

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16105

研究課題名（和文）植物メリステムの比較エピゲノミクスから探る発生制御機構の進化

研究課題名（英文）Comparative epigenomics on plant meristem to study the evolution of developmental process

研究代表者

保坂 碧（hosaka, aoi）

横浜市立大学・木原生物学研究所・共同研究員

研究者番号：10837347

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：植物メリステムにおける比較エピゲノム解析を行うためには高精度なゲノム情報が必須となる。そこで、本研究では栽培イネおよび野生イネを材料として新規ゲノム配列構築のための実験手法およびデータ解析手法を確立した。得られたゲノム情報をもとに種間における遺伝子発現パターンおよびエピゲノムパターンの比較解析を行った。また、微小組織におけるエピゲノム解析手法の条件検討を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で取得したゲノム配列およびアノテーション情報はこれまでに公開されている情報に比べて高精度であり比較ゲノム研究に広く活用可能である。また、雑種強勢を示す種間におけるエピゲノムおよび発現解析は雑種強勢の分子基盤の理解に貢献し、新規育種マーカーの創出につながると期待される。

研究成果の概要（英文）：Highly accurate genomic information is essential for the comparative epigenomic analysis. Therefore, in this study, I established experimental methods and data analysis pipeline for de novo genome assembly using cultivated rice and wild rice species. Based on the obtained genomic information, the comparative analysis of gene expression patterns and epigenomic patterns among species was performed.

研究分野：植物ゲノミクス

キーワード：ゲノムアセンブル エピゲノム

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

トランスポゾンとはゲノムに寄生する反復性の配列であり、転移、増殖することのできる配列である。トランスポゾンは宿主にとって潜在的に有害な因子である一方、ゲノム進化にも大きく貢献することが知られている。しかしトランスポゾンと宿主の相互作用の分子実体は未だ不明な点が多い。

茎頂分裂組織(SAM)とは植物の地上部組織の幹細胞(メリステム)を含み、葉や茎へと分化する。また、栄養成長から生殖成長への相転換後は生殖組織である花芽を形成するなど、植物の発生に極めて重要な組織といえる。興味深いことにSAMにおける遺伝子発現解析やエピジェネティック修飾の解析結果から、ある種のトランスポゾンではSAM特異的に発現したり、エピジェネティック修飾が変化することが見出された。

### 2. 研究の目的

そこで、本研究ではイネの栽培種および野生種の幹細胞組織を材料に、トランスポゾンの分布、エピジェネティックな状態および発現パターンの違いを統合的に比較解析することでトランスポゾンと宿主の相互作用の分子実体を明らかにすることを目指した。

### 3. 研究の方法

精度の高いゲノム解析を行うためには高精度なリファレンスゲノムが必要となる。野生種においてはゲノム情報がないか、断片的なゲノム情報しか公開されていなかったため、ロングリードシーケンスとHi-C法を駆使した高精度かつ連続性の高いゲノム配列を構築することを計画した。

得られたゲノム配列を用いて栽培種と野生種における比較ゲノム解析を行うにあたり、サンプル調製が容易な葉組織を用いて遺伝子発現量、DNAメチル化状態、およびオープンクロマチン領域の比較を行うことを計画した。

また、植物メリステムを用いたエピゲノム解析を行うため、ChIP-seq (Chromatin-Immunoprecipitation sequencing)の条件検討および微小サンプルからエピゲノム解析が可能とされているCUT-and-RUN法の検討を行うことを計画した。

### 4. 研究成果

#### (1) 新規ゲノム構築

イネを材料としたロングリードシーケンスのための超長鎖DNA抽出法およびHi-Cのプロトコルを確立した。Oxford nanopore社のMinIONおよびPacBio Sequel IIを用いてロングリードシーケンスを行って得られたデータを用いて新規ゲノムアセンブルのための解析パイプラインを構築し、複数種の野生イネのゲノム配列を決定した。公開されているゲノムでは欠落していたセントロメア周辺領域の配列や、ミスアセンブルによる逆位が修正され、より正確性の高いゲノム配列を構築することができた(図1)。今回得られたゲノム配列は、野生イネ研究の発展に貢献することができると期待される。

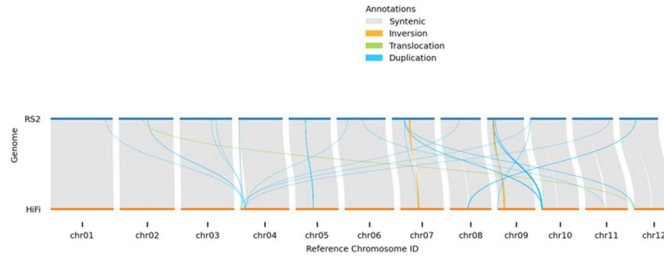


図1 シンテニープロットによるゲノム構造比較  
公開されているげのむ(RS2)に対する本研究で構築したゲノム(HiFi)のゲノム構造の違いをシンテニープロットで可視化した。

## (2) 比較エピゲノム解析

栽培イネ、野生イネ、およびその交雑 F1 世代におけるトランスクリプトーム解析およびエピゲノム解析を行った。交雑 F1 世代に特異的な遺伝子発現パターンがみられた一方、DNA メチル化パターンは両親系統の状態を維持していることが明らかとなった。この交雑では雑種強勢を示すことが知られており、雑種強勢の分子基盤の解明に貢献すると期待される。オープンクロマチン領域を検出する ATAC-seq の実験系の確立を目指したがピークは検出されたものの、ノイズが多く含まれたためさらに条件検討を行う必要がある。

また、反復配列の比較した結果、栽培イネ特異的に増殖しているレトロトランスポゾンを見出した。反復配列の分布の違いが遺伝子発現や、それに伴う形質の違いに関与する可能性が示唆された。

## (2) 植物メリステムにおけるエピゲノム解析に向けて

SAM におけるエピジェネティック修飾を解析するために、微小組織における ChIP-seq の条件検討および微小サンプルにおける新規エピゲノム解析手法である CUT&RUN の条件検討を行った。葉などのサンプル量が十分確保できるサンプルについてはこれらの手法による解析が可能であったが、微小サンプルについてはシーケンスの結果、非特異的なリードが大半を占めていた。申請期間内では植物メリステムにおけるエピゲノム解析を行うことはできなかつたため、今後微小サンプルでも対応可能なプロトコルを確立する必要がある。

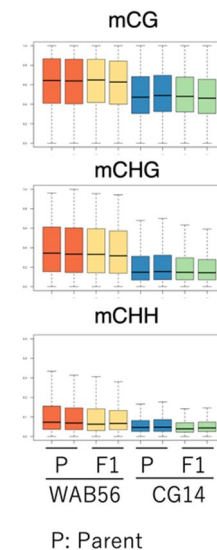


図2 DNA メチル化量の比較

CG メチル化(mCG)、CHG メチル化(mCHG)、および CHH メチル化(mCHH)について栽培イネ(WAB56 系統)および野生イネ(CG14)ゲノムにおける親系統(P; Parent)と F1 雑種(F1)の DNA メチル化量をボックスプロットで示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 保坂 碧, 木田 春菜, 小出 陽平, 辻 寛之
2. 発表標題 雑種強勢を示す F1 イネのマルチオミクス解析
3. 学会等名 日本育種学会第140回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 保坂 碧, 真弓 彩夏, 安井 秀, 笠原 雅弘, 野々村 賢一, 辻 寛之
2. 発表標題 ロングリードシーケンスを用いたイネ染色体添加系統におけるゲノム構造変異解析
3. 学会等名 日本育種学会第138回講演会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 保坂 碧, 真弓 彩夏, 鈴木 創, 笠原 雅弘, 野々村 賢一, 安井 秀, 辻 寛之
2. 発表標題 イネ染色体添加系統におけるゲノムの高次構造解析
3. 学会等名 日本育種学会第137回講演会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 保坂碧, 真弓彩夏, 山口佳穂, 野々村賢一, 安井秀, 辻寛之
2. 発表標題 イネ染色体添加系統におけるゲノム構造解析
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年～2020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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------