



## (0) 研究分野

分科会:生物

キーワード:二次成長、形成層、幹細胞、環境応答、形態形成

## (1) 研究背景と研究目標

多くの植物はその生涯にわたって成長し続けることができる。幹細胞は植物の持続的な成長に重要な役割を果たしており、中でも形成層幹細胞は植物の二次成長の原動力となって、陸上植物の巨大化に貢献した。形成層幹細胞はさまざまな細胞種へ分化しながら、自らを維持し、季節などの環境に応じて活性を変化させるなど、周りの細胞と協調して実に多様な機能を果たすが、その仕組みの多くはまだ解明されていない。私たちの研究ユニットはこの機構を明かすことで、成長における植物らしさを細胞レベルで理解し、動植物の生存戦略の違いを探っていく。

## (2) 2024年度成果と今後の研究計画

### (A)植物の二次成長を司る新規分子機構の解明

当ユニットはこれまで植物の胚軸における二次成長過程(図1)を、発生生物学の観点から研究してきており、2024年10月に、ドイツ・ポツダム大学より理研・環境資源科学研究センター(横浜事業所)に異動した。

これまで、シングル核RNA-seq解析によって、シロイヌナズナの胚軸の二次成長中の細胞種特異的な遺伝子発現パターンを明らかにし、プレプリントに報告し(Zhao et al., bioRxiv, DOI:10.1101/2023.04.05.535530, 2023)、本年度は国際学会でも成果を発表した(発表論文等3)。

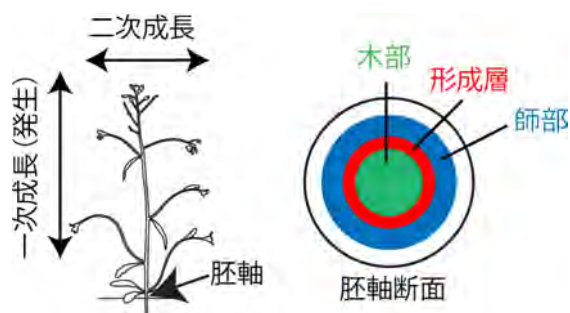


図1 シロイヌナズナ胚軸の二次成長模式図

**今後の計画** 1) シングル核RNA-seq解析では、木部特異的に発現するCLE遺伝子を新規に同定している。CLEペプチドファミリーは、シロイヌナズナで30種類以上の遺伝子が見つかっており、様々な機能を果たすことが報告されている。これまでは篩部で発現するCLEが二次成長を制御することが報告されているが、木部で発現するCLE遺伝子の機能は知られていない。今後は二次成長過程におけるこのCLE遺伝子の機能を明らかにするとともに、局所的遺伝子操作システムと、免疫染色によるペプチドの組織内局在の可視化を組み合わせることで、ペプチドの生体内の動態を定量的に明らかにし、ペプチドホルモンによるシグナル伝達の本質的理解を深めることを狙う。

### (B)植物におけるシングルセルRNA-seq解析の技術開発

シングルセル解析は、これまで組織レベルでしか解析されてこなかった遺伝子発現情報などを、単一細胞レベルで得る高解像度の解析手法であり、様々な細胞種が入り混じり、解剖で単離できないような組織では強力なツールである。当ユニットはシングルセル解析を用いて明らかにした成果を上記のプレプリントを報告したが、植物でのシングルセル解析は固有の技術的な障害もあり、まだ適用が少ないのが現状だ。本年度では、植物を用いたシングルセル解析を行う際に考慮すべき点をまとめた総説や、技術紹介(発表論文等1,2)を発表し、これまで得られた知見や技術の共有を行った。

**今後の計画** 様々な植物におけるシングルセル解析のハードルが高い一つの理由にコストの高さも挙げられる。マルチプレックス化などの技術開発を進めることによって、1解析あたりのコストを下げるるとともに、様々な植物種、組織でシングルセル解析が可能になるよう技術開発

を進める。

### (C) 樹木の形成層の制御機構

樹木において、形成層幹細胞は植物体全体に存在する最も多い幹細胞である。しかし、四季にわたってそれらの幹細胞がどのように協調して、機能的な組織を作り出すべく、自己増幅や分化の制御が行われているかについては不明なところが多い。

**今後の計画** 樹木のモデル種であるポプラを用いて、形成層の制御機構を明らかにすべく、研究を行う。

### (3) 研究室メンバー

(2024年度)

(理研ECL研究ユニットリーダー)

石東博

(研修生)

(テクニカルスタッフ)

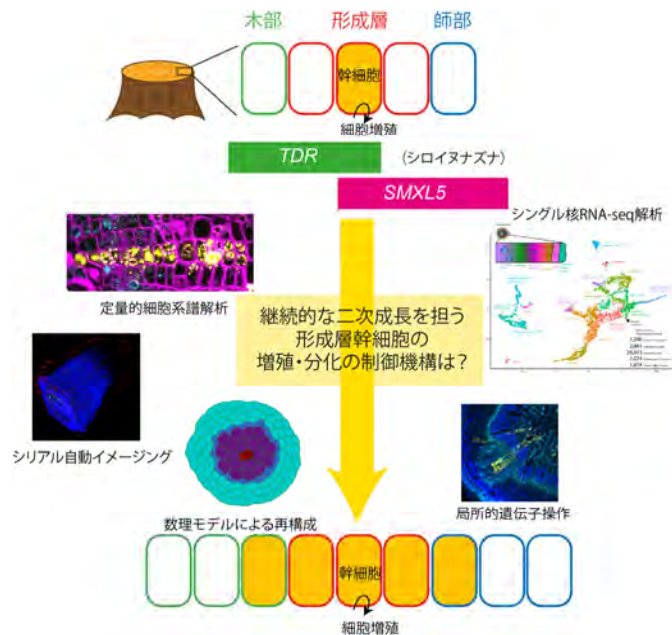
Hui Cao (環境資源科学研究センター)

栗山朋子 (環境資源科学研究センター)

### (4) 発表論文等

1. C. Grones, T. Eekhout, D. Shi, M. Neumann, L.S. Berg, Y. Ke, R. Shahan, K.L. Cox Jr, F. Gomez-Cano, H. Nelissen, J.U. Lohmann, S. Giacomello, O.C. Martin, B. Cole, J.W. Wang, K. Kaufmann, M.T. Raissig, G. Palfalvi, T. Greb, M. Libault, B. De Rybel, "Best practices for the execution, analysis, and data storage of plant single-cell/nucleus transcriptomics", **Plant Cell** 36(4), 812-828 (2024).
2. 石東博, 「植物核抽出 セルソーターによるシングル核解析に適した抽出」, **実験医学別冊 誰でも再現できる NGS「前」サンプル調製プロトコール** (羊土社) 鹿島 誠, 伊藤 佑, 尾崎 遼 / 編 (2024).
3. J. Zhao, K. Kaeufer, H. Cao, L. Lassen, T. Greb, D. Shi, "Revealing cambium stem cell behaviour during secondary growth in *Arabidopsis thaliana* with snRNA-seq", **Cold Spring Harbor Asia Conference FRONTIERS IN SINGLE CELL GENOMICS**, Awaji, Nov. 5-8th, 2024.

### Supplementary



### Laboratory Homepage

<https://www.riken.jp/research/labs/ecl/cambial-stem-cell-sys-riken-ecl/>

<https://drshilabo.wordpress.com/>