

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2016

課題番号：26712003

研究課題名(和文)全ゲノム情報に基づくゲノム倍数性進化過程の再構築

研究課題名(英文) Reconstruction of an evolution process with allopolyploidization based on whole genome sequence information

研究代表者

持田 恵一 (Mochida, Keiichi)

国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：90387960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 17,300,000円

研究成果の概要(和文)：パンコムギを構成するA, B, Dゲノムのそれぞれに座上する同祖遺伝子のゲノム別の発現変動を網羅的に調べるために、公開されている700以上のRNA-seqデータを基に、同祖遺伝子毎の共発現遺伝子ネットワークを作成した。また、パンコムギの成立に伴うゲノムの異質倍数化の過程で、ゲノム機能にどのような変化が生じているかを調べるために、Aゲノム祖先種(AA)、4倍体コムギ(AABB)、パンコムギ(AABBDD)の各系統を用いて、比較トランスクリプトーム解析を行い、温度環境に応答するトランスクリプトームの変化とゲノム倍数化の関連を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：To investigate differentiations of gene expression of homoeologs located on A, B and D-genome in common wheat, we constructed and analyzed a co-expression gene network of wheat homoeologs based on more than 700 RNA-seq data publicly available in wheat. Moreover, we performed transcriptome analysis of various wheat related species including A-genome ancestors, tetraploid wheat and hexaploid wheat to investigate functional differentiation of homoeologs through allopolyploidization. Then, we revealed a putative relation between transcriptional changes in response to temperature environments and genome polyploidization of wheat.

研究分野：ゲノム情報科学

キーワード：コムギ 異質倍数性 トランスクリプトーム

1. 研究開始当初の背景

次世代シーケンサーを利用することで、ゲノム構造が複雑な生物でも全ゲノム情報の利用が可能になった。2012年から13年にかけて、パンコムギ、Aゲノム祖先種、Dゲノム祖先種のゲノム概要配列が相次いで解読された(Brenchley et al. 2012, Jia et al. 2013, Ling et al. 2013)。今後は、これらのゲノム情報を基盤として、コムギの生産性を向上するためのゲノム育種の展開が期待される。コムギのゲノム育種を進めるためには、その基礎として「コムギらしさ」の特徴を知る必要がある。「コムギらしさ」の背景となる遺伝的な特徴は、その倍数性進化と作物としての栽培化過程において生じたと考えられる。

そこで、本研究では全ゲノム情報を多角的に比較することで、種形成におけるゲノム進化の歴史の理解から、その種「らしさ」を紐解く。ゲノムの進化メカニズムの解明は育種学・植物科学の広い分野に影響を及ぼす重要課題である。本研究の成果は、人類の生活と密接に関わるコムギのゲノム機能の理解と、ゲノム情報の産業利用のための基礎となる。本研究の発見をもとに、コムギの栽培作物「らしさ」を同定できれば、その性質はコムギの生産性を向上するための環境適応性や病害虫耐性の強化等にきわめて有用な情報となるだろう。コムギ生産性の向上は、食糧問題の解決と食料需給に関わる国際関係にとって重要な課題であり、消費者と生産者双方からの関心も高い。

2. 研究の目的

異種ゲノムの融合とゲノム倍数化は、植物ではしばしば有用種の形成をもたらす。この倍数性種形成におけるゲノム進化の歴史を理解することは、その種「らしさ」をゲノムから紐解くことであり、ゲノム情報を活用して作物育種を進める上での基礎となる。本研究では、倍数性進化を特徴とする主要作物のコムギを例として扱う。コムギのAゲノム野生種(AA)、パンコムギ(AABBDD)、Aゲノム栽培種(AmAm)の比較から各ゲノムがどのような機能分化を経て、コムギ「らしさ」を得たかを、網羅的遺伝子発現解析等により明らかにする。

3. 研究の方法

(1) パンコムギのトランスクリプトーム解析による同祖遺伝子間の発現変動の調査

パンコムギを構成するA, B, Dゲノムのそれぞれに座する同祖遺伝子の発現が、パンコムギのトランスクリプトームの中でどのように変化しているかを調べるために、パンコムギに関するRNA-seqデータから、同祖遺伝子座毎の発現パターンを解析するとともに、

共発現遺伝子ネットワークを作成し、同祖遺伝子間で発現変動が生じている遺伝子を網羅的に検出した。具体的には、NCBI SRAデータベースに登録されているパンコムギのRNA-seq法に基づくトランスクリプトームデータから、リード数や平均リード長などを条件として、解析に利用可能な718件を解析に用いた。公開されているコムギゲノム配列情報(Ensemble Plants)に対して、これらのRNA-seqのリードをマッピングした。マッピングされたリードから、マルチマッピングされたものを除外し、同祖遺伝子毎の発現量と発現パターンを見積もった。次に、発現パターンに基づいた共発現解析を行い、相関係数に基づいて、同祖遺伝子セットの中で異なる発現を示す遺伝子の探索を行うとともに、これらの遺伝子に関する機能的な特徴や共発現ネットワークの可視化を行った。

(2) 祖先ゲノムトランスクリプトーム解析による環境応答性の変化の調査

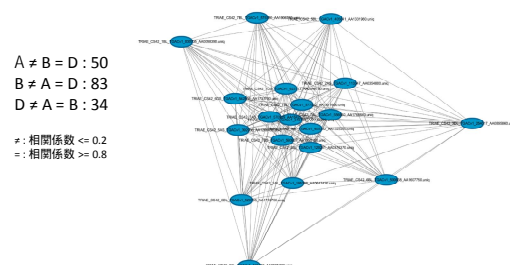
パンコムギの成立に伴うゲノムの異質倍数化の過程で、ゲノム機能にどのような変化が生じているかを調べるために、Aゲノム祖先種(AA)、4倍体コムギ(AABB)、パンコムギ(AABBDD)の各系統を用いて、比較トランスクリプトーム解析を行った。環境変化に対する応答性の変化に注目して解析するために、栽培環境を12、22、32、42と変化させて、栽培した各系統の葉のからRNAを抽出し、RNA-seq解析を行った。

4. 研究成果

(1) パンコムギのトランスクリプトーム解析による同祖遺伝子間の発現変動の調査

パンコムギの718のRNA-seqデータに基づく同祖遺伝子の発現パターンから、特定のゲノムで発現変動が生じている(他の二つのゲノムの同祖遺伝子とは発現パターンが異なる)遺伝子を選出した。Aゲノム、Bゲノム、Dゲノムそれぞれについて、特異的な変化を生じている遺伝子は、50遺伝子、83遺伝子、34遺伝子であった。それらの共発現遺伝子ネットワークを構築すると、近しい発現パターンをもつものとしてのサブネットワークが描出され、ゲノム毎の発現変動に機能別の特徴があることが示唆された(図1)。

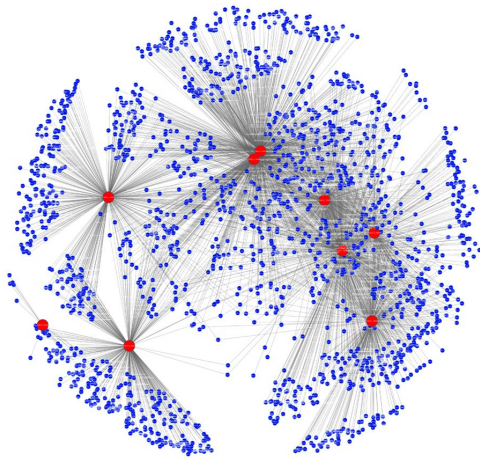
図1 コムギの同祖遺伝子におけるゲノム別の発現変動の検出と、



同祖遺伝子間の発現変動遺伝子の共発現ネットワーク

同祖遺伝子間の発現変動がみられた遺伝子の機能的な特徴を Gene Ontology の Enrichment 解析によって調べた。cellular response to molecule of bacterial origin、cellular response to chitin、などの生物学的ストレスに関わる遺伝子機能が偏在していることが示唆された。また、発現変動がみられなかった他の遺伝子との共発現ネットワークでは、ゲノム特異的な発現変動が生じた遺伝子をハブとしたネットワークモジュールが検出された。このことは、少数のゲノム特異的な遺伝子発現の変化が、コムギのトランスクリプトームの変化に大きく影響していることを示唆した。

図 2 同祖遺伝子間の発現変動遺伝子(赤)とその他の遺伝子との共



発現ネットワークの例。

(2) 祖先ゲノムトランスクリプトーム解析による環境応答性の変化の調査

A ゲノム祖先種(AA)、4 倍体コムギ(AABB)、パンコムギ(AABBDD)の各系統を用いて、栽培環境を 12、22、32、42 と変化させて栽培した葉の RNA-seq 解析を行い、比較トランスクリプトーム解析を行った(図 3)。

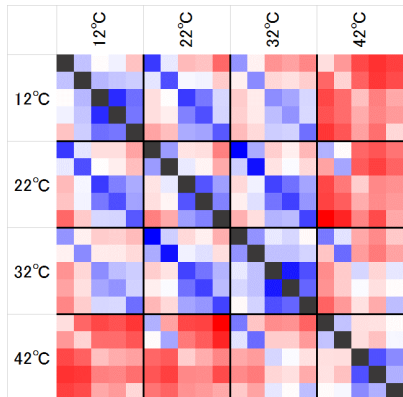


図 3

ゲノム構成の異なるコムギ系統間のトランスクリプトームの類似性。青から赤のヒートマップは相関係数 0.7 から 1 に対応する。

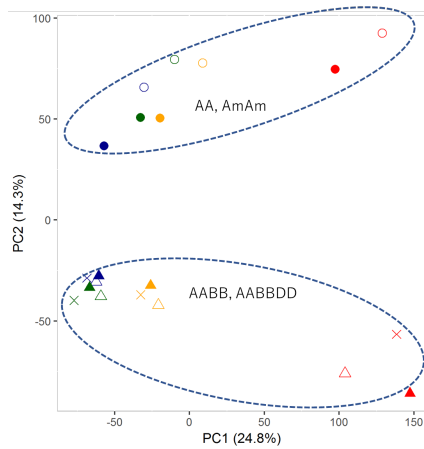


図 4 温度環境の違いに応答するトランスクリプトームに基づくゲノム構成の分類。

これらのトランスクリプトームデータの主成分分析は、主に 2 倍体 A ゲノム種群とその他の倍数性ゲノム種群との明確な分類を示した。このことから、パンコムギの A ゲノムの温度環境に応答するトランスクリプトームは、B ゲノムとの雑種形成下で、倍数性コムギとしての特徴をもつようになったことが示唆された。

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)

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Onda Y, Mochida K. Exploring Genetic Diversity in Plants Using High-Throughput Sequencing Techniques. *Curr Genomics*. 2016 Aug;17(4):358-67. doi:10.2174/1389202917666160331202742. 査読あり

Mochida K, Saisho D, Hirayama T. Crop improvement using life cycle datasets acquired under field conditions. *Front Plant Sci*. 2015 Sep 22;6:740. doi:10.3389/fpls.2015.00740. 査読あり

Onda Y, Hashimoto K, Yoshida T, Sakurai T, Sawada Y, Hirai MY, Toyooka K, Mochida K, Shinozaki K. Determination of growth stages and metabolic profiles in *Brachypodium distachyon* for comparison of developmental context with Triticeae crops. *Proc Biol Sci*. 2015 Jul 22;282(1811). pii: 20150964. doi:10.1098/rspb.2015.0964. 査読あり

〔学会発表〕(計 2 件)

Keiichi Mochida Crop design based on life cycle datasets towards sustainable agriculture 第 9 回植物ストレス科学研究シンポジウム(招待講演) 2017 年 3 月

7日 倉敷市芸文館・(岡山県・倉敷市)

高萩航太郎、井上小楨、中山梨沙、清水みなみ、山口(上原)由紀子、恩田義彦、篠崎一雄、持田恵一 異質倍数体植物の環境適応性に関わるゲノム機能の研究 第11回ムギ類研究会(招待講演) 2016年12月10日 岡山大学資源植物科学研究所・(岡山県・倉敷市)

〔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

持田 恵一 (Keiichi Mochida)

国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：90387960

(4)研究協力者

櫻井 哲也 (Tetsuya Sakurai)

国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・ユニットリーダー

研究者番号：90415167

山口(上原)由紀子 (Yukiko Uehara-Yamaguchi)

国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・テクニカルスタッフ