

シダ植物小葉類イヌカタヒバのゲノム概要配列が決定された。被子植物、イヌカタヒバ、コケ植物セン類ヒメツリガネゴケ、緑藻類クラミドモナスなどのゲノム配列を比較することによって、植物の発生に関わる遺伝子が動物とは異なった様式で進化してきたらしいことがわかった。

シダ植物イヌカタヒバのゲノム解読

——陸上植物の進化研究の一里塚

1 | 陸上植物の系統

陸上植物は、後生動物や菌類と並び、陸上多細胞生物の三大系統の一つであり、これまで多くの研究が行われてきた。特にこの20年間、遺伝子の塩基配列比較に基づいた系統推定が盛んに行われた。その結果、系統関係の概要が明らかになり、従来の比較形態学で解決できなかった問題点の多くが解決し、新しい分類体系がほぼ確立した(図1)。陸上植物はコケ植物、シダ植物、裸子植物、被子植物に分類できることが前世紀初めにほぼ明らかになっていた。しかし、各分類群の単系統性、系統関係については混沌としていた。裸子植物グネツム類は被子植物と似た形態をもっていることから、現生裸子植物は単系統群(共通祖先由来の子孫全部を含む群)ではなく、グネツム類は他の裸子植物ではなく、被子植物の姉妹群だと考えられてきた。しかし、東京の小石川植物園の大温室で栽培されていたコバノグネツムやキソウテンガイ(奇想天外)、葉草園の麻黄を用いた研究か

ら、現生裸子植物は単系統であり、グネツム類は被子植物の姉妹群ではないことが世界に先駆けて明らかにされた²⁾。その後、種子植物全体について、欧米を中心としたThe Angiosperm Phylogeny Group³⁾などによって詳細な科の系統関係が明らかになっている。

シダ植物は従来、マツバラン類、小葉類、トクサ類、真囊シダ類(ハナヤスリ類、リュウビソウ類)、薄囊シダ類に分類されていたが、それらの系統関係は諸説紛々であった。これも今日では遺伝子の配列比較結果からほぼ明らかになっている(図1)。まず、薄囊シダ類の科間の系統関係が東京大学理学部附属植物園(当時)の研究グループが主導した日米共同研究グループによって解明された⁴⁾。米国のユタ州立大学のPaul Wolfは、マツバラン類が真囊シダ類のハナヤスリ類と姉妹群であるという発見をした⁵⁾。さらに、米国のデューク大学のKathleen Pryerらによってシダ植物の系統関係が解き明かされた⁶⁾。シダ植物は、比較形態学的研究から推定されていたように、側系

西山 智明 *Tomoaki Nishiyama*

金沢大学学際科学実験センター 助教

長谷部 光泰 *Mitsuyasu Hasebe*

自然科学研究機構 基礎生物学研究所 教授 / 総合研究大学院大学 生命科学研究所 教授

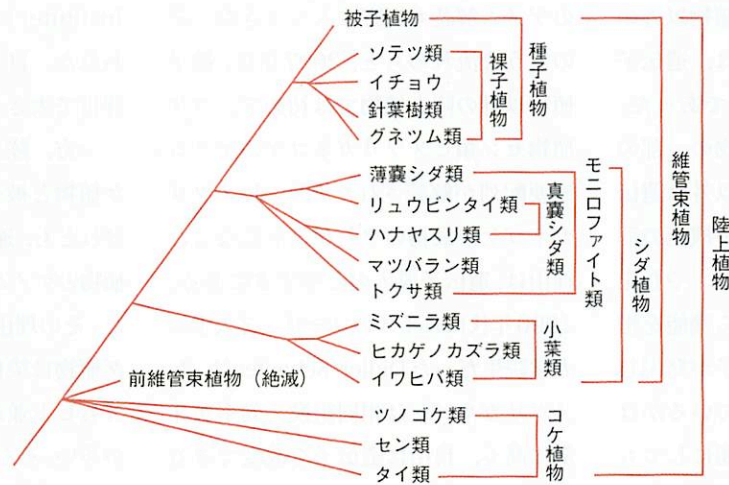


図1 陸上植物の系統関係

統群であることが支持された。シダ植物は、種子植物の姉妹群になるモノコファイト類(トクサ類, 真囊シダ類, 薄囊シダ類を含む)と, 種子植物とシダ類を併せた群の姉妹群となる小葉類からなることがはっきりした。しかし, トクサ類が真囊シダ類と薄囊シダ類と単系統群になるという結果についてはまだ統計的信頼性が十分でなく, 今後, 変更が生じるかもしれない。

米国のミシガン大学のQiuらは, コケ植物は側系統群で, 陸上植物の最も初期段階でタイ類(苔類)が分岐し, その後, セン類(蘚類), ツノゴケ類が分岐したという推定を行った⁷⁾。タイ類の胞子体は, 現生コケ植物の中で最も単純な構造をしている。Qiuらの結果は, 植物が上陸したあとで, タイ類のような分岐しない胞子体をもった祖先(陸上植物の共通祖先)から, 前維管束植物(化石植物で, 枝分かれした胞子体を形成する)が進化したという広く信じられている仮説と一致することから, 最も一般的に受け入れられている。しかし, 現生コケ植物もクロマチンの

化学修飾酵素を働かなくするだけで枝分かれした胞子体を形成できることがわかった。このことから, 陸上植物の共通祖先がタイ類のような単純な胞子体をもっていたのではなく, 前維管束植物のように枝分かれをする胞子体を形成していたのではないだろうか, そしてタイ類の単純な胞子体は退化することによってできたのではないかという仮説が提唱されている⁸⁾。この仮説は陸上植物が上陸した時代からはタイ類胞子体形態を示す化石が出ず, 前維管束植物の化石がたくさん出るという古生物学的知見とよく一致する。このように, コケ植物の系統, 陸上植物の共通祖先がどのような形態をもっていたのかは, 今後の研究課題である。

2 | 発生進化学の問題点

1990年代初頭, 陸上植物の系統関係に目星がつき始めた頃から, 「エボデボ(evolutionary developmental biology: 進化発生学)」と呼ばれる範疇の研究が

活性化してきた。元来, 発生学と系統学は共通のバックグラウンドのもと研究されてきたが, ヘッケルの個体発生が系統発生を反復するという魅力的な仮説が妥当でないことがわかった頃から袂を分かち始め, 学問的交流がほとんどなくなっていた。しかし, 1980年代のゲーリングらによるホメオボックス遺伝子の発見に伴う, 後生動物間における発生過程の共通性の探求とともに, 共通性と表裏一体である多様性の研究, すなわち, 進化と結びついた研究が急激に勃興した。植物については, 1980年代後半から始まったシロイヌナズナを用いた分子遺伝学的研究から多くの発生関連遺伝子が明らかになり, それと並行して, シロイヌナズナの発生機構が他の植物でどの程度保存されているか, すなわち, 発生機構がどのように進化してきたかの研究が盛んに行われた。

しかし, これらの研究には大きな問題点が2つあった。一つは, 被子植物以外の陸上植物ではゲノム解析が行われておらず, いったいどんな遺伝子を

もっているかがはっきりしなかったことである。そのため、被子植物以外の植物の遺伝子解析を行うには、遺伝子の単離に多大な労力が必要であった。もう一つの問題は、被子植物の一部の種類、いわゆるモデル植物以外は遺伝子導入が困難であり、遺伝子機能の解析ができなかったことである。やむをえず、遺伝子の発現様式から機能を推定することになるが、遺伝子が発現している場所で本当に機能しているかはわからないし、推定する機能にしても被子植物からの類推以上のことは出てきようもなかった。

3 | ゲノム生物学と 分子生物学の進展

そんな状況を打ち破ったのがゲノム生物学と分子生物学の進展であった。2000年にシロイヌナズナ、2003年にイネのゲノムが解読され、サンガー法による塩基配列決定のハイスループ

ト化が行われ、モデル植物以外の植物のゲノム解読も視野に入ってきた。そのような流れのもと、2007年に、被子植物以外の陸上植物では初めて、コケ植物セン類ヒメツリガネゴケのゲノム概要配列が解読された⁹⁾¹⁰⁾。ヒメツリガネゴケが最初のターゲットになった理由は、遺伝子導入のしやすさにある。1990年代にスイスのローザンヌ大学の大学院生だったDidier Schaeferは、ヒメツリガネゴケは相同組換え効率が高くて、自由に遺伝子を改変できる遺伝子ターゲティングが可能であることを発見した。そして、アジア、欧州、米国で順番に開催する国際コケ植物会議をハブとして、各国の研究者の連携によって実験技術が洗練され、今では植物で最も遺伝子操作のしやすい材料となっている。

ヒメツリガネゴケゲノムは、日本の特定領域研究「統合ゲノム」によって開始された完全長cDNAのカタログ化とEST解析をきっかけとして国際コンソーシアムが結成され、米国エネルギー

省共同ゲノム研究所 (Joint Genome Institute) においてゲノム配列決定が行われた。日本は得意分野であるcDNA解析で大きな貢献をした。

一方、陸上植物の末端で分岐したコケ植物と被子植物のゲノムはわかったけれども、途中に位置する分類群、シダ植物のゲノム解析はなかなか進まなかった。その理由はゲノムサイズにある。シダ植物は染色体数も多く、ゲノムサイズもヒト並みに数十億塩基対であるものが多い。そんなとき、米国のパーデュー大学のJo Ann Banks教授がニューヨーク植物園でゲノム解析できるシダ植物はないかとたまたま調べた3種のうちの1つ、イヌカタヒバ*Selaginella moellendorffii*のゲノムサイズがシロイヌナズナよりも小さい1億塩基対程度であることがわかったのである。

4 | イヌカタヒバゲノム解読 への道

イヌカタヒバは日本の沖縄県、台湾、中国南部、フィリピンなどに分布している。日本には元々沖縄県の石垣島と西表島だけに分布し、絶滅危惧種である(図2)。ところが、近年、日本のあちこちに園芸目的で栽培されたものが移出して繁茂している(図3)。移出系統と沖縄系統は同じ染色体数をもつことが報告されている¹¹⁾。しかし、移出しているものを見てみると、これが絶滅危惧種かと思いに思えてくるくらいよく増えていて、なんとも不思議であった。

そこで、長谷部は琉球大学の横田昌嗣教授に自生地をご教示いただき、Banks博士と一緒に西表島へ出かけてみた。横田先生から個体数がとても少ないと



図2 西表島に自生するイヌカタヒバ

聞いてはいたのだが、教わった川を下流からかなり上流まで遡ってみたが、2カ所の岩の割れ目に、それぞれ直径30 cm程度の株があるだけだった。しかも、同じような割れ目は周りにたくさんあるのに、増えていないのがなんとも不思議だった。また、地上茎全体の大きさは、移出しているもののせいぜい半分くらいで、地上茎の枝も半分くらいの長さで幅であった。そこで、東京大学と国立科学博物館に収蔵されている標本を調べてみた。ラオス、フィリピン、中国南部、台湾、沖縄、そして日本で、移出している標本が複数あった。沖縄県で採集された標本は、日本で移出しているものの標本と比べると明らかに小さく細かった。しかし、海外の標本にはどちらのタイプもみつかった。したがって、広域に分布するイヌカタヒバのうち、特定の系統が沖縄県に分布を広げ、その後、移入もなく、生き残っているのかもしれない。

イヌカタヒバは有性生殖と無性生殖の両方で増える。有性生殖では、減数分裂によって卵を作る大孢子と精子を作る小孢子が形成される。無性生殖では、地上茎の先端部分が膨らみ栄養芽となり、茎から離生して新しい個体となる。沖縄県のイヌカタヒバは移出しているものと比べると栄養芽の数が少ないように感じられた。ただ、標本では栄養芽は取れてしまっている可能性もあり、今後、生きた個体における観察が必要である。有性生殖についてはどうか。孢子囊穂を飽水クロール処理して透明化すると、標本を壊さずに組織に包まれた胞子を観察することができる。この方法で調べてみると、面白いことがわかった。石垣島の2標本、西表島の1標本は、どれも小孢子しか形成していなかった。一方、



図3 園芸目的で栽培されたものが移出して繁茂したイヌカタヒバ

中国の標本は、13標本観察したうち、10標本が大孢子と小孢子の両方をつけ、3標本が小孢子だけをつけていた。台湾の標本は、12標本観察したうち、9標本が両方をつけ、3標本が小孢子囊だけをつけていた。沖縄県以外の日本国内で移出しているものの標本は、7標本調べたうち、4標本で両方、3標本で小孢子囊だけつけていた。つまり、沖縄のイヌカタヒバは雌の役割をする大孢子を形成せず、有性生殖ができない可能性があることがわかった。これらのことから、有性生殖能力、栄養生殖能力ともに移出した系統より弱いことから、沖縄県の系統は絶滅に瀕してい

るのかもしれない。

では、今回ゲノムを解読した系統はどうだろう。ゲノム解読に用いた系統はPlant Delightsという米国の園芸業者から入手した系統で外部形態は移出しているものによく似ている(図4)。ところが、解読を始めた後、この系統は、沖縄県の系統のように、小孢子しか形成しないことがわかった。その後、奇妙なことに、Plant Delightsを組織培養後、個体再生したCasa Floraという系統は大孢子、小孢子の両方を形成するようになっていたことが明らかになった。この理由はまだわかっていない。沖縄の系統の遺伝子はまったく解析さ

れていないが、日本で移出しているイヌカタヒバのいくつかの遺伝子を解析したところ、Plant Delightsと完全に同じ塩基配列であることがわかっている¹²⁾。今後、沖縄の系統の遺伝子解析が進むと、イヌカタヒバの多様性について新しい知見が得られるかもしれない。

イヌカタヒバのメリットは、ゲノムサイズの小ささである。ただ、現状では遺伝子導入ができないことは大きなデメリットである。しかし、ゲノムサイズの小ささは、このデメリットを乗り越えて、われわれをゲノム配列決定へと走らせた。

2003年、Banks博士、長谷部、オーストラリアのモナシュ大学からJohn

Bowman博士がコアメンバーとなり、運営委員会を組織した。そして、共同ゲノム研究所に配列決定を申請し、無事採択され、配列決定はすべて同研究所で行われた。配列決定が終わった後、インターネット上にWiki (<http://wiki.genomics.purdue.edu/index.php/Selaginella>) を立ち上げ、世界中の誰でもがイヌカタヒバゲノムを自由に解析し、自由に研究結果を書き込めるようにした。合計67件、100人以上の研究者がそれぞれの解析結果を投稿した。これらの解析結果の中から、100通以上の電子メールと数回の国際会議の合間の議論を通して、Banks博士、長谷部、Bowman博士で生物学的に重要な点をピック

アップし論文を作成した。この過程でさらに詳細な系統解析、ゲノム解析が必要となり、西山がコアメンバーに加わり、基礎生物学研究所、バーデュー大学でのそれぞれ1週間の合宿を経て、最終的な論文を作成した。

5 | 陸上植物における 遺伝子の進化

ゲノム解析の結果、イヌカタヒバはこれまでゲノムが解読された被子植物(約2万6,000遺伝子)やコケ植物(約2万8,000遺伝子)よりやや少ない約2万2,000の遺伝子をもっていること、また遺伝子間の長さが他の植物よりも短いためにゲノムの大きさが小さいことが明らかになった。

日本のグループは、大学共同利用機関である基礎生物学研究所を中心として、科学技術振興機構、金沢大学、北海道大学などの研究者が共同して発生に関わる遺伝子進化の解析を行った。まず、シロイヌナズナの発生過程に関連する遺伝子を約700種類選り出し、それらのオルソログ遺伝子をヒメツリガネゴケ、イヌカタヒバから探し、系統解析を行った。この結果は個々の系統樹を含め<http://moss.nibb.ac.jp/treedb>で公開している。この解析は西山が自動化ソフトを作成することにより効率的に行えたが、整列した配列を確認し、必ずしも対応しない配列、領域を除く段階は人間の目で確認することが必要となり、共著者たちは「もうしばらく系統樹は見たくない」というほど、数カ月間かけて数千個の系統樹と格闘することとなった。しかし、その努力は報われて、いくつかの画期的な結果が得られた¹³⁾¹⁴⁾。

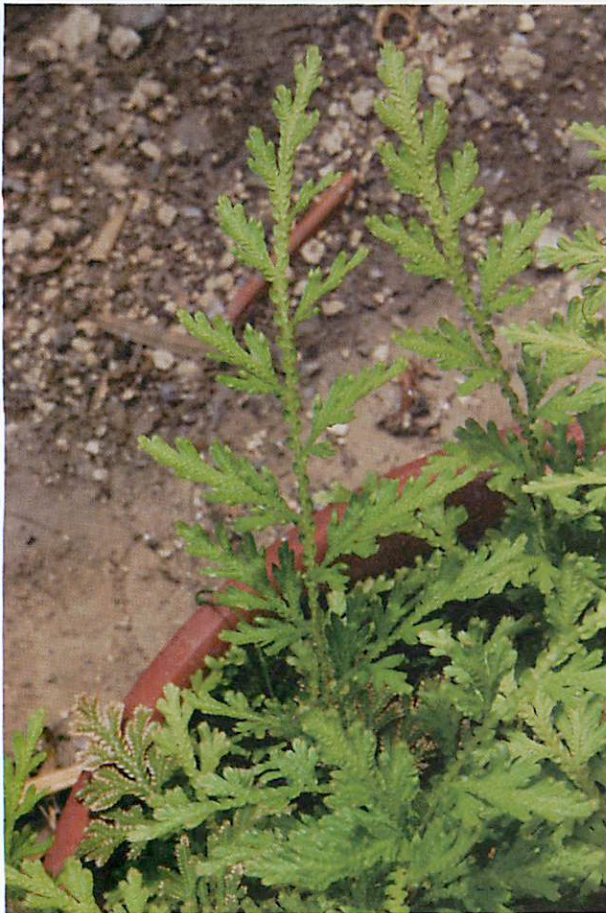


図4 ゲノム解読に用いられたイヌカタヒバのPlant Delightsライン

統括遺伝子の数を増やすことによる進化

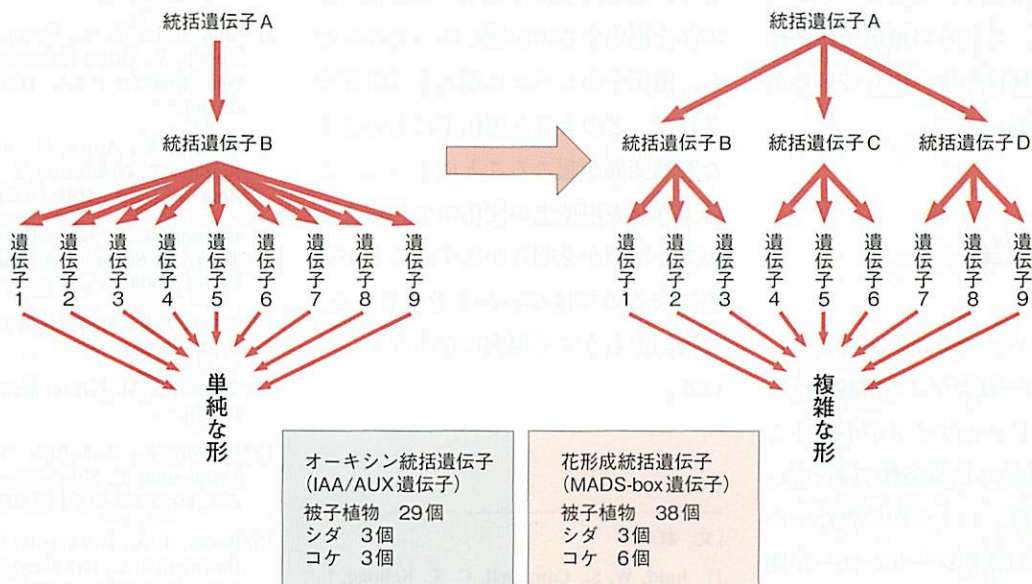


図5 陸上植物の進化過程での遺伝子の進化 (統括遺伝子の数を増やすような進化が起きたことがわかった)

まず、発生の基礎となる細胞分裂、細胞骨格、クロマチン修飾などに関連する遺伝子は異なった系統間でよく保存されていることがわかった。このことから、細胞レベルでの基本的な機能は陸上植物の共通祖先で確立し、その後、いろいろな系統で維持されてきたことがわかる。

一方で、多細胞体制を作るために必要な区画化や器官形成に関わるような転写因子の数は、種類によって大きく異なることが明らかになった。生物の発生に関わる遺伝子は、会社のように役割分担している (図5)。転写制御因子は部長や課長にあたるような統括遺伝子で、多くの部下遺伝子に命令を出して体作りをしている。動物の場合には、異なった種類 (たとえば、人間とハエ) でも転写因子の種類や数はあまり変わらず、部下遺伝子が変わることで多様な形を作っている場合が

多いことが知られている¹⁵⁾。しかし陸上植物は、転写因子の数が大きく異なっていることがわかった。たとえば、被子植物の花作りなどで働く課長にあたる転写因子MADS-box遺伝子は、被子植物のゲノムでは約40個あるが、イヌカタヒバは3個、ヒメツリガネゴケは6個しかない。また、被子植物の茎や葉を作るのに必要なオーキシンという植物ホルモンを働かせる転写制御因子のAUX/IAA遺伝子は、被子植物のゲノムでは約30個あるのに対して、イヌカタヒバやヒメツリガネゴケでは3個しかない。このように、転写因子は被子植物の祖先の段階で数を増やすことによって、陸上植物は複雑な体を進化させてきたらしいことがわかった。ヒメツリガネゴケやイヌカタヒバがもっているMADS-box遺伝子、AUX/IAA遺伝子がどのような機能をもっているのかは今後の課題である。オー

キシンの信号伝達系に含まれる遺伝子のほとんどはすべての系統で保存されているので、オーキシンの信号伝達系は陸上植物の祖先段階で確立したことがわかる。そして、各系統で多様な多細胞器官が進化する段階でそれぞれ独自に遺伝子重複が起こり、独自の機能を担うようになった可能性が高い。

さらに、被子植物、シダ植物、コケ植物で、それぞれに特有の遺伝子があることもわかった。エチレンは、果実成熟や植物の老化促進、病傷害応答など、サイトカイニン植物の老化抑制や細胞分裂促進などに関わるホルモンであるが、イヌカタヒバやヒメツリガネゴケはこれらのホルモンを被子植物とはオルソログスではない遺伝子を用いて作っているらしいことがわかった。加えて、病気や害虫に食べられないようにしたり花粉を運ぶ昆虫を引き寄せたりする働きをもつ二次代謝産物を作

る遺伝子は、どのグループでも独自にその遺伝子の数を増やし、それぞれの生育環境に適応していることもわかった。すなわち、これらの遺伝子が系統間における多様性を生み出している遺伝子なのである。

6 | 今後の展望

イヌカタヒバゲノム計画が始まった当時は、サンガー法でゲノム解読を行っていたため、ゲノムサイズが小さいことがゲノム解読の必須条件であった。しかし、その後、いくつかの異なる方法を用いた超並列シーケンサーが開発され、塩基配列解析の時間とコストが著しく減じられた。数年後には、野生生物でも一研究室で可能な労力と予算でゲノム概要解読が可能になることは確実である。進化的に重要な実験材料におけるゲノム解読が進めば、これまで解くことのできなかった進化学の大きな問題点にアプローチできるようになるはずである。たとえば、生物のもつ複雑な適応形質がどのように進化してきたのかという大問題も解けるかもしれない (<http://staff.aist.go.jp/t-fukatsu/SGJHome.html>)。昆虫が食草を転換するときのホストレース転換、新奇適応形態、擬態、共生など、複数の形質が積み重なることによって始めて適応的になり、未完成な段階では適応的ではなく、かえって生存に不利になってしまうような形質の進化である。よく例としてあげられるのは、できあがった時計は機能があるが、組み立てる途中では機能をもたない。生物の複雑な器官についても同じことで、この点をうまく説明できないから、知的存在(神)が設計したのではないかというインテ

リジェントデザイン説が提唱されるゆえんである。これまで、表現型を比較していただければどのように進化したのかを推定するのが難しかったけれども、遺伝子のレベルに還元して研究できれば、どのような遺伝子にどのような突然変異が起こることによって、このような表現型上の変化が生じることができたのかを明らかにすることが可能になるのではないかと考えられる。夢物語がもうすぐ現実になろうとしている。

[文 献]

- 1) Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F. & Donoghue, M. J. *Plant systematics: a phylogenetic approach*, 3rd ed., Sinauer Associates, Sunderland, MA, 2008.
- 2) Hasebe, M., Kofuji, R., Ito, M., Kato, M., Iwatuki, K. *et al. Bot. Mag. Tokyo*, **195**, 673-679 (1992).
- 3) The Angiosperm Phylogeny Group. *Bot. J. Linn. Soc.*, **161**, 105-121 (2009).
- 4) Hasebe, M., Omori, T., Nakazawa, M., Sano, T., Kato, M. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**, 5730-5734 (1994).
- 5) Wolf, P. *Am. J. Bot.*, **84**, 1429-1440 (1997).
- 6) Pryer, K. M., Schneider, H., Smith, A. R., Cranfill, R., Wolf, P. G. *et al. Nature*, **409**, 618-622 (2001).
- 7) Qiu, Y. L., Li, L., Wang, B., Chen, Z., Knoop, V., Groth-Malonek, M. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **103**, 15511-15516 (2006).
- 8) Okano, Y., Aono, N., Hiwatashi, Y., Murata, T., Nishiyama, T. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **106**, 16321-16326 (2009).
- 9) Rensing, S. A., Lang, D., Zimmer, A. D., Terry, A., Saizemov, A. *et al. Science*, **319**, 64-69 (2008).
- 10) 長谷部光泰. 蛋白質核酸酵素, **53**, 1787-1793 (2008).
- 11) Takamiya, M. *J. Plant Res.*, **106**, 149-166 (1993).
- 12) Hirano, K., Nakajima, M., Asano, K., Nishiyama, T., Sakakibara, H. *et al. Plant Cell*, **19**, 3058-3079 (2007).
- 13) Banks, J. A., Nishiyama, T., Hasebe, M., Bowman, J. L., Gribskov, M. *et al. Science*, **332**, 960-963, doi:10.1126/science.1203810 (2011).
- 14) 長谷部光泰/藤田知道/倉田哲也/佐藤良勝/久保稔/他.(清水健太郎/長谷部光泰・編. 植物の進化: 基本原理からモデル生物を活用した比較・進化ゲノム学まで, 植物細胞工学別冊, 植物細胞工学シリーズ23, 2007, p. 163-173.)
- 15) Carroll, S. B., Grenier, J. K. & Weatherbee, S. D. *From DNA to diversity: molecular genetics and the evolution of animal design*, 2nd ed, Blackwell Publishing, Oxford, UK, 2005.



西山 智明 Tomoaki Nishiyama

金沢大学学際科学実験センター 助教

略 歴: 1995年, 東京大学理学部卒業。2000年, 東京大学大学院理学系研究科修了, 博士(理学)。2000年, 学術振興会特別研究員(PD)。2003年, 基礎生物学研究所研究員。2005年, 金沢大学学際科学実験センター助手。2007年より現職。
専 門: 進化学, 生物情報学



長谷部 光泰 Mitsuyasu Hasebe

自然科学研究機構 基礎生物学研究所 教授/総合研究大学院大学 生命科学研究所 教授

略 歴: 1985年, 東京大学理学部卒業。1991年, 東京大学大学院理学系研究科中退。1991年, 東京大学理学部附属植物園助手。1992年, 博士(理学)。1993年, 日本学術振興会海外特別研究員(米国パーデュー大学)。1996年, 岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所助教授。2000年より現職。
専 門: 生物進化学, 植物再生進化学
受賞歴: 日本学士院学術奨励賞(2005年), 日本植物学会学術賞(2008年) など
著 書: 『維管束植物の形態と進化』(共監訳, 文一総合出版, 2002), 『発生と進化』(分担執筆, 岩波書店, 2004), 『植物細胞工学別冊: 植物細胞工学シリーズ23—植物の進化: 基本原理からモデル生物を活用した比較・進化ゲノム学まで』(共監訳, 分担執筆, 秀潤社, 2007), 『植物の百科事典』(共編集, 分担執筆, 朝倉書店, 2009) など