

植物の葉のクチクラの構造を分子レベルで解明

～クチクラの構造モデルの常識を覆す発見～

ポイント

- ・植物の葉の表面を覆う脂質膜「クチクラ」の分子レベル構造を、非破壊分析することに成功。
- ・クチクラの外部に多糖類が存在することを発見し、これまでのクチクラの構造の常識を覆す。
- ・環境ストレス耐性、病原菌や害虫に対する抵抗性を持つ植物や生体模倣材料の開発への応用に期待。

概要

北海道大学低温科学研究所の羽馬哲也助教，京都大学化学研究所の長谷川健教授らの研究グループは，植物の葉の表面を覆う脂質膜である「クチクラ^{*1}」の分子の構造を解明することに成功しました。

クチクラは，雨や乾燥などの様々な環境ストレスに対して防御の役割を果たす非常に多機能な薄膜です。これまで，クチクラを構成する分子の種類（炭化水素のワックス，クチンと呼ばれるポリエステル，多糖類など）の同定に関する研究は進んできましたが，葉の表面における分子の並び方（分子配列）や分子の向き（分子配向）についてはわかっておらず，クチクラが持つ機能の本質を理解するには至っていませんでした。

そこで，本研究では偏光変調赤外反射吸収分光法^{*2}を用いることで，ヤセイカンラン^{*3}の葉のクチクラを前処理（溶媒による抽出など）することなくそのままの状態での非破壊分析し，ワックス，クチン，多糖類の配列・配向を分子の官能基レベルで明らかにすることに世界で初めて成功しました。また，これまでのクチクラの構造モデルでは「クチクラの外部（表面近傍）には多糖類は存在しない」と考えられてきましたが，本研究によって「クチクラの外部に多糖類（ヘミセルロース）が存在する」ことが明らかとなりました。この結果はこれまでのクチクラの構造の常識を覆し，クチクラの構造モデルを大きく改善するものです。これにより，クチクラの機能の起源に迫るとともに，環境ストレスや病原菌や害虫に対する耐性を持つ植物への品種改良，生体模倣材料の設計・開発にもつながると期待されます。

なお，本研究成果は，2019年4月24日（水）公開の Plant and Cell Physiology 誌に掲載されました。



偏光変調赤外反射吸収分光法によるヤセイカンランの葉の測定の様子

【背景】

陸生植物の葉や茎の表皮は、クチクラ(cuticle)と呼ばれる脂質膜で覆われています。クチクラは、植物を雨や乾燥、紫外線、病原菌や害虫から守る役割を果たすことで知られています。さらにクチクラは、植物が成長する際には組織同士が結合してしまうことを防ぐ潤滑剤としても働き、植物が生きていくうえで欠かせない多機能な薄膜です。

これまでの研究によって、クチクラは「炭化水素のワックス」や「クチン」と呼ばれるポリエステルのような高分子、「多糖類」などで構成されていることが知られています。一方、クチクラはこれら有機物が均一に混ざったものではなく、葉の表面からの深さによって構成物質が異なります。クチクラの内部（表皮の細胞壁近く）は「クチクラレイヤー(cuticle layer)」と呼ばれ、多糖類に富むことが知られています（図 1 左）。クチクラの外部（表面近傍）は「クチクラプロパー(cuticle proper)」と呼ばれ、主にワックスとクチンで構成され、多糖類は存在しないと考えられてきました。クチクラプロパーよりさらに上部（葉の最表面）には「クチクラ外ワックス(epicuticular wax)」と呼ばれるワックスの層があります。

クチクラの構造については未だ不明な点も多く、特に「クチクラの外部に多糖類が存在するかどうか？」は論争が続いてきました。またクチクラに限らず、電池や医療材料などに用いられている有機薄膜がもつ機能の起源は、薄膜内での分子の並び方（分子配列）や、分子の向き（分子配向）に由来します。

しかし、これまでの手法では、クチクラの分析のために試料の前処理（溶媒による抽出など）や、試料を破壊することによる分析が必要であったため、クチクラの分子が葉の表面で実際にどのように配列、配向しているかについては、今に至るまでほとんどわかっておらず、クチクラが持つ機能の本質を分子レベルで理解するには至っていませんでした。

【研究手法】

研究グループは、「偏光変調赤外反射吸収分光法」を用いて、植物の葉のクチクラについて分析を行いました（図 2）。この方法は赤外分光法の一種で、試料の前処理を必要とせず、そのままの状態でクチクラの赤外スペクトルを 10 分程度で非破壊測定することができます。

本研究では、ヤセイカンランの葉のクチクラを分析しました。ヤセイカンランのクチクラの厚さはおよそ 3-6 μm であり、偏光変調赤外反射吸収分光法で分析できる深さ（0.1-0.5 μm 以下）よりも厚いことが知られています。そのため、ヤセイカンランのクチクラを偏光変調赤外反射吸収分光法によって分析することで、クチクラの外部にどのような分子が存在し、それらがどのような配列、配向になっているかを調べました。さらに、クチクラ内部を調べるために、全反射減衰赤外分光法（分析深さおよそ 2 μm ）を用いた分析も行うことで、クチクラ外部と内部とで分子の組成や構造がどのように異なるかを調べました。

【研究成果】

偏光変調赤外反射吸収分光法を用いて、ヤセイカンランの葉のクチクラの赤外スペクトルを測定したところ、キシランやキシログルカンといった多糖類（ヘミセルロース）に由来するピークが検出されました（図 3）。この結果は、これまで「クチクラの外部には多糖類は存在しない」という従来のクチクラの構造モデルの常識を覆すものです。さらに全反射減衰赤外分光法の結果から、クチクラ内部

には別の種類の多糖類（ペクチン）が豊富に存在することが明らかとなり、「ヤセイカンランのクチクラ外部と内部とでは、存在する多糖類の種類が異なる」ことがわかりました（図1右）。

また、偏光変調赤外反射吸収分光法によって得られたスペクトルのピーク位置（波数）やピークの向き（上向き／下向き）を詳細に解析することで、クチクラ外ワックスの炭素鎖は規則正しい配列をしており（結晶）、葉の表面に対して垂直に配向している（炭素鎖は葉の表面で立っている）など、クチクラの分子の配列・配向を分子の官能基レベルで世界で初めて明らかにしました（図3, 4）。

【今後への期待】

本研究の成果は、これまでの植物の葉のクチクラの構造モデルを覆すものであり、クチクラが持つ機能を分子レベルで理解するための重要な一歩となります。また、本研究で用いられた手法・成果は、環境ストレス耐性や病原菌や害虫に対する抵抗性の付与を目指した品種改良への応用や、新しい生体模倣材料^{*5}の設計・開発への応用につながると期待されます。

論文情報

論文名	Probing the Molecular Structure and Orientation of the Leaf Surface of <i>Brassica oleracea</i> L. by Polarization Modulation-Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy (偏光変調反射吸収赤外分光法を用いたヤセイカンランの葉の表面の分子構造・配向に関する研究)
著者名	羽馬哲也 ¹ , 関 功介 ² , 石橋篤季 ¹ , 宮崎彩音 ¹ , 香内 晃 ¹ , 渡部直樹 ¹ , 下赤卓史 ³ , 長谷川健 ³ (¹ 北海道大学低温科学研究所, ² 長野県野菜花き試験場, ³ 京都大学化学研究所)
雑誌名	Plant and Cell Physiology (植物生理学の専門誌)
DOI	10.1093/pcp/pcz063
公表日	2019年4月24日(水)(オンライン公開)

【参考図】



図1. クチクラの構造。(左) 従来のモデル。(右) ヤセイカンランのクチクラの構造。

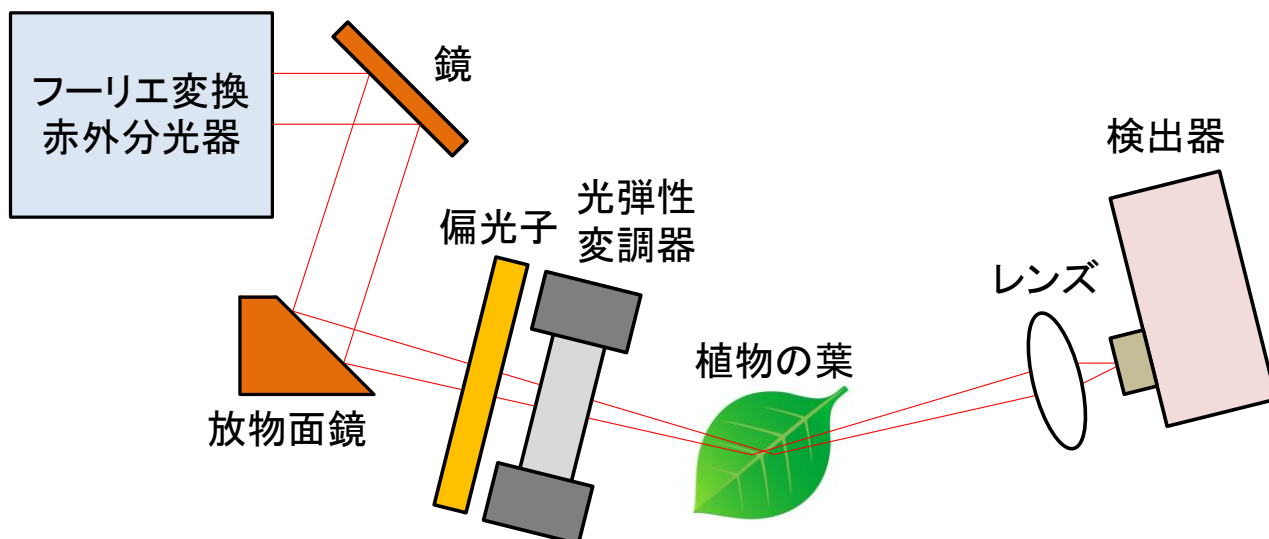


図 2. 偏光変調赤外反射吸収分光法による葉の測定のイメージ図。

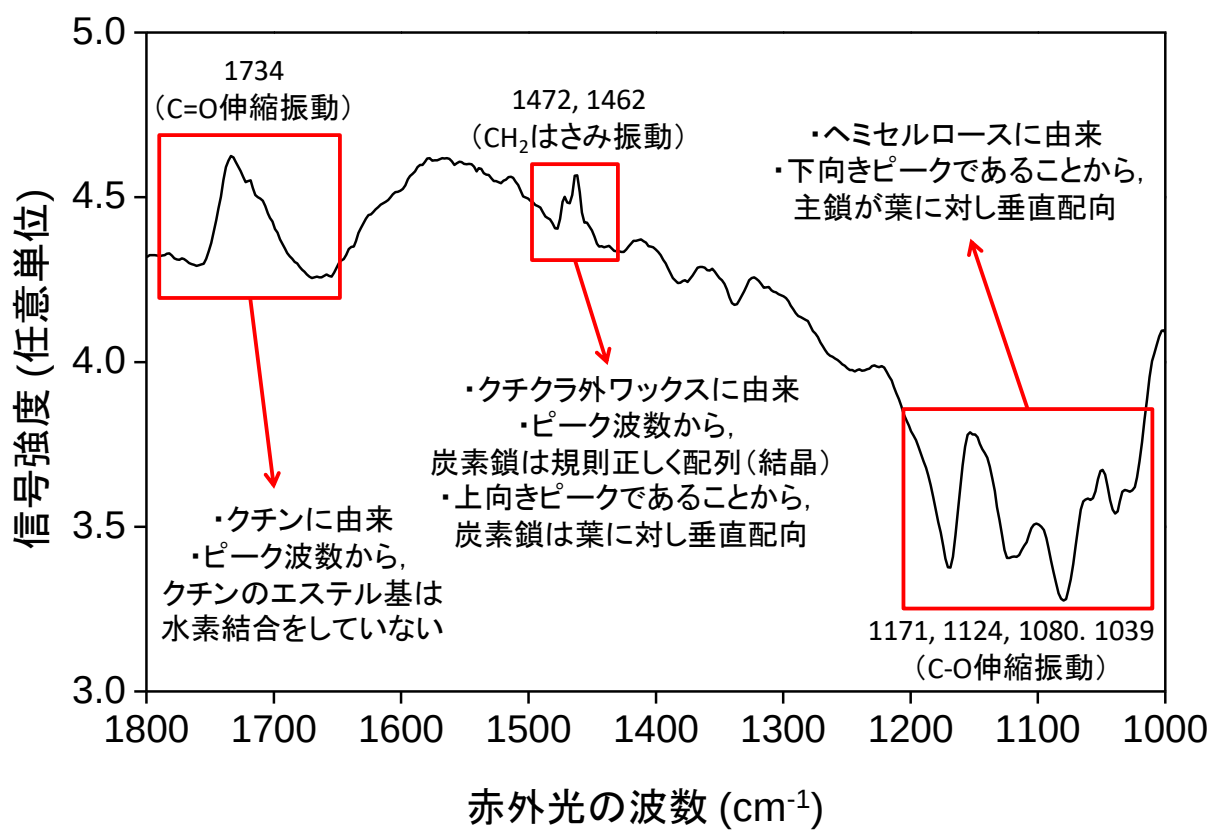


図 3. 偏光変調赤外反射吸収分光法で測定したヤセイカンランの赤外スペクトル。

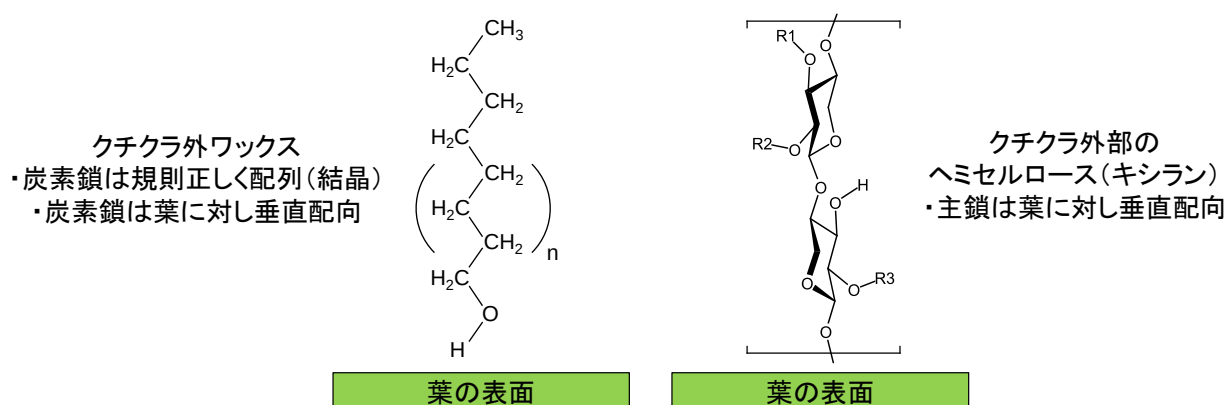


図 4. 本研究でわかったヤセイカンランのクチクラの分子の配列と配向。

【用語解説】

- *1 クチクラ(cuticle) … 植物の葉や茎の表皮の外側を覆う厚さ 0.1 から 10 μm ほどの脂質膜。種によっては 200 μm ほどにもなる。英語ではキューティクル，日本語では角皮とも呼ぶ。

- *2 偏光変調赤外反射吸収分光法 … 物質の表面に入射する光は入射面に対してその電場振動の向きが平行な p-偏光と垂直な s-偏光に分けることができる。偏光変調赤外反射吸収分光法は，赤外反射測定における p-/s-偏光の依存性を利用した方法である。フーリエ変換赤外分光器から出力される赤外光を偏光子と光弾性変調器によって偏光に変調をかけて試料に照射し，p-偏光の反射光と s-偏光の反射光から赤外スペクトルを演算する(図 2)。従来の赤外分光法と異なり，赤外スペクトルを得るために「参照基板を用いたバックグラウンド測定」を行う必要がないため，参照基板が用意できない生体試料(植物の葉など)の分析に適している。

- *3 ヤセイカンラン … アブラナ科アブラナ属の植物の一種。キャベツ，カリフラワー，ブロッコリーをはじめとする様々な野菜の原種となっている。

- *4 全反射減衰赤外分光法 … ダイヤモンドなど屈折率の大きな物質でできたプリズムに試料を密着させ，プリズム側から赤外光を入射しプリズム／試料界面で全反射した光を測定することで，試料の赤外スペクトルを得る方法。

- *5 生体模倣材料 … クチクラをはじめ生物が持つ構造・機能を模倣した材料。バイオミメティック材料とも呼ぶ。