

植物の抗重力反応解明

大阪市大・院・理 保尊隆享
東北大・院・生命 高橋秀幸
大阪府大・院・生命環境 北宅善昭
横浜市大・木原生研 村中俊哉
兵庫県大・院・生命理学 園部誠司
東北大・院・生命 西谷和彦
富山大・院・理工 唐原一郎
大阪市大・院・理 若林和幸、曾我康一

富山大・院・理工 神阪盛一郎
宇宙航空研究開発機構 山下雅道
東京学芸大・教育 飯田秀利
奈良先端大・院・パイオ 橋本 隆
名古屋市大・院・自然科学 谷本英一
愛媛大・院・理工 井上雅裕
埼玉大・院・理工 小竹敬久

Understanding the Mechanism of Gravity Resistance in Plants

Takayuki Hoson, Seiichiro Kamisaka, Hideyuki Takahashi, Masamichi Yamashita, Yoshiaki Kitaya, Hidetoshi Iida, Toshiya Muranaka, Takashi Hashimoto, Seiji Sonobe, Eiichi Tanimoto, Kazuhiko Nishitani, Masahiro Inouhe, Ichirou Karahara, Toshihisa Kotake, Kazuyuki Wakabayashi, Kouichi Soga*

*; Graduate School of Science, Osaka City University, Sumiyoshi-ku, Osaka 558-8585

E-Mail: hoson@sci.osaka-cu.ac.jp

Abstract: Resistance to the gravitational force is a principal graviresponse in plants, comparable to gravitropism. However, only limited information has been obtained for this graviresponse. To clarify the nature and mechanisms of gravity resistance, we have organized a working group, consisting 16 members. By ground-based experiments using tubulin mutants, we confirmed the essential role of reorientation of cortical microtubules in gravity resistance. We have also shown that calli and cultured cells respond to the gravity signal by the mechanism similar to that used by seedlings. These data as well as active discussions and exchange of information among members will be utilized for establishment of a strategy for understanding gravity resistance in plants.

Key words; Gravity resistance, Microgravity, Plant, Space.

1. 植物の抗重力反応

植物は、数億年前、他の生物に先駆けて海から陸に上がり、以後、陸上植物として飛躍的な進化、繁栄を遂げた。それを可能にしたのが、陸上での様々なストレスに対する抵抗、適応能力の獲得である。中でも、1gの重力に抵抗することは必須の過程であり、植物は強固な体を構築することによってこの困難な問題を乗り越えてきた(Hoson 2003, 2006)。このように、重力に対する抵抗は、植物の進化を支える重要な過程である。しかし、今までの重力植物学や宇宙植物学の研究は、重力屈性に代表される重力形態形成に関するものがほとんどであり、この反応の理解は大きく立ち後れていた。そこで我々は、これを「抗重力反応(gravity resistance)」と名づけ、その実態や機構の解明をめざして研究を進めてきた(Hoson and Soga 2003, Hoson et al. 2005, 保尊 2005, 2007, 保尊ら 2008)。

抗重力反応過程は、他の環境シグナルに対する反応と同様に、シグナルの受容、受容したシグナルの変換・伝達、そしてシグナルに対する応答、の3つに分けられる。重力シグナルの受容過程に関しては、阻害剤を用いた解析により、原形質膜上に存在するメカノレセプター(機械的刺激受容イオンチャンネル)が関与することを明らかにした(Soga et al. 2004)。また、抗重力反応は平衡細胞を除去した植物やアミロプラストを欠損した突然変異系統でも正常に起こるので、シグナル受容機構は重力屈性と抗重力反応とで独立であり、抗重力反応では平衡細胞ばかりでなく、植物体を構成する多くの細胞で受容されることも明らかになった。植物におけるメカノレセプターとしては、MCA1が単離され、その遺伝子の発現を改変した変異系統を用いて機能が解析されている(Nakagawa et al. 2007)。今後、抗重力反応におけるこのタンパク質の役割を解明するこ

とが重要である。

抗重力反応におけるシグナルの変換・伝達過程を解明するために遺伝子発現解析を行ったところ、過重力環境下では、原形質膜の構築と機能に関する遺伝子群のうち、ステロール合成経路を律速する *HMGR* 遺伝子の発現のみが促進された。その結果、膜成分のうちステロールレベルが特異的に増加した (Yoshioka et al. 2003)。一方、*ERG1* 及び *ERG2* チューブリン遺伝子ファミリーの多くのメンバーの発現レベルが重力刺激に応じて速やかに増加し (Matsumoto et al. 2007)、それらによって構築される表層微小管の配向が細胞長軸と直角から平行へと変化した (Soga et al. 2006)。過重力環境における表層微小管の配向変化の機構は、最近提唱された枝分かれモデルとよく適合していた。シグナル変換・伝達機構をさらに理解するため、原形質膜及び微小管の構築と機能に関わる遺伝子を改変した突然変異体を単離し、重力シグナルに対する応答性の変化を解析した。単離した多くの変異体のうち、*HMGR* ノックアウト系統と数種のチューブリン及び微小管結合タンパク質変異体が特徴的な性質を示した。これらの変異体は、野生型では過重力環境下でのみ見られる矮化やねじれなどの形質変異を既に 1 g 下で示し、過重力はそれ以上の変化をもたらさなかった。すなわち、これらの変異体では重力に抵抗する能力が損なわれており、膜ステロールと表層微小管が抗重力反応において不可欠な機能を果たしていることが明らかになった。さらに、膜ステロールと表層微小管はともにメカノレセプターからの情報伝達の下流で機能するが、お互いに独立したシグナル変換・伝達経路を担うことが示された。

抗重力反応における最終的な応答過程を司るのは、植物体を構成する成分の中で最も力学的強度に優れた細胞壁である。遠心過重力を用いた地上実験により、過重力環境下では、細胞壁の力学的強度が著しく増加すること、また、この増加は主に 2 種の抗重力細胞壁多糖 (キシログルカン及び 1,3,1,4-β-グルカン) の代謝の変化に起因することが明らかになった。そして、キシログルカンに関しては、継続的な合成の維持と細胞壁内での分解活性の低下が、一方、1,3,1,4-β-グルカンについては、合成活性の増加と分解活性の低下が関与することがわかった (Soga et al. 2007, Kimpara et al. 2008)。さらに、細胞壁環境の変化、特に細胞壁 pH の上昇が細胞壁内での分解活性の低下に貢献することも示された。このように、植物は、重力シグナルに応じて特定の細胞壁多糖の代謝と細胞壁環境を変えて細胞壁物性を

制御し、重力に抵抗することが明らかになった。この仮説の一部は、スペースシャトル STS-95 における宇宙実験 (BRIC-RC) によって確認された (Hoson and Soga 2003, Hoson et al. 2005)。

2. 本年度のWG活動

抗重力反応の機構と実態の全容を明らかにするため、16名からなる宇宙環境利用科学委員会研究班 WG「植物の抗重力反応解明」を設立し、宇宙の微小重力環境を有効に利用して植物の抗重力反応を解明するための研究戦略の策定をめざして、活動を行っている。本年度は、引き続き、植物の抗重力反応を解明するための宇宙実験の概要、手法や機器、意義と課題等についてさらに詳細な検討を加えた。まず、研究戦略策定のため、2008年12月2日に、「高等植物の生活環境」WG (代表者：神阪盛一郎)、「フロンティア生物の戦略」WG (代表者：高橋秀幸)、及び「宇宙環境に対する植物反応解明のための実験系構築」WG (代表者：北宅善昭) と合同で WG 会合を開催した。そこで提起された問題点については、さらに E-メール等を通して議論を重ねた。また、研究戦略の策定に必要な抗重力反応機構の詳細に関するデータを得るために、抗重力反応における表層微小管の配向変化の役割を検証するとともに、カルスや遊離培養細胞における抗重力反応の実態を明らかにした。

3. 抗重力反応機構の解明

チューブリンの構造に変異を生じたシロイヌナズナ突然変異体は 1 g 環境下でも表皮細胞列のねじれを生じ、伸長成長の抑制や肥大成長の促進を示した。抗重力反応における表層微小管の役割を明らかにするため、この変異体における表層微小管の配向と表皮細胞列のねじれの関係を詳細に解析した。チューブリン変異体 *tua3* (D205N) と *tua4* (S178Δ) の胚軸の表層微小管は、1 g 環境下でも既に右肩上がり配向しており、その平均角度は過重力処理により 3 倍程度に増加した。また、これらの変異体の表皮細胞列は、1 g 環境下でも左巻きのねじれを示し、ねじれの角度は過重力処理により約 2 倍になった。一方、*tua6* (A281T) 変異体の胚軸の表層微小管は、1 g 環境下でも明らかに左肩上がり配向しており、その平均角度は過重力処理により約 2 倍に増加した。また、*tua6* 変異体の表皮細胞列は、1 g 環境下でも右巻きのねじれを示し、ねじれの角度は過重力処理により約 2 倍になった。そして、胚軸の表

皮細胞列のねじれ角度と表層微小管の配向角度との間には高い相関が認められた($R = 0.97$)。すなわち、通常の細胞では、重力刺激に応じて表層微小管の配向が細胞長軸と直角から平行へと変化し、肥大成長が誘導されて重力に抵抗するのに対して、チューブリン変異体では、表層微小管が右肩上がりあるいは左肩上がりに配向するため、それと直角方向への細胞のねじれが生じて、重力に対して正常に抵抗できないことが明らかになった。以上の結果は、植物が重力に応答して細胞成長の方向を調節し抗重力反応を行う際に、表層微小管が重要な働きを示している。

4．抗重力反応の実態の解明

抗重力反応における普遍性と階層性を明らかにするため、芽ばえばかりでなく、カルス及び遊離培養細胞の成長、細胞形態、代謝、細胞壁動態、並びに表層微小管の構造変化に対する過重力の影響を解析している。タバコ BY-2 細胞においては、 $1g$ 下では細胞長軸と直角であった表層微小管の配向が、過重力処理によりすみやかにランダムな方向へと変化した。この変化は、過重力処理後、1 時間以内に起こり、連続過重力環境下でも 3 時間以降は回復に向かった。また、表層微小管の配向変化は、ガラス等に貼り付けた場合に明瞭で、パーコール溶液中に浮遊させると起こらないこと、過重力刺激の方向とは無関係であることが明らかになった。さらに、過重力による配向変化は、メカノレセプター阻害剤の存在下では誘導されないことが示された。一方、過重力によってカルスの成長が抑制される際には、細胞壁合成活性が低下するとともに、可溶性糖レベルの増加が起きていることがわかった。このように、抗重力反応は、重力屈性とは独立に、個々の細胞レベルで起こることが明らかになった。さらに、抗重力反応のメカニズムも基本的に、芽ばえとカルスや遊離培養細胞との間で共通であることが示された。

5．まとめと展望

本 WG 活動や地上公募研究で進めている地上実験では、主に遠心過重力に対する抗重力反応を解析している。しかし、過重力はあくまで人工的な刺激であり、本来の目標である地球上の $1g$ の重力に対する抗重力反応の機構を解明するためには、宇宙実験が必要不可欠である。本 WG のメンバーにより既に数題の宇宙実験が計画されているが、植物の抗重力反応の全容を理解するためには、本 WG 活動によ

って得られた新たな成果を検証する次の宇宙実験の実施が必要であり、「きぼう」第 2 期後期利用実験などへの応募を想定した活動を推進して行きたい。

6．文献

- 1) Hoson, T., *Biol. Sci. Space*, **17**, 54-56 (2003).
- 2) Hoson, T., *J. Gravit. Physiol.*, **13**, 97-100 (2006).
- 3) Hoson, T. et al., *Adv. Space Res.*, **36**, 1196-1202 (2005).
- 4) Hoson, T. and Soga, K., *Int. Rev. Cytol.*, **229**, 209-244 (2003).
- 5) 保尊隆享, *生物工学*, **83**, 565-567 (2005).
- 6) 保尊隆享, *宇宙環境利用の展望*, JAROS, p. 59-77 (2007).
- 7) 保尊隆享 他, *宇宙利用シンポジウム(第24回)*, p. 390-393 (2008).
- 8) Kimpara, T. et al., *Ann. Bot.*, **102**, 221-226 (2008).
- 9) Matsumoto, S. et al., *Adv. Space Res.*, **39**, 1176-1181 (2007).
- 10) Nakagawa, Y. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 3639-3644 (2007).
- 11) Soga, K. et al., *Planta*, **218**, 1054-1061 (2004).
- 12) Soga, K. et al., *Planta*, **224**, 1485-1494 (2006).
- 13) Soga, K. et al., *Adv. Space Res.*, **39**, 1204-1209 (2007).
- 14) Yoshioka, R. et al., *Adv. Space Res.*, **31**, 2187-2193 (2003).