

二国間交流事業 共同研究報告書

平成 23 年 4 月 12 日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 名古屋大学・大学院理学研究科

職・氏名 (ふりがな) 教授・東山哲也 ひがしやまてつや

1. 事業名 相手国 (インド) との共同研究 振興会対応機関 (DST)

2. 研究課題名 植物生殖隔離のライブセル解析

3. 全採用期間

平成 21 年 6 月 1 日 ~ 平成 23 年 3 月 31 日 (1 年 10 ヶ月)

4. 経費総額

(1) 本事業により執行した研究経費総額 2,000,000 円

初年度経費 1,000,000 円、 2 年度経費 1,000,000 円、 3 年度経費 円

(2) 本事業経費以外の国内における研究経費総額 0 円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者（代表者は除く）

氏名 <small>(ふりがな)</small>	所属・職名	研究協力テーマ
かなおか まさひろ 金岡 雅浩	名古屋大学・助教	花粉管ガイダンス分子の種特異性について
かわの なお 河野 直	名古屋大学・大学院生	花粉管ガイダンス分子の種特異性について

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 インド工科大学マドラス校・准教授・Ramamurthy Baskar

(3) 相手国参加者（代表者は除く）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
Khusboo Jetha	インド工科大学マドラス校・大学院生（インド）	受精過程における種特異性と精細胞の役割
Amit Kumar Singh	インド工科大学マドラス校・大学院生（インド）	受精過程における種特異性と精細胞の役割
V. KESAVAN	インド工科大学マドラス校・准教授（インド）	受精過程における種特異性と精細胞の役割

6. 研究実績概要（全期間を通じた研究の目的・研究計画の実施状況・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

本研究の目的は、植物のハプロイド世代間で生じる生殖隔離障壁を、ライブセル解析により解明することである。このために、我々日本側のグループが世界に先駆けて開発してきた、トレニア *in vitro* 重複受精系を基盤に用いる。トレニアは、卵装置が母体組織から突出するユニークな植物であり、植物の受精を生きた材料で解析することを可能にする。本申請では、日本とインドに自生する植物を調査し、トレニアとの生殖隔離を解析するのに最適な植物を見出す。これにより、生殖隔離を顕微鏡下で再現し、生殖隔離の詳細な仕組みを、具体的な分子に着目しながら明らかにする。こうした取り組みを通して、日本オリジナルの技術を海外に発信する足がかりとするとともに、生殖隔離障壁という基礎生物学的にも農学的にも重要な現象の、分子基盤を解明する。

研究計画に基づき、インドから学生2名を各3週間受け入れた。さらにこの学生に対して、生殖隔離障壁のライブセル解析のためのライブイメージングや顕微操作技術について、習得をはかった。その結果、トレニアの *in vitro* 重複受精技術を完全に習得した。インドにおいて、トレニアの *in vitro* 重複受精の実験を行うことが可能になった。またインドから研究代表者が日本に2回（各1週間）訪問し、*natural variation* を基盤とした本研究の進展について議論を交わした。日本側からはまず助教1名がインドを訪問し、トレニア属の種や生育環境の調査、また研究状況の確認と打合せを行ってきた。また研究代表者がインドを訪問し、本共同研究を総括するとともに、本研究の成果等について講演した。

研究内容の成果としては、まずトレニアフルニエリ近縁種を新たに複数採集できたことが大きい。さらに日本側は、トレニアフルニエリにおいて助細胞の分泌する誘引物質（LURE ペプチド）を同定した成果を基盤に、トレニア近縁種において、花粉管誘引物質遺伝子の探索を進めた。この誘引物質の活性は、*in vitro* アッセイにより、種間での強い差が見られている。そこで複数のトレニア近縁種において助細胞を含む雌性配偶体の細胞を単離する技術を開発するとともに、各細胞を確実に回収できているか確認するための細胞特異的遺伝子マーカーを同定することに成功した（Kawano et al. 2011）。さらに、トレニアコンカラーにおいて助細胞の分泌する誘引物質を同定することに成功し、これらが生殖隔離の鍵因子の1つであることと、種間で誘引物質遺伝子に非同義置換が多く生じていることを明らかにした（Kanaoka et al. 2011）。インド側は、日本で習得した受精のライブイメージング技術を用いて、特に重複受精過程で生殖隔離障壁が見られるか、当初計画に基づき解析を進めることができた。重複受精過程において種間交雑による精細胞の動態異常を見出すには至っていないが、各生殖過程における精細胞の挙動を捉えることには成功し、研究計画における重要な成果であると言える。