

目次

1

植物と植物細胞の構造 1

- 植物とはどのような生き物か：植物の共通原理 1
- 植物の分類と生活環 2
- 植物の構造 5
- 植物細胞の細胞小器官 10
- 細胞内膜系 13
- 独立に分裂・融合する細胞内膜系由来の細胞小器官 23
- 独立して分裂する半自律性の細胞小器官 25
- 植物の細胞骨格 29
- 細胞周期の制御 35
- 植物の細胞型 39

2

遺伝子構造と遺伝子発現 51

- 核ゲノムの構成 51
- 植物細胞質のゲノム：ミトコンドリアと色素体 61
- 核遺伝子発現の転写制御 62
- 核遺伝子発現の転写後制御 67
- 遺伝子機能を解析するツール 73
- 作物の遺伝的改変 77

I部

水と溶質の輸送，および転流

3

水と植物細胞 85

- 植物の生命における水 85
- 水の構造と性質 86
- 拡散と浸透 88
- 水ポテンシャル 90
- 植物細胞の水ポテンシャル 92
- 細胞壁と膜の特性 94
- 植物の水分状態 96

4

植物における水収支 101

- 土壌中の水 101
- 根による水の吸収 103
- 木部中の水輸送 105
- 葉から大気への水の移動 111
- 概観：土壌－植物－大気連続体 117

5

無機栄養 121

- 必須養分とその欠乏による植物の障害 122
- 養分欠乏への対処法 130
- 土壌、根そして微生物 132

6

物質輸送 145

- 受動および能動輸送 145
- 膜を介したイオンの輸送 147
- 膜輸送過程 150
- 膜輸送蛋白質 157
- 根におけるイオン輸送 165

II 部

生化学と代謝

7

光合成：光反応 173

- 高等植物の光合成 173
- 一般的な概念 173
- 光合成を理解する鍵となった実験 177
- 光合成器官の構成 180
- 光捕集アンテナ系の構造 183
- 電子伝達の機構 185
- 葉緑体での水素イオン (H^+) 輸送と ATP 合成 193
- 光合成装置の修復と制御 196
- 光合成系の遺伝学、構築と進化 198

8

光合成：炭素代謝 203

- カルビン-ベンソン回路 203
- 酸化的 C_2 光合成炭素回路 (光呼吸) 211
- 無機炭素の濃縮機構 220
- 無機炭素濃縮機構： C_4 炭素回路 220
- 無機炭素濃縮機構：ペンケイソウ型有機酸代謝 (CAM) 228
- 光合成産物の貯蔵と分配——澱粉とスクロース 230
- 葉緑体澱粉の形成と動態 232
- スクロース合成と情報伝達 238

9

光合成：生理学的・生態学的考察 245

- 光合成は葉の特性に影響される 245
- 葉の光合成への光の影響 249
- 葉の光合成に対する温度の影響 254
- 葉の光合成に対する二酸化炭素の影響 256
- 安定同位体は光合成特性の記録となる 260

10

気孔の生物学 267

- 光による気孔開口 267
- 孔辺細胞における青色光受容のゼアザンチンによる仲介 273
- 青色光による気孔開口の緑色光による阻害 275
- 光生理学の解析力 277

11

篩部転流 281

- 長距離輸送の経路 281
- ソースからシンクへの輸送様式 287
- 篩部を輸送される物質 287
- 輸送の速度 289
- 篩部の転流機構：圧流説について 291
- 篩部積み込み 295
- 篩部積み降ろしとシンクからソースへの変換 301
- 光合成産物の分布：割り当てと分配 304
- シグナル分子の輸送 307

12

呼吸と脂質代謝 313

- 植物における呼吸の概略 313
- 解糖系 315
- 酸化的ペントースリン酸経路 320
- クエン酸回路 322
- ミトコンドリアで起こる電子伝達とATP合成 325
- 無傷の植物体や組織での呼吸 336
- 脂質代謝 339

13

無機栄養素の同化 351

- 環境の中の窒素 352
- 硝酸同化 354
- アンモニウムイオンの同化 356
- アミノ酸の生合成 358
- 生物的窒素固定 358
- 硫黄同化 365
- リン酸同化 367
- カチオンの同化 368
- 酸素同化 370
- 栄養素同化のエネルギー論 370

Ⅲ部

成長と発生

14

細胞壁：構造，構築，伸展 379

植物細胞壁の機能と構造の概要 379

一次細胞壁の構造と機能 392

細胞拡大の機構 393

細胞成長の程度と速度 397

二次細胞壁の構造と機能 400

15

シグナルとシグナル伝達 407

シグナル伝達の時空間的側面 407

シグナルの受容と増幅 409

ホルモンと植物の発生 414

植物ホルモンの代謝とホメオスタシス 420

シグナル伝達と細胞間コミュニケーション 428

ホルモンシグナル伝達経路 430

16

太陽光シグナル 447

植物の光受容体 448

フィトクロム 450

フィトクロム応答 455

フィトクロムのシグナル伝達経路 458

青色光応答と青色光受容体 461

クリプトクロム 462

クリプトクロム，フィトクロム，フォトトロピンの
協調的作用 464

フォトトロピン 466

紫外線への応答 471

17

胚発生 477

植物の成長と発生の概要 477

胚発生：極性の始まり 479

分裂組織：無限成長の基盤 495

根端分裂組織（RAM） 497

シュート頂分裂組織（SAM） 501

維管束形成層 508

18

種子休眠，発芽および芽生えの確立 513

種子の構造 513

種子休眠 514

休眠の解除 519

種子発芽 520

貯蔵物質の利用 522

芽生えの成長と確立 524

屈性：方向性をもった刺激に応答した成長 528

光屈性 534

光形態形成 537

日陰の忌避 539

維管束組織分化 543

根の成長と分化 544

19

栄養成長と器官形成 553

- 葉の発生 553
- 葉における軸性の確立 554
- 表皮の細胞分化 560
- 葉の脈理パターン 565
- シュートの分枝と構造 572
- 根系の構造 579
- 二次成長 583

20

花成と花の発生の調節 591

- 花成惹起：環境からの信号刺激の統合 591
- シュート頂と相転換 592
- 概日リズム：内なる時計 594
- 光周性：日長のモニタリング 596
- 春化：低温による花成の促進 605
- 花成に関わる長距離シグナリング 608
- フロリゲンの同定 610
- 花芽分裂組織と花器官の発生 613

21

配偶体，受粉，種子，果実 625

- 雌雄の配偶体世代の発生 625
- 雄ずい内の雄性配偶体形成 626
- 胚珠内における雌性配偶体の発生 629
- 被子植物の受粉と受精 632
- 自殖と他殖 639
- アポミクシス：種子による無性生殖 643
- 胚乳発達 643
- 種皮の発生 650
- 種子成熟と乾燥耐性 650
- 果実の発達と登熟 654

22

植物の老化と細胞死 665

- プログラム細胞死と自己消化 666
- 葉の老化現象 671
- 葉の老化：その制御ネットワーク 678
- 落葉 683
- 個体全体の老化 686

23

生物間相互作用 693

- 植物－微生物間の有益な相互作用 694
- 植物，病原体，植食性昆虫および草食動物間の有害な相互作用 698
- 植食性昆虫に応答する誘導性防御反応 706
- 病原体に対する植物防御反応 716
- その他の生物に対する植物の防御応答 724

24

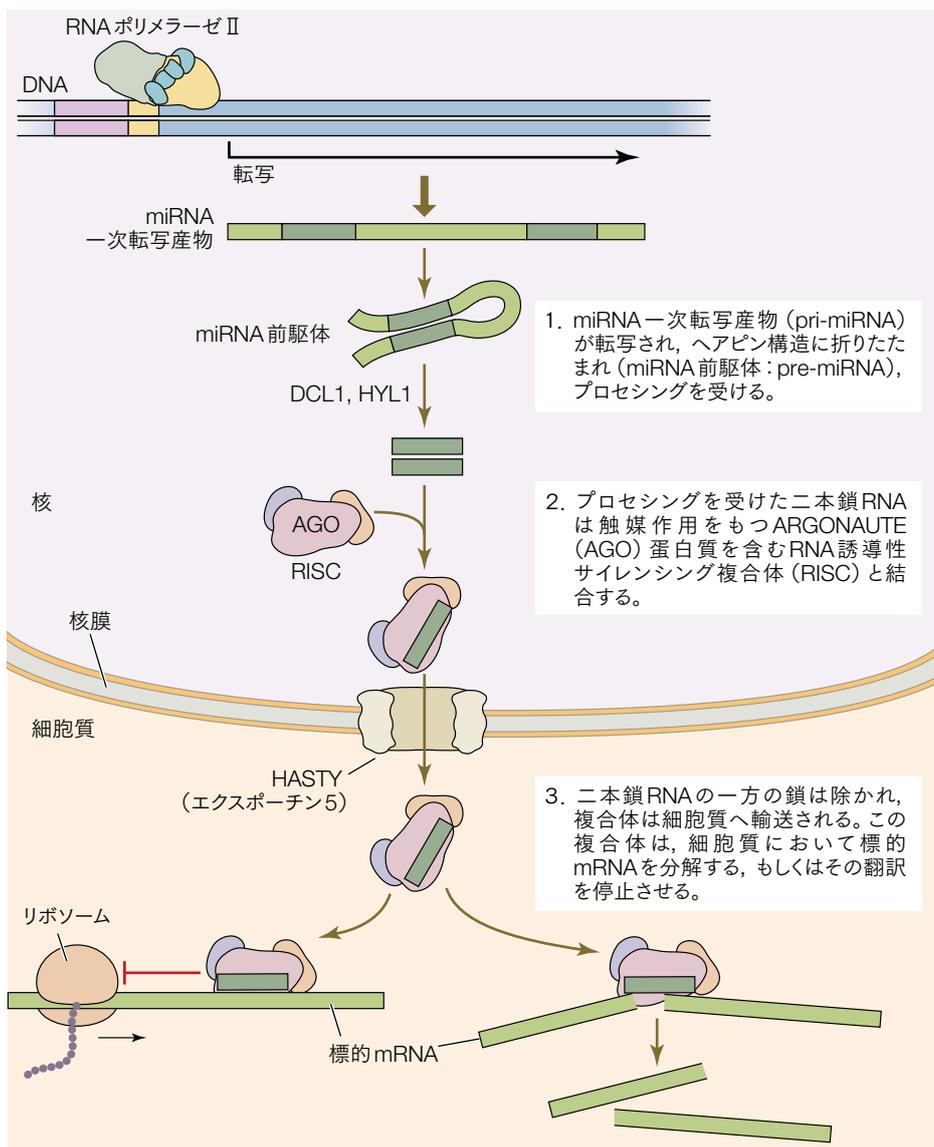
非生物学的ストレス 731

- 植物のストレスの定義 731
- 馴化と適応 732
- 環境要因とその植物に対する生物的影響 733
- 植物のストレス感知機構 739
- 非生物学的ストレスに応答して活性化されるシグナル伝達経路 740
- 植物を非生物学的ストレスから保護する発生学的および生理学的仕組み 747

サイレンシング (transcriptional gene silencing),あるいはヘテロクロマチン化 (heterochromatization) を誘導する場合もある。RNAiについてより詳細に理解するため、まず、細胞に二本鎖 RNA が蓄積する事象について見ていく。続いて、RNAi 過程ではたらく分子と、その下流で作用する事象について議論する。

マイクロ RNA は発生に関与する多くの遺伝子を転写後に制御する 植物は miRNA をコードする遺伝子を数百個もっており、特定の mRNA が蛋白質に翻訳されるのを抑制したり、特定の mRNA を分解へ導いたりする。miRNA は生殖、細胞分裂、胚発生、葉や花など新たな器官の形成、栄養相から生殖相への遷移といった多くの発生過程に作用する。miRNA は、まず、RNA ポリメラーゼ II によって数百から数千塩基のさまざまな長さの一次転写産物 (pri-miRNA) として転写される (図 2.15)。この miRNA 一次転写産物は、5' 末端にキャップ構造が、また、3' 末端にポリ

A 尾部が付加され、そして、一本鎖のループの両側が塩基対を形成して二本鎖のステムをもった構造になる。続いて、miRNA の一次転写産物はプロセッシングを受け、通常、動物では 60 ~ 80 塩基の長さ、植物では数百塩基の長さまでの、miRNA 前駆体 (pre-miRNA) になる。植物では、核内において、**ダイサー様蛋白質 1 (DICER-LIKE1 : DCL1)** および二本鎖 RNA 結合ドメインをもつ蛋白質 (dsRNA binding domain protein : dsRBP) である **HYPONASTIC LEAVES 1 (HYL1)** によって、完成した二本鎖の miRNA がつくられる。動物では、この過程はさまざまな dsRBP の助けを借りて、RNase III ドメインをもつエンドヌクレアーゼである **ドロシャ (Drosha)** によっておこなわれる。プロセッシングを受けた後、miRNA は核膜孔 (nuclear pore) を通って核外へ輸送される。この過程は、動物では **エクスポートイン 5 (EXPORTIN5)** と呼ばれる蛋白質、植物ではそのホモログである **HASTY** と呼ばれる蛋白質の助けを借りておこなわれる。成熟した miRNA は細胞質へ輸送され、RNAi 経路で使われる。



短鎖干渉 RNA は反復配列に起源をもつ 成熟した siRNA は構造および機能の面で miRNA に似ており、RNAi を引き起こす。しかしながら、siRNA は miRNA とはつくられ方が異なっていて、siRNA がつくられるのは次の 3 つの経路のいずれかである。1 つ目は、DNA のある領域が互いに逆の鎖から mRNA を産生する反対向きのプロモーターから転写されることによるものである (図 2.16A)。このようなプロモーターから転写が起きることで、完全に、もしくは部分的に相補的な 2 つの一本鎖 RNA (ssRNA) を生じ、これらは二本鎖 RNA (dsRNA) 分子となることが可能である。siRNA をつくる 2 つ目の仕組みは、タンデムに重複した配列を逆向きに転写することによるものである。

図 2.15 植物における RNAi 経路: マイクロ RNA。マイクロ RNA (miRNA) は植物の発生過程で機能する多くの遺伝的経路の一部である。

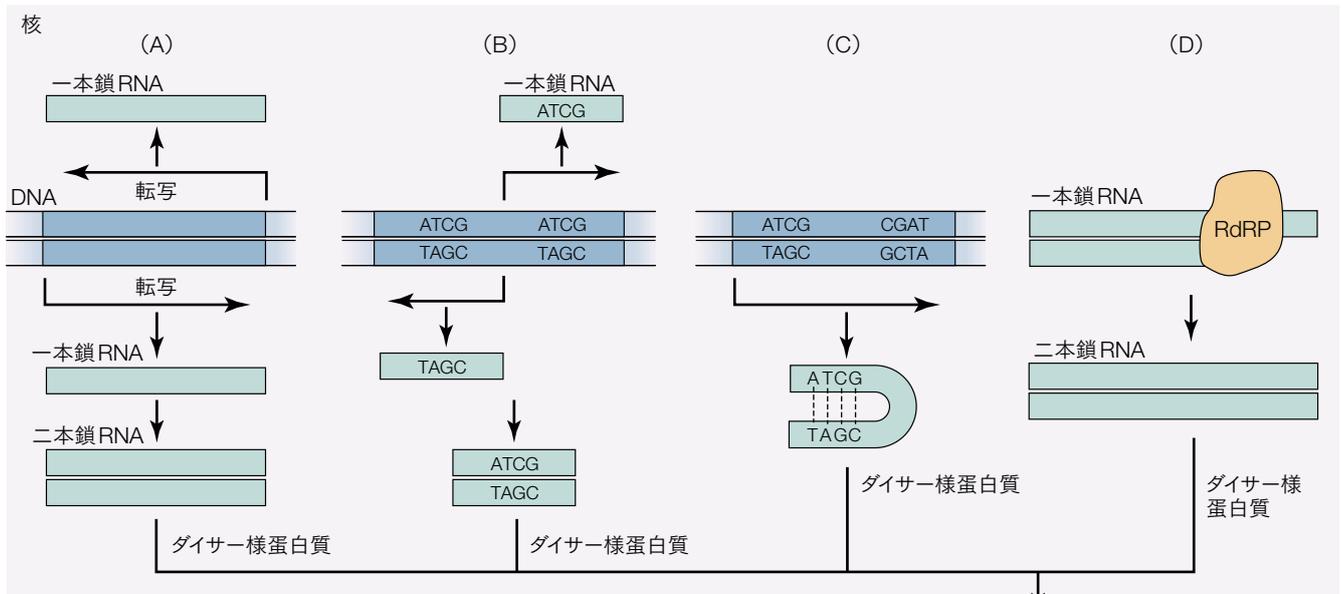
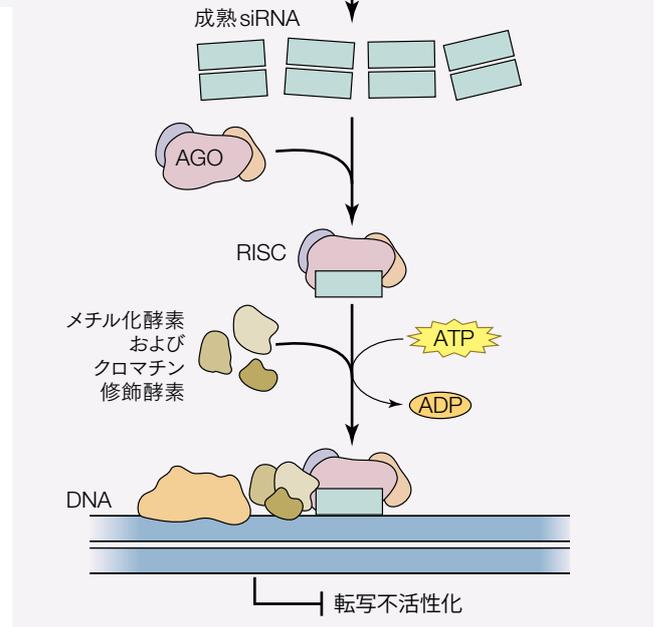


図 2.16 植物における RNAi 経路：短鎖干渉 RNA。短鎖干渉 RNA (siRNA) はヘテロクロマチン状態を維持し、使われない遺伝子を不活化状態にするのに必要である。(A～C) RNAi は自発的に二本鎖 RNA を形成するさまざまな転写産物によって開始される。(D) siRNA 経路は一本鎖の mRNA に対して RdRP が作用することによっても誘導される。

この反応はセンス鎖とアンチセンス鎖の RNA を 1 本ずつ生じさせる (図 2.16B)。また、両端部分に回文配列 (パリンドローム配列) をもつ領域を転写すると、回文配列の部分が二本鎖になった RNA を生じる (図 2.16C)。最後に、特別な種類の RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RNA-dependent RNA polymerase : RdRP) は、一本鎖の mRNA から二本鎖 RNA 分子を合成することができる (図 2.16D)。RdRP がどのようにして mRNA 分子を認識して二本鎖 RNA に変換しているのかは、現時点では研究途上であって正確なところはまだわかっていない。蛋白質をコードする遺伝子のほとんどすべてと miRNA をコードする配列は RNA ポリメラーゼ II によって転写されるのに対し、ヘテロクロマチン化に関与する siRNA の産生や、siRNA の特定の DNA 領域への標的化を導く転写は、それぞれ RNA ポリメラーゼ IV と V によっておこなわれる。

siRNA と miRNA の生合成で異なる点はまだほかにもある。miRNA と異なり、内在性の siRNA は、かつては転写されていないと見なされていた染色体領域、すなわち、反復配列、トランスポゾン、あるいはセントロメア領域から転写されている。このような反復領域に由来する siRNA は、**反復配列関連 siRNA (repeat-associated silencing RNA : ra-siRNA)** と称されることがある。反復領域と siRNA に関連があるのは偶然ではないかもしれない。つまり、siRNA の形成と RNAi の誘導は、実際にこれらの領域をヘテロクロマチン化し、おおむね転写が不活性化状態にするよう



ある。転写によるものであれ、RdRP による一本鎖 RNA の二本鎖 RNA への変換によるものであれ、いったん二本鎖 RNA がつくられると、二本鎖 RNA はダイサー様 (DCL) ファミリーの蛋白質によって 21～24 塩基の二本鎖 RNA に切断される (図 2.16 参照)。この過程は、植物では少なくともヘテロクロマチン化に関わる 24 塩基の二本鎖 RNA を産生する場合には核内でおこなわれるが、線虫などいくつかの動物では細胞質でおこなわれる〔訳注：植物において 21～24 塩基の siRNA は異なるダイサー様蛋白質による切断で産生する。ダイサー様蛋白質が核内に局在することを示す研究報告がある一方、siRNA の産生が細胞質において起きることを示唆する事例も存在し、細胞内における siRNA の産生とその作用の過程には未解明な部分が残されている。なお、ヘテロクロマチン化に関わる 24 塩基の siRNA は核内で産生するものの、いったん細胞質へ輸送された後、複

合体を形成して再び核内へ輸送されると考えられている]。

これら内在性の siRNA に加え、外来の RNA もまた siRNA 形成の引き金となる。このような外来の RNA には人為的に導入された外来遺伝子の転写産物やウイルス RNA があげられる。どちらの場合も、RdRP およびダイサー様蛋白質によって成熟した siRNA がつくられる (図 2.17)。

miRNA と siRNA に加えて、PIWI 結合 RNA (PIWI-interacting RNA : piRNA) と呼ばれる第三の低分子 RNA が動物の生殖細胞で見いだされている。この種の低分子 RNA は、特にトランスポゾンの転写産物を標的としており、生殖細胞でトランスポゾンを不活性化状態に保つのにたっている。

RNAi 経路の下流で RNA 誘導性サイレンシング複合体が形成される RNAi 過程で最終的に起こることは、miRNA, siRNA, および外来 RNA でよく似ている。すなわち、これらと相補的な mRNA や DNA 領域に対する不活性化 (サイレンシング) である。21 ~ 24 塩基の miRNA あるいは siRNA がダイサー様蛋白質によってつくられた後、短い二本鎖 RNA の片方の鎖が **RNA 誘導性サイレンシング複合体 (RNA-induced silencing complex : RISC)** と呼ばれるリボ

ヌクレアーゼ複合体と結合する (図 2.15 ~ 図 2.17 参照)。動物、植物ともに、RISC は少なくとも 1 つのアルゴノート (ARGONAUTE : AGO) 蛋白質を含んでおり、これが触媒活性をもっている。RISC は他の蛋白質を複合体に呼び込む場合もある。シロイヌナズナでは、AGO 遺伝子ファミリーとして 10 個の異なる遺伝子が知られている。ダイサー様蛋白質による切断を受けた二本鎖の miRNA あるいは siRNA が AGO に結合した後、二本の RNA 鎖の一方が除かれると、RISC が活性をもつようになる。miRNA の場合では、AGO に結合した低分子の一本鎖 RNA が RISC を相補的な mRNA へと導く。RISC と標的 mRNA が結合すると、標的 mRNA は AGO がもつ “スライサー (slicer)” 活性によって切断される。その結果生じた mRNA 断片は細胞質内で分解される。RISC と標的 mRNA 分子が結合しても、標的 mRNA が切断されずに、mRNA から蛋白質への翻訳が阻害される場合もある。

RISC に結合した miRNA は、蛋白質をコードする遺伝子の発現抑制を主な標的とするが、RISC に結合した siRNA がこれと相補的な DNA 配列での DNA のメチル化や DNA に結合しているヒストンのメチル化を促進する場合もある。この場合は遺伝子を永続的にサイレンシングしたり、主にセ

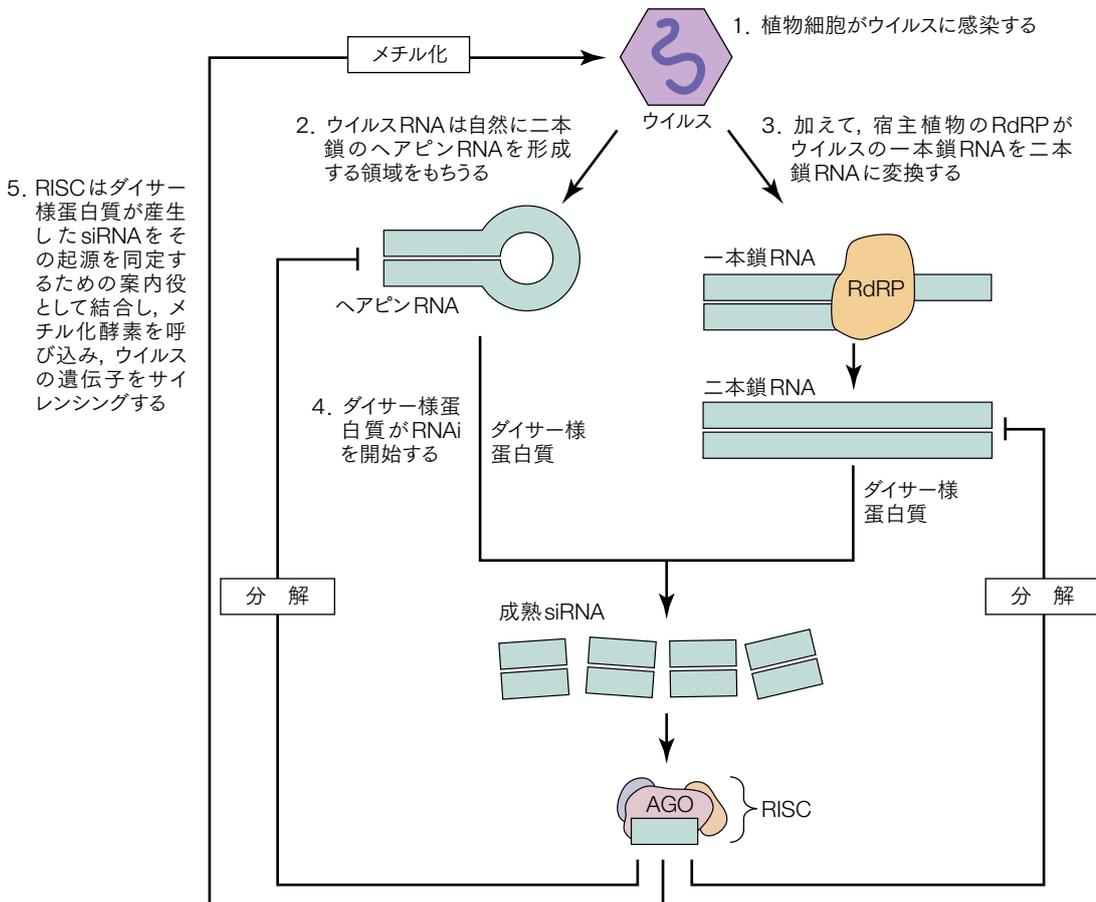


図 2.17 植物における RNAi 経路：抗ウイルス機構。植物細胞はウイルス感染に対して RNAi 応答を開始させることができる。

ントロメア領域やサブテロメア領域においてヘテロクロマチンを形成させたりする。機構は明らかになっていないものの、siRNAを含むRISCはDNA修飾酵素をサイレンシングされるゲノム配列のところへ導く。そしてクロマチン構造がATPを必要とする反応により“再構成”され、続いてメチル化される。その結果、そこに含まれるDNA領域は強く凝縮し、ヘテロクロマチン化が起きる(図2.14参照)。

RNA干渉は生殖系列におけるエピジェネティックな刻印をリセットするのを助ける場合がある ここまで読んでくると、トランスポゾンなどのすでにヘテロクロマチン状態にある遺伝子を、再びサイレンシングするだけのために、なぜ細胞に負担をかけてまで転写してsiRNA経路をはたらかせるのかという疑問をもったかもしれない。DNAやヒストンのメチル化といったエピジェネティックな刻印(epigenetic mark)は、実は生物の生涯のうちで変化しうるものであり、生殖系列では、こうした刻印が、ある一定の状態へと初期化される。この初期化は、エピジェネティックな刻印が世代をおって次第に蓄積していきってしまうことのないようにする一方で、個体の一生においては制御機能を保てるようにしている。植物では、この仕組みは開花を制御する遺伝子において特に重要である(詳細は20章で記述する)。

エピジェネティックな刻印を一定の状態へ初期化することが生殖系列においてどのようになされているのか、分子レベルでの解明はいまだなされていない。しかしながら、シロイヌナズナで最近得られた知見から、トランスポゾンのように通常は抑制されている遺伝因子が、雌雄いずれの配偶体においても、配偶体の中の非配偶子細胞では活性をもつようになるというモデルが示されている。これらの遺伝因子が転写されることで、次世代でもサイレンシングされた状態に保つべき遺伝子に相補的なsiRNAをつくりだすと考えられている。このモデルによれば、非配偶子細胞(雌性配偶体における中央細胞ならびに雄性配偶体における栄養核)で生じたsiRNAは、配偶体の中を生殖細胞(卵と精子)へと移動し、生殖細胞において相補的なDNA配列をメチル化することができるだろう。この過程では、配偶体の中で次世代へ伝達されない非配偶子細胞ではトランスポゾンによる突然変異誘発が増加することで有害な結果をもたらすかもしれないが、一方で生殖系列の細胞では適切なメチル化を維持しているのであろう。

低分子RNAとRNAiはウイルス感染と戦う 植物はmiRNAや内在性siRNAのプロセッシングに加え、RNAi経路をウイルス感染に対する一種の分子免疫反応として用いている(植物のRNAi以外での病原体への防御法については、23章を参照)。植物ウイルスのゲノム構造はきわめて多様であり、ある種の植物ウイルスは二本鎖DNAを植物細胞

に注入するが、植物に感染するウイルスの大多数は一本鎖もしくは二本鎖のRNAをゲノムにもつ。植物はsiRNA経路を使って、ウイルスゲノムに対するsiRNA分子を産生する。ウイルスのsiRNAを産生する仕組みとして、以下の3つの可能性があげられる。(1)ウイルスの一本鎖RNAから二本鎖のヘアピンループを形成することを介したものの、(2)宿主もしくはウイルスのもつRNAポリメラーゼにより相補的なセンス鎖とアンチセンス鎖のウイルスRNA分子が生じることを介したものの、(3)植物のもつRdRPの1つを介したものの、である。二本鎖RNAが植物のグイス様蛋白質に認識されたならば、それがどのようにして生じたのかにはかかわらず、siRNAが産生され、AGOに取り込まれてRISCの構成要素となる(図2.17参照)。ウイルスに由来するsiRNAは植物体においてウイルスRNAを分解し、ウイルスゲノムをメチル化することが可能である[訳注:上記文章ならびに図2.17は、ゲノムがRNAであるウイルスに関する記述とゲノムがDNAであるウイルスに関する記述を含む。メチル化についての記述は後者に関するものであることに留意されたい]。

侵入してきたRNAを21~24塩基のsiRNAに切断する過程において、植物は原形質連絡を介して植物体全体に移動しうる“記憶”分子の集団をつくり、ウイルスが広がる前に植物体を事実上、免疫する。これに対してウイルスは、植物の防御に負けないように、植物のもつsiRNA機構を回避するさまざまな分子経路を進化させてきた。こうした対抗機構としては、RISC形成の阻害、AGOの分解、siRNA分子そのものを間接的に不安定化する、などがある。

コサプレッションはRNAを介したジーンサイレンシング現象である RNAiの発見の端緒となった実験の1つは、外来遺伝子の導入に対する予期せぬ植物の応答であった。1990年代初頭、Richard Jorgensenと彼の共同研究者は、ペチュニアの花における紫色の色素分子を生産する経路の鍵酵素であるカルコン合成酵素をコードする遺伝子を研究していた。彼らはその遺伝子を転写活性が高いプロモーターとつないでペチュニアに導入した。彼らは子孫の花で紫色がより濃くなることを予想していた。ところが驚いたことに、花弁の色が(野生型と同程度の濃さの)紫色から(カルコン合成酵素の発現が増加せずに低下したかのような)完全な白色までの花が観察された。この現象、すなわち余分な遺伝子コピーが導入された際に遺伝子の発現が減少することは、コサプレッション(co-suppression)と呼ばれた。RNAiに関する現在の我々の知識をもってすれば、次のように理解できる。つまり、いくつかの細胞でカルコン合成酵素遺伝子の過剰な発現が、RNA依存性RNAポリメラーゼによる二本鎖RNA分子の産生の引き金を引き、RNAiによる応答を開始させた。この応答が、やがて転写後のジーンサイレンシング(posttranscriptional gene silencing)な

らびにカルコン合成酵素遺伝子の外来および内在性の両方の遺伝子のメチル化を誘導した〔訳注：これらの遺伝子のメチル化が起きる可能性はあるが、花卉の表現型の変化は転写後のジーンサイレンシングが起きることによって十分に説明できる〕。興味深いことに、転写後のサイレンシングはすべての細胞で起きたわけではなく、サイレンシングが起きた細胞からは、花卉に白色になったセクター（扇形の領域）を生じさせた。こう考えれば、なぜいくつかの形質転換ペチュニア植物が紫色と白色の斑入りの花を産生したのかが理解できるだろう。

要約すると、RNAiは、二本鎖RNAが特定の転写産物のサイレンシングを導く転写後の反応を引き起こす過程である。miRNAは細胞質において遺伝子の転写後の制御に関わり、siRNAは核においてヘテロクロマチンを転写不活性化状態に保つのに必要だったり、ウイルスに対する分子免疫応答として機能したりする。

翻訳後の制御は蛋白質の寿命を決める

これまで見てきたように、mRNAの安定性は遺伝子が蛋白質を生産する上で重要な役割をもつ。次に、蛋白質の安定

性と蛋白質の寿命を制御する機構に話を移そう。蛋白質はいったん合成されると、細胞において数分から数時間、あるいは数日といった有限の寿命をもつ。したがって、定常状態での細胞内のある蛋白質の蓄積レベルは、その合成と分解の平衡を反映しており、**ターンオーバー (turnover)** と呼ばれる。植物と動物の両方の細胞において、蛋白質のターンオーバー経路が2つ存在する。1つは特殊化した分解液胞（動物細胞ではリソソームと呼ばれる）におけるもの、もう1つは細胞質におけるものである（1章をあわせて参照）。

蛋白質のターンオーバーの細胞質における経路では、まず、分解される蛋白質に**ユビキチン (ubiquitin)** と呼ばれる76アミノ酸からなる小さなポリペプチドをATPに依存して共有結合させる。1個あるいは多数のユビキチン分子が1つの蛋白質に付加されることは‘ユビキチン化’と呼ばれる。ユビキチン化は、蛋白質に、**26Sプロテアソーム (26S proteasome)** と呼ばれる大きな蛋白質分解複合体においてATPに依存して分解されるための荷札（タグ）をつけるものであり、26Sプロテアソームはこのような“タグ付き”分子を特異的に認識する（**図 2.18**）。真核細胞にお

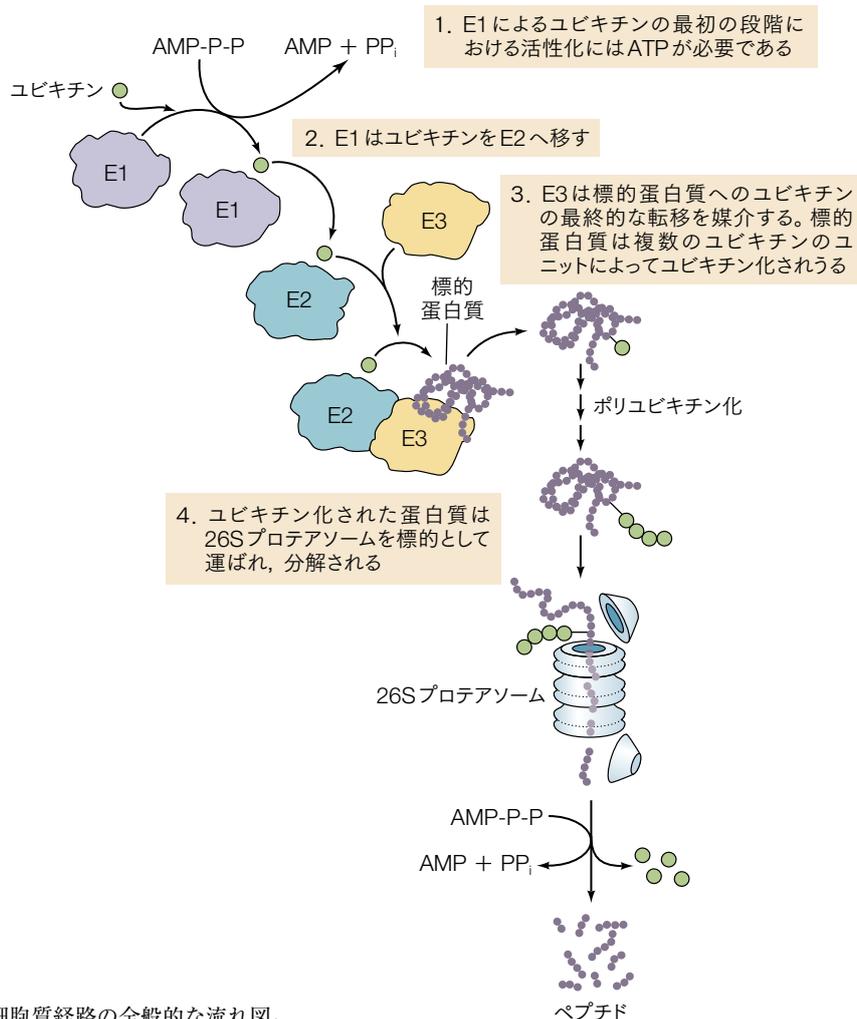


図 2.18 蛋白質分解の細胞質経路の全般的な流れ図。

る短命の蛋白質の90%以上はユビキチン経路によって分解される。

ユビキチン化では、**ユビキチン活性化酵素** (ubiquitin-activating enzyme: **E1**) が ATP に依存してユビキチンの C 末端のアデニル化を触媒するのが最初の反応である。アデニル化されたユビキチンは、第二の酵素である**ユビキチン結合酵素** (ubiquitin-conjugating enzyme: **E2**) のシステイン残基に転移する。分解される蛋白質に第三の蛋白質である**ユビキチンリガーゼ** (ubiquitin ligase: **E3**) が結合し、E2-ユビキチン複合体は、E3 に結合している標的蛋白質のリジン残基にユビキチンを転移させる。この過程が複数回起きればユビキチンは多量体化される。そして、ユビキチン化された蛋白質はプロテアソームの標的となって分解される。

もうわかったかと思うが、特定の蛋白質のターンオーバーを制御するため、標的蛋白質に特異的なユビキチンリガーゼが多数存在する(14章参照)。そして、19章において植物ホルモンであるオーキシンによる発生の制御について記述する際に、この経路の例をより詳細に議論する。

遺伝子機能を解析するツール

DNA の塩基配列に特定の変化をもつ個体は**突然変異体** (mutant) と呼ばれる。突然変異体の解析は、遺伝子の機能を推定したり、遺伝子の染色体上の位置を同定したりする助けとなるもので、きわめて強力な研究ツールである。本節では、どのようにして突然変異体が生み出されるのか、また、遺伝学的解析にどのように用いることができるのかを議論する。また、研究者が遺伝子の発現を研究したり、あるいは操作したりすることを可能にする新しいバイオテクノロジーのツールについても述べる。

突然変異体の解析は遺伝子機能を推定するのに役立つ

本書では、いろいろな生理機能に関与する遺伝子や遺伝的経路について述べるが、それらを理解するのに突然変異体が役立つ。なぜ正常な野生型の遺伝子そのものを解析するよりも、突然変異した遺伝子を解析する方が、遺伝子機能を推定する上でより強力なツールとなるのであろうか？

突然変異体を遺伝子の同定に使うことは、突然変異体が正常な個体と区別できること、また、突然変異体における塩基配列の変化が表現型の変化を生み出しているに違いないということに依存する。野生型の候補遺伝子を突然変異体に導入することで正常な表現型に復帰させられるなら、その遺伝子に生じた突然変異が当初観察された突然変異した表現型の原因であるとわかる。この方法は**相補** (complementation) と呼ばれる。たとえば、ある1つの遺伝子に突然変異をもった植物が野生型と比べて花を咲かすのが遅れると仮定しよう。原因となる遺伝子の塩基配列と

位置を明らかにしたならば、花の発生機構に関する何らかのことを知るができるだろう。野生型の遺伝子と DNA 配列が異なる遺伝子を突然変異体のゲノム中に見いだすことができ、そして、その野生型の遺伝子を突然変異体に移すことで正常な表現型に回復することが示せたならば、その候補遺伝子が開花にはたらいっていることが確信できる。

1920年代、H. J. Muller と L. J. Stadler は、それぞれハエとオオムギを用いて、X線が染色体の安定性に及ぼす効果について独立に実験をおこなった。両者とも、照射した生物に生じた遺伝的な変化を報告した。その後、紫外線もしくは速中性子線の照射や変異原性のある化学物質の利用など、X線照射のほかにも突然変異を誘発する技術が開発された。たとえば、**エチルメタンサルホン酸** (ethyl methanesulfonate: **EMS**) による処理は、ヌクレオチドの塩基 (通常はグアニン) にエチル基を付加する。エチル化されたグアニンはシトシンではなくてチミンと対合する。細胞の DNA 修復機構がエチル化されたグアニンをアデニンに置換し、G/C から A/T への永続的な突然変異が起こる。放射線照射や化学物質による突然変異の誘発は、ゲノム全体にわたってランダムに塩基の変化を誘導する。

突然変異を染色体上にマップし、最終的には変異を起こした遺伝子をクローン化するため、いくつかの方法が開発されている。**Web トピック 2.2** では、マップベースクローニング (map-based cloning) と呼ばれる方法について説明している。この方法は、突然変異体と野生型の植物の交配ならびに子孫における遺伝学的解析を用い、突然変異の位置を染色体上の短い領域に狭め、その後、その領域の塩基配列を解析する方法である。

突然変異誘発の他の方法に、トランスポゾン遺伝子にランダムに挿入させる方法がある。この方法では、実験に使う植物と、トランスポゾンゲノム上の一カ所にもつ植物を交配し、その子孫の中から、トランスポゾンが新たな場所にランダムに挿入したことで引き起こされる突然変異による表現型をもつ株を選抜する。トランスポゾンの塩基配列は既知であるから、これらの突然変異は原因遺伝子に「タグ」が付けられたことになる。そこで、トランスポゾンに隣接した DNA 配列を容易に見つけ出して解析することができ、突然変異を起こした遺伝子を同定することができる。この技術は**トランスポゾンタギング** (transposon tagging) と呼ばれ、これは **Web トピック 2.3** で詳しく説明している。

分子生物学的な手法で遺伝子の活性を測定することができる

解析しようとする遺伝子が同定されたならば、通常、その遺伝子がいつ、どこで発現しているのを知りたくなる。たとえば、ある遺伝子は生殖組織でのみ発現するかもしれない、あるいは栄養組織のみかもしれない。同様に、ある遺

伝子は一般的な細胞の機能（いわゆるハウスキーピング機能）をコードしていて恒常的に発現しているかもしれないし、あるいは、特定の機能をコードしていてホルモンや環境といった特定の刺激に反応した場合のみ発現するのかもしれない。以前は、転写に関する解析（ある時点で、ある遺伝子から産生された mRNA の量を明らかにすること）は、個別の遺伝子ごとにおこなわれてきた。このような解析のために開発されたツールは、ノーザンブロットイング、逆転写 PCR (RT-PCR) もしくは定量的 PCR (qPCR) や、*in situ* ハイブリダイゼーションである。これらの解析技術の利用例は本書の中で見つけることができるだろう。ゲノム全体の DNA 配列が利用できるようになったことにより、2つの新たな方法が RNA 解析技術のツールボックスに加えられた。マイクロアレイ解析 (microarray analysis) と高効率 (high-throughput) な RNA シーケンシング (RNA sequencing: RNA-seq) 法である。両方の技術とも、あるサンプルのトランスクリプトーム (transcriptome)、すなわち、ある時点において転写されている遺伝子の総体を解析することを可能にした。マイクロアレイ技術に関しては、**Web トピック 2.4** でより詳しく知ることができる。

RNA-seq 法は、要するにトランスクリプトームの塩基配列の解析であり、この技術はサンプル中のあらゆる mRNA 分子の塩基配列を解析し、各遺伝子の mRNA の分子数を数え、それぞれの mRNA の量を異なるサンプル間で比較するというものである (図 2.19)。これをおこなうためには、まず、mRNA を逆転写して相補的 DNA (cDNA) の集団を作製して各 cDNA 分子の塩基配列を解析する。塩基配列の解析のためにはすでにいくつかの方法が開発されている。各 cDNA の塩基配列情報を“リード (read)”と呼ぶが、

あるサンプルにおいて他のサンプルよりもより高いレベルで発現している遺伝子は、より多くの mRNA 分子を産生しているから、より多くの cDNA 分子が得られ、したがってより多くのリードが得られることになる。2つのサンプルの間で効率よく mRNA 量を比較するためには、その生物のゲノムの塩基配列情報、少なくともそのゲノムの転写されている領域に相当する塩基配列 (トランスクリプトーム) の情報をもっていないとてはならない。比較する2つの mRNA サンプルからのリードは、この“参照ゲノム”の配列との対応づけをおこない、続いてコンピュータによる解析および統計的な解析を用いることで、あるサンプルに見られたリードの数と他のサンプルに見られたリードの数が異なるか否かを調べることになる。塩基配列解析に要する費用が急速に安くなっていることに伴い、RNA-seq 法はゲノム全域にわたる転写解析の方法として、広く使われるようになってきている。

現在のところ、どの遺伝子についても蛋白質の量の測定は RNA の量の測定よりもはるかに手間がかかる。ある遺伝子の転写活性は蛋白質量の比較的良好な指標ではあるが、RNA 量と蛋白質量は直線的な関係にあるとは限らない。ゲノム全域にわたる蛋白質の解析は依然として労力を要し費用もかかるが、質量分析などの技術が洗練されてきており、発現している蛋白質の総体を解析するために使用されている。この手法はプロテオーム (proteome) と呼ばれる。トランスクリプトームに関する研究がトランスクリプトミクス (transcriptomics) と呼ばれるのと同様に、プロテオームに関する研究はプロテオミクス (proteomics) と呼ばれる。技術革新により、現在では、一度に1つの分子を解析するのではなく、トランスクリプトームやプロテオームに

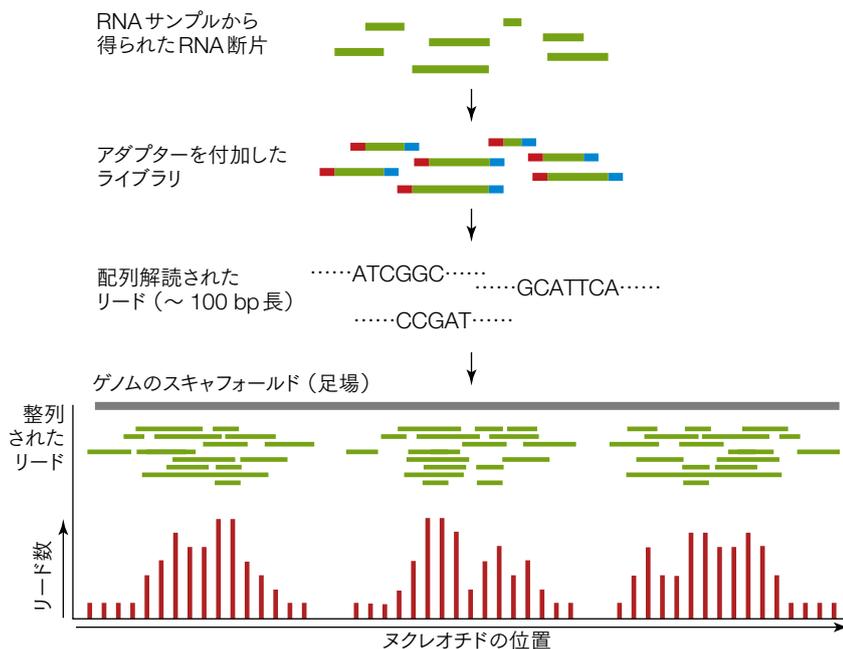


図 2.19 遺伝子発現の RNA-seq 法による解析作業の流れ。RNA 断片は逆転写され、それにより生じた cDNA 断片はアダプターとライゲーションされ、塩基配列解析に用いられる。それぞれの配列はコンピュータ解析により、その生物の既知のゲノム配列と並べられる。コード領域あたりの RNA 断片 (リード) の数が多ければ多いほど、その遺伝子の発現量は多い。

限らず、ある生物の多くの特徴を全体的に研究することが可能になっている。このような包括的な解析は、しばしば‘オミクス’解析と呼ばれる。たとえば、生理的な経路のすべての代謝物 (metabolites) を研究することはメタボロミクス (metabolomics) と呼ばれ、ある細胞のゲノムのすべてのエピジェネティックな修飾を調べることはエピゲノミクス (epigenomics) と呼ばれる。

レポーター遺伝子を用いた融合遺伝子が利用される

突然変異を起こした遺伝子を同定することで、その遺伝子のゲノム中での位置や、その機能が植物の表現型にどのように関わっているかがわかる。遺伝子の塩基配列だけでなく、遺伝子の構造を他の既知の遺伝子と比較することにより、その遺伝子の細胞における機能を推定することができる。たとえば、ドメイン (domain) と呼ばれる遺伝子の中のある領域が、キナーゼ、ホスファターゼあるいは膜受容体をコードするような遺伝子のファミリーに見られるドメインと類似性を有しているかもしれない。しかしながら、塩基配列情報だけでは、その遺伝子の細胞における機能についての直接的な証拠は得られないし、また、植物体のどこで、あるいはどのような条件でその遺伝子が活性化されるのかということもわからない。

遺伝子がいつ、どこで発現するのかを知る一つの方法は、上記のいずれかの方法により mRNA 量を測定することである。別の方法として、融合遺伝子を作製する方法がある。融合遺伝子 (gene fusion) は解析対象の遺伝子の一部分、たとえば、プロモーターと他の遺伝子を結合させた人工的な遺伝子である。このような融合遺伝子の作製には、検出が容易な蛋白質を産生するレポーター遺伝子 (reporter gene) と呼ばれる遺伝子が用いられる。レポーター遺伝子の一つ

は緑色蛍光蛋白質 (green fluorescent protein : GFP) の遺伝子であり、これは蛍光顕微鏡で観察可能な蛍光を発する蛋白質を産生するので植物体や細胞を生きたまま調べることができる (たとえば、図 19.18B 参照)。すべての遺伝子が常に植物体のすべての細胞で転写されているとは限らないということを思い起こしてほしい。遺伝子の発現は転写因子によって制御されており、遺伝子の活性をきめ細かく調整して遺伝子が必要なところで必要なときにだけ転写されるようにしているからである。プロモーター-GFP の融合遺伝子をすべての細胞がもっている植物では、GFP 遺伝子に結合したプロモーターがふだんから発現している細胞においてのみ GFP 遺伝子が発現する。別の言い方をすれば、緑色蛍光は、解析している遺伝子が発現しているなら、いつでも、どこでも検出することができる。他の頻繁に用いられるレポーター遺伝子は β -グルクロニダーゼ (β -glucuronidase) 遺伝子であり、これは通常、GUS 遺伝子と呼ばれる。GUS レポーター系は可視化するために蛍光を必要としないが、この系の欠点は β -グルクロニダーゼを可視化するために組織をはじめに固定し (つまり、殺し)、続いて基質溶液に浸さなくてはならないことである。こうすることで、GUS 遺伝子を発現している組織は青色に染まる (例として図 19.24 を参照)。

アグロバクテリウムを用いた植物の形質転換

レポーター遺伝子や相補性試験のために植物を形質転換するのに、植物の病原菌であるアグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens*) [訳注：近年の研究により、*Rhizobium radiobacter* (リゾビウム属) に分類学上の位置づけが変更された。しかしながら「アグロバクテリウム」と呼び習わされているので、本書でもアグロバクテリウムと呼

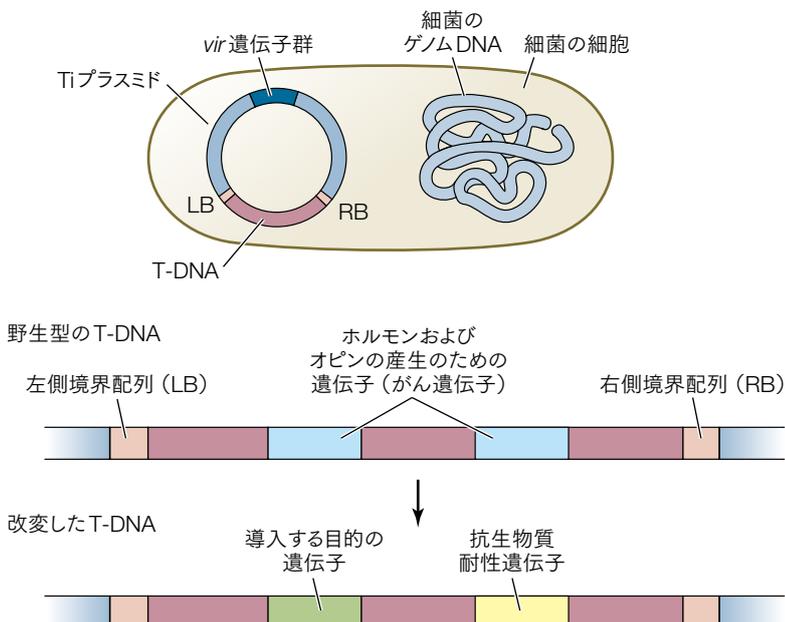


図 2.20 アグロバクテリウムの腫瘍誘導性 (tumor-inducing) Ti プラスミド。Ti プラスミドは細菌の細胞がもつ環状の染色体外 DNA である。このプラスミドの一部である転移 DNA (T-DNA) 領域は、感染した植物に転移し、植物の核ゲノムに挿入される。Ti プラスミドの別の場所に位置している病原 (vir) 遺伝子は T-DNA の転移の開始に必要な不可欠である。野生型の Ti プラスミドの T-DNA は、植物ホルモンや非蛋白質性アミノ酸 (オピン) の産生に関与する遺伝子をもつ。アグロバクテリウムが植物の形質転換に用いられる際には、ホルモンやオピンの遺伝子は除かれ、導入目的の遺伝子に置き換えられる。抗生物質耐性を付与する遺伝子のような選抜用のマーカー遺伝子も同時に T-DNA に組み込まれることが多い。

ぶ]が利用される。この細菌は感染した植物に成長ホルモンを過剰に生産させ、その結果、クラウンゴール (crown gall) と呼ばれる腫瘍をつくらせる (図 15.11B 参照)。クラウンゴール病は、果樹などの農作物には深刻な問題であり、収量を減少させたり、植物体全体の健康を損なったりする。

アグロバクテリウムは自身もつ遺伝子の一部を用いて植物細胞を形質転換する能力をもつことから、自然の遺伝子操作技師とも呼ばれる。植物のゲノム中に転移される遺伝子は、Ti プラスミド (tumor-inducing plasmid) と呼ばれる、環状の染色体外 DNA の一部である (図 2.20)。Ti プラスミドは多数の病原性 (virulence: *vir*) 遺伝子と T-DNA (transfer DNA) と呼ばれる領域をもっている。*vir* 遺伝子群は T-DNA を植物細胞に転移させるのに必要である。いったん転移すると、T-DNA は植物の核ゲノムにランダムに挿入される。T-DNA には次の 2 つの機能のための遺伝子が乗っている。1 つはアグロバクテリウムの居場所となるクラウンゴールを誘導する。もう 1 つはこの細菌が代謝のエネルギー源として使う 'オピシン (オパイン)' と呼ばれる非蛋白質性のアミノ酸を生産する。アグロバクテリウムによる植物細胞の形質転換の各段階の概略を図 2.21 に示す。また、形質転換機構のより詳細にわたる記述は Web トピック 2.5 で見ることができる。

アグロバクテリウムはもともと植物の病原菌であるが、どのようにしてバイオテクノロジーのツールとして有用になりえたのだろうか？ アグロバクテリウムが実験室で使われる際には、改変した Ti プラスミドをもつ系統が用いられる。この改変 Ti プラスミドでは植物ホルモンやオピシンの遺伝子が T-DNA から除かれており、たいていは抗生物質耐性を付与する遺伝子が選択マーカー遺伝子として入れられている。これに植物に導入する遺伝子を入れ、改変 Ti プラスミドをアグロバクテリウムに導入する (図 2.20 参照)。T-DNA の中に入れられた遺伝子は、どのような遺伝子でも、このアグロバクテリウムが感染した植物細胞に転移される。形質転換された細胞だけが抗生物質の存在下で増殖できるので、形質転換された細胞を容易に選抜することができる。

改変したアグロバクテリウムはいくつかの方法によって植物に感染させることができる。葉の小片を植物体から切り取ってアグロバクテリウムの懸濁液と共培養し、その後、植物細胞を洗浄して組織培養のための培地上で培養する。植物ホルモンのオーキシンとサイトカイニンを用いて、それぞれ、培養組織から根とシュートを生じさせる。この技術により、やがて成長した植物体が形づくられる。シロイヌナズナを含むいくつかの植物では形質転換が容易であり、花をアグロバクテリウムの懸濁液に浸漬するだけで形質転

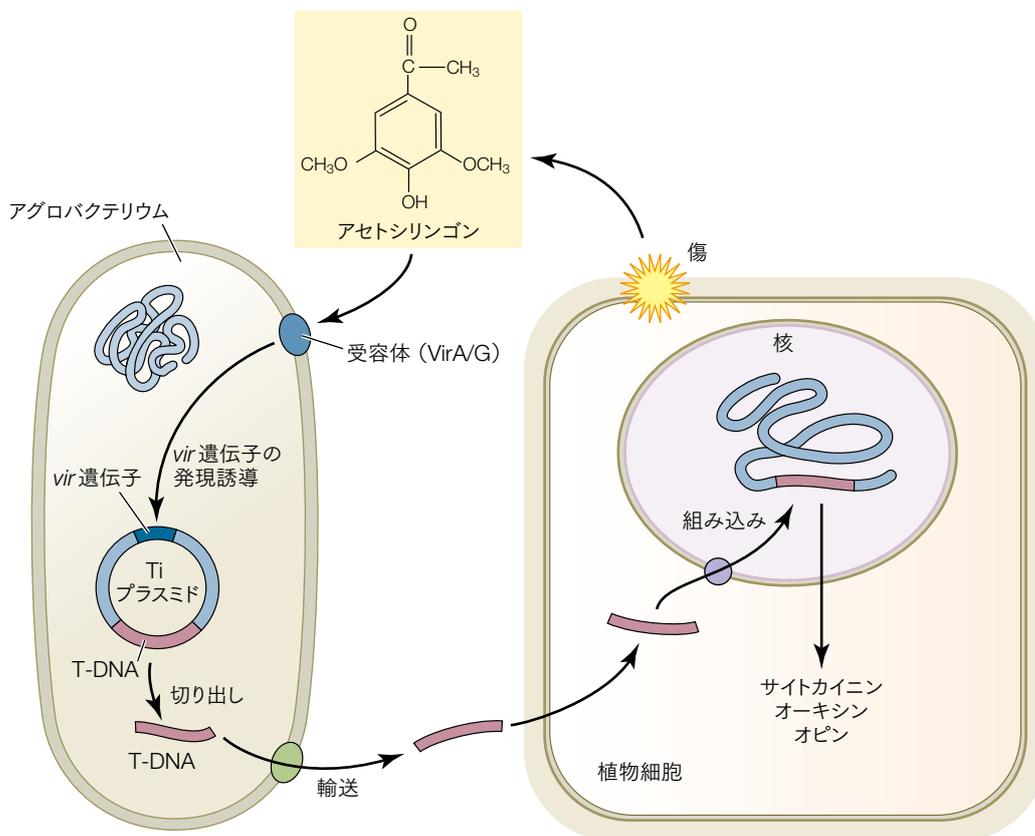


図 2.21 アグロバクテリウムの植物細胞への感染。



21

配偶体, 受粉, 種子, 果実

17世紀後半に植物の有性生殖が発見されるまでは、種子は無性的な、芽の形成に似た栄養繁殖の過程でつくられると考えられていた。18世紀中頃になると、受精における受粉の役割が実験的に示され、19世紀までには植物の生活環の独特な様子が認識されはじめるようになった。植物と動物の有性生殖の最も大きな違いは、植物の生活環には、雄性配偶体および雌性配偶体と呼ばれる、2つの完全に独立した単相世代の個体が存在することである。厳密に言えば、花自体は生殖の組織ではない。花は雌雄の配偶体を含み、両配偶体が被子植物の真の生殖の組織をつくる。

本章では、植物の生活環の概要と、それが単純な藻類の様式から被子植物の様式へと、どのように進化したのかについてまず考える。次に、雌雄の配偶体がそれぞれの配偶子をつくる発生過程について考える。植物は自ら移動しないので、受粉や受精の過程は、風や昆虫などの運搬役に依存する。これから見ていくように、植物のこの過程は完全に受け身というわけではなく、他殖を促進するための形態的および生化学的な、複雑な仕組みを進化させてきた。生殖の過程の最終段階は種子と果実の発達である。種子と果実は胚を守り、胚に適切な養分を与える。胚はこれらの養分をもとにして発芽し、新しい芽生えとして確立する。

雌雄の配偶体世代の発生

植物の生活環は二倍体 ($2N$) の‘孢子体世代’と一倍体 ($1N$) の‘配偶体世代’という、2つの独立した多細胞世代からなる点で、基本的に動物の生活環とは異なる (1章参照)。植物の生活環が2つの遺伝的に異なる多細胞体の発生段階

からなることを、世代交代 (alternation of generations) という。世代交代は、雄ずい (雄ずい群) と心皮 (雌ずい群) という、花の雌雄の生殖器官でおこなわれる。

世代交代の有無により、植物と動物の生活環には減数分裂で生じる細胞の運命に大きな差がある。動物では、減数分裂で生じた一倍体の細胞は、精子や卵と呼ばれる配偶子に直接分化する。これに対して植物では、減数分裂で生じた一倍体の細胞は、小孢子 (雄) や大孢子 (雌) と呼ばれる胞子に分化する (図 21.1) (減数分裂の概説については2章参照)。小孢子と大孢子は有糸分裂をおこない、‘雄性配偶体 (小配偶体)’と‘雌性配偶体 (大配偶体)’と呼ばれる一倍体の個体をつくる。雄性配偶子は雄ずいの葯の中につくられ、雌性配偶体は胚珠の中につくられる。成熟するにつれて、雌雄配偶体の特殊化した細胞が有糸分裂により分裂し、配偶子である精細胞や卵細胞をつくる。植物の生活環に一倍体の配偶体世代が存在することは、植物の配偶子は減数分裂ではなく、体細胞分裂によりつくられることを意味している。

最終段階の受精では、卵細胞と2つの精細胞のうちの1つが生殖融合、つまり‘シンガミー’をおこない、次の胞子体世代の最初の段階である $2N$ の‘受精卵’をつくる。これに加えて、後ほど本章で考えるように、被子植物ではユニークな様式の配偶子融合が起こる。すなわち、2つ目の精細胞が雌性配偶体内の二倍体の‘中央細胞’と融合して、三倍体の‘一次胚乳細胞’をつくり、それが養分に富む種子の胚乳組織になるのである。被子植物に特徴的な、この2つの精細胞が受精に関わる受精様式は、‘重複受精’と呼ばれる。

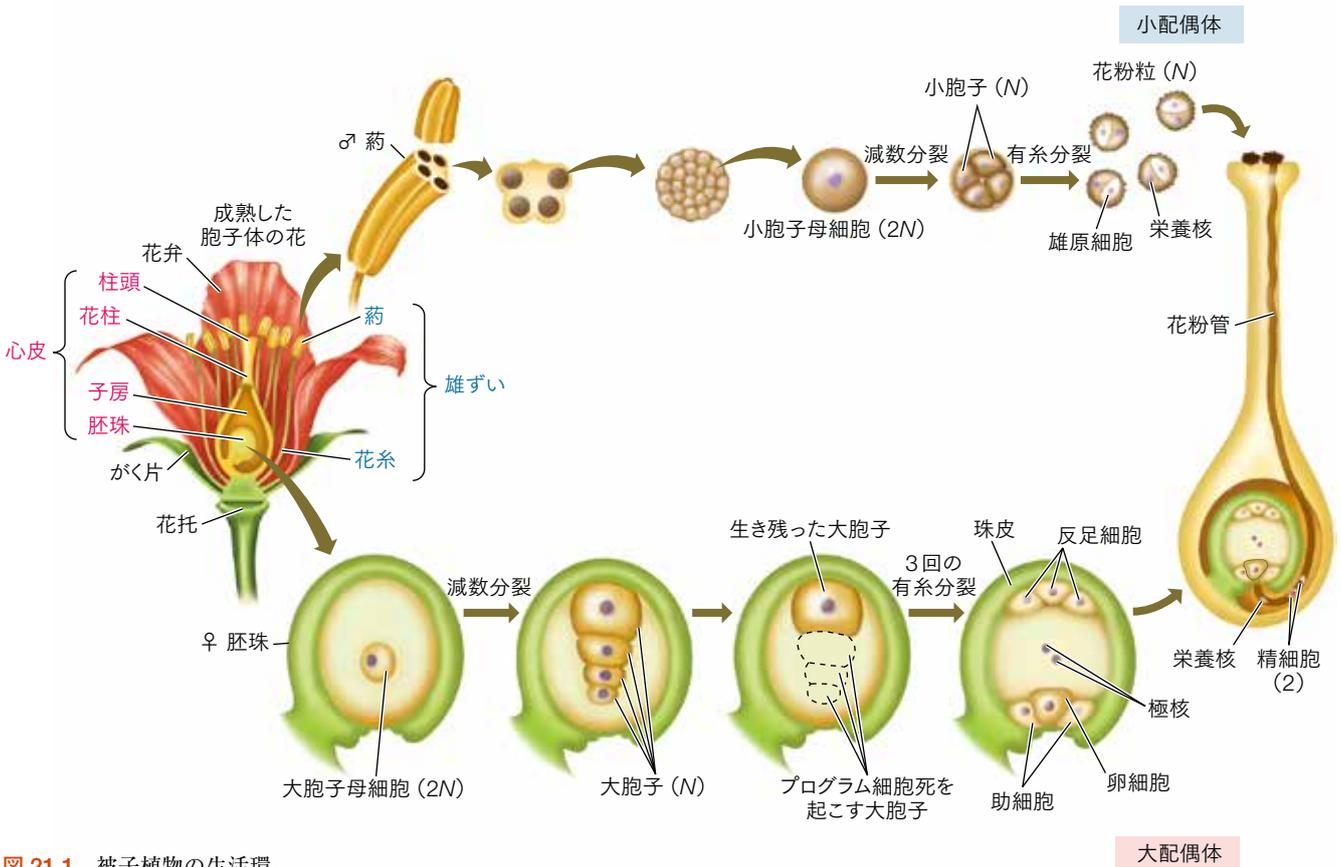


図 21.1 被子植物の生活環。

陸上植物の系統発生によれば、植物の生活環は、親植物から独立して自由生活する一倍体の配偶体が中心の発生様式から、自由生活の二倍体の孢子体が中心の発生様式へと進化した。植物の二倍体性の進化に関する議論については [Web トピック 21.1](#) を参照。

雄ずい内の雄性配偶体形成

雄性配偶体は花の雄ずい内で形成される。多くの場合、4つの小孢子嚢が2つずつ対になり、向かい合うように並んで葯を形成し、これに細い花糸が付いて、雄ずいが形成されている (図 21.2A)。小孢子嚢の各対は、雄ずいの中心部で維管束を取り囲んでいる体細胞組織によって仕切られている。

小孢子嚢の詳細な発生過程は、植物種によって異なる。シロイヌナズナでは、成熟した葯は孢原細胞 (archesporial cell) を内包している。孢原細胞は、4種の体細胞性の細胞層である表皮、内被、中間層、タペート組織に囲まれており、最終的には減数分裂をおこなう。これらの細胞層は、花芽分裂組織の表層の3つの層 (L1, L2, L3層) に由来する。図 21.2B に示すように、L1層は表皮を、L2層は内側3層の細胞層と孢原細胞とを、それぞれ形成する。孢原細胞を含む中心部は葯室 (locule) と呼ばれる。

花粉は2つの連続した過程により形成される

雄性配偶体である花粉の発達は、小孢子形成と小配偶子形成の2つの過程に分けられる。小孢子形成 (microsporogenesis) の過程では、葯室内の孢原細胞が小孢子母細胞 (microsporocyte) に分化する。小孢子母細胞は花粉母細胞 (pollen mother cell) とも呼ばれる細胞で、減数分裂により小孢子を形成する二倍体の細胞である (図 21.3A)。小孢子母細胞は減数分裂をおこない、半数体の小孢子 (microspore) からなる四分子を形成する。この四分子は、(1,3)-β-グルカンであるカロースを主成分とする細胞壁により互いに接着している。タペート組織 (tapetum) は、葯室を取り囲む一層の分泌細胞であり、このタペート組織が、加水分解酵素であるカロース分解酵素や他の細胞壁分解酵素を葯室へと分泌する。これにより細胞壁が部分的に分解されて、四分子が各小孢子へと遊離する (図 21.3A 参照)。虫媒植物の中には、ギョリュウモドキ (*Calluna vulgaris*) のように花粉が四分子のまま送粉されるものや、アカシア属 (*Acacia*) のように多集粒 (polyad) と呼ばれるような、さらに多くの花粉粒が集合しているものもある。野生型のシロイヌナズナは個々の小孢子を形成するが、*quartet* (*qrt*) 変異体では四分子の分離が阻害される。それにもかかわらず、*qrt* 変異体の花粉粒は正常に発達して稔性もある。

小孢子が1つずつ分離しているにせよ、四分子や多集粒

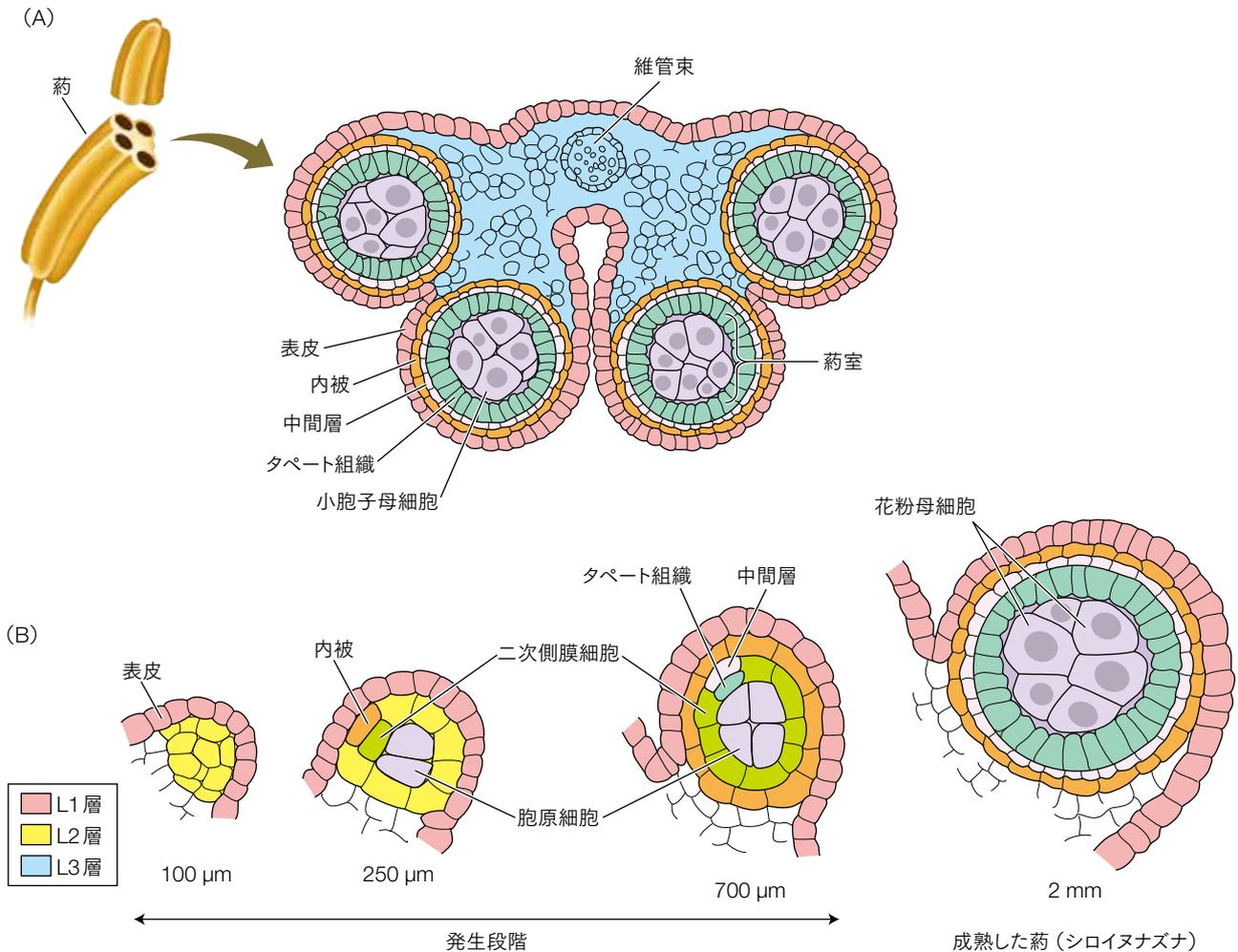


図 21.2 葯の構造と発達。(A) 葯の横断面。4つの小孢子嚢を示す。(B) シロイヌナズナの成熟した葯の発達過程。細胞型の違いを色の違いで表す。胞原細胞(紫色)は花粉母細胞(小孢子母細胞)へと分化する。花粉母細胞は減数分裂をおこない、小孢子を形成する。

のように接着しているにせよ、葯室内で小孢子が形成されると、小配偶体の発生過程における小孢子形成の段階は完了する。第二の段階は雄性配偶子の形成、すなわち**小配偶子形成 (microgametogenesis)**である。

小配偶子は、半数体の小孢子が有糸分裂を伴って発達することで、**栄養細胞 (vegetative cell, 花粉管細胞 tube cell ともいう)**と2つの精細胞から構成される、成熟した雄性配偶体へと発生する(図 21.3B)。一度目の花粉有糸分裂に先立ち、細胞壁合成や巨大液胞の形成を伴う小孢子的膨張が起こる。同時に、小孢子的核が細胞壁側へと移動し、**‘極性化した小孢子 (polarized microspore)’**が形成される。そして、極性化した小孢子は極端な非対称分裂を起こし(花粉有糸第一分裂)、大きな**栄養細胞**と小さな**‘雄原細胞 (generative cell, 雄性生殖細胞 male germ cell ともいう)’**を形成する。はじめは、雄原細胞は小孢子的細胞壁に付着したままで、半球状のカロース壁で覆われている。カロース壁により雄原細胞は**栄養細胞とは仕切られている**。

このカロース壁が崩壊して雄原細胞が**栄養細胞**に取り込まれることで、花粉特有の解剖学的構造を形成する。すなわち、細胞の中に細胞が存在するようになる(二細胞期)。取り込まれた雄原細胞は、細長い形状あるいは紡錘形となる。このことは、急速に伸長する花粉管の中で雄原細胞がダイナミックな原形質流動により移動することを助けているのかもしれない。成熟過程において花粉は、その後急速に起こる花粉管の発芽・伸長に必要とされる活発な代謝を維持するため、炭水化物や脂質を蓄積する。この段階になると、通常、花粉は葯壁が裂開(開口)することにより放出される。そして、花粉が柱頭に受粉して花粉管が発芽した後に、雄原細胞が分裂して2つの精細胞を形成する(花粉有糸第二分裂)。しかし多くの植物では、雄原細胞がまだ葯の中にある状態で花粉有糸第二分裂をおこなう(三細胞期)。どちらの場合についても、2つの精細胞の形成は小配偶子形成の完了を意味する。

植物種によっては、シロイヌナズナのようにタペト細