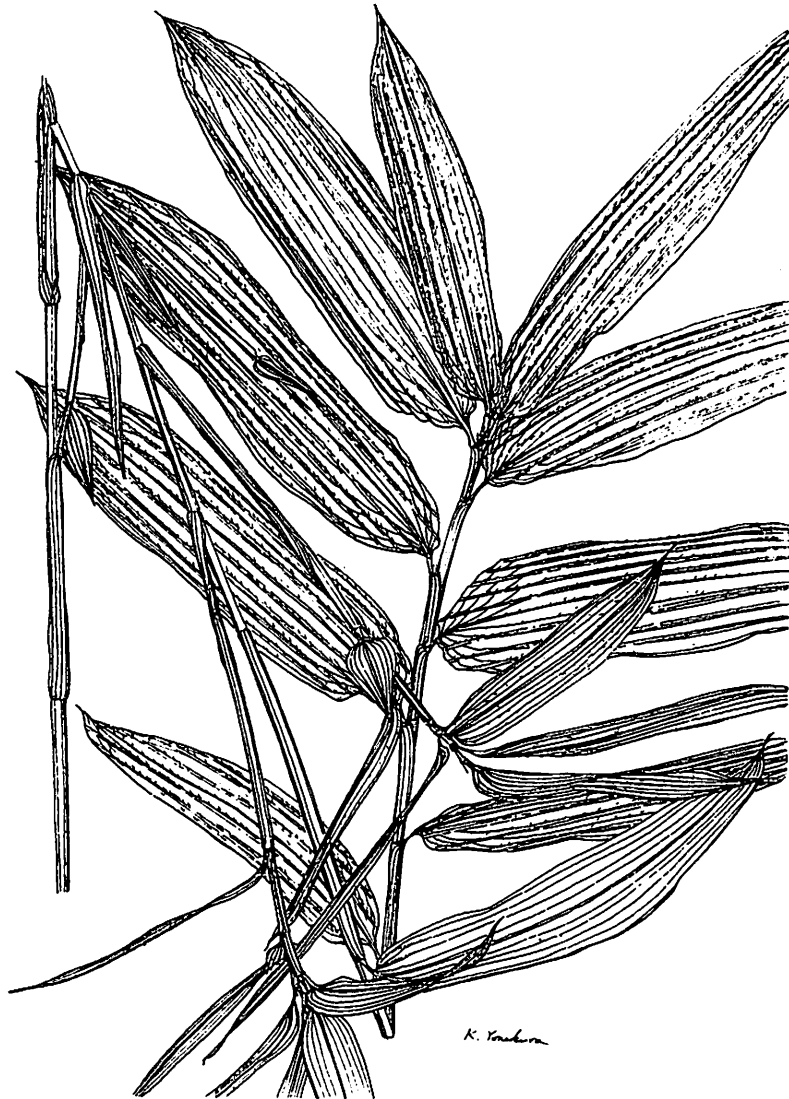


日本植物学会東北支部 第17回宮城(仙台)大会
公開シンポジウム
中学生・高校生の研究発表会
講演要旨集

Abstracts of the 17th Annual Meeting of the Botanical Society of Japan,
Tohoku Branch in Miyagi (Sendai)



開催日：2004年12月18日(土)・19日(日)

会 場：東北大学理学部生物学科

主催：日本植物学会東北支部

後援：東北大学(公開シンポジウム, 中学生・高校生の研究発表会)

宮城県教育委員会(中学生・高校生の研究発表会)

仙台市教育委員会(中学生・高校生の研究発表会)

K. Yoshida

日本植物学会東北支部第17回宮城（仙台）大会

講演要旨集

目次

大会に参加される方へ	2
講演プログラム	3
中学生・高校生の研究発表会の要旨	7
公開シンポジウムの要旨	11
一般講演口頭発表の要旨	13
一般講演ポスター発表の要旨	31
大会参加者名簿	43

表紙の植物について

スエコザサ *Sasaella ramosa* (Makino) Makino var. *suwekoana* (Makino) Sad. Suzuki (イネ科)

スエコザサは、牧野富太郎が1928年に仙台で採集した標本に基づき、同年初めに死去した壽衛夫人を偲んでササ属の新種として命名した植物で、後に鈴木貞雄(1976)によってアズマザサの変種に組み替えられた。原記載には詳しい採集場所は明記されていないが、案内した木村有香(当時東北帝国大学助教授)によると川内の亀岡山であるとのことで、ここに図示した個体も亀岡山中で採集されたものである。葉の上面にや長い毛を散生し、老成すると顕著な縦皺がより縁がややねじれて裏側に巻くのが特徴で、仙台近郊の丘陵地の林縁には所によっては普通に見られる。

スエコザサの属するアズマザサ属は、その形態や遺伝子組成からササ属とメダケ属の属間交雑に由来すると考えられている。このような雑種起源の属としては、日本には他にもナリヒラダケ属(メダケ属×マダケ属)、インヨウチク属(マダケ属×ササ属)があり、また属間雑種ではないが、ササ属のナンブスズ節はササ属スズタケ節(独立属とする意見もあるが、筆者はササ属に含めるのが妥当と考える)とササ属の他節との交雑起源の節と考えられている。このような交雑起源の属が多くかつ普通に見られるのが日本のタケササ類の大きな特徴である。

(植物画・説明文 東北大学大学院理学研究科附属植物園 米倉浩司)

大会に参加される方へ

[発表要領]

口頭発表の要領

全ての口頭発表は液晶プロジェクターを用いて行います。スクリーンは1枚です。Microsoft PowerPoint ファイル(Windows は PowerPoint2000 版、Macintosh は PowerPoint 2001 版)を CD-R または CD-RW に焼き付けたものを持参するか、ご自分のパソコンを持参ください。会場のパソコンへのデータの入力や、持参したパソコンの接続に関しては、発表会場の大会準備委員にご相談ください。

発表者の方は必ず発表前に休憩時間などを利用して、作動の確認を行ってください。

ポスター発表の要領

ポスターは縦 160cm x 横 85cm です。掲示の際には講演番号を貼るための余白(10x10cm)を左上角にとって下さい。画紙などは各自でご用意願います。

[一般講演の大会奨励賞]

本大会で学生が発表した一般講演の口頭発表及びポスター発表の中から、参加者が最も優れた発表と思うものを投票で選び、その発表者を最優秀賞者として表彰します。最優秀賞の選出は、次のような要領で行います。

- 1) 大会発表が終了する 12 月 19 日午後 1 時に、口頭発表会場で投票用紙を配布いたします。その場で、最も優れていると判断した口頭発表、ポスター発表をそれぞれ一つを選び、投票してください。
- 2) 直ちに開票して、得票数の最も多いものを最優秀賞といたします。最多得票数者が複数の場合は、その全てを最優秀賞者として表彰いたします。奨励金は等分に分配していただきます。
- 3) 表彰は、開票後直ちに行います。

[懇親会及び宿泊の会場]

懇親会は 12 月 18 日(土) 午後 7 時より 9 時まで、茂庭荘本館 2 階大宴会場(樺)で行います。

茂庭荘(車で 30 分)まで送迎バスが利用できます。

行き：東北大学理学部前を午後 6 時出発

帰り：日帰り 仙台駅行き 18 日午後 9 時 10 分発 (仙台駅午後 9 時 45 分着予定)

宿泊 理学部行き 19 日午前 8 時 30 分発

茂庭荘の住所と電話番号： 仙台市太白区茂庭字人来田西 1 4 3 - 3

電話 0 2 2 - 2 4 5 - 9 9 3 0

講演プログラム

[大会の日程]

第1日目 12月18日 (土曜日)

- 13時～14時 中学生・高校生の研究発表会
14時～15時 公開シンポジウム
15時～15時30分 中学生・高校生の研究発表の表彰式
15時30分～16時 一般講演ポスター発表
16時～17時30分 一般講演口頭発表
17時30分～ 日本植物学会東北支部総会
19時～ 懇親会 (会場は茂庭荘)

第2日目 12月19日 (日曜日)

- 9時30分～11時 一般講演口頭発表
11時～11時30分 一般講演ポスター発表
11時30分～13時 一般講演口頭発表
13時～ 最優秀賞の選出と表彰式

[中学生・高校生の研究発表会] 12月18日 (土曜日) 13:00～14:00

- C-SH1 厳寒地の郷土に生き残れ! 大峰桜の保護と増殖に関する研究
寺崎立哉・片平哲矢・金子航・舟山忠良 (宮城県柴田農林高等学校 バイオ研究班) [指導教諭 尾形政幸]
C-SH2 蘚類通道組織の進化系列
山口達也・倉兼信 (山形県立上山明新館高等学校) [指導教諭 鹿野秀司]
C-SH3 双葉郡北部の浜辺植物の分布
岩野貴善・渡辺信彦 (福島県立双葉高等学校 理科部) [指導教諭 船尾陽子]
C-SH4 冬鳥の飛来する前沼の水環境を維持するために～底土に着目して～
阿部翔太・千葉洋丈・栗原啓嘉・高橋大洋・佐藤智紀・白鳥雅佳・藤原慶来・相馬信哉・田口大地 (宮城県佐沼高等学校 自然科学部 生物・化学班) [指導教諭 菅原秀展 阿部たけ子]

[公開シンポジウム] 12月18日 (土曜日) 14:00～15:00

「植物と宇宙へ行こう—宇宙植物学の現在と未来—」

宇宙実験から考えるフロンティア生物の戦略 —植物の重力応答—

高橋 秀幸 (東北大学大学院生命科学研究科)

宇宙の中の植物 —パイオニア生命体としての植物—

西谷 和彦 (東北大学大学院生命科学研究科)

[一般講演]

第1日目 12月18日 (土曜日)

口頭発表 16:00~17:30

- 16:00 A1 ヤエヤマヒルギ支柱根における通気組織の連続性の解析
関 正典*・Hery Prunobaski・鈴木三男 (東北大・院・生命科学)
- 16:15 A2 Development and structure of aerenchyma in root of a mongrove plant,
Sonneratia alba J. Smith
Hery Purnobasuki*・鈴木三男 (東北大・院・理・植物園)
- 16:30 A3 集団遺伝学的解析の結果わかった日本産コナラ節4種に共通に見られる地
理的構造
菅野宗武*・鈴木三男 (東北大・院・理・植物園)
- 16:45 A4 黄色植物多核細胞フシナシミドロで見つかった新奇青色光受容体
片岡博尚* (東北大・院・生命科学)・高橋文雄 (都立大・理・生物、基生
研・光情報)・山形大輔 (東北大・院・生命科学)・笠原賢洋 (東京農工大・
遺伝子実験施設)・和田正三 (都立大・理・生物、基生研・光情報)
- 17:00 A5 淡水産微細藻類における単細胞PCRによる分子系統解析の一試行
大江真司* (山形大・院・理工)・原慶明 (山形大・理・生物)
- 17:15 A6 有孔虫に共生する単細胞性紅藻~その分類と多様性~
網代晶子*・横山亜紀子・原慶明 (山形大・理・生物)

第2日目 12月19日 (日曜日)

口頭発表 9:30~11:00 及び 11:30~13:00

- 9:30 B1 シロイヌナズナ花茎の重力屈性反応に関与する細胞壁関連遺伝子の探索
小松香菜*・横山隆亮・西谷和彦 (東北大・院・生命科学)
- 9:45 B2 組織特異的な発現を示すシロイヌナズナのエンド型キシログルカン転移
素/加水分解酵素(XTH)遺伝子のプロモーター解析
池田雄介*・横山隆亮・西谷和彦 (東北大・院・生命科学)
- 10:00 B3 道管の細胞壁発達に関与するエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵
素の解析
松井章浩* (東北大・院・生命科学)・関原明・篠崎一雄 (理研・ライフサ
イエンス)・高橋卓 (北大・理・生物)・米田好文 (東大・院・理)・横山隆
亮・西谷和彦 (東北大・院・生命科学)
- 10:15 B4 シロイヌナズナ *NHL10* 遺伝子の葉の老化、CMV 感染における過敏感反応、
スペルミン応答に関与するシス配列の同定
鄭明淑 (東北大・院・生命科学)・高橋英樹 (東北大・院・農)・山口公志・
宮寄厚・草野友延* (東北大・院・生命科学)
- 10:30 B5 カーネーション花卉におけるエチレン誘導型老化と非誘導型老化

大津佐和子*・河津真・羽柴輝良・佐藤茂 (東北大・院・農)

- 10:45 B6 エチレン生成と作用を抑制したポットカーネーション形質転換体の作出
木ノ内智之*・山下淳・遠藤玲子・佐藤茂 (東北大・院・農)

ポスター発表・討論 (11:00 - 11:30)

- 11:30 B7 *Cuphea leptopoda* からの中鎖脂肪酸合成に関わる酵素遺伝子の単離及び機能解析

田中裕子* (岩手大・農)・高橋大輔 (岩手県農業研究センター)・塚本知玄・渡辺正夫・高畑義人 (岩手大・農)

- 11:45 B8 イネ形質転換体を利用したデンブン枝作り酵素(BE)IIb の微変動によるアミロペクチンの構造変化

平田華緒里* (秋田県立大学・生物資源)・佐藤光 (九大・農)・高岩文雄 (生物研)・中村保典 (秋田県立大学・生物資源)

- 12:00 B9 ミトコンドリア遺伝子の機能解析を実現するシステムの確立；細胞性粘菌を用いた研究

千田淳司* (東北大・院・生命科学)・田中雅嗣 (財) 岐阜国際バイオ研究所)・雨貝愛子・前田靖男 (東北大・院・生命科学)

- 12:15 B10 細胞性粘菌における RPS6 タンパク質の多面的機能

石井一考*・中尾友作・雨貝愛子・前田靖男 (東北大・院・生命科学)

- 12:30 B11 細胞性粘菌の発生過程における ELP (elongation factor 2-like protein) の機能

長野広隆* (東北大・院・生命科学)・森田強 (大阪大・院・医学系)・雨貝愛子・前田靖男 (東北大・院・生命科学)

- 12:45 B12 細胞性粘菌休眠胞子はアクチン研究の宝庫である

鮫島正純* (弘前大・農学生命科学・生物機能)

ポスター発表・討論

第1日目 12月18日 (土曜日) 15:30~16:00

第2日目 12月19日 (日曜日) 11:00~11:30

- C1 マダガスカル of 自然と海藻

工藤創* (山形大・院・理工)・原慶明 (山形大・理・生物)

- C2 東北地方南部太平洋岸地域におけるスギ壮齢林の林内植生の比較

佐藤麻衣子* (宮城教育大・院・環境教育)・平吹喜彦 (宮城教育大・生物)

- C3 放置老齡マツ防潮林における暖温帯常緑樹・シロダモの更新様式

長谷川巧* (宮城教育大・院・環境教育)・平吹喜彦 (宮城教育大・生物)

- C4 冬季一年草の生活環制御における未発芽種子バーナリゼーションの生態的意義

- 吉岡俊人*・佐藤茂（東北大・院・農）・森田聡一郎（畜産草地試）・マイケル フ
ェナー（サウサンプトン大）・榎本敬（岡山大）
- C5 ポリエステル樹脂による樹脂鑄型法の改良
小林和貴*・鈴木三男（東北大・院・理・植物園）
- C6 光は根の水輸送を調節しているか？
奈良久美*・高瀬智敬・山下日鶴・石川春樹・永坂厚・永田俊文・鈴木均（理研・PDC・
光生物 2）
- C7 ヤマノイモ属 *Stenophora* 節における東アジア種と第3紀遺存種との分子系統関
係
加藤文恵*・高石一也・山崎和也（山形大・理・生物）・岡上伸雄（前千葉大・園芸）・
丹野憲昭（山形大・理・生物）
- C8 ヤマノイモのアブシジン酸代謝酵素遺伝子 *ABA8'-ox* 単離の試み
清水和弘*・Haniyeh Bidadi（山形大・院・理工）・岡田勝英（山形大・教育）・豊
増知伸（山形大・農）・岡上伸雄（前千葉大・園芸）・丹野憲昭（山形大・理・生物）
- C9 キュウリにおけるオーキシシン排出キャリア遺伝子の組織特異的発現
堀田拓哉*（東北大・院・生命科学）・Dai-Hee Kim（東北大・院・生命、Kyungpook
National Univ.）・鎌田源司・宮沢豊・藤井伸治（東北大・院・生命科学）・Kyung-Min Kim
（Kyungpook National Univ.）・高橋秀幸（東北大・院・生命科学）
- C10 キュウリ *CS-ACS2* 遺伝子の雌花分化期特異的発現
齊藤沙代子*・藤井伸治・宮沢豊（東北大・院・生命科学）・水澤秀雅・松浦誠司
（(株) トーホク）・高橋秀幸（東北大・院・生命科学）
- C11 重力屈性欠損アサガオ（シダレアサガオ）の変異原因遺伝子と回旋転頭運動
北澤大典*・畑田泰子（東北大・院・生命科学）・鎌田源司（JAXA）・藤井伸治・宮
沢豊（東北大・院・生命科学）・星野敦・飯田滋（基生研）・深城英弘・田坂昌生（奈
良先端大）・菅洋・高橋秀幸（東北大・院・生命科学）
- C12 イネ外向き整流性 K⁺チャンネル遺伝子の発現と機能解析
岩崎郁子*（秋田県立大・生物資源）・佐藤雅彦（京大・院・人間）・中西洋一・前島
正義（名大院・生命農）・北川良親（秋田県立大・生物資源）

中学生・高校生の研究発表会

C-SH1 厳寒地の郷土で生き残り！

大峰桜の保護と増殖に関する研究

寺崎立哉・片平哲矢・金子 航・舟山忠良

(宮城県柴田農林高等学校バイオ研究班) [指導教諭 尾形政幸]

1、研究の動機 学校から約 50 km 離れた七ヶ宿町の国道沿いに、衰弱し危機に瀕した桜があります。東北地方で初めて発見された「大峰桜」です。大峰桜はオオヤマザクラとオクチョウジザクラの新雑種で、数少ない野生種の一つに数えられます。七ヶ宿町では場所や花の観賞性から心ない人による損傷を心配しています。私たちは1年次の6月から、地域ぐるみの活動はできないものかと考え、「バイオ苗を活かしてみんなで守ろう」を到達目標に掲げ研究することにしました。

2、一年次の研究「大峰桜のクローン苗作出」 6月に採取した新芽の茎頂部 0.5mm をメスでカットし培地へ置床したところ、1/2NMS 基本培地が適合しました。その後ビトリフィケーションで悩まされますが、湿度コントロールなどでこの問題は解消し、着手1年後の増殖培養ではひと月後の増殖率は5倍に達しました。また、発根は容易であることわかりました。

3、二年次の研究・前半「鉢あげ苗育成法の研究」 桜はほとんどこの段階で伸長停止が起きます。30℃で多湿培養すると以前の伸長停止が解決したという、3年前確立の方法で行い苗を観察すると、2ヶ月目の6月10日、苗ははしおれはじめました。しかし、外部(平均22℃)に置くと1ヶ月後には苗の95%が平均15cmに達しました。桜は低温性でしたが、初期からの低温育成には適さず、従って前期を高温、後期を低温の偶然成功した工程が良いと思われます。

6月のアンケートで、「枝を持っていく人がいる」ことを知り、班員から意見が出されました。

4、二年次の研究・後半 原木の保護を優先「植えて守る」

1) 苗が小さいことへの対策 まず土を持ち帰り土壌を調べるとカルシウム分は0mg/100g、ECは0.1と栄養不足で、pHは3.5の強い酸性でした。次に、桜の自然との関わりを追って見ました。原木は同じところから10本の幹が斜めに出て2mの独特な樹形をつくっております。積雪が傾きをより大きくしていました。苗木(校内27度から45度)の段階から始まっている、その傾きが桜の樹勢を弱めてきたと思われます。また、コスカシハ被害が最も多い条件になっております。

そこで、私たちが割り出した将来の樹高、今より2m高い4mまで伸ばすため、「密植栽培」の環境と頂芽優勢メカニズムに着目し、「桜健全育成装置(苗の回りに、上半分が透明、下半分が黒のビニール囲い)」を作り、苗植栽の際に土壌改良と装置の設置を行うことにしました。

2) 希少価値の分散と地域の保護意識の高揚 9月より苗植栽を行いました。特に原木近くには監視カメラや看板も設置しました。また、地域報告会を行ったところ栽培がスタートすることになりました。その際、公民館長さんのお言葉から配布数が少なかったことが、逆に保護意識の高揚に繋がっていることを知りました。

5、最後に 今回、到達目標へ向け大きな第一歩を踏み出すことができました。課題として、咲き分けプロジェクトの推進、など挙げられますが、今後も自然保護を推進していくつもりです。最後にこの研究に協力を頂いた桜の発見者で野草園園長の上野雄規先生、関係者の方々に感謝を申し上げます。

C-SH2

蘚類通道組織の進化系列

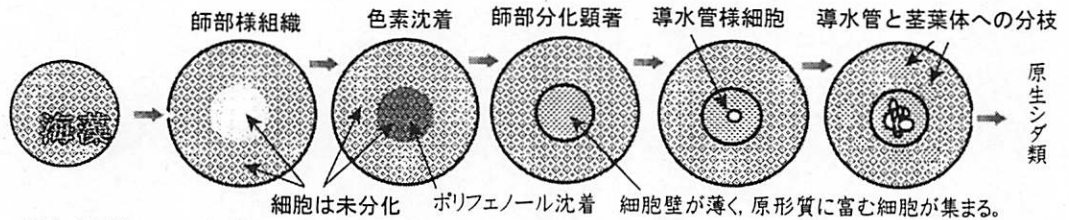
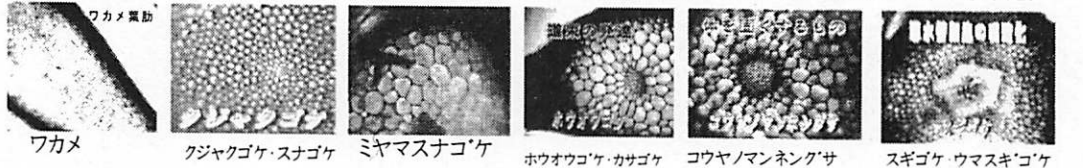
山形県立上山明新館高等学校 科学部

教科書や事典の「コケには維管束がない」という表現に疑問を持った。右図のように藻類では組織・細胞が未分化であるが、原生シダ類でさえ様々に分化した組織を持つ。「シダが退化進化してコケが生じた」という学説があるが、火山荒原のような特殊環境を除き、シダよりコケが生育可能域や機会を拡げた(適応放散した)例はあまり知られていない。一方、旧来の説のように藻類からコケ・シダ・裸子と進化したならば、藻類から一気に維管束を構成する組織群が生じたとは考え難く、藻類とシダの間には通道組織を発達させた、おそらくコケの時期があったと考えられた。以上より様々なコケの切片を作り、以下の仮説に沿って調べた。今回は蘚類に絞り報告したい。(仮説3～6は次の機会報告します。)



- 仮説1: コケに藻類とシダを補間する通道組織があり、大型化に伴い複雑化・システム化する。
- 仮説2: 乾燥に弱い小型種より大型種で陸上生活に適した、シダに近い組織が観察される。
- 仮説3: ゼニゴケ等の苔類は水中種から水辺種・水辺種・湿地(地表)種と進化した。
- 仮説4: 苔類の托器は葉状体が変形・特化して形成された。
- 仮説5: 藻類→苔類→蘚類→シダの順には進化せず苔類と蘚類は平行進化した。
- 仮説6: コケ胞子の細胞壁由来の弾糸はトクサ類弾糸と関連がある。

実験は、採取してきたコケを衣装ケース温室で維持し、順次マイクローム刃で切片とした。切片は、サフランとライトグリーンで二重染色し、横からの証明でビデオに記録した。画像は、AVIからJPEG変換し用いた。永久プレパラートを作成しようとしたが、変色が激しかった。結果は次のようになった。



以上仮説1・2は支持されていると考えられた。これが確実に進化による物とは言い難いが、より水辺から離れた環境に生育できる大型種ほど、細胞の分化やシステム化の程度が顕著と言えよう。道管にあたる、導水管様細胞が小さなコケで発達しなかったことは、茎葉体全体がほぼ地面に接しているため、特に水を運ぶ必要がなかったためと考えられる。

以上より推定される進化系列をまとめると、①葉状体葉肋部に同化産物を移送する組織の発達(フリッシュ氏の論文にあり)、②ポリフェノール沈着で機械組織強化、③原形質に富みその流動で師部の働きを持つ組織が中央に分化、④師部様組織の中央に導水管様細胞出現、⑤導水管様細胞の細胞壁は肥厚し、原形質が減少し、原生シダ様の導水管細胞となる。同時に各茎葉体へ師部様組織が分枝し、葉からの同化産物転流を促進。と、考えられる。少なくとも教科書や事典の「コケには維管束がない」という表現は、不適當であると考えられた。

参考文献: 岩月善之助解説伊沢正名写真「しだ・こけ」山溪社

お願い: 生徒にNaturwissenschaften誌へ投稿体験をさせたいと考えております。ご指導頂ける方を探しております。

C-SH3 双葉郡北部の浜辺植物の分布

岩野貴善・渡辺信彦（福島県双葉高校・理科部）[指導教諭 船尾陽子]

1. 動機

昨年、私たちのチームは海岸の砂浜が後退しているか調査した。また一昨年、先輩達が「レッドデータブックふくしま」(*)から、後退していると思われる砂浜にハマボウフウが生育している可能性があることを調べた。そこで今回、私たちはハマボウフウを含めた浜辺の植物の分布状況について調べることにした。

2. 調査した地域

- ・浪江町の棚塩海岸
- ・小高町の村上、浦尻海岸

3. 調査結果

調査の結果、ハマボウフウの自生は確認できなかったが、棚塩海岸ではハマボウフウによく似たセリ科の別種を見つけた。

	観察された植物名
棚 塩	ハマニガナ ハマエンドウ ハマナデシコ オニヤブソテツ コウボウムギ ラセイタソウ ハマヒルガオ <u>セリ科の植物 (同定中)</u> 等
浦 尻	ハマニガナ ハマナデシコ オニヤブソテツ マルバシヤリンバイ 等

また、地元の話から村上海岸ではハマボウフウが自生していたが、採取によって数を減らし、消滅しつつあると考えられる。また、村上海岸付近では栽培されているハマボウフウが確認された。マルバシヤリンバイは、福島県のレッドデータ植物である。

4. 考察・感想

棚塩海岸と浦尻海岸では自生するハマボウフウは確認されず、外見上酷似している別種と思われる植物（上記表下線部の植物と同じ）が見つかった。この植物については、花と果実の観察から、マルバトウキと考えられる。

しかし、ハマボウフウの自生を確認できなかったことは残念だった。やはり原因として、海岸開発などが関係していると思われる。私たちはいつか、浜辺で立派に生育するハマボウフウを確認したい。

※参考文献

レッドデータブックふくしま（福島県生活環境部出版）福島県植物誌（植物誌編纂委員会出版）

C-SH4 冬鳥の飛来する前沼の水環境を維持するために ～底土に注目して～

阿部翔太・千葉洋丈・栗原啓嘉・高橋大洋・佐藤智紀
白鳥雅佳・藤原慶来・相馬信哉・田口大地
(宮城県佐沼高等学校 自然科学部 生物・化学班)
[指導教諭 菅原秀展 阿部たけ子]

<本研究の目的および要約>

我々は、過去9年間にわたり伊豆沼に隣接する前沼（伊豆沼の環境保護と冬鳥の給餌のための人工池）の環境について様々な角度から調査研究を行ってきた。これまでの研究によって、①沼の水相部分では、富栄養化の原因となるイオン類は一年周期で浄化されている。それに対して②沼の底土には、冬鳥のふんなどに由来するイオンが蓄積されていることが明らかになった。

本研究では、これまで主体だった水相から、着目点を底土に移し、その浄化方法をみつけることを目標に実験を行った。

【実験1】イネとアシによる底土浄化実験

イネとアシを底土に植え、それらの浄化能力を調べた。その結果、イネ、アシともに浄化能力はみられたが、前沼周辺に自生しているアシに、より高い浄化能力があることがわかった。また、この実験の際、対照のために用意した底土のみの容器でもイオンがかなり減少していることがわかった。この結果は【実験3】で検証した。

【実験2】ハイポネックス10000倍希釈水を用いた植物によるイオン吸収実験

植物のイオン吸収能力に焦点を絞って調べるために、ハイポネックス10000倍希釈水（ NH_4^+ 、 PO_4^{3-} を含む液体肥料）でイネを水栽培し、そのイオン変化を調べた。その結果、イネの浄化効果を確かめた。

【実験3】【実験1】で得られた新たな発見についての実験

【実験1】で、対照として用いた底土だけの容器でもイオンの減少がみられ、底土そのものにもイオンの浄化作用があることを発見した。この原因を解明するために、底土を光学顕微鏡で観察した。その結果、底土中にはケイ藻類を主とする多数の植物プランクトンが存在することがわかった。さらに、底土の砂粒子表面を走査型電子顕微鏡で観察したところ、光学顕微鏡ではとらえきれない微少な植物プランクトンが付着していることがわかった。

<結論>

- ・前沼の周辺植物には、高いイオン浄化能力があり、前沼の水環境を維持するには、それらの保護も重要である。
- ・底土は、イオンを蓄積しているだけでなく、豊かな生態系である。前沼の水環境を維持するには、ただ底土を問題視するのではなく、水相・底土を含めた大きな環境という視点が重要である。

公開シンポジウム

公開シンポジウム「植物と宇宙へ行こう-宇宙植物学の現在と未来-」について

人類の宇宙への進出は目覚ましく、あと数年以内には日本を含む世界十数カ国の共同プロジェクトである国際宇宙ステーションが完成し、人類の本格的な宇宙での生活が開始されます。こうしたなか、人類が宇宙で暮らすための様々な技術開発も進んでいます。新聞やテレビで、最新鋭のロケットや宇宙空間を飛び回るロボットなどを見たことのある方も多いと思います。しかしながら、このような最新技術ばかりが注目される一方で、私たちの生活には欠くことできない「植物」というものの存在を忘れてはいないでしょうか。植物が酸素や食料源として重要であることは勿論、植物のいない殺伐とした宇宙での生活などは想像しがたいものがあります。宇宙であれどこであれ、私たちの生活と植物とは切っても切り離せないものなのです。人類が宇宙で暮らすためには、植物も宇宙で暮らさなければならぬのです。人類の宇宙進出にともない、これまでは考えられなかった宇宙という環境下におかれた植物の研究が始まっています。また逆に、宇宙環境下で育った植物を研究することによって、今現在、私たちの周りで私たちの生活を支える植物についての多くの新しい発見もなされています。

宇宙科学における植物の重要性が再認識されている今、世界の宇宙生物学の最先端でご活躍の先生がお二人も仙台に在住していたことは、私たちにとって幸運なことでありました。今回、日本植物学会東北支部第17回宮城（仙台）大会の公開シンポジウムとして、お二人の先生、高橋秀幸先生と西谷和彦先生に、「植物と宇宙へ行こう-宇宙植物学の現在と未来-」という題目でご講演をお願い致しました。生物学の研究者だけでなく、「宇宙」と「植物」に興味を持っている方、特に将来研究者になりたいとお考えの中高生には、宇宙植物学というものに触れられるまたとない機会になると思います。

宇宙実験から考えるフロンティア生物の戦略 —植物の重力応答—
高橋秀幸（東北大・院・生命科学）

すべての生命のエネルギー生産者である植物は、約 4 億年前に陸地環境で生活するように進化し、現在の生態系構築の基盤となった。植物は、そのような生物進化および生命維持システムのフロンティア生物として、陸地環境での生活や物質生産に有用な重力応答能力を獲得したと考えられる。すなわち、植物が陸地環境に進出するとき、いかに乾燥ストレスを回避し、地上重力下で空間的配置を広げるかが大きな問題のひとつであったと考えられる。植物は、地球に恒常的に存在する「重力」を受容し、それによって茎や根の姿勢を制御することによって、その問題を解決した。例えば、根や茎は重力受容細胞を持ち、それに誘発されるシグナル伝達系をとおして偏差成長をともなった重力屈性を発現させる。それが土壤中で根系の発達や地上での茎葉を繁茂させるために必要な体制を支持する基盤をなすと共に、各組織において炭酸同化のために環境中から水と光と二酸化炭素を取り込む基盤ともなっている。また、重力屈性のみならず、植物の成長で特徴的な他の形態形成においても、重力応答が重要な役割を果たしている（これらを総称して重力形態形成という）。また、植物は重力のみならず、光や水などの他の環境要因にも応答して伸長方向を制御する機能を持ち、それらが重力応答と相互作用する。すなわち、植物は、複数の環境応答を統御して適切な姿勢制御を行う能力を有し、そのために重力受容システムと他の環境応答の間に何らかのクロストークがあるものと考えられる。したがって、植物の重力応答（受容）の仕組みを解明し、植物の姿勢制御機構を理解することは、生物学的課題であるだけでなく、人類の生命維持システムの保持および宇宙への生命圏の拡大（フロンティア活動）のために、エネルギー源と環境を確保するという観点から極めて重要である。

ここでは、植物が陸地環境で生きるために姿勢を制御し、そのために植物が重力を利用する様子、そのしくみを理解するために行われた宇宙実験を紹介し、さらに、宇宙環境を利用した今後の植物科学を展望する。

宇宙の中の植物

—パイオニア生命体としての植物—

西谷和彦 (東北大学大学院生命科学研究科)

地球上に生息する我々を含めたすべての存在を宇宙 (Cosmos) と言うわけですから、青葉山の植物も広い意味では「宇宙の中の植物」ということになりますが、ここで言う宇宙とは、もう少し狭い意味、すなわち大気圏外の空間 (Space) のことです。地球の大気中とは異なる大気圏外の環境条件下で植物の成長や機能を解析する方法論を「宇宙植物学」といいます。私たちは、この方法論を用いて、植物が陸上に進出し、今日のような多様な植物種に進化するに至った過程を、遺伝子の働きのレベルで解明しようとしています。

植物が陸上に進出し、大気圏に向かって茎や葉を展開する体制を進化させたのは古生代の中頃 (約 4 億年前) です。水中から大気中へ進出する際に、植物は様々な機能を進化させたと推定できます。その一つは、自身の体重を支えながら枝葉を自在に伸長させ、効率よく光合成を行うしくみです。そのために、植物は、軽く、強靱で、しかも自在に形を変えることのできる細胞壁を開発し、それを積み上げて大きな植物体を作る方式を選択しました。同時期に陸上に進出した脊椎動物がカルシウムとリンを主成分とする重くて堅い骨格を支柱とする体制を選択したのと対照的です。かくして、今の地球の森林や草地に生息する植物はすべて、この新しい機能を備えた細胞壁を持つに至りました。したがって、陸上植物の形作りや成長の仕組みを理解するためには、細胞壁の解明が何よりも重要です。このような観点から、私たちは、細胞壁の構築や再編の過程に関わるタンパク質と、その遺伝子を同定し、それらの働きを調べてきました。このシンポジウムでは、細胞壁遺伝子の働きの解明をめざし、国際宇宙ステーションを利用して、現在、進めている私たちの研究を紹介します。

一般講演

一般講演口頭発表の座長一覧

- A1~A3 彦坂幸毅 (東北大・院・生命)
- A4~A6 黒沢高秀 (福島大・共生システム理工学部)
- B1~B3 佐藤 茂 (東北大・院・農)
- B4~B6 横山隆亮 (東北大・院・生命)
- B7~B9 鮫島正純 (弘前大・農学生命科学)
- B10~B12 宮寄 厚 (東北大・院・生命)

目的 マングローブの一種であるヤエヤマヒルギ(*Rhizophora stylosa*)は潮間帯に成育し、幹や枝から支柱根を発達させることで不安定な土壌に定着する。支柱根には通気組織が存在し、支柱根表面にある皮目から取り入れた酸素を地下の根系に供給すると考えられている。しかし、支柱根地下部の構造を研究した例は少なく、支柱根地上部から地下の根系末端まで、通気組織がどのように連絡しているのかわからない。そこで根系の内部構造を明らかにし、樹脂鑄型法を用いて皮目から地下の側根まで通気組織の連続性を検証した。

材料と方法 沖縄県西表島の浦内川河口と後良川河口で支柱根の根系全体を掘り出しFAAで固定した。その後、通気組織の内部構造を観察し、その連続性を明らかにするためにプレパラートを作成し、細胞間隙が判別困難な部分やその立体的構造は樹脂鑄型法を用いて明らかにした。プレパラートはサンプルをパラフィンに包埋し、スライディングマイクロームで放射方向と横断方向に10~20 μm の厚さに切り、サフランとファストグリーンで染色して作成した。

樹脂鑄型の作成: サンプルを10x10x2mmの直方体に切り出し、脱水・凍結乾燥を行ない、樹脂(スチレンモノマー/ポリエステルレジン/過酸化ベンゾイル)を減圧条件下で細胞間隙に浸透させ、60°Cで重合した。その後、不要な樹脂を取り除き、酢酸/過酸化水素水で脱リグニン、濃硫酸で細胞壁除去を行なった後、超音波洗浄を行ない、鑄型のみを残す状態にして走査型電子顕微鏡で観察した。

結果 皮目部分ではコルク充填組織から皮層柔組織に至る細胞間隙の連絡が樹脂鑄型により明らかになった。コルク充填組織では外部に向かって並んだコルク細胞の列の間に細胞間隙が存在し、コルク形成層からコルク皮層にかけては直径3~5 μm の細胞間隙が格子状に規則正しく配列し、コルク皮層と皮層柔組織の境界部分では規則性が乱れるものの、網目状の細胞間隙があつて皮層柔組織の大きな細胞間隙(通気組織)と連絡する。全ての根系では周皮の内側の皮層柔組織に横断面で直径50~200 μm の円形や楕円形で長軸方向に長い細胞間隙(通気組織)が広く発達している。これらの通気組織には水平方向へ放射状に直径3~5 μm の細かい細胞間隙が多数あり、それが隣り合う通気組織と連絡することが樹脂鑄型により明らかになった。また、支柱根地下部の主根の組織と側根の組織の境界部分では細胞間隙が海綿状を呈し、この細胞間隙を通して主根と側根の通気組織が連絡することが明らかになった。

考察 支柱根の地上部、地下部には共通し、長軸方向に長い大きな細胞間隙(通気組織)は互いに小さな水平方向の細胞間隙を通じて連絡しているため、大気から皮目の細胞間隙を通して根の組織に入った酸素は支柱根の内部に向かって拡散し、それが長軸方向に長い通気組織を通して、地下部まで供給されることが可能であると考えられる。さらに主根から側根への細胞間隙の連絡が明らかになったことから、酸素は支柱根地下部の細根の末端まで供給されることが考えられる。

A2 Development and structure of aerenchyma in root of a mangrove plant,
Sonneratia alba (Lythraceae)

Hery Purnobasuki and Mitsuo Suzuki

Botanical Garden, Graduate School of Science, TOHOKU University.

Aoba-ku, Kawauchi, Sendai 980-0862

Abstract

Aerenchyma gas spaces are important for plants that grow at flooding and anaerobic sites or habitats because these spaces provide an internal pathway for oxygen transport. The objective of this study is to characterize the development and structure of aerenchyma gas spaces in roots of *Sonneratia alba* J. Smith. Tissue at different developmental stages was collected from 4 root types, i.e. cable root, pneumatophore, feeding root and anchor root, of *S. alba*. In *S. alba* gas space is schizogenously produced in all root types that increases in volume from the root meristem to matured root tissues. The aerenchyma formation takes place immediately behind the root apex, or 3 - 5 mm behind. Cortical cells are relatively round at first in cross sections (near the root apex) and become two kinds of cells, rounded and armed cells that combine together forming intercellular spaces behind the root apex. The average dimensions of cortical cells increased more than 1.3 times in vertical and over 3.3 times in horizontal directions. At maturity, aerenchyma gas spaces are long tuberous structures without diaphragms and with numerous small pores on the lateral walls. Within the aerenchyma are found many sclereids that grow intrusively. Root porosity in all root types ranged from 0 to 60% of the total root volume. Pneumatophores and cable roots have the highest aerenchyma area (50-60%).

Key words: aerenchyma; cortical cells; porosity; roots, sclereids; *Sonneratia alba*

集団遺伝学的解析の結果わかった日本産コナラ節4種に
共通に見られる地理的構造

菅野宗武*・鈴木三男（東北大・院・理・植物園）

コナラ属 *Quercus* には、北半球の温帯林を代表する樹種が多く含まれている。日本においてもコナラ節 (section *Prinus*) 4種1変種が自生し、日本の温帯林の主要な構成樹となっている。これら温帯林の地理的分布は、環境条件だけでなく地史的な影響も受けていると考えられている。講演者らはこれまで、温帯林の最終氷期以後の分布拡大過程を考察する目的で、日本産コナラ節の葉緑体DNAの遺伝子間領域を調べハプロタイプを識別し、この地理的分布パターンを調べた。この結果、西日本には原始的なタイプのみが分布し、東日本には派生的なタイプが優占することが明らかになった。本研究では、これをさらに検証するために、マイクロサテライト多型を用いた集団遺伝学的なアプローチを試みた。

材料は、コナラ (*Quercus serrata*) 19集団523個体、ミズナラ (*Q. mongolica* var. *crispula*) 23集団651個体、モンゴリナラ (*Q. mongolica* var. *mongolica*) 3集団91個体、カシワ (*Q. dentata*) 12集団293個体、ナラガシワ (*Q. aliena*) 13集団375個体、合計して4種1変種70集団1933個体である。マイクロサテライトマーカーは、8遺伝子座を選抜した。これまで、1種あたり143~204種類の対立遺伝子を検出した。

遺伝的距離 (Nei, 1978) を基にUPGMA法により、全70集団のフェノグラムを構築した。この結果、わずかな例外は見られたけれども、コナラ節4種はそれぞれ種毎に同じクレードを形成した。また、それぞれの種における、遺伝的多様性を表す数値と各集団の地理的な位置との関係を解析した。いずれの種においても、遺伝的多様性は西日本で高く、東日本で低くなる傾向にあった。さらに、 F_{st} (集団間の遺伝的分化を示す尺度) に基づく主座標分析を行った結果、いずれの種においても、各集団は糸魚川-静岡構造線付近を境として、東日本と西日本のクラスターを、それぞれ形成した。

コナラ節4種は、遺伝的にそれぞれ独立であることがわかった。しかし、4種には、東日本と西日本の集団がそれぞれにまとまるという共通点も見られた。コナラ節4種のそれぞれが、東日本と西日本とに遺伝的に分断される原因として、コナラ節4種が共通に経験した過去のイベントがあったのだろうと推測される。講演者らが以前に行なった葉緑体DNAの解析結果も考慮すると、氷河期にあったレフュジアからの分布変遷の影響であると考えられる。

A4 黄色植物多核細胞フシナシミドロで見つかった新奇青色光受容体

片岡博尚* (東北大・院・生命科学)・高橋文雄 (都立大・理・生物、基生研・光情報)・山形大輔 (東北大・院・生命科学)・笠原賢洋 (東京農工大・遺伝子実験施設)・和田正三 (都立大・理・生物、基生研・光情報)

黄色植物 (Stramenopile) に属するフシナシミドロ (*Vaucheria*) は疎らに分岐する管状の多核細胞よりなる。細胞先端は青色光 (BL) に対する正負の光屈性を示し、BL 照射された細胞基部から成長点が突出する。前者は数分で起こる成長の舵取り反応であるが、後者は 1-2 時間の照射を必要とし、照射域への葉緑体集合、引き続く核と原形質の集合、及び、集合核による特定遺伝子群の発現という複数の光反応と暗反応からなっている (Kataoka 1975 a,b; Takahashi et al. 2001, 2003)。

光屈性の光受容体は作用スペクトルからフラビン蛋白と推定されている。そこで、陸上植物の光屈性の受容体であるフォトロピン (phot) をフシナシミドロ (*V. frigida*) で探索した。Phot は 2 つの FMN 結合ドメイン LOV をもっている。現在までに単離されている LOV の相同性の高い領域をもとに degenerate プライマを設計し、RT-PCR を行った。その結果 5 個の LOV 断片を得た。サザンハイブリダイゼーションによっても同様の結果を得た。それらをクローン化し、そのうち発現量の多い 2 個の遺伝子の全長を RACE 法によって決定した。586, 592 と仮称するこれら 2 個の遺伝子はそれぞれアミノ酸を 348, 343 個含み、1 個の LOV とその N 末端側に 1 個の bZIP (塩基性領域 Leucine ジッパー) を持つ、互いによく似た蛋白をコードしていた。しかし、フシナシミドロに期待した phot は見つからなかった。

586 の LOV をカルモジュリン結合蛋白につないで *E. coli* で発現させると FMN を結合した。592 は配列の違いからか、フラビンを結合しなかった。これらの蛋白の局在性を調べるため、GFP との融合コンストラクトをタマネギ表皮細胞に打ち込み発現させると、GFP 融合蛋白は核に移行した。このことから、586 と 592 は転写制御因子として働く BL 受容体と考えられる。しかし、フシナシミドロでは 35S プロモータが働かないらしく、GFP 融合蛋白は検出できなかった。

現在、RNAi を用いてこれらの遺伝子がどの BL 反応を制御しているかを調べている。586, 592 の混合 dsRNA を注射した細胞は BL を照射しても枝を出さなかった。これは、これらの bZIP-LOV 蛋白が光形態形成反応の光受容体であることを示す。計 5 個の遺伝子についてそれぞれ別々に RNAi することにより、それらの受容体蛋白の役割、相互作用とフシナシミドロの光形態形成反応の仕組みを明らかにしたい。

A5

淡水産微細藻類における単細胞 PCR の 1 試行

○大江真司(山形大・院・理工)、原慶明(山形大・理・生物)

近年、微細藻類種の同定・分類のために分子系統解析が用いられているが、その試料として培養株の確立が求められる。天然サンプルから単離・培養株を確立するには最低でも数ヶ月が必要であり、培養が極めて困難な種も存在することから、これらの作業は微細藻類の遺伝情報を蓄積していく上で大きな障壁となっている。2001年、C.O.Ruizらによって Freeze-Thaw 法による渦鞭毛藻類1細胞からの遺伝子増幅の新技术が報告された。これは細胞を入れたチューブを90℃の熱湯と液体窒素に交互に浸すことで細胞を効率的に破碎し、DNA増幅の阻害となる多糖、タンパクなどを除去することを目的とした技術である。しかし、Freeze-Thaw 法は渦鞭毛藻で開発された技術であり、①細胞に対して比較的巨大な核を持っていること、②細胞の外被に多糖が少ないこと、③渦鞭毛藻類に特異的なプライマーを用いていることなど、この藻類の有利性が大きく影響していることが考えられる。

そこで本研究では微細藻類への汎用性を検証することを目的とし、通常の核の大きさで、細胞の周りに多糖が多く存在するラフィド藻 *Gonyostomum semen* と、細胞間に別の細胞の混入が見込まれるために遺伝的コンタミネーションの確率の高い群体性の *Uroglena* sp.を用いて Freeze-Thaw 法を試みた。また、これらの実験には、光学顕微鏡下では同定が不可能な生物を対象とすることも考慮し、真核生物に対して共通性を持つプライマーを用いた。

その結果、*G. semen*、*Uroglena* sp.ともに1個体からの遺伝子の増幅は可能であることが確認された。しかし、サンプルによっては増幅を確認することができなかつたため、今後原因究明と更なる技術の改良が求められる。

A6 有孔虫に共生する単細胞性紅藻～その分類と多様性～

網代晶子*・横山亜紀子・原慶明（山形大・理・生物）

有孔虫は耐久性のある石灰質の殻を微化石として残すため、年代測定や過去の気象環境を知る示準となり、地球環境学分野の重要な研究材料となっている。一方、殻の中は顆粒状根足をもつアメーバ状細胞で、その内部に珪藻、渦鞭毛藻類、藍藻、緑色植物、紅色植物などの藻類を内部共生体として保有していることが確認されている。これら内部共生体をもつ有孔虫は、細胞サイズが共通して巨大であり、分類学的には2目7科に分布することが知られている。

熱帯から亜熱帯域の浅海に生息する有孔虫 *Peneroplis* 属数種（Milioda 目 Peneroplidae 科）には単細胞性紅藻が共生しており、*Porphyridium purpureum*（紅色植物門、チノリモ目）と同定されている。*P. purpureum* は、熱帯から温帯にかけての肥沃で湿った土壌表面、あるいは汽水、まれに海水中に生育し、世界中に広く分布するコスモポリタン種である。かつては海産のものを生育地の違いだけで *P. marinum* とする見解もあった。我々は、これらの細胞の色調、細胞の大きさ、あるいは細胞内の微細構造には違いが認められないものの、光合成補助色素組成が海産と陸域のものとは異なること、さらに内部共生藻は海産のものと同じであるとの予備的な結果を得ていた。

本研究では、パラオ共和国 2 カ所、沖縄県慶良間諸島沿岸 2 カ所の水深 1-15m の海底砂から分離した有孔虫 *Peneroplis* sp. が内部に単細胞性紅藻を共生していたので、それらを単離培養し、18SrDNA の部分配列による分子系統解析を行った。今回解析に用いた有孔虫内部共生紅藻は 4 株とも単系統群を形成し、さらに *Porphyridium* 属の中で *P. purpureum* に最も近縁であることが判明した。これらの有孔虫内部共生紅藻の分類学的位置を明かにするために、汽水・海水域から単離した *P. purpureum* と、かつて *P. marinum* と同定され保存されている株の塩基配列の決定を計画している。その結果を得て、*P. purpureum* と *P. marinum* の関係を明らかにする予定である。

B1 シロイヌナズナ花茎の重力屈性反応に関する細胞壁関連遺伝子の探索

小松香菜*・横山隆亮・西谷和彦（東北大・院・生命）

植物は様々な外部環境の情報を敏感に感受し、その情報を統合しながら環境に対応した形態形成や生理反応を行う。環境に応じた柔軟な形態形成様式は、植物の発生制御の特質の一つである。環境応答の一つである重力屈性反応は、重力の方向を基準として自らの成長方向を制御する反応で、一般に根を重力方向に、胚軸や茎をその逆方向に、成長しながら定位させる反応である。この仕組みにより、植物体が茎を直立させることや、風や動物などにより茎が倒されてもすぐに起き上がることなどができる。シロイヌナズナの花茎では、重力刺激の感受からおよそ30分以内に、花茎の両側の細胞の伸長速度が変化する成長、すなわち偏差成長が起こり、これにより花茎が屈曲する。

この屈曲過程は、細胞壁の構築および再編を通して制御される。一般に、植物の細胞壁は、支持体として、細胞の形を規定するだけでなく、各組織の分化や形成過程の制御機構の一端を担う重要なオルガネラである。細胞壁は多糖やタンパク質、芳香族高分子化合物等の多様な構成成分からなる非常に複雑な構造を持ち、また、各構成成分の構築・再編に関わる酵素が多数存在している。シロイヌナズナでは、細胞壁に関わる機能を持つタンパク質をコードする遺伝子がゲノム上に2000程度存在すると推定されている。これらの遺伝子はいずれも多数のメンバーからなる遺伝子ファミリーを形成している。

本研究では、重力屈性反応の分子過程を理解することを目的として、全ゲノム配列が解明されたシロイヌナズナを試料に用い、マイクロアレイ法により重力屈性に関わる細胞壁関連遺伝子の同定を試みた。そのために、細胞壁に関わる酵素や構造タンパク質をコードする30ファミリー全765細胞壁関連遺伝子群を選び、それらの遺伝子発現を包括的且つ特異的に検出できるオリゴDNAチップを用いて、シロイヌナズナ花茎における、重力屈性反応に関与する細胞壁構築遺伝子を多数特定した。ついで、それらの中から、特に重要と考えられる少数の遺伝子を選び、定量リアルタイムRT-PCR法などにより、屈曲反応時の発現量の変動をより詳細に解析した。これらの結果を基にしてシロイヌナズナ花茎の重力屈性反応における細胞壁の役割について考察する。

B2

組織特異的な発現を示すシロイヌナズナの エンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素(XTH) 遺伝子のプロモーター解析

池田雄介*・横山隆亮・西谷和彦（東北大・院・生命科学）

植物の形をきめている細胞壁の基本骨格は、セルロース微繊維とその間を架橋するキシログルカンからなる網状構造である。細胞壁の性質は、この構造の変化を介して調節されていると考えられる。エンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素(XTH)は、キシログルカン分子の切断または繋ぎ換えを触媒する酵素であり、細胞壁の基本骨格の構築と維持、再編において重要な役割を果たすと推定されている。

全ゲノムの解読が終了したシロイヌナズナには、33の XTH 遺伝子が存在し、遺伝子ファミリーを形成している。私達の研究室では、全ての XTH 遺伝子について mRNA の発現解析を行い、各 XTH 遺伝子がそれぞれ異なった発現器官特異性と植物ホルモン応答性をもつことをこれまでに明らかにしてきた。

また、XTH 遺伝子ファミリーの中には、進化の過程で遺伝子の重複によって生じたと考えられる近縁の遺伝子グループがいくつか存在する。それらの遺伝子グループではプロモーター領域に共通した塩基配列が保存され、互いに類似してはいるが異なる発現様式を示すことも見出してきた。この保存されたプロモーター領域内の塩基配列は、遺伝子発現の場所や時期、環境応答性を制御する上で特に重要な役割をもつと考えられる。

本研究では、近縁の遺伝子対である AtXTH15 及び AtXTH16 のプロモーター内に高度に保存された約200塩基の領域に着目し、プロモーター GUS 形質転換体を作製してプロモーター解析を行った。その結果、両者の発現部位は明確に異なるが、維管束で発現するという点では共通性をもつことが分かった。また、その保存されたプロモーター領域が AtXTH15、AtXTH16 両遺伝子の発現に必要なことも示唆された。これらの結果をもとに、XTH 遺伝子群の発現調節のあり方を考察する。

B3

道管の細胞壁発達に関与するエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素の解析

○ 松井章浩¹・関原明²・篠崎一雄²・高橋卓³・米田好文³・横山 隆亮¹
西谷和彦¹(¹東北・院・生命 ²理研・ライフサイエンス ³北大・理・生物)

細胞壁は、分化に伴って細胞壁の構造を変化させる事で、形態の構築と制御において重要な役割を担う。しかし、この構造変化の分子過程についての知見は未だ乏しい。私たちは細胞壁の構造のうち、一次壁の力学的な機能を受け持つと考えられているセルロース/キシログルカンネットワークの構造変化に焦点を当て研究している。キシログルカン転移酵素/加水分解酵素(XTH)はキシログルカン同士の繋ぎ換えや切断をする酵素活性を持ち、新規に合成されたセルロース/キシログルカン複合体の細胞壁への組み込み、反対にセルロース/キシログルカンネットワークの解体を行う酵素である。この機能の2面性からXTHはセルロース/キシログルカンネットワークの構造変化において中心的な酵素と考えられている。

私たちは、シロイヌナズナには33個と多数のXTH遺伝子が存在し、それぞれ遺伝子は異なる器官や時期に発現する事を明らかにした。この結果より、類似の活性を持つXTHをコードする各AtXTH遺伝子は個別の役割を分担していると考えられる。この点を実証するため、AtXTH遺伝子の欠損変異体をシロイヌナズナのT-DNAタグラインの中より単離し、その機能を解析している。

このうちAtXTH27遺伝子を欠損したxth27変異体では、ロゼット葉で斑点状の枯死が観察された。xth27変異体のロゼット葉を詳細に解析したところ、維管束のうち3次脈の数が野生型に比べて減少していること、3次脈が形成される場合においても管状要素が非常に短くなる事が観察された。mRNA発現が維管束の発達と同期して高まる事から、xth27変異体はロゼット葉の維管束形成に異常をきたし、その結果として葉に枯死斑ができると考えられた。pXTH27::GUSの発現はロゼット葉の維管束形成の後期にあたる未分化な道管で観察された。未分化な道管では一次壁の再編の過程でキシログルカンが分解されている事が知られている。また、維管束以外の細胞壁の分解または再編の行われている組織でpXTH27::GUSの発現が観察された。これらの組織では変異体に表現型が現れない事から、他のAtXTH遺伝子によって、欠損したAtXTH27の機能を補っていると考えられた。以上の結果から、AtXTH27遺伝子はロゼット葉の道管形成において独自の重要な役割を担うのと同時に、それ例外の特定の組織においても、他の遺伝子と役割分担をしている事が明らかとなった。

B4

シロイヌナズナ *NHL10* 遺伝子の葉の老化、CMV 感染における過敏感反応、スペルミン応答に関与するシス配列の同定

鄭 明淑 (東北大・院生命)、高橋英樹 (東北大・院農学)、
宮崎 厚 (東北大・院生命)、山口公志 (東北大・院生命)、
草野友延* (東北大・院生命)

シロイヌナズナには耐病性シグナル伝達経路の重要な因子として同定された *NDR1* 遺伝子やタンパク質エリシターである Harpin で誘導されるタバコの *HIN1* 遺伝子に構造類似性を示す *NHL*(*NDR1/HIN1*-like)と呼ばれる遺伝子が 45 種類存在する。

我々はこのうち *NHL10* に着目し研究を行っている。本遺伝子は、キュウリモザイクウイルス(CMV)に対する過敏感(HR) 反応の際、またポリアミンの一種であるスペルミン(Spm)処理によって発現が誘導される。さらに葉の老化の際にも発現誘導が起こる。今回、上述の 3 種の応答シス配列を同定するために *NHL10* のプロモーター解析を形質転換シロイヌナズナ植物を用いて行った。*NHL10* の転写開始点の上流-697 から+53 までの間に、HR 応答、Spm 応答および老化応答性の全てのシスエレメントがある事を明らかにした。さらに欠失解析を行い、-198 から-93 までの 105 bp の領域に 3 種のシスエレメントがある事を示した。

文献 : Zheng MS et al., Plant Science in press

B5

カーネーション花卉におけるエチレン誘導型老化と非誘導型老化

大津佐和子*・河津真・羽柴輝良・佐藤茂 (東北大院・農)

【目的】カーネーション (*Dianthus caryophyllus* L.) はキク、バラ、ユリなどと並んで経済的に重要な花き品目のひとつである。カーネーションはエチレン誘導型の老化を示す花きであり、花卉は満開後約7日前後で内側に丸まりこむ急速な萎れ (インローリング) を起こして乾燥・枯死する。このインローリングを伴う萎れは、花卉自身が生成するエチレンによって誘導されるエチレン誘導型の老化である。一方、エチレンの生成や作用を阻害する鮮度保持剤を処理したカーネーション切花では、花のエチレン生成は非常に低く抑えられるとともに、花の全体の形は保持されたまま開花後約2週間で花卉が周縁部より乾燥し、観賞価値が失われる。本研究ではこの2つの老化パターンをエチレン誘導型・非誘導型老化としてとらえ、その性状を比較検討してカーネーション花卉における老化機構解析の一助とする。

【材料及び方法】(1) エチレン生成量の測定及び花卉の採取：カーネーション 'Light Pink Barbara' に鮮度保持剤 DPSS 処理区 (満開前の切花に 0.1 mM で 24 h 処理) と無処理区を設けた。各処理区の花は満開に達した時点でがく下約 1 cm を切り、脱塩水に生けた。花は 23 °C・24 時間日長下に置き、毎日ガスクロマトグラフィーを用いてエチレン生成量の測定を行った。また毎日花卉を採取した。(2) ノザン解析用プローブの作製：カーネーション 'Nora' 花卉組織より単離された *DC-CPI* cDNA 及び *DC-CPI_{in}* cDNA の塩基配列から特異的プライマーを設計し PCR で増幅してプローブとした。

【結果及び考察】無処理区では花卉の萎れは d 3~4 に始まり、d 4 には激しいインローリングが観察され、その後花卉が乾燥枯死した。エチレン生成は満開時 (d 0) から d 3 まではほとんど検出されなかったが、d 4 から d 6 にかけて $1.4 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の最大値を示した後、d 7 には急激に低下した。これは一般的なカーネーションのエチレン誘導型老化である。DPSS 処理区の花は d 10 までは健全な状態を保ったが、花卉の周縁部に乾燥した箇所が認められた。その後乾燥は周縁部より内側に進行し、d 20 には花卉全体が完全に枯死した。エチレン生成は d 0 から乾燥枯死する d 20 前後を通して $0.1 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ を下回っており、非常に低かった。形態的にもインローリングが見られず、DPSS 処理区はエチレン非誘導型の老化パターンを示したと考えられる。現在、このエチレン誘導型・非誘導型の老化パターンを萎れに関与する遺伝子の発現解析などの分子生物学的手法を用いて解析を進めている。

木ノ内智之*・山下淳・遠藤玲子・佐藤茂（東北大院・農）

〔目的〕ポットカーネーションは、エチレン感受性花きであり、個花の花持ち性が悪い。え、切り花カーネーションで使用されている茎から吸わせるタイプの鮮度保持剤が使用できない。そこで鮮度保持技術として、エチレン生成や作用を抑制し、花持ち性を向上させた形質転換体の作出が有効と考えられる。しかしながら、現在カーネーションで用いられている遺伝子組換え系（例えば Firoozabady ら、1995）をポットカーネーションに適用したところ、シュート増殖が悪く、さらに形質転換効率が低いことが判明した。そこで、(1)シュート培養時のホルモン濃度、(2)有効な抗生物質、(3)アセトシリゴン (As) の形質転換効率への影響を検討した。これらの条件を用いて、ポットカーネーションの遺伝子組換えに成功したことも報告する。

〔材料及び方法〕(1)ポットカーネーション (*Dianthus caryophyllus* L.) の4品種を用いて BA, NAA 濃度を $0.02 \sim 1.0 \text{ mg l}^{-1}$ の5段階に設定した計25種類の培地を作成し、培養4週間後のシュート増殖の様子を調査した。(2)カナマイシン、G418、ハイグロマイシンなどからエスケープの起こらない抗生物質を探索した。(3)アグロバクテリウムの感染操作の各ステップに As を加えて、感染率を transient な GUS 発現によって調査した。これらの条件検討の結果を用いて、*sACS*, *aACS*, *sACO*, *aACO*, *DC-mERS2* の遺伝子をポットカーネーション 'Lillipot' に導入した。

〔結果及び考察〕(1)シュート培養の最適ホルモン濃度は、BA 0.4 mg l^{-1} , NAA 0.1 mg l^{-1} であった。これは、スタンダードカーネーションの最適ホルモン濃度とは異なった。両者は、内生のホルモン量やバランスが異なるため、外生ホルモン要求量も異なることが推測された。(2)エスケープが完全に起こらない抗生物質は、 20 mg l^{-1} のハイグロマイシンであった。(3)As を感染操作だけでなく、シュート培養時に加えることで、transient な感染率は、72%と飛躍的に高まることが明らかになった。得られた条件を用いて、上述の遺伝子を導入した形質転換体の作出に成功した。現在、サザン解析を行なっているので、併せて報告する。

B7

Cuphea leptopoda からの中鎖脂肪酸合成に関わる酵素遺伝子の単離及び機能解析

田中裕子^{1*}・高橋大輔²・塚本知玄¹・渡辺正夫¹・高畑義人¹ (1.岩手大・農、2.岩手県農研センター)

Cuphea 属植物はミソハギ科に属するアメリカ大陸原産の1年生または多年生植物である。種子には油脂が含まれ、その40-80%が中鎖脂肪酸油脂である。中鎖脂肪酸は吸収が早く、即座に分解されるため非蓄積型油脂として昨今注目されている。*C. leptopoda* の種子は総脂肪酸量の87%がC10:0のカプリン酸である。そこで *C. leptopoda* からC10:0の脂肪酸合成に関与すると考えられている酵素遺伝子 acyl-ACP thioesterase 遺伝子 (*FatB*) の単離を行い、モデル植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 及びナタネ (*Brassica napus*) への遺伝子導入を行い、機能解析と新育種素材の開発を試みた。

C. leptopoda 未熟種子より mRNA を抽出し、cDNA 合成の後 PCR を行い遺伝子を単離した。利用したプライマーは、すでに単離されている C8:0/C10:0 合成に特異性を持つ4種の *FatB* 配列から開始コドン上流と停止コドン下流の保存領域をもとに設計した。その結果、*C. lanceolata FatB3* のアミノ酸配列と90%の相同性を持つ *FatB* を2クローン単離し塩基配列を決定した。それぞれ *Cle-FatB1*, *Cle-FatB2* とし、それらの間では4アミノ酸の差異が確認された。

単離した遺伝子をナタネの種子で特異的に発現する *napin* プロモーターで制御させたコンストラクトを作成し、シロイヌナズナとナタネに導入した。その結果、シロイヌナズナにおいて各クローンを導入した形質転換体を得ることができた。そのうち *Cle-FatB1* 形質転換個体 T0 個体について導入遺伝子の発現と種子脂肪酸を調査した。RT-PCR による発現解析では、*C. leptopoda* 由来の *FatB* が発現していることを確認した。GC-MS による種子の脂肪酸組成の調査では、シロイヌナズナ種子中には存在しない C10:0、C12:0、C14:0 の中鎖脂肪酸が合成されていることが明らかになった。現在 *Cle-FatB1* 形質転換体 T1 個体を育成中であり、今後導入遺伝子の遺伝様式の決定を行い、また現在育成中の *Cle-FatB2* 形質転換個体についても同様の解析を行う予定である。油料作物であるナタネへの導入も行っており、シロイヌナズナと同様な脂肪酸組成の改変が期待される。

B8

イネ形質転換体を利用したデンプン枝作り酵素 (BE) IIb の微変動による
アミロペクチンの構造変化

平田華緒里* (秋田県立大学・生物資源)・佐藤光 (九大・農)・高岩
文雄 (生物研)・中村保典 (秋田県立大学・生物資源)

【目的】

イネの胚乳デンプンは約 70~80 % のアミロペクチンと約 20~30 % のアミロースから構成されている。アミロペクチンはグリコーゲンと異なり、クラスターと呼ばれる規則性の高い房状の単位構造を持つ。

イネ胚乳におけるアミロペクチンの生合成には 4 種類の鍵酵素が関与する。そのうち、デンプン枝作り酵素 (以下 BE と略す) はアミロペクチンの α -1,6 結合を作成する唯一の酵素である。イネ胚乳には機能が異なると考えられる 3 種類の BE アイソザイム (BEI, BEIIa, BEIIb) が存在する (Nakamura et al. 1992)。イモ類やマメ類にはただ 1 種類の BEII しか存在しないが、穀類には BEIIa と BEIIb の分化がみられる。3 種類の BE アイソザイムは発現場所・時期が異なり、イネ BEIIa はあらゆる組織に発現しているのに対し、BEIIb は胚乳に特異的に発現している (Mizuno et al. 1992)。BEIIb の存在は、穀類特有のデンプン形成に寄与している可能性が高い。

本研究ではイネ BEIIb 発現量の量的効果について詳しく調べることを目的とする。胚乳における BEIIb の発現量を制御することにより、BEIIb 発現量の量的な変化に応じて、胚乳アミロペクチンの構造がどのように変わるか、それがデンプンの物性にどのように影響するかを調査する。特に BEIIb レベルが野生種よりも低い範囲での量的効果を詳しく調査する。

【方法】

BEIIb が欠失したイネ *ae* 変異体の種子からカルスを誘導後、野生型イネ (cv. Nipponbare) の BEIIb cDNA をイネ胚乳貯蔵タンパク質であるグルテリンの遺伝子プロモーターに連結し、アグロバクテリウム法により、それを導入した形質転換体を作成した。T₁ 種子からウエスタン解析を行い、BEIIb の発現量を観察した。さらに、アミロペクチンの鎖長分布を基準に 6 系統を選抜し、それらのホモ個体を得た。以降はそれらの T₃ 種子を分析に用いた。ウエスタン解析を行い、BEIIb の発現量を確認し、さらに、胚乳アミロペクチンの鎖長分布解析、デンプンの熱糊化特性を調べた。

【結果】

ウエスタン解析の結果、BEIIb レベルが *ae* 変異体と野生型の間で発現量の異なる 6 系統を選抜することができた。また、胚乳アミロペクチンの鎖長分布解析から発現量の量的変化に応じて、鎖長分布の特に短鎖 (D_p 15 以下) が変化することが確認された。さらに、デンプンの熱糊化特性においても発現量が高くなるにつれ、糊化温度が低下することが確認された。

これらの結果から、BEIIb 発現量と鎖長分布、熱糊化温度には密接な相関関係があることが示された。BEIIb は他の BE アイソザイム (BEI, BEIIa) では相補できない特異的な機能を持つため、BEIIb の発現レベルがアミロペクチンの短鎖形成に影響し、それがデンプンの物性にも強く影響を及ぼしていることが示された。

B9

ミトコンドリア遺伝子の機能解析を実現するシステムの確立; 細胞性粘菌を用いた研究

千田 淳司* (東北大・院・生命科学)・田中 雅嗣 (財)岐阜国際バイオ研究所)
・雨貝 愛子 (東北大・院・生命科学)・前田 靖男 (東北大・院・生命科学)

細胞性粘菌 (*Dictyostelium discoideum*) は非常にユニークな生活環を有しており、多細胞生物の発生系を構築する主要な過程 (細胞運動、増殖 / 分化、パターン形成、接合子形成など) を解析する上で非常に優れたモデル生物である。私たちはこれまでに、細胞性粘菌を用いることによって、細胞内のミトコンドリアやミトコンドリア DNA (mtDNA) が細胞の増殖から分化への移行や分化方向の決定、パターン形成の制御に密接に関与することを明らかにしてきた^{1,2,3,4,5,6,7}。この細胞性粘菌の mtDNA は約 55 kb の環状 2 本鎖 DNA で、細胞当たり約 200 ~ 250 コピー存在しており、細胞全体の DNA の約 1 / 3 を占めている。昨年 の第 16 回福島大会では、細胞性粘菌を用いて、mtDNA を顕著 (1 / 4) に減少させた ρ^{Δ} 細胞を構築し、その特性を調べることにより、mtDNA の重要性について報告した。すなわち、この ρ^{Δ} 細胞では分化の開始が著しく遅れるばかりでなく、 ρ^{Δ} 細胞由来の多細胞体では分化比率 (予定柄細胞 / 予定胞子細胞の細胞数比) や分化パターンがきわめて異常になること、さらに、走光性に著しい損傷が生じる。この mtDNA にコードされる *rps4* 遺伝子 (mitochondrial ribosomal protein S4) は特に興味深く、この遺伝子を相同組換え (homologous recombination) により部分的に破壊してヘテロプラスミック (変異型 mtDNA が正常型 mtDNA と共存する状態) な株を作製すると、この株では増殖から分化への移行が顕著に阻害されること、逆に、この遺伝子を過剰発現させると分化の促進が起こること、などが示された⁷。これらの結果は、ある量以上の mtDNA が細胞の正常な増殖や分化・形態形成に必要な不可欠であることを示している。他方、mtDNA を完全に欠損した (ρ^0) 細胞は酵母 (*S. cerevisiae*) やニワトリ胚細胞、ヒトの培養細胞では既に作製され、ミトコンドリア病の病態の理解に寄与することが期待されている。このような状況のなかで、現在、ミトコンドリア遺伝子进行操作する新しい方法論、特に個々のミトコンドリア遺伝子の機能を査定できるシステムの確立が必要になっている。そこで今回私たちは、1) 細胞性粘菌において、ある量以上の mtDNA が細胞の増殖や分化に必須であることを再確認するため、また、2) 特定のミトコンドリア遺伝子の破壊を可能にするため、制限酵素をミトコンドリアにターゲティングするシステムを構築して、その有用性について検討した。すなわち、MTS (mitochondrial targeting signal) の下流に制限酵素を付加した融合タンパク質を、細胞内で薬剤 (tetracycline) 濃度依存的に発現制御できるシステムを用い、強制的に mtDNA を排除させることによって、完全な ρ^0 細胞が構築可能であるかを検証した。その結果、この融合タンパク質は薬剤非存在下でミトコンドリアに局在し、mtDNA を特異的に排除することが明らかになった。この成果は、ミトコンドリアゲノムを構成する個々の遺伝子の機能解明のための基礎になるものであり、その有用性について議論したい。

引用文献:

- 1) Morita, T., Amagai, A. and Maeda, Y. (2004) *J. Cell Sci.* 117, 5759-70.
- 2) Chida, J., Yamaguchi, H., Amagai, A. and Maeda, Y. (2004) *J. Cell Sci.* 117, 3141-52.
- 3) Yamaguchi, H., Morita, T., Amagai, A. and Maeda, Y. (2004) *Exp. Cell Res.* in press.
- 4) Morita T., Yamaguchi, H., Amagai, A. and Maeda, Y. (2004) *Exp. Cell Res.* 117, in press.
- 5) Hosoya, K., Amagai, A., Chida, J. and Maeda, Y. (2003) *Zool. Sci.* 20, 1455-1465.
- 6) Morita, T., Amagai, A. and Maeda, Y. (2002) *Exp. Cell Res.* 280, 45-54.
- 7) Inazu, Y., Chae, S.C. and Maeda, Y. (1999) *Dev. Genet.* 25 (4), 339-352.

B10 細胞性粘菌における RPS6 タンパク質の多面的機能

石井 一考*・中尾 友作・雨貝 愛子・前田 靖男 (東北大・院・生命科学)

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* の無菌培養株 Ax-2 は、増殖期には単細胞として分裂を繰り返すことにより増殖する。しかし、周囲の栄養源が枯渇して細胞が飢餓を認識すると分化が誘導され、細胞はやがて集合して多細胞体を確立し、最終的に柄と孢子からなる子実体を形成する。粘菌細胞の飢餓によって誘起される顕著な事象として、32 kDa タンパク質の脱リン酸化が明らかにされている (Akiyama and Maeda, 1992)。すなわち、このタンパク質のセリン残基は飢餓特異的にタンパク質ホスファターゼによって飢餓後すみやかに完全に脱リン酸化される。本研究では、この 32 kDa リン酸化タンパク質が RPS6 (ribosomal protein S6) であることを同定した。そこで次に、RPS6 の機能を探るため、ホモログスリコンビネーションによる *rps6* 遺伝子破壊株の単離を試みたが、目的の株は得られなかった。また、アンチセンス RNA による不活性化もできないことから考えて、RPS6 は生存に必須のタンパク質であると考えられる。一方、作製した RPS6 過剰発現株が非常に興味深い表現型を示したので、RPS6 に対する特異抗体を用いながら解析を進めた。すなわち、RPS6 過剰発現株は、水中培養条件下で分化開始が顕著に遅れるだけでなく、寒天培地上では形成される細胞集団内の予定柄細胞と予定孢子細胞の分化比率が異常になり、後期分化に異常が生じることが明らかになった。また、増殖期にあっては細胞質分裂が不調となり、細胞は巨大化し多核化するということという顕著な事実が見出された。RPS6 特異抗体を用いた免疫染色により、RPS6 は意外なことに主として細胞表層 (cell cortex) に局在することが、また RPS6 が実際に細胞骨格成分と結合していることが細胞分画法により明らかにされた。したがって、RPS6 タンパク質は細胞骨格系と相互作用し、細胞質分裂を抑制している可能性が高い。現在、RPS6 のセリン・リン酸化部位の特定を試みており、これによって得られる情報をもとに、このタンパク質の飢餓特異的脱リン酸化の発生的意義を明らかにしたいと考えている。

B11 細胞性粘菌の発生過程における ELP (elongation factor 2-like protein) の機能

長野 広隆* (東北大・院・生命科学)・森田 強 (大阪大・院・医学系)・
雨貝 愛子 (東北大・院・生命科学)・前田 靖男 (東北大・院・生命科学)

細胞性粘菌 (*Dictyostelium discoideum* Ax-2) では、細胞周期 G2 の中—後期に増殖/分化のチェックポイントとして GDT 点 (growth/differentiation transition point) が存在する (Maeda *et al.*, 1989)。この GDT 点からの分化開始に際して、特異的にリン酸化レベルが減少するものとして 101 kDa のリン酸化タンパク質が見い出された (Akiyama and Maeda., 1992)。その後の研究により、このタンパク質はポリペプチド鎖延長因子 (EF-2; Elongation Factor 2) であり、*ef-2* 遺伝子破壊株は、意外なことに親株の Ax-2 細胞と同程度のタンパク質合成を行い、生存できることが示された (Watanabe *et al.*, 2003)。このことから、細胞性粘菌において EF-2 の機能を補完する因子が存在する可能性が示唆された。そこで、細胞性粘菌のゲノムデータベースを詳しく検索したところ、細胞性粘菌の EF-2 (Dd-EF-2) と高い相同性を持つものが 2 つ見い出され、その 1 つが Elongation Factor 2-like protein (ELP) であった。PSORT2 により細胞内局在を予測したところ、EF-2 が細胞質に局在するのに対し、ELP は細胞質よりもむしろ核やミトコンドリアに局在する可能性が示された。ELP-GFP 融合タンパク質を作製して、その局在を調べたところ、ELP はミトコンドリアに局在することが明らかにされた。ノザン解析により、*elp* の mRNA 量は飢餓処理後の分化に伴って増加することが分かった。ホモログスリコンビネーションにより作製した *elp* 遺伝子破壊株では、Ax-2 に比べて分化の開始は多少遅れるが、その後の発生にはあまり大きな差は見られなかった。一方、*elp* 過剰発現株においては分化の開始が Ax-2 に比べて顕著に遅れが生じ、寒天培地上では、集合期に大きな細胞塊を形成し、その後に異常な形態形成を示す、とてもユニークなものであった。以上の事実から、ELP は粘菌細胞の発生には必ずしも必要とされないが、過剰に存在すると分化、形態形成に悪影響を及ぼすことが示唆された。現在、ELP が、EF-2 の機能補完をするかどうかを調べるために、*elp* 遺伝子破壊株に *ef-2* アンチセンス RNA 発現用ベクターを導入することを試みている。

鮫島正純*(弘前大・農生・生物機能)

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* は、その増殖期に活発な細胞運動を示すことから、アクチン細胞骨格制御機能の解明に欠かせないモデル生物である。一方われわれは、無栄養環境下で無性的な分化過程を経て形成される孢子をモデルとして、休眠の仕組みを、その“現場”に注目して研究を進めてきた。そして動くためのアクチン分子が休眠にも重要な役割を果たしていることを明らかにしてきたので、紹介する。

1. アクチンのチロシンリン酸化

細胞性粘菌のアクチンは孢子特異的にチロシンリン酸化されており、約 50%のアクチン分子がリン酸化されていた。PTP 阻害剤存在下では脱リン酸化も発芽も見られなかった。脱リン酸化のトリガー分子はグルコースであり、半減期約 5 分の急激な脱リン酸化を誘導する。発芽の進行には培地のペプトンと餌である細菌由来因子の共存が必要であり、発芽過程は少なくとも二段階からなっている。なお、アクチンのチロシンリン酸化がオジギソウ屈曲運動にもかかわっていることも明らかにしてきた。

2. 新奇なアクチン繊維の束

アクチンが機能する場合、平行に並んだ多数のアクチン線維が架橋されて束化することがある。粘菌孢子の場合、三本のアクチン線維が 1 本の“アクチン小管”を形成し、この小管が束化した“アクチンロッド”が、細胞質と核にそれぞれ 1 本ずつ、縦断するように現れる。はじめは未熟な孢子に短いアクチン小管がヘキサゴナルに配列した“モジュール”が現れ、孢子の成熟に伴って複数のモジュールが伸びながら並行につながり、全体として長いロッド状になる。このロッドには、アデノシルホモシステイナーゼが局在していた。アクチンは、「活性が休眠中は低く、発芽後には上昇しなければならない酵素を休眠中に隔離しておく」という新たな機能を持つことが予測された。

3. アクチンリン酸化とロッド形成にかかわる情報伝達

アクチンのチロシンリン酸化には PKA の活性化が必要であった。一方、PKA の下流で機能していることが知られている MADS-box 遺伝子である *srfA* の欠損株の孢子はすぐに死ぬことが知られていた。そこで *srfA* を調べたところ、アクチンはまったくチロシンリン酸化されず、ロッドに関しては、初期のモジュールは出現したがそれ以上の伸長は観察されなかった。さらに、三層の孢子壁の最外層の破壊が成熟直後の孢子で観察された。したがって「PKA→*srfA*→アクチンチロシンリン酸化、アクチンロッド伸長、孢子壁安定化→孢子休眠維持」という経路の存在が示唆された。

4. 孢子には G-アクチンの集合体が存在する

細胞内で G-アクチンが蓄積することは、ヌタウナギやある種のナマコの精子でしか知られていないが、孢子にも存在することが免疫電顕法で確認された。しかしヌタウナギで報告されている Profilin の共局在は検出でなかったため、G-アクチンと結合しているたんぱく質の分析を進めている。

このように細胞性粘菌孢子をモデルとして、休眠におけるアクチンの役割を明らかにすることを通じてアクチンの新たな機能を探ることができそうである。

マダガスカル of 自然と海藻

工藤 創(山形大・院・理工)・原 慶明(山形大・理・生物)

演者らは2004年9月28日から10日間にわたり、「マダガスカル of 自然と多様性」のプロジェクト研究の一環としてマダガスカル of 岩礁域およびマングローブ域において海藻の採集・調査を行い、その行程で同島のユニークな自然や文化に直に触れる機会を得た。主調査対象 of 海藻について予報として報告するとともに同島固有 of 動植物およびそれらと現地住民との共生について紹介する。

マダガスカルはアフリカ大陸 of 南東部から、モザンビーク海峡を挟んで沖合い400kmに位置する世界第4の島で、日本 of 約1.6倍 of 広さ of 土地に約1500万人が生活する共和国である。同島は一億数千万年あまり前にインド半島とともに Gondwana 大陸から分離したと考えられ、そのためアフリカ大陸と近い割に、そことは異なった動植物相が見られる。しかもこの島に生息する動植物 of 3分の2が固有種であり、生物多様性 of ホットスポットとして有名である。現地 of 道路整備は遅れており4輪駆動車でしか移動できない、行く先々 of 道路脇に固有種 of バオバブ、アローディア、またマダガスカル原産 of 「旅人 of 木」や「三角椰子」、カメレオン、そしてシーファカ、ワオキツネザル of 原猿類など、独自の進化を続けた動植物たちと遭遇する。一方でメキシコから of 移入種であるウチワサボテン of 大繁殖、牧草を確保するための野焼き、大規模なプランテーション等が各地で行われ貴重な自然が失われつつある一面も垣間見える。とくに各地に優占する植物(マングローブ樹木類、ヤシ類、ガマ類、アローディア類)は工業が全く未発達である国情から、生活必需品であり、マキや炭 of 原料として、また、家屋 of 屋根や壁面に使われている。

海藻 of 採集・調査は主に南東部フォート・ドーファン、南西部チュレアール、北西部マジュンガ of 周辺で行い、フォート・ドーファン、チュレアールでは岩礁域、またチュレアール、マジュンガではマングローブ域において採集を行った。岩礁域 of 海藻は種類数も現存量も豊富で、種こそ異なるが属レベルでは伊豆半島から沖縄にかけて of 海藻と共通するものが多かった。陸上植物は現地住民に無くてはならないことは既に述べたが、海藻は「海 of ゴミ」ということでも分かるように全く利用されていない、しかし、カラギーナン of 原藻であるキリンサイやオゴノリ of 仲間は豊富で、しかも東南アジア of 同属藻類よりも個体が大きく、養殖に適しているように思われた。マダガスカル of 海藻 of 種組成についてはオーストラリア of 研究者との共同研究として実施しているので、彼ら of データと合わせて別の機会に改めて紹介する予定である。

C2

東北地方南部太平洋岸地域におけるスギ壮齡林の林内植生の比較

佐藤麻衣子¹(宮教大・院・環境教育)・平吹喜彦(宮教大・生物)

はじめに

東北地方における森林面積の43%は人工林であり、うち44%をスギ人工林が占める(浅沼, 2002)。近年、壮齡スギ人工林では郷土種の侵入・生育が顕在化しており(Ito, 2003)、種多様性や地域性を重視した公益性の高い森林へと導くことの是非や施業方法について議論がなされている(鈴木, 2002)。本研究では、常緑広葉樹林帯から落葉広葉樹林帯へと推移する東北南部太平洋岸地域において、スギ壮齡林の林内植生がどのように変化するのか、植生地理学的な視点から解析した。

調査方法

福島県相馬市から岩手県胆沢町にいたる太平洋を縦走する丘陵地を対象として、11地域で実施された植生調査の結果(宮城県環境保全地域のデータを含む)を用いて解析を進めた。野外調査は、林相(林冠の高さやうっぺい度、高木の胸高直径、林内の階層やうっぺい度)が類似した45年生程度のスギ壮齡林内に225 m²の方形区を設置して、Braun-Blanquet法により夏季に実施された($n=76$)。林内植生の類型区分には、TWINSpan法(McCune and Mefford, 1999)を用いた。

結果と考察

調査林分は、カットレベル1で(1)シロダモとジャノヒゲ、アオキ、テイカカズラを指標種とする36林分と、(2)こうした暖温帯性常緑植物に乏しく、オオバクロモジやトリアシショウマ、エゴノキなどの出現頻度が高い40林分に二分された(固有値=0.341)。次のカットレベル2では、前者が(1)ヒサカキやアカガシが高頻度で出現するタイプI($n=15$; 相馬から涌谷にいたる5地域に分布)と、(2)ウリノキを指標種とし、カヤやイヌガヤが高頻度で出現するタイプII($n=21$; 多賀城以南の3地域に分布)に区分され(固有値=0.271)、後者は(3)ヤマツツジやアキノキリンソウ、タガネソウ、ミヤコザサなどが出現するタイプIII($n=20$; 仙台以北の6地域に分布)と、(4)ハエドクソウとタラノキを指標種とし、ミツバウツギやチヂミザサ、ミゾシダ、アズマネザサなどが優勢なタイプIV($n=20$; 仙台以北の内陸側5地域に分布)に区分された(固有値=0.311)。

本研究から、生育する暖温帯性常緑植物の生育状況に象徴されるような、スギ壮齡林内植生の地理的相違、すなわち地域間の多様性のあらわれが把握できたと考えられる。

長谷川巧*(宮城教育大・院・環境教育)・平吹喜彦(宮城教育大・生物)

はじめに

砂浜海岸を縁取るマツ(クロマツ・アカマツ)の防潮林では、近年、松枯れ病の進行でマツが枯死したり、落葉落枝や下草の採取が停止したことで植生遷移が進み、広葉樹がさかんに侵入・成長している現象が認められている。マツ防潮林は環境保全や防災上重要であることから、これまで多くの生態学的研究が行われてきたが、仙台湾岸においてもシロダモやカシ類などの暖温帯樹種の侵入(宮城県, 1994)や、烏散布樹種の顕著な成長(長島ほか, 2001)が報告されている。演者らも、サクラ類(当地の二次林で優占する落葉性陽樹)の次に、シロダモ(当地を分布北限域とする常緑性陰樹)が侵入するといった遷移の順序性を報告した(長谷川ほか, 2003)。シロダモなどの常緑樹が、衰退するマツを補完する防潮林機能を有する樹種として期待されていること(鈴木, 1999)から、放置老齡マツ防潮林におけるシロダモの生活史特性を明らかにしておくことは、持続的管理の確立という点からも重要であろう。本講演では、シロダモ実生・稚樹の個体群構造と光環境について報告する。

調査方法

仙台市井土浜地区の放置老齡マツ防潮林で、侵入した広葉樹が高木となって、まばらな葉層を形成している林分を調査対象とした。先ずマツ-落葉樹パッチ(マツ林冠直下まで落葉広葉樹が成長)、マツ・落葉樹-常緑樹パッチ(マツと落葉広葉樹の林冠直下まで常緑広葉樹が成長)、ギャップ(老齡マツ樹冠の欠損による小ギャップ)の3タイプのパッチを区分した。次に、ランダムに選んだパッチごとに2m×2mの方形区を設置して、幹長160cm以下のシロダモ(実生・稚樹と呼称)について、幹長、生育状態、過去3年分の伸長成長量(芽鱗痕より推定)を記録した。また、各方形区から5~15本の幹をランダムに選び、樹冠直上で全天写真を撮影した上で(上層木の展葉を考慮して4月と8月に実施)、Gap Light Analyzer(Simon Fraser University, 1999)により光量子密度を算出した。

結果と考察

シロダモ母樹下を含むマツ・落葉樹-常緑樹パッチ($n=7$)では、他の2パッチに比べ実生・稚樹の個体密度が高い反面(Mann-WhitneyのU検定, $P < 0.01$)、最大幹長が30cm以下と小さく、相対伸長成長率も小さかった(Mann-WhitneyのU検定, $P < 0.01$)。光量子密度の推定値が他の2パッチより小さくなっていたことより(Kruskal-Wallis検定, $P < 0.01$)、種子は散布(主に落下?)されるものの、その後の成長が阻害されていると推察した。

マツ-落葉樹パッチ($n=16$)とギャップ($n=7$)を比較すると、個体密度はマツ-落葉樹パッチで高くなる傾向を示した反面(Mann-WhitneyのU検定, $P < 0.05$)、相対伸長成長率はギャップで大きく(Mann-WhitneyのU検定, $P < 0.01$)、幹長階分布においてもギャップの方がサイズの大きな個体が多かった。

以上のことから、放置老齡マツ防潮林内でシロダモは、(1)常緑広葉樹による被圧を避けることで更新が可能であること、(2)マツ枯れに起因するような小ギャップが形成された場合に、待機個体による更新が加速されていることが示唆された。

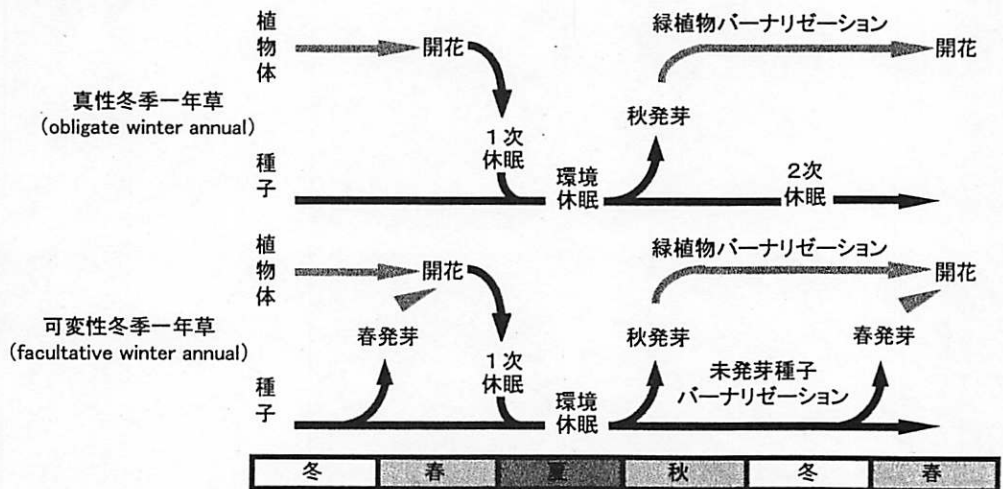
冬季一年草の生活環制御における未発芽種子バーナリゼーションの生態的意義

吉岡俊人*・佐藤 茂（東北大院・農）・森田聡一郎（畜産草地試）・
マイケル・フェナー（サウサンプトン大）・榎本 敬（岡山大）

未発芽種子バーナリゼーションは、未発芽段階の種子が低温遭遇することで発芽後の植物体の花成が促進される現象である。この現象の冬季一年草生活環制御における生態的意義を明らかにする目的で1.未発芽種子バーナリゼーションが誘導される種子の状態、2.未発芽種子バーナリゼーションと種子2次休眠との関係、を検討した。

ヒメムカシヨモギ、マメグンバイナズナ、ノスズメノッテッポウ種子では、吸水、10日間以上の低温（2℃）が与えられれば、アブシジン酸によって発芽が阻害された状態でもバーナリゼーションが誘導された。その効果は低温処理後に種子を乾燥させても維持された。未発芽種子バーナリゼーションは冬季一年草105種中 25種に認められ、これら25種では低温による顕著な種子二次休眠誘導が起きなかった。

可変性冬季一年草では春発芽個体の一年生型生活環を成立させる上で未発芽種子バーナリゼーションが重要な要因であり、春発芽しない真性冬季一年草は未発芽種子バーナリゼーションの性質を有していないと思われる。未発芽種子バーナリゼーションが誘導されたヒメムカシヨモギ種子で特異的に発現する遺伝子を16クローン得ている。



小林和貴*・鈴木三男 (東北大・院・理・植物園)

樹脂鑄型法は、道管や繊維、細胞間隙といったアポプラストの立体構造を可視化する手段として開発されてきた。樹脂には、植物組織内への浸透性、細胞壁除去に用いる硫酸等に対する耐性、重合後の丈夫さなどから、ポリスチレン、シリコンエラストマー、低密度ポリエチレンが主に用いられている。現在我々は樹脂鑄型法を用いて、双子葉植物の道管ネットワークについて、特に一次木部～二次木部間の道管の連絡様式に注目して研究を行っている。しかし、一次木部道管は小径なため、樹脂の破損等により、従来の樹脂では観察に適した長い鑄型を得ることが難しい。

ポリエステル樹脂の Rigolac 2004 は、超薄切片作成用の包埋樹脂で、スチレンモノマーと混合することにより、重合前の樹脂粘度を調節でき、さらに重合後の樹脂はスチレン単独の場合よりも丈夫になることが知られている。そこで、Rigolac 2004 とスチレンモノマーの混合樹脂を用いて、一次木部道管の鑄型作製に適した樹脂注入条件の探索を行った。材料にはオニグルミ(*Juglans mandshurica* var. *sachalinensis*)二年生枝の小片(5×5×10mm)を用い、混合樹脂の比率は(Rigolac 2004/スチレンモノマー) = (1/4), (1/1), (4/1)の3種類を、注入時間は0.5, 1, 5, 10分の4条件を検討した。混合樹脂は、スチレンモノマーの割合が多くなるほど粘度が低下する。

Rigolac 2004/スチレンモノマー混合樹脂は、スチレン単独の樹脂に比べ、細い鑄型の破損が少なかった。またシリコンエラストマーに比べると、道管の元々の立体配置をよく維持していた。組織への浸透性に関しては、高粘度の樹脂(4/1)でも注入時間に関係なく、二次木部の大径道管($\phi 20 \mu\text{m}$ 以上)や一次木部の小径道管($\phi 5 \sim 20 \mu\text{m}$)に加え繊維や細胞間隙に浸透していた。より低粘度の樹脂(1/4)と(1/1)でも同様な種類の鑄型が得られたが、道管は長い鑄型が得られたのに対し、繊維と細胞間隙の鑄型は高粘度樹脂(4/1)に比べて少なかった。そのため一次木部道管の鑄型観察には適していた。スチレンの割合が多い低粘度樹脂(1/4)と(1/1)では、高粘度樹脂(4/1)に比べて丈夫さが劣るため、細胞壁除去の際に繊維や細胞間隙の鑄型が適度に破損すると考えられた。

C6 光は根の水輸送を調節しているか？

奈良久美*・高瀬智敬・山下日鶴・石川春樹・永坂厚・永田俊文・鈴木均¹
(理研・PDC・光生物 2, ¹石巻専修大・理工・生物生産)

光は植物にとって、光合成のエネルギー源であるとともに、環境を知るための情報源でもある。根による水の吸収と輸送は、地上部での水需要、すなわち光合成や生長（細胞の増殖・伸長等）と調和して行われる。地上部は光の影響を直接受け、光合成や生長速度を変化させることができる。したがって、根の水輸送も光環境に応じて変化すると考えられる。このとき、根は光環境の変化及び光によって引き起こされた変化をどのようにして受け取るのだろうか？我々のこれまでの研究から、地上部に照射された光が植物体内を伝送され、根に到達すること、伝送光が遠赤色光（FR）の成分に富むことなどが明らかになった（Sun et al. 2003）。FR 照射により、根のアクアポリン（水チャネルタンパク質）の遺伝子発現が変化することもわかった（Sato-Nara et al. in press）。これらは、地下部の根が光を直接受容し、水輸送を調節する可能性を示唆しているが、そのような仕組みについてはこれまで知られていない。そこで我々は、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて、分子生物学的手法及び NMR イメージング（MRI）を用いて、光による根の水輸送調節機構の研究を進めている。今回は、我々の研究の現状について、次の3つの側面から、総合的に報告する：1）根におけるアクアポリン遺伝子 *TIP2;2* の発現解析—シュートから根へ伝わった光シグナルがアクアポリン遺伝子の発現を変える、2）シロイヌナズナの MRI 技術の開発—小さな植物体の水分分布を生きのまま捕らえる、3）MRI を用いた根の水動態の解析—明暗周期に伴って根の水分量の変動する。これらの研究を通して見えてきた根の水輸送に対する光の重要性についても考察したい。

C7

ヤマノイモ属 *Stenophora* 節における東アジア種と第三紀遺存種との分子系統関係

加藤文恵* (山形大・理・生物)、高石一也 (山形大・理・生物)、山崎和也 (山形大・理・生物)、岡上伸雄 (前千葉大・園芸)、丹野憲昭 (山形大・理・生物)

ヤマノイモ科はグループとして、ジベレリン (GA) によって発芽が抑制され休眠が誘導される、GA-誘導休眠が見られる唯一の植物群である。ヤマノイモ属の中でも *Stenophora* 節は系統的に古いグループとされており、その分布の中心は東アジアにあるが、ヨーロッパと北米にも第三紀からの遺存種と考えられている数種が局所的に分布している。これらの第三紀遺存種にも GA-誘導休眠が見られる (Okagami *et al.*, 1997)。ヤマノイモ属における GA-誘導休眠の起源を考えるうえで、*Stenophora* 節での第三紀遺存種と東アジア種の類縁関係を知ることは重要である。

Terauchi らのグループ(1997)は、温度による自然選択を受けていると考えられている、解糖系のフォスフォグルコースイソメラーゼ (PGI) の遺伝子で *Stenophora* 節東アジア 6 種の分子系統関係を明らかにし、形態的特徴に基づく分類と同様の結果を得ている。

本研究では、*Stenophora* 節第三紀遺存種 4 種 + 1 form の *pgi* 遺伝子の塩基配列を決定し、Terauchi らの東アジア 6 種との分子系統関係を調べることを目的とした。

第三紀遺存種の葉組織から total RNA を抽出、RT-PCR を行って cDNA ライブラリーを作成した。Terauchi らによって設計されたプライマーで PCR をして、得られた *pgi* 遺伝子断片 1290bp のうち 1072bp で分子系統解析をした。

その結果、ヨーロッパと北米に現存する第三紀遺存種 4 種 + 1 form は東アジア種 *D. gracillima* (タチドコロ) とひとつのクレードを形成し、第三紀遺存種が分子系統の面からも *Stenophora* 節に属することが裏付けられた。

今後、ヤマノイモ科の近縁種で *pgi* 遺伝子 cDNA の全塩基配列の決定をして、*Stenophora* 節のヤマノイモ属内、ヤマノイモ科内での位置づけを明らかにしたいと考えている。

清水和弘* (山形大・理工・生物)・Haniyeh Bidadi (山形大・理工・生物)
 岡田勝英 (山形大・教育)・豊増知伸 (山形大・農)・岡上伸雄 (前千葉大・園芸)・丹野憲昭 (山形大・理・生物)

【目的】ジベレリン (GA) は誘導休眠を引き起こす (GA-誘導休眠)。アブシジン酸 (ABA) もまたヤマノイモ属のムカゴの発芽を抑制する。私達は、ヤマノイモ属から ABA 様の活性のある 7'-ヒドロキシアブシジン酸 (7'-OHABA) を単離・同定した。ヤマノイモの休眠ムカゴでの $^2\text{H}_6$ -ABA の代謝実験の結果、ヤマノイモ属には ABA から 8'-ヒドロキシアブシジン酸 (8'-OHABA) を経てファゼイン酸 (PA)、ジヒドロファゼイン酸 (DPA) に至る従来の ABA 代謝経路と 7'-OHABA への代謝経路とがあると考えられる (図1)。最近シロイヌナズナなどで従来の ABA 代謝の key enzyme 遺伝子である *ABA 8'-ox* が単離された。そこで、ヤマノイモ属の GA-誘導休眠と ABA 代謝との関係を調べるために、ヤマノイモから *ABA 8'-ox* の単離を試みた。

【方法】十分な低温処理によって休眠を打破し発芽して茎葉と根が出ているヤマノイモ (*Dioscorea japonica*) のムカゴ全体から、熱ホウ酸塩法により totalRNA を抽出し、一本鎖 cDNA を合成した。これを基に、シロイヌナズナやイネの *ABA 8'-ox* から設計された degenerate primer による PCR を行い、得られた cDNA 断片を常法によりプラスミドを介して大腸菌で増幅した。

【結果】5つの大腸菌コロニーから得られたプラスミド DNA の塩基配列を BLAST 検索したところ、これらの DNA 断片 (約 670bp と約 690bp) はシロイヌナズナの P450 モノオキシゲナーゼ (CYP707A1 と CYP707A3) と高い相同性のある塩基配列を有し、2種類に大別される。これらの2種類の DNA 断片は *ABA 8'-ox* 断片である可能性が高い。今後、これらの2種類の遺伝子の全塩基配列を決定し、それらの機能や発現を調べたい。

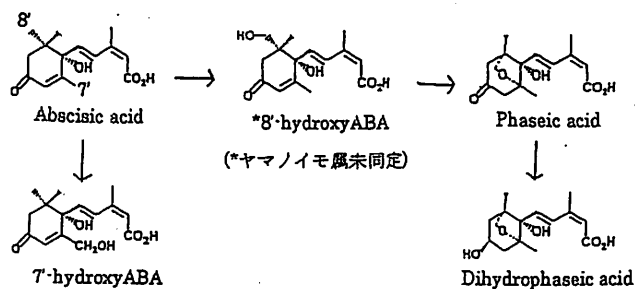


図1 ヤマノイモにおける ABA 代謝経路

C9

キュウリにおけるオーキシン排出キャリア遺伝子の組織特異的発現

堀田拓哉^{1*}、Dai-Hee Kim^{1,2}、鎌田源司¹、宮沢豊¹、藤井伸治¹、Kyung-Min Kim³、
高橋秀幸¹

(¹東北大学・院・生命科学、²Inst. of Agri. Sci. & Tech., Kyungpook Natl. Univ.、

³Inst. of Genet. Eng., Kyungpook Natl. Univ.)

植物ホルモンの一つであるオーキシンは、茎頂部で合成され、根端に向かって一定方向に輸送される。この輸送を極性輸送と呼ぶ。重力屈性、光屈性などの環境応答や維管束形成などの発生・分化において、この極性輸送を含むオーキシンの輸送方向の調節が重要な役割を担っている。キュウリ芽ばえは重力にตอบสนองし、胚軸と根の境界 (Transition; TR) 領域の下側にペグと呼ばれる突起状組織を形成する。このペグ形成面は、オーキシンの偏差分布によって制御されている。近年、シロイヌナズナにおいて、オーキシンの輸送は細胞膜上に局在するオーキシン取り込みキャリア (AtAUX1) と排出キャリア (AtPINs) により制御されていることが明らかにされた。さらに、排出キャリアの一つである AtPIN3 は、重力受容細胞である地上部の内皮細胞と地下部のコルメラ細胞で特異的に発現し、コルメラ細胞においては AtPIN3 タンパク質の局在方向が重力にตอบสนองして変化することが報告された。

これまでにわれわれは、キュウリにおけるオーキシン排出キャリア遺伝子 (*CsPIN1*) cDNA を単離・解析し、*CsPIN1* の局在が TR 領域におけるオーキシン分布に関与することを明らかにした。そこで本研究では、キュウリに特異的な重力応答のペグ形成におけるオーキシン輸送調節機構の全体像を明らかにするため、RT-PCR 法により、*CsPIN1* 以外の 5 種のオーキシン排出キャリア遺伝子 (*CsPIN2*、*CsPIN3*、*CsPIN4*、*CsPIN5*、*CsPIN6*) cDNA を新たに単離した。これらの mRNA の蓄積を器官別の Northern hybridization で解析した結果、それぞれの *CsPINs* は異なる発現パターンを示すとともに、重複した器官で発現していた。ペグが形成される TR 領域においては *CsPIN1*、*CsPIN3*、*CsPIN4*、*CsPIN5*、*CsPIN6* の発現が認められた。さらに発現組織を *in situ* hybridization で解析した結果、*CsPIN2*、*CsPIN3*、*CsPIN4* mRNA の蓄積は、*CsPIN1* と同様に維管束とその周辺の組織で認められた。*CsPIN5* mRNA の蓄積は地上部では検出されず、根の表皮・皮層で検出された。*CsPIN6* mRNA の蓄積は、根の重力感受細胞であるコルメラ細胞で検出されるとともに、TR 領域においては師部と髓に検出された。以上の発現の組織特異性から、キュウリのオーキシン排出キャリアは *CsPIN1-4*、*CsPIN5*、*CsPIN6* の 3 つのグループに分類された。今後、TR 領域で発現が認められた *CsPIN1*、*CsPIN3*、*CsPIN4*、*CsPIN5*、*CsPIN6* を詳細に解析することにより、重力によるペグ形成面の調節を担うオーキシン輸送制御機構が明らかになるものと期待される。

C10 キュウリ *CS-ACS2* 遺伝子の雌花分化期特異的発現

齊藤沙代子¹, 藤井伸治¹, 宮沢豊¹, 水澤 秀雅², 松浦 誠司², 高橋秀幸¹

(¹ 東北大・院・生命科学, ² ㈩ト一ホク)

キュウリは雌雄異花同株型を基本とするが、その性表現型は多様に分化している。キュウリの性表現型には、雌花を主に着生する雌性型、雄花と雌花を着生する混性型、両性花を主に着生する両性型、両性花と雄花を着生する両性雄性同株型が存在する。これらに着生する全ての花芽は初期発育段階において両性花的形態を示し、花の性分化はその後の雄ずいもしくは雌ずい原基の選択的な発育停止により起こる。このキュウリの花の性分化において、雌ずいの発達誘導は植物ホルモンであるエチレンによって制御されると考えられている。また、雌性化を促進する *F* 遺伝子を持つ雌性型 (*F*-) では、混性型 (*ff*) と比較して、エチレン生成量が多い。したがって、混性型では雌花と雄花を着生するが、これは雌花誘導に十分な量のエチレンを生成する花芽とエチレン生成量の少ない花芽が混在するためと予想される。この仮説を検証するために、本研究では、ACC 合成酵素遺伝子の *CS-ACS2* の発現解析により、同一個体上の各花芽におけるエチレン生成量と雌花着生の関係を検討した。

材料として、同質遺伝子系統である雌性型品種 RSG (*FF*) と混性型品種 RSM (*ff*) を用いた。同一環境下における両品種の性表現の個体間差は小さく、雌性型 RSG は全ての節において雌花を着生し、混性型 RSM は植物体基部から第 7、13、19、20 節位付近でのみ雌花を着生した。個々の花芽におけるエチレン生成量を測定するのは困難であるため、キュウリにおいてエチレン生成量ならびに雌性化率と高い相関が認められ、また花芽で特異的に発現する *CS-ACS2* をプローブとして用い、その発現解析を行った。キュウリは花茎の基部から順に開花する求頂花序であるため、同一個体上から採取した花芽は連続的な発育段階を示す。そこで、性表現解析時と同一環境下で生育した雌性型と混性型キュウリ品種の同一個体上から採取した全ての花芽を用い、*in situ* hybridization により *CS-ACS2* の発現する部位および発育段階を解析した。その結果、雌性型では両性花的な発育段階から性決定後の花芽で連続的に、胚珠予定域で *CS-ACS2* の発現が検出された。一方、混性型では *CS-ACS2* の発現組織は雌性型と同一であったが、発現の検出される花芽とされない花芽が混在し、発現の検出された花芽の節位は雌花を着生した節位と一致した。これらの結果から、キュウリにおいて各花芽の *CS-ACS2* の発現は雌花分化と強い相関性を示し、個々の花芽におけるエチレン生成量が花芽の雌花分化を制御していると考えられた。

C11

重力屈性欠損アサガオ（シダレアサガオ）の変異原因遺伝子と回回転頭運動

北澤大典¹、畑田泰子¹、鎌田源司²、藤井伸治¹、宮沢豊¹、星野敦³、
飯田滋³、深城英弘⁴、田坂昌生⁴、菅洋¹、高橋秀幸¹

¹東北大・院・生命科学、²JAXA、³基生研、⁴奈良先端大・バイオ

アサガオ (*Pharbitis nil*) の 1 品種であるシダレアサガオ (*weeping*) は、地上部 (茎葉) における負の重力屈性を欠損しており、茎が枝垂れる形質の他に、蔓巻き性と茎の回回転頭運動も欠損している。われわれはこれまで、*weeping* では地上部において重力感受に必須とされる内皮細胞層の分化が異常であることを明らかにしている。同様の表現型を示す突然変異体として、シロイヌナズナの *scarecrow* が知られている。そこで本研究は、アサガオにおける *SCARECROW* 相同遺伝子 (以下 *PnSCR*) の *weeping* 形質への寄与を当該遺伝子の同定と解析により検証した。まず *PnSCR* 全長を単離し、野生型アサガオと *weeping* のアミノ酸配列を比較検討した。その結果、*weeping* において 1 アミノ酸の挿入が認められ、連鎖解析から、この挿入変異と *weeping* 形質が連鎖することが明らかになった。次に、*weeping* における変異が *PnSCR* の機能欠損の原因であるかどうかを検証するために、シロイヌナズナ *scr* 変異体を用いた相補性試験を行った。野生型 *PnSCR* を導入したシロイヌナズナ *scr* 変異体では花茎の負の重力屈性が復帰したのに対し、*weeping* 型 *PnSCR* を導入した系統ではその復帰が認められなかった。また *scr* 変異体は花茎の回回転頭運動も欠損していることから、形質転換体における回回転頭運動に対する相補性も検定した。野生型 *PnSCR* を導入したシロイヌナズナ *scr* 変異体では花茎の回回転頭運動が復帰したのに対し、*weeping* 型 *PnSCR* を導入した系統ではその復帰が認められなかった。これらの結果は、*weeping* における重力屈性と回回転頭運動の欠損が、*PnSCR* の 1 アミノ酸挿入による機能欠損に起因することを強く示唆している。

C12 イネ外向き整流性 K⁺チャンネル遺伝子の発現と機能解析

岩崎郁子 (秋田県立大・生物資源) *・佐藤雅彦 (京大院・人間・環境学), 中西洋一, 前島正義 (名大院・生命農)・北川良親 (秋田県立大・生物資源)

生物界には多様な K⁺チャンネルが存在し、機能も多様である。イネにおける K⁺チャンネルの役割を理解する目的で、「ひでこもち」と「ひとめぼれ」の2品種を対象にし、クローニングして得られた共通の遺伝子 (ROK, rice outwardly rectifying K⁺ channel) について、その発現と機能解析の結果を報告する。ROK は外向き整流性を示すグループに入る。酵母に異種発現させた ROK タンパク質の分子サイズは、約 33kD であった。播種後 2 - 3 週間目の幼苗の葉、茎、根および出穂期の約 10 日前の穎花の葯における ROK の mRNA 量を、RT-PCR サザン分析およびリアルタイム PCR 法で分析したところ、2 品種いずれも葯での発現量が比較的多く、他の組織 (葉、茎、根) の 3 - 5 倍であった (4 - 5 ng of mRNA / mg of total RNA)。また、出穂期の約 10 日前および約 5 日前のそれぞれの穎花から得られた葯について、発現量を比較したところ、出穂期の約 10 日前の時期の方が 5 日前よりも約 5 - 10 倍高いことがわかった。出穂期の約 10 日前の時期は、穎花の花粉が 4 分子期に入っている割合が高く、冷温感受性期に相当するといわれる。ROK の生理学的機能について今後さらに検討を要する。

一方、ROK タンパク質の細胞内局在を調べるために、GFP (green fluorescent protein) との融合タンパク質をシロイヌナズナの培養細胞を用いて作らせたところ、外液の K⁺イオン濃度の違いに応じて細胞内オルガネラおよび細胞膜への局在に変化が見られた。その結果は ROK が機能的に外向き整流性を持つチャンネルタンパク質であることを強く示唆した。今後は ROK の機能を電気生理学的に明らかにする予定である。

日本植物学会東北支部第17回宮城（仙台）大会参加者名簿

氏名	所属	一般○/学生●	発表	懇親会	宿泊
青森県					
鮫島 正純	弘前大・農学生命科学	○	B12	○	○
秋田県					
平田 華緒里	秋田県立大・院・生物資源科学	●	B8		
岩崎 郁子	秋田県立大・生物資源科学	○	C12	○	○
岩手県					
須田 裕	岩手大学ミュージアム	○		○	○
高畑 義人	岩手大・農	○	○	○	
田中 裕子	岩手大・院・農	●	B7	○	
福島県					
安斎 美智男	福島県教育センター	○			
黒沢 高秀	福島大・共生システム理工	○		○	○
宮城県					
雨貝 愛子	東北大・院・生命科学	○	○	○	○
阿部 知顕	石巻専修大・理工	○		○	○
池田 雄介	東北大・院・生命科学	●	B2	○	
石井 一考	東北大・院・生命科学	●	B10	○	
石澤 公明	東北大・院・生命科学	○		○	○
上野 雄規	仙台市野草園	○		○	
大里 徳恵	東北大・院・生命科学	●		○	
大津 佐和子	東北大・院・農	●	B5	○	
大山 幹成	東北大・院・理・植物園	○		○	○
片岡 博尚	東北大・院・生命科学	○	A4	○	○
菅野 宗武	東北大・院・理・植物園	●	A3		
北澤 大典	東北大・院・生命科学	●	C11	○	
木ノ内 智之	東北大・院・農	●	B6	○	○
Kwon Hye-Kyoung	東北大・院・生命科学	●		○	
草野 友延	東北大・院・生命科学	○	B4	○	○
倉澤 香澄	東北大・院・生命科学	●		○	
後藤 伸治		○		○	
小林 和貴	東北大・院・理・植物園	●	C5		
小松 香菜	東北大・院・生命科学	●	B1	○	
齊藤 沙代子	東北大・院・生命科学	●	C10	○	
佐藤 茂	東北大・院・農	○	○	○	○
佐藤 麻衣子	宮教大・院・教育・学校教育	●	C2		
鈴木 三男	東北大・院・理・植物園	○	○	○	○
関 正典	東北大・院・理・植物園	●	A1	○	
高橋 秀幸	東北大・院・生命科学	○	公開講演会	○	
千田 淳司	東北大・院・生命科学	●	B9	○	○
長野 広隆	東北大・院・生命科学	●	B11	○	
奈良 久美	理研・光生物研究チーム2	○	C6		
西崎 友一郎		○		○	○

氏名	所属	一般○/学生●	発表	懇親会	宿泊
西谷 和彦	東北大・院・生命科学	○	公開講演会		
長谷川 巧	宮教大・院・教育・学校教育	●	C3		
原田 太郎	東北大・院・生命科学	●			
彦坂 幸毅	東北大・院・生命科学	○		○	
平吹 喜彦	宮教大・教育・理科教育	○	○	○	○
Hery Purnobasuki	東北大・院・理・植物園	●	A2		
星野 真紀子	東北大・院・生命科学	●		○	
堀田 拓哉	東北大・院・生命科学	●	C9	○	
前田 靖男	東北大・院・生命科学	○	○	○	○
松井 章浩	東北大・院・生命科学	●	B3	○	
宮壽 厚	東北大・院・生命科学	○	○	○	○
宮沢 豊	東北大・院・生命科学	○	○	○	
横山 隆亮	東北大・院・生命科学	○	○	○	
横山 潤	東北大・院・生命科学	○	○	○	○
吉岡 俊人	東北大・院・農	○	G4	○	○
山形県					
網代 晶子	山形大・理・生物	●	A6	○	○
大江 真司	山形大・院・理工	●	A5	○	○
小野寺 直子	山形大・院・理工	●		○	○
加藤 文恵	山形大・理・生物	●	C7	○	○
加藤 良一	山形大・教育・生物	○		○	○
工藤 創	山形大・院・理工	●	C1	○	○
齋藤 祐一	山形大・院・教育	●		○	
清水 和弘	山形大・院・理工	●	C8	○	
鈴木 隆	山形大・教育・生物	○		○	○
高木 善智	山形大・院・理工	●		○	○
谷藤 吾朗	山形大・院・理工	●		○	○
丹野 憲昭	山形大・理・生物	○	○	○	○
Haniyeh Bidadi	山形大・院・理工	●	○	○	
原 慶明	山形大・理・生物	○	○	○	○
横山 亜紀子	山形大・理・生物	○	○	○	
我妻 則子	山形大・理・生物	●	○	○	○

発表 講演番号：登壇発表者，○：連名者