

平成 2 5 年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 基盤研究(A) 4. 研究期間 平成 2 5 年度 ~ 平成 2 7 年度
5. 課題番号

2	5	2	5	2	0	2	1
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 アブラナ科およびナス科植物の自家不和合性の分子機構解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
7 0 2 7 3 8 3 6	タカヤマ セイジ 高山 誠司	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

<p>アブラナ科およびナス科植物の自家不和合性における自己花粉排除の仕組みについて解析を進め以下の研究成果を得た。</p> <p>1. アブラナ科植物の自家不和合性 花粉表面物質の作用により和合受粉時特異的にCa²⁺イオンが乳頭細胞から花粉に供給されることを見出した。さらに、この供給にAC A13というCa²⁺輸送体が関与していることを見出し報告した。不和合受粉時にはこのCa²⁺の花粉への供給が認められないことから、Ca²⁺の動態調節が自家不和合性反応の鍵を握っている可能性が示唆された。自家不和合性の情報伝達系において機能する因子を遺伝学的に同定するために、自家不和合性を付与したシロイヌナズナを変異原処理し、自家和合性に復帰した突然変異株の探索を進め、複数の候補株を取得した。さらに、自家不和合性がCO₂ガス処理により打破される仕組みを明らかにするために、CO₂に対する感受性の異なる2種類の近交系に着目し、感受性を規定する遺伝子座を遺伝学的に解析した。その結果、不完全優性を示す少なくとも2座位の対立遺伝子が相加的にCO₂高感受性を規定していることを明らかにし報告した。</p> <p>2. ナス科植物の自家不和合性 花粉因子SLFsが花粉内で形成していると予測されてきたSCF複合体を、花粉内に発現させたタグ標識SLFとの共免疫沈降法により精製し、花粉特異的なSkp1およびCullinが機能していることを見出した。さらに、精製したSCF複合体が、in vitroにおいて一部の非自己の雌すい因子S-RNaseを特異的にポリユビキチン化すること、ポリユビキチン化を受けたS-RNaseは花粉抽出液中で速やかに分解されること、この分解はプロテアソーム阻害剤存在下で抑制されること、を見出し報告した。</p>

10. キーワード

- | | | | |
|------------|------------|-----------|--------|
| (1) 植物 | (2) シグナル伝達 | (3) 細胞間認識 | (4) 生殖 |
| (5) 自家不和合性 | (6) アブラナ科 | (7) ナス科 | (8) |

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

1. アブラナ科植物の自家不和合性
和合・不和合受粉時において、乳頭細胞におけるCa²⁺の挙動が明確に異なることを見出し、さらにその挙動を調節する分子候補としてACA13を同定し報告することができた。また、作出した自家不和合性シロイヌナズナの系を用い、自家不和合性の情報伝達因子を遺伝学的に探索する実験も開始し、順調に進行している。また、CO₂処理による自家不和合性打破の仕組みについて解析を進め、CO₂感受性が少なくとも2座位の不完全優性遺伝子により相加的に制御されていることを明らかにし報告することができた。
2. ナス科植物の自家不和合性
花粉因子SLFsが形成していると予測されてきたSCF複合体を花粉から精製し、その構成因子を同定することが出来た。さらに、このSCF複合体が特定の非自己S-RNaseをポリユビキチン化し、ポリユビキチン化されたS-RNaseが花粉抽出液中で分解されることを証明し報告した。本成果により、ナス科の非自己認識自家不和合反応の重要な部分をin vitroの系において明らかにすることができた。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

1. アブラナ科植物の自家不和合性
自家受粉時の乳頭細胞内におけるCa²⁺の挙動の解明、和合受粉時との挙動の違いを生み出す自家不和合性情報伝達系の解明、が今後の中心課題となる。自家不和合性シロイヌナズナを用いてCa²⁺の挙動を解析するためのモニタリング系を開発すると共に、順遺伝学および逆遺伝学の両方向から関与する因子の特定を進める方針である。自家不和合性打破を誘引するCO₂感受性を規定する因子の解明も継続して進め、自家不和合性機構の解明に繋げる方針である。
2. ナス科植物の自家不和合性
SLFとの共沈法により花粉より精製したSCF複合体には、花粉で特異的に発現するSkp1およびCullin-1の分子種が含まれていた。花粉では他のSkp1, Cullin-1分子種も発現しているため、同定された分子が特異的に機能しているかどうかを、形質転換実験等により検証する必要がある。また、今回in vitroの系において非自己S-RNaseの特異的ユビキチン化や分解を証明したが、これらの反応は花柱を伸長中の花粉管内においてははまだ明確に示されておらず、ユビキチン化されたS-RNaseが花粉管内の特定の領域に輸送されるとする隔離説も提唱されていることから、in vivoレベルでの実験的検証が今後の重要課題である。

13.研究発表(平成25年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(6)件 うち査読付論文 計(6)件

著者名		論文標題			
Yoshinobu Takada, Takahiro Sato, Go Suzuki, Hiroshi Shiba, Seiji Takayama, Masao Watanabe		Involvement of MLPK pathway in intraspecies unilateral incompatibility regulated by a single locus with stigma and pollen factors			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
G3 (Bethesda)	有	3	2 0 1 3	719-726	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1534/g3.113.005892					

著者名		論文標題			
Masaaki Osaka, Tomoki Matsuda, Satomi Sakazono, Hiromi Masuko-Suzuki, Shunsuke Maeda, Misato Sewaki, Mikako Sone, Hirokazu Takahashi, Mikio Nakazono, Megumi Iwano, Seiji Takayama, Kentaro K. Shimizu, Kentaro Yano, Yong Pyo Lim, Go Suzuki, Keita Suwabe, Masao Watanabe		Cell type-specific transcriptome of Brassicaceae stigmatic papilla cells from a combination of laser microdissection and RNA sequencing			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Plant Cell Physiology	有	54	2 0 1 3	1894-1906	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1093/pcp/pct133					

著者名		論文標題			
Xintian Lao, Keita Suwabe, Satoshi Niikura, Mitsuru Kakita, Megumi Iwano, Seiji Takayama		Physiological and genetic analysis of CO ₂ -induced breakdown of self-incompatibility in Brassica rapa			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Journal of Experimental Botany	有	65	2 0 1 4	939-951	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1093/jxb/ert438					

著者名		論文標題			
Meguni Iwano, Motoko Igarashi, Yoshiaki Tarutani, Pulla Kaothien-Nakayama, Hideki Nakayama, Hideki Moriyama, Ryo Yakabe, Tetsuyuki Entani, Hiroko Shimosato-Asano, Masao Ueki, Gen Tamiya, Seiji Takayama		A pollen coat-inducible autoinhibited Ca ²⁺ -ATPase expressed in stigmatic papilla cells is required for compatible pollination in the Brassicaceae			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Plant Cell	有	26	2 0 1 4	636-649	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1105/tpc.113.121350					

著者名		論文標題【掲載確定】			
Hidetaka Kaya, Ryo Nakajima, Megumi Iwano, Masahiro M. Kanaoka, Sachie Kimura, Seiji Takeda, Tomoko Kawarazaki, Eriko Senzaki, Yuki Hamamura, Tetsuya Higashiyama, Seiji Takayama, Mitsutomo Abe, Kazuyuki Kuchitsu		Ca ²⁺ -activated reactive oxygen species production by Arabidopsis RbohH and RbohJ is essential for proper pollen tube tip growth			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Plant Cell	有	印刷中	2 0 1 4	印刷中	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1105/tpc.113.120642					

著者名		論文標題【掲載確定】			
Tetsuyuki Entani, Ken-ichi Kubo, Shin Isogai, Yoichiro Fukao, Masahiro Shirakawa, Akira Isogai, Seiji Takayama		Ubiquitin-proteasome-mediated degradation of S-RNase in a solanaceous cross-compatibility reaction			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Plant Journal	有	印刷中	2 0 1 4	印刷中	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1111/tbj.12528					

(学会発表) 計(7)件 うち招待講演 計(1)件

発表者名		発表標題	
高山誠司		植物の自家不和合性における自己非自己識別機構に関する研究	
学会等名		発表年月日	発表場所
第84回日本農学大会(招待講演)		2013年04月05日	東京大学山上会館(東京都文京区)

発表者名		発表標題	
Kanae Ito, Megumi Iwano, Hiroko Shimosato-Asano, Mitsuru Kakita, Pulla Nakayama, Seiji Takayama		Analysis of intracellular signaling pathway in Brassica self-incompatibility	
学会等名		発表年月日	発表場所
奈良先端未来開拓コロキウム "Signaling and Coordination in Plant Development"		2013年11月19日	奈良先端科学技術大学院大学(奈良県生駒市)

発表者名		発表標題	
Mai Tsukahara, Tetsuyuki Entani, Ken-ichi kubo, Kohji Murase, Megumi Iwano, Seiji Takayama		Molecular mechanism for S-RNase-based self incompatibility in Petunia	
学会等名		発表年月日	発表場所
奈良先端未来開拓コロキウム "Signaling and Coordination in Plant Development"		2013年11月19日	奈良先端科学技術大学院大学(奈良県生駒市)

発表者名		発表標題	
岩野恵、伊藤花菜江、浅野(下里)裕子、五十嵐元子、岩尾康宏、高山誠司		アブラナ科植物自家不和合性の分子メカニズム	
学会等名		発表年月日	発表場所
第36回日本分子生物学会ワークショップ		2013年12月03日～2013年12月06日	神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市)

発表者名	発表標題	
岩野恵、伊藤花菜江、五十嵐元子、浅野(下里)裕子、高山誠司	アブラナ科植物の和合・不和合受粉過程における情報伝達系の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第55回日本植物生理学会シンポジウム	2014年03月18日～2014年03月20日	富山大学五福キャンパス(富山県富山市)

発表者名	発表標題	
Motoko Igarashi, Keiko Ohara, Megumi Iwano, Masahiro Fujita, Nori Kurata, Seiji Takayama	Search for genes involved in cross- and self-pollination in the Brassicaceae	
学会等名	発表年月日	発表場所
第55回日本植物生理学会	2014年03月18日～2014年03月20日	富山大学五福キャンパス(富山県富山市)

発表者名	発表標題	
堀井真人、岩野恵、森稔幸、高山誠司	STEMトモグラフィーを用いたシロイヌナズナの受精過程の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第55回日本植物生理学会	2014年03月18日～2014年03月20日	富山大学五福キャンパス(富山県富山市)

〔図書〕計(1)件

著者名	出版社	
Megumi Iwano, Kanae Ito, Hiroko Shimosato-Asano, Kok Song Lai, Seiji Takayama	Springer, Heidelberg	
書名	発行年	総ページ数
"Self-Incompatibility in the Brassicaceae" in "Sexual Reproduction in Animals and Plants"	2014	480 (245-254)

14.研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15.備考

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 細胞間情報学研究室
<http://bsw3.naist.jp/takayama/>