

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26660088

研究課題名（和文）植物の有性生殖における雌雄ゲノム相互作用の全ゲノム関連解析

研究課題名（英文）Molecular dissection of correlative gene systems in plant sexual reproduction

研究代表者

高山 誠司（TAKAYAMA, Seiji）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・教授

研究者番号：70273836

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）：有性生殖では、異なる雌雄ゲノム間の相互作用を介して交配相手が選抜され、生まれてくる多様なゲノム組み合わせを持つ子孫が再度自然選択により選抜される。この雌雄ゲノム間の相互作用を介した受精前後の選抜は、種の存続を支える基盤となっているが、系の複雑さゆえに関連遺伝子の実体解明は遅れている。本研究ではこの雌雄ゲノム間相互作用の解析に、シロイヌナズナの野生系統を用いた全ゲノム関連解析が有効であることを示した。

研究成果の概要（英文）：During sexual reproduction, a suitable partner is selected through the adaptive or conflictive interaction between the male and female genomes, which also determines the final phenotype of each offspring. Molecular dissection of these correlative gene systems is important, but the actual interacting genes are largely unknown. In this study we showed that the genome-wide association study is useful to dissect such correlative gene systems.

研究分野：細胞間情報学

キーワード：植物 ゲノム 有性生殖 全ゲノム関連解析 シロイヌナズナ

### 1. 研究開始当初の背景

有性生殖では、雌雄の異なるゲノム間の相互作用を介して適切な交配相手が選抜され、受精により多様なゲノム組み合わせを持つ子孫が作られた後、再度自然選抜が行われる。この受精前後の雌雄ゲノム間の相互作用は、種が生存に必要なとする多様かつ有益なゲノム情報を保持するための基盤となっており、関連遺伝子の実体を解明することは極めて重要である。応募者は、こうした雌雄の異種ゲノム間の相互作用の実体を、様々な他殖性の植物を用いて段階毎に個別に解明してきたが、系の複雑さゆえに解明できたのは、自家不和合性の自他識別に関わる雌雄因子類など一部に限られている(引用文献)。

一方、モデル植物のシロイヌナズナは自殖性のため異種ゲノムと出会う機会はないが、応募者は人為的に異なる野生系統間で交雑を行うと、実に様々な表現型が相互作用の結果として観察されることを見出してきた。この幅広い表現型は、最近本植物において開発が加速している全ゲノム関連解析(GWAS)の解析標的として適切であり、応募者は両者の融合が異種ゲノム間相互作用の研究に有効であると考え本研究を申請するに至った。

### 2. 研究の目的

上記アイデアを検証することを目的として、有性生殖過程における雌雄の異種ゲノム間相互作用として知られる以下3つの事象を解析対象として選抜した。いずれも関連遺伝子群の実体が未解明の難題であるが、期待される関連遺伝子の同定にシロイヌナズナ野生系統を用いたGWASが有効に機能しうるかどうかを研究期間内に検証することを目指した。

(1) 種間不和合性(primary (interspecies) incompatibility)に関わる雌雄相互作用遺伝子群(引用文献)

(2) 胚乳発達制御に関わる父性・母性ゲノムインプリント遺伝子群(genomic imprinting genes)(引用文献)

(3) 雑種強勢(heterosis)に関わる遺伝子群(引用文献)

### 3. 研究の方法

複雑系の解析では、塩基多型SNPsと表現型の相関を巨視的にとらえるGWASの重要性は今後益々増加すると思われるが、植物への適応はかなり遅れている。オーストリアのMagnus Nordborgらのグループが中心となり、シロイヌナズナ1,300野生系統の250,000SNPsデータをGWASアルゴリズムと共に公開し、ようやくその有用性が注目されてきている段階である(引用文献)。1001ゲノムプロジェクトの進行、偽陽性を抑える統計学的手法の開発等により、さらなる発展も期待されている。本植物は自殖性のいわゆる純系であるため、これらゲノム解読済みの野生系統を利用すれば、個別にゲノム解析せずに表現

型の解析のみでGWASを適用できる点が最大のメリットである。本研究では、こうしたシロイヌナズナ野生系統と公開されたこれらのSNPsデータ、GWASアルゴリズムを利用して関連遺伝子座の同定を行うことにした。

### 4. 研究成果

当初計画した以下の3つの複雑系を対象として、シロイヌナズナの野生系統におけるゲノムの多様性を利用したGWASを実施し、相互作用遺伝子座の特定を進めた。

(1) 種間不和合性(primary (interspecies) incompatibility)

種間不和合性に関わる因子として実験的に特定されたものは、雌性助細胞が分泌し同種の花粉管ガイダンスに関わることを示された誘引因子LUREsに限られる(引用文献)。しかし、異種花粉の選別は、花粉の柱頭への接着段階から精細胞と卵細胞の融合に至るまでの様々な段階で認められるため、さらに多くの院試が関与しているものと予測される。

本研究においても、シロイヌナズナと異種アブラナ科植物を相互交配すると、受粉から受精に至るまでの様々な段階で不和合性反応が起きることが確認された。例えば、シロイヌナズナと近縁種のナズナなどを相互交配させると、花粉の吸水、柱頭への侵入といった比較的早期の段階で花粉の伸長が阻害され、雌雄ゲノム間に何らかの不適合が起きていることが予測された。また、この時シロイヌナズナの野生株を多数交配させるとその阻害部位や阻害の程度が系統毎に異なることが示され、交雑における雌雄ゲノム間相互作用の適合度には、多様性が存在することが示された。

そこで、この種間不和合性度の違いを指標としてGWASを実施したところ、ルペラナズナとの種間交雑において有意な障壁となっていると予測される遺伝子座を同定することに成功した。さらに、遺伝学的、分子生物学的解析により、その遺伝子座に含まれる遺伝子の中から有力な障壁遺伝子候補を特定することに成功した。

今後、当該遺伝子の機能解析を進めると共に、こうした探索をさらに継続していくことで、種間障壁の実体が明らかにされていくことが期待される。

(2) 胚乳発達制御に関わる父性・母性ゲノムインプリント遺伝子群(genomic imprinting genes)

動植物を通じ、父親と母親のいずれか一方からの遺伝子だけが選択的に発現するゲノムインプリンティングという現象が知られ、単為発生の抑制等に寄与していると考えられている。コンフリクト理論によると、父親由来のインプリント遺伝子は胚乳(動物では胎盤)の発達を促進し、母親由来のインプリント遺伝子はその発達を抑制することが示

唆されている。近年の網羅的トランスクリプトーム解析から、ゲノムインプリント遺伝子様の発現を示す遺伝子群は多数見出されてきているが、植物において胚乳の発達に関わることが示されたのは、母性インプリント遺伝子の MEDEA に限られている。そこで、シロイヌナズナ野生系統間で相互受精させることにより種子サイズとして現れてくる表現型を指標とした GWAS により、ゲノムインプリント遺伝子を広く抽出することを計画した。

しかし、初年度における実験結果では、種子サイズは遺伝的な背景以上に、植物体の大きさや、さや当りの種子数といった生育状態の影響を受けて変化することが判明し、実際の GWAS でも種子サイズと有意な相関を示す遺伝子座は抽出されてこなかった。

そこで、種子サイズ計測法の改良を行った結果、試験区と標識した対象区の花粉を同時に受粉することにより、父母ゲノムの遺伝的要因以外の影響を排除しうる計測系を確立することが出来た。

さらに本法に基づき GWAS を実施したところ、種子サイズと有意に相関する遺伝子座の一つを抽出することに成功した。

今後さらに当該遺伝子座の原因遺伝子の特定を進めることで、目的とする父性・母性ゲノムインプリント遺伝子が解明されてくることが期待される。

### (3) 雑種強勢 (heterosis) に関わる遺伝子群

純系同士を交雑させて得た雑種第一世代 ( $F_1$ ) は生育が旺盛であることが古くから知られ、農業においても  $F_1$  育種として実用化されている。しかし、雑種強勢を引き起こす相関遺伝子の実体はほとんど解明されていないのが現状である。

そこで、まずシロイヌナズナの Col 系統と各種野生系統との  $F_1$  雑種種子を寒天培地上に播種し、芽生えサイズを経時的に計測した結果、多くの  $F_1$  雑種において雑種強勢が認められ、両親系統よりも速やかに生長する傾向が確認された。しかし、生長促進の程度は系統毎にかなり異なっていた。

そこで、播種後 5 日目の芽生えサイズを指標に GWAS を実施したところ、成長促進程度と有意な相関を示す一つの遺伝子座を抽出することができた。

今後さらに当該遺伝子座の成長促進に関わる遺伝子の特定を進めることで、芽生えの生長における雑種強勢の仕組みの一つが明らかになることが期待される。

以上、検証した 3 つの複雑系において関連遺伝子座の候補が抽出されることが示された。今後、同定された遺伝子座に期待される遺伝子が含まれることを検証していく必要があるが、本法がこうした複雑系の解析に有用な手法として広く利用されていくことが

期待される。

### < 引用文献 >

- Takayama, S., and Isogai, A., Self-incompatibility in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56: 467-489, 2005.
- Okuda, S., *et al.*, Defensin-like polypeptide LUREs are pollen tube attractants secreted from synergid cells. *Nature* 458(7236): 3570361, 2009.
- Kinoshita, T., Yadegari, R., and Harada, J.J., Imprinting of the MEDEA polycomb gene in the *Arabidopsis* endosperm. *Plant Cell* 11(10): 1945-1952, 1999.
- Fujimoto, R., Taylor, J.M., Shirasawa, S., Peacock, W.J., and Dennis, E.S., Heterosis of *Arabidopsis* hybrids between C24 and Col is associated with increased photosynthesis capacity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109(18): 7109-7114, 2012.
- Atwell, S., *et al.*, Genome-wide association study of 107 phenotypes in *Arabidopsis thaliana* inbred lines. *Nature* 465(7298): 627-631, 2010.

### 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 1 件)

- Fujii, S., and Takayama, S., Correlative gene system: Establishing next-generation genetics. *Genes Genet. Syst.* 91(2): 49-50, 2016, 査読有, DOI: 10.1266/ggs.16-10001.

#### [学会発表](計 0 件)

#### [図書](計 0 件)

#### [産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

#### [その他]

ホームページ等

<http://bsw3.naist.jp/takayama/>

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/seiyu/>

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

高山 誠司 (TAKAYAMA, Seiji)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号: 70273836

#### (2) 研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

和田 七夕子 (WADA, Yuko)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイ  
エンス研究科・助教

研究者番号：5 0 3 7 9 5 4 1

藤井 壮太 (FUJII, Sota)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイ  
エンス研究科・助教

研究者番号：9 0 7 1 6 7 1 3

村瀬 浩司 (MURASE, Koji)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイ  
エンス研究科・助教

研究者番号：5 0 4 6 7 6 9 3

土松 隆志 (TSUCHIMATSU, Takashi)

千葉大学・大学院理学研究院・准教授

研究者番号：6 0 7 4 0 1 0 7

清水 健太郎 (SHIMIZU, Kentaro)

チューリッヒ大学・進化生物環境学研  
究所・教授

研究者番号：1 0 7 4 2 6 2 9