



Evolutionary Theory for

CONSTRAINED & DIRECTIONAL DIVERSITIES

Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 3 No. S1 (2019)

新学術領域研究

# 進化の制約と方向性

～微生物から多細胞生物までを貫く表現型進化原理の解明～



号外

同種と異種の花粉を区別する分子を発見



# A stigmatic gene confers interspecies incompatibility in the Brassicaceae

*Nature Plants* 5: 731-741 (2019)

DOI: 10.1038/s41477-019-0444-6

<https://www.nature.com/articles/s41477-019-0444-6>

**Sota Fujii\***, Takashi Tsuchimatsu, Yuka Kimura, Shota Ishida, Surachat Tangpranomkorn, Hiroko Shimosato-Asano, Megumi Iwano, Shoko Furukawa, Wakana Itoyama, Yuko Wada, Kentaro K. Shimizu & Seiji Takayama\*

Pre-zygotic interspecies incompatibility in angiosperms is a male–female relationship that inhibits the formation of hybrids between two species. Here, we report on the identification of *STIGMATIC PRIVACY 1* (*SPRI1*), an interspecies barrier gene in *Arabidopsis thaliana*. We show that the rejection activity of this stigma-specific plasma membrane protein is effective against distantly related Brassicaceae pollen tubes and is independent of self-incompatibility. Point-mutation experiments and functional tests of synthesized hypothetical ancestral forms of *SPRI1* suggest evolutionary decay of *SPRI1*-controlled interspecies incompatibility in self-compatible *A. thaliana*.

Hetero-pollination experiments indicate that *SPRI1* ensures intraspecific fertilization in the pistil when pollen from other species are present. Our study supports the idea that *SPRI1* functions as a barrier mechanism that permits entrance of pollen with an intrinsic signal from self species.

# 同種と異種の花粉を区別する分子を発見

*Nature Plants* 5: 731-741 (2019)

DOI: 10.1038/s41477-019-0444-6

<https://www.nature.com/articles/s41477-019-0444-6>

藤井壮太<sup>1\*</sup>, 土松隆志<sup>2</sup>, 木村友香, 石田翔太, 下里裕子, 岩野恵, 古川翔子,  
糸山和香, 和田七夕子, 清水健太郎, 高山誠司\*

(<sup>1</sup> 本領域公募班・連携研究者, <sup>2</sup> 本領域公募班・研究代表者)

東京大学プレスリリース: [https://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/topics\\_20190702-1.html](https://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/topics_20190702-1.html)

生物学的な「種」の概念は19世紀に確立されたが、生物がどのようにして自他の種を区別しているのかについては不明な点が多い。本研究は、モデル植物シロイヌナズナが同種の花粉と異種の花粉を識別し、雌しべ上で異種のものを選択的に排除するメカニズムを持つことを明らかにした。シロイヌナズナの野生系統 338 種類と近縁植物種 (*Malcolmia littorea*) との間で種間交配実験を行ったところ、シロイヌナズナの中に *M. littorea* の花粉を受容する系統と排除する系統が存在することが明らかになった。ゲノムワイド関連解析 (GWAS) から、この違いに関わる遺伝子として新規に *STIGMATIC PRIVACY 1 (SPRI1)* 遺伝子が同定された。 *SPRI1* 遺伝子を欠損した突然変異体は同種の花粉の受容には影響が見られなかったが、異種の花粉を排除できなくなった。系統樹に基づいて *SPRI1* 遺伝子の祖先配列を推定し人工的に復元したところ、自殖するシロイヌナズナでは *SPRI1* 遺伝子の機能が失われる方向に進化が起きたと考えられた。さらにこの *SPRI1* 遺伝子は、 *M. littorea* だけでなく他の様々な種の花粉を排除する機能も持つことがわかった。これらの結果は、 *SPRI1* が自種の花粉を受容し異種を排除する「受精前隔離」として働くというモデルを支持している。

## 【発表内容】

種と種の間には生殖的な隔離があり、とくに精細胞と卵細胞が受精する前に起こる種間の不和合性のことを受精前隔離と呼びます(図 a). この受精前隔離の分子メカニズムの理解は、生物の種分化を考える上で非常に重要ですが、現在まで多くの生物で未解明でした。

東京大学大学院農学生命科学研究科の藤井壯太助教(兼任 JST さきがけ研究者)、高山誠司教授の研究グループは、千葉大学大学院理学研究院の土松隆志准教授、奈良先端科学技術大学院大学の和田七夕子助教、チューリッヒ大学の清水健太郎教授のグループと共同で、モデル植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)を用いてこのメカニズムの解明を目指しました。まず、シロイヌナズナと近縁のアブラナ科植物の種間交雑実験を多くの系統について行ったところ、*Malcolmia littorea* という植物種の花粉がシロイヌナズナの Col-0 系統では排除されるのに対し、Cvi-0 系統では受容されることを発見しました(図 b)。そこで、全ゲノム解読済みのシロイヌナズナの 338 の野生系統について同様の種間交雑実験を行い、得られた表現型変異についてゲノムワイド関連解析(GWAS)を行いました。その結果、4番染色体上の1遺伝子座が大きく表現型に寄与することが明らかになりました。このゲノム領域に含まれていた雌しべで発現する遺伝子について遺伝子破壊を行ったところ、突然変異体では、本来野生型(Col-0)では排除されるはずの *M. littorea* の花粉が雌しべ内部に侵入するようになることが分かりました(図 c)。この遺伝子は、雌しべで花粉を受け取る部分である柱頭(Stigma)で「種」の壁として機能すると考えられます。この機能は他者からの侵害を受けない権利(プライバシー)に通じることから、この原因遺伝子を *Stigmatic Privacy 1 (SPRI1)* と命名しました。*SPRI1* タンパク質は雌しべの柱頭のみで機能し、細胞膜を4回貫通する領域をもつことが示唆されました(図 d)。

*SPRI1* タンパク質は *M. littorea* のみならず、多様な種の花粉の排除に関与していることも分かりました。*SPRI1* タンパク質の機能を破壊した系統に、自種の花粉を受粉させるより前に異種の花粉を受粉しておく、著しく受精効率が下がることが明らかになりました。植物は昆虫や風などの媒介により受粉するため、雌しべには様々な種の花粉が運ばれてくると考えられます。*SPRI1* タンパク質は、自然環境下においてこれら多様な花粉の排除に役立っていると考えられます。

さらには、生殖様式の進化に関連した興味深い知見も明らかになりました。被子植物のうち半分程度の植物種は、同種内でも自己の花粉とは受精せず、非自己とのみ受精して子孫を残す自家不和合性という性質をもつことが知られています。アブラナ科における自家不和合性のメカニズムも、雌しべの柱頭上で花粉の発芽と花粉管の伸長を阻害するものです。今回みつかった *SPRI1* タンパク質が自家不和合性のパスウェイと関与している可能性も考えられましたが、ゲノム編集技術を用いた解析により、異種を排除する *SPRI1* のメカニズムと自家不和合性は完全に独立のものであることが分かりました。

一方植物学の古い経験則に、「SI×SC ルール」と呼ばれるものが知られています。これは、自家不和合性の種の雌しべは自家和合性の種の花粉を受け入れない一方、逆向きの交配、つまり自家和合性の種の雌しべは自家不和合性の種の花粉を受け入れる傾向があるという法則です。この現象は被子植物全体で非常に広くみられますが、その分子的メカニズムは未知でした。今回、*SPRI1* 遺伝子の系統解析からシロイヌナズナ(自家和合性)と近縁の自家不和合性種 *Arabidopsis lyrata* の共通祖先の *SPRI1* 配列を推定し、人工的に復元したところ、異種を排除する機能型 *SPRI1* 配列が祖先的で、自殖するシロイヌナズナでは *SPRI1* 遺伝子の機能が失われる方向に進化が起きたことが分かりました。さらにシロイヌナズナ種内の詳細な配列解析から、少なくとも6回独立にシロイヌナズナ種内で *SPRI1* 遺伝子の機能が失われたと推定されました。自殖性のシロイヌナズナでは、他殖性の植物に比べると異種花粉が柱頭上に来る機会が減ると予想されるため、*SPRI1* 遺伝子を維持する必要がなくなり、何度も繰り返し機能喪失したというシナリオが考えられます。このように、異種を排除する *SPRI1* のメカニズムと自家不和合性のメカニズムとが独立のものであっても、自殖種において *SPRI1* のような異種排除メカニズムが喪失しやすいことにより、「SI×SC ルール」が成り立っていると考えられました。

精細胞と卵細胞の受精に関わる因子として、哺乳類では JUNO-IZUMO1、植物では LURE1-PRK6 などが知られています。これらは、同種間では雌雄タンパク質の相性が適合し、異種では相性が悪いた



め受精が失敗するというものでした。一方、異種の花粉を雌しべが積極的に排除するのが今回見つかった *SPRI1* タンパク質の働きであり、これはこれまで知られていた配偶子選択の分子メカニズムとは異なるものです。今後の展望として、このような「鍵と鍵穴」システムの実際の種分化との関わりや野外環境での機能解明に加えて、種の障壁を自在に制御する技術の開発といった応用的な発展も期待されます。

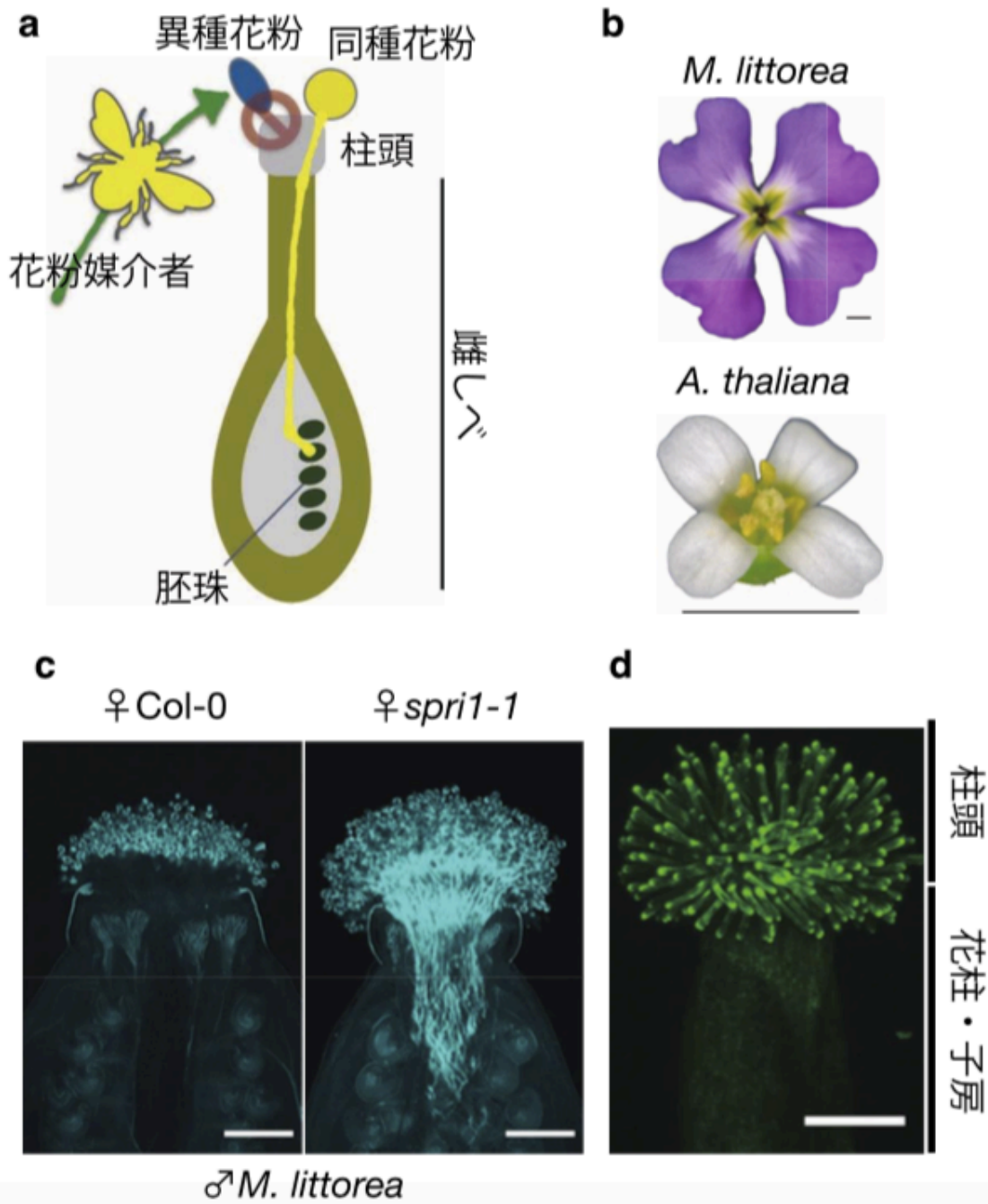


図 (a) 植物では一般に異種の花粉が排除され、同種の花粉のみが受け入れられる。(b) 本研究で用いた *M. littorea* とシロイヌナズナ (*A. thaliana*) の花器官の外観。スケールバー: 2mm。(c) 雌しべ中の花粉管を細胞壁染色試薬アニリンブルーで染色し共焦点レーザー顕微鏡で観察した。野生型 (Col-0) の雌しべでは *M. littorea* の花粉管の侵入が見られない。一方, *spr1* の突然変異体では多数の花粉管の侵入が観察された。スケールバー: 200 $\mu$ m。(d) *SPRI1* 遺伝子の発現部位の観察。 *SPRI1* プロモーターに蛍光タンパク質 (Venus) 遺伝子を連結しシロイヌナズナに導入したところ、花粉を受け取る部分である雌しべ先端の柱頭でのみ蛍光が観察された。スケールバー: 200 $\mu$ m。

## 報道、社会への情報発信等

2019年7月1日 *Nature Plants, News & Views* 5, 650-651

「An SI-independent regulator」

<https://www.nature.com/articles/s41477-019-0446-4>

2019年7月2日 日本経済新聞 速報

「東大・千葉大・奈良先端科技大など、同種と異種の花粉を区別する分子を発見」

[https://www.nikkei.com/article/DGXLRSP513155\\_Y9A620C1000000/](https://www.nikkei.com/article/DGXLRSP513155_Y9A620C1000000/)

2019年7月3日 奈良新聞 3面

「花粉識別の仕組み解明」

<https://www.nara-np.co.jp/news/20190703091709.html>

## **Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 3 No. S1**

発行 : 2019年7月18日

発行者 : 新学術領域研究「進化の制約と方向性～微生物から多細胞生物までを貫く表現型  
進化原理の解明～」(領域代表者 倉谷 滋)

編集 : Constrained & Directional Evolution Newsletter 編集委員会(編集責任者 深津 武馬)

領域 URL : <http://constrained-evo.org/>