

植物の重力受容の分子機構

辰巳仁史¹, 豊田正嗣^{1,2}, 古市卓也^{1,3}, 曾我部正博^{1,4,5}.

¹名大院・医・細胞生物物理 ²奈良先端大・バイオ ³Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg, Molecular Plant Physiology ⁴細胞力覚/SORST, JST, ⁵生理研・分子生理

The molecular mechanism of the gravi-response in *Arabidopsis* seedlings

Hitoshi Tatsumi ¹, Masatsugu Toyota ^{1,2}, Takuya Furuichi ^{1,3} and, Masahiro Sokabe ^{1,4,5}.

¹Department of Physiology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan; ²Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology; ³Molecular Plant Physiology,

Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Germany;

⁴ICORP/SORST, Cell Mechanosensing Project, Japan Science and Technology Agency, Japan;

⁵Department of Molecular Physiology, National Institute for Physiological Sciences, Japan

Plants respond to a large variety of environmental signals, including changes in the gravity vector (gravistimulation). Previous studies have demonstrated that gravistimulation induces increases in cytoplasmic pH in root columella cells (Massa et al., 2003) and InsP3 level in inflorescence stems (Perera et al., 2001) of *Arabidopsis thaliana*. Recently, gravistimulation is also known to increase the cytoplasmic free calcium concentration ($[Ca^{2+}]_c$) in *Arabidopsis* seedlings (Plieth and Trewavas, 2002). However, organs responsible for the $[Ca^{2+}]_c$ increase and the underlying cellular/molecular mechanisms remain to be solved. Previously using *Arabidopsis* seedlings expressing apoaequorin, a Ca^{2+} -sensitive luminescent protein in combination with an ultrasensitive photon counting camera, we clarified the organs where $[Ca^{2+}]_c$ increases in response to gravistimulation and characterized the physiological and pharmacological properties of the $[Ca^{2+}]_c$ increase (Toyota et al., 2008). When the seedlings were gravistimulated by turning 180°, they showed a transient biphasic $[Ca^{2+}]_c$ increase in their hypocotyls and petioles. The second peak of the $[Ca^{2+}]_c$ increase depended on the angle but not the speed of rotation, whereas the initial peak showed diametrically opposite characters. This suggests that the second $[Ca^{2+}]_c$ increase is specific for changes in the gravity vector. Here, we made a control experiment; the gravi-stimulation in 1g ground condition and the same gravi-stimulation in 1g-flight experiments before making parabolic flight experiments to examine the properties of the second $[Ca^{2+}]_c$ increase. We could record the $[Ca^{2+}]_c$ increase in 1g-flight experiments but the amplitude of the $[Ca^{2+}]_c$ increase was diminished ca. 30% presumably due to the vibration during the flight, but was large enough to analyze.

植物の重力受容はこれまで根の屈地性や芽生えの負の屈地性などを指標として研究が行われてきた。これらの反応は時間的にはゆっくりした反応であって、数日を要して重力に対する受容反応が観察される。2002年に細胞内のカルシウムイオン濃度の変化をエクオリン導

入植物で観察する実験系を用いて重力変化に対する細胞内カルシウムイオン濃度の上昇が観察可能であることをイギリスのグループが報告した(Plieth and Trewavas, 2002)。その反応は数十秒で見られる重力応答であるため、重力受容の初期反応を観察している可能性が高

い。われわれは簡便かつ高精度の重力応答計測装置を開発し、重力反応を調べた(図1)。この装置では光量子計数法による超高感度化が図られているために、植物のどの部位がより敏感に重力に反応するのかも調べることが可能になった(Toyota et al., 2008)。さらに重要なことは、植物の重力反応がリアルタイムで測定でき、また時間分解能が高い(0.5 s)ことで応答速度の速い重力受容に関わるチャンネル分子の探査が可能になったことである。重力受容反応がカルシウムイオンの細胞内への流入による細胞内カルシウムイオン濃度の上昇によると推定されることからわかるように、イオンチャンネルが重力受容において中心的な役割を持つ可能性が高い。図1の装置を用いて、地上1g環境において植物に180度の回転による重力刺激を与えると、細胞内カルシウムイオン濃度の上昇が観察された(図2)。

しかし、この刺激では重力の方向の変化に加えて、回転しつつさまざまな回転角度の重力刺激も同時に植物に与えている。それらの複合した反応を計測していることになる。この問題を解決するために、パラボリックフライトによるマイクロgの条件で植物体を回転し、その後の重力回復時の1.5gの重力刺激を与えることで回転刺激と重力刺激を分けて植物に与えることを計画した(この実験の成果は投稿準備中である)。

この計画を達成するには植物を飛行機に搭載する必要がある。植物の重力受容は常に働いているので、装置の飛行機への搬入や離陸時の振動などすべて植物にとって重力刺激となりうる。事実、植物に重力刺激を複数回数与えると刺激に対するカルシウム反応が小さくなってしまう(Plieth and Trewavas, 2002)。よってこれらの刺激はパラボリックフライト実験に影響すると考えられる。これらの影響を最小限にして、重力刺激反応が地上実験と同様のレベルで計測できるようにする必要がある。このことを検討した基礎研究について報告する。

<装置および測定方法>

飛行時の横方向への振動による影響を低減する為、植物試料及び発光計測装置を入れる測定暗箱は航空機特有の周波数に対応した振動を減衰する耐震ゲル上に搭載した回転刺激装置に設置した。パラボリックフライトによる微小重力実験では一度のフライトにおける試行回数が10回程度と制限される為、3対の発光計測装置を回転刺激装置に設置し、3連の同時計測を可能とした。微小重力環境下での安定

した回転を行うため、回転刺激装置はサーボモータにより制御した。また、試料に対する重力変化は回転体に取り付けたgセンサーにより同時記録出来る様にした。

エクオリン遺伝子を導入したシロイヌナズナサンプル40株は6cmのシャーレの中に隔離した。シロイヌナズナは26度以上の気温を好まないため、空調を用いて機体内の温度を生育に適した23度程度に保持した。測定試料に対する振動の影響を最小限とする為、緩衝用のクッションで固定した後、暗箱の中に入れて航空機内に搬入、設置した。飛行機が水平飛行に移行した後、シャーレを図1の発光計測装置の下に設置した。

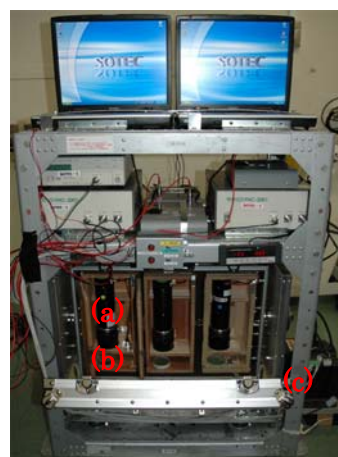


Fig.1 Our experimental setup for gravi-stimulation.

a) a PMT, b) seedlings, c) a motor for rotation.

<航空機内における重力応答>

本研究において開発した計測装置を用いて計測された飛行中の重力応答。飛行中の重力変化による[Ca²⁺]_i応答を地上での計測結果と比較した例を図2に示す。

飛行中の計測では地上での計測と比較して発光強度の変化は30%程度に低くなっていたが、明確に観測され、コントロール実験が達成されたことを示していた。

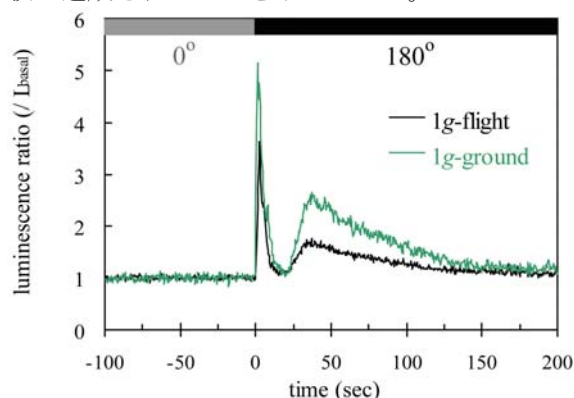


Fig.2 The gravi-response in 1g ground condition and the same gravi-response in 1g-flight condition.