

【話 題】

公開シンポジウム「スギにおける分子育種の幕開け」成果発表会概要

渡辺 敦史^{*1}・高橋 誠²

はじめに

2015年11月8日東京大学弥生講堂アネックス・セイホクギャラリーにて、標記「スギにおける分子育種の幕開け」と題した成果発表会が開催された。本成果発表会は、独立行政法人（現国立研究開発法人）森林総合研究所林木育種センター（以下、育種センター）を主催に、九州大学を共催とした成果発表シンポジウムであり、農林水産技術会議プロジェクト研究「気候変動に対応した循環型食料生産等の確立のための技術開発（現：平成27年度は「森林資源を最適利用するための技術開発）」のうち、課題名「新世代林業種苗を短期間で作出する技術の開発」で得られた研究成果の中から、特にスギにおいてゲノム情報を活用して推進する分子育種に関する成果について公表するために企画されたものである。本プロジェクトは、平成24年度（2012年度）から4年間に亘り、育種センター、同九州育種場、九州大学および九州4県の試験機関（佐賀県林業試験場、大分県農林水産研究指導センター林業研究部、宮崎県林業技術センター、鹿児島県森林技術総合センター）をプロジェクトメンバーとして、3中課題10小課題について実施された。

プロジェクト開始当時、次世代シーケンサーに代表される技術革新やジェノミックセレクションといった新たなDNA分析技術や育種理論が、イネに代表される農作物だけでなく、林木育種へも波及することが現実のものになりつつある状況下にあった。これらの周囲の状況に加え、執筆者が当時在籍していた育種センター育種部育種第一課基盤研究室では、育種センター内で次世代育種に向けた青写真が議論される中、従来の林木育種手法に分子育種を現実問題として融合できるか、を焦点に討議を重ねていた。とはいえ、2012年当時でも、林木育種において分子育種を導入することの現実性に

ついては育種センター内部でも疑問視する声が存在していた。

本プロジェクトの目標と目的

本プロジェクトは、地球温暖化対策としての森林吸収源対策及び震災復興対策の進展に伴う国産木材の需要の増加による伐採後の森林の早期再生と炭素吸収量の拡大を目標とし、スギを対象に、分子育種技術を導入することで、従来種苗の約2倍の成長速度と同等以上の材質を有する種苗を新世代林業種苗と位置づけ、これら種苗を短期間で作出する革新的な技術を開発し、新系統を選抜することを目的としていた。

この目的を達成するため、本プロジェクトは以下の3中課題で構成されていた。

中課題1：革新的に高速化した新世代林業種苗作出技術の開発

新たな品種の作出に要する期間を従来の選抜育種の3分の1以下にするための分子育種技術を開発する。

中課題2：成長速度に優れた新世代林業種苗の新系統の選抜

精英樹間交配により作出されたF₁ 個体群を候補として、中課題1で開発された技術を利用して従来の約2倍の成長速度を有し、材質も同等以上の新系統を選抜すると共に、優良種苗の効果を最大限に発揮するための施業について検討する。

中課題3：新世代林業種苗の増殖技術の開発

開発された新世代林業種苗の早期の普及に向けて植物工場的発想に基づく増殖技術を開発すると共に、施

* E-mail: nabeatsu@agr.kyushu-u.ac.jp

¹わたなべ あつし 九州大学大学院農学研究院

²たかはし まこと 森林総合研究所林木育種センター

設内交配技術について検討する。

中課題1ではさらに6小課題、中課題2および3ではそれぞれ2小課題が構成課題として含まれており、これらの10の小課題を前述の機関で分担した。

成果発表会「スギにおける分子育種の幕開け」

林木育種センター星育種部長から本成果発表会の趣旨についての説明の後、成果発表会は進められた。成果発表は、前述の3中課題のうち、特にスギ分子育種に関する内容に焦点を絞り、再構成したものである。本稿では、これら3つの話題についてそれぞれの内容の概略とそれらの解説を記載する。

話題提供1 「新系統選抜に向けた統計遺伝学的解析手法の高度化」 林木育種センター九州育種場 武津英太郎

林木育種の現場では、林木の巨体性に依存した植栽面積の広さやそれに伴う試験地における環境の不均一性が精度の高い形質評価を阻む要因としてしばしば認識される。形質（表現型）評価には、遺伝的要因と環境要因両方を考慮する必要性はあるものの、必要なデータは、遺伝的能力である。しかし、植栽地の斜面角度・方位に加えて微細な立地環境変化により形質が受ける影響を排除することは従来の林木育種で用いられている手法では困難であり、環境影響の評価をどこまで排除できるかが第一の関門であった。そこで、空間自己相関による補正を導入することにより、試験地内に存在する環境影響の排除が本格的に検討された。さらに、家系の形質評価を行う際には、10年前・20年前の過去に設計された試験地を利用することが一般的であり、この場合望ましい情報を得るための試験設計になっている保証はない。試験地内の反復は統計手法を導入する上で用いられている項目であるが、前述の様に残念ながら林木の巨体性から植栽されたすべての家系について環境の影響を排除することは困難であることに加え、評価対象の家系間で検定回数・植栽本数・試験地の場所・年次などが均質なデータを得ることもまた事実上不可能であった。これらアンバランスなデータに対しても高度な統計遺伝学的手法を積極的に導入することで、出来る限り各クローンの遺伝的能力の評価を正確に行うことを試みた。

分子育種を実行する上で、分子データの取得が重視

される傾向にある。しかしながら分子データに基いた形質予測の基礎として必要となるのは正確な形質データであり、それを如何に正確に取得できるかの考慮・検討も分子データの正確な取得と同様に重要であるが、実際には困難であることが多い。利用する植栽地または試験地全てが必ずしも分子育種を試行するために設定されているわけではない。話題提供1では、これら直面した問題を紹介しつつ、それに対する対処として統計遺伝学的手法を従来の育種で利用されてきた手法に加えて、洗練かつ高度にすることによって出来る限り対処する姿勢を打ち出した。

形質評価の精度向上や解決に向けたアプローチは本プロジェクトを通じて一貫して検討されてきたテーマであり、多くのメンバーが様々な角度から取り組みを行ってきた。例えば、従来の成長調査では樹高成長は5年ごとに成長休止期に測量用のポールもしくはバーテックスを利用して1個体ずつ測定するのが一般的であるが、本話題内でも紹介された、生物学的プロセスを考慮し、1成長期に複数回の測定を行うことでクローン間の成長率や成長パターンの違いにも着目した評価手法の試行はその一例と言える。

話題提供2 「スギ発現遺伝子の網羅的収集とその特徴」九州大学 田村美帆

針葉樹を対象とした分子育種を実行する上で最大の問題は、ゲノムの巨大性であり、反復配列を含めたその複雑性へのアプローチである。本プロジェクトでは、ゲノム全体を網羅するマーカーを設計するための候補領域として遺伝子領域（EST）を選択した。最近の論文でも、針葉樹のように複雑かつ巨大ゲノムをもつ生物種においては、マーカー開発における労力の削減を検討することが望ましい旨が述べられており、遺伝子領域の選択は、労力削減に向けた解決策の1つである。遺伝子をマーカーとして選択した理由は他にもある。他の針葉樹同様に、スギでも遺伝子機能の解明についてはほとんど未着手の段階にある。遺伝子領域をマーカー候補として選択する一方で、形質と関連する領域に座乗する遺伝子マーカーが判明すればこれをきっかけとして遺伝子研究の道筋が明確になる可能性を考慮したことがその理由である。もう少し言えば、形質と関連する領域近傍に位置する遺伝子マーカーが、本当に形質と関連するのか、さらに検証すべきと考えたからである。例えば、樹高成長に関連するゲノム領域近傍に位置する遺伝子マーカーが、花などに関連する遺伝子であることが明らかな場合には、マーカーとしての利用は可能

であるが成長形質への直接的な関与はないと現段階では判断すべきであり、そのような判断の根拠となり得る。

本話題では上記コンセプトに基づき、頂端・シュート・形成層・根・雄花など考えられる器官を対象に、さらに成長期・休眠期といったフェノロジー、雄花や根などの発達ステージを考慮して数年間採取してきた材料に基づいてそれぞれ cDNA ライブラリーを作成し、次世代シーケンサーで遺伝子の塩基配列情報の取得を図ってきた。その結果は、器官ごとの独自性や器官間の共通性を示すベン図としてまとめられ、さらにこのベン図による分類に従ってさらに次世代シーケンサーによる情報の取得を図り、数十万個に及ぶ SNP の取得を行った。これら SNP リソースは、精英樹等のジェノタイピングに供試され、現在数万単位でジェノタイピングが完了した。これらジェノタイピングによりいくつかの高密度連鎖地図が完成すると共に、精英樹集団の SNP ジェノタイピングデータの取得へと至った。

本話題提供では、これら遺伝子情報による基盤整備に関する話題を中心としてきたが、これら遺伝子データはさらにマイクロアレイに代表される大規模発現解析にも供試され、環境応答に対する各器官の反応や発達ステージにおける遺伝子発現プロファイルの解明などに活用されている。それだけでなく、形質との関連する領域に座乗する遺伝子マーカーについては、これらマイクロアレイ結果とも比較検証することでさらに有効なマーカーへの絞り込みを行っている。これら大規模発現データに基づく成果については、いずれ公表する機会を設けたいと考えている。

話題提供3 「ゲノム情報を利用した優良系統選抜技術の開発」 林木育種センター 平岡裕一郎

話題提供1および2で述べたように形質データの精査・遺伝子データに基づくジェノタイピングデータ取得により、優良系統選抜を行う上での基盤整備は整った。優良系統選抜技術に関する結果を示した話題提供3はまさに、本プロジェクトの集大成とも言える。本プロジェクトでは、QTL 解析およびGWAS 両方を選択した。これは、統計的アプローチの違いにより選択される遺伝子マーカーが異なることを予想したことに起因しており、効果の高い低いに関わらずなるべく多くの遺伝子マーカーを選択するためであった。実際、両解析から形質との関連性を示す染色体上の領域とそこに座乗するマーカーが多数選抜された。次に、表現型値に対して、これらマーカーによるゲノム予測を比較した結果、形質によってその予測精度が異なることや必要となる

マーカー数の違いが存在することなどが明らかになると共に、これらマーカーを活用すれば一定の予測精度が得られることが明らかとなった。これにより、分子育種の扉は開かれたものと考えることが出来る。一方で、表現型の値とゲノムからの予測が一致しない結果もクローンによっては得られており、これらを考慮すれば扉は開かれたものの、実際には分子育種だけで選抜を行った精度は、形質データを加味して選抜した精度よりもやや低くなることも明らかとなった。前述のように表現型に従った評価にも多くの誤差が存在することから、現段階では両データを活用した選抜手法を考慮すべきと考えている。残念ながら分子データおよび形質データ共に未解明な部分が多く、当初より分子データと形質データとの乖離と統合の必要性については予期していた。より精度の高い選抜技術へと発展のためには、マーカーによる多型情報の蓄積だけでなく、形質と遺伝子間の関係性に対する本質的な議論が必要である。前述のマイクロアレイによる遺伝子発現プロファイルをベースとしたアプローチは形質と遺伝子の関係性を評価するための方法論の1つとして位置づけており、これらの結果によるマーカーの精査についても検討が始まっている。

話題提供時には、話していないが、これらのアプローチにより、最終目標とした新世代林業種苗については有力な候補の選抜に至っている。さらに、選抜時間の大幅な短縮についても手応えをつかんでおり、本成果発表会に付した「幕開け」に相応しい結果が得られている。

話題提供4 「今後のスギのゲノム育種の展開に向けた課題」 九州大学 渡辺敦史

分子育種の精度を高める努力が今後も必要であることは、それぞれの話題提供者の話からも想像に難くないのではないかと考えている。今後に向けた最大の課題は、本プロジェクトで行った分子育種による早期選抜技術を現実として行うことができるか?という点につきる。特に、分析コストの削減や従来の育種システムから分子育種によるシステムへの転換に必要な労力は、現実化への大きな障害として立ちをはかっている。そこで、林木育種センターで行われている従来育種をベースとして、最も安価かつ最低限のシステム変更について紹介した。研究成果を踏まえた事業への展開は、分子育種の確立とは別視点が必要であり、今後の取り組みに期待している。

おわりに

話題提供後、参加者からいくつかの質問を受けた。質問内容は、取得したデータの公開と従来育種と分子育種の関係性とに大別できる。本データは、国立遺伝研究所などへも相談しており、まとまった形での公開に向けた努力が必要である。針葉樹研究の主導は、北米やEUであり、育種対象はマツ科であることがほとんどである。そのため、分類群が異なるスギから得られたデータは、マツ科以外のデータとして針葉樹の遺伝子研究を進める上で極めて貴重であると考えられる。これら情報の取扱に関しては、我々だけでなく、森林遺伝育種学会に携わる研究者の皆様とも討議を重ねることができれば良いと考えている。

分子育種への扉が開かれた一方で、前述したように現実化するためには、分析コスト削減など現実化をするための諸問題解決に向けた取り組みが必要である。従って、従来育種と分子育種の関係性については、分子育種が研究の域を出ていない現状、これから議論されるべき課題である。ただし、スギ分子育種の実現が開かれたのであれば、諸外国の状況を踏まえながら、過去に囚われるだけでなく日本のシステムに適した従来育種と分子育種を融合した林木育種手法を検討すべきと考える。

本稿では、論文化を検討している内容を多数含んでいることから概要のみの記載に留め具体的な記述をしなかったことをお詫びする。最後に、プロジェクト参加した全ての皆様に謝意を申し上げ本稿を終わりたい。