

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 24 年 6 月 3 日現在

機関番号:14301

研究種目:研究活動スタート支援

研究期間:2011~2011

課題番号:23880013

研究課題名(和文) モモ亜属の栽培化に伴うゲノム進化機構の解明

研究課題名(英文) Analysis on Genomic Evolution via Domestication Steps of *Amygdalus* subgenus

研究代表者

赤木 剛士 (AKAGI TAKASHI)

京都大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号:50611919

研究成果の概要(和文):

モモ亜属 (*Amygdalus* subgenus) の植物96種に対して約9000ローカスのSNPsタイピングを行い、全ゲノムワイドな遺伝的構造解析を行った。現在の栽培モモ品種群は、野生品種とは明らかに異なる、歴史的な人為的選抜を受けた複数のクラスター群を形成する事が示唆された。クラスター間における多様性度の推移を比較することにより、各クラスターに特徴的なゲノム部分領域へのselective sweepを検出した。観賞用ハナモモ、および主要食用モモのクラスターにおいて、特定のゲノム領域に人為的選択圧が見られ、それぞれのクラスターの特徴と非常に関連性の考えられる遺伝子群が存在していた。これらの遺伝子は各モモ品種群の特徴を維持し、栽培化の原動力となった重要遺伝子であると考えられた。

研究成果の概要(英文):

Genome-wide genetic structural analysis was conducted to 96 species of *Amygdalus* subgenus by using the SNPs information from ca. 9000 loci in the genome. It was suggested that current domesticated peach (*Prunus persica*) cultivars formed multiple clusters which had been under the historical artificial selections, to which wild cultivars have not been subjected. Comparison of differences in the genetic diversities among the clusters showed some specific selective sweeps on certain genomic regions of each cluster. Importantly, the clusters of the ornamental flower peaches and the main fruit peaches gave clues for artificial selective pressure on their certain genomic regions, respectively. These genomic regions contained genes apparently related to the characteristics specific to each cluster. It would be suggested that these genes importantly play substantial rolls to maintain the characteristics of each peach cluster and to lead them under the domestication.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
総計	1,300,000	390,000	1,690,000

研究分野:農学

科研費の分科・細目:園芸学・造園学

キーワード:モモ、全ゲノム解析、SNPs タイピング、栽培化、selective sweep

1. 研究開始当初の背景

(1) 作物のゲノム進化では、歴史的な栽培化のステップにおける特定の遺伝子に対する人為的選抜が鍵因子となる。この人為的選抜遺伝子は、現在の栽培品種の成立過程を示すだけでは無く、有用栽培形質の発現に直接的に関わるものと考えられ、栽培化に寄与した遺伝子進化およびその動向に関する知見は、今後の作物育種に対しての大きなアドバンテージとなる。しかし、木本性作物においては、(i) 人為的選抜後の半永続的な栄養生殖の影響や、(ii) 倍数性変異や変異ゲノムの受容能が高いことから、栽培化において、草本性作物群とは異なった独自の進化圧を生じた可能性が示唆されており、その栽培化に寄与した因子もこれまでにほとんど同定されていない。

(2) モモ (*Prunus persica*) は近年全ゲノム解析の終了した植物種である。モモは中国の黄河上流域を原産地とし、紀元前には既に栽培化が始まっていたと考えられている。モモには多くの野生近縁種があり、モモと原生地を同じにするほか、一般に食用とされるモモに加えてハナモモのような観賞用の品種も栽培されている。これまで、主に形態的特徴やいくつかの多型性 DNA マーカーを用いた系統分類が行われているが、野生種や在来種、ハナモモを含む大規模な遺伝的構造解析は行われておらず、また、モモの種分化および栽培化や品種分化に関与した遺伝的要因についても明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、モモを木本性作物の栽培化におけるモデル植物として扱い、モモおよびその近縁種群の全ゲノムリシーケンス情報によって、それらの遺伝的構造および各ゲノム領域への選択圧についての検討を行うことである。これにより、近縁種からモモにかけて、あるいはモモ起源種から現在の栽培モモの成立にかけての遺伝的構造の変化、および人為的栽培化段階におけるゲノムへの選択圧を検出することが可能である。これらの情報から、木本性作物に特異な全ゲノムレベルでの進化機構、および、それに基づいた栽培化段階での遺伝子選抜の影響を解明することを目指す。

また同時に、人為的選択圧のかかったゲノム領域からその選択圧の原因となった遺伝子を同定し、この情報を今後のモモを中心としたモモ亜属作物群の育種に適用することも目的としている。

3. 研究の方法

(1) SNPs タイピング: モモ亜属であるモモ 74 系統, 5 種のモモ野生近縁種 18 系統, アーモンド 3 系統を用いて 9K Peach Genome Chip (Illumina) による全ゲノム SNPs タイピングを行った。

(2) 遺伝的構造解析: PLINK を用いてアレル頻度, ミスリード率および連鎖不平衡を考慮した 5181 アレルを選定した。R パッケージ prcomp によって PCA を, STRUCTURE v.2.2 によって Structure 解析 ($K = 2 \sim 10$) を, Fst test は Weir ら (1984) に従い, アレル頻度に応じた負荷を考慮して行った。Identity by descendant (IBD), Identity by state (IBS), および LD (Haplotype) の各値は PLINK を用いて検出した。また concatenated SNPs に対して PAUP* および MrModeltest によって最適進化モデルを検討後, Bayesian MCMC および最尤法による系統解析を行った。

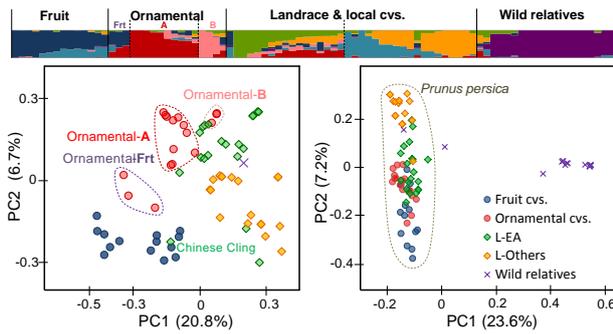
(3) Selective sweep 解析: 構造解析より得られた各クラスター間の比較において, Site Frequency Spectrum に基づいた selective sweep 解析を行った。クラスターごとに各 SNPs locus のヘテロ性 (H_e) を 400-kb sliding window で統合し標準正規分布への Z 変換 ($Z(H_e) = (H_e(m) - \mu H_e) / \sigma H_e$) によって全ゲノムに対する多様性度推移を検討した。同時にクラスター間の H_e 相対推移も検出した。

4. 研究成果

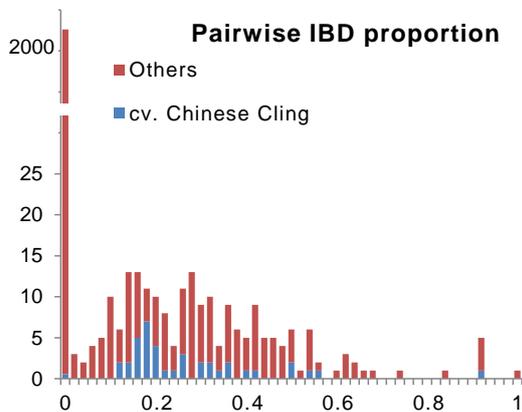
(1) 遺伝的構造の特性化

栽培・野生いずれのモモ品種も、モモ近縁野生種群とは明確な遺伝的隔離を示す事が示された (第 1 図; Structure 解析および PCA)。栽培品種間における遺伝的距離 (Fst) がモモ全体における遺伝的距離にほぼ等しいことから、(i) モモの栽培化は広い範囲で独立して行われていた、(ii) 現在のモモの多くは共通した栽培化による遺伝的浮動の後に形成された集団である、という二つの可能性が考えられた。主要食用モモ品種群 (Fruit クラスタ) および 3 つのハナモモ品種群 (Ornamental サブクラスタ) は在来・野生品種とは明らかに異なるクラスターに分類され (第 1 図), Structure, IBD 解析から, Fruit クラスタにおけるほとんどの品種が Chinese Cling (上海水蜜桃) を由来に持つ事が示唆された (第 2 図; IBD)。この結果は古典的な形態的観察結果および歴史的文献とも完全に一致しており、それらを支持する分子生物学的証拠となる事が示唆された。また, Fruit および Ornamental クラスタ群における連鎖不平衡値 (LD) は在来品種/野生品種よりも有意に広範囲に保存されており (~2Mb), 比較的近年起こったと考えられる栽培化によって, 交雑頻度低下と遺伝的浮動が生じ, 構造

化が進んでいない状態でモモ品種群が維持されている可能性が示された。



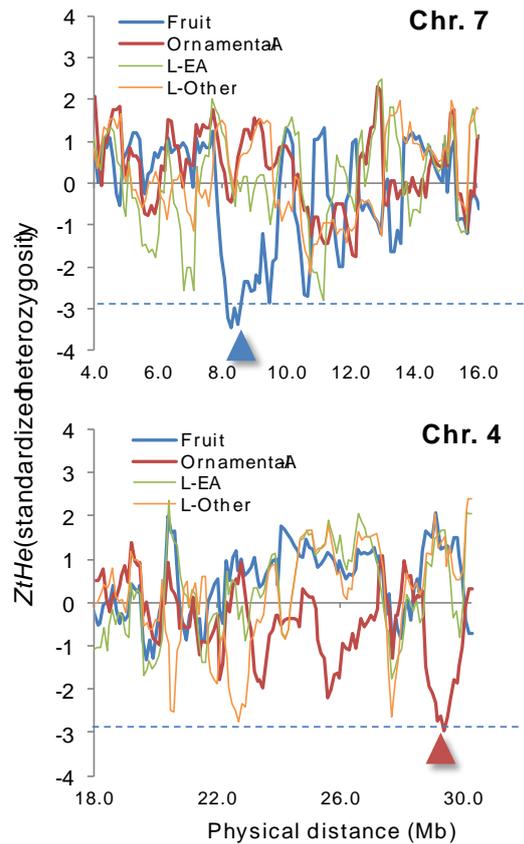
第 1 図: モモ品種群および野生近縁種における structure 解析 (上) と PCA (下). 野生近縁種は明らかにモモとはクラスターが異なり, モモ品種間でも用途ごと (食用: Fruit, ハナモモ: Ornamental) にクラスターの形成が見られる.



第 2 図: モモ 74 品種間におけるペアワイズ IBD. Chinese Cling (上海水蜜桃) を含む IBD を青色で示した. 高 IBD 値を示すものの多くが Chinese Cling と血縁関係を持っている可能性が示された.

(2) 栽培モモ各クラスターゲノムに対する人為的選択圧の検出と候補遺伝子の同定

Fruit クラスターおよび Ornamental-A サブクラスターにおいて全ゲノムレベルの多様性度および在来品種/野生品種クラスターに対する相対多様性度推移を検出した結果, 各クラスターに特異な複数の selective sweep が検出された (第 3 図; 一部抜粋). Fruit クラスターでは第 7 番染色体 (Chr. 7) に, Ornamental-A クラスターでは Chr. 1, 4, 5, 8 に特異的な selective sweep が見られた. また, 栽培種全体を含むクラスターと在来・野生品種全体をクラスターを比較した結果, Chr. 1, 5 に栽培品種特異的な selective sweep が検出された.



第 3 図: Fruit クラスターおよび Ornamental-A クラスターにおける selective sweep の例. 全ゲノムに対する標準化遺伝的多様性度を示した. Chr. 7 (上) では Fruit クラスター, Chr. 4 (下) では Ornamental-A クラスター特異的に検出される有意な selective sweep を示した.

これらの領域において遺伝的多様性度が有意に低下している物理的距離範囲は 200-1000 kb 程度であり, これは全ゲノムレベルでの LD-decay の値とほぼ一致していた. モモ全ゲノム情報 (Genome Database for Rosaceae) を用いて, ORF の検出を行ったところ, これらの領域には果実や休眠芽で高度に発現する遺伝子群が含まれており, 異なる目的の栽培化 (育種化) の中で人為的選抜を受けた遺伝子候補であると考えられた. これらの遺伝子群について, モモおよびウメの EST 情報, およびそれらのオーソログに対するシロイヌナズナでのマイクロアレイデータを用いたクラスター解析を行った結果, Ornamental クラスターにおいて selective sweep を示した Chr. 4, 5 ゲノム領域にある遺伝子群はシロイヌナズナにおいて花器形成や春化に関する遺伝子群の発現と強い相関を示すことが示唆された. 以上より, 本研究において, モモの各品種群における栽培化の過程および, その過程において選抜の対象であったと考えられる遺伝子候補が明らか

となった。これらの遺伝子は各モモ品種群の特徴の原動力となった重要遺伝子であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計1件)

赤木剛士, 花田俊男, 八重垣英明, 山口正巳, 田尾龍太郎 育種・栽培化に伴うモモの *S* locus の進化 園芸学会 平成 23 年度秋季大会, 2011 年 9 月 24-26 日, 岡山大学津島キャンパス

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pomology.kais.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

赤木 剛士 (AKAGI TAKASHI)

京都大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号：50611919

(2) 研究分担者

()

研究者番号

(3) 連携研究者

()

研究者番号