

機関番号：32686

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2007～2009

課題番号：19207004

研究課題名(和文) 色素体とミトコンドリアの分裂マシンの分子生理機構の解明

研究課題名(英文) Studies on molecular physiological mechanism of plastid and mitochondrial division machineries

研究代表者 黒岩 常祥 (KUROIWA TSUNEYOSHI)

立教大学・理学研究科・特任教授

研究者番号：50033353

研究成果の概要(和文)：

ほとんどの生物は植物の葉緑体(色素体)の光合成に依存して生きている。葉緑体は分裂マシンのを使って分裂・増殖する。葉緑体の分裂マシンは、FtsZ(葉緑体基質側)、外 PD(細胞質側)、そしてダイナミン(細胞質側)リングの順に形成され、ダイナミックトリオと名付けた。PD リングの主たる構造は5-7 nm の細いナノの繊維である。ミトコンドリアの分裂マシンも類似のダイナミックトリオから成る。ダイナミックトリオを骨格にした両分裂マシンの働きを分子生理学的に解明した。

研究成果の概要(英文)：

Almost all organisms depend on photosynthesis by chloroplasts (plastid), which proliferate by division. During chloroplast division, the FtsZ ring (localised in the stroma), the PD ring (in the cytoplasm), and the dynamin ring (in the cytoplasm) are formed in that order and called the dynamic trio. The PD ring is the main structure of the PD machinery and appears to be a bundle of fine filaments about 5-7 nm in diameter. The dynamic trio is used for mitochondrial division. The division machineries including the dynamic trio were solved by molecular and physiological biology.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	17,500,000	5,250,000	22,750,000
2008 年度	6,900,000	2,070,000	8,970,000
2009 年度	7,000,000	2,100,000	9,100,000
年度			
年度			
総計	31,400,000	9,420,000	40,820,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：葉緑体分裂マシン、ミトコンドリア分裂マシン、シゾングノム、プロテオミクス

1. 研究開始当初の背景

1977年-1982年、筆者は粘菌と、車軸藻でミトコンドリアが分裂マシンのを使って分裂・増殖していることを発見した。1986年に

は原始紅藻のシアニジウム (*Cyanidium caldrium*) の葉緑体で、1993年と1994年には同じく原始紅藻のシゾン (*Cyanidioschyzon merolae*) で、ミトコンド

リアと葉緑体のそれぞれで明瞭な分裂マシンを発見した。シゾンの細胞と細胞小器官の分裂の同調化、分裂中細胞小器官の単離、さらに分裂マシンの単離、ゲノム解読、ポストゲノム解析を駆使することによって、単離した分裂マシンを分子生理学的に解析することが可能となった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、シゾンを使い、ミトコンドリアの分裂マシンより大きく単離し易い葉緑体の分裂マシンを先ず単離し、その全構成タンパク質を同定するとともに、それぞれの機能を解明すること、及びこれまで全く困難であったミトコンドリアの分裂マシンの単離とその全構成タンパク質を同定することであった。

3. 研究の方法

次の順に研究を進めた。

- (1) シゾンの細胞・細胞小器官の分裂を高度に同調化する。
- (2) 分裂中葉緑体を単離する。
- (3) 分裂中葉緑体から分裂マシンを単離する。
- (4) ミトコンドリア分裂マシンも単離する。
- (5) それぞれの分画を質量分析器にかけ、全タンパク質とともにそれらの遺伝子をゲノム情報に使う解析する。
- (6) 得られた分裂マシンを構築するタンパク質の遺伝子を順次、抗体、マイクロアレイなどを使って機能を調べる。

4. 研究成果

葉緑体とミトコンドリアの分裂マシンの機能解析に先立ち、微量タンパク質の同定に必須なゲノム情報の100%解読を試み、成功した。これを有効に使い、葉緑体の分裂マシンの解析が進んだ。また小さく解析が困難と思われていたミトコンドリアの分裂マシンの解析も進んだ。ミトコンドリア分裂マシンのタンパク質の同定には、その細胞周期における動態が重要な役割を果たした。即ち細胞分裂の初期には、葉緑体とミトコンドリアの分裂マシンが結合することに気が付き、この性質を使った。先ず分裂マシンの複合体を単離し、その全タンパク質から、比較的単離の容易な葉緑体分裂マシンの全タンパク質を引く事によって、ミトコンドリア分裂マシンの全タンパク質の同定ができた。このタンパク質を解析した結果、FtsZリングの形成を誘導するZED遺伝子が発見した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計21件)

①Fujiwara T, Misumi O, Tashiro K, Yoshida Y, Nishida K, Yagisawa F, Imamura S, Yoshida M, Mori T, Tanaka K, Kuroiwa H, Kuroiwa T

Periodic Gene Expression Patterns During the Highly Synchronized Cell Nucleus and Organelle Division Cycles in the Unicellular Red Alga *Cyanidioschyzon merolae*.

DNA Res. 16(1) (2009) 59-72 査読有

②Yoshida Y, Kuroiwa H, Hirooka S, Fujiwara T, Ohnuma M, Yoshida M, Misumi O, Kawano S, Kuroiwa T

A bacterial ZapA-like protein ZED is required for mitochondrial division. 22 Curr. Biol. 19 (2009) 1491-1497 査読有

③Yagisawa F, Nishida K, Yoshida M, Ohnuma M, Shimada T, Fujiwara T, Yoshida Y, Misumi O, Kuroiwa H, Kuroiwa T

Identification of novel proteins in isolated polyphosphate vacuoles in the primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*.

Plant J. 60 (2009) 882-893 査読有

④Hirooka S, Misumi O, Yoshida M, Mori T, Nishida K, Yagisawa F, Yoshida Y, Fujiwara T, Kuroiwa H, Kuroiwa T

Expression of the *Cyanidioschyzon merolae* stromal ascorbate peroxidase in *Arabidopsis thaliana* enhances thermotolerance

Plant Cell Rep. 28(12) (2009) 1881-1893 査読有

⑤Kobayashi Y, Kanasaki Y, Tanaka A, Kuroiwa H, Kuroiwa T, Tanaka K

Tetrapyrrole signal as a cell cycle coordinator from organelle to nuclear DNA replication in plant cells.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106 (2009) 803-807 査読有

⑥Okuda S, Tsutsui H, Shiina K, Sprunck S, Takeuchi H, Yui R, Kasahara R.D, Hamamura Y, Mizukami A, Susaki D, Kawano N, Sakakibara T, Namiki S, Ito K, Otsuka K, Matsuzaki M, Nozaki H, Kuroiwa T, Nakano A, Dresselhaus T, Kanaoka M.M, Sasaki N, Higashiyama T

Defensin-like peptides LUREs are pollen tube attractants secreted from the synergid cell.

Nature 458 (2009) 357-361 査読有

⑦Ohnuma M, Misumi O, Fujiwara T, Watanabe

S, Tanaka K, Kuroiwa T
Transient gene suppression in a red alga,
Cyanidioschyzon merolae 10D
Protoplasma 236 (2009)107-112 査読有
⑧Imamura S., Kanesaki Y., Fujiwara T.,
Kuroiwa T., Tanaka K.
R2R3-type MYB transcription factor,
CmMYB1, controls the expression of
nitrogen assimilation genes in response
to nitrogen status in the unicellular red
alga *Cyanidioschyzon merolae*.
Proc. Natl Acad. Sci U.S.A. 106, (2009)
12548-12553 査読有
⑨ Odawara M., Kuroiwa H., Kuroiwa T.,
Sekine Y
Suppression of gross mitochondrial genome
rearrangements by RecA in the moss
Physcomitrella patens.
Plant Cell (2009) 1-13 査読有
⑩Aoyama H, Kuroiwa T. Nakamura, S.
The dynamic behavior and activity of
mitochondria in zygotes during maturation
and meiosis in *Chlamydomonas reinhardtii*.
Eur. J Phycol 44 (2009)497-507 査読有
⑪ Maruyama S, Matsuzaki S, Kuroiwa H,
Miyagishima S, Tanaka K, Kuroiwa T. Nozaki H
Centromere structures highlighted by the
100%-complete *Cyanidioschyzon merolae*
genome.
Plant Signal. Behav. 3 (2008) 140-141
査読有
⑫Misumi O, Yoshida Y, Nishida K, Fujiwara
T, Sakajiri T, Hirooka S, Nishimura Y,
Kuroiwa T
Genome analysis and its significance in
four unicellular algae, *Cyanidioschyzon*
merolae, *Ostreococcus tauri*,
Chlamydomonas reinhardtii, and
Thalassiosira pseudonana.
J Plant Res. 21(1) (2008) 3-17 査読有
⑬Aoyama H, Kuroiwa T. Nakamura S
Chlamydomonas reinhardtii SYBE Green I
chromosomes, chromosome number, living
zygotes, meiosis.
Europ. J Phycol. 43(4) (2008) 389-394
査読有
⑭Matsuzaki M, Kuroiwa H, Kuroiwa T. Kita
K. Nozaki H
A cryptic algal group unveiled: a plastid
biosynthesis pathway in the oyster
parasite *Perkinsus marinus*.
Mol. Biol. Evol. 25(6) (2008) 1167-1179
査読有
⑮Hirai M, Arai M, Mori T, Miyagishima SY,
Kawai S, Kita K, Kuroiwa T. Terenius O,
Matsuoka H

Male fertility of malaria parasites is
determined by GCS1, a plant-type
reproduction factor
Curr. Biol. 18(8)(2008) 607-613 査読有
⑯Kuroiwa T. Misumi O, Nishida K, Yagisawa
F, Yoshida Y, Fujiwara T, Kuroiwa H
Vesicle, mitochondrial, and plastid
division machineries with emphasis on
dynamins and electron-dense rings.
Int. Rev. Cell Mol. Biol. 271 (2008)
97-152 査読有
⑰Maruyama S, Kuroiwa H, Miyagishima SY,
Tanaka K, Kuroiwa T
Centromere dynamics in the primitive red
alga *Cyanidioschyzon merolae*.
Plant J 49(6) (2007) 1122-1129 査読有
⑱Ozawa T, Natori Y, Sako Y, Kuroiwa H,
Kuroiwa T. Umezawa Y
A minimal peptide sequence that targets
fluorescent and functional proteins into
the mitochondrial intermembrane space.
ACS Chem. Biol. 2(3) (2007)176-186 査読有
⑲ Nishida K, Yagisawa F, Kuroiwa H,
Yoshida Y, Kuroiwa T
WD40 protein Mdal is purified with Dnm1
and forms a dividing ring for mitochondria
before Dnm1 in *Cyanidioschyzon merolae*
Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 104(11)
(2007)4736-4741 査読有
⑳Yagisawa F, Nishida K, Kuroiwa H, Nagata
T, Kuroiwa T
Identification and mitotic partitioning
strategies of vacuoles in the unicellular
red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Planta*
226(4) (2007)1017-1029 査読有
㉑Nozaki H, Takano H, Misumi O, Terasawa
K, Matsuzaki M, Maruyama S, Nishida K,
Yagisawa F, Yoshida Y, Fujiwara T, Takio
S, Tamura K, Chung SJ, Nakamura S, Kuroiwa
H, Tanaka K, Sato N, Kuroiwa T
A 100%-complete sequence reveals
unusually simple genomic features in the
hot-spring red alga *Cyanidioschyzon*
merolae *BMC Biol.* 5(28) (2007)1-8 査読有

[学会発表] (計4件)

①Kuroiwa T Isolation of mitochondrial
division machineries Keystone symposia
(15 Mar. 2009) Wislar Canada
②黒岩常祥 ミトコンドリアと色素体の増
殖と遺伝の機構をマス・ゲノム科学で解く
(9月20日2008年) 東京
③Kuroiwa T Structure and function of
mitochondrial and plastid division
machineries Gordon Research Conference
August (4 Aug. 2008) Biddeford, ME, USA

④Yoshida Y, Kuroiwa T
Mitochondrial division machinery in
Cyanidioschyzon merolae.
4th European Phycological Congress Jul.
(23 July, 2007) Oviedo, Spain

[図書] (計 1 件)

①黒岩常祥・三角修己・高野博嘉・伊藤竜一・
松永幸大 朝倉書店 細胞 基礎分子生物
学 3 (2008) 1-31

[産業財産権]

○出願状況 (計 3 件)

①名称：シアニジウム類由来のプロトン ATP
アーゼ遺伝子を用いた耐性植物体の作出方
法及び該遺伝子の用途

発明者：黒岩常祥、三角修己、八木沢芙美、

黒岩晴子、吉田昌樹

権利者：立教大学

種類：特願

番号：2009 - 249824

取得年月日：2009 年 10 月 30 日

国内外の別：国外

②名称：シアニジウム類由来の $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ アン
チポーター遺伝子を用いた耐性植物体の作
出方法及び該遺伝子の用途

発明者：黒岩常祥、浅野啓太、三角修己、黒

岩晴子、吉田昌樹、土井斎司

権利者：立教大学

種類：特願

番号：2009 - 249825

取得年月日：2009 年 10 月 30 日

国内外の別：国外

③名称：シアニジウム類由来のアスコルビン
酸ペルオキシダーゼタンパク質、その遺伝子
及びこれらの用途

発明者：黒岩常祥、廣岡俊亮、三角修己、黒

岩晴子、吉田昌樹

権利者：立教大学

種類：特願

番号：2009-053834

出願年月日：2009 年 3 月 6 日

国内外の別：国内外

[その他]

ホームページ等

<http://www2.rikkyo.ac.jp/grp/rice>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒岩常祥 (KUROIWA TSUNEYOSHI)

立教大学・理学研究科・特任教授

研究者番号：50033353

(2) 研究分担者

中村宗一 (NAKAMURA SOUICHI)

琉球大学・理学部・教授

研究者番号：00201674

(3) 連携研究者

なし