

カルシウムイオンを介したハエトリソウの記憶機構

須田 啓^{1,2,3}

¹基礎生物学研究所 生物進化研究部門

²総合研究大学院大学 生命科学研究科 基礎生物学専攻

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中 38

³埼玉大学大学院 理工学研究科 生命科学系専攻

〒338-8570 埼玉県さいたま市桜区下大久保 255

The memory system of Venus flytrap mediated by calcium ions

Hiraku Suda^{1,2,3}

¹Division of Evolutionary Biology, National Institute for Basic Biology

²Department of Basic Biology, School of Life Sciences, The Graduate School for Advanced Studies (SOKENDAI)

38 Nishigonaka, Myodaiji, Okazaki, 444-8585, Japan

³Department of Biochemistry and Molecular Biology, Graduate School of Science and Engineering, Saitama University

255 Shimo-Okubo, Sakura-ku, Saitama, 338-8570, Japan

Keywords: calcium signaling, *Dionaea muscipula*, live imaging, thigmonasty, transformation

DOI: 10.24480/bsj-review.12b3.00204

1. はじめに

食虫植物であるハエトリソウ (*Dionaea muscipula*, ナデシコ目モウセンゴケ科) は「獲物を捕らえ、消化し、栄養として吸収する」ことを通じて他の動物と関わっている。ハエトリソウはアメリカ合衆国のノースカロライナ州およびサウスカロライナ州の湿地帯のみに自生しており、ハエトリソウをはじめとした食虫植物は動物を栄養源とすることで窒素源の乏しい貧困な土地での生育に適応したと考えられている (図 1a; Ellison, 2006)。ハエトリソウの葉は中肋を挟んで左右 2 つの裂片に分かれており、それぞれの裂片の表側に 3 本ずつ感覚毛と呼ばれる多細胞の毛状突起が配置されている (図 1b; Juniper et al, 1989)。ハエトリソウは感覚毛で接触刺激を感受し、2 回の連続した刺激に応じて左右の裂片を閉じ合わせる。閉じた葉身では、葉縁に等間隔に並んだ棘状の鋸歯が互い違いに噛み合い、罠からの獲物の脱出を防ぐ (図 1b, 下段)。捕らえられた獲物が罠の中でもがくと、感覚毛に更なる接触刺激が与えられ、獲物の表面にある化学物質は葉身で感受される。これらの更なる接触刺激もしくは化学刺激が閉合後に葉身で受容されると、葉身の閉合運動よりもゆっくりとした狭窄運動が起こり獲物を締め付け、獲物の消化や栄養素の吸収が促進される。

Charles Darwin はこの植物を “one of the most beautifully adapted plants in the vegetable kingdom” と記載し、18 世紀から 200 年以上もの間多くの研究者が「動物を捕らえる植物」

に魅了され、その仕組みについて研究してきた (Darwin, 1875)。本総説ではこれまでのハエトリソウ研究の歴史を踏まえたうえで、近年解明されはじめた獲物からの刺激受容から連なる一連の捕虫・消化・吸収の分子メカニズムを紹介し、ハエトリソウが獲物との駆け引きをどのように制御しているのかについて解説する。

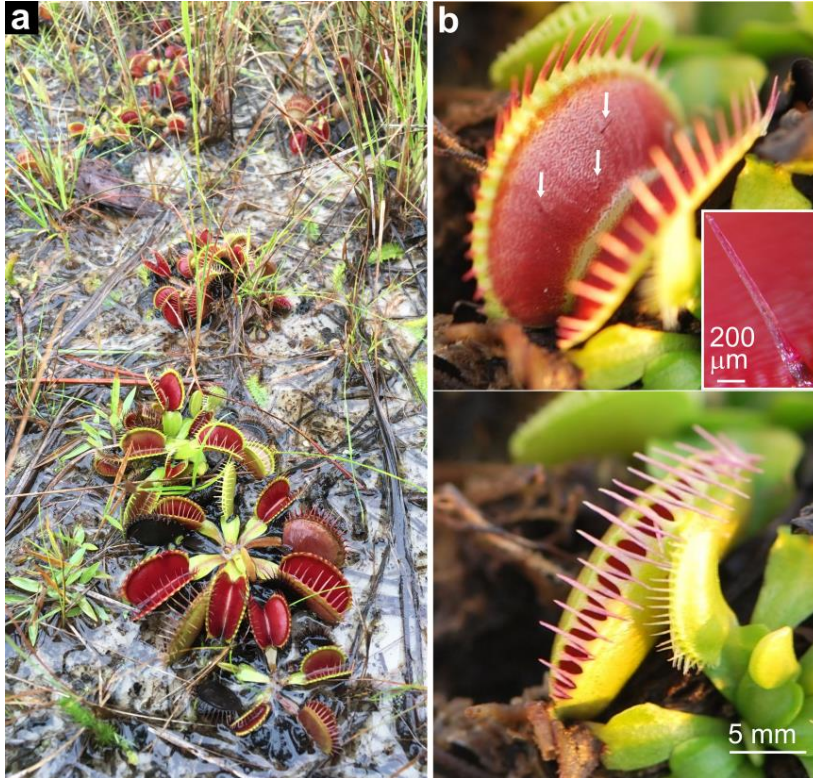


図 1. ハエトリソウ

a, アメリカ合衆国, ノースカロライナ州の湿地帯に自生するハエトリソウ。**b**, 閉合運動前 (上段) と運動後 (下段) のハエトリソウの葉身。片側に 3 本ずつ生えた感覚毛 (白矢印, 挿入図) で獲物の存在を感知する。感覚毛が 2 度の接触刺激を受容すると葉身が閉合運動し, 葉身の辺縁部にある鋸歯が噛み合うように閉じ合わさる。

2. ハエトリソウの捕虫・消化・吸収機構

2-1. 接触刺激の受容機構

感覚毛における接触刺激の受容機構については 18 世紀から考察されてきた。ハエトリソウが *Dionaea muscipula* と名付けられた際には、感覚毛は捕らえた獲物を効果的に殺すための棘であると考えられていた (Ellis & Linné, 1770)。しかしその後、詳細な観察によってこの感覚毛こそが接触刺激の受容能を有する組織であることが明らかになった (Sims, 1804)。感覚毛が接触刺激を受容した際にどのような現象が起こり、運動が引き起こされるのかは長らく未解明であったが、生理学的な研究手法の発展によって、感覚毛では接触刺激を受容すると動物の神経のように電位変化が発生し、葉身上を活動電位として伝播することが発見された (Burdon Sanderson, 1872)。更に、感覚毛のどの細胞が活動電位の発生に必要なのかを詳細に探索する研究が行われ、感覚毛の基部にある接触刺激によって変形する細胞群が、接触刺激に応じた活動電位の発生に必要なことが明らかになった (Benolken & Jacobson, 1970)。これらの細胞群にはポリフェノールの沈着した液胞が見られ、活動電位の発生に必要なイオンのストレージとしての役割を果たしているのではないかと考えられている (Buchen et al., 1983)。

1 度目の接触刺激の受容に引き続いて発生した活動電位はハエトリソウの 2 つの裂片全体に広がる (図 2, ①; Sibaoka, 1966)。ハエトリソウにおける活動電位は 6-17 cm/秒と非常に速い速度で伝播し、特に感覚毛から見て葉身の中央方向に速いことが分かっている。この葉身における中央-側方軸は葉肉細胞の長軸と一致することから、伝播をする際の経路上にある細胞の数が少ないほど伝播速度が速いのではないかと考えられてきた (柴岡, 1981)。2 度目の刺激によって発生した活動電位も同様に 2 つの裂片の全体に広がるが (図 2, ②), この時の脱分極相の持続時間は 1 度目の活動電位よりも短く (Di Palma et al., 1961), また葉身上を伝播する速度については 1 度目の刺激による活動電位に比べて更に早い 25 cm/秒であることが分かっており (Sibaoka, 1980), あらかじめ 1 度接触刺激を与えておくことが 2 度目の活動電位の形成や伝播に何らかの影響を与えていると考えられる。活動電位は電荷を持ったイオンが細胞の内外を移動することによって形成されるため、活動電位にどのようなイオンが関わっているのかがチャンネル阻害剤を用いて精力的に解析されてきた。その結果、カルシウムチャンネル阻害剤やクロライドチャンネル阻害剤によって活動電位の振幅が小さくなることが明らかになっており、カルシウムイオンやクロライドイオンの動態が活動電位において重要な役割を果たしていると考えられる (Krol et al., 2006; Hodick & Sievers, 1988)。

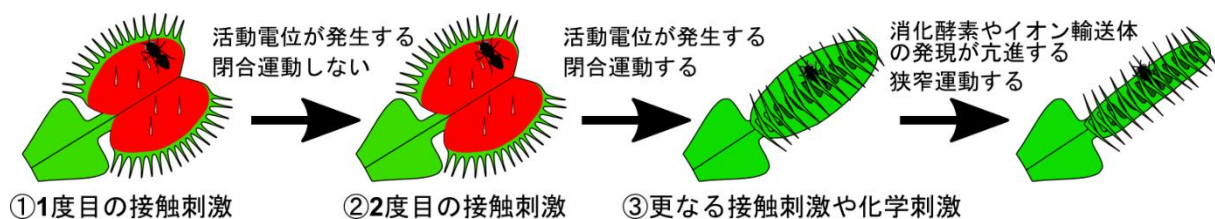


図 2. ハエトリソウが獲物からの受容する刺激と応答

ハエトリソウは 1 度目の接触刺激に応じて閉合運動せず、2 度目の接触刺激に応じて閉合運動することで獲物を捕らえる。閉合運動後に更なる接触刺激や化学刺激を受容することで、消化酵素やイオン輸送体の発現が亢進し、獲物を消化・吸収する。

2-2. 刺激情報の記憶機構

葉身では 2 度の接触刺激に応じた 2 度の活動電位の伝播を経て、閉合運動が起こる (図 2, ②)。1 度目の刺激だけでは運動が起こらないことから、ハエトリソウの葉は 2 度目の刺激が与えられるまで 1 度目の刺激情報を記憶しておくことが出来ると考えられてきた (Macfarlane, 1892)。この記憶は 30 秒程度の間しか維持されず、30 秒以上経過してから 2 度目の刺激を与えても閉合運動が行われないことから、短期的な記憶機構であることが分かっている (Brown & Sharp, 1910)。また、1 度目と 2 度目の接触刺激は同一の感覚毛に 2 度与えても、2 つの異なる感覚毛に 1 度ずつ与えても 2 度目の接触刺激によって運動が起こることが分かっている。ハエトリソウは閉合運動の際にアデノシン三リン酸 (ATP) を消費することが知られており (Williams & Bennett, 1982), この記憶機構によって雨や小石などで引き起

こされる不要な運動による無駄なエネルギーの消費を避け、葉の上に留まる獲物だけを確実に捕らえていると考えられてきた (Juniper et al., 1989)。

2-3. 葉身の運動機構

運動の開始に伴い最初は外側に反り返った葉身の曲率がゆっくりと内向きに変化しはじめるが、続いて外側に反った開状態から内側に反った閉状態へ 100 ミリ秒という短時間で変形が起こり、最後はゆっくりと閉じ終わり 2 度目の刺激から 900 ミリ秒以内に運動が完了する (Forterre et al., 2005)。この葉身運動を開始する力がどのように発生しているかその分子機構は明らかになっていないが、同じく接触刺激に応じて運動を行うオジギソウでは運動時に細胞内からカリウムイオンやクロライドイオンが流出することが知られており (Samejima & Sibaoka, 1980; Toriyama, 1955)、細胞内へのカルシウムイオンの流入に引き続いて、カリウムイオンやクロライドイオンが細胞内から流出することで細胞内の浸透圧が低下し、浸透圧に従って細胞内から水が流出することによって細胞の膨圧の低下が起こり、運動が起こるとするモデルが提唱されてきた (Poppinga et al., 2013)。ハエトリソウでも細胞の膨圧を変化させ運動を引き起こしているとするモデルが考えられており (Poppinga et al., 2013; Brown, 1916)、栽培ポットに含まれる水分量を低下させると葉身運動が阻害されることから、運動に水が何らかの役割を果たしていると考えられる (Escalante-Pérez et al., 2011)。また、ハエトリソウの近縁種であるムジナモ (*Aldrovanda vesiculosa*) はハエトリソウと同じように接触刺激に応じて閉合運動する葉身を有しているが、このムジナモでは閉合運動後に葉が開く際には葉身の表側でカリウムイオンが取り込まれることから、上記モデルで提唱されているように閉合運動時に葉身表側の細胞からカリウムイオンが失われている可能性が指摘されている (Iijima & Sibaoka, 1983)。他にも、 H^+ -ATPase による pH の低下が細胞壁の緩みを誘発し、細胞の膨圧によって細胞が変形することで運動するという仮説も提案されているが、秒単位で完結してしまうハエトリソウの運動を酸成長によって説明することが出来るのかは不明である (Williams & Bennett, 1982)。

運動が開始すると、ハエトリソウの運動はその葉身構造によって高速化されることが力学モデリングにより明らかになっている (Forterre et al., 2005)。ハエトリソウの葉身は運動前には外側に反り返った凹型の形状 (図 1b, 上段) となっており、運動後には内側に反り返った凸型の形状 (図 1b, 下段) となる。これら運動前と運動後の形状は力学的に安定である一方、これらの中間の形状は力学的に不安定であり、1 度運動が開始すると葉身に蓄えられていた弾性エネルギーによって運動が高速化していると考えられている。

2-4. 獲物の消化・吸収機構

閉合運動によって捕らえた獲物の消化・吸収は閉合運動後に繰り返し与えられる接触刺激を受容すること、もしくは獲物の表面からの化学刺激を受容することで開始される (図 2, ③)。刺激に応じてどのようなシグナル経路が活性化するのかについては、qRT-PCR やトランスクリプトーム解析によってその詳細が分かりつつある。閉合運動後に繰り返される接触刺激や化学刺激を受容すると、ジャスモン酸やその前駆体である 12-オキソ-フィトジエン酸

(OPDA) の合成が進み、ジャスモン酸シグナル伝達経路が活性化する (Libiaková et al., 2014; Escalante-Pérez et al., 2011)。この際葉身では狭窄運動と呼ばれる獲物を締め付ける運動が起こる。

ジャスモン酸シグナル伝達経路の活性化に伴い、葉身上にある腺組織で種々の消化酵素の発現亢進が行われる (Bemm et al., 2016)。通常、植物の表皮細胞はクチクラ層によって隙間なく覆われているが、腺組織の表面にあるクチクラ層にはクチクラギャップと呼ばれる小孔が開いており、消化酵素はこのクチクラギャップを通じて腺組織から消化液として分泌されると考えられる (Joel et al., 1983)。プロテオーム解析の結果から、消化液にはキチナーゼやプロテアーゼなどの酵素が含まれることが明らかになっており、獲物の消化に寄与していると考えられる (Schulze et al., 2012)。獲物を捕らえた葉の腺組織では消化酵素のみならず、DmAMT1 や DmHAK5, DmHKT1 などの発現が亢進される (Bemm et al., 2016)。アフリカツメガエルの卵母細胞を用いた double-electrode voltage clamp によって、DmAMT1, DmHAK5, DmHKT1 はそれぞれ、アンモニウムイオン、カリウムイオン、ナトリウムイオンに透過性を持つイオン輸送体であることが明らかになり、消化酵素等によって溶解した獲物の栄養を吸収する機能を担っていると考えられている (Scherzer et al., 2013, 2015; Böhm et al., 2016)。これらイオン輸送体や VF CHITINASE1, SAG12, SCPL49 などの消化酵素の発現はジャスモン酸誘導体のコロナチン (COR) によっても誘導されると共に、ジャスモン酸シグナル伝達経路の阻害剤であるコロナチン O-メチルオキシム (COR-MO) の添加によって阻害される (Bemm et al., 2016; Böhm et al., 2016)。このことから、イオン輸送体や消化酵素の発現亢進はジャスモン酸シグナル伝達経路を介していると考えられる。

ジャスモン酸シグナル伝達経路は、植物では傷害を受けた際に活性化されることが知られている (Wang et al., 2019)。ハエトリソウで虫を捕らえた後に発現上昇する遺伝子群の多くは傷害応答によって発現上昇する遺伝子群と重複しており、食虫性に関連する遺伝子群は傷害応答に関わる遺伝子群から遺伝子重複などを経て獲得された可能性がある (Bemm et al., 2016)。近年の研究から、進化の過程でハエトリソウでは全ゲノム重複やトランスポゾンの増加が起こっていたことが分かっており、こういったゲノム上のイベントが食虫性の獲得に影響を与えた可能性が指摘されている (Palfalvi et al., 2020)。

3. ハエトリソウの捕虫機構におけるカルシウムイオン動態

このようにハエトリソウでは閉合運動後にどのようなシグナル経路が活性化されるのか、遺伝子発現を含めそのメカニズムが分子レベルで解明されつつある。一方で、接触刺激を受容して閉合運動を行うまでの分子機構についてはどのような分子動態の制御によって接触刺激に応答しているのかはほとんど分かっていない。これは、ハエトリソウの運動が2度目の刺激から1秒未満で完結してしまう非常に高速なものであるため、遺伝子の発現変動で制御されているとは考えづらく、非モデル植物でも分子機構の解析に有用なトランスクリプトーム解析や qRT-PCR といった手法では調べる事が出来なかったこと。また、ハエトリソウでは生体での遺伝子の機能や分子動態を調べるのに有用な形質転換技術が確立されていなかったことなどが原因の一部だと考えられる。

我々のグループではハエトリソウの形質転換技術を確立に取り組み、この技術を用いてハエトリソウにおける接触刺激に応じた分子動態を調べた (Suda et al., 2020)。既往研究では薬理的な実験から、接触刺激に応じた活動電位の発生がカルシウムチャンネル阻害剤のランタンイオンによって阻害されること (Hodick & Sievers, 1988)、また、ランタンイオンは葉身の閉合運動も阻害することが知られている (Hodick & Sievers, 1989; Fagerberg & Allain, 1991)。このことから、接触刺激に応じて細胞内カルシウムイオン濃度を変化させることで葉身の記憶機構・運動機構を制御しているとする次のような仮説が提唱されてきた。(1) まず、1度目の接触刺激を行うとそれに応じて活動電位が発生し、細胞内カルシウムイオン濃度が上昇する。(2) 1度目の刺激から30秒以内にただちに2度目の刺激を行うとふたたびカルシウムイオン濃度が上昇し、閾値に到達すると運動が行われる。(3) 一方、1度目の刺激から30秒以上経過してから2度目の刺激を行ってもカルシウムイオン濃度が閾値に到達せず運動が行われない、というものである (図3; Hedrich & Neher, 2018; Hodick & Sievers, 1988)。我々はこの仮説に基づいてカルシウムセンサータンパク質を発現する形質転換ハエトリソウを樹立し、ハエトリソウのカルシウムイオン動態をライブイメージングした。

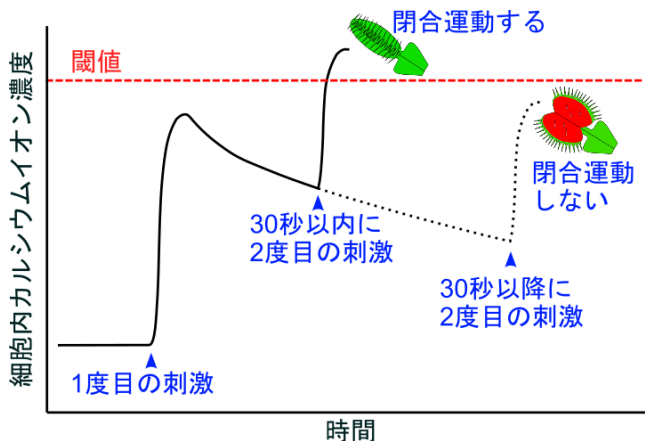


図3. 細胞内カルシウムイオン濃度で制御される記憶機構のモデル図

30秒以内に2度の刺激が与えられると細胞内カルシウムイオン濃度が閾値を超え運動する (黒実線)。1度目の刺激から30秒以降に2度目の刺激が与えられると細胞内カルシウムイオン濃度が閾値を超えず運動しない (黒点線)。

3-1. ハエトリソウの形質転換技術

ハエトリソウの形質転換は、発現させたい遺伝子配列を含んだ pSB111 super-binary vector をアグロバクテリウム LBA4404 株に導入し、これを用いることで実現した (Komari et al., 2006; Hellens et al., 2000)。外植片として暗所で培養した黄化した葉を用意し、外植片とアグロバクテリウムを暗所で3日間共培養することでアグロバクテリウムをハエトリソウの細胞に感染させた。この外植片をホルモンを含まない培地において暗所で培養し続けることによって、形質転換した新しいシュートを得た (Suda et al., 2020; Mano et al., 2014)。確立した形質転換技術を用いて、ハエトリソウにカルシウムセンサータンパク質 GCaMP6f を導入した形質転換株を樹立した (Chen et al., 2013)。GCaMP6f はカルシウムイオンと結合することによってその立体構造が変化し cpEGFP の蛍光を発するタンパク質で、カルシウムイオン濃度の増加に伴い蛍光輝度が上昇する。これをミヤコグサのユビキチンプロモーターによってハエトリソウの全身の細胞質に発現させた (Maekawa et al., 2008)。

3-2. 接触刺激に応じたカルシウムイオン動態

接触刺激に応じたカルシウムイオン濃度の変化を感覚毛において調べるため、この形質転換体の感覚毛の頂端付近に針で力を加えて、感覚毛の角度が変化したのちに針を離すことで接触刺激を与えた。その結果、1度目の刺激、2度目の刺激のいずれにおいても感覚毛の基部で蛍光輝度の上昇が見られた (図 4a)。蛍光輝度の上昇がみられた組織は、上述した接触刺激の受容細胞群と位置が一致していた (Benolken & Jacobson, 1970)。このことからハエトリソウでは接触刺激を受容するとその受容細胞群の細胞質においてカルシウムイオンの濃度上昇が起こっていると考えられる。

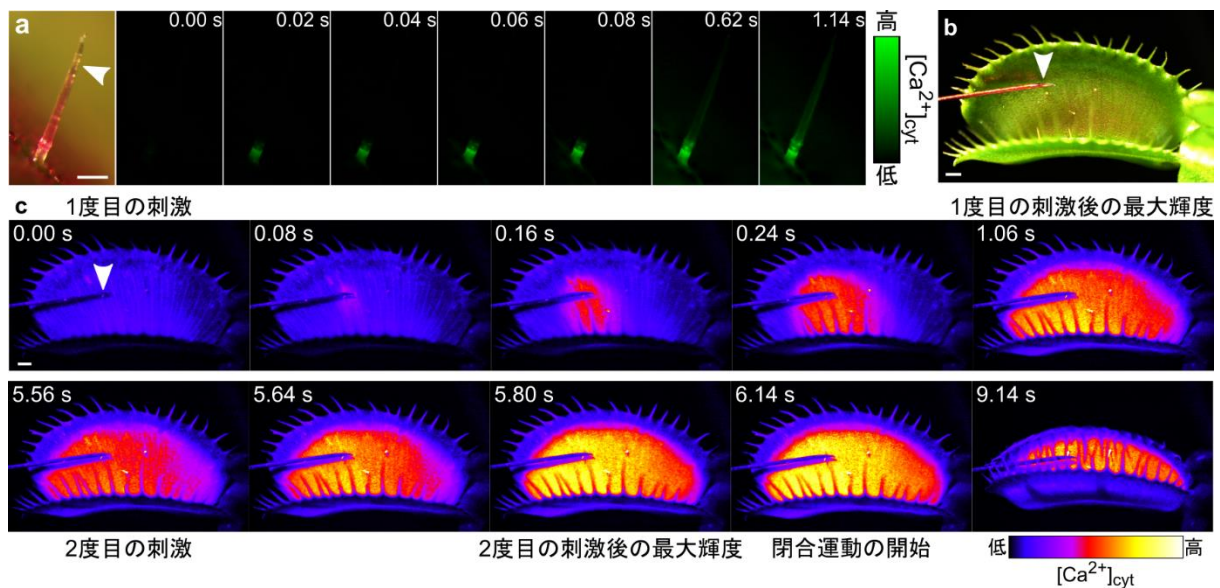


図 4. GCaMP6f 発現株における接触刺激に応じたカルシウムイオン動態

a, GCaMP6f 発現株の感覚毛の明視野画像 (左端) と蛍光画像 (他)。白鏟で示した感覚毛の頂端付近に 1 度目の接触刺激を与えたところ、感覚毛の基部で蛍光輝度が上昇し、刺激から 1.14 秒後に最大輝度となった。**b,c**, GCaMP6f 発現株の葉身の明視野画像 (**b**) と感覚毛に針 (白鏟) で接触刺激を与えた際の蛍光画像 (**c**)。2 度の接触刺激に応じて蛍光輝度が加算的に上昇した後、閉合運動した。カラースケールは、細胞内カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_{cyt}$)。スケールバー (**a**) は 200 μm , (**b,c**) は 1 mm。最大輝度のフレームは撮影範囲全体の平均輝度を用いて求めた。1 度目の刺激からの経過秒数 (s) を蛍光画像に示した。(Suda et al., 2020) より許可を得て改変し、転載。

接触刺激の受容に引き続いて葉身では、感覚毛を中心として同心円状に蛍光輝度の上昇が伝播した (図 4b, c)。この蛍光輝度の上昇は 1 度目の刺激と 2 度目の刺激のいずれにおいても観察され、2 度目の輝度の上昇の後葉身が運動した。輝度の上昇は接触刺激を与えた裂片から与えていない裂片へと伝播し、1 度目の刺激と 2 度目の刺激に応じて葉身上のほぼ同じ範囲で上昇がみられたが、鋸歯を含む葉身の辺縁部、葉身の裏側で左右の裂片を繋いでいる中肋、および葉柄では輝度の上昇が見られず、カルシウムイオン濃度の上昇は刺激を受けた葉身の内限られた領域で起こっていた。以上のことから、ハエトリソウでは接触刺激を受容

した感覚毛から葉身へ細胞内カルシウムイオン濃度の上昇が伝播していき、2度の接触刺激に応じた2度の細胞内カルシウムイオン濃度の上昇の後、運動が起こっていることが明らかになった。接触刺激を受容した葉身内のみでカルシウムシグナルの伝播を行い他の葉へカルシウムシグナルを伝播しないことは、ハエトリソウの葉身が獲物のいる葉のみで運動を行う必要があるという性質と一致している。シロイヌナズナを用いた研究では、創傷刺激に応じたカルシウムシグナルは葉脈を介して周囲の葉へ伝播していくことで全身性の防御応答を活性化させることが知られている (Toyota et al., 2018)。ハエトリソウにおける接触刺激に応じたカルシウムシグナルの伝播には、創傷刺激に応じたカルシウムシグナルの伝播とは異なる経路や仕組みを介している可能性がある。

接触刺激を与えた際に輝度の変化が葉身上を伝播する速度を、刺激を受けた感覚毛から見て葉身の基部方向、先端方向、中央方向、側方方向について調べたところ、速度は伝播する方向で有意に異なり、中央方向への伝播は他の方向への伝播よりも高速であった。また、どの方向についても1度目の刺激に応じたカルシウムシグナルに比べて2度目の刺激に応じたカルシウムシグナルの伝播速度のほうが速かった。これらの性質は活動電位の伝播速度についても見られることから、カルシウムシグナルと活動電位の伝播は同じ仕組みを介して行われている可能性がある (Sibaoka, 1966, 1980)。より詳細なカルシウムシグナルと活動電位の関係を調べるために生体内における活動電位とカルシウムシグナルの同時計測技術の確立が期待される。

3-3. カルシウムイオン動態と閉合運動の関係

葉身における蛍光輝度の変化を定量的に解析したところ、輝度は2度の接触刺激に応じて加算的に増加し、2度目の刺激後の最大輝度は1度目の刺激後の最大輝度よりも高かった。ロジスティック回帰分析の結果から、2度目の刺激直前と2度目の刺激後の最大の細胞内カルシウムイオン濃度には運動を引き起こす特定の閾値が存在することが明らかになった。また、2度の刺激の時間間隔と運動の関係をロジスティック回帰分析によって調べたところ、1度目の刺激後の最大輝度から30.88秒経過すると2度目の刺激で運動が起こらなくなることが分かり、既往研究で計測されていた記憶を維持できる時間とほぼ一致していた (Brown & Sharp, 1910)。1度目の刺激によって上昇した蛍光輝度は2度目の刺激を与えなければ時間経過によって徐々に減衰し、30.88秒後には運動を引き起こす輝度の閾値の95%信頼区間まで達したことから、カルシウムイオン濃度が閾値以下まで減衰するのにかかる時間とハエトリソウが記憶を保持できる時間は一致することが分かった。

2度の接触刺激以外の方法でカルシウムイオン動態と運動の関係を調べたところ、(1) 1度目の刺激から30秒以上経過してから2度目の刺激を与えた場合にはカルシウムイオン濃度は閾値に到達せず運動が起こらないが、続けて3度目の刺激を与えると輝度が閾値に到達してから運動が起こる。(2) 葉を葉柄で切断して切断面を水に浸すと接触刺激を与えずとも、輝度が2度上昇し閾値に到達してから葉が閉合する。(3) カルシウムチャンネル阻害剤であるランタンイオンを用いて、カルシウムイオン濃度の上昇を阻害すると、1度目の刺激によって輝度の上昇が観察されるが、2度目以降の刺激では輝度はほとんど上昇せずに閾値に

到達せず、運動が起こらないということが分かった。これらの結果は細胞内カルシウムイオン濃度が2回の刺激で加算的に増加し、閾値を超えたときにのみ葉身運動が起こるとする仮説を支持していた (図3)。以上のことから、ハエトリソウでは獲物からの接触刺激を感受すると細胞内のカルシウムイオン濃度が上昇すること、また、2度の刺激に応じた細胞内カルシウムイオンの動態によって閉合運動の制御機構を説明できることが明らかになった。

4. おわりに

ハエトリソウの形質転換技術が確立されたことで逆遺伝学を用いた分子機構の解析が可能となった。近年はカルシウムイオンのみならず、クロライドイオンやカリウムイオン、さらにはホルモン分子に結合するバイオセンサーの開発も進んでいる (Larrieu et al., 2015; Zhong et al., 2014; Shen et al., 2019)。様々なバイオセンサーを導入した生体の解析によって、活動電位を始めとした秒単位の生理現象の分子メカニズムが明らかになると考えられる。また、形質転換技術は外来遺伝子の導入のみならず、CRISPR-Cas9 システムを用いた遺伝子ノックアウト技術に应用することができる。どのような遺伝子がハエトリソウの捕虫・消化・吸収機構に関わるのか解析が進むことによって、獲物と食虫植物の相互作用に関わる新たな分子メカニズムが明らかになることが期待される。

謝辞

本稿で紹介した研究を進めるにあたりご指導をいただきました、基礎生物学研究所の長谷部光泰 教授および真野弘明 特任助教、埼玉大学の豊田正嗣 准教授、Würzburg 大学の Rainer Hedrich 教授および福島健児 博士、神戸大学の三村徹郎 名誉教授、一橋大学の筒井泉雄 特任教授、宇都宮大学の玉田洋介 准教授にこの場を借りてお礼を申し上げます。また、研究の遂行にあたり植物栽培をご支援いただきました基礎生物学研究所モデル植物研究支援室および松崎陽子 技術支援員、ベクターを分与いただきました日本たばこ産業株式会社およびナショナルバイオリソースプロジェクト (ミヤコグサ・大豆) に感謝申し上げます。本研究は、日本学術振興会 (課題番号 17J08569, 17H05007, 18H05491, 18H04790, 6K14761, 17H06390) および DFG-funded Reinhart Koselleck project (HE 1640/42-1) による支援を得て行われました。最後に、本総説の執筆機会をくださいました東北大学の経塚淳子 教授、熊本大学の澤進一郎 教授に感謝申し上げます。

引用文献

- Bemm, F., Becker, D., Larisch, C., Kreuzer, I., Escalante-perez, M., Schulze, W.X., Ankenbrand, M., Weyer, A. Van De, Krol, E., Al-rasheid, K.A., Mithöfer, A., Weber, A.P., Schultz, J., & Hedrich, R. 2016. Venus flytrap carnivorous lifestyle builds on herbivore defense strategies. *Genome Res.* 26: 812–825.
- Benolken, R.M. & Jacobson, S.L. 1970. Response properties of a sensory hair excised from Venus's flytrap. *J. Gen. Physiol.* 56: 64–82.
- Böhm, J., Scherzer, S., Krol, E., Kreuzer, I., von Meyer, K., Lorey, C., Mueller, T.D., Shabala, L., Monte, I., Solano, R., Al-Rasheid, K.A.S., Rennenberg, H., Shabala, S., Neher, E., & Hedrich, R. 2016. The

- Venus Flytrap *Dionaea muscipula* Counts Prey-Induced Action Potentials to Induce Sodium Uptake. *Curr. Biol.* 26: 286–295.
- Brown, W.H. & Sharp, L.W.. 1910. The Closing Response in *Dionaea*. *Bot. Gaz.* 49: 290–302.
- Brown, W.H. (1916). The Mechanism of Movement and the Duration of the Effect of Stimulation in the Leaves of *Dionaea*. *Am. J. Bot.* 3: 68.
- Buchen, B., Hensel, D., & Sievers, A. 1983. Polarity in mechanoreceptor cells of trigger hairs of *Dionaea muscipula* Ellis. *Planta* 158: 458–468.
- Burdon Sanderson, J. 1872. Note on the electrical phenomena which accompany irritation of the leaf of *Dionaea muscipula*. *Proc. R. Soc. London* 21: 495–496.
- Chen, T.-W., Wardill, T.J., Sun, Y., Pulver, S.R., Renninger, S.L., Baohan, A., Schreiter, E.R., Kerr, R.A., Orger, M.B., Jayaraman, V., Looger, L.L., Svoboda, K., & Kim, D.S. 2013. Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature* 499: 295–300.
- Darwin, C. 1875. Insectivorous plants. Murray, J.. London.
- Ellis, J. & Linné, C. von 1770. Directions for bringing over seeds and plants, from the East-Indies and other distant countries, in a state of vegetation : together with a catalogue of such foreign plants as are worthy of being encouraged in our American colonies, for the purposes of me. Davis, L.. London.
- Ellison, A.M. 2006. Nutrient Limitation and Stoichiometry of Carnivorous Plants. *Plant Biol.* 8: 740–747.
- Escalante-Pérez, M., Krol, E., Stange, A., Geiger, D., Al-Rasheid, K.A.S., Hause, B., Neher, E., & Hedrich, R. 2011. A special pair of phytohormones controls excitability, slow closure, and external stomach formation in the Venus flytrap. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108: 15492–7.
- Fagerberg, W.R. & Allain, D. 1991. A Quantitative Study of Tissue Dynamics During Closure in the Traps of Venus's Flytrap *Dionaea muscipula*. *Am. J. Bot.* 78: 647–657.
- Forterre, Y., Skotheim, J.M., Dumais, J., & Mahadevan, L. 2005. How the Venus flytrap snaps. *Nature* 433: 421–425.
- Hedrich, R. & Neher, E. 2018. Venus Flytrap: How an Excitable, Carnivorous Plant Works. *Trends Plant Sci.* 23: 220–234.
- Hellens, R., Mullineaux, P., & Klee, H. 2000. Technical Focus: A guide to *Agrobacterium* binary Ti vectors. *Trends Plant Sci.* 5: 446–451.
- Hodick, D. & Sievers, A. 1989. On the mechanism of trap closure of Venus flytrap (*Dionaea muscipula* Ellis). *Planta* 179: 32–42.
- Hodick, D. & Sievers, A. 1988. The action potential of *Dionaea muscipula* Ellis. *Planta* 174: 8–18.
- Iijima, T. & Sibaoka, T. 1983. Movements of K⁺ during shutting and opening of the trap-lobes in *Aldrovanda vesiculosa*. *Plant Cell Physiol.* 24: 51–60.
- Joel, D.M., Rea, P.A., & Juniper, B.E. 1983. The cuticle of *Dionaea muscipula* Ellis (Venus's Flytrap) in relation to stimulation, secretion and absorption. *Protoplasma* 114: 44–51.
- Juniper, B.E., Robins, R.J., & Joel, D.M. 1989. The Carnivorous Plants. Academic Press. London.
- Komari, T., Takakura, Y., Ueki, J., Kato, N., Ishida, Y., & Hiei, Y. 2006. Binary Vectors and Super-binary Vectors. *Methods Mol. Biol.* 343: 15–42.

- Krol, E., Dziubinska, H., Stolarz, M., & Trebacz, K. 2006. Effects of ion channel inhibitors on cold- and electrically-induced action potentials in *Dionaea muscipula*. *Biol. Plant.* 50: 411–416.
- Larrieu, A., Champion, A., Legrand, J., Lavenus, J., Mast, D., Brunoud, G., Oh, J., Guyomarc'h, S., Pizot, M., Farmer, E.E., Turnbull, C., Vernoux, T., Bennett, M.J., & Laplace, L. 2015. A fluorescent hormone biosensor reveals the dynamics of jasmonate signalling in plants. *Nat. Commun.* 6: 6043.
- Libiaková, M., Floková, K., Novák, O., Slovákova, L., & Pavlovič, A. 2014. Abundance of cysteine endopeptidase dionain in digestive fluid of Venus flytrap (*Dionaea muscipula* Ellis) is regulated by different stimuli from prey through jasmonates. *PLoS One* 9: e104424.
- Macfarlane, J.M. 1892. Contributions to the history of *Dionaea muscipula* Ellis. *Contr. Bot. Lab. Univ. Pennsylvania* 1: 7–44.
- Maekawa, T., Kusakabe, M., Shimoda, Y., Sato, S., Tabata, S., Murooka, Y., & Hayashi, M. 2008. Polyubiquitin Promoter-Based Binary Vectors for Overexpression and Gene Silencing in *Lotus japonicus*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 21: 375–382.
- Mano, H., Fujii, T., Sumikawa, N., Hiwatashi, Y., & Hasebe, M. 2014. Development of an Agrobacterium-Mediated Stable Transformation Method for the Sensitive Plant *Mimosa pudica*. *PLoS One* 9: e88611.
- Palfalvi, G., Hackl, T., Terhoeven, N., Shibata, T.F., Nishiyama, T., Ankenbrand, M., Becker, D., Förster, F., Freund, M., Iosip, A., Kreuzer, I., Saul, F., Kamida, C., Fukushima, K., Shigenobu, S., Tamada, Y., Adamec, L., Hoshi, Y., Ueda, K., Winkelmann, T., Fuchs, J., Schubert, I., Schwacke, R., Al-Rasheid, K., Schultz, J., Hasebe, M., & Hedrich, R. 2020. Genomes of the Venus Flytrap and Close Relatives Unveil the Roots of Plant Carnivory. *Curr. Biol.* 30: 2312-2320.e5.
- Di Palma, J.R., Mohl, R., & Best, W. 1961. Action Potential and Contraction of *Dionaea muscipula* (Venus Flytrap). *Science.* 133: 878–879.
- Poppinga, S., Masselter, T., & Speck, T. 2013. Faster than their prey: New insights into the rapid movements of active carnivorous plants traps. *BioEssays* 35: 649–657.
- Samejima, M. & Sibaoka, T. 1980. Changes in the extracellular ion concentration in the main pulvinus of *Mimosa pudica* during rapid movement and recovery. *Plant Cell Physiol.* 21: 467–479.
- Scherzer, S., Böhm, J., Krol, E., Shabala, L., Kreuzer, I., Larisch, C., Bemm, F., Al-Rasheid, K.A.S., Shabala, S., Rennenberg, H., Neher, E., & Hedrich, R. 2015. Calcium sensor kinase activates potassium uptake systems in gland cells of Venus flytraps. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112: 7309–14.
- Scherzer, S., Krol, E., Kreuzer, I., Kruse, J., Karl, F., von Rüden, M., Escalante-Perez, M., Müller, T., Rennenberg, H., Al-Rasheid, K.A.S., Neher, E., & Hedrich, R. 2013. The *Dionaea muscipula* Ammonium Channel *DmAMT1* Provides NH₄⁺ Uptake Associated with Venus Flytrap's Prey Digestion. *Curr. Biol.* 23: 1649–1657.
- Schulze, W.X., Sanggaard, K.W., Kreuzer, I., Knudsen, A.D., Bemm, F., Thogersen, I.B., Bräutigam, A., Thomsen, L.R., Schliesky, S., Dyrland, T.F., Escalante-Perez, M., Becker, D., Schultz, J., Karring, H., Weber, A., Hojrup, P., Hedrich, R., & Enghild, J.J. 2012. The Protein Composition of the Digestive Fluid from the Venus Flytrap Sheds Light on Prey Digestion Mechanisms. *Mol. Cell.*

- Proteomics* 11: 1306–1319.
- Shen, Y., Wu, S.-Y., Rancic, V., Aggarwal, A., Qian, Y., Miyashita, S.-I., Ballanyi, K., Campbell, R.E., & Dong, M. 2019. Genetically encoded fluorescent indicators for imaging intracellular potassium ion concentration. *Commun. Biol.* 2: 18.
- Sibaoka, T. 1980. Action Potentials and Rapid Plant Movements. Skoog, F. (ed) *Plant Growth Substances*. 462–469. Springer-Verlag, Berlin.
- Sibaoka, T. 1966. Action potentials in plant organs. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 20: 49–73.
- 柴岡孝雄 1981. 動く植物. 東京大学出版会. 東京.
- Sims, J. 1804. [785]DIONAEA MUSCIPULA. VENUS'S FLY-TRAP. Sims, J. (ed) *Curtis's botanical magazine*. 20: 785. Couchman, S.. London.
- Suda, H., Mano, H., Toyota, M., Fukushima, K., Mimura, T., Tsutsui, I., Hedrich, R., Tamada, Y., & Hasebe, M. 2020. Calcium dynamics during trap closure visualized in transgenic Venus flytrap. *Nat. Plants* 6: 1219–1224.
- Toriyama, H. 1955. Observational and experimental studies of sensitive plants VI. The migration of potassium in the primary pulvinus. *Cytologia (Tokyo)*. 20: 367–377.
- Toyota, M., Spencer, D., Sawai-Toyota, S., Jiaqi, W., Zhang, T., Koo, A.J., Howe, G.A., & Gilroy, S. 2018. Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling. *Science*. 361: 1112–1115.
- Wang, J., Wu, D., Wang, Y., & Xie, D. 2019. Jasmonate action in plant defense against insects. *J. Exp. Bot.* 70: 3391–3400.
- Williams, S.E. & Bennett, A.B. 1982. Leaf Closure in the Venus Flytrap: An Acid Growth Response. *Science*. 218: 1120–1122.
- Zhong, S., Navaratnam, D., & Santos-Sacchi, J. 2014. A Genetically-Encoded YFP Sensor with Enhanced Chloride Sensitivity, Photostability and Reduced pH Interference Demonstrates Augmented Transmembrane Chloride Movement by Gerbil Prestin (SLC26a5). *PLoS One* 9: e99095.