

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：63801

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14737

研究課題名（和文）微小管の脱配向化によりもたらされる新規細胞変形機構に関する研究

研究課題名（英文）Study on a novel mechanism for cell deformation by disorientation of microtubule arrays

研究代表者

佐々木 武馬（Sasaki, Takema）

国立遺伝学研究所・遺伝形質研究系・助教

研究者番号：60759497

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：植物細胞は細胞板を作ることで分裂する。微小管は細胞板を形成するための主用な細胞構造である。本研究では間期と分裂期の微小管の動態を制御する微小管付随タンパク質CORDを新に同定し、その解析を進めた。研究成果として、CORDタンパク質が植物に特異的な細胞分裂時細胞構造であるフラグモプラストの微小管の長さを制御することで、細胞分裂を正に制御することを明らかにした。本研究成果によりこれまで謎が多かった植物特異的な細胞分裂様式の一部が分子的に解明された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

古くから知られている様に植物細胞の形態は動物細胞と大きく異なる。特に植物細胞は細胞分裂の際に細胞板を形成し分裂することが、見た目上の形態変化を与える大きな要因となる。本研究は細胞板分裂過程において一時的に構築される微小管構造「フラグモプラスト」の動態制御の一端を新規同定因子の解析を通し分子的に明らかにした。本研究成果は植物細胞の特異的を生み出す一因を解明することで、植物細胞の理解に学術的に貢献したと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Plant cells divide by forming the cell plate. Microtubules are a cell structure for forming cell plates. In this study, we newly identified the microtubule-associated protein CORD that controls the dynamics of microtubules during interphase and mitosis, and proceeded with its analysis. As a result of research, it was clarified that the CORD protein positively regulates cell division by controlling the length of microtubules of phragmoplasts, which is a plant-specific cell structure during cell division. The results of this research have molecularly elucidated a part of the plant-specific cell division mode, which has been mysterious until now.

研究分野：細胞生物学

キーワード：微小管 細胞質分裂 フラグモプラスト

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

植物細胞の形は植物種や器官の種類により様々です。これら多様な形を作り出すために、植物細胞内では微小管の配向が厳密に制御されています。間期の細胞では細胞膜直下に並んだ表層微小管が細胞壁成分の蓄積を制御することで、堅い細胞の殻を作り出し細胞の形を決めます。一方で分裂期の細胞では、微小管は細胞板成分を運ぶレールやそのレールの位置を決めるマーカーとして機能し、細胞板の形成位置を制御することで細胞の形を決定します。

私たちはこれまでにシロイヌナズナにおいて間期・分裂期のそれぞれで働くメンバーを含む新規微小管付随タンパク質ファミリーCORDs (Cortical microtubule disordering, CORD1-7) を同定し解析を進めてきました。興味深いことに CORDs は微小管の配向を揃えるのではなく乱す(脱配向)、既知の微小管付随タンパク質(MAPs)に報告のない特性を持っていることが明らかとなってきています。CORDs は陸上植物の様々な器官で発現しています。また間期で発現するメンバーは細胞膜上の表層微小管、分裂期のメンバーは分裂装置の微小管にユニークに局在することも、我々の観察により明らかになっています。従ってCORDsには植物細胞の間期・分裂期を通じた幅広い役割が期待されています。そこで本研究では微小管の脱配向性を駆動力とした新規細胞変形機構をCORDsの解析により明らかにするために実施しました。

### 2. 研究の目的

本研究はユニークな特徴を持つ新規MAPsファミリー「CORDs」の解析により、細胞変形時に必要となる微小管配向・構造の変形機構を明らかとすることを目的としました。

### 3. 研究の方法

本研究はCORDsの機能を解明することを目的に研究を計画しました。

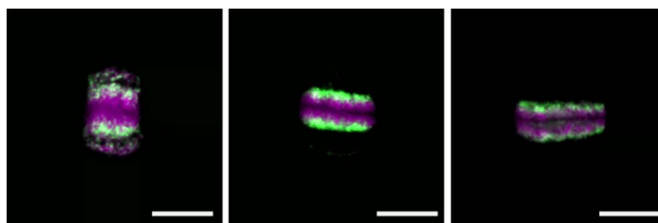
一つ目はCORDs遺伝子が欠損したCORD機能欠損型変異体を準備し、その解析を進めました。研究材料としてシロイヌナズナを用いました。シロイヌナズナは種子植物のモデルとして一般的に用いられているモデル植物の一種です。複数の細胞マーカーをシロイヌナズナにおいて発現させCORDs機能欠損型変異体の細胞構造を観察することで、CORDsの機能を解析しました。

二つ目はCORDsの細胞内局在の観察から機能を探ることを目的とした実験を実施しました。局在解析はスピニングディスク共焦点顕微鏡および多光子スピニングディスク共焦点顕微鏡により二次元方向・三次元方向に時空間的に高解像度のタイムラプスイメージングを実施しました。この解析にはシロイヌナズナに加え、単細胞で高解像度の撮影が可能なタバコBY-2細胞を用いています。

### 4. 研究成果

シロイヌナズナにおける研究成果

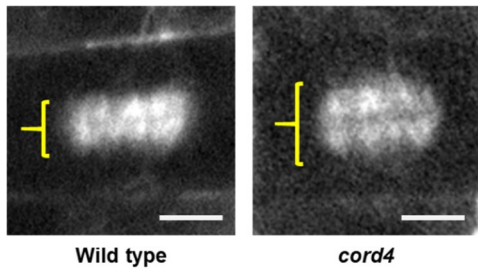
シロイヌナズナに7つあるCORDファミリーのうち、CORD4およびCORD5が分裂時微小管構造に局在することを明らかとしました。これらCORDsは分裂時微小管構造の中でもフラグモプラストと呼ばれる細胞板形成装置に局在していました。フラグモプラストは細胞板形成時に一時的に形成される微小管構造であり、細胞板輸送のレールとして働くことで細胞板形成に役立ちます。詳細な観察を続けるとこれらCORDタンパク質はフラグモプラスト微小管の端(マイナス端)付近にのみ局在することが明らかとなりました(図1)。



**図1 フラグモプラスト微小管におけるCORD4の局在**

タバコBY-2細胞におけるフラグモプラスト微小管(マゼンタ)とCORD4(緑)の局在。CORD4はフラグモプラスト形成初期(左)中期(中)後期(右)を通じてフラグモプラスト微小管のマイナス端に局在する。スケールバーは10 μm。

次にCORD4およびCORD5の機能欠損型遺伝子欠損変異体の解析を進めました。結果、CORD変異体ではフラグモプラストの形態に異常が生じ、さらに根の成長が遅くなることが分かりました。CORD変異体のフラグモプラストは野生型に比べ太くなっており、さらに細胞板を作る速度も低下していました(図2)。



**図2 CORD 機能欠損型変異体におけるフラグモプラスト微小管**

野生型(左)に比べ cord4 変異体ではフラグモプラストが太くなる。スケールバーは5  $\mu\text{m}$ 。

微小管の動態は複数の MAPs により複雑な制御を受けています。そこで CORDs と似たフラグモプラスト微小管局在を示す既知の因子の解析を進めました。結果としてカタニンと呼ばれる MAPs がフラグモプラスト微小管上で CORDs と共局在することが明らかとなりました。カタニンは植物で唯一同定されている微小管切断タンパク質です。カタニンと CORDs のフラグモプラスト形成に対する作用を比較するためにカタニンの機能欠損型変異体の解析を進めました。結果、カタニン変異体においても CORD 変異体と同様にフラグモプラストが太くなり、さらに細胞板を作る速度が低下する表現型が確認されました。この結果はフラグモプラスト形成の場においてカタニンと CORDs の間に何等かの関係があることを示唆します。そこで次に CORD 機能欠損型変異体におけるカタニンの細胞内局在と、逆にカタニン機能欠損型変異体における CORD の細胞内局在を観察しました。結果として CORD 機能欠損型変異体ではカタニンのフラグモプラスト微小管局在に異常が生じていました。対してカタニン機能欠損型変異体では CORD のフラグモプラスト微小管局在に変化はありませんでした。この結果は、CORDs がカタニンをフラグモプラスト微小管上に繫留することで、フラグモプラスト微小管を切断しその動態を制御している可能性を示唆します。

フラグモプラストは短く並んだ二列の微小管により構成されます。細胞板を作るためにはフラグモプラスト微小管は細胞分裂面に随時重合される必要があります。フラグモプラスト微小管が必要以上に長いとその重合には余計な時間とコストがかかってしまいます。今回の我々の研究成果から CORDs とカタニンにはフラグモプラスト微小管の長さを短く保つことで、重合に必要な微小管の量を最小限にとどめ細胞板形成を効率化する機能がある可能性が新に示されました。以上の結果を受け分裂期における微小管動態の研究を進めると同時に、現在は間期細胞の微小管や他の植物種においても同様に CORDs とカタニンが各種微小管動態を制御することで植物の形を制御する可能性を考え研究を進めています。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sasaki Takema, Tsutsumi Motosuke, Otomo Kohei, Murata Takashi, Yagi Noriyoshi, Nakamura Masayoshi, Nemoto Tomomi, Hasebe Mitsuyasu, Oda Yoshihisa	4. 巻 29
2. 論文標題 A Novel Katanin-Tethering Machinery Accelerates Cytokinesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 4060 ~ 4070.e3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2019.09.049	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sasaki Takema, Oda Yoshihisa	4. 巻 1992
2. 論文標題 Imaging of Developing Metaxylem Vessel Elements in Cultured Hypocotyls	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 351 ~ 358
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-9469-4_23	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Takema Sasaki, Hiroo Fukuda, Yoshihisa Oda
2. 発表標題 Microtubule dynamics regulated by a plant-specific protein family, CORD
3. 学会等名 日本植物生理学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takema Sasaki, Hiroo Fukuda, Yoshihisa Oda
2. 発表標題 A novel microtubule-associated protein, CORTICAL MICROTUBULE DISORDERING1 (CORD1), regulates the cell-wall structure of xylem vessels
3. 学会等名 Gordon Research Conference-Plant and Microbial Cytoskeleton (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木武馬, 村田隆, 長谷部光泰, 小田祥久
2. 発表標題 微小管付随タンパク質CORDの細胞分裂における機能
3. 学会等名 日本植物学会第82回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木武馬, 村田隆, 大友康平, 堤元佐, 根本知己, 長谷部光泰, 小田祥久
2. 発表標題 微小管付随タンパク質CORD は細胞分裂におけるフラグモプラストの形成に必要である
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------