

研 究 報 告 書

「量的遺伝学に基づく環境応答型イネ選抜モデル開発」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 27 年 12 月～平成 31 年 3 月

研 究 者: 矢部 志央理

1. 研究のねらい

環境応答を考慮した上での優良品種の選定、高速育種を可能とする技術が求められている。本研究提案では、ゲノミック予測モデルに作物モデルの構造を組み込むことで、未試験環境における未試験系統の量的形質に関するパフォーマンス予測する。これにより、栽培地に適した品種の選定・育種を行う手法の基盤を開発することを目指す。具体的には、作物の環境応答を考慮したゲノミック予測モデル($G \times E$ -GS モデル)の開発と、想定される環境における最適ゲノムデザインと最適交配組合せの予測手法の開発を行う。

本研究では、主要作物であるイネ(*Oryza sativa* L.)をターゲットとし、環境や生長過程に影響されやすい穂構造・登熟を標的形質とする。

具体的には、以下を通して、提案手法を開発・評価する。

- ・イネ穂構造を組み込んだ登熟についての作物生長モデル構造の推定
- ・イネ登熟についての環境応答を考慮したゲノミック予測モデル($G \times E$ -GS モデル)開発
- ・想定される環境における最適ゲノムデザインおよび最適交配組合せの予測手法の開発
- ・ $G \times E$ -GS モデルの評価

本研究では、遺伝子・気象要因がイネの登熟に働く仕組みのモデル化、穂構造と登熟の形質間の交互作用のモデル化により、イネの登熟の環境応答を詳細にモデル化する。各形質については、 $G \times E$ を考慮したゲノムワイドアソシエーション解析により、各形質の環境応答を支配する遺伝子領域を検出する。これらの解析結果を用いて、未試験の系統についての仮想環境下での登熟を予測する $G \times E$ -GS モデルを構築する。これにより、仮想環境条件下での登熟能力を予測する手法を確立することができ、作物の環境応答を考慮した系統の能力の予測や選抜が登熟形質に対して可能になると考えられる。開発した $G \times E$ -GS モデルと育種シミュレーションを組み合わせることにより、想定される環境における最適ゲノムデザインおよび最適交配組合せを明らかにする。

今回開発するモデルは、イネの登熟にのみ適用可能である。しかし、他の作物や形質においても、同様のシステムや統計手法を用いることができると考えられる。また、本研究でモデル化する登熟は収量構成要素であり、本研究で得られた結果を基盤とし、収量性に向けた育種を進められる可能性がある。

2. 研究成果

(1)概要

本研究では、イネの収量構成要素の一つである登熟をターゲットとし、ゲノミック予測モデル

に作物モデルに用いられる生育プロセス記述の構造を組み込むことで、未試験環境における未試験系統の量的形質に関するパフォーマンスを予測した。イネの登熟能力には穂構造が効いていると考えられることから、穂構造が登熟に及ぼす効果を推定するとともに、穂に着いた籾への養分の分配を解析した。なお、モデル構築のために、日本水稻約 150 品種を用い、ゲノムワイドマーカーデータおよび10環境での栽培データを収集し、解析に供した。開発したモデルとゲノムシミュレーションを組み合わせることで、最適交配組合せの予測手法の開発を実施した。

・課題 A: イネの穂構造と粒重分布の記述法の開発

「穂構造」と「粒重分布」は、これまでも登熟関連形質として注目されていたが、数値化が難しいことから遺伝解析が十分に行われてこなかった。そのため、本研究では“直感的に理解が可能な形の”形質値として、これらの形質を表現できる記述法の開発を実施した。

・課題 B: 穂構造を組み込んだ登熟についての作物生長モデル構造の推定

登熟能力に関連する形質(出穂期・穂構造・粒重分布など)の間の関係性を明らかにするためのモデリングを実施した。

・課題 C: 登熟についての環境応答を考慮したゲノミック予測モデル($G \times E$ -GS モデル)開発

遺伝子・気象要因が登熟関連形質に働く仕組みのモデル化により、登熟の環境応答をモデル化した。また、 $G \times E$ を考慮したゲノムワイドアソシエーション解析により、各形質の環境応答を支配する遺伝子領域を検出した。これらの解析結果を用いて、未試験の系統についての仮想環境下での登熟を予測する $G \times E$ -GS モデルを構築することで、仮想環境条件下での登熟能力を予測する手法を確立した。

・課題 D: 最適ゲノムデザインおよび最適交配組合せの予測手法の開発

開発した $G \times E$ -GS モデルと育種シミュレーションを組み合わせることにより、想定される環境における最適交配組合せを明らかにするためのシステムを構築した。なお、開発した育種シミュレーション基盤は、公開した。

・課題 E: $G \times E$ -GS モデルの評価

品種集団や分離集団を用いて $G \times E$ -GS モデルの精度検証を実施できるよう、集団を構築し、データを整備した。

(2) 詳細

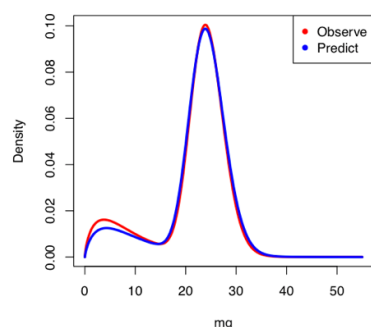
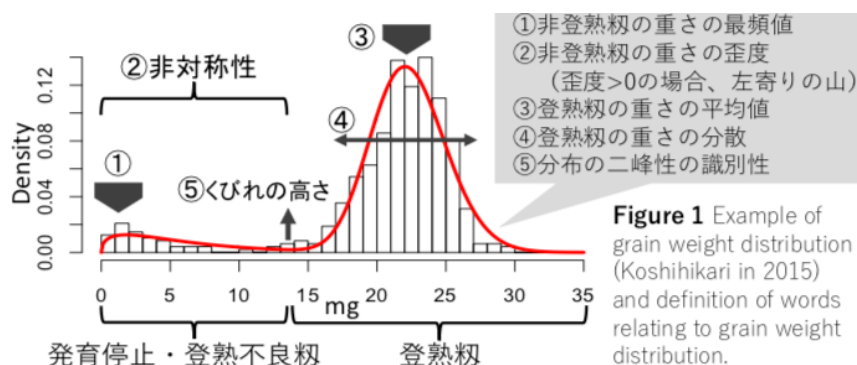
研究テーマ A「イネの穂構造と粒重分布の記述法の開発」

研究成果:

スプラインを用いた穂構造の記述法を開発した。これにより、穂の大きさに囚われない穂の形を記述することに成功した。また、主成分分析と組み合わせることで、統計手法に慣れていなくても直感的に理解できる形質の数値セット(籾の着生位置のバランス、など)への変換に

成功した。また、この記述法で算出された形質値を用いたゲノムワイドアソシエーション解析 (GWAS) を実施し、記述法の有効性を確認した。

混合ガンマ分布に基づく粒重分布の記述法を開発するとともに、理解しやすい形質値への変換を行った(下図: Figure1)。分布パラメーターの推定は、EM アルゴリズムを用いた。粒重分布の数値化に成功したことで、登熟能力に関与する粒重分布の特徴を明らかにするとともに、この数値に対してゲノミック予測を実施できることを示し、開発記述法の有効性を確認した(下図: Figure2)。



研究テーマ B「穂構造を組み込んだ登熟についての作物生長モデル構造の推定」

研究成果:

約 150 品種 8 環境の栽培データとゲノムワイドマーカーデータを用い、複数形質に対するゲノミック予測モデルを栽培環境ごとに実施し、そこから形質間の関係の有無の情報を抽出した。この手法を用いた理由は、遺伝相関に寄らない形質間相関を得るためである。その後、形質間の影響の方向性を推定し、形質間ネットワーク推定結果を環境ごとに得た。構造方程式モデルを用いて、それぞれの効果の大きさを推定している。

研究テーマ C「登熟についての環境応答を考慮したゲノミック予測モデル(G×E-GS モデル)開発」

研究成果:

約 150 品種 8 環境のデータ(茨城県つくばみらい市(2015 年 1 作期、2016 年 2 作期、2017 年 1 作期)、新潟県上越市(2017 年 1 作期)、兵庫県加西市(2017 年 1 作期)で圃場試験を行った。2016 年のつくばみらい市の試験においては、通常の栽培を行った対照区に対し、出穂日に止め葉を切除することで登熟期間のソース能を制限する処理区を設置した。)をトレーニング

グとし、形質ごとに factor analytic model を適用することで、各形質の GxE-GS モデルを構築した。具体的には、研究テーマ A で開発した形質値を従属変数とし、品種のリシーケンスデータから得た約 3 万マーカーを用いてモデリングを行った。なお、このモデルでは、環境の効果は表現型値から推定する。GxE 項の分散はマーカーによって推定された kinship-matrix と環境間の共分散のクロネッカー積で表現できるが、環境間の共分散部分を factor analysis で用いられるような形で表現することで、各環境の効果と genotype の効果を明示的に分けることができる。形質によっては、高精度(1品種抜き、または1環境抜きの cross-validation で、出穂まで日数において予測値と実測値の相関係数 0.9 以上)で予測を行うことができた。

また、各形質において GxE を考慮した GWAS を実施し、環境全体または特異的に QTL を検出した。

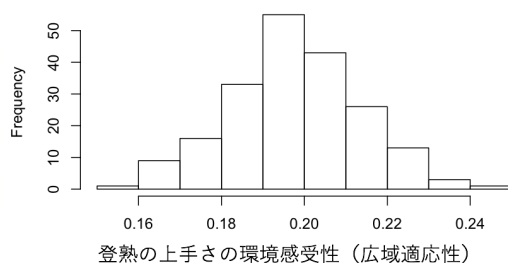
研究テーマ D「最適ゲノムデザインおよび最適交配組合せの予測手法の開発」

研究成果:

育種シミュレーション用基盤として、R パッケージ Breeding Scheme Language を開発、公開した。

このシミュレーション基盤と品種群のゲノムワイドマーカー情報を用い、トレーニングに用いた品種群の全組合せでの交配後代 (F_2) をシミュレートした。この際、マーカーの物理位置の情報のみでは交配シミュレーションは実行できないため、既存のイネ連鎖地図情報から物理距離と遺伝距離の関係を計算し、シミュレーションに用いた。シミュレートされた遺伝子型に対して開発した予測モデルを適用することで、分離予測が可能となった(下図)。

とある品種組合せから生まれた F_2 の結果



研究テーマ E「G×E-GS モデルの評価」

研究成果:

トレーニングに用いた品種群での cross-validation における GxE-GS モデルの精度評価を実施した。形質によっては高精度で予測が行えることがわかった一方、予測ができない形質もあり、モデルの改良が求められるだろう。

交配後代集団における精度検証を実施するために、 F_2 集団の栽培試験及びマーカージェノタイピングを実施し、シミュレーション結果との比較を行う基盤を作った。

まとめ

以上の研究により、GxE と形質間の関係を考慮した登熟についてのゲノミック予測モデルの構築および、シミュレーションによる最適育種工程の提案を実施した。

3. 今後の展開

本研究で開発した「穂構造を考慮した登熟の GxE-GS モデルは、「関係する各形質の GxE-GS モデル」と「形質間の関係」を別々に推定した後、組み立てていくものであった。これは、これまでの作物モデルの構造に則った形である。しかしながら、この構造を保ちながら、モデルに含まれる構造の全体を一連の流れの計算によって一度に形質予測を行うことが、今後求められるだろう。それが可能になれば、地域特異的な場合の最適ゲノムデザインの推定に寄与できるだろう。

また、現在、トレーニングに用いた品種集団から交配親を選び、2つの交配組合せパターンの F2 分離集団を作成している。今後、品種集団で構築した GxE-GS モデルを分離集団にも適用可能か検証する。

育種シミュレーションに関しては、今回開発・公開した育種シミュレーション用の R パッケージ Breeding Scheme Language は、GxE やコスト計算の実装を行なっている。また、他の研究機関からの注目も大きいと、多くの作物の育種に適したシミュレーション基盤として、さらなる発展をさせていく予定である。

4. 自己評価(公開)

【研究目的の達成状況】

穂構造を取り込んだ登熟についての予測モデル(GxE-GS モデル)の開発および、各形質における cross-validation による精度検証は実施することができた。また、開発したモデルと育種シミュレーションを組み合わせることにより、分離集団の形質値予測に基づく最適交配組合せの予測も実施することができた。最適ゲノムデザインに関しては、広域適応性についての推定は実施可能であった。

しかしながら、開発したモデルの構造により、地域特異的な最適ゲノムデザインの推定には至らなかった。また、実際の F2 分離集団を用いた GxE-GS モデルの精度検証は、phenotyping の困難さにより達成できなかった。

【研究の進め方(研究実施体制及び研究費執行状況)】

常時 2~3 名の研究補助員(表現型計測やデータ入力、実験補助を担当)を雇用し、研究を遂行した。研究に必須となる表現型データの取得や、マーカージェノタイピングに必須となる DNA 抽出を効率的に実施できるよう努めた。

研究費は、主に研究補助員の雇用および水稻のマーカージェノタイピングのために使用した。品種群のマーカージェノタイピングに関しては、他の研究者との共同研究により、データを共有することで、リシークエンスする品種を節約できた。また、分離集団のジェノタイピングに関しては、最新のジェノタイピングシステムを検討することで、コストを抑えられるように試みた。

【研究成果の科学技術及び社会・経済への波及効果】

■育種シミュレーション基盤

開発した育種シミュレーション基盤は R パッケージ BreedingSchemeLanguage として公開されている。このパッケージは、柔軟性と簡便性を備えており、育種過程のシミュレーションを GxE やコストも含めてシミュレート可能である。また、本研究でターゲットとしたイネだけでなく、

様々な植物に適用可能である。このパッケージについては多くの研究者に興味を持っていただき、国外からの問い合わせもあり、この基盤を使用した研究も進められている。今後、この基盤を発展させ、作物の育種が進展すると期待している。

■形質の新たな記述法の提案と遺伝的知見

現在まで、「多収遺伝子」と呼ばれているような遺伝子はいくつか発見されているが、ほとんどの遺伝子は実際の育種では効果が認められなかった。理由としては、それらが粒数を制御する遺伝子であったが、登熟能力に問題がある穂上部位の粒を増やしてしまったことや、野外環境では養分や環境が十分ではなく全ての粒が実らなかったことが考えられる。今回の研究で、各遺伝子が穂上のどの位置の粒を増減させるか、粒重分布や登熟能力に効くのはどの遺伝子かということがわかるため、収量の選抜に直結できるのではいかと考えている。

■GxE のモデリング

現在までも、GxE のモデリングは多く試みられている。しかしながら、作物学的‘視点’を統計モデリングに取り入れる試みはあまりなく、今後の GxE 研究へのメッセージを残すことができれどと考えている。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Shiori Yabe, Hiroyoshi Iwata, Jean-Luc Jannink (2017) A simple package to script and simulate breeding schemes: the Breeding Scheme Language. Crop Science 57: 1347 – 1354.
2. Shiori Yabe, Hiroe Yoshida, Hiromi Kajiya-Kanegae, Masanori Yamasaki, Hiroyoshi Iwata, Kaworu Ebana, Takeshi Hayashi, Hiroshi Nakagawa (2018) Description of grain weight distribution leading to genomic selection for grain-filling characteristics in rice. PloS One 13(11): e0207627.

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

【ソフトウェア】

R パッケージ:Breeding Scheme Language

<https://cran.r-project.org/web/packages/BreedingSchemeLanguage/index.html>

【国際学会】

○Shiori Yabe, Takeshi Hayashi. An issue for practical use in genomic prediction of trait segregation in a progeny population. Plant and Animal Genome XXVI. P0057. San Diego, United

States of America. January 2018.

○Shiori Yabe, Hiroe Yoshida, Hiromi Kajiya-Kanegae, Eiji Yamamoto, Erina Fushimi, Masanori Yamasaki, Hiroyoshi Iwata, Kaworu Ebana, Takeshi Hayashi, Hiroshi Nakagawa. Genome-Wide Association Study for Panicle Structure in Japanese Rice Varieties. Plant and Animal Genome XXVII. P00899. San Diego, United States of America. January 2019.

Jean-Luc Jannink, ○Shiori Yabe. The breeding scheme language: an R package to simulate breeding schemes from simple to complicated. Plant and Animal Genome XXVII. W964. San Diego, United States of America. January 2019.

(その他:筆頭 2 報、共著 3 報)

【国内学会】

筆頭 8 件、共著 3 件

【受賞】

○矢部志央理、「日本水稻品種群を用いた粒重分布の特徴記述と品種間差の解析」、『日本育種学会第 130 回講演会』、P081、鳥取大学・・・「第 130 回講演会日本育種学会優秀発表賞」、2016 年 12 月

○矢部志央理、「水稻品種における穂構造記述法の提案」、『日本作物学会第 245 回講演会』、P-28、宇都宮大学・・・「第 245 回講演会優秀発表賞」、2018 年 4 月

【シンポジウムにおける発表】

国際 3 件

国内 3 件