

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 16 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K14580

研究課題名(和文) ボルボックス非モデル種のOTOKOGI遺伝子を用いた雌雄同体・異体種の進化解明

研究課題名(英文) Unveiling the evolution of monoecious/dioecious species based on the analysis of OTOKOGI genes from non-model species of Volvox

研究代表者

野崎 久義 (Nozaki, Hisayoshi)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・准教授

研究者番号：40250104

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ホモタリック種*Volvox africanus* とヘテロタリック種*V. reticuliferus*は非常に近縁なので、ホモ・ヘテロタリックの進化を解明する格好の材料である。本研究ではボルボックスのホモタリック種でMID/OTOKOGI オソログを初めて明らかにした。また、これら2種を含む系統ではヘテロタリックからホモタリックが進化したと推定された(Hanschen et al. 2017, Evolution)。従って、ヘテロタリックの祖先種のおスからホモタリック種の*V. africanus* が進化したという仮説を提唱した(Yamamoto et al. 2017, PLoS ONE)。

研究成果の概要(英文)：Since the homothallic species *Volvox africanus* and the heterothallic species *V. reticuliferus* are closely related to each other, biological comparison of these species seemed fruitful for resolving evolution of homothallism/heterothallism in *Volvox*. The present research demonstrated the presence of MID/OTOKOGI ortholog in the homothallic species of *Volvox* for the first time. In addition, our analysis based on ancestral state reconstruction in the whole volvocine algae suggested that homothallism might have evolved from heterothallism in the ancestor of these two species. In conclusion, we proposed a hypotheses that homothallic *V. africanus* might have evolved from male of the ancestral heterothallic species (Yamamoto et al. 2017, PLoS ONE).

研究分野：進化生物学

キーワード：雌雄同体 雌雄遺体 再構成 ホモタリック ヘテロタリック OTOKOGI遺伝子 進化 ボルボックス 祖先状態

## 1. 研究開始当初の背景

有性生殖はメス・オスに代表される“対立する性”の出会いに始まる、異なるゲノムの混和による新規ゲノム組成を持つ子孫の創出が目的と考えられる。しかし、広く生物界を見渡せば多細胞生物には卵をつくるメスと精子をつくるオスが異なる個体である「雌雄異体」に加えて、「雌雄同体」という同じゲノム組成の多細胞体一個体に卵と精子が作られるものが知られている。雌雄異体であるか雌雄同体であるかは生物の種で決まっていたり、環境条件で両者のいずれかになる場合が知られている。最近雌雄異体種ホウレンソウで雌雄同体の変異体を決める遺伝子が報告されたが (Yamamoto et al. 2014, Heredity 112: 317)、雌雄同体種と雌雄異体種の差異を生み出す進化に直接関与した遺伝子は明らかになっていなかった。

我々は群体性ボルボックス目の雌雄の配偶子をもつプレオドリナから、オスに特異的な遺伝子“*OTOKOGI*” (*PlestMID*: 同型配偶クラミドモナスにおけるマイナス交配型を決定する転写因子の遺伝子 *MID* のオルソログ) を発見し (Nozaki et al. 2006, Curr. Biol. 16: R1018)、"メス"が性の原型 (クラミドモナスのプラス交配型) から、"オス"は性の派生型 (クラミドモナスのマイナス交配型) から進化したという、これまで不明であった進化生物学上の大問題 (オス・メスの起源) をはじめて遺伝子レベルのデータで説明した。また、この研究のオス特異的遺伝子の同定はこれまでに全く未開拓であったメスとオスの起源を明らかにする分子・ゲノムレベルでの進化生物学的研究のブレークスルーになるものと出版時から期待され (Kirk 2006, Curr. Biol. 16: R1028; Charlesworth 2007, Curr. Biol. 17: R163)、2010年に我々日本とアメリカの研究グループの共同研究で卵生殖のボルボックスモデル種 *Volvox carteri* (雌雄異体) の“*OTOKOGI*” (*VcMID*) を端としたゲノム解読から、性染色体領域の全貌を明らかにした (Ferris et al. 2010, Science 328: 351)。更に今年になってアメリカの研究グループは *V. carteri* の遺伝子導入実験を実施し、雌株に *VcMID* を導入すると精子が、雄株で *VcMID* の機能抑制を誘導すると卵が、それぞれ異所的に形成されることを示し、*VcMID* の有無が精子と卵の発生を決定していることを明らかにした (Geng et al. 2014, PLOS Biology 12: e1001904)。更に雄株での *VcMID* 機能抑制の程度の弱い株では、一つの個体で卵と精子の両方が形成される雌雄同体の表現型が観察された。しかし、以上の研究も含めて卵生殖のボルボックスの性に関する分子遺伝学的研究はモデル種 *V. carteri* だけを用いたものであり、*V. carteri* と系統の異なるボルボックスの種や雌雄同体の種における性関連の遺伝子の情報はほとんどなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では雌雄異体のボルボックスモデル種 *Volvox carteri* で示唆された性決定遺伝子 *MID-OTOKOGI* ホモログの雌雄同体・異体の転換進化への関与を、我々が最近確立したボルボックス雌雄同体種等の非モデル種の培養株を用いて検証する。即ち、本遺伝子ホモログの「時空間的発現パターンの解析」ならびに「精子形成機能の検証」を実施する。このために本遺伝子ホモログのボルボックス非モデル種での探索と発現解析、更に、遺伝子導入が可能なモデル種 *V. carteri* に非モデル種の *MID-OTOKOGI* ホモログを導入し、本遺伝子の精子形成や雌雄同体・異体の転換進化への関与を直接的に検証する。これらの解析により、雌雄異体・雌雄同体種がどのように進化したのかを性決定・精子形成遺伝子 *MID-OTOKOGI* の進化から明らかにすることを目的としている。

## 3. 研究の方法

本研究課題ではボルボックス非モデル種を用いた *MID-OTOKOGI* ホモログの探索・解析から雌雄同体種・異体種の進化の分子細胞進化学的基盤を明らかにすることを目的としている。このために、以下のような研究方法が実施された。1) ボルボックス非モデル種 3 種の *MID-OTOKOGI* ホモログの探索: 縮重プライマー法による探索、cDNA とゲノム DNA 全長の決定、並びに探索した遺伝子が *MID-OTOKOGI* オーソログであるか系統解析で確認する。2) ボルボックス非モデル種 3 種の *MID-OTOKOGI* ホモログの遺伝子発現解析: mRNA レベルでの *MID-OTOKOGI* 発現の時空間的制御と雌雄異体・同体形成との関連性の解明。

## 4. 研究成果

モデル種の *Volvox carteri* に比較的系統の近い性表現の異なる 2 種、ホモタリック種 *V. africanus* (雌雄同体群体とオス群体を同一クローン株中につくる) とヘテロタリック雌雄異体種 *V. reticuliferus* は非常に近縁なので、ホモタリック種とヘテロタリック種の進化が遺伝子レベルで明らかになる突破口になるのではないかと考えた。本研究では *V. africanus* と *V. reticuliferus*、ならびに、これら 2 種や *V. carteri* とは系統的に大きく離れた「ホモタリック雌雄同体」*V. ferrisii* の *MID/OTOKOGI* オーソログを探索した (Yamamoto et al. Nozaki [員数 9, 9 番目] 2017, PLOS ONE 12: e0180313)。その結果、これらホモタリック 2 種で *MID/OTOKOGI* オーソログの存在を明らかにした。また、得られたホモタリック 2 種とボルボックス科ヘテロタリック数種の *MID/OTOKOGI* の外群からの同義・非同義置換率を調査したところ、同レベルの機能的制約が *MID/OTOKOGI* に働いていることが示唆され、ボルボックスのホモタリック種とヘテロタリック種に共通の「精子形成」という *MID/OTOKOGI* の機能が推測された。更に、ホモタリック *V. africanus* における

mRNA の群体別の発現解析から、雌雄同体群体では *MID/OTOKOGI* の発現が抑制されることが明らかになった。また、ボルボックス系列全体の種を対象とした祖先状態再構成 (Ancestral state reconstruction) を実施し、これら 2 種を含む系統ではヘテロタリックからホモタリックが進化したと推定された (Hanschen et al. Nozaki [員数 6, 5 番目], *Evolution* 72-2: 386)。従って、ヘテロタリックの祖先種のおスから *MID/OTOKOGI* 発現調節機能を獲得してホモタリック種の *V. africanus* が進化したという仮説を提唱した (Yamamoto et al. 2017.)。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

Hanschen, E. R., Herron, M., Wiens, J. J., Ferris, P. J., Nozaki, H. and Michod, R. E. 2018. Multicellularity drives the evolution of sexual traits. *American Naturalist* in press. DOI:10.1086/698301. 査読有

Hamaji, T., Kawai-Toyooka, H., Uchimura, H., Suzuki, M., Noguchi, H., Minakuchi, Y., Toyoda, A., Fujiyama, A., Miyagishima, S., James G. Umen, J. G. and Nozaki, H. 2018. Anisogamy evolved with a reduced sex-determining region in volvocine green algae. *Communications Biology* volume 1, Article number: 17. DOI:10.1038/s42003-018-0019-5. 査読有

Hanschen, E. R., Herron, M., Wiens, J. J., Ferris, P. J., Nozaki, H. and Michod, R. E. 2018. Repeated evolution and reversibility of self-fertilization in the volvocine green algae. *Evolution* 72: 386-398. DOI:10.1111/evo.13394. 査読有

Yamamoto, K., Kawai-Toyooka, H., Hamaji, T., Tsuchikane, Y., Mori, T., Takahashi, F., Sekimoto, H., Ferris, J. P. and Nozaki, H. 2017. Molecular evolutionary analysis of a gender-limited *MID* ortholog from the homothallic species *Volvox africanus* with male and monoecious spheroids. *PLoS ONE* 12(6): e0180313. DOI:10.1371/journal.pone.0180313. 査読有

Nozaki, H., Ueki, N., Isaka, N., Saigo, T., Yamamoto, K., Matsuzaki, R., Takahashi, F., Wakabayashi, K. and Kawachi, M. 2016. A new morphological type of *Volvox* from Japanese large lakes and recent divergence of this type and *V. ferrisii* in two different freshwater habitats. *PLOS ONE* 11: e0167148. DOI: 10.1371/journal.pone.0167148. 査読有

[学会発表](計 6 件)

山本荷葉子、浜地貴志、豊岡博子、新垣陽子、野口英樹、水口洋平、豊田敦、野崎久義 “性進化と多細胞化のモデル生物群「緑藻ボルボックス目」のボルボックス 2 種のゲノム解析”(2018 年 1 月 11 日～12 日、「新学術先進ゲノム支援」2017 拡大班会議、マロウドインターナショナルホテル成田、成田市)

Hanschen, E., Herron, M. D., Wiens, J. J., Ferris, P. J., Nozaki, H. and Michod, R. E. “Evolution of self-fertilization in the volvocine green algae”, The Fourth International *Volvox* Conference (The Donald Danforth Plant Science Center in St. Louis, Missouri, USA, 16-19 August 2017)

Yamamoto, K., Hamaji, T., Kawai-Toyooka, H., Noguchi, H., Minakuchi, Y., Toyoda, A. and Nozaki, H. “Mating type locus-like regions in the homothallic species *Volvox africanus*”, The Fourth International *Volvox* Conference (The Donald Danforth Plant Science Center in St. Louis, Missouri, USA, 16-19 August 2017)

山本荷葉子、森稔幸、浜地貴志、豊岡博子、野崎久義 “ボルボックス雌雄異体・同体種の進化の分子遺伝学的基盤の解明をめざして”(2016 年 9 月 16 日～18 日、シンポジウム「Sex in water and on land～ゲノム解析から見えてきた性の多様性と共通性～」日本植物学会第 80 回大会、沖縄コンベンションセンター、宜野湾市)招待講演

山本荷葉子、豊岡博子、森稔幸、野崎久義 “ボルボックス非モデル種のヘテロタリック及びホモタリックにおける *MID* オートログ解析”(2016 年 3 月 19 日～20 日、日本藻類学会第 40 回大会、日本歯科大学生命歯学部、東京都千代田区)

Yamamoto, K., Mori, T., Kawai-Toyooka, H. and Nozaki, H. “Identification and characterization of the *MID* orthologs from two homothallic species of *Volvox*” (Third International *Volvox* Conference, Centre for Mathematical Sciences, University of Cambridge, Cambridge, United Kingdom, 19-22 August 2015)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.bs.s.u-tokyo.ac.jp/~tayousei/index.html>

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

野崎 久義 (NOZAKI, Hisayoshi)

東京大学・大学院理学系研究科・准教授

研究者番号：40250104