

機関番号：15401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20770047

研究課題名 (和文) セン類, タイ類, ツノゴケ類における生活環を通じた細胞分裂様式変遷パターンの解明

研究課題名 (英文) The change of cell division system through the life cycle of mosses, liverworts and hornworts.

研究代表者

嶋村 正樹 (MASAKI SHIMAMURA)

広島大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号：00432708

研究成果の概要 (和文) : コケ植物のセン類, タイ類, ツノゴケ類の様々な組織間で細胞分裂期の微小管系の形態を比較観察することで, 生活環を通じた細胞分裂様式の変遷を明らかにした. 主要な成果として, タイ類の中で, 最も初期に分岐したと考えられているコマチゴケ目の塊状原系体で, 陸上植物に典型的な表層微小管系, 分裂準備帯が形成されることを確認したことがあげられる. これは多くのセン類でみられる糸状原系体では表層微小管系, 分裂準備帯が存在しないことと対照的である. タイ類ゼニゴケ類については, 研究結果を分子系統学的解析と照合することで, 減数分裂様式の進化について議論した.

研究成果の概要 (英文) : Changes of the mitotic division system through the life cycle of bryophytes (mosses, liverworts and hornworts) were investigated. The occurrence of cortical microtubules and preprophase band in grobose protonema of liverworts is in stark contrast to the absence of these MT systems in filamentous protonema of mosses. In addition, diversity in meiotic division system of complex thalloid liverworts were summarized and molecular phylogenetic analyses revealed the phylogenetic distribution and evolution of meiotic division system of marchantialean liverworts.

交付決定額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	800,000	240,000	1,040,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：植物形態学

科研費の分科・細目：基礎生物学・形態・構造

キーワード：コケ植物 微小管 細胞分裂 進化

1. 研究開始当初の背景

陸上植物の細胞には通常, 動物細胞の中心体に相当する恒常的な微小管形成中心 (MTOC) は存在せず, MTOC は細胞分裂周期を通じて位置が変化する. また, 進化の過程で, 分裂準備

帯微小管帯や隔膜形成体微小管など陸上植物特有の細胞分裂装置を獲得している (Graham 2000). しかし, コケ植物など原始的な陸上植物では, 緑藻類と種子植物の進化的中間段階の細胞分裂様式を引きずっていることが, 最近の研究で明らかになってきた

(Brown & Lemmon 1997, Shimamura et al. 2001, 2004 など). 具体的には, 分裂準備微小管帯の有無, 紡錘体の微小管形成中心の位置, 細胞質分裂の特徴などが藻類と高等陸上植物間で異なっており, コケ植物ではこれらの形質について, 両者の特徴が, モザイク状に観察される. さらに, 本申請者を中心とする研究グループは, コケ植物の中心体や葉緑体など MTOC となるオルガネラ表面には, 真核生物の MTOC の普遍的な構成物質である γ -チューブリンが局在することを示し, 微小管形成にかかわる普遍的なタンパク質の局在位置の変化が, 細胞分裂装置の多様化と関わっていることを明らかにした (Shimamura et al. 2004). コケ植物に特徴的な葉緑体表面を MTOC とする微小管形成システムは, 藻類や動物でみられる中心体に依存する微小植管構築システムと, 中心体が存在しない高等植物型のシステムの間位置すると考えられ, 細胞分裂様式の進化の系譜を考える上で重要な情報を含んでいると考えられる. また, コケ植物では, 同一種内であっても, 配偶体・胞子体両世代の発生過程で出現する組織・細胞ごとに, 細胞分裂様式が大幅に変化するという興味深い特徴がある. さらに, コケ植物の植物体 (配偶体) の発生に至るステージは, 広く受け入れられている陸上植物の体制進化シナリオ - 単細胞性から糸状あるいは平面的な体制を経て, 最終的に立体的な体制を獲得 - とよく相関するが, 各ステージの細胞分裂様式も, 体制進化と相関している. 例えば, コケの 1 グループ「セン類」の原糸体は多くの場合, 糸状の原始的な体制である. このステージでは派生的な分裂装置と考えられる分裂準備微小管帯 (PPB) がみられないが, 体細胞分裂時には PPB が出現する (Doonan et al. 1987 など).

上述した様に, コケ植物では「個体発生は系統発生を繰り返す」の言葉通り, 陸上植物の進化の過程で生じた細胞分裂様式の多様化を, 1 つの種内でさえ再現している様に見える. このため, コケ植物において, 生活環を通じた細胞分裂機構の変遷を詳細に観察し, 発生進化学的な比較を行うことで, 植物の体制と細胞分裂様式との相関, 植物の体制の進化に細胞分裂様式の進化が与えた影響にアプローチできる可能性がある. しかし, これまでのコケ植物の細胞分裂様式の多様性に関する研究は, 糸状の原糸体の分裂, 胞子形成過程や精子形成過程など, 分裂期の細胞の観察が比較的容易な条件で多くの情報を得ており, 生活環全体を通じた多様性の全貌が明らかにされていない. また, 系統学的に注目すべき分類群の情報が欠けている. 例えば, ミズゴケ, クロゴケ, イシヅチゴケ, ヨツバゴケなど, 原始的とされるセン類の多くでみられる, 葉状の原糸体でどのような細

胞分裂様式がみられるのかについては情報が無い. それらのセン類では, 植物体本体 (配偶体) や胞子体での細胞分裂様式についても情報が無い.

2. 研究の目的

本研究では, これまで情報のない葉状性の原糸体をもつセン類, 塊状の原糸体をもつタイ類, ツノゴケ類を研究材料に, 生活環を通じた細胞分裂様式の変遷を明らかにする. また, 抗 γ -チューブリン抗体を用いて, 微小管の形成部位 (MTOC) を検出しながら, 細胞分裂期の微小管系の形態を観察する. 生活環を通じて現れる様々な細胞分裂様式を種ごとにカタログ化し, それをもとに, 細胞分裂様式の進化とコケ植物の生活環で現れる様々な体制の進化を議論する.

3. 研究の方法

(1) 材料の選定と生鮮試料の収集, 栽培

これまでに細胞分裂様式に関する情報のなかった葉状性の原糸体をもつセン類, 塊状の原糸体をもつタイ類を材料として選定した. オオミズゴケ, イシヅチゴケ, クロゴケ, ヨツバゴケ, コマチゴケの胞子体を新たに採集し胞子から原糸体を無菌的に栽培した. 比較対象として, 糸状性の原糸体をもち, 比較的派生的な分類群に含まれると考えられているヒメツリガネゴケも栽培した.

(2) 細胞分裂様式の解析

生活環各ステージの組織, 細胞を固定し, 細胞周期を通じた微小管系の形態を, 間接蛍光抗体法, 透過型電子顕微鏡を用いて観察した. また, それぞれの微小管系の形成部位 (微小管形成中心; MTOC) を抗 γ -チューブリン抗体, 抗セントリン抗体を用いた間接蛍光抗体法で検出した. 生活環の様々な時期で見られる細胞分裂様式を, PPB の形成の有無, 細胞質のくびれ形成の有無, 紡錘体の極の位置, 細胞質オルガネラの数や動態, 細胞質分裂装置の形態などに着目して観察した. 生活環における細胞分裂様式の変遷は, 形態的に明瞭に区別できる以下の 8 ステージに分けて観察・解析した.

1. 胞子発芽 (無性芽をつける種に関しては無性芽発芽についても),
2. 原糸体の成長,
3. 原糸体から植物体の発生,
4. 成長途上の植物体の茎頂とその周辺,
5. 造精器, 造卵器と生殖細胞の発生,
6. 胞子体の初期発生,
7. 胞原組織の形成,
8. 減数分裂.

4. 研究成果

(1) コケ植物のタイ類の中で最も初期に分岐したと考えられているコマチゴケの塊状原系体で、蘚類の糸状原系体とは異なり表層微小管、分裂準備帯が存在することを明らかにした。コマチゴケでは表層微小管、分裂準備帯が、胞子体、配偶体世代を通じ、精子形成を除くすべての体細胞分裂で観察できた。研究結果から、これらの表層微小管系は陸上植物の主要な系列が分岐する前に獲得されたことが示唆された。

(2) セン類ホソバミズゴケの原系体が、糸状と葉状の体制を繰り返し出現させながら成長することを明らかにした。糸状原系体では他のセン類と同様、表層微小管系が見られなかったが、葉状原系体の細胞には、表層微小管が存在することを確認した。進化の過程で、葉状原系体が糸状原系体に先行して獲得されたと考えるならば、糸状原系体での表層微小管系の欠如は、藻類的な原始的な形質を反映したものではなく、派生的な形質であると考えられた。

(3) タイ類ゼニゴケ類について、細胞質の分裂様式、葉緑体の数と配分様式などについて類型化した。ゼニゴケ類の胞子体の退化的傾向が減数分裂様式の進化にも影響を与えたことを指摘した。研究成果を原著論文として発表した。

(4) 不定形な外形の葉状体植物であるタイ類ヌエゴケについて、頂端細胞や生殖器官の発生過程を観察し、茎葉性タイ類との共通点を見いだした。分子系統学的な解析もそれを支持した。ヌエゴケの体制は、異時性進化に由来し、葉状原系体の縁に生殖器官をつけたものと解釈された。研究成果を原著論文として発表した。

(5) 真核生物の中心体に普遍的に存在するセントリンについて、コケ植物の精子形成を通じた局在変化を解析し、昨年度までに明らかにしたγ-チューブリンの動態と比較した。セントリンが、中心体、微小管、細胞板、鞭毛基部装置など、構造や機能が全く異なる構造に局在したことから、コケ植物にも、動物細胞と同様、機能の異なる複数種のセントリン分子が存在することが示唆された。

(6) 上記1-6の研究を通じ、コケ植物の細胞分裂様式的生活環を通じた変遷過程の概要が明らかになり、コケ植物の発生過程でおこる体制変化と細胞分裂様式の変化の関係性について議論するための、国内外に類例のない研究基盤が整備できた。今後は細胞分裂様式の多様性研究を進化発生学的研究のツールとして発展させていこうと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

1. Shimamura, M., Itouga, M., & Tsubota, H. 2011. Evolution of apolar sporocytes in marchantialean liverworts: implications from molecular phylogeny. *J. Plant Res.* 124: in press. 査読有り.

2. Brown, R. C., Lemmon, B. E. & Shimamura, M. 2010. Diversity in meiotic spindle origin and determination of cytokinetic planes in sporogenesis of complex thalloid liverworts (Marchantiopsida). *J. Plant Res.* 123: 589-605. 査読有り.

3. Masuzaki, H., Shimamura, M., Furuki, T., Tsubota, H., Yamaguchi, T., Haji Mohamed Abdul Majid & Deguchi, H. 2010. Systematic position of the enigmatic liverwort Mizutania (Mizutaniaceae, Marchantiophyta) inferred from molecular phylogenetic analyses. *Taxon* 59 (2): 448-458. 査読有り.

4. Shimamura, M. 2009. Sporophyte anatomy of *Megaceros flagellaris* (Dendrocerotaceae). *Hikobia* 15: 261-269. 査読有り.

[学会発表] (計14件)

1. 嶋村正樹・工藤珠美・山口富美夫・出口博則. コケ植物における生活環を通じた細胞分裂様式変遷パターンの比較. 日本植物学会第74回大会. 2010年9月11日, 春日井.

2. 酒井建輔・嶋村正樹・山口富美夫・出口博則. コケ植物の精子形成過程における中心体構成物質の動態について. 日本植物学会第74回大会. 2010年9月11日, 春日井.

3. 奥田有貴・嶋村正樹・山口富美夫・出口博則. ゼニゴケ植物体の組織発生学的研究. 日本植物学会第74回大会. 2010年9月11日, 春日井.

4. 嶋村正樹・坪田博美. 減数分裂様式と分子系統解析からみたゼニゴケ類の系統進化. 第39回日本蘚苔類学会大会. 2010年8月19日, 岩国市.

5. 嶋村正樹, 齊藤信一郎, 酒井健輔, 山口富美夫, 出口博則. 2009. ケゼニゴケの4本鞭毛精子形成における中心体の動態. 日本

植物学会第73回大会. 2009年9月19日, 山形.

6. 嶋村正樹. アナナシツノゴケ胞子体の形態学的研究. 日本植物形態学会第21回大会. 2009年9月17日, 山形.

7. 工藤珠美・嶋村正樹・出口博則. コマチゴケの原糸体における分裂準備微小管帯の存在. 日本蘚苔類学会第38回大会. (2009年8月19日, 熊谷市.

8. 宮本裕子, 堀尾哲也, 山内大輔, 岡田岳人, 関田節子, 二村典宏, 篠原健司, 藤本祐作, 中井朋則, 新免輝男, 嶋村正樹, 紅朋浩, 峰雪芳宣. 緑色植物進化過程における γ -チューブリンのアミノ酸配列変化と機能変遷. 日本細胞生物学会第61回大会. 2009年6月4日, 名古屋.

9. 嶋村正樹・斉藤信一郎・山口富美夫・出口博則. ケゼニゴケの精子形成における微小管と γ -チューブリンの動態. 日本植物学会中国四国支部第66回大会. 2009年5月17日, 高知.

10. 宮本裕子, 山内大輔, 久野亮太, 中井朋則, 二村典宏, 篠原健司, 新免輝男, 嶋村正樹, 紅朋浩, 堀尾哲也, 峰雪芳宣. 陸上植物 γ -チューブリンのアミノ酸配列変化と機能変遷. 日本植物学会第72回大会. 2008年9月27日, 高知.

11. 嶋村正樹, 工藤珠美, 山口富美夫, 出口博則. タイ類コマチゴケの細胞分裂装置について. 日本植物学会第72回大会. 2008年9月26日, 高知.

12. 宮本裕子, 山内大輔, 久野亮太, 中井朋則, 二村典宏, 篠原健司, 新免輝男, 嶋村正樹, 紅朋浩, 堀尾哲也, 峰雪芳宣. 分裂酵母における相補性から見た緑色植物 γ -チューブリンの機能変遷. 日本植物形態学会第20回大会. 2008年9月24日, 高知.

13. 嶋村正樹. ナンジャモンジャゴケの形態. 日本蘚苔類学会第37回大会. 2008年8月30日, 秋田.

14. 工藤珠美, 嶋村正樹, 出口博則. コマチゴケの体細胞分裂装置. 日本蘚苔類学会第37回大会, 2008年8月30日, 秋田.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

嶋村 正樹 (MASAKI SHIMAMURA)
広島大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号: 00432708

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし