

花の形を作る遺伝子系の起源と進化

「形とはたらき」領域 長谷部光泰

要 旨

被子植物の花は、生殖器官であり、中心から外側に向かって、雌蕊、雄蕊、花弁、ガク片で構成され、雌蕊、雄蕊の中に生殖細胞が形成される。一方、より原始的な裸子植物、シダ植物、コケ植物は、より単純な生殖器官を持っている。被子植物の花器官は、ABC 機能遺伝子 (MADS-box 遺伝子) と呼ばれるホメオティックセレクター遺伝子の制御下で形成される。裸子、シダ、コケ植物、シャジクモ藻類におけるこれらの遺伝子の発現、機能比較から、(1)陸上植物の初期段階で ABC 機能遺伝子は、1 つで、卵、精子成熟に関わっていたらしい、(2)植物の陸上化、孢子体世代の大型化と時期を同じくして、遺伝子数が増加し、その機能を多様化させていった、(3) ABC 機能遺伝子は、花が形成されるよりも前に遺伝子重複により形成されていた、(4) A 機能遺伝子の祖先は、裸子植物で欠失した、(5) *FLO/LFY* 遺伝子による ABC 機能遺伝子の生殖器官特異的誘導は、シダ類が被子植物から分岐したあとで、裸子植物が分岐する前に確立され、*FLO/LFY*-MADS-box 遺伝子系の確立が花特異的 MADS-box 遺伝子の進化の鍵となったようだ、(6)各系統での平行的な遺伝子重複、機能分化が植物の生殖器官の多様化に寄与したということがわかった。

1. 研究のねらい

生物は多様な発生様式を持ち、その結果できる形態は多様である。発生過程は多くの転写因子によって制御されているので、発生過程の進化、とりわけボディープランの進化は、転写因子の多様化によって説明できるのではないかと考えられている。では、実際に転写因子がどのように多様化し、その結果どのような進化が起こったのであろうか。

MADS-box 遺伝子族は花形成のホメオティックセレクター遺伝子をはじめ、植物のいろいろな発生過程に関わる転写因子であり、遺伝子の多様化と発生過程の進化との関係を研究するのに興味深い材料である。花は被子植物 (花の咲く植物の総称) の生殖器官であり、陸上植物の生殖器官は進化の過程で形態的に大きく変化してきたことが知られている。従って、花形成を担っている MADS-box 遺伝子がより原始的な生殖器官を持つ植物でどのような機能を持っているかを解析することにより、花形成のホメオティックセレクター遺伝子がどの

ような機能を持った遺伝子から、どのように進化してきたかを明らかにできるはずである。さらに、MADS-box 遺伝子は後生動物や菌類からも知られている。後生動物、菌類、緑色植物の共通祖先である単細胞生物で MADS-box 遺伝子はどのような機能を持っていたのか、そしてこれらのグループにおける多細胞化の過程でどのように使われてきたのかという点も興味深い。一方、同一個体内で同じ遺伝子族に属する遺伝子がどのように使い分けられているかを調べる上でも MADS-box 遺伝子は良い材料である。全ゲノム配列が明らかになっているシロイヌナズナでは、100個程度の MADS-box 遺伝子が見つかっており、これらの遺伝子の機能解析や制御系の解析は形の進化と形態形成遺伝子族の進化の関係を明らかにしていけるはずである。

本研究では、MADS-box 遺伝子族の進化が陸上植物の生殖器官の進化とどのように関わってきたかを明らかにするために、裸子植物、コケ植物、緑藻類から MADS-box 遺伝子、および、被子植物で花器官形成 MADS-box 遺伝子を誘導する *FLORICAULA/LEAFY* (*FLO/LFY*) 遺伝子の機能解析を行った。

2. 研究の方法と成果

2-1 裸子植物の MADS-box 遺伝子

イチョウとコバノグネツムからそれぞれ11個、4個の MADS-box 遺伝子を単離した。被子植物の花器官形成遺伝子は ABC の3つのグループの MADS-box 遺伝子が花器官形成に関わっている。裸子植物、被子植物、シダ植物の MADS-box 遺伝子をあわせて遺伝子系統樹を作成すると、裸子植物と被子植物の共通祖先は ABC の3つの遺伝子の祖先遺伝子を持っていたが、現生裸子植物の進化の過程で A 機能遺伝子が欠失したらしいことがわかった (図 1)。A 遺伝子を持たないことは、現生裸子植物がガク片、花弁を持たないことをうまく説明している (Hasebe 1999)。

コバノグネツムの mRNA の発現様式を *in situ* ハイブリダイゼーションで解析した結果、単離した4つの MADS-box 遺伝子はみな胚珠形成時に発現していることがわかった (Shindo et al. 1999)。このことから、裸子植物において MADS-box 遺伝子は胚珠形成に関わっている可能性が高い。

裸子植物の雌性生殖器官は多様化しており、それぞれの生殖器官の間で相同器官を特定するのが困難であった。そのため、グネツム類の生殖器官が被子植物の花に相同であるなど、裸子植物から被子植物の進化を理解するうえで大きな障害となってきた。例外はあるものの相同器官では多くの場合、相同な遺伝子が発現している。そこで、裸子植物の雌性生殖器官

の相同性を調べるために、針葉樹類のマツの仲間とコバノグネツムにおける MADS-box 遺伝子の発現様式を比較した。その結果、マツの胚珠種鱗複合体とグネツムの胚珠が相同であることがわかり、化石情報などから総合的に判断すると、針葉樹類とグネツム類の共通祖先はコルダイテス類を想定することが妥当であることが予想された (図 2)。このような仮説はこれまで全く提唱されたことがなかったが、現時点における化石、形態、分子系統の全ての結果をうまく説明しうる唯一の仮説であり、裸子植物の生殖器官の進化を考えるうえで重要な貢献となった (Shindo et al. 1999)。

2-2 シダ植物と裸子植物の *FLO/LFY* 遺伝子

従来我々の研究から、シダ類のリチャードミズワラビで MADS-box 遺伝子はすでに ABC 機能遺伝子の系統に分岐していた。しかし、シダ類ではこれらの相同遺伝子は生殖器官特異的ではなく、栄養器官と生殖器官の両方で発現している。このような発現様式が生殖器官特異的に進化することによって花器官が進化したと考えられる。被子植物では ABC 遺伝子は *FLO/LFY* 遺伝子によって花原基のみで誘導される。では、元来生殖器官特異的に発現していた *FLO/LFY* 遺伝子が MADS-box 遺伝子を制御するようになったのだろうか、それとも元々 *FLO/LFY* 遺伝子-MADS-box 遺伝子という遺伝子系が存在し *FLO/LFY* 遺伝子の発現様式が変わることにより付随的に MADS-box 遺伝子の発現が生殖器官特異的になったのだろうか。

リチャードミズワラビから 2 つの *FLO/LFY* 遺伝子を単離し、発現様式を調べたところ、既知の全ての MADS-box 遺伝子と発現場所が異なっていた (Himi et al. 2001)。このことから、シダ類の段階では、*FLO/LFY* 遺伝子-MADS-box 遺伝子の遺伝子系は確立していなかったことがわかった。では、裸子植物の段階はどうであろうか。コバノグネツムから *FLO/LFY* 遺伝子を単離し、発現様式を調べると MADS-box 遺伝子の発現様式と良く似ていた。このことから裸子植物の段階では *FLO/LFY* 遺伝子-MADS-box 遺伝子の遺伝子系が確立していたのではないかと推定される。そこで、コバノグネツムの *FLO/LFY* 遺伝子が MADS-box 遺伝子を誘導できるのかを調べてみた。コバノグネツムの *FLO/LFY* 遺伝子を *FLO/LFY* 遺伝子を欠失したシロイヌナズナ (被子植物) に導入した。*FLO/LFY* 遺伝子を欠失したシロイヌナズナは MADS-box 遺伝子が花原基で誘導されないので、花の代わりにシュート状の構造を形成する。コバノグネツム *FLO/LFY* 遺伝子を導入した形質転換シロイヌナズナは正常な花を形成した (Shindo et al. 2001 ; 図 3)。このことから、コバノグネツム (裸子植物) の *FLO/LFY* 遺伝子は MADS-box 遺伝子を誘導できる可能

性が高いことがわかった。以上より、シダ類の段階で栄養器官と生殖器官の両方で発現していた MADS-box 遺伝子が生殖器官特異的に発現するようになったのは、*FLO/LFY* 遺伝子-MADS-box 遺伝子系が確立したからであることがわかった。

2-3 コケ植物の MADS-box 遺伝子

ヒメツリガネゴケから MADS-box 遺伝子を単離した。遺伝子ターゲティング法によりゲノム中の *PpMADS1* 遺伝子末端にレポーターとして *uidA* 遺伝子を導入し、*PpMADS1* とレポーターとの融合タンパク質の発現様式を調べた (図4)。その結果、融合タンパク質は2倍体世代の栄養器官と生殖器官の両方で発現していることがわかった。さらに、従来、1倍体世代での MADS-box 遺伝子の発現は知られていなかったが、卵と精子の成熟時に発現が観察された。現在、遺伝子破壊体、ドミナントネガティブ体の過剰発現体を作成し、機能解析を行っている。

PpMADS1 タンパク質の発現様式よりコケ植物の段階で、シダ類にみられたような栄養器官と生殖器官の両方に発現するような MADS-box 遺伝子が存在していたことがわかる。

2-4 ヒメツリガネゴケの生殖器官形成に関わる遺伝子単離系の確立

被子植物の生殖器官とコケ植物の生殖器官は大きく異なっている。本研究で明らかになったように、被子植物で2倍体生殖器官形成に関わっている MADS-box 遺伝子がコケ植物ではそれ以外の機能を持っていることがわかってきた。一方で、コケ植物で生殖器官形成に関わっているが被子植物ではより拡張した機能、あるいは別な機能を持つように進化したものもある可能性が高い。そこで、ヒメツリガネゴケから生殖器官形成に関わる新規遺伝子を単離する目的で遺伝子トラップラインを約1万2千確立し、生殖器官特異的に発現する約100ラインを得た。また、同じ目的から、リチャードミズワラビ、ヒメツリガネゴケの生殖器官形成に関わる可能性のある HD-Zip 遺伝子の単離、発現解析も行った (Aso et al. 1999, Sakakibara et al. 2001)。

2-5 緑藻類における MADS-box 遺伝子の機能

陸上植物に近縁な3種の緑藻類 (シャジクモ、コレオケーテ、ミカヅキモ) からそれぞれ1つの MADS-box 遺伝子を単離した。これらを加えて MADS-box 遺伝子の遺伝子系統樹を作成したところ、緑藻類が持っていた少数の MADS-box 遺伝子が、植物が陸上化する前後に遺伝子重複により数を増やし、ABC 遺伝子の祖先ができあがってきたことがわかった。

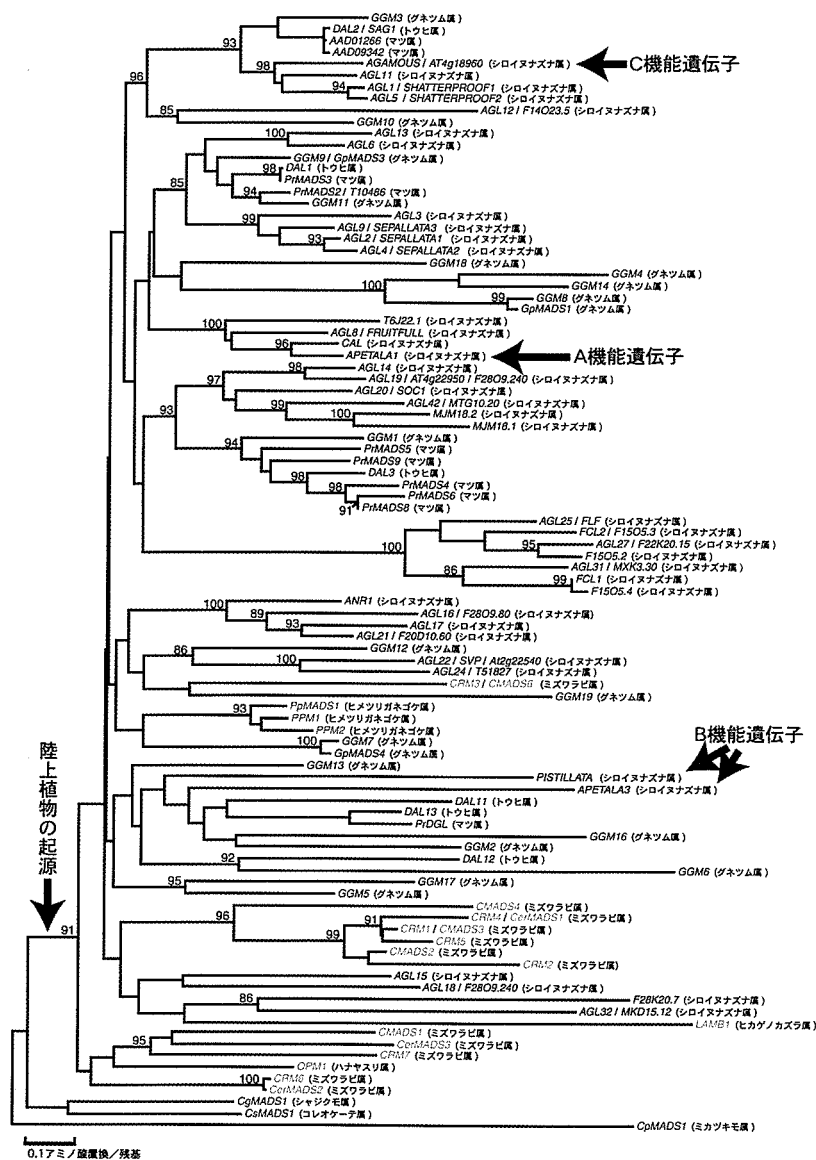


図1 植物 MADS-box 遺伝子系統樹

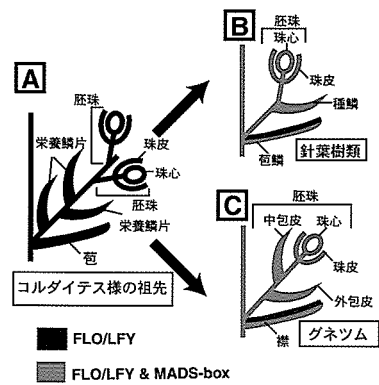


図2 針葉樹類とグネツム類の雌性生殖器官の進化仮説

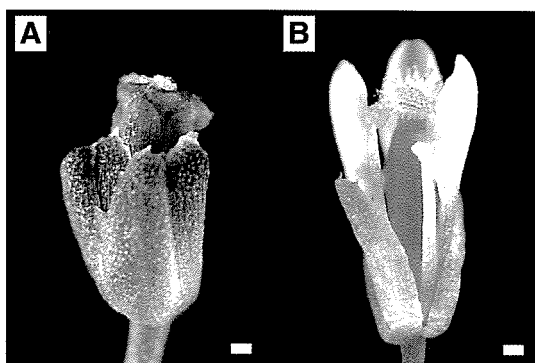


図3 シロイヌナズナ *lfy* 突然変異体 (A) とグネツム *GpLFY* 遺伝子を過剰発現させたシロイヌナズナ *lfy* 突然変異体 (B)。グネツムの *LFY* ホモログにより花が回復している。

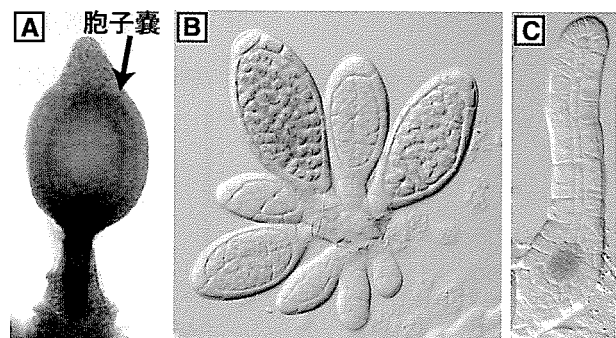


図4 ヒメツリガネゴケ *PpMADS1* 遺伝子の発現様式。A: 孢子囊およびその下部にある栄養器官で発現が見られる。B: いろいろな発生段階の造精器。青く発現が見られる造精器内では精原細胞が分裂を終え、プロトプラスト化が始まっている。C: 造卵器内の卵細胞で発現が見られる。

では、ABC 遺伝子の祖先遺伝子はどのような機能を持っていたのであろうか。

シャジクモの MADS-box 遺伝子 *CgMADS1* の mRNA は in situ ハイブリダイゼーションの結果、ヒメツリガネゴケと同じように卵、精子成熟時に発現していることがわかった。また、2 倍体世代（単細胞の受精卵）では全く発現が見られなかった。このことから、MADS-box 遺伝子は元来、1 倍体で卵精子成熟に関わっており、緑藻から陸上植物への進化の過程で 2 倍体の栄養・生殖器官での発現をも獲得したことがわかった (Tanabe et al. 投稿中)。

2-6 本研究の成果 (図5)

- (1) 陸上植物の初期段階でABC機能遺伝子は、1つで、卵、精子成熟に関わっていた。
- (2) 植物の陸上化、孢子体世代の大型化と時期を同じくして、遺伝子数が増加し、その機能を多様化させた。
- (3) ABC 機能遺伝子のオーソログは、花が形成されるよりも前に遺伝子重複により形成されていた。
- (4) A 機能遺伝子の祖先は、裸子植物で欠失し、これが裸子植物特有の生殖器官形成にかかわった可能性が高い。
- (5) オーソログな MADS-box 遺伝子と *FLO/LFY* 遺伝子の発現様式比較から、現生裸子植物の雌性生殖器官の相同性、および、これらの進化について新しい仮説を提唱した。
- (6) *FLO/LFY* 遺伝子による ABC 機能遺伝子の生殖器官特異的誘導は、シダ類が被子植物から分岐したあとで、裸子植物が分岐する前に確立され、*FLO/LFY*-MADS-box 遺伝子系の確立が花特異的 MADS-box 遺伝子の進化の鍵となった可能性が高い。

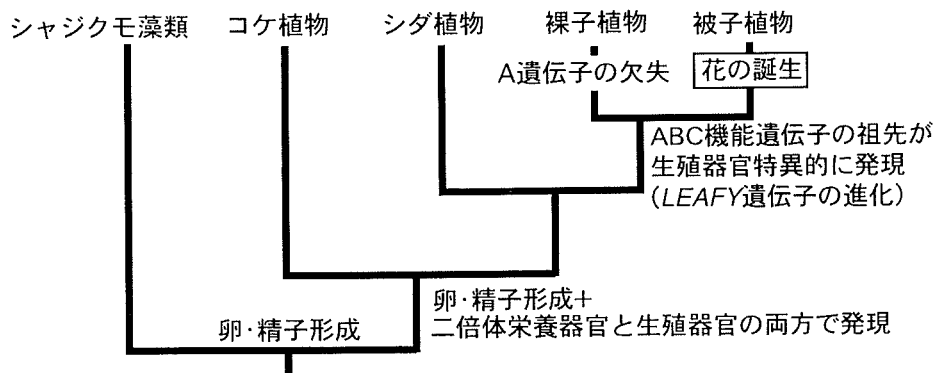


図5 MADS-box遺伝子の発現場所の進化

3. 今後の展望

本研究から、MADS-box 遺伝子と陸上植物の生殖器官進化についてアウトラインがわかった。今後、以下の点を中心に研究をすすめたい。

- (1) 被子植物における花の多様性を導いた分子機構。被子植物のガク片、花弁、雄蕊、雌蕊という花構造はほとんど全ての花で保存されている。しかし、花弁の色、花の対称性、向きなどは近縁種の間でも著しく多様化している。これは、花粉媒介昆虫との共進化によって引き起こされたと考えられている。これらの形質がどのような遺伝子によって支配されているかは徐々に明らかになってきており、今後、ABC 機能遺伝子が制御する遺伝子の解析などを通して、花の多様性を引き起こした遺伝子、およびその進化を明らかにしたい。
- (2) 機能未知の MADS-box 遺伝子の機能解析。シロイヌナズナにはまだ70個以上の機能未知の MADS-box 遺伝子が存在しており、MADS-box 遺伝子の進化を考えるうえで、これらの遺伝子機能解析は興味深い。
- (3) MADS-box 遺伝子の卵、精子形成における機能である。酵母の MCM1 遺伝子も半数体生殖細胞分化に関与しており、植物の卵、精子形成にも類似した遺伝子系が用いられているのだろうか、あるいは、全く異なった遺伝子系を用いているのだろうか。この問題は生物の生存に必須な一倍体生殖細胞形成がどのように進化してきたかという疑問に示唆を与えてくれるはずである。
- (4) MADS-box 遺伝子は陸上植物の生殖器官形成に関わった多くの遺伝子の中の一つだと考えられる。そこで、ヒメツリガネゴケ遺伝子トラップ系から得られた生殖器官特異的発現を示す遺伝子の機能解析をすすめ、同時にそれらの遺伝子の被子植物での機能を調べることにより、陸上植物の生殖器官進化に関わった新たな遺伝子を探索していきたい。

4. 発表リスト

(1) 論文

Tanabe, Y., Hasebe, M., Nozaki, H. and Ito, M. Origin and evolution of floral homeotic genes in green plants. submitted.

Shindo, S., Sakakibara, K., Sano, R., Ueda, K. and Hasebe, M. 2001. Characterization of a *FLORICAULA/LEAFY* homologue of *Gnetum parvifolium*, and its implications for the evolution of reproductive organs in seed plants. Int. J. Plant Sci. In press.

Himi, S., Sano, R., Nishiyama, T., Tanahashi, T., Kato, M., Ueda, K., and Hasebe, M. 2001. Evolution of MADS-box gene induced by *FLO/LFY* genes. J. Mol. Evol. In press.

Hiwatashi, Y., Nishiyama, T., Fujita, T. and Hasebe, M. 2001. Establishment of gene-trap and enhancer-trap systems in the moss *Physcomitrella patens*. Plant J. 28: 1-14.

Sakakibara, K., Nishiyama, T., Kato, M., and Hasebe, M. 2001. Isolation of Homeodomain-Leucine Zipper Genes from the Moss *Physcomitrella patens* and the Evolution of Homeodomain-Leucine Zipper Genes in Land Plants. Mol. Biol. Evol. 18: 491-502.

Nishiyama, T., Hiwatashi, Y., Sakakibara, K., Kato, M. and Hasebe, M. 2000. Tagged mutagenesis and gene-trap in the moss, *Physcomitrella patens* by shuttle mutagenesis. DNA Res. 7: 1-9.

Shindo, S., Ito, M., Ueda, K., Kato, M. and Hasebe, M. 1999. Characterization of MADS genes in the *gymnosperm Gnetum parvifolium* and its implication on the evolution of reproductive organs in seed plants. Evolution and Development 1: 180-190.

Aso, K., Kato, M., Banks, J.A. and Hasebe, M. 1999. Characterization of homeodomain-leucine zipper genes in the fern, *Ceratopteris richardii* and the evolution of the homeodomain-leucine zipper gene family in vascular plants. Molec. Biol. Evol. 16: 544-552

(2) 総 説

Hasebe, M. 1999. Evolution of reproductive organs in land plants. J. Plant Res. 112: 463-474.

Hasebe, M. and Ito, M. 1999. Evolution of reproductive organs in vascular plants. In M. Kato ed, The Biology of Biodiversity, Springer-Verlag, Tokyo. pp.243-255.

(3) 口頭発表（招待講演のみ）

Mitsuyasu Hasebe and Motomi Ito : “Evolution of reproductive organs in land plants.”
The 14th International Symposium in Conjunction with the International Prize for
Biology (December 1998) Hayama

長谷部光泰：「花はどうしてできたのか？花の進化を探る」日本藻類学会第23回大会特別シ
ンポジウム（1999年3月）山形

長谷部光泰：「ニセツリガネゴケを用いた分子生物学的研究」日本植物生理学会第39回シン
ポジウム（1999年3月）仙台

Mitsuyasu Hasebe and Motomi Ito : “Evolution of plant body plan and transcription
factors” The 16th International Botanical Congress (Aug. 1999) St. Louis (オーガナイ
ザー)

長谷部光泰：「形態進化、及び、茎頂分裂組織形成・維持・器官形成機構解明の材料として
のヒメツリガネゴケ *Physcomitrella patens*」日本遺伝学会シンポジウム「多様化するモデ
ル植物とそれを用いた遺伝子機能解析」（1999年9月）広島（オーガナイザー）

長谷部光泰：「ヒメツリガネゴケ *Physcomitrella patens* subsp. *patens* -形態進化、茎頂
分裂組織形成・維持・器官形成機構解明の材料として-」シンポジウム「ゲノム植物学に向
けたモデル系の研究開発」日本植物学会第63回大会（1999年10月）秋田

長谷部光泰：「植物の生殖器官の進化を引き起こした遺伝的変革」日本進化学会設立総会
（2000年10月）京都

Hasebe, M. : “Origin and evolution of floral homeotic genes in green plants” IUBS-TAIB
Symposium on “Alternative Reproductive Strategies” (Nov. 1999) 葉山

長谷部光泰：「陸上植物における花器官形成遺伝子の進化と生殖器官形態の進化」シンポジ
ウム「生物多様性の分子機構」第22回日本分子生物学会年会（1999年12月）福岡

長谷部光泰：「緑色植物の生殖器官、栄養器官の大進化」第31回種生物学会シンポジウム「植物の発生と進化」（1999年12月）神戸（オーガナイザー）

Hasebe, M. : “Origin and evolution of floral homeotic genes in green plants” The 44th National Institute for Basic Biology Conference “Evolution and Development: Generality and Diversity of Development in Animals and Plants” (March 2000) 岡崎（オーガナイザー）

Hasebe, M. and Kofuji R. : “ Expression patterns of floral homeotic gene homologs in the moss *Physcomitrella patens*, and its implication to the evolution of reproductive organs in land plants.” FASEB meeting (August 2000) Saxton river, USA

Hasebe, M. : “Origin and Evolution of Floral Homeotic Genes” 2000 Kyoto Prize Symposium “Challenge to Evolutionary Development Biology: Exploring of Life through Molecules” Kyoto, Japan

Hasebe, M., Kofuji, R., Tanabe, Y., Ito, M. : “Evolution of floral homeotic genes” 14th International Congress of Developmental Biology (July 2001) Kyoto

その他一般口頭発表：16件

5. 謝 辞

本研究の一部は伊藤元己助教授（東大）、小藤累美子助手（金沢大）、田辺陽一（千葉大院生）、新道聡美（総研大院生）、氷見冴子（金沢大院生）、三上周子（千葉大院生）、麻生くみ（東大院生）、榊原恵子（総研大院生）、西山智明（学振特別研究員）、日渡祐二（総研大院生）、植田邦彦教授（金沢大）、加藤雅啓教授（東大）との共同研究の成果である。また、「形とはたらき」領域会議における有益な助言、激励が本研究遂行の大きな助けとなったことに感謝いたします。