

課題名 (タイトル) :

## 植物性染色体の非組換え領域の欠失マッピング

利用者氏名 :

石井 公太郎

理研での所属研究室名 :

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。これまでに数百を超えるY染色体連鎖マーカーがヒロハノマンテマで単離されている。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。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染色体切断部位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によりY染色体地図を作製した。昨年度までに欠失マッピングを巡回セールスマン問題に帰着させて解くプログラムを作製し、71個のマーカーと41個体の変異体を用いてY染色体の地図を作製した(Kazama and Ishii et al. Sci. Rep. 2016)。これまでに単離したY染色体部分欠失変異体は、雄花の表現型に着目してスクリーニングしたものであったため、欠失が性決定遺伝子周辺に偏ってしまうことが考えられた。そこで、重イオンビーム照射花粉由来の個体群について、表現型によらず網羅的にY染色体の欠失を調査し、新たに64個体の変異体を得た。これにより変異体の数を合計105個体とした。また、Y染色体上のマーカーを163個に拡充して欠失マッピングを行った。

## 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、考え得る全てのマーカーの順列に対応する行列についてスコアリングを行った。(1)行列の1列目に、マッピング対象領域の外側に相当する仮想的なマーカーを挿入し、n行m+1列の行列とする。このマーカーは全ての変異体で欠失していないとする。(2)行列の各行において、k( $1 \leq k \leq m$ )番目とk+1番目の欠失状況を比較し、2つの欠失状況が異なった場合にスコアを1加算する。(3)行列のm+1列目に染色体末端に相当する仮想的なマーカーを挿入し、n行m+2列の行列とする。この仮想的なマーカーには2つのオプションが設定可能である。(a)Del オプション: マッピングする領域が染色体末端に隣接することを想定するもので、各変異体における仮想的なマーカーは全て欠失しているとみなす。行列のm+1列目とm+2列目を比較し、スコアを加算する。(b)Any オプション: マッピングする領域が染色体末端に隣接しないことを想定するもので、各変異体の仮想的なマーカーの欠失状況はm+1列目と同様とする。全てのマーカーの順列のうち、順列に対応する行列が最も低いスコアをもつ、つまり染色体切断部位が最も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、超並列演算システム(BWMP)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、似た欠失状況をもつマーカー(列)をward法によりクラスタリングした。各クラスターを仮想的な1つのマーカーとして扱い、欠失マッピングを行って、クラスターの最適な順列を決定した。次に、各クラスター内部でマーカーの順列を再帰的に欠失マッピングすることにより全体のマップを決定した。また、分枝限定法による計算の効率化を図った。

### 3. 結果

163 個のマーカーを 14 のクラスターにまとめた。クラスターの最適な並び順を、マッピングする領域が染色体末端に隣接しないことを想定して求め、1 通りの最適解が得られた。各クラスター内部でさらにマーカーの最適な並び順を求め、Y 染色体の地図を得た。2 つの性決定遺伝子はどちらも染色体 p 腕に座すると考えられた。昨年度までに作製した 71 マーカーと 41 変異体による Y 染色体地図では、5 個以上の連続したマーカーの欠失を q 腕側にもつ個体は 3 個体しか該当しなかったが(Kazama and Ishii et al. Sci. Rep. 2016)、本研究では以前からの 41 変異体中 4 個体と新たに得た 64 変異体中 9 個体が該当し、q 腕側の地図を精密化することができた。

### 4. 今後の計画・展望

重イオンビームの線エネルギー付与(LET: linear energy transfer)が変化すると誘発される変異の種類も変化する。シロイヌナズナの乾燥種子に対する照射

では、炭素イオン(LET = 30 keV/μm)に比べてアルゴンイオン(LET = 290 keV/μm)は大規模変異 (100bp 以上の挿入/欠失、逆位、転座、重複などの染色体再編成)を約 5 倍多く誘発する(Kazama et al. Plant J. 2017)。本研究で新たに得た Y 染色体部分欠失変異体 64 個体のうち、炭素イオンビームとアルゴンイオンビーム照射由来のものはそれぞれ 56 個体と 8 個体であった。このうち 5 個以上の連続したマーカーの欠失をもつ個体はそれぞれ 4 個体と 5 個体であり、アルゴンイオンビーム照射によって大きな欠失をもつ個体が得られる傾向がみられた。引き続き Y 染色体地図の精密化を進めるにあたり、アルゴンイオンビーム照射由来変異体を用いることでクラスター間のマッピングの精密化を図り、一方で炭素イオンビーム照射由来変異体を用いることでクラスター内部のマーカーのマッピングの精密化を図る、というように、異なる LET の重イオンビーム由来の変異体を組み合わせることで、Y 染色体地図の全体的かつ局所的に精密化したい。