

作成者	所属（専攻）・氏名 連合農学研究科生物資源科学専攻 渡辺 正夫 連絡先（内線・メール）6253 nabe@iwate-u.ac.jp
研究課題名 （英語名）	高等植物の生殖器官における情報伝達のクロストーク The cross-talk of signal transduction in reproductive organs in higher plants
研究分野及び キーワード	研究サブグループ：熱に対する生物の生存戦略メカニズム 研究キーワード：（情報伝達）（生殖器官特異的遺伝子）（自家不和合性）
研究協力者 （氏名・所属等）	

研究成果報告

目的

高等植物の生殖過程は、様々な環境変異に対して敏感である。特に、寒冷刺激に対しては、生殖過程の様々なステップで、不稔を誘導する大きな原因となり、その要員の解明は、生物科学的に重要であり、かつ、子実生産上でも重要であることは言うまでもない。高等植物の寒冷刺激への応答では、細胞内への情報伝達系が明らかになりつつある。

そこで、イネを材料として、生殖器官で特異的に発現している遺伝子のカタログ化を行うとともに、生殖における情報伝達機構であるアブラナ科自家不和合性を解析することで、情報伝達のクロストークについて、明らかにすることを目的とする。

研究結果

(1) イネ生殖器官特異的遺伝子の網羅的解析

イネ生殖器官である、葯と雌ずい由来の cDNA マイクロアレイを作製し、150 あまりの葯特異的遺伝子を同定した。それらの中には、既存の葯・花粉特異的遺伝子を含んでいた。特に、3 核期の花粉を含む葯では、細胞壁の再構築関連遺伝子が多数発現しており、そのあとに起きる花粉管伸長との関連性が考えられた。また、*in situ* hybridization 実験から、新規のタペート細胞特異的遺伝子、葯裂開部特異的遺伝子などを同定することができた。イネが寒冷刺激を受けたとき、多くの場合、葯の発育異常としての雄性不稔性が確認されており、今回同定した遺伝子群の寒冷応答との関連に興味を持たれた。

(2) アブラナ科自家不和合性における新規情報伝達因子の単離・解析

現在までに自家不和合性の自他を識別する S 遺伝子の実体として、SP11-SRK を同定したが、SRK の下流がどの様シグナルとなって伝達されるかという実体はあきらかになっていない。そこで、自家不和合性の変異体である *yellow sarson* を材料として、和合性の原因 *m* 遺伝子の単離・同定を行った。その結果、従来から言われていた *m* 遺伝子であるアクアポリンをコードしている遺伝子から、1cM 以上離れた位置に、本物の *m* 遺伝子、MLPK (M locus protein kinase) を同定した。一過的な遺伝子発現系により、この遺伝子が確かに *m* 遺伝子そのものであることを明らかにした。このことから、今後は、SRK と相互作用などを検討するが、MLPK のような遺伝子は、一般的な寒冷応答のシグナル伝達系では見出されておらず、新規なシグナル伝達系であることを明らかにした。

(3) アブラナ科自家不和合性に見られた S 対立遺伝子間の優劣性発現

アブラナ科自家不和合性が胞子体的に機能する S 遺伝子で制御されていることから、S 対立遺伝子間には優劣性が生じる。そこで class II S 対立遺伝子間で見られる優劣性に着目し、その制御を解析したところ、花粉側因子 SP11 の発現によって制御されており、また、その制御は、エピジェネティックな

ものであった。

来年度以降に向けての反省点、改善すべき点、そして、対策方法

生殖器官において、温度反応に対して重要であると考えられる特異的遺伝子のカタログ化も進展し、また、情報伝達のクロストークについても、解明しつつあることから、現状の方向性で、研究を展開できれば、期待している成果が得られると考える。

来年度研究計画の概略

イネ生殖器官特異的遺伝子については、特異的遺伝子の機能解析を、イネ、あるいは、相同な遺伝子を他植物で遺伝子破壊をすることで明らかにする。また、可能であれば、温度反応性の異なるイネについて、発現解析を網羅的に行い、低温に対して重要な遺伝子の同定を試みる。

アブラナ科自家不和合性については、自家和合性の変異体解析、S対立遺伝子間の優劣性解析を進展させるとともに、今年度の予備的実験で見出した新たな認識遺伝子候補遺伝子について解析を開始する。

本研究拠点形成に関連して受けた研究助成

科学研究費・学術創成・植物自家不和合性の分子基盤（分担）代表・奈良先端大・磯貝彰、15,600 千円
科学研究費・基盤研究（B）アブラナ科自家不和合性において S 対立遺伝子間で生じる優劣性発現機構の分子基盤（代表）3,900 千円

その他特記すべき事項

渡辺正夫. 2005. 自己・非自己花粉を識別するアブラナ科植物の自家不和合性制御遺伝子の解析（第4回インテリジェント・コスモス奨励賞）

国立遺伝学研究所研究会「高等植物の生殖システム統御機能の分子遺伝学的解析」企画、主催

研究成果

原著論文

Wang, K.-J., Yamashita, T., Watanabe, M. and Takahata Y. 2004. Genetic characterization of a novel Tib-derived variant of soybean Kunitz trypsin inhibitor detected in wild soybean (*Glycine soja*). *Genome* **47**:9-14.

Murase, K., Shiba, H., Iwano, M., Che, F.-S., Watanabe, M., Isogai, A. and Takayama, S. 2004. A membrane-anchored protein kinase involved in *Brassica* self-incompatibility signaling. *Science* **303**:1516-1519.

Shiba, H., Park, J.-I., Suzuki, G., Matsushita, M., Nou, I.-S., Isogai, A., Takayama, S. and Watanabe, M. 2004. Tandem duplication of *SP11* gene at the S locus of S15 haplotype in *Brassica oleracea*. *Genes Genet. Syst.* **79**:87-93.

Endo, M., Tsuchiya, T., Saito, H., Matsubara, H., Hakozaki, H., Masuko, H., Kamada, M., Higashitani, A., Takahashi, H., Fukuda, H., Demura, T. and Watanabe, M. 2004. Identification and molecular characterization of novel anther-specific genes in japonica rice, *Oryza sativa* L. by using cDNA microarray. *Genes Genet. Syst.* **79**:213-226.

Hakozaki, H., Endo, M., Masuko, H., Park, J.-I., Ito, H., Uchida, M., Kamada, M., Takahashi, H., Higashitani, A. and Watanabe, M. 2004. Molecular characterization of four novel anther-specific genes in the model legume, *Lotus japonicus*. *Genes Genet. Syst.* **79**:307-310.

Takada, Y., Nakanowatari, T., Sato, J., Hatakeyama, K., Kakizaki, T., Ito, A., Suzuki, G., Shiba, H., Takayama, S., Isogai, A. and Watanabe, M. 2005. Genetic analysis of intra-species unilateral incompatibility between cultivar Osome and Turkish line in *Brassica rapa* (syn. *campestris*) L. *Sex. Plant Reprod.* **17**:211-217.

Yoshida, K. T., Endo, M., Nakazono, M., Fukuda, H., Demura, T., Tsuchiya, T. and Watanabe, M. 2005. cDNA microarray analysis of gene expression changes during pollination, pollen-tube elongation, fertilization, and early embryogenesis in rice pistils. *Sex. Plant Reprod.* **17**:269-275.

研究報告

渡辺正夫. 2004. アブラナ科植物の自家不和合性の認識反応を制御する遺伝子の分子生物学的解剖. *The Annals of Intelligent Cosmos Academic Foundation* **8**:13-16.

渡辺正夫, 平野博之. 2004. 「高等植物の生殖器官形成と受粉・受精過程の分子遺伝学」を企画して. *GSJ コミュニケーションズ* **79-2**:22.

国際学会発表

Watanabe, M., Suzuki, G., Takada, Y., Kakizaki, T., Shiba, H., Takayama, S. and Isogai, A. 2004. Molecular characterization of the S haplotypes lacking SLG in the genome of *Brassica campestris* (syn. *rapa*) L. *4th International Crop Science Congress*.

Tsuwamoto, R., Fukuoka, H., Watanabe, M. and Takahata, Y. 2004. Isolation of the genes expressed in induction of *Brassica* microspore embryogenesis. *5th IVCHB Symposium*.

Park, J.-I., Endo, M., Masuko, H., Hakozaki, H., Saito, H., Higashitani, A. and Watanabe, M. 2004. Promoter analysis of pollen specific gene containing RNA recognition motif in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Sexual Plant Reproduction II*.

Takada, Y., Nakanowatari, T., Sato, J., Hatakeyama, K., Kakizaki, T., Ito, A., Suzuki, G., Shiba, H., Takayama, S., Isogai, A. and Watanabe, M. 2004. Genetic analysis of novel intra-species unilateral incompatibility in *Brassica rapa* (syn. *campestris*) L. *XVIII International Congress on Sexual Plant Reproduction*.

Kakizaki, T., Takada, Y., Suzuki, G., Shiba, H., Takayama, S., Isogai, A. and Watanabe, M. 2004. Genomic organization of the S-intergenic region of the class-II S haplotypes in *Brassica campestris*. *XVIII International Congress on Sexual Plant Reproduction*.

Murase, K., Shiba, H., Iwano, M., Che, F.-S., Watanabe, M., Isogai, A. and Takayama, S. 2004. A membrane-anchored serine/threonine protein kinase, MLPK, involved in *Brassica* self-incompatibility signaling. *XVIII International Congress on Sexual Plant Reproduction*.

Hakozaki, H., Endo, M., Masuko, H., Park, J.-I., Ito, H., Uchida, M., Saito, H., Higashitani, A. and Watanabe, M. 2004. Functional analysis of pollen-specific gene, S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase, of model legume *Lotus japonicus*. *Frontiers in Sexual Plant Reproduction II*.

Akasaka-Kennedy, Y., Yoshida, H., Watanabe, M. and Takahata, Y. 2004. Effect of genotype on adventitious bud formation from leaves of rapeseed (*Brassica napus* L.). *4th International Crop Science Congress*.

国内学会発表

高山誠司, 渡辺正夫, 磯貝彰. 2004. アブラナ科植物の自家不和合性機構. 公開シンポジウム「植物の生殖研究-その最前線と今後の方向-」.

渡辺正夫, 鈴木剛, 高山誠司, 磯貝彰. 2004. アブラナ科植物の自家不和合性における自他識別機構. 日本農芸化学会創立 80 周年記念東北・関東支部合同支部会.

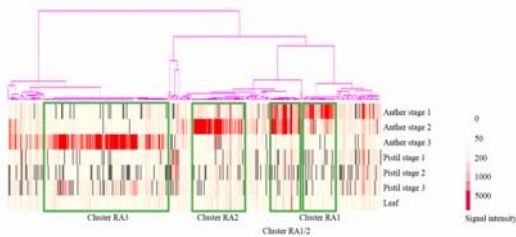
渡辺正夫. 2004. アブラナ科植物の自家不和合性における自他識別機構. 作物研究所セミナー.

渡辺正夫, 菊田利奈, 白澤彰, 小松聡, 鈴木剛, 柴博史, 高山誠司, 磯貝彰. 2004. アブラナ科植物における自家不和合性変異体の作出と遺伝学的解析の試み. 理研加速器植物班ユーザー会.

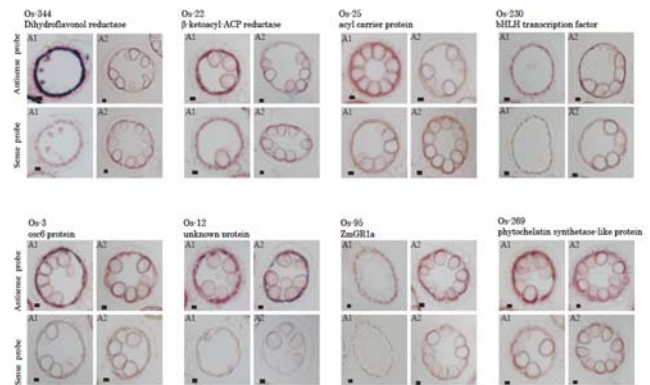
渡辺正夫. 2005. アブラナ科植物の自家不和合性と生殖器官特異的遺伝子の網羅的解析. 名古屋大学生物機能開発利用研究センターセミナー.

高等植物の生殖器官における情報伝達のクロストーク (渡辺正夫)

(1) イネ生殖器官特異的遺伝子の網羅的解析

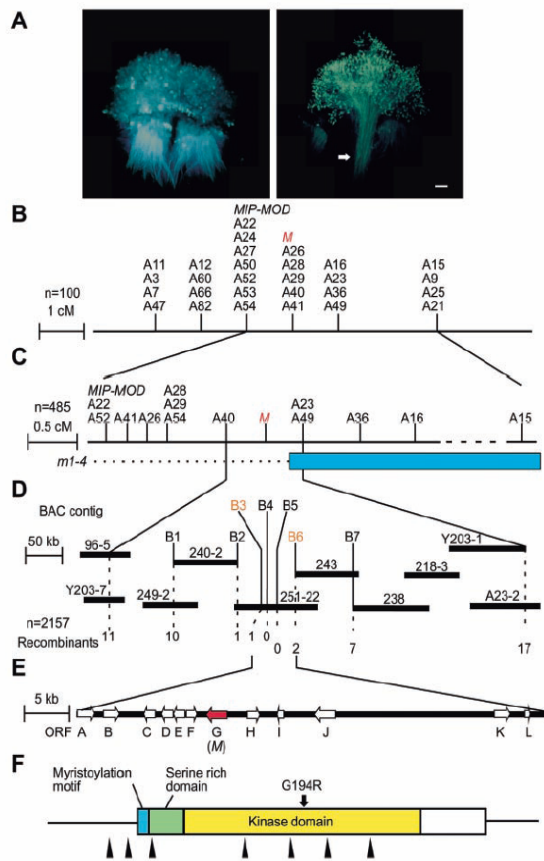


薬特異的遺伝子のクラスター解析



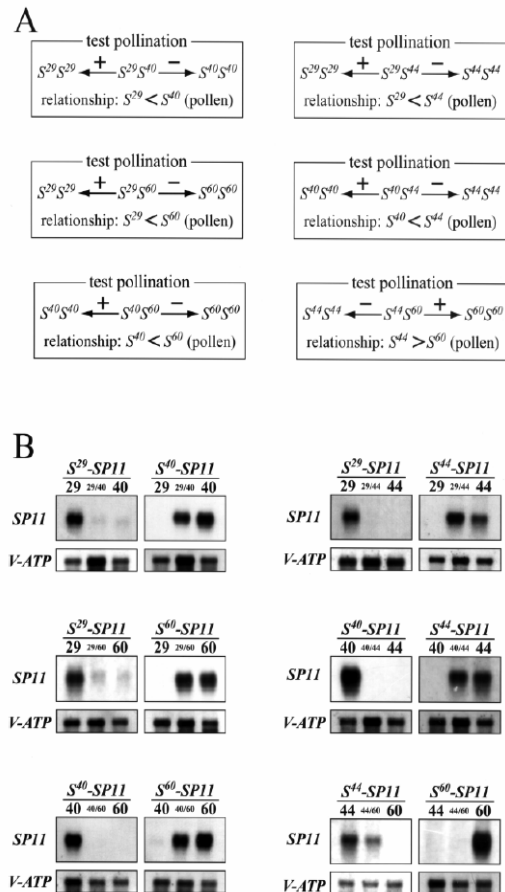
タペート細胞特異的遺伝子の発現解析

(2) アブラナ科自家不和合性における新規情報伝達因子の単離・解析



yellow sarsonの表現型とm遺伝子のmapping

(3) アブラナ科自家不和合性に見られたS対立遺伝子間の優劣性発現



S対立遺伝子間の優劣性とSP11による発現調節