

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：34315

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15822

研究課題名(和文)被子植物の受精に必須の“精細胞駆動力”をつかさどる輸送分子の発見とその機能解析

研究課題名(英文) Discovery and functional analysis of molecules responsible for "sperm cell driving force" essential for fertilization in angiosperms.

研究代表者

元村 一基 (Motomura, Kazuki)

立命館大学・総合科学技術研究機構・助教

研究者番号：50844049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：被子植物の精細胞は、伸長する花粉管の中を通過して受精の場へと輸送される。本研究では精細胞が受精の場へと移動するための駆動力に着目し、細胞核全てが花粉管基部に取り残され、細胞質に核を持たない花粉管を作出・解析した。予想外なことに、この細胞質に核を持たない変異花粉管は核を持つ花粉管と同様に伸長する能力を持っていた。更に胚珠の位置を認識して方向転換して、雌組織のもとへ辿り着くこともできた。この成果を論文発表するとともに、2つの学会より栄誉ある賞を受賞することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

長きに渡って研究されてきた花粉管であるが、未だその能力には謎が多い。特に本研究が着目する精細胞輸送に関しては、栄養核に牽引されるという固定概念からか、関連研究はこれまでほぼ見られなかった。このように本研究成果は花粉管の秘められた能力を世界に先駆けて明らかにするものであった。また本研究成果で明らかになった現象は、多くの植物が共通に持つメカニズムである可能性が高い。なぜなら、種子植物は花粉管を用いて雌性配偶体に精細胞を送り届けることで果実を实らせるからである。今後も精細胞が雌性配偶体まで辿り着く分子メカニズムが明らかになっていくことで、農作物への応用展開の可能性も期待される。

研究成果の概要(英文)：Sperm cells of angiosperms are transported to the site of fertilization through elongating pollen tubes. In this study, we focused on the driving force for the movement of sperm cells to the site of fertilization. For this research, we generated and analyzed pollen tubes in which all of the cell nuclei were left at the base of the pollen tube and the cytoplasm had no nuclei. Surprisingly, these mutant pollen tubes had the same capability to elongate as normal pollen tubes with nuclei. Furthermore, they were able to recognize the location of the ovule, change direction, and reach the female tissue. We published our results in a scientific paper and have received prestigious awards from two Japanese academic societies.

研究分野：植物生殖細胞工学

キーワード：生殖 細胞生物学 シロイヌナズナ 受精

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

被子植物は花粉管を伸ばし、内包する 2 つの精細胞を雌性配偶体に送り届けることで受精を達成する。このメカニズムは生物の教科書にも記述されている、植物の種子形成に必須の仕組みである。このとき、花粉管中では花粉管の核(栄養核、花粉管核とも呼ばれる)と 2 つの精細胞は"male germ unit (MGU)"という物理的に繋がった複合体を形成しており、栄養核が貨物列車の先頭車両のように牽引することで、精細胞という"積荷"を雌性配偶体に送り届けると広く信じられてきた。

しかし近年、栄養核の移動に関与するタンパク質である WIT1/2 が発見されるとともに、この WIT1/2 を欠失した花粉管中においても MGU が花粉管の先端側へ移動できることが報告された。このことから精細胞は"積荷"ではなく、未知の駆動力を使って自ら花粉管を移動して受精を達成する可能性が示唆された。しかし精細胞の駆動力に着目した研究はほとんど例が無かった。

2. 研究の目的

本研究では精細胞が受精の場へと移動するための駆動力をつかさどる分子の発見と、その輸送の分子メカニズムを明らかにすることを目指した。精細胞と花粉粒(栄養細胞)は他の植物細胞と同じくそれぞれ細胞膜を有している。このことから精細胞は自身の細胞膜だけでなく、栄養細胞が内部に持つ細胞膜である「内部形質膜」にも取り囲まれている。この特殊な構造から精細胞は花粉管の細胞質から隔離されており、申請者は"精細胞を運ぶ輸送分子"は内部形質膜に局在して精細胞を運ぶと予想した。

3. 研究の方法

精細胞の輸送状態を詳細に解析するため、精細胞が輸送されない変異花粉管を作出して、それを解析した。本研究では細胞壁と精細胞の機能との関係性に着目して、細胞壁構成成分であるカロースを過剰に合成する、*cal3m* という変異型遺伝子を精細胞で発現させた。すると、花粉管中の精細胞の輸送が阻害され、精細胞が花粉管基部付近に留まることが分かった。以降、この植物を *SC-cal* と呼称する。

次に、栄養核の輸送異常を示す *wit1 wit2* 変異体において精細胞で *cal3m* を発現させたところ、花粉管中の 3 つの細胞核全てが花粉管基部に取り残されることが分かった。この世界初の核を持たない花粉管を利用して、精細胞輸送と花粉管能力について動態解析を行った。

4. 研究成果

研究初年度である令和 2 年度は、精細胞の輸送状態を詳細に解析するため、方法で言及した精細胞と栄養核が輸送されない変異花粉管を作出して、その解析を行った(以降、*wit1 wit2 SC-cal* と呼称)。はじめに野生型花粉管と核を持たない *wit1 wit2 SC-cal* 花粉管を花粉管発芽培地上で伸長させ、その後の伸長距離を測定した。予想外なことに、この細胞質に核を持たない変異花粉管は核を持つ花粉管と同様に伸長する能力を持っていた。更に胚珠の位置を認識して方向転換して、雌組織のもとへ辿り着くこともできた。この成果は英国 Nature グループが発行するオンライン科学誌「Nature Communications」誌で報告した¹⁾(図 1)。

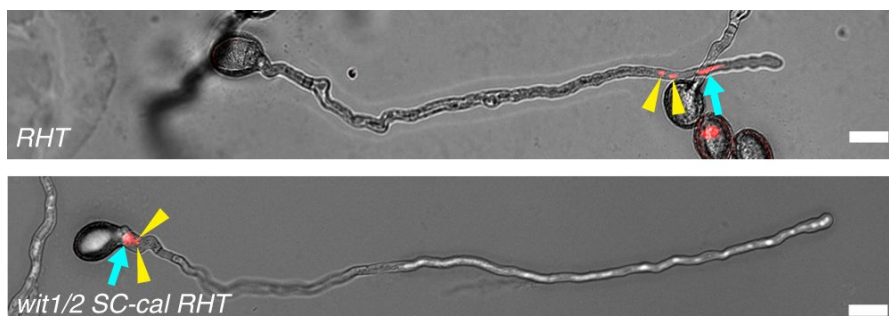


図 1. 細胞質に核を持たない花粉管の伸長能力。青矢印は花粉管の核を示し、黄色矢じりは精細胞を示す。

図は Motomura et al. (2021) を CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) に基づき引用・改変した。

また、花粉管と精細胞の駆動力についての関連した研究についての包括的な知見をまとめた。この知見を、学術総説として報告見込みである 2)。また、本研究成果に関連して、日本細胞生物学会より「若手最優秀発表賞」、日本植物形態学会より「平瀬賞」という2つの荣誉ある賞を受賞することができた。この研究を発展させることで、花粉管の未知なる機能やどのように種子が種を付けるのかという我々人類に身近な知見が明らかになるだろう。

<引用文献>

1)"Persistent directional growth capability in *Arabidopsis thaliana* pollen tubes after nuclear elimination from the apex" *Nature communications* 12(1) 2331-2331. 2021. Kazuki Motomura, Hidenori Takeuchi, Michitaka Notaguchi, Haruna Tsuchi, Atsushi Takeda, Tetsu Kinoshita, Tetsuya Higashiyama, Daisuke Maruyama.

2)"A way to discover a hidden pollen-tube potential controlling directional tip-growth in *Arabidopsis thaliana*." *Plant Morphology* in press. Kazuki Motomura, Daisuke Maruyama.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Motomura Kazuki, Takeuchi Hidenori, Notaguchi Michitaka, Tsuchi Haruna, Takeda Atsushi, Kinoshita Tetsu, Higashiyama Tetsuya, Maruyama Daisuke	4. 巻 12
2. 論文標題 Persistent directional growth capability in Arabidopsis thaliana pollen tubes after nuclear elimination from the apex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-22661-8	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6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 元村 一基, 武内 秀憲, 野田口 理孝, 土 春菜, 竹田 篤史, 木下 哲, 東山 哲也, 丸山 大輔
2. 発表標題 シロイヌナズナ花粉管は無核の状態でも正常に伸長して胚珠へ到達する能力を保持している
3. 学会等名 日本植物学会 第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 元村 一基, Michael Borg, 武内 秀憲, 野田口 理孝, 竹田 篤史, 木下 哲, Frederic Berger, 東山 哲也, 丸山 大輔
2. 発表標題 カロールによりRNAの細胞間移行が阻害された花粉の解析
3. 学会等名 第9回植物RNA研究ネットワークシンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 元村 一基, 武内 秀憲, 野田口 理孝, 土 春菜, 松本 歩, 竹田 篤史, 木下 哲, 東山 哲也, 丸山 大輔
2. 発表標題 シロイヌナズナの花粉管は細胞質に核を持たない状態でも正常に伸長して胚珠へ到達する能力を保持している
3. 学会等名 第73回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 元村 一基, 武内 秀憲, 野田口 理孝, 土 春菜, 竹田 篤史, 木下 哲, 東山 哲也, 丸山 大輔
2. 発表標題 シロイヌナズナの花粉管は細胞質に核を持たない状態でも正常に伸長して胚珠へ到達する能力を保持している
3. 学会等名 日本植物形態学会 第33回大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 元村 一基, 松本 歩, 武内 秀憲, 野田口 理孝, 土 春菜, 東山 哲也, 木下 哲, 竹田 篤史, 丸山 大輔
2. 発表標題 シロイヌナズナ変異花粉管を用いた栄養核と精細胞の輸送機構の解析
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 元村一基, 杉直也, 松本歩, 武内秀憲, 野田口理孝, 東山哲也, 木下哲, 山岡尚平, 竹田篤史, 丸山大輔
2. 発表標題 シロイヌナズナ花粉管は先端から核を排除した状態でも伸長制御能力を保持している
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022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
---------	---------