

令和 2 年 5 月 15 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05066

研究課題名（和文）植物生殖における雌雄自他認識機構の分子メカニズム解明

研究課題名（英文）Molecular understanding of self/non-self recognition mechanism on plant reproduction.

研究代表者

諏訪部 圭太（Suwabe, Keita）

三重大学・生物資源学研究科・准教授

研究者番号：50451612

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,000,000円

研究成果の概要（和文）：「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？」に答えを出すために、植物生殖における細胞間相互作用機構の1つである「自家不和合性」に焦点を絞り、それを制御する因子（遺伝子）の解明に取り組んだ。正逆遺伝学を組み合わせた研究を行い、自他認識以降のシグナル伝達システムには転写調節を含む複数の調節因子による複合的・階層的シグナル伝達が機能していること、花粉拒絶は受粉反応の各ステップを段階的に阻害することで複合的に制御されていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物が種の存続と繁栄を両立させるために進化の過程で獲得した生殖戦略メカニズムである自家不和合性は、トーマス・ナイトやチャールズ・ダーウィンによる提唱から140年を経た現在においてもその分子メカニズムはほとんど解明されていない。このような歴史的背景に対し、本研究はその本質を司る因子と分子メカニズムの一端を明らかにした。本成果は、受粉人為コントロールや自家不和合性安定化によるアブラナ科野菜の新採種技術確立のための情報基盤として波及できる。

研究成果の概要（英文）： How do plant species accomplish a successful reproduction to produce next generations? This is a long-term issue for plant biologists to be solved since T. Knight and C. Darwin found a basis of this attractive plant reproduction system. In this research project, we focus on a molecular mechanism of the self-incompatibility in *Arabidopsis thaliana*, as a model of self/non-self recognition mechanism on plant reproduction. By a combination of genetic and reverse genetic analyses, we found that a downstream system, after self/non-self pollen recognition, is controlled by multiple and hierarchical mechanisms and pollen rejection is synergistically regulated by pollen acceptance mechanisms, such as water transport and pollen tube germination, on pollination.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：遺伝学 植物生殖 花粉認識機構 受粉 シロイヌナズナ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

「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？」この疑問は長い間植物学者・生物学者の興味を引き付けてきた。未だに完全に理解できていないものの、古くはトーマス・ナイトやチャールズ・ダーウィンによってその現象が発見されるとともに、自家不和合性の一般性が提唱された。自家不和合性とは、自身の花粉での受粉・受精(自殖)を回避し、同種他個体由来の花粉とのみ子孫(種子)を残す遺伝的システムであり、多くの被子植物が遺伝的多様性を維持する機構として進化の早い段階で獲得した形質といわれている。様々な研究が精力的に行われてきたが、その分子メカニズムについては未だその出発点が明らかにならなかったに過ぎず、本機構が植物を他殖へと導く本質については全く明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

植物生殖における細胞間相互作用機構の1つである花粉と雌しべ間の自他認識機構「自家不和合性」について、申請者独自の自家不和合性シロイヌナズナを材料基盤とした正遺伝学と逆遺伝学の2種の遺伝学研究を展開し、雌雄自他認識以降のシステムに関わる因子(遺伝子)を見つけ出す。さらに、それら因子の機能と役割を種々の解析により明らかにすることで、「自他認識以降のシグナル伝達システムはどのようなものか?」、「花粉拒絶するための機構はどのような分子メカニズムか?」を解明する。また、これら知見を総括することで、花粉識別に始まり花粉拒絶に至るアブラナ科自家不和合性の分子メカニズムの全貌を解明し、ダーウィンによる提唱から140年を経た現在においても植物学者を魅了し続ける植物生殖の謎に答えをだす。

### 3. 研究の方法

植物生殖における細胞間相互作用分子メカニズムを解明するために、アブラナ科植物の花粉・雌しべ間の自他認識機構「自家不和合性」に焦点を絞り、人工的に逆進化させた自家不和合性シロイヌナズナと各種変異体を基盤とする正・逆遺伝解析によって、雌雄自他認識以降のシステムに関わる因子(遺伝子)を見つけ出す。また、受粉前後の乳頭細胞特異的のトランスクリプトームデータのバイオフィンフォマティクス解析を並行して行い、ドライ・ウェット解析の融合による候補遺伝子の選抜を加速させる。各候補遺伝子について、それら因子の機能と役割を種々の解析により明らかにし、「自他認識以降のシグナル伝達システムはどのようなものか?」、「花粉拒絶するための機構はどのような分子メカニズムか?」を解明する。

### 4. 研究成果

植物生殖における細胞間相互作用分子メカニズムの代表例である花粉・雌しべ間の自他認識機構「自家不和合性」について、モデル植物シロイヌナズナを用いて以下のことを明らかにした。

(1). 人工逆進化型自家不和合性シロイヌナズナと在来エコタイプ間の正遺伝学については、F<sub>2</sub>集団における遺伝解析により自殖化の原因となる候補遺伝子が第3染色体短腕に座乗し、その領域内に存在する遺伝子群を明らかにした。当該ゲノム領域を自家不和合性シロイヌナズナと在来エコタイプ間で比較し、在来エコタイプゲノムに変異を有する遺伝子群を選抜することで候補遺伝子を絞り込んだ。

(2). 逆遺伝学については、乳頭細胞特異的のトランスクリプトームデータのバイオフィンフォマティクス解析と各種変異体を組み合わせ、自家不和合性あるいは受粉に影響を及ぼす4種の候

補遺伝子を選抜した。これら候補遺伝子について、ゲノム編集によるノックアウト変異体をそれぞれ作成し、自家不和合性が崩壊するもの、受粉時の給水反応が遅延するもの、花粉発芽が阻害されるものを見出した。これら各因子の機能解析を進め、自家不和合性における自他認識後下流因子と花粉を受け入れるための受粉因子を同定した。

上記正逆遺伝学研究より得られた結果を総括し、自家不和合性における自他認識以降のシグナル伝達システムには、転写調節を含む複数の調節因子による複合的・階層的なシグナル伝達が機能していること、花粉拒絶するための機構は、花粉への給水や花粉管発芽誘導などの通常の受粉反応の各ステップを阻害することで複合的に自己花粉を拒絶していることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Takeda, S., Ochiai, K., Egusa, W., Morimoto, H., Sakazono, S., Osaka, M., Nabemoto, M., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M., and Suwabe, K.	4. 巻 93
2. 論文標題 Abscisic acid-mediated developmental flexibility of stigmatic papillae in response to ambient humidity in <i>Arabidopsis thaliana</i> .	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genes & Genetic Systems	6. 最初と最後の頁 209-220
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1266/ggs.18-00025">https://doi.org/10.1266/ggs.18-00025</a>	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 -

1. 著者名 Takada, Y., Murase, K., Shimosato-Asano, Y., Sato, T., Nakanishi, H., Suwabe, K., Shimizu, K. K., Lim, Y.-P., Takayama, S., Suzuki, G., and Watanabe M.	4. 巻 3
2. 論文標題 Duplicated incompatibility genes create a reproductive barrier in <i>Brassica rapa</i> .	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 17096
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/nplants.2017.96	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 S. Maeda, S. Sakazono, H. Masuko-Suzuki, M. Taguchi, K. Yamamura, K. Nagano, T. Endo, K. Saeki, M. Osaka, M. Nabemoto, K. Ito, T. Kudo, M. Kobayashi, M. Kawagishi, K. Fujita, H. Nanjo, T. Shindo, K. Yano, G. Suzuki, K. Suwabe and M. Watanabe	4. 巻 91
2. 論文標題 Comparative analysis of microRNA profiles of rice anthers between cool-sensitive and cool-tolerant cultivars under cool-temperature stress.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Genes Genet Syst.	6. 最初と最後の頁 97-109
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1266/ggs.15-00056	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 -

1. 著者名 T. Kudo, Y. Sasaki, S. Terashima, N. Matsuda-Imai, T. Takano, M. Saito, M. Kanno, S. Ozaki, K. Suwabe, G. Suzuki, M. Watanabe, M. Matsuoka, S. Takayama and K. Yano	4. 巻 91
2. 論文標題 Identification of reference genes for quantitative expression analysis using large-scale RNA-seq data of <i>Arabidopsis thaliana</i> and model crop plants.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Genes Genet Syst.	6. 最初と最後の頁 111-125
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1266/ggs.15-00065	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 -

1. 著者名 Osaka, M., M. Nabemoto, S. Maeda, S. Sakazono, H. Masuko-Suzuki, K. Ito, Y. Takada, I. Kobayashi, Y.P. Lim, M. Nakazono, S. Fujii, K. Murase, S. Takayama, G. Suzuki, K. Suwabe and M. Watanabe	4. 巻 94
2. 論文標題 Genetic and tissue-specific RNA-sequencing analysis of self-compatible mutant TSC28 in Brassica rapa L. toward identification of a novel self-incompatibility factor.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes Genet Syst.	6. 最初と最後の頁 167-176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1266/ggs.19-00010	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

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 11件)

1. 発表者名 Ota, T., Mizoguchi, Y., Ando, M., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M. and Suwabe, K.
2. 発表標題 Morphological aspect and molecular mechanism of pollen hydration on pollination in Arabidopsis thaliana.
3. 学会等名 International Plant Molecular Biology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Egusa, W., Takada, M., Takeda, S., Ochiai, K., Sakazono, S., Osaka, M., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M. and Suwabe, K.
2. 発表標題 Developmental flexibility of stigmatic papilla cell in response to abiotic stress in Arabidopsis thaliana.
3. 学会等名 Plant and Animal Genome XXVII (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ota, T., Mizoguchi, Y., Ando, M., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M. and Suwabe, K.
2. 発表標題 Pollen hydration mechanism on pollination in Arabidopsis thaliana.
3. 学会等名 Plant and Animal Genome XXVII (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Egusa, W., Takeda, S., Ochiai, K., Morimoto, H., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M., and Suwabe, K.
2. 発表標題 ABA-mediated stress response mechanism modulates stigmatic papillae development in Arabidopsis thaliana.
3. 学会等名 Global Conference on Plant Science and Molecular Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takada, Y., Murase, K., Shimosato-Adano, H., Sato, T., Nakanishi, H., Suwabe, K., Shimizu, K. K., Lim, Y. P., Takayama, S., Suzuki, G., and Watanabe, M.
2. 発表標題 Identification and characterization of the novel pollen-stigma recognition factors for unilateral incompatibility in Brassica rapa.
3. 学会等名 Taiwan-Japan Plant Biology 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takada, Y., Murase, K., Shimosato-Adano, H., Sato, T., Nakanishi, H., Suwabe, K., Shimizu, K. K., Lim, Y. P., Takayama, S., Suzuki, G., and Watanabe, M.
2. 発表標題 Novel unilateral incompatibility in Brassica rapa is regulated by duplicated self-incompatibility genes, PUI1 and SUI1.
3. 学会等名 Plant & Animal Genome XXVI (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高田美信, 鈴木剛, 村瀬浩司, 浅野(下里)裕子, 佐藤陽洋, 中西ほのか, 諏訪部圭太, Lim Yong Pyo, 清水健太郎, 高山誠司, 渡辺正夫
2. 発表標題 Brassica rapaの種内一側性不和合性を制御するSUI1-PUI1遺伝子
3. 学会等名 日本植物細胞分子生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高田美信, 鈴木剛, 中西ほのか, 村瀬浩司, 浅野(下里)裕子, 佐藤陽洋, 諏訪部圭太, Lim Yong Pyo, 清水健太郎, 高山誠司, 渡辺正夫
2. 発表標題 自己花粉を認識するリガンド・レセプター遺伝子セットの重複が非自己花粉の拒絶を引き起こす
3. 学会等名 日本遺伝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高田美信, 中西ほのか, 村瀬浩司, 浅野(下里)裕子, 佐藤陽洋, Yong Pyo Lim, 清水健太郎, 高山誠司, 諏訪部圭太, 鈴木剛, 渡辺正夫
2. 発表標題 Brassica rapaのA04染色体には新規生殖障壁遺伝子が存在する
3. 学会等名 日本染色体学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高田美信, 村瀬浩二, 浅野(下里)裕子, 佐藤陽洋, 中西ほのか, 諏訪部圭太, Lim Yong Pyo, 清水健太郎, 高山誠司, 鈴木剛, 渡辺正夫
2. 発表標題 Brassica rapaの種内一側性不和合性を支配する花粉・柱頭認識因子の決定
3. 学会等名 日本育種学会第132回講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長菅香織, 諏訪部圭太, 高橋宏和, 矢野加奈子, 上野広樹, 松尾哲, 今西俊介
2. 発表標題 レーザーマイクロダイセクション-マイクロアレイ法によるトマト高温肥大不良果発生に関連する遺伝子の網羅的探索
3. 学会等名 園芸学会平成29年度秋季大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山口裕子、笹岡万優子、行本堯史、加賀谷安章
2. 発表標題 アブラナ科植物の穂発芽抑制メカニズムの解明
3. 学会等名 第7回地域イノベーション学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 塩崎智裕、藤田明香里、加賀谷安章
2. 発表標題 抽苔特性に影響せず早く発芽する種子の開発
3. 学会等名 第7回地域イノベーション学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 H. Morimoto, W. Egusa, C. Arakawa, H. Masuko-Suzuki, G. Suzuki, M. Watanabe and K. Suwabe
2. 発表標題 CR3, a pollen cysteine-rich peptide, induces pollen germination.
3. 学会等名 The 27th International Conference on Arabidopsis Research (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 W. Egusa, S. Takeda, K. Ochiai, H. Morimoto, S. Sakazono, M. Osaka, M. Nabemoto, Y. Kagaya, G. Suzuki, M. Watanabe and K. Suwabe
2. 発表標題 ABA-mediated flexibility of female stigmatic papillae development in Arabidopsis thaliana.
3. 学会等名 International Plant & Animal Genome XXV (国際学会)
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 H. Morimoto, W. Egusa, C. Arakawa, H. Masuko-Suzuki, G. Suzuki, M. Watanabe and K. Suwabe
2. 発表標題 Pollen-cysteine rich peptide CR3 regulates pollen germination in Arabidopsis thaliana.
3. 学会等名 International Plant & Animal Genome XXV (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ota, T., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M., and Suwabe, K.
2. 発表標題 Genomic structural variation in the self-incompatibility locus causes a transition from outcrossing to selfing in amphidiploid Arabidopsis kamchatica.
3. 学会等名 4th Edition of Global Conference on Plant Science and Molecular Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takada, M., Ota, T., Mizoguchi, Y., Ando, M., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M., and Suwabe, K.
2. 発表標題 Morphological aspect and molecular mechanism of Pollen hydration on pollination in Arabidopsis thaliana.
3. 学会等名 4th Edition of Global Conference on Plant Science and Molecular Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019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
研究分担者	加賀谷 安章  (Kagaya Yasuaki)  (20335152)	三重大学・地域イノベーション推進機構・准教授    (14101)	