

## イネ雌蕊におけるペクチンメチル基転移酵素の機能解析

竹原 昇平 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 岩井 宏暁 (筑波大学 生命環境系)

## 【背景と目的】

高等植物の細胞壁はその構造変化が細胞の形態のみならず植物の発生にも大きく影響を与えることが知られている。細胞壁は主にセルロース、ヘミセルロース、ペクチンといった多糖類で構成されており、その中でも、ペクチンは、そのメチル化度を変化させることが、細胞壁構造に対して大きく影響することが報告されている。ペクチンはまずゴルジ体内で主鎖となるホモガラクトツロナン(HG)が合成された後、ペクチンメチルトランスフェラーゼ(PMT)によって高度にメチル化される。その後、細胞壁に放出されたペクチンはペクチンメチルエステラーゼ(PME)によってその多くが脱メチル化される。

また、メチル化されているペクチンと脱メチル化されているペクチンでは異なった特性を示すことが知られている。メチル化ペクチンは高い流動性を持つが、一方で脱メチル化ペクチンはカルシウムイオンを介した架橋構造を形成するためゲル化し、粘度が高くなる。このようなペクチンのメチル化度による特性の違いが細胞壁構造の変化を介して、植物の発生に影響していると考えられている。

シロイヌナズナなどの双子葉植物の全細胞壁には約 35%と多くのペクチンが含まれるが、ペクチンメチル化調節に異常を起こすとシビアな表現型を示し、生殖ステージまで成長できないため、ペクチンメチル化調節が発生に与える影響の解析が難しい。一方で、単子葉植物であるイネの全細胞壁中のペクチンは約 5%と少ないが、雌蕊などの生殖組織には多くのペクチンを含むことが報告されている。また、イネにおける *OsPMT10* の欠損変異体では花粉管メカニカルガイダンスに異常が見られるということも先行研究において確認されている。これらからペクチンのメチル化調節はイネの発生に重要であるといえる。しかしながらその調節機構や機能については現在も不明な点が多く、特に雌蕊においてメチル化がどのように作用しているのかについてはほとんど知られていない。そこで本研究では植物の発生におけるペクチンメチル化調節の役割を調べることを目的として、受粉時のイネ雌蕊における *OsPMT10* の機能を解析した。

## 【材料】

実験にはイネ (*Oryza sativa* 品種: Nipponbare) を用いた。WT 及び *PMT10::GUS* を特定網室で生育させ、雌蕊をサンプリングした。

## 【方法】

出穂後開花前のイネ雌蕊を受粉前、開花後の雌蕊を受粉後としてサンプリングを行った。*OsPMT10* の発現部位の解析は GUS 染色液で一晩染めた雌蕊を 70%エタノールで脱色し、顕微鏡で観察することで行った。

## 【結果】

GUS 染色によって、受粉前の雌蕊では花柱に強い染色が見られた。一方で受粉後の雌蕊では花柱における染色レベルが低下しており、受粉前後で雌蕊化花柱における *OsPMT10* の発現に変化があることが示唆された。

## 【考察】

受粉から受精までの間、花粉管の通り道となる雌蕊の組織は伝達組織と呼ばれている。受粉前の花柱においては *OsPMT10* の発現が高いため、ペクチンのメチル化度が高く、伝達組織の細胞壁は高い流動性を持つと考えられる。一方で、受粉後の花柱においては *OsPMT10* の発現が受粉前に比べて低くなるため、ペクチンのメチル化度が低くなり、伝達組織の細胞壁は粘度が高くなることが考えられる。粘度の高い伝達組織はその物理的な強度によって、花粉管の伸長を妨げることが予想される。これらを踏まえて、この受粉前後における *OsPMT10* の発現の変化は、雌蕊伝達組織の細胞壁の強度を変化させることで花粉管メカニカルガイダンスを通した多精拒否に働いているのではないかと現在、私は考えている。

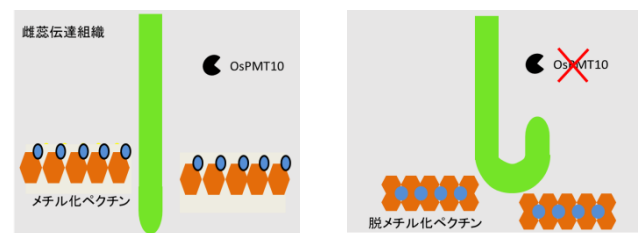


図 1. 受粉前(左図)と受粉後(右図)における花粉管伸長の仮説

## 【今後の展望】

現在は GUS 染色において染色が見られた部位での実際のペクチンメチル化状態を調べるために解析を行っている。テクノビット樹脂を用いて包埋した雌蕊から切片を作成し、その切片をルテニウムレッド染色することでメチル化ペクチンと脱メチル化ペクチンの局在を観察している途中である。

今後はルテニウムレッド染色に加えて免疫組織化学染色を用いて受粉前後のペクチンメチル化状態の違いを解析したいと考えている。また、雌蕊の発生段階による *OsPMT10* の発現の変化をより詳細に調べるために、受粉前後の二点だけでなく、雌蕊の発生段階をより細かく区分してサンプリングを行いたいと考えている。