

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「二酸化炭素資源化を目指した
植物の物質生産力強化と生産物活用のための
基盤技術の創出」
研究課題「将来の地球環境において最適な光合
成・物質生産システムをもった強化植物の創出」

研究終了報告書

研究期間 平成23年12月～平成29年3月

研究代表者：彦坂幸毅
(東北大学大学院生命科学研究科
教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

「自然変異に学ぶ」という方針のもと、種内エコタイプ間・品種間で分子生物学・生理学・生態学・生物地理学的手法を駆使した比較を行い、将来の地球環境を想定した高 CO₂・温暖化環境での収量増加に貢献する形質や遺伝子を探索し、有用植物にその形質を付与することを目指してきた。材料として、これまで確立されてきた手法を利用できるアブラナ科植物シロイヌナズナ、シロイヌナズナと同属で日本に広く分布するハクサンハタザオ、シンク器官を有し栽培ダイコンと同種のハマダイコン、そして多様な品種をもつハツカダイコンを材料として用いた。

シロイヌナズナについては高 CO₂ 適応に着目し、世界各地から得られた 44 エコタイプについて異なる CO₂ 濃度下で成長解析を行った。シロイヌナズナエコタイプ間では、成長速度のばらつきをもたらす生理的性質が光合成の窒素利用の違いであることを明らかにした。さらにゲノム・トランスクリプトーム解析を用い、高 CO₂ での成長や光合成効率の促進に貢献すると期待される候補遺伝子を 43 特定した。ゲノム解析から特定された遺伝子については過剰発現体と発現抑制体の両方を、トランスクリプトーム解析から特定された遺伝子については、高 CO₂ で成長が促進される個体で発現が大きかったものについて過剰発現体を、発現が小さかったものについて発現抑制体を作製した。最終的に 7 つの遺伝子の操作によって高 CO₂ 環境での成長を促進することに成功した。〈彦坂 G・花田 G〉

ハクサンハタザオについては、日本国内の広い分布と古く標本が採取されている点に着目し、時空間的な環境変動に適応しているという予測のもと、各地のエコタイプのゲノム比較を行った。ドラフトゲノムを作成し、標高・緯度・時間の変異と相関がある遺伝子変異を多数発見した。ストレス応答に関する表現型解析を行い、低温・紫外線・栄養塩環境応答に変異があることを見出した。〈森長 G・彦坂 G・花田 G〉

ハマダイコンについては、ドラフトゲノムを作成し、国内の 14 集団から種子を採取し、異なる環境で共通圃場実験を行い、個体レベルでゲノムと形質解析を行い、集団間変異と集団内変異の両方を同時に解析することを行った。高温耐性に着目し、短期的な高温ストレス耐性に関連すると期待される候補遺伝子を 39 特定した。〈森長 G・彦坂 G・花田 G〉

ハツカダイコンについては、ドラフトゲノムを作成し、多数の品種について異なる CO₂ 下で成長解析を行い、シンク(地下部)が大きくなる品種ほど高 CO₂ 環境での成長促進が大きいという期待通りの結果を得た。さらに、地下部がふくらむ品種とふくらまない品種の間で地上部・地下部を切断して継ぐという実験系を確立し、シンクの存在が CO₂ 応答に与える影響を解析した。光合成や成長の促進は葉に蓄積した糖類の濃度では説明できず、従来考えられていた CO₂ 応答のメカニズムとは異なるメカニズムが存在することが示唆された。〈寺島 G・彦坂 G・花田 G〉

以上の結果をもとに、高 CO₂・高温で優れた性質をもったハツカダイコンの創出を行った。高温については、ハマダイコンの 3 つの集団を選び、リファレンスとなるハツカダイコンとの掛け合わせを行った。F2 個体について高温耐性試験を行ったところ、葉レベルのストレス評価では、ハツカダイコンに比べ F2 個体の高温耐性が増加していることが明らかとなった。また、ハマダイコンのゲノム・形質解析で特定された 39 候補遺伝子のうち 8 遺伝子について SNP マーカーを開発し、高温耐性と比較したところ、複数の遺伝子について関連があることを明らかにした。さらに F2 個体の高温ストレス下での成長試験を行ったところ、F2 個体はハツカダイコンよりも高温耐性が高いことを見出し、高温ストレス下でも収量が高い個体をつくることに成功した。高 CO₂ については、ハツカダイコン種子に化学的突然変異誘発処理を行い、TILLING 法によって、期待する遺伝子配列に突然変異が生じている変異体を効率的に探索することを試みた。高 CO₂ 環境では光合成鍵酵素ルビスコが過剰になる、という仮説のもと、ルビスコ小サブユニット遺伝子に変異が生じた変異体の探索を行い、アミノ酸残基の置換が起こった系統を 4 つ見出した。さらに、シロイヌナズナにおいて発現抑制によって高 CO₂ での成長が促進される遺

伝子 1 つについて、ハツカダイコンにてオーソログ遺伝子に着目して解析を行い、アミノ酸残基の置換が起こるミスセンス突然変異体 1 系統を単離した。〈彦坂 G・森長 G・花田 G〉

(2) 顕著な成果

〈優れた基礎研究としての成果〉

1. 高 CO₂ で成長速度が高くなる個体や高温ストレス下で成長が高くなる個体の創出に成功
概要: 高 CO₂ については、強制発現や発現抑制により、7 つの遺伝子が高 CO₂ での成長促進に寄与することを明らかにした。ハツカダイコンについては、ハマダイコンとの掛け合わせによって高温ストレス下での成長を大きく改善することを明らかにした。ハツカダイコンの高温ストレス付与については、特許取得を準備中である。

2. 自然変異から多くの適応遺伝子を同定

概要: 高 CO₂ 適応や高温耐性に寄与していると期待される遺伝子を多数発見した。その他にも標高・緯度・時間経過に依存した遺伝的変異を多数発見した。さらに、一部の遺伝子については、遺伝子変異と機能形質の関連を明らかにしつつある。これらの成果は、育種への応用だけでなく、進化や局所適応のメカニズムの解明にも貢献すると期待される。

3. ハツカダイコンを新たなモデル植物として確立

概要: ハツカダイコンは、成長が速く、シロイヌナズナの近縁種であり、分子生物学のモデル植物として優れている。シロイヌナズナなどにはない「シンク機能」を持つモデル生物種としてハツカダイコンは有用であると期待できる。我々は、ハツカダイコンのドラフトゲノムを構築し、また、接ぎ木実験などのユニークな実験系を構築するなど、ハツカダイコンを新たなモデル植物として利用するための土台を実現した。

〈科学技術イノベーションに大きく寄与する成果〉

1. ハツカダイコンにおいて、高温耐性の指標となる遺伝子マーカーを開発

概要: 種苗会社へのインタビューにより、ダイコンの高温耐性は重要な育種ターゲットであることがわかっている。我々が開発した高温耐性マーカーは高温耐性品種の選別に役立つ可能性がある。

2. 局所適応に関連する変異を栽培植物に付与する方法の確立

概要: 自然界に存在するエコタイプの分布・現地の環境情報・形質・遺伝子を解析することにより特定の環境で有用な遺伝子を見出すことを試みている。すでに統計的に有意な遺伝子を 70 近く同定した。一部の遺伝子については強制発現体もしくは発現抑制体の成長が有意に促進される結果を得ている。本研究では、最終的な有用植物は遺伝子組換えによらない方法で創出される計画である。したがって、実現すれば直ちに野外で育てることができ、高い実用性をもつと期待される。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

①彦坂グループ

研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	彦坂 幸毅	東北大生命科学研究科	教授	H23.12～H29.3
	藤井 伸治	同上	准教授	H23.12～H29.3
*	小口 理一	同上	助教	H24.2～H29.3
*	上田 実希	同上	産学官連携研究員	H23.12～H26.3
*	須藤 恵美	同上	産学官連携研究員	H26.4～H27.3
*	永野 聡一郎	同上	産学官連携研究員	H24.4～H28.1
*	Wang Qing-wei	同上	産学官連携研究員	H27.1～H29.3
*	上妻 馨梨	同上	産学官連携研究員	H27.4～H29.3
	尾崎 洋史	同上	研究支援者	H24.11～H28.3
*	見塩 昌子	同上	技術補佐員	H25.3～H29.3
*	千葉 元子	同上	技術補佐員	H23.12～H29.3
*	吉中 健太	同上	技術補佐員	H27.6～H28.3 H28.10～H29.3

研究項目

- ・ 成長解析、形質比較、変異体探索、形質評価

②寺島グループ

研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	寺島一郎	東京大学理学系研究科	教授	H23.12～H29.3
*	渡辺千尋	東京大学理学系研究科	特任研究員	H24.4～H25.3、 H26.4～H28.3
*	宮澤真一	東京大学理学系研究科	特任研究員	H25.7～H26.3
*	坂本友希	東京大学理学系研究科	特任研究員	H28.4～H29.3
*	別役恵理子	東京大学理学系研究科	学術支援専門職員	H24.4～H29.3
	杉浦大輔	東京大学理学系研究科	研究支援員 (学 振 PD)	H.25.4～ H29.3

研究項目

- ・ 生理学的実験による形質評価とメカニズム解析

③花田グループ

研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	花田 耕介	理化学研究所 → 九州工業大学	研究員 → 准教授	H24.4～
*	清水 みなみ	理化学研究所	テクニカルスタッフ	H24.4～H26.3
*	手塚 あゆみ	九州工業大学	研究員	H26.4～H27.4
*	白井 一正	九州工業大学	研究員	H27.5～H29.3
	清水 みなみ	理化学研究所	テクニカルスタッフ	H26.4～
	藤山 秋佐夫	国立遺伝学研究所	教授	H24.4～

	豊田 敦	国立遺伝学研究所	特任准教授	H24.4～
--	------	----------	-------	--------

研究項目

- ・高CO2適応植物の遺伝子解析の解析

④「森長」グループ

研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	森長 真一	日本大学生物資源科学部	助教	H23.12～
	石塚 航	北海道立総合研究機構	研究員	H24.4～
	久保田 渉誠	東京大学総合文化研究科	助教	H25.4～
*	田島 直幸	日本大学生物資源科学部	CREST 研究員	H27.4～

研究項目

- ・ エコタイプ間比較による適応遺伝子探索

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

さきがけ・藤本龍博士の材料(強勢を示す雑種)を譲渡していただき、我々の成長解析手法で高CO₂応答を解析するという共同研究を行っている。

理化学研究所環境資源科学センター 榊原均チームリーダー 共同研究において、ホルモノーム解析の支援を受けている。

埼玉大学理工学研究科 川合真紀 教授 共同研究において、メタボローム解析の支援を受けている。

日本におけるゲノム解析の中心拠点である国立遺伝学研究所および東京大学新領域創成科学研究科と共同でハクサンハタザオとダイコンの全ゲノム解析を行い、その一部については論文として発表した(Kubota et al. 2015)。

京都大学生態学研究センターおよび龍谷大学農学部を中心とした研究グループにハクサンハタザオのゲノムデータを提供し、自然環境下におけるエピジェネティックな遺伝子発現制御についての論文を発表した(Nishio et al. 2016)。

理化学研究所環境資源科学センター 斉藤一樹グループリーダーとの共同研究において、メタボローム解析の支援を受けている。

ゲノム解析の拠点の一つである東京大学・新領域の鈴木穰教授と共同で、シロイヌナズナ、ハクサンハタザオ、ダイコンのトランスクリプトーム解析を行っている。その一部は、さきがけの松下班との共同研究として論文に発表した(Shikata et al., 2014)。

ハツカダイコンのゲノム情報の一部を、名古屋大学・多田 安臣教授、塚越啓央講師に提供した。

§ 3 研究実施内容及び成果

3. 1 高 CO₂ 適応植物の選抜と評価(東北大学 彦坂グループ)

(1)研究実施内容及び成果

3. 1. 1)シロイヌナズナを用いた高 CO₂ 適応遺伝子の探索とハツカダイコンへの付与

分子生物学のモデル植物シロイヌナズナにおいては、世界各地に多様なエコタイプが分布していることが知られている。44 エコタイプ種子を収集し、異なる CO₂ 濃度で成長解析を行い、相対成長速度(サイズあたり成長速度)の CO₂ 応答の変異をもたらす生理学的背景と遺伝子の探索を試みた。その結果、個体重・相対成長速度の両方にエコタイプ間で大きなばらつきがあり、さらにそれらの高 CO₂ 応答に大きなばらつきがあることが明らかとなった(図 3.1.1)。既存の複数の成長解析モデルを整理して一本の式にまとめ、窒素利用や形態が相対成長速度にどのように影響を与えるかを解析した。単回帰と構造方程式モデルを用いた統計解析により、葉窒素生産性(葉窒素あたりの成長速度)が相対成長速度とその CO₂ 応答のばらつきの原因であることを明らかにした。さらにガス交換解析により、葉窒素生産性のばらつきが光合成窒素利用効率(葉窒素あたりの光合成能力)のばらつきに由来することを明らかにした(図 3.1.2) (Oguchi et al. 2016)。

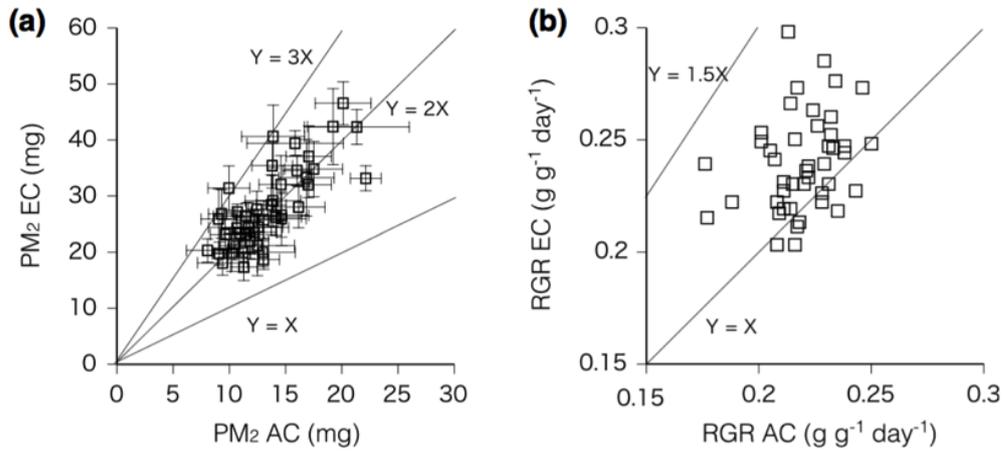


図 3.1.1 通常 CO₂ (AC)と高 CO₂ (EC, 800ppm)におけるシロイヌナズナエコタイプの乾燥重量 PM₂ (a)と相対成長速度 RGR (b)。1 点 1 エコタイプ。

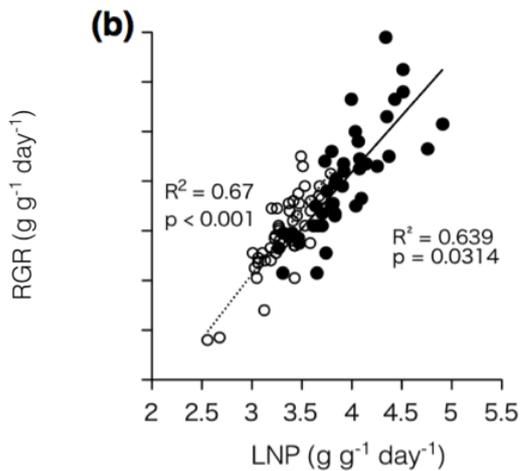


図 3.1.2 相対成長速度 RGRと葉窒素生産性 LNPの関係。1 点 1 エコタイプ。黒丸:高 CO₂、白丸:通常 CO₂ 育成。回帰直線も示す。

本プロジェクトでは、シロイヌナズナで見出された有用遺伝子をハツカダイコンのコメントに付与することを試みた。遺伝子組換えではなく、同じ遺伝子に突然変異が入った個体を選抜する TILLING 法を適用した。最初に、EMS 処理によって約 400 系統の M₂ 種子集団を作成した。次に、TILLING 法のテストを兼ねて、ルビスコ小サブユニット (*RBCS*) 遺伝子に突然変異が挿入された M₂ 個体を探索した(図 3.1.3)。ダイコンの *RBCS* の 7 遺伝子のうち、6 遺伝子について、それぞれ 1 から 11 系統、合計 27 系統の TILLING positive を得た。

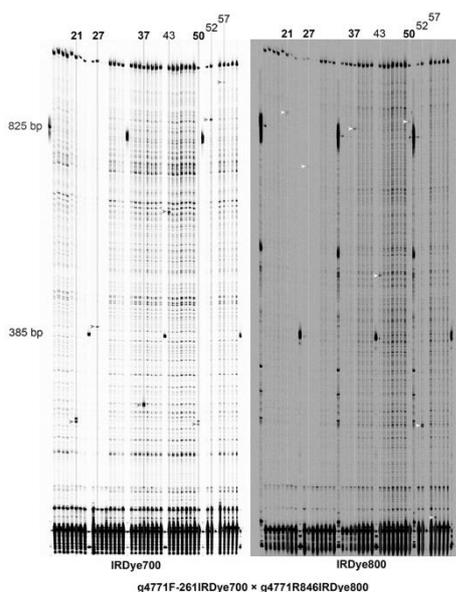


図 3.1.3. LI-COR DNA 解析システムによる塩基置換の検出

ハツカダイコンの *RBCS* 遺伝子 (g4771) での塩基置換の検出を例として示した。ハツカダイコンの *RBCS* 遺伝子をコードする領域を、IRD700 でラベルしたフォワードプライマー (g4771F-261) と IRD800 でラベルしたリバースプライマー (g4771R846) で増幅し、PCR 産物を CELI で切断し、電気泳動した。左側は IRD700 を、右側は IRD800 を検出した結果。825 bp と 385 bp はマーカーで 8 レーン毎に交互に泳動した。CELI で切断された断片を矢じりで、CELI で切断された PCR 産物を電気泳動したレーンを線で、その M₂ 個体番号をレーンの上側に示した。

3. 1. 2) ハクサンハタザオの形質評価

ハクサンハタザオについては伊吹山の高標高・低標高エコタイプを用いて形質比較を行った。現地の個体についての形質評価 (Nagano et al. 論文準備中)、共通圃場実験による低温耐性の比較 (Nagano et al. 投稿中)、紫外線耐性の比較 (Wang et al. 2016)、栄養塩応答の比較 (解析中) を行った。低温耐性と紫外線耐性の実験では、ストレス処理開始後は低標高エコタイプがストレスに弱い、開始後その環境に馴化するとエコタイプ間のストレス耐性に大きな違いがないことを明らかにした。このことは、高標高エコタイプは高い耐性をもっているわけではなく、あらかじめ耐性をオンにしておき、ストレスが突然起こってもダメージを最小限にすることでストレス環境に適応していることを示唆する。一方、低標高エコタイプは通常条件ではストレス耐性を発現していないが、ストレスを経験してからしばらくしてストレス耐性が発現することを示唆している。この知見は、高標高エコタイプがどのようにしてストレス環境に適応し分布を広げてきたか、そのメカニズムを示唆しており興味深い。

3. 1. 3) ハマダイコンの高温耐性をハツカダイコンに付与する

ハマダイコンについては、森長グループが中心となり、秋田から沖縄まで様々な集団から得られたハマダイコン個体について高温耐性試験とゲノム解析を行い、高温耐性と相関がある候補遺伝子を同定した。彦坂グループでは、この遺伝子をハツカダイコンに導入することを目指し、これまでに最も高温耐性が高かった和歌山集団、最南端に位置する沖縄辺戸集団、比較対象として最北に位置する秋田男鹿集団のハマダイコンとハツカダイコンの掛け合わせを行い、F2 種子を得た。そして、F2 個体に高温耐性試験を行い、F2 個体がハツカダイコンに比べ高温耐性が高いことを確認した。現時点では葉のストレス応答を解析したところであるが、さらに、生育実験を行い、ストレスがダイコン収量に与える影響を解析する予定である(9 月現在進行中)。この研究は森長グループと密接に協力して行っており、彦坂グループは F2 個体の作製と形質評価を担当した。詳細は森長グループの報告を参照されたい。

3. 2 シンク力調節の機構解析と評価(東京大学 寺島グループ)

(1)研究実施内容及び成果

3. 2. 1)異なる品種の接ぎ木実験によるシンク制約メカニズムの解明

植物の成長速度を決定する主な要因として、光合成産物のソースである葉の形態的・生理的特性(ソース葉の性質)と、光合成産物のシンクでもある新しい葉と貯蔵・繁殖器官への投資の割合や切り替えのタイミング(貯蔵器官のシンク活性)がある。一般に、貯蔵シンク活性が低いとソース葉の量が多くなり、活性が高いと葉の量が少なくなる。一方で、貯蔵シンク活性が低いと葉に糖が蓄積し、光合成のダウンレギュレーションを引き起こすことも知られている。このように、シンクソースバランスは個体レベルの成長に大きな影響を与えると考えられるが、貯蔵シンク活性の調節メカニズムや、葉に蓄積した糖が光合成特性や形態的特性に与える影響には不明な点が多い。

そこで、貯蔵器官のシンク活性の異なるダイコン 2 品種を接ぎ木することで、シンクソースバランスの変化がソース葉の形態・生理的特性や、個体レベルの物質分配や成長速度に与える影響を評価した。材料として胚軸のシンク活性が高いコメットと、活性が低い葉大根を用い、地上部/地下部の組み合わせで、コメット/コメット、葉大根/コメット、コメット/葉大根、葉大根/葉大根の 4 通りの接ぎ木を行った(図 3.2.1)。オーソドックスな成長解析に加え、ソース葉の可溶性の糖やデンプン量、光合成速度、ルビスコ含量、ルビスコ活性化率の測定を行った。

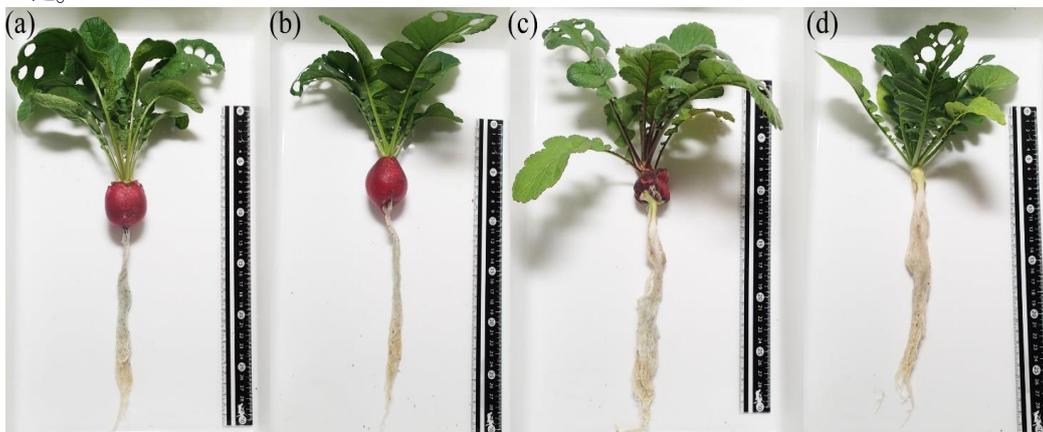


図 3.2.1. 接ぎ木して 25 日後のダイコン。組み合わせは、(a) コメット / コメット、(b) 葉大根 / コメット、(c) コメット / 葉大根、(d) 葉大根 / 葉大根。スケールバーは 30 cm を示す。

3. 2. 2) 高 CO₂ 環境での成長応答が異常な変異体を用いた光合成・代謝系制御メカニズムの解明

これまでの研究から、シロイヌナズナを高 CO₂ 条件で育てると、成長が良くなること、解糖系や TCA 回路の代謝産物が増加し、多くの呼吸系遺伝子の発現が増加することが分かっている(Watanabe et al. 2014)。しかし、高 CO₂ 環境における糖代謝と光合成活性の関係、さらに成長に及ぼす影響については不明な点が多い。また、高 CO₂ 環境で成長が促進されないものについては、あまり調べられていない。そこで本研究では、糖代謝系遺伝子の 68 変異体について、高 CO₂ で成長が促進されない高 CO₂ 応答の低い変異体をスクリーニングし、その結果、4 つの候補 (*cfbp1*, *gwd1*, *pgm1*, *dpe2*) を得た(図 3.2.2、3.2.3)。これらは、サイトゾルの fructose-1,6-bisphosphatase (cFBP1)と disproportionating enzyme (DPE2)、葉緑体の glucan water dikinase (GWD1)と phosphoglucumutase (PGM1)の欠損株であった。本研究では、これら糖代謝系変異体を用いて、高 CO₂ 環境での成長、光合成活性、一次代謝産物量を測定し、光合成の制御メカニズムを解明することを目的としている。

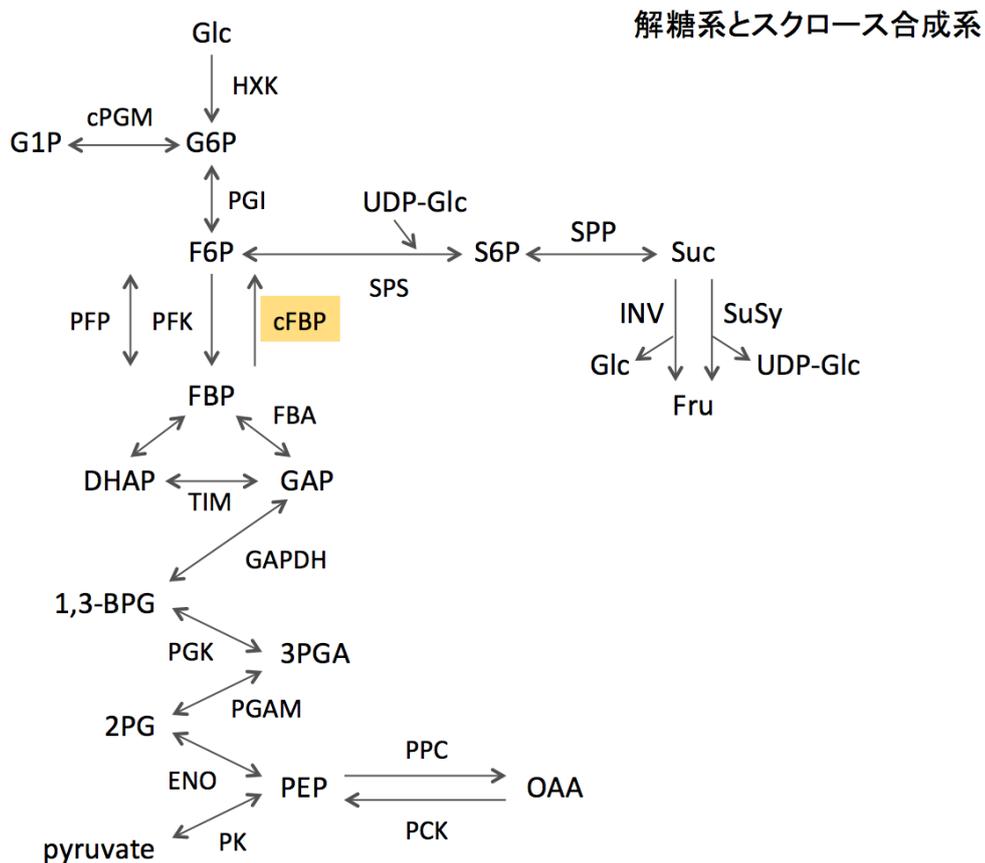


図 3.2.2. 解糖系およびスクロース合成系における変異酵素。物質名;Glc、グルコース;G1P、グルコース 1リン酸;G6P、グルコース 6リン酸;F6P、フルクトース 6リン酸;FBP、フルクトース 1,6 ビスリン酸;DHAP、ジヒドロキシアセトンリン酸;GAP、グリセルアルデヒド 3 リン酸;1,3-BPG、グリセロール 1.3ビスリン酸;3PGA、3ホスホグリセリン酸; 2PG、2ホスホグリセリン酸; PEP、ホスホエノールピルビン酸;OAA、オキザロ酢酸;S6P、スクロース 6リン酸; Suc、スクロース; Fru フルクトース。酵素名 HXK、ヘキソキナーゼ;cPGM、サイトゾルホスホグルコムターゼ;PGI、ホスホグルコイソメラーゼ; PFP、ホルホフルクトホスファターゼ; PFK、ホスホ

フルクトキナーゼ; cFBP、サイトゾルフルクトース 1,6 ビスリン酸ホスファターゼ; FBA、フルクトース 1, 6 ビスリン酸アルドラーゼ; TIM、トリオースリン酸イソメラーゼ; GAPDH、グリセルアルデヒド 3 リン酸デヒドロゲナーゼ; PGK、ホスホグルコキナーゼ; ENO、エノラーゼ; PK、ピルビン酸キナーゼ; PPC、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ; PCK、ホスホカルボキシキナーゼ; SPS、スクロースリン酸シンターゼ; SPP、スクロースリン酸ホスファターゼ; INV、インベルターゼ; SuSy、スクロースシンターゼ。

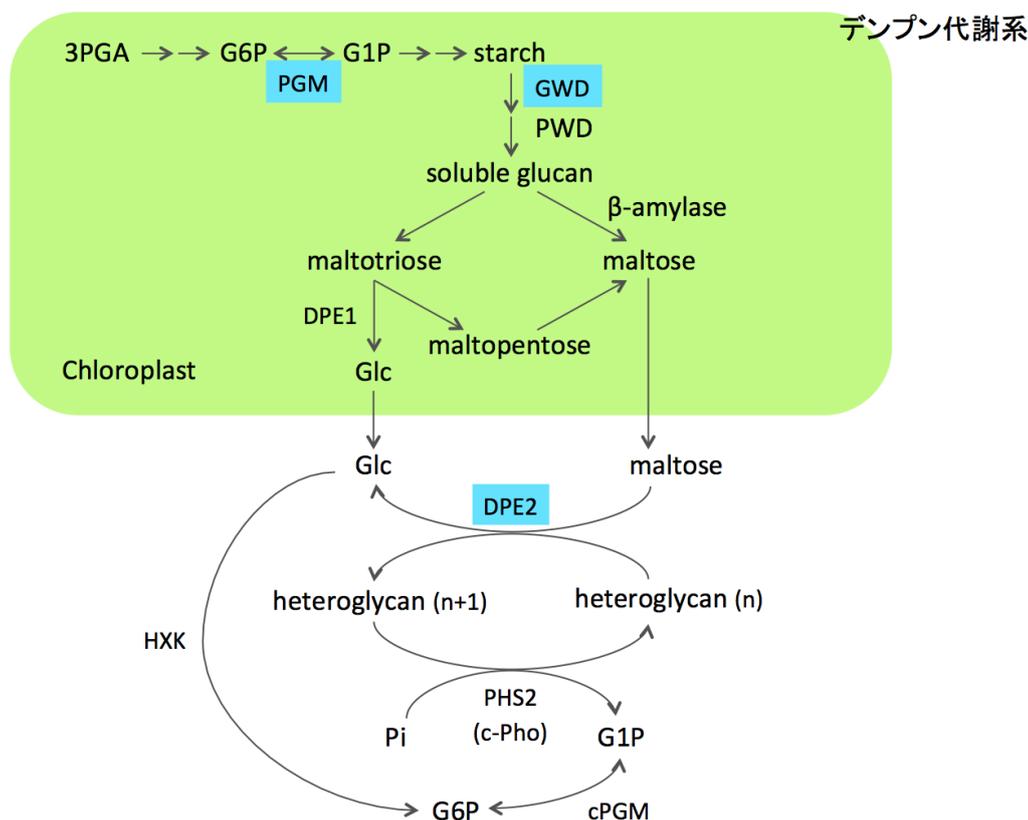


図 3.2.3. デンプン代謝系における変異酵素。酵素名 PGM、ホスホグルコムターゼ; GWD、グルカン水ジキナーゼ; DPE、不均化酵素

3. 3 サブテーマ名 3(九州工業大学 花田グループ)

(1)研究実施内容及び成果

3. 3. 1)シロイヌナズナでの高 CO₂ 適応・応答に関連する遺伝子の機能解析

シロイヌナズナにおいては、ゲノムが決定されている生態株を用いて、彦坂グループが高 CO₂ 適応に関係する表現型を精査し、花田グループが、ゲノム関連解析を通じて予測された高 CO₂ への適応に関係する候補遺伝子を 20 遺伝子同定した。これらの候補遺伝子は、過剰に発現することによって高 CO₂ に適応するか、発現が抑制されることによって高 CO₂ に適応するかは不明である。そのため、20 遺伝子に関しては、過剰発現体および遺伝子抑制体(RNAi)の両方を構築した。また、挿入カ所により表現型に変化が変わる場合があるため、1 遺伝子あたり 17 系統の T₂ を作製した。遺伝子抑制体(RNAi)および過剰発現体は 20 遺伝子すべてで、T₂ 作成が終了した。

さらに、彦坂グループによって見出された高 CO₂ 下で適応している 3 個の生態株および適応していない 3 個の生態株に着目し、彦坂グループと花田グループが共同で高 CO₂ 下および通常 CO₂ 下でのトランスクリプトーム解析を行った。このデータを利用して、高発現することで高 CO₂ 適応すると考えられる 15 遺伝子、および、低発現することによって高 CO₂ 適応すると考えられる 8 遺伝子を推定した。高発現することで高 CO₂ に適応すると考えられる遺伝子は過剰発現体を構築し、低

発現することで高 CO₂ に適応すると考えられる遺伝子は RNAi 体を構築した。過剰発現体および RNAi 体全てで、T₂ が作成されている。

構築された T₂ の形質転換体は、高 CO₂ 下での表現型解析が彦坂グループで行われた。これらの 43 遺伝子の系統に対して一次スクリーニングをかけ、高 CO₂ 下で生長を促進させている遺伝子を見出している。

また、花田グループでは、短い遺伝子の同定のために開発した情報解析を用いて、すでに多くのゲノム解析が行われているシロイヌナズナを調べたところ、これまで注目されていなかったゲノム領域から新規に多数の短い遺伝子を推定した。この中から 473 個を無作為に選び、それらが過剰発現する変異体を作製した結果、約 10%にあたる 49 個の過剰発現体が形態異常を示している。そして、これらの新規遺伝子の約 3 分の 2 がイネに存在することを明らかにしている (Okamoto et al., 2014)。

3.3.2) 非モデル生物種ハクサンハタザオ・ハマダイコン・ハツカダイコンのゲノム解析

非モデル生物であるハクサンハタザオ、ハマダイコンおよびハツカダイコンでのドラフトゲノムまたは遺伝子領域を決定する必要がある。国立遺伝学研究所の藤山秋佐夫教授・豊田敦特任准教授、東京大学の鈴木穰教授の協力の下で、次世代シーケンサーを利用してゲノム DNA および RNA の断片配列を決定した

その新しいドラフトゲノムに対して、遺伝子領域を決定するために、ハマダイコン (18 条件)、ハツカダイコン (12 条件) およびハクサンハタザオ (15 条件) で、RNA-seq 解析を行い、ゲノムで発現している転写領域を決定した。さらに、シロイヌナズナの保存領域をそれぞれのドラフトゲノムで同定し、それらの情報を総合して、ドラフトゲノムに存在する遺伝子領域を決定し、それぞれの生物種でデータベースを作製した (図 3.3.1、図 3.3.2、図 3.3.3)。これらのデータベースでは、遺伝子配列を調べられるだけでなく、シロイヌナズナの遺伝子と相同性がある遺伝子を容易に検索できる機能を有している。さらに、遺伝子発現情報をイラストを利用して可視的に把握できる情報を付与した (図 3.3.4)。

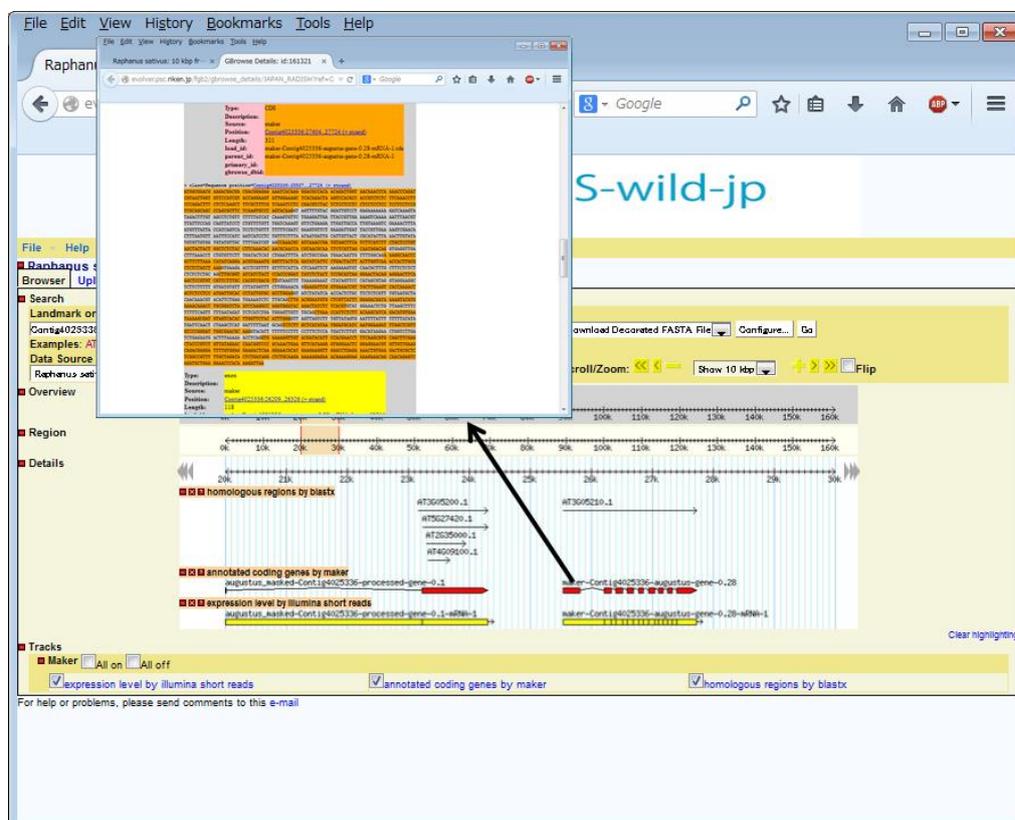


図 3.3.1. ハマダイコンで構築されたゲノムブラウザー

Raphanus sativus: The following 9 regions match your request.

Search: Search

Examples: AT3G05210.1, maker Contig4025336-augustus-gene-0.27-mRNA-1.

Data Source: Raphanus sativus

Download Decorated FASTA File | Configure... | Go

Scroll/Zoom: Show 12.25 kbp Flip

Name	Type	Description	Position	Match Score
AT3G05165.1	protein_match		Contig4021865.94886..102218	175
AT3G05165.1	protein_match		Contig3934058.802..2721	170
AT3G05165.1	protein_match		Contig4025336.5599..10068	170
AT3G05165.1	protein_match		Contig3938659.4090..13016	148
AT3G05165.1	protein_match		Contig4019904.9298..21737	121
AT3G05165.1	protein_match		Contig3984056.39..1972	112
AT3G05165.1	protein_match		Contig4023553.81743..83758	104
AT3G05165.1	protein_match		Contig3940748.3253..5009	93
AT3G05165.1	protein_match		Contig4025373.1204..13455	75

Tracks: Maker All on All off

expression level by illumina short reads annotated coding genes by maker homologous regions by blast

For help or problems, please send comments to this e-mail

図 3.3.2. シロイヌナズナの遺伝子情報を用いた検索

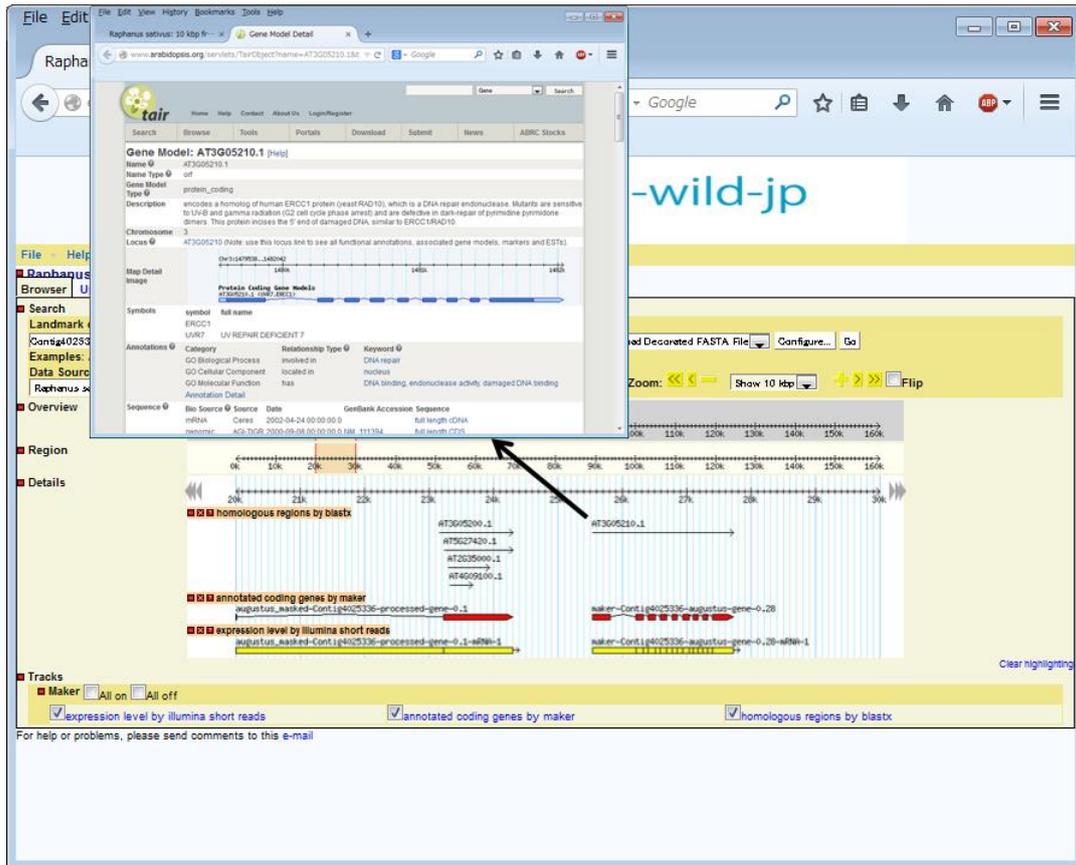


図 3.3.3. シロイヌナズナの遺伝子情報へのリンク



図 3.3.4. 可視的に調べることができる遺伝子発現情報のデータベース(ハマダイコン、ハツカダイコン、ハクサンハタザオ)

3.4 エコタイプ間比較による適応遺伝子探索(日本大学 森長グループ)

(1)研究実施内容及び成果

3.4.1)ハクサンハタザオの自然変異と適応遺伝子探索

モデル植物シロイヌナズナに最も近縁で、日本列島の低地から高地まで広く分布する野生植物ハクサンハタザオを対象に、現生個体および標本個体のゲノム解析により、環境変

化への適応を担う遺伝子の探索をおこなった。

地球温暖化の影響が大きいと予想される標高差に着目し、滋賀県伊吹山・三重県藤原岳の二つの山系内の8集団とその他の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を用いて局所スケールでの集団ゲノム解析を進めた。集団ゲノム解析に先立ち、滋賀県伊吹山集団由来の1個体について、次世代シーケンサーilluminaおよびRoche454を用いた全ゲノム解析を実施し、リファレンスゲノムを作成した。このリファレンスゲノムに各個体由来のショートリードをマッピングすることで、約52万のSNPを検出し、標高間および山系間でのゲノム比較を行った。その結果、標高適応への関与が予想される遺伝子を複数同定し、二つの山系で共通して標高適応に関わる事が示唆される温度応答関連遺伝子や形態形成関連遺伝子も見つかった(Kubota et al. 2015、図3.4.1)。

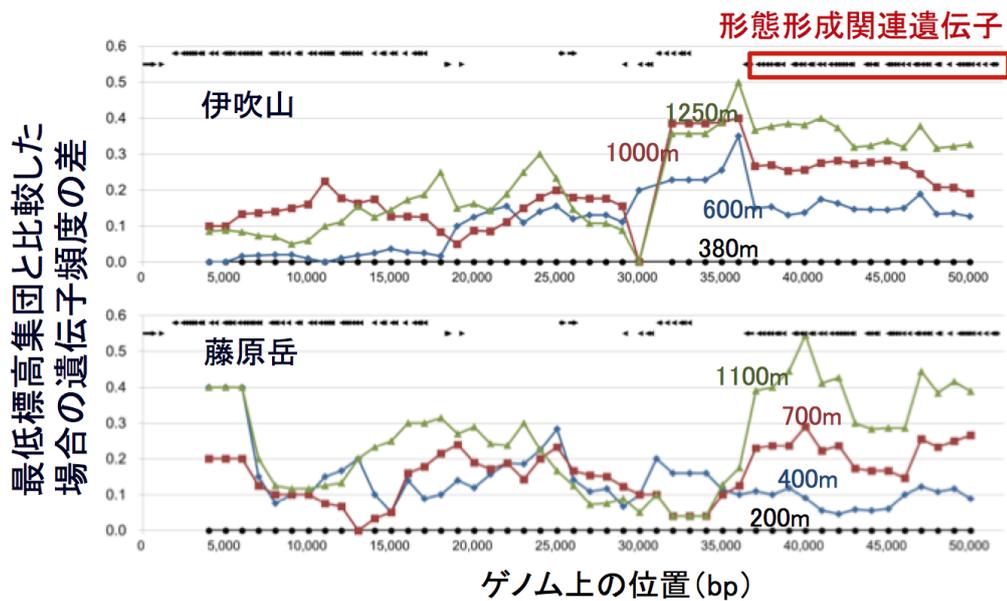


図 3.4.1 伊吹山と藤原岳で対立遺伝子頻度が同じように変化する、標高適応を担う候補遺伝子

§ 4 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件、国際(欧文)誌 16 件)

1. 著者、論文タイトル、掲載誌 巻、号、発行年

Kohzuma K, Chiba M, Anai T, Ueda U. M, Oguchi R, Shirai K, Hanada K, Hikosaka K, Fujii N (2017) Mutant selection in the self-incompatible plant, radish (*Raphanus sativus* L. var. *sativus*), using two-step TILLING. *Breeding Science* in press

Watanabe CK, Yamori W, Takahashi S, Terashima I, Noguchi K (2016) Mitochondrial alternative pathway-associated photoprotection of photosystem II is related to the photorespiratory pathway, *Plant Cell Physiol*, in press.

Wang QW, Nagano S, Ozaki H, Morinaga SI, Hidema J, Hikosaka K (2016) Functional differentiation in UV-B-induced DNA damage and growth inhibition between highland and lowland ecotypes of two *Arabidopsis* species. *Environmental and Experimental Botany*, in press.

Nishio, H., D.M. Buzas, A.J. Nagano, Y. Suzuki, S. Sugano, M. Ito, S.-I. Morinaga, and H. Kudoh. 2016. From the laboratory to the field: assaying histone methylation at FLOWERING LOCUS C in naturally growing *Arabidopsis halleri*. *Genes & Genetic Systems*. 91:15-26.

Noguchi K, Yamori W, Hikosaka K, Terashima I (2015) Homeostasis of the temperature sensitivity of respiration over a range of growth temperatures indicated by a modified Arrhenius model. *New Phytologist*, 207: 34-42.

Oguchi R, Ozaki H, Hanada K, Hikosaka K (2016) Which plant trait explains the variations in relative growth rate and its response to elevated carbon dioxide concentration among *Arabidopsis thaliana* ecotypes derived from a variety of habitats? *Oecologia*, 180: 865-876.

Sugiura D, Betsuyaku E, Terashima I (2015) Manipulation of the hypocotyl sink activity by reciprocal grafting of two *Raphanus sativus* varieties: its effects on morphological and physiological traits of source leaves and whole-plant growth. *Plant Cell Env*, 38, 2629-2640.

Sugiura D, Sawakami K, Kojima M, Sakakibara H, Terashima I, Tateno M (2015) Roles of gibberellins and cytokinins in regulation of morphological and physiological traits in *Polygonum cuspidatum* responding to light and nitrogen availabilities. *Func Plant Biol*, 42, 397-409.

Mizokami Y, Noguchi K, Kojima M, Sakakibara H, Terashima I (2015) Mesophyll conductance decreases in the wild type but not in an ABA deficient mutant (*aba1*) of *Nicotiana plumbaginifolia* under drought conditions. *Plant Cell Env*, 38, 388-398.

Kubota, S., T. Iwasaki, K. Hanada, A.J. Nagano, A. Toyoda, A. Fujiyama, S. Sugano, Y. Suzuki, K. Hikosaka, M. Ito, and S.-I. Morinaga. 2015. A genome scan for genes underlying microgeographic-scale local adaptation in a wild *Arabidopsis* species. *PLoS Genetics*. 11: e1005361.

Hikosaka K (2014) Optimal nitrogen distribution within a leaf canopy under direct and diffuse light. *Plant, Cell and Environment*, 9: 2077-2085.

Okamoto M, Higuchi-Takeuchi M, Shimizu M, Shinozaki K, Hanada K (2014) Substantial expression of novel small open reading frames in *Oryza sativa*. *Plant Signaling & Behavior* 9: e27848.

Yamori W, Hikosaka K, Way D (2014) Temperature response of photosynthesis in C3, C4 and CAM plants: Temperature acclimation and Temperature adaptation. *Photosynthesis Research*, 119: 101-117.

Shikata H, Hanada K, Ushijima T, Nakashima M, Suzuki Y, Matsushita T (2013) Phytochrome controls alternative splicing to mediate light responses in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 30;111:18781-18786. 2395-2400.

Hanada K, Higuchi-Takeuchi M, 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 (2013) Small open reading frames associated with morphogenesis are hidden in plant genomes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 110. 2395–2400.

Akita R, Kamiyama C, Hikosaka K (2012) *Polygonum sachalinense* alters the balance between capacities of regeneration and carboxylation of ribulose-1,5-bisphosphate in response to growth CO₂ increment but not the nitrogen allocation within the photosynthetic apparatus. *Physiologia Plantarum*, 146: 404–412.

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. 詳細情報(著者名、タイトル、掲載誌もしくは書籍(誌名、巻、号、発表年)などを発行日順に記載して下さい。)

Hikosaka K, Niinemets Ü, Anten NPR (2016) Canopy Photosynthesis: From Basics to Applications. Springer, Berlin.

Hikosaka K, Kumagai T, Ito A (2016) Modeling canopy photosynthesis. In: eds. Hikosaka K, Niinemets Ü, Anten NPR, pp. 239–268, Canopy Photosynthesis: From Basics to Applications. Springer, Berlin.

Hikosaka K, Noguchi K, Terashima I (2016) Modeling leaf gas exchange. In: eds. Hikosaka K, Niinemets Ü, Anten NPR, pp. 61–100, Canopy Photosynthesis: From Basics to Applications. Springer, Berlin.

彦坂幸毅 (2016) 植物の光合成・物質生産の測定とモデリング 共立出版

彦坂幸毅 (2014) 「高二酸化炭素濃度に対する植物の長期的な応答」*化学と生物* 52: 113–120.

Morinaga, S.-I., T. Iwasaki, and 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.

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 18 件、国際会議 11 件)

1. 発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日

国際会議

Kouki Hikosaka. Plant adaptation to elevated CO₂: From natural variations to creation of adaptive plants. Plant Trait Workshop. Dresden 2016.5.9.

Kosuke Hanada. Peptides encoded by small genes hidden in plant genomes show essential functions. Technische University Munchen, Germany, 2015, 9, 5

Kouki Hikosaka. Effects of warming on temperature dependence of photosynthesis of canopy leaves of deciduous forests. The 2015 Tokyo Whole Plant Photosynthesis Workshop. *Photosynthesis and Productivity in a Changing Environment*. May 15–16, 2015. Tokyo University of Agriculture and Technology

Ichiro Terashima, Chairman ‘Balancing More Carbon with Less Water,’ Gordon Research Conference CO₂ assimilation in plants, Waterville Valley Resort, Waterville Valley, NH USA 8–13 June 2014

Kouki Hikosaka. Optimizing plant traits for maximizing plant production. JST•CREST International Symposium “Productivity Improvement of Plants: From Model to Crop Plants”, 10 January 2014,

Nara

- Kosuke Hanada. Many genes associated with morphogenesis are hidden in genomes. "Junk DNA", National Institute of Genetics Syposium, Mishima, 22 June 2013
- Kosuke Hanada. Small open reading frames associated with morphogenesis are hidden in plant genomes. "Evolutionary Genetics and Proteomics of Natural Resources in Asia". National Institute of Genetics Syposium, Mishima, 31 January 2013
- Kouki Hikosaka. Canopy structure as influenced by leaf turnover and competition for light. Modelling photosynthesis and growth from cells to climate. Wageningen 1 November 2012
- Kosuke Hanada. Small coding genes associated with morphogenesis are hidden in plant genomes. Laboratory of Statistique and Genome, University of Evry, France, 3 July 2012.
- Kosuke Hanada. Small coding genes associated with morphogenesis are hidden in plant genomes", CIRAD, Montpellier, France, 29 June 2012
- Kosuke Hanada. Diversity of secondary metabolites throughout gene duplication. Annual meeting of the Japanese society of plant physiologists, Kyoto, Japan, 5 March 2012

国内会議

- 彦坂幸毅 自然変異に学ぶ適応のしくみ: アブラナ科植物の種内変異を用いたアプローチ 日本育種学会第130回講演会 鳥取大学 2016年9月24日
- 寺島一郎 公開講演会 地球環境変化と植物: 沖縄産クワズイモの光合成・呼吸に学ぶ 第80回日本植物学会(2016年9月16-19日)、沖縄コンベンションセンター(沖縄県・宜野湾市)
- 寺島一郎 公開講演会 高CO₂・高温時代の安定的光合成C獲得にむけて 第80回日本植物学会(2016年9月16-19日)、沖縄コンベンションセンター(沖縄県・宜野湾市)
- 彦坂幸毅 生態学的戦略としての植物の窒素利用 第2回植物の栄養研究会 名古屋大学 2016年9月3日
- 花田耕介, Diversified evolution of secondary metabolites throughout tandemly duplicated genes in Arabidopsis, "日本植物生理学会「Harnessing Catalytic and Regulatory Diversity of Plant Metabolism」シンポジウム, 2016, 3, 18-20
- 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「京」のシンポジウム, 九州大学, 2015, 12, 17
- 花田耕介, 近縁種の高精度ゲノムを利用した非モデル生物の Illumina Short Reads データの解析, 東京農業大学生物資源ゲノム解析センター, シンポジウム, 東京農業大学, 2015, 7, 27
- 花田耕介, 「植物の多様性あるいは共通性の理解に比較ゲノム解析は有効か?」、中国地域育種談話会 基調講演、2014, 12, 20-21,
- 花田耕介 シロイヌナズナ集団内のメチル化の多様性から明らかになったメチル化が遺伝子発現に影響する役割 第16回日本進化学会 大阪 2014年8月24日
- 花田耕介 次世代シーケンサーを利用したゲノムレベルの進化解析の最前線 2014 アジレントゲノミクスフォーラム 東京 2014年6月5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 日本植物生理学会年会 岡山 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 日本生態学会大会 静岡 2013年3月6日
- 花田耕介 植物ゲノム隠れている短い遺伝子の機能解析 分子生物学会 神戸 2013年12月3日
- 彦坂幸毅 光合成・物質生産システムの最適化 2012年植物科学シンポジウム 植物科学最先端研究への期待 品川 2012年12月3日
- 花田耕介 様々な条件下でトランスクリプトーム解析をやり続けることでみえること 明日の植物科学を探る、植物グローバル研究プロジェクト奈良、2012年11月6日
- 花田耕介 シロイヌナズナ生態株間の二次代謝産物の多様性をつくる分子機構の解明に向けて、エコゲノミクスで挑む進化学 ~次の10年~ 日本進化学会大会 八王子 2012年8月23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 日本進化学会大会 八王子 2012年8月23日

花田耕介 生物の「形」を変えるゲノムの変化を見出す 参加型サイエンス・トーク「見出す」物語 横浜 2012年3月20日

② 口頭発表 (国内会議 12 件、国際会議 3 件)

1. 発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日

国際会議

Hanada K. Functional analysis of small genes hidden in plant genomes. 3rd European Workshop on Peptide Signalling and Activity in Plants. Ghent University, , Belgium, 2015 9, 3

Watanabe C, Yamori W, Takahashi S, Terashima I, Noguchi K “Roles of the respiratory system in alleviation of photoinhibition via the photorespiratory system” 9th International Conference for Plant Mitochondrial Biology, The Mercure Wroclaw Centre Hotel, Wroclaw, Poland (May 17-22, 2015)

Ichiro Terashima, Optimum Rubisco Kinetics in the high CO₂ era. Gordon Research Conference “CO₂ Assimilation in Plant: Genome to Biome,” Waterville Valley Resort in Waterville Valley, NH, USA (June 8-13, 2014)

国内会議

上妻馨梨, 千葉元子, 穴井豊昭, 上田実希, 小口理一, 花田耕介, 彦坂幸毅, 藤井伸治 2step-TILLING を用いた自家不和合植物ハツカダイコンの突然変異体選抜法 第 131 回 日本育種学会 名古屋大学 2017年3月29日~2017年3月30日, 101

花田 耕介, オオハマニンニクのトランスクリプトーム解析, 東京農業大学・生物資源ゲノム解析拠点シンポジウム, 2016, 9, 6

白井一正, 遺伝子重複がもたらすシロイヌナズナ生態株間 の二次代謝産物量の多様性 , 育種学会・中国地域・談話会, 2015, 12, 19-20

尾崎洋史・小口理一・彦坂幸毅 シロイヌナズナの成長に関する形質と生育 CO₂ 濃度、由来地環境の関係 日本植物学会第 79 回大会 新潟 2015年9月6-8日

Kentaro Nakaminami, Mieko Higuchi, Takeshi Yoshizumi, Masanori Okamoto, Khurram Bashir, Minami Shimizu, Chihiro Ohashi, Maho Tanaka, Minami Matsui, Kazuo Shinozaki, Motoaki Seki and Kousuke Hanada, Characterization of functional small peptides in plant abiotic stress responses, 第 55 回日本植物生理学会年会, 2014,3,18-3,20

樋口美栄子、吉積毅、中南健太郎、岡本正憲、清水みなみ、大橋千広、花田耕介、遺伝子間隙に存在する short open reading frame の機能解析, 第 55 回日本植物生理学会年会, 2014,3,18-3,20

石塚航・森長真一 野生ダイコンを用いた適応的な地理変異とゲノム変異との関連 統計数理研究所研究集会、ゲノム多様性のデータ解析 立川 2013年12月21日

樋口 美栄子、清水 みなみ、花田 耕介 高CO₂応答に変動するトランスクリプトーム解析, 植物の高CO₂応答研究, 第4回若手ワークショップ, 2013,10,30-11,1

岩崎貴也・花田耕介・永野惇・伊藤元己・彦坂幸毅・森長真一 標本ゲノム解析で探る過去 100 年間の個体群動態と適応進化ー伊吹山のハクサンハタザオ・イブキハタザオを例に 日本植物分類学会大会、千葉 2013年3月17日

寺島一郎、別役恵理子 大根の肥大が光合成と成長に及ぼす影響:ハダイコンとハツカダイコンの接ぎ木実験” 日本植物生理学会年会 岡山 2013年3月21日

花田 耕介、樋口 美栄子、岡本 昌憲、吉積 毅、清水 みなみ、田中 真帆、堀井 陽子、川嶋 美香、松井 敬子、豊田 哲郎、篠崎 一雄、関 原明、松井 南, 植物ゲノムに隠れている形態形成に関係する新規の遺伝子の網羅的同定 第 53 回日本植物生理学会, 2012,3,16-18

中南健太郎, 岡本昌憲, 樋口美栄子, 吉積毅, 清水みなみ, 大橋千広, 田中真帆, 松井南, 篠崎一雄, 関原明, 花田耕介, 環境ストレス耐性に関するペプチドの探索, 第 53 回日本植物生理学会, 2012,3,16-18

③ ポスター発表 (国内会議 31 件、国際会議 6 件)

1. 発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日

国際会議

Daisuke Sugiura, John Evans, Ichiro Terashima. Down-regulation of photosynthesis by decrease in mesophyll conductance in response to changes in sink-source balance. 17th International Congress on Photosynthesis Research. 7-12 August, 2016, Maastricht, The Netherlands

Hanada K. Evolutionary significance of *A. halleri* lineage-specific duplicated genes revealed by illumina short-reads sequencer, Plant Genome Evolution 2015, Amsterdam, Netherlands, 2015/9/6-8

Daisuke Sugiura, Eriko Betsuyaku, Ichiro Terashima. Modified sink-source relationships by reciprocal grafting of leafy and radish varieties change morphology and physiology of leaves in *Raphanus sativus*. Gordon Research Conference CO₂ assimilation in plants, Waterville Valley Resort, Waterville Valley, NH, USA. 8-13 June 2014

Ichiro Terashima, Eriko Betsuyaku, Daisuke Sugiura. Effects of artificial changes of the sink-source relationships by reciprocal grafting using leafy and radish cultivars of *Rhaphanus sativus* on photosynthesis and plant growth. Hyatt Regency at the Arch, St. Louis, USA, 11-16 August 2013.

Ishizuka W, Hikosaka K, Ito M, Morinaga S-I Intraspecific variation in the growth traits in seed and seedling stages of wild radish, *Raphanus sativus* var. *raphanistroides* along the Japanese archipelago. Comparative Genomics and Breeding of Brassicaceae Crops. Sendai, Japan, 11 October 2012

Ueda MU, Nagashima H, Hikosaka K. Effects of elevated CO₂ on the growth of 20 radish cultivars differing sink size. Comparative Genomics and Breeding of Brassicaceae Crops. Sendai, Japan, 11 October 2012

国内会議

上妻馨梨, 千葉元子, 穴井豊昭, 上田実希, 小口理一, 花田耕介, 彦坂幸毅, 藤井伸治 自家不和合植物ハツカダイコンの 2 段階 TILLING 法を用いた RBCS 遺伝子の突然変異体選抜 第 58 回 日本植物生理学会 鹿児島大学 2017 年 3 月 16 日~2017 年 3 月 18 日, PL-089

久保田涉誠・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、仙台市、仙台国際センター、2016 年 3 月 24 日

杉浦 大輔、John Evans、寺島 一郎 “シンク-ソース比変化に応答した光合成ダウンレギュレーションの多様性” 日本生態学会第 63 回全国大会(2016 年 3 月 20-24 日)、仙台国際センター(宮城県・仙台市)

花田 耕介, Arabidopsis 系統で明らかとなった遺伝子重複の数百万年後に機能多様性が増強される現象, 育種学会・中国地域・談話会, 岡山, 2015/12/19-20

小口理一, 尾崎洋史, 花田耕介, 彦坂幸毅 様々な生息地由来のシロイヌナズナエコタイプ間における相対成長速度の高 CO₂ 応答の違いは, どのような形質によって説明されるか? 東北植物学会第 5 回大会 2015 年 12 月 19-20 日 福島

田島直幸・石塚航・花田耕介・清水みなみ・鈴木穰・伊藤元己・彦坂幸毅・森長真一 「大根野生種ハマダイコンにおけるトランスクリプトーム解析」日本植物学会第 79 回大会、新潟県新潟市、朱鷺メッセ新潟、2015 年 9 月 7 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

杉浦大輔, 別役恵理子, 渡辺千尋, 寺島一郎, 葉の生理的特性と形態的特性は CN バランスの変化とどのようにリンクしているのか? 第 62 回日本生態学会大会 (2015 年 3 月 18~22 日), 鹿児島大学 郡元キャンパス (鹿児島県・鹿児島市)

尾崎洋史, 彦坂幸毅 異なる CO₂ 濃度で育成したシロイヌナズナエコタイプの形質と生息地環境の関係 第 62 回日本生態学会大会 鹿児島市 2015 年 3 月 18 日~22 日

杉浦大輔, 渡辺千尋, 別役恵理子, 寺島一郎, ダイコン (*Raphanus sativus*) における CN バランスと胚軸のシンク活性が葉の形態・生理学的特性に与える影響の解析. 第 56 回日本植物生理学会 (2015 年 3 月 16~18 日), 東京農業大学世田谷キャンパス (東京都・世田谷区)

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.

上田実希, 彦坂幸毅 **ハツカダイコン 14 品種の光合成と成長への高 CO₂ の影響** 日本植物学会大会 川崎 2014 年 9 月 12-14 日

Kouki Hikosaka. Nitrogen distribution within a leaf canopy revisited 日本植物学会大会 川崎 2014 年 9 月 12 日

永野聡一郎・花田耕介・樋口美栄子・尾崎洋史・小口理一・千葉元子・藤井伸治・彦坂幸毅・高橋秀幸 シロイヌナズナの高 CO₂ 応答性のジェノタイプ間差と発現 の相関性を示す遺伝子の探索 日本植物学会大会 川崎 2014 年 9 月 12-14 日

杉浦大輔・別役恵理子・渡辺千尋・寺島一郎 CN バランスの変化に応じた葉の内部構造と維管束構造変化のメカニズム解析 日本植物学会大会 川崎 2014 年 9 月 12-14 日

今野晋太郎・小口理一・尾崎洋史・松島野枝・河田雅圭・彦坂幸毅 シロイヌナズナジェノタイプ間の競争におよぼす高 CO₂ の影響 日本生態学会大会 広島 2014 年 3 月 14-17 日

杉浦大輔・別役恵理子・寺島一郎 接ぎ木によるシンク・ソースバランスの変化は光合成特性や物質分配にどのような影響を与えるのか 日本生態学会大会 広島 2014 年 3 月 14-17 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~ 日本生態学会大会 広島市 2014 年 3 月 15 日

石塚航・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一 日本の浜辺に分布する野生ダイコンにおける地理的な成長特性の変異 - 共通圃場試験による変異の抽出 - 日本生態学会大会 広島 2014 年 3 月 15 日

永野聡一郎・花田耕介・樋口美栄子・尾崎洋史・千葉元子・藤井伸治・彦坂幸毅・高橋秀幸 高 CO₂ 環境への応答性の異なるシロイヌナズナジェノタイプ間での遺伝子発現の差異 日本生態学会大会 広島 2014 年 3 月 14-17 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 種生物学シンポジウム 別府 2013 年 11 月 29 日-12 月 1 日

尾崎 洋史・彦坂 幸毅 6 ジェノタイプのシロイヌナズナを用いた異なる窒素条件での高 CO₂ 濃度応答の比較 日本植物学会大会 札幌 2013 年 9 月 13-15 日

上田 実希・長嶋 寿江・彦坂 幸毅 シンクサイズが異なるハツカダイコン 20 品種の成長と収量への高 CO₂ の影響 日本植物学会大会 札幌 2013 年 9 月 13-15 日 北大

寺島一郎・別役恵理子 ダイコンの肥大が光合成と成長に及ぼす影響: 葉ダイコンとハツカダイコンの接ぎ木実験 日本光合成学会 名古屋 2013 年 5 月 31 日-6 月 1 日

今野晋太郎・小口理一・尾崎洋史・松島野枝・河田雅圭・彦坂幸毅 高 CO₂ における競争環境で適応的な性質は何か: シロイヌナズナジェノタイプ間の競争実験 日本生態学会大会 2013 年 3 月 15-19 日 静岡

石塚航・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一 内陸型ハマダイコンの成長特性 - 全国の自生集団と比

較してー 種生物学シンポジウム 高島 2012年12月7-9日
尾崎 洋史・小口 理一・彦坂 幸毅 通常大気条件および高 CO₂ 濃度で栽培した *Arabidopsis thaliana* の成長と炭素収支のジェノタイプ間比較 日本植物学会大会 姫路 2012年9月15-17日
小口 理一, 尾崎 洋史, 彦坂 幸毅 シロイヌナズナ 44 ジェノタイプ間における高 CO₂ 応答の比較: 高 CO₂ 環境での成長を高める形質とは? 日本植物学会大会 姫路 2012年9月15-17日
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 日本生態学会大会 大津市 2012年3月9日
永野聡一郎・河村花愛・千葉元子・尾崎洋史・小口理一・藤井伸治・彦坂幸毅・高橋秀幸 突然変異によって高 CO₂ 環境に適応的な光合成能力をもつ植物の進化は起こるだろうか? 日本生態学会大会 静岡 2012年3月5-9日
河村花愛・尾崎洋史・藤井伸治・彦坂幸毅・高橋秀幸 高 CO₂ 環境に適応した新奇シロイヌナズナ突然変異体のスクリーニング法の検討と形質評価 日本植物生理学会年会 京都 2011年3月16-18日

(4)知財出願

①国内出願 (0件)

②海外出願 (0件)

③その他の知的財産権

(5)受賞・報道等

①受賞

花田 耕介, 理化学研究所 研究奨励賞 “Breakthrough in evolutionary mechanism of duplicate genes based on bioinformatics”, 2012, 3
花田 耕介, 九州工業大学職員 SS 評価に基づく表彰, 2014, 3
花田 耕介, 日本進化学会 研究奨励賞 「網羅的なゲノム情報を利用した進化ゲノミクス研究」, 2014, 7

雇用した研究員の受賞

白井 一正, 口頭発表優秀賞, 育種学会・中国地域・談話会, 2015
小口理一 国際光合成会議 Walz 賞 2013年
小口理一 文部科学大臣表彰若手科学者賞 2013年
小口理一 日本植物学会奨励賞 2012年
岩崎貴也 日本植物学会若手奨励賞 2012年

②マスコミ(新聞・TV等)報道

NEWTON(科学雑誌), 未知のタンパク質, 2013, 3, 15
毎日新聞, 「植物 光応答遺伝子 1505 個 発芽調整に期待」, 2014, 2, 16

③その他

日本経済新聞, 2012年10月21日、全国版、17頁、「環境適応、ゲノムで探る-生存戦略、観察と

両輪で解明-」

NHKしこく8「牧野富太郎」、2012年11月16日、植物標本の意義について取材協力および情報提供

③その他

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

②社会還元的な展開活動

- ・本プロジェクトの進捗状況をインターネットで公開している
(URL: <http://hostgk3.biology.tohoku.ac.jp/hikosaka/CREST/index.html>)。
- ・本研究で決定するハクサンハタザオ、ハマダイコン、ハツカダイコンのゲノムデータベースをインターネットで公開する予定である。

§ 5 研究期間中の活動

5. 1 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
H24年8月23日	「エコゲノミクスで挑む進化 化学 ～次の10年～」	14回日本進化学会	80-100名	日本進化学会でワークショップを開催した。
H26年8月21日	次世代シーケンサーを利用したゲノムレベルの進化解析の最前線	16回日本進化学会	90-120名	日本進化学会で次世代シーケンスのシンポジウムを開催した
H27年9月6日	自然変異に学ぶ：多様性の理解から育種への応用まで	植物学会新潟大会	50人	植物学会新潟大会においてシンポジウムを共催した。
H27年11月26日	Understanding, prediction and improvement of plant productivity and ecosystem functions	東北大学国際ミニシンポジウム	50人	学術交流・成果発表

§ 6 最後に

異分野融合という意味では、とても良いグループを組むことができた。単なる同業者の集まりではなく、ゲノムの専門家である花田・森長とフェノームの専門家である寺島・彦坂が、材料や情報を共有し、自身の欠点を互いに補いながら自身の長所を生かすことができた。技術の細分化・深化が進んだ現在では、個々の研究者がもつ能力の幅は限られており、オールマイティになることは困難である。新たな研究を進めるには、このような融合が必要であるということを実感できた。

プロジェクトの内容については、あらかじめ持っていた研究リソースはほとんどなく、ゼロからのスタートであった。本プロジェクトの趣旨からすれば、5年という期間は必ずしも充分ではないが、これだけの期間がなければプロジェクトを立てることすら困難であった。長期的かつ多額の支援をいただいたことに深く感謝いたします。

今後については、現在の研究を実用化に進めることが第一である。育種学会にも初めて参加し、種苗会社の方とも意見交換ができた。戻し交配を多数回行うというルーチンワークが必要であるが、その道筋もつけることができたため、地道に継続する予定である。

また、私の本来の専門である、適応に関する生態学についても多くの研究リソースを得ることができた。この方向も発展させていきたい。