

報道関係各位【プレスリリース】

令和5年10月6日

京都府立大学 生命環境科学研究科
自然科学研究機構 基礎生物学研究所
金沢大学 ナノ生命科学研究所
熊本大学 大学院先端科学研究部

本資料は、京都大学記者クラブ、石川県文教記者クラブ、日刊工業新聞金沢支局、熊本県内報道機関、岡崎市政記者会日経科学技術部、文部科学記者会、科学記者会に資料提供しております。

植物の根毛側面に細胞壁成分を輸送する経路を発見 ～根毛はなぜ細長い形を維持できる？～

植物の根毛は、細長い形状を維持しながら伸長します。これは、先端が伸長すると同時に、根毛側面部分は、二次細胞壁が形成されることで、その膨張が抑制されるためです。しかしながら、根毛側面に二次細胞壁成分を輸送する分子機構については、全く明らかになっていませんでした。この度、京都府立大学の平野朋子准教授、佐藤雅彦教授らを中心とした共同研究グループ*は、モデル植物シロイヌナズナを用いて、**根毛の側面部分に二次細胞壁成分を輸送し、根毛側面を硬くすることで、根毛が細長く真っ直ぐ伸びながら、その形を維持する仕組みを解明しました。**

今後、この仕組みを活用して、側面強度を増強した長い根毛を持つ植物体を作成するなど、**栄養源が乏しい土壌中から効率よく栄養を吸収できる植物体を開発できる可能性があります。**

本研究成果は、国際学術誌 “The Plant Cell” に 2023 年 9 月 15 日にオンライン掲載されました。

論文タイトル：The SYP123-VAMP727 SNARE complex is involved in the delivery of secondary cell wall components for hardening the root hair shank in Arabidopsis

著者：Tomoko Hirano, Kazuo Ebine, Takashi Ueda, Takumi Higaki, Takahiro Watanabe-Nakayama, Hiroki Konno, Hisako Takigawa-Imamura, and Masa H. Sato
doi.org/10.1093/plcell/koad240

【研究概要】

植物の根の表皮細胞は、「根毛」を形成する細胞（根毛細胞）と形成しない細胞（非根毛細胞）が交互に配列しています。「根毛」は、根毛細胞の一部が突き出て管状に伸びた構造で、根の表面積を大きくして土壌中の水や養分を吸収する役割があります。

根毛細胞が均等に伸長した場合、風船状に膨らみますが(図1)、実際の根毛は、先端部分が伸びると同時に根毛の側面部分の拡大を抑制するために、細長い管状構造を形成しています。また、土の抵抗に逆らって破けず細長く伸びるために、側面を非常に硬くしています。このような硬い根毛側面には、二次細胞壁が形成されていますが、二次細胞壁成分を輸送する分子機構については、全く不明でした。

今回、京都府立大学を中心とする共同研究グループは、モデル植物シロイヌナズナを用いて、根毛の「先端成長のための物質輸送ルート」と「側面の硬化と成長抑制のための物質輸送ルート」が存在することを発見しました。さらに、これらのルートの担い手は、前者が、SYP132, VAMP721 の複合体と、SYP123, VAMP721 の複合体で、後者が、SYP123 と VAMP727 の複合体であることも突き止めました(図2)。

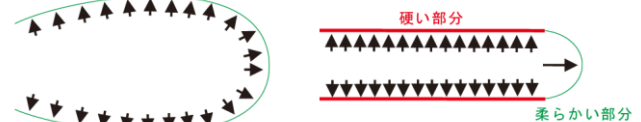


図1. 根毛は、内部からの膨圧のはたらきなどにより伸長することから、根毛の細胞壁の硬さが一様な場合、風船状に膨らんでしまい、細長い構造を維持できない。根毛は、側面に二次細胞壁成分が輸送されることで、硬く細長い真っ直ぐな構造が作られる。

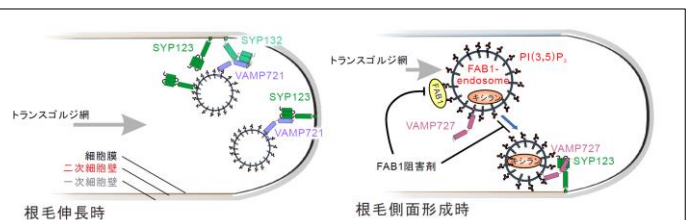


図2. 研究成果の概略図

伸長中の根毛では、SYP123 と VAMP721 の複合体や、SYP132 と VAMP721 の複合体が働く「先端成長のための物質輸送ルート」と SYP123 と VAMP727 の複合体が働く「側面の硬化と成長抑制のための物質輸送ルート」が存在する。



*** 共同研究グループ**

- 京都府立大学大学院 生命環境科学研究科 (研究統括、実施全般)
准教授 平野 朋子
教授 佐藤 雅彦
- 自然科学研究機構基礎生物学研究所 細胞動態研究部門(全反射顕微鏡解析)
助教 海老根 一生
教授 上田 貴志
- 金沢大学 ナノ生命科学研究所(原子間力顕微鏡解析)
准教授 紺野 宏記
准教授 中山 隆宏
- 熊本大学 大学院先端科学研究部(微小管解析)
教授 檜垣 匠
- 九州大学大学院 医学研究院系統解剖学分野(数理生物学的解析)
助教 今村 寿子

本件に関するお問い合わせ

< 研究内容に関するお問い合わせ >

京都府立大学 生命環境科学研究科 細胞動態学研究室 教授 佐藤雅彦
TEL/FAX: 075-703-5448 E-mail: mhsato@kpu.ac.jp

< 報道関係のお問い合わせ >

京都府立大学 企画・地域連携課
TEL: 075-703-5212 E-mail: kikaku@kpu.ac.jp

自然科学研究機構 基礎生物学研究所 広報室
E-mail: press@nibb.ac.jp

金沢大学 ナノ生命科学研究所 広報・事業企画 G
TEL: 076-234-4550 E-mail: nanolsi-office@adm.kanazawa-u.ac.jp

熊本大学総務部総務課 広報戦略室
TEL: 096-342-3271 E-mail: sos-koho@jimu.kumamoto-u.ac.jp

【研究の詳細】

1. 研究の背景

土壤中で細長く伸びる根毛は、硬くて、真っ直ぐな構造である。

植物の根毛は、土壤中から水分や養分を効率よく吸収するために発達した細長い構造体で、根の表皮細胞の一部が細長く突出して形成されます。

著者らの先行研究により、根毛の側面形成には、イノシトールリン脂質^{注1}の一種であるホスファチジルイノシトール 3,5-ニリン酸[PI(3,5)P₂]^{注2}とその合成酵素 FAB1 と低分子量 GTPase ROP10 が関与することがわかっていました。すなわち、これら



図3. 二種類のイノシトールリン脂質のうち、PI(4,5)P₂ は先端成長に働き、その異性体 PI(3,5)P₂ は根毛側面の硬化に働く。

分子の複合体形成による「根毛側面の細胞膜直下の表層微小管の構造の安定化」と、PI(3,5)P₂ を目印とした「二次細胞壁成分の輸送と分泌」を、PI(3,5)P₂ が制御し、細長く、真っ直ぐな、側面が硬化した根毛構造が形成されるということです(図3)。しかしながら、PI(3,5)P₂ が制御する二次細胞壁の輸送と分泌がどのように行われているかについては、ほとんどわかっていませんでした。

SYP タンパク質と VAMP タンパク質が物質の輸送場所を決定する。

一方で、著者らは、植物を含む真核生物の細胞内において、膜で囲まれた細胞小器官(オルガネラ)間の物質輸送システムである「小胞輸送」の研究より、SYP132、SYP123 という SYP タンパク質と VAMP721、VAMP727 という VAMP タンパク質が根毛の伸長に関与することを明らかにしていました。

「小胞輸送」は、「出発地のオルガネラの膜がくびれて、輸送される分子を包んで出芽して輸送小胞が生成され、これが目的地のオルガネラ膜(標的膜)に融合」して、小胞体やゴルジ体で合成された分子を輸送するシステムです。輸送小胞に存在する VAMP タンパク質ファミリーと標的膜に存在する SYP タンパク質ファミリーの組み合わせで、融合オルガネラの特異性、すなわち、物質輸送場所の特異性が決められます(図4)。

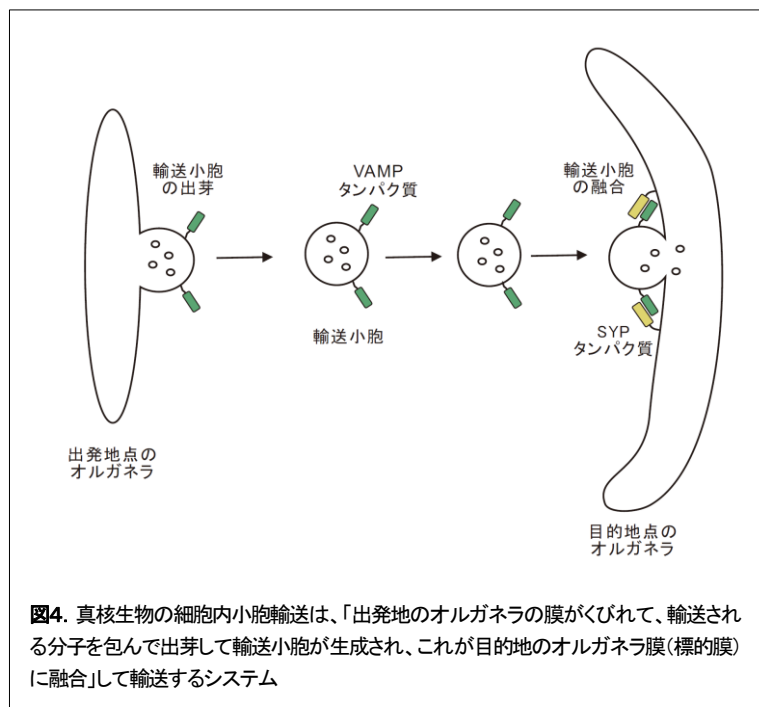


図4. 真核生物の細胞内小胞輸送は、「出発地のオルガネラの膜がくびれて、輸送される分子を包んで出芽して輸送小胞が生成され、これが目的地のオルガネラ膜(標的膜)に融合」して輸送するシステム

2. 本研究の成果

SYP123 は、FAB1/PI(3,5)P₂ が制御する輸送経路で働き、二次細胞壁成分を輸送する

根毛の細胞膜に特異的に発現する SYP123 と緑色蛍光タンパク質 (GFP) を融合したタンパク質 (GFP-SYP123) を発現する形質転換シロイヌナズナの根毛を観察すると、GFP-SYP123 は、伸長開始と伸長停止時は、細胞膜全域に均等に配置していましたが、伸長中では、根毛先端よりも側面に強く局在していました (図5)。

そして、GFP-SYP123 は、PI(3,5)P₂ の生成を阻害すると、細胞内に顆粒状に蓄積し、細胞膜に局在できなくなりました。また、SYP123 を欠失したシロイヌナズナ (*syp123* 変異体) は、根毛が太くて短い形態を示し、これは野生型で PI(3,5)P₂ の生成を阻害した場合と同様でした (図6)。

以上のことから、FAB1 および PI(3,5)P₂ が制御する輸送経路と、SYP123 が働く輸送経路は、同一の経路であることが示唆されました。

また、著者らは先行研究において、原子間力顕微鏡²³⁾を用いた根毛側面強度の直接的測定法により、PI(3,5)P₂ の生成を抑制した植物の根毛側面強度が極度に低下していることを示していました。

そこで、*syp123* 変異体の根毛側面強度を測定したところ、やはり著しい低下が観察されました (図7)。これは、*syp123* 変異体の根毛で、二次細胞壁の成分であるキシランとリグニンの蓄積が低下しているためであることが明らかになりました。

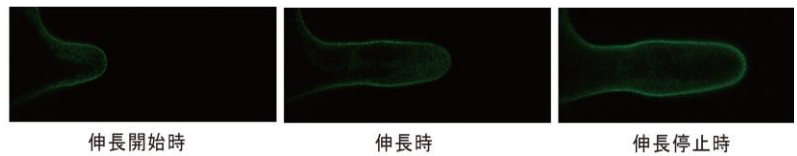


図5. シロイヌナズナ根毛では、GFP-SYP123 は、伸長開始時と伸長停止時に細胞膜全域に、伸長時に側面細胞膜に局在する。

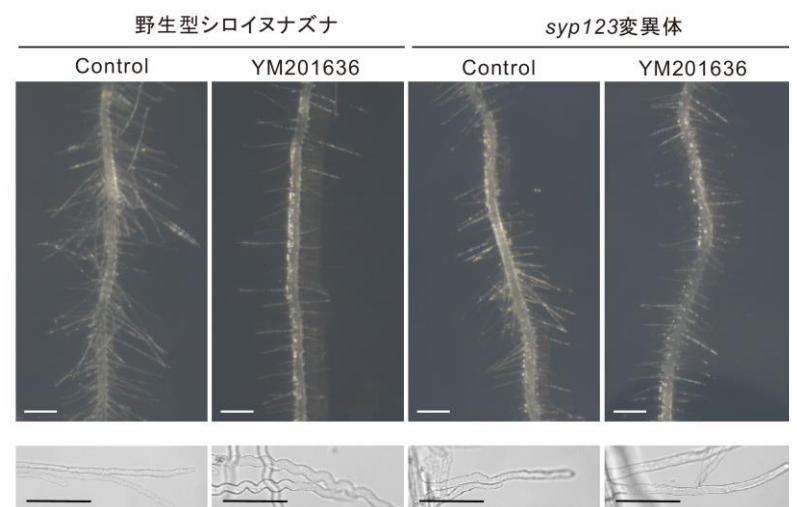


図6. PI(3,5)P₂ 合成酵素、FAB1 阻害剤 YM201636 を処理した野生型と *syp123* 変異体の根毛の形態変化

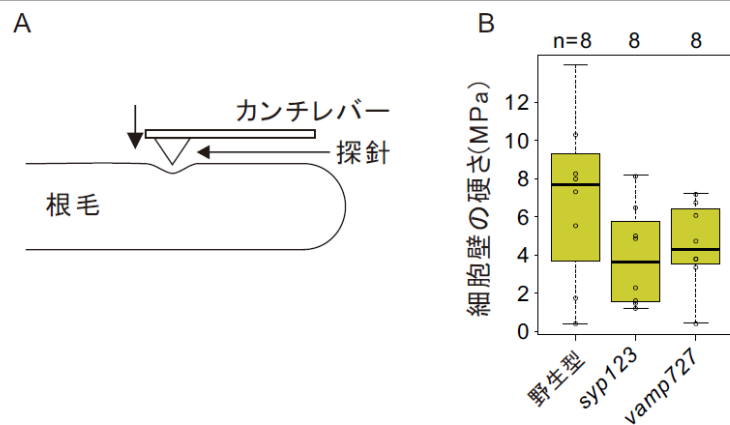


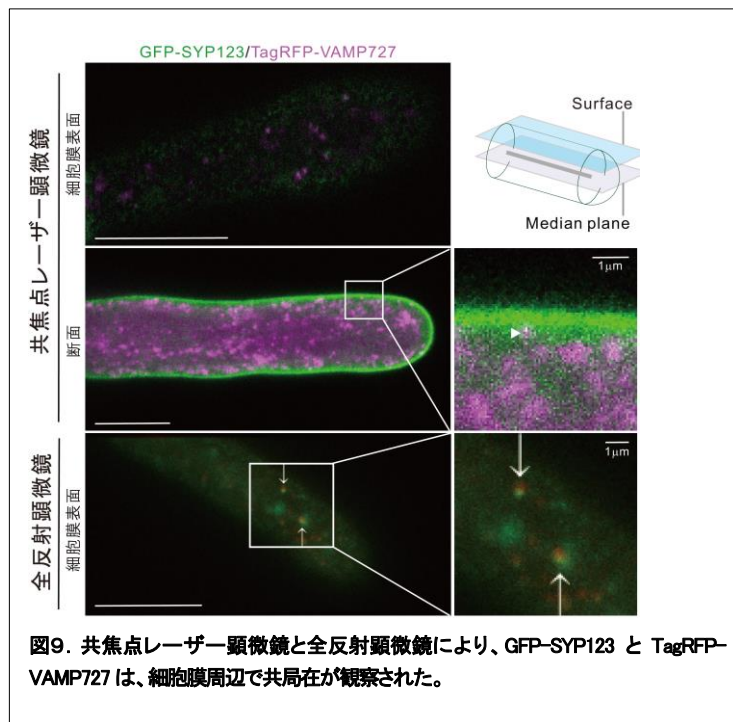
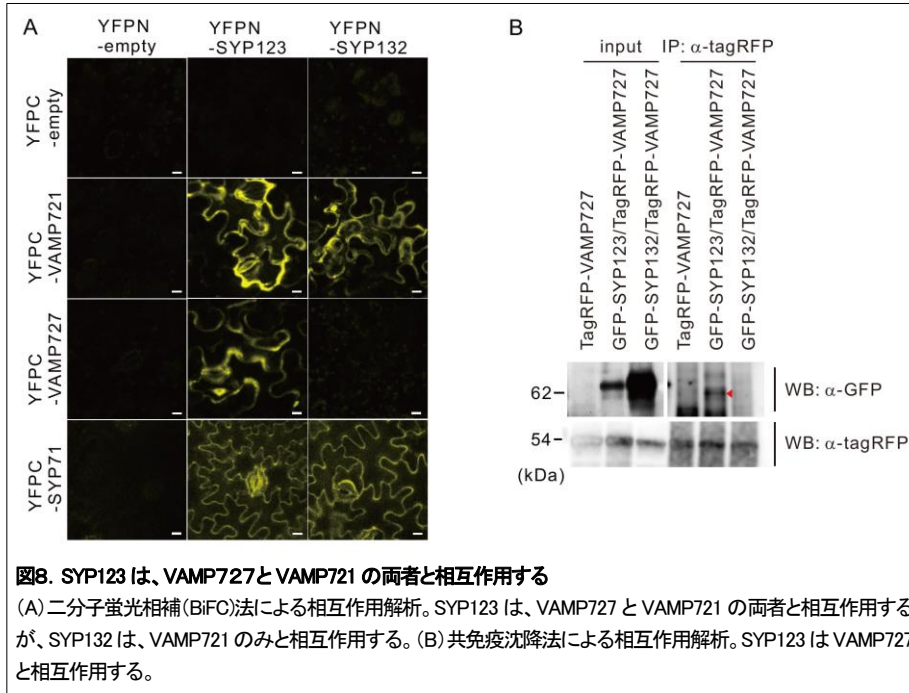
図7. *syp123* と *vamp727* 変異体は、根毛側面の硬さが減少している

(A)原子間力顕微鏡は、探針を根毛側面に押し付け、カンチレバーのたわみを測定することで、試料の硬さを測定することができる。(B)*syp123* や *vamp727* 変異体の根毛側面は、野生型の半分硬さである。

SYP123 は、VAP727 とペアで二次細胞壁成分を輸送する

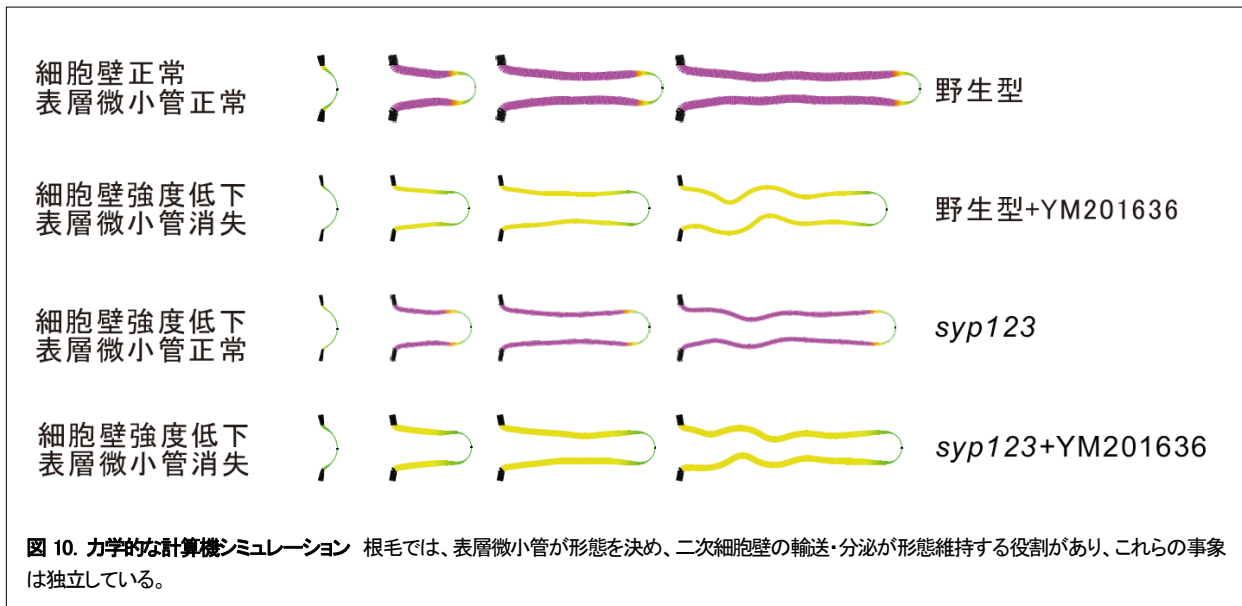
一方、二分子蛍光相補 (BiFC)法²⁴と共免疫沈降法²⁵により、SYP123 は、輸送小胞に存在する VAMP721 と VAMP727 の両方と相互作用することを証明しました(図8)。さらに、SYP123 と VAMP727 の相互作用は、根毛側面の細胞膜上で、二次細胞壁成分を分泌する際に生じることを、共焦点レーザー顕微鏡²⁶と全反射顕微鏡²⁷を用いて示しました(図9)。

これらの結果により、SYP123 は、VAMP721 が関与する輸送経路と VAMP727 が関与する輸送経路の二種類の輸送経路に関与していることが明らかとなりました。



表層微小管は根毛の細長い真っ直ぐな形態をつくる

著者らは以前に、FAB1/PI(3,5)P₂の機能阻害が、根毛側面の硬さの低下と細胞膜直下の表層微小管³⁸の断片化を引き起こし、根毛が太くて短く、規則的に波打つ形態を示すことを報告していました。しかし本研究では *syp123* 変異体の根毛は、太くて短いものの、波打つ形態は観察されませんでした。そこで、FAB1/PI(3,5)P₂ の機能阻害植物と *syp123* 変異体の根毛側面の硬さと表層微小管の安定性をパラメーター化し、力学的な計算機シミュレーションを行い、根毛の形態において、二次細胞壁と表層微小管のそれぞれの寄与を切り分けることに成功しました (図 10)。



以上の結果より、根毛細胞では、「先端成長のための物質輸送ルート」に SYP132 と VAMP721 の複合体と SYP123 と VAMP721 の複合体が、「側面の硬化と成長抑制のための物質輸送ルート」に、SYP123 と VAMP727 の複合体が働くことで、根毛を伸長すると同時に側面を硬くし、根毛の細長い形を作っていることが明らかとなりました。

用語説明

注1: イノシトールリン脂質

イノシトールリン脂質は、リン脂質のリン酸基部分にイノシトールが結合したもので、生体膜に存在するリン脂質総量の約1割程度と微量で存在し、生体膜上のシグナル分子やランドマークとして、様々な細胞機能に関わる。

注2: ホスファチジルイノシトール 3, 5-二リン酸 [PI(3,5)P₂]

イノシトールリン脂質のイノシトール環の3位と5位の水酸基がリン酸化されたものが、ホスファチジルイノシトール 3,5-二リン酸 [PI(3,5)P₂]であり、ホスファチジルイノシトール-3 リン酸 5-キナーゼ、である FAB1 により、ホスファチジルイノシトール 3-リン酸(PI3P)の 5 位の水酸基がリン酸化されることで生成する。

注3: 原子間力顕微鏡 [Atomic Force Microscopy (AFM)]

片持ち梁(カンチレバー)の先端にある鋭く尖った探針と試料の間に働く相互作用力をカンチレバーで検出する走査プローブ顕微鏡の一種であり、試料表面を走査することにより、表面形状と粘弾性を直接測定できる。



注4: 二分子蛍光相補 (BiFC; Bimolecular Fluorescence Complementation)法

二つに分割した蛍光タンパク質(黄色蛍光タンパク質(YFP)など)のそれぞれの断片に、相互作用を調べたいタンパク質をそれぞれ融合し、これらのタンパク質を同時に発現させて蛍光の有無でタンパク質間の相互作用を検出する方法。目的の2つのタンパク質同士が、物理的に相互作用すると、蛍光タンパク質断片同士が近接して再構築し、蛍光を発することを利用している。

注5: 共免疫沈降法

試料溶液中に存在するタンパク質複合体を、タンパク質複合体に含まれるタンパク質の抗体を用いて、捕捉・精製する方法。精製に用いた抗体と別の抗体を用いて、相互作用するタンパク質を検出することができる。

注6: 共焦点レーザー顕微鏡

蛍光顕微鏡の一種であるが、レーザー光を用いて励起した試料の特定の焦点面のみの蛍光像を検出するため、厚みのある試料でもピントをあわせた画像を得ることが可能である。

注7: 全反射顕微鏡

蛍光顕微鏡の一種である対物レンズの中心から外れた位置から励起光を斜めに入射させ、スライドガラスと試料の境界面で励起光をほとんどすべて反射させ(全反射)、スライドガラスとの境界面に発生するエバネッセント光で試料を励起し、観察する。エバネッセント光は、スライドガラスの境界面から数百ナノメートルのみにしか発生しないため、細胞膜上や、細胞膜近傍のタンパク質の挙動の観察等に用いられる。

注8: 表層微小管

微小管は、 α チューブリンと β チューブリンが構成単位となって形成される中空の繊維状構造で、細胞膜直下に存在する微小管のことを表層微小管と呼ぶ。表層微小管には、方向性をもった配向により、細胞壁の主成分であるセルロース微繊維の方向を制御し、細胞の伸長方向を決定する役割がある。

発表雑誌 The Plant Cell doi.org/10.1093/plcell/koad240

論文タイトル: The SYP123-VAMP727 SNARE complex is involved in the delivery of secondary cell wall components for hardening the root hair shank in Arabidopsis

著者: Tomoko Hirano, Kazuo Ebine, Takashi Ueda, Takumi Higaki, Takahiro Watanabe-Nakayama, Hiroki Konno, Hisako Takigawa-Imamura, and Masa H. Sato

研究サポート 本研究は科学研究費補助金、基盤研究 A (19H00933)、基盤研究 B(16H06280)、基盤研究 C (20K05962)、住友財団などの支援により実施されました。