

宇宙微小重力・高紫外線環境ストレスに対する植物の応答解析：FS「Plant UV-B」進捗状況

陳 曦（東北大・院）， 愿山（岡本） 郁（東北大・院）， 鎌田 源司（AES）， 宮下 理輝（東北大・院）， 笠原 春夫（JAMSS）， 嶋津 徹（SLI）， 栗山 可奈（JSF）， 古閑 一美（JAXA）， 山崎 誠和（JAXA）， 松崎 乃里子（JAXA）， 東端 晃（JAXA）， 日出間 純*（東北大・院）

Study on plant responses against the stresses of microgravity and high ultraviolet radiation in space: FS “Plant UV-B”

*Xi Chen, Kaoru Yoshiyama (Okamoto), Motoshi Kamada, Riki Miyashita, Haruo Kasahara, Toru Shimazu, Kana Kuriyama, Kazumi Koga, Tomokazu Yamazaki, Noriko Matsuzaki, Akira Higashibata, Jun Hidema**

*Tohoku Univ., Graduate School of Life Sciences, Sendai, Miyagi 980-8577
E-Mail: jun.hidema.e8@tohoku.ac.jp*

Abstract: Research team of the ‘Plant UV-B’ will analyze the characteristics/states of plants under the microgravity stress, high ultraviolet (UV) radiation, especially UV-B (Wavelength: 280-315 nm) stress, and both of those in the space environment in order to acquire the basic data for plant cultivation at the space environment out of Earth using Arabidopsis as a model plant. This study utilizes originally developed Arabidopsis which is capable for visualizing the mitochondria and chloroplast for aiming at elucidating the disability against these stresses as well as the mechanism how to recover or adapt this disability from the point of molecular, cell and individual levels, and is placed on as pioneer research for constructing the technology of plant cultivation at Moon or Mars.

Key words; Space experiment, plant stresses response, microgravity, ultraviolet-B radiation

1. はじめに

今日、人類は宇宙という環境へと活動の場を広げつつある。人類の宇宙における長期活動には、全ての生物の生命の源ともいえる植物の宇宙環境における安定かつ効率的な光合成機能を発揮できる植物育成技術基盤研究が必要不可欠でかつ急務な課題である。しかし、宇宙は地球とは異なり、微小重力、高太陽光、高紫外線、高放射線といった特殊な環境である。高紫外線環境は、動物のみならず全ての生物に変異誘発、オルガネラ障害、細胞死誘発といった様々な障害の誘発頻度を上昇させる可能性が様々な地上実験の結果から想定されている。また一方で、これらの障害の誘発頻度上昇、さらには修復機構に対して、微小重力環境がどのような影響を及ぼすのか？といった点に関しては未知な面が多い。ことさら植物において、微小重力環境が高紫外線による障害の影響にどのような影響を及ぼすか？に関する分子・細胞・個体レベルでの宇宙実験は皆無である。したがって、我々はまず、「1G 環境に適応・進化してきた現在の陸上植物が、はたして重力のない、または異なる低重力環境(1/6G、1/3G など)で正常に生きることが出来るのか？」、そして「微小重力下での、高紫外線環境が植物の生育にどのような影響を及ぼすのか？」を、宇宙実験を通して明らかにすることが必須であると考え。そこで、これらの問いに対する回答を得るための第一ステップと

して我々は、モデル植物であるシロイヌナズナを使用し、宇宙環境における微小重力ストレス、高紫外線、特にUV-B (波長:280-315nm)ストレス、及びこれら両方の複合ストレス存在下における植物の特性や状態を、国際宇宙ステーション(ISS)きぼう実験施設を利用して解析することを計画している(2018年度 FS 採択課題:Plant UV-B)。本研究は、ミトコンドリア、及び葉緑体を可視化することができる、独自開発のシロイヌナズナを使用し、これら宇宙環境におけるストレスによる障害と修復、及び適応機構について、分子・細胞・個体レベルで明らかにすることを旨とする研究であり、月や火星における植物栽培技術を確立するためのバイオニア的研究として位置づけている。

2. 背景・国内外の関連研究の現状

これまでの植物科学分野における宇宙実験は、主として二つに大別できる。一つ目は、短期栽培による微小重力環境を利用した重力屈性、水分屈性機構に関する基礎研究(PI:高橋秀幸)、また微小重力環境における植物の姿勢制御に関する基礎研究(PI:保尊隆享、西谷和彦、若林和幸、辰巳仁史、曾我康一、上田純一)である。これらの研究では、地上では重力の影響で覆い隠されていた植物の潜在的な機構である“重力と植物ホルモン、オーキシンの役割”に関して、宇宙実験をすることによ

て極めて重要な科学的知見が得られた。二つ目は、長期植物栽培実験による微小重力環境下における植物の生活環に関する研究(Space Seed, PI: 神阪盛一郎)であり、世界に先駆けて、宇宙での1Gと μ Gでの植物の生活環を完結させることに成功した。そして、微小重力環境下では植物の重力屈性が失われ異常な形態形成を示すこと、開花し種子はつけるものの発芽能力を持つ稔性種子の形成率が低下することが報告された。また、他グループによる同様の宇宙実験ではほぼ地上と等しい種子数が得られたが、種子の形質や成熟過程に変異が生じたことなどが報告された⁽¹⁻³⁾。しかしながら、これらの結果、特に種子形成に関しては、この現象が宇宙環境に特有な現象であるか否かに関しては、未だ実証されていない。このように、これまでの植物科学研究領域では、動物を対象にして現在精力的に実施されている“重力ストレス”という観点からの分子、細胞、生理学的解析はなされてない。

一方、Plant UV-B の研究代表者である日出間らは、非電離放射線である太陽有害紫外線(UV-B)による植物の障害、ならびにその修復・耐性機構に関する一連の解析を、分子、細胞、個体レベルで解析を行ってきた。紫外線 UV-B は言うまでもなく、生物に影響を及ぼす環境ストレスの一つである。これまでに、紫外線 UV-B による植物の生育障害は、線量の高低によって異なるが、主には①紫外線による直接的な DNA 損傷(ピリミジン二量体の生成)^(4,5)、および②活性酸素誘発によるオルガネラ障害⁽⁶⁾に起因することを示してきた。そしてこれらの障害に対する修復機構として、DNA 修復酵素(CPD 光回復酵素)、また障害オルガネラ除去に関わるオートファジー機能の重要性を報告してきた⁽⁵⁻⁷⁾。

1 の項に述べた通り、宇宙環境は微小重力環境に加え高紫外線環境であるなど地上とは異なる環境である。そこで我々は、シロイヌナズナ植物を材料に、3D クリノスタットを用いて疑似微小重力が植物の生育に及ぼす影響に関して予備的に解析した結果、疑似 μ G 区で生育下シロイヌナズナは、1G コントロール区で生育した野生型シロイヌナズナ(WT)と比較して、生育障害が引き起こされたことを見出した。これらの結果は、明らかに微小重力環境も植物にとってはストレス環境であることを意味する。さらにその要因を調べるためにオートファジー欠失シロイヌナズナ変異体(*atg5*, *atg7*)を材料に解析を進めた結果、①WT よりも生育レベルで障害を受けること、②断片化ミトコンドリアが蓄積することが見出された⁽⁸⁾。一方、UV-B もミトコンドリア障害を誘導し、UV-B による障害を引き起こす⁽⁷⁾。したがって、微小重力、および高紫外線といった宇宙環境は、植物にとって高ストレス環境であり、宇宙では両ストレスが相加的または相乗効果的に働き、ストレス生育障害を引き起こしていると考えられる。しかしながら、高紫外線と微小重力の複合環境が植物の生育に及ぼす影響という、植物を対象とした紫外線生物学の観点からの研究は国内外を通して実施されていない。

3. ISS きぼうでの Plant UV-B 実験計画

本研究では、実験材料としてシロイヌナズナ野生型

(ecotype Columbia: WT)とオートファジー欠失変異体(*atg5*)に、ミトコンドリアの動態を蛍光顕微鏡で観察できるように、mitochondria-targeted GFPを導入した組換え体を用いる。きぼう実験棟内では、PEU を用いて栽培を行うが、PEU 内に設置する植物培養器は、図1に示すように天井に280 nmのUV-B-LEDを設置し、植物体に均一にUV-Bを照射できるように改造された。そしてPEUはCBEFに移し、 μ Gと人工1G区にて栽培実験を行う。図2には、本装置を用いて地上において10日間栽培した後、 0.7 W/m^2 のUV-Bを1時間照射し、UV-B照射後3日目の植物体の様子を示した。WTと比較して明らかに*atg5*変異体では葉の色が黄色く変化し、*atg5*変異体はWTよりもUV-B感受性を示すことを確認した。



図1. 従来のPEUで使用していた植物培養器にUV-B-LEDを設置したUV-B照射型植物培養器の写真。上段左:UV-B-LED基板を植物培養器の上面に設置。上段右:UVB照射装置の構成。下段左:改造した植物培養器をPEUに設置している様子。下段右:PEUに収納した後の写真。

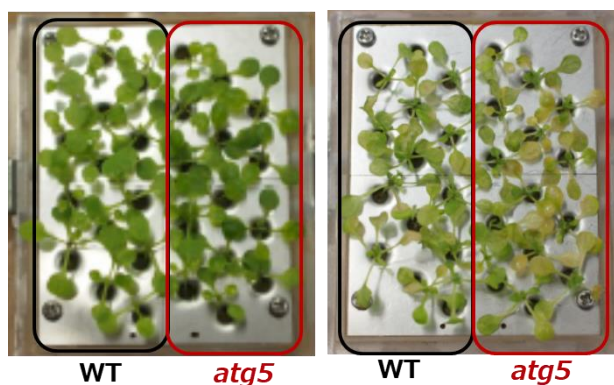


図2. UVB照射装置を装着した植物培養器を用いて、シロイヌナズナの野生型(WT:黒枠内)とオートファジー欠失変異体(*atg5*:赤枠内)を11日間栽培した後の写真(左図)。10日の植物体に、UV-Bを本装置を用いて 0.7 W/m^2 、1時間照射し、3日後の植物体の様子(右図)。

図3には、現在計画している“きぼう”実験棟内での実験計画の概要を示す。本実験では、微小重力環境下で生育するシロイヌナズナに、一過的にUV-Bが照射され

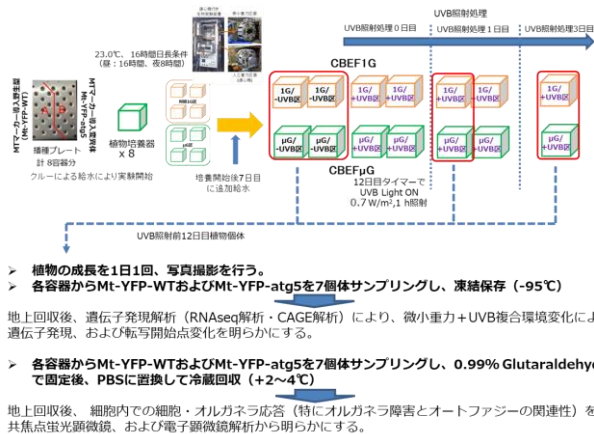


図 3. Plant UV-B 実験計画の概要

実際の UV-B による障害、修復機構に微小重力環境がどのような影響を及ぼすのか？特に UV-B 障害のマーカーともいえるミトコンドリアの動態や遺伝子発現に着目し、解析を行う。具体的には、10 日間きぼう実験棟内の CBEF 内で生育した植物体に、0.7 W/m² の UV-B を 1 時間照射し、照射後 24 時間後、72 時間後に植物体をサンプリングする。サンプリングは、サンプルの地上回収後に、細胞内形態、ミトコンドリア動態を蛍光顕微鏡、および電子顕微鏡にて解析するために化学固定を行う。また、遺伝子発現解析 (RNAseq 解析、CAGE 解析) を行うために、植物体を冷凍保存し、回収する。回収後、上記の解析を実施し、微小重力環境における UV-B 障害とその修復機構に関して考察し、地上において重力に覆い隠されてきた潜在的な機能を見出すだけでなく、宇宙環境ストレスという観点から新たな植物育成基盤技術の指針、課題を示したいと考えている。

3. 今後の予定

現在、ISS きぼうにおける Plant UV-B 実験は、2024 年 8 月にサンプルを打上げし、同年 8 月にきぼう内で実験を実施し、実験サンプルは 10 月に地上に回収され、その後地上での解析をする予定で準備を進めている。

4. 謝辞

本実験を計画し、実施に至るまで、宇宙環境利用委員会メンバー、特に稲富裕光教授 (JAXA/ISAS)、橋本博文准教授 (JAXA/ISAS) には、多くの有益なご意見をいただきましたことに感謝申し上げます。また、研究立案を行うにあたり、様々な予備解析を実施するにあたりフロントローディング研究によるサポートをいただきましたことに、深く感謝申し上げます。

4. 参考文献

1) Mashinsky, A., Ivanova, I., Derendyaeva, T.A., Nechitailo, G. and Salisbury, F. 'From seed-to-seed' experiment with wheat plants under space-flight

conditions. Adv. Space Res. 14: 13-19. (1994).

2) Salisbury, F.B., Bingham, G.E., Campbell, W.F., Carman, J.G., Hole, P., Gillespie, L.S., Sychev, V.N., Berkovitch, Yu., Podolsky, I.G. and Levinskikh, M. Growing super-dwarf wheat on the Russian space station Mir. ASGSB Bulletin 9, 63. (1995).
 3) Musgrave M.E. and Kuang A. Plant reproductive development during spaceflight. Adv. Space Biol. Med. 9: 1-23. (2003).
 4) Hidema J, Kumagai T, and Sutherland BM. UV-sensitive Norin 1 rice contains defective cyclobutane pyrimidine dimer photolyase. Plant Cell 12: 1569-1578. (2000).
 5) Hidema J, Taguchi T, Ono T, Teranishi M, Yamamoto T, and Kumagai T. Increase in CPD photolyase activity functions effectively for preventing ultraviolet-B-caused growth inhibition in rice plant. Plant J. 50: 70-79. (2007).
 6) Izumi M, Ishida H, Nakamura S and Hidema J. Entire photodamaged chloroplasts are transported to the central vacuole by autophagy. Plant Cell, 29: 377-394. (2017).
 7) Gonul D, Teranishi M & Hidema J. Autophagy-deficient Arabidopsis mutant atg5, which shows ultraviolet-B sensitivity, cannot remove ultraviolet-B-induced fragmented mitochondria. Photochemical & Photobiological Sciences, 19:1717-1729. (2020).
 8) Furukawa S. et al. Space Radiation Biology for "Living in Space" BioMed Research International 8:4703286. (2020).