

2020年8月19日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学  
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構

## 日本産高級マスクメロンの全ゲノム情報を解読

### 研究成果のポイント

1. 日本産高級マスクメロンの標準品種「アールスフェボリット春系 3号」の全ゲノム情報を解読し、遺伝子情報をデータベース化して公開しました。
2. 複数のメロン遺伝資源のゲノム情報を解読して比較し、モバイル配列(レトロトランスポゾン)が品種間のゲノムの多様化に寄与した可能性を提唱しました。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 江面 浩教授(つくば機能植物イノベーション研究センター長)と国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 高度解析センター 矢野 亮一上級研究員(筑波大学生命環境系 クロスアポイント助教)らは、我が国の高級マスクメロン標準品種「アールスフェボリット春系 3号」について、全ゲノム情報を解読し、データベース化しました。

一般に、高等植物ゲノムには反復配列が多く含まれており、そのような領域を解読できない場合は、未決定領域(ギャップ)としてデータに残存します。しかし今回、長鎖のDNA シークエンスが可能な Oxford Nanopore Technology<sup>※1)</sup>とゲノム構造データを組み合わせることにより、日本産高級マスクメロン「アールスフェボリット春系 3号」のゲノム染色体配列(全長 378 Mb<sup>※2)</sup>を、わずか 94 個のギャップで高精度に解読することに成功しました。加えて、ゲノム配列上に存在する 33,829 個の遺伝子を特定し、組織別遺伝子発現マップと合わせて、データベースサイト「Melonet-DB」(<https://melonet-db.dna.affrc.go.jp/>)にて情報公開しました。さらに、ゲノム内をジャンプして移動しうるモバイル配列(レトロトランスポゾン)にも注目し、レトロトランスポゾンがメロン品種間のゲノムの多様性を生み出す原動力となった可能性を提唱しました。本研究で解読したゲノム情報は、今後、遺伝子機能の基本的な理解のみならず、高級マスクメロンの品種改良に役立てられることが期待されます。

本研究の成果は、8月13日付「Communications Biology」誌オンライン版で公開されました。

\* 本研究は、JST さきがけ研究(課題番号:JPMJPR17Q7「ハウス栽培環境におけるウリ科果実の糖度変動に関連するシンク・ソース分子ネットワークの解明」、平成 29 年度科研費若手研究(B)(課題番号:17K17626「メタトランスクリプトーム的手法による重要ウリ科作物の植物微生物相互作用の研究」)及び、内閣府 戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「次世代農林水産業創造技術」(管理法人:生研支援センター)によって実施されました。

## 研究の背景

近年、我が国が誇る高級マスクメロンは海外でも需要が高まっており、さらに有用な農業形質を付与することによる高品質化と栽培コスト削減が求められています。ゲノム配列と遺伝子に関する情報は、育種や品種デザインにおいてもっとも基礎的かつ必要不可欠な知見であり、全ゲノム情報の解読とデータベースサイトの開発は、国内の育種家や研究者に有用な知見をもたらすだけでなく、世界的な情報発信ハブとしてのプレゼンス確立に重要な意味を持ちます。今回、本研究グループは、我が国の高級マスクメロン標準品種「アールスフェボリット春系 3 号」を対象として、その全ゲノム配列情報を解読し、データベース化してインターネット上で公開しました。(https://melonet-db.dna.affrc.go.jp/)

## 研究内容と成果

本研究では、日本産高級マスクメロンの標準系統であり育種にも活用される「アールスフェボリット春系 3 号」の全ゲノム配列情報を解読しました。一般的に、高等植物ゲノムには反復配列が多く含まれており、そのような領域を解読できない場合は、未決定領域(ギャップ)としてデータに残存したまま発表されることもあります。しかし今回、長鎖の DNA シークエンスが可能な Oxford Nanopore Technology とそれをサポートするゲノム構造データを組み合わせることにより、アールスフェボリット春系 3 号メロンの 12 本の染色体ゲノム配列(全長 378 Mb)を、ギャップ数わずか 94 個の高精度で解読することに成功しました(図 1)。加えて、mRNA として転写されタンパク質として機能しうる遺伝子領域を 33,829 カ所特定し、それらの遺伝子情報を組織別の遺伝子発現マップと合わせてデータベース化しました。また、先に公開されていたスペインのメロン「DHL92」のゲノム情報と比較し、遺伝子コピー数の違いや遺伝子の存在不在(presence/absence polymorphisms)を明らかにしました(図 2)。この Melonet-DB データベース(https://melonet-db.dna.affrc.go.jp/)には、ゲノムブラウザ<sup>注3)</sup>や遺伝子情報の検索機能のみならず、遺伝子の共発現ネットワーク<sup>注4)</sup>を視覚的に解析するためのツールが実装されており、メロン研究における世界的な中核データベースサイトとして活用されうるものです。

さらに、アールスフェボリット春系 3 号以外の 7 つのメロン栽培品種と野生種について、contig<sup>注5)</sup>レベルのゲノム配列情報を解読しました。これらには、スパイシーカンタロープやハネデュー等の世界のメロン品種が含まれます。計 10 系統のゲノム配列情報を直接的に比較解析することにより、メロン系統によって特定のゲノム領域にレトロトランスポゾンが存在したり、不在であったりすることを見出しました(図 3)。また、そのような存在不在多型が、遺伝子の新しい発現機能獲得や喪失に係わる可能性を提唱しました。上述の Melonet-DB データベースと併せて、これらの多品種ゲノム情報は、基礎研究のみならず品種改良などにも役立ちます。

## 今後の展開

今回、日本産高級マスクメロンの標準品種といえるアールスフェボリット春系 3 号の全ゲノム配列を解読し、データベース化したことにより、香りや食味のみならず、耐病性など様々な農業形質に対して、メロンの品種改良に貢献することが期待されます。特に、我が国で育種されたアールスフェボリット系のメロン品種については、従来の参照ゲノム情報に比較して、より高精度かつ正確な遺伝子多型解析が可能になります。また、変異誘発技術で作出された変異体ライブラリーなどの育種素材を、遺伝子レベルで高精度にスクリーニングして利用できるようになる他、近年、注目を集めているゲノム編集技術によって作出された個体の、客観的かつ確実な安全性評価が可能になると考えられます。

参考図

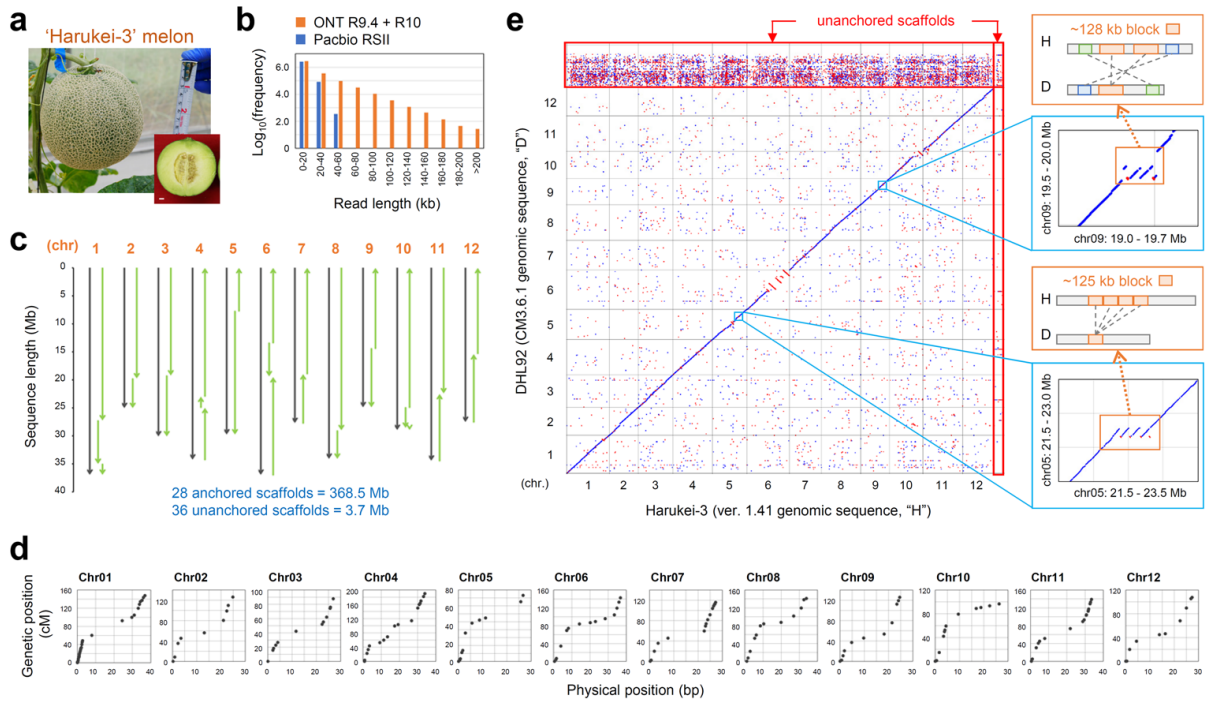


図 1. アールスフェボリット春系 3 号全ゲノム配列情報の解読

- アールスフェボリット春系 3 号メロンの華麗な容姿
- 2 つの異なるシーケンサー、Oxford Nanopore technology と Pacbio のシーケンス配列長の比較。Oxford Nanopore technology の方がより長鎖の DNA 配列を読み取ることが可能。
- 染色体レベルのゲノム DNA 配列情報の構築。12 本の染色体配列が計 28 本の scaffold(連結したゲノム配列)で構成された。
- 連鎖地図情報(遺伝距離)と構築したゲノム DNA 配列情報との比較。連鎖地図と比較して矛盾なくゲノム配列を構築できたことを示す。
- 今回解読した春系 3 号ゲノムと、先に公開されていた DHL92 メロンゲノム(スペイン)を DNA 配列レベルで比較した結果。アールスフェボリット春系 3 号ゲノムでは、DHL92 メロンゲノムでは認められなかった 100kb 以上の反復配列構造が検出された。

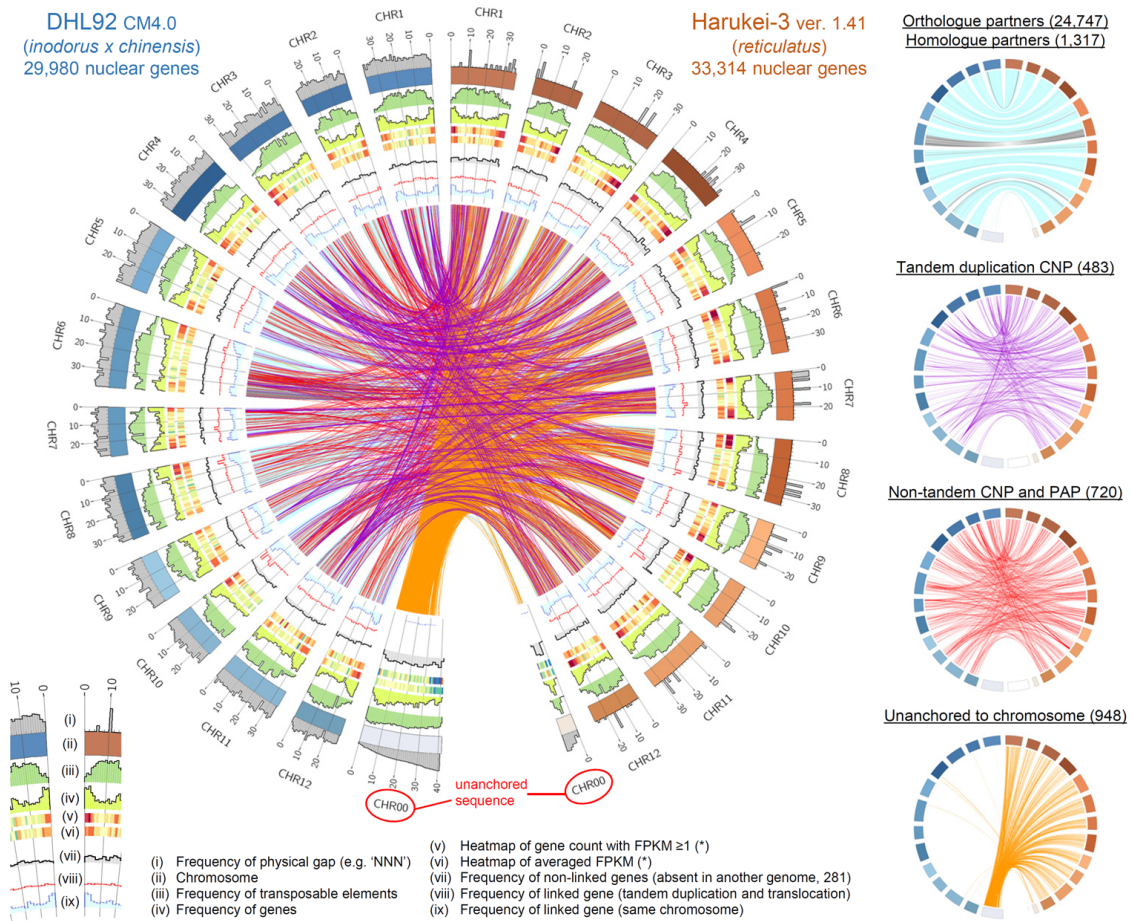


図 2. アールスフェボリット春系 3 号メロンと DHL92 メロンの比較ゲノム解析

アールスフェボリット春系 3 号と DHL92 のゲノムを遺伝子基準で比較した解析結果。これらは由来する品種・系統が大きく異なっており、両者のゲノムの間で共通の遺伝子(orthologue, homologue)の他に、遺伝子コピー数の違い(copy number polymorphism, CNP)や遺伝子の在不在(presence/absence polymorphism, PAP)が認められる。また、DHL92 では染色体に紐付けることができなかった(unanchored to chromosome)多くの遺伝子が、春系 3 号ゲノムでは各染色体に紐付けられた。



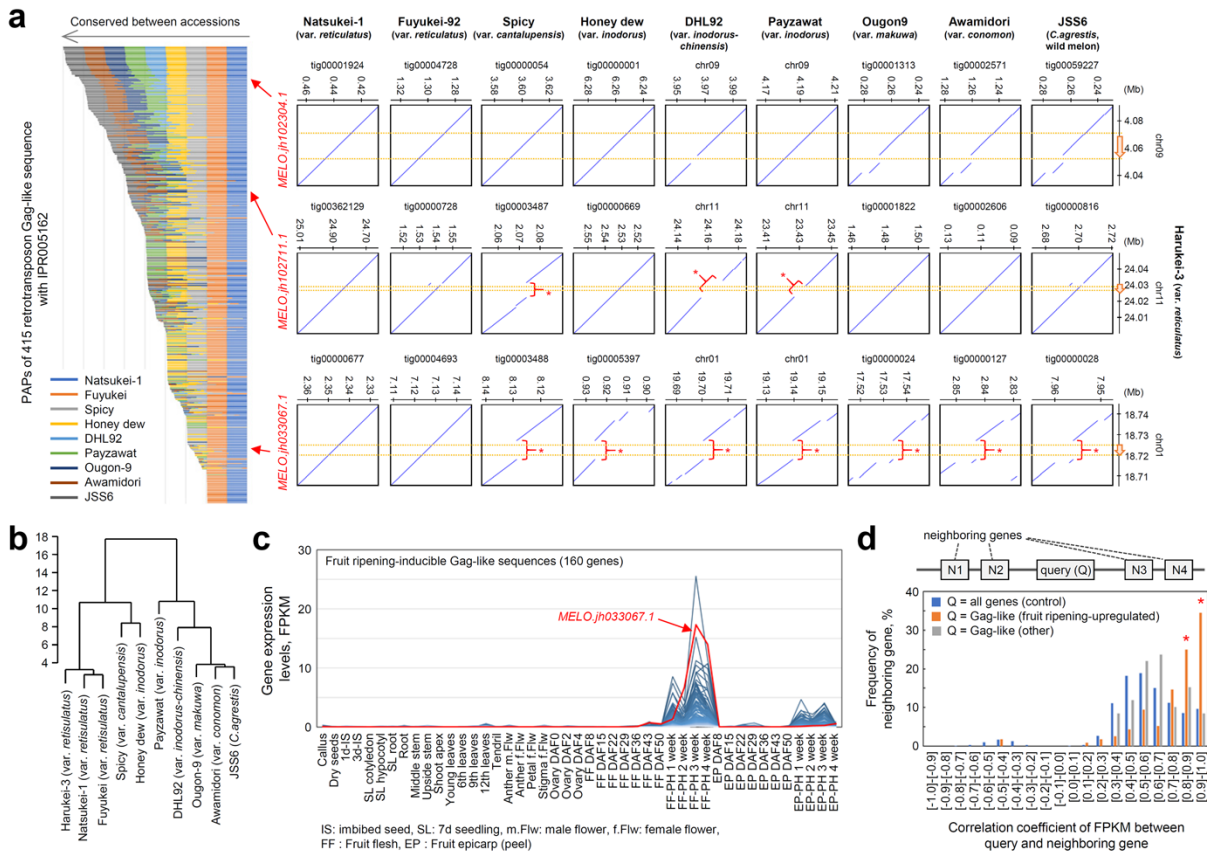


図 3. スパシーやハネデューメロンを含めた多系統間の比較ゲノム解析結果

- a) 計 10 系統のメロン・ゲノムについて、計 415 箇所のレトロトランスポソンの存在を解析した結果。これらにはアールスフェボリット系のメロン(夏系 1 号、冬系 91A)の他、スパシーカンタロープやハネデューメロンを含む。
- b) a)の結果をもとに階層クラスタリングを行ったもの。ゲノム全体のレトロトランスポソンの存在パターンが近い系統ほど、近い場所に位置する。
- c) a)で解析したレトロトランスポゾン因子の組織別転写パターンを示す。415 因子のうち 160 は、追熟ステージの果実で特異的に強く転写されることが判明した。
- d) c)の追熟果実活性型レトロトランスポソンの近傍に位置する遺伝子は、その転写パターンと同様に追熟果実で強く発現する傾向が明らかになった。レトロトランスポソンの挿入が近傍の遺伝子の転写パターンに影響する可能性が考えられる。

**用語解説**

- 注1) Oxford Nanopore Technology  
DNA 分子の配列情報を PCR 増幅なしにリアルタイムに読み取ることが可能な第三世代リアルタイム DNA シークエンサー。予備調整の段階で DNA 分子のサイズをそろえてシークエンスする方式と異なり、数百 kb(キロ・ベースペア)の配列情報を含めて高効率かつ大規模に読み取ることが可能。
- 注2) Mb  
メガ・ベースペアの略。ベースペアは DNA の長さを表す単位。メガは 10 の 6 乗。
- 注3) ゲノムブラウザ  
解読したゲノム DNA 配列を web ブラウザで閲覧して調査するためのユーザーインターフェース。
- 注4) 共発現ネットワーク  
遺伝子間の mRNA 蓄積パターン(発現パターン)を総当たりで回帰分析し、発現パターンが類似した遺伝子群をグループ化したり、リスト化するための情報解析手法。

注5) contig(コンティグ)

Oxford Nanopore Technology などのシーケンサーによって得られる一次 DNA 配列情報をアセンブルして生成する配列情報。複数の contig をつなげたものを scaffold、scaffold をさらに染色体レベルにつなげたものを pseudomolecule という。本研究では、アールスフェボリット春系 3 号は pseudomolecule として、その他の系統は contig として解読されている。

#### 掲載論文

【題名】 Comparative genomics of muskmelon reveals a potential role for retrotransposons in the modification of gene expression

(日本産高級マスクメロンの全ゲノム解読と比較ゲノム研究)

【著者名】 Ryoichi Yano, Tohru Ariizumi, Satoko Nonaka, Yoichi Kawazu, Silin Zhong, Lukas Mueller, James J. Giovannoni, Jocelyn K.C. Rose, and Hiroshi Ezura

【掲載誌】 Communications Biology (DOI: 10.1038/s42003-020-01172-0)

#### 問い合わせ先

江面 浩 (えづら ひろし)

筑波大学 生命環境系 教授

矢野 亮一 (やの りょういち)

農研機構 高度解析センター 上級研究員

筑波大学生命環境系 助教(クロスアポイント)

JSTさきがけ研究員(フィールド植物3期)