

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007 年 ～ 2008 年

課題番号：19770212

研究課題名(和文)

植物性染色体の進化—雌雄異株と雌性両全性異株を利用した性決定遺伝子の単離

研究課題名(英文)

Evolutionary history of sex chromosomes in dioecious and gynodioecious plants

研究代表者 西山 りゑ (Nishiyama Rie)

独立行政法人理化学研究所・機能開発研究チーム・基礎科学特別研究員

研究者番号：10443003

研究成果の概要：

X, Y 性染色体により性を決定する雌雄異株植物ヒロハノマンテマをもちいて、性染色体遺伝子を単離・マッピングした。X 染色体の組み換え価と Y 染色体欠損変異体をもちいて性染色体遺伝子の遺伝地図を作成し、Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) 解析で決定した物理的位置情報を加えて、X, Y 性染色体の細胞遺伝学地図を作成した。さらに性染色体遺伝子の構造や塩基置換率等の遺伝子配列情報を加えて、性染色体の進化過程で起こった染色体再配列について考察した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,100,000	0	2,100,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	390,000	3,790,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学 ・ 進化生物学

キーワード：

雌雄異株植物、性染色体、進化、ヒロハノマンテマ、細胞遺伝学地図、FISH、染色体再配列

## 1. 研究開始当初の背景

植物のほとんどは雌雄同株（両性花）であるが、雌雄異花（雄花・雌花）あるいは雌雄異株（雄株・雌株）も全植物種の約 5% 存在している。雌雄異株になるまでの遺伝的な

進化は次のように考えられている。雌雄同株（両性花）であった植物に劣性の雄性不稔変異が起こり、雌雄同株・雌株が混在する雌性両全性異株ができた。その後、優性の雌性不稔変異が生じ、雌雄同株・雌株・雄株が混在する三性株となるが、この中で異株化した雌

株・雄株は雌雄同株より生存に有利となり、雌雄同株が消失して雌雄異株が確立した。つまり、植物では元々雌雄同株（両性花）のシステムが存在し、雄性不稔変異によって雌株が、雌性不稔変異によって雄株が生じた。しかし、この雌雄異株化の進化モデルは遺伝学実験より得られたもので、分子レベルでの解析は進んでいなかった。

ナデシコ科シレネ (*Silene*) 属には雌雄同株のヒメシラタマソウ (*S. conica*)、雌性両全性異株のシラタマソウ (*S. vulgaris*)、雌雄異株のヒロハノマンテマ (*S. latifolia*) の 3 種が混在する。これら 3 種は遺伝的に非常に近く、近年 (2000 万年前以降) になって雄性および雌性不稔変異が起こったと考えられている。遺伝的に性決定されるが、まだ性染色体が確立していない原始的な植物である。雌株は劣性の雄性不稔変異をもち、雌雄同株は変異をもたないと考えられるが、まだその原因遺伝子である雄性不稔遺伝子 (雌性決定遺伝子) は単離できていなかった。

一方、雌雄異株ヒロハノマンテマは、雄株は XY、雌株は XX の性染色体を持ち、環境条件に左右されることなく性染色体が厳密に性を決定する。性染色体上の性決定遺伝子が、雌雄生殖器官のどちらかの発達を抑制することにより、雌雄別々の単性花を作ると考えられている。ヒロハノマンテマでも X/Y 染色体を比較することにより性決定遺伝子の単離が試みられてきたが、いまだ同定されていない。最近、ヒロハノマンテマの雄株を DNA メチル化阻害剤で処理すると雄株が雌雄同株 (両性花) になるという擬似性転換が起こることが報告された。この擬似性転換現象はゲノム DNA の脱メチル化により雌性不稔変異が回復し、雄株が雌雄同株になったために起こると考えられるが、まだその原因遺伝子である雌性不稔遺伝子 (雄性決定遺伝子) は単離できていなかった。

## 2. 研究の目的

### (1) 雌性不稔遺伝子 (雄性決定遺伝子) の単離

ヒロハノマンテマ雄株で DNA メチル化阻害剤処理実験を行い、雌雄同株の系統を確立するため戻し交雑を行う。メチル化感受性制限酵素をもちいて AFLP マーカーを探

索することで、雌性不稔変異の回復に連鎖している脱メチル化部位をマッピングできるので、その近傍に位置する雌性不稔遺伝子 (雄性決定遺伝子) を探索する。

### (2) 雄性不稔遺伝子 (雌性決定遺伝子) の単離

シラタマソウの雌株 (劣性雄性不稔変異) と連鎖地図が作られている雌雄同株 (変異無) の系統と交雑させ、近傍マーカーを探索する。そのマーカーをもちいて雌株の雄性不稔変異をマッピングし、近傍に位置する雄性不稔遺伝子 (雌性決定遺伝子) を探索する。

### (3) 性決定の分子メカニズムの解明

ヒロハノマンテマでは、シロイヌナズナの花芽形成遺伝子のホモログが既に単離され、両性花と同じ花形成システムを性決定遺伝子が調節して雄花・雌花を分化させていると予想されている。雄性・雌性決定遺伝子と花芽形成遺伝子との相互関係を調べ、性決定の分子メカニズムを明らかにする。

### (4) 性染色体の進化モデルの検証

雌雄同株のヒメシラタマソウ、雌性両全性異株のシラタマソウ、雌雄異株のヒロハノマンテマの 3 種のゲノム中で、雄性・雌性決定遺伝子がそれぞれどこに位置するかを調べ、常染色体の 1 つが性染色体へと変化していったという性染色体の進化モデルを検証する。

## 3. 研究の方法

(1) 雌性両全性異株のシラタマソウの雌株を他のエコタイプの両性株と戻し交雑し、F<sub>2</sub> 世代で雌株となるラインを確立する。

(2) 雌雄異株のヒロハノマンテマの雄株に DNA メチル化阻害剤を処理し、両性花になったものと他のエコタイプの雌株を戻し交雑し、F<sub>2</sub> 世代で両性花となるラインを確立する。

(3) ヒロハノマンテマの X, Y 染色体は一部分 (PAR) 以外相同組換えしないので、性染

色体遺伝子ではコード領域以外の部分で X, Y 間で大規模な DNA 挿入や欠失が起こっている。この X, Y 間での遺伝子構造の違いを利用して、性染色体遺伝子を単離する。

- (4) ヒロハノマンテマの花形成遺伝子を単離し、性染色体遺伝子との相互関係を調べ、性決定の分子メカニズムを明らかにする。
- (5) 性染色体遺伝子の性染色体上での位置をマッピングし、遺伝子構造と塩基置換率等の情報を加えて、性染色体の進化過程を考察する。

#### 4. 研究成果

- (1) 雌性両全性異株のシラタマソウの雌株を 4 株得ることができたが、その雌株の雌花は稔性が低く、その子世代(F1)で実験に必要な種子を得ることができなかった。
- (2) 雌雄異株のヒロハノマンテマの雄株に DNA メチル化阻害剤を処理して、両性花になる株が得られなかった。
- (3) 雌雄異株のヒロハノマンテマの花形成遺伝子 *SIAP3* にはイントロンのサイズや配列が大きく異なる 2 種類の遺伝子が存在する。この 2 つの遺伝子 (*SIAP3Y*, *SIAP3X*) がそれぞれ X, Y 性染色体上に存在することを、2 系統間の多型を利用した segregation analysis により明らかにした。
- (4) Y 染色体上の *SIAP3Y* 遺伝子は雄花の雄蕊と花弁で、X 染色体上の *SIAP3X* 遺伝子は雄花・雌花の雄蕊・雌蕊・花弁で発現しており、ヒロハノマンテマの花形成に関わっていることが示唆された。
- (5) *SIAP3* 遺伝子以外にもヒロハノマンテマの性染色体遺伝子が報告されているので、*SIAP3X* を含めた X 染色体遺伝子をもちいて組み換え価を求め、X 染色体の遺伝地図を作成した。Y 染色体欠損変異体をもちいて作成された Y 染色体遺伝地図と比

較し、性染色体遺伝子の X, Y 染色体上での位置関係を明らかにした。

- (6) Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) 解析により決定した *SIAP3Y*, *SIAP3X* 遺伝子の物理的位置情報を加えて、X, Y 性染色体の細胞遺伝学地図を作成した。さらに性染色体遺伝子の構造と塩基置換率から、性染色体の進化過程で起こった染色体再配列について考察した。

#### 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 2 件)

- ① Ehrlich M., Sanchez C., Shao C., Nishiyama R., Kehrl J., Kuick R., Kubota T., & Hanash S.M. ICF, an immunodeficiency syndrome: DNA methyltransferase 3B involvement, chromosome anomalies, and gene dysregulation. *Autoimmunity* 41:253-271 (2008) (査読有)
- ② Kazama Y., Fujiwara M., Koizumi A., Nishihara K., Nishiyama R., Kifune E., Abe T. & Kawano S. A SUPERMAN-like gene is exclusively expressed in female flowers of the dioecious plant *Silene latifolia*. *Plant Cell Physiology* 50:1127-1141 (2009) (査読有)

[学会発表] (計 3 件)

- ① 西山りゑ、ABA 依存性ストレス応答経路で働く NAC 転写因子の翻訳後調節、日本植物生理学会、2008 年 3 月、札幌
- ② Rie Nishiyama, Post-translational Regulation of Stress-Responsive NAC Transcription Factors, A Meeting of Plant Abiotic Stress Tolerance, 2/10/2009, Vienna, Austria
- ③ 西山りゑ、ストレス応答性 NAC 転写因子 RD26 の翻訳後調節、日本植物生理学会、

2009年3月、名古屋

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西山 りゑ (Nishiyama Rie)

独立行政法人理化学研究所・機能開発研究チ

ーム・基礎科学特別研究員

研究者番号： 10443003