

日本植物形態学会第 26 回大会 研究発表要旨集

日本植物学会共催



2014 年 9 月 11 日

明治大学生田キャンパス

プログラム

総会および植物形態学会3賞授賞式(14:00-14:45 第二校舎 A 館 2 階, J 会場)

「学会賞」: 峰雪 芳宣 (兵庫県立大・院・生命理学)

「平瀬賞」: 代表受賞者: 市橋 泰範 (理研・環境資源科学)

Ichihashi Y, Aguilar-Martínez J, Farhi M, Chitwood D, Kumar R, Millon L, Peng J, Maloof J, Sinha NR. (2014)

Evolutionary developmental transcriptomics reveals a gene network module regulating interspecific diversity in plant leaf shape.

PNAS 111: E2616-E2621.

「奨励賞」: 市橋 泰範 (理研・環境資源科学)

受賞記念講演会(15:00-16:15 第二校舎 A 館 2 階, J 会場)

「奨励賞」: 市橋 泰範(理研・環境資源科学)

「葉の形の発生と進化における分子メカニズム」(15:00-15:30)

「学会賞」: 峰雪 芳宣 (兵庫県立大・院・生命理学)

「分裂準備帯と細胞分裂面の確立」(15:35-16:15)

展示発表(16:30-18:00 第二校舎 A 館 4 階, P4 会場)

※例年と異なり、当日のポスター持ち込みはできません。また、ポスター会場のある第二校舎 A 館 4 階は、廊下・ロビーも含め全面的に飲食禁止ですのでご注意ください。

懇親会(19:00-21:00 TBA)

※生田駅南口出て右折、徒歩 30 秒。川崎市多摩区生田 7-2-12

Tel 050-5831-6921

シンポジウム・関連集会のお知らせ

翌日から開催される日本植物学会第 78 大会では、日本植物形態学会共催のシンポジウムとして、「細胞の機能を 3D イメージングで観る」(9 月 12 日 14:30~17:30, オーガナイザー: 鮫島正純 会員)が開催されます。

こちらにも奮ってご参加をお願いします。

(詳細は、日本植物学会大会プログラムをご参照ください)

日本植物形態学会第 26 回大会発表要旨

P-001 (平瀬賞受賞ポスター)

Evolutionary developmental transcriptomics reveals a gene network module regulating interspecific diversity in plant leaf shape.

Ichihashi Y, Aguilar-Martinez J, Farhi M, Chitwood D, Kumar R, Millon L, Peng J, Maloof J, Sinha NR. (2014) *PNAS* 111: E2616-E2621.

代表受賞者:市橋 泰範
理研・環境資源科学

P-002

環境に応じて葉形を変化させる植物 *Rorippa aquatica* を用いた葉形制御機構の解明

中山北斗^{1,2}, 中山尚美³, 小島美紀子⁴, 榊原均⁴,
Sinha Neelima⁵, 木村成介¹
¹京産大・総合生命, ²日本学術振興会, ³Univ.
Edinburgh, ⁴RIKEN・CSRS, ⁵Univ. California at Davis

生物は常に周りの環境に応答し、時にはその表現型を変化させる。植物では、環境に応答して、葉の形態を変化させる現象が古くから知られ、この現象は異形葉性と呼ばれている。しかしながら、その詳細な制御メカニズムは未だ明らかになっていない。そこで私たちは、顕著な異形葉性を示すアブラナ科の *Rorippa aquatica* を用いて異形葉性の制御機構の解明を目的として研究を行ってきた。これまでに形態学的、発生学的、および分子生物学的解析を行ない、KNOX-GA 遺伝子モジュールが環境に応答して変化することを明らかにした。これら解析結果をもとに、*R. aquatica* の異形葉性の制御に関わる分子基盤について議論したい。

P-003

ヒマラヤスギ周囲の裸地形成には複数の要因が関与する

藤澤真帆¹, 宮内友恵², 高谷敦子², 酒井敦²
¹奈良女子大・院・人間文化,
²奈良女子大・理

マツ科の常緑針葉樹ヒマラヤスギ (*Cedrus deodara*) の周囲には、しばしば草本植物が生育しない、あるいは生育不良となる領域 (裸地) が存在する。本研究では、この裸地形成メカニズムを明らかにするため、多数のヒマラヤスギの裸地観察、ヒマラヤスギの他感作用ポテンシャルの調査、並びにヒマラヤスギ周囲における環境因子や細根分布状況の測定・調査を行った。その結果、ヒマラヤスギ周囲の裸地は、主として地表に堆積した枯葉により、遮光効果ならびに揮散・溶脱により放出される化学物質の効果を通じて形成されることが示唆された。また、個体あるいは状況によっては根も、滲出により放出される化学物質の効果を通じて裸地形成に関与する可能性が示唆された。

P-004

藓類ヒメツリガネゴケの葉緑体にペプチドグリカンが存在するか

松下祐美¹, 平野隆之¹, 武智克彰¹, 瀧尾進^{1,2},
高野博嘉^{1,3}
¹熊大・院・自然科学, ²熊大・沿岸域, ³熊大・IPPS

細菌の細胞壁構成成分であるペプチドグリカン (PG) は細胞の伸長や分裂に関与する構造物である。藍藻は PG を持つが緑色植物の葉緑体に PG は無く、進化の過程で消失したと考えられてきた。しかし、ヒメツリガネゴケは PG 合成に十分な遺伝子群を核ゲノム上にコードしており、これらの遺伝子をそれぞれ破壊すると葉緑体の分裂阻害による巨大葉緑体が出現した。この結果はコケの葉緑体が PG を持つことを示唆しているが、通常の電子顕微鏡による観察では包膜間に PG 様の構造は見られない。現在、PG 合成系の最終段階で働くペニシリン結合タンパク質 (PBP) に対する抗体を用いて解析中である。

P-005

ライブイメージングとシミュレーションによるクロマチン配置と動態の解析

平川健¹, 安藤格士², 杉田有治², 松永幸大¹
¹東理大・院・理工, ²理研 QBiC

真核生物における細胞核内のクロマチン配置と動態は、DNA の複製、転写、修復などの生物学的過程と密接に関わっている。クロマチン配置と動態については様々な知見やモデルがあるが、多くは固定化した細胞を用いた実験から得られたものである。本研究は、クロマチン蛍光タグシステムが導入されたシロイヌナズナを用い、クロマチン配置と動態のライブイメージング解析を行った。その結果、シロイヌナズナのクロマチン配置には規則が存在することを明らかにした。次に、 γ 線照射による DNA 二本鎖切断がクロマチン配置に影響を及ぼすことを明らかにした。さらに、分子力学的シミュレーションによる解析を進めたので、報告する。

P-006

イメージング MS 法を用いた植物光応答のメタボロミクス

小塚俊明¹, 高橋勝利², 澤田有司³, 平井優美³,
長谷あきら¹
¹京大・院・理, ²産総研・計測フロンティア,
³理研・CSRS

本研究は、フィトクロムによる新たな代謝制御機構の解明を目的として、シロイヌナズナ芽生えの脱黄化応答メタボロミクスを実施した。まずワイドターゲットメタボローム分析により、脱黄化応答における代謝変動はフィトクロム活性化に大きく依存することが示された。興味深いことに、ショ糖の内成量が脱黄化応答によって顕著に減少していた。そこで、イメージング MS 法によりショ糖の生体内空間分布を解析した結果、ショ糖は黄化芽生えの子葉に蓄積するが、脱黄化応答によって速やかにその蓄積が減少することが解った。他の代謝物についても解析を進めており、本大会ではフィトクロムによるショ糖生合成に関わる中心代謝制御について議論する。

P-007

シロイヌナズナにおけるコヒーシンの局在解析

古賀友紀乃, 林耕磨, 藤本聡, 松永幸大
東理大・理工

コヒーシンは、細胞分裂の際に姉妹染色分体の接着に働くタンパク質複合体であり、真核生物で広く保存されている。しかし、動物と酵母に比べ、植物の間期染色体におけるコヒーシンの知見は少ない。植物における細胞分裂の様式を解明するためにも、コヒーシンの機能解析は必須である。そこで、本研究ではシロイヌナズナのコヒーシンサブユニットのうち、SCC3とSMC3に着目し、植物におけるコヒーシンの機能解析を行った。今回 SMC3とSCC3をターゲットとした抗体を作製し、花芽免疫による局在解析を行ったところ、核への局在を確認した。

P-008

植物ホルモンによるクロマチン構造制御システムの探索

長谷川淳子¹, 坂本卓也¹, 綿引雅昭², 松永幸大¹
¹東理大・院・理工, ²北大・院・理

クロマチン構造制御は遺伝子発現に影響を与える生命にとって重要なシステムであり、DNA 損傷耐性にも影響を与えることが報告されている。クロマチン構造に変化をもたらす分子の研究は盛んに行われてきており、近年では一部の植物ホルモンがクロマチン構造を制御するということが明らかになってきた。しかしながら、そのシステムはまだ多くの謎を残している。我々はクロマチン構造制御について報告のないオーキシンとクロマチンリモデリング因子の相互作用について着目し、研究を行っている。本発表ではオーキシンとクロマチンリモデリング因子の相互作用によって DNA 損傷耐性がどのように変化するかを議論したい。

P-009

大気圧走査電子顕微鏡による植物形態観察

大南祐介, 中林誠, 河西晋佐, 伊東祐博
(株)日立ハイテクノロジーズ

植物組織などの含水バルク試料を顕微鏡観察するために, 大気圧下で観察可能な走査電子顕微鏡(SEM)を開発した. 本大気圧 SEM では, 大気-真空間を分離する隔膜と, 観察試料と隔膜とが非接触な状態にすることが可能な試料ステージを設けることによって大気圧下での SEM 観察が可能である.

本発表では, 試料配置空間を大気状態であるために, これまで試料前処理無しでは観察が困難であった植物, 細菌, 生体組織などの大気圧下で SEM 観察した結果を報告する. さらに, 光学式の顕微鏡で観察した試料を大気圧 SEM にて同一部位を観察する光-電子相関観察可能な技術について紹介する.

P-010

原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* のミトコンドリア分裂におけるオーロラキナーゼの機能解析

岡村枝里佳¹, 加藤翔一¹, 松永朋子¹, 大沼みお², 黒岩常祥², 松永幸大¹

¹東理大・理工, ²立教大・理

正確に制御された細胞分裂は, 重要な生命維持機構の一つである. そこで, 我々は紡錘体形成に働く分裂期キナーゼとして知られているオーロラキナーゼに注目した. 今回, シンプルな細胞内構造をもつ原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae*(シズン)を用いて, オーロラキナーゼの普遍的な機能に迫ることにした.

シズンを用いた免疫染色により, シズンのオーロラキナーゼ(CmAUR)がミトコンドリアに局在することが分かった. また, *in vitro* キナーゼアッセイやドミナントネガティブ変異体を用いた実験から, CmAUR がミトコンドリア分裂実行因子 *Dnm1* をリン酸化し, ミトコンドリア分裂を制御している可能性が示された.

P-011

QTL 解析による京野菜のミズナとミブナに見られる葉形変異の遺伝学的解析

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明大・農, ³日本学術振興会, ⁴京府大・生命環境

京野菜であるミズナとミブナ (*Brassica rapa* var. *nipposinica*) は, 互いに変種であるが, 葉形が大きく異なる. しかし, その葉形変異の遺伝学的背景は明らかになっていない.

本研究では, ミズナとミブナの形態の違いに寄与する遺伝子座を明らかにするため, QTL 解析を行った.

開発したマーカーと表現型の定量法を用いて QTL 解析を行ったところ, 葉の形態の複雑さについて4つの QTL が見られた. さらに詳しく調べると, 葉の形態の複雑さは, 鋸歯の高さとローブの深さという2つの要素に分解できることが分かった. 現在, ゲノムデータより葉形に寄与すると考えられる候補遺伝子の同定と, 発現解析を行っている.

P-012

GFP チューブリン形質転換ラインを用いたヒメツリガネゴケの原糸体と茎葉体における微小管動態の研究

矢部智幸¹, 武智克彰¹, 滝尾進^{1,2}, 塚谷裕一³, 佐藤良勝⁴, 高野博嘉^{1,5}

¹熊大・院・自然科学, ²熊大・沿岸域, ³東大・院・理, ⁴名大トランスフォーマティブ生命分子研究所 (WPI-ITbM) ライブイメージングセンター, ⁵熊大・IPPS

ヒメツリガネゴケの細胞伸長様式は原糸体では先端成長であり, 原糸体から茎葉体に分化してくると極性伸長に変化すると考えられている. 原糸体では間接蛍光抗体法などで, 細胞の長軸にほぼ沿った細胞表層微小管が観察されているが, 茎葉体の微小管は観察されていない. そこで茎葉体の微小管を観察し, 極性伸長との関係を調べるために, 茎葉体でも発現するプロモーターを用いた GFP チューブリン形質転換ラインを作成した. その結果茎葉体の先端や若い葉の細胞では, 他の種子植物でみられるような細胞の長軸方向に対して垂直に配向した細胞表層微小管が観察された.

P-013

葉の透明化処理による細胞体積と核相の3D解析

中川優南¹, 長谷川淳子², 片桐洋平², 松永幸大¹
¹東理大・理工,²東理大・院・理工

近年、顕微鏡技術の進歩により、1細胞レベルの解像度での3Dイメージングが可能になってきた。しかし可視領域の光は細胞内で散乱してしまい、植物体を深部まで観察することが難しい。近年、動物では形態学の分野において、成体マウス全脳の透明化が開発されている。そこで我々は植物組織の深部まで、1細胞レベルでの3D解析を可能にするために、透明化処理技術の確立を目指している。シロイヌナズナの葉を透明化することによって、柵状組織における体積や核相の解析を、より容易にすることに成功した。本発表では透明化技術を用いて、葉の発達段階を継時的に調べたデータについて紹介する。

P-014

広域 TEM 像取得システムを用いたタバコ培養細胞のオルガネラ定量解析

豊岡公徳¹, 佐藤繭子¹, 若崎眞由美¹, 朽名夏磨², 永田典子³, 松岡健⁴
¹理研・CSRS,²東大・院・新領域,³日本女子大・理,⁴九大・院・植物栄養

高解像度かつ広域のTEM像を取得可能な広域TEM像取得システムと高圧凍結技法を組合せ、タバコ培養細胞BY-2株におけるオルガネラ数の変化と超微形態解析を行った。対数増殖期と定常状態期の広域TEM像を取得し、オルガネラ数を定量した結果、対数増殖期から定常状態期に移行する際に、多胞体とプラスチドの数は大きな変化が無かった。一方、定常状態期では、ゴルジ装置の数は変化が無かったが層板数が減り、層板の幅が狭くなっていた。さらに、小胞クラスターの数とその小胞数、ペルオキシソーム、ミトコンドリアは減少することがわかった。

P-015

シロイヌナズナ根端組織におけるER body様構造体の超微形態解析

橋本恵¹, 成川苗子¹, 佐藤繭子¹, 若崎眞由美¹, 岡本龍史², 豊岡公徳¹
¹理研・CSRS,²首都大・理工

広域TEM像取得システムを用いて、高圧凍結固定/凍結置換した発芽10日目のシロイヌナズナ根端全体の広域TEM像を取得し、細胞内輸送系オルガネラの分布を調べた結果、側部根冠領域にER bodyのような小胞体由来の紡錘形の構造体が多く存在することを見出した。そこで、小胞体残留シグナルを持つGFPを発現する形質転換シロイヌナズナの根端を共焦点レーザー顕微鏡およびTEMで詳細に観察した結果、野生型同様に側部根冠領域にER body様構造体が多く観察された。さらに、それらが液胞と融合している像が観察された。現在、形態学的解析を進めるとともに、根冠ER bodyの機能について解析を進めている。

P-016

シロイヌナズナにおける染色体制御因子Cnd IIの機能解析

杉山智哉¹, 坂本卓也¹, 松永幸大¹
¹東理大・院・理工

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。可視化ラインやFISH、免疫染色による染色体の観察を行った結果、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-017

シロイヌナズナにおける核ラミナタンパク質 CRWN の解析

坂本勇貴¹, 杉山智哉¹, 高木慎吾², 松永幸大¹
¹東理大・理工, ²阪大・院・理

植物の細胞核の形態は植物種, 器官, 組織, 細胞種によって様々に異なっている. 我々はシロイヌナズナ葉の核ラミナ画分から核の形態制御に関与する因子として CROWDED NUCLEI1 (CRWN1) と CRWN4 を同定した. シロイヌナズナは4つの CRWN 分子種を持っているため, *crwn1-crwn4* の単独遺伝子破壊株および *crwn1/4*, *crwn2/3* の二重遺伝子破壊株を作成し, 核の形態, DNA 量, クロマチン配置についての解析を行った. また, CRWN-GFP を発現する植物体を作成し CRWN1-CRWN4 の細胞内局在解析を行った.

P-018

オーキシンによる花芽形成の開始機構

山口暢俊, ドリスワグナー
ペンシルバニア大学・生物

花芽原基の位置は, オーキシンの濃度勾配にしたがって決定される. しかし, その位置情報にもとづき花芽原基の運命決定と成長が起こる分子機構は明らかにされていなかった. オーキシンのシグナルにตอบสนองした遺伝子発現の制御において重要な役割を担うのが, オーキシン応答性転写因子である. このうちのひとつが欠損した *mp* 変異体では花芽原基が形成されず花茎はピン状になることから, MP の標的が花芽原基の位置決定のち起こる発生の過程を実行していると考えられる. 我々は, MP により直接的に転写を制御される下流遺伝子として, 花芽分裂組織の性質を決定する *LFY* 遺伝子, 花芽原基の成長を促進する *ANT*, *AIL6* 遺伝子を同定した. これら 3 つの遺伝子は花芽形成を開始するため協調してはたらいていることを明らかにした.

P-019

シロイヌナズナ雌性配偶体発生における細胞個性獲得変異体の解析

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

被子植物の重複受精過程において, 雌性配偶体を構成する卵細胞・中央細胞・助細胞・反足細胞は, それぞれ異なる機能を担っているが, どのように各細胞個性を獲得するのかはまだまだ明らかではない. 我々は, 胚発生可視化マーカーラインを作成中に, 一つの胚珠に 2 個独立した胚が生じる新奇変異体を得た. その表現型より, 通常胚嚢に 1 つである卵細胞が 2 つ生じていることが考えられた. 変異体において, 各細胞特異的マーカーの発現を解析した結果, 助細胞になるはずの細胞が卵細胞になっていることが示唆された. 本変異体の原因遺伝子を明らかにすることによって, 雌性配偶体発生における細胞個性獲得メカニズムの解明に寄与できると期待される.

P-020

生体深部イメージングによる花粉管ガイダンスの「形」と「通り道」の解析

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

花粉管はめしべ内を伸長し, 迷うことなく胚珠へ到達し受精する. この現象は花粉管ガイダンスと呼ばれ, 植物が種子を作るために重要なステップである. しかし, 一連の過程はめしべ深部でおきるため, *in vitro* での解析が主であり, いまだ未知の点が多い. そこで我々は, *in vivo*, すなわち生きためしべ内で花粉管ガイダンスの仕組みを解明することを目的に実験をおこなった. 始めに, シロイヌナズナの各組織を可視化し, 花粉管の「通り道」と花粉管ガイダンスの「形」を深部まで詳細に観察した. 次に, めしべを生きたまま長時間観察する方法を開発し, 2 光子顕微鏡を用いて花粉管伸長と花粉管ガイダンスの「動き」をライブイメージングすることに成功した.

P-021

単細胞紅藻の細胞周期における葉緑体分裂チェックポイント

墨谷暢子^{1,2}, 藤原崇之¹, 恵良厚子^{1,2}, 宮城島進也^{1,2,3}
¹ 遺伝研・新分野, ²JST・CREST, ³総研大・生命科学

葉緑体を1つしかもたない単細胞藻類では、葉緑体数を維持するため細胞周期と葉緑体分裂周期の同調が必要である。本研究では単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* を用い、葉緑体分裂を阻害したときの細胞周期の進行について調べた。分裂初期に葉緑体分裂遺伝子 FtsZ の過剰発現により葉緑体分裂を阻害すると細胞周期はprophaseで停止した。分裂後期にFtsZを過剰発現すると核を2個もった細胞が観察された。これより、葉緑体分裂の初期に葉緑体分裂阻害がおこると細胞周期進行は停止するが、ある程度葉緑体分裂が進行してから分裂阻害がおこると細胞周期進行は停止しないことが示唆された。

P-022

耐塩性イネ科植物ローズグラスにおける塩腺細胞の微細構造とその形成

大井崇生, 三宅博, 谷口光隆
名大・院・農

ローズグラス(*Chloris gayana* Kunth)は体内に取り込んだ過剰な塩類を葉表皮上の塩腺から排出する。ローズグラスにおける塩腺は2細胞性の毛状突起(小毛)であり、これを構成する2つの細胞は細胞質密度が高く、ミトコンドリアを多数有するなど発達した細胞内構造を示す。特に基部側の細胞は、その内部に伸びた多層の膜を有しており、細胞内外の接触面を拡大し、膜を介したイオンの能動輸送の効率を高めていると考えられている。しかし、この膜構造の由来(細胞膜か、小胞膜か)や、その形成過程は不明である。本報告では、展開中の葉における未成熟な塩腺の形態観察の結果をもとに、塩腺細胞に特異的な微細構造の形成過程について議論したい。

P-023

長期間の過重力環境がシロイヌナズナ花茎の組織形態に与える影響

篠原弘徳¹, 唐原一郎¹, 村本雅樹¹, 玉置大介¹,
久米篤², 井上弘¹, 神阪盛一郎¹
¹ 富大・院・理工, ² 九大・院・農

重力は植物の生活環の諸過程に常に影響を及ぼす重要な物理的環境要因であるが、その影響として既知のものは、全生活環の観点から見るとごく一部と推測される。それを明らかにしていくために、筆者らは長期間のシロイヌナズナの過重力栽培を試み、花茎における組織形態に与える影響を調べた。

20-23日齢の植物体を、光を照射しながら10Gの過重力環境下で10日間生育させ、花茎の横断切片を観察した。各組織の面積・細胞数を調べた結果、過重力処理による横断面積増加は多くの組織においてみられる一方で、細胞数増加は木部および維管束形成層に限られた。以上より、過重力環境下においては、多くの組織で細胞が拡大生長することで花茎が太くなるとともに、木部においては細胞数を増やすことで花茎の機械的強度を増すことに寄与している可能性が示唆された。

P-024

超解像度顕微鏡を用いた植物細胞核内構造体のイメージング解析

横山諒平, 林耕磨, 林世莉, 松永幸大
東理大・院・理工

ヒトや酵母ではDNA複製時に複製フォーカスと呼ばれる核内構造体が観察される。複製フォーカスは複数の複製起点が集合した核内構造体であり、DNA複製の効率を上げる為に形成されると考えられている。複製フォーカスはBrdUやDNA複製関連因子の免疫染色により、酵母や動物細胞で可視化されてきたが、植物細胞ではほとんど報告されてこなかった。

本研究では、チミジンのアナログ物質である5-Ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU)を様々な植物に取り込ませ、共焦点レーザー顕微鏡の約10倍の分解能を誇る超解像度顕微鏡 Stochastic Optical Reconstruction Microscopy(STORM)を用いて植物の複製フォーカスの可視化を試みた結果を報告する。

P-025

ストレプトカルプス属における茎頂分裂組織の形態学的解析

西井かなえ^{1,2}, 岩元明敏¹, Sadie Barber²,
Michael Möller²

¹東京学芸大・自然

²Royal Botanic Garden Edinburgh

イワタバコ科 *Streptocarpus* の最も派生的な群(ケーププリムローズクレード)に属する無茎種は、通常は茎頂分裂組織を持たず、葉身と葉柄が介在分裂組織によって成長し、葉身の基部に存在する溝分裂組織から偽ロゼット様に葉を発生する(excentric rosulate 種)。しかし、このクレードの中に例外的に茎頂分裂組織を再獲得した種がある(centric rosulate 種)。本研究では、centric rosulate 種(*S. kentaniensis*)の茎頂の形態学的解析を行い、excentric rosulate 種(*S. rexii*)の茎頂と比較することで、再獲得された茎頂分裂組織の特徴を明らかにした。また交配により作出した *S. kentaniensis* × *S. rexii* の雑種第一、第二世代の茎頂と親世代の茎頂との比較を行ったところ、茎頂分裂組織再獲得は優性的に制御されていることが示唆された。

P-026

緑藻 *Botryococcus braunii* B 品種のコロニーシースと細胞壁の細胞化学的解析

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

B. braunii は多量の炭化水素を生産し、それらを細胞外に蓄積するため、バイオ燃料の開発で注目されている。しかし、形質転換体の作製はまだ成功していない。多量の細胞外炭化水素やコロニー全体を取り囲む幅約 6 μm の繊維状多糖層(コロニーシース; CS)が遺伝子導入を困難にしていると考えられた。そこで、CS と細胞壁の化学的性質を主に電子顕微鏡レベルで解析した。多糖を検出する銀メテナミン法では、銀粒子は細胞壁より CS 繊維上により高密度に検出された。*B. braunii* A 品種から単離したヘミセルロースとペクチンを抗原として作製した各抗体を用いて免疫電子顕微鏡法を行った結果、細胞壁にはヘミセルロースとペクチンが共に検出された。

P-027

26S プロテアソームサブユニット RPT5a 変異株の根端形態解析

坂本卓也¹, 松永幸大¹

¹東理大・理工

26S プロテアソームは、巨大なタンパク質複合体で、主にポリユビキチン標識されたタンパク質を能動的に分解することで、様々な生命現象を制御する。我々は、これまでに 26S プロテアソームのサブユニット RPT5 に着目し解析を行い、様々なストレスによって *rpt5a* 変異株の根端の形態が異常になることを示してきた。このことは、RPT5a がストレス条件下で根端成長を制御することを意味する。そこで、RPT5a が関わる根端成長の制御機構の理解を目的とし、根の伸長に密接に関わるオーキシン応答の観点から *rpt5a* 変異株の解析を行った。

その結果、RPT5a は特定のストレス条件下では、オーキシン応答依存的に細胞分裂の方向・頻度を制御することにより根端の形態を維持している可能性が考えられた。

P-028

葉の柵状組織における DNA 量と細胞体積の相関解析

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, ²東大・院・理

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表皮細胞に着眼した解析が主で、内部組織を対象にし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による解析で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 DNA 量と細胞体積の相関が低く、核内倍加の進行度が低いことがわかった。さらに葉の形態形成と核内倍加と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-029

原糸体細胞が屈曲を示すヒメツリガネゴケ光呼吸関連遺伝子変異体 *pplrgB1* の解析

中原仁¹, 武智克彰¹, 佐藤博², 滝尾進^{1,3}, 高野博嘉^{1,4}
¹熊大・院・自然, ²熊大・理, ³熊大・沿岸域,
⁴熊大・IPPS

ヒメツリガネゴケ *PpLrgB1* 変異ライン (*pplrgB1*) では、生育量、光合成活性が減少し、通常直線的に生長する原糸体が屈曲を示す。シロイヌナズナにおける *AtLrgB* の機能は光呼吸経路のグリコール酸/グリセリン酸トランスポーターであり、その変異ラインではグリコール酸やグリセリン酸が蓄積している。グリコール酸の蓄積は *pplrgB1* でもみられ、更に、*AtLrgB* 遺伝子により変異が抑制されたことから *PpLrgB1* は *AtLrgB* と同じ機能を持つと考えられる。*Rubisco* のオキシゲナーゼ反応が低下する高 CO₂ 条件下で *pplrgB1* を培養すると、Fv/Fm や生育量の減少、原糸体の屈曲が抑制された。野生型をグリコール酸、グリセリン酸を添加した培地で培養したところ、原糸体が屈曲を示した。この結果より、*pplrgB1* の原糸体屈曲の原因は、これらの有機酸による細胞壁への影響、または酸に対する細胞の忌避反応だと推測できる。

P-030

オーロラキナーゼによる転写因子のリン酸化制御

中村優花¹, 高木麻衣¹, 坂本卓也¹, 野元美佳², 多田安臣², 根本圭一郎³, 澤崎達也³, 松永幸大¹
¹東理大・理工, ²名大・遺伝子実験施設,
³愛媛大・プロテオサイエンスセンター

オーロラキナーゼは真核生物の間に高度に保存されていることがよく知られている、細胞周期を制御するセリン・スレオニンキナーゼである。しかしながら植物におけるオーロラキナーゼの基質は未だ多く知られていない。そこで我々は、シロイヌナズナのオーロラキナーゼ (*AtAUR*) に存在する3つのパラログのうち *AtAUR1* と *AtAUR3* に着目し、それぞれの新規基質を明らかにした。

α スクリーン手法を用いて *in vitro* において *AtAUR* と結合する転写因子を絞り出し、基質候補として挙げられた転写因子を無細胞系においてタンパク質を発現させた。そのタンパク質を用いて *in vitro* リン酸化アッセイ実験を行い、転写因子が *AtAUR* の基質となりうるかを検証したので報告する。

P-031

シロイヌナズナにおける核形態制御機構の解析

林世莉, 坂本勇貴, 松永幸大
東理大・院・理工

分化した細胞において核は様々な形態を示す。植物の根においても、分裂領域の細胞核は球状であるが、発生に従い細胞核の形態は変化していく。このような核の変形メカニズムや、その役割については未解明な部分が多い。シロイヌナズナの根における細胞の動態と核の変形の関連性を明らかにするために解析を進めた。核膜裏打ちタンパク質・CRWN に変異が入ると、核の形状は異常になる。そこで、CRWN と相互作用する因子を探索するために、免疫沈降を行った。また、CRWN-GFP を発現している植物体を用いて、ライブセルイメージングを行い、核の形態変化過程を詳細に解析した。

P-032

電顕 3D で見たクロレラ類の栄養塩飢餓条件における物質の蓄積動態

吉原真衣¹, 大田修平^{1,2}, 山崎誠和^{1,2}, 竹下毅¹,
許斐麻美³, 平田愛子¹, 河野重行^{1,2}
¹東大・院・先端生命, ²JST-CREST,
³(株)日立ハイテク

単細胞緑藻類クロレラは、栄養塩飢餓条件で培養するとデンプンやオイルを蓄積するが、その蓄積動態と微細構造の関係は明らかにされていない。本研究では栄養塩飢餓と物質の蓄積動態に着目し、2種のクロレラ類 (*Chlorella sorokiniana* と *Parachlorella kessleri*) を比較した。細胞全体の微細構造と物質の位置関係の観察や体積測定は電顕 3D 法を用いて行った。この方法は細胞を 60~100 枚に超薄切片化し、1枚ずつ観察することで、電顕コントラストのまま物質の三次元解析を可能とした。硫黄欠乏培地で培養した細胞を3つの時期に分けて固定し、計12細胞の電顕3Dを作成した。デンプンやオイル、高電子密度顆粒の増加と葉緑体やミトコンドリアの減少の動態を定量解析することが可能となった。

P-033

テッポウユリ精細胞核の二型性について

諏訪互¹, 吉川裕也¹, 上田健治², 田中一朗¹
¹横浜市大・院・生命ナノシステム, ²秋田県大・生物資源

重複受精を行う被子植物の二つの精細胞は、一部の植物種では大きさや細胞小器官の組成において二型性が認められているものの、一般には等価であることが示されている。

ところが最近になって、テッポウユリの雌ずい内を伸長中の花粉管において、二つの精細胞核に明らかな二型性があることが見出された。その二型性は、先導する精細胞核(S1)が追隨する精細胞核(S2)より有意に小さく、クロマチンの凝縮性がより高いものだった。この傾向は精細胞生成直後から受精直前まで常に認められた。細胞レベルでの二型性はほとんどないので、精細胞核クロマチンのエピジェネティックな制御機構の存在が期待される。

P-034

原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* を用いた細胞分裂システムの解析

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東理大・院・理工, 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、基幹的な機能を解明するには適していない。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、真核生物共通の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、相同性解析によって、シズンのコヒーシンサブユニット遺伝子 CmSMC1, CmSMC3, CmSCC1, CmSCC3 を同定した。免疫染色による局在解析を行ったところ、核への局在が確認できた。さらに、ゲノムワイドな解析を可能にするために、各コヒーシンサブユニットに GFP や HA を付加した株を作製した。

P-035

葉の細胞数が減少するシロイヌナズナの *oligocellula6* 変異株の解析

佐藤翔紀¹, 塚谷裕一², 堀口吾朗^{1,3}
¹立教大・院・理, ²東大・院・理, ³立教大・理

葉は有限成長を行ない、最終的な大きさは細胞数と細胞サイズによって決定される。我々は、特に細胞増殖に関わる葉のサイズ制御機構を調べるために、葉の細胞数が減少するシロイヌナズナの *oligocellula6* (*oli6*) 変異株を用い解析を進めている。*oli6* の第一葉を野生型と比較すると、葉肉細胞数と葉の大きさが約 50%に減少する。今回 *oli6* は、播種後 2 日目の時点ですでに野生型よりも葉原基あたりの細胞数が少ない一方、細胞増殖速度は、野生型と *oli6* では差がない事が明らかになった。これらの結果より *oli6* では葉の始原細胞数が減少している可能性が示唆された。また、*oli6* は染色体の一部が重複した変異株であるという事が判明したので、現在これらについて更なる解析を行なっている。

P-036

シロイヌナズナおよびコケ植物における *AN3*, *GRF*, *SWI2* の分子的機能保存性の検討

長野夏未¹, 名和美聡¹, 中田未友希², 西浜竜一³,
河内孝之³, 塚谷裕一⁴, 堀口吾朗^{1,2}
¹立教大・理, ²立教大・理・生命理センター,
³京大・生命科学, ⁴東大・院・理

シロイヌナズナにおいて葉の発生に大きく寄与する *AN3*, *GRF*, *SWI2* は、葉を持たないコケ植物にもホモログが存在する。これらホモログの分子的機能の保存性を検討することで、葉形成に関する進化的知見を得ることを試みている。ヒメツリガネゴケの *AN3* は *an3* 変異体の葉形成に関する表現型を相補した。また *Yeast two hybrid* 法により、シロイヌナズナと同様、ゼニゴケの *AN3* と *GRF* 間の相互作用も確認された。したがって、陸上化の段階で既にこれらの因子が複合体として機能し、その後の進化の過程でも保存されてきたと考えられる。今後、さらなる相補性実験や BiFC 法による相互作用確認、変異体の作成により、これら因子の機能解明を進めていく。

P-037

細胞サイズが小型化するシロイヌナズナ *xs1* 変異株の原因遺伝子の同定と解析

宮田和裕¹, 依藤絵里², 中田未友希³, 塚谷裕一², 堀口吾朗^{1,3}

¹立教大・院・理, ²東大・院・理

³立教大・理

シロイヌナズナの *extra-small sisters1 (xs1)* は葉細胞が小型化する変異株である。器官サイズ制御における細胞伸長の役割を理解するため、原因遺伝子の特定を進めたところ、*xs1-1* は At1g04590 のエキソンに 19 塩基対の欠損を持つことが判明した。これに対応する野生型遺伝子の cDNA に GFP 遺伝子を融合させ、*xs1-1* において過剰発現させたところ、葉細胞が小型化する表現型が回復した。従って、At1g04590 が *XSI* 遺伝子であることが確認できた。この系統を用いて蛍光観察を行なったところ、細胞内の顆粒状構造体に GFP 蛍光が観察され、それらは Mitotracker Red で染色される構造と一致した。これらの結果は、*XSI* が新規のミトコンドリアタンパク質をコードしていること、何らかのミトコンドリア機能が葉の細胞伸長を促進することを示唆する。

P-038

紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の貯蔵脂質とデンブン合成に対する光波長の影響

齋藤貴史¹, 三角修己^{1,2}

¹山口大・院・医, ²JST CREST

Cyanidioschyzon merolae (通称シズン)は単細胞原始紅藻の一種である。シズンはエネルギー貯蔵物質としてデンブンやトリアシルグリセロール(TAG)を合成する。本研究では培養時の光波長条件がそれらの貯蔵物質合成に及ぼす影響を調べることを目的とした。培養光条件に白色・赤色・青色 LED 波長光を設定し、それぞれの連続光照射条件でシズンの培養を行った。細胞形態学的観察の結果、赤色光条件において、白色光・青色光条件と比較して TAG 合成が促進されていることが分かった。一方、青色光条件では TAG はほとんど観察されず、細胞増殖が白色光・赤色光条件より抑制された。これら結果から、赤色光条件では他の 2 波長条件よりも TAG 合成が促進されていることが示唆された。加えて、デンブン量にも変化がみられたので合わせて報告する。

P-039

ゼニゴケ葉状体の暗誘導老化

佐藤友哉, 井上悠子, 森安裕二
埼玉大・院・理工

高等植物の緑葉を暗所に置くと老化することが知られている。これは暗誘導老化と呼ばれ、積極的な自己分解反応を伴った過程である。ゼニゴケ(*Marchantia polymorpha L.*)の葉状体が緑葉と同様な応答を起こすかを調べるため、無性芽から 2 週間生育させた葉状体を 4 日間暗所においた。暗所では葉状体は成長を停止し、退色して黄色くなった。生重量当たりのクロロフィル含量は 4 日間の暗処理で処理前に比べて 70%程度に減少した。このことは、ゼニゴケ葉状体も緑葉と同じように暗誘導老化を起こすことを示唆している。現在は暗誘導老化が促進される変異体をゼニゴケ T-DNA タグラインから単離し、遺伝学的手法で暗誘導老化のメカニズム解析している。

P-040

ヒラアオノリ配偶子の単為発生過程における葉緑体とミトコンドリアの動態の可視化

鈴木亮吾¹, 清水恭夫¹, 市原健介¹, 山崎誠和¹, 桑野和可², 河野重行¹

¹東大・院・新領域, ²長崎大・院・水産

アオサ藻綱の形質転換に関する報告例はこれまでに 2 例のみで、1%以上の形質転換効率を得られる方法は開発されていない。ヒラアオノリ(*Ulva compressa*)は配偶子からの単為発生が可能で、その配偶子は細胞壁をもたない。PEG を用いてアオサ藻綱の *rbcS* プロモーターの下流に GFP をコードするプラスミドを配偶子に導入した。その結果、9~15%程度の形質転換効率で GFP 蛍光を発する個体が観察された。ヒラアオノリ細胞内でミトコンドリア移行シグナルを付加した GFP を発現させたところ、単細胞期の細胞内ではミトコンドリアが細長く繋がっており、多細胞期では粒子状であることがわかった。

P-041

細胞周期の進行に栄養ストレスが与える影響の解析

森田明裕¹, 坂本卓也¹, 藤原徹², 松永幸大¹,
¹東理大・院・理工, 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周期進行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、細胞周期の進行においてどの必須元素が関与しているかを調べた。

細胞周期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-042

細胞内 pH 動態イメージング解析

栗田和貴¹, 金鍾明², 関原明^{2,3}, 松永幸大^{1,3}
¹東理大・理工・応生 ²理研・CSRS ³CREST

植物機能の多くは、細胞の pH に大きく依存している。そのため、細胞質は恒常性を維持するため高い緩衝能力を持つことが知られている。

ヒト子宮頸がん細胞である HeLa 細胞では、細胞内 pH が高いとき、酢酸として H⁺ が取り込まれる。さらに、ヒストンアセチル化が起こることが知られている。このように植物でも pH 変化、酢酸合成、ヒストン修飾が密接に関与し、環境応答に関わる遺伝子発現制御が行われている可能性がある。

本研究では、植物細胞における pH 動態を明らかにすることを目的とし、ライブセルイメージング解析を行った。酢酸条件下やヒストン脱アセチル化酵素阻害剤である TSA 処理での細胞内 pH 動態解析結果から、細胞内 pH の重要性について議論したい。

P-043

細胞増殖と細胞伸長の異常が茎の形態形成に及ぼす影響

Ferjani Ali¹, 前田沙緒理¹, 郡司玄¹, 花井研哉¹,
平野智也³, 風間裕介², 大林祝¹, 阿部知子^{2,3}, 塚谷裕一⁴
¹東京学芸大・教育, 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

de-etiolated(det)3-1 変異体背景でのスクリーニングによって得た A#26-2;*det3-1* 変異株では、細胞数及びサイズがともに *det3-1* と変わらない一方で、花器官数の増加および茎に亀裂が生じるなどの興味深い表現型を示す。ゲノム配列を調べたところ、A#26-2sm 変異は *clv3* の新しいアレルであることが分かった。そこで、CLV シグナル伝達系関連の変異体が示す花器官数の増加と、A#26-2 に見られる茎の亀裂について詳細に調べた。その結果、花器官数はほぼすべての二重変異体 (A#26-2;*det3-1*, *clv1-4 det3-1*, *clv2-1 det3-1*, *clv3-8 det3-1*) において野生型に比べて有意に増加していることが判明した。また茎の亀裂については、*clv1-4 det3-1*, *clv2-1 det3-1* と *clv3-8 det3-1* において確認された。以上により、茎の内部組織で細胞増殖が盛んに行なわれる一方で、表皮細胞がそれに合わせて伸長できないことが、亀裂の発生の引金と推定される。

P-044

ピロリン酸の過剰な蓄積はすべての表皮細胞の発達に影響を及ぼす

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

生体内の約 200 種類の代謝反応によって NTPs が消費されると、ピロリン酸 (PPi) が副産物として生じる。H⁺-PPase の機能欠損株である *fugu5* では、発芽時に細胞質内に過剰に蓄積する PPi が貯蔵脂質に由来する糖新生を阻害することで、柵状組織において補償作用を引き起こす。今回表皮細胞に焦点を当て、この組織における PPi の影響を調べた。その結果、*fugu5* の表皮細胞の形状の単純化に加え、気孔の発生にも異常が見られた。このような異常は貯蔵脂質に由来するショ糖の合成経路の酵素に欠損持つ変異体では見られず、*fugu5* 背景で PPi の除去によって表現型が完全に回復した。さらに、*fugu5* と *an-1* 及び *RIC1 ox* との二重変異体を作成し、遺伝学的相互作用を調べたところ、それぞれの単独変異体に見られない興味深い表現型がすべての表皮細胞で確認された。以上のことから、H⁺-PPase が担う PPi の恒常性保持は正常な表皮細胞の形成に極めて重要であることが強く示唆された。

P-045

貯蔵脂質を基にしたショ糖の生合成を担う遺伝子群の多重変異体における従属栄養成長

高橋和希¹, 塚谷裕一², Ferjani Ali¹

¹東京学芸大・教育, ²東大・院・理

シロイヌナズナは発芽直後の光合成を行わない従属栄養成長時、種子貯蔵脂質からショ糖を合成し、炭素源として用いている。これまで私たちは液胞膜局在型 H⁺-PPase を欠損した *fugu5* 変異体の細胞質ではピロリン酸 (PPi) が過剰蓄積し、糖新生を阻害していることを報告してきた (Ferjani *et al.*, 2011)。

今回、このショ糖合成経路における主要な酵素のうち、グリオキシル酸回路に欠損を持つ変異 (*icl-2*, *mls-2*) および糖新生に欠損を持つ変異体 (*pck1-2*) と *fugu5* との二重変異体を作成した。解析の結果、*icl-2*, *mls-2*, *fugu5 icl-2* および *fugu5 mls-2* における貯蔵脂質分解が遅延することがわかった。興味深いことに、*fugu5* の子葉に見られる補償作用 (細胞数の減少によって引き起こされる細胞の肥大化) は、上記の変異体においても *fugu5* と同程度に引き起こされることが明らかになった。以上のことから、*fugu5* 変異体に見られる補償作用は PPi そのものの蓄積ではなく、従属栄養成長を支えるショ糖の合成量が減少することが原因で引き起こされると考えられる。

P-046

シロイヌナズナの発芽後の成長における貯蔵脂質代謝に欠損を持つ変異体群の総合的解析

森本峻介¹, 塚谷裕一², Ferjani Ali¹

¹東京学芸大・教育, ²東大・院・理

油種子植物において、発芽誘導を受けてから光合成能力を獲得するまでの成長は、貯蔵脂質由来のショ糖生合成に大きく依存している。その中でも、グリオキシル酸回路と糖新生はショ糖生合成における主要な反応系であり、これらに欠損をもつ変異体では胚軸伸長が抑制される。このような変異体において、貯蔵脂質由来のショ糖の合成量は低下していることも知られている。

上記合成経路に関連した研究では主に単独変異体に焦点があてられてきたが、変異が重なった場合の表現型についての報告はまだない。そこで、グリオキシル酸回路上に欠損をもつ *icl-2* と *mls-2*、糖新生に欠損をもつ *pck1-2* の各二重変異体について、発芽時の貯蔵脂質量の継時変化、胚軸伸長および根の長さなどについて調べている。本発表ではその結果に基づき各遺伝子の機能の分担について議論する。

P-047

超高分解能 FE-SEM による微細形態比較を用いた遊泳性灰色藻 *Cyanophora* 属の種分類

高橋紀之¹・佐藤繭子²・豊岡公德²・松崎令¹・

川船かおる¹・川村真依³・奥田一雄⁴・野崎久義¹

¹東大・院・理, ²理研・CSRS, ³高知大・理,

⁴高知大・院・黒潮圏

植物界の原始的形態を保持するとも考えられる灰色藻 *Cyanophora* 属を用いて超高分解能 FE-SEM 観察を実施したところ、細胞外被表面は TEM で観察される嶺 (プレート小胞の重なり) により模様で覆われている事が明らかとなった (Takahashi *et al.* 2014 *Cytologia*)。今回は新規株を含む培養株を用いた形態比較を行ったところ、本属は光顕レベルで細胞が左右 2 葉に分かれる双葉群と長球状の単葉群に大きく分類され、前者では比較光顕観察と FE-SEM 及びフリーズフラクチャ表面微細形態比較により 1 新種 *C. suda* sp. nov. が *C. biloba* と区別された。一方、単葉群では、FE-SEM 表面微細構造には差が見られなかったが、細胞微細形状に差が認められ、*C. paradoxa* と 2 新種 *C. cuspidata* sp. nov. 及び *C. kugrensii* sp. nov. とが認識された。この再分類は分子情報からも支持された。

P-048

ヒロハノマンテマへの黒穂菌を感染によって生じる葯に Y 染色体の関与はあるか

川元 寛章¹, 石井 公太郎², 風間 裕介²,

阿部 知子², 河野 重行¹

¹東大・院・新領域, ²理研・仁科センター

雌雄異株植物ヒロハノマンテマは XY 型の性染色体によって性決定する。ヒロハノマンテマの Y 染色体上には雄蕊発達促進機能 (SPF), 雌蕊発達抑制機能 (GSF), 葯成熟促進機能 (MFF) をもつ領域が存在する。SPF を重イオンビームや γ 線を照射し欠損させることで、雄株から雌蕊も雄蕊もない無性花変異体を作出することができる。黒穂菌は Y 染色体をもたない雌株と、Y 染色体の一部を欠損している無性花変異体でも葯を形成させることができるとわかった。これを指標にして Y 染色体がもつ葯成熟関連遺伝子と常染色体がもつ葯成熟関連遺伝子の関係を明らかにできる考え、感染した雄株、雌株、無性花変異体の葯内の発達段階を調べた。

P-049

X線マイクロCTを使ったシロイヌナズナ乾燥種子の幼根—胚軸の3D細胞幾何解析

福田安希¹, 栗林剛正², 唐原一郎², 山内大輔¹,
玉置大介¹, 上杉健太郎³, 竹内晃久³, 鈴木芳生³,
峰雪芳宣¹

¹兵庫県大・院・生命理学,²富山大・院・理工,
³高輝度光科学研究センター

植物体の形と、それを構成する個々の細胞の形との関係を調べることは、植物の形態形成を細胞レベルで考える上で重要である。我々は試料を非破壊で観察できる大型放射光施設 SPring-8 の X 線マイクロ CT を用いることで、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ecotype Columbia) 乾燥種子内の幼根—胚軸を構成する細胞の形とその積み重なり具合の 3 次元細胞幾何学 (3D cell geometry) 的な解析を可能にした。本研究では、幼根から胚軸にかけての体軸に沿った横断面積の増減と、各細胞層や細胞列の幾何学的な特徴との関連について調べたので報告する。

P-050

接触形態形成が窒素含量の変化を通して光合成に及ぼす影響

田嶋允貴¹, 酒井敦²

¹奈良女子大・院・人間文化,²奈良女子大・理

植物が外部からの機械的刺激 (MS) に応じて体サイズを小型化すること (接触形態形成), また葉における窒素含量と光合成能力の間に正の相関があることは、いずれも知られている。本研究ではミヤコザサなど数種の植物において、この2つの事象が連鎖して起こる場合があるという連鎖反応仮説が示されている。この仮説の一般性を検討するために、野外から採集した 11 種の植物と栽培したシバ類 4 種を材料に、MS の有無が体サイズ、窒素含量、および光合成速度に及ぼす影響を調査した。その結果、調査した植物種の約 40% で上記のような連鎖的反応が成立した。以上の結果から、生活型や生育期間の違いが連鎖的反応成立の可否に影響を及ぼす可能性について検討した。

P-051

シロイヌナズナのみオシン変異に伴うモザイク状の GFP 発現の解析

辻翔平, 川崎健, 山田隆, 藤江誠
広島大・院・先端

当研究室では、シロイヌナズナのみオシン (AtXIF) の変異体 (CS36065) を取得し解析している。XI 型のみオシンはオルガネラ輸送に関与することから、AtXIF の変異が葉緑体の挙動に影響を与える可能性を予想し、CS36065 と pTH37 (CaMV35S プロモータで色素体局在型 GFP を発現) 導入植物を交配した。子孫では GFP 蛍光を発する細胞が、組織内でモザイク状に存在した。この現象は GFP 蛍光が優性の表現型であり、通常は F1 個体ではすべての細胞で蛍光の発現が期待されることに反しており興味深い。モザイク状の発現が CS36065 の変異に限定しているのか AtXIF 変異に一般的なのか確認するために、他の AtXIF 破壊株についても pTH37 と交配し GFP 発現を検討したところ F2 ではモザイク状の発現が示された。

P-052

植物個体の立体情報の取得のための多角的撮影・再構成法の開発

朽名夏磨^{1,2}, 川田亮太³, 杉田(小西)左江子³,
馳澤盛一郎¹

¹東大・院・新領域,²エルピクセル(株),³香川大・農

植物の立体的構造に注目し、多数のサンプルを通し、もしくは長期間に渡って観察することは、分野による種やサイズの違いこそあれ、基本的なアプローチである。近年では器官や個体全体を捉える立体撮像法として、レーザ走査や CT 法が使われることもあるが、コストが高い、連続撮影に不適、といった課題が残る。一方、安価で汎用性の高いデジタルカメラは広く普及し手軽に使われている。このデジタルカメラに我々は着目し、目視では困難な表現形質の測定のための新規画像解析システムの開発を始めた。現在、イネ地上部をデジタルカメラによりさまざまな方向から撮影し、これを 3 次元形状に再構成する試みを進めており、その進捗状況を報告する。

P-053

シダ植物小葉類ヒカゲノカズラの根の二分分枝と頂端分裂組織動態

中嶋淳子¹, 藤浪理恵子², 今市涼子²
¹日本女子大・院・理, ²日本女子大・理

シダ植物小葉類の根は他の維管束植物が内生的に側根形成を行うのに対し、根端が外生的に二分分枝するという特徴をもつ。小葉類のヒカゲノカズラの根頂端分裂組織 (RAM) は種子植物の開放型に似た構造を持ち、RAM 中央部に細胞分裂頻度の極端に低い静止中心 (QC) 様の領域 (QC 様領域) を持つ始原細胞群が存在することが明らかになっている。本研究では、EdU 蛍光染色法と組織染色法を同一切片に用いて QC 様領域のサイズを決定し、二分分枝時における QC 様領域の動態を解析した。分枝初期段階では、QC 様領域はそのサイズを拡大させ、横方向に広がる。その後、QC 様領域のほぼ中央部に小型細胞群 (介在細胞群: IC) が生じ、IC の領域が拡大することによって QC 様領域が二分され、RAM が 2 つ形成し二分分枝すると示唆された。

P-054

ATG8 欠損変異体におけるミトコンドリア母性遺伝

西村芳樹¹, 鹿内利治¹, 東江昭夫²
¹京大・院・理, ²千葉大・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 α 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 α 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 mtDNA の積極的分解、 α ミトコンドリア構造の除去により達成されることが明らかになった。さらに ATG8 変異体においては後者が遅延したものの、母性遺伝への影響は殆ど確認されなかった。これより母性遺伝はオートファジーとは異なる機構により制御されていることが示唆された。

P-055

AtAUR3 による EB1c の微小管動態制御メカニズム解析

高木麻衣¹, 坂本卓也¹, 松永朋子¹, 中神弘史², 橋本隆³, 松永幸大¹
¹東理大・院・理工, ²理研・CSRS, ³奈良先端技術大・院・バイオサイエンス

オーロラキナーゼとは染色体動態に関与するセリン・スレオニンキナーゼであり、真核生物に広く保存されている。シロイヌナズナのオーロラキナーゼ AtAUR3 は動原体に局在する。我々は、plus-end tracking protein である EB1 ファミリーに属する微小管動態因子 EB1c を AtAUR3 の基質として同定した。リン酸化されるアミノ酸に変異を入れて、AtAUR3 による EB1c のリン酸化が EB1c の機能や微小管との結合にどのように影響するかを *in vitro* で解析した。また、根の表現型を解析することで、*in vivo* の機能を確認した。

P-056

Haspin kinase role in regulation of mitosis in BY-2 cells

Elena Kozgunova¹, Tetsuya Higashiyama^{1,2,3}, Daisuke Kurihara^{1,2}
¹Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ., ²JST, ERATO, ³WPI-ITbM, Nagoya Univ.

Central role in regulation of mitosis belongs to phosphorylation by various kinases. Haspin is one of mitotic kinases, yet, its function is poorly understood. Here we show that inhibition of Haspin kinase leads to increased mitosis length and reduced mitotic index in BY-2 cell culture. Moreover, using live cell-imaging, it was demonstrated that Haspin kinase is likely to contribute in chromosome alignment during metaphase, cell plate completion as part of cytokinesis process in plant cells. It suggests that Haspin have multiple roles and is one of the key actors in regulation of mitosis.

P-057

オーロラキナーゼによる微小管動態制御解析

島川敏明¹, 坂本卓也¹, 高木麻衣², 中神弘史³, 松永幸大¹

¹東理大・理工, ²東理大・院・理工, ³理研・CSRS

オーロラキナーゼは細胞分裂の制御因子であり, 真核生物において広く保存されている. シロイヌナズナに存在する 3 つのパラログの中でも, AtAUR1, 2 は細胞分裂中期において紡錘体に局在しており, 機能も冗長性を示す. 紡錘体はチューブリンから構成されており, 様々な因子によってそのサイズ, 方向性や位置などの調節がなされる. 本研究ではオーロラキナーゼの新規基質としてチューブリンに着目し, 動植物に共通した分裂メカニズムの理解を目指している. 今回, *in vitro* において, AtAUR1 とそのオーソログであるヒト AuroraA が α -tubulin をリン酸化することを明らかにしたので, その解析結果を報告する.

P-058

真核生物型 DNA 結合タンパク質 CreSAP は葉緑体核様体の構成的因子である

小林優介¹, 田草川真理^{1,2}, 小田原真樹^{1,3}, 原田尚実¹, 深尾陽一朗⁴, 鹿内利治¹, 西村芳樹¹

¹京大・院・理, ²山口大・理,

³立教大・理, ⁴奈良先端大・植物グローバル

オルガネラゲノム DNA は, タンパク質-DNA 複合体(核様体)を形成する. しかし, 核様体を構成するタンパク質群やそれらの多様性及び進化的変遷についてはあまり理解されていない.

我々は, 緑藻クラミドモナスの葉緑体核様体を質量分析することで, 真核生物由来の DNA 結合ドメイン SAP を 4 つ並列に有する新規の核様体タンパク質 CreSAP を同定した. この遺伝子の機能及び進化的意義について議論したい.

P-059

シロイヌナズナの胚発生制御因子の同定に向けた化合物スクリーニング

木全祐資¹, 佐藤綾人², 東山哲也^{1,2,3}, 植田美那子^{1,2}

¹名大・院・理, ²名大・WPI-ITbM, ³名大・ERATO

多細胞生物は複雑な構造をもつが, その骨格は胚発生中に形成される. 陸上植物であるシロイヌナズナの胚は規則的な細胞分裂を経るが, このパターン形成を担う分子メカニズムは未だほとんど解明されていない. その大きな理由として, 遺伝子の冗長性が挙げられる. つまり, 胚発生期では複数の相同遺伝子が同様に働くので, 単一遺伝子が欠損した変異体では軽微な異常しか見出されないのである.

そこで我々は, 阻害剤が複数の相同タンパク質群に対して効果があることに着目し, 胚発生で働く重複遺伝子を一括して阻害できる薬剤を探索することで, その標的である制御因子を同定することを目指している. 本発表では, このケミカルスクリーニングの進展について報告したい.

P-060

2 光子スピニングディスク顕微鏡による紡錘体形成過程の 3D タイムラプス解析

村田隆^{1,2}, 大友康平³, 日比輝正³, 川上良介³, 中山博史⁴, 野中茂紀^{2,5}, 根本知己³, 長谷部光泰^{1,2}

¹基生研・生物進化, ²総研大・生命科学,

³北大・電子研, ⁴横河電機, ⁵基生研・時空間制御

紡錘体の極が 2 つできることは染色体の分配に必須である. 中心体は紡錘体極の誘導因子だが, 陸上植物の体細胞では中心体なしに 2 つの極が形成される. 紡錘体形成時の微小管の伸長と動きを観察すれば, 極の形成機構を推定できるが, 従来の観察法では時間・空間解像度が不足していた.

スピニングディスク顕微鏡に近赤外超短パルスレーザーを導入した 2 光子スピニングディスク顕微鏡は, ガルバノスキャン 2 光子顕微鏡より高速で高空間解像度の断層観察を実現する. 高速観察に伴う繰り返し励起による光退色は, 2 光子励起により軽減される. 我々は, 顕微鏡の光学系と検出装置の最適化を行い, タバコ培養細胞の紡錘体形成における微小管伸長過程を可視化することに成功したので報告する.

P-061

原始紅藻シズンの遺伝子操作系を用いた高温耐性遺伝子過剰発現の効果

大沼みお^{1,2}, 藤原崇之³, 井元祐太⁴, 廣岡俊亮^{2,3}, 黒岩晴子^{1,2}, 三角修己^{2,5}, 黒岩常祥^{1,2}
¹立教大・理, ²JST・CREST, ³遺伝研, ⁴九大・院・理, ⁵山口大・理

緑藻は様々な条件下で多量の脂質を蓄積し、バイオマス燃料の材料として優れているが、実用化には開放系培養を可能にする、コンタミ防止のための環境耐性能の付与と生産性向上に向けた育種が必須である。しかし現在、緑藻の有用遺伝子情報と遺伝子操作系の開発は十分ではない。一方、高温強酸性という極限環境に棲息する原始紅藻シズンは、ゲノムが完全解読され、遺伝子操作系の開発も進んでいる。我々は、シズンの有用遺伝子情報と、遺伝子操作系を用いて、候補遺伝子の効果を解析し、緑藻類改良の戦略を検討している。

今回、開発した染色体ニュートラルサイトへ高温耐性に関わる活性酸素消去系酵素遺伝子を挿入した株を得た。この遺伝子の挿入株では、高温耐性を獲得していることが示された。

P-062

緑藻アミドロの液胞形成過程における液胞プロトンピロホスファターゼの局在解析

田中学, 幡野恭子
京大・院・人環

液胞を持たないアミドロの遊走子は、網状群体形成後、新規に液胞を形成して栄養細胞へと発達する。これまでに、遊走子のリソソーム様の膜構造は多胞体と融合して液胞の元となる膜区画を形成することを示している。本研究では液胞形成機構を解明するために、抗液胞プロトンピロホスファターゼ(V-PPase)抗体を用いて、液胞形成過程におけるV-PPaseの細胞内局在を解析した。遊走子形成前の原形質領域や遊走子では、粒状の構造が複数染色された。群体形成2時間後の未成熟な複数の液胞や群体形成数時間後の中央液胞では、液胞膜が標識された。V-PPaseは液胞形成前には原形質領域の粒状の構造に分布することが明らかとなった。

P-063

セン類ナンジャモンジャゴケの粘液毛からの共生菌の侵入

村上真祈¹, 久我ゆかり², 嶋村正樹³
¹広島大・理, ²広島大・院・総合科学
³広島大・院・理

陸上植物のほとんどの分類群が菌根を形成するが、根をもたないコケ植物では、仮根が植物体内への菌類の侵入経路となっていることが一般的である。コケ植物の中で系統的に基部に位置し、仮根をもたないナンジャモンジャゴケにおいて、菌類の植物体への侵入経路について観察を行った。ナンジャモンジャゴケの屈地性シュート(横走茎)表面には、粘液を分泌するくちばし型の細胞(粘液毛)が密生している部分があり、そこには共生菌とみられる菌糸が絡み付くように分布している。粘液毛は成長過程でその先端部が突起状に伸長し、細胞壁を失い、粘液の分泌孔が形成される。周辺に集まった菌糸はその分泌孔を通じて粘液毛内部に侵入していることが明らかになった。

P-064

補償作用における細胞肥大シグナルの解析 ～ANGUSTIFOLIA3 キメラ葉の表現型解析より～

江崎和音¹, 別役重之^{1,2}, 亀井保博³, 塚谷裕一¹
¹東大・院・理, ²JST さきがけ, ³基生研

シロイヌナズナにおいて、細胞増殖を正に制御するANGUSTIFOLIA3 (AN3)を機能欠損した変異体では、細胞数が減少する一方で、ひとつひとつの細胞が肥大化する“補償作用”がみられる。先行研究から、この現象は細胞非自律的であることがわかっているが、細胞肥大を引き起こす因子に関しては明らかとなっていない。

この因子の手掛かりを探るために、AN3過剰発現型とan3変異型の細胞の両方を持つキメラ葉を作成し、細胞サイズの点からその解析を行なっている。今回はその結果より、葉原基においてAN3の発現を特定の時期にONまたはOFFにすることが細胞肥大に与える影響について考察する。また、現在、局所的遺伝子発動誘導系(IR-LEGO)によるキメラ葉作製のための条件検討も進めており、その経過についても報告する。

P-065

シャジクモの造精糸分裂過程におけるペルオキシソームの挙動解析

中野渉¹, 林八寿子¹
¹新潟大・院・自然研

完成した精子内の尾部側の色素体領域と核領域の間にペルオキシソームが存在することを既に明らかにした。そこで、造精糸分裂過程におけるペルオキシソームの挙動を免疫蛍光染色や DAB 染色により解析した。その結果、分裂期精細胞のペルオキシソームは細胞質中に散在しているが、変態期になると、核とは反対側に位置するデンプン粒を含む色素体の周縁に複数のペルオキシソームが近接し局在することが確認できた。このことから、分裂期が終わり変態期に入るとペルオキシソームは核とは反対側に位置する色素体と密接な関係を持つようになり、色素体とともに移動し、最終的に精子細胞内の色素体と核の間に位置することが明らかとなった。

P-066

窒素欠乏条件下での原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* のデンプンと TAG 蓄積の関係

田草川真理^{1,2}, 中島庸平³, 三角修己^{1,2}
¹山口大・院・医, ²JST・CREST,
³山口大・理・生物化学

多くの微細藻類では、ストレス環境下におかれると、細胞増殖や光合成の活性が低下し、同化した炭素をトリアシルグリセロール (TAG) やデンプンといった形で蓄積する。しかし TAG とデンプン合成の関係性や、その調節機構の詳細は明らかになっていない。そこで *Cyanidioschyzon merolae* を用いて、経時的に窒素欠乏条件下の TAG とデンプンの蓄積を観察した。通常の培養条件では TAG を蓄積する Lipid Body (LB) やデンプンはほとんど観察されない。一方、窒素欠乏条件では、培養開始 24 時間以降でデンプンの蓄積が、48 時間以降で LB の形成が認められた。しかし qRT-PCR 解析では、デンプン・TAG 合成に関わる遺伝子の発現量にほとんど変化が認められなかった。このことは、デンプン合成が TAG 合成に先行すること、デンプン・TAG 合成の制御は遺伝子発現レベルではない可能性を示唆する。

P-068

The Development of the Unifacial Leaf in *Juncus torreyi* (Juncaceae)

Xiaofeng Yin¹, Takahiro Yamaguchi^{1,2}, Hirokazu Tsukaya¹
¹東大・院・理 ²ACEL

The diverse leaf forms can be categorized as bifacial and unifacial. Bifacial leaves have both adaxial and abaxial side. Unifacial leaves, however, lack adaxial side in their leaf blade. It was shown in a previous study that the leaf blade of unifacial leaves of *Juncus prismatocarpus* is abaxialized at the gene expression level. A different but closely related species, *J. torreyi*, has unique unifacial leaves. From its gross morphology, we suspect its leaf blade has an adaxial sector, although *J. torreyi* belongs to a unifacial-leafed subfamily. It therefore offers a unique opportunity to study the underlying mechanisms of unifacial leaf development and evolution. We have started a detailed study of expression patterns of key genes involved in ad/abaxial patterning and unifacial leaf development. Because the unifacial leaf blade lacks the junction of ad/abaxial side, which is supposed to promote cell proliferation, we have also used EdU staining to examine where the cell proliferation zone is localized. We will discuss on the nature of the development of unifacial leaves in *J. torreyi* based on the data obtained so far.