

日本植物形態学会第 24 回大会
研究発表要旨集



2012 年 9 月 14 日

兵庫県立大学

プログラム

評議委員会 (12:00-12:45): 4号館 4階 4402室

総会及び植物形態学会3賞授賞式 (13:00-13:45): 4号館 4階 4402室

- 「学会賞」: 箸本 春樹 (東京大・院・総合文化)
- 「平瀬賞」: 笠原 竜四郎 (名古屋大・ERATO)
- 「平瀬賞」: 中山 北斗 (京都産業大・総合生命科学)
- 「奨励賞」: 武田 征士 (京都府立大・生命環境科学)

受賞記念講演会 (14:00-15:15): 4号館 4階 4402室

- 「学会賞」: 「細胞内共生説に魅せられて」
箸本 春樹 (東京大・院・総合文化)
- 「奨励賞」: 「花卉形態形成の分子メカニズム」
武田 征士 (京都府立大・生命環境科学)

ポスター発表 (15:30-17:30 新体育館)

ポスター賞表彰 (17:30-17:45 新体育館)

懇親会 (19:00-21:00 ゆずの小町)

シンポジウム, 関連集会のお知らせ

翌日の9月15日(土)から同じく兵庫県立大学書写キャンパスで開催される日本植物学会第76回大会では, 日本植物形態学会が共催するシンポジウムとして, 2件「加圧凍結法が切り拓く世界」が鮫島正純・大隅正子会員をオーガナイザーとして, また, 「Beyond Imaging~進化する超顕微技術のパイオニア・シンポジウム~」が松永幸大会員をオーガナイザーとして, それぞれ開催されます(それぞれ認定NPO法人総合画像研究支援, JST先端計測事業との共催)。こちらにも奮ってご参加下さい。シンポジウムの詳細については, 日本植物学会の大会プログラムをご覧下さい。

植物形態学会第24回大会（姫路）発表要旨

P-1

X線コンピュータトモグラフィによるシロイヌナズナの胚の非侵襲観察

栗林剛正¹, 唐原一郎¹, 玉置大介², 上杉健太郎³,
竹内晃久³, 鈴木芳生³, 山内大輔⁴, 峰雪芳宜⁴
¹富山大・院・理工, ²香川大・農, ³高輝度光科学研究センター, ⁴兵庫県大・院・生命理学

植物の形態形成のしくみを解明するためには、個々の細胞の形とその積み重なり方を制御するしくみを解明することが必須である。細胞の形とその積み重なりを正確に解析するため、筆者らのグループでは試料を非侵襲で観察できるX線コンピュータトモグラフィ(CT)を用い、シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ecotype Columbia)の種子を用いて、胚器官の細胞レベルでの立体再構成に取り組んでいる。

X線CT撮影は大型放射光利用施設SPring-8のビームラインBL20XU(8 keV, 0.2 μm/pixel)で行った。本研究では、ソフトフェアIMODを用いて、特に胚軸基部の3Dモデルを作製し解析を行った。その結果、表皮・皮層細胞の輪郭を完全に抽出でき、個々の細胞の細胞表面を構成する面の数と形、細胞の体積の違いを検出できる様になった。

P-2

代謝異常が引き起こす形態変化について

川出健介¹, 澤田有司¹, 坂田あかね¹, 佐藤心郎¹,
平井優美^{1,2}
¹理研PSC, ²JST・CREST

多細胞生物の発生過程では、器官内で同時進行する各々の細胞プロセスに合わせて、代謝ネットワークが編成されると考えられる。しかし、多細胞生物の代謝ネットワークに関する理解は、未だに単細胞生物の研究から得た知見を外挿している部分が多くて不十分である。そこで私たちは、代謝経路に遺伝的摂動を与えた場合に特定の細胞プロセスで異常が見られるシロイヌナズナ変異株の同定を試みている。具体的にはまず、代謝経路への関与が期待されるシトクロムP450遺伝子に変異を持つ系統のフェノーム解析に取り組んだ。本発表では、このフェノーム解析の結果を概観するとともに、解析の進んでいる系統について詳細な結果も発表したい。

P-3

オルガネラ核様体におけるMicrococcal nucleaseによる分解からDNAを保護する構造の比較

田草川真理¹, 土井彩加², 酒井敦²
¹奈良女子大・院・人間文化, ²奈良女子大・理・生物

オルガネラ核様体中に、核クロマチンにおけるヌクレオソームのような基本構造が存在するか検討した。タバコ培養細胞BY-2のミトコンドリアと原色素体から単離した核様体の表面を電顕観察すると、よく似た粒子状の微細構造が認められた。両核様体をMicrococcal nuclease (MNase)処理すると、よく似たDNAラダーが得られた。得られたMNase断片を解析した結果、いずれの核様体についてもゲノムの約半分の領域が配列非特異的に保護されていること、17 kDaのDNA結合タンパク質を伴うことが明らかになった。以上の結果は、両オルガネラの核様体中に、互いに酷似したヌクレオソーム様構造が存在する可能性を示唆する。

P-4

雄原細胞が花粉管細胞内細胞化する機構

平塚理恵, 寺坂治
慈恵医大・自然科学・生物研

雄原細胞の細胞内細胞化は花粉管におけるその移動を可能にし、花粉管受精を保証する。ヤブランの形成直後の雄原細胞は小型細胞として花粉側部に切り出される。細胞壁からメチルエステル化ペクチンが消失したのち、雄原細胞の基部において細胞膜が陥入し、やがて切り離され花粉管細胞内に遊離する。この時、花粉管細胞内には多量のアクチン繊維が、また、雄原細胞の膜上にはミオシンが分布した。ヌママラサキツユクサの花粉をサイトカラシンBにより処理すると、細胞内細胞化が阻害された花粉が出現した。これらの結果より、細胞膜の陥入、すなわち細胞内細胞化にはアクチン-ミオシン系が重要な役割を果たすことが示唆された。

P-5

高圧凍結固定法が明らかにした緑藻細胞内共生リケッチア ”MIDORIKO” の超微細構造

川船 かおる¹, 佐藤 繭子², 豊岡 公德², 野崎 久義¹
¹ 東京大学・院理・生物科学, ² 理研・植物センター

最近、我々は単細胞緑藻 *Carteria* の細胞内に共生するリケッチア科の細菌 ”MIDORIKO” を発見した (Kawafune et al. 2012, PLoS ONE)。本科では ”MIDORIKO” を始めとした非節足動物を宿主とする細胞内共生細菌の TEM 観察が行われているが、従来の浸漬法による固定を用いており詳細な構造が明らかでなかった。今回、我々は高圧凍結・凍結置換法を用いて ”MIDORIKO” の TEM 観察を実施した。”MIDORIKO” はホストの細胞質基質中に直接存在し、ホストの包膜に覆われないという、他のリケッチア科細菌と同じ特徴を有していた。”MIDORIKO” の細胞壁構造は本科の *Orientia* 属よりも *Rickettsia* 属に類似していた。

P-6

単細胞性緑藻クロロモナス属 1 新種の微細構造と分類

松崎令¹, 仲田崇志², 原慶明³, 野崎久義¹
¹ 東京大・院理・生物科学, ² 慶應大・先端生命研,
³ 山形大・理・生物

伝統的な微細藻類の種分類は、主に光学顕微鏡観察に基づいて行われてきた。しかし、分子系統上の位置が異なる複数の系統が、光学顕微鏡下では形態的に区別できない場合が数多くある。本研究では、分子系統的には独立するが、いくつかの既知種と光学顕微鏡観察では区別がつかないクロロモナス属(緑藻ボルボックス目)の 1 系統について、比較電子顕微鏡観察を行った。その結果、眼点顆粒の層状配列に既知種との差が認められ、本藻を新形態種として認識できたので、新種 *Chloromonas kasaiae* として記載する予定である。

P-7

気相を介した異種真菌間の成長と分化の調節

木内葉子¹, 木村知子², 竹内孝江², 木内正人³, 鈴木孝仁¹

¹ 奈良女子大・院・生物, ² 奈良女子大・院・化学,
³ 産業技術総合研究所

微生物が放出する揮発性有機化合物(MVOC)は、二次代謝産物あるいは栄養基質を微生物が利用した際の副産物である。しかしながら MVOC の生理作用および生態的な役割については未明であった。そこで真菌 4 種が放出する MVOC について、ガスクロマトグラフ質量分析計で分子種を同定した。また真菌 2 種を同じ容器内に配置し、気相を介した相互作用の有無を検討した。

その結果、*Fusarium solani* NBCR31093 株がアスペルギルス属、及びペニシリウム属に対して成長抑制作用を示した。この株が放出する MVOC 成分の気相を介した生理作用を化学合成品を用いて調べたところ、ベンズアルデヒドが最も強い抑制作用を示したほか、2-エチル-1-ヘキサノールも抑制作用を示した。3-オクタノールや 2-フェニルエタノールは弱い抑制作用を示した。

P-8

吸器嚢膜上における宿主 RAB5 の機能制御がうどんこ病菌感染確立に重要な役割を果たす

稲田のりこ¹, 別役重之², 海老根一生³, 伊藤瑛海³, 朽名夏磨⁴, 馳澤盛一郎⁴, 福田裕穂³・中野明彦^{3,5}, 上田貴志³

¹ 奈良先端大・バイオ, ² 東京大・教養・KOMEX,
³ 東京大・院・理, ⁴ 東京大・院・新領域, ⁵ 理研基幹研

カビ病原体であるうどんこ病菌は、宿主植物の表皮細胞内に吸器を形成して感染を確立する。吸器を取り囲む吸器嚢膜は、吸器の機能発現に重要な役割を果たしているが、その分子的性質はこれまで不明であった。私たちは、シロイヌナズナのエンドソーム制御因子 RAB5 が吸器嚢膜に局在することを見出した。細胞質中で RAB5 との共局在を示す RAB5 活性化因子や、後期エンドソームのマーカーである RAB7 が吸器嚢膜には局在しないこと、植物特異的 RAB5 である ARA6 の活性化型変異体を過剰発現させた形質転換体が発現した。うどんこ病菌に対して抵抗性を示すことから、私たちは、うどんこ病菌が吸器嚢膜上に宿主 RAB5 を誘導し、その機能を改変することにより、宿主生細胞内での感染を成り立たせているのではないか、との仮説を立てた。

P-9

カワゴケソウ科カワゴロモ属の実生形態の多様性

厚井聡¹, 加藤雅啓²

¹奈良先・バイオ, ²科博・植物

被子植物は胚発生の過程で2枚の子葉の間に幼芽(一次シュート)を生じるが, 水生被子植物カワゴケソウ科のカワゴロモ (*Hydrobryum*) 属では幼芽が形成されない。幼芽消失の進化過程を明らかにするために, カワゴロモ属と単系統群(カワゴロモクレード)を形成し, このクレードの系統的基部に位置する *Hanseniella* 属, *Hydrodiscus* 属, *Thawatchaia* 属の実生形態を観察した。その結果, これら3属においてもカワゴロモ属と同様に幼芽が形成されていなかった。カワゴロモクレード以外の種は幼芽を持つことから, 同クレードで幼芽の消失が起こったと推定された。さらに, *Hydrodiscus* 属とカワゴロモ属数種において子葉が1枚しか形成されていなかった。系統関係から, ‘単子葉化’はカワゴロモクレード内で複数回独立に起こったと推定された。

P-10

rpl4d が示す花序形態異常の解析

尾内紀之¹, 塚谷裕一², 堀口吾朗^{1,3}

¹立教大・理・生命, ²東大・院・理,

³立教大・理・生命理センター

Ribosomal protein (RP)遺伝子を欠損する突然変異株は様々な形態異常を示す。今回我々は, RP の一種を欠損するシロイヌナズナの *rpl4d* が Col 背景では正常な花序を, Ler 背景では *pin* 状の花序を形成することを見いだした。同様の表現型は *rpl4a* でも観察された。一方, このような異常は, 他の幾つかの RP 欠損変異株では観察されなかった。このことから, RPL4 に依存して花序形成に関与する遺伝子の存在が示唆される。その実体を明らかにするため, オーキシンの極性輸送に関わる因子の突然変異株と *rpl4d* の2重変異株の作成を進めている。

P-11

耐塩性イネ科植物ローズグラスにおける塩排出と塩腺細胞の微細構造

大井崇生, 谷口光隆, 三宅博

名古屋大学・院・農

耐塩性植物には, 根から取り込んだ過剰な塩類を葉表面上へ排出する塩腺を有するものがある。その中でイネ科においては, 二細胞性の塩腺により塩排出が行われると考えられているが, その形態や機能の詳細はあまり知られていない。本研究ではローズグラスを材料に, 塩腺による塩排出の電子顕微鏡レベルでの実態把握と, 塩腺の外形・分布・細胞内構造の解明を行った。特に, 細胞内微細構造については, 透過型電子顕微鏡による観察例がこれまでに報告されてきたが, 今回, 凍結切断法で内部構造を剖出した試料の走査型電子顕微鏡観察を行い, 塩腺の基部側を構成する細胞において, その細胞内部に広がる特徴的な膜構造の立体構造を明らかにした。

P-12

緑藻 *Botryococcus braunii* の細胞外蓄積物質について

宇野由紀, 渋谷枝里香, 野口哲子

奈良女大・理・生物科学

B. braunii は多量の炭化水素を細胞外に蓄積するため, 新エネルギー資源の開発で注目されている。ナイルレッド染色される脂質は細胞側底部に蓄積し, 各細胞を連結してコロニーを形成している。*B. braunii* B 品種では, 炭化水素 (*botryococcene*) を主とする脂質層に加え, コロニー全体を取り囲む繊維状物質が鮮明に観察された。この物質は細胞分裂直後に細胞頂端の母細胞壁と娘細胞壁の間に蓄積し, カルコフロール染色されるため多糖を含むと推測された。細胞頂端部に蓄積した本物質は, 細胞側底部からの炭化水素分泌後, 母細胞壁の崩壊によって, 各細胞頂端部から垂直に伸び, 3 μm の繊維層を形成することが判った。

P-13

微小管動態に関与するオーロラキナーゼの解析

長島慶宜, 北原英里奈, 坂本卓也, 松永幸大
東理大・理工・応用生物科学

細胞分裂の際に形成される紡錘体は、微小管とその補助タンパク質によって構築される動的な構造である。真核生物において、高度に保存されている微小管プラス末端制御因子 EB1 は、紡錘体制御や染色体の分離に関与している。また、オーロラキナーゼも紡錘体の形成を調節しているが、EB1 の制御にどのように関与しているか明らかになっていない。

そこで *in vivo* で EB1 と微小管の動態を観察し、さらに EB1 とオーロラキナーゼの相互作用を観察する系の確立を試みている。

P-14

fugu5 に見られる補償作用の分子機構解明を目的とした DNA マイクロアレイ及び逆遺伝学的解析

Ferjani Ali¹, 岡本瑞穂¹, 石川直子², 堀口吾朗³, 塚谷裕一²

¹東京学芸大・教育・生命, ²東大・院・理, ³立教大・理・生命

DNA マイクロアレイの解析結果から、*fugu5* では 6 つの遺伝子の発現量が 2 倍以上上昇し、6 つの遺伝子の発現量が 2 倍以上減少していることが分かっている。本研究では、発現量が変動した遺伝子と補償作用との関係を明らかにするために、それらの遺伝子に対する T-DNA 挿入システムを取り寄せて詳細に解析した。その結果、*fugu5* と同程度の補償作用を示す 2 つの系統を見出した。興味深いことに、これら T-DNA 挿入システムの原因遺伝子は、*fugu5* 背景において発現量が減少していた *At2g29090* と *At5g01600* であった。そこで、これら T-DNA 挿入システムと *fugu5* との間で二重変異体を作成し、解析を進めた結果、それぞれの二重変異体において、*fugu5* と同程度の補償作用を示すことが明らかとなった。以上のことから、*fugu5* 背景に見られた *At5g01600* と *At2g29090* 遺伝子の発現抑制は、補償作用の誘導の一因である可能性が強く示唆された。

P-15

植物の細胞伸長制御系における V-ATPase の役割の解明を目的とした遺伝学的解析

花井研哉¹, 前田沙緒理¹, 風間裕介², 平野智也³, 阿部知子^{2,3}, 塚谷裕一⁴, Ferjani Ali¹

¹東京学芸大・教育・生命, ²理研・仁科センター, ³理研・イノベーション推進センター, ⁴東大・院・理

細胞伸長時、新たに合成された細胞壁成分は、トランスゴルジネットワーク(TGN)を介して細胞質から細胞壁へと輸送される。この過程には TGN 局在型 V-ATPase 複合体による TGN の酸性化が必要である。液胞膜及び TGN に局在する V-ATPase 活性が低下している *de-etiolated3-1(det3-1)* 変異体では細胞伸長が著しく抑制され、植物体が矮小化する。今回、細胞伸長における V-ATPase 複合体の重要性を検証するために、*det3-1* にさらに重イオンビームを照射してランダムに突然変異を誘発し、大型化する変異体の選抜を行なった。その結果、*det3-1* に比べて細胞数及びサイズが増加することで植物体が大型化した系統が複数得られた。本研究により *det3-1* 背景においても植物体が大型化した系統が複数得られたことから、V-ATPase 活性に左右されない細胞伸長制御経路の存在が示唆された。

P-16

Global-Local Live Imaging Microscope (GLIM) システムを用いた細胞分裂位置における構造および分子のダイナミクスと細胞全体の並行観察

玉置大介^{1,2,3}, 峰雪芳宣^{2,3}

¹香川大学・農, ²兵庫県大・院・生命理学, ²JST・先端計測

細胞分裂時に細胞の特定の場所における分子や構造の変化をライブイメージングで観察していると、細胞の全体像が同時には観察できない為、この局所での変化が、細胞分裂のどの現象と対応しているのか判定できないことがある。我々は“局所・大局ライブイメージング顕微鏡システム(Global-Local Live Imaging Microscope System, GLIM System)”を開発し、これを用いて、ムラサキツユクサおしべの毛と GFP-クラスリン軽鎖を発現するタバコ BY-2 培養細胞の細胞分裂中の細胞全体の様子と細胞表面での構造変化を並行して記録し、細胞分裂過程における分裂面挿入予定領域の構造および分子ダイナミクスの変化について解析することができた。

P-17

シロイヌナズナヒストン修飾変異体の根の解析

田中彩子¹, 金鍾明², 坂本卓也¹, 関原明²,
松永幸大¹

¹東理大・理工・応用生物科学, ²理研 PSC・植物
ゲノム発現

シロイヌナズナのヒストン修飾変異体の研究が盛んに行われているが、根の表現型に注目した研究はあまり行われていない。そこで、ヒストンコードの中でもヒストンのアセチル化に注目し、シロイヌナズナのヒストンアセチル化酵素(HAT)、脱アセチル化酵素(DAC)変異体の根の表現型を調べた。シロイヌナズナのHDACは18種類あり、大きく RPD3/HDA1 superfamily、Sirtuin family、HD2 familyの3つに分けられる。さらにRPD3/HDA1 superfamilyはClass I・II・IVに分かれる。これらHDAC変異体のスクリーニングにより、Class Iに属するHDACのうち1つの変異体が、根の伸長が左に傾くという表現型を持つことが分かった。この変異体を解析することにより、HDACの根における機能を明らかにすることができると考えている。

P-18

植物細胞核におけるDNA複製フォーカスのイメージング解析

林耕磨¹, 西浜竜一², 長谷川淳子¹, 豊岡博子³,
金鍾明⁴, 関原明⁴, 野崎久義³, 松永幸大¹

¹東理大・理工・応用生物科学, ²京大・院・生命科学,
³東大・院・理, ⁴理研 PSC・植物ゲノム発現

酵母やヒトをはじめとした多くの真核生物は、複製時に複製起点が集まって複製フォーカスと呼ばれる構造体を形成し、DNA複製の効率を高めている。複製フォーカスはBrdUや、複製に関わる因子の免疫染色により可視化されてきたが、植物細胞は細胞壁を持ち免疫染色が難しく、これまでほとんど報告されていない。

本研究では、化学反応により蛍光色素を容易に付加できる5-Ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU)により、様々な植物の複製起点のイメージング解析を行なった。その結果、ゲノムサイズが大きいタマネギ(約15,000 Mb)、コムギ(約15,000 Mb)においてのみ複製起点と思われる構造体が観察された。これらの解析結果から、植物では、ゲノムサイズが複製フォーカスの形成に影響を与えることが示唆された。

P-19

シロイヌナズナにおけるオーロラキナーゼのイメージング解析

北原英里奈¹, 松永朋子¹, 伊藤正樹², 坂本卓也¹,
小牧伸一郎³, 石田喬志⁴, 栗原大輔⁵, 杉本慶子³,
松永幸大¹

¹東理大・理工・応用生物科学, ²名古屋大・農・生命
技術科学, ³理研 PSC・細胞機能, ⁴奈良先端・バイオ
サイエンス, ⁵ERATO

オーロラキナーゼは細胞分裂を制御するセリン・スレオニンキナーゼであり、生物種を超えて高度に保存されており、細胞分裂におけるチェックポイント制御、染色体分配、細胞質分裂などに関与していることが明らかになっている。シロイヌナズナに存在する3つのパラログのうち、染色体の動原体に局在するAtAUR3に注目した。RNAiによりAtAUR3のノックダウンを行ったシロイヌナズナの植物体では、第一本葉において核内倍加を起こした。また、根の分裂領域が短くなり、根全体の長さが短くなる表現型が観察できた。

そこで、根の長さが短くなること、細胞分裂の頻度や体細胞分裂時間の変化に起因しているかどうかをイメージング解析した結果を報告する。

P-20

原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* におけるオーロラキナーゼの動態解析

加藤翔一¹, 井元祐太^{2,3}, 大沼みお³, 松永朋子¹,
黒岩晴子³, 河野重行², 黒岩常祥³, 松永幸大¹

¹東理大・理工・応用生物科学, ²東大・院・新領域・
先端生命, ³立教大・理・生命

真核生物に広く保存された分裂期キナーゼであるオーロラキナーゼは、紡錘体や動原体などに局在し、細胞分裂の正常な進行に寄与する。極限的にシンプルな真核生物である *Cyanidioschyzon merolae* (シズン)におけるオーロラキナーゼの働きを調べるために、GFP 融合タンパク質、並びに免疫染色によってその局在を調べた。

他の生物における知見と同様に、オーロラキナーゼは紡錘体へ局在した。一方で、興味深いことにミトコンドリアへの局在も観察できた。オーロラキナーゼのミトコンドリアへの局在は今までに報告されておらず、新規の知見を得ることができた。

P-21

花粉管ガイダンスの分子実体解明に向けて—マイクロ流体デバイスを用いた試み

水多 陽子^{1,2}, 洞出 光洋^{1,2}, 後藤 宏旭¹,
加地 範匡³, 新田 英之^{1,2}, 東山 哲也^{1,2}
¹名古屋大学・院・理, ²JST・ERATO, ³名大・院・工

被子植物の受精において、雌しべの柱頭で発芽した花粉管は胚珠内の卵細胞へ正確に誘導される。この現象は花粉管ガイダンスと呼ばれ、当研究室では LURE1, LURE2 が花粉管誘引物質として同定された。しかし、LUREs の受容体や花粉管に対する作用メカニズム、ガイダンスに必要な最低分子数などいまだ明らかとなっていないことは多い。本研究では LUREs と花粉管の相互作用を分子レベルで解析するため、マイクロ流体デバイスを用いた新規アッセイ系の開発を行った。マイクロチャネル内に個々の花粉管をトラップし、蛍光色素により可視化した LUREs を与えた際の花粉管の挙動を全反射顕微鏡により観察した。

P-22

雌雄異株植物ヒロハノマンテマの雌雄開花同調性と両性花変異体の単離と雌雄同調性解析

青沼航¹, 川元寛章¹, 石井公太郎², 風間裕介³, 阿部知子^{2,3}, 河野重行¹
¹東京大・院・新領域・先端生命, ²理研・仁科・生物照射, ³理研・イノベ・イオン育種

雌雄同株植物の 76.3% は自家受粉を避けるため、雄蕊と雌蕊の成熟のタイミングをずらしている。一方、雌雄異株植物ヒロハノマンテマは、夜間において同調的に開花し、異なる雄個体と雌個体の間で受粉タイミングを一致させているように見える。ヒロハノマンテマは Y 染色体の雌蕊抑制(GSF)領域の欠失誘導によって両性花変異体になるので、両性花の雌雄同調性の有無を調べることは興味深い。 γ 線や重イオンビームを照射した花粉を野生型雌(♀)と交配して M1 世代を作出し、スクリーニングしたところ、両性花変異体を 10 個体単離することができた。これらの両性花において雄蕊と雌蕊の発生を継時的に測定したところ、開花 1-3 日において雄蕊と雌蕊が同調的に伸長し、花粉と柱頭の成熟も同時期に起きることがわかった。

P-23

緑藻アミドロの液胞発達過程における微細構造変化

田中学, 幡野恭子
京都大学・院・人間環境

アミドロの約 8 μm の球形の遊走子は、網状群体形成後、液胞を形成し発達させ、1つの巨大な液胞を持つ長さ約 1 cm の円筒形の栄養細胞に成長する。この過程について、酸性区画を染色するキナクリンを用いて解析した。運動停止後の遊走子では、核周辺のゴルジ体の近傍に粒状の構造が多数染色された。粒状の構造は連結し、やがて球形の液胞が形成された。電子顕微鏡で解析すると、運動停止後の遊走子では、球形や楕円体の多胞体様の構造が多数観察された。群体形成 3 時間後の栄養細胞では、直径約 2 μm の球形の液胞が複数観察され、液胞の内側や周辺には多胞体様の構造が分布した。液胞の形成及び発達には、多胞体様構造の増加と融合を伴うことが明らかになった。

P-24

雌雄異株植物ヒロハノマンテマの効率的な染色体標本の作製

石井公太郎¹, 風間裕介², 青沼航³, 川元寛章³, 阿部知子^{1,2}, 河野重行³
¹理研・仁科・生物照射, ²理研・イノベ・イオン育種, ³東京大・院・新領域・先端生命

ヒロハノマンテマは一組の常染色体から進化したとされる異形化した XY 型の性染色体をもつ。性染色体の構造を明らかにするためには FISH が有効である。FISH 解析には良質な分裂中期染色体標本が必要である。

細胞周期を分裂中期で停止させ、標本を多く得るため微小管重合阻害剤と氷冷処理を検討した。阻害剤では染色体末端の凝集した、氷冷処理では染色体末端のほぐれた、異なる染色体の形態をもつ標本が得られた。

また、根端あたりの分裂期の細胞の数が少なかったため、細胞周期が同調していると考えられる春化処理後の 23°C の根端伸長処理時間を検討した。伸長処理 53 時間目に氷冷処理したところ、分裂中期の染色体が最も多く得られた。

P-25

DNA 損傷応答におけるシロイヌナズナオーロラキナーゼの解析

坂本卓也, 森田明裕, 松永幸大
東理大・理工・応用生物科学

オーロラキナーゼ(AURs)は真核生物に広く保存されており、細胞分裂時の制御因子として知られている。これまでに、シロイヌナズナに存在する3つのAURパラログが、分裂期のみならず間期にも核に局在することがわかっている。このことから、AURsが細胞分裂制御以外の機能を有している可能性が考えられる。今回、シロイヌナズナ AURs のノックアウト株やノックダウン株を用いて解析を行ったところ、いずれの株もDNA 損傷に対して野生型株よりも感受性を示した。このことは、AURs が DNA 損傷応答において機能を有することを示唆している。現在、DNA 損傷応答における AURs 基質候補の解析中であり、その解析結果と合わせて新規 AURs 機能の可能性について議論したい。

P-26

葉の柵状組織における DNA 量と細胞体積の解析

片桐洋平¹, 長谷川淳子¹, 塚谷裕一², 松永幸大¹
¹東理大・理工・応用生物科学
²東京大・院・理・生物科学

これまでシロイヌナズナの葉において、核相と細胞体積は比例関係にあるものだと考えられてきた。実際、*pavement cell* では核相と細胞面積は比例関係にあるという報告がある。また巨大な単細胞であるトライコームでもその大きさに見合うような大きな核を有しているということが知られている。

しかし、これまでの研究では表皮細胞における解析が主で、柵状組織についてはほとんど行われてこなかった。今回、我々は柵状組織における細胞についてもイメージングによる解析を進め、核相と体積についての関係を調べたので報告する。

P-27

ホルモンバランスの変化と DNA 損傷による細胞体積と DNA 量の相関解析

長谷川淳子¹, 桧垣匠², 伊藤正樹³, 馳澤盛一郎², 松永幸大¹

¹東理大・院・応用生物科学, ²東大・院・新領域・先端生命, ³名大・院・生命農学・生命技術科学

シロイヌナズナにおいてオーキシン輸送阻害とDNA 損傷それぞれのストレスにより核相上昇と細胞体積増加が引き起こされる。しかし、細胞核あたりのDNA 量増加と細胞体積増加は同時に観察されることからストレス応答において各現象がどのように寄与しているか不明であった。そこで、本研究ではタバコBY-2 培養細胞を用いてストレス応答における細胞核当たりのDNA 量増加と細胞体積増加の関係性について解析を行った。また、オーキシン変異体にDNA 損傷を与え、形態変化を観察したので報告したい。

P-28

シロイヌナズナにおけるミトコンドリア形態の解析

片山健太^{1,2}, 和田元², 有村慎一¹, 堤伸浩¹
¹東京大学・院・農, ²東京大学・理・植物

ミトコンドリアは、様々な細胞機能を支えているとされるが、その機能は生物種ごとに異なる部分も多い。植物ミトコンドリアはどのような植物組織でどのような機能を果たしているのだろうか。

私たちは、ミトコンドリア以外の膜に殆ど見いだされておらず、共生起源の真正細菌から真核生物のミトコンドリアにまで広く存在するリン脂質カルジオリピン(CL)の合成酵素 *CLS* を、真核多細胞生物で初めてシロイヌナズナで同定したが、この遺伝子は構成的発現ではなく、特定の組織で強く発現していた。*CLS* の発現が高いと予測された組織において変異体 *cls* では生育速度が遅延していた。また、これらの組織では、野生型でもミトコンドリアが特徴的な形態で存在していた。これらの結果から、植物体におけるミトコンドリアの組織特異的な機能について議論したい。

P-29

ツルギバモウセンゴケ(*Drosera adela*)の腺毛の起源を探る:その発生の形態学的観察

服部考郎¹, 市橋泰範², 中山北斗³, 塚谷裕一¹

¹ 東京大学・院・理, ² Dept. Plant Biol., UC Davis,

³ 京産大・総合生命

食虫植物のモウセンゴケ属(*Drosera*)は、葉の表面および縁に腺毛を持ち、粘液を分泌して小動物を捕獲・消化し、栄養物を吸収する。腺毛には木部組織が存在するなど独特の特徴があり、この腺毛が他の植物のどの組織に相当するのかは、未だ明らかになっていない。

今回私達は、走査型電子顕微鏡を用いてツルギバモウセンゴケ(*D. adela*)の葉原基における腺毛の発生過程を観察した。その結果、腺毛の発生はSAMから数えて4, 5枚目の葉原基で開始すること、葉原基の先端-基部軸に沿ってまた中央-辺縁軸に沿って腺毛の発生段階に勾配が見られることが分かった。また組織マーカーとして各種遺伝子ホモログの単離も進めているので報告する。

P-30

トレニア成熟雌しべに見出された新規花粉管ガイド現象の解析

金岡雅浩¹, 葛谷元規¹, 東山哲也^{1,2}

¹ 名古屋大学・院・生命, ² JST・ERATO

花粉管ガイド現象とは雌しべ柱頭で発芽した花粉管を目的地まで導くメカニズムであり、有性生殖をする被子植物において受精の鍵となる現象である。胚のうへの誘引因子としては助細胞から放出される LURE ペプチドが同定されたが、その他の段階の誘引機構は明らかでない。トレニアの未熟雌しべで発芽した花粉管は花柱を正常に伸長するが、子房の入り口付近で方向性を失い、広がって伸長してしまうことを新たに見出した。花粉管誘引を簡便に定量化するため PDMS 樹脂でデバイスを作成し、この胚珠の成熟度に依存した誘引現象の解析を行っている。現在までに、この誘引現象には LURE とは異なる物質が関与することを示唆する結果が得られている。

P-31

ミトコンドリア-マイクロボディ複合体分裂後における非収縮環依存型細胞質分裂機構の解明

井元祐太^{1,2,3}, 西田敬二², 八木沢芙美², 吉田大和², 大沼みお^{2,3}, 吉田昌樹², 藤原崇之², 黒岩晴子^{2,3}, 黒岩常祥^{2,3}, 河野重行^{1,3}

¹ 東大・院・新領域, ² 立教大・理, ³ JST・CREST

真核細胞は細胞核に加え、複膜系(ミトコンドリア・色素体)と単膜系(ゴルジ体、ER、リソソーム、マイクロボディ)のを含み、分裂によってのみ増殖する(Imoto *et al.*, 2011)。従って、真核細胞はこれらのオルガネラを正確に娘細胞へ分裂・分配させる必要がある。この過程は収縮環によって細胞が二つの娘細胞へ分けられることで完了するが、その基本原理は明らかではない。

我々は真核生物の「基」となるモデル生物、原始紅藻シズンでは単膜系のゴルジ体や ER が細胞核に依存して分裂する一方、リソソームとマイクロボディはミトコンドリアに依存して分裂分配した。各オルガネラが2分裂した直後に分裂溝が形成され細胞質分裂が行われた。シズンではアクチン筋は機能していないが、分裂溝で EF1-a が機能する新奇細胞質分裂機構が分かってきた。

P-32

単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* を用いた脂肪滴増加株作出の試み

大沼みお^{1,2}, 井元祐太^{1,2,3}, 黒岩晴子^{1,2}, 黒岩常祥^{1,2}

¹ 立教大・理, ² JST・CREST, ³ 東大・院・新領域・先端生命

近年、気候温暖化対策として、二酸化炭素の蓄積を抑制できる、光合成生物に由来するバイオマスの開発が急務となっている。なかでも食料生産と競合しない藻類の利用が、特に注目されている。

高温強酸性の極限環境に生息する *Cyanidioschyzon merolae* (シズン) は、ゲノムが完全解読されており、我々は、シズンの有用遺伝子を、シロイヌナズナに導入することで高温、乾燥、高塩濃度耐性など、ストレス耐性植物を作出してきた。最近、我々は、シズンを用いた遺伝子導入技術を開発し、さらに遺伝子抑制、遺伝子破壊の技術を開発してきた (Ohnuma *et al.* 2008, 2009, Imamura *et al.* 2009, Fujiwara *et al.* 2010, Yoshida *et al.* 2010)。この技術を用いて、高環境耐性株、バイオマス生産向上株が作出できれば、その株は実用化可能と考えられる。今回我々は、有用なシズン株を作出するため、シズンの過剰発現系を開発した。

P-33

ホロニックコミュニケーションを担うシグナリング分子の可視化に向けて

栗原大輔^{1,2}, 東山哲也^{1,2}

¹名大・院・理, ²JST, ERATO 東山ライブホロニクス

高等生物の複雑な構造, 機能を構築するために, 多細胞生物では, 個々の細胞が近遠距離にある他の細胞とコミュニケーションをとりながらパターン形成していることが示唆されているが, その詳細は未だ明らかになっていない. 本研究では, 「ホロニックコミュニケーション」と呼ばれる, 細胞外シグナリング分子を用いた個と全体を調和する細胞間コミュニケーションのメカニズムを明らかにしていくうえで欠かせない, 細胞外シグナリング分子の生きた組織内での可視化に取り組んでいる. 今回は BRET やタンパク質スプライシングを利用した, ペプチド性リガンドや低分子の可視化について紹介したい.

P-34

広義サクラ属 (*Prunus*) の系統とシュート構成の解析

伊達鷹¹, 荒川悠¹, 望月香², 邑田仁³, 岩元明敏¹

¹東京学芸大・生命, ²京華女子高等学校, ³東京大学 院附属植物園

広義サクラ属 (*Prunus*) のシュート構成 (分枝様式) は, 系統を反映した形質であることが示唆されている (Iwamoto et al., 2001; Iwamoto & Mochizuki 2009). しかし, これまでの研究でシュート構成との比較に主として用いた分子系統樹はダイレクトシーケンスによる核 ITS 領域に基づいており, 交配等による種内での配列多型は考慮されていない. そこで本研究では, 広義サクラ属 15 種について核 ITS 領域のクローニングを行い, 正確な塩基配列を決定し, これまでの解析データと合わせて分子系統樹を作成した. また, 系統上重要な位置にあると考えられる *P. besseyi* のシュート構成を新たに観察し, これまでの形態データに加えた. こうして得られた解析結果をもとに系統とシュート構成との関係性について, 再検討したところ, 概ねこれまでと同様にシュート構成は系統を反映していることが示された.

P-35

液胞膜の構造に異常が生じる変異体 #64 の解析

齊藤知恵子¹, 中野雄司², 木内玲子², 植村知博¹, 坂本智昭³, 倉田哲也³, 安部弘², 上田貴志¹, 中野明彦¹

¹東大・院理系・生物科学, ²理研・基幹研,

³奈良先端大・バイオサイエンス

これまで, 連続した液胞膜上に生じるサブ領域様構造 bulb を見出し, その機能や生物学的意義を探るべく研究を進めてきた (Saito et al. 2002, Saito et al. 2011a, 2012b). 液胞の形態や, 既知の bulb が激減する変異体を指標に順遺伝学的なスクリーニングを行い, #64 変異体を単離した. #64 変異体では, 葉, 花器官, など様々な組織で伸長異常が生じていた. 暗所光形態形成を起こし, ブラシノステロイドのシグナリングが異常になっていることが Real Time PCR で確認された. 次世代シーケンサーによる原因遺伝子の決定を行い, 微小管を切断する酵素の 1 塩基置換変異であることが明らかとなった.

P-36

ヤエヤマヒルギ幼植物体の生存・成長・呼吸・光合成に対する NaCl の影響

金井浩美¹, 田嶋允規², 酒井敦²

¹奈良女子大・院・人間文化, ²奈良女子大・理・生物

マングローブ植物の生存に Na が必須であるか否かについては議論がある. 本研究では比較的耐塩生の高いマングローブ植物であるヤエヤマヒルギの幼植物体を, 0~480 mM の NaCl 存在下で栽培し, 生存率, 成長量, 光合成および呼吸速度の調査・比較を行った. NaCl 非存在下では枯死率が極めて高くなったことから, ヤエヤマヒルギの生存には Na が必須であることが分かった. また, 成長は 1/2 海水濃度にあたる 240 mM NaCl 存在下で最大となるが, 高塩濃度側における成長の低下は葉の枯死率の増大と光合成能力の低下によるものであり, 低塩濃度側における成長の低下は枯死率の増大のみによることがわかった.

P-37

生物画像の自動分類ソフトウェア「カルタ」の開発

松永幸大¹, 朽名夏磨², 桧垣匠², 馳澤盛一郎²

¹東理大・理工・応用生物科学

²東大・院・新領域・先端生命科学

多様なイメージング機器から得られる画像データは複雑なため、現状では、研究者の主観的な判断による目視の画像分類に全面的に頼っている。そのため、主観的判断を防止するためにも、データの信頼性や再現性を維持した客観的な自動画像分類法の開発が求められていた。今回開発に成功した生物画像の自動分類ソフトウェア「カルタ」では、汎用的かつ適応的に画像分類を実行できる。カルタは、自己組織化マップによる画像のクラスタリングを介して、専門家の意見を繰り返し学習することで、研究や目的にあった確かな分類基準を自動的に検討する。クラスタリングに用いる形態学的特徴量は自由に入れ替えることができ、遺伝的アルゴリズムを使用して最適な分類を達成した段階で自動的に検討作業を止め、その結果をコンピューター上に表示する。

P-38

シロイヌナズナ *in vitro* 胚発生系の開発を基盤とした光顕微操作による胚発生過程の解析

牛王啓太¹, 栗原大輔^{1,2}, 浜村有希³, 東山哲也^{1,2}

¹名大・院・理, ²JST・ERATO 東山ライブホロニクス,

³名大・生物機能開発研究利用センター

胚発生過程は、受精卵から高等生物の複雑な構造、機能を構築するうえで基本的で重要な過程である。しかしながら、植物の胚発生過程における個々の細胞の役割は多くが未知のままである。細胞や分子の時空間的な動態を捉え、時空間特異的に細胞の機能を制御し、その影響を解析することが、胚発生の解析には欠かせない。そこで本研究では、胚珠の培養条件の検討により、シロイヌナズナ *in vitro* 胚発生系の確立に成功した。これにより、植物の初期発生を初めてライブイメージングで捉えることが可能となった。さらに現在、レーザーアブレーションなど、光細胞操作を用いることで、初期胚発生のライブセル解析を進めている。

P-39

光細胞操作によるシロイヌナズナ雌雄生殖細胞機能の解析

永原史織¹, 須崎大地¹, 武内秀憲¹, 浜村有希², 東山哲也^{1,3}

¹名大・院・理, ²名大・生物機能開発利用センター,

³JST・ERATO

重複受精では、花粉管によって運ばれる2つの精細胞が、それぞれ卵細胞・中央細胞と融合し、胚と胚乳が形成される。しかし、どのように2つの精細胞が異なる相手と正確に受精するのかという、重複受精の根幹をなす仕組みは未だ明らかになっていない。そこで本研究では、2つの精細胞の特異的な受精機構に迫るため、シロイヌナズナを材料に、単離した精細胞と卵細胞および中央細胞の自発的な膜融合を解析できる *in vitro* 受精系を開発することを目指している。今回我々は、光ピンセットを用い、精細胞と卵細胞を自在に操作し接触させる系の開発に成功した。本発表では、*in vitro* 受精の条件検討の結果に加え、*semi-in vivo* 解析を用いたレーザー細胞破壊によるアプローチなど新たな解析についても紹介したい。

P-40

ヒマラヤスギ周囲の裸地は他感作用によるものか？ II. 他感物質の供給経路と季節変化

酒井敦¹, 田嶋允規¹, 高谷敦子¹, 宮内友恵²

¹奈良女子大・理・生物, ²奈良女子大・院・人間文化

ヒマラヤスギ周囲にはしばしば草本植物が生えない裸地が形成される。我々は前年度の本学会大会で、この現象には堆積したヒマラヤスギ枯葉による遮光効果と他感作用が関与している可能性が高いことを報告した。今年度は、枯葉供給量、ならびに生葉から放出される揮発性他感物質の効果の季節変化について調べている。ヒマラヤスギ枯葉の供給量については、春にピークがあることを示唆するデータが得られている。また、新葉からの揮発性他感物質の放出は春から夏に向けて低下するのに対し、旧葉からの放出は逆に春から夏にかけて高まることが示唆された。こうした変化はそれぞれ葉の成長段階および代謝活性の季節変動を反映しているのかもしれない。

P-41

単細胞緑藻クラミドモナスにおいて細胞質遺伝は Gsp1 によって制御される

西村芳樹, 田中瞳, 鹿内利治
京都大学・理・植物分子遺伝

葉緑体(cp)やミトコンドリア(mt) DNA は非メンデル遺伝する。この現象の重要な鍵の一つは片親 cp/mtDNA の積極的分解である。我々は、単細胞緑藻クラミドモナスにおいて cp/mtDNA 遺伝変異体 (*biparental (bp) 31*) を単離した。*bp31* は片親 cp/mtDNA 除去、接合胞子形成などの成熟過程が停止する。*bp31* は 12 遺伝子を欠損していたが、そのうち 2 遺伝子を導入することで表現型を相補することができた。そのうち一つは接合子成熟の鍵制御因子である Gsp1 であり、生殖プログラムと片親遺伝が遺伝子レベルで結びつくことが示された。