

平成19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	大阪府大・院・生命環境
飯田秀利	東京学芸大・教育
村中俊哉	横浜市大・木原生研
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19年12月4日

「高等植物の生活環境」WG、「フロンティア生物の戦略」WG、及び「宇宙環境に対する植物反応解明のための実験系構築」WGと共同開催。

3. 活動目的

植物には2つの主要な重力反応がある。一つは重力屈性に代表される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、「抗重力反応」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、重力形態形成、特に重力屈性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、16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」を発足させ、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、今までの活動成果に基づいて「きぼう」第2期実験公募に応募するとともに、抗重力反応の実態やメカニズムの全体像を明らかにするための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

本WG代表者らは、今まで、水浸法と遠心過重力環境を利用した地上実験並びにスペースシャトル内での宇宙実験を行い、抗重力反応のしくみと特性を解析してきた。その結果、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過程である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重力刺激の除去に

よって速やかに元に戻ること、さらに抗重力反応は光など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 2007)。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する必要がある。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、芽ばえと比べて分化の程度が低いカルス及び遊離培養細胞を過重力処理し、成長、細胞形態、細胞壁動態、並びに表層微小管の構造変化を解析した。

トマト及びソラマメカルス、そしてタバコ BY-2 細胞の成長は、芽ばえの場合と同様に、100 ~ 300 g の過重力処理により抑制された。この時、細胞形態にも様々な変化が生じた。BY-2 細胞においては、1 g 下では細胞長軸と直角であった表層微小管の配向が、過重力処理により 1 時間以内にランダムな方向へと変化した。この結果も、芽ばえで観察された変化と同様であった。その後、細胞長軸と直角に配向した表層微小管の割合が徐々に増加し、過重力処理 6 時間後にはほぼ処理前の配向に戻った。すなわち、表層微小管の配向に対する過重力の効果は一過的であることがわかった。

一方、過重力処理によってトマト及びソラマメカルスの成長が抑制される際には、細胞壁多糖の合成の停止が認められた。その後、数時間経って成長が回復するとともに細胞壁多糖の合成も回復した。

以上の結果から、抗重力反応は、基本的に個々の細胞レベルで起こることが明らかになった。さらに、カルスでも BY-2 細胞でも、成長や表層微小管あるいは細胞壁ダイナミクスに対する過重力の抑制作用が、数時間後には回復したことから、植物細胞は重力刺激に対する高い適応能力を持つことが明らかになった。

(2) 抗重力反応機構の解明

代表者らは、地上実験並びに宇宙実験を行って、抗重力反応機構を解析してきた。その結果、抗重力反応におけるシグナル受容、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、の各過程のアウトラインが明らかになってきた(保尊 2007)。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。そこで、本年度は、特に表層微小管と細胞壁の役割を中心に詳しく解析した。

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。シロイヌナズナ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(Matsumoto et al. 2007)。同時に表層微小管の配向が細胞長軸と直角から平行に変化した(Soga et al. 2006)。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った。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た。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った(Matsumoto et al. 2007)。以上の結果は、表層微小管が植物の抗重力反応において重要な働きを示している。

植物細胞には微小管重合中心である中心体がなく、環境シグナルやホルモンによる表層微小管の配向変化のしくみはわかっていない。これに関して、既存の微小管からの枝分かれによって新たな微小管が形成されるというモデルが提唱された(Murata et al. 2005)。その際、枝分かれのきっかけになるのは、微小管への γ -チューブリンリングの結合であり、枝分かれによって新たにある角度で形成された微小管は、微小管切断タンパク質カタニンの作用によって既存の微小管から分離されると考えられる。そこで、 γ -チューブリンとカタニン遺伝子の発現に対する過重力の影響を検討した。 γ -チューブリン遺伝子の発現は、過重力処理後 15 分以内に増加し始め、30 分後にピークに達した後、速やかに元のレベルに戻った。一方、カタニン遺伝子の発現は、過重力処理後 1 時間後にピークに達し、その後減少して元のレベルに戻った。このような、過重力環境下における γ -チューブリンとカタニン遺伝子の一過的な発現促進のパターンは、上記のモデ

ルとよく合致しており、植物細胞に対する重力の作用点の1つが明らかになった。

抗重力反応における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。過重力環境下における細胞壁代謝の変化については、今まで莖器官の成長部域を対象として研究されてきた。しかし、植物体の支持部位である基部を含めた莖全体での抗重力反応のしくみは明らかになっていない。そこで、アズキ芽ばえを過重力環境下で生育させ、上胚軸の上部(成長部域)から基部(成熟部域)にかけての全部域における成長と細胞壁の変化を詳細に解析した。

過重力環境下では、上胚軸上部の伸長成長が抑制されるのに対して、太さが増加した。このような太さの増加は、伸長成長が起こらない基部においても見られ、植物は莖全域で肥大成長を促して重力に対抗することがわかった。次に、各部域の細胞壁多糖量を測定したところ、抗重力多糖として働くことがわかっているマトリックス多糖の単位長さ当たりの量は、過重力処理により上胚軸上部でのみ増加したのに対して、セルロース量は全ての部域において増加した。また、セルロース合成阻害剤である DCB で処理した芽ばえでは、全部域で過重力による肥大成長が抑制された。さらに、重力がエチレンの生成を介してセルロース量を増加させる可能性について検討するため、エチレン前駆体である ACC で処理した芽ばえ各部域のセルロース量を解析したところ、ACC によるセルロース量の増加パターンは、過重力処理における増加パターンとは異なることが明らかになった。以上の結果から、植物体の支持部位である基部を含めた莖全体の抗重力反応では、セルロース量の増加が重要な役割を担っていることが明らかになった。また、重力によるセルロース量の調節にエチレンは関与していないことが示された。

(3) 宇宙実験の提案と展望

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、本研究の本来の目標は、地球上の1gの重力に対する抗重力反応の機構を解明することであり、そのためには宇宙実験が必要不可欠である。2007年9月に行われた「きぼう」第2期利用実験公募では、本WGでの議論の成果の一部を取り入れて、抗重力反応の基本的な機構を解析するための宇宙実験「植物の抗重力反応機構 - シグナル変換・伝達から応答まで」を提案した。その結果、候補テーマの1つとして採択された。「きぼう」第2期運用では、十分な量の試料を適切な状態で地上に回収することが困難だと予想される。そこで、この宇宙実験では、様々な突然変異体及び GFP 発現系統を用いたオンサイト解析に主眼を置いている。今後は、この提案の実現に必要な準備を遂行して行く。同時に、この実験でカバーできるのは抗重力反応機構の一部に過ぎないので、今後も本WG活動を継続して、植物の抗重力反応機構の全容の解明をめざしたい。

5. 成果

- 1) Hoson, T. et al.: The outline and significance of the Resist Wall Experiment: Role of microtubule-membrane-cell wall continuum in gravity resistance in plants. *Biol. Sci. Space*, **21**, 56-61 (2007).
- 2) Soga, K. et al.: Effects of hypergravity on expression of XTH genes in azuki bean epicotyls. *Physiol. Plant.*, **131**, 332-340 (2007).
- 3) Soga, K. et al.: Modifications of xyloglucan metabolism in azuki bean epicotyls under hypergravity conditions. *Adv. Space Res.*, **39**, 1204-1209 (2007).
- 4) Koizumi, T. et al.: Changes in membrane lipid composition in azuki bean epicotyls under hypergravity conditions: Possible role of membrane sterols in gravity resistance. *Adv. Space Res.*, **39**, 1198-1203 (2007).
- 5) Matsumoto, S. et al.: Up-regulation of expression of tubulin genes and roles of microtubules in hypergravity-induced growth modification in *Arabidopsis* hypocotyls. *Adv. Space Res.*, **39**, 1176-1181 (2007).

