

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		細胞間シグナル因子の拡散動態変化がもたらす植物の体制複雑化			
研究テーマ (欧文) AZ		Establishment of plant body plan and intercellular signaling dynamics			
研究氏 代 表 者	カタカナ CC	姓)カワデ	名)ケンスケ	研究期間 B	2015 ~ 2017 年
	漢字 CB	川出	健介	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 C Z	Kawade	Kensuke	研究機関名	岡崎統合バイオサイエンスセンター
研究代表者 CD 所属機関・職名		自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター／基礎生物学研究所 特任准教授			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)					
<p>器官の大きさや形を決める仕組みの理解は、発生学における大きな目標のひとつである。これまでの研究により、原基内における細胞間シグナル因子の時空間動態が、器官の大きさや形を決める重要な要素だと示されている (<i>e.g.</i> Wartlick <i>et al.</i>, 2011; Kawade and Tanimoto, 2015)。しかし、細胞間シグナル因子の伝達には生体内の様々な過程が関与しているので、正確な拡散動態の定量は未だに挑戦的な課題として残されている。私たちは、モデル植物シロイヌナズナの葉原基が単純な層状の組織で構成され、個々の細胞は原形質連絡というトンネル状の構造でつながっていることから、細胞間シグナル因子の動態を定量する好適な実験系だとして研究を進めている。このような背景のもと、本研究課題は、葉における細胞間シグナル因子の時空間動態を定量的に解析し、そこから器官の大きさや形を決める仕組みについて説明することを目指すものである。</p> <p>そこでまずは、葉における原形質連絡を介したタンパク質の拡散動態を Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP) により詳細に調べた。興味深いことに、細胞レベルでは拡散性が葉の部位に寄らず一定だったが、組織レベルでは有効な拡散性が細胞の大きさにより変化することが分かった。これは、一定面積あたりに拡散性の律速となる原形質連絡がどのくらい存在するか、ということが組織レベルでの拡散性を考えるうえで鍵になることを意味する。こうして確立した拡散モデルに組織の成長を加味すると、葉の基部-先端軸に沿って細胞増殖活性を制御する ANGUSTIFOLIA3 (AN3) の発現分布を十分に説明できることが分かった。本成果は植物におけるモルフォゲンの濃度勾配形成という視点で捉えることができ、その成果を <i>Biophysical Journal</i> 誌において原著論文として公刊した (Kawade <i>et al.</i>, 2017)。また、AN3 シグナルの進化的側面を理解するため、ヒメツリガネゴケにおける AN3 遺伝子欠損株を作成し、表現型の解析にも取り組んだ。その結果、茎葉体の成長に著しい欠損がみられた。これは、AN3 シグナルがコケ植物においても重要な役割を担っていることを示している。現在、成長に異常をきたす原因や、ヒメツリガネゴケにおける AN3 の拡散動態を調べているところである。これらの成果に加えて、葉の表皮細胞では核内倍加が確率的に起こっていることを見出し、その発生様式を理論モデル化することで、細胞サイズの決定機構を定量的に説明することにも成功した。これは従来の複雑な知見をシンプルにまとめるもので、原著論文として <i>PLoS ONE</i> 誌に公刊した (Kawade and Tsukaya, 2017)。</p>					
キーワード FA	器官サイズ	細胞間シグナル	細胞増殖	拡散モデル	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA				研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC				シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Probing the stochastic property of endoreduplication in cell size determination of <i>Arabidopsis thaliana</i> leaf epidermal tissue							
	著者名 <sup>GA</sup>	Kawade <i>et al.</i>	雑誌名 <sup>GC</sup>	PLoS ONE					
	ページ <sup>GF</sup>	e0185050	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	7	巻号 <sup>GD</sup>	12(9)
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Spatially different tissue-scale diffusivity shapes ANGUSTIFOLIA3 gradient in growing leaves							
	著者名 <sup>GA</sup>	Kawade <i>et al.</i>	雑誌名 <sup>GC</sup>	Biophysical Journal					
	ページ <sup>GF</sup>	1109~1120	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	7	巻号 <sup>GD</sup>	113(5)
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

Understanding in organ-size and -shape regulations are one of central challenge in developmental biology. A line of studies showed that spatiotemporal dynamics of intercellular signaling determines the size and shape of organs. However, due to various cellular processes involved in, precise quantification of the signaling dynamics remains to be elusive. Against this background, we study a plant leaf tissue as a model experimental system to analyze the signaling dynamics because plasmodesmata, cellular channels, which connect adjacent cells, facilitate direct molecular trafficking between cells. This study aimed to clarify how the signaling dynamics is regulated, and how organ size and shape are determined based on quantitative data on the signaling dynamics in leaves.

We first performed Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP) assay to quantify macromolecular trafficking through plasmodesmata. We found that cellular-scale protein diffusivity is uniform within a leaf tissue, but tissue-scale diffusivity is biased along proximal-to-distal axis. Based on this biased tissue-scale diffusivity, we analyzed how a signaling gradient of a transcriptional co-activator ANGUSTIFOLIA3 (AN3), which regulates cell proliferation activity along the leaf proximal-to-distal axis. We revealed that our diffusion model well reproduced the AN3 signaling gradient in a growing tissue. Because AN3 expression gradient is important to determine cell-proliferation domain, our quantitative model would be a core to understand the leaf size and shape determinations. This work has been published in *Biophysical Journal* (Kawade *et al.*, 2017). To gain further insight into the AN3 signaling, in particular its evolutionary aspect, we have made the AN3 gene knock-out mutant of *Physcomitrella patens*. We detected severe growth defects in gametophore tissue of the mutant. Detail mechanism how this growth defects are caused by is to be identified.

In addition to these studies, we found that occurrence of endoreduplication is a Poisson process. By incorporating this stochastic property, we succeeded in establishing theoretical model for cell-size specification in leaf epidermis (Kawade and Tsukaya, 2017).