

平成 21 年度 WG「高等植物の生活環」活動報告

富山大学・院・理工 神阪盛一郎、大阪市大・院・理 保尊隆享・若林和幸・曾我康一、北海道東海大・工 笠原宏一、東大 山田晃弘、東北大・院・生命科学 高橋秀幸、奈良先端大・パイオ 田坂昌生、東北大・院・生命科学 西谷一彦、大阪府大・院・理学系 上田純一、大阪府大・総合教育 宮本健助、富山大・院・理工 山田恭司・増田恭次郎・若杉達也・唐原一郎・酒井英男、千代田アドバンスソリューションズ 田山一郎、JSF 嶋津徹、JAXA 矢野幸子・石岡憲昭、大阪府大・院・生命環境 北宅善昭、環境研 多胡靖宏、千葉大・園芸 後藤英司、九大・院・農学 久米篤、JAMSS 笠原春夫、金沢大・学際科学実験セ 山口和男・西内巧、エー・イー・エス 鎌田源司、JAXA 山下雅道

Life Cycle of Higher Plants

Seiichiro Kamisaka*, Takayuki Hoson, Kazuyuki Wakabayashi, Kouichi Soga, Hirokazu Kasahara, Mistuhiro Yamada, Hideyuki Takahashi, Masao Tasaka, Kazuhiko Nishitani, Junichi Ueda, Kensuke Miyamoto, Kyoji Yamada, Kyojiro Masuda, Tatsuya Wakasugi, Ichirou Karahara, Hideo Sakai, Ichiro Tayama, Toru Shimazu, Sachiko Yano, Noriaki Ishioka, Yoshiaki Kitaya, Yasuhiro Tako, Eiji Goto, Atsushi Kume, Haruo Kasahara, Kazuo Yamaguchi, Takumi Nishiuchi, Motoshi Kamada, Masamichi Yamashita

* Graduate of School of Science and Technology, University of Toyama, Gofuku, Toyama 930-8555
E-Mail: kamisaka@sci.u-toyama.ac.jp

Plant life cycle consists of successive phases of vegetative and reproductive growth. The effects of altered gravity conditions on reproductive growth are not understood well compared to vegetative growth. We have performed proteome analysis to examine the effect of hypergravity on reproductive growth of *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ecotype Columbia-0). Plants grown for 20-26 days under were exposed to hypergravity at 300 x g or placed at 1 x g for 24 h in the dark. Proteins extracted from the flower buds with a buffer containing Triton X-100 were subjected to two-dimensional electrophoresis. The polypeptides, that were up-regulated or down-regulated by hypergravity, were analyzed by matrix-assisted laser desorption ionization time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry, to compare the present proteome results with our previous transcriptome results. Proteome analysis showed that hypergravity changed the expression of proteins involved in protein folding and translocation, ethylene synthesis and stress response.

Key words; Life cycle, Reproductive growth, Hypergravity, Proteomics, *Arabidopsis*, Space, JEM.

1. はじめに

約 4 億年前に水中から陸上に進出した植物は、陸上で生活するのに適した形質を次々と獲得して、コケ、シダ、種子植物へと進化してきた。これらの固着生活をする陸上植物は、動物のように動き回ることができないために、おかれた環境の変化に対してその生活環をうまく適応させることが、生存のために重要である。

陸上植物が根を地下に伸ばし、茎を上を伸ばすのは、重力のベクトル情報を巧みに利用しているからである。この現象は重力屈性と呼ばれ、陸上植物の姿勢制御に重要な役割を果たしている。また、陸上植物は重力に逆らってその地上部を支えるために、細胞壁を強固にして¹⁾、支持組織である通導組織を発達させた²⁾。これらの二つの重力に対する反応が、植物が陸上での生活を可能にし

た原因の一つである。

JEM 一次選定テーマ「微小重力環境における高等植物の生活環」(提案者、神阪)が採択されてからすでに 16 年経過している。この間の植物科学の進歩はめざましいものがある。たとえばきぼうで実験に使用するシロイヌナズナの全ゲノムの解読が 2000 年に完了した。このことは、微小重力下での植物の生活環を遺伝子・タンパク質水準で解析することを可能にした。

種子の発芽で始まる植物の生活環において、まず栄養成長が起こり、引き続いて生殖成長が始まる。生殖成長期には花器官の形成、受精、胚発生、種子形成が行われる。植物の生殖成長は温度をはじめとする様々な環境刺激に影響される。栄養成長が重力刺激によって大きく影響されることを考えると^{3,4)}、重力刺激がこれらの生殖成長過程に影響を及ぼす可能性が高い。

現在まで、植物の生殖成長に注目した宇宙実験は何度か行われている。80年代には Salyut においていくつかの植物種の生活環を微小重力環境で全うさせる試みがなされたが、種子の収量の低下などが報告されている⁵⁾。開花期直前のシロイヌナズナをスペースシャトルで打ち上げ、軌道上での植物の栽培条件などが Musgrave によって解析されてきた⁶⁾。20世紀後半に行われた宇宙での植物の栽培実験では、種子の不稔やその形成不良が多数報告されているが、これらの宇宙で得られた実験結果の解析は、地上での対照実験をもとに行われている。地上と宇宙環境、例えばスペースシャトル内の磁場や放射線は地上とは異なることを考えると、これまでの宇宙実験で報告されている高等植物の生殖成長異常が重力の大きさの違いによって生じたのかどうかは、厳密には分からない。

2. WG「高等植物の生活環」の目的

国際宇宙ステーションに日本の実験モジュール（きぼう）が完成し、2009年よりライフサイエンス実験が開始された。きぼうには植物の長期栽培を可能にする細胞培養装置（CBEF）が搭載され、この装置には人工重力発生装置（回転テーブル）が設置されている。一次選定テーマ「微小重力環境における高等植物の生活環」（Space Seed）は、提案者である神阪らが、JAXAと共同で開発した植物実験ユニット（PEU）をCBEFに設置し、植物の種子から種子への生活環が重力刺激の影響を受けるかどうかを検証するために、2009年9月10日より62日間きぼうで生育実験が実施された。実験開始33日目に、花茎が伸び始めている植物体の短期収穫、62日目に莢を形成している植物体の長期収穫がおこなわれ、それぞれの植物体は冷蔵・化学固定された。収穫された植物体は、2010年3月にスペースシャトルで地上に持ち帰られる予定である。

本研究班は、シロイヌナズナの生活環の駆動に及ぼす重力の影響を個体、器官、組織、分子のレベルで解析することによって地球の重力環境に適応・進化した陸上植物が、微小重力下で正常な世代交代を行うかどうかを、検証することを目指す。

3. 本年度のWGの活動成果

実験：WGの研究費を用いて、花芽形成時のプロテオームに対する過重力刺激の影響を二次元電気泳動とTOF/MSによって解析した。20-26日間白色光下で生育させた発達段階 stage 1-12 (Smyth et al. 1990)⁷⁾の花芽を持つシロイヌナズナの個体に遠心分離機を用いて 300 x g の過重力刺激を茎から根

の先端方向に暗所、25℃で24時間与えた（過重力処理区）。1 x g 対照区としては、植物個体を暗所、25℃で24時間静置した。過重力処理直後、植物体から花芽を切り出し、液体窒素中で花芽を破碎し、TritonX-100を含む緩衝液を用いてタンパク質の抽出を行った。

二次元電気泳動の結果、過重力刺激によって変化がみられたタンパク質スポットのうち変化が大きいものから43スポットを質量分析してタンパク質の同定をおこなった。その結果、同定できたもののうち26のスポットで過重力条件下でタンパク質の増加が、17のスポットで減少がみられた。過重力刺激で、タンパク質の折り畳み・輸送に関わるタンパク質、エチレン前駆体合成に関わるタンパク質、および活性酸素消去に関わるタンパク質の発現が増加した。一方、葉緑体・ミトコンドリアの機能に関わるタンパク質の発現が過重力刺激で抑制された。きぼうからダウンリンクしたシロイヌナズナの画像から、微小重力下では1 x g 対照区に比べると発育速度が速く、また植物体の老化が抑制されていることが分かった。このことは、重力が植物にとっては一種のストレスになっている可能性を示唆している。2010年3月に回収される植物体を用いて、シロイヌナズナの生活環の駆動に及ぼす重力の影響を個体、器官、組織、分子のレベルで解析する予定である。

会合：本年度、「植物の抗重力反応解明」（代表者・保尊隆享）、「宇宙環境に対する植物反応解明のための実験系構築」（代表者・北宅義昭）、および「フロンティア生物の戦略」（代表者・高橋秀幸）と合同でWGの集まりを持った（2009年12月8日、東京）。下記の5題の話題提供が行われた。

- 1) 谷 晃（静岡県立大学環境科学研究所）
植物からの微量ガスの放出 - エチレン、イソブレン、モノテルペン -
- 2) 小竹 敬久（埼玉大学大学院理工学研究科）
植物の糖ヌクレオチド合成経路 - 炭素資源の有効利用に向けて -
- 3) 飯野盛利（大阪市立大学大学院理学研究科）
イネ芽ばえの重力屈性と回旋運動
- 4) 矢野幸子（宇宙航空研究開発機構 宇宙環境利用センター）
「きぼう」日本実験棟船内実験室での植物長期生育実験（Space Seed）
- 軌道上実験の概要 -
- 5) 神阪盛一郎（富山大学大学院理工学研究部）

一次選定テーマ「微小重力環境下での植物の生活環」の中間報告

参考文献

- 1) Soga K., Wakabayashi, K., Hoson, K., Kamisaka, S. *Plant Cell Physiology* 40:581-585 (1999).
- 2) Nakabayashi, I., Karahara, I., Tamaoki, D., Masuda, K., Wakasugi, T., Yamada, K., Soga, K., Hoson, T., Kamisaka, S. *Annals of Botany* 97: 1083-1090 (2006).
- 3) Tamaoki, D., Karahara, I., Wakasugi, T., Nishiuchi, T., Yamaguchi K., Kamisaka, S. *Space Utiliz. Res.* 22:302-304 (2006).
- 4) Tamaoki, D., Karahara, I., Nishiuchi, T., Wakasugi, T., Yamada, K., Yamaguchi, K., Kamisaka, S. *Space Utiliz. Res.* 23 (2007).
- 5) Mashinsky A., Ivanova I., Derendyaeva T., Nechitailo G., Salisbury F. *Adv. Space Res.* 14:13-19(1994).
- 6) Musgrave ME.,Kuang A., Xiiiao Y., Stout SC.,Bingham GE., Briarty LG., Levenskikh MA., Sychev VN., Podoloski IG. *Planta* 210:400-409(2006).
- 7) Smyth DR., Bowman JL., Meyerowitz EM. *The Plant Cell* 2:755-767(1990).
- 8) Sutoh T., Asano T., Tamaoki D., Karahara I., Nishiuchi T., Kamisaka S.. *Space Utiliz. Res.*(2009).