

機関番号：34419

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20510185

研究課題名 (和文) 一倍体ゲノムにおける性染色体の進化

研究課題名 (英文) Evolution of sex chromosomes in haploid genome

研究代表者

大和 勝幸 (YAMATO KATSUYUKI)

近畿大学・生物理工学部・准教授

研究者番号：50293915

研究成果の概要 (和文)：本研究で注目するY染色体領域に存在する遺伝子のうち、8個は発現パターンから必須遺伝子と予測される。これらのうち、M547D3.1 のホモログであるM547D3.1F がX染色体にも存在する。他の7個の遺伝子についてもX染色体にホモログが存在すると期待された。JGI より提供されたゲノムデータを解析した結果、これらの7遺伝子以外の39遺伝子についてもそのX染色体ホモログと考えられる候補を得ることができた。

研究成果の概要 (英文)：Among the genes identified in the Y chromosomal region under investigation, eight appears to have essential functions and thus are expected to have their homologs on the X chromosome. In fact, the Y-chromosomal M547D3.1 gene has its X-chromosomal partner M547D3.1F. Additional 39 X-chromosomal counterparts were obtained from female genomic data provided from JGI.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：植物分子遺伝学

科研費の分科・細目：ゲノム科学・基礎ゲノム科学

キーワード：コケ植物、性染色体、半数体、雌雄異株、基部陸上植物

## 1. 研究開始当初の背景

性染色体であるX染色体とY染色体は、祖先染色体の対が非対称に性決定遺伝子を獲得し、その結果生じた原始性染色体間の組換えが抑制されて成立したと考えられている。Y染色体を含むゲノム構造が明らかにされたヒトなどの二倍体生物では、Y染色体が遺伝子を失いつつある(退化)ことが報告されている(Skaletsky et al., *Nature*, 423: 825-837, 2003 他)。性染色体の進化に関する理論はこれまでも研究され、二倍体生物についてはヒトやショウジョウバエなどを用

いた研究が広く実施されてきた。しかし、組換えが抑制されると何故Y染色体が退化するかについてはまだよくわかっておらず、いくつかの仮説が提唱されているに過ぎない(Charlesworth & Charlesworth, 2000)。

一倍体生物にも性染色体をもつものがあり、XY間での組換えが起こらないのは二倍体生物と共通である。しかし、雄にはY染色体のみ、雌にはX染色体のみ存在する点が二倍体生物の性染色体構成とは異なる。一倍体生物における性染色体の進化については Bull ("Evolution of Sex Determining

Mechanisms", Benjamin-Cummings, 1983) が以下の仮説を提唱している。

- (1) Y染色体もX染色体も性染色体としては同等
- (2) 退化するY (X) 染色体上の遺伝子は、基本的に雄 (雌) には必要のないもののみ

しかし、一倍体の性染色体に関する研究はほとんど無く、申請者らのY染色体の報告がゲノムレベルの解析としては初めてのものであった (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104: 6472-6477, 2007)。

本研究は、性染色体の遺伝的相互作用が二倍体と一倍体とで質的に共通する部分 (「組換えの抑制」) と異なる部分 (「X Y染色体の共存の有無」) があることに着目し、一倍体における性染色体の進化を明らかにすることで、相同組換えが抑制された性染色体一般の進化プロセスをよりよく理解できると考えた。

## 2. 研究の目的

雌雄異株である一倍体生物ゼニゴケのXおよびY染色体を用いて上記「Bullの仮説」を検証する。申請者らがこれまで明らかにしたゼニゴケY染色体の塩基配列のうち、

- (1) 精子形成に関与する遺伝子 (雄のみで必須=雌では偽遺伝子化している可能性)
- (2) 偽遺伝子 (雄で不要=雌のみで必須である可能性)
- (3) 必須遺伝子 (雌雄両方で必須)

および機能未知遺伝子を合わせて20個含む、比較的遺伝子密度の高い約500 kbの領域に注目する。X染色体上の対応する領域 (推定約500 kb) の塩基配列を取得し、Y染色体と比較する。さらに、X染色体において、(1) は偽遺伝子化、(2) および (3) は正常な遺伝子として発現しているかどうかを組織特異性も含めて解析し、Bullの仮説について検証する。

## 3. 研究の方法

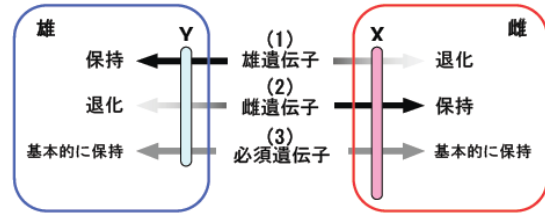
雌雄異株である一倍体生物ゼニゴケのXおよびY染色体を用いて、一倍体における性染色体遺伝子の進化に関するBullの仮説を検証する。申請者らがこれまで明らかにしたY染色体の塩基配列のうち、比較的遺伝子密度の高い約500 kbの領域 (YR2:Contig-Aの2.0~2.5 Mb付近; Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104:6472-6477, 2007) に注目する。この領域には

- (1) 精子形成に関与する遺伝子 (雄のみで必

須)

- (2) 偽遺伝子 (雄で不要)
- (3) 必須遺伝子 (雌雄両方で必須)

など、20個の遺伝子が存在することがわかっている。



一倍体における性染色体遺伝子の進化に関する仮説

Bullの仮説が正しければ、これらの遺伝子は基本的にX染色体にも存在し、それぞれ

- (1) 偽遺伝子化
- (2) 生殖器のみで発現
- (3) 葉状体・生殖器の両方で発現

していると期待される。比較のために、X染色体上の対応する領域約500 kb (推定) の塩基配列を取得する。次いでY染色体の塩基配列と比較し、各X染色体遺伝子について発現の組織特異性を解析する。

2008年に、米国エネルギー省 Joint Genome Institute (以下 JGI) によりゼニゴケ全ゲノム・ショットガン・シーケンシングが実施されることになった (プロジェクト概略は以下の URL 参照 :

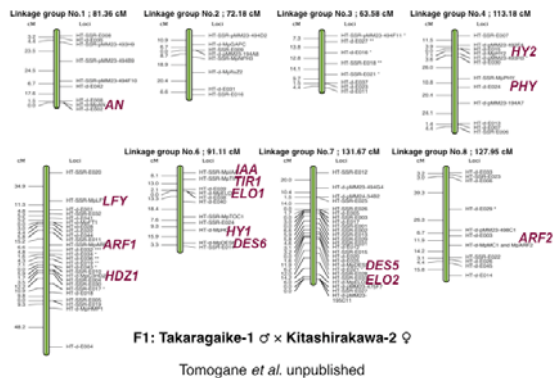
<http://www.jgi.doe.gov/sequencing/why/CSP2008/mpolymorpha.html>)。申請者はプロジェクトメンバーの一人として参画し、申請者自身が戻し交配によって作製した雌株 (BC4) についてシーケンスが決定される予定である。これを受けて、計画を以下のように設定する。

平成20年度は、注目するX染色体領域に特異的なマーカーを作製する。平成21年度以降は、前年度に得られたマーカーを起点とし、注目するX染色体配列をJGIのデータから抽出・統合する。塩基配列が不完全な部分についてはゲノミックライブラリから適当なクローンを選抜して解析、補完する。X染色体の遺伝子が同定され次第 RT-PCR による発現解析を行う。

## 4. 研究成果

ゼニゴケ標準系統について、約30万のEST情報を基に、既に保有しているPACゲノミッククローンの末端配列情報と合わせ、それらの塩基配列情報に基づく標準系統雄株および雌株間での多型を調べた。これまでに dCAPS (derived cleaved amplified

polymorphic sequences) および SSR (simple sequence repeats) マーカーを合計 113 個作成し、そのうち 110 個を用いて全長約 900 cM の遺伝地図を作成した。連鎖群の数は 8 となり、ゼニゴケの常染色体数と一致した (下図)。



これにより、米国 JGI 等との国際共同研究で得られる予定の全ゲノムデータを染色体ごとに振り分けることが可能となる。さらに全ゲノム解析の予備実験として、JGI 他と共同で 30 個の PAC クローンの塩基配列を決定し、その評価を実施した。得られた配列は合計 3.3 Mb であり、その中に 213 個のタンパク質コード遺伝子を見いだした。これらのうち 1/5 は EST 情報のみに基づくものであった。また、6 個の tRNA 遺伝子も見いだした。遺伝子密度は 0.7 個/10 kb と見積もられた。レトロトランスポゾン等の転位因子の数は少なく、100 kb に 1 個程度であった。

前述の約 30 万の EST 配列をアセンブルしたところ、約 3 万の配列に収束した。完全長 cDNA ライブラリに由来する 5' および 3' EST のペア情報に基づくと、これらの配列は全体として約 17,000 遺伝子をカバーしていると見積もられる。これらのうち、elongation factor 1a 遺伝子といった高発現遺伝子 10 個では、コドンの 3 番目の塩基に G あるいは C が出現する頻度が高くなっていた。今回得られた EST 情報にゼニゴケ既知遺伝子を加えた約 19,000 配列に対する他生物種のオーソログあるいはオーソロググループを探索したところ、ほぼ全てについて対応するものが見いだされた。これらのうち、植物 (緑藻を含む) 特異的な約 1,800 オーソロググループについて調べたところ、それらの約半数が陸上植物に特異的であった。興味深いことに、陸上植物特異的なオーソロググループの約半数が同じコケ植物であるヒメツリガネゴケには見いだされなかった。

本研究で注目する Y 染色体領域に存在する遺伝子のうち、8 個は発現パターンから必須遺伝子と予測されている。そのうち、M547D3.1 のホモログである M547D3.1F が X 染色体にも存在することが既にわかっている。

他の 7 個の遺伝子についても X 染色体にホモログが存在すると期待され、当初はこの 7 遺伝子についてのみ cDNA 等を用いて解析する予定であった。しかし、JGI より提供されたアセンブル前のゲノムデータを解析した結果、さらに 39 個の Y 染色体遺伝子についてもその X 染色体ホモログと考えられる候補を得ることができた。一方、RDA 法によるマーカー単離については、その効率を上げるため、Tak-1 を Tak-2 に戻し交配した BC3 系統を作成した。しかし、研究代表者の異動に伴う移転作業のために研究に遅れが生じ、RDA 法による X 染色体連鎖配列の候補は得られていない。

一方で、平成 23 年 3 月に JGI より最初の子備的なゲノム・アセンブリ情報を入手した。既存の 6 個の X 染色体マーカーについて調べたところ、全てについて対応するゲノム配列が見いだされた。これらのマーカーは 4 個のスキヤフォールドに存在し、合計約 3.5 Mb の領域がカバーされていた。また、これらのスキヤフォールドには、少なくとも 14 個の Y 染色体遺伝子のホモログが見いだされた。これらのうち、少なくとも 12 個は葉状体および生殖器で発現していた。これらホモログの X 染色体への連鎖はこれから確認する必要があるものの、必須遺伝子が両方の性染色体に保持されるという Bull の仮説の 1 つを支持すると期待される。

今後、より精度の高いアセンブリ・データに基づいて各遺伝子の発現解析を行うことで、Bull の仮説の検証を進めることができると期待される。

## 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 Chiyoda, S., Ishizaki, K., Kataoka, H., Yamato, K.T., Kohchi, T. (2008) Direct transformation of the liverwort *Marchantia polymorpha* L. by particle bombardment using immature thalli developing from spores. *Plant Cell Rep.* 27:1467-1473.
- ② Ishizaki, K., Chiyoda, S., Yamato, K.T., Kohchi, T. (2008) *Agrobacterium*-mediated transformation of the haploid liverwort *Marchantia polymorpha* L., an emerging model for plant biology. *Plant Cell Physiol.* 49:1084-1091.

[学会発表] (計 8 件)

- ① 友金寛和, 大和勝幸, 千代田将大, 石崎公庸, 鈴木穰, 菅野純夫, 新井理, 小原雄治, 福澤秀哉, 河内孝之, 苔類ゼニゴケにおける分子遺伝学の基盤整備 III <

EST情報の蓄積と遺伝地図の作製>, 日本植物生理学会年会, 2009年3月21日~24日, 名古屋

- ② 石崎公庸, 湯川嘉康, 増田晃秀, 大和勝幸, 河内孝之 苔類ゼニゴケにおける分子遺伝学の基盤整備IV<GatewayバイナリーベクターとT-DNAタグライン>, 2009年3月21日~24日, 名古屋
- ③ Yamato, K.T. The liverwort *Marchantia polymorpha* L.: an emerging model plant for comparative genomics with molecular and genetic tools. Japanese-German Symposium on Evolution and Development, August 25, 2009, Cologne, Germany
- ④ Yamato, K.T. The liverwort *Marchantia polymorpha* L. - an emerging model plant for sexual reproduction research -. Symposium "Intercellular Recognition and Allogeneic Authentication: Perspectives of Reproduction Mechanisms Shared by Animals and Plants", January 14, 2010, Nagoya, Japan
- ⑤ Yamato, K.T. Growing, crossing, and storing *Marchantia polymorpha*. *Marchantia Workshop 2010*, March 10, 2010, Kyoto, Japan
- ⑥ Yamato, K.T. Preview of the *Marchantia* Genome. *Marchantia Workshop 2010*, March 10, 2010, Kyoto, Japan
- ⑦ 大和勝幸 ゼニゴケ-アロ認証研究におけるモデル生物としての可能性, 日本動物学会第81回大会シンポジウム, 2010年9月24日, 東京
- ⑧ 大和勝幸 モデル実験生物ゼニゴケのゲノム情報およびリソースの現状, 日本植物学会第74回大会シンポジウム, 2010年9月10日, 春日井

[図書] (計1件)

大和勝幸 「極小Y染色体-コケの性染色体に印された♂♀の設計図」, 遺伝 2009年5月号, pp. 36-41

[その他]

ホームページ等

<http://www.lif.kyoto-u.ac.jp/marchan2010/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大和 勝幸 (YAMATO KATSUYUKI)  
近畿大学・生物理工学部・准教授  
研究者番号: 50293915

### (2) 連携研究者

河内 孝之 (KOHCHI TAKAYUKI)  
京都大学・大学院生命科学研究科・教授  
研究者番号: 40202056

石崎 公庸 (ISHIZAKI KIMITSUNE)  
京都大学・大学院生命科学研究科・助教  
研究者番号: 00452293