

日本植物学会シンポジウム

「植物科学が拓く進化細胞生物学」

オーガナイザー

村田 隆

基礎生物学研究所 生物進化研究部門
〒444-8585 岡崎市明大寺町字西郷中 3 8

上田 貴志

東京大学大学院理学研究科
〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Evolutionary cell biology pioneered by plant research

Key words: cell biology, cytoskeleton, evolution, membrane traffic, symbiosis

Takashi Murata

National Institute for Basic Biology
Nishigonaka 38, Okazaki, Aichi, 444-8585 Japan

Takashi Ueda

Graduate School of Biological Sciences, The University of Tokyo
Hongo 7-3-1, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-0033 Japan

本総説集は、日本植物学会第 76 回大会（2012 年 9 月）に開催されたシンポジウム「植物科学が拓く進化細胞生物学」の内容をもとに、関連する総説を取りまとめたものです。

細胞の構造と機能を探る細胞生物学においては、動物細胞や酵母を用いた研究が先導的な役割を果たしてきました。そのため、酵母と動物細胞に共通して存在する機構は、真核生物に一般的なものであると思われがちでした。しかしながら、21 世紀になって生物のゲノム情報が増えるにつれ、動物と酵母が属する系統（Opisthokonta）が、真核生物の一つのグループを構成するに過ぎないことが明らかになってきました。一方緑色植物は、真核生物の系統樹において、動物や酵母とは全く別の系統に属することが明らかになりました。このため、緑色植物の細胞を解析・理解し、得られた知見を動物や酵母を含む他の生物の研究から得ら

T. Murata & T. Ueda -1

れた知見と比較することにより、真核生物の細胞現象に通底する共通性と各生物が独自に獲得した多様性を理解することが出来ると考えられます。

植物独自の構造である葉緑体や細胞壁の解析、様々な植物ホルモンのはたらきや発現現象の研究においても、注目する形質の起源や変遷を探ることが可能になりつつあります。紅藻のシズクに加え、陸上植物の系統の基部に位置するセン類ヒメツリガネゴケや小葉類イヌカタヒバのゲノムが解読され、ゲノム情報が利用可能になりました。また、タイ類ゼニゴケのモデル植物化も進んでいます。

このような展開の中で、植物細胞の解析が分子レベルで進んだ結果、細胞の生存を支える基本的な仕組みである膜交通やオルガネラ分裂などの過程においても、植物細胞が実は「進化」していることがわかってきました。シンポジウムにおいては、植物細胞を材料としてユニークな研究を行っている研究者に講演をお願いしました。本総説を読んでこの分野に興味を持っていただき、新しく研究を始める際のヒントとしていただけますと幸いです。

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

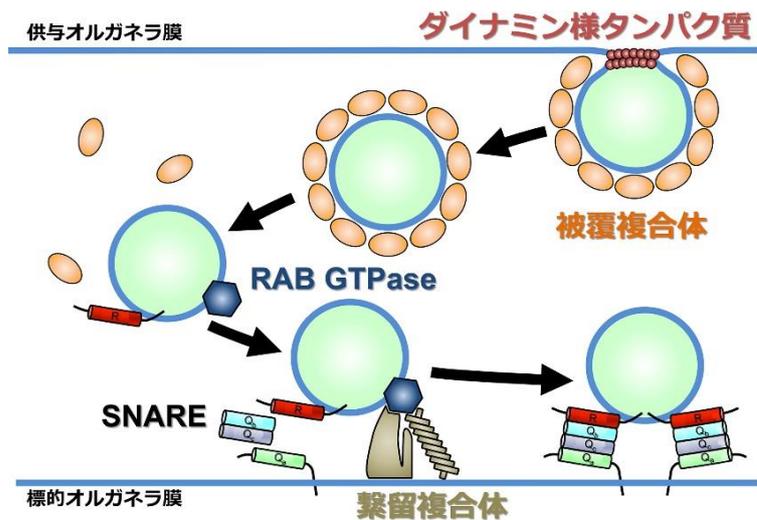


図1 二つのオルガネラ間を結ぶ膜交通経路とその制御因子の模式図。

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

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

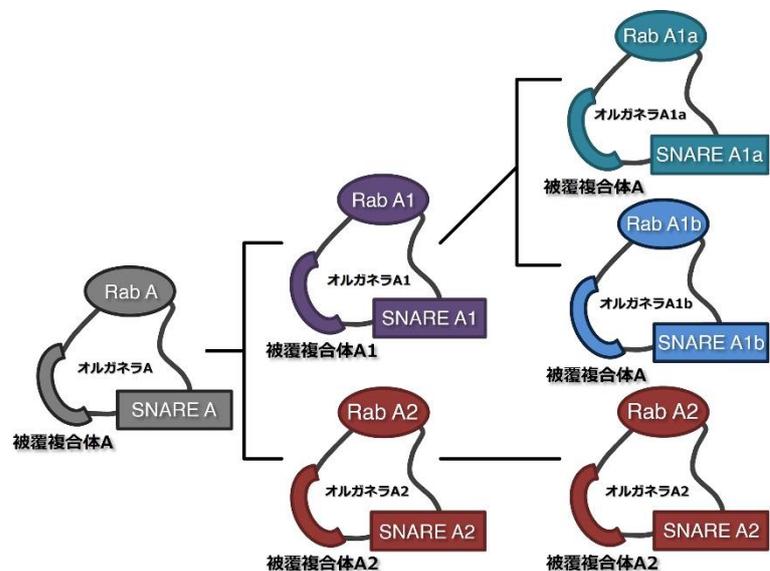


図2 膜交通制御因子の数の増加とその機能分化に伴う膜交通経路の多様化の模式図。Dacks & Field 2007 より改変して引用。

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

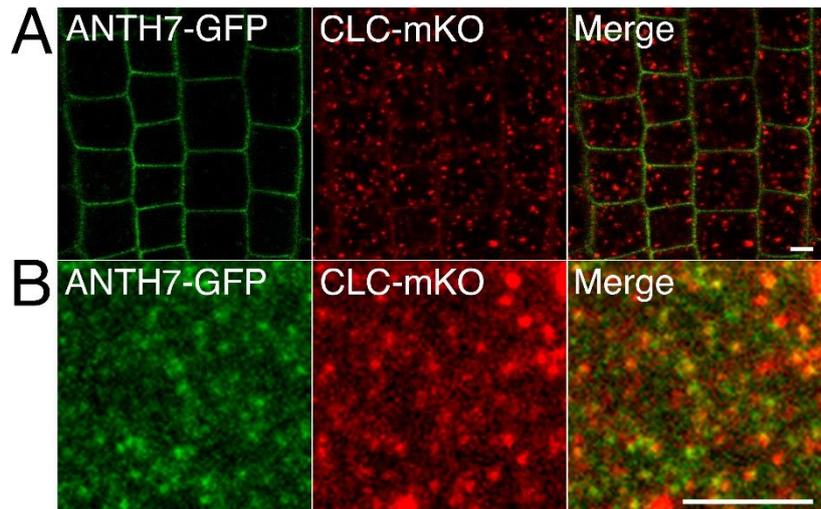


図3 シロイヌナズナANTHタンパク質の細胞内局在の一例。(A)、(B)はそれぞれ根の細胞における共焦点レーザー顕微鏡像、および全反射照明蛍光顕微鏡像。ANTHタンパク質(緑)が、クラスリン(赤)と細胞膜上で共局在する様子が観察される。スケールバーは5 μm。

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。

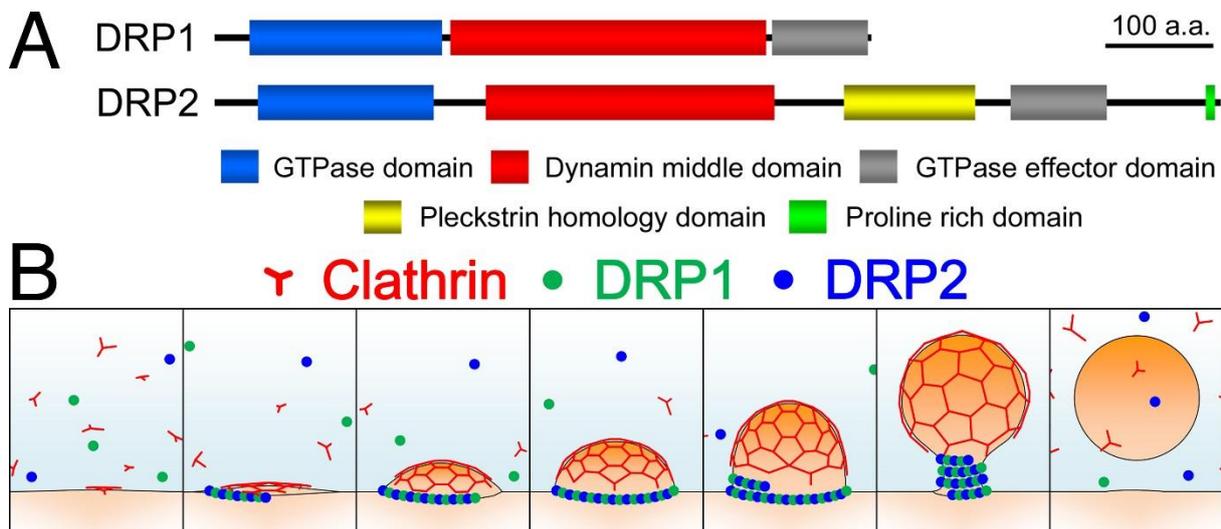


図4 陸上植物のエンドサイトーシス小胞形成機構。(A)は DRP1 および DRP2 の分子構造の模式図、(B)は現在考えられているその作動メカニズムを示す。陸上植物における細胞膜からのクラスリン被覆小胞形成時には、分子構造の異なる DRP1 と DRP2 が同一のリング状構造体に重合し膜の切断を実行するものと考えられる。

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

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, Klopper 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

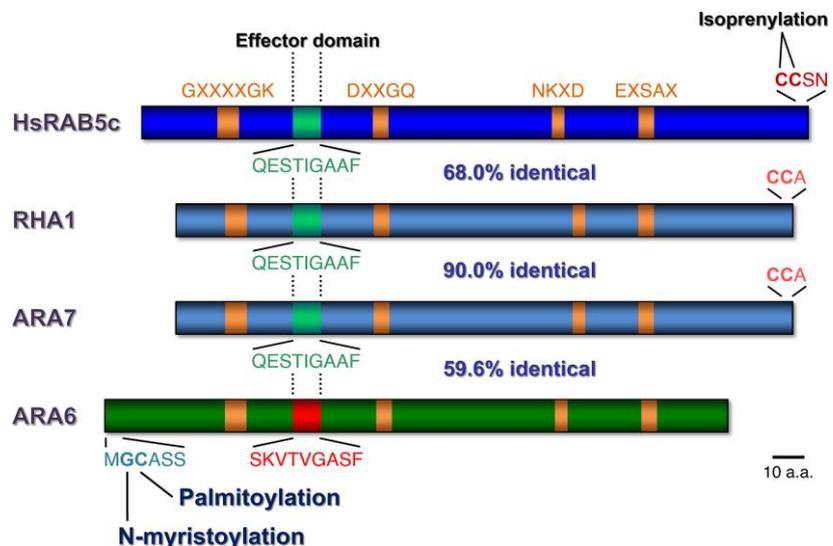


図5 ヒト RAB5c およびシロイヌナズナ RAB5 メンバーの一次構造。橙色の領域は GTP の結合や加水分解に必須のモチーフ、青緑や赤色の領域は保存型 RAB5 および ARA6 それぞれのエフェクタードメインを構成するアミノ酸配列を示す。ARA6 はカルボキシル末端が欠けており、アミノ末端に保存型 RAB5 にはない特徴的な脂質修飾部位が存在する。

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、いずれも多酸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・オルガネラマーカール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、これらの中で膜融合が起きる。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

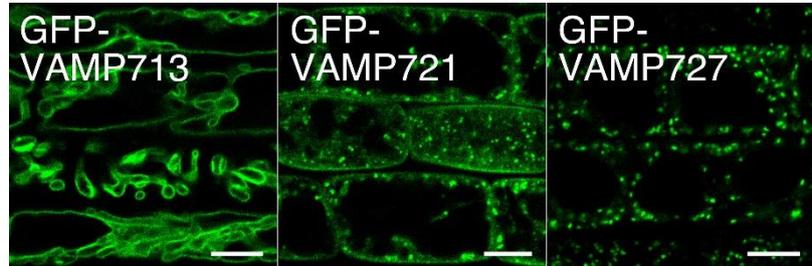


図6 シロイヌナズナ VAMP7 の細胞内局在。図はそれぞれ GFP でラベルした各種シロイヌナズナ VAMP7 の根の細胞における共焦点レーザー顕微鏡像。VAMP71 は液胞膜, VAMP72 は TGN と細胞膜, VAMP727 はエンドソーム/液胞前区画に局在する。スケールバーは 10 μ m。

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., & Wandinger-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 Groot, 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 USA.* 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.

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)。

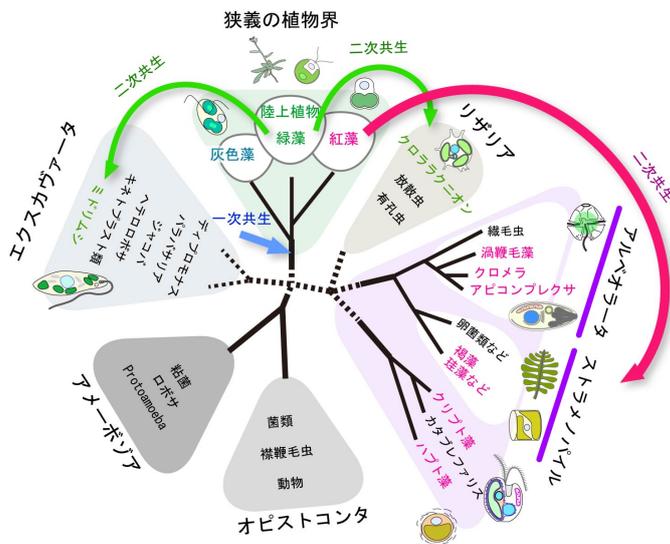
シアノバクテリアの共生(一次共生)により葉緑体を得た光合成真核生物は, 灰色藻, 紅藻, 緑色植物(緑藻, 陸上植物など)の三つのグループへと進化した(図 1)。様々な分子系統解析の結果, すべての葉緑体は, 一回のシアノバクテリアの共生に起源することが示唆されている。一次共生によって生じた葉緑体は 2 枚の包膜を持っており, 内包膜及び外包膜は, それぞれシアノバクテリアの細胞膜と外膜に由来するとされているが, 外包膜は, 原核と真核の両方の性質をもっている。さらに, 一次共生によって成立した紅藻や緑藻が, 別の真核細胞に取り込まれることにより(二次共生), 葉緑体は真核生物の様々な系統へと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

S. Miyagishima - 1

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)。

細胞内共生細菌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 (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で見つかり (Osteryoung and Vierling 1995), 葉緑体の分裂に必要なことが確認された (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っているが、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蛋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)。

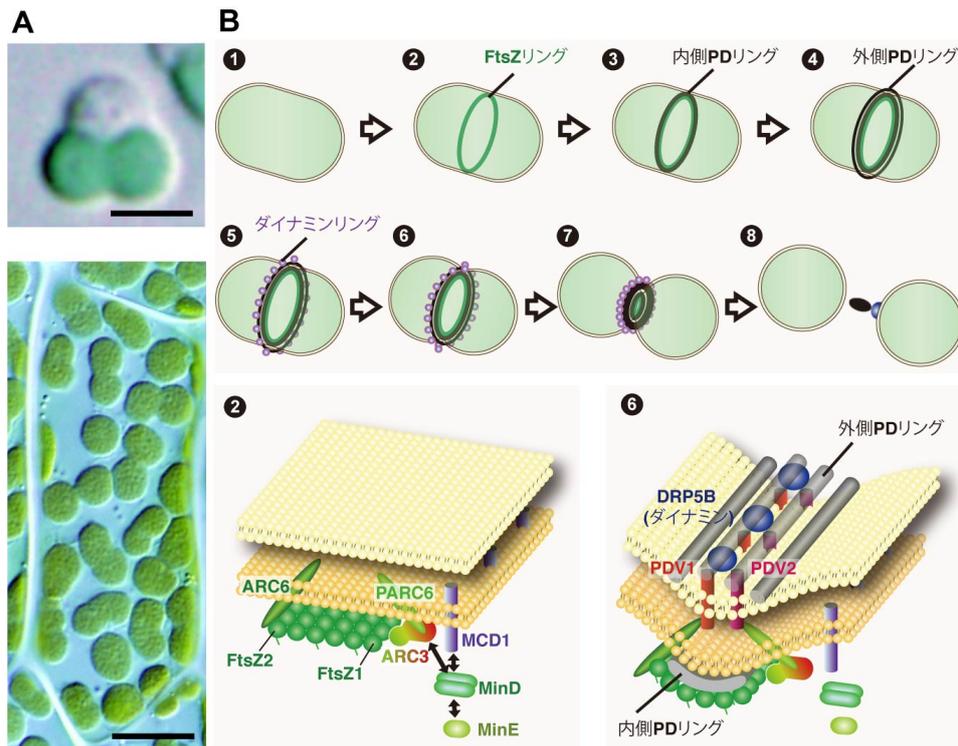


図2 葉緑体分裂装置の構造と機能。A：単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の細胞内で分裂する葉緑体。一細胞に葉緑体は一つだけ存在する（上）。ヒメツリガネゴケの細胞内で分裂する葉緑体。一つの細胞に多数の葉緑体が含まれる（下）スケールバーはそれぞれ $2\ \mu\text{m}$ （上） $10\ \mu\text{m}$ （下）。B：単細胞紅藻 *C. merolae* を用いた解析で明らかとなった分裂装置の挙動。FtsZ リング，内側の PD リング，外側の PD リング，ダイナミンリングがこの順に予定分裂位置に形成され，その後分裂面の収縮が起こる。分裂の最終段階において，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つの娘葉緑体の中で徐々に消失し，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.

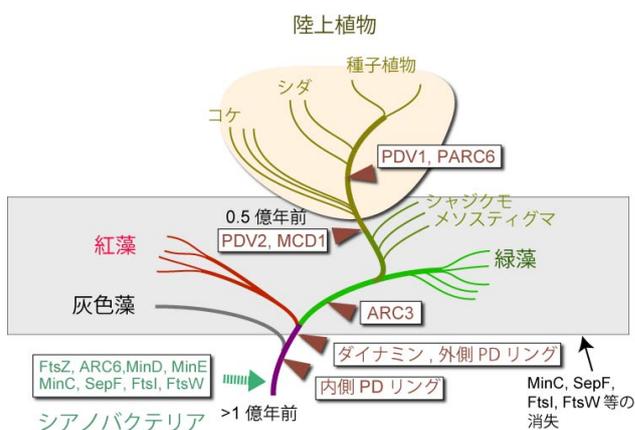


図3 葉緑体分裂に関与するタンパク質群の進化。FtsZ, ARC6, MinD, MinE 等は葉緑体の祖先であるシアノバクテリアに由来し、遺伝子群は宿主細胞の核に移行している。一部の藻類には、SepF, FtsI, FtsW, MinC 等も残存しているが、これらはその他複数の系統で独立に複数回失われている。一方、DRP5B, PDV, MCD1 は共生後宿主細胞により加えられたタンパク質群であり、DRP5B は灰色藻の分岐後、PDV2 と MCD1 は陸上植物の共通祖先で獲得された。さらに、FtsZ1, PDV1, PARC6 等のパラログが FtsZ2, PDV2, ARC6 から進化し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

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

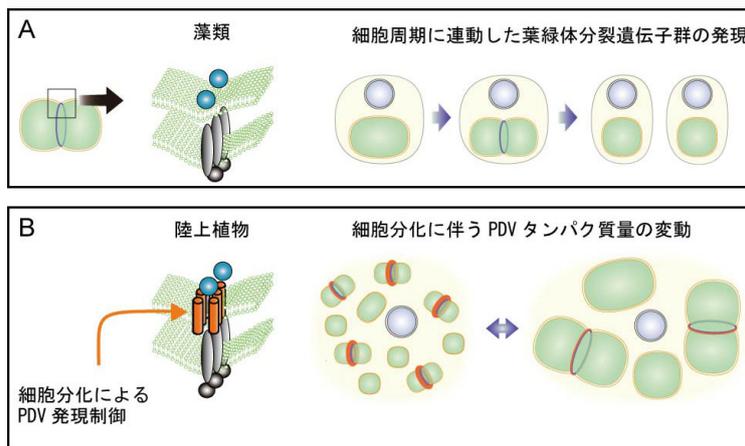
一般に、藻類（単細胞及び多細胞）は細胞あたりに葉緑体を一ないし数個しか持たない（図 2）。従って、葉緑体は宿主細胞分裂の前、細胞周期の決まった時期に一回分裂する。つまり葉緑体の分裂は宿主細胞の分裂周期に同調しておこる。様々な藻類を用いた研究により、葉緑体分裂はS期におこることが明らかとなっている（Miyagishima et al. 2012）。さらに、(i) 核コードの葉緑体分裂遺伝子群（系統によっては一部の遺伝子群のみ）はS期にのみ発現する、(ii) 一部の系統において葉緑体ゲノムに残存している分裂関連遺伝子群は細胞周期に関係なく発現する。これらの結果は、(i) 細胞周期による葉緑体分裂遺伝子群（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になったこと、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っていると推測される (図 5)。一方で、外側二枚の分裂がどのよう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

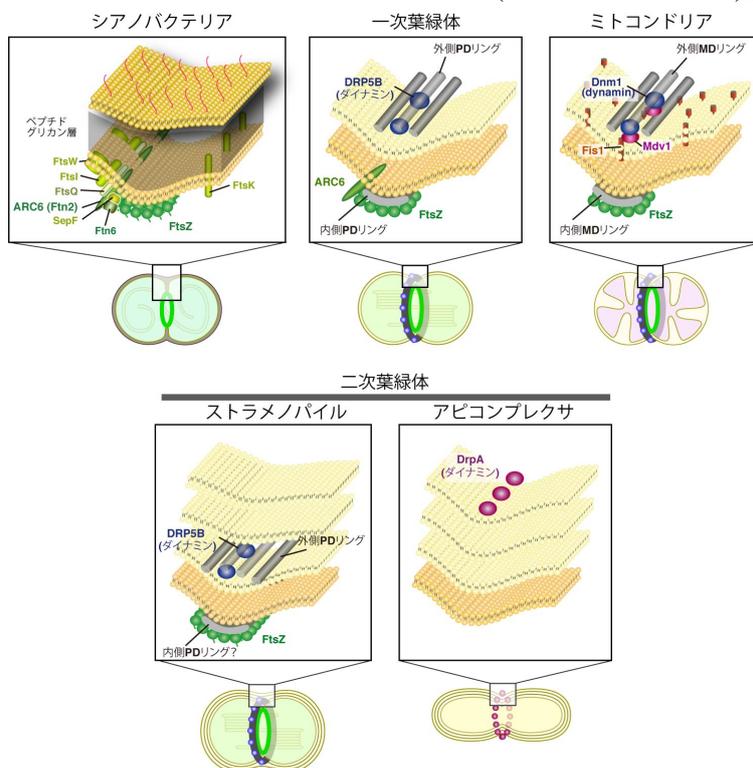


図 5 シアノバクテリア、一次共生起源葉緑体、二次共生起源葉緑体、ミトコンドリアの分裂機構の比較。陸上植物に固有な構成因子および FtsZ リング位置決定に関わる因子群は示していない。ミトコンドリアについては単細胞紅藻 *C. merolae* の場合を例として挙げた。

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

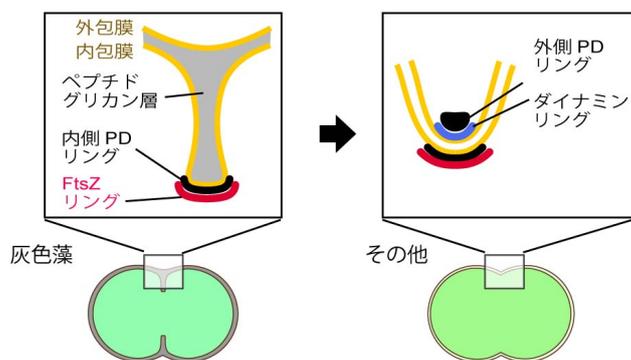


図 6 灰色藻の葉緑体分裂とその他の植物界 (狭義) における葉緑体分裂。

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 precision. *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.

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)。

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)。

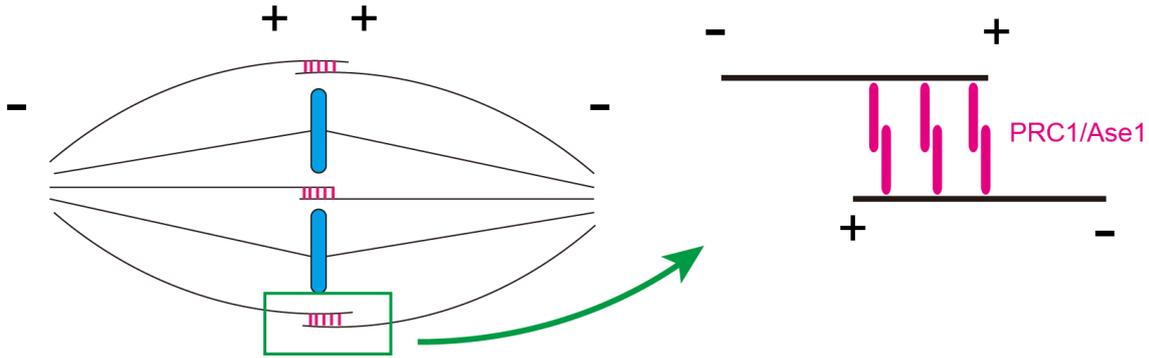


図2 紡錘体における微小管束化タンパク質 PRC1/Ase1 の局在。青は染色体、細線は微小管を表す。+、-は微小管のプラス端とマイナス端を示す。

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)。

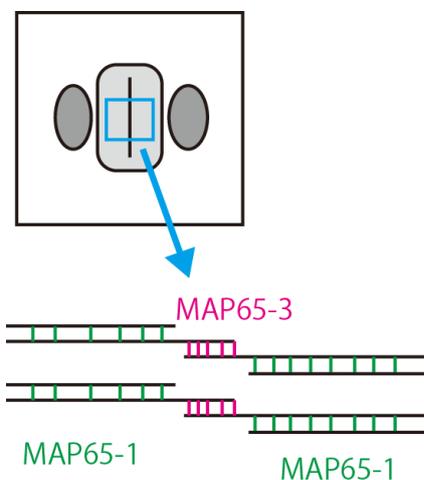


図3 シロイヌナズナの細胞質分裂における MAP65-1、MAP65-3 の機能分担の推測。細胞板を形成中の細胞の模式図と、簡略化した細胞板近傍の微小管構造を示す。微小管の構造は Ho et al. (2011) を参照した。MAP65-3 は赤道面の微小管架橋に局在し、娘核側から伸びる微小管を繋ぎ止めるのに働く (Müller et al. 2004)。MAP65-1 は隔膜形成体全体に存在し (Murata et al. 2013)、微小管の安定性を制御する (Sasabe et al. 2006)。

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ると期待される。

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

植物細胞壁の構造と機能の多様性

横山隆亮, 西谷和彦

東北大学 大学院生命科学研究科

〒980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

Structural and Functional Diversity of Plant Cell Wall

Key words: primary cell wall; (1,3;1,4)- β -D-glucan; xyloglucan; rice

Ryusuke Yokoyama & Kazuhiko Nishitani

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University

6-3, Aoba, Aramaki-za, Aoba-Ku, Sendai, Miyagi 980-8577, Japan

1. はじめに

植物細胞の表面には多様な分子の複雑な相互作用によって細胞壁が構築される。進化の過程において、植物は細胞壁の形質を改変することで多くの機能を獲得し、さまざまな環境に適応した多様な種を繁栄させた。約4億5千年前、水中で生息していた藻類の一部は、大気中でも体内の水分が蒸発しない外層を持った細胞壁を獲得することで、陸上への進出に成功した。陸に上がった植物は、厚い細胞壁で囲まれた道管を分化させることで、地中深くから吸い上げた水分を全身に供給することが可能になり、水辺から乾いた大地へと生息域を拡大した。さらに植物は厚い細胞壁を持つ繊維細胞などを発達させることで、重いからだを支えることが可能になり、巨大化することに成功した。このように細胞壁が特殊な機能を獲得することで、植物は新たな環境に適応してきたのである (横山&西谷 2011)。

一般に植物の細胞壁は、最初に細胞表面に構築される一次細胞壁と、細胞伸長終了後に一次細胞壁の内側で肥厚する二次細胞壁に分類され、道管や繊維細胞などの厚い細胞壁の大部分はこの二次細胞壁で構成されている (図2)。これまでの植物進化の研究においては、陸上植物の大型化のための細胞分化という観点から、特に道管や繊維細胞の二次細胞壁の獲得プロセスが注目されていた。しかしながら近年、すべての植物細胞の形状基盤となる一次細胞壁も長い植物の歴史の中で変遷してきた可能性が示され、植物種の多様化との関係が重要視され始めている (横山 2013)。一次細胞壁は細胞形成のあらゆる過程においてさまざまな役割を担うことから、一次細胞壁の形質と植物の形態・機能が密接に関連しているものと考えられる。本稿では、細胞壁の主要な構成成分の1つであるヘミセルロースに着目して、植物種間の相違点から推測されている一次細胞壁の進化プロセスについて概説する。また他の被子植物とは全く異なる構造を獲得したイネ科植物の細胞壁の最新の知見を紹介し、イネ科植

物の細胞壁研究を通して明らかになった細胞壁の比較研究の問題点等についても説明する。

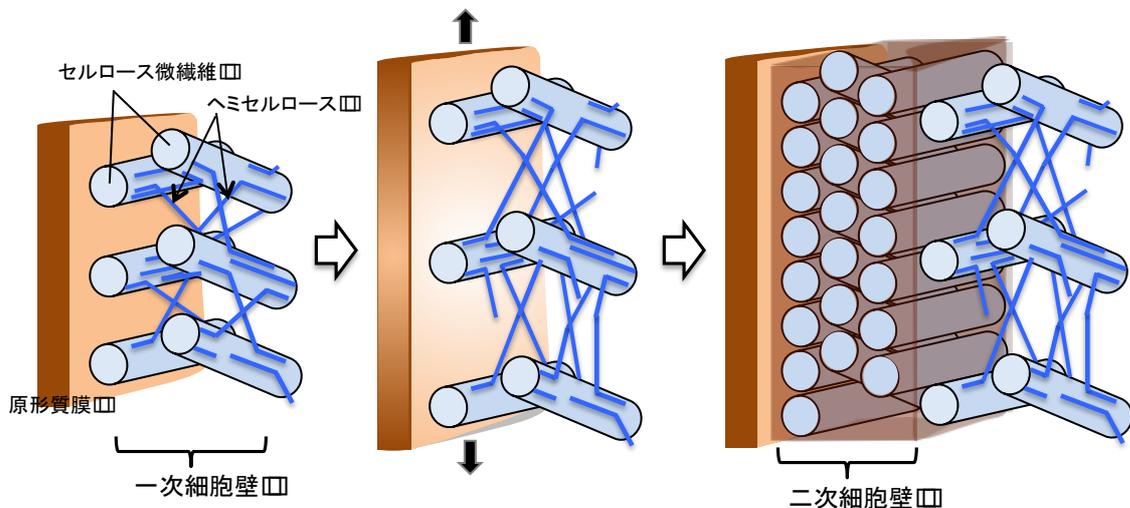


図1 細胞壁の立体モデル。セルロース微繊維とヘミセルロースの基本骨格(左)と細胞伸長時の基本骨格の伸展(中央)を示す。右は細胞伸長終了後に形成される二次細胞壁。

2. 一次細胞壁の基本構造

植物細胞は、動物細胞の細胞分裂と異なり、細胞板という新たな細胞壁を構築することで細胞質分裂を完了する。また植物細胞は周囲を覆う細胞壁を弛めることで肥大成長を行っている。このように細胞表面に最初に構築される一次細胞壁は細胞形成のあらゆる過程で機能し、植物体全体の形作りに大きく貢献している (Somerville et al. 2004)。

一次細胞壁の主要な構成成分は、グルコースが直鎖状に重合したセルロースで、通常は 30～36 本のセルロース分子がシート状の束になり結晶化している。このセルロース微繊維間をキシログルカンなどのヘミセルロースが架橋することで、一次細胞壁の格子状の基本骨格が形成される (図 1)。化学的に安定なセルロース微繊維間を切断や繋ぎ換えの容易なヘミセルロースで架橋することで、一次細胞壁は硬さだけではなく、伸展などを許容する柔軟性を兼ね備えているのである (Carpita and Gibeau 1993)。このセルロース微繊維とヘミセルロースから成る基本骨格の隙間に、ペクチンや構造タンパク質などの多様な分子が充填されることで一次細胞壁は完成する (McCann and Roberts 1991)。

3. 陸上植物の一次細胞壁の起源

セルロース微繊維はセルロース分子の並び方によってセルロース I とセルロース II に分類され、さらにセルロース I にはセルロース I β (単斜晶)とセルロース I α (三斜晶)という 2つのタイプに分けられる。陸上植物の主要なセルロース微繊維はセルロース I β タイプであり、また陸上植物の直接の祖先と推測されるシャジクモ綱の緑藻もセルロース I β から成るセルロース微繊維を多量に含むことなどから、セルロース微繊維を主成分として構築される

一次細胞壁の基本構造は、植物が陸上に進出する以前に獲得されたものと推測される (図 2 A と B)。

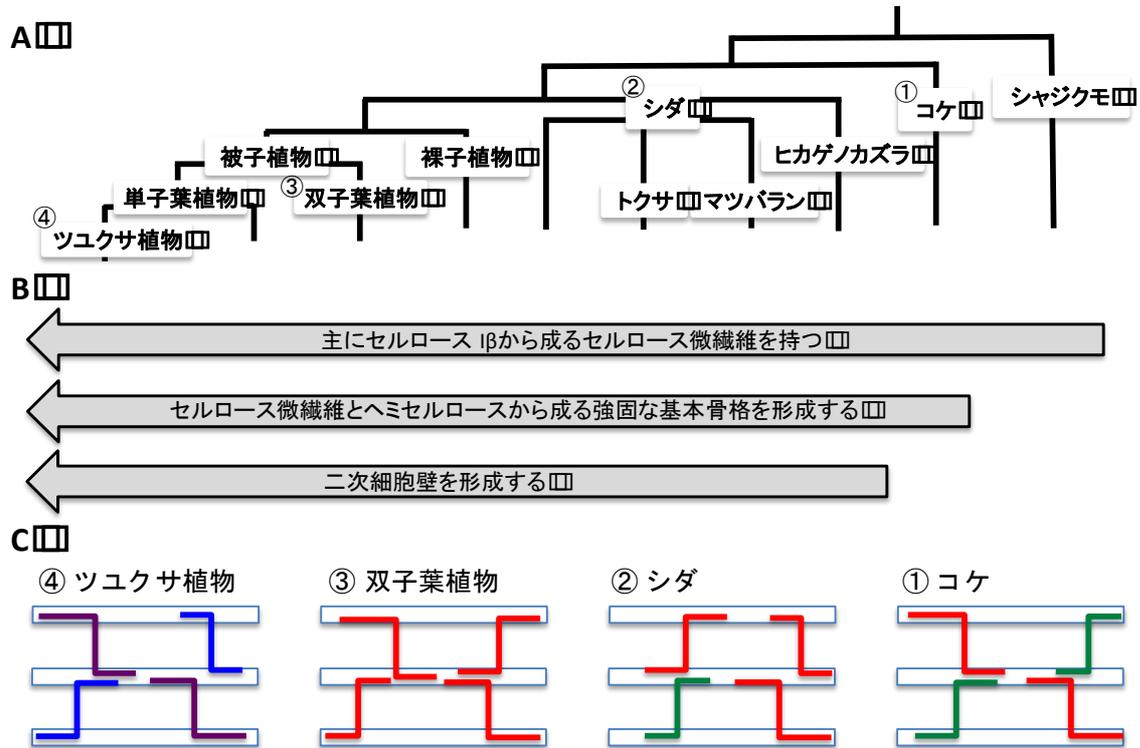


図2 植物の系統と細胞壁の構造、一次細胞壁の基本骨格との関係。
 A: 植物の系統樹。B: 細胞壁の共通する構造。Bの矢印の領域は、系統樹に対応した細胞壁の共通点を示している。C: 各植物種における一次細胞壁の基本骨格。マンナン(緑)、キシログルカン(赤)、グルクロノアラビノキシラン(紫)、1,3:1,4-β-D-グルカン(青)

一方、セルロース微繊維間を架橋するヘミセルロースは、植物種の間で大きく異なっている (図 2 C; Popper and Tuohy 2010)。多くの陸上植物の主要なヘミセルロースであるキシログルカンは藻類ではほとんど使われていないものと考えられる。アオミドロではグルコースとキシロースから成るキシログルカンと類似の多糖が見つかり (Ikegaya et al. 2008)、また最近、オウシャジクモでもキシログルカンが造精器の一部の細胞で確認されている (Domozych et al. 2009)。さらにハコネシャジクモでキシログルカンの主鎖を合成する *Cs1C* と類似の遺伝子が見つかり (Del Bem and Vincentz 2010)、センジシャジクモではエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素遺伝子が単離されたことから (Van Sandt et al. 2007)、植物は陸に上がる前にキシログルカンの合成機能を獲得していたものと考えられる。しかしながら、その含有量などから考えてセルロース微繊維との架橋構造を形成するためのヘミセルロースとして機能している可能性は低く、キシログルカンがセルロース微繊維を架橋して基本骨格を形成するようになったのは、コケやシダ以降の陸上植物と考えるのが妥当かもしれない。シャジクモ藻類の細胞壁はキシログルカンの代わりにマンノースを含む多糖を多量に含んでいることから、マンナンなどの多糖が基本骨格を構成している可能性がある。あるいは水中という環境では強固な格子状の基本骨格は必要ないため、セルロース微繊維間を微量の多糖が繋いでいる程度なのかもしれない。

4. 一次細胞壁の多様性

初期の陸上植物は現在のコケまたはシダ植物に近縁のものであったと考えられている。コケの細胞壁はシャジクモ藻類と同様にマンノースを含む多糖を多量に含んでいる (Sarkar et al. 2009)。しかしながら両種の細胞壁の決定的な違いは、コケの細胞壁にはキシログルカンが十分に存在するという点である。コケのキシログルカンは、側鎖付加のパターンなどが他の陸上植物のキシログルカンとは異なるものではあるが、基本的にはセルロース微繊維を架橋しているものと考えられる。陸で生活を始めた植物は、水の中よりも強靱な細胞壁が必要であったため、セルロース微繊維とキシログルカンの基本骨格を構築するようになったのかもしれない。またコケの細胞壁では、種子植物の主要なペクチンの1つであるラムノガラクトツロナン I や、構造タンパク質のヒドロキシプロリン・リッチ・タンパク質なども見つかり、基本骨格形成に伴い、その隙間を埋める多様な多糖やタンパク質も合成されるようになったのかもしれない。

シダ植物の細胞壁では、マンノースを含む多糖の割合は減少し、キシログルカンの含有率が增大している。シダ植物から派生したと考えられる裸子植物、さらに被子植物では主要なヘミセルロースはキシログルカンとなり、より強固なセルロース微繊維とキシログルカンの基本骨格を構築するようになったと考えられる。また裸子植物と被子植物では、ペクチンなどの多様化も進み、ホモガラクトツロナン、ラムノガラクトツロナン I, II が基本骨格の隙間に充填されている。このように多くの裸子植物と被子植物の一次細胞壁は、セルロース微繊維とキシログルカンの基本骨格に多様なペクチンや構造タンパク質が充填された構造から成り、タイプ I 細胞壁と呼ばれている (Carpita 1996)。

被子植物は多様な種に分化する過程で単子葉植物群という一大分類群を形成した。さらに単子葉植物の一部はツクサ亜綱の植物群として派生したが、この一群の植物種はタイプ I 細胞壁とは全く別の一次細胞壁を構築するようになった (Yokoyama and Nishitani 2004)。この一次細胞壁は、タイプ II 細胞壁と呼ばれ、主要なヘミセルロースがキシログルカンからグルクロノアラビノキシランや 1,3:1,4- β -D-グルカンに置き換わっている。またペクチンや構造タンパク質も著しく減少し、代わりにフェニルプロパノイド類が利用されている。こうしてツクサ亜綱の植物の細胞壁は、基本骨格に多様な分子を充填するという構造は維持しているものの、セルロース微繊維以外の構成分子は殆ど置き換えてしまったものと考えられる。

5. イネ科植物のヘミセルロースの機能の多様性

ツクサ植物においてセルロース微繊維を架橋するキシログルカンが他のヘミセルロースに置き換わった理由は明らかになっていない。裸子植物や他の被子植物の成長・形態形成では十分に役割を果たしていた一次細胞壁の基本骨格を根本から置き換える利点があったはずであるが、ヘミセルロースの置換による基本骨格の特性の違いなどは全く分かっていない。ツクサ植物における新規細胞壁の獲得の理由を理解するためには、イネ科植物におけるグ

ルクロノアラビノキシランや 1,3:1,4- β -D-グルカンの機能解明が重要であると考えられる。

イネ科植物における各ヘミセルロースの機能解明については現在進行中であるが、幾つかの興味深い研究成果も報告されている。特にイネ科植物特有の多糖と考えられていた 1,3:1,4- β -D-グルカンについては、基本骨格の形成だけではなく多面的な機能を植物にもたらしている可能性が示されている。イネやコムギにおける 1,3:1,4- β -D-グルカン量を調べた研究では、伸長成長に伴う 1,3:1,4- β -D-グルカン量の急速な増減が確認され、キシログルカンと同様に細胞伸長における一次細胞壁の伸展との関連性があると考えられた (Gibeaut and Carpita, 1991; Chen, et al. 1999)。しかし一方で、伸長後の葉等でも貯蔵物質として蓄積し、エネルギー源として利用されている可能性も示されている (Roulin and Feller 2001)。また 1,3:1,4- β -D-グルカン合成酵素遺伝子の欠損した突然変異体では、成長伸長への影響よりも植物組織の物理的強度や病原抵抗性などへの影響が顕著にみられることが報告されている (Vega-Sánchez et al. 2012)。

6. 1,3:1,4- β -D-グルカンの新規機能

当研究室においても、1,3:1,4- β -D-グルカンを特異的に加水分解する酵素を過剰発現した形質転換体を作成し、1,3:1,4- β -D-グルカン量を減少させることによる植物体への影響を調べたが、突然変異体と同様に植物組織の物理的強度が著しく低下していた。また興味深いことに、この物理的強度の低下はケイ素存在下で生育させた場合にのみ顕著にみられることが明らかになった (Kido et al. submitted)。イネ科植物ではケイ酸を積極的に体内に取り込み、細胞壁等にシリカを形成することで組織の物理的強度や病害抵抗性を獲得していることが知られている

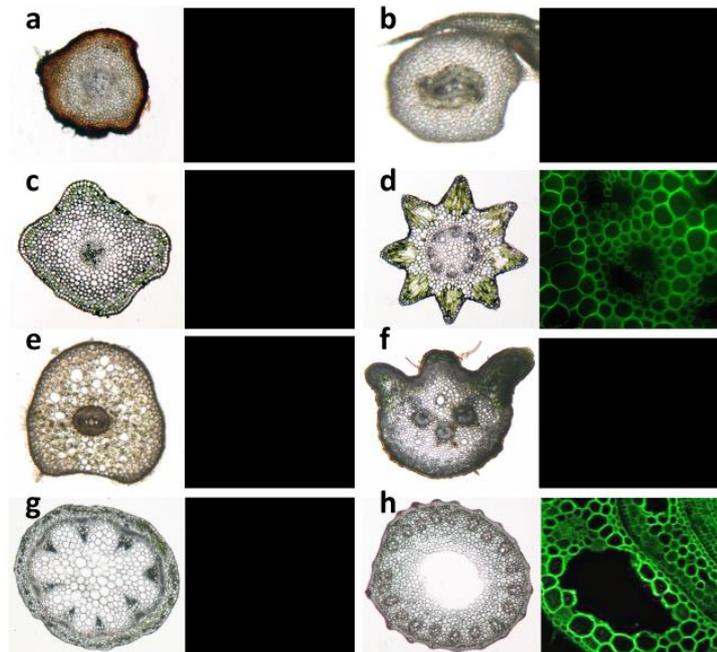


図3 様々な植物種の組織切片(左)とMLGの蓄積(右)。□ a; 𩇓ギゴケ(コケ植物)、b; 𩇓ヌカタヒバ(シダ植物ヒカゲノカズラ門)、c; 𩇓マツバラン(シダ植物マツバラン綱)、d; 𩇓𩇓ギナ(シダ植物トクサ綱)、e; 𩇓セイヨウタマシダ(シダ植物シダ綱)、f; 𩇓ノテツ(裸子植物)、g; 𩇓𩇓ロイヌナズナ(被子植物双子葉植物綱)、h; 𩇓𩇓イネ(被子植物ツユクサ亜綱) □

(Currie and Perry 2007)。我々の研究成果は、1,3:1,4- β -D-グルカンがこのシリカの蓄積に関与していることを示すものであると考えられる。陸上植物の中で、イネ科植物と同様にシリカを蓄積することで物理的強度や病害抵抗性をもつものとして、トクサ綱のシダ植物が知られている (Takahashi and Miyake 1997)。近年、これまでイネ科植物に特有の多糖と考えられて

いた1,3:1,4- β -D-グルカンがトクサ綱のシダ植物において発見された(図3; Sørensen et al. 2008; Fry et al. 2008)。1,3:1,4- β -D-グルカンとシリカをもつ植物種の一一致は、1,3:1,4- β -D-グルカンのシリカ蓄積における機能を支持する結果である一方で、なぜ進化的にかけ離れたイネ科植物とトクサ植物だけがこのような仕組みを獲得したかという新たな興味深い疑問も生じている。

7. 一次細胞壁の組織特異性

近年、ツクサ植物のヘミセルロースに関するもう1つの重要な研究成果が出ている。これま知見では、ツクサ植物の細胞は全てタイプII細胞壁であり、タイプI細胞壁に特徴的なキシロルカンはほとんど使われていないと考えられた。しかし近年のゲノム解読によって、イネもキシログルカンの代謝に関わる多数の遺伝が存在していることが明らかになり(Yokoyama 2004; Yokoyama and Nishitani 2004)、再びイネにけるキシログルカンについての詳細な分析がわれた。キシログルカン分子を特異的に認識す

モノクローナル抗体を用いた組織免疫学的解析が行われ、イネの大部分の細胞の細胞壁ではキシログルカンが検出できないが、師管の細胞壁だけには多量のキシログルカンが蓄積していることが判明した(図4; Brennan and Harris 2011)。ツクサ植物は大部分の細胞の細胞壁をタイプIからタイプIIへと交換したが、師管の細胞だけは、キシログルカンとセルロース微繊維の基本骨格が重要な役割を果たしているため、タイプI細胞壁を維持したものと考えられる。

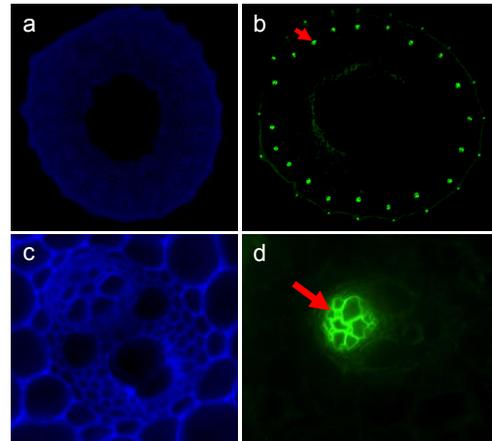


図4 イネの茎におけるキシログルカンの分布。a カルコフラーで染色したイネの茎の横断面。b 間接蛍光抗体法を用いて染色したイネの茎のキシログルカンの分布。c, d それぞれaとbの維管束を拡大したもの。矢印は師管を示す。□

る
で
細
グ
て
に
子
et al.
お
行
る

8. 今後の展望

イネのキシログルカンの研究成果は、1つの植物種においても、幾つものタイプの細胞壁が存在することを明確に示すことのできた良い例なのかもしれない。従来の生化学的分析では、植物組織・器官の全体を材料としていることから、幾つものタイプの細胞壁の混合成分から細胞壁構造を推測していた可能性もある。今後は細胞レベルで一次細胞壁の構成成分や構造を分析し、細胞の形成や機能分化における一次細胞壁の役割を明らかにすることが必要であろう。各植物種において個々の細胞・組織が獲得してきた細胞壁の特性を理解することで、はじめて細胞壁という視点から、植物が辿ってきた進化の道筋を知ることが可能になるのかもしれない。

引用文献

- Brennan, M., & Harris, P.J. 2011. Distribution of fucosylated xyloglucans among the walls of different cell types in monocotyledons determined by immunofluorescence microscopy. *Mol. Plant* 4:144-156.
- Carpita, N.C. 1996. Structure and biogenesis of the cell walls of grasses. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 445–476.
- Carpita, N.C., & Gibeaut, D.M. 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant J.* 3: 1–30.
- Chen, L., Kamisaka, S., & Hoson, T. 1999. Breakdown of (1-3), (1-4) β -D-glucans during development of rice coleoptiles in air and under water. *J. Plant Physiol.* 155: 234-239.
- Currie, H.A., & Perry, C.C. 2007. Silica in plants: biological, biochemical and chemical studies. *Anal. Bot.* 100: 1383-1389.
- Del Bem, L.E.V., & Vincentz, M.G.A. 2010. Evolution of xyloglucan-related genes in green plants. *BMC Evo. Biol.* 10:341
- Domozych, D.S., Sørensen, I., & Willats, W.G.T. 2009. The distribution of cell wall polymers during antheridium development and spermatogenesis in the Charophycean green alga, *Chara corallina*. *Ann. Bot.* 104: 1045–1056.
- Fry, S.C., Nesselrode, B.H.W., Miller, J.G., & Mewburn, B.R. 2008. Mixed-linkage (1→3,1→4)- β -d-glucan is a major hemicellulose of *Equisetum* (horsetail) cell walls. *New Phytol.* 179: 104–115.
- Gibeaut, D.M., & Carpita, N.C. 1991. Tracing cell wall biogenesis in intact cells and plants: selective turnover and alteration of soluble and cell wall polysaccharides in grasses. *Plant Physiol.* 97: 551-561.
- Ikegaya, H., Hayashi, T., Kaku, T., Iwata, K., Sonobe, S., & Shimmen, T. 2008. Presence of xyloglucan-like polysaccharide in *Spirogyra* and possible involvement in cell-wall attachment. *Phycol. Res.* 56: 216–222.
- McCann, M.C., & Roberts, K. 1991. Architecture of the primary cell wall. In: Lloyd CW, ed. The cytoskeletal basis of plant growth and form. Toronto, Canada: Academic Press, 109–129.
- Popper, Z.A., & Tuohy, M.G. 2010. Beyond the green: understanding the evolutionary puzzle of plant and algal cell walls. *Plant Physiol.* 153: 373–383.
- Sarkar, P., Bosneaga, E., & Auer, M. 2009. Plant cell walls throughout evolution: towards a molecular understanding of their design principles. *J. Exp. Bot.* 60: 3615-3635.
- Somerville, C., Bauer, S., Brininstool, G., Facette, M., Hamann, T., Milne, J., Osborne, E., Paredez, A., Persson, S., Raab, T., et al. 2004. Toward a systems approach to understanding plant cell walls. *Science* 306: 2206–2211.
- Sørensen, I., Pettolino, F.A., Wilson, S.M., Doblin, M.S., Johansen, B., Bacic, A., & Willats, W.G.

2008. Mixed linkage (1→3),(1→4)-β-D-glucan is not unique to the *Poales* and is an abundant component of *Equisetum arvense* cell walls. *Plant J.* 54: 510-521.
- Roulin, S., & Feller, U. 2001. Reversible accumulation of (1-3,1-4)-β-D-glucan endohydrolase in wheat leaves under sugar depletion. *J. Exp. Bot.* 52: 2323–2332.
- Takahashi, E., & Miyake, Y. 1977. Silica and plant growth. In: Proc Intl Sem Soil Env.Fertilizers Man Intensive Agric, pp 603-611.
- Van Sandt, V.S.T., Stieperaere, H., Guisez, Y., Verbelen, J.P., & Vissenberg, K. 2007. XET Activity is Found Near Sites of Growth and Cell Elongation in Bryophytes and Some Green Algae: New Insights into the Evolution of Primary Cell Wall Elongation. *Ann. Bot.* 99:39-51.
- Vega-Sánchez, M.E., Verhertbruggen, Y., Christensen, U., Chen, X., Sharma, V., Varanasi, P., Jobling, S.A., Talbot, T., White, R.G., Joo, M., Singh, S., Auer, M., Scheller, H.V., & Ronald, P.C. 2012. Loss of cellulose synthase-like F6 function affects mixed-linkage glucan deposition, cell wall mechanical properties, and defense responses in vegetative tissues of rice. *Plant Physiol.* 159: 56-69.
- Yokoyama, R., & Nishitani, K. 2004. Genomic basis for cell-wall diversity in plants. A comparative approach to gene families in rice and Arabidopsis. *Plant Cell Physiol.* 45: 1111–1121.
- Yokoyama, R., Rose, J.K.C., & Nishitani, K. 2004. A surprising diversity and abundance of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolases in rice. Classification and expression analysis. *Plant Physiol.* 134:1088-1099.
- 横山隆亮、西谷和彦 (2011) 細胞壁の進化 遺伝 66: 28-33
- 横山隆亮 (2013) 一次細胞壁モデル. 西谷和彦・梅澤俊明 (編著) 植物細胞壁. pp113-116. 講談社サンエントフィク. 東京.