

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：23401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21449

研究課題名（和文）植物ゲノムは遺伝子のコピー数の減少に強いのか

研究課題名（英文）Resistance of plant genomes to gene copy number reduction

研究代表者

風間 裕介（Kazama, Yusuke）

福井県立大学・生物資源学部・教授

研究者番号：80442945

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,600,000円

研究成果の概要（和文）： 遺伝子量補正とは、主に動物の性染色体で知られる現象であり、遺伝子の発現量が雄（ ）と雌（ ）の間で同レベルに調節される機構のことである。研究代表者らは、高等植物ヒロハノマンテマのX染色体が突然のY染色体欠失に対応して遺伝子量補正を行うことを発見した。代表者は、これは性染色体に限られた現象ではなく植物一般に見られる現象ではないかと考えた。そこで、シロイヌナズナの常染色体において、遺伝子のコピー数が半数になった場合にも遺伝子量補正が生じるかを調査した。その結果、大多数の遺伝子の発現量は野生型と比較して半減しており、シロイヌナズナの常染色体では即時遺伝子量補正は起きないことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

シロイヌナズナの染色体を倍数化したり異数化させた場合には、遺伝子の発現量が異なる例が報告されており、倍数化した個体は表現型も大きく異なる。これに対し、ヘテロの欠失についての知見はなかった。本研究では、ヘテロの欠失が起きた場合にそこに存在する遺伝子の発現量がおおよそ半減し、表現型にも影響が現れることを明確に示した。中には、ヘテロ欠失をもつ野生型よりも生重量が多くなる個体も見られた。これらの結果は、ヘテロの欠失も育種上有用であることを示す。ヘテロの欠失は重イオンビーム照射において頻繁に誘発されるため、今後の有効利用が期待される。

研究成果の概要（英文）： Gene dosage compensation is a phenomenon known mainly in animal sex chromosomes and is a mechanism by which gene expression is regulated at the same level between male ( ) and female ( ) chromosomes. We discovered that the X chromosome of the higher plant, *Silene latifolia*, undergoes gene dosage compensation in response to a sudden Y chromosome deletion. To examine whether this might be a general phenomenon in plants, rather than a phenomenon limited to sex chromosomes. Therefore, we investigated whether gene dosage correction also occurs in *Arabidopsis* autosomes when the number of copies of gene is reduced to half. The results showed that the expression levels of the majority of genes were reduced by half compared to the wild type, indicating that immediate gene dosage compensation does not occur in *Arabidopsis* autosomes.

研究分野：植物遺伝学

キーワード：遺伝子量補正 シロイヌナズナ RNAseq ゲノム 重イオンビーム

## 1. 研究開始当初の背景

遺伝子量補正は、主に動物の性染色体で知られる現象であり、遺伝子の発現量が雄( )と雌( )の間で同レベルに調節される機構のことである。例えば哺乳類(XY型)では、雌(XX)の片方のX染色体全体が不活性化され、X染色体上の遺伝子の発現量が雄(XY)のそれと同等になることが知られている。ショウジョウバエでは、雄(XY)のX染色体上の遺伝子の発現量が2倍になり、雌(XX)のX染色体上の遺伝子の発現量と同等になる(Mank 2013)。

この遺伝子量補正機構が性染色体をもつ植物種にも存在するかどうかは、性染色体研究分野で注目されている。性染色体をもつ植物にはアスパラガス、ホウレンソウ、キウイフルーツ、マメガキ等があるが、中でもナデシコ科のヒロハノマンテマのY染色体は約570Mb、X染色体は約400Mbと巨大であり、どちらにも数千個の遺伝子が座乗している。この性染色体が獲得されたのは約1,100万年前と推定され(Krasovec et al. 2018)、哺乳類では約1億8千万年前(Cortez et al. 2014)であるのに対して進化的に新しい。動物ではXY間の相同遺伝子がほとんど残っていないが、ヒロハノマンテマではXY間の相同遺伝子が現在でも多く存在しているため、遺伝子量補正が存在しないのではないかという議論もあった。

そのなかで研究代表者は、ヒロハノマンテマのX染色体は突然のY染色体欠失に対応して遺伝子量補正を行う「即時遺伝子量補正」をもつことを新規に発見した(図1)。ヒロハノマンテマの雄に、放射線の一種である重イオンビームを照射し、Y染色体が部分的に欠失した変異体群を作った。これら変異体では、XY間の相同遺伝子のうちY染色体コピーだけが欠失している。本変異体の葉からRNAを抽出し全遺伝子の発現量を測定(RNA-Seq)したところ、X染色体コピーの発現量が2倍程度に上昇し、Y染色体コピーの欠失による転写産物の減少を補う「即時遺伝子量補正」が観察された。

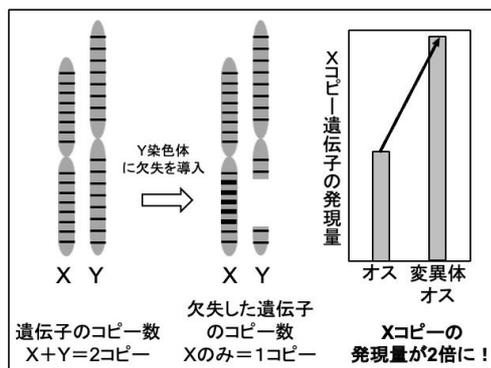


図1 ヒロハノマンテマ性染色体で観察した即時遺伝子量補正。XY間の相同遺伝子を黒線で示す。

## 2. 研究の目的

上述のような「即時遺伝子量補正」を、わずか1,100万年という比較的短い時間で、性染色体だけが獲得しうるのであろうか。さもなくば、植物の染色体自体が「即時遺伝子量補正」という機構をもつのではなからうか。植物ゲノムでは染色体の構造変化が頻繁に生じることが知られるが、その際に生じる遺伝子のコピー数の減少に耐える機構が「即時遺伝子量補正」なのではないだろうか。本研究では、植物ゲノムが即時遺伝子量補正をもつかどうかを検証することを目的とした。

## 3. 研究の方法

理化学研究所のリングサイクロトロンから発生した重イオンビームをシロイヌナズナの種子に照射(Arイオンビーム、LET = 290 keV/um、50 Gy、またはCイオンビーム、LET = 100 keV/um、150 Gy)して得られた突然変異体群をゲノムリシーケンスし、巨大欠失が検出された系統を選抜した。リシーケンスの情報解析は、変異検出パイプラインAMAPを用いて行った(Ishii et al. 2016)。検出された欠失領域にプライマーを設計し、PCRで欠失の有無を再確認した。選抜された系統を野生型Col-0と交配し、ヘテロで巨大欠失を持つ系統をBC<sub>1</sub>世代で選抜した。培養開始11日後の葉の面積と生重量を測定し、ヘテロの欠失が形質に与える影響を調査した。培養開始11日または40日の葉からRNAを抽出し、独立に3回ずつRNA-seqを行った。得られたリードをSTARでマッピングし、リードカウント及びTPMをEdge-Rを用いて算出した。

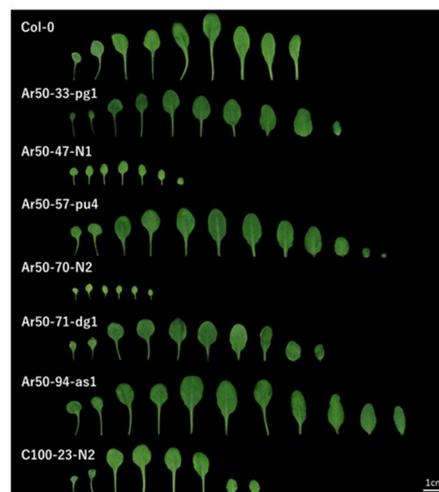


図2 ヘテロで欠失をもつ変異体の葉の表現型

#### 4. 研究成果

リシーケンスの結果、11 系統が欠失をもつことがわかった。これらの系統は合計で 427 遺伝子を欠失しており、それぞれの系統を野生型 Col-0 と交配して BC<sub>1</sub> 世代を得ることで、欠失をヘテロ接合の状態とした植物を作製した。培養開始後 11 日の面積 (図 2) 及び生重量は全ての系統で野生型とは異なったが、欠失遺伝子数の数と生重量の値との間に相関は見られなかった。葉を回収して独立に 3 回ずつ RNA-seq を行ったところ、当該遺伝子の大多数の発現量は野生型と比較して半減していた。一例をみると、ヘテロの欠失をもつ領域では、遺伝子発現量が約半分である Log FC 値 = -1 の箇所に多くの点が集まって見えた (図 3)。全体では、変異体の欠失領域の遺伝子の発現量の分布は野生型のそれよりも有意に小さかった (図 4A)。さらに、変異体の欠失領域に存在する遺伝子の発現量比を横軸にとって度数分布をとってみると、Col-0 の発現量の半量を示す 0.5 にピークが検出された (図 4B)。従って、シロイヌナズナの常染色体では即時遺伝子量補正は起きないことがわかった。一方で、発現量が野生型の 0.8 倍程度と半減よりは高い値や 1 倍よりも高い値を示した遺伝子群も存在したことから、一部の遺伝子はコピー数の減少に高感受性であり遺伝子量補正を起こすことも示唆された。今後は、異なる器官や発育ステージにおけるサンプリングを行い、遺伝子量補正が生じる時期や遺伝子の種類についてより詳細に調査する予定である。

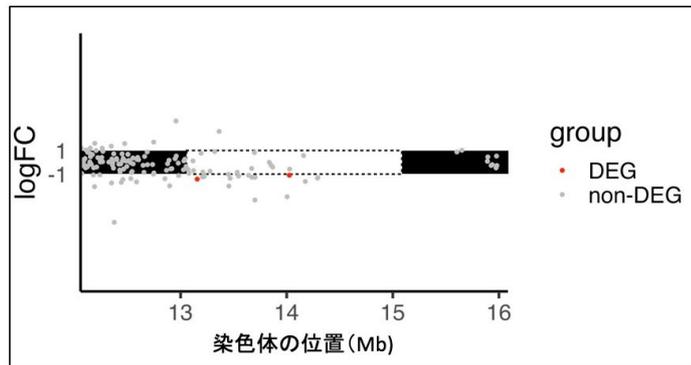


図 3 RNA-seq による遺伝子発現量の検出例。縦軸は遺伝子発現量比、横軸は染色体上の位置を示す。

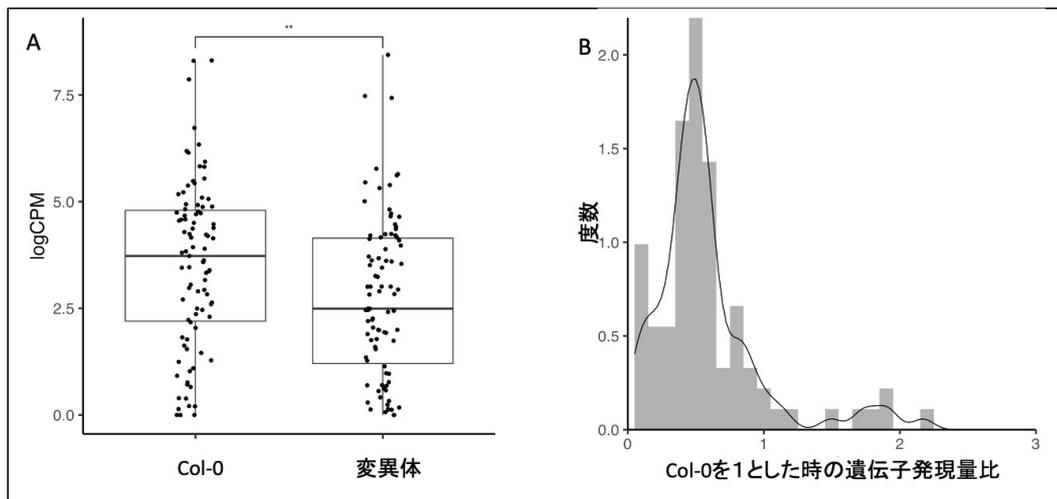


図 4 Col-0 とヘテロの欠失をもつ変異体における遺伝子発現量比。A) 変異体の欠失領域に存在する遺伝子の発現量の Col-0 との比較。B) Col-0 の遺伝子発現量を 1 としたときの相対的な遺伝子発現量を横軸に取ったヒストグラム。

#### 5. 引用文

- Cortez, D. *et al.* (2014). Origins and functional evolution of Y chromosomes across mammals. *Nature* 508: 488-493.
- Ishii, K. *et al.* (2016). AMAP: A pipeline for whole-genome mutation detection in *Arabidopsis thaliana*. *Genes genet. Syst.* 91: 229-233.
- Krasovec, M. *et al.* (2018). The mutation rate and the age of the sex chromosomes in *Silene latifolia*. *Curr. Biol.* 28: 1832-1838.
- Krasovec, M. *et al.* (2019) Immediate dosage compensation is triggered by the deletion of Y-linked genes in *Silene latifolia*. *Curr. Biol.* 29: 2214-2221.
- Mank, E.J. (2013) Sex chromosome dosage compensation: definitely not for everyone. *Trends. Genet.* 29: 677-683.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kazama Yusuke, Kitoh Moe, Kobayashi Taiki, Ishii Kotaro, Krasovec Marc, Yasui Yasuo, Abe Tomoko, Kawano Shigeyuki, Filatov Dmitry A	4. 巻 39
2. 論文標題 A CLAVATA3-like Gene Acts as a Gynoecium Suppression Function in White Campion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 msac195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/molbev/msac195	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 風間裕介、畑下昌範、木元久、櫻井明彦	4. 巻 29
2. 論文標題 イオンビームを用いた微生物の品種改良	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 29-32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Hirano Tomonari, Kazama Yusuke, Kunitake Hisato, Abe Tomoko	4. 巻 87
2. 論文標題 Mutagenic Effects of Heavy-Ion Beam Irradiation to Plant Genome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 CYTOLOGIA	6. 最初と最後の頁 3~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1508/cytologia.87.3	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 -
1. 著者名 Kobayashi Taiki, Takahashi Masako, Nishijima Ryo, Sugiyama Ryuji, Ishii Kotaro, Kawano Shigeyuki, Kazama Yusuke	4. 巻 86
2. 論文標題 Effective Chromosomal Preparation Protocol for the Dioecious Plant <i>Silene latifolia</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 CYTOLOGIA	6. 最初と最後の頁 323~328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1508/cytologia.86.323	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 Matsuta Ayaka, Mayuzumi Takahiro, Katano Hajime, Hatashita Masanori, Takagi Keiichi, Hayashi Yoriko, Abe Tomoko, Murai Koji, Kazama Yusuke	4. 巻 86
2. 論文標題 The Effect of Heavy-Ion Beams with High Linear Energy Transfer on Mutant Production in M1 Generation of <i>Torenia fournieri</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 CYTOLOGIA	6. 最初と最後の頁 317 ~ 322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1508/cytologia.86.317	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 Nhat Vuong Quoc, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Ohbu Sumie, Kunitake Hisato, Abe Tomoko, Hirano Tomonari	4. 巻 10
2. 論文標題 Double Mutant Analysis with the Large Flower Mutant, ohbana1, to Explore the Regulatory Network Controlling the Flower and Seed Sizes in <i>Arabidopsis thaliana</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 1881 ~ 1881
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants10091881	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 Sanjaya Alvin, Muramatsu Ryohsuke, Sato Shiho, Suzuki Mao, Sasaki Shun, Ishikawa Hiroki, Fujii Yuki, Asano Makoto, Itoh Ryuichi D., Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Kazama Yusuke, Fujiwara Makoto T.	4. 巻 10
2. 論文標題 <i>Arabidopsis</i> EGY1 Is Critical for Chloroplast Development in Leaf Epidermal Guard Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 1254 ~ 1254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants10061254	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 Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.	4. 巻 10
2. 論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of <i>Arabidopsis</i> Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 848 ~ 848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants10050848	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 Sanjaya A, Kazama Y *, Ishii K, Muramatsu R, Kanamaru K, Ohbu S, Abe T, Fujiwara MT*	4. 巻 10
2. 論文標題 An Argon-ion-induced pale green mutant of Arabidopsis exhibiting rapid disassembly of mesophyll chloroplast grana.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants10050848	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 -

1. 著者名 Itoh RD*, Nakajima KP, Sasaki S, Ishikawa H, Kazama Y, Abe T, Fujiwara MT	4. 巻 in press
2. 論文標題 TGD5 is required for normal morphogenesis of non-mesophyll plastids, but not mesophyll chloroplasts, in Arabidopsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Journal	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tbj.15287	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 -

1. 著者名 Tojo Hiroshi, Nakamura Aki, Ferjani Ali, Kazama Yusuke, Abe Tomoko, Iida Hidetoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 A Method Enabling Comprehensive Isolation of Arabidopsis Mutants Exhibiting Unusual Root Mechanical Behavior	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 646404
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2021.646404	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 -

〔学会発表〕 計20件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 生駒拓也, サンジャヤ アルピン, 池田美穂, 西嶋遼, 村井耕二, 阿部知子, 風間裕介
2. 発表標題 シロイヌナズナ染色体における遺伝子量補正の調査
3. 学会等名 第94回日本遺伝学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉田和陽, サンジャヤ アルピン, 西嶋遼, 田中裕之, 伊藤武彦, 村井耕二, 阿部知子, 風間裕介
2. 発表標題 シロイヌナズナの新規染色体部分的重複変異体における遺伝子発現変動とクロマチン動態
3. 学会等名 第94回日本遺伝学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上田純平, 風間裕介, 阿部知子, 村井耕二
2. 発表標題 時計遺伝子WPCL1の欠失による一粒系コムギ早生変異体の早生性を抑制するイオンビーム変異体late-heading 1の解析
3. 学会等名 日本育種学会第141回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鬼頭萌, 小林壮生, 石井公太郎, Marc Krasovec, 安井康夫, 阿部知子, 河野重行, Dmitry A. Filatov, 風間裕介
2. 発表標題 雌雄異株植物ヒロハノマンテマの性決定候補遺伝子GSFY の同定
3. 学会等名 北陸植物学会第12回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林壮生, 鬼頭萌, Dmitry A. Filatov, 風間裕介
2. 発表標題 ヒロハノマンテマ性決定遺伝子のX染色体連鎖パラログGSFXの機能解析
3. 学会等名 北陸植物学会第12回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黛隆宏, 松田彩花, 畑下昌範, 高城啓一, 阿部知子, 村井耕二, 風間裕介
2. 発表標題 重イオンビームを用いた園芸植物トレニアの花形変異体の作出
3. 学会等名 北陸植物学会第12回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 生駒拓也, サンジャヤ アルピン, 池田美穂, 西嶋遼, 阿部知子, 風間裕介
2. 発表標題 シロイヌナズナで遺伝子量補正は起きるのか
3. 学会等名 北陸植物学会第12回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉田和陽, サンジャヤ アルピン, 西嶋遼, 田中裕之, 伊藤武彦, 阿部知子, 風間裕介
2. 発表標題 染色体再編成が植物ゲノムに及ぼす影響
3. 学会等名 北陸植物学会第12回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 風間裕介, 鬼頭萌, 小林壮生, 石井公太郎, Marc Krasovec, 安井康夫, 阿部知子, 河野重行, Dmitry A. Filatov
2. 発表標題 CLV3様ペプチドはヒロハノマンテマの性を決定する
3. 学会等名 植物化学調節学会第57回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 風間裕介
2. 発表標題 重イオンビーム誘発欠失変異を用いた植物性染色体の研究
3. 学会等名 若狭湾エネルギー研究センター第24回研究報告会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yusuke Kazama and Tomoko Abe
2. 発表標題 Effect of Linear Energy Transfer in the heavy-ion mutagenesis and breeding
3. 学会等名 The 32nd annual meeting of MRS-J（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takahiro Mayuzumi, Ayaka Matsuta, Masanori Hatashita, Keiichi Takagi, Tomoko Abe, Koji Murai, and Yusuke Kazama
2. 発表標題 Heavy-Ion Beams with High Linear Energy Transfer frequently produces morphological mutants in the M1 generation of an ornamental plant <i>Torenia fournieri</i>
3. 学会等名 The 32nd annual meeting of MRS-J（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 風間裕介, 鬼頭萌, 小林壮生, 石井公太郎, Marc Krasovec, 安井康夫, 阿部知子, 河野重行, Dmitry A. Filatov
2. 発表標題 ついに発見! ヒロハノマンテマ性決定遺伝子
3. 学会等名 理研シンポジウム「重イオンビーム育種による持続可能な社会や特産品創出の実現」（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 風間裕介, 鬼頭萌, 小林壮生, 石井公太郎, Marc Krasovec, 安井康夫, 阿部知子, 河野重行, Dmitry A. Filatov
2. 発表標題 雌雄異株植物ヒロハノマンテマの雌蕊抑制に関わる性決定遺伝子GSFYの同定
3. 学会等名 日本育種学会第142回講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 南壮二郎, 渡邊遥, 大部澄江, 阿部知子, 風間裕介
2. 発表標題 ゲノム編集を用いたシロイヌナズナへの巨大逆位の導入
3. 学会等名 日本遺伝学会第92回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 南壮二郎, 渡邊遥, 大部澄江, 阿部知子, 風間裕介
2. 発表標題 ゲノム編集を用いたシロイヌナズナへの染色体再編成の導入
3. 学会等名 日本育種学会第138回講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 風間裕介
2. 発表標題 重イオンビームで拓く染色体再編成のサイエンス
3. 学会等名 北陸植物学会令和2年度大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 本佳澄、西浦愛子、風間裕介、市田裕之、阿部知子、村井耕二
2. 発表標題 重イオンビーム照射によって作出された超極早生コムギ変異体*extra early-flowering 4* (*exe4*) の花成関連遺伝子の発現解析
3. 学会等名 第15回コムギ類研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野村文希, 風間裕介, 阿部知子, 村井耕二
2. 発表標題 オンビーム照射により作出されたPpd-1欠失「農林61号」変異系統の解析
3. 学会等名 第15回コムギ類研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sanjaya A, Muramatsu R, Sato S, Suzuki M, Ishikawa H, Sasaki S, Ishii K, Ohbu S, Abe T, Kazama Y, Fujiwara MT
2. 発表標題 An Argon Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Epidermis-Specific Albinism and Accelerated Leaf Senescence
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021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			
英国	The University of Oxford			
フランス	Sorbonne University			