

宇宙から識る植物科学

宮沢 豊¹, 曾我 康一²

¹ 山形大学理学部

〒990-8560 山形市小白川町 1-4-12

² 大阪市立大学大学院理学研究科

〒558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138

Advances in plant sciences using space environment

¹Yutaka Miyazawa, ²Kouichi Soga

¹Faculty of Science, Yamagata University,

1-4-12 Kojirakawa-machi, Yamagata-shi, Yamagata 990-8560, Japan

²Graduate School of Science, Osaka City University,

3-3-138 Sugimoto, Sumiyoshi-ku, Osaka 558-8585, Japan

Keywords: Graviresponse, Microgravity, Space experiment,
Space exploration, Space radiation

DOI: 10.24480/bsj-review.11a1.00173

有史以来、人類は宇宙を身近なものとして感じ、時には神秘的なものとして捉えてきた。人々は天体観測を通じて季節を知り、測量を行い、大洋上での自身の位置を特定した。航空技術が大きく発展した 20 世紀に、人類は遂に地球外の空間へとアプローチする手段を得ることとなり、宇宙は観測の対象から、その環境を理解して利用する対象へと拡がることとなった。このように古代より現代に至るまで、宇宙は「知識の宝庫」であり続け、科学的な観点のみならず文化的な観点からも人々の関心を集め続けていると言っても過言ではない。実際、我が国の多くの人々が、日本人宇宙飛行士の活躍や小惑星探査機「はやぶさ」のミッション成功に沸き立ったことは記憶に新しい。また、有人宇宙開発の時代も到来しつつあり、宇宙における持続的なヒトの活動を支える植物の重要性については論を俟たないであろう。それに関わらず、植物科学分野において、表に示すように宇宙環境を利用した基礎的研究が実施され、現在進行中の課題もあることはあまり知られていない。そこで、これまでに宇宙実験に従事されてこられた先生方を中心に、その成果と今後について議論し、考えることを主眼としたシンポジウムを企画することとした。幸い、日本植物学会第 83 回大会のシンポジウムとして本企画を採択いただき、2019 年 9 月 16 日に「宇宙から識る植物科学」と題したシンポジウムを開催することができた。講演いただいた先生方とシンポジウムに足を運んでくださった多くの方々のおかげもあり、非常に活発な議論が行われたことは、この研究分野への潜在的な興味と関心が企画者の想像以上に強いものであることを浮き彫りにしたと考えている。

Y. Miyazawa & K. Soga-1

表 主な植物の宇宙実験

実験テーマ	実施年 ^a	実験代表者 ^b
微小重力場における植物細胞の応答	1992	佐藤文彦(京都大)
宇宙環境下における植物の形態形成とオーキシンの極性移動に関する研究(BRIC-AUXIN)	1998	上田純一(大阪府大)
微小重力環境における高等植物の成長調節機構(BRIC-RICE)	1998	保尊隆享(大阪市大)
ウリ科植物の重力形態形成:キュウリ芽生えのペグ細胞の発達と重力感受機構(BRIC-PEG-T)	1998	高橋秀幸(東北大)
宇宙環境で生育する植物のストレス応答遺伝子発現(Plants-2)	2006	杉本 学(岡山大)
ISS 船外曝露種子の生存能力と遺伝子発現(Biorisk)	2007	杉本 学(岡山大)
植物の抗重力反応における微小管 - 原形質膜 - 細胞壁連絡の役割(Resist Wall)	2008	保尊隆享(大阪市大)
微小重力環境下におけるシロイヌナズナの支持組織形成に関わる遺伝子群の逆遺伝学的解析(Cell Wall)	2008	西谷和彦(東北大)
微小重力環境における高等植物の生活環(Space Seed)	2009	神阪盛一郎(富山大)
微小重力下における根の水分屈性とオーキシン制御遺伝子の発現(Hydro Tropi)	2010	高橋秀幸(東北大)
重力によるイネ芽生え細胞壁のフェルラ酸形成の制御機構(Ferulate)	2010	若林和幸(大阪市大)
植物の重力依存的成長制御を担うオーキシン排出キャリア動態の解析(CsPINs)	2011	高橋秀幸(東北大)
植物の抗重力反応機構-シグナル変換・伝達から応答まで(Resist Tubule)	2012	保尊隆享(大阪市大)
重力による茎の形態変化における表層微小管と微小管結合タンパク質の役割(Aniso Tubule)	2013	曾我康一(大阪市大)
植物細胞の重力受容の形成とその分子機構の研究(Plant Gravity Sensing)	2014	辰巳仁史(名古屋大)
植物における回旋転頭運動の重力応答依存性の検証(Plant Rotation)	2015	高橋秀幸(東北大)
宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解析(Auxin Transport)	2016	上田純一(大阪府大)
太陽光曝露種子の生存能力(EXPOSE-R2)	2016	杉本 学(岡山大)
宇宙におけるコケ植物の環境応答と宇宙利用(Space Moss)	2019	藤田知道(北海道大)
宇宙微小重力・高放射線環境ストレスに対する植物の応答解析	準備中	日出間 純(東北大)
食糧作物成長の重力応答解析と宇宙植物工場への応用	準備中	北宅善昭(大阪府大)

^a 実施開始年を示している。^b 実施時の所属を示している。

宇宙環境を利用した実験の魅力は、何と言っても地球上では実現することが難しい微小重力環境を長期間得られるところにある。とりわけ植物の成長運動や形態形成の重力応答性の研究においては、「微小重力環境」を「長期間」利用できるという要素は非常に重要である。この魅力を活用する実験として、当初は植物の重力応答依存的な形態形成機構の理解を目指すものが中心であった。2000年代に入ると、上述した実験に加え、宇宙放射線の植物生存に対する影響を評価する実験も実施されるようになり、現在ではそれらを総括した実験の準備へと展開している。これは、有人宇宙開発における植物の重要性を考えれば必然の流れと言えるかもしれない。

ありがたいことに、この度、日本植物学会電子出版委員会より総説集を出版する機会もいただくことができた。折角の機会であることから、より包括的な総説集とするべく日本植物学会第82回大会で開催されたシンポジウム「重力環境が変化した時、動植物はどのように変化し、適応するのか」において講演をされた先生からも寄稿いただくことについて提案したところ、承諾をいただくことができた。折しも、多くの宇宙実験を実施され、宇宙植物科学を牽引されてきた高橋秀幸教授、ならびに、保尊隆享教授が定年退職される年に刊行される本総説集は、現時点における日本発の宇宙植物科学の集大成となることを確信している。改めて本総説集の刊行にご尽力いただいた先生方に感謝申し上げるとともに、本総説集が「植物科学の最前線」にふさわしいものとして読者の皆様に受け入れられていただけることを心より願っている。

シロイヌナズナの重力受容の分子機構を探し求めて

辰巳 仁史

金沢工業大学・バイオ・化学部・応用バイオ学科

〒924-0838 石川県白山市八束穂 3-1

Mechanism for sensing the direction of gravity

Hitoshi Tatsumi

Department of Applied Bioscience, College of Bioscience and Chemistry, Kanazawa Institute of Technology, 3-1 Yatsukaho, Hakusan-shi, Ishikawa, 924-0838, Japan

Key words: Gravity, Mechanosensitive channel

DOI: 10.24480/bsj-review.11a2.00174

1. はじめに

重力受容の分子メカニズムの解明は宇宙において重力が関わる諸問題に対する回答の糸口を与えるだけでなく、地上における重力受容に関わる生命現象を理解し人類に役立てる意味でも大きな意義がある。シロイヌナズナを使った研究から植物個体の重力に対する方向を変えることで細胞内カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) が上昇することがわかった (Toyota *et al.* 2008b, 2013)。この反応は他の重力受容により生ずる植物の反応に比べて時間経過が早い (30 秒以内に反応が開始し数分で終了する) 現象であるので、高等植物における重力受容の初期過程を反映していると考えられる。重力方向の変化は細胞の歪みや細胞内小器官の偏在に強い影響を与えることが知られている。このような重力方向の変化による細胞の変形に対するセンサーとして最も有力な分子は機械刺激受容性 Ca^{2+} 透過チャネルである。その中でも Mca1 は重力受容に関わるチャネルの最も有力な候補である。ここでは、動物細胞で得られた重力応答や力応答を紹介しつつ、植物細胞で観察される重力応答について我々が行なった実験の一部を紹介する。また、実験事実から考えられる重力受容の細胞モデルについて述べる。

2. 重力受容の特徴

ヒトが地球上で立ったり座ったりしているときに、重力はヒトの体重(質量)に作用して、下向きの大きな力を生み出す。国際宇宙ステーションのような重力が小さい環境では、ヒトの体は宙に浮かぶ。ヒトの場合には重力の向きは前庭器官で感じ、回転は半規管で感じることができる。植物の場合には内皮細胞やコルメラ細胞が重力の向きを感じる細胞として分化したと考えられているが、どのようにして重力の向きやその変化を感じているかは、不明な点が多く残されている。これまでに我々はシロイヌナズナを用いて重力の応答を分析してきた (Iida *et al.* 2014, Tatsumi, 2011, 2014a, 2014b; Toyota *et al.* 2007, 2008a, 2008b, 2013)。ここでは、上記の植物細胞を用いて重力応答の研究に加えて、動物細胞で得られた知見も加えて植物細胞における重力応答の仕組みについて考える。

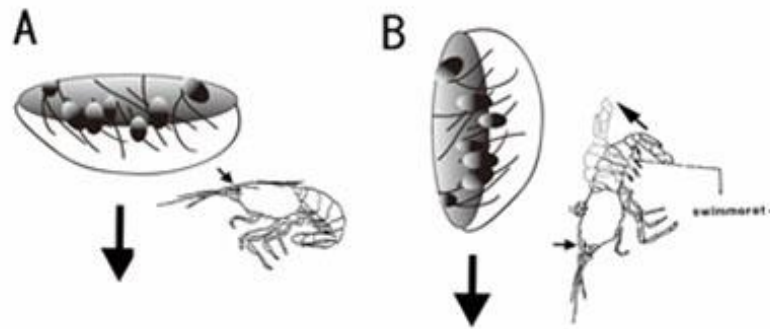


図 1. アメリカザリガニにおける重力受容器

感覚細胞に耳石が結合している。水平向き (A) と垂直向き (B) の時の重力受容と動物の反応。垂直向きで尾部の伸展と遊泳が起きる。大きい矢印は重力の向き。小さい矢印は平衡胞 (A) 腹部の姿勢変化を示す (B)。

甲殻類アメリカザリガニは平衡胞と呼ばれる重力受容装置をもつ。それは触覚の付け根にあるポケット状の袋であり平衡胞感覚毛が内側に生えている (図 1)。この袋には微細な砂粒 (耳石) が多数入っている。重力はこの砂粒に働き平衡胞感覚毛をたわませる。このたわみは平衡胞感覚毛の基部にある感覚受容細胞を興奮させる。これによりアメリカザリガニは重力方向の変化を感じ応答する (図 1 B) (Tatsumi *et al.*, 1985)。

このような平衡感覚毛の力学的な変形はどのようにして受容されているだろうか？細胞の変形は細胞の膜を歪ませ、結果的に膜の張力が変化する。また一方で、細胞の変形は細胞内骨格の変形を起し、細胞骨格内部にも張力を生じると考えられている。これら膜や細胞骨格に生じた張力は機械刺激受容チャネルに作用して機械刺激受容チャネルを活性化させると考えられている。

大腸菌には膜の張力を受容して開く機械受容チャネル (Mechanosensitive Channel, MSC) が知られている。大腸菌の機械受容チャネル蛋白質は精製することができ、それを人工的に作られた脂質二重膜に再構成することができる (Machiyama *et al.* 2009)。チャネルを含んだ人工膜をパッチクランプ用のピペット内部に吸い込み、そこに張力を発生させると MSC が開く (Machiyama *et al.* 2009, Sukharev *et al.* 1999)。これらの実験から膜の張力の上昇のみで MSC は活性化することが明らかになった。大腸菌の MSC 以外の MSC についても細胞膜の張力を変化させることで活性化が観察される。しかし、チャネルの精製と膜への再構成実験は一般的に技術的に難しい。そこで細胞を使った実験がおもに行われている。細胞の膜に張力をかけると膜が変形するので、膜近傍の細胞内骨格にも張力が発生しているので、MSC の活性化が膜の張力によるものか細胞骨格の張力作用によるものかを決定することは難しい。

動物細胞でよく研究されている機械刺激を受容する細胞は有毛細胞である。これまでの多数の研究から、有毛細胞の感覚毛はチップリンクと呼ばれる紐状の構造で結ばれている。この紐の先に MSC がつながっていて、有毛細胞へ力学負荷 (音や重力方向の変化による耳石による力の負荷) が起きると感覚毛が倒れて、感覚毛の間を結ぶチップリンクが引き伸ばされ、それによって生じた張力が MSC を活性化すると考えられている (図 2)。図 1 B のように重力の向きが変化して耳石に掛かる重力が感覚毛をたわませるようになると MSC が開き、重力受容が始まる。チップリンクを切断する薬物処理によって MSC の活性化が阻害されることから、チップリンクを介した MSC の活性化モデルが提出されている。

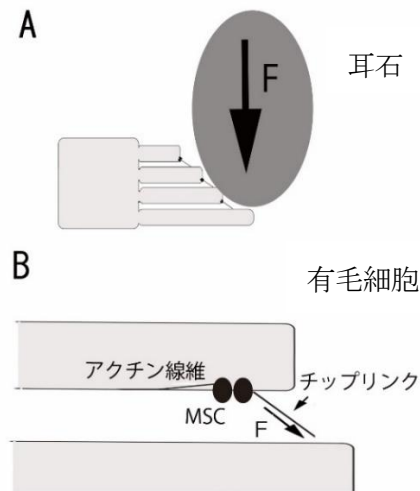


図2. 有毛細胞による重力受容

重力が耳石に作用して有毛細胞の毛先にある機械受容イオンチャンネルが開く。(A) 有毛細胞と耳石 (B) 有毛細胞の毛先はチップリンクと呼ばれるアクチン線維を含む繊維で結合している。毛先には機械受容イオンチャンネル(MSC)とそれに結合するチップリンクがある。耳石に重力が作用するとチップリンクに張力(矢印F)が生じ、MSCが活性化する。

3. アミロプラスト沈降による重力受容モデル

動物細胞の例に比べて植物の重力受容の分子レベルでの仕組みはまだ十分に解明されているわけではない。植物の重力受容の仕組みについてはいくつかの説が提案されている (Leitz *et al.* 2009, Wayne & Staves 1996)。

耳石は感覚毛に比べて大きく重いので、重力受容の装置を構成するには有用である。植物細胞にも耳石に対応するアミロプラストと呼ばれる比重の高い細胞内構造物がある。重力受容の有力な説の一つでは、このアミロプラストが重力にしたがって沈降し重力受容に関わっているとする。単純なモデル(図3)を考えると、アミロプラストの沈降はそれと結ばれている細胞内骨格系を介して機械刺激受容チャンネル(MSC)を活性化する。植物細胞の重力に対する方向が変化するとアミロプラストが重力により沈降し、機械刺激受容チャンネルに力が付加されて機械刺激受容チャンネルの活性化が起きる。この Ca^{2+} 濃度の上昇はさらに細胞内小器官からの Ca^{2+} の放出を起こすと我々は考えている (Toyota *et al.* 2013)。

一方で、アミロプラストの沈降によって生じる力(見積もり)が小さいことから(アミロプラストは耳石に比べると小さいため)、力学的な作用力が機械刺激受容チャンネルの活性化を起さないとする説もある。理論計算ではアミロプラストの沈降が生み出す力の大きさは大変小さく、100 nm の沈降で放出されるポテンシャルエネルギーは $9 \times 10^{-21} \text{J}$ (2kT) である (Wayne & Staves, 1996), このように小さい力が機械刺激受容チャンネルを活性化できるか今後検討を待たねばならない。ここで 2kT であることは熱雑音のレベルのエネルギー (kT) の二倍のエネルギーのやり取りで簡単にチャンネルが活性化すること(言い換えると、常に一部のチャンネルが活性化していること)を意味し、現実の重力受容のチャンネルの振る舞いとしては不自然である。すなわち重力受容チャンネルは重力の向きが変化しないときにはほぼ活性化しないことと矛盾する(図3A)。アミロプラストのER(小胞体)膜への接触が生化学的な反応を起こすと考えるのが自然かもしれない。

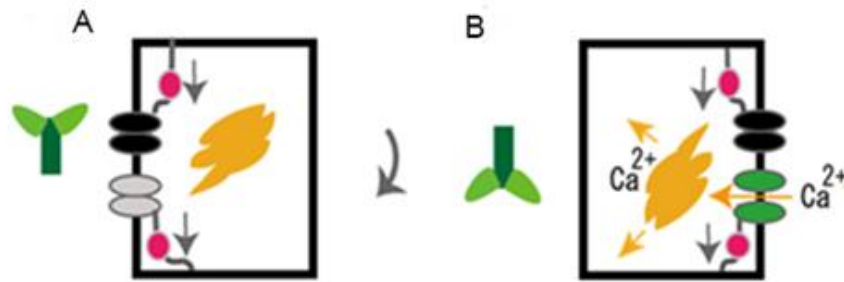


図3. 植物細胞における重力受容

(A) シロイヌナズナが花茎を上にして立っている場合には、重力がアミロプラスト(赤丸)に作用して細胞骨格の先に結合している MSC に作用するが MSC による力受容は短い時間で順応がおきて MSC は閉じている。熱的な揺らぎ(kT 程度)では活性化し開くことはない。(B) 植物体を180度回転して重力刺激を行うと、新たに MSC に力が作用して MSC(緑で示す)の活性化が起きて Ca^{2+} が細胞内に流れ込み結果的に細胞内の Ca^{2+} 濃度が上昇し、この Ca^{2+} による細胞内小器官からの Ca^{2+} の放出を起こす。

一方で我々はアクチン線維のわずかな張力上昇(1 pN)が MSC を活性化できることを示すことができ、数個のアミロプラストの沈降でも MSC の活性化は可能であると考えている(Hayakawa *et al.* 2008, Tatsumi *et al.* 2014a)。この論文の結果を踏まえるとおそらく MSC は力刺激に敏感に応答できるようにデザインされているのだろう。熱雑音などの影響で活性化しないようなデザインである。手袋をはめて暑い鍋蓋を開けるときの重力の作用で鍋蓋の重さは感じるが、熱は感じないような工夫を分子は行っているのかもしれない。

アミロプラスト耳石仮説では、植物個体の重力に対する方向を変えると機械刺激受容チャネルが活性化する(図3B)。MSC はさまざまなイオンを透過するタイプがあり、その中には Ca^{2+} 透過性のものもある。MSC の活性化に伴って細胞外から細胞内へ Ca^{2+} が流入する。 Ca^{2+} の細胞内への流入の結果、細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) が上昇する。エクオリン遺伝子導入されたシロイヌナズナを用いた実験から、植物個体の重力に対する方向を変えると(図4)細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) が上昇した(Toyota *et al.* 2013, Toyota *et al.* 2008b)。この反応は時間経過が早いので(30秒以内に反応が開始し、数分でほぼ反応は終了する)重力受容の初期過程を反映していると考えられる。この Ca^{2+} 濃度の上昇は機械刺激受容性 Ca^{2+} 透過チャネルの阻害剤であるガドリニウムやランタンの処理によって抑制を受けるので、機械刺激受容性 Ca^{2+} 透過チャネルが重力応答に関与していると考えられる。また、細胞内アクチン線維の脱重合を起こすサイトカラシンDで植物を処理した場合にも、重力応答の振幅が抑制される。これらの実験結果はアミロプラストの沈降はアクチン線維を介して機械刺激受容性 Ca^{2+} 透過チャネルを活性化するとする図3の仮説を支持するものであった。

一方で植物における重力刺激から Ca^{2+} 濃度の上昇の開始までには、10秒程度の時間がかかる。図5では重力加速度条件を変更して重力応答を調べた例である。重力応答は0.5 gから2 gの範囲で重力の大きさ依存的に大きくなった。一方で、応答の遅れ時間は10秒程度でほとんど変化しなかった。アミロプラストの沈降は重力で早くなるので、大きな重力環境では応答までの遅れ時間は短くなると予想されるが、遅れ時間は0.5–2gの重力変化でも不変であった。言い換えると、アミロプラストの沈降が起こす MSC の活性化は図5で見られる緩やかな Ca^{2+} 応答を起さないのだろう。

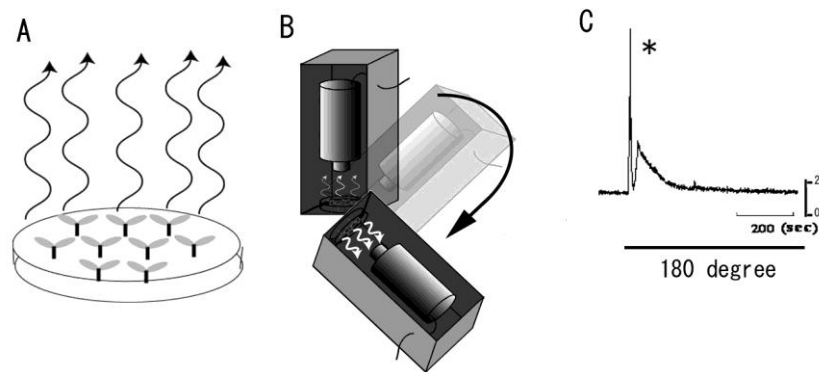


図4. シロイヌナズナの芽生えを用いた重力応答の計測

(A) Ca^{2+} 濃度上昇が起きるとエクオリンの発光が起きるように遺伝子導入した植物を用意する。(B) 植物体の回転と発光を計測する。(C) 実際に計測された Ca^{2+} 濃度上昇を示す発光。*は回転応答と考えられる Ca^{2+} 濃度上昇である。

我々は緩やかな重力応答は MSC の活性化に伴う小さな Ca^{2+} 濃度上昇が引き起こす細胞内からの大きな Ca^{2+} の放出によるものと考えている。 Ca^{2+} 誘導性 Ca^{2+} 放出機構は $0.5\text{--}2\text{ g}$ 程度の小さな重力変化では、影響を受けない。言い換えると、液中での生化学的な反応である Ca^{2+} 放出反応および反応の遅れ時間は重力の影響をあまり受けないのであろう。

重力刺激の直後の細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化を詳しく調べようとする、最初に現れる急峻な Ca^{2+} 応答(図4の*)が観察の邪魔になる。図6に示すパラボリックフライトによる微小重力環境を上手く使うことでこの問題を解決することができた(Toyota *et al.* 2013)。微小重力環境で植物を回転させると回転に応答して急峻な Ca^{2+} 応答(図6の小さい突起状の Ca^{2+} 応答)が記録される。その後で微小重力から 1.5g に重力加速度が変化するので、重力応答のみを記録することができた。そこから、重力刺激の直後に見られる小さい Ca^{2+} 濃度の上昇とそれに続くゆるやかで大きな Ca^{2+} 濃度の上昇が観察された。この実験結果は、緩やかな重力応答は Ca^{2+} 濃度上昇(図6で水平の矢印で示す)により惹起される細胞内からの Ca^{2+} の放出を支持した。

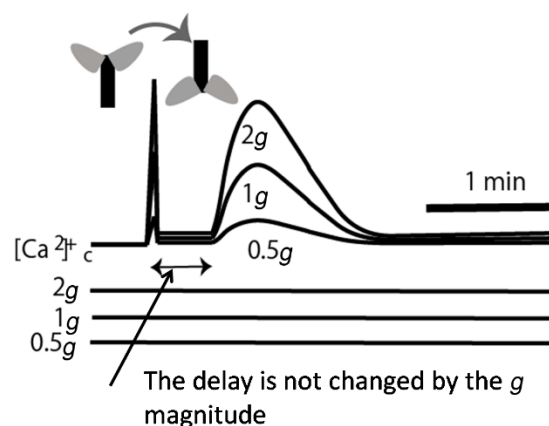


図5. さまざまな重力加速度条件下 ($0.5\text{--}2\text{g}$) でのシロイヌナズナの芽生えを用いた重力応答の計測の模式図

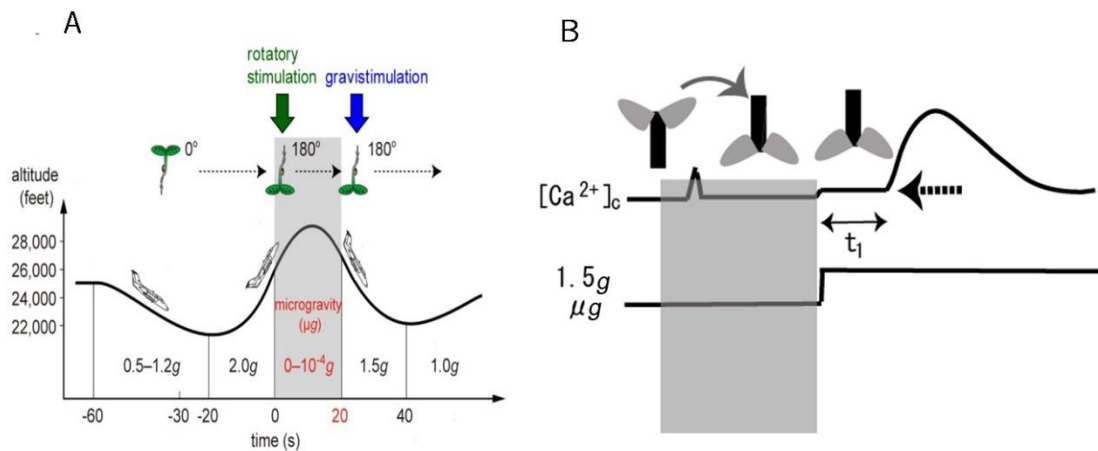


図6. パラボリックフライト下でのシロイヌナズナの芽生えを用いた重力応答の計測の模式図
A は実験の手順を示す。パラボリックフライトにより微小重力になった環境で植物を回転する。
その後の斜めフライトで 1.5g の加速度刺激を行う。B, A の手順で行った実験で得られるデータを模式的に示す。

現時点で考えられる重力受容の仕組みをまとめる。重力方向の変化はアミロプラストの新たな向きへの沈降を起こす(図3B)。これが機械受容 Ca^{2+} チャンネルの活性化を起こす。この活性化は早い過程で、重力の大きさに応じて変化する。この Ca^{2+} 濃度の上昇は Ca^{2+} 依存性の Ca^{2+} 放出機構を活性化し、緩やかな Ca^{2+} 濃度上昇が起きる。しかし、上記とは別の重力受容モデル(Leitz *et al.* 2009, Wayne & Staves 1996)でも実験データは説明が可能である。重力受容の仕組みについては今後も研究を続ける必要がある。

シロイヌナズナで見つかった機械刺激受容チャンネル Mca1 と 2 は重力受容に関与するチャンネルの候補であろう(Nakagawa *et al.* 2007)。我々は宇宙実験や地上での旋回腕過重力付加実験を実行して重力受容に関与するチャンネルの探査を続けている。

謝辞

本稿で紹介した研究成果の一部は、Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) の The Japan Experiment Module (JEM) utilization program の支援を受けて実施されました。また、ダイヤモンドエアーサービスおよび JAXA, 日本宇宙フォーラム, Advanced Engineering Services の皆様には実験遂行上に多大なサポートをいただき感謝します。

引用文献

- Hayakawa, K., Tatsumi, H., & Sokabe, M. 2008. Actin stress fibers transmit and focus force to activate mechanosensitive channels. *J. Cell Sci.* 121: 496-503.
- Iida, H., Furuichi, T., Nakano, M., Toyota, M., Sokabe, M., & Tatsumi, H. 2014. New candidates for mechanosensitive channels potentially involved in gravity sensing in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biol.* 16 S1: 39-42.

- Leitz, G., Kang, B.H., Schoenwaelder, M.E.A., & Staehelin, L.A. 2009. Statolith Sedimentation Kinetics and Force Transduction to the Cortical Endoplasmic Reticulum in Gravity-Sensing Arabidopsis Columella Cells. *Plant Cell* 21: 843-860.
- Machiyama, H., Tatsumi, H., & Sokabe, M. 2009. Structural Changes in the Cytoplasmic Domain of the Mechanosensitive Channel MscS During Opening. *Biophys J.* 97: 1048-1057.
- Nakagawa, Y., Katagiri, T., Shinozaki, K., Qi, Z., Tatsumi, H., Furuichi, T., Kishigami, A., Sokabe, M., Kojima, I., Sato, S., Kato, T., Tabata, S., Iida, K., Terashima, A., Nakano, M., Ikeda, M., Yamanaka, T., & Iida, H. 2007. Arabidopsis plasma membrane protein crucial for Ca^{2+} influx and touch sensing in roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104: 3639-3644.
- Sukharev, S.I., Sigurdson, W.J., Kung, C., & Sachs, F. 1999. Energetic and spatial parameters for gating of the bacterial large conductance mechanosensitive channel, MscL 2. *J.Gen.Physiol.* 113: 525-540.
- 辰巳仁史 2011. 植物細胞の重力受容装置の形成分化とその分子機構の研究. *JASMA.* 28: 62-66.
- Tatsumi, H., Furuichi, T., Nakano, M., Toyota, M., Hayakawa, K., Sokabe, M., & Iida, H. 2014a. Mechanosensitive channels are activated by stress in the actin stress fibres, and could be involved in gravity sensing in plants. *Plant Biol.* 16: 18-22.
- Tatsumi, H., Haragashira, M., & Suzuki, R. 1985. Interrelations between posture and locomotion in response to body rotation in crayfish. *J. Comp. Physiol. A.* 157: 509-517.
- Tatsumi, H., Toyota, M., Furuichi, T., & Sokabe, M. 2014b. Calcium mobilizations in response to changes in the gravity vector in Arabidopsis seedlings: Possible cellular mechanisms. *Plant Signal Behav.* 9: e29099
- Toyota, M., Furuichi, T., Sokabe, M., & Tatsumi, H. 2013. Analyses of a Gravistimulation-Specific Ca^{2+} Signature in Arabidopsis using Parabolic Flights. *Plant Physiol.* 163: 543-554.
- Toyota, M., Furuichi, T., Tatsumi, H., & Sokabe, M. 2007. Hypergravity stimulation induces changes in intracellular calcium concentration in Arabidopsis seedlings. *Adv.Space Res.* 39: 1190-1197.
- Toyota, M., Furuichi, T., Tatsumi, H., & Sokabe, M. 2008a. Critical consideration on the relationship between auxin transport and calcium transients in gravity perception of Arabidopsis seedlings. *Plant Signal Behav.* 3: 521-524.
- Toyota, M., Furuichi, T., Tatsumi, H., & Sokabe, M. 2008b. Cytoplasmic calcium increases in response to changes in the gravity vector in hypocotyls and petioles of Arabidopsis seedlings. *Plant Physiol.* 146: 505-514.
- Wayne, R., & Staves, M.P. 1996. A down to earth model of gravisensing or Newton's Law of Gravitation from the apple's perspective. *Physiol. Plant.* 98: 917-921.

微小重力環境における植物の成長と形態形成

保尊 隆享¹・曾我 康一¹・若林 和幸¹・神阪 盛一郎^{1,2}

¹大阪市立大学大学院理学研究科

〒558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138

²富山大学大学院理工学研究部

〒930-8555 富山市五福 3190

Growth and morphogenesis of plants under microgravity conditions

Takayuki Hoson¹, Kouichi Soga¹, Kazuyuki Wakabayashi¹, Seiichiro Kamisaka^{1,2}

¹Graduate School of Science, Osaka City University,

3-3-138 Sugimoto, Sumiyoshi-ku, Osaka 558-8585, Japan

²Graduate School of Science and Engineering, University of Toyama,

3190 Gofuku, Toyama 930-8555, Japan

Key words: Automorphogenesis, Cell wall, Microtubule,
Plant hormone, Space experiment

DOI: 10.24480/bsj-review.11a3.00175

1. はじめに

植物が効率的に生命活動を行うためには、適切な大きさと形を持つ必要があり、それを決定するしくみである成長と形態形成は、生活環全体の基盤となる生理過程であるといえる。植物の成長と形態形成は、他の生物の場合と同様に、遺伝的プログラムによって制御されている。植物では、同時に、周囲の環境によって強く影響されるという特徴がある。植物体を取りまく様々な環境要因の中で、地球上で最も安定しているのは重力である。特に陸上では、植物はいつも同じ方向から同じ大きさの重力ベクトルを受けている。植物は、そのような性質を持つ重力を最も信頼のおける基準情報として利用し、成長並びに形態形成過程を調節している。

成長や形態形成に対する重力の影響を解析するためには、重力を取り除いた環境下で植物を生育させて誘導される変化を調べることが効果的である。重力の持つ特性のうち、方向性の除去に関しては、クリノスタット(試料回転装置)が有効であり、1 世紀以上にわたって広く使用されてきた。私たちは、直交する 2 軸の回転系を持ち、試料を三次元的に回転させることができる 3-D クリノスタットを新たに開発し、植物の形態形成の解析に適用した(Hoson *et al.* 1992, 1997, Hoson 2014)。その結果、後述のように、様々な新知見が得られた。ただし、クリノスタットは重力の方向性のみを相殺する装置であり、重力を消失させたり、その大きさを変えることはできない。そのため、重力の大きさに依存する成長の過程は、3-D クリノ

表 1. 植物の成長と形態形成に関する宇宙実験(大阪市大)

OpNom	Theme	PI	Cultivation platform
RICE 	Growth regulation mechanisms in higher plants under microgravity conditions	Hoson, T.	BRIC, STS-95
Resist Wall 	Role of microtubule-membrane-cell wall continuum in gravity resistance in plants	Hoson, T.	EMCS, Columbus
Space Seed 	Life cycle of higher plants under microgravity conditions	Kamisaka, S.	CBEF, Kibo
Ferulate 	Regulation by gravity of ferulate formation in cell walls of rice seedlings	Wakabayashi, K.	CBEF, Kibo
Resist Tubule 	Mechanisms of gravity resistance in plants - From signal transformation and transduction to response	Hoson, T.	CBEF, Kibo
Aniso Tubule 	Roles of cortical microtubules and microtubule-associated proteins in gravity-induced growth modification of plant stems	Soga, K.	CBEF, Kibo

スタート上でも変化しなかった(Hoson *et al.* 1992, 1997)。一方、地上でも、自由落下やパラボリックフライトによって微小重力環境が設定できる。しかし、その持続時間は十数秒以下であり、成長過程に十分な変化を与えることは難しい。そこで、水浸法や遠心過重力が微小重力シミュレーションとして用いられてきたが、これらの手段により明らかにできることには限界があった(保尊 1999, Hoson & Soga 2003, Hoson 2014)。

以上のように、植物の成長と形態形成に対する重力の作用を解明するためには、真の微小重力環境である宇宙での生育実験が不可欠である。私たちは、今までに、スペースシャトルや国際宇宙ステーションを利用する機会を得て、表 1 に示す 6 テーマの宇宙実験を実施してきた。これらの実験の成果を中心にして、微小重力環境における植物の成長と形態形成の特徴、及びそのメカニズムについて紹介する。

2. 成長

水中では浮力のために物体にかかる重力の大きさを軽減でき、水浸法は地上で微小重力環境を長期間設定するための唯一の実用的な手段となっている。イネなどの水生植物を水中で生育させると、茎器官の伸長成長が著しく促進され、肥大成長が抑制された。この成長変化には、低酸素濃度やエチレンの蓄積などのガス性の要因が関わっているが、水に通気しても伸長成長促進が残ることから、微小重力もその原因の一つとなっていると考えられる(保尊 1999, Hoson 2014)。一方、微小重力とは逆の過重力環境は、遠心分離機によって比較的容易につくり出せる。そこで、様々な植物の成長に対する過重力の影響を調べたところ、重力の大きさに応じて、伸長成長が抑制され、肥大成長が促進されることが明らかになった。また、植物は過重力に対してかなりの抵抗能力を持ち、伸長成長速度を半減させるのには数十～数百 *g* 程度が必要であった(保尊 1999, Hoson & Soga 2003)。

水中及び遠心過重力環境下における成長解析の結果より、真の微小重力環境である宇宙では伸長成長が促進されることが予想される。しかし、1967 年の Biosatellite II 以来の宇宙実験の結果を見ると、成長促進ばかりでなく、逆の成長抑制、あるいは影響なし、と一定の傾向が見られなかった。その主な原因は、以下のような宇宙実験特有の操作上の問題にあった(保尊 1999, Hoson & Soga 2003, Hoson 2014)。①温度：微小重力環境では対流がないため、温度が均一化するのに時間がかかり、冷蔵庫から室温に移した試料が長時間低温に曝されていた。また、多くの実験で生育環境の温度データが大雑把で、1g 対照と微小重力試料との厳密な比較が困難であった。②水：微小重力環境では、水の存在状態が変化するため、種子の吸水及び発芽が遅れるが、この点が無視されていた。③光：光と重力は伸長成長に同様な効果をもたらす、そのメカニズムのかかなりの部分が重複している(Hoson 1999)が、光条件について十分考慮されていなかった。

そこで、RICE 実験では、これらの点を十分に考慮して、地上 1g と宇宙の微小重力下とを比較した。その結果、微小重力環境では、シロイヌナズナ胚軸並びにイネ幼葉鞘の伸長成長が促進されることが確認された(図 1)(Hoson *et al.* 2002, Soga *et al.* 2002)。イネ根の成長も、微小重力下で促進された(Hoson *et al.* 2003)。微小重力環境におけるシロイヌナズナ芽ばえの成長促進は、他のグループによる宇宙実験でも確認された(Matia *et al.* 2010)。また、Aniso Tubule 実験において、微小重力環境では、シロイヌナズナ胚軸の伸長成長の促進とともに、肥大成長の抑制がもたらされることが示された(Soga *et al.* 2018b)。さらに、前述の③の性質により、光強度の増加にともなって微小重力による伸長促進効果が減少することが予想されるが、Space Seed 実験及び Resist Tubule 実験において、矮性形質を示す変異体では、明所で長期間生育したシロイヌナズナ花茎でも成長が促進されることが明らかになった(Hoson *et al.* 2014, 2018)。

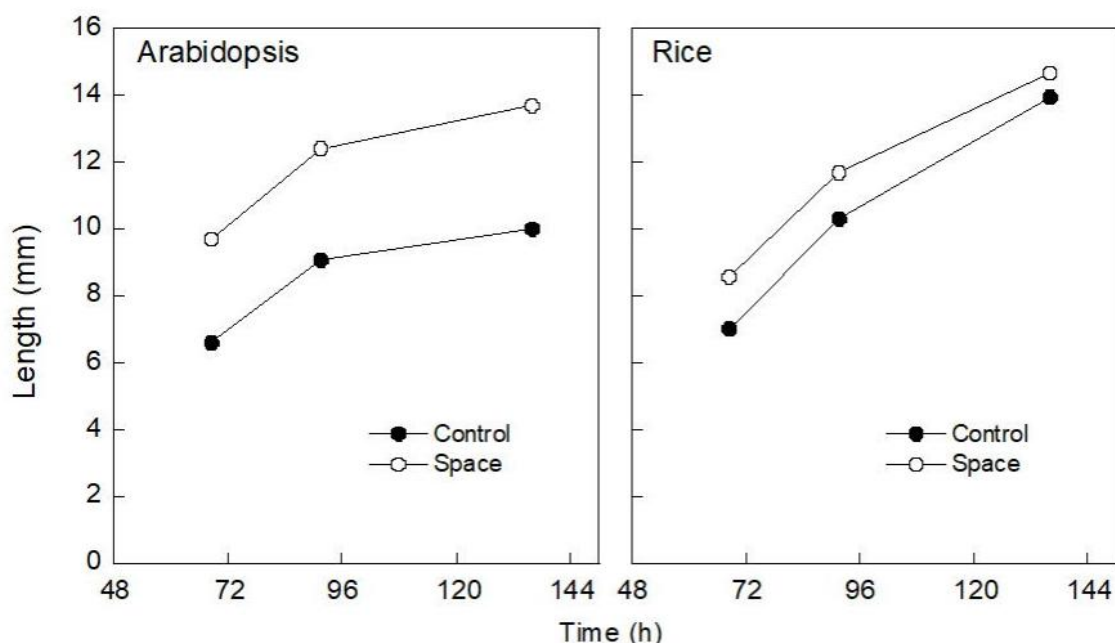


図 1. 微小重力環境におけるシロイヌナズナ胚軸とイネ幼葉鞘の成長

3. 成長促進のメカニズム

3-1. 細胞壁

植物の成長を最も直接的に規定しているのは、力学的強度に優れた細胞壁である。また、細胞壁は、地上 $1g$ の重力に抗して植物体を支える働きを担っているため、重力環境の違いによる成長変化には細胞壁が関わる可能性が高いと考えられる。実際、水中でイネ幼葉鞘の伸長成長が促進される時、細胞壁は非常に柔らかく伸びやすい性質を持っていた(保尊 1999, Hoson & Wakabayashi 2015)。逆に、過重力環境下で様々な植物の芽ばえの伸長成長が抑制される時には、細胞壁がかたくなり伸展性が低下した(保尊 1999, Hoson & Soga 2003, Soga 2013, Hoson & Wakabayashi 2015)。また、細胞壁伸展性の変化は、特に可塑的(不可逆的)な性質によるものであった。

地上実験の結果より、宇宙の真の微小重力環境では、細胞壁代謝が変化し、細胞壁が柔らかく伸びやすくなることが予想される。しかし、従来の宇宙実験で植物細胞壁の物性を測定した例はなく、細胞壁構成成分についても予備的な分析の報告がわずかにあるだけであった。そこで、私たちが行った 6 テーマの宇宙実験では、細胞壁の力学的及び化学的性質の解析に集中して取り組んだ。

宇宙の微小重力下で生育したシロイヌナズナ芽ばえの細胞壁物性を詳細に解析したところ、基本的に $1g$ 対照と同様の性質を示し、微小重力環境でも細胞壁構築が正常になされていることが示された(保尊 2003, Hoson *et al.* 2009)。そこで、両環境で生育した植物を比較すると、図 2 に示すように、微小重力環境で生育したシロイヌナズナ胚軸及びイネ幼葉鞘の細胞壁は、柔らかく伸びやすい性質を持つことが明らかになった(Hoson *et al.* 2002, Soga *et al.* 2002)。また、このような細胞壁物性の変化は、ほとんどが可塑的な性質によるものであった(保尊 2003)。微小重力環境で生育したイネ幼葉鞘の細胞壁が伸びやすくなるという結果は、

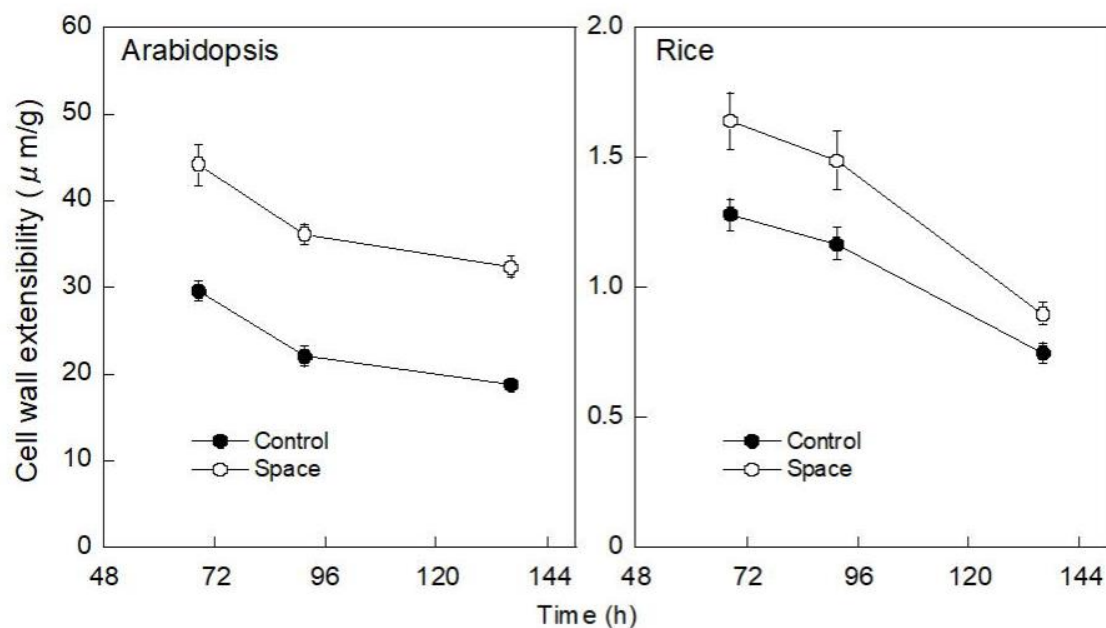


図 2. 微小重力環境で生育したシロイヌナズナ胚軸とイネ幼葉鞘の細胞壁伸展性

応力緩和法による解析でも確認された(Wakabayashi *et al.* 2015)。さらに、明所で長期間生育したシロイヌナズナ花茎でも、微小重力環境下では細胞壁伸展性が増加することが明らかになった(Hoson *et al.* 2014, 2018)。

植物細胞壁は、骨格に相当するセルロース繊維と、セルロース間を埋めているマトリックス、そして多糖間に架橋するフェノールや構造的タンパク質から構成される。宇宙の微小重力環境で生育した植物では、図3に示すように、細胞壁構成成分の代謝に広範な変化がおこっていた(Hoson & Wakabayashi 2015)。様々な試料に共通する変化として、微小重力環境では、単位長さ当たりの細胞壁多糖レベル、すなわち厚みの減少が起きていることがわかった。芽ばえなどの若い組織ではキシログルカンなどのマトリックス多糖、一方、成熟組織である花茎基部はセルロース量の減少が顕著であった。また、シロイヌナズナ胚軸では、キシログルカンの低分子化及びキシログルカン分解活性の上昇(Soga *et al.* 2002)、イネ幼葉鞘では、(1→3),(1→4)- β -グルカンの低分子化(Hoson *et al.* 2002)並びにフェノールを介した架橋形成の抑制(Wakabayashi *et al.* 2015)が認められた。さらに、マイクロアレイ及びRNAseq解析により、微小重力環境では、細胞壁代謝変化の原因となる遺伝子発現レベルの変化が起きていることがわかった(Hoson *et al.* 2014, 2018, Wakabayashi *et al.* 2015)。これらの様々な変化が統合され、細胞壁が柔らかく伸びやすく保たれるものと考えられる。

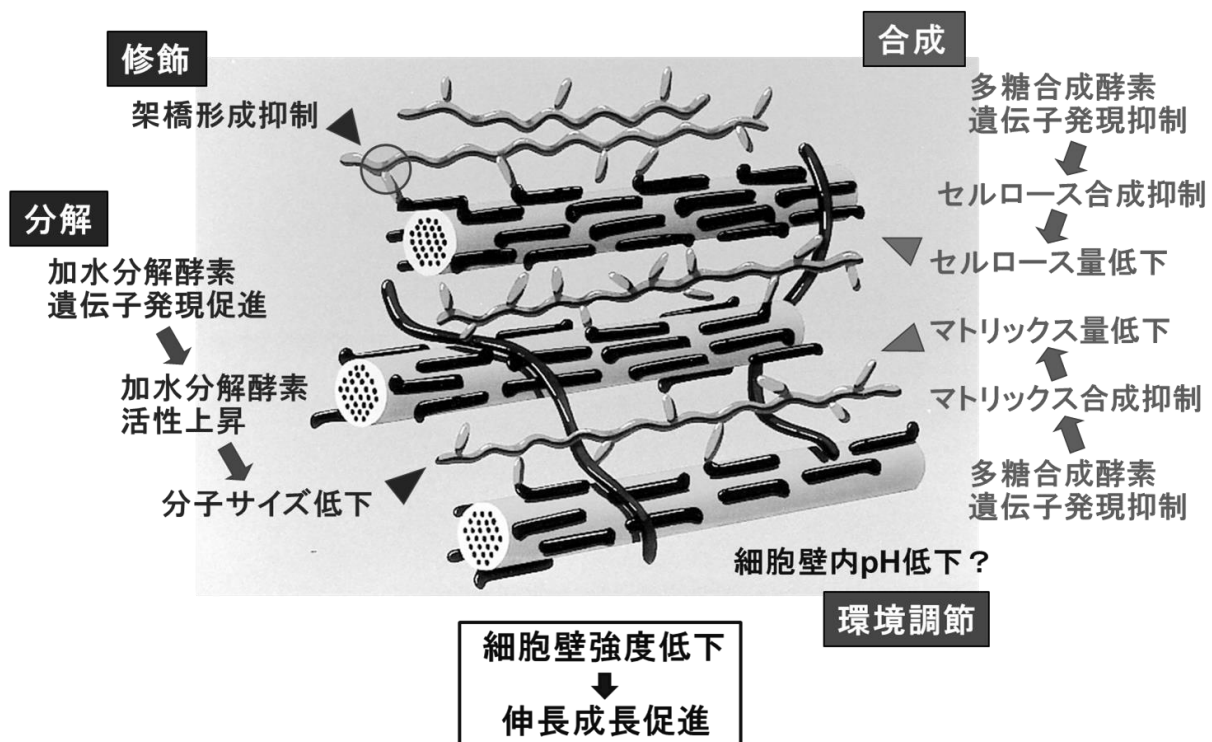


図3. 微小重力環境における細胞壁変化

3-2. 表層微小管

植物細胞の成長方向は、細胞壁中のセルロース繊維の配向によって決定されるが、その配向はさらに表層微小管によって制御されている。過重力環境下では、伸長成長が抑制されるとともに肥大成長が促進され、逆に、微小重力環境では、伸長成長の促進と肥大成長の抑制がもたらされることから (Soga *et al.* 2018a)、重力環境に応じた成長変化には表層微小管が関わるものと考えられる。表層微小管の性質に関わる過重力の影響を解析したところ、細胞短軸に平行な(横向きの)微小管の割合の減少、並びに細胞短軸と直角な(縦向きの)微小管の増加がもたらされることが示された (Soga *et al.* 2006)。また、微小管を横向きに維持するはたらきを持つ微小管結合タンパク質である MAP65-1 のタンパク質レベルが過重力により減少した (Murakami *et al.* 2016)。さらに、過重力下では、チューブリン遺伝子の発現が上昇し (Matsumoto *et al.* 2007)、チューブリン変異体のねじれ形質が強くなる (Matsumoto *et al.* 2010) ことも明らかになった。そこで、宇宙実験において、微小重力環境における微小管動態を解析した。

シロイヌナズナ胚軸の表皮細胞では、表層微小管の配向が細胞ごとにおおむね揃っていることから、細胞を横(T)、斜め(O)、縦(L)そして、ランダムな向きの表層微小管を持つものの4通りにわけ、その割合を算出した。その結果、図4のように、横向きの微小管の割合が増加し、縦向きの微小管の割合が減少することが明らかになった (Soga *et al.* 2018b)。また、細胞短軸に対する表層微小管の角度を測定したところ、微小重力環境では角度が低下した。さらに、MAP65-1 のタンパク質レベルが微小重力環境において増加した。また、チューブリン遺伝子の発現低下、並びにチューブリン変異体の矮性形質の回復が認められた (Hoson *et al.* 2014, 2018)。これらの変化は、過重力環境下で見られたものと正反対であった。これらの結果から、微小重力環境では、チューブリンのレベルが低下するとともに、MAP65-1 のレベルが増加し、横向きから縦向きへの表層微小管の配向変化が抑制されるため、茎器官の伸長成長が長期間維持されることが示唆された。

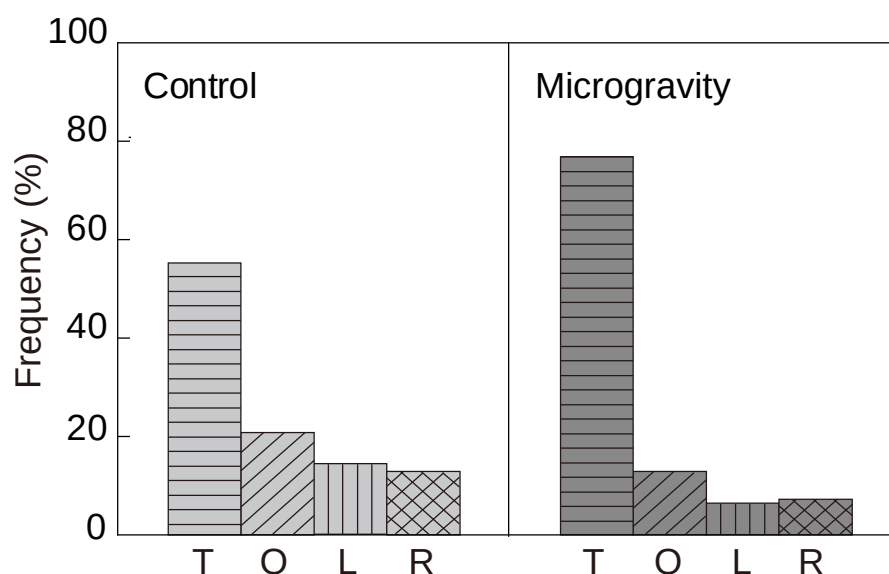


図4. 微小重力環境で生育したシロイヌナズナ胚軸の表層微小管配向

3-3. 植物ホルモン

以上で示した細胞壁の特性や表層微小管の配向の制御には、植物ホルモンが深く関わっている。しかし、従来の宇宙実験では、トウモロコシ芽ばえにおけるオーキシシン及びアブシシン酸の定量(Schulze *et al.* 1992)を除いて、植物ホルモンレベルの研究例は見られなかった。そこで、Ferulate 実験では、イネ芽ばえを試料として、理研の高分解能質量分析装置を用いた植物ホルモンレベルの網羅的解析を行った。その結果、宇宙の微小重力環境下でも、主要な植物ホルモンのレベルやプロファイルには大きな変化は起こらないことが初めて明らかになった(Wakabayashi *et al.* 2017)。この結果は、予想外のものであったが、逆に、微小重力環境下でも植物の成長を維持するメカニズムが正常に働くことを示している。また、同じ宇宙実験の遺伝子発現解析により、オーキシシン及びエチレン代謝の一部に変化が起きていることが示唆された(Wakabayashi *et al.* 2017)。なお、オーキシシンの極性移動に対する微小重力の影響に関しては、本シリーズの宮本らによる総説(宮本ら 2020)を参照されたい。

4. 形態形成

4-1. 成長方向の変化

前項で示した植物細胞の成長方向の変化は、微小重力環境でおこる形態形成の主な特徴の1つである。植物は、一般に、環境シグナルが強くなったり、ストレス状態に曝されると、伸長成長を抑制し、肥大成長を促進する。これは、不利な環境に耐えるためのしくみであると考えられる。重力に関しても同様であり、地上の1gの下では重力に対抗するための形態を構築していた植物が、宇宙の微小重力環境ではその圧力から解放され、よりスリムな形に変化するものと理解することができる。

4-2. 自発的形態形成

微小重力環境における植物のもう1つの特徴的な形づくりが、自発的形態形成である。3-D クリノスタット上で芽ばえを生育させると、その形態が大きく変化した(Hoson *et al.* 1992, 1997, Hoson 2014)。一般に、シュートは種子の軸から傾いた向きに成長するとともに、成長部域で背腹性に基づく自発的な屈曲を示した。一方、根は、原基の先端方向に沿って成長を始めるが、やがてランダムな向きに成長するようになった。シュート器官の成長方向や自発的屈曲の向き、根がランダム方向への成長を始めるタイミングは、種や器官によって様々であった。また、自発的屈曲や成長方向のランダム性は若い時期に明瞭であり、齢の進行に伴って減少した。シュート器官の自発的屈曲は、従来の1軸クリノスタットを用いた研究でも報告されてきたが、3-D クリノスタットを導入することによって、回転そのものの影響を除去し、より一般化、詳細化することができた。なお、自発的屈曲は、*automorphic curvature*, *spontaneous curvature*, *nastic curvature*, *autotropism* など様々な名称で呼ばれてきたが、成長方向の変化と合わせて、自発的形態形成(*automorphogenesis* または *automorphosis*)として再定義した。

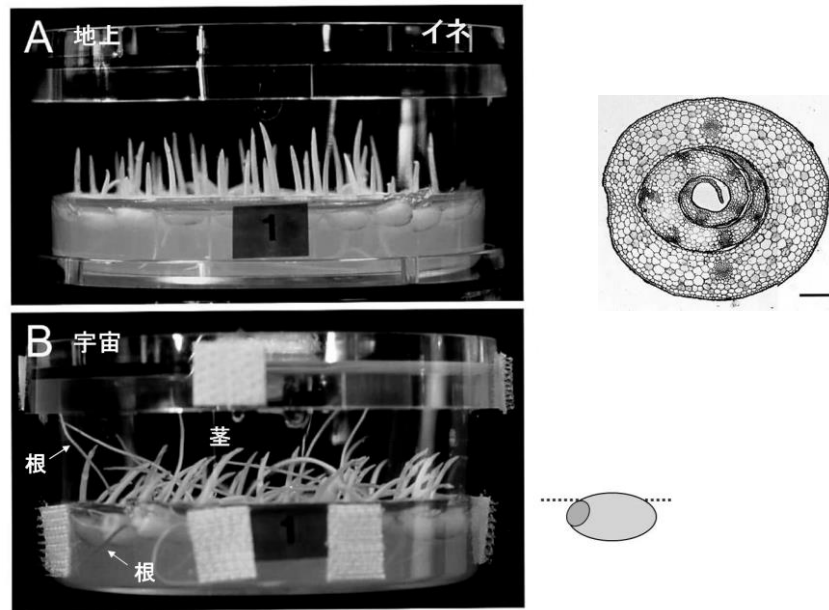


図5. 地上及び微小重力環境で生育したイネ芽ばえ

植物が真の微小重力環境でも自発的形態形成を行うかどうか、宇宙実験により検証した (Hoson *et al.* 1999, Hoson 2014)。図5は、RICE 実験において、地上及び宇宙軌道上で生育したイネ芽ばえである。イネ幼葉鞘は、地上では重力ベクトルに沿って上方にほぼまっすぐに成長したのに対して、宇宙では図の右寄りに自発的に屈曲した。この実験では穎果は胚が左側に位置するように培地上に横たえられており、屈曲は穎果に近づく向き、すなわち向軸方向に起こったことになる。一方、イネ根は、地上では培地中を下方に向かって成長したのに対して、宇宙では様々な方向へ成長し、全体の約 20%は培地から飛び出して空中に向かって伸びた。このような芽ばえの形態は、3-D クリノスタット上で観察されたものと一致しており、真の微小重力環境下でも自発的形態形成を行うことが確認された。自発的形態形成は、他の宇宙実験でも報告されている (Heathcote *et al.* 1995, Ueda *et al.* 1999, Wakabayashi *et al.* 2015)。

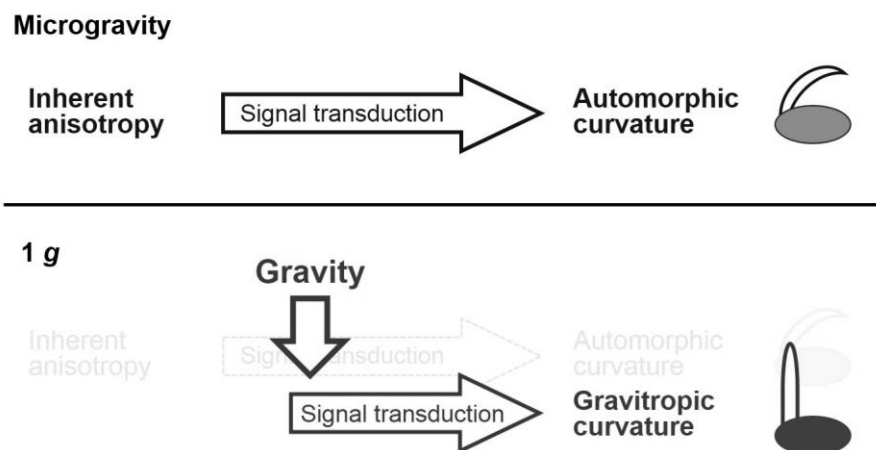


図6. 微小重力環境におけるイネ幼葉鞘の自発的屈曲のメカニズム

自発的形態形成の中で、幼葉鞘の自発的屈曲については、そのメカニズムが明らかになった。幼葉鞘は、葉が変形して筒状となった器官であり、構造的な背腹性が認められる。成長初期のイネ幼葉鞘では、背軸側の細胞は向軸側より小さく、本来、より高い成長能力を持っている(図5右)。実際、背軸側の細胞壁伸展性は向軸側より大きく、細胞壁多糖のレベルや分子サイズにもそれと見合う違いが認められた(Hoson *et al.* 2004)。また、背軸側の表皮細胞では、細胞短軸に平行な表層微小管の割合が高かった(Saiki *et al.* 2005)。以上の結果より、イネ幼葉鞘は本来、背軸側の成長速度が大きい特性を持っており、外部からの刺激がない微小重力環境下では、向軸側への自発的屈曲を示すが、地上では、重力ベクトルの存在により上方への成長を強いられているものと理解できる(図6)。なお、自発的形態形成とオーキシン極性移動の関係については、本シリーズの宮本らによる総説(宮本ら 2020)を参照されたい。

5. おわりに

宇宙実験の結果、微小重力環境で植物は、自発的屈曲を伴う柔らかく細長い体を形成し、その変化には、細胞壁代謝と微小管配向の変化が深く関わっていることがわかった。重力は、地球上で最も安定した環境要因であり、ふだん他の要因ほどはその影響が注目されないが、実際には強いシグナル、ストレッサーとして作用しており、植物は宇宙ではそのくびきから開放され、本来持っている特性を表すものと理解される。また、このような微小重力環境での植物の成長や形態には、植物が数億年前に陸に上がる以前の特徴と類似点があり、植物は数億年間、重力の影響が少ない環境を記憶していたということもできる。宇宙実験により、植物が持つ柔軟性や高い環境適応能力が改めて明らかになった。

宇宙の微小重力環境で生育した植物の成長と形態は、1g 下で生育したより若い植物が示す形質と概ね一致した。また、本稿では述べなかったが、微小重力環境では生殖成長や老化過程の抑制が認められた。これらの結果を総合すると、宇宙の微小重力環境では、植物体が若い齢に保たれ、栄養成長が長期間継続することが示唆される。現在構想されている月面や火星での人類の持続的宇宙活動には、食料供給と環境の維持・浄化を担う植物の効率的な栽培が不可欠であり、このような宇宙実験の成果を最大限取り入れることが重要である。

謝辞

本稿で紹介した6テーマの宇宙実験に携わった多くの共同研究者や研究室のメンバーに深く感謝する。また、宇宙実験の機会を提供し、その実施に当たってご尽力とご支援をいただいた JAXA (NASDA)をはじめとする関連機関の皆さん、特に、以下の宇宙飛行士の方々に、心からの謝意を表す: Chiaki Mukai, Garrett Reisman, Nicole Stott, Tracy Caldwell Dyson, Steve Swanson, Akihiko Hoshida, Karen Nyberg, Koichi Wakata, Terry Virts, Samantha Cristoforetti。

引用文献

Heathcote, D.G., Chapman, D.K., & Brown, A.H. 1995. Nastic curvatures of wheat coleoptiles that develop in true microgravity. *Plant Cell Environ.* 18: 818-822.

- Hoson, T., Kamisaka, S., Masuda, Y., & Yamashita, M. 1992. Changes in plant growth processes under microgravity conditions simulated by a three-dimensional clinostat. *Bot. Mag.* 105: 53-70.
- Hoson, T., Kamisaka, S., Masuda, Y., Yamashita, M., & Buchen, B. 1997. Evaluation of the three-dimensional clinostat as a simulator of weightlessness. *Planta* 203: S187-S197.
- Hoson, T. 1999. Interaction of gravity with other environmental factors in growth and development: an introduction. *Adv. Space Res.* 23: 1971-1974.
- Hoson, T., Soga, K., Mori, R., Saiki, M., Wakabayashi, K., Kamisaka, S., Kamigaichi, S., Aizawa, S., Yoshizaki, I., Mukai, C., Shimazu, T., Fukui, K. & Yamashita, M. 1999. Morphogenesis of rice and Arabidopsis seedlings in space. *J. Plant Res.* 112: 477-486.
- 保尊隆享 1999. 微小重力環境における植物の成長と形態形成. 植物の化学調節 34: 226-235.
- Hoson, T., Soga, K., Mori, R., Saiki, M., Nakamura, Y., Wakabayashi, K. & Kamisaka, S. 2002. Stimulation of elongation growth and cell wall loosening in rice coleoptiles under microgravity conditions in space. *Plant Cell Physiol.* 43: 1067-1071.
- Hoson, T. & Soga, K. 2003. New aspects of gravity responses in plant cells. *Int. Rev. Cytol.* 229: 209-244.
- Hoson, T., Soga, K., Wakabayashi, K., Kamisaka, S., & Tanimoto, E. 2003. Growth and cell wall changes in rice roots during spaceflight. *Plant Soil* 255: 19-26.
- 保尊隆享 2003. 宇宙環境における細胞壁変化. 日本バイオレオロジー学会誌 17: 87-91.
- Hoson, T., Soga, K., Mori, R., Saiki, M., Nakamura, Y., Wakabayashi, K., & Kamisaka, S. 2004. Cell wall changes involved in the automorphic curvature of rice coleoptiles under microgravity conditions in space. *J. Plant. Res.* 117: 449-455.
- Hoson, T., Matsumoto, S., Soga, K., Wakabayashi, K., Hashimoto, T., Sonobe, S., Muranaka, T., Kamisaka, S., Kamada, M., Omori, K., Ishioka, N. & Shimazu, T. 2009. Growth and cell wall properties in hypocotyls of Arabidopsis *tua6* mutant under microgravity conditions in space. *Biol. Sci. Space* 23: 71-76.
- Hoson, T. 2014. Plant growth and morphogenesis under different gravity conditions: Relevance to plant life in space. *Life* 4: 205-216.
- Hoson, T., Soga, K., Wakabayashi, K., Hashimoto, T., Karahara, I., Yano, S., Tanigaki, F., Shimazu, T., Kasahara, H., Masuda, D., & Kamisaka, S. 2014. Growth stimulation in inflorescences of an Arabidopsis tubulin mutant under microgravity conditions in space. *Plant Biol.* 16 (S1): 91-96.
- Hoson, T. & Wakabayashi, K. 2015. Role of the plant cell wall in gravity resistance. *Phytochemistry* 112: 84-90.
- Hoson, T., Murakami, M., Kato, S., Tanimura, Y., Mabuchi, A., Soga, K., Wakabayashi, K., Hashimoto, H., Higashibata, A., Yano, S., Matsumoto, S., Kasahara, H., Osada, I., Kamada, M., Yamazaki, C., Shimazu, T., Muranaka, T. & Hashimoto, T. 2018. Mechanisms of plant resistance to 1 g gravity - the analysis by the Resist Tubule space experiment. *42nd COSPAR Scientific Assembly* F1.1-0006.

- Matia, I., Gonzalez-Camacho, F., Herranz, R., Kiss, J.Z., Gasset, G., van Loon, J.J., Marco, R., & Medina, F.J. 2010. Plant cell proliferation and growth are altered by microgravity conditions in spaceflight. *J. Plant Physiol.* 167: 184-193.
- Matsumoto, S., Saito, Y., Kumasaki, S., Soga, K., Wakabayashi, K. & Hoson, T. 2007. 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.
- Matsumoto, S., Kumasaki, S., Soga, K., Wakabayashi, K., Hashimoto, T. & Hoson, T. 2010. Gravity-induced modifications to development in hypocotyls of Arabidopsis tubulin mutants. *Plant Physiol.* 152: 918-926.
- 宮本健助, 岡真理子, 鎌田源司, 上田純一 2020. 植物の自発的形態形成とオーキシン動態－ISS 宇宙実験を中心として－. *BSJ Review* 11A5: 47-59.
- Murakami, M., Soga, K., Kotake, T., Kato, T., Hashimoto, T., Wakabayashi, K. & Hoson T. 2016. Roles of MAP65-1 and BPP1 in gravity resistance of Arabidopsis hypocotyls. *Biol. Sci. Space* 30: 1-7.
- Saiki, M., Fujita, H., Soga, K., Wakabayashi, K., Kamisaka, S., Yamashita, M. & Hoson, T. 2005. Cellular basis for the automorphic curvature of rice coleoptiles on a three-dimensional clinostat: Possible involvement of reorientation of cortical microtubules. *J. Plant Res.* 118: 199-205.
- Schulze, A., Jensen, P.J., Desrosiers, M., Buta, J.G., & Bandurski, R.S. 1992. Studies on the growth and indole-3-acetic acid and abscisic acid content of *Zea mays* seedlings grown in microgravity. *Plant Physiol.* 100: 692-698.
- Soga, K., Wakabayashi, K., Kamisaka, S. & Hoson, T. 2002. Stimulation of elongation growth and xyloglucan breakdown in Arabidopsis hypocotyls under microgravity conditions in space. *Planta* 215: 1040-1046.
- Soga, K., Wakabayashi, K., Kamisaka, S. & Hoson, T. 2006. Hypergravity induces reorientation of cortical microtubules and modifies growth anisotropy in azuki bean epicotyls. *Planta* 224: 1485-1494.
- Soga, K. 2013. Resistance of plants to gravitational force. *J. Plant Res.* 126: 589-596.
- Soga, K., Wakabayashi, K. & Hoson, T. 2018a. Growth and cortical microtubule dynamics in shoot organs under microgravity and hypergravity conditions. *Plant Signal. Behav.* 13: e1422468.
- Soga, K., Yamazaki, C., Kamada, M., Tanigawa, N., Kasahara, H., Yano, S., Kojo, K.H., Kutsuna, N., Kato, T., Hashimoto, T., Kotake, T., Wakabayashi, K. & Hoson, T. 2018b. Modification of growth anisotropy and cortical microtubule dynamics in Arabidopsis hypocotyls grown under microgravity conditions in space. *Physiol. Plant.* 162: 135-144.
- Ueda, J., Miyamoto, K., Yuda, T., Hoshino, T., Fujii, S., Mukai, C., Kamigaichi, S., Aizawa, S., Yoshizaki, I., Shimazu, T., & Fukui, K. 1999. Growth and development, and auxin polar transport in higher plants under microgravity conditions in space: BRIC-AUX on STS-95 space experiment. *J. Plant Res.* 112: 487-492.

- Wakabayashi, K., Soga, K., Hoson, T., Kotake, T., Yamazaki, T., Higashibata, A., Ishioka, N., Shimazu, T., Fukui, K., Osada, I., Kasahara, H. & Kamada, M. 2015. Suppression of hydroxycinnamate network formation in cell walls of rice shoots grown under microgravity conditions in space. *PLoS ONE* 10: e0137992.
- Wakabayashi, K., Soga, K., Hoson, T., Kotake, T., Kojima, M., Sakakibara, H., Yamazaki, T., Higashibata, A., Ishioka, N., Shimazu, T. & Kamada, M. 2017. Persistence of plant hormone levels in rice shoots grown under microgravity conditions in space: its relationship to maintenance of shoot growth. *Physiol. Plant.* 161: 285-293.

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

高橋 秀幸

東北大学大学院生命科学研究科
〒980-8577 仙台市青葉区片平 2-1-1

**Space-utilizing investigation of plant functions:
The regulatory mechanisms for peg formation in cucumber seedlings,
root hydrotropism, and circumnutational movement**

Hideyuki Takahashi

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University,
2-1-1 Katahira, Aoba-ku, Sendai 980-8577, Japan

Key words: Auxin, CsPINs, Gravimorphogenesis, Microgravity, MIZU-KUSSEI1 (MIZ1)

DOI: 10.24480/bsj-review.11a4.00176

1. はじめに

地球生命は、進化の過程で、地球重力を成長・姿勢制御に利用する能力を獲得した。とりわけ、陸地環境に進出して生活するようになった生物にとって、重力はストレスにも、成長を制御する外的要因にもなった。中でも、植物は傾けられるか横倒しになると、重力屈性によって茎葉を上、根を下に屈曲しながら伸ばすことが、古くから知られている。植物の重力を感知して形態を変化させる能力は、固着性の植物が様々な環境下で生存するために重要である。重力屈性の発現様式は植物種や器官によって多様であるが、同じ重力に応答してそれぞれにとって適切で異なる方向に伸ばす仕組みは、植物学研究者を魅了してきた。

植物ホルモンとして最初にオーキシンが見出されて、オーキシンの不均等分布が偏差成長・屈性を誘導するという Cholodny-Went 説が提唱された (Went & Thimann 1937)。重力屈性では、横になった茎葉や根の下側にオーキシンが多く蓄積し、それが地上部と地下部のオーキシン感受性の違いによって、茎葉を上側に、根を下側に屈曲伸長させる原因であると考えられた。長い間、Cholodny-Went 説に関する論争が続いたが、オーキシンのトレーサー実験、高感度の機器分析、オーキシンマーカの発現解析、それに重力屈性突然変異体の解析などの結果から、重力屈性の発現にオーキシンの偏差的な分布が必要であるとする考え方に、疑問の余地はなくなった (Muday 2001)。この重力応答によるオーキシンの動態変化は、オーキシン輸送体、とくにオーキシン排出担体 PIN-FORMED (PIN) の局在によって説明されるようになった (Müller *et al.* 1998, Friml *et al.* 2002, Ottenschläger *et al.* 2003, Kleine-Vehn *et al.* 2010)。重力感受細胞は、比較的大型のアミロプラストを持ち、その沈降がオーキシンの輸送方向を

制御し、最終的な伸長領域でのオーキシン偏差分布を誘発すると考えられている。その重力感受の仕組みの実体は未だ解明されていない。しかし、最近、重力感受細胞内で PIN タンパク質の局在を制御する分子も見出され、重力感受(アミロプラスト沈降)とオーキシンの偏差的輸送・分布を結ぶメカニズムがわかりつつある(西村・中村・森田 2019)。例えば、シロイヌナズナには6個の *LAZY1* 遺伝子が存在し、茎葉や根の重力屈性に関与している(Yoshihara *et al.* 2017)。*LAZY1* は、植物体の伸長方向や構成を制御する *DEEPER ROOTING 1 (DRO1)* や *TILLER ANGLE CONTROL 1 (TAC1)* を含む, *Intracellular Gene Transfer (IGT)* 遺伝子ファミリーに属する(Guseman *et al.* 2017)。Taniguachi *et al.* (2017) は、これらの遺伝子が重力屈性に冗長的に機能し、重力に応答したオーキシン排出担体 PIN の局在を制御することを明らかにした。*LAZY1* 遺伝子の改変によってオーキシン勾配を逆転させ、茎葉の負の重力屈性を正の重力屈性に変えることにも成功している(Yoshihara & Spalding 2019)。

このように、植物の重力応答は重力屈性を中心に研究されてきたが、重力は屈性だけでなく、樹木や草本の成長、節間数、芽の休眠打破、頂芽優勢などにも影響することから、重力によって影響される様々な成長現象を総称して、重力形成(gravimorphism)、または重力形態形成(gravimorphogenesis)と呼んでいる(Wareing & Nasr 1958, Smith & Wareing 1964, Prasad & Cline 1987, Takahashi 1997, Abe *et al.* 1998)。

植物の重力形態形成の研究手法の主流は、植物体を傾けて重力による刺激方向を変化させる、クリノスタットで回転させて植物体を受ける重力方向を連続的に変化させる、重力屈性の変異体を野生型と比較解析することなどであった。およそ 1980 年代以降は、シロイヌナズナなどのモデル植物を用いた分子遺伝学に加えて、宇宙船を利用した比較的高精度な宇宙実験が可能になり、植物の重力応答とそのメカニズムに関する研究が飛躍的に進展した。加えて、微小重力の宇宙環境を利用した植物実験は、自発形態形成や水分屈性など、地球上では重力屈性によって干渉・マスクされる現象を検証し、それらのメカニズム研究に拍車を掛けた(Miyamoto *et al.* 2005, Morohashi *et al.* 2018, Miyazawa & Takahashi 2019, 高橋 2018, 高橋・小林 2019, 保尊ら 2020, 宮本ら 2020)。

筆者らのグループは、これまでに「ウリ科植物の重力形態形成：キュウリ芽ばえのペグ細胞の発達と重力感受機構(BRIC-PEG-T)」、「微小重力下における根の水分屈性とオーキシン制御遺伝子の発現(Hydro Tropi)」、「植物の重力依存的成長制御を担うオーキシン排出キャリア動態の解析(CsPINs)」、「植物における回旋転頭運動の重力応答依存性の検証(Plant Rotation)」の4研究課題の宇宙実験を、スペースシャトル、国際宇宙ステーション、スペース X を利用して実施した。本稿では、これら宇宙実験の成果について、実験の背景やその後の研究展開、最近の関連研究も交えて解説する。

2. 重力形態形成：ウリ科植物芽ばえのペグ形成とオーキシン

2-1. ペグ形成の重力とオーキシンによる制御：仮説

多くのウリ科植物の芽ばえは、種子が発芽して一過的に横になる根と胚軸の境界域の下側(幼根が重力屈性で下側に屈曲する内側)にペグと呼ばれる突起状組織を形成する(図1)。ペグは下側の種皮を押さえる一方で、胚軸が重力屈性で上側に伸長し、そのときペグはテコの

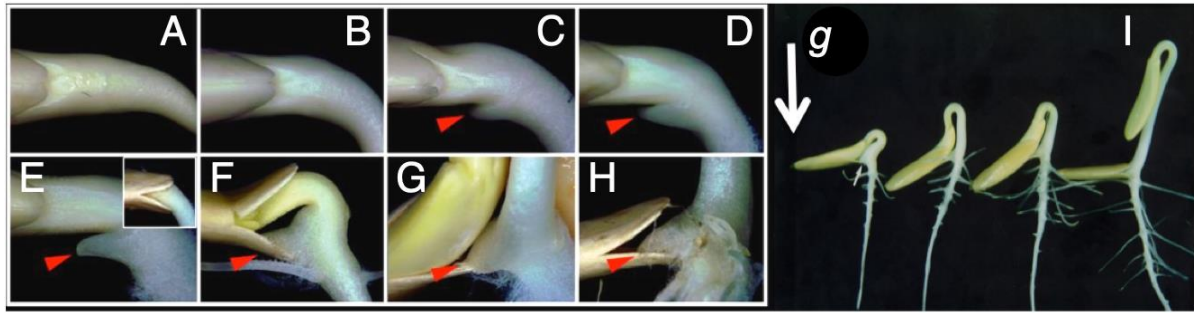


図1. キュウリ芽ばえのペグ形成

矢じりはペグを示す。A-E では、種皮を取り除いている。F-H では、ペグが種皮を押さえている。I: ペグが下側の種皮をテコにして、胚軸が伸びることによって、幼芽・子葉が種皮から抜け出す。矢印(g)は重力方向。

ような働きをして、子葉と幼芽の部分が発芽孔から抜け出すのを助ける。キュウリの種子(子葉面)の上下を反転させても、発芽後に1個のペグが境界域の下側に形成され、連続的に上下反転を繰り返すか、クリノスタットで回転させながら発芽させると、ペグが境界域の両方に形成される(Witzum & Gersani 1975, Takahashi 1997, Yamazaki *et al.* 2016)。これらの結果は、ウリ科植物の芽ばえは、重力応答によって上下を認識し、横になった境界域の下側にペグを形成させることを示唆した。また、ペグは横になった境界域の皮層細胞が芽ばえの伸長方向に対してほぼ90度方向を変えて伸長するために、その部分の組織が突出することによって形成される(Takahashi 1997)。その境界域の内皮細胞に沈降性アミロプラストが多くみられ、地上部の重力屈性に類似して、ペグ形成のための重力応答でも内皮が重力感受細胞である可能性が示唆された。さらにキュウリでは、地上部(胚軸)から地下部(根)へのオーキシンの極性輸送の過程で、オーキシン輸送速度が胚軸に比較して根で小さいために、境界域にオーキシンプールをつくること、オーキシン輸送阻害剤の処理によって濃度依存的にペグ形成が境界域の上側と下側に生ずるか、ペグ形成自体が抑制されること、一定濃度の外生オーキシンを投与すると、ペグは境界域の上側と下側の両方に形成されることから、重力応答で下側に蓄積したオーキシンが皮層細胞の伸長方向を変化させ、ペグ形成を誘導すると考えられた(Witzum & Gersani 1975, Kamada *et al.* 2000; 2003, 高橋 2009, Watanabe *et al.* 2012)。

2-2. ペグ形成の重力よるネガティブ制御

筆者らは、キュウリ芽ばえのペグ形成における重力制御とオーキシンの関与を証明するために、スペースシャトル(STS-95; Discovery)で宇宙実験を実施した。すなわち、実験容器にキュウリ種子を取り付け、スペースシャトルに搭載して打ち上げ、軌道上の微小重力下で吸水・発芽させたキュウリ芽ばえを観察すると同時に、化学固定された芽ばえを持ち帰り、オーキシン制御遺伝子(*CsIAA*)の発現解析によって芽ばえの境界域におけるオーキシン動態を推定した。その結果、微小重力下で発芽したキュウリ芽ばえは境界域の両側に1個ずつペグを形成し、そのとき、オーキシンは境界域全体で比較的多いものの、その偏差的な分布をみ

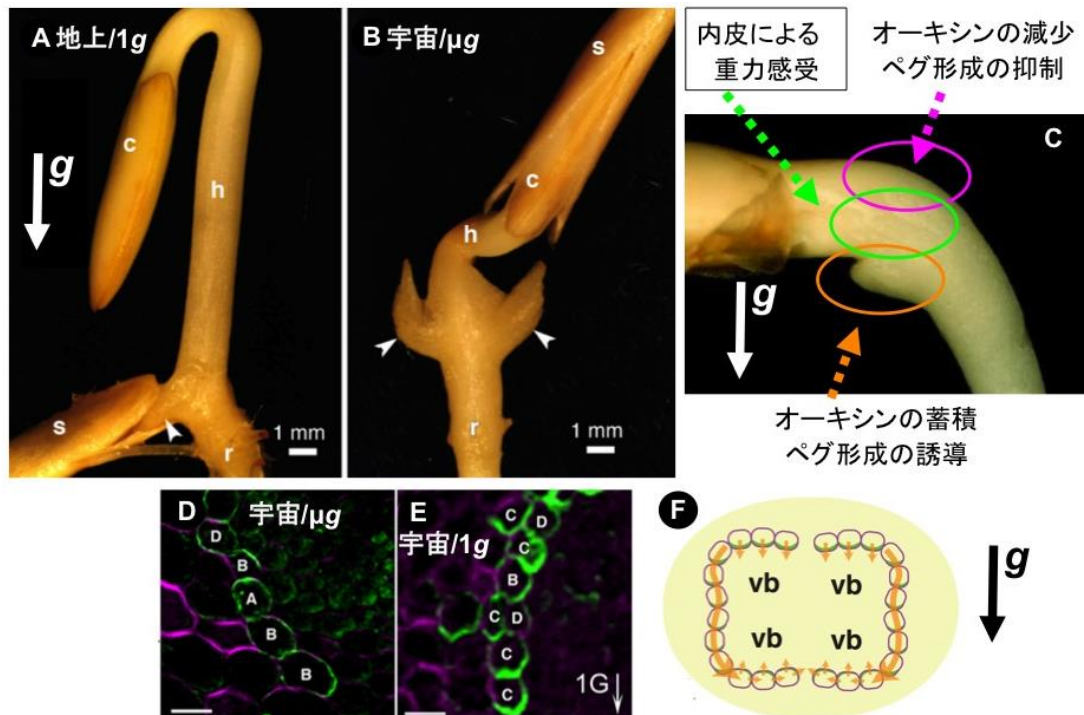


図2. 地上(1g)および宇宙(μ g)で発芽したキュウリ芽ばえ(A, B), オーキシン動態(C), 内皮におけるオーキシン排出担体 CsPIN1 の局在(D, E), 境界域でオーキシンを下側に輸送する経路に関する仮説(F)

矢印(g)は重力方向。図の一部は Takahashi *et al.* (2000) と Yamazaki *et al.* (2016) から転載。

とめることはできなかった(Takahashi *et al.* 2000, Fujii *et al.* 2000, Kamada *et al.* 2000)。一方、地上重力下で発芽させた芽ばえでは、1個のペグが境界域の下側に形成され、オーキシンが境界域の上側に比較して下側に多く蓄積することがわかった(Kamada *et al.* 2000)。この宇宙実験の結果は、まず、キュウリ芽ばえの境界域は両側(子葉面側)にペグを形成する能力を有し、地上重力下では重力に応答して上側におけるペグ形成を抑制していることを意味する。つまり、重力が形態形成をネガティブに制御しているとも考えられる(Takahashi *et al.* 2000)。そして、横になった境界域の上側におけるペグ形成の抑制は、オーキシンレベルをペグ形成に必要とされる閾値以下に減少させることに起因する可能性を示唆している(図2)。

2-3. オーキシン輸送体 CsPIN1 の重力応答性とオーキシン動態

それでは、キュウリの胚軸と根の境界域が重力応答によって上側でオーキシンレベルを低下させる仕組みは何であろうか。先述のとおり、オーキシン排出阻害剤で処理されたキュウリ芽ばえは、境界域の下側と上側にペグを形成する。これは重力応答で境界域の上側でオーキシンレベルを低下させてペグ形成を抑制するためには、オーキシン排出担体の働きが必要であることを示している。そこで Watanabe *et al.* (2012)は、キュウリから PIN 遺伝子をクローニングし、それらの抗 PIN 抗体を用いて免疫組織学的に解析した結果、CsPIN1 がキュウリ

芽ばえの境界域で重力感受細胞(内皮)の原形質膜に発現することがわかった。この CsPIN1 の内皮における発現・局在が縦方向と横方向におかれた芽ばえで異なっていた。横にして重力刺激を与えて 30 分後には、境界域の上側の内皮で CsPIN1 が下側の(維管束側に面した)原形質膜に偏差的に局在した。しかし、境界域の下側の内皮では、そのような CsPIN1 の偏差的な細胞局在は明瞭でなかった。また、境界域の上下でオーキシンの偏差的分布が確認され、オーキシン排出阻害剤の 2,3,5 - triiodobenzoic acid (TIBA) を処理した芽ばえでは、重力刺激後の CsPIN1 の偏差的な局在とオーキシンの偏差的分布はみられなかった。これらの結果は、横になった境界域では、上側の内皮を介したオーキシン排出がオーキシンの偏差的分布に関与すること、CsPIN1 が重力に応答して内皮における局在を変化させることを示唆した。シロイヌナズナでは、AtPIN3 および AtPIN7 が重力感受細胞(茎葉では内皮、根ではコルメラ)で局在を変化させ、オーキシンの偏差的輸送・分布をもたらす、重力屈性の発現に重要な役割を果たす(Friml *et al.* 2002, Kleine-Vehn *et al.* 2010)。

Yamazaki *et al.* (2016) は、CsPIN1 の重力応答性を調べるために、国際宇宙ステーションの微小重力と人工 1g の環境で発芽させたキュウリを用いて、CsPIN1 の発現・局在を比較解析した。その結果、微小重力下で発芽させた芽ばえの境界域では、CsPIN1 の発現が内皮細胞の原形質膜にみとめられたが、その細胞に CsPIN1 の偏差的な発現・局在はみられなかった。しかし、その芽ばえに 2 時間の人工重力(1g)を伸長軸に対して鉛直方向に付加し、境界域の横断切片で観察すると、CsPIN1 が細胞の下側の原形質膜に局在を変化させた内皮細胞が多くみられた。これを境界域の上側、中央、下側で比較すると、CsPIN1 はとくに上側と中央の内皮細胞で原形質膜下側に局在を変化させた。これらの宇宙実験の結果によって、キュウリ芽ばえの境界域の重力感受細胞で発現する CsPIN1 は重力に応答して局在を変化させ、オーキシンを上側から内部中央または下側に輸送する経路をつくっていることが考えられた(図 2)。境界域の内部中央または下側に輸送されるオーキシンは維管束系をとおして根側に輸送されるか下側に蓄積し、その結果、境界域の上側ではオーキシンレベルが低下してペグ形成が抑制され、これに CsPIN1 の重力に応答した局在変化が働いていると考えられる。

2-4. ペグ形成に働くオーキシン応答

このように、植物の重力屈性と同様、ウリ科植物芽ばえのペグ形成は偏差的なオーキシンの輸送・分布によって制御されるが、オーキシンレベルの異なる境界域の上下では、オーキシン応答が異なると考えられる(高橋 2009)。シロイヌナズナの研究から、オーキシン制御遺伝子の転写調節は Auxin Response Factor (ARF) と Aux/IAA ファミリーによって行われることがわかっている(Guilfoyle & Hagen 2001, Hagen & Guilfoyle 2002)。すなわち、オーキシンが受容体(TIR1 や AFB)と結合して、ARF のネガティブレギュレーターである Aux/IAA を分解し、転写を活性化する。Fujii *et al.* (2000) と Saito *et al.* (2004) は、キュウリから ARF および Aux/IAA を単離し、それらの発現解析を行い、ペグが形成される境界域の下側では、オーキシンがリプレッサーである CsARF5 を減少させ、オーキシン応答を増大させ、上側では逆に CsARF5 を多く蓄積してオーキシン制御遺伝子の発現を抑制する可能性を示した。また、オーキシンはリプレッサーの CsIAA2 を減少させて、アクチベータの CsARF2 による転写を促進する可

能性も示された。これらの転写調節によって、オーキシン誘導性のエチレン前駆物 ACC の合成酵素遺伝子である *CS-ACS1* や、オーキシンによって抑制されるグリシンリッチタンパク質遺伝子 *CsGRP1* の発現が制御されると考えられた。実際に、*CS-ACS1* は横になったキュウリ芽ばえの境界域の下側で多く発現し、また、エチレンはペグ形成を促進する (Takahashi & Suge 1988, Saito *et al* 2005, Fujii *et al.* 2007)。さらに、*CsGRP1* は横になった境界域の上側で多く発現し、その発現とペグ形成抑制には相関がある (Shimizu *et al.* 2006, 2008)。

以上のように、ウリ科植物芽ばえのペグ形成は、地上重力下では重力によるネガティブ制御の結果であり、それは重力応答性のオーキシン輸送体の局在変化に起因する境界域上側でのオーキシンレベルの低下、それによるペグ形成の抑制とみることができる。このようにして確立されるオーキシン勾配に応じたオーキシン応答、遺伝子発現調節によって、境界域の上側でペグ形成を抑制し、下側でペグ形成を促進する仕組みが存在すると考えられる。

3. 根の水分屈性の重力屈性による干渉と制御機構の特異性

3-1. 水分屈性の再発見：エンドウの重力屈性突然変異体の根の水分屈性

X 線照射によって見出されたエンドウの重力屈性突然変異体 *ageotropum* の根は、重力屈性を完全に欠損している (Blixt *et al.* 1958)。その突然変異の原因遺伝子は未だ同定されていないが、*ageotropum* エンドウの根では、重力感受細胞(コルメラ)中の小胞体(ER)の分布が野生型と異なり、また、野生型の根は根冠部を *ageotropum* の根冠に置き換えると重力屈性を発現しなくなり、逆に、*ageotropum* の根は根冠部を野生型のもので置き換えると重力屈性を発現するようになった (Ekelund & Hemberg 1966, Olsen & Iversen 1980a, 1980b)。このことから *ageotropum* の根は、屈曲する伸長領域は正常で、重力感受過程に何らかの異常を有すると考えられている。Jaffe *et al.* (1985) は、*ageotropum* の根が水分勾配に応答して高水分側に屈曲伸長することを見出し、根が水分屈性能を有すること、野生型の根では明確な水分屈性を観察できないことから重力屈性が水分屈性に干渉すること、重力屈性と水分屈性を分離できることを明らかにした。したがって、野生型エンドウの根もクリノスタット回転で重力屈性による干渉を排除すると、水分屈性を発現した (Takahashi *et al.* 1996)。光依存性重力屈性を示すトウモロコシ品種の根では、暗所では明確な水分屈性がみられ、光照射下では重力屈性が水分屈性に打ち勝って発現するようになった (Takahashi & Scott 1991)。このように程度は植物種によって違うが、重力屈性は水分屈性に干渉する。これらの結果によって、それまでに古くから記載されながらも明確に証明されていない植物機能のひとつとされた水分屈性の存在を科学的に再発見することになった (高橋・小林 2019, Miyazawa & Takahashi 2019)。

3-2. 宇宙実験：微小重力下でのキュウリ根の伸長方向

前項の重力形態形成で紹介したキュウリ芽ばえの STS-95 BRIC-PEG-T 宇宙実験では、キュウリ種子をロックウールに埋め込んで発芽させる区と、発芽して幼根が気中を伸びるように種子を親水性のプラスチックブロック(ペルイータ)に固定する区を設けた (Takahashi *et al.* 1999, Kamada *et al.* 2000)。種子の向きは同じ方向に揃えてセットしたが、微小重力下では主根は気中でランダムな方向に伸びた。また、種子吸水3日後には芽ばえが側根を発生・伸長

させるまでに成長した。その側根は胚軸と根の境界域の近くに発生したものほど、種子の支持体であるペルイータに向かって伸びるのが観察された。支持体は種子発芽・根の伸長のための水の供給源であり、この容器中にわずかな水分勾配が形成された可能性があった。地上実験で同じ容器を用いて、キュウリ種子をクリノスタットで回転させながら発芽させると、やはり側根は水を含んだ種子支持体の方向に伸長した (Takahashi *et al.* 1999)。そこで Mizuno *et al.* (2002) は、キュウリの根も重力屈性不在の条件で水分屈性を発現するようになると考え、キュウリ主根を水分勾配で刺激する実験系を開発し、静置区とクリノスタット回転区で比較した。その結果、主根は静置区では水分勾配が存在しても重力屈性を発現したが、クリノスタット回転区では高水分側に屈曲伸長することがわかった。この結果から、STS-95 宇宙実験の微小重力下でキュウリの根が水分屈性を発現したこと、キュウリの根の水分屈性はエンドウの根と同様に重力屈性によってマスクされることが強く示唆された。また Mizuno *et al.* (2002) は、クリノスタット回転で水分屈性を発現させた根では、オーキシシンが偏差的に分布して高水分側に多く蓄積することを示した。

これらの宇宙・地上実験の結果に基づいて、キュウリ主根の水分屈性を検証する宇宙実験 Hydro Tropi が国際宇宙ステーション‘きぼう’実験棟で実施された。軌道上では、Hydro Tropi チャンバーの水注入口から、種子を取り付けたペルイータに蒸留水を給水し、チャンバーを Video-Measurement Unit (V-MEU) にセットした。それを細胞生物学実験装置 (CBEF) の人工 1g 重力区にセットして、25-26°C・暗黒下で培養を開始した。約 18 時間後に、種子を取り付けたペルイータとは反対側の容器内面に貼り付けた濾紙に蒸留水あるいは 5 M NaCl 溶液を注入し、1g 区および μg 区に分けてセットした。その後経時的に V-MEU 内の写真撮影を行うとともに、芽ばえを化学固定し、冷凍冷蔵庫に 2°C で保管した。地上実験室に回収した試料については、芽ばえを写真撮影し、根の伸長および屈曲角度の測定、ならびに、*in situ* ハイブリダイゼーションによるオーキシシン誘導性遺伝子 (*CsIAA1*) の発現解析に供試した。その結果、まず、キュウリの根は、1g 重力区では水分勾配の強度にかかわらず重力方向にまっすぐに伸び、 μg 区では水供給体のペルイータ側に屈曲して伸びることがわかった (Morohashi *et al.* 2017) (図 3)。このとき水供与体の反対側の濾紙に水を注入して容器内の水分勾配を小さくした区 (H_2O 区) と比較して、NaCl 溶液を注入して大きい水分勾配を形成させた区では、根の伸長がやや抑制されたが、その水分屈性は有意に促進された。また、NaCl 区だけでなく H_2O 区でも水分屈性の発現が顕著だったことから、根は微小重力下でわずかな水分勾配に応答することを示しており、興味深い。また、微小重力下で水分屈性を発現する根では、*CsIAA1* の発現が根端の低水分側に較べて高水分側で高く、これによって水分勾配刺激に応答してオーキシシンの偏差的分布が誘導されることが検証された (Morohashi *et al.* 2017)。これは、*CsIAA1* と同様に、多くのオーキシシン誘導性遺伝子 (*Aux/IAA* ファミリー) が水分勾配に応答して偏差的に発現する事実によっても支持された。

このキュウリ根の水分屈性の発現に伴うオーキシシンの偏差的分布を誘導する仕組みは、重力屈性と同じく、オーキシシンの偏差的な輸送に起因するのであろうか。事実、クリノスタット回転で誘導されるキュウリ根の水分屈性は、オーキシシンの輸送阻害剤や作用阻害剤の処理によって抑制される (Morohashi *et al.* 2017)。また、シロイヌナズナのオーキシシン排出担体で

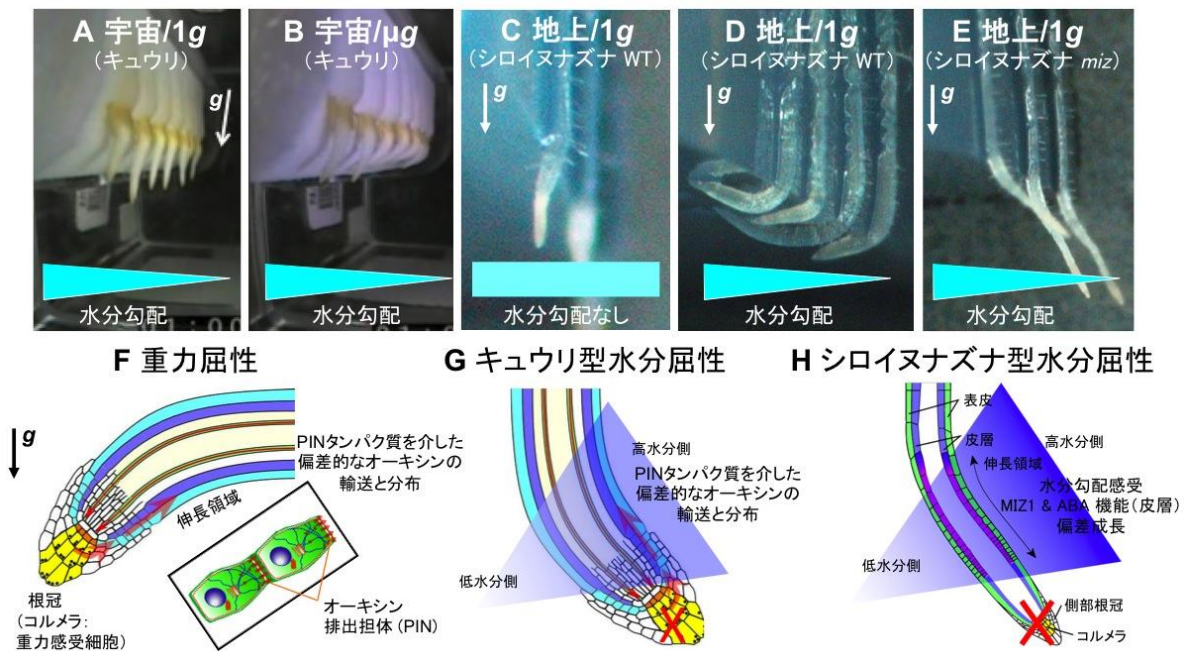


図3. キュウリ (A, B) およびシロイヌナズナ (C-E) の根の水分屈性と、重力屈性および水分屈性のメカニズムに関するモデル (F-H)

矢印 (g) は重力方向。図の一部は Kobayashi *et al.* (2007), Dietrich *et al.* (2017), Morohashi *et al.* (2017), 高橋 & 小林 (2019) から転載。

ある AtPIN2 と同様の機能を有すると考えられたキュウリの CsPIN5 の発現量が、水分屈性発現時にキュウリ根の低水分側で減少することが見出された (Morohashi *et al.* 2017)。すなわち、CsPIN5 タンパク質は、水分勾配が不在の条件では、根端の側部根冠および表皮に発現し、それら発現細胞では基部側の原形質膜に偏在し、オーキシンの根冠部から伸長領域への輸送を担うと考えられる (図 4)。しかし、この CsPIN5 の発現が水分勾配下では低水分側で減少した。これが、根の高水分側よりも低水分側でオーキシン量が減少するひとつの要因かも知れない。シロイヌナズナの根では、AtPIN2 がオーキシンを根冠部から伸長領域に輸送する主役と考えられている。AtPIN2 の突然変異体は根の重力屈性を欠損する事実に加えて、野生型の根が重力屈性を発現するとき、下側に較べて上側で AtPIN2 の発現が減少し、それがユビキチンを介したタンパク質分解によるもので、横になった根の上下におけるオーキシンの偏差分布に寄与すると考えられている (Swarup *et al.* 2005, Abas *et al.* 2006, Petrášek *et al.* 2006)。キュウリの根では、CsPIN5 が同様に、重力刺激に応答して上側での発現量を低下させることが確認された。そこで宇宙実験 CsPINs では、微小重力下で水分屈性を重力屈性から分離して観察することに成功した Hydro Tropi の実験結果の再現性を検証するとともに、その際の CsPIN5 タンパク質の発現を比較解析した (Morohashi *et al.* 2017)。その結果、キュウリ根は微小重力下で水分勾配に応答して顕著な水分屈性を発現することが確認され、また、地上でクリノスタット回転によって誘導される水分屈性にとまなう CsPIN5 の偏差的な発現が、微小重力下で誘導される水分屈性でも同様にみとめられた。

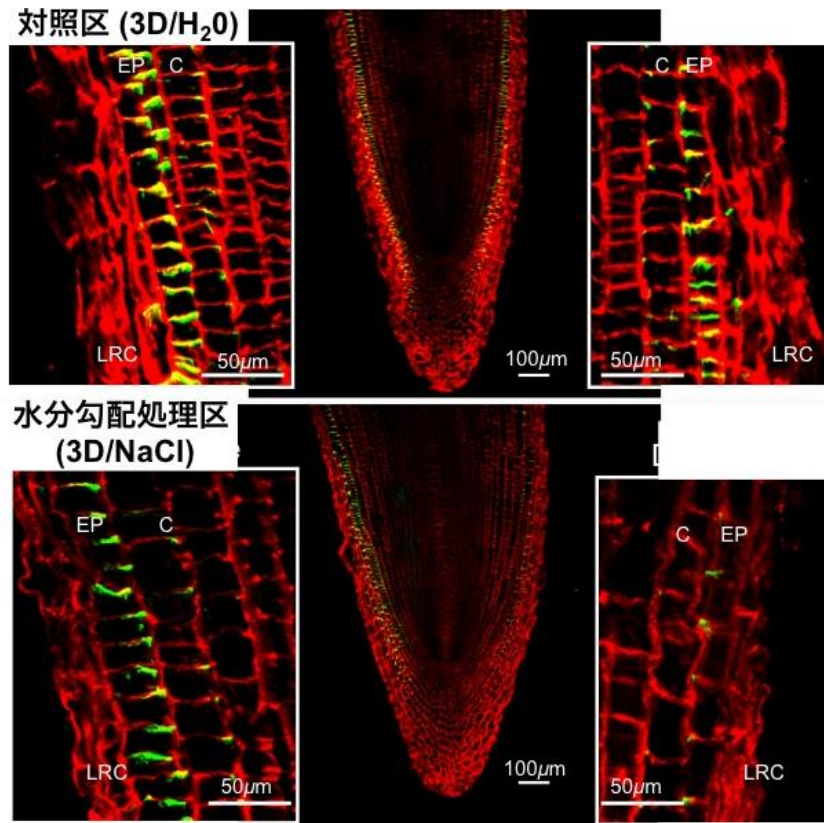


図4. キュウリ芽ばえの根端におけるオーキシン排出担体 CsPIN5 の発現・局在と、その水分勾配下での動態

写真上は対照区で、水分勾配がほとんどない条件で、CsPIN5 は両側の表皮に発現する。しかし、写真下の水分勾配下では、CsPIN5 の発現は高水分側に比較して低水分側で減少する。図は Morohashi *et al.* (2017) から転載。

以上の結果から、キュウリ根が水分屈性を発現する仕組みにはオーキシンの偏差的な輸送・分布が重要な役割を果たし、水分屈性が重力屈性に干渉されるのは、水分勾配刺激と重力刺激によって独立に制御されるオーキシン動態が競合するためであると考えられる (Morohashi *et al.* 2017)。しかし、キュウリの根の水分屈性と重力屈性に PIN タンパク質を介したオーキシン輸送・分布が関与するにしても、そのオーキシン動態制御の仕組みは両者で違うようである。Fujii *et al.* (2018) は、キュウリの根で、重力感受細胞(コルメラ)を含む根端部 0.5 mm を切除すると、地上 1g で静置させた条件でも顕著な水分屈性が誘導され、その水分屈性もオーキシン輸送阻害剤の処理によって抑制されることを見出した。キュウリの根の水分屈性および重力屈性を発現する根で RNA-seq 解析が行われ、両者で偏差的に発現する遺伝子の多くがオーキシン誘導性であることが確認された。これらのオーキシン誘導性遺伝子の偏差的な発現は根端部切除によって水分屈性を発現した根でもみられたが、無傷の根が静置条件で水分屈性を発現しない場合は、それら遺伝子の偏差的な発現はみられなかった。これらの結果から、重力を感受する根冠細胞が重力屈性の発現誘導によって水分屈性を抑制

し、重力屈性不在の条件で水分屈性が発現しやすくなることが検証された。また、重力屈性は根冠を介したオーキシン輸送の制御を必要とするのに対し、水分屈性は根冠非依存的なオーキシン輸送によって制御される可能性が示された。水分勾配に応答した根冠非依存的なオーキシン輸送と CsPIN5 の関係はわからない。自発的形態形成も重力屈性にマスクされている現象のひとつであることが宇宙実験によって明らかになり、それにはやはりオーキシン輸送体が重要な役割を果たしている(宮本ら 2020)。

3-3. シロイヌナズナの根の水分屈性

根の水分屈性の分子機構を理解する目的で、シロイヌナズナの水分屈性実験系が確立された(Takahashi *et al.* 2002, Eapen *et al.* 2003)。エンドウやキュウリの根と違い、シロイヌナズナの根では地上 1g 条件でも水分屈性が重力屈性に打ち勝って発現することが功を奏し、水分屈性の突然変異体が単離された(図 3)。そのうち、*non-hydrotropic response1 (nhr1)*, *mizu-kussei1 (miz1)*, *miz2* は水分屈性を欠損し、*altered hydrotropic response1 (ahr1)* は水分屈性を亢進する(Eapen *et al.* 2002, Kobayashi *et al.* 2007, Miyazawa *et al.* 2009, Saucedo *et al.* 2012)。*nhr1* と *ahr1* はともに半優性突然変異で、その変異原因遺伝子は未だに同定されていない。一方、*miz1* と *miz2* は劣性突然変異で、*MIZ1* と *MIZ2* はそれぞれ分子機能未知のタンパク質および小胞輸送を担う GNOM をコードすることがわかった(Kobayashi *et al.* 2007, Miyazawa *et al.* 2009)。*miz1* と *miz2* の根は野生型と同様の重力屈性を示し、それによって水分屈性にユニークな分子機構の存在が示唆された。また、シロイヌナズナの水分屈性には、アブシシン酸(ABA)やサイトカイニンが重要な役割を果たすことが報告されている(Takahashi *et al.* 2002, Saucedo *et al.* 2012, Dietrich *et al.* 2017, Chang *et al.* 2019)。最近、*MIZ1* および ABA シグナリングが根の伸長領域の皮層細胞で機能して水分屈性を制御することが明らかになった(Dietrich *et al.* 2017)。また、シロイヌナズナの根でも、根冠や分裂組織の破壊・切除は水分屈性の発現を抑制しないことから、伸長領域にて水分勾配感受と偏差成長が生じ、そこに皮層特異的な屈性制御機構の存在することが示された。*MIZ1* の発現は乾燥ストレスや光条件によっても変化し、また ABA の処理によって上昇する(Moriwaki *et al.* 2012)。シロイヌナズナの根の水分屈性は SnRK2 を介した ABA シグナリングに依存することがわかっているが、水分屈性における *MIZ1* と ABA シグナリングの関係は明らかでない。

Yamazaki *et al.* (2012) は、*MIZ1* が主に小胞体膜に局在することを報告した。最近 Shkolnik *et al.* (2018) によって、*MIZ1* が小胞体膜の Ca^{2+} ポンプ(Ca^{2+} -ATPase)の ECA1 と相互作用し、ECA1 をネガティブに制御し、その結果として細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇すること、そして、その細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇は、側部根冠からはじまり、中心柱を通して伸長領域に達することが報告された。*miz1* 突然変異体の根では、この細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇と伝達がみられなかったという。これらの結果は、*MIZ1* を介した Ca^{2+} シグナリングが水分屈性に必要なことを示している。さらに Tanaka-Takada *et al.* (2019) は、 Ca^{2+} を含む陽イオン結合タンパク質の PCaP1 が内皮で機能して水分屈性にかかわることを示した。水分屈性における Ca^{2+} シグナリングの関与は、Takano *et al.* (1997) によってエンドウの根でも示されているが、Shkolnik *et al.* (2018) の結果と上述の水分屈性における *MIZ1* の機能組織と根冠の関与に関する報告には矛盾する

部分があり、さらなる解析が必要である。初期の研究では、外科的な根冠部の切除は重力屈性の場合と同様に、水分屈性の発現を抑制することが報告された (Jaffe *et al.* 1985, Takahashi & Suge 1991, Takahashi & Scott 1993)。しかし、最近のシロイヌナズナおよびキュウリの根を用いた研究では、根冠部の機能破壊・切除処理によって、水分屈性の発現が影響されないか、むしろ促進されることが報告された (Dietrich *et al.* 2017, Fujii *et al.* 2018)。さらにイネの根の水分屈性は、根端 0.2 mm の除去によって促進される傾向にあるが、根端 0.5 mm を切除するとむしろ抑制された (Nakajima *et al.* 2017)。これらの結果から、水分屈性は根冠非依存的に発現し、水分勾配の感受細胞が根冠以外に存在すると考えられた (図 3)。このような手法で水分屈性における根冠の役割を解析する場合、それによって切除される組織 (細胞群) や重力感受性を考慮する必要がある。

シロイヌナズナの根をオーキシン輸送阻害剤の TIBA や 1-naphthylphthalamic acid (NPA) で処理すると、重力屈性は抑制されるが、その水分屈性は影響を受けないか、促進される傾向にある (Kaneyasu *et al.* 2007)。また、*wav6-52/pin2/eir1* 突然変異体の根は、重力屈性を欠損するが、野生型と同程度の水分屈性を発現する (Takahashi *et al.* 2002)。重力屈性を低下させるオーキシン応答突然変異体の *axr1* および *axr2* は水分屈性を亢進する (Takahashi *et al.* 2002)。オーキシン作用阻害剤の *p*-chlorophenoxyisobutylacetic acid (PCIB) の処理は、わずかに水分屈性を抑制したが、より特異的なオーキシン拮抗剤といわれる α -(phenylethyl-2-one)-indole acetic acid (PEO-IAA) や α -(2,4-dimethylethyl-2-oxo)-IAA (auxinole) の処理は、水分屈性をむしろ促進した (Kaneyasu *et al.* 2007, Shkolnik *et al.* 2016)。シロイヌナズナの根におけるオーキシン分布を、*DR5::uidA* や *DII-VENUS* を用いて解析すると、オーキシンが重力刺激に応答して偏差分布するが、水分勾配に応答した偏差分布はみとめられなかった (Takahashi *et al.* 2009, Shkolnik *et al.* 2016)。これらの結果から、シロイヌナズナの根では、オーキシンは重力屈性の場合と異なり、水分屈性の主要な因子とは考えにくく、むしろ水分屈性をネガティブに制御すると考えられている。

このように、根の水分屈性は重力屈性と異なる、極めてユニークなメカニズムによって制御され、さらにそのメカニズムは植物種によって異なることがわかってきた (図 3)。この種間差を理解する一助として、イネ、エンドウ、ミヤコグサを用いて、根の水分屈性とオーキシンの関係が比較解析された (Nakajima *et al.* 2017)。その結果、イネとエンドウの根の水分屈性は、キュウリの根と同様に、オーキシン輸送・応答に依存しており、ミヤコグサの根の水分屈性はシロイヌナズナの根に類似して、オーキシン輸送・応答非依存性を示した。水分屈性の制御機構における種分化について、Miyazawa & Takahashi (2019) は、重力屈性の制御機構を起源として、種分化の過程で水分勾配感受・応答に必要な遺伝子セットを獲得して多様化したとする仮説を提唱している。

4. 回旋転頭運動

4-1. 回旋転頭運動の様式と制御因子

植物の茎や根などの器官は、首 (先端部) を振り、回旋しながら伸長する。この現象は回旋転頭運動 (circumnutation) として知られている。回旋転頭運動は、ほとんどの植物の伸長器官

にみられ、植物の生存戦略の一環として重要な形質であると考えられたことから、Darwin & Darwin (1880)の研究以来、多くの研究者によって研究されてきた。この回旋転頭運動は、「ねじれ」によるものではなく、各器官で偏差成長する部位が連続的に移動することによって生じ、その周期性や様式は植物種や器官によって異なる (Cairé *et al.* 1998)。回旋転頭運動の生じる仕組みの詳細はわかっていないが、二つの説が提唱された。一つは、その過程を制御する internal oscillator (内的振動子) を想定したモデルであり (Brown *et al.* 1990, Antonsen *et al.* 1995), もう一つは、伸長器官が重力屈性で鉛直方向以上に曲がって (オーバーシュート), その反対方向に戻るように屈曲することを繰り返し、振り子のような運動をすることが原動力となっていると考えるモデルである (Israelson & Johnsson 1967, Johnsson & Heathcote 1973, Johnsson 1979)。また、Johnsson (1997) は、内因性の振動子が植物器官の振動を引き起こし、この内的因子を重力応答などの外的要因がフィードバック制御することで回旋転頭運動を誘導するという、two-oscillator モデルを提唱した。内的振動子がどのようなものかはわかっていないが、回旋している器官ではカルシウムやカリウムイオン、オーキシン、そして膨圧変化等の偏りの生じる可能性が考えられている (Badot *et al.* 1990, Johnsson 1997, Iida *et al.* 2017)。内因性の律動的なイオンの流出入と回旋転頭運動との間に相関関係があることも報告されている (Millet *et al.* 1988, Shabala & Newman 1997)。しかし、現在のところ、これらの要因の偏りが回旋転頭運動を制御しているのか、もしくはそれが器官の屈曲の結果として生じているのかは、はっきりしていない。回旋転頭運動に関与する成長物質として、オーキシン、エチレン、ジャスモン酸などが報告されている (Johnsson 1997, Iida *et al.* 2017)。このうち、回旋転頭運動に関与する可能性の最も大きいと考えられているのがオーキシンである。オーキシンは、植物の成長や発生の様々な局面に関わる重要な植物ホルモンである。根や茎葉が光や重力に対して示す屈性反応にも、オーキシンが深く関与する。このような現象を制御するために、オーキシンは主に茎頂や若い葉で生合成され、植物体の様々な場所へ輸送される。エンドウの茎頂を切除することによって茎葉の回旋転頭運動が停止し、また、その際、茎頂の切断面に IAA を投与することで回旋転頭運動が回復することが報告されている (Tepper & Young 1996)。シロイヌナズナでは、茎頂を切除後、約 12 時間程度は回旋転頭運動が継続するが、その後停止する (Niinuma *et al.* 2005)。このとき、エンドウと同様に、シロイヌナズナ花茎の切断面に IAA を投与すると回旋転頭運動が継続する。回旋している茎頂部にオーキシンの極性輸送阻害剤である NPA もしくは TIBA を処理すると、濃度依存的に回旋速度が低下もしくは停止することからも、茎葉の回旋転頭運動には、茎頂からのオーキシン供給が必要であると考えられる。

4-2. 重力屈性突然変異体の回旋転頭運動

筆者らのグループは、重力屈性を欠損したアサガオの突然変異体 (シダレアサガオ) の回旋転頭運動を解析し、回旋転頭運動と重力応答の関係を明らかにしようとしてきた。アサガオは代表的な蔓性植物で、支柱に巻きついてよじ登る。Kitazawa *et al.* (2005, 2008) は、シダレアサガオが重力を感知するのに必要な重力感受細胞を正常に分化させることができず、それが原因で重力屈性と回旋転頭運動を示さず、支柱に巻きつけずに枝垂れることを明らかにし

た。この重力感受細胞の分化には *SCARECROW* (*SCR*) 遺伝子を必要とすることが知られていた (Fukaki *et al.* 1998)。そこで、シダレアサガオと正常なアサガオの *PnSCR* 遺伝子の塩基配列を比較した結果、シダレアサガオの *PnSCR* タンパク質には、正常なものと比較して、特定の保存された領域にアミノ酸が 1 個挿入されていることがわかった。このシダレアサガオと正常なアサガオそれぞれの *PnSCR* 遺伝子を、モデル生物として知られるシロイヌナズナの同様な突然変異体 (シロイヌナズナでもこの遺伝子に異常が生じると、重力感受細胞が正常に分化せず、重力屈性と回旋転頭運動が起こらなくなる) に導入したところ、正常なアサガオの *PnSCR* 遺伝子を導入したときだけ、シロイヌナズナ突然変異体の重力感受細胞の分化、重力屈性、回旋転頭運動を回復させることができた (Kitazawa *et al.* 2005)。このことは、*PnSCR* 遺伝子がアサガオの重力感受細胞の分化に必要で、その遺伝子変異によってシダレアサガオが重力屈性と回旋転頭運動を正常に発現できずに枝垂れることを示している。これらの結果は、重力感受細胞がアサガオのよじ登り、その原動力となる回旋転頭運動に必須であることを示している。加えて、シロイヌナズナの重力屈性突然変異体 (*pgm-1*, *axr2-1*, *sgr-1-1/scr-3*, *sgr7-1/shr-2*) が回旋転頭運動に異常を示すことも明らかされた (Hatakeda *et al.* 2001, Kitazawa *et al.* 2005)。Tanimoto *et al.* (2008) も、シロイヌナズナの重力屈性突然変異体 *shoot gravitropism 5* で同様なことを報告している。

重力屈性突然変異体であるイネ *lazy1* (Abe *et al.* 1996) の幼葉鞘が、回旋転頭運動を欠損していることが報告された (Yoshihara & Iino 2006, 2007)。Yoshihara & Iino (2006) は、*lazy1* の幼葉鞘は回旋転頭運動を完全に消失しているが、重力屈性を示す能力を十分に維持しているとして、必ずしも重力屈性を回旋運動の原因と考えることはできないとしている。彼らは興味深いことに、回旋転頭運動が特定の内在性の機構によって制御されていて、その調節に重力感受が関与している可能性があるとも述べている。

一方、Abe *et al.* (1994) は、重力屈性突然変異体である *lazy1* のイネ幼葉鞘の重力屈性能を評価するために、種子を暗所 28°C で催芽し、44 時間齢 (Stage I)、68 時間齢 (Stage II)、92 時間齢 (Stage III) の 3 つの発育ステージに分け、それぞれのステージに達したイネ芽ばえを暗所で横倒しにし、その 24 時間後の屈曲角度を測定した。その結果、野生型の幼葉鞘は、いずれのステージにおいても完全な重力屈性を示した。しかし、*lazy1* の重力屈性は Stage I で既に不完全になっており、ステージが進むにつれてさらに低下し、Stage III では完全に失われることが明らかになった。Stage I から Stage III までの 72 時間、暗所で垂直置きにしたときの幼葉鞘の回旋転頭運動を図 5 に示す (Kobayashi *et al.* 2019)。野生型では、Stage I の後期、Stage II の全過程、Stage III の前期で明瞭な回旋転頭運動がみられたが、*lazy1* では Stage I で不規則ではあるがわずかな運動を示し、その後、回旋運動を失う傾向がみとめられた。また、このときの幼葉鞘の伸長量を測定した結果、野生型と突然変異体の間に差はなく、Stage III の後期では伸長がほとんど停止した。したがって、Stage I から Stage III の前期で突然変異体の回旋転頭運動がみられない原因は、重力応答の低下による可能性が考えられた。Stage III の後期で回旋転頭運動を示さないのは、そのための十分な伸長をとまなっていないためであると考えられた。重力屈性を欠損したエンドウ突然変異体 *ageotropum* の根も回旋転頭運動を示さないことが報告されている (Kim *et al.* 2016)。

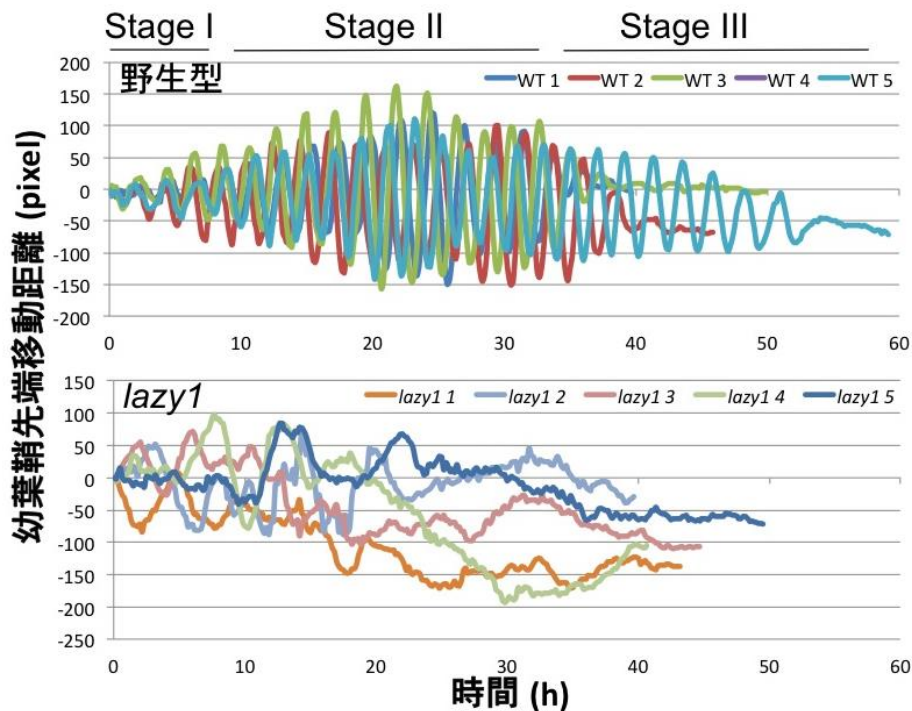


図5. イネ野生型(上)と *lazy1*(下)の暗所芽ばえの幼葉鞘の回旋転頭運動

野生型および *lazy1* の各5個体の運動の周期性を示す。図は Kobayashi *et al.* (2019) から転載。

4-3. 回旋転頭運動の重力応答依存性の宇宙実験による検証

回旋転頭運動における重力応答の関与については、Darwin & Darwin(1880)がはじめて詳細に観察しているが、その後、いろいろな実験結果に基づく論争が続いた。例えば、スペースシャトル内に持ち込まれたヒマワリ幼苗の回旋転頭運動は、小さくなるものの、微小重力下でも観察された(Brown & Chapman 1984, Brown *et al.* 1990)。このことから、重力そのものが回旋転頭運動を引き起こす内因性オシレーターに関係するとは考えられず、むしろ、内因性のオシレーターによって生じた運動を促進するように働くと考えられた。一方、植物体をクリノスタットで回転させると、重力屈性ととともに回旋転頭運動も消失する(Chapman *et al.* 1980, Johnsson 1997)。また、Zachriassen *et al.* (1987)は、ヒマワリの芽ばえに $3g$ を負荷すると、 $1g$ 下のものに較べて、胚軸の回旋転頭運動が促進されることを報告している。しかし、Brown & Chapman(1984)の宇宙実験では、地球上で育てた植物体を供試しており、その地上重力という前歴が宇宙空間での回旋転頭運動に影響を与えた可能性も残る。事実、Antonsen & Johnsson(1998)は、回旋転頭運動のためのオシレーターの確立には生育初期における重力影響が必要であること示している。Johnsson *et al.* (2009)は、シロイヌナズナの花茎の回旋転頭運動を解析し、微小重力下の植物体に $0.8g$ の重力を負荷することによって、回旋転頭運動が大幅に増幅されることを報告している。また、微小重力下でも小さいながらも回旋転頭運動を示すことを報告しているが、その小さな運動の解析は技術的に難しいとも記述している。

そこで筆者らのグループは、「植物の回旋転頭運動の重力応答依存性」を検証するために、イネ芽ばえを用いた宇宙実験 Plant Rotation を実施した(Kobayashi *et al.* 2019)。Plant Rotation

実験では、イネ種子を軌道上微小重力下で発芽・生育させ、それら芽ばえの微小重力下および $1g$ (遠心機による人工重力) 下での成長・運動を動画として撮影・記録した (図 6)。それらの画像をダウンリンクし、比較解析することによって、重力が回旋転頭運動に及ぼす影響に関する上記仮説を検証した。その結果、イネ幼葉鞘では、光照射による伸長と回旋転頭運動の抑制がみられたが、野生型の回旋転頭運動は $1g$ 区に較べて微小重力区で低下することを確認した。また、*lazy1* 突然変異体の幼葉鞘も生育初期には重力屈性ならびに回旋転頭様運動を示し、重力屈性能の消失とともに回旋転頭様運動も停止することがわかった。この *lazy1* の回旋転頭様運動も微小重力下では消失する可能性が示された。これらの結果は、回旋転頭運動が重力屈性能と密接に関連するという仮説を支持する。微小重力または重力屈性不在の条件で認められる振動を回旋転頭運動と呼べるかどうか、その判断は難しいが、内在性の回旋転頭運動が存在するとしても、それは重力依存性の回旋転頭運動に比較して、小さいものと考えられる。

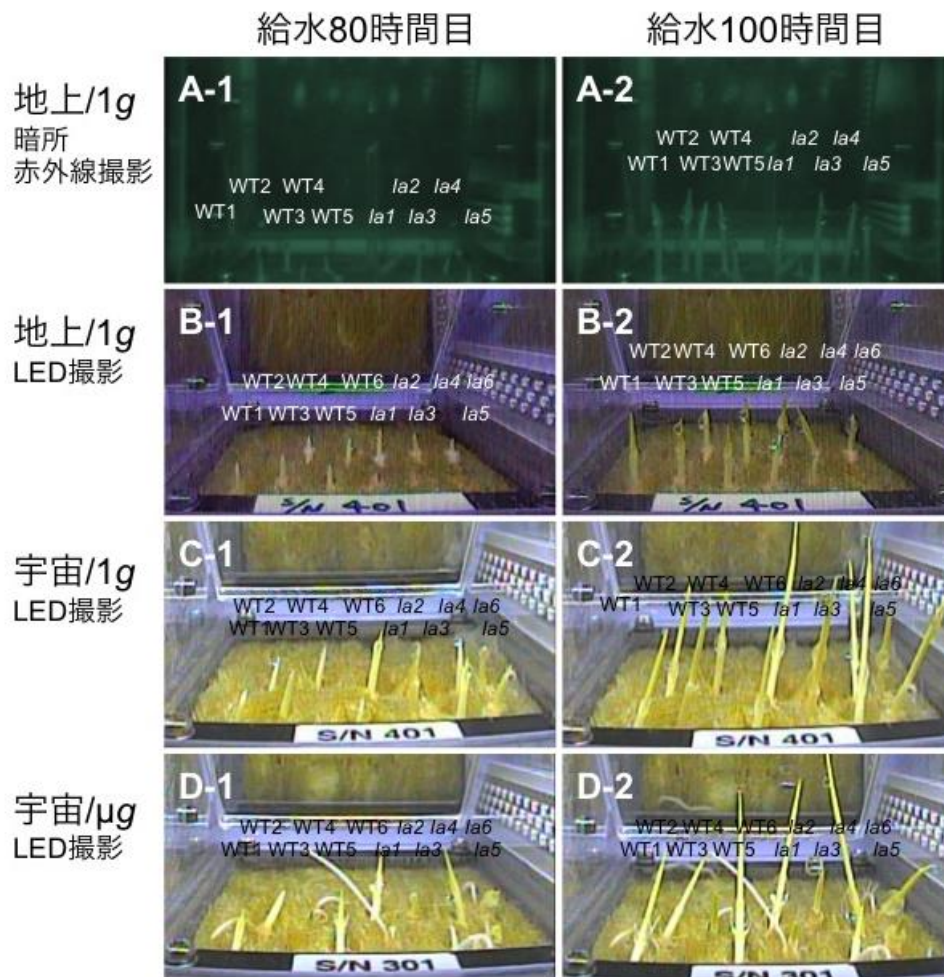


図 6. イネ野生型と *lazy1* の地上および宇宙における芽ばえの生育
図は Kobayashi et al. (2019) から転載。

5. おわりに

植物は進化の過程で重力を利用した成長制御の仕組みを獲得したが、そのメカニズムは十分に理解されていない。筆者らの実施した宇宙実験によって、ウリ科植物芽ばえの形態形成の重力によるネガティブコントロールの概念が生まれ、それを制御するオーキシン動態の仕組みがわかってきた。また、重力屈性に干渉される根の水分屈性能が重力宇宙生物学研究から再発見され、それが宇宙実験によって検証された。そうした結果が、ウリ科植物特有の重力形態形成ならびに根の水分屈性の分子機構の解析を可能にし、新規のメカニズムを明らかにしてきた。宇宙実験は、重力応答を原動力とした回旋転頭運動の検証にも一躍を担った。これらの成果は、緻密な生理学的研究に加えて、突然変異体などを用いた分子遺伝学と宇宙環境利用科学の統合、また、遺伝子マーカーや蛍光タンパク質などを利用したイメージング技術の活用によってもたらされた。これによって宇宙にユニークな環境を利用して生物学的知見を得ることの有用性を示すことができたと考えているが、それが膨大な地上実験、それにかかわった多くの共同研究者の努力、そして宇宙機関の支援に基づいていることを強調しておきたい。

宇宙環境を利用した生物学にとどまらず、宇宙実験の成果は、人類の将来的な有人宇宙探検・宇宙居住を目指した計画や種々の地球問題の解決策にも還元されることが重要である。月面や火星への居住を可能にするには、その場の環境を考慮して、部分重力の生物影響は勿論、それと宇宙放射線・紫外線等の複合環境の生物影響も問題になる。また、宇宙における生命維持システムの一部としての植物生産は必要不可欠である。例えば、重力屈性と独立した根の水分屈性のメカニズムは、そのような宇宙農業において節水型植物生産システムに応用できるであろう。それは、地球の半乾燥地帯における植物生産システムでも重要になる。

謝辞

本稿で紹介した筆者らのグループの研究は、共同研究者および宇宙関連機関のご協力のもとに行われたもので、ここに厚くお礼申し上げる。またその研究の多くは、新学術領域研究(18H04962)をはじめとする、文科省・日本学術振興会の科学研究費および宇宙航空研究開発機構・(財)日本宇宙フォーラムの研究助成によって行われたものである。

引用文献

- Abas, L., Benjamins, R., Malenica, N., Paciorek, T., Wisniewska, J., Moulinier-Anzola, J.C., Sieberer, T., Friml, J., & Luschnig, C. 2006. Intracellular trafficking and proteolysis of the *Arabidopsis* auxin-efflux facilitator PIN2 are involved in root gravitropism. *Nat. Cell Biol.* 8: 249256.
- Abe, K., Takahashi, H., & Suge, H. 1994. Gravitropism sites in shoots of normal and 'lazy' rice seedlings. *Physiol. Plant.* 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.). *J. Plant Res.* 109: 381-386.

- Abe, K., Takahashi, H., & Suge, H. 1998. Gravimorphism in rice and barley: promotion of leaf elongation by vertical inversion in agravitropically growing plants. *J. Plant Res.* 111: 523-530.
- Antonsen, F. & Johnsson, A. 1998. Effects of microgravity on the growth of *Lepidium* roots. *J. Gravit. Physiol.* 5: 13-21.
- Antonsen, F., Johnsson, A., Perbal, G., & Driss-Ecole, D. 1995. Oscillatory growth movements of roots in weightlessness. *Physiol. Plant.* 95: 596-603.
- Badot, P.M., Melin, D., & Garrec, J.P. 1990. Circumnutation in *Phaseolus vulgaris*. II. Potassium content in the free-moving part of the shoot. *Plant Physiol. Biochem.* 28: 123-130.
- Blixt, S., Ehrenberg, L., & Gelin, O. 1958. Quantitative studies of induced mutations in peas. I. Methodological investigation. *Agri. Hort. Genet.* 16: 238-250.
- Brown, A.H. & Champman, D.K. 1984. Circumnutation observed without a significant gravitational force in spaceflight. *Science* 225: 230-232.
- Brown, A.H., Champman, D.K., Lewis, R.F., & Venditti, A.L. 1990. Circumnutations of sunflower hypocotyls in satellite orbit. *Plant Physiol.* 94: 233-238.
- Caré, A.F., Nefed'ev, L., Bonnet, B., Millet, B., & Badot, P.M. 1998. Cell elongation and revolving movement in *Phaseolus vulgaris* L. twining shoots. *Plant Cell Physiol.* 39: 914-921.
- Chang, J., Li, X., Fu, W., Wang, J., Yong, Y., Shi, H., Ding, Z., Kui, H., Gou, X., He, K., & Li, J. 2019. Asymmetric distribution of cytokinins determines root hydrotropism in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Res.* 29: 984-993.
- Chapman, D.K., Venditti, A.L., & Brown, A.H. 1980. Gravity functions of circumnutations by hypocotyls of *Helianthus annuus* in simulated hypogravity. *Plant Physiol.* 65: 533-536.
- Darwin, C. & Darwin, F. 1880. The power of movement in plants. John Murray, London.
- Dietrich, D., Pang, L., Kobayashi, A., Fozard, J.A., Boudolf, V., Bhosale, R., Antoni, R., Nguyen, T., Hiratsuka, S., Fujii, N., Miyazawa, Y., Bae, T.W., Wells, D.M., Owen, M.R., Band, L.R., Dyson, R.J., Jensen, O.E., King, J.R., Tracy, S.R., Sturrock, C.J., Mooney, S.J., Roberts, J.A., Bhalerao, R.P., Dinneny, J.R., Rodriguez, P.L., Nagatani, A., Hosokawa, Y., Baskin, T.I., Pridmore, T.P., Veylder, L.D., Takahashi, H., & Bennett, M.J. 2017. Root hydrotropism is controlled via a cortex-specific growth mechanism. *Nat. Plants* 3: 17057.
- Ekelund, R. & Hemberg, T. 1966. A comparison between geotropism and geoelectric effect in *Pisum sativum* and its mutant *ageotropum*. *Physiol. Plant.* 19: 1120-1124.
- Eapen, D., Barroso, M.L., Campos, M.E., Ponce, G., Corkidi, G., Dubrovsky, J.G., & Cassab, G.I. 2003. A no hydrotropic response root mutant that responds positively to gravitropism in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 131: 536-546.

- Friml, J., Wisniewska, J., Benková, E., Mendgen, K., & Palme, K. 2002. Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*. *Nature* 415: 806-809.
- Fujii, N., Kamada, M., Yamasaki, S., & Takahashi, H. 2000. Differential accumulation of *Aux/IAA* mRNA during seedling development and gravity response in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Mol. Biol.* 42: 731-740.
- Fujii, N., Saito, Y., Miyazawa, Y., & Takahashi, H. 2007. Light inhibits gravity-regulated peg formation and symmetric mRNA accumulation of auxin-inducible *CsIAA1* in the cortex of the transition zone in cucumber seedlings. *Adv. Space Res.* 39: 1147-1153.
- 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: e0189827.
- Fukaki, H., Wysocka-Diller, J., Kato, T., Fujisawa, H., Benfey, P.N., & Tasaka, M. 1998. Genetic evidence that the endodermis is essential for shoot gravitropism in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 14: 425-430.
- Guilfoyle, T. & Hagen, G. 2001. Auxin response factors. *J. Plant Growth Regul.* 20: 281-291.
- Guseman, G.M., Webb, K., Srinivasan, C., & Dardick, C. 2017. *DRO1* influences root system architecture in *Arabidopsis* and *Prunus* species. *Plant J.* 89: 1093-1105.
- Hagen, G. & Guilfoyle, T. 2002. Auxin-responsive gene expression: genes, promoters and regulatory factors. *Plant Mol. Biol.* 49: 373-385.
- 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*. *Physiol. Plant.* 118: 464-473.
- 保尊隆享, 曾我康一, 若林和幸, 神阪盛一郎 2020. 微小重力環境における植物の成長と形態形成. *BSJ Review* 11A3: 11-22.
- Iida, M., Takano, T., Matsuura, T., Mori, I.C., & Takagi, S. 2017. Circumnutation and distribution of phytohormones in *Vigna angularis* epicotyls. *J. Plant Res.* 131: 165-178
- Israelsson, D. & Johnsson, A. 1967. A theory for circumnutation in *Helianthus annuus*. *Physiol. Plant* 20: 957-976
- Jaffe, M.J., Takahashi, H., & Biro, R.L. 1985. A pea mutant for the study of hydrotropism in roots. *Science* 230: 445-447.
- Johnsson, A. 1979. Circumnutation. In: Haupt W, Feinleib ME (eds) *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol 7. *Physiology of Movements*. Springer-Verlag, Berlin, pp 627-646.

- Johnsson, A. & Heathcote, D. 1973. Experimental evidence and models on circumnutation. *Z. Pflanzenphysiol.* 70: 371-405.
- Johnsson, A., Solheim, B.G.B., & Iversen, T-H. 2009. Gravity amplifies and microgravity decreases circumnutations in *Arabidopsis thaliana* stems: results from a space experiment. *New Phytol.* 182: 621-629.
- 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.
- Kamada, M., Yamasaki, S., Fujii, N., Higashitani, A., & Takahashi, H. 2003. Gravity-induced modification of auxin transport and distribution for peg formation in cucumber seedlings: possible roles for CS-AUX1 and CS-PIN1. *Planta* 218: 15-26.
- Kaneyasu, T., Kobayashi, A., Nakayama, M., Fujii, N., Takahashi, H., & Miyazawa, Y. 2007. Auxin response, but not its polar transport, plays a role in hydrotropism of *Arabidopsis* roots. *J. Exp. Bot.* 58: 1143–1150.
- Kitazawa, D., Hatakeda, Y., Kamada, M., Fujii, N., Miyazawa, Y., Hoshino, A., Iida, S., Fukaki, H., Morita, M.T., Tasaka, M., Suge, H., & Takahashi, H. 2005. Shoot circumnutation and winding movements require gravisensing cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102: 18742-18747.
- Kitazawa, D., Miyazawa, Y., Fujii, N., Nitasaka, E., & Takahashi, H. 2008. Characterization of a novel gravitropic mutant of morning glory, *weeping2*. *Adv. Space Res.* 42: 1050-1059.
- Kim, H-J., Kobayashi, A., Fujii, N., Miyazawa, Y., & Takahashi, H. 2016. Gravitropic response and circumnutation in pea (*Pisum sativum*) seedling roots. *Physiol. Plant.* 157: 108-118.
- Kleine-Vehn, J., Ding, Z., Jones, A.R., Tasaka, M., Morita, M.T., & Friml, J. 2010. Gravity-induced PIN transcytosis for polarization of auxin fluxes in gravity-sensing root cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107: 22344-22349.
- Kobayashi, A., Takahashi, A., Kakimoto, Y., Miyazawa, Y., Fujii, N., Higashitani, A. & Takahashi, H. 2007. A gene essential for hydrotropism in roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104: 4724–4729.
- 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. *Physiol. Plant.* 165: 464-475.
- Millet, B., Melin, D., & Badot, P.M. 1988. Circumnutation in *Phaseolus vulgaris*. I. growth, osmotic potential and cell ultrastructure in free-moving part of the shoot. *Physiol. Plant.* 72: 133-138.

- 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 Cell Physiol.* 43: 793–801.
- 宮本健助, 岡真理子, 鎌田源司, 上田純一 2020. 植物の自発的形態形成とオーキシン動態—ISS 宇宙実験を中心として—. *BSJ Review* 11A5: 47-59.
- Miyamoto, K., Hoshino, T., Yamashita, M., & Ueda, J. 2005. Automorphosis of etiolated pea seedlings in space is simulated by a three-dimensional clinostat and the application of inhibitors of auxin polar transport. *Physiol. Plant.* 123: 467-474.
- Miyazawa, Y., Takahashi, A., Kobayashi, A., Kaneyasu, T., Fujii, N., & Takahashi, H. 2009. GNOM-mediated vesicular trafficking plays an essential role in hydrotropism of *Arabidopsis* roots. *Plant Physiol.* 149: 835–840.
- Miyazawa, Y. & Takahashi, H. 2019. Molecular mechanisms mediating root hydrotropism: what we have observed since the rediscovery of hydrotropism. *J. Plant Res.* <https://doi.org/10.1007/s10265-019-01153-3>.
- Moriwaki, T., Miyazawa, Y., Fujii, N., & Takahashi, H. 2012. Light and abscisic acid signalling are integrated by *MIZ1* gene expression and regulate hydrotropic response in roots of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.* 35: 1359–1368.
- 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 Phytol.* 215: 1476–1489.
- Muday, G.K. 2001. Auxins and tropisms. *J. Plant Growth Regul.* 20: 226-243.
- Müller, A., Guan, C., Gälweiler, L., Tänzler, P., Huijser, P., Marchant, A., Parry, G., Bennett, M., Wisman, E., & Palme, K. 1998. AtPIN2 defines a locus of *Arabidopsis* for root gravitropism control. *EMBO J.* 17: 6903-6911.
- 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. *J. Exp. Bot.* 68: 3441–3456.
- Niinuma, K., Someya, N., Kimura, M., Yamaguchi, I., & Hamamoto, H. 2005. Circadian rhythm of circumnutation in inflorescence stems of *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 46:1423-1427
- 西村岳志, 中村守貴, 森田(寺尾)美代. 2019. 重力屈性における重力感受とシグナリングのメカニズム. *植物の生長調節* 54: 102-107.
- Olsen, G.M. & Iversen T-H. 1980a. Growth and curvature in seedlings of *Pisum sativum* and an ageotropic mutant. *Physiol. Plant.* 50: 269-274.

- Olsen, G.M. & Iversen T-H. 1980b. Ultrastructure and movements of cell structures in normal pea and an ageotropic mutant. *Physiol. Plant.* 50: 275-284.
- Ottenschläger, I., Wolff, P., Wolverton, C., Bhalerao, R.P., Sandberg, G., Ishikawa, H., Evans, M., & Palme, K. 2003. Gravity-regulated differential auxin transport from columella to lateral root cap cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100: 2987-2991.
- Petrásek, J., Mravec, J., Bouchard, R., Blakeslee, J.J., Abas, M., Seifertová, D., Wisniewska, J., Tadele, Z., Kubes, M., Covanová, M., Dhonukshe, P., Skupa, P., Benková, E., Perry, L., Krecek, P., Lee, O.R., Fink, G.R., Geisler, M., Murphy, A.S., Luschnig, C., Zazimalová, E., & Friml, J. 2006. PIN proteins perform a rate-limiting function in cellular auxin efflux. *Science* 312: 914-918.
- Prasad, T.K. & Cline, M.G. (1987) The role of gravity in apical dominance. *Plant Physiol.* 83: 505-509.
- Saito, Y., Yamasaki, S., Fujii, N., Hagen, G., Guilfoyle, T., & Takahashi, H. 2004. Isolation of cucumber *CsARF* cDNAs and expression of the corresponding mRNAs during gravity-regulated morphogenesis of cucumber seedlings. *J. Exp. Bot.* 55: 1315-1323.
- Saito, Y., Yamasaki, S., Fujii, N., & Takahashi, H. 2005. Possible involvement of CS-ACS1 and ethylene in auxin-induced peg formation of cucumber seedlings. *Ann. Bot.* 95: 413-422.
- Saucedo, M., Ponce, G., Campos, M.E., Eapen, D., García, E., Luján, R., Sánchez, Y., & Cassab, G.I. (2012) An *altered hydrotropic response (ahr1)* mutant of *Arabidopsis* recovers root hydrotropism with cytokinin. *J. Exp. Bot.* 63: 3587–3601.
- Shabala, S.N. & Newman, I.A. 1997. Proton and calcium flux oscillation in the elongation region correlate with root nutation. *Physiol. Plant.* 100: 917-926.
- Shimizu, M., Suzuki, K., Miyazawa, Y., Fujii, N., & Takahashi H. 2006. Differential accumulation of the mRNA of the auxin-repressed gene *CsGRP1* and the auxin-induced peg formation during gravimorphogenesis of cucumber seedlings. *Planta* 225: 13-22.
- Shimizu, M., Miyazawa, Y., Fujii, N., & Takahashi H. 2008, *p*-Chlorophenoxyisobutyric acid impairs auxin response for gravityregulated peg formation in cucumber seedlings. *J. Plant Res.* 121: 107-114.
- Shkolnik, D., Krieger, G., Nuriel, R., & Fromm, H. 2016. Hydrotropism: root bending does not require auxin redistribution. *Mol. Plant* 9: 757–759.
- Shkolnik, D., Nuriel, R., Bonza, M.C., Costab, A. & Fromm, H. 2018. MIZ1 regulates ECA1 to generate a slow, long-distance phloem-transmitted Ca^{2+} signal essential for root water tracking in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115: 8031–8036.
- Smith, H. & Wareing, P.F. 1964. Gravimorphism in trees: 2. The effect of gravity on bud-break in osier willow. *Ann. Bot.* 28: 283-295.

- Swarup, R., Kramer, E.M., Perry, P., Knox, K., Leyser, H.M., Haseloff, J., Beemster, G.T., Bhalarao, R., & Bennett, M.J. 2005. Root gravitropism requires lateral root cap and epidermal cells for transport and response to a mobile auxin signal. *Nat. Cell Biol.* 7: 1057-1065.
- 高橋秀幸. 2009. オーキシンによる植物の重力形態形成の制御機構に関する研究. *植物の生長調節* 44: 10-21.
- 高橋秀幸. 2018. 植物の成長を支配する重力応答と宇宙実験. *生体の科学* 69: 162-167.
- 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.
- Takahashi, H. 1997. Gravimorphogenesis: gravity-regulated formation of the peg in cucumber seedlings. *Planta* 203: S164-S169.
- Takahashi, H., Takano, M., Fujii, N., Yamashita, M., & Suge, H. 1996. Induction of hydrotropism in clinorotated seedling roots of Alaska pea, *Pisum sativum* L. *J. Plant Res.* 109: 335-337.
- Takahashi, H. & Suge, H. 1988. Involvement of ethylene in gravity-regulated peg development in cucumber seedlings. *Plant Cell Physiol.* 29: 313-320.
- Takahashi, H. & Suge, H. 1991. Root hydrotropism of an agravitropic pea mutant, *ageotropum*. *Physiol. Plant.* 82: 24-31.
- Takahashi, H. & Scott, T.K. 1991. Hydrotropism and its interaction with gravitropism in maize roots. *Plant Physiol.* 96: 558-564.
- Takahashi, H. & Scott, T.K. 1993. Intensity of hydrostimulation for the induction of root hydrotropism and its sensing by the root cap. *Plant Cell Environ.* 16: 99-103.
- Takahashi, H., Mizuno, H., Kamada, M., Fujii, N., Higashitani, A., Kamigaichi, S., Aizawa, S., Mukai, C., Shimazu, T., Fukui, K., & Yamashita, M. 1999. A spaceflight experiment for the study of gravimorphogenesis and hydrotropism in cucumber seedlings. *J. Plant Res.* 112: 497-505.
- 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, N., Goto, N., Okada, K., & Takahashi, H. 2002. Hydrotropism in abscisic acid, wavy, and gravitropic mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 216: 203-211.
- Takahashi, H., Miyazawa, Y., & Fujii, N. 2009. Hormonal interactions during root tropic growth: hydrotropism versus gravitropism. *Plant Mol. Biol.* 69: 489-502.
- Takano, M., Takahashi, H., & Suge, H. 1997. Calcium requirement for the induction of hydrotropism and enhancement of calcium-induced curvature by water stress in primary roots of pea, *Pisum sativum* L. *Plant Cell Physiol.* 38: 385-391.

- Tanaka-Takada, N., Kobayashi, A., Takahashi, H., Kamiya, T., Kinoshita, T., & Maeshima, M. 2019. Plasma membrane-associated Ca^{2+} -binding protein PCaP1 is involved in root hydrotropism of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 60: 1331–1341.
- Taniguchi, M., Furutani, M., Nishimura, T., Nakamura, M., Fushita, T., Iijima, K., Baba, K., Tanaka, H., Toyota, M., Tasaka, M., & Morita, M.T. 2017. The Arabidopsis LAZY1 family plays a key role in gravity signaling within statocytes and in branch angle control of roots and shoots. *Plant Cell* 29: 1984-1999.
- Tanimoto, M., Tremblay, R., & Colasanti, J. 2008. Altered gravitropic response, amyloplast sedimentation and circumnutation in the Arabidopsis *shoot gravitropism 5* mutant are associated with reduced starch levels. *Plant Mol. Biol.* 67: 57-69.
- Tepper, H.B. & Yang, R.L. 1996. Influence of shoot tip and leaves on circumnutation in green pea seedling. *J. Plant Physiol.* 109: 502-505.
- Wareing, P.F. & Nasr, T.T.A. 1958. Gravimorphism in trees. Effect of gravity on growth, apical dominance and flowering in fruit-trees. *Nature* 182: 321-340.
- Watanabe, C., Fujii, N., Yanai, K., Hotta, T., Kim, D-H., Kamada, M., Sasagawa-Saito, Y., Nishimura, T., Koshiba, T., Miyazawa, Y., Kim, K-M., & Takahashi, H. 2012. Gravistimulation changes the accumulation pattern of the CsPIN1 auxin efflux facilitator in the endodermis of the transition zone in cucumber seedlings. *Plant Physiol.* 158: 239-251.
- Went, F.W. & Thimann, K.V. 1937. Phytohormones. Macmillan, NewYork, pp 154–157.
- Witztum, A. & Gersani, M. 1975. The role of IAA in the development of the peg in *Cucumis sativus* L. *Bot. Gaz.* 136: 5-16.
- Yamazaki, T., Miyazawa, Y., Kobayashi, A., Moriwaki, T., Fujii, N., & Takahashi, H. 2012. MIZ1, an essential protein for root hydrotropism, is associated with the cytoplasmic face of the endoplasmic reticulum membrane in Arabidopsis root cells. *FEBS Letters* 586: 398–402.
- 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.
- Yoshihara, T. & Iino, M. 2006. Circumnutation of rice coleoptiles: its relationships with gravitropism and absence in lazy mutant. *Plant Cell Environ.* 29: 778-792.
- Yoshihara, T. & Iino, M. 2007. Identification of the gravitropism-related rice gene *LAZY1* and elucidation of LAZY1-dependent and -independent gravity signaling pathways. *Plant Cell Physiol.* 48: 678-688.

- Yoshihara, T. & Spalding, E.P. 2017. LAZY genes mediate the effects of gravity on auxin gradients and plant architecture. *Plant Physiol.* 175: 959-969.
- Yoshihara, T. & Spalding, E.P. 2019. Switching the direction of stem gravitropism by altering two amino acids in AtLAZY1. *Plant Physiol.* doi: 10.1104/pp.19.01144.
- Zachariassen, E., Johnsson, A., Brown, A.H., Chapman, D.K., & Johnsson, G.C. 1987. Influence of the *g*-force on the circumnutations of sunflower hypocotyls. *Physiol. Plant.* 70: 447-452.

植物の自発的形態形成とオーキシン動態—ISS 宇宙実験を中心として—

宮本 健助^{1,2}・岡 真理子³・鎌田 源司⁴・上田 純一²

¹大阪府立大学・高等教育推進機構

〒599-8531 大阪府堺市中区学園町 1-1

²大阪府立大学大学院・理学系研究科

〒599-8531 大阪府堺市中区学園町 1-1

³鳥取大学・農学部

〒680-8553 鳥取県鳥取市湖山町南 4 丁目 101

⁴(株)エイ・イー・エス

〒680-8553 茨城県つくば市竹園 1-6-1

Automorphogenesis and auxin dynamics in plants under microgravity conditions in space: Relevance to the International Space Station experiment

Kensuke Miyamoto^{1,2}, Mariko Oka³, Motoshi Kamada⁴, and Junichi Ueda²

¹ Faculty of Integrated Arts and Sciences, Osaka Prefecture University, 1-1 Gakuen-cho, Naka-ku, Sakai, Osaka 599-8531, Japan

² Graduate School of Science, Osaka Prefecture University, 1-1 Gakuen-cho, Naka-ku, Sakai, Osaka 599-8531, Japan

³ Faculty of Agriculture, Tottori University, 4-101 Koyamacho-minami, Tottori 680-8553, Japan

⁴ Future Development Division, Advanced Engineering Services Co., Ltd., 1-6-1 Takezono, Tsukuba, Ibaraki 305-0032, Japan

Key words: Auxin efflux carrier, Cellular localization, Gene expression, International Space Station (ISS), PIN-FORMED (PIN) protein, Polar auxin transport

DOI: 10.24480/bsj-review.11a5.00177

1. はじめに

植物が陸上生活を営み始めて 4 億年以上が経過している。この間に植物は重力の存在下で発達し、軸性をもった特徴的な形態を築きながら効率的に光や水分を吸収するように進化を遂げてきた。このことは地球上における植物の成長・発達が重力の支配下にある現象であることを示唆している。植物の成長・発達に対する重力の影響の解明には、重力の大きさを変化させてその影響を解析する必要がある、その有効的な方法として宇宙船や宇宙ステーションなどを用いた宇宙微小重力(μg)環境や遠心装置によって作出される過重力環境の適用があげられる。

植物の成長・発達の制御には植物ホルモン類が重要な役割を果たしている。特に重力や光の刺激に応答した姿勢制御において重要な役割を担っているオーキシン(インドール酢酸)は、主に茎頂や若い葉で活発に合成され、茎の中を軸に沿って細胞基部側の原形質膜上に偏在するオーキシン排出キャリアーPIN タンパク質の働きによって基部側方向に移動し、頂端から流れてきたオーキシンは根の先端に位置するコルメラ細胞で周囲に拡散し、根の表層においては根端から離れる方向に輸送される。放射性オーキシンを茎切片の頂端側から与えると基部側方向に輸送されるのに対して、基部側から与えても頂端側へと移動しないことから、オーキシンの移動は細胞齢の勾配すなわち軸性に従った特異な移動であり、極性移動と呼ばれている (Friml & Palme 2002, Petrášek & Friml 2009, Adamowski & Friml 2015)。オーキシン極性移動に対する重力の影響はほとんど明らかにされていなかったことから、筆者らは 1998 年に、双子葉植物のエンドウ (*Pisum sativum* L. cv. Alaska) と単子葉植物のトウモロコシ (*Zea mays* cv. Golden Cross Bantam) を対象にスペースシャトル“Discovery”を利用した STS-95 宇宙実験¹⁾「宇宙環境下における植物の形態形成とオーキシンの極性移動に関する研究」を実施した (Ueda *et al.* 1999, 2000)。その結果、重力や光といった環境刺激の無い宇宙 μg 環境下、暗所ではエンドウやトウモロコシの黄化芽生えは自発的形態形成 (automorphogenesis あるいは automorphosis) と呼ばれる成長・発達を示すこと、そして、オーキシン極性移動はエンドウ上胚軸では宇宙 μg によって阻害的な、トウモロコシ幼葉鞘や中胚軸では促進的な影響を受けることを見出し、自発的形態形成とオーキシン極性移動との間に密接な関係があることを示唆した。同様の結果は、直交する 2 つの回転軸を有し植物体を 3 次元的に緩やかに回転させることが可能な 3 次元クリノスタットを用いた地上擬似微小重力実験や重力応答突然変異体 *ageotropum* エンドウを用いた実験によっても得られた (Shimazu *et al.* 2001, Miyamoto *et al.* 2005, 2007, Ueda *et al.* 2014a)。本稿では、これら STS-95 宇宙実験および擬似微小重力実験等の成果を発展させ、自発的形態形成の詳細とオーキシン極性移動の分子的基础に対する重力の影響の解明を目指して 2016 年 5~6 月と 2017 年 3 月に実施した国際宇宙ステーション (International Space Station: ISS) 実験「宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解析」(Auxin Transport) (Ueda 2016) の結果と、重力によるオーキシン極性移動制御の分子機構に関する最近の知見を紹介したい。

2. 宇宙微小重力環境下における植物の成長・発達：自発的形態形成とオーキシン極性移動

植物の伸長成長速度に対する宇宙 μg 環境の影響はさまざまである (Halstead & Dutcher 1987; Hoson & Soga 2003)。地上 1g 環境との比較であるが STS-95 宇宙実験においても、イネの幼葉鞘、シロイヌナズナの胚軸 (Hoson *et al.* 1999)、ケツルアズキ (*Vigna mungo*) の根 (Wolverton *et al.* 2000) のように伸長成長が促進される場合、キュウリの胚軸や根のように伸長成長に差が認められない場合 (Kamada *et al.* 2000)、そして筆者らが用いた黄化トウモロコシ芽生えの中胚軸および幼葉鞘、黄化エンドウ芽生えの上胚軸のように伸長成長が阻害される場合が認められている。宇宙 μg 環境下における成長阻害はオートムギやコムギの地上部やアブラナ科植物の根など多くの植物種においても認められている (Halstead & Dutcher 1987, Hoson & Soga

2003)。STS-95 宇宙実験で使用されたトウモロコシやシロイヌナズナでも別の宇宙実験では、それぞれ地上 $1g$ 環境下のものと比較して、その伸長成長に差が無い場合や阻害される場合も報告されている (Schulze *et al.* 1992, Kiss *et al.* 1998)。

ISS の「きぼう」日本実験棟では、遠心装置を備えた培養装置 (Cell Biology Experiment Facility : CBEF) を利用することによって宇宙環境下で人工 $1g$ 環境と宇宙 μg 環境の生物への影響を比較することが可能となった。筆者らが実施した CBEF を利用した ISS 宇宙実験「Auxin Transport」では、黄化エンドウ芽生えの上胚軸の伸長成長は、STS-95 実験の場合と同様、宇宙 μg 環境下では阻害された (Miyamoto *et al.* 2019)。また、地上 $1g$ 環境との比較であるが、黄化トウモロコシ芽生えの幼葉鞘と中胚軸、いずれにおいても STS-95 実験と同様にその伸長成長は阻害される傾向にあった (Miyamoto *et al.* 2019)。このように伸長成長に対する微小重力の影響は必ずしも一致していない。その理由として、重力以外の成長速度に影響を及ぼす物理的要因、例えば温度、光、湿度、ガス組成、水分の状態などを整えることの困難さ、あるいは、培養条件や培養容器、齢や器官の違いなどによる可能性があり、伸長成長に対する重力の影響についてはより詳細な検討が必要であろう。

一方、植物の形態形成は重力の影響を顕著に受ける。ISS 宇宙実験「Auxin Transport」ではエンドウ乾燥種子を乾燥種子中の胚の向きが支持体であるロックウール表面に水平になるように播種し、宇宙環境下で給水後、CBEF 内の宇宙人工 $1g$ 下および宇宙 μg 下、暗所で 3 日間生育させたところ、宇宙人工 $1g$ 環境下では黄化エンドウ芽生えの上胚軸および根はそれぞれ負と正の重力屈性を示して反重力方向と重力方向に伸長したのに対し、宇宙 μg 下では上胚軸は子葉から離れる方向に約 45° 度傾いて、根は容器内の気中に向かって約 20° 度傾いてまっすぐに伸長した (図 1) (Miyamoto *et al.* 2019)。

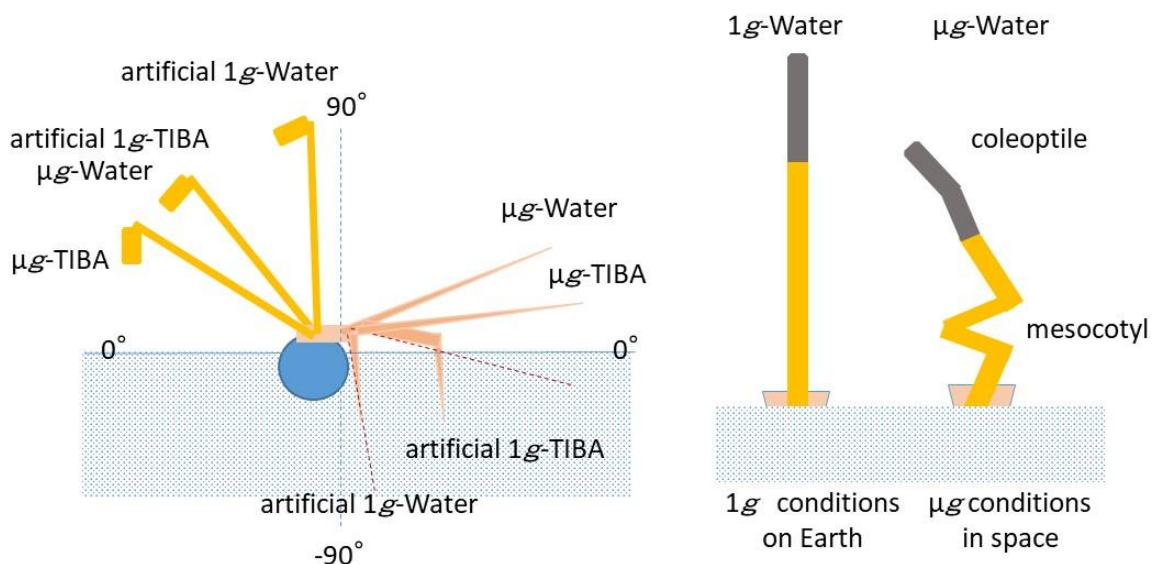


図 1. 3 日齢黄化エンドウ芽生え (左) および 4 日齢黄化トウモロコシ芽生え (右) の自発的形態形成の模式図

また、トウモロコシ種子をロックウール表面に胚の向きが垂直になるように播種し、暗所で4日間生育させると、地上 $1g$ 環境下では黄化芽生えの中胚軸、幼葉鞘とも反重力方向にほぼまっすぐに伸長したのに対し、宇宙 μg 環境下では幼葉鞘はやや湾曲して、そして中胚軸はランダムな方向に著しく屈曲して伸長した(図1)(Miyamoto *et al.* 2019)。いずれも STS-95 植物宇宙実験で認められた形態と極めて類似しており(Ueda *et al.* 1999, 2000)、環境刺激が無いところで形作られたこれらの成長方向の変化と湾曲・屈曲した成長形態がエンドウとトウモロコシの宇宙 μg 環境で認められる自発的な形態形成の形であるといえる。

宇宙 μg 環境下あるいは3次元クリノスタット上の擬似微小重力環境下における成長方向の変化や屈曲は他にも多くの植物で観察されている。自発的な形態形成の様態は植物種によって異なっており、トウモロコシでは幼葉鞘が胚乳から離れる方向に傾いて、また、イネでは幼葉鞘が種子(穎果)の側に近づく方向に傾いてやや屈曲しながら傾いて伸長すると共に、その根はランダムな方向に伸長する(Hoson *et al.* 1993, 1999; Hoson 2014)。種子発芽後の胚の初期成長方向でその後の伸長方向が決まるようである。これまでの宇宙実験では地上 $1g$ 環境下で形成された種子が使用されており、微小重力環境下で形成された種子を用いた自発的な形態形成実験に興味がもたれる。

宇宙 μg 環境下ではオーキシン極性移動が変化した。自発的な形態形成との関係を明らかにする目的で、地上 $1g$ 環境下においてオーキシン極性移動阻害剤である 2,3,5-トリヨード安息香酸(TIBA)、9-ヒドロキシフルオレン-9-カルボン酸(HFCA)、あるいはナフチルフタラミン酸(NPA)存在下でエンドウ種子を発芽、生育させた結果、黄化エンドウ芽生えは自発的な形態形成に極めて類似の形態を示し、上胚軸の傾斜および根の気中への伸長が認められた(Miyamoto *et al.* 2005, Ueda *et al.* 2014a)。しかしながら、オーキシンの作用阻害剤であるパラクロロフェノキシイソ酪酸(PCIB)はそのような形態変化をもたらさなかった。ISS 宇宙実験「Auxin Transport」でも、エンドウ種子に、水に替えて TIBA を投与した影響も調べられた。TIBA (30 μM) 存在下でエンドウ種子を発芽・生育させると、宇宙人工 $1g$ 環境下でも黄化芽生え上胚軸の負の重力屈性や根の正の重力屈性が阻害され、自発的な形態形成が表現模写された(Miyamoto *et al.* 2019)。さらに宇宙 μg 環境ではそれぞれの屈曲角度がより小さいものになった(図1)。これらの結果は、オーキシン極性移動の攪乱が宇宙環境下における自発的な形態形成をもたらす要因であることを示すとともに、宇宙環境下において効率的な植物栽培を目指す上で成長方向の制御のケミカルレギュレーションの可能性を示すものでもある。

3. 宇宙微小重力環境下におけるオーキシン極性移動

オーキシン(インドール酢酸)は、茎の先端部を構成している茎頂分裂組織や若い葉で活発に合成され、茎では根の方向に向かって求基的に極性移動する。従来このようなオーキシン極性移動は植物組織の極性によってのみ制御され、重力の方向の影響を受けない可能性も考えられてきた。しかしながら、1998年に実施された STS-95 宇宙実験(Ueda *et al.* 1999, 2000)や、それに関連する一連の地上基礎研究(Oka *et al.* 1995, Miyamoto *et al.* 1999, 2005, 2007, Ueda *et al.* 2014a)において、オーキシン極性移動も実際のところ重力の支配下にある現象であることが示されている。

ISS 宇宙実験「Auxin Transport」においても、宇宙実験ならではの特殊で工夫された方法によってオーキシン極性移動に対する重力の影響の検証がなされた。すなわち放射性オーキシンを溶解させた含水ラノリンをエッペンドルフチューブの底に一定量入れて凍結し、これを軌道上で溶解し、これに切片をその頂端側を下にして挿し入れ、一定期間、放射性オーキシンを移動させた後、エッペンドルフチューブごと凍結し、凍らせたままの状態ですぐに地上および実験室まで持ち帰り、他端に移動・蓄積した放射性オーキシンを定量するというものであった。地上基礎実験において黄化エンドウ芽生えでは子葉側 (proximal) と反子葉側 (distal) 上胚軸でオーキシン極性移動に偏りがあることから (Hoshino *et al.* 2006, 2007), 子葉側と反子葉側それぞれについてオーキシン極性移動を調べた。その結果、地上あるいは宇宙人工 1g 環境、宇宙 μg 環境いずれの重力環境においても上胚軸のオーキシン極性移動は反子葉側に比べて子葉側で大きく、また、宇宙 μg 環境下で育てると子葉側、反子葉側いずれにおいてもオーキシン極性移動の低下が認められた (Miyamoto *et al.* 2019)。また、TIBA を処理するとオーキシン極性移動が低下し、宇宙 μg 環境下では TIBA と宇宙 μg 環境との相互作用が認められた。オーキシン極性移動の阻害と自発的形態形成の屈曲角度との間には高い正の相関があった。その相関関係は反子葉側に比べて子葉側で極めて顕著であったことから、黄化エンドウ芽生えでは、重力は特に子葉側のオーキシン極性移動に影響して重力応答反応を制御しているものと推察される。

一方、黄化トウモロコシ芽生えでは中胚軸に比べて幼葉鞘のオーキシン極性移動能が高い (Ueda *et al.* 2014b) ことから、幼葉鞘と中胚軸からなる切片を用いてオーキシン極性移動に対する宇宙 μg 環境の影響を調べた。その結果、幼葉鞘節で一旦極性移動されたオーキシンの蓄積が認められること、そして、地上 1g 対照に比べて宇宙 μg 環境下で生育させたものでは両器官のオーキシン極性移動が大きいことが認められた (Miyamoto *et al.* 2019)。このようなトウモロコシにおけるオーキシン極性移動に対する宇宙 μg 環境の促進的影響も STS-95 宇宙実験の結果と一致している。

これらの結果は、重力は黄化エンドウ芽生えでは促進的に、黄化トウモロコシ芽生えでは抑制的にオーキシン極性移動を制御していることを意味している。この重力影響の違いが何に基づくものかは定かでないが、植物種の違いや器官の違い、あるいは実験条件の違いによるのかも知れない。

4. 重力によるオーキシン極性移動制御の分子機構

それでは重力はどのようにしてオーキシン極性移動を制御しているのでしょうか。オーキシン極性移動に関する分子レベルの研究は、1991 年に岡田らによって報告されたシロイヌナズナ *pin* 突然変異体を対象とした花形態形成に関する研究から飛躍的に発展した (Okada *et al.* 1991)。この *pin* 突然変異体は花茎におけるオーキシン極性移動が著しく低下しているという特徴を有している (Okada *et al.* 1991, Oka *et al.* 1998, 1999)。Max Planck 研究所の K. Palme らはタギング法によって *pin* 突然変異体様の形質転換体を得て、*AtPIN1* 遺伝子の分離に成功した (Gälweiler *et al.* 1998)。さらに *AtPIN1* 遺伝子産物のポリクローナル抗体を用いた研究から、シロイヌナズナ花茎の通導組織を形成する柔組織細胞の基底部側原形質膜に *AtPIN1* タンパク

質が特異的に局在していることが示されたことから、これがオーキシン極性移動においてオーキシンを細胞外に排出する重要なキャリアーであると考えられている (Gälweiler *et al.* 1998, Wiśniewska *et al.* 2006, Křeček *et al.* 2009, Adamowski *et al.* 2015)。また、オーキシン極性移動においてオーキシンを細胞内へ取り込むためのキャリアータンパク質をコードしている *AtAUX1* 遺伝子の存在も明らかになっている (Bennett *et al.* 1996, Marchant *et al.* 1999)。PIN タンパク質はファミリーを形成していることが知られているが、エンドウでは PsPIN1 が、トウモロコシでは ZmPIN1a がオーキシン極性移動に特に重要であるとされている (Hoshino *et al.* 2006, 2007, Carraro *et al.* 2006, Forestan & Varotto 2010, Forestan *et al.* 2010, 2012)。

筆者らはこれらオーキシン極性移動に関係する排出キャリアーPIN タンパク質と細胞内取り込みキャリアーAUX1 タンパク質をコードする遺伝子の発現や遺伝子産物の動態に宇宙 μg 環境がどのように影響しているかを明らかにするために、リアルタイム定量 PCR 法および PIN タンパク質に対するポリクローナル抗体 (Kamada *et al.* 2018a,b) を用いたウエスタンブロット解析や免疫組織化学的手法を導入して宇宙 μg 環境の影響を調べた。

放射性 IAA を用いて極性移動を調べた結果、黄化エンドウ上胚軸では IAA 極性移動は宇宙人工 1g 環境下に比べて宇宙 μg 環境下で著しく低い値を示したが、リアルタイム定量 PCR 解析による *PsAUX1* と *PsPIN1* 遺伝子の mRNA 蓄積量には、子葉側が反子葉側に比べて高いものの両重力環境による有意な差は認められなかった (Kamada *et al.* 2019)。さらにウエスタンブロット解析による PsPIN1 タンパク質量の解析結果でも、両者に差は認められなかった。

しかしながら、PsPIN1 抗体を用い PsPIN1 タンパク質の細胞内分布を免疫組織化学的に解析した結果、宇宙人工 1g 環境下および地上 1g 環境下で生育させた黄化エンドウ芽生えの上胚軸では PsPIN1 タンパク質の大部分は維管束鞘組織の細胞の基部側の細胞膜に局在していたのに対し、宇宙 μg 環境下で育てたものでは維管束鞘組織の細胞の維管束側 (内側の原形質膜に多く局在していた。これらの結果から、宇宙 μg 環境はオーキシン極性輸送関連遺伝子の転写や翻訳レベルよりもむしろ、その翻訳産物である PIN1 タンパク質の細胞内局在に影響することによって、オーキシン極性移動を阻害するものと推察された。

一方、黄化トウモロコシ芽生えのオーキシン極性移動に関わる分子への宇宙 μg 環境の影響の解析は現在進行中であるが、黄化トウモロコシ芽生えにおいても *ZmAUX1* および *ZmPIN1a* 遺伝子の発現、および *ZmPIN1a* タンパク質の蓄積に、地上 1g 環境下と宇宙 μg 環境下で生育させた芽生えとの間で差は認められていない。さらに、縦断切片を用いて *ZmPIN1a* タンパク質の細胞内分布を調べた結果、幼葉鞘では維管束内皮組織の細胞の基底部側原形質膜と柔組織細胞の原形質膜に、中胚軸では表皮付近の細胞と維管束内皮組織の細胞の基底部側原形質膜に *ZmPIN1a* タンパク質の存在が認められ、これらがオーキシンの極性移動に関わるものと推察されるが、この局在にも宇宙 μg 環境の影響はほとんど認められていない。ところが幼葉鞘の横断切片の免疫組織的解析において極めて興味深い結果が得られつつある。地上 1g 環境下で育てた黄化トウモロコシ芽生えの幼葉鞘の柔細胞に比べ、宇宙 μg 環境下で育てたものでは柔細胞側面の原形質膜に分布する *ZmPIN1a* タンパク質が、オーキシンの極性移動を司る維管束の内皮組織に効率的にオーキシンを送り込むように配置され、より多くのオーキシンを極性移動させるのに機能しているようである。オーキシンには細胞壁の力学的性質を変化さ

せる作用があることを考慮すると、宇宙 μg 環境では多くのオーキシンが幼葉鞘から中胚軸に運ばれ、中胚軸でのオーキシン濃度が高まることによって細胞壁の力学的性質が変化し、中胚軸の屈曲した成長がもたらされるのかも知れない。3次元クリノスタット上の擬似 μg 環境で認められるイネ幼葉鞘の自発的形態形成による屈曲は、屈曲の内側と外側の細胞におけるマトリックス多糖類の代謝や表層微小管配向の違いに基づく細胞壁伸展性の偏差によって引き起こされることが示唆されており (Hoson *et al.* 2001)、今後、細胞壁の力学的性質の測定ならびに生化学的解析が求められる。

シロイヌナズナでは、オーキシン極性移動と *PIN* 遺伝子発現については、*PIN* 遺伝子ファミリーのいろいろな *pin* 突然変異体における *PIN* 遺伝子発現解析 (Blilou *et al.* 2005) やオーキシン極性移動阻害剤の投与実験 (Vieten *et al.* 2005) から、内生オーキシン分布の変化がオーキシシンシグナル伝達系を介して *PIN* 遺伝子発現のフィードバック制御に関与することが示唆されている (Vieten *et al.* 2005; Heisler *et al.* 2005)。しかし、以上の結果から、宇宙 μg 環境はオーキシン極性輸送関連遺伝子の転写や翻訳レベルに影響するよりもむしろ、翻訳産物である *PIN1* タンパク質の原形質膜上の配置に影響することによって、オーキシン極性移動に対して黄化エンドウ芽生え上胚軸では阻害的に、黄化トウモロコシ芽生え幼葉鞘では促進的に影響を及ぼすものと考えられる。しかしながら、*PIN* タンパク質の原形質膜上の局在がどのように重力によって制御されているかは未だ明らかでない。

5. *PIN* タンパク質の原形質膜局在性の制御

PIN タンパク質の細胞局在の制御機構については、まだ十分に明らかでないが、いくつかの段階での制御が明らかにされつつある。ひとたび *PIN* タンパク質が生成されると小胞輸送系 (vesicle trafficking system) によって原形質膜上に輸送される。その後、*PIN* はダイナミックな挙動を示し、クラスリン²⁾ (clathrin) 依存的なエンドサイトーシスによって内部に取り込まれた後、一部は再び原形質膜へと戻されたり、別の一部は液胞へと運ばれて分解されたりする。すなわち、原形質膜とエンドソームプールの中で活発にリサイクリング (recycling) されることによって、環境変化に応答して *PIN* タンパク質の原形質膜における局在を変化させることができると考えられている (Geldner *et al.* 2001, 2003, Dhonukshe *et al.* 2007, Hille *et al.* 2018)。

この *PIN* タンパク質の原形質膜上の挙動に関する重要な知見は、カビの毒素の一つである Brefeldin A (BFA) の薬理学的研究から得られた。BFA を処理すると、オーキシンの細胞からの排出が阻害されるが、この時オーキシンの原形質膜上の *PIN* タンパク質の局在性が失われ、いわゆる BFA body とよばれる *PIN* タンパク質のエンドソームにおける凝集が認められる (Geldner *et al.* 2001, 2003)。また、この凝集体は組織から BFA を取り除くと可逆的に変化する。このことは、エンドサイトーシスによって *PIN* タンパク質が活発にリサイクリングされていることを示している。BFA を処理すると、通常ゴルジ体に存在する GNOM タンパク質が trans ゴルジネットワーク/初期エンドソームに配置することから、GNOM 依存的なリサイクリングが *PIN* の細胞内局在に重要であることが示唆されている (Naramoto *et al.* 2014)。GNOM 遺伝子は ARF-GEF タンパク質 (GDP/GTP exchange factor for ARF type small G protein) をコードしている。最近、GNOM に加え、VAN3 ARF-GAP (Naramoto *et al.* 2009) や BEN3/BIG2

ARF-GEF (Kitakura *et al.* 2017) も BFA 感受性の trans ゴルジネットワーク/初期エンドソームを介した輸送に関わっているとされる。また、サイトカラシン D (Cytochalasin D) やラトランキュリン B (Latrunculin B) のようなアクチンの重合状態を変える化合物はオーキシンの極性移動を低下させると共に、原形質膜上の PIN の局在性や BFA 誘導の PIN タンパク質の細胞内凝集を阻害する (Geldner *et al.* 2001)。原形質膜上および trans ゴルジネットワーク膜上で ARF-GTPase machinery を介したエンドサイトーシスの制御、そしてアクチン細胞骨格を介したリサイクリング過程の制御もオーキシン極性移動の制御に重要と考えられる。

一方、PIN タンパク質の局在に影響を及ぼす局在制御因子の存在も示されている。シロイヌナズナ *pin* 突然変異体様形態を示す *pinoid* 変異体の原因遺伝子の研究から同定された *PINOID* 遺伝子は、セリン/トレオニンキナーゼをコードしており、これが PIN タンパク質の配向方向の基部側/頂端側への切り替えスイッチとして機能するとされる (Friml *et al.* 2004)。*PINOID* 以外にも D6 タンパク質リン酸化酵素 (D6PK) や MAPK/MAP も類似の効果をもつことから、PIN タンパク質のオーキシン排出機能に PIN タンパク質のリン酸化が密接に関わるものと考えられている (Zažímalová *et al.* 2007, Kleine-Vehn *et al.* 2009, Zourelidou *et al.* 2014)。

今後、重力による PIN 局在制御の分子機構の解明、すなわち小胞輸送系や PIN タンパク質のリン酸化の過程に対する重力の影響の解明が望まれる。

6. おわりに

以上、「植物の姿勢制御には重力によって制御されるオーキシン極性移動が密接に関係している」という我々が提唱している仮説は、今般の ISS 宇宙実験によって検証されたものと考えられる。現在、宇宙 μg 環境における植物ホルモン動態や遺伝子発現に対する影響を明らかにするために、機器分析による内生オーキシンレベルを含む網羅的植物ホルモン分析を進めると共に、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を実施している。Auxin Transport 宇宙実験の成果は、宇宙環境における植物の成長・発達方向を人為的に制御することを可能にするのみならず、将来の有人宇宙活動に資するための限られた空間における効率的な食料生産技術の開発・発展に関する基礎的知見を得ることに繋がるものと期待される。

謝辞

本稿で紹介した研究成果は、Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) の The Japan Experiment Module (JEM) utilization program の支援を受けて実施された、国際宇宙ステーション (ISS) 実験「宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解析」(Auxin Transport) によるものである。ISS 内における実験遂行には、Timothy Peake 宇宙飛行士、Thomas Pesquet 宇宙飛行士をはじめとする ISS クルーらに多大な貢献をいただいた。また、JAXA の Flight Control Team の皆様には実験遂行上多大なサポートをいただいた。この場をお借りして衷心からの感謝の意を表する。

引用文献

- Adamowski, M., & Friml, J. 2015. PIN-dependent auxin transport: action, regulation, and evolution. *Plant Cell* 27: 20-32.
- Bennett, M., Marchant, A., Green, H. G., May, S. T., Ward, S. P., Millner, P. A., Walker, A. R., Schultz, B., & Feldmann, K. A. 1996. *Arabidopsis AUX1* gene: A permease-like regulator of root gravitropism. *Science* 273: 948-950.
- Blilou, I., Xu, J., Wildwater, M., Willemsen, V., Paponov, I., Friml, J., Heidstra, R., Aida, M., Palme, K., & Scheres, B. 2005. The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots. *Nature* 433: 39-44.
- Carraro, N., Forestan, C., Canova, S., Traas, J., & Varotto, S. 2006. *ZmPIN1a* and *ZmPIN1b* encode two novel putative candidates for polar auxin transport and plant architecture determination of maize. *Plant Physiol.* 142:254-264.
- Dhonukshe P., Aniento, F., Hwang, I., Robinson, D. G., Mravec, J., Stierhof, Y.-D., & Friml, J. 2007. Clathrin-mediated constitutive endocytosis of PIN auxin efflux carriers in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 17: 520-527.
- Forestan, C., Meda, S., & Varotto, S. 2010. ZmPIN1-mediated auxin transport is related to cellular differentiation during maize embryogenesis and endosperm development. *Plant Physiol.* 152: 1373–1390.
- Forestan, C., Farinati, S., & Varotto, S. 2012. The maize *PIN* gene family of auxin transporters. *Front. Plant Sci.* 3: 16.
- Forestan, C., & Varotto, S. 2010. PIN1 auxin efflux carrier localization studies in *Zea mays*. *Plant Signal Behav.* 5: 436-439.
- Friml, J., & Palme, K. 2002. Polar auxin transport – old question and new concepts? *Plant Mol. Biol.* 49: 273–282.
- Friml, J., Yang, X., Michniewicz, M., Weijers, D., Quint, A., Tietz, O., Benjamins, R., Ouwerkerk, P.B., Ljung, K., Sandberg, G., Hooykaas, P.J., Palme, K., & Offringa, R. 2004. A PINOID-dependent binary switch in apical-basal PIN polar targeting directs auxin efflux. *Science* 306: 862–865.
- Gälweiler, L., Guan, C., Müller, A., Wisman, E., Mendgen, K., Yephrev, A., & Palme, K. 1998. Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in *Arabidopsis* vascular tissue. *Science* 282: 2226–2230.
- Geldner, N., Anders, N., Wolters, H., Keicher, J., Kornberger, W., Muller, P., Delbarre, A., Ueda, T., Nakano, A., & Jürgens, G. 2003. The *Arabidopsis* GNOM ARF-GEF mediates endosomal recycling, auxin transport, and auxin-dependent plant growth. *Cell* 112: 219–230.
- Geldner, N., Friml, J., Stierhof, Y.D., Jürgens, G., & Palme, K. 2001. Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking. *Nature* 413: 425–428.
- Halstead, T. W., and Dutcher, F. R. 1987. Plants in space. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 38: 317-345.

- Heisler, M. G., Ohno, C., Das, P., Sieber, P., Reddy, G.V., Long, J. A., & Meyerowitz, E. M. 2005. Patterns of auxin transport and gene expression during primordium development revealed by live imaging of the *Arabidopsis* inflorescence meristem. *Curr Biol.* 15: 1899-1911.
- Hille, S., Akhmanova, M., Glanc, M., Johnson, A., & Friml, J. 2018. Relative contribution of PIN-containing secretory vesicles and plasma membrane PINs to the directed auxin transport: Theoretical estimation. *Int. J. Mol. Sci.* 19: e3566.
- Hoshino, T., Miyamoto, K., & Ueda, J. 2006. Requirement for the gravity-controlled transport of auxin for a negative gravitropic response of epicotyls in the early growth stage of etiolated pea seedlings. *Plant Cell Physiol.* 47: 1496–1508.
- Hoshino, T., Miyamoto, K., & Ueda, J. 2007. Gravity-controlled asymmetrical transport of auxin regulates a gravitropic response in the early growth stage of etiolated pea (*Pisum sativum*) epicotyls: studies using simulated microgravity conditions on a three-dimensional clinostat and using an agravitropic mutant, *ageotropum*. *J. Plant Res.* 120: 619–628.
- Hoson, T. 2014. Plant growth and morphogenesis under different gravity conditions: relevance to plant life in space. *Life* 4: 205-216.
- Hoson, T., Saiki, M., Kamisaka, S., & Yamashita, M. 2001. Automorphogenesis and gravitropism of plant seedlings grown under microgravity conditions. *Adv. Space Res.* 27: 933-940.
- Hoson, T., & Soga, K. 2003. New aspects of gravity responses in plant cells. *Int. Rev. Cytol.* 229: 209-244.
- Hoson, T., Kamisaka, S., Buchen, B., Sievers, A., & Yamashita, M. 1993. Automorphosis of plant seedlings under simulated microgravity conditions on a 3-D clinostat. *Biol. Sci. Space* 7: 107-110.
- Hoson, T., Soga, K., Mori, R., Saiki, M., Wakabayashi, K., Kamisaka, S., Kamigaichi, S., Aizawa, S., Yoshizaki, I., Mukai, C., Shimazu, T., Fukui, K., & Yamashita, M. 1999. Morphogenesis of rice and *Arabidopsis* seedlings in space. *J. Plant Res.* 112:477–486.
- 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.
- Kamada, M., Miyamoto, K., Oka, M., Ueda, J., & Higashibata, A. 2018a. Procedures for chemical fixation in immunohistochemical analyses of PIN proteins regulating polar auxin transport: Relevance to spaceflight experiment. *Life Sci. Space Res.* 18: 42-51.
- Kamada, M., Miyamoto, K., Oka, M., Ueda, J., & Higashibata, A. 2018b. Regulation of an asymmetric polar auxin transport by PsPIN1 in endodermal tissues of etiolated *Pisum sativum* epicotyls: Focus on immunohistochemical analyses. *J. Plant Res.* 131: 81-692.
- Kamada, M., Oka, M., Inoue, R., Fujitaka, Y., Miyamoto, K., Ueda, E., Yamazaki, C., Shimazu, T., Sano, H., Kasahara, H., Suzuki, T., Higashibata, A., & Ueda, J. 2019. Gravity-regulated localization of PsPIN1 is important for polar auxin transport in etiolated pea seedlings: Relevance to the International Space Station experiment. *Life Sci. Space Res.* 22: 29-37.

- Kitakura, S., Adamowski, M., Matsuura, Y., Santuari, L., Kouno, H., Arima, K., Hardtke, C.S., Friml, J., Kakimoto, T., & Tanaka, H. 2017. BEN3/BIG2 ARF GEF is involved in Brefeldin A-sensitive trafficking at the trans-Golgi network/early endosome in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 58: 1801–1811.
- Kiss, J. Z., Katembe, W. J., & Edelmann, R. E. 1998. Gravitropism and development of wild-type and starch-deficient mutants of *Arabidopsis* during space flight. *Physiol. Plant.* 102: 493–502.
- Kleine-Vehn, J., Huang, F., Naramoto, S., Zhang, J., Michniewicz, M., Offringa, R., & Friml, J. 2009. PIN auxin efflux carrier polarity is regulated by PINOID kinase-mediated recruitment into GNOM-independent trafficking in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21: 3839–3849.
- Křeček, P., Skůpa, P., Libus, J., Naramoto, S., Tejos, R., Friml, J., & Zažímalová, E. 2009. The PIN-FORMED (PIN) protein family of auxin transporters. *Genome Biol.* 10: 249.
- Marchant, A., Kargul J., May, S. T., Muller, P., Delbarre, A., Perrot-Rechenmann, C., & Bennett, M. J. 1999. AUX1 regulates root gravitropism in *Arabidopsis* by facilitating auxin uptake within root apical tissues. *EMBO J.* 18: 2066–2073.
- Miyamoto, K., Hoshino, T., Takahashi, Y., & Ueda, J. 2007. Auxin polar transport of etiolated *ageotropum* pea epicotyls is not affected by gravistimulation: Relevance to automorphosis-like growth and development. *Adv. Space Res.* 39: 1140–1146.
- Miyamoto, K., Hoshino, T., Yamashita, M., & Ueda, J. 2005. Automorphosis of etiolated pea seedlings in space is simulated by a three-dimensional clinostat and the application of inhibitors of auxin polar transport. *Physiol. Plant.* 123: 467–474.
- Miyamoto, K., Inui, A., Uheda, E., Oka, M., Kamada, M., Yamazaki, C., Shimazu, T., Kasahara, H., Sano, H., Suzuki, T., Higashibata, A., & Ueda, J. 2019. Polar auxin transport is essential to maintain growth and development of etiolated pea and maize seedlings on 1 *g* conditions: relevance to the international space station experiment. *Life Sci. Space Res.* 20: 1–11.
- Miyamoto, K., Oka, M., Yamamoto, R., Masuda, Y., Hoson, T., Kamisaka, S., & Ueda, J. 1999. Auxin polar transport in *Arabidopsis* under simulated microgravity conditions - relevance to growth and development. *Adv. Space Res.* 23: 2033–2036.
- Naramoto, S., Sawa, S., Koizumi, K., Uemura, T., Ueda, T., Friml, J., Nakano, A., & Fukuda, H. 2009. Phosphoinositide-dependent regulation of VAN3 ARF-GAP localization and activity essential for vascular tissue continuity in plants. *Development* 136: 1529–1538.
- Naramoto, S., Otegui, M. S., Kutsuna, N., de Rycke, R., Dainobu, T., Karampelias, M., Fujimoto, M., Feraru, E., Miki, D., Fukuda, H., Nakano, A., & Friml, J. 2014. Insights into the localization and function of the membrane trafficking regulator GNOM ARF-GEF at the Golgi apparatus in *Arabidopsis*. *Plant Cell*: 26: 3062–76.
- Oka, M., Miyamoto, K., Okada, K., & Ueda, J. 1998. Activities of auxin polar transport in inflorescence axes of flower mutants of *Arabidopsis thaliana*: relevance to flower formation and growth. *J. Plant Res.* 111: 407–410.

- Oka, M., Miyamoto, K., Okada, K., & Ueda, J. 1999. Auxin polar transport and flower formation in *Arabidopsis thaliana* transformed with indoleacetamide hydrolase (*iaaH*) gene. *Plant Cell Physiol.* 40: 231-237.
- Oka, M., Ueda, J., Miyamoto, K., Yamamoto, R., Hoson, T., & Kamisaka, S. 1995. Effect of simulated microgravity on auxin polar transport in inflorescence axis of *Arabidopsis thaliana*. *Biol. Sci. Space* 9: 331-336.
- Okada, K., Ueda, J., Komaki, M. K., Bell, C. J., & Shimura, Y. 1991. Requirement of the auxin polar transport system in early stages of *Arabidopsis* floral bud formation. *Plant Cell* 3: 677-684.
- Petrášek, J., and Friml, J. 2009. Auxin transport routes in plant development. *Development* 136: 2675-2688.
- Schulze, A., Jensen, P.J., Desrosiers, M., Buta, J.R., & Bandurski, R.S. 1992. Studies on the growth and indole-3-acetic acid and abscisic acid content of *Zea mays* seedlings grown in microgravity. *Plant Physiol.* 100: 692-698.
- Shimazu, T., Yuda, T., Miyamoto, K., Yamashita, M. & Ueda, J. 2001. Growth and development in higher plants under simulated microgravity conditions on a 3-dimensional clinostat. *Adv. Space Res.* 27: 995-1000.
- Ueda, J. 2016. https://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/experiments/explorer/Investigation.html?id=1730 (accessed 30 October 2019, Principal Investigator: Prof. Junichi Ueda)
- Ueda, J., Miyamoto, K., Uheda, E., Oka, M., Yano, S., Higashibata, A., & Ishioka, N. 2014a. Close relationships between polar auxin transport and graviresponse in plants. *Plant Biol.* 16 (Suppl. 1) : 43-49.
- Ueda, J., Miyamoto, K., Yuda, T., Hoshino, T., Fujii, S., Mukai, C., Kamigaichi, S., Aizawa, S., Yoshizaki, I., Shimazu, T., & Fukui, K. 1999. Growth and development, and auxin polar transport in higher plants under microgravity conditions in space: BRIC-AUX on STS-95 space experiment. *J. Plant Res.* 112: 487-492.
- Ueda, J., Miyamoto, K., Yuda, T., Hoshino, T., Sato, K., Fujii, S., Kamigaichi, S., Izumi, R., Ishioka, N., Aizawa, S., Yoshizaki, I., Shimazu, T., & Fukui, K. 2000. STS-95 space experiment for plant growth and development, and auxin polar transport. *Biol. Sci. Space* 14: 47-57.
- Ueda, J., Sakamoto-Kanetake, M., Toda, Y., Miyamoto, K., Uheda, E., & Daimon, H. 2014b. Auxin polar transport is essential for the early growth stage of etiolated maize (*Zea mays* L. cv. Honey Bantam) seedlings. *Plant Prod. Sci.* 17: 144-151.
- Vieten, A., Vanneste, S., Wisniewska, J., Benková, E., Benjamins, R., Beeckman, T., Luschnig, C., & Friml, J. 2005. Functional redundancy of PIN proteins is accompanied by auxin-dependent cross-regulation of PIN expression. *Development* 132: 4521-31.
- Wiśniewska, J., Xu, J., Seifertová, D., Brewer, P. B., Růžicka, K., Blilou, I., Rouquié, D., Benková, E., Scheres, B., & Friml, J. 2006. Polar PIN localization directs auxin flow in plants. *Science* 312:883.

- Wolverton, C., Mullen, J. L., Aizawa, S., Yoshizaki, I., Kamigaichi, S., Muka, C., Shimazu, T., Fukui, K., Evans, M. L., & Ishikawa, H. 2000. Inhibition of elongation in microgravity by an applied electric field. *Biol. Sci. Space* 4: 58-63.
- Zažímalová, E., Krěček, P., Skůpa, P., Hoyerová, K., & Petrášek, J. (2007) Polar transport of the plant hormone auxin - the role of PIN-FORMED (PIN) proteins. *Cell Mol Life Sci.* 64:1621-1637.
- Zourelidou, M., Absmanner, B., Weller, B., Barbosa, I. C., Willige, B. C., Fastner, A., Streit, V., Port, S.A., Colcombet, J., de la Fuente van Bentem, S., Hirt, H., Kuster, B., Schulze, W. X., Hammes, U. Z., & Schwechheimer, C. 2014. Auxin efflux by PIN-FORMED proteins is activated by two different protein kinases, D6 PROTEIN KINASE and PINOID. *Elife* 3: e02860

脚注

- ¹⁾ STS 宇宙実験 : NASA によって再利用可能な宇宙船スペースシャトルを利用した宇宙輸送システム (Space Transportation System) のこと。
- ²⁾ クラスリン (clathrin) : 細胞外の分子がエンドサイトーシスによって取り込まれる際に形成されるエンドソーム外側を形成する骨格となるタンパク質のこと。

1g とは異なる重力環境で植物はどのように育つのだろうか —コケ植物を用いた宇宙実験(スペース・モス)から期待できること—

藤田 知道¹・久米 篤²・蒲池 浩之³・小野田 雄介⁴・

半場 祐子⁵・日渡 祐二⁶・唐原 一郎³

¹ 北海道大学・大学院理学研究院

〒060-0810 札幌市北区北 10 西 8

² 九州大学・大学院農学研究院

〒819-0395 福岡市西区元岡 744

³ 富山大学・学術研究部・理学系

〒930-8555 富山市五福 3190

⁴ 京都大学・大学院農学研究科

〒606-8585 京都市左京区北白川追分町

⁵ 京都工芸繊維大学・応用生物学系

〒606-8585 京都市左京区松ヶ崎橋上町

⁶ 宮城大学・食産業学群

〒982-0215 仙台市太白区旗立 2-2-1

How plants grow under different gravity conditions besides 1 g: Perspectives from space experiments exploiting moss as a model organism

Tomomichi Fujita¹, Atsushi Kume², Hiroyuki Kamachi³, Yusuke Onoda⁴,

Yuko T. Hanba⁵, Yuji Hiwatashi⁶, Ichirou Karahara³

¹ Faculty of Science, Hokkaido University,

Kita 10 Nishi8 Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060-0810, Japan

² Faculty of Agriculture, Kyushu University

744 Motoooka, Nishi-ku, Fukuoka 819-0395, Japan

³ Faculty of Science, University of Toyama, 3190 Gofuku, Toyama, Toyama 930-8555, Japan

⁴ Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto, Japan

⁵ Faculty of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology,

Matsugasaki, Sakyo-ku, Kyoto 606-8585, Japan

⁶ School of Food Industrial Sciences, Miyagi University,

2-2-1 Hatatate, Taihaku-ku, Sendai, Miyagi 982-0215, Japan

Key words: Growth, International Space Station (ISS), moss,
Photosynthesis, *Physcomitrella patens*

DOI: 10.24480/bsj-review.11a6.00178

1. はじめに

陸上植物の祖先は水中から陸上に進出する過程で重力に適応した、という表現を見かけることがある。しかし、地球の生物にとって、重力(加速度)は最も変動しにくい環境要因の1つであり、地上でも水中でも重力はほぼ $1g$ である。重力は質量×重力加速度の積であり、植物が成長すると質量が増加し、自らの体にかかる重力は増加するため、それに応じた体作りをするしくみを発達・進化させてきた。重力の方向は、植物の茎や根の伸長方向を決めるシグナルとなるが、これには細胞質内の細胞小器官の密度差によって生じる「浮力」が重要な役割を果たしている。たとえば、アミロプラストは密度が高いため細胞内で重力方向に移動し、平衡石(statolith)として上下方向を決める物理的なセンサーの一部を構成している。また、水中の植物は浮力によって自分の体を支えており、浮力は重力によって生じている。一方、陸上では気体密度が低いため、重力によって生じる浮力が無視できるほど小さくなる。そのため、陸上では重力、すなわち重さは質量に比例し、陸上植物の全体構造を支持するための機械的強度は、浮力を無視して評価される。

植物個体の形態学的特性は、個々の細胞の性質の違いよりも、組み合わせの違いに大きく影響され、複数の細胞によって構成されたマクロな形態には共通の法則性が見られる。たとえば、植物のシュートあるいは個体サイズのアロメトリーの一定性(両対数線形的成長関係)が種によらず幅広く成立していることが知られており、幹や枝などの支持組織では葉量に応じた一定の水通導性が維持され、枝葉を支持するのに必要な一定の機械的強度を保持している(Niklas 2016)。結果として、水通導と機械的強度の両方を満たすように、植物体全体で伸長成長と肥大成長が $1g$ 環境下で調節されている。 $1g$ という重力は、地球上の植物個体の生理生態学的特性や構造特性を決める共通の制約となっており、それら植物の外部形態は何らかの形で遺伝子によって調節されている。

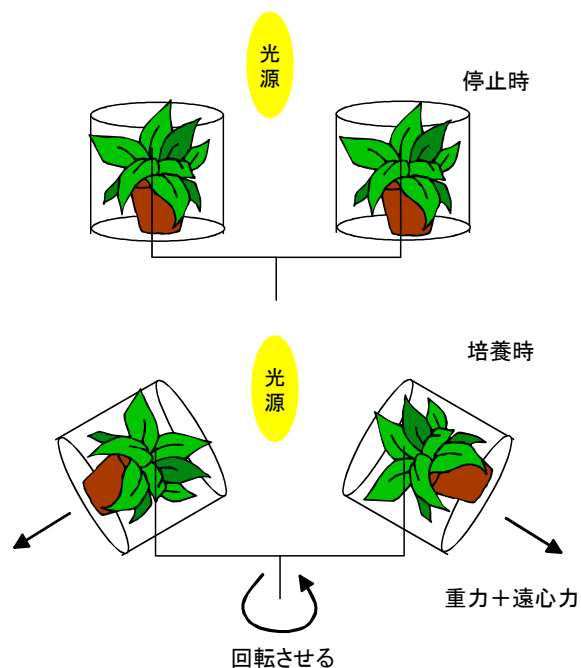


図1. 遠心栽培装置における過重力

支持形態形成は、重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」とも呼ばれている。植物の成長過程は $1g$ に非常に良く適応しており最適化されているように見えるが、仮に植物が宇宙空間の μg や火星の $0.38g$ 、あるいはスーパーアースの $2.0g$ の環境で長期間世代交代を続けたとすると、それぞれの g 環境に応じて異なった形態へ進化・適応していくことが予想される。従って、 $1g$ に対する適応を理解するためには、他の g 環境における植物との比較研究が有効な手段になることが予想される。しかし、光や温度、水分や栄養塩類を変化させた様々な栽培実験が行われてきたのに対して、重力(加速度)を変化させた栽培実験はほとんど行われてこなかった。

通常の遠心装置を利用して g を増やそうとする場合、重力(加速度)の増加はできても光を当てることは考慮されていないため、植物を長期間栽培することができない。3次元クリノスタットは、様々な方向に回転して重力ベクトルを積算するとゼロになるような擬似微小重力環境を作出するが、これは重力ベクトルの分散を目的とした装置で、常に $1g$ がかった状態であることには変わりなく、一定方向に重力を増加させることも想定されていない。そこで、低速回転型の遠心装置と光源を適切に組み合わせることによって、一定の遠心力を加えながら植物の上方(重力ベクトルの延長線上)から光を照射し、長期間植物を培養できる装置を開発し、2005年から様々な栽培実験を行っている(図1, Takemura *et al.* 2017a, Mori *et al.* 2017)。一方、地上で重力を減らして栽培することは不可能であり、宇宙空間での実験が必要とされた。

国際宇宙ステーション(ISS)日本実験棟「きぼう」において、2009年にシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.)を用いた宇宙実験「微小重力下における高等植物の生活環」(Space Seed)が行われ、微小重力実験区(μg 区)、宇宙 $1g$ 対照区、地上対照区における比較栽培実験が行われた(神阪 2011)。この実験系では、宇宙船内の μg 下で栽培実験を行うだけでなく、日本で開発された遠心装置付き栽培装置によって、宇宙 $1g$ 対照区が設定された。この装置の導入によって、植物サンプルの打ち上げから回収までに生じるストレスや、宇宙船内の環境が植物の成長に及ぼす影響を $1g$ 対照区によってキャンセルし、 μg の影響を適切に評価することが可能になり、宇宙植物実験のレベルが劇的に上昇した。しかし、植物実験ユニット(PEU)の栽培スペースは極めて限られており、シロイヌナズナの栽培に必要なスペースは十分に確保できず、抽苔した花序柄が天井につかえて折れ曲がるなど、様々な制限があった。そこで、宇宙栽培実験を行うモデル植物として新たにヒメツリガネゴケ(*Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp. subsp. *patens*)を導入した。ヒメツリガネゴケであれば、PEU内で多数の茎葉体を栽培でき、統計学的な有意性を評価するための繰り返し数も確保できる。さらに、コケを加えて実験を行うことは系統間比較を行う上でも大きなメリットがある。実験を進めた結果、ヒメツリガネゴケは、地上の過重力環境での栽培実験や、宇宙実験におけるサンプルの打ち上げから回収までの過程を含めて、重力実験に適した様々な優れた特徴を持っていることが明らかになった。

本稿では、これまでヒメツリガネゴケによって行われてきた地上での過重力栽培実験によって明らかになったコケの重力応答について紹介すると同時に、2020年1月現在、ISSにおける実験が進行中の「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)」の概要について紹介する。

2. 過重力環境下におけるコケ植物の成長・形態・機械的強度

ヒメツリガネゴケを過重力環境下で長期間栽培すると、成長のしかたや形態はどのように変化するのだろうか。3 mm 程度の長さにカットした茎葉体を寒天培地に植えると、その周りに新しい茎葉体が多数生えてくる。図 2 は、1g と 10g で 1 カ月間生育したときの代表的な茎葉体の写真である。10g では、茎 (caulid) が短く、仮根 (rhizoid) がよく発達していることがわかる。さらに顕微鏡下で観察すると、茎は 10g の方が太く成長していることがわかった。このように、過重力環境下では、茎葉体の地上部 (shoot) の茎は太く短くなり、仮根の成長は促進されることがわかった (Takemura *et al.* 2017a, b)。仮根の成長が 10g で促進される理由はいくつかあるが、過重力環境下で茎が太く短くなるのは、過重力に抗する形態変化としては理にかなっており、維管束植物でも同様な変化を示すことが知られている (Hoson & Soga 2003, Soga 2013)。このように、原始的な植物の特徴を多く備えたコケ植物においても、重力の違いを認識してその成長のしかたや形態を変化させる能力を備えていることが明らかになった。また、茎葉体の再生頻度も 1g と 10g の間で違いがみられた。1g では、1 本の茎葉体断片から 4 週間で 92 本の茎葉体が生えてきたのに対し、10g では、171 本と 2 倍近くの本数であった (Takemura *et al.* 2017a)。茎葉体は、仮根や原系体の一部の細胞が分化して生じる。したがって、10g 環境下では仮根の成長が促進されるため、それに伴い茎葉体の数も増加したものと思われる。茎葉体の数の増加は、茎葉体の生育密度の増加を意味している。茎葉体が密集して成長すれば、それだけ茎葉体が倒れにくくなるため、ヒメツリガネゴケは集団として重力環境に適応する戦略をとっているのかもしれない。



図 2. 1g と 10g で 4 週間生育したヒメツリガネゴケの茎葉体

次に、成長量の観点から過重力の影響を見てみると、4週間 10g で生育したヒメツリガネゴケでは、茎葉体 1 本当たりの質量は、1g に比べて 20%ほど少なかった (Takemura *et al.* 2017a)。質量の減少は一般には成長の阻害を意味しているが、10g では、同じ質量であっても植物体の重さとしては 10 倍に増えるため、質量の減少にもかかわらず、自重による座屈が起きやすくなる。つまり 1g と同じように成長してしまうと、自重に耐えきれず茎葉体が折れ曲がってしまう可能性がある。したがって、過重力環境下では、敢えて質量を減少させているのかもしれない。一方、興味深いことに、茎葉体全体での成長量は、10g 環境下で 1.5 倍に増加していた。これは、上述したように茎葉体の本数が 10g で多くなるためである。つまり、ヒメツリガネゴケの成長量は、全体で考えると過重力環境下で促進されていた。ヒメツリガネゴケを含め地球上の全ての生物は 1g 環境下で進化しているため、その成長は 1g に最適化されていると予想されていた。ヒメツリガネゴケで観察された過重力による成長促進効果は、植物の成長における重力の影響を考える上で大変興味深い現象である。

ヒメツリガネゴケの茎葉体の茎は、過重力環境下で太く成長するため、曲げに対する抵抗が増加していることが予想された。そこで、実際に、茎の 3 点曲げ試験を行った。図 3 の写真は、葉 (phyllid) を取り除いた茎葉体を材料試験機で測定している様子である。茎葉体を 3 mm 幅の支えの上に置き、中央部に上から力を加え、荷重 (N) と茎がたわんだ量 (mm) の時間経過をコンピューターで記録した。このような測定から、10g で生育した茎葉体の茎は、曲がりにくさ (曲げ剛性) が増加しており、茎の物理的特性が過重力栽培により変化することが確認された。曲げ剛性の増加の原因は、茎の太さの増加 (断面二次モーメントの増加) だけでなく、茎の質的な変化 (弾性係数の増加) の可能性が考えられるため、より詳細な分析をしたところ、茎の弾性係数 (ヤング率) は、1g と 10g で生育したもので有意な差は見られなかった。これは、茎の細胞壁の硬さは過重力環境にはあまり影響を受けないことを示唆している。すなわち、ヒメツリガネゴケの茎葉体は、茎の断面形状 (断面二次モーメント) を変化させることで過重力環境に適応しているものと思われる。維管束植物では、茎の断面形状の変化に加えて、細胞壁の硬さが過重力処理によって増加することが知られており、マトリックス多糖の分子サイズやリグニン合成などが重力に応じて制御されていることが報告されている (Tamaoki *et al.* 2006, Wakabayashi *et al.* 2009, Soga 2013, Hoson & Wakabayashi 2015)。コケ植物のサイズは維管束植物に比べるとかなり小さく、リグニンも持っていない。コケ植物では、細胞壁の硬さを制御する機構があまり発達していないのかもしれない。今後、 μ g 環境で生育したヒメツリガネゴケの解析が進めば、コケ植物がどのように重力環境に適応しているのかわかってくるだろう。

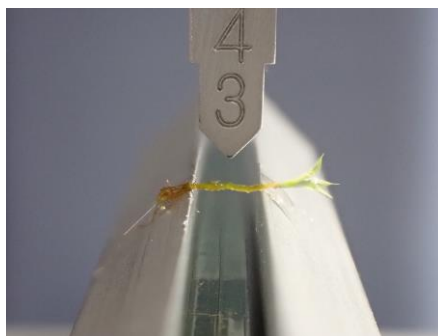


図 3. 茎葉体の 3 点曲げ試験の様子

T-Fujita *et al.*-5

3. 過重力環境下におけるコケ植物の光合成・葉緑体・細胞壁

光合成は、植物の成長を決める最も重要な要因のうちの1つである。もし、過重力環境下でコケ植物の光合成が変化するのであれば、その変化はコケ植物の成長に大きな影響を与えることが予想される。しかし、コケ植物の光合成に対する過重力環境の影響については、先行研究が全くなかった。

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 CO_2 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ことが予想された。その理由としては、(1) 維管束植物の過重力応答を調査した先行研究から、細胞壁のリグニン蓄積量の増加や厚さの増大が観察されていること (Nakabayashi *et al.* 2006, Wakabayashi *et al.* 2009), (2) 細胞壁の厚さは、植物体内における葉緑体の分布と並んで、コケ植物や維管束植物の光合成速度を制限する最も重要な形態的な因子であること (Waite & Sack 2010, Hanson *et al.* 2014, Carriqui *et al.* 2015, Tosens *et al.* 2016) が挙げられる。ヒメツリガネゴケにはリグニンは存在しないが、リグニン様のポリフェノール化合物が存在することから (Espiñeira *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、光合成速度は抑制されるという予想が立てられた。

そこで、ヒメツリガネゴケを 8 週間、10g の過重力、光照射下で栽培し、栽培終了後、栽培容器あたりの光合成解析を行い、さらに茎葉体について光学顕微鏡・電子顕微鏡を用いた形態観察を行った。予想に反して、過重力環境においてヒメツリガネゴケの光合成速度は増加していた (図 4 a, Takemura *et al.* 2017a, b,). さらに、やはり予想に反して、過重力環境では葉および茎の細胞壁の厚さの増加は観察されなかった。一方、過重力環境では葉の葉緑体のサイズが増加するという、予想していなかった結果が得られた (図 4b, c)。

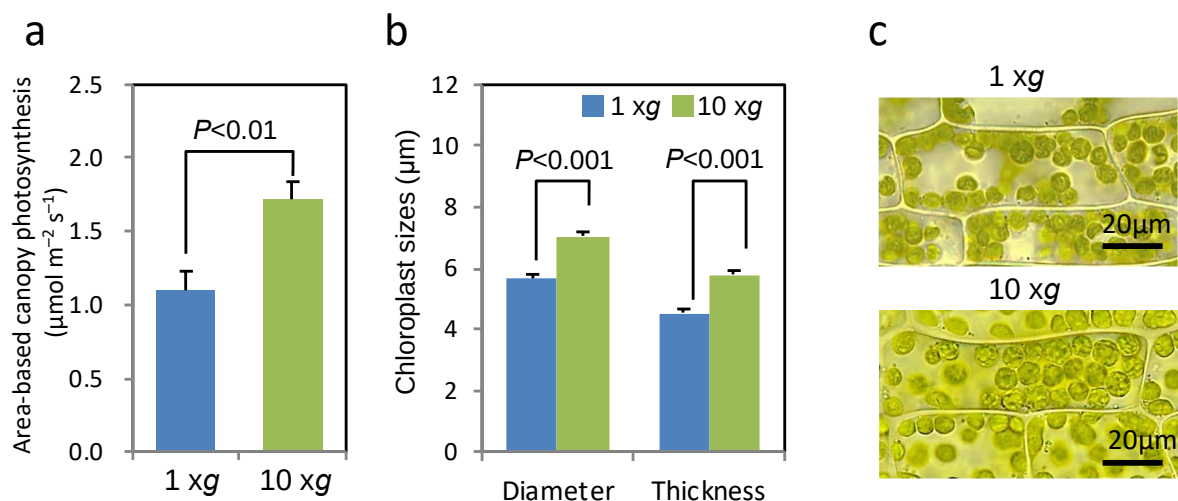


図 4. 8 週間、過重力環境(10g)とコントロール環境(1g)の光照射下で栽培したヒメツリガネゴケの光合成速度(a)、葉緑体のサイズ(b)および葉緑体の光学顕微鏡写真(c)。Takemura *et al.* 2017a, b を改変。

過重力によりヒメツリガネゴケの葉緑体サイズが増加するメカニズムは不明であるが、結果として大気からの CO_2 の取り込みが促進され (Carriqui *et al.* 2019), 光合成速度の上昇に貢献したと考えられる。細胞壁の厚さが増加しなかったため、大気からの CO_2 の取り込みの抑制は生じなかったと考えられる。さらに、茎葉体数が増加したことも、栽培容器あたりの光合成速度の向上に貢献したと考えられる。

以上のように、コケ植物であるヒメツリガネゴケの過重力実験により、これまで維管束植物では得られていなかった新しい光合成の過重力応答が明らかになった。現在、宇宙ステーションを用いた μg 実験を実施中であり、過重力実験の結果と併せて様々な重力環境下におけるヒメツリガネゴケの光合成や成長応答のメカニズムについて解明していく予定である。

4. 過重力環境下におけるコケ植物の細胞質流動・細胞骨格の変化

過重力環境下では、ヒメツリガネゴケの茎葉体や仮根の形態変化が起こり、特に仮根は $10g$ 環境下により著しく伸長し、仮根バイオマスが増加する (Takemura *et al.* 2017a)。仮根は糸状構造の多細胞性組織であり、糸状構造の先端に存在する仮根頂端細胞 (rhizoid apical cell) が先端成長 (tip growth) により伸長しながら分裂 (cell division) することによって成長する (図 5)。従って、過重力環境下での仮根バイオマスの増加は、仮根頂端細胞の先端成長と分裂が促進されたためと考えることができる。仮根のような糸状構造では、頂端細胞の先端成長や分裂が規則的に起こることから、糸状組織は伸長や分裂といった細胞レベルの現象を高精度で解析できる。そこで、仮根と同じような糸状構造の原糸体 (protonema) を用いて、細胞伸長や分裂に対する過重力の影響を調べた。原糸体も糸状組織の先端部に存在する原糸体頂端細胞 (protonemal apical cell) が先端成長しながら、分裂することにより形成される。原糸体を $10g$ 環境下で 3 週間栽培したところ、 $1g$ 環境下に比べて細胞長軸の長さが小さくなる一方、細胞短軸の長さは大きくなった。このことは過重力環境下では、原糸体の先端成長と分裂のバランスが $1g$ 環境下とは異なることを示している。原糸体の先端成長や分裂は細胞骨格を介して制御されるため (Doonan *et al.* 1988), 過重力に応じて細胞骨格が組織化され、先端成長と分裂が変化したと考えられる (図 5 b)。

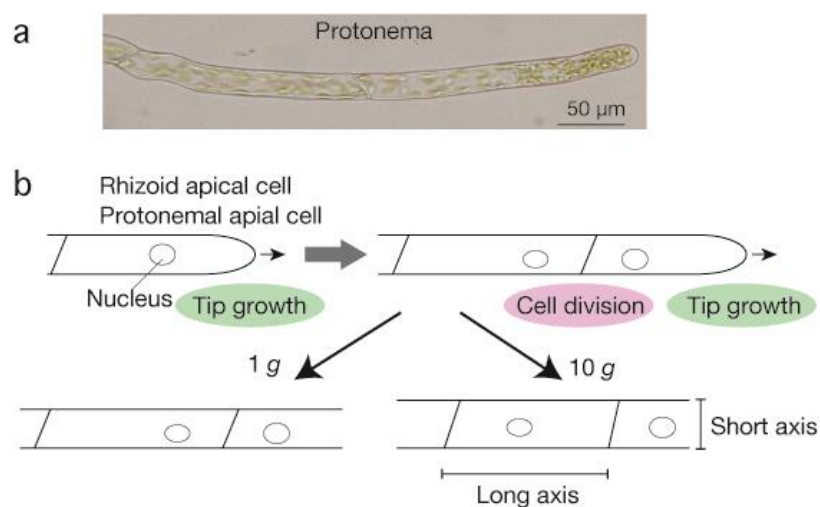


図 5. 仮根および原糸体の成長 (a) と過重力下の変化 (b)

シャジクモ類カタシャジクモ (*Chara globularis* Thuiller) の仮根頂端細胞では、1.4 - 6.0g の過重力環境下によって平衡石の細胞内分布が変化すること、平衡石の移動はアクチン繊維に依存することが示されている (Braun & Sievers 1993)。ヒメツリガネゴケにおいても過重力環境下で細胞小器官の細胞内分布が変化する可能性があるが、10g 環境下で 3 週間生育した原糸体では、核の位置は 1g 環境下と有意差がみられなかった。過重力環境下での細胞小器官の局在を調べるためには、遠心顕微鏡を用いた連続観察が有効であり、細胞骨格可視化系統 (Hiwatashi *et al.* 2014) を用いて、過重力環境下での核、葉緑体、細胞骨格の動態観察が進行中である。特に、過重力による葉緑体運動の動態解析は、なぜヒメツリガネゴケ仮根のバイオマスが増加するかに対してヒントを与えてくれるかもしれない。ヒメツリガネゴケでは、細胞内攪拌作用をもつ細胞質流動がなさそうである (Vidali *et al.* 2009)。その代わりとして、細胞骨格を介した葉緑体運動が細胞内を攪拌する役割を持つと考えられている (Sato *et al.* 2001)。シロイヌナズナでは、細胞質流動の細胞内攪拌作用によって物質輸送が促進されると、植物体バイオマスが増加することがわかっている (Tominaga *et al.* 2013)。過重力環境下の仮根で葉緑体運動が活性化されるとすれば、シロイヌナズナの細胞質流動と同様に細胞内攪拌作用によって物質輸送が促進されて、仮根バイオマスが増加するのかもしれない。

過重力環境下の細胞では、どのような分子センサーが重力を感受し、細胞内でどのようなシグナルへと変換しているのだろうか？ カタシャジクモの重力屈性実験ではメカノセンサーとしてカルシウムイオンチャネル、シロイヌナズナやアズキの過重力実験では機械受容イオンチャネルの関与が示唆され、また Ca^{2+} が細胞内セカンドメッセンジャーとしてはたらくことが考えられている (Braun & Richter, 1999, Soga *et al.* 2004, 2005)。ヒメツリガネゴケの機械刺激応答において、センサーとして機械受容イオンチャネルが、セカンドメッセンジャーとして Ca^{2+} が関与することが示唆されている (Sato *et al.* 2003)。ヒメツリガネゴケでは、既に Ca^{2+} センサー GCaMP を用いた Ca^{2+} イメージングが可能となっていることから (Kleist *et al.* 2017)、機械受容イオンチャネルの遺伝子機能解析や Ca^{2+} のイメージング解析を行うことで、これらの因子が過重力環境下での重力感受、シグナル伝達に関与するかを検証できると考えられる。

5. 過重力応答 (抗重力応答)：被子植物とコケ植物の比較

被子植物の生活環においては、特に地上部では空気中で重力に抗して自身の形を保つ必要があるため、まず栄養成長段階であるシュートの成長に注目して短期間の過重力刺激を与える実験が行われた。最も典型的な抗重力応答としては、草丈が低く茎は太くなり、その際に一次細胞壁レベルでの変化を伴うことが示されている。具体的には、真正双子葉類では過重力でエンド型キシログルカン転移・分解酵素ファミリーに属する遺伝子の発現低下がおり、キシログルカン分解活性が低下し、キシログルカンの分子量が増加する。単子葉イネ科植物では (1→3), (1→4)- β -グルカンの分子量が増加する。これらにより一次細胞壁が伸びにくくなる。そして宇宙での微小重力下ではこれらとは概ね逆のことが起こる (Hoson *et al.* 2014, Hoson & Wakabayashi 2015)。過重力下で茎の成長障害が起こるのは表層微小管の配向が変わるためである (Soga *et al.* 2006)。ヒメツリガネゴケにも、架橋性多糖キシログルカンの調節に

関わると推測されるエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素の遺伝子ファミリーが存在することから (Yokoyama *et al.* 2010), これらが重力の影響を受ける可能性は考えられる。

二次細胞壁レベルでは、真正双子葉類においては過重力下でリグニン化に関係する遺伝子の発現促進が起こり (Tamaoki *et al.* 2009), リグニン化が促進される (Wakabayashi *et al.* 2009)。この時、実際に木部二次壁も強化されるが、その反応にメカノセンサーが関与することも示唆されている (Nakabayashi *et al.* 2006)。微小重力下では、細胞壁結合フェノール成分としてジフェルラ酸やリグニンの増加が抑制されることがイネで報告されている (Wakabayashi *et al.* 2015)。斜面に生えた樹木の幹や斜めに伸びる枝においては抗重力応答としてはあて材形成という現象が古くから知られる (Nakamura *et al.* 1999, Karahara *et al.* 2009)。興味深いことにヒメツリガネゴケにも *stereid* とよばれる、被子植物の繊維に相当すると考えられる細胞があり、その形成には被子植物に広く存在し二次細胞壁形成に関わる NAC 転写因子が関与することが示されている (Xu *et al.* 2014)。これらの調節機構が重力の影響を受けるのか否かは、コケ植物と被子植物の違いを理解するための鍵となるだろう。

被子植物の生殖成長については、シロイヌナズナにおいて、過重力下では生殖成長に関する多くの遺伝子の発現レベルが影響を受けること (Tamaoki *et al.* 2014), また花粉管の成長が影響を受け種子形成が阻害されることが報告されている (Musgrave *et al.* 2009)。被子植物とは異なり、コケ植物の生殖成長は体外の水を必要とするが、水の挙動は重力環境により変化するので、被子植物とは違う形で生殖成長が影響を受ける可能性が推測される。また、花粉管と同じく先端成長をする細胞からなる原糸体や仮根が過重力・微小重力の影響を受けるとすれば、そのしくみが花粉管と共通するものか否かは興味深い。

6. 「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)」の概要

以上のように、地上で過重力栽培を実施し、ヒメツリガネゴケが $10g$ 程度の過重力により形態や成長、生理応答を変化させることを明らかにしてきた。それでは実際の宇宙の μg 環境ではコケ植物はどのように育つのだろうか。過重力環境とは逆の応答が起こり、葉緑体が小さくなり、細胞質流動が減少し、結果として光合成活性が低下し成長量が抑制されるかもしれない。他の植物でもヒメツリガネゴケと同様に成長量が抑制されることになれば、月や火星あるいは宇宙船内で人類が長期滞在し、植物を栽培する上では望ましいものではないだろう。現在、次世代シーケンサーを用いて $1g$ と $10g$ のそれぞれで栽培したヒメツリガネゴケの遺伝子発現を網羅的に比較し、 $10g$ 栽培で見られた形態や成長生理応答の変化がどのような遺伝子、あるいは遺伝子群の発現変動によるものかを明らかにしようと解析を進めている。 $10g$ で見られた遺伝子の発現変動を真似ることで、宇宙でも光合成が活性化され成長量が低下しないコケ植物の開発が可能になるかもしれない。

ヒメツリガネゴケは小型で、ISS における宇宙実験にも優れた材料である。我々は、ヒメツリガネゴケを約 6 cm 四方の植物栽培装置に移植し、「きぼう」実験棟の細胞培養装置にある PEU 内で 1 ヶ月間栽培した(図 6)。 μg 下での成長を観察し、培養終了後に地上にサンプルの一部を回収し解析を行っている。「きぼう」実験棟には $1g$ を発生させる遠心装置付き栽培装置が同じ細胞培養装置内に設置されており、 μg 栽培の対照実験区として比較解析できる(矢野 2020)。

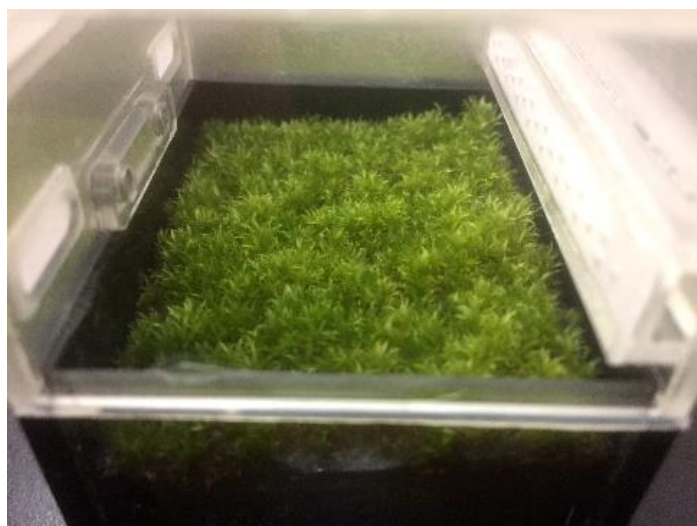


図6. 植物栽培装置（約 6cm 四方）で育つヒメツリガネゴケ

図7は、2019年7月に1回目の宇宙実験を実施し、地上に生きたまま持ち帰ったヒメツリガネゴケを研究室で再培養したものである。また2019年12月に2回目の宇宙実験を開始している。科学的に信頼性の高いデータを得るために実験の再現性を見ることは重要である。これら2回の独立した実験において、仮根や茎葉体の成長、光合成活性、細胞内の構造、さらに遺伝子発現は、どのように変化しているのだろうか？ 今後の解析を通じてヒメツリガネゴケが $1g$ とは異なる μg 環境や過重力環境でどのように成長できるのかを明らかにし、そのしくみの理解に迫りたい。そして植物がこれまでに経験したこともない環境にどのようなしくみで適応できるのか、その一端の理解にも迫りたい。

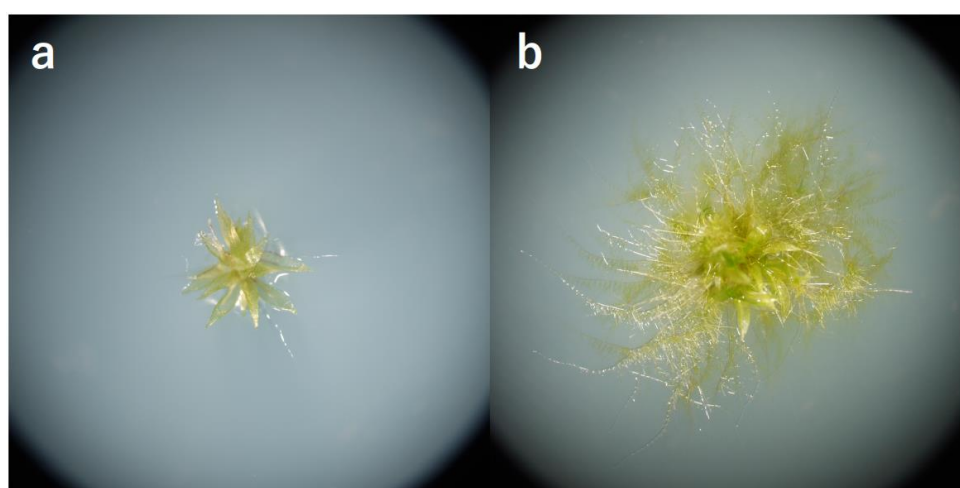


図7. 宇宙実験から帰還したヒメツリガネゴケの地上での成長の様子。培養開始1日目(a), 14日目(b)

7. おわりに：極限環境に強いコケ植物／コケ植物を用いた宇宙実験

コケ植物は、地上の様々な極限環境に広くよく適応した植物群である。南極で最も多く見つかる陸上植物はコケ植物である (Bramley-Alves *et al.* 2014)。また都会のアスファルト上、高山の岩場、直射日光が当たり、気温差、湿度差の激しい環境にも、その環境に適応したコケを見ることができる。このようにコケ植物の細胞が持つ乾燥耐性やストレス耐性能力は極めて優れているが、このような能力は維管束系の獲得とともに失われていったと考えられている (Oliver *et al.* 2000)。またコケ植物はクマムシなど小動物の格好の住処となっており、地表の生態系の安定性に重要な役目を果たしている。コケ植物がある地表では、土壌などの流出を防ぐことが可能であり、保水力も優れている (Coe *et al.* 2014)。地上の過重力栽培実験やスペース・モスによる宇宙の微小重力実験により、コケ植物がどのように重力環境の変化に応答し成長するのか、その分子基盤が我々の研究を1つの端緒として明らかにされていくだろう。これらの秘密が遺伝子レベルで解明されその生理応答が理解できた時、ゲノム編集技術などを用いることで、微小重力下でも成長が落ちない、むしろそのような環境でも旺盛な成長をし続けるコケ植物を開発することも可能になろう (スペース・モス)。スペース・モスは、宇宙における地表環境の土壌化に利用できるだろう。またスペース・モスは体が極めて小さいため空気浄化の緑のフィルターとして利用できるかもしれない。一般にコケ植物は食べられないものと考えられているが、実際にヒメツリガネゴケを食したところ緑藻と似た味をしていた。主食にはならないが宇宙においても副食として調味料的な役割を期待できそうである。

コケ植物ヒメツリガネゴケと被子植物シロイヌナズナの発現遺伝子のおおよそ 2/3 は類似したものである (Nishiyama *et al.* 2003)。だとすればヒメツリガネゴケで明らかになったことを今後シロイヌナズナや作物の栽培に応用することも重要な試みとなる。宇宙実験により得られた知識、例えば光合成活性や成長の新しい制御のしくみなどは、地上の不毛の地に植物を増やすための新たな方策の1つとして重要な貢献につながるはずである。小さなコケ植物の力を借りながら、また他の宇宙実験などの成果とも統合することで、我々を含めた地球生命体全体の永続性の実現を科学の力により加速できることに大きな期待を寄せている。

謝辞

本稿で紹介した研究成果の一部は、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)」として実施中のものである。また宮城大学指定研究費 (特別推進研究) の支援を受けた。ISS 内における実験遂行には、ISS クルーらに多大な貢献をいただいた。宇宙環境利用科学委員会のワーキンググループとしてスペース・モスの立ち上げから今日に至るまで JAXA, NASA, 研究室に所属する学生など多くの関係者より多大なる支援をいただいた。宇宙実験はこれらの方々の献身的な協力なくしては成し得ない。これらすべての皆様に心から感謝の意を表したい。また図6、図7の写真を提供いただいた横井真希氏 (北大・大学院生命科学院)、山下祐輝氏 (北大・理学部) に厚く謝意を表する。

引用文献

- Bramley-Alves, J., King, D.H., Robinson, S.A. & Miller, R.E. 2014. Dominating the Antarctic environment: bryophytes in a time of change. In: Hanson, T.D. & Rice, K.S. (eds.) *Photosynthesis in bryophytes and early land plants*. pp. 309-324. Springer Netherlands, Dordrecht
- Braun, M., & Sievers, A. 1993. Centrifugation causes adaptation of microfilaments: studies on the transport of statoliths in gravity sensing *Chara* rhizoids. *Protoplasma*. 174, 50-61.
- Braun, M., & Richter, P. 1999. Relocalization of the calcium gradient and a dihydropyridine receptor is involved in upward bending by bulging of *Chara protonemata*, but not in downward bending by bowing of *Chara* rhizoids. *Planta*. 209: 414-423.
- Carriquí, M., Cabrera, H.M., Conesa, M., Coopman, R.E., Douthe, C., Gago, J., Gallé, A., Galmés, J., Ribas-Carbo, M., Tomás, M., & Flexas, J. 2015. Diffusional limitations explain the lower photosynthetic capacity of ferns as compared with angiosperms in a common garden study. *Plant Cell Environ.* 38: 448-460.
- Carriquí, M., Flexas, J., Mark, K., Roig-Oliver, M., Niinemets, Ü., Tosens, T., Brodribb, T.J., Waite, M., Gill, W., Ribas-Carbó, M., Coopman, R., Sack, L., & Perera-Castro, A. V. 2019. Anatomical constraints to nonstomatal diffusion conductance and photosynthesis in lycophytes and bryophytes. *New Phytol.* 222: 1256-1270.
- Coe, K.K., Sparks, J.P., & Belnap, J. 2014. Physiological ecology of dryland biocrust mosses. In: Hanson D., Rice S. (eds) *Photosynthesis in Bryophytes and Early Land Plants*. In: Hanson, T.D. and Rice, K.S. (eds.) *Photosynthesis in bryophytes and early land plants*. pp. 291-308. Springer Netherlands, Dordrecht
- Doonan, J.H., Cove, D.J., & Lloyd, C.W. 1988. Microtubules and microfilaments in tip growth - Evidence that microtubules impose polarity on protonemal growth in *Physcomitrella patens*. *J Cell Sci.* 89: 533-540.
- 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 Biol.* 13: 59-68.
- Hanson, D.T., Renzaglia, K., & Villarreal, J.C. 2014. Diffusion limitation and CO₂ concentrating mechanisms in bryophytes. In: Hanson, T.D. and Rice, K.S. (eds.) *Photosynthesis in bryophytes and early land plants*. pp. 95-111. Springer Netherlands, Dordrecht
- Hiwatashi, Y., Sato, Y., & Doonan, J.H. 2014. Kinesins have a dual function in organizing microtubules during both tip growth and cytokinesis in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell*. 26: 1256-1266.
- Hoson, T., & Soga, K. 2003. New aspects of gravity responses in plant cells. *Int Rev Cytol.* 229: 209-244.
- Hoson, T., Soga, K., Wakabayashi, K., Hashimoto, T., Karahara, I., Yano, S., Tanigaki, F., Shimazu, T., Kasahara, H., Masuda, D., & Kamisaka, S. 2014. Growth stimulation in inflorescences of an *Arabidopsis* tubulin mutant under microgravity conditions in space. *Plant Biol.* 16 (S1): 91-96.

- Hoson, T., & Wakabayashi, K. 2015. Role of the plant cell wall in gravity resistance. *Phytochemistry*. 112: 84-90.
- 神阪盛一郎. 2011. 国際宇宙ステーション/「きぼう」利用科学実験テーマ実験成果報告書. 宇宙航空研究開発機構, http://iss.jaxa.jp/kiboexp/theme/first/spaceseed/spaceseed_seika.pdf
- Karahara, I., Tamaoki, D., Nishiuchi, T., Schreiber, L., and Kamisaka, S. 2009. Effects of altered gravity conditions on lignin and secondary wall formation in herbaceous dicots and woody plants. *Biol Sci Space*. 23: 177-182.
- Kleist, T.J., Cartwright, H.N., Perera, A.M., Christianson, M.L., Lemaux, P.G., & Luan, S. 2017. Genetically encoded calcium indicators for fluorescence imaging in the moss *Physcomitrella*: GCaMP3 provides a bright new look. *Plant Biotechnol J*. 15: 1235-1237.
- Mori, A., Kamachi, H., Karahara, I., Kume, A., Hanba, Y.T., Takemura, K., & Fujita, T. 2017. Comparisons of the effects of vibration of two centrifugal systems on the growth and morphological parameters of the moss *Physcomitrella patens*. *Biol Sci Space*. 31: 9-13.
- Musgrave, M. E., Kuang, A., Allen, J., & van Loon, J.J.W.A. 2009. Hypergravity prevents seed production in *Arabidopsis* by disrupting pollen tube growth. *Planta*. 230: 863-870.
- 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*. *Ann Bot*. 97: 1083-1090.
- Nakamura, T., Sassa, N., Kuroiwa, E., Negishi, Y., Hashimoto, A., Yamashita, M., & Yamada, M. 1999. Growth of *Prunus* tree stems under simulated microgravity conditions. *Adv Space Res*. 23: 2017-2020.
- Niklas, K.J. 2016. Plant evolution: an introduction to the history of life. The University of Chicago Press. pp. 577
- Nishiyama, T., Fujita, T., Shin-I, T., Seki, M., Nishide, H., Uchiyama, I., Kamiya, A., Carninci, P., Hayashizaki, Y., Shinozaki, K., Kohara, Y. & Hasebe, M. 2003. Comparative genomics of *Physcomitrella patens* gametophytic transcriptome and *Arabidopsis thaliana*: implication for land plant evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100: 8007-8012.
- Oliver, M.J., Tuba, Z. & Mishler, B.D. 2000. The evolution of vegetative desiccation tolerance in land plants. *Plant Ecology*, 151: 85-100.
- Sato, Y., Wada, M., & Kadota, A. 2001. Choice of tracks, microtubules and/or actin filaments for chloroplast photo-movement is differentially controlled by phytochrome and a blue light receptor. *J Cell Sci*. 114: 269-279.
- Sato, Y., Wada, M., & Kadota, A. 2003. Accumulation response of chloroplasts induced by mechanical stimulation in bryophyte cells. *Planta*. 216: 772-777.
- Soga, K., Wakabayashi, K., Kamisaka, S., & Hoson, T. 2004. Gravid perception in growth inhibition of plant shoots under hypergravity conditions produced by centrifugation is independent of that in gravitropism and may involve mechanoreceptors. *Planta*. 218: 1054-1061.

- Soga, K., Wakabayashi, K., Kamisaka, S., & Hoson, T. 2005. Mechanoreceptors rather than sedimentable amyloplasts perceive the gravity signal in hypergravity-induced inhibition of root growth in azuki bean. *Funct Plant Biol.* 32: 175-179.
- Soga, K., Wakabayashi, K., Kamisaka, S., & Hoson, T. 2006. Hypergravity induces reorientation of cortical microtubules and modifies growth anisotropy in azuki bean epicotyls. *Planta.* 224: 1485-1494.
- Soga, K. 2013. Resistance of plants to gravitational force. *J Plant Res.* 126: 589-596.
- Takemura, K., Kamachi, H., Kume, A., Fujita, T., Karahara, I., & Hanba, Y.T. 2017a. A hypergravity environment increases chloroplast size, photosynthesis, and plant growth in the moss *Physcomitrella patens*. *J Plant Res.* 130: 181-192.
- Takemura, K., Watanabe, R., Kameishi, R., Sakaguchi, N., Kamachi, H., Kume, A., Karahara, I., Hanba, Y.T., & Fujita, T. 2017b. Hypergravity of 10g changes plant growth, anatomy, chloroplast size, and photosynthesis in the moss *Physcomitrella patens*. *Microgravity Sci Technol.* 29: 467-473.
- Tamaoki, D., Karahara, I., Schreiber, L., Wakasugi, T., Yamada, K., & Kamisaka, S. 2006. Effects of hypergravity conditions on elongation growth and lignin formation in the inflorescence stem of *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res.* 119: 79-84.
- Tamaoki, D., Karahara, I., Nishiuchi, T., De Oliveira, S., Schreiber, L., Wakasugi, T., Yamada, K., Yamaguchi, K., & Kamisaka, S. 2009. Transcriptome profiling in *Arabidopsis* inflorescence stems grown under hypergravity in terms of cell walls and plant hormones. *Adv Space Res.* 44: 245-253.
- Tamaoki, D., Karahara, I., Nishiuchi, T., Wakasugi, T., Yamada, K., & Kamisaka, S. 2014. Effects of hypergravity stimulus on the global gene expression during reproductive growth in arabidopsis. *Plant Biology.* 16: 179-186.
- Tominaga, M., Kimura, A., Yokota, E., Haraguchi, T., Shimmen, T., Yamamoto, K., Nakano, A., & Ito, K. 2013. Cytoplasmic streaming velocity as a plant size determinant. *Dev Cell.* 27: 345-352.
- 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 Phytol.* 209: 1576-1590
- Vidali, L., Rounds, C.M., Hepler, P.K., & Bezanilla, M. 2009. Lifeact-mEGFP reveals a dynamic apical F-actin network in tip growing plant cells. *PLoS one.* 4, e5744.
- 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 Phytol.* 185: 156-172.
- 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. *J Plant Physiol.* 166: 947-954.
- Wakabayashi, K., Soga, K., Hoson, T., Kotake, T., Yamazaki, T., Higashibata, A., Ishioka, N., Shimazu, T., Fukui, K., & Osada, I. 2015. Suppression of hydroxycinnamate network formation in cell walls of rice shoots grown under microgravity conditions in space. *PLoS one.* 10: e0137992.

- Xu, B., Ohtani, M., Yamaguchi, M., Toyooka, K., Wakazaki, M., Sato, M., Kubo, M., Nakano, Y., Sano, R., & Hiwatashi, Y., Murata, T., Kurata, T., Yoneda, A., Kato, K., Hasebe, M., & Demura, T. 2014. Contribution of NAC transcription factors to plant adaptation to land. *Science*. 343: 1505-1508.
- 矢野幸子. 2020. 植物科学と宇宙実験-シャトル実験, ISS 実験, 有人宇宙探査-, *BSJ Review* 11A10: 106-119.
- Yokoyama, R., Uwagaki, Y., Sasaki, H., Harada, T., Hiwatashi, Y., Hasebe, M., & Nishitani, K. 2010. Biological implications of the occurrence of 32 members of the XTH (xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase) family of proteins in the bryophyte *Physcomitrella patens*. *Plant J*. 64: 645-656.

宇宙環境による作物の生存能力と遺伝子発現への影響

杉本 学

岡山大学・資源植物科学研究所

〒710-0046 岡山県倉敷市中央 2-20-1

Effect of space environment on crop viability and gene expression

Manabu Sugimoto

Institute of Plant Science and Resources, Okayama University

2-20-1 Chuo, Kurashiki, Okayama 710-0046, Japan

Key words: Gene expression, Long-lived mRNA, Oxidative stress, Seed viability, Space environment

DOI: 10.24480/bsj-review.11a7.00179

1. はじめに

ガガーリンが人類で初めて宇宙を飛行してから半世紀以上が経過し、今や人類の有人探査は月を越え火星にまで足を延ばそうとしている。人類が地球から遠く離れた宇宙空間で長期にわたり滞在し活動する場合、食料自給のために月や火星で作物を栽培する必要がある。そのため、微小重力、宇宙放射線、電磁場等の地球上とは全く異なる宇宙環境が植物の発生、成長、世代交代等に与える影響を調べることは宇宙環境での保存や栽培に適した作物の開発に必要であり、宇宙科学研究のなかでも重要な課題のひとつである。

宇宙環境は生体の細胞や DNA に損傷を与え変異、生育阻害、死滅をもたらす可能性がある。Long Duration Exposure Facility (LDEF) による植物種子を 69 ヶ月間宇宙空間で保管した実験では (Alston 1991)、シロイヌナズナでは発芽や花形成が遅延 (Zimmermann *et al.* 1994)、イネでは発芽後伸長や細胞分裂が進まず (Bayonove *et al.* 1994)、トウモロコシでは葉鞘や幼少体の変色や矮性化 (Mei *et al.* 1994) が観察された一方、トマトでは発芽や収穫量に変化は生じなかった (Kahn 1996)。また、宇宙放射線と微小重力の相乗効果によりフリーラジカルが多量に発生し、生体内で酸化ストレスを引き起こすことがこれまでの宇宙実験で報告されている。90-180 日間宇宙に滞在した宇宙飛行士尿中の酸化ヌクレオチドが増加 (Stein 2002)、100-150 日間宇宙に滞在したマウス赤血球中の脂質過酸化が増加 (Rizzo *et al.* 2012) した。植物では、過重力やクリノスタット装置による微小重力下のシロイヌナズナ幼少体やカルスはシグナル伝達遺伝子、リン酸化／脱リン酸化遺伝子、ストレス応答遺伝子の発現量が増加 (Martzivanou & Hampp 2003, Barjaktarović *et al.* 2007, 2009)、シロイヌナズナ 7 日目幼少体をスペースシャトルで宇宙へ搬送し 5 日間栽培するとヒートショックプロテイン (HSP)、乾燥ストレスで誘導されるカルシウム結合タンパク質、MADS-box タンパク質、mitogen-activated protein kinase (MAPK) の遺伝子が地上コントロールと比べ 4 倍以上増加 (Paul *et al.* 2005)、スペースシャトル内で 12 日間培養したシロイヌナズナ培養細胞ではヒートショック、塩、乾燥、金属、傷等ストレス条件下で誘導される遺

伝子が 5 倍以上増加(Paul *et al.* 2012)した一方、国際宇宙ステーション(ISS)内で栽培収穫したコムギと四世代にわたり栽培したエンドウは収量、発芽率、DNA に変化は無かった(Gostimsky *et al.* 2007, Levinskikh *et al.* 2002, 2005)。このように植物種の違いにより宇宙環境に対する応答が異なるため、食料となる作物に対する宇宙環境の影響の解明が必要である。しかし、ISS に設置している植物栽培装置の数、大きさや利用時間等の制限により作物を用いた長期間にわたる宇宙環境での実験は非常に限られている。

本稿では、宇宙環境で生育する作物が受けるストレスの解明を目指して 2006 年と 2010 年実施した ISS 実験「宇宙環境で生育する植物のストレス応答遺伝子発現」(Plants-2)、船外に長期保管した作物種子の生存能力の解明を目指して 2007 年と 2011 年に実施した ISS 実験「ISS 船外曝露種子の生存能力と遺伝子発現」(Biorisk)の結果について紹介する。

2. ISS 船内で生育する作物の遺伝子発現

2006 年に行った「宇宙環境で生育する植物のストレス応答遺伝子発現」(Plants-2)ではオオムギ(*Hordeum vulgare* L. var. Haruna nijo)種子を ISS ロシアモジュール Zvezda に設置している植物栽培装置 LADA のルートユニットにセットし、日照 24 時間、温度 22~27°C、湿度 40~60%の条件下で栽培した(Shagimardanova *et al.* 2010)。種子は 3 日目に発芽し発芽率は 90%以上であった。26 日目には桿長

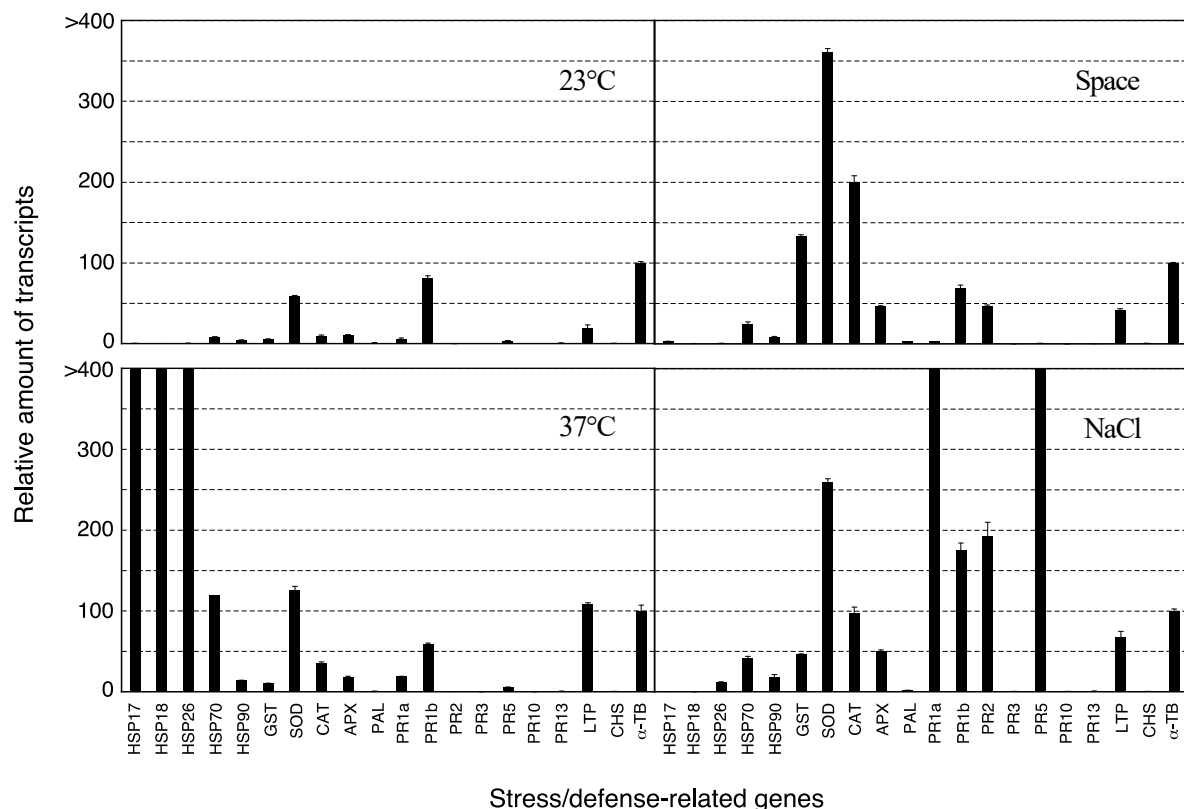


図 1. 宇宙環境、塩ストレス (100 mM NaCl)、高温ストレスに曝露したオオムギのストレス応答・防御遺伝子の発現量

発現量は、α-チューブリン発現量を 1 とした相対発現量で表している。

50~60 cm まで生育し止め葉の展開も認められた。この結果は地上で同条件により栽培したオオムギとほぼ同じであり、ISS 内ではオオムギ種子の発芽と生育は宇宙環境により影響を受けないことが明らかになった。26 日間の栽培後に収穫したオオムギ地上部を保存液 RNAlater に浸漬し地上へ搬送し RNA 発現量をマイクロアレイと RT-PCR で解析したところ、地上で同条件で栽培したオオムギに比べ 2 倍以上有意に変動する遺伝子が約 500 個あり、活性酸素種(ROS)消去関連酵素であるグルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)、スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)、カタラーゼ(CAT)、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)の遺伝子発現量がそれぞれ 9, 5, 2, 4 倍増加した。これら遺伝子に加え環境ストレスで発現が誘導される HSP と感染特異的タンパク質(PR)遺伝子の発現量の変動を調べると、宇宙環境で生育するオオムギでは高温ストレスや塩ストレスで起こる遺伝子発現変動とは異なる応答を示した(図1)。

宇宙環境で生育するミズナ(*Brassica rapa* L. var. *nipposinica* (L. H. Bailey) Kitam.)でも同様の酸化ストレスが引き起こされる可能性について調査するため、2010 年に行った「宇宙環境で生育する植物のストレス応答遺伝子発現」(Plants-2)ではミズナ種子を LADA で栽培した(Sugimoto *et al.* 2014)。栽培 28 日目に収穫したミズナ地上部を直ちに超低温庫で保存し地上に搬送し RNA 発現量を RNA-seq と RT-PCR で解析したところ、地上で同条件で栽培したミズナに比べ 2 倍以上有意に増加する遺伝子が 8,258 個、減少する遺伝子が 14,170 個検出された。この変動遺伝子を Gene Ontology で分類すると、発現増加する遺伝子では oxidation-reduction process に属する遺伝子が最も多く、次いで protein phosphorylation に属する遺伝子であり両方で全体の 48%を占めた。発現減少する遺伝子では protein phosphorylation に属する遺伝子が最も多く全体の 38%を占めた。ROS マーカー遺伝子 32 個のうち 5 倍以上発現量が増加した遺伝子は 20 個あり、このうち 5 個あるホールマーク遺伝子の 4 個が 10 倍以上発現量が増加していた。ROS 消去関連酵素遺伝子では SOD, CAT, グルタチオンペルオキシダーゼ(GPX)を含む 20 個の遺伝子が 2 倍以上発現量が増加した。なかでも細胞内の酸化還元状態を減少させ酸化ストレスを軽減するチオレドキシンとグルタレドキシンの遺伝子発現量が 40 倍以上増加し、乾燥や塩ストレスで起こる酸化ストレスで発現量が増加し ROS 蓄積を減少させる機能をもつ alternative oxidase の遺伝子発現量が 9.2 倍増加した。

ROS は酸化ストレスを誘発する物質として認識されている一方、成長、分化、細胞周期、プログラム細胞死、ストレス防御等を制御する生体シグナル伝達物質として機能する。ROS シグナルは植物の生物的・非生物的ストレス応答に重要な役割を担う MAPK 経路により伝達される。シロイヌナズナでは、MEKK1-MKK1/MKK2-MPK4 カスケードは ROS ストレスシグナルの制御を担う鍵となり(Pitzschke *et al.* 2009)、MEKK1-MKK2-MPK4/MPK6 カスケードは低温や塩ストレスで誘導(Teige *et al.* 2004, Ichimura *et al.* 2000)、MEKK1-MKK4/MKK5-MPK3/MPK6 カスケードは細菌のフラグゼリンにより誘導(Asai *et al.* 2002)、MKK4-MPK3 は塩ストレスで誘導(Kim *et al.* 2011)、OXI1-MPK3/MPK6 は ROS により誘導(Rentel *et al.* 2004)、OXI1-NDPK2-MPK3/MPK6 は低温と塩ストレスで誘導される(Moon *et al.* 2003)。宇宙環境で生育するミズナでは MEKK1, OXI1, MKK4, MPK3 が 5 倍以上発現量が増加しており、MEKK1-MKK4-MPK3, OXI1-MKK4-MPK3, OXI1-MPK3 カスケードが誘導されていることが示唆された(図2)。

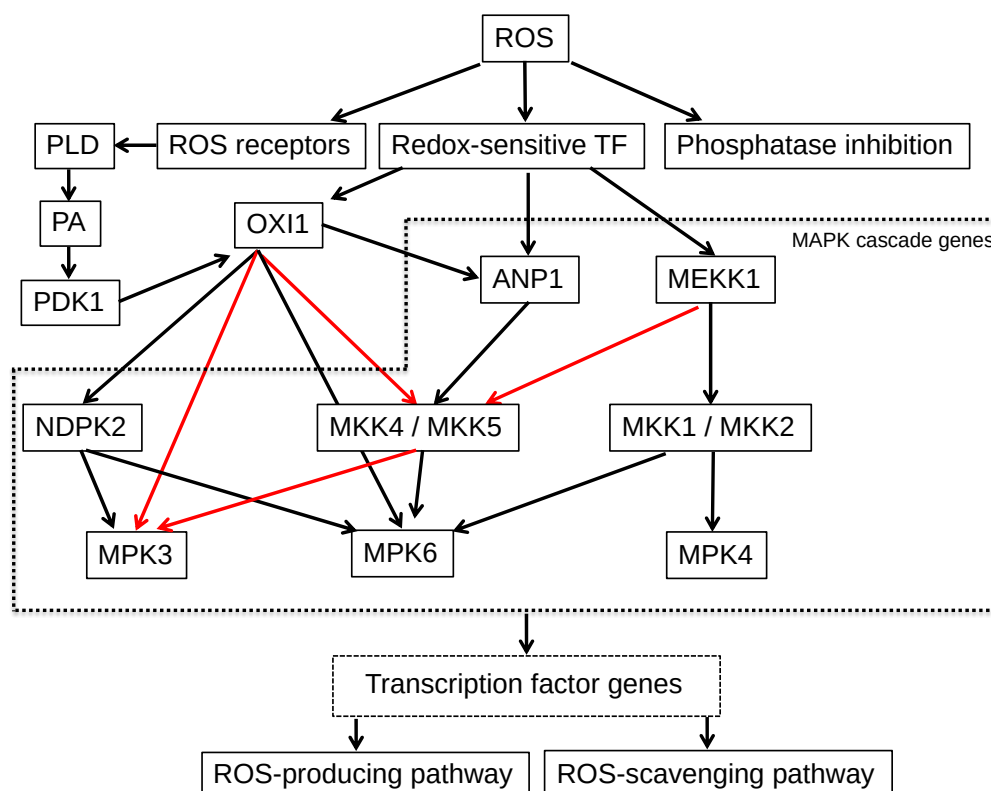


図2. 宇宙環境で生育したミズナの MAPK 経路

赤色矢印で示す MEKK1-MKK4-MPK3, OXI1-MKK4-MPK3, OXI1-MPK3 カスケードが誘導された。

ROS は酸化ストレスを誘発する物質として認識されている一方、成長、分化、細胞周期、プログラム細胞死、ストレス防御等を制御する生体シグナル伝達物質として機能する。ROS シグナルは植物の生物的非生物のストレス応答に重要な役割を担う MAPK 経路により伝達される。シロイヌナズナでは、MEKK1-MKK1/MKK2-MPK4 カスケードは ROS ストレスシグナルの制御を担う鍵となり (Pitzschke *et al.* 2009), MEKK1-MKK2-MPK4/MPK6 カスケードは低温や塩ストレスで誘導 (Teige *et al.* 2004; Ichimura *et al.* 2000), MEKK1-MKK4/MKK5-MPK3/MPK6 カスケードは細菌のフラジェリンにより誘導 (Asai *et al.* 2002), MKK4-MPK3 は塩ストレスで誘導 (Kim *et al.* 2011), OXI1-MPK3/MPK6 は ROS により誘導 (Rentel *et al.* 2004), OXI1-NDPK2-MPK3/MPK6 は低温と塩ストレスで誘導される (Moon *et al.* 2003)。宇宙環境で生育するミズナでは MEKK1, OXI1, MKK4, MPK3 が5倍以上発現量が増加しており, MEKK1-MKK4-MPK3, OXI1-MKK4-MPK3, OXI1-MPK3 カスケードが誘導されていることが示唆された (図2)。

このような宇宙環境で生育するオオムギとミズナの結果から、宇宙環境では植物体内で ROS 生成に起因する酸化ストレスが発生するが、植物は MAPK 経路を活性化して ROS シグナルを伝達し ROS 消去関連酵素遺伝子を誘導して酸化ストレスを軽減し、宇宙環境に適合し正常に生育することが示唆された。植物は地上の環境に適応するために発達させてきた環境ストレス応答や耐性獲得のための ROS 遺伝子ネットワークを宇宙環境に適合するために駆使していることは、植物が環境ストレス適応するための戦略を知る上で非常に興味深い。

3. ISS 船外に曝露した種子の生存能力

2007 年に実施した ISS 実験「ISS 船外曝露種子の生存能力と遺伝子発現」(Biorisk)ではオオムギ種子を船外曝露装置 Biorisk-MNS コンテナの金属筒に入れ ISS ロシアモジュール Pirs 船外に設置した(Sugimoto *et al.* 2011)。温度、湿度等気象条件のコントロールを全く行わない状態で 13, 18, 31 ヶ月間放置した後に地上へ搬送した。13, 18 ヶ月間船外曝露種子の発芽率はそれぞれ 82, 95%であったが、31 ヶ月間船外曝露種子は発芽しなかった。発芽した種子をワグナールポットで栽培したところ、13 ヶ月間船外曝露種子は地上で同期間 10°C で保管した種子と同様に生育、出穂、稔実した。生育したオオムギの農業特性(桿長、穂長、1000 粒重量、稔実率)は船外曝露種子で 85.3 ± 1.6 cm, 6.2 ± 0.1 cm, 48.8 ± 0.8 g, $94.6 \pm 0.02\%$ 、地上保管種子で 82.4 ± 4.1 cm, 6.4 ± 0.2 cm, 48.6 ± 0.2 g, $93.8 \pm 0.01\%$ となり両者に有意差は認められず、また収穫した第二世代種子の発芽率と農業特性についても有意差は認められなかった。AFLP 分析と二次元電気泳動分析によりオオムギ葉中の DNA フラグメントやタンパク質スポットにも差は認められなかった。18 ヶ月間船外曝露種子から生育したオオムギの農業特性は(桿長、穂長、1000 粒重量、稔実率)は 60.6 ± 3.7 cm, 5.8 ± 0.2 cm, 41.0 ± 2.0 g, $88.4 \pm 1.0\%$ となり、地上保管種子は 76.0 ± 6.4 cm, 5.9 ± 0.1 cm, 42.3 ± 2.3 g, $95.1 \pm 2.5\%$ と比べ桿長と稔実率に有意な低下が認められた。しかし、収穫した第二世代種子を栽培したオオムギの農業特性は地上保管種子と差が認められなかったことから、桿長と稔実率の低下は遺伝的変異によるものではないと考えられる。31 ヶ月間船外曝露種子では Cu, Zn, Sr, Ba の同位体比と放射性核種の peak net area に有意な差を認めることができず、種子が発芽しない原因は種子中の核反応や元素組成の変化によるものではないと思われる。このようにオオムギ種子は金属容器中(太陽光を遮光した状態)で 18 ヶ月間は農業特性、品質、遺伝子に変化無く宇宙環境で保管出来る可能性がある。一方、18 ヶ月から 31 ヶ月の船外曝露の間にオオムギ種子にどのような問題が発生し種子が死滅に至ったのか? この原因を明らかにすることは、種子を宇宙環境で長期間安定して保管するために重要であろう。

イネ種子(*Oryza sativa*, cv. Nipponbare)でもオオムギ種子と同様に 1 年程度船外曝露後も高い生存率を保つ可能性について調査するため、2011 年に実施した ISS 実験「ISS 船外曝露種子の生存能力と遺伝子発現」(Biorisk)ではイネ種子を Biorisk-MNS コンテナの金属筒に入れ ISS ロシアモジュール Pirs 船外に設置した。温度、湿度等気象条件のコントロールを全く行わない状態で 13, 20, 31 ヶ月間放置した後に地上へ搬送した(Sugimoto *et al.* 2016)。13, 20 ヶ月間船外曝露種子の発芽率はそれぞれ 48, 7%であり、地上で同期間 10°C で保管した種子の発芽率 96, 76%に比べ著しく低下した。13 ヶ月間船外曝露種子と 13, 20 ヶ月地上保管種子は浸漬後 3 日目に発芽したが、20 ヶ月間船外曝露種子は 5 日後に発芽した。一方、31 ヶ月間船外曝露種子は発芽しなかった。種子、5 日目発芽種子、10 日目幼少体地上部と根の RNA 発現量を RNA-seq と RT-PCR で解析したところ、約 12%の遺伝子の発現量が船外曝露により変化を生じていたが、塩基配列中に有意な塩基置換は無く DNA 修復遺伝子の発現量も有意な差は無かったため、種子中の DNA 変異は宇宙環境により起こらないことが示唆された。そこで、種子発芽率や生存率に関与する種子発芽の初期に起こるタンパク質合成を担い速やかな発芽や種子寿命の維持に関与する long-lived mRNA 量について 13, 20 ヶ月間船外曝露種子で比較した(Sano *et al.* 2012, Dure & Waters 1965, Nakabayashi *et al.* 2005, Kimura & Nambara 2010)。イネ種子発芽に関与する 529 個の遺伝子のうち 2 倍以上発現量が減少するものは 13 ヶ月間船外曝露種子で 2 個だけであったが、20 ヶ月間船外曝露種子では HSP 遺伝子、cytochrome P450 遺伝子、カルシウムイオンシグナル遺

伝子を含む 39 個の遺伝子が減少した。このことから、20 ヶ月間船外曝露種子の発芽率低下や発芽の遅れは宇宙環境により long-lived mRNA がダメージを受けたことに起因することが示唆された。

4. おわりに

植物は地球上で 40 億年におよぶ進化の中で遺伝子を変化させ、多様な生態系、種、個体を作り上げ、また植物ホルモンを介して様々な遺伝子やタンパク質の発現をコントロールして地球環境下で生き延びてきた。例えば、塩ストレスに強いオオムギでは、活性酸素種消去関連酵素が通常のオオムギよりも多く発現している (Sugimoto *et al.* 2009)。このように植物が獲得した環境適応能力は宇宙環境という環境ストレス下でも発揮できることが実証された。また、船外曝露における種子の生存能力は植物種の違いにより異なることが示唆された。「宇宙環境で生育する植物のストレス応答遺伝子発現」(Plants-2) 研究と ISS 船外曝露種子の生存能力と遺伝子発現」(Biorisk) 研究成果は、宇宙環境で栽培する作物や保存する種子に起こりうる問題や植物生産に不可欠な条件を的確に把握し、宇宙環境での保存や生育に適した作物の開発や有用な情報を提供することになり、人類の宇宙開発に貢献できるものと期待している。

謝辞

本稿で紹介した研究はロシア科学アカデミー生物医学研究所 (IBMP) Sychev, V.N. 博士との国際共同研究「宇宙環境における植物の適応能力の解明と環境耐性植物の開発」のもとで実施された。また、本研究は Novikova, N.D. 博士 (IBMP), Levinskikh, M.A. 博士 (IBMP), Gusev, O. 博士 (理化学研究所), 大野陽子博士 (農研機構), Bingham, G. 博士 (ユタ州立大学), Wheeler, R. 博士 (NASA), 木原 誠博士 (サッポロビール (株)), 石井 誠博士 (岡山大学), (財) 大原奨農会研究助成金の支援を得て遂行した。

引用文献

- Alston, J.A. 1991. Seeds in space experiment. in LDEF: 69 months in space. First-post-retrieval symposium, edited by Levine, A.S., Kissimmee, FL, p 1625.
- Asai, T., Tena, G., Plotnikova, J., Willmann, M.R., Chiu, W.L., Gomez-Gomez, L., Boller, T., Ausubel, F.M., & Sheen, J. 2002. MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature* 415: 977–983.
- Barjaktarović, Z., Nordheim, A., Lamkemeyer, T., Fladerer, C., Madlung, J., & Hampp, R. 2007. Time-course of changes in protein amounts of specific proteins upon exposure to hyper-g, 2-D clinorotation and random positioning of *Arabidopsis* cell cultures. *J. Exp. Bot.* 58: 4357–4363.
- Barjaktarović, Z., Schütz, W., Madlung, J., Fladerer, C., Nordheim, A., & Hampp, R. 2009. Changes in the effective gravitational field strength affect the state of phosphorylation of stress-related proteins in callus cultures of *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 60: 779–789.
- Bayonove, J.F., Raffi, J.J., & Agnel, J-P.L. 1994. Investigation on rice embryos and seeds after the LDEF flight: electronic spin resonance identification. *Adv. Space Res.* 14: 53–57.
- Dure, L. & Waters, L. 1965. Long-lived messenger RNA: evidence from cotton seed germination. *Science* 147: 410–412.

- Gostimsky, S.S., Levinskikh, M.A., Sychev, V.N., Kokaeva, Z.G., Dribnokhodova, O.P., Khartina, G.A., & Bingham, G. 2007. The study of the genetic effects in generation of pea plants cultivated during the whole cycle of ontogenesis on the board of RS ISS. *Genetika* 43: 1050-1057.
- Ichimura, K., Mizoguchi, T., Yoshida, R., Yuasa, T., & Shinozaki, K. 2000. Various abiotic stresses rapidly activate *Arabidopsis* MAP kinases ATMPK4 and ATMPK6. *Plant J.* 24: 655-665.
- Kahn, B.A. 1996. No evidence of adverse effects on germination, emergence, and fruit yield due to space exposure to tomato seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121: 414-418.
- Kim, S.H., Woo, D.H., Kim, J.M., Lee, S.Y., Chung, W.S., & Moon, Y.H. 2011. *Arabidopsis* MKK4 mediates osmotic-stress response via its regulation of MPK3 activity. *Biochem. Bioph. Res. Commun.* 412: 150-154.
- Kimura, M. & Nambara, E. 2010. Stored and neosynthesized mRNA in *Arabidopsis* seeds: effects of cycloheximide and controlled deterioration treatment on the resumption of transcription during imbibition. *Plant Mol. Biol.* 73: 119-129.
- Levinskikh, M.A., Sychev, V.N., Signalova, O.B., Derendyaeva, T.A., Nefedova, E.L., Musgrave, M.E., Campbell, U.F., Konlin, D., & Bingham, G.E. 2002. Some characteristics of plant seeds formed under conditions of microgravity. *Aviakosm. Ekol. Med.* 36: 62-64.
- Levinskikh M.A., Sychev, V.N., Derendyaeva, T.A., Signalova, O.B., Podolsky, I.G., Gostimsky, S.A., & Bingham, G. 2005. Characteristics of growth, development, and genetic status of pea plants grown in the Lada space greenhouse. *Aviakosm. Ekol. Med.* 39: 38-43.
- Martzivanou, M. & Hampp, R. 2003. Hyper-gravity effects on the *Arabidopsis* transcriptome. *Plant Physiol.* 118: 221-231.
- Mei, M., Qiu, Y., He, Y., Buckner, H., & Yang, C.H. 1994. Mutational effects of space flight on *Zea mays* seeds. *Adv. Space Res.* 14: 33-39.
- Moon, H., Lee, B., Choi, G., Shin, S., Prasad, D.T., Lee, O., Kwak, S.S., Kim, D.H., Nam, J., Bahk, J., Hong, J.C., Lee, S.Y., Cho, M.J., Lim, C.O., & Yun, D.J. 2003. NDP kinase 2 interacts with two oxidative stress-activated MAPKs to regulate cellular redox state and enhances multiple stress tolerance in transgenic plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 358-363.
- Nakabayashi, K., Okamoto, M., Koshiba, T., Kamiya, Y., & Nambara, E. 2005. Genome-wide profiling of stored mRNA in *Arabidopsis thaliana* seed germination: epigenetic and genetic regulation of transcription in seed. *Plant J.* 41, 697-709.
- Paul, A.L., Popp, P. M., Gurley, W.B., Guy, C., Norwood, K.L., & Ferl, R. J. 2005. *Arabidopsis* gene expression patterns are altered during spaceflight. *Adv. Space Res.* 36: 1175-1181.
- Paul, A.L., Zupanska, A.K., Ostrow, D.T., Zhang, Y., Sun, Y., Li, J.L., Shanker, S., Farmerie, W.G., Amalfitano, C.E., & Ferl, R.J. 2012. Spaceflight transcriptomes: unique responses to a novel environment. *Astrobiol.* 12: 40-56.
- Pitzschke, A., Djamei, A., Bitton, F., & Hirt, H. 2009. A major role of the MEKK1-MKK1/2-MPK4 pathway in ROS signalling. *Mol Plant* 2: 120-137.

- Rentel, M.C., Lecourieux, D., Ouaked, F., Usher, S.L., Petersen, L., Okamoto, H., Knight, H., Peck, S.C., Grierson, C.S., Hirt, H., & Knight, M.R. 2004. OXI1 kinase is necessary for oxidative burst-mediated signalling in *Arabidopsis*. *Nature* 427: 858-861.
- Rizzo, A.M., Corsetto, P.A., Montorfano, G., Milani, S., Zava, S., Tavella, S., Cancedda, R., & Berra, B. 2012. Effects of long-term space flight on erythrocytes and oxidative stress of rodents. *PLoS One* 7: e32361.
- Sano, N., Permana, H., Kumada, R., Shinozaki, Y., Tanabata, T., Yamada, T., Hirasawa, T., & Kanekatsu, M. 2012. Proteomic analysis of embryonic proteins synthesized from long-lived mRNAs during germination of rice seeds. *Plant Cell. Physiol.* 53: 687-698.
- Shagimardanova, E.I., Gusev, O.A., Sychev, V.N., Levinskikh, M.A., Sharipova, M.R., Il'nskaya, O.N., Bingham, G., & Sugimoto, M. 2010. Expression of stress response genes in Barley *Hordeum vulgare* in spaceflight environment. *Mol. Biol.* 44: 734-740.
- Stein, T.P. 2002. Space flight and oxidative stress. *Nutrition* 18: 867-871.
- Sugimoto, M. & Takeda, K. 2009. Proteomic analysis of specific proteins in the root of salt-tolerant barley. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73: 2762-2765.
- Sugimoto, M., Ishii, M., Mori, I.C., Shagimardanova, E., Gusev, O.A., Kihara, M., Hoki, T., Sychev, V.N., Levinskikh, M.A., Novikova, N.D., & Grigoriev, A.I. 2011. Viability of barley seeds after long-term exposure to outer side of international space station. *Adv. Space Res.* 48: 1155-1160.
- Sugimoto, M., Oono, Y., Gusev, O., Matsumoto, T., Yazawa, T., Levinskikh, M.A., Sychev, V.N., Bingham, G., Wheeler, R., & Hummerick, N. 2014. Genome-wide expression analysis of reactive oxygen species gene network in Mizuna plants grown in long-term spaceflight. *BMC Plant Biol.* 14: 4.
- Sugimoto, M., Oono, Y., Kawahara, Y., Gusev, O., Maekawa, M., Matsumoto, T., Levinskikh, M., Sychev, V., Novikova, N., & Grigoriev, A. 2016. Gene expression of rice seeds surviving 13- and 20-month exposure to space environment. *Life Sci. Space Res.* 11: 10-17.
- Teige, M., Scheikl, E., Eulgem, T., Doczi, R., Ichimura, K., Shinozaki, K., Dangl, J.L., & Hirt, H. 2004. The MKK2 pathway mediates cold and salt stress signaling in *Arabidopsis*. *Mol. Cell* 15: 141-152.
- Zimmermann, M.W., Gartenbach, K.E., & Kranz, A.R. 1994. First radiobiological results of LDEF-1 experiment A0015 with *Arabidopsis* seed embryos and *Sordaria* fungus spores. *Adv. Space Res.* 14: 47-51.

宇宙植物科学研究の今後の課題

日出間 純

東北大学大学院・生命科学研究科

〒980-8577 仙台市青葉区片平 2-1-1

Future tasks for plant space radiation research area

Jun Hidema

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University,

2-1-1 Katahira Aobaku, Sendai, Miyagi 980-8577, Japan

Key words: 3D Clinostat, International Space Station (ISS),

Microgravity, Space radiation, Ultraviolet radiation

DOI: 10.24480/bsj-review.11a8.00180

1. はじめに

月、そして火星に至る有人探査、「国際宇宙探査」計画が急速に現実味を帯び、いよいよ人類は宇宙という環境へと活動の場を広げようとしている。しかし、宇宙は地球とは異なり、微小重力環境に加え、低気圧環境、さらには高強度の紫外線・放射線という特殊な環境である。例えば、火星表面では、重力は $0.38g$ ($3/8g$) の低重力、電離放射線(宇宙放射線)レベルは 0.4 mGy day^{-1} 、非電離放射線(紫外線)は最も高い時で 20 W m^{-2} (地上のおよそ 10~20 倍)、また温度変化も激しく、 $-87\sim 20^{\circ}\text{C}$ と大きく変動する(Yamagishi *et al.* 2010, Ronto *et al.* 2003)。中でも宇宙放射線・紫外線環境は、動物のみならず全ての生物に変異誘発、オルガネラ障害、細胞死誘発といった様々な障害を引き起こすことが容易に想定されている。したがって、このような宇宙環境での長期活動において人体に及ぼす影響研究はもちろんのこと、植物科学分野では、ヒトを含む全生命体が必要とするエネルギーを供給し、また環境維持・浄化も担う「植物」の安定かつ効率的な育成技術の確立が急務な課題となっている。しかしながら、これまで動物を対象にした研究は精力的に実施されているものの、植物を対象にした“宇宙環境ストレス”という観点からの分子、細胞、生理学的解析、すなわち、宇宙環境で重力環境と同様に重視すべき環境である高強度の紫外線・放射線環境、そして高強度の紫外線・放射線と微小重力の複合環境が植物の生育に及ぼす影響に関する研究は著しく遅れている。よって、重力ストレス、微小重力環境下における高強度の紫外線・放射線による障害、そしてその修復に関する基礎データの蓄積は急務な課題と言える。

2. 宇宙農業における課題

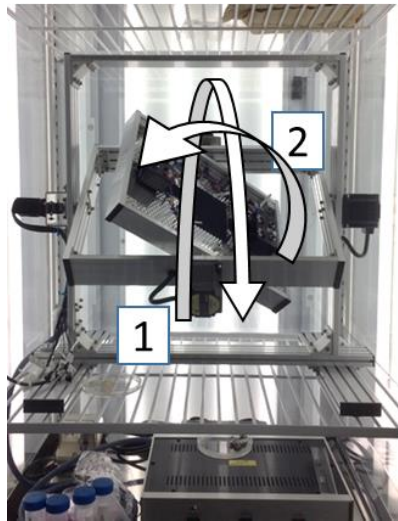
NASA, ESA, JAXA など世界の宇宙開発関連の機関では、月や火星で定住することを想定し、宇宙農業システムの概念検討を進めている。宇宙農業は、人工光を利用した完全閉鎖系で実施するのか？ または太陽光を利用した太陽光利用型閉鎖系で行うのか？ といった議論もまだ不十分であるが、技術的な面でのシステム構築のためには、①宇宙という厳しい環境の中で、植物栽培に適した環境を作り出す「高度な環境制御システムの開発」、②栽培、管理、収穫などすべての農作業の完全自動化技術の開発、③汚染水浄化や廃棄物の再利用化の技術開発なども急務な課題となっている。

一方、宇宙での植物栽培を考えた場合、基礎的な宇宙植物科学分野においても、理解・解明すべき課題は多く残されている。将来開発される宇宙植物栽培施設において、温度管理、気圧管理は出来ても、重力の制御は難しいであろう。また太陽光を利用したシステムの場合、高い可視光量、紫外線量に対する対策、さらには宇宙放射線に対する対策はどのように対処するのか？ したがって、微小重力影響解析のみならず、月 ($0.17g$, $1/6g$)、火星 ($0.38g$, $3/8g$) を想定した低重力応答、植物の重力依存的応答解析、さらには、低重力と高紫外線、高可視光、さらには高放射線との複合影響など、理解しなくてはならない。このような解析は、単に宇宙環境での植物栽培技術の確立のみならず、今後宇宙での植物栽培施設を建設するにあたっての機材、材料の開発にも重要な知見を提供することにもつながる。

3. 低重力応答

これまで地上における低重力影響の解析には、クリノスタット装置が主に用いられてきた。クリノスタットとは、試料を搭載した試料台を直交2軸により3次元に(3Dクリノスタット、図1)、または、1軸により2次元に(2Dクリノスタット)回転させ、搭載試料を作用する重力ベクトルの方向を変化させることにより、時間平均として重力を相殺し、疑似的な微小重力(μg)環境を作り出すことで、“微小重力”が生物に及ぼす影響を解析する装置である。しかし今後は、月 ($0.17g$) や火星 ($0.38g$) での居住を想定し、地上において、様々な疑似低重力環境で生物を育成できる装置を利用した解析が重要である。Manzano ら(2018)は、従来の3Dクリノスタットを改造し、地上においても低重力環境を模擬した環境を作り出す装置(低重力可変型3Dクリノスタット)を開発し、模擬低重力環境応答の解析を報告している。この装置は、3Dクリノスタットの試料台を、これまでの直交2軸による3次元回転に加え、回転(遠心)させることで、試料に遠心力を加えて μg よりも高い重力環境を与えることができる。彼らは、この装置を利用して、地上 $1g$ 、疑似微小重力(μg)、および、月や火星表面の重力を模擬した $0.17g$ と $0.38g$ を作り出し、シロイヌナズナの根の成長に及ぼす影響を解析した。その結果、根の細胞は $1g$ 環境と比較して、 $0.17g$ では、 μg と同様に細胞の増殖速度は速くなるものの、細胞の大きさが小さくなることを報告している。なお、 $0.38g$ 環境では、根の細胞の増殖速度、大きさは $1g$ 環境と比較して有意な差異は認められなかった。このような植物生育の低重力応答、さらには低重力に依存した応答に関する知見はまだ少なく、今後精力的に実施し、知見を増やす必要があるであろう。

従来型 3Dクリノスタット



疑似低重力可変型 3Dクリノスタット

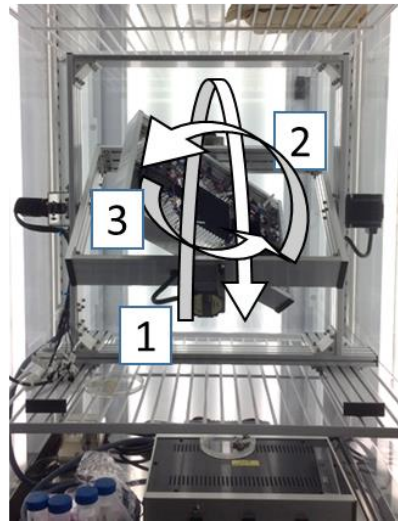


図 1. 従来の 3D クリノスタット(左)は、図中 1, 2 の軸方向に回転させ、重力ベクトルの方向を変化させている。一方、疑似低重力可変型 3D クリノスタットは(右)は、1, 2 の軸に加え、試料台を回転させ(3 の軸方向)遠心力を加えることで、 $\mu\text{g}\sim 1\text{g}$ の重力を作出することが出来る装置である。

4. 微小重力環境ストレス

1g 環境で進化適応してきた植物は、根や地上部の伸長方向を変えたり(重力屈性)、重力に対抗できる体をつくるなど(抗重力反応)、重力を感知し様々な応答を示し、生きてきている。微小重力環境では言うまでもなく植物は、重力方向を感知できないため、重力応答が出来ず、姿勢を維持することさえ難しくなる。また、微小重力環境は、単に姿勢制御のみならず、様々な障害を引き起こすことが動物細胞などを用いた解析から報告されている。例えば、クリノスタットにヒトのリンパ腫細胞(Hodgkin's lymphoma cells) (Jeong *et al.* 2018)やヒト精巢セミノーマ由来細胞株(TCam-2 細胞) (Morabito *et al.* 2017)を搭載して培養したところ、細胞内に活性酸素(reactive oxygen species: ROS)の蓄積やミトコンドリアの不活化、さらには小胞体ストレスが引き起こされることが報告されている。さらには、宇宙実験によりフライトしたヒト細胞においても、ROS が誘導されることも確認されている(Tian *et al.* 2017)。一方、植物においても、”Mizuna”の宇宙フライトサンプルを解析したところ、細胞内には種々の酸化障害が認められ、さらには活性酸素に応答した遺伝子発現のネットワークが活性化されていたことが報告されている(Sugimoto *et al.* 2014)。これらの結果は、明らかに生物にとって微小重力環境も地上における放射線、紫外線、強光、高温などのストレスと同様に、環境ストレスの 1 つであることを示している。したがって、微小重力に対する応答を考える際には、ストレス応答反応という視点からの研究も必要であろう。

5. 微小重力と高紫外線 UVB 複合環境ストレスが植物の生育・障害に及ぼす影響解析

これまでに著者らは、非電離放射線である太陽有害紫外線 (UVB: 280-315 nm) による植物への障害、ならびにその修復・耐性機構に関する一連の解析を、分子、細胞、個体レベルで行ってきた。これまでに、紫外線 UVB による植物の生育障害は、線量の高低によって異なるが、主には①紫外線による直接的な DNA 損傷 (Cyclobutane pyrimidine dimer [CPD]) の生成 (Hidema *et al.* 2000, 2005, Takahashi *et al.* 2011, 2014), および②活性酸素誘発によるオルガネラ障害に起因することを示してきた (Izumi *et al.* 2017, Nakamura *et al.* 2018)。そしてこれらの障害に対する修復機構として、UVB 誘発 CPD を修復する DNA 修復酵素 (CPD 光回復酵素), また障害オルガネラ除去に関わるオートファジー機能の重要性を報告してきた (Hidema *et al.* 2007, Izumi *et al.* 2017)。そこで現在我々は、これまでの研究成果を基盤に、宇宙環境での植物育成技術基盤を確立することを最終目標に、植物における微小重力環境が高強度の紫外線・放射線障害に及ぼす影響評価試験を、地上での紫外線を含む太陽光模擬人工光ユニットを 3D クリノスタットに搭載した装置、さらには ISS においての宇宙実験を実施するために必要なデバイスである UVB-LED 装着型の植物培養器を開発し、実施している。

これまでに ISS を利用して微小重力環境が植物の生育に及ぼす影響をはじめ、重力センシング、重力屈性、水分屈性、姿勢制御等、様々な植物応答研究が遂行されてきた (参照: <http://iss.jaxa.jp/kiboresults/plant/>)。これらの実験において ISS 内での植物培養は、ISS 内に搭載されている植物実験ユニット (Plant Experiment Unit: PEU) や、計測ユニット (Measurement Unit: MEU) が利用されてきた (参照: <http://iss.jaxa.jp/kibo/library/fact/data/pmhandbook.pdf>)。これらのユニットは基本、植物を明所 (白色, または赤と青の LED による可視光照射) または暗所で栽培が出来る。しかし我々は、微小重力が植物の紫外線障害とその修復機能に及ぼす影響を、宇宙環境を利用して解析することが目的であるため、既存の ISS に搭載されている機器では、本研究成果を検証することはできない。そこで、既存の PEU に搭載可能な植物培養器に UVB-LED 光源を装着した植物培養器を作製することにした。本装置の設計は、千代田化工建設と共同で考案し、試作品の作製は株式会社 AES の協力を得て実施した (図 2)。本装置では、単三乾電池 2 本を使用して、3 時間、UVB-LED を 20 W m^{-2} の強度で照射することが可能である。PEU 内には、6 か月分の給水バックが設置されているが、その給水バックの容積を減らして、単三乾電池を設置することを想定している。また、UVB-LED は、5 cm 角容器の上方隅に設置することで、栽培されている植物への照射強度はグラデーションがかかり、異なる照射強度での照射が可能な UVB-LED 光源装着植物培養器となっている。

図 2 には、株式会社 AES と共同で作製した UVB-LED 植物培養器の外観、および内部の構造を示した。容器は基本、これまでに神阪らにより ISS で実施された実験 (Space Seed) で使用された PEU に搭載可能な植物栽培容器をベースに作製した (図 2 a-b)。図 2 c には、実際この装置を用いて白色光の下で栽培した播種後 10 日目のシロイヌナズナに 2 W m^{-2} の UVB 光を 1 時間照射した後、再び白色光の下で 4 日間培養した (14 日目の) シロイヌナズナの様子を示した。UVB を照射した植物では、照射 UVB 強度に依存して UVB 障害が大きくなっていることがわかる。現在、本装置に改良を加え、本装置を用いた ISS での軌道実験 (FS 採択研究テ-

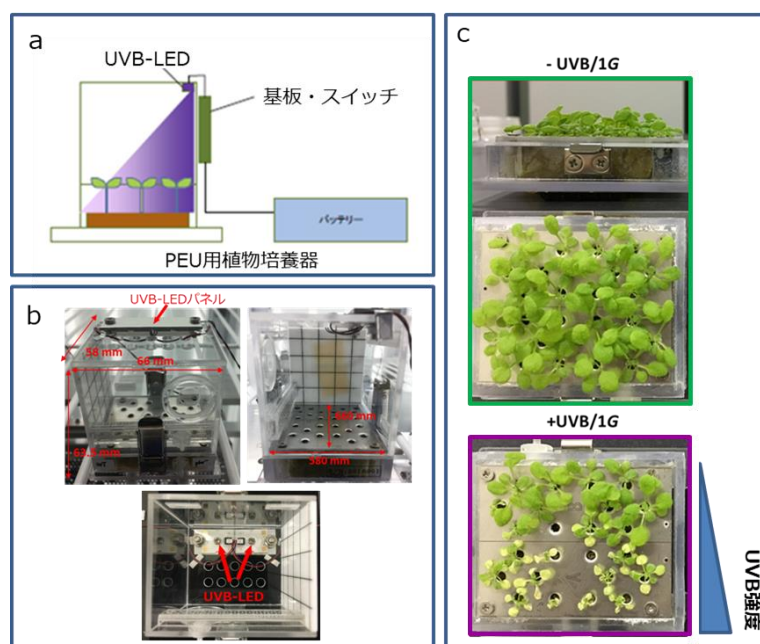


図 2. UVB-LED 装着植物培養器内の概略

(a) 本装置のイメージ図, (b) 作製した UVB-LED 装着植物培養器の外観。UVB-LED は上面の端に 2 つ設置した。(c) 本培養器を用いて実際にシロイヌナズナを栽培した際の様子。上段は 1g で UVB-LED を点灯しないで栽培し, 播種後 14 日目の写真。下段は, 発芽後 10 日目に UVB を 2 W m^{-2} で 1 時間照射した植物の 14 日目の写真。

マ、宇宙微小重力・高放射線環境ストレスに対する植物の応答解析)の準備を行うと共に、UVB-LED 光源装着植物培養器を 3D クリノスタットに搭載し、シロイヌナズナ、ゼニゴケのモデル植物を材料に、UVB がシロイヌナズナ、ゼニゴケ等に分子、細胞、個体レベルでの変化に及ぼす影響、そしてそれら UVB 障害に微小重力が及ぼす影響に関する解析を実施している。

6. おわりに

紫外線や放射線は、生物の DNA に直接損傷を引き起こすだけでなく、細胞内に活性酸素を産生し、酸化障害を引き起こす。このような障害に対して、植物に限らず生物は DNA 修復酵素やオートファジーの機能を利用して、障害を修復し、生命を維持している。一方、微小重力環境も細胞内に活性酸素を誘導し、酸化障害を引き起こす。したがって、我々ヒトを含む生物は、宇宙環境では様々なストレスによる障害を受けることになるであろう。その際、これら個々のストレスは、結果的に生物に対して相加的な障害として生物に影響を与えるのか？あるいは個々のストレス障害が相乗的に働き、想定以上の障害として生物に影響を与えるのか？月そして火星に至る有人探査計画が急速に現実味を帯びつつある今日、個々のストレス応答、抵抗性機構の理解・解明は勿論のこと、複合ストレスによる相加的・相乗的影響に関する理解・解明に関する研究も、今後精力的に実施し、知見を増やす必要があるであろう。

謝辞

本稿で紹介した装置開発は、Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) のフロントローディング研究、日本学術振興会・科学研究費補助金・新学術領域研究「宇宙に生きる」(15H05945) の支援を受けて実施されたものである。この場をお借りして衷心からの感謝の意を表する。

引用文献

- Hidema, J., Kumagai, T. & Sutherland, B.M. 2000. UV-sensitive Norin 1 rice contains defective cyclobutane pyrimidine dimer photolyase. *Plant Cell* 12: 1569-1578.
- Hidema, J., Teranishi, M., Iwamatsu, Y., Hirouchi, T., Ueda, T., Sato, T., Burr, B., Sutherland, B.M., Yamamoto, K. & Kumagai, T. 2005. Spontaneously occurring mutations in the cyclobutane pyrimidine dimer photolyase gene cause different sensitivities to ultraviolet-B in rice. *Plant J.* 43: 57-67.
- Hidema, J., Taguchi, T., Ono, T., Teranishi, M., Yamamoto, T. & Kumagai, T. 2007. Increase in CPD photolyase activity functions effectively for preventing ultraviolet-B-caused growth inhibition in rice plant. *Plant J.* 50: 70-79.
- Izumi, M., Ishida, H., Nakamura, S. & Hidema, J. 2017. Entire photodamaged chloroplasts are transported to the central vacuole by autophagy. *Plant Cell*, 29: 377-394.
- Jeong, A.J., Kim, Y.J., Lim, M.H., Lee, H., Noh, K., Kim, B-H., Chung, J.W., Cho, C-H., Kim, S. & Ye, S-K. 2018. Microgravity induces autophagy via mitochondrial dysfunction in human Hodgkin's lymphoma cells. *Sci. Rep.* 8: 14646.
- Manzano, A., Herranz, R., den Toom, L.A., te Slaa, S., Borst, G., Visser, M., Javier Medina, F. & von Loon, J.J.W.A. 2018. Novel, Moon and Mars, partial gravity simulation paradigms and their effects on the balance between cell growth and cell proliferation during early plant development. *npj Microgravity* 9: 1-11.
- Morabito, C., Guarnieri, S., Catizone, A., Schiraldi, C., Ricci, G. & Mariggio, M.A. 2017. Transient increases in intracellular calcium and reactive oxygen species levels in TCam-2 cells exposed to microgravity. *Sci. Rep.* 7: 15648.
- Nakamura, S., Hidema, J., Sakamoto, W., Ishida, H. & Izumi, M. 2018. Selective elimination of membrane-damaged chloroplasts via Microautophagy. *Plant Physiol.* 177: 1007-1026.
- Ronto, G., Berces, A., Iamer, H., Cockell, C.S., Molina-Cuberos, G.J., Patel, M.R. & Selsis, F. 2003. Solar UV irradiation conditions on the surface of Mars. *Photochem. Photobiol.* 77: 34-40.
- Sugimoto, M., Oono, Y., Gusev, O., Matsumoto, T., Yazawa, T., Levinskikh, M.A., Sychev, V.N., Bingham, G., Wheeler, R. & Hummerick, M. 2014. Genome-wide expression analysis of reactive oxygen species gene network in Mizuna plants grown in long-term spaceflight. *BMC Plant Biol.* 14:4.

- Takahashi, M., Teranishi, M., Ishida, H., Kawasaki, J., Takeuchi, A., Yamaya, T., Watanabe, M., Makino, A. & Hidema, J. 2011. CPD photolyase repairs ultraviolet-B-induced CPDs in all DNA-containing organelles in rice. *Plant J.* 66: 433-442.
- Takahashi, S., Teranishi, M., Izumi, M., Takahashi, M., Takahashi, F. & Hidema, J. 2014. Transport of rice cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) photolyase into mitochondria relies on a targeting sequence located in its C-terminal internal region. *Plant J.* 79: 951-963.
- Tian, Y., Ma, X., Yang, C., Su, P., Yin, C. & Qian, A-R. 2017. The impact of oxidative stress on the bone system in response to the space special environment. *Int. J. Mol. Sci.* 18: 2132.
- Yamagishi, A., Yokobori, S., Yoshimura, Y., Yamashita, M., Hashimoto, H., Kubota, T, Yano, H., Haruyama, J., Tabata, M., Kobayashi, K., Honda, H., Utsumi Y., Saiki, T., Itoh, T., Miyakawa, A., Hamase, K., Nagamura, T., Mita, H., Tonokura, K., Sasaki, S. & Miyamoto, H. 2010. Japan Astrobiology Mars Project (JAMP): Search for microbes on the Mars surface with special interest in methane-oxidizing bacteria. *Biol. Sci. in Space* 24: 67-82.

長期有人宇宙活動を支える植物

北宅 善昭

大阪府立大学生命環境科学研究科

〒599-8531 堺市中区学園町 1-1

Plants to support long-term manned space activities

Yoshiaki Kitaya

Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University

Gakuen-cho, Naka-ku, Sakai, Osaka 599-8531, Japan

Key words: Controlled ecological life support system,
Gravity, Plant factory, Space farming

DOI: 10.24480/bsj-review.11a9.00181

1. はじめに

地球から約 400 km の距離にある国際宇宙ステーション (ISS) では、2000 年 11 月から宇宙飛行士の常時滞在が開始され、多くの観測や科学実験が行われてきた。今後、地球から約 38 万 km 離れた月へ、さらには約 7,800 万 km 離れた火星への有人ミッションが十数年内に予定されており、人類の火星移住という壮大な構想もある。将来、月や火星にヒトが長期滞在する場合、地球上 (以下、地上) に似た生存環境を作る必要がある。またそれ以前に予定されている長期有人宇宙探査で、ヒトが輸送機に乗り宇宙に出ていく場合にも、生命維持の環境が不可欠である。

現在の飛行技術では火星への往還飛行のみで約 15 ヶ月を要する。NASA の試算によると、成人男性 1 人が通常の活動を行う場合の 1 日分のエネルギー (2,800 kcal) や栄養素を摂取するために必要な食料は乾重で 0.62 kg、水は 3.08 kg、呼吸に必要な O₂ は 0.84 kg であり、排出される固形物は 0.11 kg、水は 3.42 kg、CO₂ は 1.0 kg である (図 1 の中央部) (新田 1989)。1 人 1 日に約 4.5 kg の物質を取り込み、排出する。現在の技術では、無人機を用いて 1 kg の物資を ISS まで運ぶだけでも数百万円の経費が必要である。火星滞在期間を含めて、複数乗員の生命維持のための物資は膨大な量となり、全てを地球から運ぶことは技術的にも経済的にも困難である。このように長期間宇宙に滞在する場合、ヒトの生存に不可欠な食料の生産、空気や水の浄化、物質リサイクルなどを閉鎖環境下で行なう閉鎖生態系生命維持システム (Controlled Ecological Life Support System, 略して CELSS (セルス)) が必要となる。CELSS では基本的に、ヒトを含む動物の呼吸により排出される CO₂ は植物の光合成で吸収・固定され、その時に発生する O₂ が動物の呼吸に利用される。また、動物の排泄物や植物の非可食部分は、酸化されて水と CO₂ およびその他の無機物に変換されるので、その酸化に必要な O₂ の供給

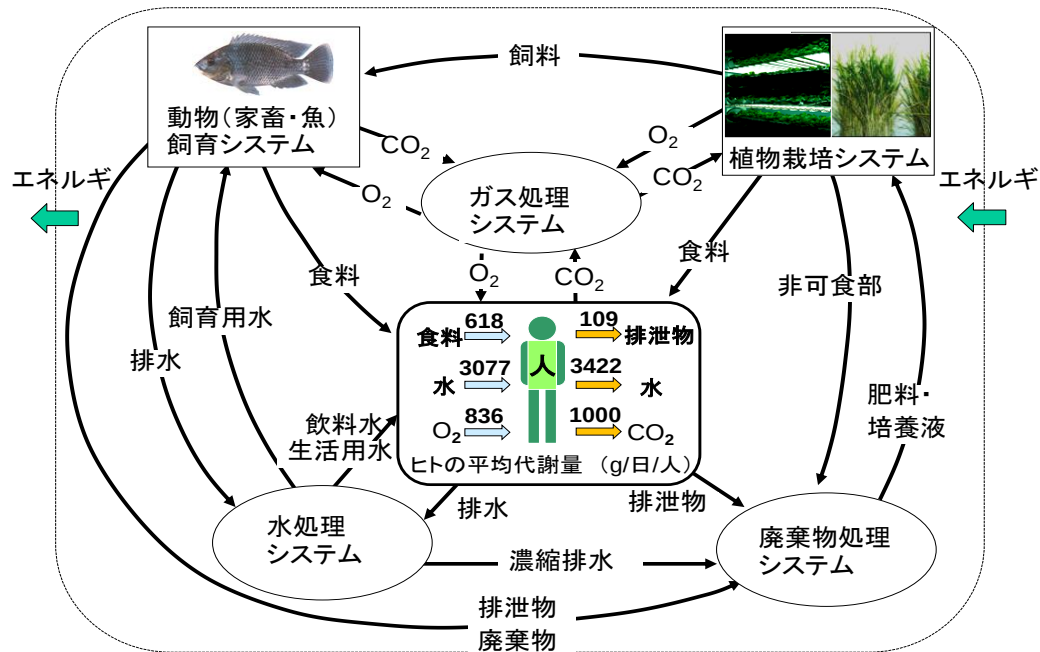


図1. 長期の有人宇宙活動を支えるための完全物質循環システム

および発生する CO₂の吸収も植物の光合成が担える。さらにヒトに有害な微量ガスや不快臭気の吸収、除去も植物に依存できる。また飲用水には、植物栽培システムからの蒸発散水を凝縮して用いる。さらに、強度の肉体的・精神的ストレスに曝される宇宙飛行士が、生きた植物と接触し、生鮮野菜を食べることは、精神的ストレス緩和に有効である。したがって CELSS では、食料生産機能に加えて、ガス処理、水処理、精神的ストレス緩和機能などをもつ多機能植物栽培システムの構築が重要となる。

宇宙開発における輸送機開発、惑星探査、深宇宙観測などは物理学、数理学、工学の領域である。そこに有人活動が加わると、CELSS など生存のための技術が重要課題となり、農学や植物学との接点が生じる。ヒトの生存の基本は食料であり、その生産性を高めるためには、農学・植物学領域の知見や技術が必要となる。地上とは異なる環境下、限られた空間・資源・エネルギーの中で安全かつ計画的に食料をヒトに供給するためには、健全に成長する植物の挙動を正確に把握し、生産速度を最大にする環境制御が必要となる。そのためには、発芽から栄養・生殖成長を含む植物生育全段階における形態形成、ガス交換、水収支などの情報を、個体あるいは組織レベルで正確に自動計測し、即時の解析結果に基づくフィードバック・フィードフォワード制御を駆使した環境制御が必要となる。すなわち、植物学・物理学・数理学・工学の観点からの環境制御を中心とした高効率植物生産技術が重要となる。

CELSS での栽培候補植物として、可食部に含まれる栄養素、栽培の容易さなどを考慮して、カロリー源となるコムギ、イネ、サツマイモ、ジャガイモ、脂質源となるダイズ、ラッカセイ、ビタミンなど機能性成分を含むレタス、ニンジン、トマト、イチゴなどが挙げられている。また高速度で増殖するクロレラ、スピルリナ、ユーグレナなどの微細藻類も候補になっている。

表 1. 地球, 月および火星の諸特性

	地球	月	火星
質量(10^{26} kg)	59.8	0.74	6.43
自転周期(日)	0.9973	27.32	1.026
公転周期(日)	365.26	27.32	687
太陽からの平均距離(10^6 km)	149.6		227.9
赤道直径(km)	12760	3476	6780
表面気圧(hPa)	約1000	0	約10
表面温度(°C)	7	110(赤道付近の昼) -170(赤道付近の夜)	-93
大気組成(%)	N ₂ (78.1)		N ₂ (2.7)
	O ₂ (20.9)		O ₂ (0.13)
	Ar (0.93)		Ar (1.6)
	CO ₂ (0.04)		CO ₂ (95.32)

空気が無く、あるいはその組成が地球とは大きく異なる宇宙環境(表 1 参照)において、限られた空間で大量の植物を高速で栽培するためには、閉鎖型の植物工場(宇宙植物工場)が不可欠である。CELSS において効率的な植物生産を行なうための環境制御技術確立するためには、植物のガス交換および成長に対する物理的環境要素(光強度, 明暗周期, 光の波長, 気温, 湿度, CO₂ 濃度, 気流, 培地水分, 培地通気性など)の影響に加えて、微小重力や低圧環境など宇宙特有の環境条件の影響についても検討しなければならない。

2. これまでの宇宙農業関連研究の概要

地上での宇宙農業研究は、1950 年代に開始された米国空軍および米国航空宇宙局(NASA)による CO₂/O₂ 変換のための藻類培養から始まる(Wheeler 2017)。ロシアでも、1960 年代に宇宙を目指した藻類生産と環境制御農業の研究が開始された。NASA は 1980 年から CELSS 研究を開始し、完全閉鎖栽培室(20 m²)室内で農作物の環境制御生産実証を行い、1990 年代にはヒトと作物との物資循環に関する研究へと展開している(Wheeler 2017)。欧州宇宙機関(ESA)では、1980 年代後半から Micro-Ecological Life Support System Alternative (MELiSSA) プロジェクトを開始し、微生物も取り入れた CELSS 研究を継続している(Lasseur *et al.* 2010)。またドイツ航空宇宙センター(DLR)を中心に、月や火星での植物工場を目指した EDEN ISS プロジェクト(Zeidler *et al.* 2017)を 2015~2019 年に行い、南極での実証栽培試験も行っている。

CELSS の大規模実験例として、1990 年にアメリカ、アリゾナ州に作られた閉鎖施設がある(図 2)(Allen 1991)。この施設は、地球上の生物圏(Biosphere, バイオスフェア)を模擬した第 2 の生物圏と言う意味で、バイオスフェア II と名付けられた。12,700 m² の敷地に、地上部はガラスドームで覆われ、地下部も含めて密閉空間を作り、その内部に地球の生態系をまねて、様々な自然植生や農業生態系、海などを配置した(Allen 1991)。この閉鎖環境下で 1991 年から 1993 年までの約 2 年間、男女 4 人ずつ計 8 人がコムギなどの食料作物、トマトなどの

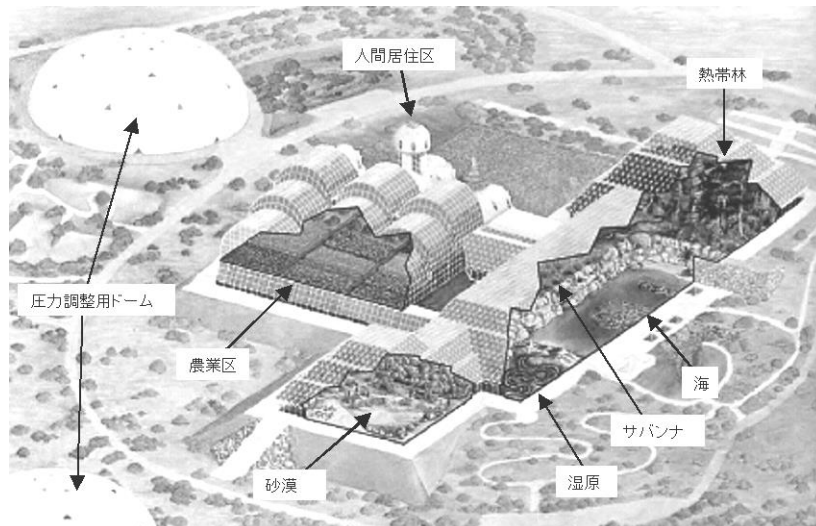


図2. バイオスフェア2の概要

野菜、バナナなどの果樹などを栽培，ヤギを飼育し，自給自足の生活を行った。最初，実験は順調であったが，1年後，内部の O_2 濃度が初期の 21% から低下して 14% の危険値になったため，実験は終了せざるを得なくなった。計画では，土壤微生物や他の生物の呼吸が植物の光合成と釣り合って， O_2 濃度および CO_2 濃度は，初期値を維持できる予定であった。しかし，植物の成長を制御できなかったこと，閉鎖系内に持ち込んだ土壌の中で微生物が急激に増加したこと，構造材のコンクリートによる CO_2 吸収 ($Ca(OH)_2 + H_2O + CO_2 \rightarrow CaCO_3 + 2H_2O$) が生じたことなどが原因となって，ガス収支が崩れてしまった。この例のように，閉鎖系内では予想できない物質の動きが生じ得ることに留意しなければならない。

1990 年代に，日本の環境科学研究所(青森県)では，閉鎖生態実験施設を構築し (Tako *et al.* 1997)，植物栽培を中心に，ヒト，動物，廃棄物の物質循環に関する研究を開始した。ヒト居住施設 (123 m^2)，植物栽培施設 (150 m^2)，家畜飼育施設 (54 m^2)，陸水圏生態実験施設，物質循環処理施設から構成される (図3)。ヒトの食料や家畜の飼料は，植物から得て，植物栽培に必要な肥料はヒトと家畜の排泄物から作るなど，必要な物質は全て内部でリサイクルされ，利用される。植物栽培施設では，成人男性 2 人が自分たちの生存に必要な栄養を供給する植物 (イネ，ダイズ，ジャガイモ，トマト，コマツナ，ピーナッツなど) を栽培する。ヒトの食用にならない部分の一部は家畜の飼料とし，その他は廃棄物として，酸化処理される。この植物栽培施設は，温度，湿度， CO_2 濃度，光などの栽培環境を最適に維持して，限られた空間でより多くの食料を短時間に生産できる植物工場である。家畜飼育施設では，植物を飼料としてヤギを飼育する。糞尿は物理的，化学的に処理されて，植物栽培の肥料となる。物質循環処理施設は，ヒト居住施設，植物栽培施設，家畜飼育施設，陸水圏生態実験施設の間にあって，物理化学的処理により物質を目的に応じて変換し，循環させる。たとえば，食料や飼料にならない植物の根やヒト・家畜の排泄物を湿式酸化処理を経て肥料に合成する。また廃水や結露水を浄化して，飲用水，生活用水，植物栽培用水などにする。居住施設内の O_2 が不足する場合には CO_2 を分解して発生させた O_2 を補給し，またエチレンなどの有害ガスを分解処理するなど，システム全体のガス環境を最適に維持している。

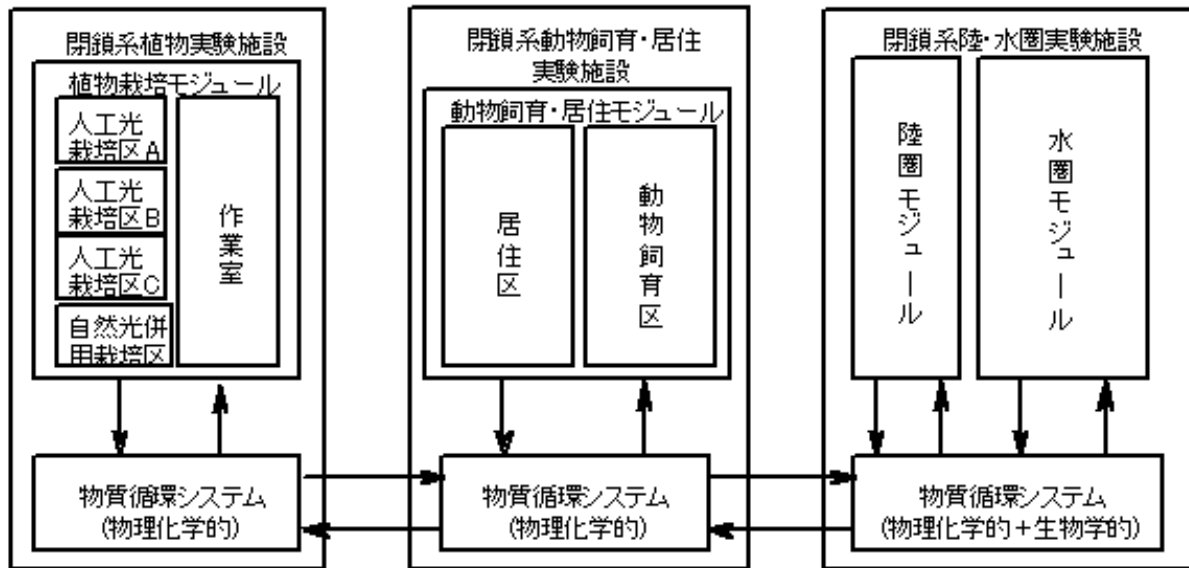


図3. 環境科学研究所閉鎖生態系実験施設の構成
矢印は物質の流れを示す。

また実験室規模ではあるが、植物と食用菌(キノコ)の複合栽培が実証されている。植物は、明期には光合成により CO_2 を吸収し、 O_2 を放出する。他方、食用菌は常時 O_2 を吸収し、 CO_2 を放出する。したがって、植物とキノコの栽培室を連結し、両室の空気を循環させることにより、明期に植物栽培室に CO_2 を供給して植物の成長を促進し、同時にキノコ栽培室の CO_2 濃度を低下させ、 O_2 を供給して、キノコの成長を促進できた(谷ら 1993, Kitaya *et al.* 1993)。キノコ菌糸の培養培地に植物生産システムから排出される植物残渣を用いることも可能である。このシステムは、高効率な植物・キノコ生産システムとして、物質循環型植物工場の一例と成り得る。

2000 年には、カナダ Guelph 大学の研究チームが低圧下での作物群落生産性を調べるための減圧植物生産室を開発した(Dixon *et al.* 2017)。また同時期、火星を目指した宇宙農業の研究會が発足し(Yamashita *et al.* 2005)、宇宙での動物性蛋白質生産や、火星居住のため宇宙農場を中心としたモデルシステムにおける熱や物質の収支、循環(Yamashita *et al.* 2006)などが検討された。最近では、中国の北京航空航天大学が、3 人の生存のための空気、水、食料を生産できる農業モジュール(69 m^2)を含む閉鎖型生命維持施設(Lunar Palace 1)を構築し、試験を行っている(Dong *et al.* 2015)。

3. 宇宙植物工場における環境制御

3-1. 宇宙微小重力下での植物生産における環境制御の問題点

微小重力については、地上で水平においた植物を回転させて重力の方向を攪乱させる装置(クリノスタット)を用いた擬似微小重力実験や、スペースシャトルを用いた重力応答に関する植物生理学的研究が多く行なわれ、微小重力下でも植物は生育できることが示されている。



図4. 地上でのレタスの逆さ吊り下げ栽培
上下栽培棚の中央に蛍光灯光源を配置し，上下方向に光を照射。

また地上において，重力の方向が反対になるように植物を逆さに吊り下げて栽培した実験により，重力方向が逆の場合 ($-1g$ の重力) でも，光強度 $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上であれば，図4に示すように光屈性により植物の成長方向を制御でき，ほぼ正常に育成できることが示された (Kitaya *et al.* 1992)。最近では，国際宇宙ステーションでの長期の栽培試験により，宇宙の微小重力下でも植物が栽培でき，開花，結実が可能であることが実証されている。

しかし，これまでの宇宙実験で解析されたコムギやシロイヌナズナの生殖過程では，開花，結実はするものの，発芽能力を持つ稔性種子の形成率が著しく低下した (例えば，Merkies & Laurinavichyus 1983; Mashinsky *et al.* 1994, Salisbury *et al.* 1995)。

3-2. 微小重力が植物葉の熱・ガス交換におよぼす影響

宇宙の微小重力場では温度差による熱対流が生じないため，熱およびガスの交換が抑制され，葉温の上昇および光合成・蒸散の抑制が起こると考えられる。ここでは，葉の熱・ガス交換におよぼす微小重力の影響を検討するため，航空機の放物線飛行による重力変化 ($0.01 \sim 2g$) に伴う葉温および葉の純光合成速度の変動について調べた結果を紹介する。

1回の放物線飛行において，重力 $1g$ での水平飛行から約20秒間の上昇加速飛行 ($2g$) を経て，約20秒間の微小重力飛行 ($0.01g$) を行ない，その後水平飛行に戻るまでの約30秒間は $1.5g$ の重力を受ける。水平飛行時 (重力 $1g$)，上昇加速飛行時 ($2g$)，微小重力飛行時 ($0.01g$)，および水平飛行復帰時 ($1.5g$) におけるオオムギ生葉の葉温分布を図5に示す (Kitaya *et al.* 2003)。重力が $1g$ から $2g$ に増加すると，葉の中央部の高温域が減少し， $0.01g$ になると増加し， $1.5g$ になると再度減少した。葉の平均温度は，水平飛行時約 30°C であったが，上昇加速飛行時に約 0.3°C 低下した。その後，微小重力飛行開始とともに，葉温は直線的に上昇し，20秒後には $1g$ での葉温より約 1°C 上昇した。水平飛行に復帰するために重力が上昇すると，葉温は再び低下した。また微小重力下では，葉の先端部の細い部位における葉温が $2\text{--}3^\circ\text{C}$ 上昇し，葉

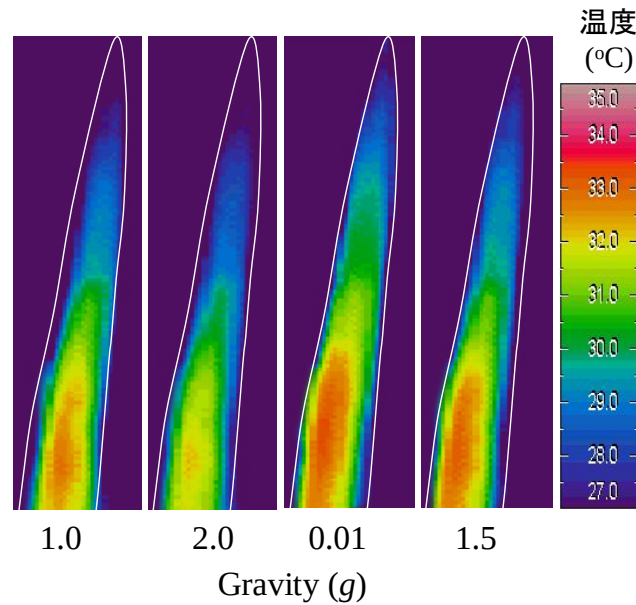


図5. 航空機放物線飛行中の重力変化にともなうオオムギ葉表面の温度分布変動

の広い部位に比べて葉温上昇が顕著であった(図6)(Kitaya *et al.* 2006)。重力 $1g$ 下では、葉の先端部の細い部位における葉面境界層が、葉の広い部位のそれに比べて薄く、そのため熱(潜熱+顕熱)輸送に対する抵抗が小さいので、細い部位の葉温は広い部位より低い。しかし強制対流のない微小重力下では、葉の幅に関係なく葉面境界層の厚さがほぼ一定であるので、葉温も葉の幅に関係なくほぼ同じ値に近づく。そのため微小重力下では、微小な部位の温度上昇が顕著になる。これらのことから、重力の低下に伴い、葉温が上昇することが確認でき、さらに微小な部位での温度上昇が著しいことが判明した。

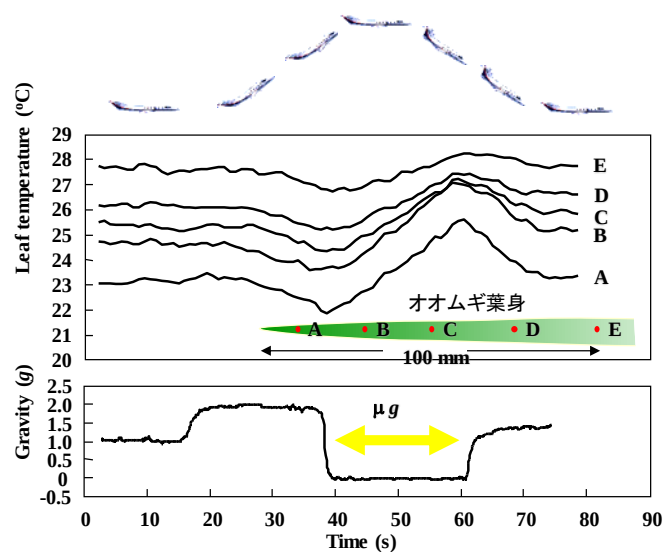


図6. 航空機放物線飛行中の重力変化にともなうオオムギ葉身各部位の表面温度の推移

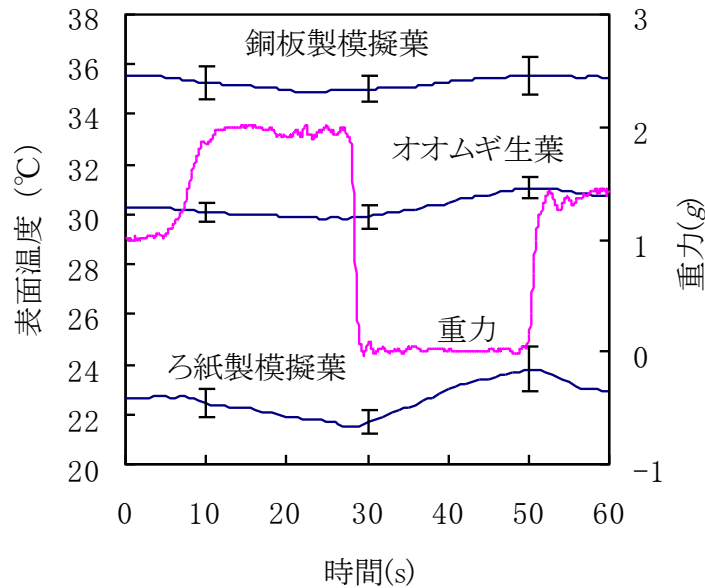


図7. 航空機放物線飛行中の重力変化にともなうオオムギ生葉および2種の模擬葉(銅板性乾燥模擬葉, ろ紙製湿润模擬葉)の表面温度の経時変動

表面温度の値は, 各供試葉表面の平均温度の9回の放物線飛行の平均値。誤差線は標準偏差。

また, 重力の変化にともなうオオムギ生葉, 銅板製乾燥模擬葉, ろ紙製湿润模擬葉の表面平均温度の経時変動を比較した(図7)。各模擬葉の射出率, 熱容量は, 生葉とほぼ同様とした。蒸発速度あるいは蒸散速度は, 乾燥模擬葉<オオムギ生葉<湿润模擬葉の順に大きい。 $1g$ から $0.01g$ への重力減少にともなう各試料の平均温度上昇は, 銅板模擬葉で 0.1°C , 生葉で 0.8°C , 湿润模擬葉で 1.1°C となり, 乾燥模擬葉で最小, 湿润模擬葉で最大となった。このことから, 微小重力場での各試料の熱交換において, 水の蒸発散抑制に伴う潜熱輸送の抑制が温度変動に大きく影響したと考えられる。

オオムギ葉の純光合成速度およびイチゴ葉の蒸散速度に及ぼす重力の影響を図8に示す(Kitaya et al. 2001, Hirai & Kitaya 2009)。水平飛行時, 約 $4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であったオオムギ葉の純光合成速度は, 微小重力飛行(重力 $0.01g$)開始とともに低下し, 20秒後には, 水平飛行(重力 $1g$)時に比べて約20%低下した。水平飛行に復帰するために, 重力が上昇すると純光合成速度は急激に上昇した。また微小重力飛行時のイチゴ葉の蒸散速度は, 水平飛行時に比べて約40%低下した。これらのことから, 微小重力場では純光合成速度は低下することが確認された。

微小重力場では温度差による熱対流が生じないため, 葉と周辺空気との熱・ガス交換が抑制され, 葉温の上昇, 純光合成速度の低下が生じたと考えられる。これら一連の航空機実験では, 微小重力の期間が20秒と短く, 熱・ガス交換は定常状態になっていない。宇宙での長期植物栽培のように, 植物が長期間, 微小重力下に置かれる場合, 葉温の上昇は, 20秒間の微小重力環境下での実験結果の約2倍になることが, 植物の熱的特性から予測される。また純光合成速度や蒸散速度の低下も, 宇宙の連続的な微小重力下ではさらに著しくなると考えられる。

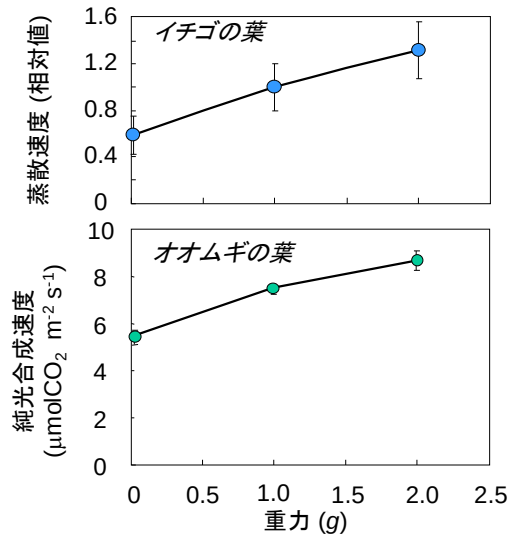


図8. オオムギ葉の純光合成速度およびイチゴ葉の蒸散速度に及ぼす重力の影響

微小重力下での植物体温の上昇および純光合成速度の低下は、宇宙で植物生産を行なう上で留意すべき問題である。例えば植物体温の上昇に関して、イネ、コムギ、トマト、ピーマン、オオムギ、シロイヌナズナなどの花粉形成は30~33°C程度の高温によって障害を受ける(例えば, Erickson & Markhart 2002, Abiko *et al.* 2005, Sakata *et al.* 2010)。上述の結果は、宇宙の微小重力下では穎花表面上および穎花内での熱対流が抑制されて、熱交換、特に蒸散速度低下に伴う気化潜熱交換の抑制によって、花粉形成の障害を誘発するだけの組織温度の上昇が生じる可能性を示唆している。

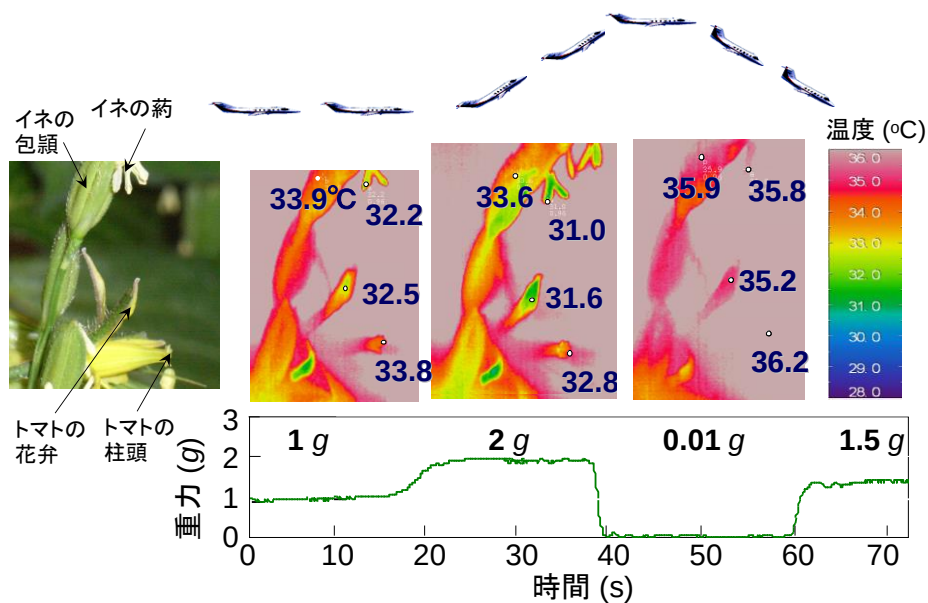


図9. 航空機放物線飛行中の重力変化にともなう植物生殖器官温度の変動

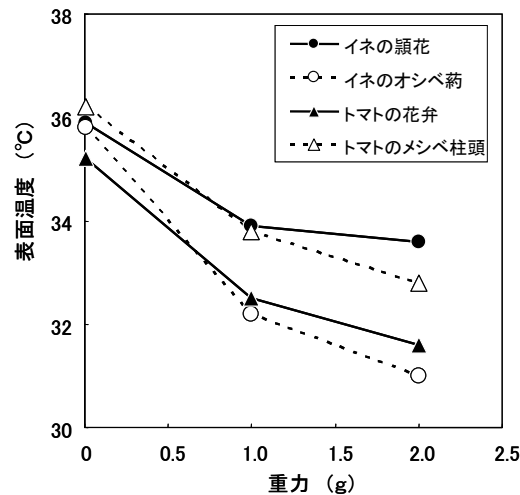


図 10. 生殖器官各部位の温度に及ぼす重力の影響

そこで、植物の生殖成長に対する宇宙環境の影響として、微小重力が植物の生殖器官の温度上昇を介して、花粉の形成、発育に及ぼす影響を予測するため、航空機放物線飛行実験により、微小重力下で熱対流が生じない場合の生殖器官微細組織の温度の動態について検討した。その結果、イネの穎花とオシベの葯、およびトマトの花弁とメシベ柱頭の温度は、重力が $1g$ から $2g$ に増加すると低下し、 $0.01g$ に低下すると上昇した(図 9)。 $1g$ から $0.01g$ への重力の低下に伴い、イネの穎花では 2°C 、オシベの葯では 3.6°C 温度が上昇し、またトマトの花弁では 2.7°C 、メシベ柱頭では 2.4°C 温度が上昇した(図 10)。重力の低下に伴う植物体各部位の表面温度の上昇は、イネのオシベ葯のような微細な部位で、特に著しくなった。この実験結果から、微小重力下で熱対流が生じない場合の生殖器官微細組織の表面温度は、 $2\text{--}4^{\circ}\text{C}$ 上昇し得ることが確認できた。このことは、微小重力下では生殖器官の温度上昇により、不稔などの生殖異常を引き起こす可能性を示唆している。

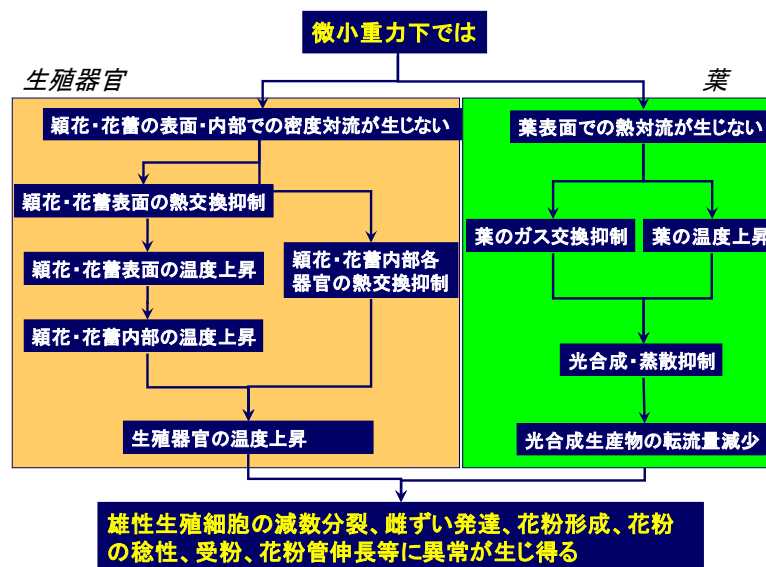


図 11. ガスおよび熱交換の観点から見た植物の生殖成長に及ぼす微小重力の影響

以上のことから、微小重力下で気流環境制御が不十分な場合、光合成などのガス交換が抑制されるとともに、生殖器官の温度上昇により、不稔などの生殖異常を引き起こすと考えられる(図 1 1)。将来の宇宙での植物栽培では食料となる穀類や豆類の生産が重要であり、これらを生産するためには、宇宙で開花、受精、稔実などの生殖成長を正常に行なわせなければならない。また長期の有人活動を支援するためには、種子からの発芽、栄養成長、生殖成長、種子形成の生活環を何世代にもわたって繰り返さなければならない。しかしこれまでの宇宙実験結果から、上述のように、植物の生殖成長や種子形成が正常には行なわれないことが問題となろう。

サツマイモ、ジャガイモのようなイモ類は、食料となる部分が塊根や塊茎であるので生殖成長は不要であり、また栄養繁殖できるので、繁殖のための種子形成も不要である。特にサツマイモは遺伝的多様性に富み、栽培が比較的容易である。また塊根と同時に茎葉部も野菜として食用となり、その可食部比率は 90%以上となり得る。さらにビタミン A, C および E, 食物繊維, タンパク質, カルシウム, カリウムなどを豊富に含有し、特に茎葉部には、抗酸化物質を豊富に含み(表 2)、機能性野菜としての利用性も高いことから、宇宙でのパイオニア食料作物の候補となる。

これまでの筆者らの研究結果に基づく試算では、1 人当たり必要なサツマイモの栽培面積は 54 m² である。なお日本の農地での作物生産では、この約 6 倍の耕地面積が必要である。例えば 3×3×3 m³ の栽培空間に 6 段の栽培棚を設置すると、1 人分の食料生産と同時に、蒸発散により 1 日約 180 L の清浄水を回収できる(図 1 2)。この栽培装置は、1) 宇宙での食料生産、2) 閉鎖系内での物質循環、3) ヒトに対する有害ガス、不快臭気の除去、4) 生鮮野菜の供給や植物と接することによる精神衛生の向上などの観点から、宇宙における人類の自立した長期的居住を可能にするための重要な第一歩となることが期待される。宇宙では、栽培空間容積、エネルギー使用量などが限られるので、蔓性の茎を整枝して葉面積密度を高め、同時に照明効率を高めることで、今後、上述の 1 人当たりの必要栽培空間容積を 1/2 に縮小することを目指している。

表 2. 各種作物可食部の成分とその含有量(湿重 100 g 当たり)

Crop plant	Energy (kcal)	Protein (g)	Lipid (g)	Carbo-Hydrate (g)	Dietary Fiber (g)	Ca (mg)	K (mg)	Fe (mg)	P (mg)	Ascorbic Acid (Vitamin C) (mg)	β-Carotene (Vitamin A) (mg)	α-Tocopherol (Vitamin E) (mg)	Vitamin K (mg)
Tuberous root of sweet potato	132	1.2	0.2	31.5	2.3	40	470	0.7	46	29	23	1.6	(0)
Leaf and petiole of sweet potato 'Suioi'*	-	4.0	-	-	5.7	142	-	2.0	-	31	9400	4.3	1016
Rice	350	6.8	2.7	73.8	3.0	9	230	2.1	290	(0)	1	1.2	(0)
Wheat	337	10.6	3.1	72.2	10.8	26	470	3.2	350	(0)	-	1.2	(0)
Soybean	417	35.3	19.0	28.2	17.1	240	1900	9.4	580	Tr	6	1.8	18
Potato	76	1.6	0.1	17.6	1.3	3	410	0.4	40	35	-	Tr	Tr
Peanut	562	25.4	47.5	18.8	7.4	50	740	1.6	380	(0)	-	10.1	Tr
Leaf Lettuce	16	1.4	0.1	3.3	1.9	58	490	1.0	41	21	2300	1.3	160
Strawberry	34	0.9	0.1	8.5	1.4	17	170	0.3	31	62	17	0.4	(0)
Tomato	19	0.7	0.1	4.7	1.0	7	210	0.2	26	15	540	0.9	4

日本食品標準成分表 2010 および*: <https://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/karc/2002/konarc02-10.html> より。

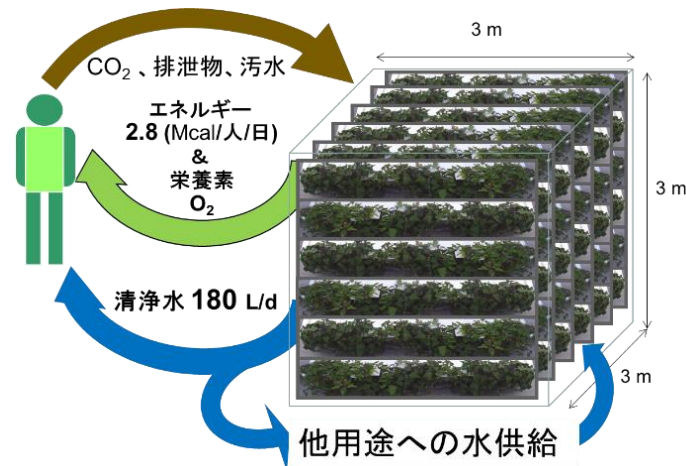


図 1 2. 1 人の成人男性の生存を可能にする宇宙植物工場 (9 m² の栽培ベッドを 6 段重ねた多段式) とその多益的機能

3-3. 宇宙閉鎖環境での植物生産におけるその他の留意点

CELSS の閉鎖植物工場では、限られた空間およびエネルギーを有効利用するために、植物は高密度群落状態で栽培される。高密度群落内の気温、相対湿度、光強度および CO₂ 濃度などの環境要素は、群落外のそれらと大きく異なる (Kitaya *et al.* 1998)。一般に光強度が高くなると、葉温の上昇や蒸散促進により、高密度群落内の気温および水蒸気張力は群落外より高くなり、また純光合成速度の増加に伴い CO₂ 濃度は低くなり、その結果、予期した蒸散速度や光合成速度が得られなくなる。例えば草丈 0.1 m、葉面積指数 5 のナス苗の個体群を用いた地上実験において、群落上の気温 28°C、相対湿度 65% (水蒸気張力 24 hPa)、CO₂ 濃度 380 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 、光合成有効光量子束密度 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (放射フラックス 170 W m⁻²)、風速 0.1 m s⁻¹ とした場合、群落外に比べて、群落内上層の気温は 2-3°C、水蒸気張力は 6 hPa 上昇し、また CO₂ 濃度は 25-35 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 低下した。しかし群落上の風速が 0.3 m s⁻¹ に増加すると、風速 0.1 m s⁻¹ に比べて、気温は 1.2°C 低下し、CO₂ 濃度は 12 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 増加した。これらのことから、植物群落内環境をより厳密に制御するためには、気流環境の制御が不可欠である。

トマト苗群落の純光合成速度は CO₂ 濃度の上昇により増加する (図 1 3) (Kitaya *et al.* 2004)。CO₂ 濃度の上昇による純光合成速度の増加は、葉面積指数の高い高密度群落で顕著であり、また低風速で顕著である。この現象は、高 CO₂ 濃度環境下でも、純光合成速度を高めて生育を促進するためには、低 CO₂ 濃度環境と同様、風速を高めて群落内外のガス交換を促進すると同時に、葉面境界層を薄くして、植物葉と周辺大気とのガス交換を促進することが重要であることを示唆している。

閉鎖環境では、さまざまな微量有害ガスが発生し、蓄積し得る。とくにエチレンは重要な植物成長調節物質であり、植物自らも発生源となる。一般に、空気中のエチレン濃度が 0.1 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 以上に上昇すると、植物に障害が生じる。閉鎖環境では、さまざまな微量ガス成分の挙動をモニターしながら、過剰蓄積による不具合が生じる場合には、微量ガスの除去システムが不可欠となる。

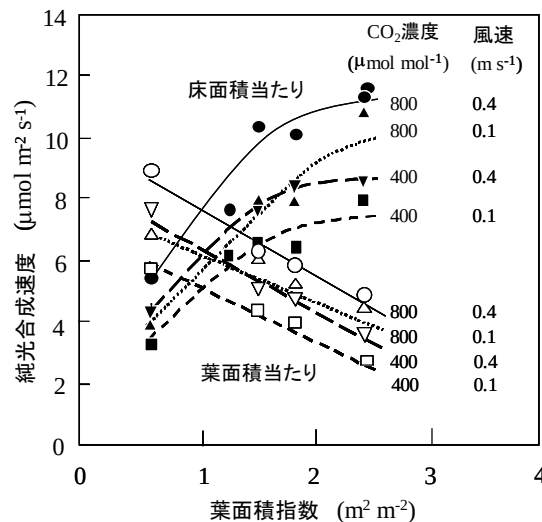


図 13. トマト苗個体群の純光合成速度(黒塗潰し：床面積当たり，白抜き：葉面積当たり)に及ぼす葉面積指数(LAI)，CO₂濃度，および風速の影響(Kitaya *et al.* 2004 より転載)
光合成有効光量子束密度：250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，気温：23°C，相対湿度：55%，植物高：0.05-0.20 m。

微小重力下では，植物根への給水に関しても問題がある。地球上では，どのような植物栽培でも，給水システムには重力による水の落下現象が利用されている。しかし，宇宙の微小重力，あるいは低重力環境では，水の落下が制限される。したがって，根に水を供給するためには，ポンプなどによる圧力勾配，あるいは親水性繊維材料などによる毛管力を利用することになる。

重力以外の宇宙環境として，気圧環境がある。表 1 に示すように月面はほぼ真空であるため 0 気圧であり，火星表面は 0.01 気圧である。ほぼ真空の空間にある宇宙ステーション内も，減圧することは容易である。このような低圧下では，植物栽培施設内を低圧に維持することは，閉鎖施設の被膜構造などを簡易化でき，有利である。そこで宇宙農業では，低圧環境下での植物栽培技術の確立が重要な課題となる。地上気圧の 1/4 の低圧下での栽培において，ハウレンソウなどが正常に育つことが報告されている(Goto *et al.* 1995)。また，低圧力に加えて，低重力も施設の耐荷重構造の簡易化に有利である。

その他，宇宙放射線や宇宙紫外線，さらにはそれらと低重力が植物生育や遺伝子変異に及ぼす複合影響についても，特に月や火星表面での長期植物栽培では考慮しなければならない。

4. おわりに

微小重力下では，熱対流(密度対流)が生じにくいため，強制空気流動が無い場合，放物線飛行中に生じる 20 秒間の微小重力(0.01g)でも，熱対流の抑制により植物葉と周辺空気との熱交換が抑制され，約 2-3°Cの葉温上昇が生じる。とくに微小重力下では，蒸散抑制による潜熱交換の抑制が，葉温上昇に大きく関与する。また微小重力下での対流の抑制により，光合成も抑制される。したがって熱およびガス交換の観点から，宇宙での植物栽培において，

気流制御による対流促進は不可欠である。また宇宙で種子を稔らせて持続的な植物生産を行なおうとする場合、生殖異常を引き起こす生殖器官の過度の温度上昇を防止するためにも、植物周辺において強制的に空気を流動させ、生殖器官での熱・ガス交換を促進させる必要がある。

CELSS における効率の高い植物栽培システムを構築するための今後の課題として、照明システム、水分供給システム、水蒸気回収システムおよびガス制御システムのさらなる高効率化、小型化および軽量化を図ることが重要である。また、最適環境制御の指標となる植物活性を評価するため、高度な植物成長モニタリング技術を開発する必要がある。

地球は、ほぼ完全な閉鎖環境であり、その中で植物、ヒト、およびその他の従属栄養生物が共存している。したがって、CELSS は地球における物質循環システムのミニチュアと考えることができる。CELSS が構築できれば、長期有人宇宙活動の支援に貢献するのみならず、地球上の生態系における物質循環の中で起こっている様々な現象を実験的に再現することができ、不適切なヒト活動により生じている CO₂ 濃度上昇や地球温暖化など、地球環境の将来予測や地球環境問題の解決方法を見いだすための実験装置となることが期待される。

謝辞

本稿で紹介した研究成果の一部については、Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA)、ダイヤモンドエアーサービスおよび日本宇宙フォーラムのご支援に謝意を表す。また一部は、Japan Society for Promotion of Science (JSPS) Grants-in-Aid for Scientific Research, 16H01646 および 18H04984 で行ったものである。

引用文献

- Abiko, M., Akibayashi, K., Sakata, T., Kimura, M., Kihara, M., Itoh, K., Asamizu, E., Sato, S., Takahashi, H., & Higashitani, A. 2005. High-temperature induction of male sterility during barley (*Hordeum vulgare* L.) anther development is mediated by transcriptional inhibition. *Sex. Plant Repro.* 18: 91–100.
- Allen, J., 1991, Biosphere 2, The human experiment. Penguin Books Ltd, Middlesex, UK, pp 156.
- Dixon, M., Stasiak, M., Rondeau, T., & Graham, T. 2017. Advanced Life Support Research and Technology Transfer at the University of Guelph. *Open Agric.* 2: 139–147.
- Dong, C., Shao, L., Fu, Y., Wang, M., Xie, B., Yu, J., & Liu, H. 2015. Evaluation of wheat growth, morphological characteristics, biomass yield and quality in Lunar Palace-1, plant factory, green house and field systems. *Acta Astro.* 111: 102–109.
- Erickson, A. & Markhart, A.H. 2002, Flower developmental stage and organ sensitivity of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) to elevated temperature. *Plant Cell & Environ.* 25: 123–130.
- Goto, E., Iwabuchi, K. & Takakura, T. 1995. Effect of reduced total air pressure on spinach growth. *J. Agric. Meteorol.* 51: 139–143.
- 新田慶治 1989. CELSS のシステム構築上の諸問題. *CELSS 研究会誌* 1: 5–12.
- Hirai, H. & Kitaya, Y. 2009. Effects of gravity on transpiration of plant leaves. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1161: 166–172.

- Kitaya, Y., Kawai, M., Tsuruyama, J., Takahashi, H., Tani, A., Goto, E., Saito, T. & Kiyota, M. 2001. The effect of gravity on surface temperature and net photosynthetic rate of plant leaves. *Adv. Space Res.* 28: 659-664.
- Kitaya, Y., Kawai M., Tsuruyama, J., Takahashi, H., Tani, A., Goto, E., Saito, T. & Kiyota, M. 2003. The effects of gravity on surface temperatures of plant leaves. *Plant Cell Environ.* 26: 497-503.
- Kitaya, Y., Kawai M., Takahashi, H., Tani, A., Goto, E., Saito, T., Shibuya, T. & Kiyota, M. 2006. Heat and gas exchanges between plants and atmosphere under microgravity conditions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1077: 244-255.
- Kitaya, Y., Kiyota, M., Imanaka, T., & Aiga, I. 1992. Growth of vegetables suspended upside down. *Acta Hort.* 303: 79-84.
- Kitaya, Y., Shibuya, T., Kozai, T., & Kubota, C. 1998. Effects of light intensity & air velocity on air temperature, water vapor pressure and CO₂ concentration inside a plant stand under an artificial lighting condition. *Life Support & Biosphere Sci.* 5: 199-203.
- Kitaya, Y., Shibuya, T., Yoshida, M., & Kiyota, M. 2004. Effects of air velocity on photosynthesis of plant canopies under elevated CO₂ levels in a plant culture system. *Adv Space Res.* 34: 1466-1469.
- Kitaya, Y., Tani, A., Kiyota, M. & Aiga, I. 1993. Plant growth and gas balance in a plant and mushroom culture system. *Adv. Space Res.* 14: 282-284.
- Lasseur, C., Brunet, J., Weever, H.D., Dixon, M., Dussap, G., Godia, F., Leys, N., Mergeay, M. & Straeten V.D. 2010. MELiSSA: The European project of closed life support system. *Gravi. Space Biol.* 23: 3-12.
- Mashinsky, A.L., Ivanova, I., Derendyaeva, T., Nechitailo, G.S., & Salisbury F.B. 1994. From seed-to-seed experiment with wheat plants under space-flight conditions. *Adv. Space Res.* 14: 13-19.
- Merkies, A.I. & Laurinavichyus, R.S. 1983. Complete cycle of individual development of *Arabidopsis thaliana* Haynh plants at Salyut orbital station. *Doklady AN SSSR* 271: 509-512.
- Salisbury, F.B., Bingham G.E., Campbell W.F., Carman J.G., Bubenheim D.L., Yendler B. & Jahns G. 1995. Growing super-dwarf wheat in Svet on Mir. *Life Support & Biosphere Science* 2: 31-39.
- Tako, Y. 1997. Closed plant experiment facility (CPEF) in closed ecology experimental facilities (CEEf) and preliminary studies on CPEF operation. (in Plant Production in Closed Ecosystems, Edts, Goto, E. et al.), Kluwer Academic Publishers, Netherland, pp 321-338.
- 谷晃・山南明久・北宅善昭・清田信・相賀一郎 1993. *CELSS 研究会誌* 5: 11-16.
- Sakata, T., Oshino, T., Miura, S., Tomabeche, M., Tsunaga, Y., Higashitani, N., Miyazawa, Y., Takahashi, H., Watanabe, M., & Higashitani, A. 2010. Auxins reverse plant male sterility caused by high temperatures. *PNAS* 107: 8569-8574.
- Wheeler, R.M. 2017. Agriculture for space: People and places paving the way. *Open Agriculture* 2: 14-32.

- Yamashita, M., Arai, M., Ishii, C., Ishikawa, Y., Izumi, R., Oshima, T., Oshima, H., Omori, K., Katayama, N., Katayama, A., Kanazawa, S., Kariya, T., Kawasaki, T., Kitaya, Y., Goto, E., Saito, T., Shimizu, T., Shiraishi, A., Takaoki, M., Takahashi, H., Tani, A., Toki, K., Tomita-Yokotani, K., Nakajima, A., Nagatomo, M., Nitta, K., Hashimoto, H., Hirafuji, M., Fujii, Y., Mizutani, H., Mihara, K., Miyagawa, T., Mukai, C., Mori, S., Yano, S., Yamazaki, N., & Yokota, H. 2005. Conceptual study of space agriculture. *Space Utiliz. Res.* 21: 323-326.
- Yamashita, M., Ishikawa, Y., Kitaya, Y., Goto, E., Arai, M., Hashimoto, H., Tomita-Yokotani, K., Hirafuji, M., Omori, K., Shiraishi, A., Tani, A., Toki, K., Yokota, H. & Fujita, O. 2006. An Overview of challenges in modeling heat and mass transfer for living on Mars. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1077: 232-243.
- Zeidler, C., Vrakking, V., Bamsey, M., Poulet, L., Zabel, P., Schubert, D., Paille, C., Mazzoleni, E., & Domurath, N. 2017. Greenhouse Module for Space System: A Lunar Greenhouse Design. *Open Agriculture* 2: 116–132.

植物科学と宇宙実験—シャトル実験, ISS 実験, 有人宇宙探査—

矢野 幸子

国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構 (JAXA) 有人宇宙技術部門

〒305-8505 茨城県つくば市千現 2-1-1

Plant science and space experiments: Shuttle experiments, ISS experiments, and manned space exploration

Sachiko Yano

Human Space Flight Technology Directorate, Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA),
2-1-1 Sengen, Tsukuba, Ibaraki 305-8505 Japan

Key words: Chemical fixation, Experiment hardware, International space station (ISS), ISS experiment operation, Plant cultivation, Space exploration

DOI: 10.24480/bsj-review.11a10.00182

1. はじめに

日本は1990年代にシャトルミッションに参加して以来、有人宇宙開発の重要な一翼を担ってきた。1992年、毛利衛宇宙飛行士がスペースシャトルに搭乗して7日間の科学実験を行い、1994年には向井千秋宇宙飛行士がイモリとメダカを対象とした生物実験を行い、成功を収めた。動物を使った実験がクローズアップされる中、1998年にはスペースシャトルSTS-95を利用して植物の芽生えを用いた生育実験が実施され、その後の国際宇宙ステーション (International Space Station, ISS) 実験の基礎となる大きな成果を上げた。本稿では、日本の宇宙植物研究に用いた機材の開発、実験運用を概要し、将来展望を解説する。

2. 日本の植物実験と有人宇宙探査

1998年、スペースシャトルミッションSTS-95ではシロイヌナズナ、イネ、エンドウ、トウモロコシ、キュウリ等の種子を微小重力環境で発芽させ、地上に持ち帰り分析する植物生育実験が実施された (嶋津 & 相澤 1999) が、これらの研究目的は植物の芽生えへの重力の影響をみるもので、種子を乾燥もしくは冷蔵状態で打ち上げ、インキュベーター等を使わず、シャトル内のキャビンにおいて生育させた。これらの実験は光の影響を排除するため暗条件でシャトルフライトの制約上数日間の実験であったが、多くの知見が得られ、ISSでの実験の基礎となった。

スペースシャトル実験で得られた結果をもとに、ISS「きぼう」日本実験棟においても多くの植物実験が行われてきた (表 1)。ISSにおいては長期間実験できる特徴を生かし、生物が重力を感知するメカニズムの解明、植物ホルモンの動態、形態形成等に関する実験が行われ、

得られたデータは論文発表され、成果報告書も公開されている (<http://iss.jaxa.jp/kiboresults/plant/#theme>)。

特に、2009年9月に「きぼう」で2か月にわたって行われたシロイヌナズナの栽培実験(Space Seed実験)では、日本が世界で初めて、宇宙環境において人工重力条件と比較しながら微小重力下での植物のSeed-to-Seed実験を成功させた。この実験ではJAXAが独自に開発した細胞培養装置(Cell Biology Experiment Facility, CBEF)と植物実験ユニット(Plant Experiment Unit, PEU)という自動栽培装置を用い、栽培容器内で、シロイヌナズナの発芽、開花、結実という生活環を完結させた。この植物実験ユニットは「きぼう」での後続の植物実験にも利用されている。また宇宙での実験終了時に使う化学固定キットなどの付属品の開発や保存用の冷凍冷蔵庫、リアルタイムイメージング解析を可能にする位相差蛍光顕微鏡システムも後に打ち上げられ、植物細胞の観察に利用されている。

表 1. ISS で実施された日本の植物宇宙実験

テーマ略称	テーマ名	所属 代表研究者	宇宙実験期間	使用装置	化学固定法, 回収法
Resist Wall	植物の抗重力反応における微小管－原形質膜－細胞壁連絡の役割 「きぼう」利用開始前実施 (ESA実験装置利用)	大阪市立大学 保尊隆享	2008年3月～6月	EMCS/PCC	KFT
Cell Wall	微小重力環境下におけるシロイヌナズナの支持組織形成に関わる遺伝子群の逆遺伝学的解析 「きぼう」利用開始前実施 (ESA実験装置利用)	東北大学 西谷和彦	2008年3月～6月	EMCS/PCC	KFT
Space Seed	微小重力環境における高等植物の生活環	富山大学 神阪盛一郎	2009年9月～11月, 2010年4月回収	CBEF/PEU	KFT, 冷凍, 冷蔵
Ferulate	重力によるイネ芽生え細胞壁のフェルラ酸形成の制御機構	大阪市立大学 若林和幸	2010年6月, 2010年11月回収	CBEF/ MEU	冷凍
Hydro Tropi	微小重力下における根の水分屈性とオーキシン制御遺伝子の発現	東北大学 高橋秀幸	2010年10月	CBEF/ V-MEU	KFT
CsPINs	植物の重力依存的成長制御を担うオーキシン排出キャリア動態の解析	東北大学 高橋秀幸	2011年4月～ 2014年5月	CBEF/ V-MEU	KFT/CFB
Resist Tubule	植物の抗重力反応機構－シグナル変換・伝達から応答まで	大阪市立大学 保尊隆享	2012年10月～ 2014年8月	CBEF/PEU, V-MEU, CB顕微鏡	CFB
Aniso Tubule	重力による茎の形態変化における表層微小管と微小管結合タンパク質の役割	大阪市立大学 曾我康一	2013年11月～ 2015年4月	CBEF, 蛍光顕微鏡	なし
Plant Gravity Sensing	植物細胞の重力受容の形成とその分子機構の研究	金沢工業大学 辰巳仁史	2014年10月～ 2016年5月	CBEF/PEU	CFB, CFA
Plant Rotation	植物における回旋転頭運動の重力応答依存性の検証	東北大学 高橋秀幸	2015年2月～8月	CBEF/PEU	なし
Auxin Transport	宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解明	大阪府立大学 上田純一	2016年5月～ 2017年3月	CBEF/V-ME, MEU	CFB, 冷凍
Space Moss	宇宙におけるコケ植物の環境応答と宇宙利用	北海道大学 藤田知道	2019年7月～ 2020年1月	CBEF/PEU, 蛍光顕微鏡	CFB, 冷凍, 冷蔵

EMCS : European Modular Cultivation System, PCC : Plant Cultivation Chamber, CBEF : 細胞培養装置, CB : クリーンベンチ, PEU : 植物実験ユニット, MEU : 計測ユニット, V-MEU : カメラ付き計測ユニット, CFB : 化学固定バッグ, CFA : 化学固定器具, KFT : KSC Fixation Tube (化学固定チューブ)

宇宙での実験操作を行う宇宙飛行士の訓練，実験を確実に遂行するための準備と軌道上実験運用のノウハウは，植物実験のみならず，細胞培養や線虫，タンパク質の結晶化実験など，多くの宇宙実験の実現性の向上に大きく貢献している。

現在，これまでに得られた成果をもとに将来の有人宇宙探査に必要な食料生産に役立つ要素技術開発を検討している。宇宙での植物科学は新発見を導き，宇宙での研究を実現するための実験装置開発の要求のもとになったといえる。さらには人類の宇宙進出を支える食料生産の基礎となるデータがとられている。植物科学は地球での生命を支える基礎となるだけでなく，宇宙開発にも大きく貢献している。

3. 機材の開発

3-1. 細胞培養装置

植物実験に限らず，細胞培養などの科学実験を行う場合には温度，湿度などの環境条件を整えることが必要である。そのためにインキュベーターが使われる。細胞培養装置は宇宙用に開発されたインキュベーターであり，特徴としては1g対照実験用の遠心機を備えている。植物実験はもとより細胞実験等にも幅広く使われる共通実験装置である(矢野 2010a, Yano *et al.* 2012)。きぼう内で使用される装置を図1に示す。

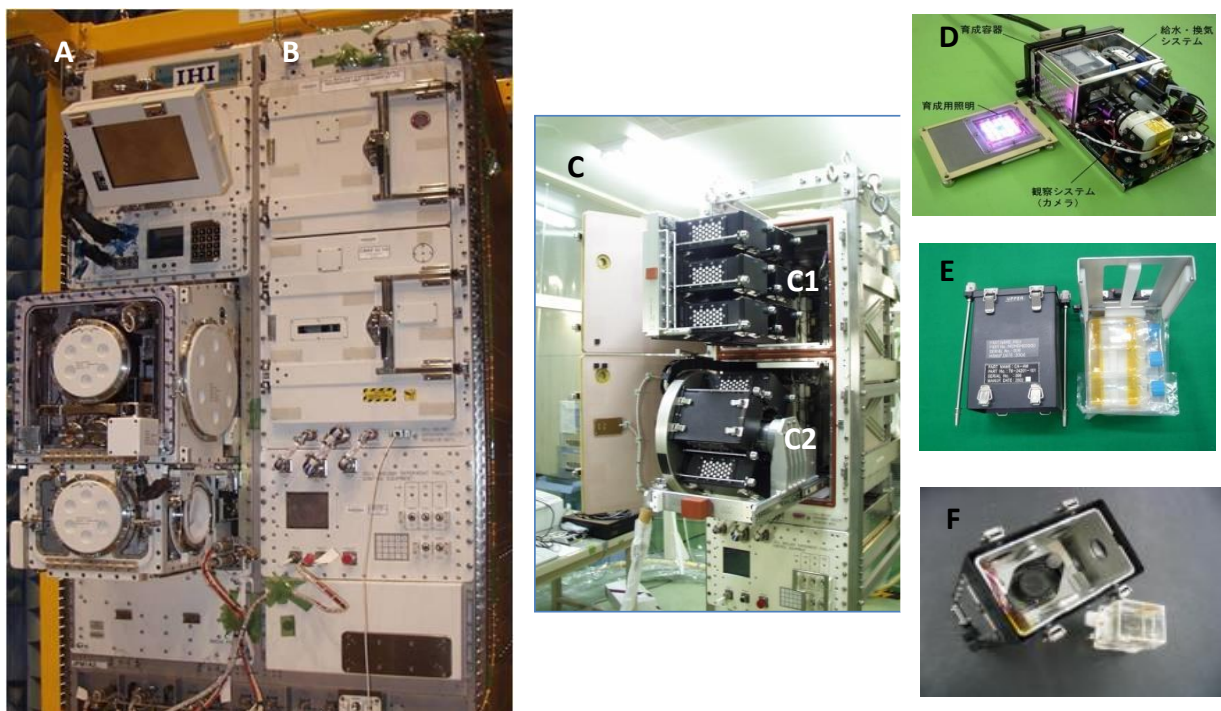


図1. きぼうの船内の植物実験に使用される実験装置

A クリーンベンチ (CB), B 細胞培養装置 (CBEF), C 細胞培養装置 (ドアオープン状態), C1 微小重力区, C2 人工重力区 (遠心機), D 植物実験ユニット (PEU), E 計測ユニット (MEU), F カメラ付き計測ユニット (V-MEU)。

本来、重力の影響を調べる実験は、重力のみが異なる条件で実施することが必要である。試料は軌道上に到着する前に地上輸送、打ち上げ時の振動などすでに通常の実験室環境とは異なる環境を経験している。打上振動の影響は大きく、宇宙での対照実験の必要性が示唆されている。従って、宇宙実験室における1g対照群を可能にする遠心機の役割が重要である。スペースシャトル時代も、BIORACKやNIZEMIといった遠心機を備えた培養装置が搭載されていたが、実験期間は2週間程度が限界であった。ISSではこれまでのスペースシャトル実験ではたやすく得られなかった軌道上での長期間の人工重力条件を使い、重力の有無による細胞レベル、遺伝子レベルでの変化を見ることができるようになったことに大きな意味がある。共通実験装置として利用されてきたクリーンベンチ (Clean Bench, CB, 図1A) には位相差蛍光顕微鏡が設置されており、植物実験にも使用された。

3-2. 植物実験ユニット

2009年のSpace Seed実験では、世界で初めて人工重力条件と比較しながら微小重力下での植物栽培のSeed-to-Seed実験を成功させた (神阪 2010, Yano *et al.* 2013)。この実験では細胞培養装置 (CBEF, 図1B, C) と植物実験ユニット (PEU, 図1D) を用いてシロイヌナズナを2か月にわたって栽培した。使用したPEUは照明、給水システム、換気システム、観察用カメラを装備しており、宇宙飛行士により「きぼう」内のCBEFにPEUを設置したあとは筑波宇宙センターから運転ファイルを転送することにより、栽培実験の開始、停止、実験条件の変更、記録を行うことができるものである。栽培容器は地上部高さ50 mm、容積120 mlと小型ではあるものの、シロイヌナズナの発芽、開花、結実という植物の生活環を完結させることができた。いわば宇宙用の小さな植物工場の開発に成功したといえる。照明については生育用にはピーク波長660 nmの赤色LED、470 nmの青色LEDの混合光を用い、合計光量子束密度は110~190 $\mu\text{molm}^{-2}\text{sec}^{-1}$ であり、観察用には白色チップタイプLEDを用いた。PEUでは赤青交互に配列された生育用LED照明と試料部が近接して配置されたことによるLED光の空間的な分布の不均一や、容器中央部と周縁部の光量分布の偏りが懸念されたため、光分布を均一化するため試料部上部に光拡散板を搭載し、また側面や底面に光の反射と均一化を可能とする金属反射板を設けて解決を図った (矢野ら 2008)。

3-3. 試料保存技術の開発

3-3-1. 化学固定技術

宇宙での試薬の保管や使用法についても検討が必要であった。地上では生育した植物体は速やかに解析に供する。また試薬浸漬を行う場合、使用する試薬も調製後速やかに使用する。一方、宇宙では生育した植物を宇宙で詳細に解析するのは通常困難である。植物体を培地と分離した後、化学固定もしくは冷凍、冷蔵などの保存手段をとったうえで地上に帰還させ、詳細な解析を行うことになる。使う試薬は地上で調製してから植物を処理するまでに保管しておくことが求められ、保管期間は数日から数週間となる。宇宙での二次処理、三次処理は困難であるため、薬剤に浸したまま帰還させ、地上実験室まで返送してから作業の続きをすることになる (矢野 2010b)。

ISSにおいてRNAlaterやパラホルムアルデヒド液のような生物試料を保存する薬剤を使う場合、安全性に考慮が必要である。微小重力環境下において漏れたり飛び散ったりして宇宙飛行士に危害を加えないよう適切に封入しつつ使用しなければならない。1998年のSTS-95ミッションにおける植物生育実験時や2010年までのISSでの初期実験は、米国航空宇宙局(NASA)が開発したKFT(Kennedy Space Center Fixation Tube)を用いて試薬浸漬操作を行っていた。KFTは三重封入構造に試料を保持しながら化学固定液の試料への浸漬操作を可能にするプラスチック製チューブである。ところがJAXA実験においてこのKFTが正常に機能しなかったことがあり、2011年からはJAXAにおいても試料保存技術開発の一環で、化学固定を目的とする機材の開発が行われた。CFB(Chemical Fixation Bag (化学固定バッグ))は「きぼう」で植物体をRNAlaterのような薬剤で処理するためにJAXAが開発した器具である(Soga *et al.* 2015)。CFBは外、中、内の3重のバッグで構成されている。外と中バッグはジッパーシールの袋で、内バッグはクリップで封入される。試料を内バッグに収納し、内バッグのクリップと中バッグ、外バッグのジッパーを閉じた後、薬剤の入ったパウチの封入を破ることによって試料の浸漬処理を行う(図2)。2日~4日程度冷蔵(2~4°C)で浸漬した後、長期保存のためには-80°Cで凍結して保存する。

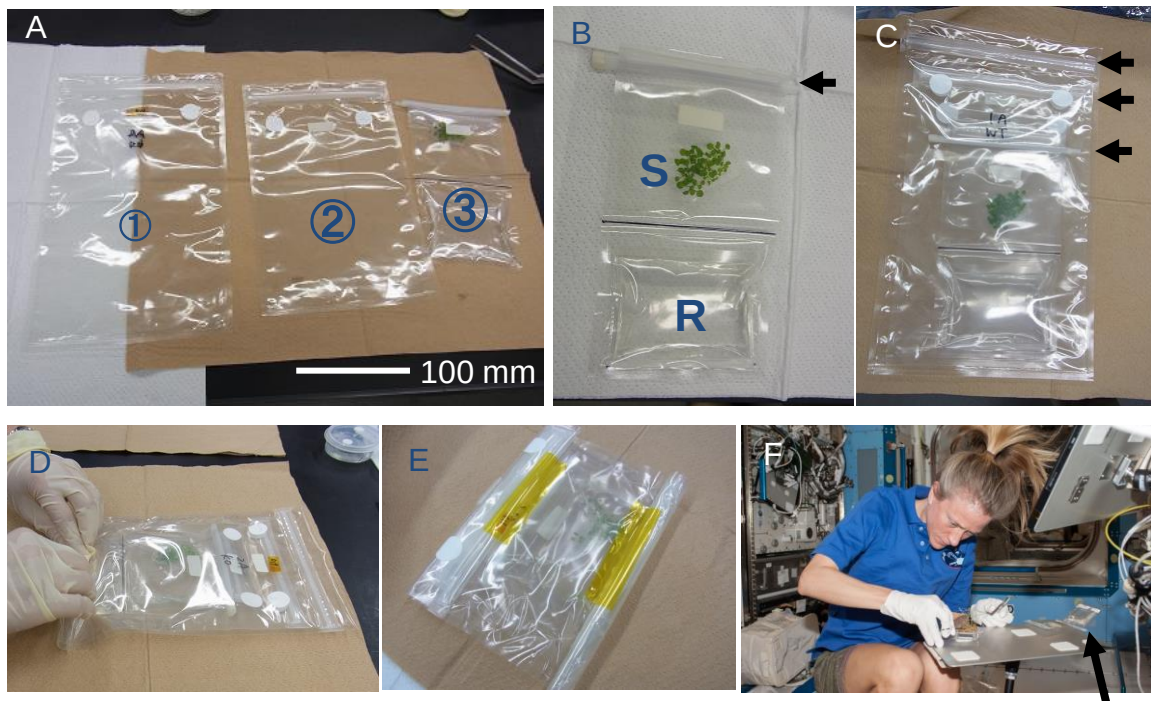


図2. 化学固定バッグの使用法

A Chemical Fixation Bag (CFB) ①外バッグ ②中バッグ ③内バッグ, B 内バッグの様子。クリップ(矢印)によって封入が保たれる。S:植物体を入れる区画, R: RNAlater の入ったパウチ, C 内バッグと中バッグが外バッグに収納されている。矢印はジッパーとクリップでの封入部分。D バッグを端から巻いていき、パウチの封入を破る。E コンパクト収納するためバッグの両端をテープで止める。F Karen Nyberg 飛行士が Resist Tubule 実験の際に「きぼう」日本実験室内でシロイヌナズナを処理している。矢印は内バッグに入った RNAlater パウチ。図は, Soga *et al.* 2015 より転載。



図 3. 化学固定器具 (CFA)

175 mm (L) x 75 mm (W) x 40 mm

ISSにおいて、RNAlaterは毒性レベル 1 (THL1)に識別される試薬であり、二重封入の要求に対し、CFBは二重封入を満足することができる。なお、「きぼう」モジュールが何らかの原因により減圧された際にも封入状態を保持する必要がある。CFBはJAXA安全審査会の承認を得ており、2013年11月のResist Tubule実験で最初に使用された。CFBはその後、他の植物実験にも多数採用されている(表1)。

さらに高い毒性レベルを持つ薬剤に対しては、もう一重の封入レベルが求められる。JAXAはパラフォルムアルデヒド液(4%)のような毒性レベルが高い薬剤に対して、三重の封入をすることができるCFA(Chemical Fixation Apparatus(化学固定器具))を開発し(図3)、Plant Gravity Sensing実験に使用した。CFAは植物サンプルだけでなく、線虫培養液の化学固定にも利用された。

3-3-2. 冷凍冷蔵庫

宇宙で試料を冷蔵・冷凍保存するためには、欧州宇宙機関(ESA)によって開発されたISS用冷凍冷蔵庫MELFI(Minus Eighty Laboratory Freezer for ISS)が使われる。温度は個別に設定可能であるが、通常、冷蔵区画は2℃、冷凍区画は-95℃に保持されている。また地上と宇宙との往還にはNASAが開発した-95℃に設定可能なアクティブ冷凍庫GLACERや2~4℃を保持できるパッシブ冷蔵箱Double Cold Bagの使用が可能である。

試料保管技術開発のうち、冷凍冷蔵手段拡張の一環でJAXAでも独自に冷凍冷蔵庫を開発した。「きぼう」搭載用ポータブル冷凍・冷蔵庫FROST(Freezer-Refrigerator of Stirling Cycle)である(図4)。FROSTは生命科学実験や物理・材料実験、タンパク質結晶化実験のサンプルを保存することを目的として開発され、2013年に「きぼう」に搭載された。内部は330 mm x 150 mm x 250 mmの寸法の収納スペースがあり、室温から-65℃までの設定が可能である。通常、冷蔵庫として4℃の設定で使用されている。

2017年には、冷凍モード(-80℃)から常温モード(20℃)の設定が可能なFROST2がISS「きぼう」日本実験棟に設置され、稼働している。FROST2は内部寸法が331 mm x 282 mm x 193 mmでFROSTより多少広めである。FROST2もFROSTと同様、実験要求に合わせて任意の温度設定が可能であり、2019年現在、20℃設定でタンパク質結晶成長実験に使用されている。



図4. 「きぼう」に設置された FROST

3-4. 観察システムの開発

3-4-1. 位相差蛍光顕微鏡の開発と利用

微小重力環境で成長したサンプルを化学固定して地球に持ち帰れば、詳細に解析することができる。一方、化学固定による変化や保存の影響が否めない。宇宙で成長した植物の細胞内動態をリアルタイムライブイメージングすることの科学的意義は大きい。そのため、JAXAは保存技術の開発と並行して観察システムの開発も進めてきた。「きぼう」日本実験棟には共通実験装置の一つとして内部で生物試料操作を可能とする、グローブボックスの役割も果たすCBが設置されていた(図1A)。CBの内部には、Nikon製の位相差蛍光顕微鏡が備え付けられており、これと高感度カメラを組み合わせ、シロイヌナズナの胚軸細胞の表層微小管を蛍光観察した(Resist Tubule実験)。2013年には、蛍光顕微鏡(DMI6000B, Leica MicrosystemsをISS用に一部改修)を、「こうのとりのこ」HTV3号機で打ち上げて「きぼう」に設置した(図5)。この蛍光顕微鏡は当初メダカの胚の観察に使用された後、2013年11月から10回にわたってAniso Tubule実験に使われた。2014年から2016年には培養細胞の観察に、2019年7月にはSpace Moss実験にも使われている。さらに、きぼう利用戦略(JAXA 2017)では「きぼう」の技術の質・量・多様性の大幅向上を掲げており、新たな実験プラットフォームとしての利用基盤の拡大の一環として「ライフサイエンス実験用ライブイメージングシステム(COSMIC)」と呼ばれる共焦点顕微鏡に関して、2020年からの運用を目指して準備を進めている(JAXA 2018)。

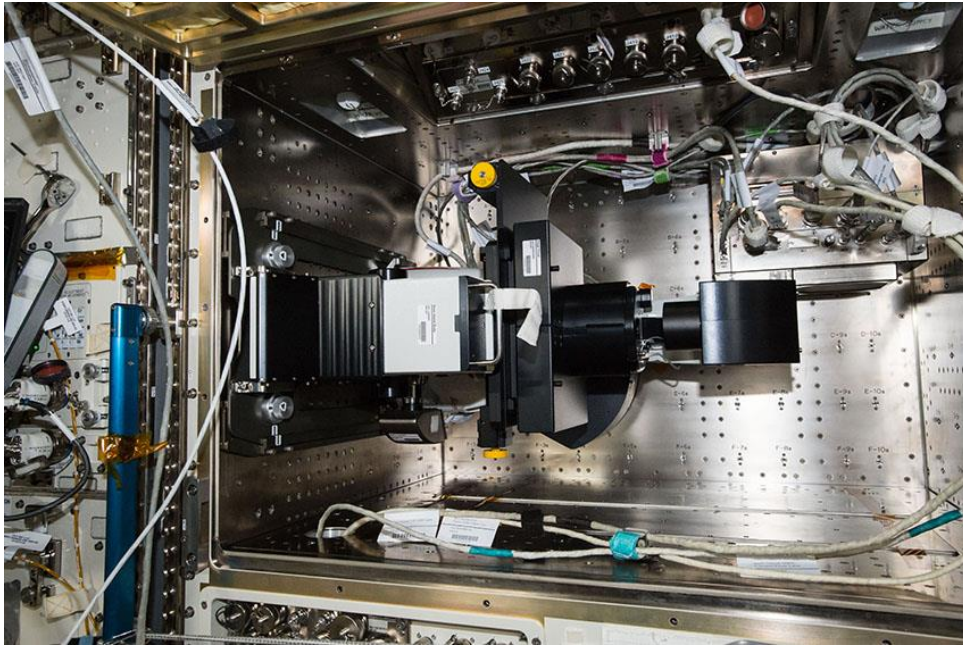


図5. 蛍光顕微鏡（DMI6000B, Leica Microsystems を宇宙用に一部改修）

4. 実験運用

4-1. 運用準備

4-1-1. 実験要求の設定と適合性確認試験

宇宙実験のテーマ選定の際、科学評価、技術評価を経て候補テーマが選定される。宇宙実験では、射場への輸送、ISSへの輸送、実験開始までの保存、実験終了後の保存など通常の実験室での実験条件とは異なる要素が存在するため、提案時には明確になっていないパラメータがある事が多い。このような明確になっていないパラメータに関して、実施予定時期の「きぼう」の状況を考慮して設定していく。具体的には使用する機材、解析に必要なサンプル数、サンプルの種類、温度・湿度、培地・水の量、実験期間などの各値を明確化していく。植物の場合これらに加えて生育光量、観察タイミング、給水量、化学固定液の種類、濃度、保存期間などを決める。決定のためには実際に地上にて実験しておくことが必要になる場合が多い。また、決定したパラメータを用いて、実験が成立するか実際のサンプルを用いて確認する作業も必要である。実験パラメータを決め、確認する作業を適合性確認試験と呼ぶ。宇宙実験の成立性は機材のフライト品もしくはフライト相当品を使って試験する。この作業はJAXA、研究者、機器開発メーカーの共同作業である。「きぼう」利用初期には開発中の機材を使用して試験を実施していたため、条件検討や確認に長期間かかることが多かった。現在では、表1や図1に示すように開発済みで宇宙での使用実績のある機材を用いることが多くなっており、JAXAには多数の実験のノウハウが蓄積されているので、適合性確認試験に係る期間は短縮の傾向にある。しかし、実験条件は目的やサンプルによっても異なるため、安易に前例を踏襲するだけではなく、実サンプルを用いたフライト前の地上試験を実施することを推奨している。

4-1-2. 利用計画調整

ISSはNASAやESAなど国際パートナー (International Partner, IP) と利用計画を調整しながら国際的に運営されている。利用計画はインクリメントと呼ばれる期間の単位で行う。ISSは1998年11月に基本機能モジュール (FGB, ロシア語で日の出を表す”ザーリャ”という愛称で呼ばれる) が打ち上げられ、2000年10月からは有人滞在が開始された。この有人滞在の開始を区切りとして約半年ごとに番号をつけて「インクリメント」とよび、利用の計画を立案していた。2009年のインクリメント19からは有人輸送機ソユーズの往還に合わせて2つのインクリメントの期間が約半年になるように区切り、利用計画を立案している。例えば2019年3月から10月の期間はインクリメント59/60と呼ばれ、この期間に特に注目すべきJAXAの活動をタイトルに示し、実施方針を公開している (<http://iss.jaxa.jp/kiboexp/plan/inc5960/>)。約半年のインクリメント中にJAXAだけで約30実験が実施されている。これらの実験の優先順位をつけ、計画・実行していく。

4-1-3. 手順書作成

宇宙では研究者の代わりに宇宙飛行士が実験操作を行う。宇宙飛行士は実験操作に慣れた研究者とは限らない上、宇宙での操作には重力がないことを考慮しなければならない。宇宙利用を前提とした機材を設計することはもちろんのこと、わかりやすい手順書を作成することが重要になる。飛行士が訓練のため来日するチャンスは限られ、一実験に関してほぼ一度きりのチャンスしかない。そのため、宇宙飛行士に実験訓練によってテーマ固有の実験操作を習熟させることは期待できない。また訓練してから宇宙滞在までに半年から一年以上の期間がある事も多い。よって、宇宙でいざ実験する際に見る手順書が重要になる。手順書の記載に従えば間違いなく操作できるような手順としておくことが実験成功のカギである。

ISS実験の手順はラップトップコンピュータやタブレット端末上に表示される。手順書は専用のソフトで書かれるため、専門の技術者が作成する。この技術者は宇宙用装置を地上から操作するオペレーターでもある。JAXAの実験要求担当 (ユーザーインテグレーション担当という) は、研究者から出された手順の源泉として実験要求を手順書作成担当に伝え、完成した手順書を見て実験目的が損なわれていないこと、操作時の注意事項、実験パラメータが正しく書かれているかを確認する。新規で作成した場合には、机上で読み合わせをするだけでなく、実際に手順に従い機材を操作してみる試験的な確認のステップをいれることが推奨される。

4-1-4. 宇宙飛行士の訓練

シャトル時代には、宇宙飛行士の訓練は米国テキサス州ヒューストンのジョンソン宇宙センターで行われていた。宇宙実験の提案者とJAXA実験要求担当者 (ユーザーインテグレーション担当) が直接宇宙飛行士の実験訓練も担当したが、「きぼう」日本の実験装置を使用する現在は、宇宙飛行士の訓練は訓練設備のある筑波宇宙センターで、装置ごとに養成された訓練インストラクターが行う。そのため、研究者と担当者は宇宙飛行士の訓練に要求を出す。訓練に必要な実験サンプルや機材の提供、スケジュール調整などが必要になる。

4-2. 射場作業

2011年にスペースシャトルが引退した後、ISSに試料を輸送する手段は日本の宇宙ステーション補給機「こうのとり」(HTV)、米国民間企業のドラゴン補給船(SpX)とシグナス補給船、ロシアのソユーズ宇宙船とプログレス補給船となった。それぞれ打上射場と打ち上げからISS到着にかかる時間が異なるため、サンプルの寿命と打上貨物の搭載状況(混み具合)により打ち上げ機を決定する。

植物の試料は「こうのとり」とドラゴン補給船を使って打ち上げられることが多い。「こうのとり」は種子島宇宙センターから、ドラゴン補給船は米国フロリダ州ケープカナベラルから打ち上げられる。生物実験ではできるだけ早く試料を宇宙に運んで実験したいという要求があるので、射場近くの設備で最終サンプル準備を行うことになる。植物種子は保存が可能のため日本の筑波宇宙センターで栽培容器に種子を固定して輸送するが、射場で輸送機への引渡し前に輸送による種子の外れなどがないかを確認して輸送機側に引き渡す。一方、長期間の保存ができない化学固定液の調製は射場で行う場合が多い。

4-3. 軌道上実験運用

射場において引き渡した試料は輸送機に積み込まれてISSに届けられるが、実験開始の時期はタイムライン(飛行士の作業を含むISS全体の時間割)の調整によって決められる。4-1-2項で述べたインクリメントにおける利用計画の中で実験の優先順位がつけられ、実施時期の調整も半年のインクリメント単位で行われる。日割りのタイムラインができるのは実施の3週間前である。サンプルの寿命の制約により優先順位調整がされたうえで、宇宙での時間割が作成され実行上のコンフリクトなどを排除すべく国際調整が行われ、実施に至る。この調整は実験の実施日まで続く。優先度はきぼう利用戦略に基づいて、インクリメントペアの単位でインクリメントマネージャがリードの元、JAXA有人宇宙技術部きぼう利用センター、有人宇宙技術センターにより調整される。

シャトル時代にはジョンソン宇宙センターで行っていた実験の運用は、「きぼう」での実験は筑波宇宙センターでモニターしたり、操作指示を出したりすることが可能となった。植物実験の場合、給水や昇温によって実験を開始することが多い。宇宙に送った種子や芽生えを保持した試料容器を、宇宙飛行士が装置に組み込み、装置へのコマンド送信によって実験開始する。その後は装置に付属したカメラによって定期的に画像を確認し、温度・湿度をモニターする。栽培終了時には収穫して化学固定、冷蔵、冷凍庫への移設を行う。これらの宇宙飛行士の操作時に地上から助言が必要な場合、研究者が操作に立ち合い必要に応じて運用管制官経由で宇宙飛行士に対して指示を出す。

4-4. サンプルの回収

実験が終了して保存されたサンプルを、回収する。2019年現在、ISSからの復路輸送はソユーズ宇宙船とドラゴン補給船に限られ、ロシアの場合は個別契約が必要であるため、特別な事情がなければ回収容量が比較的多い、ドラゴン補給船を利用することになる。ドラゴン補給船は米国の東海岸近くの大西洋に着水するが、近い将来には着水場所の変更も検討されて

いる。サンプルはテキサス州ヒューストンのジョンソン宇宙センターに温度が保たれて運ばれる。回収サンプルの日本への返送はJAXA/NASA担当者間の技術調整の結果、NASAの冷蔵冷凍担当者に梱包作業をしてもらい、日本に返送することができるようになった。返送されたサンプルは筑波宇宙センターを経由して各研究者の実験室に返送される。

4－5. 解析, 成果報告

サンプルが回収され、研究室に返送されてから約1年をめどに、実験の成果報告が求められる。解析結果の論文発表は先になることがあるが、JAXAは早期の成果報告を求める。「きぼう」の利用成果を示す必要があるからである。

シャトルを利用した植物生育実験の結果から、微小重力環境では重力屈性が見られないことに加えて植物の芽生えの形態の変化、細胞壁の構成成分の変化(Wakabayashi *et al.* 2015)、根の水分屈性が現れやすくなるなどの特徴がみられた(Takahashi *et al.* 1999)。日本がISSで実施したSeed-to-Seed実験の結果と、NASA、ロシア、ESAが実施した結果を総合すると、宇宙でも生育環境を整えることができれば植物の生活環を完結させることが可能であるといえそうだ。一方でSpace Seed実験の結果からはチャンバーごとの生育にばらつきがあり、宇宙で得られた種子数は少なく、次世代の発芽率も地上群と比較して低下していた(Karahara *et al.* 2012)。

植物の生殖成長を実験的に検証するためには生活環が短いシロイヌナズナを用いても1～2か月かかり、これは宇宙実験としては比較的長い期間となる。また成長の段階ごとに環境の影響が大きく変化することに加えて、ISSでの実験機会は限られており、実験条件も装置ごとに異なるため、宇宙で多くの植物実験が行われている割に実験結果は再現性に欠けている。今後大型作物栽培装置が開発されれば、十分なN数を設定し、複数回繰り返し実験による再現性を確認することが求められる。

5. 将来有人探査時代の効率的な食料生産に向けて

ISSは地球から隔離された空間で、空気水の一部を再生して運用されているが、食料は全て地球からの輸送に頼っている。今後、長期の有人宇宙探査を実現するためには、数年間の補給がない状況を想定しなくてはならない。つまり、追加輸送に頼ることなく、初期入植時に持ち込んだ資源と現地の資源を用いて空気、水、食料を生産し、物質循環による再生利用をしながら活動していくため、宇宙での自給自足とリサイクルシステムの確立が必要になる。

筆者が2015年に提案し、JAXA有人宇宙部門で現在5年目を迎えた食料生産技術開発プロジェクトは、最終的には火星基地において持続可能な宇宙活動を実現することを目指すものである。これまでの物理化学的処理を主要要素とした閉鎖系生命維持システムに、植物栽培による食料生産、微生物を利用した物質循環プロセスを加えることによる閉鎖生態系システムを構築することを目指す。この活動と並行するようにJAXA宇宙探査イノベーションハブ(宇宙探査ハブ)が発足し、2017年からは月面農場ワーキンググループ(月面農場WG)活動に筆者も委員として参加している。月面農場WGでは最先端の植物工場技術を宇宙用にも発展させ、月面で持続的に活動するための農場システムを検討する調査研究を行い、2019年春に検討報告書を公開した(JAXA 2019)。

同時に、日本の有人宇宙探査方針としても月近傍の宇宙ステーション計画が現実味を増してきている。月近傍の宇宙ステーション計画は月近傍拠点(深宇宙ゲートウェイ)と呼ばれ、文部科学省国際宇宙ステーション・国際宇宙探査小委員会資料(ISS・国際宇宙探査小委員会2017)に示されている。2019年3月には、ISS参加機関である米国航空宇宙局(NASA)、カナダ宇宙庁(CSA)、欧州宇宙機関(ESA)、ロシア(ROSCOSMOS)、文部科学省の代表からなる、国際宇宙ステーション多数者間調整会合(International Space Station Multilateral Coordination Board: ISS MCB)が開催され、有人月面探査のなかで深宇宙ゲートウェイが重要な役割を担うことが確認された(http://www.jaxa.jp/press/2019/03/20190312b_j.html)。このようにISSからより遠くへ有人探査計画が具体化していくという過渡期に我々は生きている。長期宇宙探査時代の食料をめぐる研究開発活動は、国際的には現在の宇宙食の保存性や種類を拡大することを目的として、食生活に彩を添える生鮮野菜の栽培に関する研究が進んでいる。JAXAでは保存食や生鮮野菜栽培の研究だけでなく、炭水化物・タンパク質・脂質をバランスよく採れるよう、イネ、サツマイモ、ジャガイモ、ダイズなどの炭水化物やタンパク質、脂質を豊富に含む植物の栽培を検討していく。食料生産に関する研究としては、2018年度にISSでの候補実験テーマとして大阪府立大学北宅善昭教授の提案テーマ「食糧作物成長の重力応答解析と宇宙植物工場への応用」が選ばれ(http://iss.jaxa.jp/kiboexp/participation/application/documents/fs2018/life_kitaya.pdf)、サツマイモの栽培に関する「きぼう」での実験に向けた適合性確認作業が進められている。

また、植物も含む応用的な分野としてJAXAの新事業推進部のSpace Food X(<https://www.spacefood-x.com/>)では、3Dフードプリンターや微細藻類や培養肉を使った効率的なタンパク質生産など、最新のバイオ技術の利用も視野に入れて活動している。食料を作るだけでなく、再生利用する廃棄物処理をセットとした閉鎖生態系の構築を目指した各要素技術も必要であるため、今後JAXAでの研究活動を重点化する可能性がある。

6. おわりに

月の重力は0.17g、火星は0.83gであるので、重力環境の違いによって植物がどのように応答を変えるか、微小重力環境において遠心分離機を用いて低重力環境を作出し、実際のデータを得ることが好ましい。きぼう設置当初から共通実験装置として利用されてきたクリーンベンチは、2019年その役割を終え、こうのとりの8号機とともに大気圏突入により廃棄された。クリーンベンチのエリアには細胞培養装置2号機が設置される。細胞培養装置2号機には1号機より大型の遠心機を設置することが可能であるため、植物装置の搭載も可能である。ただし、大型植物栽培装置を設置することには開発要素が存在する。今後大型装置の開発が実現するよう、宇宙探査時代に向けた食料生産研究の意義を主張するとともに、これまでの研究成果・蓄積した実験運用ノウハウに基づき、科学的意義が高い宇宙植物実験の実現を目指して実験計画を検討していきたい。

謝辞

本稿で紹介した活動については宇宙実験の提案者、共同研究者、およびJAXA有人宇宙技術部門の多大な協力のもと、日本宇宙フォーラム、有人宇宙システム株式会社、株式会社エイ・イー・エスとともに実施した。執筆にあたっては、笠原春夫主任研究開発員、株式会社エイ・イー・エス鎌田源司シニアエンジニアをはじめとする方々に多くのサポートをいただいた。この場をお借りして感謝の意を表する。

引用文献

- ISS・国際宇宙探査小委員会(第20回) 2017. 科学技術・学術審議会 研究計画・評価分科会 宇宙開発利用部会. 資料20-1-1.
- JAXA 2017. きぼう利用戦略 第2版.
- JAXA 2018. 「きぼう」船内実験室利用ハンドブック. 78-79. http://iss.jaxa.jp/kibouser/library/item/pm_handbook.pdf.
- JAXA 2019. 月面農場ワーキンググループ検討報告書 第1版.
- 神阪盛一郎, 唐原一郎, 笠原宏一, 山田晃弘, 矢野幸子, 谷垣文章, 笠原春夫, 梶田大輔, 嶋津徹, 福井啓二, 西谷和彦, 保尊隆享 2010. 国際宇宙ステーションでのSpace Seed実験. 生物工学会誌. 88: 288-291.
- Karahara, I., Suto, T., Yashiro, U., Yamaguchi, T., Tamaoki, D., Yano, S., Tanigaki, F., Shimazu, T., Kasahara, H., Kasahara, H., Soga, K., Hoson, T., & Kamisaka, S. 2012. Life cycle of *Arabidopsis thaliana* under microgravity condition in the International Space Station Kibo module. *Proc. of the 39th COSPAR Scientific Assembly*.
- 嶋津徹, 相澤幸子 1999. STS-95における宇宙実験(植物・細胞). 宇宙生物科学 13: 25-32.
- Soga, K., Yano, S., Matsumoto, S., & Hoson, T., 2015. Hypergravity experiments to evaluate gravity resistance mechanisms in plants. In *Plant Gravitropism: Methods and Protocols* (Ed. Blancaflor EB). *Methods Mol. Biol.* 1309: 307-319.
- Takahashi, T., Mizuno, H., Kamada, M., Fujii, N., Higashitani, A., Kamigaichi, S., Aizawa, S., Mukai, C., Shimazu, T., Fukui, K., & Yamashita, M. 1999. A spaceflight experiment for the study of gravimorphogenesis and hydrotropism in cucumber seedlings. *J. Plant Res.* 112: 497-505.
- Wakabayashi, K., Soga, K., Hoson, T., Kotake, T., Yamazaki, T., Higashibata, A., Ishioka, N., Shimazu, T., Fukui, K., Osada, I., Kasahara, H., & Kamada, M. 2015. Suppression of hydroxycinnamate network formation in cell walls of rice shoots. *PLoS One* 10: e0137992.
- Yano, S., Kasahara, H., Masuda, D., Tanigaki, F., Shimazu, T., Suzuki, H., Karahara, I., Soga, K., Hoson, T., Tayama, I., Tsuchiya, Y., & Kamisaka, S. 2013. Improvements in and actual performance of the Plant Experiment Unit onboard Kibo, the Japanese experiment module on the international space station. *Adv. Space Res.* 51: 780-788.
- Yano, S., Masuda, D., Kasahara, H., Omori, K., Higashibata, A., Asashima, M., Ohnishi, T., Yatagai, F., Kamisaka, S., Furusawa, T., Higashitani, A., Majima, H.J., Nikawa, T., Wakabayashi, K., Takahashi, H., Suzuki, H., Shimazu, T., Fukui, K., Hattori, A., Tanigaki, F., Shirakawa, M., Nakamura, T., Yoshimura, Y., Suzuki, N., & Ishioka, N. 2012. Excellent thermal control ability of Cell Biology Experiment Facility (CBEF) for ground based experiments and experiments onboard the Kibo Japanese experiment module of International Space Station. *Biol. Sci. Space* 26: 12-20.

- 矢野幸子 2010a. 「きぼう」での生命科学実験(その1). 日本航空宇宙学会誌 58: 105-110.
- 矢野幸子 2010b. 「きぼう」での生命科学実験(その2). 日本航空宇宙学会誌 58: 192-197.
- 矢野幸子, 田山一郎, 永瀬睦 2008. 第5章宇宙ステーション植物生育実験装置とLED照明ユニット, アグリフォトニクス, シーエムシー出版, 東京, 259-266.