

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 : 和光研究所 仁科加速器研究センター RIBF 研究部門 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

雌雄異株植物ヒロハノマンテマは XY 型の性染色体によって性が決定され、Y 染色体上に雄性決定遺伝子の存在が予測されているが、遺伝子配列の情報は乏しいため、これまで同定には至っていない。当研究室では性決定遺伝子を欠失していると考えられる性転換変異体を作成している。Y 染色体に座乗し、かつ性転換変異体で欠失している遺伝子を特定すれば、世界初の植物性決定遺伝子の同定ができる。近年、雌雄それぞれの発現遺伝子断片の配列情報が報告された(Muyle *et al.* 2012)。

本研究では、これらの全発現遺伝子から Y 染色体上の遺伝子を抽出することを目的とした。XY 性染色体は偽常染色体領域を除いて組換えを起こさないため、対となる X 染色体座乗遺伝子と Y 染色体座乗遺伝子の配列に異なる塩基置換が生じていると考えられる。一塩基多型(SNP)を雌雄間で比較し、雄のみに見られる SNP をもつ遺伝子は Y 染色体に連鎖すると考えられる。

2. 具体的な利用内容、計算方法

Illumina HiSeq2000 シーケンサを用いて 100 bp のペアエンドシーケンスによって得られた、合計 3.8 兆個の雌雄 3 個体ずつの発現遺伝子の断片配列を、*de novo* シーケンスアセンブラ ABySS を用いて、配列を相同性に基づきアセンブルし、リファレンス配列を構築した。6 個体の配列データを一度に処理しようとした場合、メモリ使用量が制限を超えてしまったため、1 個体ずつ配列データをアセンブルした。実行時のパラメータは minimum erosion k-mer coverage per strand (E) = 10、size of k-mer (k) = 51 とし、これら以外のパラメータはデフォルト値を用いた。アセンブルで得られたそれぞれの個体のコンティグ配列同士をさらにアセンブルし、リファレンスとなるコンティグ配列を得た。

3. 結果

得られたリファレンス配列は 18,725 個のコンティグ配列からなり、コンティグの平均長は 74 bp だった。このうち 150 bp 以上の長さのコンティグ配列は 210 個だった。

得られたリファレンス配列に対して、マッピングツール Burrows-Wheeler Alignment Tool (BWA)を用いて雌雄 1 個体ずつの発現遺伝子の配列断片をそれぞれマッピングしたが、SNP の検出には至らなかった。

4. まとめ

ヒロハノマンテマの Y 染色体座乗遺伝子群の塩基配列を得るために、雄特異的な SNP の検出を試みた。雌雄 3 個体ずつの発現遺伝子の配列断片データをアセンブルし、リファレンス配列を得た。リファレンス配列に対して雌雄それぞれの発現遺伝子の配列断片をマッピングしたが、リファレンスに含まれるコンティグ配列の長さが短いために、正常なマッピングが行えなかった。長いコンティグ配列からなる、高い品質のリファレンス配列を構築することで、雄特異的な SNP の検出ができることが期待される。

5. 今後の計画・展望

本研究の完遂には平均長の長いコンティグ配列からなるリファレンス配列を構築する必要がある。そのために、ABySS によって生成されたコンティグ配列をさらに CAP3 などの他のアセンブラを用いて丸め込む。

また、ABySS を用いたアセンブルではパラメータ k を最適化することが推奨されている。そこで、パラメータ k の値を変動させてそれぞれの条件でのコンティグ配列を作製し、一連のコンティグ配列を他のアセンブラを用いて丸め込み、高い品質のリファレンス配列を構築する。