LEADING AUTHOR'S

領域融合レビュー, 5, e005 (2016)
DOI: 10.7875/leading.author.5.e005
2016 年 5 月 16 日 公開

植物に特徴的なタンパク質複合体による細胞分裂の制御機構

Unique mechanisms of plant cell division regulated by multi-protein complexes

伊藤正樹 [1]・笹部美知子 [2]・町田泰則 [3]
Masaki Ito, Michiko Sasabe & Yasunori Machida

[1] 名古屋大学大学院生命農学研究科 生命技術科学専攻分化情報制御研究分野
[2] 弘前大学農学生命科学部 生物学科
[3] 名古屋大学大学院理学研究科 生命理学専攻発生メカノ・セル・バイオロジーグループ

要 約

植物の細胞は周囲に細胞壁をもつことから，植物は細胞分裂のために特有な制御機構を獲得した．とりわけ，細胞膜と細胞壁の構築が同時に起こる細胞質分裂は，細胞板の形成を含む植物に特有の過程である．筆者らは，この過程に必須である植物に固有のキネシン様タンパク質により制御される MAP キナーゼカスケードを発見し，このカスケードは細胞質分裂装置において微小管の動きを制御することにより細胞板の形成を促進することを示した．さらに，この過程を含む植物の M 期の進行にかかわる遺伝子の転写には転写因子として R1R2R3 型 Myb が必須であること，R1R2R3 型 Myb には転写を活性化する活性化型 Myb のほか抑制型 Myb があり，植物の器官の発生における細胞分裂の停止にも重要であることが見い出された．R1R2R3 型 Myb は G1/S 期の制御に重要な転写因子 E2F とともに大きなタンパク質複合体を形成しており，より広範囲な機能を担う可能性のあることもわかった．この Myb-E2F 複合体の構成タンパク質には，動物において細胞周期にかかわる遺伝子の転写を負に制御する DREAM 複合体の構成タンパク質と類似する複数のタンパク質が存在していたことから，植物においても，Myb-E2F 複合体が細胞周期の制御において同様の機能をもつ可能性が考えられた．

はじめに

細胞分裂は増殖という生命の本質的な属性の基礎であり，生物にとりもっとも重要な過程のひとつである．細胞分裂の過程は，細胞周期とよばれる制御された反応の位相をくり返すことにより，複製された染色体と細胞質成分を 2 つの娘細胞に分配するしくみである．このような細胞周期の分子レベルにおける研究にはおもに動物および酵母が用いられ，多くの成果が得られているが，M 期における有糸分裂あるいは細胞質分裂のしくみについては不明な点が多い．植物における細胞分裂の研究も進み，DNA の複製などにかかわる G1/S 期遺伝子と細胞質分裂などにかかわる G2/M 期遺伝子の転写が周期的に変動すること [1,2]，G1/S 期遺伝子の転写の制御には，動物と同様に，E2F-DP ヘテロ二量体が中心的な役割を担うこと [3] がわかってきた．しかし，植物の細胞は周囲を細胞壁にかこまれていることから，細胞分裂には植物に固有の過程がかかわると考えられる．また，植物の細胞は細胞壁の存在により移動できないことから，適切な器官の形成のためには細胞分裂の時空間的な制御が重要であるといわれている [4]．このような特徴をもつ植物における細胞周期のしくみを解明することにより，細胞分裂の機構に関しよりいっそう深い理解が得られるだけでなく，新奇な分子制御の過程が解明される可能性もある．筆者らは，植物に焦点をしぼり，細胞周期の分子制御の機構および細胞分裂と分化との関係を研究している．

筆者らは，これまでに，培養細胞を用いた研究により，G2/M 期遺伝子のプロモーター領域には共通のシス配列である MSA 配列が存在すること，そして，この配列に結合する転写因子である R1R2R3 型 Myb により G2/M 期遺伝子の転写が制御されることを示してきた [5]．また，R1R2R3 型 Myb には，G2/M 期遺伝子の転写を活性化する活性化型 Myb と，逆に，G2/M 期遺伝子を抑制する抑

制型 Myb が存在することも示された．これらの知見は，動物における細胞分裂の研究にさきがけて得られたものである．最近になり，シロイヌナズナを用いた研究により，抑制型 Myb は器官の発生における細胞分裂の適切な停止に機能することがわかった [6]．さらに，R1R2R3 型 Myb は G1/S 期の制御に重要な転写因子 E2F と共通のタンパク質複合体に含まれることがわかり，ヒトやショウジョウバエにおいて細胞周期にかかわる遺伝子の転写制御に中心的なはたらきをする大きなタンパク質複合体である DREAM 複合体 [7] との機能的な類似性が考えられるようになった．一方，細胞周期においては，タンパク質の修飾や相互作用などの巧妙な転写後制御が重要であることが明らかにされてきた．筆者らは，植物に固有な細胞質分裂である細胞板の形成の分子機構について研究し，植物における細胞質分裂装置の動態およびその活性化のしくみについて明らかにした [8,9]．また，この過程にかかわる特徴的なメンブレントラフィックに関する研究が進み，分子レベルにおける理解が進んできた [10,11]．

このレビューにおいては，G2/M 期遺伝子の転写の活性化および抑制のしくみについて述べ，M 期の進行を実行するしくみの典型例として植物における細胞板の形成の制御機構について解説する．さらに，最近になり明らかにされた，植物における Myb-E2F 複合体の発見について解説し，動物における類似の性質をもつ DREAM 複合体との関連性，また，植物の発生における細胞の増殖の抑制機構について議論する．

1. 植物の培養細胞における G2/M 期に特異的な転写

高度な同調培養が可能なタバコ BY-2 細胞を用いて M 期サイクリンをコードする *CYCB1* 遺伝子のプロモーターを詳細に解析した結果，G2/M 期に特異的な転写の活性化を担うシス配列として MSA 配列が同定された [12]．シロイヌナズナには約 180 個の G2/M 期遺伝子が存在するが，それらの遺伝子の多くは上流に MSA 配列のモチーフが存在することから，MSA 配列は G2/M 期遺伝子を共通に制御するシス配列であると思われた [13]．この MSA 配列に結合する転写因子を酵母ワンハイブリッド系によりスクリーニングした結果，タバコの Myb である NtmybA2 が同定された [14]．*CYCB1* 遺伝子のプロモーターに対する効果を調べた結果，NtmybA2 は MSA 配列に依存的に転写の活性化にはたらく転写因子であることが示された．

MSA 配列に結合する R1R2R3 型 Myb は，植物に多く存在する R2R3 型 Myb とは異なり，動物の原がん遺伝子産物として知られる c-Myb とよく似た DNA 結合ドメイン構造をもち，植物における祖先型の Myb とみなされている [5]．R1R2R3 型 Myb は哺乳動物やショウジョウバエに

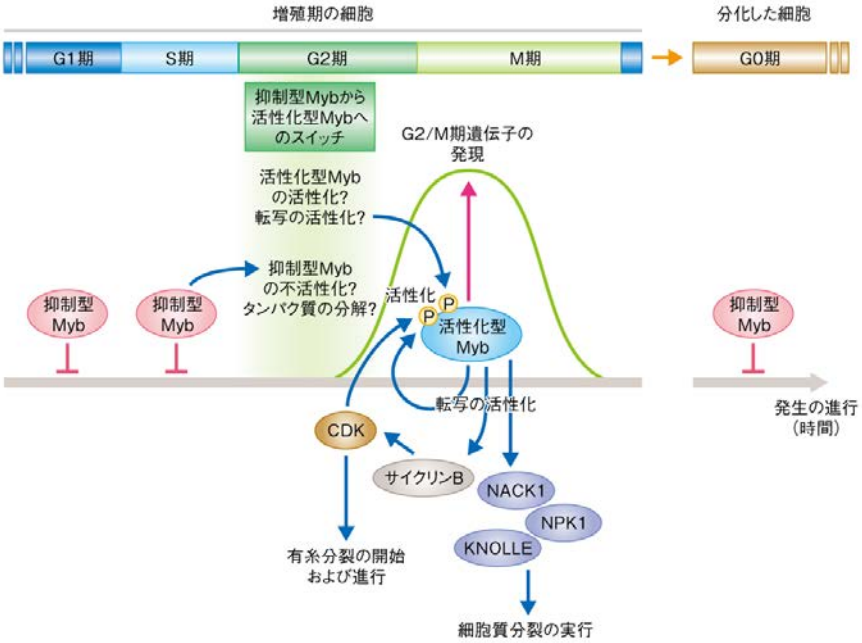

図 1　植物の器官の発生における活性化型 Myb および抑制型 Myb のはたらき

増殖している細胞においては，活性化型 Myb と抑制型 Myb は同じ細胞において同時に活性化して競合することはなく，G2 期のあるタイミングにおいて，抑制型 Myb から活性化型 Myb へとスイッチすると考えられる．活性化型 Myb は，それ自体をコードする遺伝子の転写活性化や，標的遺伝子である M 期サイクリンをコードする遺伝子の転写活性化をつうじた二重のフィードバックループにより，正に制御されている．発生の進んだ器官の分化した細胞においては，G2/M 期遺伝子の転写抑制の状態が抑制型 Myb のはたらきにより維持されている．

CDK：サイクリン依存性キナーゼ，P：リン酸化．

おいても G2/M 期遺伝子の制御にかかわることが示されており，多細胞生物において広範囲に保存された転写制御経路を形成するものと思われる [15,16].

2. G2/M 期遺伝子の転写を活性化する R1R2R3 型 Myb

シロイヌナズナのゲノムには R1R2R3 型 Myb をコードする 5 個の遺伝子が存在し，そのうち *MYB3R1* 遺伝子および *MYB3R4* 遺伝子はタバコの転写因子 NtmybA2 とよく似たアミノ酸配列をコードしていた．*MYB3R1* 遺伝子および *MYB3R4* 遺伝子を同時に破壊した植物においては多くの G2/M 期遺伝子の発現が低下していたことから，MYB3R1 および MYB3R4 はシロイヌナズナにおいて転写の活性化にはたらく転写因子として機能し，G2/M 期遺伝子を共通に制御するものと考えられた [13,17]．また，MYB3R4 は分裂組織や増殖期の若い器官において G2/M 期の細胞に特異的に発現しており，それ自体が細胞周期において制御をうけていた．したがって，これら活性化型 Myb のはたらきは，M 期を実行するための G2/M 期遺伝子の発現を細胞周期の特定のタイミングにおいてオンにすることであると考えられた [14,17].

活性化型 Myb は細胞周期において二重のフィードバックループにより制御される．1 つ目のフィードバックループは，活性化型 Myb が M 期サイクリン依存性キナーゼの活性により直接のリン酸化をうけることである．タバコ BY-2 細胞において M 期サイクリンを一過的に発現すると，活性化型 Myb の転写活性化能が増大した．M 期サイクリンをコードする遺伝子は活性化型 Myb の標的であることから，活性化型 Myb と M 期サイクリンとのあいだには正のフィードバックループが成立する [18]. 2 つ目のフィードバックループは，活性化型 Myb をコードする遺伝子の上流に MSA 配列が存在し，それ自体がコードするタンパク質により転写活性化をうけることである [19]．このような二重のフィードバック制御は G2/M 期遺伝子のバースト的な発現の上昇をひき起こし，G2 期から M 期への不可逆的な進入を決定づけると考えられる（図 1）．動物においては，このような正のフィードバックとして，サイクリン依存性キナーゼによるリン酸化をうけたホスファターゼ CDC25 がサイクリン依存性キナーゼを脱リン酸化し活性化するしくみが提唱されている [20]．活性化型 Myb によるフィードバック制御は，CDC25 のホモログをもたない植物が代替的に獲得した M 期の開始のしくみなのかもしれない.

シロイヌナズナにおいて MYB3R1 および MYB3R4 の機能が部分的に欠失した変異体では，途切れた細胞壁や多核の細胞が高頻度で出現するなど，不完全な細胞質分裂により生じる典型的な異常が観察された [17]．シロイヌナズナの細胞質分裂に必須な遺伝子として最初に同定された *KNOLLE* 遺伝子は G2/M 期に特異的に発現し，細胞板の形成の際の小胞融合にかかわる SNARE タンパク質をコードする [21]．*KNOLLE* 遺伝子のプロモーターは複数の MSA 配列をもち，レポーターアッセイにおいて MSA 配列に依存的して活性化型 Myb による転写活性化をうけた [17]．また，*KNOLLE* 遺伝子の発現は活性化型 Myb を部分的に欠失した植物においては低下しており，この植物において *KNOLLE* 遺伝子を過剰に発現させると細胞質分裂に関する表現型のほとんどが回復したことから，*KNOLLE* 遺伝子は MYB3R1 および MYB3R4 の下流において細胞質分裂の制御にはたらく鍵となる標的遺伝子である [17]．活性化型 Myb の部分欠損変異体における遺伝子の発現を網羅的に解析した結果，MYB3R1 および MYB3R4 による転写活性化の標的遺伝子には，*KNOLLE* 遺伝子のほかにも細胞質分裂に関連する複数の遺伝子が含まれることがわかった [13,17]．たとえば，フラグモプラストの成長にかかわる微小管結合タンパク質 MAP65，細胞板を構成する多糖の合成に関与するセルロース合成酵素類似タンパク質やエンド型 β 1,4 グルカナーゼなどのほか，M 期に特異的な多くのキネシン様タンパク質などをコードする遺伝子である．このように，活性化型 Myb が標的遺伝子の転写制御を介し細胞質分裂の進行をささえるしくみが明らかにされた.

3. 植物における細胞質分裂の制御機構

ここでは，R1R2R3 型 Myb の下流における事象として細胞質分裂をとりあげ，細胞板の形成に必須な転写後制御系，および，この制御における Myb 標的遺伝子の関与について解説する．細胞質分裂は，複製された染色体と細胞質成分を 2 つの娘細胞に分離する M 期における最後の過程である．動物の細胞質分裂は外側から内側への陥入によりひき起こされるのに対して，植物の細胞質分裂は細胞膜と細胞壁からなる細胞板が細胞の内側から外側にむかい形成されることにより起こる [22-24]（図 2a）．このような動的な事象は，動物においては，分裂面に形成されるミオシン II およびアクチンフィラメントからなる収縮環と，分離した染色体のあいだに形成されるセントラルスピンドルあるいはミッドボディとよばれる細胞質分裂装置により実行される．一方，植物における細胞質分裂は，分離された染色体のあいだに形成されるフラグモプラストとよばれる細胞質分裂装置において進行する．セントラルスピンドルとフラグモプラストはいずれも極性をもつ 2 つの巨大な微小管束とアクチンフィラメントからなる構造体で，2 つの微小管束は互いにプラス端側でむかいあう（図 2b）．最初，フラグモプラストは内側まで微小管がつまった構造をしているが，いったん，細胞板が形成されると細胞板をとりまくようなリング状の構造となり，細胞板の形成をともないながら遠心的に拡大し細胞壁まで到達する．細胞板の形成部位であるフラグモプラストの赤道面には，トランスゴルジネットワークあるいは初期エンドソームに由来する小胞が蓄積して融合し（図 2b），融合した膜構

造体において細胞壁の成分が合成されることにより細胞板の形成および拡大が進む．このように，植物の細胞質分裂は，微小管のダイナミクスを基礎とするフラグモプラストの形成と拡大，および，フラグモプラストにおける小胞の輸送と融合を基礎とする細胞板の形成，という 2 つの過程からなる．

フラグモプラストにおける微小管束のダイナミクスは細胞板の形成の原動力である．フラグモプラストの形成の開始のしくみは未解明であるが，フラグモプラストの拡大にはオーグミン-γチューブリン複合体による新規な微小管の形成のかかわることが明らかにされた [25,26]．フラグモプラストは安定な微小管束と動的で不安定な微小管により構成され，安定な微小管束からのγチューブリンを核とした新規で不安定な微小管の形成と，その束化による安定化，というくり返しによりフラグモプラストが拡大すると提唱されている（図 2b）．

筆者らは，タバコ BY-2 細胞を用いた生化学的および細胞生物学的な解析，および，シロイヌナズナを用いた分子遺伝学的な解析を組み合わせ，キネシン様タンパク質である NACK1 により活性化される MAP キナーゼカスケードが植物の細胞質分裂において中心的な役割をはたすことを明らかにした（図 3a）．さらに，このカスケードは M 期の進行の過程においてサイクリン依存性キナーゼとサイクリン B との複合体により抑制的に制御されること，その下流においては微小管結合タンパク質の機能の制御をとおしフラグモプラストにおいて微小管束の不安定化がひき起こされその拡大が促進されていることが示された．この過程にかかわる遺伝子の多くはさきに述べたような転写制御をうけるが，そこから合成されたタンパク質は以下に述べるような巧妙な転写後制御をうけ細胞板の形成を達成する．

タバコにおいて，この MAP キナーゼカスケードの最上位に位置するのは MAP キナーゼキナーゼキナーゼである NPK1 であり [27,28]，これは NACK1 との結合により活性化される [29]（図 3a）．NPK1 および NACK1 は細胞板の形成部位であるフラグモプラストの赤道面に局在する（図 3b）．NPK1 の下流においては，MAP キナーゼキナーゼである NQK1/NtMEK1，および，MAP キナーゼである NRK1/NTF6 が機能する（図 3a）．NPK1 と NQK1 および NQK1 と NRK1 は，それぞれ，直接的に相互作用して下流のキナーゼをリン酸化し，カスケードの全体が活性化された [30]．これらのタンパク質はすべてフラグモプラストの赤道面に局在し，それらのドミナントネガティブ変異体を発現させると不完全な細胞板の蓄積，多核化，細胞肥大などの細胞質分裂の不全を示した．このカスケードはシロイヌナズナにおいても保存されており [30-34]，これらの変異体はすべて細胞質分裂の不全の表現型を示した．このように，タバコおよびシロイヌナズナにおいては類似した MAP キナーゼカスケードが細胞質分裂にかかわる．動物においても，ERK1 および ERK2 がセントラルスピンドルに局在し [35-37]，細胞質分裂の後期において機能すると考えられている [38]．

シロイヌナズナにおいて NACK1 のホモログをコードする *AtNACK1* 遺伝子および *AtNACK2* 遺伝子は，それぞれ，細胞質分裂の不全を示す変異体から同定された *HINKEL* 遺伝子および *TETRASPORE/STUD* 遺伝子と

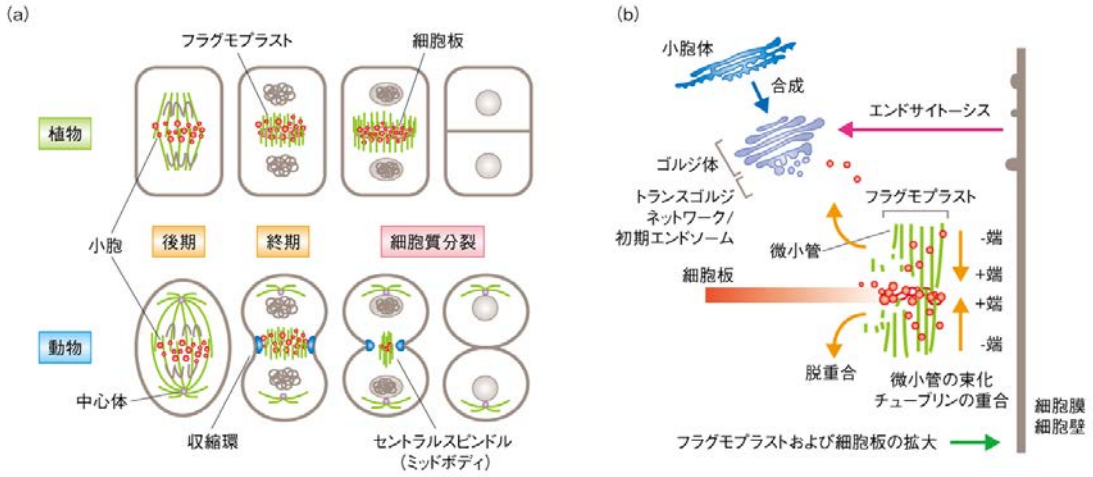

図 2　細胞質分裂におけるさまざまなイベント

（a）植物と動物との細胞質分裂の比較．植物においては，フラグモプラストにおいて形成される細胞板の拡大により細胞質が二分される．動物においては，収縮環およびセントラルスピンドルにより外側から内側にむかい細胞がくびれることにより細胞質が二分される．

（b）細胞板の形成におけるフラグモプラストでの微小管の役割と小胞輸送系．フラグモプラストの微小管束にそって，トランスゴルジネットワークあるいは初期エンドソームに由来する小胞が細胞分裂面に輸送され，それが融合して細胞板が形成される．

同一であった[29,39,40]．*HINKEL/AtNACK1* 遺伝子および *TETRASPORE/STUD/AtNACK2* 遺伝子の変異体は，それぞれ，体細胞分裂の異常および花粉の形成の異常を示したが，それらの二重変異体は配偶体致死であった[41]．これらは重複した機能をもち，植物の細胞質分裂において必須である．NACK1 は NPK1 などを活性化するだけでなく，これらをフラグモプラストの赤道面にリクルートする[29]．このように，NACK1 と NPK1 の結合は細胞質分裂の鍵となる反応といえる．筆者らは，この MAP キナーゼカスケードを中心とした経路を NACK-PQR 経路と命名した[30]（**図 3a**）．

NACK-PQR 経路の活性化は CDK サイクリン依存性キナーゼにより負に制御されている[8]（**図 3c**）．NACK1 は M 期だけに蓄積したが，MAP キナーゼカスケードを構成するタンパク質はそれ以前から存在し，M 期の前期に蓄積量が上昇する．しかし，NPK1 をはじめとする 3 つのキナーゼの活性化は M 期の中期ののちはじめて起こる[29,30]．M 期の前期から中期にかけては，サイクリン依存性キナーゼ-サイクリン B 複合体により NACK1 および NPK1 がリン酸化されそれらの結合が阻害されているからである．M 期の中期ののちサイクリン B が分解されサイクリン依存性キナーゼの活性が低下すると，NACK1 および NPK1 はすみやかに脱リン酸化され，互いに結合して NPK1 のキナーゼ活性が活性化され，フラグモプラストの拡大および細胞板の形成が起こる[8]．このように，NACK-PQR 経路の活性化は M 期の進行の過程において厳密に制御されている．

MAP キナーゼである NRK1 の下流のタンパク質の生化学的な解析から，微小管結合タンパク質のひとつである MAP65 が NRK1 によりリン酸化されることがわかった[42,43]．MAP65 は，ヒトでは PRC1，出芽酵母では Ase1 とよばれ，いずれも細胞質分裂に必須でありサイクリン依

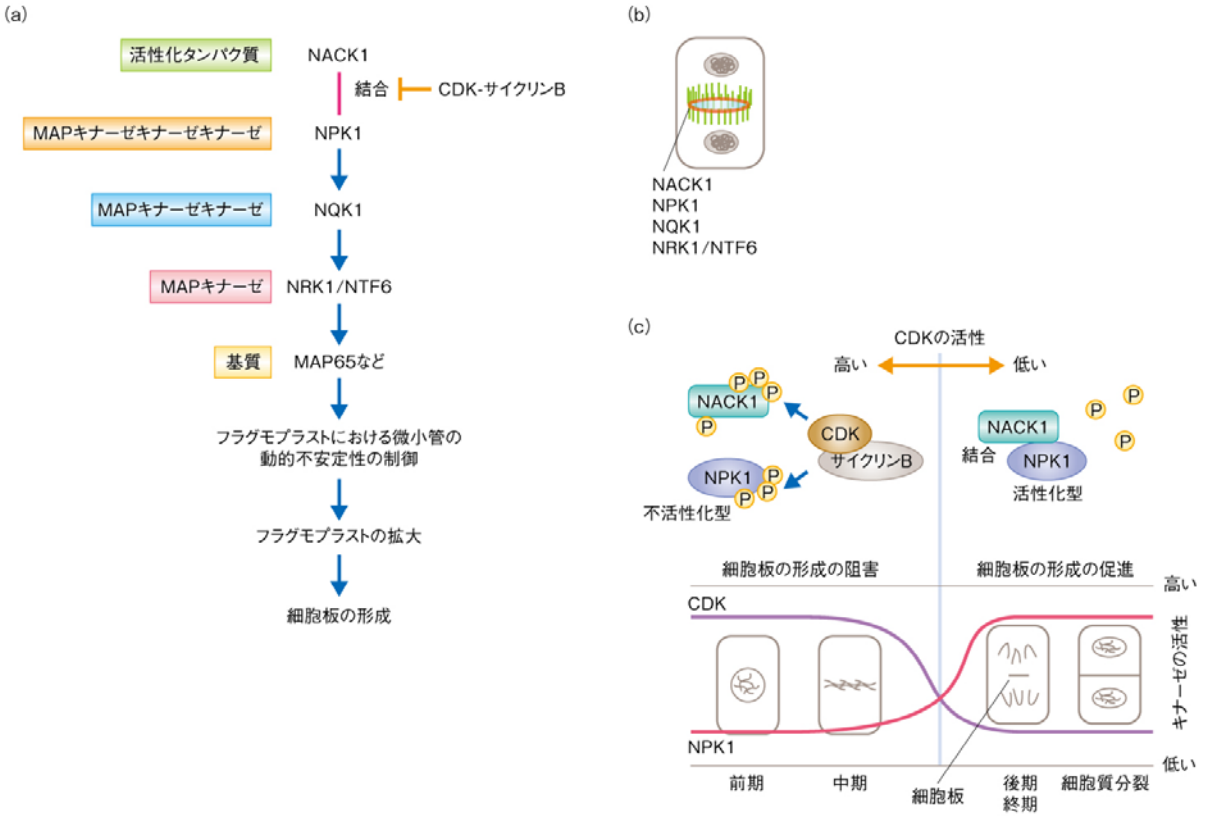

図 3　植物の細胞質分裂を制御する NACK-PQR 経路

（a）タバコにおける NACK-PQR 経路による細胞質分裂の制御．同様の制御系はシロイヌナズナにも存在する．

（b）細胞質分裂の際の NACK-PQR 経路の構成タンパク質の細胞内局在．NACK1 および MAP キナーゼカスケードの構成タンパク質はすべてフラグモプラストの赤道面，すなわち，細胞板の形成部位にリング状に局在する．

（c）M 期の進行におけるサイクリン依存性キナーゼ-サイクリン B 複合体による NACK-PQR 経路の活性の制御．M 期の前期において NACK1 および NPK1 は十分に蓄積しているが，サイクリン依存性キナーゼによるリン酸化によりそれらの相互作用は阻害され NACK-PQR 経路は活性化されない．M 期の後期になると，サイクリン B が分解されてサイクリン依存性キナーゼの活性が低下し，未同定のホスファターゼにより NACK1 および NPK1 は脱リン酸化されて NACK1 と NPK1 とは直接に結合するようになり NACK-PQR 経路は活性化する．

CDK：サイクリン依存性キナーゼ，P：リン酸化．

存性キナーゼによるリン酸化の制御をうける [44-46]．MAP65 は微小管を束化する活性をもつが，MAP キナーゼによる MAP65 のリン酸化は *in vitro* において微小管の束化の活性を抑制した．また，MAP キナーゼ非リン酸化変異型 MAP65 をタバコ BY-2 細胞において過剰に発現させると微小管の安定性が上昇し，フラグモプラストの拡大がいちじるしく遅延した．これらの結果は，NRK1 は MAP65 をリン酸化し，その束化活性を抑制することによりフラグモプラストの拡大を促進することを示していた [42]．

シロイヌナズナにおける細胞板の形成においては，トランスゴルジネットワークあるいは初期エンドソームに由来する小胞がかかわる（**図 2b**）．これらは同一のポストゴルジ輸送経路をへて細胞板へと輸送されるといわれている [47-49]．これらの小胞は細胞分裂面において SNARE タンパク質を介して融合し，細胞板の形成にかかわる．複数の SNARE タンパク質が互いに SNARE ドメインを介して相互作用し，メンブラントラフィック経路ごとに特異的な複合体を形成して機能する [11]．R1R2R3 型 Myb の標的である *KNOLLE/SYP111* 遺伝子は細胞板の形成に必須な SNARE タンパク質のひとつをコードする [21,50]．また，細胞質分裂に異常を示す変異体において原因タンパク質として同定された KEULE は，KNOLLE と結合し SNARE 複合体の形成を促進する [51]．最近，トランスゴルジネットワークあるいは初期エンドソームに由来するポストゴルジ輸送経路から分泌される細胞板の形成において機能する小胞の形成にかかわるタンパク質として BIG1, BIG2, BIG3，BIG4 が報告された [10]．このように，細胞板の形成において機能する小胞の形成から融合にかかわるタンパク質が明らかにされてきたが，フラグモプラストにそった小胞輸送のしくみや小胞の積み荷タンパク質については不明な点が多い．筆者らは，細胞板の形成にはたらくなんらかのタンパク質の輸送に NACK1 がかかわる可能性について検討している [52]．

4. 転写の抑制にはたらく R1R2R3 型 Myb の発見とその機能

シロイヌナズナに存在する 5 個の R1R2R3 型 Myb には，MYB3R1 および MYB3R4 のような活性化型 Myb だけではなく，転写の抑制にはたらく抑制型 Myb も存在することが明らかにされた [6]．R1R2R3 型 Myb をコードする遺伝子をさまざまな組合せで破壊した多重変異体を作出したところ，アミノ酸配列のよく似た MYB3R3 と MYB3R5 が同時に破壊されると G2/M 期遺伝子の発現が上昇した [6]．これらの変異はさきに述べた活性化型 Myb の変異体にみられた異常を促進しないことから，これらはもっぱら抑制的にはたらく転写因子であると考えられた．G2/M 期遺伝子のプロモーターの活性を抑制型 Myb の変異体において調べた実験から，抑制型 Myb の効果は MSA 配列に依存していることがわかった．動物の Myb は一般に転写を活性する転写因子であるとみなされており，現在のところ，活性化型 Myb と抑制型 Myb が同時に存在することが知られているのはシロイヌナズナだけである [6,53]．シロイヌナズナにおける抑制型 Myb の遺伝子破壊株を詳細に解析した結果，以下に示すように，抑制型 Myb は増殖している細胞と増殖を停止した細胞の両方において機能していることがわかった [6]．

増殖している細胞を多く含むシロイヌナズナの分裂組織，あるいは，発生の初期の種々の器官においては，*CYCB1* 遺伝子は G2/M 期の細胞にだけ発現するため，蛍光タンパク質により標識すると 1 細胞ごとのパッチ状の発現パターンを示す．しかし，抑制型 Myb の変異体においては *CYCB1* 遺伝子が細胞周期のステージに依存せずに発現する結果，分裂組織の細胞が一様に蛍光を示すようになった．このことから，増殖している細胞における抑制型 Myb の機能は，G2/M 期以外の時期において転写を抑制することにより，標的遺伝子が発現する時期を細胞周期の特定のステージに限定することであると考えられた（**図 1**）．活性化型 Myb あるいは抑制型 Myb の変異体が示すそれぞれの表現型は，変異を組み合わせたときに相加的に現われ，互いの変異の効果を打ち消すような作用は示さない [6,53]．このことから，活性化型 Myb と抑制型 Myb は同じ細胞で同時に活性化されて競合するのではなく，活性化型 Myb と抑制型 Myb が細胞周期において交互に活性化するような切り替えを可能にする未知のしくみが存在すると考えられる（**図 1**）．

一方，増殖を停止した細胞における抑制型 Myb のはたらきとして明らかにされたのは，分化した（あるいは，分化しつつある）細胞における転写抑制の確立およびその維持である．通常，細胞分裂を停止して最終的に分化した細胞においては G2/M 期遺伝子の発現はほとんど認められないが，抑制型 Myb を欠損した変異体においてはすでに分化した（あるいは，分裂を停止して分化を起こす過程にある）細胞が G2/M 期遺伝子の発現を継続してしまい，過剰な成長や異所的な細胞分裂が生じる [6]．この結果から，発生が進み細胞分裂を停止した細胞においては，G2/M 期遺伝子の転写が活性化されないだけではなく，積極的に転写を抑制するしくみが存在していることが示される．このように，発生の進行にともなう G2/M 期遺伝子の転写の抑制において抑制型 Myb が主要な役割を担っており（**図 1**），それが植物の発生の過程における時空間的な細胞分裂の制御に重要な意味をもつことが示された．また，G2/M 期遺伝子の発現に対する抑制型 Myb の効果は，調べたすべての器官や組織において全身的にみられたことから，植物の器官発生において一般的にかかわる細胞周期の負の制御を反映しているものと考えられる．

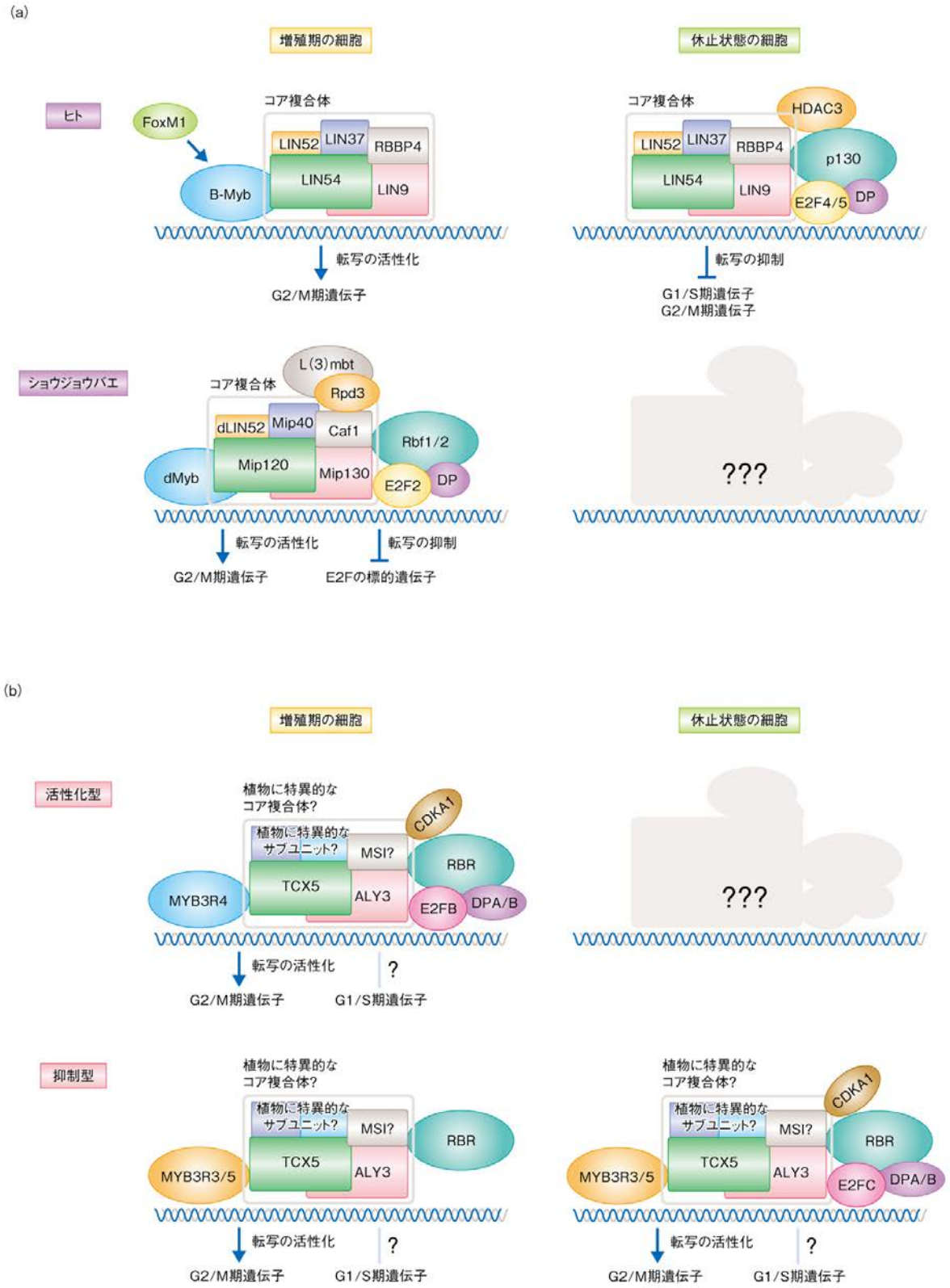

図 4　DREAM 複合体の構成タンパク質

（a）ヒトおよびショウジョウバエにおいて生化学的に同定された DREAM 複合体．共通のコア複合体に E2F や Myb などの転写因子が結合している．ヒトにおいては，増殖している細胞と増殖を停止した細胞とで構成タンパク質が異なる．ショウジョウバエにおいては，増殖している細胞において Myb と E2F が同じ複合体に存在する．

（b）シロイヌナズナにおいて予想される Myb-E2F 複合体．シロイヌナズナには，E2FB および MYB3R4 を含む活性型の Myb-E2F 複合体と，E2FC および MYB3R3 を含む抑制型の Myb-E2F 複合体があり，抑制型の Myb-E2F 複合体は発生が進む過程において構成タンパク質が変化する．

5. シロイヌナズナにおける Myb-E2F 複合体の発見および DREAM 複合体との類似性

分裂を停止した休止状態の動物細胞において，細胞周期に関連する遺伝子の転写を抑制するタンパク質複合体の存在が明らかにされている[7]．構成タンパク質などに多少の違いはあるが，ヒト，ショウジョウバエ，線虫に共通に存在する大きなタンパク質複合体であり，それぞれに異なる名称がつけられているが，ここでは，総称して DREAM 複合体とよぶ．ショウジョウバエにおいて生化学的に同定された DREAM 複合体の大きな特徴は，転写因子 E2F（ここでは，E2F2）と Myb が同じタンパク質複合体に存在することである[54,55]（**図 4a**）．ヒトの DREAM 複合体の場合には，Myb と E2F（ここでは，B-Myb と E2F4/5）が同じタンパク質複合体に同時に存在することはないが，これらは細胞周期の異なった時期に共通のコア複合体と結合し，異なる構成タンパク質をもつ DREAM 複合体として存在する[56]（**図 4a**）．DREAM 複合体の共通の機能は細胞周期に関連する遺伝子の転写を抑制することであり，Myb の役割は DREAM 複合体による転写の抑制を解除することであると考えられている．ヒトの DREAM 複合体は増殖を停止した休止状態の細胞において，G1/S 期遺伝子および G2/M 期遺伝子の転写を抑制している[57]．細胞が増殖の刺激をうけ S 期にむかう過程において，コア複合体に存在するタンパク質が E2F4/5 から B-Myb に交換され，そののち，B-Myb はフォークヘッド型転写因子 FoxM1 をリクルートし G2/M 期遺伝子の転写を活性化する[56]（**図 4a**）．

植物において，増殖を停止した組織における抑制型 Myb の役割は動物の DREAM 複合体におけるはたらきを想起させるものであった[6,58]．シロイヌナズナにおいて抑制型 Myb が結合する遺伝子をクロマチン免疫沈降法により調べた結果，多くの G2/M 期遺伝子と同時に，転写因子 E2F の標的となる多数の遺伝子が抑制型 Myb と共沈殿する DNA 断片として同定された[6]．この結果から，*in vivo* において，抑制型 Myb と E2F とのあいだに直接あるいは間接の相互作用があり，Myb-E2F 複合体が Myb および E2F の DNA 結合領域をつうじて G2/M 期遺伝子および G1/S 期遺伝子の両方に結合するのではないかと考えられた．生化学的に調べたところ，Myb と E2F は複合体を形成しており，さらに，ほかにも DREAM 複合体の複数の構成タンパク質のホモログが含まれる可能性が示された[6,53]．一方で，植物に特有な構成タンパク質の候補として，サイクリン依存性キナーゼの一種が共免疫沈降により検出されている．また，ヒト，ショウジョウバエ，線虫において保存されている DREAM 複合体の構成タンパク質である LIN37/Mip40 および LIN52 は植物にはホモログがないこと，また，ヒトにおいて DREAM 複合体にリクルートされるフォークヘッド型転写因子に対応する転写因子ファミリーは植物には存在しないことなどから，植物における Myb-E2F 複合体の構成タンパク質は，動物の DREAM 複合体の構成タンパク質とはかなり異なると考えられる．

シロイヌナズナにおいて，活性化型 Myb を含む Myb-E2F 複合体と抑制型 Myb を含む Myb-E2F 複合体は，転写因子 E2F の異なる分子種を含んでいた．シロイヌナズナの E2F には，転写の活性化にはたらく E2FA および E2FB と，転写の抑制にはたらく E2FC が存在する[3]．のちの解析の結果，抑制型 Myb は E2FC と，また，活性化型 Myb は E2FB と，それぞれ，独立の Myb-E2F 複合体を形成することが予想された[6,53]（**図 4b**）．シロイヌナズナの Myb-E2F 複合体は器官の発生の過程において構成タンパク質を変化させているようだ．増殖している細胞を多く含む初期のステージの葉においては，抑制型 Myb は RBR を含む Myb-E2F 複合体に存在するが，そこに E2FC は存在しない．しかし，細胞増殖を停止しつつある後期のステージにおいては，RBR だけでなく E2FC が抑制型 Myb と共沈殿する[6]（**図 4b**）．シロイヌナズナの Myb-E2F 複合体は，ヒトの DREAM 複合体のように，構成タンパク質の変化をともないながら，細胞周期や発生の過程においてそのはたらきをダイナミックに変化させているのではないかと考えられる．筆者らは，この Myb-E2F 複合体のすべての構成タンパク質やその動態の全貌を明らかにすべく研究している．DREAM 複合体には未解明な部分が多く残されており，Myb-E2F 複合体の研究から，植物に特有の制御機構や DREAM 複合体の進化的な保存性などについて新しい知見の得られることが期待される．

おわりに

このレビューにおいては，最近になり明らかにされた，タンパク質複合体による植物における細胞周期の制御のしくみに関する 2 つの例について解説した．ひとつは，シロイヌナズナにおける Myb-E2F 複合体による転写制御である．Myb-E2F 複合体の構成タンパク質や標的 DNA との結合が細胞周期や器官の発生のステージに依存してどのように変化するのか，また，構成タンパク質のあいだにはどのような機能的な相互作用があるのかなど，多くの課題が残されている．細胞周期を制御する Myb および E2F という 2 つの主要な転写因子が同じタンパク質複合体に存在することの生理的な意義などについて理解の進むことが期待される．もうひとつは，キネシン様タンパク質である NACK1 と MAP キナーゼカスケードの構成タンパク質との複合体による細胞質分裂の制御である．このタンパク質複合体は巨大な微小管の構造体であるフラグモプラストに存在し，そこで微小管の動態を制御することにより細胞板の形成を制御する．このタンパク質複合体の研究は，細胞質分裂の研究における古くからの問題である，細胞膜と細胞壁の構築および微小管の成長という高次な反応の同調化の解明につながる可能性がある．MAP キナーゼの

新奇な基質や NACK1 の未知の積み荷タンパク質に関する研究は，このようなしくみの理解に道を開くと期待される．一方，細胞周期においては，おのおのの過程の終了がつぎの過程の開始のシグナルになるという特徴を考えると，細胞質分裂の完了がそれにつぐ G1 期の開始や G0 期への移行を制御する可能性もある．今回，示されたような植物の細胞周期を制御する鍵となるタンパク質複合体を中心として，細胞レベルおよび個体レベルでの研究を進めることにより，植物に特有な細胞周期および個体の形成の制御系を解明したい．

文 献

1) Whitfield, M. L., Sherlock, G., Saldanha, A. J. et al.: Identification of genes periodically expressed in the human cell cycle and their expression in tumors. Mol. Biol. Cell, 13, 1977-2000 (2002)

2) Menges, M., de Jager, S. M., Gruissem, W. et al.: Global analysis of the core cell cycle regulators of Arabidopsis identifies novel genes, reveals multiple and highly specific profiles of expression and provides a coherent model for plant cell cycle control. Plant J., 41, 546-566 (2005)

3) Berckmans, B. & De Veylder, L.: Transcriptional control of the cell cycle. Curr. Opin. Plant Biol., 12, 599-605 (2009)

4) Rasmussen, C. G., Wright, A. J. & Muller, S.: The role of the cytoskeleton and associated proteins in determination of the plant cell division plane. Plant J., 75, 258-269 (2013)

5) Ito, M.: Conservation and diversification of three-repeat Myb transcription factors in plants. J. Plant Res., 118, 61-69 (2005)

6) Kobayashi, K., Suzuki, T., Iwata, E. et al.: Transcriptional repression by MYB3R proteins regulates plant organ growth. EMBO J., 34, 1992-2007 (2015)

7) Sadasivam, S. & DeCaprio, J. A.: The DREAM complex: master coordinator of cell cycle-dependent gene expression. Nat. Rev. Cancer, 13, 585-595 (2013)

8) Sasabe, M., Boudolf, V., De Veylder, L. et al.: Phosphorylation of a mitotic kinesin-like protein and a MAPKKK by cyclin-dependent kinases (CDKs) is involved in the transition to cytokinesis in plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108, 17844-17849 (2011)

9) Sasabe, M. & Machida, Y.: Regulation of organization and function of microtubules by the mitogen-activated protein kinase cascade during plant cytokinesis. Cytoskeleton, 69, 913-918 (2012)

10) Richter, S., Kientz, M., Brumm, S. et al.: Delivery of endocytosed proteins to the cell-division plane requires change of pathway from recycling to secretion. Elife, 3, e02131 (2014)

11) Muller, S. & Jurgens, G.: Plant cytokinesis: no ring, no constriction but centrifugal construction of the partitioning membrane. Semin. Cell. Dev. Biol., DOI: 10.1016/j.semcdb.2015.10.037

12) Ito, M., Iwase, M., Kodama, H. et al.: A novel cis-acting element in promoters of plant B-type cyclin genes activates M phase-specific transcription. Plant Cell, 10, 331-341 (1998)

13) Haga, N., Kobayashi, K., Suzuki, T. et al.: Mutations in MYB3R1 and MYB3R4 cause pleiotropic developmental defects and preferential down-regulation of multiple G2/M-specific genes in Arabidopsis. Plant Physiol., 157, 706-717 (2011)

14) Ito, M., Araki, S., Matsunaga, S. et al.: G2/M-phase-specific transcription during the plant cell cycle is mediated by c-Myb-like transcription factors. Plant Cell, 13, 1891-1905 (2001)

15) Zhu, W., Giangrande, P. H. & Nevins, J. R.: E2Fs link the control of G1/S and G2/M transcription. EMBO J., 23, 4615-4626 (2004)

16) Okada, M., Akimaru, H., Hou, D. X. et al.: Myb controls G_2/M progression by inducing cyclin B expression in the *Drosophila* eye imaginal disc. EMBO J., 21, 675-684 (2002)

17) Haga, N., Kato, K., Murase, M. et al.: R1R2R3-Myb proteins positively regulate cytokinesis through activation of *KNOLLE* transcription in *Arabidopsis thaliana*. Development, 134, 1101-1110 (2007)

18) Araki, S., Ito, M. & Soyano, T.: Mitotic cyclins stimulate the activity of c-Myb-like factors for transactivation of G2/M phase-specific genes in tobacco. J. Biol. Chem., 279, 32979-32988 (2004)

19) Kato, K., Galis, I., Suzuki, S. et al.: Preferential up-regulation of G2/M phase-specific genes by overexpression of the hyperactive form of NtmybA2 lacking its negative regulation domain in tobacco BY-2 cells. Plant Physiol., 149, 1945-1957 (2009)

20) Pomerening, J. R., Kim, S. Y. & Ferrell, J. E. Jr.: Systems-level dissection of the cell-cycle oscillator: bypassing positive feedback produces damped oscillations. Cell, 122, 565-578 (2005)

21) Lukowitz, W., Mayer, U. & Jurgens, G.: Cytokinesis in the Arabidopsis embryo involves the syntaxin-related KNOLLE gene product. Cell, 84, 61-71 (1996)

22) Nishihama, R. & Machida, Y.: Expansion of the phragmoplast during plant cytokinesis: a MAPK pathway may MAP it out. Curr. Opin. Plant Biol., 4, 507-512 (2001)
23) Jurgens, G.: Cytokinesis in higher plants. Annu. Rev. Plant. Biol., 56, 281-299 (2005)
24) Van Damme, D., Inze, D. & Russinova, E.: Vesicle trafficking during somatic cytokinesis. Plant Physiol., 147, 1544-1552 (2008)
25) Nakaoka, Y., Miki, T., Fujioka, R. et al.: An inducible RNA interference system in *Physcomitrella patens* reveals a dominant role of augmin in phragmoplast microtubule generation. Plant Cell, 24, 1478-1493 (2012)
26) Murata, T., Sano, T., Sasabe, M. et al.: Mechanism of microtubule array expansion in the cytokinetic phragmoplast. Nat. Commun., 4, 1967 (2013)
27) Banno, H., Hirano, K., Nakamura, T. et al.: NPK1, a tobacco gene that encodes a protein with a domain homologous to yeast BCK1, STE11, and Byr2 protein kinases. Mol. Cell. Biol., 13, 4745-4752 (1993)
28) Nishihama, R., Ishikawa, M., Araki, S. et al.: The NPK1 mitogen-activated protein kinase kinase kinase is a regulator of cell-plate formation in plant cytokinesis. Genes Dev., 15, 352-363 (2001)
29) Nishihama, R., Soyano, T., Ishikawa, M. et al.: Expansion of the cell plate in plant cytokinesis requires a kinesin-like protein/MAPKKK complex. Cell, 109, 87-99 (2002)
30) Soyano, T., Nishihama, R., Morikiyo, K. et al.: NQK1/NtMEK1 is a MAPKK that acts in the NPK1 MAPKKK-mediated MAPK cascade and is required for plant cytokinesis. Genes Dev., 17, 1055-1067 (2003)
31) Nishihama, R., Banno, H., Kawahara, E. et al.: Possible involvement of differential splicing in regulation of the activity of *Arabidopsis* ANP1 that is related to mitogen-activated protein kinase kinase kinases (MAPKKKs). Plant J., 12, 39-48 (1997)
32) Krysan, P. J., Jester, P. J., Gottwald, J. R. et al.: An Arabidopsis mitogen-activated protein kinase kinase kinase gene family encodes essential positive regulators of cytokinesis. Plant Cell, 14, 1109-1120 (2002)
33) Takahashi, Y., Soyano, T., Kosetsu, K. et al.: HINKEL kinesin, ANP MAPKKKs and MKK6/ANQ MAPKK, which phosphorylates and activates MPK4 MAPK, constitute a pathway that is required for cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiol., 51, 1766-1776 (2010)
34) Kosetsu, K., Matsunaga, S., Nakagami, H. et al.: The MAP kinase MPK4 is required for cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell, 22, 3778-3790 (2010)
35) Shapiro, P. S., Vaisberg, E., Hunt, A. J. et al.: Activation of the MKK/ERK pathway during somatic cell mitosis: direct interactions of active ERK with kinetochores and regulation of the mitotic 3F3/2 phosphoantigen. J. Cell Biol., 142, 1533-1545 (1998)
36) Zecevic, M., Catling, A. D., Eblen, S. T. et al.: Active MAP kinase in mitosis: localization at kinetochores and association with the motor protein CENP-E. J. Cell Biol., 142, 1547-1558 (1998)
37) Willard, F. S. & Crouch, M. F.: MEK, ERK, and p90RSK are present on mitotic tubulin in Swiss 3T3 cells: a role for the MAP kinase pathway in regulating mitotic exit. Cell. Signal., 13, 653-664 (2001)
38) Kasahara, K., Nakayama, Y., Nakazato, Y. et al.: Src signaling regulates completion of abscission in cytokinesis through ERK/MAPK activation at the midbody. J. Biol. Chem., 282, 5327-5339 (2007)
39) Strompen, G., El Kasmi, F., Richter, S. et al.: The *Arabidopsis HINKEL* gene encodes a kinesin-related protein involved in cytokinesis and is expressed in a cell cycle-dependent manner. Curr. Biol., 12, 153-158 (2002)
40) Yang, C. Y., Spielman, M., Coles, J. P. et al.: *TETRASPORE* encodes a kinesin required for male meiotic cytokinesis in *Arabidopsis*. Plant J., 34, 229-240 (2003)
41) Tanaka, H., Ishikawa, M., Kitamura, S. et al.: The *AtNACK1/HINKEL* and *STUD/TETRASPORE/AtNACK2* genes, which encode functionally redundant kinesins, are essential for cytokinesis in *Arabidopsis*. Genes Cells, 9, 1199-1211 (2004)
42) Sasabe, M., Soyano, T., Takahashi, Y. et al.: Phosphorylation of NtMAP65-1 by a MAP kinase down-regulates its activity of microtubule bundling and stimulates progression of cytokinesis of tobacco cells. Genes Dev., 20, 1004-1014 (2006)
43) Sasabe, M., Kosetsu, K., Hidaka, M. et al.: *Arabidopsis thaliana* MAP65-1 and MAP65-2 function redundantly with MAP65-3/PLEIADE in cytokinesis downstream of MPK4. Plant Signal. Behav., 6, 743-747 (2011)
44) Jiang, W., Jimenez, G., Wells, N. J. et al.: PRC1: a human mitotic spindle-associated CDK substrate protein required for cytokinesis. Mol. Cell, 2, 877-885 (1998)

45) Schuyler, S. C., Liu, J. Y. & Pellman, D.: The molecular function of Ase1p: evidence for a MAP-dependent midzone-specific spindle matrix. J. Cell Biol., 160, 517-528 (2003)
46) Muller, S., Smertenko, A., Wagner, V. et al.: The plant microtubule-associated protein AtMAP65-3/PLE is essential for cytokinetic phragmoplast function. Curr. Biol., 14, 412-417 (2004)
47) Reichardt, I., Stierhof, Y. D., Mayer, U. et al.: Plant cytokinesis requires de novo secretory trafficking but not endocytosis. Curr. Biol., 17, 2047-2053 (2007)
48) Dettmer, J., Hong-Hermesdorf, A., Stierhof, Y. D. et al.: Vacuolar H^+-ATPase activity is required for endocytic and secretory trafficking in *Arabidopsis*. Plant Cell, 18, 715-730 (2006)
49) Viotti, C., Bubeck, J., Stierhof, Y. D. et al.: Endocytic and secretory traffic in *Arabidopsis* merge in the trans-Golgi network/early endosome, an independent and highly dynamic organelle. Plant Cell, 22, 1344-1357 (2010)
50) El Kasmi, F., Krause, C., Hiller, U. et al.: SNARE complexes of different composition jointly mediate membrane fusion in *Arabidopsis* cytokinesis. Mol. Biol. Cell, 24, 1593-1601 (2013)
51) Park, M., Touihri, S., Muller, I. et al.: Sec1/Munc18 protein stabilizes fusion-competent syntaxin for membrane fusion in *Arabidopsis* cytokinesis. Dev. Cell, 22, 989-1000 (2012)
52) Sasabe, M., Ishibashi, N., Haruta, T. et al.: The carboxyl-terminal tail of the stalk of Arabidopsis NACK1/HINKEL kinesin is required for its localization to the cell plate formation site. J. Plant Res., 128, 327-336 (2015)
53) Kobayashi, K., Suzuki, T., Iwata, E. et al.: MYB3Rs, plant homologs of Myb oncoproteins, control cell cycle-regulated transcription and form DREAM-like complexes. Transcription, 6, 106-111 (2015)
54) Lewis, P. W., Beall, E. L., Fleischer, T. C. et al.: Identification of a *Drosophila* Myb-E2F2/RBF transcriptional repressor complex. Genes Dev., 18, 2929-2940 (2004)
55) Korenjak, M., Taylor-Harding, B., Binne, U. K. et al.: Native E2F/RBF complexes contain Myb-interacting proteins and repress transcription of developmentally controlled E2F target genes. Cell, 119,181-193 (2004)
56) Sadasivam, S., Duan, S. & DeCaprio, J. A.: The MuvB complex sequentially recruits B-Myb and FoxM1 to promote mitotic gene expression. Genes Dev., 26, 474-489 (2012)
57) Litovchick, L., Sadasivam, S., Florens, L. et al.: Evolutionarily conserved multisubunit RBL2/p130 and E2F4 protein complex represses human cell cycle-dependent genes in quiescence. Mol. Cell, 26: 539-551 (2007)
58) Fischer, M. & DeCaprio, J. A.: Does *Arabidopsis thaliana* DREAM of cell cycle control? EMBO J., 34, 1987-1989 (2015)

著者プロフィール

伊藤 正樹（Masaki Ito）

略歴：1993 年 東北大学大学院理学研究科 修了，同年 名古屋大学農学部 助手，1994 年 東京大学大学院理学系研究科 助手を経て，2003 年より名古屋大学大学院生命農学研究科 准教授.

研究テーマ：植物の発生および成長における，細胞分裂および細胞成長の制御.

関心事：細胞の体積の拡大と分裂とを連動させて，細胞のサイズを一定に保つしくみ.

笹部 美知子（Michiko Sasabe）

弘前大学農学生命科学部 准教授.

町田 泰則（Yasunori Machida）

名古屋大学大学院理学研究科 特任教授.

© 2016 伊藤正樹・笹部美知子・町田泰則 Licensed under a Creative Commons 表示 2.1 日本 License