

キュウリ根の水分屈性発現機構解析に向けた宇宙実験系の構築

東北大・院・生命科学 宮沢 豊, 諸橋 恵太, 藤井 伸治, 高橋 秀幸

Experimental design aimed for observation of root hydrotropism in space.

Yutaka Miyazawa, Keita Morohashi, Nobuharu Fujii, and Hideyuki Takahashi

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

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

Abstract: Root systems are responsible for the acquisition of water and nutrients, and they enable plants to become established in heterogenous environments. Root hydrotropism is a response to a moisture gradients, which is considered to be important for drought avoidance. Despite the difficulty of separating hydrotropism from gravitropism on Earth, our previous results suggested that root gravitropism interferes hydrotropism and that auxin plays pivotal role in both tropisms. Furthermore, both hydrotropism and gravitropism are found to be accompanied with asymmetric expressions of auxin-inducible genes. However the interacting mechanism has not been figured out yet. 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 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

植物は動物と異なり、発芽した地点で生活環を完結する固着性生物である。そのため、植物は様々な環境刺激に応答し、生存に有利な形態形成をおこなう。このような植物の環境への適応能力の一つとして、屈性があげられる。植物の根も、重力、光、水分勾配、接触などの刺激に応答して重力屈性、光屈性、水分屈性、接触屈性を発現する。とりわけ水分屈性は、植物にとって光合成をはじめとする物質代謝、体制の維持および成長に必要な膨圧の維持に必要とされる水の獲得に重要な役割を持っていると考えられる。しかし、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ったため、水分屈性に関しては、古くからその存在が示唆されていたものの、その存在の有無は長らく議論的であった。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、その存在が証明された^(1,2)。すなわち、重力屈性を欠損したエンドウ突然変異体や、3Dクリノスタット上で回転させた野生型エンドウの根は、水分勾配存在下で顕著な水分屈性を示す一方で、地上重力下では野生型エンドウの根は、水分勾配存在下でも重力屈性を示した。また、地上重力下でも水分屈性を発現するシロイヌナズナの根においても、3Dクリノスタット上で水分屈性能が上昇することから、重力屈性と水分屈性は一種のトレードオフの関係にあることを明らかにしてき

た⁽³⁾。これらの結果は、根の水分屈性の存在を証明しただけでなく、地球上では、根の重力屈性が水分屈性に干渉すること、宇宙の微小重力下では、重力屈性と水分屈性を分離できる可能性を示すものである。

前述のように互いに干渉し合う水分屈性と重力屈性はいままでの間、異なる環境刺激に起因するが、両屈性がどのような共通の分子を介して相互作用しているのかは未解明であった。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⁽⁴⁾。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⁽⁵⁾。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⁽⁶⁾。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と屈性発現の分子機構の解明の実験を提案し、採択された。本発表では、キュウリを用いた水分屈性実験系におけるオーキシン動態制御の重要性を生理学的に明らかにした結果とともに、現在行っている宇宙実験装置のレプリカを用いた解析について報告する。

まず、我々はキュウリ根の水分屈性におけるオーキシン応答の寄与および、その動態制御を明らかにするために、種々のオーキシン関連阻害剤を用いた解析をおこなった。その結果、水分屈性はオーキシン作用阻害剤PCIBの処理により約35%にまで低下した。また、キュウリ根の水分屈性は、オーキシン排出輸送阻害剤であるTIBAの処理により約15%にまで低下し、同じく排出輸送阻害剤であるHFCA処理によっても約19%にまで低下した。これらの結果より、キュウリの水分屈性において、オーキシン応答は必須であり、そのオーキシンの偏差的応答が引き起こされるまでの経路には、オーキシン排出輸送タンパク質を介したオーキシン輸送が関与することが示唆された。さらに、根の伸長領域におけるオーキシン偏差分布を導く分子機構を解明するために、キュウリ根冠から表皮・皮層細胞で発現が認められ、オーキシン排出を担うことが推定されるCsPIN5タンパク質の免疫組織化学的解析を行い、水分屈性発現に伴うその動態変化を解析した。その結果、CsPIN5は根端の表皮・皮層細胞の基部側に偏在しており、CsPIN5はキュウリ根冠から伸長領域に向けての、オーキシンの求基的輸送に関わることが示唆された。さらに、水分勾配刺激後4時間目の根において、高水分側と比べ、低水分側で顕著なCsPIN5のシグナルの低下が認められた。これらの結果から、水分勾配刺激によりオーキシン排出キャリアの動態が変化し、低水分側に比べ、高水分側へオーキシンがより多く輸送され、オーキシンの偏差分布が生じることが示唆された。

次に、実際に宇宙実験で用いるチャンバーのレプリカを制作し、これを用いて実際に容器内で水分屈性を誘導できるかを検証した。各チャンバー内の水分供与体に3つのキュウリ種子を播種し、1g下で24時間生育させた後、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にのみ、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。現在、実験の確実性に関して検証を行って

るところである。

参考文献

- 1) Jaffe MJ, Takahashi H, Biro RL (1985) A pea mutant for the study of hydrotropism in roots. *Science* 230: 445-447
- 2) Takahashi H, Takano M, Fujii N, Yamashita M, Suge H (1996) Induction of hydrotropism in clinorotated pea seedling roots of Alaska pea, *Pisum sativum* L. *J. Plant Res.* 109: 335-337
- 3) Kobayashi A, Takahashi A, Kakimoto Y, Miyazawa Y, Fujii N, Higashitani A, Takahashi H (2007) A gene essential for hydrotropism in roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104: 4724-4729
- 4) Went FW, Thimann KV (1937) *Phytohormones*. Macmillan New York
- 5) Muday GK (2001) Auxin and tropisms. *J. Plant Growth Regul.* 20: 226-243
- 6) 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