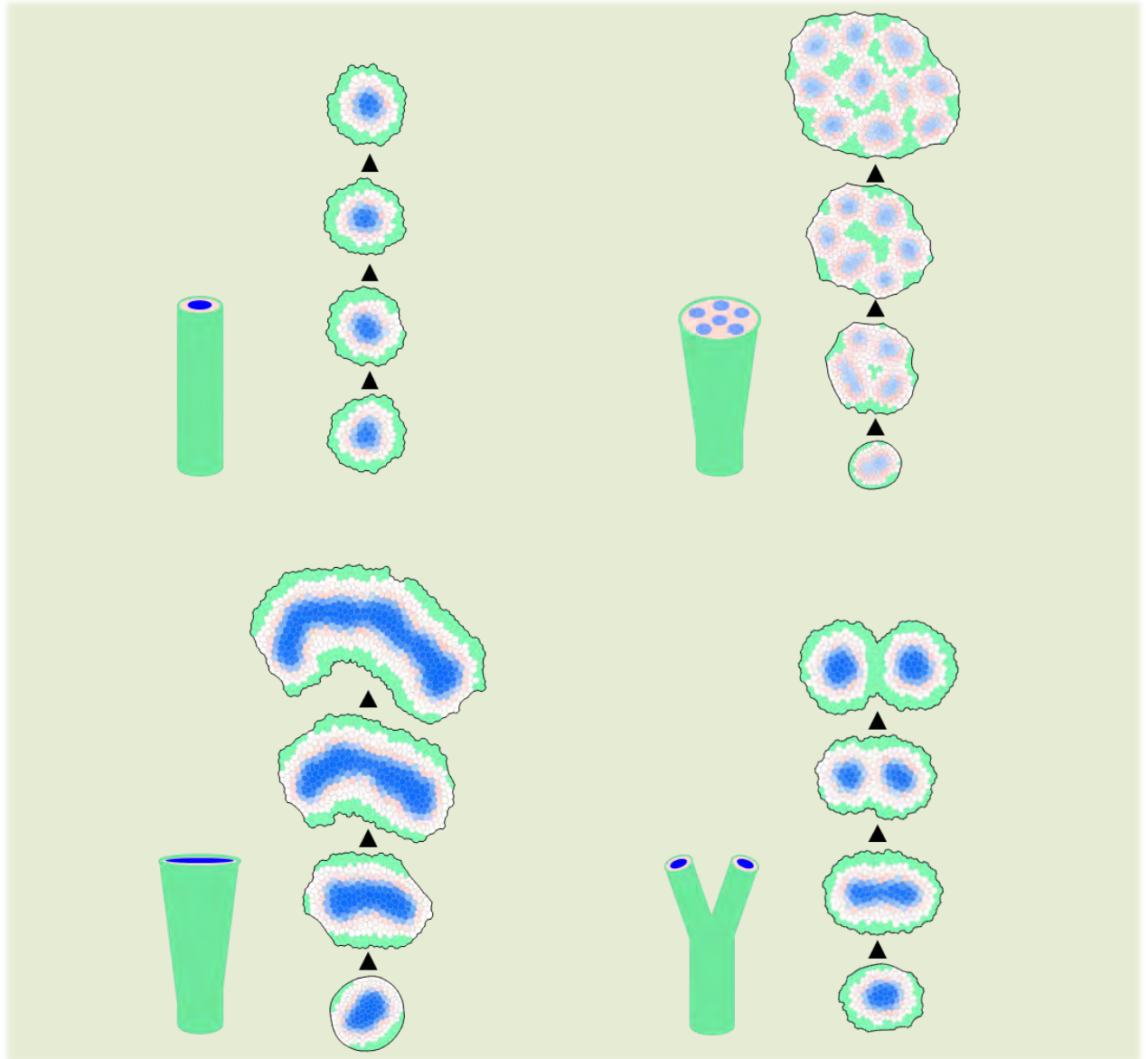


新学術領域研究

「複合適応形質進化の遺伝子基盤解明」



シンポジウム「形態形成研究の新たなるステップ
ー遺伝子ネットワークから多細胞動態へー」報告

表紙図：植物の茎頂分裂組織パターンのコンピュータ・シミュレーションによる再現。通常、茎頂分裂組織は一定の大きさを保持しつつ茎が伸長する（左上）のに対し、変異体では茎の帯化（左下）や二叉分枝（右下）などの異常が引き起こされる（基礎生物学研究所 藤田浩徳）。

新学術領域研究「複合適応形質進化の遺伝子基盤解明」
共催シンポジウム
形態形成研究の新たなステップ
ー遺伝子ネットワークから多細胞動態へー
(日本植物学会第77回大会シンポジウム) 開催報告

2013年9月13日から15日まで北海道大学でおこなわれた日本植物学会第77回大会において「形態形成研究の新たなステップー遺伝子ネットワークから多細胞動態へー」と題したシンポジウムを開催した。形態形成研究の今後の方向性を意識した内容であり、形態を代表的な複合適応形質と捉える新学術領域研究「複合適応形質進化の遺伝子基盤解明」との共催として企画させていただいた。

発生における遺伝子間の制御ネットワークが明らかにされる一方で、そのアウトプットである細胞増殖・変形などの多細胞動態に関しては不明な点が多い。多細胞動態は実験的な観測が困難であることから、現状では、多くの研究者が数理モデルやシミュレーションを取り入れたアプローチを模索する段階にある。本シンポジウムでは、葉の発生を話題の中心に、植物発生学者（演者：古谷さん、川出さん、中田さん）と数理生物学者（演者：秋山さん、中益さん、奥田さん）の発表を通して、既知の遺伝子ネットワークと多細胞動態の結び付け方を議論した。

大会初日にあたる9月13日、9:00-12:00の180分の枠を大会から割り当てていただいた。最初に、藤田（基生研）が企画趣旨について説明し、続いて中益朗子さん（京産大）から葉形態における表現型可塑性の数理解析、古谷将彦さん（奈良先端大バイオ）からオーキシン流収束の分子メカニズム、奥田覚さん（理研CDB）から三次元的な組織形成における力学シミュレーション、中田未友希さん（立教大・理・生命理）から葉の初期発生における発生遺伝子ネットワーク、秋山正和さん（北海道大・電子科学研究所）からモルフォゲンの凸性に依存した細胞分裂面の決定機構、川出健介さん（理研CSRS）から葉の細胞増殖関連因子AN3の細胞間移行について発表があり、最後に福島（基生研）が企画のまとめを述べた。どの発表者からも、実験と数理解析それぞれの強みを活かして複雑な発生現象に迫る先端的なアプローチが示された。大会初日の早朝にも関わらず、常時50名以上の参加者が熱心に聴き入り、活発な議論が繰り広げられた。

本シンポジウムが実験生物学と数理生物学の更なる融合の一助となり、形態形成研究の一層の進展につながることを期待したい。最後に、動物・植物の垣根を越えて集まってくださった講演者の皆様とシンポジウム運営にご助力くださった方々に深い感謝の意を申し述べて、報告の筆をおきたい。

藤田浩徳・福島健児（基礎生物学研究所）

新学術領域研究「複合適応形質進化の遺伝子基盤解明」

共催シンポジウム

形態形成研究の新たなるステップ

ー 遺伝子ネットワークから多細胞動態へー

(日本植物学会第77回大会シンポジウム)

オーガナイザー

藤田 浩徳 (基礎生物学研究所)

福島 健児 (基礎生物学研究所)

9:00 ~ 9:10 1aSI01

藤田 浩徳 (基礎生物学研究所)

はじめに ー植物形態形成の統合的理解に向けてー

9:10 ~ 9:35 1aSI02

中益 朗子^{1,2,4}、木村 成介²、末松 J. 信彦^{3,4} (¹JSPS、²京都産業大学、³明治大学、⁴MIMS)

ニューベキアの葉の発生過程における表現型可塑性のモデリング

9:35 ~ 10:00 1aSI03

古谷 将彦、中野 泰一、田坂 昌生 (奈良先端バイオ)

器官発生過程におけるオーキシン極性輸送制御機構

10:00 ~ 10:25 1aSI04

奥田 覚¹、井上 康博²、永楽 元次¹、安達 泰治²、笹井 芳樹¹ (¹理研CDB、²京大再生研)

三次元的な組織の形態形成における多細胞ダイナミクスの力学シミュレーション

10:25 ~ 10:50 1aSI05

中田 未友希¹、岡田 清孝² (¹立教大・理・生命理、²自然科学研究機構)

葉の向背パターンニングと葉身の成長をつなぐしくみ

10:50 ~ 11:15 1aSI06

秋山 正和¹、手老 篤史²、小林 亮³、(¹北大・電子科学研究所、²九大・マスフォア
インダストリ研究所、³広島大・数理分子生命理学専攻)

モルフォゲンの凸性に着目した細胞分裂のモデル

11:15 ~ 11:40 1aSI07

川出 健介 (RIKEN CSRS)

葉原基におけるAN3の発現勾配と細胞増殖活性の時空間分布

11:40 ~ 11:50 1aSI08

福島 健児^{1,2}、長谷部 光泰^{1,2} (¹基礎生物学研究所、²総研大・院・生命科学)
おわりに -発生生物学のこれからを考える-

11:50 ~ 12:00

総合討論

はじめに — 植物形態形成の統合的理解に向けて —

○藤田浩徳（基礎生物学研究所）

近年の分子生物学的手法および情報生物学的手法の目覚ましい発展により、分子レベルでの我々の知見は飛躍的に増大している。しかしながら発生、細胞分化、形態形成、進化などの高次の生命現象においては、分子レベルの情報のみではその統合的な理解は困難である。例えば生物の形態形成を考えた場合、分子動態の変化が細胞形質や細胞形態の変化に影響を与え、さらにそれら細胞同士が相互作用することによる細胞集団としての振舞い、つまり多細胞動態を理解して初めて、組織レベルや個体レベルでの形態形成の統合的理解が可能となる。しかしながら今までは分子レベルでは数多くの研究がなされている一方、それに比べて多細胞動態に関する研究は非常に少ない。この階層を横断しそれらを有機的に結びつけて理解するためには、実験と理論（数理モデル解析）との共同作業が非常に有効であると考えられ、実際にそのような試みが動物の分野において近年さかんに行われ始めている。そこで今回のシンポジウムでは、葉の発生を話題の中心にして、植物発生学者と数理生物学者の発表を通じて既知の分子ネットワークと多細胞動態の結び付け方を考えると同時に、これからの形態形成研究の目指す方向について議論する場としたい。

ニューベキアの葉の発生過程における表現型可塑性のモデリング

○中益 朗子^{1,2,4}, 木村 成介², 末松 J. 信彦^{3,4}
(¹JSPS、²京都産業大学、³明治大学、⁴MIMS)

半水生植物のニューベキアは葉の形態に表現型可塑性を示し、生育環境（水没・温度変化）に応じて発生する葉の形を大きく変化させる [1]。同じ遺伝的背景を持っているにもかかわらず、水中では葉身が針状の羽状複葉、気中では単葉から二回出羽状複葉まで中間型を含めて様々な形の葉が見られる。気中での葉の形態の影響を受け、高温（30℃）だと単葉が発生するが、温度が下がればさがるほど葉の複雑度が上昇する。このような多様な形態を作りあげる共通の基本原則と多様性を引き起こす原因について研究を行っている。複葉の形成過程を見てみると、複雑な分岐構造が一気に生じるのではなく、まず一次小葉へと分化する新たな突起が、葉原基の先端と基部に存在する伸張領域につけ加わる形で生じる。さらに、伸長した一次小葉の基部側に新たな突起がサイドブランチとして加わる。そこで、植物の葉の形を決める一つの要因である鋸歯構造のモデル[2]をもとに、複葉が示す分岐構造についてモデリングを行った。葉縁を一次元の反応場ととらえ、その上で反応拡散機構のチューリングパターン[3]の形成を行う。その後、パターンに基づいて法線ベクトル方向に成長を起こす。成長によって拡大した領域上でさらにパターン形成が維持されると、成長に伴い等間隔を保とうとするためピークの増加が起こる[4]。このとき、新たな領域に新たなピークが生じる挿入のパラメータを用いることで、ニューベキアの複葉の形態形成過程で見られる規則的な分岐構造が再現できた。さらに、ニューベキアで見られる葉の多様性について、実験を交えながら説明する。

[1] H. Nakayama et al. (2012) **Plant Morphology** vol.24, pp.57-63

[2] Bilsborough et al. (2011) **PNAS** vol. 108, no.8, pp,3424-3429

[3] A. Turing (1952) **Phils. Trans. R. Soc. B**237, pp,32-72

[4] H. Meinhardt (1982) **Academic Press, London**

器官発生過程におけるオーキシン極性輸送制御機構

○古谷将彦, 中野泰一, 田坂昌生 (奈良先端大バイオ)

高等植物の葉や花といった器官は茎頂に存在する分裂組織から次々と生み出される。器官発生に先立ち植物ホルモンであるオーキシンが局所的に蓄積し、器官発達を促すことが明らかになっている。このオーキシンのピークは、オーキシン排出キャリアーPIN-FORMED 1 (PIN1)依存的な極性輸送によって確立される。茎頂分裂組織の表層において、PIN1タンパク質は器官予定領域の中心に向かった側の細胞膜上に局在し、比較的広範囲なオーキシンの蓄積を誘導する。その後、器官原基の中央領域においてPIN1タンパク質が内側の細胞膜へと局在を変化させることにより、オーキシンを表層から分裂組織内部へと極性輸送し、器官内部を走る主脈を形成する。このダイナミックなPIN1タンパク質の局在パターンから巧妙かつ頑強な制御メカニズムの存在が示唆されるが、未だ明らかにされていない。

我々はこれまでに器官形成過程におけるオーキシン極性輸送機構の解明に向けて遺伝学的探索を行い、PIN1タンパク質の局在制御因子としてNPH3様タンパク質をコードする*MACCHI-BOU 4 (MAB4)*遺伝子を同定している。*MAB4*相同遺伝子群*MAB4/ENP/NPY1-LIKE (MEL)*のうち、*MEL1*と*MEL2*は器官形成過程において*MAB4*と同様に器官原基で発現し、それらの変異体*mab4 mel1 mel2*は器官形成に重篤な欠損をもつ。この変異体ではPIN1タンパク質の細胞膜内側への移行が損なわれ、オーキシン応答が分裂組織表層全域に広がっていた。このことは、*MAB4*遺伝子群がPIN1極性の内側への変換を制御すること、そして内部へのオーキシン極性輸送はオーキシンピークの狭隘化そして器官原基の発達進行に必須であることを示している。また、器官原基における*MAB4*遺伝子群の発現にはオーキシンによる転写誘導が必要であり、オーキシンの細胞間移動を介した表層と内部層間のPIN1極性制御機構の可能性が開かれた。以上の解析結果とともに、解析途中で見えてきた予想外のオーキシン極性輸送と器官形成の関係についても紹介したい。

三次元的な組織の形態形成における多細胞ダイナミクスの力学シミュレーション

○奥田覚¹, 井上康博², 永楽元次¹, 安達泰治², 笹井芳樹¹
(¹理研CDB, ²京大再生研)

多細胞生物の組織・器官は、驚くほど多様で複雑な形態（外形や構造）を有しており、その自律的な形成の機構は発生生物学や再生医療分野における大きなテーマである。この組織・器官の形態形成では、細胞骨格構造内の収縮力や細胞間の接着力など、細胞構成要素レベルの力学作用、および、細胞間の力学相互作用が重要な役割を担っている。これらの力学作用は、発生現象の幅広い時間スケールにおいてダイナミックに変化し、多細胞の協調的な運動や変形を引き起こす。そのため、組織・器官の複雑な形態形成を理解するためには、細胞構成要素レベルの力学作用が多細胞ダイナミクスに及ぼす影響を知る必要がある。そこで我々は、三次元バーテックスモデルを用いて、細胞構成要素レベルの力学作用に基づいた多細胞ダイナミクスの力学解析に取り組んでいる。

バーテックスモデルは、多細胞からなる組織を個々の細胞格子に区切り、格子点における力のつり合いを考えて、多細胞のダイナミクスを記述する。この数理モデルは、細胞の剛性や接着性の変化、能動的な変形など、細胞活動による力学作用を表現することが可能である。このバーテックスモデルを用いた数値シミュレーションにより、多細胞間の力学相互作用に基づいて、細胞活動が組織・器官レベルの形態形成に及ぼす影響を予測することができる。本研究では、この三次元バーテックスモデルにおいて、組織の大変形¹⁾、および、細胞分裂²⁾を取り扱うための改良を行った。これにより、三次元バーテックスモデルは、頻繁な細胞増殖を伴う組織の形態形成に適用できるようになった。さらに、上皮組織の成長過程について数値シミュレーションを行い、細胞頂端面の収縮性が組織の曲率の維持に寄与することを明らかにした³⁾。

1) Okuda, S. et al, Biomech Model Mechanobiol, in press, DOI: 10.1007/s10237-012-0430-7.

2) Okuda, S. et al, Biomech Model Mechanobiol, in press, DOI: 10.1007/s10237-012-0458-8.

3) Okuda, S. et al, J Biomech, in press, DOI: 10.1016/j.jbiomech.2013.03.035.

葉の向背パターンニングと葉身の成長をつなぐしくみ

○中田未友希¹, 岡田清孝² (¹立教大・理・生命理、²自然科学研究機構)

一般的な植物の葉の主な特徴は「表側(向軸側)と裏側(背軸側)で異なる組織を持つこと(向背性)」と「薄くて広い葉身を持つこと」である。ジャガイモ等を用いた外科的実験から向背性と葉身形成の間に密接な関係があることが示唆され、その後、向背性に異常をもつ突然変異体の解析から、向背性を司る遺伝子群の発現極性が正しく形成されること(向背パターンニング)が葉身の形成・成長に重要であることが明らかとなってきた。

我々はこれまでにシロイヌナズナを用いた解析から、WOXファミリーに属する2つの転写因子PRS/WOX3とWOX1が、向背パターンに従って葉の向背の中間領域で発現し、葉の横方向への成長を促す機能を持つことを見いだした。*prs wox1*二重変異体は野生型に比べ細い葉を形成した。*PRS*と*WOX1*はどちらも葉原基の発生初期に向背の中間にあたる領域(中間領域)で特異的に発現していることがわかった。背軸側領域全体で*WOX1*を異所的に発現させた場合、背軸側方向へ伸びる突起が形成された。これらから、WOX転写因子は自身の発現領域において、外側方向への成長を促すこと、WOX転写因子の発現領域の限定が、横方向に特異的な葉身の成長に不可欠であることが示唆された。また、向背性に異常が見られる変異体で*WOX1*の発現領域が変化すること、背軸側特異的に機能するKAN転写因子が*PRS*と*WOX1*両方の遺伝子発現を、背軸側領域で抑制することを見いだした。一方、*PRS*と*WOX1*が向軸側と背軸側の双方の遺伝子群の発現を中間領域において抑制することで、向背パターンの維持に寄与していることを示唆する結果も得ており、自身の発現領域の限定にも関わっていると推察された。

本発表では、葉の向背パターンニングと葉身の成長をつなぐしくみについて、WOX転写因子の機能を中心に紹介する。また、WOX転写因子がどのようにして組織の成長方向を変化させるのかについて、現在進めているWOX転写因子の下流遺伝子群の同定の結果と併せて議論したい。

モルフォゲンの凸性に着目した細胞分裂のモデル

○秋山正和¹, 手老篤史², 小林亮³

(¹北大・電子科学研究所、²九大・マスコアインダストリ研究所、

³広島大・数理分子生命理学専攻)

動物細胞は細胞分裂時に紡錘体が形成され細胞分裂の位置や方向性が決定される。これは、体細胞でも卵細胞でも同様である。特に卵細胞の実験において、紡錘体の位置をガラス棒などで移動させると、分裂面の位置や方向性も変化することから、紡錘体の位置取りは細胞分裂面の決定において重要であると考えられる。では、その紡錘体自体はどのようなメカニズムにより配置が決定されるのであろうか。紡錘体の両極には中心体と呼ばれる細胞小器官があり、それらが微小管を介してつながり、全体として紡錘体を形成している。細胞分裂時中心体は細胞内を移動し、星状体の足場となるが、この駆動力は各中心体から伸びた微小管の重複領域もしくは細胞膜との接触領域に存在するある種の微小管依存モータータンパクの働きであると報告されている。モータータンパク自体は分裂時に細胞内に特異的に局在し、中心体の移動方向を決めていると考えられているが、その詳しいメカニズムはわかっていない。

ウニ卵は動物極と植物極と呼ばれる特別な極が存在し極性を作っている。この極はそれぞれ特定の染料で染めることができるため、極性と細胞分裂の方向性との関係が調べられてきた。その結果、第一・二分裂では動-植物極を通る面に沿って分裂面が生じ(経割)、第三分裂では動-植物極を通る面に対して垂直な面に沿って分裂が生じる(緯割)ことがわかっている。しかしながら、ガラス板などで卵を両極から挟み込み、力学的な力を加える実験では細胞分裂面は第一・二・三分裂ともに経割となることが知られている。このことは、細胞分裂の方向性がモルフォゲンだけによるのではなく、細胞の形状にも依存することを示している。このような分裂面のダイナミックな変化は1. 細胞内の極性に沿った何らかの因子の濃度場(モルフォゲン)、2. 微小管依存モータータンパク、3. 細胞自体の形状、などが相互に影響を及ぼしあって起こるものと考えられる。

本講演では、これらの影響を数学的な見地からモデリングし、分裂面の位置や方向性がモルフォゲンの凸性により決定されていることを紹介する。ここから分裂の位置や方向性に関する細胞分裂の普遍的性質にも触れる。

葉原基におけるAN3 の発現勾配と細胞増殖活性の時空間分布

○川出健介 (RIKEN CSRS)

器官原基における細胞増殖活性の時空間分布は、最終的な器官の大きさや形を決める重要な要素である。葉原基では、細胞の増殖活性が基部—先端軸 (Proximal-Distal axis, PD 軸) に沿って勾配をもって変化する。これまで、この活性勾配は適切な葉の発生に欠かせないことが示されてきている。しかし、葉原基のPD 軸に沿った細胞増殖活性の変化がどのようにして生み出されているのかは、未だによく分かっていない。

盛んに進められてきた分子遺伝学的な解析により、葉の細胞増殖に関わる因子は多数同定されている。その中のひとつにANGUSTIFOLIA3 (AN3) 遺伝子が知られている。このAN3 遺伝子は葉原基の基部側でのみ発現する。しかし、私たちはAN3 タンパク質が細胞間を移動することでPD 軸に沿った発現勾配を形成することを見いだした。そこで、AN3 タンパク質の発現勾配が細胞増殖活性の時空間分布を規定している可能性に着目して現在は研究を進めている。

私たちは、まず始めに、葉原基のPD 軸に沿ったAN3 発現勾配および細胞増殖活性の時空間分布を定量化した。そうすると、これらの定量データはきれいにフィットすることが明らかになってきた。そこで次に、両者の関係性をより詳細に理解するため、AN3 発現勾配に対する摂動実験を行っている。ここでは、AN3 の細胞間移動能へ摂動を与えることで発現勾配を乱したときに、細胞増殖活性の時空間分布にも同様の影響が出るのかを調べている。また、定量イメージングによりAN3 拡散係数の計測も試みている。このような定量情報をもとにAN3 発現勾配を表現する現実的な理論モデルを構築すれば、AN3 発現勾配の形成メカニズム、さらには、細胞増殖活性の時空間分布がうみだされる仕組みの理解に大きく貢献するはずである。本発表では、このような定量データにもとづく理論モデルの構築についても紹介する。

私たちは、細胞増殖活性の時空間分布のような多細胞動態を不足なく説明するためには、分子および細胞レベルの各階層から抽出した定量情報を有機的につなげていくことが重要なひとつの方向であると考えている。その点について、具体的な研究の展望を含めながら議論したい。

おわりに —発生生物学のこれからを考える—

○福島健児^{1,2}, 長谷部光泰^{1,2}

(¹基礎生物学研究所、²総研大・院・生命科学)

発生は、細胞の分裂、分化、移動などが組み合わさった複雑な現象である。それゆえ、発生を制御するメカニズムに迫るためには、これらの細胞動態を網羅性を損なわずに解析することが必要となる。しかしながら、現在の観察技術では、器官の深部で進行する細胞動態の全体像を得るのは困難であり、利用可能な情報が限られる場合が多い。近年の数理生物学における発展は、観測が困難な発生現象のシミュレーションからメカニズムを予測する方法論をもたらした。本発表ではまず、葉をモデルとして、発生様式を解析する際にこれまでどのような方法が採られ、どのような知見が得られてきたか、その研究史を俯瞰する。そして、数理生物学との融合によって、これからの発生研究がどのように変わっていくのか、オーディエンスと演者から意見を募り、会場全体で議論したい。

COMPLEX ADAPTIVE TRAITS Newsletter Vol. 4 No. 5

発行：2013年11月13日

発行者：新学術研究領域「複合適応形質進化の遺伝子基盤解明」（領域代表者 長谷部光泰）

編集：COMPLEX ADAPTIVE TRAITS Newsletter 編集委員会（編集責任者 深津武馬）

領域URL：<http://staff.aist.go.jp/t-fukatsu/SGJHome.html>