

# 植物特異的な細胞分裂様式の分子的解明

## Molecular understanding of plant-specific cell division patterns

国立遺伝学研究所 佐々木 武馬  
派遣期間 2019年6月3日～2020年1月4日  
研究機関 Center for Plant Molecular Biology–ZMBP, Developmental Genetics,  
University of Tübingen,  
Auf der Morgenstelle 32-72076, Tübingen, Germany  
研究指導者 Group leader Sabine Müller

The cell division of plant is greatly different from that of animal. Whereas animal cells divide by invagination from the cell membrane, plant cells divide by forming a cell plate at the dividing plane. A plant-specific microtubule structure, phragmoplast, works to properly form the cell plate at the division plane.

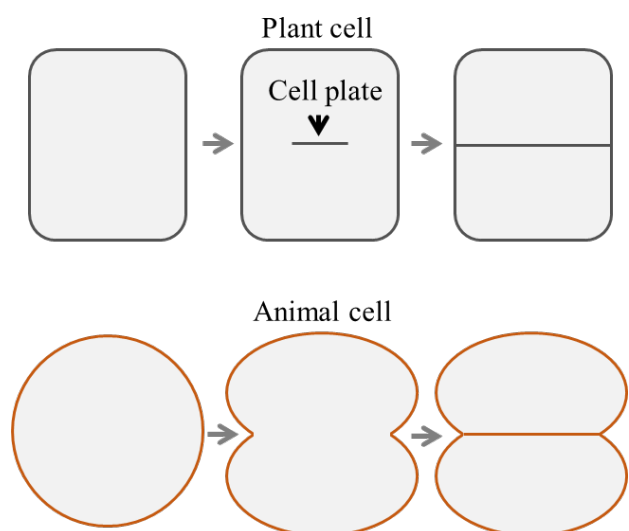
I showed that CORD4 and CORD5, plant-specific microtubule associated proteins, tether the microtubule severing protein katanin to facilitate formation of the short-microtubule array in phragmoplasts. I observed CORD4 localization on phragmoplast using a custom-made two-photon spinning disk confocal microscopy (CSU-MP). CSU-MP revealed that CORD4 rapidly localized to microtubules of the distal phragmoplast zone during phragmoplast assembly at late anaphase and persisted throughout phragmoplast expansion. Loss of CORD4 and CORD5 caused abnormally long and oblique phragmoplast microtubules and slow expansion of phragmoplasts. The p60 katanin subunit, KTN1, localized to the distal phragmoplast zone in a CORD4-dependent manner. These results suggest that CORD4 and CORD5 tether KTN1 at phragmoplasts to modulate microtubule length, thereby accelerating phragmoplast growth. This reveals the presence of a distinct machinery to accelerate cytokinesis by regulating the action of katanin.

### 研究目的

植物細胞の分裂様式は動物細胞と大きく異なる。植物細胞の分裂に特徴的な点は、細胞板の形成である。細胞板は細胞分裂面中心部から作られ、外側に広がっていき最終的には細胞質を二分する。細胞の外部からくびれ分裂する動物細胞とは根本的に分裂様式が異なる (Figure1)。しかしながら、この植物細胞の特徴的な分裂様式の分子的解明はほとんど進んでいない。

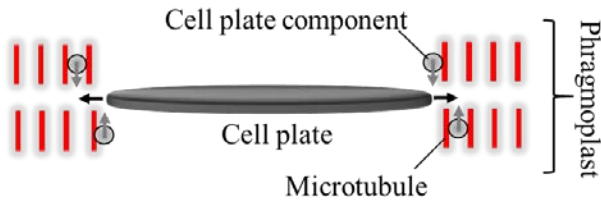
陸上植物における細胞板の形成にはフラグモプラストと呼ばれる微小管構造が中心的な役割を果たす。フラグモプラストは分裂細胞面に細胞壁成分を運搬し、細胞板の形成を促す (Figure2)。このフラグモプラスト形成の分子的解析が進んでいない点が、植物特異的な細胞分裂の理解を遅らせている。本研究では、植物特異的な分裂様式の分子的解明を目的とし、主にフラグモプラストの形成機構に着目した研究を

実施した。



**Figure1 Dividing cell of plant and animal**

The plant cell is divided by formation of cell plate.



**Figure2 Structure of phragmoplasts**

Phragmoplasts formed by short microtubules play as the rail for cell plate component delivery to cell dividing plane.

## 研究経過

フラグモプラストは細胞板形成に働くが、その詳しい機構には未解明な部分が多い。例えばフラグモプラストは並行にならんだ多数の短い微小管によって形成されるが、その微小管の配向や長さの調節機構についてはまったくわかっていない。

動物細胞・植物細胞関わらず、一般的に微小管の構造は種々の微小管付随タンパク質が制御する。フラグモプラスト微小管の形成でも同様に微小管付随タンパク質がその構造形成に関わっていると考えられる。そこで、はじめにフラグモプラスト形成にかかわる微小管付随タンパク質の解析を進めた。

なかでも本研究で着目している微小管付随タンパク質が、我々が2017年に同定した植物特異的微小管付随タンパク質ファミリー、CORDである (Sasaki et al., 2017)。CORDはこれまでにまったく解析されてこなかったタンパク質であり、既知のドメインも持っていない。CORDはフラグモプラストと同様に植物の陸上進出前後に獲得され、さらにCORDファミリーの中には分裂細胞で特異的に発現するメンバーが存在する。そこで、まず植物細胞で特異的に発現するCORDに着目した研究を進めた。

## ■CORDの発現・局在解析

モデル植物であるシロイヌナズナはCORD遺伝子を7つもつが、その発現パターンは異なる。研究の第一段階として、これら7つのCORD遺伝子の発現パターンをシロイヌナズナの各組織のトランスクリプトームデータを参照して調べた。結果、CORD3、CORD4、CORD5が分裂組織において特異的に発現していることが分かった。そこで分裂細胞における植物特異的微小管構造の制御に、CORD3、CORD4、CORD5が機能していると予測して研究を進めた。

CORDの分裂細胞内における機能を探るために、CORD3、CORD4、CORD5の細胞内局在を調査した。結果、CORD4とCORD5がフラグモプラスト上に局在していることが明らかとなった。以降、CORD4、CORD5がフラグモプラスト形成にかかわると予測し、これら二つのCORDに絞り解析を進めた。

CORD4およびCORD5の詳細な局在を調べるために二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡を用いた観察を実施した。この顕微鏡ではCORDのフラグモプラスト局在を3次元にタイプラプス観察を含めた4次元で観察できる。この4次元観察により、CORD4はフラグモプラストの外縁部にフラグモプラスト形成直後から形成中を通し絶えず局在することが明らかになった。

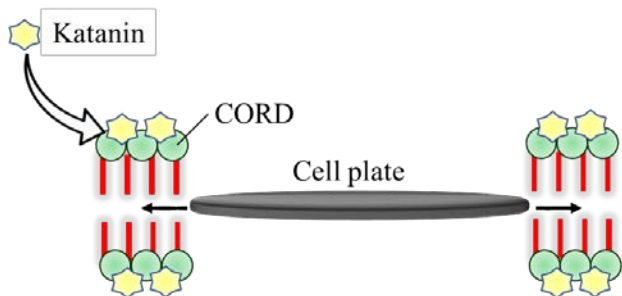
## ■CORD機能欠損変異体の解析

細胞分裂におけるCORDの機能を探るため、CORD4およびCORD5の機能欠損変異体を作成した。その結果、CORD4、CORD5の二重変異体では野生型と比較しフラグモプラストを形成する微小管が長いことが明らかになった。またフラグモプラストは細胞分裂面上を、細胞板を形成しながら拡大している。CORD変異体においてはこの拡大速度が低下していた。この結果はCORDがフラグモプラスト微小管の長さを適切に制御することにより細胞板の形成を助け、細胞分裂を効率よく進行させていることを示唆している。

## ■CORDのフラグモプラスト形成に関する機能について

続いてCORDによるフラグモプラスト微小管の長さを制御する分子的機能に着目した解析を進めた。植物の微小管はカタニンと呼ばれる微小管切断タンパク質により長さが調整される。さらにカタニンはフラグモプラスト微小管の制御にも関わっていることが報告されており、カタニンの変異体だとCORD変異体と同様にフラグモプラストが異形になる (Panteris et al., 2011 and Komis et al., 2017)。そこでこのカタニンとCORDの関係を、分裂細胞のフラグモプラスト上において解析した。野生型でカタニンの局在を観察したところCORDと同様にフラグモプラスト外縁部に局在することが観察された。一方

CORD 機能欠損変異体を観察したところ、カタニンのフラグモプラスト外縁部の局在は観察されなかった。さらに CORD 変異体とカタニン変異体のフラグモプラストを比較したところ、野生株と比較してどちらのフラグモプラストも同程度微小管がながく、拡大速度が低下していた。この結果は CORD 変異体の表現型はカタニンの機能欠損が原因であることを示唆している。また CORD 変異体でカタニンのフラグモプラスト局在が欠損することを踏まえると、CORD はカタニンをフラグモプラストの外縁部に係留することで、フラグモプラスト微小管の長さを制



御していると考えられる (Figure3)。

### Figure3 CORD function on phragmoplast formation

CORD tethers katanin to distal zone of phragmoplast microtubules, and supports phragmoplast formation by manipulation of microtubule length.

### ■ CORD 機能の進化的保存性

ゼニゴケは最も原始的な陸上植物の一つである。CORD 遺伝子は陸上植物から保存されており、それ以前の植物では確認されない。CORD の機能の進化的保存性を調べるために、ゼニゴケ CORD の機能解析を行った。まず局在を調べたところ、シロイヌナズナの場合と同様に分裂細胞の微小管上において局在が観察された。さらに、ゼニゴケにおいて CORD 遺伝子の機能欠損変異体を作成したところ生育阻害が確認された。この変異体では、シロイヌナズナの場合と同様に分裂細胞の微小管構造が変化していた。

この結果は、CORD がゼニゴケの分裂細胞においても微小管構造を制御することで、細胞分裂を促進する働きを担っていることを示唆している。今後は、ゼニゴケ CORD 変異体におけるフラグモプラストとシロイヌナズナ CORD 変異体のフラグモプラストを比較して、CORD 機能の進化的保存性について明らかにする予定である。本研究は植物の陸上進出時の

分裂戦略の変化および、その戦略における CORD の役割を示すことが期待される。

### 考察

本研究ではフラグモプラスト微小管の長さを調節する機構を明らかとした。植物特異的な微小管付随タンパク質である CORD4 および CORD5 は微小管切断タンパク質カタニンをフラグモプラストの外縁に係留することで、フラグモプラスト微小管の長さを調節する。これまでわからなかったフラグモプラスト形成機構の一端が本研究により解明された。細胞分裂面におけるフラグモプラストの拡大は、フラグモプラスト微小管の新生により行われる。このためフラグモプラストを形成する微小管が長すぎると、新生される微小管の形成速度もその分遅くなる。CORD によるカタニンを介したフラグモプラスト微小管の長さの調節は、フラグモプラスト微小管の新生速度を最適化し、フラグモプラストの拡大を最小限の時間で行うことに役立つと推測される。

これまでの研究ではフラグモプラスト形成における知見は観察的事象にとどまっていた。本研究はフラグモプラスト微小管の構造調節機構を具体的に示すことに成功した。今後はこのフラグモプラストの植物細胞における一般性を他の植物や進化的視点を交え明らかにしていきたい。

### 参考文献

- 1, Sasaki, T., Fukuda, H., and Oda, Y. (2017). CORTICAL MICROTUBULEDISORDERING1 is required for secondary cell wall patterning in xylemvessels. *Plant Cell* 29, 3123–3139.
- 2, Panteris, E., Adamakis, I.D., Voulgari, G., and Papadopoulou, G. (2011). Arole for katanin in plant cell division: microtubule organization in dividingroot cells of *fra2* and *lue1*Arabidopsis thaliana mutants. *Cytoskeleton* (Hoboken) 68, 401–413.
- 3, Komis, G., Luptovciak, I., Ovecka, M., Samakovli, D., Samajova, O., and Samaj, J. (2017). Katanin effects on dynamics of cortical microtubulesand mitotic arrays inArabidopsis thalianarevealed by advanced live-cellimaging. *Front. Plant Sci.* 8, 866.

## 研究の発表

口頭発表

1. 1aF02 微小管付随タンパク質 CORD により制御されるフラグモプラストの動態

佐々木武馬, 堤元佐, 大友康平, 村田隆, 中村匡良, 根本知己, 長谷部光泰, 小田祥久  
9 15, 2019 (公社) 日本植物学会