

陸上植物の中心体と鞭毛

嶋村正樹

広島大学大学院理学研究科生物科学専攻

〒739-8526 東広島市鏡山1-3-1

Masaki Shimamura

Centrosomes and flagella in land plants

Key words: basal body, centriole, centrosome, flagella, land plants

Department of Biology, Graduate School of Science, Hiroshima University

Kagamiyama 1-3-1, Higashi-Hiroshima 739-8526, Japan

DOI: 10.24480/bsj-review.9c8.00147

1. はじめに

植物細胞の特徴として、葉緑体と細胞壁を持つことに加え、動物細胞でみられるような中心体 (centrosome) を持たないことがあげられる。動物細胞における中心体は細胞周期を通じて細胞内の主要な微小管形成中心である。細胞分裂期においては、紡錘体極に位置し、紡錘体微小管の形成、核分裂軸、細胞質分裂面決定に重要な役割を果たす。これに対し植物細胞は恒常的な微小管形成中心を持たず、紡錘体は1点に収束しない分散した極を持つ(Smirnova & Bajer 1992; Wasteneys 2002)。しかし、厳密に言えば、中心体がないことは被子植物の細胞の特徴であり、緑色植物の大部分(緑藻類, 車軸藻類, コケ・シダ植物, 一部の裸子植物)では中心体やそれに類似の構造が知られている。また、中心体の有無は、鞭毛を備えた遊泳性の細胞の有無とよく相関している。陸上植物のうちコケ植物とヒカゲノカズラ類の精子はほとんどの場合2本の鞭毛をもつ。大葉シダ類と一部の裸子植物(イチョウ綱・ソテツ綱)では精子は数十~数万本の鞭毛をもつ(図1)。これらの植物では、内部に中心小体(centriole)を備えた中心体やそれに類似の構造が、精子形成過程で細胞内に一過的に出現し、内部の中心小体が鞭毛基部の基底小体(basal body)へと変化する。一方、精細胞が花粉管を通じて直接卵細胞に送り届けられる現生の種子植物では、精細胞は中心小体も鞭毛も持たない。

植物における中心体、鞭毛に関する研究は、植物の生殖様式の進化、陸上植物特有の微小管系の起源・多様化・中心体の消失を考える上で重要な情報を提供すると考えられる。本総説では、植物における中心体の定義、中心小体、基底小体、鞭毛、スプラインなど、陸上植物の遊泳性精子の微小管系について、研究史と最近の知見についてまとめた。

2. 中心体とは何か

中心体は、微小管から構成された一対の中心小体(中心粒, centrioles)とその周囲を取り囲む不定形の中心体周辺物質(pericentriolar material: PCM)からなる構造である。内部の中心小体は9本の短い3連微小管が回転対称に並んだ直径約200 nmの柱状の構造体である。典型的な動物細胞では2つの中心小体はリンカータンパク質で連結されており、互いに直交する方向に配置する。

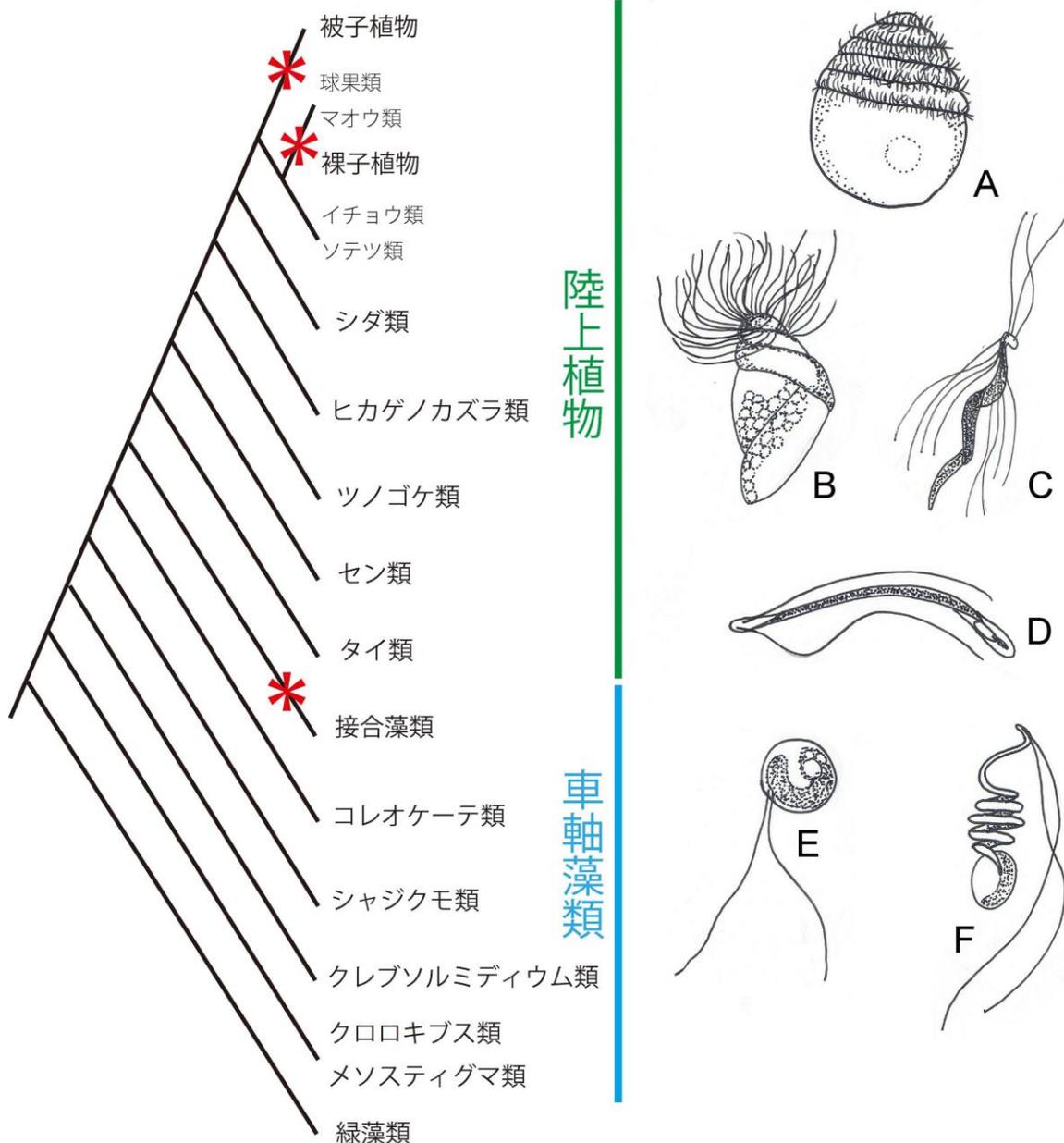


図1. ストレプト植物の系統関係(左図)と精子の形態(A~F)。系統樹中の星印は鞭毛・繊毛をもたない系統群を示す。接合藻類に加え、裸子植物と被子植物の系統基部で鞭毛・繊毛の消失が独立におきたと考えられる。A: ザミア(裸子植物)の精子。B: スギナ(シダ類)の精子。C: ミズニラ(ヒカゲノカズラ類)の精子。D: スギゴケ(セン類)の精子。E: コレオケーテの遊走子。F: シャジクモの精子。Hodges et al. 2012, 湯浅 1969 を改変写。

そのような中心小体は細胞分裂時に半保存的複製され、娘細胞に一對ずつ配分され、鞭毛・繊毛など、微小管を軸系としてもつ突起構造が形成される際には、それらの形成起点である基底小体へと変化する。中心小体を取り巻く、多数のタンパク質からなるPCMでは、 γ チューブリンリング複合体(γ -tubulin ring complex: γ -TuRC)が微小管の重合核として機能し、分裂間期の細胞質内の微小管網や分裂期の紡錘体などが中心体を起点として構築される。つまり、中心体は構造的に二重性(中心小体・PCM)があるだけでなく、機能的(基底小体形成・細胞質微小管形成)にも二重性がみとめられる。陸上植物の中心小体は、精子形成時のみ一過的に出現し、鞭毛の基底小

体となるため、生活環を通じて紡錘体形成に必須の構造ではないことは明らかである。実は中心小体は、様々な動物においても紡錘体の形成自体には必須でないことが示されている。昆虫の精子形成時には、中心小体が鞭毛を生じた基底小体へと変わった後に、紡錘体が形成され、その極には中心小体がないことが観察されている (Yamashiki & Kawamura 1998)。ほ乳類培養細胞において実験的に中心小体の除去を行った場合 (Khodjakov et al. 2000)、中心小体の複製を阻害した場合 (Basto et al. 2006) などでも、二極性の機能的な紡錘体が形成される。ただし、動物細胞では紡錘体の形成位置が細胞質分裂面の位置を規定するため、中心体の存在は正確な細胞質分裂面の決定に重要である (Rappaport 1986)。一方、陸上植物の細胞では、紡錘体の形成位置は細胞質分裂面の決定にあまり重要ではなく、核分裂の前に、分裂準備微小管帯 (preprophase band of microtubule; PPB) の形成位置によって決定される (Mineyuki 1999)。

構造と機能の二重性を備えた、中心小体を含む中心体の存在は、真核生物全般で保存的といえるが、いくつかの系統群では進化の過程を通じて、中心小体は完全に失われている。真菌類では子囊菌や担子菌といった主要分類群が分岐する以前に中心小体が生活環から失われている。その代わりに酵母菌の Spindle Pole Body (SPB) に代表される、核膜上に存在し中心小体をもたない微小管重合中心が知られている (Celio et al. 2006)。光合成生物では、すべての紅藻類、一部の緑色植物は生活環を通じて中心小体をもたない。このことは、それらの生物が遊泳性の細胞をもたないことと対応している (Yubuki & Leander 2013)。中心小体が様々な系統群で失われた一方で、 γ -チューブリンを含むタンパク質複合体は、すべての真核生物で微小管重合中心として機能していると考えられる (Farache et al. 2018)。中心体 (中心小体) をもたない植物では、 γ -チューブリンを含むタンパク質複合体が既存の微小管上に配置し、そこから新たな微小管が形成されることが紡錘体形成に重要な役割を担っていると考えられている (Murata et al. 2007; Hotta et al. 2012)。

中心小体は、既存の中心小体の半保存的複製によって細胞内に常に 1 対以上の数が維持されるのが普通であるが、*de novo* に出現 (新生) することもある。陸上植物では有鞭毛の精子形成時のみ、精子の鞭毛数に応じた数が一過的に出現し、栄養組織の細胞分裂に関与することはない。扁形動物などでも繊毛の形成時のみ中心小体が出現する例がある (Azimzadeh et al. 2012)。脊椎動物でも、実験的に細胞質中の中心小体の除去や破壊を行うと、既存の中心小体の存在に依存せず、新たに中心小体が形成される。多細胞動物では、多数の繊毛をもつ細胞が分化する際に、多くの中心小体が球状の電子密度の高い構造の内部で形成されることが観察されており、この構造は中心体とは区別してデューテロソーム (deuterosome) とよばれている。一般に、デューテロソームは中心体と異なり、中心小体の複製を経ず新生的に形成されることが考えられている (Sorokin 1968; Zhao et al. 2013)、多数の中心小体が既存の 1 つの中心小体の複製に由来するという報告もある (Al Jord 2014)。

電子顕微鏡観察が発達する以前から、コケ・シダ・裸子植物の精母細胞の分裂極には星状体構造が現れ、内部の強染色性の構造がのちに、鞭毛の基部に位置するようにみえることが観察されていた。この星状体構造は、細胞内に常時存在する動物細胞の中心体とは区別して「生毛体」 (blepharoplast) と呼ばれてきた (Webber 1901; Ikeno 1905; Lepper 1956; 湯浅 1969)。現在は電子顕微鏡による観察から、生毛体の内部に、精細胞で形成される鞭毛の数に応じた数の中心小体が存在することが分かっており、生毛体は中心体と相同の構造とみなされている (Mizukami et

al.1966)。ただし、現在もシダ植物や裸子植物でみられる多数の中心小体を持った球状の微小管形成中心は、中心体ではなく生毛体（ブレファロプラスト）とよばれることが多い（図 2D）。コケ植物の精子形成時の球状の微小管形成中心は他の真核生物の中心体と同様に 1 対の中心小体のみ生じるため、中心体とよばれることが多い（図 2B）。

以上のように、構造・機能の二重性のため「中心体」の定義は難しい面があり、動物細胞でも中心体の存在様式には様々なものがある。Mazia (1984, 1987)のように、中心小体の有無ではなく、中心体の微小管形成中心としての機能を重要視し、被子植物で典型的にみられる分散した紡錘体極さえも「中心体」(flexible centrosome)と解釈する考え方もある。本稿では、陸上植物において、内部に 1 対の中心小体をもつ構造を「中心体」とよぶこととする。1 対以上の中心小体を持つ、機能的に相同な構造は「生毛体」とよぶ。中心体、あるいは生毛体は陸上植物では、コケ植物、シダ植物、裸子植物（イチョウ綱，ソテツ綱）に限って存在する。

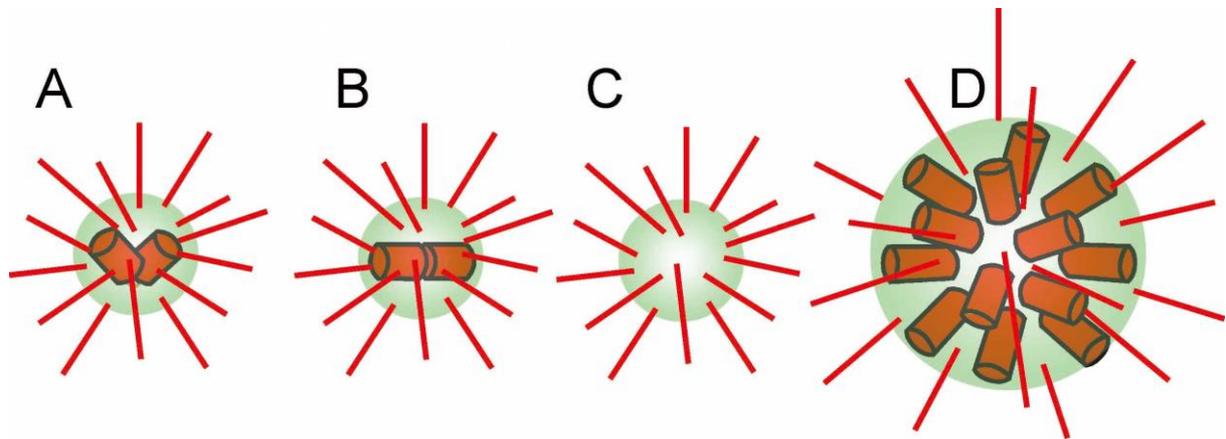


図 2. 緑色植物でみられる中心体やそれに類似した構造。A. 直交する一対の中心小体を含む中心体（緑藻類）。B. 直列二中心小体を含む中心体（シャジクモ・コケ・ヒカゲノカズラ類）。C. 中心小体を含まない極形成体（コケ植物タイ類）。D. 多数の中心小体を含む生毛体（シダ類・裸子植物）。

3. 鞭毛とは何か

鞭毛 (flagellum) については、原核生物と真核生物で類似の機能を持つ、全く異なるオルガネラに対し、同じ名称が使われている。細菌類の鞭毛がフラジェリンタンパク質からなり、基部で鞭毛自身が回転するのに対し、真核生物の鞭毛では微小管からなる鞭毛軸糸 (axoneme) がそれを連結するダイニンとの相互作用により屈曲する。真核生物では電子顕微鏡による観察技術が発達する以前から、遊泳の駆動力や周囲への水流を作り出す、単独あるいは複数の突起構造について、数、長さ、機能や動きの違いに基づいて、鞭毛 (flagellum, pl. flagella) と繊毛 (cilium, pl. cilia) という用語が使い分けられてきた。flagellum と cilium はそれぞれ語源が whips (鞭) と eyelashes (まつ毛) であり、数が少なく細胞に比して長い場合には「鞭毛」、多数存在し細胞に比して短い場合には「繊毛」と使い分けることも多い。ただし、真核生物の鞭毛と繊毛について、電子顕微鏡レベルでの断面の微細構造に両者の明確な区別点は認められない。動きの違いについても、鞭毛運動と繊毛運動に大別されてきたが、実際には、生物ごとに独特な動きがあり、明確に分けることはできない。用語の混乱をさけるため、真核生物の鞭毛には繊毛とともに原核生物とは別の用語 (undulipodium など) をあてるべき (Margulis 1980 など) との意見もある。また、真核生物の鞭毛・

繊毛を区別せず「シリア」(cilium, cilia)と表記している例も多い。本稿では、Renzaglia & Garbary (2001)などに倣って、陸上植物の同様の構造は、多数ある場合でも「鞭毛」が多数化したものと解釈し、すべて「鞭毛」(flagellum, pl. flagella)と表記する。

真核生物の鞭毛の断面を電子顕微鏡で観察すると、9本の2連微小管が2本の微小管を取り囲んでいる特徴的な構造が観察できる(9+2構造)(図3右側)。このような微小管からなる軸糸構造の本数や配向は幅広い生物群でよく保存されている。鞭毛の進化的起源として、スピロヘータ様の共通生物が真核生物の祖先に共生したとの考え方(Sagan 1967)があるが、葉緑体・ミトコンドリアの共生起源説と比べて広く支持されているとはいえない。

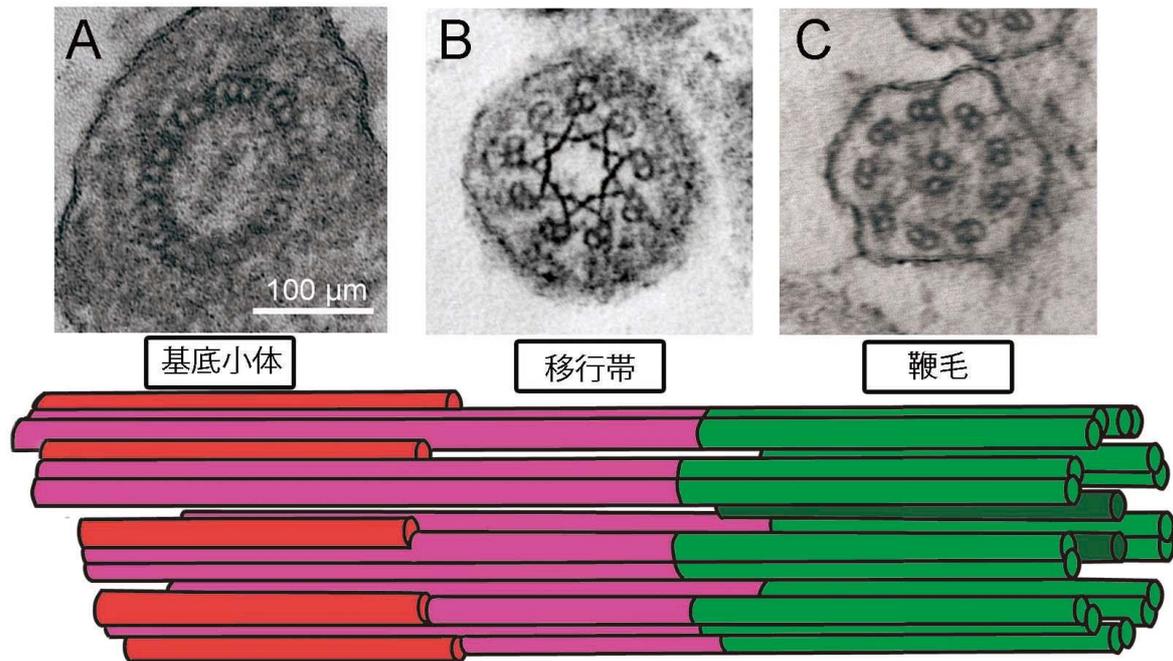


図3. 緑色植物の鞭毛基部の微小管の配行。基底小体側は9本の3連微小管(A管, B管, C管)が回転対称に配置している。鞭毛の移行帯ではC管が消失し、9本の2連微小管となり、中央に2本の微小管対が現れる。上列のa, b, c, は、ゼニゴケ精子の鞭毛基部で3領域に対応する部位の横断切片を示す。移行帯では、特徴的な星型の構造が存在する。

4. 陸上植物の中心小体・鞭毛を構成する微小管

陸上植物においても、中心小体・基底小体は9本の短い3連微小管からなり、鞭毛を構成する微小管構造も、9本の2連微小管が2本の微小管を取り囲んでいる点で、他の真核生物とよく似ている。鞭毛軸糸の中心の2本の微小管からはradial spokeが周囲の9本の2連微小管に伸びており、2連微小管同士はネキシンで接続されている。2連微小管のA管からはダイニン腕が伸びており、モーターヘッドドメインが隣の2連微小管のB管に隣接するように配置している。緑藻類では1本の2連管を除いて、ダイニンには外腕と内腕が存在するが、ストレプト植物(車軸藻類と陸上植物)ではすべての2連管で外腕を欠いている(Hyams & Campbell 1985)。鞭毛の最基部は、中心小体由来の部分であり、基底小体(basal body, kinetosome)と呼ばれ、鞭毛の駆動部とは断面の構造が異なっている(図3左側)。基底小体の近位側(proximal end)は中心小体と同様に、回転対称に配置した9本の3連微小管(A管, B管, C管)からなる。しかし、鞭毛へ接続される遠位側(distal end)の移行帯(接続領域)ではC管が消失し、9本の2連微小管がみられる。緑色植

物ではツノゴケ類を除き、この移行帯に特徴的な星型の構造が存在する(図3中央部)。他の真核生物の移行帯では、Y型リンカー(Y-links)とよばれる、2連微小管を鞭毛の原形質膜に結びつける構造が特徴的に見られるが、陸上植物はこれを欠く(Barker et al.2014)。鞭毛の基部とその周辺の構造は、鞭毛装置(flagellar apparatus)とよばれ、微小管やそれ以外の繊維状構造からなる、各分類群に特徴的な構造がみられる。

5. 緑色植物の細胞分裂装置、鞭毛装置の多様性

緑色植物の細胞分裂装置、鞭毛装置の比較研究は、細胞分裂や鞭毛装置に大きく2つのタイプがあることを明らかにしてきた。緑藻類の多くが、核分裂時に核膜が崩壊せず、ファイコプラストによる求心的な細胞質分裂を行うのに対し、車軸藻類や陸上植物では、核分裂時に核膜が崩壊し、フラグモプラストによる遠心的な細胞分裂を行う(Stewart et al.1973; Pickett-Heaps 1975)。鞭毛装置については、緑藻類では2つの基底小体が交差・対向するような角度で配置し、鞭毛根とよばれる構造が細胞質内にX字型に配置する例が多い(Mattox & Stewart 1984)。一方、車軸藻類と陸上植物では、2本の基底小体が平行やそれに近い形に並び、その下に多数の微小管が帯状に並び、さらにその下に3層の層状構造が積み重なっている(Carothers & Kreitner 1968; Kreitner & Carothers 1976; Graham & McBride 1979)。これは多層構造体(Multilayered structure: MLS)とよばれる(図4G)。車軸藻類と陸上植物のこれらの微細形態の類似性は両者を合わせたストレプト植物の単系統性を支持する形質として知られている(Pickett-Heaps 1975)。MLSの最上層のスプラインが微小管からなることを除けば、MLSを構成する要素についてはよくわかっていない。

藻類では鞭毛の表面に鱗片や小毛など分類群ごとに特徴的な修飾構造がみられるが、陸上植物では知られていない。藻類を含めれば細胞分裂装置、鞭毛や鞭毛装置の多様性はさらに多岐に及ぶが、本稿では主に、車軸藻類と陸上植物を合わせたストレプト植物の中心体と鞭毛について紹介する。系統関係からはストレプト植物において、中心体と鞭毛の生活環からの完全な消失が、接合藻類、球果類、被子植物の系統で独立に起きたことが示唆される(図1)。車軸藻類、コケ植物、シダ植物、裸子植物では、中心体の出現過程、鞭毛の数、配置などについて様々な例が知られる(Garbarý et al. 1993; Renzaglia et al. 2000; Renzaglia & Garbarý 2001)。以下、各分類群の精子形成過程について微小管細胞骨格系を中心に紹介する。

6-1. 車軸藻類

車軸藻類の精子や遊走子は後方に伸びた2鞭毛をもつ。細胞壁は持たないが、鞭毛を含めた細胞膜表面に四角形の鱗片が認められることが多い(Duncan et al. 1997)。車軸藻類のうち単細胞～細胞塊のメソスティグマ(Mesostigma)やクロロキブス(Chlorokybus)、多細胞であるが、どの細胞からも遊走子を形成しうるクレブソルミディウム(klebsormidium)とコレオケーテ(Coleochaete)は、多くの緑藻類と同様に、半保存的複製により維持される中心小体を持っており、2つの中心小体が直角に並ぶように存在する様子が観察されている。このような中心体は紡錘体形成の微小管形成中心としても働き、内部の中心小体は鞭毛の基底小体となる(Graham & Wedemayer 1984; Graham & Repavich 1989)。一方、シャジクモ目(Charales)では、栄養組織の紡錘体極は被子植物と同様に幅の広い極をもった樽型で、そこに中心小体を持った中心体がみとめら

れない (Pickett-Heaps. 1967, 1968)。シャジクモ目の中心小体は、精子形成の直前に新生的に出現すると考えられている (Pickett-Heaps. 1967)。車軸藻類の精子では2つの基底小体は有紋繊維で結合しているが、緑藻類で見られるような、核と基底小体を結ぶような構造 (リゾプラスト) は存在しないとされる (Turner 1968; Vouilloud et al. 2005)。車軸藻類のクレブソルミディウムやコレオケーテ目では遊走子や精子が球形や卵型の外形を持つが、シャジクモ目の精子は細長く螺旋状であり、鞭毛が後方に伸びるような基底小体の配置も陸上植物のものとよく似ている (Marchant et al. 1973)。細長い外形で鞭毛が後方に伸びた精子は、シャジクモ目の生卵器や、コケ・シダ植物の造卵器を通過するために必要な形態変化であったかもしれない。クラミドモナスで見られるような障害物に衝突した際にみられる後退遊泳が欠如していることも、生卵器や造卵器の獲得と関連があるかもしれない (Sakaushi et al. 2003)。クラミドモナスのダイニン外腕欠失変異体で、障害物に当たった時の後退遊泳を欠くこと (Kamiya & Okamoto 1985) は、ストレプト植物の精子の軸糸がダイニン外腕を欠くことが、陸上植物系列での精子の運動様式の変化と関わっている可能性を示唆する。

6-2. コケ植物

コケ植物では、中心体が精子形成の際、精母細胞中に一過的に出現し、紡錘体極の微小管形成中心として機能する。中心体の内部には2つの中心小体が直列につながった直列二中心小体 (bicentrioles) という構造がみとめられる (Moser & Kreitner 1970) (図 4C,D)。同様の構造の中心小体は、シャジクモ目の精母細胞でも観察される (Turner 1968)。タイ類では直列二中心小体は精細胞中で2つに分離し、基底小体となり、そこから2本の鞭毛が形成される (Robbins 1984)。精細胞が精子へと変態する過程で、細胞質の縮小、核の変形と凝集、精子特有の微小管構造 (基底小体、鞭毛、スプライン) の形成がおこる。完成した精子は、頭部の細胞質に1つのミトコンドリアがあり、多層構造体に接する基底小体から後方に向けて2本の鞭毛が平行に伸びている。緑藻類で見られる基底小体同士を結ぶ繊維状構造はないか痕跡的である。長い胴体部は凝集した核が大部分を占めており、核に沿うようにスプラインとよばれる微小管が帯状に配向する (Kreitner 1977a,b) (図 4H)。尾部の細胞質には1つの色素体と1つのミトコンドリアがある。

筆者らが観察したコケ植物 (ゼニゴケ) の精子形成過程・完成した精子の模式図を図5に示す。精子形成過程、精子の形態は、コケ植物の3群 (セン類・タイ類・ツノゴケ類) でよく似ているが、分類群ごと、種ごとの形態の違いもみとめられる。ツノゴケ類の1種では、精細胞が形成される二回前の細胞分裂時に一对の直列二中心小体 (4つの中心小体) が出現し、最終的に精細胞には1つの直列二中心小体 (2つの中心小体) が配分される (Vaughn & Renzaglia 1998)。中心小体の数、出現の様式、タイミングなどには多様性がある可能性があり、さらなる研究が必要であるが、これまでの研究は、コケ植物の中心小体は例外なく直列二中心小体として出現し、その後の細胞分裂周期を通じて複製されることがないことを示している。直列二中心小体が精細胞に1つずつ配分されることは、コケ植物が2本の鞭毛をもつことと対応しているが、4本鞭毛をもつ種類の報告 (Shimamura et al. 1999, 2015) もある。蘚類とタイ類では2つの基底小体は、前後にずれて平行に隣接して並ぶが、ツノゴケ類では、前後のずれはなく、互いに離れて配置する。ほとんどのコケ植物で精子の核は緩やかに左螺旋を描いて伸長しているがツノゴケ類だけは例外に右螺旋

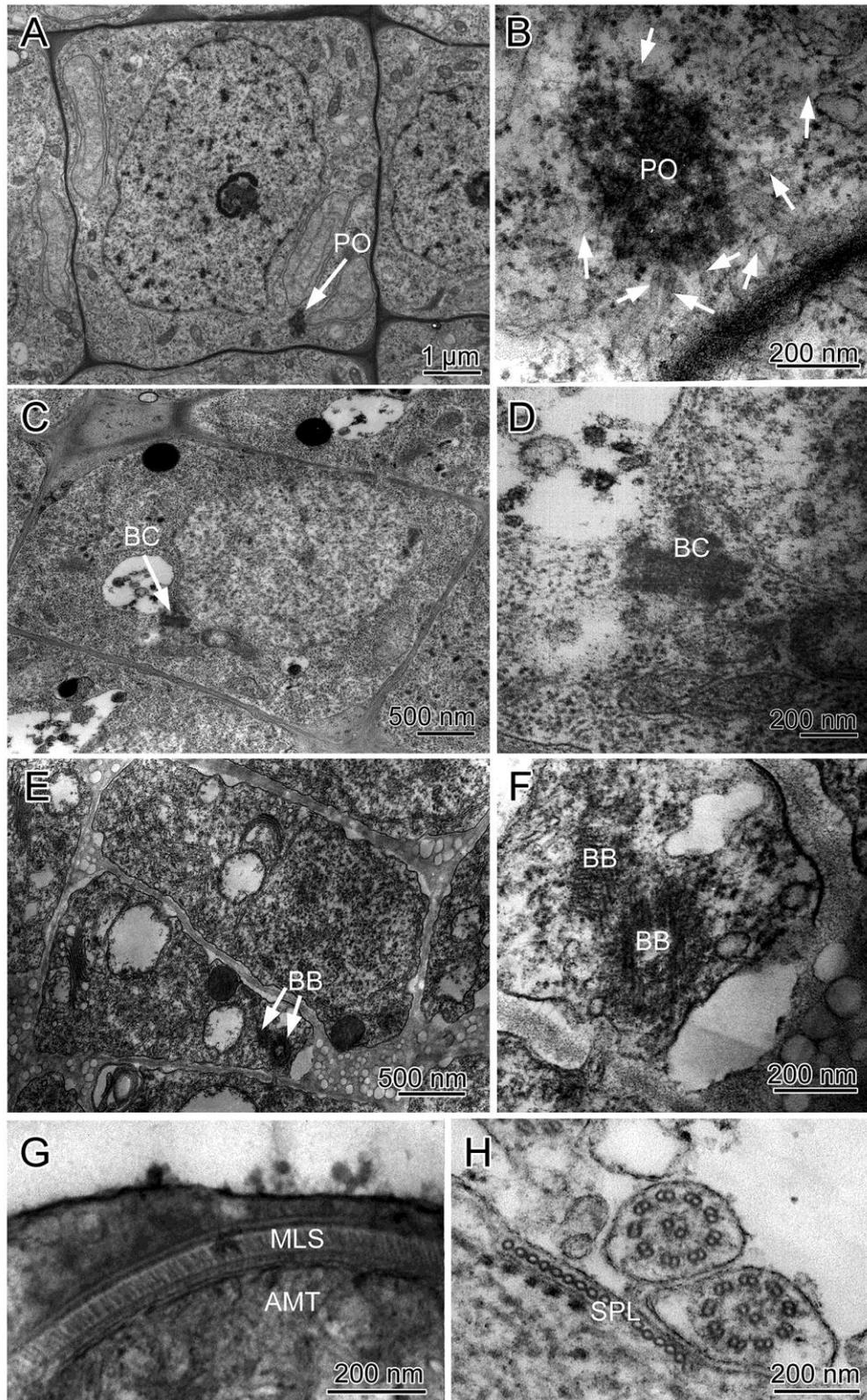


図4. 透過電子顕微鏡で観察したコケ植物の精子形成時にみられる微小管系。A: 精原細胞（ケゼニゴケ）。核近傍に極形成体（PO; 矢印）が存在する。B: 極形成体の拡大像。電子密度の高い球状の領域から微小管（矢印）が伸びている。C: 精母細胞（ゼニゴケ）。直列二中心小体（BC; 矢印）が出現する。D: 直列二中心小体（BC）の拡大像（ゼニゴケ）。E: 精細胞の基底小体（BB）。F: 基底小体（BB）の拡大像（ゼニゴケ）。直列二中心小体は2つに分離し、基底小体となる。G: 多層構造体（MLS）（ゼニゴケ）。多数の微小管が一層に配列したスプライン（SPL）とそれを裏打ちする層状構造からなり、頭部ミトコンドリア（AMT）と密着している。H: スプライン微小管（SPL）（ケゼニゴケ）。

旋 (dextral)である (Renzaglia & Duckett 1989)。胴体部のスプライン微小管は通常 10 本から数 10 本であり、コケ植物の種ごとに違いがみられる (Renzaglia & Duckett 1987)。コマチゴケ属 (*Haplomitrium*)では、核の凝集の程度が低く、太い胴体部を持ちスプライン微小管は 100 本以上存在する、また頭部や尾部のミトコンドリアや葉緑体は複数個になっている。

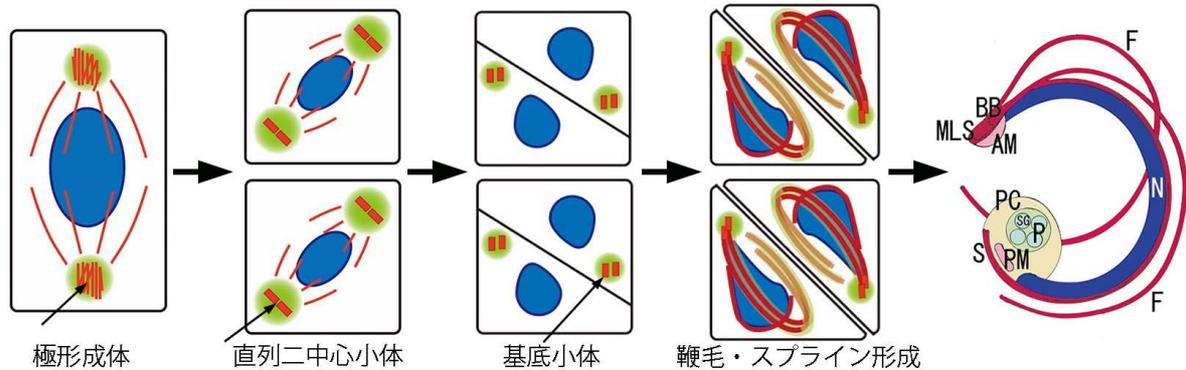


図 5. ゼニゴケ精子形成過程の模式図 (赤:微小管, 青:核, 緑:中心体局在性タンパク質の分布)。精原組織では内部に中心小体をもたない極形成体が主要な微小管形成中心として機能する。精母細胞では中心小体 (直列二中心小体) が出現し、直列二中心小体を含む中心体が紡錘体極に位置する。精細胞では直列二中心小体は分離し、基底小体となる。中心体から伸びる微小管がスプラインを形成し、基底小体からは鞭毛が伸びる。右端は完成した精子の模式図。MLS: 多層構造帯, BB: 基底小体, AM: 頭部ミトコンドリア, F: 鞭毛, N: 核, S: スプライン微小管, PM: 尾部ミトコンドリア, P: 色素体, PC: 尾部細胞質, SG: デンプン粒

内部に中心小体を備えた構造は、精子形成期にしか出現しないが、コケ植物では中心体に類似の形態や機能をもつ構造、他のオルガネラが中心体の代わりに紡錘体の微小管形成中心となる例が知られている。タイ類では、紡錘体形成時に内部に中心小体をもたない球状の構造がみられ、極形成体 (polar organizer) とよばれる (図 2C; 図 4A, B)。極形成体は球状の紡錘体形成の起点となる構造である点で、中心体と似ているが内部に中心小体を持たない点異なる。極形成体は、分裂中期になると消失し、中期の紡錘体は種子植物でよく見られる様な、極が分散したものとなる (Brown & Lemmon 1990)。最近、セン類のヒメツリガネゴケの茎葉体頂端細胞においても類似の構造の存在が指摘されている (Kosetsu et al. 2017)。種子植物の細胞内には、数十から数百の葉緑体がみとめられるが、コケ植物とシダ植物の一部 (小葉類) では細胞内に大きな葉緑体を 1 つしかもたない細胞 (単色素体細胞) がみとめられることがある。単色素体性の細胞では、色素体と核の分裂が協調的に起こるのが特徴である。典型的な例では、まず核の分裂に先立って色素体の分裂がおり、色素体表面から伸びる微小管が紡錘体へと発達し、核の分裂を行う (Shimamura 2012)。色素体が紡錘体の極となる代表例としてよく知られているのが四極微小管系 (quadripolar microtubule system: QMS) と呼ばれる構造で、コケ植物の減数分裂 (孢子形成) 時にみられる。四極微小管系は、減数分裂前期に核の分裂に先立ち、色素体が分裂して 4 つに分かれる過程で形成される。色素体表面から前期の核を取り囲むように微小管が伸びており、紡錘体の極性決定、細胞分裂面挿入位置の決定の双方に参与していると考えられている (Brown & Lemmon 1997; Brown et al. 2010)。単色素体性の細胞で色素体の表面が紡錘体の形成中心としてはたらくことは、1 つしかない色素体を娘細胞に確実に配分する機能を有していると考えられる。単色素体性細胞の分裂様式は、初期の陸上植物において、栄養組織から中心体を失う代わりに新たに獲得した紡錘体

形成システムであったかもしれない (Shimamura et al. 2004)。

6-3. シダ植物

シダ植物の精子の形態は、コケ植物と比べ多様であり、特に鞭毛・繊毛の数については分類群ごとに大きな違いがある。イワヒバ属 (*Selaginella*) やヒカゲノカズラ属 (*Lycopodium*) を含むヒカゲノカズラ類では精子は、コケ植物と同様、鞭毛を2本もっている。これらを含む小葉類 (*Lycophyta*) では、鞭毛の数が少ないのが特徴だが、ミズニラ属 (*Isoetes*) では11本、ヨウラクヒバ属 (*Phylloglossum*) で20本の鞭毛が観察されている (湯浅 1969; Renzaglia & Garbary 2001)。他のシダの鞭毛の数は、マツバラン属 (*Psilotum*)、ハナワラビ属 (*Botrychium*)、リュウビンタイ属 (*Angiopteris*) など数十本、トクサ属 (*Equisetum*) で50~100本近く、その他の薄囊シダで100本近くかそれ以上など多様性がある (湯浅 1969; Renzaglia & Garbary 2001)。

イワヒバ属やヒカゲノカズラ属では、コケ植物と同様、直列二中心小体を含む中心体が *de novo* に出現し、精母細胞中で中心体として振る舞う。小葉類 (*Lycophyta*) は、栄養組織や孢子形成時の細胞分裂で、色素体の表面が紡錘体の形成中心としてはたらく単色素体性の細胞分裂が見られることがある点も、コケ植物とよく似ている (Brown & Lemmon 1982)。

薄囊シダ類では、精母細胞で出現する球状の微小管形成中心 (生毛体) 内部に多数の中心小体が出現する。個々の中心小体は生毛体中で新生的に出現するとされる (Hepler 1976)。中心小体の形成の過程については、まず中心のハブ構造が出来、その周囲にA管、B管、C管が順に形成されることが電子顕微鏡像から示唆されているが、詳細は不明である (Renzaglia et al. 2017)。小葉類で例外的に生毛体を形成するヨウラクヒバ属 (*Phylloglossum*) の生毛体中では、複数の中心小体が枝分かれした構造が観察されており、中心小体形成の過程には多様性があることが示唆されている (Renzaglia & Maden 2000)。精子への変態過程で球状の生毛体は崩壊し、スプライン微小管の伸長、MLSの構築に従い、内部の中心小体は、鞭毛装置上に配置されていく。この間に、個々の中心小体は両方向に伸長しながら基底小体へ変化する。細胞質側 (proximal end) では、中央のハブ構造が伸長し、周囲に3連微小管が付加される。鞭毛が成長する遠位側には星状構造が作られ、鞭毛への移行帯となる。スプライン微小管の伸長に従い、核がそれに沿うように伸長、凝集する。

6-4. 種子植物

現生の裸子植物の一部 (イチョウヤソテツ類) においても、花粉管内で鞭毛を持つ精子が形成される (Hirase 1896; Ikeno 1896)。コケ植物では造精器内部に多数の精子が形成されるが、裸子植物では1つの花粉管の内部に形成される精子は通常2個である。ミクロキカス属 (*Microcycas*) では例外的に最大16個の精子が形成される (Norstog 1990)。裸子植物の精子形成過程では、核の凝集や細胞質の退化があまりおこらず、精子は楕円球の外形で、直径が50~500 μ mに達し、数百から数万本の鞭毛が、細胞の端部のMLSに沿って数回転の螺旋状に配置する (Gifford & Lin 1975; Norstog & Nicholls 1997; Norstog et al. 2004)。ペルム紀 (2.9~2.5億年前) に生育していた裸子植物の一群 (シダ種子植物) の1つである、グロッソプテリス類の1種 (*Glossopteris homevalensis*) の化石からも花粉管内に同様の外形の精子が発見されている (Nishida et al. 2003, 2004)。現生の他の裸子植物群である球果類、グネツム類などでは、中心体や生毛体はみられず、花粉管内に形成される

精子にも鞭毛はみられない。

裸子植物の生毛体は、精母細胞中に出現し、紡錘体形成過程で2つに分離し、紡錘体の極に位置する(Gifford & Larson 1980)。生毛体の表面に中心小体が密集するように配置するのが特徴的である。イチョウの生毛体は、直径3.5~4.5 μm であるのに対し、ソテツ類のザミア科では生毛体は直径25-30 μm に達する。精子への変態過程で生毛体が崩壊し、MLSが形成されその上に鞭毛が配置されていく。電子顕微鏡の観察では、生毛体の内部は一様ではなく、電子線密度の高い領域と低い領域があることが観察されている。後者が、鞭毛基部装置形成のためのMTOCとなると解釈されている(Norstog et al. 2004)。

被子植物では、精子形成過程で中心体や生毛体、鞭毛などは存在せず、精細胞は伸長する花粉管内部の原形質中を移動して卵細胞に達する(Southworth & Cresti 1997)。2つ形成される精細胞の1つからは花粉管核に向けて細胞質が線状に伸長しており、その内部には微小管の伸長が認められる(McCue et al. 2011)。この構造は鞭毛の進化的名残の可能性があり、注目される。

7. 新しい研究アプローチ

中心体と鞭毛装置ではそれぞれ、ゲノム情報や様々なオミクスデータの蓄積により、数百種類におよぶタンパク質について、真核生物の中心体・鞭毛装置の形態や機能の保存性と多様性に対応する情報が得られつつある。(van Dam et al. 2013; Dos Santos et al. 2013. Dean et al. 2016; Nevers et al. 2017; Sanchez & Feldman 2017)。陸上植物についても、様々なオミクスデータに基づいた情報の蓄積が、進化過程でおきた中心体・鞭毛構造の特殊化や消失について重要な情報を提供しつつある。被子植物のゲノムからは、鞭毛軸糸ダイニン、radial spoke, central pairなどの鞭毛構成要素となるタンパク質の遺伝子が完全に欠落していることがわかっている。しかし幾つかの鞭毛タンパク質は保存されており、花粉での発現が示唆されている(Hodges et al. 2011)。陸上植物における、中心体や鞭毛装置の構造、機能の特殊化、消失などのイベントについては、コケ植物を含めた比較研究が欠かせないと考えられる。

ゼニゴケのゲノム情報および造精器トランスクリプトームから、中心体、基底小体、鞭毛軸糸、ラディアル・スポーク、中心対装置、鞭毛内輸送系などの構成タンパク質遺伝子を抽出する作業や発現解析が進められている(Higo et al. 2016)。チューブリンに関しては、微小管を形成する α -チューブリンと β -チューブリン遺伝子がそれぞれ7個と5個知られている。このうちのいくつかは、造精器特異的に発現しており、精子形成過程や精子に特異的な微小管系の構築と関連があると示唆される(Buschmann et al. 2016; 荒木崇博士私信)。微小管形成中心を構成するチューブリンについては、 γ -チューブリンが一個、それ以外に、 δ (delta)チューブリンが一個、 ϵ (epsilon)チューブリン遺伝子一個がゲノム中に見つかっている。 ζ (zeta)チューブリンはゼニゴケゲノム中に存在しないようである。 δ (delta)、 ϵ (epsilon)、 ζ (zeta)チューブリンは、ZEDモジュールと呼ばれ、中心小体に局在することが知られており、中心体を有する生物ではよく保存的されているが、真核生物の系統ごとに存在の組みあわせが異なっている(Turk et al. 2015)。緑色植物では、クラミドモナスでは3つとも存在するが、被子植物では全てを欠いている。Findeisen et al. (2014)では、Streptophytesの進化過程でまず、 δ チューブリンが失われ、種子植物ではさらに ϵ チューブリンが失われたという進化過程が提起されているが、コケ、シダ植物のゲノム中での精査が必要で

ある。既知のコケ、シダ植物のゲノムでは、ZED モジュールのうち、 ζ -チューブリンのみを欠いていることが分かっている。 ζ -チューブリンの欠失が、精子形成時のみにしか出現しないという、陸上植物の中心小体の特異な振る舞いを反映している可能性があり、注目される。

8. まとめと今後の展望

緑色植物では、長年、緑藻類クラミドモナスが植物の中心体・鞭毛研究のモデル生物の位置にある (Pazour et al. 2005; Merchant 2007; Witman 2008)。クラミドモナスのような中心体と鞭毛が密接に結びついたシステムから、被子植物でみられる中心体や鞭毛をもたないシステムの間には、大きな形態的、機能的ギャップがあるが、コケ・シダなどの下等陸上植物の微小管形成システムを調べることで、陸上植物でおきた中心体・鞭毛システムの特異化・退化の過程について新たな知見が得られる可能性がある (荒木 2012; Hodges et al. 2011)。陸上植物の多細胞組織から単細胞の遊泳細胞が作られる精子形成過程は、微小管系をはじめとする大幅な細胞システムの作り替えともいえる。被子植物では花器官の形成に関わる転写因子である MADS-box 遺伝子群は、ヒメツリガネゴケにも存在し、その中には精子形成時に発現して、精子の鞭毛形成に必要な遺伝子を制御する働きを持つものがあることが最近示された (Koshimizu et al. 2018)。モデル植物であるゼニゴケやヒメツリガネゴケは精子形成過程でおこる遺伝子発現システムの切り替えやその進化を研究する上で、今後、重要な情報を提供すると考えられる。

陸上植物の有鞭毛精子の研究は、長い間、精子の形態や鞭毛装置の構造の記述と、それを形態形質として用いた系統解析が主流であり、実験的な研究はあまり進んでいない。車軸藻類やシダ植物で微小管の重合・脱重合阻害剤などの影響を調べた研究からは、スプライン微小管は核の伸長に重要な機能を持っていることが示されているが、その作用機序は不明である (Vaughn & Harper 1998)。鞭毛内部の微小管に沿う、微小管モータータンパクによる双方向的な輸送などについても研究が進んでいない。精子形成時におけるチューブリンアイソフォームの使い分けや、チロシン化、アセチル化などの修飾についても今後の研究の進展を期待したい。微小管以外についての細胞骨格系についても情報が少ない。アクチンについては精細胞の変態過程で細胞質内に多く存在し、精子変態期の核の周囲に局在することが分かっているが詳しい機能は不明である (Marc & Gunning 1986)。精母細胞に現れる中心体や精子の鞭毛装置には、 γ -チューブリンやセントリンなど真核生物の中心体や鞭毛装置に普遍的に存在するタンパク質の幾つかが共通して存在することが分かっている (Vaughn et al. 1993; Vaughn & Harper 1998; Vouilloud et al. 2005; Vaughn & Renzaglia 2006)。しかし、中心体や複雑な鞭毛装置それぞれに含まれるタンパク質について包括的な情報は欠いている。シダ植物においては、界面活性剤と DNase を用いて、MLS を単離し、MLS に特有な機能未知のタンパク質が存在することが示されたことは今後の研究の足がかりとなる (Sakaushi et al. 2003)。中心体、生毛体、鞭毛、MLS などのオルガネラの単離技術と、オミクス研究の進展が望まれる。

真核生物の多くで、中心体が細胞内の微小管の配向の制御や、分裂装置の配置や細胞分裂面の決定に重要な役割を持っていることを考えれば、進化の過程で中心体を失うことには、大きな困難があったと考えられる。コケ植物の極形成体や葉緑体表面の微小管形成中心は、恒常的な中心体を失った陸上植物が過渡的に採用した紡錘体形成システムだったのかもしれない (Shimamura

et al. 2004)。これらの構造は、中心小体（基底小体）の維持機能を失いながらも、紡錘体形成の機能だけを残した、中心体の名残のような構造ではないだろうか。陸上植物の進化過程で、まず栄養組織で中心体が失われたが、そのためには、中心体のような恒常的なMTOCではなく、既存の微小管を足場にして微小管を形成するメカニズムの獲得が重要であったと考えられている (Murata et al. 2007; Hotta et al. 2012)。恒常的な中心体をもたない陸上植物で、分裂準備微小管帯の形成とそこへのフラグモプラストの接続という、より厳密な細胞分裂面決定機構が獲得されたことは、進化の過程でより高度な組織分化を可能にしたと考えられている (Mineyuki 1999)。表層微小管系やフラグモプラスト微小管系では、既存の微小管に γ -チューブリン複合体が結合し、そこを足場にした微小管形成が典型的に観察されている (Murata et al. 2005, 2013)。このことは、中心体を失ったことと、新たな微小管系を獲得したことが表裏一体の関係にあったことを示唆する。Mazia (1984,1987)は、彼が定義した必ずしも中心小体を必要としない「中心体」(flexible centrosome)が生物種ごと、組織、細胞ごとに多様な形態をとりうることを説明するために、微小管形成の足場となる中心体周辺物質として、仮想の紐状の構造の存在を想定した。しかし、現在まで実体としてそのような構造は見つかっていない。陸上植物におけるMTOCの多様性をもたらした原因は、Maziaが考えた紐状の足場の存在ではなく、かつて中心体に存在していた γ -チューブリン複合体の存在様式が変化し、他のオルガネラや微小管自身とも会合可能になったからかもしれない。

謝辞

本稿をまとめるにあたり、南イリノイ大学のKaren Renzaglia博士に文献情報の収集に多大な協力をいただいた。筆者の研究室におけるコケ植物精子の研究は、文部科学省および学術振興会の科学研究費補助金による助成のもと、酒井建輔さん、赤司一さん、野村佳織さんら大学院生の協力によって進めてきたものである。ゼニゴケ研究者コミュニティからは共同研究を通じて不断の支援を受けている。京都大学の荒木崇博士には、ゼニゴケのチューブリン遺伝子、造精器トランスクリプトームデータに関して貴重な情報提供をいただき、多くのコメントもいただいた。記して感謝したい。

引用文献

- Al Jord, A., Lemaitre, A. I., Delgehr, N., Faucourt, M., Spassky, N., & Meunier, A. 2014. Centriole amplification by mother and daughter centrioles differs in multiciliated cells. *Nature* 516: 104–107.
- 荒木崇 2012. 植物固有の転写因子 LEAFY とゼニゴケの有性生殖. *BSJ Review*. 3: 134158.
- Azimzadeh, J., Wong, M. L., Downhour, D. M., Sánchez Alvarado, A., & Marshall, W. F. 2012. Centrosome loss in the evolution of planarians. *Science* 335: 461–463.
- Barker, A. R., Renzaglia, K. S., Fry, K., & Dawe, H. R. 2014. Bioinformatic analysis of ciliary transition zone proteins reveals insights into the evolution of ciliopathy networks. *BMC Genomics* 15: 531
- Basto, R, Lau, J., Vinogradova, T., Gardiol, A., Woods, C.G., Khodjakov, A., & Raff, J. W. 2006. Flies without centrioles. *Cell* 125:1375–1386.

- Brown, R.C., & Lemmon, B.E. 1982. Plastid apportionment and preprophase microtubule bands in monoplastidic root meristem cells of *Isoetes* and *Selaginella*. *Protoplasma* 123: 95–103.
- Brown, R.C., & Lemmon, B.E. 1990. Polar organizers mark division axis prior to preprophase band formation in mitosis of the hepatic *Reboulia hemisphaerica* (Bryophyta). *Protoplasma* 156: 74–81.
- Brown, R.C., & Lemmon, B.E. 1992. Polar organizers in monoplastidic mitosis of hepatics (Bryophyta). *Cell Motil. Cytoskeleton* 22: 72–77.
- Brown, R.C., & Lemmon, B.E. 1997. The quadripolar microtubule system in lower land plants. *J. Plant Res.* 110: 93–106.
- Brown R.C. Lemmon B.E., & Shimamura M. 2010. Diversity in meiotic spindle origin and determination of cytokinetic planes in sporogenesis of complex thalloid liverworts (Marchantiopsida). *J. Plant Res.* 123: 589–605.
- Buschmann, H., Holtmannspötter, M., Borchers, A., O'Donoghue, M.T., & Zachgo, S. 2016. Microtubule dynamics of the centrosome-like polar organizers from the basal land plant *Marchantia polymorpha*. *New Phytol.* 209: 999–1013.
- Carothers, Z.B., & Kreitner, G.L. 1968. Studies of spermatogenesis in the Hepaticae. II. Blepharoplast structure in the spermatid of *Marchantia*. *J. Cell Biol.* 36: 603–616.
- Celio, G.J., Padamsee, M., Dentinger, B.T., Bauer, R., & McLaughlin, D.J. 2006. Assembling the Fungal Tree of Life: Constructing the structural and biochemical database. *Mycologia* 98: 850–859.
- Dean S, Moreira-Leite, F, Varga, V., & Gull, K. 2016. Cilium transition zone proteome reveals compartmentalisation and differential dynamics of ciliopathy complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 113: E5135–43.
- Duncan, T.M., Renzaglia, K.S., & Garbary, D.J. 1997. Ultrastructure and phylogeny of the spermatozoid of *Chara vulgaris* (Charophyceae). *Pl. Syst. Evol.* 204:125–40.
- Dos Santos, H.G., Abia, D., Janowski, R., Mortuza, G., Bertero, M.G., Boutin, M., Guarín, N., Méndez-Giraldez, R., Nuñez, A., Pedrero, J. G., Redondo, P., Sanz, M., Speroni, S., Teichert, F., Bruix, M., Carazo, J.M., Gonzalez, C., Reina, J., Valpuesta, J.M., Vernos, I., Zabala, J. C., Montoya, G., Coll, M., Bastolla, U., & Serrano, L. 2013. Structure and non-structure of centrosomal proteins. *PLoS One* 8: e62633.
- Farache, D., Emorine, L., Haren, L., & Merdes, A. 2018. Assembly and regulation of gamma-tubulin complexes. *Open Biol.* 8: 170266. DOI: 10.1098/rsob.170266
- Findeisen, P., Mühlhausen, S., Dempewolf, S., Hertzog, J., Zietlow, A., Carlomagno, T., & Kollmar, M. 2014. Six subgroups and extensive recent duplications characterize the evolution of the eukaryotic tubulin protein family. *Genome Biol Evol.* 6: 2274–2288.
- Garbary, D.J., Renzaglia, K.S., & Duckett, J.G. 1993. The phylogeny of land plants: a cladistic analysis based on the male gametogenesis. *Plant Sys. Evol.* 188: 237–269
- Gifford, E. M.Jr., & S. Larson. 1980. Developmental features of the spermatogenous cell in *Ginkgo biloba*. *Amer. J. Bot.* 67: 119–124.

- Gifford, E.M., Jr., & J. Lin. 1975. Light microscope and ultrastructural studies of the male gametophyte in *Ginkgo biloba*: The spermatogenous cell. *Amer. J. Bot.* 62: 974–981.
- Graham, L.E. & McBride, G.E. 1979. The occurrence and phylogenetic significance of a multilayered structure in *Coleochaete* spermatozooids. *American Journal of Botany* 66:887–894.
- Graham, L.E., & Repavich, W.M. 1989. Spermatogenesis in *Coleochaete pulvinata* (Charophyceae): early blepharoplast development. *Am. J. Bot.* 76: 1266–1278.
- Graham, L. E. & Wedemayer, G.J. 1984. Spermatogenesis in *Coleochaete pulvinata* (Charophyceae): sperm maturation. *J. Phycol.* 20: 302–309.
- Hepler P.K. 1976. The blepharoplast of *Marsilea*: Its *de novo* formation and spindle association. *J. Cell Sci.* 21: 361–390.
- Higo, A., Niwa, M., Yamato, K. T., Yamada, L., Sawada, H., Sakamoto, T., Kurata, T., Shirakawa, M., Endo, M., Shigenobu, S., Yamaguchi, K., Ishizaki, K., Nishihama, R., Kohchi, T., & Araki, T. 2016. Transcriptional framework of male gametogenesis in the liverwort *Marchantia polymorpha* L. *Plant Cell Physiol.* 57: 325–338
- Hirase, S. 1896. On the spermatozoid of *Ginkgo biloba*. *Bot. Mag. Tokyo* 10: 325–328.
- Hodges, M.E., Wickstead, B., Gull, K., & Langdale, J. A. 2011. Conservation of ciliary proteins in plants with no cilia. *BMC Plant Biol.* 11: 185.
- Hotta, T., Kong, Z., Ho, C., Zeng, C., Horio, T., Fong, S., Vuong, T., Lee, Y., & Liu, B. 2012. Characterization of the *Arabidopsis* Augmin complex uncover its critical function in the assembly of the acentrosomal. *Plant Cell* 24: 1494–1509.
- Hyams, J.S., & Campbell, C.J.J. 1985. Widespread absence of outer dynein arms in the spermatozooids of lower plants. *Cell Biol. Int. Rep.* 9: 841–848.
- Ikeno, S. 1896. The spermatozoid of *Cycas revoluta*. *Bot. Mag. Tokyo* 10: 367–368.
- 池野成一郎. 1903. 植物界に於ける生毛體. *植物学雑誌* 17: 278–290.
- Kamiya, R., & Okamoto, M. 1985. A mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* that lacks the flagellar outer dynein arm but can swim. *J. Cell Sci.* 74: 181–191
- Khodjakov, A., Cole, R.W., Oakley, B. R., & Rieder, C.L. 2000. Centrosome-independent mitotic spindle formation in vertebrates. *Current Biology* 10: 59–67.
- Kosetsu, K., Murata, T., Yamada, M., Nishina, M., Boruc, J., Hasebe, M., Damme, D.V., & Goshima, G. 2017. Cytoplasmic MTOCs control spindle orientation for asymmetric cell division in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 114: 8847–8854.
- Koshimizu, S., Kofuji, R., Sasaki-Sekimoto, Y., Kikkawa, M., Shimojima, M., Ohta, H., Shigenobu, S., Kabeya, Y., Hiwatashi, Y., Tamada, Y., Murata, T., & Hasebe, M. 2018. Physcomitrella MADS-box genes regulate water supply and sperm movement for fertilization. *Nature Plants* 4: 36–45.
- Kreitner, G.L. 1977a. Influence of the multilayered structure on the morphogenesis of *Marchantia* spermatids. *Amer. J. Bot.* 64: 57–64.
- Kreitner, G.L. 1977b. Transformation of the nucleus in *Marchantia* spermatids: morphogenesis. *Amer. J. Bot.* 64: 464–475.

- Kreitner, G.L., & Carothers, Z.B. 1976. Studies of spermatogenesis in the Hepaticae. V. Blepharoplast development in *Marchantia polymorpha*. *Amer. J. Bot.* 63: 545–557.
- Lepper R. 1956. The plant centrosome and the centrosome-blepharoplast homology. *Botanical Review* 22: 375–417.
- Marc, J., & Gunning, B.E.S. 1986. Immunofluorescent localization of cytoskeletal tubulin and actin during spermatogenesis in *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. *Protoplasma* 134: 163–177.
- Marchant, H.J., Pickett-Heaps, J.D., & Jacobs, K. (1973). An ultrastructural study of zoosporogenesis and the mature zoospore of *Klebsormidium flaccidum*. *Cytobios* 9: 95–107.
- Margulis, L. 1980. Undulipodia, flagella and cilia. *Biosystems* 12: 105–108.
- Mattox, K.R., & Stewart, K.D. 1984. Classification of the Green Algae A Concept Based on Comparative Cytology. In Irvine, D.E.G. and John, D., Eds., *Systematics of the Green Algae*, Academic Press, London. pp29–72.
- Mazia, D. 1984. Centrosomes and mitotic poles. *Exp. Cell Res.* 153: 1–15
- Mazia, D. 1987. The chromosome cycle and the centrosome cycle in the mitotic cycle. *Inter. Rev. Cytol.* 100: 49–92.
- McCue, A.D., Cresti, M., Feijó, J.A., & Slotkin, R.K. 2011. Cytoplasmic connection of sperm cells to the pollen vegetative cell nucleus: potential roles of the male germ unit revisited. *J. Exp. Bot.* 62: 1621–1631.
- Merchant, S.S., Prochnik, S.E., Vallon, O., Harris, E.H., Karpowicz, S. J., Witman, G.B., Terry, A., Salamov, A., Fritz-Laylin, L. K., Maréchal-Drouard, L., Marshall, W. F., Qu, L. H., Nelson, D. R., Sanderfoot, A. A., Spalding, M.H., Kapitonov, V.V., Ren, Q., Ferris, P., Lindquist, E., Shapiro, H. et al. 2007. The *Chlamydomonas* genome reveals the evolution of key animal and plant functions. *Science* 318: 245–250.
- Mineyuki, Y. 1999. The preprophase band of MTs: its function as a cytokinetic apparatus in higher plants. *Int. Nat. Rev. Cytol.* 187: 1–49.
- Mizukami, I., & Gall, J. 1966. Centriole replication. II. Sperm formation in the fern, *Marsilea*, and the cycad, *Zamia*. *J. Cell Biol.* 29: 97–111.
- Moser, J.W., & Kreitner, G.L. 1970. Centrosome structure in *Anthoceros laevis* and *Marchantia polymorpha*. *J. Cell Biol.* 44: 454–458.
- Murata, T., Sonobe, S., Baskin, T. I., Hyodo, S., Hasezawa, S., Nagata, T., Horio, T., & Hasebe, M. 2005. Microtubule-dependent microtubule nucleation based on recruitment of γ -tubulin in higher plants. *Nat. Cell Biol.* 7: 961–968.
- Murata, T., Tanahashi, T., Nishiyama, T., Yamaguchi, K., & Hasebe, M. 2007. How do plants organize microtubules without a centrosome? *J. Integ. Plant Biol.* 49: 1154–116.
- Murata, T., Sano, T., Sasabe, M., Nonaka, S., Higashiyama, T., Hasezawa, S., Machida, Y., & Hasebe, M. 2013. Mechanism of microtubule array expansion in the cytokinetic phragmoplast. *Nat. Comm.* 4: 1967. DOI: 10.1038/ncomms2967.
- Nevers, Y., Prasad, M.K., Poidevin, L., Chennen, K., Allot, A., Kress, A., Ripp, R., Thompson, J.D., Dollfus, H., Poch, O., & Lecompte, O. 2017 Insights into ciliary genes and evolution from multi-level phylogenetic Profiling. *Mol. Biol. Evol.* 34: 2016–2034

- Nishida, H., Pigg, K.B., & Rigby, J.F. 2003. Swimming sperm in an extinct Gondwanan plant. *Nature* 422: 396–397
- Nishida, H., Pigg, K.B., Kudo, K., & Rigby, J. F. 2004. Zooidogamy in the late permian genus *Glossopteris*. *J. Plant Res.* 117: 323–328.
- Norstog, K.J. 1990. The spermatozoid of *Microcycas calocoma*: ultrastructure. *Bot. Gaz.* 151: 275–284.
- Norstog, K.J., & Nieholls, T. 1997. The biology of the cycads. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY. 504 pp.
- Norstog, K.J., Gifford, E.M., & Stevenson, D.W. 2004. Comparative development of the spermatozoids of cycads and *Ginkgo biloba*. *Botanical Review*: 70: 5–15.
- Pazour, G. J., Agrin, N., Leszyk, J., & Witman, G. B. 2005. Proteomic analysis of a eukaryotic cilium. *J. Cell Biol.* 170: 103–113.
- Pickett-Heaps, J.D. 1967. Ultrastructure and differentiation in *Chara* sp. II. Mitosis. *Austr. J. Bio. Sci.* 20: 883–894.
- Pickett-Heaps J.D. 1968 Ultrastructure and differentiation in *Chara* (fibrosa) IV. Spermatogenesis. *Austral. J. Biol. Sci.* 21: 655–690.
- Pickett-Heaps J. D. 1975. Green Algae. Structure, reproduction and evolution in selected genera. Sinauer Assoc, Sunderland, Massachusetts, 606 pp.
- Rappaport, R. 1986. Establishment of the mechanism of cytokinesis in animal cells. *Int. Rev. Cytol.* 105: 245–281.
- Renzaglia, K.S., & Duckett, J.G. 1987. Comparative ultrastructural studies of spermatogenesis in the Metzgeriales (Hepatophyta). II. The blepharoplast of *Blasia pusilla*. *Amer. J. Bot.* 74:53–64.
- Renzaglia, K.S. & Duckett, J.G. 1989. Ultrastructural studies of spermatogenesis in the Anthocerotales. V. The posterior mitochondrion and nuclear metamorphosis in *Notothylas* and *Phaeoceros*. *Protoplasma* 51: 137–150.
- Renzaglia, K.S., & Maden, A.R. 2000. Microtubule organizing centers and the origin of centrioles during spermatogenesis in the pteridophyte *Phylloglossum*. *Micros. Res. Tech.* 49: 496–505.
- Renzaglia, K.S., Duff, R.J. T., Nickrent, D.L., & Garbary, D.J. 2000. Vegetative and reproductive innovations of early land plants: implications for a unified phylogeny. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 355: 769–793.
- Renzaglia, K.S., & Garbary, D.J. 2001. Motile gametes of land plants: diversity, development, and evolution. *Crit. Rev. Plant Sci.* 20: 107–213
- Renzaglia, K.S., Lopez, R. A., Henry, J.S., Flowers, N.D., & Vaughn, K.C. 2017. Transmission Electron Microscopy of Centrioles, Basal Bodies and Flagella in Motile Male Gametes of Land Plants. *Bio-protocol* 7: 19 e2448. DOI: 10.21769/BioProtoc.2448.
- Robbins, R.R. 1984. Origin and behavior of bicentriolar centrosomes in the bryophyte *Riella americana*. *Protoplasma* 121: 114–119.
- Sakaushi, S., Okoshi, M., Miyamura, S., & Hori, T. 2003. Swimming behavior and ultrastructure of sperm of *Lygodium japonicum* (Pteridophyta). *Sex. Plant Reprod.* 16: 113–122.
- Sagan, L. 1967. On the origin of mitosing cells. *J. Theor. Biol.* 14: 255–274.

- Sanchez, A.D. & Feldman, J. L. 2017. Microtubule-organizing centers: from the centrosome to non-centrosomal sites. *Curr. Opin. Cell Biol.* 44: 93–101.
- Shimamura, M., Brown, R.C., Lemmon, B.E., Akashi, T., Mizuno, K., Nishihara, N. Tomizawa K. I., Yoshimoto, K., Deguchi, H., Hosoya, H., Horio, T., & Mineyuki, Y. 2004. γ -Tubulin in basal land plants: characterization, localization, and implication in the evolution of acentriolar microtubule organizing centers. *Plant Cell* 16: 45–59.
- Shimamura, M. 2014. Monoplastidic cells in lower land plants. In Noguchi, T. et al. (eds) *Atlas of Plant Cell Structure*. Springer, Tokyo. pp. 56–57.
- Shimamura, M., Fukushima, H. Yamaguchi, T., & Deguchi, H. 1999. Behavior of plastid and plastid DNA during spermiogenesis in *Dumortiera hirsuta*. *Bryol. Res.* 7: 201–204.
- Shimamura, M. 2015. Aerial dispersal of tetraflagellated sperm cells in *Dumortiera hirsuta* (Marchantiophyta, Dumortieraceae). *Hikobia* 17: 27–29.
- Smirnova, E.A., & Bajer, A. S. 1992. Spindle poles in higher plant mitosis. *Cell Motil. Cytoskel.* 23: 1–7.
- Sorokin, S.P. 1968. Reconstructions of centriole formation and ciliogenesis in mammalian lungs. *J. Cell Sci.* 3: 207–230.
- Southworth, D., & Cresti, M. 1997. Comparison of flagellated and nonflagellated sperm in plants. *Amer. J. Bot.* 84: 1301–1311.
- Stewart, K.D., Mattox, K.R., & Floyd, G.L. 1973. Mitosis, cytokinesis, the distribution of plasmodesmata, and other cytological characteristics in the Ulotrichales, Ulvales, and Chaetophorales: phylogenetic and taxonomic considerations. *J. Phycol.* 9: 128–141.
- Turk, E., Wills, A. A. Kwon, T., Sedzinski, J., Wallingford, J.B., & Stearns. T. 2015. Zeta-tubulin is a member of a conserved tubulin module and is a component of the centriolar basal foot in multiciliated cells. *Current Biology* 25: 2177–2183.
- Turner, F. R. 1968. An ultrastructural study of plant spermatogenesis. Spermatogenesis in *Nitella*. *J. Cell Biol.* 37: 370–393.
- Van Dam, T.J.P., Townsend, M. J, Turk, M., Schlessinger, A., Sali, A., Field, M. C., & Huynen, M. A. 2013. Evolution of modular intraflagellar transport from a coatomer-like progenitor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2110: 6943–6948.
- Vaughn, K.C., & Renzaglia, K.S. 1998. Origin of bicentrioles in Anthocerozoan spermatogenous cells. In *Bryology for the Twenty-First Century*, J.W. Bates, N.W. Ashton & J.D. Duckett, eds. Maney Publishing and the British Bryological Society. Leeds, UK. pp. 189–203.
- Vaughn K. C., & Harper, J. D. 1998. Microtubule-organizing centers and nucleating sites in land plants. *International Reviews of Cytology* 181: 75–149.
- Vaughn K. C., & Renzaglia K. S. 2006. Structural and immunocytochemical characterization of the *Ginkgo biloba* L. sperm motility apparatus. *Protoplasma* 227: 165–173.
- Vaughn, K. C., Sherman T. D., & Renzaglia, K. S. 1993. A centrin homologue is a component of the multilayered structure in bryophytes and pteridophytes. *Protoplasma* 175: 58–66.

- Vouilloud, A. A., Cáceres, E.J., & Leonardi, P. I. 2005. Changes in the absolute configuration of the basal/flagellar apparatus and evidence of centrin during male gametogenesis in *Chara contraria* var. *nitelloides* (Charales, Charophyta). *Plant. Syst. Evol.* 251: 89–105.
- Wasteneys, G. O. 2002. Microtubule organization in the green kingdom: chaos or self-order? *J. Cell Sci.* 115: 1345–1354.
- Webber, H. J. 1901. Spermatogenesis and fecundation of *Zamia*. *USDA. Bur. Plant Ind. Bull.* 2: 1–92.
- Witman, G. B. 2008. *Chlamydomonas* Sourcebook 2nd ed. Vol. 3 Cell Motility and Behavior. Academic Press, New York. 512 pp.
- Yamashiki, N., & Kawamura, N. 1998. Behavior of centrioles during meiosis in the male silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera). *Dev. Growth Diff.* 40: 619–630.
- 湯浅 明 1969. 植物の精子. 東京大学出版会, 東京.
- Yubuki, N., & Leander B. S. 2013. Evolution of microtubule organizing centers across the tree of eukaryotes. *Plant J.* 75: 230–244.
- Zhao, H., Zhu, L., Zhu, Y., Cao, J., Li, S., Huang, Q., Xu, T., Huang, X., Yan, X., & Zhu, X. 2013. The Cep63 paralogue Deup1 enables massive de novo centriole biogenesis for vertebrate multiciliogenesis. *Nat. Cell Biol.* 15: 1434–1444.