

膜交通経路の多様性獲得機構から見た植物のポストゴルジ輸送網

藤本優^{1,2}・上田貴志^{1,3}

1. 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

2. 東京大学大学院農学生命科学研究科生産環境生物学専攻

〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

3. 科学技術振興機構 さきがけ

〒332-0012 埼玉県川口市本町 4-1-8

Molecular basis underlying the diversification of post-Golgi traffic in plants

Key words: Coat protein complex, Dynamin-related GTPase, Rab GTPase, tether, SNARE

Masaru Fujimoto^{1,2} & Takashi Ueda^{1,3}¹Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-0033, Japan²Department of agricultural and environmental biology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8657, Japan³Japan Science and Technology Agency (JST), PRESTO, 4-1-8 Honcho Kawaguchi, Saitama, 332-0012, Japan

1. はじめに

真核生物の細胞内には様々な細胞小器官(オルガネラ)が存在し、それらはそれぞれ異なるタンパク質や脂質から構成されている。これらのオルガネラが、細胞の状態に応じてその機能を発揮したり、その数を変化させたりするためには、それぞれの構成タンパク質や脂質の配置の、厳密な時空間的制御が必要である。小胞体、ゴルジ体、トランスゴルジネットワーク(TGN)、エンドソーム、液胞、細胞膜などの単膜系オルガネラ

間においては、小胞や小管を介した物質輸送システム、いわゆる“膜交通”が、この制御に

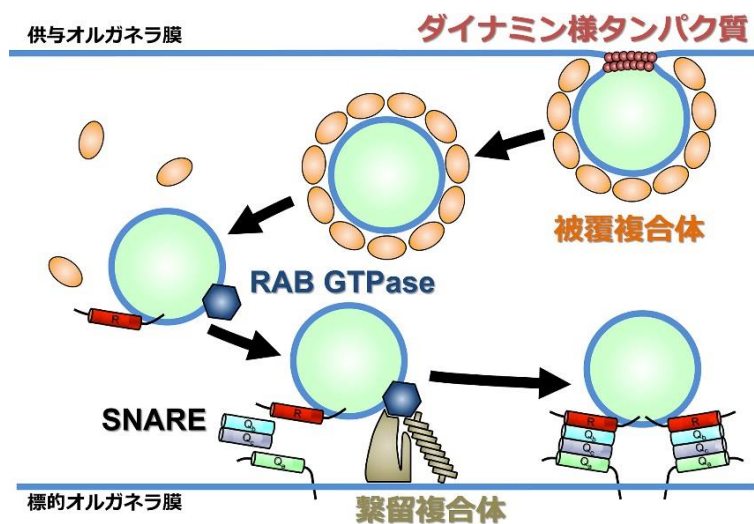


図1 二つのオルガネラ間を結ぶ膜交通経路とその制御因子の模式図。

M. Fujimoto & T. Ueda-1

において重要な役割を果たしている。2つのオルガネラ間を結ぶ輸送の基本的な仕組みを、図1に示した。まず、供与側のオルガネラから小胞や小管状の輸送中間体が形成される。その後、輸送中間体は標的オルガネラへと輸送され、繫留のステップを経て膜融合が実行される。真核生物の複雑な膜交通経路網は、多様な組み合わせのオルガネラをこのような輸送経路がネットワーク状に結びつけることにより成り立っている。

各々の膜交通経路では、被覆複合体や RAB GTPase, SNARE などの進化的に保存された分子が機能している (Bonifacino & Glick 2004)。これらの分子は、進化の過程でそれぞれ高度に多様化しており、膜交通経路ごとに異なる組み合わせの被覆複合体, Rab GTPase, および SNARE のセットが機能していることが知られている。各オルガネラには、それぞれ固有の Rab GTPase や SNARE が分布していることから、これら分子の局在が、オルガネラのアイデンティティを決定づけているとも解釈されている。

古細菌に似た性質を持っていたとされる真核生物の共通祖先が、現存の真核生物へと進化する過程では、単膜系オルガネラの分化とそれらを結ぶ膜交通経路の新生が繰り返されることにより、細胞内膜系が次第に複雑化したものと考えられている (Dacks & Field 2007)。多くのオルガネラ間輸送経路において、前述したような相同な制御因子群が機能しているという事実は、それらをコードする遺伝子の数の増加と、それに続く変異の蓄積による機能の

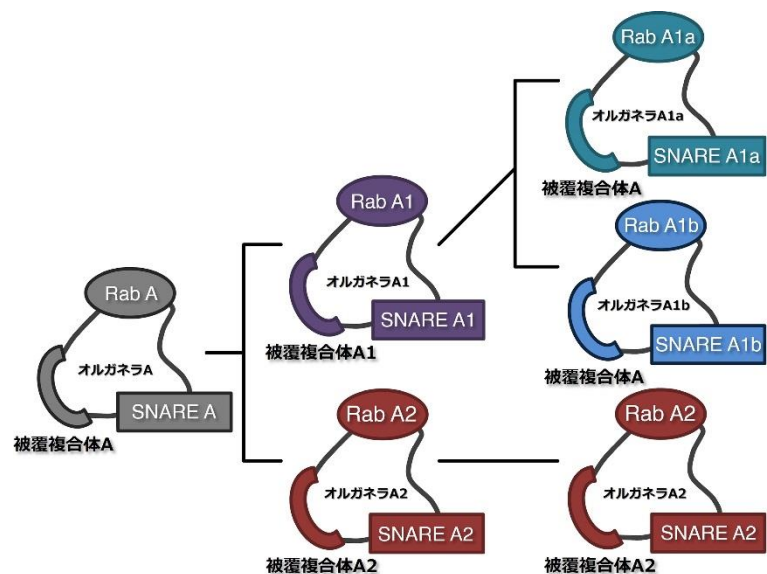


図2 膜交通制御因子の数の増加とその機能分化に伴う膜交通経路の多様化の模式図。Dacks & Field 2007 より改変して引用。

多様化が、膜交通網の多様化の前提条件であったことを示唆している (図2) (Dacks & Field 2007)。さらに、近年の比較ゲノム解析の結果から、これらの膜交通制御因子の一部が、真核生物の系統ごとに特異的な多様化を果たしていることも明らかとなってきた。このことは、生物の系統ごとに、独自の新規膜交通経路網が開拓されてきたことを示している。そこで本稿では、植物のポストゴルジ輸送網に特異的な制御因子群に注目し、その機能を紹介するとともに、それぞれの進化や高次機能との関連について考察したい。

2. 被覆複合体

オルガネラ間の輸送は、供与オルガネラからの輸送中間体（輸送小胞や小管）の形成に始まる。COPII, COPI, クラスリン被覆などの被覆複合体と呼ばれる分子群が、このプロセスにおいて積荷タンパク質の濃縮や膜の変形を担っている (Schledzewski et al. 1999, Singh & Gupta 2004, Elde et al. 2005, Dacks & Field 2007)。これらの被覆複合体は、真核生物の系統間で広く保存されており、さらには核膜孔複合体と相同である可能性も指摘されている (Devos et

al. 2004)。このうち、COPII は小胞体における輸送小胞の形成を、COPI はゴルジ体における輸送中間体の形成を制御している。ポストゴルジ輸送経路においては、主にクラスリン被覆がはたらいっている。クラスリン被覆は、湾曲した膜構造の安定化に寄与するクラスリン格子と、クラスリンと結合するとともに膜上の積荷タンパク質やイノシトールリン脂質とも結合し、両者を結びつける機能を

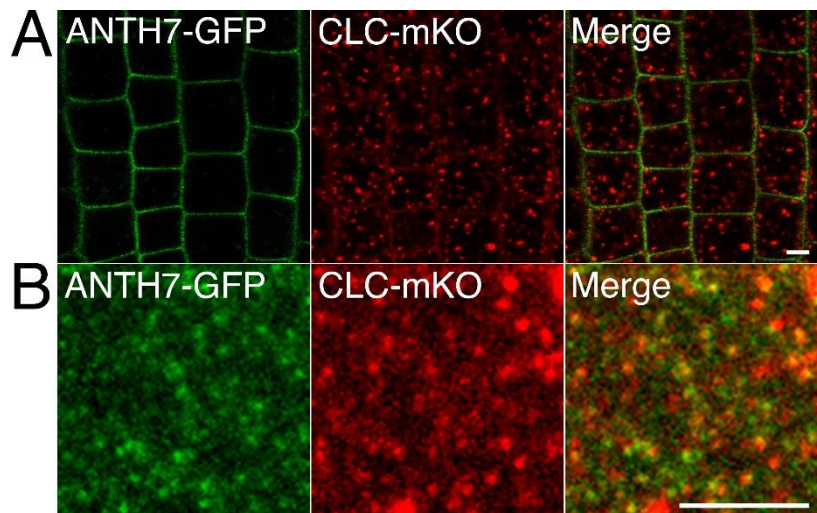


図3 シロイヌナズナANTHタンパク質の細胞内局在の一例。(A), (B)はそれぞれ根の細胞における共焦点レーザー顕微鏡像、および全反射照明蛍光顕微鏡像。ANTHタンパク質(緑)が、クラスリン(赤)と細胞膜上で共局在する様子が観察される。スケールバーは5 μ m。

持つアダプタータンパク質から形成されている (Brodsky 2012)。アダプタータンパク質には多様な分子種が存在し、それぞれがポストゴルジ輸送網の異なる経路で機能している (Owen et al. 2004)。その中で最も解析が進んでいるものの一つが、AP複合体 (Adaptor Protein 複合体) である。AP複合体は、二つの大サブユニット ($\alpha/\gamma/\delta/\epsilon/\zeta$ と β) と中小の各サブユニット (μ と σ) からなるヘテロ四量体であり、これまでに AP-1 から AP-5 までの五種類の複合体が同定されている (Boehm & Bonifacino 2002, Hirst et al. 2011)。これらの AP 複合体は、それぞれ細胞膜や TGN, エンドソーム, 液胞・リソソームといったオルガネラを結ぶ異なる輸送経路で機能するものと考えられている (Boehm & Bonifacino 2002, Dell'Angelica 2009, Niihama et al. 2009, Burgos et al. 2010, Feraru et al. 2010, Jackson et al. 2010, Hirst et al. 2011)。

近年、AP 複合体の β サブユニットに類似した構造を持ち、クラスリン結合能を持つ TPLATE と呼ばれる分子が陸上植物に存在することが明らかにされた (Van Damme et al. 2006)。TPLATE は植物に特有の分子であることから、植物がその進化の過程で固有のアダプタータンパク質複合体を獲得した可能性が示唆される。TPLATE は、細胞板の伸長領域や、細胞板と細胞膜の予定融合部位に特異的に局在し、細胞質分裂時のクラスリン依存性エンドサイトーシスに関与するものと推測されている (Van Damme et al. 2011)。今後、この TPLATE を含むアダプター複合体の構成因子や、それらが認識する積荷タンパク質の同定を通じ、その分子機能と生理的役割がさらに明らかになるものと期待される。細胞質分裂を制御する SNARE である SYP111/KNOLLE は、その細胞板への特異的な局所化がクラスリン依存性エンドサイトーシスに依存することが示されており (Segui-Simarro et al. 2004, Boutte et al. 2010), TPLATE 複合体に認識される積荷タンパク質の有力な候補と目されている。また、陸上植物においては、イノシトールリン脂質への結合能を持つ ANTH (AP180 N-Terminal Homology) ドメインを有するタイプのアダプタータンパク質 (図3) が、他の生物種と比較して著しく多様化している (De Craene et al. 2012)。その分子機能と生理的役割の解明も、植物のクラスリン依存性エンドサイトーシスの特徴を明らかにする上での重要な課題である。

3. ダイナミン様タンパク質

輸送小胞や小管の形成が完了するためには、出芽した膜構造を供与オルガネラから切り離す必要がある。ポストゴルジ膜交通経路においては、ダイナミン様タンパク質 (DRP: **D**ynam**i**n-**R**elated **P**rotein) と呼ばれる GTP 加水分解酵素がしばしばその役割を担う (Praefcke & McMahon 2004, Chanez et al. 2006)。輸送小胞形成におけるダイナミン様タンパク質の作動メカニズムについては、動物細胞のエンドサイトーシス経路において、クラスリン被覆小胞形成の際に機能する Dynamin の研究が最もよく進んでいる (Sever 2002)。現在は、Dynamin がクラスリン被覆ピットの根元にリング状もしくは螺旋状に重合し、GTP の加水分解によるエネルギーを利用した構造変化をおこすことにより膜をくびり切る、というモデルが広く受け入れられている (Schmid & Frolov 2011)。しかしながら、この Dynamin の生体内での振る舞いについてはほとんど明らかにされておらず、Dynamin が形成する構造の形状やその重合様式なども不明のままである。Dynamin を含めたダイナミン様タンパク質の *in vivo* における動態や機能について、今後のさらなる解析が待たれる。

膜交通における機能に加え、ダイナミン様タンパク質は、ミトコンドリア、ペルオキシソーム、および葉緑体の分裂や、小胞体の形態維持など、真核細胞内における膜の管状化や切断に広く関与することが明らかになっている (Praefcke & McMahon 2004, Hu et al. 2009)。また、細胞内膜系を持たない複数の真正細菌から、脂質二重膜の形状を変化させる活性を持った類似の分子が発見されており (Low & Lowe 2006, Burmann et al. 2011)、ダイナミン様タンパク質の起源が原核生物由来である可能性も示唆されている。

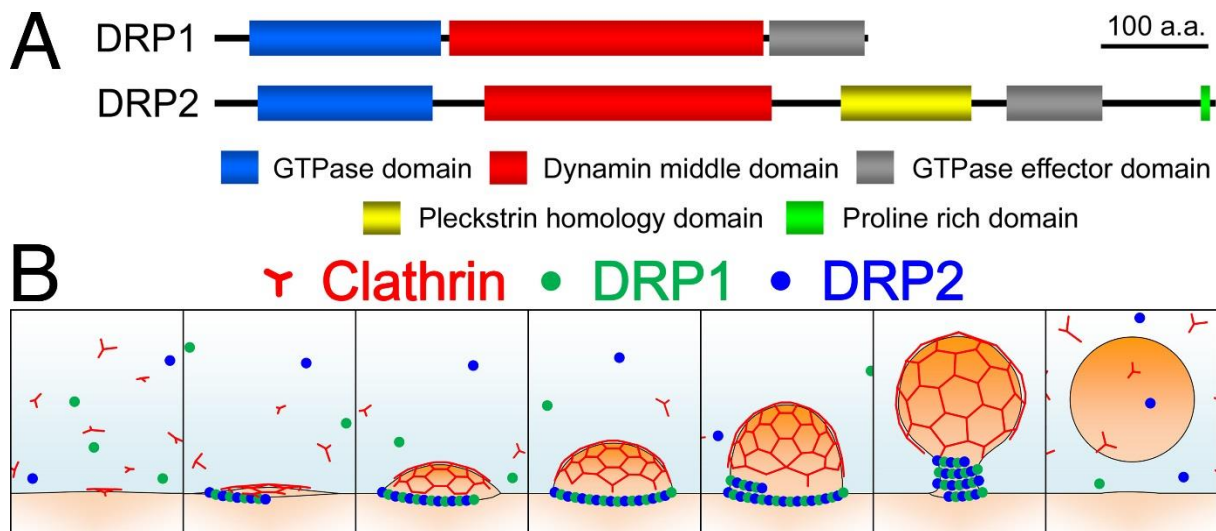


図4 陸上植物のエンドサイトーシス小胞形成機構。(A)は DRP1 および DRP2 の分子構造の模式図、(B)は現在考えられているその作動メカニズムを示す。陸上植物における細胞膜からのクラスリン被覆小胞形成時には、分子構造の異なる DRP1 と DRP2 が同一のリング状構造体に重合し膜の切断を実行するものと考えられる。

植物においても、ダイナミン様タンパク質の解析が進みつつある。近年のゲノム解析の結

M. Fujimoto & T. Ueda-4

果、陸上植物の多くは、DRP1 から DRP4, DRP5A, DRP5B という 6 グループのダイナミン様タンパク質を有していることが明らかになってきた (Hong et al. 2003, Miyagishima et al. 2008)。このうち、細胞膜や細胞板におけるクラスリン被覆小胞形成には、緑色植物に共通して存在する DRP1 と、陸上植物にのみ存在する DRP2 が関与している (Kang et al. 2003, Collings et al. 2008, Fujimoto et al. 2008, Konopka et al. 2008, Fujimoto et al. 2010, Taylor 2011)。興味深いことに、これら DRP1 と DRP2 の分子構造は、動物のダイナミンとはいくつかの点で異なっている (図 4)。DRP1 は、小胞形成部位への局在化や膜上のイノシトールリン脂質への結合に必要なドメインを持っていない。一方、DRP2 はそれらのドメインを有しているものの、GTP の加水分解に必要なドメインに多数のアミノ酸置換を有している (Fujimoto et al. 2010)。DRP1 と DRP2 は互いに結合し、さらに小胞形成部位において共局在することから、陸上植物においては、これらの分子が互いの機能を補完しつつ、協調して小胞形成に関わると推測される (図 4)。このように分子構造の異なる複数種のダイナミン様タンパク質が、生体膜の切断において協調的に機能する例はこれまで報告がない。DRP1 と DRP2 のさらなる解析により、植物のダイナミン様タンパク質の独自の作用機序がさらに明らかになるものと期待される。DRP1 の機能についてはこれまでにいくつかの報告があるが (Kang et al. 2003, Collings et al. 2008, Konopka et al. 2008), DRP2 の機能解析は始まったばかりであり、今後の進展が待たれる。

4. Rab GTPase

供与オルガネラから出芽した輸送小胞は、その後標的オルガネラへと輸送され、繫留因子 (tether) と呼ばれる分子群によって標的膜に繫留される。Rab GTPase は、Ras スーパーファミリーに属する低分子量の GTPase で、GTP が結合した活性型と GDP が結合した不活性型をサイクルすることにより、分子スイッチとしてこの繫留のステップを制御する (Saito & Ueda 2009)。活性型の Rab GTPase は、それぞれが特定の繫留因子に作用してその集合を促し、輸送小胞と標的膜の結合を促進する。それぞれの膜交通経路では異なる Rab GTPase と繫留因子のセットが機能しており、これが複雑に入り組んだ膜交通経路網における膜融合の特異性を規定している一因であると考えられている。

近年の比較ゲノム解析の結果から、すべての真核生物の最近の共通祖先 (共生によりミトコンドリアを獲得する直前の真核生物) には、少なくとも 20 種類の Rab GTPase のサブグループが存在していたことが示唆されている (Elias et al. 2012, Kloppe et al. 2012)。後述の通り、これは現存する植物がもつ Rab GTPase のサブグループの数よりも多い。一方で、植物は進化の過程で新たな Rab GTPase を獲得していることも明らかとなっている。同様に、Rab GTPase の二次的喪失と新規獲得は、他の真核生物の系統でも起こっていることが知られている。このことから、各系統の進化の過程において、祖先真核細胞に存在した Rab GTPase のうち、ある分子種は失われ、またあるものは増幅し、さらには新規 Rab GTPase の獲得などを経て、現存する真核生物の系統ごとに固有の Rab GTPase のセットを持つに至ったと考えられている (Dacks & Field 2007, Gurkan et al. 2007, Elias 2010)。この Rab GTPase の系統特異的な進化が、オルガネラと膜交通経路の系統特異的な多様化に、大きく影響してきたものと考えられている。

上で触れた通り、植物のポストゴルジ輸送経路で機能する Rab GTPase は、動物や酵母、原虫などとは異なる際だった特徴をいくつか持っている。多くの陸上植物には、概ね 8 種類の Rab GTPase のサブグループが存在しており、それらは動物の RAB1, RAB2, RAB5, RAB6, RAB7, RAB8, RAB11, RAB18 とそれぞれ相同性を示す (Rutherford & Moore 2002, Vernoud et al. 2003)。中でも目を引くのが、RAB11/RABA グループ (RAB11 ホモログをシロイヌナズナでは RABA と呼ぶ) の著しい多様化である。RAB11/RABA グループに属する分子は、ヒトでは 66 個の Rab GTPase うち 3 個、出芽酵母では 11 個のうち 2 個であるのに対し (Pereira-Leal & Seabra 2001, Stenmark & Olkkonen 2001)、シロイヌナズナにおいては、57 個の Rab GTPase のうち 26 個が RABA グループに属している (Rutherford & Moore 2002)。

動物や出芽酵母の RAB11 (出芽酵母では Ypt3) については、ゴルジ体やトランスゴルジネットワーク (TGN)、エンドソーム、細胞膜を結ぶポストゴルジ輸送経路の様々な局面で機能することが報告されている (Benli et al. 1996, Ullrich et al. 1996, Jedd et al. 1997, Chen et al. 1998, Ortiz et al. 2002, Strickland & Burgess 2004, Furuta et al. 2007)。一方、シロイヌナズナの RABA は、植物細胞において初期エンドソームとしての性質も兼ねる TGN とその周辺に局在し (Ueda et al. 1996, de Graaf et al. 2005, Chow et al. 2008, Szumlanski & Nielsen 2009)、TGN-細胞膜間の分泌経路、および TGN を経由するエンドサイトーシス経路で機能することが報告されている (Asaoka et al. 2012, Feraru et al. 2012, Choi et al. 2013)。さらに、RABA グループによって制御される輸送経路が、細胞質分裂や花粉管・根毛における先端成長 (Preuss et al. 2004, de Graaf et al. 2005, Chow et al. 2008, Szumlanski & Nielsen 2009)、病害や塩ストレス応答 (Asaoka et al. 2012, Choi et al. 2013)、細胞壁の合成や分解 (Zainal et al. 1996, Lu et al. 2001, Abbal et al. 2008, Lycett 2008) といった、陸上植物の様々な高次生命現象の基盤として機能することが示されている。

陸上植物における Rab GTPase ファミリーの際だった特徴として、RAB5/RABF グループの多様化も挙げられる。このグループに属する分子は、真核生物の系統間で広く保存されており、動物細胞においては、エンドサイトーシス初期の多様なプロセスを制御することが明らかにされている (Somsel Rodman & Wandinger-Ness 2000, Benmerah 2004)。植物においても、動物の RAB5 と高い類似性を示す分子は非常

に良く保存されており、単細胞性の紅藻であるシズンを除き、これまでゲノムや EST の

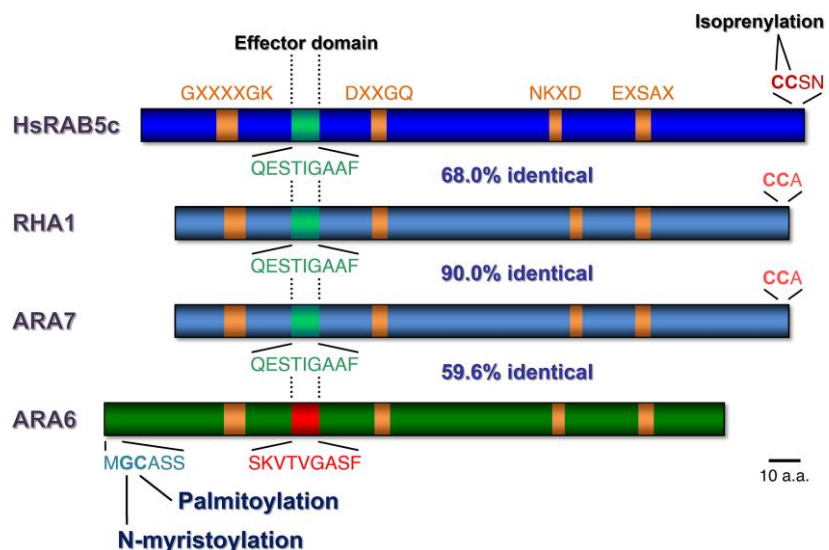


図5 ヒト RAB5c およびシロイヌナズナ RAB5 メンバーの一次構造。橙色の領域は GTP の結合や加水分解に必須のモチーフ、青緑や赤色の領域は保存型 RAB5 および ARA6 それぞれのエフェクタードメインを構成するアミノ酸配列を示す。ARA6 はカルボキシル末端が欠けており、アミノ末端に保存型 RAB5 にはない特徴的な脂質修飾部位が存在する。

解析がなされた全ての植物種において、この RAB5 グループ（保存型 RAB5 と呼ぶ）の存在が確認されている (Matsuzaki et al. 2004, Elias et al. 2012)。シロイヌナズナゲノムには、保存型 RAB5 として、RHA1/RABF2a と ARA7/RABF2b がコードされており、いずれ也多胞化したエンドソームに局在し (Haas et al. 2007)、液胞輸送経路とエンドサイトーシス経路の双方で機能している (Goh et al. 2007, Ebine et al. 2011)。これに加え、植物には特徴的な構造を持つ独自の RAB5 グループ (ARA6 グループ) も存在する (Ueda et al. 2001, Ebine & Ueda 2009)。ARA6 グループは、全体としては RAB5 に最も高い類似性を示すが、アミノ末端に N-ミリスチル化とパルミトイル化を受けるなど、その構造が通常の RAB GTPase とは大きく異なっている (図 5)。このグループに属する Rab GTPase は、コケ植物を含むこれまでに解析された全ての陸上植物に保存されており、最近では緑藻類の一部にもその存在が確認されている。一方、ARA6 の明確なホモログは植物以外には存在しない。このことから、ARA6 グループは、植物が進化の過程で独自に獲得した分子種であると考えられる (Ebine et al. 2011, Elias et al. 2012)。シロイヌナズナの ARA6/RABF1 は、保存型 RAB5 である ARA7 や RHA1 と同じ活性化因子 (VPS9a) により活性化される (Goh et al. 2007)。しかしながら、ARA6 と保存型 RAB5 は、一部重複しつつも異なるエンドソーム集団に局在することから、両者が異なる機能をもつ可能性が示唆されていた (Ueda et al. 2004)。最近我々は、ARA6 と保存型 RAB5 の変異体が全く異なる表現型を示すことを明らかにし、両者の機能が明確に異なることを証明するとともに、さまざまな輸送・オルガネラマーカを用いた細胞生物学的解析から、ARA6 がエンドソームから細胞膜への輸送経路で機能することを突き止めた (Ebine et al. 2011)。さらに、ARA6 が機能する輸送経路が、植物の塩ストレス応答に関与していることも見いだした (Ebine et al. 2011, Ebine et al. 2012)。今後、ARA6 の機能発現メカニズムや陸上植物の各系統における ARA6 グループの機能解明により、植物の新規膜交通経路の獲得がどのようにおこり、植物のいかなる形質の進化に関わったのかが明らかになるものと期待される。

5. 繫留因子複合体

前述の通り、Rab GTPase の制御下において、輸送小胞の標的膜への繫留を担う分子群を、繫留因子 (tether) と呼ぶ。繫留因子には、単独で機能するものと複合体を形成してはたらくものが存在し、複合体で機能するものを特に繫留因子複合体 (tethering complex) と呼ぶ。膜交通の各経路で機能する繫留因子複合体がこれまでに多く同定されているが、異なる輸送経路で機能する繫留因子複合体の間には相同性が見いだされないことから、それぞれの繫留因子複合体は独自に進化した可能性が指摘されている (Koumandou et al. 2007)。このことは、Rab GTPase や SNARE の遺伝子重複による数の増加とともに、起源の異なる複数の繫留因子複合体の獲得が、膜交通経路の多様化において重要な役割を担ったことを示唆している。

繫留因子複合体は、植物においても広く保存されている (Koumandou et al. 2007)。シロイヌナズナにおいてはこれまでに、HOPS/CORVET 複合体が液胞輸送や液胞形態の維持に (Rojo et al. 2001, Rojo et al. 2003, Niihama et al. 2009)、TRAPP 複合体が細胞板形成に (Thellmann et al. 2010)、exocyst 複合体が花粉管や根毛の先端成長や細胞壁成分の分泌に (Cole et al. 2005, Synek 2006, Hala et al. 2008, Chong et al. 2010, Kulich et al. 2010, Pecenkova et al. 2011)、GARP 複合体が

花粉管伸長や温度・浸透圧ストレスへの応答に (Lobstein et al. 2004, Lee et al. 2006, Guermonprez et al. 2008), COG 複合体が細胞伸長や分裂組織の維持に (Ishikawa et al. 2008)それぞれ関与することが報告されている。これらの繫留因子複合体の中では、分泌小胞の細胞膜への繫留を担う exocyst 複合体 (Munson & Novick 2006)の機能が、陸上植物において特に多様化していることが示唆されている。

exocyst 複合体は, SEC3, SEC5, SEC6, SEC8, SEC10, SEC15, EXO70, EXO84 からなり, 中でも EXO70 ファミリーに属する分子種が, 陸上植物において高度に多様化している。動物や出芽酵母では, EXO70 分子は一種類しか存在しないが, 陸上植物においては, ヒメツリガネゴケに 11 種類, シロイヌナズナに 23 種類, イネには 41 種類もの EXO70 メンバーが存在している (Elias et al. 2003, Synek et al. 2006, Chong et al. 2010)。これらの EXO70 メンバーのうち幾つかのものについては, TGN やエンドソームに局在することが示されていた (Chong et al. 2010)。しかしながら, その具体的な機能については長らく不明であった。最近, シロイヌナズナの EXO70 メンバーの一つである EXO70E2 が, EXPO (**Exocyst-Positive Organelles**) と呼ばれる二重膜構造を持つ未知の球状オルガネラに局在し, 細胞質成分を分泌するための陸上植物固有の輸送経路で機能することが示された (Wang et al. 2010)。今後, この EXO70 ファミリーのさらなる機能解析を通じ, 陸上植物がその進化の過程で多様化させてきたエキソサイトーシス経路の機構と機能を明らかにできるものと期待される。

6. SNARE

輸送小胞が標的オルガネラ膜に繫留されると, 一群の SNARE タンパク質のはたらきにより, これらの間で膜融合が起きる。SNARE タンパク質は, SNARE モチーフと呼ばれる coiled-coil 領域のアミノ酸配列の特徴から, Qa-, Qb-, Qc-, R-SNARE の 4 種に大別される (Jahn & Scheller 2006, Wickner & Schekman 2008)。Q-SNARE は主に標的オルガネラ膜上に, R-SNARE は主に輸送小胞上に局在しており, 3 種の Q-SNARE と R-SNARE がそれぞれ一つずつ集合して複合体を形成することにより, 両者の膜の物理的な距離が縮まり, 膜融合が引き起こされる (Qb-および Qc-SNARE については, SNARE モチーフを同一のタンパク質内に二つもつ Qb+c-SNARE がその役割を担う場合もある)。

比較ゲノム解析の結果, 真核生物の各系統において, 体制の複雑さが増すに従い, SNARE 分子の数が増加する傾向があることが示されている。例えば植物においては, 単細胞性の藻類であるシズンとクラミドモナスのゲノムには, それぞれ 17 個, 26 個の SNARE がコードされているのに対し, 陸上多細胞植物であるヒメツリガネゴケやシロイヌナズナには, それぞれ 57 個, 63 個の SNARE が存在する (Dacks & Doolittle 2002, Yoshizawa et al. 2006, Sanderfoot 2007, Dacks et al. 2008)。このことから, 体制や生活環の複雑化が, 膜交通経路の多様化と密接に関わっていることがうかがえる。

陸上植物のポストゴルジ輸送経路で機能する SNARE のうち, その多様化が特に著しいのが, 細胞膜に局在する Qa-SNARE, SYP1 ファミリーである。陸上植物の SYP1 ファミリーは, その遺伝子が複数のイントロンをもつ SYP13 グループと, イントロンの数が一つ以下である SYP12 グループに大別される (Sanderfoot 2007)。このうち, SYP13 グループは緑色植物に広

く保存されており、主に構成的な分泌に関与している。一方 SYP12 グループ (SYP11 もこのグループに含まれる) は、陸上植物のみに存在し、発生や環境応答に関わる特殊化した分泌経路で機能するものと考えられている。例えば、シロイヌナズナの SYP111/KNOLLE は、細胞板形成の際の膜融合を担うことが報告されており (Lukowitz et al. 1996, Lauber et al. 1997), SYP121/PEN1/SYR1 については、病原菌感染部位に向けた抵抗性関連物質の輸送への関与が示唆されている (Collins et al. 2003, Assaad et al. 2004)。

R-SNARE についても、進化の過程でその機能が大きく多様化してきたことがうかがえる。R-SNARE は、N 末端側に longin ドメインと呼ばれるプロフィリン様の構造を持つ longin と、longin ドメインをもたない brevin に大別される (Filippini et al. 2001)。longin が

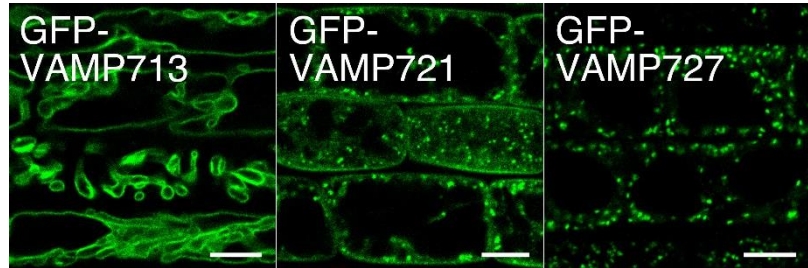


図6 シロイヌナズナ VAMP7 の細胞内局在。図はそれぞれ GFP でラベルした各種シロイヌナズナ VAMP7 の根の細胞における共焦点レーザー顕微鏡像。VAMP71 は液胞膜, VAMP72 は TGN と細胞膜, VAMP727 はエンドソーム/液胞前区画に局在する。スケールバーは 10 μ m。

全ての真核生物の系統に普遍的に保存されているのに対し、brevin は動物や菌類を含む系統のみに存在する。このことから、brevin は動物や菌類を含む系統が進化の過程で独自に獲得した R-SNARE であると考えられる。植物の R-SNARE は longin のみからなっており、それらはさらに SEC22, YKT6, VAMP7 の 3 グループに分類される (Uemura et al. 2004, Sanderfoot 2007)。これらの中では、VAMP7 に最も顕著な多様化が認められる (Sanderfoot 2007, Ebine & Ueda 2009)。脊椎動物では 1 個ないし数個の VAMP7 が分泌経路やエンドサイトーシス経路で機能しているのに対し (Chaineau et al. 2009), シロイヌナズナには 12 個もの VAMP7 が存在する (Uemura et al. 2004, Sanderfoot 2007)。これらの VAMP7 分子は、液胞膜に局在しその膜融合を実行する VAMP71 と (Uemura et al. 2004), 細胞膜や TGN に局在し分泌経路や細胞板形成において機能する VAMP72 の 2 つのグループに分類される (Zhang et al. 2011) (図 6)。VAMP72 グループの中にはさらに、植物が進化の過程で独自に獲得した VAMP727 が含まれる (Ebine & Ueda 2009, Vedovato et al. 2009)。この VAMP727 の研究により、R-SNARE の機能分化の仕組みが、徐々に明らかとなりつつある。

VAMP727 は、その longin ドメイン中に、酸性アミノ酸に富んだ特徴的な挿入配列を持つ (図 6)。我々は、シロイヌナズナの VAMP727 が、エンドソームから液胞への輸送経路と、エンドソームから細胞膜への輸送経路の双方で機能していることを明らかにした (Ebine et al. 2008, Ebine et al. 2011)。これらの輸送経路のうち、エンドソームから液胞への輸送には、保存型 RAB5 の機能が必須であり、RAB7 もこの経路で機能している。一方、植物特異的な RAB5 である ARA6 は、エンドソームから細胞膜への輸送を制御している。植物特異的な膜交通制御因子である ARA6 と VAMP727 が、同じ膜交通経路で機能しているという事実は、両者の獲得が、植物における新規膜交通経路の獲得につながったことを強く示唆している。Rab GTPase や SNARE の多様化が、膜交通経路の多様化へとつながることを示す好例と言える。

VAMP727 は VAMP72 グループの一員であるが、分泌経路で機能する他の VAMP72 メンバ

一と異なり、エンドソームを中心とした輸送経路で機能している。我々は最近、この機能の多様化が、longin ドメイン中の酸性挿入配列の有無と関連していることを突き止めた（藤本ら、未発表）。では、この酸性挿入配列はどのようにして獲得されたのであろうか。VAMP727 様の R-SNARE は種子植物に広く保存されているが、ヒメツリガネゴケやイヌカタヒバには存在しない。このことから、VAMP72 分子への酸性配列の挿入は、シダ植物が分岐した後、種子植物の共通祖先において起こったものと考えられていた。しかし最近我々は、VAMP727 様の挿入配列を持つ VAMP72 分子が苔類ゼニゴケに存在することを見いだした。このことから、植物の進化における VAMP727 様の R-SNARE は、これまで考えられていたよりも古い起源をもつことが明らかとなった。今後、酸性挿入の獲得がいかんして VAMP72 の機能転換を引き起こしたのか、基部陸上植物では VAMP727 様の SNARE がどのような輸送経路で機能しているのかなどを明らかにすることにより、VAMP72 をモデルとした膜交通経路多様化のメカニズムが、さらに明らかになるものと期待される。

7. これから

その精緻なポストゴルジ輸送経路網を、植物はいかにして発達させてきたのであろうか。比較ゲノム解析やモデル植物シロイヌナズナを用いた研究は、TPLATE や DRP1/2, ARA6, VAMP727 といった新規膜交通制御因子の獲得と、ANTH や RAB11, EXO70, SYP1 といった既存の膜交通制御因子の多様化とが、植物における膜交通経路の多様化に大きく関わっていることを明らかにした。しかしながら、植物特異的な分子の獲得がどのようにおこり、それがいかに新規膜交通経路の開拓につながったのか、既存因子の機能分化は、どのような分子ネットワークの進化と関連しているのかなど、依然不明な点が多く残されている。これらの疑問の解決のため、植物固有のポストゴルジ膜交通網の分子機構と生理的役割を明らかにするためのさらなる研究が必要である。さらに、藻類やコケ、シダ、裸子植物など、多様な系統に属する植物を用いた研究も、膜交通がたどった進化の歴史を再構築するためには有効であろう。今後の研究の展開に、是非とも注目していただきたい。

引用文献

- Abbal, P., Pradal, M., Muniz, L., Sauvage, F.X., Chatelet, P., Ueda, T., & Tesniere, C. (2008). Molecular characterization and expression analysis of the Rab GTPase family in *Vitis vinifera* reveal the specific expression of a VvRabA protein. *J Exp Bot.* 59: 2403-2416.
- Asaoka, R., Uemura, T., Ito, J., Fujimoto, M., Ito, E., Ueda, T., & Nakano, A. (2012). Arabidopsis RABA1 GTPases are involved in transport between the trans-Golgi network and the plasma membrane, and are required for salinity stress tolerance. *Plant J.* 73:240-249.
- Assaad, F.F., Qiu, J.L., Youngs, H., Ehrhardt, D., Zimmerli, L., Kalde, M., Wanner, G., Peck, S.C., Edwards, H., Ramonell, K., Somerville, C.R., & Thordal-Christensen, H. (2004). The PEN1 syntaxin defines a novel cellular compartment upon fungal attack and is required for the timely assembly of papillae. *Mol Biol Cell.* 15: 5118-5129.
- Benli, M., Doring, F., Robinson, D.G., Yang, X., & Gallwitz, D. (1996). Two GTPase isoforms,

- Ypt31p and Ypt32p, are essential for Golgi function in yeast. *EMBO J.* 15: 6460-6475.
- Benmerah, A. (2004). Endocytosis: signaling from endocytic membranes to the nucleus. *Curr Biol.* 14: 314-316.
- Boehm, M., & Bonifacino, J.S. (2002). Genetic analyses of adaptin function from yeast to mammals. *Gene.* 286: 175-186.
- Bonifacino, J.S., & Glick, B.S. (2004). The mechanisms of vesicle budding and fusion. *Cell.* 116: 153-166.
- Boutte, Y., Frescatada-Rosa, M., Men, S., Chow, C.M., Ebine, K., Gustavsson, A., Johansson, L., Ueda, T., Moore, I., Jurgens, G., & Grebe, M. (2010). Endocytosis restricts Arabidopsis KNOLLE syntaxin to the cell division plane during late cytokinesis. *EMBO J.* 29: 546-558.
- Brodsky, F.M. (2012). Diversity of clathrin function: new tricks for an old protein. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 28: 309-336.
- Burgos, P.V., Mardones, G.A., Rojas, A.L., Dasilva, L.L., Prabhu, Y., Hurley, J.H., & Bonifacino, J.S. (2010). Sorting of the Alzheimer's disease amyloid precursor protein mediated by the AP-4 complex. *Dev Cell.* 18: 425-436.
- Burmann, F., Ebert, N., Van Baarle, S., & Bramkamp, M. (2011). A bacterial dynamin-like protein mediating nucleotide-independent membrane fusion. *Mol Microbiol.* 79: 1294-1304.
- Chaineau, M., Danglot, L., & Galli, T. (2009). Multiple roles of the vesicular-SNARE TI-VAMP in post-Golgi and endosomal trafficking. *FEBS Lett.* 583: 3817-3826.
- Chanez, A.L., Hehl, A.B., Engstler, M., & Schneider, A. (2006). Ablation of the single dynamin of *T. brucei* blocks mitochondrial fission and endocytosis and leads to a precise cytokinesis arrest. *J Cell Sci.* 119: 2968-2974.
- Chen, W., Feng, Y., Chen, D., & Wandering-Ness, A. (1998). Rab11 is required for trans-golgi network-to-plasma membrane transport and a preferential target for GDP dissociation inhibitor. *Mol Biol Cell.* 9: 3241-3257.
- Choi, S.W., Tamaki, T., Ebine, K., Uemura, T., Ueda, T., & Nakano, A. (2013). RABA members act in distinct steps of subcellular trafficking of the Flagellin Sensing2 receptor. *Plant Cell.* 25: 1174-1187.
- Chong, Y.T., Gidda, S.K., Sanford, C., Parkinson, J., Mullen, R.T., & Goring, D.R. (2010). Characterization of the Arabidopsis thaliana exocyst complex gene families by phylogenetic, expression profiling, and subcellular localization studies. *New Phytol.* 185: 401-419.
- Chow, C.M., Neto, H., Foucart, C., & Moore, I. (2008). Rab-A2 and Rab-A3 GTPases define a trans-golgi endosomal membrane domain in Arabidopsis that contributes substantially to the cell plate. *Plant Cell.* 20: 101-123.
- Cole, R.A., Synek, L., Zarsky, V., & Fowler, J.E. (2005). SEC8, a subunit of the putative Arabidopsis exocyst complex, facilitates pollen germination and competitive pollen tube growth. *Plant Physiol.* 138: 2005-2018.
- Collings, D.A., Gebbie, L.K., Howles, P.A., Hurley, U.A., Birch, R.J., Cork, A.H., Hocart, C.H., Arioli,

- T., & Williamson, R.E. (2008). Arabidopsis dynamin-like protein DRP1A: a null mutant with widespread defects in endocytosis, cellulose synthesis, cytokinesis, and cell expansion. *J Exp Bot.* 59: 361-376.
- Collins, N.C., Thordal-Christensen, H., Lipka, V., Bau, S., Kombrink, E., Qiu, J.L., Huckelhoven, R., Stein, M., Freialdenhoven, A., Somerville, S.C., & Schulze-Lefert, P. (2003). SNARE-protein-mediated disease resistance at the plant cell wall. *Nature.* 425: 973-977.
- Dacks, J.B., & Doolittle, W.F. (2002). Novel syntaxin gene sequences from Giardia, Trypanosoma and algae: implications for the ancient evolution of the eukaryotic endomembrane system. *J Cell Sci.* 115: 1635-1642.
- Dacks, J.B., & Field, M.C. (2007). Evolution of the eukaryotic membrane-trafficking system: origin, tempo and mode. *J Cell Sci.* 120: 2977-2985.
- Dacks, J.B., Poon, P.P., & Field, M.C. (2008). Phylogeny of endocytic components yields insight into the process of nonendosymbiotic organelle evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105: 588-593.
- De Craene, J.O., Ripp, R., Lecompte, O., Thompson, J.D., Poch, O., & Friant, S. (2012). Evolutionary analysis of the ENTH/ANTH/VHS protein superfamily reveals a coevolution between membrane trafficking and metabolism. *BMC Genomics.* 13: 297.
- De Graaf, B.H., Cheung, A.Y., Andreyeva, T., Levasseur, K., Kieliszewski, M., & Wu, H.M. (2005). Rab11 GTPase-regulated membrane trafficking is crucial for tip-focused pollen tube growth in tobacco. *Plant Cell.* 17: 2564-2579.
- Dell'angelica, E.C. (2009). AP-3-dependent trafficking and disease: the first decade. *Curr Opin Cell Biol.* 21: 552-559.
- Devos, D., Dokudovskaya, S., Alber, F., Williams, R., Chait, B.T., Sali, A., & Rout, M.P. (2004). Components of coated vesicles and nuclear pore complexes share a common molecular architecture. *PLoS Biol.* 2: e380.
- Ebine, K., Fujimoto, M., Okatani, Y., Nishiyama, T., Goh, T., Ito, E., Dainobu, T., Nishitani, A., Uemura, T., Sato, M.H., Thordal-Christensen, H., Tsutsumi, N., Nakano, A., & Ueda, T. (2011). A membrane trafficking pathway regulated by the plant-specific RAB GTPase ARA6. *Nat Cell Biol.* 13: 853-859.
- Ebine, K., Miyakawa, N., Fujimoto, M., Uemura, T., Nakano, A., & Ueda, T. (2012). Endosomal trafficking pathway regulated by ARA6, a RAB5 GTPase unique to plants. *Small GTPases.* 3: 0-4.
- Ebine, K., Okatani, Y., Uemura, T., Goh, T., Shoda, K., Niihama, M., Morita, M.T., Spitzer, C., Otegui, M.S., Nakano, A., & Ueda, T. (2008). A SNARE complex unique to seed plants is required for protein storage vacuole biogenesis and seed development of Arabidopsis thaliana. *Plant Cell.* 20: 3006-3021.
- Ebine, K., & Ueda, T. (2009). Unique mechanism of plant endocytic/vacuolar transport pathways. *J Plant Res.* 122: 21-30.

- Elde, N.C., Morgan, G., Winey, M., Sperling, L., & Turkewitz, A.P. (2005). Elucidation of clathrin-mediated endocytosis in tetrahymena reveals an evolutionarily convergent recruitment of dynamin. *PLoS Genet.* 1: e52.
- Elias, M. (2010). Patterns and processes in the evolution of the eukaryotic endomembrane system. *Mol Membr Biol.* 27: 469-489.
- Elias, M., Brighouse, A., Castello, C.G., Field, M.C., & Dacks, J.B. (2012). Sculpting the endomembrane system in deep time: High resolution phylogenetics of Rab GTPases. *J Cell Sci.*
- Elias, M., Drdova, E., Ziak, D., Bavlnka, B., Hala, M., Cvrcikova, F., Soukupova, H., & Zarsky, V. (2003). The exocyst complex in plants. *Cell Biol Int.* 27: 199-201.
- Feraru, E., Feraru, M.I., Asaoka, R., Paciorek, T., De Rycke, R., Tanaka, H., Nakano, A., & Friml, J. (2012). BEX5/RabA1b regulates trans-Golgi network-to-plasma membrane protein trafficking in Arabidopsis. *Plant Cell.* 24: 3074-3086.
- Feraru, E., Paciorek, T., Feraru, M.I., Zwiewka, M., De Groodt, R., De Rycke, R., Kleine-Vehn, J., & Friml, J. (2010). The AP-3 beta adaptin mediates the biogenesis and function of lytic vacuoles in Arabidopsis. *Plant Cell.* 22: 2812-2824.
- Filippini, F., Rossi, V., Galli, T., Budillon, A., D'urso, M., & D'esposito, M. (2001). Longins: a new evolutionary conserved VAMP family sharing a novel SNARE domain. *Trends Biochem Sci.* 26: 407-409.
- Fujimoto, M., Arimura, S., Nakazono, M., & Tsutsumi, N. (2008). Arabidopsis dynamin-related protein DRP2B is co-localized with DRP1A on the leading edge of the forming cell plate. *Plant Cell Rep.* 27: 1581-1586.
- Fujimoto, M., Arimura, S., Ueda, T., Takanashi, H., Hayashi, Y., Nakano, A., & Tsutsumi, N. (2010). Arabidopsis dynamin-related proteins DRP2B and DRP1A participate together in clathrin-coated vesicle formation during endocytosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 107: 6094-6099.
- Furuta, N., Fujimura-Kamada, K., Saito, K., Yamamoto, T., & Tanaka, K. (2007). Endocytic recycling in yeast is regulated by putative phospholipid translocases and the Ypt31p/32p-Rcy1p pathway. *Mol Biol Cell.* 18: 295-312.
- Goh, T., Uchida, W., Arakawa, S., Ito, E., Dainobu, T., Ebine, K., Takeuchi, M., Sato, K., Ueda, T., & Nakano, A. (2007). VPS9a, the common activator for two distinct types of Rab5 GTPases, is essential for the development of Arabidopsis thaliana. *Plant Cell.* 19: 3504-3515.
- Guermonprez, H., Smertenko, A., Crosnier, M.T., Durandet, M., Vrielynck, N., Guerche, P., Hussey, P.J., Satiat-Jeunemaitre, B., & Bonhomme, S. (2008). The POK/AtVPS52 protein localizes to several distinct post-Golgi compartments in sporophytic and gametophytic cells. *J Exp Bot.* 59: 3087-3098.
- Gurkan, C., Koulov, A.V., & Balch, W.E. (2007). An evolutionary perspective on eukaryotic membrane trafficking. *Adv Exp Med Biol.* 607: 73-83.

- Haas, T.J., Sliwinski, M.K., Martinez, D.E., Preuss, M., Ebine, K., Ueda, T., Nielsen, E., Odorizzi, G., & Otegui, M.S. (2007). The Arabidopsis AAA ATPase SKD1 is involved in multivesicular endosome function and interacts with its positive regulator LYST-INTERACTING PROTEIN5. *Plant Cell*. 19: 1295-1312.
- Hala, M., Cole, R., Synek, L., Drdova, E., Pecenkova, T., Nordheim, A., Lamkemeyer, T., Madlung, J., Hochholdinger, F., Fowler, J.E., & Zarsky, V. (2008). An exocyst complex functions in plant cell growth in Arabidopsis and tobacco. *Plant Cell*. 20: 1330-1345.
- Hirst, J., Barlow, L.D., Francisco, G.C., Sahlender, D.A., Seaman, M.N., Dacks, J.B., & Robinson, M.S. (2011). The fifth adaptor protein complex. *PLoS Biol*. 9: e1001170.
- Hong, Z., Bednarek, S.Y., Blumwald, E., Hwang, I., Jurgens, G., Menzel, D., Osteryoung, K.W., Raikhel, N.V., Shinozaki, K., Tsutsumi, N., & Verma, D.P. (2003). A unified nomenclature for Arabidopsis dynamin-related large GTPases based on homology and possible functions. *Plant Mol Biol*. 53: 261-265.
- Hu, J., Shibata, Y., Zhu, P.P., Voss, C., Rismanchi, N., Prinz, W.A., Rapoport, T.A., & Blackstone, C. (2009). A class of dynamin-like GTPases involved in the generation of the tubular ER network. *Cell*. 138: 549-561.
- Ishikawa, T., Machida, C., Yoshioka, Y., Ueda, T., Nakano, A., & Machida, Y. (2008). EMBRYO YELLOW gene, encoding a subunit of the conserved oligomeric Golgi complex, is required for appropriate cell expansion and meristem organization in Arabidopsis thaliana. *Genes Cells*. 13: 521-535.
- Jackson, L.P., Kelly, B.T., McCoy, A.J., Gaffry, T., James, L.C., Collins, B.M., Honing, S., Evans, P.R., & Owen, D.J. (2010). A large-scale conformational change couples membrane recruitment to cargo binding in the AP2 clathrin adaptor complex. *Cell*. 141: 1220-1229.
- Jahn, R., & Scheller, R.H. (2006). SNAREs--engines for membrane fusion. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 7: 631-643.
- Jedd, G., Mulholland, J., & Segev, N. (1997). Two new Ypt GTPases are required for exit from the yeast trans-Golgi compartment. *J Cell Biol*. 137: 563-580.
- Kang, B.H., Busse, J.S., & Bednarek, S.Y. (2003). Members of the Arabidopsis dynamin-like gene family, ADL1, are essential for plant cytokinesis and polarized cell growth. *Plant Cell*. 15: 899-913.
- Klopper, T.H., Kienle, N., Fasshauer, D., & Munro, S. (2012). Untangling the evolution of Rab G proteins: implications of a comprehensive genomic analysis. *BMC Biol*. 10: 71.
- Konopka, C.A., Backues, S.K., & Bednarek, S.Y. (2008). Dynamics of Arabidopsis dynamin-related protein 1C and a clathrin light chain at the plasma membrane. *Plant Cell*. 20: 1363-1380.
- Koumandou, V.L., Dacks, J.B., Coulson, R.M., & Field, M.C. (2007). Control systems for membrane fusion in the ancestral eukaryote; evolution of tethering complexes and SM proteins. *BMC Evol Biol*. 7: 29.
- Kulich, I., Cole, R., Drdova, E., Cvrckova, F., Soukup, A., Fowler, J., & Zarsky, V. (2010).

- Arabidopsis exocyst subunits SEC8 and EXO70A1 and exocyst interactor ROH1 are involved in the localized deposition of seed coat pectin. *New Phytol.* 188: 615-625.
- Lauber, M.H., Waizenegger, I., Steinmann, T., Schwarz, H., Mayer, U., Hwang, I., Lukowitz, W., & Jurgens, G. (1997). The Arabidopsis KNOLLE protein is a cytokinesis-specific syntaxin. *J Cell Biol.* 139: 1485-1493.
- Lee, C.F., Pu, H.Y., Wang, L.C., Sayler, R.J., Yeh, C.H., & Wu, S.J. (2006). Mutation in a homolog of yeast Vps53p accounts for the heat and osmotic hypersensitive phenotypes in Arabidopsis hit1-1 mutant. *Planta.* 224: 330-338.
- Lobstein, E., Guyon, A., Ferault, M., Twell, D., Pelletier, G., & Bonhomme, S. (2004). The putative Arabidopsis homolog of yeast vps52p is required for pollen tube elongation, localizes to Golgi, and might be involved in vesicle trafficking. *Plant Physiol.* 135: 1480-1490.
- Low, H.H., & Lowe, J. (2006). A bacterial dynamin-like protein. *Nature.* 444: 766-769.
- Lu, C., Zainal, Z., Tucker, G.A., & Lycett, G.W. (2001). Developmental abnormalities and reduced fruit softening in tomato plants expressing an antisense Rab11 GTPase gene. *Plant Cell.* 13: 1819-1833.
- Lukowitz, W., Mayer, U., & Jurgens, G. (1996). Cytokinesis in the Arabidopsis embryo involves the syntaxin-related KNOLLE gene product. *Cell.* 84: 61-71.
- Lycett, G. (2008). The role of Rab GTPases in cell wall metabolism. *J Exp Bot.* 59: 4061-4074.
- Matsuzaki, M., Misumi, O., Shin, I.T., Maruyama, S., Takahara, M., Miyagishima, S.Y., Mori, T., Nishida, K., Yagisawa, F., Yoshida, Y., Nishimura, Y., Nakao, S., Kobayashi, T., Momoyama, Y., Higashiyama, T., Minoda, A., Sano, M., Nomoto, H., Oishi, K., Hayashi, H., Ohta, F., Nishizaka, S., Haga, S., Miura, S., Morishita, T., Kabeya, Y., Terasawa, K., Suzuki, Y., Ishii, Y., Asakawa, S., Takano, H., Ohta, N., Kuroiwa, H., Tanaka, K., Shimizu, N., Sugano, S., Sato, N., Nozaki, H., Ogasawara, N., Kohara, Y., & Kuroiwa, T. (2004). Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D. *Nature.* 428: 653-657.
- Miyagishima, S.Y., Kuwayama, H., Urushihara, H., & Nakanishi, H. (2008). Evolutionary linkage between eukaryotic cytokinesis and chloroplast division by dynamin proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105: 15202-15207.
- Munson, M., & Novick, P. (2006). The exocyst defrocked, a framework of rods revealed. *Nat Struct Mol Biol.* 13: 577-581.
- Niihama, M., Takemoto, N., Hashiguchi, Y., Tasaka, M., & Morita, M.T. (2009). ZIP genes encode proteins involved in membrane trafficking of the TGN-PVC/vacuoles. *Plant Cell Physiol.* 50: 2057-2068.
- Ortiz, D., Medkova, M., Walch-Solimena, C., & Novick, P. (2002). Ypt32 recruits the Sec4p guanine nucleotide exchange factor, Sec2p, to secretory vesicles; evidence for a Rab cascade in yeast. *J Cell Biol.* 157: 1005-1015.
- Owen, D.J., Collins, B.M., & Evans, P.R. (2004). Adaptors for clathrin coats: structure and function. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 20: 153-191.

- Pecenkova, T., Hala, M., Kulich, I., Kocourkova, D., Drdova, E., Fendrych, M., Toupalova, H., & Zarsky, V. (2011). The role for the exocyst complex subunits Exo70B2 and Exo70H1 in the plant-pathogen interaction. *J Exp Bot.* 62: 2107-2116.
- Pereira-Leal, J.B., & Seabra, M.C. (2001). Evolution of the Rab family of small GTP-binding proteins. *J Mol Biol.* 313: 889-901.
- Praefcke, G.J., & McMahon, H.T. (2004). The dynamin superfamily: universal membrane tubulation and fission molecules? *Nat Rev Mol Cell Biol.* 5: 133-147.
- Preuss, M.L., Serna, J., Falbel, T.G., Bednarek, S.Y., & Nielsen, E. (2004). The Arabidopsis Rab GTPase RabA4b localizes to the tips of growing root hair cells. *Plant Cell.* 16: 1589-1603.
- Rojo, E., Gillmor, C.S., Kovaleva, V., Somerville, C.R., & Raikhel, N.V. (2001). VACUOLELESS1 is an essential gene required for vacuole formation and morphogenesis in Arabidopsis. *Dev Cell.* 1: 303-310.
- Rojo, E., Zouhar, J., Kovaleva, V., Hong, S., & Raikhel, N.V. (2003). The AtC-VPS protein complex is localized to the tonoplast and the prevacuolar compartment in arabidopsis. *Mol Biol Cell.* 14: 361-369.
- Rutherford, S., & Moore, I. (2002). The Arabidopsis Rab GTPase family: another enigma variation. *Curr Opin Plant Biol.* 5: 518-528.
- Saito, C., & Ueda, T. (2009). Chapter 4: functions of RAB and SNARE proteins in plant life. *Int Rev Cell Mol Biol.* 274: 183-233.
- Sanderfoot, A. (2007). Increases in the number of SNARE genes parallels the rise of multicellularity among the green plants. *Plant Physiol.* 144: 6-17.
- Schledzewski, K., Brinkmann, H., & Mendel, R.R. (1999). Phylogenetic analysis of components of the eukaryotic vesicle transport system reveals a common origin of adaptor protein complexes 1, 2, and 3 and the F subcomplex of the coatamer COPI. *J Mol Evol.* 48: 770-778.
- Schmid, S.L., & Frolov, V.A. (2011). Dynamin: functional design of a membrane fission catalyst. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 27: 79-105.
- Segui-Simarro, J.M., Austin, J.R., 2nd, White, E.A., & Staehelin, L.A. (2004). Electron tomographic analysis of somatic cell plate formation in meristematic cells of Arabidopsis preserved by high-pressure freezing. *Plant Cell.* 16: 836-856.
- Sever, S. (2002). Dynamin and endocytosis. *Curr Opin Cell Biol.* 14: 463-467.
- Singh, B., & Gupta, R.S. (2004). Genomic organization and linkage via a bidirectional promoter of the AP-3 (adaptor protein-3) mu3A and AK (adenosine kinase) genes: deletion mutants of AK in Chinese hamster cells extend into the AP-3 m3A gene. *Biochem J.* 378: 519-528.
- Somsel Rodman, J., & Wandinger-Ness, A. (2000). Rab GTPases coordinate endocytosis. *J Cell Sci.* 113 2: 183-192.
- Stenmark, H., & Olkkonen, V.M. (2001). The Rab GTPase family. *Genome Biol.* 2: REVIEWS3007.
- Strickland, L.I., & Burgess, D.R. (2004). Pathways for membrane trafficking during cytokinesis. *Trends Cell Biol.* 14: 115-118.

- Synek, L., Schlager, N., Elias, M., Quentin, M., Hauser, M.T., & Zarsky, V. (2006). AtEXO70A1, a member of a family of putative exocyst subunits specifically expanded in land plants, is important for polar growth and plant development. *Plant J.* 48: 54-72.
- Synek, V. (2006). Effect of insignificant bias and its uncertainty on the coverage probability of uncertainty intervals Part 1. Evaluation for a given value of the true bias. *Talanta.* 70: 1024-1034.
- Szumslanski, A.L., & Nielsen, E. (2009). The Rab GTPase RabA4d regulates pollen tube tip growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell.* 21: 526-544.
- Taylor, N.G. (2011). A role for Arabidopsis dynamin related proteins DRP2A/B in endocytosis; DRP2 function is essential for plant growth. *Plant Mol Biol.* 76: 117-129.
- Thellmann, M., Rybak, K., Thiele, K., Wanner, G., & Assaad, F.F. (2010). Tethering factors required for cytokinesis in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 154: 720-732.
- Ueda, T., Matsuda, N., Anai, T., Tsukaya, H., Uchimiya, H., & Nakano, A. (1996). An Arabidopsis gene isolated by a novel method for detecting genetic interaction in yeast encodes the GDP dissociation inhibitor of Ara4 GTPase. *Plant Cell.* 8: 2079-2091.
- Ueda, T., Uemura, T., Sato, M.H., & Nakano, A. (2004). Functional differentiation of endosomes in Arabidopsis cells. *Plant J.* 40: 783-789.
- Ueda, T., Yamaguchi, M., Uchimiya, H., & Nakano, A. (2001). Ara6, a plant-unique novel type Rab GTPase, functions in the endocytic pathway of Arabidopsis thaliana. *EMBO J.* 20: 4730-4741.
- Uemura, T., Ueda, T., Ohniwa, R.L., Nakano, A., Takeyasu, K., & Sato, M.H. (2004). Systematic analysis of SNARE molecules in Arabidopsis: dissection of the post-Golgi network in plant cells. *Cell Struct Funct.* 29: 49-65.
- Ullrich, O., Reinsch, S., Urbe, S., Zerial, M., & Parton, R.G. (1996). Rab11 regulates recycling through the pericentriolar recycling endosome. *J Cell Biol.* 135: 913-924.
- Van Damme, D., Coutuer, S., De Rycke, R., Bouget, F.Y., Inze, D., & Geelen, D. (2006). Somatic cytokinesis and pollen maturation in Arabidopsis depend on TPLATE, which has domains similar to coat proteins. *Plant Cell.* 18: 3502-3518.
- Van Damme, D., Gadeyne, A., Vanstraelen, M., Inze, D., Van Montagu, M.C., De Jaeger, G., Russinova, E., & Geelen, D. (2011). Adaptin-like protein TPLATE and clathrin recruitment during plant somatic cytokinesis occurs via two distinct pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108: 615-620.
- Vedovato, M., Rossi, V., Dacks, J.B., & Filippini, F. (2009). Comparative analysis of plant genomes allows the definition of the "Phytolongins": a novel non-SNARE longin domain protein family. *BMC Genomics.* 10: 510.
- Vernoud, V., Horton, A.C., Yang, Z., & Nielsen, E. (2003). Analysis of the small GTPase gene superfamily of Arabidopsis. *Plant Physiol.* 131: 1191-1208.
- Wang, J., Ding, Y., Hillmer, S., Miao, Y., Lo, S.W., Wang, X., Robinson, D.G., & Jiang, L. (2010). EXPO, an exocyst-positive organelle distinct from multivesicular endosomes and

- autophagosomes, mediates cytosol to cell wall exocytosis in Arabidopsis and tobacco cells. *Plant Cell*. 22: 4009-4030.
- Wickner, W., & Schekman, R. (2008). Membrane fusion. *Nat Struct Mol Biol*. 15: 658-664.
- Yoshizawa, A.C., Kawashima, S., Okuda, S., Fujita, M., Itoh, M., Moriya, Y., Hattori, M., & Kanehisa, M. (2006). Extracting sequence motifs and the phylogenetic features of SNARE-dependent membrane traffic. *Traffic*. 7: 1104-1118.
- Zainal, Z., Tucker, G.A., & Lycett, G.W. (1996). A rab11-like gene is developmentally regulated in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. *Biochim Biophys Acta*. 1314: 187-190.
- Zhang, L., Zhang, H., Liu, P., Hao, H., Jin, J.B., & Lin, J. (2011). Arabidopsis R-SNARE proteins VAMP721 and VAMP722 are required for cell plate formation. *PLoS One*. 6: e26129.