

日本植物形態学会第33回大会

研究発表要旨集



2021年9月17日

オンライン開催

プログラム

◎ 総会及び日本植物形態学会 3 賞授賞式 (12:00~13:00、Zoom ミーティング メインルーム)

「奨励賞」 坂本 勇貴 氏 (阪大・院・理)

「平瀬賞」 The diversity of stomatal development regulation in *Callitriche* is related to the intrageneric diversity in lifestyles. *PNAS* 118: e2026351118 (2021)

代表受賞者 古賀 皓之 氏 (東大・院・理)

Persistent directional growth capability in *Arabidopsis thaliana* pollen tubes after nuclear elimination from the apex. *Nature Communications* 12: 2331 (2021)

代表受賞者 元村 一基 氏 (立命館大/JST さきがけ)

N-aryl pyrido cyanine derivatives are nuclear and organelle DNA markers for two-photon and super-resolution imaging. *Nature Communications* 12: 2650 (2021)

代表受賞者 佐藤 良勝 氏 (名大・トランスフォーマティブ生命分子研究所)

◎ 受賞記念講演会 (13:00~14:40、Zoom ミーティング メインルーム)

奨励賞受賞記念講演 : 13:00-13:20

植物細胞核の形態を制御する核内構造の研究

坂本 勇貴 氏 (阪大・院・理)

平瀬賞受賞記念講演 1 : 13:25-13:45

アワゴケ属植物でみつかった気孔発生様式の多様性

古賀 皓之 氏 (東大・院・理)

平瀬賞受賞記念講演 2 : 13:50-14:10

シロイヌナズナの花粉管は細胞質に核を持たない状態でも正常に伸長して胚珠へ到達する能力を保持している

元村 一基 氏 (立命館大/JST さきがけ)

平瀬賞受賞記念講演 3 : 14:15-14:35

新規 DNA 染色色素 Kakshine の合成と活用について

佐藤 良勝 氏 (名大・トランスフォーマティブ生命分子研究所)

◎ 研究発表第一部 : ショートトーク (14:45~16:30、Zoom ミーティング メインルーム)

1人2分30秒以下で研究の概要を発表していただきます。発表順は後掲の発表番号順（P001～P032）です。

◎ **研究発表第二部：詳細発表と質疑応答（16:30～18:00、Zoom ミーティング ブレイクアウトルーム）**

16:30-17:00 奇数番号, 17:00-17:30 偶数番号, 17:30-18:00 両方。発表者ごとに割り当てた Zoom ブレイクアウトルーム（発表番号、所属、氏名を表示します）にて、PowerPoint や PDF, Movie など自由に画面共有してそれぞれの研究の詳細について説明していただき、質疑応答を行います。

◎ **18:00-18:30 交流会 1（乾杯、挨拶等 Zoom ミーティング メインルーム）**

◎ **18:30- 交流会 2（自由歓談 Spatial Chat）**

会長ほか挨拶のあと、乾杯をしますので、お飲み物・お食事等を各自でご準備ください。乾杯後、Zoom ブレイクアウトルームは 20:00 まで開けておきますので、自由にご歓談ください。また、Spatial Chat を 6 室 準備します。こちらは好きな時間までご歓談ください。

◎ **シンポジウム・関連集会のお知らせ**

9月16日（木）、9月18日（土）～9月20日（月・祝）に開催される日本植物学会第85回大会において、日本植物形態学会が共催するシンポジウム1件が開催されます。こちらにも奮ってご参加ください。

9月19日（日）9:00～11:30 H会場

「光によって拓く植物細胞内の真の構造機能」

オーガナイザー：植村 知博（お茶の水女子大）、吉田 大和（東京大）

[シンポジウム概要]

超解像イメージング、1分子光計測、タンパク質結晶構造解析といった、「光」を使って細胞内の構造を解き明かす技術が目覚ましい進展を見せている。これらの解析技術は植物科学研究に大きな変革をもたらしており、植物細胞内において機能を生み出す構造の実態が明らかになり始めている。本シンポジウムでは、最先端のナノレベル構造可視化技術を活用する研究者が集い、これら新技術の原理的基盤や技術的な側面、実際の研究例を紹介するとともに、今後の課題について議論する。

P-001

シロイヌナズナの新規器官再生系に關与する青色光受容体 CRY1 の機能解析

山本一成¹, 坂本卓也², 乾弥生¹, 鈴木穰³, 花田耕介⁴, 松下智直⁵, 松永幸大¹

¹ 東大・院・新領域・先端生命, ² 東理大・理工・応用生物, ³ 東大・院・新領域・メディカル情報生命, ⁴ 九工大・情報工・生命情報工, ⁵ 京大・理・生物科学

植物細胞は高い再生能力を持つことが知られている。新規器官再生系においては、切り出した根に、多能性細胞塊であるカルスを形成させ、その後、シュート再生を誘導する。これまでに、光条件がシュート再生能に影響することが知られており、本研究では再生に關わる光シグナルの有無とその機能の解明を目的とした。本研究では青色光シグナルを制御する光受容体の Cryptochrome 1 (CRY1) に着目した。シュート再生実験の結果、*cry1* 変異体においてシュート再生率が低下した。また、野生型株を赤色光のみで栽培すると、シュート再生率が低下した。これらの結果から、青色光シグナル伝達のシュート再生への關与が示唆された。また、トランスクリプトーム解析の結果、野生型株と *cry1* 変異体で大きな差は見られなかった。このことから、CRY1 を介した光シグナルはシュート再生に關わる遺伝子の転写レベル調節以外の働きで、シュート再生に寄与していると考えられた。

P-002

植物の根の DNA 損傷応答における光受容体の機能の解析

福田智代¹, 坂本卓也², 藤原唯², 乾弥生¹, 鈴木孝征³, 松永幸大¹

¹ 東大・院・新領域・先端生命, ² 東理大・理工・応用生物, ³ 中部大・応用生物

植物の光受容体である PHYA 及び PHYB が根における DNA 損傷を抑制する機能を持つことを発見した。

PHY 受容体の変異体 *phyA*, *phyB* に、DNA 二本鎖切断 (DSBs) を引き起こす試薬等処理すると、野生型と比較して、著しい根の伸長阻害や形態形成異常がみられた。さらに、*phyAphyB* 二重変異体は、*phyA*, *phyB* 単変異体と比較して相加的な DSBs 誘導に対する表現型を示したことから、DNA 損傷抑制に關して、それぞれが重複しない機能を有している可能性が示唆された。野生型と *phyAphyB* を用いた接ぎ木実験において、地上部ではなく地下部で発現する PHY が根における DNA 損傷抑制機能を持つことが示された。また、PHY の下流で働くことが知られている転写因子 HY5 及び PIF1 の変異体では、根における DSBs 高感受性はみられなかった。PHYA 及び PHYB が、未知の遺伝子経路を制御することにより、根における DNA 損傷抑制に働くと考えられた。

P-003

シロイヌナズナのカルスを介したシュート再生系に LDL2 が与える影響の解析

堀江綾香¹, 坂本卓也², Diaz Mariana³, 鈴木孝征⁴, 松永幸大¹

¹ 東大・院・新領域・先端生命, ² 東理大・理工・応用生物, ³ チューリッヒ大・植物微生物, ⁴ 中部大・応用生物・応用生物化学

植物は高い再生能力を持つ。カルスを介した器官再生系において、シュート再生能はカルスが由来する組織によって異なり、根と葉では、根由来のカルスの方が高いことが分かっている。これまでに H3K4 特異的脱メチル化酵素 LDL2 の変異体では、野生型と比べて根由来の場合はシュート再生能が低下し、葉由来の場合は上昇することが分かった。このことから、カルスが由来する組織間での再生能の差異に LDL2 が關わる可能性が示された。

そこでまず、H3K4me1/2/3 のメチル化レベルを ChIP-seq で解析した。その結果、根由来と葉由来どちらのカルスでも野生型株と *ldl2* 変異体で差は見られなかった。同様に RNA-seq を行ったところ、根由来と葉由来どちらのカルスでも多くの遺伝子発現に差が見られた。以上から LDL2 は、H3K4 メチル化以外のヒストン修飾制御を通じて、カルスを介したシュート再生に機能する可能性が考えられた。

P-004

核膜孔複合体によるセントロメア配置制御機構の解析

伊藤ななみ¹, 坂本卓也¹, 坂本勇貴², 松永幸大³

¹ 東理大・理工・応用生物, ² 大阪大・理・生物科学, ³ 東大・院・新領域

真核生物におけるセントロメアの核内配置パターンには、セントロメアが核の片側に偏在する Rab1 配向と、核全体に散在する non-Rab1 配向がある。シロイヌナズナは後者の配向をとるが、その配置制御機構は未解明である。本研究は配置制御に關与する因子を探索するため、約 30 種類のヌクレオポリン (nucleoporin : Nup) から成る核膜孔複合体 (nuclear pore complex : NPC) に注目した。17 種類の Nup 変異体においてセントロメア局在を観察した結果、5 種類の Nup 変異体においてセントロメアの配置に異常が生じた。また、これらの Nup 変異体の中には、DNA 損傷に対して高い感受性を示すものがあつた。以上より、NPC とその構成因子である Nup が適切なセントロメア配置を制御することで、ゲノムの安定性の維持に關与することが示唆された。

P-005

講演取り消し

P-006

ピロリン酸の過剰蓄積は子葉の初期発生において細胞自律的に影響する

郡司玄¹, 川出健介^{2,3}, 多部田弘光^{1,4,5}, 堀口吾朗^{6,7}, 浅岡真理子⁸, 及川彰^{5,9}, 平井優美⁵, 塚谷裕一¹⁰, Ferjani Ali¹

¹学芸大・教育・生命, ²基生研, ³総研大, ⁴東大・院・総合文化, ⁵理研 CSRS, ⁶立教大・理・生命, ⁷立教大・理・生命理学センター, ⁸神奈川大・理, ⁹京大・院・農, ¹⁰東大・院・理

液胞膜局在型 H⁺-PPase の機能欠損株である *fugu5* 変異体は、細胞質内のピロリン酸 (PPi) の過剰蓄積に起因する糖新生阻害によって、子葉の柵状組織において補償的細胞肥大 (CCE; Compensated Cell Enlargement) が引き起こされる。一方、*fugu5* の表皮細胞は、野生型と比較して形態の単純化や気孔のバタニング異常が見られ、それら表皮における発生異常は糖新生の代謝異常ではなく、過剰蓄積した PPi の特異的な影響によることが示唆された (Asaoka et al., 2019; Gunji et al., 2020)。そこで本研究では、PPi 過剰蓄積の細胞自律的な影響を明らかにすることを目的とし、表皮または柵状組織のみで特異的な PPi 分解能を導入した系統及び、種子発芽時に限定的な PPi 分解能を導入した系統の解析を行った。その結果、PPi の過剰蓄積は組織特異的に影響すること、またその時期も重要であり、特に初期発生段階における PPi の除去は CCE の抑制に十分であることが判明した。さらに、上記の系統を用いたメタボーム解析を行い、すでに *fugu5* で報告されている糖代謝経路に関連した代謝産物だけでなく、系統ごとに独自に変動する特徴的な代謝プロファイルを示すことが明らかになった。

P-007

***de-etiolated3* の矮化を抑圧する変異体の遺伝学的解析**

木津亮介^{1,2}, 郡司玄¹, 古賀皓之³, 堀口吾朗^{4,5}, 光田展隆⁶, 塚谷裕一³, Ferjani Ali¹

¹学芸大・教育・生命, ²東大・院・総合文化, ³東大・院・理, ⁴立教大・理・生命, ⁵立教大・理・生命理学センター, ⁶産総研

シロイヌナズナの V-ATPase の活性が半減する *det3-1* 変異体では、植物体の矮化、暗所での光形態形成、花茎髄細胞の異所的なリグニンの蓄積などの多面的な表現型が見られる。先行研究では、*det3-1* 背景の矮化を抑圧する変異の選抜が行われ、花茎の長さが野生型並みに回復する *det3-1 set-1* (*suppressor of det3-1*) 二重変異体が単離された。本研究では *set-1* の機能解析を通して、*det3-1* の表現型を抑圧する分子メカニズムの解明を目指した。*set-1* の原因遺伝子に対する T-DNA 挿入株 (*set-2*) を用いて *det3-1 set* 二重変異体を作成した。花茎の長さの比較解析を行った結果、*det3-1 set-1* 及び *det3-1 set-2* は野生型と同程度であった。また、花茎の内部構造の経時的な観察からは、*det3-1 set* において花茎髄細胞の異所的なリグニン蓄積、髄占有割合、髄細胞長、皮層細胞長の回復がみられた。一方、野生型以外のすべての変異体で花茎の肥大成長の鈍化、発生早期の木部分化が示された。以上のことから、*set* 変異は花茎の細胞伸長及び髄細胞の形態形成への関与が推察される。今後はレポーター遺伝子導入株や過剰発現株などの系統を用いて、SET の分子機能を追求する予定である。

P-008

***hope-1* の胚軸に自発的に生じるカルスの遺伝学的小およびオミクス解析を駆使した形成メカニズムの解明**

白鳥みづき^{1,2}, 高橋和希¹, 多部田弘光^{1,2,3}, 古賀皓之⁴, 郡司玄¹, 佐藤心朗³, 堀口吾朗^{5,6}, 平井優美³, 塚谷裕一⁴, Ferjani Ali¹

¹学芸大・教育・生命, ²東大・院・総合文化, ³理研・CSRS, ⁴東大・院・理, ⁵立教大・理・生命, ⁶立教大・理・生命理学センター

植物の癒傷組織に形成される細胞塊はカルスと呼ばれ、高い分裂活性と再生能を持つ。カルスは通常、人為的操作や傷害応答により形成される。しかし我々は *hope-1* 変異体において、人為的な操作を加えずともカルスが自発的に生じることを発見した。また、カルス形成に重要な遺伝子である *WIND*, *ARF7*, *ARF19* の機能抑制、欠損変異体と *hope-1* との多重変異体はカルス形成が抑制されなかった。即ち、*hope-1* では新たなカルス形成機構の存在が示唆された。そこで本研究ではカルス形成過程の未知なる分子機構の解明を目指した。経時的な観察により、*hope-1* の胚軸において播種後 15~20 日目にオーキシンの過剰蓄積、25~30 日目に細胞分裂活性の上昇を見出した。遺伝学、薬理学的的手法により、オーキシンの蓄積及び細胞分裂活性を抑制すると、カルスの発生率やサイズが減少した。そこで、オーキシンの過剰蓄積がストレス応答を生じさせ、細胞が脱分化すると考え、メタボーム解析とトランスクリプトーム解析を行った。その結果、シキミ経路下の代謝産物が顕著な増加傾向を示し、同経路の遺伝子発現変動も大きいことが明らかになった。

P-009

fugu5 の補償的細胞肥大を特異的に促進する鍵代謝産物の特定

多部田弘光^{1,2,3}, 郡司玄¹, 塚谷裕一⁴, 平井優美², Ferjani Ali¹

¹学芸大・教育・生命, ²理研 CSRS, ³東大・院・総合文化, ⁴東大・院・理

補償作用とは、葉を構成する細胞数が減少した場合、葉肉細胞が肥大化する現象である。近年、我々は Class II 補償作用を示す *fugu5* 変異体では、代謝制御を介した IAA 濃度調整機構により、IAA 量が増加することで補償的細胞肥大 (CCE; Compensated Cell Enlargement) が生じることを報告した (Tabeta et al., 2021 PLOS Genetics)。 *fugu5* における細胞数の減少は代謝異常に起因することを意味すると、葉面積は代謝ネットワークの制御下にあることが示唆される。そこで本研究では、メタボローム解析により *fugu5* の発生段階に伴った代謝ネットワークの解明を目指した。GC-MS を用いたワイドターゲット分析と BL-SOM によるクラスタリングの結果、*fugu5* では播種後 4 日目から 8 日目にかけて代謝プログラミングが進行することが判明した。また相関ネットワーク解析により、*fugu5* の CCE と関連の強い代謝産物と代謝経路候補を見出した。さらに、以上の解析から選抜した候補代謝産物を添加し、細胞サイズへの影響を定量解析した結果、CCE を促進する鍵代謝産物 HAF8 (Highly Accumulated in *fugu5* 8 days seedlings) の特定に成功した。現在、HAF8 が CCE を促進する作用機序に焦点を当てて解析を進めている。

P-010

器官サイズや代謝制御におけるピロフォスファターゼ PPsPase1 の役割の解明

東條宏史^{1,2}, 多部田弘光^{1,2,3}, 平井優美³, Hélène Javot⁴,

Ferjani Ali¹

¹学芸大・教育・生命, ²東大・院・総合文化, ³理研・CSRS⁴ CNRS, Aix Marseille Université

生物においてピロリン酸 (PPi) は多くの代謝反応から生じ、PPase によって速やかに除去される。シロイヌナズナは複数の PPase を保持しているが、細胞内の PPi 恒常性におけるそれらの役割は未解明である。液胞膜局在型 H⁺-PPase を欠損した *fugu5* 変異体では、PPi の過剰な蓄積が貯蔵脂質を基とした糖新生を阻害し、スクロース合成量を半減させ、初期発生に異常をもたらす。一方、推定上小胞体局在型 PPase を欠損した *ppspase1* の詳細な解析はされていない。そこで本研究では、*fugu5* の過剰な PPi の蓄積に起因する表現型に着目して、*ppspase1* の解析を行った。その結果、*ppspase1* の子葉の表現型及び黄化芽生えの胚軸伸長は野生型並みであり、*fugu5* に見られる成長抑制を示さなかった。また、メタボローム解析では、*fugu5* の糖新生阻害は、*ppspase1* において生じず、この結果は表現型と一致する。さらに、*fugu5* の表現型は酵母の可溶性 PPase を発現させることで回復することから、*fugu5* 35S::*PPsPase1* を用いて、*fugu5* の表現型の相補の有無を調べた。予想に反して、35S::*PPsPase1* は *fugu5* を相補しなかった。以上により、PPsPase1 は PPi 恒常性への関与が低く、生体内において FUGU5 とは異なる役割をもつと考えられる。

P-011

シロイヌナズナにおける異所的な維管束細胞分化を制御する転写因子と植物ホルモンの関与

朝比奈雅志^{1,2}, 佐藤良介¹, 松岡啓太¹, 柴田恭美¹, 湯本絵美², 近藤侑貴³, 佐藤忍⁴

¹帝京大・理工・バイオ, ²帝京大・先端機器分析センター, ³神戸大・院・理学, ⁴筑波大・生命環境

これまでに我々は、NAC 型転写因子である ANAC071, ANAC096 が、シロイヌナズナ切断花茎の癒合過程における維管束細胞の増殖に関与していることを報告した。また、DOF 転写因子の一種が、これらの ANAC 転写因子によって制御される可能性が考えられた。そこで、維管束分化への影響について VISUAL (Kondo et al. 2016) による解析を行った。その結果、*anac* 多重欠損体では、葉肉細胞から維管束細胞への分化や導管分化関連遺伝子の発現が抑制されたが、DOF 転写因子の一種を ANAC071 プロモーター制御下で発現させると、これらの抑制が回復することが分かった。発表では、これらの異所的な維管束形成に対する転写因子と植物ホルモンの関与について報告する。

P-012

アワゴケ属 (オオバコ科) 植物の葉における気孔分布の多様性

ドル有生, 古賀皓之, 塚谷裕一
東大・院理

植物の気孔は多くの種において葉の裏側に形成されるが、草本を中心に葉の両側に気孔を形成する種もある。また、スイレンなどの少数の種では葉の表側にのみ気孔を形成することも知られる。このように葉の向背軸における気孔の分布は種ごとに多様で、主に (1) 葉の裏のみ、(2) 葉の表と裏両方、(3) 葉の表のみという 3 パターンに分けられる。しかし、この分布の多様化の仕組みについては未だ不明な点が多い。今回私たちはオオバコ科アワゴケ属の植物において、この 3 パターンの全てを含む多様な気孔分布パターンがみられることを発見した。加えて、気孔発生の鍵転写因子の発現領域が気孔分布の違いと対応することを見出した。本発表では以上に基づき、アワゴケ属を気孔分布の進化を研究する新たなモデル系として提案し、現時点の知見を紹介する。

P-013

植物での新奇核膜内膜タンパク質の同定

秋山義樹¹, 澁田未央², 坂本勇貴³, 乾弥生¹, 松永朋子¹, 坂本卓也⁴, 松永幸大¹

¹ 東京大・院・新領域・先端生命, ² 山形大・理, ³ 大阪大・院・理・生物科学, ⁴ 東京理科大・理工・応用生物

核膜は二重膜構造であり, 動物においては核膜内膜の内側にラミンで形成される核ラミナ構造が存在し, 多くの核膜内膜タンパク質と相互作用することが分かっている一方, 植物ではわずか数種しか核膜内膜タンパク質が同定されていない. 本研究は, 植物にて新奇核膜内膜タンパク質を同定することを目的とした. 植物の核膜骨格であるCRWN1を用いたIP-MS解析により候補タンパク質を同定し, タバコを用いて候補タンパク質の細胞内局在パターンを観察し, さらにGFPを2つに分割しN末側を核内にC末側を候補タンパク質に融合させて発現させ, 候補タンパク質が核膜内膜に局在したときのみGFPが再構成され蛍光を発するように設計したsplit-GFP法を用いて核膜内膜局在性を元に絞り込み, タバコにて核膜内膜局在を示す9種の候補タンパク質を同定した. シロイヌナズナを用いて細胞内局在パターンを解析した結果, 9種中6種の候補タンパク質の核膜局在を確認した.

P-014

植物組織透明化手法TOMEIの改良とその効果

坂本勇貴¹, 酒井友希², 佐藤萌子³, 辻寛之³, 西浜竜一^{4,5}, 河内孝之⁵, 松永幸大⁶

¹ 阪大・院・理, ² 神大・院・理, ³ 横浜市大・木原生物学研究所, ⁴ 東理大・理工・応用生物, ⁵ 京大・院・生命科学, ⁶ 東大・院・新領域

植物は多様な色素を細胞内に蓄積しており, これらは深部イメージングの大きな障害となる. この問題を解決するために, 植物組織から色素を除去し透明化する試みが行われてきた. これまでの研究で我々は蛍光タンパク質を消光させずに植物組織を透明化するTOMEI-IIを開発した. TOMEI-IIは迅速に透明化が完了する反面, 組織内にクロロフィルが残存するという欠点があった. 本研究ではTOMEI-IIを改良し, 植物組織から完全にクロロフィルを除去できるimproved TOMEI (iTOMEI)を開発した. iTOMEIは蛍光タンパク質の蛍光を格段に明るく観察でき, 幅広い植物種に応用できる.

P-015

カルスの再生能獲得に関与するエピジェネティック制御因子の機能解析

三浦理奈¹, 坂本卓也¹, 澁田未央², 大矢恵代³, 稲垣宗一³, 鈴木穰⁴, 角谷徹仁^{3,5}, 松永幸大⁶

¹ 東理大・院・理工・応用生物, ² 山形大・理, ³ 東大・院・理・生物, ⁴ 東大・院・新領域・メディカル情報, ⁵ 遺伝研, ⁶ 東大・院・新領域・先端生命

植物の根の先端組織から多能性幹細胞カルスを形成させ, そこから再分化により新規シュートを再生することができる. この再生系の詳細な分子機構は未解明であるが, ヒストン脱メチル化酵素LDL3によるヒストンH3K4の脱メチル化がシュート再生に関与することが近年明らかになった. このシュート再生を制御するエピジェネティック・プライミング機構をさらに解明するために, H3K4メチル化酵素の機能を解析した. H3K4メチル化酵素の機能を欠損させたシロイヌナズナ変異体による表現型実験とChIP-seq解析から, H3K4メチル化酵素がH3K4me2とH3K4me3の修飾レベルを正常に制御することがシュート再生に重要であることが示唆された.

P-016

シロイヌナズナ子葉における表皮細胞の形態形成初期の電子顕微鏡観察

秋田佳恵¹, 高木智子^{1,2}, 檜垣匠³, 永田典子^{1,2}

¹ 日本女子大・理, ² 日本女子大・電顕, ³ 熊本大・IROAST

シロイヌナズナ子葉の表皮細胞において発芽前後は, 細胞内を主に占有するオルガネラがリビッドボディから液胞に変わり, 細胞体積増加に伴って細胞壁の伸展と湾曲が起こるなど, 変化に富んだ時期である. 本研究では播種後に春化处理を経て, 明条件に移した日を芽生え0日と定義し, 芽生え1, 2, 3日の子葉を観察した. 細胞占有率の計測から, 芽生え2日から3日にかけて, リビッドボディの減少と液胞の増加が確認された. また, 各構造間における最短距離を測定したところ, 芽生え2日における色素体の93%は, ミトコンドリアに近接していた. 現在, オルガネラの相互作用を調べるため, 各構造間における接触長の計測に取り組んでいる.

P-017

ガンマ線照射によるシュート再生能力向上のメカニズム解析

東海林朋佳¹, 坂本勇貴², 鈴木孝征³, 乾弥生⁴, 坂本卓也¹, 松永幸大⁴

¹ 東理大・理工・応用生物, ² 阪大・院・理学・生物科学, ³ 中部大・院・応用生物・応用生物, ⁴ 東大・院・新領域・先端生命

植物の再生系の一つに、組織片から多能性細胞塊であるカルス形成を誘導し、さらにそこから再分化によりシュート(地上部)を再生させる系がある。偶然にも、カルス化を誘導する以前に DNA 損傷を引き起こすガンマ線を照射すると、シュートの再生効率が向上することを発見した。そこで本研究では、この再生効率向上をもたらす分子メカニズムを解明することを目的とした。シュート再生に関わる遺伝子発現へのガンマ線照射の影響を検証するため、RNA シーケンスを行った。その結果、カルス誘導前に起こるガンマ線照射による遺伝子発現への影響が、カルス誘導中にも維持され、シュートの再生能力向上をもたらすと考えられた。

P-018

ヒマヤゴヨウのマイクロサテライトマーカー RPS150 の接合性に関する解析

内田美重, 堤浩一, 河木智規, 内田英伸
名古屋文理大学・健康生活・フードビジネス

五針葉をもつマツ属単維管束亜属の *Quinquifoliae* 節に属するヒマヤゴヨウ (*Pinus griffithii*) はネパールまたはブータンと中国との境界部に分布する。東京大学大学院理学系研究科附属小石川植物園の同種株(登録番号 89-1618, 来歴不明)の葉を同園から分与してもらい、RPS150 ないし RPS160 のプライマーセット (Echt ら 1996) を用いマイクロサテライト領域を PCR 増幅、それぞれの forward primer を用いダイレクトシーケンシングを行った。その結果、RPS160 配列には (acag)₃gcag(acag)₃ というタンDEMリピートを含む塩基配列が phred 解析値の高い状態で確認された。一方、RPS150 配列は、5'末端からタンDEMリピート様配列 (gat)₃gag 付近まで phred 解析値の高いシグナルが続いた後、同値が低下、複数の波形が混在したと思われるシグナルが観察された。以上の結果は、既報のハイマツ (*P. pumila*) と同様、当該株の RPS160 遺伝子座はホモ接合、RPS150 遺伝子座はタンDEMリピート付近の配列が異なる 2 つの対立遺伝子からなるヘテロ接合であることを示唆する。本研究は 2021 年度の名古屋文理大学の学長裁量枠 I (908001) と「物質・デバイス領域共同研究拠点」の共同研究プログラムの助成を受けたものである。

P-019

clv det3-1 系統における花茎の亀裂発生過程の更なる解明を目指した組織形態学的研究

明田菜々穂¹, 郡司玄¹, Ferjani Ali¹

¹ 学芸大・教育・生命

器官の発生には細胞増殖と細胞伸長のバランスの維持が不可欠である。これらが乱れた *clv3-8 det3-1* 二重変異体では花茎に亀裂が生じる。先行研究において、花茎内部組織の圧力を受け止める表皮細胞の役割が重要であることが報告された (Asaoka et al., 2021)。本研究では花茎の亀裂発生の際の分子基盤の解明を目指しており、CLV3 ペプチドの受容体に変異を持つ *clv1-4* 及び *clv2-1* と *det3-1* との二重変異体を用いて、花茎の亀裂発生メカニズムの分子機構に着目した。そこで、*clv3-8 det3-1* の亀裂の発生機序をより詳細に解明するため、亀裂の発生場所や回数に加え、亀裂発生時の日数と花茎の長さを経時的に計測した。その結果、亀裂は花茎の中間付近で最も多く発生すること、日数を経るにつれ亀裂の発生場所は先端部側へと変遷することが明らかになった。また、*clv1-4 det3-1* 及び *clv2-1 det3-1* の成熟した花茎第 1 節を観察したところ、*clv1-4 det3-1* の表皮細胞のみが扁平に変形し、この表現型は *clv3-8 det3-1* と類似している。以上のことから、2 つの二重変異体間における表現型の違いは、CLV1 および CLV2 受容体の亀裂発生メカニズムへの寄与の差を示すものと考えられる。

P-020

Class II 補償作用に見られる細胞肥大は V-ATPase を介して引き起こされる

桑原隆志¹, 多部田弘光^{1,2,3}, 郡司玄¹, Ferjani Ali¹

¹ 学芸大・教育・生命, ² 東大・院・総合文化, ³ 理研 CSRS

液胞膜局在型 H⁺-PPase の欠損株である *fugu5* は、発芽時の貯蔵脂質をもとにしたショ糖合成能の低下により補償的細胞肥大 (CCE; Compensated Cell Enlargement) が引き起こされる。この Class II に分類される *fugu5* の CCE は、液胞膜 H⁺ポンプの V-ATPase を欠損した *vha-a2 vha-a3* によって完全に抑制されることから、Class II CCE には V-ATPase 活性の関与が示唆された。一方、*fugu5* と同様の代謝経路の異常により CCE が生じる変異体群には *icl-2*, *mls-2*, *pck1-2* および *ibr10-1* が報告されている (Takahashi et al., 2017; Tabeta et al., 2021)。そこで本研究では、*fugu5* 以外の Class II 変異体群の CCE について V-ATPase 活性の有無が及ぼす影響の解明を目指した。検証にあたり上記 Class II 変異体群、すなわち *icl-2*, *mls-2*, *pck1-2* および *ibr10-1* と *vha-a2 vha-a3* との各種三重変異体を作成し、それぞれの子葉の柵状組織の細胞数及び細胞サイズの定量的解析を行った。その結果、全ての三重変異体において CCE が抑制され、その細胞サイズは *vha-a2 vha-a3* と同程度であった。以上のことから、V-ATPase の活性が Class II 変異体群の CCE に必須であることが明らかになった。

P-021

Class I 補償作用における V-ATPase 活性および内在 IAA 量が与える影響の遺伝学的解析

塚原郁美¹, 郡司玄¹, 多部田弘光^{1,2,3}, Ferjani Ali¹
¹学芸大・教育・生命, ²東大・院・総合文化, ³理研・CSRS

補償作用 (Compensated Cell Enlargement; CCE) は葉を構成する細胞数が減少した際、個々の細胞が肥大化する現象のことで、CCEは細胞伸長パターンに基づいて3つのClassに分類されている (Ferjani et al., 2007) . ClassII の変異体である *fugu5* の CCE は、*vha-a2 vha-a3* (*vha-a2,a3*) 変異によって完全に抑制されることから、V-ATPase 活性が Class II CCE に必要であることが明らかになった。また *fugu5* の CCE の促進機構は、内生オキシシン (IAA) 量が上昇する *ad5* 変異体と、IAA 前駆体である Indol-3-butyric acid (IBA) の細胞外排出キャリアに変異をもつ *pen3-4* 変異体を用いた解析から、その関与が明らかになった (Tabeta et al., 2021) 一方で、その他の Class の CCE に関する知見が乏しい。本研究では、Class I CCE を示す *an3-4* について、*vha-a2,a3* との三重変異体、*ad5* 及び *pen3-4* との二重変異体を作成し、解析を行った。その結果、*an3-4 vha-a2,a3* では CCE が抑制された。また *an3-4 pen3-4* では CCE が促進されなかったのに対して、*an3-4 ad5-1* では CCE が促進されることがわかった。以上のことから、Class I CCE では V-ATPase 活性が必要であること、IBA と IAA の内成量の変化が Class I CCE に与える影響が異なることが示唆された。

P-022

卓上 SEM による連続切片-三次元再構築法を用いた葉緑体の形状と細胞内配置の解析

大井崇生, 松永隼, 前田芽依奈, 菊谷里美, 谷口光隆
名古屋大学・生命農

固定・樹脂包埋した試料の連続切片をスライドガラスなどに回収し、走査型電子顕微鏡 (SEM) によって切片の表面組成像を順々に撮影して画像解析ソフトウェア上で立体像を再構築する新しい手法が近年確立されてきているが、これまでの報告事例の多くは高性能の電界放出型機 (FE-SEM) によるものであった。本報告では、簡易式の卓上 SEM (TM4000Plus II, Hitachi) によっても連続切片 SEM 法による三次元解析が可能であることを、イネ科 C4 植物のシロクビ工葉身の 2 種類の光合成細胞 (葉肉細胞および維管束鞘細胞) の細胞外形と葉緑体を対象にした観察例とともに紹介する。

P-023

BZR 転写因子によるゼニゴケ配偶子器の発生制御

古谷朋之¹, 山岡尚平², 石崎公庸¹, 西浜竜一³, 荒木崇², 河内孝之², 福田裕穂^{4,5}, 近藤侑貴¹
¹神戸大・院・理, ²京大・院・生命, ³東京理大・院・理工, ⁴東大・院・理, ⁵京都先端大・バイオ

植物は進化過程で有性生殖システムをダイナミックに変遷させてきた。モデルコケ植物ゼニゴケは、生殖成長へ相転換すると、雌株では卵を含む造卵器を形成し、雄株では造精器の中で精子細胞を分化する。本研究では、これら配偶子器で特異的に発現する BZR/BES 転写因子 MpBZR3 に着目した。MpBZR3 は、被子植物でこれまで研究が進んできた典型的な BZR 転写因子と異なる“非典型 BZR 転写因子”に属する。MpBZR3 の過剰発現は、有性生殖誘導処理なしに配偶子器様構造体を異所的に誘導し、さらに、*Mpbzr3* 変異体では造精器発生に異常が見られる。これらの結果から MpBZR3 の配偶子器発生における役割を議論したい。

P-024

分裂準備帯成熟過程における微小管及びアクチン繊維の動態

飯塚駿作¹, 玉置大介², 中井朋則³, 唐原一郎², 峰雪芳宣³
¹富山大・院・理工, ²富山大・学術・理, ³兵庫県大・院・理

成熟した幅の狭い分裂準備帯 (preprophase band : PPB) が形成される仕組みは明らかとなっていない。本研究では、タバコ培養細胞 BY-2 株 (*Nicotiana tabacum* L. 'Blight Yellow') を用い、成熟した PPB の形成機構を明らかにすることを目的に、PPB 成熟過程の微小管およびアクチン繊維動態を定量的に解析した。PPB の幅の減少速度、PPB 内の微小管配向角度、PPB 領域での微小管が占める面積の割合の変化について解析した結果、最初に PPB 外側の微小管が脱重合することで PPB 幅が急速に減少し、その後、PPB 内で PPB に平行に配向する微小管の割合が増加し、PPB 幅が狭くなることが示唆された。加えて、明確なアクチン排除領域が形成される以前から、PPB の両端に高密度なアクチン繊維が局在することが示唆された。

P-025

糸状褐藻に見られる形態の数値モデリング

白又拓也¹, 中岡慎治²

¹北海道大学・院・生命, ²北海道大学・院・先端生命

糸状褐藻は, コケ植物の原糸体のように細胞が一行に連なった形態を示す褐藻の総称である. その中でも *Sphacelaria rigidula* は頂端細胞が分裂することで伸長し, とくどき基部側の細胞が側枝芽を形成することで分岐を行うが, どのようにして分裂成長が制御されているのかについては不明な点が多い. そこで本研究では褐藻においてもその存在が予測されている植物ホルモンのオーキシンに注目した数値モデルを構築し, 成長制御メカニズムの説明を試みた. シミュレーションにより実際の *S. rigidula* 培養株と似た形態が現れることが確認された. またパラメータを変えてシミュレーションを行うことで, オーキシンの細胞間移動速度が成長制御に重要な役割を果たしていることが示唆された.

P-027

ハスの花の開閉に伴う花弁伸長と細胞形態の変化

石綱史子¹, 葉雨昕¹, 白井篤¹, 堤伸浩², 有村慎一², 高梨秀樹²

¹家政学院大学・生デ, ²東京大学・院農生

ハス (*Nelumbo nucifera*) の花は早朝に開花し, 昼頃までには閉じる開閉運動を 3 日間繰り返し, 4 日目の開花後に散る. 先行研究では, ハスの花は光を感知して開閉する光傾性を示すことが示唆されていたが, その詳細はいまだ不明であった. ここではまず研究の第一段階として, ハスの花の開閉メカニズムを解明するために必要となる花弁の形態的变化を明らかにすることを目的とし, 花弁の継時的観察を行った. 開花 1 日目から 4 日目の花弁長と幅を経時的に計測した結果, ハスの花弁は開閉を繰り返しながら主に基部から先端方向に伸長することがわかった. また, 花弁の着生位置が内側であるほど花弁がより大きく伸長することが明らかになった. さらに花弁の向軸側と背軸側の先端部, 中央部, 基部の細胞形態の顕微鏡観察を行った結果, 主に基部の細胞において経時的な形態変化が顕著であることがわかった.

P-026

培地中へのエタノールの添加が *Euglena gracilis* に与える影響

高橋優, 島本航輔, 小山内崇

明大院・農・農化

Euglena gracilis は, 真核微細藻類の一種で, グルコースや EtOH などを炭素源として利用できる. また, ユーグレナはパラミロンという糖を細胞内に蓄積するが, 培養の際に EtOH を添加すると, パラミロンの蓄積量が多くなる. 本研究では, 培地への EtOH の添加がユーグレナの形態に与える影響を調べることを目的とする. 使用菌株は *Euglena gracilis* NIES48 である. 1 L の CM 培地でユーグレナを育てたコントロール条件, 980 mL の CM 培地と 20 mL の 99.5% EtOH の混合液で培養した EtOH 条件を設定した. その結果, EtOH 条件の方が細胞サイズの平均が大きく, サイズのばらつきは増大した. この際, 細胞内パラミロン量も EtOH 条件の方が多くなった. これらの結果から, ユーグレナの細胞サイズは細胞内のパラミロン量と関係している可能性がある.

P-028

軽量で高強度なジュズダマの苞葉鞘の微細構造と化学組成と機械的性質の分析

桑田力真, 石井大佑

名古屋工業大学・院・生命応用化学

イネ科の植物であるジュズダマ (*Coix lacryma-jobi*) は, その種子が, 薄くて軽くて硬い苞葉鞘で覆われている. 本研究では, 苞葉鞘が高強度である要因を調査するために, SEM による微細構造の観察と, EDX による化学組成の分析と, ビッカース硬さ試験と 3 点曲げ試験からなる機械的性質の分析を行った. その結果, 苞葉鞘の外層は, シリカを多量に含む石細胞 (sclereid) で構成されており, 苞葉鞘の外層と内層で大きな硬さの違いを生み出していることがわかった. これにより, 特に苞葉鞘の外側からかかる力に対して強い構造になっていることが示唆された. 本研究は, 植物の形態を工学的な観点から調査した独創的な研究であり, 軽量で高強度な生体模倣材料の創生を目指している.

P-029

RNA ポリメラーゼ II-CTD 修飾の核内分布の観察

澁田未央¹, 坂本卓也², 松永幸大³

¹山形大学・理, ²東京理科大学・理工, ³東京大学・新領域

RNA ポリメラーゼ II (PolII)の C 末ドメイン(CTD)は, PolII の活性状態に応じて様々な修飾を受ける. シロイヌナズナの実生を用いた ChIP-seq 解析の結果, CTD のリピート配列の 2 番目のリン酸化修飾(Ser2P)および 5 番目のリン酸化修飾 (Ser5P)は転写量に応じて遺伝子領域に分布する傾向を示した. 本発表では, 固定・単離した細胞核を用いた免疫染色法による Ser2P 修飾の核内分布の観察に加え, 新たなイメージングツールとして, mintbody (modification-specific intracellular antibodies)を用いたイメージング法による観察結果を示す.

P-030

最小ゲノム真核生物シゾンを用いた蛍光顕微鏡観察を基盤とした未知の分裂増殖因子群の探索

矢部寛之助¹, 茂木祐子¹, 東山哲也², 吉田大和¹

¹東京大・院・理・生物科学, ²名古屋大・ITbM

真核生物に保存された未知の分裂増殖関連遺伝子を同定するため, 真核生物としては最少遺伝子数からなる原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* (シゾン) を用いて, 分裂増殖期に特異的に発現する機能未知遺伝子群のゲノムワイド・スクリーニングを目指した. バイオインフォマティクスによる細胞内機能の推定および保存性の検証, さらにトランスクリプトームデータによる発現時期の特定により, シゾングノム中から 34 個の未知の分裂増殖関連遺伝子群を同定した. これらの候補遺伝子に Venus 蛍光タグを付加してシゾングノムへ導入する効率的な実験系を構築し, 蛍光顕微鏡観察により候補遺伝子の細胞周期依存的発現パターンならびに特異的な細胞内局在を検証した. 本発表では, その結果を報告する.

P-031

シゾンカッター : ゲノム編集とオルガネラ多重可視化を可能にする CRISPR-Cas9 システムの開発

茂木祐子¹, 田中尚人¹, 藤原崇之^{2,3}, 矢部寛之助¹, 外山侑穂¹, 東山哲也^{1,4,5}, 吉田大和¹

¹東京大・院・理, ²遺伝研, ³総研大, ⁴名古屋大・院・理, ⁵名古屋大・ITbM

単細胞紅藻シゾンは 1 細胞あたりそれぞれ 1 つの細胞核, ミトコンドリア, 葉緑体, ペルオキシソームをもつシンプルな細胞構造からなり, オルガネラ分裂や細胞周期を研究する上で有利な細胞学的特徴をもつ. 今回我々は, シゾンのゲノム編集と複数オルガネラの可視化を同時に行うことが可能な CRISPR-Cas9 システム「シゾンカッター」を開発した. まずガイド RNA によって指定したゲノム位置を切断するために, Venus を付加した核局在 Cas9 を発現する YMT1 (YAMATO1) 株を作製した. 次にこの YMT1 株を用いてシゾンのゲノムを編集すると同時に, 異なる蛍光レポータータンパク質によってミトコンドリアとペルオキシソームを可視化することに成功した. ゲノム編集と複数オルガネラの同時可視化により, 必須遺伝子であってもオルガネラ分裂や細胞周期に関わる表現型の評価を簡便に行うことができるようになった. 本研究発表では, これら最新の結果を報告する.

P-032

ソテツの受精機構における細胞生理学的解析

外山侑穂¹, 奥田哲弘², 鈴木孝征³, 東山哲也⁴

¹東京大・院・理, ²東京大・院・理, ³中部大・院・応用生物, ⁴東京大・院・理, 名古屋大・院・理, 名古屋大 ITbM

被子植物は運動能がない精細胞が花粉管によって卵に輸送される. 一方, 裸子植物であるイチョウ・ソテツ類では, 遊泳能をもつ精子が花粉管内で成熟したのち花粉管から放出され, 精子がみずから遊泳して造卵器にある卵へと到達する. シダやコケと同様に精子が泳いで卵に到達するイチョウ・ソテツ類の受精機構において, その花粉管の役割については不明な点が多い. 本研究では, 被子植物における花粉管に対し, その分子基盤が明らかではないソテツにおける受精機構の細胞生理学的な解析, さらに遺伝子発現プロファイルの解析によるソテツの花粉管形成および機能に関わる遺伝子の探索を行った.