
細胞運命操作による植物生殖システムのリモデリング

領域番号：20B306

令和2年度～令和4年度
科学研究費助成事業（科学研究費補助金）
学術変革領域研究（B）
研究成果報告書

令和6年7月

領域代表者 丸山 大輔
横浜市立大学 木原生物学研究所・准教授

はしがき

本報告書は、学術変革領域研究（B）「細胞運命操作による植物生殖システムのリモデリング」について、3 年間の取り組みにおける成果について報告するものである。

研究組織

領域代表者 丸山 大輔 （横浜市立大学・木原生物学研究所・准教授）

総括班

研究代表者 丸山 大輔 （横浜市立大学・木原生物学研究所・准教授）

研究分担者 山岡 尚平 （京都大学・生命科学研究科・准教授）

研究分担者 水多 陽子 （名古屋大学,・高等研究院(WPI)・特任助教）

丸山班

研究代表者 丸山 大輔 （横浜市立大学・木原生物学研究所・准教授）

山岡班

研究代表者 山岡 尚平 （京都大学・生命科学研究科・准教授）

水多班

研究代表者 水多 陽子 （名古屋大学,・高等研究院(WPI)・特任助教）

交付決定額（配分額）

	合計	直接経費	間接経費
令和 2 年度	5,330 千円	4,100 千円	1,230 千円
令和 3 年度	5,330 千円	4,100 千円	1,230 千円
令和 4 年度	5,200 千円	4,000 千円	1,200 千円
総計	15,860 千円	12,200 千円	3,660 千円

研究発表

雑誌論文

1. Bao, H., Sun, R., Iwano, M., Yoshitake, Y., Aki, S. S., Umeda, M., Nishihama, R., Yamaoka, S., & Kohchi, T. (2024). Conserved CKI1-mediated signaling is required for female germline specification in *Marchantia polymorpha*. *Current Biology: CB*, 34(6), 1324-1332.e6. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2024.01.013>
2. Furuya, T., Saegusa, N., Yamaoka, S., Tomoita, Y., Minamino, N., Niwa, M., Inoue, K., Yamamoto, C., Motomura, K., Shimadzu, S., Nishihama, R., Ishizaki, K., Ueda, T., Fukaki, H., Kohchi, T., Fukuda, H., Kasahara, M., Araki, T., & Kondo, Y. (2024). A non-canonical BZR/BES transcription factor regulates the development of haploid reproductive organs in *Marchantia polymorpha*. *Nature Plants* 2024 10:5, 10(5), 785–797. <https://doi.org/10.1038/s41477-024-01669-0>
3. Kajiwar, T., Miyazaki, M., Yamaoka, S., Yoshitake, Y., Yasui, Y., Nishihama, R., & Kohchi, T. (2024). Transcription of the Antisense Long Non-Coding RNA, SUPPRESSOR OF FEMINIZATION, Represses Expression of the Female-Promoting Gene FEMALE GAMETOPHYTE MYB in the Liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant and Cell Physiology*, 65(3), 338–349. <https://doi.org/10.1093/PCP/PCAD170>
4. Mizuta, Y., Sakakibara, D., Nagahara, S., Kaneshiro, I., Nagae, T. T., Kurihara, D., & Higashiyama, T. (2024). Deep imaging reveals dynamics and signaling in one-to-one pollen tube guidance. *EMBO Reports*, 25(6), 2529–2549. <https://doi.org/10.1038/S44319-024-00151-4>
5. Motomura, K., Tsuchi, H., Komajiri, M., Matsumoto, A., Sugi, N., Susaki, D., Takeda, A., Kinoshita, T., & Maruyama, D. (2024). Microtubules ensure transport of vegetative nuclei and sperm cells by fine-tuning their home positions. *BioRxiv*, 2024.01.31.578224. <https://doi.org/10.1101/2024.01.31.578224>
6. Sugi, N., Susaki, D., Mizuta, Y., Kinoshita, T., & Maruyama, D. (2024). Letter to the Editor: Blue Light Irradiation Induces Pollen Tube Rupture in Various Flowering Plants. *Plant and Cell Physiology*, 65(5), 704–707. <https://doi.org/10.1093/PCP/PCAE018>
7. Saito, M., Momiki, R., Ebine, K., Yoshitake, Y., Nishihama, R., Miyakawa, T., Nakano, T., Mitsuda, N., Araki, T., Kohchi, T., & Yamaoka, S. (2023). A bHLH heterodimer regulates germ cell differentiation in land plant gametophytes. *Current Biology: CB*, 33(22), 4980-4987.e6. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2023.09.020>
8. Sugi, N., Izumi, R., Tomomi, S., Susaki, D., Kinoshita, T., & Maruyama, D. (2023). Removal of the endoplasmic membrane upon sperm cell activation after pollen tube discharge. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1116289. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2023.1116289>
9. Sugi, N., & Maruyama, D. (2023). Exploring Novel Polytubey Reproduction Pathways Utilizing Cumulative Genetic Tools. *Plant and Cell Physiology*, 64(5), 454–460. <https://doi.org/10.1093/PCP/PCAD021>
10. Susaki, D., Izumi, R., Oi, T., Takeuchi, H., Shin, J. M., Sugi, N., Kinoshita, T., Higashiyama, T., Kawashima, T., & Maruyama, D. (2023). F-actin regulates the polarized secretion of pollen tube attractants in *Arabidopsis* synergid cells. *The Plant Cell*, 35(4), 1222–1240. <https://doi.org/10.1093/PLCELL/KOAC371>

11. Takasaki, H., Ikeda, M., Hasegawa, R., Zhang, Y., Sakamoto, S., Maruyama, D., Mitsuda, N., Kinoshita, T., & Ohme-Takagi, M. (2023). Elongation of Siliques Without Pollination 3 Regulates Nutrient Flow Necessary for Embryogenesis. *Plant and Cell Physiology*, 64(1), 117–123. <https://doi.org/10.1093/PCP/PCAC151>
12. Zhang, Y., Maruyama, D., Toda, E., Kinoshita, A., Okamoto, T., Mitsuda, N., Takasaki, H., & Ohme-Takagi, M. (2023). Transcriptome analyses uncover reliance of endosperm gene expression on Arabidopsis embryonic development. *FEBS Letters*, 597(3), 407–417. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14570>
13. 丸山 大輔, 水多 陽子, 山岡 尚平. (2023). 植物細胞の分化運命の制御と可塑性. 植物科学の最前線, 14(A), 1–2. <https://doi.org/10.24480/BSJ-REVIEW.14A1.00236>
14. 丸山大輔. (2023). 精細胞が輸送されない花粉管の作出. 植物科学の最前線, 14(A), 3–9. <https://doi.org/10.24480/bsj-review.14a2.00237>
15. 山岡 尚平. (2023). 花粉とコケ植物配偶体の発生における配偶子前駆細胞の分化. 植物科学の最前線, 14(A), 10–20. <https://doi.org/10.24480/BSJ-REVIEW.14A3.00238>
16. 水多 陽子. (2023). 一過的導入による花粉の可視化とゲノム編集. 植物科学の最前線, 14(A), 21–29. <https://doi.org/10.24480/BSJ-REVIEW.14A4.00239>
17. Kaneshiro, I., Igarashi, M., Higashiyama, T., & Mizuta, Y. (2022). Target pollen isolation using automated infrared laser-mediated cell disruption. *Quantitative Plant Biology*, 3. <https://doi.org/10.1017/QPB.2022.24>
18. Kurihara, D., Mizuta, Y., Nagahara, S., Sato, Y., & Higashiyama, T. (2022). Optical Clearing of Plant Tissues for Fluorescence Imaging. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 2021(179). <https://doi.org/10.3791/63428>
19. Motomura, K., & Maruyama, D. (2022). シロイヌナズナ花粉管の核排除とそれを利用した花粉管伸長制御能力の発見までの道のり. *PLANT MORPHOLOGY*, 34(1), 69–76. <https://doi.org/10.5685/PLMORPHOL.34.69>
20. Motomura, K., Sugi, N., Takeda, A., Yamaoka, S., & Maruyama, D. (2022). Possible molecular mechanisms of persistent pollen tube growth without de novo transcription. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1020306. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2022.1020306>
21. Niimi, Y., Nagai, K., Ashikari, M., & Mizuta, Y. (2022). Deep Fluorescence Observation in Rice Shoots via Clearing Technology. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 2022(184). <https://doi.org/10.3791/64116>
22. 山岡 尚平. (2022). 植物の配偶子形成のしなやかな仕組み. 細胞, 54(6), 330–334. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1520855422542366080>
23. 杉直也, 丸山大輔. (2022). 内部形質膜から見る植物受精. 細胞, 54(6), 318–321. https://jglobal.jst.go.jp/detail?JGLOBAL_ID=202202285088695137
24. Goto, C., Tamura, K., Nishimaki, S., Maruyama, D., & Hara-Nishimura, I. (2021). The nuclear envelope protein KAKU4 determines the migration order of the vegetative nucleus and sperm cells in pollen tubes. *Journal of Experimental Botany*, 71(20), 6273–6281. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERAA367>
25. Iwasaki, M., Kajiwar, T., Yasui, Y., Yoshitake, Y., Miyazaki, M., Kawamura, S., Suetsugu, N., Nishihama, R., Yamaoka, S., Wanke, D., Hashimoto, K., Kuchitsu, K., Montgomery, S. A., Singh, S., Tanizawa, Y., Yagura, M., Mochizuki, T., Sakamoto, M., Nakamura, Y., … Kohchi, T. (2021). Identification of the sex-determining factor in the liverwort *Marchantia polymorpha* reveals unique evolution of sex chromosomes in a

- haploid system. *Current Biology: CB*, 31(24), 5522-5532.e7.
<https://doi.org/10.1016/J.CUB.2021.10.023>
26. Kohchi, T., Yamato, K. T., Ishizaki, K., Yamaoka, S., & Nishihama, R. (2021). Development and Molecular Genetics of *Marchantia polymorpha*. *Annual Review of Plant Biology*, 72, 677–702. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ARPLANT-082520-094256>
 27. Kurihara, D., Mizuta, Y., Nagahara, S., & Higashiyama, T. (2021). ClearSeeAlpha: Advanced Optical Clearing for Whole-Plant Imaging. *Plant & Cell Physiology*, 62(8), 1302–1310. <https://doi.org/10.1093/PCP/PCAB033>
 28. Mizuta, Y. (2021). Advances in Two-Photon Imaging in Plants. *Plant and Cell Physiology*, 62(8), 1224–1230. <https://doi.org/10.1093/PCP/PCAB062>
 29. Motomura, K., Takeuchi, H., Notaguchi, M., Tsuchi, H., Takeda, A., Kinoshita, T., Higashiyama, T., & Maruyama, D. (2021). Persistent directional growth capability in *Arabidopsis thaliana* pollen tubes after nuclear elimination from the apex. *Nature Communications*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-021-22661-8>
 30. Nagahara, S., Higashiyama, T., & Mizuta, Y. (2021). Detection of a biolistic delivery of fluorescent markers and CRISPR/Cas9 to the pollen tube. *Plant Reproduction*, 34(3), 191–205. <https://doi.org/10.1007/S00497-021-00418-Z>
 31. Susaki, D., Suzuki, T., Maruyama, D., Ueda, M., Higashiyama, T., & Kurihara, D. (2021). Dynamics of the cell fate specifications during female gametophyte development in *Arabidopsis*. *PLoS Biology*, 19(3): e3001123. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.3001123>
 32. Yamaoka, S., Inoue, K., & Araki, T. (2021). Regulation of gametangia and gametangiophore initiation in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant Reproduction*, 34(4), 297–306. <https://doi.org/10.1007/S00497-021-00419-Y>
 33. Ali, M. F., Fatema, U., Peng, X., Hacker, S. W., Maruyama, D., Sun, M. X., & Kawashima, T. (2020). ARP2/3-independent WAVE/SCAR pathway and class XI myosin control sperm nuclear migration in flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(51), 32757–32763. <https://doi.org/10.1073/PNAS.2015550117>
 34. Nishikawa, S. I., Yamaguchi, Y., Suzuki, C., Yabe, A., Sato, Y., Kurihara, D., Sato, Y., Susaki, D., Higashiyama, T., & Maruyama, D. (2020). *Arabidopsis* GEX1 Is a Nuclear Membrane Protein of Gametes Required for Nuclear Fusion During Reproduction. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2020.548032>

学会発表

1. Daisuke Maruyama An importunate lover goes to DEAD-End: a cell fusion changes the destination of second sperm cell pair and avoids polyspermy. The 27th International Congress on Sexual Plant Reproduction, 2024 年 7 月 9 日, 招待有り
2. 永原史織, 丸山大輔, 山岡尚平, 水多陽子
花粉発生過程のライブイメージングと分裂誘導による雄原細胞の分化機構の解明
第 65 回 日本植物生理学会年会 2024 年 3 月 19 日

3. 御調日向子, 永原史織, 後藤友美, 大井崇生, 武内秀憲, 豊岡公德, 木下哲, 須崎大地, 丸山大輔
卵細胞特異的な精細胞活性化因子 EC1 のアミロイド凝集に関する組織学的解析
第 65 回 日本植物生理学会年会 2024 年 3 月 18 日
4. 小橋瑞香, 杉直也, 須崎大地, 元村一基, 海老根一生, 木下哲, 丸山大輔
シロイヌナズナの新規精細胞単離系の確立
第 65 回 日本植物生理学会年会 2024 年 3 月 18 日
5. 杉直也, 須崎大地, 水多陽子, 木下 哲, 丸山大輔
青色光照射による効率的な花粉管破裂誘導法の開発
第 65 回 日本植物生理学会年会 2024 年 3 月 18 日
6. 須崎大地, 大井崇生, 御調日向子, 武内秀憲, 永原史織, 杉直也, 木下哲, 丸山大輔
卵細胞外の斑点状構造はどのように形成されるか
第 65 回 日本植物生理学会年会 2024 年 3 月 17 日
7. 須崎大地, 大井崇生, 武内秀憲, 永原史織, 御調日向子, 杉直也, 木下哲, 丸山大輔
卵細胞外の斑点状構造はどのように形成されるか
日本植物学会第 87 回大会 2023 年 9 月 7 日
8. 杉直也, 泉理恵, 須崎大地, 海老根一生, 木下哲, 丸山 大輔
重複受精過程で見られる Ca^{2+} 誘導性の選択的生体膜崩壊メカニズムの解析
日本植物学会第 87 回大会 2023 年 9 月 7 日
9. 永原史織, 丸山大輔, 東山哲也, 水多陽子, 武内秀憲
助細胞における花粉管誘引シグナルの極性分泌ダイナミクスの解析
日本植物学会第 87 回大会 2023 年 9 月 7 日
10. 西川周一, 高木祐理, 高松優菜, 松本光梨, 植田美那子, 丸山大輔
受精時の精核融合の完了は胚発生の開始に必須ではない
日本植物学会第 87 回大会 2023 年 9 月 7 日
11. 丸山 大輔, 大津 美奈, 野田口 理孝, 須崎 大地, 太田 かおる, 木下 哲
細胞融合を通じた植物長个体覚醒の理解に向けて
日本植物学会第 87 回大会 2023 年 9 月 7 日
12. 丸山大輔, 須崎大地, 太田かおる, 木下哲
植物における細胞融合因子の同定と解析
第 75 回 日本細胞生物学会大会 2023 年 6 月 29 日
13. 杉 直也, 泉 理恵, 須崎 大地, 海老根 一生, 木下 哲, 丸山 大輔
植物の重複受精過程で観察される精細胞を包む単膜の選択的崩壊機構の解析
第 75 回 日本細胞生物学会大会 2023 年 6 月 28 日
14. Daisuke Maruyama
Analysis of a key factor regulating cell fusion between early endosperm and

persistent synergid.

The 33rd International Conference on Arabidopsis Research 2023 年 6 月 6 日

15. 丸山 大輔

植物受精の動態をライブイメージングで観察する

エビデントランチョンセミナー 2023 年 3 月 16 日 招待有り

16. 丸山 大輔

シロイヌナズナの非配偶子性の 細胞融合の意義を理解する

日本植物学会第 86 回大会 2022 年 9 月 17 日

17. 丸山大輔

受精依存的に発現する シロイヌナズナの細胞融合因子の同定

日本分子生物学会 第 44 回年会 2021 年 12 月 1 日 招待有り

18. 丸山大輔, 泉理恵, 武内秀憲, 永原史織, 須崎大地, 河島友和, 東山哲也, 木下哲

アクチン繊維に依存した 花粉管誘引物質の分泌制御の解析

第 85 回日本植物学会 2021 年 9 月 20 日

19. 丸山 大輔, 須崎 大地, 太田 かおる, 木下 哲

シロイヌナズナの生殖に伴う非配偶子融合の意義

日本動物学会第 91 回大会 2021 年 9 月 2 日 招待有り

20. 丸山大輔

死を回避した助細胞は新たな運命を手に入れられるだろうか？

植物生殖改変ワークショップ 2021 年 3 月 14 日

21. Shohei Yamaoka, Misaki Saito, Ryosuke Momiki, Kazuo Ebine, Yoshihiro Yoshitake, Yoshimi Nakano, Ryuichi Nishihama, Takuya Miyakawa, Takeshi Nakano, Nobutaka Mitsuda, Takashi Araki, Takayuki Kohchi

BONOB-LRL/DROP heterodimer regulates germ cell differentiation in the gametophytes of land plants.

The 27th International Congress on Sexual Plant Reproduction, 2024

22. Shohei Yamaoka, Misaki Saito, Ryosuke Momiki, Kazuo Ebine, Yoshihiro Yoshitake, Yoshimi Nakano, Ryuichi Nishihama, Takuya Miyakawa, Takeshi Nakano, Nobutaka Mitsuda, Takashi Araki, Takayuki Kohchi

An evolutionarily conserved heterodimer of the bHLH proteins BNB and LRL/DROP regulates germ cell differentiation in land plants

日本発生生物学会第 57 回大会, 2024

23. Shohei Yamaoka, Misaki Saito, Ryosuke Momiki, Kazuo Ebine, Yoshihiro Yoshitake, Ryuichi Nishihama, Takuya Miyakawa, Takeshi Nakano, Nobutaka Mitsuda, Takashi Araki, Takayuki Kohchi

An evolutionarily conserved bHLH heterodimer for germ cell differentiation in the

gametophyte of land plants

Taiwan-Japan Plant Biology 2023, 2023.

24. Shohei Yamaoka

A bHLH heterodimer for germ cell differentiation from Arabidopsis and Marchantia haploid gametophytes

Plant Biology Graduate Group Seminar, University of California, Davis, 2023.

25. Haonan Bao, Rui Sun, Megumi Iwano, Yoshihiro Yoshitake, Shiori Aki, Masaaki Umeda, Ryuichi Nishihama, Shohei Yamaoka, Takayuki Kohchi

Evolutionarily Conserved CKI1-mediated Two-component Signaling Regulates Female Germline Specification in Marchantia polymorpha

第 65 回日本植物生理学会年会, 2024

26. 中西辰慶, 白川一, 小黑友輝, 菅野茂夫, 山岡尚平, 相良真由, 谷田舞, 須沼京子, 石見拓也, 堀内恵大, 熊石妃恵, 吉田颯馬, 渡邊むつみ, 峠隆之, 鈴木孝征, 市橋泰範, 武宮淳史, 山口暢俊, 河内孝之, 伊藤寿朗

孔辺細胞とミロシン細胞の分化における FAMA-WASABI MAKER 転写ネットワーク

第 65 回日本植物生理学会年会, 2024

27. 白川一, 小黑友輝, 菅野茂夫, 山岡尚平, 相良真由, 谷田舞, 松本紘弥, 熊石妃恵, 吉田颯馬, 渡邊むつみ, 峠隆之, 鈴木孝征, 市橋泰範, 武宮淳史, 山口暢俊, 河内孝之, 伊藤寿朗

保存された FAMA-WSB モジュールの転用によるアブラナ目生体防御系の進化

第 65 回日本植物生理学会年会, 2024

28. 元村一基, 杉直也, 竹田篤史, 山岡尚平, 丸山大輔

核が除去された花粉管が持つ伸長制御能力とその分子機構の解明に向けて

第 65 回日本植物生理学会年会, 2024

29. 古谷朋之, 三枝菜摘, 山岡尚平, 山本千愛, 島津舜治, 南野尚紀, 西浜竜一, 石崎公庸, 上田貴志, 深城英弘, 河内孝之, 笠原賢洋, 福田裕穂, 荒木崇, 近藤侑貴

MpBZR3 はゼニゴケの配偶子器発生を制御する

第 65 回日本植物生理学会年会, 2024

30. 山岡 尚平、齊藤美咲、樺木亮介、吉竹良洋、光田展隆、海老根一生、西浜竜一、荒木崇、河内孝之

陸上植物の生殖細胞分化に必要な bHLH 転写因子複合体の解析

日本農芸化学会 2022 年度京都大会, 2023

31. Shohei Yamaoka, Misaki Saito, Ryosuke Momiki, Yoshihiro Yoshitake, Ryuichi Nishihama, Kazuo Ebine, Takashi Ueda, Nobutaka Mitsuda, Takashi Araki, Takayuki Kohchi

A bHLH heterocomplex regulates gamete progenitor differentiation in Arabidopsis and Marchantia

EMBO workshop 2022 - An integrated view of early land plant evolution, 2022

32. 山岡 尚平, 海老根 一生, 齊藤 美咲, 樫木 亮介, 吉竹 良洋, 上田 貴志, 光田 展隆, 西浜 竜一, 荒木 崇, 河内 孝之

コケ配偶体と花粉における生殖細胞分化の理解と制御に向けて

日本植物学会第 86 回大会, 2022

33. 樫木 亮介, 齊藤 美咲, 吉竹 良洋, 井上 佳祐, 河内 孝之, 荒木 崇, 山岡 尚平
ゼニゴケの生活環において多面的に機能する転写因子 MpLRL の発現解析

日本植物学会第 86 回大会, 2022

34. 三枝 菜摘, 國本 完, 肥後 あすか, 神原 泉, 富田 由妃, 井上 佳祐, 山岡 尚平, 荒木 崇

ゼニゴケの生活環における MpMS1 の機能解析

日本植物学会第 86 回大会, 2022

35. 梶原 智明, 宮崎 基, 岩崎 美雪, 山岡 尚平, 吉竹 良洋, 安居 佑季子, 西浜 竜一, 河内 孝之

アンチセンス長鎖非翻訳 RNA SUF の転写は苔類ゼニゴケ雌性化遺伝子 FGMYB の発現抑制に重要である

日本植物学会第 86 回大会, 2022

36. 古谷 朋之, 三枝 菜摘, 山岡 尚平, 島津 舜治, 山本 千愛, 石崎 公庸, 西浜 竜一, 河内 孝之, 福田 裕穂, 笠原 賢洋, 荒木 崇, 近藤 侑貴

ゼニゴケ配偶子器の発生における MpBZR3 の役割

日本植物学会第 86 回大会, 2022

37. 元村 一基, 杉 直也, 松本 歩, 武内 秀憲, 野田口 理孝, 東山 哲也, 木下 哲, 山岡 尚平, 竹田 篤史, 丸山 大輔

シロイヌナズナ花粉管は先端から核を排除した状態でも伸長制御能力を保持している

第 63 回日本植物生理学会年会, 2022

38. 下川 瑛太, 川村 昇吾, Rui Sun, 鈴木 かおり, 吉竹 良洋, 安居 佑季子, 西浜 竜一, 山岡 尚平, 増口 潔, 山口 信次郎, 河内 孝之

ゼニゴケにおけるジベレリンに関連したメチル基転移酵素機能に影響する新規変異体選抜

第 63 回日本植物生理学会年会, 2022

39. 古谷 朋之, 山岡 尚平, 石崎 公庸, 西浜 竜一, 荒木 崇, 河内 孝之, 福田 裕穂, 近藤 侑貴

ゼニゴケの配偶子器発生制御における MpBZR3 の機能解析

第 63 回日本植物生理学会年会, 2022

40. 古谷朋之, 山岡尚平, 石崎公庸, 西浜竜一, 荒木崇, 河内孝之, 福田裕穂, 近藤侑貴
ゼニゴケ配偶子器の発生を制御する非典型 BZR 転写因子
日本植物学会第 85 回大会, 2021
41. 金坂侑紀, 井上佳祐, 山岡尚平, 荒木崇
苔類ゼニゴケの成長相転換制御における日長認識機構の解析
日本植物学会第 85 回大会, 2021
42. 山岡尚平
ゼニゴケから花粉の雄性配偶子形成のメカニズムを知る
第 62 回日本植物生理学会年会・関連集会「植物生殖改変ワークショップ」, 2021
43. 海老根一生, 山岡尚平, 上田貴志
シロイヌナズナの雄原細胞の取り込みに関わる GH17 メンバーの解析
第 62 回日本植物生理学会年会, 2021
44. 川村 昇吾, Rui Sun, 吉竹 良洋, 楠 龍之介, 西浜 竜一, 山岡 尚平, 河内 孝之
苔類ゼニゴケにおけるジベレリンを介した生殖器官形成のフィードバック制御
第 62 回日本植物生理学会年会, 2021
45. 小谷 莞太, 西田 瑠理, 肥後 あすか, 山岡 尚平, 井上 佳祐, 荒木 崇
ゼニゴケの精子形成における精細胞特異的ヒストン H1 バリエーションの役割
第 62 回日本植物生理学会年会, 2021
46. 金坂 侑紀, 井上 佳祐, 山岡 尚平, 荒木 崇
第 62 回日本植物生理学会年会, 2021
47. 永原史織, 丸山大輔, 山岡尚平, 水多陽子. 花粉発生過程のライブイメージングと一過的導入による分裂誘導. 日本植物学会第 88 回大会 2024 年
48. 杉直也, 須崎大地, 水多陽子, 木下哲, 丸山大輔. 青色光照射による効率的な花粉管破裂誘導法の開発. 日本植物生理学会第 65 回年会 2024 年
49. 水多陽子. 新規モデル植物のゲノムを"編集する・解析する"Ⅰ「一過的な遺伝子導入による植物生殖細胞のゲノム編集と遺伝子発現制御」. 基礎生物学研究所 新規モデル生物開発トレーニングコース (招待講演) 2024 年
50. 水多陽子, 皆川吉, 田中左恵子, 江面浩. 花粉によるゲノム編集酵素のデリバリーと周辺技術の開発. 第 64 回日本植物生理学会年会 2023 年
51. 角井宏行, 村田和樹, 内野智樹, 佐藤良勝, 水多陽子, 那須田 周平. ライブイメージングで解明するコムギ配偶子致死 遺伝子 Gc2 の作用機構. 日本育種学会第 143 回講演会 2023 年
52. 角井宏行, 村田和樹, 佐藤良勝, 水多陽子, 那須田周平. コムギ配偶子致死遺伝子 Gc の機能解析. 第 17 回ムギ類研究会 2022 年

53. 水多陽子. 花粉を用いた植物生殖細胞のゲノム編集と周辺技術の開発. 2022 年度植物科学シンポジウム「植物科学で挑む、社会実装への道」 2022 年
54. 水多 陽子. イメージングで解き明かす花粉の一生と受精メカニズム. 京大植物縦横無尽の会 (招待講演) 2022 年
55. 長江拓也, 武内秀憲, 水多陽子, 東山哲也. アブラナ科植物の花粉管誘導過程における異種と同種を見分ける認証機構の解析. 日本植物学会第 86 回大会 2022 年
56. 水多陽子. 一過的発現による花粉の分化運命の制御. 日本植物学会第 86 回大会 2022 年
57. 皆川吉, 田中左恵子, 大島崇彰, 水多陽子, 東山哲也, 江面浩, 間和彦. 花粉のゲノム編集と RNP 導入. 第 39 回日本植物バイオテクノロジー学会大会 2022 年
58. 水多陽子. 花粉を用いた植物生殖細胞のゲノム編集. 日本ゲノム編集学会第 7 回大会, シンポジウム「ゲノム編集植物の科学」(招待講演) 2022 年
59. 長江拓也, 武内秀憲, 水多陽子, 東山哲也. 二光子顕微鏡を用いて生殖過程を定量的に捉え、異種と同種を見分ける認証機構に迫る. 第 44 回日本分子生物学会年会 2021 年
60. 新美陽子, 永井啓祐, 保浦徳昇, 水多陽子, 竹林 裕美子, 小嶋美紀子, 榊原均, 島谷善平, 寺田理枝, 辻寛之, 芦荻基行. イネにおける成長相転換とジベレリン生合成の時空間的解析. 日本育種学会第 140 回講演会 2021 年
61. 永原史織, 東山哲也, 水多陽子. 花粉管を用いた生殖細胞のゲノム編集と導入細胞の可視化. 日本植物学会第 85 回大会 2021 年 9 月 16 日.
62. 水多陽子. 花粉管を用いたゲノム編集酵素のデリバリーと生殖細胞の遺伝子改変. 第 38 回日本植物バイオテクノロジー学会 シンポジウム「Made in Japan: 世界を駆ける日本発のゲノム編集技術開発の最前線」(招待講演) 2021 年
63. 水多陽子. 花粉管発生におけるライブイメージングと生殖細胞の改変. 第 62 回日本植物生理学会年会・関連集会「植物生殖改変ワークショップ」 2021 年
64. 水多陽子. 観る、知る、利用する。植物の花に秘められたいのちのしくみ. 第 7 回名古屋大学の卓越・先端・次世代 研究シンポジウム「学問の意義と貢献：研究のインパクトと社会との対話」(招待講演) 2021 年 1 月 22 日.

図書

1. 立川雅司, 畑田出穂, 藤井渉.
ゲノム編集技術 ～実験上のポイント／産業利用に向けた研究開発動向と安全性周知.
(分担執筆, 担当箇所: 第 3 章第 3 節第 1 項) 株式会社 情報機構 2023 年 総ページ数: 315
2. 大澤 志津江、山岡 尚平
中村千春・岡田清孝監訳 エッセンシャル遺伝学・ゲノム学 第 7 版 11 章 発生の遺伝的制御、化学同人 総ページ数 560 2021

3. 植田 美那子, 栗原 大輔, 水多 陽子
エッセンシャル遺伝学・ゲノム科学 (原著第 7 版) 第 9 章. Daniel L. Hartl, 中村千春,
岡田清孝 (担当箇所: 第 9 章) 化学同人、総ページ数 560、2021

産業財産権

出願

1. 種類・番号: 特願 2022-023027
出願年: 2022 年
国内・外国の別: 国内
名称: 対象細胞の濃縮方法
発明者: 栗原(水多)陽子, 金城行真, 東山哲也, 皆川吉, 和田悠作
権利者: 東海国立大学機構、他 3 者取得

その他

1. 山岡尚平「植物の生殖の研究」高槻中学・高等学校にて講演 (2022 年 6 月)
<https://www.takatsuki.ed.jp/2022/06/16125>
2. 植物の生殖細胞をつくる 2 つの遺伝子—5 億年前に誕生したヘテロ二量体—
<https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2023-10-19-1>
3. 植物の有性生殖システムの進化の痕跡を示す鍵因子の発見 <https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2024-04-15-2>
4. 研究紹介・成果紹介
(令和 2 年度 科研費 学術変革 B「植物生殖改変」公式 web サイト
<https://www.remod-reprod.com/>)
5. 研究紹介 (名古屋大学研究成果発信サイト Researchers' Voice)
https://www.nagoya-u.ac.jp/researchinfo/researchers_voice/2020/11/no25.html
6. 「光らせよう! 見てみよう! 蛍光タンパク質で科学者体験」 サカエ大学
第 13 回キッズサイエンス
<https://youtu.be/e3ajGXaZVis>
7. 第 80 回名大カフェ サカエ大学 Common-S.
<https://www.aip.nagoya-u.ac.jp/research-information/mcafe/event80>

研究成果

総括班

新型コロナの流行に合わせて普及したオンライン会議ソフトを利用することで、計画書に記載していた年に複数回の領域班会議の開催を無理なく開催することができた（左図）。期間内で延べ 7 回の班会議を開催することで、互いの訪問が制限される中で発生する技術移転などの問題をカバーした。また、各分野に精通する領域アドバイザーからのフィードバックを受けることで、今後の植物学の発展を意識した領域運営が可能となった。規定の期間が終了した 2023 年 3 月時点では、各計画班が手掛けた植物生殖改変の試みの多くが論文発表に至っていなかったものの、2021 年の植物生理学会の関連集会、2022 年の植物学会シンポジウム、そして、領域のウェブサイトを通じて領域のコンセプトが広く発信された。また、新型コロナによる制限が緩和された最終年度にオンサイトミーティングを開催することで、これまでの領域の成果を互いに確認するとともに、今後の研究展開についての相談を行った。オンサイトミーティングでは各班から学生を含む参加者が集い、若手研究者の育成にも貢献した（右図）。総括班が役目を終えた領域終了後も班員同士の連携は維持されており、植物生殖改変で得られた成果の論文の準備が進んでいるところである。



オンライン会議の様子



オンサイトミーティングにて

丸山班

受精後の助細胞が初期胚乳と細胞融合する現象「助細胞胚乳融合」に欠損を示す変異体を、変異原処理したシロイヌナズナ M_1 集団 2,213 個体から選抜した。そのうち、最も高頻度に助細胞胚乳融合異常が生じた変異体の原因遺伝子が *CTL17* であることを突き止めた。助細胞核崩壊を阻害する *ein2* 変異を導入した *ein2 ctl17* 二重変異体に助細胞特異的なプロモーターによって体細胞胚誘導因子として知られる *RKD1* を発現する遺伝子を導入したが、当初期待した助細胞胚を含む多胚性種子は得られなかった。この変異体取得から遺伝子同定にかけての成果は国際植物生殖学会 ICSPR2024 の招待講演にて報告した。一方で以前から手掛けていた助細胞の受精後の不活性化とアクチン動態の研究を、本領域でも助細胞プログラム細胞死の原理の理解の観点から継続し、成果を論文として発表した (Susaki et al., *Plant Cell*, 2023)。また、植物生殖改変のコンセプト提示のため、立命館大の元村一基博士

との共同研究を通じて、全てのオス側の細胞核（2 個の精核と栄養核）が全く輸送されずに先端が無核状態となるシロイヌナズナを作出することに成功した (Motomura et al., *Nature Commun.*, 2021). さらに、山岡班の協力を得て、*bnb* 変異体を利用する別の方法で、無核花粉管が作出可能であることを示した (Motomura et al., *Front. Plant Sci.*, 2022). 新たな方向性として受精前の精細胞の活性化の研究も立ち上がってきた。まず、精細胞を包む内部形質膜という膜構造にもが受精直前に 1 分以内に崩壊する動態を世界に先駆けて観察した (Sugi et al., *Front. Plant Sci.*, 2023). この研究の副産物として、水多班との共同研究によって精細胞を花粉管から簡便に排出させる技術も開発された (Sugi et al., *Plant and Cell Physiol.*, 2024). これら丸山班によるオス側組織の成果は、植物生殖改変のコンセプトを提示するのみならず、今後、顕微鏡下で配偶子から任意の胚を作出する方向の生殖技術研究の進展にも寄与するものと考えられる。

山岡班

シロイヌナズナの根において BNB2 を異所発現させることで、多数の精細胞特異的遺伝子の発現を誘導できることを見出した。この中には、精細胞分化において中心的な役割を果たす既知の遺伝子も含まれており、蛍光タンパク質レポーターを用いた検証でも確認された。このことから、BNB は、分化した植物細胞の運命を転換し、生殖細胞としての性質を付与する能力をもつ転写因子であると考えられた。機能未知の BNB 標的遺伝子候補のうち、細胞壁形成に寄与すると考えられる遺伝子に注目して解析を進めた。ノックアウト株の解析から、これらの遺伝子は栄養細胞への雄原細胞の取り込みに関わることが示唆された。水多班と協力して、2 核性花粉をもつベンサミアナタバコにおいて、ゲノム編集と単離花粉のライブイメージング解析により、BNB の機能が保存されていることを示した。さらに BNB は、シロイヌナズナとゼニゴケの両方で、別の転写因子 LRL/DROP とヘテロ二量体を形成して機能することを見出し、このヘテロ二量体が陸上植物の系統間で高度に保存された、配偶体において配偶子の元となる始原細胞を分化させる鍵制御因子であることを示した (Saito et al., *Curr. Biol.* 2023)。

水多班

ベンサミアナタバコにおいて蛍光タンパク質のマーカーラインを整備した。また、山岡班と協力してベンサミアナタバコにおける BNB オルソログの解析を進め、形質転換体を作成して形質評価を行った。これら作出した個体を用いて共焦点顕微鏡で花粉や花粉管の発生過程を長時間生きたまま観察し、解析する手法を確立した。併せて花粉へ遺伝子を一過的に導入し、遺伝子機能や表現型に与える影響などを評価した (Nagahara et al., *Plant Reprod.*, 2021). 一連の手法や成果については、一過的な導入により花粉発生過程の解析や花粉のゲノム編集が可能であることを和文総説にて報告した (水多 植物科学の最前線 (BSJ-Review) 2023). 一過的に遺伝子導入された小孢子の発生過程を観察した結果、花粉の第一

分裂時の核の位置が、栄養細胞と雄原細胞への分化に重要であることが明らかとなった。また、導入花粉を単離し、少数の花粉から次世代シーケンサーを用いて網羅的な遺伝子発現解析を行なった。さらに、一過的導入花粉を選抜する方法を確立（特願 2022-023027）し、選抜した花粉を受粉することで、花粉管発芽などを評価した(Kaneshiro et al., *Quant. Plant Biol.*,2023)。これらの成果や研究内容については、複数の学会やシンポジウムにて招待講演および一般発表を行うとともに、領域ホームページや一般講演でも情報公開を行った。