

## 植物の花粉管誘引物質を発見 — 140 年来の謎解明 (受精制御による植物育種に道)

名古屋大学の東山 哲也 教授らは、植物のめしべ内で雄の花粉管<sup>注1)</sup>をおびき寄せる花  
粉管誘引物質<sup>注2)</sup>を発見しました。

複雑なめしべ組織の中で、なぜ花粉管が迷わずに卵細胞のある場所にたどり着けるの  
か。この疑問について、140年も前から花粉管をおびき寄せる誘引物質が存在するの  
ではないかと考えられ、探索されてきました。東山教授らは近年、卵の部分が母体組織  
から突き出る「トレニア」というユニークな植物を使って、卵の隣にある「助細胞」<sup>注3)</sup>  
が誘引物質を分泌することを世界に先駆けて示していました。

本研究では今回、トレニアの助細胞だけを顕微鏡下で取り出して、どのような遺伝子が  
発現しているかを解析しました。その結果、助細胞だけで多く作られて細胞外に分泌され  
る小さなタンパク質の存在と、その強い誘引活性を突き止めました。

また、東山教授が発明し、JST 独創的シーズ展開事業（独創モデル化）の課題とし  
て実用化したレーザーマイクロインジェクター<sup>注4)</sup>という装置を使い、このタンパク質の  
発現を阻害したところ、花粉管の誘引が抑えられました。こうした一連の解析から、この  
タンパク質が花粉管誘引物質であると分かりました。誘引物質は少なくとも2種類あり、  
本研究ではこのタンパク質を、花粉管をおびき寄せる性質から「ルアー」<sup>注5)</sup>（LURE1、  
LURE2）と名付けました。今回、花粉管誘引物質が同定されたことによって、植物におけ  
る受精のしくみの解明が大きく進展するだけでなく、今後、人為的に受精を制御するこ  
とが可能になるものと期待されます。

本研究成果は、2009年3月19日（英国時間）発行の英国科学雑誌「Nature」の  
表紙を飾り、掲載されます。

### <研究の背景と経緯>

めしべ組織の内部で、花粉管がいかにして迷わずに標的である雌の胚珠（受精前の種子）  
に到達することができるのか、いわゆる花粉管誘導<sup>注6)</sup>に関する研究は長い歴史を持ちま  
す。ちょうど140年前の1869年、フランスのヴァンティーゲムは花粉管が培地上で  
胚珠に向かうと報告しました。それ以来、多くの植物学者が胚珠に由来する花粉管誘引物  
質が存在するのではないかと考え、探索を行ってきました。しかし、真の誘引物質と呼べ  
るものを同定した人はいませんでした。その理由としては、標的である卵の部分が胚珠の  
組織に覆い隠されていることや、誘引活性を正しく検出できる方法がなかったことなどが  
挙げられます。長年の探索にも関わらず同定されないことから、誘引物質は幻なのかもし  
れないと考えられたこともありました。

東山教授らは、「トレニア」という卵の部分が母体組織から突き出るユニークな植物を使  
うことで、研究を進展させました（図1）。そして2001年に、レーザー細胞除去実験に  
より、卵細胞の隣にある2つの「助細胞」という細胞が、確かに誘引物質を分泌するこ  
とを発見しました（Science, 293, pp. 1480-1483、表紙としても掲載）。その後、助細胞の分  
泌する誘引物質の同定が世界的に進められてきました。東山教授らは、誘引物質が種特異  
性を示すことを明らかにし、誘引物質は分子進化の早い物質である可能性を示すととも  
に、誘引物質が助細胞で生合成される物質であることを想定していました。

## ＜研究の内容＞

本研究では、トレニアの助細胞を顕微鏡下で取り出して、どのような遺伝子が発現しているかを解析しました。具体的には、助細胞25個からcDNAライブラリーを作成し、遺伝子発現解析（EST解析）を行い、その結果、システインに富み分泌性を持つと予測される低分子量タンパク質群の多くが、強く発現していることが分かりました。こうしたタイプのタンパク質は、しばしば細胞間のシグナル分子として働きます。また一般に分子進化の速い分子でもあります。

それらのうち特に発現が強いと予測された3つの遺伝子について調べると、そのうち2つが助細胞特異的に強く発現し、作られたタンパク質が花粉管の進入してくる部位に向かって分泌されていることが判明しました（図2）。さらに、これら2つのタンパク質を大腸菌に作らせると、助細胞の誘引シグナルと同様の強い誘引活性を示しました（図3）。また、独自に開発したレーザーマイクロインジェクターという装置（図4）で、これらのタンパク質の発現を抑えるモルフォリノアンチセンスオリゴ<sup>注7)</sup>をトレニアの細胞に注入すると、花粉管の誘引が阻害されました（図5）。

これらの結果から、これらのタンパク質が花粉管誘引物質であることが示されました。誘引物質は少なくとも2種類あり、花粉管をおびき寄せる性質から、本研究ではこのタンパク質をルアー（LURE1、LURE2）と名付けました。

ルアーは、ヒトや昆虫などにもあるディフェンシンという抗微生物タンパク質に似た構造をしています。助細胞は雌の生殖細胞への入口に位置していて、多種のディフェンシン様タンパク質を発現しています。誘引物質は助細胞の自然免疫系から派生したのかも知れません。

## ＜今後の展開＞

本研究で誘引物質が同定されたことから今後、その物質がどのように振る舞い、精巧な誘引シグナルを創出するのかを明らかにできると考えられます。特に、誘引物質分子を1,000個程度培地に置くだけで花粉管が誘引されることが分かりました。わずか1,000分子が濃度勾配を作り、花粉管に正しい方向を示すことが分かります。これにより個々の分子の挙動を、ライブイメージングやシミュレーションにより明らかにしていけると考えられます。花の中ではさらに複雑な制御が働きます。たとえば、複数ある胚珠に対して、花粉管は1本1本、電気回路のように分配されていきます。誘引物質が同定されたことで、こうした仕組みにも迫ることができると考えられます。

また、次は誘引物質の受容体探しの競争になります。花粉管がいかにして誘引物質を受け取るのかが、研究の争点の1つとなります。東山教授らもこの研究に取り組みます。こうした一連の研究が発展することで、誘引シグナルの創出から、受容・応答の一連のメカニズムが明らかになると期待されます。

また一方で、いろいろな植物で誘引物質が見つかっていくことで、これまで交配が不可能だった植物間での交配への道が開けるなど、応用への展開も期待されます。

<参考図>

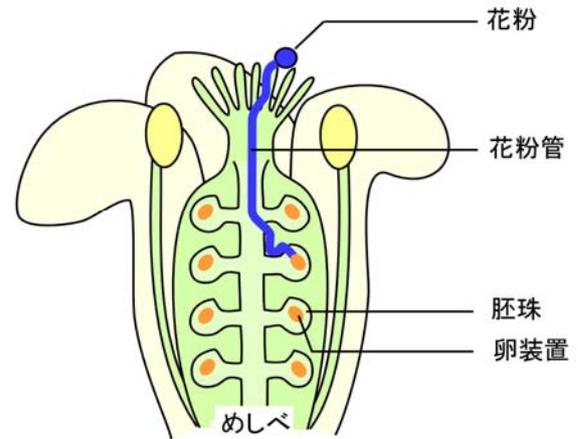


図1 トレニアの花（左）と、植物の受精の模式図（右）

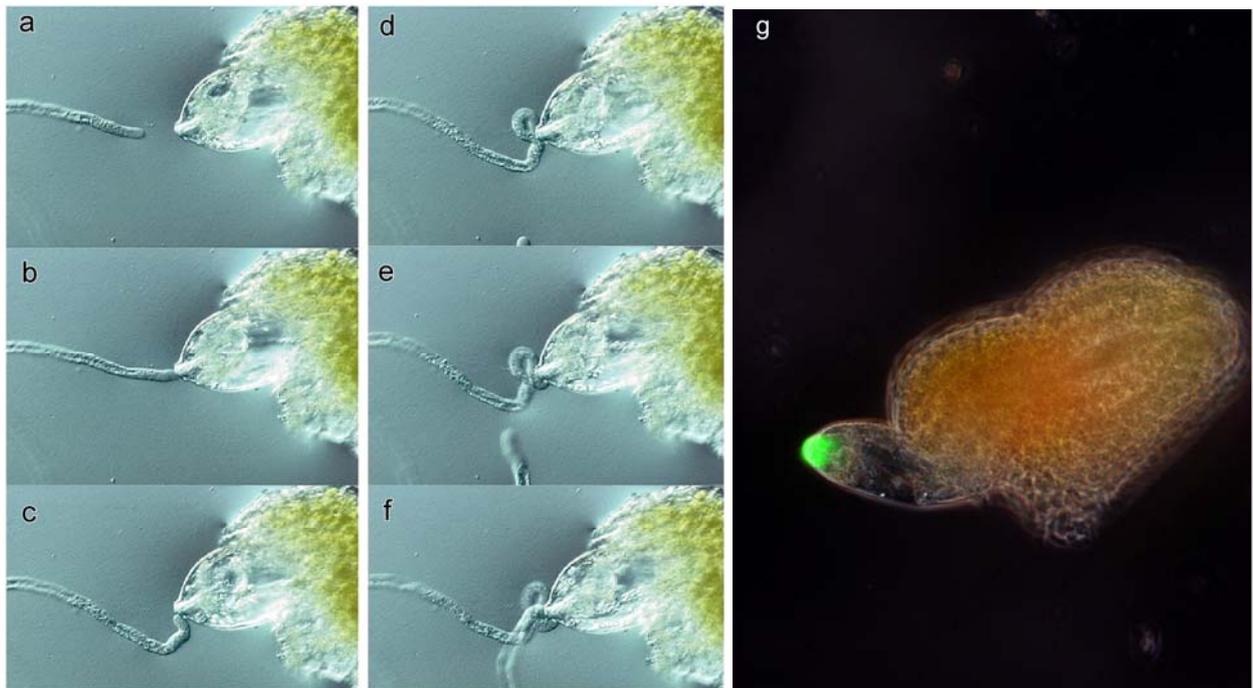


図2 助細胞による花粉管の誘引 (a-f) と誘引物質ルアーの免疫染色 (g)

左(a-f)の写真では2本の花粉管が伸長し、胚珠（受精前の種子）に向かっている。花粉管が到達している部分が、卵装置の先端。卵装置の中に助細胞がある。右(g)の写真で緑色のシグナルとして示す通り、誘引物質ルアーは助細胞から分泌され、花粉管が到達する場所に蓄積している（撮影：名古屋大学 大学院理学研究科 修士課程1年 椎名 恵子）。

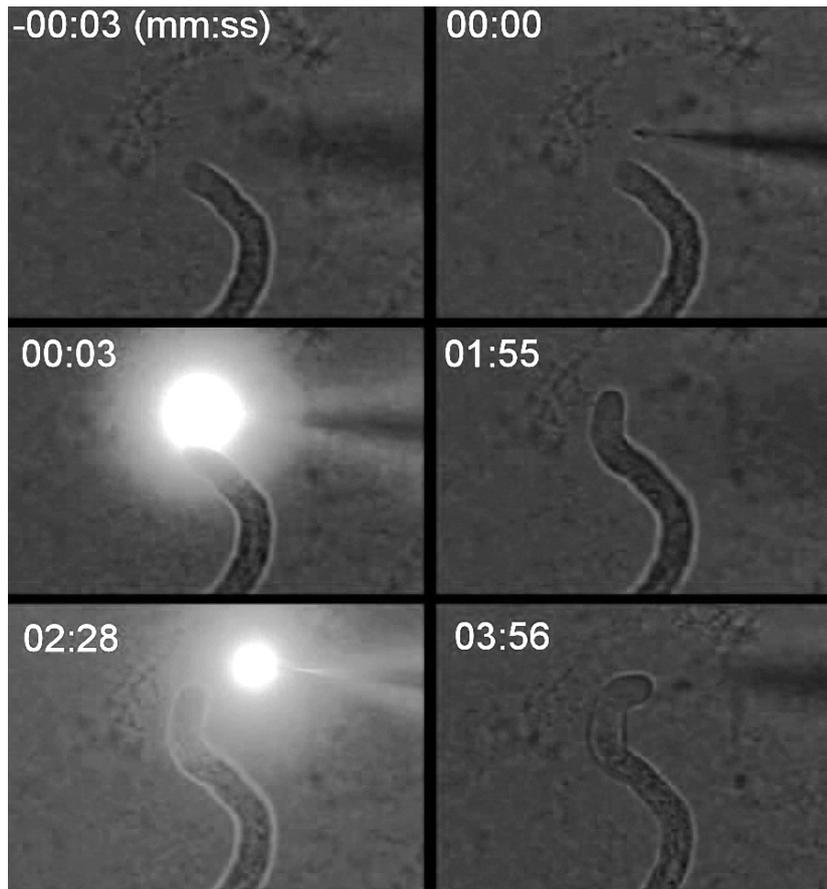


図3 誘引物質ルアーによる花粉管の誘引

組み換えタンパク質として精製したルアーをマイクロピペットから射出し、花粉管を誘引している。時間は分および秒。00分03秒と02分28秒のフレームで、それぞれルアーを射出している。ここでもレーザーマイクロインジェクターを利用している。



図4 新たに開発されたレーザーマイクロインジェクター（ネッパジーン社製 LTM-1000）

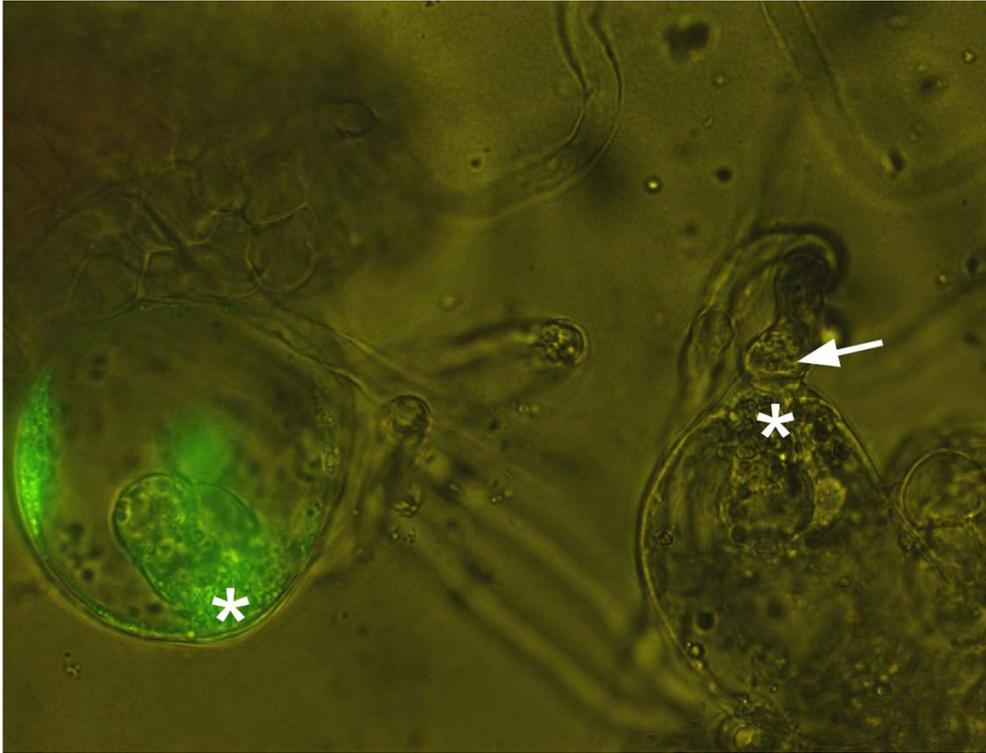


図5 モルフォリノアンチセンスオリゴによる花粉管誘引の阻害

写真左の胚珠にはモルフォリノアンチセンスオリゴ（緑部分）が導入され、卵装置の先端（\*印部分）への花粉管誘引が阻害されている。これに対して、すぐ右隣のインジェクションしていない胚珠には花粉管が誘引され受精している（矢印部分）。塩基配列を逆順にしたオリゴをインジェクションした場合には、同じような阻害は見られない（撮影：名古屋大学 理学部4年 筒井 大貴）。

## <用語解説>

### 注1) 花粉管

受粉して吸水した花粉から伸び出す細長い細胞。太さは10マイクロメートル（100分の1ミリメートル）程度。めしべの柱頭から、めしべ基部にある胚珠まで長距離を伸長し、細胞内に取り込んだ2個の精細胞を輸送する。被子植物の精細胞には泳ぐための鞭毛がなく、花粉管で卵細胞近傍まで輸送されることが受精に不可欠である。

### 注2) 花粉管誘引物質

花粉管伸長の方向を制御する物質。めしべの中での雄と雌の出会いの鍵となる物質とも言える。花粉管誘導（注6参照）に関わる物質は、花粉管伸長の維持や、花粉管とめしべ組織の接着に関わる物質などさまざまあるが、誘引物質は特に伸長方向の制御だけに関わるものである。その物質に花粉管の誘引活性があり、またその物質が欠損した場合に花粉管誘導が阻害されることが、必要十分条件であると言える。古くからさまざまな誘引活性のアッセイ法（検出法）が考案されたが、伸長促進と誘引を厳密に区別することが難しかった。古くから誘引物質候補とされてきたカルシウムイオンは、東山教授の研究により、助細胞の誘引物質ではないことが示されている。今回の研究では、マイクロピペットから誘引物質を射出したり、ゼラチンビーズに誘引物質を埋め込んで花粉管の前に置いたりすることで、明確な誘引活性を示すことができた。活性型誘引物質の精製法およびこれらを用いた誘引アッセイ法は、名古屋大学 大学院理学研究科 修士課程1年の奥田 哲弘と、特任准教授の佐々木 成江らにより開発された。

### 注3) 助細胞

卵細胞の隣に2つある細胞。まれに助細胞のない植物種もあるが、その場合、卵細胞が助細胞の形態的な特徴を示すようになる。2001年にレーザー細胞除去による実験から、東山教授らが花粉管を誘引する細胞であることを示した。助細胞は花粉管が到達したあとも、花粉管の内容物を受領する役割も果たす。植物の受精過程におけるキープレイヤーとされる。

### 注4) レーザーマイクロインジェクター

レーザー吸収剤にレーザーを照射し、その高い熱膨張圧により、細胞などに試薬を顕微注入（マイクロインジェクション）する装置。東山教授が発明し、JST 独創的シーズ展開事業（独創モデル化）により、東山教授とネッパジーン株式会社が実用化に成功した。世界に向け販売が開始されている。従来法では針先が1マイクロメートル程度以上のものを使う必要があったが、この装置を用いると、針先が0.1マイクロメートル程度の細い針を使うことが可能になる。植物、菌類、微小な動物細胞、オルガネラなど、これまでマイクロインジェクションの難しかったものでも扱えるようになることから、細胞生物学分野やバイオテクノロジー分野への貢献が期待される。今回の研究でも、この装置を利用することで、植物細胞で初めてモルフォリノアンチセンスオリゴを使った解析に成功している。

### 注5) ルアー

誘引物質につけられた名前で、英語ではLUREs（複数形）。引き寄せると言うことで、英単語のlure（釣りのルアーと同じ）から命名した。今回LURE1とLURE2が同定された。

助細胞で発現し、構造が類似するタンパク質が他にもあることから、さらに多くの LUREs が同定される可能性がある。LURE1 は、助細胞で最も発現量が高い遺伝子によるものと考えられる。そのような高発現はシグナリング物質（リガンド）としては珍しいが、適切な細胞外濃度勾配を維持するために重要なものかもしれない。

#### 注6) 花粉管誘導

めしべ組織による花粉管の伸長方向制御の機構。古くは胚珠から柱頭まで単一の物質が濃度勾配をつくると考えられたこともあったが、現在では、柱頭、花柱、子房といった各組織において、異なる誘導が働き、そうした誘導の連続で花粉管が標的までたどり着くことが明らかとなっている。助細胞による誘引は、最終段階に、距離にして200マイクロメートル（0.2ミリメートル）程度の範囲で働く。近距離で働き、極めて正確な誘導を行うものである。花粉管誘導の機構としては、誘引物質による化学屈性や、組織の構造による物理的な誘導など、さまざまな仕組みがあると考えられてきた。助細胞による誘引は典型的な化学屈性であり、花柱による誘導では物理的誘導が重要と考えられる。助細胞による誘引以外に誘引物質による誘引が働く可能性はあり、候補分子がいくつか報告されているが、真の誘引物質であるか否かはまだ注意深い解析が必要である。

#### 注7) モルフォリノアンチセンスオリゴ

核酸に類似した化合物であり、標的遺伝子の発現を抑える。核酸ではないため、核酸分解酵素による分解を受けず、その抑制効果が持続することが特徴。ゼブラフィッシュの発生の研究によく用いられる。マイクロインジェクションなどにより細胞内に導入する必要があるため、植物では今回初めて用いられた。

#### <論文名>

“Defensin-like polypeptide LUREs are pollen tube attractants secreted from synergid cells”

（ディフェンシン様ポリペプチド LUREs は助細胞から分泌される花粉管誘引物質である）