

シロイヌナズナにおける根冠分化様式の解明

前田 和輝

要約

植物の根冠は根の先端を覆う組織であり、土壤中における根の成長を支えている。根冠細胞は継続的に作られるが、最外層細胞が周期的に脱離することで根冠は一定のサイズを保っている。分裂から脱離までの過程で根冠細胞は劇的な変化を遂げるが、その中でムシレージというゲル状の物質を生成し、脱離と共に根圏へと放出している。しかしながら、モデル植物であるシロイヌナズナにおいては根冠ムシレージの研究はほとんどなく、どのように蓄積し、放出されるのかについては不明であった。本研究ではシロイヌナズナ根冠細胞の発生において根冠ムシレージがどのように蓄積、放出されるのかについて解析を行うと共に、これまでほとんど未知であった根冠ムシレージに関わる遺伝子についても解析を行なった。

根冠を詳細に観察するために modified Propidium Iodide (mPI)染色を行なったところ、コルメラ6層目細胞 (c6細胞)に通常の細胞壁とは異なる構造体を発見した。この構造体を経時的に観察したところ、播種後6日目以降のc6細胞で観察された。また、PI染色にCa²⁺イオンを加えると染色が阻害されることと、Ruthenium redでも構造体が染色されたことから、この構造体はペクチンを含んでいることが示唆された。さらに詳細に観察するために、電子顕微鏡による解析を行なったところ、この構造体は先行研究で観察されたムシレージと類似した構造をもっており、細胞膜と細胞壁の間である periplasmic 領域に蓄積していたことから、この構造体を periplasmic mucilage と呼ぶことにした。また、periplasmic mucilage の周辺には同じような電子密度をもつ小胞が観察された。これらの小胞を mucilage vesicle と呼ぶことにした。さらに細胞壁に注目して電子顕微鏡で観察を行なったところ、c6細胞の基部側の細胞壁が薄くなっている様子が観察されており、c7細胞では periplasmic mucilage がほとんど観察

されず、代わりに細胞壁と薄くなった細胞壁の間に存在していた。このことから、periplasmic mucilage は薄くなった細胞壁を通して細胞外へと移動しているのではないかと考えられた。また、根冠ムシレージの制御因子として、NAC型転写因子である BEARSKIN1 (BRN1)と BRN2 が関わっているのではないかと考え、変異体を用いた解析を行なった。墨汁染色を用いてムシレージの放出量を比較したところ、野生型と比べて *brn1 brn2*変異体ではムシレージ量が有意に少ないことがわかった。また、電子顕微鏡を用いて二重変異体を観察したところ、c6 細胞における periplasmic mucilage の蓄積部位が異常であることと、mucilage vesicle が小さいことが分かった。これらの結果から、BRN1/2 は根冠ムシレージの蓄積を制御していることが示唆された。

さらに、根冠ムシレージに関わる遺伝子を探索するために、コルメラ特異的に発現している遺伝子を絞り込み、解析を行なった。その中で、*PECTIN METHYLESTEASE 11 (PME11)*はペクチン修飾酵素をコードしておりコルメラ特異性も高かったため、詳細な解析を行なった。*PME11*のプロモーター配列の下流で H2B-GFP を発現させる植物体を作成し観察したところ、根冠最外層に特異的に発現していた。T-DNA 挿入ラインや CRISPR/Cas9 を用いて変異体を作成し、根端を観察したところ、野生型と比べて根冠脱離が起りにくくなっていることが示唆された。根冠脱離に関わる遺伝子として *ROOT CAP POLYGALACTURONASE (RCPG)*が知られているが、*PME11*との関係性を調べるために二重変異体を作成した。その結果、二重変異体では脱離異常の表現型が相加的かつ相乗的であることが示された。このことから、*PME11*と *RCPG*は一部独立に機能しつつ、全体としては根冠脱離に寄与していることが示唆された。さらに、電子顕微鏡によって *pme11*を観察したところ通常なら脱離している c8 細胞や c9 細胞の中に放出されず蓄積しているムシレージが観察された。これらの結果から、*PME11*は根冠細胞の脱離だけではなく、ムシレージの放出にも関与している可能性が考えられた。

本研究ではこれまで未知であったシロイヌナズナにおける根冠ムシレージの形成過程について体系的なモデルを提唱すると共に、根冠ムシレージに関わるいくつかの遺伝子を解析することに成功した。根冠ムシレージについては未だに不明な点が多いが、本研究はこれからの根冠ムシレージ研究において基礎になると期待される。