

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：32702

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06718

研究課題名(和文)植物の高次倍数化による根端成長と染色体動態の変化の解析

研究課題名(英文)Ploidy effects on root growth and chromosome behavior in *Arabidopsis thaliana*

研究代表者

岩元 明敏 (Iwamoto, Akitoshi)

神奈川大学・理学部・教授

研究者番号：60434388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：シロイヌナズナ同質倍数体系列の根端を対象に、細胞動力学的手法を用いた定量解析を行った。その結果、4倍体では2倍体と比較して体積増大が亢進していたが、細胞増殖は抑制されていた。高次の倍数体である6, 8倍体では、体積増大と細胞増殖の両面で抑制が生じていた。これら同質倍数体について、茎葉細胞を用いてセントロメアをプローブとするFISH解析を行った結果、倍数化が進むほど染色体の束化が進んでいた。さらに倍数体系列の根端を直接用いたWhole mount FISHを行った。その結果、細胞増殖域ではいずれの倍数体でも同程度の染色体束化が生じるが、体積増大域では倍数化が進むほど束化も進む傾向が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

染色体が通常より増えるゲノム倍数化は、植物では一般的に起きる。本研究により、ある程度までの倍数化は細胞体積の増大をもたらすが、ゲノム倍数化が進み過ぎると細胞増殖と体積増大の両方が抑制されることが示された。また、この成長の抑制は増えた染色体同士が互にくっつく染色体束化と関連することを明らかにした。この成果は、将来的にゲノム倍数化を利用した生産性の高い新品種の開発などにつながるという意義がある。

研究成果の概要(英文)：We performed root growth analysis of the diploid and autopolyploid series of *Arabidopsis thaliana* using the kinematic method on the cellular basis. The analysis revealed that the autopolyploidization to the tetraploid promoted cell volume growth while it suppressed cell proliferation. In the high polyploids, the autopolyploidization suppressed both cell volume growth and cell proliferation. FISH analysis of cauline leaf cells with centromere-specific probes suggested a possible correlation between the growth properties of the autopolyploid series and the chromosome polytenization. Then, we directly analyzed the chromosome polytenization in the root tip of *Arabidopsis* using the whole-mount FISH technique. The results showed that the chromosomes were polytenized and the degree of polytenization was almost the same among the autopolyploids in the cell proliferation zone. In contrast, the chromosomes of high polyploids more polytenized than those of the tetraploid in the volume growth.

研究分野：植物形態学

キーワード：ゲノム倍数化 シロイヌナズナ 高次倍数化 同質倍数化 成長解析 FISH Whole Mount FISH 染色体束化

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、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

植物においては、基本染色体の倍加、すなわちゲノムの倍数化によって生じた低次から高次までの倍数体が、多くの分類群でごく普通に見られる。倍数化は成長の様々な面を促進し、一般的には植物体の環境適応能力の向上をもたらすとされる。また、倍数化にともなって遺伝子発現パターンにも違いが生じることが明らかとなっており、これが植物の種分化における大きな要因の1つと考えられている。

こうした学術的背景から、研究開始当初も植物の倍数化に関する研究は活発に行われており、特に倍数化と環境適応・進化との関連性を探るため、染色体の精査による倍数体の起源や倍数化にともなう遺伝子発現の変化の解析などが精力的に進められていた。しかし、こうした研究の基盤となる倍数化にともなう成長変化、および細胞分裂時における染色体の動態そのものについての解析は十分とはいえなかった。特に、雑種起源と考えられる異質倍数体ではなく、同一のゲノムが倍数化することによって生じた同質倍数体についての研究は少ない状況にあった。

また、一般的には同質倍数化によって1細胞あたりのゲノム量が上昇することにより、植物の成長が促進されて環境適応に有利になると考えられているが、その一方で高次の倍数体(6倍体、8倍体)になるとむしろ成長が抑制されるという現象も知られていた(高次倍数化シンドローム)。しかし、同質倍数体に関する研究が少ない状況の中、この高次倍数体における成長抑制のメカニズムはもちろん、どのように成長抑制が起きているかの定量的な解析も行われていなかった。

### 2. 研究の目的

本研究では、細胞動力学的手法と数理モデルを組み合わせ、シロイヌナズナの同質倍数体の成長解析を進め、その成長変化を定量的に明らかにすることを目的とした。さらに、この結果と高次倍数体における染色体の動態解析を組み合わせることで、高次倍数化にともなって植物の成長がどのように変化するかを包括的に解明することも目指した。

### 3. 研究の方法

モデル植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) について同質倍数体シリーズ(4, 6, 8倍体)を作出・系統確立し、その根端に関して細胞動力学解析を行い、2倍体との比較を行うことで、同質倍数化、特に高次倍数化(6, 8倍体化)が根端成長に及ぼす影響を定量化する。細胞動力学解析とは、器官成長を細胞の流れとしてとらえる解析法であり、根端成長を対象とした場合、根の任意の位置でどの程度細胞体積が増大し、細胞が増殖しているかについて定量的なデータを得ることができる。

また、セントロメアの繰り返し配列をプローブに用いて、シロイヌナズナ茎葉の細胞を対象とするFISH解析、および根端全体を対象としたWhole-Mount FISH(WM FISH)を行う。特に、後者により各倍数体の根端における染色体動態(染色体束化)の空間プロファイルを明らかにすることができる。染色体束化とは、染色体同士が何らかのメカニズムによって密着して束状になる現象であり、予測されるセントロメアの数と観察されるセントロメアの数の差からその程度が推定できる。

#### 4 . 研究成果

( 1 ) シロイヌナズナ同質倍数体シリーズ ( 2 倍体、 4 倍体、 6 倍体、 8 倍体 ) の根端を対象とした細胞動力学的手法による成長解析の結果、 4 倍体では 2 倍体と比較して細胞体積増大が亢進していた一方で、細胞増殖は抑制されていることが分かった。さらに高次の倍数体である 6 倍体、 8 倍体では、 2 倍体と比較して細胞体積増大と細胞増殖の両面で抑制が生じており、特に 8 倍体における成長抑制は顕著であった。

( 2 ) 同質倍数体シリーズについて、茎葉の細胞を対象にセントロメアをプローブとした FISH 解析を行った結果、ゲノム倍数化が進むほど染色体同士が束のように密着している状態、すなわち染色体の束化が進んでいることが分かった。また、この染色体束化は、倍数体においては、それまで報告されていたような核内倍加した細胞だけではなく、核内倍加していない細胞 ( 基本ゲノムを持つ細胞 ) でも起きていることが明らかとなった。

( 3 ) 茎葉の細胞を対象とした FISH 解析の結果を受け、同質倍数体シリーズの根端を用いた Whole mount FISH を行い、根端のどの位置でどの程度染色体の束化が生じているかを解析した。その結果、根端の細胞増殖域では 4, 6, 8 倍体いずれの倍数体においても同程度の染色体束化が生じていることが分かった。一方で、体積増大域および成長安定域では 4 倍体よりも 6 倍体、 6 倍体よりも 8 倍体の方がそれぞれ染色体束化率が高く、高次倍数化すると染色体束化も進む傾向が見られた。

( 4 ) 根端成長解析の結果と染色体動態、特に WM-FISH の結果を合わせて考えると、細胞増殖に関しては 4, 6, 8 倍体でほぼ同じように抑制されており、細胞増殖域での染色体束化率も倍数体間で違いがなかったことから、染色体束化が細胞増殖を抑える要因の 1 つとなっていることが予測される。また、体積増大については 4 倍体では抑制されないが、高次倍数体 ( 6, 8 倍体 ) では抑制が見られ、染色体束化も高次になるほど進んでいた。したがって、体積増大域でも染色体束化が成長抑制と関連している。以上のように成長解析による根端成長と WM-FISH による根端における染色体束化の空間プロファイルは基本的に一致しており、染色体束化が高次倍数化を含めたゲノム倍数化による成長変化 ( 成長抑制 ) の重要な要因の 1 つと考えられる。今後は実際に染色体束化がどのように細胞増殖、体積増大を抑制しているのかを明らかにする解析を進めて行く。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Suzuka Kikuchi, Akitoshi Iwamoto	4. 巻 85
2. 論文標題 Quantitative analysis of chromosome polytenization in synthetic autopolyploids of <i>Arabidopsis thaliana</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cytologia	6. 最初と最後の頁 189-195
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1508/cytologia.85.189	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 菊池涼夏, 岩元明敏	4. 巻 32
2. 論文標題 コルヒチンを用いたシロイヌナズナ ( <i>Arabidopsis thaliana</i> ) 4 倍体及び 8 倍体の効率的な作出方法	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science journal of Kanagawa University	6. 最初と最後の頁 81-86
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Morinaka Hatsune, Mamiya Akihito, Tamaki Hiroaki, Iwamoto Akitoshi, Suzuki Takamasa, Kawamura Ayako, Ikeuchi Momoko, Iwase Akira, Higashiyama Tetsuya, Sugimoto Keiko, Sugiyama Munetaka	4. 巻 62
2. 論文標題 Transcriptome Dynamics of Epidermal Reprogramming during Direct Shoot Regeneration in <i>Torenia fournieri</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1335 ~ 1354
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/pcp/pcab101	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 菊池涼夏、杉山宗隆、岩元明敏
2. 発表標題 高次倍数化が根端成長に及ぼす影響の解析
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 菊池涼夏、杉山宗隆、岩元明敏
2. 発表標題 ゲノム倍数化がシロイヌナズナの根端成長へ及ぼす影響の定量的解析
3. 学会等名 第19回細胞周期合同セミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊池涼夏、杉山宗隆、岩元明敏
2. 発表標題 シロイヌナズナ倍数体系列の根端成長及び染色体動態の解析
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊池涼夏、杉山宗隆、岩元明敏
2. 発表標題 シロイヌナズナ倍数体における根端成長と染色体の束化の定量的解析
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 菊池涼夏、杉山宗隆、岩元明敏
2. 発表標題 ゲノム倍数化がシロイヌナズナの根端成長及び染色体の束化に与える影響の定量的解析
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菊池涼夏、西本右子、堀内有紗、岩元明敏
2. 発表標題 培地固化剤がシロイヌナズナ倍数体の根端成長に与える影響の解析
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菊池涼夏、坂本卓也、松永幸大、杉山宗隆、岩元明敏
2. 発表標題 染色体束化がシロイヌナズナ倍数体における根端成長に及ぼす影響の解析
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------