

## 花粉管を長く伸ばすために必要な膜交通のしくみを発見

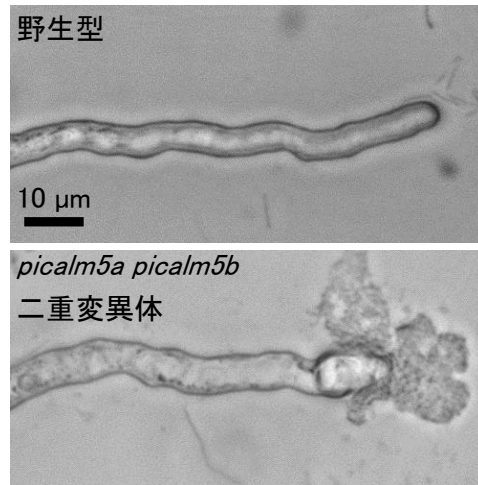
### 【発表概要】

被子植物の受精の過程では、花粉から花粉管が長く伸長し、卵細胞のもとへ精細胞が運ばれることが必須です。花粉管が正常に伸長するためには、ANXURに代表されるいくつかの受容体タンパク質が花粉管の先端部に局在してはたらくことが必要ですが、その局在化のしくみはこれまで分かっていませんでした。

今回、基礎生物学研究所の 室 啓太 特別協力研究員および 上田 貴志 教授らの研究グループは、理化学研究所の 中野 明彦 光量子工学研究センター副センター長、名古屋大学の 東山 哲也 教授のグループと協働し、花粉管の伸長に必要なタンパク質 ANXUR を花粉管先端へと正しく局在させるために必要な分子を発見しました。この分子 (PICALM5a および PICALM5b) は、膜に埋め込まれたタンパク質の輸送に関わる ANTH タンパク質の一種で、花粉管の先端よりやや基部の垂頂端領域で形成される輸送小胞に ANXUR タンパク質を積み込むはたらきを担っていました。PICALM5a と PICALM5b の機能を失わせると、ANXUR は花粉管の先端に局在することが出来なくなり、花粉管は伸長途中で破裂してしまいました。

一方、花粉管を正しい方向に導くための別の受容体タンパク質の輸送小胞への取り込みには PICALM5a と PICALM5b は必要がないことも示されました。ANTH ドメインを持つタンパク質は陸上植物の進化の過程で劇的に数が増えています。その生物学的な意味はこれまで分かっていませんでした。本研究により、ANTH タンパク質の機能の多様化が、植物の生殖の進化と深く関連していることが示されました。

本研究成果は 2018 年 9 月 26 日付で *Communications Biology* 誌に掲載されました。



図：野生型と *picalm5a picalm5b* 二重変異体の花粉管の先端  
二重変異体の花粉管は伸長途中で破裂してしまう

#### 【研究の背景】

被子植物は花粉を介した有性生殖を行います。めしべの柱頭に受粉した花粉は、柱頭から水や養分を吸収し、花粉管という細長い管状の構造を発芽・伸長させます。花粉管は花柱を通過し、伝達組織内を伸長し、胚珠からの誘導を受けて胚珠へ到達します。花粉管の中には2つの精細胞が含まれており、花粉管の中を胚珠まで移動し、ひとつは卵細胞と、もうひとつは中央細胞と融合します。このプロセスは植物の生殖に留まらず、穀物となる種子の形成や異種間のかげ合わせによる作物の育種など、ヒトの生活にも深く関わる重要な現象です。

先行研究により、花粉管の伸長はさまざまな花粉管特異的な膜タンパク質によって制御されていることが明らかになっていました。たとえば、シロイヌナズナの PRK6 は、胚珠から分泌される LURE ペプチドに結合することで、花粉管の胚珠への誘導において機能することが報告されています。また、ANXUR は、花粉管自身が分泌するペプチドである RALF4 および RALF19 と相互作用して花粉管の破裂を防ぐ一方で、胚珠でつくられる RALF34 と相互作用すると、花粉管の破裂を引き起こすことが分かっています。この仕組みは、適切なタイミングで花粉管を破裂させることによって、受精に必要な精細胞の放出を制御していると考えられます。

これらの膜タンパク質はいずれも花粉管の先端付近に局在していますが、高速で伸長する花粉管において、どのようにその局在を維持しているかについてはよく分かっていませんでした。花粉管の先端の細胞質には分泌小胞が蓄積しており、伸長のために必要な膜や細胞壁の成分をエキソサイトーシスにより供給しています。また、先端から少し離れた垂頂端領域の細胞膜からは、クラスリン依存性エンドサイトーシスにより物質の取り込みが盛んに行われており、その多くは、すばやく先端に送り返されるということが知られています。ANTH タンパク質は、クラスリン被覆小胞の形成の際に、細胞膜や積み荷タンパク質とクラスリンとの結合を仲介するアダプターとしてはたらいていると考えられている分子です。ANTH タンパク質は、シロイヌナズナゲノム中に多数コードされており、その機能はメンバー間で多様化していると考えられていました。しかし、植物の ANTH タンパク質の生理機能については、これまでほとんど明らかにされていませんでした。また、ANTH タンパク質の多くが花

粉で発現していることから、花粉や花粉管で特に重要な役割を担うと推測されていましたが、個々のメンバーがどのような積み荷タンパク質のクラスリン小胞への積み込みに関わるのかについては、全く分かっていませんでした。

#### 【研究の成果】

この研究の最大の成果は、植物でほとんど明らかになっていなかった ANTH タンパク質の生理的機能を、世界に先駆けて明らかにしたことです。

本研究ではまず、花粉で発現する ANTH タンパク質 PICALM5a と PICALM5b の二重変異体において、それぞれの鞘に形成される種の数が野生型と比較し、著しく減少していることを見いだしました（図1）。詳しく調べると、*picalm5* 二重変異体の花粉管は伸長中に破裂してしまうため（図2）、種子の数が減少していることがわかりました。蛍光タンパク質である GFP を融合させた PICALM5a や PICALM5b は、花粉管の先端よりやや基部側（垂頂端領域）の細胞膜に局在し、クラスリン軽鎖と非常に良く共局在したことから、PICALM5 は花粉管の垂頂端領域からのクラスリン依存性エンドサイトーシスではたらいっていることがわかりました。さらに、野生型では花粉管の先端に集中して局在する ANXUR が、*picalm5* 二重変異体の花粉管では広範囲の細胞膜上に拡散してしまうことを見いだしました（図3）。これらの結果から、PICALM5 は ANXUR をクラスリン被覆小胞に積み込み、細胞膜から取り込んで先端に送り返すリサイクリング経路に乗せる役割を担っていると考えられます。

一方、花粉管の誘因を担う PRK6 については、*picalm5* 二重変異体においても野生型と同様に花粉管の先端の細胞膜に局在していました。さらに、二重変異体の花粉管も LURE に正常に誘引されることもわかりました。これらの結果から、花粉管の伸長ではたらく二種類の膜タンパク質は、それぞれが異なるアダプタータンパク質により、リサイクリングのための小胞に積み込まれ、花粉管の先端へ局在化していることが明らかとなりました。

野生型



*picalm5a picalm5b* 二重変異体

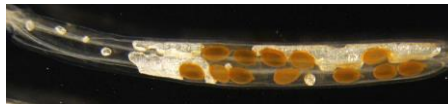
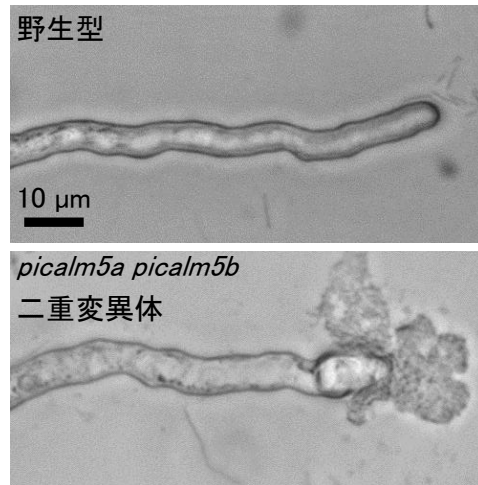


図1 *picalm5a picalm5b* 二重変異体では鞘に含まれる種子の数が野生型と比較が少ない



(既出) 図2 : 野生型と *picalm5a picalm5b* 二重変異体の花粉管の先端  
二重変異体の花粉管は伸長途中で破裂してしまう

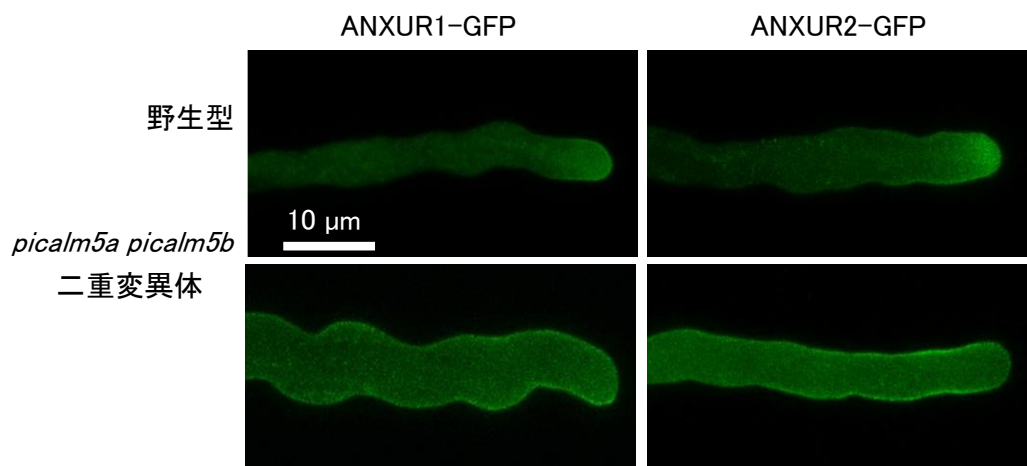


図3: GFP を融合した ANXUR タンパク質の花粉管での局在  
野生型の花粉管では先端付近に ANXUR が集まっているのに対し、  
*picalm5a picalm5b* 二重変異体では広範囲の細胞膜に拡散している

#### 【今後の展望】

今回の研究から、ANTH タンパク質の一種である PICALM5a と PICALM5b が、花粉管の正常な伸長に必要な ANXUR タンパク質の花粉管先端部への局在に関わることが明らかになりました。シロイヌナズナには花粉での発現が報告されている ANTH タンパク質が他にも多く存在します。今後、花粉管ではたらく他の ANTH タンパク質の機能を明らかにすることで、ANTH タンパク質の多様化と植物の生殖システムの進化の関係についてさらなる知見が得られるものと期待されます。

**【発表雑誌】**

雑誌名 : Communications Biology 2018 年 9 月 26 日 掲載

論文タイトル : ANTH domain-containing proteins are required for the pollen tube plasma membrane integrity via recycling ANXUR kinases

著者 : Keita Muro, Kumi Matsuura-Tokita, Ryoko Tsukamoto, Masahiro M. Kanaoka, Kazuo Ebine, Tetsuya Higashiyama, Akihiko Nakano, and Takashi Ueda

DOI : [10.1038/s42003-018-0158-8](https://doi.org/10.1038/s42003-018-0158-8)

**【研究グループ】**

本研究は、基礎生物学研究所 細胞動態研究部門の室啓太特別協力研究員と上田貴志教授らのグループを中心として、理化学研究所の中野明彦光量子工学研究センター副センター長、名古屋大学の東山哲也教授らのグループからなる共同研究チームにより実施されました。

**【研究サポート】**

本研究は、科学研究費助成事業（25221103, 16H06464, 15H01231, 17H05850, 24114003, 15H04382, 17K19412, 18H02470）, 三菱財団および山田科学振興財団などの支援を受けて行われました。