

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：23201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20665

研究課題名（和文）陸上植物における弱光適応形質の平行進化機構の解明

研究課題名（英文）Parallel evolution of low-light adaptation traits in land plants

研究代表者

孫田 佳奈（Magota, Kana）

富山県立大学・工学部・助教

研究者番号：10963415

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：弱光環境に適応的な表現型である逆円錐形の柵状組織細胞はユキノシタ科のダイモンジソウにおいて系統平行的に進化してきた。本研究では、細胞の形の変異を生じる遺伝的基盤を明らかにすることを目的とした。ダイモンジソウのゲノムを新規に構築し、ゲノムスキャンによって細胞の形に対応する遺伝的変異を探索した。2地点における光生態型（明所型と暗所型）を対象に、塩基置換や染色体構造変異を探索したものの、細胞の形の分化に関わる遺伝領域を特定するには至らなかった。今後、詳細な形態計測に基づく個体の選抜を行うこと、また発現量変動やエピジェネティック変異の関与にも着目し遺伝的基盤を明らかにしていく必要があることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では柵状組織細胞の形の変異を生じる遺伝的基盤の解明には至らなかったものの、野生植物において細胞の形には変異の幅があること、そして可塑性によって細胞の形が柔軟に調整されている可能性を示唆することができた。弱光適応機構の解明においては、このような表現型の変異を包括的に評価していく必要があることがわかった。また、本研究では新規にダイモンジソウのゲノム配列決定を行った。これは、これまでゲノムがほとんど解読されてこなかったユキノシタ科植物において大きな前進となった。今後のゲノム研究の基盤となるデータを提示できた点も、本研究の成果の一つである。

研究成果の概要（英文）：The inverted cone-shaped palisade cell is an adaptive trait to low light conditions. This shape of palisade cell is found in independent lineages of *Saxifraga fortunei* (Saxifragaceae). In this study, to reveal the genetic basis of the shape of the palisade cell, I newly constructed the genome of *S. fortunei* and performed a genome scan to detect genetic variations related to the cell shape. I used two pairs of populations from sun-exposed and shaded habitats in distinct areas and assessed base substitutions and chromosomal structural variations. As a result, I could not identify effective genetic variations related to the formation of the palisade cell shape. In the future, I need to select individuals for sequencing based on detailed morphological measurements and consider the effects of gene expression level variations and epigenetic variations to reveal the genetic basis of the cone-shaped palisade cells.

研究分野：植物系統進化学

キーワード：光環境適応 柵状組織細胞 平行進化 自然選択 エコゲノミクス

## 1. 研究開始当初の背景

生物は地球上のあらゆる環境に進出し多様化しており、その多様化過程においては環境適応が大きな役割を果たしてきたと考えられる。移動能力を欠く植物では、生育地の環境に適応するための様々な機構が獲得されてきたが、とりわけ光環境への適応は重要である。なぜなら、光は植物の生命活動に必須のエネルギー源である一方で、強すぎる光は有害であり、個体の生存を妨げるからである。

これまでの研究より、林床に生育する植物においては逆円錐形の柵状組織細胞をもつ植物が多数いることが明らかになってきた。逆円錐形の柵状組織細胞を持つ植物は、わずかな光の下でも効率よく光を受容し光合成反応を促進できる一方で、短時間でも強光にさらされると光障害が生じ、個体は死に至ることが明らかになっている。したがって、逆円錐形細胞は限られた光しか届かない暗い林床に生育する植物に限定して観察される現象であり、弱光下での生育に適応的な表現型である。また、この現象は暗い林床に生育するコケ植物～シダ植物～種子植物の幅広い分類群に共通して観察されることから、陸上植物に共通の弱光適応機構である可能性が示唆されている。

ユキノシタ科のダイモンジソウには、直射日光が当たる明るい草原に生育する明所型と、わずかな光しか届かない暗い林床に生育する暗所型がある。これら光生態型を用いて共通条件下での栽培実験を行った結果、暗所型においてのみ逆円錐形の柵状組織細胞が観察された (Magota et al., 2024) (図 1)。本種

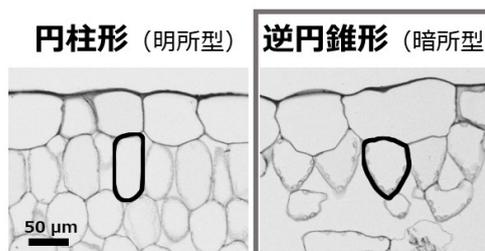


図 1. ダイモンジソウの柵状組織細胞

の光生態型は日本列島の各地において系統平行的に進化したと考えられるが (Magota et al., 2021)、各地の暗所型では共通して逆円錐形の柵状組織細胞が観察された。したがって、柵状組織細胞の形状は遺伝的変異によって決まっており、種内において平行進化してきた表現型であることが示唆されている。

## 2. 研究の目的

本研究の最終的な目標は陸上植物において平行進化してきた弱光適応形質である逆円錐形の柵状組織細胞の遺伝基盤を明らかにすることである。そこでまず、ダイモンジソウを材料とし、光生態型 (明所型と暗所型) 間における柵状組織細胞の形の変異をもたらす遺伝子を特定することを目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究ではダイモンジソウの光生態型を対象とし、ゲノムスキャンによって暗所型の逆円錐形細胞に関連する遺伝領域を探索することを試みた。そこでまず、本種の参照ゲノム配列の構築を行った。個体内のヘテロ接合度が比較的低いと推定された御蔵島産の個体より DNA を抽出し、Nanopore シーケンサー (Oxford Nanopore Technologies 社) を用いてロングリードシーケンスを行っ

た。また、同じ DNA を DNBSEQ (MGI 社) でショートリードシーケンスを行い、ロングリードデータと合わせてアセンブルした。さらに花と葉から抽出した mRNA の配列情報を取得し、遺伝子アノテーションを行った。次に、秋田県男鹿市および新潟県佐渡市に生育するダイモンジソウの光生態型 (明所型と暗所型) 各 40 個体から DNA を抽出し、Pool-seq 法でシーケンスを行った。先に構築した参照ゲノムにマッピングし、光生態型間で分化する遺伝領域の探索を行った。

#### 4. 研究成果

参照ゲノムの構築を試みた結果、720Mbp (n=11) のゲノムが 274 本のコンティグにまとめられ、遺伝子網羅率を示す BUSCO 値も 98.7% と高い値を示した (表 1)。光生態型間で分化した遺伝領域を探索した結果、秋田県男鹿市においても新潟県佐渡市においても光生態型間で特に大きく分化する遺

表 1. ゲノム構築の結果

Stats	<i>Saxifraga fortuneii</i> var. <i>jotanii</i>
Genome size (bp)	720,000,000
flowcytometry	
k-mer†	637,418,345
Chromosome	n=11
Contigs	274
Assembly total (bp)	721,254,486
Longest contig (bp)	37,744,121
Average length (bp)	2,632,316
N50 (bp)	11,220,052
LAI	14.02
Annotated genes	29,424
Genome BUSCO (%)	C:98.7%[S:88.8%,D:9.9%],F:0.3%,M:1.0%
Gene model BUSCO (%)	C:97.2%[S:75.0%,D:22.2%],F:0.7%,M:2.1%

伝領域が見つからなかった (図 2)。また、 $F_{ST}$  上位 1% 領域に座乗する遺伝子の機能を BLAST 検索により調べたが、葉の光形態形成に関与すると考えられる遺伝子は含まれていなかった。今回のシーケンスでは明所型と暗所型の DNA をそれぞれプールしたが、実際には各生態型内における細胞の形は連続的な変異を示すために、細胞の形の違いに対応した遺伝変異が抽出できなかった可能性が挙げられる。細胞の形を計測した上でプールする個体を選抜する必要があると考えられる。また他にも、Pool-seq で得られた配列が参照配列に上手くマッピングできなかった可能性が考えられた (図 3)。対象種のダイモンジソウは種内には日本列島の南北に対応して遺伝的に分化した 2 系統が存在している。参照配列とした東京都の集団 (南) と新潟県・秋田県の集団 (北) の間では当初に想定していたよりも大きな遺伝的分化が生じていたために参照配列へのマッピングが上手く行われなかった可能性が考えられた。今後は北系統でもドラフトゲノムを構築する必要があることがわかった。加えて、遺伝的変異 (塩基置換や染色体構造変異) だけではなく、エピジェネティック変異や発現遺伝子の違いによる影響も考慮し、光生態型間の表現型分化をもたらす遺伝的基盤を解明していく必要があることもわかった。

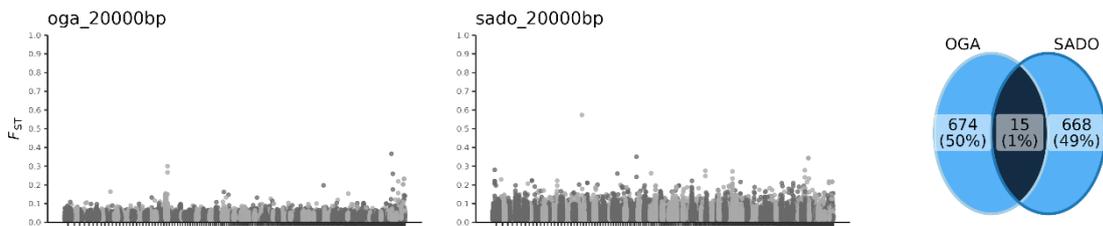


図 2. 秋田県男鹿市 (左) と新潟県佐渡市 (右) における光生態型間での遺伝領域ごとの分化度

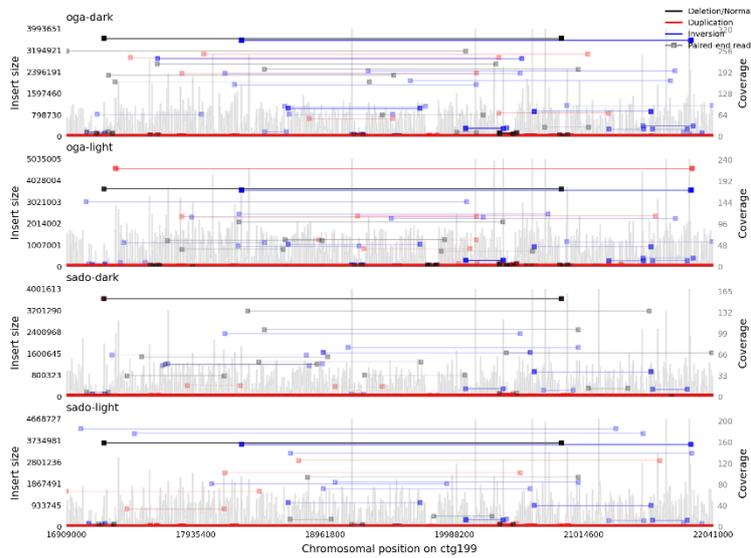


図 3. 199 番コンティグにおけるマッピングの様子

<引用文献>

Magota, K., Gotoh, E., Sakaguchi, S., Ikeda, H. & Setoguchi, H. (2024). High-intensity light promotes adaptive divergence of photosynthetic traits between sun-exposed and shaded habitat populations in *Saxifraga fortunei*. *American Journal of Botany*, in press.

Magota, K., Sakaguchi, S., Lee, J. S., Yamamoto, M., Takahashi, D., Nagano, A. J., & Setoguchi, H. (2021). Phylogeographic analysis of *Saxifraga fortunei* complex (Saxifragaceae) reveals multiple origins of morphological and ecological variations in the Japanese Archipelago. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 163, 107230.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 孫田佳奈、池田啓、永野惇、瀬戸口浩彰
2. 発表標題 日本アルプスにおける高山型ダイモンジソウの系統的起源
3. 学会等名 日本植物学会第86回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 孫田佳奈、池田啓、永野惇、瀬戸口浩彰
2. 発表標題 高山型ダイモンジソウの実体を探る；日本アルプス集団の進化的起源
3. 学会等名 日本植物分類学会第22回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 孫田佳奈、陶山佳久、高橋大樹
2. 発表標題 襲早紀要素植物センダイソウの系統分化とモミジバ型の平行進化
3. 学会等名 日本植物分類学会第23回大会
4. 発表年 2024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
---------	---------