

植物の抗重力反応解明研究班WGの活動報告

大阪市大・院・理 保尊隆享
 富山大・理 神阪盛一郎
 東北大・院・生命 高橋秀幸
 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
 理研・植物科学研究センター 村中俊哉
 奈良先端大・院・バイオサイエンス 橋本 隆
 兵庫県大・院・生命理学 園部誠司
 名古屋市大・院・自然科学 谷本英一
 東北大・院・生命 西谷和彦
 埼玉大・理 小竹敬久
 大阪市大・院・理 若林和幸、曾我康一

Understanding the Mechanism of Gravity Resistance in Plants

Takayuki Hoson, Seiichiro Kamisaka, Hideyuki Takahashi, Masamichi Yamashita, Hidetoshi Iida, Toshiya Muranaka, Takashi Hashimoto, Seiji Sonobe, Eiichi Tanimoto, Kazuhiko Nishitani, 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. We have organized a working group, consisting 13 members, to clarify the mechanism of gravity resistance. In this article, we report the current activity of this working group, and propose the strategies for space experiments to understand gravity resistance in plants. The process of gravity resistance consists of signal perception, transformation and transduction of a perceived signal, and response. We have shown the outline of the sequence of events leading to the development of mechanical resistance. We need to clarify the details of each step by future space experiments. For this purpose, we should design a plant cultivation chamber, applicable to not only model plants, but also other materials, including cultured cells. Also, it is required to develop some new analytical instruments, suitable for on-site analyses on orbit.

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

1. はじめに

植物には2つの主要な重力反応がある。一つは重力形態形成であり、植物はこの反応により重力シグナルを方向の基準として用いて自らの形態を築いている。もう一つは、重力の力に抵抗して体を構築し生命活動を営む反応であり、「抗重力」と呼ばれる(保尊 2005)。抗重力反応のためのシステムは、植物が陸に上がって1gの重力に直接曝されるようになった数億年前から飛躍的に発達し、その後の植物の陸上での多彩な進化、繁栄を支えてきた。しかし、今までの重力植物学や宇宙植物

学の研究の大半は、重力屈性に代表される重力形態形成に関するものであり、抗重力反応のしくみの理解は大きく立ち後れていた。そこで、宇宙環境利用科学委員会の呼びかけに答えて、13名のメンバーから構成される研究班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、ISS/JEMの第2期運用や月面基地及び火星基地の構想を念頭に置いて、昨年度の成果をさらに詳細化、具体化した。

2. 本WGの活動

本WGでは、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総合的に検討してきた。本年度は、10名のメンバーが集まり、高等植物の生活環WG（代表者：神阪盛一郎）及びフロンティア生物の戦略WG（代表者：高橋秀幸）と合同で、WG会合を開催した（2005年12月6日、東京）。そこで提起された問題点については、さらにE-mail等を通して議論を重ねている。

3. 植物の抗重力反応解明のための研究概要

植物の抗重力反応は、生物の一般的な環境応答と同様に、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、の各過程から構成される。反応全体のアウトラインについては、代表者らの地上実験及び宇宙実験を通して明らかになってきた（保尊 2005, Hoson & Soga 2003, Hoson et al. 2005）。しかし、それらの詳細については不明な点が多く残されている。各過程のメカニズムを詳しく調べる必要がある。

【重力シグナルの受容】

まず、抗重力反応における重力シグナルの受容体を同定する必要がある。我々は、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）によってシグナルが受容されることを示すデータを得た（Soga et al. 2004）。しかし、植物ではそのような機能を持ったメカノレセプターはまだ同定されていない。メカノレセプターが見つければ、生理学的及び分子生物学的手法により、抗重力反応におけるその役割や特性を明らかにすることができる。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シグナルが受容されると考えられる（Soga et al. 2004, 2005）。この仮説が正しいかどうかは今後の宇宙実験により検証する必要がある。

【シグナルの変換・伝達】

抗重力反応を構成する3つの過程の中で、シグナル受容機構と応答機構をつなぐシグナルの変換、伝達のしくみは最も理解が進んでいない部分である。抗重力においては、個々の細胞の細胞膜上で受容された重力シグナルが、その細胞内で変換、

処理され、最終的な細胞壁物性の変化を誘導するものと考えられる（保尊 2005, Hoson et al. 2005）。また、過重力環境下で特異的に発現が誘導されるシロイヌナズナ遺伝子をRT-PCR ディファレンシャル・ディスプレイ法及びcDNA マイクロアレイにより探索、同定した結果、原形質膜ステロールの合成に関わるヒドロキシメチルグルタリル-CoA レダクターゼ（HMGR）と微小管の構成要素である-チューブリンをコードする遺伝子の発現が、重力シグナルに応じて顕著に高まることが明らかになった（Yoshioka et al. 2003）。したがって、細胞膜と微小管の構造的、機能的な連携がシグナルの変換・伝達に関わる可能性が高い（保尊 2005, Hoson et al. 2005）。これらの細胞成分のダイナミクスを明らかにし、シグナル伝達ネットワークを解明する必要がある。シグナル変換・伝達における他シグナルや重力屈性とのクロストークの理解も、重要な研究課題である。

【シグナルに対する応答】

我々は、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の成分の中で最も力学的強度に優れた細胞壁であろうと推察し、遠心過重力を利用した地上実験を行った。その結果、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、この増加は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）の代謝回転の阻害に起因すること、そしてこれらの代謝的阻害が細胞壁中の加水分解酵素活性の低下と細胞壁pHの上昇によってもたらされること、が明らかになった。すなわち、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、重力に対抗すると考えられる。この仮説は、さらに、スペースシャトルSTS-95における宇宙実験（BRIC-RC）によって、強く支持された（Hoson & Soga 2003, Hoson et al. 2005）。ただし、異なる重力環境における細胞壁の力学的特性の変化は、ふつう伸展性の解析に用いる手法を準用して得られた結果であり、重力に対抗するための細胞壁強度の評価により適した方法を開発する必要がある。また、抗重力多糖の代謝のうち、合成過程に対する重力の影響は十分に検証されていないし、他の細胞壁成分が抗重力多糖の機能に間接的に影響する可能性も残されている。さらに、細胞壁物性ととも植物体の力学的強度を支える浸透圧の調節機構に対する重力の作用についても、今後明らかにすることが必要である。

我々のこれまでの解析の結果、抗重力反応は重力の大きさの \log に比例して起こること、その作用は可逆的であり、重力刺激の除去によって速やかに元に戻ることに、光などの他のシグナルの作用と重複していること、などのいくつかの特性が明らかになってきた（保尊 2005, Hoson & Soga 2003, Hoson et al. 2005）。これらの結果の普遍性についても、今後の宇宙実験を通して十分に検証しなければならない。また、抗重力反応における応答には階層性があると予想されるので、各階層における応答の実態を明らかにすることが重要である。とくに、タバコ BY-2 のような培養単細胞を用いて細胞レベルでの応答の詳細を解析すれば、シグナルが本当に個々の細胞で受容されているかも明らかにできる。

4. 抗重力反応解明のためのアプローチと課題

植物の抗重力反応を解明するための地上実験では、クリノスタットのように重力の方向性のみを除去する微小重力シミュレーションが利用できず、主に遠心過重力が用いられてきた。しかし、本研究の主な目的は、地上の $1g$ の重力に対する抗重力の過程を解明することであり、その対照として宇宙の微小重力環境での実験が不可欠である。また、 $0 \sim 1g$ の範囲での抗重力反応の実態を明らかにすることは、月面基地や火星基地の実現のために意義深い。宇宙の微小重力環境を有効に利用して、前項で示した各研究項目を実施する必要がある。

植物の抗重力反応を解明するための宇宙実験では、以下のようなアプローチが必要になる。まず、微小重力環境下で各パラメータがどのように変化するかを、形態学、生理学、生化学、分子生物学などの様々な手法を用いて解析する。次に、これらの変化が抗重力反応においてどのような意味を持つかを阻害剤や突然変異体を用いて解析する。例えば、抗重力反応における表層微小管の機能については、まず過重力環境下で表層微小管の配向が細胞長軸と直角から平行に変化することを蛍光顕微鏡観察を通して明らかにするとともに、生化学及び分子生物学的解析から微小管レベルやチューブリン遺伝子の発現が増加することを確かめた。次に、微小管破壊剤で芽ばえを処理すると抗重力反応の一部である成長方向の横向きへの変化が起らなくなることに、また、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 $1g$ 環境下でも器官のねじれを生じるが、過重力環境下では

ねじれがさらに強調され、成長が抑制されることを示した。これらの解析により、表層微小管が抗重力反応において不可欠な役割を果たしていることが明らかになった。

さて、抗重力反応解明のための宇宙実験、特に ISS/JEM の運用第 2 期においては、以下の条件を満たす植物育成装置を新たに開発することが必要になる。まず、実験の科学的価値を確保するために、軌道上 $1g$ 対照が得られることが不可欠である。厳密な対照という観点からすると、できれば、EMCS のように等価の回転装置を 2 個設置し、片方を静置することによって微小重力処理試料を得ることが望ましい。また、現在計画中の宇宙実験の多くではモデル植物であるシロイヌナズナを試料として用いているが、抗重力作用を担う細胞壁の構造は、双子葉植物と単子葉（イネ科）植物とでは根本的に異なっているため、イネなどを併用する必要があるし、生理学的、生化学的解析には、モデル植物以外の種の方が有効な場合がほとんどであるので、植物育成装置は他の植物試料の使用に耐え得る十分な大きさを持つことが重要である。さらに、芽ばえばかりでなくより成熟した植物体を長期に育成したり、細胞レベルの抗重力反応研究のために培養細胞を利用することにも対処できる余裕と機能が必要とされる。

次期宇宙実験において要求が高まることが予想されるもう一つの点は、軌道上でのオンサイト解析装置の充実であろう。宇宙実験で得られる植物試料の解析方法には、オンサイトでの解析と地上に回収した試料を用いての解析の 2 通りの方法がある。今までの宇宙実験でも、試料を適切な状態で回収することはなかなか難しい課題であり、その善し悪しが結果的に実験全体の成否を左右することもしばしば見られた。現在のスペースシャトル飛行の現状を考えると、適切な試料回収は今後ますます困難になることが予想される。したがって、できるだけ軌道上で試料の解析を済ますことが望ましく、すべての解析を完了できることが理想的である。その意味で、現在の ISS/JEM に搭載、あるいは搭載予定の装置は不十分である。例えば、様々な目的タンパク質と GFP との融合タンパク質の細胞内挙動を軌道上で観察することはいろいろな分野で大きな情報をもたらすが、現行の蛍光顕微鏡ではそれは困難である（蛍光顕微鏡ですら JEM の当初計画にはなかったのだが）。共焦点レーザー顕微鏡以外に、遺伝子発現解析装置、分子間相互作用解析システムなどには幅広い受容があ

ると予想される。軌道上操作に適したこれらの装置を新たに開発するとともに、適切なプローブの開発や操作の自動化の工夫を行って、ぜひ実現したいと考える。

5 . おわりに

植物は環境維持・浄化や食糧供給の重要な担い手であり、人類が宇宙環境で長期間生存するためには、植物を効率的に生育させることが不可欠である。そのためには、植物を用いた宇宙実験を積み重ね、微小重力環境における生命活動や生活環に関する十分なデータを集積する必要がある。植物は、1 g 下では、抗重力反応のために自己が光合成で同化したエネルギーの 50%以上を費やしている。強固な細胞壁を構築する必要がない宇宙の微小重力環境では、その分のエネルギーを有用成分の生産に振り向けられる可能性がある。宇宙実験によって植物の抗重力反応のメカニズムが解明されれば、将来閉鎖系としての自立に対する要求が高まる宇宙基地の発展のための貴重な情報が得られるものと期待される。

植物は、また、宇宙軌道上ばかりでなく、地球のすべての生命の生存に不可欠な役割を担っている。したがって、抗重力反応機構の解明は、植物生産を通して、地球の生命の生存に貢献することになる。特に、通常 1 g の重力しか経験しない植物を異なる重力環境に曝すことによって、ふだんは隠されている植物の潜在能力を引き出せる可能性がある。その成果を地球上での植物生産に還元できれば、地球上での人類の生存にとって意味のある情報がもたらされる。本稿でまとめたいいくつかの課題が解決され、宇宙実験が推進できることが強く望まれる。

6 . 文献

- 1) 保尊隆享; 植物の抗重力反応 - シグナル受容、変換・伝達、そして応答, *生物工学*, **83**, 565-567 (2005).
- 2) Hoson, T. and Soga, K.; New aspects of gravity responses in plant cells, *Int. Rev. Cytol.*, **229**, 209-244 (2003).
- 3) Hoson, T., Saito, Y., Soga, K. and Wakabayashi, K.; Signal perception, transduction, and response in gravity resistance. Another graviresponse in plants, *Adv. Space Res.*, **36**, 1196-1202 (2005).

4) Soga, K., Wakabayashi, K., Kamisaka, S. and Hoson, T.; Gravi-perception in growth inhibition of plant shoots under hypergravity conditions produced by centrifugation is independent of that in gravitropism and may involve mechanoreceptors, *Planta*, **218**, 1054-1061 (2004).

5) Soga, K., Wakabayashi, K., Kamisaka, S. and Hoson, T.; Mechanoreceptors rather than sedimentable amyloplasts perceive the gravity signal in hypergravity-induced inhibition of root growth in azuki bean, *Funct. Plant Biol.*, **32**, 175-179 (2005).

6) Yoshioka, R., Soga, K., Wakabayashi, K., Takeba, G. and Hoson, T.; Hypergravity-induced changes in gene expression in *Arabidopsis* hypocotyls, *Adv. Space Res.*, **31**, 2187-2193 (2003).