

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号： 14301
研究種目： 奨励研究
研究期間： 2020 ~ 2020
課題番号： 20H00975
研究課題名 遺伝的に多様な純系を作出するための遺伝資源評価パイプラインの構築

研究代表者

太田 敦士 (Ohta, Atsushi)

京都大学・農学研究科・技術職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000 円

研究成果の概要：本研究では、複数の純系で構成された「遺伝的に多様な純系集団」を整備するために、新たな純系候補を選抜するパイプラインの構築をおこなった。構築したパイプラインは、二段階選抜で純系候補を選ぶ：第一に、SNP情報で系統解析をおこない、純系を含まない系統群を一次選抜する。第二に、表現型情報で二次選抜する。コムギ近縁野生種 *Aegilops bicornis* に対して、このパイプラインを適用し、新たな純系候補を選抜した。そして、選ばれた系統を純系化するために播種・栽培した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ゲノム情報は、ジーンバンクの系統保存や系統集団の作成のために、広く活用されており、また、今後も益々が活用されるであろう。本研究の「純系候補選抜パイプライン」の構築とその利用は、ジーンバンクにおけるゲノム情報活用の一例である。

純系候補選抜パイプラインの使用は、ゲノムワイドSNP情報と表現型情報を定量的に扱うことで、より効率的に遺伝的に多様な純系集団を作成できる。このパイプラインは、コムギ遺伝資源系統だけでなく、様々な生物種にも適用可能であろう。

研究分野：植物遺伝資源学

キーワード：コムギ近縁野生種 *Aegilops bicornis* 純系 ヘテロ接合度 系統解析 集団構造 主成分分析 GRAS-Di

1. 研究の目的

植物遺伝学研究では、自殖を重ねて遺伝的バックグラウンドが均一化（ホモ化）した純粋系統、いわゆる「純系」が広く使われてきた。純系は、再現性のある実験をおこなうための基盤的な研究材料である。ジーンバンクの重要な責務のひとつは、遺伝的多様性を反映した純系セットを作出することである。しかし、ジーンバンクが保有する全ての系統を純系化するには、時間と労力がかかるため、純系化はごく一部の系統のみに留まっている場合が多い。

京都大学農学研究科では、1940年代以降、コムギ遺伝資源系統の系統維持がおこなわれてきた。現在 10,000 点を超える系統があり、純系はそのうち 261 点のみである。それら純系は、分子マーカーが利用されていない頃に整備された系統であり、おもに形態的な特徴を元に選ばれていた。それゆえ、実際にどの程度遺伝的に多様なかはじゅうぶんに評価されていない。

そこで本研究では、複数の純系で構成された「遺伝的に多様な純系集団」の整備を目指して、(1) ゲノムワイド SNPs を用いて、種内および既存の純系の遺伝的多様性を評価し、(2) 新たな純系候補を選抜した。また、(3) その純系候補を選抜するパイプラインの構築をおこなった。

2. 研究成果

系統解析および遺伝的多様性の評価

本研究では、コムギ近縁野生種 *Aegilops bicornis* 34 系統（純系 4 系統を含む）を研究対象にした。これら系統は、エジプトからイスラエルの地中海沿岸地域でサンプリングされた系統である。各系統を GRAS-Di 法（Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct; Hosoya et al., 2019）によりシーケンシングし、各シーケンシングリードをタルホコムギゲノム Aet v4.0 (Luo et al., 2017) にアライメントした。その結果、1,162 個のゲノムワイド SNPs を得た。IQ-TREE を使って最尤法による系統解析をおこなったところ、種内は 2 つの系統群（西地域系統群と東地域系統群）に分けられた（図 1）。既存の純系のうち、3 系統（系統番号 KU-3-1 と KU-3-2、KU-3-4）は東地域系統群に属しており、そのうち、KU-3-1 と KU-3-4 は遺伝的に非常に近縁であった。西地域系統群には、おもに 2 つのサブ系統群があり、純系 KU-3-3 を含むサブ系統群と、純系を含まないサブ系統群が見つかった。その純系を含まないサブ系統群に属する 9 系統を純系候補として一次選抜した。

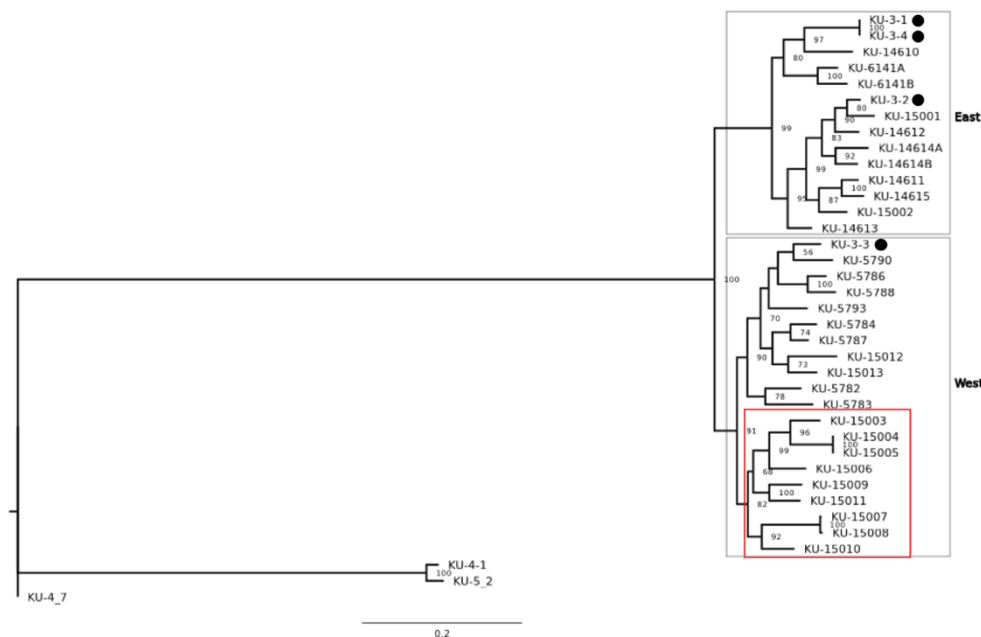


図 1 最尤法による *Aegilops bicornis* の系統樹。系統番号の右に黒丸を付けている系統が「純系」である。灰色線で囲まれた系統群は東地域系統群と西地域系統群であり、それぞれ「East」と「West」と表記している。純系を含まないサブ系統群を赤色線で囲んでいる。KU-4-1 や KU-4-7、KU-5-2 は、*Ae. bicornis* の近縁種であり、系統解析の外群として使用した。

ADMIXTURE を使って種内の集団構造解析をおこなったところ、Cross validation error が最も低い値は K=2 であった。すなわち、種内に 2 つの集団が推定された（図 2a）。その K=2 における集団構造は、系統解析の結果と同様に、西地域系統群と東地域系統群の集団が推定されていた（図 2b）。K=3 においても、西地域系統と東地域系統は分けられており、西地域系統内にはさらに 2 つの集団が推定された（図 2b）。

全 SNP サイトの平均ヘテロ接合度 (Heterozygosity) を指標にして種内および既存の純系の遺伝的多様性を調べたところ、*Ae. bicornis* 34 系統の平均ヘテロ接合度は 0.218 であった。純系 4 系統のみの平均ヘテロ接合度は 0.200 であった。

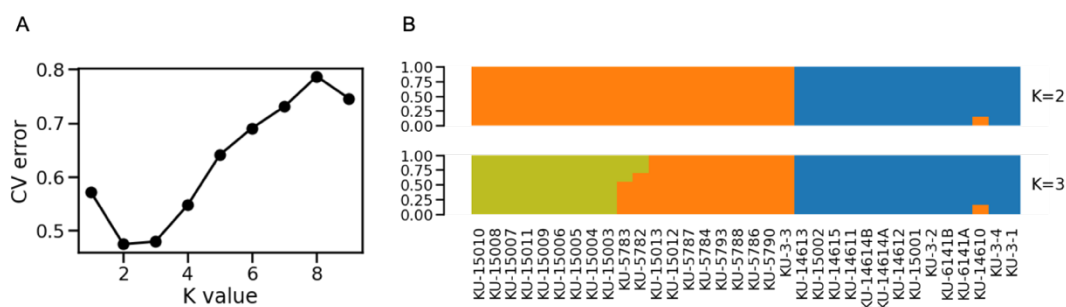


図 2 *Aegilops bicornis* における集団構造解析。(A) K=1 から K=9 までの Cross validation error (CV error) の推移。(B) K=2 と K=3 における集団構造解析の結果。下部に系統番号を表記している。

表現型解析

Aegilops bicornis 34 系統について、表現型 (穂の形態的形質: 穂長や小穂数、小穂長、穂密度、頂小穂の第一小花と第二小花の芒長、側列小穂の第一小花と第二小花の芒長; 生態的形質: 出穂日、開花日) を調査した。穂の形態的形質のいずれも、西地域系統群と東地域系統群のあいだで有意な差がみられた ($P < 0.05$)。穂形態の地域間の違いは、先行研究の Ohta et al. (2017) でも同様の結果が観察されていた。興味深いことに、出穂日や開花日には、両地域系統群間で有意な差はみられなかった。*Aegilops bicornis* 種内では、遺伝的な分化の過程で、穂の形態的な分化が起こったのかもしれない。しかし、出穂・開花習性は分化しなかったようである。

主成分分析を使って表現型データを縮約し、累積寄与率が 90% を超える 4 つの主成分 (PC1 と PC2, PC3, PC4) を得た。頂小穂第二小花の芒長や穂密度、側列小穂第二小花の芒長は、PC1 に対する因子負荷量の絶対値が大きい上位 3 因子であった。同様に、PC2 に対しては開花日・穂長・出穂日、PC3 に対しては出穂日・小穂数・開花日、PC4 に対しては小穂数・頂小穂第一小花の芒長・穂密度が上位 3 因子であった。

純系候補の二次選抜は、主成分得点の分散の合計値を「表現型の多様度」の指標にして、次のとおりにおこなった: まず、一次選抜系統の中から任意の 1 系統を選び、既存の純系に加えて「仮想純系集団」を作った。つぎに、その集団の主成分得点の分散を調べた。その操作を一次選抜系統すべてに対しておこない、分散が最も大きくなる系統を一次選抜系統の中から選定した。この二次選抜の結果、KU-15005 を新たな純系候補系統として選定した。この選定された系統を次の自殖更新のために播種・栽培した。

純系候補選抜パイプライン

本研究では、遺伝的な多様性と表現型の多様性を考慮して、新たな純系候補を選ぶ「純系候補選抜パイプライン」を構築した。パイプラインの概要は次のとおりである: SNP 情報で系統解析をおこない、純系を含まない系統群を一次選抜し、さらに表現型データを使って二次選抜する。二次選抜では、まず、主成分分析で表現型データの次元削減 (縮約) をおこなう。つぎに、任意系統を加えた仮想純系集団を作り、主成分得点の分散を調べる。分散が最も大きくなる系統を一次選抜系統の中から選定する。本研究で構築したパイプラインは、多様な純系群の作出を効率よくおこなえる。また、このパイプラインと同様の手法は、コムギ遺伝資源系統だけでなく、様々な生物種にも適用可能であろう。

<引用文献>

- ① Hosoya, S., Hirase, S., Kikuchi, K., Nanjo, K., Nakamura, Y., Kohno, H., & Sano, M. (2019). Random PCR - based genotyping by sequencing technology GRAS-Di (genotyping by random amplicon sequencing, direct) reveals genetic structure of mangrove fishes. *Molecular ecology resources*, 19(5), 1153-1163.
- ② Luo, M. C., Gu, Y. Q., Puiu, D., Wang, H., Twardziok, S. O., Deal, K. R., ... & Dvořák, J. (2017). Genome sequence of the progenitor of the wheat D genome *Aegilops tauschii*. *Nature*, 551(7681), 498-502.
- ③ Ohta, A., Yamane, K., & Kawahara, T. (2017). Relationship between spike morphology and habitat of four *Aegilops* species of section Sitopsis. *Genetic resources and crop evolution*, 64(5), 889-899.

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西原萌笑、杉原優、寺内良平、太田敦士
2. 発表標題 Aegilops bicornis遺伝資源系統にみられる東西地域間の遺传的分化
3. 学会等名 第15回ムギ類研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 筒泉宏樹、太田敦士、杉原優、寺内良平
2. 発表標題 コムギ近縁野生種Aegilops caudataの系統解析
3. 学会等名 第15回ムギ類研究会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
寺内 良平	(Terauchi Ryohei)
杉原 優	(Sugihara Yu)
西原 萌笑	(Nishihara Moe)
筒泉 宏樹	(Tsutsumi Hiroki)