

NIMA 関連キナーゼによる極性成長の制御機構

本瀬宏康, 高谷彰吾, 高橋卓

岡山大学大学院自然科学研究科

岡山県岡山市北区津島中 3-1-1 岡山大学理学部本館

Hiroyasu Motose, Shogo Takatani, Taku Takahashi

NIMA-related kinases direct plant cell growth

Key words: growth polarity, land plant evolution, microtubule, NIMA-related kinase, tip growth

Graduate School of Natural Science & Technology, Okayama University

Tsushimanaka 3-1-1, Okayama, 700-8530 Japan

DOI: 10.24480/bsj-review.9c4.00143

細胞が一定の方向に伸長する極性成長は様々な生物で見られる現象であり、形態形成や生殖過程に必須の役割を果たしている。特に、動物の神経細胞、糸状菌の菌糸、植物の花粉管・根毛・仮根・原糸体などは、明瞭な極性のある成長を行う。これらの極性成長は、主に微小管やアクチン繊維といった細胞骨格によって実行されているが、その制御機構については未だ不明な点が多い。私達の研究から、真核生物に広く保存されている NIMA 関連キナーゼ (NIMA-related kinase, NEK) が、微小管を介して植物細胞の伸長方向を調節することが明らかになった。動物や菌類の NEK は主に細胞分裂を制御しているが、植物では進化の過程で NEK が極性成長のメカニズムに組み込まれた可能性がある。本稿では、植物細胞の伸長極性がどのように制御されているかについて、NEK による微小管制御に着目して解説したい。

1. 極性成長と微小管

細胞の成長極性の制御は、真核・原核を問わず、生物の生存と形態形成に不可欠であり、細胞構成成分の組織化という普遍的な問題を内包している。酵母や糸状菌の極性伸長、動物の受精卵・神経細胞の研究から、微小管やアクチン繊維が細胞の極性形成に中心的な役割を果たしていることが明らかになってきた (Siegrist, & Doe 2007)。分裂酵母では、分裂によって形成された新しい細胞末端が成長し、細長い細胞形態が維持される。この過程は、New End Take Off (NETO) と呼ばれるシステムによって制御されており、G2 後期に Polo キナーゼにより NETO が活性化されると、Tealp などの極性形成因子が新しい細胞端に微小管をリクルートし、逆に微小管が極性形成因子を局在化させるという正のフィードバックにより極性が形成される。

植物の細胞極性については、ROP GTPase や BASL などの細胞膜タンパク質が細胞の片側に局在化し、細胞伸長や分裂、細胞壁形成、物質輸送の方向を制御することが明らかになってきた (Dettmer & Friml 2011, Oda 2018)。特に、オーキシンの細胞外への排出を行う PIN タンパク質は

細胞の片側に局在し、オーキシンの極性輸送を引き起こす。この過程では、細胞内のオーキシンの蓄積量と極性輸送（PIN の局在化）の間に正のフィードバックが働く。PIN タンパク質の局在は、細胞膜とエンドソームの間のリサイクリングとアクチン依存的な極性分泌により制御される。PIN と微小管の間には直接的な関連はないと考えられるが、PIN タンパク質は細胞が伸長する方向に局在し、表層微小管は伸長方向と垂直に配向するので、上から見るとお互いに重ならないように局在している（Heisler et al. 2010）。以上のことから膜タンパク質と細胞骨格の相互作用が重要なことが示唆されるが、植物細胞の極性形成については全体像がつかめておらず、極性形成と細胞成長を繋ぐメカニズムもわかっていないのが現状である。

植物の形態形成では細胞が移動しないため、個々の細胞がどの方向にどれくらい成長するかにより、器官全体の形が制御される。植物細胞の伸長様式は、拡散成長（diffuse growth）と先端成長（tip growth）の2つに大別される。拡散成長では細胞表面の全域が伸びるが、先端成長では細胞の一部に成長点が形成され、そこが突出して伸び出す。拡散成長はほぼ全ての細胞で見られるが、先端成長は花粉管や根毛・仮根、コケ植物の原糸体など比較的限られた細胞が行い、顕著な極性をもったフィラメント状の形態を発達させる。一方、拡散成長といっても細胞全体が成長して丸くなることはほとんどなく、細胞の領域によって成長量が違うため、方向性のある成長が可能であり、葉のトライコームやペーパーメント細胞などでは拡散成長により特徴的な細胞形態が生じる。

植物細胞の伸長方向は、細胞膜内側に局在する表層微小管が一定の方向に並ぶことで決定される（図1、2）。これは、細胞膜上のセルロース合成酵素が表層微小管のレールの上を移動しながらセルロース微繊維を形成するため、細胞壁のセルロース微繊維が微小管と同じ向きに配向し、伸長方向を限定するためと考えられている。また、表層微小管自体が伸長方向を限定するたがとして機能すると考えられる。上記の拡散成長では、成長方向と直角に微小管とセルロース微繊維が配向し、たがとしての機能を理解しやすい。また、細胞の領域による成長量の違いは微小管とセルロース微繊維の配向や細胞壁の伸展性の違いにより説明できる。一方、先端成長では、微小管が成長方向と平行もしくは斜めに配向し、先端部に微小管のプラス端が集まった微小管束（microtubule foci）が形成される（図2）。先端成長では、微小管がたがとして機能するのではなく、微小管束の何らかの機能により成長方向が決まると考えられる（詳しくは5の先端成長のセクションを参照）。

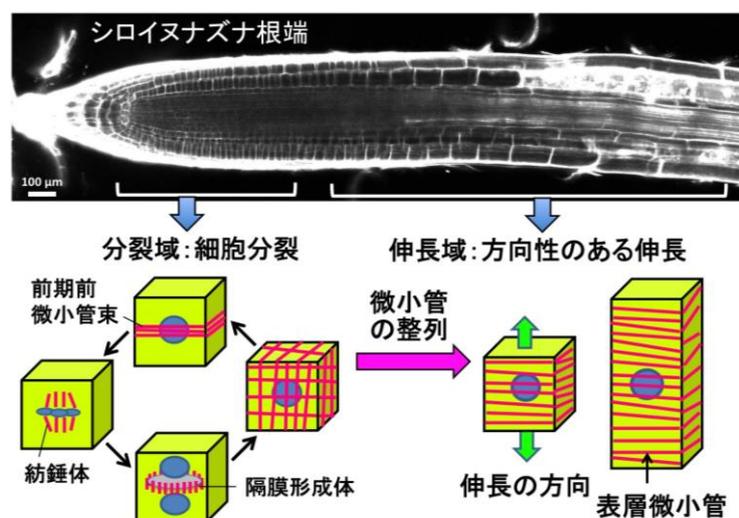


図1. 微小管（赤線）は細胞分裂・伸長の方向を規定する

ところで、中心体をもたない植物細胞において、微小管がどのように整列するのだろうか？これまでの研究から、微小管同士が角度依存的に相互作用することで、一定の方向に配向するという自己組織化モデルが提唱されている（本総説集の村田 2018 BSJ-Review 9C2）。

また、 γ -チューブリン複合体やカタニン、キネシンをはじめと

した様々な微小管付随タンパク質による制御機構が明らかになって来た（Hashimoto 2015, 本総説集の濱田 2018 BSJ-Review 9C6, 佐々木&小田 2018 BSJ-Review 9C5, 中村&八木 2018 BSJ-Review 9C3）。以下では、主に NIMA 関連キナーゼ（NIMA-related kinase, NEK）に着目し、微小管と細胞極性の制御機構について紹介する。

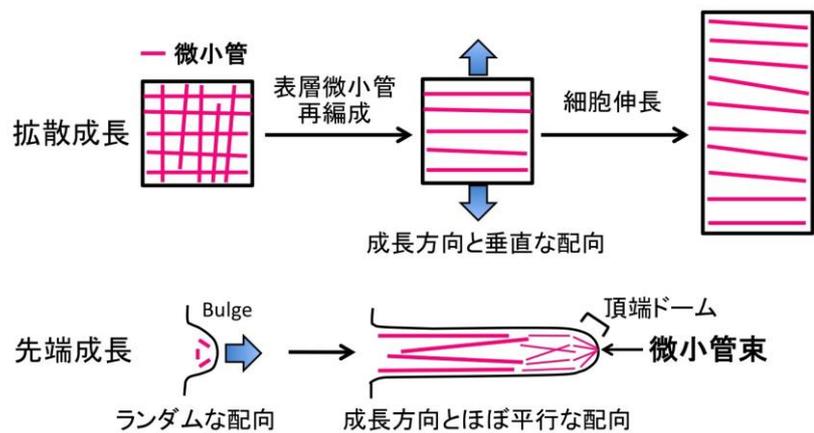


図 2. 拡散成長と先端成長. 微小管の配向の違いに着目.

2. NIMA 関連キナーゼ (NEK) とは？

NIMA 関連キナーゼは、真核生物に広く保存されている Ser/Thr 型のタンパク質キナーゼである。菌類や動物細胞の NEK は主に細胞分裂を制御しており, cyclin-dependent kinase (CDK), Polo-like kinase (PLK), aurora kinase と共に mitotic kinase を構成している (O'Connell et al. 2003, Fry et al. 2012)。NEK は糸状菌 *Aspergillus nidulans* における温度感受性変異体 *never in mitosis A (nimA)* の原因遺伝子として初めて同定された (Osmani et al. 1988)。nimA 変異体を制限温度条件下で生育すると、細胞周期が M 期直前 (G2 期) で停止する。逆に, nimA 遺伝子を過剰発現すると M 期への移行が誘導される。従って, NimA kinase は糸状菌の G2/M 移行に必要な十分な mitotic kinase であり, 細胞周期進行に必須な因子である。その後, nimA のオルソログとして分裂酵母 *fin1*, 出芽酵母 *kin3* 遺伝子が見出された。特に *fin1*, *nimA* の解析から, NEK が M 期への移行, 染色体凝集, 紡錘体形成, 細胞質分裂, M 期からの離脱 (mitotic exit) といった多面的な機能を果たしていることが明らかになった。

興味深いことに, 糸状菌とは異なり, 分裂酵母や出芽酵母の NEK は細胞周期進行に必須ではなく, 変異体は致死にならないことから, 生物種や分裂様式によって NEK の必要性が異なることが示唆されている。菌類の NEK 遺伝子はシングルコピーであるが, ほとんどの動物や植物では複数の NEK 遺伝子を持っており, 機能も多様化・分担化されていると考えられる (8 の NEK と進化のセクションを参照)。特に, クラミドモナスやテトラヒメナなど鞭毛・繊毛を持つ単細胞生物では NEK 遺伝子が多く, 多様化していることが知られている (Parker et al. 2007, Takatani et

al. 2015a)。

NEK の機能解析は、先述した菌類やヒトを始めとした動物細胞で研究が進んだ (Fry et al. 2012)。ヒトでは 11 個の *NEK* 遺伝子 (*NEK1-NEK11*) が存在し、*NEK2*, 6, 7, 9 は紡錘体形成に必要であり、*NEK1*, 10, 11 は DNA 損傷チェックポイント経路で機能している。*NEK2* は複製された中心体を連結している coiled-coil タンパク質をリン酸化し、中心体の分離を引き起こす。*NEK9* は *NEK6*, 7 をリン酸化して活性化し、Eg5 キネシンや γ -チューブリン複合体をリクルートする NEDD1 (GCP-WD) のリン酸化を介して紡錘体形成を促進する。このように *NEK* は、微小管を基盤とした中心体や紡錘体などと密接に関連して機能していると考えられる。

細胞周期制御の他に、間期における鞭毛・繊毛を制御する *NEK* が見出されている (Quarmby & Mahjoub 2005)。クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) は 2 本の鞭毛により遊泳する単細胞の緑藻で、鞭毛の形成や機能を研究する優れたモデル生物である (鞭毛については本総説集の嶋村 2018 BSJ review 9C8 を参照)。クラミドモナスの鞭毛は、様々な化学刺激や細胞周期の進行に応じて切断・除去される (脱鞭毛)。これまでに脱鞭毛が起こらない変異体が多数単離されており、その内の *fa1*, *fa2* (*flagellar autotomy*) 変異体では Ca^{2+} 依存的な微小管切断に欠損があり、鞭毛の軸糸を切断することができない (Finst et al. 1998)。*FA2* は *NEK* をコードしており、*Fa2p* タンパク質は鞭毛基部の切断部位 (移行帯) に存在し、脱鞭毛を引き起こすと考えられる (Mahjoub et al. 2002)。もう一つのクラミドモナス *NEK* である *Cnk2p* は鞭毛の軸糸上にドット状に局在し、鞭毛の伸長を抑制する (Bradley & Quarmby 2005)。*Fa2p* と *Cnk2p* はいずれも細胞周期の進行を促進しており、細胞周期とリンクした鞭毛制御を行うと考えられる。また、脊椎動物の *NEK1*, 8 も繊毛の形成・機能を制御しており、その変異は繊毛異常による疾患 (繊毛病) の 1 つである多発生嚢胞腎 (polycystic kidney disease, PKD) の原因と考えられる (Quarmby & Mahjoub 2005)。従って、*NEK* は微小管を軸糸として持つ鞭毛・繊毛を制御している。しかし、*NEK* が脱鞭毛や鞭毛の長さをどのように制御しているのか、その作用機構の詳細は不明のままである。

3. シロイヌナズナ NIMA 関連キナーゼ 6 による細胞伸長制御

私達は、植物細胞の伸長制御機構を明らかにするため、シロイヌナズナ *ibo1* 変異体を単離した。*ibo1* (*nek6*) 変異体では、表皮細胞が異常な伸長を行い、突起を形成する (図 3, Motose et al. 2008, Sakai et al. 2008)。*ibo1* 変異体の原因遺伝子は NIMA 関連キナーゼ 6 (*NEK6*) であり、*NEK6* の機能が欠損していた。*NEK6* は微小管上に局在し、キナーゼ活性を介して細胞の伸長方向を制御する。その後の解析から、*NEK6* は *NEK4*, 5 と相互作用して機能すること、微小管を構成するチューブリンをリン酸化し、微小管を不安定化することが示唆された (Motose et al. 2011)。

最近の研究から、*NEK6* によってどのように微小管が制御され、伸長方向が限定されるのか、その詳細が明らかになってきた (Takatani et al. 2017)。顕著な表現型を示す *nek6-1* 変異体では、胚軸中央部の細胞において突起が形成され、胚軸下部の細胞では伸長が抑制されていた。このこと

から, NEK6 は突起形成の抑制 (異常な伸長の抑制) と細胞伸長の促進という 2 つの機能を持つことがわかった。*nek6-1* 変異体の微小管動態を詳しく解析したところ, 細胞膜から剥がれて屈曲・変形する微小管が増大していた (図 4 A)。野生株においても, 細胞膜に結合している表層微小管は時折, 細胞膜から剥離してふらふらと移動し (lateral movement と呼ぶ), 近傍の微小管や膜に結合して微小管構造の再編成に寄与すると考えられる (Ambrose & Wasteneys 2008)。*nek6-1* 変異体では, 微小管が細胞膜から剥がれる頻度は正常であるが, 剥がれた微小管が脱重合せずに長い時間維持され, 伸長と屈曲を続けていた。

また, NEK6 を過剰発現すると, 表層微小管が減少して配向が乱れ, 細胞伸長が抑制された。従って, NEK6 の活性や発現量のバランスが厳密に制御されること, NEK6 が微小管を脱重合することが示唆された。次に, NEK6-GFP と微小管マーカー mCherry-TUB6 を発現する 2 重ラベル株を観察し, 微小管上での NEK6 の動態を解析した。その結果, NEK6 は退縮する微小管末端に局在することがわかった (図 4 B)。また, 変形する微小管が脱重合する際の末端に局在していた。以上のことから, NEK6 は細胞膜から剥がれて変形した微小管を除去し, 極性のある細胞伸長を可能にしていると考えられる。

NEK6 の分子機能を解明するため, NEK6 によってリン酸化されるβ-チューブリンのアミノ酸残基を 5 つ同定した (図 5, Takatani et al. 2017)。これらのアミノ酸をリン酸化されないアラニン, または

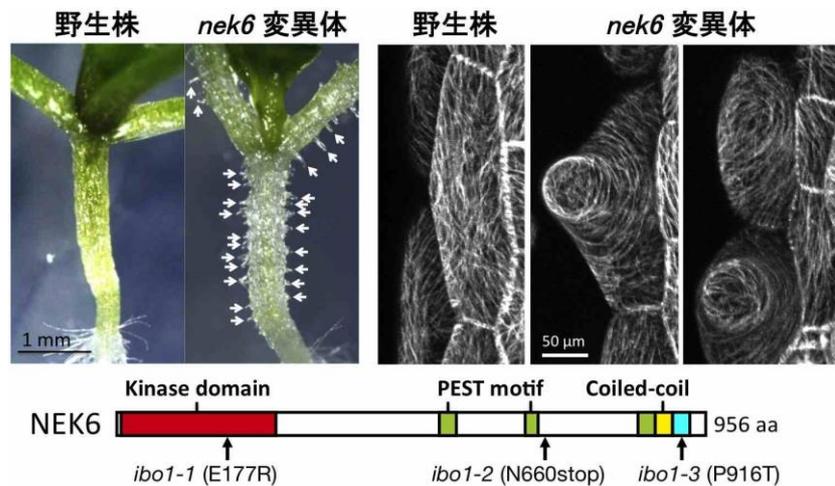


図 3. シロイヌナズナ *nek6* 変異体では微小管が整列せず, 細胞が異常な方向に伸長する。

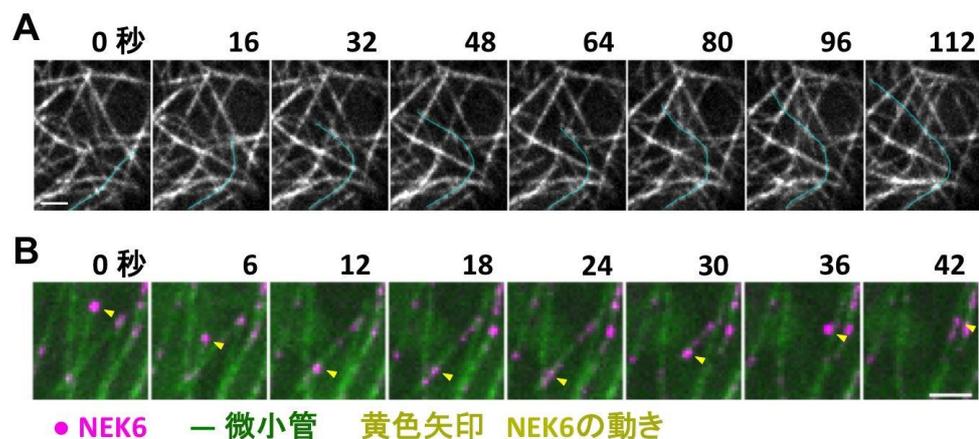


図 4. A. *nek6* 変異体における表層微小管の動態. 青線で表示した微小管が屈曲しながら伸長. B. 微小管上における NEK6 の動態. NEK6 は微小管の退縮末端に局在する。

リン酸化ミミックとなるアスパラギン酸に置換すると、チューブリンの微小管への重合が変化した。特に, Thr-166 をリン酸化されないアラニンに置換するとチューブリンの微小管への重合が顕著に促進されることから, このアミノ酸残基のリン酸化が重要であり, 微小管の不安定化に関与すると考えられた。以上より, NEK6 は β -チューブリンの特定のアミノ酸残基をリン酸化して脱重合させ, 余分な微小管を除去して整列させると考えられる (図6, チューブリンのリン酸化・修飾の詳細については章末のBOX1を参照)。

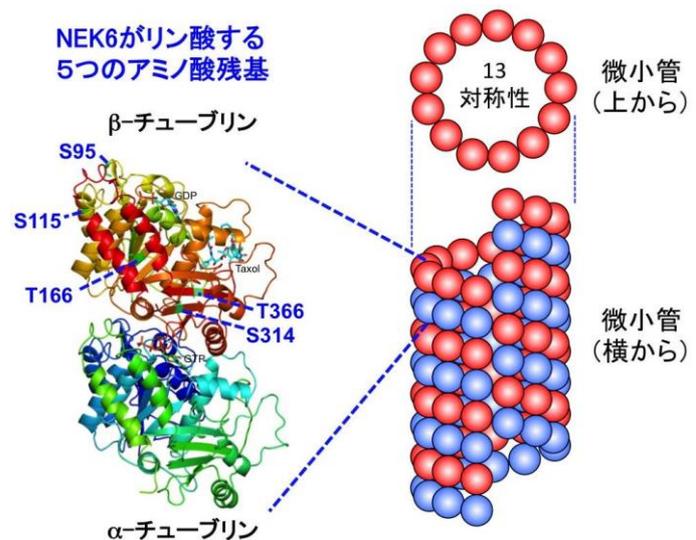


図5. NEK6によりリン酸化される β -チューブリンのアミノ酸残基

4. NEK6は微小管の張力応答を抑制し, 細胞と器官の成長を協調させる

nek6 変異体では, 表皮細胞に突起が形成される他に, 根や胚軸が屈曲して成長する表現型を示す (Motose et al. 2012)。また, 野生株では整然とした細胞列が形成されるが, *nek6* 変異体では成長に伴って細胞列が乱れていく。これらの細胞~組織・器官レベルでの伸長異常は, 何らかの同じメカニズムによって生じるのだろうか。もしそうであれば, NEK の新たな役割や, 微小管の新規な制御機構について重要なヒントとなるかもしれない。

植物の形態形成では, 個々の細胞の成長が協調し, 器官全体として統制のとれた形が作られる必要がある。器官が成長するのに伴い, その表面には張力が発生する。張力の強さや方向は, 細胞や器官の形と成長率に依存しており, 特徴的な張力パターンを発生させる。最近の研究から, この形態形成に伴う張力方向に微小管が配向し, 器官を構成する個々の細胞が協調して伸長・分裂することで, 器官全体の形態が制御されることが明らかになって来た (メカニカルフィードバック説, Hamant et al. 2008, Uyttewaal et al. 2012, Louveaux et al. 2016, Hervieux et al. 2016, 2017)。これまでの研究では植物ホルモン・ペプチドホルモンなどの化学シグナルにより細胞間の連携が行

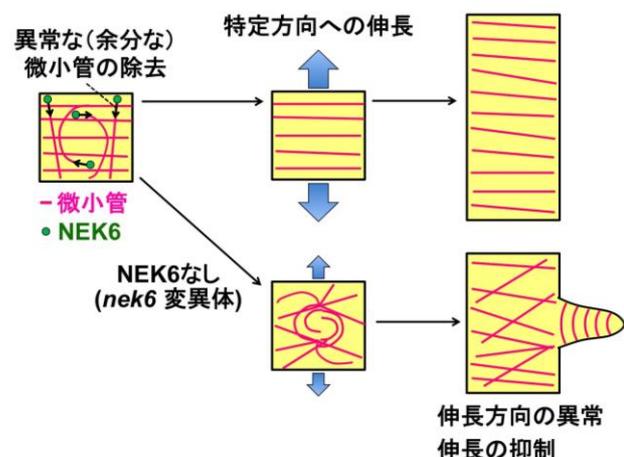


図6. NEK6により余分な微小管が除去されて整列し, 細胞伸長の方向が制御される。

われ、器官全体として調和した形態形成が実現されると考えられてきたが、それに加えて物理的な力がシグナルとなっている（メカニカルシグナル）という理解に移行しつつある。

微小管を切断するカタニンは、微小管が張力方向に配向するのに必要であり、カタニン変異体では張力応答が低下して分裂組織が平坦な形態を示す (Uyttewaal et al. 2012)。従って、カタニンがメカニカルフィードバックの **key regulator** であると考えられるが、それ以外のメカニカルフィードバックの制御機構や分子機構はほとんどわかっていない。私達は、シロイヌナズナ **NEK6** がメカニカルフィードバックを調節し、個々の細胞や器官全体をまっすぐ成長させるのではないかと考え、以下の研究を行った。

nek6 変異体では異常な細胞伸長により突起が形成されるが、これに先立って、突起を取り囲む同心円状の微小管が形成された。この異常な微小管配向は、細胞に負荷される張力に応答して促進された。従って *nek6* 変異体では、細胞の形に沿った局所的な張力に微小管が過剰に応答し、同心円状の表層微小管が形成されやすいことが示された。この異常な微小管配向が、細胞の変形を促進し、これが更に同心円上の微小管配向を強化するという、張力を介した形態と微小管のフィードバックにより突起形成を引き起こすことが明らかになった。

次に器官の伸長を詳細に解析した。*nek6* 変異体の胚軸は異常に屈曲しながら成長し、この屈曲は機械刺激の負荷により顕著に促進された。従って、*nek6* 変異体は器官レベルでもメカニカルストレスに対して過剰に応答すると考えられた。そこで、表皮細胞を一部除去し、除去部位を取り囲むように張力を発生させ、微小管の応答を定量した。その結果、*nek6* 変異体の微小管は張力に過剰に応答することが明らかになった。更に、張力応答が低下したカタニン変異体に *nek6* 変異体を掛け合わせて2重変異体を作成したところ、カタニン変異体の表現型が回復した。以上より、**NEK6** は、細胞や器官の形に沿って発生する局所的な張力に対して、微小管が過剰に応答しないよう抑制し、器官全体の細胞伸長を協調させると考えられる (Takatani et al. in prep.)。

5. ゼニゴケ NIMA 関連キナーゼは仮根の伸長方向を制御する

コケ植物は陸上植物の進化の初期に分岐し、祖先的な形質を保持している (Shimamura 2016, Bowman et al. 2017)。植物の発生進化における **NEK** の機能を明らかにするため、ゼニゴケとヒメツリガネゴケから **NEK** 遺伝子を単離し、それぞれ *MpNEK1*, *PpNEK1* と名付けた。被子植物では3~15個の **NEK** 遺伝子が存在するが、これらのコケ植物では **NEK** 遺伝子が1つだけで、**NEK** の根源的な機能を解明できると考えられる。

ゼニゴケは葉状体と呼ばれる扁平な器官が2又分岐しながら地面に沿って成長するが、地面に接する葉状体裏側（腹側）には仮根細胞が形成される（図7）。仮根細胞は、腹側の表皮細胞が先端成長してフィラメント状に伸長した細胞で、水分や栄養分の吸収、土壌への固着を行っている（図7）。ゼニゴケでは平滑仮根と有紋仮根という2種類の仮根が形成される。平滑仮根は生細

胞であり、植物体から放射状に伸びて、土壌への固着と水分・養分の吸収を行う。有紋仮根は特徴的な2次壁肥厚を持つ死細胞であり、その大部分は葉状体に沿って伸長し、仮根束を形成する。また、生殖枝の柄の内部には有紋仮根からなる仮根束が形成され、水分や養分の輸送、精子の移動に寄与する。

ゼニゴケゲノムには *NEK* 遺伝子が1つだけコードされている（ゼニゴケの学名 *Marchantia polymorpha* を付けて *MpNEK1* と呼ぶ）。*MpNEK1* の機能を明らかにするため、相同組み替えにより *Mpnek1* 破壊株を作出した。*Mpnek1* 破壊株では、仮根細胞の成長方向が異常になり、ジグザグやらせん状の形態を示した（図8, Otani et al. 2018）。

Mpnek1 破壊株に *MpNEK1*-Citrine を導入すると表現型が回復し、仮根が一定の方向に伸長した。この株において *MpNEK1*-Citrine の局在を観察したところ、*MpNEK1*-Citrine は先端成長を行っている仮根先端部に局在し、顆粒状や繊維状のパターンを示した（図9）。また、*MpNEK1* は先端部に収束する微小管上に局在していた（図9）。興味深いことに、微小管の交差部位に顆粒状に局在する *MpNEK1* が観察され、この顆粒が融合や分離を繰り返していた。以上のことから、*MpNEK1* は仮根先端部の微小管に局在し、仮根の伸長方向を制御すると考えられる。

MpNEK1 による微小管の制御機構を明らかにするため、野生株と *Mpnek1* 破壊株の微小管構造を観察した。野生株の仮根先端部では、細かい微小管が多く、細胞質に遊離したチューブリンの濃度も高い。一方、基部側では微小管が太く束化しており、細胞質の遊離チューブリンは少ない。このことは、仮根先端部において微小管が不安定化していること、チューブリンの重合・脱重合の

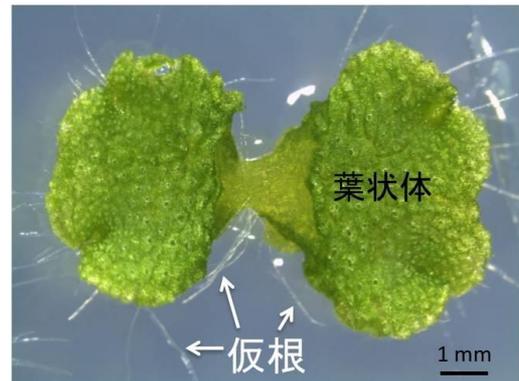


図7. ゼニゴケ幼植物体. 2週間程度、寒天培地上で生育したゼニゴケ. 扁平な葉状体が分岐しながら成長する. 葉状体の裏側から平滑仮根が放射状に伸び出している.

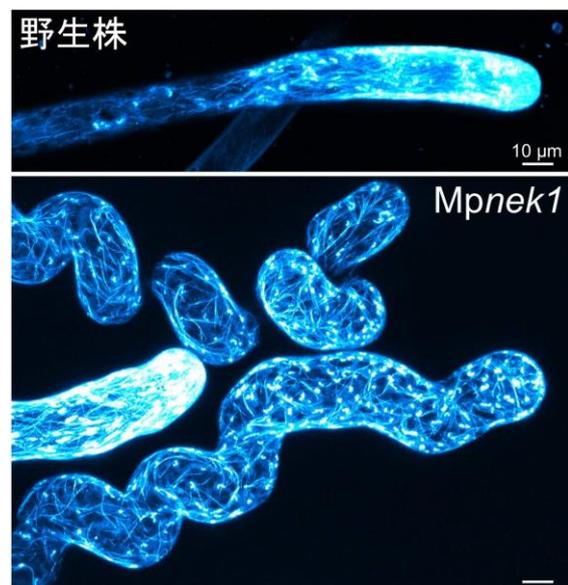


図8. ゼニゴケ野生株のまっすぐ伸長した仮根（上）と *Mpnek1* 破壊株のねじれた仮根（下）.

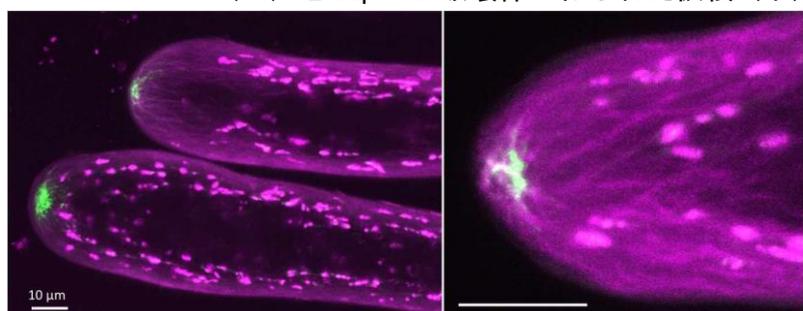


図9. *MpNEK1* の仮根先端部への局在. 緑と白: *MpNEK1*-Citrine, マゼンタ: 微小管 (繊維状) と色素体 (塊状)

このことは、仮根先端部において微小管が不安定化していること、チューブリンの重合・脱重合の

ターンオーバーが高いことを示唆している。一方、*Mpnek1* 破壊株では束化した微小管が仮根先端部まで伸びており、細胞質の遊離チューブリン濃度は低下していた (図 8)。従って、*MpNEK1* は仮根先端部において微小管を不安定化し、微小管の再編成やターンオーバーを促進していると考えられる (図 10)。

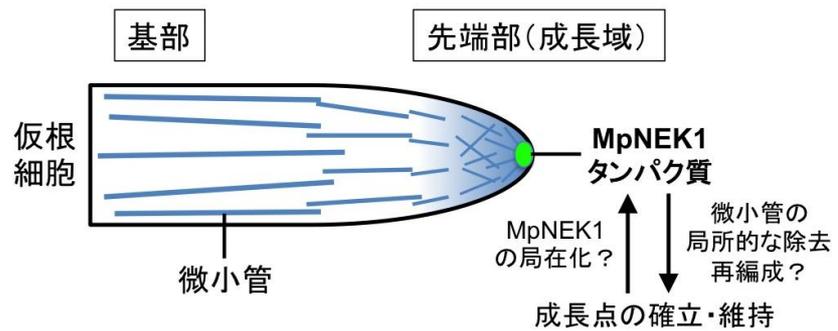


図 10. 仮根細胞の先端成長のモデル

MpNEK1 タンパク質 (緑) は先端成長を行っている頂端部に局在し、微小管 (青) を局所的に再編成し、その構造を制御する。これにより成長点が確立・維持され、仮根細胞が真っすぐ伸長する。一方、微小管束と成長点の確立により、先端への *MpNEK1* 局在が促され、成長点が安定化されると考えられる (*MpNEK1* と微小管・成長点のフィードバック)。

微小管の機能を明らかにするため、微小管阻害剤の効果を検討した。微小管安定化剤のタキソールを添加すると、仮根の伸長方向が異常になり、波打った仮根や曲がって渦を巻いたような仮根が形成された。微小管脱重合剤のプロピザミドを添加すると、同様に波打った仮根が形成されたが、伸長自体の抑制が顕著であり、枝分かれした仮根も見られた。従って、微小管の重合・脱重合 (作って壊す) というサイクルが、仮根細胞の伸長方向を決定し、安定化すると考えられる (図 10)。

シロイヌナズナ *nek6* 変異体においてゼニゴケ *MpNEK1* を発現させると、*nek6* 変異体の伸長方向異常が回復した。更に、シロイヌナズナ *NEK6* と同様に、ゼニゴケ *MpNEK1* は *in vitro* で β -チューブリンをリン酸化した。これらのことから、*NEK* による伸長方向制御は進化的に保存されており、初期の陸上植物の根系である仮根の形成に必要であったと考えられる (Otani et al. 2018)。

6. *NEK* とアルマジロリピート型キネシン *ARK* の相互作用

シロイヌナズナの *NEK6* はアルマジロリピート型キネシン (Armadillo-repeat kinesin, *ARK*) と相互作用して機能することが示唆された (Sakai et al. 2008)。キネシンは微小管上を移動するモータータンパク質で、細胞の分裂や伸長、微小管構造の制御、小胞輸送、オルガネラの移動などに関与する。*ARK* は植物固有のキネシンで、アルマジロリピートドメインというタンパク間相互作用に関わる特徴的な配列を持つ。シロイヌナズナのゲノムには3つの *ARK* 遺伝子 (*ARK1-3*) が存在する。*ARK1* は根毛の先端成長に必要であり、根毛が短く枝分かれする変異体の原因遺伝子として見出された (Jones et al. 2006, Sakai et al. 2008)。*ARK2* は根の伸長方向の制御に関与する (Sakai et al. 2008)。*ARK3* は前期前微小管束に局在し、孔辺母細胞を形成するメリステムオイドの非対称分裂に必要である (Lau et al. 2014)。これまでの研究から、*ARK1* が根毛において微小管の

構造や動態を制御することが示された。*ark1* 変異体では、根毛の中央部に束化した細胞質微小管が蓄積する。また、ARK1 は微小管の伸長末端に局在しており、微小管のカタストロフ（伸長から退縮への切り替え）を促進すると考えられる（Eng & Wasteneys 2014）。*ark1* 変異体では微小管のカタストロフと微小管の伸長速度の双方が低下するが、これは、微小管の脱重合が抑制された結果、再重合可能な遊離チューブリンの濃度が減少するためであると解釈された（Eng & Wasteneys 2014）。つまり、ARK1 はカタストロフを促進して遊離チューブリンを供給し、微小管伸長を促進する役割があると考えられる。

ARK1 はプルダウン法や酵母2ハイブリッド法において NEK6 と相互作用することが示されているが、細胞内での相互作用やその機能はわかっていない（Sakai et al. 2008）。驚くべきことに、NEK6 との相互作用に必要なアルマジロリピートを欠失した *ARK1 Δ ARM* は細胞内で正常に機能しており、微小管の伸長末端に局在して *ark1* 変異体の表現型を相補できる（Eng et al. 2017）。また、*nek6* 変異体において、ARK1 は微小管に局在して正常に機能し、*ark1 ark2 ark3* 3重変異体においても NEK6 は微小管に局在した。これらのことから、シロイヌナズナ植物体、特に根毛では ARK1 と NEK6 は独立に機能すると考えられる（Eng et al. 2017）。

一方、ゼニゴケでは ARK と NEK が機能的に相互作用していることを示唆する結果が得られており、シロイヌナズナでは進化の過程で機能連関が失われてしまったのかもしれない。また、シロイヌナズナの ARK と NEK は遺伝子ファミリーを形成しており、その相互関係がより複雑な可能性も考えられる。今後は、コケ植物とシロイヌナズナにおける詳細な解析と比較により、機能的な関係が明らかになることが期待される。

ちなみに、ヒメツリガネゴケの原糸体頂端細胞では、分裂後に核が微小管依存的に先端方向に移動するが、この核の移動に ARK が必要であることが示された（Miki et al. 2015）。実際に、ヒメツリガネゴケ ARK は微小管のプラス端方向に移動するキネシンモーター活性があり、これにより核を移動させると考えられる。シロイヌナズナやゼニゴケの ARK も核などの輸送を介して極性成長に関わる可能性がある。

7. NEK の細胞伸長以外の機能

上記の研究から、植物 NEK の主要な機能は細胞の伸長方向制御であることが示された。一方で、NEK が細胞増殖や器官成長、環境応答などを制御することが示唆されている。キンギョソウの NEK である *AmnimA* の mRNA は茎頂分裂組織や花芽分裂組織の全体で発現が高いが、細胞周期の特定の時期で発現しているのではなく、分裂活性と関連していることが示唆された（Zhang et al. 1996）。トマト NEK の SPAK は花序形態を制御する SP タンパク（シロイヌナズナ花成制御因子 TFL1 のオルソログ）や 14-3-3 タンパクと相互作用する（Pnueli et al. 2001）。*AmnimA* と同様に SPAK の mRNA も細胞周期非依存的に分裂組織や花芽、維管束で発現していた。SPAK のアンチセンス鎖を過剰発現すると花序形態が異常になり、果実が細長くなる（Pnueli et al. 2001）。

これらのことから SPAK はシュートや花・果実の形成に関与すると考えられる。

ポプラ PNek1 は 14-3-3 タンパクと結合する因子として同定された。PNek1 mRNA は上記の *AmnimA* や SPAK と異なり、G1/S 移行期、G2 から M 期にかけて発現する (Cloutier et al. 2005)。シロイヌナズナで PNek1 を過剰発現すると様々な形態異常をもたらすことから、細胞増殖と器官形成に関わることが示唆された。シロイヌナズナにおいて PNek1 のプロモーター活性を調べると、維管束組織で発現が高く、引っぱりあて材の形成層で活性が増加することから、維管束の増殖に関わることが示唆された (Vigneault et al. 2007)。

シロイヌナズナ AtNEK2 の T-DNA 挿入変異体の 1 つは変異をホモに持つ個体が得られないことから、胚致死であると考えられる (Agucci et al. 2011)。AtNEK2 の RNAi 株では成長が遅延し、器官成長や花成が抑制され、葉の柵状組織・スポンジ組織の欠損を示すことから、AtNEK2 が生存と発生に必要であることが示唆された。以上の研究では、NEK と他のタンパクとの相互作用を植物細胞内で見えていないこと、過剰発現やノックダウン株の解析がメインで、変異体やその相補株による詳細な解析がなされていないなどの問題があるが、植物の NEK が形態形成に関わると考えられる。シロイヌナズナの NEK も分裂組織や維管束で発現が高いが、それらの組織での機能は分かっておらず、今後の課題である。

シロイヌナズナ *nek6* 変異体、NEK6 過剰発現体の解析から、NEK6 がストレス応答やアブシジン酸応答に関与することが示唆された (Lee et al. 2010, Zhang et al. 2011)。双方の研究では、変異体と過剰発現体の表現型が逆になっており、今後検討が必要である。ダイズ *GmNEK* はストレスに応答して発現が増加し、*GmNEK* の過剰発現により遺伝子発現が変化し、植物の成長やストレス耐性が増大する (Pan et al. 2017)。また、イネの OsNEK6 は、乾燥ストレス応答を抑制する E3 リガーゼ OsDIS1 によりプロテアソーム依存的に分解される (Ning et al. 2011)。我々の研究では、*nek6* 変異体のストレス応答・アブシジン酸応答の表現型は微弱であり、エチレン関連遺伝子・サイクリン遺伝子の発現量も野生株と比較して差がみられない。しかし、*nek6* 変異体では特異的な遺伝子の発現変動が見られること、*nek* 多重変異体ではストレス耐性がやや低下することから、環境応答の主要因子ではないが、それを何らかの形でサポートする機能があると考えられる (本瀬, 金澤, 伊藤ら 論文準備中)。様々なストレスに応答して、表層微小管の配向変化や脱重合・再重合が起こることが知られており、これらの微小管の応答に NEK が関与する可能性もある。

ちなみに、シロイヌナズナ野生株にアブシジン酸を添加すると微小管が脱重合し、*nek6* 変異体と似た突起が形成される (Takatani et al. 2015b)。*nek6* 変異体では微小管が安定化することで突起が形成されるので、アブシジン酸の効果と逆であるが、微小管の安定性・不安定性のバランスが細胞伸長において重要であることを反映している。また、*nek6* 変異体の突起形成はエチレン前駆体の ACC を添加することで促進され、ジベレリン添加により抑制されることから (Motose et al. 2008)、NEK6 は植物ホルモンによる微小管制御と関連して機能すると考えられる。

8. NEK と植物の進化

先述したように、NEK は生物種によって多様化や退縮を起こしており、機能や必要性も異なっている。系統解析から NEK は5つのグループに分けられ、ヒト HsNEK の番号を元に HsNEK1/3/5, NEK2, NEK4/11, NEK6/7, NEK8/9 クレドと呼ばれる。真核生物の共通祖先はこれら5つの NEK を持っていたこと、進化の過程で生物種特異的に各グループの多様化や退縮が起こっていることが示唆された (Parker et al. 2007)。

系統樹解析から、植物 NEK は藻類型 (CNK ファミリー) と陸上型の2つに大別される (Takatani et al. 2015a, 図 1 1)。藻類型 NEK は上記5つの NEK のうち、HsNEK2 ファミリーを除く4つに属しており、鞭毛を持つクラミドモナスやボルボックスなどの緑藻類では NEK が多様化している (Parker et al. 2007)。また、陸上植物に近縁な車軸藻類の NEK は、陸上型 NEK の系統樹の基部に位置しており、祖先型の NEK であると考えられる。

一方、陸上型 NEK は全て HsNEK11 クレドに属している。陸上型 NEK はシロイヌナズナ AtNEK の番号を元に AtNEK1-4, AtNEK5/7, AtNEK6 ファミリーの3つに分けられる (Takatani et al. 2015a)。コケ植物の NEK は基本的に1つであり、AtNEK6 ファミリーに属している。基部維管束植物・小葉類のイヌカタヒバ (*Selaginella moellendorffii*) は NEK 遺伝子を3つ持ち、これらは全て AtNEK6 ファミリーに属している。一方、基部被子植物のアンボレラ (*Amborella trichopoda*) は3つの NEK 遺伝子を持ち、それぞれ AtNEK1-4, AtNEK5/7, AtNEK6 ファミリーの3つに属している。これらのことから、陸上植物の NEK は AtNEK6 ファミリーに似た単一の遺伝子から次第に多様化していったと考えられる。

NEK が必須遺伝子なのは今のところ糸状菌だけであり、NEK 遺伝子を1つしかもたない酵母やコケ植物においても必須ではない。酵母やコケ植物では別なキナーゼが NEK の代わりに機能する可能性もある。しかし、糸状菌では細胞周期の進行と共に細胞が伸長し、多核化 (細胞質分裂を伴わない核の分裂) が起こる必要があり、これらの過程を協調させるために NEK が必須であるのかもしれない。実際に、糸状菌 *Aspergillus nidulans* の NimA は間期においても機能し、微小管を介して菌糸の先端成長を制御している (Govindaraghavan et al. 2014)。nimA 変異体では細胞伸長が欠損するため、核の分裂に十分なスペースが確保できず、細胞周期が停止してしまう可能性がある。また、細胞が小さくて鞭毛を持たず、極性のある伸長・分裂を行わない微細藻類 *Ostreococcus tauri*, 原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* は NEK 遺伝子を欠失していることを合わせて考えると、NEK の根源的な機能は極性成長や微小管制御 (表層微小管の配向制御, 中心体—基底小体サイクル) であるのかもしれない。

9. まとめと今後の課題

植物の NIMA 関連キナーゼの解析から、微小管の脱重合、特にターンオーバー (重合・脱重合のサイクル) が細胞の伸長極性に重要であることが浮き彫りになってきた。植物細胞は伸長しな

がら、自身の形の変化や器官全体の形にตอบสนองして、微小管の構造をダイナミックに変化させる必要がある。このような形態形成に伴う微小管のターンオーバー・配向変化を制御する個々のタンパク質の機能解析が今後も重要である。また、個々の因子の機能を統合したモデルの構築や細胞と器官全体を協調させるメカニズムの解明を期待したい。

このように形態形成における微小管の制御機構, NEK の役割についてはまだわからないことが山積みになっている。NEK については、チューブリンのリン酸化が生体内のいつどこで起こっているのか、その機能は何かを明らかにしたい。また、NEK を制御する上流因子、チューブリン以外の基質や下流因子、他の微小管付随タンパク質との関係を明確にしたい。更に、先端成長における NEK と微小管の役割を調べることで、新たな極性成長のメカニズムが明らかになることが期待される。

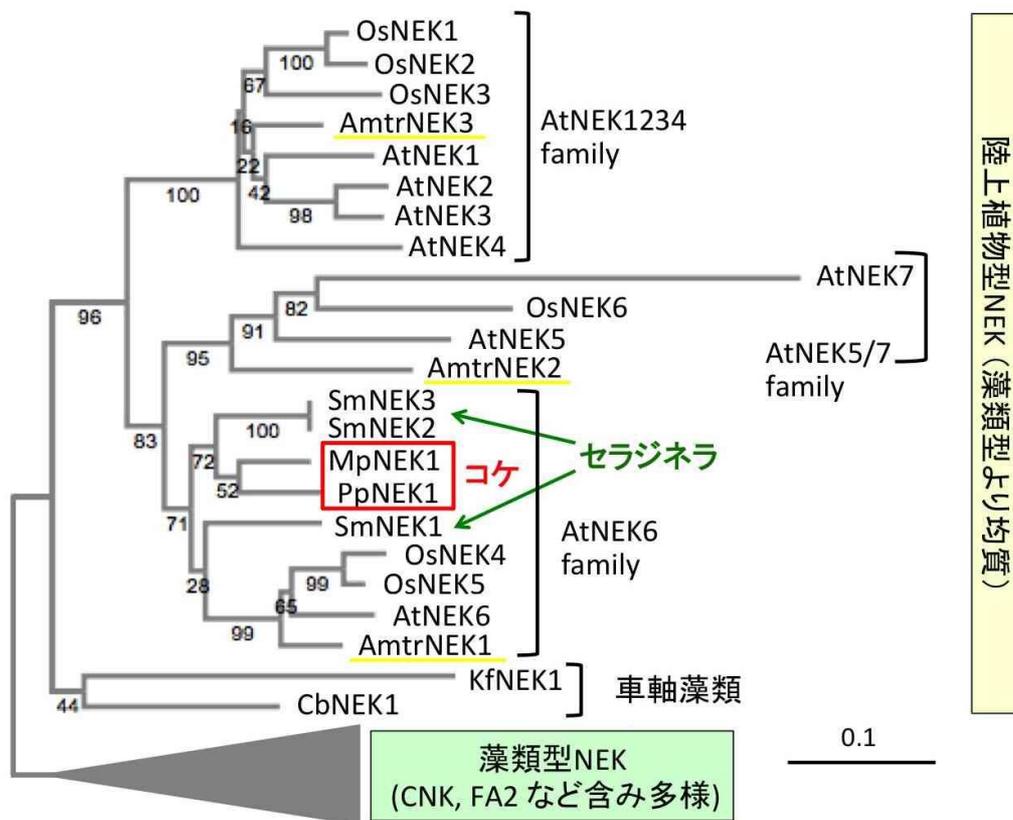


図 1 1. 植物 NEK の系統樹. 保存性の高いキナーゼドメインを用いて作成 (NJ 法, Bootstrap 確率 1000x). ゼニゴケとヒメツリガネゴケ NEK を赤のボックスで、基部被子植物アンボレラの NEK を黄色の下線で示した. Amtr: *Amborella trichopoda*, At: *Arabidopsis thaliana*, Cb: *Chara braunii*, Kf: *Klebsormidium flaccidum*, Mp: *Marchantia polymorpha*, Os: *Oryza sativa*, Pp: *Physcomitrella patens*, Sm: *Selaginella moellendorffii*. CNK・FA2: *Chlamydomonas reinhardtii* の NEK. 藻類型 NEK (主に緑藻類の NEK) については紙面の都合上省略した (灰色の三角形).

先端成長ではアクチン繊維が普遍的に重要であり、その機能がこれまで良く研究されてきた。微小管については、拡散成長における表層微小管の制御や機能が詳しく解析されてきたが、先端

成長における役割は明確ではない。最近、ライブイメージングに適したヒメツリガネゴケの原糸体において研究が進展しており、キネシンによる原糸体先端の微小管束の形成 (Hiwatashi et al. 2014) , キネシンによる核の移動 (Yamada et al. 2017, Yamada & Goshima 2018) , アクチン繊維と微小管の相互作用 (Wu & Bezanilla 2018) など、先端成長の重要なメカニズムが明らかになりつつある。私たちは、ゼニゴケのライブイメージングを確立し、仮根細胞をモデル系として先端成長を解析している。仮根細胞と他の先端成長を行う細胞を比較することで、普遍的なメカニズムや多様性、極性成長の進化が明らかになると考えられる。

謝辞

本稿で紹介した研究は、日本学術振興会 (JSPS) の科学研究費補助金 (基盤研究 C・16K07403) , 文部科学省の新学術領域研究「植物環境突破力」(23119513, 25119715) , 「植物発生ロジック」(25113009, 16H01245) , JSPS 特別研究員 (DC2・16J03501) , 両備てい園記念財団, ノバルティス科学財団, 中原教育研究基金 (岡山大・理・生物) の助成を受け実施しました。車軸藻 CbNEK1 の配列情報をいただいた坂山英俊先生 (神戸大)・西山智明先生 (金沢大) に感謝申し上げます。また、共同研究者の皆様に感謝申し上げます。

引用文献

- Agueci, F., Rutten, T., Demidov, D., & Houben, A. 2011. *Arabidopsis* AtNek2 kinase is essential and associates with microtubules. *Plant Mol. Biol. Rep.* 30: 339-348.
- Ambrose, J. C., & Wasteneys, G. O. 2008. CLASP modulates microtubule-cortex interaction during self-organization of acentrosomal microtubules. *Mol. Biol. Cell* 19: 4730-4737.
- Bowman, J. L., Kohchi, T., Yamato, K. T., Jenkins, J., Shu, S., Ishizaki, K., Yamaoka, S., Nishihama, R., Nakamura, Y., Berger, F., et al. 2017. Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome. *Cell* 171: 287-304.
- Bradley, B. A., & Quarmby, L. M. 2005. A NIMA-related kinase, Cnk2p, regulates both flagellar length and cell size in *Chlamydomonas*. *J. Cell Sci.* 118: 3317-3326.
- Cloutier, M., Vigneault, F., Lachance, D., & Séguin, A. 2005. Characterization of a poplar NIMA-related kinase PNeK1 and its potential role in meristematic activity. *FEBS Lett.* 579: 4659-4665.
- Dettmer, J., & Friml, J. 2011. Cell polarity in plants: when two do the same, it is not the same.... *Curr. Opin. Cell Biol.* 23: 686-696.
- Eng, R. C., & Wasteneys, G. O. 2014. The microtubule plus-end tracking protein ARMADILLO-REPEAT KINESIN1 promotes microtubule catastrophe in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 26: 3372-3386.
- Eng, R. C., Halat, L. S., Livingston, S. J., Sakai, T., Motose, H., & Wasteneys, G. O. 2017. The ARM domain of ARMADILLO-REPEAT KINESIN 1 is not required for microtubule catastrophe but can negatively regulate NIMA-RELATED KINASE 6 in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 58: 1350-1363.
- Hiwatashi, Y., Sato, Y. & Doonan, J. H. 2014. Kinesins have a dual function in organizing microtubules during both tip growth and cytokinesis in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell* 26: 1256-1266.
- Lau, O. S., Davies, K. A., Chang, J., Adrian, J., Rowe, M. H., Ballenger, C. E., & Bergmann, D. C. 2014. Direct roles of SPEECHLESS in the specification of stomatal self-renewing cells. *Science* 345: 1605-1609.

- 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.
- Finst, R. J., Kim, P. J., & Quarmby, L. M. 1998. Genetics of the deflagellation pathway in *Chlamydomonas*. *Genetics* 149: 927-936.
- Fry, A. M., O'Regan, L., Sabir, S. R., & Bayliss, R. 2012. Cell cycle regulation by the NEK family of protein kinases. *J. Cell Sci.* 125: 1-11.
- Govindaraghavan, M., Anglin, S. L. M., Shen, K. F., Shukla, N., De Souza, C. P., & Osmani, S. A. 2014. Identification of interphase functions for the NIMA kinase involving microtubules and the ESCRT pathway. *PLoS Genet.* 10: e1004248.
- 濱田隆宏 2018. 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. 植物科学の最前線 (BSJ-Review) 9C6: 155-168.
- Hamant, O., Heisler, M. G., Jönsson, H., Krupinski, P., Uyttewaal, M., Bokov, P., Corson, F., Sahlin, P., Boudaoud, A., Meyerowitz, E. M., Couder, Y., & Traas, J. 2008. Developmental patterning by mechanical signals in *Arabidopsis*. *Science* 322: 1650-1655.
- Hashimoto, T. 2015. Microtubules in plants. *Arabidopsis Book* 13: e0179.
- Heisler, M. G., Hamant, O., Krupinski, P., Uyttewaal, M., Ohno, C., Jönsson, H., Traas, J., & Meyerowitz, E. M. 2010. Alignment between PIN1 polarity and microtubule orientation in the shoot apical meristem reveals a tight coupling between morphogenesis and auxin transport. *PLoS Biol.* 8: e1000516.
- Hervieux, N., Dumond, M., Sapala, A., Routier-Kierzkowska, A. L., Kierzkowski, D., Roeder, A. H., Smith, R. S., Boudaoud, A., & Hamant, O. 2016. A mechanical feedback restricts sepal growth and shape in *Arabidopsis*. *Curr Biol.* 26: 1019-1028.
- Hervieux, N., Tsugawa, S., Fruleux, A., Dumond, M., Routier-Kierzkowska, A. L., Komatsuzaki, T., Boudaoud, A., Larkin, J. C., Smith, R. S., Li, C. B., & Hamant, O. 2017. Mechanical shielding of rapidly growing cells buffers growth heterogeneity and contributes to organ shape reproducibility. *Curr. Biol.* 27: 3468-3479.
- Jones, M. A., Raymond, M. J. & Smirnov, N. 2006. Analysis of the root-hair morphogenesis transcriptome reveals the molecular identity of six genes with roles in root-hair development in *Arabidopsis*. *Plant J.* 45: 83-100.
- Lee, S. J., Cho, D. I., Kang, J. Y., Kim, M. D., & Kim, S. Y. 2010. AtNEK6 interacts with ARIA and is involved in ABA response during seed germination. *Mol. & Cells* 29: 559-566.
- Louveaux, M., Julien, J. D., Mirabet, V., Boudaoud, A., & Hamant, O. 2016. Cell division plane orientation based on tensile stress in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 113: E4294-E4303.
- Mahjoub, M. R., Montpetit, B., Zhao, L., Finst, R. J., Goh, B., Kim, A. C., & Quarmby, L. M. 2002. The *FA2* gene of *Chlamydomonas* encodes a NIMA family kinase with roles in cell cycle progression and microtubule severing during deflagellation. *J. Cell Sci.* 115: 1759-1768.
- Motose, H., Tominaga, R., Wada, T., Sugiyama, M., & Watanabe, Y. 2008. A NIMA-related protein kinase suppresses ectopic outgrowth of epidermal cells through its kinase activity and the association with microtubules. *Plant J.* 58: 829-844.
- Motose, H., Hamada, T., Yoshimoto, K., Murata, T., Hasebe, M., Watanabe, Y., Hashimoto, T., Sakai, T., & Takahashi, T. 2011. NIMA-related kinases 6, 4, and 5 interact with each other to regulate microtubule organization during epidermal cell expansion in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 67: 993-1005.

- Motose, H., Takatani, S., Ikeda, T., & Takahashi, T. 2012. NIMA-related kinases regulate directional cell growth and organ development through microtubule function in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal. Behav.* 7: 1552-1555.
- 村田隆 2018. 表層微小管「列」: 自己組織化する繊維. 植物科学の最前線 (BSJ-Review) 9C2: 111-119.
- 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.
- Ning, Y., Jantasuriyarat, C., Zhao, Q., Zhang, H., Chen, S., Liu, J., Liu, L., Tang, S., Park, C. H., Wang, X., Liu, X., Dai, L., Xie, Q., & Wang, G. L. 2011. The SINA E3 ligase OsDIS1 negatively regulates drought response in rice. *Plant Physiol.* 157: 242-255.
- O'Connell, M. J., Krien, M. J. E., & Hunter, T. 2003. Never say never. The NIMA-related protein kinases in mitotic control. *Trends Cell Biol.* 13: 221-228.
- Oda, Y. 2018. Emerging roles of cortical microtubule-membrane interactions. *J. Plant Res.* 131: 5-14.
- Osmani, S. A., Pu, R. T., & Morris, N. R. 1988. Mitotic induction and maintenance by overexpression of a G2-specific gene that encodes a potential protein kinase. *Cell* 53: 237-244.
- Otani, K., Ishizaki, K., Nishihama, R., Takatani, S., Kohchi, T., Takahashi, T., & Motose, H. 2018. An evolutionarily conserved NIMA-related kinase directs rhizoid tip growth in the basal land plant *Marchantia polymorpha*. *Development* 145: dev.154617 doi: 10.1242/dev.154617.
- Pan, W. J., Tao, J. J., Cheng, T., Shen, M., Ma, J. B., Zhang, W. K., Lin, Q., Ma, B., Chen, S. Y., & Zhang, J. S. 2017. Soybean NIMA-related kinase1 promotes plant growth and improves salt and cold tolerance. *Plant Cell Physiol.* 58: 1268-1278.
- Parker, J. D., Bradley, B. A., Mooers, A. O., & Quarmby, L. M. 2007. Phylogenetic analysis of the Neks reveals early diversification of ciliary-cell cycle kinases. *PLoS One* 2: e1076.
- Pnueli, L., Gutfinger, T., Hareven, D., Ben-Naim, O., Ron, N., Adir, N., & Lifschitz, E. 2001. Tomato SP-interacting proteins define a conserved signaling system that regulates shoot architecture and flowering. *Plant Cell* 13: 2687-2702.
- Quarmby, L. M., & Mahjoub, M. R. 2005. Caught Nek-ing: cilia and centrioles. *J. Cell Sci.* 118: 5161-5169.
- Sakai, T., van der Honing, H., Nishioka, M., Uehara, Y., Takahashi, M., Fujisawa, N., Saji, K., Seki, M., Shinozaki, K., Jones, M. A., Smirnov, N., Okada, K., & Wasteneys, G. O. 2008. Armadillo repeat-containing kinesins and a NIMA-related kinase are required for epidermal-cell morphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant J.* 53: 157-171.
- 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.
- Shimamura, M. 2016. *Marchantia polymorpha*; taxonomy, phylogeny, and morphology of a model system. *Plant Cell Physiol.* 57: 230-256.
- 嶋村正樹 2018. 陸上植物の中心体と鞭毛. 植物科学の最前線 (BSJ-Review) 9C8: 178-196.
- Siegrist, S. E., & Doe, C. Q. 2007. Microtubule-induced cortical cell polarity. *Genes Dev.* 21: 483-496.
- Takatani, S., Otani, K., Kanazawa, M., Takahashi, T., & Motose, H. 2015a. Structure, function, and evolution of plant NIMA-related kinases: Implication for phosphorylation-dependent microtubule regulation. *J. Plant Res.* 128: 875-891.
- Takatani, S., Hirayama, T., Hashimoto, T., Takahashi, T., & Motose, H. 2015b. Abscisic acid induces ectopic outgrowth in epidermal cells through cortical microtubule reorganization in *Arabidopsis thaliana*. *Sci.*

Rep. 5: 11364.

- Takatani, S., Ozawa, S., Yagi, N., Hotta, T., Hashimoto, T., Takahashi, Y., Takahashi, T., & Motose, H. 2017. Directional cell expansion requires NIMA-related kinase 6 (NEK6)-mediated cortical microtubule destabilization. *Sci. Rep.* 7: 7826.
- Uyttewaal, M., Burian, A., Alim, K., Landrein, B., Borowska-Wykręt, D., Dedieu, A., Peaucelle, A., Ludynia, M., Traas, J., Boudaoud, A., Kwiatkowska, D., & Hamant, O. 2012. Mechanical stress acts via katanin to amplify differences in growth rate between adjacent cells in *Arabidopsis*. *Cell* 149: 439-451.
- Vigneault, F., Lachance, D., Cloutier, M., Pelletier, G., Levasseur, C., & Séguin, A. 2007. Members of the plant NIMA-related kinases are involved in organ development and vascularization in poplar, *Arabidopsis*, and rice. *Plant J.* 51: 575-588.
- Wu, S. Z. & Bezanilla, M. 2018. Actin and microtubule cross talk mediates persistent polarized growth. *J. Cell Biol.* pii: jcb.201802039. doi: 10.1083/jcb.201802039.
- 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. The KCH kinesin drives nuclear transport and cytoskeletal coalescence to promote tip cell growth in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell* 30: 1496-1510.
- Zhang, B., Chen, H. W., Mu, R. L., Zhang, W. K., Zhao, M. Y., Wei, W., Wang, F., Yu, H., Lei, G., Zou, H. F., Ma, B., Chen, S. Y., & Zhang, J. S. 2011. NIMA-related kinase NEK6 affects plant growth and stress response in *Arabidopsis*. *Plant J.* 68: 830-843.
- Zhang, H., Scofield, G., Fobert, P., & Doonan, J. H. 1996. A nimA-like protein kinase transcript is highly expressed in meristems of *Antirrhinum majus*. *J. Microsc.* 181: 186-194.

BOX1. チューブリンの翻訳後修飾 チューブリンはリン酸化を始めとして、チロシン化・脱チロシン化・ポリグルタミン酸化・ポリグリシン化・アセチル化・メチル化・ポリアミン化などの多様な修飾を受けることが知られている (Janke 2014 J Cell Biol. 206: 461-472, Gadadhar et al. 2017 J. Cell Sci. 130: 1347-1353)。チューブリンの翻訳後修飾やアイソタイプの違いにより、異なる性質を持つ微小管が細胞内に生じ、これが微小管付随タンパク質によって読み取られるというチューブリンコード説が提唱された (Verhey & Gaertig 2007 Cell Cycle 6: 2152-2160)。実際に、キネシンの移動がチューブリンの翻訳後修飾により制御されることが実証された (Sirajuddin et al. 2014 Nat. Cell Biol. 16: 335-344)。チューブリンの C 末端の脱チロシン化・チロシン化のサイクルは特に重要であり、チロシン化を触媒するチューブリンチロシンリガーゼ TTL の発見により研究が進展した。最近の研究により、チューブリンの脱チロシン化が筋原繊維の収縮からの回復を制御すること (Robison et al. 2016 Science 352: aaf0659)、チロシン化が卵細胞形成時の非対称分裂を制御すること (Akeru et al. 2017 Science 358: 668-672) が明らかになった。最近、脱チロシン化を行う酵素が同定され、神経細胞の形成を制御することが示された (Aillaud et al. 2017 Science 358: 1448-1453, Nieuwenhuis et al. 2017 Science 358: 1453-1456)。また チューブリンのアイソタイプによって、微小管の構造や動的不安定性が異なることが報告されている (Ti et al. 2018 Dev. Cell 47: 1-16)。

植物チューブリンの翻訳後修飾はほとんど研究が進んでいないが、培養細胞から単離・精製されたチューブリンは翻訳後修飾をあまり受けておらず、アセチル化のみが確認され、チロシン化・脱チロシン化は起こっていないと考えられる (Hotta et al. 2016 Plant Physiol. 170: 1189-1205)。TTL と配列が似ている遺伝子が植物にも存在するが、変異体は顕著な表現型を示さず、その機能は不明である。一方、分子量がシフトしたチューブリンが検出されており、動物細胞とは異なる修飾を受けている可能性がある。修飾を受けやすい C 末端配列は、植物のチューブリンでも保存されており、今後の解析に期待したい。

植物チューブリンのリン酸化の機能についてはわかっていなかったが、近年の解析からその一端が明らかになった。植物細胞が高浸透圧や塩ストレスにさらされると、微小管が一過的に脱重合して減少し、細胞成長が一旦停止する。この一過的な微小管脱重合は PHS1 タンパク質による α -チューブリンのリン酸化によって引き起こされる (Fujita et al. 2013 Curr. Biol. 23: 1969-1970, Ban et al. 2013 Plant Cell Physiol. 54: 848-858)。PHS1 は MAP キナーゼフォスファターゼドメインと、非典型的なキナーゼドメインを持つハイブリッド型のタンパク質で、高浸透圧ストレスによってキナーゼが活性化して α -チューブリンの Thr-359 をリン酸化する。Thr-359 がリン酸化されるとチューブリンの微小管への重合が抑制され、微小管が脱重合する。動物細胞では M 期に微小管が脱重合するが、この時、CDK が β -チューブリンの Thr-172 をリン酸化して微小管への重合を抑制すると考えられる (Fourest-Lieuvain et al. 2006 Mol Biol Cell 17: 1041-1050)。また、動物や酵母では γ -チューブリンのリン酸化が中心体の分離や紡錘体形成に関与することが報告されている (詳しくは Takatani et al. 2015a の reference を参照)。