

機関番号：12601

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2012

課題番号：20570220

研究課題名 (和文) 機能進化ゲノミクス：進化解析を用いた共生遺伝子のゲノム網羅的探索とその実験的検証

研究課題名 (英文) Functional evolutionary genomics: Evolutionary and physiological study of the genome of rhizobia

研究代表者

青木 誠志郎 (AOKI SEISHIRO)

東京大学・大学院総文化研究科・学術研究員

研究者番号：10334301

研究分野：植物進化学

科研費の分科・細目：生物科学・進化生物学

キーワード：進化、ゲノム、共生、根粒菌、マメ科植物

1. 研究計画の概要

1万を超えるゲノム計画が進み莫大な配列情報が蓄積する現在、従来の比較ゲノミクスでなされてきた「配列類似性による遺伝子機能推定」を拡充した解析法が望まれている (Eisenberg et al. 2000, Nature)。そこで本研究では新しく『進化的特徴の類似性に基づく遺伝子機能推定法』を開発することにより、機能進化ゲノミクス (Functional Evolutionary Genomics) 分野を展開したいと考えている。ここでは『注目する形質にとって重要な遺伝子と同じ進化的特徴をもつ (機能未知) 遺伝子を、ゲノムを網羅して数理的に探索し、実験的に形質への関与 (機能) を検証すること』を具体的目標とする。ここから本研究の目的は (1) 分子生物学的には「機能未知遺伝子の進化的機能推定法の開発」(2) 進化的には「推定遺伝子の祖先機能復元実験による進化的理論の実証」となる。本研究は平成18-19年度特定領域研究比較ゲノム「遺伝子水平伝播による共生系の起源と進化の統合的解析-理論的推定および実験的検証-」(代表者青木誠志郎)を拡張し、機能と進化の分野を繋げ、数理と実験を解析の両輪とする複合研究を目指している。

2. 研究の進捗状況

我々の解析により、いくつかの共生関連遺伝子に特有な進化的特徴が見つかった。例えば、遺伝子重複と正の自然選択、遺伝子機能の平行進化、遺伝子水平移行に伴う宿主特異性進化のような進化現象が可能性として挙げられる。このような共生遺伝子の特徴のうち、遺伝子水平移行と遺伝子重複に焦点を当て、既知の根粒菌感染遺伝子 *nodA-nodZ* について解析したところ、23遺伝子のうち18遺伝子が予測可能であることがわかった。そこで

*Mesorhizobium*ゲノムの全蛋白質を用い解析した結果、共生アイランド全体の検出に成功した。一方でこの領域内に数多くの共生とは関係のないハウスキーピング遺伝子の存在が推測され、ここから複数回の共生アイランド水平移行とゲノム内遺伝子転移の可能性が示された。さらに本解析による機能推定は1つ1つの共生関連遺伝子 (*nod*, *nod*, *nif*, *fix* genes) の検出に成功し、他にも共生アイランドの外に今まで共生への関与が知られていなかった数多くの遺伝子 (アデニル酸サイクレーズ、転写因子、機能未知遺伝子群 (未発見の共生アイランドの可能性)) が見つかった。

これらの推定で、本当に新しい共生関連遺伝子を発見し得たのかどうかを調べるため、それら推定遺伝子の遺伝子破壊菌株を作成した。植物に感染させ、共生機能の実験的検証を行い、いくつかの試行的な実験結果を得た。過去の多くの研究で見つかった共生関連遺伝子では、その破壊により根粒形成能力が低下することがわかっている。本研究の推定遺伝子の破壊でも、確かにそのような感染数低下型の遺伝子がいくつか見つかったが、逆に遺伝子破壊により感染数が増える遺伝子を発見した。さらに本課題では、数多くのその他の遺伝子の機能について、大量遺伝子破壊により解析する予定である。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

これは、当初の計画に加え根粒形成の起源についての発見、およびマメ科植物の遺伝子の進化について新しい発見があったためであり、現在論文執筆中である。根粒菌における遺伝子破壊は *Mesorhizobium* では成功し、いくつかの破壊株による実験ができたが、

Bradyrhizobium では未だ上手く行っていない。また、正の自然選択の解析には、遺伝子の1対1の比較による方法から一歩進んで、多数の遺伝子を用いたプログラムを利用しようと考えた。多数の遺伝子系統樹の枝を平等に比較し、ゲノム内全遺伝子の計算を行なうことは難しい事が解った。そこで現在、数理の専門家と共にこれらの解析を進めている。また、根粒形成菌の起源について新しい発見があり、論文執筆を進めている。

4. 今後の研究の推進方策

今まで行ってきた遺伝子破壊株の実験結果の解釈は、根粒の直径からの推測であり、これからさらに植物の生長量や根粒菌の増殖を測って、両者の適応度の解析を行う必要がある。このための課題として根粒形成能以外の共生関連機能の実験が挙げられる。窒素固定能やバクテロイドの単生状態への復帰率といった、共生進化に重要な現象の解析法を本研究に導入することが必要と考えられる。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

1、Seishiro Aoki, Tetsuya Kondo, Danielle Prévost, Sayuri Nakata, Tadashi Kajita, Motomi Ito

“Genotypic and phenotypic diversity of rhizobia isolated from *Lathyrus japonicus* indigenous to Japan.”

Systematic and Applied Microbiology
2010, 33:383-397

2、Makoto Fujiwara, Haruki Hashimoto, Yusuke Kazama, Tomonari Hirano, Yasushi, Yoshioka, Seishiro Aoki, Naoki Sato, Ryuichi Itoh, and Tomoko Abe

“Dynamic morphologies of pollen plastids visualised by vegetative-specific *FtsZ1*-GFP in *Arabidopsis thaliana*”

Protoplasma
2010, 242: 19-33

3、Satoko Iida, Atsuko Miyagi, Seishiro Aoki, Motomi Ito, Yasuro Kadono, Keiko Kosuge.

“Molecular Adaptation of *rbcL* in the *Heterophyllous* Aquatic Plant *Potamogeton*.”

PLoS ONE
2009, 4: e4633.

[学会発表] (計7件)

1、Genetic and phenotypic diversity of rhizobia isolated from *Lathyrus*

japonicus in Japan and Canada

Seishiro Aoki, Motomi Ito

Grad. Sch. Arts and Sci., Univ. Tokyo
December 7, 2010

2、Genetic and phenotypic diversity of rhizobia based on PCR-based identification, RAPD, RFLP, phylogenetic, and physiological analyses isolated from *Lathyrus japonicus* in Japan and Canada

Seishiro Aoki, Motomi Ito

Grad. Sch. Arts and Sci., Univ. Tokyo
September 20-24, 2010

3、機能進化ゲノミクス：進化解析を用いた共生関連遺伝子のゲノム網羅的探索とその実験的検証

青木誠志郎 1、下田宣司 2、伊藤元己 1

(1) 東大・院・総合文化・広域科学 (2) 農業生物資源研

2009年9月18-20日

4、機能進化ゲノミクス：進化的特徴の類似性に基づくゲノム網羅的な共生遺伝子の計算推定とその実験的検証

青木 誠志郎¹、下田 宣司²、伊藤元己¹ (東大・院・総合文化、2 生物研)

植物微生物研究会第19回研究交流会

2009年9月8-10日

5、機能進化ゲノミクス：進化解析を用いた共生関連遺伝子のゲノム網羅的探索とその実験的検証

青木 誠志郎 1、下田宣司 2、伊藤元己 1 (東大・院・総合文化、2 生物研)

第11回日本進化学会大会(札幌大会)

2009年9月2-4日

6、原始的被子植物 *Amborella trichopoda* の花器官形成に関わる MADS-box B 機能遺伝子群の解析

杉森 香代子、青木 誠志郎、伊藤 元己 (東大・院・総合文化)

第11回日本進化学会大会(札幌大会)

2009年9月2-4日

7、マメ科の汎熱帯海流散布植物と根粒菌の共生特異性

中田さゆり 1、青木誠志郎 2、梶田忠 1 (1 千葉大・院・理、2 東大・院・総合文化)

第11回日本進化学会大会(札幌大会)

2009年9月2-4日

[図書] (計1件)

・「共進化の生態学」

“第7章 マメー根粒菌共生系の進化”

青木誠志郎

種生物学会 編 文一総合出版 2008, pp185-236