

## ゼニゴケ

石崎 公庸\*・河内 孝之

ゼニゴケと聞いて、皆さんは何を思い浮かべるだろうか？ 日陰、ジメジメ、邪魔、汚らしい、という方が大半ではないだろうか？ 確かに園芸店にはゼニゴケ用の除草剤が売られているし、インターネットで「ゼニゴケ」を検索すると、「ゼニゴケ退治」や「ゼニゴケ駆除の方法知りませんか？」といったページが上位にヒットする。認めたくはないが世間では嫌われ者・日陰者扱いである。しかしゼニゴケは、19世紀にはすでにその発生過程が詳細に観察され、ヨーロッパを中心にもっとも研究の進んでいた植物の1つであった。中学校の教科書でも学習の材料として掲載されている（一時期ゆとり教育で消えていたゼニゴケの生活史が、数年前に中学校の教科書で復活した）。近年、ゲノム情報や形質転換技術といった実験基盤が急速に整備され、現代のモデル植物として再び注目を集めている。本稿では、ゼニゴケのイメージを一新すべく、実験材料としてのゼニゴケの魅力と可能性について紹介する。

### ゼニゴケの特徴

**基部陸上植物** ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha* L.) は、世界中に分布し、人家の周辺でもっとも普通に見られるコケ植物の1種である。コケ植物は、タイ類、セン類、ツノゴケ類の3つに分類され、ゼニゴケはタイ類ゼニゴケ科に属する。ゼニゴケが属するタイ類はコケ植物の中でもっとも初期に分岐し、陸上植物の基部に位置するとされる<sup>1)</sup>。

陸上植物は約5億年前に水中から陸上へと進出したと考えられている<sup>2)</sup>。陸上は水中にくらべ気温や湿度の変化が大きく、紫外線も降り注ぐ過酷な環境である。植物は、どのように過酷な陸上の環境に適応していったのだろうか？ 陸上植物進化の基部に位置するゼニゴケは、植物の陸上進出や体制の変遷を理解する上で、進化上絶妙な位置にあるといえる。

**半数体優占の生活史** ゼニゴケの生活史を図1に示す。ゼニゴケの生活史は、1細胞の胞子 (n) から始まる。胞子が吸水・発芽し、分裂を繰り返すことで、生活の主体となる植物体（葉状体）を形成する。葉状体はその名の通り“葉のような”形をしており、複雑に分化した層状構造をもつ。頂端にくぼみを持ち、その付近が細胞分裂の盛んな成長点となっている。二叉に分岐を繰り返して成長し、地面を覆い尽くす。ゼニゴケは雌雄異株であるが、栄養成長期の葉状体は雌雄で明確な形態の区別がない。生殖成長へと移行すると雄株には造精器をつける雄器托、雌株には造卵器をつける雌器托が形成される。雄株の造精器で作られた精子が雌株の造卵器に到達し、受精が行われる。受精卵 (2n) は分裂を繰り返し、多細胞の胞子体 (2n) に成長する。胞子体は最終的に減数分裂し、胞子 (n) が形成される。このようにゼニゴケの生活史の中で核相が複相 (2n)なのは、受精後の胞子体のみである。

ゼニゴケと同様にコケ植物は、生活史の大半を核相が単相 (n) である配偶体として過ごす。対照的に、シダ植物以降では生活史の大半を複相 (2n) である胞子体として過ごす。陸上植物は進化の過程で、配偶体世代を短くし、逆に胞子体世代を長くしていったと考えられる。このような優占世代の転換は、どのように起こったのか？ ゼニゴケの配偶体世代と胞子体世代の形態形成の仕組みを解析し、被子植物やシダ植物の知見と比較することで、このような問いかけに対しても答えが得られると考えている。また実験生物学の中でも、突然変異体を扱う分子遺伝学研究において、単相 (n) 世代を対象とできる利点は大きい。

**高い再生能力と無性芽による増殖** 一般に、コケ植物の組織の再生能力は高く、ゼニゴケも例外ではない。葉状体を切断しても、成長点を失った切断面から葉状体がモリモリと再生してくる。

\*著者紹介 京都大学大学院生命研究科統合生命科学専攻 (助教) E-mail: ishizaki@lif.kyoto-u.ac.jp

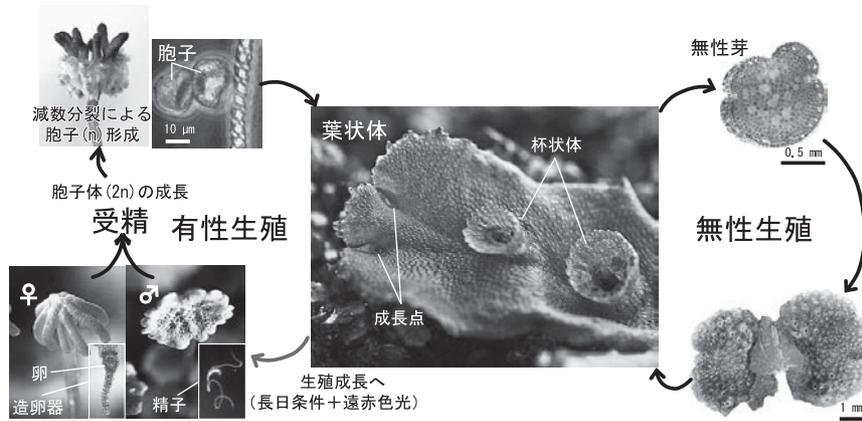


図1. ゼニゴケの生活環

またゼニゴケは、無性芽というユニークな繁殖形態をもつ(図1)。葉状体上に杯状体と呼ばれる文字通りカップ状をした器官を形成し、その中に多数の無性芽が発生する。無性芽は杯状体の底に位置する単一の体細胞由来するクローンであり、杯状体から脱離すると、それぞれが葉状体へと成長する。

高い再分化能や無性芽による旺盛な増殖により、庭のゼニゴケを駆除することは難しく、迷惑がられる程の繁殖能力としぶとさを併せもつ。一方で、このような旺盛な増殖能力は、実験的にはむしろ利点である。無性芽や葉状体の切断片を用いることで有性生殖を経ることなしに、遺伝学的に同一な配偶体を増殖・維持することができる。

**ゲノムと遺伝子構成** ゼニゴケのゲノムサイズは、280Mbと見積もられ<sup>3)</sup>、タイ類の基本的な染色体数 $n=8+$ 性染色体をもつ。被子植物の代表的なモデルであるシロイヌナズナと比べると倍くらいあるが、コケ植物セン類のモデルであるヒメツリガネゴケと比べると半分程度であり、植物の中でも比較的コンパクトなゲノムをもつ。

植物では、2000年に被子植物シロイヌナズナの全ゲノムが解読<sup>4)</sup>されて以降、イネ<sup>5)</sup>やトマト<sup>6)</sup>など多くの被子植物のゲノムが解読されている。コケ植物ではセン類のヒメツリガネゴケ<sup>7)</sup>、シダ植物小葉類のイヌカタヒバ<sup>8)</sup>の全ゲノム解読も完了し、基部植物についてもゲノム情報が蓄積されてきた。このような中でタイ類ゼニゴケについても全ゲノム解析プロジェクトが、米国エネルギー省 Joint Genome Institute で2008年に始動した<sup>9)</sup>。

これまでの解析から、被子植物やシダ植物に保存されている遺伝子が、ヒメツリガネゴケにはなくゼニゴケに見つかる例が出てきている。陸上植物における遺伝子構成の変遷・進化を考える上でゼニゴケゲノム情報の重要性は高い。またゼニゴケは転写調節因子やタンパク質リ酸化酵素などの制御系遺伝子について、冗長性が低く遺伝子数が少ないという特徴をもつことが明らかになってきている。遺伝子の冗長性の低さは分子遺伝学を行う上で大きな利点である。

**実験基盤の整備**

ゼニゴケは古くから研究材料として用いられてきた歴史がある。19世紀後半から20世紀にかけて欧米で植物学の教科書として広く用いられた Leopold Kny による1連の植物図譜にも、詳細なゼニゴケの図版が記載されている<sup>10)</sup>。発生系譜などの形態学な研究に加え、植物ホルモンへの応答や環境応答についても知見の蓄積がある。また葉緑体ゲノム<sup>11)</sup>、ミトコンドリアゲノム<sup>12)</sup>、性染色体ゲノム<sup>13)</sup>が植物で初めて解読された材料でもある。しかし遺伝子機能にアプローチする分子遺伝学的な研究は、近年までほとんど行われていなかった。われわれ筆者らは、モデル生物としてのユニークで優れた特徴(進化的な位置づけ、生活史、成長・増殖能力)に着目し、ゼニゴケの分子遺伝学の実験基盤を整備している。京都国際会館近く(宝ヶ池)で採集した雌雄ゼニゴケから実験標準系統が確立され、前述のゲノムプロジェクトでも、そのゲノムが解読されている。さらに交配法や形質転換法、ジーンターゲット法が確立され、分子遺伝学の

実験モデルとしての基盤が整ってきた。

**交配法の確立** ゼニゴケは長日植物であり<sup>14)</sup>、野外では、春先から秋にかけてゼニゴケの生殖器官を見ることができる。しかし実験室の蛍光灯下で培養している限り、長日条件でも生殖成長には移行せず、雄器托・雌器托を形成しない。筆者らは蛍光灯に加え遠赤色光を加えることで、ゼニゴケが生殖成長へと移行することを見いだした<sup>15)</sup>。この発見により、実験室条件下でゼニゴケの生殖器官を誘導し、交配と孢子採取を自在に行えるようになった。前述したようにゼニゴケは雌雄異株植物である。雄株と雌株を別々に栽培しておけば、勝手に交配することはない。雄器托からの精子の収集も容易であり、誰でも簡単に人工交配することができる。系統間の多型も基づく物理地図の作製や、突然変異体の遺伝学的解析の他に、孢子の採取にも用いられている。ゼニゴケは、休眠する性質を持つ無性芽を使って数年間の系統保存が可能であるが、孢子を用いればさらに長期間の保存が可能である。栽培の簡便さや扱いのよさは、実験材料としてのゼニゴケの大きな特徴である。

**迅速・簡便な形質転換系** 実験室条件下で採取された孢子を用いて、アグロバクテリウムを用いた核ゲノム形質転換系が確立された<sup>16)</sup>。直径わずか数ミリメートルの孢子囊1個につき、数百個の形質転換体が得られる。現在までにハイグロマイシンを含む4種類の選抜マーカーが、ゼニゴケの形質転換で使用可能であり、種々のバイナリーベクターが開発されている。目的の遺伝子を過剰発現する実験や、蛍光タンパク質など各種レポーターとの融合遺伝子を発現する実験も容易に行えるようになった。

アグロバクテリウムによる形質転換系では数コピーのT-DNAがランダムに挿入される。T-DNAを変異原として利用するT-DNAタギング法が、ゼニゴケで可能となった。これまでに、形態やオーキシン応答が異常となった変異体を単離し、さらにT-DNAを指標として変異原因遺伝子を単離・同定する成功例も出てきた。

**相同組換えによるジーンターゲットティング** ジーンターゲットティング法は、相同組換えを介して特定の遺伝子を改変する手法であり、逆遺伝学的な遺伝子機能解析にきわめて有効な手法である。多くの植物種（ヒメツリガネゴケを例外として）では、ランダムな遺伝子導入に対して相同組換えの効率はきわめて低い。近年、イネで効

率的に相同組換え体を選抜する手法が開発された<sup>17)</sup>。この手法を応用し、ゼニゴケで相同組換えによるジーンターゲットティング法を確立することに成功した。ゼニゴケは、形質転換に用いる孢子囊の数を増やすことで容易に形質転換系をスケールアップできる利点を有しており、ジーンターゲットティングに必要な数千から数万の形質転換事象を、大規模な実験系を組むことなく現実的な労力で実現できる。また半数体優占の生活環をもつことから、T1個体の選抜と同時に相同組換え体の表現型が現れる。このためターゲットングコンストラクトを形質転換して、得られてくるT1個体に対して、予測される表現型を指標とした選抜を行うことも可能である。一方で、標的とする遺伝子が致死性の場合、ノックアウト株の取得に工夫が必要であるという点にも注意が必要である。相同組換え体の選抜技術を応用した条件的ノックアウト系や、ノックイン系の開発が期待される。

## 展 望

ゼニゴケを材料とした現代の分子遺伝学研究基盤が整ってきた。ゼニゴケの進化的位置づけと制御系遺伝子の冗長性の低さに加え、ジーンターゲットングによる遺伝子機能解析系が開発されたことで、進化発生生物学分野（Evo-Devo）の研究材料として、注目されている。また特定の遺伝子に着目し、遺伝子機能を解析する逆遺伝学に加え、交配法に基づく連鎖解析やT-DNAタギングによる順遺伝学も可能になってきた。単なる植物間の比較研究に留まらず、ゼニゴケを材料とした研究から、陸上植物全般に共通する新たな発生制御メカニズムが見出される可能性にも大いに期待している。

植物は、多様な二次代謝産物を産生する能力をもち、人類はそれらを薬・染料・香料などのかたちで利用してきた。近年、コケ植物における代謝産物解析の知見が蓄積しており、コケ植物もフラボノイドやテルペノイド、イソプレノイド、カロテノイド類などの複雑な二次代謝産物を生合成することが明らかとなってきた<sup>18)</sup>。ゼニゴケを含む多くのコケ植物は、維管束植物と異なり、アラキドン酸やエイコサペンタエン酸など長鎖多不飽和脂肪酸を産生する<sup>19)</sup>。また細胞壁を硬くするリグニンを作らないなど、維管束植物の代謝系との興味深い相違点も知られている。抗植物活性を持つルヌラル酸<sup>20)</sup>や、抗菌-抗ウイルス活性を持つマルカンチンA<sup>21)</sup>などはタイ類に

特異的な化合物であり、特徴的な生理活性を持つことから有用二次代謝産物として注目されている。ゼニゴケのゲノム情報と分子遺伝学の研究基盤により、これらの二次代謝産物の生合成経路研究の進展が期待される。さらにゼニゴケは植物機能改変の有用な遺伝子源としても期待できる。遺伝子導入により植物の代謝経路を改変する際、微生物や菌類由来の遺伝子よりも植物由来遺伝子の方がより良好に機能する可能性がある。たとえば、ゼニゴケ由来の不飽和脂肪酸合成酵素遺伝子を大豆に導入することで、効率よくアラキドン酸やエイコサペンタエン酸を生産する植物体を作り出すことに成功している<sup>22)</sup>。再分化能や環境耐性の高いコケ植物は、機械工学的な培養制御技術の応用に適した性質をもつ。ゼニゴケにおいては、前述の核ゲノム形質転換系に加え葉緑体ゲノムへの形質転換系も開発されており<sup>23)</sup>、遺伝子工学を活用した物質生産系構築の可能性も広がっている。

### ゼニゴケを扱う難しさ

ゼニゴケは *polymorpha* という名の通り、多様な形態をとりやすい。クローン個体を扱い、光や温度、栄養条件が一定な実験室条件下でも、シャーレ内の位置や光の散乱方向、植継いだ無性芽の状態など、ちょっとした環境要因の違いで、大きさや分岐・杯状体形成のタイミングなどに違いが現れてしまうことがある。加えて雌雄異株であることに由来する性差・個体差についても考慮すべきである。変異体選抜や遺伝子改変株の表現型観察の際には、特にこのようなゼニゴケ固有の特徴に注意しなければならない。また、細胞レベルの観察や培養法についても、まだまだ改善の余地がある。ゼニゴケが真に優れた現代のモデル生物になるには、さまざまな視点からの研究の蓄積が必要であろう。

苔庭や苔盆栽などに見られるように、日本人は世界の中でも特にコケ植物を愛でる心をもっている。栽培スペースのゼニゴケは、見慣れないと「美しい」とは思えないかもしれないが、実体顕微鏡で観察すると意外に複雑で巧みな組織構造に時間を忘れる。拙稿を読んで、ユニークなモデル生物—ゼニゴケにご興味を持って下さった方は、是非ご連絡ください。

### 文 献

- 1) Qiu, Y. L. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 15511 (2006).
- 2) Kenrick, P. and Crane, P.: *Nature*, **389**, 33 (1997).
- 3) Okada, S. *et al.*: *Plant J.*, **24**, 421 (2000).
- 4) The Arabidopsis Genome Initiative: *Nature*, **408**, 796 (2000).
- 5) International Rice Genome Sequencing Project: *Nature*, **436**, 793 (2005).
- 6) The Tomato Genome Consortium: *Nature*, **485**, 635 (2012).
- 7) Rensing, S. A. *et al.*: *Science*, **319**, 64 (2008).
- 8) Banks, J. A. *et al.*: *Science*, **332**, 960 (2011).
- 9) <http://www.jgi.doe.gov/sequencing/why/CSP2008/mpolymorpha.html>
- 10) Kny, L.: *Botanische Wandtafeln mit Erläuterndem*, p.364, Wiegandt, Hempel & Parey, Berlin (1890).
- 11) Ohyama, K. *et al.*: *Nature*, **322**, 572 (1986).
- 12) Oda, K. *et al.*: *J. Mol. Biol.*, **223**, 1 (1992).
- 13) Yamato, K. T. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 6472 (2007).
- 14) Wann, F. B.: *Amer. J. Bot.*, **12**, 307 (1925).
- 15) Chiyoda, S. *et al.*: *Plant Cell Rep.*, **27**, 1467 (2008).
- 16) Ishizaki, K. *et al.*: *Plant Cell Physiol.*, **49**, 1084 (2008).
- 17) Terada, R. *et al.*: *Nature Biotechnol.*, **20**, 1030 (2002).
- 18) Xie, C. F. and Lou, H. X.: *Chemistry & Biodiversity*, **6**, 303 (2009).
- 19) Dembitssky, V. M.: *Prog. Lipid Res.*, **32**, 281 (1993).
- 20) Pryce, R. J. *et al.*: *Phytochemistry*, **11**, 1759 (1972).
- 21) Iwai, Y. *et al.*: *PLoS One*, **6**, e19825 (2011).
- 22) Kajikawa, M. *et al.*: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 435 (2008).
- 23) Chiyoda, S. *et al.*: *Transgenic Res.*, **16**, 41 (2006).