

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H02956

研究課題名（和文）植物受粉システムの最初と最後の鍵を握る情報認識機構の分子メカニズム解明

研究課題名（英文）Molecular analysis of ligand-receptor information exchange mechanisms on pollination.

研究代表者

諏訪部 圭太（Suwabe, Keita）

三重大学・地域イノベーション学研究所・教授

研究者番号：50451612

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：植物生殖の様々な過程では、雌性配偶子と雄性配偶子間で様々な情報交換が行われ、それによって子孫を残すべきパートナーとの適切な生殖が達成されている。本研究では、植物生殖の初期ステップである「受粉」の開始と終了を司る情報認識機構に関する研究に取り組み、花粉認識後の花粉吸水は、カルシウムイオン濃度の調整を介した吸水・脱水メカニズムによる能動的調整システムを花粉自身が有することを明らかにし、花粉吸水に続く花粉発芽は、花粉自身が有するリガンドとレセプターがその誘起スイッチを司る可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

情報認識機構は、植物生殖における様々な過程で正しく子孫を残すために重要な役割を担っている。しかしその分子メカニズムについては明らかになっていないものが多く、本件研究が焦点を当てた植物生殖の初期ステップ「受粉」もその例に違わない。本研究では、受粉の最初と最後を司る情報認識機構の分子メカニズムの一端を明らかにするとともに、種苗産業界における安定的採種技術の確立のための情報基盤を提供した。

研究成果の概要（英文）：In various processes of plant reproduction, information exchanges between female and male gametes are critical for achieving appropriate reproduction to produce offspring. In this research project, we conduct research focusing on the information recognition mechanism that governs the start and end of "pollination", which is an initial step of plant reproduction. By a combination of genetic, microscopic and biochemical analyses, we found that pollen itself has a Ca²⁺-dependent water absorption/emission system for pollen hydration, and pollen germination that follows pollen hydration may be controlled by the initiation system, induced by recognition between ligand and receptors that pollen itself has.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：植物生殖 情報認識 リガンド・レセプター 花粉 自家不和合性

1. 研究開始当初の背景

1980年代中盤以降の分子生物学の進歩に伴い、植物生殖に関する研究も劇的に進展し、様々な現象の分子メカニズムが明らかにされてきた。植物生殖の様々な過程では、雌性配偶子と雄性配偶子間で様々な情報交換が適切な生殖の達成を担っているケースが多く、アブラナ科植物の花粉認識機構の一種である自家不和合性では雌雄自他認識因子 SRK・SP11/SCR(シロイヌナズナでは SCR と呼ばれる)間の自他認識機構がその最初の鍵を握っている。受粉後の伸長中の花粉管では、伸長を制御する ANXUR1/2・RALF、胚珠への誘導を司る PRK6・LURE、胚珠内で伸長停止・破裂させる FERONIA・雄性因子未同定(トウモロコシでは ZmES4)の各雌性・雄性ペアが発見されており、リガンド・レセプターが雌性または雄性因子として情報交換因子として同定されてきた。これらすべての雌性・雄性ペアが機能することで正常かつ適切な子孫が生ま出されている。ここで注目すべき点は、その多くがシステインリッチペプチド(Cysteine Rich Peptide: CRP)と受容体型プロテインキナーゼ(Receptor Protein Kinase: RPK)のペアであることである。システインリッチペプチドは、システイン残基を多く含む分泌性低分子タンパク質の総称であり、抗菌作用やシグナル伝達、脂質輸送、植物ホルモン、成長調節等、様々な機能を有しており、シロイヌナズナゲノムには複数のサブグループに機能分化した 800 を超える CRP 遺伝子が存在している。さらに特筆すべきは、これらのうち 37% が生殖器官で特異的に発現していることである。上記 SP11/SCR・RALF・LURE・ZmES4 もこれに該当する。受容体型プロテインキナーゼも同様に、様々な生物種において細胞・組織表面でレセプターとして機能しており、上記 SRK・ANXUR1/2・PRK6・FERONIA がこれにあたる。つまり、特に植物生殖過程においては、多くの CRP-RPK ペアが各種情報交換の鍵を握っており、未だ解明されていないものも含めてその役割は極めて重要である。

2. 研究の目的

研究代表者が以前に行った受粉を制御する遺伝子の網羅的解析においては、花粉あるいは乳頭細胞において未だ機能解明されていない CRP 遺伝子が 54 種、RPK 遺伝子が 259 種あり、これらは受粉での各種情報交換の鍵を担っていることが予想される。その中には、本研究で注目した花粉発芽を誘起する新規リガンド因子としての CRP 遺伝子があることもこれを裏付けている。受粉メカニズムの包括的理解と正常な生殖による安定的種子生産のためには、これら因子の機能解明とそれが司る分子メカニズムの解明は必須である。また、先に挙げた各種雌雄配偶子間の情報交換に続く現象(反応)を司る分子メカニズムもその大部分は明らかになっておらず、植物生殖機構の分子レベルでの解明は植物生殖研究が取り組むべき重要課題である。このような歴史的背景を踏まえ、本研究は、「植物はいかにして種の存続と繁栄を両立する生殖を成し遂げているのか?」という植物生殖研究の大命題の構成要素の一つである「受粉の開始と終了を司る情報認識機構は何なのか?」という学問的問いに答えをだすことにある。具体的には、前者は「花粉識別(自家不和合性)における自他認識に続く花粉拒絶システムはどのようなメカニズムなのか?」、後者は「花粉発芽は如何にして誘起されるのか?」というのがそれぞれの問いである。これらを達成することで、植物生殖の始まりである受粉の鍵を握る情報認識機構の解明および新規発見、より具体的には受粉の最初と最後を司る情報認識機構に関する新たな知見を獲得し、安定的種子生産および人工受粉制御による新たな採種技術確立のための知見基盤を構築するこ

とが本研究の目的である。

3．研究の方法

研究代表者独自の完全自家不和合性シロイヌナズナと細胞特異的トランスクリプトームによる受粉時の高精度発現遺伝子情報を基盤とし、それらを組み合わせた各種解析から見出した「花粉発芽を誘起するリガンド CR3」を認識するレセプターの探索と「花粉識別(自家不和合性)における自他認識に続く花粉拒絶システム」の構成要素である花粉給水(吸水)の制御メカニズムの解明に特に焦点を当て、分子生物学的・生化学的実験と各種変異体を用いた遺伝学的実験を行う。得られた知見の総括により、「花粉識別(自家不和合性)における自他認識に続く花粉拒絶システムはどのようなメカニズムなのか?」と「花粉発芽を誘起するリガンド・レセプターペアは何なのか?」を解明し、受粉の最初と最後を司る情報認識機構を明らかにする。

4．研究成果

植物生殖における情報認識機構の最初のステップである花粉認識・拒絶システムについては、SRK-SP11/SCR 自他認識後の鍵プロセスである花粉吸水に注目して解析を進めた結果、乾燥状態で葯から放出された花粉が受粉時に再活性化するための水分供給は雌しべによる制御の受動的なものであるとの通説を覆し、花粉自身が適切な水分量をコントロールする能動的システムで制御されていることを明らかにした。人工花粉発芽培地上に供した花粉は、培地接着直後から吸水を開始して～約 70 分で完了して次のプロセスである発芽に移行したが、この吸水プロセスを実態顕微鏡下で 1 分間隔・70 分間タイムラプス観察した結果、吸水による花粉幅の膨張は一方向的に増加するのではなく、増加と減少を繰り返しながら徐々に膨張し、適切な水分含量になった時点で一定化することを明らかにした。また、この花粉動態はカルシウムを除いた花粉発芽培地では生じないことも明らかにした。これら知見を基に受粉前後・和合/不和合反応時発現遺伝子変動情報から選抜した各種変異体の花粉動態観察を行った結果、花粉細胞膜に局在するカルシウムポンプおよびチャネルが花粉の水分量を調節していることが明らかになった。つまり、花粉の能動的吸水システムは、カルシウムイオン濃度の調整を介した吸水・脱水メカニズムによって花粉発芽に移行する適切な水分量を調節していることを明らかにした。

花粉発芽を誘起するリガンド因子 CR3 については、花粉および花粉管細胞膜に局在するレセプター-PRK1 および PRK3 がその受容体である可能性を見出した。プルダウンアッセイによる生化学実験によって CR3・PRK1 ペアおよび CR3・PRK3 ペアがそれぞれ直接的に結合する可能性を確認したが、Yeast two Hybrid (Y2H)法による検証では CR3・PRK1 ペアおよび CR3・PRK3 ペアのみの特異的な結合を確認するには至らなかった。そのため、花粉発芽を誘起するリガンド・レセプターペアの完全解明には至らなかったが、花粉が有する自身のリガンドとレセプターがスイッチとなり、花粉発芽が誘起される可能性を見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 4件）

| | |
|--|--------------------|
| 1. 著者名 Chow-Lih Yew, Takashi Tsuchimatsu, Rie Shimizu-Inatsugi, Shinsuke Yasuda, Masaomi Hatakeyama, Hiroyuki Kakui, Takuma Ohta, Keita Suwabe, Masao Watanabe, Seiji Takayama & Kentaro K. Shimizu | 4. 巻 14 |
| 2. 論文標題 Dominance in self-compatibility between subgenomes of allopolyploid <i>Arabidopsis kamchatica</i> shown by transgenic restoration of self-incompatibility | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Nature Communications | 6. 最初と最後の頁 7618 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-023-43275-2 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Kazuki Fukushima, Toko Kanomata, Aoi Kon, Hiromi Masuko-Suzuki, Kana Ito, Sadayoshi Ogata, Yoshinobu Takada, Yukihiro Komatsubara, Tsuyoshi Nakamura, Takumi Watanabe, Saori Koizumi, Hitoshi Sanuki, Jong-In Park, Satoshi Niikura, Keita Suwabe, Sota Fujii, Kohji Murase, Seiji Takayama, Go Suzuki and Masao Watanabe | 4. 巻 96 |
| 2. 論文標題 Spatio-genetic characterization of S receptor kinase (SRK) alleles in naturalized populations of <i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>raphanistroides</i> on Yakushima island. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Genes Genet. Syst. | 6. 最初と最後の頁 129-139 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1266/ggs.20-00066 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |

| | |
|---|----------------------|
| 1. 著者名 Suwabe, K., K. Nagasaka, E.A. Windari, C. Hoshiai, T. Ota, M. Takada, A. Kitazumi, H. Masuko-Suzuki, Y. Kagaya, K. Yano, T. Tsuchimatsu, K.K. Shimizu, S. Takayama, G. Suzuki and M. Watanabe | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Double-Locking Mechanism of Self-Compatibility in <i>Arabidopsis thaliana</i> : The Synergistic Effect of Transcriptional Depression and Disruption of Coding Region in the Male Specificity Gene. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Front. Plant Sci. | 6. 最初と最後の頁 576140 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2020.576140 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 E.A. Windari, M. Ando, Y. Mizoguchi, H. Shimada, K. Ohira, Y. Kagaya, T. Higashiyama, S. Takayama, M. Watanabe and K. Suwabe | 4. 巻 38 |
| 2. 論文標題 Two aquaporins, SIP1;1 and PIP1;2, mediate water transport for pollen hydration in the Arabidopsis pistil. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Plant Biotechnol. | 6. 最初と最後の頁 77-87 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.20.1207a | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 Fukushima, K., T. Kanomata, A. Kon, H. Masuko-Suzuki, Y. Takada, S. Ogata, Y. Komatsubara, T. Nakamura, T. Watanabe, S. Koizumi, H. Sanuki, J.I. Park, S. Niikura, M. Endo, S. Takayama, K. Suwabe, G. Suzuki and M. Watanabe |
| 2. 発表標題 Characterization of SRK alleles, a gene encoding the female determinant of self-incompatibility, in the natural population of radish (<i>Raphanus sativus</i> L. var <i>raphanistroides</i>) in Yakushima. |
| 3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|