

# 緑藻で見出されたメス・オスを決めるしくみ

—タンパク質の組み合わせがメス・オスを作る—

## 概要

「性」は生物学の最大の謎の一つです。緑藻（ボルボックス類<sup>(1)</sup>）の性決定遺伝子スイッチ（転写因子）として、MID (Minus Dominance)が知られてきました。緑藻の性の原型はメスですが、MID が機能するとオスへの分化が引き起こされます。しかしその制御機構の詳細は、これまで全く分かっていませんでした。

京都大学大学院理学研究科元特定研究員である浜地貴志博士と西村芳樹助教は、米国ドナルド・ダンフォース植物科学センターの耿颯博士、ジム・ユーマン博士との国際共同研究により、「雌雄決定に関与する鍵タンパク質」を発見し、この新たな転写因子<sup>(2)</sup>を「Volvocine Sex Regulator (VSR) 1：ボルボックス類の性制御因子1」と名付けました。

まず VSR1 が破壊された場合、多細胞のボルボックスと単細胞のクラミドモナスのいずれにおいても、オスもメスも有性生殖ができなくなりました。次に VSR1 タンパク質は VSR1-VSR1 結合しますが、MID が加わると VSR1-MID 結合が形成することが明らかになりました。そして緑藻細胞内で、VSR1-VSR1 が形成されればメスになり、VSR1-MID が形成されればオスになるという、性決定を担う非常にシンプルな遺伝子スイッチが明らかになってきました。

本成果は 2023 年 7 月 12 日に米国国際学術誌「米国科学アカデミー紀要」にオンライン掲載されました。

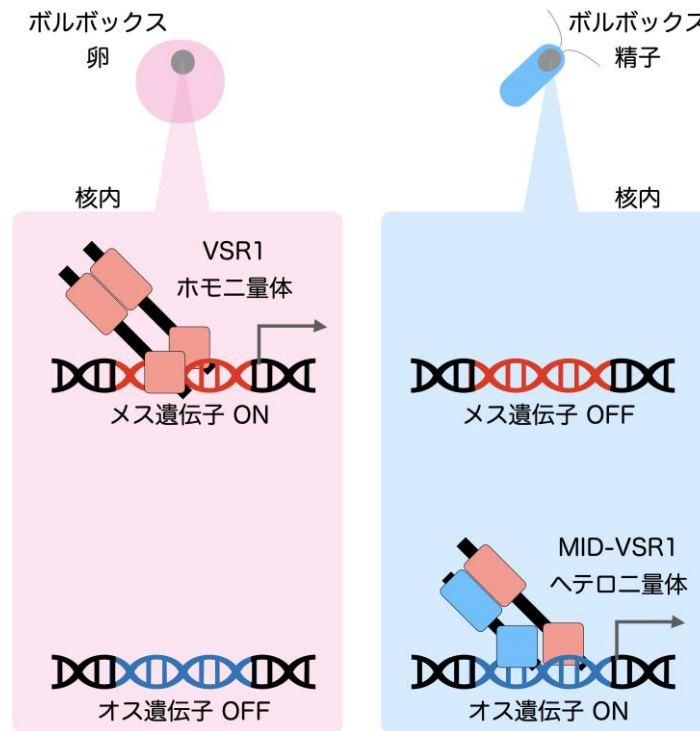


図. ボルボックスの性の原型であるメスでは VSR1 がホモ二量体をとることでメス遺伝子の制御領域に結合し機能 ON にする一方で、MID のあるオスでは MID と VSR1 がヘテロ二量体を取りオス遺伝子を ON にする。

## 1. 背景

ヒトを含む多くの真核生物において、有性生殖はオスが作る精子とメスが作る卵によっておこなわれます。しかし真核生物の祖先は、受精する細胞同士にサイズの差がない同型配偶子生殖をしていました。同型配偶子から卵生殖への進化はどのように起きたのか？この問題を解く上で、ボルボックス系列緑藻は非常に解析しやすいモデルとされています。ボルボックス系列緑藻では同型配偶子のクラミドモナスと卵生殖のボルボックスが比較的最近（約2億年前）に分岐したと推定され、分子生物学・ゲノム学的研究が進められてきました。そしてこれまでに、このボルボックス系列緑藻において、MID (OTOKOGI) タンパク質がオス分化に必須な遺伝子スイッチ（転写因子）であることが明らかになっていました。しかしMIDがどうやってオス・メスそれぞれの遺伝子群の発現をコントロールするのかという最大の謎は、手つかずのままです。

## 2. 研究手法・成果

我々はボルボックスとクラミドモナスにおいて、MIDとアミノ酸配列が類似した転写因子（RWP-RKドメインタンパク質）に注目しました。類似した転写因子同士が、さまざまな組合せで結合することで、異なる遺伝子群を制御すると報告されてきたためです。目的とする転写因子は配偶子の遺伝子発現をコントロールすることから、配偶子でだけつくられていると推測しました。

ボルボックスとクラミドモナスで配列が類似し、配偶子で発現するRWP-RKドメイン転写因子を最有力候補とみなし、その遺伝子が壊れた株を解析したところ、オス・メスいずれでも有性生殖を行えなくなることが明らかになったことから、この遺伝子を「Volvocine Sex Regulator (VSR) 1:ボルボックス類の性制御因子1」と名付けました。VSR1遺伝子が壊れたvsr1変異体では、精子や卵に特有な遺伝子群の発現が観察されませんでした。つまりVSR1は、オスやメスの配偶子を成り立たせる遺伝子スイッチとして機能することが明らかになりました。

ではVSR1はどうやってオス・メスのスイッチを切り分けるのでしょうか？また、MIDとの関係はどのようなのでしょうか？これらの疑問を解くために、タンパク質同士の結合の有無を判別できる酵母ツーハイブリッド法<sup>(3)</sup>を利用して、MIDタンパク質とVSR1タンパク質の相互作用を調べました。その結果、MIDとVSR1が、DNA結合するRWP-RKドメインとは異なる部位（相互作用ドメイン）で結合（ヘテロダイマー形成）すること、さらにVSR1同士が結合（ホモダイマー形成）することもわかりました。

以上のような結果から、単細胞緑藻クラミドモナスから多細胞のボルボックスまで共通する、非常にシンプルかつ合理的な性決定機構が見えてきました。すなわち、MIDがないメスでは、VSR1-VSR1ホモダイマーが形成され、メス遺伝子をONにします。しかしMIDのあるオスでは、MID-VSR1ヘテロダイマーが優先的に形成され、メス遺伝子をOFFにしてオス遺伝子をONにします。今後この機構について、さらに詳細な検証と他生物への応用展開を進めていく予定です。

## 3. 波及効果、今後の予定

私たちは真核生物における非常にシンプルな性決定機構を発見しました。今後さらに研究を進めることで、VSR1-VSR1ホモ二量体とMID-VSR1ヘテロ二量体が結合するDNA配列が見つかるものと期待されます。このDNA配列は、卵や精子形成に必要な遺伝子群を規定するものと考えられます。さらにホモ/ヘテロ二量体の構造とDNA結合様式を分子レベルで明らかにすることができれば、雌雄決定機構の根幹に迫ることができると考えています。またVSR1が制御する遺伝子群の中には、同型配偶子から卵生殖への進化を引き起こした遺伝子があると推定されます。それを解明できれば、たとえば現存する同型配偶子の生物に対してその

遺伝子を追加することで、精子や卵子の進化を再設計することも可能となるかもしれません。ここからが、卵生殖出現を解明する研究の本丸であると我々は考えています。

#### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は日本学術振興会科学研究費助成事業（課題：17H05840、20K06766）および米国科学財団グラント（課題：IOS 1755430）の支援を受けました。

##### <用語解説>

1. ボルボックス類・ボルボックス系列緑藻：無性生殖・有性生殖の進化に関する様々な問題を解明する手がかりをいくつも提供することが期待されてきたユニークな生物群。性決定と同型配偶・卵生殖だけでなく、多細胞や生殖細胞・体細胞体制の確立、そして葉緑体やミトコンドリアといった共生性オルガネラ（細胞小器官）内にあるオルガネラゲノムが有性生殖過程で片方の親由来のものだけが残され、他方のものは破棄される「母性遺伝」の機構や、精子や卵という配偶子細胞同士が受精・融合するための細胞膜上因子の解明についても研究材料となってきた。
2. 転写因子：特定の DNA 配列を目印として遺伝子の働きを制御する役割を果たすタンパク質
3. 酵母ツーハイブリッド法：出芽酵母の細胞内で、興味のある 2 つのタンパク質同士がくっつきやすいこと（タンパク質-タンパク質相互作用）を示すことができる。

##### <研究者のコメント>



浜地 貴志 元特定研究員

ボルボックス類の有性生殖研究では、1990年代に米国のグループが目覚ましい展開を進める中で、いくつかの重要な「問題」が提起されていながら、30年近く未解明のままでした。それが、実は2020年以降のコロナ禍のおかげで、立て続けに進展がみられていました。今回私達が発表した研究もその一端と言えます。これはその間にあった、クラミドモナスとボルボックスの全ゲノム配列の解読、米国のグループによるクラミドモナス突然変異体網羅的ライブラリの構築、そしてCRISPR/Cas9システムを利用したゲノム編集の応用が進んだことが背景にあります。そうした蓄積を積み重ねた先人に感謝します。

<論文タイトルと著者>

タイトル：A conserved RWP-RK transcription factor VSR1 controls gametic differentiation in volvocine algae (保存された RWP-RK 転写因子 VSR1 がボルボックス系列緑藻の配偶子分化を制御する)

著者：Sa Geng, Takashi Hamaji, Patrick J. Ferris, Minglu Gao, Yoshiki Nishimura, James G. Umen

掲載誌：*Proceedings of National Academy of Sciences, USA*.

DOI：10.1073/pnas.2305099120.