

作物学的視点からみた根系形成と個根の発育

阿部 淳 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

E-mail: abejun@cup.com

今回のシンポジウムでは、個々の根の組織・細胞あるいは物質の動きについて、分子生物学的手法や植物生理学的手法でアプローチされている先生方に、その最先端をご紹介頂くのが主眼と理解している。こうした研究は、それ自体が大変に興味深く面白いものであると同時に、作物学という実学的な視点から根系全体を相手に試行錯誤している私のようなものにとっても、重要な情報であることが多い。本シンポジウムの「前座」として、そうした作物屋からの関心をご理解いただけるような話をしたい。

具体的な事例としては私自身が近年取り扱っている陸稲を中心にしながら、他の作物研究者の成果・提言も引用しつつ、乾燥への抵抗性を高めるための根系の「形」作りに、どのような生物学的情報が必要と考えているかをお話しし、議論の参考にしていただければ幸いである。

作物の茎葉部では、光エネルギーの利用効率を高めるために、葉面積という量的形質に加えて、葉の高さ別の分布や直立性といった「形」の形質が重要である。根も養水分の吸収を考えると、量だけでなく、土壌中でどのような分布をするかが問題となる。干ばつ時の土壌は表層から乾燥するため、地下水位が極端に低い乾燥地は別として、一般には根系が土壌深層まで発達している方が有利である。では、どのような根であれば、深根性の根系ができるかを考えると、1. 伸長角度=下方を向いていること、2. 根長=より長いこと、が必要であり、2はさらに、2 a. 伸長速度が大きいこと、2 b. 伸長の持続期間が長いこと、の2つのファクターに分けて考えることができる。伸長角度には、傾斜重力屈性が強く関わっていると考えられ、根の直径と密接な関係にある根冠の大きさが着目される。伸長速度には、根の細胞伸長が強く関わっており、その原動力である膨圧を維持するための浸透調節(osmotic adjustment)が重視されているが、同時に、細胞壁の伸展性が損なわれると伸長を持続できない。

以上は、胚や茎からでる根の主軸に関する、いわば根系全体の骨組みの話であるが、さらに、土壌の深層に達した根が、そこでどれだけ分枝根を発達させるかが吸収には重要である。同じ畑条件下で栽培しても、陸稲品種は水稲品種より根の先端側の分枝根が発達しており、耐乾性に優れた品種では乾燥条件下で分枝根の量が増加する。また、カスパリー線など個々の根の内部組織構造は、その機能的意義の解明が試みられており、乾燥耐性との関連が予察されている。

根系は、発現時期を異にし角度・長さ・齢(age)の違う根の集合体であるため、個体レベルの研究では、その分業体制の解明が重要である。同時に、こうした根の特性は、根の母胎となる茎の形態形質にも影響されると考えられる。とくに根の直径はしばしば茎の直径と正の相関をもつため重力屈性にも影響すると考えられるし、水稲では個根のサイズ(冠根の分枝根も含めた長さ・重さ)は、茎直径と相関をもつことが分かっている。また、出葉や分げつ(茎の分枝)発生のペースは、新しい節からの発根のタイミングに関わるため、個々の根の伸長持続期間に影響する。茎葉部-根系間の物質分配は、根系の量と形に影響し、出来上がった個体の蒸散-水吸収の比が水収支を決定することからも、茎葉部との関係やコミュニケーションは無視できない。

ここで取りあげた形質は、ひとつには遺伝的要因に支配されるものであり、品種間差の解明や遺伝学的アプローチが必要である。深根性の品種どうしを比較しても、伸長角度と伸長速度・期間の組み合わせは異なり、複数の戦略がありうることを示唆している。さらに、根の長さひとつをとっても、土壌の硬度、三相分布、化学性、降水量、地温、日射量等の環境条件への応答は品種によって異なり、陸稲や天水田稲の深根性に関わる遺伝的要因と環境要因の相互作用の解明に多くの労力がかけられている。

根の形態形成の分子遺伝学

松井啓祐 (京都大学大学院理学研究科植物学教室)

e-mail matsui@ok-lab.bot.kyoto-u.ac.jp

細胞の伸長方向の決定と分裂面の決定は植物体の形態を制御する重要な要素であり、これらの決定機構を明らかにすることは植物の形態形成を理解するために必須である。また、器官形成の細胞分化過程においては、細胞間の密接な情報交換が必要であることが明らかにされつつあるが、その情報交換の実体を含めた細胞分化の時間的、空間的制御因子についての知見は限られている。シロイヌナズナの根は、同心円上に配列した数層の組織によってでき、外側から順に表皮、皮層、内皮、内鞘、維管束組織で構成され、維管束を除く各組織が一層の細胞層から成る。このような解剖学的に単純な構造と組織が透明であることなどから、器官形成を細胞レベルで解析するための研究材料としてシロイヌナズナの根は非常に適している。私たちは、シロイヌナズナの根が植物の形態形成研究の良いモデルになると考え、根の形態形成の制御機構を調べるため、細胞伸長が異常になった *ftr* (*fat root*) 突然変異体及び根端分裂組織における細胞数が増加した *hlr* (*halted root*) 突然変異体を単離し、解析を行っている。

ftr 突然変異体では、細胞が横方向 (伸長方向に対して垂直方向) に肥大することにより、根だけでなく茎、葉、花器官などほとんどの器官が太く、短くなる。植物細胞において、細胞質表層微小管の配向変化が細胞の伸長方向を制御すると考えられているが、*ftr* 突然変異体の表層微小管は、野生型よりも乱れた配向を示し、*FTR* 遺伝子が表層微小管の構築に機能していることが示唆された。マップベースの遺伝子クローニングにより *FTR* 遺伝子は 523 アミノ酸、推定分子量約 57KDa の ATPase をコードしていることがわかった。相同性の解析から、*FTR* 蛋白質はカタニンと呼ばれる一群の蛋白質と高い相同性を示すことが明らかになった。カタニンは ATPase 活性を持つ蛋白質によく見られる AAA モチーフを持ち、この ATPase 活性を用いて微小管を切断することが近年報告されている。植物細胞の伸長は細胞壁最内層に存在するセルロース微繊維の配向に対して垂直方向に起こることが知られており、セルロース微繊維の配向は細胞膜直下に存在する細胞質表層微小管によって決定されていることを示す証拠がこれまでに数多く提供されてきた。しかしながら、表層微小管構

築の分子機構、あるいは表層微小管の配向制御の分子機構についてはほとんど明らかにされていない。*FTR* 遺伝子がカタニンホモログをコードしていたことから、カタニン分子の持つ微小管を切断し脱重合させる活性が、表層微小管の構築、更には植物細胞の伸長方向の決定に必要であることが強く示唆された。*FTR* 遺伝子の解析を進めることにより、表層微小管構築の分子機構の一端を明らかにし、細胞伸長のメカニズムの理解を深めることができると考えられる。

hlr 突然変異体は、主根の成長が発芽後 7 日目前後ではほぼ停止し、根端が肥大する表現型を示す。根端の肥大は、根端分裂組織付近の細胞がカルスの様に無秩序に増殖することにより起こると考えられる。分裂組織の維持にオーキシンの関与を示唆する報告がいくつか為され、オーキシンの感受性が異常になった突然変異体が単離されているが、それらの突然変異体と異なり *hlr* 突然変異体のオーキシンに対する感受性は野生型と差が見られない。また、胚発生の段階から発芽後 1 日目までは *hlr* 突然変異体の根端構造は野生型と変わらないことから、*HLR* 遺伝子は発芽後の根端分裂組織の維持に必要であると考えられた。マップペーシスの遺伝子クローニングにより *HLR* 遺伝子は 443 アミノ酸、推定分子量約 50 KDa の 26S プロテアソーム第 4 サブユニットの ATPase をコードしていることがわかった。26S プロテアソームはユビキチンを介した蛋白質分解経路で機能しており、分裂期のサイクリン分解の経路がよく知られている。このサイクリンの分解経路が *hlr* 突然変異体で機能しているかどうかを調べるために、GUS 蛋白質がサイクリン B と同調的に分解されるようにした GUS-サイクリン B デストラクションボックス融合レポーター遺伝子を *hlr* 突然変異体に導入した。野生型及び発芽後数日の *hlr* 突然変異体では根端部分においてドット状の GUS 活性が見られたが、根の伸長が停止し、根端が肥大した発芽後 7 日目の *hlr* 突然変異体では根端分裂組織周辺に一様な GUS 活性が観察された。このことから、*hlr* 突然変異体ではサイクリン分解に使われるユビキチン・プロテアソームの系が十分に機能せず、サイクリン B もしくは同一経路で分解される他の蛋白質の分解が不十分なために、根端分裂組織の維持が出来なくなると考えられた。根端分裂組織の維持には、新しく分裂する細胞の分裂方向の維持と既に分化した細胞からの情報伝達が不可欠と考えられるが、*hlr* 突然変異体を解析することにより、そういったプロセスの一部が明らかになることが期待される。

根の形態形成とオーキシン

田坂昌生

(奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科)

m-tasaka@bs.aist-nara.ac.jp

根系はすべて根端分裂組織から作られる。そのためどの様にして根端分裂組織ができ、そこでどの様にして根を形成する各組織と細胞が作られていくかを明らかにする事が根の形態形成を明らかにする研究の大きな目的である。しかし、これら両過程で見られる分子機構はほとんど分かっていない。多くの双子葉植物の根は主根と側根からできている。主根の根端分裂組織は胚発生過程で作られ、発芽後、側根の根端分裂組織は主根の一部から新たに生じてくる。現在の所、胚発生過程に見られる根端分裂組織の形成と側根の分裂組織形成が同じ現象として捕らえられるかどうか不明である。一方、これまでに植物ホルモンの一つであるオーキシンが、根の伸長、側根形成、根毛形成などに影響を与える事が知られていた。しかし、それぞれの現象のどの過程にオーキシンが影響を与えるのかに関して分子レベルでの解析はほとんどされていなかった。本発表ではシロイヌナズナの *slr* (*solitary root*) 変異株の解析で得られた知見を基に、側根の根端分裂組織形成過程を中心にオーキシンが根の形成過程にどのように関与するかに関して論じたい。

我々が材料としているシロイヌナズナでは側根は主根の内鞘細胞から生じる。内鞘細胞は一層の細胞層からなっているが、数細胞から成る内鞘細胞のクラスターが細胞分裂を開始し、初めに並層分裂を行う。その後、これらの娘細胞が垂層分裂を行う事で厚みを増し根端分裂組織の原基が出来上がる。此所で内鞘から膨れ出した細胞は根端分裂組織へと分化を始める。そして、これらの細胞は分裂をくり返して根端分裂組織となる。その後、この根端分裂組織は分裂を停止して一時的に主根の中に留まる。しかし、条件が整うと分裂組織として活性化され主根の内皮、皮層、表皮を突き破って外に出ていき、さらに伸長して側根と成る。オーキシンがこの側根形成過程のどこに作用するのかは明らかでは無い。我々は、根と胚軸の重力屈性に異常を示す *slr* 変異株を単離した。この変異株は優性の変異株であり、重力屈性に異常を示すだけで無く、オーキシンによる根の伸長阻害に低感受性を示した。又、通常の寒天培地で芽生えさせた *slr* の根には側根がほとんど生じないし、根毛も胚軸と根の境目以外に生じない。さらに、培地にオーキシン加えると野生型では側根形成が促進されるが、*slr* では側根がまったく生じない事が明らかになった。*SLR* 遺伝子を染色体地図を基にクローニングした所、これはオーキシンで発現が誘導される *AUX/IAA* 遺伝子ファミリーの一つである *IAA14* であった。このファミリーに含まれる遺伝子はシロイヌナズナで25種知られており、共通した4つのドメインを持っている。このうち C 末端側に有るドメイン III, IV はタンパク質-タンパク質結合部位と考えられている。また、変異が存在するドメイン II はタンパク質の安定性に関与すると考えられ、変異が入るとタンパク質が安定化する可能性が高い。このタンパク質は、良く似た転写因子 *ARF* ファミリーと結合して転写の活性調節を行うと考えられ、オーキシシグナルによる転写の調節で中心的はたらしめる可能性が高い。我々が、*slr* を用いて側根形成過程の詳細な解析を行ったところ、この変異株では、形成初期に見られる細胞分裂の制御に異常が観察され、それに引き続いておこる根端分裂組織の分化が阻害されている事が明らかになった。これらの結果を基に側根形成、特に根端分裂組織形成に与えるオーキシンの作用と *SLR* の役割に付いて考察を加えたい。

根の屈性と植物ホルモン

高橋秀幸・水野英俊・高橋信行・鎌田源司・藤井伸治 (東北大学遺伝生態研究センター)

根は重力、水分、光、接触などの環境刺激に応答して屈性を示すが、それらの刺激受容細胞は根冠に存在し、特定のシグナル伝達過程を経て、伸長帯における偏差成長が誘導されるものと考えられる。とくに根の重力屈性においては、植物ホルモンとしてオーキシンとアブシジン酸の役割が指摘されてきた。中でも Cholodny/Went 説に関する議論が多いが、オーキシンで誘導される遺伝子の発現解析や、突然変異体と形質転換体を用いた研究は、オーキシンが重力屈性に重要であることを示している。一方、アブシジン酸合成の突然変異体やアブシジン酸合成阻害物質を用いた実験は、重力屈性におけるアブシジン酸の関与を否定する結果になっている。しかし、光依存重力屈性を示す根において、アブシジン酸が暗黒下における重力屈性を誘発することなどから、根の屈性におけるアブシジン酸の機能については、さらに検討されるべきである。また、オーキシンとアブシジン酸は、根の重力屈性においては成長阻害物質として偏差成長に関与するものと考えられてきた。しかし、根の屈性には偏差的な伸長促進を伴うことも明らかになっており、その仕組みにおける植物ホルモンの役割については不明のままである。さらに、重力屈性以外の根の屈性については、近年になって実験系が見いだされ、それらの比較解析が可能になりつつあるが、それらの誘導要因を明らかにし、重力屈性との比較解析によって、根の屈性機構を網羅的に理解することが重要である。演者らは、キュウリ、エンドウ、アラビドプシスを用いて、上記の問題を解明するための糸口を以下のように見だしている。

1) 重力によるネガティブコントロール: ウリ科植物の芽ばえは、発芽直後に根と下胚軸の境界部の片側に 1 個のペグ (peg) と呼ばれる突起状組織を形成するが、宇宙の微小重力下で生育したキュウリ芽ばえは、下胚軸基部の両側に 1 個ずつのペグを対称的に形成する。したがって、重力はペグ形成に不可欠な要因ではないが、地上で種子を横向きにおいた場合に芽ばえが 1 個のペグを形成するのは、それが重力に反応して、反刺激側のもう 1 個のペグ形成を抑制するためである。このペグ形成期における下胚軸と根の境界部は、主根と同様に正の重力屈性を示す。

ペグ形成にはオーキシンが重要な役割を果たしている。微小重力下で化学固定した芽ばえを用いて、オーキシン制御遺伝子 *CS-IAA1* の発現をみると、下胚軸基部全体に *CS-IAA1* 遺伝子の顕著な発現がみとめられる。一方、地上で横向きにした芽ばえでは、*CS-IAA1* の発現は下胚軸基部の上側 (反刺激側) で減少し、逆に下側 (刺激側) で増大する。さらに、横向きにおいた芽ばえでもオーキシンを処理することによって、2 個のペグが形成される。ペグ形成のためのオーキシン濃度には、閾値が存在し、芽ばえの反刺激側におけるペグ形成が抑制されるのは、重力に反応してオーキシン濃度が偏差的に閾値以下に低下するためであると考えられる。重力はペグ形成を刺激側ではポジティブに、反刺激側ではネガティブに制御しているといえる。

2) 偏差成長における伸長促進とオーキシン: 外生オーキシンの処理が根の伸長に阻害的に作用することから、根のオーキシンレベルは最適濃度を超過しているのが通常と考えられる。オーキシンレベルが重力刺激処理によって刺激側で増大し、反刺激側で減少すると仮定すると、刺激側で伸長阻害、反刺激側で伸長促進が誘発されることになり、根の重力屈性の偏差成長における伸長促進現象を説明できる。そこで、根におけるオーキシンレベルの低下と伸長の関係について、キュウリの根において *CS-IAA1* 遺伝子の発現解析をとおして調べた。その結果、*CS-IAA1* mRNA 蓄積量の低下する条件および部位で伸長成長が大きいことがわかった。キュウリのペグ形成では、そのためのオーキシン濃度閾値が存在するが、屈性においてはオーキシン勾配が本質的に重要であるものと考えられる。したがって、屈性における偏差成長に機能すると考えられるオーキシンの濃度勾配形成機構について、重力やその他の刺激がオーキシンの輸送や合成・代謝に及ぼす影響を解析し、その分子機構を解明する必要がある。

3) 根の水分屈性と植物ホルモン: 重力屈性を欠損した突然変異体、クリノスタット、微小重力を利用した実験から、根が正の水分屈性を発現することが証明された。さらに、オーキシン輸送阻害剤が根の水分屈性を抑制すること、オーキシン制御遺伝子の発現解析およびトレーサー実験から、水分勾配下における根のオーキシンレベルは刺激側 (高水ポテンシャル側) で高く、反刺激側 (低水ポテンシャル側) で低いことが明らかになり、水分屈性においても偏差成長における高濃度オーキシンの伸長阻害作用が示唆された。

根の水分屈性発現の分子機構を解明するために、演者らは最近、アラビドプシスの根の水分屈性実験系を確立した。その実験系において各種突然体の根の水分屈性を比較解析し、水分屈性変異体を見だし、それらの結果に基づいて、水分屈性と重力屈性におけるオーキシンやアブシジン酸などの作用を比較することが可能になっている。

根の細胞壁粘弾性と成長制御

谷本 英一

(名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科)

E-mail: tanimoto@nsc.nagoya-cu.ac.jp

植物の成長・形態形成は最終的には細胞壁の形態変化として表れる。根や茎の伸長成長は細胞壁の物理的な伸展性によって制御されていると考えられている。細胞壁伸展性の研究は主として茎や幼葉鞘を用いたオーキシン誘導伸長と細胞壁のゆるみの研究が、応力伸展法や応力緩和法によって展開されてきた。近年筆者らは、クリープ粘弾性計測法によりエンドウの根などを用いて細胞壁の伸展性を物理学的な粘弾性パラメータとして表現する方法を確立した。本講演では、これらの方法の特徴を概説したのち、我々が開発したクリープ粘弾性解析法による細胞壁粘弾性と成長制御の関係について述べる。

クリープ粘弾性解析法は、Kelvin-Voigt-Burgerによる弾性 (バネ) と粘性 (ダッシュポット) を6個組み合わせさせた6要素モデルを使うことによって、非線形の根の細胞壁の伸展過程を数式 (1) で近似表現する方法である。

$$\varepsilon(t) = \frac{P_0}{E_0} + \frac{P_0}{E_1} \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_1}} \right) + \frac{P_0}{E_2} \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_2}} \right) + \frac{P_0}{\eta_0} t \quad \dots (1)$$

この近似で得られる弾性パラメータ E_0, E_1, E_2 と粘性パラメータ η_0, η_1, η_2 について、オーキシンやジベレリンによる成長制御と酸性 pH やアルミニウムなどの環境要因による成長制御との関係が明らかになってきた。これによって、根や茎の成長と細胞壁の粘弾性がどのように関連しているかを知り、同時に細胞壁の伸展性を物理学的なパラメータで記載するだけでなく、これらのパラメータに生理学的な意味づけをすることをねらいとした。

これらの粘弾性パラメータの変動と成長パターンの相関関係を得るため、次のような各種の成長制御系を用いた計測を行った。

- 1) エンドウの根とイネ第2葉鞘のジベレリン誘導伸長
- 2) アベナ子葉鞘とエンドウ茎のオーキシン誘導伸長
- 3) エンドウ側根の「酸」誘導伸長
- 4) コムギの根のアルミニウムによる伸長阻害
- 5) エンドウ側根細胞壁の水分による伸展性制御

その結果、いずれの伸長系でも、粘性係数 η_0 の低下が伸長成長と相関が高いとことが分かった。また、オーキシンやジベレリンによる伸長成長においては、弾性率の低下と粘性係数の低下の両方が伴っているのに対して、根の酸性長では粘性係数 η_0 の低下が特に顕著であることが特徴的であった。また、アルミニウムによる根の伸長阻害においても粘性係数 η_0 の増加が認められた。アルミニウムはこの他、細胞壁の破断加重を低下させる (破断しやすくなる) ことが示された。一方、細胞壁を脱水するとこれらのパラメータは大きくなり伸展性が低下する。また、乾燥した根の細胞壁は、外部の湿度を吸収して伸展性を回復する。根の細胞壁は外界に解放されているためこのような物性変化がストレス応答などに関係している可能性がある。

粘性係数 η の低下は、酸性長を含めて細胞壁ヘミセルロースの不可逆的変形によると考えられるが、ホルモンの作用に代表される弾性率の低下を説明する分子機構は今のところ明らかではない。細胞壁の伸展過程を物理現象として記載できることを期待して、細胞壁高分子の細胞壁の物理的性質と生理学的機能との関連性について考察する。

塩ストレスがトウモロコシ根のカスパリー線の発達に与える影響

---- 内皮カスパリー線の発達は促進されるわけではない ----

唐原一郎 (富山大学・理学部・生物)

水や溶質を適切に吸収・保持し地上部へ送ることは根の最も重要な機能である。それを保障するために、全ての維管束植物の根の内皮には、隣り合う内皮細胞の間の細胞壁中の一部にバンド状に疎水性物質であるスベリンなどが沈着したカスパリー線という細胞間構造が発達する。カスパリー線はアポプラストにおける物質輸送のバリアとして根における物質輸送の要となる構造であるため、その発達は根の外的内的要因に影響を受けている可能性がある。土壌中の重要な環境要因の一つに塩分濃度があり、作物の耐塩性の仕組みを知ることは農業上重要な課題となっている。耐塩性の仕組みとしては生理学的知見は多いが、形態学的解析は定性的な観察に止まることが多い。塩ストレスがカスパリー線の発達に与える影響については、ワタの根においては根の先端から内皮のカスパリー線が見えはじめる位置までの距離が、NaCl の存在下では短くなるという報告があり (Reinhardt and Rost 1995)、これをもって塩ストレスはカスパリー線の発達を促進すると考えられていた。しかし、塩ストレスによって細胞の伸長生長が変化する可能性や、先端からの内皮細胞数が変化するという可能性が考えられるため、それだけの知見をもとに個々の細胞でカスパリー線の発達が促進されたと言い切ることはできない。そこでまずこれらの可能性を定量的に検証した。

***塩ストレスによって根の先端からカスパリー線の位置までの内皮細胞数及び細胞長は低下した**

トウモロコシ (*Zea mays* L.) 種子を蒸留水と 0.1 M または 0.2 M の濃度の NaCl 水溶液で湿らせたバーミキュライトに播き、暗所において 25℃で 8 日間生育させた。主根の長さは NaCl 濃度が高くなるにつれて短くなった。それぞれの濃度で長さが最頻値周辺の根を選び、徒手横断切片を切りだし、蛍光顕微鏡を用いて内皮のカスパリー線形成を調べた。根の先端から内皮カスパリー線が見えはじめる位置までの距離は NaCl の濃度依存的に短くなっており、蒸留水の場合 12.9 ± 0.8 mm (mean \pm SE, $n=8$)、0.2 M NaCl の場合 3.2 ± 0.2 mm ($n=10$)であった。そこで各条件下で生育させた根のカスパリー線形成位置から根の先端までの部分を切り出して固定・包埋し、中心部を通る縦断切片を作製し内皮細胞数を数えた。根の先端から内皮カスパリー線の位置までの内皮細胞数は蒸留水の場合 168 ± 11 細胞 ($n=5$)、0.2 M NaCl の場合 87 ± 5 細胞 ($n=6$)となっており両者には有意差があることがわかった。このことから、塩ストレス下では蒸留水に比べてより根端に近い細胞においてカスパリー線が形成されるということがわかった。しかし、もし塩ストレス下において内皮細胞の産生速度が低下していれば、個々の細胞でカスパリー線形成のプロセスが促進されたとはいえない可能性がある。そこで次に各条件下における細胞産生速度を調べた。

***塩ストレスによって内皮細胞の産生速度は低下した**

芽生えを各条件下で 4 日間生育させた後に印を付け、さらに 7.5 時間生育させた後、この期間に生長した長さに相当する区間を切り出して固定・包埋し、存在する内皮細胞数を数え内皮細胞の産生速度を求めた。その結果、蒸留水では 8.7 ± 0.8 細胞/h ($n=5$)であったのに対して塩ストレス下では 4.1 ± 0.7 細胞/h ($n=6$)であった。根の先端からカスパリー線形成位置までの内皮細胞数を細胞産生速度で割ることで、各条件下において内皮細胞が産生されてからカスパリー線を形成するのにかかる時間を求めたところ、蒸留水では 19.3 時間、塩ストレス下では 21.2 時間となり、余り変わらないことがわかった。

以上より、塩ストレスによって根の先端からカスパリー線形成位置までの距離が蒸留水の場合に比べて短くなったのは、内皮細胞の産生速度が抑えられたためであり、個々の内皮細胞でカスパリー線を形成するまでの時間が早まった、あるいは言い換えると個々の内皮細胞でカスパリー線形成のプロセスが促進された、というわけではないことが示唆された。

導管液タンパク質の産生と根における遺伝子発現

佐藤 忍

(筑波大学生物科学系)

pdp@sakura.cc.tsukuba.ac.jp

高等植物は、個々の細胞の機能分化に加え、細胞同士が集まって組織・器官を形成し、個々の組織・器官が特異的な機能を発揮しつつ、全体として調和のとれた個体を形成することにより、高い生産性を有するに至っている。このような高等植物の植物体全体の発生や機能には、細胞・組織・器官間のコミュニケーションを介した個体統御が不可欠である。高等植物の細胞は細胞壁で囲まれており、細胞間の情報や物質の伝達と輸送は原形質連絡と細胞壁を通して、また遠距離にある器官間の連絡は導管と篩管からなる維管束を通して主になされている。我々は、これらのうち、細胞外空間 (アポプラスト) である導管と細胞壁の機能に着目し研究を進めている。

地上部器官を含む全ての細胞の細胞壁は、細胞間液 (アポプラスト液) によって満たされており、全ての細胞は、この「体液」または「培地」とでも言うべき液体の中で機能を営んでいる。導管中を流れる導管液は、蒸散流と根圧によって全ての細胞に供給され、このアポプラスト液の供給源となっている。導管液は、根で吸収された無機イオン類や根で合成されたグルタミンなどの栄養素と、サイトカイニン (リボシルゼアチン) やアブシジン酸などのホルモン類を含み、地上部器官の生長と分化に関わっていることが知られている。近年、我々は、導管液の良く採れるウリ科植物の根から採取した導管液 (根導管液) を分析したところ、そこに、タンパク質や多糖類などの高分子物質や、地上部器官の発生に影響を与える様々な生理活性 (物質) が有ることを見いだした。

そこで、我々は、根導管液に含まれる新規タンパク質・有機物質の機能、特に、地上部器官の発生と機能に対する作用と、根における導管液有機物質の産生に対する地上部器官の作用に着目し、根と地上部器官の相互作用を解明する試みを行ってきた。ここでは、その研究の一端を紹介させていただきたい。

1) キュウリ根導管液中には、根で特異的に合成される新規グリシンリッチプロテイン (CRGRP) が含まれ、その遺伝子発現は水の吸収の盛んな根毛帯で高く、特に維管束内の柔組織や導管の周りの細胞で遺伝子発現が起こっていた。CRGRP タンパク質は、根において導管中へ分泌され、導管流に乗って全身に運ばれ、導管や、perivascular fiber の壁に不溶化して局在する。CRGRP は、導管などの壁の機能や強化に関わると考えられる。

2) キュウリやカボチャの根導管液には、レクチン活性 (血球凝集活性) が存在し、また、キュウリ導管液の主要なタンパク質である XSP30 (30kDa) は、ガラクトース結合型のレクチンと一部相同性を有する新規な構造をしていた。XSP30 の遺伝子発現は、根特異的であり、地上部切除により急激に減少するとともに、地上部に与えた光周期に依存して暗期誘導型のリズム性を示した。これらの結果は、地上部器官で受けた光などの情報が根に伝達され、根の機能を制御していることを示している。

3) 土壌を過湿 (logging) 状態にしたキュウリ (カボチャ台木に接ぎ木) では、子葉や本葉のクロロフィル含量が減少するとともに、根導管液に含まれる、キュウリの黄化子葉の緑化を阻害する活性 (見かけの分子量約 1500) が顕著に増大し、紫外吸収を有する物質群の含量も増大した。この結果は、根の水分環境や気体 (酸素) 環境の情報が、新規な導管液有機物質を介して地上部器官へ伝達され、地上部器官の発生や機能に影響を与えている可能性を示唆している。

植物の物質輸送と根における窒素源の取り込み

池田 亮¹・園田 裕¹・山谷知行²・○山口淳二¹(¹名古屋大学生物分子応答研究センター、²東北大学大学院農学研究科)

E-mail: Junji Yamaguchi <jjyama@agr.nagoya-u.ac.jp>

ゲノム研究の進展は私たちに多くの情報を提供することとなった。医学分野において遺伝病の原因遺伝子の同定が急速に進展しているが、トランスポーター(輸送担体)遺伝子に落ちる事例が重なるに連れ、その重要性が再認識されつつある。蓋し、「たとえ細胞の外に物質が有り余っていたとしても、それを細胞内に取り込めなければ結局無いことに等しい」という良く考えれば当たり前の論理が再認識されたというわけである。今回の発表では、根における窒素取り込みの話題を紹介する前段階として、糖トランスポーターの研究例を紹介し、トランスポーター研究についての簡単な知識も提供したい。

窒素は植物にとって必要不可欠な栄養素である。植物が動物と根本的に異なる点は、独立栄養生物であることである。その理由は大きく二つあり、一つは自ら無機養分より炭水化物を合成でき、もう一方は生命維持に必要なすべてのアミノ酸を生成できる事にある。アミノ酸は炭素を中心とするカルボキシル基と窒素を中心とするアミノ基より重要な骨格が形成される。炭素源は CO₂ として光合成によって同化されるが、その他のあらゆるすべての必要な無機養分は土壌から植物体内に取り入れるほかない。この役割を担うのが“根”である。近年、窒素源の取り込みにおいてその輸送担体であるトランスポーターが注目されている。

植物が取り込む窒素源には硝酸イオンとアンモニウムイオンがあげられるが、イネは還元性が高い水田で生育し、またその生理的特徴から好アンモニウム植物に分類されている。そのためイネは畑作物に比べ、アンモニウムイオンを窒素源として有効に取り込んでいると考えられている。そこでイネにおけるアンモニウムイオンを能動的に取り込むトランスポーター遺伝子(OsAMT)に注目し、その解析を行った。

これまでに報告されているシロイヌナズナおよびトマトのアンモニウムトランスポーター遺伝子(AMT)を手がかりとして、イネ E.S.T.より相同性検索を行ったところ、二つの cDNA クローンが得られ、この cDNA を便宜上、OsAMT1;1 および OsAMT1;2 と命名した。これらの遺伝子の塩基配列を決定した結果、OsAMT1;1 および OsAMT1;2 の ORF はそれぞれ 1497bp および 1491bp であった。

これまでに単離されているシロイヌナズナの AMT 遺伝子である AtAMT1;1 (Ninnemann et al.1994., Gazzarrini et al. 1999)と OsAMT1;1 および OsAMT1;2 の推定されるアミノ酸配列を比較したところ、それぞれ 66.3%および 65.7%の相同性がみられた。また OsAMT のアミノ酸配列の構造解析の結果、ともに 10 ないし 11 回の膜貫通領域を持った膜結合タンパク質であることが推測された。

また、これらの *OsAMT* 遺伝子の発現様式をノーザンハイブリダイゼーション法を用いた解析を行った結果、*OsAMT1;1* は茎葉部および根といった様々な組織で発現が認められたが、*OsAMT1;1* は根のみに発現しており、組織特異性があることを明らかとした。また *OsAMT1;1* は構成的な発現が認められたのに対して、*OsAMT1;2* ではアンモニウムイオンの存在によって始めて発現が誘導された。

さらに、*OsAMT* 遺伝子族の翻訳産物のアンモニウムイオンの取り込み機能を検討するために、酵母のアンモニウムトランスポーター遺伝子欠損株への形質転換を用いた相補性実験を行った。その結果、*OsAMT1;1* および *1;2* ともに相補性が確認され、*OsAMT1;1* および *1;2* の翻訳産物にはアンモニウム取り込み機能が備わっていることを明らかとした。

地下部器官としての根は、葉・茎・花および果実といったすべての地上部器官の生育において重要な役割を担っている。また根は生育環境および養分の必要性の変化に伴って、それに適応した形態的な変化により植物体の生命維持を図る。これにより生じた一連の根系は「根のアーキテクチャー (root architecture)」とも呼ばれ、土壤中で複雑な空間的な構築を行っている。

その様な例の 1 つとして、植物の根系は栄養素供給の変化に対して極めて感受性が高いことが報告されている。多くの植物種で硝酸イオンやアンモニウムイオンなどの栄養素が豊富に含まれる範囲においては側根の形成が急激に増加することが知られている。側根の形成によって、局所的に供給された栄養素を“forage” (探し漁る) するという能力は限られた栄養素を競争によって得る植物にとってきわめて重要な能力であると考えられる。これに関連して、最近シロイヌナズナでは硝酸シグナルが側根の形成に影響を与えることも報告されている (Zhang et al. 1999)。

窒素トランスポーターによって吸収された硝酸イオンを各種アミノ酸に代謝することで植物体全体の窒素源の蓄積量に変化し、その結果光合成による炭素源とのバランスが変化する。このバランスは C/N 比と呼ばれ、C/N 比が側根の形成や窒素源の取り込みに影響を与えるのではないかと考えている。これらの事から、窒素トランスポーターの基礎研究のみならず、窒素源の“forage”を目的とした根の形態形成、そして植物体に取り込まれた窒素源と地上部器官由来の光合成産物である炭素源が供給するアミノ酸生成にいたる過程も明らかにしていきたい。

さらには、根の形態形成の重要なシグナル物質として、植物ホルモンがあげられる。植物ホルモンの一つであるオーキシンは、側根の形態形成において中心的な役割を担っている。そこで「イネの根の形態形成の制御機構とオーキシンの役割」を解明する目的から、*GASR1* 遺伝子・タンパク質が媒介とする根の形態形成に関して着目している。時間があればこのことについても言及したい。