

令和元年6月14日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K06901

研究課題名(和文) 野生植物集団におけるゲノムの時空間変異：ゲノム生物学と野外生物学の統合

研究課題名(英文) Spatio-temporal genomic variation in wild plants: Integration of genome and field biology

研究代表者

森長 真一 (MORINAGA, Shin-Ichi)

日本大学・生物資源科学部・助教

研究者番号：80568262

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：モデル植物シロイヌナズナと同属の野生植物であるハクサンハタザオを対象に、日本各地から採取した複数個体を用いて、各環境に対して空間的に変異する適応遺伝子を網羅的に探索することを試みた。まずはじめに、採取した個体の全ゲノムデータから、集団構造を考慮に入れたゲノムワイド関連解析により適応遺伝子を明らかにした。加えて、その適応遺伝子の対立遺伝子の分布データと採取地点付近における環境データを用いて、地理情報システム上でモデル化をおこない、将来の環境下における分布を予測した。さらにはモデル植物とは遠縁の植物を用いて、ハクサンハタザオにおける研究アプローチが適用できるかを試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

広域的な分布を持つ生物種は、時間的に変動する多様な環境に対して、局所的に適応することで分布範囲を拡大させてきたと考えられる。これまで、このような環境適応を担う遺伝子を直接解析することは、技術的に大きな困難を伴っていた。しかしながら本研究では、近年になって広く普及した次世代シーケンサーを用いて大量のDNA配列を解析することで、同一種内の複数個体の全ゲノム解読をおこなった。また、高性能でなおかつ安価な計算機を用いることで、大量のDNA配列データ解析と将来予測のための統計モデル解析から、適応遺伝子に基づく分布予測をおこなった。

研究成果の概要(英文)：Adaptive genes were researched in *Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera*, close to a model plant *Arabidopsis thaliana*, collected from various environments in Japan. First, genome-wide association study taking account of population structure was used to clarify adaptive genes from whole genome sequencing data of collected multiple individuals. In addition, using the distribution data of alleles of the adaptive genes and environmental data in the collection point, modeling was performed on the geographic information system (GIS) to predict the distribution in the future environment. Furthermore, using plants that are far from model plants, I tried to apply the research approaches in *A. halleri* subsp. *gemmifera*.

研究分野：生態ゲノム学

キーワード：シロイヌナズナ近縁種 集団ゲノム解析 ニッチモデリング

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

1. 研究開始当初の背景

生物を取り巻く環境は様々で、寒冷地から温暖地、湿潤地から乾燥地、森林から草原、低地から高地、河川から海洋など多岐にわたっている。広域的な分布を持つ生物種は、時間的な環境変動の中で、これらの多様な環境に対して局所的に適応することで、分布を拡大してきたと考えられる。このような野外環境に対する適応を遺伝子レベルで解析することにより、適応の仕組みをより詳細に明らかにできると考えられてきたが、近年に至るまで技術的に大きな困難を伴っていた。

しかしながら、次世代シーケンサーの開発と普及に伴い、ごく短期間かつ低コストで大量の DNA 配列を解析することが可能となり、同一種内の複数個体における全ゲノム解読が現実のものとなってきていた。また、計算機の性能向上によって、大量の DNA 配列データの解析技術や将来予測のための統計モデルの開発・適用がすすみ、適応遺伝子に基づく分布予測も可能となってきていた。

2. 研究の目的

本研究では、モデル植物シロイヌナズナと同属の野生植物であるハクサンハタザオ (*Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera*, 図 1) を対象に、全国各地から採取した複数個体を用いて、各環境に対して空間的に変異する適応遺伝子を網羅的に探索することを試みた。まずはじめに、全ゲノムデータから、集団構造の把握と適応遺伝子の探索をおこなった。さらに、適応遺伝子のもつ対立遺伝子の分布データと採取地点付近における環境データを用いて地理情報システム (GIS) 上でモデル化をおこない、将来の環境下における分布を予測した。加えて、モデル植物から遠縁の複数の植物を対象に、ゲノムワイドデータを取得して適応遺伝子を探索した。これら一連の研究を通じて、野生植物集団における時空間的なゲノム変異を明らかにし、ゲノム生物学と野外生物学の統合を目指すことを目的とした。



図 1: ハクサンハタザオの種内変異

3. 研究の方法

(1) ゲノムの空間的変異

全国約 80 地点から 1 個体ずつを収集し、次世代シーケンサーのイルミナ HiSeq2000 で全ゲノム解析をおこなった。得られた配列を構築済みのリファレンスゲノムにマッピングしたところ、各個体あたり 17~32 万箇所の一塩基多型 (SNP) を検出した。これらの SNP の中から集団間で共通する約 10 万 SNP をもとに、ハクサンハタザオの日本全域スケールでの集団構造解析をおこなった。

(2) 適応遺伝子の探索

集団構造を考慮した上での環境情報と遺伝子型のゲノムワイド関連解析により、適応遺伝子の網羅的な探索をおこなった。そして、地理情報システムデータから日本全国にある各採取地点の環境情報を抽出し、環境変数とゲノムワイドな対立遺伝子頻度との相関関係を解析した。

(3) 将来予測

地理情報システムデータから日本全国の各採取地点の環境情報を抽出し、得られた適応候補遺伝子のもつ対立遺伝子の分布に基づいて生態ニッチモデリング (Morinaga et al. 2014) をおこなった。また、これまでに開発されてきた気候モデルで推定されている将来の環境を適用することで、将来における各対立遺伝子の分布予測をおこなった。

(4) 広範な植物種への適用

ハクサンハタザオを用いた研究アプローチを、より広範な野生植物種において適用させるべく、モデル植物とは遠縁な野生植物 2 種を対象にゲノムワイドな SNP 解析を試みた。次世代シーケンサーのイルミナ MiSeq を用いて複数個体のゲノム断片を解読した。取得したショートリード配列をアセンブルし、SNP コールをおこなった。そして、得られた SNP から集団構造解析や適応遺伝子探索等をおこなった。

4. 研究成果

(1) ゲノムの空間的変異

各個体の地理的分布を考慮に入れたベイジアンクラスタリング解析を行ったところ、中部地方と東北地方を境に南北 2 つの分集団に分かれることが明らかになった。また、同様の遺伝的分化パターンは PCA 解析・近隣結合法による系統解析でもおおそ支持され、他の日本産高山植

物と同様に、氷期における分布拡大と間氷期における高地への退避によって集団分化が生じたと考えられた。

ハクサンハタザオは標高 2000m を超える山岳地帯にも分布する一方で、低標高域にも広く分布していることから、氷期 - 間氷期サイクル以降も環境適応によって分布域を広げたことが示唆される。さらに、南北の分集団間では気温を中心として生育環境が大幅に異なること、2 つの分集団の交雑地帯が境界域に限定されることから、適応形質も南北の分集団間で分化していることが予想された。

(2) 適応遺伝子の探索

ゲノムワイド関連解析の結果、地理的な環境変異と相関のある遺伝子が複数検出され、中にはモデル植物であるシロイヌナズナにおいて、環境ストレスに応答することがすでに知られている機能遺伝子も含まれていた。いくつかの環境変数においては、複数の SNP が非常に高い相関を示しており、いずれもひとつの遺伝子上に位置していた。この遺伝子は、シロイヌナズナにおいて環境ストレスに応答することが知られていることから、広域スケールでの環境ストレスへの適応を担う遺伝子であると考えられる。

これらの遺伝子は、これまでの研究においておこなってきた標高差を対象にした局所スケールでの解析で得られた種々の適応遺伝子とは異なっていた。このことから、同一種内においても、広域スケールと局所スケールでは環境適応に関与する適応遺伝子が異なることも明らかとなった。また、環境変化に応答する適応遺伝子の種類には多様性があり、気候変動のような広域的な環境変化と土地開発のような局所的な環境変化では、分布域の拡大縮小に与える遺伝的な仕組みが異なることも示唆された。

(3) 将来予測

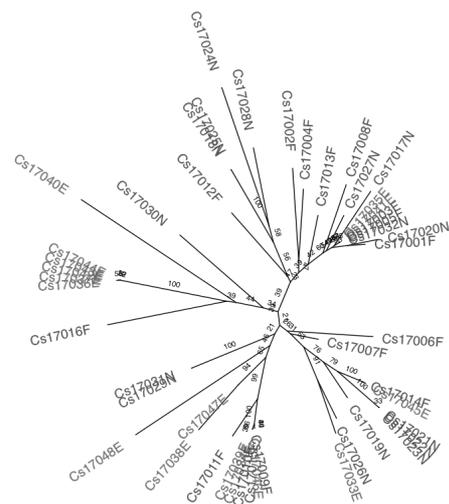
生態ニッチモデリングを用いた将来予測の結果、今後予測されている環境の変化によって、全体として、現在よりも分布が高緯度地域および高標高地域に移動することが示唆された。これらは従来型の種の分布予測の結果と一致していた。ただし、対立遺伝子の違いによって、気候変動後の分布予測が大きく異なることが示された。この結果は、同一種内であっても、集団ごとの適応遺伝子の対立遺伝子組成などによって環境変化に対する生態学的な応答が異なることを示している。

一方、現在の環境を想定したモデル上においては、現時点で分布がみられない地域においても、「分布する」と推定されることもあり、モデルのさらなる改良が必要である。また気候変動のみならず、土地の開発などの人為的な環境変化をも組み込んだ将来予測を行うことで、より現実的な予測へとつなげる必要がある。

(4) 広範な植物種への適用

SNP 情報を用いてベジアンクラスタリングによる解析をおこなったところ、種ごとに生育地との関連性が異なる事が明らかとなった。また、近隣結合法による系統解析(図 2)によっても、それらの結果は支持された。これらの解析から、生活史が類似しなおかつ近縁な二種であるにもかかわらず、植物種ごとに集団構造の違いが見られる事が分かった。

一方、本解析では得られた SNP 数が少なかったため、適応遺伝子の探索を効率的におこなうことは不可能であった。また、モデル生物とは遠縁な植物種であったため、遺伝子機能を推定する事も困難であった。今後は、ロングリードシーケンサーとショートリードシーケンサーを組み合わせる事で、高精度なリファレンスゲノムを作成し、それに基づいたゲノムワイド SNP 解析をおこなう事で、これらの問題を解決できると考えられる。



Journal of Plant Research. 査読あり
<https://doi.org/10.1007/s10265-019-01088-9>
 Hanada, K., Tezuka, A., Nozawa, M., Suzuki, Y., Sugano, S., Nagano, A. J., Ito, M., Morinaga, S.-I. 2018. Functional divergence of duplicate genes several million years after gene duplication in *Arabidopsis*. DNA Research. 25:327-339. 査読あり
<https://doi.org/10.1093/dnares/dsy005>
 久保田涉誠・伊藤元己・森長真一 2017. 100 年前の標本を使用した全ゲノム解析 進化を直接観察する. 生物の科学 遺伝. 71: 448-453. 査読なし
 ISBN : 978-4-86043-487-8
 彦坂幸毅・森長真一・小口理一・永野聡一郎・見塩昌子・上妻馨梨・藤井伸治・須藤恵美・石塚航・田島直幸・尾崎洋史・Wang Q-W・花田耕介 2017. 自然変異に学ぶ適応のしくみ: アブラナ科植物の種内変異を用いたアプローチ (in アブラナ科植物の基礎研究と応用研究のネットワーク構築を目指して). 育種学研究 19:24-25. 査読なし
<https://doi.org/10.1270/jsbbr.19.21>
 Wang, Q.-W., Ozaki, H., Nagano, S., Morinaga, S.-I., Hidema, J., Hikosaka, K. 2016. Functional differentiation in UV-B-induced DNA damage and growth inhibition between highland and lowland ecotypes of two *Arabidopsis* species. Environmental and Experimental Botany. 131:110-119. 査読あり
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.07.008>
 Nishio, H., Buzas, D. M., Nagano, A. J., Suzuki, Y., Sugano, S., Ito, M., Morinaga, S.-I., Kudoh, H. 2016. From the laboratory to the field: assaying histone methylation at FLOWERING LOCUS C in naturally growing *Arabidopsis halleri*. Genes & Genetic Systems. 91:15-26. 査読あり
<https://doi.org/10.1266/ggs.15-00071>
 Kubota, S., Iwasaki, T., Hanada, K., Nagano, A. J., Toyoda, A., Fujiyama, A., Sugano, S., Suzuki, Y., Hikosaka, K., Ito, M., Morinaga, S.-I. 2015. A genome scan for genes underlying microgeographic-scale local adaptation in a wild *Arabidopsis* species. PLOS Genetics. 11: e1005361. 査読あり
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005361>

[学会発表](計 17 件)

吉田直史・若宮健・鳥居怜平・小口理一・石井悠・藤井伸治・久保田涉誠・森長真一・花田耕介・河田雅圭・彦坂幸毅「標高間変異における選択と遺伝子流動の影響力の評価: ハクサンハタザオの全ゲノムから」日本生態学会第 66 回大会、兵庫県神戸市、神戸国際会議場、2019 年 3 月 17 日。
 久保田涉誠・岩崎貴也・永野惇・花田耕介・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一「植物乾燥標本をリシーケンスする際に気をつけたいこと」日本植物分類学会第 18 回大会、東京都八王子市、首都大学東京、2019 年 3 月 9 日。
 木村拓真・柿澤幸江・森長真一・牧雅之「異なる標高に分布するカワラナデシコ種内分類群の分子系統地理: 高嶺の花のルーツを探る」日本植物分類学会第 18 回大会、東京都八王子市、首都大学東京、2019 年 3 月 7 日-8 日。
 代抒凝・小口理一・森長真一・彦坂幸毅「侵入種ミチタネツケバナと在来種タネツケバナの葉の機能形質の種内変異と生息地環境依存性」東北植物学会第 8 回大会、青森県弘前市、弘前大学、2018 年 12 月 8 日。
 吉田直史・若宮健・鳥居怜平・小口理一・石井悠・藤井伸治・久保田涉誠・森長真一・花田耕介・河田雅圭・彦坂幸毅「標高間変異における自然選択と遺伝子流動の影響力の評価: ハクサンハタザオの全ゲノム解析から」東北植物学会第 8 回大会、青森県弘前市、弘前大学、2018 年 12 月 8 日。
 吉田直史・小口理一・藤井伸治・久保田涉誠・森長真一・花田耕介・彦坂幸毅「ハクサンハタザオの局所適応解析: 機能遺伝子の観点から」東北植物学会第 7 回大会、岩手県盛岡市、岩手大学、2017 年 12 月 9 日-10 日。
 久保田涉誠・伊藤元己・森長真一「100 年前の標本を使用した全ゲノム解析: 進化を直接観察する」第 64 回日本生態学会大会、企画集会「過去の生物多様性を観る・測る: Museomics による標本情報の活用」, 東京都、早稲田大学、2017 年 3 月 16 日。
 森長真一「野生植物のゲノムから生態進化を読み解く」, 平成 28 年度日本大学学部連携研究推進シンポジウム「次世代シーケンシングからのメッセージ~この 10 年でわかったゲノムのいろいろ、そしてこれから?~」、東京都、日本大学、2017 年 2 月 18 日。
 尾崎洋史・小口理一・上林真実・森長真一・彦坂幸毅「一塩基多型情報を用いた侵入種の緯度に沿った遺伝的背景の解析」日本植物学会第 80 回大会、沖縄県宜野湾市、沖縄コンベンションセンター、2016 年 9 月 16 日-18 日。
 久保田涉誠・岩崎貴也・三浦憲人・永野惇・花田耕介・松葉史紗子・宮下直・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一「ゲノム情報を利用した野生植物の適応力多様性評価」第 63 回日本生態学会大会、仙台市、仙台国際センター、2016 年 3 月 24 日。

上林真実・小口理一・尾崎洋史・森長真一・彦坂幸毅「近縁な在来種と侵入種における耐凍性と低温順化能力の集団間分化」第63回日本生態学会大会、仙台市、仙台国際センター、2016年3月22日。

Qing-Wei Wang・尾崎洋史・永野聡一郎・森長真一・日出間純・彦坂幸毅「UV-B-induced damage on DNA and growth in highland and lowland ecotypes of Arabidopsis species」日本植物学会第79回大会、新潟県新潟市、朱鷺メッセ新潟、2015年9月7日。

〔図書〕(計1件)

森長真一 分担執筆 2016. エコゲノミクス(284-285p)、植物学の百科事典(日本植物学会編)、丸善出版。

〔その他〕

ホームページ等

<https://researchmap.jp/read0122952/>

6. 研究組織

該当なし

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。