

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02234

研究課題名(和文) 比較ゲノム解析による主要ヒノキ科樹種のゲノム構造の解明

研究課題名(英文) Investigation of the genome structure for major Cupressaceae tree species by comparative genome analysis

研究代表者

森口 喜成 (Moriguchi, Yoshinari)

新潟大学・自然科学系・准教授

研究者番号：60644804

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：ヒノキでは、1,973個のマーカー(このうち144マーカーがRNA-Seq法によりヒノキのコンティグ配列からスギにOrthologousな配列を探索して作成)が座乗する連鎖地図を構築できた(マッピング家系は153個体)。一方、ヒバでは、1,556個のマーカー(このうち150マーカーがRNA-Seq法により得られたヒバのコンティグ配列からスギ・ヒノキにOrthologousな配列を探索して作成)が座乗する連鎖地図が構築できた(マッピング家系は188個体)。スギとヒノキ、スギのヒバ、ヒノキとヒバの3つの組み合わせで連鎖地図の比較を行った結果、複数の転座や逆位を検出することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で構築したヒノキおよびヒノキアスナロの連鎖地図は、今後の分子育種の基盤として活用できる。また、ヒノキ科ゲノムのシンテニー領域が明らかになれば、スギで同定された雄性不稔遺伝子等の有用遺伝子の情報を他種に利用できるかもしれない。さらに、以前に行われたマツ科とヒノキ科の比較ゲノム研究では、ヒノキ科の連鎖地図はスギ1種だけでヒノキ科を代表していなかったが、本研究の結果を用いることでヒノキ科の統合連鎖地図を作成することができ、マツ科とヒノキ科の差異に関わる遺伝子の研究等に役立てることができる。

研究成果の概要(英文)：In *Chamaecyparis obtusa*, a linkage map including 1,973 markers (of which 144 markers were developed from orthologous sequences between *Cryptomeria japonica* and *C. obtusa*) was constructed (153 individuals). On the other hand, in *Thujopsis dolabrata* var. *hondae* (188 individuals), a linkage map including 1,556 markers (of which 150 markers were developed from orthologous sequences among *C. japonica*, *C. obtusa* and *T. dolabrata* var. *hondae*) was constructed (188 individuals). As a result of comparing linkage maps with three combinations of *C. japonica* and *C. obtusa*, *C. japonica* and *T. dolabrata* var. *hondae*, and *C. obtusa* and *T. dolabrata* var. *hondae*, we found multiple translocations and inversions.

研究分野：林木遺伝育種学

キーワード：連鎖地図 針葉樹

1. 研究開始当初の背景

日本には、スギ(スギ属: *Cryptomeria japonica*)、ヒノキ(ヒノキ属: *Chamaecyparis obtusa*)、ヒノキアスナロ(アスナロ属: *Thujopsis dolabrata* var. *hondae*)と重要なヒノキ科の造林樹種が多い。シンテニー領域が明らかになれば、近縁種で同定された有用遺伝子の情報を、マーカー選抜(DNA解析で目的形質を持つ個体を選ぶ)といった分子育種の研究等に活用することができる。

連続した参照ゲノム配列が存在しない場合、遺伝子やDNAマーカーの染色体上の順番や位置を示す連鎖地図の比較解析(比較マッピング)を行うことが、進化の過程で生じた染色体再編成やシンテニー領域の解明に最も効果的な方法である。これまでの針葉樹の比較マッピングは、ダグラスファーとテダマツ(Krutovsky et al. 2004)、カナダトウヒとドイツトウヒと種間雑種(クロトウヒ×アカトウヒ)(Pelgas et al. 2006)、サトウマツとテダマツ(Jermstad et al. 2011)、マツ科のマツ属とトウヒ属の樹種(Pavy et al. 2012)などマツ科樹種同士で行われているものがほとんどで、ヒノキ科樹種の比較マッピングはほとんど行われていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は下記の2点である; 発現遺伝子の網羅的解析(RNA-seq)を用い、ヒノキ、ヒノキアスナロにおいて、遺伝子由来のマーカーで連鎖地図を作成する。これらの連鎖地図と先行研究で作成したスギの連鎖地図を用いた比較マッピングを行い、ヒノキ科ゲノムのシンテニー領域、染色体再編成、遺伝子重複などを明らかにする。得られた情報と申請者らがスギで構築を進めているゲノム概要配列を用いることで、ヒノキ科樹種の適応進化に重要な役割を持つ遺伝子の研究やヒノキ科造林樹種における雄性不稔遺伝子等のマーカー選抜やゲノム編集技術の研究に応用できる。ヒノキ科3種の連鎖地図からヒノキ科の統合連鎖地図を作成する。

3. 研究の方法

ヒノキの連鎖解析には、中7号×中10号の交配で得られた153個体および交配親2個体を用い、ヒノキアスナロの連鎖地図構築には、No.8-3号×No.10-2号の交配で得られた188個体および交配親2個体のDNAを用いた。ヒノキとヒノキアスナロのマップ親の葉からRNAを抽出し、次世代シーケンサーでRNA-seqを行った。ヒノキでは収集した配列情報からEST-SSRマーカーを開発した。また、ヒノキでは得られたコンティグ配列からスギにOrthologousな配列を探索して作成してFR48.48 Dynamic Array (Fluidigm)解析用のSNPマーカーを設計した。ヒノキアスナロでは、得られたコンティグ配列からスギ・ヒノキにOrthologousな配列を探索して作成してFR48.48 Dynamic Array (Fluidigm)解析用のSNPマーカーを設計した。このようにして得られたEST-SSRマーカーとSNPマーカーに加え、ヒノキとヒノキアスナロそれぞれで行ったRAD-seqによって得られたマーカーを加え、連鎖地図を構築した。構築された2つの連鎖地図と既存のスギの連鎖地図の比較解析を行い、ヒノキ科4種のシンテニー領域や染色体再編成を明らかにした。

4. 研究成果

RAD-seq法で得られた2,682個のRADマーカー、交配親の針葉由来のRNA-Seq法で収集した配列情報から作成した41個のEST-SSRマーカー、RNA-Seq法により得られたヒノキのコンティグ配列からスギにOrthologousな配列を探索して作成した164個のSNPマーカーを連鎖地図の構築に使用した。連鎖解析の結果、1,973個のマーカー(1,790個のRADマーカー、39個のEST-SSRマーカー、144個のSNPマーカー)が座乗する11個の連鎖群からなる連鎖地図を構築できた(図-1)。一方、RAD-seq法で得られた2,752個のRADマーカー、RNA-Seq法により得られたヒバのコンティグ配列からスギ・ヒノキにOrthologousな配列を探索して作成した168個のSNPマーカーを使用して連鎖地図を構築した。連鎖解析の結果、1,556個のマーカー(1,406個のRADマーカー、150個のSNPマーカー)が座乗する11連鎖群からなる連鎖地図が構築できた(図-2)。これらの結果を元に、スギとヒノキ、スギのヒバ、ヒノキとヒバの3つの組み合わせで、連鎖地図の比較を行った結果、複数の転座や逆位を検出することができた。今後は、ヒノキ科の統合連鎖地図を作成する予定である。ヒノキ科の統合地図を作成してマツ科の統合地図と近くすることにより、マツ科とヒノキ科の差異に関わる遺伝子の研究等に役立てることができらるだろう。

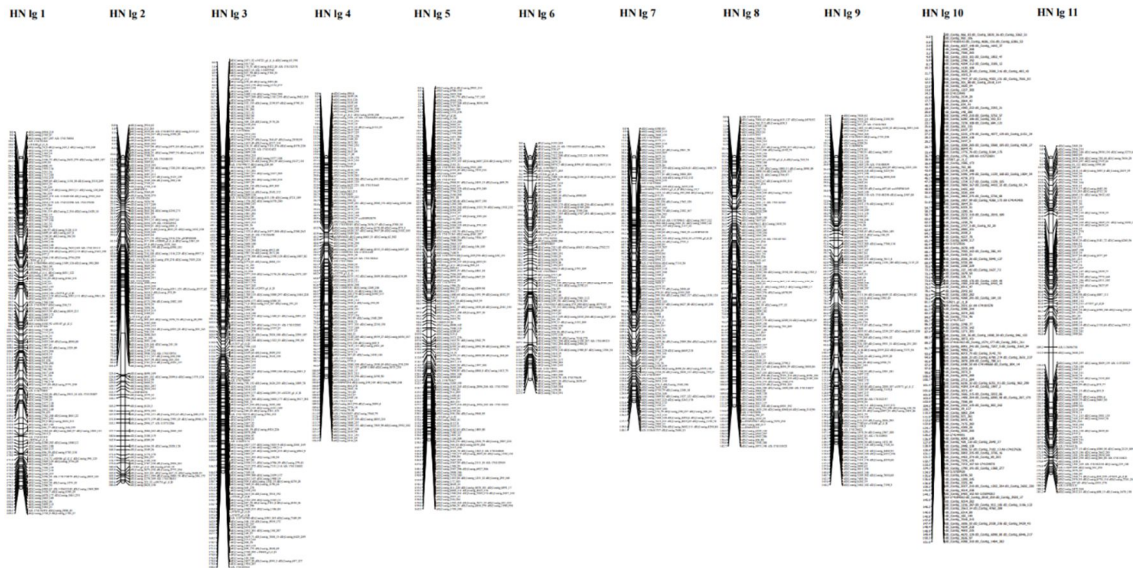


図-1 ヒノキで構築した連鎖地図（左端が連鎖群 1 で右端が連鎖群 11）

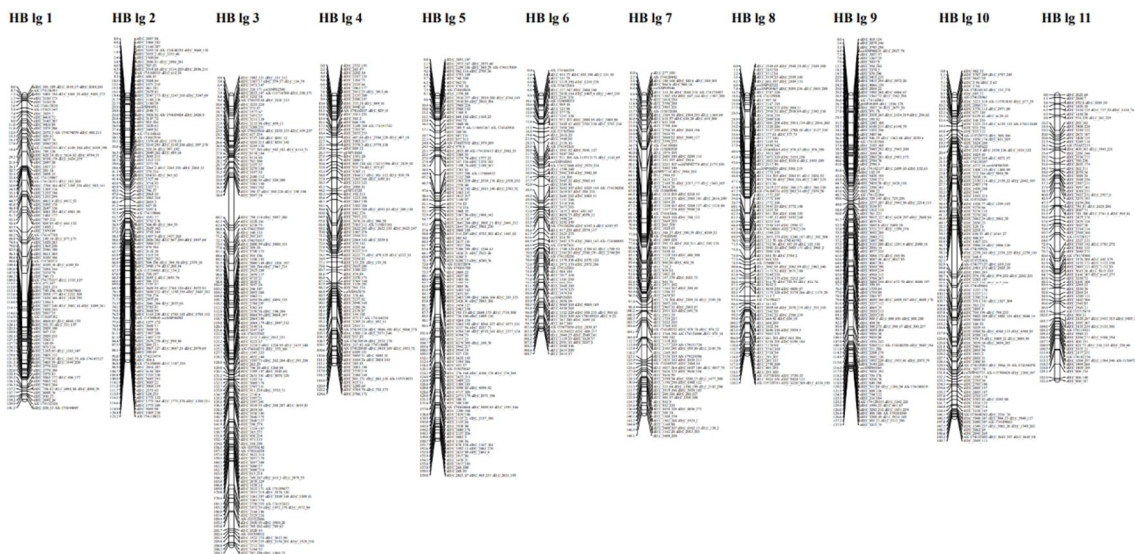


図-2 ヒノキアスナロで構築した連鎖地図（左端が連鎖群 1 で右端が連鎖群 11）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Dogan Guliz, Ueno Saneyoshi, Hasegawa Yoichi, Matsumoto Asako, Saito Ryunosuke, Saito Hiroshi, Moriguchi Yoshinari
2. 発表標題 Construction of a linkage map in <i>Chamaecyparis obtusa</i> and its comparison with <i>Cryptomeria japonica</i> D. Don.
3. 学会等名 第131回日本森林学会大会
4. 発表年 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
研究分担者	Worth James (Worth James) (30770771)	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 (82105)	
研究分担者	松本 麻子 (Matsumoto Asako) (90353862)	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 (82105)	

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
---------	---------