

MADS ボックス遺伝子と植物の生殖器官の進化

長谷部光泰・小藤累美子・田辺陽一・伊藤元己

MADS ボックス遺伝子は後生動物、菌類、緑色植物から知られる転写因子である。シロイヌナズナのゲノム中には 99 個が見つかっており、その一部は、花器官形成のホメオティックセクター遺伝子として機能している。シロイヌナズナの MADS ボックス遺伝子の機能解析、および原始的な形態をもったシダ、コケ、シャジクモ類における MADS ボックス遺伝子の発現様式の解析から、遺伝子重複による MADS ボックス遺伝子の数の増加と発現場所の変化が緑色植物の生殖器官進化にどうかかわってきたかがわかってきた。

Key words MADS ボックス遺伝子 植物生殖器官 遺伝子重複 発進進化

はじめに

生物は多様な発進様式をもち、その結果できる形態は多様である。発進過程は多くの転写因子によって制御されているので、発進過程の進化、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 ボックス遺伝子族は花形成のホメオティックセクター遺伝子をはじめ、植物のいろいろな発進過程にかかわる転写因子であり、遺伝子の多様化と発進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。したがって、花形成を担っている MADS ボックス遺伝子がより原始的な生殖器官をもつ植物でどのような機能をも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クター遺伝子がどのような機能をもった遺伝子から、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 ボックス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 ボックス遺伝子はどのような機能をもっていたのか、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うえでも MADS ボックス遺伝子はよい材料である。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、99 個の MADS ボックス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の進行が進んでいる。

本稿では、MADS ボックス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かかわってきたのか、これまでわかってきた知見を概説する。

I. 陸上植物のモデル

動物では、ヒト、マウス、ショウジョウバエ、線虫など系統的に離れた種がモデルとして歴史的に用いられてきた。そして、ホメオボックス遺伝子のようにボディープランを支配する遺伝子機能の比較解析が盛んに行なわれている(本特集の和田の項参照)。しかし、陸上植物を含む多細胞緑色植物では、双子葉植物のシロイヌナズナと単子葉植物のイネでさまざまな遺伝子の機能解析が進

Mitsuyasu Hasebe, 岡崎国立共同研究機構・基礎生物学研究所
Rumiko Kofuji, 金沢大学理学部

Youichi Tanabe, 千葉大学理学部

Motomi Ito, 東京大学大学院総合文化研究科

Evolution of MADS-box genes and reproductive organs in land plants

E-mail : mhasebe@nibb.ac.jp <http://www.nibb.ac.jp/~mhasebe>

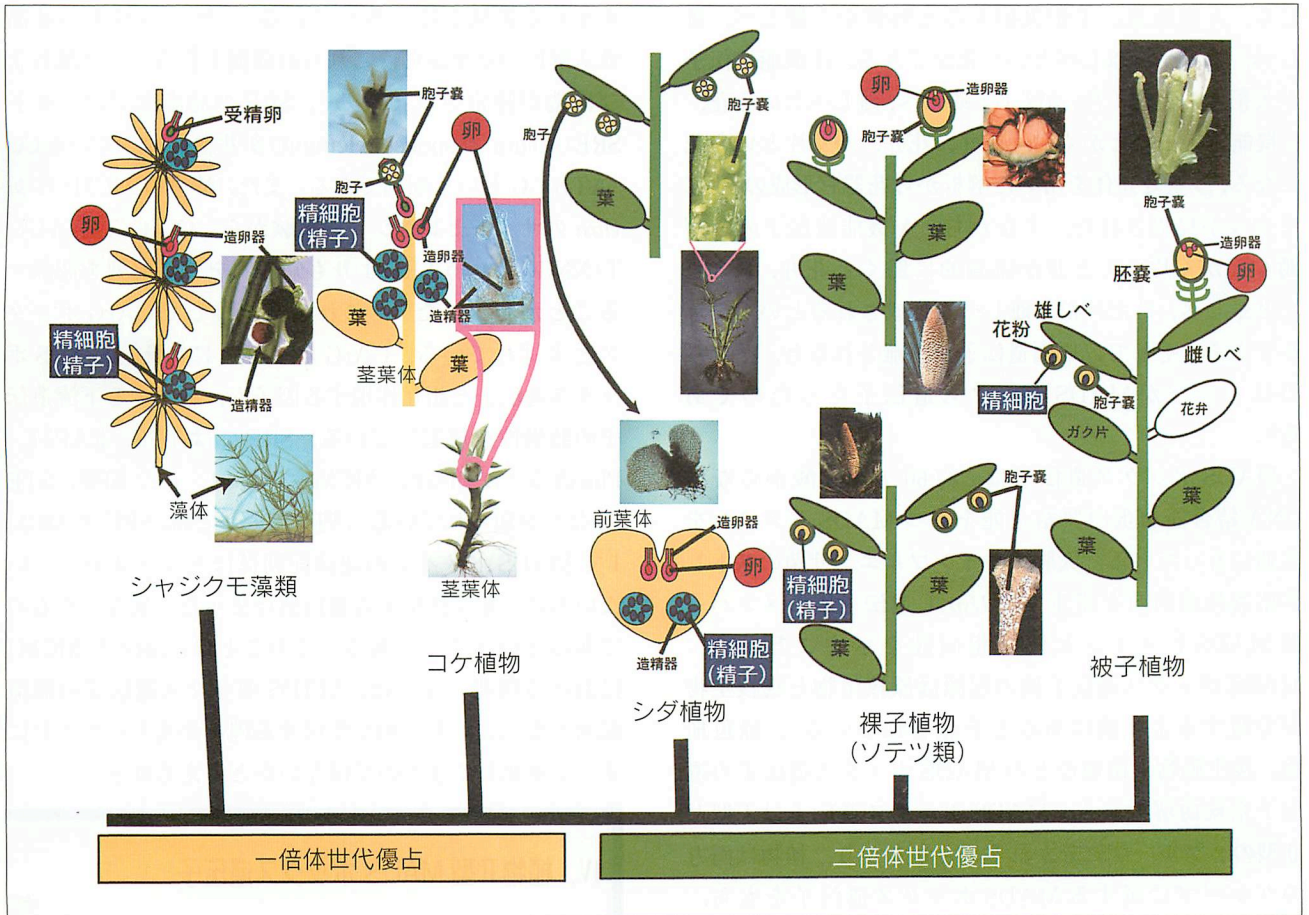


図1 陸上植物の系統と生殖器官
 一倍体細胞は黄色、二倍体細胞は緑色で示した。図の下側の線は各分類群の系統関係を示した

んでいるが、より原始的なグループにおける研究は遅れている。

陸上植物は大きく4つの群に分けられる(図1)。コケ植物、シダ植物、裸子植物、被子植物である。コケ植物とシダ植物は異質な群がいくつか混ざっている多系統群である。裸子植物には針葉樹、ソテツなどが含まれるが、すべて“木”であり、世代時間が長く分子生物学的解析に向く種類はない。シダ植物では、熱帯性のリチャードミズワラビ *Ceratopteris richardii* (以下、ミズワラビと略す)が、世代時間の短さと交配の容易さから汎用されている¹⁾。しかし、形質転換法が確立されていない。現時点で、形質転換可能なモデルシダ植物はない。コケ植物は大きく蘚類、苔類、ツノゴケ類に分かれるが、蘚類はヒメツリガネゴケ *Physcomitrella patens*、苔類はゼニゴケ *Marchantia polymorpha* が分子生物学的解析に用いられる。とりわけヒメツリガネゴケは、陸上植物では唯一遺伝子ターゲティングが可能な植物である²⁾。これ

は、酵母と同程度に高い相同組換え率によっているが、どうしてヒメツリガネゴケだけが相同組換え率が高いのかは不明である。化石記録から、植物が陸上に上陸したのは約4億5千万年前だと推定されている。陸上植物の直接の祖先がどのような緑藻類であったかは知る由がないが、現在生きている緑藻類の中では、淡水産のシャジクモ藻類が陸上植物に最も近縁だと考えられている。

II. 花器官形成の分子機構

花はがく片、花弁、雄しべ、雌しべの4つの花器官からなり、雄しべと雌しべの中で減数分裂が起こり単相の生殖細胞が形成される。シロイヌナズナ、キンギョソウなどを用いた分子遺伝学的解析から、これら4つの花器官形成にはA、B、C機能遺伝子とよばれる3群の遺伝子がかかわっていることがわかってきた³⁾。これらの遺伝子が機能を喪失すると、ホメオティック突然変異が生

じる。A 機能遺伝子が欠損すると外側から雌しべ、雄しべ、雌しべ、雄しべ、雌しべという花ができる。B 機能遺伝子が欠損するとがく片、がく片、雌しべ、雌しべという花、C 機能遺伝子だとがく片、花弁、花弁、がく片という花になる。多重変異体を用いた解析から花器官形成の ABC モデルが提唱された。すなわち、A 機能遺伝子のみが働くのがく片、A と B が協調的に働くと花弁、B と C だと雄しべ、C だけだと雌しべが形成されるというモデルである。そして、原因遺伝子が単離されると、それらのほとんどが MADS ボックス 遺伝子だったのである⁴⁾。

MADS ボックス 遺伝子は、約 60 アミノ酸からなる DNA 結合能と蛋白質結合能をもつ MADS ドメインを共通にもっている。大腸菌やインフルエンザ菌のストレス応答性蛋白質を産生する *UspA* 遺伝子族のメンバーは MADS ドメインと低い相同性を示すことから、MADS ボックス 遺伝子族の起源は原核生物と真核生物が分岐するより前にあると予想されている⁵⁾。緑色植物、後生動物、菌類などの MADS ボックス 遺伝子の遺伝子系統樹解析から、MADS ボックス 遺伝子は I 型と II 型の 2 グループに分かれることがわかり、植物は両方のグループに属する MADS ボックス 遺伝子をもち、ABC 機能遺伝子はすべて II 型 MADS ボックス 遺伝子に属することがわかった⁶⁾。

III. I 型 MADS ボックス 遺伝子

植物の I 型 MADS ボックス 遺伝子は、その存在自体がゲノム配列の決定によって明らかになったものであり、発現様式、突然変異体ともに知られていない。このグループに属するヒトの SRF (serum response factor) は恒常的に発現し、細胞の増殖・分化にかかわっている⁷⁾。また、酵母の *MCM1* 遺伝子も恒常的に発現し、**a** あるいは α 特異的転写因子と相互作用することにより細胞タイプを制御している⁸⁾。このことから、植物の I 型 MADS ボックス 遺伝子も何らかの細胞増殖・分化過程に寄与している可能性がある。実際に、このグループのいくつかの遺伝子は、マクロアレイによる解析から花粉特異的に発現しており、有性生殖細胞分化にかかわっている可能性がある(筆者ら:未発表)。

酵母における生化学的実験から、MADS ドメイン内に DNA 結合部位、蛋白質-蛋白質相互作用、2 量体化に

かかわる領域が特定されている⁴⁾。ヒトの SRF の結晶構造解析の結果から、これらの機能を担うアミノ酸および構造が特定されている⁹⁾。SRF の認識配列は、ヒト SRE (serum response element) が共通にもっている CC(AT)₆GG という配列である。また、酵母の *MCM1* は *in vitro* のサイトセレクション実験から、CC(C/T)AA(A/T)NNGG という SRF よりも厳密性を欠く配列を認識することがわかった¹⁰⁾。これらは総称して CA_nG ボックスとよばれている。CA_nG ボックスに加え、MADS ボックス 遺伝子と相互作用する因子も、制御する下流遺伝子の特異性を規定している。SRF では TCF, RAP74, Phox1 などが知られ、*MCM1* では $\alpha 1$, $\alpha 2$, SFF, STE 12 などが知られている⁴⁾。興味深いことは、SRF と *MCM1* で MADS ドメインの認識配列はほとんど変わっていないのに、相互作用する蛋白質はまったく異なったものであるということである。このことは、SRF と *MCM1* における機能の違いは、MADS ボックス 遺伝子の認識配列の変化よりも、相互作用する因子が変わったことによって進化してきたのではないかと考えられる。

IV. 植物 II 型 MADS ボックス 遺伝子

II 型 MADS ボックス 遺伝子は、後生動物の *MEF* 遺伝子と植物 II 型 MADS ボックス 遺伝子を含んでいる。動物の *MEF2* 遺伝子は、MADS ボックス の C 末端に接して、*MEF2* ドメインとよばれる保存された領域をもち、これらの領域を通じて、2 量体形成、DNA 結合を行なうことが知られている⁴⁾。*MEF2* は *MCM1* や SRF と同様に、相互作用する因子を変えることにより、筋肉、神経細胞の分化という異なる過程に関与している¹¹⁾。しかし、MADS ボックス のアミノ酸配列は、植物の II 型 MADS ボックス 遺伝子とより高い保存性を示している。

植物の II 型 MADS ボックス 遺伝子は MADS ドメインとともに、K ドメインとよばれる両親媒性のコイルドコイル構造を形成するドメインをもっており、他の MADS ボックス 遺伝子と異なっている。K ドメインに類似したアミノ酸配列は、毛包内で多量に発現している trichohyalin という蛋白質にも見つかっているので¹²⁾、植物の II 型 MADS ボックス 遺伝子は植物が後生動物と分岐したあとで、異なった遺伝子のエキソンが組み換わること(エキソン・シャフリング)によって進化してきた

のではないかと考えられている。エキソン・シャフリングによる新規遺伝子の創出は蛋白質が新機能を獲得するうえで大きな原動力であることが知られている¹³⁾。

シロイヌナズナ、裸子植物、シダ植物、コケ植物、シャジクモ類の代表的Ⅱ型 MADS ボックス遺伝子の遺伝子系統樹の模式図を示した(図 2)。シャジクモ類のシャジクモ、コレオケーテ、ミカツキモは多系統であり、ミカツキモが最も古くに分岐したことが知られているので、この図はミカツキモを根として作ってある。この系統樹から、植物Ⅱ型 MADS ボックス遺伝子はシャジクモ類から陸上植物の系統が分かれたところに遺伝子重複によって数を増やしたことがわかる。増えた遺伝子はいくつかのグループを形成しているが、系統樹の根元に近い部分の系統関係は情報量の不足からわからない。図で数字を示していない枝は統計的に支持されないので、多分岐として表わすべきものである。

被子植物の花器官形成のホメオティック遺伝子である ABC 機能遺伝子のうち、BC 機能遺伝子についてはオーソログ [→今月の Key Words (p.1323)] が裸子植物から見つかっている。また、裸子植物の C 機能遺伝子(図 2 の *DAL2* と *SAG1*)をシロイヌナズナの野生株で過剰発現させると、雌しべ、雄しべ、雄しべ、雌しべという花ができる¹⁴⁾。これは、シロイヌナズナ C 機能遺伝子を過剰発現させたときに形成される花とよく似ている。このことから、C 機能は裸子植物の段階ですでに確立していたのではないかと考えられている。裸子植物の生殖器官は、被子植物の雄しべや雌しべほどは複雑化していないが、基本的な構造は類似しており両方で C 機能が維持されていることは納得がいく。裸子植物の B 機能遺伝子についてはシロイヌナズナで過剰発現させたときにどのような表現型を示すかはまだわかっていない。B 機能遺伝子は PI と AP3 の 2 つのグループの遺伝子がヘテロダイマーを形成して機能する。裸子植物からは図 2 の遺伝子系統樹上で PI, AP3 の近くに位置する遺伝子も見つかっているので、今後これらの遺伝子機能解析により B 遺伝子の進化について新たな知見が得られることが期待される。

複数の研究グループによって、いくつかの裸子植物から MADS ボックス遺伝子の単離が行なわれているが、これまで A 機能遺伝子のオーソログにあたるものは見つかっていない。今後、A 機能遺伝子のオーソログが報告される可能性は否定できないが、がく片や花卉にあ

たる器官をもたない裸子植物の生殖器官を考えると裸子植物が A 機能遺伝子をもたないというのは納得がいく。つまり、被子植物の系統で A 機能遺伝子が新たに花原基の外側で発現するようになり、がく片や花卉が形成されるようになったのではないかと予想される。

シロイヌナズナのⅡ型 MADS ボックス遺伝子は、ABC 機能遺伝子以外に 35 個ある(図 2)。これらのいくつかについて機能解析が行なわれている。その結果、植物のⅡ型 MADS ボックス遺伝子は多様な機能をもった遺伝子群であることがわかってきた。

A 機能遺伝子である *API* とそれに近縁でリダンダントな機能をもっている *CAL* 遺伝子は花特異的に発現している。しかし、これらに最も近い *FUL* 遺伝子は花器官形成のホメオティックセレクターではなく、受精後の雌しべの成熟に関与し、葉の発生にかかわっている¹⁵⁾。*API* にやや近縁である *SEP1, 2, 3* 遺伝子は ABC 機能遺伝子とともに花器官形成に必要で、花原基特異的に発現している¹⁶⁾。一方、*AGL3* 遺伝子は機能未知で茎や葉で発現が見られる。このように比較的近縁な遺伝子でも発現様式と機能が多様化している。

さらに、栄養器官(根、茎、葉)で特異的に発現し、機能している遺伝子もある。たとえば、*ANR1* 遺伝子は根特異的に発現し、側根形成にかかわっている¹⁷⁾。野生型のシロイヌナズナは NO_3^- が豊富だと側根を多数形成するが、*ANR1* の発現を抑制した変異体では側根形成が著しく抑制される。

また、栄養器官と生殖器官の両方に発現している遺伝子もある。*SOC1* (*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1*) と *SVP* (*SHORT VEGETATIVE PHASE*) 遺伝子は、機能欠損突然変異体で花芽形成が遅くなることから花芽形成過程で機能していることがわかってきた^{18, 19)}。

このように多様な発現様式、機能をもった遺伝子はどのように進化してきたのだろうか。図 2 の遺伝子系統樹では、系統樹の根元に近い部分の系統がはっきりしないために、シロイヌナズナのなかでどのような発現様式や機能をもった遺伝子が祖先的なのかを推定することが困難である。そこで、シロイヌナズナよりも原始的な植物において MADS ボックス遺伝子がどのように発現し、機能しているかを調べることによってこの問題にアプローチしてみた。図 2 ではシダやコケがシロイヌナズナのどの遺伝子に近縁かはわからない。しかし、種の系統と

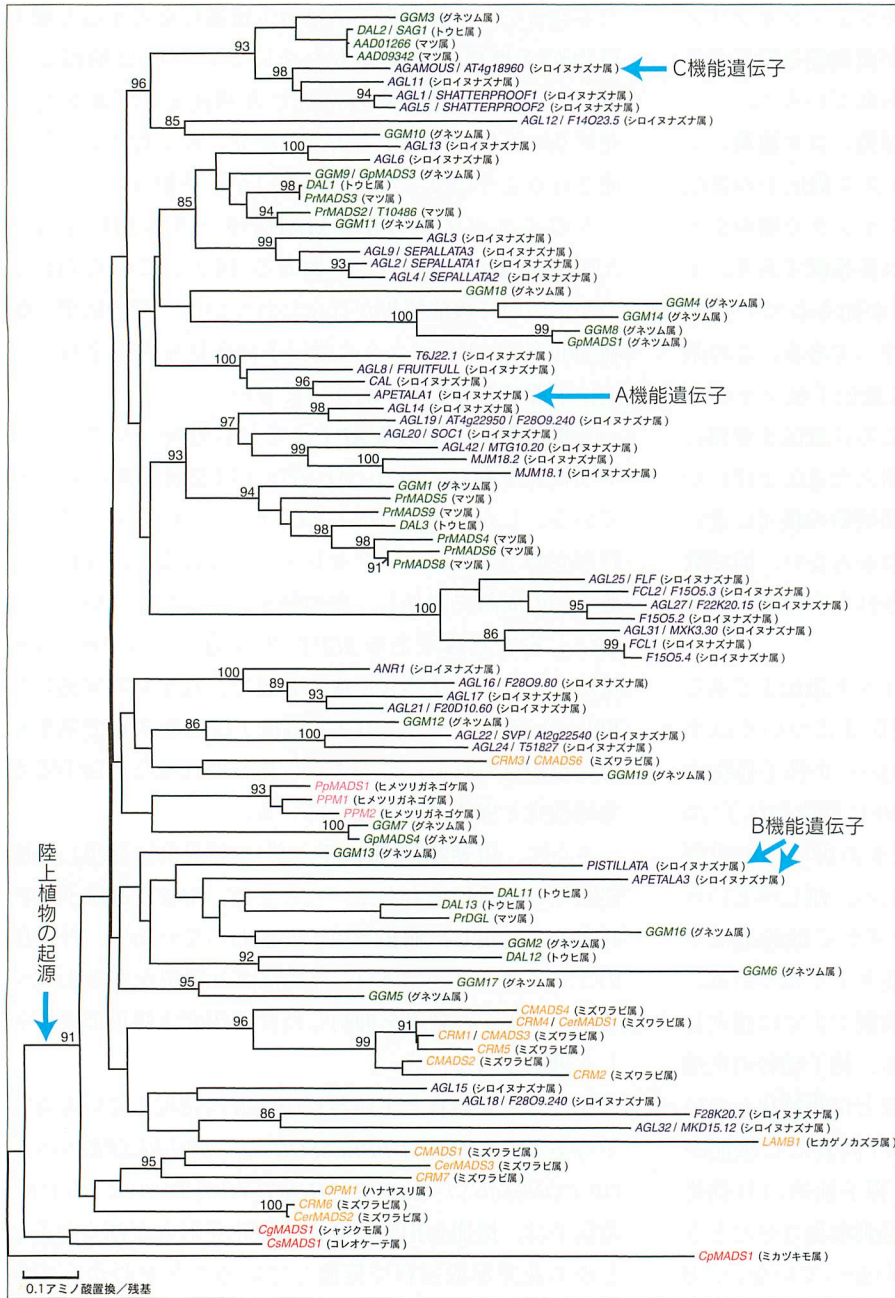


図2 植物II型MADSボックス遺伝子系統樹

近隣結合法により構築し、ブートストラップ法により統計的信頼性を検定し、各枝の上に信頼度を表示した。

してはシダやコケはシロイヌナズナと裸子植物よりも前に分岐した分類群なので、必ず根元に近い部分に位置するはずである。

V. シダとコケのMADSボックス遺伝子

ミズワラビはシロイヌナズナに似た体制をもち、胚発

生後、栄養葉を順次展開し、ある時期になると生殖期へと転換する。ところがシロイヌナズナのように花をつくらずに、栄養葉にひき続いて生殖葉を形成するだけである(図1)。生殖葉の裏側には胞子嚢とよばれる袋があり、この袋の中で減数分裂が起こり、一倍体の生殖細胞が形成される。

ここで植物の生殖器官の相同性について少し説明する(図1)。シロイヌナズナの花はがく片、花弁、雄しべ、雌しべからできているが、これら4つの器官は葉が変形したものである。実際に葉で花器官形成のホメオティック遺伝子を発現させると、葉を花弁に変化させることができる²⁰⁾。したがって、花は短い茎の周りに4種類の変形した葉が配列している構造なのであり、生殖細胞を形成する雄しべと雌しべはシダの生殖葉に相当する器官である(雌しべについてはもう少し複雑なのだが、ここでは単純に考える)。シダの生殖葉には雄雌がなくどれも同じ形をしているが、シロイヌナズナの場合には雄しべと雌しべに形態が分化している。これらの分化をABC機能遺伝子が制御しているわけである。

では、ミズワラビのMADSボックス遺伝子はどこで発現しているのだろうか。ABC機能遺伝子のように生殖器官特異的に発現しているのだろうか、それとも他のII型MADSボックス遺伝子のように栄養器官でも発現しているのだろうか。ミズワラビから4つのII型MADSボックス遺伝子を単離し、mRNAの発現様式を*in situ*ハイブリダイゼーションで調べてみた²¹⁾。すると、4つの遺伝子の発現様式は互いによく似ており、生殖器官と栄

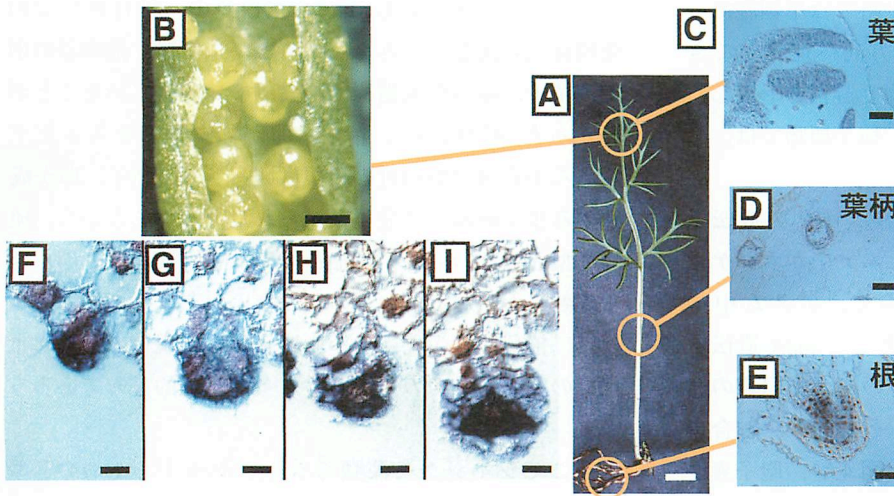


図3 ミズワラビ *CMADS1* 遺伝子の発現様式

A: ミズワラビの株から葉を1枚だけ残して、他の葉を取り除いたもの。スケール: 1cm. B: 生殖葉の裏側の拡大図。黄色い袋が孢子嚢。スケール: 0.5mm. C: 葉の先端の縦断面。D: 葉柄の横断面。丸く見えるのが維管束。E: 根の先端の縦断面。C~Eのスケール: 50 μ m. F~I: 孢子嚢の発生過程。スケール: 10 μ m.

養器官の両方で発現していた(図3)。栄養葉、生殖葉ともに発育途中の先端部分の細胞分裂が活発な部分、および維管束で発現が見られ、後者の発現は茎を通過して根端にある分裂細胞へとつながっていた。さらに、生殖葉では孢子嚢形成過程で発現し、孢子嚢が出来上がると発現が低下した。このことから、植物II型 MADS ボックス遺伝子は元来、栄養器官と生殖器官の両方で発現するタイプであった可能性が高くなる。

さて、さらに原始的なコケではどうであろうか。コケの体制を理解するには、世代交代について思い出す必要がある(図1)。ほとんどの後生動物の体は二倍体であり、一倍体になるのは単細胞の生殖細胞だけである。しかし、陸上植物は二倍体だけでなく、一倍体も多細胞化する。シロイヌナズナ、ミズワラビで栄養器官、生殖器官として見てきた器官はすべて二倍体である。ミズワラビの一倍体は前葉体とよばれ、二倍体の生殖器官で作られた一倍体の孢子が発芽して多細胞体へと発生する。多細胞の前葉体の上に造卵器と造精器がつくられ、その中に卵と精子ができる。シロイヌナズナでは二倍体の雌しべの中で、減数分裂により数細胞にまで退化した前葉体に相当する胚嚢が形成され、その中に卵が形成される。二倍体の雄しべの中では減数分裂により一倍体の花粉が形成され、雌しべの先端に着くと前葉体に当たる花粉管を雌しべの中へと伸長させる。精子に相当する精細胞が花粉管の中を卵へと移動し、受精する。

陸上植物に最も近縁なシャジクモ藻類は一倍体で多細胞性の藻体(図1)の上に造卵器と造精器を形成し、それぞれが卵と精子を形成する。受精後最初の分裂が減数分裂であり、再び一倍体の藻体を形成する。したがって、

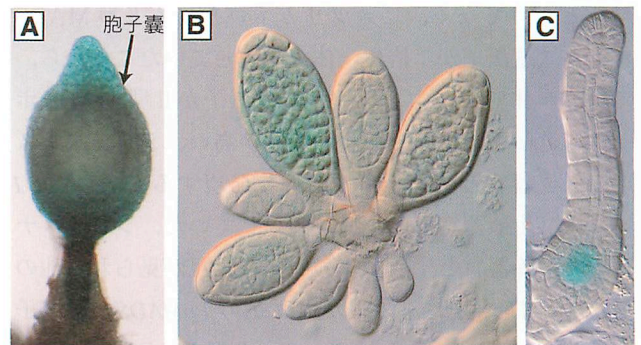


図4 ヒメツリガネゴケ *PpMADS1* 遺伝子の発現様式

A: 孢子嚢およびその下部にあり、一倍体茎葉体に埋まり一倍体からの栄養を吸収す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、プロトプラスト化しはじめている。C: 造卵器内の卵細胞で発現が見られる

二倍体になるのは受精卵だけで、それ以外はすべて一倍体である。

陸上植物の中でシダよりも原始的な系統の1つであるヒメツリガネゴケでは、二倍体は一倍体に寄生しており、一倍体(茎葉体)に茎葉に似た器官を形成する。茎葉体先端の造卵器と造精器の中で卵と精子が形成される。シャジクモ藻類と違う点は、受精卵が体細胞分裂を行ない、多細胞の二倍体を発生させることである。受精卵は造卵器の中で数回体細胞分裂を行ない、造卵器の上下に幹細胞にあたる頂端細胞を形成する。頂端細胞は順次細胞分裂をくり返し、数百細胞からなる栄養体となる。このころになると頂端細胞は消え、栄養体の上側が分裂をくり返し、生殖器官である孢子嚢を1つ形成する。孢子嚢の中で減数分裂により孢子が形成される。このよう

に、陸上植物は、シャジクモ藻類の段階では単細胞だった二倍体が多細胞化し、複雑化する方向へ進化してきた。逆に、シャジクモ藻類やコケ植物で器官を形成し、独立生活していた一倍体は小型化し、種子植物では、二倍体に寄生するようになった。

ヒメツリガネゴケからII型 MADS ボックス 遺伝子 (*PpMADS1*) をクローニングした。ヒメツリガネゴケは遺伝子ターゲティングが容易なので、ゲノム中の *PpMADS1* 遺伝子末端にレポーターとして *uidA* 遺伝子を挿入し、*PpMADS1* とレポーターとの融合蛋白質の発現様式を検出した(小藤ら：未発表)。その結果、融合蛋白質は、二倍体全体で発現しており(図 4A)、胞子嚢が成熟すると胞子嚢での発現は消失した。このようにミズワラビだけでなく、ヒメツリガネゴケでも II 型 MADS ボックス 遺伝子が二倍体全体で発現していたことから、二倍体全体で発現するタイプの遺伝子が II 型 MADS ボックス 遺伝子の祖先である可能性が高い。シロイヌナズナの栄養器官と生殖器官の両方で発現する *SVP*、*SOC1* 遺伝子は生殖器官形成誘導に関与していた。シロイヌナズナで栄養器官と生殖器官の両方で発現が見られる他の遺伝子、およびヒメツリガネゴケの *PpMADS1* 遺伝子の機能解析を進めることにより、II 型 MADS ボックス 遺伝子がどのような機能をもっていたかが推定できるようになるだろう。

ツリガネゴケ *PpMADS1* 融合蛋白質の一倍体世代での発現様式を観察してみた。すると、造精器、造卵器の中で、精子、卵の形成過程で特異的に発現していることがわかった(図 4B, C)。精子、卵がプロトプラスト化するころから融合蛋白質の発現は観察され、精子、卵が成熟するまで継続して発現が見られた。このことから、植物 II 型 MADS ボックス 遺伝子是一倍体世代で、卵、精子成熟にかかわっているのではないかと考えている。では、二倍体での栄養、生殖両器官での発現と、一倍体世代での卵、精子での発現のどちらが祖先的なのだろうか。

そこでシャジクモ藻類のシャジクモから1つのII型 MADS ボックス 遺伝子 (*CgMADS1*) を単離した。シャジクモの唯一の二倍体である受精卵は、受精後一倍体の体から離れて水底に沈む。そこで、水槽の底から直径 1 mm ほどの受精卵を拾い集め RNA を抽出し、*CgMADS1* 遺伝子が発現しているかどうかを RT-PCR 法で調べてみた。その結果、*CgMADS1* 遺伝子は、一倍体の造卵器と造精器を含むような組織のみで増幅が見られ、一倍体の栄養器官、二倍体の受精卵ではまったく増幅が見られなかった。さらに、*in situ* ハイブリダイゼーションの結果から、*CgMADS1* 遺伝子は卵、精子成熟期に卵と精子で特異的に発現していることがわかった(田辺ら：投稿中)。

VI. 一倍体での機能

ミズワラビ II 型 MADS ボックス 遺伝子はノーザン解析の結果、一倍体でも発現していることがわかった²¹⁾。しかし、細かい発現場所は不明であった。そこで、ヒメ

VII. II 型 MADS ボックス 遺伝子の進化と生殖器官の進化

以上の研究から図 5 のようなスキームが考えられる。緑色植物(本特集の井上の項参照)の II 型 MADS ボックス

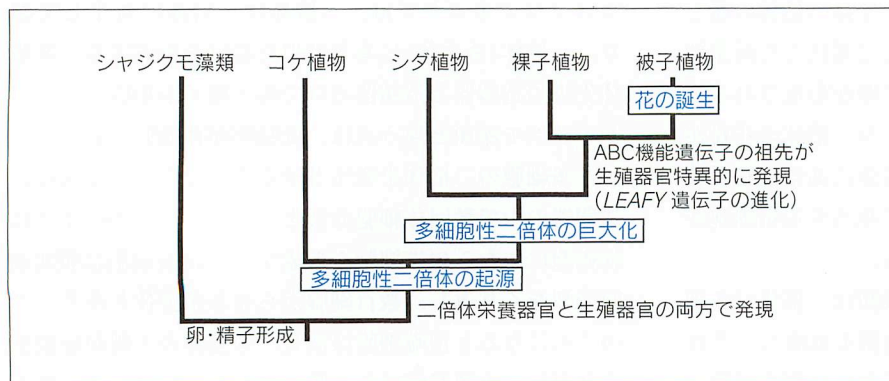


図 5 植物 II 型 MADS ボックス 遺伝子の発現場所の進化

遺伝子は、シャジクモ藻類が進化した段階では、一倍体の卵、精子成熟に関与していた。シャジクモ藻類の段階では、唯一の二倍体である受精卵では II 型 MADS ボックス 遺伝子は発現していなかった。しかし、約 4 億 5 千万年前に、緑色植物が陸上化したころ、多細胞性の二倍体が生じ、二倍体世代でも II 型 MADS ボックス 遺伝子が発現するようになった。ある遺伝

子が異なった場所で発現するようになるには、遺伝子重複を伴わない場合と伴う場合が考えられる。前者の場合、シスやトランス因子の変化で同じ遺伝子の発現場所が拡大する、後者の場合、遺伝子が重複し、1つは同じ発現様式を維持し、もう1つのシス因子が変化したり、新たなトランス因子が加わったりして別な場所で発現するようになる。コケの *PpMADS1* 遺伝子は一倍体の卵、精子と二倍体の両方で発現しているため、おそらくこの段階では、遺伝子重複を伴わずに発現場所の拡張が起こったのではないだろうか。そして、コケ、シダ、種子植物へと進化していく過程で、遺伝子重複によりII型MADSボックス遺伝子の数が増えていった。その一部は従来のように卵、精子で発現したり、栄養・生殖両器官で発現しているが、残りは発現場所を変化させ、あるものは生殖器官特異的に発現し、花器官形成のホメオティックセレクター遺伝子へと進化していったのではないだろうか。

VIII. MADS ボックス遺伝子の発現場所を制御する遺伝子の進化

では、栄養器官と生殖器官の両方で発現していたII型MADSボックス遺伝子の発現場所はどのようにして生殖器官特異的になったのであろうか。シロイヌナズナでABC機能遺伝子を花原基特異的に誘導しているのは *LEAFY* 遺伝子 (*LFY*) である。*LFY* 遺伝子の機能喪失変異体 (*lfy*) では、正常な花が形成されず、花器官はすべて葉のような器官へと変化する²²⁾。では、*LFY* はいつからII型MADSボックス遺伝子を制御できるようになったのであろうか。裸子植物のコバノグネツムから *LFY* 遺伝子を単離し、シロイヌナズナの *lfy* で過剰発現させてみた。その結果、野生型の花が回復した。このことは、裸子植物と被子植物が分岐する段階ではすでに *LFY* 遺伝子がII型MADSボックス遺伝子を誘導できた可能性が高いことを示している。では、ミズワラビではどうか。ミズワラビから2つの *LFY* 遺伝子を単離してノーザン法で発現場所を調べたところ、ともに茎頂部分で強い発現が見られたが、それ以外の部分ではほとんど発現が見られなかった²³⁾。先述のように、ミズワラビのMADSボックス遺伝子はどれも葉、茎、根で広く発現しており、茎頂部分の発現は他の部分よりも弱い。ミズワラビ *LFY* ホモログとMADSボックス遺伝子が異な

った発現様式を示すということは、ミズワラビでは *LFY* ホモログがMADSボックス遺伝子を直接的には誘導していないことを示している。したがって、*LFY* 遺伝子によるMADSボックス遺伝子の制御系は、シロイヌナズナ(被子植物)がミズワラビ(シダ植物)から分かれたあとで、被子植物とコバノグネツム(裸子植物)が分かれるよりも前だったと考えられる(図5)。*LFY* 遺伝子の認識配列はまだ報告されていないが、おそらく、ABC機能遺伝子の祖先のシス領域に突然変異が生じ、それぞれ *LFY* 遺伝子の支配下へとリクルートされてきたのではないだろうか。今後、シロイヌナズナのII型MADSボックス遺伝子のシスエレメントの研究からどのように制御様式が進化してきたのかについて明らかになると思われる。

■ おわりに

これまでの研究から、MADSボックス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てきた。今後、興味深いと思われるいくつかの問題点を指摘したい。1つは、被子植物における花の多様性を導いた分子機構である。被子植物のがく片、花弁、雄しべ、雌しべという花構造はほとんどすべ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とおして、花の多様性を引き起こした遺伝子、およびその進化が明らかになっていくであろう。2つ目は、機能未知のMADSボックス遺伝子はいったい何をしているのだろうか、という問題である。シロイヌナズナにはまだ数十個の機能未知のMADSボックス遺伝子が存在しており、MADSボックス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つ目は、MADSボックス遺伝子の卵、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、あるいはまった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1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うるであろう。今後の展開を期待したい。

文献

- 1) Banks, J. : *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50, 163-186 (1999)
- 2) Schaefer, D. G. : *Curr. Opin. Plant Biol.*, 4, 143-150 (2001)
- 3) Coen, E. S., Meyerowitz, E. M. : *Nature*, 353, 31-37 (1991)
- 4) Shore, P., Sharrocks, A. D. : *Eur. J. Biochem.*, 229, 1-13 (1995)
- 5) Mushegian, A. R., Koonin, E. V. : *Genetics*, 144, 817-828 (1996)
- 6) Alvarez-Buylla, E. R., Pelaz, S., Liliegren, S. J., Gold, S. E., Burgeff, C., Ditta, G. S., de Poupiana, L. R., Martinez-Castilla, L., Yanofsky, M. F. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 5328-5333 (2000)
- 7) Norman, C., Runswick, M., Pollock, R., Treisman, R. : *Cell*, 55, 989-1003 (1988)
- 8) Herskowitz, I. : *Nature*, 342, 749-757 (1989)
- 9) Pellegrini, L., Tan, S., Richmond, T. J. : *Nature*, 376, 490-498 (1995)
- 10) Wynne, J., Treisman, R. : *Nucl. Acids Res.*, 20, 3297-3303 (1992)
- 11) Black, B. L., Olsen, E. N. : *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.*, 14, 167-180 (1998)
- 12) Fietz, M. J., Presland, R. B., Rogers, G. E. : *J. Cell Biol.*, 110, 427-436 (1990)
- 13) Li, W. : *Molecular Evolution*, Sinauer Assoc., Sunderland, Massachusetts (1997)
- 14) Rutledge, R., Regan, S., Nicolas, O., Fobert, P., Côte, C., Bosnich, W., Kauffeldt, C., Sunohara, G., Séguin, A., Stewart, D. : *Plant J.*, 15, 625-634 (1998)
- 15) Gu, Q., Ferrándiz, C., Yanofsky, M. F., Martienssen, R. : *Development*, 125, 1509-1517 (1998)
- 16) Pelaz, S., Ditta, G. S., Baumann, E., Wisman, E., Yanofsky, M. F. : *Nature*, 405, 200-202 (2000)
- 17) Zhang, H., Forde, B. G. : *Science*, 279, 407-409 (1998)
- 18) Samach, A., Onouchi, H., Gold, S. E., Ditta, G. S., Schwartz-Sommer, Z., Yanofsky, M. F., Coupland, G. : *Science*, 288, 1613-1616 (2000)
- 19) Hartmann, U., Höhmann, S., Nettesheim, K., Wisman, E., Saedler, H., Hujiser, P. : *Plant J.*, 21, 351-360 (2000)
- 20) Honma, T., Goto, K. : *Nature*, 409, 525-529 (2001)
- 21) Hasebe, M., Wen, C.-K., Kato, M., Banks, J. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 6222-6227 (1998)
- 22) Weigel, D., Alvarez, J., Smyth, D. R., Yanofsky, M. F., Meyerowitz, E. M. : *Cell*, 69, 843-859 (1992)
- 23) Himi, S., Sano, R., Nishiyama, T., Tanahashi, T., Kato, M., Ueda, K., Hasebe, M. : *J. Mol. Evol.*, in press (2001)

●meeting

アポトーシス研究会 第10回 研究集談会

日時：2001年8月24日(金)・25日(土)
会場：東京歯科大学血腫記念ホール(千代田区三崎町2-9-18)
一般演題
シンポジウム
1. 発生・分化とアポトーシス
2. アポトーシスと疾患—臨床医学への応用を目指して
問合せ先：防衛医科大学校寄生虫学講座
Tel. 042-995-1576 FAX 042-996-5197
E-mail: tadakuma@cc.ndmc.ac.jp

●training

東京農工大学遺伝子実験施設 遺伝子操作トレーニングコース

日時：2001年8月21日(火)~23日(木) 10:00~18:00
場所：東京農工大学遺伝子実験施設(東京都府中市幸町)
内容：初心者を対象として、大腸菌からのプラスミド精製、PCR増幅、ライゲーション、形質転換などの実習を行なう。
参加人数：20名(教育・研究・医療機関に勤務する社会人)
参加費：12,000円
参加申込方法：勤務先の住所・名称、応募者の所属・氏名・職種・E-mailアドレス・電話番号を明記し、下記宛にE-mailまたはFAXにてお申し込みください。募集要項をお送りします。
参加申込締切：8月5日(空きがあれば19日まで受付)
申込先・問合せ先：〒183-8509 東京都府中市幸町3-5-8 東京農工大学遺伝子実験施設 丹生谷 博(にゅうのや ひろし)
E-mail: nyunoya@cc.tuat.ac.jp Tel./FAX 042-367-5563

著者プロフィール

→p.1322

●workshop

ユーグレナ研究会 第17回 研究集會

日時：平成13年11月17日(土)9:30~19:00
会場：奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 大講義室(奈良県生駒市高山町 8916-5/Tel. 0743-72-5560/FAX 0743-72-5569)
一般講演
シンポジウム「植物テトラピロール代謝の分子生理学」
招待講演として Professor J. C. Lagarias (Univ. California, Davis, USA) を予定。
問合せ先：〒599-8531 大阪府堺市学園町1-1 大阪府立大学農学部応用生物化学科食品代謝栄養学研究室 内 ユーグレナ研究会事務局
Tel. 0722-54-9454 FAX 0722-50-7318
E-mail: yamaji@biochem.osakafu-u.ac.jp

●meeting

第8回 グライコサイエンス若手の会

日時：平成13年9月28日(金)13:00~29日(土)15:00
場所：国立婦人教育会館(NWEC) [埼玉県比企郡]
プログラム：招待講演、口頭発表、ポスター発表、分科会
参加費：一般2,000円、学生1,000円(宿泊費、食費、懇親会費) 参加人数：50名
申込方法：E-mail, FAXで下記連絡先まで
申込締切：平成13年9月10日(月)
連絡先：〒112-8610 東京都文京区大塚2-1-1 お茶の水女子大学理学部化学科 相川京子
Tel. 03-5978-5345 FAX 03-5978-5344
E-mail: kyoko@cc.ocha.ac.jp
http://www.gak.co.jp/FCCA/memberJ.html