

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礎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)。

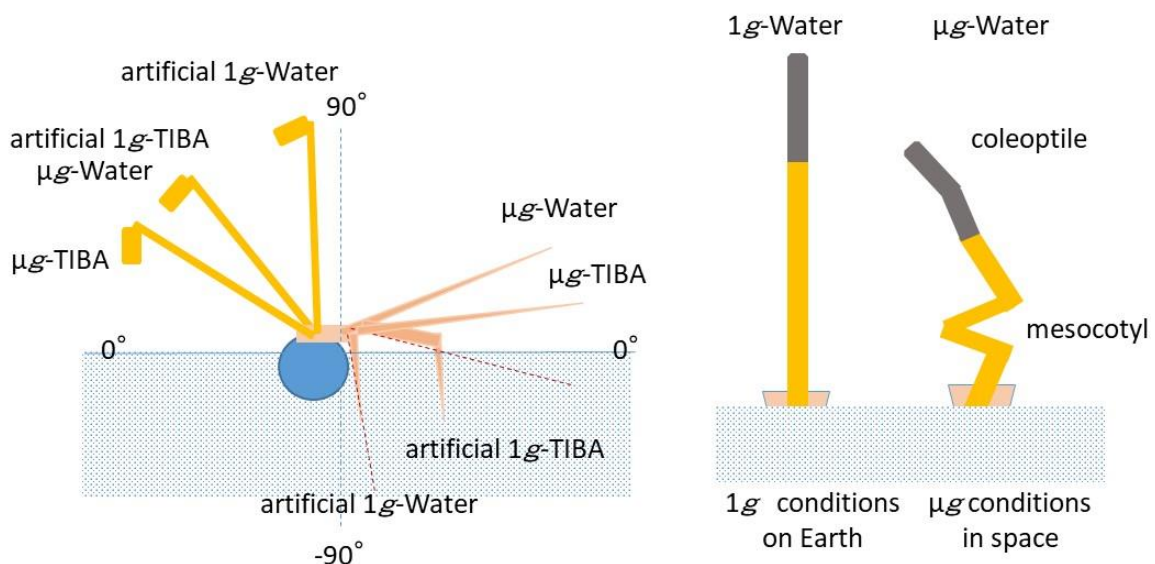


図 1. 3 日齢黄化エンドウ芽生え (左) および 4 日齢黄化トウモロコシ芽生え (右) の自発的形態形成の模式図

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同時に、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)。この様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間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。

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., Ouwkerk, 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., Ueda, 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., Růžička, 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。