葉緑体の分裂制御機構とその進化

宮城島　進也 [1,2]
1. 国立遺伝学研究所
〒411-8540 静岡県三島市谷田 1111

2. 独立行政法人科学技術振興機構, CREST
〒332-0012 埼玉県川口市本町 4-1-8

Regulation and evolution of the chloroplast division machinery

Shin-ya Miyagishima[1,2]
1. National Institute of Genetics
1111 Yata, Mishima, Shizuoka 411-8540, Japan

2. JST, CREST
4-1-8 Honcho, Kawaguchi, Saitama 332-0012, Japan

１．はじめに

真核細胞内のエネルギー変換器，ミトコンドリアと葉緑体（色素体）は，それぞれαプロテオバクテリア, シアノバクテリアが 10−20 億年前に真核細胞の祖先に共生することによって生じた（図 1)。そのため，祖先のバクテリアと同様，どちらの細胞内小器官も独自のゲノム，リボソーム等の遺伝子情報発現系をもち，真核細胞内で分裂することによって増殖する (Archibald 2009)。

シアノバクテリアの共生(一次共生)により葉緑体を得た光合成真核生物は, 灰色藻, 紅藻，緑色植物（緑藻，陸上植物など）の三つのグループへと進化した（図 1)。様々な分子系統解析の結果，すべての葉緑体は，一回のシアノバクテリアの共生に起源することが示唆されている。一次共生によって生じた葉緑体は 2 枚の包膜を持っており，内包膜及び外包膜は, それぞれシアノバクテリアの細胞膜と外膜に由来するとされているが，外包膜は，原核と真核の両方の性質をもっている。さらに，一次共生によって成立した紅藻や緑藻が，別の真核細胞に取り込まれることにより（二次共生)，葉緑体は真核生物の様々な系統へと伝播していった（図 1)。たとえば，ミドリムシは緑藻由来の葉緑体をもち，ストラメノパイル（珪藻，褐藻など）は紅藻由来の葉緑体をもつ。海洋

において最も繁栄している光合成生物は，紅藻の二次共生由来の葉緑体をもつグループである (Archibald 2009)。

細胞内共生バクテリアがオルガネラになる過程において，(i) 共生体遺伝子群の宿主核への転移及びその翻訳産物の葉緑体への輸送機構の獲得（ii）葉緑体包膜を介した代謝産物の交換機構（トランスポーター等）の成立（iii）宿主真核細胞による共生体の分裂・増殖制御機構の獲得が必須であったと考えられる。これらのイベントの中で共生体の分裂・増殖の制御は，宿主細胞が分裂する際に，共生体を娘細胞に確実に伝播させ，宿主細胞による共生体の恒久的維持を可能とするものである (Rodriguez-Ezpeleta and Philippe 2006)。現存の藻類の葉緑体や，その他の恒久的な細胞内共生関係の観察結果は，共生体の分裂増殖と宿主細胞分裂周期が同調することが，恒久的な細胞内共生関係の確立とその後のオルガネラ化に必須であることを示してきた。多くの場合，藻類の細胞は細胞あたり一ないし数個の葉緑体を含み，宿主細胞が分裂する前に葉緑体が一回だけ分裂することにより，細胞あたりの葉緑体数が一定に保たれる。

では，宿主植物細胞はどの様にして，シアノバクテリア共生体に由来する葉緑体の分裂を制御しているのか，またその機構がどの様にして進化してきたか。分裂制御機構を解析し理解するためには，まず葉緑体分裂機構の理解が必須である。次項ではこれまでに分かっている葉緑体分裂の分子機構について概説する。維管束植物には、葉緑体以外に、その分化型である様々な色素体が存在する（後述）。このため，ここでは、光合成を行う緑色の色素体を葉緑体、それ以外の色

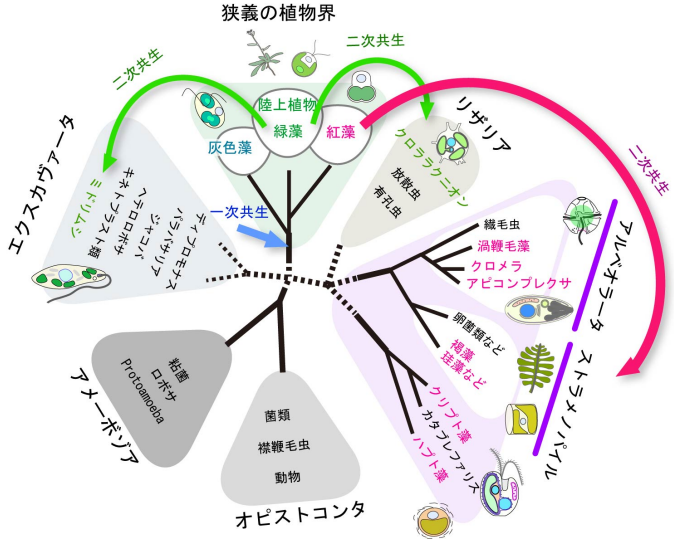

図１　細胞内共生による葉緑体の成立と二次共生による葉緑体の伝播。葉緑体は真核細胞内にシアノバクテリアが共生すること（一次共生）によって誕生した。さらに，葉緑体をもつ真核藻類（紅藻または緑藻）が別の真核細胞内に共生し（二次共生），葉緑体以外のオルガネラを喪失することにより多くの真核生物の系統に伝播していった。狭義の植物界以外で赤または緑で示される系統は，それぞれ紅藻、緑藻の由来の二次葉緑体をもつ。

素体を色素体と記述する。

２．葉緑体の分裂装置と分裂機構

通常，葉緑体は均等二分裂によって増殖するが（図 2)，陸上植物の一部の組織では，多分裂も観察されている (Miyagishima et al. 2011)。電子顕微鏡観察により，葉緑体分裂はその分裂面において, 内包膜と外包膜が同時にくびれることにより進行することがわかっている (Possingham and Lawrence 1983, Kuroiwa et al. 1998)。1986 年，単細胞原始紅藻において，葉緑体の分裂面にリング状の構造（色素体分裂リング ; PD リング）が見つかり (Mita et al. 1986)，引き続き，同様の構造がその他の藻類や陸上植物で報告された (Hashimoto 1998, Kuroiwa et al. 1998)。これらの結果に基づき，葉緑体分裂はこれらのリング状構造が収縮することによって引き起こされることが示唆された。その後，このリング状構造の構成因子とその周辺に存在するタンパク質の同定に向けての研究が進んだ。その結果，シアノバクテリア由来の自己重合型 GTPase である FtsZ (Osteryoung and Vierling 1995, Osteryoung et al. 1998, Mori et al. 2001, Vitha et al. 2001)，及び，宿主真核細胞由来のダイナミン様タンパク質 DRP5B (Miyagishima et al. 2003, Gao et al. 2003) が，リング周辺に局在し，その他のタンパク質群と複合体（分裂装置）を形成して葉緑体分裂に関与することが判明した（図 2) (Yang et al. 2008, Miyagishima 2011, Yoshida et al. 2012)。つまり，葉緑体分裂はシアノバクテリアのもち込んだ機構と，宿主細胞が加えた新たな機構の協調によって行われることが分かった。さらに最近，単細胞原始紅藻から葉緑体分裂装置が単離され，細胞質側に電子顕微鏡で直接観察される構造が，糖鎖であることが判明した（図 2）(Yoshida et al. 2010)。いくつかの藻類を除き，葉緑体分裂装置の構成タンパク質群はすべて宿主の核ゲノムにコードされている (Miyagishima and Kabeya 2010)。ここでは，これまでに同定されている分裂装置の構成タンパク質群について，シアノバクテリア由来のものと，宿主由来のものにわけて紹介する。

２−１．シアノバクテリア由来の機構とその保存性

葉緑体分裂装置の構成タンパク質として最初に見つかったのが FtsZ である。FtsZ はバクテリア（真正細菌）と一部のアーキア（古細菌）に保存された，立体構造上真核生物のチューブリンに似た GTPase である。FtsZ はバクテリアの分裂時に分裂面の原形質膜直下で重合してリング状の構造を作り, その他分裂に必要なタンパク質を分裂面に局在させ，細胞質分裂を引き起こす (Harry et al. 2006)。1995 年，シアノバクテリア由来の *ftsZ* 遺伝子が，シロイヌナズナの細胞核ゲノムに見つかり (Osteryoung and Vierling 1995), 葉緑体の分裂に必要であることが確認された (Osteryoung et al. 1998)。その後 FtsZ

が葉緑体分裂面の内包膜ストロマ側にリング状に局在することが明らかとなった (Kuroiwa et al. 2002)。FtsZ は内包膜ストロマ側にある内側の色素体分裂リングのさらにストロマ側に位置する（図 2）(Miyagishima et al. 2001)。

つまり，共生後遺伝子は宿主の細胞核に移行したものの，FtsZ を中心としたバクテリア型の細胞質分裂機構が，細胞内共生後も葉緑体で機能していることが示された。その後, シアノバクテリア由来の核コードタンパク質, ARC6 (Vitha et al. 2003), MinD (Colletti et al. 2000), MinE (Itoh et al. 2001)等も葉緑体分裂に関与することが示された（図 2)。その他，機能は調べられていないが，シアノバクテリアの *minC*（*minD*, *minE* と共に FtsZ リングの位置決定に関わる）に類似の遺伝子が緑藻の核ゲノムに見つかっている他，一部の緑藻の葉緑体ゲノムに，*ftsI* 及び *ftsW*（バクテリアにおいて分裂面でのペプチドグリカン合成に関わる）に類似の遺伝子が存在する。しかしながら，上記以外の本来シアノバクテリアがもっていた細胞質分裂関連遺伝子の多くは，藻類，植物のゲノムに存在しないことから，細胞内共生後，バクテリア型の分裂因子の多くは失われたと考えられる（図 3）(Miyagishima and Kabeya 2010, Miyagishima 2011)。

このようにシアノバクテリアの分裂機構の一部が引き続き葉緑体分裂でもはたらいているが，いくつかのタンパク質は，そのパラログが進化し，元のタンパク質とは異なる機能を果たしていることもわかってきた（図 2，図 3)。シアノバクテリアを含め多くのバクテリアが，*ftsZ* 遺伝子を一つしかもたないのに対して，葉緑体の分裂には 2 種類の核コードの FtsZ タンパク質が関与する。片方の FtsZ（FtsZ2）にはシアノバクテリア FtsZ と同様に C 末端の保存領域が存在するが（バクテリアにおいてその他の分裂関連関白質との結合に関わることが示されている)，もう片方の FtsZ（FtsZ1）には，この配列が無い (Miyagishima et al. 2004)。このことは，葉緑体の成立過程で，C 末端欠落型の FtsZ が出現したことを示している。FtsZ1 と FtsZ2 は葉緑体分裂面に共局在し，*in vitro* でホモポリマーとヘテロポリマーの両方を形成できることが示されている。陸上植物において FtsZ2 は ARC6 と結合し, FtsZ1 は ARC3 と結合する（図 2) (Maple et al. 2005, Maple et al. 2007)。ARC3 もシアノバクテリア由来 FtsZ から進化した緑色植物（緑藻，陸上植物）に固有のタンパク質であり，FtsZ 様の N 末端部分と MORN モチーフ（他のタンパク質において膜脂質と結合することが知られている）を含む C 末端部分からなる (Shimada et al. 2004)。維管束植物（シダ，種子植物）は独自の ARC6 パラログ（PARC6）をもち，ARC6 が FtsZ リングの形成を促進する一方で，PARC6 は逆に FtsZ リング形成を阻害する (Glynn et al. 2009)。また，ARC6 は PDV2 の，PARC6 は PDV1 の分裂面への局在化に必要である（図 2，図 3）(Glynn et al. 2008, Glynn et al. 2009)。

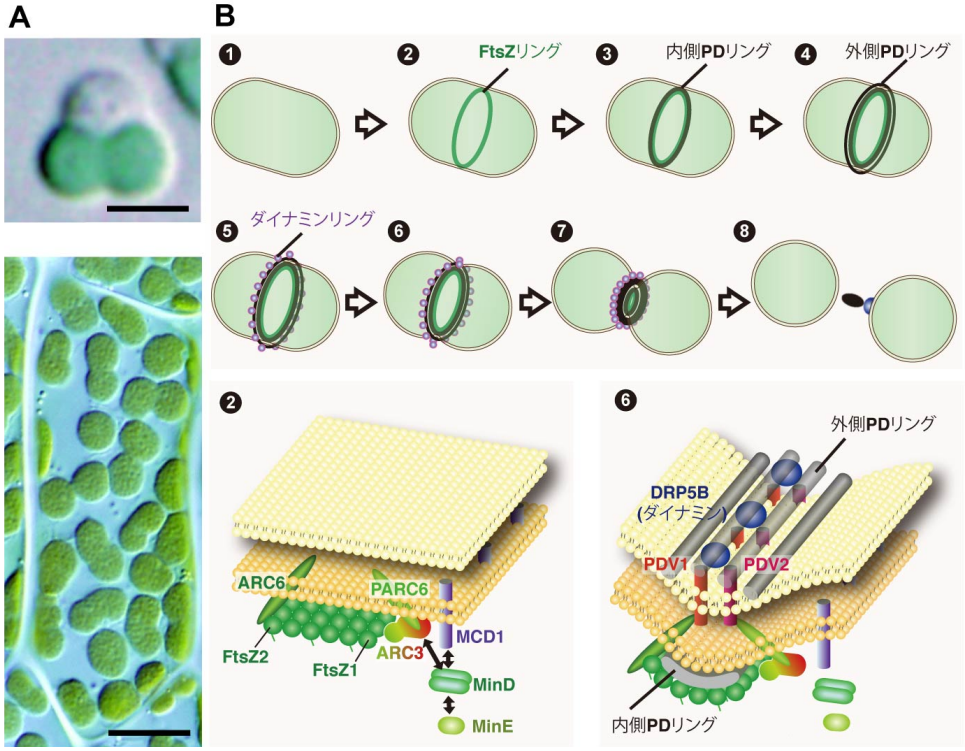

図２　葉緑体分裂装置の構造と機能。A：単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の細胞内で分裂する葉緑体。一細胞に葉緑体は一つだけ存在する（上）。ヒメツリガネゴケの細胞内で分裂する葉緑体。一つの細胞に多数の葉緑体が含まれる（下）スケールバーはそれぞれ 2 µm（上）10 µm（下）。B：単細胞紅藻 *C. merolae* を用いた解析で明らかとなった分裂装置の挙動。FtsZ リング，内側の PD リング，外側の PD リング，ダイナミンリングがこの順に予定分裂位置に形成され，その後分裂面の収縮が起こる。分裂の最終段階において，FtsZ，内側の PD リングがこの順に消失し，分裂完了後，外側の PD リングは 2 つの娘葉緑体の間で徐々に消失し，DRP5B（ダイナミン）は片方の娘細胞に付着した状態で消失する。C：これまでに同定されている構造及び分裂装置構成タンパク質の存在位置と相互の関係。シロイヌナズナの場合を示す。シアノバクテリアに由来する因子は緑で，宿主真核細胞に由来する因子はそれ以外の色で示してある。MCD1, MinD, MinE, ARC3 はそれぞれ相互作用することにより FtsZ リングの形成位置を決定する。

２−２．宿主真核細胞由来の機構とその進化

上記のように，バクテリアの分裂機構の情報に基づいて，葉緑体の分裂に関わる遺伝子群が同定され始めた。しかしながら，シアノバクテリアの細胞質分裂遺伝子の多くが共生後に失われていること，電子顕微鏡で直接観察される色素体分裂リングに類似の構

造がシアノバクテリアでは観察されないことなどから，共生後に宿主細胞側から加えられた葉緑体分裂タンパク質の存在が予想された。そのような中，宿主真核細胞起源の葉緑体分裂タンパク質として最初に同定されたのがダイナミン様タンパク質，DRP5B である。

ダイナミンは真核生物に固有の GTPase であり，受容体介在型エンドサイトーシスの小胞形成時に，形成中の小胞と細胞膜をつなぐ部分の細胞質側表面でリング状に重合し，小胞を細胞膜からくびり切るのに必須のタンパク質として解析が進んでいた。その後，ゲノムプロジェクトにより，真核生物には様々なダイナミン類似タンパク質があることがわかった (Praefcke and McMahon 2004)。そのうちの一種がミトコンドリア分裂面の細胞質側表面に局在し，分裂に関与していることが報告された。さらに，単細胞原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* のゲノムプロジェクトの結果，この種にはダイナミン様遺伝子が 2 つしかないことが判明し，片方はミトコンドリア分裂ではたらくが，もう一方は藻類及び植物にしか存在しないタンパク質をコードしていることが判明した。後者のタンパク質（DRP5B）について調べたところ，葉緑体分裂面外包膜の細胞質側に局在し，葉緑体分裂ではたらくことが判明した (Miyagishima et al. 2003)。その後，シロイヌナズナ葉緑体分裂変異体の解析から，紅藻葉緑体ダイナミンのオーソログが陸上植物においても葉緑体分裂に関与することが示された (Gao et al. 2003)。さらに，葉緑体分裂に関与する DRP5B が真核細胞の細胞質分裂に関与するダイナミン様タンパク質に起源することが明らかとなった (Miyagishima et al. 2008)。

その後，シロイヌナズナ葉緑体分裂変異体の解析から，外包膜貫通タンパク質 PDV1 及び PDV2（お互いによく似たタンパク質）(Miyagishima et al.

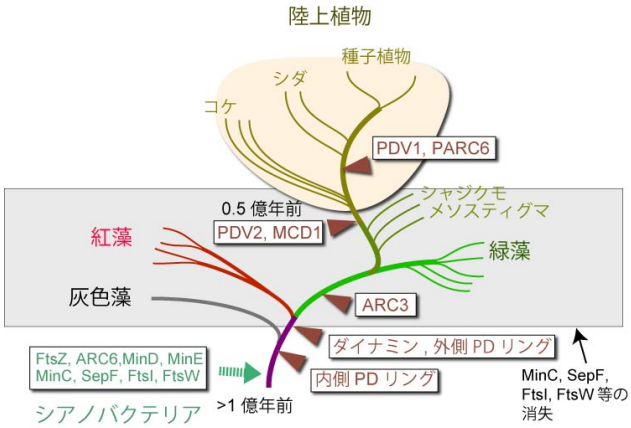

図３　葉緑体分裂に関与するタンパク質群の進化。FtsZ，ARC6，MinD，MinE 等は葉緑体の祖先であるシアノバクテリアに由来し，遺伝子群は宿主細胞の核に移行している。一部の藻類には，SepF，FtsI，FtsW，MinC 等も残存しているが，これらはその他複数の系統で独立に複数回失われている。一方，DRP5B，PDV，MCD1 は共生後宿主細胞により加えられたタンパク質群であり，DRP5B は灰色藻の分岐後，PDV2 と MCD1 は陸上植物の共通祖先で獲得された。さらに，FtsZ1，PDV1，PARC6 等のパラログが FtsZ2，PDV2，ARC6 から進化した。

2006)，内包膜貫通タンパク質 MCD1 (Nakanishi et al. 2009) が同定されたが，これらのタンパク質は陸上植物にしか存在しないため, 葉緑体成立時に寄与した分裂タンパク質ではなく, 藻類から陸上植物が進化した過程で付加されたタンパク質群であると考えられる（図 2，図 3）(Miyagishima 2011)。

上記のように様々な葉緑体分裂装置構成タンパク質が同定されてきたが，いずれも，電子顕微鏡で直接観察される構造（内側と外側の PD リング）の構成因子ではなく，その周辺に局在するものであることが判明した。ごく最近，吉田らは PD リングを含む葉緑体分裂装置の単離に成功し，外側の PD リングがグルカンの線維束であることを発見した（図 2)。さらに，このグルカンには glycogenin 様タンパク質，PDR1 が結合しており，PDR1 が PD リングの形成に必須であることが示された (Yoshida et al. 2010, Yoshida et al. 2012)。PD リングの線維状構造は，藻類と陸上植物で広く観察されており，PDR1 のオーソログと予想されるタンパク質は陸上植物ゲノムにもコードされている。しかしながら，緑藻類，ストラメノパイル（後述）のゲノムには PDR1 をコードする遺伝子が見つからないため，PD リングのグルカン合成機構の一般性については今後の研究が待たれる。

２−３．葉緑体分裂装置の各構成因子の役割と因子間の関係

内側の PD リングの構成タンパク質を含め，まだ多くの分裂装置構成タンパク質が未知であると考えられるが, 現在までに同定されているタンパク質群及び構造の挙動とお互いの関係をここで概説する (Yang et al. 2008, Miyagishima 2011, Yoshida et al. 2012)。

分裂に先立って最初に葉緑体分裂予定位置に FtsZ リングが形成される。このとき，シアノバクテリア由来の MinD 及び MinE，それに加えて陸上植物においては ARC3 と MCD1 が FtsZ リングの形成位置決定に関与する。次に内側の PD リングが，FtsZ リングと内包膜の間に形成される。その後外側の PD リング（グルカン線維）が形成され，ダイナミン様タンパク質 DRP5B が PD リングの周辺に局在する。DRP5B は収縮初期には外側のリングの細胞質側で不連続に局在し, 収縮後期になると外包膜と外側のリングの間に移動する。収縮完了前に FtsZ リング及び内側の色素体分裂リングはこの順に解体され, 外側の PD リングとダイナミンリングは, 分裂完了後に細胞質で解体される（図 2)。

シアノバクテリア由来の ARC6（及びそのパラログである PARC6）と陸上植物特異的な PDV1 と PDV2 の局在時期と，内外 PD リング形成の時期との関係は不明であるが，内包膜 ARC6 はストロマ側で FtsZ と直接結合し，ARC6 は PDV と膜間領域で直接結合することにより，PDV を分裂面に局在させる。PDV はダイナミン様タンパク質 DRP5B

の局在に必要であることが分かっているが，DRP5B と直接結合するかどうかは不明である（図 2)。また，PDV は，葉緑体内部ではたらくシアノバクテリア由来の機構と，細胞質側ではたらく宿主由来の機構をつなぐタンパク質であるが，藻類には存在しないため，両者をつなぐ未知のタンパク質の存在が予想される。

３．被子植物における色素体分化と色素体分裂

藻類，コケ植物の細胞は生活環を通して，葉緑体のみをもつ。一方で，維管束植物は複雑な色素体分化の機構を進化させており，種子植物の葉緑体は，茎頂の分裂組織にある無色の非常に小さな原色素体から分化して生じる。また，次の世代へと受け継がれるのは原色素体であり，原色素体は分化する組織によって，その姿，形，大きさを変えて，葉緑体の他，アミロプラスト（デンプン貯蔵），有色体等（色素の合成と貯蔵）等へと分化する (Lopez-Juez and Pyke 2005)。電子顕微鏡観察により，すべてのタイプの色素体が，葉緑体と同様に内外包膜の同時収縮により分裂することが観察されている (Kuroiwa et al. 1998)。しかしながら，種子植物において葉緑体以外の色素体の分裂機構は基本的には葉緑体分裂機構と同様であるが，若干の異なる点も見つかっている (Miyagishima 2011)。

例えば，シロイヌナズナにおいて，葉緑体分裂型ダイナミン（DRP5B）は茎頂分裂組織に検出されず (Okazaki et al. 2009)，DRP5B 欠損株において，葉緑体分裂は阻害されるが，茎頂分裂組織の原色素体分裂に異常は見られない (Robertson et al. 1996)。シロイヌナズナには３つの *FtsZ* 遺伝子があり，(*FtsZ1*, *FtsZ2-1*, *FtsZ2-2*) どの産物も原色素体，葉緑体の分裂面に局在する。しかしながら，３つの遺伝子をすべて破壊した植物体において，葉緑体分裂に異常は見られるが，すべての葉肉細胞に一つ以上の葉緑体が含まれる (Schmitz et al. 2009)。これらのことから，陸上植物の進化の過程で、葉緑体分裂とは若干異なる分裂機構が、少なくとも原色素体用に進化した可能性があるがその詳細は不明である。

４．葉緑体分裂の制御機構

ここまで，葉緑体分裂が分裂装置によって行われること，及び装置の詳細について述べてきたが，宿主細胞による葉緑体分裂制御機構を理解するためには，宿主細胞が分裂装置をどの様に制御し，結果として葉緑体分裂を支配しているかを理解する必要がある。最近，分裂機構の知見を基に，分裂の制御機構が理解され始めた。

４−１．藻類における細胞と葉緑体分裂の同調性

一般に，藻類（単細胞及び多細胞）は細胞あたりに葉緑体を一ないし数個しか持たない（図 2)。従って，葉緑体は宿主細胞分裂の前，細胞周期の決まった時期に一回分裂する。つまり葉緑体の分裂は宿主細胞の分裂周期に同調しておこる。様々な藻類を用いた研究により、葉緑体分裂はS期におこることが明らかとなっている (Miyagishima et al. 2012)。さらに、(i) 核コードの葉緑体分裂遺伝子群（系統によっては一部の遺伝子群のみ）はS期にのみ発現する、(ii) 一部の系統において葉緑体ゲノムに残存している分裂関連遺伝子群は細胞周期に関係なく発現する。これらの結果は、(i) 細胞周期による葉緑体分裂遺伝子群（一部の遺伝子でも十分）の発現制御により、S期に分裂装置が形成され葉緑体が一回だけ分裂すること、(ii) 葉緑体ゲノムから核ゲノムへの遺伝子転移の後に細胞周期制御を受けるようになったことを示している。さらに、*minD*，*minE* 等の葉緑体分裂遺伝子の葉緑体ゲノムから核ゲノムへの転移は、複数の系統で独立におこったと推定されるが、いずれの場合にも、核ゲノムへの転移後に細胞周期による発現制御が成立したことが判明した。つまり、核コードの葉緑体分裂遺伝子がS期にのみ発現し、S期に一回だけ葉緑体分裂装置が形成されることで、葉緑体は細胞周期に一度だけ分裂することが宿主細胞・葉緑体の分裂同調化を可能としているものと考えられる (Miyagishima et al. 2012)。

４−２．葉緑体の分裂制御，陸上植物における葉緑体分裂と細胞分化の関係

上記のように，葉緑体成立当初は，葉緑体分裂過程は宿主細胞の分裂周期に組み込まれていたと考えられる。しかしながら，緑藻類との共通祖先から進化した陸上植物では，一細胞に数十個の葉緑体が含まれ，葉緑体分裂は細胞周期に同調せず，さらには同じ細胞内でも非同調的に進行する（図 2)。さらに陸上植物は，多細胞化に加え，複雑な細胞分化機構を獲得し，細胞や組織の分化にともなって細胞内の葉緑体数，葉緑体の大きさが変動する。一般に未分化な組織や細胞分裂が活発な組織では葉緑体（色素体）分裂は活発に起こり，葉緑体は小さい，一方で，組織の発達にともなって葉緑体の分裂速度は減少し，葉緑体は大きくなる。最近の我々の研究で，陸上植物は陸上植物に固有の葉緑体分裂装置構成タンパク質 PDV を利用して，葉緑体分裂速度を制御していることが明らかとなった (Okazaki et al. 2009)。

PDV1 または PDV2 の量を人工的に増加させると，葉緑体分裂が加速され，その結果葉緑体の数が増え葉緑体が小さくなり，逆に PDV の量を減らすと葉緑体の分裂頻度が低下する。他の葉緑体分裂装置構成因子にはこのような効果は認められないため，PDV の量が葉緑体の分裂律速しうることが示された。さらに，葉の発達段階において，PDV

の量は，葉緑体分裂の盛んな分裂組織や若い未熟な葉で多く，大きく成長した葉では少ないことが判明した。一方で，ほかの分裂装置構成因子はそのようなパターンを示さなかったことから，植物は葉の成長にともなって PDV の量を減らし，葉緑体の分裂を調節するという仕組みをもっていることが示唆された。さらに同様の結果が，陸上植物の共通祖先から最初に分岐したコケ植物においても得られた。以上の結果，約 5 億年前に陸上植物の祖先が上陸する際，宿主細胞が *PDV* 遺伝子を獲得し PDV タンパク質を葉緑体分裂装置に組み込んだことにより，葉緑体分裂速度を制御できるようなったこと，その結果，陸上植物の細胞は分化に応じて葉緑体の数と大きさを変動できるようになったことが分かってきた（図 4）(Okazaki et al. 2009)。

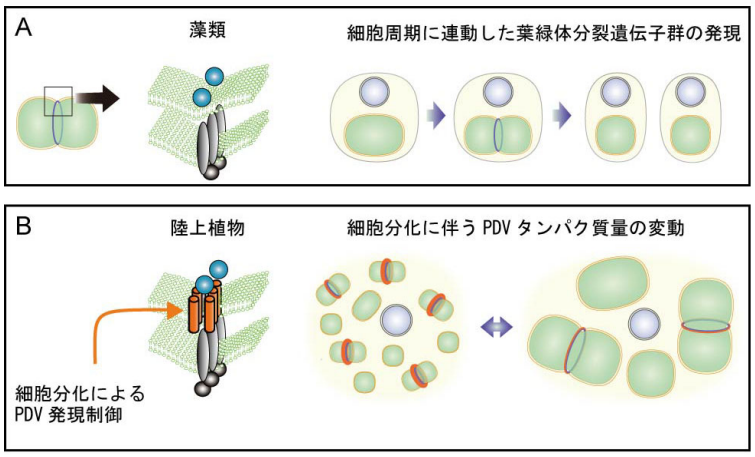

図４　藻類と陸上植物における葉緑体分裂制御の分子基盤。A：藻類における葉緑体分裂制御。藻類は，細胞あたり一ないし数個しか葉緑体をもたないため，葉緑体分裂は細胞周期と連動する。この連動は，細胞周期に依存した葉緑体分裂遺伝子群，タンパク質群の発現によって行われる。B：陸上植物における葉緑体分裂制御。陸上植物の葉緑体分裂は，同じ細胞内でも非同調的に行われ，分裂速度は細胞分化にともなって変動する。葉緑体分裂速度は，分裂装置に含まれる PDV タンパク質の量によって変動し，PDV の発現はサイトカイニンに依存した細胞分化プログラムによって制御される。

５．二次共生葉緑体の分裂機構，葉緑体分裂とミトコンドリア分裂機構との類似性

以上，一次共生によって成立した葉緑体の分裂機構と分裂装置構成因子について概説したが，分裂機構については一部同様のことが二次共生葉緑体にも適用される。二次共生によって生じた葉緑体は，一次葉緑体の内外包膜に加え，取り込まれた真核藻類の細胞膜および取り込んだ宿主細胞の食包膜に由来すると考えられる二枚の膜の計四枚（ないし一枚を失って三枚）の膜で包まれている（図 5)。紅藻の二次共生に由来する葉緑

体をもつストラメノパイルにおいて，外側の PD リングが内側から 2 枚目の膜の外側表面に観察されている (Hashimoto 1998)ほか，紅藻由来の FtsZ と葉緑体型ダイナミンの遺伝子が核ゲノムに見つかっており (Miyagishima 2011)，内側 2 枚の膜の分裂には，一次葉緑体と同様の機構がはたらいていると推測される（図 5)。一方で，外側二枚の分裂がどの様にして起こるかはよく分かっていない。マラリア原虫などのアピコンプレクサ類は紅藻の二次共生由来の色素体（光合成能を失っており、アピコプラストと呼ばれる）をもっている。この場合は紅藻由来のダイナミンではなく、別のダイナミンが四枚の包膜の一番外側（細胞質側）に局在し、色素体分裂に関与する (van Dooren et al. 2009)。

次にミトコンドリアであるが，菌類，動物の核およびミトコンドリアゲノムには FtsZ を含め，バクテリア型分裂タンパク質群はコードされていない。また，緑色植物にも α プロテオバクテリア由来の分裂遺伝子群は存在しない。しかしながら，不等毛植物，原始紅藻，粘菌などのいくつかの真核生物は，核ゲノムに α プロテオバクテリア由来の FtsZ をコードしており，ミトコンドリア分裂に使用していることが示されている (Takahara et al. 2000, Beech et al. 2000, Gilson et al. 2003)。また，原始紅藻，粘菌，ストラメノパイルなどのミトコンドリアで，PD リングに類似の構造，MD リングが電子顕微鏡で観察されており (Kuroiwa et al. 1993, Hashimoto 2004, Kuroiwa et al. 2006)，葉緑体分裂同様に，紅藻 *C. merolae* のミトコンドリア分裂時に，FtsZ リング，分裂リング，ダイナミンリングがこの順に形成される (Nishida et al. 2003)。MD リングも PD リング同様

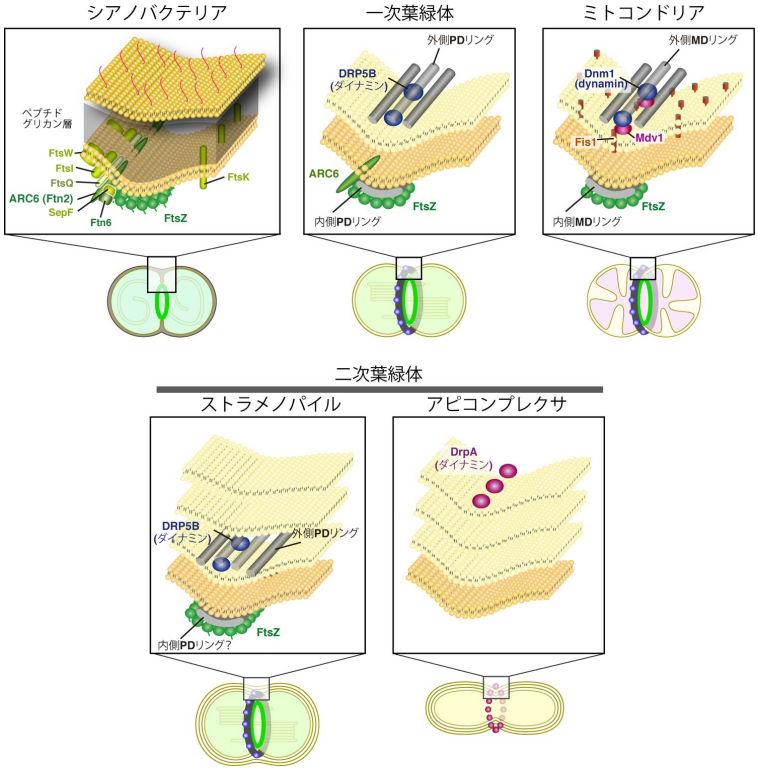

図 5　シアノバクテリア，一次共生起源葉緑体，二次共生起源葉緑体，ミトコンドリアの分裂機構の比較。陸上植物に固有な構成因子および FtsZ リング位置決定に関わる因子群は示していない。ミトコンドリアについては単細胞紅藻 *C. merolae* の場合を例として挙げた。

にグルカン線維束であるのかについては，今後の研究が待たれる。今後，進化上初期に分岐した真核生物のミトコンドリア分裂機構の解析が進めば，葉緑体分裂機構との類似性がより詳細に理解できると期待される。

６．灰色藻の葉緑体分裂，葉緑体以外のシアノバクテリア共生体の分裂機構

これまでの葉緑体の分裂機構及びその制御機構の研究は，主に陸上植物，緑藻類，紅藻類を用いて進められてきた。分裂機構の進化についての理解もこれらの系統群の理解のみに基づいている。ごく最近，灰色藻シアノフォラ（*Cyanophora paradoxa*）の全ゲノムが解読された結果，灰色藻には葉緑体分裂型ダイナミンが存在しないことが判明した。この葉緑体には外側の PD リングも存在しない (Iino and Hashimoto 2003)。つまり，その他の系統すべてで存在が確認されている宿主起源の葉緑体分裂因子（分裂面細胞質側ではたらく）が灰色藻には存在しない。灰色藻の葉緑体は他の系統の葉緑体とは異なり，シアノバクテリアと同様に内外包膜の間にペプチドグリカン層を保持しており，葉緑体分裂時には分裂面において内包膜の陥入とペプチドグリカン層の陥入が先におこり，外包膜の陥入はそれにおくれて進行する（図 6）(Iino and Hashimoto 2003)。最近，葉緑体とは起源が異なり，比較的最近確立したシアノバクテリア由来のオルガネラが，根足虫ポーリネラ（*Paulinella chromatophora*）及び，珪藻ロパロディア（*Rhopalodia gibba*; 共生体は窒素固定を行うが光合成能は失っている）に存在することが示された。それぞれの共生体由来オルガネラの起源は異なるものの，どちらも宿主細胞周期と同期して分裂し，分配されること，及び，ペプチドグリカン層にあたる構造をもつことが示されている (Wernegreen 2012)。これらを考慮すると，オルガネラ化の初期には，ダイナミンや PD リングが無くとも細胞内共生体の分裂を制御できる機構が存在していたと予想される。以上のように，現存の葉緑体分裂とその制御機構は，共生体から宿主ゲノムへの分裂遺伝子の転移，宿主起源の新規分裂タンパク質の獲得，遺伝子発現の細胞周期制御機構の獲得，その他，分裂・分配の細胞周期による制御機構の獲得など，複数の機構の進

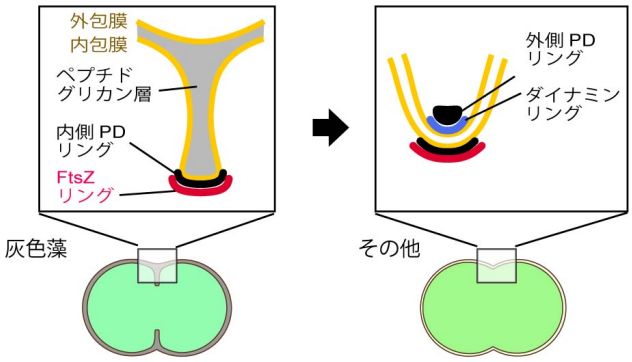

図 6　灰色藻の葉緑体分裂とその他の植物界（狭義）における葉緑体分裂。

化により成立している。しかしながらこれらすべての進化イベントが同時に起きたとは考えにくく，分裂同調化を可能とするため，初期に鍵となった必要十分な機構があると予想される。その理解のためには，灰色藻，ポーリネラ，ロパロディア等を用いた，今後の研究の進展が待たれる。

７．おわりに

葉緑体の分裂装置が見つかり，さらにその分子レベルでの姿も見えてきた。その結果は，葉緑体の分裂装置はバクテリア，真核のハイブリッドの構造であることや，ミトコンドリアと共通性があることといった，その起源についても重要な知見をもたらした。さらに，宿主真核細胞の分裂装置を介した葉緑体分裂制御機構，及び制御機構の進化過程も解り始めた。しかしながら，分裂装置がどのようにして収縮するのか，収縮力の発生源は何か，ストロマ側と細胞質側の装置はどのようにして連結されているのかなど，不明な点は多く残っている。また，葉緑体とミトコンドリアは独自の DNA-タンパク質複合体（核様体）をもっているが，核様体の複製，分配の機構，それらの分裂との関係についてはほとんど理解が進んでいない。葉緑体やミトコンドリアの分裂機構，分裂制御機構の理解は，細胞内共生機構の理解，真核生物の進化，生体膜の分断機構などの理解へとつながるものであり，さらなる研究の進展が待たれる。

引用文献

Archibald, J.M. 2009. The puzzle of plastid evolution. *Curr. Biol*. 19: R81-88.

Colletti, K.S., Tattersall, E.A., Pyke, K.A., Froelich, J.E., Stokes, K.D. & Osteryoung, K.W. 2000. A homologue of the bacterial cell division site-determining factor MinD mediates placement of the chloroplast division apparatus. *Curr. Biol*. 10: 507-516.

Gao, H., Kadirjan-Kalbach, D., Froehlich, J.E. & Osteryoung, K.W. 2003. ARC5, a cytosolic dynamin-like protein from plants, is part of the chloroplast division machinery. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 100: 4328-4333.

Glynn, J.M., Froehlich, J.E. & Osteryoung, K.W. 2008. Arabidopsis ARC6 coordinates the division machineries of the inner and outer chloroplast membranes through interaction with PDV2 in the intermembrane space. *Plant Cell* 20: 2460-2470.

Glynn, J.M., Yang, Y., Vitha, S., Schmitz, A.J., Hemmes, M., Miyagishima, S.Y. & Osteryoung, K.W. 2009. PARC6, a novel chloroplast division factor, influences FtsZ assembly and is required for recruitment of PDV1 during chloroplast division in Arabidopsis. *Plant J*. 59: 700-711.

Harry, E., Monahan, L. & Thompson, L. 2006. Bacterial cell division: the mechanism and its precison. *Int. Rev. Cytol.* 253: 27-94.

Hashimoto, H. 1998. Electron-opaque annular structure girdling the constricting isthmus of the dividing chloroplasts of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae, Chromophyta). *Protoplasma* 197: 210-216.

Iino, M. & Hashimoto, H. 2003. Intermediate features of cyanelle division of *Cyanophora paradoxa* (Glaucocystophyta) between cyanobacterial and plastid division. *J. Phycol.* 39: 561-569.

Itoh, R., Fujiwara, M., Nagata, N. & Yoshida, S. 2001. A chloroplast protein homologous to the eubacterial topological specificity factor minE plays a role in chloroplast division. *Plant Physiol.* 127: 1644-1655.

Kuroiwa, H., Mori, T., Takahara, M., Miyagishima, S.Y. & Kuroiwa, T. 2002. Chloroplast division machinery as revealed by immunofluorescence and electron microscopy. *Planta* 215: 185-190.

Kuroiwa, T., Kuroiwa, H., Sakai, A., Takahashi, H., Toda, K. & Itoh, R. 1998. The division apparatus of plastids and mitochondria. *Int. Rev. Cytol.* 181: 1-41.

Lopez-Juez, E. & Pyke, K.A. 2005. Plastids unleashed: their development and their integration in plant development. *Int. J. Dev. Biol.* 49: 557-577.

Maple, J., Aldridge, C. & Moller, S.G. 2005. Plastid division is mediated by combinatorial assembly of plastid division proteins. *Plant J.* 43: 811-823.

Maple, J., Vojta, L., Soll, J. & Moller, S.G. 2007. ARC3 is a stromal Z-ring accessory protein essential for plastid division. *EMBO Rep.* 8: 293-299.

Mita, T., Kanbe, T., Tanaka, K. & Kuroiwa, T. 1986. A ring structure around the dividing plane of the *Cyanidium caldarium* chloroplast. *Protoplasma* 130: 211–213.

Miyagishima, S., Takahara, M., Mori, T., Kuroiwa, H., Higashiyama, T. & Kuroiwa, T. 2001. Plastid division is driven by a complex mechanism that involves differential transition of the bacterial and eukaryotic division rings. *Plant Cell* 13: 2257–2268.

Miyagishima, S.Y. 2011. Mechanism of plastid division: from a bacterium to an organelle. *Plant Physiol.* 155: 1533-1544.

Miyagishima, S.Y., Froehlich, J.E. & Osteryoung, K.W. 2006. PDV1 and PDV2 mediate recruitment of the dynamin-related protein ARC5 to the plastid division site. *Plant Cell* 18: 2517-2530.

Miyagishima, S.Y. & Kabeya, Y. 2010. Chloroplast division: squeezing the photosynthetic

captive. *Curr. Opin. Microbiol.* 13: 738-746.

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. USA.* 105: 15202-15207.

Miyagishima, S.Y., Nakanishi, H. & Kabeya, Y. 2011. Structure, regulation, and evolution of the plastid division machinery. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 291: 115-153.

Miyagishima, S.Y., Nishida, K., Mori, T., Matsuzaki, M., Higashiyama, T., Kuroiwa, H. & Kuroiwa, T. 2003. A plant-specific dynamin-related protein forms a ring at the chloroplast division site. *Plant Cell* 15: 655-665.

Miyagishima, S.Y., Nozaki, H., Nishida, K., Matsuzaki, M. & Kuroiwa, T. 2004. Two types of FtsZ proteins in mitochondria and red-lineage chloroplasts: the duplication of FtsZ is implicated in endosymbiosis. *J. Mol. Evol.* 58: 291-303.

Miyagishima, S.Y., Suzuki, K., Okazaki, K. & Kabeya, Y. 2012. Expression of the nucleus-encoded chloroplast division genes and proteins regulated by the algal cell cycle. *Mol. Biol. Evol.* 29: 2957-2970.

Mori, T., Kuroiwa, H., Takahara, M., Miyagishima, S.Y. & Kuroiwa, T. 2001. Visualization of an FtsZ ring in chloroplasts of *Lilium longiflorum* leaves. *Plant Cell Physiol.* 42: 555-559.

Nakanishi, H., Suzuki, K., Kabeya, Y. & Miyagishima, S.Y. 2009. Plant-specific protein MCD1 determines the site of chloroplast division in concert with bacteria-derived MinD. *Curr. Biol.* 19: 151-156.

Nishida, K., Takahara, M., Miyagishima, S.Y., Kuroiwa, H., Matsuzaki, M. & Kuroiwa, T. 2003. Dynamic recruitment of dynamin for final mitochondrial severance in a primitive red alga. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100: 2146-2151.

Okazaki, K., Kabeya, Y., Suzuki, K., Mori, T., Ichikawa, T., Matsui, M., Nakanishi, H. & Miyagishima, S.Y. 2009. The PLASTID DIVISION1 and 2 components of the chloroplast division machinery determine the rate of chloroplast division in land plant cell differentiation. *Plant Cell* 21: 1769-1780.

Osteryoung, K.W., Stokes, K.D., Rutherford, S.M., Percival, A.L. & Lee, W.Y. 1998. Chloroplast division in higher plants requires members of two functionally divergent gene families with homology to bacterial *ftsZ*. *Plant Cell* 10: 1991-2004.

Osteryoung, K.W. & Vierling, E. 1995. Conserved cell and organelle division. *Nature* 376: 473-474.

Possingham, J.V. & Lawrence, M.E. 1983. Controls to plastid division. *Int. Rev. Cytol.* 84: 1-56.

Praefcke, G.J. & McMahon, H.T. 2004. The dynamin superfamily: universal membrane tubulation and fission molecules? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5: 133-147.

Robertson, E.J., Rutherford, S.M. & Leech, R.M. 1996. Characterization of chloroplast division using the Arabidopsis mutant *arc5*. *Plant Physiol.* 112: 149-159.

Rodriguez-Ezpeleta, N. & Philippe, H. 2006. Plastid origin: replaying the tape. *Curr. Biol.* 16: R53-56.

Schmitz, A.J., Glynn, J.M., Olson, B.J., Stokes, K.D. & Osteryoung, K.W. 2009. Arabidopsis FtsZ2-1 and FtsZ2-2 are functionally redundant, but FtsZ-based plastid division is not essential for chloroplast partitioning or plant growth and development. *Mol. Plant* 2: 1211-1222.

Shimada, H., Koizumi, M., Kuroki, K., Mochizuki, M., Fujimoto, H., Ohta, H., Masuda, T. & Takamiya, K. 2004. ARC3, a chloroplast division factor, is a chimera of prokaryotic FtsZ and part of eukaryotic phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase. *Plant Cell Physiol.* 45: 960-967.

van Dooren, G.G., Reiff, S.B., Tomova, C., Meissner, M., Humbel, B.M. & Striepen, B. 2009. A novel dynamin-related protein has been recruited for apicoplast fission in *Toxoplasma gondii*. *Curr. Biol.* 19: 267-276.

Vitha, S., Froehlich, J.E., Koksharova, O., Pyke, K.A., van Erp, H. & Osteryoung, K.W. 2003. ARC6 is a J-domain plastid division protein and an evolutionary descendant of the cyanobacterial cell division protein Ftn2. *Plant Cell* 15: 1918-1933.

Vitha, S., McAndrew, R.S. & Osteryoung, K.W. 2001. FtsZ ring formation at the chloroplast division site in plants. *J. Cell Biol.* 153: 111-120.

Wernegreen, J.J. 2012. Endosymbiosis. *Curr. Biol.* 22: R555-561.

Yang, Y., Glynn, J.M., Olson, B.J., Schmitz, A.J. & Osteryoung, K.W. 2008. Plastid division: across time and space. *Curr. Opin. Plant Biol.* 11: 577-584.

Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Misumi, O., Yoshida, M., Ohnuma, M., Fujiwara, T., Yagisawa, F., Hirooka, S., Imoto, Y., Matsushita, K., Kawano, S. & Kuroiwa, T. 2010. Chloroplasts divide by contraction of a bundle of nanofilaments consisting of polyglucan. *Science* 329: 949-953.

Yoshida, Y., Miyagishima, S.Y., Kuroiwa, H. & Kuroiwa, T. 2012. The plastid-dividing machinery: formation, constriction and fission. *Curr. Opin. Plant Biol.* 15: 714-721.