

令和元年6月15日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18623

研究課題名(和文)ゲノム情報を利用した野生植物の適応力多様性評価

研究課題名(英文) A genomic investigation into the adaptive diversity of a wild *Arabidopsis* species

研究代表者

久保田 渉誠 (Kubota, Shosei)

東京大学・大学院総合文化研究科・助教

研究者番号：10771701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では日本全国100地点を超える集団からハクサンハタザオを収集し、その全ゲノム情報、分布情報、1キロメッシュ精度での環境情報、そして気候シミュレーションが推定した将来的環境情報を得た。ゲノム情報と環境情報のゲノムワイド関連解析(GWAS)によって特定した適応遺伝子の対立遺伝子(祖先型または派生型)の分布情報をもとにニッチモデリングを行ったところ、多くの適応遺伝子で祖先型と派生型の対立遺伝子間で適地が異なり、温暖化に対する応答にも差が生じることが示唆された。この結果は、同じ種であっても遺伝的構成によって適地や気候変動に対する応答が異なることを示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々な中立的遺伝マーカーの発達により、ひとつの野生生物種に内包される多様性の理解は大きく進んだ。一方で、中立的遺伝マーカーが示す“多様性”は、種内の分集団がたどってきた歴史を反映するものであり、種が内包する適応力の多様性(高温耐性、乾燥耐性などが分集団間で異なること)を必ずしも反映するものではない。今後は地球規模での気候変動が予想されているが、そうした環境変化に野生生物がどのように応答するかを予測する上で、適応力の種内多様性を遺伝子レベルで把握することは非常に重要と言える。

研究成果の概要(英文)：Here, we collected *Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera* individuals from more than 100 populations throughout its distribution in Japan. Next generation sequencing was applied to each individual to obtain a genome wide SNP (single nucleotide polymorphism) dataset. Candidate genes underlying environmental adaptation were detected from a genome-wide association study (GWAS) between SNPs and environmental components obtained from a 1 km mesh GIS dataset. Ecological niche modeling based on these adaptive genes revealed that response to simulated global warming can differ between the opposing alleles. These results highlight the genetic mechanisms underlying intra specific adaptive variation.

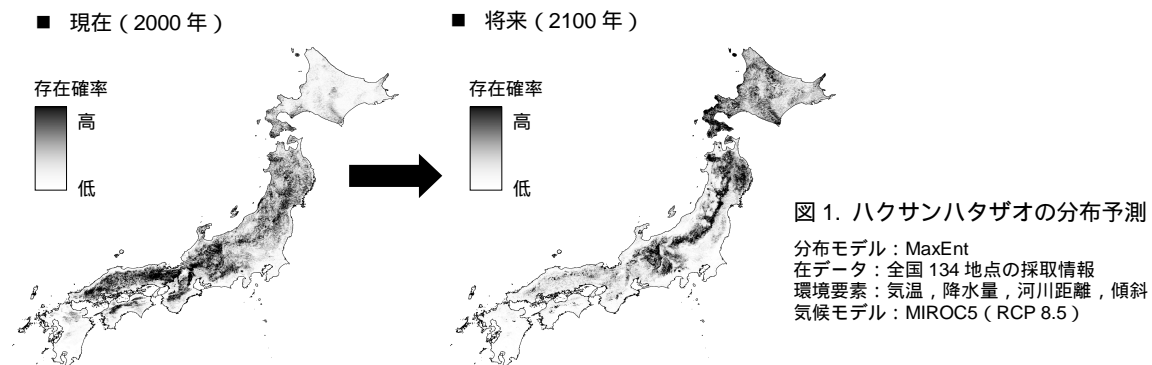
研究分野：ゲノム生態学

キーワード：次世代シーケンサー ゲノムワイドSNP解析 適応遺伝子 生態ニッチモデル

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

### 1. 研究開始当初の背景

気候変動予測の精度向上に伴い、地球規模での環境変化が野生生物に及ぼす影響を予測する研究に関心が寄せられている。とくに地理情報システム (GIS) を利用した生態ニッチモデリングと呼ばれる手法は、生物種の「現在における分布」と「各地点の環境情報」から分布を説明するモデルを構築し、気候シミュレーションが推定した将来的環境に投影することで、未来における生物分布を予測することを可能にした。実際にこの手法を日本に広く分布するアブラナ科植物であるハクサンハタザオ (*Arabidopsis halleri* subsp. *gemmaifera*) に適用した場合、温暖化により現在よりも分布が高緯度・高標高地域に移動することが示唆される (図 1)。この結果は他の野生生物でも報告されている典型的な傾向ではあるが、環境変動に対する応答がどの集団でも一様であることを仮定しているという問題点が存在する。より精度の高い未来予測を実施するためには、種が内包する適応力の多様性 (高温耐性や乾燥耐性などが分集団間で異なること) を考慮に入れる必要があると考えられる。



### 2. 研究の目的

近年における次世代シーケンサーの性能向上と価格低下により、ゲノム上に残る自然選択の痕跡を辿ることで環境適応を担う遺伝子 (適応遺伝子) を網羅的に探索することが可能になった。本研究はシロイヌナズナの近縁種であるハクサンハタザオを対象に全ゲノム解析を行い、単離される環境適応を担う遺伝子 (適応遺伝子) を指標とした野生集団の適応力多様性評価を目的とした。ここでは適応遺伝子の地理的分布情報と、環境要素 (気温、降水量、地形など) の地理的分布情報と統合し、生態 “ゲノム” ニッチモデリングという新たなアプローチの開発を試みた。さらに、構築したニッチモデルに 100 年後の気候シミュレーションデータを適用することで、将来における適応遺伝子の分布も予測し、遺伝的組成が異なる野生集団がどのように気候変動に応答するのか推定した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 解析個体のサンプリング

ハクサンハタザオの日本の分布域全体を網羅するよう、北海道から九州にかけて野外集団を探索し、最終的には 126 集団から解析個体をサンプリングした。

#### (2) リシーケンスによる採取個体のゲノム解読

Illumina 社の次世代シーケンサー HiSeq2500 を用いて、1 集団あたり 1 個体を個別にリシーケンスした。リシーケンスは 100bp のペアドエンドシーケンスを行い、1 個体あたり断片配列が合計で全ゲノムの 20 倍量 (250Mbp × 20 = 5Gbp) 以上のショートリードを収集した。

#### (3) 全ゲノム SNP データベースの構築

既に構築されているハクサンハタザオのリファレンスゲノムに対して断片配列を個体ごとにマッピングした。一塩基多型 (SNP) を検出する際にはその変異がホモなのか、ヘテロかを加味した上で配列を決定した。

#### (4) 適応遺伝子の探索

農業環境技術研究所が構築した 1km メッシュ GIS データから各集団の環境情報を抽出し、対立遺伝子頻度との関連解析 (GWAS) を行い、有意な相関を示す遺伝子座を特定した。また、近縁種である *A. lyrata* のゲノムデータを参考にする事で、全遺伝子座における、対立遺伝子の祖先 / 派生型を判別した。

#### (5) 適応遺伝子に基づく生態ニッチモデリング

適応遺伝子に基づく生態ゲノムニッチモデルを構築する際は、在 / 不在データを用いる MaxEnt ではなく、祖先型ホモ接合 / 派生型ホモ接合 / ヘテロ接合 / 不在データを解析に組み込むことができる、多項ロジットモデルを解析に利用した。

#### 4. 研究成果

期間中に全ての個体のリシーケンスデータを含んだ解析を完了することができなかったが、80集団分のデータで解析を進めたところ、94,468個のSNPを検出することができた。農業環境技術研究所が構築した1kmメッシュ地理情報システム(GIS)データから各地点の環境情報を抽出し、対立遺伝子頻度と環境変数の相関関係をLFMM(Latent Factor Mixed Model)を用いて解析した(図2)。とくにシグナルが強い上位30SNPを調べたところ、19個が近縁種であるシロイヌナズナにおいて気温や乾燥などの環境ストレスに関係する機能を持つことが明らかになった。これらは環境適応を担う遺伝子として期待されることから、生態ゲノムニッチモデリングを行う際の適応遺伝子として利用した。

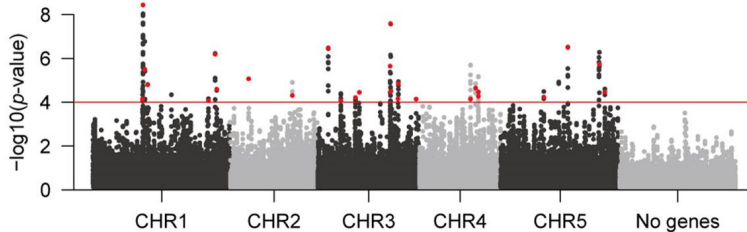


図2. GWASの結果

各SNPはシロイヌナズナの遺伝子配列に沿って並べられ、シロイヌナズナの染色体ごとに塗りつぶされている。近傍に遺伝子が存在しなかったSNPはNo genesに分類した。  
-log<sub>10</sub>(p値)が4を超え、連鎖の関係にない30個のSNP(赤い点)を候補として判断した。

上記の30SNPについて、多項ロジットモデルを利用して生態ゲノムニッチモデリングを行った。対立遺伝子の地理的分布情報と環境要素(気温、降水量、河川距離、傾斜)のGISデータを統合し、現在における対立遺伝子の潜在的分布予測を行った(図3上段)。このモデルに気候モデルMIRCO5(RCP8.5)によって推定されている2100年における気候値を適用することで、将来における分布予測も行った(図3下段)。いずれも祖先型と派生型の対立遺伝子間で適地が異なり、温暖化に対する応答にも差が生じることが示唆された。たとえばSNP21(高温・乾燥耐性に関連)の場合、派生型対立遺伝子を持つ個体/集団は将来の温暖化環境で有利になると予想された。この結果は、同じ種であっても遺伝的構成によって適地や気候変動に対する応答が異なることを示しており、種内における適応力多様性を評価する上で重要な指標になり得ると考えられる。

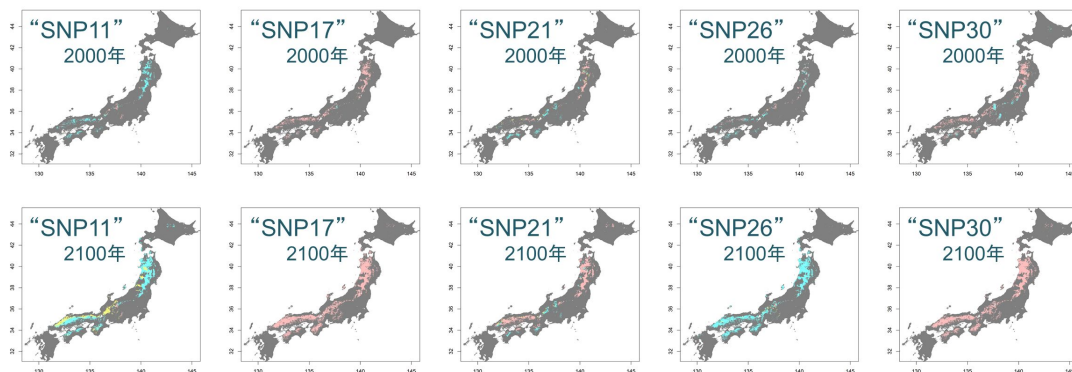


図3. 多項ロジットモデルによる生態ゲノムニッチモデリングの結果

30個のSNPのうち、とくに環境ストレスに関連した機能を持つ遺伝子近傍に位置していたもの5つについて図示している。80地点における対立遺伝子の分布情報を基にSurface range envelope法でPseudo-absence(不在)を300地点発生し、祖先型ホモ/派生型ホモ/ヘテロ接合/不在という選択肢を環境変数で説明した。

青は祖先型対立遺伝子のホモ、赤は派生型対立遺伝子のホモ、貴はヘテロ接合、黒は不在を示している。

ハクサンハタザオの適応遺伝子を単位とした生態ゲノムニッチモデリングから、同じ種であっても遺伝的組成によって適地や気候変動に対する応答が異なることが示された。遺伝的組成に基づいた種内の適応力多様性を考慮することで、より現実的な分布予測や絶滅リスク評価が可能となると考えられる。これらの予測結果および評価結果は、(1)保全対象種や保全地域の選定、(2)絶滅危惧種などにおける他地域からの移植時における適合度の判定、(3)遺伝的多様性の重要性の理解促進などに活用可能である。今後、遺伝子解析コストの低下がこれまで以上に進むことが予想され、本研究により開発した予測・評価手法が様々な生物種において適用できるようになることが期待される。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 1 件)

久保田渉誠、伊藤元己、森長真一「100年前の標本を使用した全ゲノム解析：進化を直接観察する（特集 博物館の標本情報を活用するミュゼオミクス：過去の生物多様性を観る・測る）」*遺伝：生物の科学*、71(5) 448-453、2017年（査読なし）

### 〔学会発表〕(計 6 件)

阪口翔太、堀江健二、重信秀治、山口勝司、長谷部光泰、久保田渉誠、石川直子、瀬戸口浩彰、伊藤元己「寒い高山と暑い蛇紋岩地で平行進化した早咲きアキノキリンソウのゲノム解析」第66回日本生態学会、2019年

吉田直史、若宮健、鳥居怜平、小口理一、石井悠、藤井伸治、久保田渉誠、森長真一、花田耕介、河田雅圭、彦坂幸毅「標高間変異における選択と遺伝子流動の影響力の評価：ハクサンハタザオの全ゲノムから」第66回日本生態学会、2019年

久保田渉誠、岩崎貴也、永野惇、花田耕介、彦坂幸毅、伊藤元己、森長真一「植物乾燥標本をリシーケンスする際に気をつけたいこと」日本植物分類学会第18回大会、2019年

久保田渉誠、「標本のリシーケンスデータからわかること、できること（招待講演）」第08回 Museomics 研究会、2018

久保田渉誠、伊藤元己、森長真一「100年前の標本を使用した全ゲノム解析：進化を直接観察する（招待講演）」第64回日本生態学会、2017年

久保田渉誠、久保田渉誠、岩崎貴也、三浦憲人、永野惇、花田耕介、花田耕介、松葉史紗子、宮下直、彦坂幸毅、伊藤元己、森長真一「ゲノム情報を利用した野生植物の適応力多様性評価」第63回日本生態学会、2016年

## 6. 研究組織

- (1)研究分担者 なし
- (2)研究協力者 なし

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。