

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2016～2019

課題番号：16KT0066

研究課題名(和文) 異種ゲノムの重複がもたらす植物の表現型可塑性を担う発生システムの構成的理解

研究課題名(英文) Developmental analysis of plant phenotypic plasticity

研究代表者

金岡 雅浩 (Kanaoka, Masahiro)

名古屋大学・理学研究科・講師

研究者番号：10467277

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文)：環境に応答した遺伝子発現と発生システムの変化を明らかにすることは、植物の生存戦略を理解する上で重要な課題である。二種類の両親種に由来する異質倍数体種 *Cardamine flexuosa* において、実験室と野外自生地においてサンプリングと表現型観察をおこなった結果、細胞壁合成関係の遺伝子などが両親種由来の染色体から異なる割合で発現していることがわかった。通気孔を形成するメカニズムの進化と相同性を明らかにするため、ゼニゴケとシロイヌナズナで通気孔形成過程を調べた結果、同じファミリーに属する遺伝子がゼニゴケの気室孔とシロイヌナズナの気孔の形成において機能しているという、興味深い相同性が見いだされた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、植物が変動する環境に適応して生育する際に、どのようなメカニズムが働いているか、その一端を明らかにするものである。気孔は植物のガス交換を担う器官であり、二酸化炭素の取り込みや酸素の排出に重要な役割を果たす。通気孔が進化的にどのように発生してきたのか、気孔の密度がどのように制御されているかを明らかにすることは、温暖化など急激に変化する地球環境において植物の生育や地球環境維持において重要な知見をもたらすと考えている。

研究成果の概要(英文)： Investigating the mechanism about gene expression and development is an important issue for understanding plant life. Laboratory and field studies of an allotetraploid species *Cardamine flexuosa* revealed that genes related to cell wall biosynthesis and so on were found to be expressed differentially from homeologues.

To understand the evolutionary mechanism about gas-exchanging pore-formation, genes related to pore formation in *Marchantia polymorpha* and *Arabidopsis thaliana* were surveyed. It was found that genes in the same group function in pore formation in both species, suggesting an interesting similarity between analogous organs.

研究分野：植物発生生物学

キーワード：気孔 環境応答 発生 異質倍数体

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

外部環境の変化を受けて形態・生理的形質を適切に制御することは、生物の生存において必須の生命現象である。植物は環境の大きな変化に対して移動により逃れることができないため、ダイナミックな形態変化により環境に適応する。そのため、環境に応答した遺伝子発現と発生システムの変化を明らかにすることは、植物の生存戦略を理解する上で重要な課題である。

植物進化の過程では、動物とは異なる特徴として、異なる両親種の融合により、新たな形質を示す異質倍数種が生じることがある。アブラナ科ではシロイヌナズナ属植物の *Arabidopsis halleri* と *A. lyrata* に由来する異質倍数体 *A. kamchatica* ssp. *kamchatica* は高山に見られる一方で、その亜種 *A. kamchatica* ssp. *kawasakiana* は湖岸・海岸に生息する。また、タネツケバナ属で湿潤環境に生育する *Cardamine amara* と乾燥環境に生育する *C. hirsuta* から、幅広い水環境に適応する *C. flexuosa* が誕生した(図A)。このように倍数体種は両親種より幅広い環境に生育する例が見られるが、具体的にどのような形質の変化が適応に関与するかについての研究例は少ない。また、野外に生育する植物は一年を通じて降水量や気温など影響を受けるが、このような長い期間において発生形質がどのように調節されているか研究例はない。

シロイヌナズナなど多くの陸上植物では気孔が体表面の通気孔であるが、ゼニゴケなど基部陸上植物では気室孔という組織がガス交換に使われている。気室孔はそれを構成する細胞数が気孔とは異なるなど進化上の違いがみられるが、機能的には同じであるため、気孔の相似器官とされている。これらの相似器官において、共通する発生メカニズムがあるかどうかは知られていない。



図A. 本研究で用いる *Cardamine* 属植物の生息環境  
*C. amara* (左) は湿潤な環境に、*C. hirsuta* (右) は乾燥した環境に、それらの異質倍数体種 *C. flexuosa* (中央) は広範な環境に生育する。

### 2. 研究の目的

本研究は、異質倍数体植物がどのような発生メカニズムで環境に応じた表現型の可塑性を示すのか、どのようなゲノム構造や遺伝子発現を示す個体が高い適応度を示すことで選抜された次世代を残すのかを明らかにすることを目的としている。そのため、特に、植物の通気組織である気孔の発生に注目して解析をおこなう。

### 3. 研究の方法

本研究では、*Arabidopsis* 属および *Cardamine* 属の異質倍数体種とその両親種を用いて、水環境応答機構を解析する。様々な水環境条件で育てた *C. flexuosa* の RNA-seq、および様々な土壌湿度環境の自生地で生育している *C. flexuosa* の RNA-seq と表現型解析から、多変量解析により気孔に関わる表現型と相関のある遺伝子群を抽出する。*Arabidopsis* 属植物では、自生地において定期的にサンプリングをおこない、気孔の表現型と適応度の測定、および RNA-seq による網羅的遺伝子発現解析をおこなう。同様に表現型と遺伝子発現との相関解析を行い、*Cardamine* 属の結果と比較して、共通する遺伝子を探る。

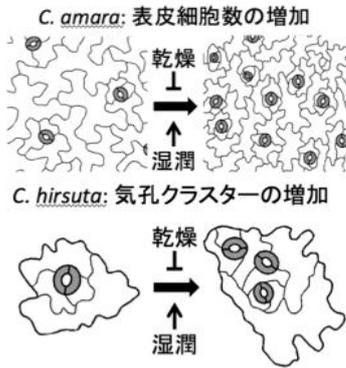
気室孔と気孔の進化的相似性の解析においては、気室孔をつくる植物であるゼニゴケと気孔をつくる植物であるシロイヌナズナを用いる。ゼニゴケの気孔形成に関与する遺伝子 (Ishizaki and Mizutani et al., 2013) の相同遺伝子をシロイヌナズナより探索し、それをノックアウトした植物の表現型を解析する。

### 4. 研究成果

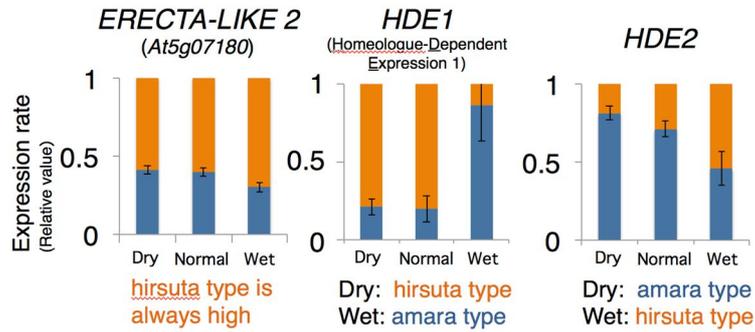
#### (1) *Cardamine* 属異質倍数体植物の環境応答に関わる形質と遺伝子発現の解析

異質倍数体種 *Cardamine flexuosa* は、生育環境の湿度条件の違いによって気孔密度が変化することがこれまでの研究により明らかになっている(図B)。実験室と野外自生地においてサンプリングと表現型観察をおこなった結果、実験室環境においても土壌湿度に応じた気孔密度の変化は観察された。

次に RNAseq により、*Cardamine flexuosa* で発現している遺伝子を網羅的に解析した。*Cardamine flexuosa* は両親種由来の異なるゲノムを持つため、1つの遺伝子について2種類の染色体から発現することになる。両親種の相同遺伝子(ホメオログ)の間で塩基配列にわずかな違いが見られることから、この違いを利用して RNAseq で得られたリードがどちらの親由来の染色体から転写されたものかを知ることができる。この方法により、湿潤条件・乾燥条件



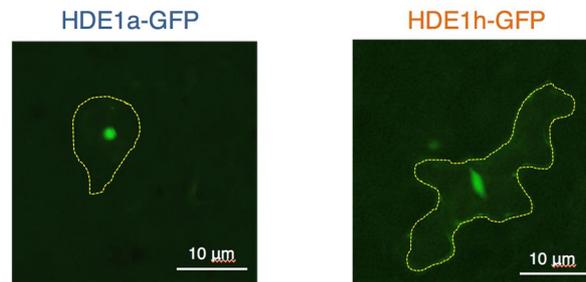
図B. *Cardamine*属植物の気孔密度調節に見られる発生戦略の違い(トレース図) *C. flexuosa*は両親種の戦略を共に用いている。



図C. ホモログ間で発現比の異なる遺伝子の例。ERECTA-LIKE2はhirsuta由来のホモログの発現が常に高かった。HDE1は乾燥条件ではhirsuta由来の、湿潤条件ではamara由来のホモログが高発現していた。HDE2は乾燥条件ではamara由来の、湿潤条件ではhirsuta由来のホモログが高発現していた。

の植物個体の遺伝子発現を比較したところ、いくつかの遺伝子において、環境による発現の違いがみられた。また、ホモログの発現比に着目して解析したところ、発現比が変わらない遺伝子や、片親由来のホモログがもう一方よりも常に高発現している遺伝子、そして生育条件によって発現比が変動する遺伝子が見いだされた(図C)。

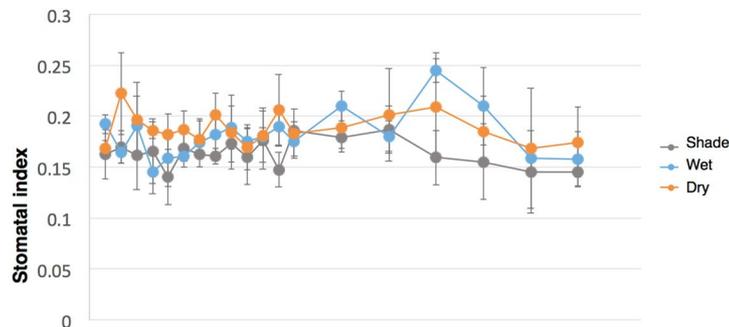
遺伝子のGO解析により、ストレス応答や細胞壁合成にかかわる遺伝子がホモログ間で異なる発現をする遺伝子のなかに含まれていた。また、HDE1のコードするタンパク質は機能未知であったため、GFP融合コンストラクトを作成して細胞内局在を調べた。HDE1-GFPのシグナルは核に局在していた(図D)。



図D. HDE1タンパク質の細胞内局在。amaraタイプ(HDE1a-GFP)もhirsutaタイプ(HDE1h-GFP)も、ともに核でシグナルが見られた。

## (2) *Arabidopsis* 属異質倍数体植物の環境応答に関わる形質と遺伝子発現の解析

*Arabidopsis halleri* は多年草であるため、定期的にサンプリングすることにより年間を通じて植物の表現型や遺伝子発現の変動を調べることができる。共同研究者の工藤博士とともに、1年半にわたり毎週 *Arabidopsis halleri* を個体識別した上で葉をサンプリングし、気孔の表現型と遺伝子発現を調べた。その結果、気孔密度は生育環境のうち主に光強度に影響をうけること、同じ個体においては年間を通じて密度の大きな変化はないことがわかった(図E)。このことより、気孔の密度は、ロバストネスの高い表現型形質であることが明らかになった。このことは気孔発生に関わると知られている遺伝子の発現が、年間を通じて大きくは変動しないという結果からも支持される。



図E. *Arabidopsis halleri* の気孔密度の年変動  
日照量の少ない場所の個体(Shade)が気孔密度が低い傾向がある。

### (3) 相似器官における発生の共通性の解析

通気孔を形成するメカニズムの進化と相同性を明らかにするため、ゼニゴケとシロイヌナズナで通気孔形成に関わる遺伝子の機能を調べた。ゼニゴケにおいてすでに報告されていた、気孔形成に関わる遺伝子 NOP1 のホモログがシロイヌナズナには2つあったため、それぞれのノックアウト変異株と2重変異株を作成した。単一の遺伝子のノックアウト株では気孔は正常であったが、2重変異株では孔辺細胞の形態がいびつになっていたり、気孔の開閉にも異常がみられた。このことは、気室孔と気孔という、進化的には相同でないが機能的には相似である器官（相似器官）の発生が同じ遺伝子によって制御されているということを示す興味深い結果である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takemori Akane, Naiki Akiyo, Takakura Ko-Ichi, Kanaoka Masahiro M, Nishida Sachiko	4. 巻 20
2. 論文標題 Comparison of mechanisms of reproductive interference in Taraxacum	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Botany	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/aob/mcz007	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 -

1. 著者名 Akiyama Reiko, Sun Jianqiang, Hatakeyama Masaomi, Lischer Heidi E.L., Briskine Roman V., Hay Angela, Gan Xiangchao, Tsiantis Milto, Kudoh Hiroshi, Kanaoka Masahiro M., Sese Jun, Shimizu Kentaro K., Shimizu-Inatsugi Rie	4. 巻 600783
2. 論文標題 Fine-scale ecological and transcriptomic data reveal niche differentiation of an allopolyploid from diploid parents in Cardamine	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 600783
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/600783	査読の有無 無
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 Muro Keita, Matsuura-Tokita Kumi, Tsukamoto Ryoko, Kanaoka Masahiro M., Ebine Kazuo, Higashiyama Tetsuya, Nakano Akihiko, Ueda Takashi	4. 巻 1
2. 論文標題 ANTH domain-containing proteins are required for the pollen tube plasma membrane integrity via recycling ANXUR kinases	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 152
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-018-0158-8	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 -

1. 著者名 Luo Nan, Yan An, Liu Gang, Guo Jingzhe, Rong Duoyan, Kanaoka Masahiro M., Xiao Zhen, Xu Guanshui, Higashiyama Tetsuya, Cui Xinping, Yang Zhenbiao	4. 巻 8
2. 論文標題 Exocytosis-coordinated mechanisms for tip growth underlie pollen tube growth guidance	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-017-01452-0	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 該当する

1. 著者名 Kanaoka Masahiro M.	4. 巻 131
2. 論文標題 Cell-cell communications and molecular mechanisms in plant sexual reproduction	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 37~47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-017-0997-2	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 Mizutani Miya, Kanaoka Masahiro M.	4. 巻 1
2. 論文標題 Environmental sensing and morphological plasticity in plants	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Seminars in Cell & Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.semcd.2017.10.029	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 Sachiko Nishida, Keisuke Hashimoto, Masahiro M Kanaoka, Ko-Ichi Takakura, Takayoshi Nishida	4. 巻 130
2. 論文標題 Variation in the strength of reproductive interference from an alien congener to a native species in <i>Taraxacum</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 125-134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.1007/s10265-016-0865-5	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 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 1.Masahiro Kanaoka, Yuri Aoki, Reiko Akiyama, Rie Shimizu-Inatsugi, Kentaro Shimizu.
2. 発表標題 Phenotypic plasticity in relation to water environment in allotetraploid <i>Cardamine flexuosa</i> .
3. 学会等名 日本進化学会第17回大会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 金岡 雅浩、青木 優里、水谷 未耶、秋山 礼子、清水 健太郎、清水(稲継) 理恵
2. 発表標題 異質倍数体植物にみる環境に应答した表現型と遺伝子発現の可塑性
3. 学会等名 遺伝学会第89回大会(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水田あい、金岡雅浩
2. 発表標題 Study of phenotypic plasticity of allotetraploid <i>Cardamine flexuosa</i> in relation to water environment
3. 学会等名 新学術領域「環境記憶統合」第3 回領域会議
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

生殖分子情報学研究室 <a href="http://www.higashiyama-lab.com/">http://www.higashiyama-lab.com/</a>
---

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	工藤 洋  (Kudoh Hiroshi)  (10291569)	京都大学・生態学研究センター・教授    (14301)	

## 6. 研究組織（つづき）

	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	田中 健太  (Tanaka Kenta)  (80512467)	筑波大学・生命環境系・准教授    (12102)	
研究 協 力 者	塚本 涼子  (Tsukamoto Ryoko)	名古屋大学・理学研究科・技術補佐員    (13901)	