

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：32689

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23770060

研究課題名(和文) ミオシン速度変化による植物特異的細胞内交通機構と高次機能の解析

研究課題名(英文) Integrated analysis of plant-specific actin-myosin transport by controlling myosin XI velocity artificially

研究代表者

富永 基樹 (TOMINAGA, Motoki)

早稲田大学・教育・総合科学学術院・講師

研究者番号：50419892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：原形質流動の主な駆動力として知られるシロイヌナズナミオシンXIに、速度の異なる他種ミオシンのモータードメインを融合することで、速度変化型キメラミオシンXIを開発した。高速・低速型ミオシンXIの発現により原形質流動が高速化・低速化し、植物が大型化・小型化した。植物サイズとミオシン速度のリニアな相関から、原形質流動速度が植物サイズを規定している支配因子の一つであることを世界ではじめて明らかにした。

研究成果の概要(英文)：I have revealed physiological function of cytoplasmic streaming by controlling myosin XI velocity artificially. I generated high- and low-speed chimeric myosin XI by replacing the motor domains of *Arabidopsis thaliana* myosin XI with those of *Chara corallina* myosin XI and *Homo sapiens* myosin Vb, respectively. Surprisingly, the plant sizes of the transgenic *Arabidopsis* expressing high- and low-speed chimeric myosin XI were larger and smaller, respectively, than that of the wild-type plant. This size change correlated with acceleration and deceleration, respectively, of cytoplasmic streaming. These results strongly suggest that cytoplasmic streaming is a key determinant of plant size.

研究分野：植物細胞生物学

キーワード：原形質流動 細胞内輸送 ミオシン 植物成長

1. 研究開始当初の背景

ミオシンは、現在動植物合わせて 35 クラス見つかっており、クラスごとに多様な分子形態・機能を持つ。高等植物細胞では、たった 2 クラスの植物特異的ミオシン (クラス VIII と XI) が関与する独特の交通網が発達している。哺乳類、酵母、線虫、ショウジョウバエなどがミオシン I, II, V など基本的機能を担うミオシンクラスを共有していることを考えると、植物の交通システムは非常にユニークである。しかしながら、植物ミオシンの細胞内機能に関する理解は限定的である。

2. 研究の目的

細胞内交通は、細胞骨格を軌道とし、多様な速度を持ったモータータンパク質間の協調や引っ張り合いによって制御されていることが明らかになりつつある。モーター固有の速度はそれぞれが運搬する積荷に応じて最適化されていると考えられるが、細胞生物学的な意義に関してはほとんど分かっていない。本研究では、植物ミオシンに速度レベルの異なる他種ミオシンのモータードメインを融合することで、速度改変型キメラミオシンを作製する。速度改変型キメラミオシンを培養細胞や植物体に発現させ、細胞内交通や植物高次機能への影響を解析するという全く新しい試みから、ロックアウト等の一般的方法論では得られない知見を抽出する。

3. 研究の方法

シロイヌナズナミオシンのモータードメインを速度が異なる他種ミオシンのモータードメインと分子生物学的に置換し、人工的に速度を改変したキメラミオシンを作製する。これまでの申請者による解析から、特徴的な細胞内局在や組織特異的発現パターンを示すメンバーを候補とする。キメラミオシンを昆虫細胞において発現・精製し、速度改変を *In vitro* で評価する。シロイヌナズナ培養細胞において、蛍光タンパク質に融合したキメラミオシンと各種マーカーとの共発現を行う。ライブイメージングによって輸送コンパートメントの運動や局在に与える影響に関して詳細かつ定量的な解析を行う。シロイヌナズナ植物体で速度改変型ミオシンを発現させ、ミオシンの運動速度が植物特異的高次機能 (成長、形態形成、光定位運動、花粉管ガイダンス、ホルモンの極性輸送や重力屈性) に与える影響を解析する。細胞レベルでの輸送異常と高次機能における表現型異常を体系的に関連させ、ミオシンの機能と固有の速度に関して統合的考察を行う。

4. 研究成果

200 年以上前の発見以来謎であった原形質流動の生理的意義を明らかにするために、ミオシンの運動速度を人工的に改変 (高速化・低速化) するという全く新しい発想に基づく

解析システムを開発した。シロイヌナズナにおいて、原形質流動の主な駆動力として知られるミオシン XI-2 と XI-K に、速度の異なる他種ミオシンのモータードメインを融合することで、速度改変型キメラミオシン XI を作製した (図 1)。

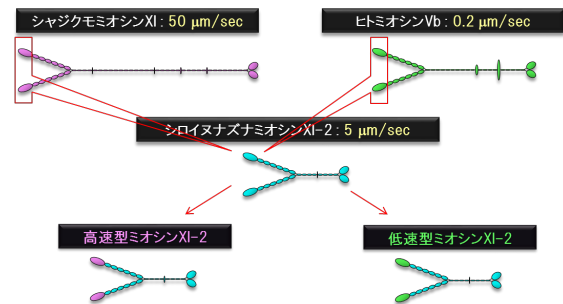


図1. 速度改変型ミオシン XI の開発

生物界最速シャジクモミオシン XI のモーターを融合した高速型ミオシン XI-2 の発現は、細胞サイズの増大に伴い植物を大型化することが明らかとなった。対して、ヒトミオシン V のモーターを融合した低速型ミオシン XI-2 の発現は、細胞サイズの減少に伴い植物の小型化を引き起こした。植物サイズとミオシン速度のリニアな相関から、原形質流動速度が植物サイズを規定している支配因子の一つであることが明らかとなった (図 2, Tominaga et al., *Developmental Cell*, 2013)。



図2. 速度改変型ミオシン XI-2 による植物サイズの変化

更に、高速型ミオシン XI-K の発現も植物の大型化を引き起こしたが、大型化は高速型 XI-2 とは異なる発達段階、組織で現れることが明らかとなった (図 3)。

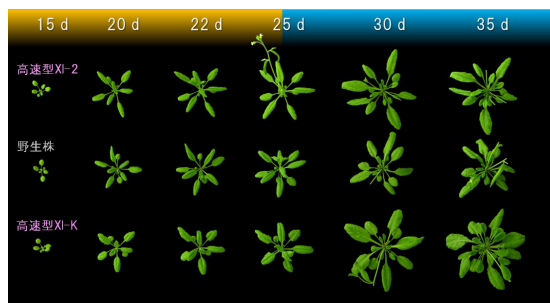


図3. 高速型ミオシン XI-2 と XI-K で植物大型化に対する効果が異なる

すなわち高等植物は、駆動力のミオシン XI を時間空間的に使い分けることで、原形質流動を介して自らの成長を制御している事が示唆された。

原形質流動は、藻類から高等植物まで見られる植物普遍的な細胞内輸送システムである。加えて、ミオシンの運動機能領域は高度に保存されていることから、高速化・低速化は様々な有用植物のミオシンに適用するこ

とが可能である。将来的にこの技術をバイオマスエネルギーや食糧に関連した資源植物に適用することで、効果的かつ普遍的な植物増産システムとしての展開が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

Ralph P. Diensthuber, Motoki Tominaga, Matthias Preller, Falk K. Hartmann, Hidefumi Orii, Igor Chizhov, Kazuhiro Oiwa, and Georgios Tsiavaliaris (2014). Kinetic mechanism of *Nicotiana tabacum* myosin-11 defines a new type of a processive motor. *JFASEB J.* 29 : 81-94. (査読有)
DOI: 10.1096/fj.14-254763

*Takeshi Haraguchi, *Motoki Tominaga, Rie Matsumoto, Kei Sato, Akihiko Nakano, Keiichi Yamamoto, and Kohji Ito (2014). Molecular Characterization and Subcellular Localization of Arabidopsis class VIII myosin, ATM1. *J. Biol. Chem.* 289 : 12343-12355. (*Both authors contributed equally to this work) (査読有)
DOI : 10.1074/jbc.M113.521716

Motoki Tominaga, Atsushi Kimura, Etsuo Yokota, Takeshi Haraguchi, Teruo Shimmen, Keiichi Yamamoto, Akihiko Nakano, and Kohji Ito (2013). Cytoplasmic Streaming Velocity as a Plant Size Determinant. *Dev. Cell* 27 : 345-352 (Selected for F1000prime) (査読有)
DOI : 10.1016/j.devcel.2013.10.005

Motoki Tominaga, Hiroaki Kojima, Etsuo Yokota, Rinna Nakamori, Michael Anson, Teruo Shimmen, and Kazuhiro Oiwa (2012). Calcium-induced mechanical change in the neck domain alters the activity of plant myosin XI. *J. Biol. Chem.* 287 : 30711-30718 (査読有)
DOI : 10.1074/jbc.M112.346668

Takahiro Hamada, Motoki Tominaga, Takashi Fukaya, Masayoshi Nakamura, Akihiko Nakano, Yuichiro Watanabe, Takashi Hashimoto, and Tobias I. Baskin (2009). RNA processing bodies, peroxisomes, Golgi bodies, mitochondria, and endoplasmic reticulum tubule junctions frequently pause at cortical microtubules. *Plant Cell Physiol.* 53 : 699-708 (査読有)

DOI : 10.1093/pcp/pcs025

Chieko Saito, Tomohiro Uemura, Chie Awai, Motoki Tominaga, Kazuo Ebine, Jun Ito, Takashi Ueda, Hiroshi Abe, Miyo Terao Morita, Masao Tasaka, and Akihiko Nakano (2011). The occurrence of 'bulbs', a complex configuration of the vacuolar membrane, is affected by mutations of vacuolar SNARE and phospholipase in Arabidopsis. *Plant J.* 68 : 64-73 (査読有)
DOI : 10.1111/j.1365-313X.2011.04665.x

〔学会発表〕(計39件)

海外招待講演

Motoki Tominaga
Molecular mechanism and physiological function of cytoplasmic streaming
25th International Conference on Arabidopsis Research, University of British Columbia, Vancouver, Canada, 2014, August, 1

Motoki Tominaga
Plant size regulation through artificial control of myosin velocity responsible for cytoplasmic streaming
Green Biotechnology for Global Sustainability, Toyonaka, Osaka, Japan, 2013, March, 9

国際学会発表

Motoki Tominaga, Atsushi Kimura, Keiichi Yamamoto, Akihiko Nakano, and Kohji Ito
Development of chimeric myosin XI for plant growth regulation.
JST-PRESTO International Joint Symposium on Photo-Science Leading to a Sustainable Society: Environment, Energy, Functional Materials
Kanagawa, Japan, 2012, March, 27

国内招待講演

富永基樹
動かない植物の細胞内運動の謎
学習院大学生命科学シンポジウム「生命の秘密を解く鍵をもとめて」学習院大学
@目白・東京 2014年5月31日

富永基樹
原形質流動による成長制御から考える植物の光戦略
公開シンポジウム「多様な光合成の世界」
近畿大学 農学部 奈良キャンパス@奈良市・奈良 2014年5月30日

富永基樹

原形質流動速度の人工的改変による植物のサイズ制御

シンポジウム「細胞を創る操る」奈良先端科学技術大学院大学 ミレニアムホール@奈良市・奈良 2013年11月28日

富永基樹

植物ミオシン：高次機能を担う分子メカニズム

神谷宣郎先生 生誕百周年記念シンポジウム 大阪大学@豊中市・大阪 2013年7月13日

富永基樹

植物ミオシン ~ 分子メカニズムから高次機能まで~

大阪大学生物科学セミナー 大阪大学@豊中市・大阪 2013年6月4日

国内シンポジウム発表

富永基樹, 木村篤司, 横田悦雄, 原口武士, 新免輝男, 山本啓一, 中野明彦, 伊藤光二

速度改変型キメラミオシン XI による原形質流動速度変化が植物サイズに及ぼす影響

第65回日本細胞生物学会 ウィンクあいち@名古屋市・愛知 2013年6月19日 (シンポジウム発表)

富永基樹

ミオシンモーターによる植物のサイズ制御と宇宙への展開

理研シンポジウム:「きぼう」に夢を乗せて(2)

理化学研究所@和光市・埼玉 2013年3月7日

富永基樹, 伊藤光二, 小嶋寛明, 横田悦雄, 山本啓一, 新免輝男, 大岩和弘, 中野明彦

分子レベルから眺める原形質流動

日本植物学会第76回大会 シンポジウム: 植物ミオシン~分子メカニズムから高次機能まで~ 兵庫県立大学@姫路市・兵庫 2012年9月16日 (シンポジウム発表)

森川高光, 岩城光宏, 伊藤光二, 木村篤, 富永基樹, 池崎圭吾, 小森智貴, 藤田恵介, 中野明彦, 山本啓一, 柳田敏雄

ミオシン XI の1分子解析

日本植物学会第76回大会 シンポジウム: 植物ミオシン~分子メカニズムから高次機能まで~ 兵庫県立大学@姫路市・兵庫 2012年9月16日

伊藤光二, 原口武士, 松本梨江, 中野明彦, 山本啓一, 富永基樹

シロイヌナズナで発現している17種類のミオシンの網羅的酵素解析

日本植物学会第76回大会 シンポジウム: 植物ミオシン~分子メカニズムから高次機能まで~ 兵庫県立大学@姫路市・兵庫 2012年9月16日

富永基樹

植物における交通網を司るアクチン骨格系とミオシンモーター

特別推進研究公開シンポジウム 東京大学本郷キャンパス 伊藤国際学術研究センター 伊藤謝恩ホール@文京区・東京 2012年9月10日 (シンポジウム発表)

国内学会発表

脇坂達哉, 富永基樹, 原口武士, 中野明彦, 伊藤光二

シロイヌナズナ低分子量 G タンパク質 Rab とミオシンとの相互作用

日本植物学会第78回大会 明治大学@川崎市・神奈川 2014年9月12日

諏訪貴大, 大矢里美, 貴嶋紗久, 富永基樹, 大木高志, 中野明彦, 石渡信一, 上田太郎, 伊藤光二

シロイヌナズナアクチンの諸性質: ミオシンとの相互作用を中心に

日本植物学会第78回大会 明治大学@川崎市・神奈川 2014年9月12日

筒井千晶, 富永基樹, 原口武士, 勝俣幸平, 中野明彦, 伊藤光二

シロイヌナズナミオシン 11K の尾部結合タンパク質の探索

日本植物学会第78回大会 明治大学@川崎市・神奈川 2014年9月12日

勝俣幸平, 富永基樹, 原口武士, 筒井千晶, 中野明彦, 伊藤光二

シロイヌナズナミオシン MYA1、MYA2 の結合タンパク質の探索

日本植物学会第78回大会 明治大学@川崎市・神奈川 2014年9月12日

富永基樹, 伊藤光二, 原口武士, 横田悦雄, 新免輝男, 山本啓一, 中野明彦

速度改変型キメラミオシン XI の発現により明らかになってきた原形質流動の機能と制御

第55回日本植物生理学会年会 富山大学@富山市・富山 2014年3月18日

富永基樹, 伊藤光二, 原口武士, 横田悦雄, 新免輝男, 山本啓一, 中野明彦

速度改変型キメラミオシン XI の発現により明らかになってきた原形質流動の機能と制御

第55回日本植物生理学会年会 富山大学@富山市・富山 2014年3月18日

- ②① 富永基樹, 伊藤光二, 原口武士, 横田悦雄, 新免輝男, 山本啓一, 中野明彦
速度改变型ミオシン XI からみえてきた原形質流動の機能と制御
生体運動合同班会議 千葉大学@千葉市・千葉 2014年1月10日
- ②② 大矢 里美, 富永基樹, 観音堂 由佳, 松本 梨絵, 原口 武士, 中野 明彦, 山本 啓一, 伊藤 光二
シロイヌナズナクラス VIII ミオシンのATM2 と VIII B の酵素活性
日本植物学会第 77 回大会 北海道大学札幌キャンパス高等教育推進機構@札幌市・北海道 2013年9月13日
- ②③ 徳原 美緒, 富永基樹, 松本 梨絵, 観音堂 由佳, 原口 武士, 中野 明彦, 山本 啓一, 伊藤 光二
シロイヌナズナのクラス VIII ミオシンに属する ATM1・VIII A の酵素活性、二量体形成能について
日本植物学会第 77 回大会 北海道大学札幌キャンパス高等教育推進機構@札幌市・北海道 2013年9月13日
- ②④ 勝俣 幸平, 原口 武士, 富永基樹, 中野 明彦, 山本 啓一, 伊藤 光二
シロイヌナズナミオシン XI のダイマー形成について
日本植物学会第 77 回大会 北海道大学札幌キャンパス高等教育推進機構@札幌市・北海道 2013年9月13日
- ②⑤ 原口武士, 富永基樹, 勝俣幸平, 中野明彦, 山本啓一, 伊藤光二
シロイヌナズナの原形質流動に重要な役割を果たしているミオシン XI-K の日本植物学会第 77 回大会 北海道大学札幌キャンパス高等教育推進機構@札幌市・北海道 2013年9月15日
- ②⑥ 富永基樹, 伊藤光二, 原口武士, 横田悦雄, 新免輝男, 山本啓一, 中野明彦
植物サイズ制御における原形質流動の機能およびミオシン XI メンバーの役割分担
日本植物学会第 77 回大会 北海道大学札幌キャンパス高等教育推進機構@札幌市・北海道 2013年9月15日
- ②⑦ 富永基樹, 木村篤司, 横田悦雄, 原口武士, 新免輝男, 山本啓一, 中野明彦, 伊藤光二
速度改变型キメラミオシン XI による原形質流動速度変化が植物サイズに及ぼす影響
第 65 回日本細胞生物学会 ウィンクあいち@名古屋市・愛知 2013年6月19日

日

- ②⑧ 富永基樹, 木村篤司, 山本啓一, 中野明彦, 伊藤光二
速度改变型キメラミオシン XI による原形質流動速度変化がシロイヌナズナに及ぼす影響
日本植物学会第 76 回大会 兵庫県立大学@姫路市・兵庫 2012年9月15日
- ②⑨ 富永基樹, 木村篤司, 山本啓一, 中野明彦, 伊藤光二
速度改变型キメラミオシン XI による原形質流動速度変化がシロイヌナズナに及ぼす影響
日本植物学会第 76 回大会 兵庫県立大学@姫路市・兵庫 2012年9月15日
- ③⑩ 伊藤光二, 原口武士, 松本梨江, 中野明彦, 山本啓一, 富永基樹
シロイヌナズナミオシンの網羅的酵素解析
日本植物学会第 76 回大会 兵庫県立大学@姫路市・兵庫 2012年9月15日
- ③⑪ 原口武士, 富永基樹, 中野明彦, 山本啓一, 伊藤光二
シロイヌナズナミオシン XI-I は、アクチンへの親和性が高く、アクチン滑り速度は低いユニークなミオシンである
日本植物学会第 76 回大会 兵庫県立大学@姫路市・兵庫 2012年9月15日
- ③⑫ 宮内健太, 佐藤暁, 富永基樹, 中野明彦, 原口武士, 山本啓一, 伊藤光二
シロイヌナズナミオシン XI-A と XI-C の活性測定について
日本植物学会第 76 回大会 兵庫県立大学@姫路市・兵庫 2012年9月15日
- ③⑬ 富永基樹, 木村篤司, 山本啓一, 中野明彦, 伊藤光二
シャジクモ・シロイヌナズナキメラミオシン XI による原形質流動高速化はシロイヌナズナを大型化する
第 53 回日本植物生理学会年会 京都産業大学@京都市・京都 2012年3月16日
- ③⑭ 森川高光, 伊藤光二, 木村篤司, 富永基樹, 池崎圭吾, 小森智貴, 藤田恵介, 中野明彦, 山本啓一, 岩城光宏, 柳田敏雄
シロイヌナズナミオシン 11 は多分子による高速移動に有利である
2012年 生体運動合同班会議 筑波大学@つくば市・茨城 2012年1月7日
- ③⑮ 伊藤光二, 松本梨江, 原口武士, 中野明彦, 山本啓一, 富永基樹
シロイヌナズナの 17 種のミオシンの網

羅的酵素機能解析
2012年 生体運動合同班会議 筑波大学
@つくば・茨城 2012年1月7日

③⑧ 富永基樹, 木村篤司, 山本啓一, 中野明彦, 伊藤光二
シャジクモ・シロイヌナズナキメラミオシン XI による原形質流動高速化は植物の大型化を促す
2012年 生体運動合同班会議 筑波大学
@つくば・茨城 2012年1月7日

③⑦ 富永基樹, 木村篤司, 山本啓一, 中野明彦, 伊藤光二
高速型シャジクモ・シロイヌナズナキメラミオシン XI がシロイヌナズナ細胞内輸送および成長に及ぼす影響
第84回日本生化学会大会 国立京都国際会館@京都市・京都 2011年9月23日

③⑧ 富永基樹, 木村篤司, 山本啓一, 中野明彦, 伊藤光二
高速型シャジクモ・シロイヌナズナキメラミオシン XI がシロイヌナズナ細胞内輸送および成長に及ぼす影響
第84回日本生化学会大会 国立京都国際会館@京都市・京都 2011年9月22日

③⑨ 富永基樹, 木村篤司, 山本啓一, 中野明彦, 伊藤光二
高速型シャジクモ・シロイヌナズナキメラミオシン XI がシロイヌナズナ細胞内輸送および成長に及ぼす影響
日本植物学会第75回大会 東京大学@駒場・東京 2011年9月18日

〔図書〕(計4件)

富永基樹
原形質流動による成長制御から考える植物の光戦略
光合成研究 72号 (2015)

富永基樹, 伊藤光二
ミオシン速度は植物サイズを決定する
生物物理 .54 : 259-261 (2014)

富永基樹, 伊藤光二
原形質流動は植物の大きさの決定因子である
ライフサイエンス新着論文レビュー (First Author 's) (2013)

Motoki Tominaga and Akihiko Nakano
Plant-specific myosin XI, a molecular perspective. Front. Plant Sci. (2012).
3 : 211
DOI: 10.3389/fpls.2012.00211

〔産業財産権〕

出願状況 (計1件)

名称: 成長増強植物及びその作出方法
発明者: 富永基樹
権利者: 国立研究開発法人理化学研究所
種類: 特許
番号: 13/344574
出願年月日: 2012年1月5日
国内外の別: 米国

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富永 基樹 (TOMINAGA, Motoki)
早稲田大学・教育・総合科学学術院・専任講師
研究者番号: 50419892