

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15424

研究課題名(和文)植物の表皮細胞における栄養の吸収・輸送・排出の機能分担の解明

研究課題名(英文)Functional analysis of nutrient absorption, transport and extrusion in plant epidermal cells

研究代表者

反田 直之(Sotta, Naoyuki)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・助教

研究者番号：10816292

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):植物の根毛細胞と非根毛細胞の栄養吸収・輸送における役割を検証するため、輸送システムの特性解析を行った。その結果、根毛細胞と非根毛細胞の形態的な特徴、特に外面と内面の面積の違いが、物質の吸収・輸送において重要な要素であり、ホウ素の輸送においては各細胞でホウ素輸送体の発現強度が異なることが、ホウ素の分布を決定する重要な因子であることを理論的に明らかにした。また、葉の表皮の毛状突起に特異的に発現するホウ素輸送体の解析から、末端組織である毛状突起の表面にホウ素の輸送体が存在する意義の検証を行った。その結果、植物が吸収したホウ素が、昆虫による食害に対する抵抗性に影響を与える可能性を示唆する結果を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は数理生物学的な解析より、根毛細胞と非根毛細胞の形態的な違いが、物質の吸収・輸送に影響を与えており、各細胞において輸送体を異なる強度で発現させることが栄養の分配を空間的に制御する上で重要であることを、シロイヌナズナの根におけるホウ素の輸送をケーススタディとして理論的に示した。これは根の形態的特徴と輸送システムの特性の関係を明らかにした点で術的な意義を持つとともに、食糧生産を支える植物の栄養獲得の仕組みを理解する上で重要な知見である。また本課題で得られた、植物が吸収したホウ素が昆虫に対する抵抗性に寄与するかもしれないという知見は、虫害防除における応用の可能性を持つ農業的にも重要な知見である。

研究成果の概要(英文): In order to verify the role of root hair cells and non-root hair cells in nutrient absorption and transport in plants, we analyzed the characteristics of the transport system. The results theoretically revealed that morphological characteristics of root hair cells and non-root hair cells, especially the difference between the outer and inner surface areas, are important factors in the absorption and transport of substances, and that in the transport of boron, the different expression intensity of boron transporters in each cell type is an important factor in determining the boron distribution. In addition, we examined the significance of the boron transporters specifically expressed on trichomes. The results suggest that boron absorbed by plants may affect their resistance to feeding attack by insects.

研究分野：植物栄養学

キーワード：植物栄養学 シロイヌナズナ トライコーム ホウ素 数理モデル シミュレーション 輸送体

1. 研究開始当初の背景

植物の根毛は根と外界との接触面積を増大することで、水分や栄養の吸収に寄与していることが広く知られている。しかしながら植物の根の表皮には根毛を形成する細胞としない細胞が存在する。モデル植物であるシロイヌナズナの場合、原則として二つの内皮細胞に接する表皮細胞(根毛性細胞)しか根毛を形成しない。この点について発生学的な研究は進んでいるものの、なぜすべての表皮細胞に根毛を形成して表面積を最大化しないのかという、植物栄養学的な問いに対する答えは得られていない。これは生物の成り立ちを考えるうえで基本的な問いであるだけでなく、植物の生産性向上において重要な観点である。

これに関連して申請者は、植物の必須栄養のひとつであるホウ素の輸送体の発現強度が、根毛性細胞と非根毛性細胞で異なり、そのパターンが輸送体遺伝子ごとに異なることを発見した。ホウ素(植物の主な利用形態はホウ酸)は必須栄養でありながら高濃度では細胞毒性を示すため、効率的な吸収と細胞内の濃度管理が重要である。したがって根毛/非根毛性細胞におけるホウ素輸送体の発現強度の違いは重要な意義を持っていると考えられるが、これまでの知見ではそれを説明することができない。本研究では根毛/非根毛性細胞の役割の違いについて、根毛による単純な表面積の増大という観点ではなく、輸送システムの構造という観点において、特性の異なる二種類の表皮細胞が存在する意義は何か?という問いに取り組んだ。

根で形成される根毛に対して、地上部ではそれに相当する構造体として毛状突起(トライコーム)が形成される。申請者らはシロイヌナズナの排出型ホウ素輸送体のひとつが、地上部において毛状突起に特異的に発現していることを見出した。既知のホウ素輸送体は、ホウ素欠乏時の根からのホウ素吸収、過剰ホウ素の根からの排出、花粉へのホウ素供給など、いずれも目的や輸送の行先が合理的に示されている。この点において、毛状突起は葉の末端にあたる細胞で、ホウ素の供給を必要とする細胞とは接触しておらず、その生理学的な意義は不明である。本研究ではなぜ組織の末端である毛状突起でホウ素を輸送する必要のあるのか?という問いにも取り組んだ。

2. 研究の目的

本研究では、主に以下の二つを目的とした。

1. 根毛性細胞と非根毛性細胞の吸収・輸送・排出における役割を明らかにする
2. 毛状突起におけるホウ素輸送の意義を明らかにする

の根毛性細胞と非根毛性細胞の吸収・輸送・排出における役割に関しては、これまでの研究の空間解像度では明らかになっていない細胞単位での栄養の輸送経路を、主に根毛細胞・非根毛細胞に役割に着目して解析することで、根毛を形成しない細胞の意義を明らかにする。の毛状突起におけるホウ素輸送の意義を検証に関しては、毛状突起がホウ素の毒性軽減に寄与しているという仮説と、昆虫による食害に対する防御機構として植物がホウ素を毒として利用しているという仮説の2つを検証することを目的とする。さらにはこれらの仮説の検証を介して、生物におけるホウ素の未知の役割を探る。

3. 研究の方法

の根毛性細胞と非根毛性細胞の吸収・輸送・排出における役割の解明に関しては、数理モデルを用いたシミュレーションによる輸送経路の推定を行うことで、根におけるホウ素の流れを細胞レベルで推定し、根の形態的特性、輸送体の分布などのパラメータがホウ素の輸送と分布にどのような影響を明らかにする。具体的には、根の輪切り面の組織構造において、顕微鏡観察で得られたホウ素輸送体の発現パターンからホウ素の流れ、濃度分布を推定する2次元拡散モデルを作成する。2次元拡散モデルはこれまでの研究で確立してきた根の縦切り方向の2次元モデル (Shimotohno & Sotta *et al.*, *Plant Cell and Physiology*, 2015)を基盤に構築する。表面の全細胞が同一の外界ホウ素の接する場合の組織内濃度分布、流速を計算し、細胞間の物質の流れを可視化する。さらに単一の根毛/非根毛性細胞からホウ素を吸収させた場合のシミュレーションから輸送経路を推定することで、根毛/非根毛性細胞の栄養吸収とその後の輸送への寄与率を計算する。の毛状突起におけるホウ素輸送の意義に関しては、毛状突起に発現するホウ素輸送体の変異株を用いた遺伝学的解析、毛状突起やその浸出液に対する元素分析、昆虫を用いた摂食実験などにより、毛状突起に特異的に発現するホウ素輸送体の役割を明らかにする。

4. 研究成果

の根毛性細胞と非根毛性細胞の吸収・輸送・排出における役割の解明に関して、根の根毛細胞、非根毛細胞の両方が存在する意義を、栄養吸収と輸送のシステムという観点から理解するため、まず数理科学的なアプローチによって、それぞれの細胞の特徴と輸送体発現の空間的パターンが、ホウ素の輸送に与える影響を評価した。根の水平断における物質輸送のシミュレーションを行うため、根の細胞形態を再現したシミュレーション骨格をコンピュータ上に作成し、自然拡散と輸送体の働きに基づいて物質の移動を計算する2次元拡散モデルの作成を行った。解析手法の汎用性と簡便性の向上を目的として、根毛/非根毛性細胞を含む各細胞種の幾何学的特性を任意に変更した根の構造モデルを作成するプログラムを作成し、プログラミング言語 R のパッケージとして取りまとめた。このパッケージと、申請者らがこれまで開発を行ってきた輸送シミュレーションの関数ライブラリとを組み合わせることで、細胞構造と輸送体の分布をもとに、単一の細胞から吸収された栄養がその後植物体内をどのように輸送されていくのかをシミュレーションすることが可能になった。さらに細胞構造や各種パラメータを変更してシミュレーションを行うことで、効率的な輸送に必要な因子の同定が可能になった。

確立したシミュレーションプラットフォームを用いて、根の様々な幾何学的パラメータを変化させた場合のシミュレーションを行った。その結果、根毛/非根毛性細胞間での栄養濃度分布のパターンには、両細胞の外側(土壌側)/内側(中心柱側)の細胞面の大きさの比率が重要なパラメータであることを示唆する結果が得られた。実際のシロイヌナズナの根では根毛細胞と非根毛細胞で複数のホウ素輸送体が異なる発現強度を示す。この意義を検証するために、根毛細胞と非根毛細胞が同強度のホウ素輸送体を発現する場合のシミュレーションを行った。その結果、根毛細胞と非根毛細胞が同強度のホウ素輸送体を発現すると、根毛細胞と非根毛細胞中のホウ素濃度の大小関係が、野生型と逆転することが示された。すなわち、根毛細胞と非根毛細胞では外側/内側面積比が異なり、この要因によって、両細胞でホウ素輸送体を同様の強度で発現させると、野生型で達成されているホウ素分配が不可能になることが示唆された。このことから、シロイヌナズナの根毛細胞、非根毛細胞においては、根毛細胞と非根毛細胞におけるホウ素輸送体の発現強度の違いが、根のホウ素の輸送と分布に対して重要な決定因子であることが論理的に示された。

の毛状突起におけるホウ素輸送の意義に関しては、毛状突起特異的に発現するホウ素輸送体 *BOR5* の役割を明らかにするため、*BOR5-GFP* 発現植物の詳細な観察をおこなった。その結果、*BOR5* 遺伝子は毛状突起の表面、細胞壁の内側に局在するように見受けられた。その分布から毛状突起の細胞膜に局在している可能性が高いと考えられた。この観察結果の確度を高めるため、*RFP* による細胞膜蛍光可視化システムと *BOR5-GFP* 発現植物との掛け合わせにより、細胞膜マーカーと *BOR5-GFP* の共発現植物の作成を行った。

次に *BOR5* が毛状突起の発生・形態形成に関与する可能性を検証するために、*bor5* 変異株における毛状突起の観察を行った。共焦点レーザー顕微鏡を用いた毛状突起の観察により、*bor5* 変異が毛状突起の分枝数等の形状、密度に与える影響の評価を行った。その結果、*bor5* 変異は毛状突起の形状、密度には顕著な影響を与えないことが明らかになった。さらに別の仮説の検証として、毛状突起に発現するホウ素輸送体が昆虫による食害に対する防御に関与しているかどうかを調べるため、モンシロチョウ幼虫を用いた摂食実験を行った。慎重な再現性の検証が必要ではあるものの、*bor5* 変異株を餌とした幼虫は、野生型株を餌とした場合よりも、新鮮重が大きくなる傾向が見られた。すなわち、*BOR5* の存在が、植物の昆虫による食害抵抗性に寄与している可能性が示唆された。さらに植物のホウ素状態が昆虫による摂食行動に与える影響を評価するため、異なるホウ素環境で生育させたシロイヌナズナに対してモンシロチョウ幼虫による摂食実験を行った。その結果、高濃度のホウ酸を与えたシロイヌナズナ上で育てたモンシロチョウ幼虫は、通常条件で栽培されたシロイヌナズナ上で育てた幼虫に比べて、生育が遅いことが明らかになった。これらの成果によって、植物のホウ素状態が昆虫の摂食行動に影響を与えることが示された。

次に *BOR5* が毛状突起へのホウ素蓄積に関与するかどうかについて検証を行った。まず毛状突起に蓄積しているホウ素量の絶対定量を行うため、誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)によって測定が可能な量の毛状突起を純度よく単離・回収する手法の検討を行った。検討の結果、シロイヌナズナの葉から毛状突起を元素分析に供することができる状態で効率的に回収する方法を確立した。確立した手法を用いて、野生型、*bor5* 変異株の毛状突起を収集し、ICP-MS による元素分析によって毛状突起乾重量当たりのホウ素含量を算出した。その結果、*bor5* 変異株では毛状突起に含まれるホウ素濃度が有意に低下していることが示された。このことから、*BOR5* が毛状突起へのホウ素蓄積に寄与していることが示された。また、*BOR5* が毛状突起からの過剰ホウ素の排出に寄与している可能性を検証するため、地上部の毛状突起表面、あるいは内部に存在するホウ素がどの程度外界に溶脱されるのかを、葉を浸潤させた浸潤液中の元素含量を測定することで評価した。ICP-MS による元素

分析の結果、水に葉を浸潤させることで約 5~20%のホウ素が葉から溶脱されるが、その程度については野生型と *bor5* 変異株の間で有意な差は見られなかった。すなわち、*BOR5* が葉からのホウ素の排出に寄与していることを支持する結果は得られなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 反田直之, 三輪京子, 高野順平, 藤原徹
2. 発表標題 トライコームと非根毛細胞に特異的に発現するホウ素輸送体の役割
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naoyuki Sotta, Toru Fujiwara, Veronica A. Grieneisen, Athanasius F. M. Maree
2. 発表標題 Function of non-root hair cells in boron transport system in plants
3. 学会等名 日本土壌肥料学会 2020年度岡山大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Naoyuki Sotta, Junpei Takano, Toru Fujiwara
2. 発表標題 Predicting the dynamics of bio-metals by transport simulations
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------