

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：82112

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2015

課題番号：15K14633

研究課題名(和文) ゲノム・エピゲノム情報の統合を通じた作物の減数分裂期組み換え位置の特徴解明

研究課題名(英文) Genomic and epigenomic characteristics of meiotic recombination sites in rice

研究代表者

土生 芳樹 (Habu, Yoshiki)

国立研究開発法人農業生物資源研究所・ゲノム機能改変研究ユニット・上級研究員

研究者番号：80266915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：日本晴×カサラスF2集団(333個体)の次世代シーケンサデータについて、これまでSNP情報に基づいた減数分裂期組み換え位置の推定に加えて、組み換え位置推定の精度をさらに上げることを目的として、InDel情報を加えた解析を行った。解析の結果、ゲノム全域で7214箇所の組み換え位置を検出し、10 kb以内に候補領域が狭められた組み換え位置は1219箇所、2 kb以内に狭められた組み換え位置は97箇所だった。組み換え位置情報とゲノム情報(遺伝子・反復配列などとの位置関係)およびエピゲノム情報(ヌクレオソーム密度、ヒストンH3K9me2密度、DNAメチル化率)を統合し、ブラウザ上で可視化した。

研究成果の概要(英文)：Genome sequence data obtained from F2 progenies (333 individuals) of Nipponbare x Kasalath were analyzed for determining positions of meiotic recombination. In addition to information of SNPs between Nipponbare and Kasalath, InDel data were utilized in the analysis. The analysis detected 7,214 recombination points in the genome. Among them, 1,219 and 97 recombination points that were deduced within 10 kb and 2 kb, respectively. We integrated the recombination position data with the genomic (genes and repeats, etc.) and epigenomic (nucleosome density, DNA methylation, and H3Kme2) information, and visualized in a genome browse.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：減数分裂期組み換え イネ エピゲノム

1. 研究開始当初の背景

作物の交配育種における DNA マーカーの利用は、多数の交配後代系統群から目的の遺伝子を持つ系統を選抜する段階に飛躍的な効率化をもたらした。しかし、交配育種の基本となる減数分裂期組み換えそのものを制御する技術はまったく手がつけられていない。動物では減数分裂期組み換え位置の決定に局所的なエピゲノム状態変化が関与していることが知られており、詳細な研究が行われているが、植物は動物と異なる組み換え位置決定機構が機能していると予想されており、関係分野の研究は大きく立ち遅れている。動物では PRDM9 と呼ばれる Zinc-finger モチーフを持つヒストンアセチルトランスフェラーゼが特定の塩基配列を認識して近傍のヒストン H3 の N 末端から 4 番目のリシン (H3K4) をアセチル化することが減数分裂期組み換え位置の決定に関与していることが示されている。一方、植物においては PRDM9 のオルソログは見つかっておらず、動物とは異なる機構で減数分裂期組み換え位置を決めている可能性が考えられている。交配による有用形質導入を基本とした現代の育種戦略において有用形質を支配する染色体領域の限定的・効率的な導入は重要な問題の一つである。一般に特定染色体領域の限定導入は、交配後の多数の F2 集団から目的の染色体領域近傍で組換えが起きている個体を選抜することにより行われる。しかし、目的の染色体領域を含む広い範囲に渡って減数分裂時の組換えが起こらず、結果として、不要な遺伝形質を支配する近傍の染色体領域を分離することが困難な状況にしばしば遭遇する。ゲノム中の特定位置に減数分裂組換えを誘導する技術を開発し、不要な染色体領域の分離を可能にすることは、現代の作物育種において最も重要な問題の一つであると考えられる。

動物では PRDM9 と呼ばれる

Zinc-finger モチーフを持つヒストンアセチルトランスフェラーゼが特定の塩基配列を認識して近傍のヒストン H3 の N 末端から 4 番目のリシン (H3K4) をアセチル化することが減数分裂期組み換え位置の決定に関与していることが示されている。一方、植物においては PRDM9 のオルソログは見つかっておらず、動物とは異なる機構で減数分裂期組み換え位置を決めている可能性が考えられている。

申請者はこれまでにイネのエピゲノム状態の維持に関わる因子の機能欠損系統の利用および野生型個体をエピゲノム因子阻害剤で処理することでエピゲノム状態を変更し、減数分裂期組み換え位置や分離歪みのパターンを変更できることを明らかにしている(論文投稿中)。しかし、エピゲノム因子の機能欠損がどのようにして組み換え位置や分離歪みの変更をもたらすのかは分かっておらず、現状ではゲノム中の特定位置に減数分裂期組換えを誘導することはできない。現状の問題を克服し、交配育種の加速につなげる技術の確立に向けて明らかにすべき点は以下の 2 点であると考えている。

- (1) 植物(作物)ゲノムの減数分裂期組み換え位置、特に組み換えホットスポットとエピゲノム状態の関係解明
- (2) 減数分裂期の細胞においてゲノムの特定位置のエピゲノム状態を改変する技術の確立

本申請では、これらのうち(1)植物(作物)ゲノムの減数分裂期組み換え位置、特に組み換えホットスポットとエピゲノム状態の関係解明に焦点を絞る。具体的には、イネのジャポニカ・インディカ交配の親系統、F1 のゲノム・エピゲノム情報(親系統間のゲノムワイドな SNP 分布、DNA メチル化・ヌクレオソーム・特定のヒストン修

飾状態の分布)と F2 個体群を使ったゲノムワイドな減数分裂期組み換え位置の解析方法を確立し、それらの結果を統合することで F1 個体におけるエピゲノム状態と減数分裂期組み換えホットスポットの関係性を明らかにすることをめざす。

2. 研究の目的

申請者はこれまでにイネのエピゲノム状態の維持に関わる因子の機能欠損系統の利用および野生型個体をエピゲノム因子阻害剤で処理することでエピゲノム状態を変更し、減数分裂期組み換え位置や分離歪みのパターンを変更できることを明らかにしている。しかし、エピゲノム因子の機能欠損がどのようにして組み換え位置や分離歪みの変更をもたらすのかは分かっておらず、現状ではゲノム中の特定位置に減数分裂期組み換えを誘導することはできない。現状の問題を克服し、交配育種の加速につなげる技術の確立に向けて明らかにすべき点は以下の2点であると考えている。

(1) 植物(作物)ゲノムの減数分裂期組み換え位置、特に組み換えホットスポットとエピゲノム状態の関係解明

(2) 減数分裂期の細胞においてゲノムの特定位置のエピゲノム状態を改変する技術の確立

本申請では、これらのうち(1)植物(作物)ゲノムの減数分裂期組み換え位置、特に組み換えホットスポットとエピゲノム状態の関係解明に焦点を絞る。

3. 研究の方法

イネのジャポニカ×インディカ交配後代(F2)個体群の次世代シーケンサー解析により取得した塩基配列データを利用し、ゲノム全域の減数分裂期組み換えのホットスポットを高い精度で同定する。交配に用いた親系統および F1 個体のゲノム全域のエピゲノム

情報(DNAメチル化、ヌクレオソーム・ヒストン修飾分布)および SNP 情報と合わせて、イネにおける組み換えホットスポットとエピゲノム状態の関係を明らかにし、特定ゲノム領域へ減数分裂期組み換えを誘導する技術確立に向けた知見を取得する。

4. 研究成果

日本晴×カサラス F2 集団(333 個体)の次世代シーケンサーデータについて、これまで SNP 情報に基づいた減数分裂期組み換え位置の推定に加えて、組み換え位置推定の精度をさらに上げることを目的として、InDel 情報を加えた解析を行った。解析の結果、ゲノム全域で 7214 箇所の組み換え位置を検出し、10 kb 以内に候補領域が狭められた組み換え位置は 1219 箇所、2 kb 以内に狭められた組み換え位置は 97 箇所だった。組み換え位置情報とゲノム情報(遺伝子・反復配列など)の位置関係)およびエピゲノム情報(ヌクレオソーム密度、ヒストン H3K9me2 密度、DNAメチル化率)を統合し、ブラウザ上で可視化した。

5. 主な発表論文

[雑誌論文](計1件)

Numa H, Yamaguchi K, Shigenobu S, Habu Y (2015) Gene Body CG and CHG Methylation and Suppression of Centromeric CHH Methylation are Mediated by DECREASE IN DNA METHYLATION1 in Rice. Mol Plant 8:1560-1562 査読有

(doi:10.1016/j.molp.2015.08.002)

[学会発表](計1件)

賀屋秀隆、沼寿隆、横井彩子、小川大輔、土岐精一、土生芳樹 TALEN による標的変異が DNAメチル化状態へ及ぼす影響の解析 日本育種学会 第128回講演会 2015年9月19日 新潟大学

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土生 芳樹 (HABU, Yoshiki)

農業生物資源研究所・ゲノム機能改変研究

ユニット・上級研究員

研究者番号：80266915

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし