

ゲノムから読み解く生命システム——比較ゲノムからのアプローチ

監修 藤山秋佐夫
(国立情報学研究所)

連載 第11回

植物の比較ゲノム:緑藻とコケ植物のゲノムから植物の成り立ちを明らかにする

福澤秀哉 長谷部光泰

Hideya Fukuzawa, Mitsuyasu Hasebe

植物は光合成・生殖様式・形態形成パターン・二次代謝などにおいて他の真核生物と大きく異なった特徴を持っている。これらの特徴がどのように進化してきたかが、葉緑体の起源となったラン藻、一次共生葉緑体を持つ緑色植物の比較ゲノム解析から明らかになってきた。なかでも緑藻クラミドモナスとヒメツリガネゴケは、日米欧

の国際協力によって全ゲノム解析がほぼ終了し、陸上植物の進化を考えるうえで貴重な足がかりが得られてきた。またゼニゴケについてもY染色体の構造解析が進められており、性染色体の成り立ちに動植物で共通点があることが示唆された。

はじめに

植物のゲノム研究は、1986年ゼニゴケとタバコ葉緑体ゲノムの全構造が日本で解明されて以降、シロイヌナズナやイネのゲノム解析に見られるように国際協力が必要なビッグサイエンスになっている。植物の遺伝子機能やその多様性を理解するためには、従来解析の進んでいる被子植物に加え、より広範な系統にわたる植物種についてゲノム情報を得、比較解析することが必要である。まず、植物とはいったいどのような分類群を含むのかから検討してみたい。

18世紀、分類学の開祖リンネの時代、“植物”はバクテリア、ミドリムシなど一部の原生動物、菌類、変形菌類、藻類など後生・中生・原生動物以外のほとんどの生物を含んでいた。しかし、近年のゲノム情報に基づいた分子系統解析の進展および葉緑体の微細構造の解明により、リンネの植物はいくつかの異なった系統に分かれることがはっきりした。そして、現在では、“植物(狭義)”はラン藻様の原核生物が単細胞真核生物に一次共生した葉緑体を持つ灰色植物、紅色植物、緑色植物の3つの群を含む単系統群として定義されることが多い(図1)。これらの狭義の植物が他の真核生物に共生して、ミドリムシのように系統は異なるが葉緑体を持つ広義の植物を進化させてきたことが明らかになってきた。紅色植物からは高温酸性の温泉から採取されたシアニディオシズン *Cyanidioschyzon merolae* の全ゲノム構造が2004年に解読された¹⁾。しかし、シアニディオシズンはきわめて特殊化しゲノムが縮小した紅色植物であることから、これに加えてスサビノリなどの多細胞性紅色植物のゲノム解析が期待されている。狭義の植物の中で最も繁栄しているのは緑色植物である。それらのほとんどは水中生活する

緑藻類である。本稿では、緑藻類から陸上植物全般にわたる代表的なモデル植物のゲノム解析の現状を紹介し、これからの比較ゲノム研究を展望する。

I. 単細胞緑藻クラミドモナス
Chlamydomonas reinhardtii

緑藻類は大きく2つの系統に分かれることが鞭毛微細構造の研究から明らかになってきた。1つはクラミドモナスを含む系統、もう1つはシャジクモ藻類や陸上植物を含む系統である。クラミドモナス属は約500種がこれまで記載されており、有性生殖が知られている種では、雌雄異株性(ヘテリロタリズム)と雌雄同株性(ホモタリズム)の両方がある。雌雄異株の種には、同型配偶体と異型配偶体を持つ種がある。実験材料として利用されている緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* は、1945年Smithがボストン近郊のジャガイモ畑から採取した接合孢子由来の雌雄一対の接合型株である。これらは雌雄異株で、プラス接合型とマイナス接合型の同型配偶子による有性生殖を行う。光合成・鞭毛運動・生殖・光応答などに関わる多くの変異株が単離され分子遺伝学的ツールも蓄積している。葉緑体にDNAが存在すること、その葉緑体ゲノムの形質転換が最初に成功したモデル生物として知られている。核ゲノム情報についても、かずさDNA研究所と京都大学の協力でEST情報が蓄積しデータベースとして公開されている(<http://chlamy.pmb.lif.kyoto-u.ac.jp/>)。場合によってはタンパク質の部分配列を検索するだけで、対応するcDNA(遺伝子)クローンが入手できる。また、米国 Joint Genome Institute (JGI) ではゲノムサイズ120Mbの12.8倍分の配列から連結した1557配列(<http://genome.jgi-psf.org/Chlre3/>)を公開している。2006年末

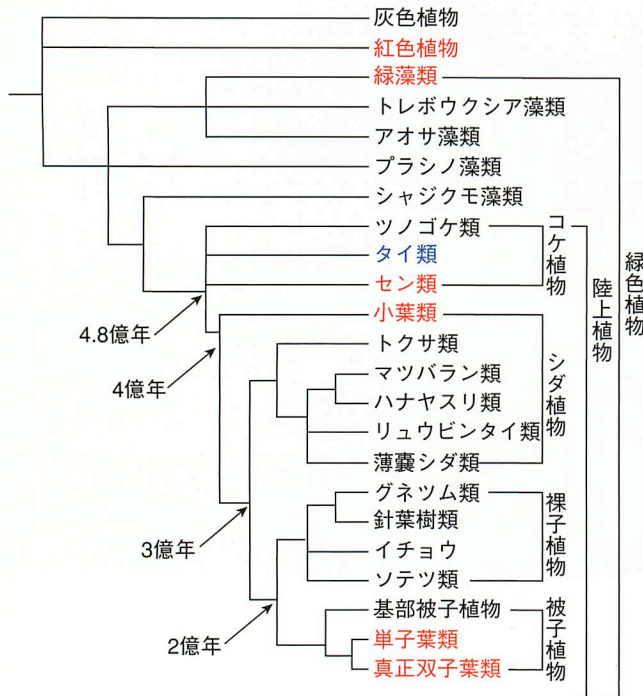


図1. 植物の系統樹と核ゲノム解析の状況

赤字で示した真正双子葉類(シロイヌナズナ), 単子葉類(イネ), 小葉類(イヌカタヒバ), セン類(ヒメツリガネゴケ), 緑藻類(クラミドモナス), 紅色植物(シアニディオシゾン)はゲノム解析が完了, あるいはほぼ終了している。青色で示したタイ類(ゼニゴケ)はゲノム解析が進行している。代表的な分岐点に推定分岐年代を記した。

には, 日米欧によるドラフト配列の解析結果が報告される予定である。さらにBACライブラリー末端配列と完全長cDNA配列データを得てデータベースに統合する予定である。日本ではすでにcDNAマクロアレイが作製され, 二酸化炭素欠乏ストレスに対する順化に必要な遺伝子群²⁾や, 配偶子誘導時に発現する遺伝子群³⁾, 概日リズムの制御を受ける遺伝子群⁴⁾が明らかにされており, 他の環境ストレス応答に関してもトランスクリプトーム解析が進められている。緑藻で得た網羅的発現データをラン藻やシロイヌナズナのデータと比較することで, ストレス応答や光合成維持機構の共通性と生物種ごとの特色が見えてくると思われる。また, ESTデータを利用して初めて高度不飽和脂肪酸の一種であるピノレン酸の合成遺伝子がクラミドモナスで見いだされた。松の実の主要脂肪酸であるピノレン酸が緑藻類でも見いだされたことから, 脂質合成遺伝子が生物間でのように伝播したのか興味深い点である⁵⁾。

クラミドモナスが持つ2本の鞭毛は, 細胞遊泳や生殖時の雌雄の認識に必要である。クラミドモナスとヒトで共通して存在し, シロイヌナズナには存在しない遺伝子を選び出すと, その中には鞭毛や繊毛の形成に関わる遺伝子が含ま

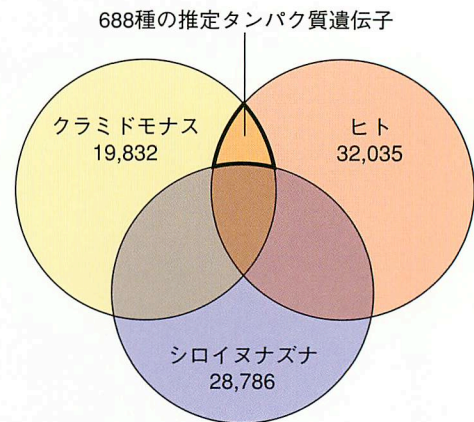


図2. 比較ゲノムの手法を用いた鞭毛構成タンパク質検索の例
哺乳類ヒトと緑藻クラミドモナスに共通して存在するが, 高等植物シロイヌナズナでは見つからないタンパク質を検索すると688個の遺伝子が見つかった。その中にヒトの遺伝病原因遺伝子BBS5が含まれていた⁶⁾。

れていた(図2)。鞭毛ならびに繊毛は多くの真核細胞に見られる構造であり, 細胞の移動性(運動性)や視覚, 嗅覚, 触覚などの感覚受容に重要な役割を果たしているが, その中にヒトの遺伝性疾患バルデー・ビードル症候群の原因遺伝子BBS5が見つかった⁶⁾。また, ヒト, クラミドモナス, そしてタイ類ゼニゴケのY染色体にも存在するPGPリピータンパク質のオーソログが存在しており, その機能解析が期待されている(図3)。

陸上植物は淡水性緑藻類から進化してきたと推定されており, 現生緑藻類で現生陸上植物に最も近縁なのはシャジクモ藻類である。緑色植物が地上に上がったのは, 海洋で後生動物が爆発的に進化したカンブリア爆発より少し後, 約5億年前ごろと推定されている。化石記録が乏しいことから陸上植物の初期進化はよくわかっていない。しかし, 現生種の比較形態学的研究, 分子系統解析によってコケ植物が陸上植物の最も初期に分岐した群であることはほぼ明らかである。

II. 性染色体を持つゼニゴケ

Marchantia polymorpha

コケ植物は形態が大きく異なる3つの単系統群(タイ類, セン類, ツノゴケ類)の総称である。最も古くから知られている陸上植物胞子の化石は一部のタイ類に似ている⁷⁾が, タイ類が陸上植物の最も基部で分岐したかどうかは異論が多い⁸⁾。タイ類に属するゼニゴケは葉緑体とミトコンドリアのゲノム構造が解明されている^{9), 10)}。野外では匍匐成長する雄雌異株の単相(1n)の配偶体(葉状体)が栄養成長する。特定の時期には生殖成長に転じ雄雌それぞれが生殖器官を付けて精子と卵を形成し, 受精後は孢子形成を経て新しい

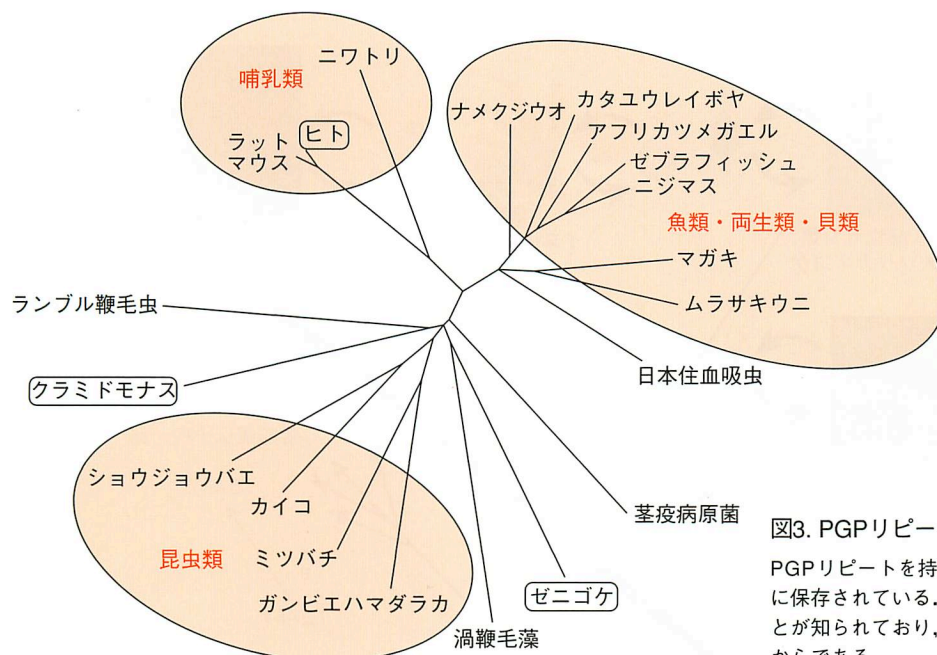


図3. PGPリピートを持った構造タンパク質の分子系統樹
PGPリピートを持った構造タンパク質は、鞭毛・精子を持つ生物に保存されている。ヒト・マウスでは、精子の鞭毛に局在することが知られており、緑藻・コケ植物での局在と機能の検証はこれからである。

単相の個体として成長する。雌株は常染色体に加えてX染色体、雄株は代わりにY染色体を持ち、半数体世代のまま生育する。植物に見られる性染色体は、進化の過程でそれぞれ独立に生じたと考えられている。例えば、パパイヤのY染色体は常染色体から分化して間もない¹¹⁾。また、ヒロハノマンテマの巨大なY染色体も比較的最近に分化してきたと考えられている。一方、ゼニゴケにおいては、Y染色体にはY染色体特異的な反復配列が多量に蓄積し¹²⁾、X染色体にはX染色体特異的な配列を持つrDNAクラスターが存在するため¹³⁾、ゼニゴケの性染色体はパパイヤやヒロハノマンテマに比べてかなり早い時期に分化したと考えられ、その反復配列の蓄積の様式はヒトY染色体の場合と類似点がある。ゼニゴケの性染色体の構造を知ることで、性染色体の機能・進化一般について理解を深めることができると期待されている¹⁴⁾。

Ⅲ. 遺伝子ターゲティングが容易なセン類ヒメツリガネゴケ *Physcomitrella patens*

セン類はタイ類とほぼ同じ約1万種から成り、被子植物(約30万種)に次ぐ大きな現生分類群である。セン類は1960年代から遺伝学の実験材料として用いられ、多くの生理学的知見が蓄積している。とりわけ、ヒメツリガネゴケは1990年代に出芽酵母とほぼ同じ相同組換え率を持つことがわかり、核遺伝子のターゲティングがきわめて容易にできるようになった。その結果、条件的遺伝子破壊、アミノ酸置換などが実用化されている。また、体制が単純であり、細胞観察が容易であることから、高度なイメージング技術を駆

使した細胞レベルでの研究が可能である。さらに、植物の中でも群を抜いた分化全能性を持ち、葉断片を培地上においておくとほぼ1日で葉細胞が幹細胞へと分化転換することから、分化全能性研究の新しいモデルとして研究が開始している (<http://www.nibb.ac.jp/evodevo/ERATO>)。日米独英のヒメツリガネゴケゲノムコンソーシアムと米国JGIとの共同研究で8倍ゲノムスケールの全ゲノムショットガン解析が終了した。日本の比較ゲノム特定領域によるBAC end sequencing, 完全長cDNA配列決定, 5'SAGE解析データ, そして独英のゲノムマッピングデータを統合して、2006年度後半にゲノムアセンブリとアノテーションが計画されている。また、理化学研究所バイオリソースセンターより約2万種近くの完全長cDNAクローンが入手可能である。

Ⅳ. 維管束植物

コケ植物とそれ以外の陸上植物は約4億年前に分岐した。コケ植物以外の陸上植物は水や養分の輸送を担うパイプ状の組織である維管束を持っている。維管束の一部は堅い細胞を形成し、それが樹木の材となり陸上植物の巨大化の原因となった。維管束植物の最も基部に位置するのが小葉類である。現生種は1000種程度の小さな群であるが、石炭紀に大繁栄し、石炭のもとになった植物群である。米国Purdue大学のJo Ann Banks教授を中心としてJGIにおいて小葉類イヌカタヒバ *Selaginella moellendorffii* の8倍全ゲノムショットガン解析が終了している。イヌカタヒバは日本、台湾、フィリピンなどから自生が報告されている。日

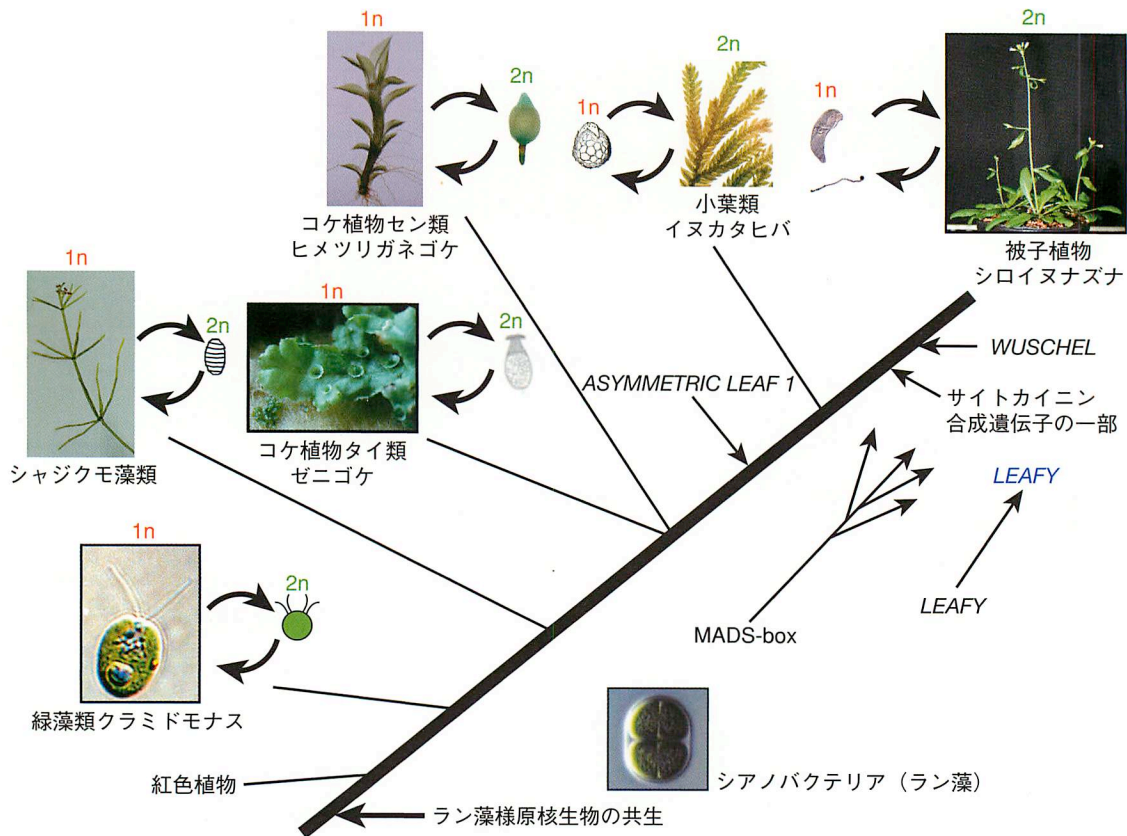


図4. 植物の各世代におけるボディープランの概略と発生遺伝子の進化

被子植物の茎葉形成に必須な *WUSCHEL* 遺伝子, *ASYMMETRIC LEAF 1* 遺伝子, サイトカイニン合成遺伝子の一部は陸上植物進化の途中で出現したらしい(筆者ら;未発表). 被子植物の花器官形成のホメオティックセレクターである *MADS-box* 遺伝子はシャジクモ藻類の段階では1遺伝子, コケ植物でも1グループだけだったが, 陸上植物の進化過程で爆発的に数を増やした¹⁹⁾. 被子植物で *MADS-box* 遺伝子を誘導する *LEAFY* 遺伝子は, コケ植物セン類では受精卵の最初の卵割制御という異なった機能を持っており, 陸上植物の進化過程で大きく機能を変化させたと¹⁹⁾.

本では西表島のきわめて限られた場所のみ自生しており絶滅が危惧されている。ただ, 栽培は容易で, 鉢植えの雑草としてよく見かける。維管束植物は陸上植物の進化を理解するうえで重要な群を多く含んでいるが, ゲノムサイズが大きいことなどから, イヌカタヒバと被子植物以外の群でのゲノム解析はほとんど進んでいない。

被子植物は約2億年前に生じた群で維管束植物の中では最も新しい系統群である。被子植物のもっとも基部に位置する“基部被子植物”と, その後に進化した“単子葉類”, “真正双子葉類”の大きな3群に分けることができる。単子葉類からはイネ, 真正双子葉類からはシロイヌナズナの核ゲノム解析が終了している。しかし, 被子植物進化の鍵となるスイレン, モクレンなどを含む基部被子植物の全ゲノム解析は未着手であり, 今後の研究が期待されている。

V. 発生遺伝子の進化

ホメオボックス遺伝子の発見に誘発された分子発生学の

爆発的進展は, ショウジョウバエ, 線虫, マウス, そしてヒトなどのゲノム解析によって1つの頂点に達した。その大きな成果群の1つが後生動物における発生遺伝子の保存性の発見である。従来, 外部形態の大きな違いから, 後生動物の発生遺伝子は分類群によって互いに異なり, かなり多様なのではないかと思われてきた。ところが, 左右相称性生物においては, 体軸形成, 神経系, 目, 消化器系, 循環系など発生 of 多くの段階で, 異なった分類群間で用いられている遺伝子が共通であることがわかった。このことは, 新しい遺伝子の進化というよりは, 左右相称性動物の共通祖先で確立した遺伝子系をどう改変してきたかが, 後生動物の発生進化の本質であったことを示している¹⁵⁾。

では, 多細胞生物のもう1つの大きな系統である陸上植物の発生過程も同じように進化してきたのだろうか。植物進化研究の大きな問題点は, ゲノム解析が2億年前に分岐した被子植物に限られており, 5億年の陸上植物全体の進化を研究するうえで重要な植物群のゲノム科学研究がほとんど行

われていないことにあった。しかし、近年、このミッシングリンクを埋めるべく、ゼニゴケ、ヒメツリガネゴケ、イヌカタヒバのゲノム解析が進展し、多くの知見が得られつつある。

1950年代に植物の比較形態学は1つのピークを迎え、陸上植物の様々な群の発生過程について記載がひととおり終了した。しかし、そこでの大きな問題点は、発生過程が分類群によってきわめて多様であり、大著“植物胚発生学”の筆者C.W. Wardlawですら現生種の発生過程がどのように進化してきたのかを関連付けることは困難であるとさじを投げってしまった。

陸上植物は後生動物と異なり、単相(1n)と複相(2n)の2つの世代を持っている(図4)。後生動物の発生過程で単相になるのは精子と卵だけである。しかし、陸上植物は単相にも複相にも多細胞体を形成する。では、2つの多細胞体はどのように進化してきたのだろうか。陸上植物に最も近縁なシャジクモ藻類は単相のみに多細胞体を形成する。陸上植物の最も基部に位置するコケ植物は単相、複相ともに多細胞だが、複相植物体が小さく単相植物体に半寄生している。被子植物では単相植物体が数細胞に退化し、複相植物体に寄生している。したがって、陸上植物の祖先は単相にのみ多細胞体制を持ち、多細胞複相世代は陸上植物の5億年の進化過程において進化してきたと考えられている。では、どのように単相多細胞体から複相多細胞体が進化してきたのか。単相と複相の両多細胞体を結び付けるものは現生種の解析だけでは見えず、そこがWardlawを悩ませた点でもあった。

この問題は1980年代のスコットランドのライニーチャートにおける化石研究により新たな転機を迎えた。単相と複相が同じような多細胞体制を持つ原始的な維管束植物の化石が発見されたのである。すなわち、単相優占の現生コケ植物と複相優占の現生維管束植物との中間に位置する分類群である。この発見に基づき、陸上植物はまず単相に多細胞発生システムが進化し、次いで複相にも同じような発生システムを用いて同じような体制が進化した。その後、単相は退化し、複相がより複雑化したというシナリオが広く受け入れられるようになった¹⁶⁾。さらに、後生動物における発生遺伝子系の保存性という驚くべき発見の影響から、単相で用いられていた発生遺伝子系が複相に流用(co-option)されることによって複相多細胞発生システムが進化したという仮説が提唱され広く受け入れられてきた。

初期のゲノム研究はこの仮説を支持しているように見えた。単相世代が優占するヒメツリガネゴケのEST解析によ

りヒメツリガネゴケは複相世代が優占する被子植物とほぼ同じような遺伝子組成を持っているらしいことが明らかになった¹⁷⁾。しかし、ESTによる遺伝子比較は配列情報が限られているためにせいぜい遺伝子族単位の比較ができるだけで、オーソログを特定して比較することまでは困難であるというジレンマを感じていた。この問題は2005年にヒメツリガネゴケとイヌカタヒバの全ゲノム解析計画が開始し解決の糸口が得られた。

まだ解析途中であるが、どうも従来広く信じられてきた単相から複相への流用仮説は見直しが必要になりそうである。これまでの予備的な解析から、被子植物の複相発生に重要な植物ホルモン合成遺伝子、転写因子などかなりの遺伝子オーソログがヒメツリガネゴケ、イヌカタヒバには見つからないのである(広島大学榊原恵子、金沢大学西山智明私信)。また、多くの発生遺伝子が被子植物の系統で爆発的に数を増やしているらしいこともわかってきた¹⁸⁾。このことはどうも陸上植物の進化過程において多くの新しい遺伝子が誕生し、新しい発生過程を進化させてきたことを示唆しているようである。もし、そうだとすると、陸上植物の発生進化のパラダイムが従来知られていた動物のそれと大きく異なっている可能性が出てきた。今後の解析が楽しみである。

謝辞 本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金特定領域研究「比較ゲノム」のサポートを受けている。

福澤秀哉 京都大学大学院生命科学研究科 統合生命科学専攻 遺伝子特性学分野

E-mail : fukuzawa@lif.kyoto-u.ac.jp

京都大学大学院農学研究科博士課程修了、農学博士。

研究テーマは光合成生物の比較ゲノム解析、二酸化炭素のセンシングと輸送。

長谷部光泰 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 生物進化研究部門、総合研究大学院大学生命科学研究科 基礎生物学専攻、ERATO 分化全能性進化プロジェクト研究総括

E-mail : mhasebe@nibb.ac.jp

東京大学大学院理学系研究科博士課程中退、博士(理学)。

研究テーマは植物のボディープラン進化、分化全能性の進化。

- 文献 -

- 1) Matsuzaki M, et al: Nature (2004) 428: 653-657
- 2) Miura K, et al: Plant Physiol (2004) 135: 1595-1607
- 3) Abe J, et al: Curr Genetics (2004) 46: 304-315
- 4) Kucho K, et al: Plant Mol Biol (2005) 57: 889-906
- 5) Kajikawa M, et al: Plant Cell Physiol (2006) 47: 64-73
- 6) Li JB, et al: Cell (2004) 117: 541-552
- 7) Wellman CH, et al: Nature (2003) 425: 282-285
- 8) Nishiyama T, et al: Mol Biol Evol (2004) 21: 1813-1819
- 9) Ohyama K, et al: Nature (1986) 322: 572-574
- 10) Oda K, et al: J Mol Biol (1992) 223: 1-7
- 11) Liu Z, et al: Nature (2004) 427: 348-352
- 12) Ishizaki K, et al: Nucleic Acids Res (2002) 30: 4675-4681
- 13) Fujisawa M, et al: Chromosome Res (2003) 11: 695-703
- 14) Tanurdzic M, et al: Plant Cell (2004) 16: S61-S71
- 15) Carroll SB, et al: From DNA to Diversity (Blackwell): 2005
- 16) Kenrick P, et al: Nature (1997) 389: 33-39
- 17) Nishiyama T, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2003) 100: 8007-8012
- 18) Tanabe Y, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2005) 102: 2436-2441
- 19) Maizel A, et al: Science (2005) 308: 260-263

用語解説

光合成の環境応答

光合成は、光エネルギーを化学エネルギーに変換する反応と、生成したエネルギーを使って二酸化炭素を還元し固定する反応から成り立つ。緑色植物では水を分解し酸素を放出するが、捕獲した光エネルギーすべてが水の分解に利用されるのではなく、一部は酸素のラジカル化(活性酸素の生成)に使われ、光合成反応中心の分解が引き起こされる。光強度や光質、乾燥、高温や低温、栄養源の枯渇など周囲の環境変化に応じて、植物細胞が行う光合成の最適化を光合成の環境応答という。特に数分から数日までの短時間の応答を“順化”、進化の時間幅での応答を“適応”と呼ぶ。

トランスクリプトーム

ある生物の遺伝情報全体のセットを“ゲノム”と呼ぶのに対して、細胞の特定の環境下におけるその時点での転写産物(transcripts)のセットを“トランスクリプトーム”と呼ぶ。1つの個体であっても組織や細胞ごとに(すなわち遺伝的多様性と異なる原因により)ある決まった構成になっている。つまりトランスクリプトームはその細胞が発生の過程で受けた細胞外からの影響の積み重ねによっていろいろと変化する。

植物の体制

受精卵から胚発生が進行すると上下軸が形成される。軸の上端または上下両端に永続性の幹細胞が識別でき、器官形成を行う。地上側の幹

細胞から茎葉、地下側の幹細胞から根が形成される。茎、葉、根はいくつかの系統で平行的に進化した。例えば、被子植物(花の咲く植物)、シダ類、小葉類、コケ植物セン類の茎葉はそれぞれ独立に進化した。後生動物のように胚発生の時期が特定しにくく、茎葉、根は生涯にわたって形成され続ける。ほとんどすべての器官形成が、生涯にわたって継続的に行われる点が後生動物と大きく異なっている。

単相と複相

受精と減数分裂によって、核DNA量は変化する。減数分裂後受精前までの状態を単相、受精後減数分裂までの状態を複相という。菌類などでは、減数分裂や受精を経ずに単相複相が交代することもある。緑色植物の中には、複相のみ、単相のみ、あるいは単相複相両方が多細胞化するものがそれぞれ知られている。

分化全能性

受精卵のように生物の体全体を作り出しうる能力。発生が進み、細胞が分化するにつれ、分化全能性は失われていく。しかし、一度発生が進行し、分化した細胞も、ゲノムを完全に保持している限りは何かの操作をすることによって、分化全能性を持った状態に戻ることが理論的には可能である。一部の植物ではこの操作が容易であることは古くから知られているが、生物種によってどうして分化全能性に違いがあるのかはわかっていない。