

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18075003

研究課題名（和文） 受粉反応時に「ゲノム障壁」を誘起する花粉・柱頭因子の分子遺伝学的解析

研究課題名（英文） Molecular genetic dissection of pollen-pistil interactions, causing a genome barrier in higher plants

研究代表者

渡辺 正夫 (WATANABE MASAO)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：90240522

研究分野：植物生殖遺伝学

科研費の分科・細目：

キーワード：高等植物、ゲノム障壁、自他識別、受粉反応、進化、遺伝子破壊系統、情報伝達

1. 研究計画の概要

高等植物では、同種の自家花粉・他家花粉の他にも異種など様々な花粉が柱頭上に受粉される。自家不和合性植物では、同種異株の他家花粉で受精する。つまり、その柱頭上では、自己に加えて異種など異なるゲノム構成の花粉を排除する「ゲノム障壁」が存在するが、実体は明らかになっていない。

申請者は同種、異なる S 遺伝子型であるが、不和合性反応を示す植物を同定した。これは、同種のものが異種に分化する過程、つまり、現在進行形で「ゲノム障壁」が構築されつつあると考え、この現象を制御する遺伝子を解析する。さらに、申請者は生殖器官特異的遺伝子を網羅的に解析した過程で、花粉と柱頭間の「ゲノム障壁」を誘起する分子の候補を単離した。そこで、本申請では、こうした遺伝子の機能を先の現象と絡め、受粉反応時に「ゲノム障壁」を誘起する遺伝子の実体解明を行うことを目的とする。

2. 研究の進捗状況

新規一側性不和合性については、遺伝学的解析から雌雄因子が自家不和合性遺伝子座と連鎖せず、独立であることを示した。次に、原因遺伝子単離に向けて、SSR マーカーなどを用いて、座乗染色体、連鎖マーカーを同定した。

LMD 技術により葯発達ステージに沿った花粉とタペート細胞の遺伝子発現プロファイルを作製した。in silico 解析などから、花粉とタペート細胞で遺伝子発現が同調していること、こうした特異的遺伝子を破壊すると不稔性が生じることを解明した。

穂ばらみ期耐冷性の異なるイネ品種ひと

めぼれ（耐冷性極強）とササニシキ（同やや弱）において、低温ストレス下における形態的特徴と網羅的遺伝子発現プロファイル解析を行った。花粉へのフィーダー細胞であるタペート細胞層は、通常、1 細胞性花粉期にその役目を終え、2 細胞性花粉期以降は機能を停止し減衰するが、低温ストレス時のササニシキ葯ではその減衰が正常に起こらず、花粉の発達を阻害していた。それに対してひとめぼれでは、低温ストレス下においてもタペート細胞は正常に減衰していた。つまり、低温ストレスによる花粉不稔は、タペート細胞の減衰異常がその原因であることを明らかにした。ササニシキ・ひとめぼれ各品種において、育成温度（常温 vs. 低温）と発達ステージ（1 細胞期 vs. 3 細胞期）毎のマイクロアレイ解析を行い、特徴的な発現パターンを持つ 12 遺伝子群を見出した。これらには、低温処理区のササニシキ 1 細胞性小孢子期に異常な発現挙動を示す遺伝子群や発現が誘導されない遺伝子群を含んでいた。

さらに、花粉発達過程におけるゲノム障壁構築と低分子 RNA の関係を明らかにするために、高速シーケンサーによる small RNA の大量単離を試みた。日本晴 1 細胞性小孢子期葯を用いて 300 万クローンについて解析を行ったところ、42 種の既報 miRNA を含む約 240 万個の新規 small RNA 候補を単離した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

アブラナ科植物で見出した新規一側性不和合性については、雌雄因子の遺伝学的解析は完了し、原因遺伝子の単離に歩を進めてい

る。そのため、最終年度まで原因遺伝子単離が見込める。さらに、低温による生殖過程の障壁の解析では、QTLと組み合わせるなど十分な準備が3年目まで行われており、耐冷性原因遺伝子単離が可能ことから、順調と判断した。

4. 今後の研究の推進方策

新規一側性不和合性については、自家不和合性と下流因子が共通している予備データもあることから、自家不和合性との関連性についても発展させることができる。

イネ穂ばらみ期冷害によって発現変動する遺伝子について、それらすべてを染色体上にマッピングし、耐冷性QTL、LMDアレイ、低分子RNA等の既存情報との関連を調べる。また、変異体やRIL系統による逆遺伝学的なアプローチも同時に進行し、低温という環境変動に対するイネ花粉の正常な分化・発達に関する分子的な知見を得る。それにより、種の存続に必至な雄性生殖器官形成の分子メカニズムに迫ることができる。

5. 代表的な研究成果

(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 19 件)

※すべて査読有

- ①Suwabe, K., Suzuki, G., Takahashi, H., Shiono, K., Endo, M., Yano, Y., Fujita, M., Masuko, M., Saito, H., Fujioka, T., Kaneko, F., Kazama, T., Mizuta, Y., Kawagishi-Kobayashi, Tsutsumi, N., Kurata, N., Nakazono, M., and Watanabe, M. (2008) Separated transcriptomes of male gametophyte and tapetum in rice: validity of a laser microdissection (LM) microarray. *Plant Cell Physiol.*, **49**: 1407-1416.
- ②Shimosato, H., Shiba, H., Iwano, M., T. Entani, Che, F.-S., Watanabe, M., Isogai, A., and Takayama, S. (2007) Characterization of the SP11/SCR high-affinity binding site involved in self/nonself recognition in *Brassica* self-incompatibility. *Plant Cell*, **19**: 107-117.
- ③Chhun, T., Aya, K., Asano, K., Yamamoto, E., Mrinaka, Y., Watanabe, M., Kitano, H., Ashikari, M., Matsuoka, M., and Ueguchi-Tanaka, M. (2007) Gibberellin regulates pollen viability and pollen tube growth in rice. *Plant Cell*, **19**: 3876-3888.
- ④Shiba, H., Kakizaki, T., Iwano, M., Tarutani, Y., Watanabe, M., Isogai, A., and Takayama, S. (2006) Dominance relationships between self-incompatibility alleles controlled by DNA methylation. *Nature Genet.*, **38**: 297-299.
- ⑤Kakizaki, T., Takada, Y., Fujioka, T., Suzuki, G., Satta, Y., Shiba, H., Isogai, A., Takayama,

S., and Watanabe, M. (2006) Comparative analysis of the *S*-intergenic region in the class-II *S* haplotypes of self-incompatible *Brassica rapa* (syn. *campestris*). *Genes Genet. Syst.*, **81**: 63-67.

[学会発表] (計 70 件)

- ①Suwabe, K., Suzuki, G., Nakazono, M., Yano, K., Hobo, T., Aya, K., Masuko, H., Miyano, M., Fujioka, T., Kaneko, F., Tsutsumi, N., Kurata, N., Matsuoka, M., and Watanabe, M. (2009) Separated transcriptomes of male gametophyte and tapetum in rice: validity of a laser microdissection (LM) microarray, Plant and Animal Genome 2009, San Diego, USA, 2009/01/08-13.
- ② Watanabe, M., Takada, Y., Suwabe, K., Isokawa, S., Suzuki, G., Shiba, S., Isogai, A., and Takayama, S. (2008) Recent topics of self-incompatibility research in Brassica species. The symposium for the Opening Ceremony of CMRC., Daejeon, Korea, 2008/02/19

[図書] (計 7 件)

- ①Watanabe, M., Suzuki, G., and Takayama, S. (2008) Chapter 7 "Milestones identifying self-incompatibility genes in *Brassica* species: From old stories to new findings", In "Self-incompatibility in Flowering Plants - Evolution, Diversity, and Mechanisms" (Ed.: V. E. Franklin-Tong), Springer, pp151-172.
- ②渡辺正夫, 鈴木剛, 高山誠司 (2008) "自家不和合性", In "分子細胞生物学辞典", 東京化学同人, pp399-400.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: イネ科植物の雄性不稔を回復させる方法及び雄性不稔回復剤

発明者: 東谷篤志, 阪田忠, 渡辺正夫

権利者: 東北大学

種類: 生物特許

番号: 特願 2009-002354

出願年月日: 2009-01-27

国内外の別: 国内

[その他]

・ホームページ

<http://www.ige.tohoku.ac.jp/prg/watanabe/project.html>

・アウトリーチ活動 (計 62 件)

SSH 指定校をはじめ、小中高、社会人に至るまで多くの出前講義を行った。リピーターも多いことから、おおむね高い評価を得ている。