

植物における発生と脂質の相互制御

永田 賢司, 阿部 光知

東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系
〒153-8902 東京都目黒区駒場 3 丁目 8-1

Mutual regulation between development and lipid environment in plants

Kenji Nagata, Mitsutomo Abe

Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences,
The University of Tokyo
3-8-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo, 153-8902, Japan

Keywords: ATML1, Ceramide, Epidermis, PDF2, VLCFA

DOI: 10.24480/bsj-review.15c5.00270

1. はじめに

タンパク質・核酸・糖と並び、脂質は細胞の主要な構成成分の一つに位置づけられる。細胞において脂質の大部分は、細胞やオルガネラの周囲を覆う生体膜中に存在する。1972年に Singer と Nicolson が提唱した流動モザイクモデルでは、種々の脂質は生体膜中に均一に分布し、多様な生体膜機能を担うタンパク質群の足場としてはたらくと考えられた (Singer and Nicolson 1972)。しかし、生体膜における脂質の動態や機能の理解は、脂質組成の脂質二重層間非対称性の発見 (Verkleij et al. 1973) や脂質ラフトモデルの提唱 (Simons and Ikonen 1997) などを通じて、徐々に変容を遂げてきた。現在では、種々の脂質は生体膜中に不均一に分布し、同一の生体膜内でも脂質組成の局所的な違いがあることが広く受け入れられている。こうした脂質組成の違いは、パッキング密度・表面電荷・疎水性度・弾性・厚み・湾曲率などの生体膜の物理化学的性質の違いを生み出し、シグナル伝達やエネルギー生産、物質輸送など生体膜が示すユニークな生命機能の基盤となる (Bigay and Antonny 2012; Boutte and Moreau 2014; Holthuis and Menon 2014; Prasad et al. 2020)。これは、脂質が単なる生体膜の構成成分でなく、その機能を制御するためのキープレイヤーであることを意味している。

脂質組成の違いは同一の生体膜内にとどまらず、様々な発生スケール (オルガネラ, 細胞, 組織, 器官, 個体, etc.) で見られる。例えば、小胞体膜は不飽和度が高く脂肪酸鎖長の短い円錐型構造の脂質を多く含む。そのため、小胞体膜を構成する脂質のパッキング密度は疎で、膜の厚みは比較的薄くなる。こうした小胞体膜の物理化学的性質は、脂質や膜タンパク質の産生や輸送を流動的に行う場として小胞体膜が効率的に機能するために重要である。一方、細胞膜には不飽和度が低く脂肪酸鎖長の長い円筒型構造の脂質が多く含まれる。そのため、細胞膜を構成する脂質のパッキング密度は密になり、膜の厚みは比較的厚くなる。その結果、細胞膜は細胞内外の環境を隔てる堅牢な物理的障壁としての機能側面を強く発揮する (Holthuis and Menon 2014; Boutte and Jaillais 2020)。また、葉緑体を構成する膜は、主にリ

ン脂質から構成される他の生体膜と異なり、糖脂質を主成分とする。糖脂質の生合成に異常のあるシロイヌナズナの変異体が葉緑体の光合成機能や形態形成に強い異常を示すことは、糖脂質が正常な葉緑体機能に不可欠であることを示している (Kobayashi 2016; 小林・吉原 2021)。

さらに、発生段階や環境条件によっても脂質組成のダイナミックな変化が生じる。例えば、根の表皮細胞では分化に伴ってホスファチジルセリンの細胞内分布が変化する (Platre et al. 2019)。また、植物体内の脂質組成は日周に伴ってダイナミックに変化する (Nakamura et al. 2014; Maatta et al. 2012)。これらの例は、植物では脂質の分布や組成といった脂質に関わる生体内環境 (脂質環境) が、発生・環境応答プログラムの一部として巧妙に制御されていることを示している。一方、脂質環境それ自体が植物の発生・環境応答を主導的に制御する例も数多く報告されている。根の表皮細胞においてホスファチジルセリンは、オーキシニンシグナル経路で働く Rho of Plants 6 (ROP6) タンパク質の局在を制御し、根の重力応答を制御する (Platre et al. 2019)。また、日周に伴った脂質組成の変化は、フロリゲンの分子実体である FLOWERING LOCUS T と脂質の相互作用動態の変化を引き起こし、花成のタイミングを厳密に制御する (Nakamura et al. 2014)。このように植物においては、発生・環境応答プログラムによって脂質環境が制御されるのに加えて、脂質環境が植物の発生・環境応答を制御する、発生・環境応答-脂質環境間の相互制御が存在すると考えられている (Boutte and Jaillais 2020)。本稿では植物における発生・環境応答-脂質環境間の相互制御について、表皮細胞の分化を例に概観する。特に、「表皮細胞にユニークな脂質環境の形成はどのように制御されるのか?」「表皮細胞の脂質環境はどのように表皮細胞の発生を制御するのか?」という問いについて、我々の最近の研究成果を基に議論したい。

2. 表皮細胞にユニークな脂質環境の形成機構

植物体の最外層に位置する表皮細胞群の脂質環境は、高度に分化している (※植物体の地下部、すなわち根の最外層を占めるのは表皮、側部根冠、コルメラを構成する細胞群のうち、根の表層に露出した一部の細胞群である。しかし、本稿では分かりやすさのため、地上部と地下部で植物体の最外層を占める細胞群をまとめて表皮細胞と呼称する。)。表皮細胞は植物体内部と外部環境を隔てる位置に分化する。固着生活を送る植物は外部環境で生じる多様なストレスに常に晒されるため、表皮細胞は多様な防御形質を発現し植物体内部を保護している。その一つの象徴が、表皮細胞の細胞表層に形成されるクチクラ層である (図 1)。クチクラ層は主に、不飽和脂肪酸が重合 (ポリエステル化) したクチンと炭素鎖数が 20 以上と極めて長い極長鎖脂肪酸 (Very-long-chain fatty acid; VLCFA) の派生物質であるワックスからなる脂溶性構造体である (Yeats and Rose 2013)。そのため、表皮細胞にはクチクラ層形成に必要なユニークな脂質環境が発達している (図 1)。

それでは植物の発生の過程において、表皮細胞が持つユニークな脂質環境はどのように確立されるのだろうか?クチクラ層の形成は、色素体で生合成された炭素鎖数 16 または 18 の脂肪酸 (C16/18 long-chain-fatty acid; C16/18 LCFA) が小胞体へ輸送されることから始まる (Yeats and Rose 2013)。その後、一部の C16/18 LCFA は小胞体において種々の修飾を受けた

のち、グリセロ骨格に組み込まれてモノアシルグリセロールとなる。モノアシルグリセロールは細胞外に輸送された後、重合されてクチンとなる (Yeats and Rose 2013)。また、一部の C16/18 LCFA は小胞体において炭素鎖数 20 以上の VLCFA に延長され、その後アルコールやエステル、アルデヒド、アルカン、ケトンに変換されることで、ワックスとなる。合成されたワックスは細胞外に輸送された後、クチンと共にクチクラ層を形成する (Yeats and Rose 2013)。このように、表皮細胞にはクチクラ層の形成に必要な脂質代謝系が発達する (図 1)。

表皮細胞がクチクラ層を形成するために必要な脂質環境は、クチクラ層の直接の材料であるクチン・ワックス生合成のための脂質代謝系だけではない。クチクラ層は表皮細胞と外部環境の境界面に形成されることではじめて、個体の内外を隔てる防御障壁として機能する。そのため、クチクラ層の構成成分は表皮細胞内で合成された後、外部環境の方向へ極性を持って輸送・分泌される必要がある。こうしたクチクラ層構成成分の極性を持った輸送には、表皮細胞が持つ高度に極性化した膜区画が必要である。表皮細胞膜は、外部環境に面する細胞膜区画 (Outer Lateral Membrane; OL 膜) と植物体内部に面する膜区画 (Inner Lateral Membrane; IL 膜) に区画化されている (Luo et al. 2007; Nakamura and Grebe 2008; Nagata et al. 2021)。細胞外へのクチクラ層構成成分の輸送を担う ABC トランスポーター群などは表皮細胞膜の中でも OL 膜に特異的に集積し、クチクラ層の構成成分の極性を持った輸送を担う (図 1) (Luo et al. 2007; Nagata et al. 2021)。こうした表皮細胞膜に形成される特徴的な細胞膜区画の形成もまた、表皮細胞がクチクラ層を形成するために必要なユニークな脂質環境の一つである (図 1)。本節では、ワックスの生合成に必須の過程である VLCFA の生合成に着眼点を置き、上述した表皮細胞の持つユニークな脂質環境の確立機構について議論したい。

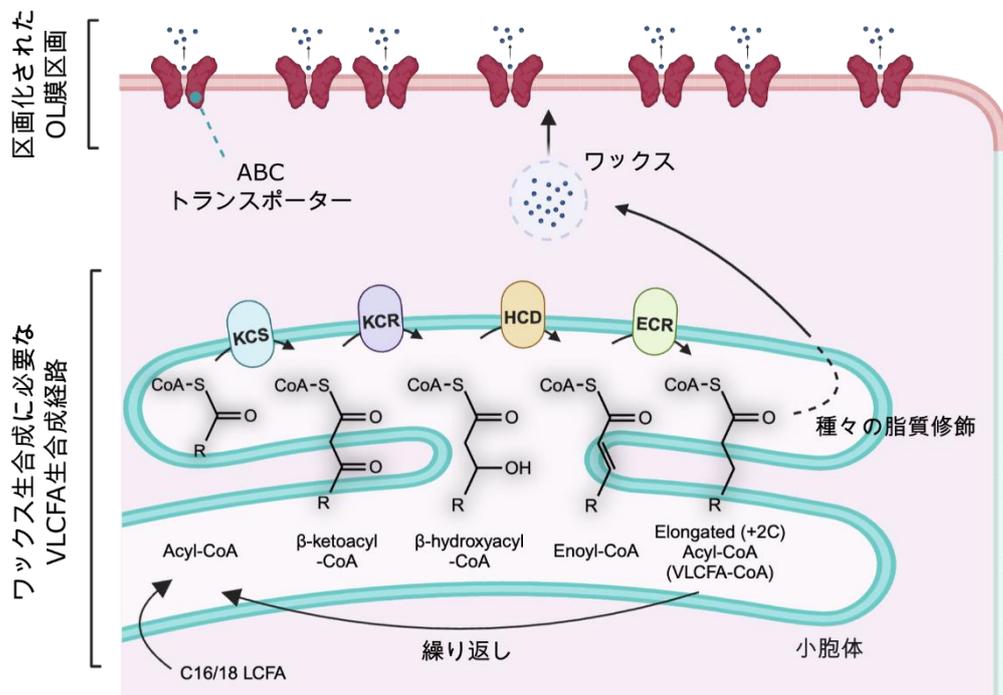


図 1. 表皮細胞が発達させるユニークな脂質環境

色素体で合成された C16/18 LCFA は Coenzyme A (CoA) と結合した後、小胞体に局在する 4 つの酵素 (KCS, KCR, HCD, ECR) の連続的な働きによって VLCFA に変換される。合成された VLCFA は種々の脂質修飾を受けたのちにワックスとなり、OL 膜に局在する ABC トランスポーター群などの働きによって細胞外に輸送・分泌される。

2-1. 表皮細胞における VLCFA 生合成経路の形成機構

VLCFA の生合成は Fatty Acid Elongase と呼ばれる酵素複合体による 4 段階の連続的な酵素反応（縮合→還元→脱水→還元）によって脂肪酸鎖に炭素を 2 個ずつ付加する過程を繰り返すことで起こる（図 1）（Bach and Faure 2010）。各段階の酵素反応はそれぞれ、 β -ketoacyl-CoA synthase (KCS), β -ketoacyl-CoA reductase(KCR), β -hydroxacyl-CoA dehydratase (HCD) , enoyl-CoA reductase (ECR)により触媒される。発芽後の植物体において、これら酵素をコードする遺伝子群（VLCFA 生合成遺伝子群）は、表皮細胞のほか VLCFA を用いたスベリン合成が起こる根の内皮細胞で発現することが知られる。我々は表皮細胞における VLCFA 生合成経路の確立過程を詳細に理解するため、シロイヌナズナにおいて機能的な HCD をコードする唯一の遺伝子である *PASTICCINO2* (*PAS2*) 遺伝子（Bach et al. 2008）の発現パターンを詳細に解析した。その結果、胚発生過程において *PAS2* 遺伝子は未熟な表皮細胞（原表皮細胞）から構成される層構造（原表皮）が初めて形成される 16 細胞期に先んじて発現していた（図 2）（Nagata et al. 2021）。原表皮の形成後、*PAS2* 遺伝子の発現は原表皮細胞のみに限定され（図 2）、発芽後も表皮細胞における *PAS2* 遺伝子の発現は維持されていた（Nagata et al. 2021）。また、根に後生的に形成される側生器官である側根でも、*PAS2* 遺伝子の発現はごく初期の発生段階から一貫して表皮細胞で観察された（図 2）（Nagata et al. 2021）。これらの観察から、VLCFA の生合成に必要な代謝系は植物の発生の極めて初期の段階に確立された後、原表皮/表皮細胞のみに継承されると考えられた。

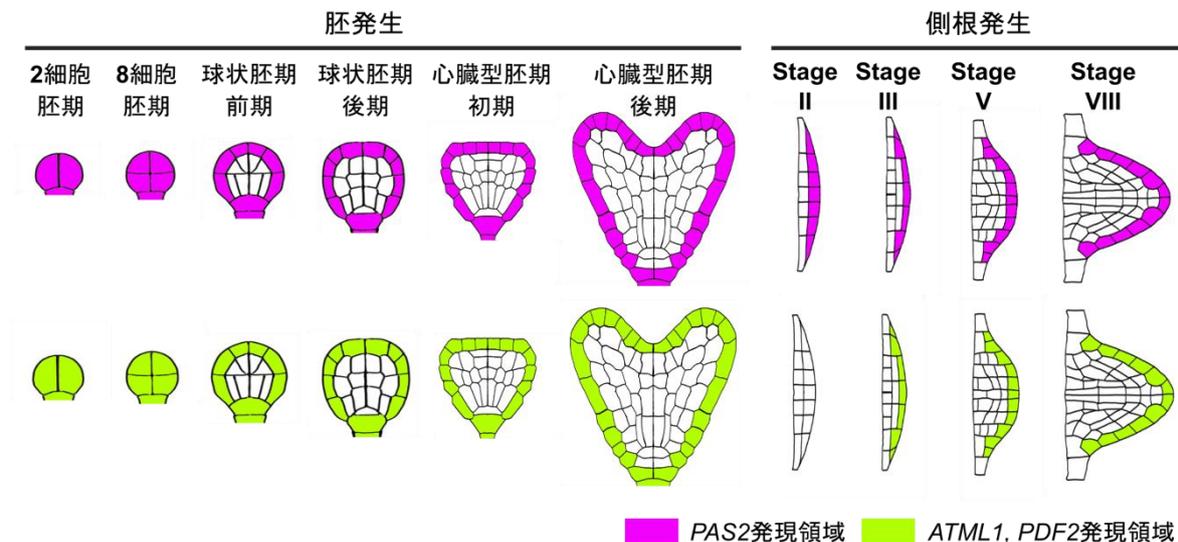


図 2. 表皮細胞の発生過程における VLCFA 生合成遺伝子 (*PAS2* 遺伝子) と表皮細胞分化制御の鍵遺伝子 (*ATML1*, *PDF2* 遺伝子) の発現動態

シロイヌナズナにおいて表皮細胞の分化は、クラス IV ホメオボックス-ロイシンジッパー (HD-ZIP IV) 転写因子の *ARABIDOPSIS THALIANA MERISTEM LAYER1* (*ATML1*) および *PROTODERMAL FACTOR2* (*PDF2*) によって制御される (Abe et al. 2001, 2003)。*PAS2* 遺伝子と同様、*ATML1* をコードする *ATML1* 遺伝子および *PDF2* をコードする *PDF2* 遺伝子の発現は胚発生や側根発生の極めて初期段階に開始し、発生過程を通じて原表皮/表皮細胞で特異

的に維持される (図 2) (Lu et al. 1996; Sessions et al. 1999; Abe et al. 2001, 2003; Takada et al. 2007; Nagata et al. 2021)。ATML1 および PDF2 は表皮細胞特異的遺伝子群のプロモーターに共通して存在するシス配列 (L1 box) に結合し、下流の遺伝子発現を促進する (Abe et al. 2001, 2003)。興味深いことに、*PAS2* 遺伝子を含む VLCFA 生合成遺伝子群の多くは、そのプロモーター領域に L1 box を持つ。また、人工マイクロ RNA によって *ATML1*, *PDF2* 遺伝子の特異的にノックダウンした植物体では、*PAS2* 遺伝子を含む VLCFA 生合成遺伝子群の発現が低下する (Rombolá-Caldentey et al. 2014)。すなわち、原表皮/表皮細胞における VLCFA やその派生脂質の生合成は、原表皮/表皮細胞特異的に発現する転写因子 *ATML1* および *PDF2* によって制御されると考えられる。植物では、VLCFA はワックスの生合成に用いられる他、特にスフィンゴ脂質の生合成に用いられる (Bach and Faure 2010)。そこで我々は、*ATML1* 遺伝子と *PDF2* 遺伝子のはたらきを同時に欠損した *atml1; pdf2* 二重変異体において VLCFA を含むスフィンゴ脂質を定量し、野生型植物と比較した。その結果、VLCFA を含むスフィンゴ脂質量は、野生型植物と比較して *atml1; pdf2* 二重変異体で顕著に減少していた (Nagata et al. 2021)。以上の結果から、*ATML1*, *PDF2* 遺伝子は表皮細胞分化プログラムの一部として、VLCFA の生合成、とりわけ VLCFA を含むスフィンゴ脂質の生合成という表皮細胞特異的な脂質の代謝を制御していると考えられる。

2-2. 植物の表皮細胞が持つ特徴的な細胞膜区画の形成機構

生体膜の区画化には、スフィンゴ脂質とステロールに富む細胞膜構造である脂質ラフト (マイクロドメイン) が関わるということが知られる (Simons and Ikonen 1997; Simons and Toomre 2000)。そこで我々は、表皮細胞膜に形成される細胞膜区画の形成に VLCFA, 特に脂質ラフトの形成に重要なはたらきを果たす VLCFA を含むスフィンゴ脂質が関わるか検討した。VLCFA を含むスフィンゴ脂質の生合成を特異的に阻害する薬剤の存在下で、OL 膜と IL 膜のそれぞれに局在する膜タンパク質の挙動を検討したところ、OL 膜に局在する膜タンパク質の局在のみが感受性を示し、細胞内の顆粒状構造へ移行した (Nagata et al. 2021)。これらの結果から、表皮細胞膜に形成される細胞膜区画のうち、クチクラ層の構成成分の極性を持った輸送に重要な OL 膜の形成には、VLCFA を含むスフィンゴ脂質が関わることを示唆された。すなわち表皮細胞では、*ATML1*, *PDF2* 遺伝子のはたらきで形成される表皮細胞特異的な脂質代謝経路の産物である VLCFA は、ワックスの生合成に利用されるだけでなく、スフィンゴ脂質に組み込まれた後、OL 膜区画の形成においても活用されると考えられる。

3. 表皮細胞が持つユニークな脂質環境による表皮細胞分化の制御機構

本節では、*ATML1*, *PDF2* 遺伝子のはたらきにより形成される表皮細胞にユニークな脂質環境が、いかに表皮細胞の分化を制御するのかについて議論する。クチクラ層に象徴される多様な防御形質を発現する表皮細胞は、植物体内部と外部環境を隔てる植物体の最外層に正確に分化することで、植物体内部を様々なストレスから保護する。では、どのような分子機構が正確な位置での表皮細胞分化を実現するのだろうか？

この疑問に答えることは、表皮細胞分化を司る *ATML1*, *PDF2* 遺伝子の発現が植物体の最外層でのみ正確に維持される分子機構を解き明かすことに他ならない。前節で述べたように、*ATML1*, *PDF2* は表皮細胞特異的遺伝子群のプロモーターに共通して存在するシス配列 L1 box に結合し、下流の遺伝子発現を促進する (Abe et al. 2001, 2003)。L1 box は *ATML1*, *PDF2* 遺伝子プロモーター領域にも存在し、*ATML1*, *PDF2* 遺伝子の転写は自らの翻訳産物 (*ATML1* および *PDF2*) を介したフォワードフィードバック機構 (オートレギュレーション) により制御されると考えられた (Abe et al. 2001, 2003)。オートレギュレーションはシンプルな遺伝子発現制御機構であり、一見して表皮細胞特異的な遺伝子発現という複雑な発現様式を制御することは考えづらい。しかし我々は、*ATML1*, *PDF2* が位置依存的な翻訳後安定性制御を受け、表皮細胞群のみで安定的に存在できることを明らかにした (Nagata et al. 2021; Nagata and Abe 2023)。すなわち、オートレギュレーションによる *ATML1*, *PDF2* 遺伝子の転写制御機構は、*ATML1*, *PDF2* 遺伝子プロモーター内の L1 box に結合する転写制御因子である *ATML1*, *PDF2* が安定的に存在できる表皮細胞群のみで維持されると考えられた。

次に我々は、*ATML1*, *PDF2* の位置依存的な翻訳後安定性制御機構の理解を試みた。*ATML1*, *PDF2* は植物に固有の HD-ZIP IV 型転写因子ファミリーに属する。HD-ZIP IV 型転写因子の特徴の一つに、steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer (START) ドメインを有することが挙げられる。START ドメインは動物・植物を含む真核生物に広く保存された脂質結合ドメインであり、植物では START ドメインはリガンド脂質との結合を介して転写因子活性の制御に関わることが示唆されていた (Schrick et al. 2014)。そこで脂質-タンパク質間相互作用を検出する *in vitro* の解析手法である Protein-lipid overlay 法によって *ATML1* の START ドメインのリガンド脂質を探索したところ、スフィンゴ脂質の一種であるセラミドが同定された。興味深いことに、*ATML1* の START ドメインによるセラミドとの相互作用にはセラミドが含む脂肪酸鎖長に対する選択性があり、VLCFA を含むセラミドのみが *ATML1* の START ドメインと相互作用することが明らかになった (Nagata et al. 2021)。また我々の報告の後、*in vivo* 手法を用いた *PDF2* のリガンド脂質の網羅的探索によって、VLCFA を含むセラミドが *PDF2* のリガンド脂質の一つであることが報告された (Wojciechowska et al. 2021)。そこで、*ATML1*, *PDF2* と VLCFA を含むセラミドとの相互作用が *ATML1*, *PDF2* の位置依存的な翻訳後安定性制御に必要なか検討した。VLCFA を含むセラミドとの相互作用が特異的に阻害される 1 アミノ酸置換を含む変異型 *ATML1* は、表皮細胞群における安定性を喪失していた (Nagata et al. 2021)。また、同様の位置に一アミノ酸置換が導入された変異型 *PDF2* も同様に表皮細胞群における安定性を喪失していた (Nagata and Abe 2023)。さらに、VLCFA の生合成を阻害した条件下においては野生型の *ATML1*, *PDF2* であっても表皮細胞群における安定性を喪失していた (Nagata et al. 2021)。以上の結果は、*ATML1*, *PDF2* と VLCFA を含むセラミドとの相互作用が *ATML1*, *PDF2* の位置依存的な翻訳後安定性制御に必要なことを示している (図 3A)。最後に、*ATML1*, *PDF2* 遺伝子の転写制御における、*ATML1*, *PDF2* の位置依存的な翻訳後安定性制御の役割を検討した。VLCFA の生合成を阻害した条件下においては、*ATML1*, *PDF2* 遺伝子の転写量は顕著に低下していた (Nagata et al. 2021)。すなわち、*ATML1*, *PDF2* 遺伝子プロモーター内の L1 box に結合する転写制御因子である *ATML1*, *PDF2* が

VLCFA を含むセラミドとの相互作用を通じて安定性を維持することは、オートレギュレーションによる *ATML1*, *PDF2* 遺伝子の表皮細胞特異的な転写制御に必要であると考えられた(図3B)。

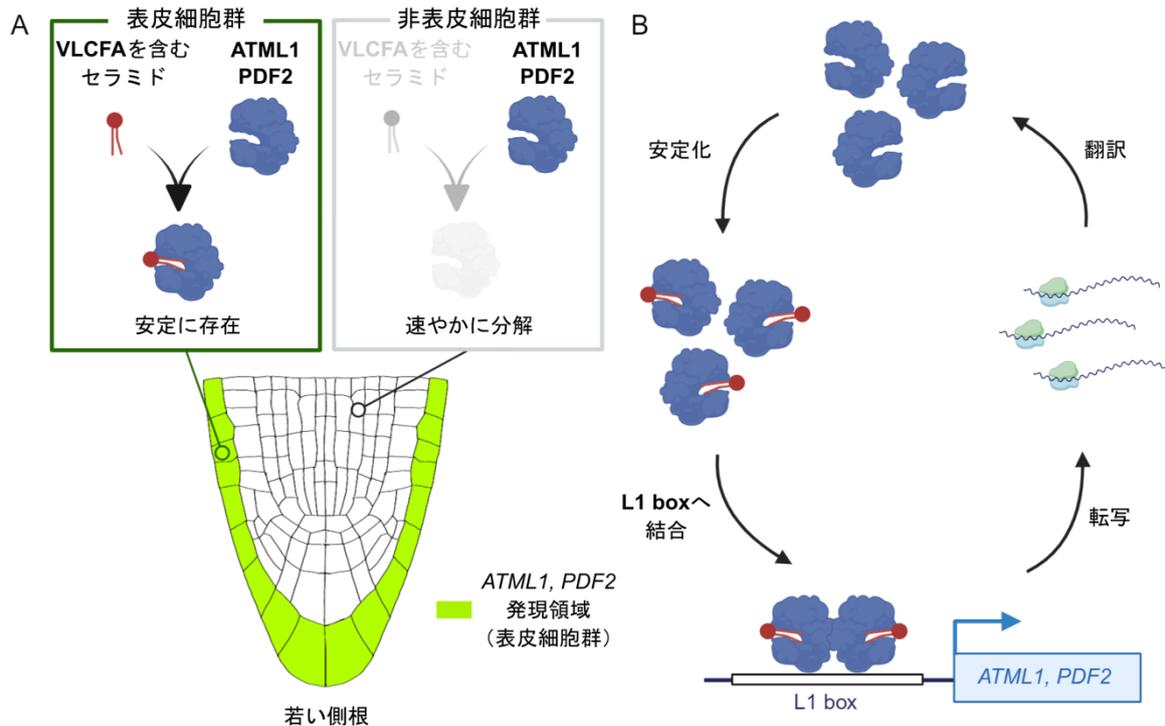


図3. *ATML1*, *PDF2* 遺伝子の発現制御メカニズム

(A) *ATML1*, *PDF2* タンパク質は表皮細胞群に存在する VLCFA を含むセラミドと複合体を形成したときのみ、安定に存在できる。(B) *ATML1*, *PDF2* 遺伝子の発現を制御するオートレギュレーションは、VLCFA を含むセラミドと *ATML1*, *PDF2* タンパク質の相互作用を通じて安定に維持される。

4. 鶏が先か卵が先か

表皮細胞のユニークな脂質環境は、*ATML1*, *PDF2* による転写制御により形成されることが考えられる。一方、*ATML1*, *PDF2* の表皮細胞特異的な活性や発現パターンは表皮細胞の脂質環境によって制御されることが考えられる。すなわち、表皮細胞の分化は表皮細胞分化を制御する転写因子である *ATML1*, *PDF2* と表皮細胞の脂質環境の相互制御を通じて進行するといえる。それでは、*ATML1*, *PDF2* の発現と表皮細胞の脂質環境の形成のどちらが表皮細胞の分化の起点となるのだろうか？この問いに答えることは今後の大きな課題の一つである。本節では、我々の解析結果やいくつかの重要な先行研究を基に現時点での理解や今後の展望を議論したい。

4-1. 側根発生及び胚発生の初期過程における観察

シロイヌナズナでは、維管束の原生木部に接する内鞘細胞が分裂することで、側根形成が開始される。側根の初期形成過程では規則正しい細胞分裂が繰り返され、秩序だった層構造をもつ側根原基が形成される。我々は、側根の初期発生過程での *ATML1*, *PDF2* 遺伝子と *PAS2* 遺伝子の発現動態を時系列にそってそれぞれ観察した。その結果、*ATML1*, *PDF2*, *PAS2* 遺伝

子は全て、側根原基の最外層を構成する細胞群のみで特異的に観察された。興味深いことに、*PAS2* 遺伝子の発現は、*ATML1*, *PDF2* 遺伝子が発現を開始するタイミングよりわずかに早い時期にも観察された (図 2) (Nagata et al. 2021)。側根発生初期における VLCFA 生合成遺伝子群の発現は、AP2/ERF 型転写因子の *PUCHI* によって制御されることが報告されている (Trinh et al. 2019)。また、*puchi* 変異体では、側根における *ATML1*, *PDF2* 遺伝子の発現が抑制される (Bellande et al. 2022)。すなわち、側根の初期発生過程においては *ATML1*, *PDF2* 遺伝子と VLCFA 生合成遺伝子群の発現は独立に制御され、*ATML1*, *PDF2* 遺伝子の発現には VLCFA 生合成遺伝子群の先行した発現が必要であることが示唆される。

シロイヌナズナの胚発生では、8 細胞期から 16 細胞期にかけての細胞分裂によって胚を構成する細胞群の間に初めて内外方向の位置の違いが生じる。我々は、8 細胞期胚および 16 細胞期胚における *ATML1* の発現動態を詳細に解析した。その結果、*ATML1* の発現は 8 細胞期胚では常に全ての細胞の核で確認されたが、16 細胞期胚では全ての細胞の核で確認される場合と外側に位置する原表皮細胞群の核のみで観察される場合があった (Nagata et al. 2021)。一方、*ATML1* 遺伝子の転写活性を詳細に解析した先行研究 (Takada et al. 2007) では、*ATML1* 遺伝子の転写活性は 8 細胞期では胚の全ての細胞に見られるにも関わらず、16 細胞期に移行した後は外側に位置する原表皮細胞のみで維持され、内側に位置する細胞群では厳密に抑制されることが報告されている。このことは、16 細胞期胚で内側に位置する細胞の核に存在する *ATML1* は、細胞分裂後に新たに転写・翻訳されたのではなく、8 細胞期胚 (以前) に転写・翻訳された *ATML1* が細胞分裂を介して分配されたものであることを示唆している。一方、高度に極性化した膜区画は 8 細胞期胚を構成する細胞群や 16 細胞期胚の原表皮細胞群でも観察される (Liao and Weijers 2018)。すなわち、*ATML1* は細胞分裂を介して (一過的には) 非表皮細胞群にも分配されうるものの、表皮細胞に特徴的な細胞膜区画を持たない非表皮細胞群では即座に転写因子活性を失い、その後分解されることが示唆される。我々はこうした転写因子活性の迅速な制御メカニズムの候補として、*ATML1* の転写因子活性に必要な *ATML1* ホモダイマーや *ATML1*-*PDF2* ヘテロダイマーの形成が、*ATML1* と VLCFA を含むセラミドの相互作用に依存することを明らかにしている (Nagata and Abe 2021, 2023)。

4-2. 今後の展望

現在のところ我々は、表皮細胞分化において *ATML1*, *PDF2* の発現と表皮細胞の脂質環境の形成は、原表皮細胞分化の確立段階においては独立に制御されると考えている。しかし、表皮細胞群の分化が転写因子-脂質環境間相互制御を通じて維持され続けるためには、脂質環境が先行して形成されていることが必要であると考えている。表皮細胞に形成された脂質環境は細胞の位置情報を含むとともに、*ATML1*, *PDF2* の発現を主導的に制御していく役割を持つと推測している。こうしたアイデアを今後実証していくためには、植物の発生プロセスの最初期 (配偶子や受精卵, 側根原基の創始細胞) を解析の出発点として、*ATML1*, *PDF2* の発現と表皮細胞が持つユニークな脂質環境の形成の関係を丁寧に検証していく必要がある。特に、*ATML1*, *PDF2* と VLCFA を含むセラミドとの相互作用に関して、その生体内動態を高い時空間解像度で明らかにしていくことは今後の最も重要な課題であると考えている。さら

に、胚発生や器官形成の極めて初期段階で未分化な表皮細胞における *ATML1*, *PDF2* 遺伝子の発現を誘導する具体的な分子メカニズムも併せて解明することが出来れば、植物の表皮細胞分化制御機構に関して包括的理解が得られると期待している。

5. おわりに

本稿では、植物における発生・環境応答-脂質環境間の相互制御を、表皮細胞における例を基に概観してきた。植物の発生や環境応答が脂質環境とのクロストークを通じて制御されていく事例は、これからも数多く明らかになっていくだろう。特に、*ATML1*, *PDF2* と同様に *START* ドメインを持つ *HD-ZIP III*, *IV* 型転写因子群は非常に魅力的な研究対象である。シロイヌナズナのゲノム上には 21 個の *HD-ZIP III*, *IV* 型転写因子群がコードされており、植物の発生の様々な局面に関与する (Ariel et al. 2007)。最近、*ATML1*, *PDF2* 以外の *HD-ZIP III*, *IV* 型転写因子に関しても、リガンド脂質との相互作用を通じた機能制御 (安定性制御, ダイマー化制御) をうけることが報告された (Mukherjee et al. 2022; Husbands et al. 2023)。また、プレプリントの段階ではあるものの、*in vivo* 手法による *HD-ZIP IV* 型転写因子のリガンド脂質の単離・同定も報告されている (Wojciechowska et al. 2021)。近年急速に進歩しつつある様々な脂質解析技術を用いて、近い将来ユニークな脂質環境とのクロストークを通じた *HD-ZIP III*, *IV* 型転写因子群による植物の発生や環境応答の制御メカニズムが数多く解き明かされることを期待したい。

謝辞

本稿で紹介した研究は、共同研究者である岡山大学の高橋卓教授、埼玉大学の川合真紀教授、石川寿樹准教授のご協力のもと行われました。この場を借りて心から感謝申し上げます。本稿の図表は Biorender.com を使用して作成されました。

引用文献

- Abe M, Katsumata H, Komeda Y, Takahashi T (2003) Regulation of shoot epidermal cell differentiation by a pair of homeodomain proteins in *Arabidopsis*. *Development* 130: 635–643. doi:10.1242/dev.00292
- Abe M, Takahashi T, Komeda Y (2001) Identification of a *cis*-regulatory element for L1 layer-specific gene expression, which is targeted by an L1-specific homeodomain protein. *Plant J* 26: 487–494. doi:10.1046/j.1365-313x.2001.01047.x
- Ariel FD, Manavella PA, Dezar CA, Chan RL (2007) The true story of the HD-Zip family. *Trends Plant Sci* 12:419–426. doi:10.1016/j.tplants.2007.08.003
- Bach L, Faure JD (2010) Role of very-long-chain fatty acids in plant development, when chain length does matter. *C R Biol* 333:361–370. doi:10.1016/j.crvi.2010.01.014
- Bach L, Michaelson LV, Haslam R, Bellec Y, Gissot L, Marion J, Da Costa M, Boutin JP, Miquel M, Tellier F, et al (2008) The very-long-chain hydroxy fatty acyl-CoA dehydratase PASTICCINO2 is essential and limiting for plant development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:14727–14731. doi:10.1073/pnas.0805089105

- Bellande K, Trinh DC, Gonzalez AA, Dubois E, Petitot AS, Lucas M, Champion A, Gantet P, Laplaze L, Guyomarc'h S (2022) PUCHI represses early meristem formation in developing lateral roots of *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot* 73:3496–3510. doi:10.1093/jxb/erac079
- Bigay J, Antony B (2012) Curvature, lipid packing, and electrostatics of membrane organelles: defining cellular territories in determining specificity. *Dev Cell* 23:886–895. doi:10.1016/j.devcel.2012.10.009
- Boutté Y, Jaillais Y (2020) Metabolic Cellular Communications: Feedback Mechanisms between Membrane Lipid Homeostasis and Plant Development. *Dev Cell* 54:171–182. doi:10.1016/j.devcel.2020.05.005
- Boutté Y, Moreau P (2014) Modulation of endomembranes morphodynamics in the secretory/retrograde pathways depends on lipid diversity. *Curr Opin Plant Biol* 22:22–29. doi:10.1016/j.pbi.2014.08.004
- Helms JB, Zurzolo C (2004) Lipids as targeting signals: lipid rafts and intracellular trafficking. *Traffic* 5:247–254. doi:10.1111/j.1600-0854.2004.0181.x
- Holthuis JCM, Menon AK (2014) Lipid landscapes and pipelines in membrane homeostasis. *Nature* 510:48–57. doi:10.1038/nature13474
- Husbands AY, Feller A, Aggarwal V, Dresden CE, Holub AS, Ha T, Timmermans MCP (2022) The START domain potentiates HD-ZIPIII transcriptional activity. *Plant Cell* 35: 2332–2348. doi:10.1093/plcell/koad058
- Kobayashi K (2016) Role of membrane glycerolipids in photosynthesis, thylakoid biogenesis and chloroplast development. *J Plant Res* 129:565–580. doi:10.1007/s10265-016-0827-y
- 小林康一, 吉原晶子 (2021) 脂質代謝が印す葉緑体の進化と多様性. *BSJ Review* 12A:23–37 doi:10.24480/bsj-review.12a4.00197
- Liao CY, Weijers D (2018) A toolkit for studying cellular reorganization during early embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 93:963–976. doi:10.1111/tpj.13841
- Lu P, Porat R, Nadeau JA, O'Neill SD (1996) Identification of a meristem L1 layer-specific gene in *Arabidopsis* that is expressed during embryonic pattern formation and defines a new class of homeobox genes. *Plant Cell* 8:2155–2168. doi:10.1105/tpc.8.12.2155
- Luo B, Xue XY, Hu WL, Wang LJ, Chen XY (2007) An ABC transporter gene of *Arabidopsis thaliana*, *AtWBC11*, is involved in cuticle development and prevention of organ fusion. *Plant Cell Physiol* 48:1790–1802. doi:10.1093/pcp/pcm152
- Maatta S, Scheu B, Roth MR, Tamura P, Li M, Williams TD, Wang X, Welti R (2012) Levels of *Arabidopsis thaliana* Leaf Phosphatidic Acids, Phosphatidylserines, and Most Trienoate-Containing Polar Lipid Molecular Species Increase during the Dark Period of the Diurnal Cycle. *Front Plant Sci* 3:49. doi:10.3389/fpls.2012.00049
- Mukherjee T, Subedi B, Khosla A, Begler EM, Stephens PM, Warner AL, Lerma-Reyes R, Thompson KA, Gunewardena S, Schrick K (2022) The START domain mediates *Arabidopsis* GLABRA2 dimerization and turnover independently of homeodomain DNA binding. *Plant Physiol* 190:2315–2334. doi:10.1093/plphys/kiac383

- Nagata K, Abe M (2023) A conserved mechanism determines the activity of two pivotal transcription factors that control epidermal cell differentiation in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res* 136:49–358. doi:10.1007/s10265-023-01439-7
- Nagata K, Abe M (2021) The lipid-binding START domain regulates the dimerization of ATML1 via modulating the ZIP motif activity in *Arabidopsis thaliana*. *Dev Growth Differ* 63:448–454. doi:10.1111/dgd.12753
- Nagata K, Ishikawa T, Kawai-Yamada M, Takahashi T, Abe M (2021) Ceramides mediate positional signals in *Arabidopsis thaliana* protoderm differentiation. *Development* 148:dev194969. doi:10.1242/dev.194969
- Nakamura M, Grebe M (2018) Outer, inner and planar polarity in the Arabidopsis root. *Curr Opin Plant Biol* 41:46–53 doi:10.1016/j.pbi.2017.08.002
- Nakamura Y, Andrés F, Kanehara K, Liu YC, Dörmann P, Coupland G (2014) *Arabidopsis* florigen FT binds to diurnally oscillating phospholipids that accelerate flowering. *Nat Commun* 5:3553. doi:10.1038/ncomms4553
- Platre MP, Bayle V, Armengot L, Bareille J, Marquès-Bueno MDM, Creff A, Maneta-Peyret L, Fiche J-B, Nollmann M, Miège C, et al (2019) Developmental control of plant Rho GTPase nano-organization by the lipid phosphatidylserine. *Science* 364:57–62. doi:10.1126/science.aav9959
- Prasad R, Sliwa-Gonzalez A, Barral Y (2020) Mapping bilayer thickness in the ER membrane. *Sci Adv* 6:eaba5130. doi:10.1126/sciadv.aba5130
- Rombolá-Caldentey B, Rueda-Romero P, Iglesias-Fernández R, Carbonero P, Oñate-Sánchez L (2014) Arabidopsis DELLA and two HD-ZIP transcription factors regulate GA signaling in the epidermis through the L1 box cis-element. *Plant Cell* 26:2905–2919. doi:10.1105/tpc.114.127647
- Schrick K, Bruno M, Khosla A, Cox PN, Marlatt SA, Roque RA, Nguyen HC, He C, Snyder MP, Singh D, et al (2014) Shared functions of plant and mammalian StAR-related lipid transfer (START) domains in modulating transcription factor activity. *BMC Biol* 12:70. doi:10.1186/s12915-014-0070-8
- Sessions A, Weigel D, Yanofsky MF (1999) The *Arabidopsis thaliana* MERISTEM LAYER 1 promoter specifies epidermal expression in meristems and young primordia. *Plant J* 20:259–263. doi:10.1046/j.1365-313x.1999.00594.x
- Simons K, Ikonen E (1997) Functional rafts in cell membranes. *Nature* 387:569–572. doi:10.1038/42408
- Singer SJ, Nicolson GL (1972) The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175:720–731. doi:10.1126/science.175.4023.720
- Takada S, Jürgens G (2007) Transcriptional regulation of epidermal cell fate in the *Arabidopsis* embryo. *Development* 134:1141–1150. doi:10.1242/dev.02803
- Trinh D-C, Lavenus J, Goh T, Boutté Y, Drogue Q, Vaissayre V, Tellier F, Lucas M, Voß U, Gantet P, et al (2019) PUCHI regulates very long chain fatty acid biosynthesis during lateral root and callus formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116:14325–14330. doi:10.1073/pnas.1906300116

- Verkleij AJ, Zwaal RF, Roelofsen B, Comfurius P, Kastelijn D, van Deenen LL (1973) The asymmetric distribution of phospholipids in the human red cell membrane. A combined study using phospholipases and freeze-etch electron microscopy. *Biochim Biophys Acta* 323:178–193. doi:10.1016/0005-2736(73)90143-0
- Yeats TH, Rose JKC (2013) The formation and function of plant cuticles. *Plant Physiol* 163:5–20. doi:10.1104/pp.113.222737
- Wojciechowska I, Mukherjee T, Knox-Brown P, Hu X, Khosla A, Mathews GL, Thompson KA, Peery ST, Szlachetko J, Thalhammer A, et al (2021) *Arabidopsis* PROTODERMAL FACTOR2 binds lysophosphatidylcholines and transcriptionally regulates phospholipid metabolism. *bioRxiv* doi:10.1101/2021.10.20.465175