

# 微小重力下におけるウリ科植物の形態形成 —ペグ形成とオーキシン—

高橋 秀幸

多くのウリ科植物では、種子が発芽して芽生えが種皮から抜け出すときに、胚軸と根の境界部にペグと呼ばれる突起を形成して、それがテコのように種皮の一部を押さえ、一方で、胚軸が伸長する。<sup>1,2)</sup> これによって、芽生えは子葉および幼芽を種皮から脱皮させて地上に持ち上げる。すなわち、平べったい種子が発芽して間もなく、横に飛び出した根が正の重力屈性で下側に伸長するときに、1個のペグが胚軸と根の境界部の下側（屈曲の凹側）に形成される。種子を裏返しにしておいても、1個のペグが下側に形成される。発芽孔が下になるように種子を垂直において発芽させるか、クリノスタットの上で種子を3次元的に連続回転させながら発芽させると、比較的まっすぐな茎と根の境界部に2個のペグを対称的に形成する個体や、まったくペグを形成しない個体が現れる。<sup>2)</sup> これらの事実は、重力がペグ形成に影響することを示唆するが、重力刺激が、ペグ形成の誘導に不可欠なのか、ペグの形成位置を決定しているのか明らかでなかった。この問題を解決するために、筆者らはスペースシャ

トル (STS-95 ミッション) で宇宙実験を行う機会に恵まれた。<sup>3,4)</sup>

## 1. 微小重力下におけるキュウリのペグ形成

スペースシャトルに搭載された実験室(スペースハブ)内でキュウリの種子を発芽させ、ペグ形成前、ペグ形成初期、ペグ形成完成期の芽生えを得るために、ポリカーボネート製容器に入れたロックウールおよび吸水性のプラスチック材にキュウリ種子を取り付け、それをBRIC (Biological Research in Canister) と呼ばれるNASAの実験容器に封入し、スペースシャトル (ディスカバリー) に搭載した。<sup>3,4)</sup> スペースシャトルの打ち上げ後、軌道上で種子に吸水させ、一定時間の培養後にNASA化学固定キットを用いて、グルタルアルデヒドで芽生えを固定し、それを冷蔵で地上に回収した。<sup>3,4)</sup>

その結果、発芽と芽生えの成長には個体間差はあるものの、目的とした各発育段階のキュウリ芽生えが得られた。根と胚軸の成長、ペグ形成についてみると、微小重

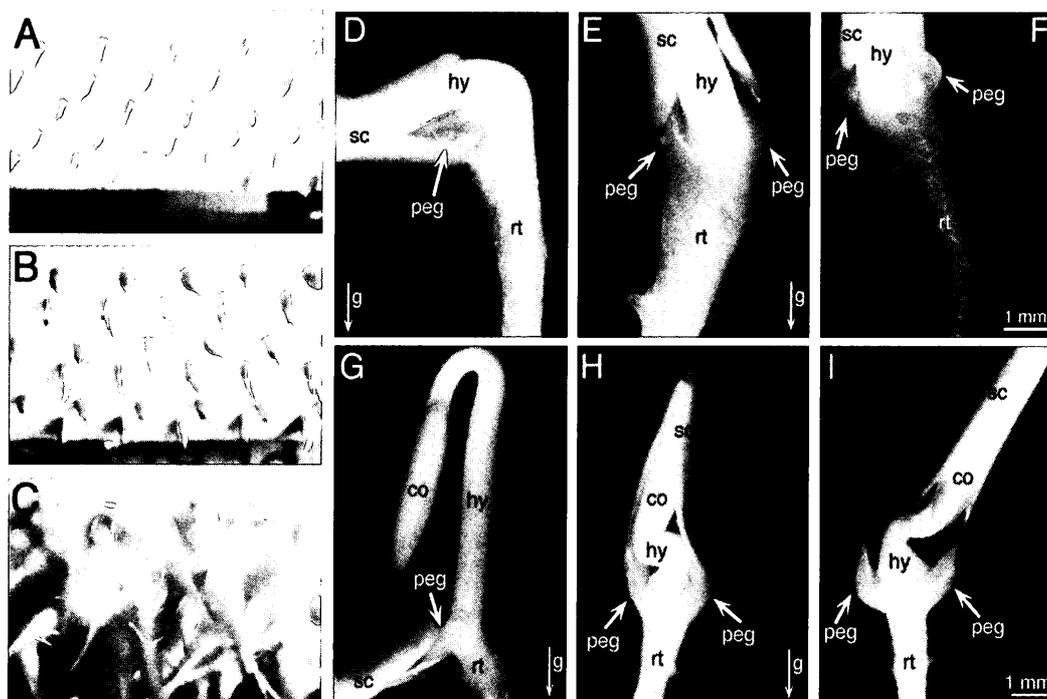


Fig. 1. Cucurbit seedlings grown in space and on the ground.<sup>5,10)</sup> A-C: Seedlings were grown aeronomically in space for different periods of time. D-F: Seeds were aeronomically germinated in a horizontal position (D), in a vertical position (E), or in space (F). G-I: Seeds were, in a rock wool block, germinated in a horizontal position (G), in a vertical position (H), or in space (I). co, Cotyledon; hy, hypocotyl; rt, root; sc, seed coat.

力下で育成された芽生えは地上で種子を垂直にして生育させたものに類似し、微小重力下の芽生えの多くが胚軸と根の境界部の両側に1個ずつのペグを形成した (Fig. 1). つまり、ペグ形成完成期までに生育した芽生え60個体中、80-90%が2個のペグを発達させ、ペグ形成に重力を必要としないことがはじめて明らかになった.<sup>3-5)</sup> これによって、キュウリの芽生えは微小重力下では2個のペグを発達させて対称的な形態形成を示し、キュウリ種子が横になって発芽するとき、胚軸と根の境界部の下側 (重力刺激側) に1個のペグを発達させる非対称な形態形成は、重力によってネガティブに制御される (重力によるネガティブコントロール)、上側 (重力反刺激側) におけるペグ形成が抑制されることがわかった.<sup>3-5)</sup>

## 2. ペグ形成機構に関するモデル

宇宙実験の結果、重力は、横になった芽生えの胚軸と根の境界部の上側に発達すべきペグを抑制することが示されたが、この重力形態形成のための重力受容細胞は、ペグ形成部位にある維管束鞘細胞 (内皮細胞) であると考えられる.<sup>2)</sup> 植物の重力受容では、大型の細胞小器官であるアミロプラストが沈降する。このような重力受容細胞は、根では根冠のコルメラ細胞に、胚軸や茎頂では内皮細胞にみられる。キュウリの芽生えでも、ペグ形成が肉眼的に認められる前に、胚軸と根の境界部の内皮細胞に沈降性アミロプラストが局在するようになる。一方、ペグとして突起状に発達する細胞は皮層細胞である。皮層細胞は芽生えの長軸方向に伸長するのが普通であるが、ペグとして発達する細胞は、比較的初期に伸長方向を約90度変化させ、それらの細胞群が突出成長する。細胞の伸長方向は表層微小管の配向によって制御されるとする説が有力であるが、ペグの発達のために皮層細胞が伸長方向を変化させるとき、やはり、その細胞の表層微小管は、それまで芽生えの長軸方向に直交するように配向していたものが、平行方向に配向を変化させる。<sup>3)</sup> この微小管の配向変化は植物ホルモンなどによって制御されることが知られている。<sup>6)</sup> その植物ホルモンの中でも、オーキシンはペグ形成に直接的に作用する要因として注目されている。<sup>2,7,8)</sup> すなわち、外生オーキシンの処理によって胚軸と根の境界部の両側にペグが発達するようになり、<sup>14</sup>Cでラベルしたオーキシンを取り込ませると、それがペグ形成部位に集積することが知られている。このようにペグは、一定以上のオーキシンの濃度に反応する特定の細胞が、表層微小管の配向を変化させて細胞伸長の方向転換を誘導するために形成されると考えられる

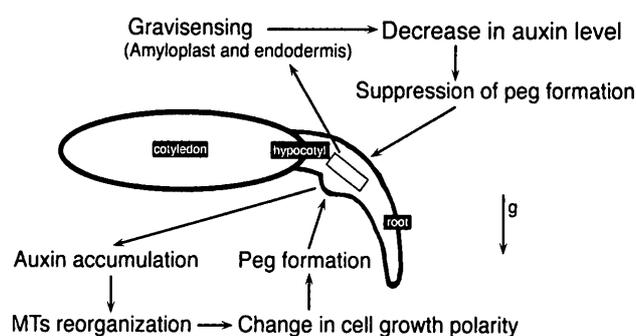


Fig. 2. A diagrammatic model for the mechanism of peg formation in cucumber seedlings.<sup>4)</sup> MTs, microtubules.

(Fig. 2).

## 3. オーキシンの動態とペグ形成

筆者らは、宇宙実験でキュウリの芽生えにおけるオーキシンの動態を解析するために、オーキシン濃度の増大とともに発現が上昇するオーキシン誘導性遺伝子として *CS-IAA1* をキュウリからクローニングし、その微小重力下および地上で育成した芽生えにおける遺伝子発現を *in situ* hybridization によって解析した (Fig. 3).<sup>9,10)</sup> ペグ形成直前および形成初期の芽生えの胚軸と根の境界部を横断切片にして *CS-IAA1* 遺伝子発現の局在性をみると、いずれの発育段階でも、地上で種子を横たえた場合には *CS-IAA1* の発現が境界部の下側で強かった。<sup>10)</sup> とくにペグ形成初期にある芽生えでは表皮のみならず、境界部の下側の皮層細胞にも強いシグナルがみとめられた。一方、地上で種子を縦おきにした場合と微小重力下で発芽・生育させた場合は、*CS-IAA1* 遺伝子の発現は胚軸と根の境界部における表皮と皮層を中心に全体的にみられ、発現局在性における非対称性はみられなかった。<sup>10)</sup> この微小重力下で育成した芽生えのオーキシン動態は、地上で種子を垂直において発芽させた芽生えが、胚軸と根の境界部の両側にペグを発達させる場合に類似していた。地上で種子を横において発芽させた芽生えを縦において発芽させたものに比較すると、*CS-IAA1* 遺伝子の発現は胚軸と根の境界部の上側で低下し、下側で増大した。これらの結果は、重力応答によってオーキシン量が境界部の上側 (重力反刺激側) で減少し、下側 (重力刺激側) で多くなることを示している。しかし、Kamadaらは、<sup>11)</sup> 内生 IAA 量を定量し、種子を縦において発芽させた芽生えに比較して、種子を横において発芽させた芽生えでは、胚軸と根の境界部の上側で IAA 量が顕著に低下するものの、下側では IAA 量に大きな変化のみられないことを明らかにしている。*CS-IAA1* 遺伝子の発現は、オーキシン

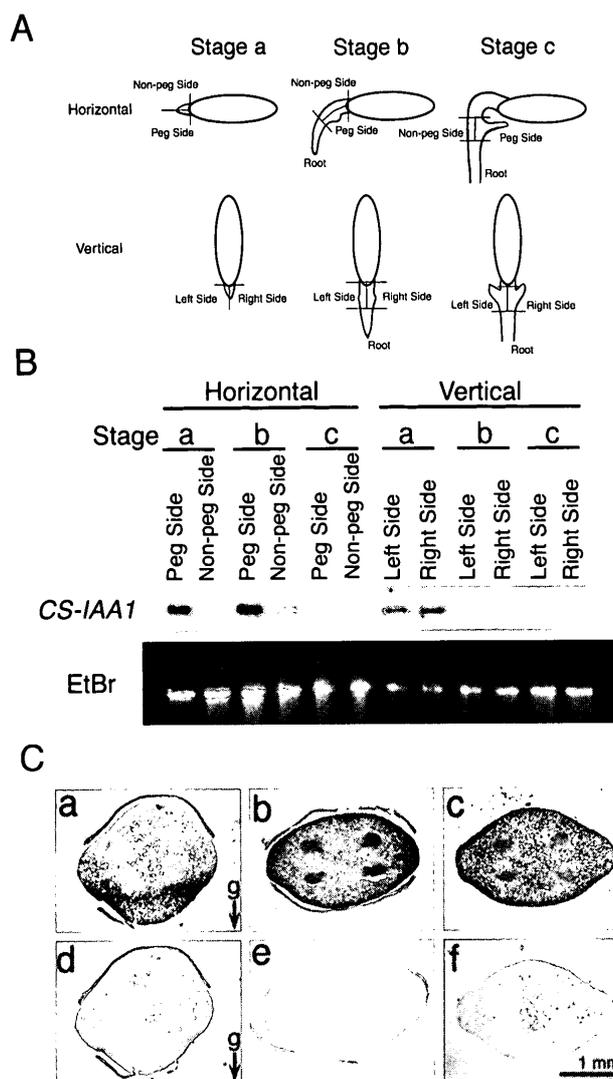


Fig. 3. Accumulation pattern of *CS-IAA1* mRNA in cucumber seedlings grown in space and on the ground.<sup>10)</sup> A: Seeds were germinated either in a horizontal position or in a vertical position, and the transition zone between hypocotyl and root was halved longitudinally at stage a, b, or c. B: Northern blot analysis of *CS-IAA1* mRNA in the halved transition zone at stage a, b, or c. C: Localization of *CS-IAA1* mRNA in the transition zone of cucumber seedlings grown in a horizontal position (a, d), in a vertical position (b, e), or in space (c, f). a-c: Hybridized with antisense probe. d-f: Hybridized with sense probe. Cross sections were prepared from the seedlings at the stage of peg initiation.

応答の結果であり、組織のオーキシン感受性の差異などが反映される。したがって、ペグ形成部位である下側で増大した *CS-IAA1* レベルは、オーキシンに対する感受性が増大した結果であるか、オーキシン以外の要因による誘導の結果である可能性がある。しかし、オーキシンがペグ形成部位で一定レベルに維持され、ペグ形成が抑制される部位で低下することは、間違いなさそうである。さらに、芽生えから切り出した胚軸と根の境界部における *CS-IAA1* 遺伝子の発現は、オーキシンの飢餓処理によって顕著に低下するが、その後一過性的に増大する。<sup>11)</sup>

これは、ペグ形成部位がオーキシンのソースであることを示唆している。

#### 4. オーキシン輸送担体（キャリアー）とペグ形成

最近、オーキシン輸送の分子機構が明らかになりつつある。<sup>12-18)</sup> オーキシンの細胞間の移動には、オーキシン輸送担体である *influx* キャリアーと *efflux* キャリアーが原形質膜に存在して、それぞれが重要な役割を果たしている。シロイヌナズナでは、それらの遺伝子がクローニングされ、それらタンパク質の局在性も調べられている。そのうち、PIN4 は地上部側から根の中心柱を通して輸送されるオーキシンを根端部にプールし、PIN2 は表皮や皮層細胞を経路として、オーキシンを根端から根の基部側（地上部方向）に戻すのに機能することが示唆されている。<sup>15,16)</sup> 根の重力屈性では、この基部側へのオーキシン輸送が重力刺激側と反刺激側で不均衡になることによって、偏差成長が誘導されるものと考えられているが、PIN3 は重力受容細胞であるコルメラ細胞に局在し、その発現は重力刺激によって変化し、非対称なオーキシン輸送の誘導に機能するという。<sup>17)</sup>

Kamadaらは、<sup>11)</sup> キュウリからオーキシンの *influx* キャリアー (*CS-AUX1*) と *efflux* キャリアー (*CS-PIN1*) をクローニングし、その発現解析を行うことによって、胚軸と根の境界部では、それらオーキシンキャリアー活性のバランスの不均衡化によって細胞内オーキシン濃度が変化し、ペグ形成の誘導および抑制を制御している可能性を見いだしている。オーキシンの *efflux* キャリアー阻害剤 (TIBA, HFCA) の処理によって、外生オーキシンを処理した場合と同様に、種子を横において発芽させた芽生えでも、胚軸と根の境界部の両側にペグが発達するようになるが、<sup>11)</sup> この阻害剤は、*efflux* キャリアー分子を原形質膜に運ぶ小胞輸送を阻害し、結果としては、オーキシンプール領域の細胞内オーキシン濃度を高めることが知られている。<sup>18,19)</sup> オーキシン輸送 (*efflux* キャリアー) 阻害剤で処理されたキュウリ芽生えが、微小重力下で発芽させた芽生えと同様に2個のペグを対称的に発達させるようになるのは、子葉や幼芽のみならず胚軸と根の境界部をも供給源とするオーキシンが重力刺激側と反刺激側に再分配されず、さらには細胞内オーキシン濃度を上昇させるためであると考えられる。先述したように、重力による形態形成のネガティブコントロールと考えることのできるペグ形成の非対称的な抑制は、重力反刺激側におけるオーキシンレベルの低下に起因する (Fig. 2)。このときの細胞内オーキシン濃度も、オーキシンの *influx*

キャリアーと efflux キャリアーの活性のバランス変化によってもたらされる可能性が大きい。<sup>11)</sup>

### 5. 宇宙実験とオーキシン

オーキシンが植物の重力応答で重要な役割を果たしていることは明らかである。しかし、これまで微小重力下におけるオーキシン動態を解析した宇宙実験は少ない。本稿で紹介したように、ウリ科植物の芽生えにおけるベグ形成は、重力がオーキシンの輸送と作用に及ぼす影響を解明するためのモデル実験系として有用であろう。宇宙実験によって、重力がウリ科植物の形態形成をネガティブに制御することが明らかになり、そのメカニズムを重力とオーキシン輸送の関係から究明するための基盤ができた。これらの仕組みと重力受容の関係を明らかにするための今後の宇宙実験では、オーキシン輸送担体の遺伝子・タンパク質レベルでの発現を解析し、また、それらの突然変異体を用いるだけでなく、その結果を細胞内のオーキシン濃度や組織中のオーキシン分布としてみることが重要である。筆者らが宇宙実験で示したように、そのような目的でオーキシン制御遺伝子をオーキシンマーカーとして用いることも有用である。シロイヌナズナでは多くのオーキシン制御遺伝子が見いだされており、GUS ( $\beta$ -glucuronidase) や GFP (green fluorescent protein) をリポーターとする *DR-5* や *AtAux2* を遺伝子導入した形質転換体を用いて、組織中のオーキシン局在性を比較的簡便に解析することができる。<sup>13,20)</sup> キュウリなどのウリ科植物でも、このような形質転換体を利用した宇宙実験系の確立が望まれる。

われわれが、今日の地球を健全な生命維持システムとして持続させ、また今後、宇宙などのフロンティア環境を生命圏として開拓するうえで、重力応答などの植物の基本的機能を理解することが大きな課題である。その問題解決のために、宇宙船が微小重力実験室としての役割を果たす機会の増えることを期待したい。

### 文 献

- 1) Darwin, C. and Darwin, F.: *The Power of Movement in Plants*, John Murray (1880).
- 2) Takahashi, H.: *Planta*, **203**, S164 (1997).
- 3) 高橋秀幸ら: “きぼう” に向けて一平成9-10年度宇宙実験報告会— ライフサイエンス分野予稿集, p.57, 宇宙開発事業団 (1999).
- 4) Takahashi, H. et al.: *Biol. Sci. Space*, **14**, 64 (2000).
- 5) Takahashi, H. et al.: *Planta*, **210**, 515 (2000).
- 6) Shibaoka, H.: *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **45**, 527 (1994).
- 7) Witzum, A. and Gersani, M.: *Bot. Gaz.*, **163**, 5 (1975).
- 8) Takahashi, H. and Suge, H.: *Plant Cell Physiol.*, **129**, 313 (1988).
- 9) Fujii, N. et al.: *Plant Mol. Biol.*, **42**, 731 (1999).
- 10) Kamada, M. et al.: *Planta*, **211**, 493 (2000).
- 11) Kamada, M. et al.: *Planta* (2002). submitted.
- 12) Bennett, M. J. et al.: *Science*, **273**, 948 (1996).
- 13) Muday, G. K. and DeLong, A.: *TRENDS Plant Science*, **6**, 535 (2001).
- 14) Swarup, R. et al.: *Genes Dev.*, **15**, 2648 (2001).
- 15) Friml, J. et al.: *Cell*, **108**, 661 (2002).
- 16) Müller, A. et al.: *EMBO J.*, **17**, 6903 (1998).
- 17) Friml, J. et al.: *Nature*, **415**, 806 (2002).
- 18) Geldner, N. et al.: *Nature*, **413**, 425 (2001).
- 19) Casimiro, I. et al.: *Plant Cell*, **13**, 843 (2001).
- 20) Wyatt, R. E. et al.: *Plant Mol. Biol.*, **22**, 731 (1993).

## 国際宇宙ステーションで陸上植物は種子から種子への生活環を完結できるか

神阪盛一郎

人類の生存は、緑色植物が光合成によって作り出す酸素と炭水化物などの有機物に依存している。人類の宇宙への進出は20世紀の中頃からはじまった。21世紀にはより長期間、宇宙に滞在する計画などが本格化するであろう。人類の宇宙での長期にわたる活動を支援するには、宇宙環境下での植物の栽培も重要な課題となる。

約20億年前に原始の海で生まれた緑色植物は、約4億年前の古生代シルル紀に海から陸上に進出した。陸上植物は、1gの重力刺激に適応し、さらにその重力ベクトル

の変化を認識して巧みに姿勢を制御して、根を地下に伸ばし、地上部を上へ伸ばすとともに、葉を空間に配置することによって、光合成を効率よく行う能力を進化させた。

植物よりずっと遅く陸上に進出した動物は、骨と筋肉を用いて1gのもとで身体を支えているが、陸上植物の身体の支持体は細胞壁である。微小重力環境では、ヒトの筋肉や骨が弱くなることが明らかにされているが、陸上植物の茎の細胞壁も微小重力下では力学的に弱くなる