

フロンティア生物の戦略 —植物の成長と重力受容システム—

東北大・院・生命科学 高橋秀幸（研究班 WG 代表）

Strategy of Frontier Organisms: Graviperception Systems for Plant Growth and Development

H. Takahashi

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, Katahira, Aoba-ku, Sendai 980-8577

E-Mail: hideyuki@ige.tohoku.ac.jp

研究班構成員：上田純一（大阪府立大学）、鎌田源司（宇宙航空研究開発機構）、神阪盛一郎（富山大学）、金子康子（埼玉大学）、北宅善昭（大阪府立大学）、曾我康一（大阪市立大学）、高橋秀幸（東北大学）、田坂昌生（奈良先端科学技術大学院大学）、藤井伸治（東北大学）、保尊隆享（大阪市立大学）、宮沢 豊（東北大学）、宮本健助（大阪府立大学）、村田 隆（基礎生物学研究所）、山下雅道（宇宙航空研究開発機構）

Members: J. Ueda (Osaka Prefecture Univ.), M. Kamada (JAXA), S. Kamisaka (Toyama Univ.), Y. Kaneko (Saitama Univ.), Y. Kitaya (Osaka Prefecture Univ.), K. Soga (Osaka City Univ.), H. Takahashi (Tohoku Univ.), M. Tasaka (Nara Inst. of Science and Technology), N. Fujii (Tohoku Univ.), T. Hoson (Osaka City Univ.), Y. Miyazawa (Tohoku Univ.), K. Miyamoto (Osaka Prefecture Univ.), T. Murata (NIBB), M. Yamashita (JAXA)

Abstract: Terrestrial plants control their orientation of growth for obtaining water and nutrients, harvesting light for photosynthesis, and anchoring themselves. This is the feature fundamentally important for plants to survive under various environmental conditions and to achieve efficient production of carbohydrates as primary energy of all organisms. To accomplish this task, plants respond to gravity for controlling their growth and development under terrestrial environment. For example, roots and stems display gravitropism. In addition, graviresponse has been implicated to be involved with circumnutation in plants. Another example of gravimorphogenesis is seen in the seedlings of cucurbitaceous plants; namely, unilateral positioning of a peg on the transition zone between the root and the hypocotyl. Plants also respond to various environmental cues, which interacts with graviresponse. However, mechanisms underlying the graviresponse and its relationship to other growth and development are not fully understood. Members of our working group have attempted to reveal the molecular mechanisms that essentially function in graviperception system and its involvement in various aspects of plant growth and development. We will further develop our research on the molecular dissections for obtaining general principles underlying the graviperception and its role in plant growth and development. Then, we will establish a model for spaceflight experiments to verify the hypothesis.

Key words; Amyloplast, Arabidopsis, Automorphogenesis, Auxin, Circumnutation, Columella, Cucumber, Endodermis, Gravimorphogenesis, Graviperception, Gravitropism, Gravity, Hydrotropism, Microgravity, Mutant, Pea, Peg, Spaceflight experiment

はじめに

植物は重力のみならず、光や水などの他の環境要因にも応答して伸長方向を制御する機能を持ち、それらが重力応答と相互作用する。すなわち、植物は、複数の環境応答を統御して適切な姿勢制御を行う能力を有し、そのために重力受容システムと他の環境応答の間に何らかのクロストークがあるものと考えられる。この植物の重力応答（受容）の仕組みを解明し、植物の姿勢制御機構を理解することは、生物学的課題であるだけでなく、人類の生命維持システムの保持および宇宙への生命圏の拡大（フロンティア活動）のために、エネルギー源と環境を確保するという観点から極めて重要である。

本研究班ワーキンググループ(WG)では、生物進化、地球環境、生命維持システム、有人宇宙活動、

いずれの観点からもフロンティアの先端に立つ植物の生活を支える「重力受容システム」の解明に向けて、研究の現状と課題を整理し、地上研究の方向を決定し、そこで得られる仮説を検証すべく宇宙実験系を確立することを目的としている。そのために、WGでは、とくに植物の重力受容の仕組み、それが深く関与する成長制御の仕組みを解明するための研究を行うとともに、それらの成果について多方面から議論し、宇宙実験系の骨格を見出そうとしている。

研究班 WG の作業内容

これまで本 WG の構成員は、植物の重力応答のしくみとそれが関与する成長現象について、各種のユニークな実験系を用いて研究を行い、国内外で注目される成果をあげてきた。植物の重力応答

に関しては、重力屈性に関する研究が多く、植物生理学および分子遺伝学的に重力受容とそのシグナル伝達系が解析されてきた。その結果、根のコルメラ細胞および茎葉の内皮細胞が重力受容細胞として機能すること、その細胞内におけるデンブリン・アミロプラストの沈降が完全な重力屈性の発現に必要とされること、重力受容に細胞骨格や細胞小器官が重要な役割を果たしている可能性のあること、その重力受容にともなって植物ホルモンのひとつであるオーキシンの動態が変化し、それによってオーキシンが偏差的に分布し、偏差成長による屈曲誘導の原因となっていることなどが、具体的に示されるようになってきた。とくに、重力応答によるオーキシン動態の制御には、特定のオーキシン輸送タンパク質や小胞輸送が関与し、そのタンパク質の局在性が重力支配を受ける可能性が示唆されている。したがって、重力応答によってオーキシン輸送タンパク質の局在が決定される仕組み、その下流におけるオーキシン作用について、それらの制御にかかわる分子・タンパク質を解明することが必要である。

また、上記の重力受容（重力屈性）は、植物の回旋運動や頂芽優勢などの形態形成にも深く関与し、さらには水分屈性や自発的形態形成などと相互作用することも示されている。これらの現象は、植物の成長制御という観点で重要であるが、地球上では、重力応答によって干渉され、これまであまり研究されてこなかった。したがって、これらの現象と重力応答の関係にかかわるメカニズムを解明するとともに、それらを重力応答から分離して解析することが必要である。

本 WG では、植物の重力受容、および、これら重力支配を受ける現象の分子機構を解明するための研究を展開し、それによって導かれる仮説を検証するための宇宙実験系を提示する。

これまでの研究成果

重力屈性 —重力受容とシグナル伝達系—

一般に、植物の地上部は重力に応答して上側に伸長し、地下部の根は下側に伸長する。この重力屈性における重力受容は、根のコルメラ細胞と茎の内皮細胞によって担われており、その細胞内での大型アミロプラストの沈降によるものと考えられてきた。しかし、その生理学的解析によって得られてきた仮説にも確証はなく、長い間の論争であった。近年、田坂らは、シロイヌナズナの重力屈性突然変異体を単離し、これに明快な答えをだした¹⁾。すなわち、*shoot gravitropism1 (sgr1)* およ

び *sgr7* は正常な内皮細胞を欠失し、まったく重力屈性を示さないことが明らかになった。さらに、田坂らは、*sgr2*、*sgr3* および *sgr4/zigzag (zig)* は内皮細胞を分化するものの、液胞への小胞輸送が異常なために内皮細胞内でアミロプラストが沈降せずに重力屈性を発現できないことを明らかにした^{2,3,4)}。これは、シュートや茎の重力受容細胞が内皮細胞であり、その中のアミロプラスト沈降が重力受容に必須であることを示すものである。

高橋らは、重力受容機構を解明する目的で、重力屈性を欠損したシダレアサガオ (*weeping*) に着目し、*weeping* は地上部において重力感受に必須とされる内皮細胞層を欠損し、沈降性アミロプラストを含まない不規則な細胞群を持つことを明らかにした⁵⁾。これに類似した表現型を示す突然変異体として、シロイヌナズナでは *scarecrow* が知られている。そこで高橋らは、アサガオにおける *scarecrow* 相同遺伝子 (*PnSCR*) を解析し、*weeping* の *PnSCR* に 1 アミノ酸の挿入を見出し、この挿入変異による *PnSCR* の機能欠損が *weeping* の重力屈性欠損をもたらすことを、連鎖解析およびシロイヌナズナの *scr* 突然変異体への *PnSCR* 遺伝子導入による相補試験によって証明した⁶⁾。これはシュートでは、内皮細胞が重力受容細胞であることを確認するものである。

植物の地上部の内皮細胞による重力受容およびシグナル伝達のメカニズムは、ほとんどわかっていない。重力受容細胞内での pH 変化やオーキシン輸送体の役割が指摘されているが、液胞膜・小胞輸送とアミロプラスト沈降の関係、そして内皮細胞とオーキシン輸送の関係を解明するような研究が、この問題の解決の糸口になる可能性がある。

植物の重力に対する応答機構を解明するために、生理学的解析や突然変異体を用いた遺伝学的解析が進められてきた。しかし、そのシグナル伝達機構については不明な点が多い。これまでにシグナル伝達系に関する知見が少ない理由として、それにかかわる突然変異体が単離・同定されていないことが考えられる。藤井らは、この問題を解決するために、シロイヌナズナの根が負の光屈性を示すことに着目し、それが重力屈性と干渉することを利用して、根の重力屈性の低下を高い感度で検出し、新規の根の重力屈性突然変異体を単離するためのスクリーニング法を確立した。これによって、EMS で突然変異を誘発した 10 万の M_2 個体から 44 系統の重力屈性突然変異体を見出し、さらに、ラフマッピングの結果から、新規の突然変異体である可能性のある系統を単離することに成功した。

今後、これらの突然変異体を用いた解析によって、重力受容にかかわる新たなメカニズムとその制御分子が見出されるものと期待される。

一方、この重力受容とそのシグナル伝達系に関する研究では、今後、トランスクリプトームやプロテオミクスの手法を用いた解析によって、関与する分子を網羅的に明らかにすることも重要になってくるであろう。鎌田らは、重力刺激を与えたシロイヌナズナの根端から経時的に全タンパク質を抽出・精製し、2次元電気泳動と分子質量計による解析を行い、重力応答によって分子量の変化するタンパク質を同定した⁷⁾。とくに、その一つが、pH変化に伴ってN末側が切断されることによって活性化されることの知られている20SプロテアゾームベータサブユニットE1であることは、プロテアゾームによるオーキシン誘導性Aux/IAAタンパク質の分解が重力応答に関与することが示されていることから極めて興味深い。ちなみに、重力刺激を受けたシロイヌナズナの根では、重力受容細胞において短時間のうちに細胞内pHのアルカリ化が誘導され、その直後にアポプラストの酸性化の生じることが知られている。これらの分子の役割に関する今後の研究の進展が期待される。

重力形態形成 —ウリ科植物のペグ形成—

ウリ科植物の芽ばえは、発芽時に横向きになる根と茎の境界域(Transition zone; TR領域)の下側にペグと呼ばれる1個の突起状組織を形成する。微小重力下で発芽させたキュウリの芽ばえがTR領域に2個のペグを左右相称的に形成することから、キュウリの芽ばえは左右相称的に2つのペグを形成する能力を有するが、地上では横になったTR領域の上側のペグ形成が抑制され、下側に1個のペグが形成されると考えられる。そして、ペグ形成を誘導するオーキシンが、重力刺激にตอบสนองして上側で減少することが明らかにされている⁸⁾。これは、植物の重力応答機構を理解するために極めて有用なモデル実験系と考えられる。高橋らは、宇宙実験で明らかにされた成果に基づいて、このオーキシン動態制御因子を解析し、オーキシン輸送担体(排出キャリア)が重要な役割を果たすことを見出し、重力応答によって制御されるペグ形成機構に関するモデルを構築した⁸⁾。藤井らは、この仮説を検証するために、キュウリ由来のPINオーキシン排出キャリア遺伝子cDNA(CsPIN1~6)を単離した。これらのうち、CsPIN1とCsPIN6 mRNAはTR領域の重力感受細胞であると考えられる内皮細胞を含む組織で蓄積していたことから、

CsPIN1とCsPIN6が重力刺激にตอบสนองしたペグ形成の抑制を引き起こしうるオーキシン排出キャリアであると推定した。今後、CsPIN1とCsPIN6のタンパク質レベルでの解析を展開することにより、これまで未解明であった重力によるオーキシン動態制御機構が明らかになるものと期待される

さらに藤井らは、オーキシンの偏差分布により生じるシグナルの伝達には、Aux/IAAファミリー遺伝子とARFファミリー遺伝子の相互作用によるオーキシン依存的な転写制御機構が存在することを明らかにした⁹⁾。とくに、オーキシン制御遺伝子の発現を制御する転写因子としてCsARF2がアクチベータとして、CsARF5がリプレッサーとして、Aux/IAAファミリーのCsIAA1およびCsIAA2と相互作用し、ペグ形成におけるオーキシン応答を調節している可能性を示した意義は大きい。

重力依存的形態形成 —回旋運動—

屈性に加えて、回旋運動も、植物が姿勢を制御するための成長制御法である。これにも重力応答が関与する可能性が示唆されてきたが、その明確な証拠はなかった。しかし、最近、上述した重力応答欠損突然変異体のシダレアサガオを用いた研究によって、回旋運動が重力依存的形態形成であることが証明された。

すなわち、重力受容に機能する内皮細胞分化異常のアサガオ(シダレアサガオ)およびシロイヌナズナの突然変異体では、それらの野生型に比較して、回旋運動が著しく抑制されていることが見出された⁹⁾。とくにシダレアサガオのPnSCRの機能欠損が重力応答の欠損だけでなく、回旋運動異常の原因かどうかを明らかにするために、高橋らは、シロイヌナズナのscr突然変異体にアサガオのPnSCR遺伝子を導入した⁹⁾。その結果、正常なアサガオのPnSCRを導入した場合には、シロイヌナズナのscr突然変異体の内皮細胞が分化し、重力屈性および回旋運動が回復したが、シダレアサガオのPnSCRを導入した形質転換体では、そのような回復がみられなかった。また、内皮細胞は分化するものの、その中でアミロプラスト沈降が異常なために重力を受容できないシロイヌナズナの突然変異体の回旋運動も著しい低下していることがわかった。これまでヒマワリを用いた宇宙実験で、回旋運動が微小重力下でもみとめられたことから、回旋運動を誘導する外的要因としての重力作用は疑問視されていたが、アサガオとシロイヌナズナを用いた分子遺伝学的解析の結果は、重力受容が回旋運動を制御することを強く示唆している。こ

の問題に結論を出すべく 厳密な宇宙実験が行われるべきである。

重力応答と相互作用する成長様式

植物のシュートや根は、一定の角度を維持して伸長する。この直接的に環境要因によらない形態形成を自発的形態形成といい、例えば、黄化エンドウ芽ばえを微小重力下において重力応答による干渉を除去したときにみられる。上田と宮本のグループは、宇宙実験およびクリノスタットを用いた実験から、この自発的形態形成に類似した現象がオーキシン輸送阻害剤の処理によっても誘導されることを見出した^{10,11)}。さらに、彼らは、オーキシン誘導性遺伝子の *PsIAA4/5* およびオーキシン排出キャリアの *PsPIN1* の発現解析から、黄化エンドウ芽ばえの自発的形態形成が、上胚軸の子葉側のオーキシン極性輸送能の低下、重力応答が阻害されるのに伴うオーキシンの不均等分布の阻害によってもたらされることを明らかにした¹¹⁾。このように、オーキシン輸送は植物の自発的形態形成を制御し、このような現象は、オーキシン動態を支配する重力屈性によって大きく影響される。

根は重力のみならず、水分勾配や光に応答して屈性を示す。高橋らは、これまでに水分屈性が重力屈性によって干渉され、水分屈性と重力屈性には共通したメカニズムの存在することを示してきた¹²⁾。とくに、重力屈性および水分屈性において、刺激受容部位が根冠であること、いずれにもオーキシンの関与することは興味深い。これは、根が複数の環境シグナルに応答し、それらを統御する仕組みを理解するためのモデル実験系になるものと考えられ、両屈性のメカニズムを比較解析することが重要である。最近、宮沢らは、シロイヌナズナ根端に対しレーザー照射および重イオンビーム照射を行い、特定の細胞群の機能を比較解析した。その結果、水分屈性、重力屈性ともに、それらの発現過程でコルメラ細胞、伸長領域の細胞群が機能することを明確に示すとともに、屈性発現のために、伸長領域では新規の遺伝子発現を必要とする一方、コルメラ細胞における生体反応には新規の遺伝子発現を伴わないことを明らかにした。これはコルメラ細胞が重力および水分勾配の受容にかかわることを強く示唆するものである。さらに宮沢らは、根の重力屈性と水分屈性のいずれにもオーキシン再分布を必要とするが、そのためのオーキシン輸送機構が両者で異なる可能性を示した。

高橋らは、水分屈性突然変異体 14 系統を単離し、

それらの重力屈性や光屈性の解析から、水分屈性特異的突然変異体を見出し、最近、それらのいくつかの変異原因遺伝子を同定することに成功した。

このように、重力屈性と水分屈性のメカニズム、それらが相互作用する仕組みを解明するための基盤が着実にできつつある。

おわりに

ここで述べてきたように、本研究班 WG のメンバーの研究は、植物の重力受容および、それによって支配される重力形態形成、それと相互作用する現象を制御する分子機構を解明するために大きく貢献している。今後、これらの成果から得られる「重力受容」に関するモデルを構築し、それを検証するための宇宙実験系を確立するための共同研究体制を探求したい。

参考文献

- 1) Fukaki, H., Wysocka-Diller, J., Kato, T., Fujisawa, H., Benfey, P.N., Tasaka, M. (1998) *Plant J.* 14: 425-430.
- 2) Morita, M.T., Kato, T., Nagafusa, K., Saito, C., Ueda, T., Nakano, A., Tasaka, M. (2002) *Plant Cell* 14: 47-56.
- 3) Yano, D., Sato, M., Saito, C., Sato, M.H., Morita, M.T., Tasaka, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 8589-8594.
- 4) Niihama, M., Uemura, T., Saito, C., Nakano, A., Sato, M.H., Tasaka, M., Morita, M.T. (2005) *Curr. Biol.* 15: 555-560.
- 5) Hatakeda, Y., Kamada, M., Goto, N., Fukaki, H., Tasaka, M., Suge, H., Takahashi, H. (2003) *Physiol. Plant.* 118: 464-473.
- 6) Kitazawa, D., Hatakeda, Y., Kamada, M., Fujii, N., Miyazawa, Y., Hoshino, A., Iida, S., Fukaki, H., Morita M.T., Tasaka, M., Suge, H., Takahashi, H. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 18742-18747.
- 7) Kamada, M., Higashitani, A., Ishioka, N. (2006) *Biol. Sci. Space* (in press).
- 8) Kamada, M., Yamasaki, S., Fujii, N., Higashitani, A., Takahashi, H. (2003) *Planta* 218: 15-26.
- 9) Saito, Y., Yamasaki, S., Fujii, N., Hagen, G., Guilfoyle, T., Takahashi, H. (2004) *J. Exp. Bot.* 55:1315-1323.
- 10) 上田純一・宮本健助 (2003) *宇宙生物科学* 17(2): 116-125.
- 11) 星野友紀・宮本健助・上田純一 (2005) *植物化学調節学* 40 (Suppl.): 23.
- 12) 高橋秀幸・藤井伸治・宮沢豊 (2005) *生物工学会誌* 83(12): 560-564.