

## 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 19日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22770013

研究課題名（和文） 適応遺伝子の時空間動態：イブキ・ハクサンハタザオにおける分子「古」生態学

研究課題名（英文） Spatio-temporal dynamics of adaptive genes in *Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera*

研究代表者

森長 真一（MORINAGA SHIN-ICHI）

東京大学・大学院総合文化研究科・助教

研究者番号：80568262

研究成果の概要（和文）：

アブラナ科シロイヌナズナ植物であるハクサンハタザオとイブキハタザオを対象に、次世代シーケンサーを用いて適応遺伝子を探索した。さらに、標本個体と現生個体を用いてその時空間動態を解析したところ、多くの遺伝子で変動が見られ、その中の一つでは低地から高地への一方向的な遺伝子流動が観察された。

研究成果の概要（英文）：

I sequenced the genome of *Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera* by using next-generation DNA sequencer to explore the adaptive genes for local habitats. Furthermore, I examined the allele frequency changes from 100 years ago to the present in some functional genes related to environmental adaptation using specimen samples. As a result, rapid allele frequency changes during the last 20 years were detected in important functional genes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：生態・環境

科研費の分科・細目：分子生態、進化生態

キーワード：アブラナ科、シロイヌナズナ属、適応進化、ゲノム基盤、次世代シーケンサー、標本、時空間動態、環境変動

## 1. 研究開始当初の背景

適応的分化とは、選択圧によってもたらされる種内・種間の遺伝的な形質差の事であり、生物多様性を形作る主要因のひとつでもある。近年のゲノム科学の発展は、野生生物における機能遺伝子解析を介して、適応的分化研究にもブレイクスルーをもたらした。すなわち、形質を支配する機能遺伝子を網羅的に解析する事で、個々の形質を一つひとつ解析する事なく、同時に多数の形質の適応的分化パターンを描出する事を可能にした。

ハクサンハタザオ (*Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera*) は東アジアに広く分布するアブラナ科シロイヌナズナ属の多年生草本である。特に日本の伊吹山と藤原岳では、低標高帯にはハクサンハタザオが、高標高帯にはハクサンハタザオ種内の高地生態型であるイブキハタザオ(学名はハクサンハタザオと同じ)が生育している。これらの植物はモデル植物シロイヌナズナ (*A. thaliana*) に最も近縁な二倍体種であり、ゲノム解析・遺伝子解析が非常に容易である。また、掛け合わせ

が可能であるが、葉の厚さや大きさ・茎の太さや長さ・星状毛の密度などの形態的な表現型が生態型間で分化しており、適応的分化の産物であると考えられる。

しかしながらこれらの適応的分化が、今現在も進行の途上にあるのか、緩和されている途上なのか、あるいは平衡状態にあるのかなどを峻別することはできない。つまり、現存する生物の解析だけから、上記のような適応的分化の進行過程を描出する事は困難である。一方で、過去の生物と現存する生物の適応遺伝子を比較する事ができれば、適応遺伝子それぞれについて分化の進行過程を明らかにすることができる。

## 2. 研究の目的

博物館等に収蔵されている生物標本は、言わば、その個体が生きていた時代の生物学的情報が保存されたタイムカプセルである。伊吹山と藤原岳では100年以上も前から多くの研究者らによってイブキハタザオとハクサンハタザオの採取がおこなわれており、その標本が博物館等に数多く収蔵されている。これらの標本の適応遺伝子を解析することで、過去から現在に至る適応的分化の進行過程を復元できると考えられる。

適応遺伝子をもつ機能はそれぞれに異なっており、その機能に応じて時空間動態も変化する事が予想される。過去約100年間の適応的分化に影響した最も大きな選択圧は、人為的な環境改変である。そのため、例えば低地に特異的な対立遺伝子が高地へも分布を広げていたとすれば、その選択圧としては地球温暖化などが考えられ、同時にその遺伝子が生育温度に関わる生態学的機能をもつ事も示唆されうる。つまり、適応遺伝子の時空間動態を明らかにする事により、その動態に影響を与えた生態学的要因を描出できると考えられる。

そこで本研究では、過去の標本を利用して、イブキハタザオとハクサンハタザオの適応的分化を担う遺伝子の時空間動態を解析し、過去から現在にいたる分化の進行過程を復元することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 適応遺伝子の探索

適応遺伝子を探索するために、次世代シーケンサーを用いたゲノム解析をおこなった。

次世代シーケンサーIllumina GA IIxを用いて、イブキハタザオ一頭について、1.5run分の解析を行ない、リファレンスゲノムを構築した。

さらに、伊吹山と藤原岳集団の複数個体を用いて、個体ごとにIllumina GA IIxとHiSeq2000をもちいてゲノム解析を行なった。得られた配列データを、構築済みのリファレ

ンスに対してマッピングを行い、網羅的なSNP(一塩基多型)の検出を行なった。約220万箇所のSNPを対象に、伊吹山と藤原岳の両山においてイブキハタザオとハクサンハタザオで共に大きく分化している適応候補遺伝子を探索した。

### (2) 適応遺伝子の時空間動態

適応遺伝子の時空間動態を解析するために、標本個体の対立遺伝子頻度の解析を行なった。

北海道大学、東北大学、国立科学博物館、東京大学、首都大学東京、京都大学、大阪市立自然史博物館において、伊吹山で採取されたイブキハタザオとハクサンハタザオの葉の採取をおこなった。

その後、次世代シーケンサーによって明らかとなった適応遺伝子と複数の機能遺伝子の時空間動態を明らかにするために、1890年代から2000年代までの複数年代を対象に、対立遺伝子の解析を行なった。

## 4. 研究成果

### (1) 適応遺伝子の探索

1.5run分の配列データから構築したイブキハタザオのリファレンスゲノムには、近縁種のモデル植物であるシロイヌナズナの遺伝子コード領域の約90%が含まれていた。

複数個体を対象とした集団ゲノム解析の結果、伊吹山と藤原岳で共に標高に沿って大きく分化するSNPを87個抽出する事に成功した。それらのSNPの41個は、遺伝子内あるいは遺伝子のごく近傍に位置していた。

そこでこの41個のSNPが検出された遺伝子について、シロイヌナズナのデータベースを用いてその遺伝子機能を推定した。その結果、表皮のトライコーム、カルシウムトランスポーター、カドミウムトランスポーター、葉緑体の光応答、開花時期、種子休眠、植物ホルモン応答、ATP代謝、脂質代謝などに関わる遺伝子であることがわかった。

これらの遺伝子は伊吹山と藤原岳に共通の環境に対する適応を担う遺伝子であると考えられる。例えば、山頂付近は石灰岩質となっており、石灰岩に含まれるカルシウムやカドミウムが植物体内に蓄積するのをふせぐために積極的に排出しなければならず、そのためにカルシウムトランスポーター、カドミウムトランスポーターの遺伝子が検出されたと考えられる。また、樹木がほとんど生育しておらず、草原特有の光環境となっているため、強光に対して葉緑体を適切に配置させなければならないため、葉緑体の光応答に関わる遺伝子も見つかった。また、山頂付近に生育する個体はトライコームが密生しており、それに関係する遺伝子も実際に見つかった。

## (2) 適応遺伝子の時空間動態

適応遺伝子3つと、その他の機能遺伝子11個の時空間動態を解析した。その結果、遺伝子によって、大小様々な時空間変動が見られ、遺伝子の持つ機能が関係している事も示唆された。

例えば cytochrome 遺伝子では、1890年代から1990年代までは対立遺伝子頻度に大きな変化が見られなかったが、2000年代に入り、低標高のハクサンハタザオから高標高のイブキハタザオへ一方向的な対立遺伝子の遺伝子流動が生じていた。また alpha-glucosidase 遺伝子では、1890年代から1960年代まではイブキハタザオとハクサンハタザオで大きな分化は見られなかったが、それ以降から現在にかけて対立遺伝子頻度の分化が強化されていた。その他の機能遺伝子についても、一定の傾向は見られないものの、様々な変動がみられ、野外と集団においては常に遺伝子頻度が変化している事が予想された。

今後は、特異的なパターンが見られた遺伝子の対立遺伝子頻度の変化がどのような要因によるのかを、ゲノムレベルでの網羅的な解析と分子生物学的な機能解析によって明らかにする必要があると考えられる。

## 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3件)

①Ikeda, H., H. Setoguchi, S. -I. Morinaga. 2010. Genomic structure of lowland and highland ecotypes of *Arabidopsis halleri* ssp. *gemmifera* (Brassicaceae) in Mt. Ibuki. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*. 61: 21-26. 査読あり

②Banks, J. A. et al. (S. -I. Morinaga は101人中55番目) 2011. The *Selaginella* genome identifies genetic changes associated with the evolution of vascular plants. *Science*. 332: 960-963. 査読あり

③Sakamoto, R. L., S. -I. Morinaga, M. Ito, and N. Kawakubo. 2012. Fine-scale flower-visiting behavior revealed by using a high-speed camera. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 66:669-674. 査読あり

[学会発表] (計14件)

①森長真一・永野惇・伊藤元己 「植物標本から過去を紡ぐ：イブキ・ハクサンハタザオにおける分子「古」生態学的解析」 日本植

物学会第74回大会、愛知県春日井市、中部大学、2010年9月11日。

②森長真一 「植物の分布と適応：ゲノムが語る低地と高地の形質分化」、第10回日本分類学会連合公開シンポジウム、東京都、国立科学博物館新宿分館、2011年1月9日。招待講演

③森長真一・長谷和子・永野惇・伊藤元己 「適応遺伝子の時空間動態：イブキ・ハクサンハタザオにおける分子「古」生態学的解析」 第58回日本生態学会大会、札幌市、札幌コンベンションセンター、2011年3月9日。

④森長真一 「シロイヌナズナ近縁種の分布と適応：ゲノムから生態現象へ」、日本進化学会第13回大会、ワークショップ「環境適応の分子メカニズム」、京都市左京区、京都大学、2011年7月31日。招待講演

⑤森長真一 「シロイヌナズナ近縁種のゲノム解析：ゲノムを温めて生態を知る」、日本植物学会第75回大会、シンポジウム「ゲノム解析によって解き明かされる植物の多様性」、東京都目黒区、東京大学、2011年9月18日。招待講演

⑥森長真一・岩崎貴也・永野惇・伊藤元己 「進化し続けるイブキ・ハクサンハタザオ：機能遺伝子の時空間動態」 第59回日本生態学会大会、大津市、龍谷大学、2012年3月9日。

⑦Morinaga, S. -I. “Ecological genomics of local adaptation in a wild species of *Arabidopsis*” International Workshop for initiating a global genetic diversity assessment, Kyushu University, Fukuoka, Japan, March 14 2012. Invited speaker

⑧Morinaga, S. -I. “Ecological genomics of a wild species of *Arabidopsis* growing along an altitudinal gradient ” International symposium, Eco-Evolutionary Approaches to Climate Changes: Rapid Adaptation to Climate Changes in Plants, Kyushu University, Fukuoka, Japan, August 29 2010. Invited speaker

⑨永野聡一郎・齋藤佳奈・Wenhui Zhang・矢野歳和・森長真一・日出間純・彦坂幸毅 「異なる標高におけるハクサンハタザオとイブキハタザオの紫外線によるDNA損傷とその防御メカニズム」 第58回日本生態学会大会、札幌市、札幌コンベンションセンター、

2011年3月10日.

⑩坂本亮太・森長真一・伊藤元己・川窪伸光  
「開花時期に伴い変動する複数訪花者の送粉貢献」 第58回日本生態学会大会、札幌市、札幌コンベンションセンター、2011年3月9日.

⑪坂本亮太・伊藤元己・川窪伸光・森長真一  
「訪花頻度に依存しない送粉貢献-季節変動する送粉者の効果と変動しない種子生産-」 第43回種生物学シンポジウム、山梨県富士吉田市、2011年12月10日.

⑫永野聡一郎・齋藤佳奈・Wenhui Zhang・矢野歳和・森長真一・日出間純・彦坂幸毅  
「標高の上昇に伴う紫外線によるDNA損傷の増加と高標高生態型の適応的分化」日本植物学会第75回大会、東京都目黒区、東京大学、2010年9月19日.

⑬坂本亮太・森長真一・伊藤元己・川窪伸光  
「ハイスピード動画撮影による送粉行動の解析」 Animal 2011(第71回日本動物心理学会・第30回日本動物行動学会・2011年度応用動物行動学会/日本家畜管理学会 合同大会)、東京都港区、2011年9月11日.

⑭永野聡一郎・森長真一・彦坂幸毅 「ハクサンハタザオとイブキハタザオの葉の解剖学的・生化学的特性の標高傾度に沿った変異とその生態学的意義」 日本植物学会第74回大会、愛知県春日井市、中部大学、2010年9月11日.

[図書] (計1件)

①永野惇・森長真一 責任編集 (2010) 「ゲノムが拓く生態学-遺伝子の網羅的解析から迫る植物の生きざま-」、文一総合出版、375p

[その他]

①ホームページ

<http://sites.google.com/site/simorinaga/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

森長真一 (MORINAGA SHIN-ICHI)

東京大学・大学院総合文化研究科・助教

研究者番号：80568262