

平成 20 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・バイオ 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, 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

Abstract: In order to assess the effect of gravity on life cycle in the *Arabidopsis* plant, we have organized a working group, consisting of 29 members from different research fields of plant science. The goal of our working group is to clarify whether or not the seed to seed life cycle of a higher plant, *Arabidopsis thaliana* L., is normally completed under microgravity condition in the International Space Station, using plant experiment units embarked in JAXA's cell biology experiment facility with a centrifuge to produce 1 g condition.

In this year, we examine the effect of hypergravity (300 x g) on proteome in floral buds. Proteins were extracted from floral buds excised from plants grown at 300 x g or 1 x g for 24 hr, and then subjected to two dimensional electrophoresis. It was turned out that hypergravity increased the expression of 9 protein spots, and decreased that of 5 spots. These protein spots were analyzed by matrix-assisted laser desorption ionization time flight mass spectrometry. Proteomics results were compared with our previous transcriptome data.

Key words: Life cycle, Plant, Microgravity, Proteomics, 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¹⁾、支持組織である通導組織を発達させた²⁾。植物が重力に逆らって

身体を支える現象は抗重力反応と呼ばれる。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 10 年以上が経過している。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 JEM で用いる実験植物、シロイヌナズナの全ゲノムの解読が 2000 年に完了している。この事実は、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が可能になったことを意味している。

宇宙への人類の長期的な滞在計画が近年具体化している。人類の宇宙での活動を可能にするためには、宇宙での植物を活用した食糧生産と環境維持が重要となる。それを可能にするためには、微

少重力下での植物の生活環に関する基礎情報の取得が必須である。

種子の発芽で始まる植物の生活環において、まず茎葉の器官成長、すなわち栄養成長が起こり、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 saljut 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

現在建設が進められている国際宇宙ステーションに日本は実験モジュール(JEM)を構築する。JEMには植物の長期栽培を可能にする細胞培養装置が搭載される。またこの装置には、人工重力発生装置(回転テーブル)が設置されており、 $1 \times g$ の環境下で植物を育てることが出来る。高等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には、JEMは理想的な実験室である。

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」の提案者である神阪らは、JAXAと共同で開発した植物実験ユニットの機能試験をおこなってきた。このユニットを用いると、モデル植物であるシロイヌナズナの種子から種子への生活環が約50日間で完結することが確認されている。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遺伝子の発現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、人工重力発生装置を持つJEMで2009年に検証することを目指す。

3. 研究班ワーキンググループの構成メンバー

2003年、宇宙航空研究開発機構・宇宙環境利用科学委員会の呼びかけに応じて、研究班WG「高等植物の生活環」が設立された。本WGを構成する研究者とその役割分担は以下の通りである。

栄養成長の解析(保尊)、自発的形態形成の解析(宮本)、細胞壁構成多糖の解析(若林)、細胞壁関連遺伝子の発現解析(西谷)、抗重力反応の解析(曾我)、電子顕微鏡による形態観察(笠原・山田晃弘)、重力屈性の遺伝学的解析(田坂)、老化の解析(上田)、花器官の形態観察(増田)、花関連遺伝子発現の解析(山田恭司・若杉)、二次細胞壁の形態形成(唐原・久米)、植物に対する磁場の影響解析(酒井)、植物実験ユニットの開発(矢野・島津・石岡・田山・北宅・後藤・多胡・鎌田・山下)、マイクロアレイによる遺伝子発現解析(山口、西内)、植物実験ユニットを用いた栄養・生殖成長の解析とWG活動の総括(神阪)。

4. 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器を用いて $300 \times g$ 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)。 $1 \times g$ 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20スポットを質量分析した。その結果、17のスポットでタンパク質が同定できた。同定できたもののうち9つのスポットで過重力条件下でタンパク質の増加が、8つのスポットで減少がみられた。その詳細な実験結果については、本シンポジウムでの発表L-5「シロイヌナズナの花芽に対する過重力の影響についてのプロテオーム解析(須藤ら、2009)」⁸⁾を参照されたい。

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（2008年12月2日、東京）。下記の5題の話題提供が行われた。なお最後に、宇宙環境利用科学委員会・山下雅道幹事より日本の新しい宇宙開発体制の概要が紹介された。

- 1) 斉藤章（株式会社誠和）「施設園芸における植物生育促進のための環境調節技術 - 葉へのCO₂供給、および根への水供給を中心として - 」
- 2) 西内巧（金沢大学学際科学研究センター）「過重力刺激を与えたシロイヌナズナの花芽におけるプロテオーム解析」
- 3) 上田 純一（大阪府立大学大学院理学系研究科）「植物の重力応答形態形成とオーキシン極性移動」
- 4) 宮沢豊（東北大学大学院生命科学研究科）「植物の体制制御機構における重力受容の重要性」
- 5) 井上雅裕（愛媛大学理学部）「クリノスタット及び遠心過重力環境でのカルスや植物体の成長と代謝」

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).