

エンドウ重力応答突然変異体“*ageotropum*”の自発的形態形成とオーキシン極性移動関連遺伝子発現

大阪府立大学大学院・理学系研究科
大阪府立大学・総合教育研究機構

上田 純一*・多田 朋弘・戸田 雄太
宮本 健助

Automorphosis of an agravitropic pea (*Pisum sativum* L.) mutant, *ageotropum* and the expression of genes encoding putative facilitator proteins of an efflux and an influx of auxin in its etiolated epicotyls

Junichi Ueda^{1*}, Tomohiro Tada¹, Yuta Toda¹ and Kensuke Miyamoto²

¹ Graduate School of Science, Osaka Prefecture University, 1-1 Gakuen-cho, Naka-ku, Sakai, Osaka 599-8531, Japan

² Faculty of Liberal Arts and Sciences, Osaka Prefecture University, 1-1 Gakuen-cho, Naka-ku, Sakai, Osaka 599-8531, Japan

* Corresponding author, E-mail: ueda@b.s.osakafu-u.ac.jp

Abstract: We have shown that an agravitropic pea mutant, *ageotropum*, seedlings showed automorphosis-like growth and auxin polar transport of the first internode of etiolated epicotyls was substantially suppressed to lower than 50 % of that in etiolated Alaska pea epicotyls. We have isolated novel cDNAs containing the complete open reading frames of a putative auxin influx facilitator, PsAUX1, and putative auxin efflux facilitators, PsPIN1, PsPIN2 and PsPIN3, from etiolated epicotyls of *ageotropum*. No deletion and insertion of nucleotides in these genes isolated from *ageotropum* pea was found compared to those in Alaska pea. Expression of *PsAUX1*, *PsPIN1*, *PsPIN2* and *PsPIN3* genes in the first internode of etiolated *ageotropum* and Alaska pea epicotyls were almost same during early growth stage of the seedlings. These results strongly suggest that automorphosis-like growth and reduced auxin polar transport in etiolated *ageotropum* pea epicotyls do not depend on structure and function of *PsAUX1* and *PsPINs*, and their gene expression, but on different mode of actions of other molecules regulating auxin polar transport and/or dynamics of PsAUX1 and PsPINs between *ageotropum* and Alaska pea seedlings.

Key words; *ageotropum* Pea Mutant, Alaska Pea, Automorphosis, Auxin Polar Transport, Efflux Facilitator Protein, Growth and Development, Influx Facilitator Protein, *PsAUX1*, *PsPINs*

はじめに

著者らは、1998年に実施された STS-95 宇宙実験や3次元クリノスタットを用いた地上基礎実験の結果から、宇宙微小重力あるいは地上擬似微小重力環境下で生育した黄化エンドウ芽生え上胚軸は自発的形態形成を示すとともに、オーキシン極性移動が低下することを報告している (Ueda *et al.* 1999)。これらの事実は、植物の形態形成やオーキシン極性移動は重力によって制御される現象であることを示している。また、宇宙微小重力環境下で認められる黄化エンドウ芽生え上胚軸の自発的形態形成は、吸水後の子葉節付近での上胚軸の「負の重力屈性」が阻害された結果であることも明らかにした (Miyamoto *et al.* 2005)。さらに上胚軸の「負の重力屈性」の阻害

は、芽生えの初期成長段階での子葉側、反子葉側上胚軸におけるオーキシンの不均等分布の阻害に起因することも示唆している (Hoshino *et al.* 2006a, 2006b, 2007)。

重力応答異常を示す突然変異体、*ageotropum* エンドウは、野生型 Weibull's Weitor 種に X 線を照射して得られた突然変異体で、暗所では重力刺激を受けても自発的形態形成様の成長、発達を示す。*ageotropum* エンドウを用いた先行研究から、黄化エンドウ芽生え上胚軸における負の重力屈性 (正常な重力応答反応) は、上胚軸子葉側のオーキシン極性移動によって制御されていること、また、その極性移動能に応じて変化する上胚軸子葉側および反子葉側の内生オーキシンレベルが重要であることを示唆

してきた (Hoshino *et al.* 2006a, 2006b)。

オーキシン極性移動にはオーキシンの細胞内への取り込みと細胞外への排出に関わる様々な分子の関与の重要性が示唆されている (Estelle 1998, Muday and Murphy 2002, Friml and Palme 2002)。Gälweiler らはオーキシンの排出キャリアとしての *AtPIN1* 遺伝子産物の重要性を指摘している (Gälweiler *et al.* 1998, Müller *et al.* 1998)。現在まで、シロイヌナズナゲノム中には *AtPIN1* と相同性を示す遺伝子が7個存在し、比較的大きなファミリーを形成していることが知られている (Muday and Murphy 2002)。一方、*AtAUX1* 遺伝子については、これがオーキシンの取り込みキャリアをコードしている可能性が示されている

(Bennett *et al.* 1996, Marchant *et al.* 1999, Swarup *et al.* 2001)。著者らの先行研究において、黄化エンドウ芽生えからオーキシン極性移動に関係すると考えられる新規遺伝子、*PsPIN2* (Hoshino *et al.* 2003) および *PsAUX1* (Hitotsubashi *et al.* 2003) が分離された。また、ほぼ時を同じくして Chawla と DeMason (2003) によって *AtPIN1* 遺伝子と高い相同性を示す *PsPIN1* が分離されている。

本研究においては、オーキシン極性移動と植物の重力応答反応 (重力形態形成) との関係をも分子レベルで明らかにすることを目的として、重力刺激に応答せず、自発的形態形成様の成長、発達を示す重力応答突然変異体 *ageotropum* エンドウのオーキシン極性移動に注目し、オーキシン極性移動に密接に関係すると考えられる *PsPINs* および *PsAUX1* 遺伝子の構造とその発現を解析することとした。

材料および方法

植物材料 — 実験植物の育成は STS-95 植物宇宙実験に準じた条件で行った。アクリル製植物培養容器 (20 x 4 x 25 cm) に支持体としてロックウール (ミニポット、日東紡績株式会社) を詰め、32 粒の Alaska エンドウ (*Pisum sativum* L.) あるいは重力応答突然変異体である *ageotropum* エンドウの乾燥種子を胚の向きを水平、あるいは斜め上向きになるように播種し、種子全体が埋まる程度に埋め込み、蒸留水 180 ml を給水した。給水後、植物培養容器全体をジップロックバッグに納め、暗所、25 °C、1 g 環境下で、発芽、生育させた。3.5 日齢黄化エンドウ芽生えから地上部を切り出し、液体窒素を用いて凍結した。凍結試料は RNA 抽出時まで -80 °C で保存した。

オーキシン極性移動関連遺伝子の分離と塩基配列の決定 — 黄化エンドウ芽生え地上部から ISOGEN (ニッポンジーン) を用い、全 RNA を抽出した。詳細については、星野ら (Hoshino *et al.* 2008) および多田ら (Tada *et al.* 2009) と同様の方法を用いてオーキシン極性移動関連遺伝子を分離し、その塩基配列を決定した。また、semi-quantitative RT-PCR 法によって、オーキシン極性移動関連遺伝子の発現解析を行った。

オーキシン極性移動能の測定 — 黄化エンドウ芽生え上胚軸第1節間におけるオーキシン極性移動能の測定には放射性 IAA を用い、既に報告された方法に従った (Oka *et al.* 1995)。

結果および考察

Alaska エンドウ種子を、胚を水平にあるいは斜め上向きになるように播種し、暗所で発芽、生育させた。その結果、前者では子葉側上胚軸の成長が、また、後者では反子葉側上胚軸の成長がそれぞれ促進され、芽生え上胚軸は正常な重力応答反応を示した。*ageotropum* エンドウ種子を Alaska エンドウと同様に播種し、暗所で発芽、生育させると、いずれの場合も芽生え上胚軸は子葉から離れる方向約 45° の角度でまっすぐ伸長し、宇宙微小重力環境下で認められる自発的形態形成様の成長、発達を示した。

重力刺激に対して正常に応答する Alaska エンドウに加えて (Hoshino *et al.* 2005)、本研究においては、重力応答突然変異体である *ageotropum* エンドウからオーキシン極性移動関連遺伝子と考えられる *PsPIN1*、*PsPIN2*、*PsPIN3* および *PsAUX1* 遺伝子の分離を試み、その完全長 cDNA の塩基配列を決定することができた (Fig. 1、*PsAUX1* については結果省略)。*PsPIN1*、*PsPIN2* および *PsPIN3* の推定アミノ酸配列に基づき進化系統樹を作成した結果、*PsPIN1* が *AtPIN1* および *CsPIN1* と同じサブファミリーに属するのに対し、*PsPIN2* は *AtPIN3*、*AtPIN4* および *AtPIN7* サブファミリーに属することが、また、*PsAUX1* は、*AtAUX1*、*CsAUX1* および *AtLAX1* と同じサブファミリーに属し、*AtAUX1* と最も近縁であることが示された (Fig. 2、*PsAUX1* については結果省略)。以上の結果から、本研究で分離した各遺伝子は、黄化エンドウ芽生えにおけるオーキシン輸送の facilitator タンパク質をコードしているものと推察された。

Alaska エンドウと比較すると、*PsPINs* において、*ageotropum* エンドウでは若干のアミノ酸の置換が認められるものの、欠失や挿入等の決定的な不具合は認められなかった (Fig. 1)。また、黄化 *ageotropum* エンドウ芽生えの成長、発達に伴うこれら遺伝子の発現は黄化 Alaska エンドウのそれとほぼ同様であった (結果省略)。以上の結果、*PsPIN1*、*PsPIN2*、*PsPIN3* および *PsAUX1* の機能は未だ明確ではないものの、*ageotropum* エンドウ上胚軸におけるオーキシン極性移動の低下ならびに重力応答反応の異常に基づく上胚軸の形態形成の異常、すなわち重力刺激を与えた場合に認められる自発的形態形成様の成長、発達をこれらの遺伝子の構造や発現の側面より特定するのは困難であると考えられる。今後は、これら各遺伝子産物の抗体を作製し、それらの翻訳過程および細胞内分布に対する重力刺激の影響を詳細に解析し、オーキシン極性移動関連遺伝子の動態と植物の重力応答反応との関係を明らかにすることが求められる。

[GENETYX-MAC: Multiple Alignment]

Date : 2011.01.06

PsPIN1	1	MITLIDFYHVMTAMVPLVYAMILAYGSVKKWIKFSPDQCSGINRFVALFAVPLLSFHFI	60
PsPIN1 (ageotropum)	1	MITLIDFYHVMTAMVPLVYAMILAYGSVKKWIKFSPDQCSGINRFVALFAVPLLSFHFI	60
PsPIN2	1	MITFKDLYIVLTAVVPLVYAMILAYGSVRWIKFSPDQCSGINRFVALFAVPLLSFHFI	60
PsPIN2 (ageotropum)	1	MITFKDLYIVLTAVVPLVYAMILAYGSVRWIKFSPDQCSGINRFVALFAVPLLSFHFI	60
PsPIN3 (ageotropum)	1	MISALDLYHVLTAVVPLVYAMILAYGSVKKWIKFSPDQCSGINRFVALFAVPLLSFHFI	60
PsPIN1	61	SNNPYKMLRFLAADTLQKIMILLFIWNSFSKRGSEWITLFLSLSTLPNTLVMGIPL	120
PsPIN1 (ageotropum)	61	SNNPYKMLRFLAADTLQKIMILLFIWNSFSKRGSEWITLFLSLSTLPNTLVMGIPL	120
PsPIN2	61	SNNPYQMNFRFIAADTLQKIIMLFAISLWTKFTKNGNLEWMITIFSLSTLPNTLVMGIPL	120
PsPIN2 (ageotropum)	61	SNNPYQMNFRFIAADTLQKIIMLFAISLWTKFTKNGNLEWMITIFSLSTLPNTLVMGIPL	120
PsPIN3 (ageotropum)	61	TNNPYAMNYKFIADSLQKILILLFIWNSFSKRGSEWITLFLSLSTLPNTLVMGIPL	120
PsPIN1	121	LKGYGDFSGSLMVQIVVLQCIWYTMMLFMFEFRGARLLISEQFPDAGSIVSIHVSD	180
PsPIN1 (ageotropum)	121	LKGYGDFSGSLMVQIVVLQCIWYTMMLFMFEFRGARLLISEQFPDAGSIVSIHVSD	180
PsPIN2	121	LIAMYGDYSGTLMVQIVVLQCIWYTMMLFMFEFRGARLLISEQFPDAGSIVSIHVSD	180
PsPIN2 (ageotropum)	121	LIAMYGDYSGTLMVQIVVLQCIWYTMMLFMFEFRGARLLISEQFPDAGSIVSIHVSD	180
PsPIN3 (ageotropum)	121	LKGYGDDSGTLMVQIVVLQCIWYTMMLFMFEFRGARLLISEQFPDAGSIVSIHVSD	180
PsPIN1	181	VMSLDGRTPLETDAEIKQDGKLVHTVRKSNASRSDIYSRRSQGLSNTPRPSNLTNAEY	240
PsPIN1 (ageotropum)	181	VMSLDGRTPLETDAEIKQDGKLVHTVRKSNASRSDIYSRRSQGLSNTPRPSNLTNAEY	240
PsPIN2	181	VVSLDGRDFLETDASVGDGKLVHTVRKSNASRSDIYSRRSQGLSNTPRPSNLTNAEY	240
PsPIN2 (ageotropum)	181	VVSLDGRDFLETDASVGDGKLVHTVRKSNASRSDIYSRRSQGLSNTPRPSNLTNAEY	240
PsPIN3 (ageotropum)	181	VMSLDGRDFLETDASVGDGKLVHTVRKSNASRSDIYSRRSQGLSNTPRPSNLTNAEY	240
PsPIN1	241	SLQSSRNPTPRGSSFNHTDFYSMMGGGRNSNFNASDVNNGYLSASRGVTPRPSNYEEDAS	300
PsPIN1 (ageotropum)	241	SLQSSRNPTPRGSSFNHTDFYSMMGGGRNSNFNASDVNNGYLSASRGVTPRPSNYEEDAS	300
PsPIN2	241	SNFNHAEFYSMMGYQPRHSNFTDLYSVQSSRGTPRPSNFEENGATSPRFGFYPAQTV	300
PsPIN2 (ageotropum)	241	SNFNHAEFYSMMGYQPRHSNFTDLYSVQSSRGTPRPSNFEENGATSPRFGFYPAQTV	300
PsPIN3 (ageotropum)	241	EIYSLQSSRNPTPRGSSFNHTDFYSMMGGGRNSNFNASDVNNGYLSASRGVTPRPSNYEEDAS	300
PsPIN1	301	NAKKLLKHYFAPNPGMFSPTNKNLGSNVNKRNSNGQNDQNNQKQDDLHMFVWSSASP	360
PsPIN1 (ageotropum)	301	NAKKLLKHYFAPNPGMFSPTNKNLGSNVNKRNSNGQNDQNNQKQDDLHMFVWSSASP	360
PsPIN2	301	PASYPAPNPEFSSTAKTVKQNLMTQQPQQQVSLQTKGSQDAKELHMFVWSSASPVSES	360
PsPIN2 (ageotropum)	301	PASYPAPNPEFSSTAKTVKQNLMTQQPQQQVSLQTKGSQDAKELHMFVWSSASPVSES	360
PsPIN3 (ageotropum)	301	NGGNGYPTPHSAGIFSPVANKKKGHGGGGDGGKDLHMFVWSSASPVSEGGIHFVFRGAG	360
PsPIN1	361	VSDVFGGHEFGSHDQKEVKLVSPGKVDGHRTEQEDYLEKDEFSGNRCMEREMNNQOHE	420
PsPIN1 (ageotropum)	361	VSDVFGGHEFGSHDQKEVKLVSPGKVDGHRTEQEDYLEKDEFSGNRCMEREMNNQOHE	420
PsPIN2	361	AGLNAFRNSEQSEEGAKIIRMVVADEHNQNGEINNKGELGGEEDFKFIVGKGEQVGEGL	420
PsPIN2 (ageotropum)	361	AGLNAFRNSEQSEEGAKIIRMVVADEHNQNGEINNKGELGGEEDFKFIVGKGEQVGEGL	420
PsPIN3 (ageotropum)	361	EYGNELNVAHQDYEEFGHDEFSGNRTVANGVDKDGVPVLSKLGSSSTTELHPKDGSG	420
PsPIN1	421	GEKIGDGKSKVMPASVMTRLILIMVWRKLRNPNTYSSLIGLVWSLVSFRWNIEMPAIT	480
PsPIN1 (ageotropum)	421	GEKIGDGKSKVMPASVMTRLILIMVWRKLRNPNTYSSLIGLVWSLVSFRWNIEMPAIT	480
PsPIN2	421	NGSNKLSNATPEIHPKATGVADSGVGLMPPASVMTRLILIMVWRKLRNPNTYSSLIG	480
PsPIN2 (ageotropum)	421	NGSNKLSNATPEIHPKATGVADSGVGLMPPASVMTRLILIMVWRKLRNPNTYSSLIG	480
PsPIN3 (ageotropum)	421	VESKPTNMPASVMTRLILIMVWRKLRNPNTYSSLIGLVWSLVSFRWNVMPATVAKSIT	480
PsPIN1	481	AKSISILSDAGLGMAMFSLGLFMALQPKIIACGNSIAAFAMAVRFLTGPAVMAAASFVAG	540
PsPIN1 (ageotropum)	481	AKSISILSDAGLGMAMFSLGLFMALQPKIIACGNSIAAFAMAVRFLTGPAVMAAASFVAG	540
PsPIN2	481	LIWLSLVAFRWVHMPKIVEKSIISLSDAGLGMAMFSLGLFMALQPKIIACGNSVASFAMA	540
PsPIN2 (ageotropum)	481	LIWLSLVAFRWVHMPKIVEKSIISLSDAGLGMAMFSLGLFMALQPKIIACGNSVASFAMA	540
PsPIN3 (ageotropum)	481	AISLSDAGLGMAMFSLGLFMALQPKIIACGNSIAAFAMAVRFLTGPAVMAVSSIVGLRGV	540
PsPIN1	541	LKGMFLHVAIVQAALPQGI VPFVFAKEYNVHPDILSTGVIFGMLIAPITLVYYILMGL	599
PsPIN1 (ageotropum)	541	LKGMFLHVAIVQAALPQGI VPFVFAKEYNVHPDILSTGVIFGMLIAPITLVYYILMGL	599
PsPIN2	541	IRFLTGPAVMAAASIAVGLRGTLLHVAIVQAALPQGI VPFVFAKEYNVHPDILSTAVIFG	600
PsPIN2 (ageotropum)	541	IRFLTGPAVMAAASIAVGLRGTLLHVAIVQAALPQGI VPFVFAKEYNVHPDILSTAVIFG	600
PsPIN3 (ageotropum)	541	LHIAIVQAALPQGI VPFVFAKEYNVHPDILSTGVIFGMLIAPITLVYYILMGL	595
PsPIN1	599		599
PsPIN1 (ageotropum)	599		599
PsPIN2	601	MLIALPITLLYYILLGL	617
PsPIN2 (ageotropum)	601	MSIALPITLLYYILLGL	617
PsPIN3 (ageotropum)	595		595

Fig. 1 Parallel sequence alignment of PsPINs based on their deduced amino acids isolated from etiolated Alaska and an agravitropic pea mutant, *ageotropum*, pea epicotyls.

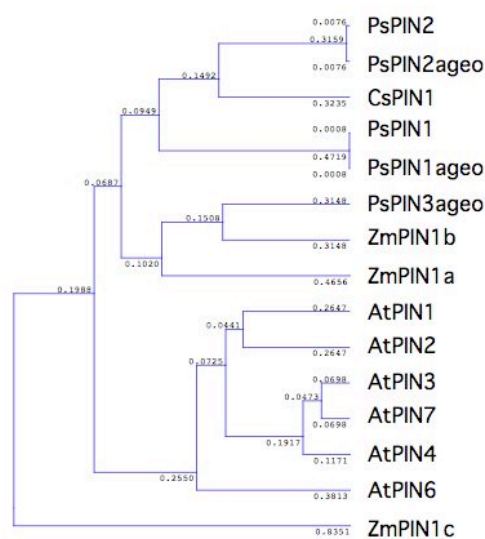


Fig. 2 Phylogenetic relationships based on deduced amino acid sequences of PIN proteins. PsPIN1ageo, PsPIN2ageo and PsPIN3ageo indicated the products of *PsPINs* genes isolated from an agravitropic pea mutant, *ageotropum*.

参考文献

- Bennett, M., Marchant, A., Green, H. G., May, S. T., Ward, S. P., Millner, P. A., Walker, A. R., Schultz, B. and Feldmann, K. A. (1996) *Arabidopsis AUX1* gene: A permease-like regulator of root gravitropism. *Science*, **273**, 948-950.
- Chawla, R. and DeMason, D. A. (2003) PsPIN1, putative auxin efflux protein. Accession no. AY222857, DDBJ/EMBL/GenBank databases.
- Estelle, M. (1998) Polar auxin transport: New support for an old model. *Plant Cell*, **10**, 1775-1778.
- Friml, J. and Palme, K. (2002) Polar auxin transport – old question and new concepts? *Plant Molecular Biology*, **49**, 273-282.
- Gälweiler, L., Guan, C., Müller, A., Wisman, E., Mendgen, K., Yephremov, A. and Palme, K. (1998) Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in *Arabidopsis* vascular tissue. *Science*, **282**, 2226-2230.
- Hitotsubashi, R., Miyamoto, K., Hoshino, T., Tanimoto, E. and Ueda, J. (2003) PsAUX1, putative auxin influx carrier protein. Accession no. AB107919, DDBJ/EMBL/GenBank databases.
- Hoshino, T., Hitotsubashi, R., Miyamoto, K., Tanimoto, E. and Ueda, J. (2003) Putative auxin transport protein, PsPIN2, in etiolated pea (*Pisum sativum* L. cv. Alaska). Accession no. AB112364, DDBJ/EMBL/GenBank databases.
- Hoshino, T., Hitotsubashi, R., Miyamoto, K., Tanimoto, E. and Ueda, J. (2005) Isolation of *PsPIN2* and *PsAUX1* from etiolated pea epicotyls and their expression on a three-dimensional clinostat. *Adv. Space Res.*, **36**, 1284-1291.
- Hoshino, T., Miyamoto, K., Yamashita, M. and Ueda, J. (2006a) Auxin polar transport is essentially required for graviresponse in early growth stage of etiolated pea seedlings. *J. Gravitational Physiol.*, **13**, 113-114.
- Hoshino, T., Miyamoto, K. and Ueda, J. (2006b) Requirement of the gravity-controlled transport of auxin for a negative gravitropic response of epicotyls in the early growth stage of etiolated pea seedlings. *Plant Cell Physiol.*, **47**, 1496-1508.
- Hoshino, T., Miyamoto, K. and Ueda, J. (2007) Gravity-controlled symmetrical transport of auxin regulates a gravitropic response in the early growth stage of etiolated pea (*Pisum sativum*) epicotyls: studies using simulated microgravity conditions on a three-dimensional clinostat and using an agravitropic mutant, *ageotropum*. *J. Plant Res.*, **120**, 619-628.
- Hoshino, T., Miyamoto, K. and Ueda, J. (2008) Plant growth and development, and auxin polar transport in space (III): Effects of auxin polar transport inhibitors on growth and development of etiolated pea epicotyls grown under simulated microgravity conditions on a three-dimensional clinostat. *Space Utiliz. Res.*, **24**, 397-400.
- Marchant, A., Kargul, J., May, S. T., Müller, P., Delbarre, A., Perrot-Rechenmann, C. and Bennett, M. J. (1999) AUX1 regulates root gravitropism in *Arabidopsis* by facilitating auxin uptake within root apical tissues. *EMBO J.*, **18**, 2066-2073.
- Miyamoto, K., Hoshino, T., Yamashita, M. and Ueda, J. (2005) Automorphosis of etiolated pea seedlings in space is simulated by a three-dimensional clinostat and the application of inhibitors of auxin polar transport. *Physiol. Plant.*, **123**, 467-474.
- Muday, G. K. and Murphy, A. S. (2002) An emerging model of auxin transport regulation. *Plant Cell*, **14**, 293-299.
- Müller, A., Guan, C., Tanzler, P., Huijser, P., Marchant, A., Parry, G., Bennett, M., Wisman, E. and Palme, K. (1998) AtPIN2 defines a locus of *Arabidopsis* for root gravitropism control. *EMBO J.*, **17**, 6903-6911.
- Oka, M., Ueda, J., Miyamoto, K., Yamamoto, R., Hoson, T. and Kamisaka, S. (1995) Effect of simulated microgravity on auxin polar transport in inflorescence axis of *Arabidopsis thaliana*. *Biol. Sci. Space*, **9**, 331-336.
- Swarup, R., Friml, J., Marchant, A., Ljung, K., Sandberg, G., Palme, K. and Bennett, M. (2001) Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the *Arabidopsis* root apex. *Genes & Dev.*, **15**, 2648-2653.
- Tada, T., Hoshino, T., Miyamoto, K. and Ueda, J. (2009) *PsPINs* and *PsAUX1* genes encoding putative facilitator proteins of an efflux and an influx of auxin, respectively, from etiolated epicotyls of an agravitropic pea (*Pisum sativum* L.) mutant, *ageotropum*. *Space Utiliz. Res.*, **25**, 17-20.
- Ueda, J., Miyamoto, K., Yuda, T., Hoshino, T., Fujii, S., Mukai, C., Kamigaichi, S., Aizawa, S., Yoshizaki, I., Shimazu, T. and Fukui, K. (1999) Growth and development, and auxin polar transport in higher plants under microgravity conditions in space: BRIC-AUX on STS-95 space experiment. *J. Plant Res.*, **112**, 487-492.