

# 植物の形態を決定する細胞骨格因子について

橋本 隆

真核生物に普遍的な細胞骨格（アクチンと微小管）のうち、植物は主に微小管を用いて細胞分裂面や細胞伸長方向を決定している。細胞壁に囲まれた堅固な植物細胞が新しい細胞板を形成し、特定方向に伸長するためには、植物に特徴的な微小管構造を使って細胞壁ポリマーの合成と蓄積を制御する必要がある。間期細胞の表層微小管は既存微小管上で誕生し、微小管同士の相互作用により、一定のパターンをもった微小管束に収束する。表層微小管束はセルロース合成酵素の動態をコントロールすることにより、細胞にかかる張力方向を決定するセルロース微繊維の並び方を決めている。表層微小管パターンがどのようなメカニズムにより決まるのかは植物細胞生物学の重要な問題であり、植物器官の形状に由来する細胞にかかるストレス方向が微小管配向ベクトルを与えるというモデルが提唱されている。

## 1. はじめに

植物細胞が動物細胞と大きく異なる点のひとつに、強固な細胞壁で囲まれていることが挙げられる。細胞壁はカビや細菌などにも見られるが、多細胞生物においては細胞壁の存在は生命体の形をつくり、重力に逆らって上方伸長するのに必須である。一方で、細胞壁の存在は植物の発生や分化において細胞の移動を困難にし、植物器官の形態は細胞の分裂面と細胞肥大方向の制御に負うところが大きい。より具体的には、細胞分裂時に二つの娘細胞を隔てる新しい細胞壁を特定方向に形成すること、並びに新しい細胞が膨張する際に一定方向に細胞が伸長できるように細胞壁の物理的性質を調節すること、である。

本総説では植物体の形態を決定するのに重要な役割を果たしている細胞骨格、特に微小管の機能とその制御について概説する。微小管は $\alpha$ チューブリンと $\beta$ チューブリンのヘテロ二量体がひとつのユニットとなつてつながった微小管原繊維が13本環状に合わさったポリマー構造をとっている。チューブリンの付加によりポリマーが重合した

り、脱重合によりポリマーの分解が頻繁に起こる微小管端をプラス端と呼び、重合・脱重合が繰り返して起こる微小管の性質を動的不安定性と呼ぶ（図1）。

## 2. 分裂面の決定機構

植物細胞は両極に分かれた娘核の間に新しい細胞壁（細胞板）を形成することにより細胞分裂する。カロース多糖を主成分とする新生細胞壁素材はフラグモプラスト（phragmoplasts）と呼ばれる微小管構造物に沿って小胞により細胞板形成部位に運ばれる（図2）。その後、セルロースなどのポリマーがカロースに置き換わり、細胞壁が成熟する。初期は円盤状となり、後期はリング状となるフラグモプラストは内側の微小管が脱重合し、外側に新たな微小管が重合することにより、細胞中央部から周辺部に向かって広がってゆく。興味深いことに、細胞板がどの方向に広がって親細胞の側部細胞壁とつながるか（すなわち、フラグモプラストの拡張方向）は、前期前微小管束（PPB；preprophase band）により細胞分裂開始時に決定されている<sup>1)</sup>。

細胞分裂前期の直前に、間期の表層微小管が消失するとともに、細胞長軸の特定部位（通常は細胞核が存在する中央部）に細胞を取り囲むようにリング状にPPB表層微小管が集合する（図2）。PPBは核膜崩壊とともに短期間で消失するが、PPBが存在した細胞膜内側に何らかの標識を残すと考えられている。微小管制御タンパク質の異常で紡錘糸が傾き、初期のフラグモプラストが傾いて形成され

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究所  
(〒630-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5)

Microtubule cytoskeleton determines plant shape  
Takashi Hashimoto (Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology, Takayama 8916-5, Ikoma, Nara 630-0192, Japan)

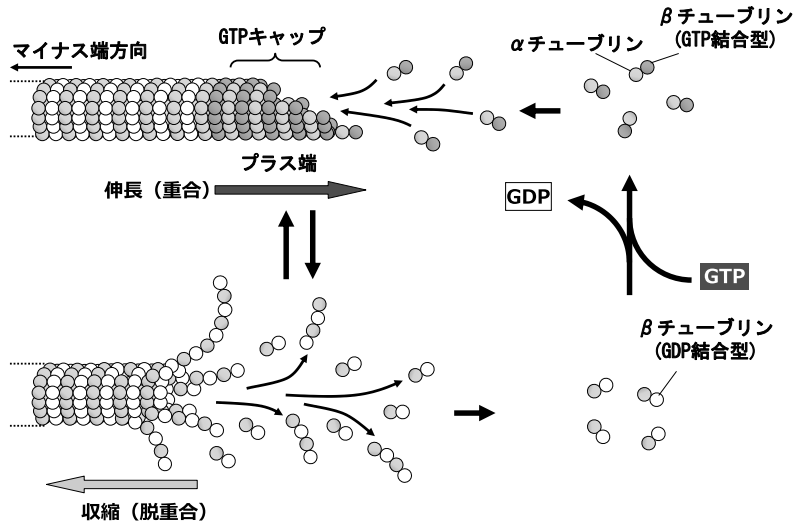


図1 微小管プラス端における重合と脱重合  
GTP結合型チューブリンがプラス端に結合し、微小管が伸長する。βチューブリンのGTPは徐々にGDPに加水分解するので、伸長するプラス端にはGTPキャップ構造が見られる。この構造がなくなると脱重合に向かうが、再構築されると再び重合サイクルに入る。

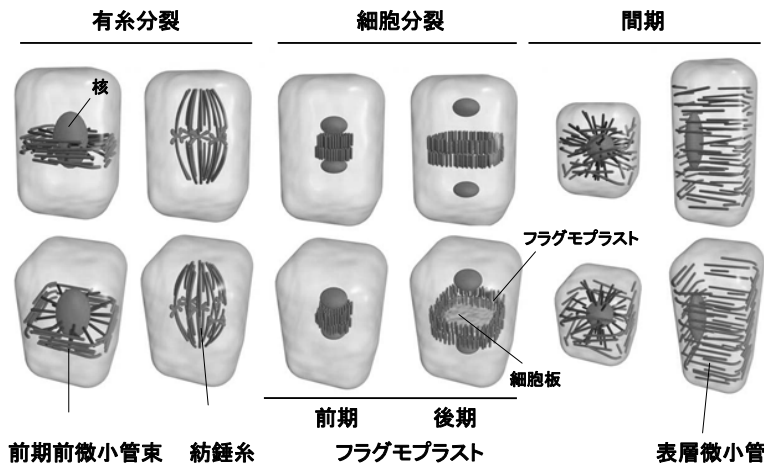


図2 植物細胞の細胞周期における微小管構造  
Wasteneys, G.O. (2002) *J. Cell Sci.*, 115, 1347 より改変。

でも、フラグモプラストの拡大方向は次第に正常方向に修正され、最終的にPPBが存在した細胞膜部位につながる。また、培養細胞系などで時々観察されるPPBの形状や形成位置が異常な細胞では、正常な初期フラグモプラストが最終的には異常な位置で細胞膜とつながる結果となる。近年、PPBが規定する細胞分裂予想部位に集積し、フラグモプラストの拡散を誘導する機構に関わっている可能性のあるタンパク質がいくつか同定されている。また、細胞分裂予想部位の外側にはアクチンが束化して集積することが知られており、分裂予想部位を除いた全ての細胞表層に蓄積する負の標識タンパク質も報告されている。これらの候補分子がどのような分子機構で細胞膜の特定領域を標識し、広がりつつあるフラグモプラストを誘引するのか、ほ

とんどわかっていない。

細胞が均等に分裂する場合、PPBは親細胞の中央部分に形成されるが、不均等分裂では将来の分裂面に対応する位置にPPBが形成される。PPBが細胞のどの位置に形成されるのかを決定する分子機構は明らかでない。トウモロコシ葉の気孔分化で見られる不均等分裂を起こす細胞では、アクチン集合体が細胞の片側に形成されて細胞核がその方向に局在化した後にPPBが細胞の片側に偏って形成される。この不均等分裂する細胞の極性化に必要な受容体様細胞膜タンパク質が同定されている<sup>2)</sup>。

### 3. 伸長方向の決定機構

分裂直後の多くの植物細胞は立方体に近い形をしている

が、その後の細胞体積の増大に伴い、多様な形状をもった細胞タイプが誕生する。細胞の膨張には、吸水による膨圧の増加と細胞壁のゆるみが起因し、染色体数の増加を伴わない核DNA量の増大（核内倍化）が進行している場合が多い。植物細胞が膨張する際、細胞のどの領域が膨張するか、並びにどの方向に向かって膨張するかが最終的な細胞の形を決める。生長ポイントが狭い領域に限定される例として、根毛の分化・伸長が挙げられる。根の表皮細胞から根毛が生じる際、縦長の細胞の基部（地上部に近い側）の特定領域の細胞壁がゆるみ、根毛突起が生じる。根毛は先端部分に新たな細胞壁成分が集積し続けることにより先端伸長する。壁成分の運搬はアクチンに沿った小胞輸送が重要な役割を果たしているが、根毛端の伸長方向の決定には微小管が重要である<sup>3)</sup>。葉表皮細胞に見られるジグソーパズル形状は、くびれた胴の部分では微小管が肥大を制限し、突起部分ではアクチン依存の先端生長が協調して起こることにより形づくられる<sup>4)</sup>。

一方、その他の多くの植物細胞では生長ポイントは特定領域に限定されずに細胞全体で起こる。例えば、茎や根などの軸組織を構成する筒状の細胞種では、側面全体が軸方向に伸長することにより、縦に細長い細胞ができあがる。このような細胞では、表層微小管束（細胞膜内側に張り付いた微小管が数本束になって構成する比較的安定な微小管構造物）が横方向に細胞周囲を取り囲むことにより、横方向の膨圧に抵抗し、その結果、縦方向の伸長がもたらされる（図3）。表層微小管束に沿ってセルロース合成酵素複合体が細胞膜内を移動することから、表層微小管束の配向と新しく合成されるセルロース繊維の配向は一致する<sup>5)</sup>。表層微小管束の配向パターン制御が阻害されると、細胞は

組織軸方向に伸長せず、右または左にねじれて伸長するか、横方向に肥大する。根や茎の表皮細胞が右方向に傾き、表皮細胞列がゆるい右巻きヘリックス構造をとる場合、表層微小管束は細胞の長軸に対して左巻きヘリックスを描く<sup>6)</sup>（図3）。反対に、左方向に細胞が傾く場合は、微小管束は右巻きヘリックス配置をとる。横方向に肥大する場合は、よりランダムな微小管配向が観察される。すなわち、表層微小管束の配向に対して直角方向に細胞は伸長することになる。

興味深いことに、右方向にねじれるアラビドプシス変異株は全ての伸長組織で右方向にねじれ、左巻きの変異株の傾く方向は左に規定されている。すなわち、伸長軸の左右性が微小管束のヘリックス立体配置により規定されており、微小管ヘリックスの立体配置（右巻きか左巻きか）を決める分子機構が存在する。つる性植物の多くは右巻きにサポートに巻きつくか、左巻きに巻きつくかが遺伝的に決まっており、例えば、アサガオのつるは右巻きのヘリックスを描く。つるの巻きつく方向やある種の花弁のねじれ方向に見られる左右性は植物細胞の伸長方向が左右どちらか一方に傾くことに起因しており、アラビドプシスのねじれ変異株における表層微小管束の配向異常と同様なメカニズムをもつかもかもしれない。

アラビドプシスのねじれ変異株のうち、ねじれ方向が左右どちらかに一定である変異株はすべて微小管関連遺伝子の異常が原因である<sup>7)</sup>。一番高頻度で見られる変異は、チューブリンタンパク質のひとつのアミノ酸が他のアミノ酸に置換され、変異チューブリンが正常なチューブリンに混じって微小管ポリマーに取り込まれるというものであり、33種のチューブリン変異が見つかった<sup>6,8)</sup>。

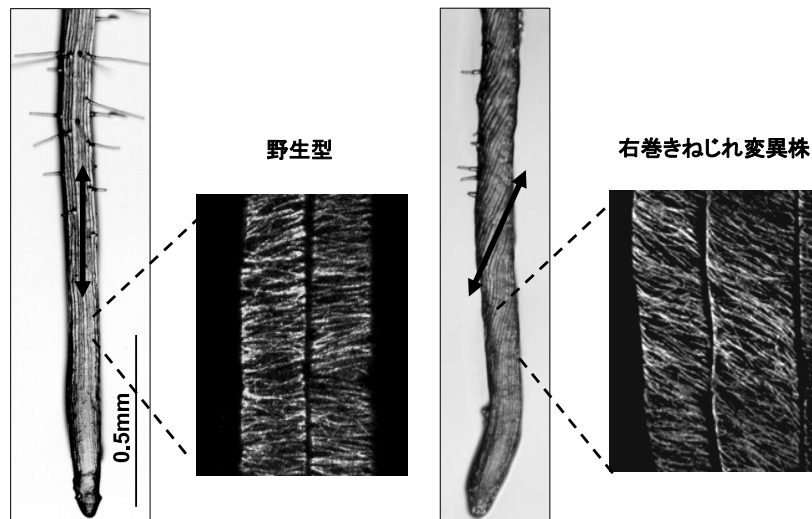


図3 アラビドプシス植物の根における表皮細胞の伸長方向と表層微小管束の配向（チューブリン抗体染色）  
野生型（左）と右巻きねじれ変異株（右）。

チューブリン以外では、微小管のプラス端に集積する傾向がある植物特有の微小管付随タンパク質 (MAPs; microtubule-associated proteins)<sup>9,10</sup>、微小管重合核の構成因子<sup>11</sup>、リン酸化シグナル系の制御因子<sup>12</sup>、などが原因遺伝子である。これらの微小管関連遺伝子の変異が表層微小管束のパターン形成に及ぼす影響についてはよくわかっていない。

ねじれ細胞において表層微小管束が左右どちらか一方のヘリックス立体配置をどのようにとるのかという問題は、組織軸方向にまっすぐに伸長する通常の細胞では表層微小管束がどのように長軸に対して直角方向に配置されるのかという問題とも関連する。伸長する細胞で微小管パターンがどのように形成されるのか、最近の研究により徐々に解明されつつある (図4)。

植物細胞には中心体のような明瞭な微小管重合中心がないため、間期細胞では微小管は細胞膜全体に渡って散在する多数の重合開始点から生じる。植物においても $\gamma$ チューブリンと5種の付随タンパク質 (GCP2, GCP3, GCP4, GCP5, GCP6)を含む複合体が微小管の重合を開始するが、 $\gamma$ チューブリン複合体は既に存在する表層微小管上に局在すると重合活性が飛躍的に向上する。従って、ほとんどの間期微小管は既存微小管上から生じ、娘微小管のプラス端は親微小管側部から40度の角度で重合が進む<sup>13,14</sup>。ねじれ変異株 *spiral3* ではGCP2のアミノ酸置換によりGCP3との相互作用が弱くなり、40度よりも広角でばらついた娘

微小管の枝分かれ角度を示す<sup>11</sup>。娘微小管は微小管切断タンパク質カタニン (katanin) の働きによりそのマイナス端が $\gamma$ チューブリン複合体から切り離される。切り離されフリーとなった表層微小管はプラス端が動的不安定性を示しながら重合し、マイナス端はゆっくりと脱重合するので、細胞膜内側を這うようにプラス端方向に移動する<sup>14</sup>。細胞膜の細胞質側では多数の表層微小管が移動しており、進行する微小管プラス端は行く手をささげる別の微小管の側部と頻繁に衝突する。衝突角度が浅ければ2本の微小管は束化し、より安定化するが、40度を超える角度の衝突ではぶつかる側の微小管プラス端は脱重合するか、行く手の微小管を乗り越える<sup>15</sup>。束化した微小管は比較的長時間存在する安定した細胞骨格であり、セルロース合成酵素複合体はセルロースを合成しながら微小管束に沿って移動すると考えられている<sup>5</sup>。すなわち、微小管の重合開始、カタニンによる娘微小管の切り離し、フリーの微小管の動態、微小管同士の相互作用による束化が表層微小管束のパターン形成に重要な要因である。

これらの要因の内、微小管相互作用に起因する束化のパラメータを取り入れて微小管パターン形成がコンピューターでシミュレーションされた<sup>16,17</sup>。具体的には、最初にわずかな極性をもつランダムに近い微小管配置が束化形成プロセスにより整理され、一定の配向をもつ微小管束に収束することが実証されている。次に問題となるのは、細胞分裂直後の間期初期で再形成される表層微小管がどのようにしてわずかな極性をもちうるのかという点である。分裂直後の立方体に近い形状の細胞であっても、器官レベルの観点から見ると器官軸に対して一定の位置に配置された細胞であり、上下方向 (頂端・基部方向) の位置情報が存在する。茎頂や根端の分裂領域で分裂した表皮細胞はドーム型頂端の形状により、縦軸方向よりも横軸方向により大きなストレス (圧力) を受ける (図5)。頂端の特定表皮細胞をレーザーで消滅させたり、頂端全体を横から物理的に押しつぶしたりした場合、表層微小管束は主要ストレス方向に対して平行方向に配置する<sup>18</sup>。複数の葉原基が分化しつつある茎頂領域の表皮細胞がとる表層微小管束の複雑なパターンは、組織の形状から予測される主要ストレス方向にほぼ平行に配置される。こうした実験と力学的モデリングにより、根や茎のドーム型頂端の形状が表皮細胞に特定方向の物理的ストレスを引き起こし、微小管を筒状器官の軸方向に配向させると提唱されている。器官の軸方向に配置された表層微小管束はセルロースの配向を介して筒状器官を軸方向にまっすぐに伸長させ、細長い軸器官の形状を維持することにより、表皮細胞にかかる主要ストレス方向が器官の生長期中一定に保たれるというフィードバック・ループが完成する。表層微小管がどのようなメカニズムで主要ストレス方向に配向するのかわからない。

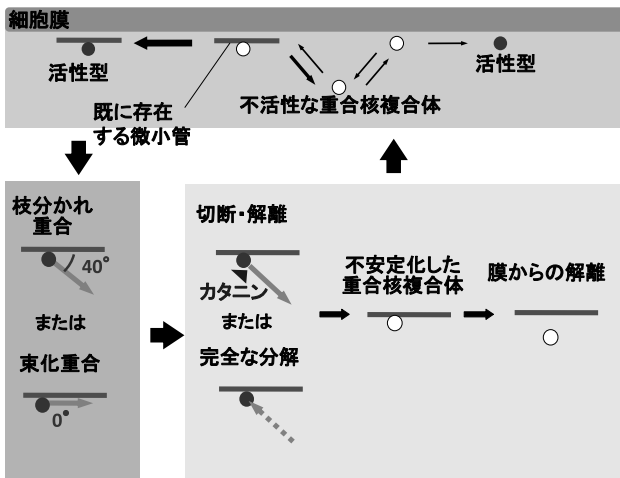


図4 微小管重合核からの新規微小管の誕生サイクル

細胞内を高速で漂っている微小管重合核は細胞膜で一時的に動きがストップする。その場所に微小管が存在する場合には、微小管上に留まって、新たな娘微小管を枝分かれとして形成する。通常、ハサミタンパク質 (カタニン) の働きにより娘微小管が親微小管より切り離される。その際、または微小管が本来もつ分解活性により娘微小管が消失したりする場合には、微小管重合核は不安定化し、親微小管上から離れる。この微小管形成モデルは、微小管上に留まった重合核が微小管重合能力をもつように活性化されることを示唆している。

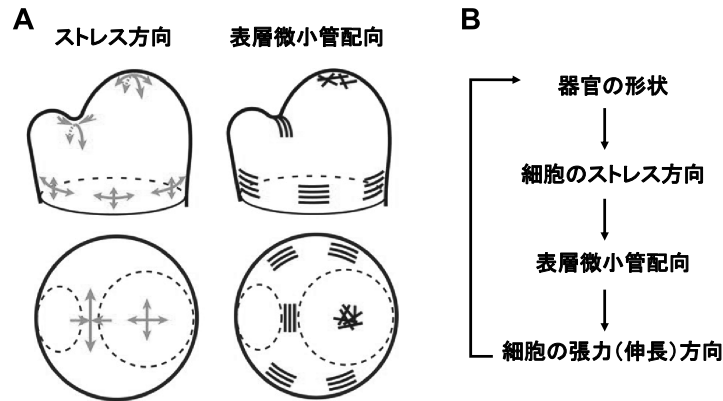


図5 植物器官の形状と微小管の配置

(A)表層微小管は細胞の主要なストレス方向に配置される。文献18より改変。(B)器官形成と微小管の間の正のフィードバック制御モデル。

ねじれ変異株において表層微小管束が右または左巻きのヘリックス構造をとる原因は不明であるが、我々は個々の微小管自身がねじれた構造をとる可能性を提唱している。一部の例外を除き、動物や植物のほとんどの細胞では $\gamma$ チューブリン重合核複合体の働きにより13本の原繊維が筒状に並んだ微小管構造をとる。チューブリン分子間の相互作用により、13本の原繊維が集合した場合のみ原繊維は微小管軸に対して厳密な平行方向に配置される。試験管内で精製したチューブリンを重合させて微小管を形成させると、14本の原繊維が集合した微小管が一番多く形成され、その他に15本、13本、12本などの種々の原繊維数をもつ微小管が観察される<sup>19)</sup>。13本以外の原繊維数から構成される微小管では原繊維は全て緩やかな右または左巻きのヘリックス配置をとる。植物の表層微小管は細胞膜内側を移動するが、まっすぐに直進するには原繊維が平行に配置される必要があるかもしれない。ねじれ細胞では部分的に13本以外の原繊維数をもつ表層微小管が混在するために、右または左方向のベクトルが生じるのではないかと想像している<sup>7)</sup>。この仮説は今後実験的に検証される必要がある。

#### 4. おわりに

植物細胞は結晶性セルロース繊維を細胞の周りにどのようなパターンで配置するかにより、細胞の伸張する方向、ひいては最終的な細胞の形を決定している。植物個体を支える強固な細胞壁を進化させる段階で、植物細胞は微小管細胞骨格系を細胞壁の形成やセルロース合成の制御に用いるようになった。真核生物に共通な微小管構造とその基本制御様式を基盤として、植物細胞特有の制御機構が発達してきたと考えられる。植物細胞骨格の研究分野は多くの重要な問題が残されているにも拘らず、日本においては研究者人口が少ない。多くの若い人たちがこの分野に参入してくれることを願っている。

#### 文 献

- 1) Müller, S., Wright, A.J., & Smith, L.G. (2009) *Trends Cell Sci.*, 19, 180-188.
- 2) Cartwright, H.N., Humphries, J.A., & Smith, L.G. (2009) *Science*, 323, 649-651.
- 3) Bibikova, T., Blancaflor, E.B., & Gilroy, S. (1999) *Plant J.*, 17, 657-665.
- 4) Fu, Y., Gu, Y., Zheng, Z., Wasteneys, G., & Yang, Z. (2005) *Cell*, 120, 687-700.
- 5) Paredez, A.R., Somerville, C.R., & Ehrhardt, D.W. (2006) *Science*, 312, 1491-1495.
- 6) Thitamadee, S., Tuchihiro, K., & Hashimoto, T. (2002) *Nature*, 417, 193-196.
- 7) Ishida, T., Thitamadee, S., & Hashimoto, T. (2007) *J. Plant Res.*, 120, 61-70.
- 8) Ishida, T., Kaneko, Y., Iwano, M., & Hashimoto, T. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 8544-8549.
- 9) Nakajima, K., Furutani, H., Tachimoto, H., Matsubara, K., & Hashimoto, T. (2004) *Plant Cell*, 16, 1178-1190.
- 10) Yao, M., Wakamatsu, Y., Itoh, T.J., Shoji, T., & Hashimoto, T. (2008) *J. Cell Sci.*, 121, 2372-2381.
- 11) Nakamura, M. & Hashimoto, T. (2009) *J. Cell Sci.*, 122, 2208-2217.
- 12) Naoi, K. & Hashimoto, T. (2004) *Plant Cell*, 16, 1841-1853.
- 13) Murata, M., Sonobe, S., Baskin, T.I., Hyodo, S., Hasezawa, S., Nagata, T., Horio, T., & Hasebe, M. (2005) *Nature Cell Biol.*, 7, 961-968.
- 14) Nakamura, M., Ehrhardt, D., & Hashimoto, T. (2010) *Nature Cell Biol.*, 12, 1064-1070.
- 15) Ehrhardt, D.W. (2008) *Curr. Opin. Cell Biol.*, 20, 107-116.
- 16) Allard, J.F., Wasteneys, G.O., & Cytrynbaum, E.N. (2010) *Mol. Biol. Cell*, 21, 278-286.
- 17) Eren, E.C., Dixit, R., & Gautam, N. (2010) *Mol. Biol. Cell*, 21, 2674-2684.
- 18) Hamant, O., Heisler, M.G., Jonsson, H., Krupinski, P., Uyttewaal, M., Bokov, P., Corson, F., Sahlin, P., Boudaoud, A., Meyerowitz, E.M., Couder, Y., & Traas, J. (2008) *Science*, 322, 1650-1655.
- 19) Chretien, D., Kenney, J.M., Fuller, S.D., & Wade, R.H. (1996) *Structure*, 4, 1031-1040.