

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 19 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18583

研究課題名(和文)自家交配は進化のデッドエンドか：接合藻類ヒメミカツキモを用いた集団ゲノミクス

研究課題名(英文) Population genomics of mating system evolution in *Closterium pslc*

研究代表者

土松 隆志 (Tsuchimatsu, Takashi)

千葉大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：60740107

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：自家交配(自殖)は植物における普遍的な繁殖様式であり、動物・菌類でもしばしば見られる。本研究では、他殖(ヘテロタリック)系統と自殖(ホモタリック)系統の進化的移行が種内で平行的に起きた接合藻類ヒメミカツキモを材料に、多くの野生系統を利用したゲノム解析を行うことで、自殖の平行進化の遺伝メカニズムおよびその進化がゲノムに与える影響を評価することを目的とした。その結果、ヘテロタリック系統では部分的なゲノム重複が顕著な一方ホモタリック系統ではゲノムサイズが小さい傾向があること、ヘテロタリック系統における性特異的遺伝子がホモタリック系統のゲノムにも残存していることなどが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：The evolution of self-fertilization from outcrossing is the prevalent events in plants, animals and fungus. Here we studied the genomic causes and consequences of self-fertilization through a re-sequencing analysis of the green algae, *Closterium pslc*, in which self-fertilizing (homothallic) strains evolved from outcrossing (heterothallic) strains multiple times repeatedly. We found, for example, that genomes of homothallic strains tend to be smaller, while segmental duplications seem prevalent in heterothallic genomes. Sex-specific genes found in heterothallic strains were also identified in the genomes of independently evolved homothallic strains.

研究分野：進化生物学

キーワード：自家交配 リシークエンス解析

1. 研究開始当初の背景

自家交配(自殖)は植物における普遍的な繁殖様式であり、動物・菌類でもしばしば見られる。分子系統学的な研究から、自殖を行う種は他殖を主に行う種から何度も繰り返し進化してきたことが知られている。自殖は、交配相手がいなくとも確実に子孫を残せるなどの点で短期的な有利さがある一方、有害突然変異が蓄積しやすくなる、遺伝的多様性を低下するなど、長期的には集団の絶滅リスクを上げると考えられており、「自殖は進化のデッドエンドである」とも言われる。

自殖の平行進化はどのような遺伝メカニズムによって、いつ生じてきたのか。自殖の進化は、ゲノム全体に具体的にどのような変化をもたらすのか。これらの問題に取り組むためには、比較的近縁ながら自殖が独立に繰り返し進化した系統の間でゲノムを網羅的に比較し、自殖種に共通するパターンを探ることが重要である。そこで私たちが着目したのが接合藻類ヒメミカツキモである。ヒメミカツキモでは、他殖(ヘテロタリック)系統と自殖(ホモタリック)系統の進化的移行が種内で少なくとも3回平行的に起きたことが知られている。本研究では、多くのヒメミカツキモ野生系統を利用したリシーケンス解析を行い、ゲノム多型を系統間で比較することで、自家交配の進化がゲノムに与える影響を評価することを目的とした。

2. 研究の目的

- (1) ヘテロタリック系統・ホモタリック系統合計 18 系統のリシーケンス解析を行うことで、自家交配の進化に伴うゲノムの変化のパターンを検出する。
- (2) リシーケンスデータに基づき有性生殖関連遺伝子の進化解析を行うことで、自家交配の進化の遺伝的背景について検討を行う。

3. 研究の方法

- (1) まず、Beijing Genome Institute(BGI)に外注することでヒメミカツキモ 8 系統のリシーケンスを行った(Illumina HiSeq3000, 150 bp Pair End, 1 系統につき約 11GB)。これに加え、東京農業大学生物資源ゲノム解析センター共同利用・共同研究拠点事業のサポートのもとさらに 10 系統について解析を行い(Illumina HiSeq2500, 100 bp Pair End, 1 系統につき約 7GB)、最終的に合計 18 系統についてデータを得た。
- (2) 共同研究者の関本弘之博士、西山智明博士らが得ているリファレンスゲノム配列を利用してショートリードのマッピングを行い、得られたデータに基づいてさまざまな進化的解析を行った。

4. 研究成果

- (1) K-mer 解析: まず Jellyfish 2.2.6 を用いて K-mer 解析を行った。その結果、推定ゲノムサイズは系統によって約 410MB ~1195MB とばらつきがみられたが、いずれもリファレンスゲノムのサイズ(約 370MB)より大きく、部分的なゲノム重複が予想された。また、ホモタリック系統の方がヘテロタリック系統よりも全体としてゲノムサイズが小さい傾向がみられ、ゲノム重複と生殖システムの間に何らかの進化的関係がある可能性も考えられた。
- (2) リードのマッピング: bwa 0.7.12 を用いてリファレンスゲノムへのマッピングを行ったところ、全リードのうちマップされたリードの割合は、おおむね約 30%程度と比較的低かった。リファレンスゲノム作成に用いた系統が、今回リシーケンスに用いた系統からやや進化的に遠縁であることが原因であると考えられる。現在、共同研究者の関本弘之博士、西山智明博士らが別の系統を用いて新たにリファレンスゲノムを作成しており、今後得られる新しいリファレンスを利用することで再マッピングを行い、結果を改善することを検討している。
- (3) SNP 解析: マップされたリードについて、samtools / bcftools 1.3.1 を用いて SNP の検出を行った。得られた SNP を用いて近隣結合系統樹を作成し、各サンプル間の系統関係を調べたところ、すでに知られていた交配群(A, B, C, G)と概ね合致する結果が得られた。また、各交配群においてホモタリック、ヘテロタリック系統はそれぞれがまとまってクレードを形成することが分かった。今後、この SNP セットを用いて詳細な解析を進める予定である。
- (4) 性決定に関与する *CpMinus1* 遺伝子の解析: ヒメミカツキモでは性(+型, -型)特異的に存在する遺伝子が明らかになっている。-型特異的にみられる *CpMinus1* 遺伝子をホモタリック系統で探索したところ、すべてのホモタリック系統のゲノムからその断片が見つかった。この事実は、複数回起源したホモタリック系統がいずれもヘテロタリック系統の-型に由来することを示唆する。また、現在ホモタリック系統とヘテロタリック系統(+型, -型)の交配実験を進めているが、ホモタリック系統は+型, -型のいずれとも交配することが明らかになっている。この結果は、ホモタリック系統では性の認識に関わる機構に何らかの変異が生じていることを示唆している。今後、ホモタリック化に関わるゲノム配列の変化について、詳細に解析を進めていく予定である。

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 6 件)

Ariga, H., Katori, T., Tsuchimatsu, T., Hirase, T., Tajima, Y., Parker, J., Alcazar, R., Koornneef, M., Hoekenga, O., Iipka, A., Gore, M., Sakakibara, H., Kojima, M., Kobayashi, Y., Iuchi, S., Kobayashi, M., Shinozaki, K., Sakata, Y., Hayashi, T., Saijo, Y. and Taji, T. NLR locus-mediated trade-off between abiotic and biotic stress adaptation in *Arabidopsis*. *Nature Plants*. 印刷中 (査読あり)

Durvasula, A., Fulgione, A., Gutakerd, R.M., Alacakaptan, S.I., Flood, P.J., Neto, C., Tsuchimatsu, T., Burbano, H.A., Picó, F.X., Alonso-Blanco, C., and Hancock, A.M. (印刷中) African genomes illuminate the early history and transition to selfing in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, doi: 10.1073/pnas.1616736114 (査読あり)

Tsuchimatsu, T., Goubet, P.M., Gallina, S., Holl, A.C., Fobis-Loisy, I., Bergès, H., Marande, W., Prat, E., Meng, D., Long, Q., Platzer, A., Nordborg, M., Vekemans, X., and Castric, V. (印刷中) Patterns of polymorphism at the self-incompatibility locus in 1,083 *Arabidopsis thaliana* genomes. *Molecular Biology and Evolution*, doi:10.1093/molbev/msx122 (査読あり)

Novikova, P.Y., Tsuchimatsu, T., Simon, S., Nizhynska, V., Voronin, V., Burns, R., Fedorenko, O.M., Holm, S., Säll, T., Prat, E., Marande, W., Castric, V. and Nordborg,

M. (2017) Genome sequencing reveals the origin of the allotetraploid *Arabidopsis suecica*. *Molecular Biology and Evolution* 34: 957–968, doi: 10.1093/molbev/msw299 (査読あり)

Novikova, P.Y., Hohmann, N., Nizhynska, V., Tsuchimatsu, T., Ali, J., Muir, G., Guggisberg, A., Paape, T., Schmid, K., Fedorenko, O.M., Holm, S., Säll, T., Schlötterer, C., Marhold, K., Widmer, A., Sese, J., Shimizu, K.K., Weigel, D., Krämer, U., Koch M.A., and Nordborg, M. (2016) Sequencing of the genus *Arabidopsis* identifies a complex history of nonbifurcating speciation and abundant trans-specific polymorphism. *Nature Genetics* 48: 1077–1082, doi:10.1038/ng.3617 (査読あり)

Shimizu, K.K.* and Tsuchimatsu, T.* (2015) Evolution of selfing: recurrent patterns in molecular adaptation. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 46: 593–622, doi: 10.1146/annurev-ecolsys-112414-054249 (査読あり)

〔学会発表〕(計 6 件)

土松 隆志・角井宏行・山崎美紗子・Cindy Marona・筒井大貴・ Afif Hedhly・Dazhe Meng・佐藤豊・Thomas Stadler・ Ueli Grossniklaus・金岡雅浩・Michael Lenhard・Magnus Nordborg・清水健太郎
「ゲノムワイド関連解析から探るシロイヌナズナにおける花粉数の進化」日本遺伝学会 企画シンポジウム『フィールドの遺伝学』2016/9/9, 日本大学 (静岡県三島市)

土松隆志「自殖の進化：シロイヌナズナを用いた集団ゲノム解析から探る」龍谷大学農学部公開セミナー 2016/3/29, 龍

谷大学（滋賀県大津市）

土松隆志・角井宏行・山崎美紗子・Cindy

Marona・Dazhe Meng・筒井大貴・金岡雅

浩・Thomas Stadler・Michael Lenhard・

Magnus Nordborg・清水健太郎「GWAS

から量的形質の進化を探索：シロイヌナ

ズナの生殖形質を例に」日本昆虫学会・

日本応用動物昆虫学会合同大会 小集会

『ゲノムからみた複合適応形質の進化』

2016/3/28，大阪府立大学（大阪府堺市）

土松隆志「ゲノムから探る植物の生殖シ

ステムの進化」玉川大学農学部談話会

2015/10/14，玉川大学（神奈川県町田市）

土松隆志「集団ゲノムデータから探る自

家交配の進化史：シロイヌナズナとその

近縁種を例に」東京大学大学院理学研究

科生物科学専攻公開セミナー 2015/9/17，

東京大学（東京都文京区）

土松隆志・角井宏行・山崎美紗子・Cindy

Marona・Dazhe Meng・金岡雅浩・Thomas

Stadler・Michael Lenhard・Magnus

Nordborg・清水健太郎「ゲノムワイド関

連解析から探る量的形質の進化：シロイ

ヌナズナを例に」日本進化学会 シンポ

ジウム『転写制御と遺伝的変異の発生と

進化 - ゲノム情報、ゲノム編集、エンハ

ンサー解析 - 』2015/8/21，中央大学（東

京都文京区）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://tsuchimatsu.wordpress.com/>

アウトリーチ活動

土松隆志「花の性と進化：植物はなぜ自家受精をするのか」東京大学 高校生のための金曜特別講座，2015/9/25

6．研究組織

(1)研究代表者

土松 隆志 (TSUCHIMATSU, Takashi)

千葉大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：60740107

(2)研究協力者

土金 勇樹 (TSUCHIKANE, Yuki)

関本 弘之 (SEKIMOTO, Hiroyuki)

西山 智明 (NISHIYAMA, Tomoaki)