

# 陸上植物の体制進化をひき起こした 遺伝子進化

長谷部光泰・棚橋貴子

シュートは莖葉からなる構造で、陸上植物の基本体制である。被子植物のシュート形成やシュート転換に必須な、オーキシンの極性輸送系の有無、SHOOTMERISTEMLESS遺伝子ホモログ・FLO/LFY遺伝子ホモログそれぞれの機能を、シュートが進化する以前の体制を保持していると考えられるヒメツリガネゴケで調べた。その結果、これらの因子はシュートが進化する以前に発生過程で機能しており、これらの進化が陸上植物のシュート進化に大きな役割を果たした可能性が高いことがわかった。

▶▶KEY WORDS : 陸上植物 シュート ホメオボックス遺伝子 オーキシン FLO/LFY遺伝子

## ■はじめに■

生物の大きな特徴はその多様な形態にある。そして多様な形態は多様な発生過程の最終産物として出来上がる。では、発生過程におけるどのような分子機構の変化が多様な形態を進化させたのだろうか。

花の咲く植物、すなわち、被子植物の地上部は莖の先端にある莖頂分裂組織で形成される。動物の発生は胚形成が完了すると、通常は新たに器官を形成することはない。たとえば、四肢、生殖器官などの器官形成は胚形成段階で完了している。一方、被子植物は莖頂分裂組織から生涯にわたり器官を形成し続ける。種子の中にできる胚はすでに莖頂分裂組織をもち、発芽後、継続的に莖葉をつくる。このように莖に莖頂分裂組織、葉がついた構造は植物の基本構造であり、「シュート」とよばれる。

発生初期には葉で光合成を盛んに行うことを主機能とした栄養シュートが形成される。栄養シュートは光、温度などの刺激を受容して生殖シュート（花序）へと転換する。生殖シュートの葉形態は栄養シュートと異なっていることが多い。生殖シュートは特殊なシュートである「花」へと転換する。花には、莖のまわりに形が変わった葉状器官、すなわち花器官が配列する。このように被子植物の体はシュート構造の繰返しと異なった種類のシ

ュートへの転換によって形成される。では、栄養シュート、生殖シュート、花はどのように進化してきたのであろうか。そしてその背景にはどのような分子機構の変化があったのであろうか。

## I. コケ植物のシュートを形成しない2倍体植物体

現在生きている陸上植物は単系統群でコケ植物、小葉類、シダ類、裸子植物、被子植物などのグループから構成されている（図1）。陸上植物の姉妹群はシャジクモ藻類で、多細胞体制は1倍体世代に形成され、2倍体は受精卵のみである。陸上植物進化の初期に分枝したコケ植物では、1, 2倍体ともに多細胞体制だが、1倍体のほうが2倍体よりも大きい。これらのことから、陸上植物の共通祖先は、1倍体に多細胞体制をもち、2倍体は単細胞、あるいは多細胞だったとしても1倍体に寄生するくらいの小さな体制だったと考えられている。では2倍体植物体のシュートはいつ進化したのであろうか。

コケ植物の2倍体はシュートを形成しない。その形態をセン類のヒメツリガネゴケを例に紹介しよう（図2）。ヒメツリガネゴケは酵母と同じくらい高率の相同組換え

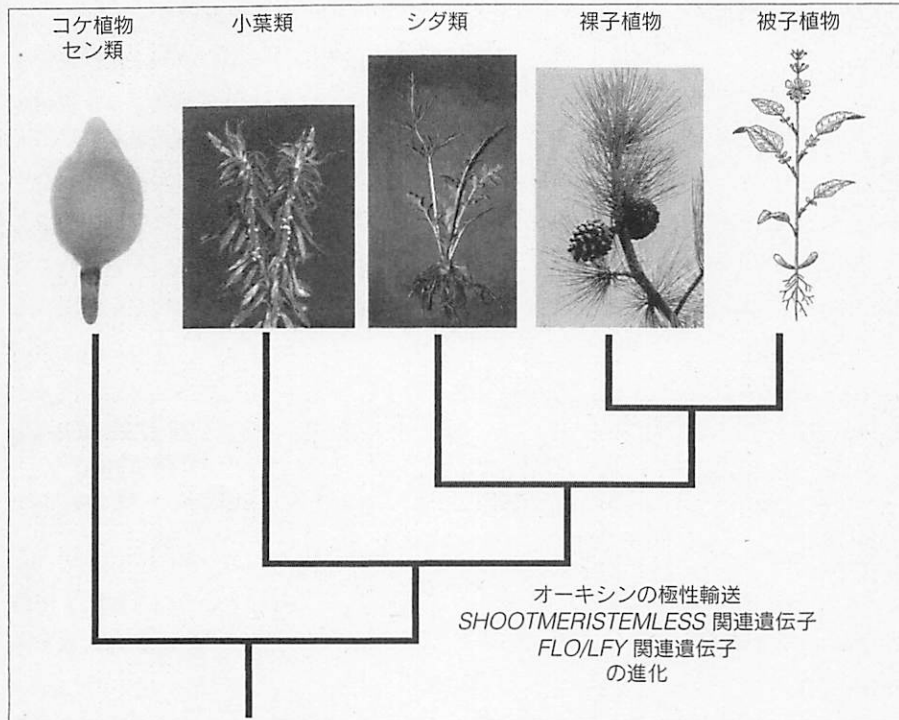


図1 陸上植物の2倍体植物体の進化

この進化過程にオーキシンの極性輸送, *STM* 遺伝子ホモログ, *FLO/LFY* 遺伝子ホモログが関与したと推定される。被子植物はシュートの模式図(Kerner von Marilaun, A. 1890), 裸子植物はマツの仲間, シダ類はリチャードミズワラビ, 小葉類はトウゲシバ, コケ植物セン類はヒメツリガネゴケ。

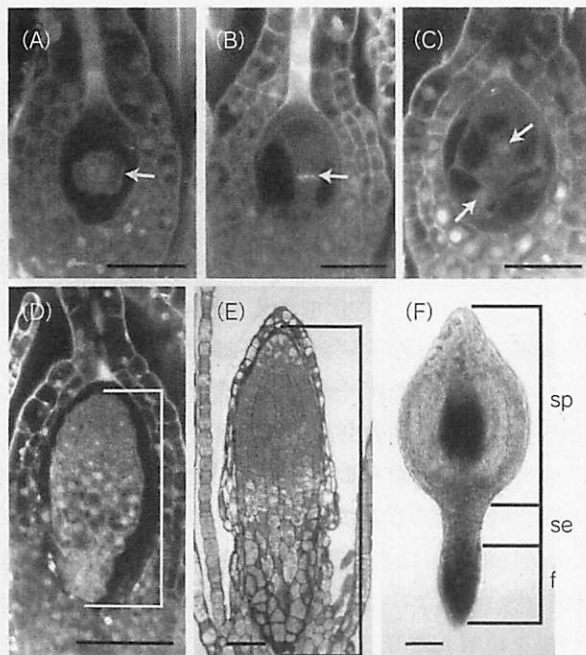


図2 ヒメツリガネゴケの2倍体植物体(孢子体)形成過程

受精卵(A)は造卵器の長軸にほぼ垂直な面で第一分裂し(B), 頂端分裂細胞と非頂端細胞(C, 矢印は両細胞の核を示す)に分かれる。連続した細胞分裂によって紡錘状の胚が形成され(D, E), 孢子囊(sp), 柄(se), あし(f)からなる孢子体が形成される(F)。スケールバー: 25  $\mu$ m (A~C), 100  $\mu$ m (D~F)。

率をもち, 植物で唯一遺伝子ターゲットングが容易なモデルである。受精卵は最初の不等分裂によって動物の幹細胞にあたる頂端分裂細胞と分化する非頂端細胞に分かれる。頂端分裂細胞は分裂を繰り返して数百細胞からなる細胞塊を形成する。しかし, 茎頂分裂組織や葉は形成されず, 2倍体植物体は孢子囊, 柄, あしとよばれる器官へと分化し, シュートとは似ても似つかない。したがって, コケ植物の2倍体と他の陸上植物の2倍体は, どの器官が互いに相同なのかまったく見当がつかなかった。

そこで, 筆者らは被子植物の2倍体シュート形成やシュート転換に重要な因子をシュートを形成しないヒメツリガネゴケ2倍体で解析してみた。被子植物の2倍体シュートにおいてオーキシンは茎の

先端部分で合成され, 茎の基部に向かって能動的に輸送される。この流れがシュートの先端と基部の違い, すなわち軸性を生み出すのに重要な役割を果たしている。筆者らの研究室の阪口と藤田らがオーキシンの極性輸送をヒメツリガネゴケ2倍体で解析してみた。すると, ヒメツリガネゴケ2倍体はシュートを形成はしないが, オーキシンの極性輸送が先端から基部側に向けて検出できることがわかり, ヒメツリガネゴケ2倍体はシュートの特徴である軸性をもっているのではないかと予想されたり。

ホメオボックス遺伝子の一つである *SHOOTMERISTEMLESS* (*STM*) 遺伝子は被子植物において, 茎頂分裂組織の葉原基以外の部分で発現し, 茎頂分裂組織がすべて葉原基になってしまうように, 葉原基を特徴づける遺伝子群の発現を制御している。結果として, 茎頂分裂組織形成と維持に必須な機能をもつこととなり, *STM* の機能喪失型突然変異体では茎頂分裂組織は失われてしまう。被子植物の胚形成過程で *STM* 遺伝子が発現し始めるのは最初の葉である子葉原基が形成されつつある時期であり, 葉形成をつかさどる *ASYMMETRIC LEAF* (*AS*) 1 や *AS* 2 のような遺伝子から

## V. 裸子植物, シダ類の *FLO/LFY* 遺伝子

*FLO/LFY* 遺伝子機能は一部の例外を除いて被子植物全般で広く保存されている。では、被子植物の姉妹群である裸子植物ではどうであろうか。針葉樹類のテーダマツ、グネツム類のコバノグネツムの *FLO/LFY* ホモログは栄養シュート茎頂ではともに発現せず、生殖シュート茎頂、および生殖器官(雄しべと雌性生殖器官)原基で特異的に発現している。このことからこれらの遺伝子は裸子植物でも栄養シュートから生殖シュート、そして生殖器官への転換にかかわっている可能性が高い<sup>11,12)</sup>。しかし、裸子植物は形質転換の困難さに加え、すべて木本であり短時間で形質転換植物を観察することが難しく、これ以上の機能解析は難しい。

そこで、シロイヌナズナを用いて裸子植物 *FLO/LFY* ホモログの機能解析が行われた。テーダマツとコバノグネツムの *FLO/LFY* ホモログをそれぞれシロイヌナズナで過剰発現させると、シロイヌナズナの *LFY* 遺伝子を過剰発現させたのと同様、生殖シュートの形成が促進された。さらに、先述のようにシロイヌナズナの *LFY* 遺伝子機能喪失変異体の花は生殖シュートに変わってしまっているが、この変異体に裸子植物 *FLO/LFY* ホモログを導入すると花を形成させることができる。これらの実験より、裸子植物 *FLO/LFY* ホモログは被子植物と同じような機能をもっているのではないかと推定されている<sup>11,12)</sup>。

シダ類はどうであろうか。リチャードミズワラビの栄養シュートは切れ込みの少ない葉を形成するが、生殖シュートへの転換に伴い徐々に葉の切れ込みがはげしくなり、葉の背側に孢子嚢を多数形成するようになる。孢子嚢の中では減数分裂が起こり孢子が形成される。リチャードミズワラビ *FLO/LFY* ホモログ *CrLFY1* と *CrLFY2* は、栄養シュートから生殖シュートに転換するときに発現が上昇し、そのまま維持されることがわかった。このことからシダ類でも栄養シュートから生殖シュートの転換に *FLO/LFY* ホモログが機能している可能性が示唆される<sup>13)</sup>。リチャードミズワラビは形質転換が困難であるが、近年 RNAi 法が成功したので、今後の機能解析が期待される<sup>14)</sup>。

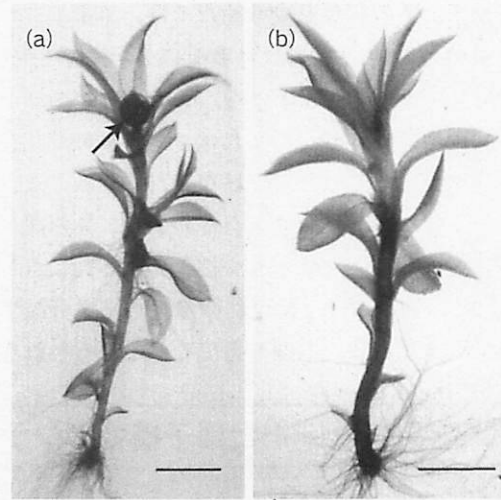


図4 造卵器造精子誘導後約1カ月後のヒメツリガネゴケ  
野生型は茎葉体(1倍体)先端に2倍体植物体(孢子体:矢印)を形成する(a)が、*PpLFY1 PpLFY2*の二重遺伝子破壊体では孢子体が形成されない(b)。スケールバー:1 mm。

## VI. ヒメツリガネゴケの *FLO/LFY* 遺伝子

では、陸上植物のなかで最初に分枝したコケ植物ではどうであろうか。コケ植物セン類のモデルであるヒメツリガネゴケから2つの *FLO/LFY* 遺伝子 *PpLFY1* と *PpLFY2* を単離し、遺伝子ターゲティングによって破壊してみた<sup>15)</sup>。ヒメツリガネゴケは通常25℃で培養すると茎葉体から茎葉をつくり続けるが、15℃で培養するとすぐに造卵器、造精子を形成し始め、3週間ほどで受精し、1カ月後には野生型ではほぼ100%の茎葉体先端に孢子体が形成される。*PpLFY1* と *PpLFY2* 両遺伝子破壊体では、2倍体植物体はほとんど形成されなかった(図4)。そこで、ヒメツリガネゴケの受精から2倍体植物体形成の過程を詳細に観察したところ、卵細胞は正常に形成され、受精も起きているが、受精卵の最初の細胞分裂が起こらないらしいと推測された。このことを確かめるために、二重遺伝子破壊体の卵を野生型の精子を用いて交雑受精させてみた。仮説が正しければ、正常な *PpLFY1* と2をもつ野生株由来の精子が受精後機能して、2倍体植物体が形成されるはずである。仮説が正しくなく、二重遺伝子破壊体の卵細胞に異常があるのならば、たとえ野生型の精子が来たとしても受精できず、2倍体植物体はできないだろう。交雑の結果、二重遺伝子破壊体に2倍体植物体が形成され、孢子を得ることができた。*PpLFY1* 遺伝子はハイグロマイシン耐性遺伝子、

*PpLFY2* 遺伝子はカナマイシン耐性遺伝子を挿入することで遺伝子破壊してある。したがって、二重遺伝子破壊体でできた2倍体植物体が交配によってできたものならば、減数分裂でできた胞子は両抗生物質非耐性、カナマイシンのみ耐性、ハイグロマイシンのみ耐性、両抗生物質耐性の子孫が1:1:1:1で得られるはずであり、実際の実験結果はこの予想どおりであった。

さらに、ヒメツリガネゴケに近縁のセン類では低頻度で受精せず、単為生殖によって胞子体が形成される。このような胞子体は造卵器の途中から飛び出すように形成され、しばしば枝分かれするが、正常な胞子を形成することが知られている。*PpLFY*二重遺伝子破壊体でも単為生殖によって胞子体ができたが、できた胞子体は一応胞子嚢などの器官分化はしていたものの、細胞分裂に異常をきたし、さまざまな大きさ、形の細胞がいらまじっていた(図5)。さらに、減数分裂も異常で、さまざまな大きさの不稔胞子しか形成されなかった。これらのことから、*PpLFY*は受精卵の第一分裂だけでなく、2倍体植物体全般の体細胞分裂、減数分裂を制御する因子ではないかと予想される。*PpLFY*は受精卵から2倍体植物体の発生過程、減数分裂過程全般で発現しており、この仮説と一致する。

以上より、ヒメツリガネゴケの*FLO/LFY*ホモログは2倍体植物体で機能しているものの、受精卵の第一分裂に端を発する2倍体の細胞分裂全般を制御する因子であることが明らかになり、先述した維管束植物の*FLO/LFY*遺伝子とはかなり機能が異なっていることがわかった<sup>15,16)</sup>。

#### ■おわりに■

陸上植物の体制進化は、18世紀以来、多くの比較形態、比較発生学的研究が行われ、さまざまな仮説が提唱されてきた。分子発生学の進展は、特定の発生過程を分子のネットワークに還元することを可能にした。つまり、特定の一つの発生過程を多くの因子に還元できるということは、比較解析をするうえでの情報が増え、進化過程についてより精度の高い推定ができるようになったことを意味している。シュートは陸上植物の基本体制であり、シュート形成と転換の進化は陸上植物の体制進化を考えるうえで欠くことのできない問題である。本稿でみたように、オーキシンの極性輸送、*STM*ホモログ、*FLO/LFY*ホモログが、シュートを形成しないコケ植物2倍体植物

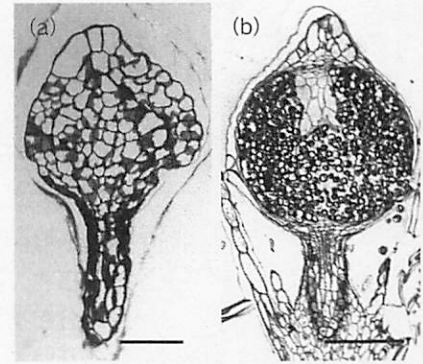


図5 二重遺伝子破壊体に単為生殖によって形成された2倍体植物体(胞子体)(a)と受精によって生じた野生型胞子体(b)

スケールバー: 200  $\mu$ m.

体の発生過程ですでに利用されていることが明らかになってきた。これらはどれも維管束植物のシュート形成と転換に重要な因子であり、今後、これらの因子がどのように進化してきたのかを明らかにすることは、陸上植物の体制進化を解明するうえで重要な情報となると予想される。

#### 文献

- 1) 長谷部光泰: 植物の発生と進化.(佐藤矩行 編), 講座進化学: 発生進化, pp.159-194, 岩波書店(2004)
- 2) 加藤雅啓: 植物の進化形態学. 東京大学出版会(1999)
- 3) Bower, F. O.: Primitive land plants. Hafner Publishing, New York(1935)
- 4) Zimmerman, W.: *The Palaeobotanist*, 1, 456-470(1953)
- 5) Beck, C. B.: *Science*, 131, 1524-1525(1960)
- 6) Gifford, E. M., Foster, A. S.: Morphology and Evolution of Vascular Plants 3rd. ed. Freeman and Company, New York(1989) (邦訳: 長谷部光泰・鈴木 武・植田邦彦 監訳: 維管束植物の形態と進化, 文一総合出版(2002))
- 7) Patterson, C.: in *Molecules and morphology in evolution*, (ed. Patterson, C.), pp. 1-22, Cambridge University Press, Cambridge(1987)
- 8) Sano, R. *et al.*: *Evol. Dev.*, 7, 69-78(2005)
- 9) William, D. A. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 1775-1780(2004)
- 10) Ng, M., Yanofsky, M. F.: *Nat. Rev. Genet.*, 2, 186-195(2001)
- 11) Mouradov, A. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 6537-6542(1998)
- 12) Shindo, S. *et al.*: *Evol. Dev.*, 1, 180-190(1999)
- 13) Himi, S. *et al.*: *J. Mol. Evol.*, 53, 387-393(2001)
- 14) Rutherford, G., Tanurdzic, M., Hasebe, M., Banks, J. A.: *BMC Plant Biol.*, 4, 6(2004)
- 15) Tanahashi, T. *et al.*: *Development*, in press(2005)
- 16) Maizel, A. *et al.*: *Science*, in press(2005)