

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料
〔事後評価用〕

平成16年度採択分

平成22年3月31日現在

研究課題名（和文） **植物自家不和合性の分子基盤**

研究課題名（英文） **Molecular basis of plant self-incompatibility**

研究代表者

磯貝 彰 (ISOGAI AKIRA)

奈良先端科学技術大学院大学・学長



研究の概要：植物の多くは自殖を抑制する自家不和合性という性質を有し、遺伝的多様性を保持している。植物がいかにして自己と非自己の花粉を識別し自殖を抑制しているのか、アブラナ科植物とナス科・バラ科植物を対象としてその分子機構の解明を行った。

研究分野： 生物系農学

科研費の分科・細目： 農芸化学・生物生産化学・生物有機化学

キーワード： 自家不和合性、分子認識、有性生殖、情報伝達

1. 研究開始当初の背景

植物の自家不和合性における自他識別反応は、基本的にSと名付けられた1つの遺伝子座に制御されていることが示されてきた。実際、アブラナ科植物とナス科・バラ科植物において、S遺伝子座上にコードされた花粉側と雌ずい側の認識物質候補が各々同定されてきたが、それらがどのように相互作用して情報を伝え、自己の花粉の発芽・伸長を阻害しているのか、自家不和合性反応の全容は未解明のままであった。

2. 研究の目的

本研究では、アブラナ科植物とナス科・バラ科植物を対象として、花粉因子と雌ずい因子間の特異的相互作用から花粉の発芽・伸長停止に至るまでの自家不和合性反応の分子機構解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) アブラナ科植物の花粉因子 SP11 と雌ずい因子 SRK 受容体複合体の相互作用解析と下流情報伝達因子の探索

(2) 和合・不和合性受粉時における雌ずい乳頭細胞内の生理変化の比較解析

(3) シロイヌナズナの自家和合性の原因解明と自家不和合性シロイヌナズナの作出

(4) 自家不和合性対立遺伝子間に認められる優劣性における劣性側対立遺伝子の特異的発現抑制機構の解析

(5) ナス科植物ペチュニアの花粉因子候補の探索と遺伝子導入試験、および雌ずい因子 S-RNase との相互作用解析

4. 研究の主な成果

(1) アブラナ科植物では、SRK 受容体型キナーゼが、雌ずい乳頭細胞膜上で低親和性の単量体と高親和性の二量体の平衡状態にあり、花粉因子 SP11 との結合により活性型の二量体構造が安定化することが示唆された。また、自家和合性変異株の原因遺伝子の解析により見出された細胞質キナーゼ MLPK は、2つのアイソフォームを持つが、いずれも異なる機構で乳頭細胞膜上に局在し、SRK と受容体複合体を形成してその活性化を補助していることが示された。また、受粉後の遺伝子発現変動解析や酵母 Two-hybrid 法等の相互作用解析により SRK/MLPK 下流の情報伝達因子を探索した結果、複数の下流因子候補が選抜されてきた。これらの中には細胞内小胞輸送に関わる因子が複数含まれており、自家不和合受粉時に認められる乳頭細胞内の生理反応との関連が示唆された。

(2) 細胞骨格や Ca²⁺動態を on time に観察する系を構築して和合・不和合受粉時の乳頭細胞内の生理変化を解析した。その結果、和合受粉時には、花粉表層物質中に存在する何らかの因子の働きにより、花粉付着部位に向けてアクチンフィラメントの再編成が起き、Ca²⁺を含んだ水が乳頭細胞外へと移動することが示された。一方、自家受粉時の乳頭細胞では、花粉直下の部分においてアクチンフィラメントが消失し、管状の小胞構造が破壊される共に、細胞外への水の移動が停止することが示された。

(3) 近縁の自家不和合性種 *Arabidopsis halleri* の S 遺伝子座との比較解析により、

[4. 研究の主な成果 (続き)]

欧州のシロイヌナズナ *A. thaliana* の多くの系統が *SP11* 遺伝子に 213-bp の逆位を持つことが示された。その内のいくつかの系統は機能性の SRK を保持していることが示され、シロイヌナズナはまずこの逆位が引き金となって自家不和合性が打破され、その変異が氷河期以降広範囲に拡散し優位に保持された実態が明らかになった。実際、この逆位を修正した *SP11* 遺伝子を導入すると、自家不和合性のシロイヌナズナを作出できることも証明された。

(4) アブラナ科の花粉因子 SP11 は、孢子体 (2n) である葯タペト組織で作られるため、花粉は基本的に 2 種類の S ハプロタイプを表現型として持つ (共優性)。しかし、特定の S ハプロタイプの組み合わせでは片側の S ハプロタイプの表現型しか示さない花粉が生じる場合がある (優劣性)。この優劣性の発現機構を解析した結果、劣性側の S ハプロタイプの *SP11* プロモーター領域が葯において特異的に DNA メチル化修飾を受けていることが示された。また、このメチル化には、優性側の S ハプロタイプ由来の small RNA が関与していることが示唆された。

(5) ナス科植物ペチュニアの花粉因子 SLF の同定を進めたところ、雌ずい因子の *S-RNase* 遺伝子と組み換えを起こさない S 遺伝子座領域に 8 種類以上の SLF 様因子がコードされており、いずれも花粉および花粉管で特異的に発現していることが確認された。また、形質転換実験と *S-RNase* との相互作用解析により、これら SLF 様因子が、分担して非自己の *S-RNase* の認識に当たっていることが示唆された。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

アブラナ科植物の自家不和合性については、花粉因子の受容から花粉の吸水阻害に至るまでの自家不和合性反応の全体像をかなり明確にすることが出来た。植物は、極めて多くの受容体型キナーゼを有し、外界の様々な情報を細胞内に伝えているにも関わらず、情報伝達経路の解明は遅れている。本系は情報伝達解明に向けた優れたモデル系として他分野からも注目されている。今回自家不和合性シロイヌナズナの作出にも成功し、今後自家不和合性の情報伝達経路の解明が益々加速することが期待される。

アブラナ科植物の自家不和合性に関しては、対立遺伝子間の優劣性制御という点からも画期的な成果を残すことが出来た。本研究は、優劣性という古典的な遺伝学の現象にエピジェネティックな遺伝子発現制御が関与する例を初めて見出した点で世界的に注目

されている。ポストゲノム研究によりヒトなどにおいても片側の対立遺伝子のみ発現する例が極めて多いことが示されてきており、本研究がこうした遺伝子発現制御機構解明の手がかりとなることが期待される。

ナス科植物の自家不和合性においては、複数の SLF 様因子が分担して非自己の *S-RNase* の認識に関与する可能性を初めて明らかにした。植物において、動物の免疫系にも似た非自己認識システムの存在を示唆する極めてインパクトの高い研究成果である。

6. 主な発表論文

(研究代表者は二重線、研究分担者は一重下線、連携研究者は点線)

(1) Tsuchimatsu, T., Suwabe, K., Shimizu-Inatsugi, R., Isokawa, S., Pavlidis, P., Stadler, T., Suzuki, G., Takayama, S., Watanabe, M., and Shimizu, K.K. Evolution of self-compatibility in *Arabidopsis* by a mutation in the male specificity gene. *Nature*, advance online publication (doi:10.1038/nature08927) (2010)

(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 Physiol.*, 144, 71-81 (2007)

(3) 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)

(4) 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)

(5) Shiba, H., Kakizaki, T., Iwano, M., Tarutani, Y., Watanabe, M., Isogai, A., and Takayama, S. Dominance relationships between self-incompatibility alleles controlled by DNA methylation. *Nature Genet.*, 38, 297-299 (2006)

ホームページ等

<http://bsw3.naist.jp/takayama/index.html>