



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

シロイヌナズナの統合ゲノムワイド関連解析による
植物の酸性土壌適応戦略に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-06-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 中野, 友貴 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/79376

要 約	
氏 名 Name	中野 友貴
題 目 Title of Dissertation	シロイヌナズナの統合ゲノムワイド関連解析による 植物の酸性土壌適応戦略に関する研究
<p>世界の耕作可能地の約4割は酸性土壌に分類され、酸性土壌障害による作物の生育障害が世界の作物生産における深刻な制限要因となっている。酸性土壌では様々な環境ストレスにより作物の生育が阻害され、その中でも可溶化したアルミニウム (Al) と過剰なプロトン (H⁺) による根の伸長阻害が主要な酸性土壌障害となっている。したがって、酸性土壌耐性作物の作出にはAlおよびH⁺ストレスに対する高い抵抗性の付与が必須であり、それらストレスに対する植物の適応戦略の解明が求められている。</p> <p>モデル植物であるシロイヌナズナの野生系統は世界中に分布し、様々な環境に適応進化している。それら野生系統は日本やヨーロッパのストックセンターに収集され容易に利用可能であることに加え、ゲノム、トランスクリプトーム、メチロームなどが解析され、豊富な多型情報が蓄積されている。したがって、このシロイヌナズナのナチュラルバリエーションは、植物の環境適応戦略を分子レベルで解明するための強力なツールとなる。そこで本研究では、シロイヌナズナ野生系統の遺伝的多様性を利用し、遺伝統計学・ゲノム科学的なアプローチから植物の酸性土壌適応戦略の解析を行った。</p> <p>1) Al 耐性および低 pH 耐性のゲノムワイド関連解析 (GWAS)</p> <p>約 200 のシロイヌナズナ野生系統の Al および H⁺耐性を、ストレス条件下での根伸長を指標として評価した。獲得した両ストレス耐性バリエーションは高い遺伝率を示し、幅広い連続分布を示した。ゲノムワイド関連解析 (GWAS) により Al および H⁺耐性バリエーションと関連する SNP を検出したところ、ゲノム全域に複数の関連 SNP が検出された。しかし、両ストレスで共通して検出される SNP は見られなかった。これらのことから、Al および H⁺耐性バリエーションは互いに異なる複数の遺伝的要因により決定されていることが示唆された。ゲノミックプレディクション (GP) により、GWAS で検出した関連 SNP 群の耐性バリエーションにおける貢献度を推定したところ、上位 140 および 160 SNP で Al および H⁺耐性バリエーションの約 70%が説明できると推定された。それら SNP 近傍の LD (linkage disequilibrium) ブロック内に位置した耐性候補遺伝子の破壊株の解析から、16 および 6 の Al および H⁺耐性遺伝子を同定した。この解析により、既知の Al 耐性遺伝子である <i>Al-ACTIVATED MALATE TRANSPORTER 1 (AtALMT1)</i> に加え、<i>TON1-RECRUITING MOTIF 28 (AtTRM28)</i> や <i>THIOREDOXIN H-TYPE 1 (TRX1)</i> などの新規耐性遺伝子を同定した。28 の Al 耐性系統および感受性系統を用いて RNAseq を行い、同定した Al 耐性遺伝子の系統間での発現量比較を行った。その結果、<i>AtALMT1</i> と <i>AtTRX1</i> は耐性と関連した遺伝子発現量多型を示すことが</p>	

明らかとなり、それら遺伝子のシス領域の変異が遺伝子発現量の変化を引き起こし AI 耐性に影響していることが示唆された。*AtALMT1* プロモーターの系統間比較解析から、*AtALMT1* の遺伝子発現量多型はトランスポゾンの挿入を含むプロモーター多型に起因することが明らかとなった。さらに、高発現型の *AtALMT1* プロモーターを保有する野生系統は西ヨーロッパの比較的酸性土壌が広がる地域に分布しており、それらの系統は *AtALMT1* の発現量を上昇させることで酸性土壌地帯に適応した可能性が示された。また、GWAS と GP の統合解析により、H⁺耐性と比較し AI 耐性のバリエーション形成においてはレアバリエーションなどの GWAS では検出できない遺伝的要因による影響が大きいことが示唆された。実際に、GP による耐性予測値から大きく異なる AI 耐性を示した系統の 1 つである Voeran-1 は、*AtALMT1* のナンセンス変異体であることが明らかとなった。

2) 既知 AI 耐性遺伝子の発現量多型の解析

獲得した 28 系統の RNAseq データを用いて、既知の 30 個の AI 耐性遺伝子に関して、系統間での遺伝子発現量多型と AI 耐性の相関解析を行った。その結果、系統全体もしくはいずれかの分集団内において AI 耐性と関連した遺伝子発現量多型を示す 19 遺伝子を同定した。それら遺伝子の中で、AI 応答性クエン酸トランスポーターをコードする *AtMATE* (*multidrug and toxic compound extrusion*) は系統全体においては AI 耐性と関連した発現量多型は観察されなかったものの、中央アジアの集団においては AI 感受性系統は耐性系統と比較して顕著に低い *AtMATE* 発現量を示した。異なる遺伝的背景をもつ 49 系統に関して *AtMATE* 発現量を測定し、遺伝子発現量と系統間の遺伝的および地理的距離との関連を解析した。その結果、*AtMATE* 発現量のヒストグラムは二峰性を示し、中央アジアに属する 18 系統のうち 11 系統が著しく低い *AtMATE* 発現量を示すことが明らかとなった。中央アジアの全 18 系統を用いて AI 条件下での *AtMATE* 発現量の GWAS を行った結果、*AtMATE* 遺伝子座に顕著に高い関連を示す SNP が検出された。この SNP を低発現型で持つ系統群は高発現型の系統群と比較して約 1/5 の *AtMATE* 発現量を示し、コントロール条件においても低い発現量を示した。さらに、低発現型系統は高発現型系統と比較して有意に低い AI 耐性を示した。高発現型系統および低発現型系統間で *AtMATE* のプロモーター配列を比較した結果、低発現系統には開始コドンから 1.2 kb 上流に約 8.5 kb のトランスポゾンの挿入があることが明らかとなった。GUS レポーター遺伝子を用いた *AtMATE* プロモーター活性の解析から、トランスポゾンの挿入位置より上流のプロモーター配列が *AtMATE* の遺伝子発現に重要な役割を持つことが明らかとなった。さらに、トランスポゾンの挿入が見られた中央アジアの 11 系統を除き、38 の野生系統を用いて再度 *AtMATE* 発現量の GWAS を行った。その結果、*AtMATE* 遺伝子座以外のゲノム領域で関連する SNP が検出され、その近傍に位置した候補遺伝子の破壊株の解析から *AtMATE* の発現制御に関与する新規制御遺伝子を同定した。

本研究により、AI および H⁺耐性の系統間差の大部分を説明する耐性候補遺伝子を同定した。さらに、一部の遺伝子に関しては耐性と関連した発現量多型を明らかにし、その原因となっているシス領域の変異および発現制御遺伝子を同定した。また、GWAS と GP の統合解析から、両耐性バリエーションは遺伝的に異なるパターンにより形成されていることが示唆された。