

葉緑体分裂増殖の制御機構とその進化

宮城島進也

国立遺伝学研究所新分野創造センター 〒411-8540 静岡県三島市谷田 1111

要旨：光合成を担う細胞内小器官である葉緑体は、今から十億年以上前に、シアノバクテリアが植物細胞の祖先に細胞内共生することによって誕生した。バクテリアと同様、葉緑体は自身の分裂によってのみ増殖し、その増殖は宿主植物細胞によって制御されている。葉緑体の分裂はその分裂面に形成される分裂装置によって分裂し、分裂装置が、シアノバクテリアの分裂機構と、宿主真核細胞が新たに加えた因子による、融合装置であることが分かってきた。本稿では葉緑体の分裂機構と、最近の我々の研究から明らかとなった分裂の制御機構について紹介する。

The evolution of the regulatory mechanism of chloroplast division

Shin-ya Miyagishima

Center for Frontier Research, National Institute of Genetics, 1111 Yata, Mishima, Shizuoka 411-8540, Japan

Summary: Chloroplasts originated more than 1 billion years ago when a cyanobacterial cell became an endosymbiont in a eukaryotic cell. Reminiscent of their free-living ancestors, chloroplasts replicate by binary fission, but the division is controlled by the eukaryotic host cell. Recent studies have shown that chloroplast division is performed by a macromolecular protein complex at the division site, encompassing both the inside and the outside of the two envelope membranes. The division complex has retained certain components of the cyanobacterial division complex and several other components that have been developed by the host cell. On the basis of the information about the division complex, we are beginning to understand how the division complex evolved, and how eukaryotic host cells regulate chloroplast division during proliferation and differentiation. In this review, we summarize the recent rapid progress in our understanding of the chloroplast division machinery and its regulation.

Key words: chloroplast division, endosymbiosis, FtsZ, dynamin, PD ring

はじめに

真核細胞内で細胞内呼吸を司るミトコンドリア、光合成を行う葉緑体はそれぞれ、 α プロテオバクテリア、シアノバクテリアが10–20億年前に始原真核細胞に共生することによって生じたと考えられている(細胞内共生説, Reyes-Prieto et al. 2007, Archibald 2009)。祖先のバクテリアと同様に、どちらの細胞内小器官も独自のゲノム、リボソーム等の遺伝子情報発現系を持ち、真核細胞内で分裂することによって増殖する(Kuroiwa et al. 1998; 図1)。しかしながら、共生バクテリアが本来持っていた遺伝子群の多くは失われ、また一部は宿主真核細胞の核ゲノムに移行したため、ミトコンドリアと葉緑体の機能の大部分は宿主細胞の核コード遺伝子に依存している(Reyes-Prieto et al. 2007, Archibald 2009)。例えば、シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 は約3,200、*Microcoleus chthonoplastes* は約8,300の遺伝子を持っているに対し、葉緑体ゲノムは大きいものでも約200遺伝子しか持たず、葉緑体ゲノムからは光合成及び、葉緑体ゲノム情報の発現に関わる遺伝子群の一部以外は

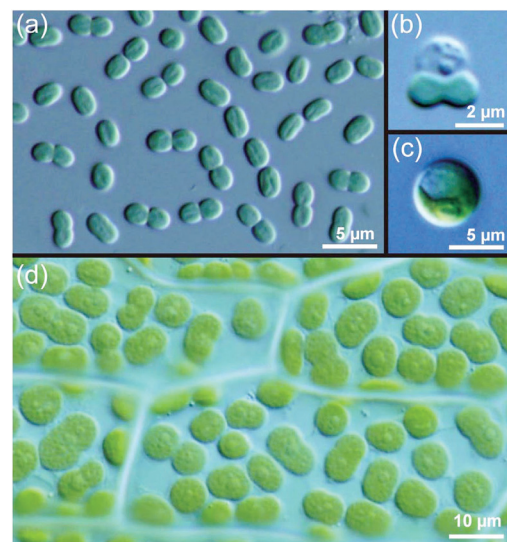


図1 シアノバクテリアと葉緑体の分裂

(a) シアノバクテリアの一種 *Aphanothece* sp. 132-4 の分裂の様子。(b) 単細胞原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* 10D。一細胞あたり一つの葉緑体を持つ。細胞の下側半分に分裂中の葉緑体が観察される。(c) 単細胞緑藻 *Chlorella vulgaris* C-27。葉緑体分裂開始前の細胞。一細胞あたり一つの葉緑体を持つ。(d) ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) 茎葉体における葉緑体分裂。

ほとんど消失している。従って、ミトコンドリアも葉緑体も自身で増えることはなく、その分裂は宿主細胞の核コード遺伝子群によって行われており、分裂増殖は宿主細胞によって制御されている。言い換えれば、増殖し続けてきた真核細胞は、共生バクテリアの分裂制御機構を獲得した結果、今日まで絶えず両細胞内小器官を保持できたわけである。

葉緑体の分裂が最初に報告されたのは19世紀後半であり、この観察結果が、ロシアの植物学者メレシコフスキーによる最初の細胞内共生説へと発展した(Martin and Kowallik 1999)。しかしながら、ミトコンドリアと葉緑体が、自身のDNA-タンパク質複合体(核様体)の複製と分配を伴って、分裂によってのみ増殖することが明確となったのは1970年代であった。これは、細胞質遺伝、葉緑体及びミトコンドリアのDNAとリボソームの発見、顕微鏡技術の進歩によるものである(Kuroiwa et al. 1998)。

では、葉緑体、ミトコンドリアがどの様にして分裂するかであるが、分裂機構の最初の情報は電子顕微鏡観察によってもたらされ、単細胞原始紅藻の葉緑体、ミトコンドリアの分裂狭窄部の細胞質側、後にストロマ及びマトリクス側に、リング状の構造が見つかり(図2a, b; Kuroiwa et al. 1998)、これらリングの収縮によって分裂が引き起こされることが示唆された。ここまでの内容の詳細は他の総説を参照されたい(Kuroiwa et al. 1998)。

本稿では、その後明らかにされ始めた、葉緑体分裂機構及び分裂制御機構の、遺伝子・タンパク質レベルでの知見について概説する。分裂機構の分子レベルでの理解により、宿主植物細胞が、如何にしてバクテリア共生体の分裂機構を改変し、分裂・増殖を制御出来るようになったのかが、ようやく解り始めた。葉緑体分裂の知見の多くは、ミトコンドリアについても適用されることも簡単に触れるが、ミトコンドリア分裂についての詳細は他の総説(Miyagishima et al. 2003a, Osteryoung and Nunnari 2003, Kiefel et al. 2006, Kuroiwa et al. 2006)を参照されたい。

細胞内共生による葉緑体の成立と葉緑体の分裂制御

1905年の最初の細胞内共生説から100年以上経た現在、微細構造の解析、生化学、分子系統学による解析により、葉緑体がシアノバクテリア由来であることは疑いのない事実として受け入れられている(Reyes-Prieto

et al. 2007, Archibald 2009)。シアノバクテリアの共生により葉緑体を得た光合成真核生物は、灰色藻、紅藻、緑色植物(緑藻、陸上植物など)の3つのグループへと進化した。様々な分子系統解析の結果、すべての葉緑体は、一回のシアノバクテリアの共生に起源することが示唆されている(Reyes-Prieto et al. 2007)。さらに、シアノバクテリアの共生(一次共生)によって成立した紅藻や緑藻が、別の真核細胞に取り込まれることにより(二次共生)、葉緑体は真核生物の様々な系統へと伝播していった。このような生物に、ミドリムシ(緑藻由来の葉緑体を持つ)、ストラメノパイル(珪藻、褐藻など)などがある(Reyes-Prieto et al. 2007, Archibald 2009)。

共生シアノバクテリアが細胞内小器官である葉緑体へ変換されていく過程において、共生したシアノバクテリアのゲノム縮小、一部遺伝子の宿主核への転移(上記)の他、いくつかの機構の獲得が必須であったと考えられる。これらには、宿主核コードのタンパク質を細胞質から葉緑体へ輸送する機構の獲得、細胞質と葉緑体間の物質移動のための葉緑体包膜上の種々のトランスポーターの獲得、宿主細胞による共生体の分裂・増殖制御機構の獲得などがあげられる(Rodriguez-Ezpeleta and Philippe 2006)。この中で分裂・増殖の制御は、宿主細胞が分裂する際に、娘細胞が共生体を確実に受け取るために必須であり、宿主細胞による共生体の恒久的な維持を可能とした。このことは、共生関係確立の中間段階を示すいくつかの例からも支持される。例えば渦鞭毛藻の仲間には、真核藻類を取り込み、数日間光合成を行わせた後消化してしまう種、一方で、取り込まれた真核藻類の分裂が宿主渦鞭毛藻細胞の分裂と同調し、恒常的な共生関係を維持するに至った種が知られている(Wouters et al. 2009)。また、鞭毛虫の一種ハテナ(*Hatena arenicola*)は、ある種の緑藻を細胞内に取り込み光合成をさせているが、鞭毛虫細胞の分裂時に片方の細胞にのみ共生体が受け継がれ、共生体を失ったもう片方の娘細胞は、再び外界から藻類を取り込むことが知られている(Okamoto and Inouye 2005)。つまり宿主細胞と共生体の分裂が同調する前の段階の共生関係にある。

では、宿主植物細胞はどの様にして、シアノバクテリア共生体に由来する葉緑体の分裂を制御しているのか、またその機構がどの様にして進化してきたかに興味を持たれる。しかしながら、分裂制御機構を解析し理解

するためには、まず葉緑体分裂機構の理解が必須であり、次項ではこれまでに分かっている葉緑体分裂の分子機構について概説する。

葉緑体の分裂装置と分裂機構

1986年、単細胞原始紅藻において、葉緑体の分裂面にリング状の構造(色素体分裂リング; PDリング)が見つかり(Mita et al. 1986), 引き続き同様の構造がその他の藻類や陸上植物で報告された(Hashimoto 1986, Kuroiwa et al. 1998). これらの結果に基づき、葉緑体分裂は葉緑体を包む2枚の包膜(内包膜及び外包膜)の細胞質側及びストロマ側に形成されるリング状構造が収縮することによって引き起こされることが示唆された(図2a, b). その後、このリング状構造の構成因子とその周辺に存在するタンパク質の同定に向けての研究が進んだ. その結果、シアノバクテリア由来の自己重合型GTPase, FtsZ, 及び、宿主真核細胞由来のダイナミン様タンパク質DRP5Bが、リング周辺に局在し、その他のタンパク質群と複合体(分裂装置)を形成して葉緑体分裂に関与することが判明した(Miyagishima et al.

2003a, Osteryoung and Nunnari 2003, Yang et al. 2008, Miyagishima and Kabeya 2010; 図2c, d). このことから、葉緑体分裂はシアノバクテリアの持ち込んだ機構と、宿主細胞が加えた新たな機構の協調によって行われることが分かってきた. さらに最近、単細胞原始紅藻から葉緑体分裂装置が単離され、細胞質側に電子顕微鏡で直接観察される構造が、糖鎖であることが判明した(Yoshida et al. 2010). ここでは、これまでに同定されている分裂装置の構成タンパク質群について、シアノバクテリア由来のものと、宿主由来のものにわけて紹介する.

1) シアノバクテリア由来の機構とその保存性

葉緑体分裂装置の構成タンパク質として最初に見つかったのがFtsZである. FtsZはバクテリア(真正細菌)と一部のアーキア(古細菌)に保存された、立体構造上真核生物のチューブリンに似たGTPaseである. FtsZはバクテリアの分裂時に分裂面の原形質膜直下で重合してリング状の構造を作り、その他分裂に必要なタンパク質を分裂面に局在させ、細胞質分裂を引き起こす(de Boer 2010). 1995年、シアノバクテリア由来のftsZ

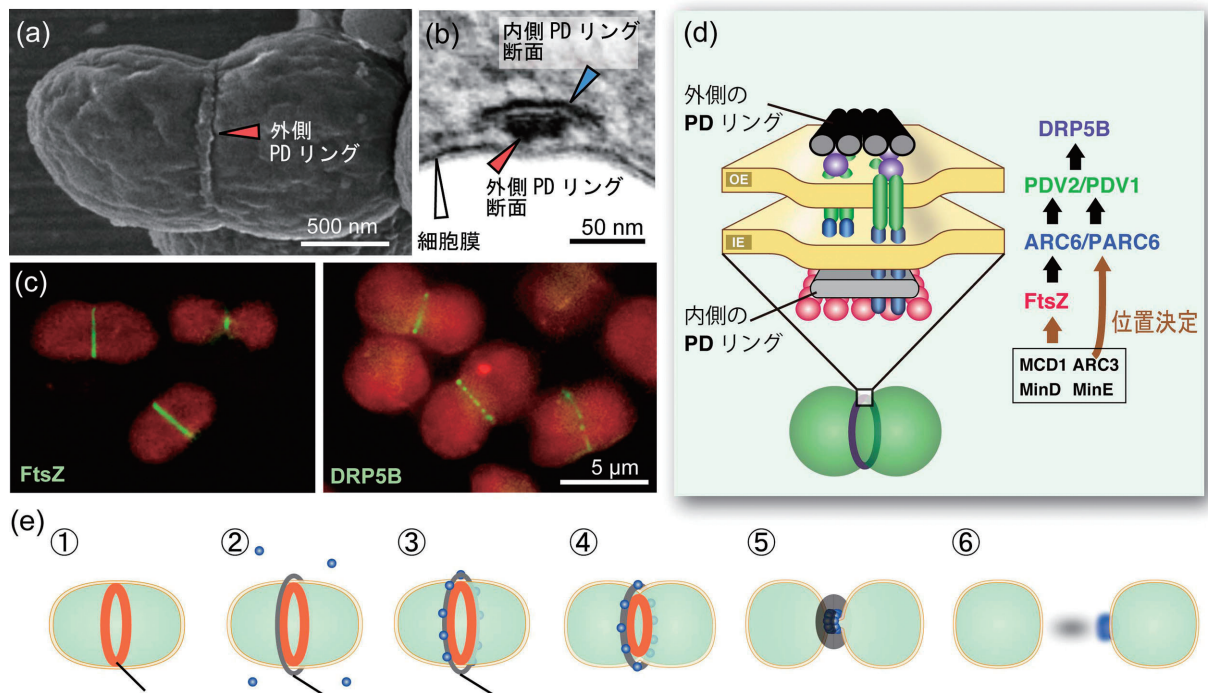


図2 葉緑体の分裂装置と分裂装置構成タンパク質群

(a) 単細胞原始紅藻 *C. merolae* から単離された分裂中葉緑体の走査型電子顕微鏡像. 色素体分裂リングの外側のリングが観察される. (b) 色素体分裂リング断面の透過型電子顕微鏡像. 外包膜の細胞質側に外側のリングの断面, 内包膜のストロマ側に内側のリングの断面が黒く観察される. (c) シアノバクテリア由来FtsZと真核細胞由来ダイナミン(DRP5B)の局在(緑). 赤はクロロフィルの自家蛍光. 写真はシロイヌナズナ本葉の葉緑体. (d) これまでに同定されている分裂装置構成タンパク質の存在位置と相互の関係(Miyagishima and Kabeya 2010). (e) 葉緑体分裂における分裂装置の挙動. 詳細は本文参照.

遺伝子が、シロイヌナズナの細胞核ゲノムに見つかり (Osteryoung and Vierling 1995), 遺伝子破壊やアンチセンスRNAを用いた実験により, 葉緑体の分裂に必要であることが確認された. その後 FtsZが葉緑体分裂面の内包膜ストロマ側にリング状に局在することが明らかとなった (Mori et al. 2001, Vitha et al. 2001, Kuroiwa et al. 2002 ; 図2). FtsZは内包膜ストロマ側にある内側の色素体分裂リングのさらにストロマ側に位置する (Miyagishima et al. 2001).

以上の結果は, 共生後遺伝子は細胞核に移行したものの, FtsZを中心としたバクテリア型の細胞質分裂機構が, 細胞内共生後も葉緑体に残って維持されていることを示した. この結果に基づき, バクテリアにおいて FtsZリング形成位置を制御する遺伝子群 (*minD*, *minE*)も陸上植物の細胞核ゲノムに見つかり, これらの遺伝子産物も葉緑体の分裂に関与することが示唆された (Colletti et al. 2000, Itoh et al. 2001). また, シロイヌナズナの葉緑体分裂変異体 (*arc*; accumulation and replication of chloroplast) の解析から, シアノバクテリア由来の内包膜貫通タンパク質, ARC6が同定され, FtsZリングの安定化に働くことが示唆された (Vitha et al. 2003 ; 図2).

上記の他, シロイヌナズナ葉緑体分裂変異体の解析から, FtsZに類似の部分と, キナーゼの一部分に類似の部分を持った ARC3タンパク質が同定され (Shimada et al. 2004), FtsZリング形成位置の制御に関与することが示されている (Maple et al. 2007). その他, 機能は調べられていないが, シアノバクテリアの *minC* (*minD*, *minE*と共に FtsZリングの位置決定に関わる) に類似の遺伝子が緑藻の核ゲノムに見つかっている他, 一部の緑藻の葉緑体ゲノムに, *ftsI* 及び *ftsW* に類似の遺伝子が存在する (Yang et al. 2008, Miyagishima and Kabeya 2010). しかしながら, 上記以外の本来シアノバクテリアが持っていた細胞質分裂関連遺伝子の多くは, 藻類, 植物のゲノムに存在しないことから (Miyagishima et al. 2005), 細胞内共生後, バクテリア型の分裂因子の多くは失われ, 一部が残され葉緑体の分裂に使用されたと考えられる.

2) 宿主真核細胞由来の機構とその進化

上記のように, バクテリアの分裂機構の情報に基づいて, 葉緑体の分裂に関わる遺伝子群が同定され始

めた. しかしながら, シアノバクテリアの細胞質分裂遺伝子の多くが共生後に失われていること, 電子顕微鏡で直接観察される色素体分裂リングに類似の構造がシアノバクテリアでは観察されないことなどから, 共生後に宿主細胞側から加えられた葉緑体分裂タンパク質の存在が予想された. そのような中, 宿主真核細胞起源の葉緑体分裂タンパク質として最初に同定されたのがダイナミン様タンパク質, DRP5Bである.

ダイナミンは真核生物に固有のGTPaseであり, 受容体介在型エンドサイトーシスの小胞形成時に, 形成中の小胞と細胞膜をつなぐ部分の細胞質側表面でリング状に重合し, 小胞を細胞膜からくびり切るのに必須のタンパク質として解析が進んでいた. その後, ゲノムプロジェクトにより, 真核生物には様々なダイナミン類似タンパク質があることがわかった. そのうちの一種がミトコンドリア分裂面の細胞質側表面に局在し, 分裂に関与していることが報告された (Heymann and Hinshaw 2009). さらに, 単細胞原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* (図1b)のゲノムプロジェクト (Matsuzaki et al. 2004)の結果, この種にはダイナミン様遺伝子が2つしかないことが判明し, 片方はミトコンドリア分裂で働くが (Nishida et al. 2003), もう一方は藻類及び植物にしか存在しないタンパク質をコードしていることが判明した. 後者のタンパク質 (DRP5B) について調べたところ, 葉緑体分裂面外包膜の細胞質側に局在し, 葉緑体分裂で働くことが判明した (Miyagishima et al. 2003b). その後, シロイヌナズナ葉緑体分裂変異体の解析から, 紅藻葉緑体ダイナミンのオーソログが陸上植物においても葉緑体分裂に関与することが示された (Gao et al. 2003 ; 図2). さらに, 葉緑体分裂に関与する DRP5Bが真核細胞の細胞質分裂に関与するダイナミン様タンパク質に起源することが明らかとなった (Miyagishima et al. 2008).

その後, シロイヌナズナ葉緑体分裂変異体の解析から, 外包膜貫通タンパク質 PDV1 及び PDV2 (お互いによく似たタンパク質 ; Miyagishima et al. 2006), 内包膜貫通タンパク質 MCD1 (Nakanishi et al. 2009) が同定されたが, これらのタンパク質は陸上植物にしか存在しないため, 葉緑体成立時に寄与した分裂タンパク質ではなく, 藻類から陸上植物が進化した過程で付加されたタンパク質群であると考えられる (図3).

上記のように様々な葉緑体分裂装置構成タンパク質が同定されてきたが, いずれも, 電子顕微鏡で直接

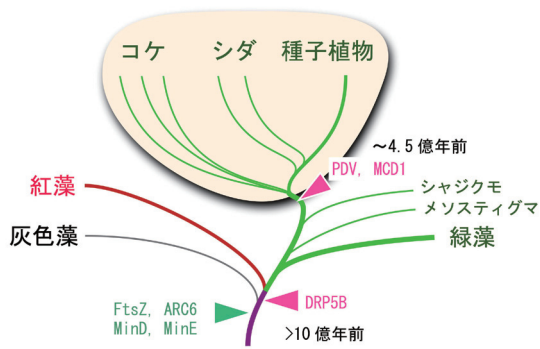


図3 葉緑体分裂装置構成タンパク質群の進化

FtsZ, ARC6, MinD, MinEは葉緑体の祖先であるシアノバクテリアに由来し、遺伝子群は宿主細胞の核に移行している。一方、ダイナミンDRP5B, PDV, MCD1は共生後宿主細胞により加えられたタンパク質群であり、DRP5Bは共生後まもなく、PDVとMCD1は陸上植物の共通祖先で獲得された。

観察される構造(内側と外側のPDリング)の構成因子ではなく、その周辺に局在するものであることが判明した。ごく最近、吉田らはPDリングを含む葉緑体分裂装置の単離に成功し(Yoshida et al. 2006, Yoshida et al. 2009), 外側のPDリングがグルカンの線維束であることを発見した(Yoshida et al. 2010)。さらに、このグルカンにはglycogenin様タンパク質、PDR1が結合しており、PDR1がPDリングの形成に必須であることが示された。PDR1のノックダウン細胞においては、FtsZリングは形成されるが、ダイナミンリングは形成されず、分裂面の収縮も起こらない。PDリングの線維状構造は、藻類と陸上植物で広く観察されており、PDR1のオーソログと予想されるタンパク質は陸上植物ゲノムにもコードされている(Yoshida et al. 2010)。しかしながら、緑藻類、ストラメノパイル(後述)のゲノムにはPDR1をコードする遺伝子が見つからないため、PDリングのグルカン合成機構の一般性については今後の研究が待たれる。

3) 葉緑体分裂装置の各構成因子の役割と因子間の関係

内側のPDリングの構成タンパク質を含め、まだ多くの分裂装置構成タンパク質が未知であると考えられるが、現在までに同定されているタンパク質群及び構造の挙動とお互いの関係をここで概説する(Yang et al. 2008, Glynn et al. 2009, Miyagishima and Kabeya 2010, Yoshida et al. 2010; 図2d, e)。

分裂に先立って最初に葉緑体分裂予定位置にFtsZリングが形成される。このとき、シアノバクテリア由来の

MinD及びMinE、それに加えて陸上植物においてはARC3とMCD1がFtsZリングの形成位置決定に関与する。次に内側のPDリングが、FtsZリングと内包膜の間に形成される。その後外側のPDリング(グルカン線維)が形成され、ダイナミン様タンパク質DRP5BがPDリングの周辺に局在する。DRP5Bは収縮初期には外側のリングの細胞質側で不連続に局在し、収縮後期になると外包膜と外側のリングの間に移動する。収縮完了前にFtsZリング及び内側の色素体分裂リングはこの順に解体され、外側のPDリングとダイナミンリングは、分裂完了後に細胞質で解体される(図2e)。

シアノバクテリア由来ARC6と陸上植物特異的PDVの局在時期と、内外PDリング形成の時期との関係は不明であるが、内包膜ARC6はストロマ側でFtsZと直接結合し、ARC6はPDVと膜間領域で直接結合することにより、PDVを分裂面に局在させる(Glynn et al. 2008, Glynn et al. 2009)。PDVはダイナミン様タンパク質DRP5Bの局在に必要であることが分かっているが(Miyagishima et al. 2006)、DRP5Bと直接結合するかどうかは不明である(図2d)。また、PDVは、葉緑体内部で働くシアノバクテリア由来の機構と、細胞質側で働く宿主由来の機構をつなぐタンパク質であるが、藻類には存在しないため、両者をつなぐ未知のタンパク質の存在が予想される。

4) 二次共生葉緑体の分裂機構、葉緑体分裂とミトコンドリア分裂機構との類似性

以上、一次共生によって成立した葉緑体の分裂機構と分裂装置構成因子について概説したが、同様のことが二次共生葉緑体にも適用される。二次共生によって生じた葉緑体は、一次葉緑体の内外包膜に加え、取り込まれた真核藻類の細胞膜および取り込んだ宿主細胞の食包膜に由来すると考えられる2枚の膜の計4枚(ないし一枚を失って3枚)の膜で包まれている(Reyes-Prieto et al. 2007, Archibald 2009)。紅藻の二次共生に由来する葉緑体を持つストラメノパイルにおいて、外側のPDリングが内側から2枚目の膜の外側表面に観察されている(Hashimoto 2005)ほか、紅藻由来のFtsZと葉緑体型ダイナミンの遺伝子が核ゲノムに見つかっており(Miyagishima and Kabeya 2010)、内側2枚の膜の分裂には、一次葉緑体と同様の機構が働いていると推測される。一方で、外側2枚の分裂がどの様にして

起こるかはよく分かっていない。

次にミトコンドリアであるが、菌類、動物の核およびミトコンドリアゲノムにはFtsZを含め、バクテリア型分裂タンパク質群はコードされていない。また、緑色植物にも α プロテオバクテリア由来の分裂遺伝子群は存在しない。しかしながら、不等毛植物、原始紅藻、粘菌などのいくつかの真核生物は、核ゲノムに α プロテオバクテリア由来のFtsZをコードしており、ミトコンドリア分裂に使用していることが示されている(Beech et al. 2000, Takahara et al. 2000, Nishida et al. 2003, Kiefel et al. 2006)。また、原始紅藻、粘菌、ストラメノパイルなどのミトコンドリアで、PDリングに類似の構造のMDリングが電子顕微鏡で観察されており(Kuroiwa et al. 2006)、ミトコンドリアも、FtsZリング、分裂リング、ダイナミンリングがこの順に形成され、分裂していたということが示唆される(Miyagishima et al. 2003a, Nishida et al. 2003)。MDリングもPDリング同様にグルカン線維束であるのかについては、今後の研究が待たれる。今後、進化上初期に分岐した真核生物のミトコンドリア分裂機構の解析が進めば、葉緑体分裂機構との類似性がより詳細に理解できると期待される。

葉緑体分裂の制御機構

ここまで、葉緑体分裂が分裂装置によって行われること、及び装置の詳細について述べてきたが、宿主細胞による葉緑体分裂制御機構を理解するためには、宿主細胞が分裂装置をどの様に制御し、結果として葉緑体分裂を支配しているかを理解する必要がある。最近、分裂機構の知見を基に、分裂の制御機構が理解され始めた。

1) 藻類における細胞と葉緑体分裂の同調性

一般に、藻類は細胞あたりに葉緑体を1ないし数個しか持たない(図1b, c)。このことは、単細胞の藻類にも、多細胞化したものにも当てはまる。また、細胞あたりの葉緑体数が、細胞の増殖に伴って変化することはまれである。従って、葉緑体は宿主細胞分裂の前に、細胞周期の決まった時期に一回分裂する(図4a; Kuroiwa et al. 1998)。つまり葉緑体の分裂は宿主細胞の分裂周期に同調しておこる。ではその分裂時期制御のメカニズムであるが、葉緑体分裂機構の遺伝子群の発見が基となり明らかにされつつある。

藻類の多くにおいては、明期と暗期(合計24時間)を繰り返すことで、培養集団中の細胞周期を同調化することが出来る。同調培養下で、葉緑体分裂遺伝子群(mRNA)の発現、タンパク質量の変動を調べた結果、単細胞原始紅藻において、葉緑体分裂時にのみ分裂遺伝子群が転写され、その結果生じるタンパク質群は、葉緑体分裂終了後に分解されることが判明した(Takahara et al. 2000, Miyagishima et al. 2003b, Fujiwara et al. 2009, Yoshida et al. 2010)。同様に、葉緑体分裂遺伝子群の発現が、緑藻(Adams et al. 2008)、珪藻(Gillard et al. 2008)(ストラメノパイル、二次共生葉緑体を持つ)においても、宿主の細胞周期に同調して起こることが報告された。つまり、宿主細胞周期に応じた、葉緑体分裂遺伝子群の転写、タンパク質群の翻訳、分解により、葉緑体が細胞周期の決まった時期に1回だけ起こるように制御されていることが示唆される。すべての分裂遺伝子について調べられたわけではないが、少なくとも、シアノバクテリア由来のFtsZ、宿主由来のダイナミン様タンパク質のレベルは、細胞周期に応じて変動するので、その起源にかかわらず、細胞周期に依存した制御を受けているようである。

2) 葉緑体の分裂制御、陸上植物における葉緑体分裂と細胞分化の関係

上記のように、葉緑体成立当初は、葉緑体分裂過程は宿主細胞の分裂周期に組み込まれていたと考えられる。しかしながら、後に緑藻類の祖先から進化した陸上植物では、一細胞に数十個の葉緑体が含まれ、葉緑体分裂は細胞周期に同調せず、さらには同じ細胞内でも非同調的に進行する(例外としてツノゴケ類の多くは一細胞に一つしか葉緑体を持たない; 図1d)。さらに陸上植物は、多細胞化に加え、複雑な細胞分化機構を獲得し、細胞や組織の分化に伴って細胞内の葉緑体数、葉緑体の大きさが変動する。一般に未分化な組織や細胞分裂が活発な組織では葉緑体(色素体)分裂は活発に起こり、葉緑体は小さい、一方で、組織の発達に伴って葉緑体の分裂速度は減少し、葉緑体は大きくなる(Possingham and Lawrence 1983; 図4b)。では、陸上植物細胞はどのような仕組みで葉緑体分裂速度を変動させているのであろうか。最近我々は、上記の陸上植物特異的な葉緑体分裂装置構成タンパク質PDVが、葉緑体分裂速度変動において重要な働

きをすることを突き止めた (Okazaki et al. 2009).

陸上植物における葉緑体分裂頻度調節機構を明らかにするために、シロイヌナズナ cDNA ランダム過剰発現ライン (FOXハンティングシステム) から、葉緑体分裂が加速している変異体を単離し解析した (Okazaki et al. 2009). その結果、PDV1 または PDV2 の量を人工的に増加させると、葉緑体分裂が加速され、その結果葉緑体の数が増え葉緑体が小さくなることが判明した (図 4d). さらに、PDV の量を減らすと葉緑体の分裂頻度が低下することや (図 4d)、これまでの研究で、ほかの葉緑体分裂装置構成因子を過剰に発現させても分裂は促進せず、かえって阻害することもあることなどから、PDV の量が葉緑体の分裂の頻度を決定している可能性が浮上した.

以上は人工的に起こした分裂速度の変化であるため、次に、実際に植物の野生株が、PDV の量を調節することで葉緑体の分裂を制御しているのかを検討した.

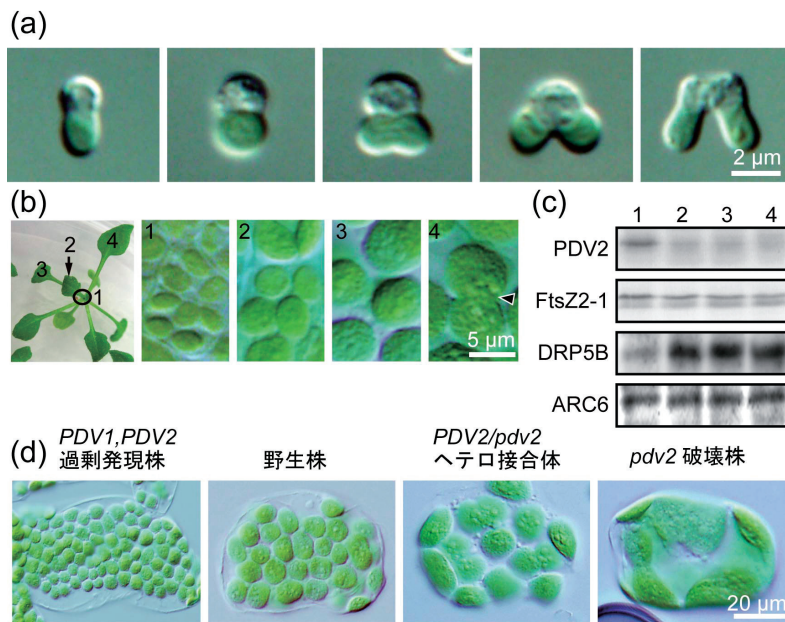


図4 藻類と陸上植物における葉緑体の分裂時期または分裂速度の制御.

(a) 単細胞原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の葉緑体分裂. 細胞質分裂の前に葉緑体が分裂する. (b) 陸上植物シロイヌナズナの葉における葉緑体分裂. 葉緑体の分裂速度は若い葉で高く、葉の発達に伴って徐々に低くなる. それに伴い葉緑体が徐々に大きくなる. (c) シロイヌナズナにおける葉の発達と、葉緑体分裂装置構成タンパク質群の量の変化. (d) PDV1 及び PDV2 発現量の人工的増減による、葉緑体分裂速度の増減. PDV1 と PDV2 を過剰発現すると葉緑体分裂が加速し、その結果、細胞あたりの葉緑体数が増加し葉緑体は小さくなる. *PDV2/pdv2*-ヘテロ遺伝子破壊株では、PDV2 の量が減少し、葉緑体分裂速度が減少し、*pdv2/pdv2* ホモ遺伝子破壊株ではさらに分裂速度が減少する.

葉の発達段階における葉緑体分裂装置構成タンパク質の量を調べたところ、PDV の量は、葉緑体分裂の盛んな分裂組織や若い未熟な葉で多く、大きく成長した葉では少ないことが判明した (図 4b, c). 一方で、ほかの分裂装置構成因子はそのようなパターンを示さなかったことから (図 4b, c)、植物は葉の成長に伴って PDV の量を減らし、葉緑体の分裂を調節するという仕組みを持っていることが示唆された.

FOXハンティングシステムによるさらなる解析で、CRF2 遺伝子を過剰発現させた場合にも葉緑体の分裂は促進し、このとき、分裂装置構成因子のうち、PDV の発現のみが上昇していることが判明した. CRF2 タンパク質は、成長や細胞分化を制御する植物ホルモンの一種であるサイトカイニンに応答する転写因子であることが知られていたため、次にサイトカイニンを植物に与えたところ、CRF2 の発現上昇に伴って PDV2 の発現が

上昇し、葉緑体の分裂を加速することが分かった. このことから、少なくとも種子植物において、PDV はサイトカイニンによって制御される細胞分化のプログラムに従って、葉緑体分裂の速度を調節する役割を担っていることが示唆された.

次に陸上植物特異的な PDV の葉緑体分裂律速分子としての機能が、陸上植物に広く保存されているのか検討した. 陸上植物の共通祖先から最初に分岐したのはコケ植物である (図 3). そこで、ヒメツリガネゴケにおいて PDV2 遺伝子を過剰発現させたところ、葉緑体分裂の促進が認められた. ヒメツリガネゴケの原系体にサイトカイニンを与えたところ、葉緑体分裂装置構成タンパク質の遺伝子のうち、PDV2 の発現のみが促進され、サイトカイニンによって分化が誘導された細胞では葉緑体分裂の加速が見られた. 以上の結果、約 5 億年前に陸上植物の祖先が上陸する際、宿主細胞が PDV 遺伝子を獲得し PDV タンパク質を葉緑体分裂装置に組み込んだことにより、

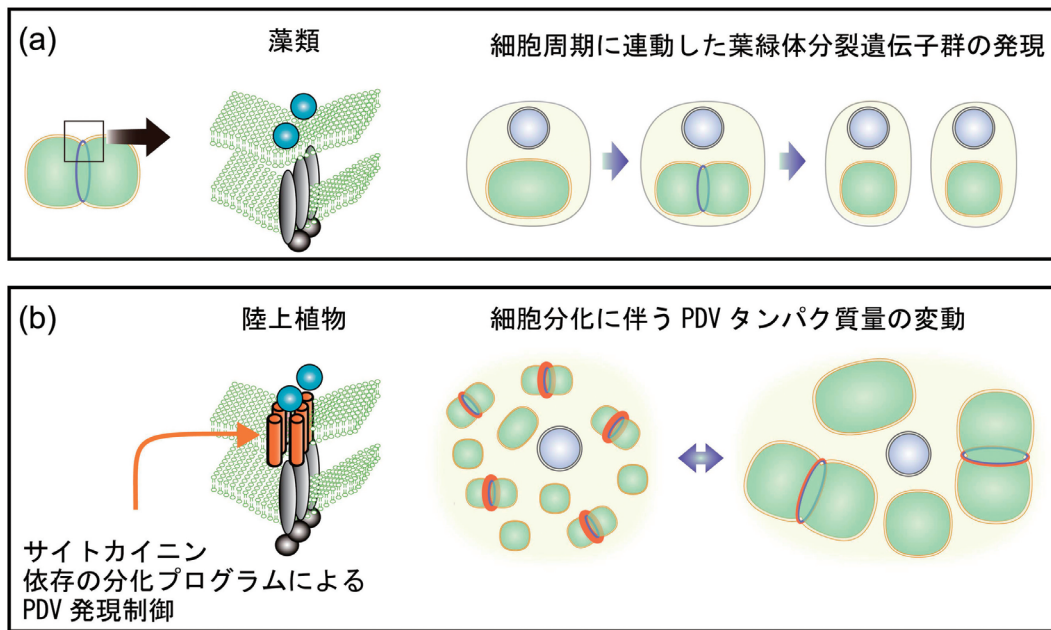


図5 藻類と陸上植物における葉緑体分裂制御の分子基盤

(a) 藻類における葉緑体分裂制御. 藻類は、細胞あたり一ないし数個しか葉緑体をもたないため、葉緑体分裂は細胞周期と連動する. この連動は、細胞周期に依存した葉緑体分裂遺伝子群、タンパク質群の発現によって行われる. (b) 陸上植物における葉緑体分裂制御. 陸上植物の葉緑体分裂は、同じ細胞内でも非同調的に行われ、分裂速度は細胞分化に伴って変動する. 葉緑体分裂速度は、分裂装置に含まれるPDVタンパク質の量によって変動し、PDVの発現はサイトカイニンに依存した細胞分化プログラムによって制御される. 分裂装置の各構成因子は図2dと同様に示してある.

葉緑体分裂速度を制御できるようになったこと、その結果、陸上植物の細胞は分化に応じて葉緑体の数と大きさを変動できるようになったことが分かってきた (Okazaki et al. 2009; 図5).

ここまで詳しくは触れなかったが、種子植物の葉緑体は、茎頂の分裂組織にある無色の非常に小さな原色素体から分化して生じる. また、次の世代へと受け継がれるのは原色素体であり、原色素体は分化する組織によって、その姿、形、大きさを変えて、葉緑体の他、アミロプラスト(デンプン貯蔵)、有色体等(色素の合成と貯蔵)等へと分化する (Lopez-Juez and Pyke 2005). しかしながら葉緑体の起源は緑色のシアノバクテリアであり、藻類、コケ植物は生活環を通して、葉緑体のみを持つ. 従って、PDVによる分裂制御は、獲得当初は葉緑体へ適用されたことであり、その後、複雑な色素体分化機構が獲得されたと考えられる (Okazaki et al. 2009).

おわりに

葉緑体の分裂装置が見つかり、さらにその分子レベルでの姿も見えてきた. その結果は、葉緑体の分裂装

置がバクテリア、真核のハイブリッドの構造であることや、ミトコンドリアとの共通性など、その起源についても重要な知見をもたらした. さらに、宿主真核細胞の分裂装置を介した葉緑体分裂制御機構、及び制御機構の進化過程も解り始めた. しかしながら、分裂装置がどのようにして収縮するのか、収縮力の発生源は何か、ストロマ側と細胞質側の装置はどのようにして連結されているのかなど、不明な点は多く残っている. これらの理解は、原始紅藻から単離された分裂装置を用いた解析、分裂装置の部分的再構成、などが鍵となって進むものと期待している. また、葉緑体とミトコンドリアは独自のDNA-タンパク質複合体(核様体)を持っており (Kuroiwa et al. 1998)、核様体の複製、分配の機構、それらの分裂との関係についてはほとんど理解が進んでいない. 葉緑体やミトコンドリアの分裂機構、分裂制御機構の理解は、細胞内共生機構の理解、真核生物の進化、生体膜の分断機構などの理解へとつながるものであり、さらなる研究の進展が待たれる.

謝辞

本稿は平瀬賞の受賞に至った研究内容とそれに関

連する情報をまとめたものです。これまで葉緑体の分裂の研究を進めるに当たり、黒岩常祥教授と代々の黒岩研究室関係の皆様、Osteryoung研究室の皆様、形態学会の皆様にご多大なるご指導を頂きました。特に平瀬賞対象論文は、岡崎久美子博士、壁谷如洋博士、鈴木健二博士、森稔幸博士、市川尚斉博士、松井南博士、中西弘充博士と共同で行った内容をまとめたものです。皆様に御礼申し上げます。

引用文献

- Adams, S., Maple, J., and Moller, S. G. (2008) Functional conservation of the MIN plastid division homologues of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Planta* 227: 1199-1211.
- Archibald, J. M. (2009) The puzzle of plastid evolution. *Curr Biol* 19: R81-88.
- Beech, P. L., Nheu, T., Schultz, T., Herbert, S., Lithgow, T., Gilson, P. R., and McFadden, G. I. (2000) Mitochondrial FtsZ in a chromophyte alga. *Science* 287: 1276-1279.
- Colletti, K. S., Tattersall, E. A., Pyke, K. A., Froelich, J. E., Stokes, K. D., and Osteryoung, K. W. (2000) A homologue of the bacterial cell division site-determining factor MinD mediates placement of the chloroplast division apparatus. *Curr Biol* 10: 507-516.
- de Boer, P. A. (2010) Advances in understanding E. coli cell fission. *Curr Opin Microbiol* 13: 730-737.
- Fujiwara, T., Misumi, O., Tashiro, K., Yoshida, Y., Nishida, K., Yagisawa, F., Imamura, S., Yoshida, M., Mori, T., Tanaka, K., Kuroiwa, H., and Kuroiwa, T. (2009) Periodic gene expression patterns during the highly synchronized cell nucleus and organelle division cycles in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *DNA Res* 16: 59-72.
- Gao, H., Kadirjan-Kalbach, D., Froehlich, J. E., and Osteryoung, K. W. (2003) ARC5, a cytosolic dynamin-like protein from plants, is part of the chloroplast division machinery. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 4328-4333.
- Gillard, J., Devos, V., Huysman, M.J., De Veylder, L., D'Hondt, S., Martens, C., Vanormelingen, P., Vannerum, K., Sabbe, K., Chepurinov, V.A., Inze, D., Vuylsteke, M., and Vyverman, W. (2008) Physiological and transcriptomic evidence for a close coupling between chloroplast ontogeny and cell cycle progression in the pennate diatom *Seminavis robusta*. *Plant Physiol* 148: 1394-1411.
- Glynn, J. M., Froehlich, J. E., and Osteryoung, K. W. (2008) Arabidopsis ARC6 coordinates the division machineries of the inner and outer chloroplast membranes through interaction with PDV2 in the intermembrane space. *Plant Cell* 20: 2460-2470.
- Glynn, J. M., Yang, Y., Vitha, S., Schmitz, A. J., Hemmes, M., Miyagishima, S. Y., and Osteryoung, K. W. (2009) PARC6, a novel chloroplast division factor, influences FtsZ assembly and is required for recruitment of PDV1 during chloroplast division in Arabidopsis. *Plant J* 59: 700-711.
- Hashimoto, H. (1986) Double ring structure around the constricting neck of dividing plastids of *Avena sativa*. *Protoplasma* 135: 166-172.
- Hashimoto, H. (2005) The ultrastructural features and division of secondary plastids. *J Plant Res* 118: 163-172.
- Heymann, J. A., and Hinshaw, J. E. (2009) Dynamins at a glance. *J Cell Sci* 122: 3427-3431.
- Itoh, R., Fujiwara, M., Nagata, N., and Yoshida, S. (2001) A chloroplast protein homologous to the eubacterial topological specificity factor minE plays a role in chloroplast division. *Plant Physiol* 127: 1644-1655.
- Kiefel, B. R., Gilson, P. R., and Beech, P. L. (2006) Cell biology of mitochondrial dynamics. *Int Rev Cytol* 254: 151-213.
- Kuroiwa, H., Mori, T., Takahara, M., Miyagishima, S. Y., and Kuroiwa, T. (2002) Chloroplast division machinery as revealed by immunofluorescence and electron microscopy. *Planta* 215: 185-190.
- Kuroiwa, T., Kuroiwa, H., Sakai, A., Takahashi, H., Toda, K., and Itoh, R. (1998) The division apparatus of plastids and mitochondria. *Int Rev Cytol* 181: 1-41.
- Kuroiwa, T., Nishida, K., Yoshida, Y., Fujiwara, T., Mori, T., Kuroiwa, H., and Misumi, O. (2006) Structure, function and evolution of the mitochondrial division apparatus. *Biochim Biophys Acta* 1763: 510-521.
- Lopez-Juez, E., and Pyke, K. A. (2005) Plastids unleashed: their development and their integration in plant development. *Int J Dev Biol* 49: 557-577.
- Maple, J., Vojta, L., Soll, J., and Moller, S. G. (2007) ARC3 is a stromal Z-ring accessory protein essential for plastid division. *EMBO Rep* 8: 293-299.
- Martin, W., and Kowallik, K. V. (1999) Annotated English translation of Mereschkowsky's 1905 paper "Über naturursprung der chromatophoren im pflanzenreiche". *Eur J Phycol* 34: 287-295.
- Matsuzaki, M., Misumi, O., Shin, I. T., Maruyama, S., Takahara, M., Miyagishima, S. Y., Mori, T., Nishida, K., Yagisawa, F., Yoshida, Y., Nishimura, Y., Nakao, S., Kobayashi, T., Momoyama, Y., Higashiyama, T., Minoda, A., Sano, M., Nomoto, H., Oishi, K., Hayashi, H., Ohta, F., Nishizaka, S., Haga, S., Miura, S., Morishita, T., Kabeya, Y., Terasawa, K., Suzuki, Y., Ishii, Y., Asakawa, S., Takano, H., Ohta, N., Kuroiwa, H., Tanaka, K., Shimizu, N., Sugano, S., Sato, N., Nozaki, H., Ogasawara, N., Kohara, Y., and Kuroiwa, T. (2004) Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D. *Nature* 428: 653-657.
- Mita, T., Kanbe, K., and Kuroiwa, T. (1986) A ring structure around the dividing plane of the *Cyanidium caldarium* chloroplast. *Protoplasma* 130: 211-213.
- Miyagishima, S., Takahara, M., Mori, T., Kuroiwa, H., Higashiyama, T., and Kuroiwa, T. (2001) Plastid division is driven by a complex mechanism that involves differential transition of the bacterial and eukaryotic division rings. *Plant Cell* 13: 2257-2268.
- Miyagishima, S. Y., and Kabeya, Y. (2010) Chloroplast division: squeezing the photosynthetic captive. *Curr Opin Microbiol* 13: 738-746.

- Miyagishima, S. Y., Nishida, K., and Kuroiwa, T. (2003a) An evolutionary puzzle: chloroplast and mitochondrial division rings. *Trends Plant Sci* 8: 432-438.
- Miyagishima, S. Y., Wolk, C. P., and Osteryoung, K. W. (2005) Identification of cyanobacterial cell division genes by comparative and mutational analyses. *Mol Microbiol* 56: 126-143.
- Miyagishima, S. Y., Froehlich, J. E., and Osteryoung, K. W. (2006) PDV1 and PDV2 mediate recruitment of the dynamin-related protein ARC5 to the plastid division site. *Plant Cell* 18: 2517-2530.
- Miyagishima, S. Y., Kuwayama, H., Urushihara, H., and Nakanishi, H. (2008) Evolutionary linkage between eukaryotic cytokinesis and chloroplast division by dynamin proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 15202-15207.
- Miyagishima, S. Y., Nishida, K., Mori, T., Matsuzaki, M., Higashiyama, T., Kuroiwa, H., and Kuroiwa, T. (2003b) A plant-specific dynamin-related protein forms a ring at the chloroplast division site. *Plant Cell* 15: 655-665.
- Mori, T., Kuroiwa, H., Takahara, M., Miyagishima, S. Y., and Kuroiwa, T. (2001) Visualization of an FtsZ ring in chloroplasts of *Lilium longiflorum* leaves. *Plant Cell Physiol* 42: 555-559.
- Nakanishi, H., Suzuki, K., Kabeya, Y., and Miyagishima, S. Y. (2009) Plant-specific protein MCD1 determines the site of chloroplast division in concert with bacteria-derived MinD. *Curr Biol* 19: 151-156.
- Nishida, K., Takahara, M., Miyagishima, S. Y., Kuroiwa, H., Matsuzaki, M., and Kuroiwa, T. (2003) Dynamic recruitment of dynamin for final mitochondrial severance in a primitive red alga. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 2146-2151.
- Okamoto, N., and Inouye, I. (2005) A secondary symbiosis in progress? *Science* 310: 287.
- Okazaki, K., Kabeya, Y., Suzuki, K., Mori, T., Ichikawa, T., Matsui, M., Nakanishi, H., and Miyagishima, S. Y. (2009) The PLASTID DIVISION1 and 2 components of the chloroplast division machinery determine the rate of chloroplast division in land plant cell differentiation. *Plant Cell* 21: 1769-1780.
- Osteryoung, K. W., and Nunnari, J. (2003) The division of endosymbiotic organelles. *Science* 302: 1698-1704.
- Possingham, J. V., and Lawrence, M. E. (1983) Controls to plastid division. *Int Rev Cytol* 84: 1-56.
- Reyes-Prieto, A., Weber, A. P., and Bhattacharya, D. (2007) The origin and establishment of the plastid in algae and plants. *Annu Rev Genet* 41: 147-168.
- Rodriguez-Ezpeleta, N., and Philippe, H. (2006) Plastid origin: replaying the tape. *Curr Biol* 16: R53-56.
- Shimada, H., Koizumi, M., Kuroki, K., Mochizuki, M., Fujimoto, H., Ohta, H., Masuda, T., and Takamiya, K. (2004) ARC3, a chloroplast division factor, is a chimera of prokaryotic FtsZ and part of eukaryotic phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase. *Plant Cell Physiol* 45: 960-967.
- Takahara, M., Takahashi, H., Matsunaga, S., Miyagishima, S., Takano, H., Sakai, A., Kawano, S., and Kuroiwa, T. (2000) A putative mitochondrial *ftsZ* gene is present in the unicellular primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Mol Gen Genet* 264: 452-460.
- Vitha, S., McAndrew, R. S., and Osteryoung, K. W. (2001) FtsZ ring formation at the chloroplast division site in plants. *J Cell Biol* 153: 111-120.
- Vitha, S., Froehlich, J. E., Koksharova, O., Pyke, K. A., van Erp, H., and Osteryoung, K. W. (2003) ARC6 is a J-domain plastid division protein and an evolutionary descendant of the cyanobacterial cell division protein Ftn2. *Plant Cell* 15: 1918-1933.
- Wouters, J., Raven, J. A., Minnhagen, S., and Janson, S. (2009) The luggage hypothesis: Comparisons of two phototrophic hosts with nitrogen-fixing cyanobacteria and implications for analogous life strategies for kleptoplastids/secondary symbiosis in dinoflagellates. *Symbiosis* 49: 61-70.
- Yang, Y., Glynn, J. M., Olson, B. J., Schmitz, A. J., and Osteryoung, K. W. (2008) Plastid division: across time and space. *Curr Opin Plant Biol* 11: 577-584.
- Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Misumi, O., Nishida, K., Yagisawa, F., Fujiwara, T., Nanamiya, H., Kawamura, F., and Kuroiwa, T. (2006) Isolated chloroplast division machinery can actively constrict after stretching. *Science* 313: 1435-1438.
- Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Hirooka, S., Fujiwara, T., Ohnuma, M., Yoshida, M., Misumi, O., Kawano, S., and Kuroiwa, T. (2009) The bacterial ZapA-like protein ZED is required for mitochondrial division. *Curr Biol* 19: 1491-1497.
- Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Misumi, O., Yoshida, M., Ohnuma, M., Fujiwara, T., Yagisawa, F., Hirooka, S., Imoto, Y., Matsushita, K., Kawano, S., and Kuroiwa, T. (2010) Chloroplasts divide by contraction of a bundle of nanofilaments consisting of polyglucan. *Science* 329: 949-953.