

植物の多様な精子の形成の進化的起源を解明

— 7 億年前の DUO1 遺伝子獲得が植物の精子形成に関わる —

概要

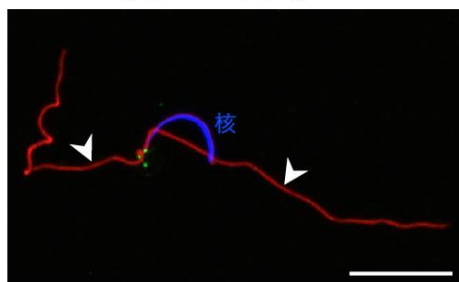
京都大学大学院生命科学研究科 荒木崇 教授、肥後あすか 同博士課程学生（研究当時、現：横浜市立大学 木原生物学研究所特任助教）、Frederic Berger グレゴールメンデル研究所グループリーダー、京都大学大学院生命科学研究科 河島友和 博士研究員（研究当時、現：ケンタッキー大学助教）、河内孝之 同教授らの研究グループは、英国レスター大学、スペイン国立バイオテクノロジーセンター、神戸大学、日本女子大学、広島大学、金沢大学、立教大学、近畿大学、東京大学の研究グループと共同で、植物における精子の形成が、約 7 億年前に陸上植物の祖先にあたる藻類でおこった新しい遺伝子（DUO1）の獲得により始まったことを明らかにしました。

動植物は精子と卵という 2 種類の生殖細胞による有性生殖を行います。この生殖様式がどのような進化的な起源を持つのかはほとんどわかっていません。本研究チームは、京都大学発のモデル植物であるゼニゴケ、シロイヌナズナ、コマチゴケ、3 種のシャジクモ、ヒメミカヅキモなどを用いた比較研究により、植物では、DUO1 という遺伝子が、藻類やコケ植物の鞭毛を持つ精子と花を咲かせる植物（被子植物）の動かない精子の形成に関わる共通の遺伝子であることを明らかにしました。この研究は、作物を含む植物における生殖と雄の稔性の理解に寄与することが期待されます。

本成果は、2018 年 12 月 11 日に国際学術誌「Nature Communications」にオンライン掲載されました。

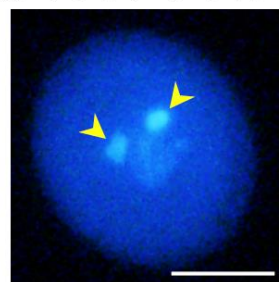
植物では同じ DUO1 遺伝子が 精子形成において中心的な役割を果たす

コケ植物の精子 (ゼニゴケ)



二本の鞭毛（矢尻）を持ち
活発に泳ぐ精細胞（精子）

被子植物の精子 (シロイヌナズナ)



花粉（青く見える）の中の
動かない精細胞（矢尻）

スケール：0.01 mm

1. 背景

動植物は精子と卵という2種類の生殖細胞による有性生殖をおこないます。植物と動物は独立に精子と卵による有性生殖を進化させましたが、この生殖様式が動植物のそれぞれでどのような進化起源を持つのかについてはほとんどわかっていません。植物においては、精子は進化の過程で大きく変化しており、コケ植物などでは動物と同様に鞭毛で運動し卵にたどり着く細胞ですが、花を咲かせる植物（被子植物）では鞭毛を失い花粉管によって受動的に卵に運ばれる、動かない「細胞内細胞」となっています。このように極端に異なる精子の形成過程が共通のしくみでおこなわれるのかについても不明でした。

2. 研究手法・成果

われわれの研究チームは、本研究の先行研究において、京都大学が中心となってモデル生物として確立した苔類ゼニゴケ（コケ植物）を用いて、植物における鞭毛を持つ精子の形成に関わる遺伝子を探索するために、ゼニゴケの約 19000 個の遺伝子の中から精子形成の過程で特異的に発現する遺伝子を約 1700 個見出していました（Higo et al. 2016）。本研究では、そのうちの転写因子をコードする遺伝子の中に精子形成において中心的な役割を果たすものがあると予想して研究を進めた結果、DUO1 と呼ばれる転写因子タンパク質をコードする遺伝子が、ゼニゴケの精子形成において中心的な役割を果たすことが明らかになりました。

DUO1 遺伝子は、精子とその母細胞である精母細胞でのみ発現しますが、相同組換え法により遺伝子破壊をおこなうと、精母細胞は正常に分裂して精子の元となる細胞（精細胞）を生じますが、精細胞の精子への変化（鞭毛や運動装置の形成、核の凝縮、細胞質の除去など）が起こりませんでした。DUO1 遺伝子は、シロイヌナズナやイネといった花を咲かせる植物（被子植物）の、鞭毛を持たず花粉管の中に収納された精子の形成に中心的な役割を果たすことが既に知られていました。そこで、ゼニゴケとシロイヌナズナの DUO1 遺伝子が、それぞれ他方の植物の中で働くことができるかを検証したところ、不完全ではあるものの、ゼニゴケの DUO1 遺伝子がシロイヌナズナの中で、シロイヌナズナの DUO1 遺伝子がゼニゴケの中で働き得ることが確認されました。さらに、両方の植物でともに、DAZ1 と呼ばれる遺伝子が DUO1 遺伝子の制御の下に働くことも確認されました。これらの知見から、コケ植物から被子植物にいたる陸上植物において、同じ DUO1 遺伝子とその下流で働く DAZ1 遺伝子が多様な精子の形成に中心的な役割を果たしていることがわかりました（**概要の図**）。

われわれの研究チームは、次に、DUO1 遺伝子の進化的な起源を探る目的で、ゼニゴケよりも前に分岐したコケ植物（コマチゴケ）、陸上植物と共通の祖先をもつ姉妹系統のシャジクモ植物や他の藻類に DUO1 遺伝子やそれに近い遺伝子が存在するかを探索しました。その結果、現生のシャジクモ植物の最基部で分岐した Mesostigma や Klebsormidium といった精子を持たない藻類には DUO1 遺伝子がなく、シャジクモ植物の中でも陸上植物に近く精子を持つシャジクモ（Chara）が、コマチゴケとともに DUO1 遺伝子を持つことを見出しました。さらに、調べた3種のシャジクモで DUO1 遺伝子は精子形成がおこなわれる器官で発現すること、そのうちの1種 Chara braunii の DUO1 遺伝子は、部分的にはあるものの、ゼニゴケの中で働き得ることが確認されました。

一方、DUO1 遺伝子を持たない Klebsormidium にも S18 MYB と呼ばれる DUO1 タンパク質とよく似たタンパク質をコードする遺伝子が存在します。Klebsormidium やコケ植物、被子植物の S18 MYB タンパク質と様々な植物の DUO1 タンパク質のアミノ酸配列を比較したところ、DNA に結合するドメインを形成する部分のいくつかのアミノ酸に重要な違いが見つかり、この違いによって DUO1 タンパク質に特有の結合標的 DNA 配列の特異性がもたらされたことが示唆されました。このアミノ酸の変化はシャジクモの祖先にあたる植物で約7億年前に生じたと考えられます。

興味深いことに、シャジクモ植物の中で最も陸上植物に近いと考えられる接合藻類と呼ばれる藻類（ヒメミカヅキモやアオミドロが含まれます）では、有性生殖がおこなわれますが、精子と卵を形成せず、見かけ上区別がつかない2種類の細胞（「－」と「＋」と呼ばれます）の接着・融合（接合）による有性生殖をおこないます。そこで、接合藻類のヒメミカヅキモなど4種で DUO1 遺伝子を調べたところ、前述の DUO1 タンパク質に特徴的なアミノ酸配列の特徴がいずれにおいても失われていることがわかりました。さらに、ヒメミカヅキモの DUO1 タンパク質は、ゼニゴケ、シロイヌナズナ、シャジクモの DUO1 タンパク質が結合する DNA の塩基配列には結合できず、ゼニゴケの中で働くことができないこともわかりました。また、ヒメミカヅキモの DUO1 遺伝子は有性生殖とは関係なく発現していることもわかりました。これらの知見から、接合藻類では DUO1 タンパク質としての働きを失わせる遺伝子の変化が、精子と卵の形成をやめて同型・同大の2種類の細胞の接合という別の有性生殖様式への変化と結びついていることが明らかになりました。

陸上植物やシャジクモ植物に近い緑藻類のボルボックス目の藻類では MID と呼ばれる遺伝子が雄（「－」と呼ばれます）の分化と精子形成に中心的な役割を果たすことが既に報告されていました。そこで、ゼニゴケに存在する MID 遺伝子の発現と機能を調べたところ、ゼニゴケの MID 遺伝子は精子形成の過程で発現するものの、遺伝子を破壊しても稔性（有性生殖によって種子を生じる性質）がある正常な精子が形成されることがわかりました。また、シロイヌナズナやシャジクモでは MID 遺伝子が失われていました。これらの知見は、陸上植物やシャジクモ植物では MID 遺伝子は精子形成における中心的な制御遺伝子ではないことを示しています。

3. 波及効果、今後の予定

以上の研究成果からわれわれの研究チームは、植物における精子と卵という2種類の生殖細胞による有性生殖植物の進化的な起源について、約7億年前に DUO1 遺伝子の祖先遺伝子におきた変化（DUO1 タンパク質の DNA に結合するドメインを形成する部分のいくつかのアミノ酸の変化をもたらした）によって植物の精子形成は始まったという説を提唱しています（図1）。しかし、以下の重要な事柄が不明であり、今後の研究課題です。

1. 鞭毛を持つ精子をつくるコケ植物（ゼニゴケ）と鞭毛を持たず鞭毛を持たず花粉管の中に収納された精子を持つ被子植物（シロイヌナズナ）で、同じ DUO1 遺伝子によっておこなわれる精子形成の過程はどの程度まで共通しているのか？
2. シャジクモ植物において最初に DUO1 遺伝子を獲得したグループは何か？

これらのうち、1. については既に研究が進んでおり、共通点と相違点、それらに関わる遺伝子が明らかになりつつあります。2. は難しい問題ですが、現生のシャジクモ植物の中で精子を形成する *Coleochaete* という藻類の研究が重要な鍵となりそうです。

有性生殖は、いうまでもなく果実や種子を利用する作物を含む植物にとって重要な現象です。植物全体に共通する特に精子形成のしくみを解明することは、深刻な問題になったり、逆に積極的に利用されることもある雄性不稔のような雄側の稔性の理解のために必要不可欠です。そのようなしくみの中の中核に位置する遺伝子の理解は、作物の雄側の稔性を改善したり、人為的に操作するための基盤となることが期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、以下の科学研究費補助金等の支援を受けました。

○新学術領域研究「植物発生ロジック」計画研究 25113005（研究代表者・荒木 崇）、総括班 25113001（研究

分担者・河内孝之)、国際活動支援班(研究分担者・河内孝之)

○基盤研究 B 23370022 (研究代表者・荒木 崇)

○挑戦的萌芽研究 24657031 (研究代表者・荒木 崇)

○新学術領域研究「ゲノム科学の総合的推進に向けた大規模ゲノム情報生産・高度情報解析支援」221S0002
(鈴木 穰(研究分担者)、坂山英俊、関本弘之、西山智明)

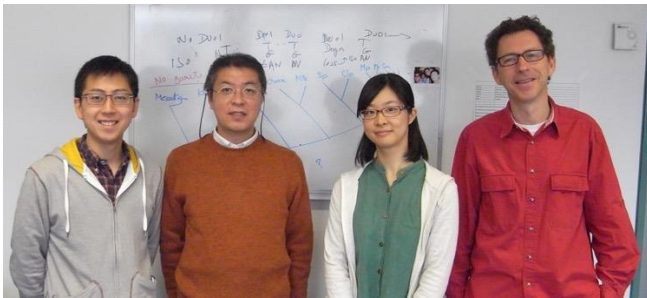
○基盤研究 B 26291081 (研究代表者・嶋村正樹、研究分担者・榊原恵子、西山智明)

○日本学術振興会特別研究員奨励費(肥後あすか、越阪部晃永)

○京都大学生命科学研究科国際交流プログラム BRIDGE(学生派遣)(肥後あすか)

<研究者のコメント>

われわれの研究の主役となったのは、京都大学が中心となって世界に普及したモデル植物ゼニゴケです。研究を進める過程で、もう一つの主要な研究グループであるグレゴールメンデル研究所(ウィーン)の Frederic Berger 研究室をはじめ、国内外の 10 大学の 11 研究室と多角的な共同研究をおこないました。その結果、研究の途上では未発表であったシャジクモのゲノム情報や、ヒメミカヅキモ、コマチゴケなどのユニークな生物を研究に用いることができました。今後も幅広い応用に資するような基礎研究を展開したいと考えております。



左から、河島友和、荒木 崇、肥後あすか、Frederic Berger

<論文タイトルと著者>

タイトル: Transcription factor DUO1 generated by neo-functionalization is associated with evolution of sperm differentiation in plants. (新規機能分化による転写因子 DUO1 の獲得が植物における精細胞の進化に関わる)

著 者: Higo, A.#, Kawashima, T.#, Borg, M., Zhao, M., López-Vidriero, I., Sakayama, H., Montgomery, S. A., Sekimoto, H., Hackenberg, D., Shimamura, M., Nishiyama, T., Sakakibara, K., Tomita, Y., Togawa, T., Kunimoto, K., Osakabe, A., Suzuki, Y., Yamato, K. T., Ishizaki, K., Nishihama, R., Kohchi, T., Franco-Zorrilla, J. M., Twell, D., Berger, F.*, and Araki, T.* (#: 共筆頭著者, *: 共同責任著者)

掲 載 誌: *Nature Communications* DOI: 0.1038/s41467-018-07228-3

<イメージ図>

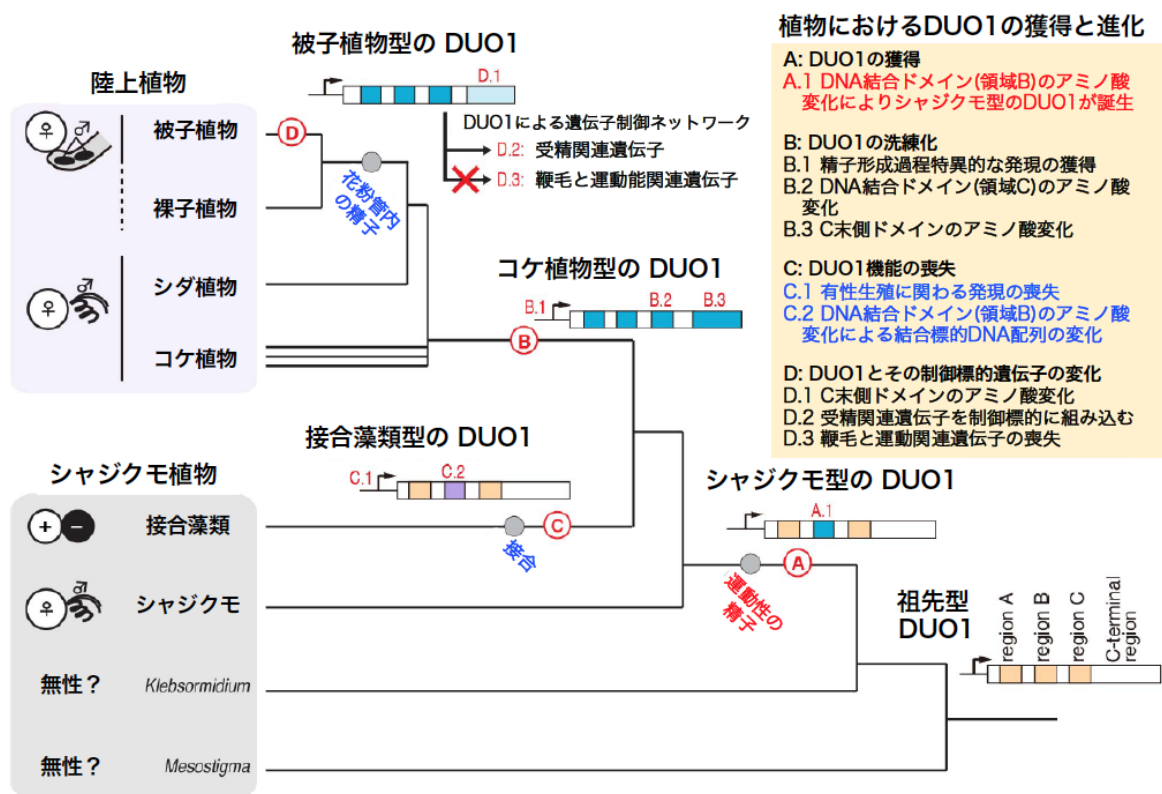


図 1. 陸上植物とその姉妹系統であるシャジクモ植物における DUO1 遺伝子の獲得・進化と有性生殖の関係

シャジクモの祖先（約 7 億年前と推定される）において、祖先型の DUO1 タンパク質(S18 MYB)の DNA 結合ドメインの領域 B に生じたアミノ酸変化により、現在の DUO1 タンパク質に特有の結合標的 DNA 配列の特異性がもたらされた（図中のⒶ）。これが植物における精子形成の起源に関わったと推察される。その後の様々な変化により、陸上植物の DUO1 が進化した（「DUO1 の洗練化」）（図中のⒷ）。被子植物では、精子が鞭毛を失って花粉管内に収納された動かない細胞に変化するのに伴って DUO1 とその制御標的遺伝子の変化がおきた（図中のⒹ）。陸上植物に最も近いと考えられている接合藻類では、精子と卵という大きさと形が異なる生殖細胞の形成が失われ接合による有性生殖がおこなわれるようになった。これに関連して DUO1 タンパク質の DNA 結合ドメインの領域 B にアミノ酸変化が生じ、DUO1 タンパク質に特有の結合標的 DNA 配列の特異性が失われた（図中のⒸ）。

このように、植物における DUO1 遺伝子の獲得と進化は、精子（と卵）による有性生殖の進化と密接に結びついている。