

# 植物の微小管依存的な細胞内輸送機構

山田 萌恵

名古屋大学大学院理学研究科

〒464-8602 愛知県名古屋市千種区不老町

## Microtubule-dependent intracellular transport in plants

Moé Yamada

Graduate School of Science, Nagoya University

Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya, 464-8602, Japan

Key words: microtubule, kinesin, intracellular transport, nucleus, chloroplast

DOI: 10.24480/bsj-review.11b4.00186

### 1. はじめに

微小管やアクチンによって行われる細胞内輸送は、真核生物の細胞内で物質輸送を司る必須の生命機構である (Vale, 2003)。膜小胞や細胞小器官に留まらず、タンパク質やシグナル伝達物質などの細胞内構成成分が、細胞内輸送によって細胞内の特定領域へ適切に配置される。動物ではキネシンとダイニンによる微小管依存的な細胞内輸送機構の研究が精力的に行われてきた一方で、植物ではアクチンとミオシンによる原形質流動が主要な細胞内機構として重要視されてきた。しかしながら、植物にもキネシン遺伝子が多数存在しているにも関わらず、植物における微小管の細胞内輸送への寄与はあまり分かっていない。本稿では、基部陸上植物であるヒメツリガネゴケのオルガネラ輸送を例に取り、植物細胞における微小管依存的な細胞内輸送機構について紹介する。

### 2. 細胞内輸送を司る細胞骨格とモーター分子

細胞内輸送はアクチンと微小管、そしてこれら細胞骨格に付随するモータータンパク質によって駆動される (Vale, 2003)。モータータンパク質の非モーター領域が積み荷 (カーゴ) と結合し、モーター領域が細胞骨格上を移動することでカーゴの輸送が行われる。そして、特定のカーゴを輸送するモーターが欠損すると、細胞内でカーゴの分布異常や運搬異常が引き起こされる (Hall & Hedgecock, 1991; Tanaka *et al.*, 1998)。アクチン依存的な細胞内輸送を駆動するのはミオシンであり、特にミオシン V は小胞や液胞、微小管結合タンパク質など多様なカーゴを輸送する (Reck-Peterson *et al.*, 2000)。一方で、微小管依存的な細胞内輸送を駆動するのはキネシンと細胞質ダイニンであり、キネシンがプラス端方向性の輸送を、細胞質ダイニンがマイナス端方向性の輸送を遂行する。細胞はプラス端方向性とマイナス端方向性の 2 種類のモータータンパク質とカーゴとの結合様式を使い分けることで、両方向性の微小管依存的輸送を行っている (図 1)。

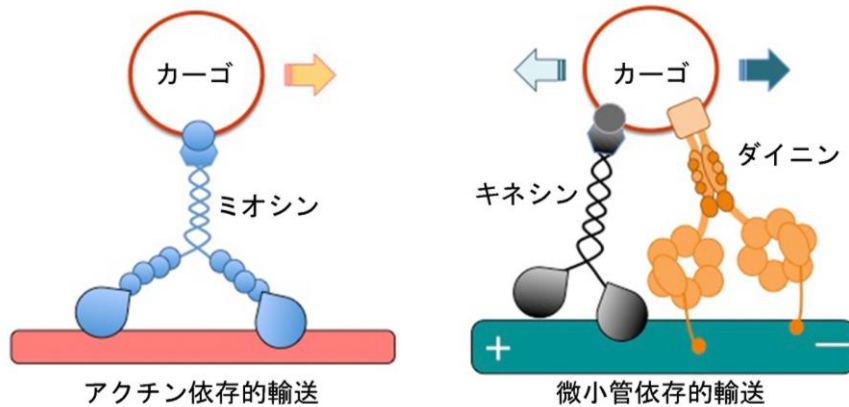


図 1. 細胞骨格とモーター分子による細胞内輸送のモデル

一般的に、植物では原形質流動が細胞内の長距離輸送を行う主要な駆動力だと考えられてきた (Shimmen & Yokota, 2004)。植物細胞の原形質流動はアクチンとミオシンによって推進され、小胞体やミトコンドリアといったカージョに結合したミオシンがアクチン上で滑り運動することで駆動力が生じる。陸上植物のミオシンは class VIII と class XI の二種に大別される。主に原形質流動を駆動するのは class XI ミオシンであり (Lee & Liu, 2004; Reddy & Day, 2001a), モデル植物であるシロイヌナズナには 13 種の class XI ミオシン遺伝子が存在する (Ryan & Nebenfuhr, 2018)。しかし、活発な原形質流動が観察されないヒメツリガネゴケに存在する 3 種の class XI ミオシン遺伝子は、原形質流動ではなく細胞の先端成長に寄与する (Vidali & Bezanilla, 2012; Vidali *et al.*, 2010)。

アクチンとミオシンによる細胞内輸送に比べると、微小管依存的な細胞内輸送に関する知見は乏しい。その理由として、原形質流動という速く強力な輸送システムによって、微小管の寄与が表面化されない可能性が指摘されている (Shimmen & Yokota, 2004)。しかし、シロイヌナズナには 61 種、ヒメツリガネゴケには 78 種のキネシン遺伝子が存在していることから、動物細胞内と同様の微小管依存的輸送機構が植物細胞内でも機能している可能性は十分考えられる (Lee & Liu, 2004; Reddy & Day, 2001b; Shen *et al.*, 2012)。そして、微小管依存的な輸送の存在を示唆する結果もいくつか報告されている。例えば、タバコ花粉管の抽出液を使った実験では、抽出液中の細胞小器官が微小管依存的に移動する様子が観察された (Romagnoli *et al.*, 2003)。また、ヒメツリガネゴケの葉緑体運動に関する実験から、光照射によって誘導される葉緑体運動が微小管依存的であることが示された (Sato *et al.*, 2001)。他にも、細胞壁構成成分を含む小胞の移動や、核、微小管断片の移動といった微小管依存的な動きが観察され、キネシンを含む微小管付随モーター分子の関与が示唆された (Cai & Cresti, 2012; Doonan *et al.*, 1986; Kong *et al.*, 2015; Miki *et al.*, 2015; Nakaoka *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2015)。しかしながら、どのキネシンモータータンパク質が何を輸送するかなど、その詳細な分子機構についてはよく分かっていない。

陸上植物の微小管依存的な輸送機構について考える上で、興味深い点として細胞質ダイニン遺伝子の消失が挙げられる。細胞質ダイニンは、動物や菌類における主要なマイナス端方向性モーターであり、DHC (Dynein heavy chain) と多数の相互作用因子によって構成

されるモーター分子である (Cianfrocco *et al.*, 2015; Hancock, 2014; Kardon & Vale, 2009)。動物では唯一のマイナス端方向性長距離輸送モーターとして、核やミトコンドリア、脂質小胞、エンドソーム、ペルオキシソーム、オートファゴソーム、mRNA 等、様々なカーゴを輸送する (Allan, 2011; Holt & Bullock, 2009)。また、モーター活性を利用したスピンドル配置制御や (Aniento *et al.*, 1993; Grill & Hyman, 2005; Kariki & Holzbaaur, 1999; Kiyomitsu, 2015; McNally, 2013)、微小管同士の架橋 (Ferenz *et al.*, 2009; Tanenbaum *et al.*, 2013) 等も行いう多機能タンパク質であるため、細胞質ダイニンは多くの生物種で必須遺伝子として機能している (Cianfrocco *et al.*, 2015)。ところが、ゲノム解析によって陸上植物では細胞質ダイニンをコードする遺伝子群のほとんどが失われていることが明らかになった (Lawrence *et al.*, 2001; Vale, 2003; Wickstead & Gull, 2007)。このことは、陸上植物の細胞内ではキネシンと細胞質ダイニンによる両方向性輸送が成立していないことを意味するが、植物がどのようにして細胞質ダイニンの消失を補償したのかは分かっていなかった。

### 3. ヒメツリガネゴケの核配置

近年、ヒメツリガネゴケにおけるキネシンの機能解析から、細胞内輸送に関与する 3 種のキネシンが同定された (図 2; Miki *et al.*, 2015; Yamada & Goshima, 2018; Yamada *et al.*, 2017)。ヒメツリガネゴケの原系体先端細胞は、一様な微小管配向を有しており、表現型からプラス端とマイナス端のどちらの輸送が異常なのかを推測できるため、細胞内輸送のモデルとして有用である (Hiwatashi *et al.*, 2014)。

細胞内の核配置は細胞の分化段階や細胞周期ごとに厳密に制御されており、均等な娘細胞を生じるためには正確な制御が必須である (Gundersen & Worman, 2013)。例えば、出芽酵母や分裂酵母で観察される細胞分裂直前の核の移動は、核と繋がった微小管のダイナミクスが生じる力によって駆動される (Adames & Cooper, 2000; Tran *et al.*, 2001; Zhao *et al.*, 2012)。また、シロイヌナズナのみオシン XI-i は SUN/WIP/WIT 複合体を介して核膜に結合し、根の細胞でアクチン依存的に核を運搬する (Tamura *et al.*, 2013)。このように、核の動きは細胞骨格を介した仕組みで制御されているが、一概に仕組みを規定することはできず、細胞種や発生段階によって多様である。

ヒメツリガネゴケの原系体細胞は、微小管依存的な仕組みで核配置を制御している (Doonan *et al.*, 1986)。核の配置は細胞周期に応じて変化し、間期の先端細胞では核は相対的な細胞の中心位置を維持しながら細胞の成長速度に合わせて先端側へと移動する (図 2)。染色体分配後に娘核は先端細胞の中心に向かって急速に移動した後、新生された細胞壁方向に少し移動する。その後、染色体分配直後と比べるとゆっくりとした速度で再び細胞の中心へと移動する (Miki *et al.*, 2015)。

植物特異的なプラス端方向性キネシンである Armadillo repeat-containing kinesin (ARK) を RNAi でノックダウンすると細胞分裂後に娘核は分裂面から一旦離れるものの、中心に移動することなく新生された細胞壁近傍まで戻ってくる (Miki *et al.*, 2015)。細胞壁近傍はマイナス端が集積する場所であり、ARK の欠損によりプラス端方向性の輸送が欠損したため、核がマイナス端側に移動したことを示唆する。また、ARK の表現型とは対照的に、キネシン 14 サブファミリーに属する *Kinesin with calponin homology domain (KCH)* の遺伝子破壊株で

は、細胞分裂後に細胞の中心まで輸送された核がその場に止まることなく細胞先端まで移動する (Yamada & Goshima, 2018)。キネシン 14 は他のプラス端方向性キネシンとは異なり、マイナス端方向性のモーター活性を示すことで特徴づけられる (Jonsson *et al.*, 2015)。KCH が ARK とは逆方向性のモーターであることと、両変異体の表現型が対照的であることから、ARK と KCH が拮抗して機能することで、間期の核配置を維持しているというモデルが考えられる (Wu *et al.*, 2018)。このことは同時に、細胞質ダイニンの代わりにキネシン 14 がマイナス端方向性の輸送を代替することで両方向性輸送が行われていることを示しており、植物がユニークな輸送機構を獲得したことを示唆している。

間期にはプラス端とマイナス端方向性キネシンによる両方向性の核配置制御が行われる一方で、分裂期には異なる制御機構が存在する。分裂期には紡錘体形成のために微小管が再構築され、細胞内の微小管極性が変化する (図 2)。微小管のプラス端が細胞分裂面に向けて配向し、細胞の中心に向かってマイナス端が配向する (図 2)。分裂期後期には姉妹染色分体/核は微小管のマイナス端が集積する細胞中心へと移動する。植物特異的なマイナス端方向性キネシン 14 である *Kinesin like calmodulin binding protein (KCBP)* の遺伝子破壊株では、染色体分離後の姉妹染色分体/核の移動が大幅に遅延する (Yamada *et al.*, 2017; Yoshida *et al.*, 2019)。染色体分離

後に KCBP が姉妹染色分体/核に強く局在することと、姉妹染色分体/核の輸送がマイナス端方向であることを考え合わせると、KCBP が染色体分離後に姉妹染色分体/核を輸送するモーターであることが示唆される。また、詳細な KCBP の局在解析から、

SUN1 (核膜と細胞骨格を架橋する LINC 複合体の構成因子) や CROWNa (植物の核ラミナ) に先んじて KCBP が局在することが示された (Chang *et al.*, 2015; Pradillo *et al.*, 2019; Yoshida *et al.*, 2019)。この結果は、KCBP が核膜再形成前の姉妹染色分体に結合し、輸送を行っていることを示唆しており、一般的に知られている LINC 複合体とは異なる結合様式で KCBP が輸送を担う可能性が高い。

#### 4. ヒメツリガネゴケの葉緑体輸送

葉緑体は光合成に必須な細胞小器官である。光合成効率を最適化するために葉緑体の配置も細胞内で制御されており、光の強弱によって葉緑体運動が誘導される。ヒメツリガネゴケの原糸体細胞では、アクチンと微小管の両細胞骨格が葉緑体運動に関与するが (Sato *et al.*, 2001), 微小管を介した分子機構についてはあまり分かっていなかった。興味深いことに、

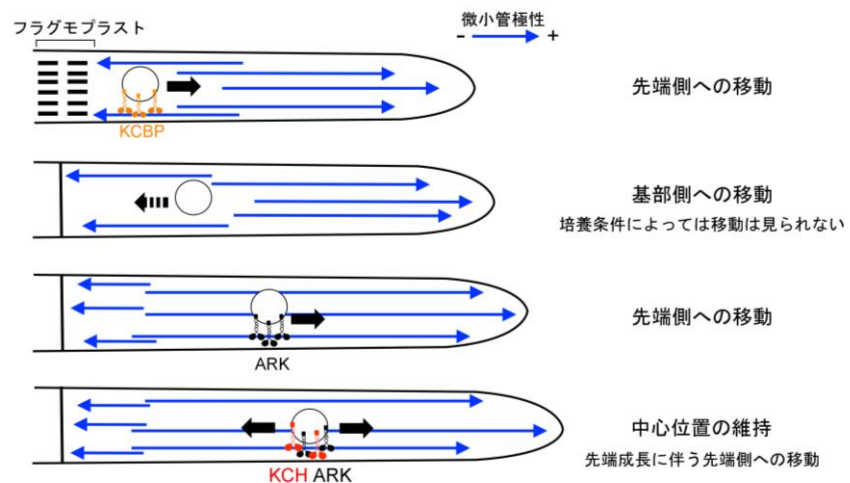


図 2. 細胞周期に伴う微小管極性の変化と核配置

*KCBP* 遺伝子破壊株では先端細胞の細胞先端で葉緑体の蓄積が認められる (Yamada *et al.*, 2017)。細胞先端では微小管のプラス端が集積することと、*KCBP* がマイナス端方向性のモーターであることから、*KCBP* が葉緑体をマイナス端方向へ輸送するモーターであることが分かる。そして、*KCBP* 遺伝子破壊株で、微小管のプラス端が集積する細胞先端で葉緑体の蓄積が観察されたことから、*KCBP* に拮抗して葉緑体を輸送するプラス端方向性モーターの存在が想定されるが、今のところ間期に葉緑体を輸送するプラス端方向性キネシンの報告はなされていない。

## 5. おわりに

逆遺伝学と細胞生物学を取り入れた近年の研究によって、アクチンとミオシンによる原形質流動が細胞内輸送の主要な駆動力だと考えられてきた植物においても、微小管依存的な細胞内輸送の存在が解明され始めた。表現型解析から輸送を司るモーター分子や輸送されるカーゴについての理解は深まりつつあるものの、輸送のルールとなる微小管の極性制御機構や、輸送モーターの活性制御、モーター分子とカーゴ間における相互作用の分子機構など、まだまだ未解明な部分も多い。今後、微小管依存的な輸送さらなる解析により、植物細胞内での輸送機構の全容解明が期待される。

## 6. 引用文献

- Adames, N.R., & Cooper, J.A. 2000. Microtubule interactions with the cell cortex causing nuclear movements in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol.* 149:863-874.
- Allan, V.J. 2011. Cytoplasmic dynein. *Biochemical Society transactions.* 39:1169-1178.
- Aniento, F., Emans, N., Griffiths, G., & Gruenberg, J. 1993. Cytoplasmic Dynein-dependent Vesicular Transport from Early to Late Endosomes. *J Cell Biol.*
- Cai, G., & Cresti, M. 2012. Are kinesins required for organelle trafficking in plant cells? *Front Plant Sci.* 3:170.
- Chang, W., Worman, H.J., & Gundersen, G.G. 2015. Accessorizing and anchoring the LINC complex for multifunctionality. *J Cell Biol.* 208:11-22.
- Cianfrocco, M.A., DeSantis, M.E., Leschziner, A.E., & Reck-Peterson, S.L. 2015. Mechanism and regulation of cytoplasmic dynein. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 31:83-108.
- Doonan, J.H., Jenkins, G.I., Cove, D.J., & Lloyd, C.W. 1986. Microtubules connect the migrating nucleus to the prospective division site during side branch formation in the moss *Physcomitrella patens*. *Eur J Cell Biol.* 41:157-164.
- Ferenz, N.P., Paul, R., Fagerstrom, C., Mogilner, A., & Wadsworth, P. 2009. Dynein antagonizes eg5 by crosslinking and sliding antiparallel microtubules. *Curr Biol.* 19:1833-1838.
- Grill, S.W., & Hyman, A.A. 2005. Spindle positioning by cortical pulling forces. *Dev Cell.* 8:461-465.
- Gundersen, G.G., & Worman, H.J. 2013. Nuclear positioning. *Cell.* 152:1376-1389.
- Hall, D.H., & Hedgecock, E.M., 1991. Kinesin-related gene *unc-104* is required for axonal transport of synaptic vesicles in *C. elegans*. *Cell.* 65:837-847.

- Hancock, W.O. 2014. Bidirectional cargo transport: moving beyond tug of war. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 15:615-628.
- Hiwatashi, Y., Sato, Y., & Doonan, J.H. 2014. Kinesins have a dual function in organizing microtubules during both tip growth and cytokinesis in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell.* 26:1256-1266.
- Holt, C.E., & Bullock, S.L. 2009. Subcellular mRNA localization in animal cells and why it matters. *Science.* 326:1212-1216.
- Jonsson, E., Yamada, M., Vale, R.D., & Goshima, G. 2015. Clustering of a kinesin-14 motor enables processive retrograde microtubule-based transport in plants. *Nat Plants.* 1.
- Kardon, J.R., & Vale, R.D. 2009. Regulators of the cytoplasmic dynein motor. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 10:854-865.
- Kariki, S., & Holzbaur, E.L. 1999. Cytoplasmic dynein and dynactin in cell division and intracellular transport. *Curr Opin Cell Biol.*
- Kiyomitsu, T. 2015. Mechanisms of daughter cell-size control during cell division. *Trends Cell Biol.* 25:286-295.
- Kong, Z., Ioki, M., Braybrook, S., Li, S., Ye, Z.H., Julie Lee, Y.R., Hotta, T., Chang, A., Tian, J., Wang, G., & Liu, B. 2015. Kinesin-4 Functions in Vesicular Transport on Cortical Microtubules and Regulates Cell Wall Mechanics during Cell Elongation in Plants. *Mol Plant.* 8:1011-1023.
- Lawrence, C.J., Morris, N.R., Meagher, R.B., & Dawe, R.K. 2001. Dyneins have run their course in plant lineage. *Traffic.* 2:362-363.
- Lee, Y.R., & Liu, B. 2004. Cytoskeletal motors in Arabidopsis. Sixty-one kinesins and seventeen myosins. *Plant Physiol.* 136:3877-3883.
- McNally, F.J. 2013. Mechanisms of spindle positioning. *J Cell Biol.* 200:131-140.
- Miki, T., Nishina, M., & Goshima, G. 2015. RNAi screening identifies the armadillo repeat-containing kinesins responsible for microtubule-dependent nuclear positioning in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell Physiol.* 56:737-749.
- Nakaoka, Y., Kimura, A., Tani, T., & Goshima, G. 2015. Cytoplasmic nucleation and atypical branching nucleation generate endoplasmic microtubules in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell.* 27:228-242.
- Pradillo, M., Evans, D., & Graumann, K. 2019. The nuclear envelope in higher plant mitosis and meiosis. *Nucleus.* 10:55-66.
- Reck-Peterson, S.L., Provance, D.W., Jr., Mooseker, M.S., & Mercer, J.A. 2000. Class V myosins. *Biochim Biophys Acta.* 1496:36-51.
- Reddy, A.S., & Day, I.S. 2001a. Analysis of the myosins encoded in the recently completed *Arabidopsis thaliana* genome sequence. *Genome Biol.* 2:Research0024.
- Reddy, A.S., & Day, I.S. 2001b. Kinesins in the Arabidopsis genome: a comparative analysis among eukaryotes. *BMC Genomics.* 2:2.
- Romagnoli, S., Cai, G., & Cresti, M. 2003. In vitro assays demonstrate that pollen tube organelles use kinesin-related motor proteins to move along microtubules. *Plant Cell.* 15:251-269.

- Ryan, J.M., & Nebenführ, A. 2018. Update on Myosin Motors: Molecular Mechanisms and Physiological Functions. *Plant Physiol.* 176:119-127.
- Sato, Y., Wada, M., & Kadota, A. 2001. Choice of tracks, microtubules and/or actin filaments for chloroplast photo-movement is differentially controlled by phytochrome and a blue light receptor. *J Cell Sci.* 114:269-279.
- Shen, Z., Collatos, A.R., Bibeau, J.P., Furt, F., & Vidali, L. 2012. Phylogenetic analysis of the Kinesin superfamily from *Physcomitrella*. *Front Plant Sci.* 3:230.
- Shimmen, T., & Yokota, E. 2004. Cytoplasmic streaming in plants. *Curr Opin Cell Biol.* 16:68-72.
- Tamura, K., Iwabuchi, K., Fukao, Y., Kondo, M., Okamoto, K., Ueda, H., Nishimura, M., & Hara-Nishimura, I. 2013. Myosin XI-i links the nuclear membrane to the cytoskeleton to control nuclear movement and shape in *Arabidopsis*. *Curr Biol.* 23:1776-1781.
- Tanaka, Y., Kanai, Y., Okada, Y., Nonaka, S., Takeda, S., Harada, A., & Hirokawa, N. 1998. Targeted disruption of mouse conventional kinesin heavy chain, kif5B, results in abnormal perinuclear clustering of mitochondria. *Cell.* 93:1147-1158.
- Tanenbaum, M.E., Vale, R.D., & McKenney, R.J. 2013. Cytoplasmic dynein crosslinks and slides anti-parallel microtubules using its two motor domains. *Elife.* 2:e00943.
- Tran, P.T., Marsh, L., Doye, V., Inoué, S., & Chang, F. 2001. A mechanism for nuclear positioning in fission yeast based on microtubule pushing. *J Cell Biol.* 153:397-411.
- Vale, R.D. 2003. The molecular motor toolbox for intracellular transport. *Cell.* 112:467-480.
- Vidali, L., & Bezanilla, M. 2012. *Physcomitrella patens*: a model for tip cell growth and differentiation. *Current Opinion in Plant Biology.* 15:625-631.
- Vidali, L., Burkart, G.M., Augustine, R.C., Kerdavid, E., Tüzel, E., & Bezanilla, M. 2010. Myosin XI is essential for tip growth in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell.* 22:1868-1882.
- Wickstead, B., & Gull, K. 2007. Dyneins across eukaryotes: a comparative genomic analysis. *Traffic.* 8:1708-1721.
- Wu, S.Z., Yamada, M., Mallett, D.R., & Bezanilla, M. 2018. Cytoskeletal discoveries in the plant lineage using the moss *Physcomitrella patens*. *Biophys Rev.*
- Yamada, M., & Goshima, G. 2018. The KCH Kinesin Drives Nuclear Transport and Cytoskeletal Coalescence to Promote Tip Cell Growth in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell.* 30:1496-1510.
- Yamada, M., Tanaka-Takiguchi, Y., Hayashi, M., Nishina, M., & Goshima, G. 2017. Multiple kinesin-14 family members drive microtubule minus end-directed transport in plant cells. *The Journal of Cell Biology.* 216:1705-1714.
- Yoshida, M.W., Yamada, M., & Goshima, G. 2019. Moss Kinesin-14 KCBP Accelerates Chromatid Motility in Anaphase. *Cell Struct Funct.* 44:95-104.
- Zhao, T., Graham, O.S., Raposo, A., & St Johnston, D. 2012. Growing microtubules push the oocyte nucleus to polarize the *Drosophila* dorsal-ventral axis. *Science.* 336:999-1003.
- Zhu, C., Ganguly, A., Baskin, T.I., McClosky, D.D., Anderson, C.T., Foster, C., Meunier, K.A., Okamoto, R., Berg, H., & Dixit, R. 2015. The fragile Fiber1 kinesin contributes to cortical microtubule-mediated trafficking of cell wall components. *Plant Physiol.* 167:780-792.