

分裂期キナーゼによる植物の細胞質分裂の制御

笹部 美知子

弘前大学 農学生命科学部 生物学科
〒036-8561 青森県弘前市文京町 3 番地

The regulatory mechanism of cytokinesis by mitotic kinases in plant cells

Michiko Sasabe

Department of Biology, Faculty of Agriculture and Life Science,
Hirosaki University, 3 Bunkyo-cho, Hirosaki, 036-8561, Japan

Key words: cytokinesis, microtubule, microtubule-associated protein, MAPK cascade,
mitotic kinase

DOI: 10.24480/bsj-review.11b3.00185

1. はじめに

植物の形態形成は、細胞分裂の最後の過程である細胞質分裂において正確な位置に細胞板が形成されることに依存している。植物の細胞質分裂はフラグモプラストと呼ばれる微小管を主成分とする構造体により実行される。このイベントには細胞骨格の動態制御、膜交通の制御、細胞膜融合と細胞壁の合成という複雑で多様な素過程が含まれる。これらの素過程は、フラグモプラストの中で複雑なシグナルネットワークの制御下で協調して進行する。細胞質分裂に関与する分子は、種々の研究により多数知られるようになったが (Smertenko *et al.* 2017; 2018), 依然としてこれらの分子がどのように機能制御され、統御されたイベントとして実行されているのかは未だ謎が多い。動物細胞では、細胞質分裂を含む分裂期のイベントを協調的に進行させる分裂期キナーゼと呼ばれる制御因子が多数同定され、シグナルネットワークの解析や下流の詳細な制御メカニズムの解析が進められているが、植物ではそのオソログが存在しないものも多く、植物独自の制御系を進化させてきたと考えられている。ここでは、植物細胞の細胞質分裂の制御に重要であることが分かっている MAP キナーゼカスケードと動物細胞でも重要な分裂期キナーゼとして知られる Aurora キナーゼ及び、これらキナーゼの下流の制御因子を中心に紹介しながら、リン酸化制御の面から植物の細胞質分裂の分子メカニズムについて明らかになってきたことを紹介したい。

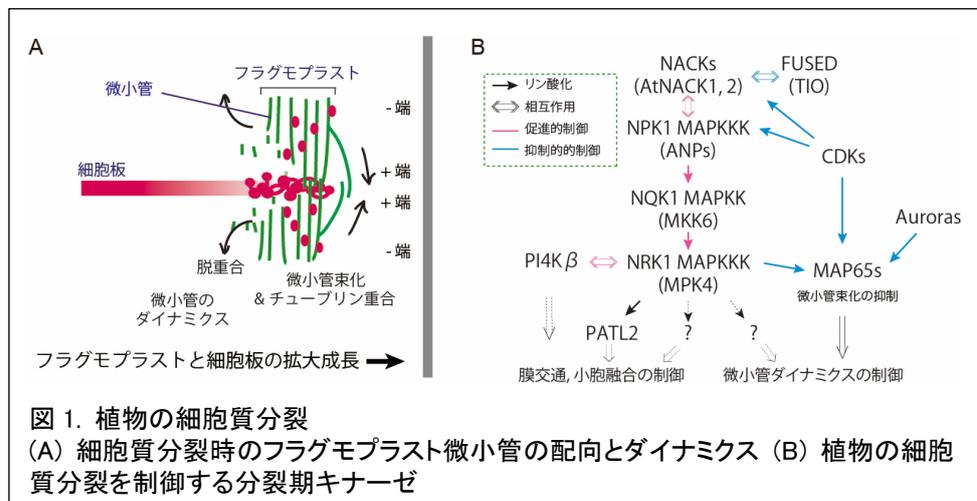
2. 植物の細胞質分裂を制御する MAP キナーゼカスケード

2-1. MAP キナーゼカスケードによる細胞質分裂の制御

植物の細胞質分裂は、先にも述べた通りフラグモプラストと呼ばれる微小管構造体により実行される。逆平行に配向した巨大な微小管束より構成されたフラグモプラストは、分裂期終期に両極に分離した娘染色体の間に形成された後、細胞周期の進行に伴い細胞板の形成を

伴いながら親細胞壁に向かって遠心的に拡大する。フラグモプラストの拡大成長は微小管束の内側での微小管の脱重合と外側でのチューブリンの重合によって保証されている (Murata *et al.* 2013; 図 1A)。このような微小管の動的変動は微小管ダイナミクスと呼ばれるが、フラグモプラスト微小管のダイナミクスを制御するキーレギュレーターとして、キネシン様タンパク質 NACK1 (NPK1-activating kinesin-like protein1) により活性化される MAP キナーゼカスケードが明らかになっている (Nishihama *et al.* 1997; 2001; 2002; Krysan *et al.* 2002; Strompen *et al.* 2002; Ishikawa *et al.* 2002; Soyano *et al.* 2003; Tanaka *et al.* 2004; Takahashi *et al.* 2010; Kosetsu *et al.* 2010; 図 1B)。タバコでは、この MAP キナーゼカスケードの最上位に位置するのは NPK1 MAPKKK (nucleus-and phragmoplast-localized protein kinase1) で、キネシン様タンパク質 NACK1 との結合により活性化される (Banno *et al.* 1993; Carderini *et al.* 1998; 2001; Bögre *et al.* 1999; Nishihama *et al.* 2001; 2002)。この 2 つのタンパク質は、M 期では細胞質

に散在しているが、細胞質分裂が始まると直接結合を介して活性化すると同時に、フラグモプラストの赤道面、つまりフラグモプラスト微小管のプラス



端に局在を変化させる。NPK1 の活性はこの時期にピークを迎えるので、両タンパク質の結合はこの時期まで抑制されているが、その仕組みについては後述する。NPK1 の下流では、NQK1/NtMEK1 MAPKK, NRK1/NTF6 MAPK がそれぞれ下流のキナーゼをリン酸化し、カスケード全体が細胞質分裂時特異的に活性化される (Soyano *et al.* 2013)。BY-2 細胞やシロイヌナズナにおいて、NACK1 や NPK1, NQK1 のドミナントネガティブ型 (下流因子への結合部位欠損型やキナーゼ不活性型タンパク質) を過剰発現させると、フラグモプラストの拡大成長が阻害され、不完全な細胞板を持つ多核化した細胞質分裂不全を示す細胞が高頻度で観察される (Nishihama *et al.* 2001; 2002; Soyano *et al.* 2003; Sasabe *et al.* 2015)。この表現型は微小管安定化剤であるタキソールで培養細胞を処理した時の表現型と似ていたことがヒントとなり (Yasuhara *et al.* 1993)、このカスケードはフラグモプラストの拡大成長の基盤となっている微小管ダイナミクスの制御に関与していると考えられるようになった。

その後、微小管結合タンパク質 (microtubule-associated proteins; MAPs) に着目したカスケードの標的タンパク質の探索が行われ、基質の一つとして微小管束化タンパク質、NtMAP65-1 が同定されている (Sasabe *et al.* 2006)。MAP65 はヒト (PRC1)、線虫 (SPD1) から酵母 (Ase1) まで広く保存されたタンパク質ファミリーで、いずれの生物においても細胞質分裂への関与が報告されている (Pellman *et al.* 1995; Jiang *et al.* 1998; Schuyler *et al.* 2003;

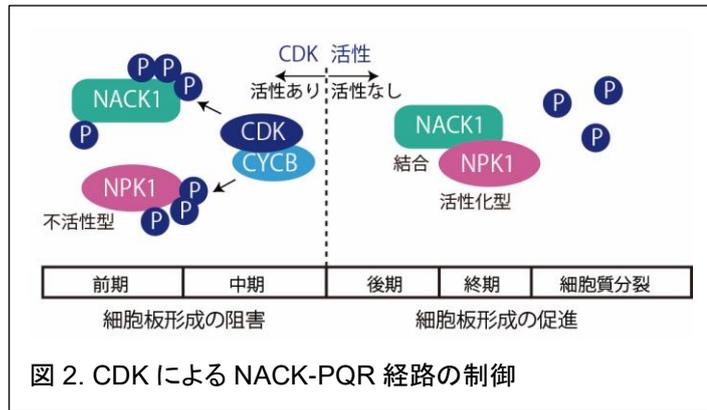
Müller *et al.* 2004; Verbrugghe *et al.* 2004)。細胞質分裂は、生物種ごとに独自のシグナルネットワークを発達させ、見かけ上様々な様式により実行されているが、最終的に同じファミリーのタンパク質が下流で働いていることは進化上も興味深い。NtMAP65-1 は、MAPK によって C 末端の 1 カ所がリン酸化されることにより微小管の束化活性が低下する (Sasabe *et al.* 2006)。このリン酸化サイトにアミノ酸置換を導入した非リン酸化型 MAP65 をタバコ培養細胞で過剰発現させると、微小管脱重合剤に対する抵抗性が增大すると同時に、フラグモプラストの拡大成長が遅延することが分かった (Sasabe *et al.* 2006)。これらの結果から、細胞板の周縁に位置するフラグモプラスト微小管のプラス端では、MAPK が MAP65 のリン酸化を介して微小管の束化を局所的に緩めて微小管のダイナミクスを更新することによりフラグモプラストの拡大成長を促進するというモデルが提唱されている (Sasabe *et al.* 2006; 図 1B)。

この経路は、シロイヌナズナでも保存されており、NACK1 のシロイヌナズナホモログをコードする *AtNACK1* と *AtNACK2* は、細胞質分裂不全の変異体から同定された *HINKEL* と *TETRASPORE* とそれぞれ同一であった (Nishihama *et al.* 2002; Strompen *et al.* 2002; Yang *et al.* 2003)。*HINKEL/AtNACK1* 及び、*TETRASPORE/AtNACK2* の変異体は、それぞれ体細胞分裂と花粉形成に異常を示すが、二重変異体は細胞質分裂の失敗から配偶体致死になる (Tanaka *et al.* 2004)。このことから、NACK-PQR 経路と名付けられたこの経路は、植物の細胞質分裂及び個体発生において必須であることが明らかになった。MAP65 はシロイヌナズナでは 9 つのファミリーメンバーが存在するが、そのうち MAP65-1, 2, 3 及び 4 は MAPK に加えて CDK や Aurora キナーゼによりリン酸化されること、そのリン酸化が MAP65 の微小管への結合活性や束化活性に影響を与えることにより細胞質分裂に寄与する可能性が報告されている (Smertenko *et al.* 2006; Kosetsu *et al.* 2010; Beck *et al.* 2010; Sasabe *et al.* 2011a; Li *et al.* 2017; Boruc *et al.* 2017; 図 1B)。このように、植物の細胞質分裂におけるフラグモプラスト微小管の制御において MAP65 は鍵因子となっているようであるが、高度に協調して進行していると思われる細胞質分裂の分子メカニズムの全容解明のためには、個々のリン酸化による機能制御の詳細とそれぞれのシグナルネットワークの相互関係を明らかにする必要がある。

2-2. CDK による NACK-PQR 経路の制御

先にも述べた通り、NACK-PQR 経路の因子は M 期に入った段階で十分量の蓄積が観察されるが、MAPK カスケードの活性化は細胞質分裂の時期に限定されている。この特異的な活性化は、活性化因子である *NACK* 遺伝子の M 期特異的転写と、M 期後期への移行期での特異的な *NACK1* と *NPK1* の結合に依存しているが、この経路が正確なタイミングで細胞質分裂を実行するために重要なこの二つの制御は、いずれも CDK により調節されていることが示されている (Araki *et al.* 2004; Sasabe *et al.* 2011b)。本レビューの高橋らの稿でも述べられているように、植物の細胞周期の G2/M 期への移行には R1R2R3 型 MYB 転写因子 (MYB3R) が関与している (Ito *et al.* 2005)。MYB3R の活性制御には CDK によるリン酸化が重要であるが、タバコにおいて *NACK1* は、この転写因子の制御下にあることが明らかになっている (Araki *et al.* 2004)。また、翻訳後の *NACK1* と *NPK1* も CDK の基質であることが示されている (Sasabe *et al.* 2011b; 図 1B)。M 期に入ると、MYB3R による転写に依存して両タンパク質の蓄

積量は増加するが、これらタンパク質は速やかに CDK によりリン酸化され、M 期後期において CDK 活性が低下するまでリン酸化状態が維持される。NPK1 は NACK1 の直接結合により活性化されることが分かっているが、CDK リン酸化は NACK1 及び NPK1 の結合を *in vitro* 及び *in vivo* において阻害することが明らかになった。



つまり、M 期中期までは、両タンパク質は CDK によるリン酸化によって結合が阻害されており、後期に入り CDK 活性が低下すると (つまり M 期を脱出すると)、CDK による両タンパク質のリン酸化が解除されることにより、NACK1 と NPK1 の直接結合とそれに続く NACK-PQR 経路の活性化が誘導される (Sasabe *et al.* 2011b)。このように NACK-PQR 経路の活性化、言い換えると細胞質分裂の開始は、M 期の進行とリンクして厳密に制御されている (図 2)。

3. 分裂期キナーゼ Aurora キナーゼの分裂期における機能と制御

3-1. 動物細胞における Aurora kinase の働き

細胞分裂における染色体の正確な分配は、紡錘体微小管による染色体の補足とこれら微小管のダイナミクスに依存している。動物細胞では、このイベントの制御のキーレギュレーターとして Aurora キナーゼが働いていることが知られている。Aurora キナーゼは動物から酵母にまで保存された分裂期キナーゼで、分裂酵母や出芽酵母では 1 つ、線虫やショウジョウバエでは 2 つ、そして哺乳動物では 3 つのメンバーから構成されている。その機能は中心体の分離や、染色体の凝集、中期染色体の整列から紡錘体の形成や細胞質分裂の制御と多岐に渡っている (Goldenson *et al.* 2015; Vader and Lens 2008; Ducat and Zheng 2008; Willems *et al.* 2018)。動物細胞における Aurora キナーゼの機能と比較して、植物細胞の Aurora キナーゼの機能解析は遅れているが、ここでは最近報告された細胞質分裂への関与に焦点を絞って紹介したい。

哺乳動物の Aurora キナーゼは Aurora A, B, C の 3 つのメンバーからなるが、そのうち Aurora A と B は全身の増殖細胞で発現している。Aurora A は、G2 期より中心体に局在し始め、核膜崩壊後は紡錘体極 (両極に分かれた中心体) と紡錘体に集積する。分裂の開始に伴い、中心体には γ チューブリン複合体や、TACC (transforming acidic coiled-coil) タンパク質、そして様々な微小管結合タンパク質がリクルートされ、微小管形成中心 (microtubule organizing center; MTOC) としての機能が充進する。成熟した中心体は、微小管の重合核となり双極性の紡錘体形成を促進するが、Aurora A は中心体成熟を介して紡錘体形成を制御していることが明らかになっている。一方で、Aurora B は S 期から核内に蓄積し、M 期に入ると染色体から動原体へ、細胞質分裂時にはセントラルスピンドルのミッドゾーンに局在場所を移し、最終的にはミッドボディーへとダイナミックに局在を変化させる。このように次々と局在場所を移

動させることから, Aurora B を含む複合体タンパク質は染色体パッセンジャー複合体 (chromosome passenger complex) と呼ばれている (Adams *et al.* 2002)。この局在パターンからも予測できるとおり, Aurora B は染色体の凝集と分配, そして細胞質分裂と分裂期を通して重要な機能を果たしてしていることが明らかにされている。

これらキナーゼの分裂期における様々な生理的機能については, それぞれの時期における活性化因子や基質の同定によりその分子機構が明らかになりつつあるが (Willems *et al.* 2018), ここでは Aurora B によって制御される細胞質分裂の進行を制御するメカニズムについてのみ簡単に紹介する。Aurora B を含む染色体パッセンジャー複合体は, 細胞質分裂時において, 二つに分かれた染色体の間に形成される微小管構造体であるセントラルスピンドルのミッドゾーンに局在し, キネシン様タンパク質 MKLP1 と Rho GTPase activating protein (RhoGAP), CYK-4 から構成された centralspindlin と呼ばれる複合体をリン酸化することが分かっている (Glotzer 2005)。Centralspindlin はセントラルスピンドル形成において中心的な制御因子として知られており, 逆並行に配向した微小管を+端で束化し, セントラルスピンドルの形成を促進する (Mishima *et al.*; 2002; 2004)。Centralspindlin は, 多量体化を介して微小管の束化活性が上昇し, セントラルスピンドルの形成を促進することが知られているが (Hutterer *et al.* 2009), この多量体化は MKLP1 への 14-3-3 タンパク質の結合により阻害される。一方で, Aurora B によりリン酸化された MKLP は, 14-3-3 タンパク質との結合が阻害されることから, セントラルスピンドルのミッドゾーンでは, 局所的な centralspindlin の集積と束化活性が維持されることにより, 正常な細胞質分裂の進行が保証されていると考えられている (Douglus *et al.* 2010)。

3-2. 植物細胞の Aurora kinase: 細胞質分裂における機能と標的因子

植物の Aurora キナーゼは α -Aurora キナーゼと β -Aurora キナーゼの二つのサブクラスからなり, シロイヌナズナでは二つの α -Aurora キナーゼ (AtAurora1, AtAurora2) と一つの β -Aurora キナーゼ (AtAurora3) を持つ (Demidov *et al.* 2005; Van Damme *et al.* 2004; Kawabe *et al.* 2005)。 α -Aurora キナーゼに分類される AtAurora1 及び AtAurora2 は, 核膜の崩壊前は核質に局在するが, 核膜崩壊後は M 期を通して分裂期の微小管構造体し, 細胞質分裂時には細胞板に局在する (Demidov *et al.* 2005; Van Damme *et al.* 2004; 2011; Kawabe *et al.* 2005; Petrovska *et al.* 2012)。一方, β -Aurora キナーゼの AtAurora3 は, 間期には核質及びクロモセンターに, M 期中期にはセントロメアに局在することが報告されている (Demidov *et al.* 2005)。このような局在から, α -Aurora キナーゼと β -Aurora キナーゼは分裂期においてそれぞれ特異的な機能を有していると考えられているが, 動物の Aurora A, B とそれぞれ機能的に対応しているわけではなさそうである。例えば, AtAurora1 の紡錘体への局在は動物の Aurora A の局在に似ているが, 細胞板への局在は Aurora B のセントラルスピンドルミッドゾーンへの局在と類似している。また AtAurora3 のセントロメアへの局在は M 期中期においてパッセンジャー複合体を形成する Aurora B の局在に似ているが, 細胞質分裂時には Aurora B のように局在場所をかえることなく, 染色体にとどまる (Demidov *et al.* 2005)。植物における Aurora キナーゼの機能はまだ未解明の部分が多いが, 動物の Aurora キナーゼの基質の一つ, ヒストン H3 (CenH3) は植物

においても Aurora キナーゼの基質であると考えられている (Demidov *et al.* 2009; Kurihara *et al.* 2006)。CenH3 は染色体のキネトコアに局在するが、BY-2 細胞においてその局在をライブイメージングにより観察したところ Aurora キナーゼの阻害剤である Hesperadin 処理により紡錘体の赤道面への整列の遅れと、染色体の分配の際にラギングクロモソームが多数観察された。このことから、Aurora キナーゼは、中期染色体の整列におけるキネトコアと微小管の間の結合と染色体分離におけるコヒーシンの解離に機能していると考えられている (Kurihara *et al.* 2008)。しかし、Hesperadin 処理により微小管ダイナミクスには変化が見られず、微小管に対する Aurora キナーゼの作用についてはさらなる解析を待ちたい。

AtAurora1 及び2は細胞質分裂時に細胞板に局在するが、植物細胞の細胞質分裂時において Aurora キナーゼはどのように機能しているのだろうか？シロイヌナズナの *ataurora1* *ataurora2* 二重変異体は配偶体致死の表現型を示すが、弱いアレルの *ataurora1* と *ataurora2* の二重変異体を用いた解析により、 α -Aurora キナーゼの機能についてヒントが得られている。この二重変異体は側根形成に異常を示すが、その原因は側根原基形成時の並層分裂において分裂方向の異常が生じることに起因していた (Van Damme *et al.* 2011)。つまり、正常な方向への細胞質分裂に欠損が生じたのである。 α -Aurora キナーゼの二重変異体では、この表現型に加えて、胚発生時の方向性を持った分裂や、根端分裂組織、気孔形成といった様々な発生過程における非対称分裂時に側根原基において見られたような細胞質分裂の方向異常が観察されたことから、このキナーゼの主要な機能は細胞板形成時の分裂面の制御であると考えられている (Van Damme *et al.* 2011)。また、 α -Aurora キナーゼの RNAi ラインでは細胞板形成の欠損を伴う細胞質分裂の異常が観察されていることから、細胞板形成そのものにも関与しているのかもしれない (Petrovská *et al.* 2012)。最近、シロイヌナズナの α -Aurora キナーゼの基質として、先にも紹介した微小管結合タンパク質の MAP65-1 が報告された (Boruc *et al.* 2017; 図 1B)。Aurora キナーゼによるリン酸化は、細胞分裂における MAP65 の局在を制御することにより細胞分裂の進行に寄与しているようであるが、MAP65 の制御メカニズムと細胞分裂時における詳細な分子機能については、前述したとおり他の分裂期キナーゼによる時空間的なリン酸化制御のネットワークの詳細を明らかにすることが必要である。

4. 細胞質分裂に関与するその他のキナーゼ

細胞質分裂に必須の因子として単離されたシロイヌナズナの TWO-IN-ONE (TIO) は、動物の発生を制御する重要なシグナル伝達経路として知られているヘッジホッグシグナル伝達経路における鍵となる複合体因子の一つである FUSED プロテインキナーゼと類似したセリン/スレオニンプロテインキナーゼである (Oh *et al.* 2005)。TIO は、細胞質分裂時、Kinesin-12 ファミリーの PAKRP1/Kinesin12A 及び PRKRP1L/Kinesin12B との相互作用を介してフラグモプラストのプラス端に局在し、フラグモプラストの拡大を制御していることが明らかになっている (Oh *et al.* 2012)。一方で、TIO は Kinesin-7 ファミリーの AtNACK2/TETRASPORE と相互作用すること、この結合を介して AtNACK2 の花粉形成時における細胞質分裂の機能を拮抗的に阻害する可能性を報告している (Oh *et al.* 2014)。この拮抗的作用は Kinesin-12 ファミリーとは独立していることから、TIO は少なくとも花粉形成過程において NACK-PQR 経路の

構成因子との直接結合を介して濃度依存的に細胞質分裂を負に制御しているようである (図 1B)。今後、TIO の基質を明らかにすると同時に、花粉形成において見られたこの表現型が NACK-PQR 経路の活性に影響を与えているのか、AtNACK2/TETRASPORE の未知の機能を反映しているのかを明らかにすることにより、細胞質分裂の制御における TIO の役割が明らかになると期待される。

最近、細胞板に局在する PI4K β が細胞質分裂において細胞板形成とフラグモプラスト微小管のダイナミクスの両方を制御していることが報告された (Lin *et al.* 2019)。シロイヌナズナの *pi4k β 1 pi4k β 2* 二重変異体では膜交通が異常となり細胞板の縁での小胞融合が阻害されると同時に、フラグモプラスト微小管が異所的に過剰安定している様子が観察され、結果的に細胞質分裂の異常が生じる。この変異体では、MAP65-3 がフラグモプラストの赤道面のみならず、形成された細胞板の内部に残存している様子が観察されたことから、フラグモプラストの過剰な安定化は MAP65-3 の異所的局在に起因していると推測されている。さらに、筆者らは、PI4K β 1 と MPK4 MAPK が物理的相互作用することを示しており、PI4K β と MPK4 がそれぞれ MAP65-3 の局在と活性を制御することによりフラグモプラスト微小管のダイナミクスを相乗的に制御している可能性を報告している (Lin *et al.* 2019; 図 1B)。我々は、MPK4 の基質の一つとしてホスファチジルイノシトール結合タンパク質 PATELLIN2 (PATL2) を報告している (Suzuki *et al.* 2016; 図 1B)。PATL2 の細胞質分裂における機能は今のところ明らかではないが、その局在と保存されたドメインの性質から、細胞板の拡大成長において膜交通や小胞の融合に関与している可能性がある。PATL2 は各種ホスファチジルイノシトールに結合する能力を持つが、MPK4 によるリン酸化によりそれぞれのホスファチジルイノシトールに対する結合能が変わることから、NACK-PQR 経路が PATL2 のリン酸化を介して、フラグモプラスト微小管のダイナミクスだけでなく、細胞質分裂における膜交通や膜融合の制御に関与している可能性もあると考えている (Suzuki *et al.* 2016)。今後、NACK-PQR 経路とホスファチジルイノシトール経路の相互ネットワークの詳細を明らかにすることにより、細胞質分裂における複雑な素過程がどのように協調して実行されているのかが明らかになるかもしれない。

5. おわりに

植物の細胞質分裂はフラグモプラストの動態制御と細胞板の構築が共役して起こる必要がある。今回、M 期キナーゼに焦点を絞り、その基質や相互作用因子の解析により細胞質分裂の素過程を協調させる仕組みが少しずつ明らかになりつつあることを紹介した。しかし、その理解はまだほんの一端であり、植物の細胞質分裂のメカニズムの理解のためには、明らかになってきた M 期キナーゼの基質の同定をはじめ、それぞれのシグナル経路の相互作用を詳細に解析することが必要である。最後に述べた PI4K の例のように、細胞板形成に関わると思われていた分子が、様々な結合因子を介して細胞骨格の制御にも関与している例を考えると、今回は紹介しきれなかった細胞質分裂時の膜交通の制御系からも細胞骨格のダイナミクスとの関係を見直す必要があるかもしれない。細胞質分裂に機能する最も有名な膜融合因子である SNARE タンパク質の KNOLLE に相互作用する KEULE は、SNARE タンパク質の構造変換

を誘導し膜融合を促進するタンパク質であるが、その変異体では、細胞板形成だけでなくフラグモプラストの構造に異常が見られることが報告されており、本因子が細胞板形成と微小管ダイナミクスを協調させる因子として機能する可能性が提案されている (Steiner *et al.* 2016)。はじめに述べたように、細胞質分裂は形態形成の基盤となるイベントである。今後、細胞質分裂において実行される個々のイベントをつなぐシグナルネットワークの分子メカニズムやさらに高次のネットワーク同士の相互作用を地道に明らかにしていくことが、植物の細胞分裂の分子機構の全体像の理解とその先の形態形成の理解のために重要であると考えている。

6. 謝辞

本稿で述べた著者たちのグループの研究は、科学研究費補助金 (課題番号 : 25114504, 26840086, 15H01223, 17K07432), 住友財団による支援を受けて行われた。

7. 引用文献

- Adams, R.R., Maiato, H., Earnshaw, W.C., & Carmena, M. 2001. Essential roles of *Drosophila* inner centromere protein (INCENP) and aurora B in histone H3 phosphorylation, metaphase chromosome alignment, kinetochore disjunction, and chromosome segregation. *J. Cell Biol.* 153: 865-880.
- Araki, S., Ito, M., Soyano, T., Nishihama, R., & Machida, Y. 2004. Mitotic cyclins stimulate the activity of c-Myb-like factors for transactivation of G2/M phase-specific genes in tobacco. *J. Biol. Chem.* 279: 32979-32988.
- Banno, H., Hirano, K., Nakamura, T., Irie, K., Nomoto, S., Matsumoto, K., & Machida, Y. 1993. NPK1, a tobacco gene that encodes a protein with a domain homologous to yeast BCK1, STE11, and Byr2 protein kinases. *Mol. Cell. Biol.* 13: 4745-4752.
- Beck, M., Komis, G., Müller, J., Menzel, D., & Samaj, J. 2010. Arabidopsis homologs of nucleus- and phragmoplast-localized kinase 2 and 3 and mitogen-activated protein kinase 4 are essential for microtubule organization. *Plant Cell* 22: 755-771.
- Boruc, J., Weimer, A.K., Stoppin-Mellet, V., Mylle, E., Kosetsu, K., Cedeño, C., Jaquinod, M., Njo, M., De Milde, L., Tompa, P., Gonzalez, N., Inzé, D., Beeckman, T., Vantard, M., & Van Damme, D. 2017. Phosphorylation of MAP65-1 by Arabidopsis Aurora Kinases Is Required for Efficient Cell Cycle Progression. *Plant Physiol.* 173: 582-599.
- Bögre, L., Calderini, O., Binarova, P., Mattauch, M., Till, S., Kiegerl, S., Jonak, C., Pollaschek, C., Barker, P., Huskisson, N.S., Hirt, H., & Heberle-Bors, E. 1999. A MAP kinase is activated late in plant mitosis and becomes localized to the plane of cell division. *Plant Cell* 11: 101-113.
- Calderini, O., Bögre, L., Vicente, O., Binarova, P., Heberle-Bors, E., & Wilson, C. 1998. A cell cycle regulated MAP kinase with a possible role in cytokinesis in tobacco cells. *J. Cell. Sci.* 111: 3091-3100.
- Calderini, O., Glab, N., Bergounioux, C., Heberle-Bors, E., & Wilson, C. 2001. A novel tobacco mitogen-activated protein (MAP) kinase kinase, NtMEK1, activates the cell cycle-regulated p43Ntf6 MAP kinase. *J. Biol. Chem.* 276: 18139-18145.

- Demidov, D., Hesse, S., Tewes, A., Rutten, T., Fuchs, J., Ashtiyani, R.K., Lein, S., Fischer, A., Reuter, G., & Houben, A. 2009. Aurora1 phosphorylation activity on histone H3 and its cross-talk with other post-translational histone modifications in Arabidopsis. *Plant J.* 59: 221-230.
- Demidov, D., Van Damme, D., Geelen, D., Blattner, F.R., & Houben, A. 2005. Identification and dynamics of two classes of aurora-like kinases in Arabidopsis and other plants. *Plant Cell* 17: 836-848.
- Douglas, M.E., Davies, T., Joseph, N., & Mishima, M. 2010. Aurora B and 14-3-3 coordinately regulate clustering of centralspindlin during cytokinesis. *Curr. Biol.* 20: 927-933.
- Glotzer, M. 2005. The molecular requirements for cytokinesis. *Science* 307: 1735-1739.
- Goldenson, B., & Crispino, J.D. 2015. The aurora kinases in cell cycle and leukemia. *Oncogene* 34: 537-545.
- Hutterer, A., Glotzer, M., & Mishima, M. 2009. Clustering of centralspindlin is essential for its accumulation to the central spindle and the midbody. *Curr. Biol.* 19: 2043-2049.
- Ishikawa, M., Soyano, T., Nishihama, R., & Machida, Y. 2002. The NPK1 mitogen-activated protein kinase kinase kinase contains a functional nuclear localization signal at the binding site for the NACK1 kinesin-like protein. *Plant J.* 32: 789-798.
- Ito, M. 2005. Conservation and diversification of three-repeat Myb transcription factors in plants. *J. Plant Res.* 118: 61-69.
- Jiang, W., Jimenez, G., Wells, N.J., Hope, T.J., Wahl, G.M., Hunter, T., & Fukunaga, R. 1998. PRC1: a human mitotic spindle-associated CDK substrate protein required for cytokinesis. *Mol. Cell* 2: 877-885.
- Kawabe, A., Matsunaga, S., Nakagawa, K., Kurihara, D., Yoneda, A., Hasezawa, S., Uchiyama, S., & Fukui, K. 2005. Characterization of plant Aurora kinases during mitosis. *Plant Mol. Biol.* 58: 1-13.
- Kosetsu, K., Matsunaga, S., Nakagami, H., Colcombet, J., Sasabe, M., Soyano, T., Takahashi, Y., Hirt, H., & Machida, Y. 2010. The MAP kinase MPK4 is required for cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 22: 3778-3790.
- Krysan, P.J., Jester, P.J., Gottwald, J.R., & Sussman, M.R. 2002. An Arabidopsis mitogen-activated protein kinase kinase kinase gene family encodes essential positive regulators of cytokinesis. *Plant Cell* 14: 1109-1120.
- Kurihara, D., Matsunaga, S., Kawabe, A., Fujimoto, S., Noda, M., Uchiyama, S., & Fukui, K. 2006. Aurora kinase is required for chromosome segregation in tobacco BY-2 cells. *Plant J.* 48: 572-580.
- Kurihara, D., Matsunaga, S., Uchiyama, S., & Fukui, K. 2008. Live cell imaging reveals plant aurora kinase has dual roles during mitosis. *Plant Cell Physiol.* 49: 1256-1261.
- Li, H., Sun, B., Sasabe, M., Deng, X., Machida, Y., Lin, H., Julie Lee, Y.R., & Liu, B. 2017. Arabidopsis MAP65-4 plays a role in phragmoplast microtubule organization and marks the cortical cell division site. *New Phytol.* 215: 187-201.
- Lin, F., Krishnamoorthy, P., Schubert, V., Hause, G., Heilmann, M., & Heilmann, I. 2019. A dual role for cell plate-associated PI4K β in endocytosis and phragmoplast dynamics during plant somatic cytokinesis. *EMBO J.* 38: e100303.

- Mishima, M., Kaitna, S., & Glotzer, M. 2002. Central spindle assembly and cytokinesis require a kinesin-like protein/RhoGAP complex with microtubule bundling activity. *Dev. Cell* 2: 41-54.
- Mishima, M., Pavicic, V., Grüneberg, U., Nigg, E.A., & Glotzer, M. 2004. Cell cycle regulation of central spindle assembly. *Nature* 430: 908-913.
- 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.
- 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. *Nat Commun.* 4:1967.
- Nishihama, R., Banno, H., Kawahara, E., Irie, K., & Machida, Y. 1997. Possible involvement of differential splicing in regulation of the activity of Arabidopsis ANP1 that is related to mitogen-activated protein kinase kinase kinases (MAPKKKs). *Plant J.* 12: 39-48.
- Nishihama, R., Ishikawa, M., Araki, S., Soyano, T., Asada, T., & Machida, Y. 2001. The NPK1 mitogen-activated protein kinase kinase kinase is a regulator of cell-plate formation in plant cytokinesis. *Genes Dev.* 15: 352-363.
- Nishihama, R., Soyano, T., Ishikawa, M., Araki, S., Tanaka, H., Asada, T., Irie, K., Ito, M., Terada, M., Banno, H., Yamazaki, Y., & Machida, Y. 2002. Expansion of the cell plate in plant cytokinesis requires a kinesin-like protein/MAPKKK complex. *Cell* 109: 87-99.
- Oh, S.A., Allen, T., Kim, G.J., Sidorova, A., Borg, M., Park, S.K., & Twell, D. 2012. Arabidopsis Fused kinase and the Kinesin-12 subfamily constitute a signalling module required for phragmoplast expansion. *Plant J.* 72: 308-319.
- Oh, S.A., Bourdon, V., Dickinson, H.G., Twell, D., & Park, S.K. 2014. Arabidopsis Fused kinase TWO-IN-ONE dominantly inhibits male meiotic cytokinesis. *Plant Reprod* 27: 7-17.
- Oh, S.A., Johnson, A., Smertenko, A., Rahman, D., Park, S.K., Hussey, P.J., & Twell, D. 2005. A divergent cellular role for the FUSED kinase family in the plant-specific cytokinetic phragmoplast. *Curr. Biol.* 15: 2107-2111.
- Pellman, D., Bagget, M., Tu, Y.H., Fink, G.R., & Tu, H. 1995. Two microtubule-associated proteins required for anaphase spindle movement in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.* 130: 1373-1385.
- Sasabe, M., Boudolf, V., De Veylder, L., Inzé, D., Genschik, P., & Machida, Y. 2011. Phosphorylation of a mitotic kinesin-like protein and a MAPKKK by cyclin-dependent kinases (CDKs) is involved in the transition to cytokinesis in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108: 17844-17849.
- Sasabe, M., Ishibashi, N., Haruta, T., Minami, A., Kurihara, D., Higashiyama, T., Nishihama, R., Ito, M., & Machida, Y. 2015. The carboxyl-terminal tail of the stalk of Arabidopsis NACK1/HINKEL kinesin is required for its localization to the cell plate formation site. *J. Plant Res.* 128: 327-336.
- Sasabe, M., Kosetsu, K., Hidaka, M., Murase, A., & Machida, Y. 2011. *Arabidopsis thaliana* MAP65-1 and MAP65-2 function redundantly with MAP65-3/PLEIADE in cytokinesis downstream of MPK4. *Plant Signal Behav* 6: 743-747.
- 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.
- Schuyler, S.C., Liu, J.Y., & Pellman, D. 2003. The molecular function of Ase1p: evidence for a MAP-dependent midzone-specific spindle matrix. Microtubule-associated proteins. *J. Cell Biol.* 160: 517-528.
- Smertenko, A., Assaad, F., Baluška, F., Bezanilla, M., Buschmann, H., Drakakaki, G., Hauser, M.T., Janson, M., Mineyuki, Y., Moore, I., Müller, S., Murata, T., Otegui, M.S., Panteris, E., Rasmussen, C., Schmit, A.C., Šamaj J, Samuels, L., Staehelin, L.A., Van Damme, D., Wasteneys, G., & Žárský V 2017. Plant Cytokinesis: Terminology for Structures and Processes. *Trends Cell Biol.* 27: 885-894.
- Smertenko, A. 2018. Phragmoplast expansion: the four-stroke engine that powers plant cytokinesis. *Curr. Opin. Plant Biol.* 46: 130-137.
- Smertenko, A.P., Chang, H.Y., Sonobe, S., Fenyk, S.I., Weingartner, M., Bögre, L., & Hussey, P.J. 2006. Control of the AtMAP65-1 interaction with microtubules through the cell cycle. *J. Cell. Sci.* 119: 3227-3237.
- Soyano, T., Nishihama, R., Morikiyo, K., Ishikawa, M., & Machida, Y. 2003. NQK1/NtMEK1 is a MAPKK that acts in the NPK1 MAPKKK-mediated MAPK cascade and is required for plant cytokinesis. *Genes Dev.* 17: 1055-1067.
- Steiner, A., Müller, L., Rybak, K., Vodermaier, V., Facher, E., Thellmann, M., Ravikumar, R., Wanner, G., Hauser, M.T., & Assaad, F.F. 2016. The Membrane-Associated Sec1/Munc18 KEULE is Required for Phragmoplast Microtubule Reorganization During Cytokinesis in Arabidopsis. *Mol Plant* 9: 528-540.
- Strompen, G., El Kasmi, F., Richter, S., Lukowitz, W., Assaad, F.F., Jürgens, G., & Mayer, U. 2002. The Arabidopsis HINKEL gene encodes a kinesin-related protein involved in cytokinesis and is expressed in a cell cycle-dependent manner. *Curr. Biol.* 12: 153-158.
- Suzuki, T., Matsushima, C., Nishimura, S., Higashiyama, T., Sasabe, M., & Machida, Y. 2016. Identification of Phosphoinositide-Binding Protein PATELLIN2 as a Substrate of Arabidopsis MPK4 MAP Kinase during Septum Formation in Cytokinesis. *Plant Cell Physiol.* 57: 1744-1755.
- Takahashi, Y., Soyano, T., Kosetsu, K., Sasabe, M., & Machida, Y. 2010. HINKEL kinesin, ANP MAPKKs and MKK6/ANQ MAPKK, which phosphorylates and activates MPK4 MAPK, constitute a pathway that is required for cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 51: 1766-1776.
- Tanaka, H., Ishikawa, M., Kitamura, S., Takahashi, Y., Soyano, T., Machida, C., & Machida, Y. 2004. The AtNACK1/HINKEL and STUD/TETRASPORE/AtNACK2 genes, which encode functionally redundant kinesins, are essential for cytokinesis in Arabidopsis. *Genes Cells* 9: 1199-1211.
- Verbrugghe, K.J., & White, J.G. 2004. SPD-1 is required for the formation of the spindle midzone but is not essential for the completion of cytokinesis in *C. elegans* embryos. *Curr. Biol.* 14: 1755-1760.
- Van Damme, D., Bouget, F.Y., Van Poucke, K., Inzé, D., & Geelen, D. 2004. Molecular dissection of plant cytokinesis and phragmoplast structure: a survey of GFP-tagged proteins. *Plant J.* 40: 386-398.

- Van Damme, D., De Rybel, B., Gudesblat, G., Demidov, D., Grunewald, W., De Smet, I., Houben, A., Beeckman, T., & Russinova, E. 2011. Arabidopsis α Aurora kinases function in formative cell division plane orientation. *Plant Cell* 23: 4013-4024.
- Willems, E., Dedobbeleer, M., Digregorio, M., Lombard, A., Lumapat, P.N., & Rogister, B. 2018. The functional diversity of Aurora kinases: a comprehensive review. *Cell Div* 13: 7.
- Yang, C.Y., Spielman, M., Coles, J.P., Li, Y., Ghelani, S., Bourdon, V., Brown, R.C., Lemmon, B.E., Scott, R.J., & Dickinson, H.G. 2003. TETRASPORE encodes a kinesin required for male meiotic cytokinesis in Arabidopsis. *Plant J.* 34: 229-240.
- Yasuhara, H., Sonobe, S., & Shibaoka, H. 1993. Effects of Taxol on the Development of the Cell Plate and of the Phragmoplast in Tobacco BY-2 Cells. *Plant Cell Physiol.* 34: 21-29.