

ユリの雄原細胞を基に動き始めた、 植物受精分子機構の研究

Development of molecular plant reproduction study, based on
generative cells isolated from lily

森 稔 幸

(順天堂大学医学部熱帯医学・寄生虫病学講座)

1. 重複受精の発見

かの有名な19世紀の生物学者グレゴール・ヨハン・メンデルは、理科の教員採用試験に何度も落ち続けたと聞く。落ちこぼれに聞こえるが、落第の一因は「植物の胚は花粉管の先端が雌しべ内で変化した産物である」という（当時定説だった）面接官の話に反論したからだ、と続く。ご存じのように、メンデルはエンドウマメを用いた交配実験で、①遺伝子は確かに両親から均等に受け継がれること、②個体中で遺伝子はペア（対）で存在することを言い当てるわけだが、染色体の発見（1888年；メンデルの没後4年）前からそれらを突き止めたその研究センスは見事としか言いようがない。誤解されていた被子植物の受精が細胞形態学的に発見されるのは、染色体の発見から10年後の話で、1898年にロシアのナワシン、1899年にフランスのギニアルがそれぞれ独自の研究で同じ見解に至った。その時に用いられた材料がユリ科植物の *Lilium martagon*（ユリ属）と *Fritillaria tenella*（バイモ属）であったことは、ユリを長年研究材料にしてきた筆者にとって感慨深い話である。

被子植物（概して花を付ける植物）の雄性配偶子である精細胞は、成熟期以降の花管内で必ず2つ形成される。おしべ先端の葯組織内で減数分裂を経て形成される花粉小胞子は、半数性でありながら1回の不均等な有糸分裂を行い大小2つの娘細胞を作る（花粉第一分裂）。これらのうち巨大な方が栄養細胞（将来花粉管を伸長する花粉管細胞）、小型の方が雄原細胞（雄性配偶子の前駆細胞）にそれぞれ分化する。面白いことに、花粉第一分裂の直後、雄原細胞は栄養細胞質に飲み込まれる形で入り込み、“細胞内細胞”という入れ子の形態を作る（図1）。この空間配置こそが、後に起こる花粉管伸長による精細胞の輸送を可能としている。雄原細胞はその後有糸分裂をもう一度行い（花粉第二分裂）、2つの精細胞を形成する（図1）。被子植物花粉の成熟形態には2種類あり、

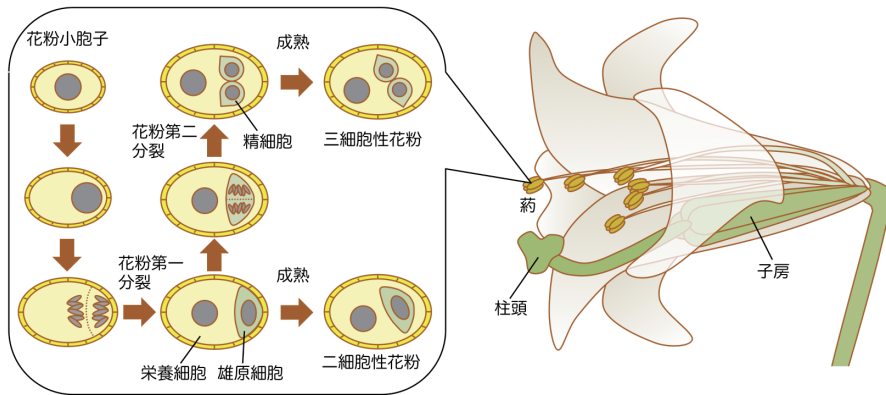


図1 花粉の発生

雄原細胞の形成をもって成熟し花粉管伸長時に第二分裂を行う二細胞性（栄養細胞と雄原細胞の2つで構成）と、第二分裂後に成熟する三細胞性（栄養細胞と2つの精細胞で構成）が知られている（図1）。成熟した花粉は葯の開裂後に乾燥状態となり、外界にさらされる。花粉が雌しべ頂端の柱頭に付着し、いわゆる受粉が成立すると栄養細胞は柱頭からもらった水分を吸収し、雌しべ内部へと花粉管を伸長させる（図2）。2つの精細胞は1本の花粉管中で行儀良く一列に並び、子房組織内の胚珠（将来種子になる組織）へと運ばれる。植物学上、花粉は雄性配偶体に相当するが、対する雌性配偶体は“胚のう”と呼ばれ胚珠組織中に存在する（図2）。胚のうの構造は花粉よりも複雑であり、多くの被子植物において、1つの卵細胞（雌性配偶子）、2つの助細胞、1つの中央細胞、そして3つの反足細胞からなる。胚珠の入り口である珠孔を通過し、胚のうに到達した花粉管はその先端を破裂させ、ほぼ同時に起こる1つの助細胞の破壊を伴って2つ

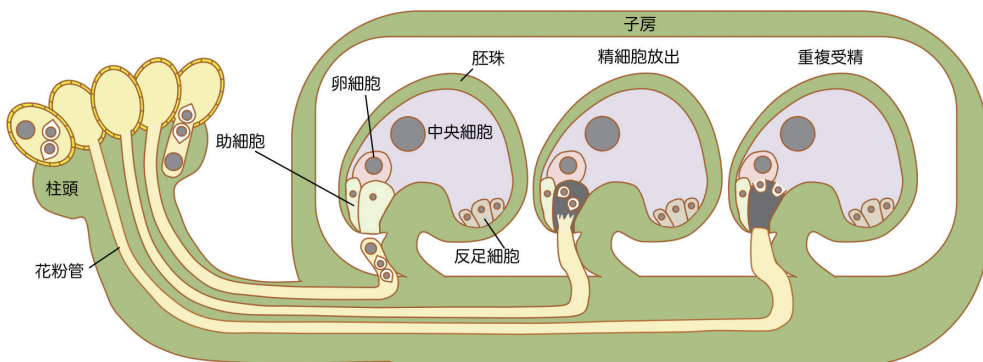


図2 花粉管の伸長と重複受精

の精細胞を胚のう内部へ放出する（図2）。このとき2つの精細胞は、初めて卵細胞および中央細胞と対面する。被子植物の精細胞は鞭毛のような運動装置を持たないが、2つの精細胞のうち1つは卵細胞と、残るもう1つは中央細胞と間違ふことなく融合（受精）する（図2）。受精卵はその後胚（次世代植物体）に、そして受精した中央細胞は胚乳（胚への栄養供給組織。イネで言う白米部分）へと発達し、胚珠は種子へと作り替えられる。このように、2つの精細胞はそのそれぞれが必ず雌側の配偶子もしくは配偶体細胞（それぞれ卵細胞と中央細胞）と受精するため、必然的にその様式は常にダブル（重複）となるわけである。ナワシンらの発見は、この複雑かつ精巧な“重複受精（double fertilization）”の発見であり、その後全ての被子植物が同じ様式の受精を行うことがわかった。

2. 植物有性生殖研究の現状と田中研究室

重複受精の発見から120年が経とうとしているが、重複受精を制御する分子機構はここ最近10年の間によくわかり始めたばかりである。動物や原生生物に比べて、被子植物の受精研究が遅々として進まなかった理由は主に2つある。例えばウニのような海産動物は、雌雄の個体がそれぞれ精子・卵を体外に放出し、運動性のある精子が卵を求めて移動することで（個体とは完全に離れて）自動的に受精が成立する。実際、実験室でも人工的に大量の放精・放卵を誘発することで試験管内での受精ペアが無数に誘導できるため、ウニは昔から動物受精のモデルとしても利用されてきた。無限に培養できる藻類も同様で、個別に培養した雌雄の細胞を飢餓状態に置くだけで配偶子の分化誘導が可能であり、両者を同数混ぜればほぼ100%の率で接合（受精）が成立する。ところが被子植物で同じ事をやろうとすると、格段にハードルが上がる。まず前述の通り、被子植物の配偶子は雌雄とも複雑且つ強固な組織の中に埋没しており、多くの植物種で精細胞や卵細胞の大量単離は不可能となっている。さらに、辛うじて配偶子単離ができて、①配偶子単離の困難さと②試験管受精の不成立から、被子植物の受精研究は長年遅れをとってきたわけである。

もちろん植物研究者達は被子植物の受精研究を決してあきらめたわけではない。1980・1990年代は、主に雄性配偶子の特徴的な構造や発現タンパク質を見出そうと、雄原細胞や精細胞を単離する方法が競うように確立され、当時発展した電子顕微鏡法や *in vitro* 翻訳法などを基盤とした雄性配偶子論文が次々とリリースされた。横浜市立大学の田中一朗教授（当時助教授。以下、田中先生と表記する。）もそのような雄性配偶

子研究ラッシュの中、テッポウユリ (*L. longiflorum*) の花粉から雄原細胞を大量単離する手法を独自に確立された¹⁾。冠婚葬祭を飾る花としても知られるテッポウユリは、雄性配偶子を解析する上でいくつもの利点を持っている。まず植物体と同様に花粉も巨大であり、それに合わせて被子植物の中でもトップクラスのサイズを持つ雄原細胞（直径 40~50 マイクロメートル）が内部に存在する。また、多くの被子植物花粉は物理的・化学的に強固な外壁に覆われており雄性配偶子の無傷での単離は極めて困難であるが、テッポウユリの外壁には巨大な花粉管発芽孔があるため、細胞壁を除去する酵素処理によって発芽孔から内部の細胞全体（栄養細胞ごと）をプロトプラストとして無傷で単離することができる²⁾。この単離された花粉プロトプラストを穏やかに物理的に破壊することで、内部の雄原細胞はもれなく単離することができ、蕾 1 本から数万個もの巨大な雄原細胞が調製可能となっている。筆者の知る限り、数・大きさともにこれほどの雄性配偶子が単離できる被子植物は他になく、少なくとも雄性配偶子でタンパク質生化学解析が可能な材料は未だテッポウユリのみではないだろうか。

横浜市立大学で細胞生物学や分子遺伝学の道を志していた筆者は、学部卒業研究の拠点として田中研究室を選び、上記の技術を基盤とした研究を始めることになった。卒業研究を始めた当時、植物生理も分子生物学で解析されはじめ、モデル植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の変異体解析が身近な研究室でも行われていたことを記憶している。ただ、シロイヌナズナゲノム解読はまだ完了しておらず、被子植物の研究はまだどのような遺伝子が見つかるかわからないブラックボックスを楽しんでいられる時代にあった。「雄原細胞には何かがある」を口癖にされていた田中先生も、独自の技術の将来に大きな期待をされていたのは卒研生の筆者にもよくわかった。ただ、ミーハーな筆者は遺伝子クローニングからアプローチするテーマを強くねだり、あまつさえ卒研生の分際で当時研究室には無かった PCR 装置（100 万円）まで買ってもらったのは生意気過ぎだったと今でも思う（後に試薬代でさらに 100 万円使用）。かくして、筆者は「テッポウユリの単離雄原細胞から特異的に発現する遺伝子を探索する」という研究テーマをありがたくいただいた。

3. テッポウユリ雄原細胞で見いだされた色素体分裂制御因子

PCR 装置がそれまで無かった研究室である。当然分子生物学実験の経験がある先輩は 1 人も居らず、筆者は主にプロトコル本（バイオ実験イラストレイテッド（秀潤社）など）を開いて一から勉強した。田中先生も分子生物学実験は専門外であったが、細胞から抽出した mRNA をランダムに PCR 増幅しその中で特異的に発現する遺伝子をス

クリーニングする、ディファレンシャルディスプレイ (DD) 法を紹介してくださった。雄原細胞の単離→RNA抽出→RT-PCR (RNAをDNAに逆転写して増幅するPCR法)→電気泳動→最初に戻る、の毎日の始まりである。実験開始当初は失敗や誤解の連続であったが、DD法がようやく形になった頃に運良く雄原細胞で強い発現を示す遺伝子候補を1つ見つけることに成功した。AP6-Eと名付けたそのPCRクローンは、バクテリアの細胞質分裂に働くFtsZというタンパク質をコードする遺伝子の一部であり、シロイヌナズナの相同物(オルソログ)は色素体に局在することがその少し前にNatureに発表されていた³⁾。植物FtsZは、シアノバクテリアの末裔である色素体の分裂に働くかも知れないという暗示である。その3年後、ヒメツリガネゴケ(*Physcomitrella patens*)とシロイヌナズナでFtsZ遺伝子の発現を阻害すると色素体が巨大化することが論文発表され、FtsZが色素体分裂に働くことはもはや間違いないとされた^{4),5)}。しかしながらそうになると、テッポウユリ雄原細胞におけるFtsZ遺伝子の高発現には1つの疑問が残る。なぜならテッポウユリの色素体は母性遺伝であり、花粉発達の過程で雄原細胞からは色素体が完全に消失することが示されていたからである⁶⁾。雄原細胞発現FtsZの研究は田中研での修士課程研究テーマとして継続したが、ノーザンプロット解析やin situハイブリダイゼーション解析でも雄原細胞におけるFtsZ mRNAの顕著な蓄積が確認された⁷⁾。その間に、FtsZの立体構造がtubulinとよく似ていること、ほ乳類培養細胞でバクテリアFtsZを発現させると微小管とともに繊維状の構造を取るなどが報告され^{8),9)}、筆者は「雄原細胞における、色素体分裂とは無関係なFtsZの機能」を妄想するようになった。同時に、FtsZ研究に造詣が深い東京大学・黒岩常祥教授研究室への進学を目指すことになった(田中研究室からの卒業である)。

黒岩研は世界的にもアクティビティの高いオルガネラ分裂機構研究室である。バクテリアのFtsZタンパク質は、細胞分裂の際に分裂面を縁取るようにリング状に重合し、リングの収縮に誘導されるように分裂が進行していくことが知られていた。ところが植物や藻類の色素体分裂においては、筆者の黒岩研入室当時までFtsZのリング構造(Zリング)が観察されておらず、世界的な競争となっていた。そこで筆者がまず取りかかったのは、テッポウユリFtsZに特異的な抗体を作製し、花粉におけるFtsZタンパク質の発現を解析するというものだった。ありがたいことに大学の温室も半分使わせてもらい、田中研で覚えたやり方でテッポウユリの栽培も始めた。テッポウユリは、球根から栽培して花芽が十分成長するまで3ヶ月はかかるので、その間、千葉の農家から開花前テッポウユリの切り花を買い付けもした。そのような中、受託発注したテッポウユリFtsZ抗体もでき上がり、さっそく花粉プロトプラストや単離雄原細胞を免疫染

色してみた。田中研にいた頃に先輩方が作った蛍光抗体染色法で丹念に観察したのだが、残念ながら結果はネガティブで、雄原細胞での顕著なシグナルは検出できなかった。肩を落としていたところ、温室で栽培中のテッポウユリが最初の蕾を付け始めたので、何気なく花粉小胞子を免疫染色して観察しその結果に絶句した。第一分裂前（雄原細胞形成前）のテッポウユリ花粉小胞子は巨大な色素体が無数に観察できることが知られているが¹⁰⁾、その全ての色素体の赤道面にリング状の FtsZ タンパク質が検出されたのである（図3）。競争になっていた色素体Zリングの初めての観察である。もちろん

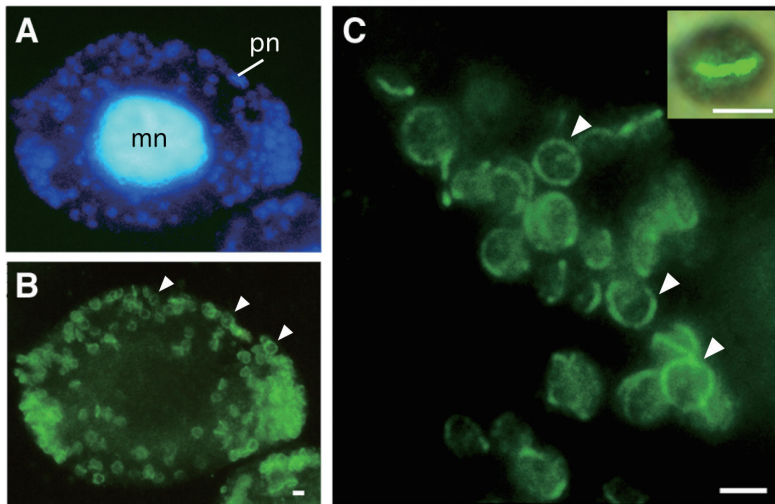


図3 Zリングの観察

A: 花粉小胞子の DAPI 染色像。mn, 小胞子核; pn, 色素体核様体。
B: A と同視野の FtsZ 免疫染色像。矢頭, Zリングの蛍光シグナル。
C: Zリング (矢頭) の高倍率像。右上は、色素体位相差像と蛍光シグナルを重ねたもの。
スケールバー, 全て2マイクロメートル。

黒岩研としても大きな発見であったため、このテッポウユリ FtsZ 抗体や、当時紅藻の *Cyanidioschyzon merolae* (通称: シゾン) でも作製されていた FtsZ 抗体を使って、様々な植物材料での Zリング観察“祭り”が繰り広げられた。結果として、10 報もの Zリング論文が黒岩研からリリースされ、植物 FtsZ はバクテリアと同様の様式で色素体の分裂に働くことが明らかとなった¹¹⁾⁻²⁰⁾。結局のところ、雄原細胞では FtsZ 遺伝子の高度な転写活性は検出されたが、その翻訳 (FtsZ タンパク質の発現) は起きていないという結論に至り、その意義は未だに謎となっている。いずれにせよ筆者の興味は被子植物の有性生殖であったため FtsZ の研究はそこで終了とし、当時同時に進めていた新たな雄原細胞 DD 法解析に専念することに決めた。実は黒岩研に入室して間もない頃に、

筆者はDD法によって新たなテッポウユリ雄原細胞特異的遺伝子の断片を検出していた。

4. 新規雄原細胞特異的遺伝子 *GCS1* の発見

花粉第一分裂直前の花粉小胞子、第一分裂直後の花粉、成熟直前の花粉、そして単離雄原細胞の4者でランダム RT-PCR 産物を比較したところ、単離雄原細胞で顕著な増幅を見せる DNA 断片を1つ検出することに成功した。この遺伝子断片について花粉発達過程や様々な体細胞組織での発現を RT-PCR 解析した結果、顕著に PCR 増幅されるのは決まって成熟に近い花粉と単離雄原細胞であったことから、この遺伝子を *GENERATIVE CELL SPECIFIC 1 (GCS1)* と名付けた。RACE PCR によって、*GCS1* 遺伝子 cDNA の完全長配列を決定したところ、*GCS1* タンパク質は約 700 残基のアミノ酸配列からなる、新規の膜貫通型タンパク質であると推定された。*GCS1* に対する特異的な抗体を作製しウェスタン解析を行ったところ、RT-PCR の結果と同様に、そのタンパク質発現は花粉第一分裂の後に始まり細胞の膜画分に蓄積することがわかった。同じ抗体で花粉や雄原細胞を免疫染色すると、やはり雄原細胞の表面でのシグナルが確認された (図4)。同様のシグナルはシロイヌナズナの *GCS1*-GFP 発現株でも後に観察された (図4)。受精は細胞表面に局在する分子間の相互作用を基点としている。これら局

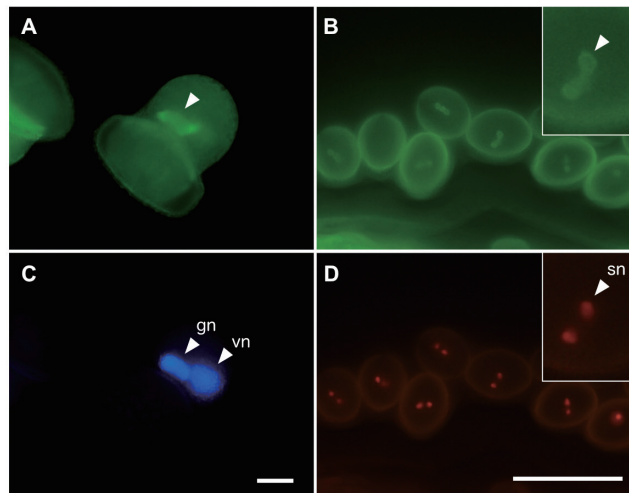


図4 *GCS1* の発現局在

A,C: テッポウユリ花粉の免疫染色。花粉プロトプラストにおける *GCS1* の免疫染色像 (A) と、同じ視野の DAPI 染色像 (C) を示す。(A) の矢頭は雄原細胞特異的な *GCS1* の蛍光シグナルを示す。gn, 雄原細胞核; vn, 栄養細胞核。
B,D: シロイヌナズナ *GCS1*-GFP 発現株の観察。全ての花粉の中で *GCS1* の局在を示す GFP シグナルが検出されており (B)、精細胞核 (sn) をあらかじめ RFP 標識した株では同一視野で GFP シグナルが精細胞に由来することが確認できる (D)。右上は精細胞の拡大像。スケールバー、全て 50 マイクロメートル。

在解析の結果から、筆者は *GCSI* の受精機能への関与を期待した。植物タンパク質の機能解析は、モデル植物の遺伝子破壊（変異）株の表現型をみるのが主流である。筆者が博士課程1年生の頃（2000年）に、シロイヌナズナのゲノム DNA が解読完了となり、それに伴ってあらゆる遺伝子破壊株の種子ストックが海外の研究所（米ソーク研究所など）から容易に入手できるようになった。ただし、研究者が希望する遺伝子破壊株が得られるか（存在するか）は“運”任せである。筆者がシロイヌナズナ *GCSI* 破壊株を入手できたのは、博士論文審査が終わった後だった（博士号は *FtsZ* の業績で無事に取得できた）。博士課程2年次からポスドク1年目までの期間で日本学術振興会特別研究員の資格があったため、筆者は黒岩先生の東京大学退官後の異動先である立教大学理学部でシロイヌナズナ *GCSI* の機能解析をやらせてもらった。

シロイヌナズナの栽培経験がなかった筆者は、またしてもプロトコル本を片手に独学でプレート培地作りから勉強した。少々ひ弱ながらも成長した *GCSI* ヘテロ接合変異株 (*GCSI/gcs1* 株) の花粉を観察すると、花粉の形態（精細胞・栄養細胞の構造）や培地上での花粉管伸長には全く異常が認められなかった。ところが種子発達の時期になると、*GCSI/gcs1* 株の種子形成率は野性型の半数程度に激減する傾向が観察された。*GCSI/gcs1* 株の雌雄配偶体（花粉、胚のう）は、いずれも半数が *GCSI*（野性）型、残る半数が *gcs1*（変異）型であるため、種子数半減の原因は雌雄どちらかの *gcs1* 型配偶体にあると考えられた。入手した *GCSI/gcs1* 株は、*GCSI* 遺伝子が抗生物質であるカナマイシンへの耐性遺伝子 cDNA によって分断破壊された植物体であり、*GCSI/gcs1* 株自身は *GCSI* 変異と連鎖したカナマイシン耐性を持つ（図5）。次に、このカナマイシン耐性（= *GCSI* 変異）が雌雄どちらの配偶体経由で子孫に伝わるか（伝わらないか）を、野性型との掛け合わせによって検証した（図5）。その結果、*GCSI/gcs1* 株を雄親（花粉提供者）とした掛け合わせでは、子孫にカナマイシン耐性が全く伝わらないことがわかり、種子数半減の原因は花粉側にあることが示された（図5）。前述のように、*GCSI/gcs1* 株の全ての花粉は精細胞形成・花粉管伸長も正常であった。ところが *GCSI/gcs1* 株の花粉について受粉後の花粉管をアニリンブルー染色すると、花粉管を受け取っていないながら種子へと発達できない胚珠が多数存在する様子が観察された（図6）。この結果は、この種子発達阻害が花粉管到達以降のイベントである配偶子融合の異常によることを暗示している。*GCSI* の受精機能関与への可能性がいよいよ高まったわけである。あとは胚珠内で受精できない配偶子の様子を観察できればいいわけだが、ここで筆者は最大の壁にぶち当たった。シロイヌナズナは遺伝子組み換えが容易な材料であり、GFP（緑色蛍光タンパク質）のような蛍光マーカを用いれば目的の細胞を

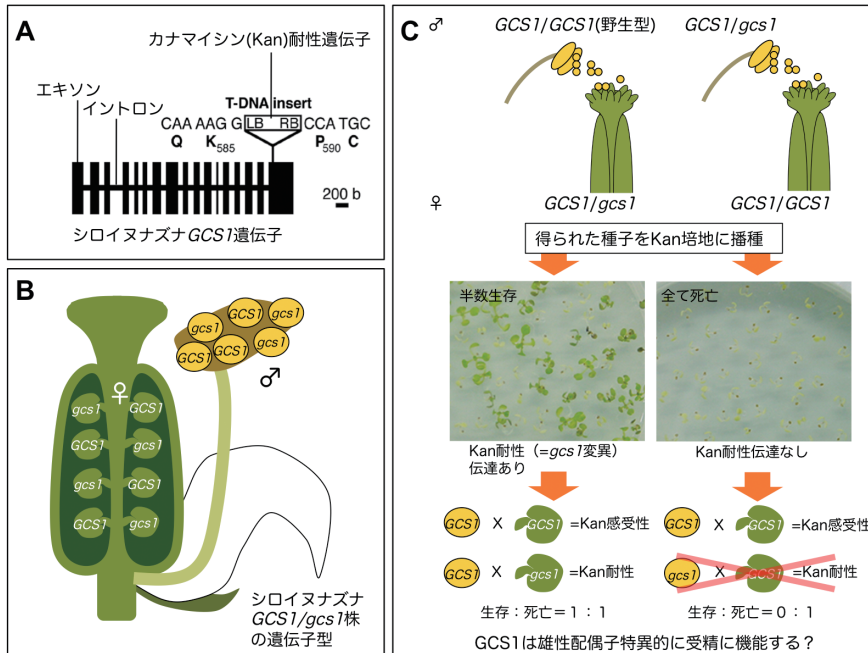


図5 *gcs1* 変異の伝達解析

特異的に標識することが出来る。しかしながら、配偶子に関しては雌雄ともマーカーになる特異的遺伝子が当時全く報告がなかったため、GFPなどを精細胞で特異的に発現させることが出来るプロモーターのあてが一切無い状況であった。途方に暮れていた中、筆者に思わぬ助け船が出された。2004年の夏に北京で開催された International Congress of Sexual Plant Reproduction に参加した際に、筆者は様々なシロイヌナズナ配偶体の蛍光マーカー株を用いて研究していたフランス人研究者 Frédéric Berger 博士（以下 Fréd さんと表記する。）と知り合った。学会会場で上記の事情を説明すると、Fréd さんは帰国後に当時未発表だった精細胞核の RFP（赤色蛍光タンパク質）標識株（DUO1-RFP 株）²¹⁾ を快く提供してくれた。期待通り、精細胞核を RFP 標識された *GCS1/gcs1* 株では、胚珠内の精細胞の様子が観察でき、受粉後何時間経とうと重複受精を完了できない2つの精細胞が明瞭に観察された（図6）。この結果は、*GCS1* が配偶子融合に必須な雄側の細胞膜局在因子であることを示す決定的な証拠となった。自画自賛であるが、重複受精の発見から100年を越えた時代に初めて明らかとなった植物受精分子機構の手がかりである。

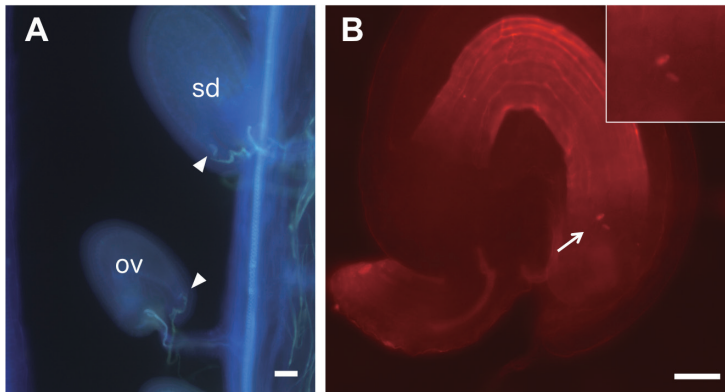


図6 GCS1/gcs1 株の受精異常

A: 受粉後の GCS1/gcs1 株における花粉管のアニリンブルー染色。花粉管を受け入れた胚珠は通常種子 (sd) へと発達するが、胚珠のまま発達しないもの (ov) が多数観察された。矢頭、胚珠内に入り込んだ花粉管。

B: RFP 標識精細胞の胚珠内観察。核を RFP 標識した gcs1 精細胞を追跡すると、胚珠内で受精できずに留まる様子が観察された (矢印)。右上は矢印で示された未受精精細胞の拡大像。

スケールバー、全て 20 マイクロメートル。

5. GCS1 研究の新たな展開

興味深いことに、GCS1 は被子植物だけが持つ遺伝子ではないことが研究する中でわかってきた。テッポウユリ GCS1 の全アミノ酸配列が明らかとなった当初 BLAST 法による相同性検索を行ったところ、藻類 (シズン *C. merolae*, クラミドモナス *Chlamydomonas reinhardtii*)、粘菌 (細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum*, 真正粘菌 *Physarum polycephalum*)、寄生性原生生物 (マラリア原虫 *Plasmodium falciparum*, リーシュマニア *Leishmania major*) などで GCS1 オルソログが検出された。これらの生物のうち、クラミドモナスと真正粘菌において GCS1 の発現パターンを RT-PCR によって解析したところ、いずれの生物でも配偶子に強い発現が見られ、接合が完了すると速やかに発現レベルが低下することがわかった。この結果は、これらの単細胞生物においても GCS1 が配偶子の接合に関与していることを示唆している。

テッポウユリの単離雄原細胞を基にした GCS1 の発見と重複受精における配偶子融合機能の解明、そして様々な真核生物での保存性を示した筆者らの論文は審査員達に認められ、Nature の姉妹誌 Nature Cell Biology に受理された²²⁾。この論文発表を有名新聞各紙でプレスリリースした直後、自治医科大学の平井誠博士よりマラリア原虫 GCS1 の解析について共同研究の打診があり、GCS1 研究は新たな展開を迎えることとなっ

た。あまり知られていないが、マラリアの病原体であるマラリア原虫は媒介蚊の体内で受精を基盤とした有性生殖を行う。ネズミマラリア原虫 (*P. berghei*) は、遺伝子破壊や組換えが容易な材料であり、それらの技術によってマラリア原虫 GCS1 の発現と機能を解析した。驚くべきことに、マラリア原虫の GCS1 は被子植物と同様に雄性配偶子特異的に発現し、遺伝子破壊すると雄側が原因して受精が全く起こらないことがわかった。国際会議での噂からアメリカの競合グループもネズミマラリア原虫とクラミドモナスの GCS1 解析で同様の結果に至ったことを察知したため、筆者らは急いで論文発表するべく正月休み中も執筆に時間を使った。その結果、競合グループが *Genes and Development* 誌に発表した数ヶ月後に²³⁾、筆者らのグループも *Current Biology* 誌になんとか論文発表することができた²⁴⁾。初めての GCS1 論文発表からわずか2年後の話である。同時に、GCS1 遺伝子は無脊椎動物の系統(襟鞭毛虫、海綿動物、刺胞動物、節足動物)にも存在することが示され^{23),24)}、その翌年には刺胞動物ヒドラ (*Hydra magnipapillata*) で精巢特異的な GCS1 発現が初の動物 GCS1 解析の報告として発表された²⁵⁾。その後、筆者らは海外のグループとたびたび対峙しながらも GCS1 の機能ドメイン解析や、動物における GCS1 の発現・機能解析、藻類や粘菌を用いた GCS1 の性特異性解析など様々な共同研究で成果を挙げてきた²⁶⁾⁻³⁰⁾。GCS1 を取り巻くさらなる受精因子が明らかとなれば、動植物・原生生物に共通な受精分子機構が将来解明されるかも知れない。

6. 有性生殖の研究は生物種の枠を超える

田中先生はかつて言われた。「私は植物学の研究者ではない。有性生殖という現象の研究にテッポウユリが適していると考えているだけで、動物学にも通用する成果をいつも期待している。」と。筆者の研究生活は被子植物を材料にして始まったものであり、解析困難とされていた被子植物が今では最も扱いやすい有性生殖研究材料の1つであることは自明である。前述の Fréd さんとは GCS1 の論文発表以降も共同研究を行い、シロイヌナズナの受精変異株スクリーニングから、膜タンパク質 GAMETE EXPRESSED 2 (GEX2) が雄側の配偶子接着因子であることを新たに示すこともできた^{31),32)}。もちろん上記の研究活動中もテッポウユリ雄原細胞の有用性を忘れたことはない。大型科研費研究領域の仲間にも入れていただき、その活動の中で筆者は雄原細胞の RNA sequencing データベースの構築に成功し、今や雄原細胞の全遺伝子情報が手中にある(図7)。そのデータベースを利用した解析から、最近新たな受精因子の同定にも成功した(未発表)。ただ、研究を進めていくにつれ、筆者の方針は生物種の枠にとらわれな

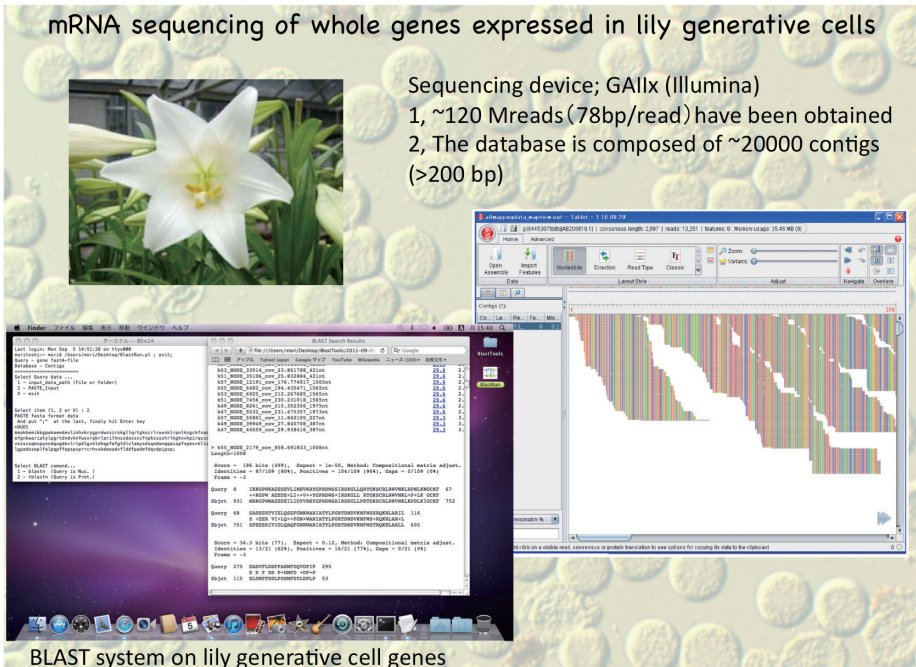


図7 テッポウユリ雄原細胞 RNA seq データベース

い、より幅広い世界へと向けられつつある。受精を至極単純に考えると、「膜を介した細胞と細胞の融合」である。生物の膜が脂質二重膜という普遍的な共通構造である限り、生物共通の受精機構が存在する可能性は十分にある。田中先生の言葉とGCS1の発見は、有性生殖という生物の基本現象を動物や植物といった狭い枠で考えることの浅はかさを暗示している。現在、筆者は研究材料をマラリア原虫に変え、現職の順天堂大学医学部にてマラリア原虫の配偶子融合機構解析に関連した研究テーマに着手している。被子植物の受精研究で培ったノウハウを活かして、あらゆる真核生物の受精機構における共通原理を追求しつつ、マラリア撲滅にも資する成果を目指している。有性生殖に限らず、生物学者は自身の研究テーマをより高い視点から一斉に見直すべき時期なのかも知れない。

7. 引用文献

- 1) Tanaka I: Isolation of generative cells and their protoplasts from pollen of *Lilium longiflorum*. *Protoplasma* 142: 68-73 (1988)

- 2) Tanaka I, Kitazume C, Ito M: The isolation and culture of lily pollen protoplasts. *Plant Sci.* 50: 205-211 (1987)
- 3) Osteryoung KW, Vierling E: Conserved cell and organelle division. *Nature* 376: 473-474 (1995)
- 4) Strepp R, Scholz S, Kruse S, Speth V, Reski R: Plant nuclear gene knockout reveals a role in plastid division for the homolog of the bacterial cell division protein FtsZ, an ancestral tubulin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 4368-4373 (1998)
- 5) Osteryoung KW, Stokes KD, Rutherford SM, Percival AL, Lee WY: Chloroplast division in higher plants requires members of two functionally divergent gene families with homology to bacterial *ftsZ*. *Plant Cell* 10: 1991-2004 (1998)
- 6) Miyamura S, Kuroiwa T, Nagata T: Disappearance of plastid and mitochondrial nucleoids during the formation of generative cells of higher plants revealed by fluorescence microscopy. *Protoplasma* 141: 149-159 (1987)
- 7) Mori T, Tanaka I: Isolation of the *ftsZ* gene from the plastid deficient generative cells in *Lilium longiflorum*. *Protoplasma* 214: 57-64 (2000)
- 8) Löwe J, Amos LA: Crystal structure of the bacterial cell-division protein FtsZ. *Nature* 391: 203-206 (1998)
- 9) Yu XC, Margolin W, Gonzalez-Garay ML, Cabral F: Vinblastine induces an interaction between FtsZ and tubulin in mammalian cells. *J. Cell Sci.* 112: 2301-2311 (1999)
- 10) Tanaka I: Microtubule-determined plastid distribution during microsporogenesis in *Lilium longiflorum*. *J. Cell Sci.* 99: 21-31 (1991)
- 11) Mori T, Takahara T, Miyagishima S, Kuroiwa H, Kuroiwa T: Visualization of FtsZ rings in plastids of the microspore in *Lilium longiflorum*. *Cytologia* 66: 113-115 (2001)
- 12) Mori T, Kuroiwa H, Takahara M, Miyagishima S, Kuroiwa T: Visualization of an FtsZ ring in chloroplasts of *Lilium longiflorum* leaves. *Plant Cell Physiol.* 42: 555-559 (2001)
- 13) Kuroiwa H, Mori T, Takahara M, Miyagishima S, Kuroiwa T: Multiple FtsZ rings in a pleomorphic chloroplast in embryonic cap cells of *Pelargonium zonale*. *Cytologia* 66: 227-233 (2001)
- 14) Miyagishima S, Takahara M, Mori T, Kuroiwa H, Higashiyama T, Kuroiwa T:

- Plastid division is driven by a complex mechanism that involves differential transition of the bacterial and eukaryotic division rings. *Plant Cell* 13: 2257-2268 (2001)
- 15) Miyazawa Y, Mori T, Kobayashi T, Momoyama Y, Kuroiwa H, Kuroiwa T: Visualization of multiple FtsZ rings in activity dividing proplastids of cultured Bright Yellow-2 tobacco cells. *Cytologia* 66: 415-419 (2001)
 - 16) Takahara M, Kuroiwa H, Miyagishima S, Mori T, Kuroiwa T: Localization of the mitochondrial FtsZ protein in a dividing mitochondrion. *Cytologia* 66: 421-425 (2001)
 - 17) Kuroiwa H, Mori T, Takahara M, Miyagishima S, Kuroiwa T: Chloroplast division machinery as revealed by immunofluorescence and electron microscopy. *Planta* 215: 185-190 (2002)
 - 18) Miyagishima S, Nishida K, Mori T, Kuroiwa H, Higashiyama T, Kuroiwa T: A plant-specific dynamin-related protein forms a ring at the chloroplast division site. *Plant Cell* 15: 655-665 (2003)
 - 19) Momoyama Y, Miyazawa Y, Miyagishima S, Mori T, Misumi O, Kuroiwa H, Kuroiwa T: The division of pleomorphic plastids with multiple FtsZ rings in tobacco BY-2 cells. *Eur. J. Cell Biol.* 82: 323-332 (2003)
 - 20) Yagisawa F, Mori T, Higashiyama T, Kuroiwa H, Kuroiwa T: Regulation of *Brassica rapa* chloroplast proliferation in vivo and in cultured leaf disks. *Protoplasma* 222: 139-148 (2003)
 - 21) Rotman N, Durbarry A, Wardle A, Yang WC, Chaboud A, Faure JE, Berger F, Twell D: A novel class of MYB factors controls sperm-cell formation in plants. *Curr. Biol.* 15: 244-248 (2005)
 - 22) Mori T, Kuroiwa H, Higashiyama T, Kuroiwa T: GENERATIVE CELL SPECIFIC 1 is essential for angiosperm fertilization. *Nat. Cell Biol.* 8: 64-71 (2006)
 - 23) Liu Y, Tewari R, Ning J, Blagborough AM, Garbom S, Pei J, Grishin NV, Steele RE, Sinden RE, Snell WJ, Billker O: The conserved plant sterility gene HAP2 functions after attachment of fusogenic membranes in *Chlamydomonas* and *Plasmodium* gametes. *Genes Dev.* 22: 1051-1068 (2008)
 - 24) Hirai M, Arai M, Mori T, Miyagishima S, Kawai S, Kita K, Kuroiwa T, Terenius O, Matsuoka H: Male fertility of malaria parasites is determined by GCS1, a plant-

- type reproduction factor. *Curr. Biol.* 18: 607-613 (2008)
- 25) Steele RE, Dana CE: Evolutionary history of the HAP2/GCS1 gene and sexual reproduction in metazoans. *PLoS ONE* 4: e7680 (2009)
 - 26) Mori T, Hirai M, Kuroiwa T, Miyagishima S: The functional domain of GCS1-based gamete fusion resides in the amino terminus in plant and parasite species. *PLoS ONE* 5: e15957 (2010)
 - 27) Ebchunqin E, Yokota N, Yamada L, Yasuoka Y, Akasaka M, Arakawa M, Deguchi R, Mori T, Sawada H: Evidence for participation of GCS1 in fertilization of the starlet sea anemone *Nematostella vectensis*: Implication of a common mechanism of sperm-egg fusion in plants and animals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 451: 522-528 (2014)
 - 28) Kawai-Toyooka H, Mori T, Hamaji T, Suzuki M, Olson BJ, Uemura T, Ueda T, Nakano A, Toyoda A, Fujiyama A, Nozaki H: Sex-specific post-translational regulation of the gamete fusogen GCS1 in the isogamous volvocine alga *Gonium pectorale*. *Eukaryot. Cell* 13: 648-656 (2014)
 - 29) Mori T, Kawai-Toyooka H, Igawa T, Nozaki H: Gamete dialogs in green lineages. *Mol. Plant* 8: 1442-1454 (2015)
 - 30) Okamoto M, Yamada L, Fujisaki Y, Bloomfield G, Yoshida K, Kuwayama H, Sawada H, Mori T, Urushihara H: Two HAP2-GCS1 homologs responsible for gamete interactions in the cellular slime mold with multiple mating types: Implication for common mechanisms of sexual reproduction shared by plants and protozoa and for male-female differentiation. *Dev. Biol.* 415: 6-13 (2016)
 - 31) Mori T, Igawa T, Tamiya G, Miyagishima S, Berger F: Gamete attachment requires GEX2 for successful fertilization in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 24: 170-175 (2014)
 - 32) Mori T, Igawa T: Gamete attachment process revealed in flowering plant fertilization. *Plant Signal Behav.* 9: e977715 (2014)