ボルボックス系列緑藻で雌雄が二極化したとき性染色体領域で起きたゲノム進化

学術変革領域B「性染色体サイクル」講演・2022年8月26日金曜日

浜地　貴志（中央大学・研究開発機構）

（座長による紹介）

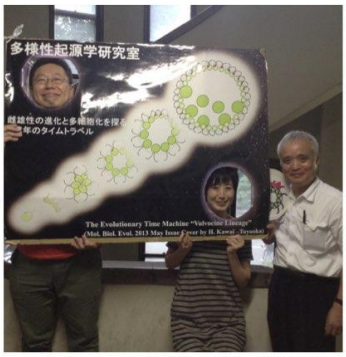
（それでは次のセッションに参りたいと思います、福井県大の風間が座長させていただきます。よろしくお願いします。今回特別講演としまして、中央大学の浜地先生に講演をお願いしております。まず簡単に浜地先生のご略歴をご紹介します。2011年東大の理学研究科の野崎研究室で博士号を取られました。そののち学振PDで京都大学、海外セントルイスのドナルドダンフォース植物科学研究センターで研究を続けられ、現在は中央大学の研究開発機構で研究されています。藻類を主にやっておりまして特に緑藻のボルボックス系列の性の多様性に着目して性染色体関連でも成果を上げていらっしゃいます。日本植物学会に若手奨励賞を受賞されており、その時の発表を聞きまして、非常に研究もすごいし、キャラも立っていた。今回この招待講演を誰にしましょうか？　と言ったときに、発表の広がりという点から、動物・植物、そして藻類へと広げていって、若手の人にも将来入ってもらおうということにありまして、浜地先生にお願いして、講演していただきます）

はじめに

浜地です。今日は性染色体サイクルキックオフ、領域の発足、本当におめでとうございます。特別講演の機会をいただき、まことに光栄に存じます。性染色体の進化について、私も博士号取得前後して研究してまいりました。本日は話題提供になるかと応じさせていただきました。

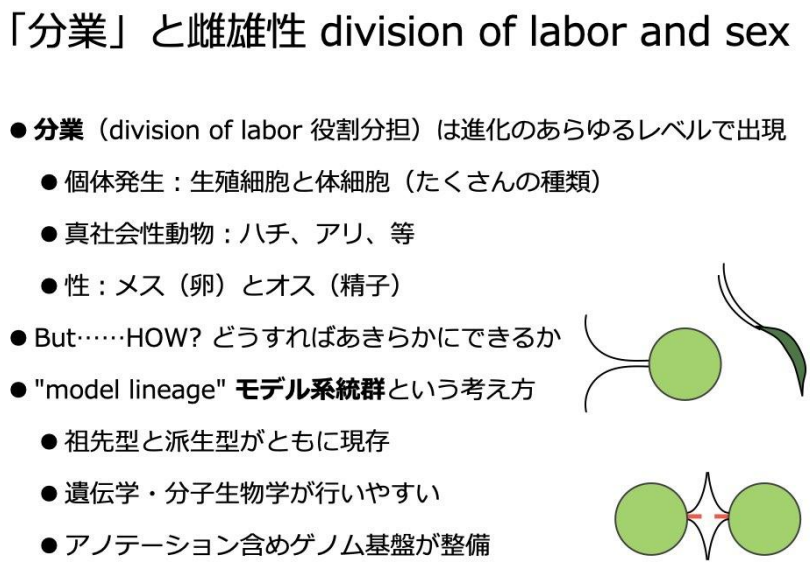
自己紹介

- 東大院理・野崎研で
  学位取得
- ボルボックス系列緑藻の
  ゲノム進化研究を経て
  最近は有性生殖のエボデボへ
- 本研究は野崎博士が主導し、
  遺伝研豊田敦先生らによる
  ゲノム支援を受けて可能と
  なったものであります



浜地　豊岡博子博士（法政大）　野崎久義博士（東大）

ご紹介いただいたとおり、東大野崎研で学位を取得しました。ボルボックス系列緑藻はここに漫画で描いてあります。多細胞であるボルボックスVolvoxと、単細胞のクラミドモナスChlamydomonas、そしてその中間段階にあたる現生の生物群からなる「系列」というものを考えております。そこにゲノム進化学的アプローチで研究した。最近は有性生殖メカニズムの本丸と自分では考えているエボデボ研究の方へと足を進めております。性染色体領域についていくつかわかっていることがありますから、お話させていただきます。本研究につきましては何よりもこの野崎博士のグループ、それからゲノム支援を遺伝研豊田敦先生のグループに2011年からお世話になっております。非常に多数、ゲノム支援をいただいております。ここで、まずお礼を申し上げます。



進化と分業

進化ということについて、私はどういうことに着目しているか？　それは分業 division of labor が進化については非常に多くあるということです。その中で有性生殖というものを考えている。

役割分担というのは、あらゆるレベルで存在する。言うまでもなく、発生生物学、個体発生での生殖細胞と体細胞の分化 germ-soma と、その体細胞の中でも非常にたくさんの種類の細胞が存在して役割分担を行っている。

個体同士でも分業をやるのは真社会性動物という形で有名です。ハチやアリといった昆虫がよく知られていますが、生殖に特化した女王個体と、ワーカーで分業がみられる。

そこからさらに別の個体間について、性というものがあります。つまり、配偶子とそれを形成する個体というかたちでの分業戦略です。メスはすなわち卵を作る性であり、オスはすなわち精子をつくる性である。これもまた一つの分業と考えることができるでしょう。

進化生物学ではこのように、いろいろなレベル、いろいろな切り口で分業に着目しています。

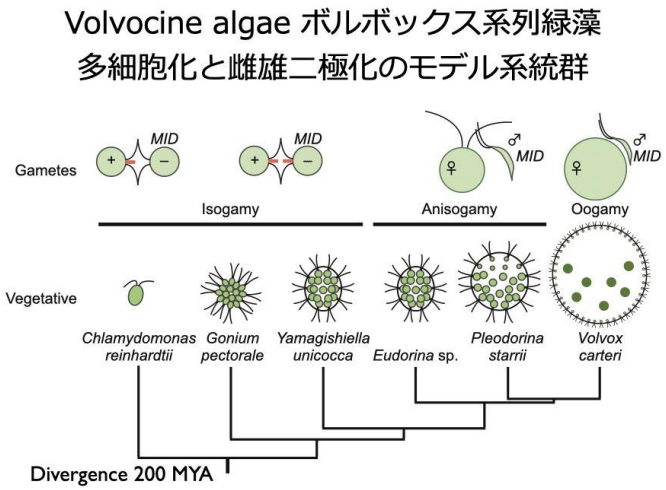
そうした分業体制の出現を、どう明らかにして行けばいいのでしょうか。特に、有性生殖の分業を研究する戦略を考えた時、モデル系統群 model lineage という考え方が有効であろうと考えました。モデル系統群に求められる条件は、大きくいって3つあります。

まず、祖先型と派生型の比較が現生種で可能である。祖先型は同型配偶です。このように両性でサイズや形態に顕著な差がないものです。酵母も同型配偶です。その祖先型である同型配偶の生物と、それから派生型である卵生殖の生物が、ともに現存するような系統であれば、各々の分子機構を同定して比較することによって、どういう遺伝子・タンパク質の変化で卵生殖が出現したのかがわかる。

つぎに、有性生殖過程がどうやって実現しているのか、遺伝学・分子生物学上の手掛かりになる遺伝子・タンパク質に関する知見が蓄積されていてほしい。突然変異体の解析や、局在情報といった知見は、システムとしての生物現象の理解に欠かせません。

最後に、アノテーションを含めたゲノムが整備されているということが望ましい。ゲノム情報が利用可能であれば、有性生殖過程を構成する部品となる遺伝子を、極端な話、BLAST一発、ものの10秒ほどですみやかに比較し推定・同定することが期待できます。

以上のような理由から、モデル系統群の利用が望ましいのです。



ボルボックス系列緑藻は雌雄二極化と多細胞化のモデル系統群

真核生物の系統を見渡し着目したのが、このボルボックス系列緑藻です。

ボルボックス系列緑藻は淡水性です。単細胞のクラミドモナスから、多細胞のボルボックスまで、無性生殖の形態も有性生殖の様式も多様な生物を含む系統群です。この系統群において、クラミドモナスとボルボックスは、2億年前に分岐した (Herron et al., 2009) とされています。

単細胞のクラミドモナスは、2本の鞭毛をもちます。緑藻であるから光合成をする「植物」であると同時に、2本の鞭毛を同時に平泳ぎのように動かしたり、はたまたどちらかに偏らせて動かすことで、ある意味では真核生物の「動物」的な側面を明らかにするうえでも注目・研究されてきました(神谷, 2012)。

この系統では、様々な細胞数、それから細胞体制の、無性生殖の多様性が知られております。さきほどのクラミドモナスのような2本の鞭毛をもった細胞が、ざぶとんのように集まった形をしたゴニウムや、回転楕円形に集合したヤマギシエラやユードリナ、プレオドリナ、そしてこれは有名ですが、ボルボックスですね。ボルボックスは細胞数が数千個になっているというだけでなく、細胞の分化が見られます。本講演の最初に申しました、生殖細胞・体細胞の分化をする。こういう意味でも、重要な系統群であるということができるでしょう。

同時に、有性生殖、すなわち配偶子細胞の形態でも多様性があります。基部で分岐した、いわば側系統が同型配偶ですが、これが祖先型と考えられる。そこから分岐していく中に、両性の配偶子に差が生じてくる。これが、異型配偶です。異型配偶では雌雄ともに運動性がある。雌性配偶子も運動性を失っていません。ただし細胞のサイズには、大きな差がある。

これがボルボックスに至れば雌性配偶子が運動性を失ってしまう。これが卵と呼ばれる形態で、卵生殖と呼びます。

これらの生物のうち、特にクラミドモナスは遺伝学・分子生物学の知見が蓄積されており、モデル生物の地位を確立しているといっていいでしょう。遺伝学のための突然変異体の作出が進められる中で、性とリンク、連鎖するローカスが見いだされたり、有性生殖に失敗するものが見いだされたりしました。これが有性生殖機構や性染色体領域に相当する知見になりますが、あとで説明します。

さらにモデル生物として、クラミドモナスやボルボックスが、JGI（米国エネルギー省）のほうで全ゲノムがすでに15年ほど前には公開され、ゲノムリソースが非常に整備されてきていた(Harris, 2009; Kirk, 2005; Merchant et al., 2007; Prochnik et al., 2010)。

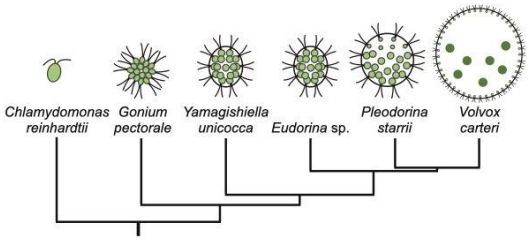
2億年という新しい系統群

こうして先に挙げたモデル系統群としての条件を満たす格好の生物群として、ボルボックス系列緑藻は、真核生物すべてを見渡しても非常に特異な地位にある。

それは、分岐したのが2億年以内であるという点です。この多様化は、非常に新しいため、祖先型から派生型（新奇形質）まで現存している、ということを意味します。

2億年というのは、いつでしょうか。だいたい、三畳紀やジュラ紀にあたります。この時期にはすでに、恐竜と針葉樹が繁栄している。それぞれ後生動物と陸上植物の代表的なものとして当時繁栄していたということは、明らかに多細胞で卵生殖である。これら形質の新奇出現を明らかにするためには、後生動物や陸上植物の系統群は古すぎるのです。

性染色体領域の進化 Evolution of SDR



- 卵生殖・多細胞化の分子基盤解明のため
  ボルボックス系列緑藻で中間的に多様化した生物群の
  de novo ゲノム配列解読を遂行
  - 最初Mating Type Locus (MT)として判明していたクラミドモナスとあわせると
    5属8種9株の性染色体領域 (Sex Determining Region, SDR) が決定された
  - これらの比較から2億年のあいだに起きた
    性染色体領域のゲノム進化現象をたどりたい

ボルボックス系列は新しいですから、それ以後に明らかに多様化してきたものです。これら新奇形質の出現を解明するために、ボルボックス系列緑藻は、またとないモデル系統です。私が特に博士号から研究をやってきた話がこの系統群の性染色体領域の進化でした。

性染色体領域は、この系統で性決定・性分化の遺伝的な基盤になります。卵生殖出現の分子基盤の解明のために、このボルボックス系列緑藻で、中間的に多様化した生物群、同型配偶のゴニウムやヤマギシエラ、そして異型配偶のユードリナという生物群でゲノム配列解読をゲノム支援の枠組みの方で遂行してまいりました。

最初、mating type locusとして、クラミドモナスで性染色体領域 (sex determining region, SDR) というのが通りが良いかもしれません。両性で決定されていた。それに対してさらにボルボックスも含めて、これら5属8種15株の性染色体領域を現在までに決定することができております、これまでのこれまでの研究においてわかってきた決定できたこの性染色体領域の比較から、この2億年という時間の間に起きた性染色体領域のゲノム進化現象を辿ることができるようになりました。

性染色体領域の分類

ここまで発表を伺って非常に興味深かったんですが、今回私の講演で最も違うのは、性染色体領域の分類です。

性染色体領域の多様性というのは3つに分類されるというアイデアが、2011年に出ております(Bachtrog et al., 2011)。これは、雄と雌のどちらが異型接合heterozygousであるかで分類されます。オスが異型、つまりオスがXYであるならXYです。メスが異型であるというのはZWになっている。違うものとしてこれら二倍体です。、一倍体のコケ植物や藻類はUV体制として分類されます。ですから、今回の講演で扱うボルボックス系列緑藻の性染色体領域は、UV染色体に分類されると言うことをまず断っておきます(Coelho et al., 2018)。

単細胞・クラミドモナスの無性生殖と有性生殖

今回扱うボルボックス系列緑藻の有性生殖過程について、ご存じない方が多いと思います。クラミドモナスの細胞周期は一倍体で、vegetative, 無性生殖のサイクルが回ってどんどん分裂してクローン分裂していきます。有性生殖はそこから、クラミドモナスの場合でありますと、窒素飢餓の条件で配偶子誘導がかかります。遺伝的に決まった二つの性・mating typeがある。両性で形態に差がないからです。

これらが融合することによって接合子が形成される。鞭毛が二本ずつある。それが融合すると四本になっています。ここで葉緑体DNAであったり、ミトコンドリアDNAというのが分解される。すなわちこれが単親性遺伝です。そういった現象も起きる、非常に重要な過程です。この後、休眠胞子 zygospore となっていく。これは、二倍体で、細胞壁を肥厚したり、カロテノイドを蓄積することで、休眠することができます。これは乾燥や低温に非常に強い。こうした生活環をクラミドモナスは有している。

有性生殖を行うこの有性生殖の過程における遺伝子制御機構というものを、、少し分解して行きますと、まず配偶子形成を開始する。そして性分化、これが各性で遺伝的に行なわれる。そして

その後、その配偶子細胞が性分化した配偶子細胞同士が融合することによって、接合子の成熟が起きる。

クラミドモナスとボルボックスの性染色体領域

その性決定の遺伝的な基盤である性染色体領域SDRを、ゲノム的なスケールから説明します。クラミドモナスの細胞の中には17本の染色体があり、ゲノムサイズは112 Mbと推定されています。この6番染色体、左腕のところにMTローカスと呼びならわされてきた性染色体領域が存在しています (De Hoff et al., 2013; Ferris et al., 2002; Ferris & Goodenough, 1994)。プラスplus型は300 kb、マイナス型では200 kbのコンパクトな性染色体領域がわかっています。ただ、数十の遺伝子がここにコードされています。それらはハウスキーピング遺伝子も含んでいます。

ボルボックスでゲノム配列決定が2010年に発表されました。このボルボックスでは性染色体領域が非常に大きくなっていた。1 Mbを超えるような領域が、1番染色体の末端に発見されました。これももちろんハウスキーピング遺伝子も含んでいます。この性染色体領域の中は雌雄で構造が変わっていて、大きな違いがあったため、性的二型の拡大、つまり雌雄二極化で性染色体領域がどのような進化史をたどったのか興味を持たれたのでありました。

有性生殖分子機構の重要タンパク質

性染色体領域上にコードされた有性生殖で機能する遺伝子が、遺伝学、それから分子生物学的に判明しています。

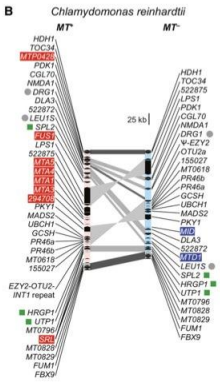
まず重要なのは、マイナス側、あるいはオスといった性を顕性に決定する遺伝子、転写因子として1997年に同定されたのがマイナスドミナンス遺伝子MIDでした(Ferris & Goodenough, 1997)。これは転写因子です。のちにRWP-RKドメインというDNA結合領域と推定される遺伝子をコードしていました。そして、核に局在する。性決定のキーとなる遺伝子であることが同定されていました。

MIDと対になる、プラス側の特異的な遺伝子としてFUS1も同定されています。FUS1は、プラスの性染色体領域にしかコードされていません。これは転写因子ではなく、プラス配偶子の細胞膜上、そのプラス・マイナスの細胞が融合する部位に局在する。これはボルボックスでは失われていました。

その他にも、いくつか、常染色体にコードされているがどちらか一方の性特異的な発現をする、有性生殖機構でキーとなる遺伝子も存在します(浜地, 2014)。

ボルボックス系列緑藻2億年の多様化で性染色体領域に
生じたゲノム進化現象とは？

- 構造変化 structural transition
  - サイズ（特にボルボックスで見られた巨大化）
    size
  - 遺伝子の密度 gene density
  - 逆位や転座、特にいくつかの遺伝子が
    まとまった部分 (syntenic bloc) の有無
- ゲノム中の位置 genomic location
  - あっちこっちに移動するかどうか
    ＝共通の染色体起源をもつかどうか
- コードされた遺伝子の構成と塩基置換
  gene composition
  - 性特異性（一方の性にコード）
    sex-specific coded genes
  - ガメトログ（両性にコード）gametologs



De Hoff et al 2013
より改変

性染色体領域の進化を考察する切り口

この性染色体領域の進化ということに関して問題になってくるものをちょっと列挙してきました。そのクラミドモナスの性染色体領域が最初に明らかになったものですが、例として、ここに示しておきます。

まずは、そのサイズ。特にボルボックスで見られたような1 Mbに達するするような巨大な領域になったのが、いつか。そういうサイズの問題。

遺伝子密度 gene density はどうか。

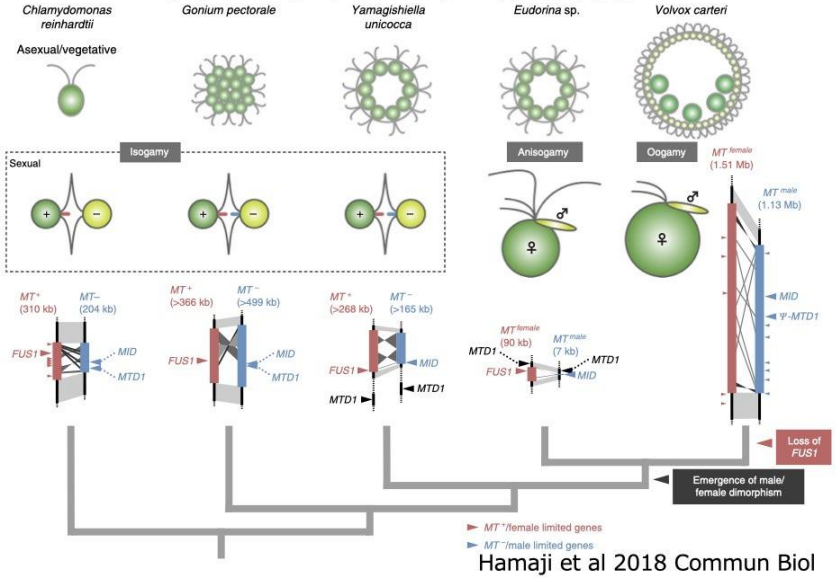
この性染色体領域の中。逆位や転座があって、組み換えが抑制を行われていると考えられるが、逆位・転座がどのようになっているのか。その部分領域が生物間でどれだけ維持されているのか、されていないのか。

この性染色体領域自体がゲノム上のどこにあるのか。系統間で共通の染色体起源をもっているのか、全然別にデノボに出てきうるのか。

コードされた遺伝子の構成ですね。これは2種類あります。片方の性にしかコードされていない遺伝子、すなわち性特異的コード遺伝子と、両方の性にコードされている遺伝子、すなわちガメトログ遺伝子とここではいいます。それぞれの構成と、塩基配列が受ける影響を比較する。

ここに挙げた項目をひとつひとつ確認していくことで、性染色体領域という、ゲノム全体からみればイレギュラーな動態をこうむる領域の実態をあきらかにすることが期待できます。

たとえば雌雄性解明のためには、無性生殖形態に差のない
ユードリナとヤマギシエラの間で比較する



Hamaji et al 2018 Commun Biol

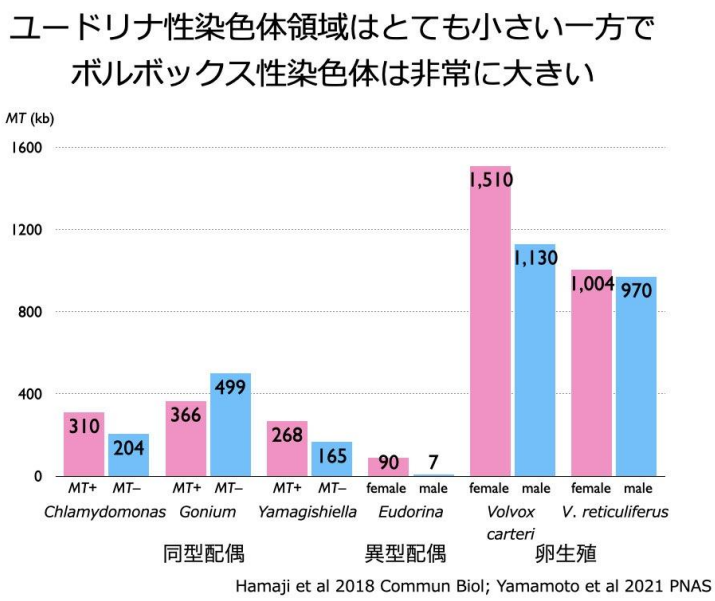
雌雄性出現以前以後での性染色体領域比較

例えば「雌雄性の出現」を解明したい、とします。どういう比較をすればいいでしょうか。

それは無性生殖で形態に差がないけど、有性生殖では差がある、という生物の間で比較することですね。まさにそういう、異型配偶ユードリナと同型配偶ヤマギシエラという生物で比較をおこないました(Hamaji et al., 2018)。

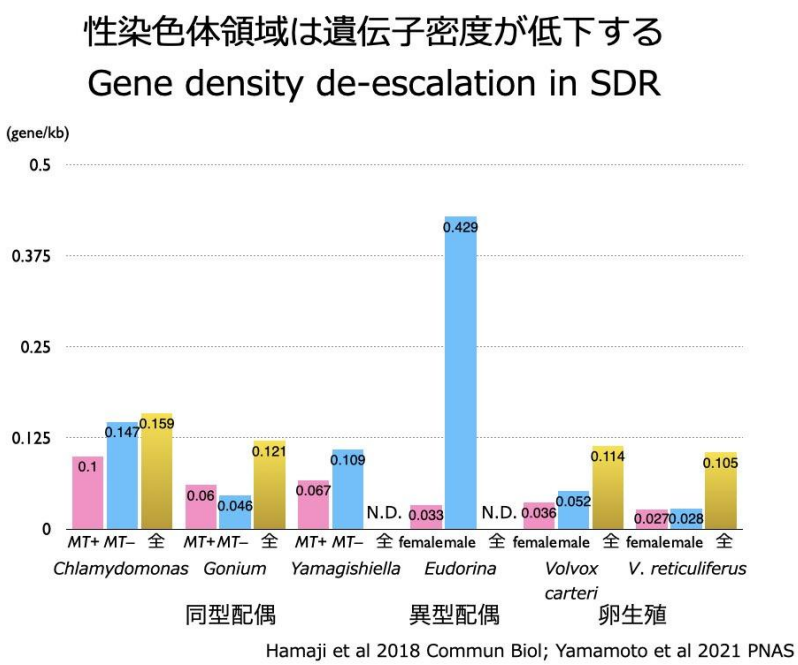
これらの生物は無性生殖では、群体や細胞の形態で区別がつきません。しかし、いったん有性生殖を誘導すると、ヤマギシエラは同型配偶をおこなう。つまり、片方が精子を作るようなことはない。いっぽう、ユードリナは精子束を作ります。つまりこれらの生物は、有性生殖だけが全く異なる。そういった生物の間で、性染色体領域はどう違っていたのでしょうか。

他にわかっている同型配偶や卵生殖の生物もふくめ、性染色体領域を比較してみていきましょう。



サイズ

まず、もっともおおまかな比較としてサイズに注目しましょう。異型配偶となったユードリナは、その他の、すでに分かっていた性染色体領域に比べて非常に、小さかった。興味深いことにオスに至っては7 kbしかなく、メスについても90KBとほかのより群を抜いて短かった。驚きでさえありました。なぜかというと、この卵生殖ボルボックスの性染色体領域が1 Mbを超えていたからです。その後にわかった別種のボルボックスも、1 Mb前後でした。傾向として分岐が進むにつれて、だんだん大きくなっていくのだろうかと思ったら、全然大きくなってなかった。むしろ小さかった。それが驚きでした。



Hamaji et al 2018 Commun Biol; Yamamoto et al 2021 PNAS

遺伝子密度

性染色体領域の遺伝子密度について言いますと、減ってます。

プラスとマイナス、あるいはメスとオスの性染色体領域の遺伝子密度についてプロットしてあります。黄色が全ゲノムのものです。黄色と赤、青……それぞれの生物を比較すると、青と赤の性染色体領域で非常に下がっているということが明らかです。つまり、遺伝子がまばらになったような領域であるということがわかります。

MID & *FUS1* はボルボックス性染色体領域の
（ほぼ）共通要素＝「コア」と考えられる

query/gene	*Volvox carteri*	*Chlamydomonas*	*Gonium*	*Eudorina*	*Yamagishiella*
MID	Male	*minus*	*minus*	Male	*minus*
MTD1	Male (pseudo)	*minus*	*minus*	both	both
MTM0097	Male	-	-	both	both (partial)
MTM0441	Male	-	-	-	-
MTM0564	Male	-	-	-	-
MTM0665	Male	-	-	-	-
MTM0761	Male	-	-	-	-
MTM0832	Male	-	-	-	-
MTM0897	Male	-	-	-	-
MTM0946	Male	-	-	-	-
FUS1	-	*plus*	*plus*	Female	*plus*
MTA1	-	*plus*	-	-	-
EZY2	-	*plus*	-	-	-
FSI1f	Female	-	-	both	both
HMG1f	Female	-	-	both	-
MTF0821	Female	-	-	-	-
MTF0991	Female	-	-	-	-
MTF2030	Female	-	-	-	-

Hamaji et al 2018 Commun Biol

性特異的遺伝子の構成

片方の性にしかコードされていない遺伝子のメンツ、つまり構成を見ると明白です。

性特異的コード遺伝子、つまりマイナス／雄にしかコードされていない遺伝子、あるいはプラス／メスにしかコードされていない遺伝子というのは、ボルボックス系列緑藻5属で比較すると、それぞれの性について一つずつしかありませんでした。イントロで紹介したマイナス／オスを顕性に決定する転写因子MIDと、プラス／メスの膜タンパク質FUS1という、各1個、合計二つしか、ない。

つまり、雌雄の二極化に、性染色体領域への新規な性特異的コード遺伝子の追加は不要であった、ということが明確にわかります。こういう性特異的コード、性染色体領域にコードされたする遺伝子の独自性に着目したら、共通してどちらかの性にしかない、いわば性染色体領域のコアになっているのは、MIDとFUS1の対しかないんだよ、ということです。

補足しておくとFUS1はボルボックス・カルテリでは失われているのですが、それ以外では共通している。あとで論じます。

Q. 名古屋大の田中です。結局、クラミドモナスの場合は、*MID*と*FUS1*が接合型二つを決めていると考えていいんですか？

A. 雌雄で一対になるような、その構成になっているかということでしょうかと思います。クラミドモナスでのMIDとFUS1も、機能するレベル、すなわち転写因子のレベルっていうのと、膜タンパク質のレベル、レベルは全然違いますが、どちらもそのそれぞれの性の有性生殖の完遂に必須になります。両性のそれぞれの遺伝子で、ある意味で「決定」していると私はとらえています。異性の間で相補し合ってコンポーネントを構成している。その過程に絶対必要なものとして、MIDとFUS1はそれぞれの性である。MIDがないとマイナス型になれず、プラス型になるか……途中までは確かにプラス型のように挙動します。しかし、FUS1がないことで、細胞同士が接着できなくて、受精を完遂することができません。どちらも、それぞれの性を全うするためには必須です。だから、両性をそれぞれの遺伝子で「決定」するっていう捉え方をするのは、無理がないかなと思っています。

Q. これ多分答えは無いとまだないと思うんですけれども、マイナスでは*MID*、プラスでは*FUS1*という、そういう[不可欠な要素を]作り出す原動力、進化的な原動力はどこにあると思われますか？

A. 遺伝子の、ですか。遺伝子そのつまり、その性的二型に必要なものという原動力の場合だと。

Q. 接合型が二型なわけですよね。その後の卵と精子が出てくるっていうのは、これは配偶子サイズや形態の二型でちょっと議論は違ってくるんだと思うんですけど、そもそも最初の接合型を2つにする原動力っていうのが、です。2つの性が必要なのはなぜか。極端な話、性と決めなくても遺伝子を混ぜるだけだったらなんでもいいんじゃないか、と。そこで、接合型の二型が発達してきたりいうのはどういうところなのかと、クラミドモナスの遺伝子から見た時に何か見えてくるもんでしょうか。

A. まず、クラミドモナスの性染色体領域にどういう遺伝子を有するか、そのレパートリーっていうのはいくつかあるんだと思うんです。配偶子細胞も、接合型・交配型の間で、タンパク質レベルでは差異が膜上であったりとか、鞭毛であったりとか、それぞれのインタラクション、クロストークを行う段階があるんです。その膜融合の段階、これっていうのは、その膜融合の何回も最後の最後の段階になるんですけれども、FUS1が、「はい、ここまで受精に向けてさまざまなクロストークをしてきたけれど、いま細胞融合しようとしている相手がほんとうに同種の生物の配偶子なのか、それを認証します」というかたちで認証・検証をするようなイメージをわたしは持っています。そこに至るまでの配偶子プラ

スマイナスのインタラクションっていうのは、その前の段階、鞭毛同士がよじり合わせるような段階っていうのもあります。その鞭毛の細胞膜上にも、プラス・マイナス特異的な遺伝子が出ています。そんな遺伝子が性染色体領域上に採用された可能性っていうのももちろんあると思います。現状ではこれらの遺伝子は転写因子レベルで制御されているんですが、それを性染色体領域コードで分けるような、そういった形での制御を受けるようになっていたシナリオは当然考えうる。ですから、何でもよかったのかもしれませんし、いくつかのレパートリーはあると思います。両性の性染色体領域で一対になるような、その遺伝子が存在する必要があるっていうのは、非常に難しい問題なんですけど、何かあったかもしれません。

Q. *MID*は何をやってるんでしたっけ。

A. MIDは転写因子です。これは実際に何の違いを作り出してるんです。この分子の生化学的な解析については、いままさに論文を準備しているところです。

Q. やっぱり同型配偶でも生化学的・分子生物学的にはかなり違っているということですかね。

A. おっしゃるとおりです。同型配偶で、つまり配偶子の形態には差が小さくても、プラス・マイナスのあいだで遺伝子発現のレベルでは差異があるのです。

（後日追記）「ただ混ぜるだけではダメだったのか」という有性生殖に関する本質的な疑問に対しては、実際にその「ただ混ぜるだけ」をやっているのが、あとから出てきますが、雌雄同株です。ボルボックス系列緑藻で雌雄同株・ホモタリズムは、同型配偶でも卵生殖でも、散発的に、独立に多系統的に出現しています。ボルボックスの雌雄同株はクローナルに無性生殖をする中で、この群体はオスとして精子をつくる、別の群体は卵をつくるというように、遺伝的なバックグラウンドはハプロイド（一倍体）であるにもかかわらず、**2**つの種類・雌雄の性をしてしまう。「接合型の二型がなく、ただ混ぜるだけ」という意味では、この雌雄同株は、遺伝的に二型がありませんから、ただ混ぜるだけともいえるかもしれない。もちろん、その配偶子形成から接合に至るタンパク質などがあってはじめて受精まで至っているわけですから、ただ混ぜているわけではないです。

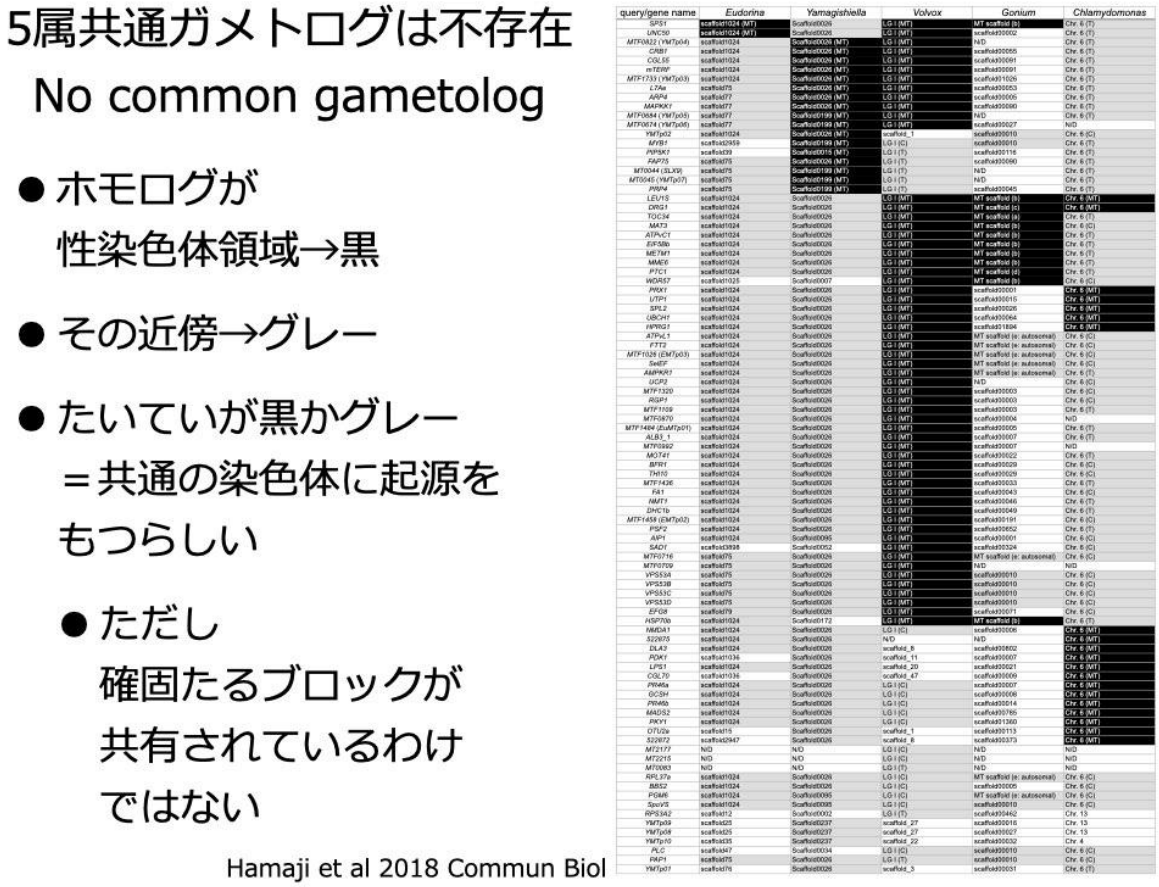
こうして考えたとき、いくつかここで気になる問題をランダムに思いつくままにあげていくとすると、「ただ混ぜる」、特に自殖の場合は遺伝的多様性の確保が難しいかもしれません。接合する相手はまさに自分で、しかもハプロイドなので、ゲノム的に基本的に同じです。こうすると、そもそも有性生殖の

諸側面のひとつに、減数分裂というかたちで遺伝的多様性を確保しているのが、その減数分裂機構そのものがこの場合意味を成さないため、だんだん失われていくことさえ考えられます。有性生殖が知られておらず、おそらく有性生殖自体を喪失したと考えられているトレボウクシア藻類は、減数分裂遺伝子からなくなっていたと思います。

緑藻のホモタリズムは、いろいろな捉え方があると思うのですが、系統的には多系統で派生的です。カウンターパートとの遭遇が困難である場合、しかもそのうえで有性生殖をしないと絶滅してしまう場合、やむをえず自殖するというシナリオは私は想像できると思っています。生息地が温帯であると、どうしても四季を経ざるをえません。ボルボックス系列緑藻ではこの四季のうち、冬という、つらい時期を超えるために接合胞子の状態をとることがわかっています。それ以外の形態で越冬するのは、まことに困難なことです。これが、別の相手とはなかなか遭遇しなくてもなんとか有性生殖をしないことには冬が越せない、という状況だと想像できます。

総じて有性生殖というのは、自分以外とゲノムを交換する期待値が高い場合に利益となるような仕組みに見えます。同型配偶でも遺伝的に交配型・接合型が**2**つあるということが真核生物で非常に広く見られるわけですが、その場合には接合・受精する相手は間違いなく自分とは違う遺伝的バックグラウンドを有していることが確実です。これは、減数分裂など有性生殖の諸側面の機構の意義のうえからも重要です。

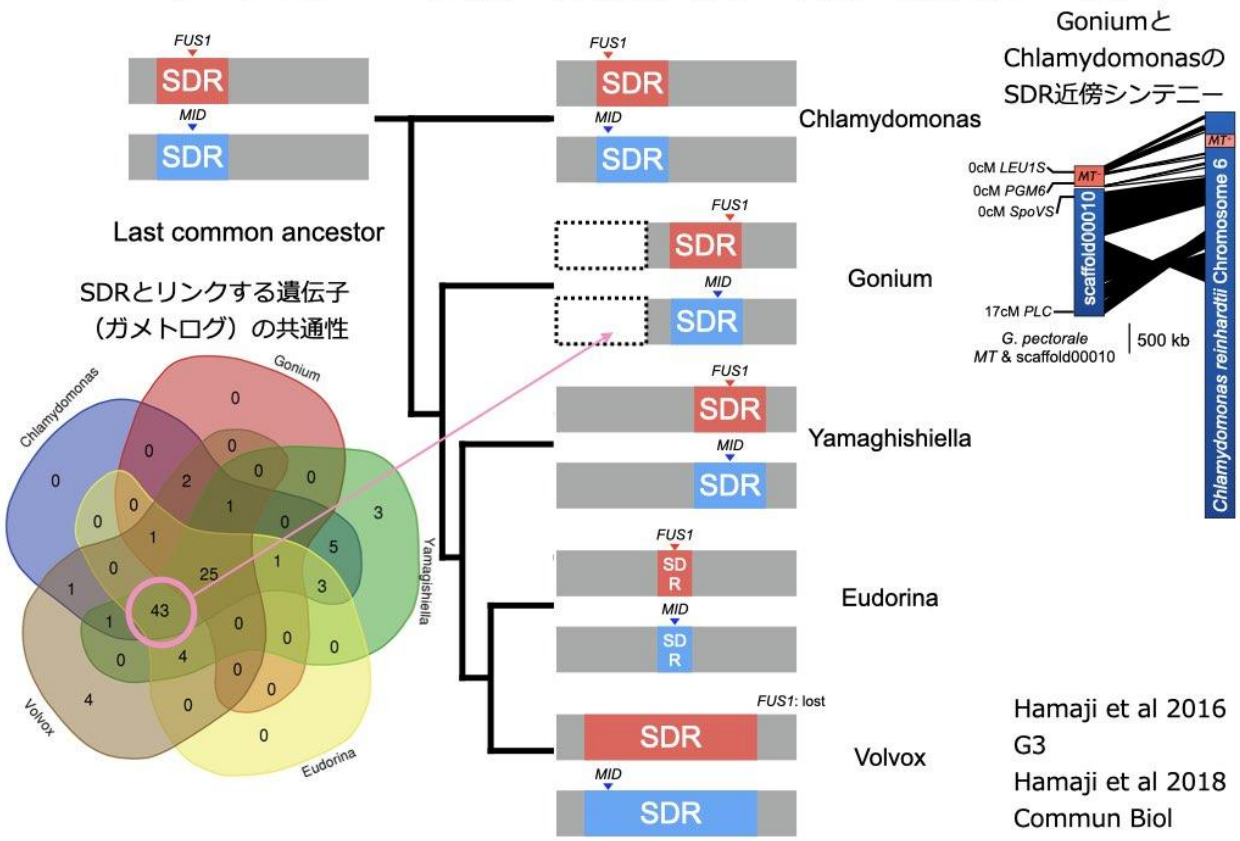
あらためてサーベイ・考察する必要がありますが、ひとつのアイデアとしていまあります。



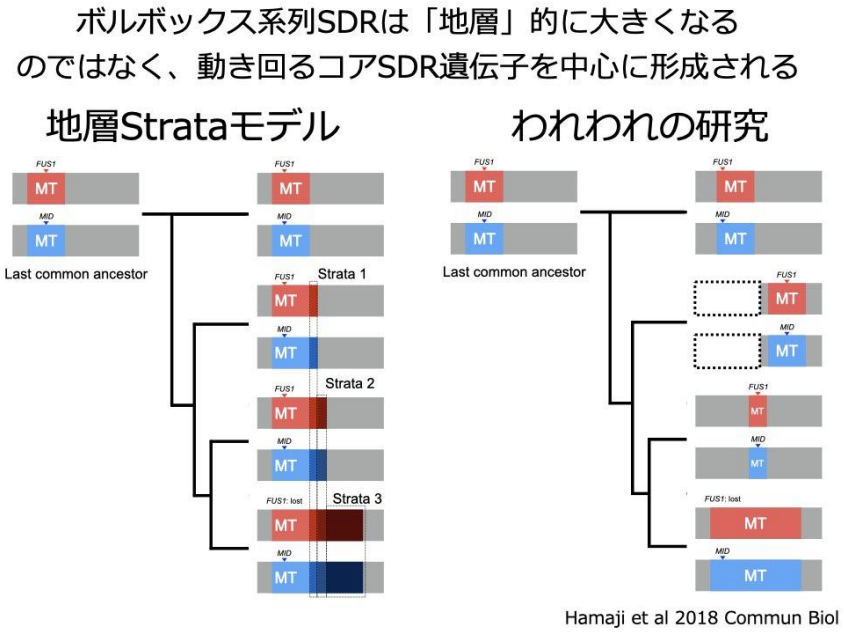
query/gene name	Eudorina	Yamagishiella	Volvox	Gonium	Chlamydomonas
SPS1	scaffold1024 (MT)	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (b)	Chr. 6 (T)
UNC50	scaffold1024 (MT)	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30002	Chr. 6 (T)
MTF0632 (YMTp04)	scaffold1024	Scaffold0026 (MT)	LG I (MT)	N/D	Chr. 6 (T)
CRB1	scaffold1024	Scaffold0026 (MT)	LG I (MT)	scaffold30055	Chr. 6 (T)
COL55	scaffold1024	Scaffold0026 (MT)	LG I (MT)	scaffold30091	Chr. 6 (T)
mTERF	scaffold1024	Scaffold0026 (MT)	LG I (MT)	scaffold30091	Chr. 6 (T)
MTF1733 (YMTp03)	scaffold1024	Scaffold0026 (MT)	LG I (MT)	scaffold31029	Chr. 6 (T)
LYAr	scaffold75	Scaffold0026 (MT)	LG I (MT)	scaffold30053	Chr. 6 (T)
ARPd	scaffold77	Scaffold0026 (MT)	LG I (MT)	scaffold30095	Chr. 6 (T)
MAPKK7	scaffold77	Scaffold0026 (MT)	LG I (MT)	scaffold30090	Chr. 6 (T)
MTF0684 (YMTp05)	scaffold77	Scaffold0199 (MT)	LG I (MT)	N/D	Chr. 6 (T)
MTF0674 (YMTp06)	scaffold77	Scaffold0199 (MT)	LG I (MT)	scaffold30027	N/D
YMTp02	scaffold1024	Scaffold0026 (MT)	scaffold_1	scaffold30010	Chr. 6 (C)
MYB1	scaffold2459	Scaffold0199 (MT)	LG I (C)	scaffold30010	Chr. 6 (T)
PIP5K7	scaffold39	Scaffold0015 (MT)	LG I (T)	scaffold30116	Chr. 6 (T)
RAP75	scaffold75	Scaffold0026 (MT)	LG I (T)	scaffold30090	Chr. 6 (T)
MT0044 (SLX9)	scaffold75	Scaffold0199 (MT)	LG I (T)	N/D	Chr. 6 (T)
MT0045 (YMTp07)	scaffold75	Scaffold0199 (MT)	LG I (T)	N/D	Chr. 6 (T)
PRP4	scaffold75	Scaffold0199 (MT)	LG I (T)	scaffold30045	Chr. 6 (T)
LEU1S	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (b)	Chr. 6 (MT)
DRG1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (c)	Chr. 6 (MT)
TOC34	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (a)	Chr. 6 (T)
MAT3	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (b)	Chr. 6 (C)
ATPvC1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (b)	Chr. 6 (T)
EIF5Bb	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (b)	Chr. 6 (T)
MET4/1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (b)	Chr. 6 (T)
MME6	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (b)	Chr. 6 (T)
P7C1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (d)	Chr. 6 (T)
WDR57	scaffold1025	Scaffold0007	LG I (MT)	MT scaffold (b)	Chr. 6 (C)
PRX1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30001	Chr. 6 (MT)
UTP1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30015	Chr. 6 (MT)
SPL2	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30026	Chr. 6 (MT)
UBCH1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30064	Chr. 6 (MT)
HPRG1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold31894	Chr. 6 (MT)
ATPvL1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (a: autosomal)	Chr. 6 (C)
FTT2	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (a: autosomal)	Chr. 6 (C)
MTF1026 (EMTp03)	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (a: autosomal)	Chr. 6 (C)
Sec63	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (a: autosomal)	Chr. 6 (C)
AMPKR1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (a: autosomal)	Chr. 6 (T)
UCP2	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	N/D	Chr. 6 (C)
MTF1320	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30003	Chr. 6 (C)
RSP1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30003	Chr. 6 (C)
MTF1159	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30003	Chr. 6 (T)
MTF0870	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30004	N/D
MTF1484 (EsMTp01)	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30005	Chr. 6 (T)
ALB3_1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30007	Chr. 6 (T)
MTF0992	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30007	N/D
MOT41	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30022	Chr. 6 (T)
BFR1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30029	Chr. 6 (C)
TH10	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30029	Chr. 6 (C)
MTF1426	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30033	Chr. 6 (T)
Fd1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30043	Chr. 6 (C)
NMT1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30046	Chr. 6 (T)
DHC1b	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30049	Chr. 6 (T)
MTF1459 (EMTp02)	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30191	Chr. 6 (C)
PSF2	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30652	Chr. 6 (T)
AIP1	scaffold1024	Scaffold0095	LG I (MT)	scaffold30001	Chr. 6 (C)
SAD1	scaffold3958	Scaffold0052	LG I (MT)	scaffold35324	Chr. 6 (C)
MTF0716	scaffold75	Scaffold0026	LG I (MT)	MT scaffold (a: autosomal)	Chr. 6 (C)
MTF0709	scaffold75	Scaffold0026	LG I (MT)	N/D	N/D
VPS34	scaffold75	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30010	Chr. 6 (C)
VPS33B	scaffold75	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30010	Chr. 6 (C)
VPS33C	scaffold75	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30010	Chr. 6 (C)
VPS33D	scaffold75	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30010	Chr. 6 (C)
EFG8	scaffold79	Scaffold0026	LG I (MT)	scaffold30071	Chr. 6 (C)
RSP70b	scaffold1024	Scaffold0172	LG I (MT)	MT scaffold (b)	Chr. 6 (T)
NMD41	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (C)	scaffold30006	Chr. 6 (MT)
522675	scaffold1024	Scaffold0026	N/D	N/D	Chr. 6 (MT)
DLA7	scaffold1024	Scaffold0026	scaffold_8	scaffold30602	Chr. 6 (MT)
PDK1	scaffold1036	Scaffold0026	scaffold_11	scaffold30607	Chr. 6 (MT)
LPS1	scaffold1024	Scaffold0026	scaffold_20	scaffold30021	Chr. 6 (MT)
COL70	scaffold1036	Scaffold0026	scaffold_47	scaffold30009	Chr. 6 (MT)
PRR6a	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (C)	scaffold30007	Chr. 6 (MT)
GCSH	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (C)	scaffold30006	Chr. 6 (MT)
PRR6b	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (C)	scaffold30014	Chr. 6 (MT)
MAD52	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (C)	scaffold30785	Chr. 6 (MT)
PKY1	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (C)	scaffold31360	Chr. 6 (MT)
OTU2a	scaffold15	Scaffold0026	scaffold_1	scaffold30113	Chr. 6 (MT)
522672	scaffold2947	Scaffold0026	scaffold_8	scaffold30373	Chr. 6 (MT)
MT2177	N/D	N/D	LG I (C)	N/D	N/D
MT2215	N/D	N/D	LG I (C)	N/D	N/D
MT0083	N/D	N/D	LG I (T)	N/D	N/D
RPL37a	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (C)	MT scaffold (a: autosomal)	Chr. 6 (C)
IMS2	scaffold1024	Scaffold0026	LG I (C)	scaffold30005	Chr. 6 (C)
PGM6	scaffold1024	Scaffold0095	LG I (C)	MT scaffold (a: autosomal)	Chr. 6 (C)
SpoVS	scaffold1024	Scaffold0093	LG I (C)	scaffold30010	Chr. 6 (C)
RPS3A2	scaffold12	Scaffold0002	LG I (T)	scaffold30462	Chr. 13
YMTp09	scaffold25	Scaffold0237	scaffold_27	scaffold30016	Chr. 13
YMTp08	scaffold25	Scaffold0237	scaffold_27	scaffold30027	Chr. 13
YMTp10	scaffold35	Scaffold0237	scaffold_22	scaffold30032	Chr. 4
PLC	scaffold47	Scaffold0034	LG I (C)	scaffold30010	Chr. 6 (C)
PAP1	scaffold75	Scaffold0026	LG I (T)	scaffold30010	Chr. 6 (C)
YMTp01	scaffold76	Scaffold0026	scaffold_3	scaffold30031	Chr. 6 (T)

ガメトログの構成

性染色体領域にあっても性特異的コードでない、両性にコードされている遺伝子で、特に性染色体領域に含まれているものをガメトログと言います。5属、つまりユードリナ・ヤマギシエラ・ボルボックス・ゴニウム・クラミドモナスで共通して性染色体領域に含まれているようなガメトログは存在していなかった。ただ、性染色体領域の中にはないが、大体はその共通して性染色体領域にリンクしている、つまりpseudo autosomal regionにコードされているということが多いようでした。つまり、共通の染色体を起源としていて、そのうえで性染色体領域が動いていた、というようなイメージです。



一つだけこのゴニウムっていう生物。ちょっと白い領域が多いと思います。これはリンクをしていないというものなんです。性染色体領域近傍、つまり性染色体領域かpseudo autosomal regionにcodeされている遺伝子のVenn図をとってみますと、ここ後にこの5属で共通したのは25遺伝子であった。ゴニウムだけ抜けているのが43遺伝子もある。どういうことかというと、4属、そしておそらく祖先的には性染色体領域（SDR）か近傍（PAR）にコードされていたこれらの43遺伝子が、ゴニウムではほかのゲノム中のところに飛んだ、転座したと見るのが妥当と私は考えます。SyMAPでゲノム全体でのシンテニーをマッピングすると、ゴニウムだけ性染色体領域近傍がちょっと小さくなっていると言うふうなことも見えました。



性染色体領域の「地層」があるか？

さらにこの「動き回るコア遺伝子を取り囲んで性染色体領域が構築される」というシナリオからわかるのは、ボルボックス系列緑藻の性染色体領域は、いわゆる地層 strata というような形がない。その最終共通祖先 last common ancestor から分岐するのにともなって、新しい領域をどんどん積み重ねるように大きくなっていったわけではありませんでした。そもそもユードリナで明らかになっているように、かなりあとの段階で分岐したとされる系統で非常に小さい。

これを表現するなら、MIDとFUS1という性決定のコアになる遺伝子ペアが、祖先を共有する染色体の上をふらふらと動く。同時に、それぞれのコア遺伝子を取り囲むように、逆位や転座が発生して、両性間で相同組み換えが生じないように抑制している染色体構造が形成される。これら2つのイベントが起きているというシナリオになると考えられます。

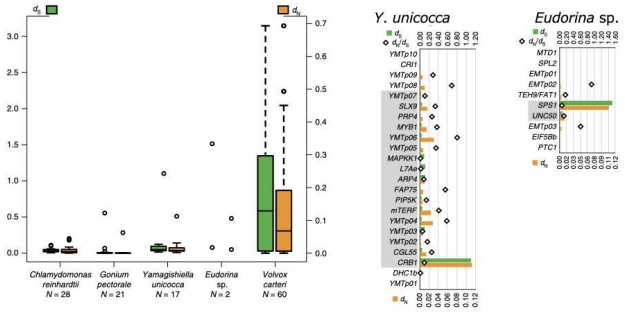
Q. ボルボックスと脊椎動物との違いで、ストラータを形成するか形成しないかっていう話があったんですけど、ボルボックスの場合、その組み換え抑制や二つの遺伝子の順があるらしいですが、ストラータが形成されないのはなぜですか？　その進化が早いからって言うのか、あるいは……なんで

そういう違いがあると思われますか？　積層が哺乳類だと*SRY*が含んだ逆位 *inversion* や転座 *translocation*が起きて、そのなんかそれができたみたいな仮説がありますが。

A. それはわからないんですけど、結局ストラータが形成されていない、というのが事実として見えているわけですね。その一つの可能性は、いったん地層が形成されたとしても、別の部分が逆位や転座することでキャンセルされたりするというシナリオを考えたことはありますが突っ込んで考察したわけではありません。もう本当に想像の域を出ないです。ただ、確実にいえるのは確認されていないということです。

［後日付け足し：おち着いて考えてみれば最大の特徴は「**UV**」構造、つまりハプロイドだということはあります。それがストラータの有無にどう寄与するか。キャンセルされるとしても、メリロスファエラ節のような巨大性染色体領域になったものもあり、それはキャンセルされてなさそうである。そういう点からも関連してくる問題かな、という予感はしています。どう解けばいいのかはわかりませんが……］

ガメトログ間 dS, dN, dN/dS を見ると
性染色体領域遺伝子は概して負の選択を受ける



Hamaji et al 2018 Commun Biol

ガメトログの両性間比較

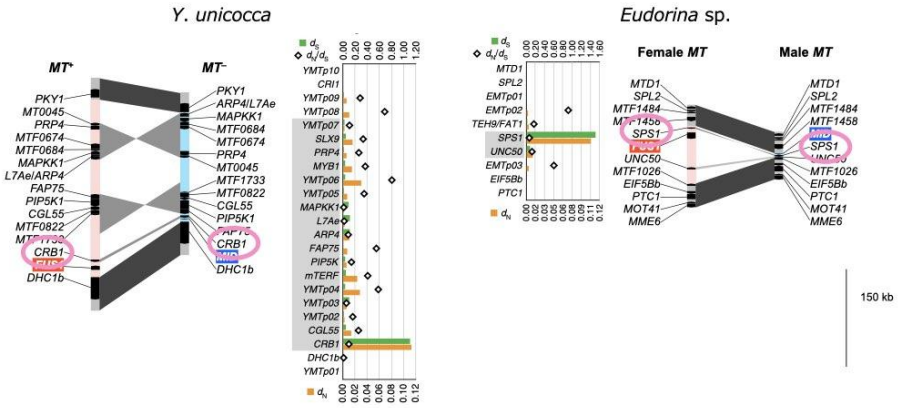
分子進化学では、dN、dSのようなパラメタをみて遺伝子が経験した進化現象を推定することが通例になっています。両性のガメトログの間でdN、dSを見ると非常に興味深いことがわかってきました。

これはヤマギシエラとユードリナの性染色体領域あるいはそのPAR (pseudo autosomal region)にcodeされていた遺伝子のガメトログ間、つまり両性の間でdS、dN、あるいはomega=dN/dS（比）をプロットしたものです。

例えば非常にdN、dSが大きくなった遺伝子が存在していました。CRB1がヤマギシエラにあります。あるいはユードリナではSPS1です。これdN、dSは大きくなっている。でも、その比率 dN/dSは、1よりもはるかに小さい。つまり、負の自然選択（純化選択）を受けていると考えられます。

ここに出ている遺伝子には名前がついているでしょう。名前がついているということは、なにか機能がわかっていたり推定されている遺伝子や、そのホモログだということが多い。性染色体領域にあるとはいえ有性生殖に限らず特定の現象によらないで機能する、いわゆるハウスキーピング遺伝子であるものもあるでしょう。そういった形で機能を有するために、突然変異が蓄積してしまうと負の自然選択を受けているということが示唆されました。

高dS, dN遺伝子はsyntenic blocから外れたもの
→micro (dual) recombinations at syntenic blocs?



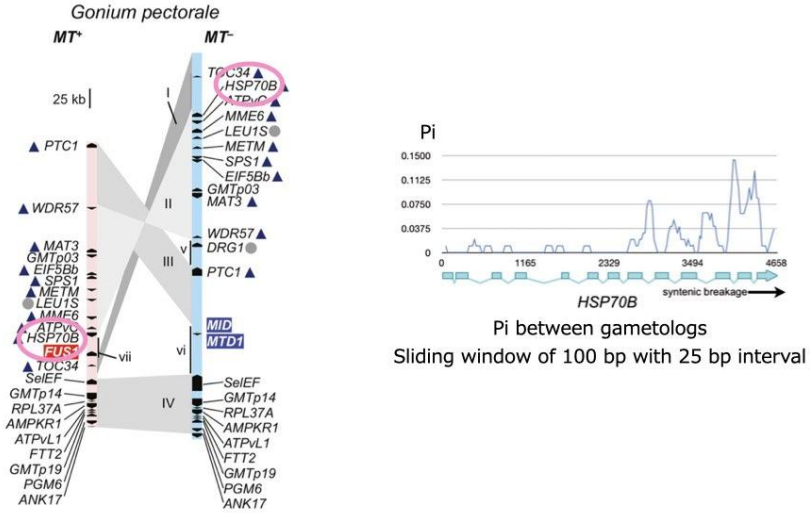
Hamaji et al 2018 Commun Biol

シンテニーブロック

このdN、dSが高いけれどdN/dSとしては1より遥かに小さいという遺伝子がコードされていたのがどういう領域だったか見てみましょう。シンテニーブロック、つまり複数の遺伝子がある程度まとまって逆位になっているところから外れてしまった、端境のような領域というところにコードされていることがわかります。

dN、dSが高い。つまり、変異というか置換を蓄積します。でもdNが上がる以上にdSも高い。それで比率としては非常に低く抑えられているんですよ、とこれらの生物からは見えてきます。

類似の結果がゴニウムでも得られている
syntenic bloc 末端に近いほうが塩基不一致が多い

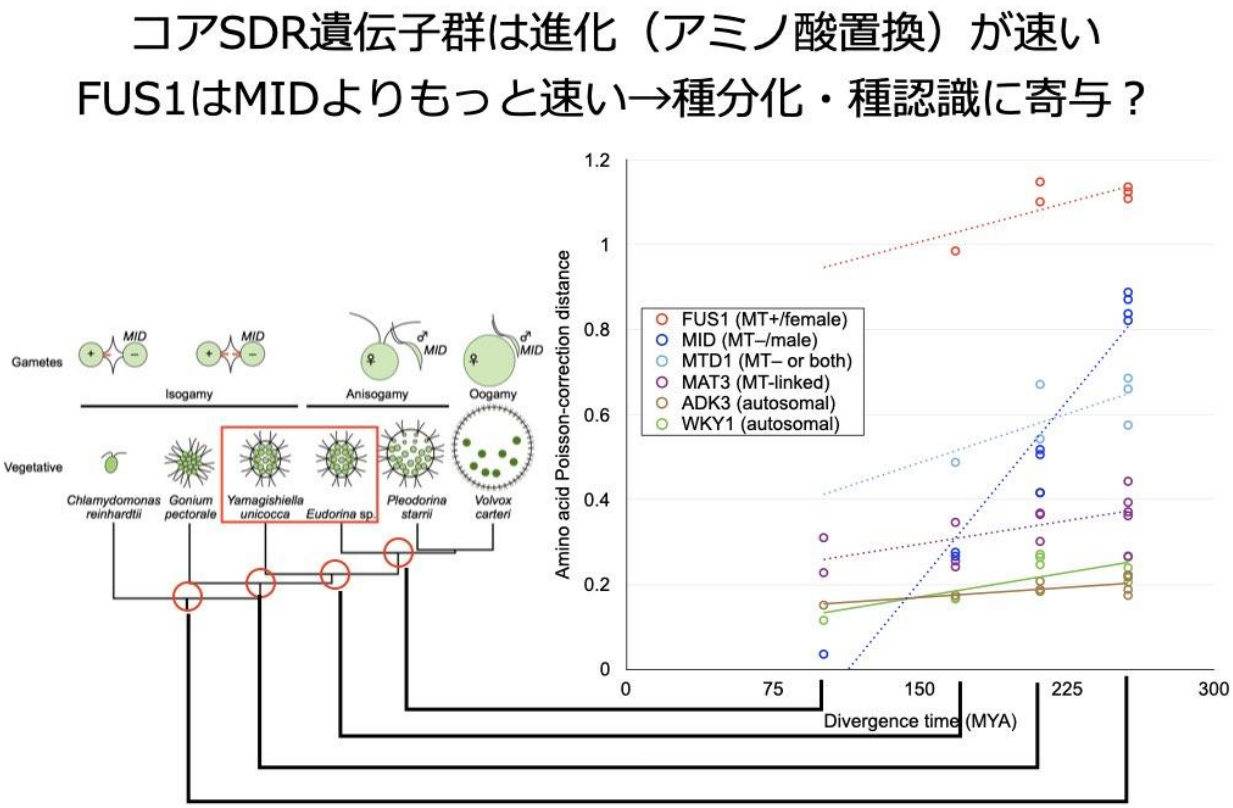


Hamaji, Mogi et al 2016 G3

Pi between gametologs
Sliding window of 100 bp with 25 bp interval

これは別の生物のゴニウムでも分かっております (Hamaji et al., 2016)。塩基多様度 nucleotide diversity (π) を DnaSP (v5.10.1) で計算した(Librado & Rozas, 2009; Nei & Li, 1979)。その π をスライディングウィンドウで見て行きますと、そのシンテニーブロックの末端に近いほうが π がどんどん高まっていた。

これをどう考えればいいのでしょうか。シンテニーブロックは、ちいさいとはいえ、数十 kb ぐらいの幅があります。性染色体領域はこのシンテニーブロックの逆位や転座があって組み換えが抑制されている、ということに一応なっています。しかしこの、非常に小さい領域で稀に組み換えが二回起きるようなイベントの可能性は、決してゼロではありません。その場合には染色体の順番が保たれます。その場合には、両性のガメトログの間で蓄積されていた変異がキャンセルされるでしょう。しかし、そのシンテニーブロックの端っこに近くなれば、キワのキワで組み換えが起きる可能性は非常にレアになり、変異のキャンセルは非常に難しくなって行くのが妥当とわたしは考えます。



性特異的遺伝子の進化速度

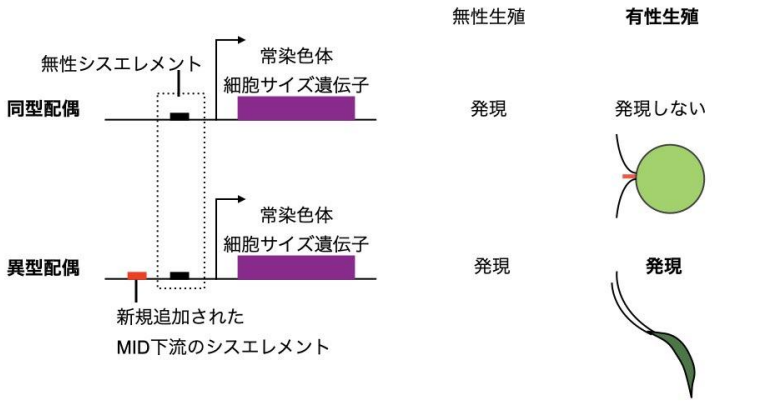
性染色体領域遺伝子群というのは非常に速いということもわかりました。特にFUS1はとりわけ非常に早くなっています。接合時に同種であることを認証すると同時に、そのコインの裏面では、種分化に寄与しているのではないかと昔から仮説されています (Ferris et al., 1997)。

*Q. FUS1*は進化速度が速いとのことですが、*FUS1*に結合する因子は同定されているんでしょうか？また、その因子の進化速度は同様に早いのでしょうか？

A. これは「MAR1」タンパク質として去年出てます(Pinello et al., 2021; Snell, 2022)。確か速かったと思います（BLASTをかけてみたがほとんど保存された共通配列のようなものがなかった）。それは非常に興味深いところです。生物間のcompatibilityという観点からですね。このMAR1はクラミドモナスで同定されています。遺伝学的に突然変異体が解析されています。それを例えば生物種間で入れ替えるような研究っていうのは非常に興味深いと思っていますし、こうしたことをすぐさま試していけ

るのがゲノム情報が利用できる強みですからね。同種認識や種分化への寄与度の実証になるでしょう。

MID下流の制御が変化して雌雄二極化が生じた

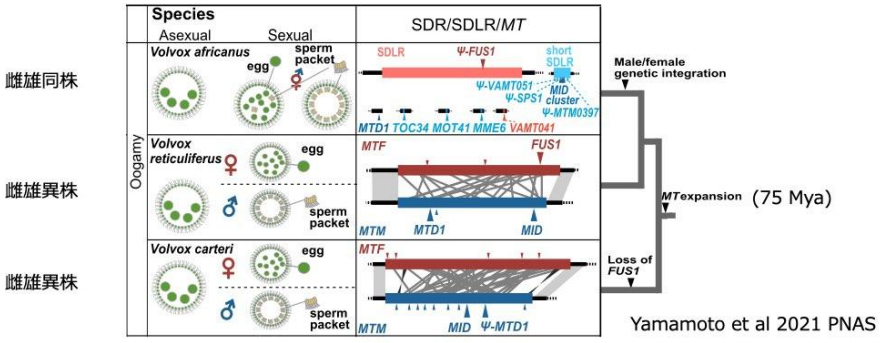


Hamaji et al 2018 Commun Biol

雌雄二極化シナリオ

有性生殖・雌雄の出現ということに対して考えているのは、例えば常染色体にコードされた、細胞サイズに関連するような遺伝子が、無性生殖で使われているとします。これが、有性生殖で、雌雄いずれか片方の配偶子の形成に使われるようになったのではないか。そのために、MID制御下のシスエレメントが追加されたり、遺伝子重複してMID制御化に入ったりしたのではないか。こうしたシナリオが考えられます。

さらなるボルボックス属のゲノム配列決定で
性染色体領域拡大は7500万年前と推定



ボルボックスの性染色体領域がデカい件

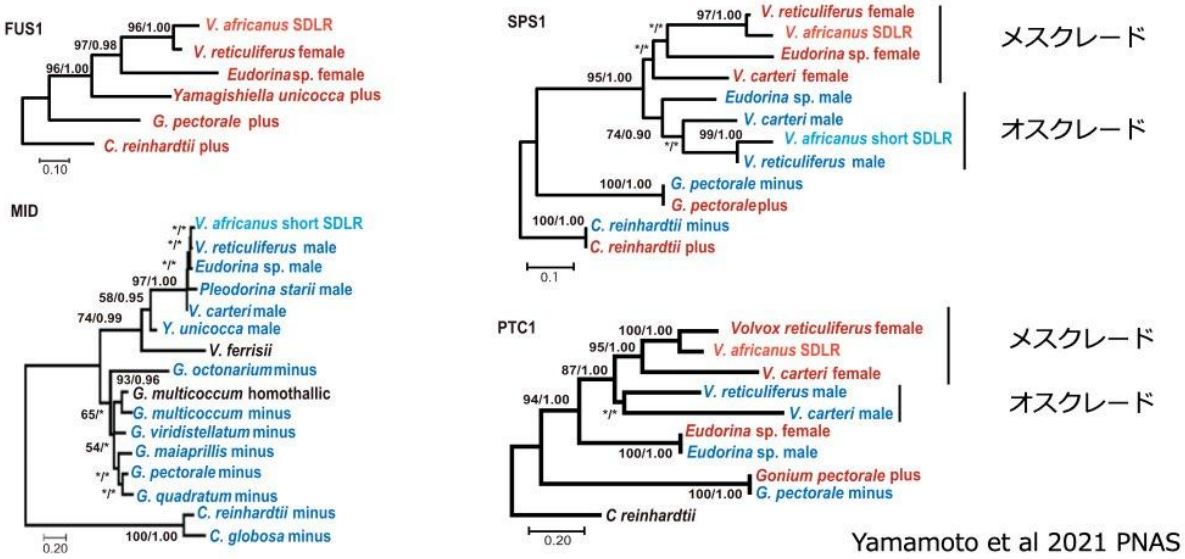
ここまでは、雌雄二極化イベント前後を追うかたちで話をしてきました。しかし、もう一つ大きな謎が残っています。卵生殖のボルボックスで、性染色体領域が1 Mb程度と、非常に大きくなっていることです。

その謎を解明するデータが最近、発表されました (Yamamoto et al., 2021)。2010年に発表されたのは、雌雄異株の *V. carteri* という種でした。今回出たのはそれと同属にあたる雌雄異株の *V. reticuliferus* オス・メス各性と、雌雄同株の *V. africanus* でした（同種なので1株だけです）。この2種3株の全ゲノム配列を決定し、相互に比較した研究です。

ひとつ補足しておくと、ボルボックス属は実は多系統です。*V. carteri*、*V. reticuliferus*、そして *V. africanus* は、属以下種以上の分類群として同じメリロスファエラ節に属しています。

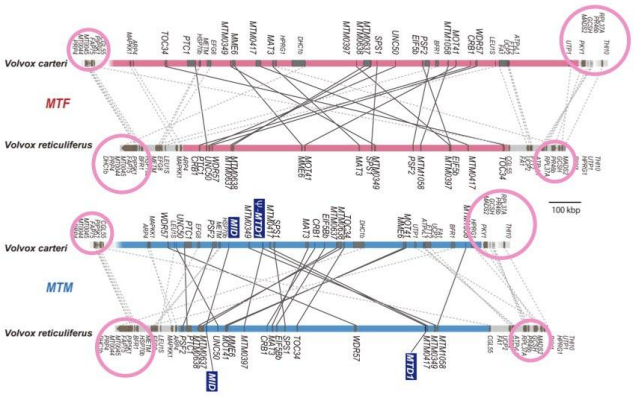
興味深いことに、これらボルボックス属メリロスファエラ節は、性染色体領域が1 Mb前後まで拡大し、非常に大きい。このイベントが発生した年代が、だいたい7500万年前と推定されています。そのときにはもうすでにMTが拡大してしまったということです。

ボルボックス属性染色体領域のガメトログは
一度性別で分岐したあとはそのままらしい



ここに含まれてしまっているガメトログはいちど性別で分岐してしまった後はそのままであるらしい、ということが、系統関係から分っています。

雌雄異株同士で常染色体・性染色体領域の境界を比較
→ほとんど変わらない（他の属のように移動していない）



Yamamoto et al 2021 PNAS

性染色体領域の構造について雌雄異株の*V. carteri*と*V. reticuliferus*で比較すると、この常染色体領域PARの末端、境界付近にある遺伝子はほぼ共通していた。つまり、メリロスファエラでは性染色体領域の染色体上の相対的な位置がほとんど変わってない。

つまり、7500万年以前では性染色体領域の位置は一応、それなりに動いていたけれども、メリロスファエラ節で大きくなってしまったあとはほとんど変わらない、という現象が見えた。

Q. 東大の松永です。やっぱりこの領域の方々も興味持ってるところってやっぱり二型性がどうして成立したかですね。今日年表で、その*7500*年前にそのボルボックスの性染色体領域が拡大した、という。その時に、やっぱりその接合のパターンとか、ライフサイクルとか、そういった*phenotype*的なことと、リンクしてるようなことっていうのはあったんでしょうか？

A. やはり卵生殖の獲得は細胞学的に大きなイベントだったと考えています。7500万年前っていうのは、卵生殖の獲得で、配偶子細胞形態が全く違う。どこで接合するかっていうところが多分変わってくると思います。もちろん、これが影響している、と現時点で結論づけることはできないのですが。

FUS1が失われていたり、別のボルボックスでは偽遺伝子化していることについては、現時点で推測の域を出るものではないスペキュレーションですが、他のボルボックス系列とボルボックスで雌性配偶子が一番違うのは、運動性の有無であり、それは同時に細胞構造それ自体です。運動性が違うことで何が違うか考えたときに、細胞表面の局在性のようなものが違うだろう、と考えることが

できます。同型配偶で顕著なのですが、FUS1の局在する細胞構造があります。鞭毛が各細胞に2本あり、そのあいだに接合突起といわれる構造が出現します。その膜上にFUS1タンパク質が出ている。でも卵生殖の雌性配偶子である卵にはそんな構造は出ません。つまり、細胞接着・細胞融合における細胞学的プロファイルが違っています。でも、現時点では何もわかっていません。唯一、受精が起きるのが「卵の前方の極 anterior pole」であるという光顕観察があります(Nozaki, 1988)。

いまなら、どう解明すればいいのか？　アイデアとしては、ボルボックスで細胞融合できなくすれば、はっきり見えるようになるでしょう。細胞融合する因子はGCS1/HAP2と呼ばれていて、これは植物のみならず後生動物まで非常に広範囲の真核生物で保存されている。ただ、哺乳類では失われている。このクラミドモナスの*hap2*突然変異体で受精させた、非常に印象的な電顕写真があります(Liu et al., 2008)。そしてボルボックスでゲノム編集でGCS1を破壊して、細胞膜の融合まで進行しなくすれば、卵に精子が接着したまま止まった状態の細胞を回収することが出来るでしょう。このTEMを切れば、ボルボックスの精子と卵が接着する微細構造を見ることができるようになると思われます。

そうやって細胞構造に変化が訪れたことでFUS1は重要性が低下し、喪失したり偽遺伝子化したかもしれません。しかし、性染色体領域としてはボルボックスでは大きくなっている。卵生殖特異的な未知の因子を獲得している可能性はあると考えられます。それについては後ほど論じたいと思います。

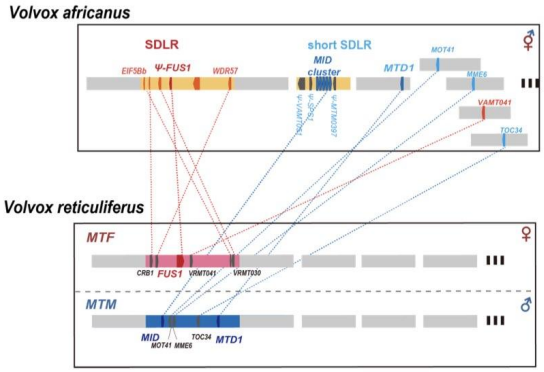
あとで論じますが、ボルボックスの有性生殖過程で、不等分裂のタイミングが変化する。この適応度への寄与は改めて考察する必要がありますが、実際にそうした差異が性染色体領域にあるらしいのです。ボルボックスではMIDがオスにコードされている一方で、メスではFUS1がロストしていたり偽遺伝子化した、つまり細胞接着・融合を引き起こすという形での適応には貢献しなくなった一方で、細胞サイズを制御することで可能性は当然ありえると思っています。

（あと付け）考えていたのは、ボルボックスは結局、無性生殖を達成するのに、分裂を開始する前の生殖細胞は大きくなければいけない。それが、接合子から発芽するときの群体（ゴーン群体）でも同じで、そうすると接合子を大きくする必要がある。卵を巨大化させる必要、卵というか接合子のサイズの適応度への寄与については、理論的な考察が**50**年前に行われています(Parker et al.,

1972)。接合子としてある程度の大きさがなければ、無性胚発生プログラムを満足に遂行することができないのかもしれません。卵生殖として運動性を捨て去り、巨大になる。さらに、生殖細胞・体細胞の分化があることで、ボルボックスでは比較的柔軟に細胞サイズを大きくしてしまえるようになっています。こういったことも相俟って、ボルボックスでは卵という体制を取れるようになったし、取る必要性も出てきた、というアイデアは検討の余地があります。これが卵生殖の出現の直接のトリガーなのかもしれません。

これは今後解析していく必要があるかなと思っています。

雌雄同株種の擬・性染色体領域は
雌雄異株のメスに近縁、しかし性決定因子MIDも追加



Yamamoto et al 2021 PNAS

雌雄同株

このボルボックス2種3株のゲノムを読む研究の主眼は、そもそも雌雄同株 homothallism ホモタリズムの出現でした。

雌雄同株の*V. africanus*のゲノムには、性染色体領域がありました。いや、正確に言えば、雌雄の株で対になっているわけではないため、擬・性染色体領域 Sex determining-like region, SDLR となるでしょう。

われわれが見出したSDLRは、大きいものと、小さいものがありました。大きいものは、雌雄異株*V. reticuliferus*のメス性染色体領域に近かった。これは、偽遺伝子化したFUS1がコードされていたことと、ガメトログ系統関係から支持されます。

ではオス性染色体領域はどうなったかというと、小さいSDLRとして、性決定遺伝子MIDがタンデムリピートしたクラスターを有するコンティグが見いだされました。それ以外にも、オスの性染色体領域に由来するガメトログのいくつかが、雌雄同株種ゲノムのさまざまなスキャフォールドに散在していることもわかりました。ただこの小さいSDLRコンティグが、大きいメス由来SDLRとリンクしているのか・いないのかは、FISHで確認されていないため、わかりません。つまりこうオスとメスのゲノムがが混ざるように、性染色体領域同士が混在するような構成になっているということがわかって非常に興味深かった、ということです。

Q. 雌雄同株のボルボックスではオルガネラは両側から遺伝するんでしょうか？

A. 実験的データはないですね。そういうことを実証できる、マーカーになるような変異がありながら、有性生殖上の互換性がある株が必要です。オルガネラゲノムに変異のある株同士を比較することになりますが、同時にこれは、問題なく有性生殖をするほど近縁関係になくてはいけない。そうした株を見つけるのははっきり言って至難の業だと思います。雌雄異株の*V. carteri*では、ミトコンドリア・葉緑体はいずれも卵から受け継ぎます。

性染色体領域には有性生殖関連遺伝子が蓄積されるか

この性染色体領域に、有性生殖に関連した機能を有する遺伝子が引き寄せられるかのように集まるかどうかという問題があります。

例えば、葉緑体ゲノム母性遺伝に関連する遺伝子が、ここにエンリッチされました(Joo et al., 2022)。これはクラミドモナスのプラス株にコードされた脱ユビキチン化酵素とわかったのですが、まだ詳細なメカニズムが明らかになっているわけではありません。これはプラス配偶子が持っていた葉緑体へのタンパク質移送複合体が、接合後にユビキチン・プロテアソーム系によって破壊されないで残存することが出来るようになる酵素タンパク質でした。マイナス配偶子の複合体は壊されてしまう。こんな過程はこの度初めてわかったので、移送複合体が破壊される・されないということが、葉緑体ゲノムの安定性にどう寄与するのかは今後の研究を待たなくてはいけません。ただし、この遺伝子は、プラス型配偶子で機能するものであり、かつ、性染色体領域にコードされている。

あるいはその先ほど申しましたように、ボルボックスで有性群体というものを作ります。この群体での生殖細胞の数が、オスとメスで違う。メスは32個で雄で128個、つまり、この不等分裂の起きるタイミングが、明らかに違う。つまり、プログラムが雌雄で違う。興味深いことに、これはMID遺伝子を外来導入したり発現抑制する操作には影響されない。すなわち、生殖細胞の個数はMIDの有無ではなく、それ以外の性染色体領域に因子、遺伝子が存在しているらしいことが示唆されます(Geng et al., 2014)。ただそれもまだ未同定です。また、その不等分裂のタイミングが変容することが雌雄有性群体の適応度にどれだけ寄与するかも未知数です。実験を設計し考察する必要があります。

これが、引き寄せたり集積のようなことだと断じるのは早計かもしれません。しかし、いくつかの候補となる遺伝子は見えているとはいえるでしょう。

おわりに

まとめます。

ボルボックス系列緑藻の性染色体領域は、2億年の間に共通の祖先染色体を共有する染色体から分岐してきた。そのコア遺伝子というのは、一方の性を顕性に決定する転写因子のMIDと、それに対をなす性でコードされた膜タンパクのFUS1である。これらMIDまたはFUS1を囲むように、その性染色体領域が逆位や転座によって構築されていて、その領域の組み替えを抑制する。この領域にコードされたガメトログは負の自然選択を受ける。ただ、性染色体領域は基本的には相同組み換えを受けないのだが、シンテニーブロックの中ではごく低頻度な、微小な領域の相同組み換えが起きていると考えられる。……こうした進化史が描かれるということになります。

これはアメリカ時代や東大で研究を続ける中で行ってきた研究で、それぞれの研究室でお世話になりました。ありがとうございました。

以上です。

文献

Bachtrog, D., Kirkpatrick, M., Mank, J. E., McDaniel, S. F., Pires, J. C., Rice, W., & Valenzuela, N. (2011). Are all sex chromosomes created equal? *Trends in Genetics: TIG*, *27*(9), 350–357.

Coelho, S. M., Gueno, J., Lipinska, A. P., Cock, J. M., & Umen, J. G. (2018). UV Chromosomes and Haploid Sexual Systems. *Trends in Plant Science*, *23*(9), 794–807.

De Hoff, P. L., Ferris, P., Olson, B. J. S. C., Miyagi, A., Geng, S., & Umen, J. G. (2013). Species and population level molecular profiling reveals cryptic recombination and emergent asymmetry in the dimorphic mating locus of C. reinhardtii. *PLoS Genetics*, *9*(8), e1003724.

Ferris, P. J., Armbrust, E. V., & Goodenough, U. W. (2002). Genetic structure of the mating-type locus of Chlamydomonas reinhardtii. *Genetics*, *160*(1), 181–200.

Ferris, P. J., & Goodenough, U. W. (1994). The mating-type locus of Chlamydomonas reinhardtii contains highly rearranged DNA sequences. *Cell*, *76*(6), 1135–1145.

Ferris, P. J., & Goodenough, U. W. (1997). Mating Type in Chlamydomonas Is Specified by *mid*, the Minus-Dominance Gene. In *Genetics* (Vol. 146, Issue 3, pp. 859–869). https://doi.org/10.1093/genetics/146.3.859

Ferris, P. J., Pavlovic, C., Fabry, S., & Goodenough, U. W. (1997). Rapid evolution of sex-related genes in Chlamydomonas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *94*(16), 8634–8639.

Geng, S., De Hoff, P., & Umen, J. G. (2014). Evolution of sexes from an ancestral mating-type specification pathway. *PLoS Biology*, *12*(7), e1001904.

Hamaji, T., Kawai-Toyooka, H., Uchimura, H., Suzuki, M., Noguchi, H., Minakuchi, Y., Toyoda, A., Fujiyama, A., Miyagishima, S.-Y., Umen, J. G., & Nozaki, H. (2018). Anisogamy evolved

with a reduced sex-determining region in volvocine green algae. *Communications Biology*, *1*, 17.

Hamaji, T., Mogi, Y., Ferris, P. J., Mori, T., Miyagishima, S., Kabeya, Y., Nishimura, Y., Toyoda, A., Noguchi, H., Fujiyama, A., Olson, B. J. S. C., Marriage, T. N., Nishii, I., Umen, J. G., & Nozaki, H. (2016). Sequence of the Gonium pectorale Mating Locus Reveals a Complex and Dynamic History of Changes in Volvocine Algal Mating Haplotypes. *G3* , *6*(5), 1179–1189.

Harris, E. H. (2009). *The Chlamydomonas Sourcebook: Introduction to Chlamydomonas and Its Laboratory Use*. Academic Press.

Herron, M. D., Hackett, J. D., Aylward, F. O., & Michod, R. E. (2009). Triassic origin and early radiation of multicellular volvocine algae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(9), 3254–3258.

Joo, S., Kariyawasam, T., Kim, M., Jin, E., Goodenough, U., & Lee, J.-H. (2022). Sex-linked deubiquitinase establishes uniparental transmission of chloroplast DNA. *Nature Communications*, *13*(1), 1133.

Kirk, D. L. (2005). *Volvox: A Search for the Molecular and Genetic Origins of Multicellularity and Cellular Differentiation*. Cambridge University Press.

Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* , *25*(11), 1451–1452.

Liu, Y., Tewari, R., Ning, J., Blagborough, A. M., Garbom, S., Pei, J., Grishin, N. V., Steele, R. E., Sinden, R. E., Snell, W. J., & Billker, O. (2008). The conserved plant sterility gene HAP2 functions after attachment of fusogenic membranes in Chlamydomonas and Plasmodium gametes. *Genes & Development*, *22*(8), 1051–1068.

Merchant, S. S., Prochnik, S. E., Vallon, O., Harris, E. H., Karpowicz, S. J., Witman, G. B., Terry, A., Salamov, A., Fritz-Laylin, L. K., Maréchal-Drouard, L., Marshall, W. F., Qu, L.-H., Nelson, D. R., Sanderfoot, A. A., Spalding, M. H., Kapitonov, V. V., Ren, Q., Ferris, P., Lindquist, E.,

… Grossman, A. R. (2007). The Chlamydomonas genome reveals the evolution of key animal and plant functions. *Science*, *318*(5848), 245–250.

Nei, M., & Li, W. H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *76*(10), 5269–5273.

Nozaki, H. (1988). Morphology, sexual reproduction and taxonomy of Volvox carteri f. kawasakiensis f. nov. (Chlorophyta) from Japan. In *Phycologia* (Vol. 27, Issue 2, pp. 209–220). https://doi.org/10.2216/i0031-8884-27-2-209.1

Parker, G. A., Baker, R. R., & Smith, V. G. (1972). The origin and evolution of gamete dimorphism and the male-female phenomenon. *Journal of Theoretical Biology*, *36*(3), 529–553.

Pinello, J. F., Liu, Y., & Snell, W. J. (2021). MAR1 links membrane adhesion to membrane merger during cell-cell fusion in Chlamydomonas. *Developmental Cell*, *56*(24), 3380–3392.e9.

Prochnik, S. E., Umen, J., Nedelcu, A. M., Hallmann, A., Miller, S. M., Nishii, I., Ferris, P., Kuo, A., Mitros, T., Fritz-Laylin, L. K., Hellsten, U., Chapman, J., Simakov, O., Rensing, S. A., Terry, A., Pangilinan, J., Kapitonov, V., Jurka, J., Salamov, A., … Rokhsar, D. S. (2010). Genomic analysis of organismal complexity in the multicellular green alga Volvox carteri. *Science*, *329*(5988), 223–226.

Snell, W. J. (2022). Uncovering an ancestral green ménage à trois: Contributions of Chlamydomonas to the discovery of a broadly conserved triad of plant fertilization proteins. *Current Opinion in Plant Biology*, *69*, 102275.

Yamamoto, K., Hamaji, T., Kawai-Toyooka, H., Matsuzaki, R., Takahashi, F., Nishimura, Y., Kawachi, M., Noguchi, H., Minakuchi, Y., Umen, J. G., Toyoda, A., & Nozaki, H. (2021). Three genomes in the algal genus reveal the fate of a haploid sex-determining region after a transition to homothallism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*

United States of America, *118*(21). https://doi.org/10.1073/pnas.2100712118

浜地貴志. (2014). ボルボックス目緑藻における性決定・性分化の分子機構. 生物科学 = *Biological science* / 日本生物科学者協会 編, *65*(3), 172–182.

神谷律. (2012). 太古からの*9+2*構造*:* 繊毛のふしぎ. 岩波書店.