

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 24 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21570064

研究課題名（和文） 陸上植物の形態形成と重力
-植物ホルモンを介した抗重力メカニズム-研究課題名（英文） Morphogenesis of land plants and gravity
- Mechanism of their resistance to gravity mediated by plant hormones -

研究代表者

唐原 一郎 (KARAHARA ICHIROU)

富山大学・大学院理工学研究部・准教授

研究者番号：60283058

研究成果の概要（和文）：リグニン形成は植物が陸上進出する際に獲得した重要な抗重力反応である。リグニン形成を含めた植物の抗重力反応に植物ホルモンが関与するか否かを検証した。過重力刺激を与えたシロイヌナズナのトランスクリプトーム解析から、過重力により発現変化する遺伝子の中でオーキシン関連のものが多く含まれることが確認された。そこで過重力を与えた *DR5::GUS* 形質転換体を用いて過重力処理区と 1G 対照区において *DR5::GUS* の発現を調べた。その結果 *DR5::GUS* 形質転換体の花茎において強い GUS 発現が検出された。またそのときの花茎におけるリグニン合成関連遺伝子の発現は増加した。次にシュート頂からのオーキシンの供給を絶つ目的で摘芯処理を行った *DR5::GUS* 形質転換体に過重力を与え解析を行った結果、過重力による花茎内の GUS 発現増加は見られず、リグニン合成関連遺伝子の発現も増加しなかった。このことから過重力による花茎におけるリグニン形成の促進には内生オーキシン量の増加が関与することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Lignin formation in secondary cell walls is assumed to be essential for the evolution of land plants. Our microarray analysis of hypergravity-treated *Arabidopsis* inflorescence stems revealed that expression of genes involved in auxin signaling was modulated in response to hypergravity as well as those which are involved in lignin biosynthesis. Hypergravity treatment at 300 g significantly increased β -glucuronidase activity in inflorescence stems of *DR5::GUS* plants, indicating that endogenous auxin accumulation was enhanced by hypergravity treatment. The hypergravity-related increased expression levels of both *DR5::GUS* and lignin biosynthesis-related genes in inflorescence stems were suppressed after disbudding, indicating that the increased expression of lignin biosynthesis-related genes is dependent on an increase in auxin influx from the shoot apex.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・形態・構造

キーワード：(1)植物 (2)形態・構造 (3)重力 (4)細胞壁 (5)植物ホルモン

1. 研究開始当初の背景

植物が水中から陸上に進出することにより、植物体にかかる重力は見かけ上6倍に増加した。それ以降、重力は陸上植物の生活環の全過程に常にはたらき、陸上植物の形態形成に多大な影響を及ぼしている。陸上植物の形態形成を重力の観点から見ると、植物は芽生え生長の初期において重力ベクトルの方向をシグナルとして利用し（重力屈性）、体作りの方向を決める。その後は個々の細胞が、重力の大きさとともに、同化物質の大部分を投資して、細胞壁を作りさらに支持組織などを分化させる。芽生えの生長には、主に一次細胞壁（一次壁）の構築制御が重要であるが、植物体が大きくなると、リグニンを含む二次細胞壁（二次壁）のそれが重要となる。木本植物の進化の鍵は、リグニン合成システムを獲得して二次壁を形成し、さらに二次木部を発達させたことである、と言われるように、重力は物理的環境要因の中で最も強力な淘汰圧として植物を進化させてきた要因であると言っても過言ではない。当初、重力に関わる現象として明らかになっていたのは、大まかに言うと重力屈性、ペグ形成、自発的形態形成とオーキシン極性移動、一次壁の構築制御などに限られるものであり、著者らの研究により、減少として二次壁の構築にも重力に関わることを示す実験的証拠がようやく得られはじめたところであった。

2. 研究の目的

筆者らは、植物が陸上進出する際に獲得した重要なステップであり、また樹木の生長ひいては木質バイオマス形成過程である二次生長における特徴的な過程でもあるリグニン形成を手がかりとし、過重力環境下においた植物花茎を用いて、リグニン形成に与える重力の影響を遺伝子レベルで明らかにすることをまず目指し、同時に様々な重力環境に影響を受ける現象を遺伝子発現レベルで洗い出すことを目指した。そして、リグニン形成を含めたいわゆる抗重力の反応を始めとする、植物の生活環の様々な過程の生理現象の制御において、植物ホルモンが関与するか否かの手がかりを得ることを目的とし、まずは長期間の過重力を与えて植物を栽培するための実験系の確立を目指した。

3. 研究の方法

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* L. Heynh ecotype Columbia) の野生型の花茎が 5 mm の長さになった植物 (Boyes ら(2001) の発達段階の分類によれば Stage No. 5 に相当) を選び、遠

心機を用いて 25°C の条件で暗所で 300 G の過重力を茎から根の方向に向けて 24 時間与えた。1 G 対照区としては、25°C の条件で暗所で 24 時間静置した。これらの植物を用いてトランスクリプトーム解析を行った。

過重力が促進するリグニン形成に花茎内のオーキシン動態が関与するか否かを明らかにするため、オーキシン応答性プロモーターの下流にレポーター遺伝子をつないだコンストラクト (*DR5::GUS*) を導入したシロイヌナズナの形質転換体を用いて、オーキシン動態を可視化した。

4. 研究成果

過重力刺激を与えた植物のトランスクリプトーム解析から、過重力処理直後の花茎においてオーキシンに関与する多くの遺伝子の発現が 2 倍以上または 0.5 倍以下に変化することがわかった。このことから、過重力刺激によって花茎内の内生オーキシン量に変化することが示唆された。

そこで過重力を与えた *DR5::GUS* 形質転換体を用いて過重力処理区と 1 G 対照区において *DR5::GUS* の発現を調べた。その結果 *DR5::GUS* 形質転換体の花茎において強い GUS 発現が検出された (図 1)。またそのときの花茎におけるリグニン合成関連遺伝子の発現は増加した。次にシュート頂からのオ



図 1 過重力を与えた直後の *DR5::GUS* 形質転換体の花茎における GUS 発現に対する摘芯処理の影響

ーキシンの供給を絶つ目的で摘芯処理を行った *DR5::GUS* 形質転換体に過重力を与え解析を行った。その結果、過重力による花茎内の GUS 発現増加は見られず、リグニン合成関連遺伝子の発現も増加しなかった (図 2)。

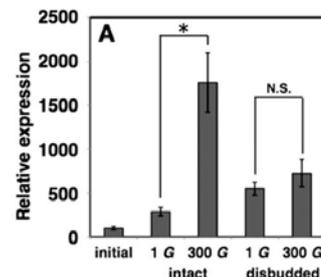


図 2 シロイヌナズナの花茎における過重力によるリグニン合成系遺伝子 *ATP2* の発現の促進に対する摘芯処理の影響

この結果、過重力による花茎におけるリグニン形成の促進には内生オーキシン量の増加が関与することが示唆された。これらの結果は花茎における抗重力反応にオーキシンが関与することを強く示唆する。

長期間の過重力を与えて植物を栽培するための実験系の確立を目指し、九州大学の久米篤博士と共同で「植物培養方法及び植物培養装置」の特許を取得した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件) *責任著者

①Tamaoki D, *Karahara, I., Nishiuchi T, Wakasugi T, Yamada K, Kamisaka S, Involvement of auxin dynamics in hypergravity-induced promotion of lignin-related genes expression in Arabidopsis inflorescence stems, J. Exp. Bot. 62: 5463-5469 (2011) 査読有

②須藤宇道, *唐原一郎, 山口 駿, 玉置大介, 矢野幸子, 谷垣文章, 島津 徹, 福井啓二, 笠原春夫, 榎田大輔, 山内大輔, 竹内美由紀, 峰雪芳宣, 上杉健太朗, 笠原宏一, 山田晃弘, 西谷和彦, 保尊隆享, 神阪盛一郎, Space Seed - 微小重力環境下におけるシロイヌナズナの生殖成長, Space Utiliz. Res., 27, 147-150 (2011) 査読無

③*神阪盛一郎, 唐原一郎, 笠原宏一, 山田晃弘, 矢野幸子, 谷垣文章, 笠原春夫, 榎田大輔, 嶋津 徹, 福井啓二, 西谷一彦, 保尊隆享, 国際宇宙ステーションでの Space Seed 実験, 生物工学 88(6), 288-291 (2010) 査読有

④*唐原一郎, 新谷 悠, 玉置大介, 神阪盛一郎, 異なる重力環境がシロイヌナズナの芽生えの成長に与える影響, Space Utiliz. Res., 26, 173-175 (2010) 査読無

⑤Tamaoki, D., *Karahara, I., Nishiuchi T., Oliveira, S.D., Schreiber, L., Wakasugi, T., Yamada, K., Yamaguchi, K., Kamisaka, S., Transcriptome profiling in Arabidopsis inflorescence stems grown under hypergravity in terms of cell walls and plant hormones, Adv. Space Res. 44: 245-253 (2009) 査読有

⑥*Karahara, I., Tamaoki, D., Nishiuchi T., Schreiber, L., Kamisaka, S., Effects of

altered gravity conditions on lignin and secondary wall formation in herbaceous dicots and woody plants, Biol. Sci. Space, 23, 177-182 (2009) 査読有

⑦小林麻衣, 玉置大介, *唐原一郎, 神阪盛一郎, エチレン非感受性シロイヌナズナ突然変異体の花茎におけるリグニン生合成関連遺伝子の発現に対する過重力刺激の影響, Space Utiliz. Res., 25, 6-8 (2009) 査読無

⑧須藤宇道, 浅野智哉, 玉置大介, *唐原一郎, 西内 巧, 神阪盛一郎, シロイヌナズナの花芽に対する過重力の影響についてのプロテオーム解析, Space Utiliz. Res., 25, 12-14 (2009) 査読無

[学会発表] (計 18 件)

①唐原一郎, 須藤宇道, 矢代宇視, 山口 駿, 玉置大介, 矢野幸子, 谷垣文章, 嶋津 徹, 笠原春夫, 笠原宏一, 曾我康一, 保尊隆享, 神阪盛一郎, 国際宇宙ステーション「きぼう」におけるシロイヌナズナの生活環, 第 53 回日本植物生理学会年会, 2012 年 3 月 16 日~18 日, 京都産業大学, 京都

②唐原一郎, 根の内部組織の発達に与える環境ストレスの影響, 第 123 回日本森林学会大会, 2012 年 3 月 26 日~29 日, 宇都宮大学, 栃木, 招待講演

③唐原一郎, 須藤宇道, 山口 駿, 玉置大介, 矢野幸子, 谷垣文章, 島津 徹, 笠原春夫, 笠原宏一, 神阪盛一郎, 国際宇宙ステーション「きぼう」におけるシロイヌナズナの栄養成長および生殖成長, 日本宇宙生物科学会第 25 回大会 2011.9.30-10.1 横浜国立大学, 横浜

④弦巻伸, 笠原宏一, 唐原一郎, 矢野幸子, 谷垣文章, 嶋津 徹, 笠原春夫, 神阪盛一郎 国際宇宙ステーション「きぼう」で生長したシロイヌナズナ花茎の微細構造, 日本宇宙生物科学会第 25 回大会 2011.9.30-10.1 横浜国立大学, 横浜

⑤唐原一郎, 須藤宇道, 山口 駿, 玉置大介, 矢野幸子, 谷垣文章, 島津 徹, 福井啓二, 笠原春夫, 榎田大輔, 山内大輔, 竹内美由紀, 峰雪芳宣, 上杉健太朗, 笠原宏一, 山田晃弘, 西谷和彦, 保尊隆享, 西内 巧, 神阪盛一郎, 微小重力環境下におけるシロイヌナズナの栄養および生殖成長, 日本植物学会第 75 回大会, 2011.9.17-19, 東京大学, 東京

⑥ Karahara, I., Bando T, Tamaoki D, Yamauchi D, Uesugi K, Mineyuki Y, Promotion of lysigenous aerenchyma formation in rice roots under osmotic stress -Visualization using X-ray Computed Tomography-, 7th International Conference on Structure and Function of Roots, Novy Smokovec, Slovakia, September 5-9, 2011, (Invited, Plenary lecture)

⑦ 唐原一郎, -重力と植物- 植物から学ぶ技術, 富山大学イブニング技術交流サロン, 2011.6.3, オークスカナルパークホテル富山, 富山

⑧ Karahara I, Suto T, Yamaguchi T, Tamaoki D, Yano S, Tanigaki F, Shimazu T, Kasahara H, Kasahara H, Kamisaka S, Vegetative and reproductive growth of Arabidopsis under microgravity, XVIII 18th International Botanical Congress, Melbourne, 24 - 30, July 2011.

⑨ 須藤宇道, 唐原一郎, 山口 駿, 玉置大介, 矢野幸子, 谷垣文章, 島津 徹, 福井啓二, 笠原春夫, 榎田大輔, 山内大輔, 竹内美由紀, 峰雪芳宣, 上杉健太郎, 笠原宏一, 山田晃弘, 西谷和彦, 保尊隆享, 神阪盛一郎, Space Seed - 微小重力環境下におけるシロイヌナズナの生殖成長, 第27回宇宙利用シンポジウム, 2011.1.24-25, JAXA 宇宙科学研究所, 相模原

⑩ 唐原一郎, 山内大輔, X線CTによる種子と実生の形態解析, 日本植物学会第74回大会シンポジウム, 2010.9.8-11, 中部大学, 春日井

⑪ S Yano, F Tanigaki, T Shimazu, H Kasahara, T Nakamura, I Karahara, T Hoson, S Kamisaka Preparation and operation of space-based experiment on plant growth in kibo, named space seed, 38th COSPAR Scientific Assembly 2010, 18-24 July, Bremen Exhibition & Conference Center, Germany.

⑫ M Kobayashi, D Tamaoki, I Karahara, S Kamisaka (2010), Effect of hypergravity stimulus on gene expression related to lignin formation in inflorescence stems of ethylene-insensitive Arabidopsis mutant ein3-1, 38th COSPAR Scientific Assembly 2010, 18-24 July, Bremen Exhibition & Conference Center, Germany.

⑬ 唐原一郎, 新谷 悠, 安藤名央子, 玉置大

介, 神阪盛一郎, 異なる重力環境がシロイヌナズナの芽生えの成長に与える影響, 第32回根研究集会, 2010.4.20-21, 農研機構・作物研究所, つくば市

⑭ 唐原一郎, 新谷 悠, 玉置大介, 神阪盛一郎, 異なる重力環境がシロイヌナズナの芽生えの成長に与える影響, 第26回宇宙利用シンポジウム, 2010.1.25-26, JAXA 宇宙科学研究所, 相模原

⑮ Sutoh, T., Asano, T., Tamaoki, D., Karahara, I., Nishiuchi, T., Kamisaka, S. Proteome analysis of hypergravity effect on flower buds in Arabidopsis thaliana, 23rd Annual Meeting of JSBSS, Tsukuba The 23rd Annual Meeting of Japanese Society for Biological Sciences in Space, October 2-3, 2009, Tsukuba Space Center, JAXA, Tsukuba, Japan

⑯ Shinohara, H., I. Karahara, Kume A., Tamaoki, D., Inoue, H., Kamisaka, S. Effects of long-term hypergravity on the shoot development of Arabidopsis plants, 23rd Annual Meeting of Japanese Society for Biological Sciences in Space, October 2-3, 2009, Tsukuba Space Center, JAXA, Tsukuba, Japan

⑰ 岡本絵美, 唐原一郎, 須藤宇道, 神阪盛一郎, 国際宇宙ステーション日本実験棟「きぼう」での植物実験「Space Seed」～筑波宇宙センターとケネディ宇宙センターでの播種作業を終えて～, 2009年度富山大学コラボフェスタ, 2009.7.7, オークスカナルパークホテル, 富山

⑱ 唐原一郎, 玉置大介, 神阪盛一郎, 植物は宇宙で生活環を全うできるか?～国際宇宙ステーションでの植物実験「Space Seed」～, 2009年度富山大学コラボフェスタ, 2009.7.7, オークスカナルパークホテル, 富山

〔図書〕(計2件)

① 唐原一郎, 「全載電子顕微鏡法」p751 「超高压電子顕微鏡」p864 「内皮」p958 生物学辞典(共著), 石川統編, 東京化学同人, (2010)

② 唐原一郎, 「根」pp. 32-39 「植物細胞」pp.68-79 「細胞膜を横切る物質輸送」pp. 80-85, 新しい植物科学(共著), 培風館, pp. 32-39 (2010)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況（計 1 件）

名称：植物培養方法及び植物培養装置

発明者：久米 篤, 唐原 一郎

権利者：国立大学法人富山大学

種類：特許

番号：特許第 4899052 号

取得年月日：平成 24 年 1 月 13 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

①唐原一郎(2009) , 宇宙実験サクッと解説：Space Seed 編, 宇宙航空研究開発機構ウェブサイト ,
http://kibo.jaxa.jp/experiment/theme/first/spaceseed/kaisetsu_1.html

②唐原一郎(2009) , 地球の重力は植物の進化にどのような役割を果たしたのだろうか, 富山大学理学部ウェブサイト・トピックス,
http://www.sci.u-toyama.ac.jp/topics_old/topics

6. 研究組織

(1) 研究代表者

唐原一郎 (KARAHARA ICHIROU)

富山大学・大学院理工学研究部・准教授

研究者番号：60283058

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：