

## 藻類学最前線



## 藻類の色素体分裂機構の進化

平川泰久

年も明けて、連日スポーツ紙の一面を「SM○P分裂」の言葉が飾っているが、どうやら複雑な事情がありそうだ。そもそも奇数のメンバーでは、二分分裂するのにどうもバランスが悪い。まあ芸能ゴシップはスポーツ紙にまかせて、今回の藻類学最前線ではバランスのとれた“色素体分裂”について紹介する。藻類の細胞が分裂する際、核やミトコンドリアと同様に色素体も必ず娘細胞に引き継がれる。これは、色素体の分裂が細胞周期を通して制御されているからで、もしも制御が不十分ならば半藻半獣の原生生物ハテナ (*Hatena arenicola*) の様に色素体を持たない娘細胞が生じてしまう (Okamoto & Inouye 2005, 2006)。光合成生物にとって細胞分裂に伴う色素体分裂の制御は、生きるために非常に重要であり、本稿では最新の知見を基に色素体の分裂制御機構と、その進化過程について説明する。

## シアノバクテリアと一次色素体の分裂様式

植物や一部の藻類 (緑藻や紅藻、灰色藻) のもつ一次色素体は、光合成細菌であるシアノバクテリアの細胞内共生を起源とすることは広く知られている。そのため、一次色素体とシアノバクテリアの間には多くの共通点があり、その一つが分裂様式である。シアノバクテリアの細胞はペプチドグリカン層をはさむ2枚の細胞膜に囲まれている。細胞分裂期には、分裂面において細胞内膜の収縮、ペプチドグリカン層の新規合成が行われ、細胞外膜は内膜に遅れて分裂する。分裂面の内膜内側では、チューブリン様タンパク質である FtsZ が収縮性のリング構造 (Zリング) を形成し、そのZリングの位置決定には MinC, MinD, MinE のタンパク質が関与している (Mazouni *et al.* 2004)。また、ペプチドグリカン層の分裂に関わるタンパク質として DipM や FtsI, FtsW などが知られている (Miyagishima *et al.* 2005, 2014a)。一次色素体では、分裂面において色素体包膜の内外に電子密度の高い2つのリング様構造 (PDリング) が観察されており、これが包膜の収縮に関与するとされている (Kuroiwa *et al.* 1998)。内膜の内側に形成されるPDリングの近傍にはシアノバクテリアと同様に FtsZ タンパク質がZリングを形成し、外膜の外側のPDリング周縁には、真核生物の細胞膜から小胞が切り離される際に重要な働きをするダイナミンに類似したタンパク質、DRP5B がリング状に局在する (Miyagishima *et al.* 2011, Osteryoung & Pyke 2014)。外膜では、PDリングに結合した DRP5B がリング繊維をスライディングさせることで収縮力が生まれると考えられている (Yoshida *et al.*

2006)。一次色素体の分裂装置は、共生者と宿主の由来の異なるタンパク質のハイブリッドで構成されており、外膜分裂装置は緑藻と紅藻の共通祖先で獲得されたと考えられている (Miyagishima *et al.* 2014b)。それでは、どのように一次色素体の分裂は細胞周期を通して制御されているのだろうか？ それぞれの藻類グループで詳しく見ていこう。

緑藻では、陸上植物で報告されている主要な色素体分裂タンパク質 (FtsZ, ARC6, MinC, MinD, MinE, DRP5B) の多くが保存されている。単細胞緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* では、色素体分裂タンパク質は全て核ゲノムにコードされており、細胞周期を通して転写レベルで発現制御されている (Miyagishima *et al.* 2012)。細胞分裂開始前のS期にこれらの遺伝子の発現が上昇して、分裂面にリング状の分裂装置が形成される。色素体分裂後には、分裂タンパク質は速やかに分解されるため、Zリングなどは色素体分裂期にのみ観察される。一部の緑藻では、MinD タンパク質が色素体ゲノムにコードされていることが知られている。*Chlorella vulgaris* と *Mesostigma viride* における解析によると、核コード色素体分裂遺伝子の発現は細胞周期を通してS期に限定されているが、興味深いことに、色素体コードのMinDは細胞周期を通して一定量存在していた (Miyagishima *et al.* 2012)。さらに、*C. vulgaris* の *minD* 遺伝子は、細胞周期ではなく、光環境により発現変動することも報告されている (Miyagishima *et al.* 2012)。これらのことから、細胞内共生による一次色素体獲得の初期過程で、色素体分裂遺伝子の多くは宿主核ゲノムへと転移しており、その際、宿主の細胞周期に同調した発現制御機構を獲得したと考えられる。一方、色素体ゲノムに残っている分裂遺伝子に関しては、細胞周期に依存した発現制御機構を持たないことが示唆されている。

灰色藻の一次色素体は、共生シアノバクテリアの構造的な特徴を色濃く残しており、他の一次色素体では見られない明瞭なペプチドグリカン層を現在も保持している。灰色藻の一種 *Cyanophora paradoxa* の全ゲノム配列から、色素体内膜の分裂装置の関連タンパク質である FtsZ, ARC6, MinD, MinE に加え、ペプチドグリカン層の分裂関連タンパク質である FtsI, FtsW, DipM の遺伝子をもつことが知られている (Miyagishima *et al.* 2014a)。一方、色素体外膜にはPDリングが観察されず、DRP5Bも欠いていることから、灰色藻の一次色素体はより原始的な分裂様式をもつとされている (Sato *et al.* 2009, Miyagishima *et al.*

2014b)。緑藻と同様に灰色藻でも、多くの色素体分裂タンパク質は核ゲノムにコードされており (FtsW のみ色素体コード)、細胞周期を通じた発現量解析により、MinD、MinE、DipM タンパク質の発現は S 期に限定されていることが明らかとなっている (Miyagishima *et al.* 2012)。緑藻と異なる点は、核コードの FtsZ タンパク質の発現レベルが細胞周期を通して一定であることだ (Miyagishima *et al.* 2012)。このことは、核ゲノムへと転移した色素体分裂遺伝子の全てが宿主の細胞周期に同調した発現制御機構を獲得するわけではないことを示唆している。ペプチドグリカン層の分裂に関しても、最近新たな知見が報告されている。DipM タンパク質は、*Cyanophora* の一次色素体やシアノバクテリアの分裂面にリング状に局在しており、ペプチドグリカンの加水分解に関わる重要な役割をもつ (Miyagishima *et al.* 2014a)。興味深いことに、明瞭なペプチドグリカン層を持たない緑色植物のいくつかの系統でも *dipM* の相同遺伝子が発見されており、ヒメツリガネゴケを用いた解析では、*dipM* の突然変異体で色素体の分裂

が阻害されることが報告されている (Miyagishima *et al.* 2014a)。このことから、一部の一次色素体で潜在的なペプチドグリカン層の存在が示唆されていたが、ごく最近に平野ら (2015) は、ヒメツリガネゴケの色素体で、電子顕微鏡では観察できないペプチドグリカン層を蛍光標識することに成功している。

紅藻は色素体分裂の研究が最も進んでいる藻類で、*Cyanidioschyzon merolae* で多くの知見が報告されている。これは、本藻において色素体の分裂同調と分裂装置の単離精製が可能であることに起因する (Yoshida *et al.* 2006)。*Cyanidioschyzon* の核ゲノムには、色素体分裂タンパク質をコードする FtsZ と DRP5B の遺伝子があり、それぞれの発現は細胞周期を通して S 期に限定されている (Miyagishima *et al.* 2012)。一方、Z リングの位置決定因子である *minC*、*D*、*E* 遺伝子を全て欠いており、FtsZ が分裂面に局在する機構に関しては未だ明らかでない。色素体より単離したリング状の分裂装置の分析から、電子密度が高い構造として観察されていた PD リングがグルカンの繊維束で構成されることが明らかとなり、また PD リングに結合している新規分裂タンパク質として多糖合成に関与するグリコゲニン様の PDR1 (plastid division ring 1) が同定された (Yoshida *et al.* 2010)。この PDR1 による PD リングのグルカン合成が紅藻の一次色素体分裂に重要であることが示唆されているが、緑藻や灰色藻の核ゲノムからは、PDR1 に相同な遺伝子が発見されておらず、一次色素体全体での普遍性は明らかでない。

## 二次色素体の分裂様式

藻類の中には、緑藻や紅藻を細胞内に取り込むことにより二次色素体を獲得したグループがいる。一次色素体が 2 枚包膜なのに対して、多くの二次色素体は 4 枚の包膜を持っており (ユグレナ藻と多くの渦鞭毛藻は 3 枚)、さらに一部の藻類では色素体最外膜が小胞体や核膜と連結しているため、二次色素体の分裂装置は複雑化している可能性が予測される。透過型電子顕微鏡観察により、不等毛藻の二次色素体では、分裂面において内膜 2 枚と外膜 2 枚の間に隙間があり、内側から 2 枚目の包膜外側に電子密度の高い PD リング構造があることが明らかになっている (Hashimoto 2005)。既にゲノム配列の解読されている不等毛藻 (*Phaeodactylum tricornutum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Aureococcus anophagefferens*) において、一次色素体の FtsZ と DRP5B の相同遺伝子が発見されており (Miyagishima & Kabeya 2010, Hirakawa & Ishida 2015)、珪藻 *Seminavis robusta* において、FtsZ の遺伝子発現が細胞分裂前に上昇することが報告されている (Gillard *et al.* 2008)。これらのことから、不等毛藻の二次色素体の内膜 2 枚は、一次色素体と類似した分裂様式をとることが推察される。一方、外膜 2 枚の分裂に関しては全く情報がないが、内膜 2 枚とは独立した分裂装

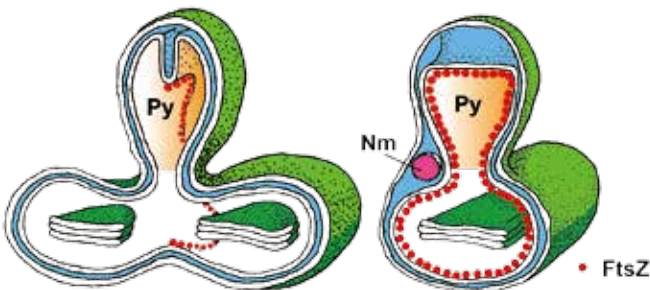
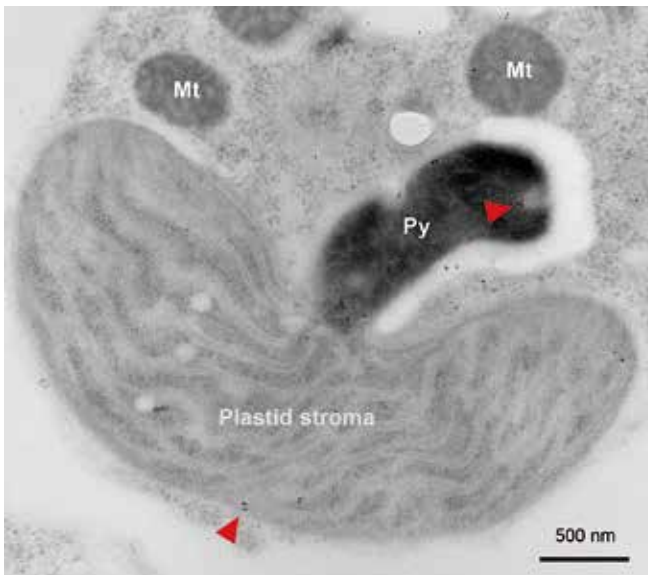


図 1. クロララクニオン藻 *Bigelowiella natans* における FtsZ タンパク質の局在。抗 FtsZ 抗体により標識された金粒子 (Arrowheads) が二葉性の二次色素体中央の内膜内側と、ピレノイド (Py) 内に陥入した内膜の先端部分に観察される。下図は、二次色素体の長軸 (左図) と短軸 (右図) の縦断面での Z リングの局在を模式的に表す。Nm: ナクレオモルフ, Mt: ミトコンドリア

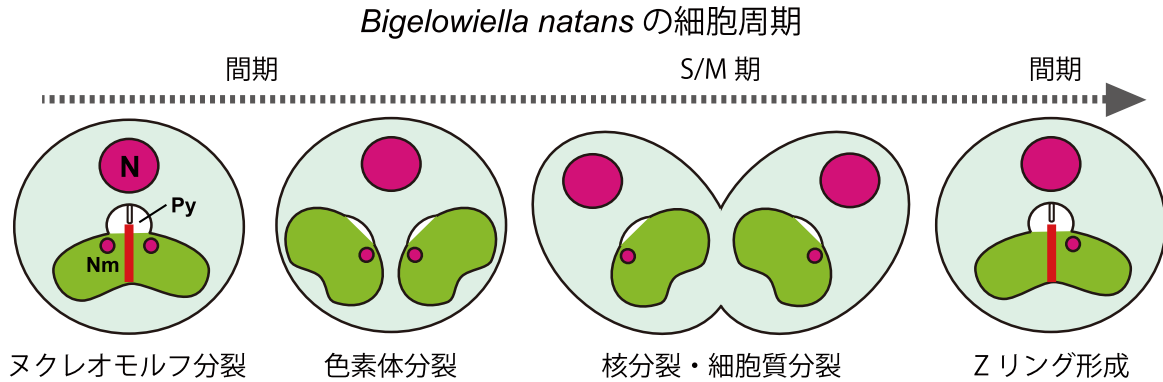


図2. *Bigelowiella natans* の細胞周期と Zリング形成時期。 *B. natans* ではヌクレオモルフ、色素体、核に続いて細胞質が分裂する。分裂直後の色素体では明瞭な突出ピレノイドが観察されない。Zリングは細胞質分裂後ほどなく形成され、色素体内膜2枚の部分的な収縮によるピレノイド内への膜陥入の形成に関与すると考えられる。一方、細胞質分裂前に行われる色素体分裂における FtsZ の関与は不明である。N: 核, Nm: ヌクレオモルフ, Py: ピレノイド

置が存在すると考えられる。その他の藻類では、ハプト藻 *Emiliana huxleyi* が、FtsZ, DRP5B, MinD, MinE の4つ、クリプト藻 *Guillardia theta* が、FtsZ, MinD, MinE の3つの一次共生藻由来の遺伝子をそれぞれもっており (Miyagishima & Kabeya 2010)、色素体内膜2枚の分裂に関与していると推察されている。しかし、*G. theta* では、MinD と MinE は色素体ゲノムに、FtsZ は共生紅藻の痕跡的な核であるヌクレオモルフにコードされており、どのように宿主の細胞周期で色素体分裂が制御されているのかは全くの謎である。退化的な二次色素体“アピコプラスト”をもつアピコンプレクサ寄生虫 *Toxoplasma gondii* では、FtsZ や DRP5B などの一次共生藻由来の分裂遺伝子を完全に欠くが、4枚包膜の外側に局在する分裂関連タンパク質 DrpA が同定されている (van Dooren *et al.* 2009)。DrpA は DRP5B と同様のダイナミン様タンパク質であるが、遺伝子の起源は大きく異なり、他の藻類では見られないアピコンプレクサ特有のものであった。アピコンプレクサでは、一次共生藻由来の分裂装置が失われ、新たに獲得した外膜の分裂装置が4枚すべてのアピコプラスト包膜の分裂に関与していると考えられる。上述のように二次共生で新たに獲得した色素体外膜に関しては、分裂様式や分裂装置がほとんど解っておらず、今後の研究進展が待たれる。

#### クロララクニオン藻の二次色素体分裂

最後に、私のグループで研究しているクロララクニオン藻の二次色素体の分裂に関して紹介する。本藻は緑藻由来の二次色素体を持ち、その内膜2枚と外膜2枚の間のスペースには共生緑藻の痕跡核であるヌクレオモルフが存在する (Hirakawa 2014)。二次色素体の形態は少しくびれた二葉性で、中央部分には突出したピレノイドが見られる。微細構造レベルで見ると、細胞周期を通して4枚の色素体包膜のうち、内側2枚がピレノイド内部に部分的に陥入している (図1)。これまでクロララクニオン藻の一種

*Bigelowiella natans* において、ヌクレオモルフ、二次色素体、核、細胞質の順で分裂することが観察されているが (Moestrup & Sengco 2001)、詳しい二次色素体の分裂様式、細胞周期を通した分裂制御機構に関しては明らかでない。

最近、我々はクロララクニオン藻の二次色素体の分裂に関与する核コードタンパク質に関する報告を行った。本研究では、*B. natans* の全ゲノム配列に対する相同性検索により同定された一次共生藻由来の FtsZ において、タンパク質の細胞内局在解析と細胞周期を通した発現解析を行った (Hirakawa & Ishida 2015)。免疫電子顕微鏡による局在解析の結果、FtsZ タンパク質は間期の細胞で、二葉性色素体中央の最内膜の内側でリング状に局在していることが示された (図1)。さらに、ピレノイド内に陥入する色素体内膜の先端部分にも FtsZ の局在が観察された (図1)。一次色素体同様に、クロララクニオン藻の二次色素体でも FtsZ タンパク質が色素体内で Zリングを形成し、色素体内膜2枚の収縮に関与することが示唆された。また、Zリングの収縮は不完全であり、これがピレノイド内への部分的な内膜陥入を引き起こすと推察された。細胞周期を通した遺伝子発現解析では、細胞質分裂後に FtsZ の転写レベルが上昇していた。細胞質分裂開始前に二次色素体が分裂することを踏まえて考えると、FtsZ の発現時期と二次色素体の分裂時期には、大きなズレがあった (図2)。このことから以下の様なモデルが考えられる。細胞質分裂後ほどなく形成される Zリングは、色素体内膜2枚の不完全な収縮を行い停止する (図2)。細胞周期が進み、細胞質分裂開始前には、色素体外膜2枚を含む4枚の包膜が分裂すると考えられるが、ここでの FtsZ 局在に関する情報はなく、Zリングが二次色素体分裂に関与しているかは不明である (図2)。他の藻類と同様にクロララクニオン藻においても、色素体分裂機構の進化を理解するためには、色素体外膜2枚の分裂装置の解明が重要な鍵をにぎると思われる。

クロララクニオン藻のもつピレノイドの形態的多様性についても少し触れる。興味深いことに、クロララクニオン藻のピレノイドへの内膜陥入は、属ごとに様式が異なっており、分類形質として用いられている (Ishida *et al.* 1999)。 *Bigelowiella* 属と *Norrisiella* 属は浅い板状の陥入、 *Lotharella* 属と *Amorphochlora* 属は深い板状の陥入、 *Chlorarachnion* 属はヌクレオモルフを含む深い陥入、そして例外的に *Gymnochlora* 属では、最内膜のみのチューブ状の陥入をもつ。ピレノイドへの内膜陥入に Zリングが関与していることから、Zリングの収縮割合はクロララクニオン藻の属ごとに異なっており、結果として内膜の陥入様式の多様性につながったと我々は考えている。これを明らかにするためにも、複数種のクロララクニオン藻での FtsZ タンパク質の局在解析が今後必要となる。

## 引用文献

- Gillard, J., Devos, V., Huysman, M. J., De Veylder, L., D'Hondt, S., Martens, C., Vanormelingen, P., Vannerum, K., Sabbe, K., Chepurinov, V. A., Inzé, D., Vuylsteke, M. & 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.
- Hashimoto, H. 2005. The ultrastructural features and division of secondary plastids. *J. Plant Res.* 118: 163–172.
- Hirakawa, Y. 2014. Complex plastids of chlorarachniophyte algae. *Perspect. Phycol.* 1: 87–92.
- Hirakawa, Y. & Ishida, K. 2015. Prospective function of FtsZ proteins in the secondary plastid of chlorarachniophyte algae. *BMC Plant Biol.* 15: 276.
- 平野隆之・谷所幸治・佐藤モモ・只野慎治・石川勇人・瀧尾進・武智克彰・高野博嘉 2015. ヒメツリガネゴケ葉緑体に存在するベプチドグリカン層. 日本植物学会第 79 回大会 3aF07.
- Ishida, K., Green, B. & Cavalier-Smith, T. 1999. Diversification of a chimaeric algal group, the chlorarachniophytes: phylogeny of nuclear and nucleomorph small-subunit rRNA genes. *Mol. Biol. Evol.* 16: 321–331.
- Kuroiwa, T., Kuroiwa, H., Sakai, A., Takahashi, H., Toda, K. & Itoh, R. 1998. The division apparatus of plastids and mitochondria. *Int. Rev. Cytol.* 181: 1–41.
- Mazouni, K., Domain, F., Cassier-Chauvat, C. & Chauvat, F. 2004. Molecular analysis of the key cytokinetic components of cyanobacteria: FtsZ, ZipN and MinCDE. *Mol. Microbiol.* 52: 1145–1158.
- Miyagishima, S. & Kabeya, Y. 2010. Chloroplast division: squeezing the photosynthetic captive. *Curr. Opin. Microbiol.* 13: 738–746.
- Miyagishima, S., Kabeya, Y., Sugita, C., Sugita, M. & Fujiwara, T. 2014a. DipM is required for peptidoglycan hydrolysis during chloroplast division. *BMC Plant Biol.* 14: 57.
- Miyagishima, S., Nakamura, M., Uzuka, A. & Era, A. 2014b. FtsZ-less prokaryotic cell division as well as FtsZ- and dynamin-less chloroplast and non-photosynthetic plastid division. *Front. Plant Sci.* 5: 459.
- Miyagishima, S., Nakanishi, H. & Kabeya, Y. 2011. Structure, regulation, and evolution of the plastid division machinery. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 291: 115–153.
- Miyagishima, S., Suzuki, K., Okazaki, K. & Kabeya, Y. 2012. Expression of the nucleus-encoded chloroplast division genes and proteins regulated by the algal cell cycle. *Mol. Biol. Evol.* 29: 2957–2970.
- Miyagishima, S., Wolk, C. P. & Osteryoung, K. W. 2005. Identification of cyanobacterial cell division genes by comparative and mutational analyses. *Mol. Microbiol.* 56: 126–143.
- Moestrup, Ø. & Sengco, M. 2001. Ultrastructural studies on *Bigelowiella natans*, gen. et sp. nov., a chlorarachniophyte flagellate. *J. Phycol.* 37: 624–646.
- Okamoto, N. & Inouye, I. 2005. A secondary symbiosis in progress? *Science* 310: 287.
- Okamoto, N. & Inouye, I. 2006. *Hatena arenicola* gen. et sp. nov., a katablepharid undergoing probable plastid acquisition. *Protist* 157: 401–419.
- Osteryoung, K. W. & Pyke, K. A. 2014. Division and dynamic morphology of plastids. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65: 443–472.
- Sato, M., Mogi, Y., Nishikawa, T., Miyamura, S., Nagumo, T. & Kuwano, S. 2009. The dynamic surface of dividing cyanelles and ultrastructure of the region directly below the surface in *Cyanophora paradoxa*. *Planta* 229: 781–791.
- van Dooren, G. G., Reiff, S. B., Tomova, C., Meissner, M., Humbel, B. M. & Striepen, B. 2009. A novel dynamin-related protein has been recruited for apicoplast fission in *Toxoplasma gondii*. *Curr. Biol.* 19: 267–276.
- Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Misumi, O., Nishida, K., Yagisawa, F., Fujiwara, T., Nanamiya, H., Kawamura, F. & Kuroiwa, T. 2006. Isolated chloroplast division machinery can actively constrict after stretching. *Science* 313: 1435–1438.
- Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Misumi, O., Yoshida, M., Ohnuma, M., Fujiwara, T., Yagisawa, F., Hirooka, S., Imoto, Y., Matsushita, K., Kawano, S. & Kuroiwa, T. 2010. Chloroplasts divide by contraction of a bundle of nanofilaments consisting of polyglucan. *Science* 329: 949–953.