

2012年2月3日

第5回 アグリ技術シーズセミナー

「植物ゲノム研究の育種への利用 —世界の最先端と育種への利用状況、その可能性—」

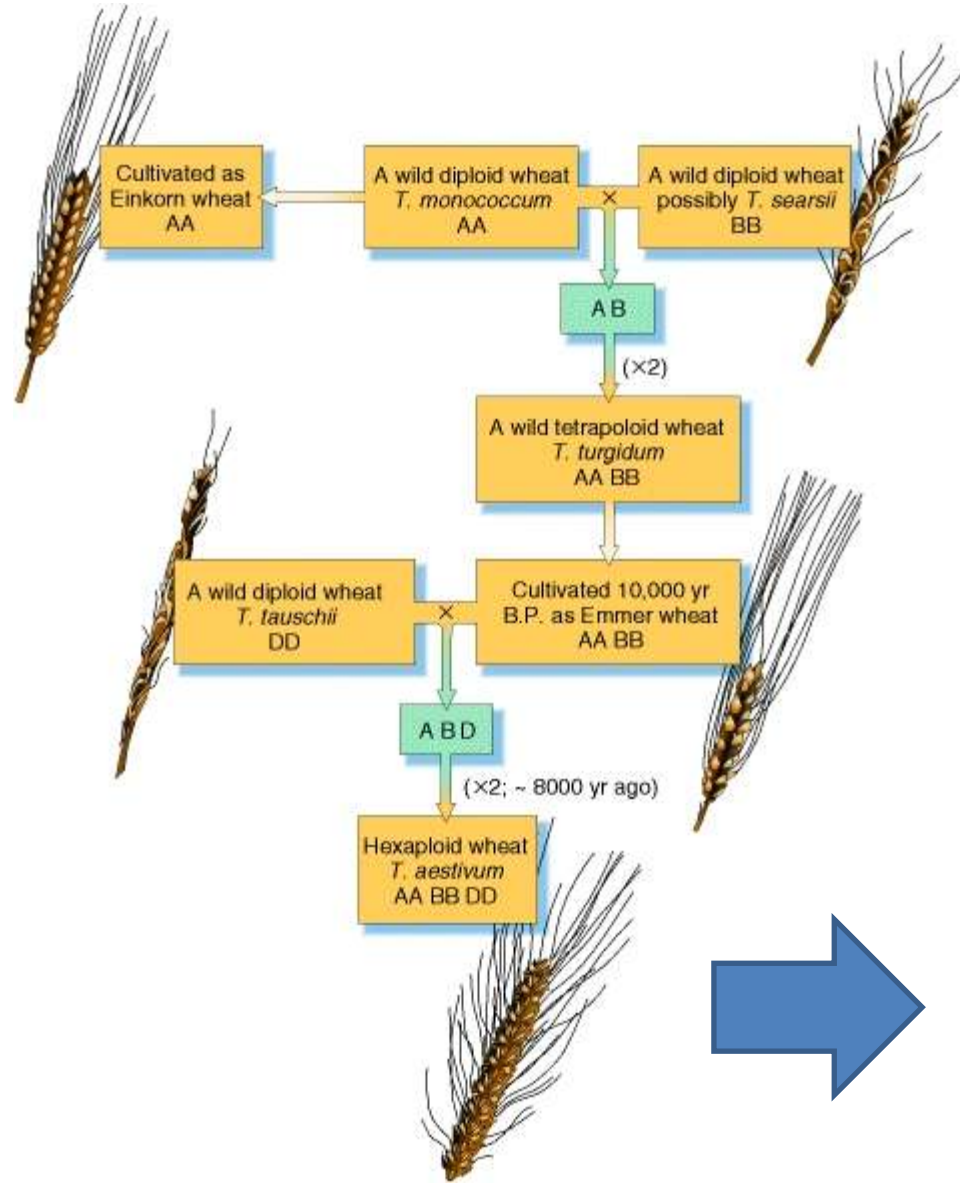
コムギ遺伝資源の持つ表現型・遺伝子型多型の の評価：ゲノム情報活用の現状と課題

京都大学大学院農学研究科
応用生物学専攻植物遺伝学分野
那須田周平

アウトライン

- コムギのゲノム解析の現状
- 現在利用可能なゲノム情報
- ゲノムワイドマーカーは利用可能か？
- 遺伝資源の活用：表現型変異と遺伝子型多型

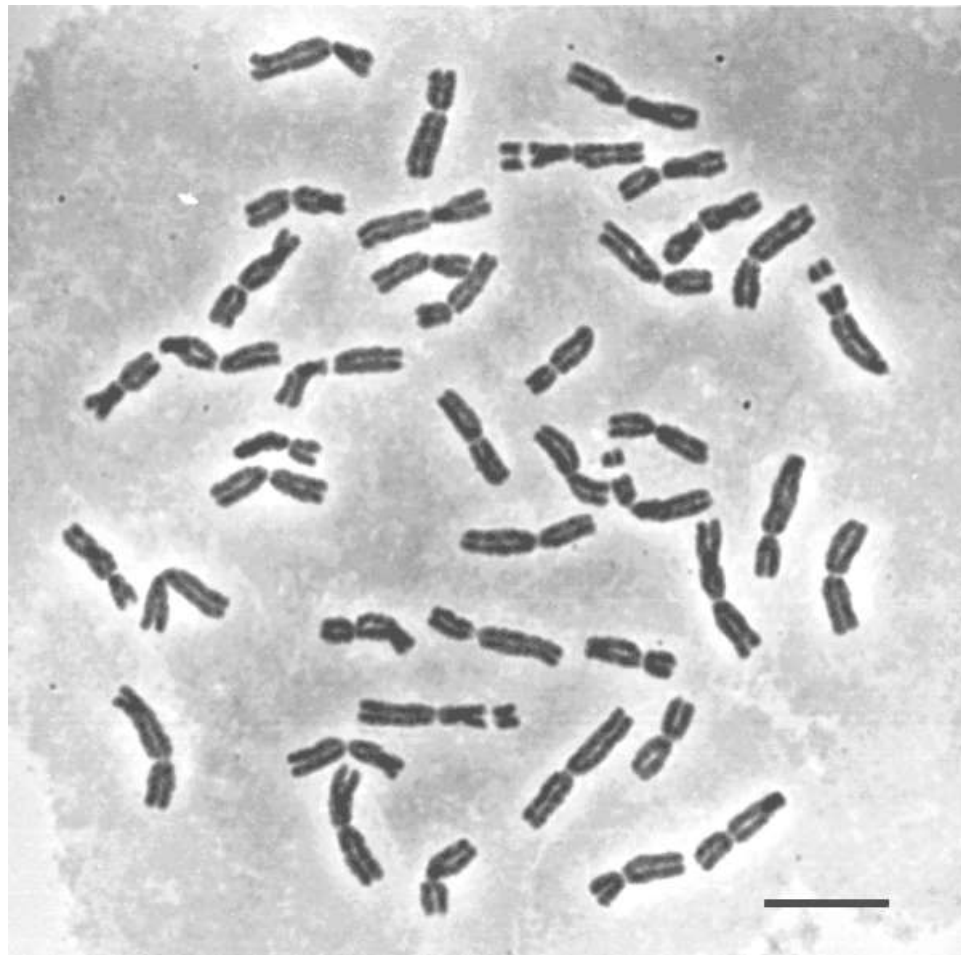
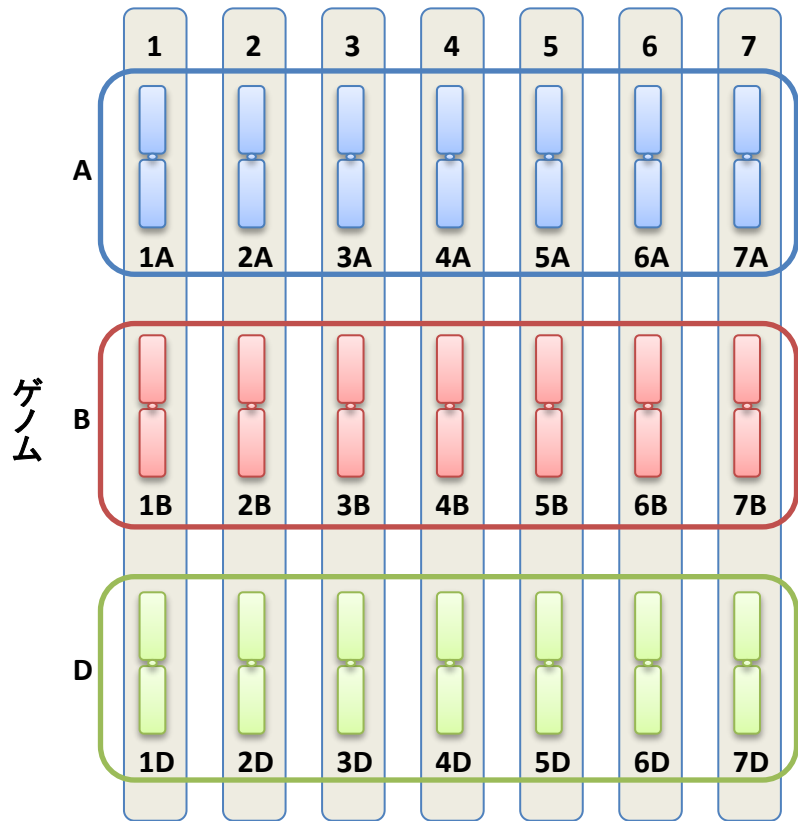
パンコムギの成立



パンコムギ (*Triticum aestivum*)
異質6倍体
 $2n=6x=42$
ゲノム構成 AABBDD
約一万年前に成立

正常系統

同祖群

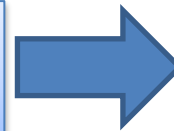


コムギ染色体は全て中部動原体染色体で、
長さは8.4(1D染色体)から13.8(3B染色体) μm

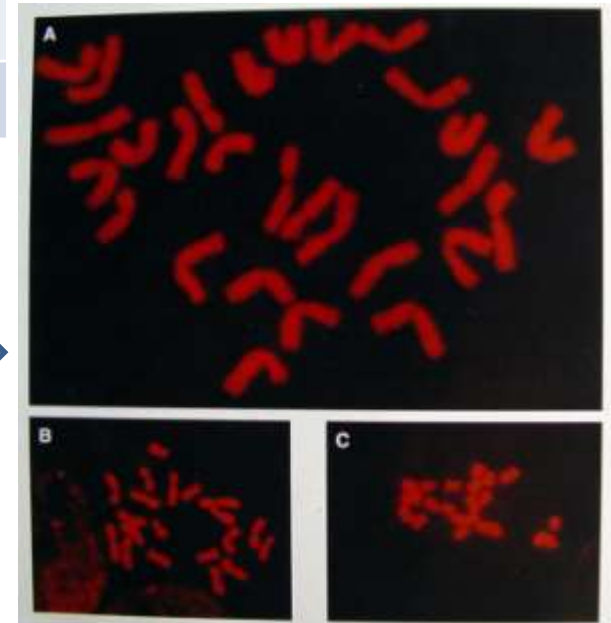
世界3大穀物のゲノム解読

Species	Genome size (bp)	Sequence completed
<i>Homo sapiens</i>	3,400,000,000	April 2003
<i>Arabidopsis thaliana</i>	120,000,000	December 2000
<i>Oryza sativa</i>	400,000,000	December 2004
<i>Zea mays</i>	2,300,000,000	November 2009
<i>Triticum aestivum</i>	17,000,000,000	Not yet!

ゲノムサイズから計算すると、
「イネの全ゲノム」≒「1本のコムギ染色体の片腕」



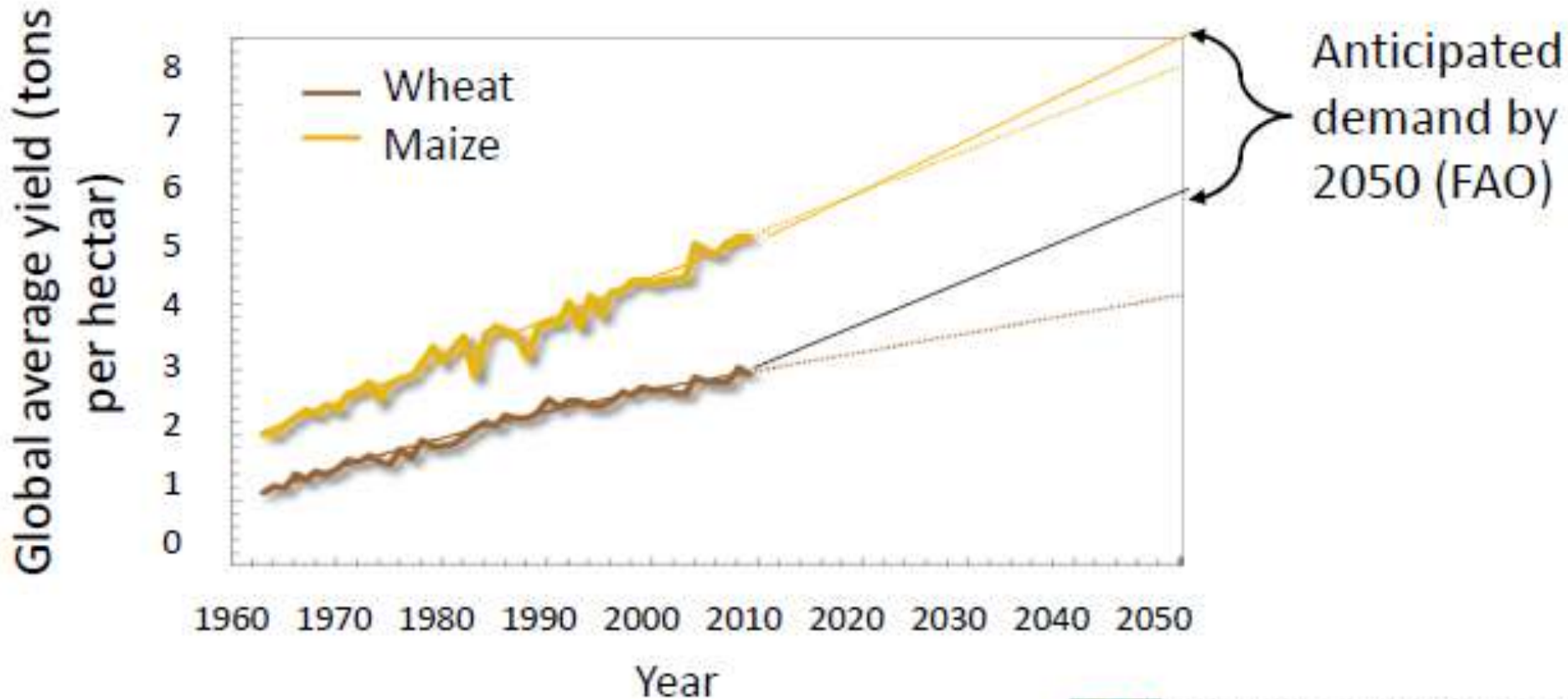
4倍体コムギ



トウモロコシ

イネ

なぜゲノム解読をするのか



[Source: USDA PDS database]

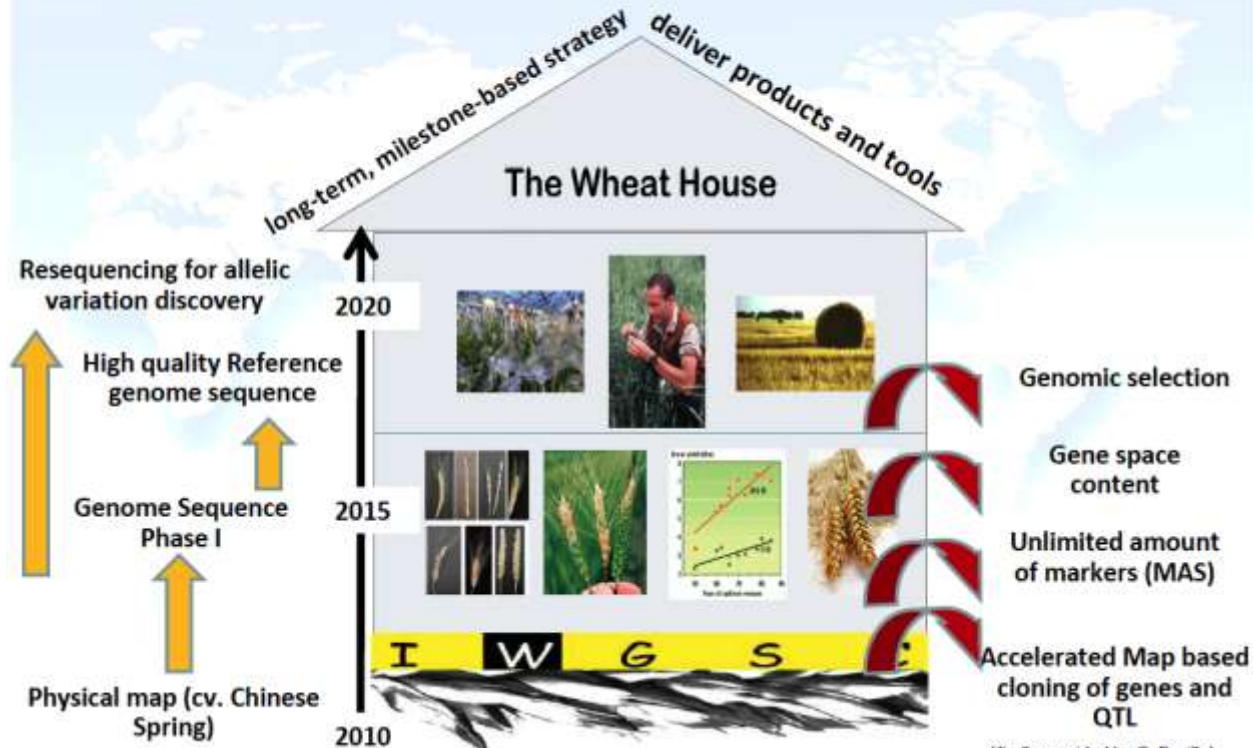


ゲノム情報を利用して、効率的なコムギ育種をする必要がある

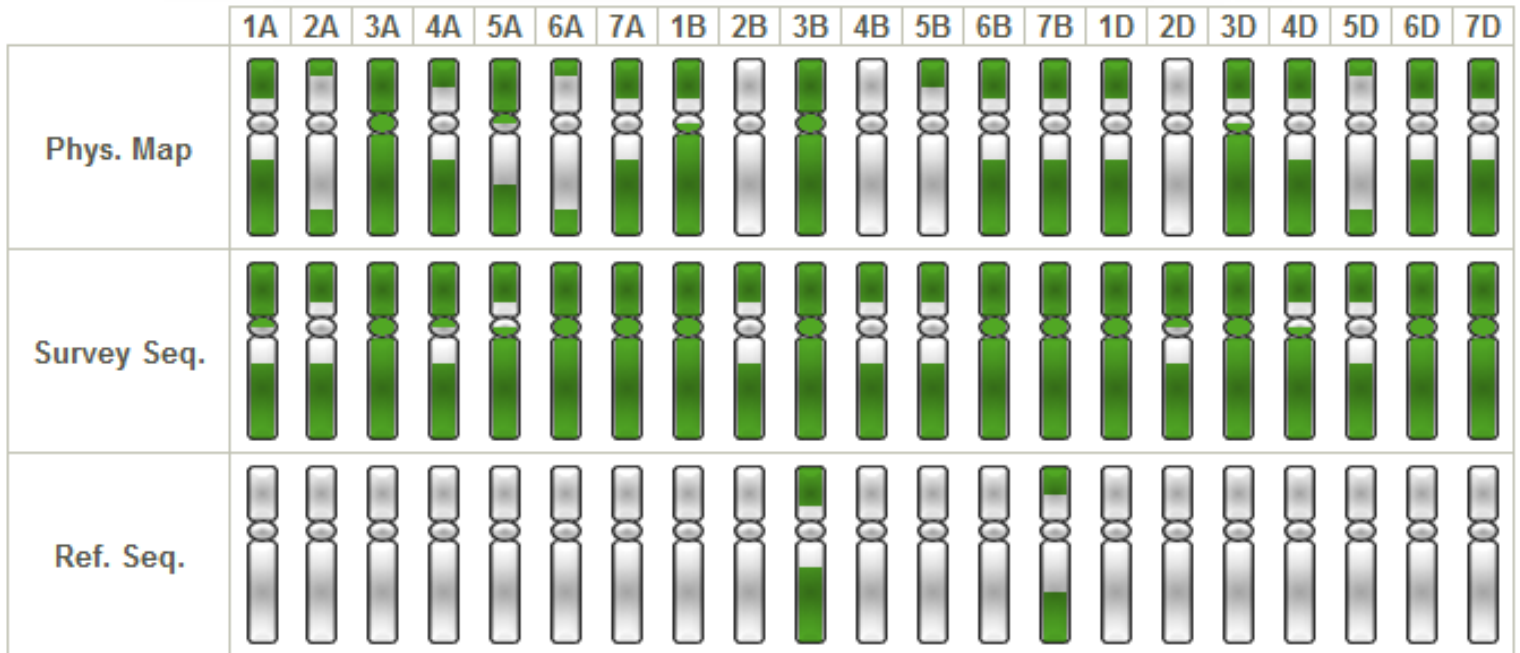
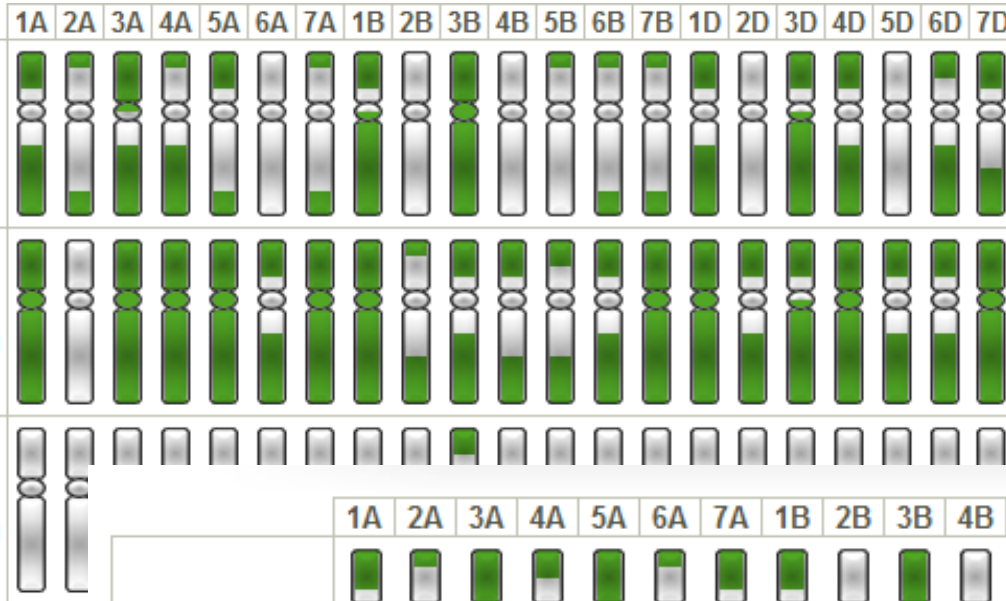
コムゲノム解読国際コンソーシアム(IWGSC)の結成(2005)



IWGSC Vision: Breeders, Agronomists, and Industry have state-of-the-art tools and technologies equal to those of other crops

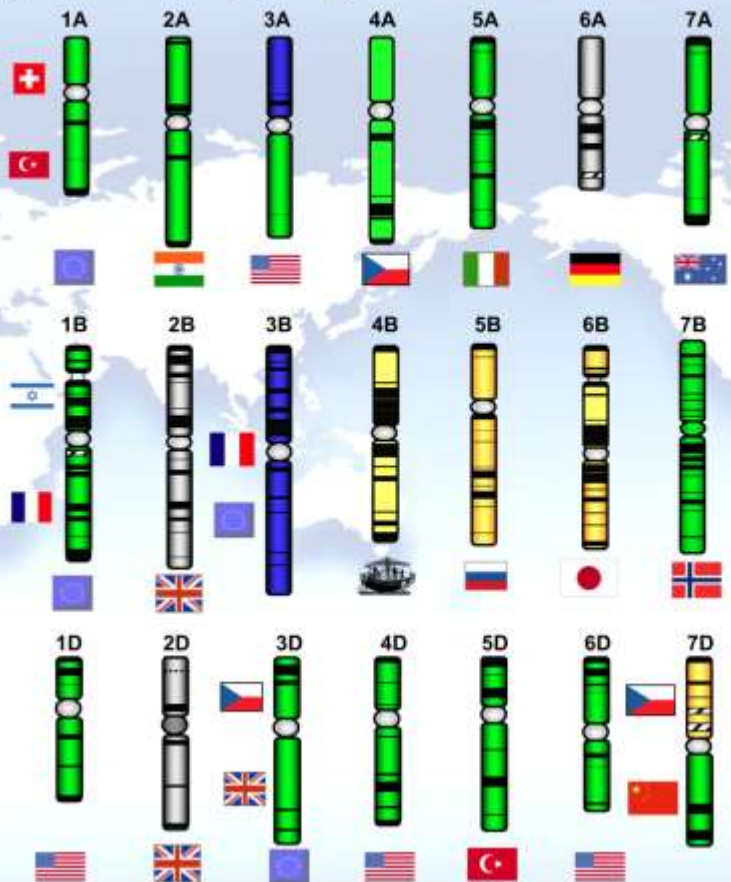


進捗状況



Projects progress overview

Physical mapping of the bread wheat genome



Funded

Some funding

Finished

T. aestivum
cv Chinese Spring

www.wheatgenome.org

2010

担当染色体= 6B (約900 Mb)

国内コンソーシアム(2009)

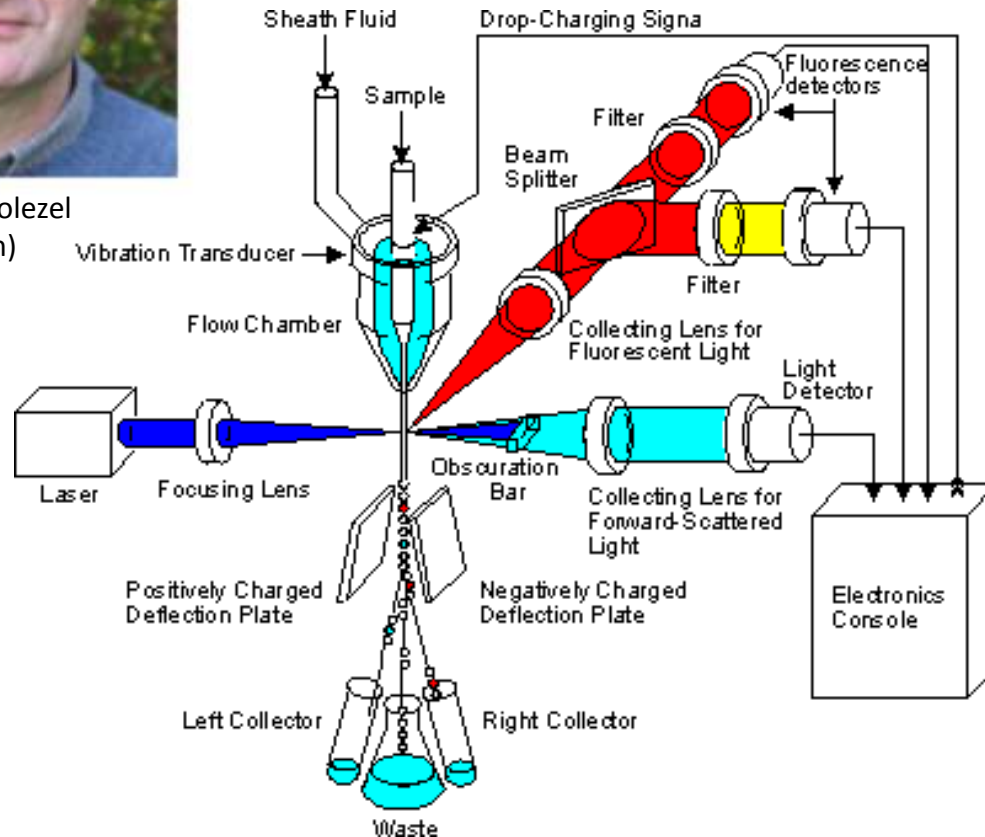
- 横浜市立大学
- 農業生物資源研究所
- 京都大学
- 日清製粉(株)

ゲノム解読への基盤整備
染色体DNAの分離

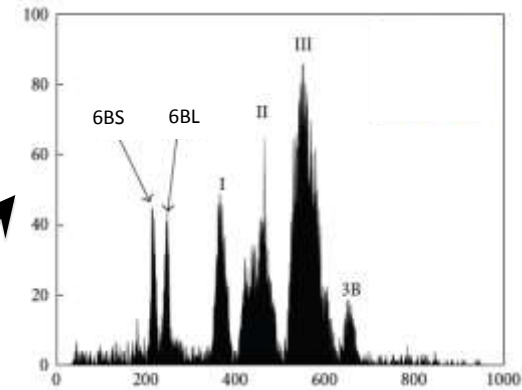
染色体のフローソーティング



Jareslov Dolezel
(IEB, Czech)



Cell Sorter による
Flow Sorting



6BS --5,400,000 染色体
6BL---5,150,000 染色体取得

BACライブラリー
約8万クローン
10X Genome Equivalent

5X Wheat Genome (August 2010)

skip to content

university home | study | research | contacting people | a-z index | news | help | search



NEWS FROM THE UNIVERSITY
Press releases

About our news website

Do you have a news story?

Directory of Experts

RSS news feed

All news feeds

NEWS HOMEPAGE

[University home](#) > [All news](#) > [2010](#) > Wheat genome

Search news:

Go

[Advanced search](#)

UK researchers release draft sequence coverage of wheat genome

Press release issued 27 August 2010

The first sequence coverage of the wheat genome has been publicly released by a team of UK researchers, including scientists from the University of Bristol. The release is a step towards a fully annotated genome and makes a significant contribution to efforts to support global food security and to increase the competitiveness of UK farming. The work was funded by the Biotechnology and Biological Sciences Research Council (BBSRC).

The genome sequences released comprise five read-throughs of a reference variety of wheat and gives scientists and breeders access to 95 per cent of all wheat genes. This is among the largest genome projects undertaken, and the rapid public release of the data is expected to significantly accelerate the use of the information by wheat breeding companies.

The team involved [Professor Keith Edwards](#) and [Dr Gary Barker](#) at the University of Bristol's [School of Biological Sciences](#), Professor Neil Hall and Dr Anthony Hall at the [University of Liverpool](#), and Professor Mike Bevan at the [John Innes Centre](#), a BBSRC-funded Institute.



Other University Twitter channels >>

“The wheat genome is five times larger than the human genome and presents a huge challenge for scientists. The genome sequences are an important tool for researchers and for plant breeders, and by making the data publicly available we are ensuring this publicly funded research has the

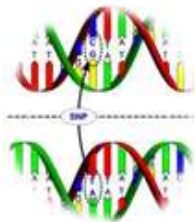
Extract from ite

Wheat Genomics



Welcome

The Bristol Wheat Genomics site is divided, on the basis of target audience, into 3 separate areas - see below:



CerealsDB

Follow this link to visit the original CerealsDB web site. The site has been updated to include an online searchable SNP

database from which one can download sequence and primer information. Thus, the site now provides research scientist and breeders with the tools to look for SNP markers, BLAST search wheat sequences against a Chinese Spring database and against other small grain cereal crops (e.g. barley).



WheatBP

Follow this link to go to the original WheatBP to which now have been added addition pages. The information contained herein is directed at a non-specialised audience providing general information about wheat. Topics covered are: wheat evolution, wheat breeding, milling, baking and brewing, and an introduction to the wheat research carried out in our laboratory.

Please note that the new pages are still being added to and modified: they should be seen as a works in progress rather than finished articles. Any comments and suggestions will be gladly accepted.



Transcriptomics Facility

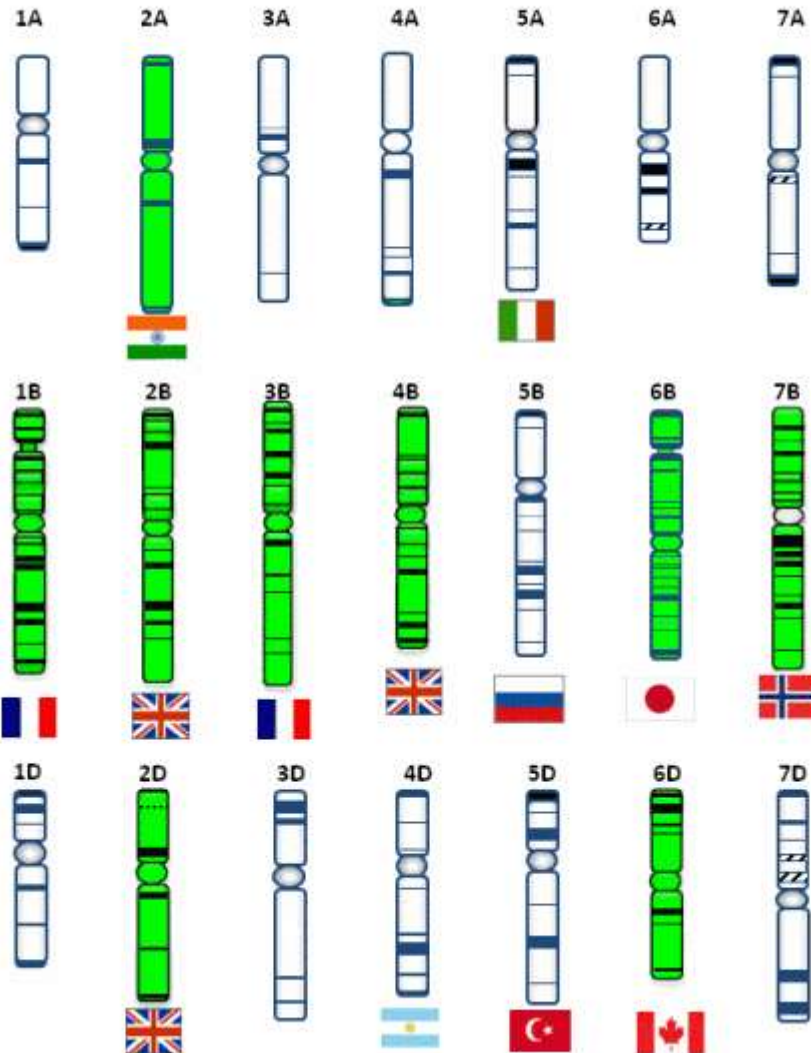
The facility provides expertise and access to the latest genomics and transcriptomics technologies including Illumina next generation sequencing and Affymetrix GeneChip® array analysis. The facility provides the following services:

- Illumina GA IIx genome analyser next generation sequencing
- Affymetrix GeneChip® hybridisation and analysis
- RNA/ DNA bioanalyser analysis
- ABI 3500 capillary sequencing/genotyping
- Bioinformatics support

Projects

- > [IWGSC Bread Wheat Projects](#)
- > [Physical mapping](#)
- > [Sequencing](#)
 - > [Whole Chromosome Reference Sequencing Projects](#)
 - > [3BSEQ](#)
 - > [6B Sequencing](#)
 - > [6D Reference Sequencing Proposal](#)
 - > [7B sequencing](#)
 - > [Whole Chromosome Survey Sequencing](#)
- > [Projects by chromosome](#)
- > [IWGSC Ae. tauschii Projects](#)
- > [Positions available](#)

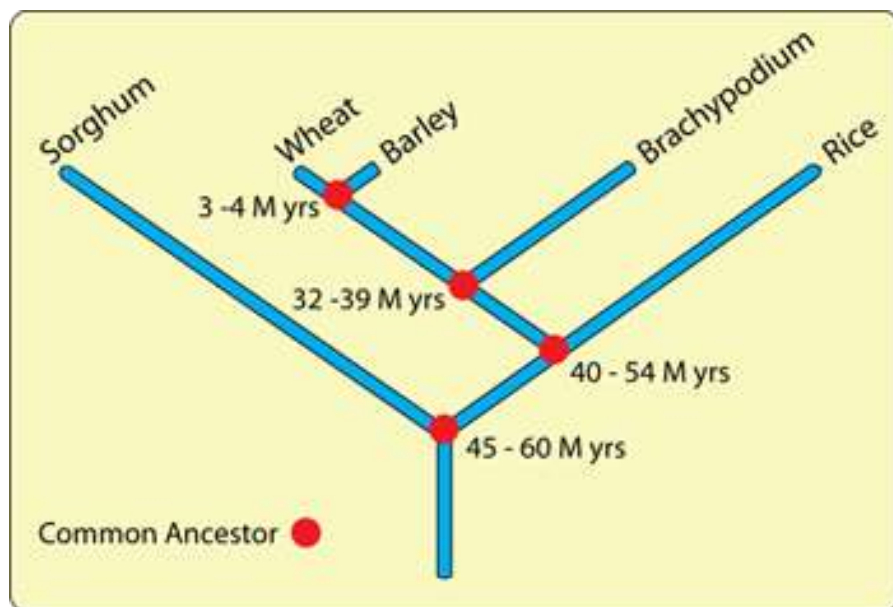
Whole Chromosome Reference Sequencing Projects



コムギゲノム解読の現状

- 5X Wheat Genome Sequenceが利用可能
 - 個々の配列、アッセンブルに対しBlast検索可能
- Chromosome Arm Survey Sequenceは近々にリリースされる
 - Blast検索可能になる
- Physical mapの構築が進行中
 - 全ての染色体に予算が付いている
 - 2013年完了予定
- Reference Sequence公表には相当の時間がかかる
 - 先行しているのは3Bと7B

コムギ近縁種のゲノム情報の利用



オオムギゲノム解析

- 全ゲノムをカバーするMTP構築
- Genome Survey Sequence終了
- ゲノム解読が済んでいるイネ科植物（イネ、Brachypodium、ソルガム）との遺伝子のシンテニーが明らか（GenomeZipper）
- GenomeZipperにはGenoem Survey Sequenceもマップされている

現在のムギ類ゲノム解析を利用すればゲノムワイドマーカーの作成は可能

コムギとその 近縁種 48系統

T. aestivum
T. spelta
T. monococcum
T. boeoticum

⋮

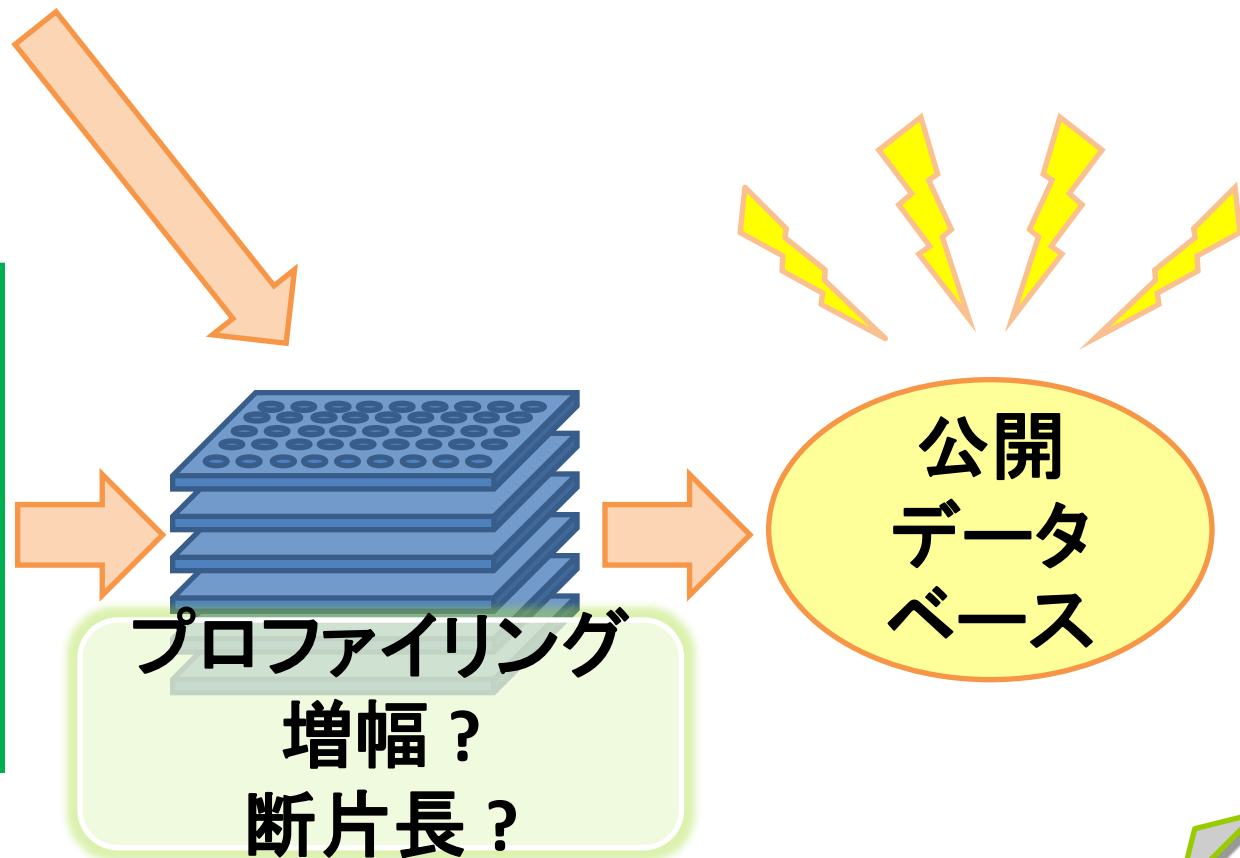
目的

- (1) リソースにジェノタイプ情報を付加
- (2) 推奨マーカーセットの選定

既報の SSR マーカー

Marker A
Marker B
Marker C

⋮



目的： 広範囲の6倍性コムギを対象として、

① 主動遺伝子の連鎖分析

② ラフなQTL解析

⇒ ゲノム全体をカバーする優良なマーカーの選抜

“必ずしも、稠密な連鎖地図は必要でない”

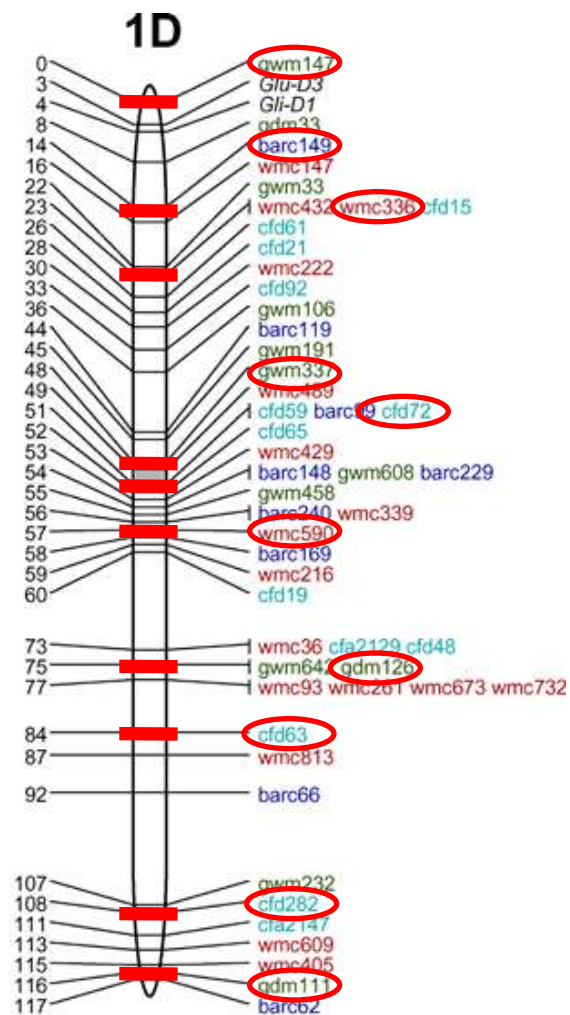
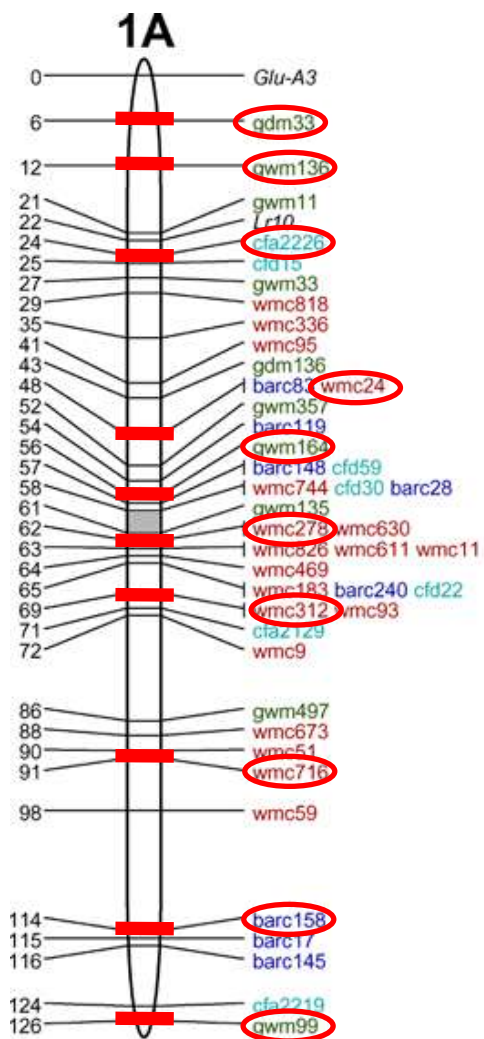
必要なマーカー数？：

コムギの連鎖地図のほとんどは染色体あたり200 cM以下。
すなわち、染色体あたり平均4回の組換えしか起きない。

各染色体に10マーカーあれば、約20 cMのインターバルでゲノムをカバーできる。

主動遺伝子と大きな効果を持つQTLはマップできるはず。

推奨マーカーセットの選定



第二期 NBRP・コムギ DNAマーカーの多型調査プロジェクト

5年間(2007年度から2011年度)の到達目標

遺伝子単離に向けて、
主働遺伝子のマッピング、ラフなQTL解
析が可能になった

進捗状況(2012年1月現在)

- ① 48系統の多型パネルに関して、約1700個のSSRマーカーの増幅プロフィールを得た
- ② 増幅プロフィールの公開データベースを構築した
- ③ 推奨マーカーセット(Ver. 1)を選定した

SSRで遺伝子に連鎖するマーカーは同定できるか？

- ①コムギ連鎖地図 ②コムギ物理地図 ③コムギ連鎖地図 ④イネ物理地図

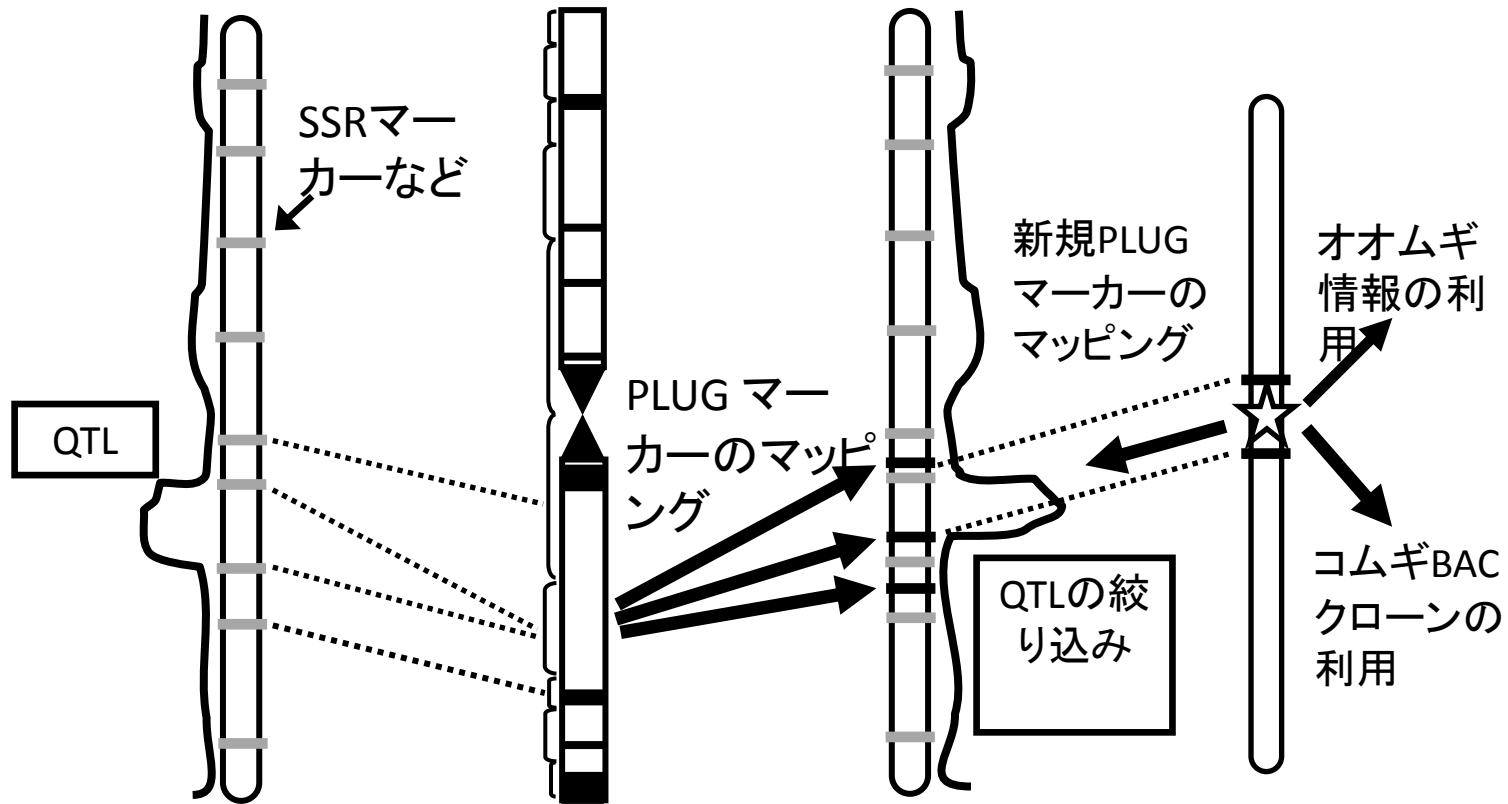


図1. PLUGマーカーを利用した目的領域への新規マーカー開発の流れ

- ①SSRマーカーなどを利用した連鎖地図作成とQTL解析、②近傍マーカーの座乗染色体領域の把握とPLUGマーカーの選定、③選定PLUGマーカーの多型調査と再QTL解析、④近傍PLUGマーカーの基準となったイネ遺伝子情報を利用した新規マーカーの開発。

第二期 NBRP・コムギ DNAマーカーの多型調査プロジェクト

SSRの問題点

- (1) 210マーカーではコムギのゲノムを完全にカバーできていない
- (2) Low-through put

コムギ特有の問題点

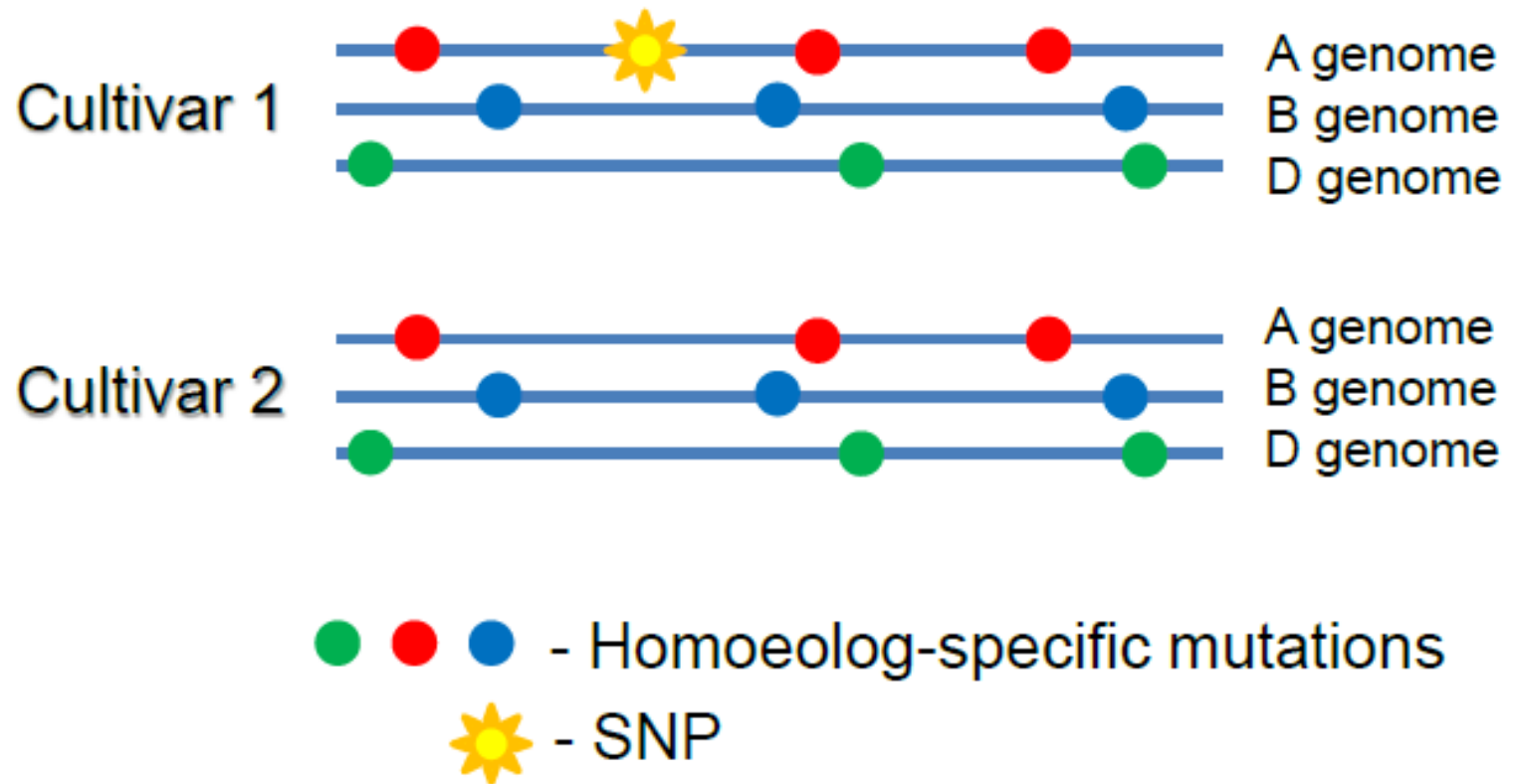
- (1) 6倍体: マーカーのゲノム特異性の確認が必要
- (2) 6倍体コムギの起源が浅く、6倍体化の時点でボトルネックを受けているため品種間多型が出にくい

一塩基多型 (SNPs) を検出する、ゲノムワイドなマーカーシステムがあるのが望ましい。

ゲノムワイドマーカー(1)

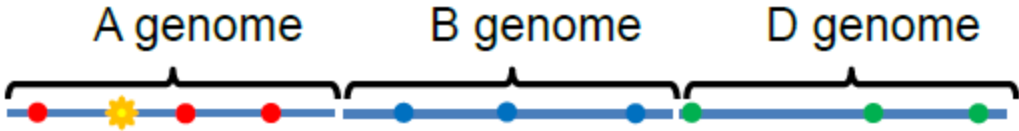
米国カンザス州立大学 Eduard Akhunovによる
SPNs検出とIllumina GoldenGate Assayによる
ジェノタイピング

ゲノム間多型と品種間多型

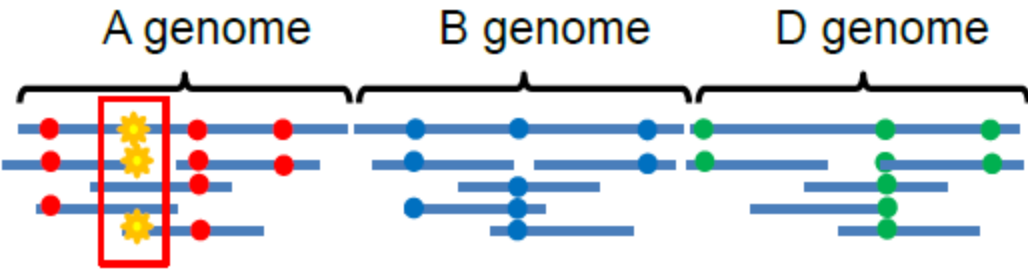


SNPs discovery

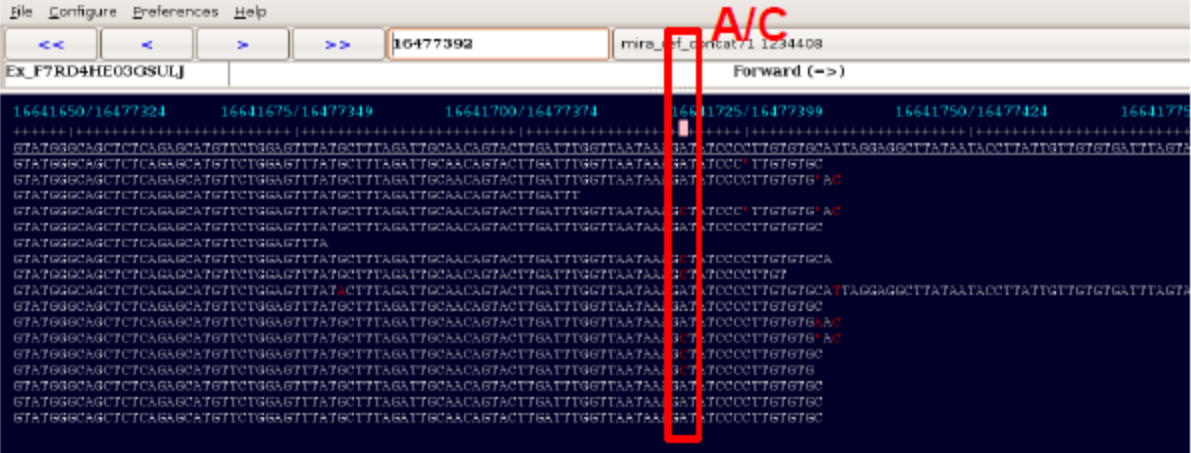
1. Create Reference Sequence: separate homoeologs



2. Map 454 reads to the reference under parameters favoring homoeolog-specific alignment



SNP



A screenshot of a sequence viewer interface. The top bar shows menu options: File, Configure, Preferences, Help. Below are navigation buttons and coordinates: 16477392 and mirs_of_5rncat71.1234408. The main area displays sequence data in a grid format with coordinates: 16641650/16477324, 16641675/16477319, 16641700/16477374, 16641725/16477399, 16641750/16477424, 16641775. A red box highlights a specific region in the sequence, with 'A/C' written above it. The text 'Forward (->)' is visible on the right side of the viewer.

Eduard Akhunov

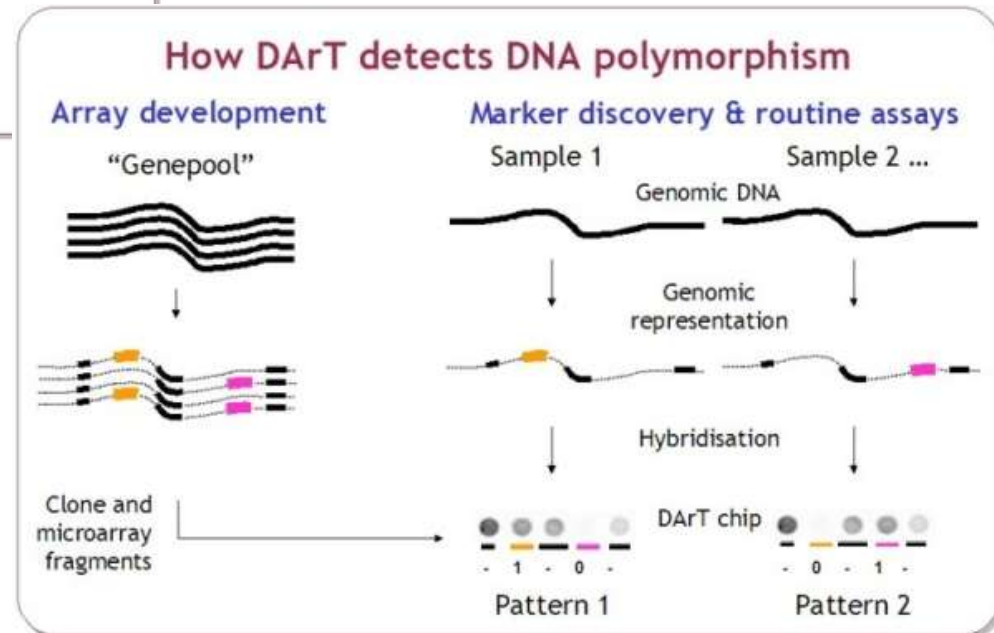
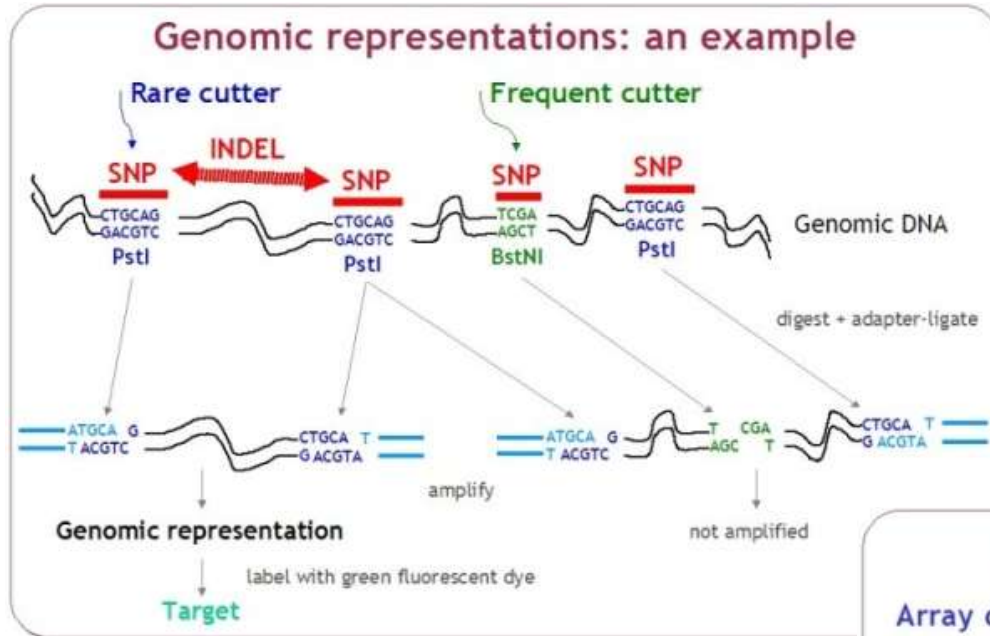
SNPs in polyploid wheat: discovery

1. 454 and Illumina sequencing: 6 US cultivars + 3 Australian (~14 million reads)
2. Homoeolog-specific assembly (454 data): 120,000 contigs ~100 Mb
3. Map sequence reads to the reference: ~40% of reads can be mapped
4. SNP discovery: ~ 50,000 SNPs
5. Validation using Illumina OPA is underway
6. ~9,200 SNPs by spring 2011 will be tested by Illumina OPA genotyping

ゲノムワイドマーカー(2)

オーストラリア Diversity Array Technology社によるDArTマーカーとDArT-Seqマーカー

Diversity Array Technology (DArT)





HOME

[ABOUT US »](#)

[TECHNOLOGY »](#)

[SERVICES »](#)

[DART NETWORK »](#)

[RESEARCH AND
DEVELOPMENT »](#)

[LITERATURE »](#)

Search

Search

Diversity Arrays Technology Pty Ltd (DART P/L)

a company that delivers affordable products and services in genome profiling, genetic analysis and molecular breeding, including development and provision of data storage and data mining technologies.



コムギについては
7000座位を調査可能

DART is a generic and cost-effective genotyping technology detecting all types of DNA variation (SNP, indel, CNV, methylation). It was invented by Dr Andrzej Kilian, to overcome some of the limitations of other molecular marker technologies such as RFLP

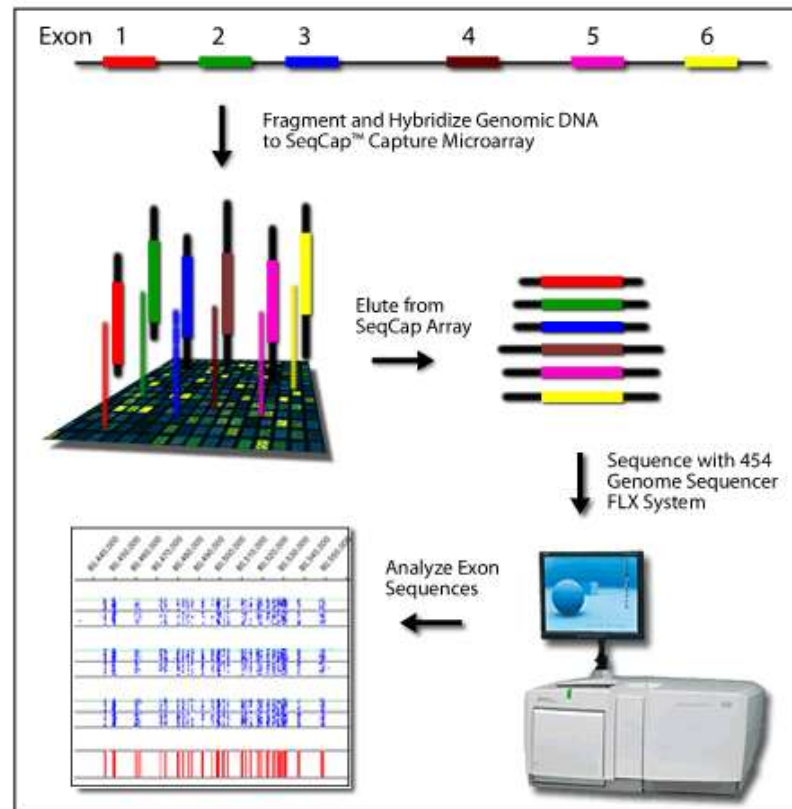
ゲノムワイドマーカー(2)

- フランスINRAのEtienne PauxによるISBP marker
- イギリスBristol大によるSNPs検出とKASParシステムによるジェノタイピング

詳細は省く

ゲノムワイドマーカー(3)

- Sequence Capture法による完全長cDNA配列とイントロンとその近傍配列の選抜とGBS



なぜ多様性解析か？

- ・新規アリの発掘による遺伝解析の促進
- ・表現型－遺伝子型の相関解析
- ・ゲノム間相互作用による新規表現型の顕現

- ・農業上好ましい形質のパンコムギへの導入
- ・世界のコムギ育種は優良品種の変異を使いきってしまった

多様性のソースは？

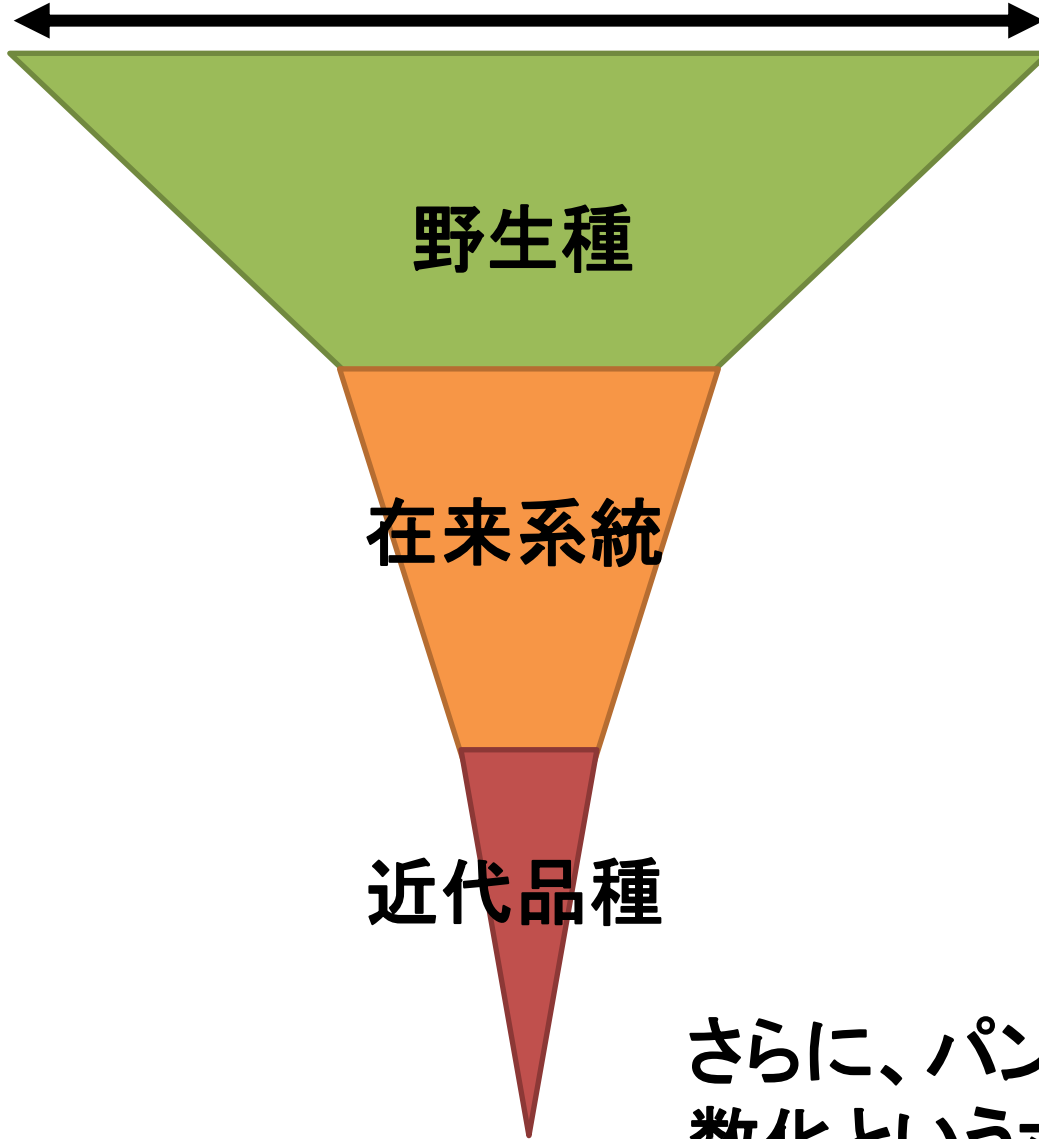
(1) ナチュラルバリエーション

- ・在来系統
- ・祖先野生種
- ・遠縁種

(2) 変異導入系統

- ・突然変異系統
- ・遺伝子導入系統

遺傳的多様性



野生種

在来系統

近代品種

さらに、パンコムギは倍
数化というボトルネック
を2回経ている

ゲノミクスの進歩により、大きく状況が変わろうとしている
(1)ゲノムワイドマーカーによるジェノタイピング技術の確立
(2)正確なフェノタイプ評価技術の向上
(3)ジェノタイプ-フェノタイプの相関解析手法の開発

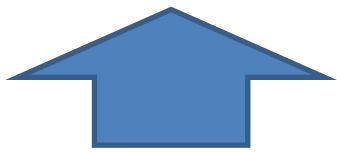
ジェノタイピング



在来系統

合成コムギ

異種添加系統

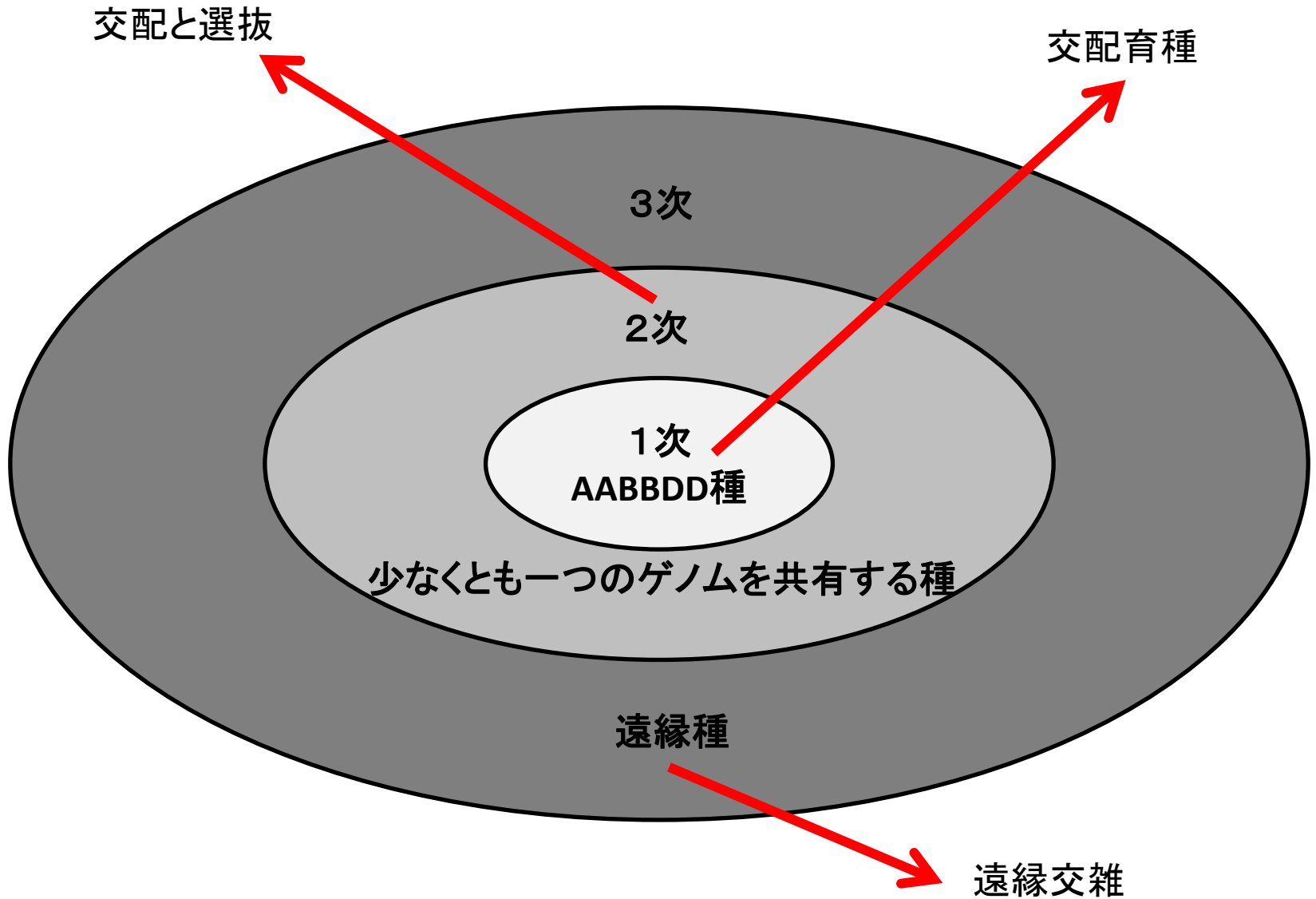


フェノタイピング

相関解析

- ・新たな表現型の顕現
- ・新規アليل発掘
- ・量的形質遺伝子座の同定
- ・望ましい形質の導入

コムギのジーンプール



ミッション1: NBRP系統のコアコレクション化

- (1) *T. aestivum*は採集地別分布数に比例
- (2) 非パンコムギAABBDD種は系統数に比例
(1種1系統)
- (3) 第二期でジェノタイピングした系統はすべて



191系統をNBRP・コムギ第二期で確立したコムギ多型調査推奨210 SSRマーカーとDArT-seqマーカーでジェノタイプ調査

ミッション2: 表現型調査

- (1) 基本形質の調査
22調査項目(草型、草丈、穂の形態、出穂期、100粒重など)
- (2) 病害抵抗性、種子貯蔵タンパク質などの形質調査は協力者に依頼

ミッション3: 交配・分離集団作製

- (1) 調査対象全系統を、(あ)遺伝子単離、遺伝子導入のため遺伝学標準系統であるコムギ品種Chinese Springと、(い)農業上重要な形質のコムギ育種への利用のため、日本の優良品種で、広域適応性を持つ農林61号と交配した
- (2) 交配雑種は自殖してF₂分離集団を作成
- (3) 各系統を自殖し、配布用種子とする。専門家の協力により各所でとられた表現型データをNBRP・コムギに集積する

まとめ

- コムギのゲノム解読完了までにはまだ時間がかかる
- イコムギ育種にとって重要なのは有用形質に密に連鎖するマーカー
- ゲノム解析の進行、次世代シーケンサー技術の発展により、コムギでもゲノムワイドマーカーの開発・利用が可能になりつつある
- 各国は、それぞれの国の品種間多型を有効に検出できるマーカーを独自に開発している
- 多様性のソースとしてのコムギ遺伝資源の重要性を再認識すべき