



## 植物道管液に含まれる鉄イオンのシンクロトン蛍光 X 線分析

松林嘉克, 篠原秀文

名古屋大学 大学院理学研究科 生命理学専攻

### 1. 背景と研究目的

植物は根から栄養分を吸収して成長するが、土壌中には生育に必須な成分だけでなく有害な成分も存在し、それらの濃度は降水や乾燥などの環境要因によっても大きく変動する。カスパリー線は、根の内側の内皮細胞の周囲に形成される疎水性の拡散障壁（防水バリア）で、細胞同士のすきまを完全に埋めることによって、栄養分の輸送に関わる道管と外界との間における分子の自由な行き来を防ぐ働きをしている。我々はこのカスパリー線の形成に必要なペプチドホルモン（Casparian strip Integrity Factor: CIF）を発見したが、このホルモンの欠損株ではカスパリー線が正常に形成されないため、植物体内のイオン恒常性が一部失われている。予備的な実験から、CIF ペプチド欠損株は鉄イオン濃度を高めた培地中では枯死することが明らかとなっていたため、様々な培養条件下における道管液中の鉄イオン濃度を測定することを目的として実験を行なった。

### 2. 実験内容

発芽後 15 日目の野生株と CIF ペプチド欠損株を、鉄濃度 75  $\mu\text{M}$ （至適値）、300  $\mu\text{M}$ 、500  $\mu\text{M}$  の 3 段階に変えた改変 MS 寒天培地に移植した後、胚軸を切断し、シリコンチューブをかぶせて道管液を 24 h 採取した。植物体約 20 本から得られた道管液約 20  $\mu\text{l}$  について、BL5S1 ビームラインを用いてシンクロトン蛍光 X 線分析を行なった。また、光学素子により X 線を集光して葉に照射し、蛍光 X 線微細マッピングによる鉄分布の可視化を試みた。

### 3. 結果および考察

鉄イオンは植物成長に必須であるが、植物体内への多量の蓄積は毒性を示すことが知られている。カスパリー線が機能しない CIF ペプチド欠損株が、鉄イオン濃度変化にどのような応答を示すか検討した。道管液を回収してシンクロトン X 線蛍光分析による鉄イオン濃度の定量を行なったところ、野生株（WT）では培地（Medium）の鉄イオン濃度が高まっても道管内の鉄イオン濃度は一定に保たれるが、CIF ペプチド欠損株（*cif1,2*）では過剰の鉄イオンが濃度勾配に従ってそのまま流入してしまうことが確かめられた（Fig. 1A）。カスパリー線は、根からの安定的な栄養吸収、すなわちイオンホメオスタシス維持に重要な役割を担っていることが明らかとなった。また、蛍光 X 線微細マッピングによる鉄分布の可視化を試みた。今回は鉄濃度 75  $\mu\text{M}$ （至適値）で生育させた野生株のみを解析したが、葉の葉脈に沿って鉄イオンが蓄積していることが示された（Fig. 1B）。この手法を用いることで、小さなシロイヌナズナの葉でも十分な解像度でイオンの分布を可視化できることが明らかとなった。なお、Fig. 1A の結果は、他の分子生物学的データとともに CIF ペプチド発見の論文として発表した（1）。

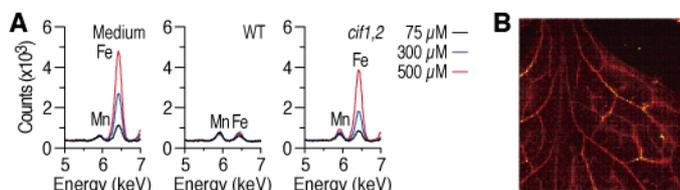


Fig. 1 蛍光 X 線分析(A)および Fe の蛍光 X 線マッピング(B)

### 4. 参考文献

- Nakayama T., Shinohara H., Tanaka M., Baba K., Ogawa-Ohnishi M., Matsubayashi Y. A peptide hormone required for Casparian strip diffusion-barrier formation in *Arabidopsis* roots. *Science* **355**, 284-286 (2017).