

過重力に対するヒメツリガネゴケの成長・光合成応答メカニズム

—遺伝子発現と形態解析—

半場祐子（京工織大・応用生物），安田柚里（京工織大・応用生物），阪口直哉（京工織大・応用生物），亀石隆司（京工織大・応用生物），竹村香里（京工織大・応用生物），渡辺璃那（京工織大・応用生物），北島佐紀人（京工織大・応用生物），藤田知道（北大・院・理），横井真希（北大・院・生命），坂田洋一（東農大・生命科学），篠澤章久（東農大・生命科学），久米篤（九大・院・農学），唐原一郎（富山大・院・理工），蒲池浩之（富山大・院・理工），森耀久（富山大・院・理工）

Mechanisms for hypergravity response of growth and photosynthesis in *Physcomitrella patens*— Analysis of gene expression and anatomy —

Yuko Hanba¹, Yuri Yasuda¹, Naoya Sakaguchi¹, Ryuji Kameishi¹, Kaori Takemura¹, Rina Watanabe¹, Sakihito Kitajima¹, Tomomichi Fujita², Maki Yoko², Yoichi Sakata³, Akihisa Shinozawa³, Atsushi Kume⁴, Ichirou Karahara⁵, Hiroyuki Kamachi⁵, Akihisa Mori⁵

¹Faculty of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Sakyo-ku, Kyoto 606-8585 Japan, ²Hokkaido University, ³Tokyo University of Agriculture, ⁴Kyushu University, ⁵University of Toyama
E-Mail: hanba@kit.ac.jp

Abstract: Bryophytes, which are one of the early land plants, may have different mechanisms in response to gravity compared to angiosperms. We quantified changes in photosynthesis in the model plant of mosses, *Physcomitrella patens*, grown under three moderate hypergravity environments, 3 ×g, 6 ×g and 10 ×g, for 8 weeks using a custom-built centrifuge equipped with a lighting system. Canopy-based photosynthesis was significantly increased under 6 ×g and 10 ×g, with paralleled increases in CO₂ diffusion in plants. Canopy-based plant numbers and chloroplast sizes in the leaves of *P. patens* were also increased at 6 ×g and 10 ×g. These increases in canopy-based plant numbers and chloroplast sizes involved an enhancement of CO₂ diffusion into plants, and thus, increased photosynthesis under 6 ×g and 10 ×g for *P. patens*. RNA-seq analysis suggests that a transcription factor AP2 may involve these increases in chloroplast sizes and enhancement of canopy-based plant numbers.

Key words; Chloroplast, AP2, Bryophyte, CO₂ diffusion, Gas exchange

1. はじめに

現在, 人間の地球外天体への進出・居住を目指したプロジェクトがすすめられている. 宇宙での居住を可能にするためには, ガス交換機能を持つ植物の利用は必須である. 様々な生育環境に適応できる能力を持ち, 省スペースで簡単に大量栽培できるコケ植物は, 宇宙環境の植物栽培システムに活用できる有望な植物である.

コケ植物は陸上植物の進化の歴史上, 水中に生息していた緑藻類から最も早く分岐して陸上に進出した植物である. コケ植物は水中から上陸する際に, 重力, 光, 気温, 水分状態などの環境の激変を経験し, それに適応してきた. コケ植物は, 現在の地球上では, 南極のような極低温・高紫外線である地域や乾燥地のような乾燥地域など, 生物にとって過酷な環境にも適応し生育している¹⁾. このことから, コケ植物は厳しい環境に対する耐性や, 環境の変動に対する耐性が高いと考えられる.

光合成機能は, 植物の生存や成長を決定づける重要な因子であり, 植物の環境応答に影響を与えている. しかし, 重力の変化を始めとする宇宙環境にコケ植物の光合成機能や成長がどのように応答するのかについては, ほとんど研究が行われていない.

われわれのグループは, コケ植物の中でも, ゲノムが解読されており相同組み換えが容易で, 遺伝子解析が行いやすいモデル植物であるヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens* Bruch & Schimp subsp. *patens*) を材料に, 3 ×g, 6 ×g と 10 ×g という穏やかな過重力に対する光合成と成長応答を調査したので, その結果について報告する.

2. 照射下での長期過重力に対するヒメツリガネゴケの成長と光合成の応答

我々はこれまでに, 照射下でコケを長期栽培できる遠心機を利用した装置²⁾を使ってヒメツリガネゴケを 25 日間~8 週間栽培し, 成長や形態の応答を

調べてきた³⁾⁴⁾。遠心機を稼働させながら光合成速度を測定することは不可能であるため、光合成速度の測定は、栽培終了後に行った。その結果、10 ×gでは葉緑体のサイズや茎の太さなどの形態変化や茎葉体数の変化が生じ、光合成速度も変化することが明らかになった。このような変化がどの過重力で生じるのか、その閾値を明らかにするために、3 ×g, 6 ×g, 10 ×gで8週間栽培し、光合成速度と形態、成長の変化を調べた。

栽培終了後のヒメツリガネゴケについて、茎葉体のほぼ中央部の葉を選び、固定と Spurr 樹脂への包埋を行い、切片を作製した。切片を光学顕微鏡で観察し、葉緑体のサイズを調べた。その結果、3 ×gでは1 ×g (コントロール) との差が見られなかったが、6 ×g, 10 ×gでは葉緑体の幅 (長径) と厚さ (短径) がともに増加することが明らかになった。また、光合成速度と葉の内部の CO₂透過性を調べたところ、葉緑体のサイズと同様に、3 ×gでは1 ×g (コントロール) との差が見られなかったが、6 ×g, 10 ×gでは光合成速度と葉の内部の CO₂透過性のどちらも増加した。茎葉体の数を調べたところ、6 ×g, 10 ×gでは1 ×g (コントロール) と比べて有意に増加したが、3 ×gではそのような増加はみられなかった。これらのことから、光合成およびそれに関係する形態には、3 ×g から 6 ×g の間を閾値として変化が生じる可能性が考えられる。

光合成の変化には、葉の内部の CO₂透過性が大きな影響を与えることが、これまでの被子植物やシダ植物の研究から明らかになっている。コケ植物の CO₂透過性についてはこれまでにほとんど研究例がないが、今回の研究により、6 ×g以上の過重力ではヒメツリガネゴケの CO₂透過性と光合成速度がともに増加し、それは葉緑体サイズの増加と、茎葉体数の増加を伴っていることが分かった。葉緑体サイズの増加は葉の細胞あたりの CO₂拡散を促進し、茎葉体数の増加はコケのコロニーあたりの CO₂拡散を促進すると考えられる⁴⁾。すなわち、6 ×g以上の過重力で生じるヒメツリガネゴケの光合成速度の増加には CO₂拡散の促進が大きな役割を果たしており、それには葉緑体の形態変化と、ヒメツリガネゴケの茎葉体 (個体) の増殖速度の増加が関与していると考えられる。

3. RNA-seq による遺伝子解析

重力の変化に対して遺伝子レベルで植物にどのような変化が生じているのかを明らかにすることは、重力応答メカニズムを解明する上で必須である。まだ予備的な解析の段階ではあるが、我々は10 ×gで8週間栽培したヒメツリガネゴケを対象に RNA-seq による遺伝子解析を行った。その結果、10 ×gで発現量が増加したのは96個の遺伝子であり、発現量が減少したのは28個の遺伝子であった。10 ×gの過重

力によって発現量が増加した遺伝子の数は、乾燥ストレスなどの環境ストレスと比較すると非常に少ないといえる。さらにGO解析を行ったところ、転写因子、とくにAP2相同遺伝子群が、10 ×gにおける発現上昇遺伝子中に高頻度に含まれることが明らかになった。我々の当初の予想に反して、オーキシンなど植物ホルモンに直接関連する遺伝子の発現量変化はみられなかった。

転写因子 AP2 は、植物の成長や器官形成に関与することから、ヒメツリガネゴケの個体数の増加に関与している可能性が考えられる。一方、葉緑体のサイズの増加に関与している遺伝子は現在のところ明らかではない。

3. 今後の展望

過重力によるヒメツリガネゴケの成長や光合成速度の増加は、これまでの重力実験では得られていなかった新規な知見である。今後は「きぼう」を用いた宇宙実験を行い、過重力および微小重力によるヒメツリガネゴケの成長および光合成速度の変化とそれに関与する遺伝子群を明らかにすることで、コケ植物の重力応答メカニズムを解明したいと考えている。

4. 謝辞

本研究は、科研費 (JP21657011, 15K11914) および「きぼう」利用フィジビリティスタディの助成を受けて行われました。植物体内コンダクタンス測定のための安定同位体分析にあたって、陀安一郎様 (京大 大学生態学研究センター/総合地球環境学研究所)、平沢理世様 (京大 大学生態学研究センター) にご助力いただいたことに感謝いたします。

参考文献

- 1) Fujita, T., Kamachi, H., Karahara, I., Kume, A., and Sakata, Y.; Toward Microgravity Experiments in Moss : The Emerging Model Land Plant, *Physcomitrella Patens* on International Space Station and More. *Space Utiliz. Res.* 29, 19–20 (2015).
- 2) Mori, A., Kamachi, H., Karahara, I., Kume, A., Hanba, Y.T., Takemura, K., and Fujita, T.; Comparisons of the effects of vibration of two centrifugal systems on the growth and morphological parameters of the moss *Physcomitrella patens*. *Biol. Sci. Space* 31, 9–13 (2017). doi:10.2187/bss.31.9
- 3) Takemura, K., Kamachi, H., Kume, A., Fujita, T., Karahara, I., and Hanba, Y.T.; Hypergravity environment increases chloroplast sizes, photosynthesis and plant growth of the moss *Physcomitrella patens*. *J. Plant Res.* 130, 181–192 (2017).
- 4) Takemura, K., Watanabe, R., Kameishi, R., Sakaguchi,

N., Kamachi, H., Kume, A., Karahara, I., Hanba, Y.T., and Fujita, T.; Hypergravity of 10g Changes Plant Growth, Anatomy, Chloroplast Size, and Photosynthesis in the Moss *Physcomitrella patens*, *Microgravity Sci. Technol.* 29, 467–473 (2017).