

令和 2 年 5 月 14 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07797

研究課題名(和文) サクラの栽培品種の花形質を支配する遺伝子・ゲノム領域の探索

研究課題名(英文) Analysis of relationship genetic variation and horticultural traits of Japanese flowering cherry cultivars

研究代表者

加藤 珠理 (Kato, Shuri)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：90467217

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では多様な形質によって特徴づけられるサクラの栽培品種について、形質の品種間差の制御に関わる遺伝子・ゲノム領域の探索を試みた。サクラの栽培品種、172品種を研究材料としてRAD-seq解析を行い、モモのドラフトゲノム配列と照合することで、40,891座のDNA多型を検出した。併せて、図鑑等から6つの形質情報(樹形、樹高、花色・形・サイズ、開花期)を取得した。形質情報から得たデータとDNA多型のデータを用いてゲノムワイドアソシエーション解析を行ったところ、5つの形質(樹形、花色・形・サイズ、開花期)について、いくつか関連のありそうなDNA多型が検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サクラには伝統的な栽培品種が多く存在し、花の色や形、開花期について、多様な形質を見ることができる。本研究課題では、このような形質の品種間差を、次世代シーケンサーを用いて解読したDNA多型情報と関連付けて解析することで、形質を支配する遺伝子・ゲノム領域の特定を試みた。このようなアプローチは、サクラが持つ多様な形質の遺伝的制御基盤に対する理解を深め、その学術的意義は大きいと云える。また、将来的には、ゲノム情報を活用して、有用形質を備えたサクラの新品種の作出などに結び付けられれば、園芸・産業素材としての利用の可能性が高まり、その社会的意義も大きいと云える。

研究成果の概要(英文)：Japanese traditional cherry cultivars are characterized by various traits such as flower color, form and time. This study attempted to search for genes and genomic regions involved in the regulation of their trait variations. RAD-seq analysis was performed using 172 cultivars of cherry as research material, and 40,891 DNA polymorphic sites were detected by mapping with the draft genome sequence of peach. Six trait information (tree form, tree height, flower color, flower form, flower size and flowering time) were also collected from the botanical picture books. Genome-wide association analysis was performed using the trait information data and the DNA polymorphism data, and several DNA sites that were likely to be related were detected for the 5 traits (tree height, flower color, flower form, flower size and flowering time).

研究分野：森林遺伝学

キーワード：サクラ DNA RAD-Seq 形質 遺伝

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

サクラは日本を代表する伝統的な花木であり、古くは室町時代から品種改良が始まり、江戸時代には多くの栽培品種が作出されてきた歴史を持っている。特に、花の形質(花の色や形、開花期など)に見られる品種ごとの個性はとても豊かである。サクラの近縁種であるモモやオウトウなどの果樹種では、系統収集・保存・提供の体制整備、ゲノム情報の解析等が計画的に進められている。特にゲノム研究は重点的に進められており、病虫害耐性や果実の有用形質をゲノム情報と関連付ける研究が精力的に行われている。日本のサクラについても、品種管理体制が整いゲノム研究が進めば、多くの分野で研究材料としての利用が促進されるだけでなく、有用形質を備えた新品種の作出といった利用の開拓も可能になるはずだ。こうした背景のもと、これまでの研究ではサクラの栽培品種の識別や系統関係の整理(各品種の成立の基になった野生種=親種の推定)を、DNA マーカーを用いて積極的に進めてきた。

サクラの栽培品種の成立には複数の野生種が関与し、それらの交配によって形質の多様性が生み出されてきたものと考えられる。そして、サクラの栽培品種は形質の多様な品種群が系統立てて維持されているので、形質の遺伝的制御基盤を研究するにはとても適した材料であると云える。これまでの研究では、SSR マーカーという簡易な DNA マーカーを 20 個程度用いて解析を行っており、材料の整理については十分な精度を得ているが、有用形質と遺伝子の関連性を調べるなど、より高度な解析を行う際には十分ではない。今後、本格的にサクラの栽培品種を研究材料として活用し、その独自性・先導性を高めていくためには、広範囲にゲノムをカバーできる膨大な DNA 配列情報を収集して、有用形質と遺伝子・ゲノム領域との関連付け、更には、その形質をもたらした野生種の特定までを結び付ける必要があると考え、本研究課題の立案に至った。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、サクラの栽培品種(150 品種程度)を研究材料として、次世代シーケンサーを用いて各品種のゲノム配列を解読する。RAD-seq (Restriction Site Associated DNA Sequence の略)解析によりゲノム全体から多数の多型サイト(品種間で塩基配列が異なる部位)を効率的に検出する。併せて、各品種の形質情報(花の色や形、開花期など)を収集・整備してデータ化する。ゲノムの多型サイトと各形質のデータで相関の有無を解析して、関連のある遺伝子・ゲノム領域を探索する。得られた結果に基づいて、形質における品種間差、それを支配する遺伝子・ゲノム領域、その形質をもたらした親種(野生種)についての総合的な考察を行う。

### 3. 研究の方法

これまでの研究成果に基づいて、クローン性や系統関係を確認済みであるサクラの栽培品種のうち、形質情報を取得できた 142 品種を研究材料として選定した。

#### (1) DNA 多型サイトの検出

研究材料とした 142 品種から分析に適した高品質の DNA を抽出した。RAD-Seq 法により DNA ライブラリを作製して、次世代シーケンサー(HiSeq X)で解読した。得られたシーケンスデータは dDocent パイプラインを用いて解析して、ゲノム全体から多数の DNA 多型を検出した。検出した DNA 多型は VcfTool を用いて解析することで、信頼性の高いデータのみを精選した。検出した DNA 多型のゲノム上における位置はサクラの近縁種であるモモにおいて公開されているドラフトゲノム配列にマッピングすることで推定した。

#### (2) 形質情報の収集

樹形、樹高、花色・形、開花期の 6 つの形質情報は図鑑等から取得して、農林水産植物種類別審査基準に従って数値データに変換した。

#### (3) DNA 多型と形質のデータの関連解析

DNA 多型と形質のデータを用いて、ゲノムワイドアソシエーション(GWAS)解析を行った。解析は統計ソフト R の rrBLUP、BGLR パッケージを利用して行い、関連のある DNA 多型の有無および、ゲノム上の位置を推定した。

### 4. 研究成果

#### (1) DNA 多型サイトの検出

1 サンプル当たりのリード数は平均 4,818,992 (SD 1,805,460)であった。depth が 20 以下を欠損データとして欠損率を 20%まで許容したところ、40,891 座の DNA 多型が得られた。更に 10kbp 以上離れている DNA 多型を機械的に選別して、得られた 5,335 座の DNA 多型を GWAS 解析用のデータとした。

#### (2) 形質情報の収集

研究材料とした 142 品種における 6 形質(樹形、樹高、花色・形・サイズ、開花期)のデータの取得結果は図 1 に示した。

#### (3) DNA 多型と形質のデータの関連解析

研究材料としたサクラの栽培品種は複数の分類群(サトザクラ系、ヤマザクラ系、ソメイヨシノ系など)を含んでいる他、親子関係にある栽培品種も含んでいる。GWAS 解析ではサンプルが持つ集団構造や血縁構造が原因となって、しばしば擬陽性が導かれることがあるので、集団構造と血縁構造を組み込んだ混合モデルによる解析が有効である。集団構造は主成分分析により評

価した。その結果、第 8 主成分までの累積寄与率は 51%であった（図 2）。集団構造と血縁構造を組み込んだモデルで各形質についての GWAS 解析を行ったところ、樹高（第 1、8 連鎖群）、花色（第 2 連鎖群）、花形（第 2 連鎖群）、花サイズ（第 1 連鎖群）、開花期（第 4 連鎖群）について、関連のありそうな DNA 多型が検出された。サクラの近縁種であるハナモモにおいて、花弁色、花弁数に関連する遺伝子は第 3、6 連鎖群に座上していることが報告されており、本研究の結果とは矛盾していた。複数の遺伝子が関与している可能性も考えられるが、モデルに組み込むパラメータの算出方法を変更するなど、解析方法を更に検討した上で結果の信頼性を評価したいと思う。

各品種の親種候補である野生種についてもゲノム配列を解読済みなもの、現時点では未解析である。今後、解析を行って、各品種のゲノム構造（親種のゲノムがどのように混合しているか）を評価することで、各形質を支配する遺伝子・ゲノム領域がどの親種に由来するのかを調べたいと考えている。

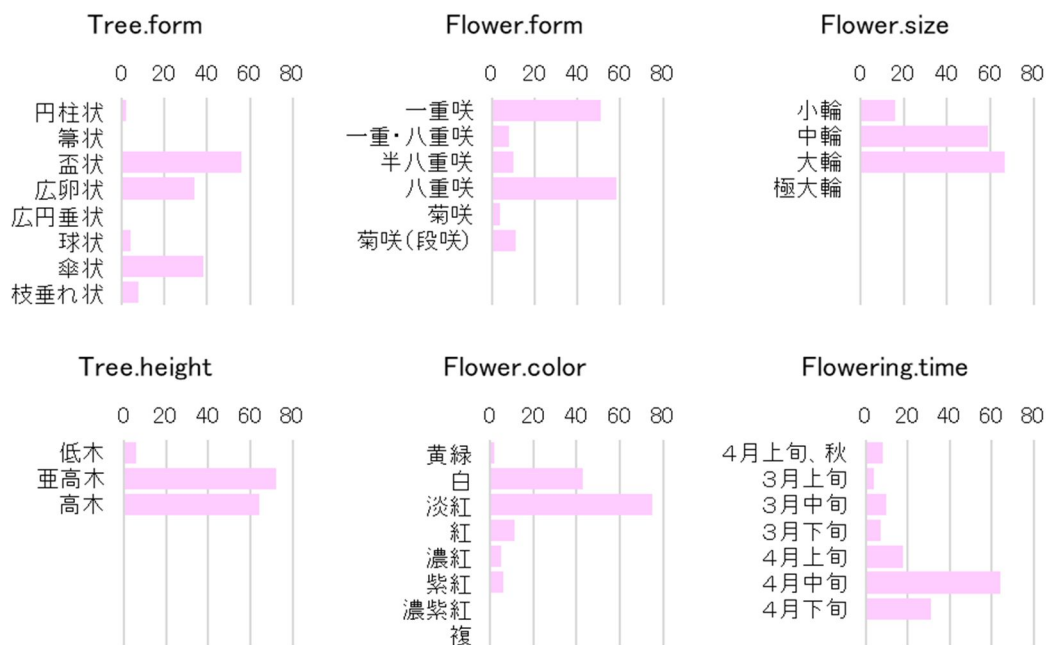


図 1 . 樹形、樹高、花色・形、開花期のデータの取得結果

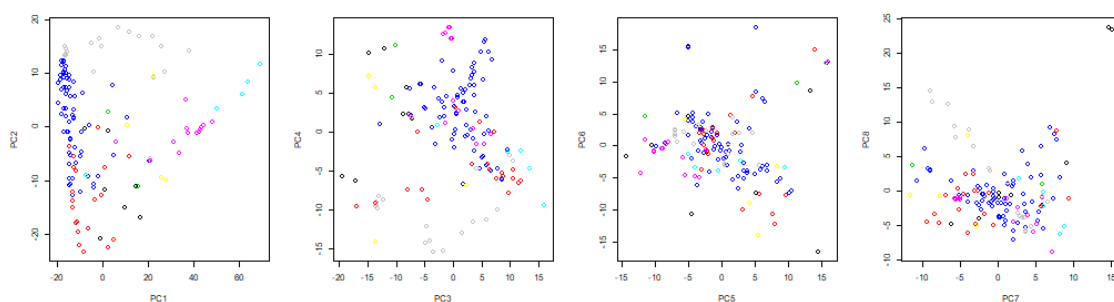


図 2 . 主成分分析による集団構造の評価結果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kato S, Matsumoto A, Mizusawa R, Tsuda Y, Tsumura Y, Yoshimaru H.	4. 巻 67
2. 論文標題 Development and characterization of chloroplast simple sequence repeat markers for Prunus taxa (eleven Japanese native taxa and two foreign taxa)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Silvae Genetica	6. 最初と最後の頁 124-126
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2478/sg-2018-0018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 加藤珠理・内山憲太郎・上野真義・松本麻子
2. 発表標題 RAD-Seq解析による‘染井吉野’とその関連品種の血縁関係の評価
3. 学会等名 日本森林学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤珠理, 内山憲太郎, 上野真義, 松本麻子
2. 発表標題 サクラにおける高密度な塩基多型の解析
3. 学会等名 森林遺伝育種学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 加藤珠理, 内山憲太郎, 上野真義, 松本麻子
2. 発表標題 高密度な塩基多型データを利用したサクラの系統解析
3. 学会等名 日本森林学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----