

TALE型ホメオボックス遺伝子族の進化による陸上植物複相の複雑化

榎原恵子^{1*}・古水千尋²

¹ 金沢大学学際科学実験センター 〒920-0934 金沢市宝町13-1

(* 現所属: 立教大学理学部 〒171-8501 東京都豊島区西池袋3-34-1)

² Max Planck Institute for Plant Breeding Research

Carl-von-Linné-Weg 10, 50829 Cologne Germany

The evolution of TALE homeobox transcription factors contributes to the increase in the complexity of the diploid body plan in land plants

Key words: Alternation of generations; Evolution of sporophytes; Gene duplication; KNOX; BELL

Keiko Sakakibara^{1*}, Chihiro Furumizu²,

¹ Advanced Science Research Center, Kanazawa University, Kanazawa 920-0934, Japan

(*Current address: Rikkyo University, 3-34-1 Nishi-Ikebukuro, Toshima-ku, 171-8501, Tokyo Japan)

² Max Planck Institute for Plant Breeding Research

Carl-von-Linné-Weg 10, 50829 Cologne, Germany

1. 遺伝子重複は進化の原動力

遺伝子重複は新規遺伝子獲得の原動力であると考えられてきた (Ohno 1970)。重複によって増えた遺伝子の多くは偽遺伝子化 (Pseudogenization)によって消失するが、重複に由来する2つの遺伝子がオリジナルの遺伝子が担っていた機能を役割分担するようになる機能分化 (Subfunctionalization)や、重複により増えた遺伝子の片方がもともと担っていた機能を維持する一方で、もう片方の遺伝子が新しい機能を獲得する新規機能獲得 (Neofunctionalization)が起こることが知られている (図1)。遺伝子重複に伴う機能分化や新規機能獲得が転写因子に起こると、下流の遺伝子発現が大きく変化する結果、そ

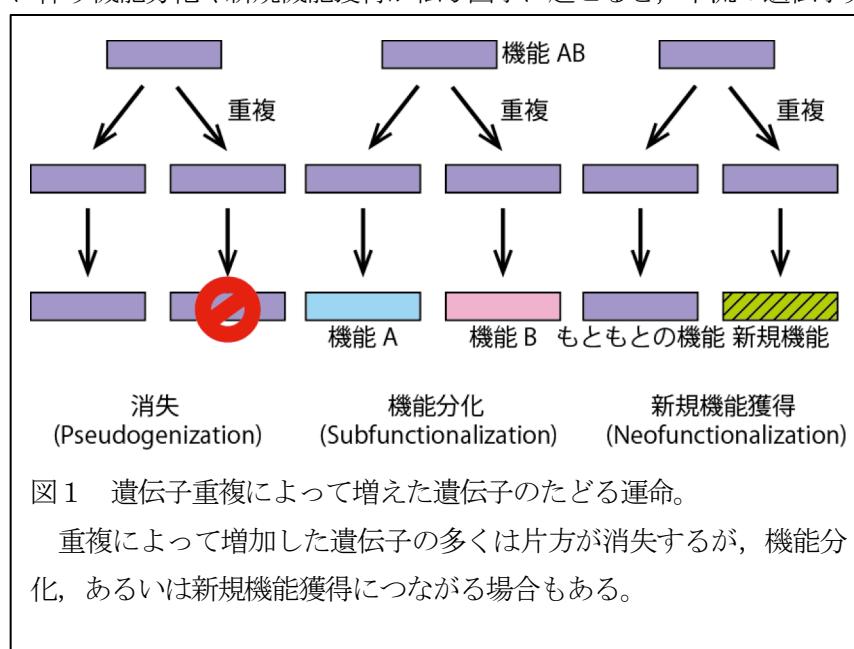


図1 遺伝子重複によって増えた遺伝子のたどる運命。

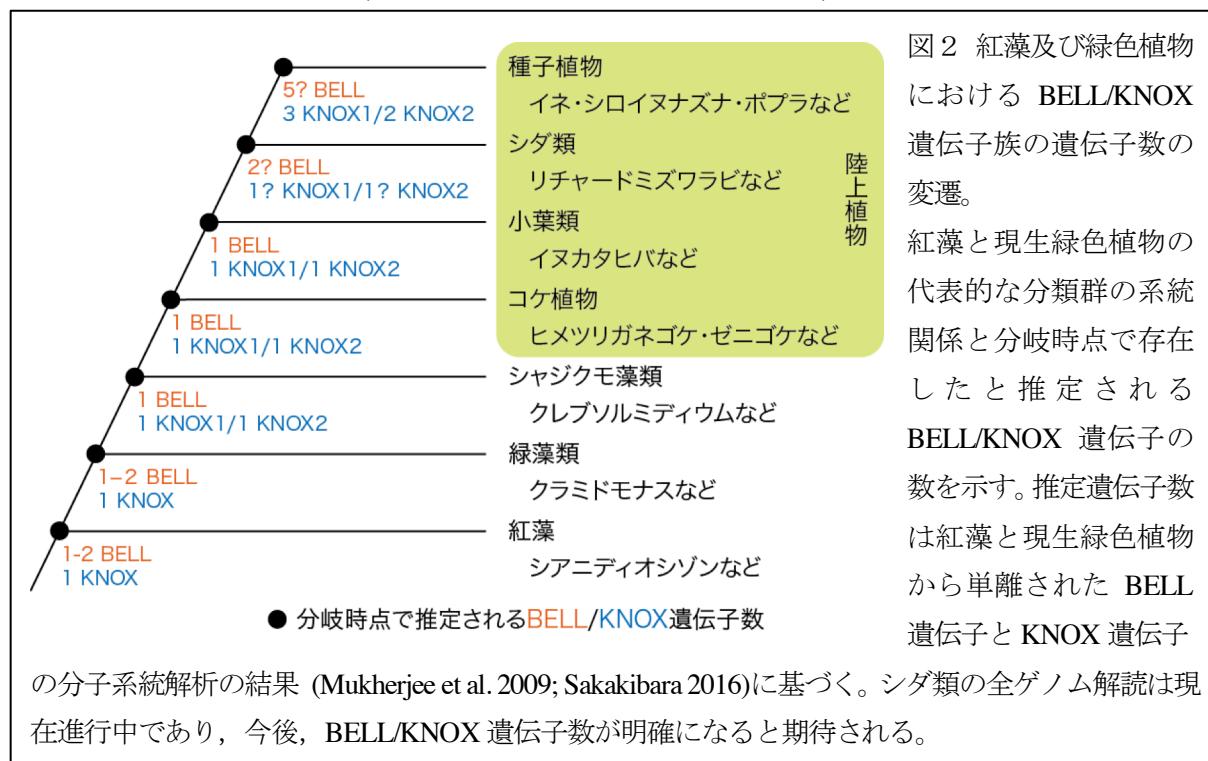
重複によって増加した遺伝子の多くは片方が消失するが、機能分化、あるいは新規機能獲得につながる場合もある。

の生物に新しい形質の獲得をもたらす原動力となりうる。陸上植物においても、遺伝子重複後の機能分化や新規機能獲得が既存の遺伝子制御ネットワークをより複雑にし、その進化に貢献したと考えられている (Rensing 2014)。また、同じ種内で重複により生じた相同遺伝子はパラログと呼ばれ、種分化によって生じたオーソログとは区別される。

陸上植物は淡水性緑色藻類のシャジクモ藻類の仲間から約4億8000万年以上前に分岐したと考えられている(Lewis and McCourt 2004; Wellman et al. 2003; Wickett et al. 2014)。シャジクモ藻類シャジクモと陸上植物の生活環を比較してみると、シャジクモは核相が単相の世代に多細胞の配偶体を作るが、複相の世代は单細胞の接合子のみである。一方で、陸上植物は複相の世代も多細胞の孢子体を形成する。陸上植物の進化の初期に他の系統から分岐したと考えられるコケ植物では生活環の大半は単相の配偶体で、孢子体は小さく、配偶体上に依存的に形成される。これに対し、被子植物では複相の孢子体が生活の主となり、配偶体は数細胞にまで退化している(Graham et al. 2000)（本総説集中の石崎と榎原の図2を参照）。このことから、陸上植物の進化の過程で複相の植物体の多細胞化と巨大化が起きたと考えられる。本総説では陸上植物の複相世代の進化に貢献したと考えられる2つのホメオボックス型転写因子、KNOX遺伝子族とBELL遺伝子族の遺伝子重複とその後の遺伝子進化について紹介する。

2. 緑色植物のTALE型ホメオボックス遺伝子にみられる遺伝子重複：KNOX遺伝子とBELL遺伝子

ホメオボックス型転写因子は真核生物が共通に持つ起源の古い転写因子の一つであり、真核生物の共通祖先において、DNA結合能を示すホメオドメインの第1ヘリックスと第2ヘリックスの間に3アミノ酸残基の挿入を含むTALE型ホメオボックス遺伝子と3アミノ酸残基の挿入がない非TALE型ホメオボックス型遺伝子に分かれていたと考えられている(Derelle et al. 2007)。植物ではTALE型転写因子はKNOX遺伝子族とBELL遺伝子族に分かれており、いずれも緑色植物と単細胞紅藻シアニティオシゾン *Cyanidioschyzon merolae* で広く保存されている(図2; Mukherjee et al. 2009; Sakakibara 2016)。緑藻類と異なり、陸上植物の系統ではKNOX遺伝子族は遺伝子重複によりKNOXクラス1遺伝子亜族(KNOX1)とKNOXクラス2遺伝子亜族(KNOX2)に分岐している(図2; Mukherjee et al. 2009)。コケ植物と維管束植物の共通祖先ではKNOX1遺伝子亜族とKNOX2遺伝子亜族の遺伝子数はそれぞれ1個ずつであったと推定されるが、その後に起こった遺伝子重複の結果、種子植物ではさらに遺伝子数が

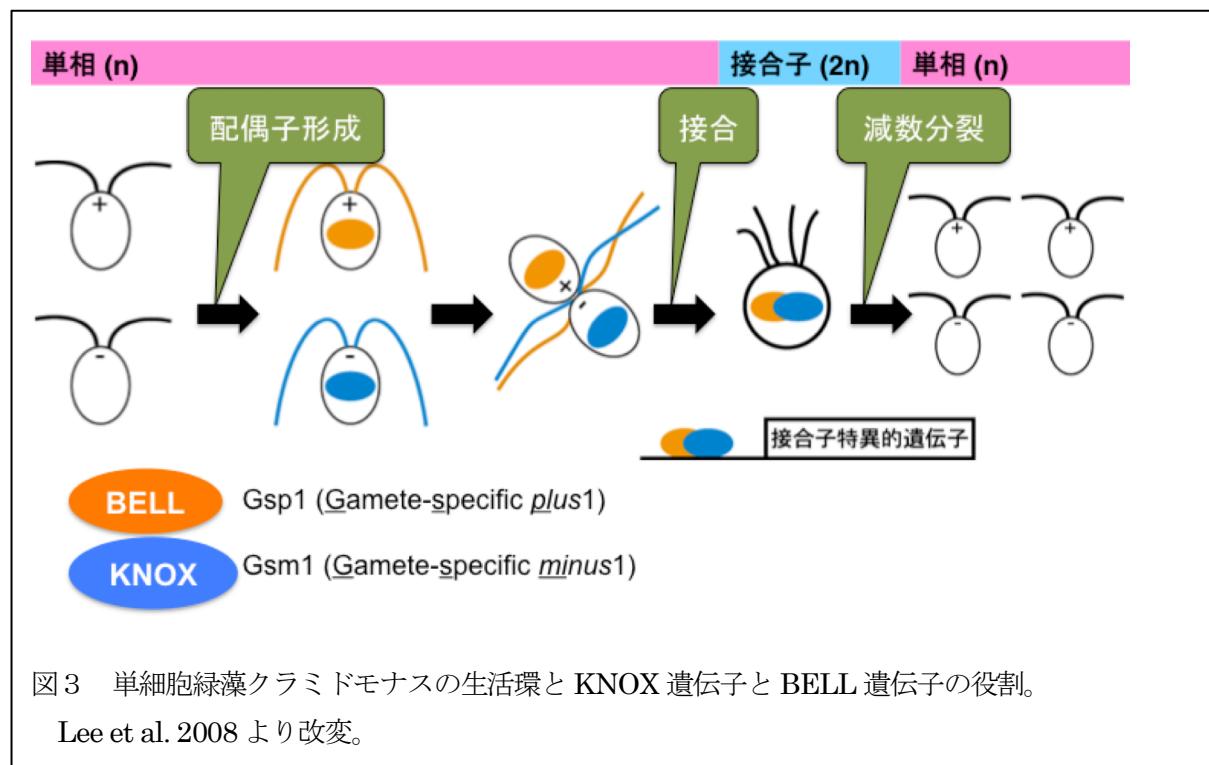


増加している。KNOX遺伝子と同様に、陸上植物のBELL遺伝子についても遺伝子重複により遺伝子数が増加する傾向が認められる。一方、藻類のBELL遺伝子では、紅藻シアニディオシゾン、及び緑藻類は遺伝子重複によって生じた2個のBELL遺伝子を持つが、シャジクモ藻類クレブソルミディウム *Klebsormidium flaccidum*では1個存在する。分岐年代の古さから、藻類のBELL遺伝子と陸上植物のBELL遺伝子の系統関係は未だ明らかではなく、さらなる解析が待たれる。

BELL遺伝子とKNOX遺伝子の祖先的な機能を考察する上で重要な、緑藻類のTALE型ホメオボックス遺伝子に関する研究を次の項で紹介する。

3. 緑色植物の複相発生を制御する TALE 型ホメオボックス遺伝子

単細胞緑藻類クラミドモナス *Chlamydomonas reinhardtii* はプラスとマイナスの2つの交配型を持ち、栄養欠乏条件下では单相の栄養細胞が配偶子へと分化する。その際に、プラス型配偶子は BELL 様タンパク質をコードする *GSP1* (*Gamete-specific plus1*) 遺伝子を、マイナス型配偶子は KNOX タンパク質をコードする *GSM1* (*Gamete-specific minus1*) 遺伝子を発現する。これらのタンパク質はそれぞれの配偶子においては細胞質に局在する。KNOX タンパク質は転写因子として働くが、自身は核移行シグナルを持たず、接合後、BELL タンパク質とヘテロダイマーを形成することで核へと移行し、接合子（複相）特異的な遺伝子発現を調節することで複相世代の分化を制御していることが示された (Lee et al. 2008; Zhao et al. 2001)。これらの実験や緑色植物における TALE 遺伝子の配列解析の結果に基づいて、Lee ら (2008) は KNOX 遺伝子と BELL 遺伝子の進化が陸上植物の複相世代の多細胞化に重要であったという仮説を提唱している。次の項では陸上植物の生活環における TALE 型ホメオボックス遺伝子の役割を考察する上で重要な知見をもたらした、ヒメツリガネゴケの KNOX 遺伝子族と BELL 遺伝子族に関する研究を紹介する (Horst et al. 2016; Sakakibara et al. 2013)。



4. KNOX2 遺伝子と BELL 遺伝子は陸上植物の世代交代を制御する

基部陸上植物における KNOX2 遺伝子亜族と BELL 遺伝子族の機能についてはコケ植物セン類のヒメツリガネゴケ *Physcomitrella patens* を用いた解析が進んでいる。ヒメツリガネゴケゲノム中には2個の KNOX2 遺伝子がコードされており(図2), いずれも複相の胞子体で発現し, その二重機能欠損変異体は胞子体の胚発生が初期の段階で停止する。この胚を単離培養すると, 核相は複相のまま胞子体から配偶体様組織を分化したことから, KNOX2 遺伝子が複相において配偶体の発生プログラムを抑制することで世代交代を制御していることが示された(Sakakibara et al. 2013)。

一方, ヒメツリガネゴケは4個のBELL遺伝子を持つが, そのうちの一つであるPpBELL1遺伝子を配偶体において過剰発現させると, 核相は単相のまま胞子体様組織が誘導された(Horst et al. 2016)。この結果から, ヒメツリガネゴケのBELL遺伝子が胞子体の発生プログラムを制御することにより, 世代の切換えに関与することが示された。また, BiFC解析と呼ばれる手法でタバコの表皮細胞を用いてタンパク質間の相互作用を解析した結果, PpBELL1タンパク質と蛍光タンパク質断片との融合タンパク質がヒメツリガネゴケのKNOX1またはKNOX2タンパク質と蛍光タンパク質断片との融合タンパク質のいずれとも相互作用可能であることが示されている。以上の結果は, ヒメツリガネゴケでもPpBELL1タンパク質がヒメツリガネゴケKNOXタンパク質のいずれかと物理的に相互作用して世代交代を制御している可能性を示唆する(Horst et al. 2016)。これらの研究によって, KNOX遺伝子とBELL遺伝子による単相と複相の切換えの分子機構が緑藻クラミドモナスと陸上植物ヒメツリガネゴケ間である程度保存されていることが示された。

5. KNOX1 遺伝子は胞子体の分裂組織形成維持遺伝子

植物で最初に単離されたホメオボックス遺伝子はトウモロコシ *Zea Mays* から単離された KNOX1 遺伝子亜族に属する遺伝子である *Knotted-1* であり(Vollbrecht et al. 1991), KNOX1 遺伝子亜族については被子植物を用いた研究が多数, 報告されている(Hay and Tsiantis 2010)。トウモロコシの *Knotted-1* 遺伝子の報告に続いてシロイスナズナ *Arabidopsis thaliana* の茎頂分裂組織が欠失する変異体 *shoot meristemless (stm)* の原因遺伝子として *STM* 遺伝子が単離され, KNOX1 タンパク質をコードしていることが明らかになった(Barton and Poethig 1993; Long et al. 1996)。また, シロイスナズナの他の KNOX1 パラログの機能欠損変異体である *knat1/brevipedicellus (bp)* は花茎の伸長が妨げられる表現型を示し, 細胞壁合成遺伝子, 特にリグニン合成経路の遺伝子発現が上昇していることから, *KNAT1/BP* 遺伝子は細胞の未分化状態を適切に維持し, 花茎の細胞分化と伸長がおこる前にリグニンの沈着してしまうのを抑制していると考えられている(Mele et al. 2003)。一方, *KNAT1/BP* 遺伝子をシロイスナズナで過剰発現させると葉に異所的に分裂組織が形成される(Chuck et al. 1996)。これらの事実から, 被子植物 KNOX1 遺伝子は胞子体の茎頂分裂組織の形成維持と細胞分化の抑制に機能していると考えられている(Hay and Tsiantis 2010)。

基部陸上植物であるコケ植物ヒメツリガネゴケの持つ3個の KNOX1 遺伝子は胞子体の頂端細胞と分裂組織で機能する。ヒメツリガネゴケの胞子体の分裂組織は胚発生の初期に形成されるが, 後に分裂組織が消失し, 1個の胞子のうを分化して胞子体の発生を終了する。ヒメツリガネゴケの KNOX1 遺伝子はいずれもこの胞子体に一時的に作られる分裂組織で発現する。ヒメツリガネゴケ KNOX1 遺

伝子三重機能欠損変異体においては胞子体の分裂組織が適切に維持されないため、結果としていびつな胞子体を形成する。このことから、KNOX1 遺伝子はヒメツリガネゴケにおいても被子植物の KNOX1 オーソログと同様に分裂組織を維持する機能を担っていると考えられる(Sakakibara et al. 2008)。

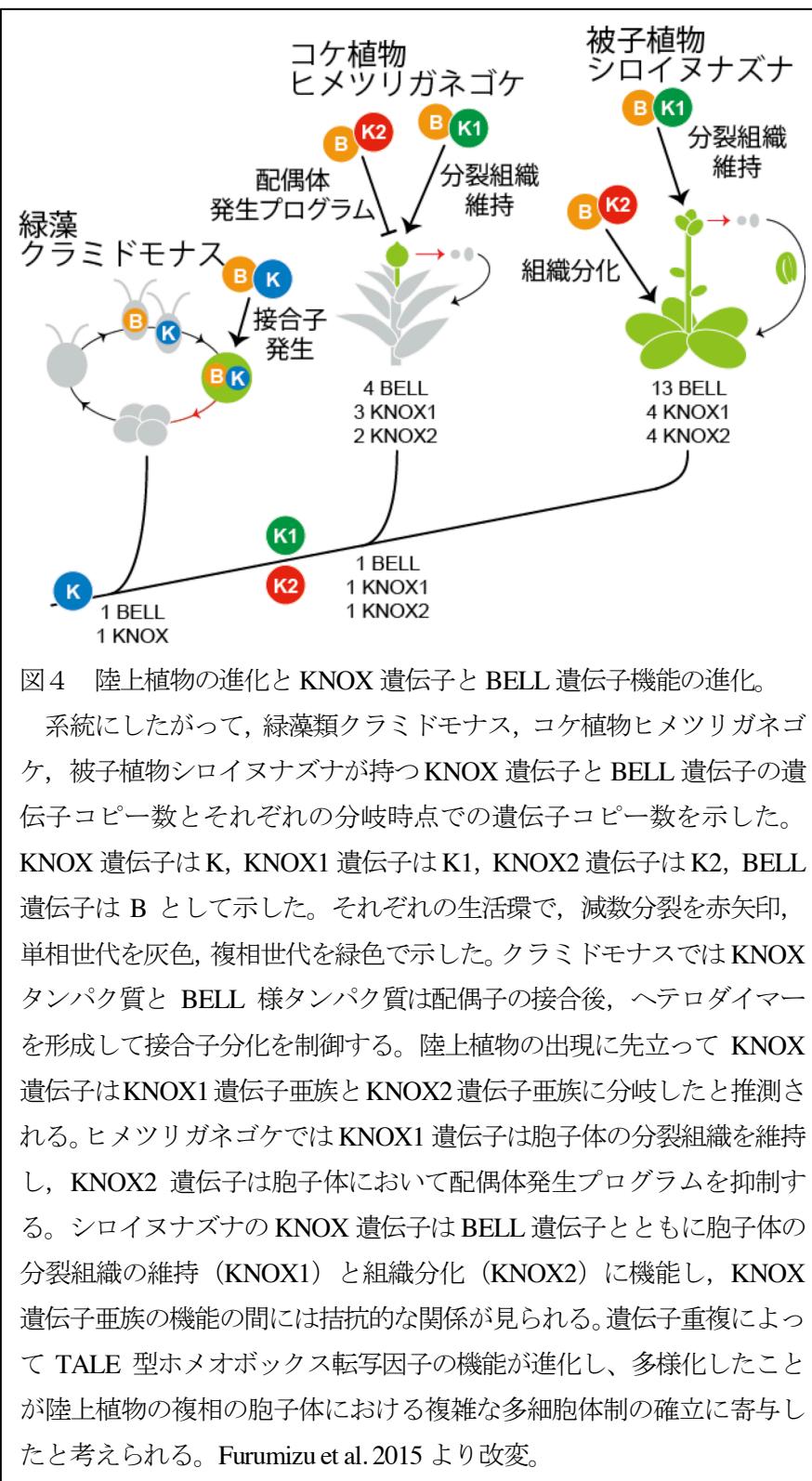
シロイヌナズナのような単葉を形成する被子植物では KNOX1 遺伝子は茎頂分裂組織で発現し、葉原基形成に先立って予定葉領域で発現が消失する。それに対して、トマト *Solanum lycopersicum* やシロイヌナズナの近縁種のミチタネツケバナ *Cardamine hirsuta* など複葉を形成する植物では KNOX1 遺伝子の発現が葉原基の小葉原基で再び活性化することで複葉の発生が制御されていることが知られている(Blein et al. 2008; Hay and Tsiantis 2010)。また、複葉を形成する植物で KNOX1 遺伝子を過剰発現させた場合は複葉の複雑さが亢進される(Hareven et al. 1996)。これらの研究は KNOX1 遺伝子の発現様式の変化が被子植物の葉の進化と多様化に貢献したことを示唆している。このように被子植物の胞子体の茎頂では KNOX1 遺伝子の発現は時空間的に精緻に制御されており、茎頂分裂組織で長期間維持される一方、発生初期の葉原基では抑制されるという複雑な発現様式を示すが、ヒメツリガネゴケの KNOX1 遺伝子の発現は胞子体の胚発生の初期の分裂組織に限定されている。被子植物の葉原基での KNOX1 遺伝子の発現抑制に関与する転写因子として MYB ドメインを含む ARP (ASYMMETRIC LEAVES1/ROUGH SHEATH2/PHANTASTICA)タンパク質、LOB (LATERAL ORGAN BOUNDARIES)ドメインを含む AS2 (ASYMMETRIC LEAVES2)タンパク質の複合体や YAB (YABBY) タンパク質などが報告されている(Byrne et al. 2000; Hake et al. 2004; Kumaran et al. 2002)。これらの調節因子の一部 (AS1, AS2 や YAB) のオーソログはヒメツリガネゴケゲノムには存在せず(Rensing et al. 2008; Sakakibara et al. 2008)，陸上植物の進化の過程で、被子植物を含む系統で KNOX1 遺伝子の発現調節に関わる新たなトランス因子が獲得されたと推測される。加えて発現調節に関わるシス領域が進化した結果、KNOX1 遺伝子の発現制御ネットワークが複雑になったことで、茎頂での発現が維持されるようになり、被子植物の系統での胞子体の複雑化につながったと考えられる(榎原恵子 2013)。

6. 被子植物における KNOX2 遺伝子の機能

Knotted-1 遺伝子の単離を端緒として、そのオーソログが陸上植物の様々な分類群から単離された。系統解析の結果、陸上植物 KNOX 遺伝子はそれぞれ单系統の KNOX1 遺伝子亜族と KNOX2 遺伝子亜族に分かれることが早くから示されていた(Kerstetter et al. 1994)。両者の間には、遺伝子の発現パターンや過剰発現体の表現型に大きな違いがある。すなわち、シダ類や被子植物の KNOX1 遺伝子は胞子体の分裂組織で主に発現する一方で、KNOX2 遺伝子は胞子体の分化中の様々な組織で発現する(Bharathan et al. 1999; Reiser et al. 2000; Sano et al. 2005; Serikawa et al. 1997a)。また、シロイヌナズナの KNOX2 遺伝子の一つである *KNAT3* を過剰発現する株は顕著な表現型を示さないが(Serikawa et al. 1997a; Serikawa et al. 1997b)，これは分裂組織の異所的な形成などの顕著な表現型を示す KNOX1 遺伝子の機能獲得型変異体や KNOX1 過剰発現植物体とは対照的である。さらに興味深い現象として、シロイヌナズナの他の KNOX2 遺伝子の機能欠損型変異体である *knat7* 変異体において二次壁合成能の減少が報告されており(Zhong et al. 2008)，KNOX1 遺伝子亜族に属するシロイヌナズナの *KNAT1/BP* の変異体 *bp* でリグニン沈着が促進されるのと対極的である(Mele et al. 2003)。これらの知見から、KNOX2 遺伝子は KNOX1 遺伝子とは異なり、胞子体の分化組織で主に機能することが推測されていたが、こ

の仮説を裏付ける最近の研究成果を次に紹介する。

シロイヌナズナ KNOX2 遺伝子パラログの残りの3個の単独変異体はいずれも野生型とほぼ同様の表現型を示すが、*knat3 knat4 knat5* 三重変異体はシロイヌナズナ KNOX1 遺伝子を過剰発現させた時のように葉が切れ込む表現型を示す(Furumizu et al. 2015; Serikawa et al. 1997a; Truernit et al. 2006)。また、*KNAT3*をBELL遺伝子とともに茎頂分裂組織で異所的に発現すると、KNOX1 遺伝子の機能欠損変異体である *stm* 変異体と類似の表現型を示す。KNOX1 転写因子と転写抑制ドメインの融合タンパク質を植物体で発現させると、KNOX1 の欠損型変異体と類似の表現型を示すことから、KNOX1 タンパク質は主にアクティベータ型転写因子として機能すると推測される(Markel et al. 2002; Shani et al. 2009)。一方、シロイヌナズナの *KNAT7* 遺伝子がコードする KNOX2 タンパク質はリプレッサー型転写因子として働くことが示唆されている(Li et al. 2011; Li et al. 2012)。KNOX2 転写因子のターゲットの同定などの今後の解析が必要であるが、以上の事実から、シロイヌナズナの KNOX1 遺伝子と KNOX2 遺伝子は地上部のボディプランを制御する共通のターゲット遺伝子の発現を拮抗的



に制御する可能性が示唆された(図4; Furumizu et al. 2015)。

先に複葉を形成する植物において KNOX1 遺伝子が複葉の複雑さを亢進することを言及したが、ミチタネツケバナにおける複葉形成には KNOX1 遺伝子が必要であり、KNOX1 遺伝子の過剰発現は複葉を構成する小葉の枚数を増加させる(Hay and Tsiantis 2006)。一方、ミチタネツケバナで KNOX2 遺伝子を過剰発現すると複葉の複雑さが減少することから、シロイヌナズナの地上部の形態形成と同様に、ミチタネツケバナの複葉形成においても KNOX2 遺伝子は KNOX1 遺伝子と反対の役割を果たすことが示唆された(Furumizu et al. 2015)。これらの知見から、被子植物に至る系統で KNOX1 遺伝子亜族と KNOX2 遺伝子亜族の機能が大きく分化したと推測される。KNOX1 遺伝子と KNOX2 遺伝子の発現領域に重なりがないこと、また転写因子として機能の違いが推測されることから、遺伝子の発現を調節するシス領域と遺伝子の産物であるタンパク質がともに変化することで機能分化に至ったと考えられる。

また、被子植物での KNOX 遺伝子族の転写因子の機能の変化を如実に示す例として、シロイヌナズナやトマトで同定された、ホメオドメインを欠く KNOX 様タンパク質 KNATM や PTS/TKD1 が挙げられる。これらの DNA 結合能を持たない KNOX 様タンパク質は通常の KNOX 転写因子の機能を競合的に阻害し、KNOX 転写因子によるターゲット遺伝子の発現制御の抑制因子として働くと示唆されている(Kimura et al. 2008; Magnani and Hake 2008)。

7. KNOX 遺伝子と BELL 遺伝子の重複は被子植物の胞子体地上体制の複雑化に貢献した

シロイヌナズナゲノムには13個のBELL 遺伝子が含まれる。機能欠損変異体の遺伝学的な解析により、STM 遺伝子などのKNOX1 遺伝子は PENNYWISE や POUND-FOOLISH などの BELL 遺伝子とともに機能することが示されている(Byrne et al. 2003; Rutjens et al. 2009; Smith and Hake 2003)。一方、機能欠損変異体の表現型の類似や過剰発現植物体の解析から KNOX2 遺伝子は BELL1, SAWTOOTH1 (SAWI), SAW2 などの BELL 遺伝子とともに機能する可能性が示唆されており、シロイヌナズナの BELL 遺伝子には機能の分化があることが推測される(Furumizu et al. 2015)。これらの研究から、BELL 遺伝子族内での遺伝子重複とその後の機能分化も KNOX 遺伝子との相互作用の組み合わせの多様化に寄与したと考えられる。KNOX 遺伝子と BELL 遺伝子の組み合わせの多様化がより高度な転写調節ネットワークの構築を可能にし、その結果、被子植物の地上部の複雑なボディプランの進化にも貢献したのではないかと考えられる。

8. おわりに

2014年に公開されたシャジクモ藻類クレブソルミディウムのゲノム情報を含めた系統解析により、KNOX 遺伝子族は陸上植物の多様化に先立って、KNOX1 と KNOX2 の遺伝子亜族に分かれていたことが明らかとなった(図2; Hori et al. 2014; Sakakibara 2016)。シャジクモ藻類では世代交代は報告されておらず、おそらく、陸上植物の系統での KNOX1 と KNOX2 の遺伝子亜族で新規機能獲得がおきたことにより、胞子体の複雑な多細胞体制の確立に機能するようになったと考えられる。シャジクモ藻類においてこれらの KNOX1 遺伝子、KNOX2 遺伝子がそれぞれどのような機能を担っているかは興

味深いところだ。近年、シャジクモ藻類ホシミドロ目のヒメミカヅキモ *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex とタテブエ *Penium margaritaceum*において形質転換系の確立が相次いで報告されており(Abe et al. 2011; Sørensen et al. 2014), 今後、シャジクモ藻類でのKNOX1/KNOX2 遺伝子亜族やBELL 遺伝子の機能解析が待たれる。

また、紅藻からも KNOX 遺伝子と BELL 遺伝子がそれぞれみつかっており(Matsuzaki et al. 2004; Mukherjee et al. 2009), KNOX-BELL 経路の進化を考える上でこれらの機能解析もたいへん興味深い。KNOX 遺伝子族と BELL 遺伝子族の起源をさかのぼってみると、これらの遺伝子族は紅藻と緑色植物の共通祖先での遺伝子重複によって生じたと推測され、起源の古い遺伝子重複とその後の進化が植物のボディプランや陸上植物の生活史の進化に大きな影響を与えたと考えられる。

本稿では発生遺伝学的な研究が充実している緑藻類とコケ植物、そして被子植物の研究を中心に紹介してきたが、他の分類群における遺伝子機能の解析に向けた実験系の整備も近年、飛躍的に進んでいる。シダ植物においては現在公開されている小葉類のイヌカタヒバ *Selaginella moellendorffii* ゲノムだけでなく、薄のうシダであるリチャードミズワラビなどのゲノム解析も進められており(Sessa et al. 2014), リチャードミズワラビなどで遺伝子導入が可能なことが報告された (Muthukumar et al. 2013; Plackett et al. 2014)。今後、シダ植物でのそれぞれの遺伝子族内での遺伝子数が明らかとなり、これらの遺伝子の機能解析が進められることで、維管束植物でのKNOX遺伝子族とBELL遺伝子族の遺伝子重複と機能分化を段階的に調べることが可能となるだろう。また、現存のコケ植物のモデル、タイ類のゼニゴケ、セン類のヒメツリガネゴケに加え、第三のコケ植物であるツノゴケのモデル化も始まっている(Szövényi et al. 2015)。今後、これらの分類群におけるBELL/KNOX遺伝子の機能や陸上植物で新規に獲得したと考えられる機能ドメインの解析が進むと、KNOX遺伝子族及びBELL遺伝子族の遺伝子重複とそれに続く新規機能獲得がどのように陸上植物の形態進化や生活史の進化をもたらしたのかの全貌が明らかとなるだろう。

謝辞

オーストラリア Monash 大学の John L. Bowman 博士に日頃からの有益な discussion を感謝します。

引用文献

- Abe, J., Hori, S., Tsuchikane, Y., Kitao, N., Kato, M., & Sekimoto, H. 2011. Stable nuclear transformation of the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex. *Plant Cell Physiol.* 52: 1676-1685.
- Barton, M.K., & Poethig, R.S. 1993. Formation of the shoot apical meristem in *Arabidopsis thaliana*: an analysis of development in the wildtype and in the *shoot meristemless* mutant. *Development* 119: 823-831.
- Bharathan, G., Janssen, B.-J., Kellogg, E.A., & Sinha, N. 1999. Phylogenetic relationships and evolution of the KNOTTED class of plant homeodomain proteins. *Mol. Biol. Evol.* 16: 553-563.
- Blein, T., Pulido, A., Vialette-Guiraud, A., Nikovics, K., Morin, H., Hay, A., Johansen, I.E., Tsiantis, M., & Laufs, P. 2008. A conserved molecular framework for compound leaf development. *Science* 322: 1835-1839.
- Byrne, M.E., Barley, R., Curtis, M., Arroyo, J.M., Dunham, M., Hudson, A., & Martienssen, R.A. 2000. *Asymmetric leaves1* mediates leaf patterning and stem cell function in *Arabidopsis*. *Nature* 408: 967-971.

- Byrne, M.E., Groover, A.T., Fontana, J.R., & Martienssen, R.A. 2003. Phyllotactic pattern and stem cell fate are determined by the *Arabidopsis* homeobox gene *BELLINGER*. *Development* 130: 3941–3950.
- Chuck, G., Lincoln, C., & Hake, S. 1996. *KNAT1* induces lobed leaves with ectopic meristems when overexpressed in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 8: 1277-1289.
- Derelle, R., Lopez, P., Le Guyader, H., & Manuel, M. 2007. Homeodomain proteins belong to the ancestral molecular toolkit of eukaryotes. *Evol. Dev.* 9: 212-219.
- Furumizu, C., Alvarez, J.P., Sakakibara, K., & Bowman, J.L. 2015. Antagonistic roles for KNOX1 and KNOX2 genes in patterning the land plant body plan following an ancient gene duplication. *PloS Genet.* 11: e1004980.
- Graham, L.E., Cook, M.E., & Busse, J.S. 2000. The origin of plants: body plan changes contributing to a major evolutionary radiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 4535-4540.
- Hake, S., Smith, H.M.S., Holtan, H., Magnani, E., Mele, G., & Ramirez, J. 2004. The role of KNOX genes in plant development. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 20: 125-151.
- Hareven, D., Gutfinger, T., Parnis, A., Eshed, Y., & Lifschitz, E. 1996. The making of a compound leaf: Genetic manipulation of leaf architecture in tomato. *Cell* 84: 735-744.
- Hay, A., & Tsiantis, M. 2006. The genetic basis for differences in leaf form between *Arabidopsis thaliana* and its wild relative *Cardamine hirsuta*. *Nat. Genet.* 38: 942-947.
- Hay, A., & Tsiantis, M. 2010. KNOX genes: versatile regulators of plant development and diversity. *Development* 137: 3153-3165.
- Hori, K., Maruyama, F., Fujisawa, T., Togashi, T., Yamamoto, N., Seo, M., Sato, S., Yamada, T., Mori, H., Tajima, N., Moriyama, T., Ikeuchi, M., Watanabe, M., Wada, H., Kobayashi, K., Saito, M., Masuda, T., Sasaki-Sekimoto, Y., Mashiguchi, K., Awai, K., Shimojima, M., Masuda, S., Iwai, M., Nobusawa, T., Narise, T., Kondo, S., Saito, H., Sato, R., Murakawa, M., Ihara, Y., Oshima-Yamada, Y., Ohtaka, K., Satoh, M., Sonobe, K., Ishii, M., Ohtani, R., Kanamori, M., Honoki, R., Miyazaki, D., Mochizuki, H., Umetsu, J., Higashi, K., Shibata, D., Kamiya, Y., Sato, N., Nakamura, Y., Tabata, S., Ida, S., Kurokawa, K., & Ohta, H. 2014. *Klebsormidium flaccidum* genome reveals primary factors for plant terrestrial adaptation. *Nat. Commun.* 5: 3978.
- Horst, N.A., Katz, A., Pereman, I., Decker, E.L., Ohad, N., & Reski, R. 2016. A single homeobox gene triggers phase transition, embryogenesis and asexual reproduction. *Nat. Plants* 2: 15209.
- Kerstetter, R., Vollbrecht, E., Lowe, B., Veit, B., Yamaguchi, J., & Hake, S. 1994. Sequence analysis and expression patterns divide the maize *knotted1*-like homeobox genes into two classes. *Plant Cell* 6: 1877-1887.
- Kimura, S., Koenig, D., Kang, J., Yoong, F.Y., & Sinha, N. 2008. Natural variation in leaf morphology results from mutation of a novel KNOX gene. *Curr. Biol.* 18: 672-677.
- Kumaran, M.K., Bowman, J.L., & Sundaresan, V. 2002. YABBY polarity genes mediate the repression of KNOX homeobox genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14: 2761-2770.
- Lee, J.-H., Lin, H., Joo, S., & Goodenough, U. 2008. Early sexual origins of homeoprotein heterodimerization and evolution of the plant KNOX/BELL family. *Cell* 133: 829-840.

- Lewis, L.A., & McCourt, R.M. 2004. Green algae and the origin of land plants. *Am. J. Bot.* 91: 1535-1556.
- Li, E., Wang, S., Liu, Y., Chen, J.-G., & Douglas, C.J. 2011. OVATE FAMILY PROTEIN4 (OFP4) interaction with KNAT7 regulates secondary cell wall formation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 67: 328-341.
- Li, E., Bhargava, A., Qiang, W., Friedmann, M.C., Forneris, N., Savidge, R.A., Johnson, L.A., Mansfield, S.D., Ellis, B.E., & Douglas, C.J. 2012. The Class II *KNOX* gene *KNAT7* negatively regulates secondary wall formation in *Arabidopsis* and is functionally conserved in *Populus*. *New Phytol.* 194: 102-115.
- Long, J.A., Moan, E.I., Medford, J.I., & Barton, M.K. 1996. A member of the KNOTTED class of homeodomain proteins encoded by the *STM* gene of *Arabidopsis*. *Nature* 163: 66-69.
- Magnani, E., & Hake, S. 2008. *KNOX* lost the *OX*: The *Arabidopsis KNATM* gene defines a novel class of KNOX transcriptional regulators missing the homeodomain. *Plant Cell* 20: 875-887.
- Markel, H., Chandler, J., & Werr, W. 2002. Translational fusions with the *engrailed* repressor domain efficiently convert plant transcription factors into dominant-negative functions. *Nucleic Acids Res.* 30: 4709-4719.
- Matsuzaki, M., Misumi, O., Shin-i, T., Maruyama, S., Takahara, M., Miyagishima, S., Mori, T., Nishida, K., Yagisawa, F., Nishida, K., Yoshida, Y., Nishimura, Y., Nakao, S., Kobayashi, T., Momoyama, Y., Higashiyama, T., Minoda, A., Sano, M., Nomoto, H., Oishi, K., Hayashi, H., Ohta, F., Nishizaka, S., Haga, S., Miura, S., Morishita, T., Kabeya, Y., Terasawa, K., Suzuki, Y., Ishii, Y., Asakawa, S., Takano, H., Ohta, N., Kuroiwa, H., Tanaka, K., Shimizu, N., Sugano, S., Sato, N., Nozaki, H., Ogasawara, N., Kohara, Y., & Kuroiwa, T. 2004. Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D. *Nature* 428: 653-657.
- Mele, G., Ori, N., Sato, Y., & Hake, S. 2003. The *knotted1*-like homeobox gene *BREVIPEDICELLUS* regulates cell differentiation by modulating metabolic pathways. *Genes Dev.* 17: 2088-2093.
- Mukherjee, K., Brocchieri, L., & Bürglin, T.R. 2009. A comprehensive classification and evolutionary analysis of plant homeobox genes. *Mol. Biol. Evol.* 26: 2775-2794.
- Muthukumar, B., Joyce, B.L., Elless, M.P., & Stewart Jr., C.N. 2013. Stable Transformation of Ferns Using Spores as Targets: *Pteris vittata* and *Ceratopteris thalictroides*. *Plant Physiol.* 163: 648-658.
- Ohno, S. 1970. Evolution by gene duplication. Springer-Verlag. New York.
- Plackett, A.R.G., Huang, L., Sanders, H.L., & Langdale, J.A. 2014. High-efficiency stable transformation of the model fern species *Ceratopteris richardii* via microparticle bombardment. *Plant Physiol.* 165: 3-14.
- Reiser, L., Sanchez-Baracaldo, P., & Hake, S. 2000. Knots in the family tree: evolutionary relationships and functions of knox homeobox genes. *Plant Mol. Biol.* 42: 151-166.
- Rensing, S.A., Lang, D., Zimmer, A.D., Terry, A., Salamov, A., Shapiro, H., Nishiyama, T., Perroud, P.F., Lindquist, E.A., Kamisugi, Y., Tanahashi, T., Sakakibara, K., Fujita, T., Oishi, K., Shin-I, T., Kuroki, Y., Toyoda, A., Suzuki, Y., Hashimoto, S., Yamaguchi, K., Sugano, S., Kohara, Y., Fujiyama, A., Anterola, A., Aoki, S., Ashton, N.W., Barbazuk, W.B., Barker, E., Bennetzen, J.L., Blankenship, R., Cho, S.H., Dutcher, S.K., Estelle, M., Fawcett, J.A., Gundlach, H., Hanada, K., Heyl, A., Hicks, K.A., Hughes, J., Lohr, M., Mayer, K., Melkozernov, A., Murata, T., Nelson, D.R., Pils, B., Prigge, M., Reiss, B., Renner, T., Rombauts, S., Rushton, P.J., Sanderfoot, A., Schwein, G., Shiu, S.-H., Stueber, K., Theodoulou, F.L., Tu, H., Van de Peer, Y., Verrier, P.J., Waters, E., Wood, A., Yang, L., Cove, D.J., Cuming, A.C., Hasebe, M., Lucas, S., K. Sakakibara and C. Furumizu- 10

- Mishler, B.D., Reski, R., Grigoriev, I.V., Quatrano, R.S., & Boore, J.L. 2008. The *Physcomitrella* genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants. *Science* 319: 64-69.
- Rensing, S.A. 2014. Gene duplication as a driver of plant morphogenetic evolution. *Curr. Opin. Plant Biol.* 17: 43-48.
- Rutjens, B., Bao, D., Van Eck-Stouten, E., Brand, M., Smeekens, S., & Proveniers, M. 2009. Shoot apical meristem function in *Arabidopsis* requires the combined activities of three BEL1-like homeodomain proteins. *Plant J.* 58: 641-654.
- Sakakibara, K., Nishiyama, T., Deguchi, H., & Hasebe, M. 2008. Class 1 KNOX genes are not involved in shoot development in the moss *Physcomitrella patens* but do function in sporophyte development. *Evol. Dev.* 10: 555-566.
- Sakakibara, K., Ando, S., Yip, H.K., Tamada, Y., Hiwatashi, Y., Murata, T., Deguchi, H., Hasebe, M., & Bowman, J.L. 2013. KNOX2 transcription factors regulate the haploid to diploid morphological transition in land plants. *Science* 339: 1067-1070.
- 榊原恵子 2013. コケ植物のエボデボから見えてきた胞子体の複雑化。あんな形、こんなできかた—エボデボ研究最前線 [植物篇] . 生物の科学遺伝 1: 39-44.
- Sakakibara, K. 2016. Technological innovations give rise to a new era of plant evolutionary developmental biology. In: Rensing, S.A. (ed.) Genomes and evolution of charophytes, bryophytes, club mosses and ferns. Elsevier Limited, Oxford. pp. 3-35.
- Sano, R., Juárez, C.M., Hass, B., Sakakibara, K., Ito, M., Banks, J.A., & Hasebe, M. 2005. KNOX homeobox genes potentially have similar function in both diploid unicellular and multicellular meristems, but not in haploid meristems. *Evol. Dev.* 7: 69-78.
- Serikawa, K.A., Martinez-Laborda, A., Kim, H.S., & Zambryski, P.C. 1997a. Localization of expression of *KNAT3*, a class 2 knotted1-like gene. *Plant J.* 11: 853-861.
- Serikawa, K.A., & Zambryski, P.C. 1997b. Domain exchanges between KNAT3 and KNAT1 suggest specificity of the kn1-like homeodomains requires sequences outside of the third helix and N-terminal arm of the homeodomain. *Plant J.* 11: 863-869.
- Sessa, E.B., Banks, J.A., Barker, M.S., Der, J.P., Duffy, A.M., Graham, S.W., Hasebe, M., Langdale, J., Li, F.-W., Merchant, D.B., Pryer, K.M., Rothfels, C.J., Roux, S.J., Salmi, M.L., Sigel, E.M., Soltis, D.E., Soltis, P.S., & Stevenson, D.W., Wolf, P.G. 2014. Between two fern genomes. *Gigascience* 3: 15.
- Shani, E., Burko, Y., Ben-Yaakov, L., Berger, Y., Amsellem, Z., Goldshmidt, A., Sharon, E., & Ori, N. 2009. Stage-specific regulation of *Solanum lycopersicum* leaf maturation by class 1 KNOTTED1-LIKEHOMEBOX proteins. *Plant Cell* 21: 3078-3092.
- Smith, H.M.S., & Hake, S. 2003. The interaction of two homeobox genes, *BREVIPEDICELLUS* and *PENNYWISE*, regulates internode patterning in the *Arabidopsis* inflorescence. *Plant Cell* 15: 1717-1727.
- Sørensen, I., Fei, Z., Andreas, A., Willats, W.G.T., Domozych, D.S., & Rose, J.K.C. 2014. Stable transformation and reverse genetic analysis of *Penium margaritaceum*: a platform for studies of charophyte green algae, the immediate ancestors of land plants. *Plant J.* 77: 339-351.
- Szövényi, P., Frangedakis, E., Ricca, M., Quandt, D., Wicke, S., & Langdale, J.A. 2015. Establishment of K. Sakakibara and C. Furumizu- 11

- Anthoceros agrestis as a model species for studying the biology of hornworts. *BMC Plant Biol.* 15: 98.
- Truernit, E., Siemering, K.R., Hodge, S., Grbic, V., & Haseloff, J. 2006. A map of KNAT gene expression in the *Arabidopsis* root. *Plant Mol. Biol.* 60: 1-20.
- Vollbrecht, E., Veit, B., Sinha, N., & Hake, S. 1991. The developmental gene *Knotted-1* is a member of a maize homeobox gene family. *Nature* 350: 241-243.
- Wellman, C.H., Osterloff, P.L., & Mohiuddin, U. 2003. Fragments of the earliest land plants. *Nature* 425: 282-285.
- Wickett, N.J., Mirarab, S., Nguyen, N., Warnow, T., Carpenter, E., Matasci, N., Ayyampalayam, S., Barker, M.S., Burleigh, J.G., Gitzendanner, M.A., Ruhfel, B.R., Wafula, E., Der, J.P., Graham, S.W., Mathews, S., Melkonian, M., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Miles, N.W., Rothfels, C.J., Pokorny, L., Shaw, A.J., DeGironimo, L., Stevenson, D.W., Surek, B., Villarreal, J.C., Roure, B., Philippe, H., DePamphilis, C.W., Chen, T., Deyholos, M.K., Baucom, R.S., Kutchan, T.M., Augustin, M.M., Wang, J., Zhang, Y., Tian, Z., Yan, Z., Wu, X., Sun, X., Wong, G.K.-S., & Leebens-Mack, J. 2014. Phylogenomic analysis of the origin and early diversification of land plants. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 111: E4859-E4868.
- Zhao, H., Lu, M., Singh, R., Snell, & W.J. 2001. Ectopic expression of a *Chlamydomonas* mt+-specific homeodomain protein in mt- gametes initiates zygote development without gamete fusion. *Genes Dev.* 15: 2767-2777.
- Zhong, R.Q., Lee, C.H., Zhou, J., L., McCarthy, R.L., & Ye, Z.H. 2008. A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 20: 2763-2782.