

ウンシュウミカンの全ゲノムを解読 ーカンキツ品種改良の効率化に期待ー

ポイント

- ・ 早生カンキツの基幹品種であるウンシュウミカンの全ゲノム¹⁾ 配列を解読しました。
- ・ 約 2 万 9 千個の遺伝子が存在すると推定し、その中からカンキツの着色や結実性などに関わる遺伝子 91 個を特定しました。
- ・ 本成果の利用により、ウンシュウミカンをはじめ、カンキツの生産性や品質の向上等に向けた品種改良の効率化が期待されます。

概要

1. 農研機構は情報・システム研究機構国立遺伝学研究所と共同で、ウンシュウミカン「みやがわ わ せ宮川 早生」²⁾ の全ゲノム配列を解読しました。ゲノムの大きさは約 3 億 6000 万塩基対でした。
2. ゲノム配列中に約 2 万 9 千個の遺伝子が存在すると推定し、その中からカンキツの着色に関わるカロテノイド生合成の遺伝子や、結実性に関わるジベレリンの生合成遺伝子 91 個を特定しました。
3. ウンシュウミカンの両親であるキシウミカンとクネンボの塩基配列も解析して比較したところ、クネンボの片親がキシウミカンであること、つまり、ウンシュウミカンはキシウミカンの子供にさらにキシウミカンが交配されて生まれたことがわかりました。
4. 本成果で得られた全ゲノム配列を利用すれば、ゲノムワイド関連解析³⁾ を利用した果実形質や栽培性に関わる重要遺伝子の機能推定が高速化され、カンキツの品種育成を効率化できると期待されます。
5. 本成果は国際科学雑誌「*Frontiers in Genetics*」に 2017 年 12 月 5 日に掲載されました。



ウンシュウミカン果実

<関連情報>

予算：農林水産省委託・ゲノム情報を活用した農産物の次世代生産基盤技術の開発プロジェクト「多数の遺伝子が関与する形質を改良する新しい育種技術の開発」、ROIS 新領域融合プロジェクト「生命システム」サブテーマ 1 超大量ゲノム情報、科学研究費基盤 C

問い合わせ先など

研究推進責任者：農研機構果樹茶業研究部門 研究部門長 檜村 芳記
研 究 担 当 者：農研機構果樹茶業研究部門 上級研究員 清水 徳朗
情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 生命情報研究センター
大量遺伝情報研究室 助教 神沼 英里
広 報 担 当 者：農研機構果樹茶業研究部門 果樹連携調整役 和田 雅人

本資料は筑波研究学園都市記者会、農政クラブ、農林記者会、農業技術クラブ、文部科学記者会、科学記者会、静岡県社会部記者室、三島記者クラブに配付しています。

※農研機構（のうけんきこう）は、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構のコミュニケーションネーム（通称）です。
新聞、TV等の報道でも当機構の名称としては「農研機構」のご使用をお願い申し上げます。

開発の社会的背景

ウンシュウミカン是我国を代表するカンキツで、国内カンキツ生産の約 70%を占めています。ウンシュウミカンには 1) 果実に種子がほとんどない、2) 手で簡単に皮をむくことができ食べやすい、3) 健康機能性を有する β -クリプトキサンチン⁴⁾ を高濃度に含有している、など優れた特性を持ちます。品種育成にも積極的に利用され、清見や不知火（デコポン）など 70 を超える品種・系統の親となっています。

近年カンキツでは、大量の DNA マーカー情報から芽生え段階で果実の特性を高い精度で予測し、その結果に基づき優良個体を選抜する技術が開発されてきました（平成 29 年 7 月 5 日農研機構プレスリリース「DNA の違いから、芽生え段階でカンキツの様々な果実特性を高精度に予測」）。このような DNA 情報を駆使した選抜の精度や効率を向上させるためには、多数のカンキツ品種の親となっているウンシュウミカンにおける重要な遺伝子や特定の染色体（ゲノム）領域の配列を、他の品種と比較することが必要です。しかしこれまでウンシュウミカンの高精度な全ゲノム配列は解読作成されておらず、このような比較は困難でした。

研究の経緯

ウンシュウミカンをはじめとするカンキツ品種の多くはヘテロ性⁵⁾ が高いことから、全ゲノム配列の高精度な解析には半数体の利用が有効です（図 1）。しかし、ウンシュウミカンは半数体⁶⁾ の獲得に成功しておらず、これまでにゲノム配列が解読されたカンキツは、いずれも半数体を獲得できたクレメンティン、ブンタンとスイートオレンジのみでした。

そこで本研究では、近年開発された複数の高速 DNA シーケンサ⁷⁾ 技術と、新たなデータ解析手法を活用し、部分的に解読された短い塩基配列を段階的に結合することにより、ヘテロ性が高いウンシュウミカンにおいて全塩基配列を解読しました（図 2）。

内容・意義

1. ウンシュウミカン「宮川早生」の全ゲノム配列を解読しました。ゲノムの大きさは 3 億 5,965 万塩基対でした。ヘテロ性の高い 2 倍体のカンキツ品種を直接解読してカンキツの基本染色体数と対応する 9 本の配列を得ることに成功しました。
2. 構築したゲノム配列の品質は、これまでに公開されているカンキツのものと同程度で遺伝子予測に十分な精度が得られました。またゲノムの約 40%を反復配列⁸⁾ が占めており、その半数以上がレトロトランスポゾン⁸⁾ であることがわかりました。
3. ゲノム中に 29,024 個の遺伝子の存在を推定し、その 85%について機能を予測することができました。推定した遺伝子の中から、カンキツの重要な色素であるカロテノイドの生合成や、結実性等に関与する植物ホルモンのジベレリンの生合成・分解に直接関わる遺伝子など、農業上重要な遺伝子 91 個を見出しました。さらに、従来知られていなかった遺伝子も複数特定し、ウンシュウミカン固有の可能性のある 1,761 個の遺伝子も見出しました。
4. ウンシュウミカンの両親であるキシウミカンとクネンボ（写真 1）の塩基配列もあわせて解析した結果、クネンボもキシウミカンの子供であることを確認し、ウンシュウミカンはキシウミカンの子供にさらにキシウミカンが交配されて生まれたことを明らかにしました（図 3）。

今後の予定・期待

1. 本成果で得られた全ゲノム配列をもとに、ゲノムワイド関連解析を利用することで、ウンシュウミカンの果実形質や栽培性に関わる重要遺伝子を効率的に見出し、それらの情報をもとに高精度な DNA マーカーを開発することでカンキツの品種育成を加速できると期待されます。
2. ウンシュウミカンは果実が種なしとなる優れた特性を有する一方で、隔年結果性⁹⁾が高く、生産量が年により変動しやすいことが課題でした。着果性や結実性に関わる遺伝子が多数見つかったことから、これらを手がかりとして、着果安定化や無核果実生産¹⁰⁾のための技術開発を進めます。
3. カンキツを含む多くの果樹は半数体の獲得が困難で全塩基配列解読の障害となっていました。今回用いた手法を利用することで、ヘテロ性の高い多様な品種の全塩基配列を解読して育種、栽培研究の基盤情報として利用することが可能となります。
4. さらに、本成果を利用すれば結実性、栽培性を制御する分子機構の詳細な解析が進むことから、生産性と果実品質の向上にも貢献すると期待されます。

用語の解説

1) ゲノム

ある生物を特徴づけるための最小限の遺伝子と染色体のセット。ヒトやカンキツのような 2 倍体生物では、同じゲノムのセットを細胞あたり 2 つ保持しています。ゲノムは通常、複数の染色体で構成されます。各染色体は 1 本の DNA 分子からなり、それぞれの DNA 分子に多数の遺伝子が含まれています。

2) ウンシュウミカン「宮川早生」

ウンシュウミカンは今から 400～500 年前に九州地方で発生したとされ（田中長三郎、1927）、その後日本各地で接木繁殖される過程で、さまざまな突然変異系統（枝変わり）が見出されて選抜されてきました。「宮川早生」はそのような早生の変異系統の一つであり、果実特性が優れていることから各地の主要な生産系統となっているだけでなく、「ゆら早生」や「上野早生」など多数の変異系統が「宮川早生」から見出されてきています。また、ウンシュウミカン「宮川早生」にトロビタオレンジを交配して育成された「清見」は日本のカンキツ育種において中心的な役割をになっています。

3) ゲノムワイド関連解析 (Genome Wide Association Study)

多数の在来品種や育成品種を対象に、それぞれの品種の特性と染色体（ゲノム）全体の配列の違いを関連付けて解析することで、特性を決定する遺伝子を高精度に予測する手法。英語の頭文字から GWAS とも称されます。従来の一般的な解析では、特定の交配から得られた個体群を用いて、両親間に認められる特性の違いだけを解析の対象としますが、ゲノムワイド関連解析では多様な品種間で認められる特性の違いを解析の対象として、これらの特性に関わる遺伝子を見出すことができます。連鎖解析で必要となる交配集団の育成と長期間に渡る評価は、果樹では多くの制約を受けますが、その多くを回避できることも利点となります。

4) β -クリプトキサンチン

カンキツ類に含まれる赤～オレンジ色の色素であるカロテノイドの一種。カンキツ類の

うち、ウンシュウミカンに特に多く含まれます。ヒトでは血中の β -クリプトキサンチン濃度が高いほど、インスリン抵抗性や肝機能障害、動脈硬化、骨粗鬆症などさまざまな生活習慣病のリスクが低下することが知られています。

5) ヘテロ性

2倍体の生物が持つ2セットの染色体の配列が同じ場合「ホモである」とされ、部分的に異なる場合には「ヘテロである」とされます。「ヘテロ性」は2セットの染色体がどの程度異なっているのかを示す指標であり、「ヘテロ性」が高いとは、すなわち2セットの染色体の間で食い違う部分が多いことを意味します。染色体の食い違いが大きな場合、どちらが正しい配列であるのかを決めることが難しいため、ゲノム解読では半数体や倍加半数体を利用して食い違いを解消した上で解析する事が一般に行われています(図1)。

6) 半数体・2倍体

ほとんどの高等生物では同じ染色体を2セット持っています。ゲノムは生存に必須の1セットの染色体とほぼ同義で、交雑すると親の2セットのうちの1セットが無作為に選ばれ、子では、両親から受け取った1セットずつの染色体、計2セットの染色体が再構成されます。2セットの染色体を持っているものを2倍体と呼び、1セットのみ持つものを半数体と呼びます。また、一度半数体とした後に染色体を倍加させ、見かけ上2倍体としたものは倍加半数体と呼ばれます。

7) 高速 DNA シーケンサ

一度に数億～数百億塩基の配列を解読することが可能な DNA シーケンサ。よく利用されているのは100～300塩基程度の配列を大量に解読するタイプですが、数千～数万塩基の配列を一度に解読できるタイプも最近利用されるようになってきました。本研究では両方のタイプの高速 DNA シーケンサに加えて、3～8千塩基の範囲にあることがわかっている配列も同時に解読して利用することで、高精度化を図りました。

8) 反復配列・レトロトランスポゾン

短い同じ配列が何度も繰り返しているものを反復配列とよび、ゲノム中の一定の割合を占めることが知られています。反復配列は染色体が複製される時に間違いが起きやすく、変異を起こす原因の一つと考えられています。レトロトランスポゾンは「可動遺伝因子」と呼ばれるものの一つで、自分自身を一旦 RNA に転写した後、DNA に複写してゲノム内に再挿入されることで、ゲノム内の場所を移動することができ、その際、近くの遺伝子の機能に影響を及ぼし、変異を引き起こすことが知られています。

9) 隔年結果性

たくさんの果実を成らせる年(表年)と、わずかな果実しかつけない年(裏年)とが交互に繰り返され、収穫量が毎年変動することを隔年結果性と呼びます。特にカンキツ類は隔年結果性が顕著に現れやすく、収穫量が毎年大きく変動して収益を不安定化させます。隔年結果性による収穫量の変動を抑えるためのさまざまな栽培技術開発が取り組まれてきています。

10) 無核果実生産：無核(種なし)果実生産

カンキツの種子は大きく、固いために噛んだり飲み込んだりすることができず、消費者の購入意欲を削ぐ大きな要因となっています。そのため、特別な処理を必要とせず種なし(無核)果実を生産可能な、高い無核性を備えた品種育成が世界のカンキツ育種

の大きな目標となっています。ウンシュウミカンは高度な雄性不稔性と雌性不稔性を備えているのに加え、他のカンキツ品種と比較しても例外的に高い単為結果性（種子が入らなくとも果実が安定して肥大し、成熟する特性）の3つを有しており、その結果、ほとんどの果実が無核となります。このうち、カンキツの単為結果性にはジベレリンが関与し、開花期のジベレリンの生合成と分解への複数遺伝子の関与がこれまでの研究で明らかとなっています。

発表論文

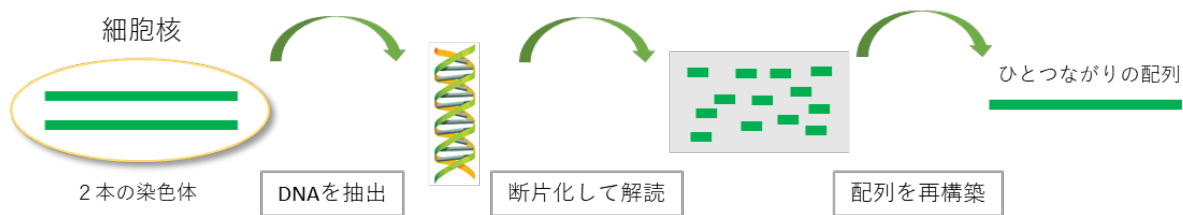
Tokurou Shimizu, Yasuhiro Tanizawa, Takako Mochizuki, Hideki Nagasaki, Terutaka Yoshioka, Atsushi Toyoda, Asao Fujiyama, Eli Kaminuma, Yasukazu Nakamura (2017) Draft sequencing of the heterozygous diploid genome of Satsuma (*Citrus unshiu* Marc.) using a hybrid assembly approach, *Frontiers in Genetics*. 8:180, doi: 10.3389/fgene.2017.00180

清水徳朗¹、谷澤靖洋²、望月孝子²、長崎英樹^{2,4}、吉岡照高¹、豊田敦³、藤山秋佐夫³、神沼英里²、中村保一²

1. 農研機構果樹茶業研究部門・カンキツ研究領域、2. 国立遺伝学研究所・大量遺伝情報研究室、3. 国立遺伝学研究所・比較ゲノム解析研究室、4. 現かずさDNA研究所

参考図

A. 2本の染色体が同じ（ホモ化している）生物のゲノム解読



B. 2本の染色体の一部が異なる（ヘテロ性）生物のゲノム解読



C. 半数体生物を利用したゲノム解読

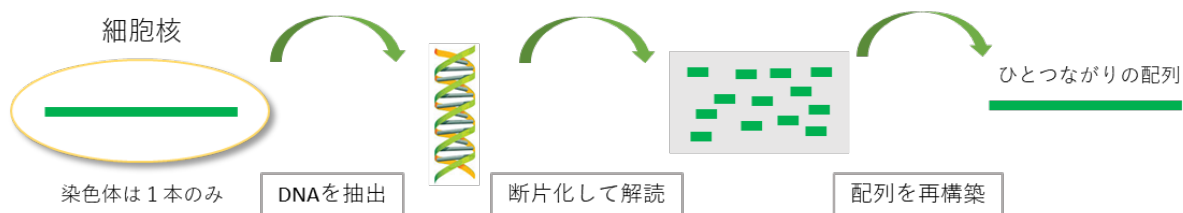


図1. ゲノム解読の手法とその特性の違い
代表的な3通りの手法（A～C）を示す。

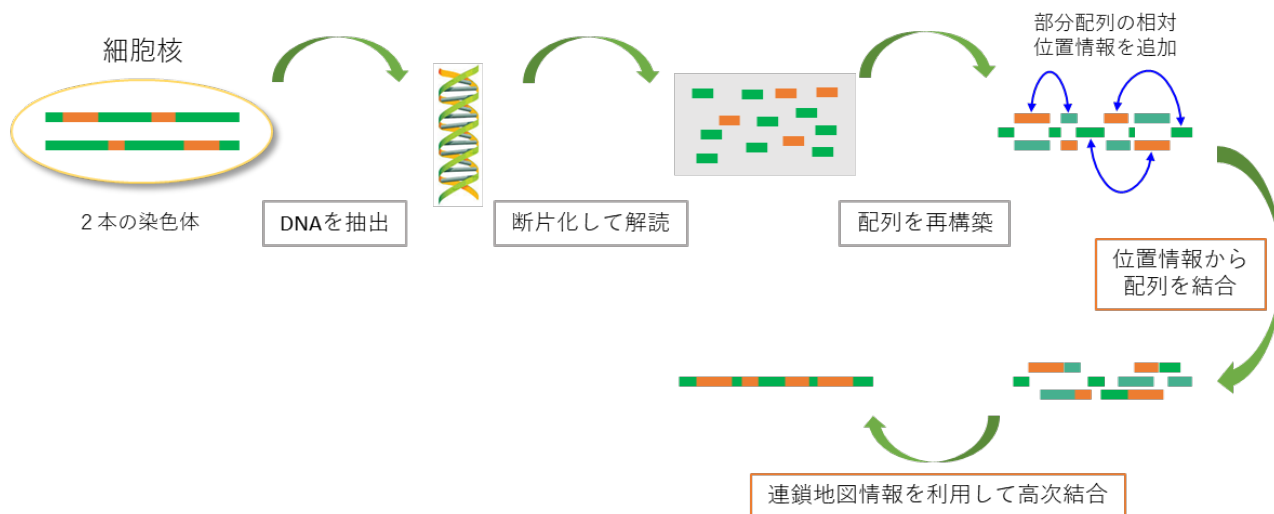


図2. 本研究で利用したゲノム解読手法の概要

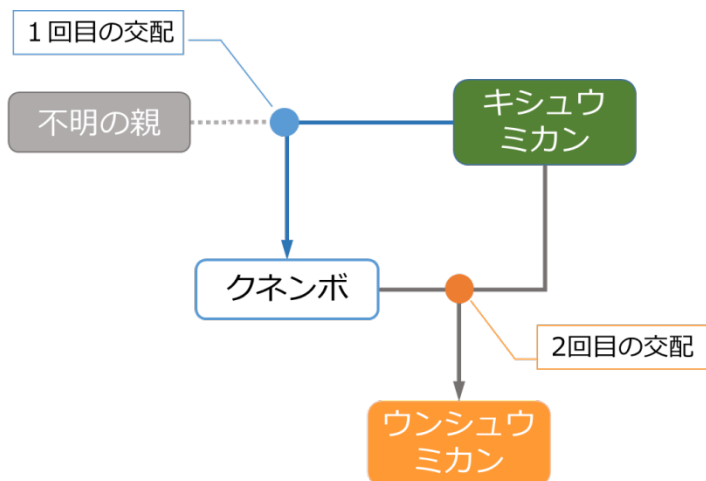


図 3. 全配列解析から明らかとなったウンシュウミカンの成立経過

ウンシュウミカンの片親であるクネンボはキシュウミカンの子であることを全配列解析から確認しました。すなわち、ウンシュウミカンはキシュウミカンの子供に、さらにキシュウミカンが交配された結果生まれた品種であることがわかりました（クネンボのもう一方の片親は不明です）。

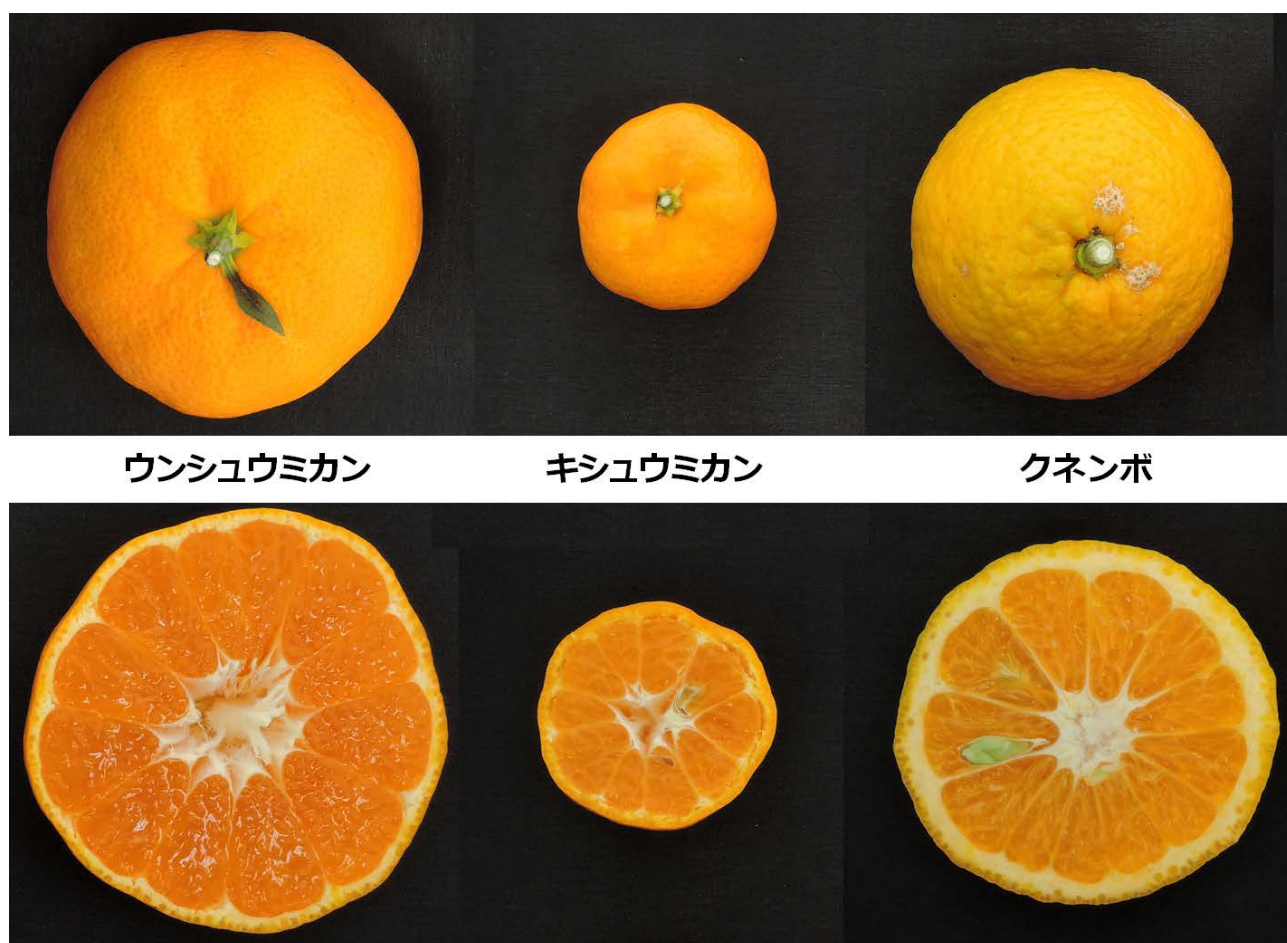


写真 1. ウンシュウミカン、キシュウミカン、クネンボの果実