

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15128

研究課題名（和文）植物細胞分裂様式の分子的理解

研究課題名（英文）Molecular understanding of plant cell division patterns

研究代表者

佐々木 武馬（Sasaki, Takema）

名古屋大学・理学研究科・助教

研究者番号：60759497

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：細胞分裂は生物の体を形づくるための根源的な生命現象です。植物細胞の分裂様式は特殊で細胞分裂面に細胞板と呼ばれる仕切りを建設することで、任意の位置と角度に分裂面を設定することができます。本研究では、この様な植物特異的分裂様式について、植物に特異的な微小管構造に着目し進めました。結果として、陸上植物で働く紡錘体極を決める微小管構造の実体を明らかにしました。この構造は紡錘体形成前に細胞膜周辺に形成され、紡錘体微小管形成のための微小管重合を担うと考えられます。この結果より、中心体を用いずに分裂する、植物に独自の細胞分裂様式の分子機構の一端が明らかとなりました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

約5億年前に植物は他の生物に先駆けて陸上進出を果たした。陸上進出の過程で水中に暮らしていた緑藻類の一部が新たな細胞分裂様式を生み出し、現生の陸上植物の細胞分裂の仕組みが作られていった。緑藻類が生み出した細胞分裂様式の大きな特徴として細胞板の形成や中心体の損失が挙げられる。細胞板の形成機構についてはこれまで多くの先行研究のもとその仕組みの全容が明らかになりつつある。一方で、中心体を用いない細胞分裂の仕組みの理解は全くといっていいほど進んでいない。本研究により陸上植物の細胞分裂様式の理解が進み、学術的な意義の他に、農産物の増産や、作物の形作り等、育種への応用も期待される。

研究成果の概要（英文）：Cell division is a fundamental biological process for forming the body of an organism. The division mode of plant cells can be determined using the cell division plane at appropriate positions and angles by constructing a partition called a cell plate on the plane of division. In this study, we focused on plant-specific microtubule structures to understand this plant-specific mode of division. As a result, we have clarified the microtubule structures that determine the spindle poles in land plants. The structures are formed around the nuclear envelope before spindle formation and is thought to be responsible for microtubule polymerization for the formation of mitotic spindle. This result reveals part of the molecular mechanism of the unique cell division mode in plants, in which cells divide without using a centrosome.

研究分野：細胞生物学

キーワード：微小管 細胞質分裂 細胞分裂 紡錘体 微小管付随タンパク質

1. 研究開始当初の背景

細胞分裂は生物の体を形づくるための根源的な生命現象である。多くの生物種では細胞は外側からくびれ二つの細胞に分裂する。一方、陸上植物はユニークな細胞質分裂様式を持つ。陸上植物細胞は細胞分裂面に細胞板と呼ばれる仕切りを建設することで、任意の位置と角度に分裂面を設定することができる。この分裂様式は複雑で規律だった細胞の並びを作り出し、現在の多種多様な形の陸上植物の誕生に貢献している。植物細胞は進化の過程で、中心体を欠損し、かつ細胞質分裂装置フラグモプラストを獲得することで、この特殊な細胞質分裂様式を確立させてきた。しかしながら、その特殊な分裂様式の分子実体についてはいまだ不明確な点が多い。特に中心体を用いない細胞質分裂機構や、他に類をみない微小管構造であるフラグモプラストの形成機構はほぼ未解明であり、その解明は陸上植物細胞分裂様式の理解に必須である。

2. 研究の目的

目的

動物細胞は中心体により紡錘体の双極性を保ち、さらに中心体により紡錘体の配向を維持することで細胞分裂方向を決定する。一方で多くの陸上植物では中心体が消失している。興味深いことに陸上進出直後のコケ植物では中心体の代わりに極形成体(中心小体が存在しない中心体様構造)を極とした動原体の双極性維持機構が存在する。我々は近年ゼニゴケにおいて極形成体を形成できずに紡錘体の双極性が消失している変異体の同定に成功した。しかしながらこの変異体は、細胞質分裂を完了することが出来る。この知見は中心体を用いずに細胞質分裂を実施する植物の分裂様式を説明する手がかりになると考えている。そこで、本研究ではゼニゴケおよびその極形成体形成不全変異体の解析から、中心体を用いずに細胞分裂する陸上植物の細胞分裂機構の全容を明らかにする。

目的

細胞板の形成は植物細胞分裂の特質すべき特徴である。細胞板は植物に特有な微小管構造フラグモプラストが細胞板成分を分裂面に運搬することにより形成される。つまり細胞板形成機構の理解に、フラグモプラスト形成機構の解明は欠かせない。最近の研究はフラグモプラスト微小管の動態を鮮明に観察してきた。しかしこれらの研究報告は観察結果の記載に留まり、フラグモプラスト微小管動態の制御因子はほとんどわかっていない。本研究ではフラグモプラスト微小管動態の制御因子の同定および解析により、フラグモプラスト形成の分子機構を具体化する。

3. 研究の方法

目的 に関して

ゼニゴケの極性生体形成不全変異体の細胞分裂過程を観察することで、極形成体が中心体の代替の器官として機能している可能性について検討した。

目的 に関して

フラグモプラストは細胞板形成に働く。その過程で細胞分裂面上を、細胞板を形成しながら拡大する。そこでこのダイナミックの形状変化を評価する定量方法を確立した。またフラグモプラスト形成に関わる因子探索のため、近接依存性標識法 TurboID 法を用いる (Branon et al., Nat Biotechnol, 2018) を実施する準備を進めた。この手法は、任意のタンパク質に TurboID タグを付加し、その周囲 10 nm 以内に位置するタンパク質をビオチン化し、質量分析装置で検出する。各種フラグモプラスト局在因子に TurboID タグを付加し、相互作用因子の探索を試みた。

4. 研究成果

目的 に関して

これまでに極形成体形成不全変異体では細胞分裂方向が大きく乱れることを見出した(図1)。この変異体の微小管構造を超解像顕微鏡 3D SIM を用いて観察することで、極形成体が多極化し双極構造を作れないことが分かった(図2)。極形成体が多極化することで、続いて形成される紡錘体も多極化し、さらに紡錘体が適切な角度から軸がずれて形成された。さらに興味深いことに、ずれた紡錘体と同じ方向にフラグモプラストが形成され、結果的に細胞板の形成角度もずれた。この結果は陸上植物細胞が、紡錘体の角度維持により細胞分裂方向を決定する機構を有することを示す。この機構における極形成体の働きは動物細胞における中心体の役割と類似しており、極形成体が中心体に相似で相同の構造である可能性を強く示唆している。

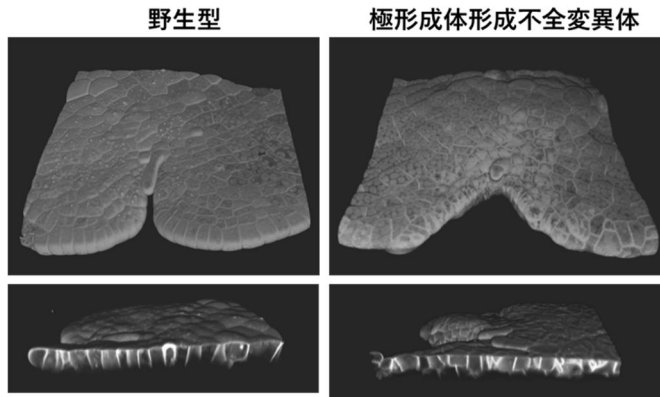


図1, 野生型ゼニゴケ（左）と極形成体形成不全ゼニゴケ（右）の無性芽とその断片（下）

野生型と比べ極形成体形成不全ゼニゴケでは、細胞の並びが乱れ変形した器官が形成される。また細胞分裂面の方向が大きく乱れている。

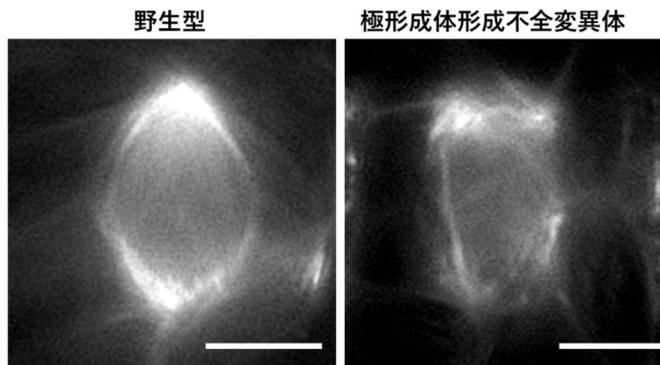


図2, 野生型ゼニゴケ（左）と極形成体形成不全ゼニゴケ（右）の極形成体を微小管マーカーで観察した様子。

野生型では双極性を持つ極形成体が形成される。一方で極形成体形成不全ゼニゴケでは極形成体が多極化している。スケールバーは5 μm 。

目的 に関して

フラグモプラストの形態を定量的に評価する系を確立した。フラグモプラストは、二つの短い微小管が並ぶ構造をとる。そこで、これら微小管の長さをピークとして検出し、各ピークの半値幅からフラグモプラストの形態を比較する方法を発表した (Sasaki et al., *Methods in Molecular Biology*, 2021)。

TurboID法に関しては各種フラグモプラスト局在タンパク質にTurboIDタグを付加した植物を作製した。また各植物からビオチン化タンパク質を検出し、フラグモプラスト局在因子の同定を進めた。しかしながら本研究期間中に候補物質の同定には至らなかった。今後、候補物質の同定およびその解析を進めることで、フラグモプラスト形成の分子機構を明らかにしていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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, Oda Yoshihisa	4. 巻 -
2. 論文標題 A Quantitative Method for Evaluating Phragmoplast Morphology	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 225 ~ 232
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/978-1-0716-1744-1_13	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2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Takema Sasaki
2. 発表標題 Dynamics of microtubule structure during cell division in land plants
3. 学会等名 From Cellular Dynamics to Morphology II（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐々木武馬 石崎公庸 本瀬宏康 小田祥久
2. 発表標題 微小管付随タンパク質CORDIはゼニゴケにおいて細胞分裂面の決定に関与する
3. 学会等名 植物生理学会
4. 発表年 2022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
---------	---------