

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：17104

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2015

課題番号：25710017

研究課題名(和文) シロイヌナズナ生態株間の二次代謝産物量をコントロールするncRNA遺伝子の役割

研究課題名(英文) ncRNA genes controlling a variation of secondary metabolites in Arabidopsis

研究代表者

花田 耕介 (Kousuke, Hanada)

九州工業大学・若手研究者フロンティア研究アカデミー・准教授

研究者番号：50462718

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,000,000円

研究成果の概要(和文)：比較ゲノム解析によって、系統特異的に最近に重複した遺伝子は、二次代謝産物に関する傾向が高いという結果を得ている。しかし、一方で、比較的最近に重複した二次代謝産物の生成に関する遺伝子は、冗長した機能を保つことも明らかになっている。このように、重複遺伝子が持つ多様性と冗長性が、各代謝産物に関する遺伝子を同定するための大きな壁になっている。そこで、トランスクリプトームを取り入れたゲノム関連解析によって、各代謝産物に関する遺伝子を網羅的に同定する方法を構築した。その結果、重複遺伝子も、二次代謝産物の多様性に大きく影響するが、ncRNA遺伝子も大きく影響していることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：It is of interest to address how duplicate genes contributed to metabolic diversities in plants. We showed that recently duplicated genes contribute to a diversity of secondary metabolites in lineage-specific fashion. However, we also showed that these duplicate genes contribute to genetic robustness with preserving the same function. The diversity and redundancy in duplicate genes can be the cause for the hardness to identify genes related to each secondary metabolite. To solve the complexity, we propose a new approach to identify genes related to secondary metabolites by the diversities of secondary metabolites within a species. Using the genome association approach of both genome data and transcriptome data among accessions of *A. thaliana*, we can infer genes related to each of about secondary metabolites in *A. thaliana*. Consequently, we revealed that not only duplicated genes but also ncRNA genes contributed to the variation of secondary metabolites.

研究分野：比較ゲノム

キーワード：植物 二次代謝産物

1. 研究開始当初の背景

生体内に存在する未知の二次代謝産物を網羅的に解析するメタボローム解析によって、世界中で自生しているシロイヌナズナの生態株間に蓄積している二次代謝産物量には多様性があることが明らかとなった。その後の先行研究では、その多様性を生み出す主要な要因のひとつが、ncRNA 遺伝子発現であることを示す結果を得ていた。

2. 研究の目的

本研究では、既に先行研究で得られているシロイヌナズナ生態株間の二次代謝産物量をコントロールする ncRNA 遺伝子に絞り、それら ncRNA 遺伝子の機能的役割を明らかにすることを目的とする。最終的には、本研究を通じて、ncRNA 遺伝子を介した局所適応の分子機構を明らかにすることを目指す。

3. 研究の方法

二次代謝産物が同種内の局所適応で必須であるならば、幅広い環境条件で生き残っているシロイヌナズナの生態株間では二次代謝産物の多様性があることが期待される。そこで、SNP で既に同定されている世界中の 76 カ所で自生しているシロイヌナズナの生態株に着目し、50 種類の既知二次代謝産物と 1000 種類の未知の二次代謝産物の定量を行った。その結果、期待されたように同種間でも生態株間で二次代謝産物に多様性があることが明らかとした。その後、各二次代謝産物の多様性の原因となる遺伝子を同定するために、ゲノム関連解析を用いて各代謝産物の蓄積量に相関する

SNP を同定した。75 個の生態株の全遺伝子の発現プロファイルをマイクロアレイによって同定し、各代謝産物の蓄積量と相関する遺伝子発現を示す遺伝子を同定した。同定した遺伝子に選択圧がかかり、Sweep 現象を調べた。

4. 研究成果

(1)代謝産物の生合成に関与する遺伝子の同定、(2)代謝産物の生合成に関与する遺伝子の発現多型の原因同定、(3)特に ncRNA 遺伝子に着目した変異体解析、(4) cRNA 遺伝子の Sweep 現象を同定した。その結果、ncRNA 遺伝子発現は、転写因子よりも、二次代謝産物合成に影響していることを明らかにした。さらに、台車産物の生合成に関わる ncRNA 遺伝子の近傍で、他の遺伝子よりも Sweep 現象を有しており、局所適応に大きくかかわる遺伝子であることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 9 件)

1. Somnuk Bunsupa, Kousuke Hanada, Akira Maruyama, Kaori Aoyagi, Kana Komatsu, Hideki Ueno, Madoka Yamashita, Ryosuke Sasaki, Akira Oikawa, Kazuki Saito*, and Mami Yamazaki*
Molecular Evolution and Functional Characterization of Lysine/ornithine Decarboxylase Involved in Lycopodium Alkaloid Biosynthesis in Clubmosses. (in press) Plant Physiology 2016. [査読有]
2. Oguchi R, Ozaki H, Hanada K, Hikosaka K. What plant trait explains the variations in relative

- growth rate and in its response to the elevated CO₂ concentration among *Arabidopsis thaliana* ecotypes derived from a variety of habitats? *Oecologia* in press [査読有]
3. Sugawara S., Mashiguchi K, Tanaka K, Hishiyama S, Sakai T, **Hanada K**, Kinoshita -Tsumimura K, Yu H, Dai X, Takebayashi Y, Takeda -Kamiya N, Kakimoto T, Kawaide H, Natsume M, Estelle M, Zhao Y, Hayashi KI, Kamiya Y and Kasahara H. Distinct transport characteristics of indole-3-acetic acid and phenylacetic acid, two naturally occurring auxins in plants. *Plant Cell Physiology* 2015 ;56:1641-1654. [査読有]
 4. Kubota S., Iwasaki T., **Hanada K.**, Nagano A., Fujiyama A., Toyoda T., Sugano S., Suzuki Y., Hikosaka K., Ito M., Morinaka S-I. A Genome Scan for Genes Underlying Microgeographic-Scale Local Adaptation in a Wild *Arabidopsis* Species. *PLoS Genet.* 2015 Jul 14;11(7):e1005361 [査読有]
 5. Shikata H[e], **Hanada K[e]**, Ushijima T, Nakashima M, Suzuki Y, Matsushita T* [e] equal contribution Phytochrome controls alternative splicing to mediate light responses in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 30;111:18781-18786. [査読有]
 6. Bashir K, Hanada K, Shimizu M, Seki M, Nakanishi H and Nishizawa NK*. Transcriptomic analysis of rice in response to iron deficiency and excess. *Rice.* 7:18, 1-15. 2014.
 7. Okamoto M, Higuchi-Takeuchi M, Shimizu M, Shinozaki K, **Hanada K***. Substantial expression of novel small open reading frames in *Oryza sativa*. *Plant Signaling & Behavior* 9:e27848, 2014. [査読有]
 8. Lyons R, Iwase A, Gänsewig T, Sherstnev A, Duc C, Barton GJ, **Hanada K**, Higuchi-Takeuchi M, Matsui M, Sugimoto K, Kazan K, Simpson GG, Shirasu K. The RNA-binding protein FPA regulates flg22-triggered defense responses and transcription factor activity by alternative polyadenylation. *Scientific Reports.* 3, 2866, 2013. [査読有]
 9. **Hanada K[e]***, Higuchi-Takeuchi M[e], Okamoto M, Yoshizumi T, Shimizu M, Nakaminami K, Nishi R, Ohashi C, Iida K, Tanaka M, Horii Y, Kawashima M, Matsui K, Toyoda T, Shinozaki K, Seki M, Matsui M.[e] equal contribution. Small open reading frames associated with morphogenesis are hidden in plant genomes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110. 2395-2400. 2013. [査読有]
- [学会発表](計 12 件)
1. **花田 耕介**, 網羅的な植物ゲノム解析から生理活性シグナル遺伝子の探索、新生命科学分野開拓とスーパーコンピューター「京」、福岡, 2015年, 12月17日
 2. **Hanada K**, Peptides encoded by small genes hidden in plant genomes show essential functions. 3rd European Workshop on Peptide Signalling and Activity in Plants, Ghent, Belgium, 2015,

Sep.3-5 日

3. **花田 耕介**, 遺伝子間隙に存在する短い遺伝子の網羅的解析に向けて, 2014 アジレントゲノムフォーラム, 東京, 2014 年, 6 月 5 日

4. **花田 耕介**, 植物ゲノム隠れている短い遺伝子の機能解析、ワークショップ「ウェット個別研究とドライ研究の実践的超融合～新しい分子生物学のあり方を模索する」, 分子生物学会, 神戸, 2013 年, 12 月 3-6 日

5. **Hanada K.**, Many genes associated with morphogenesis are hidden in genomes. "Junk DNA", National Institute of Genetics Syposium, Mishima, Japan, 2013, June, 21
など。

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ

<http://www.bio.kyutech.ac.jp/~kohanada/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

花田 耕介 (HANADA,Kousuke)

九州工業大学・若手研究者フロンティア

研究アカデミー・准教授

研究者番号 : 50462718