

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 : 本所 仁科加速器研究センター 生物照射チーム

1. 本課題の研究の背景、目的

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)では無性花となると考えられる。これまでに、両性花を 17 個体、無性花を 10 個体得ている。近年、次世代シーケンシングにより、数百を超える推定的に Y 染色体に連鎖する、遺伝子を含むマーカー配列がヒロハノマンテマで単離された。これらのマーカーが Y 染色体上にマッピングできれば、性決定領域周辺の高解像度な地図を作製できると期待できる。しかし、組換え抑制領域が大部分を占める Y 染色体では組換え価によるマッピングは行えない。そこで本研究では、複数の Y 染色体部分欠失変異体についてそれぞれのマーカーの欠失を調査し、各変異体でなるべく欠失の数が少なくなるようなマーカーの順列を求める欠失マッピングを行い、Y 染色体連鎖マーカー (遺伝子) を得るとともに Y 染色体地図の高解像度化を図った。

2. 具体的な利用内容、計算方法

欠失マッピングを巡回セールスマン問題に帰着することにより行った。重イオンビーム照射個体を n 個体、マーカー数を m 個とするとき、マーカーの欠失状況を n 行 m 列の行列に対応させた。各個体、各マーカーの欠失状況を PCR で調査し、欠失していた場合は対応する要素に 0 を欠失していない場合は 1 を設定した。次に、列を入れ替えてできる全ての順列 ($m!$ 通り) についてスコアリングを行った。それぞれの行を 1 列目から順に検索し、欠失が出現した(k 列目が 1 かつ $k+1$ 行目が 0 だった)場合に負のスコアを、欠失が続いた(k 列目が 0 かつ $k+1$ 列目が 0 だった)場合に正のスコアを与えた。最も高いスコアをもつ、つまり最も欠失の数が少なくなるマーカーの順列を求めた。プログラムは

C++で記述し、RICC 上で実行した。

マーカーの数が増加するにつれ計算量が劇的に増加することが予想されたため、ward 法によるクラスタリングを行い、似た欠失状況をもつマーカー (列) をクラスターにまとめた。各クラスターを仮想的な 1 つのマーカーとして各クラスターの欠失マッピングを行い、

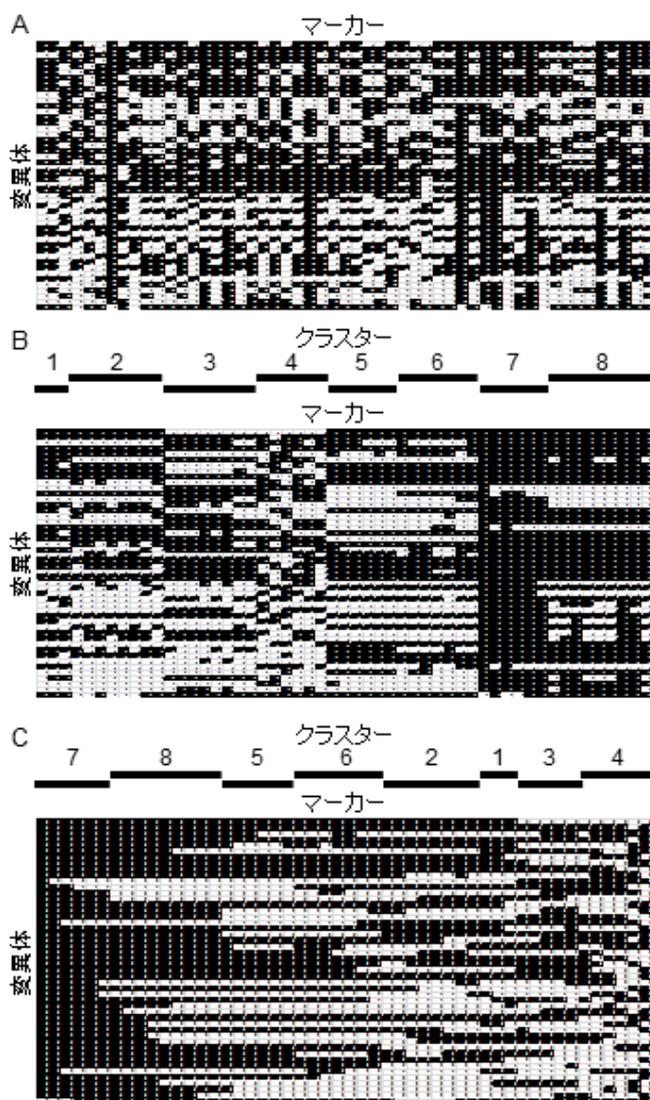


図 1. 仮想的なデータセットの欠失マッピング (A) マーカーの順番をランダムに入れ替えたマッピング前の状態。(B) マーカーをクラスタリングした状態。クラスターの順番は考慮されていない。(C) 欠失マッピング後の状態。マーカーの順番を入れ替える前の状態が再現できた。行列の要素で黒 (1) はマーカーが欠失していないこと、白 (0) は欠失していることを示す。

クラスターの最適な順序を決定した。次に、各クラスターの内部でマーカーの順序を欠失マッピングにより決定した。

3. 結果

欠失マッピングの妥当性を検証するため、変異体 48 個体 (行)、マーカー数 50 (列) からなる仮想的なデータセットによる行列を用意した。変異体あたりの欠失の数は 3 個までとしてランダムな欠失を生成した。マーカーの順番をランダムに入れ替えた後 (図 1A)、マーカーをクラスタリングし、8 個のクラスターに分類した (図 1B)。欠失マッピングによりクラスターの最適な順序を求め、その後各クラスター内部でのマーカーの最適な順序を求めた (図 1C)。最適なマーカーの順序はマーカーの順番を入れ替える前の順序と一致し、欠失マッピングの妥当性が示された。

次に実際のデータセットを用いてヒロハノマンテマ Y 染色体の欠失マッピングを行った。性転換変異体 26 個体を含む重イオンビーム照射個体 90 個体について、86 個のマーカーの欠失の有無を PCR で調査した。得られたデータセットについて欠失マッピングを行った。86 個のマーカー (列) を 12 個のクラスターに分類し、クラスターの最適な順序を求め、その後各クラスター内部でのマーカーの最適な順序を求めた (図 2)。7 個のクラスターからなる 48 個のマーカー (列) は最低 4 個体の変異体 (行) のもつ欠失で連絡された。この中には GSF、SPF にそれぞれ最近傍とされているマーカーである MK17、ScQ14 も含まれていた。また、MK17、ScQ14 と同等の欠失状況をもつマーカーがそれぞれ 1 個、5 個単離された。

4. まとめ

巡回セールスマン問題を応用した Y 染色体欠失マッピングにより、性決定領域近傍の高密度なマップが得られた。

5. 今後の計画・展望

性決定領域近傍の 48 マーカーについては両性花変異体、無性花変異体を用いることによって緊密なマッピングが行えた。一方でそれ以外の領域の 38 マーカーについては十分な欠失データが得られなかった。今後より大きな欠失を誘導する条件の重イオンビーム照射

により変異体を得ることにより、Y 染色体全域をマッピングすることが期待できる。

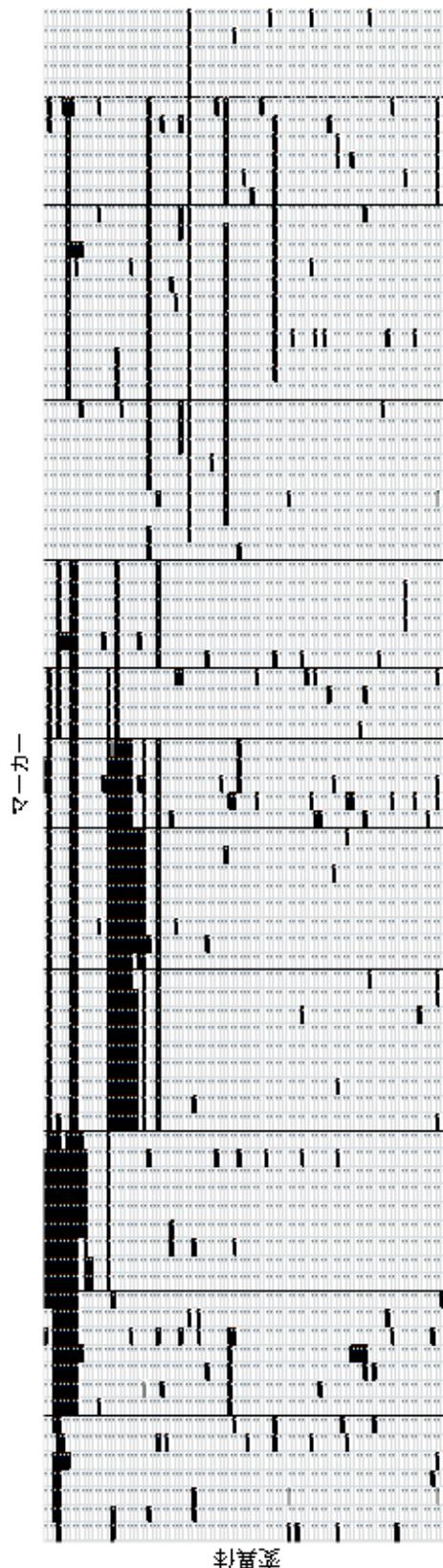


図 2. 実際のデータセットの欠失マッピングの結果。列を区切る黒線はクラスター間の区切りを示す。行列の要素で黒(1)は欠失でないこと、白(0)は欠失であることを示す。

平成 25 年度 RICC 利用研究成果リスト

【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】

風間裕介、石井公太郎、青沼航、川元寛章、池田時浩、松永杏樹、河野重行、阿部知子 「巡回セールスマン問題を応用したヒロハノマンテマ Y 染色体欠失マッピング」 日本育種学会第 124 回講演会 2013 年 10 月 鹿児島

【国際会議などの予稿集、proceeding】

なし

【国際会議、学会などでの口頭発表】

なし

【その他】

第 124 回講演会日本育種学会優秀発表賞 風間裕介、石井公太郎、青沼航、川元寛章、池田時浩、松永杏樹、河野重行、阿部知子 「巡回セールスマン問題を応用したヒロハノマンテマ Y 染色体欠失マッピング」 2013 年 11 月 19 日受賞