

外側か？内側か？

～植物において表皮細胞が外部環境との境界に作られる仕組みを解明～

1. 発表者：

永田 賢司（東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻 博士課程3年）

阿部 光知（東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 准教授）

2. 発表のポイント：

- ◆植物において表皮細胞が体表面限定的に作られるメカニズムを解明した。
- ◆表皮細胞を作るのに重要な鍵転写因子と特殊な脂質の結合が体表面に位置する細胞だけでおこなうことによって、外部環境との境界に表皮細胞が作られることを発見した。
- ◆生育環境の変化や病気に強い植物を生み出すことにつながる研究成果である。

3. 発表概要：

陸上植物は、乾燥をはじめとする環境ストレスや病害を引き起こす有害な生物に囲まれて生きている。そこで、植物は特殊化した細胞をシート状に並べた表皮組織を外部環境との境界に発達させ、自らを保護している。表皮細胞が分化する際に重要な鍵転写因子は2003年に発見され、表皮細胞の分化を制御する分子的な仕組みについての理解は進みつつある。しかし、外部環境との境界、すなわち「位置」を細胞がどのように認識し、表皮細胞が適切な場所に分化するのかについては未解明のままであった。

今回、東京大学大学院総合文化研究科の阿部光知准教授らのグループは、細胞が植物体における位置を認識する仕組みを新たに見出し、「適切な場所で適切な細胞が分化するメカニズム」を解明した。研究グループは、シロイヌナズナを用いた分子遺伝学的手法と可視化技術によって、表皮細胞が分化するには鍵転写因子が発現するだけでは不十分で、外部環境との境界細胞で作られる特殊な脂質（極長鎖脂肪酸を含むセラミド（注1））と鍵転写因子が結合し、鍵転写因子機能が安定に発揮されることが重要であることを発見した。

植物が陸上に進出した際に、過酷な外部環境から植物体を保護するために表皮細胞は発達したと考えられている。今後、地球環境が劇的に変化することが予測されているなか、外部環境との境界に位置する表皮細胞についての理解が深まることは、過酷な環境下でも丈夫な植物の作出につながると期待される。

4. 発表内容：

<研究の背景>

表皮組織は植物体と外部環境との境界に位置し、さまざまなストレスから植物体内部を保護する組織である。シロイヌナズナでは、表皮細胞に分化する細胞は、植物体の最も外側に位置する一層の細胞集団に限定されている。そのため、表皮組織形成のメカニズムを理解するためには、「細胞が植物体内における自らの位置を適切に認識する機構」を理解することが不可欠である。表皮細胞分化の鍵転写因子として、これまでにHD-ZipIV型転写因子であるATML1タンパク質とPDF2タンパク質（注2）が報告されている（Abe et al., 2003）。両タンパク質は、表皮細胞分化関連遺伝子群のプロモーター領域に存在する共通のシス配列（注3）（L1 box）に結合し、表皮細胞分化関連遺伝子群の転写を調節することによって表皮細胞分化を達成する。興味深いことに、ATML1、PDF2両遺伝子群のプロモーター領域にもL1 boxが存在することから、

ATML1、PDF2 両タンパク質が自分自身の遺伝子発現を誘導する自己活性化機構が、表皮細胞を連続的に産生し維持する際に重要であると考えられている（図1）。本研究では、ATML1 タンパク質の発現が最外層に限定される点に着目し、細胞位置依存的に ATML1 タンパク質の機能を制御する未知なる分子機構を発見することを目指した。

<研究内容>

シロイヌナズナでは、外部環境に接する（外側）細胞と外部環境に接しない（内側）細胞の違いは胚発生の16細胞期に生じる。16細胞期に移行した直後の胚では、ATML1 タンパク質は外側、内側どちらの細胞においても発現しているが、その後、内側細胞では観察されなくなる（図2）。つまり、内側細胞に存在する ATML1 タンパク質は、自己活性化能を発揮できず、「ATML1 タンパク質の性質を細胞位置依存的に変化させる」仕組みが存在していることが示唆される。そこで、この仕組みを理解するために、研究グループは熱ショック誘導プロモーターを用いた ATML1 タンパク質の一過的異所発現系（注4）を構築した。シロイヌナズナの全ての細胞で ATML1 タンパク質を一過的に発現誘導したところ、ATML1 タンパク質は最外層の細胞では安定的に維持される一方で、内側細胞では一旦翻訳されるもののその後安定的に維持されないことが判明した（図3）。

ATML1 タンパク質は、脂質結合ドメイン（START ドメイン）をもつユニークな転写因子である。研究グループは次に、ATML1 タンパク質の START ドメインに結合する脂質候補として極長鎖脂肪酸（VLCFA）を含むセラミド（VLCFA-Cer）を同定し、START ドメイン内にある脂質結合領域に変異（W471L）を導入することによって、ATML1 タンパク質と VLCFA-Cer との結合が特異的に阻害されることを見出した。また、W471L 変異型 ATML1 タンパク質は、たとえ外側細胞で発現させたとしても不安定化すること（図3）、さらには、VLCFA-Cer の生合成阻害によって、外側細胞における野生型 ATML1 タンパク質の安定性が失われ、ATML1 遺伝子の転写量も著しく低下することが明らかになった。以上の結果から、細胞位置の認識において ATML1 タンパク質と VLCFA-Cer の相互作用が重要であり、相互作用の有無によって ATML1 タンパク質の安定性と自己活性化が制御されていると考えられる。

最後に、植物体における VLCFA-Cer の生合成場所を探索した。VLCFA 生合成の鍵酵素である PAS2 タンパク質（注5）の発現解析の結果、VLCFA-Cer は外部環境との境界に位置する細胞で主に産生されていることが明らかになった。つまり、ATML1 タンパク質が内側細胞で間違っても発現したとしても、VLCFA-Cer が無い内側細胞では ATML1 タンパク質は機能を発揮できず、不適切な表皮組織形成を防ぐことが可能となる（図4）。一連の結果から、外側細胞が位置を認識する過程で重要な分子として、VLCFA-Cer は極めて有望であり、ATML1 タンパク質が VLCFA-Cer と結合できる外側細胞だけが表皮細胞に分化することが示唆される。

<今後の予定/社会的意義>

シロイヌナズナには、START ドメインをもつ転写因子が21個存在し、いずれもユニークな発現パターンを示す。こうした転写因子群の機能制御において、特殊な脂質が重要なはたらきをしている可能性を検討していく。また、ATML1、PDF2 両遺伝子は、機能発揮の空間的な厳密さを保つために多重の複雑な制御機構をもつ可能性が高い。今後は新たな制御因子を探索することによって詳細に制御機構を解き明かし、表皮組織形成の理解につなげていく。

表皮組織は、植物が陸上へと進出し、環境ストレスに適応してきた進化の歴史を探る上で極めて重要な組織である。したがって、表皮組織の形成メカニズムや機能の理解を深化させることは、将来の地球環境の劇的な変化に対して頑健な作物を作出する際に、重要なヒントをもたらすものと期待している。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Development* (1月25日(月) オンライン掲載)

論文タイトル：“Ceramide mediate positional memory in *Arabidopsis thaliana* protoderm differentiation.”

著者：Kenji Nagata, Toshiki Ishikawa, Maki Kawai-Yamada, Taku Takahashi, Mitsutomo Abe*

DOI 番号：10.1242/dev.194969

アブストラクト URL：<https://dev.biologists.org/content/148/2/dev194969>

6. 問い合わせ先：

東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻

准教授 阿部 光知 (あべ みつとも)

7. 用語解説：

注 1; 極長鎖脂肪酸を含むセラミド

スフィンゴシンと脂肪酸がアミド結合することで作られる脂質のことをセラミド (Cer) という。セラミドのなかでも、特に炭素鎖長 20 以上の極長鎖脂肪酸 (VLCFA) を含むものを VLCFA-Cer と呼ぶ。VLCFA は、表皮細胞の表面に分泌される疎水性のクチクラを構成する物質としても知られている。

注 2; HD-ZipIV型転写因子である ATML1 タンパク質と PDF2 タンパク質

DNA 結合ドメインであるホメオドメイン (HD)、タンパク質の二量体化に必要なロイシンジッパー (Zip)、そして脂質結合ドメイン (START) を機能ドメインとしてもつ転写因子 (HD-ZipIV型転写因子) ファミリーのメンバー。原表皮細胞特異的に発現する ATML1 と PDF2 は、表皮細胞特異的遺伝子群の転写制御における鍵転写因子としてはたらく。両者は、発現パターンだけでなくアミノ酸配列も良く似ているため、表皮細胞分化において冗長な機能をもっている。

注 3; シス配列

遺伝子発現を制御するプロモーター領域に位置し、転写因子が特異的に結合する塩基配列のこと。共通の転写因子によって転写制御を受ける遺伝子集団は、一般的に同じシス配列をもつ。

注 4; 熱ショック誘導プロモーターを用いた ATML1 タンパク質の一過的異所発現系

短時間の熱ショック処理 (35°C) を受けた植物の組織や細胞において、ATML1 タンパク質を強力に発現誘導することが可能な形質転換シロイヌナズナのこと。

注 5; PAS2 タンパク質

シロイヌナズナにおける VLCFA の合成酵素 (3-hydroxy acyl-CoA dehydratase)。PAS2 機能欠損植物では VLCFA の合成が行われず、胚性致死になることが知られている。

8. 添付資料：

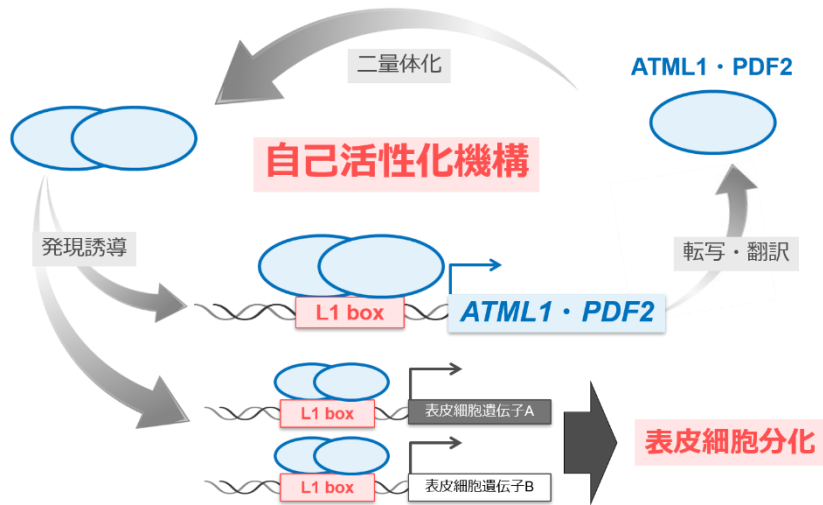


図1 ATML1 タンパク質と PDF2 タンパク質による表皮細胞分化の制御の仕組み
 ATML1 タンパク質と PDF2 タンパク質は、L1 box と呼ばれるシス配列に結合し、表皮細胞分化関連遺伝子群の発現と自らの発現を調節（自己活性化機構）する。

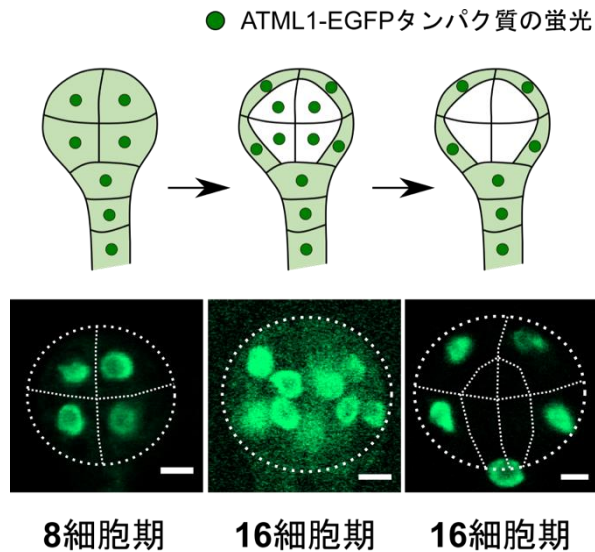


図2 8細胞期から16細胞期の胚におけるATML1タンパク質の発現パターン
 8細胞期の胚では、全ての細胞でATML1タンパク質が発現している（左）。細胞分裂によって16細胞期に移行すると、移行直後は内側細胞でもATML1は発現している（中央）が、次第に外側細胞だけに発現が限定されるようになる（右）。上段は模式図、下段がATML1タンパク質の発現を可視化した蛍光写真（ATML1-EGFPの観察像）。（Nagata et al., 2021 から図を改変）。

● ATML1-EGFPタンパク質の蛍光

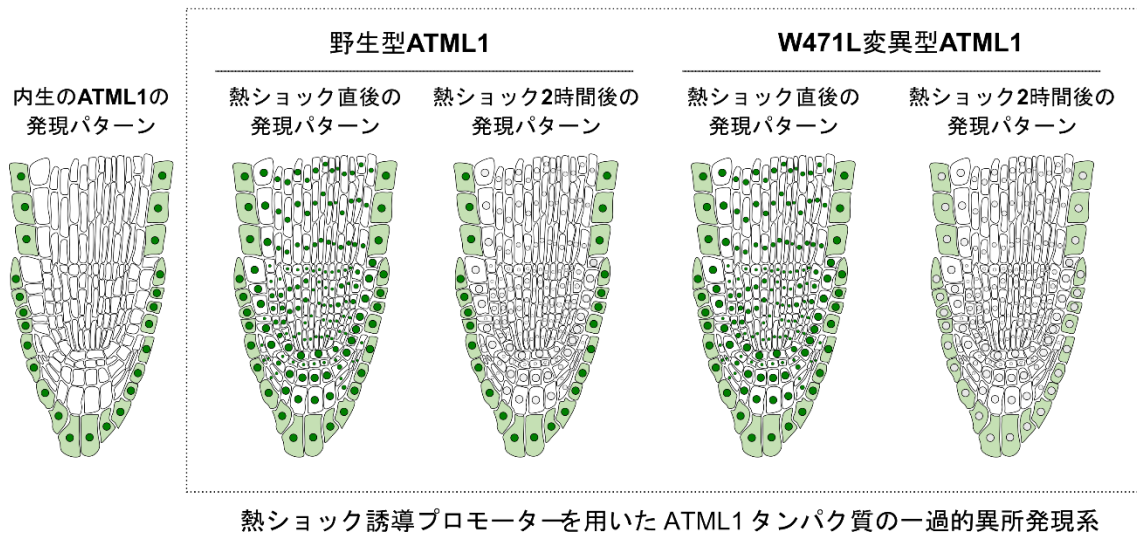


図3 熱ショック誘導プロモーターを用いた ATML1 タンパク質の一過的異所発現系を用いた ATML1 タンパク質の動態観察

ATML1 タンパク質の一過的異所発現系を用いてシロイヌナズナ側根の全細胞で ATML1 タンパク質を発現誘導すると、野生型 ATML1 タンパク質の発現は時間が経過しても外側細胞でのみ安定的に維持される。それに対して、VLCFA-Cer と結合できない W471L 変異型 ATML1 タンパク質は、外側の細胞であっても安定的に維持されない。

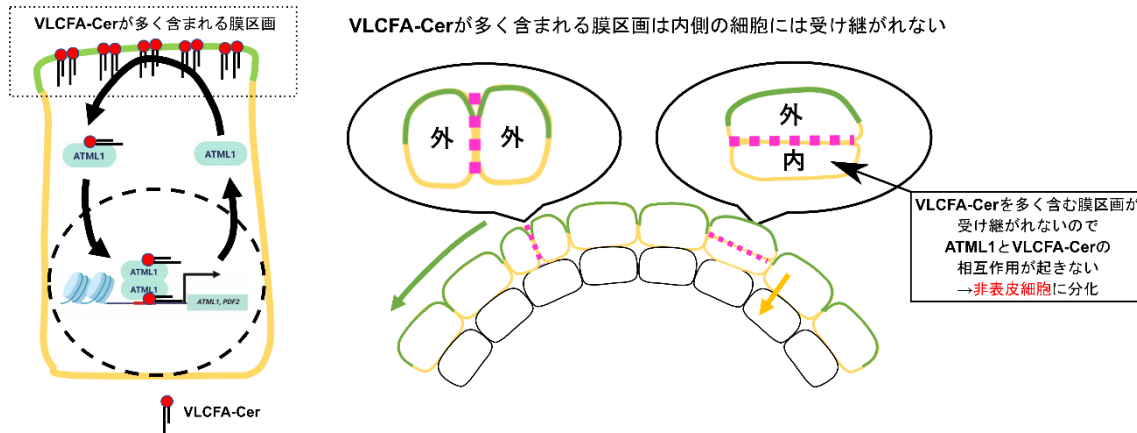


図4 ATML1 と VLCFA-Cer との相互作用による細胞位置認識モデル

VLCFA-Cer は表皮細胞で特異的に合成されたのち、外部環境に接する膜区画に運ばれ維持される（左）。表皮細胞の外部環境に接する膜区画は、細胞分裂によって内側に娘細胞が生じたとしても内側の娘細胞には受け継がれず、外側の娘細胞にしか受け継がれない（右）。そのため、ATML1 と VLCFA-Cer の相互作用は外側に位置する細胞に限定されることになる。その結果、外側細胞だけで ATML1 は安定的に発現し、表皮細胞を分化させることが可能になる。