

平成19年4月13日

平成18年度「植物の抗重力反応解明WG」活動報告書

大阪市大・院・理 保尊隆享

1. 構成メンバ

氏 名	所属
保尊隆享	大阪市大・院・理
神 阪 盛 一 郎	富山大・理
高橋秀幸	東北大・院・生命
山下雅道	宇宙航空研究開発機構
北宅善昭	東京学芸大・教育
飯田秀利	東京学芸大・教育
村中俊哉	理研・植物科学研究セン ター
橋本 隆	奈良先端大・院・バイオ サイエンス
園部誠司	兵庫県大・院・生命理学
谷本英一	名古屋市大・院・自然科 学
西谷和彦	東北大・院・生命
井上雅裕	愛媛大・理
唐原一郎	富山大・理
小竹敬久	埼玉大・理
若林和幸	大阪市大・院・理
曾我康一	大阪市大・院・理

2. 本年度 WG 会合開催実績

(1) 第1回：平成18年12月5日

3. 活動目的

植物には2つの主要な重力反応がある。一つは重力形態形成であり、植物はこの反応により重力シグナルを方向の基準とし

て用いて自らの形態を築いている。もう一つは、重力の力に抵抗して体を構築し生命活動を営む反応であり、「抗重力」と呼ばれる。抗重力反応のためのシステムは、植物が陸に上がって1gの重力に直接曝されるようになった数億年前から飛躍的に発達し、植物のその後の陸上での多彩な進化、繁栄を支えてきた。しかし、今までの重力植物学や宇宙植物学の研究の大半は、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、抗重力反応のしくみの理解は大きく立ち後れていた。そこで、宇宙環境利用科学委員会の呼びかけに答えて、13名のメンバーから構成される研究班WG「植物の抗重力反応解明」を設立し、宇宙の微小重力環境を有効に利用して植物の抗重力反応を解明するための研究戦略の策定をめざして、活動を行っている。本年度は、新たに3名のメンバーを迎え、ISS/JEMの第2期運用や月面基地及び火星基地の構想をも念頭に置いて、昨年度までの成果をさらに詳細化、具体化するとともに、様々な階層レベルの植物試料を用いた地上実験を実施した。

4. 活動内容

(1) 抗重力反応の実態の解明

代表者らが今までに行った地上実験並びに宇宙実験の結果、植物は重力の大きさに応じて細胞壁の物性を変化させ、重力環境に適した体の強度を獲得することが明らかになった。これが抗重力反応の最終的な応答の実態だと考えられる。同時に、抗重力反応の大きさが重力の大きさのlogに比例すること、抗重力反応における物性などの変化は可逆的であって、重力刺激の除去によって速やかに元に戻ることに、さらに抗重力反応は光等の他のシグナルに対する応答と重複していること、などのいくつかの特性が明らかになってきた（保尊2005, Hoson & Soga 2003, Hoson et al. 2005）。しかし、これらの結果は、数種類

の植物種の芽ばえを用いた限られた実験系で得られたものであり、その普遍性については十分に検証しなければならない。また、抗重力反応における応答には階層性があると予想されるので、各階層における応答の実態を明らかにすることが重要である。そこで、芽ばえばかりでなく、成熟植物体、カルス、並びに遊離培養細胞における抗重力反応の実態の解析を開始した。

成熟植物体は芽ばえ以上に分化の程度が高く、その細胞壁は一次壁ばかりでなく二次壁からも構成される。また、芽ばえは基本的に従属栄養であるのに対して、植物の最大の特徴である独立栄養を示すので、抗重力反応における浸透調節の意義を調べるのに重要である。一方、カルス及び遊離培養細胞は芽ばえと比べて分化の程度が低く、重力屈性も示さない。したがって、細胞レベルで抗重力反応を解析し、その階層性を解明するために必要である。

これら各々の試料に 100~300 g の過重力刺激を与えた実験系を確立し、成長や形態に対する影響を調べたところ、芽ばえの場合と類似した成長抑制が認められた。また、カルスや培養細胞では、細胞形態や内部構造の様々な変化が観察された。今後、これらの試料における細胞壁代謝や細胞微細構造の変化を解析することにより、階層性を含む抗重力反応の実態を解明することが可能になると期待される。

(2) 抗重力反応機構の解明

植物の抗重力反応は、生物の一般的な環境応答と同様に、シグナルの受容、受容したシグナルの変換・伝達、そしてシグナルに対する応答、の各過程から構成される。反応全体のアウトラインについては、代表者らの地上実験及び宇宙実験を通して明らかになってきた (保尊 2005, Hoson & Soga 2003, Hoson et al. 2005)。しかし、それらの詳細については不明な点が多く残されている。本年度も各過程のしくみについてさらに詳しく検討した。抗重力反応機構を解明するためには、様々な重力環境下で各パラメータがどのように変化するかを、形態学、生理学、生化学、分子生物学などの様々な手法を用いて解析するとともに、これらの変化が抗重力反応にどう関

わるか、阻害剤や突然変異体を用いて解析する必要がある。そこで、このようなアプローチを採用した。

抗重力反応における重力シグナルの受容機構に関しては、阻害剤を用いた解析により、原形質膜上に存在するメカノレセプター (機械的刺激受容イオンチャンネル) によってシグナルが受容されることが示唆された (Soga et al. 2004, 2005)。そのような受容体の候補タンパク質 1 種 MCA が植物で同定され、現在その遺伝子の発現を改変した変異系統を用いて機能が解析されている。また、抗重力反応には、メカノレセプター以外に、プロトンポンプ、ステロールラフト、並びにセルロース合成酵素複合体などの原形質膜成分が関わることを示された。ステロールラフトの機能に関しては、その合成を律速するヒドロキシメチルグルタリル-CoA レダクターゼ (HMGR) の遺伝子破壊系統が、1 g の重力にも耐えられなくなって成長抑制や肥大促進を示すことから、抗重力反応における役割が確認された。このように、原形質膜は、抗重力反応におけるシグナル受容、変換・伝達、及び応答の全てのステップに関わる重要な細胞構造物であるといえる。

細胞骨格は様々な環境応答において大きな役割を担っている。植物の抗重力反応では、特に微小管が重要であることがわかってきた。芽ばえを過重力環境下で生育させると、チューブリン遺伝子の発現が促進されるとともに、表層微小管の配向が細胞長軸と直角から平行に変化する。そのような芽ばえを微小管破壊剤で処理すると、抗重力反応の一部である成長方向の横向きへの変化が起こらなくなる。また、チューブリンの構造に変異を生じたシロイヌナズナ突然変異体は 1 g 環境下でも細胞列のねじれを生じ、伸長成長の抑制や肥大成長の促進が見られる。結果として、過重力環境下でも成長や形態にそれ以上の変化が認められなくなる。以上の結果は、微小管が植物が重力刺激に抵抗して成長や形態を維持する上で重要な働きを示している。

抗重力反応における最終的な応答過程を司るのは植物体の成分の中で最も力学的強度に優れた細胞壁である。中でも、キ

シログルカン及び 1,3,1,4-β-グルカンの2種の抗重力細胞壁多糖が重要な役割を果たしている。過重力環境下では、これらの多糖のレベルや分子サイズが増加するが、このような変化は、細胞壁中の加水分解酵素活性の低下と細胞壁 pH の上昇によってもたらされる代謝回転の阻害に起因することが明らかになっている。しかし、抗重力多糖の合成過程に対する重力の影響は十分に検証されていない。本WGではその点に着目した解析を進めている。また、抗重力反応は、成長中の細胞ばかりでなく、成長を停止した基部の細胞でも見られるので、細胞壁代謝の変化を両部域で比較検討している。さらに、細胞壁物性ととともに植物体の力学的強度を支える浸透圧の調節機構に対する重力の作用についても、今後の研究で明らかにする予定である。

(3) 宇宙実験の課題の検討

植物の抗重力反応のメカニズムを解明するためには、植物体を重力の大きさが異なる環境下で生育させ、誘導される変化を解析する必要がある。今までの地上実験では、1g を対照とし、植物芽ばえを遠心過重力に曝して重力刺激を付加する実験系を利用してきた。しかし、過重力環境は植物にとってあくまで人工的な重力環境である。また、海中で誕生・進化した生命にとって微小重力がそもそもの母環境である。したがって、宇宙の微小重力を対照とし、そこに 1g の重力刺激を与えた時に本研究と同様の結果が得られて、初めて抗重力のメカニズムが解明されたと言える。このような宇宙実験、特に ISS/JEM の運用第2期においては、軌道上 1g 対照はもちろんのこと、0~1g の範囲で重力の大きさを精密に設定できる植物育成装置を新たに開発することが必要である。また、現在計画中の宇宙実験の多くではモデル植物であるシロイヌナズナを試料として用いているが、抗重力反応の生理学的、生化学的解析には、モデル植物以外の種の方が有効な場合がほとんどであるので、植物育成装置は他の植物試料の使用に耐え得る十分な大きさを持つことが重要である。さらに階層性の理解のために、芽ばえばかりでなく成熟植物体や遊離培養細胞の利用に

耐える余裕と機能も必要になる。

従来の宇宙実験では、軌道から地上に回収した試料を用いた解析に主眼が置かれていた。試料を適切な状態で回収することは今までもたいへん難しい課題であり、その善し悪しが結果的に実験全体の成否を左右することが多かったが、現在の限られたスペースシャトル飛行の現状を考えると、適切な試料回収は今後ますます困難になることが予想される。したがって、できるだけ軌道上でのオンサイト解析により試料の分析を済ませることが重要になる。現在の ISS/JEM に搭載、あるいは搭載予定の装置ではこの目的を十分に果たせないので、軌道上操作に適した新規の解析装置を開発する必要がある。同時に、解析に適切なプローブの開発や操作の自動化の検討も求められる。一方、様々な遺伝子を改変した突然変異体は、比較的簡単な手段で微小重力の影響を検証できるので、オンサイト解析に適した試料であるといえる。優れた装置と植物試料の組み合わせによって、抗重力反応解明のための効率的な宇宙実験を実施することが求められる。

5. 成果

- 1) Hoson, T., The mechanism and significance of gravity resistance in plants, *J. Gravit. Physiol.*, **13**, 97-100 (2006).
- 2) Soga, K. et al., Hypergravity induces reorientation of cortical microtubules and modifies growth anisotropy in azuki bean epicotyls, *Planta*, **224**, 1485-1494 (2006).
- 3) Nakabayashi, I. et al., Hypergravity stimulus enhances primary xylem development and decreases mechanical properties of secondary cell walls in inflorescence stems of *Arabidopsis thaliana*, *Ann. Bot.*, **97**, 1083-1090 (2006).
- 4) 保尊隆享ら, 植物の抗重力反応解明, 第23回宇宙利用シンポジウム, p. 375-378 (2007).
- 5) 保尊隆享, 植物の抗重力反応, 宇宙環境利用の展望, JAROS, p. 59-77 (2007).

Understanding the Mechanism of Gravity Resistance in Plants

PI: Takayuki Hoson (Osaka City Univ.)

Purpose

Resistance to the gravitational force is a principal graviresponse in plants, comparable to gravitropism. However, only limited information has been obtained for this graviresponse. To clarify the nature and mechanisms of gravity resistance, we have organized a working group, consisting 16 members. The specific aim of activity of this working group is to establish a strategy for space experiments via active communication and discussion among members and by ground-based experiments.

Activity in the current year

We held a meeting with three other working groups in plant science on December 5, 2006, and discussed the possible approaches for the purpose, which was further followed by e-mail communication among members. We also carried out ground-based experiments using hypergravity conditions produced by centrifugation, to study the details of gravity resistance response.

Results

1. Characteristics of gravity resistance:

Not only stem organs, but also calli and cultured cells showed a response to hypergravity (Fig. 1), suggesting that gravity resistance response occurs at the cellular level.

2. Mechanism of gravity resistance:

The analysis with mutants showed that both membrane sterols and microtubules played an important role in gravity resistance (Fig. 2).

3. Strategy for space experiments:

It turned out that we should establish the procedure of on-site analyses on orbit with new instruments and suitable plant materials such as mutants.



Fig. 1 Effects of hypergravity on callus growth.

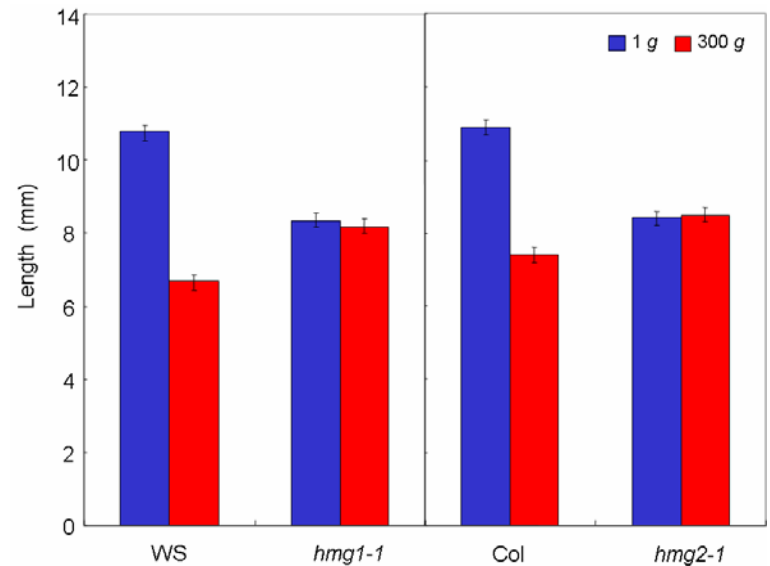


Fig. 2 Effects of hypergravity on growth of *hmg* mutants.