

平成 28 年 5 月 23 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2015

課題番号：24770014

研究課題名(和文) 時空間変動遺伝子の網羅的解析：ゲノム解読から個体群動態まで

研究課題名(英文) Spatial and temporal variations in adaptive genes: from genome analysis to population dynamics

研究代表者

森長 真一 (MORINAGA, Shin-Ichi)

日本大学・生物資源科学部・助教

研究者番号：80568262

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：シロイヌナズナ属の野生植物であるハクサンハタザオを対象に、現生個体と過去から現在にかけて採取されてきた標本個体の全ゲノム比較を通じて、時空間的に変動する適応遺伝子の網羅的な解析をおこなった。現生個体の解析においては標高適応を担う遺伝子を、標本個体の解析においては時間的な環境変化に対応する適応遺伝子を探索した。これらの解析結果に基づき、集団間にみられる適応遺伝子の機能・種類・数の異同から、環境変化に対する野生植物集団の進化的応答について議論した。

研究成果の概要(英文)：To investigate the spatial and temporal variations in adaptive genes, I conducted population genomic analysis for current and past individuals in *Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera* that grows in Mt. Ibuki, Mt. Fujiwara, and other populations in Japan. I established a reference genome by de novo assembly analysis and employed population genomic analysis of spatial and temporal variations in adaptive genes for each 56 current and 200 past individuals. Based on these results, I discussed the differences in the number, kind, and function of adaptive genes among populations, and the evolutionary responses to global and local environmental changes in wild plant populations.

研究分野：生態ゲノム学

キーワード：ゲノム 適応遺伝子 シロイヌナズナ近縁種 植物標本

1. 研究開始当初の背景

18世紀の産業革命以降、大気二酸化炭素濃度は上昇を続け、特に近年の上昇速度の増加は著しい。それとともに、気温も上昇しており、この傾向は今後も続くことが予測されている。また、伐採などによる局所的な環境変化も進んでいる。これらの環境変化は、我々ヒトの生活に影響を及ぼすとともに、ヒト以外の生物に対しても大きな進化的影響を与えてきたと考えられているが、その影響を解析することには大きな困難が伴っていた。なぜならば、特定の集団を対象に、長期間に渡ってその変化を観察し続けなければならないからである。

しかしながら、20世紀末にゲノム科学が勃興し、ヒトを含めた様々な生物種を対象としたゲノム解読プロジェクトが開始された。最近では、次世代シーケンサーに代表される遺伝子解析技術の発展により、非モデル生物におけるゲノム解析も可能となり、多くの生物で全ゲノム解読が行われてきた。さらに、遺伝子解析コストが大幅に低下したことにより、生物標本に由来する過去の生物個体と現存する生物個体のゲノム比較が可能となってきた。

2. 研究の目的

(1) 研究対象

本研究では、モデル植物シロイヌナズナと同属の野生植物であるハクサンハタザオ (*Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera*, 図1)を対象に、現生個体と過去100年以上に渡って採取されてきた標本個体のゲノム比較を通じて、時空間的に変異する適応遺伝子を網羅的に探索することを試みた。



図1. 伊吹山(左は低標高、右は高標高)のハクサンハタザオ

(2) リファレンスゲノムの作成

ゲノム未解読生物であるハクサンハタザオにおいて、現生個体や標本個体を用いた集団ゲノム解析を行うために、リファレンスゲノムの作成を試みた。

(3) ゲノムの空間的変異

現生個体の解析においては、気候変動などの

影響が危惧される山岳域に着目し、標高適応を担う適応遺伝子の解析をおこなった。適応遺伝子の空間的な変異から、環境変化に対する進化的応答について考察を行うことを目的とした。

(4) ゲノムの時間的変異

標本個体の解析においては、同じく山岳域に着目して、年代に沿って対立遺伝子頻度が移り変わる時間的な環境変化に対応する適応遺伝子の解析をおこなった。適応遺伝子の時間的な変異と、生育地による変異程度の違いから、進化的応答の多様性と共通性を議論することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) リファレンスゲノムの作成

次世代シーケンサーilluminaと次世代シーケンサー454を用いて、滋賀県伊吹山で採取した現生一個体についてのゲノム配列解析をおこなった。得られた配列を用いて *de novo* アセンブリ解析をおこない、リファレンスゲノムを作成した。

(2) 現生個体の集団ゲノム解析

現生個体のゲノム解析により、空間的な変動遺伝子の解析をおこなった。滋賀県伊吹山・三重県藤原岳・大阪府箕面・宮城県奥新川・富山県猪谷・栃木県板室で採取した個体を使用し、標高に沿って対立遺伝子頻度が移り変わる、標高適応遺伝子を探索した。

(3) 標本個体の集団ゲノム解析

標本個体のゲノム解析により時間的な変動遺伝子の解析をおこなった。滋賀県伊吹山・三重県藤原岳・大阪府箕面・宮城県奥新川で過去から現在までに採取された約200個体の標本を使用し、年代に沿って対立遺伝子頻度が移り変わる、時間的な環境変化に対応する適応遺伝子を探索した。

4. 研究成果

(1) リファレンスゲノムの作成

滋賀県伊吹山の標高380mに生育するハクサンハタザオ一個体について、次世代シーケンサーを利用して全ゲノムの190倍に相当するDNA配列を解読した。得られた断片配列についてソフトウェアを用いて *de novo* アセンブリ解析し、予想ゲノムサイズ255Mbpに対して252Mbpのリファレンスゲノムを構築した。近縁種である *Arabidopsis lyrata* で構築されたリファレンスゲノムと比べると、得られたリファレンスゲノムは断片数が多く、個々の Scaffold が短い傾向があった。しかしながら、ハクサンハタザオのリファレンスゲノムに対し、シロイヌナズナのデータベースTAIR10に登録されているシロイヌナズナの機能遺伝子配列をマッピングしたところ、90%以上の配列を貼りつけることに成功した。これらの結果より、得られたリファレンスゲ

ノムが適応遺伝子の探索を行う上で十分な遺伝子数を含むと考えられた。

(2) 現生個体の集団ゲノム解析

伊吹山と藤原岳のそれぞれの山において、麓から頂上にかけて4つの集団を設定し、両山の8集団に加え、その他の4集団から採取した合計56個体を対象に次世代シーケンサーilluminaを用いてリシーケンスをおこなった。その後、解読した配列断片をリファレンスゲノムにマッピングすることにより一塩基多型(SNP)を検出し、全SNPの対立遺伝子頻度の変異を解析した。

得られたSNPの中から、低標高と高標高集団間で分化し、標高に沿って対立遺伝子頻度に変化し、高標高集団において派生的な対立遺伝子が優占するSNPが連続して含まれる領域を抽出した(図2、Kubota et al. 2015)。さらに、シロイヌナズナで蓄積された遺伝子オントロジー(いわば網羅的な遺伝子機能予測)の情報から、どのような機能あるいは環境要因に関連した遺伝子が有意に抽出されたか解析することで、標高適応を促した自然選択を推定した。

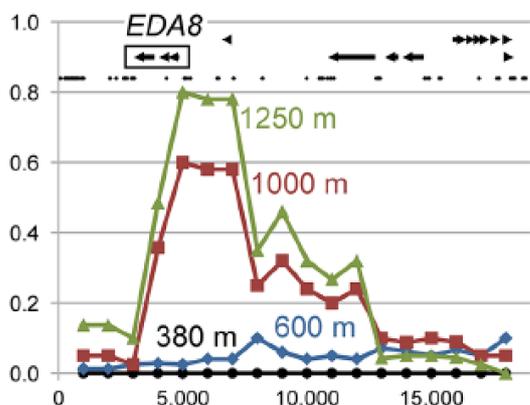


図2. 伊吹山における、標高勾配に沿ったEDA8遺伝子の対立遺伝子頻度変化 (Kubota et al. 2015)

遺伝子オントロジー解析から、どちらの山でも気温・光環境への応答や形態形成など、本種において標高間での差異が報告されている形質に対する自然選択が有意に検出された。さらに、どちらの山でも共通して標高に沿って変化する遺伝子領域もわずかながら検出された。これらの遺伝子は、多様な環境ストレスに応答する遺伝子やトライコーム形成に関連する遺伝子であった。両山における高標高集団の最も顕著な特徴が密生したトライコームであることから、トライコーム形成に関連する遺伝子には収斂進化をもたらす自然選択が生じたことが考えられる。しかしながら、全体的に見れば両山で共通する適応遺伝子はごくわずかであり、山間における適応遺伝子の種類の多様性は高いことが明らかとなった。

これらの結果は、標高差という同一の環境

変化であっても、その遺伝的な応答は種内で均一ではなく、山ごとに異なる遺伝子を利用して適応を果たしていることが示された。また、集団ごとに適応的な対立遺伝子が完全に固定していることは稀で、集団内にも適応遺伝子の遺伝的多様性が保たれていることが明らかとなった。加えて、集団内に保持されている適応遺伝子の遺伝的多様性の程度により、環境変化に対する応答の程度も異なることが予想された。

(3) 標本個体の集団ゲノム解析

全国の博物館や植物園を巡り、各集団において、1900年代から現在にかけて同じ場所で採取されたハクサンハタザオの標本を収集した。これらの標本について、現生個体の集団ゲノム解析と同様に、次世代シーケンサーilluminaを用いてゲノム解析をおこなった。

配列断片を構築済みのリファレンスゲノムにマッピングしたところ、集団ごとに10万箇所以上のSNPを検出した。各集団の全SNPを対象に、それぞれの個体のヘテロ接合度の平均値を計算し、ゲノムレベルの遺伝的多様性の時間的変化を調べた。また、年代とともに対立遺伝子頻度が大きく変化し、かつ数千bpに渡ってその傾向が継続する遺伝子領域、すなわち過去100年間で自然選択がはたらいた可能性のある遺伝子領域を探索した。

その結果、いずれの集団においても過去100年間でゲノムレベルの遺伝的多様性に大きな変化はみられず、ボトルネックなどを受けることなく多様性が保持され続けてきたことが分かった。

また、それぞれの集団から、100年間の環境変化に応答したと考えられるストレス応答性遺伝子などが複数得られた。例えば、伊吹山の高標高集団において検出された遺伝子領域は、1910年代の時点で集団内に豊富な遺伝的多様性が存在し、1950年代から現在にかけてはその遺伝子頻度が大きく変化しており、なおかつその傾向が1万bpに渡って継続していた。この遺伝子領域にはシロイヌナズナにおいてアブシシン酸や乾燥ストレスに応答する遺伝子が含まれており、適応遺伝子として強く期待される。

一方、集団間で共通して変化した遺伝子は検出されなかったことから、過去100年間の環境変化に対して、それぞれの集団では異なる遺伝子により適応を果たしてきたと考えられた。さらに、過去100年間では、気候変動のような集団間に共通して作用する広域的な環境変化よりも、土地開墾のような集団特異的に作用する局所的な環境変化の方が強い影響をもたらしたと考えることもできた。

<引用文献>

Kubota, S., T. Iwasaki, K. Hanada, A.J. Nagano, A. Toyoda, A. Fujiyama, S. Sugano, Y. Suzuki, K. Hikosaka, M. Ito,

S.-I. Morinaga. 2015. A genome scan for genes underlying microgeographic-scale local adaptation in a wild *Arabidopsis* species. *PLoS Genetics*. 11: e1005361.

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)

Nishio, H., D.M. Buzas, A.J. Nagano, Y. Suzuki, S. Sugano, M. Ito, S.-I. Morinaga, H. Kudoh. 2016. From the laboratory to the field: assaying histone methylation at FLOWERING LOCUS C in naturally growing *Arabidopsis halleri*. *Genes & Genetic Systems*. 掲載決定済み. 査読あり

Kubota, S., T. Iwasaki, K. Hanada, A.J. Nagano, A. Toyoda, A. Fujiyama, S. Sugano, Y. Suzuki, K. Hikosaka, M. Ito, S.-I. Morinaga. 2015. A genome scan for genes underlying microgeographic-scale local adaptation in a wild *Arabidopsis* species. *PLoS Genetics*. 11: e1005361. 査読あり
<http://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1005361>

Sakamoto, R.L., S.-I. Morinaga. 2013. Poor correlation between the removal or deposition of pollen grains and frequency of pollinator contact with sex organs. *Naturwissenschaften*. 100:871-876. 査読あり
<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00114-013-1087-5>

[学会発表](計13件)

久保田渉誠・岩崎貴也・三浦憲人・永野惇・花田耕介・松葉史紗子・宮下直・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一「ゲノム情報を利用した野生植物の適応力多様性評価」第63回日本生態学会大会、宮城県仙台市、仙台国際センター、2016年3月24日

久保田渉誠・岩崎貴也・三浦憲人・永野惇・花田耕介・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一「ゲノムワイド SNP データに基づくハクサンハタザオの系統地理解析」第62回日本生態学会大会、鹿児島県鹿児島市、鹿児島大学、2015年3月21日

久保田渉誠・岩崎貴也・永野惇・花田耕介・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一「標本ゲノム解析から局所適応の時間的スケールを計る」第46回種生物学シンポジウム、山梨県富士吉田市、富士 Calm 人材開発センター富士研修所、2014年12月6日

手塚あゆみ・森長真一・鈴木穰・花田耕介「*Arabidopsis thaliana*の近縁2種で起きた遺伝子のコピー数の変化と塩基置換の多様性」日本進化学会第14回大会、大阪府高槻市、高槻現代劇場、2014年8月21日

久保田渉誠・岩崎貴也・永野惇・花田耕介・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一「ゲノムワイド SNP 情報から生育環境を読み解く～ハクサンハタザオの標高適応を例に～」第61回日本生態学会大会、広島県広島市、広島国際会議場、2014年3月15日

久保田渉誠・岩崎貴也・永野惇・花田耕介・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一「ゲノムワイド SNP 解析による標高適応をもたらす環境要因の推定と適応遺伝子の探索」第45回種生物学シンポジウム、大分県別府市、別府市ふれあい広場サザンクロス、2013年11月29日-12月1日

森長真一「ゲノムの時空間変異で迫るシロイヌナズナ近縁種の生態進化」第54回日本植物生理学会年会、シンポジウム「シロイヌナズナ野生株と近縁種～研究最前線と未来」、岡山県岡山市、岡山大学、2013年3月21日

森長真一「ゲノムの時空間変異から迫るシロイヌナズナ近縁種の生態進化」第60回日本生態学会大会、自由集会「分子的手法と数理的手法の融合を軸とした植物生態の大陸横断型研究」、静岡県静岡市、グランシップ、2013年3月6日

森長真一「シロイヌナズナ近縁種の局所適応と短期的進化：ゲノムを温めて生態を知る」日本進化学会第14回大会、ワークショップ「エコゲノミクスで挑む進化学～次の10年～」、東京都八王子市、首都大学東京、2012年8月23日

[図書](計2件)

Morinaga, S.-I.*, T. Iwasaki*, Y. Suyama*. 2014. Eco-evolutionary genomic observation for local and global environmental changes. "The biodiversity observation network in the Asia-Pacific Region: Integrative Observations and Assessments of Asian Biodiversity." Edited by S. Nakano, T. Yahara, T. Nakashizuka". Springer. p327-335. (* equally contributed)

森長真一・工藤洋 担当編集 (日本生態学会 編) 2012. シリーズ 現代の生態学「エコゲノミクスー遺伝子からみた適応ー」共立出版. 302p.

[その他]

報道関連情報

日本経済新聞、「環境適応、ゲノムで探る-生存戦略、観察と両輪で解明-」、2012年10月22日、日本経済新聞朝刊サンデーサイエンス面

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森長 真一 (MORINAGA, Shin-Ichi)

日本大学・生物資源科学部・助教

研究者番号：80568262