

どうしてヒメツリガネゴケのゲノムを解読することになったのか

長谷部光泰

総合研究大学院大学教授 基礎生物学専攻/自然科学研究機構 基礎生物学研究所教授

ヒメツリガネゴケ研究室を立ち上げて10年。ゲノムの概要解読結果を発表することができました。私たちがどうやってヒメツリガネゴケと出会い、研究を進めてきたのか、人との出会いを中心にしてお話ししましょう。

植物に興味をもったのは小学生のときです。千葉大の植物同好会に加えてもらい、大喜びで植物採集に行きました。そのときのフィールドは千葉県南方の高宕山。山頂で、どこからともなく現れたさっそうとしたお姉さんと同好会の学生さんが挨拶を交わっていました。山にこもって猿の研究をしている変わったお姉さんだという話に、子ども心でも変わっているなと思いました。それが昔になってしまった先日、生命共生体進化化学専攻の長谷川真理子先生の講演を聞いて、あのお姉さんはこの人だったのだと気づき、人

のつながりの不思議さに驚きました。

分子系統学との出会い

高校では生物部を作り、植物の名前を調べていくうちに、それらの類縁関係に興味がわいてきました。標本リストを作るのにどうやって並べるかという現実の問題に直面し、とりわけ科の並べ方に関するいろいろな流儀があるのに気づいたので、どうやら、それぞれの科の類縁に基づいて並べてあるようですが、当時、高校の図書館で手に入る本を見ても、その答えは得られませんでした。まして、流

儀の違いは理解できませんでした。

大学の教養学部では系統分類の授業はありませんでしたから、図書館でありつたけの本を調べたのですが、結局よくわかりませんでした。そんなときに出会ったのが、長谷川政美先生(元総研大教授)の『DNAから見た人類の起源と進化』(海嘯社)でした。この本は、類人猿の系統関係が遺伝子の配列情報を用いて明確に推定できるようになった道筋というか、長谷川先生の挑戦が書かれていました。

大学院へ進むにあたっての面接試験では、分子系統学的手法を用いて、植物の

大系統を明らかにしたいと言ったら、「そんな簡単にできるわけないでしょう」とたしなめられました。まだ、植物からDNAがなかなかとれない時代でしたから、私の発言は現実的で無く聞こえたのです。卒業研究ではシーケンス技術(実験によって塩基配列を決定する作業)を勉強したいと思い、遺伝学研究室の香掛和弘助手の隣の実験台に座りこんで、サルモネラの鞭毛形成遺伝子のシーケンスを、実験のイロハから教わりました。今でも、私の実験スタイルはすべて香掛流です。香掛先生は朝8時から夕方5時までは実験、それ以外は「知的活動」をしてくださという方針でしたから、実験の合間や夜は図書館にあった雑誌から分子系統の論文を探しだし、ほとんど読み尽くしました。

大学院での生活——放任主義の勧め

大学院に入学して、指導教官の岩槻邦男先生は昔の京大出身者らしく、「はせべくん、なにやってもかまへんでえ」という主義でした。ただ、単なる放任というのとはちょっと違い、「アメリカで分子系統のシンポジウムがあるみたいやでえ。いったらどうや。旅費は出せんけどなあ」と1カ月の渡米旅行を勧めてくれたり(帰国後、どこからか旅費を工面してくれました)、葉緑体DNAを材料として研究しようとしていたら、「だったら御本家の話を聞いていたほうがええやろうなあ」と、当時タバコの葉緑体ゲノムを完全解読したばかりの名大の杉浦昌弘教授を集中講義に呼んでくださり、その後、寿司屋で飲みながら実験を教わりにいきっかけを作ってくれました。

当時、研究室ではほとんどDNAを使った実験をしていなかったで、同じ研究室の助手や先輩生に加え、他の研究室の飲み仲間をついて実験を教わりにいたり、ものを借りたりしていました。総研大遺伝学専攻の齋藤成也先生には、系統樹の作り方を教わりました。授業は自分の好きなところしか出なかったので、単位不足に陥りましたが、いろいろなサポートが働き、4回授業に出ただけで12

ヒメツリガネゴケが研究したくて長谷部研究室に来ました。

青山剛士

総合研究大学院大学 基礎生物学専攻 5年一貫制博士課程3年

ヒメツリガネゴケには、原系体幹細胞と茎葉体幹細胞の2種類の幹細胞があります。どちらも、側枝始原細胞から発生する未分化の細胞ですが、分化すると全く違う細胞になります。原系体幹細胞は、十分な生育環境を確保するために地面を這うように広がります。一方、茎葉体幹細胞は、茎や葉、生殖器官になります。このような幹細胞の違いは、どのようにして決まるのでしょうか。

ヒメツリガネゴケでは、転写因子をコードするPpAPB遺伝子が、既に3種類知られていました。私は、解読されたばかりのヒメツリガネゴケのゲノム配列から、PpAPB遺伝子をもう1つ見つけました。4つあるPpAPB遺伝子すべてを欠損させると、茎葉体幹細胞が形成されないことがわかりました。また、茎葉体幹細胞の形成には、オーキシシンやサイトカイニンなどの植物ホルモンが関わっていました。

ところで、幹細胞研究といえば、モデル植物であるシロイヌナズナで盛んに行われています。しかし、私は、ヒメツリガネゴケを研究対象に選びました。最終的に、幹細胞の進化について知りたいと思っていて、そのためには、いくつもの幹細胞を比較する必要があるからです。ヒメツリガネゴケは、遺伝子を欠損させる手法が確立していること、ゲノム配列が解読されていることなどの理由から研究しやすい材料と考えました。ですから、進化の研究が得意で、なおかつヒメツリガネゴケを扱うことができる、長谷部研究室に来たのです。

卒業まであと2年半、まずは、PpAPBがどのような遺伝子の転写にかかわっているのかを調べはじめました。といっても幹細胞に関する遺伝子を見つけるのは簡単ではないでしょう。しかし、これも研究の醍醐味だと思って取り組んでいます。



ヒメツリガネゴケにおける幹細胞形成過程。各幹細胞の詳細は本文中図3を参照。



青山剛士(あおやま 剛士)

図1 多様な形態を持つシダ類の類縁関係が遺伝子系統解析によって明らかになった。





図2 花をつけないが、花を作る遺伝子に似た遺伝子を持つ植物。種子植物のコバノネツム (1)、シダ植物リチャードミスワラビ (2)、カタシジクモ (3)、シジクモ属のコレオケテ (4)、ミカツキモ (5)。(シジクモ属の写真は田辺陽一博士提供)

単位取得できました。

研究に対する教官、先輩の評価は容赦なく、セミナーはいつも激論になりました。初めて学会発表をしたときに、手応えのなさにちょっと気抜けしたくらいです。また、岩槻研究室は多様性植物学のメッカになっていたので、日本中の有名な先生方が入れ代わり立ち代わり滞在し、「DNAなんか目新しいだけで、そんなことで多様性の本質がわかるはずないだろう」という発言をめぐって、カラオケルームで激論することがよくありました。

研究室の諸先輩の研究テーマは形態、生態、分類、種分化、数理と多岐にわたっていました。そして、朝研究室に行くと、机の上に彼らの最新の別刷りがしれっと置いてあったりして、刺激的でした。修論や博士論文の発表会では、他の研究室の教官の厳しい質問を浴びましたが、それよりもずっと本質的な質問を他研究室の院生仲間がしてきました。いまではちょっと考えにくいかもしれませんが、大学院生にくせに教官以下の質問をされると、あとで馬鹿にされました。そんな育てられ方をしたので、私の研究室では、大学院生にはできるだけ放任主義で研究を進めてもらっています(コラム参照)。

その後、大学院そして助手のときに陸上植物の系統関係のかなりの部分を明らかにすることができました(図1)。助手になるまでアルバイトをしていた熟講師の報酬はバブルのおかげで助手の給料よりも良かったとはいえ、9割が本と採集旅行代に化け、必然的にエアコンのある研究室が恋しくて、下宿には寝るだけでした。博士論文を書いたのはそのころで、図書館の肥やしで書く意味が理解できなかったもので、目一杯手を抜きました。博士論文などよりも、それまで知り

たかった植物の系統関係が明らかになったことの喜びのほうがはるかに大きかったのです。しかし、それも数日でした。できあがった系統樹は絵に描いた餅のようで、進化の結果できあがったものを練でつないだだけだと気づいたのです。分岐点でいったい何がおこったのかわからない。系統間で遺伝子のどんな変化によって進化が起こったのか、それが知りたくなりました。

花の咲かない植物で花の進化を探る

研究がうまくいっていたので、このままでは方向転換が難しくなると思い、研究場を変えることにしました。そこで、学術振興会の海外特別研究員に応募し、米国バドュー大学でassistant professorだったJo Ann Banks博士の研究室へ2年間留学しました。いきなり、「日本に大学はあるのか」と聞かれ、アメリカを知らされました。海外学振は自分でお金を持っていくので、Banks博士とは対等の関係で、最初から最後まで自分で計画をたて、自由に研究をさせてもらいました。研究目的は、どのような遺伝子の進化によって花を持たない植物から花が進化したのかを探ることでした。具体的には、花の咲かないシダ植物リチャードミスワラビから、当時明らかになりつつあった花の咲く植物(被子植物)の花器官形成遺伝子を見つけようというものです。

米国では本当に研究三昧でした。実験の合間に図書館にこもり雑誌や図書を乱読しつつ、これからどういう方向へ研究を進めていったら良いか熟考することができました。このとき面白くて一般性もあり将来やりたいなあと思ったのが、発生進化、分化全能性¹⁾、可塑性²⁾などで、どれも現在の研究に大きく関わっています。

花遺伝子探しのほうは1年半ほどいろいろ頑張ったのですが、とれたのはゴミばかり。このままだと日本に帰れないなあ、まあ、それも良いかと思っていた矢先、サンプリング方法に名案を思いつきました。妻と一緒にまる1日かけてサンプリングし、数日後には花の咲かない植

物で初めての花器官形成遺伝子ホモログの塩基配列がパソコンのモニターに映し出されたのでした。すぐにBanks博士に知らせたら、大喜びしてくれ、その後いくつかの共同研究に発展しました。

帰国後、シダに加え、陸上植物にもっとも近縁なシジクモ属類などについても研究を進めました(図2)。これらの植

物で花器官形成遺伝子ホモログの発現様式を解析することによって、花の進化は、もともと卵や精子で発現していた遺伝子が遺伝子重複によって数を増やし、そのあとで機能分化することによって引き起こされたらしいことがわかってきました。しかし、大きなジレンマだったのは、遺伝子の発現様式しかわからないこ

とでした。発現様式からどのような機能を持っているかを推測するのですが、あくまで推測で、実際にどんな機能を持っているのか、ひいてはどんな遺伝子ネットワークを築いているのかわかりません。これらの実験を行うには、遺伝子組換えを行い、表現型の変化を見るような実験が必要です。しかし、遺伝子導入が

動物のように動く植物に興味があります。

藤井知美

総合研究大学院大学 基礎生物学専攻5年一貫制博士課程1年

葉を開いて枝をしなだれる様子が、お辞儀するように見えることから、オジギソウと呼ばれる植物があります。草食動物に食べられそうになったとき、その刺激でお辞儀をして身を守っていると考えられます。私は、このお辞儀に関係している遺伝子とそのメカニズムに迫ろうとしています。

具体的には、遺伝子のいろいろな部分を壊したオジギソウをたくさん作り、その中からお辞儀しないものを見つけます。壊された遺伝子を特定できれば、それがお辞儀に関係しているということになるからです。そのためには、オジギソウの遺伝子を壊す方法が必要で、今、アグロバクテリウムを感染させて、遺伝子をランダムに壊す手法を確立しようとしています。

オジギソウや食虫植物のような動きのある植物を扱いたいと思って、私は、今年の4月に長谷部研究室にきました。また、数カ月ですが、植物研究の大変さを感じています。仮に、オジギソウの細胞にアグロバクテリウムを感染させることができて、お辞儀をしなくなったかどうかわかるには、少なくとも4カ月かかります。



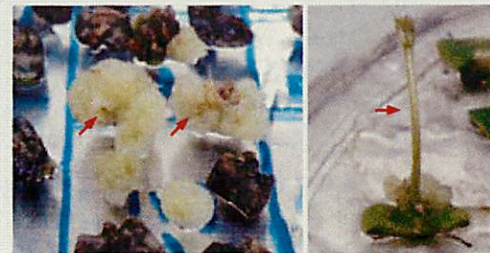
ピンクの花をつけたオジギソウ

この4カ月は、アグロバクテリウムを感染させた1つの細胞から、1個体を再生するのにかかる時間です。さらに、次の世代としてタネをとるとなると、もう3カ月かかります。少しでも時間をかけないために、最適な生育条件を見つけて、効率的に研究を進めたいと思っています。

また、遺伝子の解明はできませんが、お辞儀しないオジギソウの特徴を早く知りたいと思い、5000粒のタネに突然変異を起こさせて、7月の初めに植えました。この中からどんな変異体が取れるのか楽しみです。

これから長い道ですが、ゆくゆくはオジギソウがその進化の過程の中で、どのようにしてお辞儀するようになったのかを知りたいと思っています。

(コラム聞き手: 池田亜希子)



オジギソウのカルス(左)とシュート(右) アグロバクテリウムに感染したオジギソウの細胞は、いったん脱分化させてカルスにする。その後、再分化すると茎のようなシュートが出てくる。それが、1個体まで育て、はじめてお辞儀するかどうか分かる。カルス: 植物組織が脱分化して細胞分裂を繰り返した結果生ずる、無定形の組織の塊。シュート: 茎とそれについた葉のこと。茎と葉は共通の分裂組織から生まれる、植物の構成単位。



藤井知美(ふじい ともみ)

図3 ヒメツリガネゴケの生活史

胞子発芽後、先端に幹細胞（原系体幹細胞：青矢印）を持つ菌糸様の原系体を形成する。原系体幹細胞から形成された原系体細胞は、しばらくすると再び幹細胞へと転換し、側枝を形成する（黒矢印）。ほとんどの原系体細胞は原系体幹細胞へと転換するが、一部は茎葉体幹細胞（赤矢印）へと転換し、茎葉体を持った茎葉体を形成する。

低温刺激（16℃数日）によって、茎葉体先端に造卵器（黄矢印）と造精子器（黄矢じり）が誘導される。造精子器からの精子が造卵器内の卵に到達し、受精する。

受精後、2倍体植物体（胞子体）は造卵器内で胞子体幹細胞（黒矢印）の分裂を介して成長する。しばらくすると、胞子体幹細胞は分裂をやめ、胞子体中央部に細胞分裂活性の高い柄分裂組織が形成される。

その後、胞子体上部で減数分裂がおり、胞子が形成される。

(Sakakibara et al. 2008より改図)



できる植物は花の咲く植物に限られていました。

世界最高のヒメツリガネゴケ研究室へ

そんなときに出会ったのがヒメツリガネゴケでした(図3)。このゴケは1950年代からイギリスで遺伝学の材料として用いられ、1990年代に形質転換技術がヨーロッパで確立されました。その後、スイスのローザンヌ大学の院生だったDidier Schaeferが偶然、ヒメツリガネゴケの高い相同組換え^{※1}効率に気づき、植物ではまず抜けて遺伝子ターゲティング^{※2}が容易な実験材料への道筋をつけました。

私が米国から帰ったときには、岩槻教授はすでに定年退官し、植物学教室の慣例にしたがい研究室は解散していました。新しい上司は植物ホルモン作用研究

のためにヒメツリガネゴケを日本に初めて導入した長田敏行教授で、彼の薫陶を受けた大学院生が同じスペースで実験していたこともあり、基礎生物学研究所への移動が決まったときには、あらたにヒメツリガネゴケを実験材料として導入しようと思い決めました。

当時は、ヒメツリガネゴケで遺伝子ターゲティングができることはわかっていても、薬剤耐性マーカーが十分になく、ターゲティング用のベクターも使い勝手の良いものがないという状態でした。東大で修士2年だった西山智明、同1年の榎原恵子に声をかけ、基生研でヒメツリガネゴケを用いたエポイボ(発生進化学)研究をしないかと相談したところ、二人とも即座にOKしてくれました。1998年春にラボを立ち上げ、無給のポスドク小藤

泉美子と(1年後くらいから給料を払えるようになった)、企業から総研大に入学した日渡祐二を加え、5人で持ちつ持たれつヒメツリガネゴケの実験をスタートさせました。

新しい実験系の立ち上げはたいへん地道で、すぐには論文につながりません。そんなときに、科学技術振興機構の「さきがけ研究2」に採択されました。研究総括の丸山工作先生からは、「何をやっても良いから、せせこましいことではなく、大きな仕事をしなさい」と激励され、研究報告会で、少しでもせこい方向に向かってる研究があると「なにやってんだ。出直してこい」と大声で怒鳴られていました。おかげで3年後には、世界最高の実験水準を持つヒメツリガネゴケ研究室ができていました。

ゲノム解読によって開かれたあらたな道筋

このころ、助手として藤田知加が加わり、ちょうど文科省科学研究費特定領域の「統合ゲノム」が開始したときで、公募でうまく採択されました。理化学研究所の関原明、篠崎一雄両先生にヒメツリガネゴケの有用性を説明し、完全長cDNAライブラリーを篠崎先生の研究費で作っていただきました。また、総研大遺伝学専攻の小原雄治グループがEST配列決定^{※3}を、こまたまわれわれの負担なしでやっていただきました。その結果、大量のEST情報は世界最大のものとなり、これがきっかけとなって、世界中のヒメツリガネゴケ研究者によってゲノムコンソーシアムが結成されました。

その後、総研大情報科学専攻の藤山秋佐夫先生と東大の菅野純夫先生のグループにも加わっていただき、2008年初めにゲノムの概要配列を発表することができました(長谷部 2008)。

このようにして決まったヒメツリガネゴケゲノムは、発生遺伝子の進化をはじめ、陸上植物の進化を探る道しるべとして、大きな情報を提供してくれています。例えば、植物の発生遺伝子は動物と比べ、驚くほど多様化していることがわかってきました(長谷部 2007)。外部形態や発生過程を見ると、動物は多様です。それは、同じような発生遺伝子ネットワークを保持しつつも、ネットワークの末端を少しずつ変えることによって多様性を生み出していることが、この30年ほどの研究から明らかになってきました。ところが、ヒメツリガネゴケゲノムを従来研究が進んでいた被子植物と比較すると、どうも遺伝子ネットワーク自体が大きく変わっている可能性があることがわかりました。被子植物の重要な発生遺伝子がヒメツリガネゴケにはなかったり、あっても、近縁遺伝子の数が大きく変わっていきつつあるのです(長谷部 2007)。

このことは、植物のゲノムが動物に比べて大きく変化してきたことを示しています。ゲノムは突然変異によって変化していきます。しかし、動物の場合、突然変異が生じて、うまく相手がみつからなければ子孫が残せません。その点、植物の多くの種は自殖性という生活様式を持ち、1個体で子孫を残せます。それもあって、植物にはゲノム(染色体のセット)と考えるとよい)が増加した倍数がたくさん見られます。ゲノムは増加するだけでなく、減少もします。これを繰り返せば、ゲノムの構成も劇的に変化します。生物は、ゲノム情報を用いて、発生し、個体を作り上げて多様な生活様式を生み出します。ゲノムはその意味で出発点です。一方で、今回の研究でわかったように、動物と植物の生活様式の違いが、逆に、ゲノム自体を変えているのです。エッシャーの「描く手」という絵がありますが、ゲノムの進化というのはまさに、そういうものらしいのです。

ゲノム情報の公開に伴い、これまでシロイヌナズナやイネでわかってきたことが、どれだけ植物全般に通じるものなのか、そして植物がどう進化してきたのを知るため、比較対象材料としてヒメツリガネゴケを用いた研究が増えってきました。同時に、ヒメツリガネゴケ独自の面白さを追求する研究も進んでいます。ヒメツリガネゴケは植物で最も高い相同組換え率を持っていますが、その理由はわかっていません。また、からからに乾燥させても復活するという被子植物では考えられない環境耐性能力を備えています。さらに、葉を切った水につけておくと葉の細胞が数日で幹細胞に変化してしまふという驚くべき再生能力を持っています。これらヒメツリガネゴケの特殊技能とでも呼ぶべき現象の分子機構はまだ解明されていません。それがわかった後の応用研究の広がりにもおおいに期待できそうです。

- ※1 分化全能性:ひとたびできあがった体の一部が、再び受精のようにすべてを生み出す力を持ちうるようになること。
- ※2 可塑性:環境などの変化に応じて体を変化させること。植物の場合は、動物よりも大きな変化がおこる場合が多い。
- ※3 相同組換え:同じ配列を持った遺伝子の間でおこる組換え。
- ※4 遺伝子ターゲティング:相同組換えを利用して、遺伝子を本来と違った配列に変えること。
- ※5 EST配列決定:働いている遺伝子の位置を知るために、発見している遺伝子の一部の配列決定を行うこと。



長谷部光泰(はせべみつやす)
現在取り組んでいる研究は、世代交代がどんな仕組みで起こるのか、高い再生力を支える分子機構、植物独自の細胞構造がどのような仕組み、壁と細胞の認識機構、食虫植物の消化酵素の特性や葉の形態形成の仕組み、そしてそれらの現象がどのように進化してきたのかです。また、大学院生とともに、幹細胞がどのように形成されるのか、オジギソウの運動機構の研究を、学振特別研究員と一緒に銀の食草転換やハナカマキリの産卵をつかさどる遺伝子の研究を行っています(写真はギアナ高地で食虫植物の調査中の筆者)。