

転写因子 AP2 はヒメツリガネゴケの重力変化に対する光合成・成長応答に関与する

半場祐子 (京都工繊大), 竹村香里 (京都工繊大), 北島佐紀人 (京都工繊大), 山下祐輝 (北大・院), 横井真希 (北大・院), 篠澤章久 (東農大), 前田彩友子 (京都工繊大), 安井祐太郎 (京都工繊大), 坂田洋一 (東農大), 蒲池浩之 (富山大), 小野田雄介 (京大), 唐原一郎 (富山大), 久米篤 (九大), 笠原春夫 (JAMSS), 鎌田源司 (AES), 嶋津徹 (JSF), 鈴木智美 (JAXA), 矢野幸子 (JAXA), 藤田知道 (北大)

Photosynthetic and growth responses of the gametophore of *Physcomitrium patens* to changes in gravity

Yuko T. Hanba¹, Kaori Takemura¹, Sakihito Kitajima¹, Yuki Yamashita², Maki Yoko², Akihisa Shinozawa³, Ayuko Maeda¹, Yutarou Yasui¹, Yoichi Sakata³, Hiroyuki Kamachi⁴, Yusuke Onoda⁵, Ichirou Karahara⁴, Atsushi Kume⁶, Haruo Kasahara⁷, Motoshi Kamada⁸, Toru Shimazu⁹, Tomomi Suzuki¹⁰, Sachiko Yano¹⁰, Tomomichi Fujita²

¹Kyoto Institute of Technology, Sakyo-ku, Kyoto, 606-8585 Japan

²Hokkaido University, ³Tokyo University of Agriculture, ⁴University of Toyama, ⁵Kyoto University, ⁶Kyushu University, ⁷Japan Manned Space Systems Corporation, ⁸Advanced Engineering Services, ⁹Japan Space Forum, ¹⁰Japan Aerospace Exploration Agency

E-Mail: hanba@kit.ac.jp

Abstract: In the moss plant *Physcomitrium patens*, hypergravity promoted photosynthetic rates by expanding chloroplast size and increasing the number of plants. RNA-seq analysis and AP2/ERF overexpression experiment indicated the involvement of the transcription factor AP2/ERF in these changes. Cultivation experiments on the International Space Station in 2019 suggest that microgravity generally has the opposite effect of hypergravity and that AP2/ERF is also involved in this response.

Key words: AP2/ERF, hypergravity, microgravity, moss, photosynthesis, *Physcomitrium patens*

Key words: *Physcomitrium patens*, hypergravity, microgravity, photosynthesis, chloroplast, AP2

1. はじめに

光合成は、植物の成長を決める最も重要な要因の1つである。光合成は気温、二酸化炭素濃度、光強度など多くの環境因子によって制御されていることが分かっている。「重力環境」は地球上では1 G でほぼ一定であることから、これまで光合成の制御因子として考えられたことはなかった。しかし宇宙環境は、地球上とは異なる重力環境である。宇宙環境で植物がどのように成長するのかを明らかにするためには、光合成の重力応答の実態を解明することが求められる。

我々は、モデル植物であるヒメツリガネゴケを材料として、光合成の過重力応答を調査してきた。当初我々は、コケ植物における光合成の過重力応答の鍵となるのは、植物体内へのCO₂拡散に関与する形態的な因子、特に細胞壁の厚さの変化であると予想した。その理由としては、(1)細胞壁の厚さは、コケ植物・シダ植物・維管束植物のCO₂拡散を制限する最も重要な形態的因子の1つであること (Carriqui et al., 2019; Tosens et al., 2016; Waite & Sack, 2010), (2)過重力で維管束植物を栽培すると、細胞壁のリグニン蓄積量が増加し、厚さも増大する (Nakabayashi et al., 2006; Wakabayashi et al., 2009) ことが挙げられた。ヒメツリガネゴケにはリグニン様のポリフ

ェノール化合物が存在するため (Espíñeira et al., 2011)、過重力環境下では維管束植物と同様にコケ植物の細胞壁は厚くなり、CO₂拡散が妨げられ、光合成速度は抑制されると予想した。

しかし、予想に反して、10 G の重力環境下ではヒメツリガネゴケの葉の細胞壁の厚さは増大せず、さらに光合成速度の増加や茎葉体の増加が観察された (Takemura, Kamachi, et al., 2017; Takemura, Watanabe, et al., 2017)。このような結果をもたらすメカニズムを明らかにするため、過重力条件を3段階設け、光合成やそれに関係する形質の詳細な解析を行った結果を、国際宇宙ステーションISSでの実験結果と併せて報告する。

2. 過重力 6 G, 10 G で光合成と成長が増加する

光を連続照射できる過重力遠心栽培装置 (MK-3, Fig. 1) を使用して、1, 3, 6, 10 G の重力環境下でヒメツリガネゴケを8週間栽培し、栽培終了後、栽培容器あたりのCO₂拡散コンダクタンスおよび光合成解析を行った。さらに茎葉体について光学顕微鏡を用いた形態観察を行った。



Fig. 1 Centrifuge MK3 generating hypergravity ~10G

測定したいずれの形質についても、3Gでは、1Gと比べて有意な変化は認められなかった。一方、6G、10G環境では、CO₂拡散コンダクタンスが増加し、光合成速度も増加していた。重力環境は細胞壁の厚さには影響を与えなかった。

6G、10Gという過重力によるCO₂拡散コンダクタンス増大と形質変化との関係を解析した。その結果、葉緑体サイズの増大と茎葉体数の増加が2つの主要因子であることが明らかになった。

3. 10G環境では転写因子 AP2/ERF が過剰発現する

10Gで栽培したヒメツリガネゴケの茎葉体についてRNA-seqを行った。10G環境で発現量が有意に変化したのは95の遺伝子であり、一般的な植物のストレス応答時に発現量変化が見られる遺伝子数と比べると、はるかに少なかった。発現量が増加したのは79遺伝子であり、このうち8つの遺伝子が、同じAP2/ERF転写因子ファミリーをコードしていた。もしAP2/ERF転写因子の発現量増加によって過重力応答が引き起こされているのであれば、AP2/ERF転写因子を過剰発現した植物では、過重力応答が再現できる可能性がある。

4. 転写因子 AP2/ERF の過剰発現体では過重力応答が再現される

AP2/ERF転写因子のうちの一つ Pp3c_32440 についてヒメツリガネゴケで過剰発現システムを4系統作出し、過重力応答で調査した形質について測定を行った。その結果、過剰発現システムでは、光合成速度の増加、CO₂拡散コンダクタンスの増加がみられ、これは10G環境で得られた結果と一致した。さらに、4つの過剰発現システムでは葉緑体サイズの増加と茎葉体数の増加がみられ、これも10G環境で得られた結果と一致した。その他、茎葉体の茎の直径や長さなどの形質についても、4つの過剰発現システムで得られた結果は10G環境で得られた結果とほぼ一致した。

5. 考察と今後の展望

過重力応答で発現量が増加した転写因子 AP2/ERF の過剰発現体で10G環境と同様の形質変化が得られた。このことから、ヒメツリガネゴケにおいては、AP2/ERFが重

力応答に関与していることが明らかになった。また、「重力」が、光合成に関わる新たな環境因子であることも判明した。

現在、国際宇宙ステーション ISS のきぼう実験棟で1ヶ月間栽培したヒメツリガネゴケについて解析を行なっている。微小重力環境では光合成速度の減少や葉緑体サイズの減少がみられた。これらは過重力応答とは逆の結果であることから、重力が光合成に関わる重要な環境因子であることが再確認できそうである。また、地上実験とは異なるサブグループではあるが、AP2/ERFの発現量減少も観察された。ただし、茎葉体数については、微小重力では減少することが予想されたが、そのような結果は得られなかった。きぼう実験棟内のきわめて高いCO₂濃度が影響した可能性も考えられる。

今後は、微小重力実験で得られたサンプル解析をさらに進め、AP2/ERF転写因子がヒメツリガネゴケの光合成や成長に影響を与えるメカニズムを明らかにする予定である。

謝辞

Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA)の「きぼう」利用フィジビリティスタディの支援を受け「宇宙におけるコケ植物の環境応答と宇宙利用(スペース・モス)」として実施した。

参考文献

- Carriqui, M., Roig-Oliver, M., Brodribb, T. J., Coopman, R., Gill, W., Mark, K., Niinemets, Ü., Perera-Castro, A. v., Ribas-Carbó, M., Sack, L., Tosens, T., Waite, M., & Flexas, J. (2019). Anatomical constraints to nonstomatal diffusion conductance and photosynthesis in lycophytes and bryophytes. *New Phytologist*, 222(3), 1256–1270. <https://doi.org/10.1111/nph.15675>
- Espiñeira, J. M., Novo Uzal, E., Gómez Ros, L. v., Carrión, J. S., Merino, F., Ros Barceló, A., & Pomar, F. (2011). Distribution of lignin monomers and the evolution of lignification among lower plants. *Plant Biology*, 13(1), 59–68. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2010.00345.x>
- Nakabayashi, I., Karahara, I., Tamaoki, D., Masuda, K., Wakasugi, T., Yamada, K., Soga, K., Hoson, T., & Kamisaka, S. (2006). Hypergravity stimulus enhances primary xylem development and decreases mechanical properties of secondary cell walls in inflorescence stems of *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany*, 97(6), 1083–1090. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl055>
- Takemura, K., Kamachi, H., Kume, A., Fujita, T., Karahara, I., & Hanba, Y. T. (2017). Hypergravity environment increases chloroplast sizes, photosynthesis and plant growth of the moss *Physcomitrella patens*. *Journal of Plant Research*, 130(1), 181–192.
- Takemura, K., Watanabe, R., Kameishi, R., Sakaguchi, N., Kamachi, H., Kume, A., Karahara, I., Hanba, Y. T., & Fujita, T. (2017). Hypergravity of 10g Changes Plant Growth, Anatomy, Chloroplast Size, and Photosynthesis

in the Moss *Physcomitrella patens*. *Microgravity Science and Technology*, 29(6), 467–473.
<https://doi.org/10.1007/s12217-017-9565-6>

Tosens, T., Nishida, K., Gago, J., Coopman, R. E., Cabrera, M., Carriquí, M., Laanisto, L., Morales, L., Nadal, M., Rojas, R., Talts, E., Tomas, M., Hanba, Y., Niinemets, Ü., & Flexas, J. (2016). The photosynthetic capacity in 35 ferns and fern allies: mesophyll CO₂ diffusion as a key trait. *New Phytologist*, 209, 1576–1590.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/nph.13719>

Waite, M., & Sack, L. (2010). How does moss photosynthesis relate to leaf and canopy structure? Trait relationships for 10 Hawaiian species of contrasting light habitats. *New Phytologist*, 185(1), 156–172.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03061.x>

Wakabayashi, K., Nakano, S., Soga, K., & Hoson, T. (2009). Cell wall-bound peroxidase activity and lignin formation in azuki bean epicotyls grown under hypergravity conditions. *Journal of Plant Physiology*, 166(9), 947–954.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.12.006>