

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：14603

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25650099

研究課題名(和文) エピゲノムQTLによる父性胚乳発達因子の探索

研究課題名(英文) Identification of paternal factors that promote endosperm development in *Arabidopsis thaliana*

研究代表者

和田 七夕子 (Wada, Yuko)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教

研究者番号：50379541

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：シロイヌナズナ系統間交配により得られた種子の大きさについて、ゲノムワイド関連解析をおこなうことで、シロイヌナズナ種子発達に作用する父性因子を探索した。雌しべ親をCol-0に固定し、123種類のシロイヌナズナ種内系統を花粉親として交配した種子サイズについてのGWASは、5か所の弱く相関するゲノム領域が得られた。雌しべ親に四倍体Col-0を用い、花粉親に65系統を用いた交配種子の大きさについては、3か所のゲノム領域において弱い相関が見られた。

研究成果の概要(英文)：To identify the paternal factors that promote seed development, we performed genome-wide association study (GWAS) of intraspecific seed size of *Arabidopsis thaliana*. We performed GWAS for size of seeds sired by crossing between Col-0 accession as pistil parents and 123 accessions as pollen donors. We also performed GWAS for seed size of tetraploid Col-0 as pistil parents and 65 accessions as pollen donors. In total, eight association signals for seed size were identified, five signals for crosses between diploid parents and three signals for interploidy crossing.

研究分野：植物生理

キーワード：植物 種子

1. 研究開始当初の背景

重複受精により被子植物の胚と胚乳の発達は開始される。胚乳の発達は両親のゲノム量のバランスが重要であり、人為的にバランスを乱すと胚乳崩壊に至る。父方と母方のゲノムは、種子発達に対する機能が異なり、父方のゲノムが種子発達に対し促進的に働く一方で母方のゲノムは抑制的に働くという、雌雄間における逆方向への作用が知られる。

この作用の違いは、雌雄のアレル間において発現の有無が見られるインプリント遺伝子によって説明できる。即ち、父方アレルが発現するインプリント遺伝子は種子発達に対し促進的に作用し、母方アレルが発現するインプリント遺伝子は抑制的に作用することで、雌雄のゲノム間の機能的差異が説明できるものである。インプリント発現を示す遺伝子は網羅的に探索が進められており、その中には実際に種子発達に関わるものも知られる。特に母方インプリント遺伝子については機能解明が進んでおり、種子発達に対する抑制的な機能が証明されたものもある。そのため、母方の因子に拮抗する父方の因子の存在は予想されるものの、その実態解明は遅れていた。

ゲノミックインプリンティングは、雌雄ゲノムのアレル間におけるエピジェネティック情報の違いによって作られる。また、エピジェネティック制御に関わる変異体を親に用いることで雌雄ゲノムのエピジェネティック状態を攪乱すると、種子の大きさが変化することが知られる。このことから、エピジェネティック制御を受けるインプリント遺伝子の中に、種子サイズに影響する未知の因子が存在することが予想される。そこで、エピジェネティック変異体を花粉親として用い、種子の大きさについての QTL 解析をおこない、エピジェネティック制御を受ける種子発達因子を探索する計画を当初は立てた。

2. 研究の目的

種子発達に促進的に働くことが予想されるものの実体が不明であった父性因子の同定を目指した。

3. 研究の方法

父方ゲノムの低メチル化によって引き起こされる種子の小型化に関わる遺伝子座を QTL にて探索する計画に着手し、QTL 解析を実施する集団を作成することとした。異なる系統を背景とするメチル化変異体および野生型との交配を進め、同時に比較対象として二種の背景の野生型どうしを交配した集団を作成する計画であった。その過程において、野生型においても、系統間交配においては自殖種子と比較して種子サイズが変化することが見いだされた。

シロイヌナズナ野生系統については、数多くの系統の整備および 1001 ゲノムプロジェ

クトによる各系統のゲノム配列の決定がなされている。ゲノム情報と種子サイズとの相関を調べることで、解析集団の作成を行う必要なく、当初の計画よりも容易かつ迅速に父性因子が同定できる可能性が予想された。そこで計画を変更して、種子サイズに関するゲノムワイド関連解析 (GWAS) に着手することとした。これにより、種子サイズに関わる遺伝子の探索を当初の計画よりも速やかに実施できることを期待した。

(1) 父性因子を探索するにあたり、シロイヌナズナ系統間交配により得られる種子サイズの解析をおこなうこととした。

雌しべ親は Col-0 系統に固定し、花粉親に様々な系統を用いた交配をおこない、網羅的な系統間交配により種子を得た。遺伝的に同一な雌しべ親を用いることで、種子サイズに現れる花粉親の影響を観察できることを期待した。

得られた種子については、鞘ごとに種子の写真を撮影し、種子写真を画像解析することで、数多くの種子について迅速かつ正確な大きさの計測が可能となった。種子サイズとしては、種子の面積および長径を指標に用いた。種子の面積は、種子重量に比例することが知られ、長径と面積の間にも相関が見られるため、この二種の指標を用いた。

花粉親の系統ごとにおよそ 3 - 5 鞘の交配種子を得、系統間交配により得られた種子サイズを算出した。この数値について、系統間に存在する 250000 の一塩基多型 (SNP) を利用した GWAS をおこなった。これにより種子サイズと個々の SNP との相関を算出し、相関が高い SNP を探索した。

(2) 雌しべ親として四倍体 Col-0 を用い、花粉親に様々な系統の二倍体植物を用いた網羅的な系統間交配を行い、得られた種子サイズを二倍体間交配と同様の方法を用いて測定し、花粉親の系統ごとに種子サイズを算出した。

得られた種子サイズについて GWAS をおこない、相関が高い SNP を含むゲノム領域を探索した。二倍体を母方に用いたときと比較して、四倍体を母方として用いた場合、種子発達に対する抑制的効果が強く現れる。本研究においては、母方の抑制的作用が異なる二種の条件下において父性因子の作用を独立に調べることにした。

4. 研究成果

雌しべ親の遺伝的背景は同一にし、花粉親に様々な系統を用いた、網羅的なシロイヌナズナ系統間交配をおこなった。その結果、得られた種子の大きさが花粉親に用いた系統によって変化したことより、種子発達に影響する父性因子の存在と、系統間における父性因子の機能的多様性が予想された。

その実体を明らかにする目的で、系統間交

配により得られた種子サイズについて GWAS をおこなった。種子サイズと相関が見られる SNP をゲノム全体に渡り探索することで、相関が高い SNP の近傍に存在することが予想される種子発達に影響する父性因子の同定を目指した。

(1) 二倍体 Col-0 を雌しべ親として用い、123 系統を花粉親として用いたときに、種子の大きさは花粉親に用いた系統によって変化した。その分布を図 1 に示す。

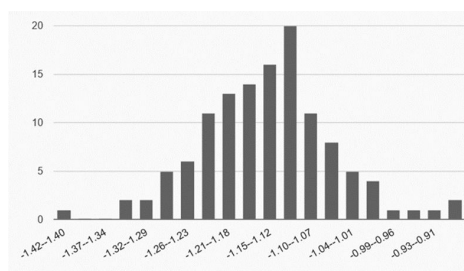


図 1 二倍体を雌しべ親として得られた交配種子の大きさの分布

(2) 四倍体 Col-0 を雌しべ親として用い、65 系統を花粉親として用い、交配種子を得た。二倍体と親に用いたときと同様に、花粉親に用いた系統によって種子の大きさが変化する様子が観察された。得られた交配種子の大きさの分布を図 2 に示す。

二倍体と四倍体とで種子の大きさと花粉親に用いた系統との相関を調べたところ、共通して種子が大きくなる系統もあった。これらに共通する地理的分布についても解析したが、共通性は見いだされなかった。

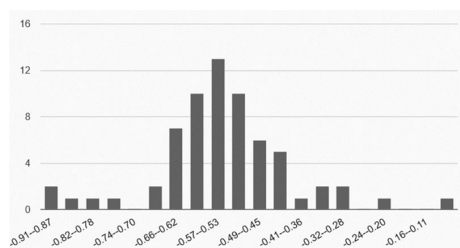


図 2 四倍体を雌しべ親として得られた交配種子の大きさの分布

(3) 二倍体 Col-0 を雌しべ親として用いた種子サイズについて、GWAS をおこなった。この結果、5 か所のゲノム領域において、種子サイズとの相関が観察された(図 3)。

四倍体 Col-0 を雌しべ親として用い、65 系

統を花粉親として用いたときは、3 か所のゲノム領域において、種子サイズとの弱い相関が観察された(図 3)。

また、この二つの独立した GWAS 結果において、共通して相関を示すゲノム領域があるかについても検討したが、比較的高い相関を示す領域においては共通するものはなかった。

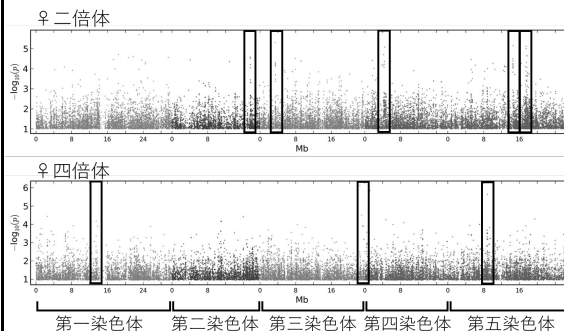


図 3 二倍体および四倍体 Col-0 を雌しべ親とし、系統間交配により得られた種子サイズについてのマンハッタンプロット

二倍体および四倍体を用いた解析より、合計 8 か所の種子サイズと相関するゲノム領域が得られた。このゲノム領域に含まれる遺伝子についても調べたところ、発達中の種子において発現し、特に胚乳において特異的に発現する遺伝子も含まれた。今後、得られた候補遺伝子について、胚乳発達への機能を明らかにすることで、父性因子の実体解明が期待される。

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)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

和田 七夕子 (WADA YUKO)
奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教
研究者番号：50379541