研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		次世代ゲノムシーケンスを用いた側生器官形成制御遺伝子のファインマッピング							
研究テーマ (欧文) AZ		Fine-mapping the locus regulating lateral organ initiation with Next Generation Sequencing							
研究氏 表名者	ከタカナ cc	姓) ニシイ	名)カナエ	研究期間 в	2017 ~ 2019 年				
	漢字 CB	西井	かなえ	報告年度 YR	2019 年				
	□-マ字 cz	NISHII	KANAE	研究機関名	エジンバラ植物園				
研究代表者 cp 所属機関・職名		エジンバラ植物園・客員研究員							

概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)

被子植物の茎頂分裂組織は、内部に幹細胞を維持し、側部より継続的に分化した側生器官を形成するが、ストレプトカルプス属植物では、茎頂分裂組織を失い茎葉形態形成が多様化した。発芽後、片方の子葉が継続的に成長を続け大子葉となる。一葉種は大子葉のみを持ち、ロゼット種は大子葉基部の介在分裂組織より葉発生する。本研究では、葉発生の違いに関与する分子生物学的機構の解明を目的とし、次世代シーケンス解析を利用したゲノムレベルの遺伝学的解析を行った。

モデル種としてロゼット種 Streptocarpus rexii のゲノムアッセンブリを得、これを利用してロゼット種 S. rexiiと一葉種 S. grandis の葉発生形質に関連する一塩基多型を検出し、機能遺伝子探索を試みた。 DNA 抽出法を改良し、最長リードが 118, 299 base-pairs (bp) である約 250 万のロングリードシーケンスリードを得、CANU プログラムを用いアッセンブリした。新ゲノムアッセンブリは、ショートリードシーケンスによる旧ゲノムアッセンブリと比較して、各スカフォールド長が平均約 25,000 bp から平均約 960 万bp と約 400 倍長く、全スカフォールド数が 2,440,870 から約 1/2000 の 1,243 となり、劇的に改善された。また、新ゲノムアッセンブリの約 90%のゲノム領域が 84 の非常に長いスカフォールドで構成された(LG90 = 84)。このゲノムアッセンブリにさらに PILON プログラムにより既存のショートリードシーケンスデータを組みこみ、エラー率を減少させた。

S. rexii と S. grandis の準同質遺伝子系統植物集団を育成し、ロゼット形質と一葉形質を示す集団に分け、各集団のゲノムスキミングショートリードシーケンスを得た。これを新ゲノムアッセンブリにマッピングし、形質間で異なる一塩基多型を検出した結果、一葉とロゼット形質間で 2,520,913 個の一塩基多型が検出された。その中で、強い統計的サポートを持つ一塩基多型 $(-\log_{10}(p)>10)$ が 5 スカフォールド上に 9 つ検出され、これらの一塩基多型を持つゲノム領域が、葉発生形質を制御する可能性が示された。

本研究の成果として、今後の遺伝学的解析の重要な基盤となるゲノムアッセンブリが得られ、また実際にこれを用いて遺伝型解析を行うことができた。

	キーワード FA	器官発生	葉	次世代シーケンス	ゲノム
--	----------	------	---	----------	-----

(以下は記入しないでください。)

助成財団コードтд			研究課題番号 🗚					
研究機関番号 AC			シート番号					

発表文献(この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。)												
雑誌	論文標題GB	Hormonal crosstalk in the regulation of meristem activity and the phyllomorph architecture in <i>Streptocarpus</i> (Gesneriaceae): a review										
	著者名 GA	Nishii et al.	雑誌名 GC	Rheedea (in press)								
	ページ GF	~	発行年 GE	2	0	2	0	巻号 GD				
ħ#	論文標題GB	Quantitative assessment of anisocotyly in Haberlea rhodopensis and Ramonda myconi										
雑誌	著者名 GA	Huang et al.	雑誌名 GC	Edinb	Edinburgh Journal of Botany							
	ページ GF	377 ~ 391	発行年 GE	2	0	1	9	巻号 GD	76			
雑	論文標題GB	Tangled history of a multigene family: The evolution of <i>ISOPENTENYLTRANSFERASE</i> genes										
誌	著者名 GA	Nishii et al.	雑誌名 GC	PLoS One								
	ページ GF	e0201198	発行年 GE	2	0	1	8	巻号 GD	13			
図	著者名 на											
書	書名 HC											
	出版者 нв		発行年 HD					総ページ HE				
図書	著者名 HA											
	書名 HC											
	出版者 нв		発行年 HD					総ページ HE				

欧文概要 EZ

The shoot apical meristem (SAM) of an angiosperm plant maintains the stem cells in the central zone and forms dedifferentiated lateral organs from the peripheral zone. The loss of the SAM and high diversification in lateral organ formation is observed in the dicot genus *Streptocarpus*. Here, one cotyledon continues to grow to become the macrocotyledon. In unifoliate species, the macrocotyledon is the sole foliar organ, while in rosulate species, additional leaves are formed from an intercalary meristem at the juxtaposition between the stem and lamina.

This study aims to understand the molecular mechanisms underlying this diversified lateral organ initiation. We employed next generation sequencing technologies to carry out genetic studies in the non-model plant *Streptocarpus*. The rosulate *S. rexii* and the unifoliate *S. grandis* were used as study material. Whole genome sequence data were obtained for *S. rexii*, and this information utilized to detect single nucleotide polymorphisms (SNPs) between rosulates and unifoliates, ultimately to isolate the causative gene of their phenotype difference, rosulate and unifoliate.

With an improved DNA extraction method, 2.5 million base-pair (Mbp) long sequence reads were obtained, where the longest read was 118,299 bp long. The reads were assembled with CANU, and the resulting assembly contained 1,243 scaffolds of an average length of N50 = 9.6 Mbp. In addition, this assembly retained 84 super-long scaffolds occupying around 90% of the entire genome (LG90 = 84). Compared to our previous short-read based genome assembly (2M scaffolds, N50 = 25 kilo bp), we obtained a greatly improved new genome assembly here. Previously acquired short-read data were also integrated into the new genome assembly with PILON to reduce the error-rate.

Near isogenic lines between *S. rexii* and *S. grandis* were cultivated, and their phenotypes categorized as 'unifoliate' and 'rosulate'. Genome skimming short-read data were obtained for each category and mapped onto the new genome assembly. This resulted in the detection of 2.5 M SNPs between unifoliates and rosulates. Among these, 9 SNPs on 5 scaffolds showed strong statistic support for the differences between the two morphs ($-\log_{10}(p) > 10$). The genome regions retaining these SNPs might contain the causative locus regulating the lateral organ initiation phenotypes in *Streptocarpus*.