

機関番号：82508

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24710237

研究課題名(和文) ゲノムの多様性解析による表現型可塑性を有する野生植物集団の栽培化に関する研究

研究課題名(英文) Genetic diversity and ecological adaptation mechanism in *Vicia sativa* revealed by genomic analysis

研究代表者

白澤 健太 (Shirasawa, Kenta)

公益財団法人かずさDNA研究所・先端研究部・研究員

研究者番号：60527026

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：野生植物であるヤハズエンドウを実験モデルと位置付け、そのゲノム情報基盤を整備し、集団の遺伝的多様性を明らかにすることを目的として本研究を実施した。

まず、ヤハズエンドウの野生集団が持つゲノムの多様性をDNAマーカー分析により明らかにした。次いで、全ゲノム概要配列を解読した。同時に、葉、茎、および根などの合計10器官の全転写産物配列情報を取得した。そして、日本国内外から収集したヤハズエンドウの多様性解明のための解析系を確立し、約1万の変異箇所を特定した。

以上の成果から、ヤハズエンドウは自生地ごとに固有の遺伝的多様性を保持し、それぞれの環境に適応していることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：With the aim of understanding genetic diversity of wild weeds adapted environments, genomics study was carried out on *Vicia sativa* as a model.

The genetic diversity of populations collected from a local area in Chiba, Japan was revealed with SSR maker analysis. To enhance this analysis broadly, draft genome assembly of *Vicia sativa* was established with next-generation sequencing technologies. Simultaneously, transcriptome data was also obtained from 10 organs including leaves, stems and roots. These information contributed to detect >10,000 high-confident SNPs among divergent lines of *Vicia sativa* from inside and outside Japan.

We concluded that regional ecotypes of *Vicia sativa* have independently maintained their genetic diversity in accordance with the regions, by which the ecotypes are locally adapted to each environment.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：ヤハズエンドウ ゲノム RAD-Seq法 多様性解析

### 1. 研究開始当初の背景

栽培植物は野生の植物種に比べて生長量と繁殖力が劣ることが多いが、これは植物が栽培化の過程で遺伝的な多様性と、それに伴う様々な環境ストレスに対する抵抗性、すなわち可塑性を失ったことに起因すると考えられている。したがって逆説的に、遺伝的な多様性を維持したまま野生植物を栽培化できれば、高度な可塑性を持った栽培植物が作出できる可能性が高い。つまり、これまで人類が数千年もかけて行なってきた野生植物の栽培化を、現代においてもゲノム解析技術を駆使することで短期間に、かつ、より効果的に達成することが可能になる。

### 2. 研究の目的

野生植物集団のゲノムの多様性を先端的なゲノム解析技術により明らかにし、栽培化関連遺伝子座を固定した集団の表現型と可塑性を評価することができれば、植物集団の遺伝的多様性、表現型の固定度、および可塑性との関連を解明できるようになる。そのために本研究では、マメ科の野生植物であるヤハズエンドウ (*Vicia sativa*) を実験モデルと位置付け、そのゲノム情報基盤を整備し、集団の遺伝的多様性を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) ヤハズエンドウに近縁なソラマメ (*Vicia faba*) で開発された EST-SSR マーカー情報 (El-Rodeny et al. 2014) を利用して、日本国内に自生するヤハズエンドウ集団、および国外のヤハズエンドウ系統の遺伝的多様性の評価を行った。

(2) 野生植物に栽培特性を付与させるために必要なゲノム領域と、栽培植物に高度な可塑性を持たせるために必要なゲノム領域の双方の情報を得るために、ヤハズエンドウの標準株を確立し、ゲノムの概要配列を解読した。

(3) ゲノム概要配列中の遺伝子を予測し、また、遺伝子共発現ネットワークを明らかにするために、標準株のトランスクリプトーム解析を行った。

(4) 高効率なゲノムワイド遺伝子型解析のための手法を開発し、ヤハズエンドウ集団の遺伝的多様性解析のためのデータを得た。

### 4. 研究成果

(1) ヤハズエンドウの野生集団が持つゲノムの多様性を明らかにするために、千葉県内3地点から採取した野生集団(各12個体)のSSRマーカー分析を行った。ヤハズエンドウに近縁なソラマメで開発された128個のEST-SSRマーカーから、ヤハズエンドウで利用可能な67個のマーカーを選抜した。使用した67個のSSRマーカーのうち16個が多型を示し、分離データに基づいてクラスタリング解析を行った結果、各集団は固有のサブク

ラストを形成した(図1)

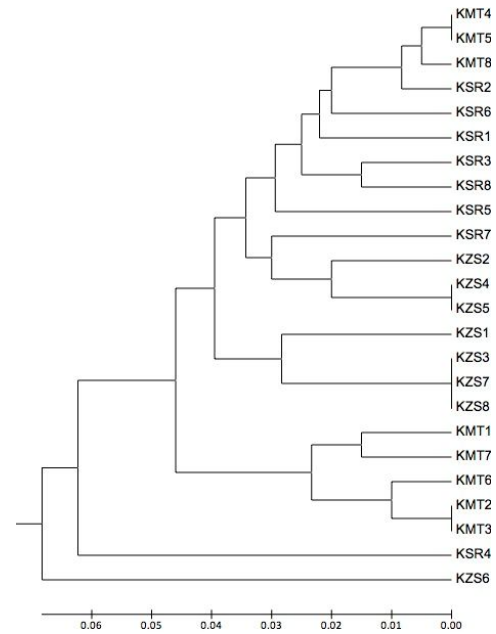


図1. ヤハズエンドウ3集団のクラスタリング解析

(2) 野生集団の遺伝的な多様性を正確に評価するためにはゲノム配列情報の蓄積が不可欠である。ヤハズエンドウゲノムの概要配列の解読のために、ヤハズエンドウの純系標準株を確立した。標準株から全ゲノムDNAを抽出し、6種類のシーケン斯拉イブラリ(ペアエンド、メイトペア、ロングリード)を作成し、次世代シーケンサーを利用して配列分析を行った。なお、配列分析の一部は「ゲノム支援」のサポートを受けて実施した。得られた配列データを品質で精査後、これをアセンブルすることで推定ゲノム長の86%をカバーする概要配列を得た。この配列は、真核生物に共通の遺伝子セットの90%以上を含んだことから、ゲノムのカバー率は十分であると考えられた(図2)。

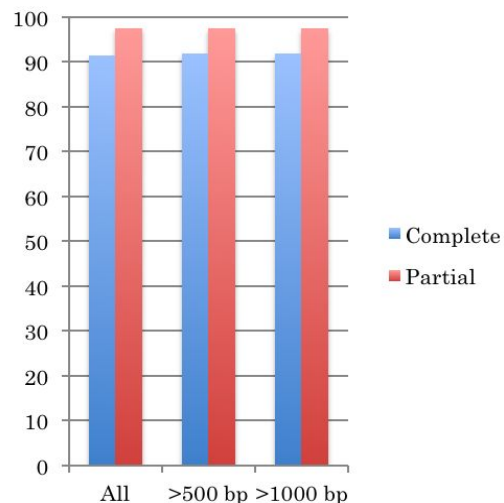


図2. 真核生物共通の遺伝子セットに対するヤハズエンドウゲノム概要配列のカバー率(%)

(3) 標準株から葉、茎、および根などの合計 10 器官を採取し、これらから全 RNA を抽出し、シーケン斯拉イブラリを作成し、次世代シーケンサーを利用して配列分析を行った。各器官から得られたそれぞれ約 1600 万の配列データをアセンブルすることで約 8 万の遺伝子配列を得た。また、これらのリードを、同じマメ科植物であるタルウマゴヤシ (*Medicago truncatula*) の遺伝子配列と比較すると、マッピング率は 30% 程度であり、ヤハズエンドウの遺伝子配列はタルウマゴヤシの遺伝子配列とは大きく異なることが推察された (図 3)。

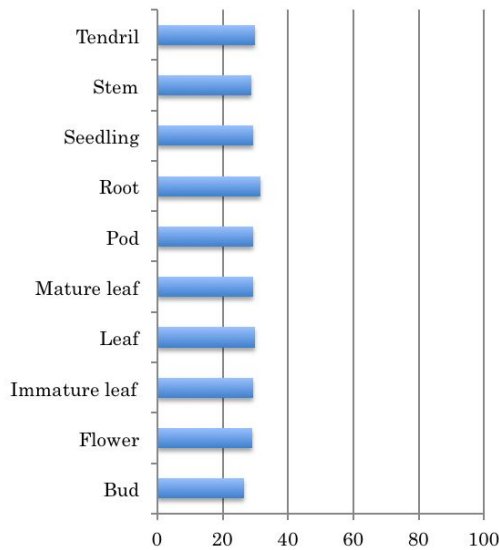


図 3. タルウマゴヤシの遺伝子に対するヤハズエンドウの遺伝子配列リードのマッピング率 (%)

(4) ヤハズエンドウの野生集団の遺伝的多様性を評価するための材料として、日本国内の 12 地点からそれぞれ約 100 個体のヤハズエンドウを採取した。合わせて、海外系統 (6 カ国に由来する 8 系統) をジェンバンクから取り寄せた。これらのサンプルの高効率なゲノムワイドなジェノタイピングのために、Restriction Site Associated DNA Sequencing 法 (RAD-Seq 法) を確立し実験条件を最適化した (図 4)。

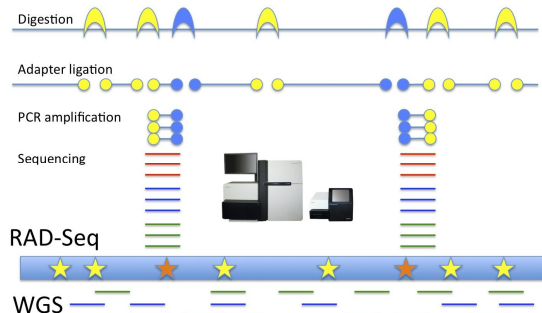


図 4. RAD-Seq 法の概要

すなわち、ゲノム配列情報に基づいて RAD-Seq 法に適した制限酵素を予測し、その結果を実験的に検証する方法を開発した。これに基づいてヤハズエンドウ集団の RAD-Seq 分析を実施し (表 1)、確度の高い SNP を高効率に検出できる情報解析パイプラインを構築した。

表 1. RAD-Seq 法により取得した各ヤハズエンドウ集団のデータ数

Population name	Population size	#Reads/line
Inside Japan		
ABK	102	1769k
FKO	97	823k
KGS	109	1098k
KMT	95	718k
KSR	88	631k
KYT	104	923k
KZS	97	645k
NGT	106	924k
NGY	96	686k
OKY	99	1725k
SDI	100	734k
TNS	100	1285k
Outside Japan	8	672k

この解析の結果、日本国内の系統と国外の系統間では約 1 万の SNP を検出した (図 5)。

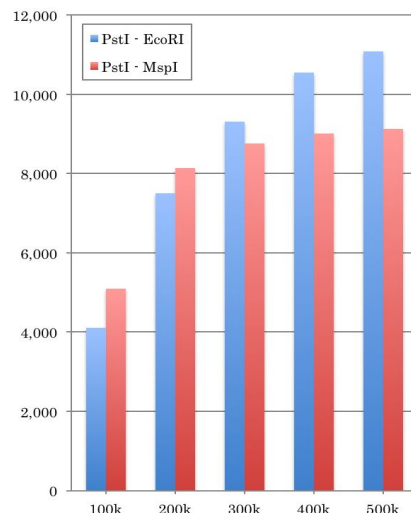


図 5. RAD-Seq 法により検出されたヤハズエンドウ 2 系統間の SNP 数

以上の成果から、ヤハズエンドウは自生地ごとに固有の遺伝的多様性を保持していることが明らかになった。このことは、各集団が異なる環境に適応した結果であると考えられる。さらに、ヤハズエンドウのゲノム基盤が整ったことで、野生集団に高度な可塑性をもたらすゲノム領域や遺伝子を正確に評価するための道筋が得られた。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計1件)

白澤健太、平川英樹、磯部祥子、様々な倍数性や接合性のゲノムを持つ作物種におけるRAD-seq法の利用、育種学研究、17巻(別1)、2015、pp.71

6. 研究組織

(1)研究代表者

白澤 健太 (SHIRASAWA, Kenta)  
公益財団法人かずさDNA研究所・先端研究部・研究員  
研究者番号：60527026