

令和元年6月2日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07188

研究課題名(和文) モデル生物なみの生活史特性をもつ屋久島の高山性ミニチュア植物の分子基盤解析

研究課題名(英文) The molecular basis of an alpine-dwarf plant in Yakushima with life history characteristics equivalent to model organisms

研究代表者

篠原 渉 (Shinohara, Wataru)

香川大学・教育学部・准教授

研究者番号：30467443

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：ヒメコナスビは細胞サイズと細胞数が共に減少するという、世界的にも例をみない葉の小型化メカニズムを有する。そこで本研究ではコナスビ類の遺伝学の解析に優れた生活史特性(世代時間が短い・自殖と他殖が可能・多数の花・多数の種子・不定根からクローンの作製が可能)を生かし、大量シーケンス技術の活用により、屋久島の高山性ミニチュア植物であるヒメコナスビの葉の小型化に關与する遺伝子群を高密度連鎖地図上で特定することを目的とした。そしてコナスビとヒメコナスビの交配からF2を作成し共通圃場実験から小型化形質の測定を行い、さらにそれぞれの個体からDNAを抽出してRADシーケンスを行い、連鎖解析を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒメコナスビの特殊な葉の小型化の分子基盤解析から、植物ボディサイズを決定する分子メカニズム解明の糸口を得られる可能性があると考えている。また本研究課題の遂行は植物の体サイズを小型化する技術開発につながる。

研究成果の概要(英文)：An alpine dwarf plant, *Lysimachia japonica* var. *minutissima*, shows very unique dwarfing mechanism at cell level i.e. decreasing both cell size and number. This plant also shows life history characteristics suitable to genetic analysis i.e. short generation time, self compatibility, easily forming clones from adventitious roots, many flower and seeds. The aim of this study is to construct a high density genetic linkage map and to identify the locations of genes related to dwarfing traits. In this study, F2 plants were formed from crossing between var. *minutissima* and var. *japonica*, and dwarfing traits were measured from each F2 plant grown in a common garden experiment. Also DNA was extracted from each F2 plant and those DNA were used for RAD sequencing analysis to construct high density linkage map.

研究分野：生物多様性・分類

キーワード：ボディサイズ 細胞サイズ 細胞数 ヒメコナスビ 屋久島 適応進化 高密度連鎖解析 高山性ミニチュア植物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

屋久島の山頂部では82の分類群で、祖先種と比較して植物体が1/2から1/10ほど小型化する現象が報告されている(初島,1991)。この屋久島の高山性ミニチュア植物は、わずか6000年前から分化した可能性が高いことが、屋久島の地層学的調査からわかっている(Machida & Arai, 1983; Yasuda, 1991; Kimura et al., 1996)。申請者は屋久島の高山性ミニチュア植物が、屋久島の高山帯という特殊環境に短期間のうちに適応進化した優れた研究系であることを見出し研究を行っている。



図1. ヒメコナスビとコナスビ(祖先種) 花は同大、ヒメコナスビの葉が著しく小型化する。

まず、申請者は屋久島の高山性ミニチュア植物のひとつであるヒメコナスビとその祖先種のコナスビ(図1)において形態形質の比較と分子遺伝学的解析を行った。核のITS領域を用いた分子系統樹からヒメコナスビは近縁種の中でコナスビに最も近いことを明らかにした(研究業績13)。さらにアロザイムを用いた集団遺伝学的解析から、ヒメコナスビは屋久島低地のコナスビから進化したことを示し、ヒメコナスビとコナスビが互いに比較対象種として妥当であることを明らかにした(Shinohara & Murakami, 2006)。次に形態形質の比較から、ヒメコナスビは葉の大きさが他の器官と比較して特に小型化していること、そして細胞サイズと細胞数の両方の減少によりヒメコナスビの葉の小型化が起こることを明らかにした(Shinohara & Murakami, 2006)。

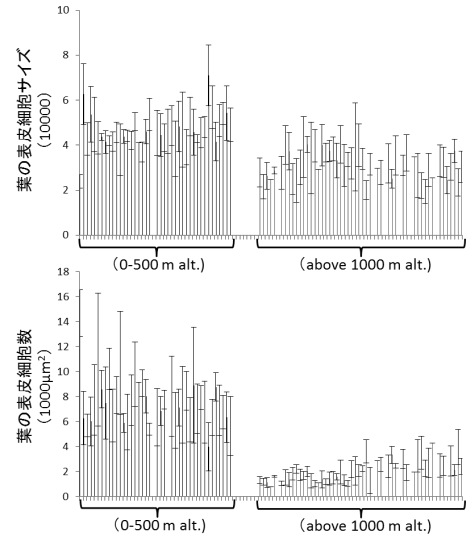


図2. 共通圃場実験によるコナスビとヒメコナスビの細胞レベルの差異

では野外集団でみられたコナスビとヒメコナスビの形態形質の差異は遺伝的なバックグラウンドをもつのであろうか?そこでコナスビとヒメコナスビそれぞれ6集団から計約1000個の種子を採集し(内訳:各集団から6個体、各個体から12個以上の種子)ランダムブロックデザインとエッジ効果に配慮した共通圃場実験を行った。その結果、共通圃場実験においてもヒメコナスビの葉はコナスビより小さく、その葉の小型化は細胞サイズと細胞数の両方が減少することが原因であることがわかった(図2)。このことはコナスビとヒメコナスビの葉の大きさ、そしてその細胞レベルの要因となる細胞サイズと細胞数の差異には遺伝的なバックグラウンドが存在することを示している。さらにコナスビとヒメコナスビでは、茎の長さ、花芽の位置、胚珠数、バイオマスに差異がみられ、これらの形質の差異も遺伝的なバックグラウンドをもつことがわかった。形質間の遺伝的相関を調べたところ、植物体の大きさに関する形質はお互いに強い相関を示した(図3)。しかし、葉の細胞数と葉の細胞サイズは強い相関を示さなかった(図3)。このことから、葉の大きさを決定する細胞レベルの2つの要因、すなわち葉の細胞サイズと細胞数は、それぞれ異なる遺伝子座によって支配されていることがわかった(Kakezawa et al., 投稿準備中)。

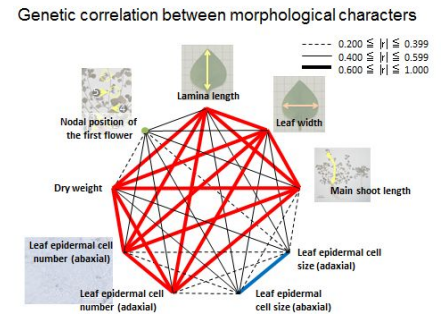


図3 形質間の遺伝的相関

ではヒメコナスビの小型化した葉は適応形質なのであろうか?そこで10個のマイクロサテライトマーカーを開発し(研究業績6) *Fst*と*Qst*との比較を行った。その結果、測定したいずれの形質(葉の大きさ、葉の細胞サイズ、葉の細胞数、茎の長さ、花芽の位置など)においても*Qst*の値は*Fst*(0.24)よりも有意に大きく(図4)、これらの形態形質の差異は低地と高地の異なる自然選択圧に対する適応形質であることが明らかとなった。

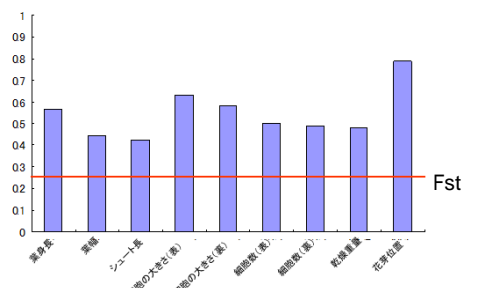


図4 *Qst*と*Fst*の比較

さらに申請者はコナスビとヒメコナスビの交配実験から約80個体のF2集団を作製し、形態形質の測定をおこなった。その結果、細胞サイズ、細胞数ともにF2集団においてなだらかな変化を示し、両形質は複数の遺伝子座に支配されている可能性が高いことが示された(図5)。また交配実験からコナスビ類は4カ月で交代すること、自殖と他殖が簡単に行えるという遺伝学的解析に優れた性質をもつことがわかった。

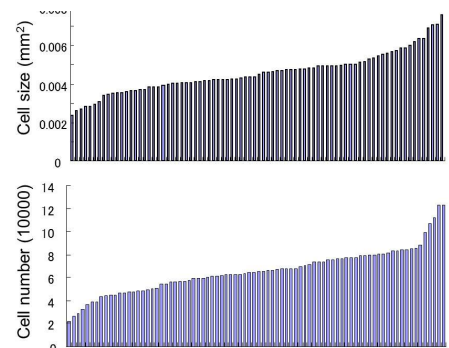


図5. F2 集団の葉の細胞サイズと細胞数

2. 研究の目的

本研究ではヒメコナスビの小型化した葉の形質を支配する分子基盤を QTL (Quantitative trait loci) 解析により特定することを目的とする。

3. 研究の方法

コナスビとヒメコナスビのストックからそれぞれ6個体を採取し、相互に掛け合わせて36個体のF1を作製する。このF1を自殖させることで36系統のF2集団を作製できる。36系統のF1を自殖することで36系統のF2集団を作製する。F2集団の育成は維持している元の両親個体と共に、エッジ効果とランダムブロックデザインを考慮した共通圃場において育成し、元の親個体との形質値の比較からF2の形質を正確に評価する。

4. 研究成果

コナスビとヒメコナスビの交配から37個体のF1を作製し、その自殖から、596個体のF2種子の発芽を得た。これらはもともとの親の種子と同時に発芽させており、このF2と親を含めた共通圃場実験をおこない、形質を測定できるまで十分に育成した。結果としてこのF2集団は、もともとの親であるヒメコナスビよりも小さく育つ個体や、コナスビとヒメコナスビと中間的な大きさを示す個体、親であるヒメコナスビやコナスビと同じようなサイズの個体まで様々な個体が入り混じっていた。これらのF2は共通圃場実験で栽培しており、最初の2ブロックである147個体についてRADシーケンスを行い、連鎖解析をおこなった。今後、これまでに計測された最大葉のサイズ、最大葉の細胞サイズと細胞数、最大茎の長さ、花卉のサイズと花卉の細胞数と細胞サイズについてQTLマッピングが期待できる。また全サンプルを用いた連鎖解析も行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1件)

Akihiro Kakezawa, Minoru N. Tamura, Kiyokazu Agata, Wataru Shinohara. Crossability of a high-mountain dwarf variety of *Lysimachia japonica* (Primulaceae) endemic to Yakushima Island with its normal-sized lowland counterpart. *Plant Systematics and Evolution* 303. 807-813. 2017.

〔学会発表〕(計 2件)

1. 池田光一、篠原 渉「屋久島の高山性ミニチュア植物 ヒメコナスビの花弁の細胞サイズと数に関する研究」日本植物分類学会第17回大会、金沢、2018年3月
2. 池田光一、篠原 渉「屋久島の高山性ミニチュア植物ヒメコナスビの花弁に関する研究 特に細胞レベルの形質に着目して」香川生物学会第69回総会、高松、2017年10月

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。