

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：国際共同研究加速基金（国際活動支援班）

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21758

研究課題名（和文）植物発生ロジックの多元的開拓

研究課題名（英文）Multidimensional Exploration of Logics of Plant Development

研究代表者

塚谷 裕一（Tsukaya, Hirokazu）

東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・教授

研究者番号：90260512

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 33,300,000 円

研究成果の概要（和文）：植物発生ロジック研究戦略のひとつである進化軸への投射を中心に研究活動の国際化を推進した。陸上植物進化の基部に位置する苔類ゼニゴケをモデルに全ゲノム解析を行った。ゼニゴケは、環境応答や発生分化の基本的な制御遺伝子セットは保持しているが、その遺伝的冗長性が極めて低いことがわかった。ゲノム情報を活用するためのデータベースを開発・公開した。講習会を通じて実験手法を国際的に普及させ、国際共同研究を加速した。

研究成果の概要（英文）：We have built many international relationships and collaborations to promote our evolutionary biological approach for plant sciences and molecular biology, which is one of the main research strategies of “The Logics of Plant Development”. We revealed the whole genome structure of *Marchantia polymorpha*, a liverwort species in the basal lineages of land plants. *M. polymorpha* had a complete set of regulatory genes for environmental responses and plant development with a minimum genetic redundancy. We also developed an open database for the *M. polymorpha* genome information. We have organized many international training courses to promote the molecular techniques for the *M. polymorpha* study and the international research collaborations.

研究分野：生物系 / 遺伝 / 植物形態・構造 / 植物生理・分子 / 植物分子生物・生理学 / 系統・分類

キーワード：植物発生 ゼニゴケ 発生ロジック 代謝発生生物学 国際拠点

## 1. 研究開始当初の背景

日本は、植物科学を牽引するシロイヌナズナの分子遺伝学研究において、アメリカ、イギリス、ドイツとともに世界の中心的な役割を担ってきた。近年、シロイヌナズナで得られた基礎研究の成果を、エネルギー問題や食糧問題の解決へ向けるといふ研究のシフト傾向は欧米で顕著となっており、植物科学への期待の大きさがうかがえる。一方、中国を始めとする新興国が急速に台頭し、世界の牽引役として取って代わろうという勢いを見せつつある。そのなかで、日本では科研費制度により基礎研究が支援され、植物の発生および環境応答分野においては世界的にも高い水準の研究が展開されている。

本新学術領域は、シロイヌナズナを題材とした発生生物学の確固たる実績に加え、イネ・ゼニゴケのような別システムへの投射、メタボロームによる代謝と発生の接点、本質経路を抽出するための数理解析といった、世界的にも例をみない多元的な解析を取り入れた研究展開を進めており、既に国際活動支援の申請時には世界をリードする成果をもたらしつつあった。これを背景に、この国際活動支援班を組織することにより、国際的にも最先端レベルにある本領域研究を世界的に展開することで、将来的にも国際的に強い影響力とフロンティアを開拓することが期待されていた。

## 2. 研究の目的

本領域では、上述のように植物の生命現象の本質的なロジックを解くための多元的戦略のひとつとして、ゼニゴケやイネといった別システムへ投射する戦略を立てていた。ゼニゴケは陸上植物進化の基部に位置するタイ類の一種という進化上の位置づけに加えて、ゲノム構成の単純さと遺伝子破壊・遺伝子編集の容易さといった実験的なアプローチへのモデルとしての理想的な特徴を備えている。陸上植物の進化的成立と変遷を視野に入れ、植物に共通する未解明で重要な現象に関して、ゼニゴケを用いることで迅速にその仕組みを解き、その知見は速やかにシロイヌナズナやイネといった被子植物に展開することも可能であると考えた。

次世代シーケンサーの登場によって、多様な生物においてモデル生物の知見を利用した比較と検証の手法を取る研究が世界的に急速に展開している。しかし、多くの生物種では実験手法が整備されていないため実験的な証明が困難であり、塩基配列の解析からの推定にとどまることが多い。それに比して陸上植物の基部に位置する苔類のモデルであるゼニゴケは、遺伝子重複が極めて少なく、体制が単純であるため、植物の根源的システムを抽出するのに適している。本領域の計画班活動により、アグロバクテリアを介した高

効率形質転換系の確立を端緒として、相同組換えに基づく遺伝子破壊系や CRISPR/Cas によるゲノム編集実験系の開発を進め、実験生物としての研究基盤を整備してきた。これらの実験手法は日本国内で開発したものであり、ゼニゴケは数少ない日本発のモデル生物といえる。これらの技術基盤の整備を背景に、近年多くの新しい知見が得られ、それを見てゼニゴケの実験系に興味をもつ研究者が世界的にも増加している。

本国際活動支援では、このような進化軸に基づく研究に関して日本を世界拠点とするための国際活動を強力に推進し、この潮流を世界標準とすることを計画した。

## 3. 研究の方法

### (1) 若手研究者の相互交流

海外研究室への研究者派遣：計画班および公募班から共同研究を進めている海外の研究室へ研究者を派遣し、国際共同研究を推進する。海外からの博士研究員の受け入れ：海外の若手研究者を計画班員の研究室へ受け入れ、共同研究を進める。

### (2) 短期ラボ実習（トレーニングコース）

約2週間のゼニゴケを用いた分子遺伝学実験のトレーニングコースを開催する。海外から受講生を受け入れ、ゼニゴケの培養、形質転換、ゲノム編集などに関する実習を行う。また、班員との共同研究のための個別課題に関する研究打ち合わせを行う。また、トレーニングコースに、海外と国内からトップレベルの研究者を招聘し、ラボ実習における特別講義と受講生との議論を行なうとともに、実質的な研究交流を深める。

### (3) 共同研究推進のための研究交流

上記の機会を利用して、共同研究のための研究交流を推進する。特にゼニゴケゲノムの解読作業がほぼ完了している段階では、配列データから意味のある知識を抽出する解析の過程が重要である。そのため、国際的な共同研究として、ゲノムのデータ解析を進める。

最終年度には成果の取りまとめと今後の共同研究推進のため、PIクラスの研究者を招聘し、国内外の研究者との共同研究の議論と将来計画を議論する場を設定する。招聘者を班員が共同研究を進める海外の先導的な研究者に厳選する。国際共同研究の取りまとめと今後の展開に向けた綿密な議論を行うことで一時的な交流にとどまらないように進める。また、この招聘に合わせて、公開の国際シンポジウムを開催し、成果の幅広い発信にも活用する。

### (4) データベースを用いた国際情報発信

モデル生物では、それぞれのバイオリソースの入手、実験手法の共有、そして、発現データの収集と公開、ゲノム情報の情報発信と更新のためのデータベースが、研究基盤資源として整備され、公開活用されている。国立遺伝学研究所は欧米と連携して DNA データベ

ース(DDBJ)を維持公開している。そこで、国立遺伝学研究所と連携し、モデル生物ゼニゴケの実験データと情報発信の拠点となるデータベースを立ち上げる。

データベースは、ゲノム情報のみならず、ゲノムのアノテーションの更新や遺伝子の命名法の統一も行う。また、RNA-Seq や ChIPseq を用いた解析データは、論文として公開されるだけでなく、生データを収集・公開することで、研究コミュニティにおける有効活用が促進される。ゼニゴケゲノムデータベースに、遺伝子発現データの収集および解析機能を加える。

#### 4. 研究成果

##### (1) 研究コミュニティによるゼニゴケ遺伝子命名法の提言

ゼニゴケは生物学のモデルとして長い研究の歴史があるが、近年のゲノム解析の急激な発展を背景に急速に研究者が増加している。そこで、遺伝子・タンパク質・突然変異体の標記に関する統一な規則を設定し、研究コミュニティに広めることが急務とされていた。そこで、国内外の研究者と連携し、ゼニゴケ遺伝子や導入遺伝子の命名法を提言し、論文として公表した (Plant Cell Physiol. 57:257-261, 2016)。また、遺伝子名の重複を避けるため、新たに遺伝子を発見した時に名前を登録するシステムを WEB 上に構築し、公開と運用を開始した (<http://marchantia.info/nomenclature/>)。このシステムを利用することで、文献における無用な遺伝子名の重複や標記の混乱を避けることが期待される。

##### (2) ゼニゴケゲノム解析の国際共同研究

陸上植物はシャジクモの仲間である水中の多細胞藻類が陸上進出することで誕生した。その過程では生化学的な過程や生理応答の継承と獲得があったと考えられる。また、陸上化した後は、現在の被子植物の繁栄にいたる新たな機能獲得と喪失があったと予想される。また、この過程では、単相世代のみの生活環に複相世代を誕生させ、さらに複素世代を中心とした生活環へと変化した。そのような進化的変遷をとらえるにはゲノム解析が有効である。ゼニゴケのゲノム解析は米国エネルギー省の Joint Genome Institute のコミュニティプログラムとして 2008 年に開始されていた。次世代シーケンサーを利用して、ゼニゴケのゲノム解析とトランスクリプトミクス解析を進めていた。国際支援班活動が開始した時点では、基本的な解読作業を完了しており、個々の研究者が配列を深く解析し、抽出された知識を成果を取りまとめて公開することが必要であった。本国際活動支援班の開始を機に、コミュニティによる解析を加速した。標準的な比較ゲノムのための生物種に対する相同遺伝子抽出のプログラムを提供し、共通の方法で分子進化系統樹を作成

するといった効率的な解析支援を行った。比較ゲノム解析の結果、ゼニゴケはシャジクモの仲間を共通の祖先として、新たに様々な生化学過程や植物ホルモン信号伝達やペプチドと受容体の伝達系などを獲得し、信号伝達のレパートリーを増やしたこと、なかでも転写制御因子に関しては被子植物と共通する基本的なセットを有しながらも、その遺伝的な冗長性が低いことがわかった。専門分野が異なる植物研究者が国際的に共同してゲノム解析を進めることで、陸上植物の共通の祖先がもつ遺伝制御の原型を推定することができた (図 1)。この成果は、国内外 39 の大学・研究機関の共同として公表した (Cell 171:287-304, 2017)。

##### 植物の陸上進出 (約 5 億年前)



図 1. 植物の陸上化における機能獲得

##### (3) ゼニゴケゲノムデータベースの公開

ゲノム解析で得られた情報は、ゼニゴケの分子遺伝学研究的基盤として重要である。ゲノム情報を十分に活用するには、アクセスが容易で、使いやすい形でデータを公開することが重要である。そこで、生命科学情報データ解析の専門家の協力を得て、ゲノムデータや発現データを収録したデータベース MarpolBase を開発し、国立遺伝学研究所を拠点に公開した (図 2、<http://marchantia.info>)。このデータベースは、本新学術領域の終了以降も、遺伝子登録や機能解析研究の拠点として、国際的プレゼンスと情報発信に貢献することが期待される。

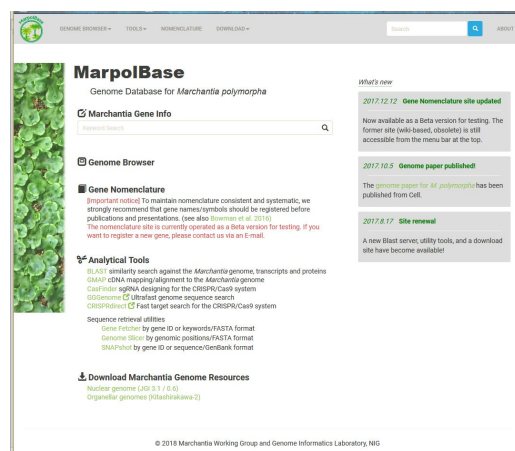


図 2. ゼニゴケゲノムデータベース MarpolBase

(4) ゼニゴケ実験法国際トレーニングコースを核とする研究者交流と共同研究  
平成 27 年および平成 28 年に海外からの研究者を招聘しゼニゴケの実験法に関するトレーニングコースを開催した。また、平成 29 年には、国内外の研究者が広く議論するための国際ワークショップとゲノムデータベースに関する実務会議を行った。国際トレーニングコースやワークショップには多数の若手研究者が参加し、活発な交流が行われた。その結果、密な共同研究が生まれた。その結果、例えば、植物のストレスホルモンであるジャスモン酸の受容と信号伝達の起源と進化を明らかにしたスペインのグループとの研究 (Nature Chem. Biol. 14:480-488, 2018) があげられえる。その他にもさまざまな共同研究が進められた(発表論文・学会発表の項を参照)。

#### (5) 若手研究者の相互交流

計画班および公募班から、それぞれ共同研究を進めている海外の研究室へ若手研究者を派遣した。(都築正行博士: ミシガン大、井上佳祐博士および肥後あすか博士: Gregor Mendel Institute)

また海外の研究者および若手博士研究員を計画班研究室に受け入れ、共同研究を進めた。(Dr. Guodong Wang :大阪大学, Drs. Pin Guo, Xiaofeng Yin: 東京大学)

#### 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 10 件)

Monte I, Ishida S, Zamarrano AM, Hamberg M, Franco-Zorrilla JM, Garcia-Casado G, Gouhier-Darimont C, Reymond P, Takahashi K, Garcia-Mina JM, Nishihama R, Kohchi T, Solano R (2018) Ligand-receptor co-evolution shaped the jasmonate pathway in land plants. Nat Chem Biol 14:480-488. 査読有

doi: 10.1038/s41589-018-0033-4

Kato H, Nishihama R, Weijers D, Kohchi T (2018) Evolution of nuclear auxin signaling: lessons from genetic studies with basal land plants. J Exp Bot 69:291-301 査読有

doi: 10.1093/jxb/erx267

Linde AM, Eklund DM, Kubota A, Pederson ERA, Holm K, Gyllenstrand N, Nishihama R, Cronberg N, Muranaka T, Oyama T, Kohchi T, Lagercrantz U (2017) Early evolution of the land plant circadian clock. New Phytol 216:576-590 査読有

doi: 10.1111/nph.14487

Bowman JL, Kohchi T, Yamato KT, et al. (2017) Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome. Cell 171:287-304.e215. 査読有

doi: 10.1016/j.cell.2017.09.030

Berger F, Bowman JL, Kohchi T (2016) *Marchantia*. Curr Biol 26:R186-187 査読無

doi: 10.1016/j.cub.2015.12.013

Bowman JL, Araki T, Arteaga-Vazquez MA, Berger F, Dolan L, Haseloff J, Ishizaki K, Kyojuka J, Lin SS, Nagasaki H, Nakagami H, Nakajima K, Nakamura Y, Ohashi-Ito K, Sawa S, Shimamura M, Solano R, Tsukaya H, Ueda T, Watanabe Y, Yamato KT, Zachgo S, Kohchi T (2016) The naming of names: guidelines for gene nomenclature in *Marchantia*. Plant Cell Physiol 57:257-261

doi: 10.1093/pcp/pcv193 査読有

Lin PC, Lu CW, Shen BN, Lee GZ, Bowman JL, Arteaga-Vazquez MA, Liu LY, Hong SF, Lo CF, Su GM, Kohchi T, Ishizaki K, Zachgo S, Althoff F, Takenaka M, Yamato KT, Lin SS (2016) Identification of miRNAs and their targets in the liverwort *Marchantia polymorpha* by Integrating RNA-seq and degradome analyses. Plant Cell Physiol 57:339-358 査読有

doi: 10.1093/pcp/pcw020

Lo JC, Tsednee M, Lo YC, Yang SC, Hu JM, Ishizaki K, Kohchi T, Lee DC, Yeh KC (2016) Evolutionary analysis of iron (Fe) acquisition system in *Marchantia polymorpha*. New Phytol 211:569-583 査読有

doi: 10.1111/nph.13922

Proust H, Honkanen S, Jones VA, Morieri G, Prescott H, Kelly S, Ishizaki K, Kohchi T, Dolan L (2016) RSL class I genes controlled the development of epidermal structures in the common ancestor of land plants. Curr Biol 26:93-99 査読有

doi: 10.1016/j.cub.2015.11.042

Tsuzuki M, Nishihama R, Ishizaki K, Kurihara Y, Matsui M, Bowman JL, Kohchi T, Hamada T, Watanabe Y (2016) Profiling and characterization of small RNAs in the liverwort, *Marchantia polymorpha*, belonging to the first diverged land plants. Plant Cell Physiol 57:359-372 査読有

doi: 10.1093/pcp/pcv182

[学会発表](計 16 件)

Takashi Araki, Asuka Higo, Tomokazu Kawashima, and Frederic Berger. Role of DUO1 in male gamete development in land plants. The 65th NIBB Conference/International *Marchantia* Workshop 2017 2017.12.16-18

Takayuki Kohchi, Yoshihiro Yoshitake, Keisuke Inoue, Tomotsugu Imahori, Shohei Yamaoka, and Ryuichi Nishihama. Light regulated induction of sexual reproduction in *Marchantia polymorpha*. The 65th NIBB

Conference /International Marchantia Workshop 2017, 2017.12.16-18

Tetsuya Hisanaga, Keitaro Okahashi, Shohei Yamaoka, Ryuichi Nishihama, Tatsuaki Go, Takayuki Kohchi, and Keiji Nakajima. A MYB transcription factor controls female sexual differentiation in Marchantia polymorpha. The 65th NIBB Conference/ International Marchantia Workshop 2017 2017.12.16-18

Pin Guo, Tomoyuki Furuya, Takayuki Kohchi, Takehiko Kanazawa, Takashi Ueda, and Hirokazu Tsukaya. Analysis of RTFL family function on the control of rhizoid development in Marchantia polymorpha. The 65th NIBB Conference/ International Marchantia Workshop 2017 2017.12.16-18

Takayuki Kohchi. Evolution of light regulated reproductive growth in plants. Asia and Oceania Conference on Photobiology. Seoul, South Korea 2017.11.12-15

Takayuki Kohchi. Molecular genetics and genomics of the liverwort Marchantia polymorpha. Taiwan-Japan Plant Biology 2017. Academia Sinica, Taipei, Taiwan. 2017.11.3-5, 2017

Takayuki Kohchi. Regulation of growth-phase transition and sex determination in the liverwort Marchantia polymorpha. France-Japan Bilateral Symposium on Developing plant in its environment. Lyon, France 2017.10.22-25

Keisuke Inoue, Ryuichi Nishihama, Kimitsune Ishizaki, Takayuki Kohchi, Evolutionarily conserved light- dependent transcriptional regulatory mechanism in the liverwort Marchantia polymorpha. EMBO Workshop: New model systems for early land plant evolution, Austria, 2016.06.22-24

Asuka Higo, Katsuyuki Yamato, Tomokazu Kawashima, Kimitsune Ishizaki, Takayuki Kohchi, Frederic Berger, and Takashi Araki, Analysis of the genes for plant spermiogenesis using a liverwort Marchantia polymorpha EMBO Workshop: New model systems for early land plant evolution, Austria, 2016.06.22-24

Eri Koide, Mika Terai, Yuko Nomura, Izumi Yotsui, Noriyuki Suetsugu, Hirofumi Nakagami, Ryuichi Nishihama, Takayuki Kohchi, Identification of a Raf-like kinase involved in photosynthesis signaling in Marchantia polymorpha EMBO Workshop: New model systems for early land plant evolution, Austria, 2016.06.22-24

Hidemasa Suzuki, Hirotaka Kato, Shohei Yamaoka, Ryuichi Nishihama, Takayuki Kohchi, The single-copy auxin receptor gene MpTIR1 plays pivotal roles

indevelopment of the liverwort Marchantia polymorpha. EMBO Workshop: New model systems for early land plant evolution, Austria, 2016.06.22-24

Rui Sun, Keisuke Inoue, Ryunosuke Kusunoki, Ryuichi Nishihama, Shohei Yamaoka, Takayuki Kohchi, Functional Analysis of the gibberellin signaling module in the liverwort Marchantia polymorpha. EMBO Workshop: New model systems for early land plant evolution, Austria, 2016.06.22-24

Takayuki Kohchi, Katsuyuki Yamato, Kimitsune Ishizaki, Shohei Yamaoka, Ryuichi Nishihama, John Bowman, Genome and Genomics in Marchantia polymorpha. EMBO Workshop: New model systems for early land plant evolution, Austria, 2016.06.22-24

Takashi Araki, Transcription factors involved in male germline development in Marchantia polymorpha. EMBO Workshop: New model systems for early land plant evolution, Austria, 2016.06.22-24

Kimitsune Ishizaki, Molecular Genetics of gemma and gemma-cup development in the liverwort Marchantia polymorpha. EMBO Workshop: New model systems for early land plant evolution, Austria, 2016.06.22-24

Ryuichi Nishihama, Yukie Monden, Hiroyuki Kirita, Kimitsune Ishizaki, Takayuki Kohchi, Shared regulatory factors for stem cell maintenance in the simple and complex meristems of land plants, EMBO Workshop: New model systems for early land plant evolution, Austria, 2016.06.22-24

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
該当なし

〔その他〕  
ホームページ等  
Marchantia Gene Nomenclature (ゼニゴケ遺伝子名の登録サイト)  
<http://marchantia.info/nomenclature/>

MarpolBase (ゼニゴケゲノムデータベース)  
<http://marchantia.info/>

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

塚谷 裕一 (TSUKAYA, Hirokazu)  
東京大学・大学院理学系研究科・教授  
研究者番号 : 90260512

### (2)研究分担者

河内 孝之 (KOHCHI, Takayuki)  
京都大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号： 40202056

(4)研究協力者

Frederic BERGER  
グレゴールメンデル研究所・主任研究員

荒木 崇 (ARAKI, Takashi)  
京都大学・大学院生命科学研究科・教授

中村 保一 (NAKAMURA, Yasukazu)  
国立遺伝学研究所・生命情報研究センター・教授

John L. BOWMAN  
モナシュ大学・生物科学部・教授

Liam DOLAN  
オックスフォード大学・植物科学部門・教授

Ueli GROSSNIKLAUS  
チューリッヒ大学・植物科学微生物学部門・教授

Shihshun LIN  
国立台湾大学・バイオテクノロジーセンター・准教授

Roberto SOLANO  
スペイン国立研究機構・国立バイオテクノロジーセンター・教授

Dolf WEIJERS  
ワーヘニンゲン大学・生化学部門・教授