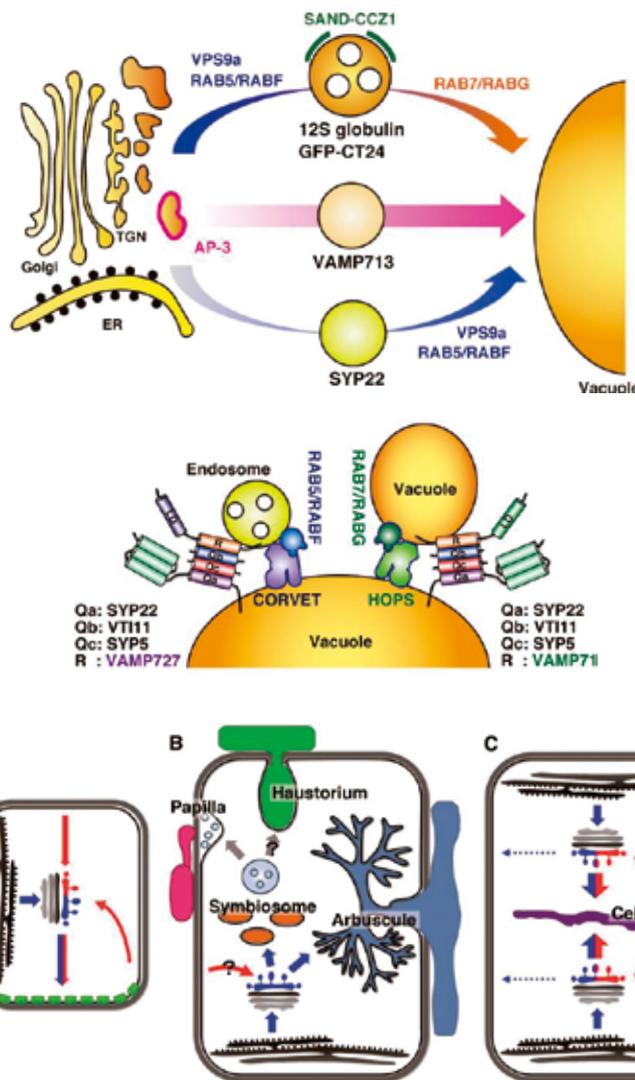


植物の膜交通研究から探る

細胞内輸送のメカニズムと進化

真核生物の細胞内には、小胞体やゴルジ体など様々なオルガネラがあり、それぞれが独自の機能を果たすことで生命現象が成り立っています。このオルガネラ間では小胞や細管を介した膜交通と呼ばれるメカニズムによって物質が運ばれています。膜交通の基本的なメカニズムは真核生物において広く保存されていますが、個々の系統に注目すると、進化の洗練を受けてそれぞれが独自の膜交通の仕組みを獲得していることが明らかになりつつあります。われわれは、シロイヌナズナとゼニゴケを用いて、植物における膜交通の普遍性と独自性を明らかにするべく研究を行っています。



Members

教授
上田 貴志

助教
海老根 一生
金澤 建彦

技術課技術職員
林 晃司

NIBB リサーチフェロー
南野 尚紀

総合研究大学院大学
大学院生
八野田 奨

特別共同利用研究員
法月 拓也
(東京大学)
梶原 啓司
(名古屋大学)

技術支援員
山本 真由子

事務支援員
大久保 雅代

(上図) 植物の液胞輸送経路の模式図。動物では、後期エンドソームを経てリソソームへタンパク質を運ぶ経路は一種類しか知られていないが、植物では液胞へタンパク質を運ぶ経路が少なくとも3つ存在することが明らかになった (Ebine *et al.*, *Curr. Biol.* 2014)。

(中図) 液胞膜における膜融合装置も植物では多様化しており、植物特有の分子装置がはたらいている (Takemoto *et al.*, *PNAS* 2018)。

(下図) 植物細胞における分泌およびエキソサイトーシス経路の多様化。分泌経路は細胞内から細胞膜および細胞外への輸送であり、多くの生物にとって特定の輸送シグナルを必要としないデフォルト輸送経路である。一方、陸上植物ではこの経路で機能する分子群に著しい多様化が見られ、それらが極性輸送 (A) や共生微生物および病原菌感染部位への輸送 (B)、分裂期の細胞に出現する細胞板への輸送 (C) など、植物に特徴的な様々な現象に関与していることが示されている (Kanazawa & Ueda, *New Phytol.* 2017 より改変)。

植物に特徴的なオルガネラと膜交通

- 液胞輸送経路の多様化 -

真核細胞の中には、小胞体や液胞など、機能の異なる多様なオルガネラが存在する。膜交通は、小胞や細管状の輸送中間体を介したオルガネラ間の物質輸送システムである。ここでは RAB GTPase、SNARE、被覆複合体などの鍵因子が機能しており、これらの因子の多様化が、オルガネラの多様化と密接に関連していると考えられている。我々の部門では、膜交通とオルガネラ機能の多様化の観点から、植物の膜交通の制御機構の研究を行っている。

液胞は、植物の細胞体積の9割以上を占める巨大なオルガネラで、動物のリソソームと同様に、不要タンパク質の分解を担っている。これに加え、植物の液胞は、タンパク質の貯蔵や膨圧の発生など、植物に特有の機能も有している。このような多様な液胞機能の発現には、液胞ではたらくタンパク質や液胞に貯蔵されるタンパク質を、正確かつ大量に液胞に輸送する仕組みが必要であり、そこでは植物が進化の過程で独自に獲得した膜交通の制御因子が重要なはたらきを担っている。そこで植物にのみ存在する RAB5 の仲間である ARA6 のはたらきと、その相互作用因子を調べたところ、ARA6 がエフェクターである PUF2 のはたらきを介して、動物や酵母にも保存された RAB5 (シロイヌナズナでは RHA1 と ARA7) のはたらきを負に制御することで、液胞輸送の精密な制御を行っていることが明らかになった (図 1)。

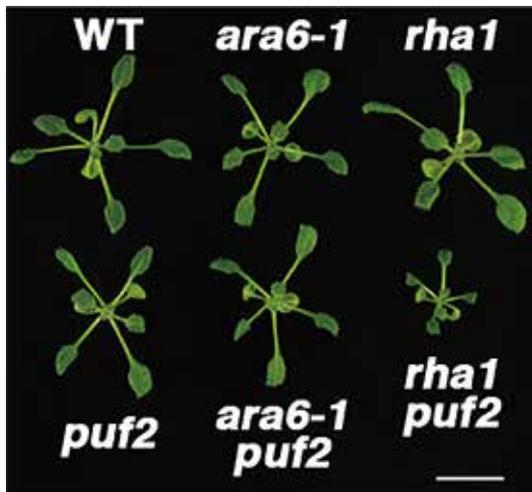


図 1. 植物特異的な RAB5 である ARA6 とそのエフェクターである PUF2、および保存型 RAB5 である RHA1 の遺伝学的相互作用。puf2 変異体は野生型と同様に生育するが、rha1 変異体との二重変異体は生育遅延を示す。この結果から、PUF2 が RHA1 と協調的にはたらくことが示唆される (Ito *et al.*, eLife 2018)。

植物膜交通の生理機能

膜交通は、植物の様々な生理機能の発現において重要な役割を担っている。クラスリン被覆小胞を作る際に積み荷の選別に関わるとされる PICALM ファミリーのはたらきを調べる過程で、PICALM5 が、花粉管の継続的な伸長に必要であることを見いだした。さらに、PICALM5 がはたらかない変異体では、花粉管の破裂をふせぐはたらきを持つ受容体型キナーゼである ANXUR が、花粉管の先端に局在化出来なくなることも明らかになった (図 2)。このことから、PICALM5 が、ANXUR をクラスリン被覆小胞に積み込みエンドサイトーシス経路を經由して花粉管の先端に送り返すことで、花粉管の持続的な伸長が可能となっていることが示された (Muro *et al.*, Commun. Biol. 2018)。

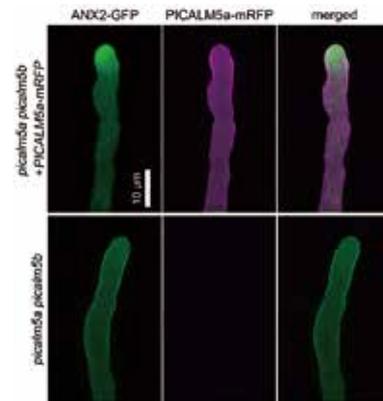


図 2. ANXUR の花粉管先端部への局在化に PICALM5 が必要。PICALM5 がはたらかない変異体 (下段) では ANXUR (緑) が花粉管の先端に局在化できないのに対し、赤色蛍光タンパク質を付加した PICALM5a (マゼンタ) を発現する花粉 (上段) では、花粉管先端の ANXUR の局在が回復する。

参考文献

1. Ebine, K., Inoue, T., Ito, J., Ito, E., Uemura T., Goh, T., Abe, A., Sato, K., Nakano, A. and Ueda, T., (2014). Plant vacuolar trafficking occurs through distinctly regulated pathways. *Curr. Biol.*, 24: 1375-1382
2. Kanazawa, T. and Ueda, T. (2017). Exocytic trafficking pathways in plants: why and how they are redirected. *New Phytologist*, 215: 952-957
3. Takemoto, K., Ebine, K., Askani, JC., Krüger, F., Ito, E., Goh, T., Schumacher, K., Nakano, A. and Ueda, T. (2018). Distinct sets of tethering complexes, SNARE complexes, and Rab GTPases mediate membrane fusion at the vacuole in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 111: E2457-E2466
4. Ito, E., Ebine, K., Choi, S., Uemura, T., Nakano, A. and Ueda, T. (2018) Integration of two RAB5 groups during endosomal transport in plants. *eLife* 7, e34064
5. Muro, K., Matsuura-Tokita, K., Tsukamoto, R., Kanaoka, MM., Ebine, K., Higashiyama, T., Nakano, A. and Ueda, T. (2018) ANTH domain-containing proteins are required for the pollen tube plasma membrane integrity via recycling ANXUR kinases. *Commun. Biol.* 1, 152. E8783-E8789

教授
上田 貴志



助教
海老根 一生



助教
金澤 建彦

