

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15831

研究課題名（和文）南極大陸産コケ植物からの環境ストレス耐性遺伝子の単離および分子育種への応用

研究課題名（英文）Isolation of environmental stress tolerance genes from Antarctic mosses

研究代表者

大谷 真広 (Otani, Masahiro)

新潟大学・自然科学系・助教

研究者番号：30768841

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）：本研究では南極大陸に自生するコケ植物（オオハリガネゴケおよびハリギボウシゴケ）を研究対象として遺伝子解析を行い、極限環境におけるコケ植物の生存メカニズムの解明および有用遺伝子の単離を試みた。結果として、南極環境下では脂質代謝関連遺伝子および油滴形成関連遺伝子が高く発現していた。その一方で、多くの光合成関連遺伝子の発現量は低下していた。これらは低温ストレス、乾燥ストレス、塩ストレス、および強烈な紫外線ストレスへ対抗するための反応であると考えられる。また、南極環境下で高く発現している機能未知の遺伝子も複数見出されており、今後さらに解析を進めていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、南極の極限環境において生育しているコケ植物を研究対象としてトランスクリプトーム解析を行った。これまでに現地ですぐに固定したサンプル（南極環境下での遺伝子発現情報が固定されている）を用いた遺伝子解析は検討されておらず、本研究において初めて南極環境下で実際に発現している遺伝子のプロファイルを獲得することが出来た。今後、これらの研究から見出された遺伝子について詳細に解析することで、南極大陸に自生するコケ植物の生存メカニズムの一端を明らかにすることが出来ると期待できる。またこれらの遺伝子については、作物の分子育種における遺伝子資源としての利用も期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we performed gene isolation and genetic analysis in Antarctic mosses to clarify molecular mechanisms of environmental stress tolerances. As a result of transcriptome analysis, genes related to lipid metabolism and oil body formation were highly expressed under the Antarctic environment. On the other hand, most of photosynthesis-related genes were down-regulated. These gene expression pattern may be responses to low temperature stress, drought stress, salt stress, and intense UV stress. We also isolated several unidentified genes that are highly expressed under the Antarctic environment. We are planing to analyze these genes in detail.

研究分野：農学

キーワード：極限環境生物 コケ植物 遺伝子単離 トランスクリプトーム解析 環境ストレス 南極大陸

1. 研究開始当初の背景

現在、気候変動や環境汚染を原因とする農作物の収量・品質の低下が世界各地で重大な問題となっており、乾燥地や塩害地など農業に適さない環境でも問題なく栽培できる新品種の開発が求められている。そこで近年、形質転換などの技術を用いた作物の分子育種が盛んに研究されている。形質転換による分子育種に関する研究では、従来、シロイヌナズナなど遺伝子情報が詳細に明らかにされているモデル植物を遺伝資源として、これらの植物から単離された遺伝子を利用することが多い。しかしながら、モデル植物の多くは低温、塩分および乾燥などの環境ストレスに対する感受性が比較的高く、環境ストレス耐性を持つ新品種作出のための遺伝資源としては不十分であると考えられる。そこで、モデル植物に加えて、実際に極限環境に自生する(=極限環境でも生存できる仕組みを持つ)植物を作物の分子育種における遺伝資源として利用することで、より強力な環境ストレス耐性を示す新品種の作出が可能になると期待される。

地球上で最も厳しい環境にある地域のひとつとして南極大陸があげられる。南極大陸の露岩域は低温、乾燥、強紫外線にさらされており、さらに一部の地域では地表に析出するほど高濃度の塩分が土壤に含まれている。このような極限環境においても、少数のコケ植物がわずかに自生している。そのためこれらのコケ植物は様々な環境ストレスに対する強力な抵抗性を有していると考えられる。これまで南極大陸産のコケ植物から環境ストレス耐性遺伝子を単離・解析した報告はごくわずかであり、当分野の研究はほとんど進展していない。また、南極大陸産のコケ植物から単離した遺伝子を作物の分子育種に活用した報告はない。

2. 研究の目的

高山や深海などの極地に生息する極限環境生物は、厳しい環境下においても生命活動を維持できるように自身の生理機構を進化させてきた。極限環境生物の環境適応に関する分子メカニズムを解明することは、基礎的な知見の獲得のみならず、それらの機構を園芸植物の分子育種へ応用することで、環境ストレス耐性の向上した新品種作出につながると考えられる。本研究では、その第一段階として、南極大陸に自生するコケ植物から低温などの環境ストレス耐性に関する遺伝子を単離・解析することで、南極大陸産コケ植物における極限環境での生存メカニズムの解明を試みた。またここで単離された有用遺伝子については将来的な作物の分子育種への有用性を検討する。

3. 研究の方法

具体的な実験内容については以下の3点である。

(1) ITS 領域の塩基配列解析による系統解析および種の同定

南極大陸昭和基地周辺露岩域の計 14 地点のコケ群落から採取したコケサンプルについて ITS 領域の塩基配列の比較による分子系統解析および種の同定を行った。

(2) RNA-seq 法による南極産オオハリガネゴケ (*Bryum pseudotriquetrum*) のトランスクリプトーム解析

南極大陸に自生するオオハリガネゴケ群落から採取後ただちに固定したサンプルと実験室内の穏やかな条件 (15 °C) で栽培したサンプルの間でトランスクリプトームを比較した。また南極環境下で高い発現を示す遺伝子については、塩ストレス処理、乾燥ストレス処理、および低温ストレス処理に対する発現応答を調査した。

(3) 南極固有種ハリギボウシゴケ (*Grimmia lawiana*) からの環境ストレス耐性遺伝子の単離および発現解析

南極大陸固有種であるハリギボウシゴケを実験材料として、植物の代表的なストレス応答遺伝子である DREB (dehydration-responsive element-binding) ホモログ遺伝子の単離および発現解析を行った。遺伝子単離は RACE 法を用いて行った。また発現解析においては、人工的な塩ストレス処理、乾燥ストレス処理、および低温ストレス処理に対する応答性を調査した。

4. 研究成果

(1) ITS 領域の塩基配列解析による系統解析および種の同定

本研究において解析したサンプルには、地球上に普遍的に分布しているオオハリガネゴケ (*Bryum pseudotriquetrum*) およびヤノウエノアカゴケ (*Ceratodon purpureus*) が含まれていた (図 1) . また、パッタ島で採取されたサンプルは南極大陸の固有種であるハリギボウシゴケ (*Coscinodon lawianus*) であった。一部のサンプルについては同一の群落内に複数の種が混在して存在していることが明らかとなった。複数の種が混在するサンプルについては、その後の解析対象から外すこととした。

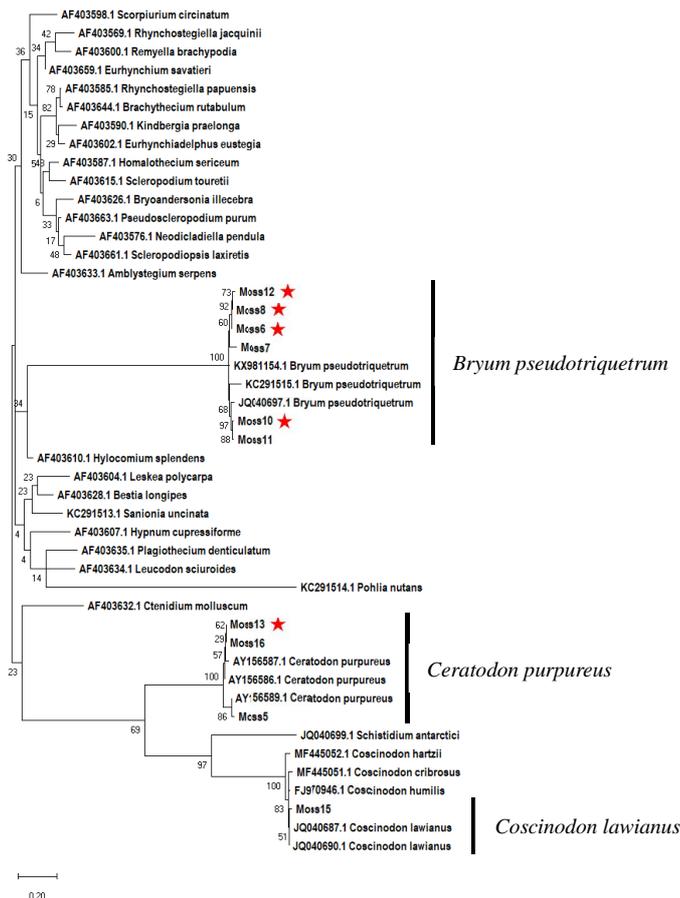


図 1 南極大陸で採取されたコケ植物サンプルの分子系統樹

今回解析したサンプルのうち、単一種で構成された群落由来のサンプルを★印で示している。系統樹は ITS 領域の塩基配列から近隣結合法を用いて作製した。

(2) RNA-seq 法による南極産オオハリガネゴケ (*Bryum pseudotriquetrum*) のトランスクリプトーム解析

南極環境下のサンプルと実験室内の穏やかな条件 (15 °C) で栽培したサンプルについて RNA-seq 解析を行った。de novo アセンブリ により 88,205 コンティグが得られた。それらのうち、1,177 遺伝子が南極環境下で有意に高い発現を、701 遺伝子が南極環境下で有意に低い発現を示した (図 2)。予想に反して、植物において共通のストレス応答遺伝子群の多くは発現量に大きな差を示さなかった。南極環境下で発現の高い遺伝子群には脂質代謝関連遺伝子および油滴形成関連遺伝子が多く含まれていた。植物においては細胞への脂質の蓄積が各種の環境ストレスに対する耐性に寄与していることが明らかとなっている。したがって、これらのコケ植物においては主に細胞内の脂質代謝を改変することで南極の極限環境を生き抜いているという可能性が示された。一方で、南極環境下では光化学系 I・II および電子伝達系に関連する遺伝子の多くの発現量が低下していた。これは夏季の南極特有の白夜および強烈な紫外線へ対抗するための反応であると考えられた。

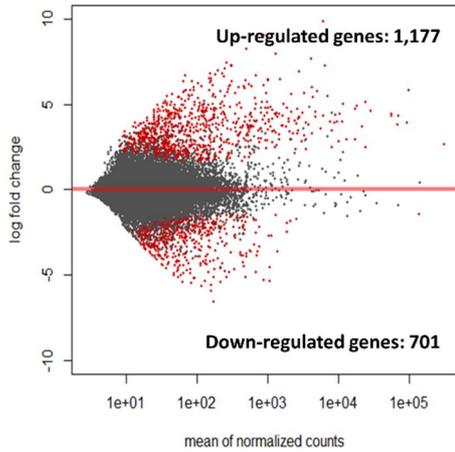


図2 RNA-seq 解析により得られた DEGs の MA プロット図

それぞれの点は単一遺伝子を示している。赤色の点は培養条件下と比較して南極環境条件下で有意に高いまたは低い発現を示す遺伝子を示している (q-value<0.01)。

(3) 南極固有種ハリギボウシゴケ (*Grimmia lawiana*) からの DREB ホモログ遺伝子の単離および発現解析

RACE 法により 1 クローンの DREB ホモログ遺伝子が単離され、*GIDREB1* と名付けた。単離された *GIDREB1* は DREB 遺伝子に特徴的な AP2 ドメインを有していた。また系統解析を行ったところ、*GIDREB1* は DREB A-5 family に属することが示された。

ハリギボウシゴケにおいて、人工的なストレス処理を行い *GIDREB1* の発現量の変化を調査した。乾燥および低温ストレス処理においては大きな発現変動を示さなかったのに対し、塩ストレス処理において処理後に一過的に約 160 倍の発現量の上昇を示した (図 3)。したがって、今回単離された *GIDREB1* は主に塩ストレスへの応答に関与していることが示唆された。

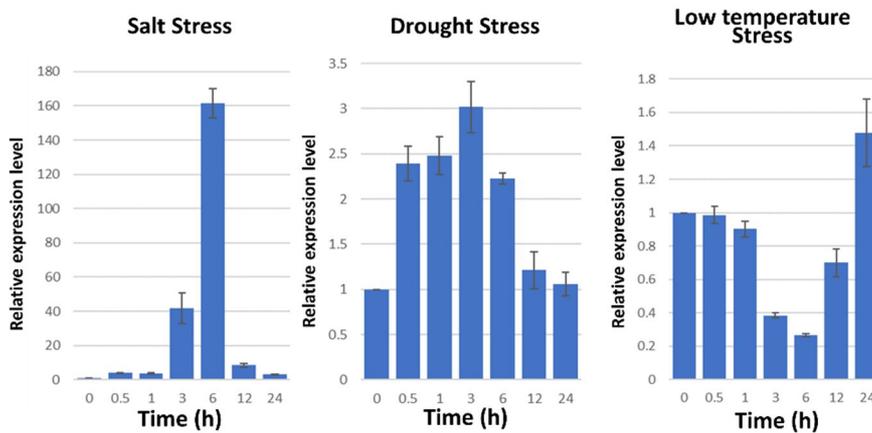


図3 塩，乾燥，低温ストレス処理における *GIDREB1* の発現解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Masahiro Otani, Sakae Kudoh, Satoshi Imura, Masaru Nakano
2. 発表標題 Transcriptome analysis of the common moss <i>Bryum pseudotriquetrum</i> under Antarctic field conditions
3. 学会等名 KAAB International Symposium 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruki Kitamura, Sakae Kudoh, Satoshi Imura, Masaru Nakano, Masahiro Otani
2. 発表標題 Isolation and characterization of a dehydration responsive element binding (DREB) transcription factor gene from the Antarctic moss <i>Grimmia lawiana</i>
3. 学会等名 ISFAE 2021 NIIGATA (国際学会)
4. 発表年 2021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
---------	---------