

# 二国間交流事業 共同研究報告書

平成 23 年 4 月 7 日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 財団法人かずさデータ・エヌ・エー研究所

(ふりがな)

職・氏名 主任研究員 磯部 祥子

1. 事業名 相手国 ( インド ) との共同研究 振興会対応機関 ( DST )

2. 研究課題名 アカクローバAIL集団を利用した他殖性作物の高精度QTL検出法の開発

3. 全採用期間

平成 21 年 6 月 1 日 ~ 平成 23 年 3 月 31 日 ( 1 年 10 ヶ月 )

4. 研究経費総額

(1) 本事業により交付された研究経費総額 2,000 千円

初年度経費 1,000 千円、 2年度経費 1,000 千円

(2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 70,000 千円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者

氏名 <sup>(<small>ありがな</small>)</sup>	所属・職名	研究協力テーマ
磯部祥子 <small>いそべさちこ</small>	(財) かずさ DNA 研究所・植物ゲノム研究部・主任研究員	研究統括・形質評価および遺伝子型データ解析
白澤健太 <small>しらかわけんた</small>	(財) かずさ DNA 研究所・植物ゲノム研究部・研究員	DNA マーカーの開発およびタイピング
平川英樹 <small>ひらかわひでき</small>	(財) かずさ DNA 研究所・植物ゲノム研究部・研究員	DNA マーカーの開発

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 CSK Himachal Pradesh Agricultural University Department of Plant Breeding and Genetics, Professor, Tilak R Sharma

(3) 相手国参加者 (代表者の氏名の前に○印を付すこと)

氏名	所属・職名 (国名)	研究協力テーマ
○Tilak R Sharma	CSK Himachal Pradesh Agricultural University Department of Plant Breeding and Genetics, Professor (インド)	アカクローバの遺伝子型解析および表現型の評価
J. C. Rana	National Bureau of Plant Genetic Resources, Scientist	アカクローバの表現型の評価

## 6. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

### 【研究目的】

アカクローバ(*Trifolium pratense*)はマメ科牧草として世界の温・冷涼気候帯において栽培されており、我が国では北海道を中心として約 12 万 ha の作付け面積がある。一方、インドではこれまで牧草を栽培するヨーロッパ型の畜産があまり行われておらず、アカクローバにおいても自然草地に自生している個体が利用されているのみであった。しかし、近年においては畜産物需要の増加に伴ってインド国内でも牧草栽培の重要性が高まっており、インドの気候風土に適したアカクローバ品種の育成が急務となっている。そこで本研究では、アカクローバの複数の親を相互交配した集団（Advanced Intercross Lines:AIL 集団）を作成し、日本側研究参加者らが開発した QTL（Quantitative Trait Loci）の相互作用を検出する GMM 法を用いて QTL の検出を行うことで、QTL 検出の精度の向上を試みる。また環境要因による QTL 発現の違いを考慮に入れるため、気候の異なるインドと日本で集団の形質評価を行う。本研究により検出された QTL は選抜マーカー開発の基礎情報として用いることができる。

### 【研究内容】

共同研究開始前に日本、ロシアおよびスイス原産のアカクローバ 6 個体を由来とするアカクローバの AIL 集団を日本側研究者によって作成していた。この AIL 集団を日本・千葉県およびインド・ヒマチャル地方の圃場で生育させ、開花特性、地上部乾物重、および種子重を測定した。また、ゲノムワイドに座乗する SSR（Simple Sequence Repeat）マーカー 75 を全ての個体に対してタイピングするとともに、SNP（Single Nucleotide Polymorphism）マーカーの開発・遺伝子型解析も着手した。QTL の検出は Isobe et al(2007)が開発した GMM 法を用いて行った。また、マッピング親から AIL 集団における LD の崩壊程度を推定する。

### 【研究成果】

かずさ DNA 研究所（以下 KDRI、千葉県）および CSK ヒマチャルパラデシュ農業大学（以下 HPAU、インド・ヒマチャル州）の圃場において、アカクローバの AIL 集団各 380 個体(KDRI) および 200 個体（HAPU）を 80cm×80cm の個体植で播種した。両国において、開花始め日、草丈、草型、花色、種子重の評価を行った。評価を行った形質は両国ともに集団内で広い分布が認められた。また、インドにおける開花が 4 月から開始する一方で、日本では 6 月から開花が認められるなど形質発現は両国で異なっていた。DRI および HPAU で生育させた解析集団全 580 個体から DNA を抽出した。75 の SSR マーカーで遺伝子型タイピングを行ったところ、1 マーカーが検出するアレル数は 1~12 であり、平均値は 6.5 だった。これらの遺伝子型値を用いて、LD の長さを推定したところ、AIL 集団の LD の距離は F1 集団と親子関係のない集団の間で推移することが明らかとなった。またより詳細な遺伝子型データを得るために、SNP マーカーの開発をおこなった。Roche454 シーケンサーを用いて、AIL 集団を作成した 6 親のうち 2 親（HR および R130）の系統の配列を収集した。合計で 945600 リードの配列を得た。MIRA プログラムによりこれらの配列をアセンブルし、129019 カ所の候補 SNP を検出した。このうちクオリティ値の高い 1536SNP について Illumina GoldenGate Assay 法により SNP の評価をおこなった。その結果約 1000 の SNP が AIL 集団内で分離することが明らかとなった。SSR マーカーの遺伝子型と形質評価値をもちいて GMM 法による QTL を検出したところ、評価をおこなった各形質において有意な QTL が検出された。QTL の評価は複数年の形質評価値を用いて検出することが一般に求められている。そのため、平成 23 年度の形質評価を行うために、平成 22 年度の冬に同一集団の播種を再度行った。