

# Komunikacja symplastowa – nadkomórkowy system regulacji różnicowania komórek

## STRESZCZENIE

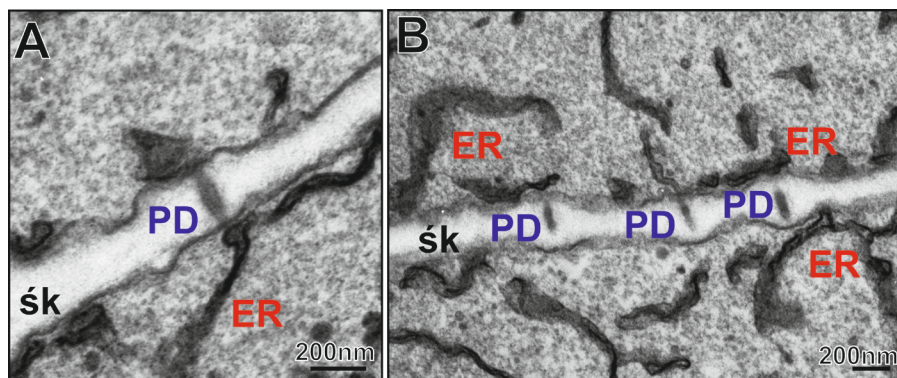
Plazmodesmy (PD) odkryte ponad 120 lat temu, ciągle stanowią zagadkę w związku z ich rolą w regulacji różnicowania komórek roślinnych. Badania ostatnich lat zweryfikowały nasze wyobrażenie nie tylko o budowie PD, ale także ich roli w wymianie informacji między komórkami organizmu roślinnego. Udział PD w przemieszczaniu się białek, w tym czynników transkrypcyjnych, hormonów oraz różnego rodzaju RNA wskazuje, że odgrywają istotną rolę w regulacji różnicowania komórek. Przemieszczanie się cząsteczek poprzez PD nazywane jest komunikacją symplastową, a jej ograniczenia lub blokada stanowią istotny element kontrolujący kierunek różnicowania komórek.

## WPROWADZENIE

Edward Tangl, w Czerniowcach, w roku 1879 [1] odkrył połączenia cytoplazmatyczne przechodzące w poprzek ściany komórkowej i już wtedy zwracał uwagę na rolę odkrytych połączeń w przemieszczaniu się substancji między komórkami, co obaliło ówczesnie panujący pogląd, że komórki roślinne funkcjonują w sposób autonomiczny. Tangl napisał: "The connecting ducts unite them (the cells) to an entity of higher order." W 1901 roku Edward Strasburger nazwał te połączenia plazmodesmami (PD; Ryc. 1). W klasycznym ujęciu PD to połączenia cytoplazmatyczne między sąsiednimi komórkami roślinnymi, które zapewniają ciągłość cytoplazmy, błony komórkowej (PM) i retikulum endoplazmatycznego (ER). Proste w swojej strukturze PD, bo składające się tylko z pokrytego PM poru cytoplazmatycznego występują u ramienic [2], a także u grzybów [3] i brunatnic [4]. PD roślin wyższych są złożonym, molekularnym kompleksem składającym się z błon i białek. Obecnie wiemy, że ta złożona struktura wyewoluowała nie tylko w celu kontrolowania dyfuzji metabolitów i małych cząsteczek między komórkami, ale także w celu wzmocnienia i regulacji międzykomórkowego transportu makrocząsteczek, w tym czynników transkrypcyjnych, o których wiadomo, że mają wpływ na procesy różnicowania komórek. Oznacza to, że dla ułatwienia transportu międzykomórkowego, rośliny wykształciły różne PD o różnej architekturze wewnętrznej, na różnych powierzchniach styku komórka-komórka wzdłuż szlaków transportowych.

## PODSTAWOWA ARCHITEKTURA PD

Najprostszy model budowy PD to kanał cytoplazmatyczny przebiegający przez ściany sąsiadujących komórek, wyścielony PM i mający w centralnej części desmotubulę (DT), czyli zaciśniętą tabulę ER pozostającą w łączności strukturalnej z ER korowym sąsiadujących komórek. W efekcie dzięki obecności PD w organizmie roślinnym mamy ciągłość błony komórkowej, cytoplazmy oraz



Rycina 1. Plazmodesmy widoczne między komórkami eksplantatu *Arabidopsis thaliana* (PD – plazmodesma; ER – retikulum endoplazmatyczne; śk – ściana komórkowa).

mgr Kamila Godel-Jędrychowska ✉,

prof. dr hab. Ewa Kurczyńska ✉

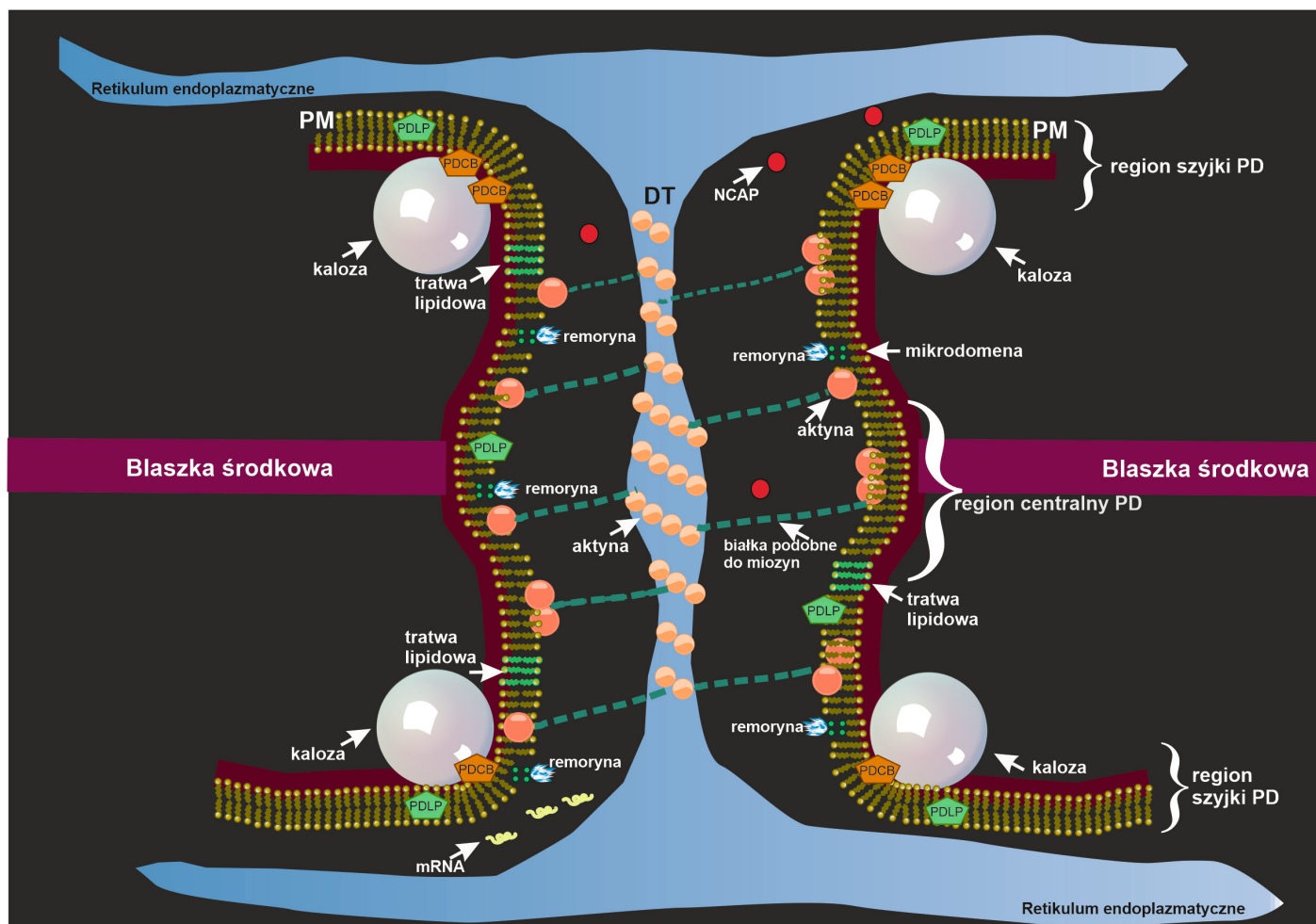
Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Śląski, Katowice

[https://doi.org/10.18388/pb.2021\\_402](https://doi.org/10.18388/pb.2021_402)

✉ autor korespondujący: ewa.kurczynska@us.edu.pl (EK); kamila.godel-jedrychowska@us.edu.pl (KGJ)

**Słowa kluczowe:** plazmodesmy, komunikacja symplastowa, różnicowanie komórek

**Wykaz stosowanych skrótów:** S – domena symplastowa; DT – desmotubula; ER – retikulum endoplazmatyczne; PD – plazmodesmy; PM – błona komórkowa; SAM – merystem apikalny pędu



Rycina 2. Schemat plazmodesmy.

ER (Ryc. 2). Obszar pomiędzy DT i PM to kanał cytoplazmatyczny, który ze względu na obecność elementów cytoszkieletu podzielony jest na mikrokanaly. Przedstawiony model odnosi się do tzw. prostych PD (podział PD i jego podstawy są opisane poniżej).

Średnica PD wynosi średnio kilkadziesiąt nm, z reguły od 25-40 nm, ale PD o większej średnicy są również opisane [5,6].

## STRUKTURA MOLEKULARNA POSZCZEGÓLNYCH KOMPONENTÓW PD

### BŁONY PD

Skład błon tworzących PD, czyli PM i DT są coraz lepiej poznane. Skład lipidów występujących w PM należącej do kompartmentu PD jest odmienny od składu lipidów w pozostałych obszarach PM niezwiązanych z PD. W efekcie w PM wyścielającej PD występują mikrodomeny lipidowe charakterystyczne tylko dla PD i określane mianem tratw lipidowych (ang. *lipid rafts*) [7]. Średnica takiej tratwy lipidowej wynosi około 200 nm, a czas jej trwania jest krótszy od 1 sekundy [8], co wskazuje na ogromną dynamikę zmian w PM.

Lipidy występujące w błonie to: fosfatydylocholina i fosfatydyloetanolamina jako składniki glicerofosfolipidów

(GPLs), glikozylceramidy (Glucer), fosfoceramidy glikozylinozytolu (GIPCs) jako składniki sfingolipidów oraz si-tosterol jako przedstawiciel steroli. W przypadku GPLs wykazano wyższy poziom nasycenia łańcuchów acylowych. Poza tym wykazano zwiększony poziom steroli i GIPCs w obrębie PM wyścielającej PD. W łańcuchach bocznych sfingolipidów stwierdzono zwiększony poziom łańcuchów wzbogaconych o pochodną sfinganiny (t18:0 phytoshinganine). Zróżnicowanie składu cytozolowej i zewnętrznej warstwy błony w obrębie PD wskazuje, że sfingolipidy zlokalizowane w zewnętrznej warstwie uczestniczą w kontroli depozycji kalozy, zaś fosfoinozytydy uczestniczą w oddziaływaniu PM i błony DT [7].

Podsumowując, w błonach PD występują mikrodomeny wzbogacone w sterole i sfingolipidy, które mogą „przyciągać” białka zawierające grupę GPI (glikozylfosfatydyloinozytol) lub inne grupy, których post-translacyjna modyfikacja dotyczy grup lipidowych (na przykład: PLASMODESMATA CALLOSE BINDING PROTEIN-PDCB i  $\beta$ -1,3-glukanaza: PdBG2) lub remoryny [8,9].

Białka występujące w obrębie błon związanych z PD są liczne, a ostatnio przeprowadzone analizy proteomiczne dla *Arabidopsis* wykazały 115 różnych białek związanych z błonami PD [10]. Wśród nich należy wymienić białka:

1/bezpośrednio zaangażowane w przemiany kalozy, 2/połączone ze ścianą oraz 3/uczestniczące w przemianach polisacharydów ściany. Białka uczestniczące w modyfikacji struktury i funkcji PD, to rodzina białek MCTPs (ang. *MULTIPLE C2 DOMAIN AND TRANSMEMBRANE REGION PROTEINS*), kinazy receptoro-podobne RLKs (ang. *receptor-like protein kinases*) oraz białka lokalizowane w PD (PDLP; ang. *PLASMODESMATA LOCATED PROTEINS*). Większość zidentyfikowanych do tej pory białek PD stwierdzono w PM wyścielającej PD. Te, które występują w błonie DT to kalneksyny i rodzina białek MCTPs [11].

Cytoskielet w obrębie kanału cytoplazmatycznego PD reprezentowany jest przez filamenty aktynowe i białka podobne do miozyny (ang. *myosin-like proteins*) oraz białkowe struktury (ang. *proteinaceous spoke-like projections*), które dzielą kanał PD na nanokanały o średnicy kilku nanometrów [7].

W obszarze PD zidentyfikowano także białka cytoskieletu oraz związane z cytoskieletem. Zarówno aktynę jak i miozynę zlokalizowano w PD dzięki badaniom z wykorzystaniem przeciwciał [12,13]. Badania na *Chara corallina* i *Arabidopsis thaliana* pokazały obecność białek podobnych do tropomiozyny (ang. *tropomyosin-like proteins*) [14]. W PD zidentyfikowano także forminę [15]. Poza tym w PD stwierdzono występowanie ARP2/3 (ang. *actin nucleation*) [16], NET (ang. *networked actin binding*) [17], ADF (ang. *actin filament severing*) [18] oraz GSD1 (ang. *GRAIN SETTING DEFECT1*) [19].

Badania wykazały, że depolimeryzacja cytoskieletu aktynowego przez cytochalazynę rozszerzała PD u *Nephrolepis exaltata* [12], a w przypadku tytoniu zwiększała SEL (ang. *size exclusion limit*) PD z 1 kDa do 20 kDa [20]. Natomiast stabilizacja mikrofilamentów spowodowała zahamowanie transportu przez PD. Takie wyniki wskazują, że filamenty aktynowe mogą stanowić szkielet wewnątrz PD dla przemieszczania się różnych cząsteczek i uczestniczyć w regulacji przemieszczania się substancji przez PD.

## ŚCIANA KOMÓRKOWA

Stwierdzono, że ściana komórkowa w obrębie PD różni się pod względem strukturalnym i biochemicznym od pozostałych jej obszarów. Podobnie jak PM i DT, ściana komórkowa wyposażona jest w specyficzne dla niej markery molekularne. Najlepiej udokumentowana jest obecność  $\beta$ -1,3-glukanu, czyli kalozy. W obrębie pektyn stwierdzono występowanie specyficznych epitopów, takich jak homogalakuronany, arabiniany oraz brak galaktanów [7]. Błazka środkowa ściany komórkowej plazmodezm jest bogatsza w pektyny, które biorą udział w hydratacji ściany, adhezji cząsteczek oraz szeroko pojętej plastyczności ściany. Dodatkowo pektyny są nisko-estryfikowane, co wiąże się ze zmniejszonym powinowactwem do jonów  $Ca^{2+}$ . Ta modyfikacja chroni ścianę komórkową przed enzymami hydrolitycznymi [21].

## GÓRNA GRANICA WIELKOŚCI CZĄSTEK (ANG. SIZE EXCLUSION LIMIT, SEL)

Przemieszczanie cząsteczek przez PD uwarunkowane jest średnicą nanokanału, która pozwala na jej przepływ.

Parametr ten określany jest jako graniczna wielkość przepływu (SEL) i wyrażana jest masą cząsteczkową związku chemicznego, który może przemieścić się przez PD. Odnosi się to oczywiście, do transportu pasywnego, czyli dyfuzji, który zależy od średnicy kanału cytoplazmatycznego, a w istocie od średnicy mikrokanałów (obecnie określanych mianem nanokanałów). Nanokanały powstają w skutek podzielenia kanału PD na mniejsze podjednostki za pośrednictwem elementów cytoskieletu oraz struktur białkowych (wiązadła białkowe), których układ przypomina układ sprężyn w rowerze (ang. *proteinaceous spoke-like projection*).

Wartość SEL podawana jest zazwyczaj w kDa. Tymczasem MEL (ang. *molecular exclusion limit*) byłaby bardziej precyzyjnym wskaźnikiem. Szybkość dyfuzji zależy bowiem od promienia cząsteczki i jak wykazały badania, niewielkie różnice w tym parametrze skutkują znacznymi różnicami w szybkości dyfuzji. Obliczenia pokazały, że jeśli średnica mikrokanału zwiększy się z 3 nm do 4 nm, to umożliwi przemieszczanie się dekstranów o średnicy 6–10 nm, zaś białek o średnicy od 4–14 nm [22]. Dlatego bardziej precyzyjna jest wartość MEL określająca SEL PD ponieważ uwzględnia promień cząsteczki. Dla przykładu dekstran o masie atomowej 20 kDa ma taki sam promień cząsteczki jak globularne białko o masie 51 kDa i wynosi około 3,2 nm. Podawanie SEL w kDa wynika z faktu, że w wielu przypadkach trudno określić średnicę analizowanej cząsteczki.

W istocie nie ma jednolitej wartości SEL, gdyż jest to wartość zmienna i zależy od typu tkanki/komórki i jej stanu rozwojowego lub fizjologicznego. SEL PD w młodych tkankach jest zwykle większe w porównaniu z tkankami dojrzałymi. Przyjmuje się, że SEL PD wynosi od kilkuset Da do kilkudziesięciu kDa.

SEL jest regulowana czasowo, przestrzennie i fizjologicznie. Na przykład GFP (ang. *green fluorescence protein*) swobodnie przemieszcza się przez PD w liściach tytoniu, które aktywnie odbierają asymilaty, natomiast w liściach donorowych ruch GFP jest mocno ograniczony. W trakcie rozwoju zarodkowego również wykazano, że SEL zmienia się wraz ze stanem rozwojowym [23]. Wartość SEL może być także specyficzna gatunkowo, bo jak pokazały badania, GFP swobodnie przemieszcza się między komórkami epidermy *Arabidopsis*, ale w przypadku pomidora i kukurydzy ruchu GFP nie stwierdzono.

## ROLA POSZCZEGÓLNYCH KOMPONENTÓW PD W ICH FUNKCJONOWANIU

### RĘKAW CYTOPLAZMATYCZNY

Poprzez rękaw cytoplazmatyczny, a w istocie poprzez jego nanokanały przemieszczają się małe cząsteczki takie jak jony, aminokwasy, niektóre białka i hormony takie jak gibereliny i ostatnio coraz częściej wskazywana, auksyna [24]. Badania ostatnich lat pokazały, że również białko zielonej fluorescencji (GFP) przemieszcza się poprzez nanokanały PD. Pionierskie badania zmierzające do określenia SEL dla PD w stanie podstawowym wykazały, że SEL zawiera się między 850–900 Da, a dla komórek epidermy ta wartość jest jeszcze mniejsza, i wynosi 370 Da [22]. Stwierdzenie przemieszczania się GFP poprzez PD, którego masa

cząsteczkowa wynosi 26 kDa, wskazuje, że wartość SEL w stanie podstawowym może być dużo większa, chociaż rozważana jest koncepcja zakładająca, że GFP poprzez PD przemieszcza się podobnie jak NCAP (ang. *non-cell autonomous proteins*).

## DESMOTUBULA

Najbardziej kontrowersyjna droga przemieszczania się przez PD dotyczy światła desmotubuli. Szereg badań potwierdziło, że tą drogą substancje nie mogą się przemieszczać [7]. Natomiast, badania na tytoniu pokazały, że cząsteczki do 10 kDa przemieszczały się poprzez desmotubulę między komórkami epidermy i komórkami włosków, natomiast GFP nie przemieszczało się [25]. Natomiast, błona desmotubuli, jak wykazały badania, może uczestniczyć w przemieszczaniu się różnych cząsteczek. Wykazano na przykład, dyfuzję diacylglicerolu wzdłuż błony desmotubuli [7]. Sugeruje się, że uruchomienie mechanizmów prowadzących do odpowiedzi roślin na atak patogenów może zasażać się na transmisji wzdłuż błony desmotubuli sygnałów lipidowych (ang. *lipid-derived signals*) [7]. Wydaje się, że udział desmotubuli w przemieszczaniu się cząsteczek/sygnałów, zarówno jej błon, jak i jej kanału wymaga dalszych badań, których wyniki mogą przyczynić się do pełnego poznania roli desmotubuli w komunikacji międzykomórkowej.

## PD A TRANSPORT SYGNAŁÓW/CZĄSTECZEK

Cząsteczki, w tym cząsteczki sygnałowe, mogą przemieszczać się poprzez PD albo na zasadzie dyfuzji prostej albo ułatwionej. Dyfuzja zachodząca poprzez rękaw PD jest wynikiem albo różnicy stężeń, albo różnicy ciśnienia hydrostatycznego. W taki sposób przemieszczają się jony, substancje drobnocząsteczkowe oraz niektóre hormony.

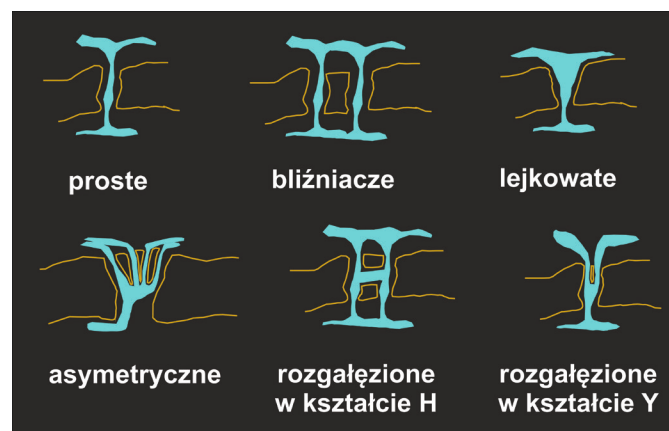
W przypadku transportu makrocząsteczek wyróżnia się dwa rodzaje transportu: a/rozproszony (ang. *non-targeted*), zachodzący na zasadzie dyfuzji, gdzie białka przemieszczające się tą drogą [określane jako białka niespecyficzne komórkowo (NCAP), czyli białka, które działają w komórkach, w których nie jest transkrybowane ich mRNA i nie zachodzi ich synteza] nie oddziałują z PD. Przykładem takiego NCAP przemieszczającego się tym sposobem może być: LFY (ang. *LEAFY*) - czynnik transkrypcyjny [26]). W przypadku transportu *ukierunkowanego* (ang. *targeted*) przemieszczanie się cząsteczki wymaga współdziałania z PD lub białkami towarzyszącymi PD [białka MP (ang. *movement proteins*), KN1 (*KNOTTED 1*) i SHR (*SHORT ROOT*) - czynniki transkrypcyjne], co jednocześnie oznacza, że ten rodzaj transportu jest selektywny [5].

Przez PD transportowane są również cząsteczki RNA, w tym mRNA oraz sRNA. Badania na ziemniaku wykorzystujące proces szczepienia pokazały, że mRNA genu *StBEL1* przemieszcza się z liści przez floem do wierzchołków stolonów [27]. Oznacza to, że mRNA *StBEL1* pełni rolę cząsteczki sygnałowej dalekiego zasięgu. Jego przemieszczanie jest indukowane przez krótki fotoperiod i regulowane przez konserwatywną, nietranskrybowaną sekwencję na końcu 3', która umożliwia przyłączenie mRNA do specyficznych

białek [27]. Wiadomo także, że niektóre NCAP przemieszczając się z komórki do komórki ułatwiają transport swojego mRNA [28]. Przykładem takiego białka może być KN1, które pośredniczy w międzykomórkowym transporcie kn1 mRNA [29]. Cząsteczki sRNA znane są ze zdolności do post-transkrypcyjnej regulacji ekspresji genów. sRNA łącząc się z homologicznymi sekwencjami mRNA blokuje translację i prowadzi do ich degradacji [30]. W ten sposób wyciszane są zarówno endogenne sekwencje roślinne jak i wirusowe [31]. Jak pokazały badania ostatnich kilkunastu lat, w zależności od rodzaju sRNA może ono działać w sposób specyficzny lub niespecyficzny komórkowo [32]. Niespecyficzne komórkowo wyciszanie genów po raz pierwszy zaobserwowano w transgenicznym roślinach tytoniu [33]. Kolejne badania z wykorzystaniem szczepionych roślin ogórka [34], tytoniu [35], czy słonecznika [36] pokazały, że sRNA przemieszcza się pomiędzy komórkami na krótkich dystansach (10–15 komórek od miejsca syntezy) drogą symplastową oraz długodystansowo - floemem.

## MORFOLOGIA PD

Można wyróżnić kilka typów morfologicznych PD, które wyszczególniono na rycinie 3. *Proste* (ang. *simple*) PD to pojedynczy kanał między sąsiadującymi komórkami. Ten typ PD występuje przede wszystkim między komórkami niezróżnicowanymi, pozwalając na swobodny przepływ sygnałów w trakcie różnicowania [9]. W trakcie rozwoju, PD są modyfikowane strukturalnie i najczęściej stają się *rozgałęzione/złożone* (ang. *branched*). W takich PD stwierdzono różną liczbę kanałów, które ze sobą łączą się lub rozdzielają. SEL takich PD z reguły jest mniejsze od PD prostych. Proste PD zazwyczaj nie występują pojedynczo tylko w parach, i wówczas taką parę PD nazywamy PD *bliźniaczymi* (ang. *twinned*). PD *asymetryczne* występują między komórkami towarzyszącymi a rurkami sitowymi tworząc unikalną strukturę nazywaną - *plasmodesmata-pore unit*. PD *lejkowate* (ang. *funnel*) to PD zidentyfikowane między komórkami floemu a perycyklem od strony floemowej w strefie załadunku asymilatów w korzeniu. Okazało się, że przez ten rodzaj PD mogą przemieszczać się cząsteczki o masie do 112 kDa. Przeprowadzone badania pokazały także, że lejkowate PD mają DT, ale nie mają elementów łączących błonę DT i PM [9]. PD *typu I* zostały opisane niedawno [37] dla komórek kolumelli korzenia *Arabidopsis* i charakteryzują się bra-



Rycina 3. Morfologiczne typy PD.

kiem widocznego rękawa cytoplazmatycznego. Pomimo tego, GFP swobodnie przemieszcza się przez takie PD. PD typu II zostały wyróżnione ze względu na zidentyfikowanie PD typu I, i są to typowe PD.

Należy jeszcze zwrócić uwagę na podział PD na *pierwotne* (ang. *primary*) i *wtórne* (ang. *secondary*). PD *pierwotne* powstają w trakcie cytokinezy, gdzie cysterny ER pozostają „uwieżone” między formowaną przegrodą pierwotną. PD *wtórne* powstają w istniejących już ścianach komórkowych, a więc określane są mianem post-cytokinetycznych. Ten rodzaj PD powstaje całkowicie *de novo*. Mechanizmy, dzięki którym wyznaczana jest ich lokalizacja, zachodzące zmiany strukturalne i chemiczne ściany komórkowej, a przede wszystkim formowanie desmotubuli, jest bardzo słabo poznane. Badania wykazały, że SEL *wtórnych* PD jest mniejsze w porównaniu do *pierwotnych* PD. Niewątpliwie PD *wtórne* można znaleźć pomiędzy chimerami lub komórkami zrazu i podkładki w czasie szczepienia roślin, co wskazuje na niezwykłą elastyczność komórek roślinnych w celu zapewnienia obecności odpowiedniej liczby PD dla rozwoju roślin. Dlatego, dla komunikacji symplastowej, nie tylko przepustowość PD jest istotna ale również ich liczba [9].

PD mogą występować w czterech stanach konformacyjnych, które wyróżniono ze względu na mechanizmy regulujące możliwości przemieszczania się substancji poprzez PD. W stanie konformacyjnym *zamkniętym* (ang. *closed/blocked*) przemieszczanie cząsteczek poprzez PD nie jest możliwe. W stanie nazywanym *otwartym/spoczynkowym* (ang. *open/resting*) przez PD mogą przemieszczać się tylko cząsteczki, których wielkość jest mniejsza niż SEL PD i do takich cząsteczek należą jony, niektóre hormony, białka, cukry lub aminokwasy. W stanie określanym jako *rozszerzony* (ang. *dilated*), mogą przemieszczać się cząsteczki większe (powyżej 1 kDa), a możliwe to jest albo poprzez rozkład kalozy, albo wiązanie NCAP do błony kanału PD za pośrednictwem odpowiedniego receptora zwiększającego PD SEL [38]. Ostatni wyróżniony stan konformacyjny PD nazywany jest *brankowanym* (ang. *gated*), a został wyróżniony ze względu na fakt, że w tym stanie przez PD, przemieszczają się cząsteczki, które mają sekwencje sygnałowe kierujące je do PD, gdzie kompleks NCAP-czaperon łączy się z PD zwiększając SEL. Warto dodać, że w tym przypadku dochodzi do rozwinięcia białka, które ma przejść przez PD [38].

### KALOZA JAKO CZYNNIK REGULUJĄCY PRZEPUSTOWOŚĆ PD

Kaloza jest polisacharydem roślinnym z rodziny  $\beta$ -glukanów i zbudowana jest z reszt glukozy połączonych wiązaniami  $\beta$ -1,3. Kaloza syntetyzowana jest z udziałem syntazy kalozy, zaś jej rozkład zachodzi z udziałem  $\beta$ -1,3-glukanazy. Udział kalozy w regulacji przemieszczania się substancji przez PD potwierdzony jest szeregiem badań [39]. Kontrola SEL PD zależna od kalozy jest ściśle powiązana z powstawaniem domen symplastowych, w obrębie których, komórki realizują odmienne programy rozwojowe [40,41].

Badania ostatnich lat pokazały, że przepustowość PD może być regulowana poprzez mechanizm niezależny od

kalozy. Mianowicie, kwas salicylowy (SA) powoduje zależne od remoryny tworzenie nanodomen lipidowych błony komórkowej w obszarze PD, co skutkuje wzrostem plastyczności błony ograniczając średnicę PD [42]. Kolejnym przykładem może być pierścień o charakterze białkowym tzw. zwieracz (ang. *sphincter*), który znajduje się w regionie szyjki PD, a jego działanie jest niezależne od procesu odkładania się kalozy [21].

### DOMENY SYMPLASTOWE

Komunikacja międzykomórkowa (ang. *cell-to-cell communication*) jest podstawowym parametrem koordynującym rozwój organizmu wielokomórkowego, zarówno zwierzęcego jak i roślinnego. Tworzenie wzorów przestrzennych i specyfikacja programu rozwojowego poszczególnych komórek wymaga takiej wymiany informacji, stanowiąc jednocześnie informację pozycyjną, która u roślin, jest szczególnie istotna. W przypadku organizmów roślinnych o tym, jaką drogę rozwoju obierze dana komórka decyduje informacja pozycyjna, czyli położenie komórki w organie. To od informacji pozycyjnej zależy, jaki zespół czynników chemicznych i fizycznych wynikających z sąsiedztwa innych komórek będzie na nią oddziaływał [43].

Dlaczego badanie komunikacji symplastowej w trakcie rozwoju roślin jest ważne? Co stanowi o tym, że PD można rozpatrywać jako element ponadkomórkowego systemu wymiany informacji?

Określenie, które komórki i tkanki komunikują się poprzez PD pozwala stwierdzić kiedy i gdzie zachodzi przekazywanie sygnałów związanych z ich różnicowaniem. Wiadomo bowiem, że przez PD mogą przechodzić białka (w tym czynniki transkrypcyjne) oraz kwasy rybonukleinowe (w tym mRNA). Ponieważ wymienione wyżej cząsteczki mają istotny wpływ na różnicowanie komórek, można przyjąć, że regulacja ich przemieszczania się poprzez zmianę przepustowości PD może mieć wpływ na regulację różnicowania komórek.

Zmiany komunikacji symplastowej poprzez zmianę liczby PD oraz ich przepustowości wskazują na precyzyjną regulację tego procesu. Oznacza to, że PD i komunikacja symplastowa stanowią istotny czynnik wpływający na różnicowanie komórek oraz morfogenezę roślin. Klasyczne badania pokazały, że zmiana programu ekspresji genów jest skorelowana ze zmianami w komunikacji symplastowej, wyrażającej się zmianą liczby PD lub ich przepustowości. Przykłady takiej zależności to: 1/tumory „crown gall” – brak połączenia za pośrednictwem PD z tkankami otaczającymi [44], 2/Chara – zanik połączeń plazmodesmalnych warunkuje prawidłowy przebieg spermatogenezy [45], 3/przedrośla paproci *Onoclea sensibilis* – zablokowanie komunikacji poprzez PD skutkuje uzyskaniem totipotencji komórek, i w konsekwencji wytwarzaniem nowych przedrośli przez te komórki [46].

Stwierdzenie występowania PD może sugerować, że ciało rośliny jest pojedynczym symplastem, czyli wszystkie komórki przez cały okres życia rośliny są połączone poprzez funkcjonalne PD. Okazuje się jednak, że w rzeczywistości

ciało rośliny podzielone jest na niezależne podjednostki funkcjonalne określane mianem domen symplastowych (DS).

W obrębie symplastu można wyróżnić tzw. trwałe DS charakteryzujące się brakiem PD na granicy domeny, a przykładem takiej domeny jest szparka. DS nietrwałą nazywamy obszar komórek, który jest izolowany od reszty rośliny na zasadzie nie braku PD, ale ograniczonej przepustowości dla białek (a być może również dla niektórych jonów) w PD na granicy domeny. W trakcie rozwoju rośliny, to właśnie DS nietrwałe są najważniejsze i jednocześnie najciekawsze do badania związku między komunikacją symplastową a różnicowaniem komórek. Międzykomórkowe przemieszczanie się czynników transkrypcyjnych i regulatorowych RNAs jest niezbędne do ustalenia tożsamości komórkowej w merystemach i tkankach. Wniosek ten poparty jest wynikami badań na liniach transgenicznym Arabidopsis z zablokowaną możliwością przemieszczania się cząsteczek sygnałowych przez PD, w wyniku czego dochodzi do poważnych defektów rozwojowych zarodków, w tym efektów letalnych [47]. Poniżej przedstawiono niektóre przykłady takiej zależności w trakcie morfogenezy roślin.

#### PRZYKŁADY ZMIAN W KOMUNIKACJI SYMPLASTOWEJ SKORELOWANE Z RÓŻNICOWANIEM KOMÓREK

##### EMBRIOGENEZA

Badania na *Torenia fournieri* wykazały, że między komórką jajową a komórką centralną zachodzi intensywny transport symplastowy, który maleje tuż przed zapłodnieniem, zaś po zapłodnieniu zanika zupełnie między bielmem a zygotą [48]. Badania te wskazują, na izolację symplastową kolejnych pokoleń oraz izolację między różnymi genotypami. Klasyczne już obecnie badania zygotycznej embriogenezy *Arabidopsis thaliana*, pokazały czasowo-przestrzenną zależność między powstającymi domenami symplastowymi a wykształcaniem się organów i tkanek zarodkowych [29,49]. Wykazano, że mutacja typu *ise 1* (ang. *increased size exclusion limit*) prowadząca do zablokowania zmniejszania się SEL w trakcie embriogenezy Arabidopsis, w wyniku której komórki ryzodermy różnicowały się tylko w typ włóśnikowy, jasno pokazała zależność między różnicowaniem komórek a komunikacją symplastową. Badania komunikacji symplastowej w trakcie somatycznej embriogenezy na przykładzie Arabidopsis wykazały, że izolacja symplastowa jest niezbędnym czynnikiem dla przejścia komórek ze stanu somatycznego w embriogeny [41,50]. Podobną zasadę wykazano w trakcie somatycznej embriogenezy paproci drzewiastej *Cyathea delgadii* Sternb [51].

Czynniki transkrypcyjne takie jak SHR i TARGET OF MONOPTEROUS (TMO7) działają w zarodku w celu kontroli specyfikacji losów komórek. Zarówno aktywność/mobilność SHR, jak i TMO7 jest regulowana poprzez interakcję z czynnikiem embriogenezy SHORTROOT INTERACTING EMBRYONIC LETHAL (SIEL), które wyraźnie wskazują na znaczenie przemieszczania się tych czynników poprzez PD w trakcie rozwoju korzenia [52]. To oznacza, że rozwój embrionalny merystemu korzenia jest wysoce zależny od komunikacji symplastowej umożliwiającej przemieszczanie

się czynników transkrypcyjnych regulujących los komórek w merystemie.

##### ROZWÓJ POST-EMBRIONALNY

Okazało się także, że komunikacja/izolacja symplastowa jest niezbędnym elementem kontrolującym różnicowanie komórek w merystemach, gdzie czynniki transkrypcyjne i inne cząsteczki sygnałowe, przemieszczają się lub nie, w celu określenia losów komórek i rozwoju tkanek.

Oprócz czynników transkrypcyjnych, sygnały takie jak sRNA i mikroRNA przemieszczają się poprzez PD i uczestniczą w wyciszaniu genów w merystemach. Rola PD w utrzymaniu tożsamości komórek w merystemach wierzchołkowych [53] pokazuje, że receptory Clavata1 (CLV1) i Arabidopsis Crinkly 4 (ACR4) wchodzi w interakcję z PD (i prawdopodobnie kontrolują przemieszczanie się sygnałów poprzez PD) w celu utrzymania nisz komórek macierzystych korzenia. W merystemie wierzchołkowym pędu przemieszczanie się czynnika transkrypcyjnego należącego do rodziny homeoboxu KNOTTED1 (białka KNOX) okazały się kontrolować utrzymanie tożsamości komórek macierzystych [54]. Ostatnie badania ujawniły w tym mechanizmie nowy składnik jakim jest białko opiekuńcze zaangażowane w prawidłowe fałdowanie białek KNOX po translokacji przez PD [55].

Okazało się, że długodystansowy transport białka FLOWERING LOCUS T (FT), które reguluje kwitnienie poprzez regulację przechodzenia merystemu z fazy wegetatywnej w generatywną również zachodzi poprzez PD [56]. FT jest również wymagane do przerywania spoczynku pąków u topoli [57]. Jego mobilność zależy od aktywności  $\beta$ -1,3 glukanaz zlokalizowanych w PD, a indukowanych przez kwas giberelinowy w uspionych pąkach. Co ciekawe, aktywacja przemieszczania się FT zwiększała przepuszczalność PD, co znacząco wpływało na indukcję kwitnienia roślin uprawnych [56].

Rozwój komórek włóśnikowych korzeni i korzeni bocznych zwiększa zdolność korzenia do pozyskiwania wody i innych składników odżywczych z gleby. Te procesy są regulowane transportem fitohormonów i aktywacją szlaków sygnałowych, które promują podział komórek [57]. Kluczowa rola transportu za pośrednictwem PD takich czynników jak CPC (ang. *CAPRICE*) [58] w różnicowaniu komórek włóśnikowych została potwierdzona eksperymentalnie [11]. Badania na korzeniach jęczmienia również pokazały korelację między komunikacją symplastową, a różnicowaniem się komórek ryzodermy [59]. Zidentyfikowano plazmodesmalne białko, podobne do germin, PDGLP (ang. *plasmodesmata germin-like proteins*) uczestniczące w kontroli przemieszczania się cząsteczek sygnałowych między korzeniem głównym a merystemami korzeni bocznych [60]. Najnowsze dowody sugerują, że zamknięcie łączności PD łyka modyfikuje podstawowy transport cytokiny, która wpływa na polarny transport auksyny i układ naczyniowy w merystemie korzeniowym [61].

W trakcie rozwoju korzeni bocznych opisano ograniczenia transportu symplastowego między łykiem, a komórka-

mi perycyklu dającymi początek korzeniom bocznym [62]. Następnie łączność symplastowa zostaje przywrócona, aby znowu być ograniczona między komórkami łyka, a zawiązkami korzeni bocznych [62]. Te wyniki oznaczają, że zmiana kierunku różnicowania komórek wymaga ograniczeń w komunikacji symplastowej [63].

Na podstawie badań ostatnich lat wiadomo, że wiele czynników transkrypcyjnych i cząsteczek sygnałowych zaangażowanych w regulację różnicowania komórek i tkanek, a co za tym idzie, regulujących morfogenezę roślin, przemieszcza się przez PD, a ich przemieszczanie skorelowane jest z różnicowaniem i specyfikacją komórek i tkanek [64]. Zidentyfikowane do tej pory czynniki transkrypcyjne i cząsteczki sygnałowe to na przykład: a/AHL 3 i AHL4 (ang. *AT-HOOK MOTIF NUCLEAR LOCALIZED PROTEIN 3 i 4*, uczestniczące w specyfikacji ksylemu, a przemieszczające się z komórek prokambium do ksylemu [65], b/PLT2 (ang. *PLETHORA2*) kontroluje wykształcanie się stref korzenia [66], c/SHR, który przemieszcza się od steli do endodermii i reguluje formowanie się tkanki podstawowej [67], d/WUS (ang. *WUSCHEL*) przemieszczający się z centrum organizacyjnego merystemu wierzchołkowego SAM do warstwy L1 i L2, dzięki czemu utrzymana jest organizacja wierzchołka [68], e/FT kontrolujący przejście do fazy kwitnienia dzięki przemieszczaniu się od liści w stronę SAM [69], f/SPCH (ang. *SPEECH-LESS*) dyfundujący pomiędzy komórkami epidermy, który uczestniczy w specyfikacji komórek szparkowych [70], g/KN1/STM (ang. *KNOTTED1*) kontroluje utrzymanie specyfikacji komórek SAM [71], h/AN3 (ang. *ANGUSTIFOLIA3*) reguluje rozwój liści [72], i/Cyp1 (ang. *CYCLOPHILIN 1*) w korzeniach pomidora reguluje ich wzrost [73], j/miR165/6 przemieszczający się od endodermii do steli, co determinuje specyfikację ksylemu [74], k/miR394 regulujący utrzymanie SAM poprzez przemieszczanie się z warstwy L1 do warstw wewnętrznych SAM [75], l/tasiR-ARF utrzymujący polarność liści gdyż przemieszcza się od strony adaksjalnej do abaksjalnej [76] oraz m/IAA18 i IAA28 mRNA regulujące formowanie się korzeni bocznych, a przemieszczające się od dojrzałych liści do korzeni [5, 64, 77].

## ZMIANY KOMUNIKACJI SYMPLASTOWEJ A REAKCJA ROŚLIN NA STRES BIOTYCZNY I ABIOTYCZNY

Reakcja roślin na stres objawia się odkładaniem kalozy w PD i przez to reguluje przemieszczanie się cząsteczek między komórkami [78]. Odkładanie kalozy następuje w ciągu kilku minut w reakcji na stres biotyczny i abiotyczny. Badania nad regulacją syntezy kalozy w odpowiedzi na stesy abiotyczne obejmują te, dotyczące stresu związanego z niską temperaturą [79], zranieniem [80], wysoką temperaturą [81] oraz w reakcji na skażenie metalami ciężkimi [82]. Z kolei stres oksydacyjny powodujący akumulację reaktywnych form tlenu ROS (ang. *reactive oxygen species*) lub tlenków azotu (NO) może indukować odkładanie kalozy w PD [80, 83]. Szczególnie warto podkreślić badania nad genem *GAT1* (ang. *gfp arrested trafficking 1*), który koduje tioredoksynę typu m. Wyniki badań wykazały, że ROS są kluczowymi regulatorami homeostazy kalozy u *Arabidopsis*. Mutacja *gat1* spowodowała zwiększoną akumulację kalozy zlokalizowaną w PD, podobną do

odpowiedzi roślin typu dzikiego traktowanych chemicznie utleniaczami [83].

Stesy biotyczne również prowadzą do odkładania kalozy w PD, dlatego rozprzestrzenianie się między komórkami wirusów i infekcji grzybiczej jest ograniczone [84], co sugeruje, że odkładanie kalozy jest wczesnym mechanizmem obronnym roślin w odpowiedzi na ataki patogenów. Wiele wirusów indukuje akumulację kalozy w PD, w tym wirus mozaiki tytoniu TMV (ang. *tobacco mosaic virus*) [84], wirus mozaiki karłowatości kukurydzy SCMV (ang. *maize dwarf mosaic virus*) [85] i wirus więdnienia bobu [86]. Co zaskakujące, wykazano że niektóre białka MP (ang. *movement proteins*) mogą indukować BG ( $\beta$ -1,3-glukanazę) u roślin [87]. Nadal kontrowersyjne jest to, czy wzrost poziomu BG jest częścią obrony rośliny, czy strategii wirusowej mającej na celu otwarcie PD w celu ułatwienia rozprzestrzeniania się do sąsiednich komórek [87]. Zavaliev i inni [88] stwierdzili, że indukcja genów: *AtBG2* i *AtBG3*, przez wirusa TVCV (ang. *turnip vein clearing virus*) i wirusa mozaiki ogórka CMV (ang. *cucumber mosaic virus*), może świadczyć o rozkładzie kalozy w celu łatwiejszego rozprzestrzeniania się wirusa pomiędzy komórkami roślinnymi. Z kolei *AtBG2*, który jest wydzielany do apoplastu w odpowiedzi na stres, w której pośredniczy kwas salicylowy (SA) wydaje się nie być zaangażowany w regulację rozprzestrzeniania się wirusa przez PD, ponieważ ani mutant *atbg2*, ani nadekspresja *AtBG2* w *Nicotiana benthamiana* nie wpływały na zakażenie TVCV, przepuszczalność PD lub odkładanie kalozy. Jednym z możliwych wyjaśnień jest to, że kaloza może utrudniać mechanizmy obronne roślin przed patogenem. Kaloza indukowana patogenem może negatywnie regulować szlak sygnalizacyjny SA roślin, a brak kalozy może wzmacniać sygnalizację SA, co skutkuje zwiększoną odpornością na patogen [89].

Przykładem zmniejszenia SEL poprzez odkładanie kalozy w przebiegu infekcji bakteryjnej może być odpowiedź na zakażenie *Pseudomonas syringae*. Traktowanie patogenem bakteryjnym indukowało ekspresję *PDLP5* (ang. *PLASMODESMAL-LOCALIZED PROTEIN 5*) [11]. Co więcej, *PDLP5* wpłynęło na podatność rośliny na inwazję patogenów bakteryjnych, a linie z nadekspresją *PDLP5* były odporne na *P. syringae*, podczas gdy mutanty *pdlp5-1* były wrażliwe [11].

Oczywisty wydaje się więc fakt, że komunikacja symplastowa regulowana jest przez sygnały rozwojowe i środowiskowe, a PD stanowią istotną rolę w obronie przed patogenami. Kontrola przepustowości PD w czasie rozwoju i zmian czynników środowiskowych, zależy również od komunikacji PD i organelli ONPS (ang. *organelle-nucleus-plasmodesmata signaling*). Model komunikacji ONPS wskazuje w głównej mierze na udział chloroplastów w regulacji PD, poprzez komunikację z jądrem i kontrolę ekspresji genów związanych z PD lub bezpośredni wpływ na PD, bez zmian ekspresji genów [90]. Ten model oparty jest na badaniach, które pokazują, że rośliny z defektami w funkcjonowaniu chloroplastów wykazują zmiany w transporcie międzkomórkowym zachodzącym przez PD [91]. Co ciekawe, zmiany wartości SEL PD związane były ze zmianą ekspresji genu *ISE2* (ang. *- Increased Size Exclusion Limit2*)

kodującego chloroplastową helikazę RNA. Gen *ISE2* jest istotny w obróbce chloroplastowego RNA. Zmniejszenie ekspresji *ISE2* wpływa na zmiany poziomu ekspresji wielu genów, transkrybowanych w jądrze, skutkując na przykład zmienioną akumulacją białek w rybosomach oraz zaburzeniami w komunikacji chloroplast-jądro komórkowe [90,91]. Wyniki te potwierdzają, że zmiany ekspresji genów chloroplastowych mogą modulować funkcję PD poprzez wpływ i regulację ekspresji genów jądrowych. Innym przykładem genów biorących udział w regulacji transportu przez PD, na zasadzie komunikacji ONPS mogą być geny: *ISE1* (ang. *Increased Size Exclusion Limit1*) i *GAT1* (opis powyżej). Gen *ISE1* koduje mitochondrialną helikazę DNA i kontroluje funkcjonowanie mitochondrium oraz transport międzykomórkowy przez PD. Podobnie jak u mutantów *ise2*, u *ise1* zaobserwowano zwiększenie efektywności transportu przez PD. Wycieszenie genu *ISE1* powoduje obniżenie potencjału redox chloroplastów i w żaden sposób nie wpływa na potencjał oksydoredukcyjny mitochondriów. U mutantów *ise1* i *ise2* obserwuje się taki sam fenotyp, dlatego można sądzić, że podwyższenie potencjału redox mitochondriów i jego obniżenie w przypadku chloroplastów powoduje wzrost przepuszczalności plazmodesm, co z kolei jest przykładem komunikacji ONPS bez udziału jądra komórkowego. Chociaż mutanty *gat1* oraz *ise1* i *ise2* mają przeciwstawny efekt w kontroli transportu przez plazmodesmy, to u obu mutantów można zaobserwować występowanie rozgałęzionych plazmodesm [83, 92]. Ponadto, chloroplasty mogą brać udział w nabyciu systemowej odporności SAR (ang. *systemic acquired resistance*) poprzez kontrolę przemieszczania się cząsteczek sygnałowych oraz białek SAR (ang. *SAR-related proteins*), dzięki lokalizacji białek PDLP1 and PDLP5 w błonie komórkowej plazmodesm [93]. Nadekspresja *PDL5* zmniejsza przepustowość PD, a także promuje mechanizmy obronne za pośrednictwem SA. Związek między PD i reakcją roślin na stress są poparte danymi pokazującymi, że rośliny z mutacjami lub nadespresją genów wpływających na przepustowość i transport komórkowy poprzez PD mają mniejszą odporność na infekcje wirusowe [34]. W ten sposób chloroplasty kontrolują zarówno produkcję jak i dystrybucję cząsteczek sygnalizacyjnych dla układu ONPS, dającą chloroplastom znakomitą kontrolę nad reakcjami kontrolującymi przepustowość PD w tym, w reakcji na drobnoustroje [90].

#### PORÓWNANIE POŁĄCZENIA SZCZELINOWEGO TYPU NEKSUS (ANG. *GAP JUNCTION*) Z PD ORAZ NANORURKI TUNELUJĄCE (TNT)

Na koniec warto wspomnieć o dwóch rodzajach połączeń międzykomórkowych w organizmach zwierzęcych. Jednym z nich jest tzw. neksus (połączenie komunikacyjne jonowo-metaboliczne) czyli kanał hydrofilowy o średnicy 2–5 nm między sąsiadującymi komórkami. Neksus występuje w większości tkanek u niemal wszystkich zwierząt. Stan konformacyjny neksusa kontrolowany jest przez koneksyny i jest podatny na różnice potencjałów między komórkami, potencjał błonowy każdej komórki, pH oraz stężenia jonów wapnia. Cząsteczki, które mogą przemieszczać się przez kanał to jony, cukry i nukleotydy, ale cząsteczki o masie większej niż 1 kDa nie przemieszczają się przez to połączenie. To co istotne, to coraz liczniejsze informacje, że

pełnią podobne do PD, funkcje w organizmie zwierzęcym, w sensie regulacji różnicowania komórek.

W ostatnich latach stwierdzono występowanie zarówno u zwierząt, jak i bakterii, połączeń określanych mianem nanorurek tunelujących (ang. *tunnelling nanotubes - TNT*). Najnowsze doniesienia naukowe wskazują, że TNT mogą stanowić drogę przemieszczania się niektórych wirusów, w tym wirusa HIV [94]. Dzięki intensywnie prowadzonym badaniom coraz więcej wiadomo nie tylko na temat budowy TNT, ich funkcji ale także mechanizmów regulujących ich powstawanie i funkcjonowanie zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo* [95]. TNT często są porównywane do PD, ponieważ wykazują pewne podobieństwa w budowie (kanały wyścielone błoną komórkową, obecność pręta centralnego) [96] i prawdopodobnie posiadają podobne mechanizmy regulacji transportu międzykomórkowego. Wskazują na to badania pokazujące, że homeodomena roślinnego białka KNOTTED1 (KN1; białko transportowane drogą symplastową), może się przemieszczać pomiędzy komórkami zwierzęcymi przez TNT. Ponadto, wprowadzenie mutacji w sekwencji homeodomeny KN1 powodującej zablokowanie transportu przez PD u roślin, powoduje zatrzymanie transportu tej cząsteczki przez TNT pomiędzy komórkami zwierzęcymi [97]. W bakteriach TNT mogą funkcjonować między komórkami tego samego lub różnych gatunków [98]. W roślinach PD mogą łączyć różne gatunki co stwierdzono badając przemieszczanie się różnych cząsteczek w trakcie szczepienia różnych gatunków roślin lub infekcji wirusowej [9]. Wykazano, że wirusy ewoluowały tak, aby wykorzystać TNT do rozprzestrzeniania się w obrębie organizmu zwierzęcego. W przypadku roślin przemieszczanie wirusów poprzez PD jest doskonale udokumentowane [99]. W organizmach zwierzęcych TNT są wykorzystywane do rozprzestrzeniania informacji o ataku wirusa, podobnie jak PD służą do „informowania” niezainfekowanych komórek roślinnych o ataku patogenu [100]. Stąd, chociaż mogą różnić się szczegółami kompozycyjnymi i mechanicznymi, TNT mogą być uważane, w istocie za pokryte błoną, symplazmatyczne kanały komunikacyjne, podobnie jak PD [101]. Fakt, że kanały te (zarówno PD jak i TNT) występują u prawie wszystkich organizmów wskazuje, że strategia tworzenia porów cytoplazmatycznych okrytych błoną jest szeroko rozpowszechniona wśród organizmów żywych [9].

#### PODSUMOWANIE

Istnieje czasowo-przestrzenna korelacja pomiędzy tworzeniem się domen symplastowych a różnicowaniem komórek.

Komórki różnicujące się w odmiennych kierunkach podlegają izolacji symplastowej.

PD można uważać za element ponadkomórkowego systemu wymiany informacji uczestniczącego w regulacji morfogenezy roślin.

Mimo wielu badań nad budową i funkcjonowaniem PD, ciągle wiele pytań pozostaje bez odpowiedzi. Na przykład, w jaki sposób zaangażowane są PD-RLKs/RLPs w proces udziału PD w regulację wzrostu i rozwoju roślin? Na razie



wiadomo, że pod wpływem stresu biotycznego czy abiotycznego dochodzi do ich relokacji z PM do PD-PM stymulując akumulację kalozy [78]. O ile mechanizm kontrolujący przepustowość PD związany z odkładaniem kalozy jest dobrze udokumentowany, to konieczne są dalsze badania nad regulacją mechanizmów kontrolujących PD SEL niezależnych od kalozy, na przykład udział auksyny w tym procesie.

## PIŚMIENNICTWO

- Tangl E (1879) Ueber offene Communicationen zwischen den Zellen des Endosperms einiger Samen. Jahrbuecher fuer Wissenschaftliche Botanik 12: 170-190
- Cook ME, Graham LE, Botha CE, Lavin CA (1997) Comparative ultrastructure of plasmodesmata of Chara and selected bryophytes: toward an elucidation of the evolutionary origin of plant plasmodesmata. Am J Bot 84: 1169-1178
- Hawker LE, Gooday MA, Bracker CE (1966) Plasmodesmata in fungal cell walls. Nature 212: 635-635
- Terauchi M, Nagasato C, Motomura T (2015) Plasmodesmata of brown algae. J Plant Res 128: 7-15
- Wróbel-Marek J, Kulińska-Lukaszek K, Kurczyńska EU (2015) Komunikacja symplastowa i jej rola w rozwoju roślin. Postępy Biologii Komórki 42(3): 573-594
- Kurczyńska EU (2008) Komunikacja symplastowa: terminologia, fluorochromy i embriogeneza *Arabidopsis thaliana*. Postępy Biologii Komórki 35: 31-43
- Li ZP, Paterlini A, Glavier M, Bayer EM (2021) Intercellular trafficking *via* plasmodesmata: molecular layers of complexity. Cell Mol Life Sci 78: 799-816
- Tilsner J, Amari K, Torrance L (2011) Plasmodesmata viewed as specialised membrane adhesion sites. Protoplasma 248: 39-60
- Sager RE, Lee JY (2018) Plasmodesmata at a glance. J Cell Sci 131(11):jcs209346
- Brault ML, Petit JD, Immel F, Nicolas WJ, Glavier M, Brocard L, Bayer EM (2019) Multiple C2 domains and transmembrane region proteins (MC1P s) tether membranes at plasmodesmata. EMBO Rep 20: e47182
- Lee JY, Wang X, Cui W, Sager R, Modla S, Czymmek K, Lakshmanan V (2011) A plasmodesmata-localized protein mediates crosstalk between cell-to-cell communication and innate immunity in Arabidopsis. Plant Cell 23: 3353-3373
- White RG, Badelt K, Overall RL, Vesik M (1994) Actin associated with plasmodesmata. Protoplasma 180: 169-184
- Baluška F, Cvrcková F, Kendrick-Jones J, Volkmann D (2001) Sink plasmodesmata as gateways for phloem unloading. Myosin VIII and calreticulin as molecular determinants of sink strength?. Plant Physiol 126: 39-46
- Faulkner CR, Blackman LM, Collings DA, Cordwell SJ, Overall RL (2009) Anti-tropomyosin antibodies co-localise with actin microfilaments and label plasmodesmata. Eur J Cell Biol 88: 357-369
- Diao M, Huang S (2021) An Update on the Role of the Actin Cytoskeleton in Plasmodesmata: A Focus on Formins. Front Plant Sci 12: 191
- Van Gestel K, Slegers H, Von Witsch M, Šamaj J, Baluška F, Verbelen JP (2003) Immunological evidence for the presence of plant homologues of the actin-related protein Arp3 in tobacco and maize: subcellular localization to actin-enriched pit fields and emerging root hairs. Protoplasma 222: 45-52
- Deeks MJ, Calcutt JR, Ingle EK, Hawkins TJ, Chapman S, Richardson AC, Hussey PJ (2012) A superfamily of actin-binding proteins at the actin-membrane nexus of higher plants. Curr Biol 22: 1595-1600
- Fernandez-Calvino L, Faulkner C, Maule A (2011) Plasmodesmata as active conduits for virus cell-to-cell movement. J Plant Phys 8: 47-74
- Gui J, Zheng S, Shen J, Li L (2015) Grain setting defect1 (GSD1) function in rice depends on S-acylation and interacts with actin 1 (OsACT1) at its C-terminal. Front Plant Sci 6: 804
- Ding B, Kwon MO, Warnberg L (1996) Evidence that actin filaments are involved in controlling the permeability of plasmodesmata in tobacco mesophyll. Plant J 10: 157-164
- Overall RL (1999) Substructure of plasmodesmata. W: van BelWilhelmus AJE, Van Kesteren JP (red) Plasmodesmata Structure, Function, Role in Cell Communication. Springer, Berlin, Heidelberg str. 129-148
- Roberts A, Oparka (2003) Plasmodesmata and the control of symplastic transport. Plant Cell Environ. Plant Cell Environ 26: 103-124
- Band LR (2021) Auxin fluxes through plasmodesmata. New Phytol doi.org/10.1111/nph.17517
- Barton DA, Cole L, Collings DA, Liu DY, Smith PM, Day DA, Overall RL (2011) Cell-to-cell transport via the lumen of the endoplasmic reticulum. Plant J 66: 806-817
- Wu X, Dinneny JR, Crawford KM, Rhee Y, Citovsky V, Zambryski PC, Weigel D (2003) Modes of intercellular transcription factor movement in the Arabidopsis apex. Development 130: 3735-3745
- Banerjee AK, Chatterjee M, Yu Y, Suh SG, Miller WA, Hannapel DJ (2006) Dynamics of a mobile RNA of potato involved in a long-distance signaling pathway. Plant Cell 18: 3443-3457
- Xoconostle-Cázares B, Ruiz-Medrano R, Lucas WJ (2000) Proteolytic processing of CmPP36, a protein from the cytochrome b5 reductase family, is required for entry into the phloem translocation pathway. Plant J 24: 735-747
- Kim JY, Yuan Z, Cilia M, Khalfan-Jagani Z, Jackson D (2002) Intercellular trafficking of a *KNOTTED1* green fluorescent protein fusion in the leaf and shoot meristem of Arabidopsis. Proc Natl Acad Sci USA 99: 4103-4108
- Voinnet O (2009) Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs. Cell 136: 669-687.
- Mlotshwa S, Pruss GJ, Vance V (2008) Small RNAs in viral infection and host defense. Trends Plant Sci 13: 375-382
- Tretter EM, Alvarez JP, Eshed Y, Bowman JL (2008) Activity range of Arabidopsis small RNAs derived from different biogenesis pathways. Plant Physiol 147: 58-62
- Palauqui JC, Vaucheret H (1995) Field trial analysis of nitrate reductase co-suppression: a comparative study of 38 combinations of transgene loci. Plant Mol Biol 29: 149-159
- Yoo BC, Kragler F, Varkonyi-Gasic E, Haywood V, Archer-Evans S, Lee YM, Lucas WJ (2004) A systemic small RNA signaling system in plants. Plant Cell 16: 1979-2000
- Palauqui JC, Elmayan T, Pollien JM, Vaucheret H (1997) Systemic acquired silencing: transgene-specific post-transcriptional silencing is transmitted by grafting from silenced stocks to non-silenced scions. EMBO J 16: 4738-4745
- Hewezi T, Alibert G, Kallerhoff J (2005) Local infiltration of high- and low-molecular-weight RNA from silenced sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants triggers post-transcriptional gene silencing in non-silenced plants. Plant Biotechnol J 3: 81-89
- Nicolas WJ, Grison MS, Trépout S, Gaston A, Fouché M, Cordelières FP, Bayer EM (2017) Architecture and permeability of post-cytokinesis plasmodesmata lacking cytoplasmic sleeves. Nature Plants 3: 1-11
- Lucas WJ, Ham BK, Kim JY (2009) Plasmodesmata-bridging the gap between neighboring plant cells. Trends Cell Biol 19: 495-503
- Azim MF, Burch-Smith TM (2020) Organelles-nucleus-plasmodesmata signaling (ONPS): an update on its roles in plant physiology, metabolism and stress responses. Curr Opin Plant Biol 58: 48-59
- Gaudioso-Pedraza R, Beck M, Frances L, Kirk P, Ripodas C, Niebel A, de Carvalho-Niebel F (2018) Callose-regulated symplastic communication coordinates symbiotic root nodule development. Curr Biol 28: 3562-3577
- Godel-Jędrzychowska K, Kulińska-Lukaszek K, Horstman A, Soriano M, Li M, Małota K, Kurczyńska EU (2020) Symplasmic isolation marks cell fate changes during somatic embryogenesis. J Exp Bot 71: 2612-2628

42. Huang D, Sun Y, Ma Z, Ke M, Cui Y, Chen Z, Chen X (2019) Salicylic acid-mediated plasmodesmal closure via Remorin-dependent lipid organization. *Proc Natl Acad Sci USA* 116: 21274-21284
43. Hejnowicz Z (2002) Anatomia i histogeneza roślin naczyniowych. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa
44. Spencer DF, Kinmins WC (1969) Presence of plasmodesmata in callus cultures of tobacco and carrot. *Can J Bot* 47: 2049-2050
45. Kwiatkowska M, Maszewski J (1976) Plasmodesmata between synchronously and asynchronously developing cells of the antheridial filaments of *Chara vulgaris* L. *Protoplasma* 87: 317-327
46. Tilney LG, Cooke TJ, Connelly PS, Tilney MS (1990) The distribution of plasmodesmata and its relationship to morphogenesis in fern gametophytes. *Development* 110: 1209-122
47. Lu KJ, Danila FR, Cho Y, Faulkner C (2018) Peeking at a plant through the holes in the wall-exploring the roles of plasmodesmata. *New Phytol* 218: 1310-1314
48. Han YZ, Huang BQ, Zee SY, Yuan M (2000) Symplastic communication between the central cell and the egg apparatus cells in the embryo sac of *Torenia fournieri* Lind. before and during fertilization. *Planta* 21: 158-162
49. Kim I, Kobayashi K, Cho E, Zambryski PC (2005) Subdomains for transport via plasmodesmata corresponding to the apical-basal axis are established during *Arabidopsis* embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 11945-11950
50. Kurczyńska EU, Gaj MD, Ujczak A, Mazur E (2007) Histological analysis of direct somatic embryogenesis in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Planta* 226: 619-628
51. Grzyb M, Wróbel-Marek J, Kurczyńska E, Sobczak M, Mikula A (2020) Symplasmic Isolation Contributes to Somatic Embryo Induction and Development in the Tree Fern *Cyathea delgadii* Sternb. *Plant Cell Physiol* 61: 1273-1284
52. Koizumi K, Wu S, MacRae-Crerar A, Gallagher KL (2011) An essential protein that interacts with endosomes and promotes movement of the SHORT-ROOT transcription factor. *Curr Biol* 21: 1559-1564
53. Stahl Y, Grabowski S, Bleckmann A, Kühnemuth R, Weidtkamp-Peters S, Pinto KG, Simon R (2013) Moderation of *Arabidopsis* root stemness by CLAVATA1 and ARABIDOPSIS CRINKLY4 receptor kinase complexes. *Curr Biol* 23: 362-371
54. Xu XM, Jackson D (2010) Lights at the end of the tunnel: new views of plasmodesmal structure and function. *Curr Opin Plant Biol* 13: 684-692
55. Xu XM, Wang J, Xuan Z, Goldshmidt A, Borrill PG, Hariharan N, Jackson D (2011) Chaperonins facilitate KNOTTED1 cell-to-cell trafficking and stem cell function. *Science* 333: 1141-1144
56. McGarry RC, Kragler F (2013) Phloem-mobile signals affecting flowers: applications for crop breeding. *Trends Plant Sci* 18: 198-206
57. Benková E, Bielach A (2010) Lateral root organogenesis – from cell to organ. *Curr Opin Plant Biol* 13: 677-683
57. Rinne PL, Welling A, Vahala J, Ripel L, Ruonala R, Kangasjärvi J, Van der Schoot C (2011) Chilling of dormant buds hyperinduces FLOWERING LOCUS T and recruits GA-inducible 1, 3- $\beta$ -glucanases to reopen signal conduits and release dormancy in *Populus*. *Plant Cell* 23: 130-146
58. Kurata T, Ishida T, Kawabata-Awai C, Noguchi M, Hattori S, Sano R, Wada T (2005) Cell-to-cell movement of the CAPRICE protein in *Arabidopsis* root epidermal cell differentiation. *Development* 132: 5387-5398
59. Milewska-Hendel A, Witek W, Rypień A, Zubko M, Baranski R, Stróż D, Kurczyńska EU (2019) The development of a hairless phenotype in barley roots treated with gold nanoparticles is accompanied by changes in the symplasmic communication. *Sci Rep* 9: 1-17
60. Ham BK, Li G, Kang BH, Zeng F, Lucas WJ (2012) Overexpression of *Arabidopsis* plasmodesmata germin-like proteins disrupts root growth and development. *Plant Cell* 24: 3630-3648
61. Bishopp A, Lehesranta S, Vátén A, Help H, El-Showk S, Scheres B, Helariutta Y (2011) Phloem-transported cytokinin regulates polar auxin transport and maintains vascular pattern in the root meristem. *Curr Biol* 21: 927-932
62. Oparka KJ, Prior DA, Wright KM (1995) Symplastic communication between primary and developing lateral roots of *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot* 46: 187-197
63. Benitez-Alfonso Y, Faulkner C, Pendle A, Miyashima S, Helariutta Y, Maule A (2013) Symplastic intercellular connectivity regulates lateral root patterning. *Dev Cell* 26: 136-147
64. Otero S, Helariutta Y, Benitez-Alfonso Y (2016) Symplastic communication in organ formation and tissue patterning. *Curr Opin Plant Biol* 29: 21-28
65. Zhou J, Wang X, Lee JY, Lee JY (2013) Cell-to-cell movement of two interacting AT-hook factors in *Arabidopsis* root vascular tissue patterning. *Plant Cell* 25: 187-201
66. Mähönen AP, Ten Tusscher K, Siligato R, Smetana O, Díaz-Triviño S, Salojärvi J, Scheres B (2014) PLETHORA gradient formation mechanism separates auxin responses. *Nature* 515: 125-129
67. Nakajima K, Sena G, Nawy T, Benfey PN (2001) Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning. *Nature* 413: 307-311
68. Daum G, Medzihradzsky A, Suzuki T, Lohmann JU (2014) A mechanistic framework for noncell autonomous stem cell induction in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 111: 14619-14624
69. Liu Y, Ye W, Li B, Zhou X, Cui Y, Running MP, Liu K (2012) CCS52A2/FZR1, a cell cycle regulator, is an essential factor for shoot apical meristem maintenance in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol* 12: 1-15
70. Guseman JM, Lee JS, Bogenschutz NL, Peterson KM, Virata RE, Xie B, Torii KU (2010) Dysregulation of cell-to-cell connectivity and stomatal patterning by loss-of-function mutation in *Arabidopsis* chorus (glucan synthase-like 8). *Development* 137: 1731-1741
71. Chen H, Jackson D, Kim JY (2014) Identification of evolutionarily conserved amino acid residues in homeodomain of KNOX proteins for intercellular trafficking. *Plant Signal Behav* 9: e28355
72. Kawade K, Horiguchi G, Usami T, Hirai MY, Tsukaya H (2013) AN-GUSTIFOLIA3 signaling coordinates proliferation between clonally distinct cells in leaves. *Curr Biol* 23: 788-792
73. Spiegelman Z, Ham BK, Zhang Z, Toal TW, Brady SM, Zheng Y, Wolf S (2015) A tomato phloem-mobile protein regulates the shoot-to-root ratio by mediating the auxin response in distant organs. *Plant J* 83: 853-863
74. Carlsbecker A, Lee JY, Roberts CJ, Dettmer J, Lehesranta S, Zhou J, Benfey PN (2010) Cell signalling by microRNA165/6 directs gene dose-dependent root cell fate. *Nature* 465: 316-321
75. Song JB, Huang SQ, Dalmay T, Yang ZM (2012) Regulation of leaf morphology by microRNA394 and its target *LEAF CURLING RESPONSIVENESS*. *Plant Cell Physiol* 53: b1283-1294
76. Chitwood DH, Timmermans MC (2010) Small RNAs are on the move. *Nature* 467: 415-419
77. Marzec M, Kurczyńska EU (2008) Rola komunikacji-izolacji symplastowej w różnicowaniu komórek na wybranych przykładach. *Postępy Biologii Komórki* 35: 369-389
78. Vu MH, Iswanto ABB, Lee J, Kim JY (2020) The role of plasmodesmata-associated receptor in plant development and environmental response. *Plants* 9: 216
79. Fromm J, Hajirezaei MR, Becker VK, Lautner S (2013) Electrical signaling along the phloem and its physiological responses in the maize leaf. *Front in Plant Sci* 4: 239
80. Cui W, Lee JY (2016) *Arabidopsis* callose synthases CalS1/8 regulate plasmodesmal permeability during stress. *Nat Plants* 2: 16034
81. Rinne PL, Boogaard RVD, Mensink MG, Kopperud C, Kormelink R, Goldbach R, Schoot CVD (2005) Tobacco plants respond to the constitutive expression of the tospovirus movement protein NSM with a heat-reversible sealing of plasmodesmata that impairs development. *Plant J* 43: 688-707
82. Ueki S, Citovsky V (2005) Identification of an interactor of cadmium ion-induced glycine-rich protein involved in regulation of callose levels in plant vasculature. *P Natl A Sci* 102: 12089-12094
83. Benitez-Alfonso Y, Cilia M, San Roman A, Thomas C, Maule A, Hearn S, Jackson D (2009) Control of *Arabidopsis* meristem development by

- thioredoxin-dependent regulation of intercellular transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 3615-3620
84. Beffa RS, Hofer RM, Thomas M, Meins JF (1996) Decreased susceptibility to viral disease of [beta]-1, 3-glucanase-deficient plants generated by antisense transformation. *Plant Cell* 8: 1001-1011
  85. Choi CW (1999) Modified plasmodesmata in *Sorghum* (*Sorghum bicolor* L Moench) leaf tissues infected by maize dwarf mosaic virus. *J Plant Biol* 42: 63-70
  86. Xie L, Shang W, Liu C, Zhang Q, Sunter G, Hong J, Zhou X (2016) Mutual association of *Broad bean wilt virus 2* VP37-derived tubules and plasmodesmata obtained from cytological observation. *Sci Rep* 6: 1-11
  87. Epel BL (2009) Plant viruses spread by diffusion on ER-associated movement-protein-rafts through plasmodesmata gated by viral induced host  $\beta$ -1,3-glucanases. *Semin Cell Dev Biol* 20: 1074-1081
  88. Zavaliev R, Levy A, Gera A, Epel BL (2013) Subcellular dynamics and role of *Arabidopsis*  $\beta$ -1, 3-glucanases in cell-to-cell movement of tobamoviruses. *Mol Plant Microbe I* 26: 1016-1030
  89. Jacobs AK, Lipka V, Burton RA, Panstruga R, Strizhov N, Schulze-Lefert P, Fincher GB (2003) An *Arabidopsis* callose synthase, *GSL5*, is required for wound and papillary callose formation. *Plant Cell* 15: 2503 - 2513
  90. Fernandez JC, Burch-Smith TM (2019) Chloroplasts as mediators of plant biotic interactions over short and long distances. *Curr Opin Plant Biol* 50: 148-155
  91. Bobik K, McCray TN, Ernest B, Fernandez JC, Howell KA, Lane T, Burch-Smith TM (2017) The chloroplast RNA helicase *ISE 2* is required for multiple chloroplast RNA processing steps in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 91: 114-131
  92. Burch-Smith TM, Zambryski PC (2016) Regulation of plasmodesmal transport and modification of plasmodesmata during development and following infection by viruses and viral proteins, W: Kleinow T (red) *Plant-virus interactions*. Springer, Cham, str. 87-122
  93. Lim GH, Shine MB, de Lorenzo L, Yu K, Cui W, Navarre D, Kachroo P (2016) Plasmodesmata localizing proteins regulate transport and signaling during systemic acquired immunity in plants. *Cell Host Microbe* 19: 541-549
  94. Eugenin EA, Gaskill PJ, Berman JW (2009) Tunneling nanotubes (TNT) are induced by HIV-infection of macrophages: a potential mechanism for intercellular HIV trafficking. *Cell Immunol* 254: 142-148
  95. Cordero Cervantes D, Zurzolo C (2021) Peering into tunneling nanotubes - The path forward. *EMBO J* 40: e105789
  96. Gerdes HH, Carvalho RN (2008) Intercellular transfer mediated by tunneling nanotubes. *Curr Opin Cell Biol* 20: 470-475
  97. Tassetto M, Maizel A, Osorio J, Joliot A (2005) Plant and animal homeodomains use convergent mechanisms for intercellular transfer. *EMBO Rep* 6: 885-890
  98. Dubey GP, Ben-Yehuda S (2011) Intercellular nanotubes mediate bacterial communication. *Cell* 144: 590-600
  99. Sowinski S, Jolly C, Berninghausen O, Purbhoo MA, Chauveau A, Köhler K., Davis DM (2008) Membrane nanotubes physically connect T cells over long distances presenting a novel route for HIV-1 transmission. *Nature Cell Biol* 10: 211-219
  100. Lim GH, Shine MB, de Lorenzo L, Yu K, Cui W, Navarre D, Kachroo P (2016) Plasmodesmata localizing proteins regulate transport and signaling during systemic acquired immunity in plants. *Cell Host Microbe* 19: 541-549
  101. Lee JY (2014) New and old roles of plasmodesmata in immunity and parallels to tunneling nanotubes. *Plant Sci* 221: 13-20

# Symplasmic communication – supracellular system of regulation of cell differentiation

Kamila Godel-Jędrychowska✉, Ewa Kurczyńska✉

Institute of Biology, Biotechnology and Environmental Protection, Faculty of Natural Sciences, University of Silesia in Katowice

✉corresponding authors: ewa.kurczynska@us.edu.pl; kamila.godel-jedrychowska@us.edu.pl

**Key words:** plasmodesmata, symplasmic communication, cell differentiation

## SUMMARY

Plasmodesmata (PD), discovered more than 120 years ago, are still a mystery about their role in regulating plant cell differentiation. Research in recent years has verified our idea about the structure of PD and their function in the exchange of information between cells of the plant body. The involvement of PD in the movement of proteins, including transcription factors, hormones, and various types of RNA, indicates that they play an important role in regulating cell differentiation. The movement of molecules through PD is called symplasmic communication, and its limitations or absence are an essential element in controlling the direction of cell differentiation.

