

戦略的創造研究推進事業  
ERATO  
追跡評価用資料

「東山ライブホロニクス」プロジェクト  
(2010.10～2017.3)

研究総括：東山 哲也

2023年3月



## 目次

要旨	1
まとめ図	2
第 1 章 プロジェクトの概要	3
1.1 研究期間	3
1.2 プロジェクト発足に至る科学技術や社会の背景	3
1.2.1 科学技術の背景	3
1.2.2 社会の背景	3
1.3 プロジェクトのねらい	4
1.4 研究体制	4
1.5 プロジェクト終了時点での研究成果やその意義	4
1.5.1 ナノ工学グループ	5
1.5.2 光技術グループ	5
1.5.3 シングルセルオミクスグループ	9
第 2 章 プロジェクト終了から現在に至る状況	11
2.1 プロジェクトの終了後の状況に関する基礎データ	11
2.1.1 調査方法	11
2.1.2 競争的研究資金の獲得状況	12
2.1.3 論文の発表状況	15
2.1.4 特許の出願・公開・登録状況	19
2.1.5 受賞状況	20
2.1.6 ベンチャー企業の設立状況	20
2.2 プロジェクトの進捗状況	21
2.2.1 生殖細胞・受精に関する研究	21
2.2.2 初期胚発生過程に関する研究	24
2.2.3 異科接木に関する研究	25
2.2.4 基盤技術開発	25
2.3 プロジェクト参加研究者の活動状況	26
2.4 第 2 章まとめ	26
第 3 章 プロジェクト成果の波及と展望	27
3.1 科学技術への波及と展望	27
3.1.1 植物生殖研究における新しい概念の提唱	27
3.1.2 新たな研究の潮流の形成	27
3.1.3 科学技術への波及のまとめと展望	28
3.2 社会経済への波及と展望	28

3.2.1 農業分野への展開.....	28
3.2.2 基盤技術の波及効果.....	29
3.2.3 社会への貢献.....	31
3.2.4 社会経済への波及のまとめと展望.....	31
【引用文献】 .....	32

## 要旨

本資料は、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)における戦略的創造研究推進事業 ERATO「東山ライブホロニクス」プロジェクト(2010年10月～2017年3月)において、研究終了後一定期間を経過した後、副次的効果を含めて研究成果の発展状況や活用状況を明らかにし、事業およびその事業運営の改善等に資するために、追跡調査を実施した結果をまとめたものである。

多細胞生物では、ホロニックコミュニケーションと呼ばれる細胞間シグナリングにより、個々の細胞と細胞集団との調和が図られているが、本プロジェクトでは、光技術グループ、ナノ工学グループ、シングルセルオミクスグループという三つのグループを立ち上げ、植物の生殖過程における細胞間シグナリングを直接的な操作および解析により解明を目指した。

第1章では本プロジェクトの概要と期間中の成果を記載した。主な研究成果は、重複受精ライブイメージングの成功、シロイヌナズナ独自の花粉管誘引ペプチド AtLURE およびその受容体 PRK6 の同定、および胚乳細胞と残存助細胞との細胞融合による花粉管誘引停止機構の解明などである。また、新規な植物透明化試薬やゲノム編集ベクター、および効率的な接木技術の開発にも成功した。

第2章では本プロジェクト終了後から追跡調査時点までの研究成果について記載した。東山研究総括(以後、東山)は科研費新学術領域研究(研究領域提案型)などの大型研究助成金を獲得し、卵細胞形成過程のライブイメージング、LURE と受容体 PRK6 との共結晶構造解析、受精卵が非対象に分裂する仕組みの解明、および異科接木成立の機構解明などに成功した。

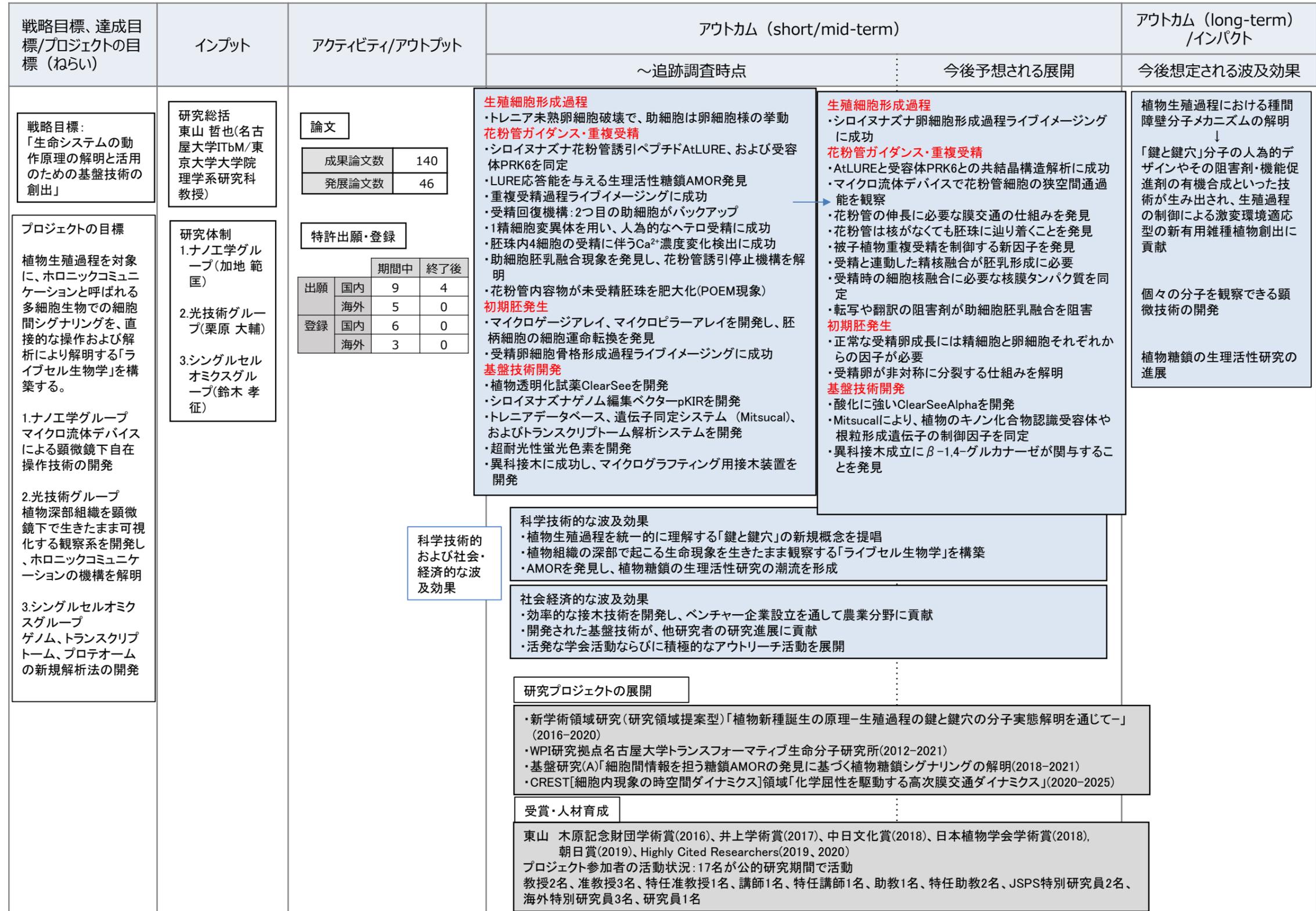
プロジェクト期間中に特許出願された接木関連や植物透明化試薬、およびゲノム編集ベクターの6件が国内で登録された。また、接木をコア技術とするベンチャー企業を立ち上げた。

東山は植物受精に関する研究により、朝日賞を始めとする著名な学術賞を受賞した。本プロジェクトに係わった研究員のうち、17名が公的研究機関で研究を継続している。

第3章では本プロジェクト成果が科学技術および社会経済に及ぼす影響について記述した。東山は従来の「リガンド・レセプター」だけではなく、「複数の転写因子からなる転写複合体と標的遺伝子」および「低分子 RNA 群と標的ゲノム」にまで拡張した「鍵と鍵穴」という新たな概念を提唱し、植物生殖過程の種間障壁をこの新概念で理解する研究領域を生み出した。また、マイクロ流体デバイスを用いた観察環境整備、2光子レーザー顕微鏡や植物深部蛍光イメージング技術、および顕微操作による細胞破壊技術などを開発し、植物組織の深部で起こる生命現象を生きたまま観察する「ライブセル生物学」を構築した。

異科接木技術や種間障壁に関する研究は、有用植物の作出を通して農業分野に貢献することが期待される。また、開発された植物透明化試薬やゲノム編集ベクター、トランスクリプトーム解析システムなどの基盤技術は多くの研究者に活用されている。一方で、植物生殖研究の意義を若い世代に伝える積極的なアウトリーチ活動も展開された。

まとめ図



## 第 1 章 プロジェクトの概要

本調査の対象である ERATO「東山ライブホロニクス」プロジェクト(以後、本プロジェクトと記載)の概要を下記に示す。

### 1.1 研究期間

研究期間は 2010 年 10 月～2017 年 3 月。但し、最後の 1 年(2016 年 4 月～2017 年 3 月)は特別重点期間として継続された。

### 1.2 プロジェクト発足に至る科学技術や社会の背景

#### 1.2.1 科学技術の背景

多細胞生物では、個々の細胞が近距離あるいは遠距離にある他の細胞とコミュニケーションをとりながら自らの位置や機能に関する情報を把握し、生物個体としてのバランスをとっている。このように細胞が自身の役割を知り、集団に対して自立的な秩序をもたらすような個と全体を調和する細胞間コミュニケーションをホロニックコミュニケーションと呼ぶ。特に、中枢制御系を持たない植物では、多くの高次生命現象が細胞間コミュニケーションにより精密かつ柔軟に制御されており、たとえば被子植物の胚発生においては、それぞれの細胞が位置に応じてそれぞれの機能を果たすことにより、1 つの完全な形・機能を持つ胚が作られる。しかしながら、多細胞生物において細胞が正確に自身の位置や役割を知るメカニズムは明確ではなく、ホロニックコミュニケーションを解析する技術の確立が必要不可欠であった。

独自に開発した顕微解析技術を用いて、花粉管細胞を胚珠へと誘導するシグナリング分子 LURE を発見した<sup>1</sup>東山研究総括(以後、東山)は、顕微鏡下で細胞や情報分子を直接的に操作・解析する技術の確立を目指して、本プロジェクトを立ち上げた。

#### 1.2.2 社会の背景

文部科学省は 2006 年度の戦略目標に「生命システムの動作原理の解明と活用のための基盤技術の創出」を設定した。本戦略目標のもと、本プロジェクトは生きた細胞をシングルセルレベルで自在に解析する基盤技術の創出を目指したもので、農業における育種分野に貢献することが期待された。

---

<sup>1</sup> Higashiyama T, et al., *Science*, 293, 1480-1483, 2001、Okuda S, et al., *Nature*, 458, 357-361, 2009

### 1.3 プロジェクトのねらい

本プロジェクトでは、「顕微鏡下で自由自在に」をテーマに、多細胞生物における細胞間シグナリングを、直接的な操作および解析により解明することにより「ライブセル生物学」という新たな分野の確立を目指した。

具体的には、植物の生殖細胞形成、花粉管誘引を含む受精、胚発生といった生殖過程をモデルとし、細胞間のシグナリングを直接的なライブセルイメージングと顕微細胞操作による解明、細胞や分子の動きをマイクロ流体デバイスの技術などにより精密に制御しながら、なぜ細胞は誘引物質により方向がわかるのかといった、細胞間シグナリングの本質を解明、さらには個々の細胞のオミクス解析や顕微細胞操作によるバイオアッセイから、個々の細胞の応答の仕組みや未知のシグナリング分子を見だし、情報分子の直接的な可視化、多細胞生物における細胞間コミュニケーションをリアルタイムで操作・解析する新しい生物学の展開を目指した。

### 1.4 研究体制

本プロジェクトでは次の3研究グループを設置し、相互に連携しながら研究を進めた。

- (1) ナノ工学グループ(植物研究に適したマイクロデバイスの設計・製作)
- (2) 光技術グループ(細胞を生きのまま顕微操作し、可視化・観察する系の開発)
- (3) シングルセルオミクスグループ(オミクス解析方法の確立と鍵分子の同定)

表 1-1 研究グループと人員および実施場所(2016年11月時点)

グループ名	ナノ工学グループ	光技術グループ	シングルセルオミクスグループ	ヘッドクォーター
実施場所	名古屋大学 理学部 B 館 1 階、理学南館 4 階、ガラス温室 (2016年3月より名古屋大学 ITbM1, 4, 5, 6 階、ガラス温室)			
リーダー	加地 範匡 (新田 英之)	栗原 大輔	鈴木 孝征	研究総括補佐 研究推進主任 研究推進員
研究員	5名	5名	3名	
技術員	0名	10名	2名	
研究補助員	0名	2名	1名	
計	7名	18名	7名	3名
総計	35名			

(\*) 研究総括補佐：服部洋子

研究推進主任：服部洋子、辻芳樹、研究推進員：深津美紀子

### 1.5 プロジェクト終了時点での研究成果やその意義<sup>2</sup>

主要な研究成果について概略は以下の通りである。

<sup>2</sup> ERATO「東山ライブホロニクス」プロジェクト研究終了報告書

### 1.5.1 ナノ工学グループ

MEMS 技術による微細加工デバイスやマイクロ流体デバイスを利用して、植物に関する個体、組織、細胞、分子、各レベルでの顕微鏡下自在操作技術により、物理的、化学的な定量解析系を開発した。

#### (1) マイクロデバイスを用いた花粉管ガイダンスの定量解析

T字型マイクロチャネルを装備したデバイスを作製し、花柱を通過した花粉管の75%が胚珠に誘引されることを明らかにし、花粉管の誘引応答を定量的に評価した<sup>[1]</sup>。

#### (2) 胚珠の長時間ライブイメージング用マイクロアレイ開発

シロイヌナズナの胚珠組織を同じ角度で保持できるマイクロゲージアレイ<sup>[2]</sup>(図 1-1)およびマイクロピラーアレイ<sup>[3]</sup>を開発し、長時間にわたる多点タイムラプスイメージングに成功し、受精卵からの初期胚発生過程を連続的に観察した。

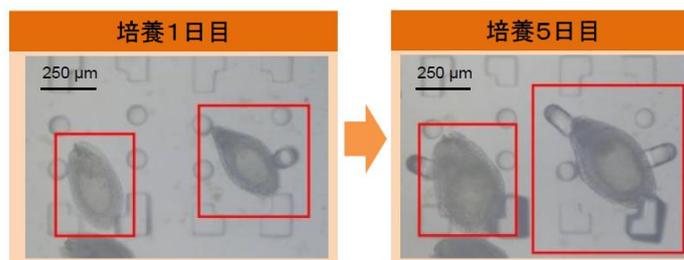


図 1-1 マイクロケージ内で培養され、成長する種子の様子<sup>3</sup>

#### (3) センチュウのマイクロ流路内 in-gel アッセイ系の開発

植物寄生性センチュウは農業において深刻な問題であり、農薬を使わない環境に無害な防除法の確立には、化学走性などのセンチュウの行動解析が必要不可欠であるが、化学物質の拡散リザーバ、狭流路アレイ、およびセンチュウの分析領域で構成されるマイクロ流路デバイスを考案作製し、 $\text{KNO}_3$  に対する化学走性分析に成功した<sup>[4]</sup>。

### 1.5.2 光技術グループ

植物の生殖過程および胚発生過程を、顕微鏡下において生きたまま可視化・観察する技術の開発、そして光操作によって時空間特異的に遺伝子発現・細胞活性を制御する高精度な顕微鏡技術を確立・駆使することによって、長時間にわたる卵装置形成、花粉管ガイダンス、重複受精、胚発生過程における、ホロニックコミュニケーションのメカニズム解明を行った。

<sup>3</sup> ERATO「東山ライブホロニクス」プロジェクト研究終了報告書

## (1) 植物胚発生に関わる細胞間コミュニケーション

被子植物において受精卵の不等分裂により生じる2つの細胞である、頂端細胞(後に胚体を形成)と基部細胞(後に胚柄を形成)は形態的特徴やその後の発生運命が大きく異なるが、それらの細胞運命決定機構には不明な点が多い。そこで、トレハロースを添加した新規シロイヌナズナ胚珠培養培地とマイクロピラーアレイを用い、頂端細胞を近赤外線パルスレーザーで破壊し、残った基部細胞をタイムラプス観察した。その結果、基部細胞は胚柄細胞特有の分裂後、上側の胚柄細胞が胚体細胞特有の細胞分裂様式を示すこと、頂端細胞が損傷を受けることにより胚柄細胞の細胞運命転換が誘導されることを明らかにした<sup>[3]</sup>。

また、開発した初期胚発生観察系を用いて、受精卵の不等分裂における細胞内構造のダイナミクス、特に細胞骨格系(微小管およびアクチン線維)の役割を明確にした<sup>[5]</sup>。さらに、精細胞由来の因子である SSP が、受精卵や胚の形を作るために働く WRKY2 タンパク質を活性化して、正常な不等分裂が進行することを発見した<sup>[6]</sup>。

## (2) 生殖細胞・受精に関わる細胞間コミュニケーション

雌性配偶体形成過程における細胞間コミュニケーションを検討し、トレニアの未熟卵細胞を破壊すると助細胞が卵細胞様挙動を示すことを見いだした<sup>[7]</sup>。

シロイヌナズナの *semi-in vitro* 重複受精系を開発し、精細胞核を明視化する蛍光タンパク質マーカーラインの整備、および高速多色共焦点レーザー顕微鏡システムの構築により、重複受精のライブイメージングに成功した。精細胞は花粉管から放出される勢いで受精の起こる位置まで到達し、約7分以降から重複受精する様子を初めて捉え、雌雄4細胞の配偶子間による相互作用で受精の組み合わせが決る可能性を示唆した<sup>[8]</sup>。

さらに、カルシウム濃度を検出できる蛍光タンパク質 YC3.60 を用いて、重複受精過程における卵細胞、中央細胞、2つの助細胞のカルシウム動態を明らかにした。花粉管が到達すると2つの助細胞でカルシウム振動が始まり、徐々に一方の助細胞でカルシウム濃度が高まると花粉管先端が破裂し、2つの精細胞を含む内容物が放出され、その瞬間に4種全ての細胞で強いカルシウムスパイクが生じた。カルシウム濃度が高まった助細胞も同時に破裂し、精細胞が受精する場を与えることを明らかにした<sup>[9]</sup>。

また、半数の花粉管が受精できない精細胞を持つシロイヌナズナ変異体を解析し、1本目の花粉管が受精に失敗した場合に残った助細胞の不活化が起きず、その結果、2本目の花粉管が胚珠に誘引され正常な受精が成立することを発見し、これを受精回復システム (Fertilization Recovery System) と名付けた<sup>[10]</sup>。さらに、受精能力のない精細胞を持つ *gcs1* 変異体で、受精に失敗しても破裂した花粉管内容物によって胚珠が肥大し、種皮形成プログラムが開始されることを発見し、これを花粉管依存的胚珠肥大 (POEM) 現象と命名した<sup>[11]</sup>。

### (3) 花粉管誘引の停止機構

精細胞が1つしかつくりられないために重複受精ができないシロイヌナズナ *cdka;1* 変異体では花粉管の誘引を完全に停止することができず、30%の胚のうで複数の花粉管を誘引することがわかった。この結果から、卵細胞あるいは中央細胞の受精とともに花粉管の誘引停止に関係しており、花粉管誘引の完全な停止には重複受精が必要なことが示された。同時に、ある個体の花粉で卵細胞を受精させたのち、別の個体の花粉で中央細胞を受精させるヘテロ受精を人為的に引き起こすことに成功した<sup>[12]</sup>。

受精後に助細胞からミトコンドリアが胚乳へ漏出すること、および助細胞と胚乳との間の細胞壁と細胞膜が消失することを初めて観察し(図 1-2)、中央細胞の受精により、胚乳細胞が残りの助細胞を細胞融合(助細胞胚乳融合と命名)により機能喪失させるという新規な現象を発見した。同時に、細胞融合により活発に多核状態で分裂が進む胚乳細胞が、融合相手の助細胞の花粉管誘引機能を急速に停止することや、機能停止には、胚乳細胞で働くポリコームの下流因子や、卵細胞からのエチレンシグナルも重要であることを示した。本成果は、細胞壁をもつ植物において、受精以外の正常な発生過程でおこる細胞融合現象を初めて発見したものである<sup>[13]</sup>。

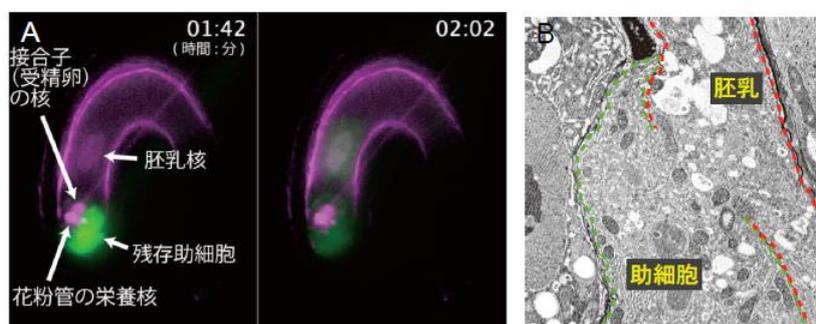


図 1-2 細胞と融合する助細胞<sup>4</sup>

- A. 助細胞のミトコンドリアを緑色蛍光色素 GFP で標識した受精後の胚珠。助細胞の細胞質が、細胞融合後に胚乳へと拡散し希釈される(02:02)。  
B. 受精後の胚珠切片の透過型電子顕微鏡像。胚乳と助細胞の接触領域において、細胞壁が途切れており、オルガネラの移動も見られる。

### (4) 花粉管ガイダンスの分子機構解明

シロイヌナズナおよび近縁種のセイヨウミヤマハタザオ両種のゲノム情報や、*semi-in vitro* シロイヌナズナ花粉管誘引系を活用して、シロイヌナズナ特異的なディフェンシン様タンパク質である AtLURE1 を同定した。トレニアの助細胞で AtLURE1 を発現させたところ、本来は全く誘引されないトレニアの胚のうにシロイヌナズナの花粉管が誘引されたことから、LURE ペプチドが受精における同種認識において重要な分子であることが示唆された<sup>[14]</sup>。

<sup>4</sup> ERATO「東山ライブホロニクス」プロジェクト研究終了報告書

また、シロイヌナズナを用いて、LURE ペプチドを感知する花粉管側の鍵因子を探索した。受容体候補として想定された様々な受容体様キナーゼの変異体に対して LURE ペプチド (AtLURE1.2) を与える顕微アッセイスクリーニングにより、PRK6 の変異体では花粉管が全く誘引されないことを見出した。異種であるルベラナズナにこの PRK6 を導入したところ、培地上で AtLURE1.2 に全く誘引されない花粉管が高頻度で誘引されたことから、PRK6 は花粉管先端で LURE の種特異的な認識に働いている受容体であることを示した。また、AtLURE1.2 を Alexa 蛍光ラベルし、PRK6 を mRuby2 蛍光タンパク質ラベルしてライブイメージングを行った。その結果、LURE を与えた側に PRK6 の分布がずれ、引き続いて花粉管の伸長方向が変化した(図 1-3)。PRK6 はその細胞内の領域で、先端成長に重要な低分子量 GTPase である ROP1 を活性化する ROPGEF と相互作用した。従って、PRK6 の分布のずれが、花粉管先端での ROP1 の活性化領域を変化させ、花粉管の伸長方向が変化するものと考えられた<sup>[15]</sup>。

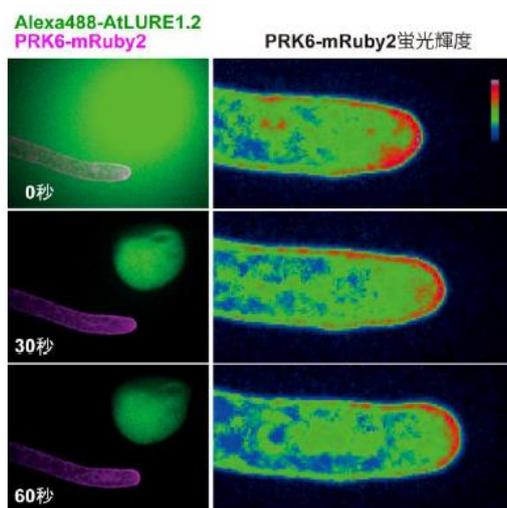


図 1-3 AtLURE による花粉管先端での PRK6 の局在変化<sup>5</sup>  
Alexa488 で標識した AtLURE1.2 (緑) を花粉管の斜め前方におくと (0 秒)、花粉管先端に局在する PRK6-mRuby2 (マゼンタ) が片寄った後に (30 秒)、花粉管が曲がり始める (60 秒)。

さらに、顕微アッセイを駆使し、トレニアにおいて花粉管に LURE 応答能を与える雌しべ由来の生理活性分子の同定に成功し、AMOR と命名した。AMOR はアラビノガラクトンと呼ばれる糖鎖であり、糖鎖末端の「メチルグルクロノシルガラクトース (4-Me-GlcA-β(1,6)-Gal)」を化学合成することで、この 2 糖構造が AMOR 活性に必要かつ十分であることを確認し<sup>[16]</sup>、構造活性相関を明確にした<sup>[17]</sup>。当該 2 糖化合物は、東京化成工業株式会社から「植物の受精効率を高める糖鎖 AMOR」として試薬販売された<sup>6</sup>。

<sup>5</sup> ERATO 「東山ライブホロニクス」プロジェクト研究終了報告書

<sup>6</sup> 東京化成工業株式会社カタログ

<https://www.tcichemicals.com/JP/ja/product/glyco-chem/topics/amor>

## (5) 基盤技術の開発

植物のバイオイメージング基盤技術として、クロロフィルを取り除く化合物の組み合わせを探索し、尿素・デオキシコール酸 Na・キシリトールからなる新規植物透明化試薬 ClearSee を開発し、シロイヌナズナ花粉管が花柱を進む様子を鮮明に可視化することに成功した<sup>[18]</sup>。ClearSee は特許出願され(特許第 6601842 号)、富士フィルム和光純薬株式会社から試薬販売された<sup>7</sup>。また、名古屋大学トランスフォーマティブ生命研究所(ITbM)の山口茂弘と共同で、超解像蛍光イメージングの最適な超耐光性蛍光色素「C-Naphox」を開発した<sup>[19], [20]</sup>。

シロイヌナズナのゲノム編集効率を高める手法を検討し、卵細胞で強い活性が維持される RPS5A プロモーターを Cas9 発現プロモーターとする新規ベクター pKAMA-ITACHI (pKIR) を開発した<sup>[21]</sup>。当該ベクターは Addgene から一般に供給されている<sup>8</sup>。

また、遺伝子組換えに頼らない簡便な遺伝子操作法として、遺伝子の働きを阻害するホスホロチオエート化アンチセンスオリゴ DNA を含む培地に花粉を培養するだけで、花粉管の遺伝子を制御する方法を開発した<sup>[22]</sup>。

### 1.5.3 シングルセルオミクスグループ

胚発生や生殖におけるホロニックコミュニケーションの実像を明らかにするために、ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオームの新しい解析方法の開発とその実践を行った。

#### (1) 次世代シーケンサーを用いた技術開発

次世代シーケンサーで得られたデータを迅速に処理するために、膨大な計算を小さな単位に分割し、多数のコンピュータで並列に実行できるクラスターコンピュータを独自に作製した。

トレンシアの全ゲノム DNA を解読し、約 4 万の遺伝子リストと遺伝子発現データを含むトレンシアデータベースを構築し、公開した<sup>9</sup>。

様々な変異株の原因遺伝子を効率よく同定するコンピュータシステム Mitsucal を開発した<sup>10</sup>。これにより、従来の分子遺伝学的なアプローチに次世代シーケンサーとバイオインフォマティクスを持ち込み、新しい遺伝子解析法を確立することに成功した。

さらに、トランスクリプトームについては従来のモデル生物ではない生物でも応用が可能なワークフローをつくった。様々な植物から抽出した RNA を次世代シーケンサーでシーケンスし、遺伝子クローニングおよび遺伝子発現解析をスムーズに行うことができるシステムで、アイスプラントでのデータ構築の詳細を発表した<sup>[23]</sup>。

<sup>7</sup> 富士フィルム和光純薬株式会社カタログ  
<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/00808.html>

<sup>8</sup> Addgene カタログ <https://www.addgene.org/crispr/plant/>

<sup>9</sup> トレンシアデータベース <https://dandelion.liveholonics.com/torenia/>

<sup>10</sup> Mitsucal <http://dandelion.liveholonics.com/mitsucal/>

## (2) 異科接木技術の開発

これまで同じ科に属する植物の間だけで行うことができると考えられていた接木を、異科間で可能にする技術を開発し特許出願した(特許第 6222720 号)。また、シロイヌナズナとタバコ属との異科接木法により、長距離移動する mRNA を網羅的に解析し、138 分子の全身移行性 mRNA を同定した<sup>[24]</sup>。

発芽直後の幼植物の接木法に着目し、MEMS 技術をコアとする「マイクログラフィティング用接木装置(接木チップ)」を開発し、特許出願した(特許第 6270187 号)。

## 第 2 章 プロジェクト終了から現在に至る状況

### 2.1 プロジェクトの終了後の状況に関する基礎データ

#### 2.1.1 調査方法

調査は、文献調査(プロジェクト終了報告書、解説、原著論文など)、インターネットによる調査、各種データベースによる業績(論文・特許・受賞他)の調査からなる基礎データ調査と、プロジェクト関係者や外部有識者へのインタビュー調査を行った。

##### (1) 基礎データ調査の方法

研究総括およびグループリーダー(プロジェクトメンバー)を基本的に対象とした。利用したデータベースと調査範囲等を下記に記す。

##### ①競争的研究資金の獲得状況

データベースとしては、調査対象者の所属する研究室や本人の WEB サイト及び KAKEN 科学研究費助成事業データベース等の競争的研究資金に関する検索サイトと、補助的に Google 等の検索サイトを利用し、競争的研究資金の総額が1千万円以上のものを抽出した。

##### ②論文

本プロジェクト期間中の論文は、2010 年～2017 年に発表された論文及びプロジェクトの終了報告書に成果論文としてリストアップされている論文と論文の著者アドレス及び助成金の情報に当該 ERATO の記載のあるものとした。終了報告書の成果論文リストの中で *in press*、*to be submitted*等と表記があり、その後発表されたものについても基本的には期間中の論文とした。以下、これらの論文を「成果論文」と定義する。

本プロジェクト終了後の論文は、2018 年 1 月以降に発表され、かつ本プロジェクトメンバーが著者になっている論文を収集した(ただし、本プロジェクト期間中の論文に含むものは除く)。収集した論文の中で、「成果論文」を引用しているものを基本ピックアップした。以下、これらの論文を「発展論文」と定義する。

データベースは、主としてエルゼビア社の Scopus を利用し、補完的にクラリベイトアナリティクス社の Web of Science を利用した。

各論文についての評価の一つである FWCI(Field-Weighted Citation Impact)<sup>11</sup>、及び Journal の指標となる CiteScore<sup>12</sup>についても収集した。

<sup>11</sup> FWCI(Field-Weighted Citation Impact) : 1 文献あたりの被引用数を世界平均(年別・分野別・文献タイプ別に算出)で割った数値。

<sup>12</sup> ジャーナル評価指標(Web of Science の Impact Factor と同様の指標)。論文の出版年の CiteScore を取得した。

### ③特許の出願・登録状況

本プロジェクト期間中の特許は、プロジェクト終了報告書の成果リスト記載の特許とした。本プロジェクト終了後の特許は2017年4月以降に出願されかつ、プロジェクトメンバーが発明者の特許とし、データベースは、主に PatentSQUARE を利用し、補助的に特許情報プラットフォームと espacenet を利用し、国内外の登録状況などを確認した。

### ④受賞

プロジェクトメンバーの本プロジェクト終了後の受賞を調査対象者の所属する研究室や本人の WEB サイトの調査、Google 等の検索サイトで収集後、研究総括及びグループリーダーに確認した。

### ⑤ベンチャー

インターネット検索やベンチャー情報の記載のある DB を用いて検索し、研究総括及びグループリーダーに確認した。

### ⑥参加研究者の動静

終了報告書を元にプロジェクト参加研究者<sup>13</sup>を特定し、プロジェクト参加時の職位及び、終了時の職位、現在の職位を検索し、研究総括及びグループリーダーに確認した。

## (2)インタビュー調査の方法

インタビュー調査は研究総括及び、本プロジェクトの主なメンバー数名と、プロジェクトの成果及びその後の研究等について良く把握している外部有識者に実施した。

### 2.1.2 競争的研究資金の獲得状況

本プロジェクト期間中から現在までのプロジェクトメンバーも含めた競争的資金の獲得状況を表 2-1 に示す。東山は科研費新学術領域研究(研究領域提案型)「植物新種誕生の原理-生殖過程の鍵と鍵穴の分子実態解明を通じて-」(2016年度~2020年度)の領域代表者、科研費基盤研究(A)「細胞間情報を担う糖鎖 AMOR の発見に基づく植物糖鎖シグナリングの解明」(2018年度~2021年度)および CREST[細胞内現象の時空間ダイナミクス]領域の「化学屈性を駆動する高次膜交通ダイナミクス」(2020年度~2025年度)の研究代表者、さらには文部科学省世界トップレベル研究拠点プログラム(WPI 研究拠点:名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所、ITbM)「世界を分子で変える:合成化学と動植物科学の融合」(2012年度~2021年度)の副拠点長を務め、植物生殖科学の研究を継続発展させた。

<sup>13</sup> プロジェクトメンバーに加えて、終了報告書に記載のある技術員、研究補助員等も含めている。

表 2-1 競争的資金の獲得状況

研究期間 (年度)	研究種目	研究課題	研究代表者	獲得状況																金額 (億円)			
				JST	科研費								文部科学省				JSPS						
				2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	0	1	2	3	4	5	0	0	0
2010 ～ 2016	ERATO	東山ライブホロニクス	東山 哲也																				18.96
2012 ～ 2021	世界トップレベル研究拠点プログラム(WPI 研究拠点)	世界を分子で変える:合成化学と動植物科学の融合	伊丹 健一郎 (東山 哲也)																				61.94
2014 ～ 2017	科研費 基盤研究 (B)	N-heterocyclic carbene-modified gold nanoparticles for biosensing	CRUDDEN Cathleen(連携研究者:東山 哲也)																				0.17
2015 ～ 2019	科研費 新学術領域 研究(研究 領域提案 型)	環境刺激による気孔開度制御機構の解析	木下 俊則 (研究分担者:鈴木 孝征)																				1.52
2015 ～ 2019	科研費 新学術領域 研究(研究 領域提案 型)	植物の成長可塑性を支える環境認識と記憶の自律分散型統御システム	木下 俊則 (研究分担者:鈴木 孝征)																				3.29
2016 ～ 2019	さきがけ [統合1細胞解析のための革新的技術基盤]領域	1細胞パルペーションデバイスの創製	加地 範匡																				0.40(最大)
2016 ～ 2020	科研費 新学術領域 研究(研究 領域提案 型)	植物新種誕生の原理—生殖過程の鍵と鍵穴の分子実態解明を通じて—	東山 哲也 [領域代表者]																				3.05
2016 ～ 2020	科研費 新学術領域 研究(研究 領域提案 型)	植物新種誕生の原理—国際的研究中心形成に向けた国際活動支援センター—	東山 哲也																				0.58
2016 ～ 2020	科研費 新学術領域 研究(研究 領域提案 型)	受精における種間障壁のメカニズム解明とその打破	東山 哲也																				1.28

研究 期間 (年度)	研究種目	研究課題	研究代表者	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	金額 (億円)
				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	
2016 ～ 2021	科研費 新学術領域 研究(研究 領域提案 型)『学術 研究支援基 盤形成』	先端バイオイ メージング支 援プラットフ ォーム	狩野 方伸 〔領域支援代 表者〕 東山 哲也 〔研究支援分 担者〕																	24.45
2017	JSPS 国際交流事 業	マイクロ流体 デバイスおよ び深部イメー ジングによる 種認証を担う 花粉管誘引物 質の同定	東山 哲也																	-
2017 ～ 2019	科研費 基盤研究 (B)	植物胚発生に おける細胞間 コミュニケーションによる 細胞運命制御 機構の解明	栗原 大輔																	0.18
2018 ～ 2021	科研費 基盤研究 (A)	細胞間情報を 担う糖鎖 AMOR の発見に基づ く植物糖鎖シ グナリングの 解明	東山 哲也																	0.44
2018 ～ 2021	さきがけ 〔ゲノムス ケールの DNA 設計・合 成による細 胞制御技術 の創出〕領 域	膜融合による 植物への長鎖 DNA 導入技術 の開発	栗原 大輔																	0.40(最 大)
2019	JSPS 国際交流事 業	ポリコーム複 合体機能の制 御を目指した 化学遺伝学ス クリーニング	東山 哲也																	-
2019 ～ 2022	科研費 国際共同研 究加速基金 (国際共同 研究強化 (B))	国際連携によ るハイブリッ ドエクソソ ム創製に向け たコンバージ ェンス研究の 展開	加地 範匡																	0.18

研究期間 (年度)	研究種目	研究課題	研究代表者	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	金額 (億円)
				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	0	1	2	3	4	5	
2020 ～ 2021	科研費 新学術領域 研究(研究 領域提案 型)	細胞核・細胞 質内分子夾雑 系定量評価法 の開発	加地 範匡																		0.10
2020 ～ 2022	創発的研究 の推進 創 発的研究支 援事業 フ ェーズ 1	植物雌性配偶 体をモデルと した細胞運命 制御機構の解 明	栗原 大輔																		0.20
2020 ～ 2024	科研費 学術変革領 域研究(A)	植物の不均一 環境変動への レジリエンス を支える転写 開始点制御機 構	松下 智直 (研究分担 者:鈴木 孝 征)																		1.45
2020 ～ 2024	科研費 学術変革領 域研究(A)	不均一環境変 動に対する植 物のレジリエ ンスを支える 多層的情報統 御の分子機構	松下 智直 (研究分担 者:鈴木 孝 征)																		5.24
2020 ～ 2025	CREST [細胞内現 象の時空間 ダイナミク ス]領域	化学屈性を駆 動する高次膜 交通ダイナミ クス	東山 哲也																		1.5～ 4.98
2021 ～ 2023	科研費 基盤研究 (B)	非標識・非破 壊細胞核変形 能分析法の構 築と細胞核の 非遺伝的機能 の理解	加地 範匡																		0.18

2021年4月2日調査  
2021年10月12日更新

### 2.1.3 論文の発表状況

成果論文および発展論文の全論文の Field-Weighted Outputs in Top Citation Percentiles<sup>14</sup>の論文数を表 2-2 に示す。

成果論文数は 140 報であり、Top10%はそのうち 30 報である。一方、発展論文数 46 報のうち 11 報が Top10%である。

<sup>14</sup> 出版年別の FWCI が世界全体の上位 X%に含まれる文献数/率 0.01%は、0.01%以内に含まれる論文の数を示し、0.1%は、0.01%より大きく、0.1%以内のものを示す。

表 2-2 プロジェクトの論文投稿状況一覧

	論文数	平均 FWC I 値	FWCI Top %				
			10%圏外	10%以内	1%以内	0.1%以内	0.01%以内
成果論文	140	1.49	110	30	0	0	0
発展論文	46	1.83	35	11	0	0	0

検索日：2021年9月7日

更新日：2021年10月26日

指標取得日：2021年11月1日

### (1) 本プロジェクト成果に直接関わる論文

成果論文数とその被引用数の推移を図 2-1 に示す。成果論文は、プロジェクト終了後も安定して引用されており、1 報、1 年あたりの平均被引用件数は 5.19 件/年・報である。

また、成果論文のうち被引用数上位 5 報を表 2-3 に示した。1 位は植物透明化試薬 ClearSee に関する論文<sup>[18]</sup>で、3 位はシロイヌナズナの LURE ペプチド<sup>[14]</sup>に関するものである。2 位、4 位、5 位はそれぞれ、植物の時間情報を司る遺伝子発現ネットワーク、環境ストレスにより生じる DNA 損傷克服機構、および花粉管先端成長に係わる活性酸素生成酵素に関する共同研究である。

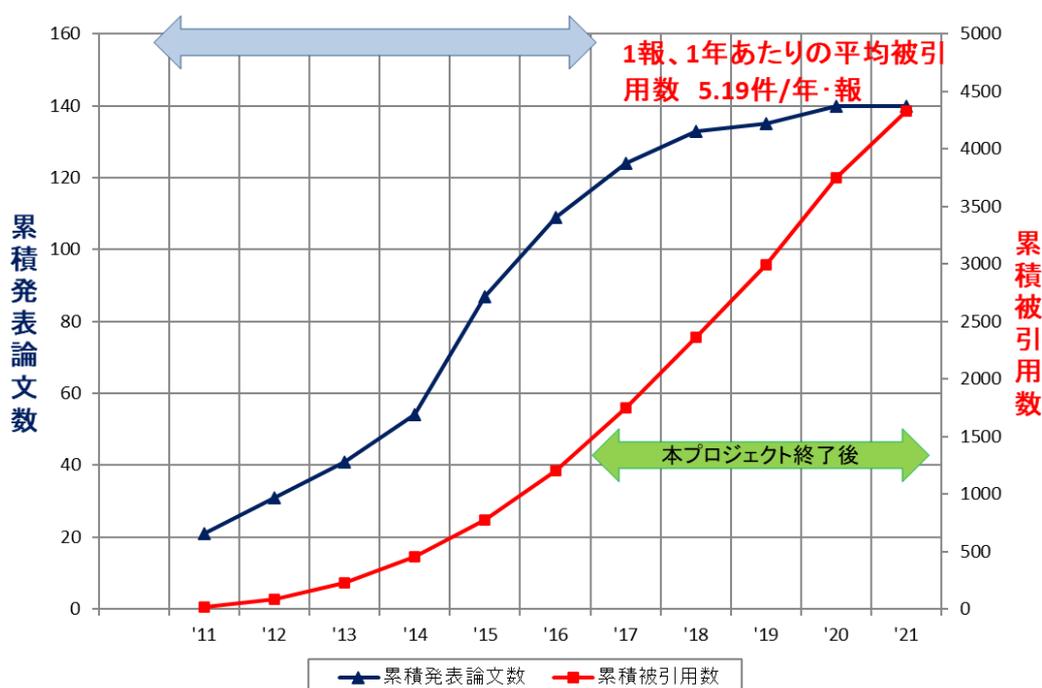


図 2-1 プロジェクトの成果論文の発表論文数と被引用数の推移 (検索日：2021年9月15日)

表 2-3 プロジェクトの成果論文の内、被引用上位 5 報の論文

No	著者名	タイトル	出版年	出版物名	巻	号	論文番号 / 開始ページ-終了ページ	被引用数	DOI	文献タイプ	FWCI	Cite Score <sup>15</sup>
1	Kurihara, D., Mizuta, Y., Sato, Y., Higashiyama, T.	ClearSee: A rapid optical clearing reagent for whole-plant fluorescence imaging	2015	Development (Cambridge)	142	23	4168-4179	189	10.1242/dev.127613	Article	5.35	11.1
2	Nakamichi, N., Kiba, T., Kamioka, M., Suzukie, T., Yamashino, T., Higashiyama, T., Sakakibara, H., Mizuno, T.	Transcriptional repressor PRR5 directly regulates clock-output pathways	2012	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	109	42	17123-17128	175	10.1073/pnas.1205156109	Article	3.01	17.3
3	Takeuchi, H., Higashiyama, T.	A Species-Specific Cluster of Defensin-Like Genes Encodes Diffusible Pollen Tube Attractants in Arabidopsis	2012	PLoS Biology	10	12	e1001449	170	10.1371/journal.pbio.101449	Article	5.05	17.2
4	Adachi, S., Minamisawa, K., Okushima, Y., Inagaki, S., Yoshiyama, K., Kondou, Y., Kaminuma, E., Kawashima, M., Toyoda, T., Matsui, M., Kurihara, D., Matsunaga, S., Umeda, M.	Programmed induction of endoreduplication by DNA double-strand breaks in Arabidopsis	2011	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	108	24	10004-10009	168	10.1073/pnas.1103584108	Article	2.83	16.8
5	Kaya, H., Nakajima, R., Iwano, M., Kanaoka, M.M., Kimura, S., Takeda, S., Kawarazaki, T., Senzaki, E., Hamamura, Y., Higashiyama, T., Takayama, S., Abe, M., Kuchitsu, K.	Ca <sup>2+</sup> -activated reactive oxygen species production by Arabidopsis RbohH and RbohJ is essential for proper pollen tube tip growth	2014	Plant Cell	26	3	1069-1080	154	10.1105/tpc.113.120642	Article	6.20	15.7

検索日：2021年9月15日  
FWCI：2021年11月1日取得

<sup>15</sup> 論文の出版年の CiteScore

(2) 本プロジェクトの成果の発展、または本プロジェクトから波及した研究内容の文献

本プロジェクトの成果の発展および波及に関する発展論文は計 46 報である。発展論文と被引用数の推移を図 2-2 に示す。1 報、1 年あたりの平均被引用件数は 6.59 件/年・報である。

また、発展論文のうち、被引用数 5 位までの論文を表 2-4 に示した。1 位、3 位は超耐光性蛍光色素に関する論文<sup>[19], [20]</sup>で、2 位は新規な超耐光性蛍光色素に関するものである(2.2.4 参照)。4 位は湾曲ナノグラフェンの生物活性に関する共同研究で、5 位は雄性配偶子再プログラミング機能に関する共同研究である(2.2.1(1)参照)。

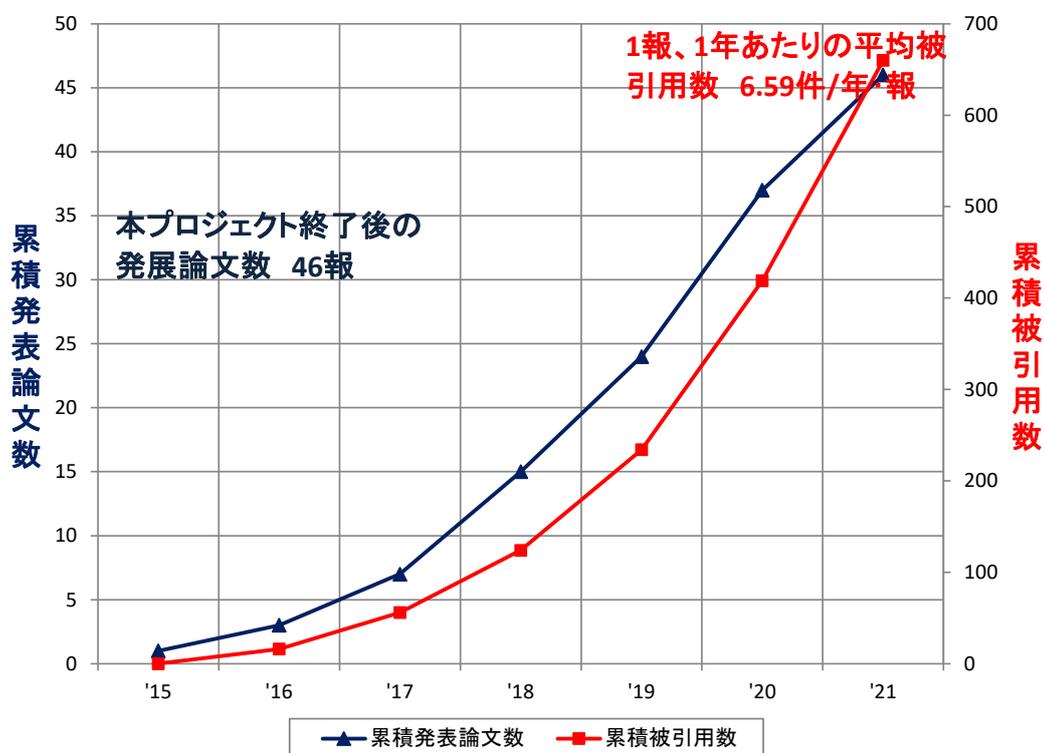


図 2-2 プロジェクト終了以降の発展論文の発表数と被引用数の推移 (検索日：2021 年 11 月 1 日)

表 2-4 プロジェクトの成果の発展波及論文の内、被引用上位 5 報の論文

No	著者名	タイトル	出版年	出版物名	巻	号	論文番号 / 開始ページ-終了ページ	被引用数	DOI	文献タイプ	FWCI	Cite Score
1	Wang, C., Fukazawa, A., Taki, M., Sato, Y., Higashiyama, T., Yamaguchi, S.	A Phosphole Oxide Based Fluorescent Dye with Exceptional Resistance to Photobleaching: A Practical Tool for Continuous	2015	Angewandte Chemie – International Edition	54	50	15213–15217	78	10.1002/anie.201507939	Article	2.44	19.0

No	著者名	タイトル	出版年	出版物名	巻	号	論文番号 /開始ページ- 終了ページ	被 引用 数	DOI	文献タイプ	FWCI	Cite Score
		Imaging in STED Microscopy										
2	Wang, C., Taki, M., Sato, Y., Fukazawa, A., Higashiyama, T., Yamaguchi, S.	Super- Photostable Phosphole-Based Dye for Multiple- Acquisition Stimulated Emission Depletion Imaging	2017	Journal of the American Chemical Society	139	30	10374- 10381	72	10.1021 /jacs.7 b04418	Article	3.14	24.0
3	Fukazawa, A., Suda, S., Taki, M., Yamaguchi, E., Grzybowski, M., Sato, Y., Higashiyama, T., Yamaguchi, S.	Phospha- fluorescein: A red-emissive fluorescein analogue with high photobleaching resistance	2016	Chemical Communication s	52	6	1120-1123	61	10.1039 /c5cc0 9345g	Article	3.68	11.3
4	Lin, H.-A., Sato, Y., Segawa, Y., Nishihara, T., Sugimoto, N., Scott, L.T., Higashiyama, T., Itami, K.	A Water-Soluble Warped Nanographene: Synthesis and Applications for Photoinduced Cell Death	2018	Angewandte Chemie - International Edition	57	11	2874-2878	50	10.1002 /anie.2 017133 87	Article	2.72	20.2
5	Borg, M., Jacob, Y., Susaki, D., LeBlanc, C., Buendía, D., Axelsson, E., Kawashima, T., Voigt, P., Boavida, L., Becker, J., Higashiyama, T., Martienssen, R., Berger, F.	Targeted reprogramming of H3K27me3 resets epigenetic memory in plant paternal chromatin	2020	Nature Cell Biology	22	6	621-629	44	10.1038 /s4155 6-020- 0515-y	Article	8.65	31.5

検索日：2021年11月1日  
FWCI：2021年11月1日取得

#### 2.1.4 特許の出願・公開・登録状況

本プロジェクトの期間中と終了後の調査時点に至るまでの特許出願状況を表2-5に示す。期間中に国内出願された9件のうち、接木に関する4件(特許第6222720号「接木植物体及びその生産方法」、特許第6270187号「接ぎ木用の育苗部材及び育種セット、並びに木苗の生産方法」、特許第6678359号「接ぎ木装置、播種装置、接ぎ木苗の生産方法、及び接ぎ木苗の生産システム」、特許第6755013号「接ぎ木用の育苗部材及び育苗セット、並びに接ぎ木苗の生産方法」)、植物透明化試薬ClearSeeに関する1件(特許第6601842号「植物組織透明化剤」)、およびゲノム編集ベクターpKIRに関する1件(特許第6945865号「Casタンパク質発現カセット」)が登録された。接木関連の特許第6222720号、特許第6270187号と特

許第 6678359 号は海外でも登録された。また、ClearSee は商標登録された(商標登録第 5864936 号)。

終了後にマイクロ流体デバイスや接木に関する 4 件の特許が出願された。

表 2-5 プロジェクトの特許出願状況一覧

	出願件数		登録件数	
	国内	海外 <sup>16</sup>	国内	海外
プロジェクト期間中	9	5	6	3
プロジェクト終了後	4	0	0	0
合計	13	5	6	3

検索日：2021 年 10 月 7 日

### 2.1.5 受賞状況

東山は植物受精に関する研究により、「植物受精において花粉管誘引を司る分子群の発見」で第 25 回木原記念財団学術賞(2016 年度)<sup>17</sup>、「ライブセル解析による植物生殖機構の解明」で公益財団法人井上科学振興財団の第 34 回井上学術賞(2017 年度)<sup>18</sup>、「植物の受精メカニズムの解明」で第 71 回中日文化賞(2018 年度)<sup>19</sup>、「ライブセル解析による被子植物の生殖機構の解明」で第 15 回日本植物学会学術賞(2018 年度)<sup>20</sup>、および「植物の受精の仕組みを解明」で 2019 年度朝日賞<sup>21</sup>をそれぞれ受賞した。また、各出版年・分野において被引用回数が上位 1%に入る論文を複数発表したとして、2019 年<sup>22</sup>および 2020 年<sup>23</sup>の Clarivate Analytics 社 Highly Cited Researchers に選出された。

グループリーダーの加地は「異なる粘弾性特性をもつマイクロ流体デバイスの作製と細胞の物理特性評価への応用」で IRMAIL(株式会社ストラテジック)シンキー賞(2019 年度)を受賞した<sup>24</sup>。また、研究員の武内秀憲は「種特異的な花粉管誘引を担う雌雄鍵分子の研究」で平成 30 年度文部科学大臣表彰若手科学者賞(2018 年度)を受賞した<sup>25</sup>。

### 2.1.6 ベンチャー企業の設立状況

2017 年に接木をコア技術として品種改良を支援するグランドグリーン株式会社が設立された。異科接木技術の直接の開発者である野田口理孝が取締役に就任し、東山は技術顧問を務めている<sup>26</sup>。

<sup>16</sup> 海外は国内出願に優先権主張をかけて、海外に出願した特許を示す。

<sup>17</sup> [https://kihara.or.jp/annex/past\\_winners.html](https://kihara.or.jp/annex/past_winners.html)

<sup>18</sup> <https://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/ja/news/2018/02/Higashiyama-Inoue.php>

<sup>19</sup> [https://www.chunichi.co.jp/info/c\\_culture\\_award/winner\\_list](https://www.chunichi.co.jp/info/c_culture_award/winner_list)

<sup>20</sup> <https://bsj.or.jp/jpn/members/information/3015.php>

<sup>21</sup> <https://www.asahi.com/corporate/award/asahi/13019278>

<sup>22</sup> <https://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/ja/news/2019/12/highly-cited-2019.php>

<sup>23</sup> <https://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/ja/news/2020/11/highly-cited-2020.php>

<sup>24</sup> <https://www.ir-mail.com/grantpast.html>

<sup>25</sup> [https://www.mext.go.jp/b\\_menu/houdou/30/04/\\_icsFiles/afieldfile/2018/04/10/1403097\\_2.pdf](https://www.mext.go.jp/b_menu/houdou/30/04/_icsFiles/afieldfile/2018/04/10/1403097_2.pdf)

<sup>26</sup> <https://www.gragreen.com>

## 2.2 プロジェクトの進捗状況

### 2.2.1 生殖細胞・受精に関する研究

#### (1) 雌性配偶体形成過程

シロイヌナズナ胚珠培養技術を用いて、配偶体から卵細胞・中央細胞・助細胞が形成される過程をライブイメージングすることに成功した(図 2-3)。また、細胞壁分解酵素で処理した胚珠から顕微鏡下で個々の細胞を単離し、それぞれの細胞の遺伝子発現情報を解析する実験系を確立した。その結果、助細胞で特異的に発現する転写因子 MYB89 の変異体の解析から、細胞運命の初期設定は卵細胞であり、助細胞ではその運命が抑えられていること、卵細胞に異常が見られたときに助細胞で抑えられていた卵細胞の運命が発揮されることがシロイヌナズナでも示された<sup>[25]</sup>。

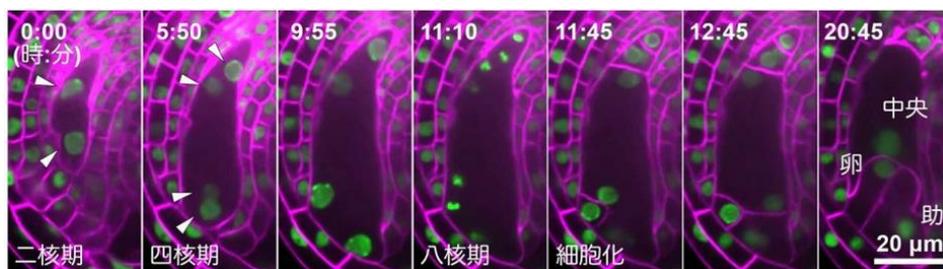


図 2-3 雌性配偶体形成過程のライブイメージング<sup>27</sup>

緑色は細胞核、ピンク色は細胞膜を示す。配偶体細胞の中に核が2つある二核期から四核期・八核期と核分裂を繰り返した後、細胞膜を形成し細胞化することで卵細胞・中央細胞・助細胞がつくられる。

被子植物の有性生殖過程では、雌性配偶体形成過程での極核融合と重複受精過程での2回の精核融合を合わせて計3回の核融合が観察される。東山は新潟大学理学部・西川周一らと共同で、シロイヌナズナの核膜タンパク質である GEX1 がこれら3回の核融合に必須の役割を果たすことをライブイメージング観察により見いだした(図 2-4)<sup>[26]</sup>。

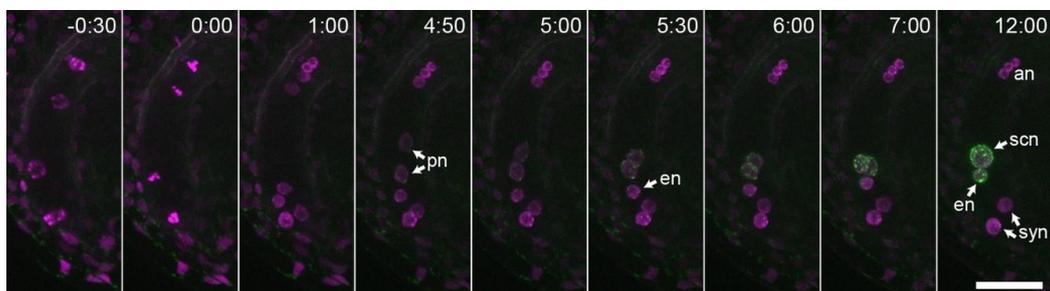


図 2-4 雌性配偶体形成過程での GEX1 の機能<sup>28</sup>

<sup>27</sup> WPI-ItbM プレスリリース「植物の卵細胞がつくられる様子を生きのまま観察することに成功」2021年3月29日 <https://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/ja/research/2021/03/post-31.php>

<sup>28</sup> 共同プレスリリース「生殖過程の核融合の鍵となる、進化的に保存された核膜タンパク質を同定」2020年10月9日

GEX1(緑色)は極核(pn)が融合し2次核(scn)となる過程で極核に現われ、次いで卵細胞核(en)に出現した。

なお、オーストリア Vienna BioCenter との共同研究で、シロイヌナズナ雄性配偶子の再プログラミング機能についても発表した<sup>[27]</sup>。

## (2) 花粉管ガイダンス

### ① 花粉管誘引ペプチド LURE と受容体 PRK6 の共結晶構造解析

昆虫の培養細胞系を用いてシロイヌナズナの AtLURE1.2 と受容体タンパク質(細胞外領域のみ)を作製し、AtLURE1.2 と結合するタンパク質を調べたところ、AtLURE1.2 は PRK6 とのみ特異的に結合し、同じ PRK ファミリーの PRK3、PRK4、PRK5 などとは結合しなかった。次いで、AtLURE1.2 と PRK6 が結合した共結晶構造を X 線結晶構造解析で明らかにし、AtLURE1.2 は PRK6 のロイシンリッチリピート領域と膜貫通領域の間に嵌まり込むように結合していることを発見した(図 2-5)<sup>[28]</sup>。

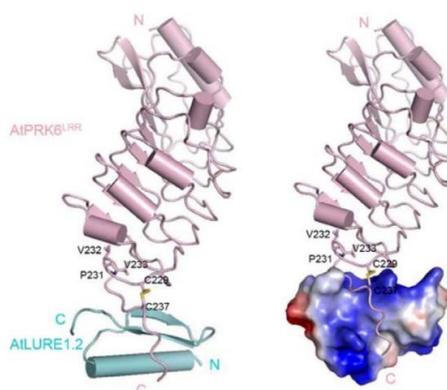


図 2-5 AtLURE1.2 と受容体 PRK6 (AtPRK6) の共結晶構造<sup>29</sup>  
右図は AtLURE1.2 表面の電荷を示している(青が正の電荷)

東山らは花粉管ガイダンスに関する総説<sup>[29]</sup>、およびアラビノガラクトサンの生理機能に関する総説を発表した<sup>[30]</sup>。

### ② 花粉管の伸長に必要な膜交通の仕組み

花粉管が正常に伸長するためには、ANXUR に代表されるいくつかの受容体タンパク質が花粉管の先端部に局在して働くことが必要であるが、その局在化の仕組みは不明であった。基礎生物学研究所・上田貴志らとの共同研究で、膜に埋め込まれたタンパク質の輸送に関わる ANTH タンパク質の 1 種である PICALM5a および PICALM5b が、花粉管の先端よりやや基部の亜頂端領域で形成される輸送小胞に ANXUR を積み込む働きを持つことを見いだした。野生

[https://www.yokohama-cu.ac.jp/news/2020/dr3e6400000108fv-att/20201012pressrelease\\_maruyama.pdf](https://www.yokohama-cu.ac.jp/news/2020/dr3e6400000108fv-att/20201012pressrelease_maruyama.pdf)

<sup>29</sup> WPI-ItbM プレスリリース「花粉管を誘引する際の鍵と鍵穴を解明」2017年11月10日

[https://www.nagoya-u.ac.jp/about-nu/public-relations/researchinfo/upload\\_images/20171110\\_itbm\\_1.pdf](https://www.nagoya-u.ac.jp/about-nu/public-relations/researchinfo/upload_images/20171110_itbm_1.pdf)

型では花粉管の先端に局在する ANXUR が、*picalm5* 二重変異体の花粉管では広範囲の細胞膜上に拡散しており、花粉管は伸長途中で破裂した。一方で、花粉管の誘引を担う PRK6 の局在性には影響を与えなかった<sup>[31]</sup>。

また、オートクリン<sup>30</sup>機構による情報伝達の観点から、ANXUR のリガンド発見などを含む花粉管伸長に関する最近の研究動向を考察した<sup>[32]</sup>。さらに、カリフォルニア大学と共同で花粉管成長方向の制御機構について発表した<sup>[33]</sup>。

### ③核を持たない花粉管の作出

花粉管には、花粉管細胞の核である栄養核と、花粉管中に内包される精細胞の核である 2 個の精核が含まれている。東山らは、シロイヌナズナの *wit1/wit2* 変異体(栄養核の輸送異常)に精細胞輸送異常を引き起こす *cals3m* 変異を導入して、細胞核全てが花粉管基部に残されて先端側に核を持たない花粉管を作り出した。この花粉管では、伸び始めてから数時間で花粉管内につくられる細胞壁により細胞核は花粉管先端から完全に分断されたが、野生型の花粉管と同様に伸長を続け、卵細胞のある胚珠を認識して進入することがわかった。この結果から、花粉管は細胞核に頼らずに胚珠を目指す能力を持つことがわかった<sup>[34]</sup>。

### ④マイクロ流体デバイスによる花粉管の狭空間通過観察

花粉管は胚珠に到達するまでに何度も狭い空間を通り抜ける必要がある。東山らは、1 $\mu\text{m}$  の隙間を持つマイクロ流体デバイスを作製し、トレンシアの花粉管の狭小な隙間に対する反応を観察した。その結果、幅が 8 $\mu\text{m}$  程度の花粉管は隙間に合わせて細胞の先端を変形させてすり抜けることがわかった。また、蛍光タンパク質で標識した栄養核と精細胞核もそれぞれ形を変えながら隙間をすり抜ける瞬間のライブイメージングに成功した(図 2-6)。

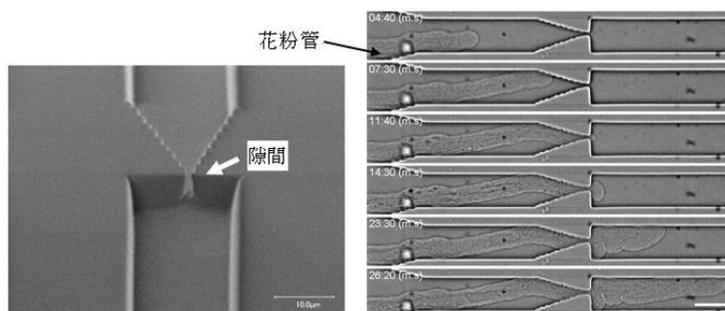


図 2-6 トレンシア花粉管の伸長<sup>31</sup>

マイクロ流体デバイスの 1 $\mu\text{m}$  の隙間の走査型電子顕微鏡像(左)と、その隙間をすり抜けるトレンシア花粉管の光学顕微鏡像(右)。スケールは 20 $\mu\text{m}$ 。

<sup>30</sup> 情報伝達分子がそれを分泌した細胞自身に働きかける場合をオートクリン(自己分泌)と呼ぶ。遠く離れた細胞に働きかける場合をエンドクリン(内分泌)という。

[https://www.nagoya-u.ac.jp/about-nu/public-relations/researchinfo/upload\\_images/20171110\\_itbm\\_1.pdf](https://www.nagoya-u.ac.jp/about-nu/public-relations/researchinfo/upload_images/20171110_itbm_1.pdf)

<sup>31</sup> WPI-ItbM プレスリリース「1 マイクロメートルの隙間を通過する植物細胞」2017 年 5 月 3 日

<https://www.jst.go.jp/pr/announce/20170503/index.html>

さらに、シロイヌナズナ根毛細胞やヒメツリガネゴケ原糸体細胞も隙間に合わせて細胞の形を変えて通過することを観察した<sup>[35]</sup>。

なお、東山らはマイクロ流体デバイスを応用した植物科学研究の進展について総説を発表するとともに<sup>[36]</sup>、新たに電気浸透流とシリンジポンプによる圧力駆動流を組み合わせることで、少量の分子をインジェクションすることができるマイクロ流体デバイスを作製し、リガンド分子に対する花粉管の応答を高い時空間で解析できる実験系を開発した<sup>[37]</sup>。

### (3) 重複受精過程

精細胞の基になる花粉生殖細胞(雄原細胞)の単離・精製が可能なテッポウユリの花粉を用いて、膜タンパク質のプロテオーム解析を実施し、シロイヌナズナにも存在する DMP9 と呼ばれる機能不明な膜貫通型タンパク質を検出した。DMP9 は 2 つの精細胞の膜に等しく局在するにも関わらず、その遺伝子発現が阻害されると卵細胞に対してのみ受精阻害が引き起こされたことから、卵細胞には 1 つの精細胞とだけ接着したことを確認する仕組みが存在し、DMP9 は接着の情報を卵細胞に伝える分子であることが示唆された<sup>[38]</sup>。

助細胞胚乳融合のメカニズムを解明するために様々な阻害剤の効果を検討し、受精した胚珠を転写阻害剤や翻訳阻害剤で処理すると助細胞胚乳融合が強く抑制されること、およびサイクリン依存性キナーゼの阻害剤である rescovitin の処理によっても阻害されることを見いだした<sup>[39]</sup>。

小胞体分子シャペロンである BiP、およびその制御因子である小胞体タンパク質に関する変異株が示す種子形成異常の原因を明らかにするために、ライブイメージング解析を実施したところ、これらの変異体の雌性配偶体では、受精後に中央細胞における精核融合が欠損していることがわかった。この結果は、正常な胚乳形成には受精とカップルした精核融合が必要であることを示している<sup>[40]</sup>。

## 2.2.2 初期胚発生過程に関する研究

受精卵の内部構造をリアルタイムで観察し、細胞の大部分を占める液胞が柔軟に形を変えながら下方方向に移動することで、受精卵が極性化し、非対称に分裂することを初めて発見した(図 2-7)。一方で、液胞の柔軟性に異常があるシロイヌナズナの *sgr2* 欠損株では、受精卵が非対称に分裂できず、同程度の大きさの細胞に分かれることがわかった<sup>[41]</sup>。

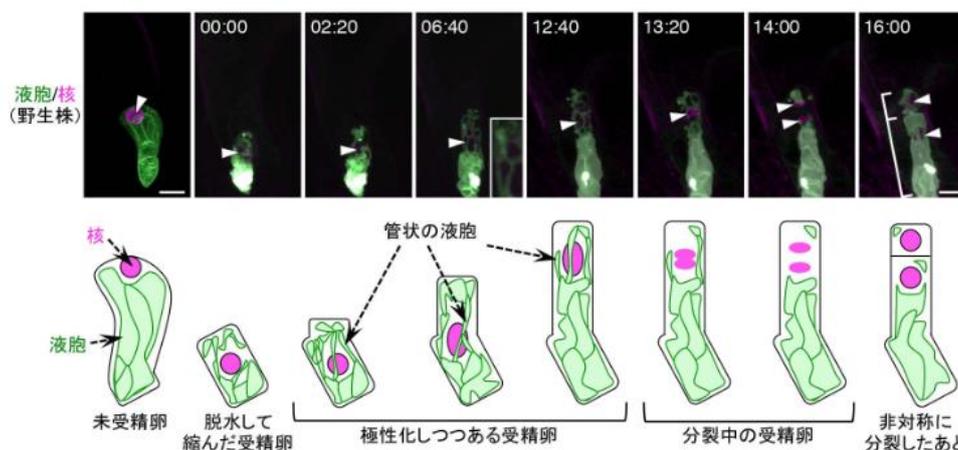


図 2-7 シロイヌナズナの野生型における受精前後の液胞の変化<sup>32</sup>

液胞と核はそれぞれ緑色とピンク色に蛍光標識された。受精すると液胞は縮み、次いで核(矢尻)の周りで管状になり、徐々に下方向に移動する。逆に、核は上方向に移動し、非対称分裂に至る。

### 2.2.3 異科接木に関する研究

タバコ属植物を穂木として異科接木が成立する分子メカニズムを調べるために、ベンサミアナタバコとアブラナ科のシロイヌナズナの接木接続部分の組織から経時的に転写産物を抽出し、次世代シーケンサーを用いた網羅的発現解析で接木実施後に発現量が上昇する遺伝子を同定した。また、接木組織の癒合時に細胞壁の再構成が起こっていることを透過型電子顕微鏡で観察し、最終的に $\beta$ -1,4-グルカナーゼのうち細胞外に分泌される特定の遺伝子が細胞壁の再構築を促し、組織の癒合をもたらすことを発見した。 $\beta$ -1,4-グルカナーゼ遺伝子の発現をベンサミアナタバコで一過的に抑制すると、異科接木だけではなく、ベンサミアナタバコ同士の接木についても成功率が低下することがわかった<sup>[42]</sup>。

期間中に開発した接木チップを用いて、環境条件による接木の効率への影響を検討し、糖を根から与えることや温度を通常の育成温度よりも高くすることが、有効であることを実験的に示した。さらに、植物の生育に必須な鉄の輸送には、地上部と地下部間のニコチアナミンあるいはニコチアナミン/鉄複合体の移動が重要なことを見いだした<sup>[43]</sup>。

### 2.2.4 基盤技術開発

プロジェクト期間中に開発した変異株原因遺伝子同定のためのコンピュータシステム Mitsucal について論文発表した<sup>[44]</sup>。グループリーダーの鈴木は Mitsucal を活用し、理化学研究所環境資源科学研究センター・白須賢による植物のキノン化合物認識受容体の発見に貢献した<sup>[45]</sup>。また、硝酸の濃度に応じて根粒形成遺伝子の発現を制御する主要な因子を、筑波大学生命環境系の壽崎拓哉が見いだすことにも協力した<sup>[46]</sup>。

植物透明化試薬 ClearSee を改良し、酸化に強い ClearSeeAlpha を新たに開発した<sup>[47]</sup>。

また、ITbM・山口と共同で、C-Naphox よりも耐光性に優れた蛍光色素 PhoxBright 430 を開発した<sup>[48]</sup>。

<sup>32</sup> WPI-ItbM プレスリリース「世界初！植物の受精卵が非対称に分裂する仕組みを発見」2019年1月15日 [https://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/ja/research/20190115\\_PANS\\_ueda\\_ja\\_PressRelease.pdf](https://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/ja/research/20190115_PANS_ueda_ja_PressRelease.pdf)

### 2.3 プロジェクト参加研究者の活動状況

本プロジェクト終了後も多くの若手研究員が公的研究機関で昇進、あるいは職を得て活躍の場を広げている。内訳は教授2名(加地範忠、笠原竜四郎)、准教授3名(鈴木孝征、肥田博隆、野田口理孝)、特任准教授1名(佐藤良勝)、講師1名(洞出光洋)、特任講師1名(栗原大輔)、助教1名(朴鐘溟)、特任助教2名(水多陽子、武内秀憲)、JSPS 特別研究員2名(柳沢直樹、須崎大地)、海外特別研究員3名(浜村有希、筒井大地、エレナ・コズグノワ)、研究員1名(松崎素道)の17名である。

鈴木は科研費新学術領域研究や学術変革領域研究(A)(表 2-1)の研究分担者を務め、トランスクリプトーム解析システムを活用した共同研究成果を多数あげた(3.2.2 参照)。また、野田口は異科接木成立のメカニズム解明(2.2.3 参照)や、ベンチャー企業グランドグリーン株式会社について、多くの報道機関で取り上げられた<sup>33</sup>。

なお、本プロジェクト委託研究などで初期胚形成機構<sup>[5],[6],[41]</sup>を解明した植田美那子(奈良先端科学技術大学院大学・助教)は、2020年に東北大学教授に就任した。

### 2.4 第2章まとめ

東山は科研費新学術領域研究(研究領域提案型)などで、植物生殖過程における分子機構解明のための「ライブセル生物学」を発展させた。プロジェクトの成果論文は140報、発展論文は46報であり、そのうちTop10%論文はそれぞれ30報と11報に達した。

プロジェクト終了後の主な研究成果として、卵細胞・中央細胞・助細胞形成過程のライブイメージング、LUREと受容体PRK6との共結晶構造解析、受精卵が非対象に分裂する仕組みの解明、および異科接木成立機構の解明がある。

期間中に出願された特許9件のうち、接木関連や植物透明化試薬およびゲノム編集ベクターの6件が国内で登録され、うち3件は海外でも登録された。また、接木をコア技術として品種改良を支援するベンチャー企業、グランドグリーン株式会社を立ち上げた。

東山は植物受精に関する研究により、朝日賞を始めとする著名な学術賞を獲得した。

本プロジェクトに係わった研究員のうち、17名が公的研究機関で研究を継続している。

---

<sup>33</sup> 名古屋大学・野田口グループ ホームページ <http://bbc.agr.nagoya-u.ac.jp/~graft/>

## 第 3 章 プロジェクト成果の波及と展望

### 3.1 科学技術への波及と展望

#### 3.1.1 植物生殖研究における新しい概念の提唱

植物の生殖過程には「自らのゲノムを維持するシステム」が組み込まれており、異種間の交雑は通常成立しない。この種間障壁の分子メカニズムは個々の生殖過程に配置された多段階の「鍵と鍵穴」の認証として理解されており、日本の植物生殖研究は世界に先駆けて各過程における認証の分子実体が明らかにしてきた<sup>34</sup>。

東山は、「鍵と鍵穴」の実体を従来の「リガンド・レセプター」だけではなく、「複数の転写因子からなる転写複合体と標的遺伝子」、「低分子 RNA 群と標的ゲノム」にまで拡張した新しい概念を提唱し(図 3-1)、「異種植物種の交雑、およびその結果誕生した新植物の存続」を可能にする原理の解明と、「他の植物と交雑することなく自らのゲノムを維持するシステム」の完全理解を目指している。花成形成から雑種形成・安定化までの植物生殖過程の実態を統合的な「鍵と鍵穴」の概念で理解する試みは東山独自のものであり<sup>35</sup>、植物の生殖に関する分子的な理解が進んだ<sup>36</sup>。

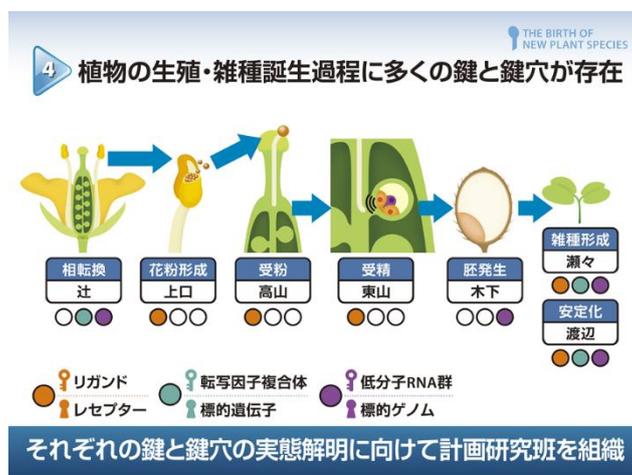


図 3-1 生殖過程における 3 つの「鍵と鍵穴」<sup>37</sup>

#### 3.1.2 新たな研究の潮流の形成

本プロジェクトではマイクロ流体デバイスを用いた観察環境整備、2光子レーザー顕微鏡や ClearSee による植物深部蛍光イメージング技術、および顕微操作による細胞破壊技術などを開発し、これまでは困難であった植物組織の深部で起こる生命現象を生きたまま観察

<sup>34</sup> 科研費特定領域研究「植物の生殖におけるゲノム障壁成果分析」2006 年度～2010 年度

<sup>35</sup> 外部有識者のコメントによる。

<sup>36</sup> [https://kaken.nii.ac.jp/ja/file/KAKENHI-AREA-3806/3806\\_chukan\\_hyoka\\_shoken\\_ja.pdf](https://kaken.nii.ac.jp/ja/file/KAKENHI-AREA-3806/3806_chukan_hyoka_shoken_ja.pdf)

<sup>37</sup> 科研費新学術領域研究(研究領域提案型)「植物新種誕生の原理-生殖過程の鍵と鍵穴の分子実態解明を通じて-」(2016 年度～2020 年度) <http://www.ige.tohoku.ac.jp/prg/plant/gaiyo/>

する「ライブセル生物学」が構築された。井上学位賞は、その受賞理由に「東山哲也氏は、独自のライブセル解析を駆使した研究を展開し、植物生殖分野に新しい潮流を生み出した」ことを挙げている。

特に、マイクロ流体デバイスを植物科学に適用した研究は本プロジェクトの開始当時(2010年)は希であった。東山らの総説<sup>[33]</sup>によれば、2010年～2012年にマイクロ流体デバイスを植物に適用した論文数は毎年1～2件であったが、T字型デバイス<sup>[1]</sup>が発表された2013年以降、適用論文数は徐々に増加し、2018年には8件に増加している。当初は花粉管や根を対象とする論文が大半であったが、2016年以後は根と土壌細菌との相互作用や、コケ植物を対象とした論文数が増加している<sup>[33]</sup>。Khanら<sup>38</sup>やHorowitzら<sup>39</sup>は、それぞれの総説で、初期にマイクロデバイスを植物科学に適用した研究例にT字型デバイス<sup>[1]</sup>やマイクロピラーアレイ<sup>[3]</sup>を挙げている。

なお、Plant and Cell Physiology 誌は植物イメージング技術に関する特集号を発刊し、東山が巻頭言を、本プロジェクト研究員が総説などをそれぞれ執筆した<sup>40</sup>。

本プロジェクトでは植物組織深部イメージング技術が進展したが、個々の分子をイメージングする段階には至っていない。東山は2020年度から開始されたCREST(表2-1)で、物理系研究者と共同で個別の分子を観察できる顕微技術の開発を目指している<sup>41</sup>。

また、花粉管の誘引物質応答能を制御しているAMORの発見は、謎の多いアラビノガラクトサン糖鎖の研究の歴史におけるブレイクスルーの一つになるだけでなく、これまで不明であった糖鎖を介した細胞間情報伝達の仕組みの理解に繋がると期待される<sup>42</sup>。

### 3.1.3 科学技術への波及のまとめと展望

東山は従来の「リガンド・レセプター」だけではなく、「複数の転写因子からなる転写複合体と標的遺伝子」および「低分子RNA群と標的ゲノム」にまで拡張した「鍵と鍵穴」という新たな概念を提唱し、植物生殖過程の種間障壁をこの新概念で理解する研究領域を生み出した。また、植物組織の深部で起こる生命現象を生きたまま観察する「ライブセル生物学」を構築した。

## 3.2 社会経済への波及と展望

### 3.2.1 農業分野への展開

タバコ属植物を穂木とする異科接木の分子メカニズムの解明<sup>[39]</sup>は、さらに効率的な接木技術の開発につながり、耕作不適合なストレス土壌や病害土壌でも収穫可能な作物の作成

<sup>38</sup> Khan Z, et al., *Plants*, 8, 1-18, 2019

<sup>39</sup> Horowitz LF, *Microsystems and Nanoengineering*, 6, 69, 2020

<sup>40</sup> <https://academic.oup.com/pcp/issue/62/8>

<sup>41</sup> 東山のコメントによる。

<sup>42</sup> 名古屋大学・JST 共同発表「植物の受精効率を高める糖鎖「アモール」を発見」2016年4月8日  
<https://www.jst.go.jp/pr/announce/20160408/index.html>

などを通して、今後の食料問題の解決や農業の持続可能性を高めることが期待される<sup>43</sup>。なお、本プロジェクトで開発された異科接木技術(特許第 6222720 号)および接木チップ(特許第 6270187 号)は、グランドグリーン株式会社が実用化を進めている<sup>44</sup>。

現在、世界的にゲノム情報やゲノム編集を活用した育種研究<sup>45</sup>が進められているが、セイヨウナタネやワタなどに継ぐ、世界を変えるようなスーパー植物を生み出せるかは不明である<sup>46</sup>。一方で、植物生殖過程に纏わる「鍵と鍵穴」の解明も目指しており「鍵と鍵穴」分子の人為的デザインやその阻害剤・機能促進剤の有機合成といった技術が生み出され、生殖過程の制御による激変環境適応型の新有用雑種植物を作出することに繋がるのが期待される<sup>47</sup>。

### 3.2.2 基盤技術の波及効果

本プロジェクトで開発された植物透明化試薬 ClearSee は、その有用性ゆえに多くの研究者に活用されており、それらの研究成果が著名な学術誌で発表された(表 3-1 区分①)。適用された植物もモデル植物のシロイヌナズナ以外に、レンゲ、アボガド、オオムギ、トウモロコシ、イネ、ダイズ、ゼニゴケなど多岐にわたっている<sup>48</sup>。

Zang ら<sup>49</sup>や Miki ら<sup>50</sup>は、それぞれの総説でシロイヌナズナゲノム編集に適したベクターとして pKIR を取り上げており、実際、pKIR を遺伝子破壊等に利用した多数の研究成果が発表されている(表 3-1 区分②)。pKIR を開発した筒井大貴は Addgene にデポジットしているプラスミドを 100 回以上分与した研究者として、Blue Frame Award を受賞した<sup>51</sup>。

グループリーダーの鈴木はトランスクリプトーム解析システムを活用し、種々の植物環境ストレス対応機構やネコブセンチュウのゲノム解析に関する研究、あるいはエピジェネティックス研究などの共同研究を独自に展開した(表 3-2)。

表 3-1 基盤技術(ClearSee、pKIR を使用した研究例

区分	著者・掲載学術誌	概要
①	Doblas VG, et al., <i>Science</i> , 355, 280-284, 2017	シロイヌナズナ根内皮
①	Kelliher T, et al., <i>Nature</i> , 542, 105-109, 2017	トウモロコシ胚珠透明化

<sup>43</sup> 名古屋大学共同発表「植物の接木が成立するメカニズムを解明」2020年8月7日  
[https://www.teikyo-u.ac.jp/application/files/5915/9668/2274/news\\_20200807.pdf](https://www.teikyo-u.ac.jp/application/files/5915/9668/2274/news_20200807.pdf)

<sup>44</sup> <https://www.gragreen.com/business>

<sup>45</sup> 農研機構バイオステーション「ゲノム編集の全てがわかる!」<https://bio-sta.jp/beginner/>

<sup>46</sup> 外部有識者のコメントによる。

<sup>47</sup> 平成 30 年度科学研究費補助金「新学術領域研究(研究提案型)」に係わる中間評価報告書  
[https://kaken.nii.ac.jp/ja/file/KAKENHI-AREA-3806/3806\\_chukan\\_hyoka\\_hokoku\\_ja.pdf](https://kaken.nii.ac.jp/ja/file/KAKENHI-AREA-3806/3806_chukan_hyoka_hokoku_ja.pdf)

<sup>48</sup> 栗原グループリーダーのコメントによる。

<sup>49</sup> Zang Y, et al., *Nat Plants*, 5, 778-789, 2019

<sup>50</sup> Miki D, et al., *Methods Mol Biol*, 2200, 121-146, 2021

<sup>51</sup> [www.higashiyama-lab.com/news/2020/01/blue\\_frame\\_award.html](http://www.higashiyama-lab.com/news/2020/01/blue_frame_award.html)

区分	著者・掲載学術誌	概要
①	Lee Y, et al., <i>Cell</i> , 173, 1468–1480, 2018	シロイヌナズナ細胞壁リグニン構造
①	Andersen TG, et al., <i>Nature</i> , 555, 529–533, 2018	シロイヌナズナ根内皮
①	Miyashima S, et al., <i>Nature</i> , 565, 490–494, 2019	シロイヌナズナ根の前形成層
①	Smetana O, et al., <i>Nature</i> , 565, 485–489, 2019	シロイヌナズナ根維管束形成層
①	Doll NM, et al., <i>Science</i> , 367, 431–435, 2020	シロイヌナズナ胚クチュラ層
①	Dong W, et al., <i>Nature</i> , 589, 586–590, 2021	マメ科植物根の皮質細胞
②	Wollmann H, et al., <i>Genome Biology</i> , 18, 94, 2017	ヒストンバリエント H3.3 ノックアウト変異体作成に使用
②	Kang BC, et al., <i>Nat Plants</i> , 4, 427–431, 2018	アデニン編集技術に応用
②	Lapin D, et al., <i>Plant Cell</i> , 31, 2430–2455, 2019	植物の病原体に対する免疫機構に関与する NRG 遺伝子変異体取得
②	Lorenzo-Orts L, et al., <i>Nat Plants</i> , 5, 184–193, 2019	無機ポリフォスファターゼの機能喪失変異体取得
②	Hoffmann RD, et al., <i>Nat Commun</i> , 11, 2395, 2020	花粉管の伸長と受精に関与する原形質膜 H <sup>+</sup> -ATPase 遺伝子破壊

区分①: ClearSee 研究例

区分②: pKIR 研究例

表 3-2 トランスクリプトーム解析システム共同研究

共同研究者	研究テーマ	論文
理化学研究所環境資源科学研究センター 篠崎 一雄	アブシシン酸生合成制御因子	Sato H, et al., <i>PNAS</i> , 115, E11178–E11187, 2018
	低温ストレス耐性獲得機構	Kidokoro S, et al., <i>Plant Cell</i> , 1035–1048, 2020
	乾燥ストレス応答機構	Soma F, et al., <i>Nat Commun</i> , 11, 1373, 2020
	概日時計と低温誘導性遺伝子発現	Kidokoro S, et al., <i>PNAS</i> , 118, e2021048118, 2021
理化学研究所環境資源科学研究センター 白須 賢	ネコブセンチュウのゲノム配列	Sato K, et al., <i>Genome Announc</i> , 6, e00519–18, 2018
	ネコブセンチュウ感染システム	Sato K, et al., <i>Front Plant Sci</i> , 12, 680151, 2021
理化学研究所環境資源科学研究センター 杉本 慶子	創傷誘発性細胞リプログラミング	Rymen B, et al., <i>Commun Biol</i> , 2, 404, 2019
	ストレス応答性 AHL 転写因子	Favero DS, et al., <i>Curr Biol</i> , 20, 1454–1466, 2020
東京大学大学院新領域創成科学研究科 松永 幸大	細胞核の構造維持タンパク質	Sakamoto Y, et al., <i>Nat Commun</i> , 11, 5914, 2020
	細胞内抗体プローブによる遺伝子活性化細胞特定	Shibuta MK, et al., <i>Commun Biol</i> , 4, 580, 2021
奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科 伊藤 寿朗	花の分裂組織制御転写因子	Uemura A, et al., <i>Plant Reprod</i> , 31, 89–105, 2018
	ストレス対応エピジェネティクス	Wu J, et al., <i>Plant Cell Environ</i> , 42, 2198–2214, 2019
	高温順応エピジェネティクス	Yamaguchi N, <i>Nat Commun</i> , 12, 3480, 2021

### 3.2.3 社会への貢献

東山は高校生を対象にしたアウトリーチ活動を積極的に展開し、名古屋大学大学院教育発達科学研究科附属高大接続研究センター主催の「学びの杜・学術コース」<sup>52</sup>で、「種の壁に挑む」(2016年10月22日)、「花を知る」(2017年7月19日)、および「花の謎解きから新種誕生へ」(2018年7月30日、2019年8月2日)の各演題で自身の研究を紹介した。また、東京大学大学院理学系研究科理学部の「高校生のための冬休み講座 2020」で「種の壁を超える」について講演した<sup>53</sup>。さらに、朝日新聞論座に「混ぜて生まれる意外な新種で未来を拓く」を寄稿し、一般読者向けに異種間交雑について解説した<sup>54</sup>。

また、研究成果が2020年1月13日付けの朝日新聞(科学の扉)<sup>55</sup>に掲載された。

東山は国際植物生殖研究連盟(IASPRR)会長を務め(2014年~2018年)<sup>56</sup>、日本分子生物学会理事<sup>57</sup>、日本細胞生物学会理事<sup>58</sup>、および日本植物生理学会常任理事<sup>59</sup>に就任している。また、オーガナイザーとしてEMBO Workshop “Functional Live Imaging of Plants”<sup>60</sup>を開催した。

### 3.2.4 社会経済への波及のまとめと展望

異科接木技術や種間障壁に関する研究は、有用植物の作出を通して農業分野に貢献することが期待される。また、開発された基盤技術は多岐にわたる研究に活用された。一方で、植物生殖研究の意義を若い世代に伝える積極的なアウトリーチ活動が展開された。

---

<sup>52</sup> <https://www.hum.nagoya-u.ac.jp/event/event-sub4/>

<sup>53</sup> <https://www.youtube.com/watch?v=R5Bwn-dj6xA&t=7s>

<sup>54</sup> 朝日新聞論座 2021年9月23日

<https://webronza.asahi.com/science/articles/2021092200001.html>

<sup>55</sup> [www.ige.tohoku.ac.jp/prg/plant/research/2020/01/post-47.html](http://www.ige.tohoku.ac.jp/prg/plant/research/2020/01/post-47.html)

<sup>56</sup> <https://iaspr.org/index.php?browse=36>

<sup>57</sup> <https://www.mbsj.jp/admins/members/admin-2021-22nd.html>

<sup>58</sup> [https://jscb.gr.jp/about\\_us/concept.html](https://jscb.gr.jp/about_us/concept.html)

<sup>59</sup> [https://jspp.org/society/director\\_secretary/director\\_and\\_executive\\_secretary.html](https://jspp.org/society/director_secretary/director_and_executive_secretary.html)

<sup>60</sup> <https://meetings.embo.org/event/19-plant-live-imaging>

## 【引用文献】

- |      |  |
|------|--|
| [1]  | Horade M., Kanaoka M.M., Kuzuya M., Higashiyama T., Kaji N., “ A microfluidic device for quantitative analysis of chemoattraction in plants”, <i>RSC Advances</i> , 3, 22301-22307 (2013).   |
| [2]  | Park J., Kurihara D., Higashiyama T., Arata H., “ Fabrication of microcage arrays to fix plant ovules for long-term live imaging and observation”, <i>Sensors and Actuators, B: Chemical</i> , 191, 178-185 (2014).  |
| [3]  | Gooh K., Ueda M., Aruga K., Park J., Arata H., Higashiyama T., Kurihara D., “ Live-Cell Imaging and Optical Manipulation of Arabidopsis Early Embryogenesis”, <i>Developmental Cell</i> , 34, 242-251 (2015).  |
| [4]  | Hida H., Nishiyama H., Sawa S., Higashiyama T., Arata H., “ Chemotaxis assay of plant-parasitic nematodes on a gel-filled microchannel device”, <i>Sensors and Actuators, B: Chemical</i> , 221, 1483-1491 (2015).   |
| [5]  | Kimata Y., Higaki T., Kawashima T., Kurihara D., Sato Y., Yamada T., Hasezawa S., Berger F., Higashiyama T., Ueda M., “ Cytoskeleton dynamics control the first asymmetric cell division in Arabidopsis zygote”, <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i> , 113, 14157-14162 (2016). |
| [6]  | Ueda M., Aichinger E., Gong W., Groot E., Verstraeten I., Vu L.D., De Smet I., Higashiyama T., Umeda M., Laux T., “ Transcriptional integration of paternal and maternal factors in the Arabidopsis zygote”, <i>Genes &amp; development</i> , 31, 617-627 (2017).  |
| [7]  | Susaki D., Takeuchi H., Tsutsui H., Kurihara D., Higashiyama T., “ Live imaging and laser disruption reveal the dynamics and cell-cell communication during <i>torenia fournieri</i> female gametophyte development”, <i>Plant and Cell Physiology</i> , 56, 1031-1041 (2015).   |
| [8]  | Hamamura Y., Saito C., Awai C., Kurihara D., Miyawaki A., Nakagawa T., Kanaoka M.M., Sasaki N., Nakano A., Berger F., Higashiyama T., “ Live-cell imaging reveals the dynamics of two sperm cells during double fertilization in Arabidopsis thaliana”, <i>Current Biology</i> , 21, 497-502 (2011).                               |
| [9]  | Hamamura Y., Nishimaki M., Takeuchi H., Geitmann A., Kurihara D., Higashiyama T., “ Live imaging of calcium spikes during double fertilization in Arabidopsis”, <i>Nature Communications</i> , 5, 4722 (2014).   |
| [10] | Kasahara R.D., Maruyama D., Hamamura Y., Sakakibara T., Twell D., Higashiyama T., “ Fertilization recovery after defective sperm cell release in arabidopsis”, <i>Current Biology</i> , 22, 1084-1089 (2012).  |
| [11] | Kasahara R.D., Notaguchi M., Nagahara S., Suzuki T., Susaki D., Honma Y., Maruyama D., Higashiyama T., “ Pollen tube contents initiate ovule enlargement and enhance seed coat development without fertilization”, <i>Science Advances</i> , 2, 1600554 (2016).  |
| [12] | Maruyama D., Hamamura Y., Takeuchi H., Susaki D., Nishimaki M., Kurihara D., Kasahara R., Higashiyama T., “ Independent Control by Each Female Gamete Prevents the Attraction of Multiple Pollen Tubes”, <i>Developmental Cell</i> , 25, 317-323 (2013).   |
| [13] | Maruyama D., Völz R., Takeuchi H., Mori T., Igawa T., Kurihara D., Kawashima T., Ueda M., Ito M., Umeda M., Nishikawa S.-I., Groß-Hardt R., Higashiyama T., “ Rapid elimination of the persistent synergid through a cell fusion   |

	mechanism” , <i>Cell</i> , 161, 907-918 (2015).
[14]	Takeuchi H., Higashiyama T., “ A Species-Specific Cluster of Defensin-Like Genes Encodes Diffusible Pollen Tube Attractants in Arabidopsis” , <i>PLoS Biology</i> , 10, e1001449 (2012).
[15]	Takeuchi H., Higashiyama T., “ Tip-localized receptors control pollen tube growth and LURE sensing in Arabidopsis” , <i>Nature</i> , 531, 245-248 (2016).
[16]	Mizukami A.G., Inatsugi R., Jiao J., Kotake T., Kuwata K., Ootani K., Okuda S., Sankaranarayanan S., Sato Y., Maruyama D., Iwai H., Garénaux E., Sato C., Kitajima K., Tsumuraya Y., Mori H., Yamaguchi J., Itami K., Sasaki N., Higashiyama T., “ The AMOR Arabinogalactan Sugar Chain Induces Pollen-Tube Competency to Respond to Ovular Guidance” , <i>Current Biology</i> , 26, 1091-1097 (2016).
[17]	Jiao J., Mizukami A.G., Sankaranarayanan S., Yamaguchi J., Itami K., Higashiyama T., “ Structure-activity relation of AMOR sugar molecule that activates pollen-tubes for ovular guidance” , <i>Plant Physiology</i> , 173, 354-363 (2017).
[18]	Kurihara D., Mizuta Y., Sato Y., Higashiyama T., “ ClearSee: A rapid optical clearing reagent for whole-plant fluorescence imaging” , <i>Development (Cambridge)</i> , 142, 4168-4179 (2015).
[19]	Wang C., Fukazawa A., Taki M., Sato Y., Higashiyama T., Yamaguchi S., “ A Phosphole Oxide Based Fluorescent Dye with Exceptional Resistance to Photobleaching: A Practical Tool for Continuous Imaging in STED Microscopy” , <i>Angewandte Chemie - International Edition</i> , 54, 15213-15217 (2015).
[20]	Fukazawa A., Suda S., Taki M., Yamaguchi E., Grzybowski M., Sato Y., Higashiyama T., Yamaguchi S., “ Phospha-fluorescein: A red-emissive fluorescein analogue with high photobleaching resistance” , <i>Chemical Communications</i> , 52, 1120-1123 (2016).
[21]	Tsutsui H., Higashiyama T., “ PKAMA-ITACHI vectors for highly efficient CRISPR/Cas9-mediated gene knockout in Arabidopsis thaliana” , <i>Plant and Cell Physiology</i> , 58, 46-56 (2017).
[22]	Mizuta Y., Higashiyama T., “ Antisense gene inhibition by phosphorothioate antisense oligonucleotide in Arabidopsis pollen tubes” , <i>Plant Journal</i> , 78, 516-526 (2014)
[23]	Tsukagoshi H., Suzuki T., Nishikawa K., Agarie S., Ishiguro S., Higashiyama T., “ RNA-Seq analysis of the response of the halophyte, <i>Mesembryanthemum crystallinum</i> (ice plant) to high salinity” , <i>PLoS ONE</i> , 10, e0118339 (2015).
[24]	Notaguchi M., Higashiyama T., Suzuki T., “ Identification of mRNAs that move over long distances using an RNA-seq analysis of Arabidopsis/Nicotiana benthamiana heterografts” , <i>Plant and Cell Physiology</i> , 56, 311-321 (2015).
[25]	Susaki D., Suzuki T., Maruyama D., Ueda M., Higashiyama T., Kurihara D., “ Dynamics of the cell fate specifications during female gametophyte development in Arabidopsis” , <i>PLoS Biology</i> , 19, e3001123 (2021).
[26]	Nishikawa S.-I., Yamaguchi Y., Suzuki C., Yabe A., Sato Y., Kurihara D., Sato Y., Susaki D., Higashiyama T., Maruyama D., “ Arabidopsis GEX1 Is a Nuclear Membrane Protein of Gametes Required for Nuclear Fusion During Reproduction” , <i>Frontiers in Plant Science</i> , 11, 548032 (2020).
[27]	Borg M., Jacob Y., Susaki D., LeBlanc C., Buendía D., Axelsson E., Kawashima

	T., Voigt P., Boavida L., Becker J., Higashiyama T., Martienssen R., Berger F., “ Targeted reprogramming of H3K27me3 resets epigenetic memory in plant paternal chromatin” , <i>Nature Cell Biology</i> , 22, 621-629 (2020).
[28]	Zhang X., Liu W., Nagae T.T., Takeuchi H., Zhang H., Han Z., Higashiyama T., Chai J., “ Structural basis for receptor recognition of pollen tube attraction peptides” , <i>Nature Communications</i> , 8, 1331 (2017).
[29]	Mizuta Y., Higashiyama T., “ Chemical signaling for pollen tube guidance at a glance” , <i>Journal of Cell Science</i> , 131, jcs.208447 (2018).
[30]	Su S., Higashiyama T., “ Arabinogalactan proteins and their sugar chains: functions in plant reproduction, research methods, and biosynthesis” , <i>Plant Reproduction</i> , 31, 67-75 (2018).
[31]	Muro K., Matsuura-Tokita K., Tsukamoto R., Kanaoka M.M., Ebine K., Higashiyama T., Nakano A., Ueda T., “ ANTH domain-containing proteins are required for the pollen tube plasma membrane integrity via recycling ANXUR kinases” , <i>Communications Biology</i> , 1, 152 (2018).
[32]	Higashiyama T., “ Plant Reproduction: Autocrine Machinery for the Long Journey of the Pollen Tube” , <i>Current Biology</i> , 28, R266-R269 (2018).
[33]	Luo N., Yan A., Liu G., Guo J., Rong D., Kanaoka M.M., Xiao Z., Xu G., Higashiyama T., Cui X., Yang Z., “ Exocytosis-coordinated mechanisms for tip growth underlie pollen tube growth guidance” , <i>Nature Communications</i> , 8, 1687 (2017).
[34]	Motomura K., Takeuchi H., Notaguchi M., Tsuchi H., Takeda A., Kinoshita T., Higashiyama T., Maruyama D., “ Persistent directional growth capability in Arabidopsis thaliana pollen tubes after nuclear elimination from the apex” , <i>Nature Communications</i> , 12, 2331 (2021).
[35]	Yanagisawa N., Sugimoto N., Arata H., Higashiyama T., Sato Y., “ Capability of tip-growing plant cells to penetrate into extremely narrow gaps” , <i>Scientific Reports</i> , 7, 1403 (2017).
[36]	Yanagisawa N., Kozgunova E., Grossmann G., Geitmann A., Higashiyama T., “Microfluidics-based bioassays and imaging of plant cells” , <i>Plant and Cell Physiology</i> , 62, pcab067 (2021).
[37]	Yanagisawa N., Kozgunova E., Higashiyama T., “ Pulsatile reverse flow actuated microfluidic injector: toward the application for single-molecule chemotropism assay” , <i>RSC Advances</i> , 11, 27011-27018 (2021).
[38]	Takahashi T., Mori T., Ueda K., Yamada L., Nagahara S., Higashiyama T., Sawada H., Igawa T., “ The male gamete membrane protein DMP9/DAU2 is required for double fertilization in flowering plants” , <i>Development (Cambridge)</i> , 145, dev170076 (2018).
[39]	Motomura K., Kawashima T., Berger F., Kinoshita T., Higashiyama T., Maruyama D., “ A pharmacological study of Arabidopsis cell fusion between the persistent synergid and endosperm” , <i>Journal of Cell Science</i> , 131, jcs.204123 (2018).
[40]	Maruyama D., Higashiyama T., Endo T., Nishikawa S.-I., “ Fertilization-coupled sperm nuclear fusion is required for normal endosperm nuclear proliferation” , <i>Plant and Cell Physiology</i> , 61, 29-40 (2020).
[41]	Kimata Y., Kato T., Higaki T., Kurihara D., Yamada T., Segami S., Morita M.T., Maeshima M., Hasezawa S., Higashiyama T., Tasaka M., Ueda M., “ Polar

	vacuolar distribution is essential for accurate asymmetric division of Arabidopsis zygotes”, <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i> , 116, 2338-2343 (2019).
[42]	Notaguchi M., Kurotani K.-I., Sato Y., Tabata R., Kawakatsu Y., Okayasu K., Sawai Y., Okada R., Asahina M., Ichihashi Y., Shirasu K., Suzuki T., Niwa M., Higashiyama T., “ Cell-cell adhesion in plant grafting is facilitated by $\beta$ -1,4-glucanases”, <i>Science</i> , 369, 698-702 (2020).
[43]	Tsutsui H., Yanagisawa N., Kawakatsu Y., Ikematsu S., Sawai Y., Tabata R., Arata H., Higashiyama T., Notaguchi M., “ Micrografting device for testing systemic signaling in Arabidopsis”, <i>Plant Journal</i> , 103, 918-929 (2020).
[44]	Suzuki T., Kawai T., Takemura S., Nishiwaki M., Suzuki T., Nakamura K., Ishiguro S., Higashiyama T., “ Development of the Mitsucal computer system to identify causal mutation with a high-throughput sequencer”, <i>Plant Reproduction</i> , 31, 117-128 (2018).
[45]	Laohavisit A., Wakatake T., Ishihama N., Mulvey H., Takizawa K., Suzuki T., Shirasu K., “ Quinone perception in plants via leucine-rich-repeat receptor-like kinases”, <i>Nature</i> , 587, 92-97 (2020).
[46]	Nishida H., Nosaki S., Suzuki T., Ito M., Miyakawa T., Nomoto M., Tada Y., Miura K., Tanokura M., Kawaguchi M., Suzaki T., “ Different DNA-binding specificities of NLP and NIN transcription factors underlie nitrate-induced control of root nodulation”, <i>Plant Cell</i> , 33, 2340-2359 (2021).
[47]	Kurihara D., Mizuta Y., Nagahara S., Higashiyama T., “ ClearSeeAlpha: Advanced Optical Clearing for Whole-Plant Imaging”, <i>Plant and Cell Physiology</i> , pcab033 (2021).
[48]	Wang C., Taki M., Sato Y., Fukazawa A., Higashiyama T., Yamaguchi S., “ Super-Photostable Phosphole-Based Dye for Multiple-Acquisition Stimulated Emission Depletion Imaging”, <i>Journal of the American Chemical Society</i> , 139, 10374-10381 (2017).