

# Resist Tubule 宇宙実験による植物の抗重力反応機構の解明 —細胞壁の機能

保尊隆享 (大阪市大・院・理)	谷村祐介 (大阪市大・院・理)
馬淵敦士 (大阪市大・院・理)	曾我康一 (大阪市大・院・理)
若林和幸 (大阪市大・院・理)	橋本博文 (JAXA)
東端 晃 (JAXA)	矢野幸子 (JAXA)
嶋津 徹 (JAXA)	松本翔平 (有人宇宙システム)
笠原春夫 (有人宇宙システム)	長田郁子 (有人宇宙システム)
鎌田源司 (エイ・イー・エス)	山崎千秋 (日本宇宙フォーラム)
村中俊哉 (大阪大・院・工)	橋本 隆 (奈良先端大・院・バイオ)

## Understanding the Mechanism of Gravity Resistance in Plants by the Resist Tubule Space Experiment – Role of the Cell Wall

*Takayuki Hoson\*, Yusuke Tanimura, Atsushi Mabuchi, Kouichi Soga,  
Kazuyuki Wakabayashi, Hirofumi Hashimoto, Akira Higashibata, Sachiko Yano,  
Toru Shimazu, Shohei Matsumoto, Haruo Kasahara, Ikuko Osada,  
Motoshi Kamada, Chiaki Yamazaki, Toshiya Muranaka, Takashi Hashimoto*  
\*, 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 acceleration is a principal graviresponse in plants, comparable to gravitropism. However, the whole picture of this graviresponse, gravity resistance, has not been understood yet. To clarify the role of the cell wall in resistance to 1 g gravity, we conducted the Resist Tubule experiment on the Kibo Module of the International Space Station. The modifications by microgravity of the mechanical and chemical properties of the cell wall, as well as the expression of cell wall-related genes, were analyzed with inflorescence stems of *Arabidopsis*  $\alpha$ -tubulin mutants cultivated in the Cell Biology Experiment Facility (CBEF) onboard the Kibo. The cell wall extensibility was higher under microgravity conditions than at 1 g, in particular in the basal region of inflorescence stems. In the basal region, the levels of cellulose and matrix polysaccharides decreased and showed a significant negative correlation with the cell wall extensibility. In addition, the expression of genes responsible for secondary wall synthesis was suppressed under microgravity conditions. These results support the hypothesis that the cell wall plays an essential role in gravity resistance of plants in the range from 1 g to hypergravity.

**Key words;** Cell wall, Gravity resistance, Kibo, Microgravity, Plant, Resist Tubule, Space.

### 1. はじめに

植物は、生物のパイオニアとして、数億年前に海から陸に上がって以来、重力に抵抗するための強固な体と様々なしくみを発達させ、陸上植物として多彩に進化、繁栄してきた。このような重力に抵抗する反応の理解は、生命現象や進化過程の解明にとって重要であるが、従来の重力植物学や宇宙植物学研究のほとんどは、重力屈性などの重力形態形成に関するものであり、重力に抵抗する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 (Hoson and Soga 2003, 保尊 2005)、その実態やメカニズムについて解析してきた (保尊他 2010, Hoson and Wakabayashi 2015)。

植物体全体の形態は、個々の細胞の形態に依存している。植物細胞の成長方向は、細胞壁中のセルロース繊維の配向により、また成長量はセルロース繊維間をつなぐマトリックス成分の特性により決定される。我々は、遠心過重力環境を利用した地上実験により、過重力に対する抗重力反応において細胞壁が中心的な役割を担っていることを示した。しか

し、1 g に対する抗重力反応が同様の機構により引き起こされているかは定かでない。この点を明らかにするためには、対照としての微小重力環境が設定できる宇宙実験が必要不可欠である（保尊他 2010, Hoson 2014）。我々は、このような目的の下、Resist Tubule 宇宙実験を提案し、「きぼう」実験棟で無事実施することができた。得られた成果について、以下、報告する。

## 2. Resist Tubule 宇宙実験の概要

Resist Tubule 宇宙実験「植物の抗重力反応機構—シグナル変換・伝達から応答まで」の目的は、宇宙の微小重力環境を有効に利用して、抗重力反応におけるシグナル変換・伝達から応答に至る一連の機構を解明することにあつた（Hoson et al. 2012）。地上実験や今までの宇宙実験の結果から、仮説として、「1 g の重力に対する抗重力反応でも、過重力に対する反応と同様に、表層微小管と膜ラフトがシグナル変換・伝達を担っており、両者の構造的、機能的な協調によって、最終的な応答としての細胞壁強度の増加が誘導される」ことを想定した。

Resist Tubule 宇宙実験は、以下の3つの実験に分けて実施された（保尊他 2017）。

- Run #1: シロイヌナズナ GFP ラインの芽ばえを用いた細胞内動態のオンサイト解析
- Run #2: 地上回収試料（野生型芽ばえ）を用いた細胞内動態の解析
- Run #3: 突然変異体の花茎を用いた成長並びに細胞壁形質解析

このうちの、Run #3 が本報告の主要部分を占める実験であり、2種類のチューブリン変異体を PEU/CBEF 内で花茎ステージまで生育させ、形態と成長を観察した後、CFB（chemical fixation bag）に入れた RNAlater 溶液中で固定し、地上に回収した。その後、研究室で細胞壁の物理的・化学的性質の解析や遺伝子発現解析を行った。

## 3. シロイヌナズナ花茎の成長

シロイヌナズナでは、花茎の出現時期に個体間でばらつきが大きく、系統や生育環境によっても違いが見られる。本実験でも、早い個体では栽培開始後 22 日目に出現したのに対して、最も遅い個体では 36 日を要した。そこで、花茎の成長を比較するため、各々が出現した日を初日として揃え、以降の長さの増加について、毎日の撮影静止画を用いて定量化した（Hoson et al. 2014）。宇宙 1 g 環

境下では、野生型の花茎の成長が最も速く、チューブリン変異体では成長抑制が見られた。これに対して、微小重力環境下では、変異体の成長が有意に促進され、最終長には両系統間で明瞭な差がみられなかった。

## 4. シロイヌナズナ花茎の細胞壁物性

宇宙 1g 及び微小重力環境で十分に生育し、RNAlater 溶液中で冷凍、回収された花茎試料を、頂部から基部にいたる 10 mm 毎の領域に分け、エタノール中で固定した。試料を水に戻した後、引っ張り試験機を用いて stress-strain 法による物性解析を行った。本実験では、遺伝子発現解析のため、通常の細胞壁分析には使用しない RNAlater を用いて試料を固定したが、エタノール処理などの常法と比べて遜色のない解析データを得ることができた。

測定された細胞壁伸展性は、重力条件に関わらず、頂部の若い細胞からなる領域で大きく、中間部及び基部と比べて、10 倍以上の値を示した。いずれの領域でも、微小重力環境で生育した花茎では、地上対照及び宇宙 1g 環境と比較して、細胞壁伸展性が大きい傾向にあつた。ただし、頂部及び中間部では、差が小さいことに加えて試料間の誤差が大きく、細胞壁伸展性の差は統計的に有意ではなかった。これに対して、基部では、微小重力環境下で顕著で有意な細胞壁伸展性の増加が認められた。

## 5. シロイヌナズナ花茎細胞壁の化学的特性

植物細胞壁は、骨格に相当するセルロース繊維と、セルロース間を埋めているマトリックス、そして多糖間に架橋するフェノールや構造的タンパク質から構成される。そこで、物性測定後の花茎各領域の試料から細胞壁標品を調製し、それぞれの成分を定量した。花茎頂部では、宇宙 1g 及び微小重力環境で生育した試料の単位長さ当たりのセルロース及びマトリックス量は、地上対照と比べて少なかったが、宇宙 1g と微小重力環境の間では差は見られなかった。これに対して、基部では、微小重力環境で生育した試料の単位長さ当たりのセルロース及びマトリックス量は、地上対照及び宇宙 1g と比較して、大きく減少していた。そして、基部では、細胞壁伸展性とこれらの多糖レベルとの間で負の相関が認められた。

細胞壁中のフェノールや及びタンパク質レベルに対する微小重力の影響を調べるため、これらの

試料のセルロース画分を可溶化して、紫外部域の吸収を測定した。しかし、いずれの部域でも重力環境による有意な違いは認められなかった。すなわち、微小重力の影響は主に構成多糖類のレベルに現れることがわかった。

## 6. 細胞壁関連遺伝子の発現

遺伝子発現に対する微小重力の影響を解析するため、花茎頂部及び基部試料から total RNA を調製し、委託解析に供した。本実験で得られた試料の量には限りがあり、十分量が得られなかったため、頂部については次世代シーケンサー、また基部についてはマイクロアレイにより解析した。先行して実施された Run #2 では、一部の試料で KFT からの固定液の漏れが見つかったため、本実験では JAXA によって急遽開発された固定容器 CFB が使用されたが、固定並びに試料の保存状態は良好であった。

細胞壁関連遺伝子の発現に対する微小重力の影響に関しては、花茎頂部と基部で明瞭な差が認められた。頂部では、細胞壁多糖の合成関連遺伝子の発現に関しては一定の傾向が見られなかったが、主要なマトリックス多糖であるキシログルカンの分解に関わるキシログルカン加水分解・転移酵素 XTH の遺伝子群の発現が、微小重力環境で増加していた。一方、基部では、二次細胞壁のセルロース合成に関わる CES 遺伝子、及びキシランなどのマトリックス多糖の合成に関わる多くの遺伝子の発現レベルが、微小重力環境で低下することがわかった。基部では、頂部とは逆に、XTH 遺伝子群の発現には大きな変化は見られなかった。

## 7. 結論

宇宙の微小重力環境下では、細胞壁多糖の合成や分解に関わる多くの遺伝子の発現が変化し、細胞壁多糖のレベルや化学的特性が修飾される結果、細胞壁が柔らかく伸びやすく保たれることが示された。このように、Resist Tubule 宇宙実験によって、細胞壁は、過重力に対する抗重力反応と同様に、1 g に対する反応でも中心的な役割を果たしていることが明らかになった。

## 8. 文献

- 1) Hoson, T. and Soga, K., *Int. Rev. Cytol.*, **229**, 209 (2003).
- 2) Hoson, T. et al., *Aerospace Technol. Japan*, **10**, Tp 1 (2012).
- 3) Hoson, T., *Life*, **4**, 205 (2014).

- 4) Hoson, T. et al., *Plant Biol.*, **16(S1)**, 91 (2014)
- 5) Hoson, T. and Wakabayashi, K., *Phytochemistry*, **112**, 84 (2015).
- 6) 保尊隆享, *生物工学*, **83**, 565 (2005).
- 7) 保尊隆享他, *生物工学*, **88**, 292 (2010).
- 8) 保尊隆享他, *第31回宇宙環境利用シンポジウム プロシーディングス*, 24 (2017).