

種分化第二部門

諸 橋 憲一郎

本部門は広く動植物種における種分化機構の解明を目的に、平成8年度より開設された部門であり、現在研究室のセットアップが進行中である。よって、ここに記載する内容は（1）九州大学大学院医学系研究科と（2）東京大学理学部附属植物園において行われたものである。

（1）哺乳動物生殖腺の分化機構の解析

生殖腺や副腎皮質では6種類のチトクロム P450 によって、生理活性の異なるステロイドホルモンが生合成される。これら P450 遺伝子の転写調節配列として Ad4 配列を同定し、Ad4 配列に結合する転写因子 (Ad4BP) の cDNA を単離した。塩基配列より、この因子は核内レセプター型の転写因子であることが明かになった。Ad4BP は副腎皮質、精巣、卵巣などの主要なステロイドホルモン産生細胞で発現するとともに、脳下垂体性腺刺激ホルモン産生細胞、視床下部腹内側核でもその発現が確認されている。このような組織分布から、本因子は視床下部-下垂体-性腺系に発現することで、生物個体の生殖機能の維持に不可欠な役割を担っているものと思われる。

次いで、Ad4BP の組織形成過程における機能を調べるためにノックアウトマウスを作成したところ、本遺伝子を破壊したマウスは正常に出生に至るが副腎と性腺を消失していることが分かった。この表現型は、本因子が生殖腺や副腎の形成には必須の因子であることを示したものであった。一方、ノックアウトマウスの脳下垂体性腺刺激ホルモン産生細胞と視床下部腹内側核を構成する細胞は存在したが、共に正常な機能の獲得には至っていないことが明かになっている。ノックアウトマウスの解析から明かになった Ad4BP の機能上の重要性は、胎性組織における本因子の発現様式からも支持された。Ad4BP の発現は、副腎と生殖腺が形態的に認められる以前にある種の細胞集団で観察され、その細胞集団より生殖腺と副腎皮質の原基が形成される。その後、生殖腺の性分化に伴い Ad4BP の発現には性差が現れる。これらの観察結果は、本因子の発現が単に生殖腺の分化のみならず性分化と密接な関係にあることを示唆するものであった。

P450 遺伝子の転写調節因子として同定された Ad4BP は、ノックアウトマウスの解析結果から、ステロイドホルモン産生細胞の分化や生殖腺の性分化に不可欠な因子であることが明かにされた。しかしながらこれまでの研究では、組織形成過程における Ad4BP の作用機序が明かになったわけではない。この点を明かにするには、P450 遺伝子以外に Ad4BP の制御下にある遺伝子群を同定することが必要である。実際に、副腎皮質、精巣、卵巣などの組織に発現する遺伝子で、その転写調節領域に Ad4 配列を有するものも少なくなく、今後の解析が期待されるところである。このような解析と

は別に Ad4BP 遺伝子の転写調節機構の解明も不可欠である。特にステロイドホルモン産生細胞の原基となる細胞の決定機構の解明には、本遺伝子の初発の活性化機構を理解することが不可欠である。Ad4BP を中心とするこのような解析から、生物個体の生殖機能の獲得や維持の機構、生殖をとうした種の確立、分化の機構を理解したいと考える。

原著論文

1. Honda, S., Morohashi, K., Nomura, M., Takeya, H., Kitajima M., and Omura, T. (1993) Ad4BP regulating steroidogenic P-450 gene is a member of steroid hormone receptor superfamily. *J. Biol. Chem.* 268, 7494-7502.
2. Hatano, O., Takayama, K., Imai, T., Waterman, M.R., Takakusu, A., Omura, T., and Morohashi, K. (1994) Sex-dependent expression of a transcription factor, Ad4BP, regulating steroidogenic P-450 genes in the gonads during prenatal and postnatal rat development. *Development* 120, 2787-2797.
3. Hatano, O., Takakusu, A., Nomura, M., and Morohashi, K. (1996) Identical origin of adrenal cortex and gonads revealed by expression of Ad4BP/SF-1. *Genes to Cells* 1, 663-671.

(2) 陸上植物の多様性形成機構の解析

陸上植物はコケ植物、シダ植物、裸子植物、被子植物から構成されている。多様性理解のためには、これらの植物の記載と系統関係を解明することが研究の第一歩である。従来、系統関係の推定は形態形質を基に行われてきたが、十分な情報量を得ることが難しく、陸上植物の科のレベルでの系統関係はコンセンサスの得られていない点が多かった。我々は、葉緑体ゲノムの遺伝子配列変異、葉緑体にコードされているリブロース 2 リン酸脱炭酸酵素の大サブユニット遺伝子 (rbcL) の塩基配列情報から裸子植物の目間、シダ植物の科間の系統関係を高い統計的精度で推定することができた。多様性研究の次の段階は、推定された系統樹の分岐点で遺伝子にどのような変異がおこって種多様性、とりわけ形態的多様性が形成されたのかを解明することである。(1) シロイヌナズナなど被子植物モデル系で形態形成に関与していることが推定されている遺伝子群 (例: MADS, LFY, ホメオボックス関連遺伝子) が、裸子植物 (ゲネツム, イチョウ), シダ植物 (ミズワラビ), コケ植物 (ニセツリガネゴケ) においてどのように機能しているかを解析するとともに、(2) ゲノムサイズがシロイヌナズナの約 6 倍と小さく、形質転換系の確立している唯一の下等植物であるニセツリガネゴケを用いて、形態形成に関係する突然変異体、およびその原因遺伝子を単離し、新たな形態形成関連遺伝子の探索を行い、それらの遺伝子がシロイヌナズナなどより高等な植物でどのような機能を担っているかを解明するという 2 方向の研究から形態形成の遺伝子制御系がどのように進化したかを解明し、形態的多様性形成機構をあきらかにすることを目的に研究を進めている。

原著論文

1. Hasebe, M., Ito, M., Kofuji, R., Ueda, K., and Iwatsuki, K. (1993) Phylogenetic relationships of ferns deduced from *rbcL* gene sequence. *J. Mol. Evol.* 37, 476-482.
2. Hasebe, M., Omori, T., Nakazawa, M., Sano, T., Kato, M., and Iwatsuki, K. (1994) *rbcL* gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 5730-5734.
3. Eberle, J., Wen, C.-K., Nemacheck, J., Hasebe, M., and Banks, J.A. (1995) *Ceratopteris*: a model system for studying sex-determining mechanisms in plants. *Int. J. Plant Sci.* 156, 359-366.