

日本植物形態学会第 25 回大会
研究発表要旨集



2013 年 9 月 12 日

北海道大学

プログラム

評議委員会 (12:00-13:30): 高等教育推進機構 E310 室

総会及び植物形態学会 3 賞授賞式 (14:00-14:45): 高等教育推進機構 E310 室

- 「学会賞」: 今市 涼子 (日本女子大・理・物質生物科学)
- 「奨励賞」: 藤浪 理恵子 (日本女子大・理・物質生物科学)
- 「平瀬賞」: 川出 健介 (理化学研究所)
- 「平瀬賞」: Ferjani Ali (東京学芸大・自然科学・生命科学)
- 「平瀬賞」: 村田 隆 (基生研・生物進化)

受賞記念講演会 (15:00-16:15): 高等教育推進機構 E310 室

- 「学会賞」: シダ植物配偶体の形態多様性と分裂組織
今市 涼子 (日本女子大・理・物質生物科学) 15:00-15:45
- 「奨励賞」: 「水生被子植物カワゴケソウ科の形態進化」
藤浪 理恵子 (日本女子大・理・物質生物科学) 15:50-16:15

ポスター発表／ポスター賞表彰 (16:30-18:30 高等教育推進機構 S6, S7 室)

懇親会 (19:30-21:30 北海道食市場丸海屋パセオ店)

植物形態学会第 25 回大会（札幌）発表要旨

P-1

シロイヌナズナ H^+ -PPase は表皮細胞の形状と気孔の発達にも関与する

郡司玄¹, 塚谷裕一², Ferjani Ali¹
¹東京学芸大・教育・生命, ²東大・院・理

ATP を加水分解する際に生じる PPi が高濃度で蓄積すると、様々な代謝経路を阻害する。 *fugu5* では PPi を分解する液胞膜局在型 H^+ -PPase が欠損しているため、PPi の蓄積により貯蔵脂質に由来する糖新生が阻害される結果、子葉の細胞増殖が抑制され、補償作用が誘発される。今回、 *fugu5* の子葉の表皮細胞形態に着目したところ、野生型に比べ著しく単純化していることに加え、気孔がクラスターを形成することが分かった。一方、PPi は蓄積しないが糖新生にのみ異常を持つ変異体・ *icl-2*; *mls-2* と *pck1-2* とを用いて同様の解析を行なったところ、表皮細胞の形状異常は認められなかった。興味深いことに、細胞質に存在し、PPi 分解のみの機能を持つパン酵母の *IPP1* 遺伝子を *fugu5* 変異体に導入した株 (*Pro_{AVP1}:IPP1*) では表皮細胞の形態が野生型に回復した。以上のことから、 H^+ -PPase を介した PPi 分解機能は、植物の表皮細胞の形状や気孔の発達を正常に保つ上で重要であることが示唆された。

P-2

イメージング及び *in silico* 解析による根端分裂領域と伸長領域の境界の決定

林耕磨, 松永幸大
東理大・院・理工・応用生物科学

シロイヌナズナ根の伸長領域では、核内倍加の過程で、DNA 量増加と細胞体積増加が共役するが、どちらが先行するか不明であった。そのため、細胞分裂が盛んな分裂領域と、核内倍加を行う伸長領域の境界も、核相や細胞体積などの情報からでは決定することはできなかった。本研究では、チミジンのアナログ物質である、EdU (5-ethynyl-2'-deoxy uridine) と核相、細胞体積の解析から、DNA 量増加が細胞体積増加に先行することを示した。また、分裂領域と伸長領域の境界の位置の細胞分裂頻度や DNA 合成速度による変化や、根の伸長への影響を調べるために、*in silico* 系の開発を行なったので報告する。

P-3

SACLA の X 線自由電子レーザーを用いた細胞イメージング

松永幸大¹, 乾弥生¹, 加藤翔一¹, 高山裕貴², 笠口友隆³, 関口優希³, 小林周³, 橋本早紀³, 米倉功治², 山本雅貴², 中迫雅由³
¹東理大・理工・応用生物科学, ²理研・播磨・放射光科学研究センター, ³慶應大・理工・物理

播磨の放射光科学研究センターにある X 線自由電子レーザー (X-ray Free Electron Laser: XFEL) 施設 SACLA (Spring-8 Angstrom Compact Free Electron Laser) を用いて、コヒーレント X 線回折イメージング法 (Coherent X-ray Diffraction Imaging: CXDI) に取り組んでいる。CXDI では高空間コヒーレンス X 線ビームを空間に孤立した試料に照射し、高空間分解検出器で回折強度パターンを記録する。反復的位相回復法アルゴリズムを用いて、回折強度パターンから入射 X 線方向に投影した粒子内電子密度を再生する。凍結したシアニデオシゾンや単離した葉緑体を低温試料固定照射装置「壽壺号」に装着し XFEL を照射したところ、高空間コヒーレンスを反映した回折パターンを得ることができた。

P-4

花粉管の *in vivo* イメージングで観えてきた植物生殖の実態 -2 光子顕微鏡を用いたアプローチ-

水多陽子^{1,2}, 栗原大輔^{1,2}, 東山哲也^{1,2,3}
¹名大・院・理, ²JST・ERATO, ³名大・WPI-ITbM

雄の配偶体である花粉は雌しべの柱頭に受粉し、発芽する。発芽した花粉管は雌しべの伝達組織内を伸長し、雌の配偶体である胚のうを含む胚珠へと到達し、受精する。一連の過程は雌しべ深部でおきる現象のため、観察が難しく、*in vivo* での花粉管挙動の多くはいまだ未知のままである。我々は様々な蛍光タンパク質により可視化したシロイヌナズナの花粉管と胚珠を用い、雌しべを生きたまま長時間培養することで、雌しべ深部の花粉管を *in vivo* で長時間イメージングすることに成功した。また、伝達組織内を伸長していた花粉管が、胚珠へと方向を変える花粉管ガイダンスを雌しべ内で捉えることに初めて成功した。

P-5

シロイヌナズナの器官サイズ異常変異株 *little prince* はミトコンドリア *nad6* mRNA のエディティング異常を示す

石橋幸大¹, 濱田ゆかり¹, 中村崇裕², 塚谷裕一³, 堀口吾朗¹

¹立教大・理・生命, ²九大・農, ³東大・院・理

シロイヌナズナの *little prince (lipc)* 変異株は主に細胞サイズの低下により葉の小型化表現型を示す。*lipc-1* は T-DNA タギングにより得られた変異株でその原因遺伝子を特定したところ、ミトコンドリア局在と推定される PPR タンパク質の一種をコードしていることが明らかになった。PPR タンパク質の機能の一つに RNA エディティングが知られていることから、ミトコンドリア転写産物における RNA 編集の異常の有無を解析した。その結果、*lipc* においては *nad6* mRNA の 463 番目の C から U への RNA 編集が生じていないことが明らかになった。現在、この編集異常と細胞小型化の関係について検討を進めている。

P-6

柵状組織における細胞体積と DNA 量の相関解析

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・院・理工・応用生物科学

²東京大・院・理・生物科学

シロイヌナズナでは細胞核の DNA 量が倍加する現象(核内倍加)が知られている。核内倍加の起きた細胞では体積も増加しており、これまで核相と細胞体積は比例関係にあると考えられてきた。しかし、核相と細胞体積の関係はこれまで表皮細胞に着眼した解析が多く、内部組織を用いた解析はほとんど行われてこなかった。本研究では葉の内部組織である柵状組織についてイメージング解析により核相と細胞体積の関係を調べた。

その結果、柵状組織細胞では表皮細胞に比べて核相と細胞体積の相関が低く、また核内倍加があまり進行していないことがわかった。さらに核内倍加と葉の形態形成の関係を解明すべく、核内倍加の進行に異常が見られる変異株を用いて同様の解析を行なったので報告する。

P-7

原始紅藻シズンにおけるペルオキシソーム分裂装置(Pod-machinery)の構造と分子機構の解明

井元祐太^{1,2}, 黒岩晴子^{2,3}, 吉田大和², 大沼みお^{2,3}, 藤原崇之⁴, 吉田昌樹⁵, 西田敬二², 八木沢英美², 廣岡俊亮^{3,4}, 宮城島進也^{3,4}, 三角修己^{3,6}, 黒岩常祥^{2,3}, 河野重行^{1,3}

¹東大・院・新領域・先端生命, ²立教大・理, ³JST・CREST, ⁴遺伝研・新分野, ⁵筑波大・院・生命環境, ⁶山口大・理・生物

地球上の多くの生物は、エネルギー、食糧、物質生産をペルオキシソームによる脂質代謝と活性酸素の除去に依存して生きている。その増殖障害は重篤な先天性疾患や代謝異常を引き起こすことが知られているが、分裂の機構は長らく未解決の問題であった。今回、我々は原始紅藻シズンから無傷な分裂期ペルオキシソーム画分を得ることに成功した。プロテオミクス・細胞内局在解析の結果、この画分に含まれるタンパク質の一つが、ペルオキシソーム分裂面でリング状に局在することが分かった。さらに、このリング単離し、免疫電子顕微鏡法・アンチセンス法により解析を行った結果、ペルオキシソームの分裂が直径 50-500 nm の分裂装置、Pod (Peroxisome dividing)-machinery の収縮によって行われることを明らかにした(PNAS, 2013)。

P-8

緑藻 *Botryococcus braunii* のコロニー形成について

宇野由紀¹, 野口哲子²

¹奈良女大・院・人間文化, ²奈良女大・理・生物科学

緑藻 *B. braunii* は多量の炭化水素を細胞外に蓄積し、各細胞の頭頂部を外側に向けてコロニーを形成する。各細胞は、細胞分裂後に細胞側底部から分泌された油滴が融合した炭化水素層(一細胞周期で最大6層形成)で繋がり、それらは幅約 7 μm のコロニーシース(CS)で取り囲まれていた。CSは細胞頭頂部から伸びる繊維群で構成され、各繊維は銀メタミン反応陽性であり、多糖を含むことが確認できた。一方、CSは墨汁を弾くため、繊維間には疎水性の物質が含まれると推測された。CS形成に関し、細胞側底部からの脂質分泌に同調して、頭頂部の母・娘細胞壁間に蓄積した物質が母細胞壁の崩壊により伸びて繊維群なる過程を明らかにした。

P-9

京野菜であるミズナ・ミブナに見られる葉形の多様性について

川勝弥一¹, 上ノ山華織¹, 五十嵐香理², 中山北斗^{1,3}, 久保中央⁴, 矢野健太郎², 木村成介¹
¹京産大・総合生命, ²明治大・農, ³日本学術振興会, ⁴京府大・生命環境

京都で長年栽培されてきた京野菜であるミズナは、特徴的な深裂の葉を有している。一方、同じく京野菜であるミブナは全縁の丸い葉を有している。ミブナはミズナの栽培中に生じた変種とされているが、その葉形変異の遺伝的背景は明らかになっていない。よって本研究では、ミズナ・ミブナの葉形変異の解析を試みた。

まずは基盤解析として、茎頂や葉原基の顕微鏡観察や生理学的解析を行った。また、ミズナ・ミブナを交配して得られた F1 世代は中間形質を示したため、葉形は量的形質であると考えられた。よって QTL 解析の適用を試み、表現型の定量法を検証した。それと並行して、ジェノタイプングに必要な分子マーカーの作成も行った。今後は QTL 解析を行うことにより、葉形変異の遺伝的背景を明らかにすることを目指す。

P-10

シロイヌナズナにおける HMG family の機能解析

横山諒平¹, 松永幸大¹
¹東理大・理工・応用生物

真核生物に広く保存された High mobility group(HMG)は、ヒストンに次いで染色体上に豊富に存在するタンパク質である。これまで動物細胞を用いた研究では、DNA 複製・組換え・修復など、生命維持に不可欠な現象に関わっていることがわかっているが、植物の HMG の機能は未知な部分が多い。今回、我々はシロイヌナズナの HMG family の中で、植物特異的に存在すると考えられている 3×HMG-box1 を TriG-1 と名付け、その T-DNA 挿入変異株の表現型を解析したので、その結果を報告する。

P-11

新規ユビキチン様ドメインタンパク質 ULD1 は細胞板形成と協調した微小管動態制御に働く

日渡祐二^{1,2,3}, 村田隆^{1,2}, 長谷部光泰^{1,2},
¹基生研・生物進化, ²総研大・生命・基礎生物,
³IBERS, Aberystwyth Univ., UK

植物細胞の細胞質分裂では、細胞板が隔膜形成体 (phragmoplast) と呼ばれる細胞骨格複合体の内部でつくられる。隔膜形成体の微小管の再編成が細胞板の拡大伸長に働くことが明らかになっている。我々は微小管の再編成過程を明らかにしたが (Murata *et al.* 2013)、微小管の再編成がどのようにして細胞板形成と協調しているかは不明である。

我々はヒメツリガネゴケから分裂組織で高発現する新規ユビキチン様ドメインタンパク質 ULD1 を同定した。ULD1 は発達中の細胞板に局在し、遺伝子破壊株では細胞板形成に伴った微小管消失が阻害された。我々は、細胞板は微小管脱重合を誘導する活性を持ち、ULD1 は微小管脱重合のシグナル伝達系に関与することを提唱する。

P-12

葉原基におけるタンパク質拡散動態の非一様性

川出健介¹, 谷本博一², 平井優美¹
¹理研 CSRS, ²Institut Jacques Monod

原基内での細胞間シグナル因子の動態は、器官の大きさや形を決める重要な要素である。そこで、その動態を決める細胞の性質を理解することは、器官形成の仕組みを知るうえで欠かせない。

私たちは、GFP を構成的に発現するシロイヌナズナを用いて、葉原基内の GFP 拡散動態を Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP) により一細胞レベルで解析した。その結果、GFP 蛍光の回復が指数関数的に起こる細胞、直線的に起こる細胞、ほとんど起こらない細胞の3種類が存在した。興味深いことに、葉原基の基部と先端部ではこれらの細胞の割合に違いがあった。現在は、この割合の違いが基部・先端部の領域レベルでの GFP 拡散動態にどのような影響を与えるのか数理モデルで検証を試みている。

P-13

植物ホルモンによる DNA 損傷応答制御メカニズムの解析

長谷川淳子¹, 坂本卓也¹, 綿引雅昭², 桧垣匠³, 馳澤盛一郎³, 松永幸大²

¹東理大・院・理工・応生, ²北大・院・理学・生物

³東大・院・新領域・先端生命

高等植物は迅速な移動ができないため、独自のストレス応答メカニズムを獲得し、環境に適応してきた。ストレス応答にはアブシシン酸やサリチル酸、ブラシノステロイドなどのホルモンの関与が明らかにされているが、植物で初めて発見されたホルモンであるオーキシンによるストレス応答制御に関しては未だ報告が少ない。そこで、我々は生物にとって重篤なストレスである DNA 二本鎖切断応答におけるオーキシンの機能解明を目的とし、タバコ BY-2 培養細胞とシロイヌナズナ植物体を用いて解析を行なった。その結果、オーキシンは DSB 応答において、DNA 修復の促進と形態変化に関与していることが示唆された。

P-14

ライブセルイメージングによるクロマチン動態の解析

平川健¹, 林耕磨¹, 松永幸大¹

¹東理大・理工・応用生物科学

間期クロマチンは、Chromosome territory (CT)と呼ばれる核内配置を細胞核で形成している。CTは動物と植物の間で違いがみられ、動物では放射状の配置をとるのに対し、植物ではランダムな配置をとる。しかし、これらは FISH や蛍光免疫染色法など固定化を必要とする技術により得られた知見である。本研究は、クロマチン蛍光タグシステムである *lacO/LacI* システムを用い、シロイヌナズナの根端領域を形成する細胞のクロマチン動態をライブセルイメージングした。その結果とシミュレーションを比較したところ、間期クロマチンの CT はランダムではなく、規則正しいものであることが示唆された。また、 γ 線照射時のクロマチン動態も解析したので、合わせて報告する。

P-15

シロイヌナズナにおける染色体核内配置を制御する因子の解析

杉山智哉¹, 坂本卓也¹, 松永幸大¹

¹東理大・院・理工・応用生物科学

細胞分裂期における染色体の凝縮に関わる因子として、コンデンシン(Cnd)複合体が知られている。Cndは真核生物に広く保存され、異なる2つのタイプ(Cnd I, Cnd II)が存在する。近年、シロイヌナズナにおいてCnd IIはDNA損傷の緩和に働くことが報告されており、Cnd IIの間期染色体における役割が明らかになってきている。本研究では、シロイヌナズナ Cnd II 変異体を用いて、間期染色体におけるCnd IIの新たな役割の解明を試みた。FISH 及び抗ヒストン修飾抗体による免疫染色を行った。結果、変異体では染色体配置の異常やクロマチンの弛緩が示唆された。これらの結果から、Cnd IIは間期染色体の核内配置及びクロマチン状態の制御に関与することが示された。

P-16

トレニア花粉管における誘引物質 LUREs の結合能獲得

奥田哲弘¹, 水上茜², 鈴木孝征^{2,3}, 森仁志⁴, 金岡雅浩², 佐々木成江², 東山哲也^{1,2,3}

¹名古屋大学・WPI-ITbM, ²名古屋大学・院・理, ³JST・ERATO, ⁴名古屋大学・院・生命農

被子植物の受精において、助細胞から分泌される花粉管誘引物質は、花粉管が正確に胚嚢へ到達するのに最も重要な鍵因子である。被子植物トレニアを用いた解析から、花粉管の誘引物質 LURE への応答において、雌蕊組織要求性が示された。本研究では、雌蕊組織による誘引物質の受容・応答制御を明らかにするため、花柱の長さや花粉管の伸長時間を変えて、誘引物質 LURE2 への応答性を調べた。その結果、長い花柱を通して長時間伸長した花粉管のみが、LURE2 に応答できることがわかった。また、花粉管がどの部位で LURE2 を結合するかを調べるために、LURE 結合の観察方法を開発し、花粉管は先端で LURE2 を結合することを示した。

P-17

原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* のオルガネラ分裂におけるオーロラキナーゼの機能解析

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・院・理工・応用生物, ²東大・院・新領域・先端生命, ³立教大・理

原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae*(シズン)は、極めてシンプルな真核生物である。シズンを用いることで、複雑な細胞分裂プロセスの解析が容易になると考えられる。オーロラキナーゼは紡錘体の形成などに関わり、細胞分裂を制御する分裂期キナーゼである。オーロラは高等動植物において遺伝子重複が見られるが、シズンに存在するのは一分子種(*CmAUR*)のみである。

この *CmAUR* の細胞内局在解析やドミナントネガティブによる機能抑制実験により、*CmAUR* が核の分配だけでなくミトコンドリアの分裂を制御することが示唆された。また、リコンビナントタンパク質を用いた *in vitro* リン酸化解析により、*CmAUR* がミトコンドリア分裂リング構成タンパク質を直接的にリン酸化制御する新規のメカニズムが存在する可能性が示された。

P-18

原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* におけるコヒーシンの局在解析

和田一輝¹, 加藤翔一¹, 大沼みお², 黒岩常祥², 松永幸大¹
¹東京理科大・院・理工・応用生物, ²立教大・理

コヒーシンは姉妹染色分体接着を担う分子として広く真核生物に保存されている。現在、酵母やハエ、ヒトなどの生物でコヒーシンの機能解析が行われているが、いずれも相互作用因子が多く、基幹的解明を行うには適していない。そこで、我々は真核生物の中でも最もシンプルな原始紅藻シズンを用いることで、真核生物普遍的な細胞分裂制御メカニズムに迫ることにした。

コヒーシンは4つのサブユニットからなり、我々は *CmSMC1*, *CmSMC3*, *CmSCC1*, *CmSCC3* を同定した。これらの因子が他の生物と同様に細胞分裂に関与しているか調べるため、ライブセルイメージングや免疫染色による局在解析を行ったところ、核への局在を確認した。この結果からシズンにおいても、コヒーシンが細胞分裂の制御に関わることが示唆された。

P-19

タマネギ根端分裂細胞の分裂準備帯形成過程における微小管帯と RanGAP 帯の比較

藪内 隆俊、中井 朋則、山内 大輔、峰雪 芳宣
兵庫県立大・院・生命理学

分裂準備帯 (PPB) は細胞分裂面の位置決定に関与する微小管が帯状にならんだ構造である。

RanGTPase-activating protein (RanGAP) が PPB に局在することが報告されているが、その詳細については不明な点が多い。本研究では分裂準備帯の形成過程についてよく知られているタマネギの根端分裂組織の細胞を用い、RanGAP 帯と微小管帯の挙動について検討を行なった。その結果、RanGAP はある程度幅の狭くなった微小管帯周辺に集まり帯を形成すること、前期の最後では形成された RanGAP 帯は狭くなった微小管帯よりも少し細胞質側に偏在していること、また薬剤処理で微小管帯を広げると RanGAP 帯も広がることが分かった。

P-20

膠に生育する真菌 *Aspergillus parasiticus* が分泌する中性金属プロテアーゼ

鈴木孝仁¹, 木原山奈々², 河原一樹¹, 宮路淳子^{1,2}, 中沢隆^{1,2}

¹奈良女子大学古代学学術研究センター・タンパク質考古学事業本部, ²奈良女子大学・院・人間文化

膠はコラーゲンタンパク質からできている。画材用の膠の表面に生えた真菌集落から、*A. parasiticus* が分離された。この真菌の分生子を膠表面に接種して生育させ、デジタル顕微鏡による膠断面写真と走査型電子顕微鏡観察を行った結果、膠の内部に基底菌糸が網目状に伸長し、気中菌糸が膠内から露出して分生子を形成することが判明した。ゼラチンの存在下で生育したこの真菌の分泌タンパク質画分を SDS-PAGE で分析したところ、ゼラチンの存在下で濃くなるバンドが検出された。このバンド由来のタンパク質をトリプシン消化し、リニアイオントラップ型質量分析計で分析した。得られた質量スペクトル及び MS/MS スペクトルを用いたタンパク質の同定を、ソフトウェア SEQUEST と、アミノ酸配列データベース (SwissProt) を用いて実施したところ、中性金属プロテアーゼのホモログであることが示唆された。

P-21

栄養環境の違いが接触形態形成、窒素含量、光合成速度の変化に及ぼす影響

田嶋 允貴¹, 遊佐 陽一², 酒井 敦²
¹奈良女子大学・院・人間文化・生物科学, ²奈良女子大学・理・生物科学

「植物が機械的的刺激(MS)に応答して小型化すること(接触形態形成)」、「葉の窒素含量と光合成能力との間に正の相関があること」は、よく知られた事実である。我々は、数種の多年生クローナル植物において「MSによる植物体の小型化は窒素濃度の増加を介して光合成能力を増大させる」という可能性を提示してきた。しかし、この連鎖反応の成立条件については、まだ検討の余地がある。本研究では、栄養環境の影響を検討するため、貧栄養状態から富栄養状態まで6段階に栄養環境を変えて栽培したノシバ(*Zoysia japonica* Steud)を材料に、MS処理がサイズ、窒素含量、光合成速度に及ぼす影響を測定・比較した。その結果、上記連鎖反応は広範囲の栄養環境下において同じように成立することが示された。

P-22

単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における遺伝子改変技術の改良とシアニジウム類における高温耐性株選択法

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, ²JST・CREST, ³東大・院・新領域・先端生命

これまでに我々は、ゲノムが完全解読されている原始紅藻 *C. merolae* (シズン)を用いた遺伝子導入技術の開発に成功し、一過的遺伝子抑制、遺伝子破壊法を開発してきた(Ohnuma *et al.* 2008, 2009, Imamura *et al.* 2009, 2010)。

今回我々は、一過的遺伝子導入系において、形質転換体の指標となる GFP の発現が弱く、確認が困難だったため、改良を行った(Imoto *et al.* 2013)。改良したベクターを用いると、GFP が強く発現し、形質転換体の確認が容易になった。さらに細胞質で発現していた GFP をミトコンドリアに局在化させ、油滴などの細胞質に存在する細胞小器官のダイナミクスの解析を可能にした。

また、新規有用遺伝子を探索するため、新たに大湧谷温泉から採取したシアニジウム類の混合培養から、より高温耐性の *Cyanidium caldarium* Delta-1 の選択に成功したので報告する。

P-23

根の伸長に対するヒストン脱アセチル化酵素の機能解析

田中彩子¹, 坂本卓也¹, 金鍾明², 関原明², 松永幸大¹
¹東理大・院・理工・応用生物科学, ²理研 CSRS・植物ゲノム発現

これまでにエピジェネティクスがシロイヌナズナの葉や花の形態形成に関与していることが明らかにされているが、根の形態形成に関する機能は研究されていなかった。そこで私は根の形態形成におけるヒストン修飾酵素の機能解析を研究目的とし、ヒストンアセチル化酵素(HAT)、脱アセチル化酵素(HDAC)変異体の根の表現型を探索した。これら変異体のスクリーニングにより、HDACのうち1つの変異体が、根の伸長が左に傾く表現型を持つことが分かった。根が屈曲する現象として、重力応答異常や表層微小管の配向異常などが知られている。しかし、これらの観点からは HDAC-X 変異体では顕著な異常が認められなかった。HDACの中にはチューブリン脱アセチル化活性を持つものが知られている。そこで本研究では、根の伸長における HDAC-X を通じた微小管制御の可能性について報告する。

P-24

AtAUR3 による EB1c の制御メカニズム解析

高木麻衣, 北原英里奈, 長島慶宜, 松永幸大
東京理科大学・理工・応用生物科学

染色体動態に関与するセリン・スレオニンキナーゼであるオーロラキナーゼは、真核生物に広く保存されている。我々は、シロイヌナズナのオーロラキナーゼ AtAUR のうち、動原体に局在する AtAUR3 に注目して研究を行っている。今回、AtAUR3 の基質として EB1c を同定した。EB1c は plus-end tracking protein として知られている EB1 ファミリータンパク質の一種である。その機能として微小管に結合し微小管の重合を制御することが報告されているが、制御メカニズムはまだ明らかになっていない。そこで我々は、AtAUR3 による EB1c のリン酸化と微小管重合の関係を解析した。

P-25

葉の形における進化発生的トランスクリプトーム解析

市橋 泰範¹, Neelima Sinha²
¹理研・CSRS, ²UC Davis

どうして生物は多様なのか？葉の形の多様化は、植物が示す形態進化の代表例であるが、その背景にある遺伝的メカニズムは十分に理解されていない。そこで、私たちはトマト栽培種および近縁野生種が示す葉の複雑性の自然変異に着目して、この問題解決に取り組んだ。種間における葉の発生ステージごとの大規模なトランスクリプトーム解析により、葉の発生に関与する遺伝子制御ネットワーク内のモジュール構造を明らかにし、葉の複雑性の多様化に重要である遺伝子を予測した。実際に、この遺伝子がトマト近縁種間における葉の複雑性の進化を引き起こしたことを形質転換実験により証明した。加えて、この遺伝子との直接的な相互作用及びその下流遺伝子を明らかにすることで、どのような遺伝子制御ネットワークが形態を多様化させるのか明らかにした。

P-26

細胞性粘菌の種特異的な子実体柄先端部の形状の可視化

細野春宏, 金子康子
埼玉大学・院・教育

細胞性粘菌の分類には、子実体柄の先端部の形状(頭形、棍棒形、先鋭形など)が重要な形質となる。しかし、粘液性の胞子のうが付着しているため、柄の先端形状の観察は極めて困難である場合が多かった。埼玉県北部の主に社寺林の土壌から細胞性粘菌7種を単離し、各々の種に特徴的な子実体柄の形成過程を観察することを試みた。Calcofluor White で細胞壁セルロースを蛍光染色したところ、柄細胞の細胞壁が明瞭に染色され、細胞の形と共に柄の先端形状を容易に観察することができた。特徴的な柄の先端形状は、球形に近い細胞、円筒形の細胞、縦に伸長した円筒形の細胞が、それぞれ規則的に配列して形作られていた。

P-27

シロイヌナズナの受精卵極性と体軸形成の制御機構

植田美那子^{1,2}, 東山哲也^{1,2,3}, 梅田正明^{4,5}
¹名大・WPI-ITbM, ²名大・院・理, ³名大・ERATO, ⁴奈良先端大・バイオ, ⁵JST・CREST

高等生物は複雑な構造をもつが、それらは全て受精卵という単一細胞に由来する。高等植物の受精卵は高度な細胞極性を持ち、その不等分裂によって異なる発生運命をもつ娘細胞を生じる。この際の軸性は成熟体の頂端—基部軸に相当するが、初期発生の過程で体軸が形成される仕組みについては現在でもほとんど分かっていない。

我々はシロイヌナズナの初期胚で非対称に発現する WOX8 遺伝子に着目し、その発現パターンを制御する WRKY2 転写因子を中心として、体軸形成の分子機構について研究してきた。本発表では、最近の解析で明らかとなってきた WRKY2 の役割について紹介したい。

P-28

雌雄異株植物ヒロハノマンテマの両性花突然変異体における開花同調性と雌雄離熟の出現

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

1つの花の中で雄蕊と雌蕊の成熟時期をずらす雌雄異熟や雄蕊と雌蕊の距離を空ける雌雄離熟は、自家受粉を避けるため両性花植物に普遍的にみられる仕組である。雌雄異株植物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、雌雄異株植物にこうした仕組があるかを調べることができる。γ線や重イオンビームを花粉に照射して両性花9株を作出した。in vitro と in vivo の花粉発芽率を調べた結果、雌雄異株でも両性花変異体でも雄蕊と雌蕊は同じ時期に成熟しており、雌雄異熟は起きていなかった。しかし、開花した両性花の雄蕊と雌蕊の長さを6時間おきに測定した結果、9株中5株の両性花変異体の雌蕊は雄蕊より常に2~10 mm 長く、雌雄離熟が起きていることが分かった。

P-29

川本法を利用したヒロハノマンテマ蕾のレーザーマイクロダイセクション

石井公太郎¹, 風間裕介², 阿部知子^{1,2}

¹理研・仁科センター, ²理研・イノベ

川本法では凍結ブロックに粘着フィルムを貼り付けて迅速に切片を作製できる。川本法を用いたレーザーマイクロダイセクション(LMD)の例はなかった。ヒロハノマンテマの雌蕊・雄蕊原基で LMD を行うため、川本法を最適化した。

蕾内部の空気を除去するため、蕾をカルノア液で固定し、水に置換して包埋することで、RNA が分解することなく良好な切片を得た。LMD で処理可能な切片の厚さは 8 μm だが、粘着フィルムをトルイジンブルー染色してレーザーの吸収率を高めることで、厚さ 10 μm の切片の処理を可能にした。本法で LMD を行った後 cDNA を増幅処理することで、マイクロアレイ用の 1 サンプル(3 反復)を 8 日で準備できるようになった。

P-030

緑藻 *Botryococcus braunii* における ER・ゴルジ体・TGN の動態 - B 品種と A 品種の比較 -

亘真智子, 野口哲子
奈良女子大学・理・生物

B. braunii は脂質生産で注目されている藻類では唯一、細胞外に炭化水素を蓄積する。また、紅藻から高等植物において、最も大型のトランス-ゴルジ-ネットワーク(TGN)を有する。本研究では、MEP 経路によりトリテルペンを多量に生成する B 品種と脂肪酸からアルカディエンを生成する A 品種を透過型電子顕微鏡で、ER・ゴルジ体系を中心に観察した。両品種とも、細胞周期を通して細胞膜直下に ER が存在し、細胞膜に面した ER 膜はリボソームを欠いていた。細胞質分裂後、B 品種では頭頂部から多糖を側底部から脂質を同時に分泌し、A 品種では頭頂部、次に側底部と脂質を二回分泌した。この時期のゴルジ体・TGN を比較した。

P-31

光受容体による本葉形態形成の制御機構

小塚俊明, 長谷あきら

京都大学・院理・生物

主要な光合成器官として、本葉の光環境応答による形態形成は重要である。これまで、避陰応答を制御するフィトクロムやフォトトロピンによる青色光応答制御が報告されているが、本葉形態形成については不明である。そこで、これら光受容体による本葉形態形成機構について解析した。

葉身は二次元的な形態が特徴であり、葉身の扁平性は光合成の効率化に重要である。シロイヌナズナを用いた分子生理学的解析により、この葉身扁平性は青色光によって活性化されたフォトトロピンにより促進されるが、その一方でフィトクロムの活性化によっては抑制されることが解った。さらに、両者による拮抗的な相互作用によって葉身扁平性が制御されていることが明らかになった。

P-32

シロイヌナズナのゴルジ体形態異常変異体の探索

棚橋沙由理¹, 庄田恵子², 齊藤知恵子¹, 上田貴志¹, 中野明彦^{1,3}

¹東京大・院・理, ²理研・BSI, ³理研 RAP・ライブセル分子イメージング

ゴルジ体は、扁平な袋状の膜(槽)が積み重なった、極性のある層板構造を形成する単膜系オルガネラである。植物細胞のゴルジ体は、独立した明瞭な構造をとり、それらが細胞内に分散して活発に運動するといった特徴をもつ。その形態が、どのような分子基盤によって維持されているのかを明らかにするため、私たちは EMS 処理を施したシロイヌナズナのゴルジ体可視化ラインを用いて、ゴルジ体の形態に異常を示す変異体のスクリーニングを行った。その結果、ゴルジ体のサイズ・形状・細胞内分布に異常を示す変異体の単離に成功した。さらに変異体において、層板構造内の槽の配置や膜構造、ならびに極性がどのようにになっているかを調べるため、シストランス槽の局在比較や透過型電子顕微鏡観察といった形態解析を行った。

P-33

単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の遺伝子発現誘導系の開発

墨谷暢子^{1,2}, 小林優介³, 三角修己^{2,4}, 宮城島進也^{1,2}
¹ 遺伝研・新分野、² JST,CREST、³ 京大・院・理・生物科学、⁴ 山口大・院・医

単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae*(シズン)は葉緑体とミトコンドリアを1つずつしかもたない単純な体制をもつ。このため細胞分裂を同調させると葉緑体分裂も同調するという利点がある。近年相同期的組換えによる遺伝子操作が可能となり、シズンに対して分子遺伝学的手法を利用できるようにもなった。しかし、シズンにおいて細胞やオルガネラ分裂に関係する遺伝子の遺伝子改変は致死となる可能性が高い。そこで、本研究では低分子量熱ショックタンパク質をコードする *CMJ101C* の上流に着目し、熱ストレスによる遺伝子発現誘導系を確立した。本発表では、この系について紹介するとともに、この系を用いたオルガネラ分裂調節の解析へのアプローチについても紹介したい。

P-34

シロイヌナズナの子葉細胞内における脂質代謝に関する機能形態学的解析

岡村法子¹, 林八寿子¹, 林誠², 真野昌二³,
Songkui Cui³, 西村幹夫³
¹新潟大学・理、²長浜バイオ大・バイオサイエンス、
³基生研・高次細胞機構

脂肪性種子では、リピッドボディの貯蔵脂肪が、グリオキシゾーム内の脂肪酸 β 酸化系とグリオキシル酸回路によって代謝されて糖となり、発芽時のエネルギーを生産する。このリピッドボディからグリオキシゾームへの脂肪の輸送機構については、脂肪酸 β 酸化系機能欠損株 *Ped1* の解析などから、子葉細胞内に存在する多量のリピッドボディが、直接グリオキシゾームに接触することで、互いの膜間で直接、物質の輸送をおこなっていると考えられた(Hayashi *et al.*, 2001)。今回は、子葉細胞のリピッドボディには、接近するだけでグリオキシゾームと直接接触できるものと、膜構造に包まれて直接接触できないものが存在することや、関連した膜タンパク質の局在解析結果について報告する。

P-35

植物培養細胞を用いた細胞分裂における栄養ストレスの影響

森田明裕¹, 坂本卓也¹, 浦口晋平², 藤原徹²,
松永幸大¹
¹東理大・院・理工・応用生物、²東大・院・農生命

植物では必須元素の欠乏症や過剰症などがよく知られている。しかし、これらの元素と細胞分裂との関連性はほとんど分かっていない。そこで、本研究ではタバコ BY-2 培養細胞を用いて、細胞周期の中でも、特に分裂期の進行においてどの必須元素が関連しているかを調べた。

本研究を始める際に、分裂期の進行に関与する可能性がある元素を探索する為、S 期と M 期の各必須元素の濃度を調べた。その結果、S 期と比較すると B、Mn の 2 元素が M 期で減少し、逆に Mg、K は増加することが分かった。現在、有意な変動があった 4 元素の欠乏培地を作製し、分裂期における各元素の染色体動態への影響を解析中である。

P-36

広域透過電子顕微鏡画像取得法の開発と茎頂オルガネラ地図作成への応用

澤木史江¹, 小林恵¹, 佐藤繭子², 朽名夏磨³,
桧垣匠³, 馳澤盛一郎³, 豊岡公德², 永田典子¹
¹日本女子大・理、²理研 CSRS、³東大・院・新領域

透過電子顕微鏡(TEM)は、高い分解能を有し細胞内の微細な構造を観察できるが、この利点を活かしてオミックス研究に TEM を用いた例はほとんど無い。我々は、高等植物におけるオルガネラの網羅的構造解析に向け、統計学的処理可能な広域の高解像度 TEM 画像を取得する手法(広域 TEM 画像取得法)の開発に取り組んできた。その結果、全自動で TEM 画像の撮影・結合を行うシステムを確立し、非常に精度の良い広域 TEM 画像を取得することに成功した。

現在、広域 TEM 画像を用いてオルガネラ分化に関わる網羅的構造解析に着手している。特に茎頂部のオルガネラを定量化し有意差の有無を調べることで外見的にはわからない構造や分布について新たな知見を得たい。

P-37

トウガラシ植物果実内における特殊な色素体構造の解析

小林恵¹, 伊藤隆^{2,3}, 石井航平³, 鈴木宗典^{2,3}, 白澤健太⁴, 坂智広³, 村中俊哉^{2,3}, 永田典子¹
¹日本女子大・理, ²阪大・院・工, ³横浜市大・木原生研, ⁴かずさDNA 研

トウガラシ属植物の果実は、実に多様な色を呈し、成熟に伴う色の変化に富んでいる。果実の成熟に伴う色の変化はクロロフィルの分解と入れ替わりにカロテノイドが合成されることで生じる。

私たちは、木原生物学研究所が保有するトウガラシ資源のうち約 30 系統の果実の色素体を透過電子顕微鏡で観察した。その際、緑から茶色へ変化する系統 756 において、他の系統では見られない興味深い構造が見られた。そこで、系統 756 と遺伝的に近く、緑から赤へ変化する系統 200 と比較を行った。

その結果、系統 756 では成熟に伴うクロロフィルの分解が生じないこと、果実完熟時においてもチラコイド膜が色素体の半分以上を占めること、また成熟に伴いチラコイド膜がグラナ構造、シート状構造、チューブ状構造に変化することなどが明らかとなった。

P-38

ナリヤランの溪流型変種の葉はシダ型の溪流沿い植物的な内部構造を持つ

依藤絵里¹, 石川直子², 岡田博³, 塚谷裕一¹
¹東大・院・理, ²埼玉県立自然の博物館, ³兵庫県大・自然・環境

ラン科の一種ナリヤラン(*Arundina graminifolia*)には、溪流沿いに分布する矮性変種 *A. graminifolia* var. *revoluta* が存在する。今回私達は、この変種について基準変種 *A. graminifolia* var. *graminifolia* と外部・内部形態の比較および遺伝的分化の解析を行なった。

その結果、*A. graminifolia* var. *revoluta* は基準変種と比べて細い葉を持つことで区別でき、自生地環境からも溪流沿い植物型であることが示唆されたが、*matK* 塩基配列には明確な分化が見られなかった。一方、葉の内部構造を比較すると *A. graminifolia* var. *revoluta* は海綿状組織の細胞サイズが小さく、シダ型の溪流沿い植物的な特徴を持つことがわかった。

P-39

イネの一次根における通気組織形成初期の X 線マイクロ CT による三次元観察

松澤勇介¹, 唐原一郎¹, 坂東理史¹, 山内大輔², 玉置大介², 上杉健太郎³, 峰雪芳宣²
¹富山大・院・理工, ²兵庫県大・院・生命理学, ³高輝度光科学研究センター

イネは根に通気組織と呼ばれる空隙を形成することで耐湿性を強めている。通気組織形成時の細胞死がどこで開始しどのように広がっていくのかを明らかにするため、X 線マイクロ CT を用いて、生きたイネ (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica* cv. *Nipponbare*) の一次根における通気組織の三次元的な経時観察を行った。

その結果、形成初期の通気組織は、1 から複数個の細胞の死によって形成されるものまで広く分布していて、1 個の細胞の死により生じた空隙も複数観察された。これより細胞死は複数の位置で開始し、その周辺に広がることを示唆された。皮層において細胞死がより多く起こる位置を調べた結果、5 層目の皮層細胞において細胞死が起きている細胞の割合が最も高かった。また、作製した 3D モデルから、根の体積に占める通気組織体積の割合の経時変化を定量的に解析した。

P-40

X 線マイクロ CT によるシロイヌナズナの胚の非侵襲観察 - 幼根及び胚軸における細胞構築の三次元解析 -

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

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 線マイクロ 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 線マイクロ 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、表皮・皮層・内皮細胞の輪郭を完全に抽出し、個々の細胞の細胞表面を構成する面の数、細胞の体積の違いを解析した。また、幼根から胚軸にかけて、それぞれの組織における細胞列数が変化する位置についても解析した。

P-41

葉緑体突然変異体の透過電子顕微鏡観察とデータベース構築

加藤綾¹, 明賀史純², 秋山顕治², 小林恵¹, 櫻井哲也², 篠崎一雄², 永田典子¹

¹日本女子大・院・理, ²理研 CSRS

シロイヌナズナには、葉緑体タンパク質をコードする遺伝子が少なくとも約 2,000 個存在すると予測されている。そのうち 1,105 遺伝子分の突然変異体が収集でき、アルビノ・ペールグリーン・斑入りといった葉の色に変化が見られる変異体は 73 遺伝子分であった。本研究ではそれら 73 変異体について、葉緑体を透過電子顕微鏡観察した。その結果、見た目の表現型からだけでは分らない葉緑体内部の構造異常や特徴を見つけ、11 構造にまとめることができた。中には新しいタイプの構造を持つ変異体も存在し、変異体のスクリーニング法として電顕が有用であることも示された。これらの画像は、他の変異体情報と合わせて、データベース Chloroplast Function Database II に公開した。

本研究は、遺伝子機能を推測する上で助けとなるミクロの表現型情報を提示すると同時に、それらを種々のバイオインフォマティクス情報と関連付ける新しい試みとなった。

P-42

緑藻アミドロの新規液胞形成に対するオートファジー阻害剤の影響

田中 学, 幡野 恭子
京大・院・人環

アミドロの栄養細胞の中央液胞は、液胞を持たない遊走子のリソソーム様の膜構造と多胞体の融合により生じた膜区画が発達し新規に形成される。オートファジーの分解系に関わるプロテアーゼ阻害剤 E-64 で処理すると液胞発達が濃度依存的に阻害された。この時オートファジーマーカーのモノダンシルカダベリンで染色すると液胞内に粒状の構造が検出され、透過電顕解析では膜構造の凝集体であった。E-64 と同時にオートファジーの誘導に関わるホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ阻害剤の 3-メチルアデニン、LY 294002 で処理すると液胞内に凝集体は見られなかった。新規液胞形成にはオートファジーによる液胞への物質の取り込みや分解が伴うことが示唆された。

P-43

ゼニゴケの *ANGUSTIFOLIA* ノックアウト株の解析

服部孝郎¹, 榊原恵子¹, 石崎公庸², 河内孝之³, 塚谷裕一¹

¹東大・院・理, ²神戸大・院・理, ³京大・院・生命

ANGUSTIFOLIA (*AN*)の遺伝子が欠損したシロイヌナズナは細胞の極性伸長の異常により細葉などの表現型を示す。*AN* は動物の持つ *CtBP* のホモログであり、また植物ではコケ植物から被子植物に至るまで広く保存されているが、その分子機能についてはまったく分かっていない。

コケ植物であるゼニゴケは *AN* のホモログを 1 コピーのみ持っており(*MAN*)、シロイヌナズナの *an* 変異体において *MAN* を発現させると表現型が回復することから、*MAN* は *AN* と同様の機能を有していることが期待される。そこで今回私たちは、ゼニゴケにおけるノックアウト株の形態・特性を解析したので、それについて報告する。

P-44

シロイヌナズナ胚発生過程のライブイメージング—マイクロデバイスを用いたアプローチ

栗原大輔^{1,2}, 牛王啓太¹, 朴鍾溟^{1,2}, 新田英之^{1,2}, 東山哲也^{1,2,3}

¹名大・院・理, ²JST・ERATO, ³名大・WPI-ITbM

胚発生過程は、受精卵という単細胞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。我々はこれまでシロイヌナズナ胚珠を用いた *in vitro* 胚発生系を確立し、ライブイメージングを行ってきた。しかしながら、シロイヌナズナ胚発生過程は数日にわたる現象であるため、ガラスボトムディッシュのみで安定してイメージングを続けるのは困難であった。そこで本研究では、マイクロデバイスを用いることにより、胚珠をガラス基板上にトラップし、安定した長時間ライブイメージングを試みた。本発表では、異なる種類の顕微鏡を組み合わせた解析における、マイクロデバイスの利点についても併せて紹介したい。

P-45

真正粘菌におけるバクテリア分裂因子によるミトコンドリアとミトコンドリア核様体の分裂制御

山田佳歩¹, 佐々木妙子¹, 由比良子¹, 森山陽介³, 東山哲也^{1,2,3}, 佐々木成江¹
¹名大・院・理, ²JST・ERATO, ³藤田保健衛生・医,
⁴名大・WPI-ITbM

ミトコンドリアは、バクテリアの共生を起源とし、分裂により増殖する。バクテリアの分裂では、分裂面に分裂装置を集合させる FtsZ や、細胞極における FtsZ の局在制御を行う minC、minD、minE などさまざまな分裂因子が同定されている。FtsZ や minCDE は、一部の真核生物でも見つかり、FtsZ は、ミトコンドリアおよび葉緑体の分裂への関与が報告されている。本研究では、真正粘菌において FtsZ および minD の遺伝子を同定し、FtsZ だけではなく、新たに minD もミトコンドリアの分裂制御に関与することを明らかにした。また、バクテリアにおいて、FtsZ は核様体の分裂制御に関与しないが、ミトコンドリアでは、核様体の分裂も制御している可能性が示唆された。

P-46

ユリの花粉内雄原細胞で発現する R2R3 型 MYB 転写因子様タンパク質遺伝子の単離と発現解析

上田健治¹, 吉岡聡¹, 森稔幸², 田中一朗³, 我彦広悦¹
¹秋田県立大学・生物資源, ²早稲田大学・高等研,
³横浜市立大学・院・生命ナノシステム

ユリの雄原細胞の RNA-Seq の情報を基に 994bp からなる cDNA を単離した。推定されるタンパク質は 321 残基からなり、MYB ドメインを 2 つ含む R2R3 型であった。各組織での発現を調べた半定量的 RT-PCR では、葉・茎・根などからはシグナルは検出されず、葯のみで検出された。さらに、花粉の発生過程では、小孢子分裂によって雄原細胞が形成される時期から発現し始め、開花まで徐々に発現量が増加していった。また、in situ ハイブリダイゼーションでは、花粉内のもう 1 つの細胞である栄養細胞からはシグナルが検出されず、雄原細胞のみで検出された。従って、この遺伝子は雄原細胞特異的に発現することが明らかとなった。

P-47

単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の光応答の解析

齋藤貴史¹, 三角修己^{1,2}
¹山口大・理・生物化学, ²JST CREST

Cyanidioschyzon merolae (通称シズン) は単細胞紅藻の一種で、好熱・好酸性の光合成独立栄養生物である。細胞小器官を最少セットもち、ゲノム解読が完了している。シズンに対する特定の波長光の影響を明らかにするために、細胞増殖・形態変化及び、遺伝子発現について解析した。

本研究では白色 LED で前培養後に、それぞれ赤色 (660 nm)・青色 (445 nm) 単波長にスイッチすることでその光応答を調べた。その結果、単波長条件下では細胞増殖に影響が生じた。また、白色 LED から各波長にスイッチ後のトランスクリプトーム解析を行ったので、応答遺伝子の共通性や差異などについて報告する。

P-48

細胞周期を制御するオーロラキナーゼのイメージング解析

北原英里奈¹, 坂本卓也¹, 伊藤正樹², 松永朋子¹, 栗原大輔^{3,4}, 松永幸大¹
¹東理大・院・理工・応用生物科学, ²名古屋大・院・生命農学, ³JST・ERATO, ⁴名古屋大・院・理学

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るが、オーロラキナーゼの研究は、個体の文化・発生に関する知見は極めて少ない。そこで、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核内倍加を起こし、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のが、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により調べた。チミジンの類似体である EdU を用いて AtAUR3 ノックダウン植物の細胞周期の長さを解析し、AtAUR3 の細胞周期への関与を調べた結果を報告する。

P-49

Arabidopsis thaliana の核膜 MTOC 解析

林世莉¹, 堀田崇², 橋本隆², 松永幸大¹

¹東京理科大・理工・応用生物, ²NAIST

植物の核膜上には微小管重合起点(Microtubule Organizing Center, MTOC)が存在すると言われており、タバコ培養細胞であるBY-2においては *in vitro* でその活性が示されている。しかし核膜から生える微小管が何を行っているのかは明らかではない。分裂面の決定や、紡錘体形成に関与するという仮説はあるが、どれも確かではない。

我々は植物のモデル生物であるシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)を用いて、核膜 MTOC の活性を確認すると共に、その分子機構を明らかにすることを目的とした。特に紡錘体形成への関与に着目しており、動物細胞に広く存在する中心体の分子の働きと、植物の MTOC 候補分子の働きを類比させて研究を行ったので報告する。

P-50

二次イオン質量分析法による植物細胞内元素イメージング

竹内美由紀, 磯貝明
東京大学・院・農

二次イオン質量分析法 (Secondary Ion Mass Spectrometry: SIMS)は試料表面の元素分析を行う測定方法であり、質量分解能や検出感度に優れている。本研究では、樹木内における炭素の移動と固定を追跡するため、¹³CO₂を用いた安定同位体パルスラベリングと二次元高分解能 SIMS を用いた元素イメージングを行った。二次木部形成中のポプラに短時間 ¹³CO₂を投与し光合成により取り込ませた後、標識 ¹³C の細胞内分布を調べた。一部の木部細胞の細胞壁への局所的な堆積が検出されたほか、師部や葉のデンプン粒内の標識 ¹³C が可視化された。

P-51

囊舌亜目ウミウシによる葉緑体取り込みのメカニズムに関する解析

大出奈穂子¹, 遊佐陽一², 山本義治³, 永田紀子¹

¹日本女子大・院・理, ²奈良女子大・理, ³岐阜大・応用生物

囊舌亜目ウミウシは、エサとなる藻類の葉緑体のみを細胞内に取り込み、光合成産物を利用することが報告されている。この現象は盗葉緑体と呼ばれている。しかし、葉緑体の取り込みや獲得時期など詳細は不明である。

そこで、コノハミドリガイ(*Elysia ornata*)とレタススラッグ(*Elysia clarki*)を用い、給餌後どの時点で葉緑体の取り込みが生じるか観察した。その結果、両種共に早い段階から葉緑体の取り込みが生じることが示された。

また、葉緑体は遺伝しないことが知られているため、孵化後いつの時点で盗葉緑体が始まるのかを調べた。レタススラッグの幼生に単細胞藻類及びハネモを与えたところ、幼体に変態後少なくとも4日の時点で体内から葉緑体の自家蛍光が観察された。

P-52

三次元微細構造観察によるクロレラのデンプン・オイル蓄積動態解析

大田修平^{1,2}, 吉原真衣¹, 南郷脩史³, 平田愛子¹, 河野重行^{1,2}

¹東京大・院・新領域・先端生命, ²JST-CREST,

³ラトックシステムエンジニアリング(株)

細胞を1枚あたり約80 nmの連続した数十~数百枚もの超薄切片にし、1枚1枚を電子顕微鏡で観察・撮影することで、電顕コントラストのまま高解像度3D画像に再構築する技術を開発した。

今回は、この技術を用いて、イオウ欠乏に対するクロレラ類(*Chlorella sorokiniana* や *Parachlorella kessleri*)の細胞応答をデンプンとオイルの蓄積動態に注目して解析した。通常培地でも増殖期を過ぎ定常期になるとデンプンに代わりオイルが蓄積されるようになる。この貯蔵物質の転換はイオウ欠乏培地ではより急激に起こる。この過程を電顕3Dで観察すると、デンプン量の増加に対して、葉緑体やオイルドロップが細胞内で偏在し、また、ポリリン酸塩と思われる電子密度の高い顆粒が出現することが分かった。

P-53

プロテオーム解析から紐解く核様体構造

小林優介¹, 田草川真理¹, 原田尚実¹, 深尾陽一郎², 鹿内利治¹, 西村芳樹¹

¹京大・院・植物分子遺伝学, ²奈良先端大・植物グローバル、

オルガネラゲノム DNA は、DNA-蛋白質複合体（核様体）を形成する。しかし、核様体の構造様式や生物学的意義についてはあまり明らかになっていない。これまでに我々は、細菌から藻類まで広く保存された代表的な核様体蛋白質である HU を標的とした免疫沈降（IP）を行うことで、核様体構成因子を特異的に単離する技術を確立した。IPされた核様体蛋白質複合体を質量分析したところ、chromosome segregation protein などの新規の DNA 結合蛋白質に加え、RNA や蛋白質の品質管理に関わる因子が多数同定され、核様体は DNA の修復、組み換え、遺伝子発現制御などの多様な生体機能の足場である可能性が示唆された。

P-54

酵母様菌類クリプトコッカスのミトコンドリア母性遺伝機構

西村芳樹¹, 鹿内利治¹, 東江昭夫²

¹京大・院・理・植物分子遺伝, ²千葉大学真菌医学研究センター

酵母様菌類クリプトコッカス (*Cryptococcus neoformans*) は **a** と **α** の接合型をもち、同型配偶子で生殖するにも関わらず mtDNA は **a** からのみ片親遺伝する。今回我々は、接合過程で **α** ミトコンドリアが排除される過程を詳細に追跡した。その結果、**α** ミトコンドリアの排除は (1)**α** ミトコンドリアの拡散阻害、(2)mtDNA の積極的分解、(3)**α** ミトコンドリア構造の除去という3ステップによって遂行されることがあきらかになった。

P-55

RNAseq でみえてきた UV による母性遺伝攪乱の機構

原田尚実¹, 小林優介¹, 鈴木孝征², 東山哲也², 鹿内利治¹, 西村芳樹¹

¹京大院・理・植物分子遺伝、²名大院・理, ERATO・JST

モデル生物である緑藻クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) において、雌配偶子に UV を短時間照射すると葉緑体 DNA の母性遺伝が阻害されることが報告されているが (Sager and Ramanis, 1967)、その詳細は明らかにされていない。本研究ではこの UV 照射の遺伝子発現への影響を RNA-seq で網羅的に調べた。その結果、接合子特異的な遺伝子およびその発現を制御する雌特異的転写因子である *GAMETE SPECIFIC PLUS (GSP) 1* の発現が顕著に減少していたことから、これが UV による母性遺伝攪乱の原因であると推測された。

P-56

シロイヌナズナオーロラキナーゼの新規基質候補因子の解析

坂本卓也¹, 野村有子², 中神弘史², 松永幸大¹

¹東理大・理工・応用生物科学, ²理研・CSRS

オーロラキナーゼ (AURs) は核に局在し、細胞周期の適切な進行に寄与するが、その分子機構には不明な点が多い。DNA 損傷応答に着目し、基質の探索と解析を通じて、AURs の分子作用機構の理解を目指した。

AUR3 の RNAi 株は DNA 損傷に対して、顕著な根の伸長阻害及び、形態異常を示す。プロテアソームサブユニット変異株も同様の表現型を示したことから、DNA 損傷応答において、プロテアソームが AURs の下流で機能する可能性が考えられた。実際に、*in vitro* で、このサブユニットは AUR3 によりリン酸化を受けた。また、MS 解析によりリン酸化サイトを同定した。現在、DNA 損傷応答における AURs とプロテアソームの関係について、遺伝学的解析から検証を行っている。

P-57

葉の厚さを制御する遺伝子の変異体スクリーニング

星野里奈¹, 成田典之², 塚谷裕一¹

¹東大・院・理; ²総研大

植物は周囲の環境を感知し、新しく作られる葉を適応的な形につくり分けている。その代表的な例として、葉の厚さの異なる陽葉と陰葉の分化が知られる。

本研究は葉の厚さ方向の発生を制御している分子的なメカニズムを明らかにするため、陽葉形成条件下において葉の厚さに異常のある変異体を探索し、その原因遺伝子を特定することを目指している。そのために、レーザ変位センサを用いることで、簡便かつ高精度での葉の厚さの測定が可能な系を確立した。現在はこれを用い、シロイヌナズナの変異体系統群に対して網羅的なスクリーニングを行なっている。

P-58

DNA 損傷が誘導する幹細胞の細胞死に関わる新奇因子 *DDI1* の単離

久永哲也^{1,2}, 杉本慶子², 塚谷裕一¹

¹東大・院・理; ²理研・CSRS

多細胞生物の幹細胞は他の分化した細胞に比べ DNA 損傷に感受性が高く、細胞死を起こすことが知られている。動物では DNA 損傷時に p53 が機能してアポトーシスが誘導されるのに対し、植物は p53 やアポトーシス関連遺伝子を持っておらず、どのように細胞死を起こしているかは未解明である。この問題を解決するべく、DNA 損傷応答が恒常的に活性化しているシロイヌナズナ *fasciata1(fas1)* 変異体に着目して研究を行なった。*fas1* 変異体の根端では幹細胞の細胞死が観察されるが、この表現型を部分的に抑圧する *dna damage inducible1(ddi1)* 変異体を単離した。*DDI1* 遺伝子の機能解析を行なったところ、*DDI1* は DNA 修復に関わることが示唆された。