

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006～2009

課題番号：18370033

研究課題名 (和文) 連鎖地図ベースでのハイマツ・キタゴヨウ交雑帯の解析

研究課題名 (英文) Linkage map-based study on the hybrid zones between *Pinus pumila* and *P. parviflora* var. *pentaphylla*

研究代表者

氏名 (ローマ字)：綿野 泰行 (WATANO YASUYUKI)

所属機関・部局・職：千葉大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：70192820

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：多様性

### 1. 研究計画の概要

浸透性交雑現象とは、種間における遺伝子の交流を指す。本研究の材料であるハイマツとキタゴヨウは、日本の各地の高山において交雑帯を形成し、盛んに浸透性交雑を行っている。本研究では、ハイマツとキタゴヨウの連鎖地図を作成し、この地図ベースで、遺伝子浸透のパターンを解析することを目的としている。

従来の研究では、個々の独立な遺伝マーカーを用いて交雑帯の遺伝的構造などが解析されてきた。しかし実際の種間での遺伝的交流は個々の遺伝子単独でおきているわけではなく、多くの連鎖した遺伝子群の単位でおきている。従って、両種間での遺伝的交流のパターンを正しく把握するためには、連鎖地図をベースに解析することが必要だと考えられる。

地図ベースで解析することにより、浸透を起こしやすい、又は起こしにくい染色体ゲノム部位を特定するという従来では不可能であったアプローチが可能となる。また、複数の交雑帯の比較により、遺伝子流動に働く自然選択も検出することが可能になると考えられる。

### 2. 研究の進捗状況

研究のベースとなる連鎖地図は、ハイマツとキタゴヨウの F1 雑種と推定される個体から採集した種子を利用して作成した。裸子植物の種子の胚乳は雌性配偶体であるため、1 個体から得られた種子における対立遺伝子の 1:1 での分離を利用して、連鎖地図の作成が可能となる。連鎖地図作成のための分子マーカーとして EST、SSR および AFLP マーカーを用意した。EST マーカーは、64 個の作成に成功した。そのうち 27

個は、テーダマツの連鎖地図における位置がわかっており、両者の連鎖群の対応付けに利用できる。AFLP マーカーは Remington et al.(1999) によって用いられた (E+3/M+4) の選択プライマー 21 組を用いた。バンドの有無の再現性を確かめるため、ハーフスケールで再実験を行い、完全に再現性が確かめられたバンドのみを連鎖地図作成に用いた。JoinMap4 を用いて LOD6.6 で連鎖地図を作成した結果、14 個の連鎖群に 61 個の EST、2 個の SSR マーカーを含む合計 541 個のマーカーを配置することができた。地図の推定長は 1489cM、ゲノムの推定の長さは 3244cM となった。さらに、純粋なハイマツとキタゴヨウの種子胚乳をサンプルとして、同様に AFLP 法と PCR-SSCP 法でタイピングを行うことで、連鎖地図上にマッピングされたマーカーがハイマツとキタゴヨウのどちら由来かを調べた。母種に特異的な対立遺伝子を識別し、グラフィカル・ジェノタイプを行うことで、連鎖地図を由来に応じて色分けして可視化することに成功した。この手法を交雑帯における遺伝子浸透パターンの解析に応用する予定である。

### 3. 現在までの達成度

- ① 連鎖地図作成：当初の計画より遅れている

(理由)

初期の計画では平成 19 年度までに連鎖地図を完成させる予定であった。しかし、AFLP 法による分子マーカーの再現性の問題に直面し、再実験を行ったため 1 年分、計画が遅れている。

しかし、本研究の目的達成のためには精度について妥協はできない。

- ② グラフィカル・ジェノタイプ解析:当初の計画以上に進展している

(理由)

GGT2.0 というソフトウェアを用いることにより、簡単にゲノムを由来によって色分けすることが可能であることが判明した。この手法は、実際に交雑帯の遺伝的構造を記述する際に極めて有効であると考えられる。

#### 4. 今後の研究の推進方策

連鎖地図の精度をさらに向上させるため、EST マーカーを追加する予定である。また、少なくとも2つの交雑帯(谷川岳と蔵王)において種子サンプルの採集を行い、連鎖地図上にマッピングできたマーカーを用いて遺伝的構造を解析する予定である。

連鎖地図の結果については、投稿を今年度中に行う。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

- ① ITO M, SUYAMA Y, OHSAWA TA, WATANO Y (2008) Airborne-pollen pool and mating pattern in a hybrid zone between *Pinus pumila* and *P. parviflora* var. *pentaphylla*. *Molecular Ecology* **17**, 5092-5103.

[学会発表](計 2 件)

- ① 江夏知美・谷尚樹・津村義彦・朝川毅守・梶田忠・綿野泰行 ハイマツ・キタゴヨウ間の自然雑種の AFLP と EST マーカーを用いた連鎖地図作成. 日本植物学会(2008年9月26日)
- ② 江夏知美・谷尚樹・津村義彦・朝川毅守・梶田忠・綿野泰行 ハイマツとキタゴヨウの雑種を用いた連鎖地図作成とグラフィカル・ジェノタイプ解析. 日本植物分類学会(2009年3月13-14日)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

[その他]

なし