

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。

H. Tatsumi-1

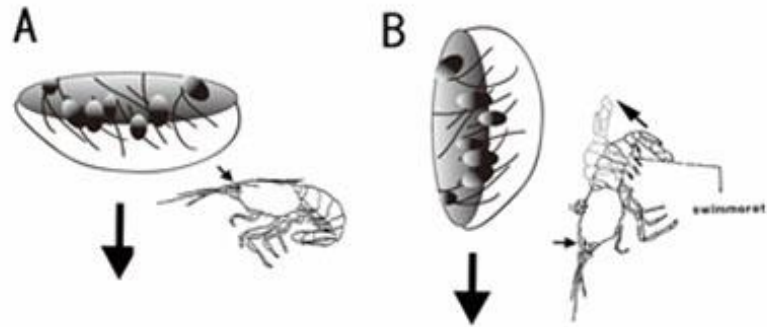


図1. アメリカザリガニにおける重力受容器

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1B) (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ため、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1B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。

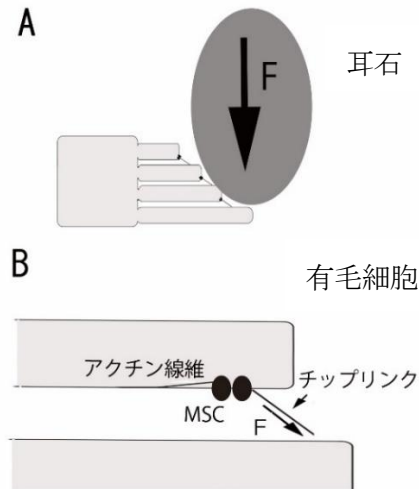


図2. 有毛細胞による重力受容

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看做す。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。

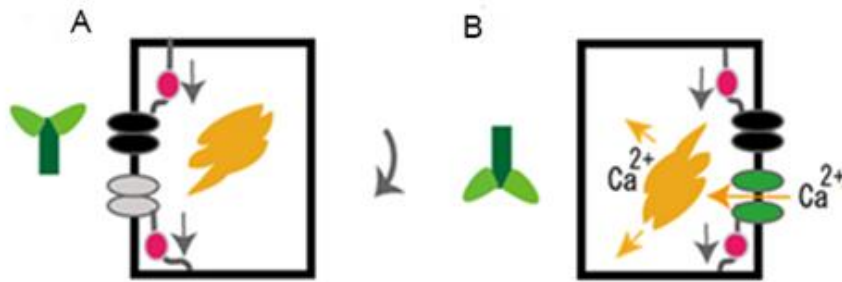


図3. 植物細胞における重力受容

(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に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。

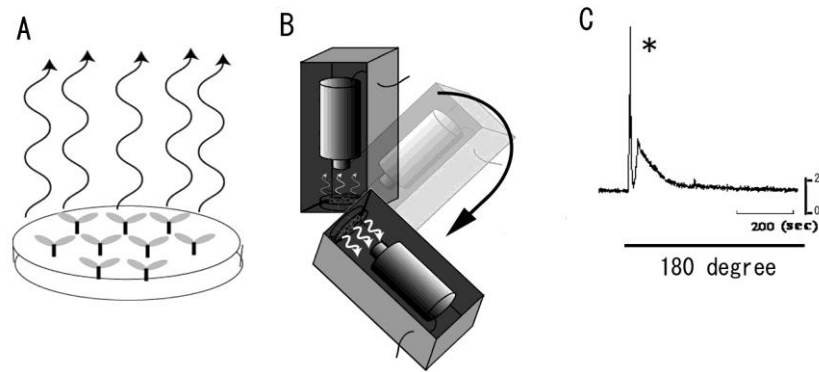


図4. シロイヌナズナの芽生えを用いた重力応答の計測

(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。

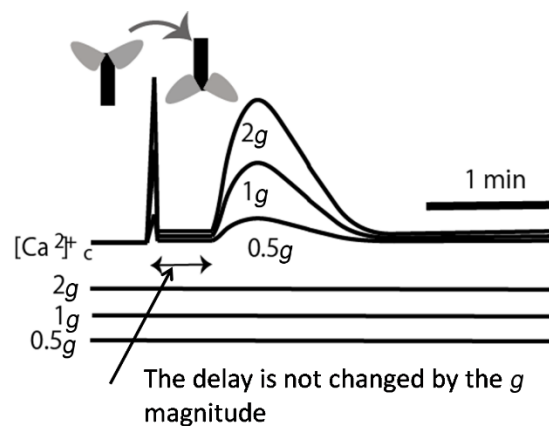


図5. さまざまな重力加速度条件下 ($0.5\text{--}2\text{g}$) でのシロイヌナズナの芽生えを用いた重力応答の計測の模式図

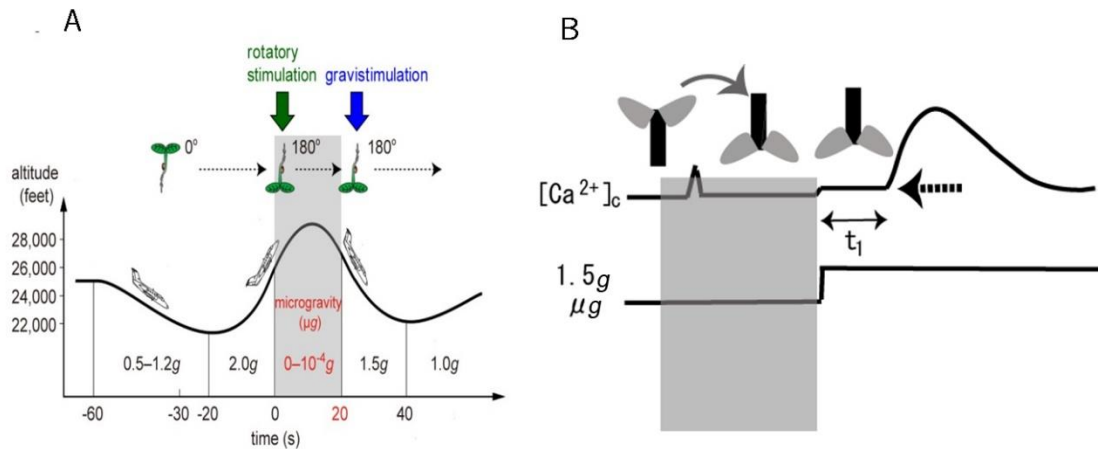


図6. パラボリックフライト下でのシロイヌナズナの芽生えを用いた重力応答の計測の模式図
Aは実験の手順を示す。パラボリックフライトにより微小重力になった環境で植物を回転する。
その後の斜めフライトで1.5gの加速度刺激を行う。B, Aの手順で行った実験で得られるデータを模式的に示す。

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Ca²⁺チャ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Ca²⁺濃度の上昇はCa²⁺依存性のCa²⁺放出機構を活性化し、緩やかなCa²⁺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ネルMca1と2は重力受容に関与するチャ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 Ca²⁺ 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 Ca²⁺ 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.