

令和 4 年 4 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22421

研究課題名（和文）細胞内動態の網羅的イメージングとホームメイド薬剤による植物の不等分裂機構の解明

研究課題名（英文）Comprehensive imaging of intracellular dynamics and homemade compounds to elucidate the mechanism of asymmetric division in plants.

研究代表者

植田 美那子（Ueda, Minako）

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：20598726

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：受精卵の極性化と不等分裂は、個体発生の原点である。しかし植物では、受精卵内部でどのような因子が、どのような現象を制御するのか、ほとんど分かっていなかった。そんななか、本研究において、シロイヌナズナを用いて網羅的なライブイメージングを行った結果、巨大なオルガネラである液胞が、受精卵の不等分裂の制御に必須であることを発見した（Matsumoto et. al., 2021）。また、化合物スクリーニングの結果としても、植物細胞の分裂におけるさまざまな制御点を阻害する新規の薬剤を複数見出した（論文執筆中）。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究代表者らは、植物の受精卵が極性化する動態をリアルタイムで観察することに成功した。さらに、細胞内にある液胞のダイナミックな動きや制御が、受精卵の不等分裂だけでなく、その後の形作りにも必須であることも突き止めた。ほとんどの植物において、受精卵は大きな液胞を持つことから、本研究が明らかにした仕組みは、植物に共通した普遍的な機構であると期待される。また、化合物スクリーニングで得られた阻害剤は、多くの植物種に働くことも判明したので、農業技術への応用など、さまざまな分野への展開が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Polarization and unequal division of zygote are the initial points of ontogeny. In plants, however, it has been largely unknown what factors regulate what events inside the zygote. In this study, we performed comprehensive live imaging in *Arabidopsis thaliana* and found that the huge vacuoles are essential for the regulation of asymmetric divisions in the zygote (Matsumoto et. al., 2021). Chemical screening also led to the discovery of several novel inhibitors that act on various regulations in plant cell division (in preparation).

研究分野：植物発生学

キーワード：植物発生学 ライブイメージング 化合物スクリーニング

1. 研究開始当初の背景

受精卵の極性化と不等分裂は、個体発生の原点である。しかし植物では、受精卵内部でどのような因子が、どのような現象を制御するのか、ほとんど分かっていなかった。制御因子が得られていない理由としては、遺伝子の冗長性や、遺伝子欠損株の致死性のせいで、重要な機能を担う因子の欠損株が得られにくいことが考えられていた。また、細胞内現象が分かっていない理由としては、被子植物の花の奥深くに存在する受精卵の内部を生きのまま観察する手法がなかったことが理由であると考えられた。

そんななか、研究代表者らはシロイヌナズナを用いて、植物の受精卵の内部の挙動を高精細にライブイメージングする系を確立した。また、このライブイメージング系では、投与した阻害剤が効果的に機能することを見出した。

2. 研究の目的

本研究では、研究代表者が独自に創出した受精卵の網羅的イメージングマーカーをつぶさに観察することで、まず、受精卵の内部で起こる事象を明らかにすることを第一の目的とした。さらに、冗長性や致死性を回避して重要な制御因子を探索できる手法として、化合物スクリーニング法に着目し、特異的な制御点をもつ阻害剤を同定することで、従来の遺伝学的スクリーニングでは見出し得なかった極性化の鍵因子を発見することを第二の目的とした。

これらを組み合わせることで、受精卵内部でどのような変化が起こり、それがどのような仕組みで制御されるのかを、包括的に明らかにすることを目指した。

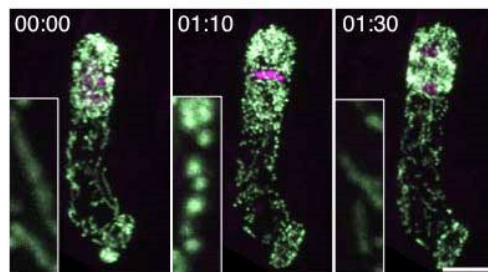
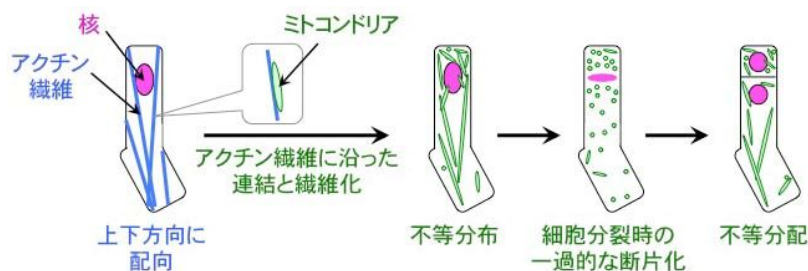
3. 研究の方法

まず、シロイヌナズナにおいて、受精卵内部の細胞骨格の配向やオルガネラの分布など、さまざまな時空間事象を網羅的に可視化したマーカー株シリーズを作出した。これらの株と、研究代表者らが確立した受精卵の高精細ライブイメージング系を組み合わせ、受精卵の極性化と不等分裂時に起こる細胞内変化を特定した。

さらに、研究代表者が所属していた所属する研究所の化学者らが独自に創出したホームメイド薬剤をスクリーニングすることで、受精卵の不等分裂を阻害する化合物を網羅的に探索した。得られた薬剤について、上記の受精卵マーカー株シリーズを駆使してライブイメージングすることで、各薬剤が、どの事象を・いつ・どのように制御するかを特定した。

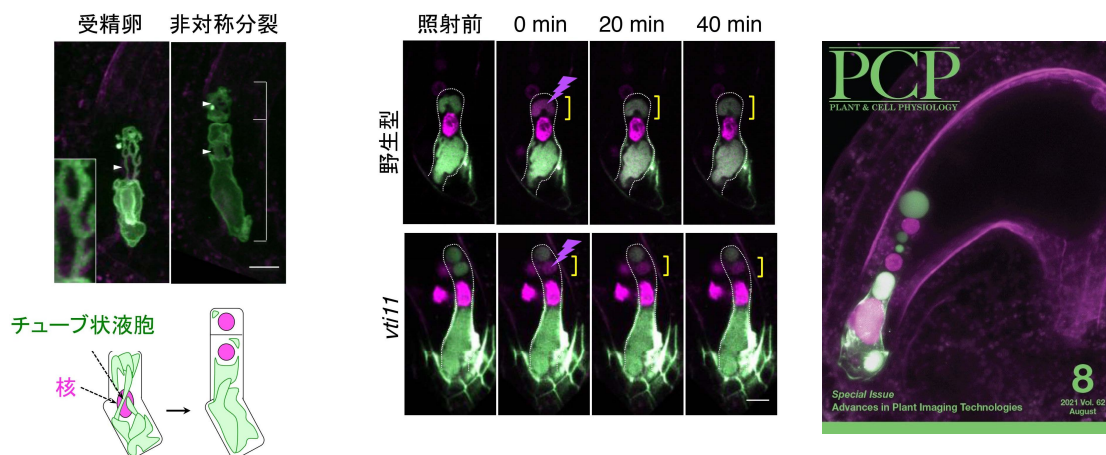
4. 研究成果

シロイヌナズナの受精卵における内部動態を高精細にライブイメージングした結果、ミトコンドリアが受精後にダイナミックな結合や断片化を経て、繊維状・球状へと形態を変えることを見出した。このようなライブイメージング解析と、複数事象を同時に可視化する多色マーカー株の構築や、阻害剤投与などを組み合わせた検討の結果、ミトコンドリアがアクチン繊維に沿って繊維化することで受精卵内を上部に極性移動することや、その結果、受精卵の分裂後に上部の頂端細胞に多く不等分配されることを見出した (Kimata et. al., 2020)。



ミトコンドリア + 核 (ライブイメージング像)

また、巨大なオルガネラである液胞も、受精卵内部で細長いチューブ状へと形を変えながら、徐々に受精卵の基部側に移動することを発見した。ピンポイントでの紫外線照射によって蛍光色の転換を誘導するといった顕微操作実験により、細胞内の特定部位にあるオルガネラの挙動を精細に特定することにも成功した。さらに、多様な変異体や多食マーカーを駆使した解析の結果、受精卵内部で起こるダイナミックな液胞の極性化動態が、液胞膜の柔軟化や移動方向の決定など、さまざまな過程を経て制御されることも見出した。加えて、その制御機構として、膜リン脂質を介した小胞輸送経路や、受精後に活性化されるリン酸化経路が働くことも突き止めた。どの制御点が損なわれた場合でも、受精卵は極性化と不等分裂に失敗したことから、受精卵内部での液胞の動態は、個体発生の原点である初期発生に重要な役割を果たすことが明らかになった (Matsumoto et. al., 2021)。



同様のイメージング手法や変異体を駆使した解析によって、エピジェネティック制御の必要性や、受精前の配偶体形成についても、さまざまな知見を得た (Antunez-Sanchez et. al., 2020; Susaki et. al., 2021)。

また、化合物スクリーニングを行った結果、受精卵の不等分裂を阻害する新規の薬剤を複数見出した。標的の同定やライブイメージング解析と組み合わせた結果、それぞれの薬剤は細胞分裂に必要な特異的な制御点で働くことを突き止めた。さらに、シロイヌナズナだけでなく、タバコやコケ植物など、多くの植物においても薬剤投与実験を行った結果、これらの薬剤は、さまざまな植物種に共通した阻害効果を持つことも突き止めた (論文執筆中)。

本研究において見出した細胞内事象や阻害剤の効果だけでなく、植物の研究におけるライブイメージング手法や画像解析の有効性について、国内外のさまざまな学会や、学術誌において報告した (Autran et. al., 2021; Ueda et. al., 2020; Kimata and Ueda, 2020)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Susaki Daichi, Suzuki Takamasa, Maruyama Daisuke, Ueda Minako, Higashiyama Tetsuya, Kurihara Daisuke	4. 巻 19
2. 論文標題 Dynamics of the cell fate specifications during female gametophyte development in Arabidopsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pbio.3001123	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kimata Yusuke, Higaki Takumi, Kurihara Daisuke, Ando Naoe, Matsumoto Hikari, Higashiyama Tetsuya, Ueda Minako	4. 巻 1
2. 論文標題 Mitochondrial dynamics and segregation during the asymmetric division of Arabidopsis zygotes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Quantitative Plant Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/qpb.2020.4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Antunez-Sanchez Javier, Naish Matthew, Ramirez-Prado Juan Sebastian, Ohno Sho, Huang Ying, Dawson Alexander, Opasathian Korawit, Manza-Mianza Deborah, Ariel Federico, Raynaud Cecile, Wibowo Anjar, Daron Josquin, Ueda Minako, Latrasse David, Slotkin R Keith, Weigel Detlef, Benhamed Moussa, Gutierrez-Marcos Jose	4. 巻 9
2. 論文標題 A new role for histone demethylases in the maintenance of plant genome integrity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.58533	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ueda Minako, Kimata Yusuke, Kurihara Daisuke	4. 巻 2122
2. 論文標題 Live-Cell Imaging of Zygotic Intracellular Structures and Early Embryo Pattern Formation in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 37 ~ 47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-0342-0_4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kimata Yusuke, Ueda Minako	4. 巻 -
2. 論文標題 Intracellular dynamics and transcriptional regulations in plant zygotes: a case study of Arabidopsis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Reproduction	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00497-020-00389-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsumoto Hikari, Kimata Yusuke, Higaki Takumi, Higashiyama Tetsuya, Ueda Minako	4. 巻 62
2. 論文標題 Dynamic Rearrangement and Directional Migration of Tubular Vacuoles are Required for the Asymmetric Division of the Arabidopsis Zygote	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1280 ~ 1289
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcab075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Autran D., Bassel GW., Chae E., Ezer D., Ferjani A., Fleck C., Hamant O., Hartmann FP., Jiao Y., Johnston IG., Kwiatkowska D., Lim BL., Mahnen AP., Morris RJ., Mulder BM., Nakayama N., Sozzani R., Strader LC., Tusscher K., Ueda M., Wolf S.	4. 巻 2
2. 論文標題 What is quantitative plant biology?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Quantitative Plant Biology	6. 最初と最後の頁 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/qpb.2021.8	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Kimata Y., Higaki T., Kurihara D., Higashiyama T., Ueda M.
2. 発表標題 Live imaging of asymmetric cell division of plant zygote.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ueda M., Kimata Y., Tanaka S., Higaki T., Kurihara D., Higashiyama T
2. 発表標題 Live-cell imaging from zygote polarization to embryo patterning in plant.
3. 学会等名 日本発生物学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Minako Ueda, Yusuke Kimata, Takehide Kato, Takumi Higaki, Daisuke Kurihara, Shoji Segami, Miyo Terao Morita, Masayoshi Maeshima, Seiichiro Hasezawa, Tetsuya Higashiyama
2. 発表標題 Live-cell imaging of the polarization dynamics of plant zygote: Polar vacuolar distribution is essential for accurate asymmetric division
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Kimata, Takumi Higaki, Daisuke Kurihara, Takehide Kato, Shoji Segami, Miyo Terao Morita, Masayoshi Maeshima, Seiichiro Hasezawa, Tetsuya Higashiyama, Minako Ueda
2. 発表標題 Live-cell imaging of the intracellular dynamics of Arabidopsis zygote
3. 学会等名 Plant Morphodynamics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Minako Ueda, Yusuke Kimata, Takumi Higaki, Daisuke Kurihara, Takehide Kato, Shoji Segami, Miyo Terao Morita, Masayoshi Maeshima, Keiko Kuwata, Takamasa Suzuki, Ayato Sato, Moe Yamada, Seiichiro Hasezawa, Tetsuya Higashiyama
2. 発表標題 Live-cell imaging of the polarization dynamics of Arabidopsis zygote
3. 学会等名 FASEB Mechanisms in Plant Development meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Kimata, Takehide Kato, Takumi Higaki, Daisuke Kurihara, Tomomi Yamada, Shoji Segami, Miyo Terao Morita, Masayoshi Maeshima, Seiichiro Hasezawa, Keiko Kuwata, Ayato Sato, Takamasa Suzuki, Moe Yamada, Tomokazu Kawashima, Frederic Berger, Yoshikatsu Sato, Masao Tasaka, Tetsuya Higashiyama, Minako Ueda
2. 発表標題 Live-cell imaging of the polarization dynamics of Arabidopsis zygote
3. 学会等名 Principles of Pluripotent Stem Cells Underlying Plant Vitality (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ueda M., Kimata Y., Matsumoto H., Higaki T., Komatsu T., Tanaka S., Kurihara D., Higashiyama T.
2. 発表標題 Live-cell imaging of the polarization dynamics of plant zygote.
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>植物の卵細胞がつくられる様子を生きたまま観察することに成功 https://www.yokohama-cu.ac.jp/news/2020/202103maruyama_PLOSBIol.html 植物の受精卵が非対称にミトコンドリアを分配する仕組みを発見 https://www.lifesci.tohoku.ac.jp/research/results/detail---id-49726.html 東北大学生命科学研究科植物細胞動態分野 http://www.lifesci.tohoku.ac.jp/PlantCellDyn/</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	金岡 雅浩 (Kanaoka Masahiro) (10467277)	名古屋大学・理学研究科・講師 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	University of Warwick			
フランス	Institute of Plant Sciences Paris Saclay			
ドイツ	Max Planck Institute			
フランス	Institute of Plant Sciences Paris Saclay			
英国	University of Warwick			
オランダ	Wageningen University			