

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06682

研究課題名(和文)陸上植物において側生葉状器官の獲得を可能にした根幹原理の探索と解析

研究課題名(英文) Exploration and analysis of the principle that enabled the acquisition of leaf-like organs in land plants

研究代表者

中山 北斗 (Nakayama, Hokuto)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・助教

研究者番号：30610935

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、現生の被子植物の系統樹において最基部で分岐したことが明らかになっている *Amborella trichopoda* (アンボレラ) と最も葉の発生の分子機構が明らかになっているモデル植物である *Arabidopsis thaliana* (シロイヌナズナ) との、発生、形態、そしてRNA-seqによる遺伝子発現プロファイルの比較により、葉の発生に関わる遺伝子制御ネットワークが広範な被子植物の間で保存されていることを明らかにした。このことは独立に複数回獲得されたことが明らかになっている、陸上植物の葉の進化に関して、その共通性や独自性を明らかにするための基盤ができ、大きな成果であったと言える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究成果の意義としては、葉の進化過程はこれまで化石研究が主であり、その進化過程も背景にある分子機構も全く明らかになっていなかった。今回の研究で被子植物において葉の発生に関わる遺伝子制御ネットワークが被子植物の間で保存されている事を明らかとし、陸上植物における葉の進化を考える上で比較基盤として利用できる点は成果と言える。またこの事は葉の発生に必要な根元的な遺伝子群を同定することに繋がるため、それらを用いて、葉を持たない植物、あるいは本来葉が発生しない部位に葉を持たせることで新奇形態の園芸植物や光合成効率を向上させた作物を作出する技術の基盤の創出を導くことができるという社会的意義も挙げられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, a comparison between *Amborella trichopoda*, which has been shown to diverge at the most basal in the phylogenetic tree of the present-day angiosperms, and *Arabidopsis thaliana*, a model plant for which the molecular mechanisms of leaf development are most understood, reveals that development, anatomy, and gene regulatory networks involved in leaf development are conserved among a wide range of angiosperms. This is a major achievement, as it provides a basis for identifying commonalities and uniqueness in the evolution of leaves in land plants, which have been shown to have been acquired multiple times independently.

研究分野：発生進化学

キーワード：発生進化学 発生学 進化学 植物 葉 多様性

## 1. 研究開始当初の背景

葉は植物にとって主たる光合成器官であり、花器官も葉の変形であることから、植物において最も重要な器官の一つである。これまでの化石を用いた古生物学や系統学における研究から、陸上に進出した初期の植物は葉を有していなかったことが知られ、1930年代に Walter Zimmermann が発表したテローム説では、二又分岐する軸上構造が「主軸形成」、「平面化」、「癒合」などの複数の過程を経て、葉を獲得したことが示唆されている。この陸上植物における葉の獲得は、植物の光合成の効率化をもたらし、放出される酸素は地球の大気組成の変化をももたらした。この一連のイベントは、その後続く動物の陸上進出の一助となったと考えられている。

近年のモデル生物の確立とゲノム情報を用いた解析の普及により、これまで葉の発生に関する研究はシロイヌナズナをはじめとするモデル植物を中心に解析がなされてきた。その中で葉の発生の分子機構は極めて精力的に研究がなされ、その詳細が明らかになりつつあるが、葉に関して最も根源的な問いである、『植物が進化の過程でどのような分子機構により葉を獲得したのか』という命題は、それに関連する遺伝子や分子機構はおろか、その過程の理解さえも進んでいなかった。これは長年の生物学の命題でありながらも、その理解のためのアプローチが難しく、かつ形態学、発生学、進化学などの分野横断的知見が必要であったためと考えられた。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、葉の発生の分子機構が被子植物において保存されているのかどうかを調べるために、葉の発生の分子機構を複数の植物のトランスクリプトームデータをもとに推定することを目的とした。

これまで最も葉の発生について詳細がわかっているモデル植物の *Arabidopsis thaliana* (シロイヌナズナ) は、被子植物の系統樹上で派生的な位置に存在する真性双子葉類に含まれ、また被子植物の葉の形態は非常に多様であることから、被子植物において基本となる葉の発生の分子機構がどのようなものなのかについては、まだ十分に明らかになっていない。そこで、本申請では、被子植物で保存されている葉の発生の分子機構を、現生の被子植物の系統樹上において、他の全ての植物の姉妹群である *Amborella trichopoda* (アンボレラ) を含む複数の植物のトランスクリプトームデータをもとに推定することを目的として研究を行なった。それを明らかにした上で、被子植物において葉の獲得を可能にした分子機構を、他の陸上植物の系統と比較を行ない、明らかにすることを最終的な目標とした。

## 3. 研究の方法

被子植物に共通な葉の発生に関わる遺伝子制御ネットワークを抽出するために、現存する被子植物の系統樹上において全ての被子植物の姉妹群であるアンボレラのトランスクリプトームを行なう。同様の条件でシロイヌナズナを用いてトランスクリプトームを行なう。同時に、アンボレラの葉の発生の詳細は不明であったため、それについても明らかにする。得られたそれぞれの種のトランスクリプトームデータを用いて、葉の発生に関わる共発現遺伝子ネットワークを構築した後、比較し、種間で共通するもののみを抽出するために、ネットワーク間の差異を統計的に検出する。その後、複数種で保存されているネットワーク上のハブとなっている遺伝子を探索する。

## 4. 研究成果

本研究では、貴重な植物であるアンボレラの生育が芳しくなく、当初の予定通りに研究が行なうことが難しかったため、期限内に葉の獲得を可能にした分子機構の同定までは至らなかった。しかしながら、以下に示すようにその実現に欠かすことのできない解析法の確立や複数の基盤的知見を成果として得た。

1. 葉の発生に関わる多数のマーカー遺伝子の発現および検出された発現変動遺伝子は各発生ステージにおいてシロイヌナズナとアンボレラの2種間で類似していた。また、シロイヌナズナで葉の発生に関わることが知られている遺伝子群を用いて共発現遺伝子ネットワークを構築し、2種での比較を行ったところ、ネットワーク構造および共発現遺伝子群も類似していることが明らかになった。

これらの解析によって、基本的な葉の発生メカニズムの大枠が、被子植物において最基部で分岐した系統であるアンボレラと、最も研究が進んでおり、派生的な位置にいるシロイヌナズナとで保存されていることが初めて、形態学、発生学、そして大規模遺伝子発現レベルで明らかになった。

2. 次に、これらの被子植物の葉の発生に関わる遺伝子群について、植物の進化の過程でいつ獲得されたのかを Phylostratigraphic analysis (PS 解析) により推定した。これは数千種に及ぶ動植物のアミノ酸配列データなどをデータベース化し、興味のある配列の類似性検索を行なうことで、着目する遺伝子がどの分類階級(科や属など)で獲得されたかを推定する方法である。PS 解析の結果、被子植物の葉の発生に関わる主要な転写因子を含む多くの遺伝子は、植物の陸上進出時には既に獲得されていたことが明らかになった。実際に、ゲノムが公開されている陸上植物を用いて葉の発生に関わることが知られている転写因子の割合を系統ごとに比較すると、陸上進出後から被子植物に至るまで、それらのゲノム中に占める割合は大きく変化していなかった。

したがってこれらの結果から、被子植物の葉の発生に関わる遺伝子群は、被子植物が分岐するずっと以前の陸上進出時には既に揃っていたことが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nakayama Hokuto, Leichthy Aaron R, Sinha Neelima R	4. 巻 34
2. 論文標題 Molecular mechanisms underlying leaf development, morphological diversification, and beyond	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Plant Cell	6. 最初と最後の頁 2534 ~ 2548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plcell/koac118	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 Nakayama Hokuto, Ichihashi Yasunori, Kimura Seisuke	4. 巻 73
2. 論文標題 Diversity of tomato leaf form provides novel insights into breeding	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Breeding Science	6. 最初と最後の頁 76 ~ 85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1270/jsbbs.22061	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 Nakayama Hokuto, Koga Hiroyuki, Long Yuchen, Hamant Olivier, Ferjani Ali	4. 巻 135
2. 論文標題 Looking beyond the gene network ? metabolic and mechanical cell drivers of leaf morphogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Cell Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jcs.259611	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 該当する
1. 著者名 Nakayama Hokuto, Rowland Steven D., Cheng Zizhang, Zumstein Kristina, Kang Julie, Kondo Yohei, Sinha Neelima R.	4. 巻 31
2. 論文標題 Leaf form diversification in an ornamental heirloom tomato results from alterations in two different HOMEBOX genes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 4788 ~ 4799.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2021.08.023	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 Rowland Steven D., Zumstein Kristina, Nakayama Hokuto, Cheng Zizhang, Flores Amber M., Chitwood Daniel H., Maloof Julin N., Sinha Neelima R.	4. 巻 226
2. 論文標題 Leaf shape is a predictor of fruit quality and cultivar performance in tomato	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 New Phytologist	6. 最初と最後の頁 851 ~ 865
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nph.16403	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

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 中山北斗
2. 発表標題 被子植物の葉の獲得とその形態の多様化に関する進化発生生物学研究
3. 学会等名 日本植物学会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中山北斗、塚谷裕一
2. 発表標題 現生被子植物の最基部で分岐した系統である <i>Amborella trichopoda</i> を用いたトランスクリプトーム解析
3. 学会等名 日本植物学会 第85回
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中山北斗、塚谷裕一
2. 発表標題 現生被子植物の系統樹上で最基部に位置する <i>Amborella trichopoda</i> を用いた葉の獲得に関わる進化発生学的研究
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2020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
---------	---------