

令和元年6月6日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15165

研究課題名(和文) 接合藻類における自殖性の平行進化の遺伝的背景

研究課題名(英文) Genetic basis for parallel evolution of selfing in green algae

研究代表者

土松 隆志 (Tsuchimatsu, Takashi)

千葉大学・大学院理学研究院・准教授

研究者番号：60740107

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、他殖系統(ヘテロタリック系統)と自殖系統(ホモタリック系統)という生殖様式の進化的移行が種内で起きている接合藻類ヒメミカツキモの多数の野生系統を用い、比較ゲノム解析を行った。その結果、生殖様式の転換が複数回起きていること、ゲノムサイズは系統間で大幅に異なること、ホモタリック系統では多くの大規模な重複領域が存在すること、有害な可能性の高い突然変異がホモタリック系統の重複領域において多く蓄積していることなどが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自殖の進化は、何度も繰り返し起きた平行進化の好例である。繰り返し起きた自殖がどのような遺伝メカニズムにより生じ、ゲノムにどのような影響を与えるのかといった問題については、今まで被子植物における研究が主だった。本研究で、接合藻類ヒメミカツキモにおける自殖進化の遺伝的背景を研究する基盤が整ったことで、自殖の平行進化をより広い分類群で解明し、適応進化にみられる普遍性を検討することができるようになると思われる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the genomic consequences of evolutionary transitions between heterothallism and homothallism in *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex, using the genome-wide polymorphism data from many wild samples. We revealed (1) recurrent transitions between mating types, (2) frequent segmental duplications particularly in homothallic strains, and (3) more accumulations of deleterious mutations in homothallic strains.

研究分野：進化生物学

キーワード：自家交配 比較ゲノム

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

1 . 研究開始当初の背景

自家交配 (自殖) の進化は , 何度も繰り返し起きた「平行進化」の好例である . 自殖はゲノム上のどのような変革により生じ , またゲノム全体にどのような影響を与えるのか . これらの問いには今日まで , 被子植物における自家不和合性の不活化や花形態の進化といったごく限られた対象についての研究が集中的に進められてきた . そのため , 自殖の進化は藻類・菌類においても繰り返し起きているにも関わらず , 被子植物以外ではその遺伝子レベルからの知見は極めて限られているのが現状である .

本研究では単細胞の緑藻 , ヒメミカツキモ (*Closterium psl complex*) の自殖の進化を対象にそのゲノム基盤の解明に取り組む . ヒメミカツキモは接合藻であり , + 型 , - 型と呼ばれる二種類の性 (交配型) を持つ . 通常のヘテロタリズム系統においては , 有性生殖は異なる交配型でのみ可能だが , ホモタリズムと呼ばれる系統では交配型の区別がなく , 同一クローン間での交配が可能である . 実験室環境下では , 形成される接合子の 80% 以上が一細胞由来の姉妹細胞同士の交配によることが知られており , このホモタリズム系統は , いわば自殖が可能な自家和合系統である .

研究協力者の土金勇樹博士らは , 日本・アジア各地で本種の採集を行い , これまでに多くのホモタリズムおよびヘテロタリズム系統を単離してきた . これらの系統について研究代表者は Illumina HiSeq を用いたリシークエンスデータを得ており (東京農業大学生物資源ゲノム解析センター及び科研費の支援による) , その比較ゲノム解析・集団遺伝学的解析を通して , 自殖の進化の遺伝的基盤やゲノム多型に与える影響を明らかにできると考えた .

2 . 研究の目的

ヒメミカツキモを用いて生殖様式 (ホモ・ヘテロ) 分化の遺伝的基盤を明らかにするために , 生殖様式の異なる系統間における遺伝的変異を以下の観点から定量した : (1) 種内系統の系統関係 , (2) ゲノムサイズ , (3) ゲノムの重複パターン , (4) 有害な突然変異の蓄積量 .

3 . 研究の方法

ヒメミカツキモのホモ1系統 (グループB) のドラフトゲノム配列情報と , 4つのグループ由来 (A, B, C, G) の計21系統 (ホモ6系統 , ヘテロ15系統) のリシークエンスデータ (Illumina HiSeq) を用いて解析を行なった .

4 . 研究成果

(1) 種内系統の系統関係 : リファレンスとなるドラフトゲノム配列に対して , 21系統のリシークエンスデータをマッピングすることで得られたSNP情報を用い , ML法にて系統樹を作成した . 生殖様式ごとに単系統にならないことから , 生殖様式の転換 (ホモ・ヘテロ) が独立に複数回起きていることが明らかになった . この結果は , 少数の核遺伝子に基づく先行研究の知見 (Tsuchikane et al. 未発表) を裏付けている .

(2) ゲノムサイズ : k-mer 解析によりゲノムサイズを推定した . その結果 , ゲノムサイズは系統間で大幅に異なり , 最大で2倍以上の変異がみられた .

(3) ゲノムの重複パターン : k-mer 解析より , 生殖様式に関わらず , ほぼ全ての系統がゲノム上に重複領域を持つことが示された . 重複領域の同定を行なうため , contigごとの平均カバレッジとヘテロ接合の頻度を算出した . 両者が高い値を示す contig は重複していると判断した . ホモ系統では多くの大規模な重複領域が検出された一方 , ヘテロ系統では検出されなかった . ヘテロ系統は , リファレンスとして用いたホモ系統が持たない特異な配列において重複しているか , contig レベルの解析では検出されない小規模な重複を持つ可能性を示している .

(4) 有害な突然変異の蓄積量：ホモ系統は有効集団サイズが小さく、有効な組み換えも起きにくいと考えられるため、有害な変異が多く蓄積していることが予想される。陸上植物において保存的な遺伝子のうち、リファレンス系統でシングルコピーとして見つかった350遺伝子において、変異が遺伝子に与える影響を系統ごとに同定した。その結果、フレームシフトやpremature stop codon、非同義置換を含む有害な可能性の高い突然変異がホモ系統の重複領域において多く蓄積していることが示された。実際に、ホモ系統で有効集団サイズが小さく、有効な組み換え率も小さくなっているのかを確かめるために、連鎖不平衡の程度や組み換え率を現在推定中である。これにより、生殖様式とゲノム中の有害な変異の量との関連が明らかにできる。

以上の研究から、ヒメミカツキモ種内で生殖様式の転換が独立に複数回起きており、系統間でダイナミックなゲノム構造の変化があることが示された。さらにホモ系統特異的に大規模な重複領域が存在し、その領域上において有害な可能性の高い突然変異が蓄積していることも明らかとなった。大規模なゲノム構造変異を詳細に明らかにするためには、特定の1系統を参照配列とした解析では不十分である。そのため、先進ゲノム支援のサポートのもと、新たに3系統(Aホモ、Bヘテロ+と-)に対してPacBioによるロングリードシーケンスを行った。今後これらの配列のde novoアセンブリや比較ゲノム解析を行うことで、生殖様式の転換に伴うゲノム変革の実態に迫ることができると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

Fujii, S., Tsuchimatsu, T., Kimura, Y., Ishida, S., Tangpranomkorn, S., Shimosato-Asano, H., Iwano, M., Furukawa, S., Itoyama, W., Wada, Y., Shimizu, K.K., and Takayama, S. Identification of a stigmatic gene functions in inter-species incompatibility in the Brassicaceae. *Nature Plants* (印刷中) [査読あり]

Bamba, M., Aoki, S., Kajita, T., Setoguchi H., Watano, Y., Sato, S., and Tsuchimatsu, T. Exploring genetic diversity and signatures of horizontal gene transfer in nodule bacteria associated with *Lotus japonicus* in natural environments. *Molecular Plant-Microbe Interactions*
doi:10.1094/MPMI-02-19-0039-R (印刷中) [査読あり]

Bamba, M., Kawaguchi, Y.W., Tsuchimatsu, T. Plant adaptation and speciation studied by population genomics approaches. *Development, Growth & Differentiation* 61: 12-24 (2019).
doi:10.1111/dgd.12578 [査読あり]

土松隆志, 安田晋輔, 高田美信, 北柴大泰, 新倉聡, 藤本龍, 柿崎智博「アブラナ科植物における自家不和合性研究の最前線と育種現場での利用」『育種学研究』doi: 10.1270/jsbbr.21.W03 (印刷中) [査読なし]

土松隆志「集団ゲノミクスが解き明かす植物進化のダイナミクス：適応をゲノムから探る」『化学と生物』社団法人 日本農芸化学会 56: 317-323 (2018). Doi: 10.1271/kagakutoseibutsu.56.317 [査読あり]

土松隆志「集団ゲノミクスから探る植物の進化」『ライフサイエンス 領域融合レビュー』6: e006 (2017). Doi: 10.7875/leading.author.6.e006 [査読あり]

〔学会発表〕(計 19 件)

土松隆志 “自家受精の平行進化のゲノム基盤” 神戸大学大学院農学研究科インターゲノミクスセミナー 2019年2月1日 神戸 招待講演

土松隆志 “植物の適応形質のゲノム科学” 京都大学生態学研究センター研究集会「異なるマクロ生物学分野のインタープレイ」2018年10月27日 鳴門 招待講演

土松隆志 “アブラナ科植物における自家不和合性と自家受精の進化” 日本育種学会ワークショップ「アブラナ科植物における自家不和合性研究の最前線と育種現場での利用」2018年9月22日 岡山 招待講演

坂本奈緒子, 渡辺均, 上原浩一, 土松隆志 “南米産ペチュニア属植物の自家和合システムを用いたS遺伝子座の配列解析” 日本植物学会第20回大会. 2018年9月14日 広島 ポスター発表 [査読なし]

川口也和子, 土金勇樹, 西山智明, 関本弘之, 土松隆志 “接合藻ヒメミカツキモ種内系統間にみられるゲノム構造の変異: 生殖様式の進化との関連” 日本植物学会第20回大会. 2018年9月14日 広島 ポスター発表 [査読なし]

土松隆志 “植物における自家不和合性と自家受精の進化: アブラナ科・ナス科植物を例に” 日本進化学会シンポジウム「生態発生進化」2018年8月24日 東京 招待講演

坂本奈緒子, 渡辺均, 上原浩一, 土松隆志 “南米産ペチュニア属植物を用いた自家不和合性遺伝子座配列解析” 日本進化学会第20回大会. 2018年8月23日 東京 ポスター発表 [査読なし]

川口也和子, 土金勇樹, 西山智明, 関本弘之, 土松隆志 “2種類の生殖様式を持つ接合藻ヒメミカツキモにおけるゲノム構造の系統間比較” 日本進化学会第20回大会. 2018年8月23日 東京 ポスター発表 [査読なし]

番場大, 青木誠志朗, 梶田忠, 瀬戸口浩彰, 綿野泰行, 佐藤修正, 土松隆志 “全ゲノム配列解析と交接種実験から探るマメ科植物-根粒菌間の共生特異性の進化” 日本進化学会第20回大会. 2018年8月23日 東京 ポスター発表 [査読なし]

Bamba, M., Aoki, S., Kajita, T., Watano, Y., Setoguchi, H., Sato, S., Tsuchimatsu, T. “Diversity and horizontal gene transfer of nodule bacteria associated with *Lotus japonicus* in natural environments” Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, 2018年7月9日, Yokohama, Japan 国際シンポジウム ポスター発表 [査読なし]

土松隆志 “植物における自家不和合性と自家受精の進化” 遺伝学研究所研究会「マクロ生態学と遺伝学の融合」2018年4月14日 三島 招待講演

土松隆志 “ゲノムから探るシロイヌナズナにおける生殖システムの進化” 総合研究大学院大学 先端科学考究 2018年2月6日 葉山 招待講演

土松隆志 “シロイヌナズナの集団ゲノムデータから探る生殖システムの進化” 東北大学第117回生態適応セミナー 2017年11月30日 仙台 招待講演

土松隆志 “集団ゲノミクスから探る生殖システムの進化: シロイヌナズナを例に” 東京大学大学院理学系研究科生物科学セミナー 2017年11月15日 東京 招待講演

土松隆志 “集団ゲノミクスから探る生殖システムの進化” 千葉大学 若手植物科学の会 2017年10月18日 千葉 招待講演

土松隆志, Goubet PM, Nordborg M, Vekemans X, Castric, V “1001 ゲノムデータから探るシロイヌナズナ自家不和合性遺伝子座の進化過程” 日本植物学会第81回大会. 2017年9月9日 野田 口頭発表 [査読なし]

土松隆志, Goubet PM, Nordborg M, Vekemans X, Castric, V “リシーケンスデータから探るシロイヌナズナ自家不和合性遺伝子座の進化過程” 日本進化学会第19回大会. 2017年8月24日 京都 口頭発表 [査読なし]

Tsuchimatsu, T. “Population genomics reveals the mating system evolution in Arabidopsis” The 5th International Symposium “Frontier Science in Ecology, Genetics and Genomics. 2017年5月29日 札幌, 国際シンポジウム 招待講演

Tsuchimatsu T, Goubet PM, Nordborg M, Vekemans X, Castric, V “Patterns of polymorphism at the self-incompatibility locus in 1,083 Arabidopsis thaliana genomes, Cold Spring Harbor Asia Conference on Plant Cell and Developmental Biology, 2017 年 5 月 26 日, Suzhou, China, 国際シンポジウム 口頭発表 [査読あり]

〔図書〕(計 3 件)

田村隆明, ほか 17 名 (2018) 「分子生物学：ゲノミクスとプロテオミクス」(翻訳) 東京化学同人 573 p.

土松隆志 『植物はなぜ自家受精をするのか(遺伝子から探る生物進化 5)』慶應義塾大学出版会(2017)

土松隆志 『植物はなぜ自家受精をするのかー花の性と進化』『知のフィールドガイド 科学の最前線を歩く』(東京大学教養学部 編)白水社(2017)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://tsuchimatsu.wordpress.com>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

土金 勇樹 (TSUCHIKANE, Yuki)

関本 弘之 (SEKIMOTO, Hiroyuki)

西山 智明 (NISHIYAMA, Tomoaki)

川口 也和子 (KAWAGUCHI, Yawako)

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.