

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：32701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K06823

研究課題名(和文)キスゲ属における花時計遺伝子の進化過程の解明

研究課題名(英文)Evolution of floral clock genes in Hemerocallis

研究代表者

新田 梢(Nitta, Kozue)

麻布大学・生命・環境科学部・助教

研究者番号：60589448

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ハマカンゾウは、早朝に花を咲かせて、夕方に花を閉じる昼咲きの花である。一方、キスゲは、夕方から咲き始め、翌朝に閉じる夜咲きである。本研究では、開花時刻の違いに関与する遺伝子「花時計遺伝子」を特定することを目的に、ハマカンゾウとキスゲについて、Chromium(10x Genomics)シーケンサーによる全ゲノムシーケンスを行い、ゲノム情報を得た。想定されていた以上にゲノムの構造が複雑であった。概日時計に関わる遺伝子の配列比較を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で、4 Gbp以上の比較的大きなゲノムサイズの解析に挑戦したことは、植物ゲノム研究への貢献も大きいと期待される。ゲノム解析を達成することは、近縁種をはじめ、この属の進化の解明に大きな知見をもたらす。また、1日のなかの開花時間の違いという、植物の生物時計と開花現象の関係を明らかにすることで、植物の花の咲く時間の理解が深まった。

研究成果の概要(英文)：Hemerocallis fulva are day-blooming flowers that bloom in the early morning and close in the evening. On the other hand, Hemerocallis citrina is a nocturnal flower that begins to bloom in the evening and closes the following morning. In this study, we performed whole-genome sequencing of these species using a Chromium (10x Genomics) sequencer, with the aim of identifying the "floral clock gene" that is involved in the difference in these flowering time. The genome structure was more complex than expected. We compared the sequences of clock genes involved in the circadian clock.

研究分野：進化生態学

キーワード：開花時間 植物ゲノム ゲノミクス トランスクリプトーム 送粉 種分化 概日時計 時計遺伝子

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

キスゲ(ワスレグサ)属のハマカンゾウとキスゲは対照的な花形質をもつ。キスゲ属の近縁種、ハマカンゾウとキスゲの花形質は、特定の送粉者の活動時間・視覚・嗅覚に、開花時間・花色・花香が協調的に適応したと考えられている。特に、花の開花時間は生殖隔離に関わる重要な形質である。ハマカンゾウは、早朝に花を咲かせて、その日の夕方から夜に花を閉じる昼咲きの花である。一方、キスゲは別名「ユウスゲ」ともよばれ、夕方から咲き始め、翌日の朝に閉じる夜咲きである。対照的な開花時間(開花時刻と閉花時刻)について、F2 雑種における分離パターンの解析では、開花時刻が二峰型分布を示した(朝開花と夕方開花に分かれた)ことから、開花時刻の違いは、効果の大きな単一遺伝子に支配されていると示唆された(Nitta et al., 2010)。しかし、これまで、(1日のうちの)開花時間の違いに関する遺伝子の知見が少なく、決定的な候補遺伝子がなかった。

モデル植物として知られるシロイヌナズナでは、朝方に発現のピークをもつ LHY および CCA1 が TOC1 の転写を抑制し、夕方に発現のピークをもつ TOC1 が LHY および CCA1 の転写を抑制し、この TOC1 と LHY および CCA1 から構成されるフィールドバックループはコアループと呼ばれ、これらの遺伝子の発現量の増減によって下流に存在する多くの遺伝子を制御している。

2. 研究の目的

本研究では、送粉適応した花形質が、ハマカンゾウのような昼咲きのアゲハチョウ媒の状態からキスゲの夜咲きのスズメガ媒の状態へと進化する機構を解明するため、特に、開花時刻の違いに関与する遺伝子「花時計遺伝子」を特定し、キスゲ属における対照的な開花時間の違いがどのような遺伝子基盤によって進化したのかを解明することを目的に研究を進めた。

3. 研究の方法

(1)

開花時刻の違いに関与する遺伝子の探索のために、これまでに得られた RNA-Seq からの配列データ解析を行った。つぼみから開花開始まで 6 時間間隔で採集した花組織から、HiSeq2500 (Illumina)を用いた RNA-Seq について、ハマカンゾウとキスゲの花弁組織で発現している遺伝子群を比較し、2 種間で発現量が異なる遺伝子群を解析した。特に、ハマカンゾウとキスゲで概日時計の発現パターンを比較した。

(2)

これまでゲノム情報がなく、遺伝子の解析が困難であったため、当初の計画を見直し、ゲノムシーケンスを実施することにした。ハマカンゾウとキスゲについて、ゲノムシーケンスに着手し、基礎生物学研究所の生物機能情報分析室の協力のもと、2 種の実験用植物の葉をサンプリングしてゲノム DNA を抽出し、ライブラリ作成を実施し、Chromium(10x Genomics)シーケンサーによるゲノムシーケンスを行った。

モデル植物、シロイヌナズナ、オオムギ、イネ、トウモロコシの LHY/CCA1 遺伝子、TOC1 遺伝子について検索し、ハマカンゾウとキスゲのゲノム情報に対して、Local BLAST (tblastn)で配列類似性検索を行った。MEGA11(version11.0.10)を用いて、ClustalW でアミノ酸配列をアライメントし、MEGA Format でファイルを保存した。PHYLOGENY で Neighbor-Joining Tree 法(近隣接合法)で、Bootstrap 値を 1000 に設定した。TOC1 については、イネ OsPRR95 を外群に指定して系統樹を作成した。

4. 研究成果

(1)

RNA-Seq について、ハマカンゾウとキスゲで概日時計に関わる遺伝子群の発現パターンを比較したところ、2種で発現パターンが違う遺伝子があった。また、RNA-Seq のデータから、概日時計に関する遺伝子を探索したところ、複数の配列候補がある可能性があり、ゲノム情報から検討が必要になった。

(2)

ハマカンゾウとキスゲのゲノムサイズをフローサイトメーターで測定したところ、およそ 4 Gb であった。ゲノムシーケンスで得られた配列情報から、アセンブルの計算を行ったが、アセンブルの作業が難航し、計算に時間がかかった。およそ 5 Gb の全ゲノム配列情報を得ることができ、想定されていた以上にゲノムの構造が複雑であると見込まれた。

ハマカンゾウとキスゲのゲノム情報に対して BLAST 検索を行い、植物の概日時計の遺伝子として知られる TOC1 遺伝子の候補配列を得た。この遺伝子配列は、ドメイン検索の結果、ARR-Like ファミリーに類似し、さらに TOC1 遺伝子と同一の APRR1 ファミリーがヒットした。TOC1 遺伝子には C 末端側に CCT モチーフが存在することが知られており、候補配列にも、C 末端に CCT モチーフが存在したことから、TOC1 遺伝子である可能性が高い。ハマカンゾウとキスゲの配列を比較したところ、1塩基だけが異なり、ハマカンゾウが G でキスゲが T だった。候補配列をアミノ酸配列に変換すると配列は同じだった。よって、TOC1 遺伝子については、遺伝子の機能自体は同じ働きをしていると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 新田梢, 三木望, 村田晴紀, 矢原徹一
2. 発表標題 「キスゲとハマカンゾウの比較から花時計の進化を探る」
3. 学会等名 第27回日本時間生物学会シンポジウム「植物の生殖と時間生物学」（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>「花時計」の進化の謎にせまる 麻布大学 生命・環境科学部 環境科学科特設ページ https://azabu-envi ro.amebaownd.com/posts/8729153</p>

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