名古屋大学 NAGOYA UNIVERSITY　ITbM Nagoya University　wpi World Premier International Research Center Initiative

Press Release

平成 31 年 1 月 15 日

世界初！植物の受精卵が非対称に分裂する仕組みを発見

～ 細胞内の水袋（液胞）のダイナミックな動きを捉えることに成功 ～

このたび、名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所（ITbM）の 植田 美那子 特任講師、東山 哲也 教授、大学院理学研究科の 木全 祐資 大学院生、 栗原 大輔　特任講師、山田 朋美 技術補佐員、大学院生命農学研究科の 瀬上 紹嗣 特任助教、前島 正義 教授、奈良先端科学技術大学院大学の 加藤 壮英 助教、田坂 昌生 教授、熊本大学の 檜垣 匠 准教授、自然科学研究機構基礎生物学研究所の 森田（寺尾）美代 教授、東京大学の 馳澤 盛一郎 教授の研究グループは、植物の受精卵が非対称になる（上下に偏りを作る）仕組みを世界で初めて発見しました。

研究グループでは、植物の細胞の大半を占める水袋（液胞）に注目し、受精卵での液胞の動きをリアルタイムで観察することに初めて成功しました。その結果、受精すると液胞が急速に脱水して小さくなることを発見しました。また、液胞がダイナミックに形を変えながら特定の方向に移動することで、受精卵が非対称になることも分かりました。この仕組みが損なわれると、受精卵が非対称に分裂できなくなるだけでなく、最終的な植物の形も異常になったことから、液胞がダイナミックに動くことの重要性が明らかになりました。今回の発見は、今後、植物の形作りの仕組みを解明する糸口になると期待されます。

本研究成果は、米国の科学専門誌*Proceedings of the National Academy of Sciences*のオンライン版で2019年1月15日（火）午前5時（日本時間）に公開されました。

問い合わせ先

＜研究内容＞
名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所
特任講師　植田　美那子
TEL：052-789-5510
E-mail：m-ueda@itbm.nagoya-u.ac.jp

＜報道対応＞
名古屋大学総務部総務課広報室
TEL：052-789-2699
FAX：052-789-2019
E-mail：nu_research@adm.nagoya-u.ac.jp

【本研究のポイント】

■ 植物の受精卵の中にある液胞を初めてリアルタイムで観察し、非対称に偏る動態を明らかにした。
■ 受精卵内部で上下方向に伸びたアクチン繊維に沿って、液胞が柔軟に形を変えながら、下方向に移動することを発見した。
■ 液胞の移動が、受精卵の非対称な分裂に必要なだけでなく、その後の植物の形作りにも貢献することを突き止めた。

【研究の背景と内容】

植物の形は複雑で、花や葉、根や茎など、さまざまな器官を有しています。それらの器官の形作りの基礎となっているのは、上下、左右、前後の方向性を決める「体軸」です。多くの植物は同心円状（筒型）の形をしているので、最も重要な体軸は上下軸となります。まず、上下軸を決めたあと、上部には花や葉を作り、下部には根を作る、という形作りを始めます。この上下軸は、植物の元になる最初の細胞である受精卵が上下に分かれる（分裂する）ことで確定されます（図 1）。このとき、受精卵は、細胞内に偏りを作り（極性化[注1]）、その結果、上側の小さな細胞と下側の大きな細胞を生み出すという非対称分裂[注2]を行います。上側の細胞は始原細胞[注3]として活発な細胞分裂を行い、植物体のほとんどの器官（花、葉、根、茎等）を作る一方で、下側の細胞は支持細胞として、根の一部を作るほかは、始原細胞の成長を支えます。このように、受精卵の極性化と非対称分裂は、植物の形作りの出発点として非常に重要ですが、受精卵がどのように極性を生みだし、どうやって非対称に分裂するのかについては、これまで分かっていませんでした。

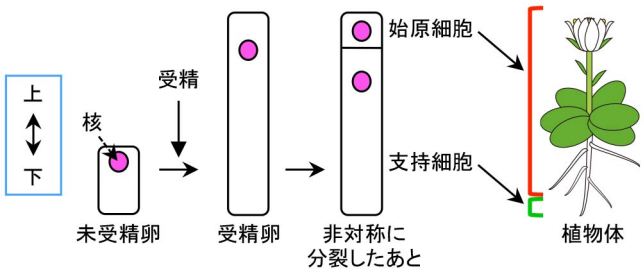

図 1. 植物の上下軸が作られる様子

今回、研究グループは、植物の受精卵の内部構造をリアルタイムで観察し、細胞の大部分を占める液胞[注4]が柔軟に形を変えながら下方向に移動することで、受精卵が極性化し、非対称に分裂することを初めて発見しました。

受精卵が極性化する過程での液胞のリアルタイム観察

研究グループでは、実験に適したモデル植物であるシロイヌナズナを使って、液胞に蛍光タンパク質でマーカー（目印）を付け、未受精卵と受精卵の内部で、液胞の形や大きさがどのように変化するかをリアルタイムで観察しました（ライブイメージング）。その結果、受精する前には細胞のほとんどを占めていた液胞が、受精すると急速に脱水して小さくなることが分かりました（図 2）。次いで、液胞は核の周りで細長い管状の構造を作り、核を避けるようにして徐々に下方向に移動することを発見しました。逆に、核は上方向に移動し、受精卵の上部に到達すると染色体を分配するため、非対称に分裂しました（図 2）。

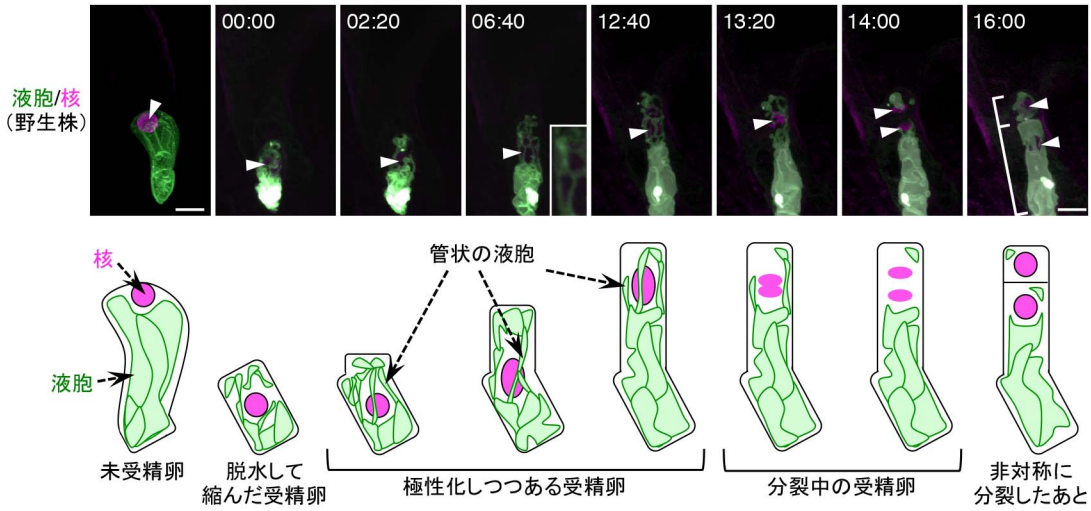

図 2. シロイヌナズナの野生型における受精前後の液胞の変化

液胞と核はそれぞれ緑色とピンク色で示しています。受精すると液胞が脱水して縮むので、受精卵は未受精卵よりも小さくなります。その後、核（矢尻）の周りで液胞は管状になり、徐々に下方向に移動します。逆に、核は上方向に移動し、非対称分裂に至ります。右上の数字はライブイメージング開始からの時間（時：分）、スケールバーは 10 マイクロメートル（μm）を表しています。06:40 時点の右下の像は、核の周りの拡大図を示しており、液胞が細長い管状になっていることが分かります。一番右側の像の括弧は上下の細胞の長さを表しています。

液胞の柔軟性が損なわれた *sgr2* 欠損株における液胞のリアルタイム観察

受精卵の中で液胞がダイナミックに形を変えながら、特定の方向に移動したことから、液胞は受精卵の極性化に重要な役割を担っているのではないかと考えられました。そこで、液胞の形や働きに異常があることが知られている様々な株を集め、受精卵の非対称分裂に失敗する株があるかを調べました。その結果、液胞の柔軟性が低下する（硬くなる）ことが報告されている *sgr2* 欠損株[注5]において、受精卵が非対称に分裂できず、同程度の大きさの細胞に分かれることを見つけました。

そこで、*sgr2* 欠損株の液胞にも蛍光タンパク質を付けてライブイメージングしました。その結果、受精後の脱水といったサイズの変化は正常に起こるものの、液胞の形は常に球状で、管状の構造を作れないことが分かりました（図 3）。また、液胞は下方向に移動できず、受精卵の上部に巨大な液胞が残るので、それに阻まれて核が上部まで到達できなくなりました。最終的に、核が留まった位置で細胞が分かれるので、上下の細胞の大きさがほぼ同じになります（図 3）。この結果から、液胞は柔軟に形を変えることで、下方向に移動できることが分かりました。さらに、液胞が下側へ移動することは、反対側への核の移動をサポートし、非対称分裂を実現させる役割があることも、初めて明らかになりました。

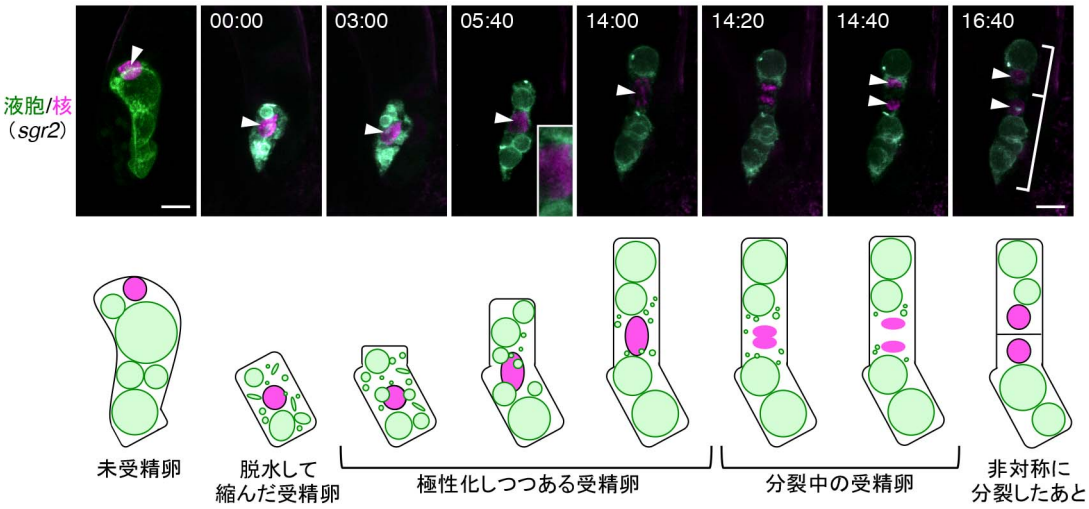

図 3. シロイヌナズナの *sgr2* 欠損株における受精前後の液胞の変化

液胞と核はそれぞれ緑色とピンク色で示しています。受精後の脱水は野生株と同様に起こりますが、核（矢尻）の周りで管状の液胞が作られず、受精卵の上部に巨大な液胞が残ります。この液胞に阻まれて、核は上部に到達できず、上下対称に近い分裂となります。右上の数字はライブイメージング開始からの時間（時：分）、スケールバーは 10 マイクロメートル（μm）を表しています。05:40 時点の右下の像は、核の周りの拡大図を示しており、管状の液胞がほとんど存在しないことが分かります。一番右側の像の括弧は上下の細胞の長さを表しています。

液胞とアクチン繊維の関係の検討

sgr2 欠損株の観察結果から、液胞が上下に細長く伸びた管状の構造を作ることが、液胞の移動や受精卵の非対称分裂に重要であると考えられました。植田特任講師らの以前の研究によって、受精卵ではアクチン繊維[注6]が上下方向に並ぶことが分かっています（図 4）。そこで、液胞はアクチン繊維に沿うことで、管状の形を作るのではないかと考えられました。実際に、液胞とアクチン繊維を同時に観察したところ、管状の液胞がアクチン繊維に沿っていることが分かりました（図 5）。さらに、*sgr2* 欠損株では、アクチン繊維は上下に並んでいるものの、それに沿った液胞が観察されませんでした（図 5）。つまり、受精卵では、最初にアクチン繊維が縦方向に並び、それに沿って液胞が柔軟に形を変えることで、管状の構造が作られることが分かりました。

そこで、アクチン繊維を特異的に壊す阻害剤を投与したときに、液胞の形や移動が損なわれるかを調べました。阻害剤を加えた溶媒を与えた受精卵と、溶媒のみを与えた受精卵とを比較すると、阻害剤を加えた場合にのみ、管状の液胞が消失することが分かりました（図 6：3 時間後）。さらに、これらの条件下で受精卵を分裂させると、阻害剤を加えた場合でのみ、受精卵の上部に残った巨大液胞の存在により、核の移動が妨害され、受精卵が非対称分裂に失敗するという *sgr2* 欠損株と同じ異常が現れました（図 6：24 時間後）。したがって、アクチン繊維は、液胞が管状の構造を作る際の足場となることで、受精卵の極性化を支える役割があることが分かりました。

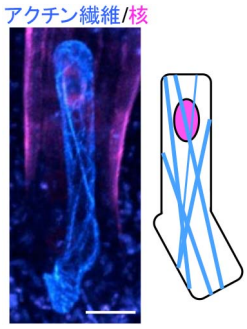

図 4. 野生型におけるアクチン繊維の並び

アクチン繊維と核はそれぞれ青色とピンク色で示しています。ここに示した受精卵は極性化を完了した時期であり、アクチン繊維は縦方向に（上下軸に沿って）並んでいます。スケールバーは 10 マイクロメートル（μm）を表しています。

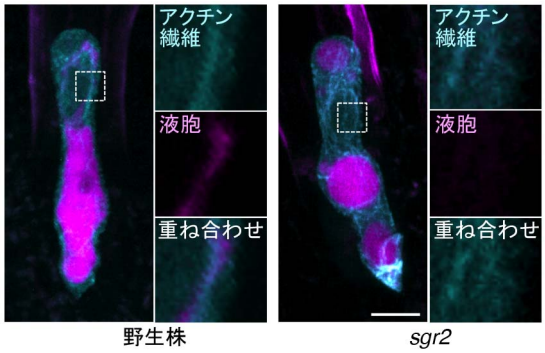

図 5. アクチン繊維と液胞を同時に観察した受精卵

アクチン繊維と液胞はそれぞれ水色とピンク色で示しています。野生株と *sgr2* 欠損株のそれぞれについて、点線で囲った領域の拡大図を右側に示しています。野生株では、上下方向に伸びたアクチン繊維に沿って管状の液胞が作られますが、*sgr2* 欠損株では、アクチン繊維はあるものの、それに沿った液胞が観察されません。スケールバーは 10 マイクロメートル（μm）を表しています。

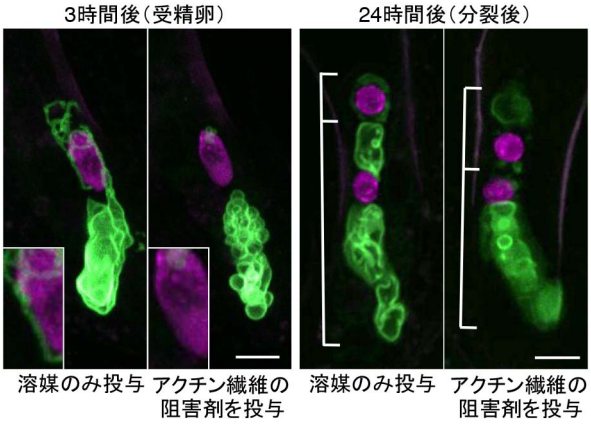

図 6. アクチン繊維を特異的に阻害した受精卵

液胞と核はそれぞれ緑色とピンク色で示しています。左側の写真 2 枚（3 時間後の像）の左下の像は、核の周りの拡大図を示しています。溶媒のみを投与した受精卵では、核の周りに管状の液胞が観察されますが、アクチン繊維の阻害剤を加えた場合では、管状の液胞がほとんど存在しないことが分かります。さらに、アクチン繊維の阻害剤を与えてから 24 時間が経つと、受精卵はより対称に近い分裂を行い、上側の細胞にも巨大な液胞が受け継がれます。スケールバーは 10 マイクロメートル（μm）を表しています。右側の写真 2 枚の括弧は、上下の細胞の長さを表しています。

液胞の移動が植物の形作りに果たす役割の検討

受精卵が非対称に分裂すると、液胞をほとんど持たない小さな始原細胞と、巨大な液胞を持つ大きな支持細胞が作られます。*sgr2* 欠損株では、受精卵での液胞の動きが異常になった結果、上下の細胞がともに大きく、巨大な液胞を受け継ぐことになりました。これが、その後の形作りにどのような影響を与えるかを調べるために、種子の中にある幼植物（胚）を観察しました。野生株では、上側の始原細胞として細胞分裂を繰り返した結果、葉や茎といった器官の原型が作られ始めます（図 7）。*sgr2* 欠損株では、これらの細胞のなかに巨大な液胞が残り、胚の形もいびつになります（図 7）。さらに、器官の形成も損なわれ、本来は二枚の子葉が作られるべきところ、一枚や三枚になるといった異常が現れました（図 7）。植物では、活発に細胞分裂する細胞には、ほとんど液胞が含まれないことが知られているため、*sgr2* 欠損株では始原細胞に多くの液胞が受け継がれてしまったことにより、胚の発達が損なわれたと考えられます。

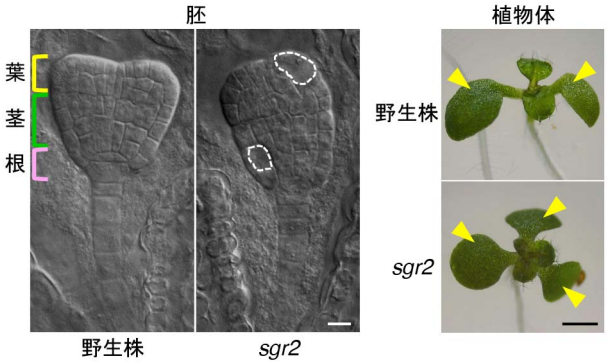

図 7. 野生株と *sgr2* 欠損株の胚と植物体

種子の中で発達中の胚（左側の写真 2 枚）を比べると、*sgr2* 欠損株でのみ、巨大な液胞（点線で囲んだ領域）を持つ細胞が観察されます。若い植物体（右側の写真二枚）では、野生株の子葉（矢尻）は二枚なのに対し、*sgr2* 欠損株の子葉は三枚あります。胚と植物体のスケールバーはそれぞれ、10 マイクロメートル（μm）と、1 ミリメートル（mm）を表しています。

【まとめと今後の展望】

本研究では、世界で初めて、植物の受精卵が極性化する際の液胞の動態をリアルタイムで観察しました。さらに、液胞の柔軟性が低下した *sgr2* 欠損株や、アクチン繊維を特異的に壊す阻害剤を組み合わせた解析によって、液胞のダイナミックな動きが、受精卵の極性化や非対称分裂に必須であることを発

見しました（図 8）。さらに、受精卵の内部での液胞の移動は、上下に生じる細胞に引き継ぐ液胞の量を調節することで、その後の形作りをサポートする役割があることも分かりました（図 8）。ほとんどの植物において、未受精卵や受精卵は大きな液胞を持つことから、本研究が明らかにした仕組みは、植物に共通した普遍的な機構であると期待されます。また、液胞が積極的に動くことで、細胞の極性化や形作りを制御するという発見は、これまで受動的だと考えられてきた液胞のイメージを覆すものです。液胞は植物だけでなく、真菌類にまで保存された基本的な細胞内小器官のため、今後は、本研究を一層発展させ、液胞の動きを制御するメカニズムを解明することで、液胞の役割や形作りの仕組みについて、さらに深く理解できると考えられます。

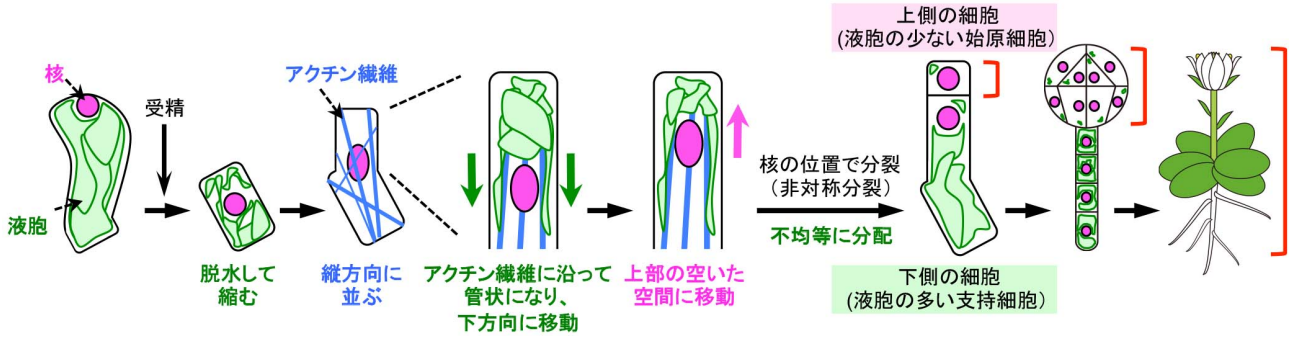

図 8. 液胞が受精卵の非対称分裂と植物の形作りに果たす役割の模式図

受精すると、液胞は著しく脱水して縮みます。液胞はその後、上下方向に並んだアクチン繊維に沿って管状の構造を作り、下方向に移動します。空いた上部の空間に核が到達することで、非対称分裂が実現します。これにより、上側の細胞には少量の液胞しか受け継がれず、この細胞が始原細胞として活発に細胞分裂を行うことで、葉や茎といった器官が適切に作られます。

【用語解説】

注 1：極性化

細胞の内部にある物質や構造体を特定の場所に集めることで、細胞内を不均一にすることです。そうしてできた内部の偏りを極性と呼びます。

注 2：非対称分裂

一般的な細胞分裂では、生じた二つの細胞の大きさや働きは同じですが、違う性質をもった細胞を生み出す細胞分裂もあり、これを非対称分裂と呼びます。一般的に、非対称に分裂する細胞は、分裂する前にすでに内部に偏り（極性）を持っています。

注 3：始原細胞

活発に細胞分裂を行う未分化な細胞で、動物における幹細胞に相当します。始原細胞の分裂によって生み出された娘細胞群が、さまざまな細胞へと分化することで、組織や器官が作られます。

注 4：液胞

細胞内にある小器官の一つで、多くの植物細胞では、細胞体積の大部分を占めています。液胞膜が細胞液を包んだ構造をしており、細胞の種類によって、細胞液のなかに含まれる成分は異なります。例えば、花びらの細胞では色素が多く含まれ、種子の細胞では栄養源となる貯蔵タンパク質が含まれます。

注 5：*sgr2* 欠損株

液胞膜で働くフォスフォリパーゼ（リン脂質を加水分解する酵素）である SGR2 タンパク質が損なわれた株です。*sgr2* とは *shoot gravitropism2* の略で、この株はもともと、重力の方向を感知できない突然変異体として見つかりました。その後の研究から、*sgr2* 欠損株では、液胞膜の柔軟性が低下したことが原因となって、細胞内の流動性が失われることや、その結果として、重力方向に移動するべき細胞内小器官（アミロプラスト）が動かないせいで重力を感知できないことなどが判明しました。

注６：アクチン繊維
　アクチンというタンパク質が連なった繊維状の構造体で、マイクロフィラメントとも呼ばれます。細胞の枠組みとして細胞の形を保つ働きや、細胞内の道路として物質を運ぶ働きがあります。

【論文情報】

掲載雑誌：**Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)**
論 文 名 ：Polar vacuolar distribution is essential for accurate asymmetric division of *Arabidopsis* zygotes
（シロイヌナズナ受精卵の正確な非対称分裂には、極性的な液胞の分布が必須である）

著者：　Yusuke Kimata, Takehide Kato, Takumi Higaki, Daisuke Kurihara, Tomomi Yamada, Shoji Segami, Miyo Terao Morita, Masayoshi Maeshima, Seiichiro Hasezawa, Tetsuya Higashiyama, Masao Tasaka and Minako Ueda
木全 祐資（きまた ゆうすけ）、加藤 壮英（かとう たけひで）、檜垣 匠（ひがき たくみ）、栗原 大輔（くりはら だいすけ）、山田 朋美（やまだ ともみ）、瀬上 紹嗣（せがみ しょうじ）、森田（寺尾）美代（もりた（てらお）みよ）、前島 正義（まえしま まさよし）、馳澤 盛一郎（はせざわ せいいちろう）、東山 哲也（ひがしやま てつや）、田坂 昌生（たさか まさお）、植田 美那子（うえだ みなこ））

DOI：　10.1073/pnas.1814160116
論文公開：　2019年1月15日午前5時（日本時間）/ 2019年1月14日午後3時（米国EDT時間）

【研究費】

日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業
新学術領域「植物細胞壁機能」（JP24114007）
新学術領域「環境記憶統合」（JP15H05962・JP15H05955）
新学術領域「植物発生ロジック」（JP16H01235）
新学術領域「植物新種誕生原理」（JP16H06465・JP16H06464・JP16K21727・JP17H05838）
新学術領域「ABiS」（JP16H06280）
若手研究（A）（JP25711017）、若手研究（B）（JP16K18687）
基盤研究（A）（JP26252011）、基盤研究（B）（JP16H04802・JP17H03697）
挑戦的萌芽（JP16K14753・JP17K19380）
特定領域研究（JP16085205）
特別研究員（DC2）（JP18J10512）

科学技術振興機構（JST）
「さきがけ」PRESTO

【本件お問い合わせ先】

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所（ITbM）
ホームページ：http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp

＜研究内容＞
名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所（ITbM）
特任講師　植田 美那子
TEL：052-789-5510
E-mail：m-ueda@itbm.nagoya-u.ac.jp

＜報道対応＞
名古屋大学 ITbM リサーチプロモーションディビジョン
特任准教授　佐藤 綾人
TEL：052-789-6856　FAX: 052-789-3053
E-mail：press@itbm.nagoya-u.ac.jp

名古屋大学総務部総務課広報室
TEL：052-789-2699　FAX：052-789-2019
E-mail：kouho@adm.nagoya-u.ac.jp

WPI-ITbM について（http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/)

文科省の世界トップレベル拠点プログラム(WPI)の一つとして採択された名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所(ITbM)は、従来から名古屋大学の強みであった合成化学、動植物科学、理論科学を融合させることで研究を進めています。ITbM では、精緻にデザインされた機能をもつ全く新しい生命機能の開発を目指しています。ITbM における研究は、化学者と生物学者が隣り合わせで研究し、融合研究を行うミックス・ラボという体制をとっており、このような「ミックス」をキーワードに、化学と生物学の融合領域に新たな研究分野を創出し、トランスフォーマティブ分子を通じて、社会が直面する環境問題、食料問題、医療技術の発展といった様々な議題に取り組んでいます。