

サブクローバの高精度ゲノム配列を決定

～ 乾燥に強い植物の育種に向けて ～

令和5年2月17日

公益財団法人 かずさDNA研究所

かずさ DNA 研究所と国立遺伝学研究所、および、ニュージーランドの国立研究機関アグリサーチ (AgResearch)、ティーブレイク・バイオインフォマティクス株式会社 (Tea Break Bioinformatics Ltd.) は共同で、乾燥に強い牧草・サブクローバの高精度なゲノム配列を決定しました。

生物の設計図であるゲノム^{*1}の塩基配列情報は、より優れた形質をもつ新しい品種の育成に活かされます。果実の色や形、耐病性など、少数の遺伝子で決まる性質の改良には、これまでに得られていた精度のゲノム情報が利用できますが、乾燥耐性や多収量など、多くの遺伝子の働きが複雑に絡み合って決まる性質を育種のターゲットにする場合には、ゲノム全体の遺伝子をより高い精度で知っておく必要があります。

かずさ DNA 研究所では、ゲノムサイズが大きく複雑な構造をもつために解析が難しい栽培植物のゲノム解読に長年取り組んできました。そしてこの度、新しいゲノム解読技術を用いてサブクローバのゲノムの再解読を行いました。サブクローバは地中海原産のマメ科植物で、乾燥に極めて強いいため、オーストラリアやニュージーランドの乾燥地帯など、放牧が盛んで乾燥した地域で牧草として使われています。今回の解析の結果、従来法では見つけることができなかった遺伝子や染色体^{*2}の構造変化を新たに多数発見することができました。これらの情報をもとに、乾燥に強く、収量の高いサブクローバの品種開発が進むことが期待されます。

研究成果は国際学術雑誌 *Frontiers in Plant Science* (において、2月15日(水)にオンライン公開されました。

論文タイトル: An improved reference genome for *Trifolium subterraneum* L. provides insight into molecular diversity and intra-soecific phylogeny.

著者: Kenta Shirasawa, Roger Moraga, Andrea Ghelfi, Hideki Hirakawa, Hideki Nagasaki, Kioumars Ghamkhar, Brent A. Barrett, Andrew G. Griffiths and Sachiko N. Isobe

掲載誌: *Frontiers in Plant Science*

DOI: 10.3389/fpls.2023.1103857

1. 背景

サブクローバ (*Trifolium subterraneum* L.)は地中海原産のマメ科の植物で、シロクローバやアカクローバの仲間です。落花生のように花が咲いたあと花器官が地中にもぐり、土の中で種をつけるので、(見かけ上) 毎年同じところから芽がでるという性質をもっています。乾燥に極めて強いので、オーストラリアやニュージーランドでは、放牧が盛んで乾燥した地域で牧草として使われています。日本ではあまりなじみのない植物ですが、グラスフェッド(牧草飼育)牛などの飼料として広く利用されています。

栽培植物は一般的にゲノム^{*1}サイズが大きく、染色体^{*2}の構造が複雑なため、従来のゲノム解読法では、技術的な限界から DNA 配列の繰り返しが多い領域など、解読の精度が低い領域が多数あります。かずさ DNA 研究所では 2016 年に、サブクローバのゲノム解読の成果を報告(8月22日に Scientific Reports にて論文発表)していますが、残念ながら不確かな部分がありました。乾燥耐性をもつ品種や多収量の品種など、複数の遺伝子に関わる性質を迅速に品種改良するためには、より高精度なゲノム塩基配列の整備が求められていました。

そこで、かずさ DNA 研究所は、国立遺伝学研究所、ならびに、ニュージーランドの研究機関である AgResearch、ゲノム情報を解析する Tea Break Bioinformatics 株式会社と共同で、ロングリード配列解析装置^{*3}などの新しいゲノム解読法を用いて、サブクローバの高精度なゲノム配列の決定に取り組みました。

2. 研究成果の概要

- ① 5 億 3104 万塩基対からなるサブクローバの全ゲノムの塩基配列を決定しました。以前公開したゲノム配列には配列の並びに大きな間違いがあったことが明らかとなり、この間違いを修正しました。得られた塩基配列情報は、データベース Plant Garden で公開しています。(データベース URL: <https://plantgarden.jp/ja/list/t3900/genome/t3900.G002>)
- ② 新たに決定した高精度な全ゲノム塩基配列上に、41,979 個の遺伝子を見出すことができました。以前のゲノム配列上で発見された遺伝子に比べて、遺伝子配列の発見の精度の指標 (BUSCO)^{*4} を 87.6%から 94.4%にあげることができ、有用な遺伝子の発見をより確実に行うことができるようになりました。
- ③ サブクローバに進化的に近い種であるアカクローバ、シロツメクサおよびタルウマゴヤシとゲノム配列を比較したところ、最も近い種であるアカクローバよりも、シロツ

メクサヤタルウマゴヤシとゲノム配列がより似ていることがわかりました。サブクローバとアカクローバが923万年前に分岐したのちに、アカクローバのゲノムが独自に変化した可能性が考えられます（図1）。

- ④ さらに、AgResearchの遺伝資源センターが保有するサブクローバ35品種38個体のゲノム配列を簡易分析し、高精度配列と比較したところ、7,789,537個の塩基配列の変異を見出すことができました。そして、この変異をもとにサブクローバ品種を4つのグループに分けることができました（図2）。さらに、同一品種の中に異なる塩基をもつタイプが混じっている場合があることがわかりました。これは何世代かにわたって種子の増殖（自殖）を繰り返している間に生じた変異が原因と考えられます。このように、全ゲノム解析を行うことで、たった1つの品種の中で新たに生じた変異を発見できることを明らかにしました。

3. 将来の波及効果

- ① サブクローバの高精度なゲノム情報が整備されたことにより、耐乾性、多収量などの様々な有用な特徴を持つサブクローバ品種の開発が期待されます。
- ② サブクローバの乾性耐性のしくみを明らかにすることで、他のマメ科作物で耐乾性品種の育種に応用できる可能性が広がります。ひいては品種改良の迅速化により、悪化する地球環境においても安定した飼料生産や食糧生産につながることでしょう。

用語解説

- *1 ゲノム：生物をその生物たらしめるのに必要な最小限の染色体のひとまとまり、またはDNA全体のこと。
- *2 染色体：細く長いDNAを保護し、細胞増殖時には効率良く複製と分配を行うための構造体のこと。ヒトでは、染色体は1つの細胞に23対46本ある。すべてのゲノムを解読することができれば、読み取り断片をつなぎ合わせてできる連続した配列（スキュフォールド）は染色体数と同じになる。
- *3 ロングリード配列解析装置：DNAの塩基配列を一度に長く解析するための装置。次世代型の配列解析装置では、約200塩基の配列を数百万サンプル同時に解読するのに対し、ロングリード技術は、1万塩基以上の長い配列を連続して読み取ることができる。そのため、繰り返し配列が多い、似た配列があるなど、複雑なゲノム構造をもつ生物の配列を解

読するのに適している。

- *4 遺伝子配列の発見の精度の指標 (BUSCO) : 生物情報科学分野で利用されているソフトウェアのひとつで、コア遺伝子セットと呼ばれる重要な遺伝子群が、ゲノム塩基配列の中に何%含まれているかを調べるもの。90%を超えると合格といえる。

参考となる図や写真



写真：サブクローバの花（左）と土に潜った花を掘り出したもの（右）

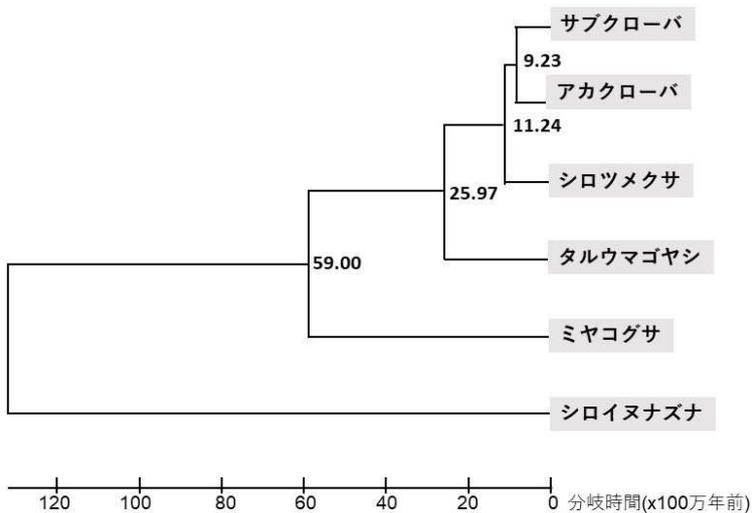


図 1：サブクローバと近縁なマメ科作物の系統樹

サブクローバとアカクローバが 923 万年前に分岐したのちに、アカクローバのゲノムが独自に変化した可能性があることがわかった。アブラナ科のシロイヌナズナは系統樹作成用の外群として用いた。

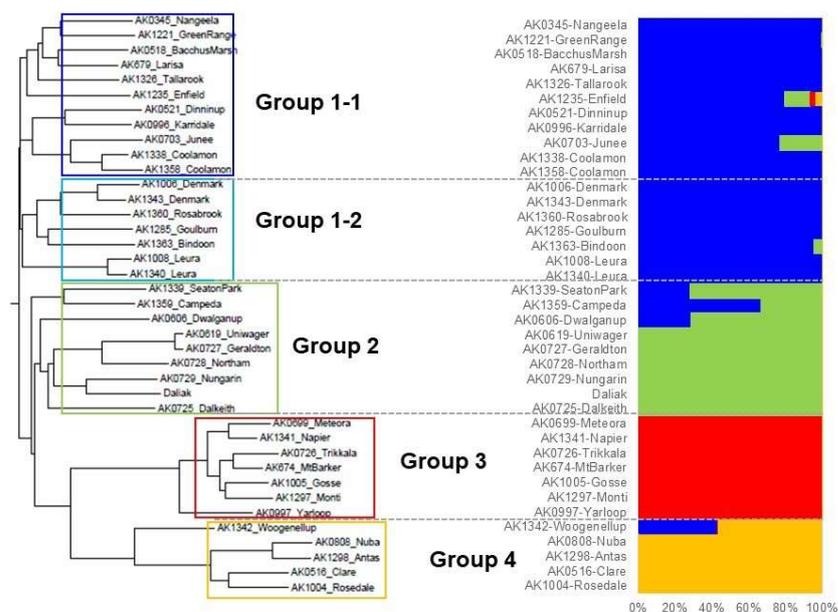


図 2 : 配列解析を行ったサブクローバの系統樹

今回解読したサブクローバのゲノムに存在する 7,789,537 個の塩基配列の変異をもとに系統樹を作成した。サブクローバ品種は大きく 4 つのグループに分かれることがわかった。全ゲノム解析を行ったのは、Group 2 の Daliak (下から 2 つめ)。右のグラフで、それぞれの品種がグループで共通するゲノムをどれだけ持っているかをそれぞれの色で示した。

問い合わせ先

<報道に関すること>

かずさDNA研究所 広報・研究推進グループ

E-mail: kdri-kouhou@kazusa.or.jp

<研究に関すること>

かずさDNA研究所 植物ゲノム・遺伝学研究室

室長 磯部 祥子 (いそべ さちこ)