

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(1)

理研における所属研究室名:

(1) 仁科加速器科学研究センター 生物照射チーム

1. 本課題の研究の背景、目的、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、植物性決定機構の研究に用いられるモデル植物である。Y 染色体は 570 Mb とシロイヌナズナゲノムの約 4.4 倍と巨大である。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、Y 染色体の遺伝地図を作製できる。しかし、組換え抑制領域が大部分を占める Y 染色体では、通常行われる組換え価を求めることによるマッピングは行えない。欠失マッピングは組換え抑制領域上のマーカーであっても遺伝子地図を作製することのできる手法である。欠失マッピングでは複数の Y 染色体部分欠失変異体を用意し、それぞれの変異体でのマーカーの欠失状況を調査する。1 つの変異体で Y 染色体に 2 箇所の欠失変異が生じるよりは 1 箇所の欠失変異が生じる方が起こりやすいという仮定のもと、欠失の合計数が少なくなるようなマーカーの並び順をもとめ、遺伝地図とする。

昨年度までにマーカー 163 個、変異体 105 個体を用いた欠失マッピングを行った。今年度はマーカーの欠失状況や花の表現型から、変異の起源を同じくすると考えられた個体や、Y 染色体を部分的に有する雌であると考えられた個体を除いた 101 個体を用いて欠失マッピングを行った。その際、新たに解の絞り込みのためのルーチンを組み込んだプログラムを用いて計算を行った。

2. 具体的な利用内容、計算方法

欠失マッピングを行うために開発したプログラム Delmapper (Kazama et al. 2016 Sci Rep 6:18917)を利用した。Delmapper では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う。重イオンビーム照射由来 Y 染色体部分欠失変異体を n 個体、マーカー数を m 個とすると、マーカーの欠失状況を n 行 m 列の行列に対応させる。各変異体について、欠失しているマーカーを 0、欠失

していないマーカーを 1 と設定する。次に、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う: (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(1に設定)とする。また、スコアの初期値を 0 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。本研究では (b) オプションを選択した。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る。計算量の削減のため、Delmapper はマーカーを ward 法によりクラスタリングし、各クラスターを仮想的な 1 つのマーカーとして扱うことができる。本研究では 163 個のマーカーを 14 個のクラスターにまとめて計算を行った。計算の結果最適なクラスターの順番が得られるが、さらに各クラスターの内部におけるマーカーの最適な順番を再帰的に求める。

さらに、本研究では解の絞り込みのためにクラスター間を横断する欠失の数を考慮するためのルーチン(Ishii et al. 2016 RIKEN Accelerator Progress Report 49:258)を加えて計算を行った。プログラムは C++ で記述されている。プログラムは超並列演算システム(BWMP)上で実行した。

3. 結果

欠失マッピングの結果を図 1 に示す。隣接する 2 つのクラスターに着目し、クラスター間が一続きの欠失で結合されているかを調べたところ、3 箇所のクラスター境界で結合が見られなかった。これらの境界によりクラスターを 4 つの群に分けた: A) 6 クラスターからなる群でマーカー *SLAP3Y* を含む、B/C) それぞれ 1 クラスターからなる群、D) 6 クラスターからなる群。マーカー *SLAP3Y* の蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション(Kazama et al. 2016 Sci Rep 6:18917)から、群 A に属するマーカーは Y 染色体 p 腕上にあると考えられた。また、群 D に属するマーカーは Y 染色体 q 腕上にあると考えられた。群 B/C に属するマーカーは得られた欠失情報が少ないため染色体上の位置を決定することができなかった。染色体が維持されるためには動原体や染色体末端のテロメアが必要である。これらの領域に生じた欠失変異は遺伝しないため、群 B/C に属するマーカーはこれらの領域の近傍に位置する可能性が示唆された。

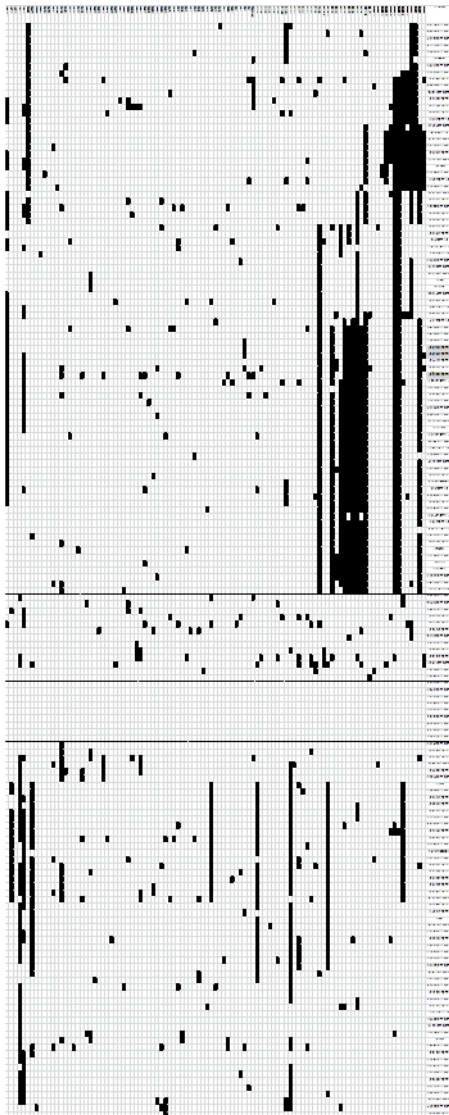


図 1 作製された欠失マップ。横軸上に各変異体(101 個

体)を、縦軸上にマーカー(163 個)を計算で得られた最適な並び順に並べている。マーカーの欠失箇所を黒塗りで示す。隣接するクラスター間が一続きの欠失で結合されなかったクラスター境界部分 3 箇所を黒い横線で示す。

4. まとめ

Y 染色体 p 腕上の 39 個のマーカーと q 腕上の 56 個のマーカーについて、欠失マッピングにより相対的な位置を定め、Y 染色体の遺伝地図を得た。

5. 今後の計画・展望

マッピングに用いたマーカーの一部は遺伝子配列である。現在 Oxford 大のグループとの共同研究として、これら Y 染色体上遺伝子と X 染色体上のゲマトログの発現量を調べている。X-Y 間の発現量の差と各遺伝子の染色体上の位置関係を比較することにより、遺伝子量補正が性染色体でどのように生じてきたかを明らかにしようとしている。