

140年も謎だった、花粉管を導くシグナルの発見!

東山 哲也

花は、子孫を残すための重要な生殖器官。ところが、その目立つ姿とは裏腹に、受精はめしべの奥深くで行われ、そのプロセスには未解明なことが多かった。謎の1つは、複雑な構造をかいくぐって卵細胞の元へと正確に伸びていく花粉管の動き。何に導かれているのか? 名古屋大学大学院理学研究科の東山哲也教授らのグループがその答えとなる物質を突き止め、Nature 3月19号¹に発表した。花粉管が誘引物質に向かって伸びていくようすの写真が、その表紙を飾った。



2009年3月19日号

シグナルはどこから出ているのか?

Nature Digest — 140年間続いた謎とはどんなことですか?

東山 — おしべの花粉がめしべの先に付くと、花粉から管がスルスルと伸びていき、めしべの根元内部に隠れた卵細胞へ到達します。そして、この花粉管の先端から精細胞が放出され、それが卵細胞と合体して、受精が起こるのです。植物の精細胞は、動物の精細胞と異なり泳げないため、このように花粉管が、精細胞を送る「ホース」にならないといけません。ですから、「ホース」が伸びていく方向を間違えるとたいへんです。受精できなくなってしまう。しかし、花粉管は卵細胞のほうへきちんと伸びていくので、それはどうしてだろうということから、140年前の研究で花粉管を導く誘引物質の存在が推測されていたのです。

ND — これまで発見がむずかったのはなぜですか?

東山 — 実は、卵細胞を観察すること自体が容易ではないのです。卵細胞は1個ずつ、胚珠という丸々とした組織に埋め込まれており、さらにその胚珠は、めしべの根元の子房という組織に包まれているからです。胚珠は、将来種子になる組織です。受精は胚珠内部で起こり、受精のようすを観察するのも簡単ではありません。

ND — しかし、培地上では受精のようすが観察できたのですね?

東山 — はい。大学院時代の研究ですが、卵細胞の観察がしやすいトレニアという植物(図1)を使って体外受精を行わせることに成功し、それをビデオ映像におさめました²。トレニアから胚珠と花粉管を取り出して、シャーレの培地上で受精をさせるというものです。胚珠に向かって花粉管が伸びていき、管の先端が胚珠に侵入して、そこから精細胞が放出される受精の瞬間を、世界で初めて捕らえることができました。これは反響も大きく、励みになりましたね。

ND — その後、どのように誘引物質の探究を進めたのですか?

東山 — 培地上に置いた胚珠の位置を動かすと、花粉管もそれに従って伸びていく方向を変えます。胚珠から何か物質が出て、花粉管を誘引しているように見えるのです。そこで、次の2段階に分けて研究していくことにしました。まず、「胚珠のどこから物質が出ているのか」、次に「その物質は何なのか」です。前者ですが、胚珠の内部には卵細胞だけでなく、数種類の細胞が含まれています。レーザーを当てて、それらの細胞を1個ずつ壊してみました。すると、卵細胞の両脇に位置する2つの助細胞を壊したときに、花粉管は胚珠に向かわなくなりました。これで、最初の疑問の答えが助細胞だろうとわかりました³。

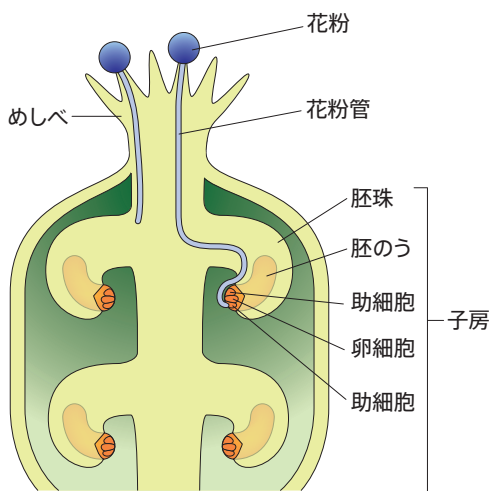


図1 トレニアの花で、花粉管が伸びていくようす。子房の中の胚珠に卵細胞と助細胞が含まれる。トレニアの場合、胚珠の中身(胚のう)が部分的に露出しており、観察しやすい。花粉管が子房の内部をどのような経路を通って進むかは、正確にはまだわかっていない。胚珠は、図では4個しか示していないが、実際には1つの子房に500個ほど付く。

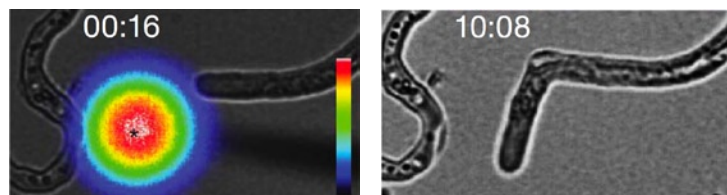
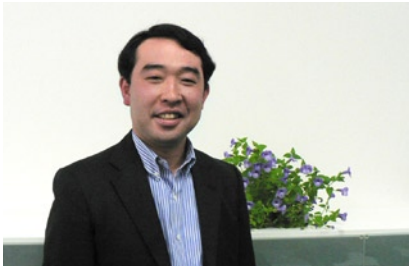


図2 誘引物質(色は濃度勾配を表し、中心部が濃い)の置かれた方向に向かって、花粉管が曲がっていくようす。

花粉管を引き寄せるタンパク質が見つかった

ND — 2番目の疑問にはどのように対処したのですか?

東山 — 誘引物質の正体を突き止めようと細胞から抽出を試みたのですが、微量のせいがかまくいきませんでした。そこで、トレニアとその近縁種の植物の間で、花粉管の誘引現象を比較してみたのです。すると、種ごとに誘引物質が異なる



東山哲也（ひがしやま・てつや）／名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻教授。理学博士。1971年、山形県生まれ。1994年、東京大学理学部生物学科卒業、1999年、同大学院理学系研究科博士課程修了、同研究科助手。2007年より、現職。2007年、日本植物学会特別賞（技術）などを受賞。

植物の受精の仕組みを研究。自分で技術を開発して、研究を進めていく。「何かを明らかにしたいけれども方法がないというときには、自分でその方法を作り出すよう心がけています。工夫が好きな

です」。体外受精を行うおうとした際には、培地作りから着手。植物細胞に薬剤を微量注入するための装置は、レーザー光による熱膨張を利用したもので、特許を取得。花粉管から2つの精細胞が放出され、受精するようすをビデオ撮影する技術は、世界中で東山研究室だけのもの。「可視化することは重要。実際のようなすを見ながら調べていける」という。左の写真は、トレニアの改良種を背景に研究室で撮影。「植物の受精は、穀物生産にも直結する重要なテーマなのです」と、付け加えることを忘れなかった。

ことがわかりました。ごく近縁種でも異なっているので、この物質は変化（進化）しやすい分子、つまりタンパク質かもしれないと思いました⁴。古くから、カルシウムイオンではないかという説があったのですが、これは違うと思いました。

ND — 遺伝子を使ったタンパク質の解析に移ったのですか？

東山 — そうです。助細胞で生合成されるタンパク質を探そうと思いました。私の実験技術も上達し、わずか30 μmほどの助細胞を取り出せるようになっていたので、助細胞を25個ほど集めて、遺伝子の発現を調べたのです。その結果、システインというアミノ酸を多く含む分泌性の小タンパク質（後にLUREと命名）が候補に挙がってきました。細胞の外に分泌されてシグナルとして働く性質をもつタンパク質です。そこで、遺伝子配列をもとに候補のタンパク質を大腸菌に作らせ、伸長中の花粉管の前に置いてみました。すると、花粉管はそのタンパク質に向かって伸びていったのです（図2）。うれしかったですね。最初は半信半疑だったのですが、植物体内におけるこのタンパク質の生合成を人工的に抑制すると、花粉管が誘引されないことがわかり、確信することができました。今回表紙に採用された写真（上）では、このタンパク質を使って花粉管を屈曲させ、*Nature*の頭文字の「N」の文字を描くように伸長させているのですよ（笑）。

自分で工夫しながら一歩ずつ進めていく

ND — 実験材料のトレニアとは長いお付き合いですね。

東山 — 大学院時代から現在まで、ずっとですね。大学院に入ってすぐ、指導教官の黒岩常祥教授から、「自分が興味をもった現象にいちばん適した動植物を使うことが大切」とアドバイスされました。植物の受精の研究をしたいと思っていたので、何か適したものはないかとさまざまな植物を手当たりしだいに試したのですが、よい材料がなかなか見つかりません。そんなとき、「トレニアは、胚珠の中身（胚のう）が部分的に飛び出している」という文献の一文が目にとまりました。生きたままの卵細胞や助細胞も観察できそうです。「これだっ!」と思いましたね。これまでの研究成果は、トレニアと出会えたからこそものと、感謝しています。ほかにもトレニアに着目した研究者はいましたが、彼らは体外受精を行うには至らなかったため、受精のプロセスが観察できなかったのです。

ND — 大学院時代から大きな成果を上げられ、極めて順調に進んでこられたのではないですか？

東山 — 楽観的な性格もあって、研究は常に楽しかったです。でも、ここに至るまでの道が決して平坦だったわけではありません。手探りでひとつひとつの方法を工夫し、道を切り開いてきたつもりです。体外受精を行うにあたって、細胞が育つ培地を作るだけで、大学院時代に1年間以上を費やしました。遺伝子を薬剤で抑制するときには、注入する装置の工夫だけで3～4年もかかりました。誘引物質の候補タンパク質を合成したときも、最初は、花粉管の前に置いてもまったく誘引が起きませんでした。「あと1回だけ実験しよう」と、決めて臨んだときに、はっきりと花粉管が曲がったのです。実はこのとき、クリスマス休暇にぶつかり、タンパク質を精製途中の溶液中に2～3日放置しました。その間に、タンパク質の折り畳みが偶然うまく進んだようです。諦めないでほんとうによかったと思いました。まあこのように、諦めが悪いというか（笑）、いろいろ工夫を繰り返して、粘り強く継続できることが、自分の長所かと思っています。

ND — 研究室の若手の指導で心がけていることは？

東山 — 各自、自分の興味のある目標をきちっと定めることが大切です。たとえそれが遠くにあってもかまわない。それが、サイエンスとしてオリジナリティの高い発見につながるのだと思います。私は、学生たちが間違った方向に進まないように、見守っています。私自身は、一見、静的にみえる植物で起こっているダイナミックな受精という現象がおもしろく、自分で研究を進めてきたつもりです。でも、今思うと、指導教授にうまく誘導されたのかもかもしれませんね。

ND — 次なる研究は？

東山 — 誘引物質を受け取る相手である花粉管の受容体を研究します。また、種が違っても受精が起きませんが、それが誘引物質の進化や種の形成とどのようにかかわっているかなども興味深いテーマです。

ND — ありがとうございます。 ■

聞き手は、藤川良子（サイエンスエディター）。

1. Okuda S. et al. *Nature* **458**,357-361 (2009).
2. Higashiyama T. et al. *Plant Cell* **10**, 2019-2032 (1998).
3. Higashiyama T. et al. *Science* **293**,1480-1483 (2001).
4. Higashiyama T. et al. *Plant Physiol.* **142**, 481-491 (2006).