

令和 4 年 10 月 24 日現在

機関番号：14603

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06781

研究課題名（和文）アブラナ科植物における優劣性制御機構および起源の解明

研究課題名（英文）Analyses on evolution of dominance modifiers in Brassicaceae

研究代表者

和田 七夕子（Wada, Yuko）

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教

研究者番号：50379541

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：アブラナ科植物には、花粉側自家不和合性を決定するSP11遺伝子において階層的な優劣性が保存されている。SP11の優劣性を制御する分子機構の種間における共通性と相違性の解明を目的とした。本研究では、アブラナ科植物である在来ナタネとセイヨウミヤマハタザオについて優劣性制御の分子機構を明らかにし、その比較をおこなった。この二種では相同性依存的機構が共通するが、標的配列には種特異的な機能分化が見られることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義としては、遺伝学の謎であるdominance modifierの進化に迫る点が挙げられる。本研究はdominance modifierの作用により遺伝子の優劣が決定される機構の解明を目的としており、種間における優劣性機構の比較解析から、dominance modifierの進化および出現時期を得ることができる。社会的意義としては、自家不和合性の操作を含む点が挙げられる。アブラナ科植物の育種において自家不和合性の操作は重要課題であり、本研究成果は新品種創出や親株の維持に貢献できる。

研究成果の概要（英文）：In Brassicaceae, hierarchical dominant-recessive interaction among the SP11 gene is conserved across species. This study aimed to unveil the molecular mechanism of dominance-recessivity interaction among SP11 in Brassicaceae. We analyzed the mechanism of Brassica rapa and Arabidopsis lyrata to elucidate a common and species-specific mechanism. Our study suggest that the homology-dependent model is conserved in Brassica rapa and Arabidopsis lyrata, but that there is a species-specific functional differentiation in the target sequences in SP11.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：生殖 アブラナ科植物 自家不和合性 優劣性制御 エピジェネティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メンデルの名とともに知られる優性の法則は、生物界に広く見られる一方で、機構が解明された例は限られる。特に、劣性遺伝子の機能欠損により優性遺伝子の表現型のみが形質として現れる機構が知られているが、アブラナ科植物には機能欠損によらない優劣性機構が存在する。

アブラナ科植物は、自己の花粉では受精に至らない自家不和合性機構を持つ。これは、花粉表面にある SP11 が、雌しべに存在する SRK という受容体に結合する分子機構による。SP11 は孢子体で発現するため、個体は通常二種類の SP11 を持つ。一方でアブラナ科植物においては、対立遺伝子の片方が発現抑制され劣性となることで、交配相手を増加させる機構も広く保存されている。

アブラナ科植物である在来ナタネ (*Brassica rapa*) の SP11 には、Class-I (S_8, S_9, S_{12}, S_{52}) > Class-II ($S_{44} > S_{60} > S_{40} > S_{29}$) という複雑な優劣性関係が知られる。SP11 の優劣性を決定する機構として、優性ハプロタイプは劣性 SP11 のプロモーター領域に対し相同性が高い低分子 RNA を有し、劣性 SP11 のプロモーター領域における DNA メチル化および発現抑制を誘導することが当研究グループにより明らかにされた (Yasuda et al., 2016)。この結果から、在来ナタネの優劣性は、低分子 RNA とその標的となる SP11 遺伝子座における配列相同性によって説明されるというモデルを提唱した (Yasuda et al., 2016)。

約 100 年前に集団遺伝学者である Fisher は、dominance modifier が生まれることで優劣性が生まれる説を提唱した。当時この説は否定されたが、SP11 の優劣性を制御する低分子 RNA は dominance modifier に相当することが判明し、再注目されている。Dominance modifier は出現した後に、自然選択にさらされることも予想されていたが、その進化の過程は未だに謎であった。これまでの当研究グループにおける研究結果より、dominance modifier は低分子 RNA とその標的の間における共進化により出現したと予想された。しかしその出現時期や、具体的な進化は未だに不明である。

一方で、Dominance modifier の進化について、アブラナ科植物ハクサンハタザオ (*Arabidopsis halleri*) においては、多くの低分子 RNA と多くの標的配列の間におけるネットワークにより優劣性が出現したという異なるモデルが提唱されている (Durand et al., 2014)。このように、アブラナ科植物における優劣性機構の出現時期とその進化は未解明の問題であった。

2. 研究の目的

アブラナ科の二種における優劣性制御の分子機構を解明し、その機構を比較することで保存性と進化を検討した。

(1) 在来ナタネにおける優劣性制御モデルの検証

これまでに配列相同性依存モデルを提唱した在来ナタネについて、更に検証を進めた。

(2) セイヨウミヤマハタザオにおける優劣性制御モデルの検証

アブラナ科アラビドプシス属に含まれるセイヨウミヤマハタザオにおける優劣性制御機構の解明を目的とした。

(3) 優劣性制御機構の保存性の検証

在来ナタネとセイヨウミヤマハタザオという二種のアブラナ科植物の優劣性制御機構を比較し、共通性と特異性を明らかにすることで優劣性機構およびそれを制御する低分子 RNA の出現時期および進化を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 在来ナタネにおける優劣性制御モデルの検証

形質転換ナタネを用いて優劣性制御モデルの検証をおこなった。

(2) セイヨウミヤマハタザオにおける優劣性制御モデルの検証

薬を用いた低分子 RNA-seq を実施し、劣性 SP11 に対し相同な低分子 RNA を探索した。同定した低分子 RNA の発現時期およびプロセシング産物の解析をおこなった。さらに、見いだした低分子 RNA による優劣性制御機構を予想した。

(3) 優劣性制御機構の保存性の検証

在来ナタネとセイヨウミヤマハタザオ、ハクサンハタザオにおける低分子 RNA の保存性を検討した。また、標的配列の機能を比較した。

4. 研究成果

(1) 在来ナタネにおける優劣性制御モデルの検証

形質転換ナタネを用いて優劣性制御モデルの検証をおこなった結果、新たな相同性依存的モデルが予想された。

(2) セイヨウミヤマハタザオにおける優劣性制御モデルの検証

アブラナ科に属するセイヨウミヤマハタザオにおける優劣性制御機構の解析を進めた。ハクサンハタザオの同属異種であるセイヨウミヤマハタザオ (*A. lyrata*) の優劣性制御機構の解明に着手した。セイヨウミヤマハタザオには、Class-IV (S_{20}, S_{39}, S_{50}) > Class-III (S_{13}, S_{16}) > Class-II (S_{18} ,

S_{14}) > Class-I (S_1)という複雑な優劣性が存在する (Goubet et al., 2012; Guo et al., 2011; Mable et al., 2004; Prigoda et al., 2005; Schierup et al., 2001)。

次世代シーケンス解析により、 S_{13} - $SP11$ に対し相同性を示す低分子 RNA、 $AlSmi1-a$ を Class-IV に含まれる S_{20} から同定した。さらに、Class-III に属する S_{13} から、より劣性の Class-II や Class-I が持つ $SP11$ に対し高い相同性を示す $AlSmi2$ を見いだした。ゲノム解析の結果、発見した低分子 RNA はそれぞれのクラスに保存されていた。Class-II においては、最も劣性である Class-I が有する $SP11$ に対し相同性を示す $AlSmi1-b$ がゲノム解析から見いだされた。 $AlSmi1-a$ および $AlSmi1-b$ の前駆体について、発達段階特異的な発現解析をおこなったところ、開花が近づくにつれて増加する様子が観察された。また、24 塩基長の低分子 RNA としてプロセシングされていることも定量的 RT-PCR により明らかにした。

これらの結果から、セイヨウミヤマハタザオにおける複雑な優劣性は、二種類の低分子 RNA と標的 $SP11$ との間における相同性依存的モデルで説明できると考えられた (Yasuda et al., 2021)。過去に当研究グループが在来ナタネにおいて提唱した相同性依存的モデルは、セイヨウミヤマハタザオの優劣性制御においても成立すると考えられた。

(3) 優劣性制御機構の保存性の検証

以上の研究より、セイヨウミヤマハタザオおよび在来ナタネの複雑な優劣性は、二種類の低分子 RNA によって配列相同性依存的に制御される点において、共通性が認められた (Yasuda et al., 2021)。したがって、アラビドプシス属とブラシカ属の分岐以前にこの機構が出現したのか、独立に獲得されたのか、更なる検証が必要である。

また、セイヨウミヤマハタザオの低分子 RNA は、ハクサンハタザオの優劣性制御に機能する低分子 RNA と一致することも見いだした (Yasuda et al., 2021)。そのため、これらの二種が属するアラビドプシス属の優劣性機構および dominance modifier は、この二種の共通祖先において獲得された可能性が予想された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kobayashi, R., Yasuda, S., Ito, T., Wada, Y., Takayama, S.	4. 巻 22
2. 論文標題 Homology-based interactions between small RNAs and their targets control dominance hierarchy of male determinant alleles of self-incompatibility in <i>Arabidopsis lyrata</i> .	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 6990
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22136990	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林 利紗、和田 七夕子、片岡 修、柴 博史、高山 誠司、伊藤 寿朗
2. 発表標題 改変型低分子RNAを導入したアブラナ科植物における自家不和合性花粉側因子の優劣性の変化
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 下保 瑤己、山田 慧士朗、山口 翔、山口 京、和田 七夕子、高山 誠司、伊藤 寿朗
2. 発表標題 epiQTL解析およびRNA-seqにより見出された胚乳発達で機能するインプリント遺伝子の機能解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井阪 阿怜、布平 竜也、和田 七夕子、羽根 佑樹、高山 誠司、伊藤 寿朗
2. 発表標題 シロイヌナズナ系統における雑種強勢についての子葉サイズおよび細胞数の解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 片岡修, 和田七夕子, 小林利紗, 三浦(宇野)栄子, 下田大貴, 柴博史, 高山誠司, 伊藤寿朗
2. 発表標題 アブラナ科植物における改変低分子RNAの導入による自家不和合性花粉側因子SP11の優劣性制御機構の解析
3. 学会等名 第91回日本遺伝学会
4. 発表年 2019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

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