

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月25日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21370036

研究課題名（和文） 光環境を受容するフィトクロム遺伝子群のゲノム進化がもたらす多様性形成機構の解析

研究課題名（英文） Analysis of intraspecific diversification caused by phytochrome gene evolution as photo-receptor

研究代表者

瀬戸口浩彰（SETOGUCHI HIROAKI）

京都大学・大学院人間・環境学研究科・准教授

研究者番号：70206647

研究成果の概要（和文）：

（1）アブラナ科ミヤマタネツケバナにおけるPHYE遺伝子の南北間分化を比較した。PHYE遺伝子を単離して、クローニングを進め、高機能高変異性を示すN末端側をクローニングすることができた。この構築されたプラスミドは、大腸菌に形質転換することでタンパク質を合成する機能を持つ。

（2）緯度に応じて開花応答性が大きく異なるマメ科ミヤコグサで、光受容遺伝子群の分化を検証した。PHYA, PHYB, PHYE において多数の非同義的置換が産地間にあり、そのアミノ酸置換の多くはGAFドメインなどの機能中枢に偏在していた。

研究成果の概要（英文）：

We aimed to evaluate polymorphisms of photoreceptor genes such as phytochromes and cryptochromes in relation with photoperiodic response as local adaptation to habitat environment.

First, we accomplished to construct basement for comparative physiological studies on PHYE of *Cardamine nipponica* (Brassicaceae), of which exhibits north-south differentiation in the Japanese archipelago. We isolated the northern and southern PHYE genotypes, and succeeded in cloning the N⁷-terminal part of the gene.

Second, we analyzed gene polymorphisms and geographical structure of photoreceptor genes such as PHY and CRY of *Lotus japonicus*. This plant harbored plural SNPs in PHYA, PHYB and PHYE, of which most of them were located in functional domains such as GAF loop.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,600,000	1,980,000	8,580,000
2010年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2011年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：生物多様性・分類

科研費の分科・細目：進化

キーワード：進化・適応・フィトクロム・光環境

1. 研究開始当初の背景

植物はいったん発芽した場所から移動することが出来ないために、生育地の光環境を感

受して開花等のタイミングを測っている。本研究では、日本列島の異なる緯度の中で、同一の植物種内でフィトクロム遺伝子などの光受容遺伝子群がどのように適応進化しているかを調べた。

2. 研究の目的

(1) 緯度に応じて分化しているフィトクロム E (PHYE) の安定性や応答性の違いを明らかにする。これは、アブラナ科のミヤマタネツケバナを用いた。

(2) 日本国内で緯度に応じて発芽から開花までの所要日数が大きく異なるマメ科ミヤコグサとツルマメにおける光受容遺伝子群の分化を検証する。

(3) 系統地理研究では南北分化が見出されない植物においても、光受容遺伝子群が適応分化していることを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) アブラナ科のミヤマタネツケバナにおける PHYE 遺伝子を対象にして、機能の地域差を明らかにした。PHYE 遺伝子を単離し、クローニングを進めた。PHYE 遺伝子は 3.5 kb ほどの大きな遺伝子であるため、様々な試行錯誤をこらした実験を行った。

(2) ミヤコグサとツルマメでは、PHYA, PHYB, PHYC, PHYE, CRY1, CRY2 の遺伝子群を対象にして、シーケンス決定と SNPs の位置の検索を行った。さらに分子進化の中立性を検定した。

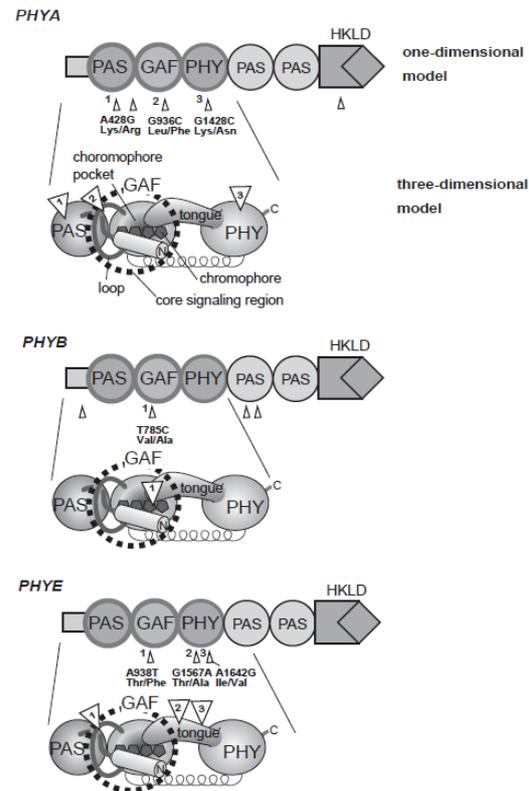
(3) これまでの系統地理研究では南北分化が見出されなかったコメバツガザクラで PHYE の多型を解析した。そして SNPs の位置の検索と分子進化の中立性を検定した。

4. 研究成果

(1) PHYE のアミノ酸配列の中でも、地域間で機能の変化を起こしている可能性が高い変異を持つ、N 末端側をクローニングすることができた。この構築されたプラスミドは、大腸菌に形質転換することでタンパク質を合成する機能を持つ。そのため、これらの成果は PHYE の機能における地域差をタンパク質レベルで解明することに対して、大きな進展である。

(2) ミヤコグサでは PHYA, PHYB, PHYE において多数の非同義的置換が産地間にあり、そのアミノ酸置換の多くは GAF ドメインなどの機能中枢に偏在していた。その一方で、CRY1, CRY2 遺伝子群には変異がまったく存在しなかった。このことは、ミヤコグサは生育地の日長などの光環境の違いを複数のフィトクロム遺伝子の多型によって対処しているのではないかと考察した。その一方で、ツルマメでは PHY 遺伝子群や CRY 遺伝子群のエキソン部位には変異が認められず、GI などの概日時計系遺伝子群に多型が認められた。こ

の知見は、近縁な植物の間でも、光環境に適応するメカニズムが異なっていることを示唆している。



図：ミヤコグサの地域間(北海道～沖縄)にお
野生系統のフィトクロム A, B, E 遺伝子 N 末
端側における一塩基多型 (SNPs) の位置 (Oh
et al. 投稿審査中)。

(3) コメバツガザクラの PHYE の多型では、高機能部位に特定の SNP があり、これが南北分化を起こしていることが見出された。このことは、種内分化の有無に関係なく、生育地の光環境に関与する遺伝子座が特定のアルルに適応収斂することを示唆している。

5. 主な発表論文等

(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 8 件)

① Ikeda, H., Carlsen, T., Fujii, N., Brochmann, C.,

Setoguchi, H. 2012. Evolution of an alpine endemic plant at the arctic-alpine range periphery following Pleistocene climatic oscillations. *New Phytologist* 194: 583-594. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2012.04061.x

② Ishibashi, N., Setoguchi, H. 2012.

Polymorphism of DNA sequences of cryptochrome genes is not associated with the photoperiodic flowering of wild soybean along a latitudinal cline. *Journal of Plant Research* (in press)

DOI:10.1007/s10265-011-0470-6

③Ikeda H., Fujii N., Setoguchi H. 2011.

Molecular

evolution of cryptochrome genes and the evolutionary manner of photoreceptor genes in *Cardamine nipponica* (Brassicaceae). *Journal of Plant Research* 124: 85-92.

DOI:10.1007/s10265-010-0361-2

④Ikeda H., Setoguchi H. 2010. Natural selection on *PHYE* by latitude in the Japanese archipelago: insight from locus specific phylogeographic structure in *Arctericia nana* (Ericaceae). *Molecular Ecology* 19: 2779-2791.

DOI: 10.1111/j.1365-294X.2010.04700.x

⑤ Ikeda H., Fujii N., Setoguchi H. 2011.

Molecular

evolution of cryptochrome genes and the evolutionary manner of photoreceptor genes in *Cardamine nipponica* (Brassicaceae). *Journal of Plant Research* 124: 85-92. DOI: 10.1007/s10265-010-0361-2

⑥Nomura, N., Takaso, T., *et al.*, Setoguchi, H.

2010. Molecular phylogeny and habitat diversification of the genus *Farfugium* (Asteraceae) based on nuclear rDNA and plastid DNA. *Annals of Botany* 106: 467-482. DOI: 10.1093/aob/mcq139

⑦Ikeda, H., Fujii, N., Setoguchi, H. 2009.

Application of the isolation with migration model demonstrated the intraspecific vicariance history within Japanese endemic alpine plant, *Cardamine nipponica* Franch. et Savat. (Brassicaceae). *Molecular Biology and Evolution* 26: 2207-2216.

DOI: 10.1093/molbev/msp128

⑧Ikeda, H., Fujii, N., Setoguchi, H. 2009.

Molecular evolution of phytochromes in *Cardamine nipponica* (Brassicaceae) suggests the involvement of *PHYE* in local adaptation. *Genetics* 182: 615-622.

DOI: 10.1534/genetics.109.102152

〔学会発表〕 (計 7 件)

①呉ハナ・川口正代司・原田久也・瀬戸口浩彰 ミヤコグサの開花時期変異とこれを制御する遺伝子群の多型: 種内の進化をもたらす機構. 日本植物分類学会第11回大会, 2012年3月22日-25日, 大阪学院大学

②瀬戸口浩彰: 進化を続ける植物たち: 環境適応と植物の種内分化. 首都大学東京バイオ

コンフェレンス(招待講演)2011年11月11日 首都大学東京国際交流会館大ホール

③石橋宣史・瀬戸口浩彰: 日本におけるダイズ野生種ツルマメのクリプトクロム遺伝子の分子進化. 日本植物学会第75回大会, 2011年9月17日-19日, 東京大学.

④呉ハナ,立石庸一,長谷あきら,瀬戸口浩彰: 日本産ミヤコグサにおける開花特性と光受容体遺伝子群の多型.

日本植物学会第75回大会, 2011年9月17日-19日, 東京大学.

⑤池田啓, 瀬戸口浩彰: コメバツガザクラ(ツツジ科)の系統地理と *PHYE* 遺伝子における自然選択. 日本植物分類学会第9回大会. 2010年3月26日-29日, 愛知教育大学.

⑥池田啓, 藤井紀行, 瀬戸口浩彰: ミヤマタネツケバナ (*Cardamine nipponica*) における青色光受容体 *CRY* 遺伝子の系統地理. 日本植物学会第73回大会. 2009年9月17日-20日, 山形大学.

⑦池田啓, 藤井紀行, 瀬戸口浩彰: Molecular evolution of phytochromes in *Cardamine nipponica* (Brassicaceae) suggests the involvement of *PHYE* in local adaptation" 12th Congress European Society for Evolutionary Biology. 2009年8月24日-29日, Turin, Italy.

〔図書〕 (計 1 件)

①藤井紀行, 池田啓, 瀬戸口浩彰: "増沢武弘編集: 高山植物学—高山環境と植物の総合科学-" 共立出版. 445 (2009)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

http://web.mac.com/setoguchi_lab0/iWeb/Site/Welcome.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瀬戸口浩彰 (SETOGUCHI HIROAKI)
京都大学・大学院人間・環境学研究科・
准教授
研究者番号：70206647

(2) 研究分担者

長谷あきら (NAGATANI AKIRA)
京都大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号：40183082

藤井紀行 (FUJII NORIYUKI)
熊本大学・大学院自然科学研究科・
准教授

研究者番号：40305412

池田啓 (IKEDA HAJIME)
国立科学博物館・研究員

研究者番号：70580405

(H22: 分担者追加 ; H23: 東京大学→国立
科学博物館)