POSTĘPY BIOLOGII KOMÓRKI TOM 36 2009 NR 3 (443–453)

NOWE MODELE RÓŻNICOWANIA KOMÓREK EPIDERMY OPARTE NA BIAŁKACH TRANSPORTOWANYCH SYMPLASTOWO

NEW MODELS OF EPIDERMAL CELLS DIFFERENTIATION BASED ON SYMPLASMIC TRANSPORT OF PROTEINS

Marek MARZEC[1,2], Ewa Urszula KURCZYŃSKA[1]

[1]Zakład Biologii Komórki oraz [2]Katedra Genetyki,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski, Katowice

Streszczenie: Plazmodesmy, czyli kanały cytoplazmatyczne, które znajdują się w ścianach komórkowych, zapewniają łączność symplastową pomiędzy protoplastami sąsiadujących ze sobą komórek roślinnych. Liczne badania wykazały, iż plazmodesmy pełnią ważną rolę w procesach rozwoju i różnicowania się komórek. Z kolei przez zmianę liczby bądź średnicy plazmodesm, co wiąże się z regulacją ich przepuszczalności dla określonych substancji, roślina może kontrolować wspomniane procesy. Każdego roku pojawiają się nowe doniesienia świadczące o tym, jak istotną rolę plazmodesmy odgrywają w zjawiskach komunikowania się komórek, a także w kontroli mechanizmów prowadzących do ich specjalizacji. U podstaw znaczenia komunikacji symplastowej w różnicowaniu komórek leżą wyniki doświadczeń wskazujących na możliwość przemieszczania się tą drogą białek i cząstek RNA. W pracy połączono ze sobą informacje o białkach CPC oraz GL3/EGL3, dla których opisano już wcześniej możliwość przemieszczania się przez plazmodesmy i najnowsze propozycje modeli genetycznej kontroli różnicowania komórek epidermy korzenia *Arabidopsis thaliana*. Przedstawione publikacje pozwalają wnioskować, iż wymienione białka mogą odgrywać znaczącą rolę w procesach specjalizacji komórek. Jeden z opisywanych modeli jest oparty na bardzo ciekawym Mechanizmie Wzajemnego Wsparcia, który zakłada swego rodzaju „wspieranie się" komórek włośnikowych i niewłośnikowych w realizowaniu przeciwnych programów rozwojowych. Oznacza to, iż wystarczy zainicjowanie procesu różnicowania w jednym rzędzie komórek, a one oddziałując z komórkami rzędów sąsiednich, przez transport białek, skierują je na inną drogę specjalizacji. Przy tym mechanizm ten możliwy jest tylko dzięki włączeniu się białek transportowanych symplastowo w procesy regulacji aktywności ekspresji genów w komórce docelowej. To właśnie produkty tych genów, kontrolowanych przez białka przemieszczające się plazmodesmami, w dalszej kolejności decydują o przyszłych losach komórki. Dodatkowo opisano dwa inne modele genetycznej kontroli różnicowania się komórek epidermy korzenia, zaproponowane niemal równocześnie z Mechanizmem Wzajemnego Wsparcia przez niezależne zespoły naukowców. Każdy z modeli obejmuje grupę jednakowych genów zaangażowanych w przebieg procesu specjalizacji komórek. Jednak występują różne ich zależności i odmienne geny jako ostatecznie decydujące o losach komórek. Cechą wspólną modeli jest obecność genów kodujących białka mające możliwość przemieszczania się przez plazmodesmy (CPC i GL3/EGL3) oraz uwzględnienie ich transportu symplastowego jako kluczowego w inicjowa-

niu procesu różnicowania komórek. Osobno przedstawiono informacje dotyczące różnicowania się komórek epidermy liścia *Arabidopsis*, która reprezentuje analogiczny do epidermy korzenia obiekt badań. Także w tym wypadku z grupy początkowo podobnych komórek rozwijają się dwa odmienne ich typy: wytwarzające trichomy i niewytwarzające ich. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż część genów zaangażowanych w proces specjalizacji komórek jest identyczna z tymi odpowiadającymi za różnicowanie komórek epidermy korzenia. Do części wspólnej genów zalicza się także te kodujące białka transportowane symplastowo. Trzeba dodać, że tylko dla niektórych z tych białek udowodniono możliwość przemieszczania się przez plazmodesmy między komórkami epidermy liścia. Jednocześnie odkryto białko (TTG1), którego transport symplastowy charakterystyczny jest jak na razie tylko dla liścia. Prowadzone badania wykazały, że jest to transport aktywny, co oznacza, iż białko to potrafi zwiększać średnicę plazmodesmy, tak by możliwe było jego przemieszczanie się w obrębie epidermy. Ponieważ TTG1 odpowiada za wykształcenie włoska, musi nastąpić jego kumulacja w określonych komórkach, co wiąże się z ograniczeniem jego ilości w komórkach sąsiednich. Wskutek tego niemożliwe jest zainicjowanie rozwoju trichomów w pobliżu komórki z wykształconym już włoskiem, co odpowiada „wspieraniu się" komórek w zapoczątkowywaniu różnych programów rozwojowych opisanych dla korzenia. Badania przedstawione w artykule wskazują, że poznajemy ciągle nowe białka mające zdolność do przemieszczania się między komórkami. Dodatkowo białka te mogą wpływać na procesy specjalizacji odmiennych typów komórek w różnego rodzaju organach, jak np. opisane w pracy CPL3. Wszystkie te informacje wyraźnie wskazują, jak intensywnie badane są mechanizmy inicjacji i przebiegu różnicowania się komórek oraz genów kontrolujących te procesy. Uwagę zwraca grupa genów kodująca białka transportowane symplastowo, co sugeruje, że mogą one stanowić kluczowy, a przede wszystkim uniwersalny czynnik odpowiadający za ustalanie przyszłych losów komórek. Szczególnie interesujące jest podobieństwo prezentowanego Mechanizmu Wzajemnego Wsparcia w epidermie korzenia oraz zbliżonego do niego modelu różnicowania komórek epidermy liścia zależnego od akumulacji TTG1. Dowodzi to nie tylko ważnej roli transportu symplastowego w procesie specjalizacji, ale także wyraźnie wskazuje na znaczenie roli plazmodesm w kontroli przestrzennego rozmieszczenia różnych typów komórek w swoim bezpośrednim sąsiedztwie.

Słowa kluczowe: symplast, transport symplastowy, różnicowanie komórek, Mechanizm Wzajemnego Wsparcia.

Summary: Plasmodesmata are plasma membrane-lined channels that cross the cell walls of the neighboring cells. They allow passive movement of small molecules, but also intercellular transport of RNAs or proteins. Latest studies have revealed that plant cell differentiation depends on the movement of the proteins – transcriptional regulators between neighboring plant cells. Changes in the number of plasmodesmata or their diameter (what influence the permeability of plasmodesmata for different substances) are important factors in regulation of plant cells differentiation. The presented paper reviews the latest literature data on different signals transported symplastically and the role of symplasmic transport of proteins in the plant cell differentiation. The one part of results concerns the involvement of protein transport through plasmodesmata in root epidermis pattering on the example of *Arabidopsis thaliana*. It appeared that proteins like CPC and GL3/EGL3 play an important role in specification of plant cell fate. Namely, obtained results suggests that pattering of root epidermal cells into hair and non hair cells depends on the movement of CAPRICE and GLABRA3 transcriptional regulators between epidermal cells [13]. The authors showed evidence that WAREWOLF autoregulation does not contribute to the initial pattering of epidermal cell fates. In this model the active intercellular movements of proteins underline a mechanism for pattern formation of cells and this mechanism is based on the mutual support of two cells [13]. Initiation of cell differentiation in one row of cells influence the cells differentiation in neighboring cells by the intracellular movement of CPC and GL3/EGL3 proteins. What is important, proteins transported symplastically are involved in genes regulation in the target cell. Another aspect of involvement of proteins transported through plasmodesmata and their role in specification of cell differentiation concerns the mechanism of cells pattering in *Arabidopsis* leaves. Trichome initiation in the model plant *Arabidopsis* has been an important model for understanding cell fate and pattering [16]. It was postulated many years ago that trichome pattering is generated by intercellular communication. Results described in presented paper concerned the correlation between different classes of proteins which are involved in trichome cell specification [16]. The authors [16] analyzed a network of three classes of proteins consisting of bHLH and MYB transcription factors, and a WD40 repeat protein, TRANSPARENT TESTA GLABRA1 (TTG1), which act in concert to activate trichome initiation and patterning.

Using YFP-TTG1 translational fusions, they showed that TTG1 is expressed ubiquitously in *Arabidopsis* leaves and is preferentially localized in the nuclei of trichomes at all developmental stages. Using a conditional transgenic allele, the authors demonstrated that TTG1 directly targets the same genes as the bHLH protein GLABRA3 (GL3). *In vivo* binding of the R2R3-MYB protein GLABRA1 (GL1) to the promoters of GLABRA2 (GL2), TRANSPARENT TESTA GLABRA2 (TTG2), CAPRICE (CPC) and ENHANCER OF TRIPTYCHON AND CAPRICE1 (ETC1) established that these genes are major transcriptional targets for the TTG1-bHLH-MYB regulatory complex. By co-precipitation, the authors confirmed that TTG1 associates with GL3 and GL1 *in vivo*, forming a complex. The loss of TTG1 and GL1 through mutation, affects the subcellular distribution of GL3. Using particle bombardment, it was shown that TTG1, GL3, GL1 and the homeodomain protein GL2 do not move between adjacent epidermal cells, while the R3-MYB, CPC, does move to neighboring cells. Presented data support a model for the TTG1 complex directly regulating activators and repressors and the movement of repressors to affect trichome patterning on the *Arabidopsis* leaf [16]. From results described in presented paper appeared that genetic control of cell fate and pattering must be support by mechanisms in which the transport of proteins through plasmodesmata play a key role and that such a mechanism can be a universal.

Key words: symplast, symplasmic transport, cell differentiation, mutual support mechanism.

1. WSTĘP

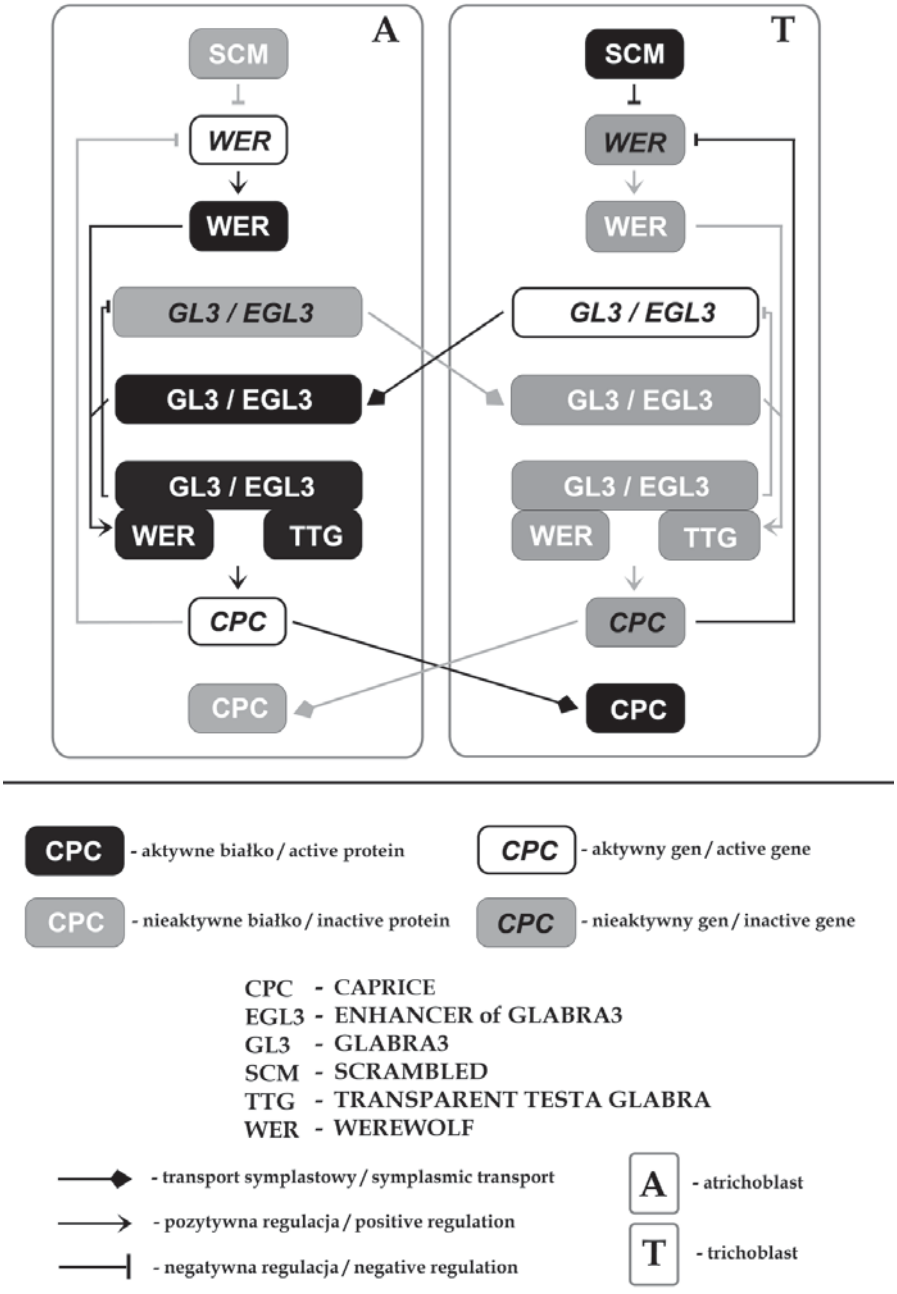
Znaczenie komunikacji symplastowej oraz procesu izolowania symplastowego w różnicowaniu komórek roślinnych było już przedstawione na łamach Postępów Biologii Komórki (m.in. [9, 11]). Jednym z argumentów przemawiających za taką rolą połączeń symplastowych były wyniki badań wskazujące na możliwość przemieszczania się białek między komórkami przez plazmodesmy. Białka transportowane symplastowo zawsze przedstawiano jednak jako dodatkowy czynnik wpływający na losy komórek. Tymczasem w 2008 roku pojawiły się trzy niezależne prace przedstawiające odmienne modele różnicowania komórek epidermy korzenia *Arabidopsis* [1, 12, 13], których cechą wspólną jest wskazanie jako kluczowych dla tego procesu, transportowanych symplastowo między komórkami epidermy białek CPC oraz GL3/EGL3 [2, 8]). Ponadto w literaturze pojawia się coraz więcej doniesień o transporcie symplastowym białek zaangażowanych w ustalanie losów komórek epidermy liści i modeli różnicowania komórek zależnych od tego transportu (m.in. [4, 5, 15, 16]). W ubiegłym roku odkryto i opisano nowe białko przemieszczające się symplastem – CAPRICE-LIKE MYB3 (CPL3), które zaangażowane jest nie tylko w ustalanie wzoru epidermy korzenia, ale także m.in. w regulację kwitnienia [15]. Ponadto stwierdzono zdolność białka TRANSPARENT TESTA GLABRA 1 (TTG1) do aktywnego transportu przez plazmodesmy [3].

2. BIAŁKA TRANSPORTOWANE SYMPLASTOWO USTALAJĄ WZÓR EPIDERMY KORZENIA *Arabidopsis*

Komórki epidermy korzenia *Arabidopsis* wywodzą się z komórek inicjalnych znajdujących się w merystemie wierzchołkowym korzenia. Pochodne inicjałów mają potencjał umożliwiający różnicowanie się w trichoblasty (komórki włośnikowe) bądź

atrichoblasty (komórki niewłośnikowe). Te dwa typy komórek tworzą specyficzny wzór przestrzenny obserwowany w postaci ułożonych na przemian rzędów komórek włośnikowych i niewłośnikowych. Atrichoblasty u roślin typu dzikiego zawsze leżą nad peryklinalnymi ścianami komórek kory w pozycji N (ang. *non hair position*), co oznacza, że mają kontakt z jedną komórką kory. Natomiast trichoblasty mają kontakt z dwiema komórkami kory, ponieważ leżą nad ich antyklinalnymi ścianami w pozycji H (ang. *hair position*).

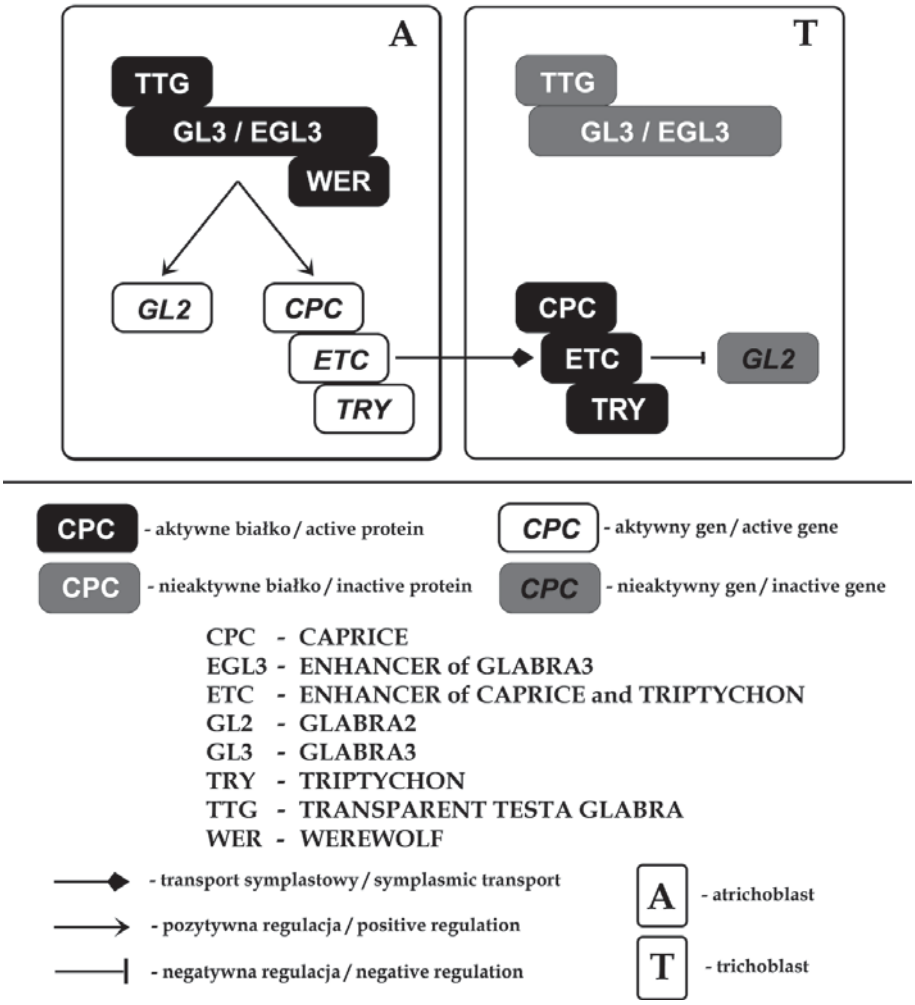
Wydaje się, że poznano już kluczowe geny prowadzące do ustalenia wzoru epidermy korzenia [7], które próbowano zestawić w logiczne sieci przedstawiające ich wzajemne zależności. Jednak w najnowszych modelach kluczową rolę przypisuje się białkom transportowanym symplastowo. Jeden z takich modeli opiera się na Mechanizmie Wzajemnego Wsparcia (ang. *Mutual Support Mechanism*), który zakłada, iż komórki leżące w jednym rzędzie rozpoczynając różnicowanie w trichoblast lub atrichoblast, jednocześnie, przez transport symplastowy białek, pobudzają komórki rzędu sąsiedniego do podjęcia przeciwnego programu rozwojowego (ryc. 1) [13]. Ponadto zaproponowano, iż ekspresja genu WEREWOLF (WER, kodującego negatywny regulator wytwarzania włośników) we wszystkich komórkach epidermy w strefie merystematycznej jest na jednakowym poziomie [13]. Białko kodowane przez ten gen może tworzyć kompleksy z produktami innych genów: GLABRA3 (GL3), ENHANCER OF GLABRA3 (EGL3) i TRANSPARENT TESTA GLABRA (TTG) [6]. Kompleks taki (nazywany dalej kompleksem WER) może obniżać transkrypcję GL3/EGL3, natomiast wzmacniać transkrypcję CAPRICE (CPC). Z kolei produkt genu CPC również może tworzyć kompleksy białkowe (kompleks CPC), dla których nie opisano co prawda możliwości regulacji aktywności innych genów, jednak wykazano, iż ograniczają transkrypcję WER. Dodatkowo, ekspresja WER w komórkach w pozycji H (przyszłych trichoblastach) jest również ograniczana przez aktywność kinazy o właściwościach receptora – SCRAMBLED (SCM), która bierze udział w odbiorze informacji pozycyjnej z komórek kory. Potwierdzono także eksperymentalnie, iż symplastem mogą przemieszczać się białka typu MYB, pozytywnie regulujące tworzenie komórek włośnikowych: CAPRICE (CPC), TRIPTYCHON (TRY), ENHANCER of TRIPTYCHON and CAPRICE (ETC), często oznaczane na schematach wspólnie jako CPC (m.in. [13, 16]) oraz białka GLABRA3 (GL3) i ENHANCER OF GLABRA3 (EGL3), które jednak są negatywnymi regulatorami powstawania trichoblastów. To, że białka CPC oraz GL3/EGL3 mogą przemieszczać się symplastem udowodniono po raz pierwszy w 2005 roku, gdy pojawiły się prace przedstawiające wyniki badań z zastosowaniem białek fluorescencyjnych: GFP (białko zielonej fluorescencji (ang. *Green Fluorescent Protein*) i YFP – białko żółtej fluorescencji (ang. *Yellow Fluorescent Protein*) [2, 8]. Analizy ekspresji genu CPC (białko GFP pod promotorem CPC) wykazały, iż gen ten jest transkrybowany wyłącznie w komórkach niewłośnikowych i tylko tam wykrywano jego mRNA. Natomiast obecność białka CPC sprzężonego z GFP (pod kontrolą promotora CPC) obserwowano we wszystkich komórkach epidermy korzenia [8]. Wyjaśnieniem takiej sytuacji może być tylko wniosek, iż białko CPC ma możliwość przemieszczania się przez plazmodesmy z atrichoblastów



RYCINA 1. Schemat przedstawiający model różnicowania komórek epidermy korzenia *Arabidopsis*, w którym kluczową rolę odgrywa transport symplastowy białek, zaproponowany przez Savage i współpracowników (na podstawie [13], zmienione)
FIGURE 1. Scheme displaying the model proposed by Savage et al. depicting differentiation of *Arabidopsis* root epidermal cells which depends critically on the movement of mobile proteins between neighboring cells trough plasmodesmata (acc. to [13], changed)

do trichoblastów. Badania nad możliwością transportu symplastowego białek GL3/EGL3 przeprowadzono w sposób analogiczny, jednak z użyciem YFP [2]. W badaniach tych uzyskano wyniki wskazujące, iż GL3/EGL3 przemieszcza się z komórek włośnikowych do niewłośnikowych, gdzie następuje jego akumulacja [2]. Wyniki tych doświadczeń jednoznacznie wskazują na transport symplastowy białek CPC i GL3/EGL3 między komórkami epidermy korzenia.

Nowością w zaproponowanym modelu jest odrzucenie wcześniejszych podstaw modeli teoretycznych, opartych na autoregulacji WER (wzmacniania transkrypcji *WER* przez WER lub kompleks WER). Porównano obecność białka GFP transkrybowanego pod promotorem *WER* u mutanta *wer* (niewytwarzającego funkcjonalnego białka), która okazała się identyczna jak u typu dzikiego, co oznacza, że transkrypcja *WER* nie zależy od obecności białka WER [13]. Dlatego zaproponowano, a następnie potwierdzono eksperymentalnie oraz za pomocą symulacji komputerowych, nowe rozwiązanie problemu zróżnicowanej ekspresji *WER* w kolejnych etapach rozwoju komórek epidermy korzenia [13]. Początkowo, we wszystkich komórkach występuje jednolita ekspresja *WER*, która następnie jest hamowana przez działalność kompleksu CPC, ale tylko w rzędach przyszłych trichoblastów [13]. Białko CPC pochodzi z atrichoblastów, gdzie jest transkrybowane i przechodzi do komórek włośnikowych przez plazmodesmy. Z kolei, w przeciwnym kierunku, z trichoblastów do atrichoblastów przemieszcza się białko GL3/EGL3, które może tworzyć kompleksy WER, wzmacniające ekspresję *CPC* (ryc. 1). Oznacza to, iż w Mechanizmie Wzajemnego Wsparcia (opartym na lateralnej inhibicji ze sprzężeniem zwrotnym) mamy do czynienia z przyjęciem przez komórki, leżące w tym samym rzędzie, jednej z dwóch możliwości rozwoju, a w trakcie jej realizowania jednoczesnego wymuszania na rzędach komórek sąsiednich podjęcia różnicowania w przeciwny typ komórek epidermy (ryc. 1). Do takich wniosków skłaniają doświadczenia wskazujące, iż różnicowanie atrichoblastów wynika z obecności wielu kompleksów WER, zależnych od obecności m.in. białek GL3/EGL3, pochodzących z komórek sąsiednich. Natomiast ustalenie losów komórki jako trichoblastu wymaga obecności małej liczby kompleksów WER, którą może zapewnić tylko obecność białka CPC, pochodzącego z innych komórek i rywalizującego z WER w tworzeniu kompleksów. W skrócie oznacza to, iż wysoki poziom kompleksu WER komórki jednego rzędu mogą osiągnąć tylko w przypadku, gdy komórki sąsiednie będą miały odpowiednio niski poziom tego kompleksu [13]. Symulacje komputerowe takiego modelu pokazują, iż nie więcej niż dwa rzędy komórek mogą mieć podobny poziom kompleksu WER, a co za tym idzie realizować ten sam program rozwojowy. Odpowiada to wynikom doświadczeń, w których stwierdzono, że w apikalnej części korzenia, czyli tam, gdzie zachodzi ustalanie wzoru epidermy, na przekroju poprzecznym składa się ona z pojedynczego pierścienia 16 komórek, ułożonych na przemian w pozycji H i N, co świetnie współgra z zaproponowanym Mechanizmem Wzajemnego Wsparcia. Obserwowana większa liczba atrichoblastów ułożonych obok siebie w starszych strefach korzenia wynika z podziałów antyklinalych komórek epidermy o już ustalonej drodze różnicowania, która dodatkowo może być utrzymywana przez odpowiednie modelowanie chromatyny [13, 14]. Symulacje przeprowadzone na mutancie *scm* (nieodbierającym informacji pozycyjnej z komórek kory) wykazały

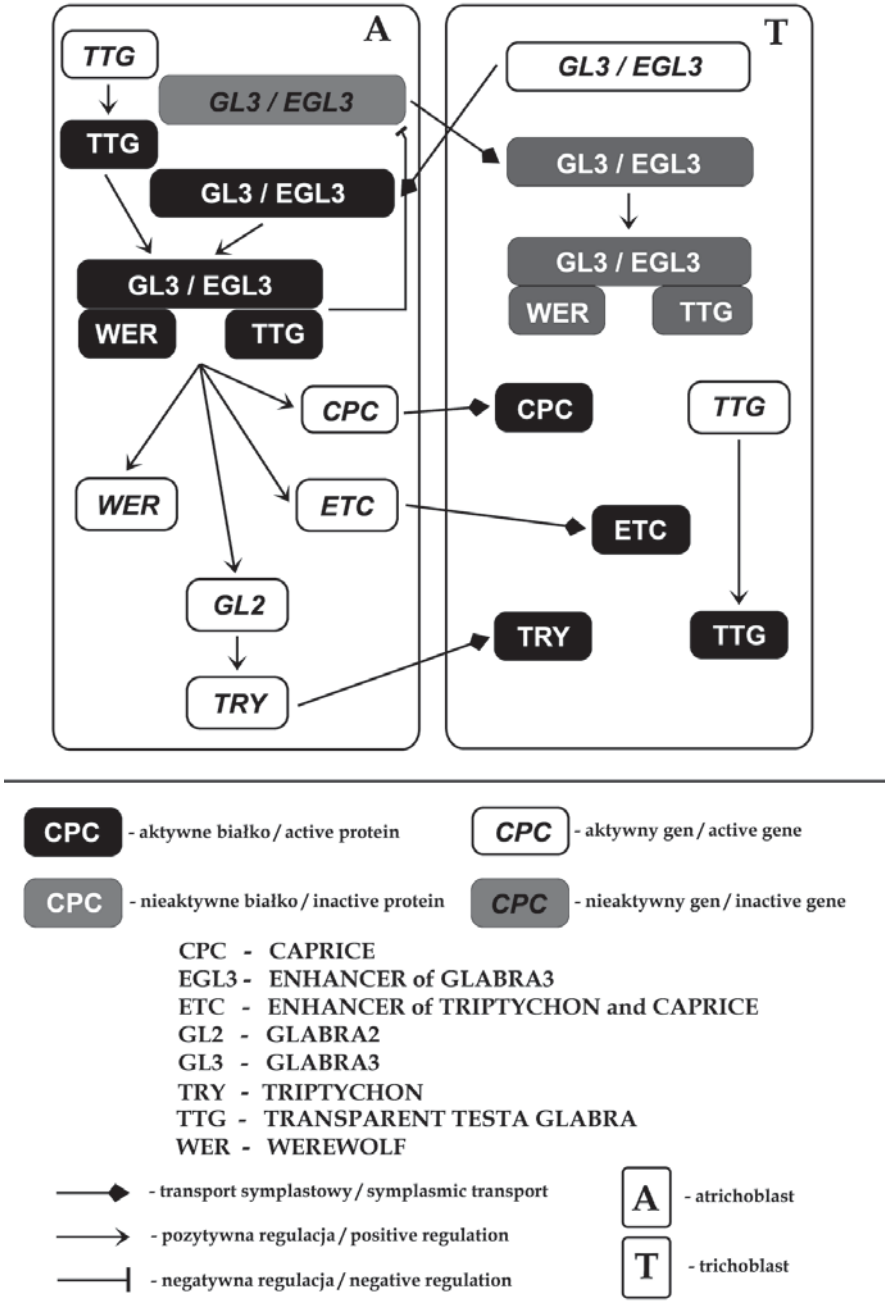


RYCINA 2. Schemat przedstawiający model różnicowania komórek epidermy korzenia *Arabidopsis*, w którym kluczową rolę odgrywa transport symplastowy białek, zaproponowany przez zespół Petricka i Benfey (na podstawie [12], zmienione)

FIGURE 2. Scheme displaying the model proposed by Petricka and Benfey depicting differentiation of *Arabidopsis* root epidermal cells which depends critically on the movement of mobile proteins between neighboring cells trough plasmodesmata (acc. to [12], changed)

obecność maksymalnie dwóch rzędów komórek tego samego typu obok siebie [13], co potwierdza działanie Mechanizmu Wzajemnego Wsparcia nawet w sytuacji, gdy zabraknie receptora dla informacji pozycyjnej płynącej z komórek kory.

Warte podkreślenia jest, iż modele proponowane niezależnie od opisywanego mechanizmu, obejmujące inne geny jako ostatecznie decydujące o losach komórki, również uwzględniają transport symplastowy białek. Petricka i Benfey wskazują na znaczenie genów *GLABRA2* oraz *TRANSPARENT TESTA GLABRA2* (*TTG2*), w



RYCINA 3. Schemat przedstawiający model różnicowania komórek epidermy korzenia *Arabidopsis*, w którym kluczową rolę odgrywa transport symplastowy białek, zaproponowany przez Benítez i współpracowników (na podstawie [1], zmienione)
FIGURE 3. Scheme displaying the model proposed by Benítez et al. depicting differentiation of *Arabidopsis* root epidermal cells which depends critically on the movement of mobile proteins between neighboring cells trough plasmodesmata (acc. to [1], changed)

różnicowaniu komórek epidermy korzenia *Arabidopsis* [12]. W tym wypadku aktywność *GL2* prowadzi do wytworzenia atrichoblastów, z kolei brak jego transkrypcji do powstania trichoblastów (ryc. 2). Pozytywnie na aktywność transkrypcji *GL2* wpływają kompleksy TTG/GL3/EGL3/WER, które równocześnie zwiększają poziom transkrypcji *TRY, ETC* i *CPC*. Jednak białka TRY, ETC, CPC wpływają na obniżenie aktywności *GL2*, przechodząc do włośników, będących miejscem ich działania, z komórek niewłośnikowych przez plazmodesmy (ryc. 2) [12]. Oznacza to, że model genetycznej kontroli różnicowania epidermy korzenia, obejmujący odmienne geny, również zależny jest w końcowej fazie od transportu symplastowego białek decydujących o hamowaniu bądź zwiększaniu transkrypcji genów charakterystycznych dla komórek włośnikowych/niewłośnikowych.

Także w modelu prezentowanym przez Benítez i współpracowników kluczową rolę odgrywają białka CPC oraz GL3/EGL3 (ryc. 3) [1]. Autorzy postulują, iż sygnał pozycyjny odbierany z kory przez kinazę o właściwościach receptora SCM, a więc aktywność genu *SCM*, ogranicza transkrypcję *WER* w obu typach komórek epidermy korzenia. Natomiast rozróżnienie poziomu ekspresji *WER* i co za tym idzie skierowanie komórek na drogę różnicowania zależy od dyfuzji przez plazmodesmy wspomnianych już białek (ryc. 3) [1].

3. BIAŁKA TRANSPORTOWANE SYMPLASTOWO USTALAJĄ WZÓR EPIDERMY LIŚCIA *Arabidopsis*

Modelowym obiektem badań podobnym do epidermy korzenia jest epiderma liścia, gdzie pojedyncze komórki wytwarzają trichomy, dając regularny wzór komórek z włoskami otoczonymi podstawowymi komórkami epidermalnymi. Badania genetycznych mechanizmów różnicowania się tych komórek wykazały, iż niektóre geny są wspólne dla procesów różnicowania komórek epidermy korzenia i liścia, jednak każdy z nich ma geny charakterystyczne tylko dla siebie (m.in. [1, 4, 16]). Do części wspólnej zalicza się niektóre z białek transportowanych symplastowo [4, 5, 15, 16]. Wykazano, iż w epidermie liścia występuje transport między komórkami białek z rodziny MYB-CPC oraz ETC [16], a także TRY [4]. Podobnie jak w przypadku epidermy korzenia, CPC tworzy kompleksy białkowe, które w tym przypadku hamują wytwarzanie włosków. Jednakże, co bardzo zaskakujące, nie wykazano w epidermie liścia możliwości przemieszczania się przez plazmodesmy białka GL3 [4, 16], które pełni funkcję pozytywnego regulatora powstawania trichomów [5]. Modele matematyczne przewidują, iż w momencie inicjacji włoska przez jedną z komórek epidermy, komórka ta jednocześnie hamuje podobny proces w komórkach sąsiednich [5].

Badania prowadzone nad białkiem TTG1 w epidermie liścia wykazały, iż następuje jego akumulacja w trichomach, połączona ze zmniejszaniem się ilości TTG1 w komórkach otaczających włosek, przy jednoczesnej ekspresji genu *TTG1* na jednakowym poziomie w całej epidermie. Zjawisko to można tłumaczyć tylko transportem symplastowym białka [3]. Ponadto dalsze doświadczenia wykazały, iż białko to ma

zdolność zwiększania średnicy plazmodesmy, aby możliwy był jego transport między komórkami [3]. W zaproponowanym modelu za kumulowanie TTG1 w trichomach odpowiada między innymi gen *GL3*, którego zwiększona ekspresja we włoskach sugeruje, iż produkt białkowy tego genu odpowiada za zatrzymanie TTG1 w obrębie włoska. Potwierdziły to badania nad mutantami *gl3*, u których nie zaobserwowano gromadzenia się TTG1 w trichomach [3].

Bardzo interesującym odkryciem ubiegłego roku jest gen *CAPRICE-LIKE MYB3* (*CPL3*), który jest homologiem opisanych wcześniej *CPC, TRY, ETC* [15]. Mutanty, u których następowała nadekspresja *CPL3,* wykazywały szereg zmian fenotypowych, takich jak: powstawanie nadmiernej liczby włośników w epidermie korzenia czy ograniczenie liczby trichomów na powierzchni liścia *Arabidopsis*. Taki wynik pokazuje, iż CPL3 pełni funkcję podobną do CPC, a ponadto poprzez analizę mutantów wykazano współdziałanie genu *CPL3* z pozostałymi homologami *CPC* [15]. Dodatkowo, u mutantów *cpl3* zaobserwowano wcześniejsze kwitnienie, a także zdecydowanie dłuższe komórki epidermy liścia, co przełożyło się na zwiększenie wymiarów całego organu. Oprócz tego wykazano akumulowanie CPL3 w aparatach szparkowych, co może sugerować udział tego białka w procesach inicjacji różnicowania bądź rozwoju tych komórek [15].

4. PODSUMOWANIE

Pojawienie się w jednym roku wyników doświadczeń, prowadzonych przez niezależne zespoły badawcze, a dotyczących modeli różnicowania komórek epidermy korzenia i liścia *Arabidopsis* najlepiej pokazuje, jak intensywnie badane są mechanizmy ustalania wzoru specjalizacji, w grupie początkowo podobnych do siebie komórek. Punktem wspólnym wszystkich opublikowanych prac jest stwierdzenie kluczowej roli w procesach różnicowania komórek białek, dla których dowiedziono, iż są transportowane przez plazmodesmy [2, 8]. Prowadzone doświadczenia dostarczają coraz większej liczby dowodów na znaczenie komunikacji/izolacji symplastowej w procesie specjalizacji komórek postulowanych we wcześniejszych artykułach [11].

Odkrycie nowego białka – CPL3 transportowanego symplastowo, zaangażowanego w mechanizmy różnicowania kilku typów komórek i będącego homologiem znanych już wcześniej regulatorów tego procesu wyraźnie wskazuje, iż ciągle nie wszystko wiadomo o wpływie komunikacji symplastowej na losy komórek. Jeżeli doda się do tego identyfikowanie coraz to nowych białek łączących się z plazmodesmami i prawdopodobnie zaangażowanych w aktywny transport przez kanały cytoplazmatyczne (ok. 30 białek na dzień dzisiejszy) [10], należy oczekiwać, iż w niedalekiej przyszłości zostaną zaproponowane nowe, dokładniejsze mechanizmy uwzględniające znaczenie transportu symplastowego dla procesu różnicowania komórek.

Ponadto można odnaleźć podobieństwa między Mechanizmem Wzajemnego Wsparcia [13] zaproponowanym dla epidermy korzenia a modelem dla epidermy liści, w którym różnicująca się komórka zapobiega wejściu komórek sąsiednich na podobną drogę rozwoju [3, 5]. To sugeruje, iż Mechanizm Wzajemnego Wsparcia może być uniwersalny dla jednowarstwowych układów komórek roślinnych różnicujących

się według ustalonego wzoru. Potwierdzenie tych badań i połączenie wyników prac różnych zespołów może doprowadzić do stworzenia uniwersalnego modelu różnicowania komórek roślinnych na podstawie współdziałania genów i białek transportowanych symplastowo.

LITERATURA

[1] BENÍTEZ M, ESPINOSA-SOTO C, PADILLA-LONGORIA P, ALVAREZ-BUYLLA ER. Interlinked nonlinear subnetworks underlie the formation of robust cellular patterns in *Arabidopsis* epidermis: a dynamic spatial model. *BMC Syst Biol* 2008; **2**: 98.
[2] BERNHARDT C, ZHAO M, GONZALEZ A, LLOYD A, SCHIEFELBEIN J. The bHLH genes *GL3* and *EGL3* participate in an intercellular regulatory circuit that controls cell patterning in the *Arabidopsis* root epidermis. *Development* 2005; **132**: 291–298.
[3] BOUYER D, GEIER F, KRAGLER F, SCHNITTGER A, PESCH M, WESTER K, BALKUNDE R, TIMMER J, FLECK C, HÜLSKAMP M. Two-dimensional patterning by a trapping/depletion mechanism: the role of TTG1 and GL3 in *Arabidopsis* trichome formation. *PLoS Biol* 2008; **6**: e141 (1166–1177).
[4] DIGIUNI S, SCHELLMANN S, GEIER F, GREESE B, PESCH M, WESTER K, DARTAN B, MACH V, SRINIVAS BP, TIMMER J, FLECK C, HULSKAMP M. A competitive complex formation mechanism underlies trichome patterning on *Arabidopsis* leaves. *Mol Syst Biol* 2008; **4**: 217.
[5] DUPUY L, MACKENZIE J, RUDGE T, HASELOFF J. A system for modelling cell-cell interactions during plant morphogenesis. *Ann Bot* 2008; **101**: 1255–1265.
[6] ISHIDA T, KURATA T, OKADA K, WADA T. A genetic regulatory network in the development of trichomes and root hairs. *Annu Rev Plant Biol* 2008; **59**: 365–386.
[7] JANIAK A, SZAREJKO I. Genetyczne i molekularne podstawy rozwoju włośników u *Arabidopsis thaliana. Post Biol Kom* 2007; **34**: 409–424.
[8] KURARA T, ISHIDA T, KAWABATA-AWAI C, NOGUCHI M, HATTORI S, SANO R, NAGASAKA R, TOMINAGA R, KOSHINO-KIMURA Y, KATO T, SATO S, TABATA S, OKADA K, WADA T. Cell-to-cell movement of the CAPRICE protein in *Arabidopsis* root epidermal cell differentiation. *Development* 2005; **132**: 5387–5398.
[9] KURCZYŃSKA EU. Komunikacja symplastowa: terminologia, fluorochromy i embriogeneza *Arabidopsis thaliana. Post Biol Kom* 2008; **35**: 31–43.
[10] MAULE AJ. Plasmodesmata: structure, function and biogenesis. *Curr Opin Plant Biol* 2008; **11**: 680–686.
[11] MARZEC M, KURCZYŃSKA EU. Rola komunikacji/izolacji symplastowej w różnicowaniu komórek na wybranych przykładach. *Post Biol Kom* 2008; **35**: 369–390.
[12] PETRICKA JJ, BENFEY PN. Root layers: complex regulation of developmental patterning. *Curr Opin Genet Dev* 2008; **18**: 354–361.
[13] SAVAGE NS, WALKER T, WIECKOWSKI Y, SCHIEFELBEIN J, DOLAN L, MONK NAM. A mutual support mechanism through intercellular movement of CAPRICE and GLABRA3 can pattern the *Arabidopsis* root epidermis. *PLoS Biol* 2008; **6**: 1899–1909.
[14] SHAW P, DOLAN L. Chromatin and *Arabidopsis* root development. *Semin Cell Dev Biol* 2008; **19**: 580–585.
[15] TOMINAGA R, IWATA M, SANO R, INOUE K, OKADA K, WADA T. *Arabidopsis CAPRICE-LIKE MYB 3* (*CPL3*) controls endoreduplication and flowering development in addition to trichome and root hair formation. *Development* 2008; **135:** 1335–1345.
[16] ZHAO M, MOROHASHI K, HATLESTAD G, GROTEWOLD E, LLOYD A. The TTG1-bHLH-MYB complex controls trichome cell fate and patterning through direct targeting of regulatory loci. *Development* 2008; **135**: 1991–1999.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 02.04. 2009 r.
Przyjęto: 29.05. 2009 r.
M. Marzec,
ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice,
e-mail: marek.marzec@us.edu.pl