

Resist Tubule 宇宙実験による植物の抗重力反応機構の解明 — 表層微小管の機能

保尊隆享 (大阪市大・院・理)	村上 愛 (大阪市大・院・理)
加藤志朋 (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)
山下雅道 (JAXA)	長谷川克也 (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 Cortical Microtubules

Takayuki Hoson, Mana Murakami, Shiho Kato, Yusuke Tanimura, Atsushi Mabuchi, Kouichi Soga, Kazuyuki Wakabayashi, Hirofumi Hashimoto, Masamichi Yamashita, Katsuya Hasegawa, 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 clarified yet. To clarify the role of cortical microtubules in resistance to 1 g gravity, we conducted the Resist Tubule experiment, consisting of three runs, on the Kibo Module of the International Space Station. The modifications by microgravity of the formation and orientation of cortical microtubules were analyzed by observing on-site seedlings of GFP-expressing Arabidopsis lines cultivated in the Cell Biology Experiment Facility (CBEF) onboard the Kibo and with wild-type seedlings, cultivated and recovered to earth after chemical fixation. We also cultivated α -tubulin mutants, *tua4* and *tua6* with different degrees of defects, in the CBEF, and analyzed growth properties of inflorescence stems. Three runs in the Resist Tubule experiment have been successfully carried out in the Kibo. The results obtained support the hypothesis that cortical microtubules play an essential role in gravity resistance of plants in the range from 1 g to hypergravity.

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

1. はじめに

植物は、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

に代表される重力形態形成に関するものであり、抵抗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って決定されるが、その配向はさらに細胞骨格の1つである微小管によって制御されている。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表層微小管が重要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、この課題の解決をめざして Resist Tubule 宇宙実験を提案し、「きぼう」実験棟にて実施するに至った。

2. Resist Tubule 宇宙実験の目的

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機構を解明することにある（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。また、実験実施に当たっての作業仮説として、次の2点を設定した。(1) 抗重力反応において重要な表層微小管や膜ラフトの動態は、宇宙の微小重力環境において大きく変化する。(2) これらの細胞成分の形成に関わる突然変異体は、正常な細胞壁を構築できず、地上では矮性やねじれなどの成長形質の異常を示すが、強固な細胞壁を構築する必要がない宇宙環境では、これらの形質変異が軽減する（Hoson et al. 2014 参照）。

3. Run #1: GFP ラインを用いた細胞内動態のオンサイト解析

上記作業仮説の(1)に対応する実験であり、表層微小管と膜ラフトに関わる4種類のシロイヌナズナ GFP ラインの芽ばえを「きぼう」実験棟の細胞培養装置（CBEF インキュベータ）内で生育させた後、クリーンベンチ（CB）蛍光顕微鏡で観察し、表層微小管の配向や膜ラフトの分布の変化を解析した。実験としては、すべての Run の中で最後に実施された。Run #1 実施上の最大の問題は、CB 顕微鏡の性能であった。CB 顕微鏡は、「きぼう」実

験棟設計当初からの搭載機器であり、その性能は現在使用されている顕微鏡とは比較もできないレベルである。本実験の代表者は、20 数年前にこの顕微鏡の設計にアドバイザーとして参加した。その際、生命科学における蛍光顕微鏡の必要性を主張した立場上、ぜひ一度は宇宙実験に使用したいと考えていた。そこで、光学系・イメージング解析の専門家の協力を得て、専用光源と高感度蛍光検出装置を取り付け、蛍光顕微鏡としての性能の飛躍的な向上を図った。その結果、GFP 蛍光が強いラインについては、軌道上で観察・解析を行うことができた。

4. Run #2: 地上回収試料を用いた細胞内動態の解析

上記作業仮説の(1)に対応するもう一つの実験であり、「きぼう」実験棟の CBEF インキュベータ内で生育させた野生型シロイヌナズナ芽ばえを化学固定して地上に回収した後、研究室内の顕微鏡を用いて、細胞成分の動態について解析した。

Resist Tubule 宇宙実験の最初の Run として実施され、SpaceX-1 によって試料の打ち上げと回収が行われた。また、軌道上操作は、星出彰彦飛行士に担当していただいた。この実験は、軌道上で固定され、地上に回収された試料を用いた解析であり、得られた結果に輸送等の操作に伴う問題がつかまとうことは否めない。その反面、GFP 利用実験の場合のように、予め解析対象が限定されることはなく、染色方法によって様々な細胞成分に適用可能であったし、観察にも研究室にある高性能の顕微鏡が使用できた。なお、試料の打ち上げ、回収にスペースシャトル以外のロケットを使用することは初めての経験であり、性能面での心配もあったが、幸い試料固定状態は良好で、有効な解析データが得られた。

5. Run #3: 突然変異体の成長形質解析

作業仮説(2)に基づく実験であり、形質の程度が異なる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 に入れた RNAlater 溶液中で固定し、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。軌道上での植物体の育成に関しては2013年秋に実施されたが、試料の回収は翌年の SpaceX-3 飛行まで待つこととなった。そのため、得られた試料の解析には長

期間を要した。なお、KFT に代わって開発された固定容器 CFB の使用状態は良好であった。また、遺伝子発現解析を伴う試料の固定・回収における RNAlater の有効性も改めて確認された。

6. Resist Tubule 宇宙実験の意義

Resist Tubule 宇宙実験には、以下のような様々な意義がある。

・抗重力反応機構の解明

前述のように、地上では微小重力環境を設定できないので、1 g に対する抗重力反応機構を解析するためには宇宙実験を行う必要がある。また、重力の dose と抗重力反応の大きさ (response) の関係を解析した実験の結果、宇宙の微小重力環境の方が 300 g の過重力より、効果が大きいことがわかっている。

・陸上植物の進化過程の解明

植物は、数億年前に海から陸上に進出して以来、多彩に進化、繁栄してきた。その過程に、抗重力反応の獲得は不可欠であった。したがって、抗重力反応機構の解明は、陸上植物の進化過程の理解にとっても重要である。

・他の環境応答機構解明への貢献

抗重力反応と他の環境応答反応とは、シグナル変換・伝達から応答に至る機構の一部を共有している。したがって、抗重力反応機構の解明は、他の環境応答機構の理解にも大きく貢献できる。

・宇宙環境下での植物生産の効率化

月や火星での人類の長期滞在のためには、食糧供給や環境浄化の担い手である植物を効率的に生産することが必要である。抗重力反応機構の改変による「宇宙植物」の作出を通して、この面で貢献できる。抗重力反応機構の解明は、宇宙惑星居住の実現や有人宇宙学の確立に不可欠である。

・地球上での植物生産の効率化

宇宙での効率的な植物生産のための知識や技術は、地球上での植物生産性の向上にも直結しており、食糧危機や環境破壊などの社会が直面している諸問題の解決にも寄与できる。

7. 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).