

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

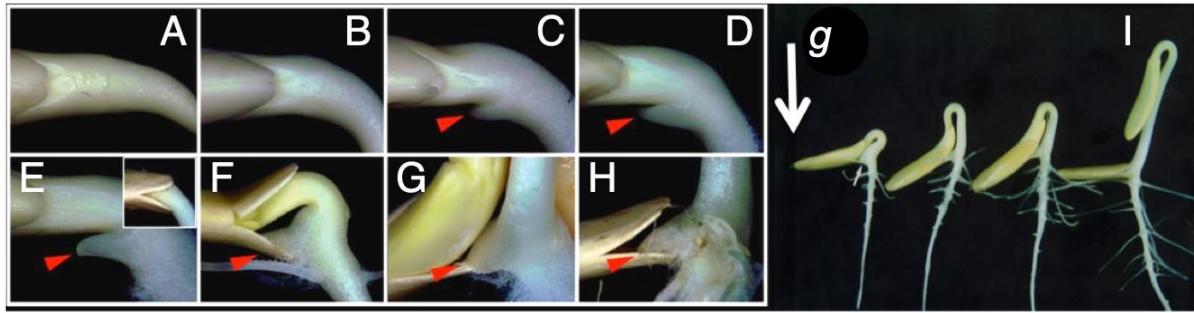


図1. キュウリ芽ばえのペグ形成

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

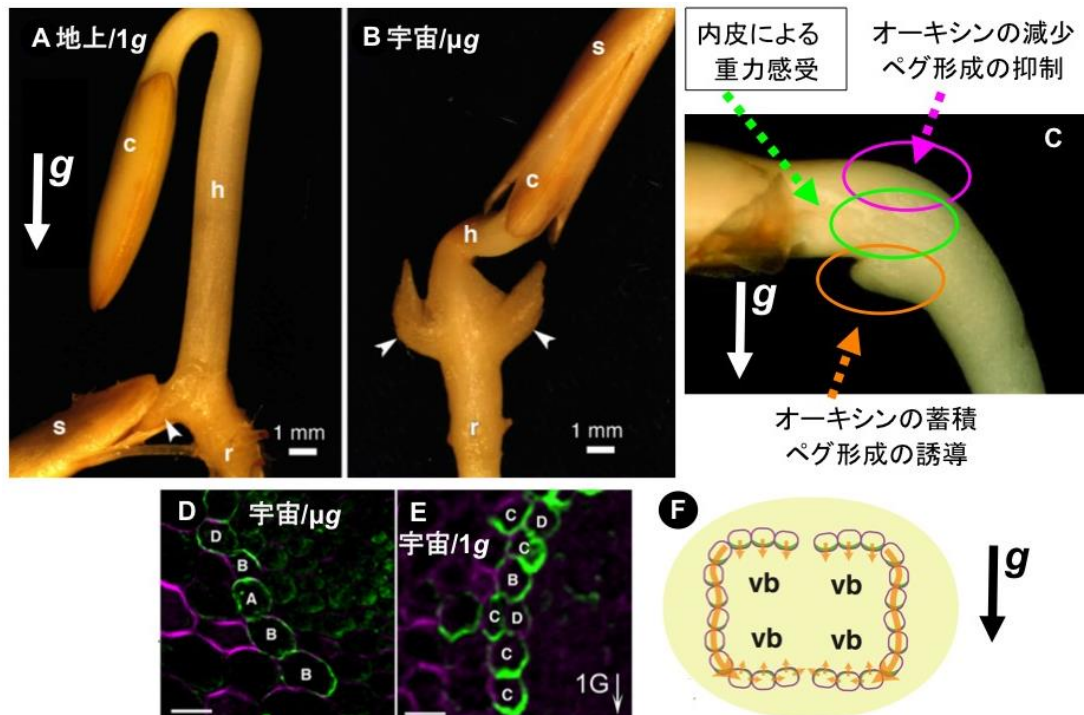


図2. 地上(1g)および宇宙(μg)で発芽したキュウリ芽ばえ(A, B), オーキシン動態(C), 内皮におけるオーキシン排出担体 CsPIN1 の局在(D, E), 境界域でオーキシンを下側に輸送する経路に関する仮説(F)

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

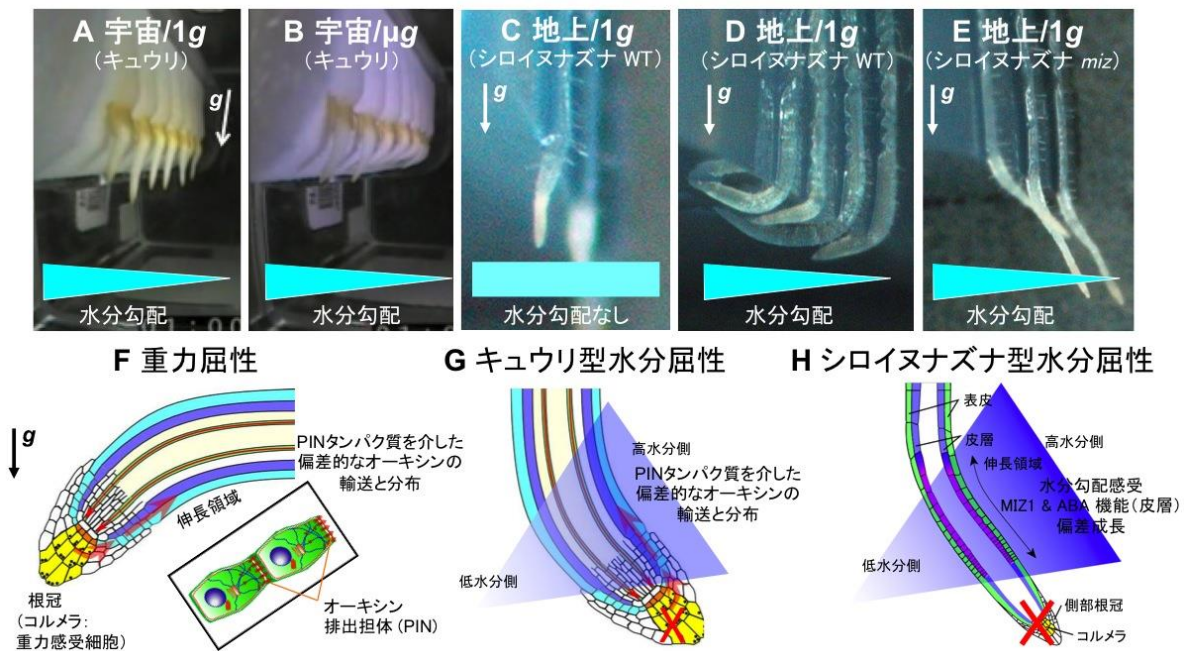


図3. キュウリ (A, B) およびシロイヌナズナ (C-E) の根の水分屈性と、重力屈性および水分屈性のメカニズムに関するモデル (F-H)

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。

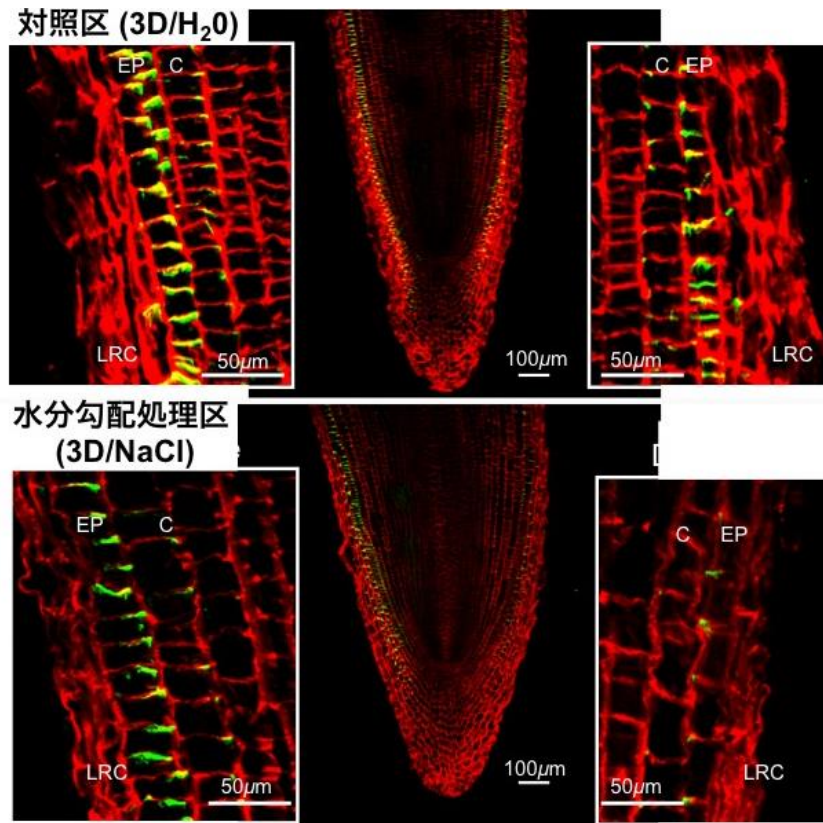


図4. キュウリ芽ばえの根端におけるオーキシン排出担体 CsPIN5 の発現・局在と、その水分勾配下での動態

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)。

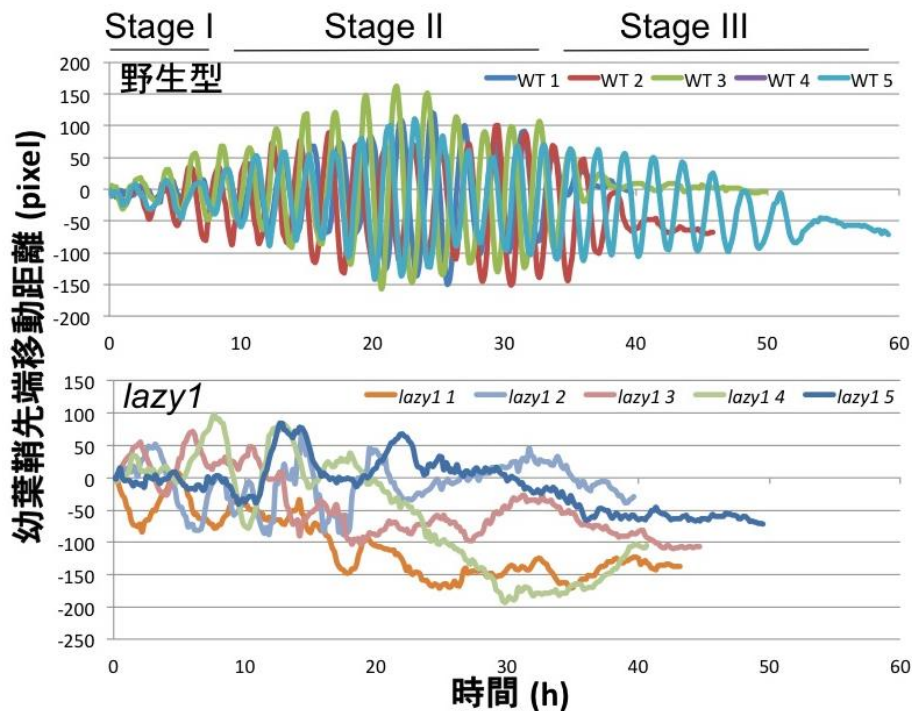


図5. イネ野生型(上)と *lazy1*(下)の暗所芽ばえの幼葉鞘の回旋転頭運動
野生型および *lazy1* の各5個体の運動の周期性を示す。図はKobayashi *et al.* (2019) から転載。

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。

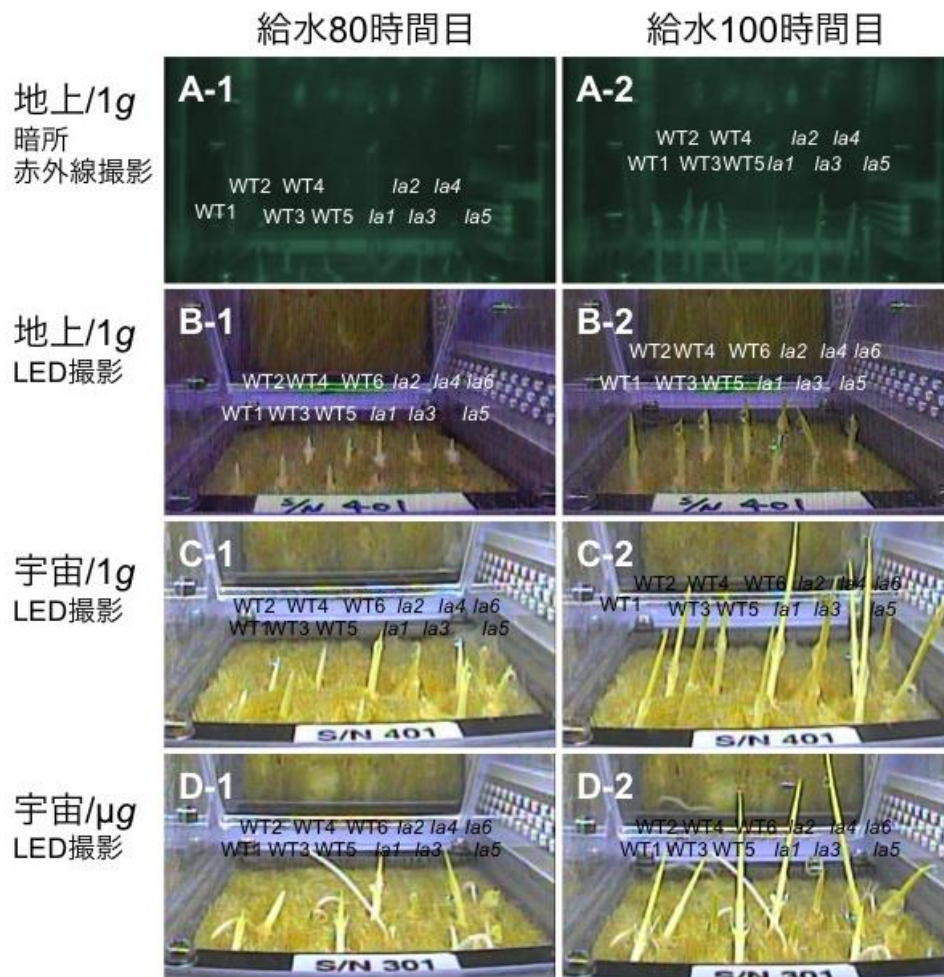


図 6. イネ野生型と *lazy1* の地上および宇宙における芽ばえの生育
図は Kobayashi et al. (2019) から転載。

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.