

宇宙環境を利用した植物研究の紹介

高橋秀幸

宇宙実験 PEG-T —ウリ科植物の重力形態形成—

ウリ科植物の芽生えは発芽直後に、横に傾いた根と胚軸の境界域の下側にペグと呼ばれる突起を形成して、芽生えが種皮から抜け出すのを助けます (図 1)。スペースシャトルによる宇宙実験 PEG-T によって、微小重力下では、ペグは境界域の両側に形成されますが、地球上では重力を感知することによって上側のペグ形成が抑制され、下側に 1 個のペグが形成されることがわかりました (図 2, 3)。これは、境界域の上側でオーキシンレベルが低下することに起因します (図 3)。このオーキシンの不均等分布に重力感受細胞の内皮に局在するオーキシン輸送体 (排出担体) の CsPIN1 が関与する可能性が示され、それを検証する宇宙実験 CsPINs が国際宇宙ステーションで実施されました (図 4)。その結果、CsPIN1 は重力応答性を示し、内皮の原形質膜下側に局在することによって、オーキシンを上側から下側に輸送し、それが境界域の上側でオーキシン量を減少させる一因であると考えられました (図 5)。

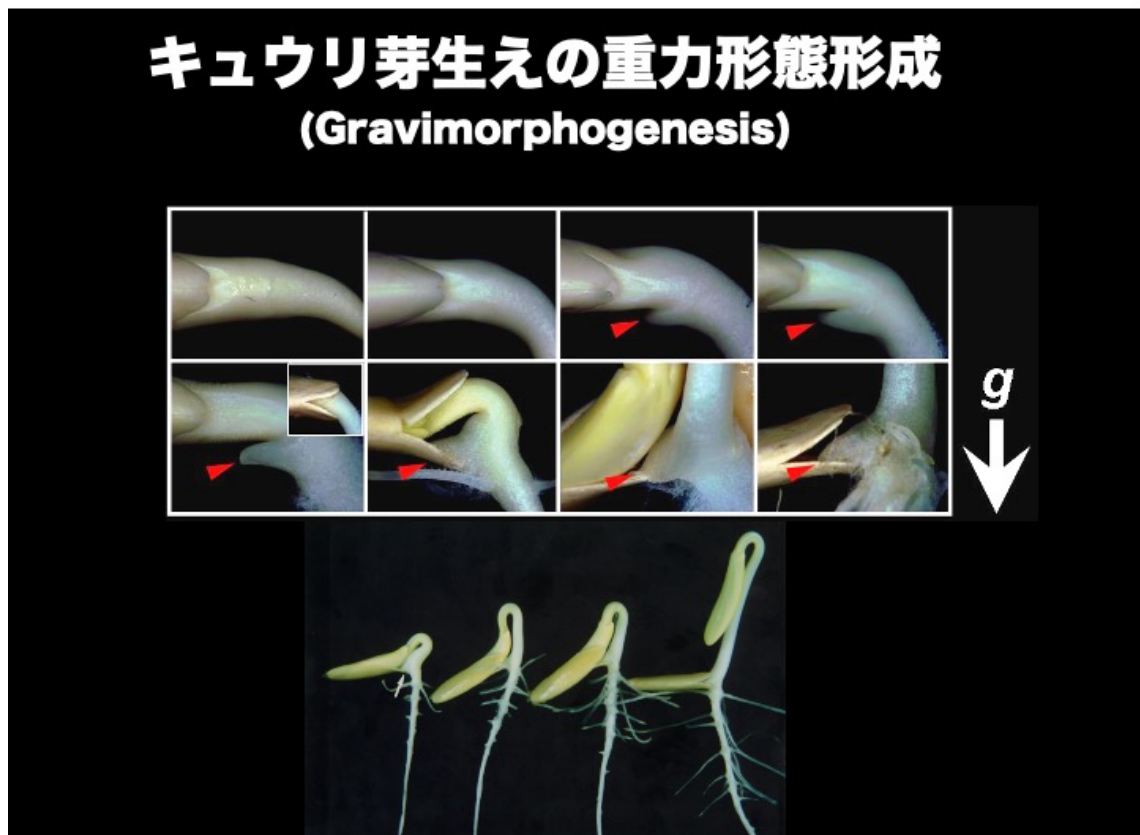


図 1 キュウリ芽生えのペグ形成とその役割。上の枠内の写真は発芽後の主根の伸長とペグ形成 (赤矢尻) を経時的に示しています。上段の写真では、種皮を剥いだ状態で撮影。

枠内下段の写真では、ペグが下側の種皮を押さえながら胚軸を伸長させる様子。その結果、芽生えは種皮から抜け出し、種皮はペグとともに土の中に残ります（下の写真）。種子の上下を反転させて発芽させても、ペグは胚軸と根の境界域の下側にできます。矢印（白）は重力方向。

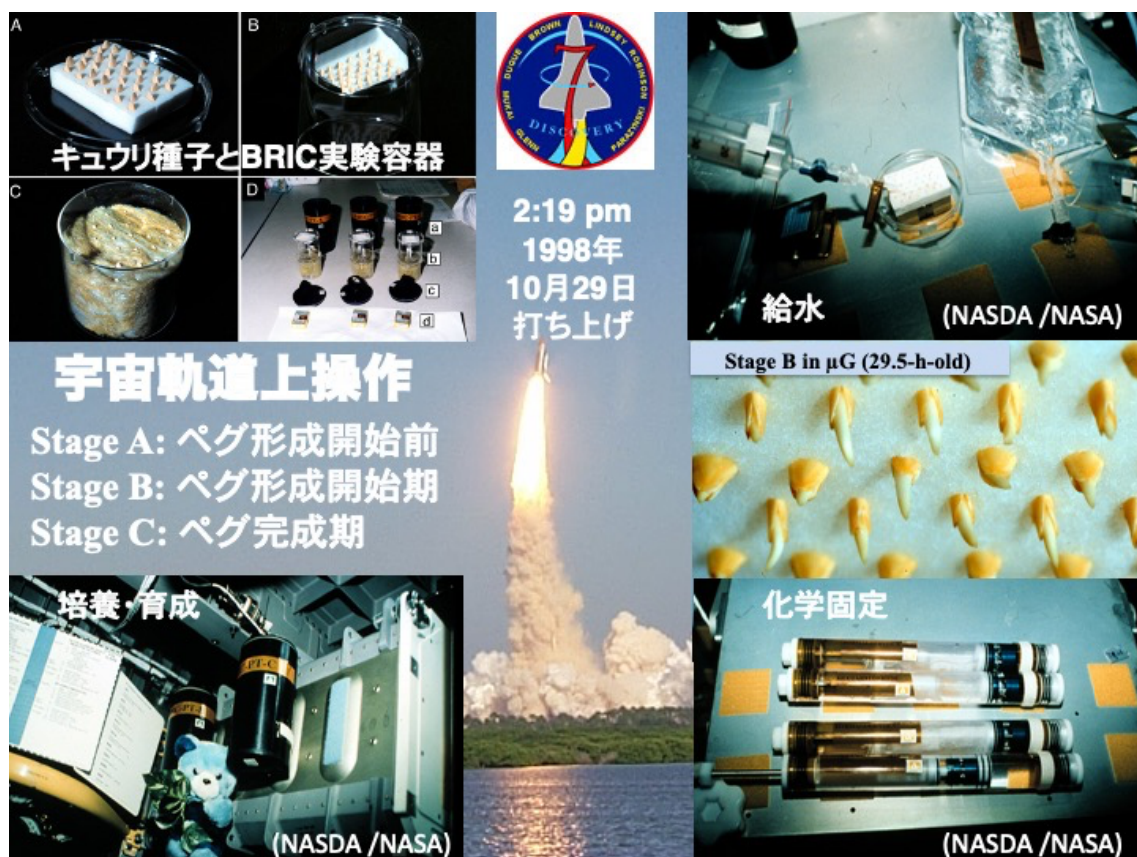


図2 宇宙実験 PEG-T の概要。キュウリ乾燥種子をスポンジ（ベルイータ）またはロックウールに播種し、円柱状の透明容器にセットします（左上の写真）。スペースシャトル打ち上げ後、軌道上で給水し（右上の写真）、容器を BRIC と呼ばれる実験容器（黒色で中は暗黒）に収めて、船内で生育させます（左下の写真）。右中央の写真は、給水後ステージ B（29.5 時間目）の芽生え。芽生えはステージ A, B, C の各段階で NASA 固定キット（KFT）を用いて化学固定し、地上に回収します（右下の写真）。



重力応答が胚軸と根の境界域の上側で オーキシン量を減少させて、 ペグ形成を抑制する。

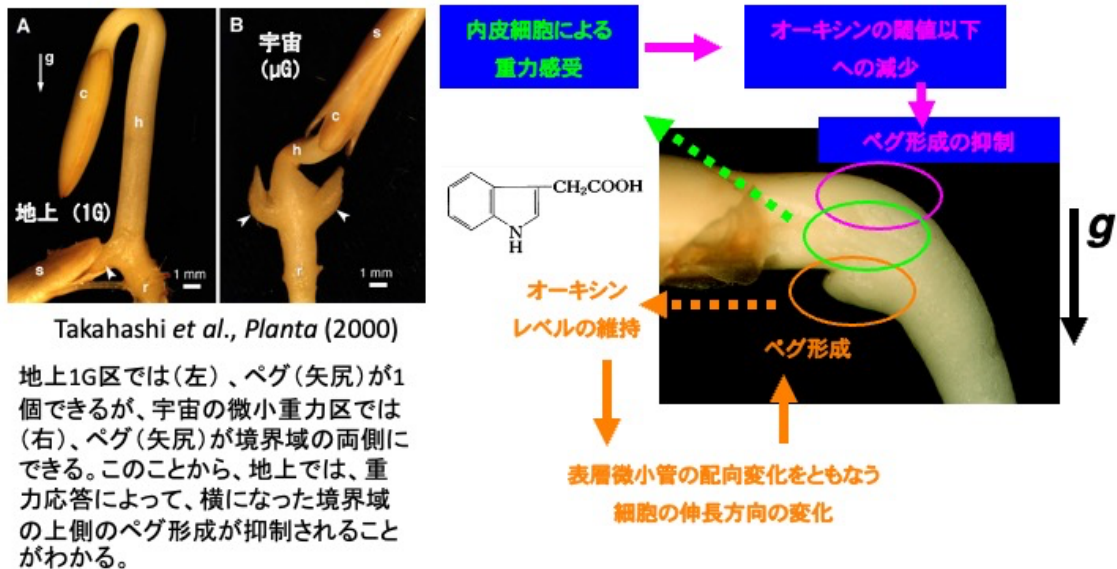


図 3 重力によるペグ形成のネガティブコントロールと、そのオーキシンによる制御。宇宙実験の結果、微小重力下では、ペグが境界域の両側(子葉面)にされ、地上1G下では、境界域の上側でペグ形成が抑制されることがわかりました。これにより、重力による形態形成のネガティブコントロールの概念が生まれました。オーキシン動態の解析から、地上1G下では、境界域の上側でオーキシン量が減少し、ペグ形成が抑制されることがわかりました(右の写真とモデル)。



図 4 宇宙飛行士が国際宇宙ステーション‘きぼう’実験棟内で、キュウリ種子に吸水後、実験容器をキャニスターに入れ、それを細胞生物学実験装置(CBEF)に取り付ける様子。CBEFの上段が微小重力区になり、下段(写真でドアが開いているコンパートメント)は遠心力を利用した人工重力区になります。



オーキシン輸送体 CsPIN1 は重力感受細胞で重力に反応して局在を変化させ、オーキシンを下側に輸送する。その結果、上側でオーキシン量が減少し、ペグ形成が抑制される。

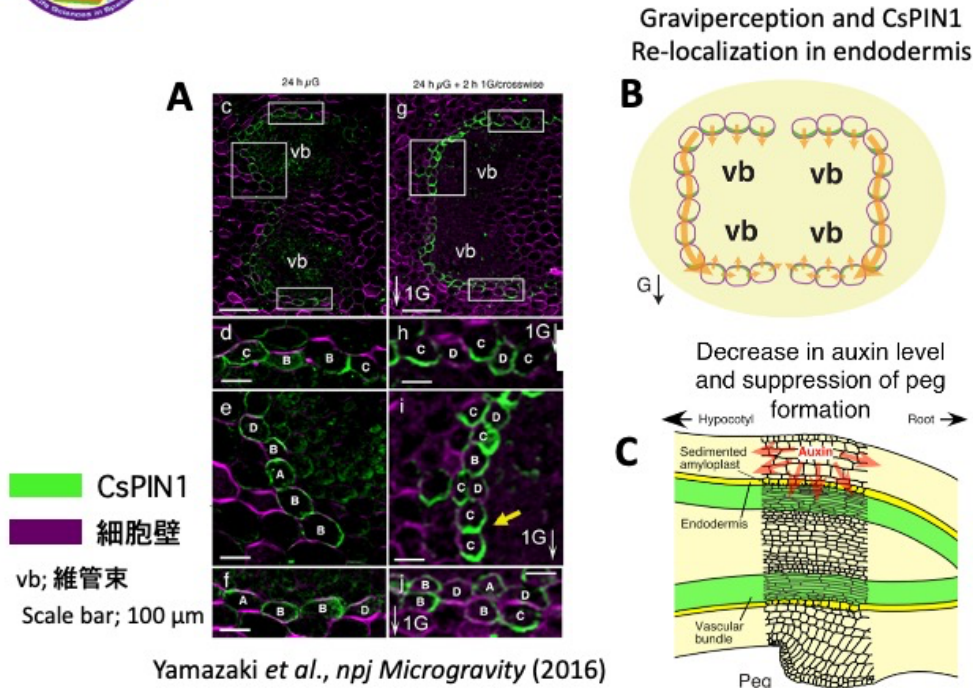


図5 宇宙実験 CsPINs (CsPIN1) の結果 (左) と、それに基づくモデル (右)。微小重力下では、重力感受細胞の内皮に発現するオーキシン輸送体 CsPIN1 (緑色の擬似カラー) の局在に、明確な極性がみられません (A 左)。一方、宇宙で人工重力 1G を 2 時間負荷すると、内皮の CsPIN1 は原形質膜下側に局在を変化させます (A 右; 黄色矢印)。したがって、1G 下 (地上) では、内皮をとおしてオーキシンを組織下側に輸送するルートの存在が示唆され (B)、その結果、境界域の上側でオーキシンは減少し、ペグ形成が抑制されると考えられます (C)。

宇宙実験 Hydro Tropi と宇宙実験 CsPINs (CsPIN5) —根の水分屈性能の顕在化—

根は、水分勾配に反応して高水分側に屈曲伸長する水分屈性を発現するといわれていますが、その能力は明確に証明されていません。宇宙実験 PEG-T では、微小重力下で、キュウリ芽生えの側根が水を含む支持体に向かって伸びる現象がみられました (図6)。これは地上でクリノスタット回転によって重力屈性の発現を消去した場合にもみられ、微小重力下で重力屈性が不在になると水分屈性が発現しやすくなること、逆に地上 1G では重力屈性が水分屈性をマスクするように干渉することを示していると考えられました。そこで、宇宙実験 Hydro Tropi と宇宙実験 CsPINs によって、微小重力下で重力屈性と水分屈性を分離することを試みました (図7)。その結果、微小重力区では、根 (主根) が高水分側に屈曲伸長するのに対して、人工 1G 区では水分勾配の存在下でも主根が重力方向にまっすぐに伸び

ることがわかりました (図 8)。また、このキュウリの根では、重力屈性の場合に類似して、オーキシンが低水分側に比較して高水分側で多くなり、屈曲することがわかりました。そのオーキシン再分布には、水分勾配に応答して変化するオーキシン輸送体 CsPIN5 の発現局在がかかわることも示唆されました (図 9)。ただし、重力屈性と違って、この水分屈性のためのオーキシン輸送・再分布には、根冠 (コルメラ) を必要としません。このようにキュウリの根では、宇宙環境を利用することによって、地上では重力屈性によってマスクされている水分屈性を顕在化させることができます。これらの研究成果から根の有する水分屈性能がクローズアップされ、水分屈性の分子機構が解明されるきっかけになりました。低重力環境での植物栽培では、根の水分屈性能を利用して伸びる方向を制御し、効率的な水管理を可能にするでしょう。

宇宙微小重力下および地上クリノスタット回転下で発現する キュウリ芽生えの根の水分屈性

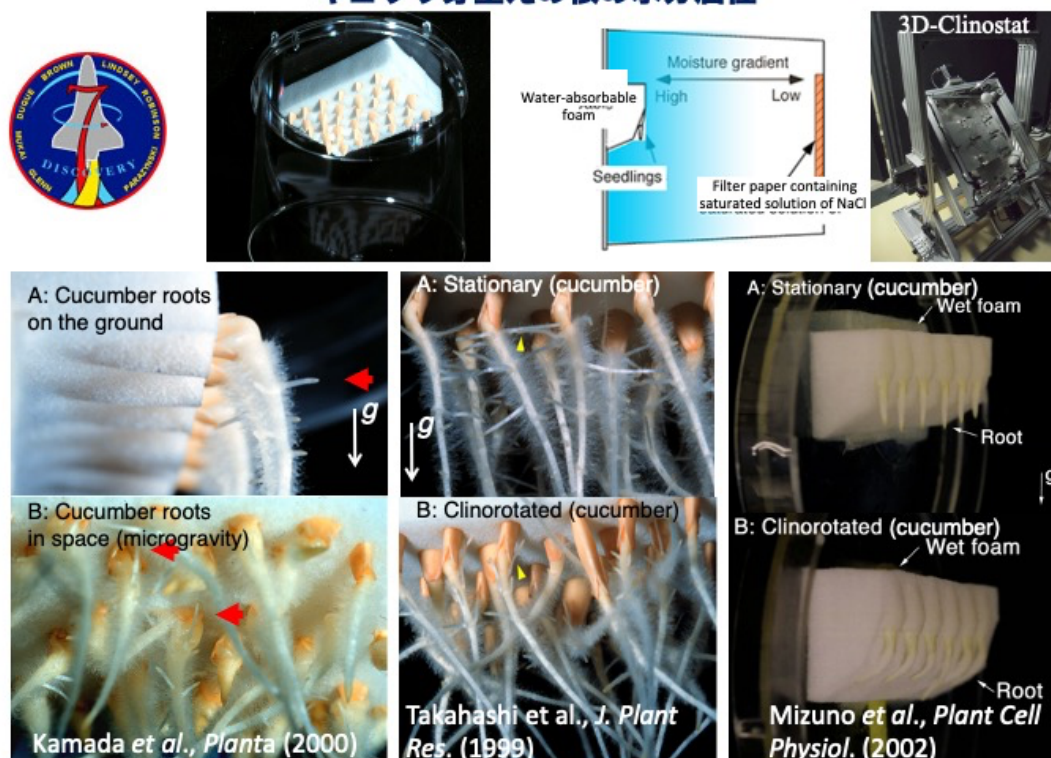


図 6 宇宙微小重力下および地上クリノスタット上でのキュウリ根の伸長方向。上段・左から：宇宙実験 PEG-T を実施した STS-95 ミッションのデカール、種子を差し込んだスポンジ (ベルイータ) を蓋裏面に貼り付けたプラスチック容器、ベルイータと反対側の面に飽和食塩水を含ませた濾紙を貼り付けて水分勾配を形成する容器 (模式図)、3-D クリノスタット。中段・左：地上対照区では、側根が下に伸びる主根から水平方向に発生・伸長します。下段・左：宇宙微小重力区では、伸長方向の定まらない主根から発生した側根が、水供給体のベルイータに向かって伸長します (赤矢尻)。中段・中央：地上静置区では、主根が下側

に、側根が水平方向に伸びます。下段・中央：クリノスタット回転によって、主根の伸長方向が定まらず、側根は水供給体のベルイータに向かって伸長します（黄矢尻）。中段・右：地上静置区では、水分勾配の存在下でも、主根は重力屈性によって下側に伸長します。下段・右：クリノスタットで回転させると、主根が高水分側に（水供給体のベルイータに向かって）伸長します。このように、キュウリの根は、重力屈性不在の条件で、水分屈性を発現します。

国際宇宙ステーションでの実験概要

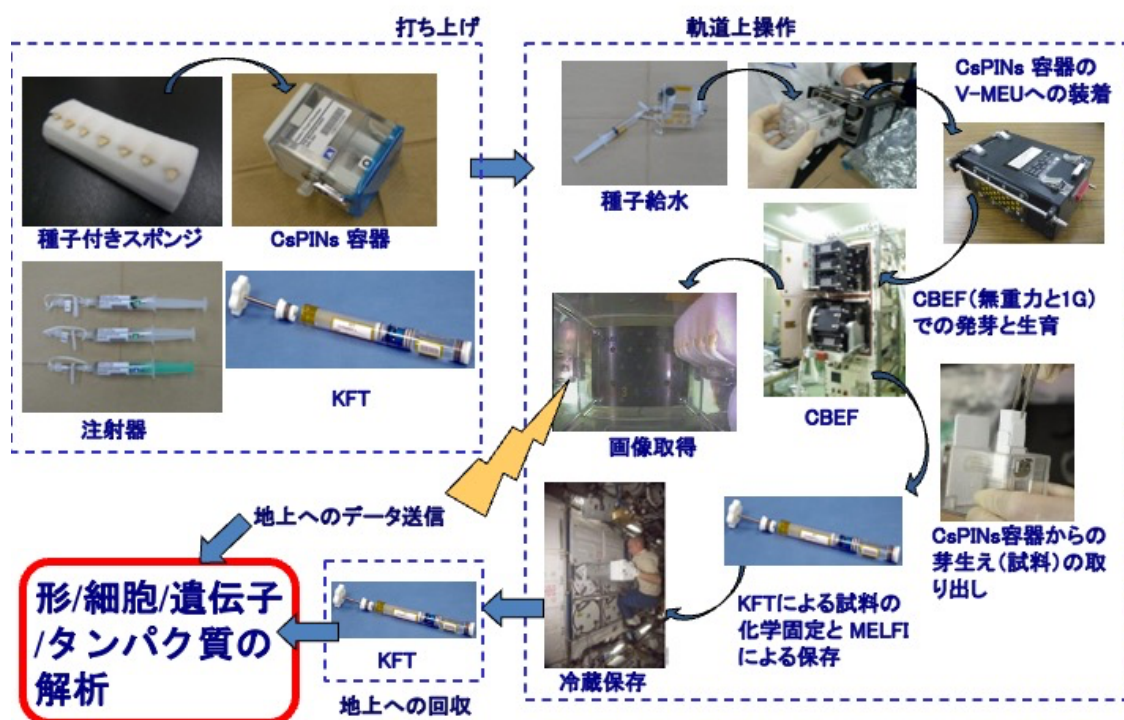
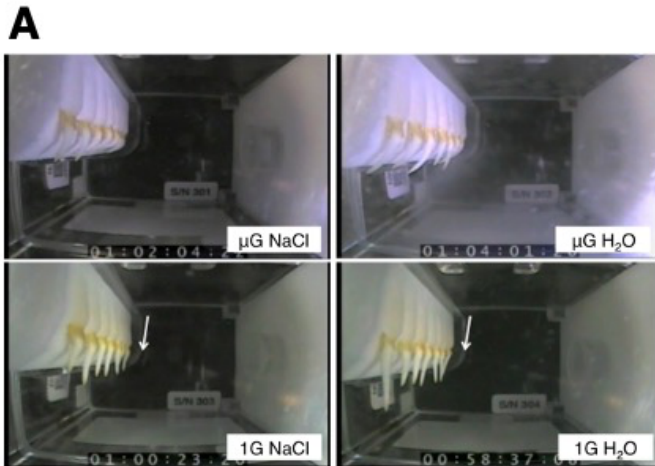


図7 宇宙実験 CsPINs の操作手順。地上でキュウリの乾燥種子をベルイータに挿入し、CsPINs 容器に取り付けます。それを軌道上で給水するためのシリンジと濾紙に食塩水を注入するためのシリンジ（注射器）、ならびにサンプルを化学固定するための器具（KFT）とともに打ち上げます。国際宇宙ステーション‘きぼう’では、種子給水および食塩水注入の後、容器をカメラ付き計測ユニット（V-MEU）に入れて細胞生物学実験装置 CBEF に取り付けます。CBEF の下段は人工重力区として使用できます。実験中、地上からのコマンドで容器内の写真撮影や遠心機による人工重力負荷の操作を行います。一定の生育時間後に、サンプルを KFT に入れて化学固定し、回収まで冷蔵庫（MELFI）で保管します。地上に回収されたサンプルは実験室に運ばれ、各種の解析に供試されます。

宇宙 (ISS) の微小重力下 と人工1G重力下における キュウリ根の水分屈性



Morohashi et al. *New Phytol.* (2017)

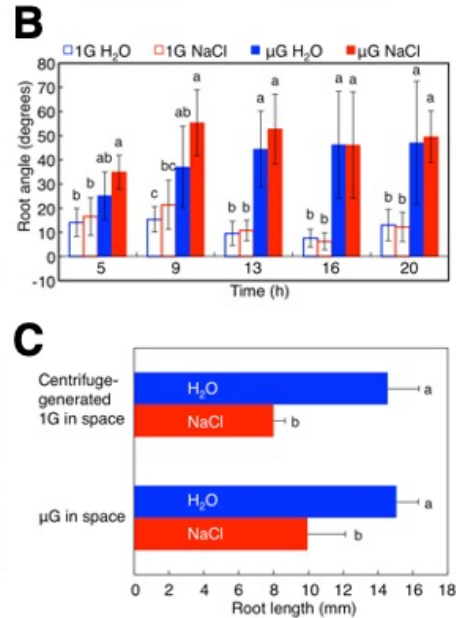


図 8 宇宙の微小重力区と人工重力 1G 区におけるキュウリ根の水分勾配への応答。A 上・左：微小重力下で対面に NaCl 溶液を注入した濾紙を貼り付けて水分勾配を大きくした区。A 上・右：微小重力下で対面濾紙に純水を注入して水分勾配を比較的小さくした区。A 下・左：宇宙で矢印方向に人工重力 1G を負荷した食塩水区。A 下・右：宇宙で矢印方向に人工重力 1G を負荷した純水区。それぞれの区における根の屈曲角度 (B) と伸長 (C) の経時的変化。微小重力区では、根は食塩水区と純水区のいずれでも高水分側に屈曲しますが、その程度は前者で大きくみられます。人工 1G 区では、根は水分勾配が存在しても重力方向に伸長します。

キュウリ根の水分屈性の発現にともなう オーキシンの動態の変化

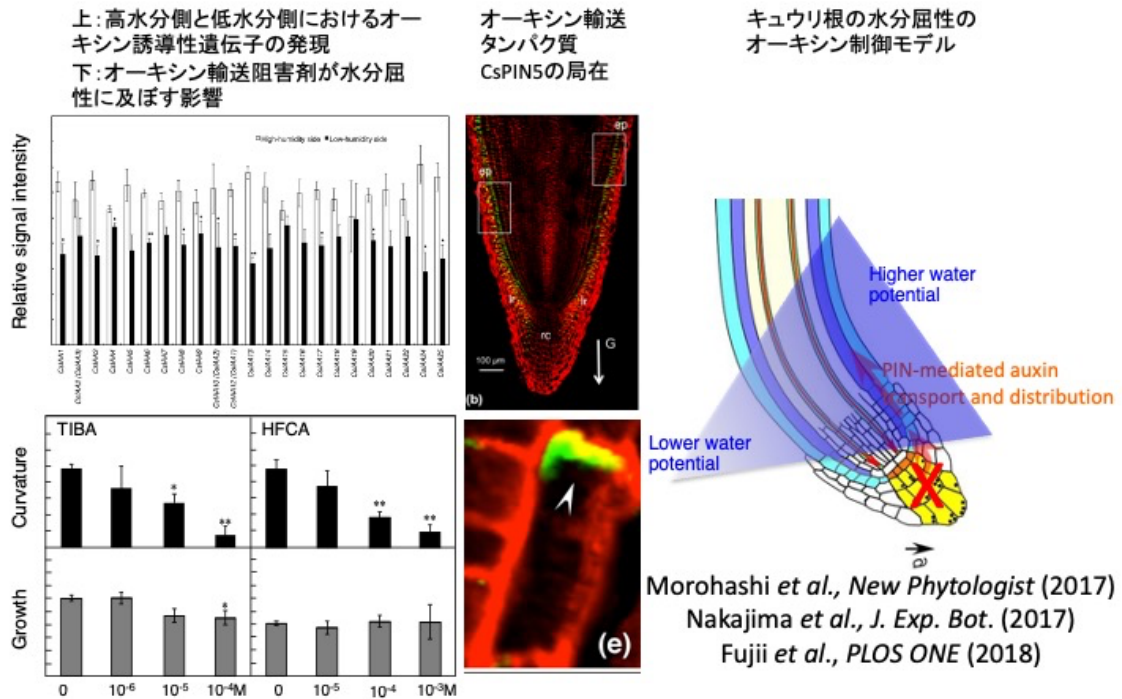


図 9 キュウリ根の水分屈性に果たすオーキシンの動態の役割。多くのオーキシンの誘導性遺伝子の発現が、根の低水分側に比較して高水分側で高く、オーキシンの高水分側に多く分布することを示しています (左・上)。根では高レベルのオーキシンの伸長を阻害することから、オーキシンの不均等分布は (高オーキシンのレベル側に) 屈曲を誘導すると考えられています。これは重力屈性で、オーキシンの横になった根の下側に多く蓄積して下側への屈曲を誘導するのに類似しています。オーキシンの輸送阻害剤の処理によってオーキシンの不均等分布を阻害すると、重力屈性の場合のように、水分屈性の発現は阻害されます (左・下)。このオーキシンの不均等分布は、オーキシンの輸送体 CsPIN5 によって確立されると考えられます。すなわち、CsPIN5 は根端の表皮に発現し、細胞の基部側に局在することから、オーキシンの根の先端側から伸長帯側に輸送すると考えられます (中央写真・上下)。CsPIN5 の発現は、水分勾配に応答して低水分側で低下することがわかっています (右の模式図)。これは重力屈性のしくみに類似しますが、重力屈性の場合にはオーキシンの不均等分布・根の屈曲に重力感受細胞のコルメラを必要とするのに対して、水分屈性は根冠・コルメラに依存しません。

宇宙実験 Plant Rotation — 一回転運動の重力応答依存性 —

日本の園芸家に知られるシダレアサガオが垂れるのは、重力を感知する内皮細胞の分化異常によって重力応答を失っていることに起因することが明らかになりました (図 10, 11)。

このシダレアサガオやイネの重力屈性突然変異体が明確な回旋転頭運動を示さないことを見出し、回旋転頭運動が重力応答に依存する可能性を示しました（図 11, 12）。そこで、宇宙の微小重力下と人工 1G 下でイネを発芽させ、芽生えの回旋転頭運動を解析し、回旋転頭運動が重力応答に依存することを検証しました（図 13）。その結果、宇宙の微小重力下では回旋転頭運動が重力屈性欠損変異体と同程度までに低下することが明らかになりました。蔓性植物のアサガオは、この回旋転頭運動を原動力として支柱をよじ登ります。その回旋転頭運動の詳細なメカニズムはまだわかりませんが、果たして、蔓性植物の宇宙での成長はどうなるのでしょうか。

重力応答と回旋転頭運動の関係

- 植物の茎頂や根などは、首を振るように運動しながら伸長する。これを回旋転頭運動 (circumnutation) という。この回旋転頭運動に重力応答が関与するかどうか、チャールズ・ダーウィン以来の論争がある。
- 重力屈性突然変異体の回旋転頭運動は、どうなっているだろうか。

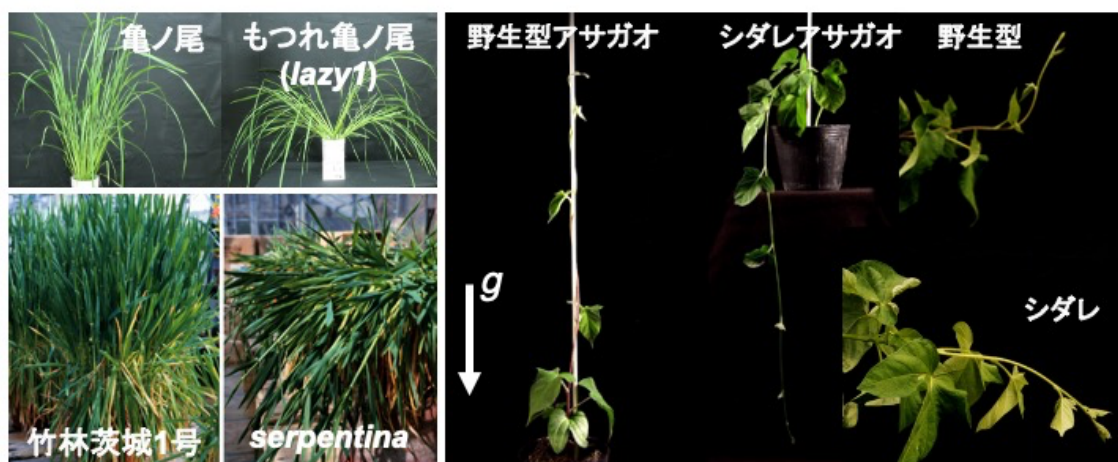
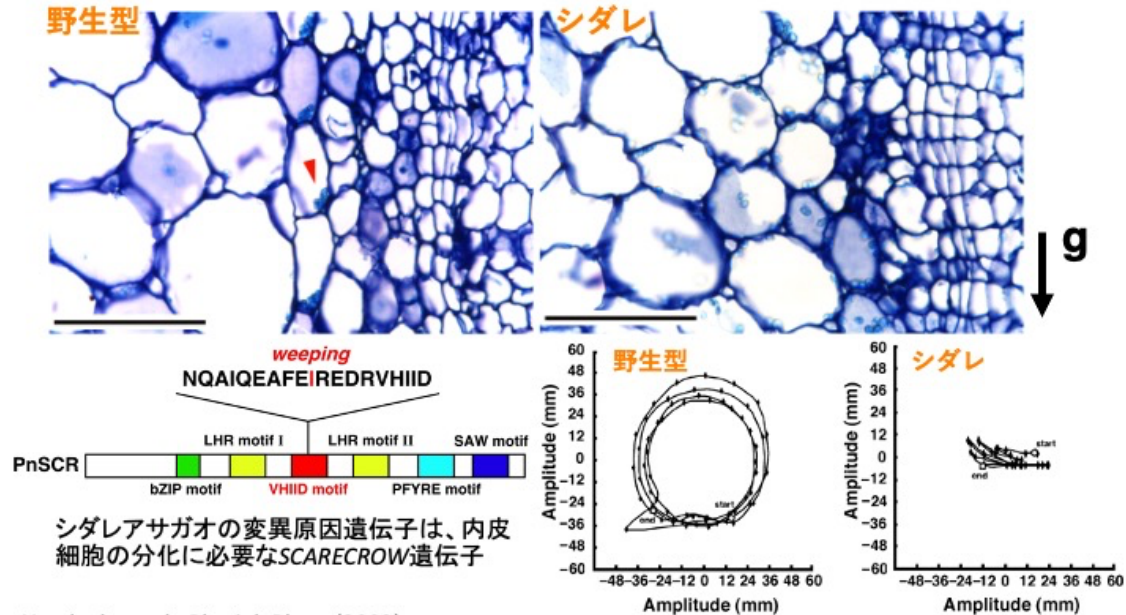


図 10 アサガオ（右）、イネ（左・上）、オオムギ（左・下）の重力屈性突然変異体。

シダレアサガオの変異原因遺伝子と回旋転頭運動

野生型アサガオでは、アミロプラスの沈降した(赤矢尻)内皮細胞が重力を感じる。しかし、シダレアサガオは内皮を正常に分化しない。



Hatakeda *et al.*, *Physiol. Plant.* (2003)
Kitazawa *et al.*, *PNAS* (2005)

茎頂の動きを真上から15分ごとにプロットした図。野生型でみられる回旋運動が、シダレではみられない。

図 11 シダレアサガオの重力応答変異原因遺伝子と回旋転頭運動の欠損。重力屈性を欠損したシダレアサガオは、重力感受細胞である内皮(上段・左の赤矢尻)を正常に分化できません(上段・右)。その変異原因遺伝子は *scarecrow(sgr)* です(下段・左)。シダレアサガオは、回旋転頭運動も欠損しています(下段・右)。この重力応答と回旋転頭運動の欠損は、遺伝的に連鎖しています。

イネ *lazy1* 変異体の幼葉鞘の重力屈性と回旋転頭運動

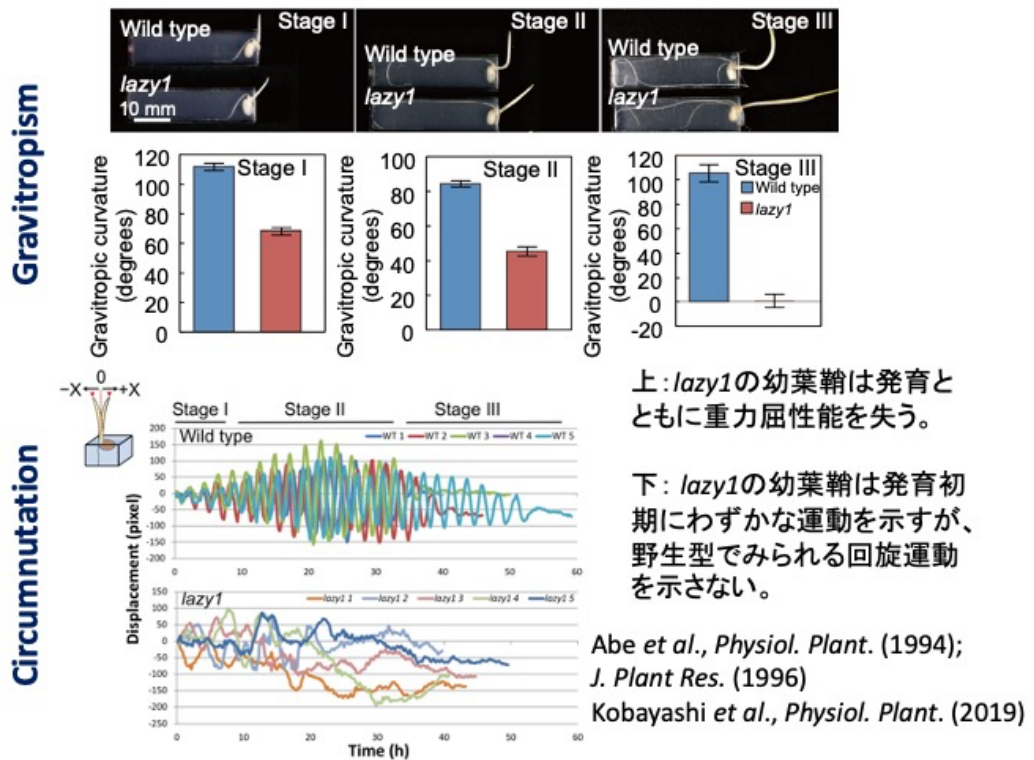


図 12 イネの重力屈性突然変異体（もつれ亀ノ尾; *lazy1*) の幼葉鞘の重力屈性と回旋転頭運動。野生型に比べ、突然変異体の幼葉鞘は生育初期に弱い重力屈性を示しますが、発育にともなって重力屈性能を消失します（上・中段）。野生型に比べ、突然変異体では回旋転頭運動も初期にわずかにみられる程度で、発育にともなってほぼ完全に失われます（下段）。



植物における回旋転頭運動の 重力応答依存性の宇宙実験による 検証 (Plant Rotation)

打上: SpaceX5 (2015年1月10日)
ISS軌道上実験:

Run1/2: 2015年2月11-22日

Run3: 2015年7月28-8月6日

Run4: 2015年8月17日-26日

野生型イネ (WT) と *lazy1* (*la*) を1個の容器に6個ずつ播種した。撮影のための可視光照射が幼葉鞘の伸長をやや抑制したが、微小重力下では、幼葉鞘も根も伸長方向が定まらない。宇宙で人工重力(1G)を負荷すると、幼葉鞘と根はそれに応答して姿勢を制御する。



回旋転頭運動は、宇宙微小重力下で低下する。

Kobayashi *et al.*, *Physiol. Plant.* (2019)

図 13 イネ幼葉鞘の回旋転頭運動の重力応答依存性を検証するための宇宙実験 Plant Rotation。JAXA 植物実験ユニット (Plant Experiment Unit; PEU) に取り付けられた容器内で成長する幼葉鞘。培地はロックウール。写真・左から：地上・暗黒下にて赤外線カメラで撮影 (Ground 1g/ infrared)、地上で PEU 光照射システムを使って撮影 (Ground 1g)、宇宙の微小重力下で PEU 光照射システムを使って撮影 (Space μ g)、宇宙の人工重力 1G 下で PEU 光照射システムを使って撮影した写真 (Space 1g)。

参考文献

国立研究開発法人 宇宙航空研究開発機構 (JAXA) 宇宙を感じる植物のしくみ

(<http://iss.jaxa.jp/kiboresults/plant/>).

高橋秀幸 (2020) 宇宙環境を利用した植物機能の研究：ペグ形成、水分屈性、回旋転頭運動の制御機構. 植物科学最前線11: 23 (DOI: 10.24480/bsj-review.11a4.00176).

高橋秀幸・小林啓恵 (2019) 根の水分屈性にユニークな制御機構. 植物の生長調節 54: 108-118.

引用文献

Abe K, Takahashi H, Suge H (1994) Graviresponding sites in shoots of normal and 'lazy' rice

- seedlings. *Physiologia Plantarum* 92: 371-374.
- Abe K, Takahashi H, Suge H (1996) Lazy gene (*la*) responsible for both an agravitropism of seedlings and lazy habit of tiller growth in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Research* 109: 381-386.
- Fujii N, Miyabayashi S, Sugita T, Kobayashi A, Yamazaki C, Miyazawa Y, Kamada M, Kasahara H, Osada I, Shimazu T, Fusejima Y, Higashibata A, Yamazaki T, Ishioka N, Takahashi H (2018) Root-tip-mediated inhibition of hydrotropism is accompanied with the suppression of asymmetric expression of auxin-inducible genes in response to moisture gradients in cucumber roots. *PLOS ONE* 13(1): e0189827.
- Hatakeda Y, Kamada M, Goto N, Fukaki H, Tasaka M, Suge H, Takahashi H (2003) Gravitropic response plays an important role in the nutational movements of the shoots of *Pharbitis nil* and *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum* 118: 464-473.
- Kamada M, Fujii N, Aizawa S, Kamigaichi S, Mukai C, Shimazu T, Takahashi H (2000) Control of gravimorphogenesis by auxin: accumulation pattern of CS-IAA1 mRNA in cucumber seedlings grown in space and on the ground. *Planta* 211: 493-501.
- Kitazawa D, Hatakeda Y, Kamada M, Fujii N, Miyazawa Y, Hoshino A, Iida S, Fukaki H, Morita MT, Tasaka M, Suge H, Takahashi H (2005) Shoot circumnutation and winding movements require gravisensing cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 18742-18747.
- Kobayashi A, Kim H-J, Tomita Y, Miyazawa Y, Fujii N, Yano S, Yamazaki C, Kamada M, Kasahara H, Miyabayashi S, Shimazu T, Fusejima Y, Takahashi H (2019) Circumnutational movement in rice coleoptiles involves the gravitropic response: analysis of an agravitropic mutant and space-grown seedlings. *Physiologia Plantarum* 165: 464-475.
- Mizuno H, Kobayashi A, Fujii N, Yamashita M, Takahashi H (2002) Hydrotropic response and expression pattern of auxin-inducible gene, *CS-IAA1*, in the primary roots of clinorotated cucumber seedlings. *Plant and Cell Physiology* 43: 793-801.
- Morohashi K, Okamoto M, Yamazaki C, Fujii N, Miyazawa Y, Kamada M, Kasahara H, Osada I, Shimazu T, Fusejima Y, Higashibata A, Yamazaki T, Ishioka N, Kobayashi A, Takahashi H (2017) Gravitropism interferes with hydrotropism via counteracting auxin dynamics in cucumber roots: clinorotation and spaceflight experiments. *New Phytologist* 215: 1476-1489.
- Nakajima Y, Nara Y, Kobayashi A, Sugita T, Miyazawa Y, Fujii N, Takahashi H (2017) Auxin transport and response requirements for root hydrotropism differ between plant species. *Journal of Experimental Botany* 68: 3441-3456.
- Takahashi H, Kamada M, Yamazaki Y, Fujii N, Higashitani A, Aizawa S, Yoshizaki I, Kamigaichi S, Mukai C, Shimazu T, Fukui K (2000) Morphogenesis in cucumber seedlings is negatively controlled by gravity. *Planta* 210: 515-518.
- Takahashi H, Mizuno H, Kamada M, Fujii N, Higashitani A, Kamigaichi S, Aizawa S, Mukai C,

Shimazu T, Fukui K (1999) A spaceflight experiment for the study of gravimorphogenesis and hydrotropism in cucumber seedlings. *Journal of Plant Research* 112: 497-505.

Yamazaki C, Fujii N, Miyazawa Y, Kamada M, Kasahara H, Osada I, Shimazu T, Fusejima Y, Higashibata A, Yamazaki T, Ishioka N, Takahashi H (2016) The gravity-induced re-localization of auxin efflux carrier CsPIN1 in cucumber seedlings: spaceflight experiments for immunohistochemical microscopy. *npj Microgravity* 2: 16030.