

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K06798

研究課題名(和文)植物の光受容体フィトクロムの生理的性質の変化が引き起こす種分化機構の検証

研究課題名(英文)Testing speciation caused by physiological characters of plant photoreceptor phytochrome

研究代表者

池田 啓 (Ikeda, Hajime)

岡山大学・資源植物科学研究所・准教授

研究者番号：70580405

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,700,000円

研究成果の概要(和文)：植物の光受容体が、新たな種を生み出す種分化を引き起こす引き金となるかを検証するために、日本列島に分布するミヤマタネツケバナとその姉妹種で北極圏に広く分布するCardamine bellidifoliaの進化プロセスを明らかにする研究に取り組んだ。ゲノムワイドな遺伝子の変異を分子進化的に解析する研究とシロイヌナズナの形質転換体などを用いた光応答に関連する生理学実験を行うことで、日本列島固有のミヤマタネツケバナが種分化するプロセスには、植物の赤色光受容体であるフィトクロム(PHYB)の光に反応する感度の違いが関わ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

フィトクロムの光を感知する性質の変化が植物の種分化と関わることを裏付ける証拠を世界で初めて発見した。この成果は、フィトクロムの感受性によって制御される生理機能から種分化を理解するという新しい研究課題を提示することで、生物の種分化を引き起こすメカニズムの理解を深めることの一翼となる。また、フィトクロムの機能を操作することで、環境に適応した植物をデザインできるという新しいアイデアを創出することで、育種における新たな着眼点を提示する意義がある。

研究成果の概要(英文)：To test whether photoreceptors cause speciation of plants, I focused on the divergence process of two allopatric species, Cardamine nipponica and Cardamine bellidifolia, which is endemic to Japan and is widely distributed in circumarctic region, respectively. I analyze their divergence process using genome-wide makers and evaluated their light responses by physiological experiments using transgenic plants expressing phytochrome (PHYB) of Cardamine nipponica and Cardamine bellidifolia. As a consequence, I demonstrated that divergence in light sensitivity of phyB is associated with speciation of C. nipponica.

研究分野：進化生理学

キーワード：種分化 フィトクロム

1. 研究開始当初の背景

生物の環境を感知する性質(環境感受性)に変化が生じることは、多くの生物に共通した種分化機構の一例となる可能性が考えられる。動物では色覚を司る光受容タンパク質(オプシン,ロドプシン)の感知する光の色(波長)などの変化が、種分化を引き起こす分子機構となることが明らかにされている。その一方で、植物の環境を感知する性質が種分化を引き起こすかを示した研究例はなく、環境感受性の進化が多様な生物を創出する多くの生物に共通した分子機構であるかは明らかにされていない。

日本列島の標高の高い山岳に生育する高山植物の1種であるミヤマタネツケバナ *Cardamine nipponica* では、中部地方と東北・北海道(北日本)に生育する個体が遺伝的に異なる系統(それぞれ南系統,北系統)へと分化していることが知られている。また、ミヤマタネツケバナの北系統と南系統では、発芽や開花の性質といった植物の生活史に関わる形質の表現型に差異があるだけでなく、植物が赤色光を感知する受容体(フィトクロム)をコードする遺伝子の1つである *PHYE* に自然選択の働いた証拠があり、系統間でフィトクロムの性質が異なることが考えられてきた。フィトクロムは発芽や開花をはじめとする植物の様々な生理機能を制御する働きを持つため、フィトクロムの光を感知する性質の違いが、北・南系統における開花などの性質の違いを生む原因となる可能性が考えられる。

(1) 北・南系統の *PHYE* が開花特性など適応度を左右する性質の違いを生むことを明らかにすることができれば、光受容体における生理機能の変化が種分化を引き起こす原因となることを示すことができる。また、(2) *PHYE* 以外の様々な遺伝子における進化プロセスを調べることで、北系統と南系統の分化には、*PHYE* のみが重要であるか、*PHYE* 以外にも様々な遺伝子が関わったかを検証できるようになる。

その一方で、ミヤマタネツケバナは、日本列島よりも北方の北極圏に分布する種(*Cardamine bellidifolia*)から分化した種である。そのため、北・南系統の分化がフィトクロムの働きによって引き起こされるのであれば、北・南系統と同様に異なる緯度に分布するミヤマタネツケバナと *C. bellidifolia* の種分化においても、フィトクロムの性質における進化が関連する可能性が予想される。したがって、(3) ミヤマタネツケバナが種分化するプロセスを明らかにし、近縁種からの種分化にフィトクロムが関わるかを調べることで、光受容体における環境感受性の変化が種分化を引き起こす要因となるかを検証できる。

2. 研究の目的

そこで本研究では、日本列島に分布するミヤマタネツケバナとその姉妹種で北極圏に分布する *C. bellidifolia* を材料に、以下の3つの点を明らかにすることを目的とした。

- (1) 北系統と南系統に由来する *PHYE* は、開花などの生活史を決める形質の表現型に関連するか?
- (2) ミヤマタネツケバナの北・南系統では、*PHYE* のみが自然選択を受けて進化したか?
- (3) フィトクロムにおける性質の違いが、ミヤマタネツケバナと *C. bellidifolia* の種分化に関連するか?

3. 研究の方法

(1) シロイヌナズナの *phyE* 変異体に北・南系統のそれぞれに由来する *PHYE* 遺伝子を形質転換し、形質転換体における開花などの表現型を観察する。

(2) ミヤマタネツケバナの北・南系統における遺伝子の塩基配列をゲノムワイドに解読し、北・南系統で生理機能に違いのある可能性がある遺伝子を探索するとともに、それらが自然選択を受けて進化したかを検証する。

(3) ミヤマタネツケバナと *C. bellidifolia* について、遺伝子の塩基配列をゲノムワイドに解読し、ミヤマタネツケバナが種分化するプロセスにおいてフィトクロムが自然選択を受けたかを検証する。また、ミヤマタネツケバナの種分化に関連する可能性のあるフィトクロムが見つかった場合には、(3a) ミヤマタネツケバナと *C. bellidifolia* においてフィトクロムに関連する生理機能に差異があるか否かを生理学実験によって検証するとともに、(3b) それぞれの種に由来するフィトクロム遺伝子をシロイヌナズナに形質転換し、形質転換体の表現型を調べることで、フィトクロム自体の性質に違いがあるかを検証する。

4. 研究成果

(1) *PHYE* 遺伝子を形質転換したシロイヌナズナを様々な条件に設定した人工気象器で育成したところ、北系統の *PHYE* を持つ形質転換体の方が南系統の *PHYE* を持つ形質転換体よりも早く開花することが明らかになった。この結果はミヤマタネツケバナの北・南系統における開花特性の表現型と一致するものであり、*PHYE* における性質の違いが開花特性の進化を引き起こす原因となる可能性を示唆する。

その一方で、ミヤマタネツケバナの *PHYE* を導入したシロイヌナズナでは *phyE* 変異体で観察された遅咲きの表現型が回復しないため、導入した *PHYE* が正常に働いていない可能性が否定できない。シロイヌナズナの *PHYE* を形質転換した実験やミヤマタネツケバナの交配系統を用いた遺伝学的な解析を行い、この問題を解決することで、*PHYE* における性質の違いが開花特性の進化を引き起こす原因となることを結論づけることができるようになる。

(2) ミヤマタネツケバナの北・南系統及び *C. bellidifolia* を用いた RNAseq 解析を行い、約 7000 遺伝子における塩基配列を解読した。これらの遺伝子のうち、北・南系統でアミノ酸配列の違いが顕著に大きく、多型の頻度から自然選択を受けた可能性のある遺伝子を探索したところ、*PHYE* 以外にも少数の遺伝子が北・南系統間の適応進化に関わることが示唆された。この結果は、*PHYE* のみが遺伝的に独自の系統を創出・維持することに関わるという結論とは食い違いが、見つかった遺伝子の数は少数であり、*PHYE* が大きく寄与したことが考えられる。

PHYE と同様に、候補となった一連の遺伝子における生理機能を明らかにすることは、適応進化を引き起こす遺伝的な変化の全体像を明らかにできるようにするとともに、適応進化のプロセスにおいて *PHYE* が果たした役割を明らかにし、植物の種分化機構に関する理解を深めることにつながる。

(3)(2) で解読した塩基配列データを用い、ミヤマタネツケバナと *C. bellidifolia* が種分化したプロセスを明らかにしたところ、ミヤマタネツケバナは *C. bellidifolia* から約 25 万年前に派生した種であることが明らかになった。また、ミヤマタネツケバナにおいて独自のアミノ酸配列が多数生じた遺伝子のうち、多型の頻度から自然選択を受けた可能性のある遺伝子を探索したところ、ミヤマタネツケバナの適応進化には 60 個程度の遺伝子に関わることが示唆されるとともに、これらの遺伝子の中には光受容体フィトクロムをコードする遺伝子の 1 つである *PHYB* が含まれていることが明らかになった。この結果は、ミヤマタネツケバナの北・南系統における適応進化にフィトクロム (*PHYE*) の性質の違いが関わったことから期待されるように、異なる緯度に生育する種の分化にはフィトクロムにおける性質の進化が関わることを示したものである。

また、フィトクロムの赤色光を感知する性質が表現型に顕著に現れる発芽直後の芽生えの成長（胚軸の長さ）を指標に、ミヤマタネツケバナと *C. bellidifolia* の赤色光に対する応答性を評価する実験を行ったところ、ミヤマタネツケバナの方が弱い赤色光において長い胚軸を持つことが明らかになった。フィトクロムは赤色光を受けると胚軸の成長を抑制する働きを持つことを踏まえると、ミヤマタネツケバナでは、*C. bellidifolia* と比べ、赤色光に対する応答性の弱いフィトクロムが進化したことが考えられた。

同様の実験をそれぞれの種に由来する *PHYB* を形質転換したシロイヌナズナを用いて行ったところ、ミヤマタネツケバナの *PHYB* を持つ形質転換体の方が、*C. bellidifolia* の *PHYB* を持つ形質転換体よりも長い胚軸を持ち、赤色光に対する応答性が弱いことが明らかになった。この結果は、ミヤマタネツケバナと *C. bellidifolia* とでは、*PHYB* の赤色光を感知する性質の違いがあることを示し、異なる緯度に生育する植物の種分化にはフィトクロムの環境を感知する性質の違いが関連することを世界で初めて裏付けたものである。

PHYB の環境感受性の違いがどのような形質の表現型を変化させるかを明らかにすることは、環境感受性の進化が種分化を引き起こす具体的なプロセスを理解できるようにする。特に、ミヤマタネツケバナの *PHYE* で観察されたように、*PHYB* の環境感受性が開花特性に関連するかを明らかにすることができれば、環境感受性が植物の種分化を引き起こすメカニズムの一例を明らかにできるようになると期待される。

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 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ikeda Hajime, Suzuki Tomomi, Oka Yoshito, Gustafsson A. Lovisa S., Brochmann Christian, Mochizuki Nobuyoshi, Nagatani Akira	4. 巻 231
2. 論文標題 Divergence in red light responses associated with thermal reversion of phytochrome B between high and low latitude species	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 New Phytologist	6. 最初と最後の頁 75 ~ 84
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/nph.17381	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

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 池田啓
2. 発表標題 高山植物を例にした植物の適応進化機構に関する研究
3. 学会等名 第84回日本植物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 孫田佳奈・後藤栄治・池田啓・阪口翔太・瀬戸口浩彰
2. 発表標題 ダイヤモンドソウにおける明暗集団間の光合成特性の分化と遺伝構造
3. 学会等名 第84回日本植物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池田啓
2. 発表標題 植物の光受容体フィトクロムにおける自然変異と環境感受性の進化
3. 学会等名 第23回日本進化学会年次大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池田啓, Lovisa Gustaffsson, Christian Brochmann
2. 発表標題 北日本のミヤマタネツケパナで見られた姉妹種からの遺伝子浸透と進化的意義
3. 学会等名 第85回日本植物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 孫田佳奈, 後藤栄治, 阪口翔太, 池田啓, 瀬戸口浩彰
2. 発表標題 ダイモンジソウの明暗適応における表現型可塑性と局所適応の役割
3. 学会等名 第85回日本植物学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室Web http://www.cc.okayama-u.ac.jp/~botany/index.html

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
---------	---------