

細胞骨格から見た植物細胞の進化

村田 隆

基礎生物学研究所 生物進化研究部門
総合研究大学院大学 生命科学研究科 基礎生物学専攻
〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中 3 8

Evolution of cytoskeletons in green plants

Key words: cytoskeleton, microtubules, plant evolution

Takashi Murata

National Institute for Basic Biology

Department of Basic Biology, School of Life Sciences, Graduate School for Advanced Studies
Nishigonaka 38, Myodaiji, Okazaki, 444-8585 Japan

1. はじめに

陸上植物は単細胞の緑藻から進化した。多細胞で固着生活する生活様式の獲得に伴って、細胞運動や細胞内輸送に働くモータータンパク質も変化したと考えられる。また、陸上植物は根、茎、葉の器官を持ち、その内部に様々な組織を分化させるようになった。器官や組織の分化は、細胞の不等分裂や極性伸長などの細胞内の空間制御が基盤となっている。モータータンパク質以外の細胞骨格関連因子も、細胞内の空間制御を司るため、陸上植物の体制進化に伴って何らかの変化を起こしたことが予想される。

本稿では、植物の進化において、細胞骨格がどのように進化したかに焦点をあてる。

2. 緑色植物の系統

細胞骨格の変化について議論する前に、緑色植物の系統についてふれておきたい。緑色植物の祖先は、2本の鞭毛を持ち、単細胞で遊泳する生物だったと考えられる。固着性で大型の細胞を持つ多細胞藻類はその後の進化の過程で出現した。緑色植物は緑藻類 (Chlorophyta) とストレプトファイツ類 (Streptophyta) の2つの系統に分けられる。緑藻類はクラミドモナスなどを含み、ストレプトファイツ類はミカヅキモ、シャジクモや陸上植物を含む。陸上植物はコケ植物と維管束植物を含み、多くの植物研究者が研究する顕花植物 (イネ、シロイヌナズナ等) は維管束植物の中に含まれる (図1)。

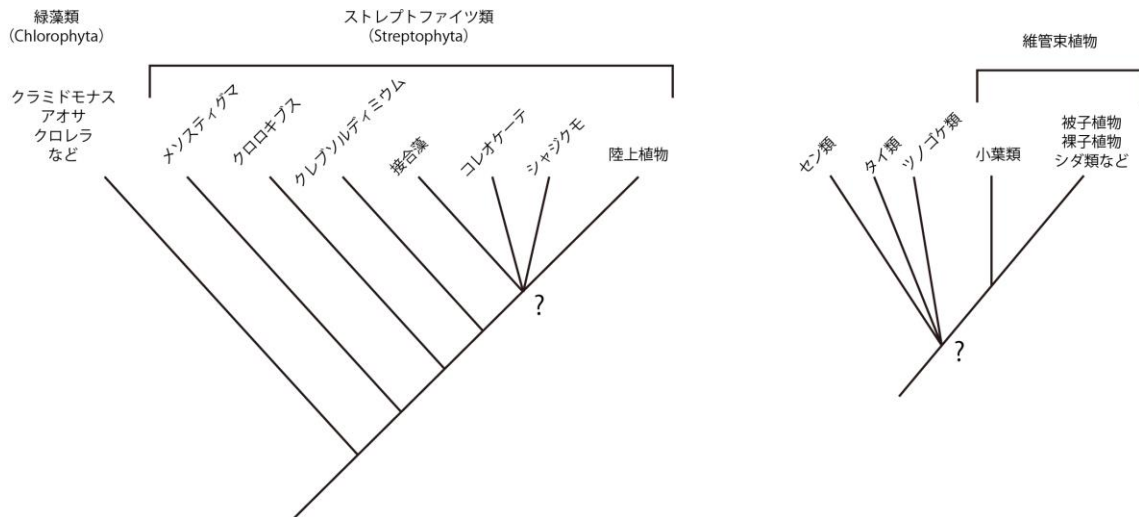


図1 緑色植物の系統。左は緑色植物全体、右は陸上植物。多分岐（?印）の部分、諸説あって確定していない部分。

3. 鞭毛と中心体の喪失

ストレプトファイツ類の細胞に起こった大きな変化の一つは、鞭毛の喪失である。体細胞における鞭毛の喪失は陸上植物に加え、シャジクモや接合藻でもみられる。生殖細胞における鞭毛の喪失はいくつかの維管束植物（被子植物、裸子植物の一部）と接合藻で並行して起こった(Murata et al. 2007)。鞭毛による精子の遊泳は受精に欠かせない形質だが、被子植物の場合は花粉管による精細胞の輸送と花粉管破裂後の精細胞の移動、接合藻類の場合には接合によって代替されている。

鞭毛形成と中心体の存在は関連した性質である。動物（後生動物）の場合、中心体 (centrosome) は中央に1対の中心小体 (centriole) を含み、その周囲に中心体辺縁物質 (pericentriolar material) が取り囲む。中心小体は鞭毛形成、中心体辺縁物質は細胞質微小管形成に働く。ほとんどの場合、細胞は中心体を常に維持し、中心体中の中心小体を鋳型にして鞭毛を形成する。一方、陸上植物の場合、コケ、シダなどは精子が鞭毛を持つが、体細胞は鞭毛も中心体も持たず、精子形成とともに鞭毛が新規に形成される(Renzaglia and Garbary 2001)。精子形成時には、まず精子の母細胞で中心小体に似た構造（ブレファロプラスト）が出現し、精子分化時にこの構造から鞭毛がつくられる。ブレファロプラストは細胞分裂時に紡錘体の極に位置するなど、中心体のような挙動をする(Doonan et al. 1986)ことから、コケ、シダなどの中心体と見なされている。

我々は、コケ植物蘚類ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*)、維管束植物小葉類イヌカタヒバ (*Selaginella moellendorffii*) において、鞭毛基部の構造を形成するのに必要な δ チューブリン、 ϵ チューブリン遺伝子がゲノム中に存在するかを調べた。これらの遺伝子はヒメツリガネゴケ、イヌカタヒバには存在していたが、シロイヌナズナでは失われていた (Banks et al. 2011, 村田、未発表データ)。鞭毛の喪失に伴って鞭毛構成タンパク質遺伝子も変化したと考えられる。

4. モータータンパク質の変化

ダイニンは微小管上を滑るモータータンパク質で、微小管のマイナス端に向けて動くことが知られている。鞭毛では、ダイニンが規則正しく配置することにより滑り力が生じ、その力を利用して鞭毛が屈曲する。ダイニンのもう一つの役割は細胞内輸送である。ダイナクチン複合体を作り、細胞質微小管のプラス端からマイナス端に向けて複合体上の小胞などを運ぶ。細胞内輸送に働くダイニン（細胞質ダイニン）は鞭毛のダイニン（軸系ダイニン）と別の分子種であり、コードする遺伝子も違っている。ゲノム配列がわかっているヒメツリガネゴケ、イヌカタヒバにおいては、細胞質ダイニンのオーソログ遺伝子は見つかっていない (Banks et al. 2011, 村田, 未発表データ)。陸上植物の細胞内輸送に働くモータータンパク質は鞭毛の有無にかかわらず動物細胞と違っていると考えられる。

もう一つの微小管モータータンパク質であるキネシンが細胞質ダイニンの欠損を補っている可能性がある。多くのキネシンは微小管のプラス端に向けて動くが、一部のキネシン (kinesin-14) は細胞質ダイニン同様マイナス端に向けて動く。陸上植物シロイヌナズナ、ヒメツリガネゴケのゲノムは約 60 個のキネシン遺伝子を持つが、その内でそれぞれ 21 個、15 個のキネシンは kinesin-14 に分類される (Shen et al. 2012)。この数はヒトの kinesin-14 遺伝子数 (4 個: (Richardson et al. 2006)) に比べてはるかに多い。陸上植物の kinesin-14 がどのような機能を持っているのか、今後の解析が期待される。

5. 細胞板の形成と分裂面の制御

ストレプトファイツ類の細胞における最も顕著な変化は細胞分裂様式の変化であろう。ストレプトファイツ類の基部で分岐したクレブソルミディウムは細胞がくびれて分裂するが、シャジクモや陸上植物は細胞中央部から細胞板を形成して分裂する。ストレプトファイツ類のどこで細胞板形成が獲得されたかは、各分類群の系統関係に諸説あること (図 1)、接合藻類アオミドロの分裂様式を細胞板形成と見なすかどうか未解決であること (McIntosh et al. 1995; Sawitzky and Grolig 1995) により、わかっていない。シャジクモ、接合藻類ミカツキモ、クレブソルミディウムのゲノム解析は現在進行中である。これらの結果により系統関係が明らかになり、接合藻類の細胞分裂機構が遺伝子レベルで明らかになれば、分裂様式の進化も明らかになると思われる。

ストレプトファイツ類は、細胞板の獲得と多細胞化に伴い、細胞分裂面の制御機構を獲得したと考えられる。陸上植物では、細胞分裂の分裂面は紡錘体の形成以前に決定されており、細胞板は細胞表層の分裂予定位置に向かって伸びる。分裂予定位置を決めるのが分裂準備帯 (preprophase band) と呼ばれる微小管の帯で、細胞周期の G2 期～前期に発達する (Mineyuki 1999)。細胞板は分裂予定位置に向かって伸長し、最終的に細胞板の膜と分裂予定位置の細胞膜は融合する。

細胞板の伸長方向の制御は複雑な現象であり、詳細はわかっていないが、シロイヌナズナでは kinesin12 に分類される 2 つのキネシン (POK1, POK2) が分裂予定位置へ細胞板を導くのに関与していることが報告されている (Müller et al. 2009)。これらのキネシンが植物の進化のどの時点で獲得されたかは不明だが、分裂面制御の獲得に関与している可能性があり興味

深い。

6. 陸上植物の進化にともなう細胞骨格遺伝子の増幅

遺伝子重複とその後の遺伝子機能分化は進化における新規機能獲得の原動力となる。それでは、細胞骨格関連タンパク質をコードする遺伝子で、キネシン以外で植物の進化の間に重複したものはあるのだろうか。我々は、イヌカタヒバのゲノムプロジェクトの解析中に、一部の細胞骨格遺伝子が陸上植物の進化の過程で重複していることに気付いた(Banks et al. 2011)。

クラミドモナス、ヒメツリガネゴケ、イヌカタヒバ、イネ、シロイヌナズナのゲノム情報をもとに遺伝子系統樹を構築することにより、細胞骨格遺伝子の数が陸上植物の進化のいつの時点で増えたのか、あるいは失われたのか、推測することが可能である。モータータンパク質を除く細胞骨格関連遺伝子33個の遺伝子系統樹を構築したところ、アクチン重合開始因子フォルミン、アクチンフィラメント切断因子 ADF、微小管束化因子 MAP65 の遺伝子数が維管束植物の進化に伴って顕著に増加していることがわかった(表1)。これらの重複遺伝子は新規機能を獲得した可能性がある。MAP65 は植物の細胞骨格関連因子の中で解析が比較的進んでおり、細胞の伸長方向制御や細胞質分裂に関与することがわかっている。MAP65 において新規の機能獲得はあったのだろうか。次項では MAP65 について詳説する。

表1 クラミドモナス (*C. reinhardtii* : Cre)、ヒメツリガネゴケ (*P. patens* : Ppa)、イヌカタヒバ (*S. moellendorffii* : Smo)、イネ (*O. sativa* : Osa)、シロイヌナズナ (*A. thaliana* : Ath) における MAP65、フォルミン(formin)、ADF の遺伝子数

種名	Cre	Ppa	Smo	Osa	Ath
MAP65	1	5	5	11	9
Formin	1	8	3	14	19
ADF	1	1	3	10	12

Banks et al. (2011)掲載の遺伝子数にクラミドモナス遺伝子数 (NCBI データベース) を補足。

7. 微小管束化タンパク質 MAP65 の機能分担

MAP65 は、真核生物に保存された微小管束化タンパク質で、後生動物の PRC1 (protein regulator of cytokinesis 1)、酵母の Ase1 (anaphase spindle elongation 1) と保存されたアミノ酸配列を持つ(Walczak and Shaw 2010)。後生動物 PRC1、酵母 Ase1 の機能は紡錘体における微小管の架橋である。紡錘体においては、両極から伸長した微小管が赤道面で交差して架橋する。この架橋に働くのが PRC1/Ase1 であり、反対向きの極性を持つ微小管を架橋することがわかっている(図2)。

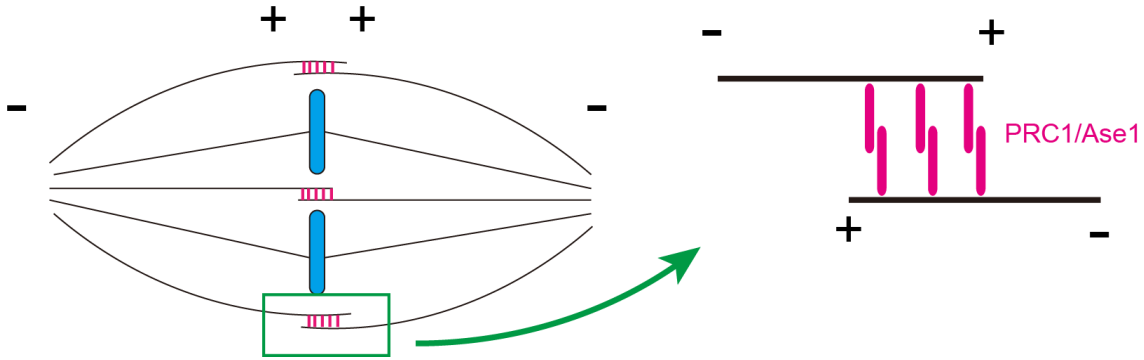


図2 紡錘体における微小管束化タンパク質 PRC1/Ase1 の局在。青は染色体、細線は微小管を表す。+、-は微小管のプラス端とマイナス端を示す。

ヒトやマウス、酵母は1個の PRC1/Ase1 遺伝子しか持たないが、植物の MAP65 遺伝子はシロイヌナズナで9個と多く、その遺伝子数はイヌカタヒバと被子植物の祖先が分かれた後に増加したと推測される。後生動物や菌類と異なり、被子植物の MAP65 ファミリーは細胞分裂以外でも機能を持つことが明らかになっている。MAP65-1 は細胞周期を通じて発現し (Smertenko et al. 2004)、間期の細胞において細胞の伸長促進に働く (Lucas et al. 2011)。シロイヌナズナ根においては、MAP65-1 と、その重複遺伝子 MAP65-2 は転写因子 PLETHORA の発現制御を受け、微小管配列の制御を行って細胞周期が進んだ時の分裂面を制御する。map65-1 map65-2 2重変異体の根は内皮を形成する不等分裂を行うことができず、内皮の分化が起こらないことが明らかになっている (Dhonukshe et al. 2012)。

複数の MAP65 遺伝子の機能分担はどのようになっているのだろうか。細胞質分裂時には、MAP65-3 (PLEIDE) は後生動物や菌類と同様に赤道面の微小管交差のみに局在する。ple 突然変異体は赤道面での微小管架橋が弱くなり、両極から伸びる微小管の間隔が広がることが明らかになっているため (Müller et al. 2004)、MAP65-3 の機能は後生動物や菌類と同じ赤道面の微小管架橋であると考えられる。一方、前述の MAP65-1 は分裂組織でも発現しており、細胞質分裂装置である隔膜形成体 (phragmoplast) 全域に分散して局在する (図3)。

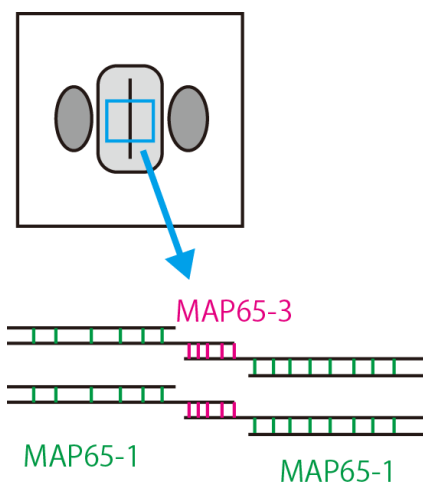


図3 シロイヌナズナの細胞質分裂における MAP65-1、MAP65-3 の機能分担の推測。細胞板を形成中の細胞の模式図と、簡略化した細胞板近傍の微小管構造を示す。微小管の構造は Ho et al. (2011) を参照した。MAP65-3 は赤道面の微小管架橋に局在し、娘核側から伸びる微小管を繋ぎ止めるのに働く (Müller et al. 2004)。MAP65-1 は隔膜形成体全体に存在し (Murata et al. 2013)、微小管の安定性を制御する (Sasabe et al. 2006)。

タバコの MAP65-1 は MAP (mitogen activated protein) キナーゼカスケード (NACK PQR 経路) の下流でリン酸化制御を受け、リン酸化を受けない変異タンパク質の過剰発現が隔膜形成体の拡大阻害を引き起こすことから、その機能は隔膜形成体全域の微小管の安定性の制御と考えられる(Sasabe et al. 2006)。しかしながら、タバコ MAP65-1 オートログであるシロイヌナズナ MAP65-1/MAP65-2 *map65-1 map65-2* 2 重変異体の細胞質分裂異常は報告されておらず、他の MAP65 ファミリータンパク質と機能重複している可能性が考えられる。今後、他の MAP65 ファミリー遺伝子の解析が進むことにより、MAP65 ファミリーの遺伝子重複と機能分化の全貌がわかってくるものと思われる。

8. おわりに

本稿では、植物の進化に伴う細胞骨格遺伝子の遺伝子増幅と機能分化の可能性について、微小管関連タンパク質を中心に概説した。アクチン関連タンパク質については、本稿で扱うことができなかったが、進化に伴う遺伝子機能獲得が起こっている可能性は充分にある。たとえば、アクチン-ミオシン系を使った原形質流動はストレプトファイツ類の進化の途中で細胞の大型化に伴い獲得されたと考えられる。葉緑体定位運動もアクチン系が関与する現象だが、植物体の固着生活に伴って進化した形質と考えられるため、ストレプトファイツ類の進化の過程で獲得されたと考えられる。これらの形質の獲得とアクチン関連タンパク質の遺伝子増幅はどのように関係しているのだろうか。原形質流動や葉緑体運動におけるアクチン繊維のダイナミックな再編成の分子機構が明らかになり、アクチン関連タンパク質の機能が明らかになれば、アクチン関連タンパク質の機能分化の進化における役割がわかってくと期待される。

謝辞

本稿を完成させるにあたり、日渡祐二博士 (Aberystwyth University, U.K.) には、キネシンタンパク質の機能をはじめとする様々な建設的なコメントをいただきました。感謝いたします。

引用文献

Banks, J.A., Nishiyama, T., Hasebe, M., Bowman, J.L., Gribskov, M., dePamphilis, C., Albert, V.A., Aono, N., Aoyama, T., Ambrose, B.A., Ashton, N.W., Axtell, M.J., Barker, E., Barker, M.S., Bennetzen, J.L., Bonawitz, N.D., Chapple, C., Cheng, C., Correa, L.G., Dacre, M., DeBarry, J., Dreyer, I., Elias, M., Engstrom, E.M., Estelle, M., Feng, L., Finet, C., Floyd, S.K., Frommer, W.B., Fujita, T., Gramzow, L., Gutensohn, M., Harholt, J., Hattori, M., Heyl, A., Hirai, T., Hiwatashi, Y., Ishikawa, M., Iwata, M., Karol, K.G., Koehler, B., Kolukisaoglu, U., Kubo, M., Kurata, T., Lalonde, S., Li, K., Li, Y., Litt, A., Lyons, E., Manning, G., Maruyama, T., Michael, T.P., Mikami, K., Miyazaki, S., Morinaga, S., Murata, T., Mueller-Roeber, B., Nelson, D.R., Obara, M., Oguri, Y., Olmstead, R.G., Onodera, N., Petersen, B.L., Pils, B., Prigge, M., Rensing,

- S.A., Riano-Pachon, D.M., Roberts, A.W., Sato, Y., Scheller, H.V., Schulz, B., Schulz, C., Shakirov, E.V., Shibagaki, N., Shinohara, N., Shippen, D.E., Sorensen, I., Sotooka, R., Sugimoto, N., Sugita, M., Sumikawa, N., Tanurdzic, M., Theissen, G., Ulvskov, P., Wakazuki, S., Weng, J.K., Willats, W.W., Wipf, D., Wolf, P.G., Yang, L., Zimmer, A.D., Zhu, Q., Mitros, T., Hellsten, U., Loque, D., Otiillar, R., Salamov, A., Schmutz, J., Shapiro, H., Lindquist, E., Lucas, S., Rokhsar, D., Grigoriev, I.V. 2011. The Selaginella genome identifies genetic changes associated with the evolution of vascular plants. *Science* 332: 960-963
- Dhonukshe, P., Weits, D.A., Cruz-Ramirez, A., Deinum, E.E., Tindemans, S.H., Kakar, K., Prasad, K., Mahonen, A.P., Ambrose, C., Sasabe, M., Wachsmann, G., Luijten, M., Bennett, T., Machida, Y., Heidstra, R., Wasteneys, G., Mulder, B.M., Scheres, B. 2012. A PLETHORA-Auxin Transcription Module Controls Cell Division Plane Rotation through MAP65 and CLASP. *Cell* 149: 383-396
- Doonan, J.H., Lloyd, C.W., Duckett, J.G. 1986. Anti-tubulin antibodies locate the blepharoplast during spermatogenesis in the fern *Platyzoma microphyllum* R.Br.: a correlated immunofluorescence and electron-microscopic study. *J. Cell Sci.* 81: 243-265
- Ho, C.M., Hotta, T., Guo, F., Roberson, R.W., Lee, Y.R., Liu, B. 2011. Interaction of antiparallel microtubules in the phragmoplast is mediated by the microtubule-associated protein MAP65-3 in Arabidopsis. *Plant Cell* 23: 2909-2923
- Lucas, J.R., Courtney, S., Hassfurder, M., Dhingra, S., Bryant, A., Shaw, S.L. 2011. Microtubule-associated proteins MAP65-1 and MAP65-2 positively regulate axial cell growth in etiolated Arabidopsis hypocotyls. *Plant Cell* 23: 1889-1903
- Müller, S., Smertenko, A., Wagner, V., Heinrich, M., Hussey, P.J., Hauser, M.T. 2004. The plant microtubule-associated protein AtMAP65-3/PLE is essential for cytokinetic phragmoplast function. *Curr. Biol.* 14: 412-417
- McIntosh, K., Pickettheaps, J.D., Gunning, B.E.S. 1995. Cytokinesis in Spirogyra - Integration of Cleavage and Cell-Plate Formation. *Int J Plant Sci* 156: 1-8
- Mineyuki, Y. 1999. The preprophase band of microtubules: Its function as a cytokinetic apparatus in higher plants. *Int Rev Cytol* 187: 1-49
- Muller, S., Wright, A.J., Smith, L.G. 2009. Division plane control in plants: new players in the band. *Trends Cell Biol.* 19: 180-188
- Murata, T., Sano, T., Sasabe, M., Nonaka, S., Higashiyama, T., Hasezawa, S., Machida, Y., Hasebe, M. 2013. Mechanism of microtubule array expansion in the cytokinetic phragmoplast. *Nature communications* 4: 1967
- Murata, T., Tanahashi, T., Nishiyama, T., Yamaguchi, K., Hasebe, M. 2007. How do plants organize microtubules without a centrosome? *J Integr Plant Biol* 49: 1154-1163
- Renzaglia, K.S., Garbary, D.J. 2001. Motile gametes of land plants: Diversity, development, and evolution. *Crit. Rev. Plant Sci.* 20: 107-213
- Richardson, D.N., Simmons, M.P., Reddy, A.S. 2006. Comprehensive comparative analysis of kinesins

- in photosynthetic eukaryotes. *BMC genomics* 7: 18
- Sasabe, M., Soyano, T., Takahashi, Y., Sonobe, S., Igarashi, H., Itoh, T.J., Hidaka, M., Machida, Y. 2006. Phosphorylation of NtMAP65-1 by a MAP kinase down-regulates its activity of microtubule bundling and stimulates progression of cytokinesis of tobacco cells. *Genes Dev.* 20: 1004-1014
- Sawitzky, H., Grolig, F. 1995. Phragmoplast of the green alga *Spirogyra* is functionally distinct from the higher plant phragmoplast. *J. Cell Biol.* 130: 1359-1371
- Shen, Z., Collatos, A.R., Bibeau, J.P., Furt, F., Vidali, L. 2012. Phylogenetic analysis of the Kinesin superfamily from *Physcomitrella*. *Frontiers in plant science* 3: 230
- Smertenko, A.P., Chang, H.Y., Wagner, V., Kaloriti, D., Fenyk, S., Sonobe, S., Lloyd, C., Hauser, M.T., Hussey, P.J. 2004. The Arabidopsis microtubule-associated protein AtMAP65-1: molecular analysis of its microtubule bundling activity. *Plant Cell* 16: 2035-2047
- Walczak, C.E., Shaw, S.L. 2010. A MAP for bundling microtubules. *Cell* 142: 364-367