

令和元年6月19日現在

機関番号：22701

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06990

研究課題名(和文) 葉の形態の温度応答機構と多様性の解明

研究課題名(英文) Studies on leaf morphogenetic diversity and responses to the temperature

研究代表者

為重 才覚 (Tameshige, Toshiaki)

横浜市立大学・木原生物学研究所・特任助教

研究者番号：20725006

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：植物の葉の形態は生育環境によって異なる例が多く知られている。葉の形態変化は、種内変異の程度や関連する遺伝子についてまだ未解明である。本研究では、この点の解明によって植物の形態が気候によって変化することの意義と分子機構について理解を深めることを目指した。材料とするArabidopsis属とコムギ属の植物集団について解析に適した栽培条件を整え、また葉の形態、および形態変化量を定量的に比較するための画像解析手法を確立した。コムギ属の特にパンコムギのゲノム配列多型を調べるのに有効な配列解析手法も共同研究で開発した。葉の形態形成に関わる遺伝子WOX1の機能解明を共同研究で行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の葉の形態は多様である。この多様性は遺伝的な多様性によるものと、生育環境の多様性によるものがあると考えられるが、環境によって葉の形態が変化するときの遺伝子レベルの仕組みや変化の仕方について未解明の部分が多い。本研究ではそれらを解析するための手法を開発し、今後の関連する研究領域に寄与する成果を得た。特に葉の形態を画像解析から定量的に比較する手法と、コムギを含む倍数体生物のゲノム配列多様性を解析するのに有用なインフォマティクス手法を確立した。

研究成果の概要(英文)：Plant leaf morphologies are variable according to the environments in many species. However,

the intraspecific diversity and the genetic basis of the environmental effects have been largely uncharacterized. The goal of this research project was to elucidate such aspects of the leaf morphological plasticity, which will give us more insights into biological significance and the molecular mechanisms of the environmental effects on plant morphologies. I established a plant growth system to evaluate the leaf morphological diversity of Arabidopsis plants and wheat-related plants, developed a method to quantify and compare the leaf morphological features and the morphological change using image analysis tools. A collaboration research resulted in a software development for genomic sequence analysis useful for genomic polymorphism detection of bread wheats. Another collaboration research resulted in revealing the molecular function of WOX1 gene which is a key to leaf morphogenesis.

研究分野：植物発生学

キーワード：植物発生学 葉 natural variation 環境応答 Arabidopsis コムギ

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

1. 研究開始当初の背景

生物が温度を感知し適切に反応することは、生存や繁殖のため重要な仕組みである。特に陸上植物は移動しないため、環境の多様な温度変化に、適切な感受性で反応する必要がある。熱耐性や凍結耐性の機構は遺伝子発現や代謝レベルで解明されて来ているが、温度変化に対する発生の学的応答はあまり研究が進んでいない。

2. 研究の目的

本研究ではシロイヌナズナ属とコムギを使って高温低温に対する葉の発生の学的応答を定量化し、植物の発生現象が如何に温度に応答しているかを明らかにすることが目的である。その上で、遺伝的に多様な系統間の比較から、温度応答に関わる遺伝子を探索し機能検証することを目指した。

3. 研究の方法

Arabidopsis 属 (*A. thaliana*, *A. lyrata*, *A. halleri*, *A. kamchatica*) およびコムギ (*Triticum aestivum* および近縁種) を複数の温度帯で栽培し、温度による葉の形態変化を定量化し、比較する。これにより、植物の温度応答における発生の学的側面を明らかにする。こうした形態解析を多数系統で行い比較することで、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) 法を利用した葉の形態の温度応答に関わるゲノム領域の探索・同定を試みる。

以上の研究の上で技術的に重要となる、葉の画像解析による形態特徴の定量化、および形態の比較方法を開発する。

また GWAS による遺伝子探索においては *A. thaliana* の多数系統のゲノム配列多型情報が既に整備されているためこれを利用すれば良いが、*Triticum aestivum* のゲノム配列多型情報は十分に整備されていないため別の研究アプローチが必要となる。そこで、コムギのゲノム配列多型を同定する手法を検討・開発し GWAS による候補領域の探索を行う。

4. 研究成果

本研究では Arabidopsis 属およびコムギで葉の形態の温度応答に関わる遺伝子の同定および機能検証には至らなかったが、それを実現するための技術開発と基盤的知見を成果として得た。

(1) 通常のシロイヌナズナ実験系統を栽培する場合の温度条件は 15 から 28 程度が一般的である。これら以外での栽培温度条件は標準的な栽培法が確立おらず、また市販の一般的な植物グロースチャンパーでは 4 程度の温度で栽培することができないため、本研究の一環として低温室内で栽培する栽培条件を確立した。これを用いて Arabidopsis が 4 程度で栽培できること、葉の形態が目視レベルで変化することを確認した。この栽培方法は低温環境での植物研究において今後有用なものとなる。

(2) Arabidopsis 属の中でも *A. kamchatica* は、寒冷環境に適応した *A. lyrata* と温暖環境に適応した *A. halleri* の両方のゲノムを有する異質 4 倍体である。そのため、その温度応答が各々の親種とどの程度類似しているのか、両親種とも異なる温度応答性を示すのか、と言う問題は興味深く、現在生物学において一般的な 2 倍体モデル生物を用いると言う方法論からは得られない新しい知見となる。しかし *A. kamchatica* は発芽方法が一般的に確立していないことから、扱いが難しい。本研究の一環として *A. kamchatica* の種子に複数のホルモン投与を行い、一定の発芽率を示す結果を得た。

(3) コムギの中でも特にパンコムギ (*Triticum aestivum*) はゲノムがシロイヌナズナの 100 倍以上に及ぶサイズと、異質 6 倍体であることによる配列の複雑さから、ゲノム解読自体が困難であり 2018 年によろやく高精度ゲノム情報が解明された。そのためパンコムギの種内のゲノム多型に関する情報は未だ乏しく、またゲノムを解読するための次世代シーケンサーデータからゲノムの正確な多型を検出する方法論も高精度なものが確立していない。そこで本研究の一環として、共同研究によって倍数体種のゲノム配列解析に有用なソフトウェア開発に取り組んだ。具体的には、次世代シーケンサー配列情報を高精度でサブゲノム単位に分類して、次世代シーケンサーの塩基配列を正確なゲノム領域にマッピングするソフトウェアであり、これを用いることで今後ゲノム配列の多型検出を高精度で行えると考えられる。(以下発表論文)

(4) シロイヌナズナにおいて葉の形態を生み出す上で鍵となる遺伝子として *WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN BOX1* (*WOX1*) が知られている。*WOX1* はイネ科植物の葉の形態にも関わる普遍的な遺伝子であると言われているが、分子レベルでどのように葉の形態形成に関与しているのかについては、不明な点が多い。このため葉の環境に応じた形態変化についても *WOX1* の機能が変化することで生じる可能性などが考えられ、*WOX1* 機能の分子レベルでの解明は本研究の基盤的知見となる。そこで本研究の一環として、共同研究によって *WOX1* の異所的発現によって生じる形態変化をトランスクリプトームレベルで解析し、オーキシンと *WOX1* が相加的な働きによって葉の凹凸形態を生み出していることを明らかにした。(以下発表論文)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Tony Kuo, Masaomi Hatakeyama, Toshiaki Tameshige, Kentaro K. Shimizu, Jun Sese
"Homeolog expression quantification methods for allopolyploids" Briefings in
Bioinformatics, bby121, 2018, <https://doi.org/10.1186/s12920-018-0342-1>

Miyuki T. Nakata, Toshiaki Tameshige, Masahiro Takahara, Nobutaka Mitsuda, Kiyotaka
Okada "The functional balance between the WUSCHEL-RELATED HOMEBOX1 gene and the
phytohormone auxin is a key factor for cell proliferation in Arabidopsis
seedlings" Plant Biotechnology 35, 141-154, 2018,
doi:10.5511/plantbiotechnology.18.0427a

〔学会発表〕(計 4 件)

為重才覚 圃場でのコムギのオミクス解析の試み 第 13 回 ムギ類研究会
横浜市立大学 木原生物学研究所 2018 年 11 月 26 日

為重才覚 初歩的なモデリングでわかったこと、わからなかったこと ～葉の発生研究
を例に～ 日本植物学会第 82 回大会 広島国際会議場 2018 年 9 月 16 日

Toshiaki Tameshige "Modeling Approach for Leaf Morphogenesis in Arabidopsis" SMBE
Satellite Symposium, Kihara Institute for Biological Research | Yokohama City
University, Jul 13 2018

為重 才覚 タルホコムギの効率的な脱穀・脱粒方法 第 12 回 ムギ類研究会 京都大学
2017 年 12 月 16 日

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

・アウトリーチ講演活動 (計 2 件)

為重才覚 “植物の葉の形を作り出す仕組み” 木原生物学研究所 一日施設公開・講
演会, 横浜市立大学 木原生物学研究所, 2018 年 8 月 4 日

為重才覚 “葉っぱのギザギザはなぜできる” 名古屋大学出前授業 in 豊橋 2017, 豊橋
市自然史博物館, 2017 年 12 月 10 日

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。