

「苗」研究のエントリーシート

研究テーマ	高等植物の花粉形成の遺伝子解析と花粉形成抑制技術の開発		
研究代表者	上田 健治	役職	助教
フリガナ	ウエダ ケンジ	学位	博士（理学）
学科等	生物生産科学科	Eメール	uken@akita-pu.ac.jp
主な共同研究者(学内)	我彦廣悦（生物生産科学科）		
主な共同研究者(学外)	野々村賢一（国立遺伝学研究所）、田中一郎（横浜市立大学）、森稔幸（早稲田大学）		

研究の内容

被子植物の花粉形成過程では数多くの遺伝子が発現することが、近年の網羅的な遺伝子発現解析によって明らかになってきた。例えば、イネがもつ遺伝子総数3万2千個のうち、約2万個もの遺伝子が花粉と葯で働いている（これを遺伝子の発現とよぶ）。しかし、花粉形成における生物学的機能まで明らかにされている遺伝子は限られている。本研究は、(1)突然変異体を利用した花粉発現遺伝子の解析、(2)花粉内の雄原細胞・精細胞分化の2つの小課題をからなり、これらの研究で得られた知見を花粉形成抑制技術(3)につなげることを目的とする。

花粉形成は葯内で始まる（図1）。まず胞原細胞が花粉母細胞に分化し、減数分裂によって花粉四分子を生じる。これらは酵素の作用で4つに分離し、それぞれが小孢子となる。やがて小孢子の核は細胞の一端に移動し、その場で半数性の体細胞分裂（小孢子分裂）をおこなう。この分裂は大きさの異なる2つの細胞を生じる典型的な不等細胞分裂であり、大細胞は栄養細胞（花粉管細胞ともよぶ）、小細胞は雄原細胞である。やがて雄原細胞は栄養細胞質中に遊離し、いれこ（細胞内の細胞）になる。最終的に、雄原細胞は細胞分裂（雄原細胞分裂）をおこない、2つの精細胞が生じ、被子植物特有の重複受精にいたる。イネやシロイヌナズナでは雄原細胞分裂が花粉内でおこり（三細胞性花粉種）、ユリやタバコなどでは受粉後の花粉管中でおこる（二細胞性花粉種）。

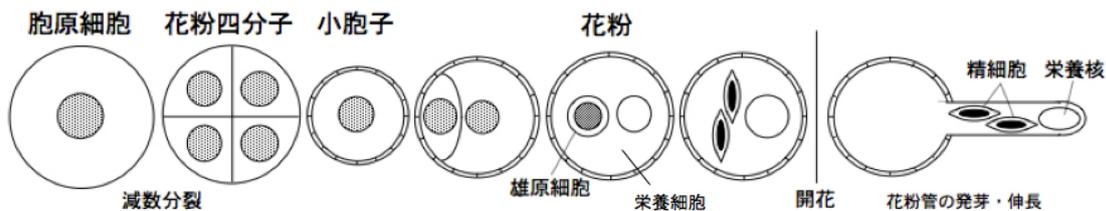


図1 被子植物の花粉形成過程（三細胞性花粉）

(1) 花粉突然変異体の単離と解析

イネの動く遺伝子（トランスポゾンとよぶ）の一種である *Tos17* を活性化させると、染色体上にランダムに転移し、転移した場所の遺伝子が分断され、突然変異体を生じる。このような突然変異対集団から、花粉形成が異常となる系統を選抜してきた。これまで500系統（5,000本の穂）の花粉を観察して、29系統の花粉突然変異体を単離することに成功した。そのうち2系統は、*Tos17* の転移による遺伝子破壊が花粉変異の原因であることをつきとめ、関連する遺伝子を同定した。そのうち1つは、葯（花粉を含む）で優先的に発現する遺伝子であり、細胞壁成分のアラビノースをリン酸化する新規のアラビノキナーゼをコードしていた。花粉形成過程では2度の細胞分裂がおこなわれるなど、花粉が生長する際に細胞壁の代謝が活発におこなわれるため、この酵素遺伝子が重要な働きをしていると考えられる（文献1）。イネ以外の多くの植物でも花粉形成に関わる類似のアラビノキナーゼが存在する可能性が示された。

(2) 花粉内の雄原細胞・精細胞分化の解析

植物の雄性配偶子である精細胞とその前駆細胞である雄原細胞は細胞質が少なく、紡錘形であり、動物の精子と同様にそれらの核は高度に凝縮している(図2)。私達は、ユリの雄性配偶子細胞で特異的に発現する*gH2A*ヒストン遺伝子を見出した。この遺伝子は雄原細胞と精細胞にだけ含まれる核タンパク質(ヒストン*gH2A*)をコードする。*gH2A*遺伝子の転写を制御する領域(プロモーター領域)の遺伝子断片を詳しく解析したところ、双子葉類の植物でも雄性配偶子細胞特異的な転写活性が確認された(文献1、2)。さらに、*gH2A*遺伝子を活性化すると予想される遺伝子の単離にも成功し、詳しい性格づけが進行中である。一方、遺伝子工学的な手法を用いて、雄原細胞でのみ働く新規の遺伝子群(17クローン)の単離にも成功しており、これらの詳細な遺伝子の発現時期を調べている。

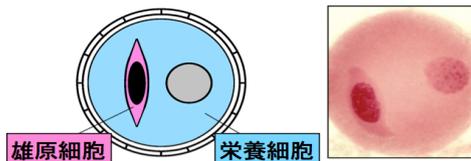


図2 二細胞性花粉の模式図(左)とユリ花粉(右)の酢酸カーミン染色像

雄原細胞核は高度な凝縮型で、栄養細胞核は分散型の核をもつ。

(3) 花粉形成抑制技術の開発

研究1・2で同定した遺伝子に関して、RNAi法などの遺伝子破壊法によって人為的に花粉不稔が制御可能かどうかを検定し、花粉形成抑制技術を開発する。

研究の独自性・アピール点

研究(1)：ナズナでは比較的多数の花粉変異体が解析されているが、イネの花粉変異体の報告は少ない。これまで2つの花粉変異体の原因遺伝子を同定したが、いずれも新規の遺伝子でナズナでは未同定であった。今後もイネを材料に用いることで、さらなる新規遺伝子が同定できる可能性が高い。研究(2)：ユリは花や蕾が大きく、花粉形成過程の任意の時期の細胞を容易に採取することが可能である。したがって、他の植物で見出された雄性配偶子分化に関わる遺伝子のオーソログ(ユリで同じ働きをする遺伝子)を単離できれば、より詳しい解析が可能となり、新しい知見が得られる。研究(3)：花粉形成を人為的に操作することが可能となれば、育種や環境問題にも貢献できる可能性がある。

期待される成果・波及効果

研究(1)では、イネ・その他の植物で花粉形成に重要な遺伝子が同定できる。単離・同定される遺伝子は、花粉不稔を引き起こすので、花粉形成抑制技術のターゲット遺伝子として有効なはずである。研究(2)では、植物の雄性配偶子分化の際の遺伝子カスケード(中心的な役割の遺伝子から連鎖的にどのような遺伝子が働いてくか)が明らかになる。研究(3)では、花粉形成抑制技術が開発できれば、交配育種等の際の除雄作業が不要となり、新品種の作出に貢献できる。また、スギなどに応用すれば無花粉スギを作出することにより、花粉症に関する一連の環境問題の克服に貢献できる。

関連する主な業績

- 1) Ueda K., Yoshimura F., Miyao A., Hirochika H., Nonomura K.I., Wabiko H. (2013) *COLLAPSED ABNORMAL POLLEN1* gene encoding the arabinokinase-like protein is involved in pollen development in rice. *Plant Physiology*, Vol. 162, p.858-p.871, doi: 10.1104/pp.113.216523
- 2) Ueda K., Ono M., Iwashita J., Wabiko H., Inoue M. (2012) Generative cell-specific activation of the histone *gH2A* gene promoter of *Lilium longiflorum* in tobacco. *Sex Plant Reproduction*, Vol. 25, p.247-p.255, doi: 10.1007/s00497-012-0194-3
- 3) Ueda K., Xu Z.J., Miyagi N., Ono M., Wabiko H., Masuda K., Inoue M. (2013) Isolation and characterization of a carrot nucleolar protein with structural and sequence similarity to the vertebrate PESCADILLO protein. *Plant Science*, Vol. 208, p.83-p.92, doi: 10.1016/j.plantsci.2013.04.001

キーワード

食料増産、花粉形成抑制技術