

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。近年、次世代シーケンシングにより、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を行い、Y 染色体地図を作製した。

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

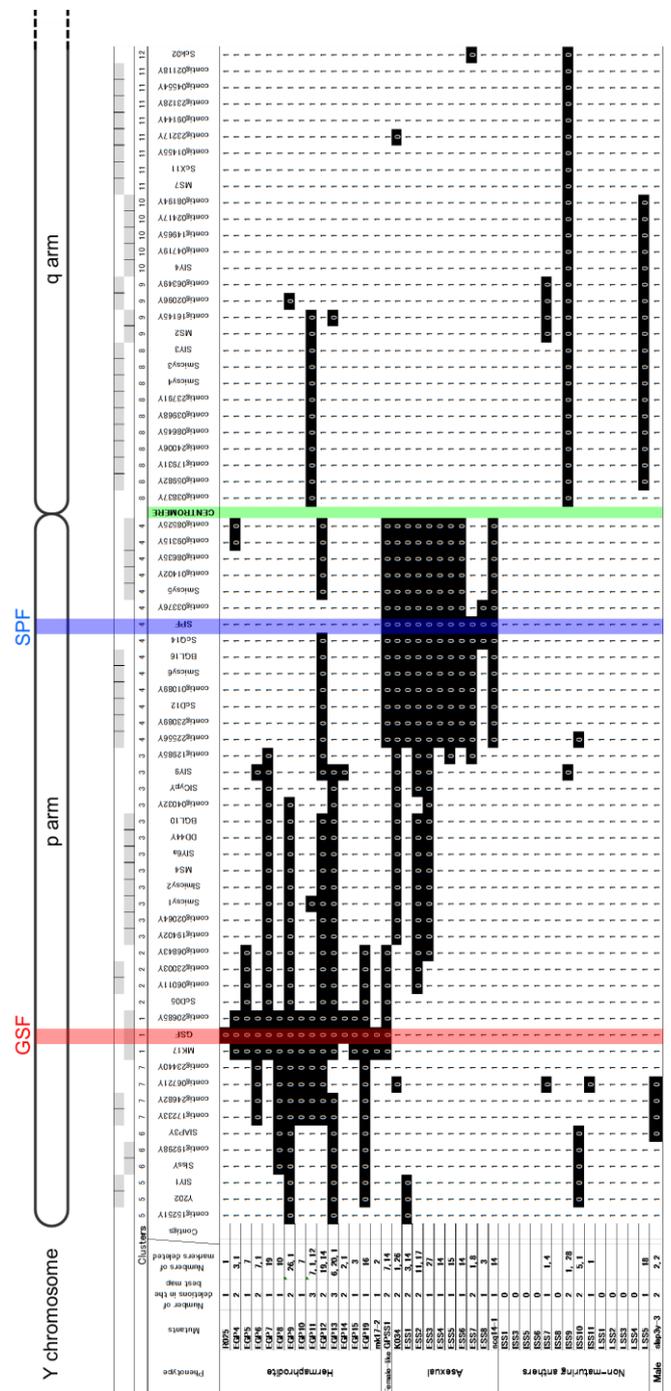


図 1 ヒロハノマンテマの Y 染色体地図 0 はマーカーが欠失していることを示し、1 はマーカーが欠失していないことを示す。Kazama and Ishii et al. Sci. Rep. 2016 より引用。

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、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、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

これまでに報告のあった 71 個の Y 染色体上のマーカー (Kazama et al. G3 2012; Bergero and Charlesworth Curr. Biol. 2011) と、重イオンビーム照射により作製した 41 個体の変異体 (10 個体の無性花変異体・15 個体の両性花変異体・14 個体の葯未成熟変異体・1 個体の表現型に異常のない欠失変異体) を用いて欠失マッピングを行うこととした。まず、マッピングの精度を調べるため、71 個のマーカーと 41 個体の変異体からなり、442 箇所のマーカーの欠失をもつ仮想的な欠失マップを 30 個作製し、作製したプログラムが正しくマップを再構築できるかを検証した。90% の確率で正しいマップを作製できることがわかった。次に、実データを用いて欠失マッピングを行い、Y 染色体の地図を得た (図 1)。

本解析によって得られた Y 染色体地図と、これまでに報告された X 染色体地図を比較したところ、ヒロハノマンテマの Y 染色体には巨大な逆位が生じていたことが示唆された (図 2)。

4. まとめ

本研究により、これまでになく精密なヒロハノマンテマの Y 染色体地図を作製することができた。また、

性染色体進化の過程で逆位が生じたことが示唆された。逆位は XY 染色体間の対合を妨げ、Y 染色体に性決定遺伝子を固定することに寄与したと考えられる。

5. 今後の計画・展望

現在、Y 染色体上の遺伝子群の遺伝子の発現解析を行っている。性染色体の大部分は組換え抑制領域であるが、始原性染色体の組換え抑制領域は 2 つの性決定遺伝子間のみに限ら

れており、進化の過程で徐々に拡大したとされる。遺伝子発現とマップを比較することで、Y 染色体の退化 (degeneracy) の度合いと遺伝子発現の関係を調べることができる。退化している Y 染色体上の遺伝子の中でお活発に発現している遺伝子に注目することで、雄の表現型の発現に寄与する遺伝子や性決定遺伝子そのものを抽出できるに違いない。

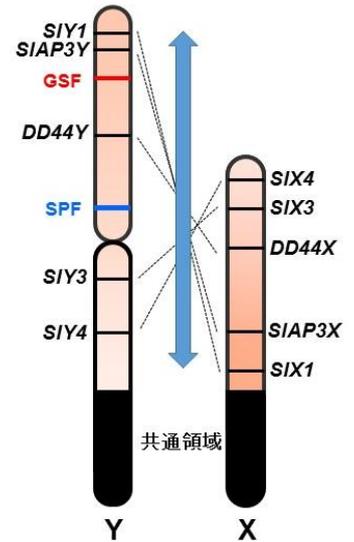


図 2 XY 染色体の比較図 Y 染色体上の *SIY1* から *SIY4* までの領域で逆位が生じたことが示唆された。

平成 27 年度 利用研究成果リスト

【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】

1. Yusuke Kazama*, Kotaro Ishii*, Wataru Aonuma, Tokihiro Ikeda, Hiroki Kawamoto, Ayako Koizumi, Dmitry D Filatov, Margarita Chibalina, Roberta Bergero, Deborah Charlesworth, Tomoko Abe, and Shigeyuki Kawano. A new physical mapping approach refines the sex-determining gene positions on the *Silene latifolia* Y-chromosome. *Scientific Reports* 6:18917. (*共筆頭著者)

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. 風間裕介, 石井公太郎, 池田時浩, Dmitry Filatov, Margarita Chibalina, Roberta Bergero, Deborah Charlesworth, 河野重行, 阿部知子. “ヒロハノマンテマ Y 染色体の構造解析と組換え抑制領域の欠失マッピングプログラム DelMapper の開発” 日本植物学会第 79 回大会 2015 9 新潟.
2. 風間裕介, 石井公太郎, 阿部知子, 河野重行. “巡回セールスマン問題を用いた植物型巨大 Y 染色体のマッピング” 日本遺伝学会第 87 回大会ワークショップ「細胞遺伝学の新たなる地平と染色体研究の今」 2015 9 仙台.

【その他（プレスリリース、学術会議以外の一般向けの講演など）】

1. 「植物 Y 染色体の地図を作成ー重イオンビームで作った変異体を使用、進化の過程で Y 染色体は逆位を起こしていたー」 阿部知子、風間裕介、石井公太郎、河野重行、Dmitry A. Filatov, Deborah Charlesworth, 2016 年 1 月 6 日