

課題名 (タイトル) :

雌雄異株植物ヒロハノマンテマの性染色体連鎖遺伝子の単離

利用者氏名 : 石井 公太郎

所属 : 仁科加速器研究センター 応用研究開発室 生物照射チーム

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

ナデシコ科の雌雄異株植物ヒロハノマンテマ (*Silene latifolia*) は、XY 型の性染色体をもつ性決定のモデル植物である。Y 染色体には 2 つの雄性決定機能領域があり、(1) 雌蕊発達抑制機能領域 (GSF)、(2) 雄蕊伸長促進機能領域 (SPF) と呼ばれる。重イオンビーム照射でそれぞれの遺伝子領域を欠失させると、(1) では両性花、(2) では無性花が得られる。しかしこれら 2 つの領域上にあると考えられる遺伝子は未だ同定されていない。利用者は野生株の近交系の雄と雌、両性花変異体のホールゲノムシーケンスデータと RNA シーケンスデータを得た。本課題ではこれらのデータから、雌や両性花変異体にはなく、雄のみがもつ雌蕊発達抑制機能遺伝子の候補の塩基配列を得ることを目的とした。

2. 具体的な利用内容、計算方法

雄の RNA シーケンスのリード配列を、Velvet と SOAPdenovo-Trans、IDBA-tran、Trinity それぞれを用いてアセンブリした。各アセンブリで作製されたコンティグを、Minimus2 を用いて丸め込みを行った。得られた配列をリファレンスとして、RSEM を用いて発現解析を行い、雄では高発現するが、雌や両性花変異体では発現していないコンティグを抽出した。しかし候補の数が多かったため、Akagi ら (Akagi et al., 2014) の手法を用いて候補の絞込みを行った。雄、雌、両性花変異体それぞれの RNA シーケンスデータから、35 mer の k-mer 配列を抽出し、種類ごとに数を数えた。次に、雄には存在するが、雌や両性花変異体には存在しない k-mer 配列のみを抽出した。雄のリード配列のうち、それら k-mer 配列を含むものを抽出し、Velvet と SOAPdenovo-Trans、IDBA-tran、Trinity を用いてアセンブリ、Minimus2 を用いて丸め込みを行った。

RNA シーケンスのリード配列と同様に Akagi らの手法を用いて、雄のホールゲノムシーケンスのリード配列のうち、雄特異的な k-mer 配列をもつリード配列を

抽出した。リード配列を SOAPdenovo によってアセンブリした。得られたコンティグ配列に対して、雄、雌、両性花変異体のそれぞれのリード配列を BWA によってマッピングした。コンティグにマッピングされた雄、雌、両性花変異体のそれぞれのリードの数を、SAMtools を用いて数えた。

3. 結果

RNA シーケンスのデータから、雄特異的な k-mer 配列を含むコンティグ配列を 2,955 個得た。このうち雄に対して雌や両性花変異体が異なる発現パターンを示すものが 15 個みつかった。ホールゲノムシーケンスのデータからは、雄特異的な k-mer 配列を含むコンティグ配列を 76,839 個得た。このうち雄のリード配列が 30 リード以上マッピングされ、雌あるいは両性花変異体のリードが 5 リード以下しかマッピングされなかったものが 48 個みつかった。

4. まとめ

RNA シーケンスとホールゲノムシーケンスのデータそれぞれから、雌蕊発達抑制機能遺伝子の候補であるコンティグ配列を得た。

5. 今後の計画・展望

コンティグ配列中に含まれる遺伝子を予測し、それらの雌蕊発達抑制機能遺伝子の候補が本課題で用いた変異体とは異なる両性花変異体でも共通して欠失あるいは発現していないかを確認する。さらには形質転換系を開発し、雌蕊発達抑制機能遺伝子であることの確証を得たい。