

平成22年 5月 26日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20770032

研究課題名（和文）植物細胞におけるオルガネラの流動とポジショニングの分子機構の解明

研究課題名（英文）Mechanism of the organelle streaming and positioning in plant cells

研究代表者

上田 晴子 (UEDA HARUKO)

京都大学・大学院理学研究科・特定研究員（産官学連携）

研究者番号：90402776

研究成果の概要（和文）：植物細胞内では原形質流動として知られるオルガネラ運動が観察されるが、その仕組みは未解明な部分が多い。細胞内で最大の表面積を持つ小胞体は原形質流動に大きく寄与すると考え、小胞体流動を駆動する植物特異的なミオシン XI を同定した。興味深いことに、小胞体を駆動するミオシンはミオシンが滑るアクチンレールの構築そのものにも関与することが明らかとなり、小胞体・ミオシン・アクチンの三者相互作用により流動が促進されることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Cytoplasmic streaming is defined as an extensive intracellular motility in plants, but the mechanism remains unclear. This work demonstrates that endoplasmic reticulum (ER) dynamics is driven primarily by the ER-associated myosin XI-K, a member of a plant-specific myosin class XI. Furthermore, this work shows that the myosin XI involves in the organization of the actin filament bundles. These results suggest a model whereby dynamic three-way interactions between ER, F-actin, and myosins determine the architecture and movement patterns of the ER strands, and cause cytosol hauling traditionally defined as cytoplasmic streaming.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：オルガネラ・原形質流動・小胞体・アクチン・ミオシン

## 1. 研究開始当初の背景

細胞内は非常にダイナミックな空間で、活

発なオルガネラ運動が観察される。なかでも200年以上前に発見された植物に特徴的な原

形質流動は非常に高速であり、シャジクモ節間細胞で  $100 \mu\text{m}/\text{sec}$  という最大速度に達する。この現象には、50年ほど前に日本人によって「オルガネラに結合したモータータンパク質ミオシンが、アクチン繊維上を滑ることにより起こる」という“滑り説”が提唱され、現在も広く受け入れられている。植物は独自のクラスのみオシン（ミオシン VIII, ミオシン XI）を進化させ、原形質流動にはミオシン XI が関与することが示唆されている。ゲノム情報の公開やオルガネラ可視化技術の発達により、植物ミオシンとオルガネラ動態との関わりが注目されつつあるが、原形質流動の具体的な維持機構は未解明な部分が多かった。

## 2. 研究の目的

本研究では、蛍光タンパク質で可視化した小胞体（図1）の観察から、植物細胞の小胞体が激しく流動する現象に注目した。この流動は方向性を持ち、非常に速くて絶え間ない。アクチン重合阻害剤やミオシン阻害剤で処理すると、この流動は抑制された。また、細胞質ゾルを可視化して観察すると小胞体と類似した流動パターンを示した。小胞体は細胞内で最大の表面積を持つオルガネラであり、原形質中に張り巡らされている。これらの知見から「原形質流動において、小胞体の流動が重要な役割を果たす」という仮説を考案した。この仮説を証明することを目的とし、小胞体を中心として流動とポジショニングの分子機構の解析を進めた。

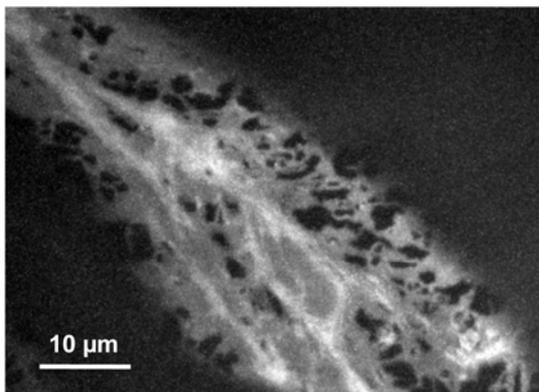


図1 植物細胞の小胞体  
小胞体局在型の緑色蛍光タンパク質で可視化したシロイヌナズナ幼植物体葉柄の細胞。シート状やチューブ状構造からなる小胞体ネットワークが観察される。筋状の輝度の高い部分は激しく流動している。

## 3. 研究の方法

本研究ではモデル植物シロイヌナズナを用いて、下記の方法で解析を行った。

(1) 小胞体流動に関与するミオシンの同定

①小胞体流動に異常を示すミオシン変異体の逆遺伝学的探索

②ミオシンの細胞内局在解析

(2) 小胞体流動に関与するミオシン変異体の解析

## 4. 研究成果

シロイヌナズナのみオシン XI は13種類のアイズフォームから構成されている。これらの欠損変異体を作製し、小胞体局在型 GFP を発現させて、小胞体流動に異常を示す変異体を探索した。その結果、ミオシン XI-K 欠損変異体において著しく小胞体流動が抑制されていることを見いだした。スクロース密度勾配遠心によってオルガネラを分画したところ、ミオシン XI-K が小胞体画分から検出された。従って、ミオシン XI-K は小胞体に局在して流動を担うと考えられる。原形質流動に関わるオルガネラの動態とミオシンの局在の具体的な対応付けは、初めての報告である。

小胞体の流動抑制は、恒常的に発現の高いアイズフォームである MYA1 および MYA2 との多重変異体でさらに顕著になることが明らかとなった。これらの変異体では、小胞体流動の抑制に加えて小胞体の形態や分布にも異常が観察された。興味深いことに、この異常はアクチン重合阻害剤で処理した細胞の小胞体と酷似していた（図2）。

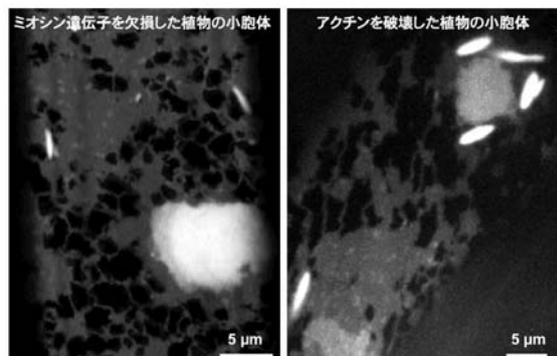


図2 ミオシン欠損変異体の小胞体  
緑色蛍光タンパク質で可視化した小胞体の様子。ミオシン遺伝子を欠損した植物の細胞では、野生型で見られる激しく流動する筋状の小胞体が消失し、大きな凝集体が形成される(左図)。この異常は、アクチン繊維を破壊した植物の小胞体の様子と酷似している(右図)。

そこで、これらの多重変異体におけるアクチン繊維束を野生型と比較した。野生型の子葉葉柄細胞では、アクチン繊維束が細胞の長軸方向に発達し、そのアクチン繊維束に沿って小胞体の活発な流動が観察された(図3A)。一方、ミオシン多重変異体の細胞では、アクチン繊維束の配向がランダムで長軸方向に沿っておらず、小胞体の分布とも相関が見られなかった(図3B)。従って、ミオシン XI はアクチン依存的な小胞体の分布パターンを形成するだけでなく、細胞内におけるアクチン繊維束の正常な配向に必要であることが明らかとなった。ミオシンがアクチン上を滑ることは有名であるが、自分が滑るためのレールの構築に関わるということは新たな知見である。

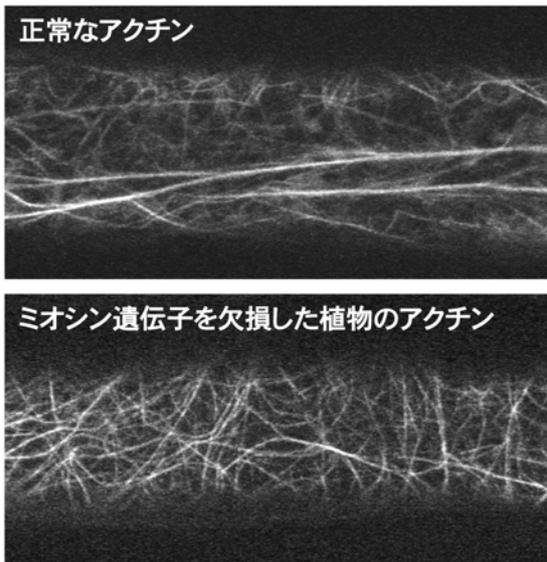


図3 蛍光標識したアクチン  
植物は方向の揃った太いアクチンレールを持っている(上)。一方、ミオシン遺伝子を欠損した植物のアクチンレールは乱れている(下)。

最近数年の間に植物ミオシンの研究は急速に盛んになり、ミオシン XI とオルガネラの動きとの関わりも勢力的に解析されるようになった。しかし、実際に解析されているのはミトコンドリア、ペルオキシソーム、あるいはゴルジ体という顆粒状オルガネラに偏っていた。小胞体に着目した本研究から、「小胞体に結合したミオシンがアクチン上を滑りながらレールの方向を揃え、その上を滑ることによりさらに太い高速レールを構築している」という“小胞体・ミオシン・アクチンの三者相互作用モデル”(図4)が考

察でき、原形質流動という古くから知られる現象の仕組みを解く手がかりを与えたと考えられる。

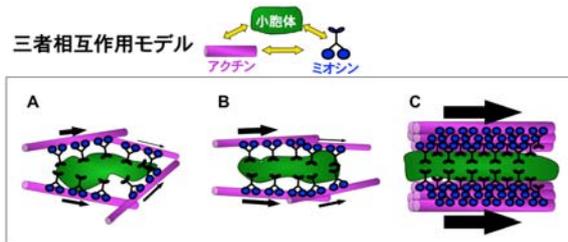


図4 小胞体とミオシンとアクチンの三者相互作用モデル  
A. ミオシンが小胞体に結合して、近傍のさまざまな方向を向いたアクチンレール上を滑り始める。  
B. 小胞体が滑り運動を繰り返すことにより、アクチンレールの方向性が徐々に揃う。  
C. 方向の揃った太い高速アクチンレールが構築され、これがさらに小胞体の流動を加速する。

## 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3件)

① Ueda, H., Yokota, E., Kutsuna, N., Shimada, T., Tamura, K., Shimmen, T., Hasezawa, S., Dolja, V. V., and Hara-Nishimura, I., Myosin-dependent endoplasmic reticulum motility and F-actin organization in plant cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (2010) 107, 6894-6899. 査読あり

② Shirakawa, M.\* , Ueda, H.\*, Shimada, T., Nishiyama, C., and Hara-Nishimura, I., Vacuolar SNAREs function in the formation of the leaf vascular network by regulating auxin distribution. *Plant Cell Physiol.* (2009) 50, 1319-1328. 査読あり

\*These authors contributed equally.

③ Nakano, R. T., Matsushima, R., Ueda, H., Tamura, K., Shimada, T., Li, L., Hayashi, Y., Kondo, M., Nishimura, M., and Hara-Nishimura, I., GNOM-LIKE1/ERMO1 and SEC24a/ERMO2 are required for maintenance of endoplasmic reticulum morphology in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell.* (2009) 21, 3672-3685. 査読あり

[学会発表] (計12件)

① 上田晴子, 横田悦雄, 朽名夏磨, 田村謙太郎, 嶋田知生, 新免輝男, 馳澤盛一郎, 西村いくこ, アクチン繊維束の細胞内配向におけるミオシン XI の役割, 第51回日本植物生理学会, 2010年3月21日, 熊本大学

② 岡本圭史, 上田晴子, 田村謙太郎, 嶋田知生, 豊田正嗣, 鈴木友美, 長谷あきら, 田坂

昌生, 森田(寺尾)美代, 西村いくこ, ミオシンは光と重力に対する環境応答のブレーキとして働く, 第 51 回日本植物生理学会, 2010 年 3 月 21 日, 熊本大学

③上田晴子, 横田悦雄, 嶋田知生, 新免輝男, 西村いくこ, 小胞体流動機構に解明へミオシンに着目して, 第 50 回日本植物生理学会, 2009 年 3 月 21 日, 名古屋大学

④中野亮平, 松島良, 上田晴子, 林八寿子, 田村謙太郎, 嶋田知生, 西村いくこ, 小胞体の形態と細胞内分布に異常を示す *ermo* 変異体の解析, 第 50 回日本植物生理学会, 2009 年 3 月 21 日, 名古屋大学

⑤岡本圭史, 上田晴子, 田村謙太郎, 嶋田知生, 鈴木友美, 長谷あきら, 西村いくこ, ミオシン変異体の葉柄は光と重力に過敏に応答して屈曲する, 第 50 回日本植物生理学会, 2009 年 3 月 23 日, 名古屋大学

[その他]

ホームページ等

[http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/news\\_data/h/h1/news/6/2009/100323\\_1.htm](http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/news_data/h/h1/news/6/2009/100323_1.htm)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

上田 晴子 (UEDA HARUKO)

京都大学・大学院理学研究科・特定研究員  
(産官学連携)

研究者番号: 90402776