

植物の受精効率を高める糖鎖「アモール」を発見 — 化学合成に成功 —

科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業において、ERATO東山ライブホロニクスプロジェクトの東山 哲也 研究総括（名古屋大学 WPI トランスフォーマティブ生命分子研究所 教授）と水上（郡司）茜補佐員（現・愛知学院大学助教）らの研究グループは、植物の受精率を高める糖鎖^{注1}「アモール」を発見しました。

花のオスである花粉が雌しべの先端に受粉すると、花粉は花粉管を伸ばし、受精が起こります。雌しべは花にとっての受精の場であるといえます。これまで様々な植物での研究の知見から、雌しべには花粉管を受精可能な状態に活性化する物質が存在することが示唆されてきました。いわば、植物のオスをその気にさせる媚薬のような物質です。しかし、その実体はこれまで明らかではありませんでした。研究グループは、トレニアという植物を用いて、初めてその物質の同定に成功しました。この物質は植物に特有なアラビノガラクトサン^{注2}と呼ばれる糖鎖を持ち、さらに、この糖鎖の末端に存在する2糖だけでも活性を持つことを明らかにしました。アラビノガラクトサン糖鎖を持つ物質は、研究グループによりアモール（AMOR）と名付けられました。アモールとは、ギリシャ語で愛やキューピッドという意味を持つ言葉です。また、アラビノガラクタンの末端糖鎖であるメチルグルクロン酸とガラクトースの2糖構造を化学合成したところ、花粉管が誘引物質に反応できるようになり、受精が達成されることが示唆されました。植物の糖鎖に特異的な2糖構造が植物細胞間の情報伝達活性を担うことが示されたのは初めてのことです。アモールの発見は、植物の受精効率を高めるための研究を大きく進展させるだけでなく、化学合成の手法により植物の糖鎖研究に新たな展開をもたらします。

本研究成果は2016年4月7日（米国東部時間）に米国学術誌「カレントバイオロジー」のオンライン速報版で公開されました

【ポイント】

- ・花粉管に受精能を与える雌しべ由来の糖鎖を初めて同定し、アモールと名付けた。
- ・アモールの特定の糖鎖構造が植物細胞間の情報伝達を担うことを初めて示した。
- ・化学合成したアモール末端の特異的な2糖構造が、活性を示すことを発見した。

【研究背景】

被子植物で受精が行われるためには、雌しべに受粉した花粉から発芽・伸長した花粉管が、雌しべの中を通過し、卵細胞を包んでいる胚珠^{注3)}へと精細胞を運ぶことが必要です（図1）。雌しべを通過している間に花粉管は、植物ホルモン、糖タンパク質など様々な物質を受け取ります。動物では、雌の組織に由来する物質によって雄の精子が活性化するという「受精能獲得」現象が古くから知られており、その分子メカニズムの解明も進んでいます。植物においても、花粉管が卵細胞の隣に位置する2つの助細胞から分泌される誘引物質を受け取り、受精が行われるために、花粉管が誘引物質に応答する能力を獲得する現象が報告されてきましたが、その分子メカニズムは全く明らかになっていませんでした。

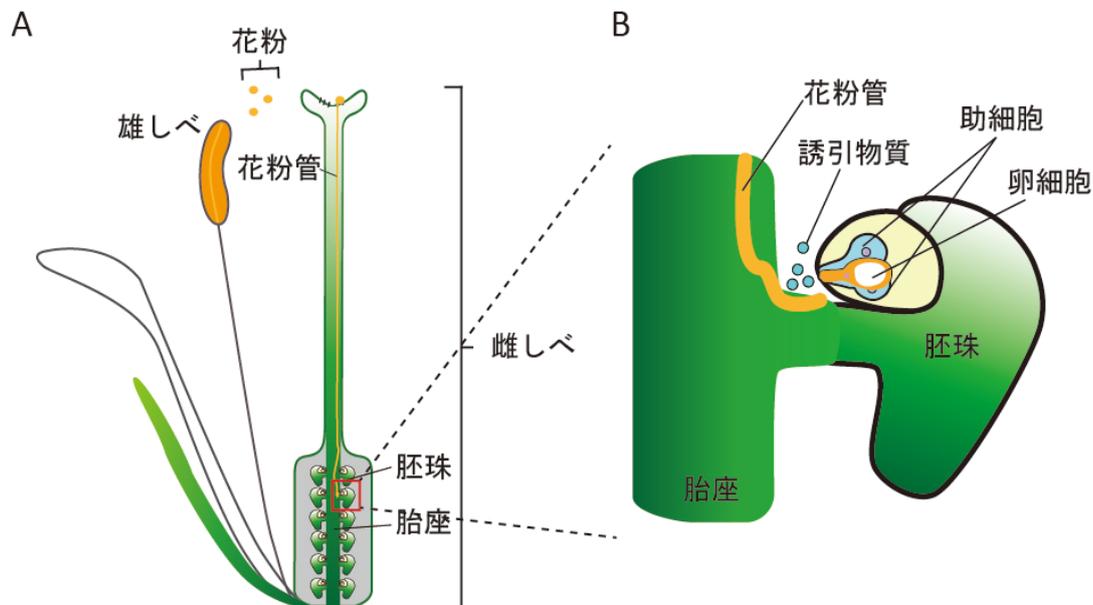


図1：植物の受精過程

A：雄しべで作られた花粉が、雌しべ先端に受粉し、伸長した花粉管が雌しべ内を通過し、胎座上にある胚珠に向かう。

B：花粉管は胚珠に含まれる助細胞から分泌される誘引物質により誘引され受精に至るが、そのためには花粉管が誘引物質に応答できる能力を獲得することが必要である。

【研究の内容】

本研究では、卵装置^{注4)}が胚珠から突出する特徴を持つトレニア (*Torenia fournieri*) という植物を用いて、花粉管が誘引物質応答能を獲得したかどうかを定量的に調べる実験手法を新たに開発しました (図2)。

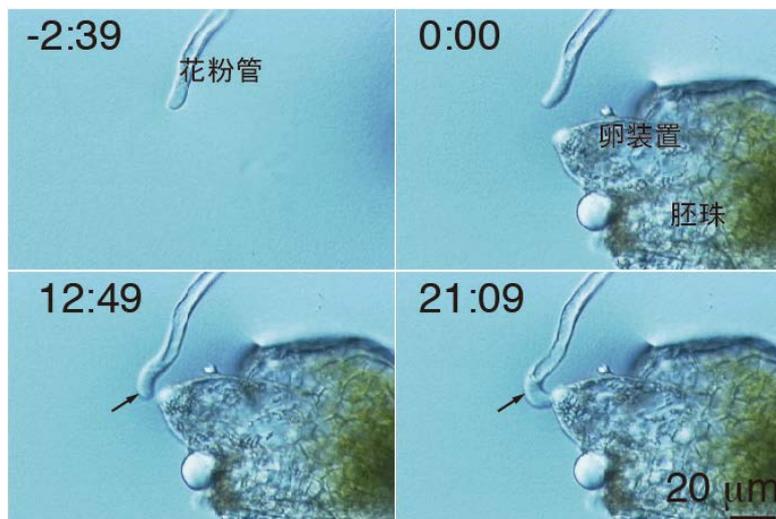
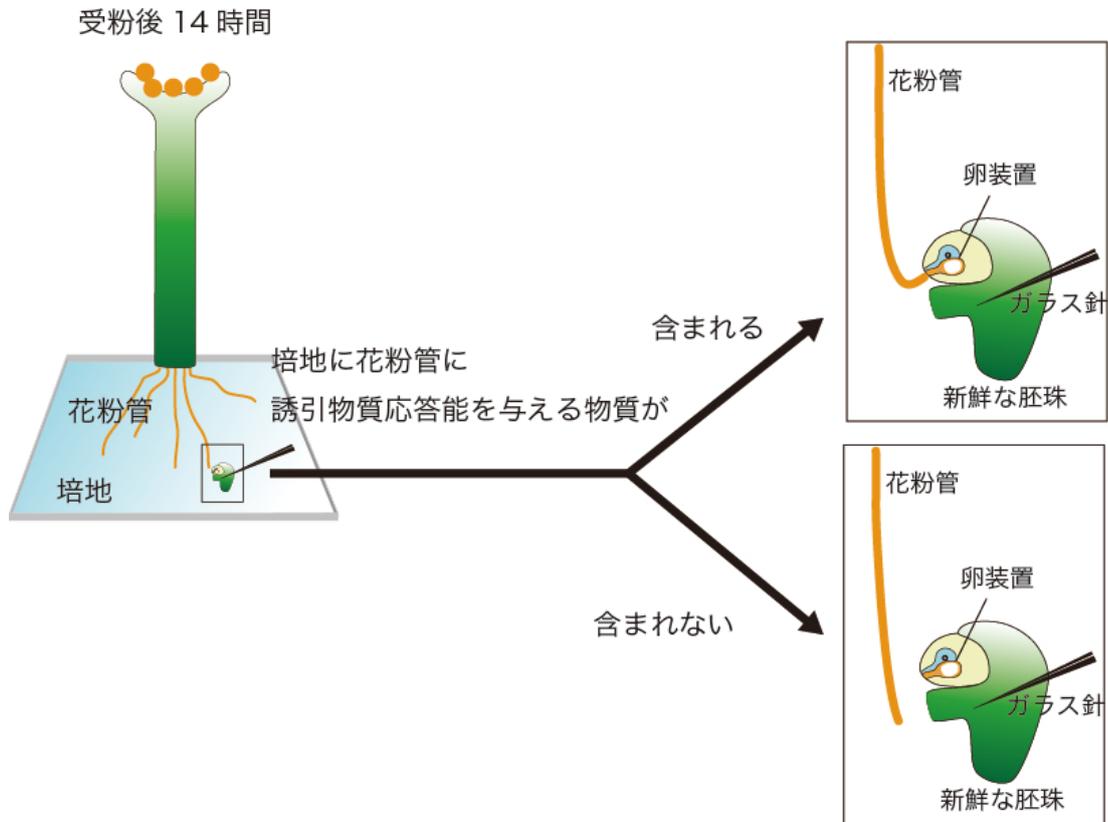


図2：花粉管への誘引物質応答能を与える活性を検定する系（アモールアッセイ系）

活性を調べたい物質を含んだ培地を作製し、受粉後 14 時間後に花粉管の前に胚珠を 1 つだけガラス針で近づける。花粉管に誘引物質応答能を与える物質（アモール）が培地に含まれると、花粉管が胚珠に誘引される。一方、培地にアモールを含まないと、花粉管は胚珠へと誘引されない（上の模式図）。下の写真は、実際に花粉管が伸長方向を変化させ（矢印）、胚珠へと誘引されている様子を示す。写真の数字は、分：秒を示し、培地中を伸長中の花粉管の前に胚珠を置いた時点をととする。

この手法を用いて、トレニアの花のさまざまな部位における活性を計測したところ、胚珠から花粉管に誘引物質への応答能を与える因子を見だし、Activation Molecule for Response-capability から頭文字をとってアモール (AMOR) と名付けました。アモールにはギリシャ語でキューピッドや愛といった意味があります。

アモールの精製を進めたところ、植物に特有のアラビノガラクトタンと呼ばれる糖鎖を持つことが明らかとなりました。さらに、アラビノガラクトタン糖鎖に特異的な糖鎖分解酵素を用いたところ、アラビノガラクトタン糖鎖の末端がメチルグルクロン酸で修飾された2糖 (図3 A) を持っており、この末端構造がアモールの活性に必須であることがわかりました。

また、興味深いことに、この糖鎖の末端の2糖を化学的に合成したメチルグルクロノシルガラクトースのβ異性体^{注5)} [4-Me-GlcA-β-(1→6)-Gal] を培地に加えることで、花粉管が誘引物質に誘引される (図3 B) ことから、この2糖が花粉管を誘引物質に誘引される状態を作り出すアモールの活性の中心を担っていることが明らかとなりました。さらに、この2糖の一部の構造を変えた別の2糖を化学合成し培地に加えることで、花粉管の誘引物質への誘引が起こるか調べたところ、メチルグルクロン酸のメチル基や、2糖の結合の仕方がβ結合^{注6)} でないと誘引が起きないことが示され、花粉管が正確にこの2糖の構造を認識していることが明らかとなりました。

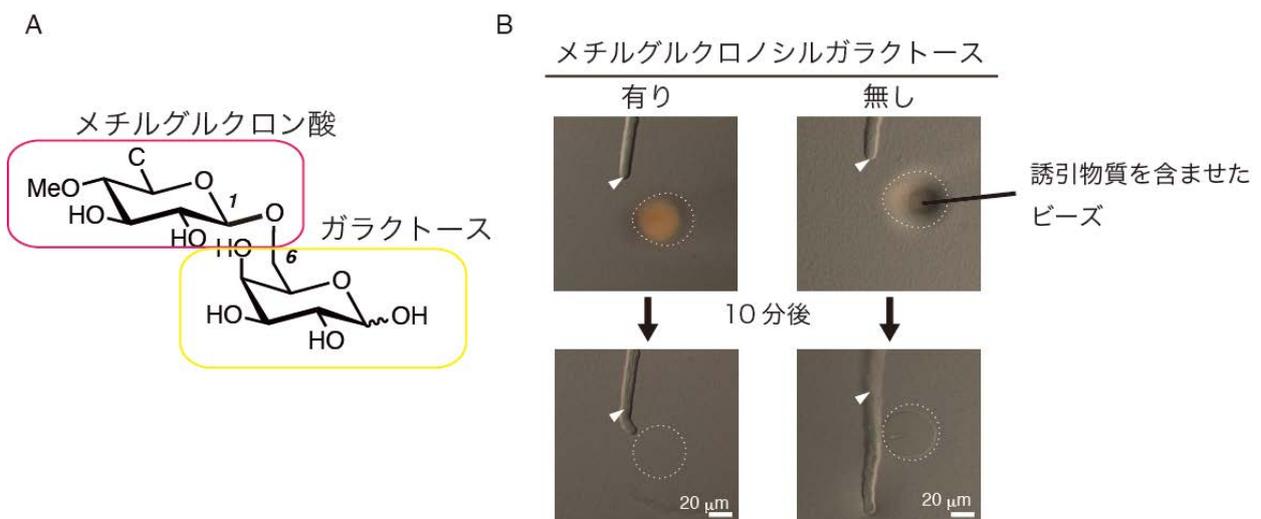


図3：アモール活性を担う2糖構造

A：アモールの末端構造。メチルグルクロン酸とガラクトースが連なった2糖構造。

B：2糖 (メチルグルクロノシルガラクトース) が存在すると、花粉管は誘引物質を含ませたビーズへと伸びる。2糖構造が存在しないと、花粉管は誘引物質を含ませたビーズに反応しない。

【成果の意義】

本研究によって、植物において全くわかっていなかった、花粉管の誘引物質応答能を制御している因子、アモールが明らかとなりました。これまでに、アラビノガラク

タン糖鎖は植物の細胞壁に多く存在し、様々な細胞内シグナリング経路に関与していることが明らかになっています。しかし、活性を持つと考えられている糖鎖部位の解析法が確立されておらず、糖鎖構造の詳しい役割は明らかではありませんでした。本研究では、各種の糖鎖分解酵素を用いた生物学的手法だけでなく、合成糖を用いた化学的手法を融合させることで、糖鎖の機能部位を初めて発見することができました。さらに、本研究によって初めて植物の細胞外基質を構成している特定の糖鎖構造が細胞間の情報伝達を担う生理活性物質として同定されました。生物学と化学の融合による本研究のアプローチは、謎の多いアラビノガラクトタン糖鎖の研究の歴史におけるブレイクスルーの一つになるだけでなく、植物分野において未解明な糖鎖を介した細胞間情報伝達の仕組みの理解を進ませると期待されます。

【用語説明】

注1) 糖鎖

種々の糖が、グリコシド結合と呼ばれる結合によって連なった化合物の総称。

注2) アラビノガラクトタン

アラビノースやガラクトースといった糖が多く結合してできた多糖類の一種。ガラクトースが多数結合した糖鎖の末端にアラビノースやメチルグルクロン酸、グルクロン酸が結合している。植物の主に細胞壁に存在している。

注3) 胚珠

雌しべの奥深くに位置する種子の元となる組織。

注4) 卵装置

胚珠において、卵細胞と助細胞を合わせた部分。

注5) 異性体

同じ数、同じ種類の原子を持つが、構造が異なる物質のこと。

注6) β 結合

2糖の結合部分において、糖構造の平面より下に置換基が結合したものを β 結合と呼ぶ。一方、置換基が上向きに結合したものを α 結合と呼ぶ。

【論文名】

The AMOR Arabinogalactan Sugar Chain Induces Pollen-tube Competency to Respond to Ovular Guidance

(アモールのアラビノガラクトタン糖鎖が花粉管に胚珠からのガイダンスへの応答能を与える)

DOI:10.1016/j.cub.2016.02.040