

研究報告書

「カキ属をモデルとした環境応答性の性表現多様化機構の解明」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 2015 年 12 月～2019 年 3 月

研究者: 赤木 剛士

1. 研究のねらい

「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。しかし、性という概念は同じであっても、動物では一個体につき一つの性が与えられるが、植物では一個体の中で花単位に性が与えられるため、自然界における性表現様式は非常に多様化しており、多くの性表現において雌雄のバランスは内外の環境的要因に支配される。性表現は作物の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が、植物の性決定機構については知見の蓄積は非常に乏しい。条件・環境によらず植物の持ち得る潜在的な性表現を自由自在に操る技術は多くの課題を解決し、同時に、本来は存在しない性表現を誘導することで作物の新たな形質を開拓できる可能性がある。

本研究は植物において性別決定遺伝子が初めて同定されたカキ属をモデルとして、二倍体野生種の「画一的」な性決定システムから六倍体栽培ガキにおける「揺らぎのある」環境適応性の性表現への進化過程を紐解き、植物において潜在的に多様な性表現を人為的に制御する可能性を追求するものである。また、これは同時に、栽培化や倍数化といった植物の進化において重要な役割を果たすキーイベントにおいて性表現が可塑性・多様性を獲得していく適応進化過程を明らかにするものでもある。さらに本研究では、カキ属とは独立した性別決定因子を有する他科植物における性決定メカニズムおよびその性における環境適応性や進化機構を比較することで、植物の性決定における機作・進化の多様性と一般性を定義することも目的とする。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究では、植物の性表現多様化機構の解明に取り組んできた。ここでは、カキ属における「画一的」な個体単位の性表現が、倍数化・栽培化を経て、「可塑的」な花単位の性表現・両全性を成立させた要因を紐解くとともに、カキ属と同じツツジ目において独立した性決定機構を成立させたキウイフルーツ(マタビ属)における性別決定遺伝子を同定し、カキ属とのゲノムワイドな比較・進化学的な観点から植物における性決定多様化の要因を捉えた結果を報告する。

(i) カキ属における性表現の揺らぎを決定する要因の解明

六倍体の栽培カキにおける可塑的な花単位の性表現は、カキ属の性決定因子であり small-RNA をコードする *OGI* とその標的である *MeGI* 間に潜在する DNA メチル化の発生・維持・解除に依存しており、このエピジェネティックスイッチは二倍体野生種では見られない、倍数体栽培カキに特異な現象であることを明らかにした。さらに、個体内の雌雄花比にバイアス

を生じる多様な品種群および交雑分離集団群におけるゲノムワイドアソシエーション (GWAS) 解析によって、この *OGI/MeGI* のエピジェネティック制御の安定性に関与すると考えられる染色体領域およびその中に存在する候補遺伝子群を同定した。また、栽培カキの雌雄分化期花器官における大量トランスクリプトームデータを用いた共発現ネットワーク解析によって、*OGI/MeGI* の制御する分子経路を明らかにした。さらに、*MeGI* が雄性・雌性器官それぞれに独立した遺伝子経路を一括して逆向きに制御することにより、単一因子として単性花を成立させる機構を明らかにした。

(ii) カキ属とマタビ属における性の進化：植物の多様な性決定に潜む一般性

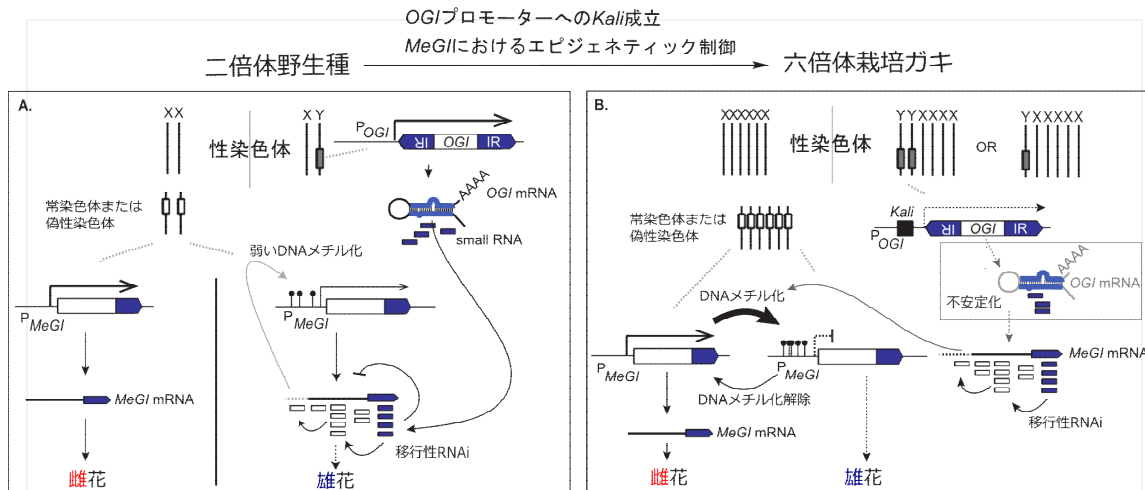
本研究ではキウイフルーツを含むマタビ属の性別決定因子の一つ *Shy Girl* を同定し、この遺伝子がマタビ属特異的な全ゲノム倍化とその後の適応進化における早急な新機能獲得に由来することを明らかにした。この性別決定因子の成立要因はカキ属にも共通するものであり、本研究では、全ゲノム解読によってカキ属における性の成立を積極的に駆動する原因となった系統特異的な全ゲノム倍化 (古倍数化) の存在を明らかにした。

(2) 詳細

「カキ属における性表現の揺らぎを決定する要因の解明」

カキ属における性別決定因子 *OGI* は雌化を統御する *MeGI* を trans-acting small-RNA によって分解することで性別を制御している。しかし、個体単位の性を持つ二倍体野生種とは異なり、六倍体栽培カキでは、*OGI* をゲノム中に有するにも関わらず、個体中に雌雄花の両者を着生し、環境依存的に両全花を着生する系統も存在する。

本研究では、この内外の環境要因に応答する「性表現の揺らぎ」の要因を解明するため、*OGI/MeGI* の発現の安定性、small-RNA の蓄積パターンを精査し、個体中の花単位の性表現がこれら二つの最上流因子における不安定性によって生じることを明らかにした。*OGI* を起点とする *MeGI* における small-RNA の蓄積パターンは二倍体-六倍体間において保存されていたが、六倍体では雄花運命をたどる原基でのみ small-RNA が蓄積しており、その発生・維持パターンから、DNA メチル化と small-RNA のポジティブフィードバックを中心とした *MeGI* の発現制御機構が考えられた。さらに、*OGI* の不安定性はプロモーター領域における SINE 様レトロトランスポゾン *Kali* の挿入とそれに伴う高度 DNA メチル化によって引き起こされていることが明らかになった。*Kali* は多様な六倍体栽培カキの *OGI* アレル全てにおいて保存されており、集団遺伝学的解析により、倍数化時の強いボトルネック要因となっている可能性が示唆された。以上により、倍数体栽培カキでは、第 1 図に示すような *OGI/MeGI* それぞれのエピジェネティックスイッチによって花単位の性運命が決定するモデルが考えられた。さらに、これらの *OGI/MeGI* におけるエピジェネティックスイッチの制御に関与する遺伝的因子の同定を目指し、本研究では個体内の雌雄花の比率にバイアスを生じる栽培カキ交雑分離集団および品種群における GWAS 解析を実施した。その結果、不活化した *OGI* の始動 (発現) に関わると考えられる 5 つの遺伝領域と、その中に存在し、雌雄分化期の花芽で有意に発現する候補遺伝子群を同定した。



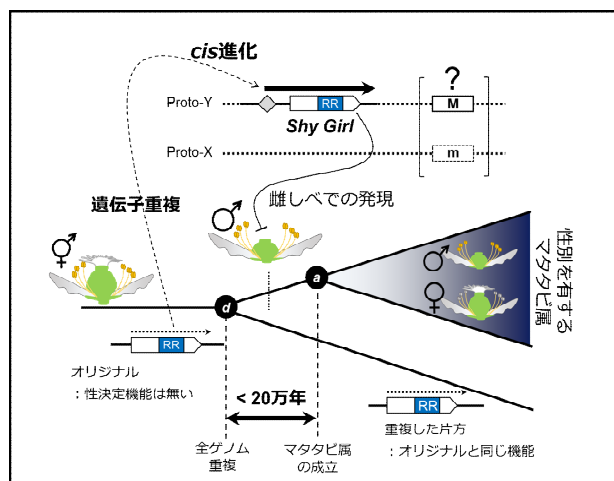
第1図: 二倍体野生種から六倍体栽培カキへの進化における可塑的性表現の成立モデル

また、六倍体栽培カキの雌雄分化期における花器官を用いたトランスクリプトーム解析によって、OGI/MeGI が雌雄器官発達を制御する分子機構を明らかにした。栽培カキの雌器官では class 1 *KNOX* 遺伝子群、*OVATE* family 遺伝子群およびそれに付随するサイトカニンシグナルを中心として雌雄間で発現差が生じており、これは *MeGI* がこれらの遺伝子群を直接的に正に制御しているためであると考えられた。一方、雄器官では、*MeGI* が直接的に正の発現制御を行う *SHORT VEGETATIVE PHASE* (*SVP*) が中核的な役割を果たし、下流の *PISTILATA* (*P*) などの Class B 遺伝子を負に制御するという分子機構が見出された。以上をまとめると、*MeGI* という単一因子による二方向性の雌雄器官制御モデルが考えられ、これは植物の性決定における代表的な進化モデルである二因子説 (Charlesworth and Charlesworth, 1978) とは異なる独自の進化様式を提案するものである。

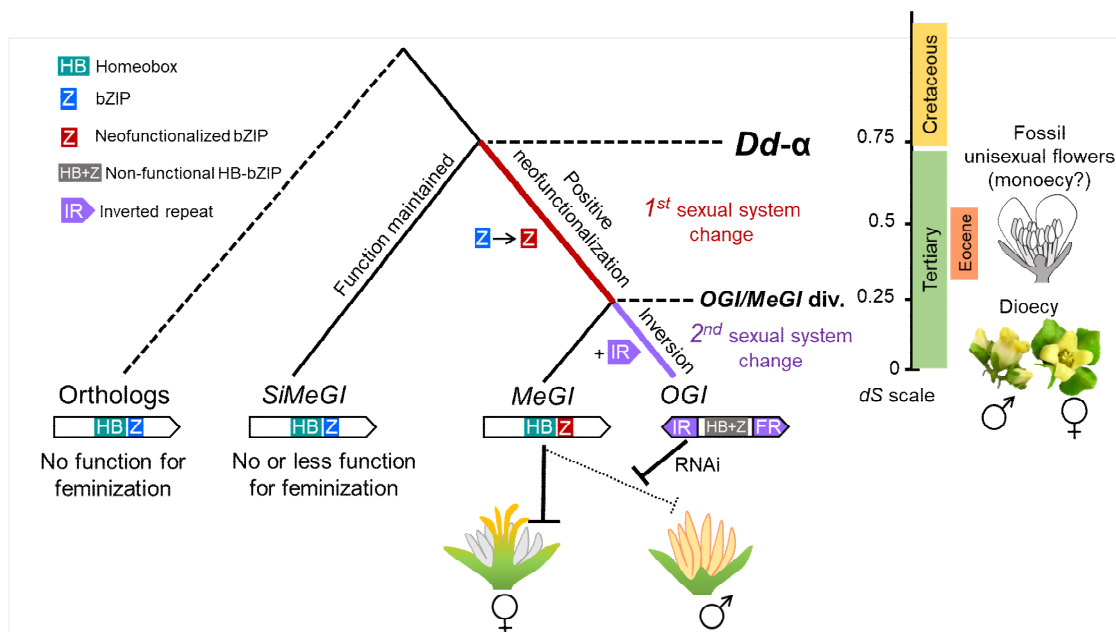
「カキ属とマタタビ属における性の進化: 植物の多様な性決定に潜む一般性」

本研究では、カキ属との比較研究のため、同じくツツジ目に属し、カキ属とは独立した性別決定機構を有するキウイフルーツ(マタタビ属)における性決定遺伝子の同定を行った。キウイフルーツにおいて *Shy Girl* と名付けた性別決定遺伝子を同定し、その生理機作がサイトカニンシグナルの抑制であることを明らかにした。*Shy Girl* はマタタビ属に特異な全ゲノム倍化とその後の積極的な発現パターン変化によって新機能を成立させた性別決定遺伝子であり(第

2 図)、その系統特異性は特異的古ゲノム倍化(古倍数化)に依存していることが示唆された。



第2図: マタタビ属の性決定因子 *Shy Girl* の成立機構。系統特異的なゲノム倍化から性別を有するマタタビ属の成立まで僅かな時間しかなく、積極的に *Shy Girl* の新機能獲得が起こったことがうかがえる



第3図: カキ属における系統特異的な性別獲得の進化モデル

系統特異的な古ゲノム倍化 (*Dd-α*) に起因して *MeGI* は正の選択圧のもと、雌化の新機能を得て、単性花への進化に寄与したと考えられる

興味深いことに、同様の進化機構はカキ属でも見られ、カキ属の二倍体種であるマメガキの全ゲノム解読からカキ属に特異な古全ゲノム倍化の存在が明らかになり、*MeGI* はこのゲノム倍化によって生まれた重複遺伝子が正の選択圧を受けて積極的に性別決定という新機能を獲得した遺伝子であることが明らかになった(第3図)。つまり、カキ属とマタタビ属が比較的近縁であるにもかかわらず、独立した性決定機構を成立させている要因は、それぞれが独立した古ゲノム倍化によって性別決定因子を成立させているからであり、これは、植物に特徴的な「系統特異的かつ頻繁に起こった全ゲノム倍化・遺伝子重複」が性別の成立を駆動している進化理論を提案するものである。これまでに性別決定遺伝子(候補)の同定されているアスパラガス・野生イチゴにおいても同様に、ゲノム断片重複・トランスポゾン様重複断片が性別成立の鍵となっており、多様な性進化を駆動する一般性が提案されている。

3. 今後の展開

カキの多様な性表現を駆動しているエピジェネティックな揺らぎは倍数化によってもたらされたものであり、これはカキ属に限らず、植物一般においてみられる共通現象である。現在進めている GWAS 解析・遺伝子ネットワーク発現解析結果などを統合することにより、*OGI/MeGI* の個体内におけるエピジェネティックスイッチの制御機構および成立機構が明らかになり、さらに二倍体野生種との比較解析によって、倍数化を鍵としたゲノム・エピゲノムの揺らぎ獲得という、より大きな視野の研究分野に寄与できると考えている。

また、本研究では植物種間で多様な性別決定機構の分子機作を明らかにしてきたが、その多様性の中にあって、進化の共通性があることを見いだしており、さらに、その生理機作にも一定の共通点が見られている。例えば、キウイフルーツの性決定二因子はいずれも遠縁のモデル他科植物群においても性決定因子として機能することが分かっており、遺伝子編集など

を通して、本来は画一的に両全性を示す植物群であっても、潜在的に多様な性表現を再現することが可能であると考えられる。性表現の多様な方向性への人為的改変は実農業に寄与し、研究モデルとしての活用も考えられる。

4. 自己評価

研究全体としては予定通りに計画を達成できたと思われる。カキ属のエピジェネティックな揺らぎに關与する遺伝因子・環境因子の同定に關しては現在進行中であり、その結果は各因子の機能証明の後に公表予定である。また、本来は計画されていなかった植物の性別を生むゲノム進化の一般性に関しても結果が得られており、概ね順調に研究は遂行できたと考えている。

研究はさがけ採用期間全体で、合計 2 名の学生とともに実施しており、研究費の多くを計画されていた他種オミクスに充てることができたため、多角的な解析手法の検討が可能であった。申請者は本さがけ領域内および隣接領域(情報協働栽培)における共同研究も実施しており、その中では本来は申請者が専門外とする多くの技術・知識を習得することが出来た。これは、さがけ研究者として、研究成果以上の価値を持つものであると認識しており、今後はこれらの融合技術の発展・普及に努める責任も感じている。

本研究成果は、植物種間の多様な性別決定機構や、種内の進化における性の可塑性・多様化機構を明らかにしたものであり、その生理機作やゲノム進化には一般性が見え隠れしていた。植物の性別決定・性多様化に関する分子レベルの研究は始まったばかりであり、本研究はそれを先導するものであると自負しているが、今後は、多岐にわたる植物において、それらが共通して持つ潜在的な性表現多様化の可能性を明らかにするとともに、多様な性表現を人為的に引き出す技術を構築していきたいと考えている。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. **Takashi Akagi**, Isabelle M. Henry, Takashi Kawai, Luca Comai, Ryutaro Tao. Epigenetic regulation of the sex determination gene *MeGI* in polyploid persimmon. *Plant Cell*. 2016, vol. 28, p2905–2915.
2. **Takashi Akagi**, Takashi Kawai, Ryutaro Tao. A male determinant gene in diploid dioecious *Diospyros*, *OGI*, is required for male flower production in monoecious individuals of oriental persimmon (*D. kaki*). *Scientia Horticulturae*. 2016, vol. 213, p243–251.
3. **Takashi Akagi**, Isabelle M. Henry, Haruka Ohtani, Takuya Morimoto, Kenji Beppu, Ikuo Kataoka, Ryutaro Tao. A Y-encoded suppressor of feminization arose via lineage-specific duplication of a cytokinin response regulator in kiwifruit. *Plant Cell*. 2018, vol. 30, p780–795.
4. Yang Ho-Wen, **Takashi Akagi**, Taiji Kawakatsu, Ryutaro Tao. Gene networks orchestrated by *MeGI*: a single-factor mechanism underlying sex determination in persimmon. *Plant J*. 2019, <https://doi.org/10.1111/tpj.14202>.

(2)特許出願

研究期間累積件数: 0 件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. 「キウイフルーツの性別決定遺伝子を発見 ―植物が「性別」を獲得した進化過程の解明へー」 2018 年 4 月 11 日(プレスリリース)
2. **Takashi Akagi**. Diversification of sexual system: insights from the persimmon genome. *The Society for Molecular Biology & Evolution* 2018. 2018 年 7 月 10 日(招待講演)
3. **Takashi Akagi**. The persimmon genome unveils lineage-specific paleoduplication events driving diversification of sexual systems. *Plant and Animal Genome Conference XXV*. 2018 年 1 月 14 日(招待講演)
3. **Takashi Akagi**. Evolution of flexible sex determination system in polyploid persimmon. XIX International Botanical Congress. 2017 年 7 月 24 日(招待講演)
4. Isabelle M. Henry, **Takashi Akagi**, Ryutaro Tao, Luca Comai. One hundred ways to invent the sexes: theoretical and observed paths to dioecy in plants. *Annu Rev Plant Biol.* 2018, vol. 69, p553–575. (総説)
5. **赤木剛士**. 種子植物における性決定の多様性. 化学と生物. 2017. vol. 55, p35–41. (著書)
6. **赤木剛士**. 「植物の性」. 遺伝子から解き明かす- 性の不思議な世界. 2019. P421–474. 田中実 編著, 一色出版(著書)