タンパク質のアレルを保持する系統群のコアコレクション化を進めており、NBRP・コムギからもセットで種子を配布できるように準備を進めている。この例の様に、アレル、ジェノタイプなど系統に関する遺伝子型や表現型情報のついた系統群の寄託を受け、ユーザーに提供していくことが今後ますます重要になると見込んでいる。

NBRP・コムギの種子系統は遺伝学的研究の材料とすることを念頭に袋掛け受粉による自殖で世代更新をして維持して来たため、純系化が進んでおり、他のジーンバンクと比較して誤分類やコンタミネーションが少ない良質の実験材料として、世界のコムギ研究者から評価されている。特に様々な技術で精度高く（部分）ゲノム配列が決定できるようになった今日、材料の精度は研究の成否を左右しかねず、今後も純度を高く保つ努力を続けていく。

2-1-1. 在来系統および野生種

我々のストックの特色の一つとして、コムギの在来系統や品種の保存数が少ない。これは、研究材料が、品種の育成という観点より、生物学的な観点から集められて来たことを反映する。特に、国内の栽培品種、育成系統は、農業生物資源ジーンバンクにより多くの系統が保存されている。一方で、野生種については保存系統の網羅性、多様性と系統数の多さから世界的にも一目置かれている。特に、パンコムギ (*Triticum aestivum* L., $2n = 6x = 42$,

ゲノム構成 AABBDD) に B と D ゲノムを供与した種を含む *Aegilops* 属植物(すべて野生種) については国際乾燥地農業研究所 (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas; ICARDA) について世界で 2 番目に多い系統数を保存する。ICARDA はシリアのアレッポに中心的な研究機関を持っていたが、近年の紛争により大きなダメージを受け、2012 年にレバノンのベイルートに中心を移転した。このような社会情勢の変動は、*ex situ* conservation として政情の安定した場所・機関 (たとえ本来の自生地と栽培環境が異なる場所に所在していようとも) にリソースを保存する意義を教えてくれる。NBRP・コムギの *Aegilops* 属植物のコレクションの大部分は京都大学の派遣した探検隊が日本に持ち帰った植物試料の自殖後代で、その採集地点に関する詳細な記録が整っている。それぞれの種の分布域をほぼカバーしているため、野生種の多様性や適応進化、倍数化と栽培化の機構に関する研究の格好の材料だと言える。

2-1-2. 実験系統

パンコムギは異質六倍体で、一つの核の中に祖先を同じくする (同祖の) ゲノムを 3 コピーもつ。このため、染色体もしくは遺伝子の数の変動をバッファーする能力が二倍体に比して高く、異数体や異種染色体添加系統や置換系統といった様々な細胞遺伝学的ストックが蓄積している。この点が、二倍体生物であるシロイヌナズナやイネやオオムギと対照的で、異数体や倍数性シリーズを使ったゲノム倍加や遺伝子重複による遺伝子発現調節機構の解明などのユニークな研究を展開できるポテンシャルがある。その他、細胞質置換系統 (核-細胞質雑種) や種間雑種に由来する複二倍体などを現有している。実験系統の中には遺伝的に不安定な材料もあるので、研究材料として用いる前に遺伝的構成の再確認が必要な場合も少なくない。

異数体や染色体欠失系統は興味・関心のある遺伝子がどの染色体に座乗するのかを決定するのに使われて来た。特に初期のゲノミクスにおいて DNA マーカーの座乗染色体 (腕) の決定にはなくてはならない研究材料であった。パンコムギのゲノム配列の解読 (IWGSC 2018) にも一定の役割を果たした。参照ゲノム配列が決定した今、遺伝子座のゲノム中の位置はデータベース検索でたやすく知れるわけだが、それでは遺伝学的ストックはもはや保存する価値のない過去の遺物なのであろうか? 答えは否である。特定の染色体を欠くコムギ植物の表現型はその系統を栽培して調べるほかに、遺伝学的ストックは今後、遺伝子型-表現型相関を調べる材料として再び研究の場で使われていくことと予想している。

異質六倍体であるパンコムギでは突然変異体の単離は困難であるとして、長く、変異体の集積は行われてこなかった。我々は、NBRP・コムギにストックされていた一粒系コムギ (二倍体のコムギ, AA ゲノムを持つ) の X 線照射早生突然変異体の解析から早生突然変異が概日時計関連遺伝子の *Phytoclock1* (*PCL1*) 遺伝子のオーソログの機能欠損であることを報告した (Mizuno et al. 2012)。このように、コムギにおいても二倍体を用いれば機能欠損突然変異体の同定は可能である (村井ら 私信)。さらに、六倍体においても優性遺伝

子の機能欠損は得られている (Friebe et al. 2002)。参照ゲノム配列を利用できるので、突然変異体を体系的に保存していくことが今後のコムギ研究において重要だと考えている。

2-2. DNA リソース

第3期まで分担機関として業務を分担した横浜市立大学では、コムギゲノミクスの進展と軌を一にして、EST, 完全長 cDNA, 長鎖 DNA 断片クローンライブラリーなどの DNA リソースを整備・保存・配布して来た。関連する塩基配列情報や発現遺伝子情報は公的データベースにデポジットされているのと同時に、リソースのホームページである KOMUGI (<https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/>) から閲覧可能である。これらのゲノムリソースはパンコムギの参照ゲノム配列の決定にも重要な役割を果たした。NBRP 第4期になって組織の改変を行ったのに伴い、DNA リソースの配布業務を休止した。現在までに、再配布の希望は寄せられていない。コムギのゲノミクスの進展に伴い、物としての DNA リソースの役割は終わったと考えている。とはいえ、クローンとそのバックアップの保存は横浜市立大学と京都大学で今後も継続していく。

3. 高品質化への取り組み

2017年から始まった第4期 NBRP・コムギではライフサイエンスに即戦力の研究試料を提供するためリソースの高品質化を図っている。リソースの高品質化の鍵は、真正さを保ち、ジェノタイプ (遺伝子型) 情報を付加することであると考える。我々が取り組んでいる実施内容を以下に説明する。

3-1. 種子管理システムの一元化

NBRP・コムギでは第2期まで分散型のリソース管理体制を取っていた。国内の大学等の研究機関に所蔵されていたリソースを京都大学、鳥取大学、横浜市立大学にリソースの属性ごとにまとめて保存していた。さらに京都大学においては、遺伝学的な実験システムを分担する研究室と野生種・在来系統を分担する研究室で、独自の台帳で管理していた。この状況が事業の推進の要所要所で事務の煩雑さを引き起こしていた。例えば、ユーザーからリクエストがあっても、一度、それぞれの担当者に在庫の確認をしてからでなければ、分譲の可否を伝えることができなかった。さらに、定期的な種子増殖も在庫数を反映していなかったため、ある系統は在庫が潤沢で、別の系統は常に在庫過少という様な状況であった。NBRP・コムギの第3期に、データベースの共有化をして上記の状況を解消できたことは、課題管理者として最低限のインフラ整備ができたことと胸をなで下ろしている。現在では、即座に配布の可否が判断できるし、各年度に増殖対象にすべき系統も在庫量と直近の増殖履歴から選抜することができる。

種子管理システムの一元化の作業の過程で、京都大学にストックを集約し、さらに、配布用ストックと保存用ストックとを分けて階層化して保存している。これは学内にバックアップを保存していることに他ならず、リソースの長期保存の観点からも望ましい。さら

に、保存容器にバーコードを付して管理しているため、人為的なミス削減にもつながっている。

3-2. 細胞遺伝学によらない系統の確認方法

コムギの染色体は光学顕微鏡で容易に観察できるため、細胞遺伝学の好材料として研究に用いられてきた。遺伝学的な実験系統の多くは、染色体の数の変異体である異数体や染色体置換系統、そして部分欠失系統である。これらの系統の維持管理には、従来、C-banding や N-banding といった染色体分染法による当該染色体の確認が必要であった。染色体分染法は極めて職人的な実験技術で、誰もが気楽に適用できるテクニックではない。我々は、コムギゲノミクスの成果を取り入れて、DNA マーカーの有無で当該染色体の構成を確認する方法を適用し始めた。

3-3. 保存系統へのジェノタイプ情報の付加

シロイヌナズナやイネの分子生物学が進んだ背景の一つにゲノム情報があったことを否定できる人はいないと思う。他の生物種から研究をコムギに展開する人にとってゲノム情報を使えないことは大きな障壁となっている。六倍性のパンコムギ品種 Chinese Spring の参照ゲノム配列が 2017 年に決定され、2018 年に論文として公表された (IWGSC 2018)。アセンブル配列 (The IWGSC RefSeq v1.0 assembly)、アノテーション情報 (IWGSC RefSeq v1.1 annotation) は公開データベース (それぞれ

<https://wheat-urgi.versailles.inra.fr/Seq-Repository/Assemblies> と

<https://wheat-urgi.versailles.inra.fr/Seq-Repository/Annotations>) から利用可能である。

我々の保存する系統にもジェノタイプ情報を付加してきた。古くはマイクロサテライト配列 (SSR) の増幅パターンを代表的な保存系統 (48 系統) に付加して公開した

(<https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/strains/aboutNbrpMarker.jsp>)。マーカーの座乗位置を考慮して染色体あたり 10 マーカーを推奨マーカーとして提案している。SSR は多型度が高いため、研究の目的によってはいまだに利用価値の高いマーカーである。

第 3 期においては、保存系統のコアコレクションを進めることとした。六倍性コムギコアコレクションとはコレクションの包含する遺伝的多様性の幅を損なうことなく、対象とすべき系統数を圧縮したコレクションである。六倍性コムギ (ゲノム構成 AABBDD) については採集地の地理的情報と分類学的特性を考慮に入れてコアコレクションを選定した。選定したコアコレクション系統 (188 系統) には DArTseq によるゲノムワイドなマーカー情報を付加してある (Takenaka et al. 2018)。四倍性 (ゲノム構成 AABB と AAGG) と二倍性 (ゲノム構成 AA) のコムギ系統についてもコアコレクションの選定を終え、公表へ向け準備を進めている。これらの系統群については高密度ゲノム情報が利用可能なので、表現型データさえ取れば、すぐに Genome-wide association study (GWAS) で表現型と相関する遺伝子型を探索する事ができる。

比較ゲノム解析の基盤形成を目的として、国際コムギ 10+ゲノムプロジェクトが進められている (<http://www.10wheatgenomes.com>)。我々 NBRP・コムギも横浜市立大学や農研機構、そして国外の研究機関と協力して、日本の西南暖地で長く基幹品種であった農林 61 号の *de novo* アセンブルを進めている。農林 61 号が取り立てて顕著な品種としての特性を持たないのにもかかわらず広く栽培されて来たのは広域適応性があるからとされている。ゲノム解読を端緒として、「広域適応性」のようなこれまで理解の進まなかった漠とした形質の本質に迫ることができれば面白い。NBRP・コムギで我々は、六倍性コムギのコアコレクション (Takenaka et al. 2018) の中から、東アジアのパンコムギ系統に着目をして、それらに農林 61 号を父親として交雑した個体の自殖後代の組換え近交系統群 (これを Nested Association Mapping (NAM) 集団と呼ぶ (Yu et al. 2008)) を育成している。世界の近代コムギ育種の中で東アジアの小麦系統の遺伝的多様性は限定的にしか使われておらず、それゆえに、新しいアレルを提供するポテンシャルを秘めている (Balfour et al. 2019)。かつて、日本のコムギ品種農林 10 号に由来する半矮性遺伝子と多施肥農法の組み合わせが緑の革命を起こしたように、我々のジーンバンクに長期間保存されてきた遺伝資源が世界のコムギ育種に利用されれば無上の喜びである。

4. 終わりに

長く、ゲノムが大きく複雑なコムギは研究材料として遠ざけられて来た。参照ゲノム配列が決定し、比較ゲノム解析も進みつつある現状で、コムギで長く知られて来たけれど解析されていない生命現象 (倍数性ゲノム、遺伝子重複、倍数化、非還元配偶子形成、核と細胞質の相互作用、開花生理、交雑親和性、同祖染色体対合抑制、雑種致死、などなど枚挙にいとまがない) はまだまだ多く眠っている。シロイヌナズナやイネで確立した研究手法を携えて、コムギを研究材料として精力的に解析してくれる人が増えて行ってくれることを願っている (麦を主食とする欧米では、実際にそんな潮流になっている)。リソースセンターとして、種子の提供だけでなく栽培方法などのノウハウの提供や共同研究も積極的に行っていきたいと考えている。

NBRP・コムギの業務は京都大学大学院農学研究科植物遺伝学分野特定研究員の 新田みゆき氏と農学研究科技術職員の 太田敦士氏のこの事業にかけるピュアな情熱無しには成り立たない。ここに特別に記して、お二人の尊敬すべきエキスパートに心よりの感謝の意を表したい。前任の課題管理者からコムギリソースの維持管理を引き継いでから早くも 7 年が経とうとしている。先人の努力の賜物である遺伝資源を引き継ぎ、世のライフサイエンスの発展に材料を提供することで貢献すること、そして前よりも悪くない状態でリソースを後世に引き継いでいくことが与えられた責務であると心得ている。

引用文献

Balfour, F., Bouchet, S., Robert, S., De Oliveira, R., Rimbart, H., Kitt, J., Choulet, F, IWGSC, BreedWheat Consortium, & Paux, E. 2019. Worldwide phylogeography and history of wheat

genetic diversity. *Sci. Adv.* 29: eaav0536

遠藤隆, 河原太八, 那須田周平, 辻本壽, 笹沼恒男, 荻原保成 2009. コムギ 倍数体のモデル植物. ナショナルバイオリソースプロジェクト情報運営委員会 (監修) バイオリソース&データベース活用術. pp. 193-196. 秀潤社. 東京.

Friebe, B., Zhang, P., Nasuda, S., & Gill, B.S. (2002) Characterization of a knock-out mutation at the *Gc2* locus in wheat. *Chromosoma* 111: 509-517.

IWGSC (Appels, R. et al.) 2018. Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome. *Science* 361: eaar7191

Mizuno, N., Nitta, M., Sato, K., & Nasuda, S. (2012) A wheat homologue of *PHYTOCLOCK 1* is a candidate gene conferring the early heading phenotype to einkorn wheat. *Genes Genet. Syst.* 87: 357-367.

阪本寧男 1992. 植物遺伝資源の探索, 収集および保存. 日本農薬学会誌 17: S213-S219.

Takenaka, S., Nitta, M., & Nasuda, S. 2018. Population structure and association analyses of the core collection of hexaploid accessions conserved ex situ in the Japanese gene bank NBRP-Wheat. *Genes Genet. Syst.* 93: 237-254.

山口晴代 & 佐藤豊 2019. 植物系NBRPリソースとその活用研究最前線. 植物科学の最前線 (*BSJ-Review*) 10C1: 108-109.

Yu, J.-M., Holland, J.B., McMullen, M.D. & Buckler, E.S. 2008. Genetic design and statistical power of nested association mapping in maize. *Genetics* 178: 539-551.