

## 第5回ライフサイエンス国際公募宇宙実験選定テーマ「Hydro Tropi」の実施へ向けた実験系の調整

東北大・院・生命科学 宮沢 豊, 岡本 美貴, 藤井 伸治, 高橋 秀幸

(独) 宇宙航空研究開発機構 石岡 憲昭, 山崎 丘

(株) エイ・イー・エス 鎌田 源司

(財) 日本宇宙フォーラム 嶋津 徹

### Adaptability of experimental system for observation of root hydrotropism in space.

*Yutaka Miyazawa, Miki Okamoto, Nobuharu Fujii, Hideyuki Takahashi (Tohoku University)*

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, Katahira 2-1-1, Aoba-ku, Sendai 980-8577

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

*Noriaki Ishioka, Takashi Yamazaki (JAXA)*

*Motoshi Kamada (Advanced Engineering Services Co.,Ltd.)*

*Toru Shimazu (Japan Space Forum)*

Abstract: When roots are exposed to a moisture gradient, roots sense the gradient and bend toward the higher water potential or moisture, which is so called root hydrotropism. Because the root system is responsible for water acquisition, root hydrotropism is considered to be important for drought avoidance. Although the difficulty of separating hydrotropism from gravitropism on Earth prevented us from analyzing the genuine hydrotropism, our previous results suggested that root gravitropism interferes with hydrotropism and that auxin plays an important role in both tropisms. Furthermore, in cucumber, both hydrotropism and gravitropism are found to be accompanied with asymmetric expressions of auxin-inducible genes. To reveal the role of auxin in root hydrotropism, it is necessary to use microgravity conditions for differentiating hydrotropism from gravitropism. We proposed to use the microgravity environment to separate hydrotropism from gravitropism and dissect respective mechanisms in cucumber roots, which has been approved as a forthcoming spaceflight experiment by the International Space Life Science Working Group in 2004. In this presentation, our recent ground-based experiments for demonstration of cucumber root hydrotropism in space are described.

*Key words; Auxin, Cucumber (Cucumis sativus), Gravitropism, Hydrotropism, Root*

植物が固着性生物であるにも関わらず現在まで地上で繁栄してきた背景には、植物が周囲の環境に基づいて形態形成を行う能力を進化の過程で獲得してきたことが挙げられる。こうした形態形成能力の一つである重力屈性は、植物が地球上に恒常的に存在する重力を利用することで、地上部を重力方向と反対方向に伸ばすことで光と大気を、地下部を重力方向に伸ばすことで養水分を効率よく獲得する成長制御であると考えられる。一方、根は重力以外にも光、水分勾配、接触、電場、磁場などにも応答して屈性を発現する。とりわけ、水分屈性は植物にとって物質代謝や、姿勢制御、成長に必要な膨圧の維持に重要な役割を果たしている水の獲得に重要な役割を果たしていると考えられる。それゆえ、その分子機構の解明は地球上での植物生存の本質の

理解に寄与するのみならず、宇宙空間のような重力屈性に依存し得ない環境下での根の成長制御法の開発にもつながると考えられる。しかしながら、重力の存在する地球上では水分は重力方向と同じ方向に分布し、また根は重力屈性も発現するために、水分屈性と重力屈性の分離は困難であり、水分屈性の研究は長らく進展しなかった。近年になり、重力屈性突然変異体の利用やクリノスタットによって重力刺激方向を攪乱することで、重力屈性の影響を排除した実験系が開発された。これを起点に、我々は、地球上では重力屈性に水分屈性が干渉することを明らかにしてきた<sup>(1)</sup>。このことは、微小重力環境を利用することで、重力の影響に干渉されない純粋な水分屈性の現象を観察でき、その動作原理を解明できる可能性を示していると言える。

一般に屈性発現を説明するモデルとして Cholodny-Went 仮説が 70 年以上も前に提唱されている<sup>(2)</sup>。すなわち、植物ホルモンの一つであるオーキシンが刺激に伴い、偏差的に分布するようになり、偏差的な応答とともに偏差成長が起こることにより屈曲が発現するというものである。近年の分子遺伝学的な解析により、少なくとも重力屈性においてはこの仮説を支持する多くのデータが取られている。また、我々も、キュウリを用いた実験から、水分屈性において水分勾配に応じたオーキシン誘導性遺伝子(*CsIAA1*)の偏差的発現が生じることを明らかにしてきた<sup>(3)</sup>。しかしながら、オーキシンの偏差的な分布が生じるメカニズムの重力屈性との異同は未だ解明されていない。重力は地球上では排除することのできない力であるために、重力屈性と水分屈性の本質的な差異を見出すためには恒常的な微小重力を得られる宇宙環境を利用することが必要であると考えられる。そこで、我々は、国際宇宙ステーションを利用した研究課題として、根の水分屈性と重力屈性を国際宇宙ステーションでの実験により分離し、それぞれの屈性の発現におけるオーキシンの役割の解明の実験を提案し、採択された。本発表では、宇宙実験装置のレプリカを用いた、実験手順の詳細とともに、キュウリの水分屈性発現に伴うオーキシン偏差応答の検出法について発表する。

各チャンバー内の水分供与体に 7 つのキュウリ種子を播種し、1G 下で 18 時間生育させた後、飽和塩溶液、または純水を注入し、1G 区水分勾配あり、なし、3D クリノスタット区水分勾配あり、なしの 4 つの条件で培養を行った。その結果、3D クリノスタット上で水分勾配に根をさらした時のみ、水分供与体への有意な根の屈曲が観察された。このことは、宇宙実験で用いるチャンバーの限られた空間内でも水分屈性を誘導することができることを示している。これらの結果をもとに、これまでに策定された実験手順は以下の通りである。まず、乾燥種子の状態でキュウリ種子を打ち上げ、軌道上で吸水を行う。次に、遠心機を用いて 1G 下で 18 時間培養する。その後、飽和塩を注入し水分勾配を形成させ、微小重力下で培養後 4, 8 時間目に対照区とともにサンプリングを行う。サンプリングの際、軌道上で画像取得を行い、根の屈曲角度を測定する。サンプリング後のキュウリ芽生えは、軌道上で固定液に浸すことで固定する。尚、打ち上げからサンプリングまでは実験容器の密閉が必要であり、実験容器を開けずに作業ができるようにそれぞれの注水口が設置されている。

キュウリの水分屈性発現に伴うオーキシン偏差応答の検出法として、前述したキュウリオーキシン誘導性遺伝子 *CsIAA1* をプローブとした *in situ* hybridization を予定している。本プローブは、キュウリ芽生えより単離されたオーキシン誘導性遺伝子の中でもオーキシンの添加、分解に対して鋭敏に応答する遺伝子であり、その発現の強弱は内生オーキシン量の多少を反映していると考えられる。実際、キュウリ芽生えの胚軸と根の境界域においては内生オーキシン量に依存した発現様式を示すことをオーキシンの化学的定量と合わせることで確認している<sup>(4)</sup>。これらを踏まえ、サンプリングを行う予定の水分勾配刺激後 4 時間目のキュウリ主根を用いて *CsIAA1* 遺伝子発現を解析したところ、高水分側で低水分側に対し強いシグナルが観察され、この時点で偏差的なオーキシン応答が起きていることが確認できた。現在、宇宙実験の向けて更なる準備を行っているところである。

#### 参考文献

- 1) Takahashi H, Miyazawa Y, Fujii N (2009) Hormonal interactions during root tropic growth: hydrotropism versus gravitropism. *Plant Mol. Biol. in press*
- 2) Went FW, Thimann KV (1937) *Phytohormones*. Macmillan New York
- 3) Mizuno H, Kobayashi A, Fujii N, Yamashita M, Takahashi H (2002) Hydrotropic response and expression pattern of auxin-inducible gene, *CS-IAA1*, in the primary roots of clinorotated cucumber seedlings. *Plant Cell Physiol.* 43: 793-801
- 4) M. Kamada, S. Yamasaki, N. Fujii, A. Higashitani and H. Takahashi (2003) Gravity-induced modification of auxin transport and distribution for peg formation in cucumber seedlings: possible roles for CS-AUX1 and CS-PIN1. *Planta* 218: 15-26