

図 1：気孔の発生過程において、非対称増殖分裂から最終の対称分裂への切換えの仕組み

完璧を目指すならじっくり時間をかけて(植物の細胞でも)

～植物の気孔の幹細胞非対称分裂から最終対称分裂への転換を担う、細胞周期のブレーキ役の発見～

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 (WPI-ITbM^{*}) の鳥居 啓子 主任研究者／客員教授 (アメリカテキサス大学オースティン校教授)、名古屋大学高等研究院のスンキ ハン 元 YLC 特任助教らの研究グループは、植物の気孔の幹細胞非対称分裂から最終対称分裂への転換を担う、細胞周期のブレーキ役を発見し、非対称分裂の細胞周期のみを減速させる仕組みを明らかにしました。さらに、この仕組みが、正常な形の気孔の完成に必須であることを示しました。

私たちヒトなど動物細胞では、細胞周期の厳密な制御は、細胞の増殖やがん化と大きく関わっています。本研究から、動物細胞と全く異なる分裂様式の植物細胞でも、増殖から分化への転換時には同様の制御が行われることが分かりました。さらには、細胞周期の速度調節によって、植物細胞の形、大きさ、アイデンティティーを操作できる可能性も示唆しています。

本研究成果は、2022 年 2 月 11 日午前 1 時 (日本時間) 付アメリカ学術誌「Developmental Cell」のオンライン先行版 (雑誌 3 月 14 日号) に掲載されました。

本研究は、平成 29 年度から始まった文部科学省新学術領域研究「植物多能性幹細胞」および名古屋大学高等研究院 Young Leaders Cultivation プログラム支援のもとで行われたものです。

【ポイント】

気孔は、陸上植物のガス交換と水分調節を担っており、植物の成長と生存に必須な細胞装置である。気孔は、前駆体となる細胞が幹細胞的な増殖分裂を繰り返した後で、一回だけ厳密に対称分裂することにより完成するが、増殖分裂と最終の対称分裂に切り換わる仕組みは分かっていなかった。

本研究では、細胞周期の蛍光多色可視化プローブを用いたライブイメージングによって、気孔の幹細胞の非対称分裂にくらべて、気孔を完成させる対称分裂が遅いことを発見した。

- 気孔の前駆体の増殖から分化への切り換える司令因子 MUTE は、細胞周期抑制因子である SIAMESE RELATED4 (SMR4) を直接誘導し、SMR4 が細胞周期 G1 期を減速させることが分かった (図 1)。
- SMR4 は、気孔幹細胞の非対称分裂時に働く G1 期サイクリン D3;1 に直接結合し、その作用を阻害するが、MUTE によって誘導され対称分裂を引き起こす G1 期サイクリン D5;1 を阻害できないため、対称分裂が起こり、気孔が完成する (図 1)。
- 気孔幹細胞初期に SMR4 を働かせ初期の非対称分裂を無理やり減速させると、表皮細胞のような歪んだ気孔が完成した。そのため、初期の速い分裂速度が気孔系譜のアイデンティティーに重要であると推察される (図 1)。

【研究背景と内容】

植物の気孔は、一对の孔辺細胞が孔を囲んだ構造をしており、開閉することにより二酸化炭素と酸素のガス交換や水分調節を行い、植物の成長と生存を左右します。気孔は、前駆体となる細胞が幹細胞的な増殖分裂を繰り返した後で、一回だけ厳密に対称分裂することにより完成しますが、増殖分裂と最終の対称分裂に切り換わる仕組みは分かっていませんでした。動植物を問わず、全ての細胞の分裂には「細胞周期」と呼ばれる一連のプロセスが厳密に制御されています。しかしながら、その解析ツールの不足により、植物細胞の分化過程における細胞周期の速度の直接観測は困難を極めました。

そこで、スペインの共同研究者によって開発された植物の細胞周期多色蛍光マーカー PlaCCl (文献 1) を用いて、気孔の発生過程における細胞周期のライブイメージングを行いました。その結果、気孔の幹細胞 (メリステモイド細胞) の非対称分裂の細胞周期は平均約 12 時間に対して、孔辺母細胞の対称分裂の細胞周期は平均約 20 時間と、遅いことが分かりました (図 2)。

メリステモイド細胞から孔辺母細胞への分化の切り替えは、司令因子 MUTE によって制御されています。そのため、MUTE が細胞周期阻害因子を誘導することにより、細胞分裂の時間を減速させるのではないかと仮説を立て、MUTE によって直接制御される下流遺伝子を探索しました。その結果、SIAMESE RELATED4 (SMR4) と呼ばれる細胞周期阻害因子のみが該当することが分かりました。

本研究では、ゲノム編集技術を用いて SMR4 を欠損する変異体を作成したところ、非対称分裂の速度がさらに 1 時間ほど速くなっていることが分かりました。一方、それとは逆に、初期の気孔系譜の細胞において SMR4 を過剰に作らせると、非対称分裂の時間は平均で約 18 時間と、非常に遅くなりました。どちらの場合も、対称分裂自体は変化がありませんでした。PlaCCI を用いた観測から、細胞周期の中でも G1 期と呼ばれる段階が大きく影響を受けていることも分かりました。

次に、SMR4 がどうやって非対称分裂のみを減速させるのか、その分子レベルの仕組みに切り込みました。細胞周期阻害因子は、通常、サイクリンと呼ばれる「細胞周期のエンジン」に結合し、その作用を妨げます。気孔幹細胞の非対称分裂の開始と増殖には、サイクリン D3;1 という G1 期に働くサイクリンが重要であることが示唆されていました（文献 2）。一方、孔辺母細胞の対称分裂は、サイクリン D5;1 という G1 期のサイクリンによって開始します（本研究グループの過去の成果：Han ら 2018 Developmental Cell 文献 3）。本研究では、SMR4 はサイクリン D3;1 と結合し、その機能を妨げる一方、サイクリン D5;1 とは結合できないことを突き止めました。

これらの結果から、気孔系譜の非対称増殖分裂から、最終分化のための対称分裂への転換時において、司令因子 MUTE は、細胞周期阻害因子 SMR4 を誘導し、SMR4 がサイクリン D3;1 を阻害することにより細胞周期にブレーキをかけ、対称分裂への足場をつくることが解明されました。一方、やはり MUTE によって誘導されたサイクリン D5;1 は SMR4 と結合しないため、対称分裂はきちんと起こり、一对の孔辺細胞が穴を囲んだ気孔が完成します（図 1）。

興味深いことに、SMR4 を初期のメリステモイド細胞に過剰に発現させると、細胞周期（G1 期）が遅くなり、そうするとメリステモイド細胞が徐々に肥大し、通常の表皮細胞の様になってしまうことが分かりました。それでも、サイクリン D5;1 による対称分裂はちゃんと起こるため、最終的に、ジグゾーパズル型の表皮細胞様の歪んだ形の大きな気孔ができました（図 1 右上）。一般的に、細胞周期 G1 期は、細胞が分裂するか分化するかを決める重要な時期とされます。今回の発見は、植物の未分化細胞の増殖期の細胞周期を遅延させると、その後、細胞の自己喪失（アイデンティティー クライシス）が起こることも示唆しています。

【成果の意義】

幹細胞の増殖と分化において細胞周期の厳密な制御は重要で、例えば、細胞周期の G1 期の長さによって動物の脂肪細胞の数が制御されていることが、ごく近年の研究から明らかになっています（文献 4）。また、私達ヒトを含む動物において、細胞周期 G1 期の制御異常が、細胞のがん化に深く関わることも解っています。今回、細胞壁を持ち、動物とは全く異なる細胞分裂様式を持つ植物細胞においても、細胞周期阻害因子による G1 期の減速が、気孔という特殊な細胞の幹細胞増殖から分化への切り換え、及び、正常なゼリービーン型の気孔が完成するプロセスに必須であることが判明し、細胞分裂、細胞周期と細胞分化の根源的な原理に迫ることができました。

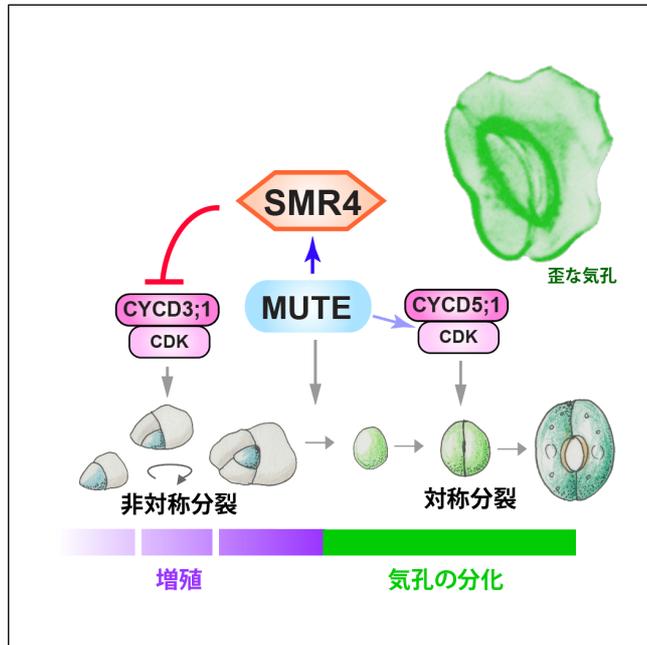


図 1 : 気孔の発生過程において、非対称増殖分裂から最終の対称分裂への切換えの仕組み

気孔分化の司令因子である MUTE は細胞周期抑制因子 SMR4 を直接誘導し、SMR4 は非対称分裂の G1 期を担うサイクリン D3;1 (CYCD3;1) と直接結合して細胞周期にブレーキをかける。しかし、SMR4 は、MUTE によって誘導され対称分裂をになう G1 期サイクリン D5;1 (CYCD5;1) とは結合できないため、対称分裂が厳密に起こり気孔が完成する。右上は、初期に無理やり減速させることによって生じた歪んだ気孔。

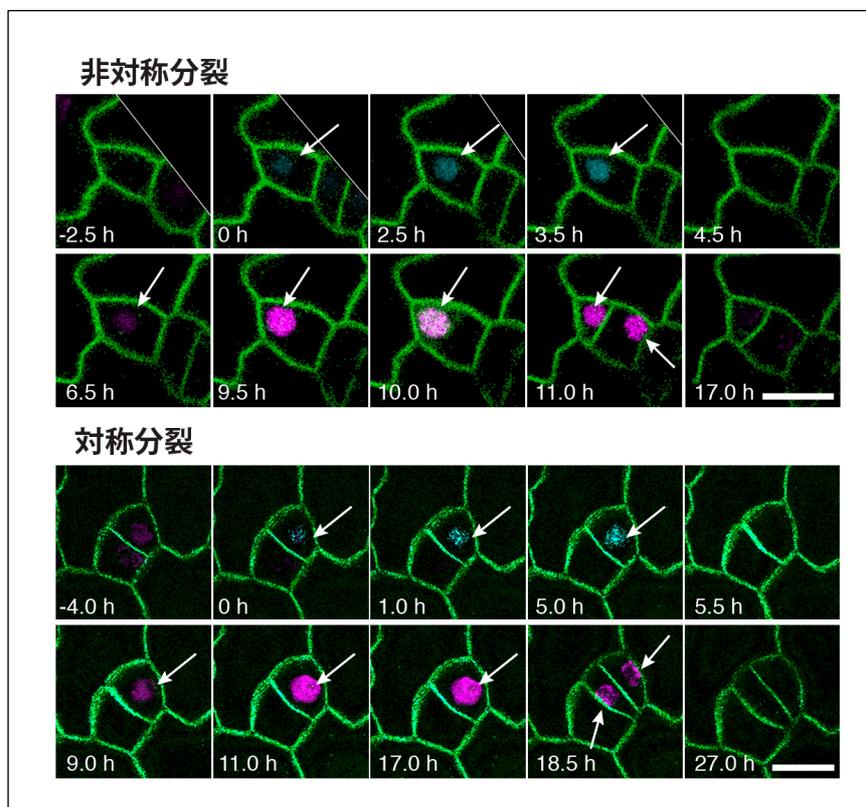


図 2 : 多色蛍光細胞周期マーカーPlacCI を用いた、気孔系譜の細胞周期のライブイメージング

(上) 非対称分裂 (下) 対称分裂

非対称分裂 (増殖分裂) の細胞周期の速度が早い事がわかる。G1 期は水色、S-G2 期はピンク、M 期は黄色 (時間が短いため 1 フレームのみでみられる)、30 分毎に撮影。

【文献】

1. B. Desvoyes, A. Arana-Echarri, M. D. Barea, C. Gutierrez, A comprehensive fluorescent sensor for spatiotemporal cell cycle analysis in Arabidopsis. *Nat Plants* **6**, 1330–1334 (2020) DOI: 10.1038/s41477-020-00770-4.
2. J. Adrian, J. Chang, C. E. Ballenger, B. O. Bargmann, J. Alassimone, K. A. Davies, O. S. Lau, J. L. Matos, C. Hachez, A. Lanctot, A. Vaten, K. D. Birnbaum, D. C. Bergmann, Transcriptome dynamics of the stomatal lineage: birth, amplification, and termination of a self-renewing population. *Dev Cell* **33**, 107–118 (2015) DOI: 10.1016/j.devcel.2015.01.025.
3. S. K. Han, X. Qi, K. Sugihara, J. H. Dang, T. A. Endo, K. L. Miller, E. D. Kim, T. Miura, K. U. Torii, MUTE Directly Orchestrates Cell-State Switch and the Single Symmetric Division to Create Stomata. *Dev Cell* **45**, 303–315. e305 (2018) DOI: 10.1016/j.devcel.2018.04.010.
4. M. L. Zhao, A. Rabiee, K. M. Kovary, Z. Bahrami-Nejad, B. Taylor, M. N. Teruel, Molecular Competition in G1 Controls When Cells Simultaneously Commit to Terminally Differentiate and Exit the Cell Cycle. *Cell Rep* **31**, 107769 (2020) DOI: 10.1016/j.celrep.2020.107769.

【論文情報】

雑誌名 : Developmental Cell

論文タイトル : Deceleration of the cell cycle underpins a switch from proliferative to terminal divisions in plant stomatal lineage

著者 : Soon-Ki Han, Arvid Herrmann, Jiyuan Yang, Rie Iwasaki, Tomoaki Sakamoto, Bénédicte Desvoyes, Seisuke Kimura, Crisanto Gutierrez, Eun-Deok Kim, Keiko U. Torii (下線、名古屋大所属)

DOI : 10.1016/j.devcel.2022.01.014

※【WPI-ITbM について】 (<http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp>)

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 (ITbM) は、2012 年に文部科学省の世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI) の 1 つとして採択されました。名古屋大学の強みであった合成化学、動植物科学、理論科学を融合させ、新たな学問領域であるストライガ、植物ケミカルバイオロジー研究、化学時間生物学 (ケミカルクロノバイオロジー) 研究、化学駆動型ライブイメージング研究の 4 つのフラッグシップ研究を進めています。ITbM では、精緻にデザインされた機能をもつ分子 (化合物) を用いて、これまで明らかにされていなかった生命機能の解明を目指すと共に、化学者と生物学者が隣り合わせになって融合研究を行う「ミックス・ラボ、ミックス・オフィス」で化学と生物学の融合領域研究を展開しています。「ミックス」をキーワードに、人々の思考、生活、行動を劇的に変えるトランスフォーマティブ分子の発見と開発を行い、社会が直面する環境問題、食料問題、医療技術の発展といったさまざまな

課題に取り組んでいます。

