

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05762

研究課題名(和文) オーストラリアの乾燥環境勾配に沿った染色体数減数現象の解析

研究課題名(英文) Study on chromosome number reduction in genus *Brachyscome* along an arid gradient in Australia.

研究代表者

伊藤 元己 (Ito, Motomi)

東京大学・大学院総合文化研究科・教授

研究者番号：00193524

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、ブラキコーム属において染色体基本数が乾燥地帯へ向かって減少する進化現象を明らかにするのが目的である。

同属の全採集種を対象に、全葉緑体ゲノム配列とMIGseq解析による系統解析を行なった。リニアリローバ複合体に属する種は系統樹の基部で分岐し、他の種と姉妹群を形成した。また、リニアリローバ複合体では、種群の中で最初に分岐したのが他殖型であることが判明し、それと姉妹関係にある枝から2つの自殖型が派生していた。RNAseq解析から得られた発現遺伝子のDNA配列情報から、遺伝子の重複頻度、有害変異を判断される変異の頻度と染色体数の間に弱い逆相関が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

染色体基本数は近縁生物種間では比較的安定しているが近縁種で多様な染色体基本数を持つものも見られる。*Brachyscome dichromosomal*は被子植物において最少の $n=2$ をもつキク科の植物である。シオン連の染色体基本数は $n=9$ と考えられている。*Brachyscome*属には2から9までの多様な染色体数を持つ種が存在し、さらに基本数は、湿潤から乾燥地への環境傾度に沿って減少している。近縁種において染色体基本数が乾燥地帯へ向かって減少する進化現象を解析した本研究は、環境とゲノム進化との関係を研究するのに格好のモデル系を供給するものである。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to elucidate the evolutionary phenomenon of a decrease in the basic chromosome number toward the arid zone in the genus *Brachyscome*.

Phylogenetic analysis of all collected species of the genus was conducted using whole chloroplast genome sequences and MIGseq analysis. Species belonging to the *B. linealoba* complex diverged at the base of the phylogenetic tree and formed a sister group with other species. In the *B. linealoba* complex, the first branch in this clade was found to be the out-breeding form, and two self-breeding forms were derived from its sister branches.

DNA sequence information on expressed genes obtained from RNAseq analysis showed a weak inverse correlation between the frequency of gene duplication, mutations judged to be detrimental, and chromosome number.

研究分野：多様性生物学

キーワード：染色体数進化 ブラキコーム 種分化 オーストラリア 乾燥適応

1. 研究開始当初の背景

真核生物では物理的に分離した複数の DNA 鎖を持ち、複数の染色体と呼ばれる構造を持つ。生物の進化において、染色体の重複複製、すなわちゲノム重複は何度も起きている。特に植物の進化においては、染色体数が倍加する倍数体形成によるゲノム重複は、進化過程で頻繁に起き、重要な進化機構の1つと考えられている。一方、染色体数が減少する進化も見られ、現在の植物の染色体数は染色体数倍加と減少のバランスにより決定されている。通常、染色体基本数は近縁生物種間では比較的安定している場合が多いが近縁種で多様な染色体基本数を持つものも見られる。被子植物において $n=2$ の植物の存在が知られている。ブラキコム・ダイクロモゾーマティカは、オーストラリアの南オーストラリア州中部の砂漠地帯に分布するキク科の植物である。その種名が表すように、被子植物の中で最も少ない染色体数 $n=2$ を持つキク科の一年生植物である。ブラキコム属の属するシオン連の染色体基本数は $n=9$ と考えられており、我々の研究でも $n=2$ という基本数は 9 から減数したという仮説を支持する結果が得られている。このブラキコム属には $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$ などの染色体数を持つ種が存在している(図1)。さらに染色体基本数は、湿潤から乾燥地への環境傾度に沿って減少していることがわかってきている。同様な染色体基本数が減少する現象は、オーストラリアの同地域に生育するアリ(Myrmecia 属, $n=1$ の種が存在)でも見られ、染色体数の減少と乾燥適応には何らかの関係があると推定される。近縁種において染色体基本数が乾燥地帯へ向かって減少する進化現象は、環境とゲノム進化との関係を研究するのに格好のモデル系を供給するものである。

2. 研究の目的

乾燥地域で見られる染色体数減少に関する従来の仮説は、乾燥適応した遺伝子群(適応アレルの組合せ)が、減数分裂過程で分離し次世代で適応度を下げないように、同じ染色体上で連鎖させるために染色体数を減らしたというものである(「遺伝子の適応セット」仮説)。本研究では、この仮説の検証を行うとともに、乾燥適応に関係した遺伝子座群が、染色体数減少にともなってゲノム内でどのように振舞っているかを実際の野外集団において調査し、遺伝学的・生態学的解析によって明らかにするのが目的である。

3. 研究の方法

a. 現地調査と試料の採集

本研究に用いるオーストラリアにおけるブラキコム属植物の各種の試料採集と野外集団の解析を南オーストラリア州、ニューサウスウェルズ州、クィーンズランド州行った。それぞれの種の生育地において、解析のための試料の収集と、集団の遺伝構造解明のための調査を行った。確実に必要な試料を得るため、現地にて染色体数カウントを行うとともに、生態的特徴の情報収集をした。

b. 系統解析

ブラキコム属植物の染色体数変化の過程を知るため、各種について分子系統解析を行った。我々の研究グループでの先行研究では分解能が低いため、対象種の葉緑体全ゲノム上の塩基配列および MIG-seq を用いた系統解析解析を行った。

c. 染色体数と重複遺伝子数、有害遺伝子の検出

異なる染色体数を持つ種を選択し、RNAseq により、発現遺伝子の情報を取得した。この中から重複遺伝子数および有害突然変異数の検出を行い、染色体減数時にどのように変化しているかを明らかにした。

d. 野外集団の遺伝的・生態的特性の解析と乾燥適応関連遺伝子の組換え率の測定。

染色体数の異なる種の野生集団において、乾燥適応関連遺伝子の組換え率を調査する。加えて、連鎖地図に基づいた組み換え率の推定も行い、特に乾燥適応関連遺伝子を含むゲノム領域で局所的な組み換え率の変化が見られないか、検証する。

4. 研究成果

平成28年度から30年度にかけてオーストラリアの南オーストラリア州、ニューサウスウェルズ州、クィーンズランド州における現地調査時に収集したキク科ブラキコム属植物から抽出したDNAを用い、ブラキコム属の全採集種を対象にした系統解析を行なった(図1)。解析には全葉緑体ゲノム(約10万bps)とMIGseq (Multiplexed ISSR Genotyping by sequencing) 解析を用いた。

外群には $2n=18$ の染色体数を持つブラキコム・リジデュラを用いた。その結果、両者ともにほぼ同じ系統関係を示す結果が得られた(図2)。これは、従来の核DNAのInternal transcribed spacer (nrITS) 領域による系統解析に比べ、種間の系統関係について解像度の良い系統樹であった。この系統樹では、リニアリローバ複合体に属する種は系統樹の基部で分岐し、他の種と姉妹群を形成した。染色体数 $2n=4$ のブラ

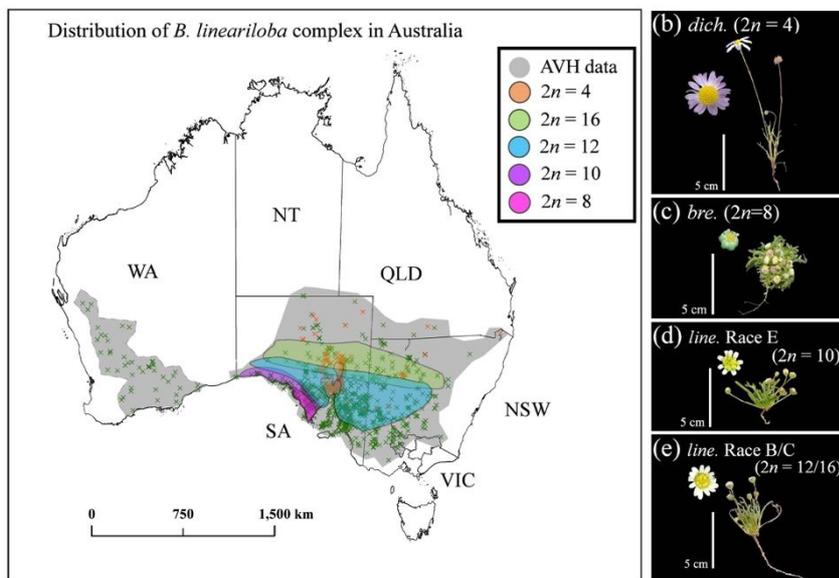


図1. リニアリローバ複合体の分布と染色体数

キコム・ダイクロモゾーマティカを含むリニアリローバ複合体は、ブラキコム属近縁植物群が分化した初期の段階で生じたものであり、リニアリローバ複合体以外のブラキコム属植物とは近縁ではないことという仮説を支持するものである。

高解像度の系統樹によるリニアリローバ複合体の系統解析の結果、種群の中で最初に分岐したのが他殖型($2n=4$)であることが判明し、それと姉妹関係にある枝から2つの自殖型($2n=8, 10; 2n=12, 16$)が派生していた。細胞学的知見と合わせて考察すると、先に分化した他殖型が交雑によって染色体を他方の系統に供給することで、染色体数が増加する方向に進化したことが示唆された。分岐年代推定の結果、この群の多様化は45万年前以降に起きたことが示された。この時代は気候変動の振幅が増大した時期であり、氷期には豪州大陸は厳しい乾燥に見舞われていた。現在、他殖型($2n=4$)は内陸部に分布し、比較的染色体数の少ない系統(e.g., $2n=8$)は沿岸部に異所的に分布するが、降水量が減少した氷期には沿岸地域で分布が重複していた可能性がある。そうした時期に交雑が起こって新たな自殖型(e.g., $2n=12, 16$)が生まれ、気候が好転すると内陸の方へと分布を拡大させたと考えられる。実際、内陸に広域分布する自殖型の中では明瞭な地理的な分化は確認できず、短期間で分布域を広げた可能性が考えられた。また、自家不和合性の崩壊をきっかけにして他殖性から自殖性が起源することは植物において一般的であり、本種群でも同様に自殖性を獲得することで、気候の年変動が大きく交配相手の数が変化しやすい内陸の環境で繁栄を遂げているものと考えられた。

RNAseq解析から得られた発現遺伝子のDNA配列情報から、遺伝子の重複頻度、有害変異を判断される変異の頻度を求め、その種を持つ染色体数の相関を検討した。その結果、染色体数と弱い逆相関が見られ、染色体数の減少と特殊環境への適応との関連についての研究当初の仮説を支持する結果が得られた。

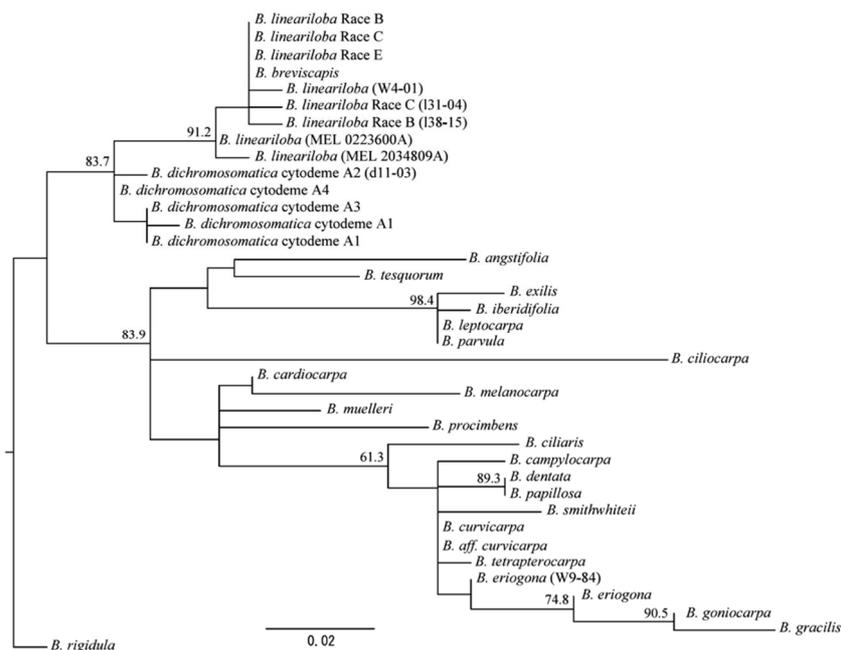


図2. 全葉緑体ゲノム配列(約10万bps)による系統樹(NJ法)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sakaguchi S, Horie K, Kimura T, Nagano A, Yuji Isagi, Ito M	4. 巻 33
2. 論文標題 Phylogeographic testing of alternative histories of single-origin versus parallel evolution of early flowering serpentine populations of <i>Picris hieracioides</i> L. (Asteraceae) in Japan.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ecological Research	6. 最初と最後の頁 537 - 547
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11284-017-1536-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakaguchi S, Horie K, Ishikawa N, Nishio S, Worth JRP, Fukushima K, Yamasaki M, Ito M	4. 巻 107
2. 論文標題 Maintenance of soil ecotypes of <i>Solidago virgaurea</i> in close parapatry via divergent flowering time and selection against immigrants.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Ecology	6. 最初と最後の頁 418 - 435
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1365-2745.13034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sakaguchi S., Abe, A., Nagasawa, K., Takahashi, D., Setoguchi, H., Maki, M., Kyan, R., Nishino, T., Ishikawa, N., Hirota K. S., Suyama Y. and Ito, M.	4. 巻 72
2. 論文標題 Functional traits divergence in parallelly evolved rheophytic populations of <i>Solidago virgaurea</i> L. complex (Asteraceae).	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Phytotaxonomica et Geobotanica	6. 最初と最後の頁 93-111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18942/apg.202012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 近藤 裕幸、阪口翔太、渡邊邦秋、瀬戸口浩彰、井鷲裕司、伊藤 元己
2. 発表標題 葉緑体ゲノム配列を用いた、豪州産キク科 <i>Brachyscome lineariloba</i> 複合体 (2n = 4, 8, 10, 12, 16) の集団解析
3. 学会等名 日本植物分類学会第16回大会（2017年3月9-12日、京都市左京区）
4. 発表年 2017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
研究分担者	阪口 翔太 (Sakaguchi Shota) (50726809)	京都大学・地球環境学堂・助教 (14301)	
研究分担者	土松 隆志 (Tsuchimatsu Takashi) (60740107)	千葉大学・大学院理学研究院・准教授 (12501)	
研究分担者	W o r t h J a m e s (James Worth) (30770771)	国立研究開発法人森林総合研究所・その他部局等・主任研究員等 (82105)	残額2,033円返還

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
---------	---------