

果樹作物における性決定機構の解明

赤木 剛士 (岡山大学大学院環境生命科学研究科)
takashia@okayama-u.ac.jp

「性」の決定は生物がその進化の中で獲得した遺伝的多様性の維持のための最重要機構の一つである。同時に、作物においては収穫量や交雑の可否などを決定する律速因子であり、栽培・育種の両面において環境変化と関連して考慮すべき重要形質である。植物における遺伝的な性決定は1903年にウリ科において初めての報告がなされて以来、110年以上も多くの植物種で研究がなされてきた題材である。植物は種ごとに独立した性決定メカニズムを系統特異的に成立させており、これは一種の収斂進化であると考えられている。この植物の遺伝的な性は、動物と同様に性染色体によって制御されるが、性染色体上における性決定遺伝子はいずれの種においても同定されていなかった。本発表では、果樹作物であるカキ・キウイフルーツにおける性決定遺伝子群の同定と、これらの種に見られるゲノム倍化に由来した性の揺らぎと性の成立に関する進化過程について紹介する。

カキ属における性決定遺伝子の発見

カキ属の遺伝的な性決定はXY型(雄ヘテロ型)決定様式であることが示唆されていた²⁾。本研究ではY染色体上の決定遺伝子を同定するために、次世代シーケンス技術を応用して、Illuminaリード上の情報をさらに断片化し、配列特異性とリード間の共有性を取り持つ多型探索法(kmer cataloging)を考案することで、早急にY染色体の雄特異的領域の早期選抜に至った。この遺伝領域に含まれる候補因子の中で唯一、カキ属に共通して雄特異的に保存される遺伝子様配列はsmall-RNAをコードすると思われるHD-Zip1ホメオボックス様の遺伝子であった。形質転換実験から、OGIと名付けられたこのsmall-RNA遺伝子により、常染色体上の相同ホメオボックス遺伝子MeGIが抑制されて雄化が生じるという統御系が示唆された³⁾(図1)。共発現ネットワーク、シストローム解析から、MeGIは雄器官・雌器官の両者の生育を独立的に調整して雌化を統御していることが示唆された⁴⁾。Y染色体がコードする性決定遺伝子OGIの同定は、植物で初めての性別決定遺伝子の発見であると同時に、単一因子による植物の性別制御は、1978年に提唱され、代表的な理論モデルとされていた「植物の性決定二因子モデル」⁵⁾とは異なるものであった⁶⁾。

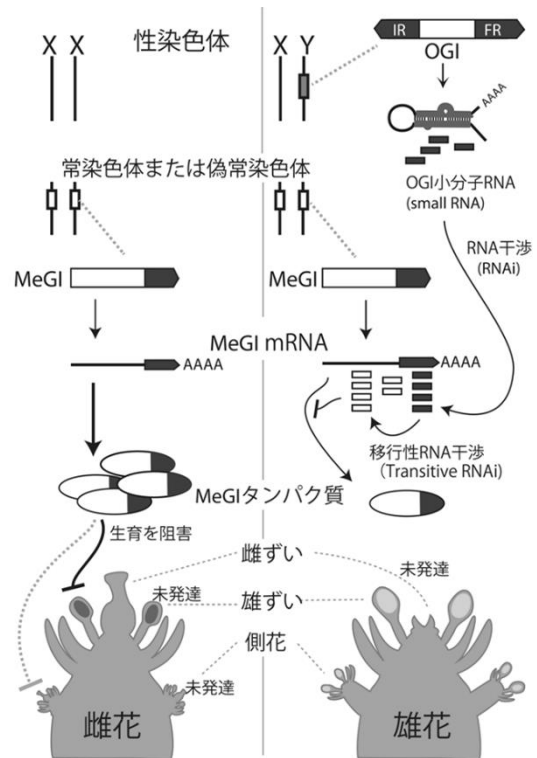


図1: カキ属における性決定モデル

倍数体栽培ガキの「性の揺らぎ」を司るエピジェネティック制御

普段我々が口にする「柿」は六倍体種であり、画一的な性別を示す二倍体野生種とは異なり、雄個体は雌花・雌花の両者を着花する。六倍体栽培ガキでは、*OGI*の上流にSINE様レトロトランスポソンの挿入が見られ、DNA高度メチル化とともに*OGI*の発現はほぼ消失していた。一方、六倍体カキでは、個体内の雄花発生特異的に*MeGI*におけるsmall-RNA蓄積とDNAの高度メチル化による著しい発現低下が確認され、DNA脱メチル化剤処理により、*MeGI*の脱メチル化程度

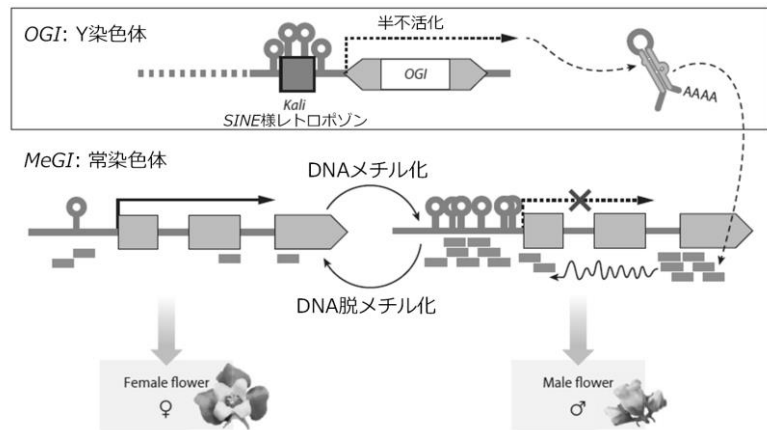


図2: 六倍体栽培ガキのエピジェネティック性決定モデル

*OGI*はSINEにより半不活化しているが、一度*MeGI*におけるsmall-RNA蓄積を誘導すると、*MeGI*のDNAメチル化維持・解除が花単位の性決定スイッチとなる

度に応じてsmall-RNAの蓄積が有意に減少することから、雄花特異的な*MeGI*のsmall-RNA発生はDNAメチル化が起点となっていることが明らかとなった。つまり、六倍体カキでは*OGI*が半不活化状態になる一方で、*MeGI*のエピジェネティック制御状態が雌雄運命決定のスイッチとなり個体内での柔軟な花単位の性決定を統御していることが明らかになった⁷⁾(図2)。さらに、*OGI*上流のSINE様挿入配列が在来種を含む既存系統で完全に保存されていることから、六倍体種の成立に際して、*OGI*の不活化に対して強いボトルネックがかかったことが示唆された。以上より、近年のゲノム倍化によって性決定最上流因子におけるエピジェネティック制御が成立し、揺らぎのある花単位の性表現が誕生した過程が明らかになった。

キウイフルーツにおける性決定因子の同定と人為的な性別改変

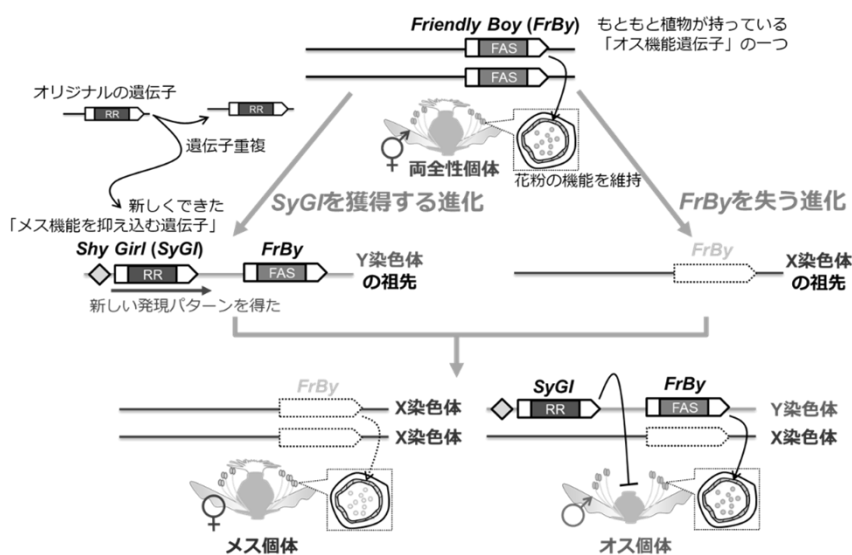


図3: キウイフルーツにおける性決定二因子の進化過程

キウイフルーツを含むマタタビ属は、カキ属と同じツツジ目に属しており、属全体が性別を持つが、この性決定機構はカキ属の*OGI/MeGI*とは独立した機構によるものである⁹⁾。マタタビ属における性決定遺伝子群を同定するため、栽培キウイフルーツ種 (*Actinidia chinensis*) とシマサルナシ (*A. rufa*) の交雑系統において、カキ属における雄特異的 Y 染色体領域同定と同様の方法を用い、早急

に候補遺伝子領域の特定を行った。花器官特異的なトランスクリプトームを組み合わせることで、3つの候補遺伝子を同定し、そのうち2つがマタタビ属の広い種間で雄特異的に保存されるものであった。これら2つのうち、雌器官特異的に発現する Type-C サイトカニン response regulator 様遺伝子をモデル植物群に形質転換した結果、雌器官の発達が著しく抑制されて雌性不稔（つまり雄個体）となり、性決定遺伝子の一つであると考えられたため、その発現形質から「*Shy Girl*」と名付けられた。*Shy Girl* はマタタビ属特異的な古ゲノム倍化によって生じた重複遺伝子であり、他科植物種の相同遺伝子群は本来、雌器官では発現せず、*Shy Girl* が重複後に新規発現パターンを獲得して性決定遺伝子としての雌器官抑制機能を成立させたことが示唆された⁸⁾ (図3)。

他方、もう一つの雄特異的に保存される候補遺伝子は *Fasciclin* 様構造を示すものであり、葯内タペート組織特異的に発現していた。モデル植物群における単系統相同遺伝子群を遺伝子編集によって非機能型にすることで、いずれの植物種においてもキウイフルーツの雌個体と同様の雄性不稔性が見られた。さらに、*CENTRORADIALIS* (*AcCEN4*) 非機能型の「早咲き」雌キウイフルーツにこの Y 染色体由来の *Fasciclin* 様遺伝子を導入した結果、雄器官機能の回復が見られ、人工的に両全性系統を作り出すことに成功した (図4)。以上より、この *Fasciclin* 様遺伝子がもう一つの

性決定遺伝子 (*Friendly Boy* と命名) であり、被子植物内において本来、雄機能維持のために保存されている *Friendly Boy* が、マタタビ属特異的に X 染色体上で失われることによって雌個体が成立する過程が明らかになった⁹⁾ (図3)。これらの性決定進化過程は「二因子説」⁹⁾ の進化的・生理学的な証明となった。

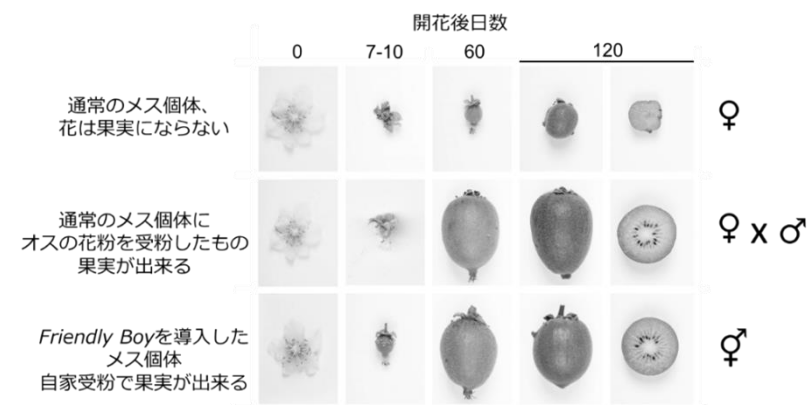


図4: *Friendly Boy* の導入による人工の両性キウイフルーツの作出

性別・性染色体の進化における多様性と共通性

植物の性染色体は、性的二型を発現する遺伝子の蓄積などにより早急な組み換え抑制や異形化を示すと考えられていた。本研究では、カキ属・マタタビ属における性決定遺伝子付近の Y 染色体配列を解読し、その由来が非常に古いにもかかわらず雄特異的領域は非常に短く、性と完全連鎖した遺伝子も限られていることを明らかにした^{9,10)}。これら二属では性的二型の幾つかが性決定遺伝子自身が本来持っていた多面的機能によって発現しており、雄性の成立後に性的二型を獲得したわけではなく、雄性に好影響を発現する遺伝的環境を発現する遺伝子が新機能獲得によって性決定機能を獲得したという新規的な可能性が明らかになった¹¹⁾。

さらに、カキ属野生種のマメガキにおける全ゲノム解読を行い、ゲノム内シンテニー解析および相同遺伝子間の同義置換率の分布からカキ属に特異な古ゲノム倍化 (*Dd-α*) の存在を明らかにした。中立変異率によって、このゲノム倍化はおよそ 6,000-7,000 万年前に生じたものである可能性が示唆され、この時期は多くの植物が系統特異的にゲノム倍化を繰り返した K-Pg 境界と呼ばれる、いわゆる「大量絶滅期」¹²⁾ と一致していた。*Dd-α* 由来のパラログのうち、一方でのみ進化速度の急上昇が見られる組み合わせを網羅的に同定した結果、*MeGI* は *Dd-α* によってゲノム中の

遺伝子 *Sister of MeGI (SiMeGI)* から生じたパラログであり、重複分岐後における新機能獲得への正の選抜と、アレル選抜後の浄化選択により、一種の適応進化として他科植物種の相同遺伝子や *SiMeGI* は有していない雌化機能を成立させたことが明らかになった¹⁰⁾。この系統特異的なゲノム倍化（遺伝子重複）が関与する性決定機構という点は、上記のキウイフルーツにおいても同様であり、本研究における性表現の変遷を見ても、多くのゲノム・遺伝子倍化によって駆動されていることが示唆された（図5）。

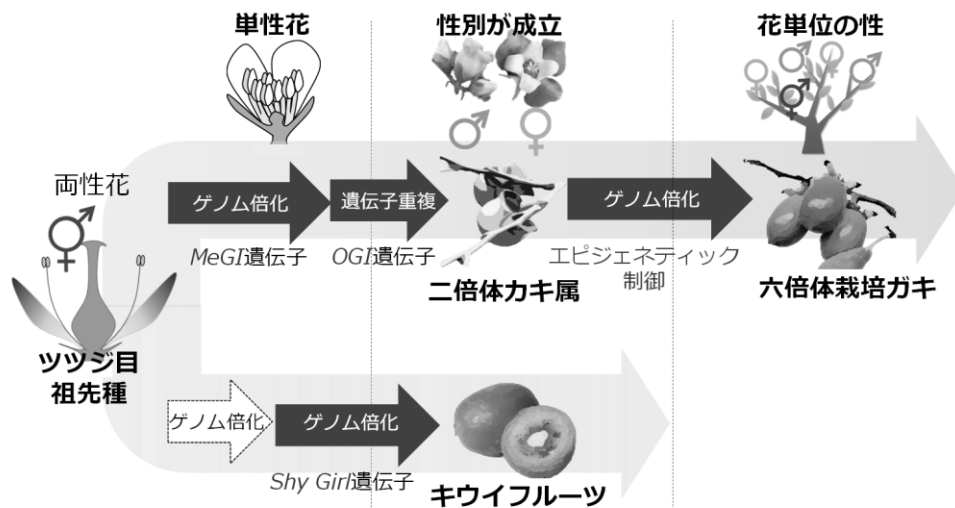


図5: ゲノム・遺伝子倍化が駆動するカキ属・マタタビ属における性の進化

謝辞

日本農学進歩賞の受賞にあたっては、岡山大学大学院環境生命科学研究科および公益社団法人園芸学会より推薦を頂きました。舟橋弘晃研究科長および河鱈実之会長には深く感謝申し上げます。本研究の遂行にあたり、多大なるご協力・ご支援を頂きました、京都大学大学院農学研究科・田尾龍太郎教授、カリフォルニア大学デービス校ゲノムセンターLuca Comai 教授、Isabelle M. Henry 博士、そして本研究に関わって頂いた共同研究者・学生皆様に、心よりお礼を申し上げます。

引用文献

- 1) Correns C. (1903) *Ber Dtsch Bot Ges* 21: 133–147.
- 2) Akagi T. et al. (2014) *J Jpn Soc Hort Sci* 83: 214–221.
- 3) Akagi T., Henry I. M., Tao R., Comai L. (2014) *Science* 346: 646–650.
- 4) Yang H-W.*, Akagi T.*, Kawakatsu T., Tao R. (2019) *Plant J* 98: 97–111.
- 5) Charlesworth D., Charlesworth B. (1978) *Amer Naturalist*
- 6) Henry I. M., Akagi T., Tao R., Comai L. (2018) *Annu Rev Plant Biol* 69: 553–575.
- 7) Akagi T. et al. (2016) *Plant Cell* 28: 2905–2915.
- 8) Akagi T. et al. (2018) *Plant Cell* 30: 780–795.
- 9) Akagi T. et al. (2019) *Nature Plants* 5: 801–809.
- 10) Akagi T. et al. (2019) *BioRxiv* doi: <https://doi.org/10.1101/628537>
- 11) Akagi T., Charlesworth D (2019) *Proc Royal Soc B* 286: 20191805.
- 12) Van de Peer Y., Mizrahi E., Marchal K. (2017) *Nature Rev Genet* 18: 411–424.