

陸上植物に共通する生殖成長期移行のための分子スイッチを解明 ～コケ植物から種子植物まで・短い RNA が制御する成長期移行～

1. 発表者：

都筑 正行（東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻 助教）
二神 和敬（東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻 博士課程 1 年）
渡邊 雄一郎（東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻 教授）
嶋村 正樹（広島大学大学院統合生命科学研究科 准教授）
井上 慎子（京都大学大学院生命科学研究科 大学院生：研究当時）
國本 完（京都大学大学院生命科学研究科 大学院生：研究当時）
大神 貴史（京都大学大学院生命科学研究科 大学院生：研究当時）
富田 由妃（京都大学大学院生命科学研究科 教務補佐員）
井上 佳祐（京都大学大学院生命科学研究科 助教）
河内 孝之（京都大学大学院生命科学研究科 教授）
山岡 尚平（京都大学大学院生命科学研究科 准教授）
荒木 崇（京都大学大学院生命科学研究科 教授）
濱田 隆宏（岡山理科大学理学部生物化学科 准教授）

2. 研究のポイント：

- ◆コケ植物ゼニゴケ（注 1）において、マイクロ RNA の一種（注 2）による標的転写因子（注 3）の発現制御が生殖成長期への移行を決定していることを明らかにしました。
- ◆この制御メカニズムが生殖成長期移行のための分子スイッチとして、コケ植物から種子植物まで共通であることが確かめられました。
- ◆この成果は環境変動下での農産物やバイオマスとなる作物生産の安定化などにつながるものが期待されます。

3. 研究概要：

マイクロ RNA の一種である miR156/529 ファミリーは、コケ植物から種子植物まで共有されています。種子植物の花はその中にオス、メスに相当する器官を作り、受精を成立させます。種子植物を用いたこれまでの研究から、SPL と呼ばれる標的転写因子の発現が miR156/529 ファミリーによって抑えられなくなることが、花を咲かせるスイッチとなることがわかっていました。一方、花は咲かせないコケ植物でもオス、メスそれぞれの生殖器官を作り、受精を成立させますが、そのメカニズムが使われているかは不明でした。東京大学大学院総合文化研究科の都筑正行助教、渡邊雄一郎教授、岡山理科大学理学部の濱田隆宏准教授（研究当時東京大学大学院総合文化研究科助教）らのグループは、京都大学大学院生命科学研究科の荒木崇教授、河内孝之教授、広島大学大学院統合生命科学研究科の嶋村正樹准教授のグループと共に、コケ植物ゼニゴケにおいても通常の栄養成長期では miR156/529 ファミリーが SPL2 転写因子の発現を抑制していること、その抑制が環境刺激などによって解かれるとオスとメスの生殖器官を作る有性生殖成長期への移行が促進されることを明らかにしました（図 1）。これは陸上植物で共通する、生殖成長期移行のための分子スイッチを発見したといえます。本研究による成果は、陸上植物の生活環を共通原理から理解することに繋がり、また陸上植物の生活環制御技術の開発に繋がると考えられます。

4. 研究内容：

<研究の背景>

多くの陸上植物は、一生の大半を個体のサイズを大きくする栄養成長期で過ごします。季節の変化などを感知すると、オスとメスの器官を作り、受精の子孫を残す生殖成長期へと移行します。これまで種子植物を用いた研究により、栄養成長期から生殖成長期への移行には植物体に元々備わっている遺伝子発現制御システム、そして日長や温度を含む環境刺激などさまざまな因子の関与が明らかになってきました。miR156と呼ばれるマイクロRNAと、その標的となる*SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE (SPL)* 遺伝子群の間で見られる抑制制御が知られていました。

マイクロRNAは21塩基程度の短いRNAであり、1993年に当時ハーバード大学のV. Ambros博士グループが線虫を用いた遺伝学で初めて同定されました。その塩基配列はゲノムDNAにコードされています。標的遺伝子のmRNAに相補的な配列を持つマイクロRNAは、相補的な配列を持つことで標的mRNAと結合し、mRNAの切断や翻訳抑制を引き起こします。植物でも2000年以降、モデル植物シロイヌナズナを用いて、マイクロRNAとその機能の探索が行われました。ペンシルバニア大学のPoethigグループと、マックスプランク発生生物学研究所のWeigelグループの研究によって、マイクロRNAの1種であるmiR156ファミリーが、転写因子である*SPL*遺伝子群の発現を抑制すること、そしてその抑制が生殖成長期への移行を抑制していることを明らかにしていました。miR156を過剰に発現させたシロイヌナズナを作成すると、通常の日齢では花成が誘導されませんでした。それに対してmiR156との相補性を減らすように塩基配列を改変したmiR156耐性*SPL*遺伝子を導入すると花成が早まりました。このことからmiR156による*SPL*遺伝子の発現の調整が、種子植物の花成時期の決定に重要であることが明らかとなっていました。その後種子植物以外の陸上植物でもmiR156と*SPL*遺伝子群が発見されましたが、花をつけないコケ植物などではその機能は不明でした。

<研究内容>

東京大学大学院総合文化研究科の都筑正行助教（研究当時大学院生）、渡邊雄一郎教授らのグループは以前コケ植物ゼニゴケのマイクロRNAおよび標的遺伝子の網羅的な同定を行いました。その結果、ほとんどの陸上植物に存在するmiR156がゼニゴケでは検出されませんでした。一方、miR156と似た配列を持つmiR529cが見つかり、このマイクロRNAによって*SPL*転写因子に属するMp*SPL2*遺伝子が制御されていることが明らかとなりました。Mp*SPL2*遺伝子の上でmiR529cと相同な配列、miR156と相同な配列は互いに重なり合っています。このことはゼニゴケにおいてmiR529cがMp*SPL2*遺伝子の発現調節を行っている可能性を示唆します。そこで、本研究ではその制御が持つ意味をさらに明らかにすることにしました。

まずmiR529cの機能を知るために、CRISPR/Cas9（注4）を用いたゲノム編集によりmiR529cを破壊したゼニゴケ*mir529c*変異体を作りました。変異体の表現型観察を行なったところ、栄養成長期の環境において、ゼニゴケの栄養成長器官である葉状体が、オス個体では雄器托、メス個体では雌器托（注5）と呼ばれる有性生殖器官様に変化していることがわかりました。通常、ゼニゴケにおける栄養成長期から生殖成長期の移行は遠赤色光の照射によって誘導されます（図1）。そのため、miR529cは遠赤色光シグナルが無い状態で生殖成長への移行を抑制することで、栄養成長を維持しているといえます。

続いてmiR529cの関与をさらに確認するために、塩基配列を改変してmiR529cと結合しにくくなったmiR529c耐性のMp*SPL2*遺伝子をゼニゴケに導入しました。ここで得られた形質転換体は*mir529c*変異体と同様に葉状体が有性生殖器官様に変化しました。以上のことから

miR529cがMpSPL2の発現を抑制することで、生殖成長期への移行を抑制していることが明らかとなりました。なおこれらの植物体は造精器・造卵器を有すること、雄の変異体から作られた精子は野生型の雌との交配で受精が成立し孢子体を形成したことから、本来の機能を持った有性生殖器官へと分化したといえます。

次に生殖成長期への移行におけるMpSPL2転写因子自体の役割を明らかにするために、MpSPL2遺伝子を破壊したMpspl2変異体株を作成しました。表現型観察の結果、Mpspl2変異体株では生殖成長期への移行や生殖器誘導は可能でしたが、形成された雄器托・雌器托の形態異常や、生殖成長期移行にかかる時間の遅れが見られました。このことから、ゼニゴケにはMpSPL2以外の生殖成長期移行経路が存在していること、そしてMpSPL2は正常な雄器托・雌器托の発生と適切なタイミングでの生殖成長期への移行を制御している可能性が示唆されました。

<社会的意義>

本研究の成果は、これまで明らかになっていなかった、花という器官を持たない植物においても当てはまる、陸上植物共通の生殖成長期への分子スイッチの実態を明らかにしたといえます。農産物やバイオマスの元となる、あらゆる陸上植物の成長期制御を可能にする技術開発の一步となるものです。環境保全や環境変動における生態系変化といった観点においてコケ植物などの基部陸上植物は重要な位置を占めることから、大きな発見であるといえます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Current Biology*」(オンライン：9月19日(木))

論文タイトル：An early arising role of the microRNA156/529-SPL module in reproductive development revealed by the liverwort *Marchantia polymorpha*.

著者：Masayuki Tsuzuki, Kazutaka Futagami, Masaki Shimamura, Chikako Inoue, Kan Kunimoto, Takashi Oogami, Yuki Tomita, Keisuke Inoue, Takayuki Kohchi, Shohei Yamaoka, Takashi Araki, Takahiro Hamada, Yuichiro Watanabe

DOI 番号：10.1016/j.cub.2019.07.084

アブストラクト URL：https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.07.084

6. 注意事項：

日本時間9月20日(金)午前0時(米国東部夏時間：19日(木)午前11時)以前の公表は禁じられています。

7. 用語解説：

注1 ゼニゴケ

タイ類に属するコケ植物。進化の中で陸上に上がった最初の植物の面影を、現存植物の中で一番色濃く残していると考えられる。2017年にゲノム配列が解読され、分子生物学的なツールが整備され、新たなモデル植物として注目されている。

注2 マイクロRNA

遺伝子発現を抑制する調節性小分子RNAの一種で、真核生物に広く保存されている。ゲノムDNAにコードされており、一度転写されたのちにプロセッシングという過程を経て、21塩基ほ

どの長さとなって機能する。自身と相補的な塩基配列を持った標的遺伝子 mRNA の発現を転写後レベルで抑制し、miR156/529c はオフのスイッチを担う。

注3 転写因子

染色体 DNA 上の遺伝子を発現する上で重要な調節領域に結合し、時期や環境に応じてその遺伝子から mRNA の転写を調節する機能を持ったタンパク質の総称。SPL2 タンパク質はその一種で、オンのスイッチを担う。

注4 CRISPR/Cas9

DNA に特異的に結合するガイド RNA と DNA エンドヌクレアーゼである Cas9 からなる複合体からなり、標的の DNA 領域に変異を入れたり、修飾を施すことで人為的にゲノムを改変する目的で用いられる。

注5 雄器托・雌器托

ゼニゴケを含むタイ類の有性生殖器官で、傘のような形をしている。ゼニゴケにおいては、雄器托の内部に精子を産生するための造精器が埋め込まれており、降雨などにより水滴が上部に付くと、精子を放出する。雌器托はその下部に造卵器を有しており、精子との受精後、胞子体の形成が行われる。

8. 添付資料：

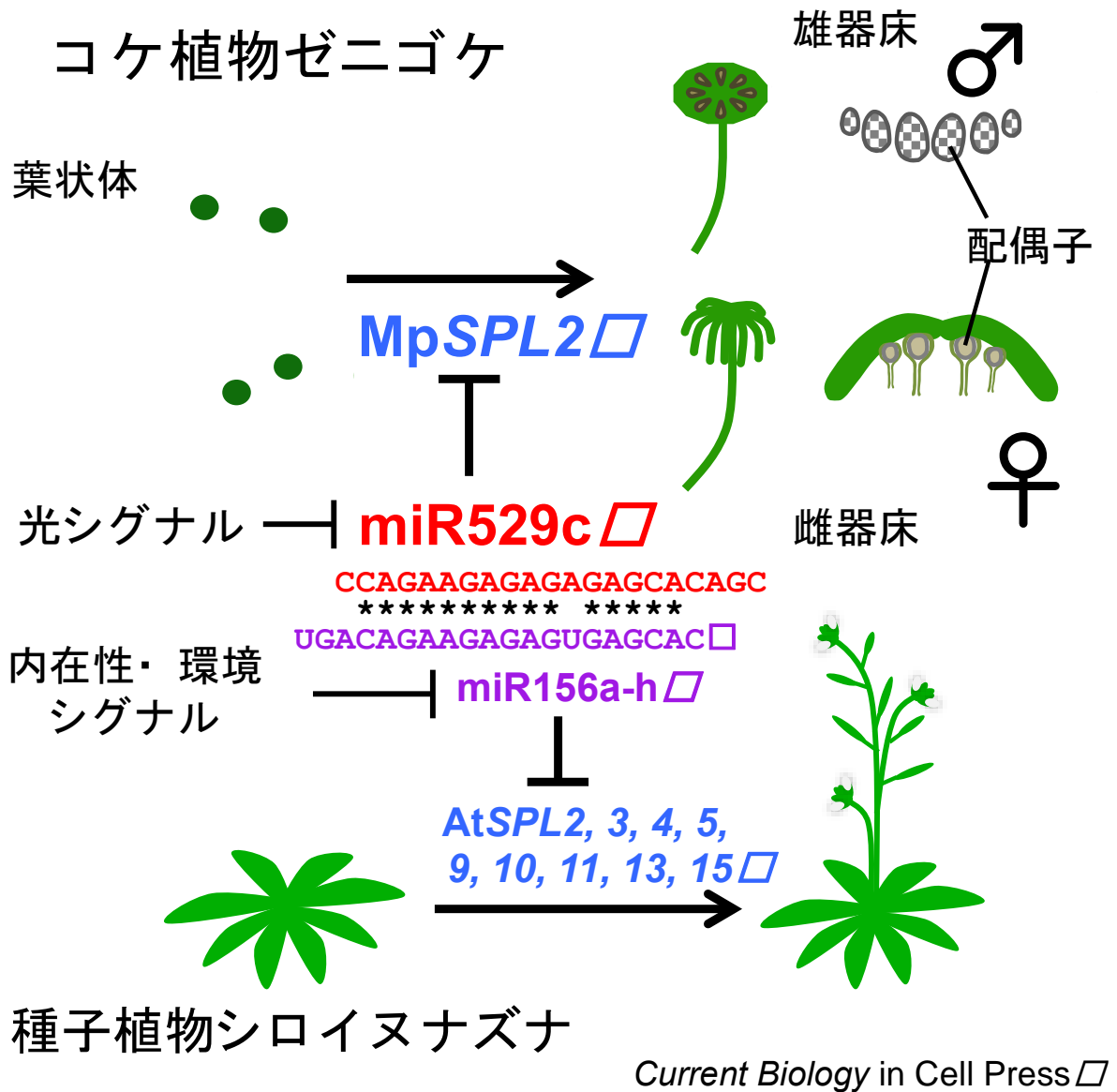


図1：陸上植物間で共有されたマイクロ RNA を介した成長期移行制御メカニズム

本研究は、コケ植物ゼニゴケにおいて miR529c が MpSPL2 転写因子の発現を抑制することで、栄養成長期から有性生殖成長期への移行を抑制していることを明らかにした。種子植物シロイヌナズナにおいては、8 遺伝子座から発現する miR156 が 9 つの SPL 転写因子ファミリーの発現を抑制して花成時期を遅らせる。シロイヌナズナでは内在性・環境シグナルが miR156 の発現を抑制することで花成を誘導するが、コケ植物では遠赤色光のシグナルが miR529c の発現を抑制することで有性生殖器官の発生を誘導する。コケ植物と種子植物は生活環や形態が大きく異なるが、同様のスイッチを用いて生殖成長期への移行を制御している事を示している (図は *Current Biology* に掲載される Graphical Abstract を日本語に翻訳したもの)。