

銅過剰障害における根の細胞壁の機能解析

寺本 あゆみ (筑波大学 生物学類)

指導教員：岩井 宏暁 (筑波大学 生命環境系)

【背景・目的】

植物には正常な成長に欠かせない必須元素が多数存在する。銅は微量必須元素のうちの1つであり、植物体内の酸化還元反応に関与し、光合成や呼吸、細胞壁代謝、リグニン化などにおいて重要な役割を果たしている。しかし、銅は欠乏・過剰条件になると植物に対し毒性を示し、特に若い葉において白色化や黄化、葉の湾曲などの欠乏症、根の伸長阻害やROSの発生、葉の黄化や鉄欠乏の誘引などの過剰症を引き起こす。

銅は細胞質、葉緑体、液胞、細胞壁に蓄積することが知られている。植物が銅を最初に受容するのは根の細胞壁であり、重金属応答においてイオン隔離装置としての重要な役割を果たしている。また、銅は細胞壁を構成する成分の1つであるペクチンと最も親和性が高い金属の一つであり、ガラクトuron酸のカルボキシ基とペクチン鎖のOと結合することによってメチル化度の高いペクチンでも結合することができることが知られている。根における銅の濃度変化に伴う細胞壁の動態の変化や銅の植物体内への吸着・輸送における細胞壁の機能については、未だ不明な点が多いのが現状である。また、根のペクチンはアルミニウム毒性を緩和していることが示唆されているため (Nagayama et al. 2019)、銅においても同様な機構がある可能性があると考えている。本研究は、ペクチン量が増変したイネを用いて銅の挙動を調べることで、銅の濃度が増変したとき細胞壁の構成成分に変化はみられるのか、細胞壁は銅の毒性緩和に関与しているのかを明らかにすることを目的として実験を行った。

【材料・方法】

1. 銅の処理濃度の検討

WT(品種：コシヒカリ)の種子を3日間吸水させた後、1.0 mMのCaCl₂水耕液(pH5.3)で3日間生育、その後異なる濃度のCuCl₂を含んだCaCl₂水耕液で1日処理を行った。Cu処理前と後に根の伸長量を測定し、Cu 0 μMの時の根伸長量と比較することで実験に用いる銅の濃度を決定した。

2. ペクチン量の定量

WTと細胞壁改変イネである*star1*変異体を3日間吸水させ、1.0 mM CaCl₂水耕液(pH5.3)で3日間生育後、各濃度(0, 0.1, 1.0, 2.5 μM)のCuCl₂を含んだCaCl₂水耕液で1日処理を行った。根端1 mmを切り出し、乾燥細胞壁を調整し、カルバゾール硫酸法により酸性糖の定量を行った。

3. RIイメージングを用いた銅のイメージング

量子科学研究開発機構にてポジトロンイメージング装置(PETIS)を用いてCuのイメージングを行った。WTと細胞壁改変イネである*star1*変異体をCu処理前まで生育させ、PETISにCu 0, 2.5 μMを2連、Cu 0.1, 1.0 μMを1連ずつセットし、2 μLのCu-64(90 kBq)を加え、6日間イメージングを行った。

【結果・考察】

1. 銅濃度の決定

根の伸長阻害程度から、銅欠乏条件として0 μM、適正濃度条件として0.1 μM、過剰条件として1.0, 2.5 μMを採用した。

2. ペクチン量の定量

WTでは、Cu濃度が過剰になるにつれ、根端のペクチン量が増加し、Cu 2.5 μMでは0 μMの時のペクチン量のおよそ2倍に増加した。一方*star1*変異体では、Cu 0 μMの時と2.5 μMの時のペクチン量に優位な差は見られなかった。また、銅過剰条件ではWTと比較して根端のペクチン量が減少した。

3. RIイメージングを用いた銅のイメージング

欠乏条件であるCu 0 μMでは、根への銅蓄積量は*star1*変異体の方が高かったが、地上部輸送量にはあまり優位な差は見られなかった。適正条件であるCu 0.1 μMでは、根への蓄積量はWTの方が高かった。地上部への輸送量にはあまり差が見られなかったが、WTの方が成長点への銅の蓄積が見られた。過剰条件であるCu 1.0, 2.5 μMでは、WTと*star1*変異体の間に差が見られた。Cu 1.0 μM以上になると、根への蓄積量が*star1*変異体の方が高くなり、地上部への輸送量も高くなった。また、WTではCu 1.0 μMの時に地上部への輸送が明らかに抑制されていた。Cu 2.5 μMになると、地上部へ輸送される銅量においてWTと*star1*変異体の間には明確な差は見られなかった。

WTではCu濃度が上昇するほど根端からのペクチン分泌量の増加が見られ、根の伸長が見られないシビアな濃度条件では適正濃度条件の時の2倍のペクチン量が見られた一方で、*star1*変異体ではCu濃度の増加に伴うペクチン量の増加は見られなかったことから、ペクチン分泌量の増加がCu毒性に対して何らかの役割を持っていることが示唆される。*star1*タンパク質は、細胞壁多糖の修飾と合成に使われるUDP-グルコースを小胞に輸送することが分かっていることから、*star1*変異体では細胞壁合成に何らかの異常が生じていると考えられ、当研究室により少なくともペクチン合成に異常があることが示されている。このペクチン合成に異常がある*star1*変異体において、適正な濃度の時と過剰な濃度の時のCuの根への蓄積、地上部へのCu輸送でWTと違いがみられたことから、ペクチンを中心とした細胞壁成分の変化がCuの吸着や輸送に変化を引き起こす1つの要因になっており、ペクチンの合成量が毒性の緩和に関与していると考えられている。