

根における栄養吸収と拡散障壁の形成

神谷岳洋

東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻
〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Nutrient uptake and apoplastic barrier in roots

Keywords: apoplast, Casparian strip, suberin

Takehiro Kamiya

Department of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agricultural and Life Sciences,
The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8657 Japan

1. はじめに

植物は独立栄養生物であり、光のエネルギーと無機栄養素を用いて有機物を合成し生育することが可能である。このうち、無機栄養素のほとんどは土壤に伸びた根を介して吸収される。これは、物質輸送の障壁として機能する内皮細胞と細胞膜に存在する輸送体タンパク質によりなされている。土壤中には無機栄養素以外にも植物の生育に不必要な物質や病原菌などが存在しているが、これらは容易に植物体内に侵入することはない。すなわち、土壤中の物質が拡散によってアポプラスト（細胞膜の外側の空間）を通り、維管束まで到達することはないと考えられている。これは、維管束を取り囲むようにして同心円状に存在する内皮細胞が拡散障壁（diffusion barrier）として機能するためである（図1）。

では、どのようにして内皮細胞を乗り越えるのだろうか。これは、細胞膜に存在する輸送体タンパク質によって行われる（図1）。輸送体タンパク質は基質特異性があり、植物の生育に必要な栄養を細胞内に取り込む。細胞内に取り込まれた栄養素は原形質連絡でつながったシンプラストで内皮細胞を通過し、維管束に到達し、植物体全体に輸送される。

栄養の吸収に関する研究は輸送体の解析が多く、これまでに必須元素の輸送体は全て同定されている。細胞レベルでの栄養素の輸送が明らかになる一方で、どのようにして土壤中の栄養が根を横断して導管に輸送されるのか、よりマクロな経路について明らかになっていることは少ない。本稿では、拡散障壁として機能する内皮細胞に見られる特殊な構造体であるカスパー線やスベリンの栄養吸収における役割やその形成機構について、最近の知見を紹介する。

2. 内皮細胞の拡散障壁としての機能

T.Kamiya-1

内皮細胞が障壁として機能する輸送経路は二つある (図1)。一つは、アポプラスト経路であり、もう一つは細胞を横切る経路 (Transcellular pathway: 細胞横断経路) である。細胞横断経路とは細胞膜から入り細胞膜から出ていくことにより細胞を横切る経路である。アポプラスト経路の障壁としてカスパリー線とスベリンが、細胞横断経路の障壁としてスベリンがそれぞれ機能している。以下、これらについて説明する。

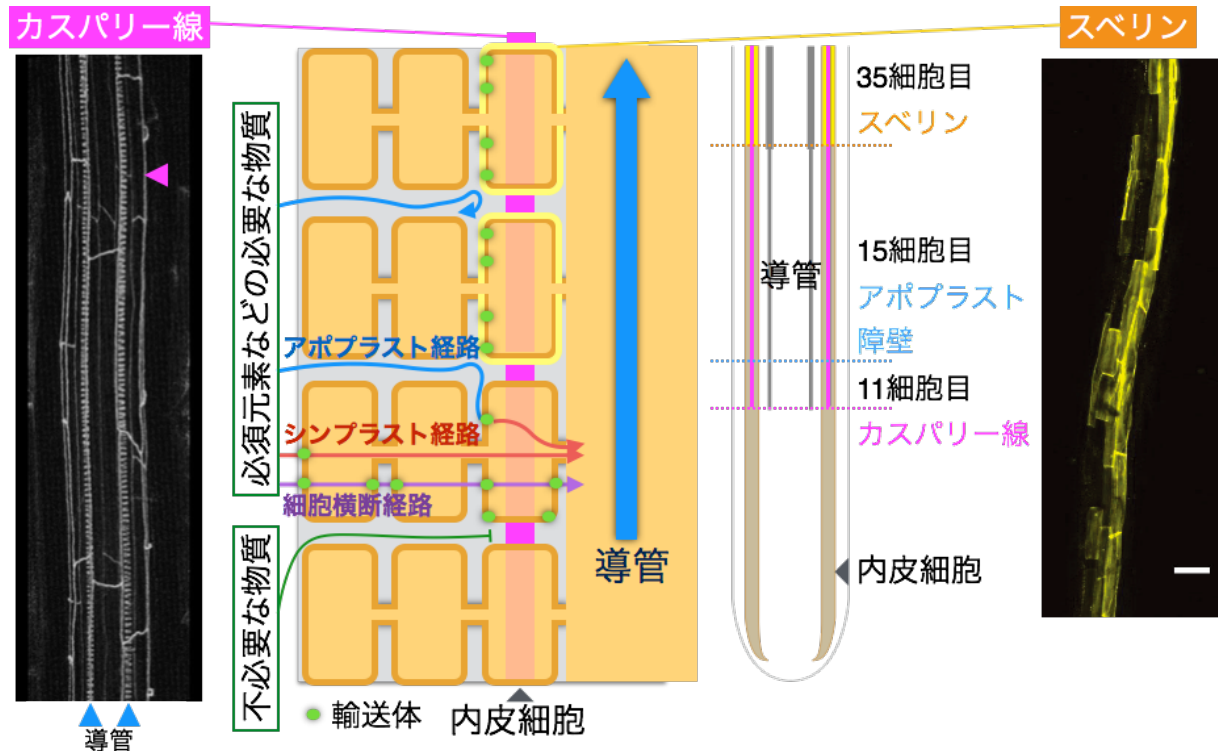


図1. シロイヌナズナの根における物質の輸送経路とカスパリー線およびスベリンの配置。土壌中の物質はアポプラスト経路 (青), シンプラスト経路 (赤), 細胞横断経路 (紫) を通り導管に輸送される。カスパリー線 (マゼンタ矢頭) は, 透明化した後リグニンの自家蛍光を観察した。中心に見える螺旋状の構造 (青矢頭) は導管を示す。スベリンは Fluorol yellow 088 により染色した。スベリンの写真で黒く抜けているところは, スベリンが蓄積しない内皮細胞 (通

2-1. 細胞横断経路の障壁 (スベリン)

スベリンは長鎖脂肪酸を主成分とする, グリセロールや芳香族系化合物が含まれる疎水性のポリマーである。このスベリンは, 内皮細胞や外皮細胞の一次細胞壁が形成された後, その内側の表面を覆うように蓄積する (Schreiber 2010, Beisson et al. 2012)。その化学組成やいくつかの実験から, スベリンは水や溶質がアポプラストから細胞内に進入する際の障壁として機能し, 水や溶質の細胞内への移動をブロックすると言われている (Schreiber 2010, Geldner 2013)。すなわち, スベリンで覆われた内皮細胞では, たとえ細胞膜に輸送体が存在したとしてもその周りをスベリンで囲われているために, 基質は輸送体にアクセスできず内皮細胞に入ることはできないと考えられている (図1)。そのため, 内皮細胞を通過するには, スベリンで覆われていない内皮細胞 (通過細胞) を経由する必要がある (Geldner 2013, Barberon et al. 2014)。

一方で、根の水や溶質の透過性とスベリンの蓄積量には関連がないことを示す結果も得られており(Ranathunge & Schreiber 2011)、スベリンの細胞横断経路の障壁としての機能には結論が得られていなかった。この理由の1つとして、スベリンの物質透過性を評価する手法が間接的であることが挙げられる。これまでの実験では、根のスベリンの透過性を地上部に輸送された水や溶質の量で評価しており、実際にスベリンが蓄積する内皮細胞の透過性を観察したわけではない。

最近、Barberon et al. (2016)らは、fluorescein diacetate (FDA) をトレーサーとして利用し、内皮細胞におけるスベリンの障壁としての機能を評価する手法を確立した。FDA は細胞内に取り込まれると蛍光を発する試薬である。スベリンを蓄積しない株と野生型株を FDA 処理し、共焦点レーザー顕微鏡で蛍光を観察したところ、スベリンを蓄積しない系統では内皮細胞内で蛍光が観察された。このことは、スベリンがアポプラストから内皮細胞内へと物質が輸送される経路において障壁として機能することを示した初めての例である。

また、同じ論文にてスベリンの蓄積が、周囲の栄養環境によって制御される機構について明らかにされた。これまでにスベリンの蓄積が塩ストレスといった周囲の環境により影響を受けることは報告されていたが、その機構については不明であった。Barberon et al. (2016) らは、培地の栄養条件によりスベリンの蓄積が変化することを示し、その変化は植物ホルモンであるアブシジン酸やエチレンを介して生じることを明らかにした。スベリンの蓄積を制御することにより、周囲の栄養環境に巧みに適応していることが示された。

2-2. アポプラスト輸送の障壁（カスパリー線）

カスパリー線は1865年にドイツの植物学者である Robert Caspary によって発見された構造体である。内皮細胞の周囲にバンド状に形成され、内皮細胞間の隙間を埋めるようにして形成される (Geldner 2013) (図1)。内皮細胞を原形質分離するとカスパリー線形成位置で隣り合う内皮細胞の細胞膜が接着していることから、カスパリー線は細胞膜に強固に結合していることが示されている (Alassimone et al. 2010)。カスパリー線は根端には形成されず、シロイヌナズナの場合、onset of elongation [根端側の内皮細胞の二倍の長さを示す内皮細胞として Alassimone (2010)らが定義。以下細胞数はこの定義に基づいて示す。] から数えておおよそ11細胞目でカスパリー線が形成されはじめ、15細胞目でアポプラスト障壁が観察される (Alassimone et al. 2010) (図1)。ちなみに、アポプラスト障壁の観察は、細胞壁を染める試薬である propidium iodide (PI) の中心柱への透過性で評価する方法が今のところ最も正確である (Alassimone et al. 2010)。

カスパリー線は何でできているのであろうか？その実体については、スベリンとリグニン、もしくは、これら両方からなるとの議論があるが、近年ひとつの結論が出た。Naseer (2013)らにより、シロイヌナズナの場合、カスパリー線のアポプラスト障壁としての機能はリグニンにより達成されていることが示された。これは、以下の結果によるものである。1) アポプラスト障壁の形成とリグニンの蓄積が近い位置で観察される。リグニンの蓄積 (透明化処理後のリグニンの自家蛍光により観察) は約11細胞目、アポプラスト障壁は15細胞目、スベリンの蓄積は35細胞目に観察される (図1)。2) スベリン合成変異株や内皮細胞特異的にスベリンを分解した株でもアポプラスト障壁が観察される。3) モノリグノールの合成阻害剤存在下や、リグニン合成変異株でアポプラスト障壁が形成されない。4) カスパリー線にリグニンが含まれる。これらの結果から、

リグニンがカスパリー線の実体であることが示された。

一方で、この論文の後、シロイヌナズナを用いて、スベリンもアポプラスト障壁として機能することを示唆する結果が報告されている。Yadav (2014) らは、スベリンモノマーを細胞外に供給する ABC 輸送体の三重破壊株 (*abcg2 abcg6 abcg20*) で、11-36 細胞ではアポプラスト障壁が形成されるものの、37 細胞以上で障壁が形成されないことを示した。また、筆者らも最近の研究により、Yadav らと同様の結果を得ている (投稿準備中)。では、どの位置でスベリンが障壁として機能しているのだろうか？筆者らは、短時間根を PI 染色することにより、どこから PI が侵入するのかを調べたところ、PI の染色は側根の発生部位で観察された。すなわち、スベリンは側根発生部位ではアポプラスト障壁として機能することを示唆している (投稿準備中)。側根発生部位では、内皮の内側である内鞘細胞から側根が発生するため、内皮細胞同士の接着が剥がれカスパリー線が寸断される (Vermeer et al. 2014)。すなわち、内皮細胞と側根の表皮細胞の間にギャップが生じてしまう。スベリンは、このギャップを埋めているのではないかと筆者らは考えている。

また、スベリンがアポプラスト障壁として機能することがイネでも報告されている。イネには内皮に加えて外皮もアポプラスト障壁として機能することが知られている。外皮へのスベリンの蓄積に必要な遺伝子である *RCN1/OsABCG5* の破壊株では、スベリンが蓄積せず、アポプラスト障壁も形成されない (Shiono et al. 2014)。この結果は、外皮におけるスベリンがアポプラスト障壁として機能することを示している。

3. 障壁形成の分子機構

3-1. スベリン

先に述べたようにスベリンの主成分は脂肪酸である。これらは、プラスチドで合成された脂肪酸が、小胞体で修飾され合成されたものである。これまでにスベリンモノマーの合成に関与する酵素としてシトクローム P450 である *HORST (CYP86A1)* や *RALPH (CYP86B1)*、アシル基転移酵素 (*GPAT5*) が同定されており、これらの破壊株ではスベリンの蓄積が減少することが示されている (Höfer et al. 2008, Compagnon et al. 2009, Beisson et al. 2007)。また、これらの酵素や他のスベリンモノマー合成に関与する酵素の遺伝子発現を正に制御する転写因子として *MYB41* が同定されている (Kosma et al. 2014)。*MYB41* はアブシジン酸や塩ストレスによって発現誘導され、内皮細胞特異的に発現する。過剰発現株の葉ではスベリンの蓄積が観察されることや、スベリンの合成に関与する酵素の発現が上昇していることから、スベリンモノマーの合成の鍵となる転写因子である。合成されたモノマーは輸送体によりアポプラストに輸送されスベリンが合成されるが、この過程に関与する遺伝子は同定されていない (Beisson et al. 2012, Andersen et al. 2015)。

3-2. カスパリー線

カスパリー線は150年前に発見された構造体であるが、その形成機構は謎に包まれていた。ここ数年の間に、スイスのNiko Geldner博士と筆者が所属していたイギリスのDavid E. Salt博士のグループによりその形成機構が明らかになりつつあるので以下に紹介する。

ローザンヌ大学のNiko Geldner博士らのグループは内皮細胞特異的に発現する遺伝子の中から4回膜貫通ドメインを有する遺伝子群を同定しCasparian strip domain protein (CASP) と名付けた (Roppolo et al. 2011)。CASPは根の伸長領域の内皮細胞で特異的に発現し、カスパリー線が形成される位置 (内皮細胞同士が隣接する面) の細胞膜に極性を持って局在する (図2)。シロイヌナズナに5つの相同遺伝子が存在するが、そのうちCASP1とCASP3の二重変異株 (*casplcas3*) ではカスパリー線が正常に形成されず、アポプラスト障壁も形成されない (Roppolo et al. 2011, Hosmani et al. 2013)。本来カスパリー線が形成される位置にドット状にリグニンが蓄積し、また、内皮細胞の内鞘側と皮層側にもリグニンが蓄積する。このことから、CASPはカスパリー線形成に必要な遺伝子であることが示された。CASP様のタンパクはシロイヌナズナに多く存在し、内皮細胞以外にも発現しているが、その機能についてはわかっていない (Roppolo et al. 2011)。

CASPの発見を皮切りに、カスパリー線形成に関与する遺伝子が次々と同定されている。これら遺伝子は、二つの異なるスクリーニング手法を用いて同定された。

Niko Geldner博士らのグループは、レポーター遺伝子である β -glucuronidase (GUS) の基質の透過性を指標にした変異株のスクリーニングを行った。中心柱でGUSを発現させたシロイヌナズナを用い、根をGUSの基質で処理する。野生型株ではカスパリー線がアポプラスト障壁として機能するため、基質が中心柱に浸透せず染色されない。一方で、障壁が形成されない変異株では、基質が浸透し中心柱が青く染まる。この手法を用いて、*schengen* (*sgn*) と呼ばれる変異株を取得している。この変異株のうち、*sgn3*と*sgn4*について原因遺伝子が同定されているので以下に紹介する (Pfister et al. 2014, Lee et al. 2013)。

*sgn3*のカスパリー線は野生型株のように連続的ではなく、寸断されたパターンを示す (Pfister et al. 2014)。また、CASP1の局在もカスパリー線と同様に寸断されている。*sgn3*の原因遺伝子は leucine rich repeat receptor like kinase (LRR-RLK) をコードしており、内皮細胞で発現している。CASP1よりも根端側で発現が開始し、カスパリー線形成初期にパッチ上に局在するCASP1の周囲に局在していることから、SGN3の機能はCASP1を連続的に局在させることだと推測されている。

*sgn4*は、*sgn3*とは異なり、根の先端でのみアポプラスト障壁が崩壊している。カスパリー線の自家蛍光を観察したところ、野生型株よりも遅くカスパリー線が形成されることが示された。*sgn4*の原因遺伝子はRespiratory burst oxidase homolog F (RBOHF) をコードする (Lee et al. 2013)。SGN4は内皮細胞特異的に発現し、カスパリー線形成部位に局在する。カスパリー線形成位置での局所的な活性酸素の生成や、阻害剤を用いた解析により、SGN4とペルオキシダーゼであるPER64が協調して機能することにより、アポプラスト空間に存在するモノリグノールを重合しカスパリー線を形成することが明らかになった。また、PER64のカスパリー線形成位置への局在はCASPが担っていることも明らかとなった (図2)。

David E. Salt博士らのグループは、全く異なるアプローチによりカスパリー線変異株を単離した。彼らは多元素を同時分析する誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) を用いて、地上部の元素含量が異なる変異株を複数単離している (Lahner et al. 2003)。その中の1つ、*enhanced suberin 1* (*esb1*) は地上部の複数の元素含量が野生型とは異なる変異株として単離された (Baxter et al. 2009)。その名が示すように内皮細胞に過剰にスベリンが蓄積する。その後の解

析により,ESB1はアポプラストに局在するタンパク質であり,カスパリー線形成位置に局在することが明らかとなった(Hosmani et al. 2013)。破壊株のカスパリー線は*casp1casp3*と同様のパターンを示し,PIを用いて障壁としての機能を評価したところ,*casp1casp3*や*sgn4*と同様に根の先端でアポプラスト障壁が形成されていないことが示された。ESB1は*dirigent protein*と呼ばれる遺伝子群に属する。*Dirigent protein*は立体異性体の形成に関与しているタンパク質が含まれており,リグニン合成に関与していることが示唆されるが,詳細なESB1の分子機能についてはわかっていない(図2)。

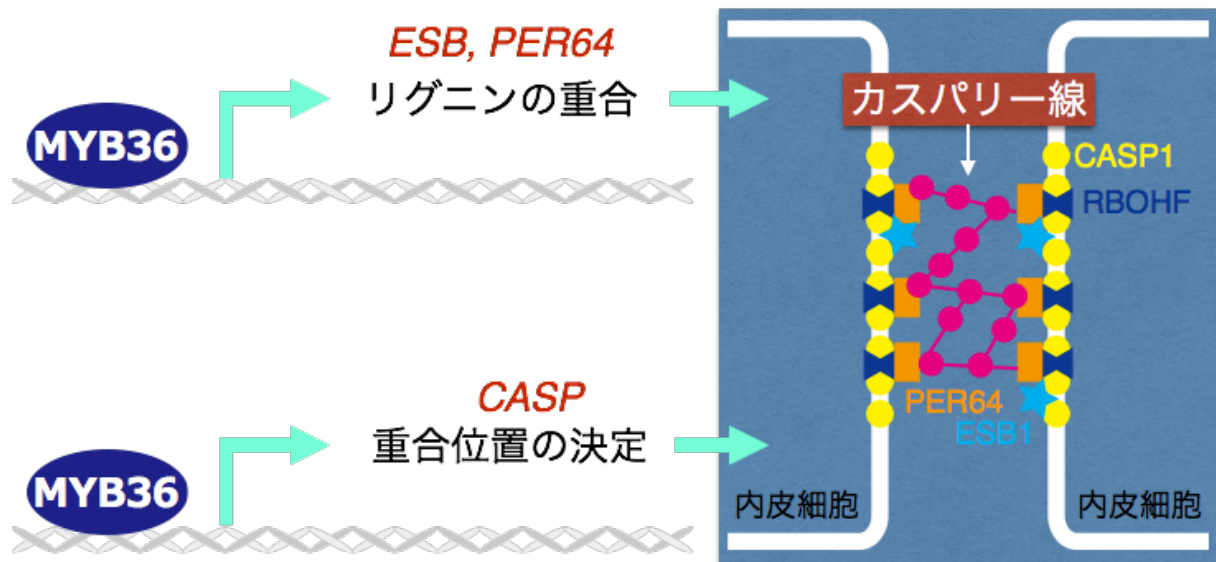


図2. カスパリー線形成の分子機構。MYB36はリグニンの重合および重合位置の決定に必要な遺伝子群を正に制御する。

*esb1*と同様のスクリーニングで得られた変異株の原因遺伝子としてカスパリー線形成のマスターレギュレーターであるMYB36転写因子が同定された(Kamiya et al. 2015)。*myb36*変異株は*esb1*と同様の元素含量のパターンを示す。一方で,カスパリー線の蓄積パターンはこれまでの変異株とは異なっており,カスパリー線形成位置には全くリグニンが蓄積せず,内皮と皮層のcell cornerにリグニンが蓄積する。原因遺伝子であるMYB36は内皮細胞特異的に発現している。マイクロアレイ解析の結果,カスパリー線の形成に必要な既知の遺伝子であるCASPファミリー,ESBファミリー,PER64の発現が変異株で低下していた。さらに,ChIP-qPCRの結果,MYB36はこれら遺伝子のプロモーターに直接結合することが示され,MYB36はリグニンの重合に必要な遺伝子群を制御していることが明らかとなった。また,*myb36*変異株で内皮細胞特異的にCASP1-GFPを発現させると,内皮細胞膜全体および細胞内に局在することからCASP1の極性を持った局在に必須であること,すなわち,カスパリー線が形成される位置を決定する遺伝子も制御していることが示された。さらに,MYB36を異所的に発現させると,同じ細胞層が接する位置(例えば,表皮と表皮の間にリグニンが蓄積するが,表皮と皮層の間には蓄積しない)にCASP1-GFPが局在すること,さらにCASP1-GFPの局在と同じ場所にリグニンが蓄積され,カスパリー線様の構造が形成されることから,MYB36がカスパリー線形成のマスターレギュレーターであることが示された(図2)。

一方で、異所的に形成されたカスパリー線様の構造は、*sgn3*変異株のように寸断されており、アポプラスト障壁としては機能しない (Kamiya et al. 2015)。このことは、MYB36に制御される遺伝子以外にもアポプラスト障壁として機能するカスパリー線の形成に必要な遺伝子があることを示している。これまで同定された遺伝子の中で、*SGN3*は*myb36*変異株で発現が低下しておらず、MYB36による発現制御を受けていないと考えられる。また、筆者らは*SGN3*と同様にMYB36の制御下に無いカスパリー線形成に必要な新規遺伝子を同定している。このことは、MYB36はリグニンの重合と重合位置位置の決定には十分であるが、障壁として機能するための連続した構造を作るのには他の遺伝子が必要であることを示唆している。

根のカスパリー線は内皮細胞の分化のマーカーとして長らく用いられてきた。分化については多くの研究がなされており、転写因子であるSHORTROOT (SHR) とSCARECROW (SCR) が内皮細胞形成のための分裂とその後の分化に中心的な役割を果たしていることがよく知られている (Petricka et al. 2012)。一方で、SHR、SCRとカスパリー線形成を結ぶ経路についてはわかっていなかった。筆者らのMYB36の発見に引続き、MYB36の発現がSCRにより直接制御されていることが報告された (Lieberman et al. 2015)。これらの発見により、内皮細胞の分裂から分化までがつながり、内皮細胞の分化の全体像が明らかになった。

4. カスパリー線とスベリンの同調した形成

興味深いことに、これまでに紹介したカスパリー線変異株 (*casp1casp3, esb1, myb36*) では、スベリンの異所的な蓄積が観察される (Hosmani et al. 2013, Kamiya et al. 2015)。野生型株において、スベリンの蓄積は35細胞以上で観察されるが、これらカスパリー線変異株では13細胞からスベリンの蓄積がみられる。すなわち、カスパリー線の寸断を補うようにスベリンの蓄積が起きてくるかのような現象が観察される。この蓄積がカスパリー線の機能であるアポプラスト障壁として機能しているかはわかっていないものの、上述したように側根発生部位ではスベリンがアポプラスト障壁として機能することから、障壁として機能することは十分に考えられる。

この同調したスベリンの蓄積はどのように起きるのであろうか？その手がかりとなる結果が*sgn3*を用いた解析により得られている。*sgn3*のスベリンの蓄積は、他のカスパリー線変異株とは異なり、野生型株と同様の位置から観察される。さらに、*sgn3*と*esb1*もしくは*casp1casp3*との多重変異株ではスベリンの蓄積は野生型と同様の位置からおきる (Pfister et al. 2014)。このことから、*sgn3*がカスパリー線の異常をなんらかの形で感知し、スベリンの蓄積を誘導していると推測される。

5. おわりに

わずか数年の間に、根における物質輸送の障壁の実体やその形成機構および制御が一気に明らかになってきた。また、カスパリー線とスベリンという全く組成が異なる障壁が、お互いの機能を補完するという巧みな制御機構を植物が有することも明らかになりつつある。一方で、上述したようにわからないことも多く残されている。また、栄養以外にもカスパリー線やスベリンは根から進入する病原菌や線虫などに対する障壁として機能するとも言われているが、実際に示した例はない (Franke et al. 2007, Holbein et al. 2016)。今後は、カスパリー線やスベリンの多面的な機

能や形成機構を明らかにしていきたい。また、その知見を活かして栄養欠乏や生物学的ストレス耐性の作物の作出を目指していきたいと考えている。

6. 謝辞

本稿で紹介した筆者の研究は、アバディーン大学 David E. Salt博士、ローザンヌ大学 Niko Geldner博士、東京大学 藤原徹教授、Baohai Li博士の協力を得て行われたものです。この場を借りて感謝いたします。また、研究の一部は、日本学術振興会海外特別研究員および科学研究費助成事業（26712008）の支援を受けて行われた。

引用文献

- Alassimone, J., Naseer, S., & Geldner, N. 2010. A developmental framework for endodermal differentiation and polarity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107:5214-5219.
- Andersen, T.G., Barberon, M., & Geldner, N. 2015. Suberization-the second life of an endodermal cell. *Curr. Opin. Plant Biol.* 28:9-15
- Barberon, M., Vermeer, J.E., De Bellis, D., Wang, P., Naseer, S., Andersen, T.G., Humbel, B.M., Nawrath, C., Takano, J., Salt, D.E., & Geldner, N. 2016. Adaptation of Root Function by Nutrient-Induced Plasticity of Endodermal Differentiation. *Cell* 164:447-459
- Barberon, M., Geldner, N. Radial transport of nutrients: the plant root as a polarized epithelium. 2014. *Plant Physiol.* 166:528-537
- Baxter, I., Hosmani, P.S., Rus, A., Lahner, B., Borevitz, J.O., Muthukumar, B., Mickelbart, M.V., Schreiber, L., Franke, R.B., & Salt, D.E. 2009. Root suberin forms an extracellular barrier that affects water relations and mineral nutrition in Arabidopsis. *PLoS Genet.* 5:e1000492
- Beisson, F., Yonghua, L., Bonaventure, G., Pollard, M., & Ohlrogge J.B. 2007. The acyltransferase GPAT5 is required for the synthesis of suberin in seed coat and root of Arabidopsis. *Plant Cell* 19:351-368
- Beisson, F., Li-Beisson, Y., & Pollard, M. Solving the puzzles of cutin and suberin polymer biosynthesis. 2012. *Curr. Opin. Plant Biol.* 15:329-337
- Compagnon, V., Diehl, P., Benveniste, I., Meyer, D., Schaller, H., Schreiber, L., Franke, R., & Pinot, F. CYP86B1 is required for very long chain omega-hydroxyacid and alpha, omega -dicarboxylic acid synthesis in root and seed suberin polyester. 2009. *Plant Physiol.* 150:1831-1843
- Franke, R., Shreiber, L. 2007. Suberin-a biopolyester forming apoplastic plant interfaces. 2007. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10:252-259
- Geldner, N. 2013. The Endodermis. *Ann. Rev. Plant Biol.* 64:531-558
- Höfer, R., Briesen, I., Beck, M., Pinot, F., Schreiber, L., & Franke, R. 2008. The Arabidopsis cytochrome P450 CYP86A1 encodes a fatty acid omega-hydroxylase involved in suberin monomer biosynthesis. *J. Exp. Bot.* 59:2347-2360
- Holbein, J., Grundler, M.W., & Siddique, S. 2016. Plant basal resistance to nematodes: an update. *J. Exp. Bot.* doi:10.1093/jxb/erw005
- Hosmani, P.S., Kamiya, T., Danku, J., Naseer, S., Geldner, N., Guerinot, M.L., & Salt, D.E. 2013. Dirigent

- domain-containing protein is part of the machinery required for formation of the lignin-based Casparian strip in the root. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110:14498–503.
- Kamiya, T., Borghi, M., Wang, P., Danku, J.M., Kalmbach, L., Hosmani, P.S., Naseer, S., Fujiwara, T., Geldner, N., Salt, D.E. 2015. The MYB36 transcription factor orchestrates Casparian strip formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112:10533-10538
- Kosma, D.K., Murmu, J., Razeq, F.M., Santos, P., Bourgault, R., Molina, I., & Rowland, O. 2014. AtMYB41 activates ectopic suberin synthesis and assembly in multiple plant species and cell types. *Plant J.* 80:216-229.
- Lahner, B., Gong, J., Mahmoudian, M., Smith, E.L., Abid, K.B., Rogers, E.E., Guerinot, M.L., Harper, J.F., Ward, J.M., McIntyre, L., Schroeder, J.I., & Salt, D.E. 2003. Genomic scale profiling of nutrient and trace elements in *Arabidopsis thaliana*. *Nat. Biotechnol.* 21:1215–1221.
- Lee, Y., Rubio, M.C., Alassimone, J., & Geldner, N. 2013. A mechanism for localized lignin deposition in the endodermis. *Cell* 153:402–412.
- Lieberman, L.M., Sparks, E.E., Moreno-Risueno, M.A., Petricka, J.J., & Benfey, P. 2015. MYB36 regulates the transition from proliferation to differentiation in the *Arabidopsis* root. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112:12099-12104
- Martinka, M., Dolan, L., Pernas, M., Abe, J., & Lux, A. 2012. Endodermal cell-cell contact is required for the spatial control of Casparian band development in *Arabidopsis thaliana*. *Ann. Bot.* 110:361-371
- Naseer, S., Lee, Y., Lapiere, C., Franke, R., Nawrath, C., & Geldner, N. 2012. Casparian strip diffusion barrier in *Arabidopsis* is made of a lignin polymer without suberin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109:10101–10106.
- Petricka, J.J., Winter, C.M., & Benfey, P.N. 2012. Control of *Arabidopsis* root development. *Ann. Rev. Plant Biol.* 63:563-590
- Pfister, A., Barberon, M., Alassimone, J., Kalmbach, L., Lee, Y., Vermeer, J.E., Yamazaki, M., Li, G., Maurel, C., Takano, J., Kamiya, T., Salt D.E., Roppolo, D., & Geldner, N. 2014. A receptor-like kinase mutant with absent endodermal diffusion barrier displays selective nutrient homeostasis defects. *eLife* 3:e03115
- Ranathunge, K., Schreiber, L. 2011. Water and solute permeabilities of *Arabidopsis* roots in relation to the amount and composition of aliphatic suberin. *J. Exp. Bot.* 62:1961-1974
- Roppolo, D., Boeckmann, B., Pfister, A., Boutet, E., Rubio, M.C., Dénervaud-Tendon, V., Vermeer, J.E., Gheyselinck, J., Xenarios, I., & Geldner N. 2014. *Plant Physiol.* 165:1709-1722
- Roppolo D, De Rybel, B., Dénervaud Tendon, V., Pfister, A., Alassimone, J., Vermeer, J.E., Yamazaki, M., Stierhof, Y.D., Beeckman, T., Geldner, N. 2011. A novel protein family mediates Casparian strip formation in the endodermis. *Nature* 473:380–383.
- Schreiber, L. 2010. Transport barriers made of cutin, suberin and associated waxes. *Trends Plant Sci.* 15:546-553
- Shiono, K., Ando, M., Nishiuchi, S., Takahashi, H., Watanabe, K., Nakamura, M., Matsuo, Y., Yasuno, N., Yamanouchi, U., Fujimoto, M., Takanashi, H., Ranathunge, K., Franke, R.B., Shitan, N., Nishizawa, N.K., Takamura, I., Yano, M., Tsutsumi, N., Schreiber, L., Yazaki, K., Nakazono, M., & Kato, K. 2014.

- RCN1/OsABCG5, an ATP-binding cassette (ABC) transporter, is required for hypodermal suberization of roots in rice (*Oryza sativa*). *Plant J.* 80:40-51
- Vermeer, J.E., von Wangenheim, D., Barberon, M., Lee, Y., Stelzer, E.H., Maizel, A., & Geldner, N. 2014. A spatial accommodation by neighboring cells is required for organ initiation in Arabidopsis. *Science* 345:875-876
- Yadav, V., Molina, I., Ranathunge, K., Castillo, I.Q., Rothstein, S.J., & Reed, J.W. 2014. ABCG transporters are required for suberin and pollen wall extracellular barriers in Arabidopsis. *Plant Cell* 26:3569-3588