

MAPs プロテオームから見出された表層微小管-オルガネラ相互作用

濱田 隆宏

東京大学大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系
〒153-8902 東京都目黒区駒場 3-8-1

Takahiro Hamada

Cortical microtubules-organelles interaction in plant cells

Keywords: microtubules, organelles, endoplasmic reticulum, RNA granules

Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences,

The University of Tokyo

3-8-1 Komaba, Meguro-Ku, Tokyo 153-8902

DOI: 10.24480/bsj-review.9c6.00145

植物には、セルロース合成酵素のレールとして働く表層微小管、分裂面の方向を決定する PPB (preprophase band, 分裂準備帯)、染色体の分配に働く紡錘体、細胞板の構築に働くフラグモプラストと呼ばれる微小管構造物が存在する。これらの微小管構造物の構築と機能発現には微小管の周囲に集積する微小管付随タンパク質群 (MAPs, microtubule associated proteins) が必須であり、植物における微小管の役割やその制御メカニズムを調べるためには MAPs の機能解析をする必要がある (Hamada 2014, Hashimoto 2015)。

1. 微小管付随タンパク質群 (MAPs)

植物の微小管付随タンパク質群 (MAPs) には真核生物に共通したタンパク質ファミリーと植物独特のタンパク質ファミリーに分類できる。真核生物共通な MAPs の基本的な動作メカニズムは、ほぼ保存されていると考えられるが、その一方で、植物独特な使われ方や役割を担っていることがある。例えば、微小管の重合開始に関わる γ -tubulin 複合体の構成因子は植物にも存在し、微小管の重合開始に関わっている。しかしながら動物細胞では γ -tubulin 複合体が中心体周辺に局在して微小管が中心体から放射状に伸びるのに対し、植物細胞 (特に被子植物) では γ -tubulin 複合体は細胞の全体 (特に微小管上や細胞膜) に分布して分散型の微小管ネットワーク形成の基盤となっている。また微小管上を動くモータータンパク質であるキネシンもその作動メカニズムは基本的に同じであると思われるが、一部のキネシンサブファミリーでは動物と植物で多様性が大きく異なる。特にその違いが顕著なサブファミリーはキネシン 14 サブファミリーであり、植物には動物のキネシンでは稀な微小管マイナス端方向へと移動できるキネシンが多く含まれている。また微小管束化タンパク質の一つである MAP65

ファミリー（植物では MAP65, ヒトでは PRC1, 酵母では ASE1 と呼ばれる）は大半の動物や菌類では 1 遺伝子座しか存在しないのに対し, 植物では多様化しており（シロイヌナズナに 9 遺伝子座）, 植物の微小管構造物の構築に束化が重要であることが示唆されている。また植物独特の使われ方をする MAPs として, カタニンが注目されている。カタニンは動物や菌類では微小管を切断することで微小管を脱重合させたり, 中心体から微小管を切り離して細胞周辺部に輸送される微小管を生み出している。植物のカタニンは表層微小管の交差部位に局在して微小管を切断するが, 切断された微小管のプラス端が安定化されることで微小管の本数を増加させるという役割を担っている（Lindeboom et al. 2013, 中村 & 八木 2018 BSJ-Review 9C3: 120-129）。真核生物に共通した MAPs に関しては, 今後の更なる解析により植物独特な使われ方や役割が明らかにされると期待される。

一方, 植物には多くの植物独特な MAPs も存在している。それらの大半はシロイヌナズナを用いた遺伝学によって同定されてきた（Sedbrook & Kaloriti 2008）。シロイヌナズナの MAPs 変異体では異常が重篤な場合は致死の表現型が見られ, また致死ではないが細胞伸長や種子形成に顕著な異常を示す表現型, 根や葉柄が「ねじれる」という軽微な異常を示す表現型, さらに個体レベルでの見た目に変化は生じず細胞レベルの形態でのみ異常が見られる軽微な表現型などが見られる。これまでに機能が明確な植物独特な MAPs として, セルロース合成酵素と微小管を繋ぐ CSI (Cellulose synthase interacting) ファミリー（Gu et al. 2010, Li et al. 2012）, 微小管のマイナス端の安定化に働く SPR2 ファミリー（Nakamura et al. 2018, Leong et al. 2018, Fan et al. 2018）, 微小管密度の調節に働く RIP/MIDD ファミリー（Lavy et al. 2007, Li et al. 2008, Oda et al. 2010, Oda and Fukuda 2012, 2013）などが挙げられる。しかしながら, 多くの植物独特な MAPs は詳細な機能解析がされておらず, どのように微小管に作用するか, その作用メカニズムは今後, 続々と明らかになると期待される。

また翻訳後修飾による MAPs の機能変換も, 微小管研究における重要なテーマである。動物や菌類の MAPs 同様に, 植物 MAPs の主な機能変換もリン酸化・脱リン酸化で引き起こされており, それらに関連する微小管関連キナーゼ, フォスファターゼが同定されている。その多くは細胞周期の変化に応じた変化であり, CDK, Aurora キナーゼ, mitogen activated タンパク質キナーゼ (MAPK) などが同定され, 植物独特な制御メカニズムの一端が明らかにされている（Sasabe & Machida 2012）。また間期の表層微小管の制御に関わる微小管関連キナーゼ, フォスファターゼとして, NIMA キナーゼや PHS1 フォスファターゼが同定されており, これらの因子による詳細な微小管制御メカニズムが明らかにされている（Fujita et al. 2013, Takatani et al. 2017）。さらに表層微小管と PPB の構築に関わる TON1/FASS (TON2) フォスファターゼ複合体の機能も明らかにされている（Kirik et al. 2012, Spinner et al. 2013）。

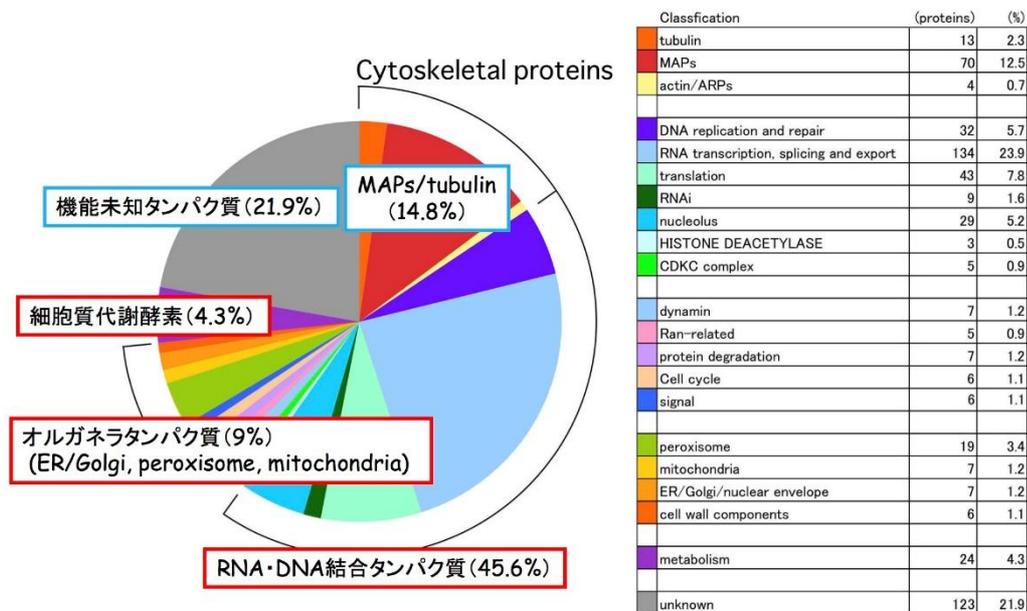
微小管構造物の構築やその機能発現は, 多くの MAPs や翻訳後修飾に関わる制御分子が協調的に働く複雑なネットワークの上に成り立っている。現時点ではその僅かな一端が解き明か

されているのみであり、今後の研究発展により、さらに詳細なメカニズムが明らかになることが期待される。特に植物独特な MAPs については、個々の MAPs による微小管制御メカニズム・作用メカニズムすら不明な点が多く、明らかにすべき課題が多く残されているのが現状である。

2-1. 微小管はオルガネラ・RNA 顆粒・タンパク質が集積する足場として働く

筆者は、これまでに生化学を基盤とした植物 MAPs の同定と機能解析を行ってきた。植物細胞の大半を占める液胞には多くのタンパク質分解成分が含まれており、植物細胞を破碎すると細胞質に含まれる MAPs はすぐに分解されてしまう。そこで筆者らは、密度勾配遠心により液胞を取り除くことによって分解の少ない高品質の細胞質を調整し、動物細胞同様に微小管の重合・脱重合と遠心分離を繰り返す MAPs 精製法を可能とした (Sonobe 1996, Hamada and Sonobe 2017)。この技術を用いて、シロイヌナズナ培養細胞を材料とした MAPs の網羅的同定 (MAPs プロテオーム) を行った。その結果、精製した MAPs 画分において、727 種類の MAPs を同定した (Hamada et al. 2013, 濱田・未発表データでは 1568 種類の MAPs を同定)。MAPs プロテオームでは、この解析以前に同定されていた既知の 117 種類の MAPs のうち、約 75% にあたる 87 種類の MAPs が同定されており、信頼性の高い解析結果だと言える。さらに機能未知であったタンパク質の中から、細胞内で微小管局在を示す新たな 6 family の MAPs も同定されている。

その一方、MAPs プロテオームの全体像を俯瞰すると、同定した全タンパク質のうち、MAPs は 1 割程度であり、それ以外に DNA・RNA 結合タンパク質が 4 割、オルガネラタンパク質が 1 割、



MAPs画分は主に以下のタンパク質を含む

- ・ 微小管構造物の構築と機能発現に関わるタンパク質 (狭義のMAPs)
- ・ 微小管上で起こる様々な現象 (代謝・RNA代謝・膜交通・シグナル伝達など) に関わるタンパク質

図1 微小管付随タンパク質群 (MAPs) プロテオームで同定されたタンパク質

細胞質タンパク質が1割と一見すると微小管機能とは関係のないものが多く含まれていた(図1)。これらのMAPs以外のタンパク質の中には、MAPs画分に高濃度に濃縮されているものも多く、筆者はこれらのタンパク質が単なる非特異的結合による夾雑物(コンタミネーション)ではなく、実際に細胞内でも微小管と相互作用しているのではないかと考えている。そこでこのBSJ-Reviewでは、これまでの筆者らの研究成果を含め、MAPs画分に含まれていたオルガネラやRNA結合タンパク質・RNAなどが集合したRNA顆粒の細胞内での振る舞いと微小管の関連について概説する。

2-2. オルガネラ・RNA顆粒の係留とキネシン・モータータンパク質

植物のオルガネラ輸送がアクチン繊維上を駆動するミオシンによって行われていることは明確であるが、その一方、微小管の役割はあまり分かっていなかった(Shimmen 2007, Cai & Cresti 2012)。その理由の一つが、植物のアクチン繊維-ミオシンが引き起こす運動が、植物の微小管-キネシンが引き起こす運動も含む他の真核生物の細胞骨格運動に比べて極めて早く(Tominaga & Nakano 2012, Nebenführ & Dixit 2018)、微小管による運動が目立たないためだと考えられる。これまでに植物における微小管依存的なオルガネラの運動を明確に示した例として、*in vitro*での解析(Romagnoli et al. 2003)、ゴルジ体分泌小胞の動き(Crowell et al. 2009, Gutierrez et al. 2009)、小胞体チューブの伸長(Hamada et al. 2014)、分泌小胞に局在するキネシンの動き(Zhu et al. 2015, Kong et al. 2015)などがあるが、その運動スピードは一般的な植物アクチン繊維が引き起こす運動スピードの10分の1程度である。また細胞内ライブイメージングによりオルガネラ(ペルオキシソーム、ミトコンドリア、ゴルジ体)を観察すると、オルガネラはアクチン繊維によって輸送され、表層微小管が存在する場所で係留されるように見える(Van Gestel et al. 2002, Chuong et al. 2005, Crowell et al. 2009, Gutierrez et al. 2009)。さらにmRNAの5'末端のキャップ構造の分解に働く細胞質RNA顆粒であるP-bodiesもアクチン繊維によって輸送され、表層微小管で係留される(Hamada et al. 2012)。P-bodiesと同様の動きは翻訳抑制されたmRNAなどで構成されるストレス顆粒や、microRNAを含むAGO1顆粒などでも観察される(Hamada et al. 2018, 濱田, 未発表データ)。これらの観察により、MAPs画分に含まれていたオルガネラ・細胞質RNA顆粒のタンパク質は、実際に細胞内でも微小管と相互作用している可能性が高いと言える。

この細胞内でのオルガネラ・RNA顆粒と微小管の相互作用は、キネシンや架橋タンパク質によって引き起こされている可能性が高く、微小管に沿ったオルガネラの移動は(微小管に平行に伸びたアクチン繊維-ミオシンの関与がない限り)キネシンが関与すると思われる。一方、微小管上に係留されるように観察される粒状オルガネラ・RNA顆粒に関しては、細胞膜上で小胞体や微小管などが形成する「オルガネラ・RNA顆粒が係留される特別な領域」で起きる可能性も高く、1個から数個程度のタンパク質で構成されるような直接的な相互作用ではない可

能性もある (Peña & Heinlein 2013)。その証拠として、微小管を脱重合させた場合でも、粒状のオルガネラ (ペルオキシソーム, ミトコンドリア, ゴルジ体) や RNA 顆粒の停止頻度は影響を受けない (Hamada et al. 2012)。これは粒状オルガネラや RNA 顆粒が、細胞膜上で形成されている「オルガネラ・RNA 顆粒が係留される特別な領域」に含まれる微小管以外の構造体 (小胞体や細胞膜, その他のオルガネラなど) と強く相互作用しているためだと考えられる。

微小管上を動くモータータンパク質であるキネシンは、微小管構造物の構築に関わるキネシンとオルガネラ輸送に関わるキネシンに分類される。植物におけるキネシンファミリーの種類は多く、オルガネラ輸送を微小管依存的に行う動物と比較しても遜色ない (Richardson et al. 2006, Nebenführ & Dixit 2018)。このキネシンファミリーの中でもキネシン 14 サブファミリーは特に植物で多様化しており、微小管のマイナス端方向へと移動できるキネシンが多く含まれていることが特徴である。

キネシン 4 サブファミリーに属する FRA1 がゴルジ体由来の分泌小胞を運び、確実に微小管上で移動することが観察されている (Zhu et al. 2015, Kong et al. 2015)。被子植物において核の輸送はアクチン繊維依存的であるが (Tamura et al. 2013), アクチン繊維結合ドメインをもつ KCH (キネシン 14 サブファミリー, 以下, サブファミリーは省略) は微小管依存的にアクチン繊維を運ぶことが可能であり (Walter et al. 2015), KCH は微小管-アクチン繊維相互作用を介した核の輸送に働くと考えられている (Frey et al. 2010)。一方, ヒメツリガネゴケにおける核の輸送は微小管依存的に KCBP-b (キネシン 14) や KCH が行なっており (Miki et al. 2015, Jonsson et al. 2015, Yamada et al. 2017, Yamada & Goshima 2018), 生物種によって異なる細胞骨格の使い方をしていることがわかる。KP1 (キネシン 14) はミトコンドリア外膜タンパク質 VDAC3 と結合し、ミトコンドリアの輸送に関わっていると報告されている (Yang et al. 2011)。また分裂期の微小管構造物である PPB やフラグモプラストに偏在する POK1 ファミリー (キネシン 12) や PAKRP/KINID1 ファミリー (キネシン 12), NACK ファミリー (キネシン 7) などは微小管構造物の機能発現に必須なキネシンである。これらのキネシンが何らかのオルガネラ輸送に関わっている可能性もあるが、断言するためには更なる検証が必要であると思われる。

2-3. 表層微小管と「オルガネラが係留される特別な領域」について

微小管とオルガネラ・RNA 顆粒がキネシンや架橋タンパク質によって直接結合する以外の可能性として、微小管が存在していた領域が「オルガネラ・RNA 顆粒が係留される特別な領域」である可能性がある (図 2)。この領域の実体については不明な点が多いが、以下のようにその存在は確実であると思われる。

筆者らは、小胞体ネットワークと表層微小管をライブイメージング観察することで、小胞体

ネットワークの分岐点が微小管上に形成されていることを見出した (Hamada et al. 2012, Peña & Heinlein 2013)。小胞体ネットワークはチューブ状とシート状の小胞体で構成され、他のオルガネラ同様にアクチン繊維依存的に活発に運動しており (Quader et al. 1989), その一部分は細胞内で固定されている (Sparkes et al. 2009)。筆者らの観察では、この小胞体が固定されている箇所が微小管と共局在しており、その小胞体-微小管接着部位が分岐点になりやすいことを明らかにした (Hamada et al. 2014)。この観察結果を裏付けるように、微小管を薬剤で脱重合させた場合、小胞体分岐の数は減少する (Hamada et al., 2012)。また細胞内で観察される微小管密度と小胞体の分岐数は強い相関を示した (Hamada et al., 2014)。

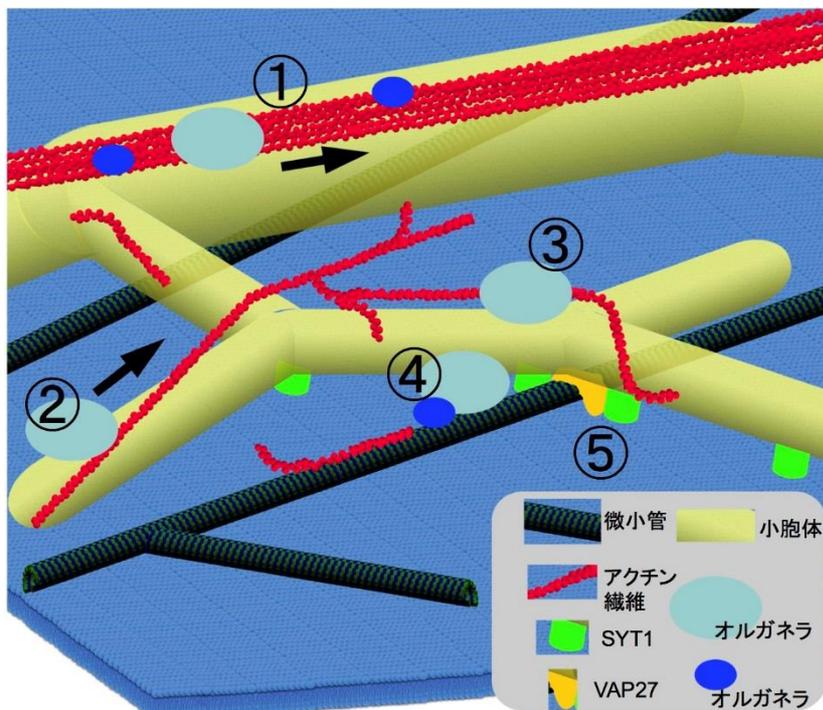


図2 細胞質中・細胞膜近傍における細胞骨格・小胞体・「オルガネラ・RNA 顆粒が係留される特別な領域」の模式図

表層微小管周辺には小胞体を含む様々なオルガネラや RNA 顆粒が集積し、「オルガネラ・RNA 顆粒が係留される特別な領域」が形成される。この領域ではオルガネラ間の相互作用に加え、表層微小管上に局在する細胞質酵素などにより活発な代謝が行われ、またイノシトールリン酸が多く、細胞膜でのエンドサイトーシス、エキソサイトーシスのみならず、シグナル伝達や膜輸送、病害応答などの多様な発生や環境応答の基盤として働くと考えられる。

表層微小管は細胞膜に沿って2次元に広がるネットワークである。①細胞膜から離れた細胞質中に原形質流動を引き起こすアクチン繊維の太い束が存在し、小胞体を含むオルガネラや RNA 顆粒などを運んでいる。②細胞膜近傍では、細いアクチン繊維 (おそらく1本) が小胞体を含むオルガネラや RNA 顆粒などを運ぶ。③アクチン繊維によって運ばれてきたオルガネラや RNA 顆粒は微小管周辺でしばしば係留される。④一部のオルガネラは微小管上を動いたり、微小管上に係留されている。⑤小胞体は VAP27 などの因子によって微小管や細胞膜に係留されている。小胞体と細胞膜を繋ぐ SYT1 は VAP27 を挟むように局在する。また SYT1 による小胞体-細胞膜との結合には微小管は必須ではない。

また小胞体は細胞膜にも直接結合しており、微小管を完全に破壊した場合、小胞体ネットワークの固定部位や分岐点は減少するが完全には失われない。この小胞体と細胞膜に接着部位は小胞体-細胞膜接着部位 (EPCSs: Endoplasmic Reticulum-Plasma membrane contact sites) と呼ばれている (Wang et al. 2017)。この EPCSs のマーカーとしては真核生物に保存された小胞体-細胞膜架橋タンパク質である VAP27 や SYT1 が知られており、これらのタン

パク質が植物のEPCSsに局在することが知られている (Wang et al. 2014, Pérez-Sancho et al. 2015, Levey et al. 2015, Wang et al. 2016)。またEPCSsに局在する植物特有のタンパク質としてSNAREタンパク質であるSYP7ファミリーやNET3Cなどが知られており、これらのタンパク質はアクチン繊維結合ドメインを介してアクチン繊維と小胞体を安定的に繋いでいると考えられている (Suwastika et al. 2008, Wang et al. 2014, Cao et al. 2016)。

これらの中で注目すべきタンパク質はVAP27である。VAP27は微小管へ直接結合することが *in vitro* で示されており、微小管・小胞体・細胞膜の3者を繋いでいる (Wang et al. 2014)。VAP27とSYT1の細胞内局在は異なっており、VAP27で認識されるV-EPCSsは表層微小管の周囲に局在し (表層微小管は約10 nm程度の距離で密接に細胞膜に沿った二次元の構造である)、SYT1で認識されるS-EPCSsは表層微小管周囲には少なくVAP27の局在を避けて微小管を挟むように局在している (Siao et al. 2016)。このVAP familyは動物細胞や酵母では微小管への結合 (Skehel et al. 2000) 以外に、脂質合成や膜交通、膜輸送などに働いていることが知られている (Lev et al. 2008)。シロイヌナズナにおいてもVAP27がクラスリンを介したエンドサイトーシスに働くことが示されている (Stefano et al. 2018)。またVAP27はPI(3)P、PI(4)P、PI(5)Pなどのイノシトールリン酸とも直接結合することができる (Stefano et al. 2018)。

一方、MAPsであるCLASPは後期エンドソームに局在するSNX1 (Sorting Nexin1) との相互作用することが報告されている (Ambrose et al. 2013)。このSNX1はPI(3)PやPI(3,5)P₂と結合し、またPI(3)PをPI(3,5)P₂へ変換するFAB1タンパク質とも後期エンドソームで共局在する (Hirano et al. 2015)。この後期エンドソームは細胞表層で微小管に沿った粒状やチューブ状の構造として存在するが、微小管を破壊するとこれらの後期エンドソームが細胞質に離散してしまうことが知られている (Ambrose et al. 2013, Hirano et al. 2015)。

このVAP27とCLASPの研究において浮かび上がる「微小管・小胞体・エンドサイトーシス・イノシトールリン酸」などの共通のキーワードは、VAP27が形成するV-EPCSsとCLASPの相互作用を連想させ、CLASPはV-EPCSsの構築に働く重要な因子である可能性が示唆される。またイノシトールリン酸は膜ドメインの目印として細胞膜でのエンドサイトーシス、エキソサイトーシスのみならず、シグナル伝達や膜輸送、病害応答などの多様な発生や環境応答の基盤として働いており (Heilmann, 2016)、イノシトールリン酸と共局在するCLASPやV-EPCSsが関わる構造の重要性はその点からも支持される。

この表層微小管周辺には、EPCSsに関わる小胞体・細胞膜のみならず、その他のミトコンドリア・ペルオキシソーム・ゴルジ体などのオルガネラ、P-bodiesやストレス顆粒などのRNA顆粒も局在し、「オルガネラ・RNA顆粒が係留される特別な領域」が形成される。これらのオルガネラ間の相互作用 (オルガネラ間コンタクトサイト) は細胞内の代謝にとって非常に重要である (Gatta and Levine, 2017)。植物は動物や酵母よりも更に多くの代謝物を合成してお

り、表層微小管が構築に関わる「オルガネラが係留される特別な領域」は重要な役割を担っていると想像できる。しかしながらこれらのオルガネラ機能と微小管の直接的な繋がりを実験的に見つけることは難しいかもしれない。過去には観察条件や観察対象を変えることで、新たな微小管とオルガネラの繋がりを見出した例がある。例えばシロイヌナズナの表皮細胞ではエキソサイトーシスの頻度が微小管の有無に依存しないと報告されていたが (Gutierrez et al. 2009, Fendrych et al. 2013) , 導管分化時に注目すると微小管がエキソサイトーシスの足場として働くことが示されている (Oda et al. 2015, 佐々木&小田 2018)。また微小管に沿って伸長する小胞体や、微小管-小胞体の相互作用などは、アクチン繊維の非存在下で観察されやすくなる (Hamada et al. 2014)。

これまでの微小管研究では、表層微小管の機能は「セルロース合成酵素のレール」としての役割が大きくクローズアップされてきた。今後は「細胞膜近傍で様々なオルガネラ間相互作用や細胞質タンパク質を集積させるハブ」という表層微小管の役割についても、多くの知見が得られると期待している。

引用文献

- Ambrose, C., Ruan, Y., Gardiner, J., Tamblyn, L.M., Catching, A., Kirik, V., et al. 2013. CLASP Interacts with Sorting Nexin 1 to Link Microtubules and Auxin Transport via PIN2 Recycling in *Arabidopsis thaliana*. *Dev. Cell*. 24: 649–659.
- Cai, G., & Cresti, M. 2012. Are kinesins required for organelle trafficking in plant cells? *Front Plant Sci*. 3.
- Cao, P., Renna, L., Stefano, G., Brandizzi, F., Cao, P., Renna, L., et al. 2016. SYP73 Anchors the ER to the Actin Cytoskeleton for Maintenance of ER Integrity and Streaming in Report SYP73 Anchors the ER to the Actin Cytoskeleton for Maintenance of ER Integrity and Streaming in *Arabidopsis*. *Curr. Biol*. 26: 3245–3254.
- Chuong, S.D.X., Park, N., Freeman, M.C., Mullen, R.T., & Muench, D.G. 2005. The peroxisomal multifunctional protein interacts with cortical microtubules in plant cells. *BMC Cell Biol*. 13: 1–13.
- Crowell, E.F., Bischoff, V., Desprez, T., & Vernhettes, S. 2009. Pausing of Golgi Bodies on Microtubules Regulates Secretion of Cellulose Synthase Complexes in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 21: 1141–1154.

- Fan, Y., Burkart, G.M., & Dixit, R. 2018. The Arabidopsis SPIRAL2 Protein Targets and Stabilizes Microtubule Minus Ends. *Curr. Biol.* 987–994.
- Fendrych, M., Synek, L., Pecenková, T., Drdová, E.J., Sekeres, J., de Rycke, R., et al. 2013. Visualization of the exocyst complex dynamics at the plasma membrane of Arabidopsis thaliana. *Mol. Biol. Cell.* 24: 510–520.
- Frey, N., Klotz, J., & Nick, P. 2010. A kinesin with calponin-homology domain is involved in premitotic nuclear migration. *J. Exp. Bot.* 61: 3423–3437.
- Fujita, S., Pytela, J., Hotta, T., Kato, T., Hamada, T., Akamatsu, R., et al. 2013. An atypical tubulin kinase mediates stress-induced microtubule depolymerization in arabidopsis. *Curr. Biol.* 23: 1969–1978.
- Gatta, A.T., & Levine, T.P. 2017. Piecing Together the Patchwork of Contact Sites. *Trends Cell Biol.* 27: 214–229.
- Gu, Y., Kaplinsky, N., Bringmann, M., Cobb, A., Carroll, A., Sampathkumar, A., et al. 2010. Identification of a cellulose synthase-associated protein required for cellulose biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107: 12866–12871.
- Gutierrez, R., Lindeboom, J.J., Paredez, A.R., Emons, A.M.C., & Ehrhardt, D.W. 2009. Arabidopsis cortical microtubules position cellulose synthase delivery to the plasma membrane and interact with cellulose synthase trafficking compartments. *Nat. Cell Biol.* 11: 797–806.
- Hamada, T., Yako, M., Minegishi, M., Sato, M., Kamei, Y., Yanagawa, Y., Toyooka, K., Watanabe, Y., & Hara-Nishimura, I. 2018. Stress granule formation is induced by a threshold temperature rather than a temperature difference in Arabidopsis. *J. Cell Sci.* 131, jcs216051.
- Hamada, T., Ueda, H., Kawase, T., & Hara-Nishimura, I. 2014. Microtubules Contribute to Tubule Elongation and Anchoring of Endoplasmic Reticulum, Resulting in High Network Complexity in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 166: 1869–1876.
- Hamada, T. 2014. Microtubule organization and microtubule-associated proteins in plant cells. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 312: 1–52.

- Hamada, T., Igarashi, H., Taguchi, R., Fujiwara, M., Fukao, Y., Shimmen, T., et al. 2009. The putative RNA-processing protein, THO2, is a microtubule-associated protein in tobacco. *Plant Cell Physiol.* 50: 801–811.
- Hamada, T., Nagasaki-Takeuchi, N., Kato, T., Fujiwara, M., Sonobe, S., Fukao, Y., et al. 2013. Purification and characterization of novel microtubule-associated proteins from Arabidopsis cell suspension cultures. *Plant Physiol.* 163: 1804–1816.
- Hamada, T., & Sonobe, S. 2017. Isolation of microtubules and microtubule-associated proteins. In *Methods in Molecular Biology.* 281–289.
- Hashimoto, T. 2015. Microtubules in Plants. *Arabidopsis Book.* e0179.
- Heilmann, I. 2016. Phosphoinositide signaling in plant development. *Development.* 143: 2044–2055.
- Hirano, T., Munnik, T., & Sato, M.H. 2015. Phosphatidylinositol 3-phosphate 5-kinase, FAB1/PIKfyve mediates endosome maturation to establish endosome-cortical microtubule interaction in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 169: 1961–1974.
- Jonsson, E., Yamada, M., Vale, R.D., & Goshima, G. 2015. Clustering of a kinesin-14 motor enables processive retrograde microtubule-based transport in plants. *Nat. Plants.* 1: 15087.
- Kirik, A., Ehrhardt, D.W., & Kirik, V. 2012. TONNEAU2/FASS Regulates the Geometry of Microtubule Nucleation and Cortical Array Organization in Interphase Arabidopsis Cells. *Plant Cell.* 24: 1158–1170.
- Kong, Z., Ioki, M., Braybrook, S., Li, S., Ye, Z.H., Julie Lee, Y.R., et al. 2015. Kinesin-4 Functions in Vesicular Transport on Cortical Microtubules and Regulates Cell Wall Mechanics during Cell Elongation in Plants. *Mol. Plant.* 8: 1011–1023.
- Leong SY, Yamada M, Yanagisawa N, G.G. 2018. SPIRAL2 Stabilises Endoplasmic Microtubule Minus Ends in the Moss *Physcomitrella patens*. *Cell Struct. Funct.* 43: 53–60.
- Lavy, M., Bloch, D., Hazak, O., Gutman, I., Poraty, L., Sorek, N., Sternberg, H., & Yalovsky, S. 2007. A Novel ROP/RAC effector links cell polarity, root-meristem maintenance, and vesicle trafficking. *Curr. Biol.* 17: 947–952.

- Lev, S., Halevy, D. Ben, Peretti, D., & Dahan, N. 2008. The VAP protein family : from cellular functions to motor neuron disease. *Trends Cell Biol.* 18: 282–290.
- Levy, A., Zheng, J.Y., Sondra, G., Levy, A., Zheng, J.Y., & Lazarowitz, S.G. 2018. Synaptotagmin SYTA Forms ER-Plasma Membrane Junctions that Are Recruited to Plasmodesmata for Plant Virus Movement Report Synaptotagmin SYTA Forms ER-Plasma Membrane Junctions that Are Recruited to Plasmodesmata for Plant Virus Movement. *Curr. Biol.* 25: 2018–2025.
- Li, S., Lei, L., Somerville, C.R., & Gu, Y. 2012. Cellulose synthase interactive protein 1 CSII. links microtubules and cellulose synthase complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109: 185–190.
- Li, S., Gu, Y., Yan, A., Lord, E., & Yang, Z.B. 2008. RIP1 ROP Interactive Partner 1/ICR1 marks pollen germination sites and may act in the ROP1 pathway in the control of polarized pollen growth. *Mol. Plant.* 1: 1021–1035.
- Lindeboom, J.J., Nakamura, M., Hibbel, A., Shundyak, K., Gutierrez, R., Ketelaar, T., et al. 2013. A mechanism for reorientation of cortical microtubule arrays driven by microtubule severing. *Science* 342: 1245–1249.
- Miki, T., Nishina, M., & Goshima, G. 2015. RNAi screening identifies the armadillo repeat-containing kinesins responsible for microtubule-dependent nuclear positioning in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell Physiol.* 56: 737–749.
- 中村匡良 & 八木慎宜 2018 青色光に応答した微小管ダイナミクス. 植物科学の最前線 (BSJ-Review) 9C3: 120-129.
- Nakamura, M., Lindeboom, J.J., Saltini, M., Mulder, B.M., & Ehrhardt, D.W. 2018. SPR2 protects minus ends to promote severing and reorientation of plant cortical microtubule arrays. *J. Cell Biol.* 217: 915–927.
- Nebenführ, A., & Dixit, R. 2018. Kinesins and Myosins: Molecular Motors that Coordinate Cellular Functions in Plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 69: 329–361.
- Oda, Y., & Fukuda, H. 2012. Initiation of cell wall pattern by a Rho- and microtubule-driven symmetry breaking. *Science* 337: 1333–1336.
- Oda, Y., & Fukuda, H. 2013. Rho of Plant GTPase Signaling Regulates the Behavior of Arabidopsis Kinesin-13A to Establish Secondary Cell Wall Patterns. *Plant Cell.* 25: 4439–4450.

- Oda, Y., Iida, Y., Kondo, Y., & Fukuda, H. 2010. Wood cell-wall structure requires local 2D-microtubule disassembly by a novel plasma membrane-anchored protein. *Curr. Biol.* 20: 1197–1202.
- Oda, Y., Iida, Y., Nagashima, Y., Sugiyama, Y., & Fukuda, H. 2015. Novel Coiled-Coil Proteins Regulate Exocyst Association with Cortical Microtubules in Xylem Cells via the Conserved Oligomeric Golgi-Complex 2 Protein. *Plant Cell Physiol.* 56: 277–286.
- Peña, E., & Heinlein, M. 2013. Cortical microtubule-associated ER sites: organization centers of cell polarity and communication. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6: 764–773.
- Pérez-Sancho, J., Vanneste, S., Lee, E., Mcfarlane, H.E., & Esteban, A. 2015. The Arabidopsis Synaptotagmin1 Is Enriched in Endoplasmic Reticulum-Plasma Membrane Contact Sites and Confers Cellular Resistance to Mechanical Stresses. *Plant Physiol.* 168: 132–143.
- Quader, H., Hofmann, A., & Schnepf, E. 1989. Reorganization of the endoplasmic reticulum in epidermal cells of onion bulb scales after cold stress: Involvement of cytoskeletal elements. *Planta.* 177: 273–280.
- Richardson, D.N., Simmons, M.P., & Reddy, A.S.N. 2006. Comprehensive comparative analysis of kinesins in photosynthetic eukaryotes. *BMC Genomics.* 37: 1–37.
- Romagnoli, S., Cai, G., Cresti, M., Scienze, D., Sarfatti, A.G., & Siena, U. 2003. In Vitro Assays Demonstrate That Pollen Tube Organelles Use Kinesin-Related Motor Proteins to Move along Microtubules. *Plant Cell.* 15: 251–269.
- Sasabe, M., & Machida, Y. 2012. Regulation of Organization and Function of Microtubules by the Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade During Plant Cytokinesis. *Cytoskeleton.* 69:913-918.
- 佐々木武馬 & 小田祥久 2018 木部道管細胞の分化を支える表層微小管ダイナミクス. 植物科学の最前線 (*BSJ-Review*) 9C5: 148-154.
- Sedbrook, J.C., & Kaloriti, D. 2008. Microtubules, MAPs and plant directional cell expansion. *Trends Plant Sci.* 13:303-310.
- Shimmen, T. 2007. The sliding theory of cytoplasmic streaming: Fifty years of progress. *J. Plant Res.* 120: 21–43.

- Siao, W., Wang, P., Voigt, B., Hussey, P.J., & Baluska, F. 2016. Arabidopsis SYT1 maintains stability of cortical endoplasmic reticulum networks and VAP27-1-enriched endoplasmic reticulum – plasma membrane contact sites. *J. Exp. Bot.* 67: 6161–6171.
- Skehel, P. a, Fabian-Fine, R., & Kandel, E.R. 2000. Mouse VAP33 is associated with the endoplasmic reticulum and microtubules. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 97: 1101–1106.
- Sonobe, S. 1996. Studies on the plant cytoskeleton using miniprotoplasts of tobacco BY-2 cells. *J. Plant Res.* 109:437-48
- Sparkes, I., Runions, J., Hawes, C., & Griffing, L. 2009. Movement and Remodeling of the Endoplasmic Reticulum in Nondividing Cells of Tobacco Leaves. *Plant Cell.* 21: 3937–3949.
- Spinner, L., Gadeyne, A., Belcram, K., Goussot, M., Moison, M., Duroc, Y., et al. 2013. A protein phosphatase 2A complex spatially controls plant cell division. *Nat. Commun.* 4: 1863.
- Stefano, G., Renna, L., Wormsbaecher, C., Gamble, J., Zienkiewicz, K., & Brandizzi, F. 2018. Plant Endocytosis Requires the ER Membrane-Anchored Proteins VAP27-1 and VAP27-3. *Cell Rep.* 23: 2299–2307.
- Suwastika, I.N., Uemura, T., Shiina, T., H. Sato, M., & Takeyasu, K. 2008. SYP71, a Plant-specific Qc-SNARE Protein, Reveals Dual Localization to the Plasma Membrane and the Endoplasmic Reticulum in Arabidopsis. *Cell Struct. Funct.* 33: 185–192.
- Takatani, S., Ozawa, S., Yagi, N., Hotta, T., Hashimoto, T., Takahashi, Y., et al. 2017. Directional cell expansion requires NIMA-related kinase 6 NEK6.-mediated cortical microtubule destabilization. *Sci. Rep.* 7826.
- Tamura, K., Iwabuchi, K., Fukao, Y., Kondo, M., Okamoto, K., et al. 2013. Myosin XI-I links the nuclear membrane to the cytoskeleton to control nuclear movement and shape in Arabidopsis. *Curr. Biol.* 23:1776– 1781.
- Tominaga, M., & Nakano, A. 2012. Plant-Specific Myosin XI, a Molecular Perspective. *Front Plant Sci.* 3: 1–11.
- Van Gestel, K., Köhler R. H., & Verbelen, J. P. 2002. Plant mitochondria move on F-actin, but their positioning in the cortical cytoplasm depends on both F-actin and microtubules. *J. Exp. Bot.* 53: 659–667.

- Walter, W.J., MacHens, I., Rafieian, F., & Diez, S. 2015. The non-processive rice kinesin-14 OsKCH1 transports actin filaments along microtubules with two distinct velocities. *Nat. Plants*. 1: 15111.
- Wang, P., Hawes, C., & Hussey, P.J. 2017. Plant Endoplasmic Reticulum – Plasma Membrane Contact Sites. *Trends Plant Sci*. 22: 289–297.
- Wang, P., Hawkins, T.J., Richardson, C., Cummins, I., Deeks, M.J., Sparkes, I., et al. 2014. The plant cytoskeleton, NET3C, and VAP27 mediate the link between the plasma membrane and endoplasmic reticulum. *Curr. Biol*. 24: 1397–1405.
- Wang, P., Richardson, C., Hawkins, T.J., Sparkes, I., Hawes, C., & Hussey, P. J. 2016. Plant VAP27 proteins: Domain characterization, intracellular localization and role in plant development. *New Phytol*. 210: 1311–1326.
- Yamada, M., Tanaka-Takiguchi, Y., Hayashi, M., Nishina, M., & Goshima, G. 2017. Multiple kinesin-14 family members drive microtubule minus end-directed transport in plant cells. *J. Cell Biol*. 216: 1705–1714.
- Yamada, M., & Goshima, G. 2018. KCH kinesin drives nuclear transport and cytoskeletal coalescence for tip cell growth. *Plant Cell*. 30:1496-1510.
- Yang, X., Chen, Z., Xu, T., Qu, Z., Pan, X., Qin, X., et al. 2011. Arabidopsis Kinesin KP1 Specifically Interacts with VDACC3, a Mitochondrial Protein, and Regulates Respiration during Seed Germination at Low Temperature. *Plant Cell*. 23: 1093–1106.
- Zhu, C., Ganguly, A., Baskin, T.I., McClosky, D.D., Anderson, C.T., Foster, C., et al. 2015. The Fragile Fiber1 Kinesin Contributes to Cortical Microtubule-Mediated Trafficking of Cell Wall Components. *Plant Physiol*. 167: 780–792.