

## 植物の元素感知・吸収・輸送を可視化する



菅野里美  
(高等研究院)

### はじめに

植物を研究対象とし、「植物と元素」をテーマに選んだきっかけは、幼少期の祖父との家庭菜園の経験です。たくさん肥料をあげた方がよく育つはずと考えた祖父の方法では、植物は大きくは育つのですが、一方で結実が減る、美味しくなくなるなどの経験から、植物にとって最適な栄養元素の量とは？栄養の過不足をどう感じているのか？と疑問に思ったことが始まりで現在に至ります。

### 元素の挙動を見てみたい

植物は肥料(元素)環境をどう認識し、どのように元素を取り込み、取り込んだ物質を身体の隅々にどのように分配し、どう利用していくのでしょうか？このことが分かれば、少ない肥料でよく生育させるような施肥の効率化など持続可能な農業への応用も期待できます。しかしながら、植物の

肥料(元素)吸収量や植物体内の分配を理解することは容易ではありません。なぜならその理解のためには植物サンプルを経時的に採取、分解、測定する破壊的手法を要し、同一個体での吸収から体内挙動までの連続した解析が困難なためです。筆者らはこのような制限を克服し、生体へ投与した元素の挙動を理解するため放射性同位体核種を用いたイメージング技術を開発してきました<sup>1, 5)</sup>。イメージングの原理は、トレーサから発生する放射線を蛍光へ変換し、高感度のデジタルカメラやイメージセンサーで検出するというものです。

### 根の先端にヒミツがある？

放射性核種トレーサイメージングは、外観は相違なく見える器官内に組織特異的な元素集積があることを視覚化してくれます(図1)。リンは窒素、カリウムと並ぶ三大必須元素のうちのひとつ

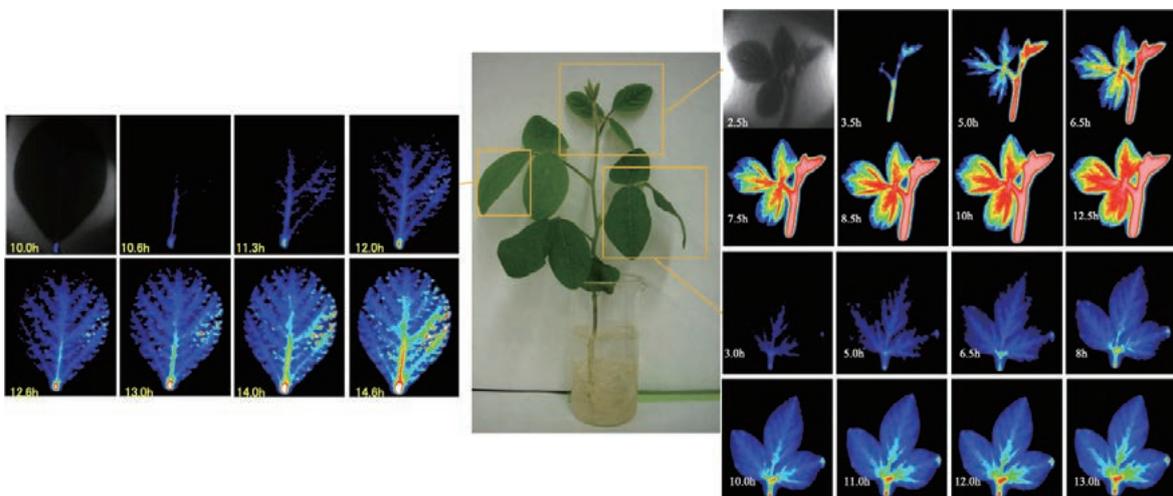


図1 一枚の葉の中での集積の違い

であり、作物生産において施肥が欠かせません。リンの場合、植物はリン酸の化学形態で取り込み、維管束を經由して全身に速やかに分配し、特に発達中の新しい器官へ多く集積します。根においても、細胞分裂が盛んな先端部分への集積が常に多くなります。これは、大量にリン酸が代謝されていることの他に元素の吸収活性が高いことが考えられました。これまでの先行研究によると、元素の吸収には、根の部位別な特徴があることが報告されているものの、リン酸について詳細は未解明でした。植物は、リン酸の輸送に膜タンパク質のリン酸輸送体を使いますが、このタンパク質は根の表層の細胞層、特に根端に多く局在します。そこで、根の先端からのリン酸吸収活性について検証するため、リン酸輸送体の局在を変えたシロイヌナズナの形質転換体を用いて根の先端の細胞層がリン酸を取り込む活性があることをトレーサイメージングにより実証しました(図2, 文献2, 3, 4)。このことから根端の数百に満たない細胞のみで根全体の吸収の20%をも担うことがわかりました。根の先端の特殊な細胞層は、重力や光を感じることはよく知られていますが、トレーサの可視化によりリン酸の吸収においても重要な役割を果たしていることが示されました。さらに吸収されたリン酸は数分以内に葉に到達し、地上部の代謝に関する遺伝子発現を発現量レベルで変化させることから、何らかの感知機構がごく

短時間で働くことがわかりました。図3では、蛍光体とCMOSセンサーとを組み合わせた高感度検出系(図3(a))によるイネの個々の根のリン酸吸収比較実験例を示しています(図3(b))。イメージング開始60秒後から20秒毎の画像強度の比較を(図3(c))に示しています。側根がない場合、吸収は80秒後から定常状態に達していたのに対し、側根が有る根は、10分間の撮影中吸収が著しく増加しました。このことから、側根有りの根のリン酸吸収能が高く、根ごとの植物個体全体への吸収寄与の違いを定量的に可視化することができています(文献6, 7)。リン酸輸送体は根の内側の細胞層にも存在しますが、それらの役割は未解明です。リン酸輸送体の種類と量と細胞層への局在がリン酸の取り込みや輸送にどのような役割を果たしているのか、分子生物学ツールと組み合わせながら画像化を進めています。

### 元素から地球環境と生命の共進化を考える

最後に、こちらの紙面を使わせて頂いて元素にまつわる異分野融合研究のユニークな取り組みについてご紹介させて頂きたいと思います。名古屋大学では、学内の研究者3~4名からなる研究ユニットでの異分野融合研究プログラム(通称B3)があります。活動期間は3年間です(審査によって2年の延長)。私たちのユニットは、天文学、惑星科学、生物学、植物生理学を専門とする研究者

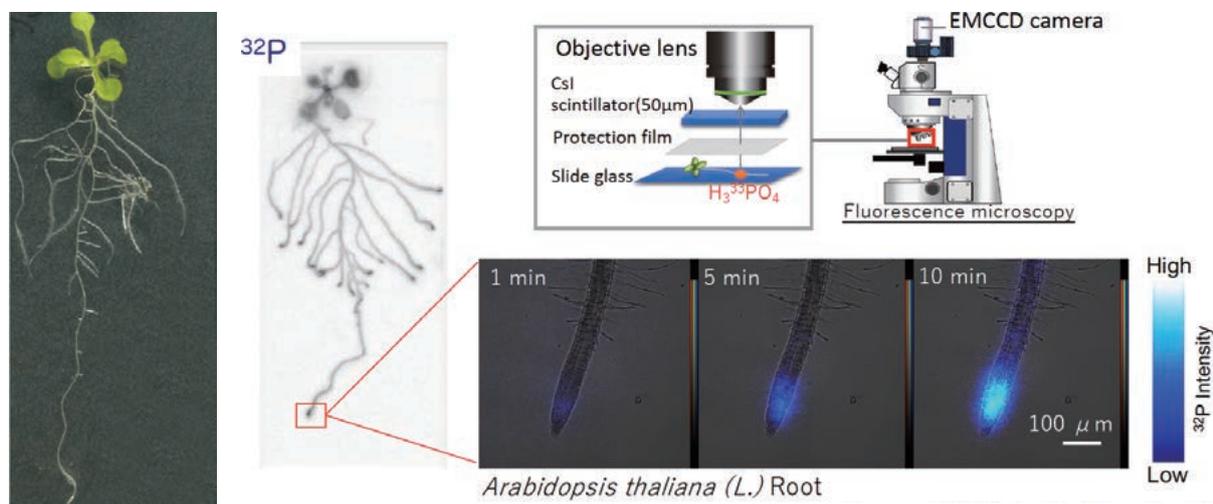


図2 シロイヌナズナの根端が<sup>32</sup>Pを吸収する様子のイメージング

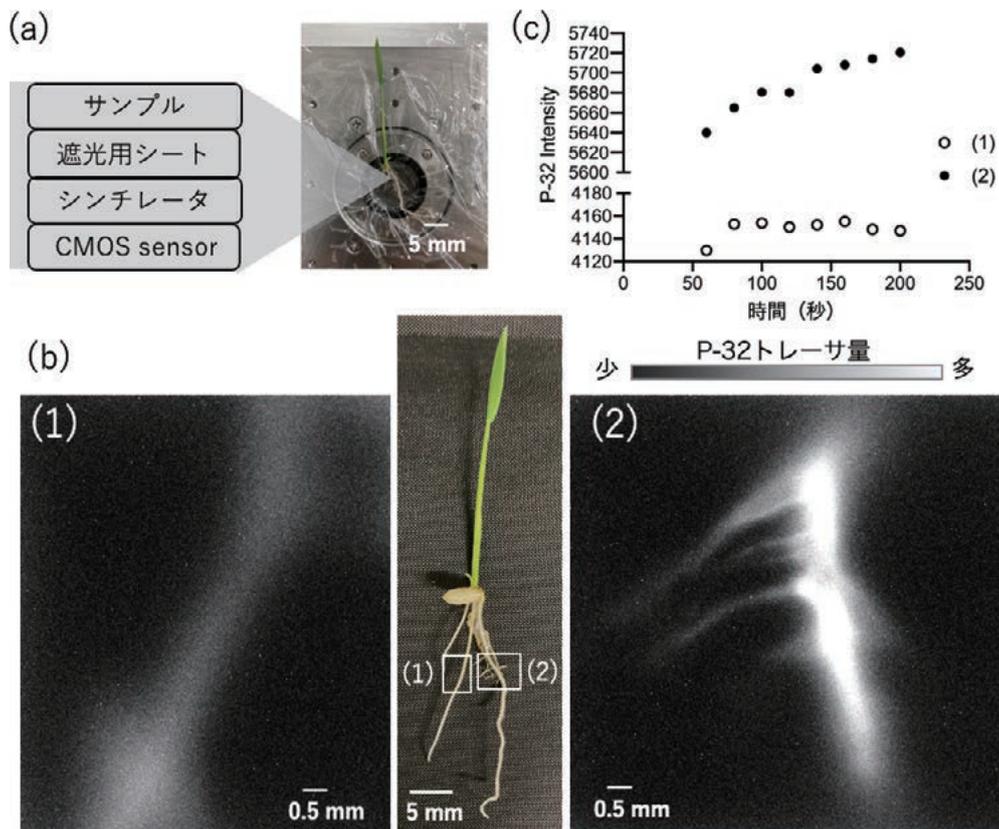


図3 イネの根の P-32吸収能の違い

からなります。宇宙と生命ということで極端なスケールに驚かれる方もいらっしゃると思います。天文学者がなぜ生命に興味を持つのか？それは惑星探査の視点からです。実は、水・酸素の存在＝生命シグナルとする考えは過去30年変わっていません。生命を育む星のシグナルは上記のみなのでしょうか？ユニットでは、生命を理解するために地球環境と生命の共進化（地球環境の変遷が生命に与える影響と生命活動が地球環境に与える影響）を解明することを目指しています。

ユニットとして初めに注目したことは、大酸化イベントです。地球上の酸素が増えたことは、UVの点から生命体にとって重要な転換点であり、好気性生物の誕生による生命の多様化に繋がりました。私たちは、まず、24億年前の大酸化イベントの立役者のシアノバクテリアに注目しました。シアノバクテリアは酸素発生型光合成を始めた最初の生物であり、豊富に存在する水を光により分解して取り出した電子から ATP を作り出したことは、それまでに存在していた化学合成独立栄養生物（近赤色光を使い硫黄化合物から電子を取り出

して ATP を合成し酸素は発生させない）よりも有利に生育しました。光合成反応のコアのタンパク質は当時から現在の高等植物に至るまで保存されていますが、集光タンパク質については、シアノバクテリアはフィコビルリンという特有のものを持っています。フィコビルリンは大きなタンパク質で維持するにはコストがかかります。なぜ、このようなタンパク質を持つようになったのでしょうか？そこで、初期地球の水環境に注目しました。当時の水環境は還元的であり、二価鉄が多量に存在していました。初期に存在したシアノバクテリアによる光合成から放出される酸素により二価鉄が酸化され堆積物となりました。これは縞上鉄鉱層という化石の存在から知られています。私たちのシミュレーションの結果、酸化鉄を含む海は縞上鉄鉱層が形成される過程で一時的に緑色を呈すること（緑色光が多いこと）が予想されました。面白いことに、フィコビルリンの光吸収スペクトルが緑色光に適していることと重なりました。実際に、緑光下での生育実験から、特に緑集光に適したシアノバクテリアの種が持つ色素が進化系

統樹上、古くから存在し、現代型の株では持たないものも存在することが分かりました。このことは、当時の地球の海は緑だったということを想起させます。

一方、上記の鉄の問題と合わせて、地球の酸化イベントに影響を与えるのはリンの存在です。リンの存在量が生命の律速となり、その存在が地球の酸素濃度の上昇に影響したと考えられています。地球45億年の歴史のうち80-90%の時代は上記の鉄を多く含む海域の影響により、リンは海の堆積物として埋蔵され、新第三紀から原生代（約32億年から19億年）のリン酸濃度は現在と比較して10-12%であったと考えられています。一方で、当時の海にはSiが豊富に存在するとも考えられており、SiはFeと結合することから生物が利用できる化学形態のリン酸塩は鉄に制限されていなかったとの逆の見解もあります。見解が分かれる理由は、原生代は化石が少なく（沈黙の10億年と呼ばれる）、地学的な手法で解明することの難しさがあります。一方で約5億4千年前にリン

酸が増加したことは、化石地層から確認されており、この時期以降に酸素濃度のさらなる上昇、生物の多様化、生物の陸上化へと繋がったと考えられています。ところで現在の地球上のリン環境を見てみると、海面下では0.1-0.4 $\mu\text{M}$ の平均濃度で存在し、これは深さと共に上昇します(水深1000mで1.2-3.2 $\mu\text{M}$ )。陸上では、世界中の5275の土壌を分析した結果から1.4-9630 $\text{mg kg}^{-1}$ と偏って存在することが知られています。環境中のリン酸の大部分は有機物を結びついているか、陽イオン (Fe, Al, Ca, Cd) や粘土によってキレートされた無機物の形で存在しており、たとえば、植物が利用できるリン酸としては0.032-310 $\mu\text{M}$ の範囲にあるとされています。このことから、私たちは、生物は環境に合わせてリン酸の取り込みシステムを備えてきたのではないかと考え、その多様性と進化について理解することが、地球のリン環境の理解に生物側の手法から答えを出せるのではないかと考えました。AlphaFold2による予測構造から光合成生物の細胞膜のリン酸輸送体は、4つに分類で

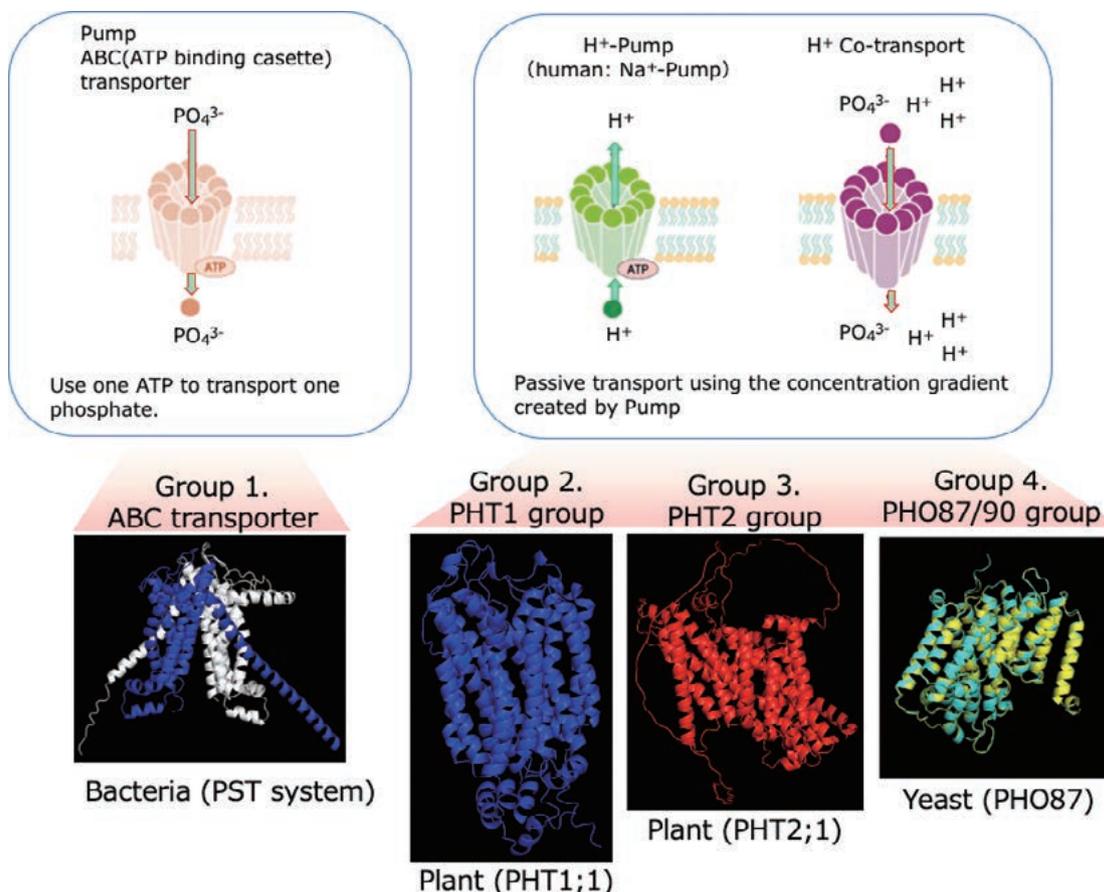


図4 リン酸輸送体の膜貫通領域は4つに分けられる

きることが解りました (図4, 文献8)。その4つは, ABC型輸送体とプロトン共輸送体型に分けられます。その輸送活性はプロトン共輸送体型(MFS輸送体)の方が濃度への対応幅が広く, 高濃度環境へ適していることが分かりました。プロトン共輸送体型はこれまで真核生物で機能解析がされていますが, プロトン共輸送体型の生物間の保存状況を系統樹解析から調べると, 面白いことにABC型リン酸輸送体を持つ古細菌においても存在することが分かりました。現在は, MFS輸送体がリン酸輸送能をもった起源を調べること(カエル卵母細胞での放射性核種トレーサ実験)で共進化の解明へ繋げることを目指しています。

異分野研究ユニット結成の当初は, お互いの専門用語が分からないことが多々ありました。今はその難しさがなくなり, スピンオフ研究が次々と発展しています。本稿の前半で私が紹介した検出系は, 天文学の分野で使用される機器(X線検出, 宇宙線検出)でもあります。望遠鏡と顕微鏡とスケールは異なりますが共通項があり, 物理や光学の知識が豊富な方々と交流した際の気づきからアイデアが生まれました。さらに現在は, 惑星観測のスペクトルカメラ技術を顕微鏡に搭載させた新システムの構築も進められています。近い将来, 生細胞の元素・代謝物解析へ応用を目指しています。

#### おわりに

地球上の生命の多くは, 植物が取り込み, 太陽光を利用して化合物を合成することに依存しています。元素に注目してみると, 地球の始まりから私たちの体の化学反応まで繋がりがあつてを改めて俯瞰し, 生命の不思議を感じずにはいられません。

#### 参考:

- 1) Kanno S., Yamawaki M., Hirose A., Ishibashi H., Kobayashi I.N., Tanoi K., Nussaume L., Nakanishi M.T., "Development of Real-Time

radioisotope Imaging Systems for Plant Nutrient Uptake Studies.", Royal Society, Philosophical Transaction B, Vol.367, pp. 1501-1508, 2012.

- 2) Nussaume L., Kanno S., Javot H., Marin E., Pochon N., Ayadi A., Nakanishi T.M. and Thibaud M.C., "Phosphate import in plants: focus on the PHT1 transporters.", *Frontiers in PLANT SCIENCE*, Vol.2, No.83, pp. 1-12, 2011.
- 3) Péret B., Desnos T., Jost R., Kanno S., Berkowitz O., and Nussaume L. "Root Architecture Responses: In Search of Phosphate", *Plant Physiol.*, Vol.166, pp. 1713-1723, 2014.
- 4) Kanno S., Arrighi J. F., Chiarenza S., Bayle V., Berthome R., Peret B., Javot H., Delannoy E., Marin E., Nakanishi T. M., Thibaud M.C. and Nussaume L. "A novel role for the root cap in phosphate uptake and homeostasis." *eLife*, 5; e14577, 2016.
- 5) Kanno S., Cuyas L., Javot H., Bligny R., Gout E., Dartevelle T., Hanchi M., Nakanishi T. M., Thibaud M.C., Nussaume L., "Performance and Limitations of Phosphate Quantification: Guidelines for Plant Biologists." *Plant Cell Physiol.*, 57(4), pp. 590-706, 2016.
- 6) アグリバイオ7月号「可視化技術で見えてくる根の元素吸収」2022年6月22日発刊.
- 7) アグリバイオ10月号「可視化技術で見える根の元素吸収のしくみ」2023年10月22日発刊.
- 8) Nussaume L., Desnos T., Jinsheng Z., David P., Kumiko M. and Kanno S, (Chapter9 Analysis and comparison of AlphaFold structures predictions between Pi uptake transporters recovering phosphate in natural environments), *Phosphate Plant Nutrition*, Taylor & Francis Group, October 19, 2023, ISBN 9781032516523.