

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 1日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22770083

研究課題名（和文）陸上植物の2倍体多細胞体制の起源をシャジクモ藻類の遺伝子から探る

研究課題名（英文）Investigation on the origin and evolution of the diploid multicellular body plan of land plants by focusing on genes from charophycean green algae

研究代表者

坂山 英俊（SAKAYAMA HIDETOSHI）

神戸大学・大学院理学研究科・講師

研究者番号：60391108

研究成果の概要（和文）：

本研究では陸上植物の2倍体多細胞体制進化に焦点を絞り、陸上植物の姉妹群候補の一つであり、1倍体世代だけが多細胞体制を作るシャジクモ類シャジクモ (*Chara braunii*) の生活環の様々なステージにある細胞から8種のライブラリーを作成し、RNA-seq解析を実施した。本解析で得られたコンティグの中から、シャジクモ藻類にはこれまで見つかっていなかった、植物の発生上重要な遺伝子の相同遺伝子を多数見いだすことができた。これらの結果は、今後、さらに個々の遺伝子の系統解析および発現・機能解析を進め、2倍体多細胞体制獲得の鍵が何であったかを解明する基盤となる。

研究成果の概要（英文）：

In order to investigate the origin and evolution of the diploid multicellular sporophytes of land plants, in this study, we performed RNA-seq analysis from different tissues of *Chara braunii*, which has haploid multicellular gametophyte generation with complex differentiation of cell types and organs. Within contigs obtained in this study, we found many homologues of genes involved in plant development. The phylogenetic, expression and functional analyses in homologues obtained in this study may shed light on the key to understanding the origin and evolution of multicellular sporophytes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：進化、植物の体制進化



### 3. 研究の方法

本研究では生体材料として、陸上植物との類縁性が最も高く、1倍体が多細胞であり2倍体が単細胞であるシャジクモ類シャジクモ (*Chara braunii*) を用いた。

シャジクモから cDNA を作製し、陸上植物における主要な発生遺伝子の相同遺伝子を個別に単離することと平行して、生活環の様々なステージにある細胞から8種のライブラリーを作成し、「生命科学系3分野支援活動」(ゲノム研究分野)の協力を得て、次世代シーケンサー(イルミナ)により RNA-seq 解析を実施した。解析により得られた短リードはアセンブリープログラムによりアセンブルし、コンティグを得た。

シャジクモにおける相同遺伝子の構造を、既知の陸上植物のものと比較し、2倍体多細胞体獲得前後での遺伝子構造変化を確認し、遺伝子系統樹を構築し、相同遺伝子間の系統関係と遺伝子重複がある場合はそのパターンを確認した。生活環の各ステージでの cDNA を用い、遺伝子が発現しているステージ・発現細胞の特定を進めた。

### 4. 研究成果

シャジクモの生活環の様々なステージにある7種の細胞(栄養成長期、生殖器官形成直前期、生殖器官成熟前期、生殖器官成熟後期、リゾイド、接合子、プロトネマ)から合計8種のライブラリーを作成し、RNA-seq 解析により以下の配列を決定した。

- ① 栄養成長期 : 2,683,851 ペアリード
- ② 生殖器官形成直前 : 2,920,257 ペアリード
- ③ 生殖器官成熟前期 : 3,094,768 ペアリード
- ④ 生殖器官成熟後期 : 4,489,430 ペアリード、466,938 directional シングルリード
- ⑤ 接合子 : 3,594,123 ペアリード

⑥ プロトネマ : 2,786,269 ペアリード

⑦ リゾイド : 3,292,938 ペアリード

これまでに本解析で得られたシャジクモの短リード配列の ABySS を用いた *de novo* アセンブリーを実施した結果、200 bp 以上のコンティグについて、k=40 (コンティグ数=160,959、平均コンティグ長=485 bp、N50=564 bp、最大コンティグ長=10,993 bp) でコンティグ数が最大であり、k=58 (コンティグ数=107,828、平均コンティグ長=561 bp、N50=740 bp、最大コンティグ長=13,675 bp) で最大のコンティグ長が得られた。これらのコンティグの中から、陸上植物の発生に重要な遺伝子や陸上植物特異的と考えられている遺伝子と高い相同性を示す配列を多く見いだすことができた。今後、得られたシャジクモの配列データを用いて、陸上植物と他のシャジクモ藻類との比較解析および個々の遺伝子のシャジクモにおける詳細な機能解析を実施する計画である。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

- ① Yang, Y., Maruyama, S., Sekimoto, H., Sakayama, H. & Nozaki, H. An extended phylogenetic analysis reveals ancient origin of “non-green” phosphoribulokinase genes from two lineages of “green” secondary photosynthetic eukaryotes: Euglenophyta and Chlorarachniophyta. BMC Research Notes 4:330 (2011). DOI: [10.1186/1756-0500-4-330](https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-330)
- ② Kato, S., Misawa, K., Takahashi, F., Sakayama, H., Sano, S., Kosuge, K.,

Kasai, F., Watanabe, M. M., Tanaka, J. & Nozaki, H. Aquatic plant speciation affected by diversifying selection of organelle DNA regions. *Journal of Phycology* 47: 999-1008 (2011).

DOI:

[10.1111/j.1529-8817.2011.01037.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01037.x)

- ③ Kato, S., Sakayama, H., Morishima, H., Sano, S., Oomori, Y., Kato, N, Ito, M., Kasai, F, Watanabe, M. M. & Nozaki, H. 2010. Morphology and Molecular Phylogeny of *Chara altaica* (Charales, Charophyceae), a monoecious species of the section *Desvauxia*. *Cytologia* 75: 211-220 (2010).  
[https://www.jstage.jst.go.jp/browse/cytologia/75/2/\\_contents](https://www.jstage.jst.go.jp/browse/cytologia/75/2/_contents)
- ④ 坂山英俊. 植物の上陸作戦=シャジクモの辿った道. *BSJ-Review* 1: 30-35 (2010).  
<http://bsj.or.jp/frontier/BSJreview2/010A7.pdf>

[学会発表] (計9件)

- ① 坂山英俊・加藤将・樋口澄男・佐野郷美・野崎久義・川井浩史. 長野県および千葉県に生育するシャジクモ属 (シャジクモ目、シャジクモ科) の未記載種について. 第11回日本植物分類学会, 大阪学院大学 (大阪府), 2012年3月24日.
- ② 加藤将・川井浩史・柴田葵・坂山英俊. オオシャジクモ種内 (シャジクモ目シャジクモ科) の新規系統に関する分類学的研究. 第11回日本植物分類学会, 大阪学院大学 (大阪府), 2012年3月23日.
- ③ 西山智明・阿部淳・土金勇樹・坂山英俊・関本弘之. 次世代シーケンサーデータ の *de novo* アセンブリ解析. 第53回日本植物生理学会年会, 京都産業大学 (京

都府), 2012年3月17日.

- ④ Abe, J., Sakayama, H., Suzuki, Y., Toyoda, A., Tsuchikane, Y., Sekimoto, H. and Nishiyama, T. *Closterium* and *Chara* genome and transcriptome analyses. The International Plant & Animal Genome XX Conference, San Diego, USA, January 14, 2012.
- ⑤ 坂山英俊・西山智明. シャジクモ藻類のゲノム解析の現状とシャジクモ RNA-seq 解析から探る陸上植物の進化. 本植物学会第75会大会, 東京大学駒場キャンパス (東京都), 2011年9月18日.
- ⑥ 加藤将・柴田葵・坂山英俊. 絶滅危惧種の多様性情報学と域外保全技術開発に向けて～シャジクモ類を例に～. 第33回水草研究会全国集会, 群馬県立自然史博物館 (群馬県), 2011年8月20日.
- ⑦ 加藤将・坂山英俊. シャジクモ (*Chara braunii*) に見られる生態的2型の進化生物学的解析. 第33回水草研究会全国集会, 群馬県立自然史博物館 (群馬県), 2011年8月20日.
- ⑧ 楊 億・丸山真一郎・関本弘之・坂山英俊・野崎久義. 広範囲な分子系統解析は緑色系二次共生藻の光合成 PRK 遺伝子が緑色ではない藻類からの起源を示す. 日本藻類学会第35回大会, 富山大学 (富山), 2011年3月27日.
- ⑨ 柴田 葵・川井浩史・坂山英俊. 車軸藻類フラスコモ属の系統分類学的解析. 日本藻類学会第35回大会, 富山大学 (富山), 2011年3月27日.

[図書] (計1件)

- ① 坂山英俊・齊藤聖・柴田葵. 車軸藻類. レッドデータブックとつとり改訂版 - 鳥取県の絶滅のおそれのある野生動植物 - (鳥取県生物学会編). 176-180. 鳥取県

生活環境部公園自然課. 2012 (分担執筆).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂山 英俊 (SAKAYAMA HIDETOSHI)

神戸大学・大学院理学研究科・講師

研究者番号 : 60391108