

平成 28 年度 医療研究開発推進事業費補助金
成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) ナショナルバイオリソースプロジェクト
(英語) National Bioresource Project

補助事業課題名： (日本語) オオムギリソースの収集・保存・提供
(英語) Collection, preservation and distribution of barley resources

補助事業担当者 (日本語) 資源植物科学研究所 教授 佐藤和広

所属 役職 氏名： (英語) Institute of Plant Science and Resources, Professor, Kazuhiro Sato

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) なし

分担課題名： (英語)

補助事業分担者 (日本語)

所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括成果報告)

代表機関岡山大学 (課題管理者：岡山大学資源植物科学研究所 佐藤和広教授) のみの体制で、第 3 期 5 年において以下の事業を実施した。

・リソースの収集：寄託により各年度 100、100、100、109 および 99 系統、合計 508 系統を収集した。合計数は当初目標の 500 系統を達成した。また、系統 DNA については保存系統からゲノム DNA 274 サンプルを寄託して収集した。

・リソースの保存：オオムギ 17,508 系統 (各年度寄託による系統数が増加)、DNA リソース 380,274 サンプルを当初目標どおり保存した。また、系統種子の更新については、各年度 1,182、1,094、1,041、1,019 および 1,024 系統を栽培し、合計 5,360 系統の種子を収穫して脱粒後、品質調整して種子貯蔵庫に保存した。また、TILLING 用の系統種子および DNA (3,072 サンプル) を保存した。cDNA クローン (約 8 万) および BAC クローン (約 30 万) は超低温フリーザーに複製と共に保存した。BAC クローンをスポット

したフィルター（大 16 枚、小 96 枚）および BAC スーパープール DNA（796 種類）はそれぞれ冷蔵および冷凍状態で保存した。期間中に、DNA 自動分離装置、超低温フリーザーおよびマイクロチップ電気泳動装置を老朽化あるいはリソース保存の品質向上のため更新した。

・ **リソースの提供**：全ての提供事業に先立って、MTA を締結した。MTA の締結後、カード決済による課金を実施した。系統種子は、植物防疫関連書類の申請、および検査手続きの後に送付した。オオムギ系統については各年度 1,654、1,567、1,986、2,216、1,835 系統、DNA リソースは 10、17、2、1 および 274（系統 DNA）サンプルを提供した。合計数は 9,562 であり、目標数（11,000）をやや下回った。

・ **リソースのバックアップ**：3 回にわたって合計 5,268 系統を世界種子貯蔵庫に預託した。農研機構遺伝資源センターに 5,129 系統を預託した。また、他機関における DNA クローンのバックアップ（完全長 cDNA：5,009 クローン京都大学、BAC30 万クローンアリゾナ大学）を継続実施した。

・ **運営委員会の開催**：各年次運営委員会を 2 回開催し、事業結果の報告と計画、コミュニティとの調整などを行った。運営委員会の構成員は NBRP に係わるメンバーのほか、岡山大学のオオムギ関連研究室の代表者、大学および農水省関連のオオムギ研究者、国公立のオオムギ育種事業の責任者、コムギ、イネおよびアラビドプシスの研究者で構成した。

・ **データベースの構築**：データベースページデザインを更新し、オオムギゲノム情報へのアクセスを追加した。NBRP オオムギホームページ (<http://www.shigen.nig.ac.jp/barley/>) は第 3 期において月平均約 1 万件のアクセスがあった。系統情報には形質情報、穂および粒の画像情報、収集地のマップ情報、オオムギの基礎的な実験プロトコルなどが掲載されており、東アジアを中心とする約 5,000 の系統リソースに 384 の SNP によるゲノム多型情報を付加した。cDNA 配列情報はアノテーション情報を含めて検索可能となっており、オオムギ約 3 千遺伝子の電子地図およびコムギとの比較地図情報を利用可能とした。

・ **事業の総合的推進**：関連する学会において展示を実施して、リソースの紹介に努めた。独自のシンポジウムは開催していないが、岡山大学資源植物科学研究所が毎年開催している植物遺伝資源・ストレス科学シンポジウムにおいて、オオムギの遺伝資源およびゲノム情報に関する講演をした。さらに、同研究所において共同利用・共同研究拠点が主催するオオムギリソースに関するワークショップを開催した。また、コムギおよびオオムギのユーザーコミュニティが母体となるムギ類研究会を毎年開催して、NBRP に関するセッションを企画し、リソースに関する情報の提供とユーザーの意見収集に努めた。ユーザーコミュニティの連絡網として *mugi-net* メーリングリストを活用し、情報共有に努めた。

The following project was implemented for the third phase (2012-2017) under the framework of Okayama University as a Representative Organization (PI: Professor Kazuhiro Sato, Institute of Plant Science and Resources).

・ **Collection of resources**: We have introduced 100, 100, 100, 109 and 99 strains, totaling 508 strains each year through deposit. The total number achieved 500 strains originally targeted. For DNA, 274 samples of genomic DNA were added from the preserved strain through deposit.

・ **Resource conservation**: 17,508 strains (increase in number due to each year's deposit), and 380,274 DNA samples were conserved as intended. Regarding renewal of strain seeds, 1,182, 1,094, 1,041, 1,019, and 1,024 strains were cultivated in each year, harvesting 5,360 strains in total. They were threshed, quality controlled and stored in storage. We also stored strain seed and DNA (3,072 samples) for TILLING. The cDNA clones (ca. 80,000) and the BAC clones (ca. 300,000) were stored together with the replication in deep freezers. Filters (large 16, small 96) spotted with BAC clones and BAC super pool DNA (796) were stored in refrigerated and frozen conditions, respectively.

During the third term, a DNA automatic isolation system, a deep freezer and a microchip electrophoresis equipment were renewed due to aging or to improve the quality of preservation.

- Resource distribution: We concluded MTA prior to all distributions. After the MTA was concluded, the fee was charged by credit card payment. Seed samples were sent after application for plant quarantine and inspection procedures. For the barley strain, we provided 1,654, 1,567, 1,986, 2,216, 1,835 strains for each year and 10, 17, 2, 1 and 274 (strain genomic DNA) samples for DNA resources. The total number was 9,562, which was slightly lower than the target number (11,000).
- Resource backup: A total of 5,268 strains were deposited in the Global Seed Vault, Spitsbergen Island by 3 times. 5,129 strains were deposited in the Genetic Resource Center of National Agricultural Research Organization. In addition, DNA clone backup at other organizations (full-length cDNA: 5,009 clones Kyoto Univ., BAC 300,000 clones Univ. of Arizona) was continued.
- Hosting of Steering Committee: Each annual steering committee was held twice to report the project results, plan and coordinate the project with the research community. Members of the steering committee are representatives of barley related laboratory at Okayama University, barley researchers related to university and National Agricultural Research Organization, head of barley breeding programs, wheat, rice and Arabidopsis researchers.
- Database construction: Updated the database page design and added access to barley genome information. The NBRP barley homepage (<http://www.shigen.nig.ac.jp/barley/>) had ca. 10,000 accesses per month in the NBRP third term. In the database information, trait information, image information of spikes and grains, mapping information of collection sites, basic experimental protocols of barley are available, and 384 SNP information on ca. 5,000 strains was added. The cDNA sequence information can be searched including annotation information, and an electronic map of about 3,000 genes of barley and comparative map information with wheat can be used.
- Comprehensive promotion of projects: We conducted exhibitions at related academic conferences and tried to introduce NBRP barley resources. Although we do not organize an own symposium, we gave lectures on the genetic resources and genome information of barley at the plant genetic resources and stress science symposium held annually by Institute of Plant Science and Resources, Okayama University. Furthermore, a workshop on barley resources sponsored by the Joint Usage/Research Center is being held at the institute. In addition, we organized an annual research meeting on wheat and barley user communities to organize sessions related to NBRP, we worked on providing information on resources and gathering opinions from users. We tried to share information by utilizing mug-net mailing list as a communication network of the user community.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 50 件)

1. Hisano H, Meints B, Moscou MJ, Cistue L, Echávarri B, Sato K, Hayes PM. Selection of transformation-efficient barley genotypes based on TFA (transformation amenability) haplotype and higher resolution mapping of the TFA loci. *Plant Cell Rep.* 2017, 36(4), 611-620.
2. Hisano H, Sakamoto K, Takagi H, Terauchi R, Sato K. Exome QTL-seq maps monogenic locus and QTLs in barley. *BMC Genomics.* 2017, 18(1), 125.
3. Hisano H, Sato K. Genomic regions responsible for amenability to *Agrobacterium*-mediated transformation in barley. *Sci Rep.* 2016, 6, 37505.

4. Wu D, Yamaji N, Yamane M, Kashino-Fujii M, Sato K, Feng Ma J. The HvNramp5 Transporter Mediates Uptake of Cadmium and Manganese, But Not Iron. *Plant Physiol.* 2016, 172(3), 1899-1910.
5. Hisano H, Tsujimura M, Yoshida H, Terachi T, Sato K. Mitochondrial genome sequences from wild and cultivated barley (*Hordeum vulgare*). *BMC Genomics.* 2016, 17(1), 824.
6. Li H, Kondo H, Kühne T, Shirako Y. Barley Yellow Mosaic Virus VPg Is the Determinant Protein for Breaking eIF4E-Mediated Recessive Resistance in Barley Plants. *Front Plant Sci.* 2016, 7, 1449.
7. Takahagi K, Uehara-Yamaguchi Y, Yoshida T, Sakurai T, Shinozaki K, Mochida K, Saisho D. Analysis of single nucleotide polymorphisms based on RNA sequencing data of diverse bio-geographical accessions in barley. *Sci Rep.* 2016, 6, 33199.
8. Le Fevre R, O'Boyle B, Moscou MJ, Schornack S. Colonization of Barley by the Broad-Host Hemibiotrophic Pathogen *Phytophthora palmivora* Uncovers a Leaf Development-Dependent Involvement of Mlo. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2016, 29(5), 385-95.
9. Nakamura S, Pourkheirandish M, Morishige H, Kubo Y, Nakamura M, Ichimura K, Seo S, Kanamori H, Wu J, Ando T, Hensel G, Sameri M, Stein N, Sato K, Matsumoto T, Yano M, Komatsuda T. Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 3 Regulates Seed Dormancy in Barley. *Curr. Biol.* 2016, 26(6), 775-81.
10. Aliyeva-Schnorr L, Stein N, Houben A. Collinearity of homoeologous group 3 chromosomes in the genus *Hordeum* and *Secale cereale* as revealed by 3H-derived FISH analysis. *Chromosome Res.* 2016, 24(2), 231-42.
11. Lu X, Kracher B, Saur IM, Bauer S, Ellwood SR, Wise R, Yaeno T, Maekawa T, Schulze-Lefert P. Allelic barley MLA immune receptors recognize sequence-unrelated avirulence effectors of the powdery mildew pathogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2016, 113(42), E6486-E6495.
12. Sato K, Tanaka T, Shigenobu S, Motoi Y, Wu J, Itoh T. Improvement of barley genome annotations by deciphering the Haruna Nijo genome. *DNA Res.* 2016, 23(1), 21-28.
13. Sato K, Yamane M, Yamaji N, Kanamori H, Tagiri A, Schwerdt JG, Fincher GB, Matsumoto T, Takeda K, Komatsuda T. Alanine aminotransferase controls seed dormancy in barley. *Nat Commun.* 2016, 7, 11625.
14. Knoch E, Motawie MS, Olsen CE, Møller BL, Lyngkjær MF. Biosynthesis of the leucine derived α -, β - and γ -hydroxynitrile glucosides in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant J.* 2016, 88(2), 247-256.
15. Cuesta-Marcos A, Muñoz-Amatriain M, Filichkin T, Karsai I, Trevaskis B, Yasuda S, Hayes P, Sato K. The Relationships between Development and Low Temperature Tolerance in Barley Near Isogenic Lines Differing for Flowering Behavior. *Plant Cell Physiol.* 2015, 56(12), 2312-24.
16. Wu D, Sato K, Ma JF. Genome-wide association mapping of cadmium accumulation in different organs of barley. *New Phytol.* 2015, 208(3), 817-29.
17. Himi E, Taketa S. Isolation of candidate genes for the barley Ant1 and wheat Rc genes controlling anthocyanin pigmentation in different vegetative tissues. *Mol. Genet. Genomics.* 2015, 290(4), 1287-98.
18. Pourkheirandish M, Hensel G, Kilian B, Senthil N, Chen G, Sameri M, Azhaguvel P, Sakuma S, Dhanagond S, Sharma R, Mascher M, Himmelbach A, Gottwald S, Nair SK, Tagiri A, Yukuhiro F, Nagamura Y, Kanamori H, Matsumoto T, Willcox G, Middleton CP, Wicker T, Walther A, Waugh R, Fincher GB, Stein N, Kümlehn J, Sato K, Komatsuda T. Evolution of the Grain Dispersal System in Barley. *Cell.* 2015, 162(3), 527-39.
19. Dawson AM, Bettgenhaeuser J, Gardiner M, Green P, Hernández-Pinzón I, Hubbard A, Moscou MJ. The

- development of quick, robust, quantitative phenotypic assays for describing the host-nonhost landscape to stripe rust. *Front Plant Sci.* 2015, 6, 876.
20. Deng W, Casao MC, Wang P, Sato K, Hayes PM, Finnegan EJ, Trevaskis B. Direct links between the vernalization response and other key traits of cereal crops. *Nat Commun.* 2015, 6, 5882.
 21. Wang N, Ning S, Wu J, Tagiri A, Komatsuda T. An epiallele at *cly1* affects the expression of floret closing (cleistogamy) in barley. *Genetics.* 2015, 199(1), 95-104.
 22. Pankin A, Campoli C, Dong X, Kilian B, Sharma R, Himmelbach A, Saini R, Davis SJ, Stein N, Schneeberger K, von Korff M. Mapping-by-sequencing identifies HvPHYTOCHROME C as a candidate gene for the early maturity 5 locus modulating the circadian clock and photoperiodic flowering in barley. *Genetics.* 2014, 198(1), 383-96.
 23. Karafiátová M, Bartoš J, Kopecký D, Ma L, Sato K, Houben A, Stein N, Doležel J. Mapping nonrecombining regions in barley using multicolor FISH. *Chromosome Res.* 2013, 21(8), 739-51.
 24. Koppolu R, Anwar N, Sakuma S, Tagiri A, Lundqvist U, Pourkheirandish M, Rutten T, Seiler C, Himmelbach A, Ariyadasa R, Youssef HM, Stein N, Sreenivasulu N, Komatsuda T, Schnurbusch T. Six-rowed spike4 (*Vrs4*) controls spikelet determinacy and row-type in barley. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2013, 110(32), 13198-203.
 25. Ning S, Wang N, Sakuma S, Pourkheirandish M, Wu J, Matsumoto T, Koba T, Komatsuda T. Structure, transcription and post-transcriptional regulation of the bread wheat orthologs of the barley cleistogamy gene *Cly1*. *Theor. Appl. Genet.* 2013, 126(5), 1273-83.
 26. Li C, Wang A, Ma X, Pourkheirandish M, Sakuma S, Wang N, Ning S, Nevo E, Nawrath C, Komatsuda T, Chen G. An *eceriferum* locus, *cer-zv*, is associated with a defect in cutin responsible for water retention in barley (*Hordeum vulgare*) leaves. *Theor. Appl. Genet.* 2013, 126(3), 637-46.
 27. International Barley Genome Sequencing Consortium, Mayer KF, Waugh R, Brown JW, Schulman A, Langridge P, Platzer M, Fincher GB, Muehlbauer GJ, Sato K, Close TJ, Wise RP, Stein N. A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature.* 2012, 491(7426), 711-6.
 28. Yuo T, Yamashita Y, Kanamori H, Matsumoto T, Lundqvist U, Sato K, Ichii M, Jobling SA, Taketa S. A SHORT INTERNODES (SHI) family transcription factor gene regulates awn elongation and pistil morphology in barley. *J. Exp. Bot.* 2012, 63(14), 5223-32.
 29. Fujii M, Yokosho K, Yamaji N, Saisho D, Yamane M, Takahashi H, Sato K, Nakazono M, Ma JF. Acquisition of aluminium tolerance by modification of a single gene in barley. *Nat. Commun.* 2012, 3, 713.
 30. Taketa S, Yuo T, Tonooka T, Tsumuraya Y, Inagaki Y, Haruyama N, Larroque O, Jobling SA. Functional characterization of barley betaglucanless mutants demonstrates a unique role for CslF6 in (1,3;1,4)- β -D-glucan biosynthesis. *J. Exp. Bot.* 2012, 63(1), 381-92.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. National Bioresource Project –Barley- Resources to access barley genome diversity. ポスター, Sato, K. 8th International Meeting of Asian Network of Research Resource Centers. Kyoto, 2016/9/20-22, 国内
2. RNA-Seq 解析によるオオムギ品種間 SNPs とマーカー開発, 口頭, 佐藤和広, 第 10 回ムギ類研究会, 2015/12/11, 国内
3. The backup copy of barley seed at the Svalbard Global Seed Vault. 口頭, Sato, K. 7th Asian Network of

Research Resource Centers meeting, 2015/9/16-18, 国外

4. Evaluation and use of stress tolerance in barley genetic resources. Visions for Nordic pre-breeding collaboration, 口頭, Sato, K. PPP seminar and partner meeting., Reykjavik, 2014/2/ 26-28, 国外
5. オオムギのストレス耐性遺伝子. 口頭, 佐藤和広, ガンマーフィールドシンポジウム、水戸、2014/7/16, 国内
6. オオムギ育種用マーカーデータベースの開発. 口頭, 佐藤和広・元井由加. 日本育種学会講演会. 都城, 2014/9/26-27, 国内
7. Barley natural variation and adaptation to global environments. 口頭, Sato, K. 16th Australian Barley Technical Symposium, Melbourne, VIC, Australia, 2013/9/8-11, 国外
8. Genetic and genomic resources of Barley. 口頭, Sato, K. Japan-Turkey-Afghanistan collaboration workshop for “Planning Meeting of Germplasm Conservation and Utilization for Re-establishing the National Gene Bank system in Afghanistan”, Izmir, Turkey, 2013/1/ 23-25, 国外
9. Barley as a model of Triticeae genome. 口頭, Sato, K. Triticeae Cytogenetics: Past, Present and Future, Kyoto, Japan, 2013/9/15-16, 国内
10. Barley enters the genomics age. 口頭, Sato, K. 29th IPSR International Symposium and 5th Symposium on Plant Stress Sciences, Kurashiki, Japan, Mar. 7-8, 2013
11. オオムギゲノム多様性の解析と育種への応用 (平成 24 年度日本育種学会賞受賞講演). 口頭, 佐藤和広, 日本育種学会講演会. 東京, 2013/3/27-28, 国内
12. オオムギ遺伝資源コレクションの全ゲノム SNP フィンガープリンティング. 口頭, 佐藤和広・元井由加, 日本育種学会講演会. 鹿児島, 2013/10/12-13, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. ワークショップ：ムギ類のゲノム情報とモデル植物からの研究展開, 佐藤和広, 第 11 回ムギ類研究会, 2016/12/11, 国内
2. オオムギのゲノム情報. 佐藤和広, 第 11 回ムギ類研究会, 2016/12/11, 国内
3. NBRP オオムギのリソースとその利活用, 佐藤和広, 第 10 回ムギ類研究会, 2015/12/11, 国内
4. 総括討論 (第 4 期 NBRP に向けて), 佐藤和広・那須田周平, 第 10 回ムギ類研究会, 2015/12/11, 国内
5. オオムギリソース整備の方向性, 佐藤和広, 共同研究拠点ワークショップ, 2013/1/31, 岡山大学資源植物科学研究所, 国内
6. オオムギゲノム配列の概要. 佐藤和広, 第 7 回ムギ類研究会. つくば, 2012/11/28-29, 国内

(4) 特許出願

該当なし