

ヒメツリガネゴケ微小管関連因子から探る植物細胞の分裂と伸長の制御

日渡 祐二

宮城大学・食産業学群

〒982-0215 仙台市太白区旗立 2-2-1

Regulation of cell division and expansion mediated by microtubule associated proteins in the moss *Physcomitrella patens*

Yuji Hiwatashi

School of Food Industrial Sciences, Miyagi University, 2-2-1 Hatatate,
Taihaku-ku, Sendai 982-0215, JapanKey words: moss, *Physcomitrella patens*, cell division, cell expansion,
microtubule-associated protein

DOI: 10.24480/bsj-review.11b5.00187

1. はじめに

植物の細胞は動物細胞とは異なり、硬い細胞壁を持っているため、動物細胞のように移動する能力がない。そのため、細胞分裂によって生じた娘細胞は、分裂が生じた位置に存在し続ける。細胞が分裂した後、細胞の体積は伸長を介して大きくなるので、細胞がどのように分裂し、どのように体積が拡大するか依存して、植物個体の形は決まってくる。従って、植物の形づくりの理解には、細胞の分裂と伸長のしくみを解明することが不可欠である。さらに、道端に自生している植物をざっと眺めてみると、さまざまな形をもつ植物が存在していることがわかるはずである。このような植物の複雑な形は、それぞれの植物の形づくりの過程で細胞の分裂や伸長が時空間的に組み合わさることにより、出来上がる。陸上植物の形の多様化を考える際にも、植物種ごとに細胞の分裂や伸長の仕方を見出していくことが重要である。

微小管は細胞の分裂や伸長の進行に不可欠で、これらの過程で特徴的な微小管構造体を形成する。例えば、被子植物の体細胞では、細胞周期の各過程で、表層微小管、分裂準備帯 (Preprophase band: PPB)、スピンドル (紡錘体)、フラグモプラスト (隔膜形成体) といった、異なった微小管構造体を形成する (図1)。

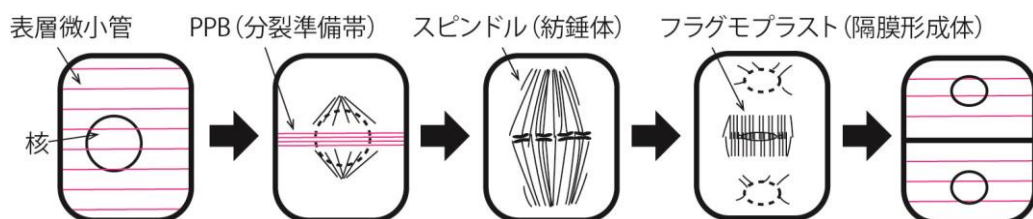


図1. 植物細胞の分裂過程の微小管構造体の模式図

表層微小管は、細胞表層付近の細胞質に張り巡らされた微小管である。この微小管はある方向性を持って配向することで細胞の伸長方向を規定する役割を持つ (Fishel and Dixit, 2013)。例えば、素早く伸長する細胞では、伸長軸に対して垂直方向へ平行に配向した表層微小管が重要であることがわかっている。PPB は、将来の細胞質分裂面に局在し、分裂面を規定する微小管である。PPB は、G₂ 期に核を囲むように環状に形成される表層微小管の束であり、前中期には核膜崩壊と同時に消失する。また、PPB はスピンドルの空間的位置や、フラグモプラストによる細胞分裂面の形成位置に関与することが知られている。従って、植物細胞の表層微小管の配向制御機構は、細胞の伸長と形態形成の制御系として、また PPB は、分裂面制御系として重要である。スピンドルとフラグモプラストは、M 期で構築される微小管構造体で、スピンドルは染色体を娘細胞に分配する役割を持ち、フラグモプラストは細胞質を二分する細胞板形成の足場として機能する (de Keijzer *et al.* 2014)。スピンドルが「核分裂装置」とすれば、フラグモプラストは「細胞質分裂装置」である。陸上植物の細胞質分裂は、後生動物の細胞質分裂とは細胞の仕切れ方が異なっている。後生動物では、細胞分裂面に収縮環とよばれる構造体が形成され、細胞の外側から内側に向かって「求心的」に細胞質が括れ切られる。一方、陸上植物では、細胞内部にてスピンドルがあった位置にフラグモプラストが形成され、この構造体が細胞の内側から外側へ拡大することで、細胞板が「遠心的」に拡大し細胞質が仕切られる。

これらの微小管構造体の形成や維持には、どのような制御機構がはたらくのだろうか？制御機構解明のアプローチとして、微小管関連因子に着目した解析が考えられる。微小管関連因子は微小管に共局在する因子で、微小管に直接的あるいは間接的に作用することによって、微小管構造体の形成や維持に機能する (Hamada 2014)。モデル被子植物であるシロイヌナズナを材料とした研究から、様々な微小管関連因子が見出されており、これらの因子は真核生物に共通にみられるものから、被子植物といった分類群にだけ存在するものまで、様々な種類の因子が同定されている。筆者らのグループは、陸上植物における細胞の分裂と伸長制御の共通基盤を明らかにするために、基部陸上植物ヒメツリガネゴケの細胞分裂や細胞伸長に対する微小管関連因子群の機能解析を行っている。本稿では、ヒメツリガネゴケの配偶体の分裂と伸長の実験系を紹介するとともに、微小管関連因子の機能解析の結果に基づいて、陸上植物の細胞分裂や細胞伸長に対する微小管制御の共通性と多様化について論じる。

2. ヒメツリガネゴケの細胞分裂と細胞伸長の解析系：原糸体と茎葉体

ヒメツリガネゴケでは、胞子が発芽すると原糸体と呼ばれる糸状構造の組織が形成される (図 2)。原糸体はクロロネマ細胞 (図 2b) とカウロネマ細胞 (図 2c) と呼ばれる 2 種類の細胞からなる。クロロネマ細胞は、胞子発芽後の原糸体細胞で、糸状組織の頂端に位置するクロロネマ頂端幹細胞が先端成長と細胞分裂することにより、クロロネマ組織を生み出す (Kofuji & Hasebe 2014)。その後、クロロネマ頂端幹細胞は、カウロネマ頂端幹細胞へと分化する。カウロネマ頂端幹細胞は、クロロネマ頂端幹細胞と同様に、先端成長と細胞分裂を行うことにより、カウロネマ組織からなる原糸体が形成される。これらの頂端幹細胞の細

胞分裂は細胞内のほぼ一定の位置で起こり、分裂面は細胞短軸方向に生じる。特に、カウロネマ頂端幹細胞は、クロロネマ頂端幹細胞に比べて、細胞周期が短く伸長速度が速いため、細胞の分裂や伸長を解析する対象として適している。クロロネマ細胞、カウロネマ細胞ともに基部側の細胞において頂端側の隔壁近傍で分裂が起こり、側枝始原細胞 (図 2d) が形成される。カウロネマ細胞の側枝始原細胞は主にクロロネマ頂端幹細胞 (図 2e) か、または茎葉体頂端幹細胞 (図 2g) となる。クロロネマ頂端幹細胞の場合は、先端成長と細胞分裂を繰り返し、2 次元的な原糸体組織 (図 2f) が形成される。一方、茎葉体頂端幹細胞は拡散成長しながら、3 面の分裂面となるような細胞分裂を行い、3 次元的な茎葉構造 (図 2h) を生み出す。また、茎葉体頂端幹細胞の分裂により生じた細胞の一部から葉頂端幹細胞が形成され、2 面の分裂面となる細胞分裂を行って、葉が形成される (Kofuji & Hasebe 2014)。

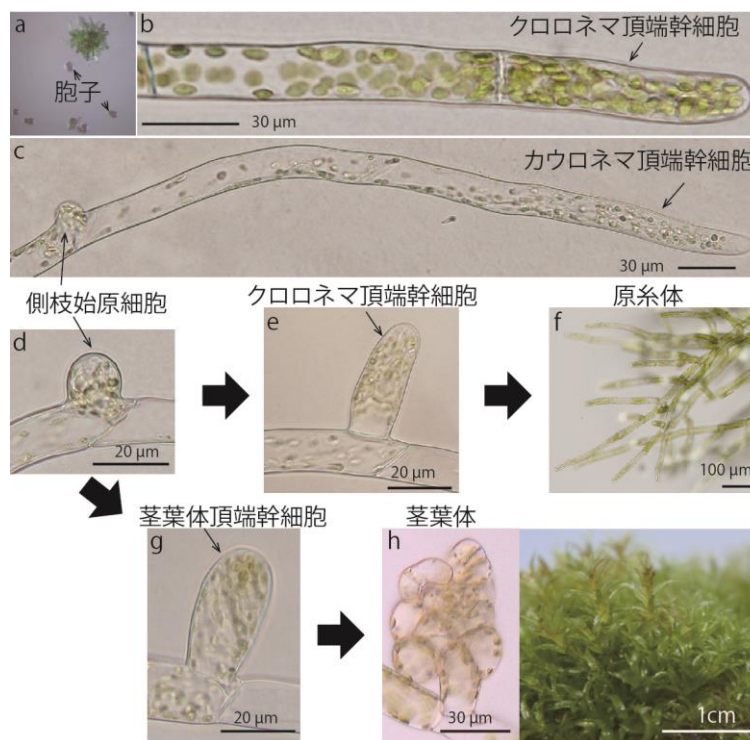


図 2. ヒメツリガネゴケの孢子発芽からの原糸体と茎葉体

ヒメツリガネゴケの原糸体や茎葉体の細胞分裂や細胞伸長において、微小管はどのように組織化されているだろうか？原糸体頂端幹細胞では細胞長軸に沿って微小管が配向している。この微小管は被子植物でみられる表層微小管とは異なり、細胞内部に存在する細胞質微小管 (endoplasmic microtubules) である (Nakaoka *et al.* 2015)。原糸体頂端幹細胞の伸長領域中央部には、微小管の重合端 (プラス端) が集合した微小管束 (MT foci) が形成される。この構造体は伸長速度が速いカウロネマ頂端幹細胞 (図 2c) で顕著にみられ、先端成長の方向性の制御に関与する (Hiwatashi *et al.* 2014)。また原糸体頂端幹細胞の分裂では、被子植物の体細胞でみられる PPB が形成されない (Doonan *et al.* 1987)。一方、茎葉体の微小管の組織化は原糸体とは大きく異なっている。側枝始原細胞から形成される初期の茎葉体 (図 2g) には表層微小管はない。また、分裂期の細胞には PPB は形成されず、分裂前期に

頂端側にガメトソーム (gametosome) と呼ばれる雲状の微小管構造体が形成される。このガメトソームが微小管形成中心となり、細胞分裂面の決定に関与する。茎葉体の発生が進み、茎が作られる茎葉体 (図 2h) になると、間期の細胞には表層微小管が観察されるとともに、分裂期の細胞ではガメトソームおよび PPB が形成される (Doonan *et al.* 1987, Spinner *et al.* 2010, Kosetsu *et al.*, 2017)。なお、ガメトソームが形成される一方、PPB が形成されない細胞もあり、ガメトソームと PPB は独立に機能しているようである (Kosetsu *et al.*, 2017)。以上のように、原糸体と茎葉体では細胞分裂や細胞伸長の様式が異なり、またそれぞれの細胞において微小管の組織化の様相も違っている。

3. 細胞分裂面決定に関与する PP2A 制御因子 FASS によるヒメツリガネゴケ茎葉体細胞の分裂と伸長の制御

FASS は Protein phosphatase 2A (PP2A) 調節サブユニットで、シロイヌナズナの *fass* 変異体から同定された。この *fass* 変異体では植物体がきわめて矮性になり、PPB が形成されず細胞分裂面のランダム化が生じる (Torres-Ruiz & Jurgens 1994, Camilleri *et al.* 2002)。また、FASS をコードする遺伝子は、シロイヌナズナ、イネ、イヌカタヒバ、ヒメツリガネゴケに 1 つずつオーソログが存在する (Banks *et al.* 2011)。シロイヌナズナ FASS は、他の PP2A サブユニットに加えて TON1 や TRM (TON1-recruiting motif protein) とともにタンパク質複合体 TTP (TON1/TRM/PP2A) を形成し、細胞分裂の分裂面制御に機能している

(Spinner *et al.* 2013)。ヒメツリガネゴケでは、TON1 のオーソログ PpTON1 を遺伝子破壊すると茎葉体が矮化し、茎葉体の細胞分裂において PPB が形成されなくなり、またシロイヌナズナ *TON1* 遺伝子をヒメツリガネゴケの *ppton1* 遺伝子破壊系統に発現させると、これらの表現型が相補される (Spinner *et al.* 2010, Kosetsu *et al.* 2017)。我々もヒメツリガネゴケにおいて FASS の機能を欠失させたところ、PpTON1 の遺伝子破壊体と同様に、茎葉体が矮化し、細胞分裂で PPB が形成されないことがわかった。これらの結果は、TTP を構成するサブユニットの機能が、シロイヌナズナとヒメツリガネゴケにおいて保存されていることを示している。さらに、ヒメツリガネゴケの茎葉体において TTP 複合体が形成され、細胞分裂面を制御する可能性も考えられる。

ヒメツリガネゴケ FASS の遺伝子欠失体では、茎葉体細胞の表層微小管が異常になり、短い微小管がランダムに存在する (図 3)。従って、分裂期のみならず間期の微小管制御にも関与している。シロイヌナズナ *fass* 変異体では間期の表層微小管の分枝が乱れ、細胞形態が異常となることから (Kirik *et al.* 2012)、ヒメツリガネゴケとシロイヌナズナで FASS は表層微小管にも作用し、細胞伸長に関与するようである。

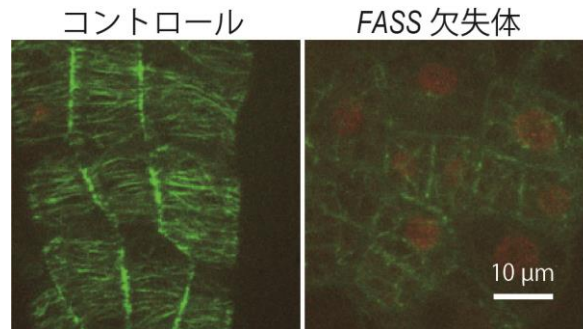


図3. ヒメツリガネゴケ FASS の機能欠失体の茎葉体細胞の間期微小管。微小管と DNA が緑色、赤色で示されている。コントロールでは表層微小管が見られるのに対して、欠失体は短い微小管が検出される。

4. 植物特異的キネシン KINID1a と KINID1b による原系体細胞の分裂と伸長の制御

植物特異的なキネシン KINID1a は原系体や茎葉体の分裂細胞で発現するタンパク質としてジーントラップ法で同定された分子モーターである (Hiwatashi *et al.* 2001, Hiwatashi *et al.* 2008)。キネシンは真核生物に分布する微小管依存的な分子モーターで、遺伝子の系統解析により、複数のサブファミリーに分類されている (Shen *et al.* 2012)。KINID1a と KINID1a 類似タンパク質 KINID1b (以下、KINID1a と KINID1b を合わせて KINID1a/1b とする) はどのサブファミリーにも属さず、植物特異的なグループ (以下、KINID1a/1b キネシングループとする) を形成する。原系体頂端幹細胞の分裂に対する KINID1a/1b の機能を調べたところ、KINID1a/1b はフラグモプラスト赤道面で微小管重合端を架橋することで、細胞質分裂の進行を制御することがわかった (Hiwatashi *et al.* 2008)。さらに、先端成長の伸長領域では、KINID1a/1b が微小管重合端を架橋することで微小管束を維持し、先端成長の方向性制御に関与することが明らかになった (Hiwatashi *et al.* 2014)。このことは、KINID1a/1b が細胞質分裂と先端成長を同時に調節する微小管制御因子であることを示している (図4)。

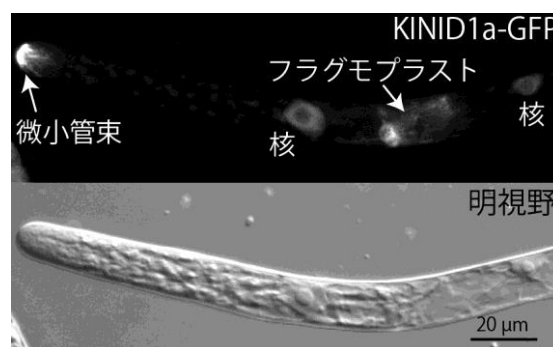


図4. カウロネマ頂端幹細胞における KINID1a-GFP の細胞内局在

細胞質分裂と先端成長は細胞の異なる場所に起こる現象であることから、KINID1a/1b は、それぞれフラグモプラストと微小管束にリクルートされて微小管重合端に作用しなければならない。KINID1a/1b は核局在シグナルを有し、核にも蓄積する (図4)。蛍光タンパク質 (FP) を用いたライブイメージング解析によって、KINID1a/1b が核膜崩壊後にスピンド

ル形成に伴ってスピンドル赤道面に局在後、フラグモプラスト赤道面に蓄積することが示された (Hiwatashi *et al.*, 2008)。そのため、フラグモプラストへのリクルートはタンパク質レベルでの移動である可能性が高い。一方、伸長領域の微小管束へのリクルートについては、FP でラベルした KINID1a の解析では細胞質から微小管束への移動が検出できないこと、FP を融合した KINID1a において 5'UTR を欠失した mRNA を発現させると FP 融合 KINID1a はフラグモプラストには蓄積するが、微小管束には蓄積しないことから、タンパク質の移動と異なるメカニズムによる可能性がある。神経細胞では mRNA の長距離移動と局所的翻訳によるタンパク質の局在化メカニズムが知られている (Bramham & Wells 2007)。KINID1a/1b のリクルートは、伸長領域への mRNA の移動と局所的翻訳によるのかもしれない。Dendra2 のような光変換タンパク質によって KINID1a/1b の移動を詳細に解析すれば (Kitagawa & Fujita 2013)、局在化のメカニズムの一端を明らかにできると考えられる。

シロイヌナズナ PAKRP2 は KINID1a/1b キネシングループのオーソログで、ゲノムに 1 遺伝子のみ存在する (Lee *et al.* 2001)。PAKRP2 はフラグモプラストにドット状に蓄積することから、細胞板形成のための小胞を輸送する機能が提唱されている (Lee *et al.* 2001, Gicking *et al.* 2019)。また、ヒメツリガネゴケでは、PAKRP2 は KINID1a/1b の機能を代替できないことから (Hiwatashi *et al.* 2008)、KINID1a/1b キネシングループの機能はコケ植物と被子植物で異なっている可能性が高い。それでは、KINID1a/1b キネシングループの祖先的な機能は、微小管架橋あるいは小胞輸送のどちらであろうか？KINID1a/1b キネシングループの祖先的な機能は、陸上植物に近縁な緑藻を用いて解析すれば推定できるかもしれない。実際にシャジクモ (*Chara braunii*) のゲノム (Nishiyama *et al.* 2018) には、KINID1a/1b のオーソログが存在する。細胞分裂や細胞伸長に対するシャジクモオーソログの機能解析は、この植物特異的なキネシングループの祖先的機能を理解する上で興味深いと考えられる。

5. 微小管依存的微小管生成タンパク質複合体オーグミンによる細胞分裂制御

微小管は、微小管形成中心体 (microtubule-organizing center: MTOC) と呼ばれる構造から形成される。MTOC では、 γ -tubulin リング複合体 (γ -tubulin ring complex: γ TuRC) が微小管重合の核となり、 γ TuRC を起点として微小管が形成される。動物細胞では中心体が主要な MTOC として機能し、中心体に存在する γ TuRC から微小管が形成される。一方、陸上植物の体細胞では中心体が存在しないため、微小管形成を担う分子メカニズムは動物細胞に比べて不明な点が多い (Hashimoto 2013)。

近年、既存の微小管上から微小管が形成されることが報告され (Murata *et al.* 2005)、この微小管依存的微小管形成に動物および植物細胞に共通なタンパク質複合体オーグミンが機能することが明らかになった (Goshima *et al.* 2008, Petry *et al.* 2011, Nakaoka *et al.* 2012)。オーグミンは微小管に結合するタンパク質複合体で、微小管重合の核となる γ TuRC をリクルートして新規の微小管形成を促進する。オーグミン複合体は 8 種類のサブユニットで構成されており、それぞれのサブユニットの機能解析が進んでいる。ヒメツリガネゴケにおいても、オーグミンサブユニット AUG3 の機能解析が行われ、フラグモプラスト微小管生成にオーグミンが機能することがわかった (Nakaoka *et al.* 2012)。分裂後期の動物細胞でも、

細胞質分裂に生じる中央スピンドルの微小管生成にオーグミンが作用することから、細胞質分裂の微小管生成に対するオーグミンの機能は動植物で保存されていると言える。8種類のオーグミンサブユニットのうち、AUG1からAUG4、かつAUG7はヒメツリガネゴケゲノムに1種類、AUG5は3種類、AUG6は2種類の遺伝子が存在する。AUG8の遺伝子は4種類であり、サブユニットの中では最も遺伝子数が多い(図5)。AUG8をコードする遺伝子数の増加は被子植物で顕著であり、例えばシロイヌナズナにおいて、AUG1からAUG7まではゲノムに1遺伝子しか存在しないが、AUG8には10種類のパラログな遺伝子が認められる(図5)。また、AUG8のアミノ酸配列は動物のAUG8と類似性がみられず、植物特異的な配列である。

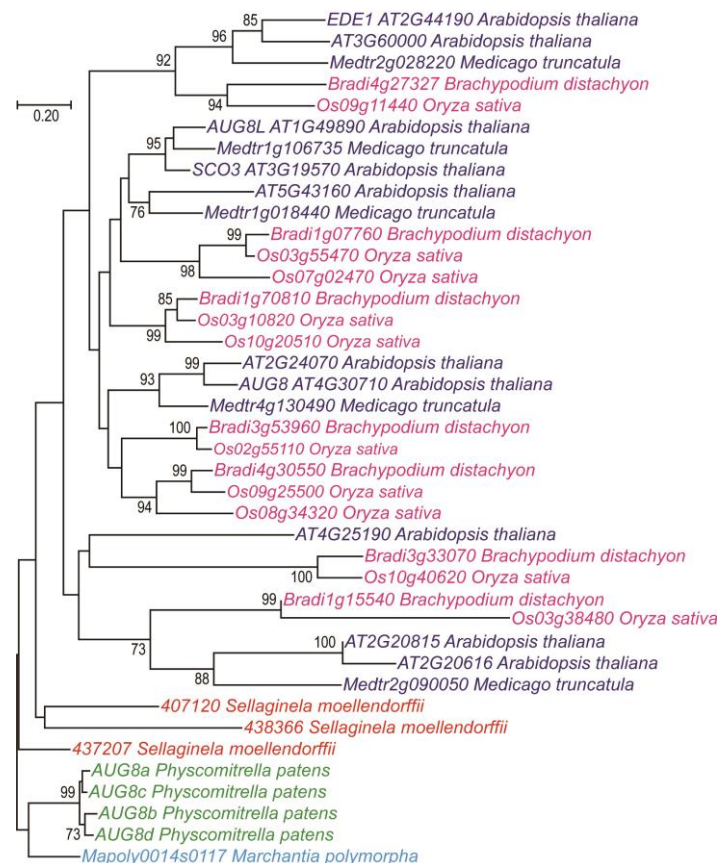


図5. 近隣結合法による陸上植物オーグミンサブユニットAUG8の遺伝子系統解析。ブートストラップ値が70%以上の場合のみ枝上に示してある。

シロイヌナズナAUG8のうち、EDE1(AT2G44190)はスピンドルとフラグモプラストの微小管の組織化に関与する。このEDE1の機能は、パラログの1つであるAUG8

(AT4G30710)では代替できないことから、分裂期のオーグミンの機能はEDE1に依存することが示唆される(Lee *et al.* 2017)。EDE1の機能を完全に欠失した変異体は分裂異常を示し致死になるが(Pignocchi *et al.* 2009)、AUG8の機能欠失変異体は分裂や成長に異常は見られない(Lee *et al.* 2017)。このことも分裂期特異的なEDE1の機能を支持している。また、別なパラログのSCO3は、間期の細胞で微小管とペルオキシソームにターゲットし葉緑体の発達に関与する(Albrecht *et al.* 2010)。これらの結果から、シロイヌナズナのAUG8

は遺伝子数の増加に伴って、分裂期や間期で特異的に作用するように、それぞれの AUG8 機能が多様化している可能性が考えられる。AUG8 には微小管結合ドメインを有するため、オーグミンは AUG8 を介して微小管に結合することが示唆されている (Nakaoka *et al.* 2012, Lee *et al.* 2017)。従って、細胞周期に応じてオーグミンを構成する AUG8 サブユニットが変わり、オーグミンの微小管結合性を時空間的に制御しているのかもしれない。

ヒメツリガネゴケの 4 種類の AUG8 (AUG8a, AUG8b, AUG8c, AUG8d) の機能が、シロイヌナズナ AUG8 のように多様化しているかを明らかにするために、それぞれの遺伝子欠失体を作成した。それぞれの遺伝子を欠失させた一重欠失体、遺伝子を組み合わせた二重欠失体は正常な原系体および茎葉体を形成し、野生型と同様な形態を示した (図 6)。さらに三重欠失体を作成すると、AUG8a, AUG8b, AUG8d の組合せ、また AUG8b, AUG8c, AUG8d の組合せでは欠失体が得られなかった。これらの遺伝子の組み合わせでは、原系体が致死になる可能性を示している。また、AUG8a, AUG8c, AUG8d の組合せでの欠失体では、微小管脱重合剤依存的に原系体先端成長の伸長速度が低下し、これらの AUG8 は先端成長の伸長に関与することがわかった。従って、ヒメツリガネゴケの AUG8 の機能は重複しているものの、4 種類の AUG8 の間で機能に対する寄与度が違っているようである。今後は AUG8 の条件的機能阻害実験から、分裂や伸長における微小管への作用を解析することが必要である。

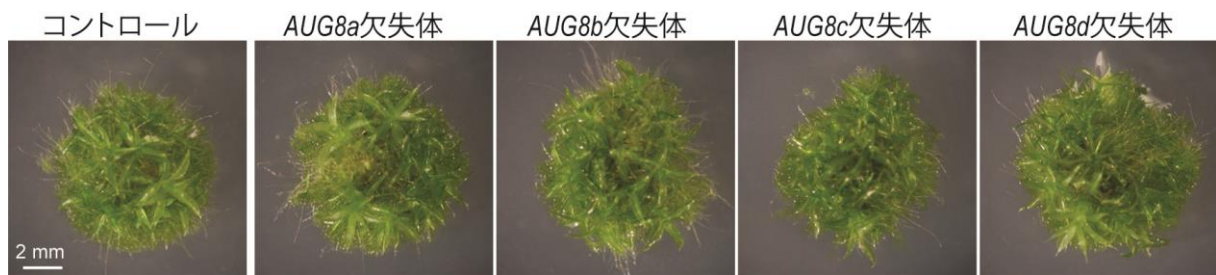


図 6. ヒメツリガネゴケ AUG8 の一重遺伝子欠失体の植物体

ヒメツリガネゴケ AUG8 でも示唆されたように、AUG8 は分裂で機能するが、どのパラログが分裂期の微小管に作用するのかは特定されていないことが多く、分裂期のパラログの特徴や普遍性はわかっていない。それぞれの植物種で AUG8 パラログの詳細な機能解析を行うことによって、分裂期の微小管に対してどのパラログが機能を持つかわかるはずである。また、間期での AUG8 の機能についても、AUG8 を介した細胞伸長の制御機構を解析することにより、どのパラログが間期の微小管に対してどのような機能を持つか、知見が得られだろう。コケ植物と被子植物の AUG8 パラログの機能解明は、微小管関連因子の遺伝子数増加と微小管制御の関連性を考える上で、モデル的な研究になると思われる。

6. おわりに

ヒメツリガネゴケの原系体や茎葉体は、細胞分裂や細胞伸長に対する微小管制御の解析が容易であるため、これらの微小管関連因子の共通性を探る上で優れている。実際にヒメツリ

ガネゴケで微小管関連因子の解析を行うと、FASSのようにヒメツリガネゴケとシロイヌナズナでゲノムの遺伝子数はほとんど変わらず機能も類似しているもの、KINID1a/1bのようにヒメツリガネゴケとシロイヌナズナでゲノムの遺伝子数はほとんど変わらないが、その機能に差異があるもの、またAUG8ではシロイヌナズナの遺伝子数が増加しており、そのうちヒメツリガネゴケとシロイヌナズナでパラログの機能が類似するものもあれば、シロイヌナズナで特異的な機能をもつもの、などいろいろなケースがある。このように微小管関連因子の種類により、細胞分裂や細胞伸長に対する機能は類似していたり、異なっていたりする。それぞれの植物群での機能解析が進めば、細胞の分裂や伸長における微小管制御の普遍的分子基盤が見えてくるのかもしれない。普遍的分子基盤が明らかになれば、植物種に特徴的な分裂様式や伸長様式に特異的に機能する因子群も見出されるはずで、これらの因子群のはたらかにより植物の多様な形態形成の理解が進むと期待される。この点を踏まえると、基部陸上植物ヒメツリガネゴケの微小管関連因子を介した細胞分裂と細胞伸長の解析は、重要な布石であると考えられる。

7. 謝辞

本稿で紹介した研究成果の一部は、European Commission FP-PEOPLE-2010-IIF (275257)、日本学術振興会・科学研究費(16K07406)、宮城大学指定研究費の支援を受けて実施したものである。また、顕微鏡観察は、先端バイオイメージングプラットフォーム(ABiS)の支援を受けている。また、Aberystwyth大学National Plant Phenomics Centreの皆様、宮城大学食産業学群植物分子遺伝育種学研究室の皆様、基礎生物学研究所生物進化研究部門の皆様には、研究の遂行にあたり多大な支援を受けた。心からの感謝の意を表したい。

8. 引用文献

- Albrecht, V., Simkova, K., Carrie, C., Delannoy, E., Giraud, E., Whelan, J., Small, I.D., Apel, K., Badger, M.R., & Pogson, B.J. 2010. The cytoskeleton and the peroxisomal-targeted snowy cotyledon3 protein are required for chloroplast development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22: 3423-3438.
- 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., Otilar, 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.
- Bramham, C.R., & Wells, D.G. 2007. Dendritic mRNA: transport, translation and function. *Nat. Rev. Neurosci.* 8: 776-789.
- Camilleri, C., Azimzadeh, J., Pastuglia, M., Bellini, C., Grandjean, O., & Bouchez, D. 2002. The Arabidopsis *TONNEAU2* gene encodes a putative novel protein phosphatase 2A regulatory subunit essential for the control of the cortical cytoskeleton. *Plant Cell* 14: 833-845.
- de Keijzer, J., Mulder, B.M., & Janson, M.E. 2014. Microtubule networks for plant cell division. *Syst. Synth. Biol.* 8: 187-194.
- Doonan, J.H., Cove, D.J., Corke, F.M.K., & Lloyd, C.W. 1987. Pre-prophase band of microtubules, absent from tip-growing moss filaments, arises in leafy shoots during transition to intercalary growth. *Cell Motil. Cytoskeleton* 7: 138-153.
- Fishel, E.A., & Dixit, R. 2013. Role of nucleation in cortical microtubule array organization: variations on a theme. *Plant J.* 75: 270-277.
- Gicking, A.M., Wang, P., Liu, C., Mickolajczyk, K.J., Guo, L., Hancock, W.O., & Qiu, W. 2019. The Orphan kinesin PAKRP2 achieves processive motility via a noncanonical stepping mechanism. *Biophys. J.* 116: 1270-1281.
- Goshima, G., Mayer, M., Zhang, N., Stuurman, N., & Vale, R.D. 2008. Augmin: a protein complex required for centrosome-independent microtubule generation within the spindle. *J. Cell Biol.* 181: 421-429.
- Hamada, T. 2014. Microtubule organization and microtubule-associated proteins in plant cells. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 312: 1-52.
- Hashimoto, T. 2013. A ring for all: gamma-tubulin-containing nucleation complexes in acentrosomal plant microtubule arrays. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16: 698-703.
- 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.
- Hiwatashi, Y., Nishiyama, T., Fujita, T., & Hasebe, M. 2001. Establishment of gene-trap and enhancer-trap systems in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant J.* 28: 105-116.
- Hiwatashi, Y., Obara, M., Sato, Y., Fujita, T., Murata, T., & Hasebe, M. 2008. Kinesins are indispensable for interdigitation of phragmoplast microtubules in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant Cell* 20: 3094-3106.
- Kirik, A., Ehrhardt, D.W., & Kirik, V. 2012. *TONNEAU2/FASS* regulates the geometry of microtubule nucleation and cortical array organization in interphase *Arabidopsis* cells. *Plant Cell* 24: 1158-1170.
- Kitagawa, M., & Fujita, T. 2013. Quantitative imaging of directional transport through plasmodesmata

- in moss protonemata via single-cell photoconversion of Dendra2. *J. Plant Res.* 126: 577-585.
- Kofuji, R., & Hasebe, M. 2014. Eight types of stem cells in the life cycle of the moss *Physcomitrella patens*. *Curr. Opin. Plant Biol.* 17: 13-21.
- Kosetsu, K., Murata, T., Yamada, M., Nishina, M., Boruc, J., Hasebe, M., Van Damme, D., & Goshima, G. 2017. Cytoplasmic MTOCs control spindle orientation for asymmetric cell division in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114: E8847-E8854.
- Lee, Y.J., Hiwatashi, Y., Hotta, T., Xie, T., Doonan, J.H., & Liu, B. 2017. The mitotic function of augmin is dependent on its microtubule-associated protein subunit EDE1 in *Arabidopsis thaliana*. *Curr. Biol.* 27: 3891-3897.
- Lee, Y.R., Giang, H.M., & Liu, B. 2001. A novel plant kinesin-related protein specifically associates with the phragmoplast organelles. *Plant Cell* 13: 2427-2439.
- Murata, T., Sonobe, S., Baskin, T.I., Hyodo, S., Hasezawa, S., Nagata, T., Horio, T., & Hasebe, M. 2005. Microtubule-dependent microtubule nucleation based on recruitment of gamma-tubulin in higher plants. *Nat. Cell Biol.* 7: 961-968.
- 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.
- Nakaoka, Y., Miki, T., Fujioka, R., Uehara, R., Tomioka, A., Obuse, C., Kubo, M., Hiwatashi, Y., & Goshima, G. 2012. An inducible RNA interference system in *Physcomitrella patens* reveals a dominant role of augmin in phragmoplast microtubule generation. *Plant Cell* 24: 1478-1498.
- Nishiyama, T., Sakayama, H., de Vries, J., Buschmann, H., Saint-Marcoux, D., Ullrich, K.K., Haas, F.B., Vanderstraeten, L., Becker, D., Lang, D., Vosolsobe, S., Rombauts, S., Wilhelmsson, P.K.I., Janitza, P., Kern, R., Heyl, A., Rumpler, F., Villalobos, L., Clay, J.M., Skokan, R., Toyoda, A., Suzuki, Y., Kagoshima, H., Schijlen, E., Tajeshwar, N., Catarino, B., Hetherington, A.J., Saltykova, A., Bonnot, C., Breuninger, H., Symeonidi, A., Radhakrishnan, G.V., Van Nieuwerburgh, F., Deforce, D., Chang, C., Karol, K.G., Hedrich, R., Ulvskov, P., Glockner, G., Delwiche, C.F., Petrasek, J., Van de Peer, Y., Friml, J., Beilby, M., Dolan, L., Kohara, Y., Sugano, S., Fujiyama, A., Delaux, P.M., Quint, M., Theissen, G., Hagemann, M., Harholt, J., Dunand, C., Zachgo, S., Langdale, J., Maumus, F., Van Der Straeten, D., Gould, S.B., & Rensing, S.A. 2018. The *Chara* genome: secondary complexity and implications for plant terrestrialization. *Cell* 174: 448-464.
- Petry, S., Pugieux, C., Nedelec, F.J., & Vale, R.D. 2011. Augmin promotes meiotic spindle formation and bipolarity in *Xenopus* egg extracts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108: 14473-14478.
- Pignocchi, C., Minns, G.E., Nesi, N., Koumproglou, R., Kitsios, G., Benning, C., Lloyd, C.W., Doonan, J.H., & Hills, M.J. 2009. ENDOSPERM DEFECTIVE1 is a novel microtubule-associated protein essential for seed development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21: 90-105.
- 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.

- Spinner, L., Pastuglia, M., Belcram, K., Pegoraro, M., Goussot, M., Bouchez, D., & Schaefer, D.G. 2010. The function of TONNEAU1 in moss reveals ancient mechanisms of division plane specification and cell elongation in land plants. *Development* 137: 2733-2742.
- Spinner, L., Gadeyne, A., Belcram, K., Goussot, M., Moison, M., Duroc, Y., Eeckhout, D., De Winne, N., Schaefer, E., Van De Slijke, E., Persiau, G., Witters, E., Gevaert, K., De Jaeger, G., Bouchez, D., Van Damme, D., & Pastuglia, M. 2013. A protein phosphatase 2A complex spatially controls plant cell division. *Nat Commun.* 4: 1863.
- Torres-Ruiz, R.A., & Jurgens, G. 1994. Mutations in the *FASS* gene uncouple pattern formation and morphogenesis in Arabidopsis development. *Development* 120: 2967-2978.