

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006 ～ 2010

課題番号：18075008

研究課題名（和文） 初期受粉過程における生殖障壁の分子解析

研究課題名（英文） Molecular analysis of the genome barriers in the early reproductive process

研究代表者

高山 誠司 (TAKAYAMA SEIJI)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授

研究者番号：70273836

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：生殖，シグナル伝達，植物，アブラナ科，受粉，ゲノム障壁

1. 研究計画の概要

アブラナ科植物においては、花粉と雌ずいの接触に始まる初期受粉過程は、生殖過程における最初の生殖障壁として特に重要である。異種の花粉（種間不和合性）や同種であっても自己の花粉（自家不和合性）は、この初期段階で発芽・伸長が阻害される。これまでの研究により、アブラナ科植物の花粉が、同種の雌ずい乳頭細胞に対して花粉の受入に必要な生理反応を誘導する分子（「和合シグナル」と呼ぶ）を保持していることが示唆されてきており、本分子が種間における生殖障壁として機能している可能性が推察される。本研究では、「和合シグナル」の実体を解明すること、また、本分子により雌ずい乳頭細胞内に誘起される生理変化とその情報伝達経路を解明することを目的としている。

2. 研究の進捗状況

(1) 「和合シグナル」モニター系の確立

「和合シグナル」の簡易検出系の確立を目的として、これまでに受粉後の乳頭細胞内における Ca^{2+} 変動、アクチン骨格の変動、乳頭細胞から花粉への Ca^{2+} 含有水の輸送を on time にモニターする系を構築することに成功した。

(2) 「和合シグナル」の性状解明

上記モニター系を用いて初期受粉過程を解析した結果、受粉直後の乳頭細胞内で特徴的な Ca^{2+} 濃度の変動が起きること、乳頭細胞からの Ca^{2+} を含む水の流出が起きること、花粉直下の乳頭細胞内でアクチン骨格の再編

成が行われることが明確に示された。また、同様の変化が、花粉より単離した花粉表層物質を処理した際にも起きることが示され、何らかの「和合シグナル」が花粉表層物質中に含まれることが明らかとなった。さらに、酵素処理や熱処理実験により、「和合シグナル」としての活性にタンパク質性の分子が関与することが示唆された。

(3) 「和合シグナル」下流における乳頭細胞内の生理的変化の解明

超高压電顕トモグラフィを用いた細胞内膜構造の三次元解析により、乳頭細胞内の液胞等の小胞構造が、受粉後大きく形態変化することが示された。また、乳頭細胞から花粉への水の供給に、水チャネル分子のアクアポリンの輸送が関与する可能性が示唆された。「和合シグナル」は、アクチン骨格の再編成が誘起されることも示されてきているので、本分子はアクアポリン分子等の小胞輸送を調節している可能性が示唆された。

(4) 乳頭細胞内「和合シグナル」情報伝達系の解明

マイクロアレイを用いた解析により、受粉後の乳頭細胞内において、 Ca^{2+} シグナリングや極性輸送に関与する遺伝子類が多数発現誘導されていることが判明した。これらの中には、 Ca^{2+} 輸送体をコードする遺伝子等も含まれる。現在これら分子の初期受粉過程への関与を、タグライン解析などを通じて検証中である。

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)

「和合シグナル」により誘起される乳頭細胞の生理的变化を容易に検出する系の確立に成功し、「和合シグナル」解明に向けた研究が着実に進行している。また、「和合シグナル」により誘導される乳頭細胞内の生理変化とこれを仲介する因子候補の同定なども順調に進行している。

4. 今後の研究の推進方策

花粉表層物質が乳頭細胞に対して誘起する様々な生理反応の実態についてはかなり明確に示されてきたが、その中に含まれる「和合シグナル」の種類や物質本体については未だ不明である。

まず、これまで確立してきたモニター系を利用し、花粉表層物質中の活性成分の分子性状を生化学的に明らかにすると共に、活性本体の単離・構造解析を目指す計画である。

また、シロイヌナズナの不稔性変異株の中から、初期受粉過程に異常を示す変異株を探索し、遺伝学的に「和合シグナル」やその情報伝達分子を解明することも平行して進める計画である。

さらに、マイクロアレイ解析等により見出されてきている「和合シグナル」の情報伝達の候補因子類、特に、Ca²⁺輸送体候補や水輸送体候補については、タグライン解析等を通じて、機能を明確にしていく計画である。

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7件)

- ① Kakita, M., Murase, K., Iwano, M., Matsumoto, T., Watanabe, M., Shiba, H., Isogai, A., and Takayama, S., Two distinct forms of *M*-Locus protein kinase localize to the plasma membrane and interact directly with *S*-locus receptor kinase to transduce self-incompatibility signaling in *Brassica rapa*, *Plant Cell*, 19, 3961-3973, 2007, 査読有
- ② Iwano, M., Shiba, H., Matoba, K., Miwa, T., Funato, M., Entani, T., Nakayama, P., Shimosato, H., Takaoka, A., Isogai, A. and Takayama, S., Actin dynamics in papilla cells of *Brassica rapa* during self- and cross-pollination, *Plant Physiology*, 144, 72-81, 2007, 査読有
- ③ Shimosato, H., Yokota, N., Shiba, H.,

Iwano, M., Entani, T., Che, F.-S., Watanabe, M., Isogai, A., and Takayama, S., Characterization of the SP11/SCR high-affinity binding site involved in self/nonself recognition in *Brassica* self-incompatibility, *Plant Cell*, 19, 107-117, 2007, 査読有

[学会発表] (計28件)

- ① Iwano, M., Shiba, H., Matoba, K., Takaoka, A., Isogai, A. and Takayama, S. Actin dynamics in papilla cells of *Brassica rapa* during self- and cross-pollination. 9th Asia Pacific Microscopy Conference (APMC9), November 4, 2008, Jeju, Korea.

[図書] (計5件)

- ① Watanabe, M., Suzuki, G., and Takayama, S. Milestones identifying self-incompatibility genes in *Brassica* species - From old stories to new findings. In "Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms" (Edited by Franklin-Tong, V.E.), Springer, Heidelberg, 2008, pp. 151-172.

[その他]

ホームページアドレス

<http://bsw3.naist.jp/takayama/index.htm>
1