

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24620008

研究課題名(和文)植物の茎の重力屈性機構の解明：屈性制御を司る鍵物質の探索と組織張力の観点から

研究課題名(英文)Studies on the mechanism of graviresponses in plants from the aspect of plant growth regulators and growth physiology

研究代表者

宮本 健助 (Miyamoto, Kensuke)

大阪府立大学・高等教育推進機構・教授

研究者番号：10209942

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：擬似微小重力環境模擬装置(3次元クリノスタット)を活用し、植物の重力に応答した成長・発達の制御機構を成長生理学、並びに植物生理活性物質科学の観点から研究した。その結果、エンドウ芽生えの茎の負の重力屈性に重力側の組織張力変化が関わること、頂芽切除処理により誘導される側芽の成長が疑似微小重力下で促進されること、頂端鉤状部の成長・発達が重力の支配下にあることなどを明らかにした。また、重力刺激に応答して量的変化を示す成長抑制物質の存在を示した。加えて、オーキシン極性移動制御物質を探索した結果、ニガヨモギから新規天然オーキシン極性移動阻害物質(artabolideと命名)などを単離・同定した。

研究成果の概要(英文)：Gravitational force on Earth is one of the major environmental factors affecting plant growth. A 3-dimensional (3D) clinostat as simulator of microgravity conditions in space or weightlessness has been available to clarify the effects of gravistimulation on Earth. Studies on regulatory mechanisms of growth by gravistimulation using 3D clinostat from the aspect of growth physiology and plant growth regulators revealed important roles of gravity in controlling hook development, apical dominance and tropism in pea seedlings, a possible involvement of changes in tissue tension in gravistimulated side of pea epicotyls in controlling gravitropism, and a possible involvement of growth inhibitor in opposite side of gravistimulation in pea epicotyls in relation to gravitropism. Furthermore, for chemical regulation of graviresponse several auxin polar transport inhibitors including a novel one from *Artemisia absinthium* named artabolide were isolated and identified.

研究分野：宇宙植物科学

キーワード：重力形態形成 植物生理活性物質 オーキシン オーキシン極性移動 重力屈性 頂芽優勢 フック形成

1. 研究開始当初の背景

植物は1g環境で生活していく過程で、いくつかの有用な仕組みを獲得・発達させてきた。重要なものに重力に応答した姿勢制御や細胞壁構築による抗重力の仕組みがあるが、重力による植物の成長・発達の制御機構、特に成長生理学、生理活性物質化学の観点からは十分に解明されているとはいえない。

(1) 申請者は、共同研究者・上田純一と共同して、STS-95植物宇宙実験を実施し、微小重力下では植物は自発的形態形成を示すこと、そしてオーキシン極性移動が重力の支配下にあることを見出した(Plant Res. 112: 487-492, 1999)。その後の一連の地上基礎実験により、オーキシン極性移動と自発的形態形成との密接な関係を示唆してきたが、オーキシン本体とされるインドール酢酸(indole-3-acetic acid, IAA)の動態、さらに、その分子的制御に対する重力の影響については未解明である。

(2) 屈性を説明する説として、刺激によりオーキシン偏差分布がもたらされることに起因する「Cholodny-Went説」と長谷川宏司(共同研究者)らによる光屈性は光組織側で成長抑制物質が生成されることにより光方向に屈曲するという「Bruinsma-Hasegawa説」がある。前者は、植物体からの抽出物を精製せずに直接に生物検定法に供した場合、刺激側と反刺激側との間のオーキシン活性の違いに基づき導き出されたものであるが、機器分析では屈性を説明するのに十分なIAAの量的差異は認められていない。一方、後者では、重力屈性にかかわる成長抑制物質の実態、さらにはその分子機構については未だ明らかにされてはいない。申請者は光による茎成長抑制機構において、光照射の茎内部組織の細胞壁力学的性質の変化を見出してきた(Physiol. Plant. 101: 39-44, 1997)。表皮・内部組織の相互作用を踏まえ重力刺激応答性の生理活性物質の作用機構を解明することが、現在混沌としている屈性機構の解明の大きな手掛かりとなる考えられる。

(3) 申請者は、宇宙実験などから植物の成長・発達の制御におけるオーキシン、そしてその極性移動の重要性を示してきたが、オーキシン極性移動の制御メカニズムは十分に明らかでない。その解明にはオーキシン極性移動制御物質が有効な化学ツールとなるが、天然由来の生理活性物質はほとんど明らかでない。

以上のように、重力による植物の成長制御についてはいまだ不明な点が多く、オーキシンと相互作用する物質の関与を含め、成長制御活性物質の量的変化や作用性を、分子生物学的側面も含めて総合的に研究する必要性がある。また、植物由来のオーキシン極性移動制御物質の探索、多面的生理現象におけるオーキシン極性移動の関与を明らかにする必要があると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、以下の3点を主たる目的とする。(1)クリノスタットによる擬似微小重力環境下での詳細な成長解析を行い、植物の姿勢制御における重力の役割、およびオーキシン極性移動の役割を明らかにすること、(2)屈性の鍵となる組織における成長制御物質の動態を明らかにし重力屈性の鍵化合物を特定すること、(3)加えて、オーキシンの極性移動が植物の成長制御に重要であることから、オーキシンの多面的生理作用の解析に加え、その機構を明らかにするための化学的ツール、すなわちオーキシン極性移動制御物質を植物から単離・同定すること。

得られる結果に基づき、国際宇宙ステーション内の大型機器(植物培養装置)を想定した植物宇宙実験計画への展開を図る。

3. 研究の方法

主として、擬似微小重力環境模擬装置である3次元クリノスタットや重力応答突然変異体等を活用した生理学的、生理化学の実験を行なう。

(1)クリノスタット上の擬似微小重力刺激、および、植物を横たえた時の重力刺激が植物の成長・発達にどのような影響をおよぼすのかを詳細に解析する。加えて、植物の組織張力(表皮組織と内部組織との間にはたらく相互作用で茎成長能力を反映するもの)にどのような影響を及ぼしているかを検討する。また、オーキシン極性移動能に対する影響を、オーキシン極性移動を司るPINタンパク質に着目した分子ツールなどを導入して調べる。

(2)擬似微小重力環境模擬装置であるクリノスタット等を活用し、重力刺激の有無によって定性的・定量的変化を示す物質について、天然生理活性物質に用いられる手法を用いて解析する。さらに、植物を横たえた場合に、茎の上側と下側で、質的・量的変化を示す化合物を探索する。

(3)オーキシン極性移動制御物質(阻害物質)の外生的投与の植物の成長・発達に対する影響を解析し、成長制御における重要性を明らかにする。加えて天然物化学の手法により天然型オーキシン極性移動制御物質を探索する。

4. 研究成果

(1)擬似微小重力環境下での詳細な成長解析とオーキシン極性移動の解析

黄化エンドウ、黄化トウモロコシ芽生えを対象に、重力下での成長がオーキシン極性移動の変化を介したものであることを明らかにした。その分子ツールとしてエンドウとトウモロコシのオーキシン取込み担体と排出担体をコードする遺伝子(AUX1遺伝子およびPIN遺伝子)を単離・同定した。

また、黄化エンドウ芽生えの頂端鉤状部の成長・発達過程が重力の影響を受けない自発的な形成過程と、重力支配下にあるその後の展開過程に分かれること、そしてその制御に

おけるオーキシンとエチレンの関与を明らかにした。

これらの成果を論文、 、 、 として発表した。

植物の葉の老化は微小重力あるいは過重力などの重力変化の影響を受ける。植物の葉の老化においてジャスモン酸類が重要な役割を果たしていることから、その影響を調べたところ、老化に伴い多糖類の代謝が影響されることが明らかとなった。また、ジャスモン酸類は、細胞壁多糖類以外に多糖性ガム物質代謝にも影響することを明らかにした。

また、重力と関係する器官脱離において、水生シダ *Azolla* の根の器官脱離に根アポプラスト pH 変化による細胞壁ペクチン多糖類分解が関与することを明らかにした。

それらの成果を論文、 、 、 の形で発表した。

(2) 重力屈性制御機構の解明

黄化エンドウ芽生えを横たえた場合に量的変動を示すが、クリノスタット上では量的反動を示さない物質を探索した。その結果、横たえた茎の反重力側で増量する物質を見出した。この物質は成長阻害活性を有していること、重力応答突然変異体 *ageotropum* エンドウでは重力変化に反応した量的変化を示さないことを示した。これにより重力屈性における成長抑制物質の関与、すなわち「Bruinsma-Hasegawa 説」の可能性を示唆し、口頭発表で成果を発表した。現在、化合物の構造解析中であり、その成果の論文発表を準備中である。

また、芽生えを横たえると重力側で組織張力の低下が起こることを見出した。その原因は未解明のままであるが、細胞壁物性の観点から解析を継続していく予定である。

(3) オーキシン極性移動制御物質に用いたオーキシン極性移動の重要性の検討

オーキシン極性移動の多面的生理作用制御機構について、多肉植物やチューリップを対象に、様々な非天然型合成オーキシン極性移動阻害剤を用いて検討した。その結果、多肉植物では根の発根に対する影響の現れ方が阻害剤の種類によって異なること、オーキシン極性移動阻害剤の一種 Morphactin が *Bryophyllum* の茎成長促進という新規作用を示すことを見出し、これらを論文、 、 、 の形で報告した。

本研究において開発したダイコン胚軸を用いたオーキシン極性移動生物検定法と天然物化学の手法を用いて、キク科植物であるモッコウ、ニガヨモギなどを対象に天然型オーキシン極性移動物質を探索した。その結果、モッコウ、ニガヨモギからオーキシン極性移動阻害物質として dehydrocostus lactone、4-hydroxy- β -thujone を単離・同定した。加えてニガヨモギから、新規化合物である artabolide をオーキシン極性移動阻害物質として単離し、その構造を解析することに成功した。これら一連の成

果を論文、 の形で発表した。

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 13 件)

Miyamoto K., Kotaka T., Boncea A., Saniewski M. and Ueda J. (2015) Hormonal regulation of gummosis and composition of gums from bulbs of hyacinth (*Hyacinthus orientalis*). *J. Plant Physiol.* 174: 1-5, doi: 10.1016/j.jplph.2014.10.007 (査読有)

Saniewski M., Góraj J., Węgrzynowics-Lesiak E., Miyamoto K. and Ueda J. (2015) Differential effects of auxin polar transport inhibitors on rooting in some Crassulaceae species. *Acta Agrobot.* 67(2): 85-92, doi: 10.5586/aa.2014.028 (査読有)

宮本健助 (2015) 植物における多糖性物質の溢泌に関する生理化学的研究、植物の生長調節 50: 2-11 (ISSN 1346-5406)(査読無)

Miyamoto K., Yamasaki T., Uheda E. and Ueda J. (2014) Analysis of apical hook formation in Alaska pea with a 3-D clinostat and agravitropic mutant *ageotropum*. *Front. Plant Sci.*, 5: 137 1-8, doi. 10.3389/fpls.2014.00137 (査読有)

Ueda J., Sakamoto-Kanetake M., Toda Y., Miyamoto K., Uheda E. and Daimon H. (2014) Auxin polar transport is essential for the early growth stage of etiolated maize (*Zea mays* L. cv. Honey Bantam) seedlings. *Plant Prod. Sci.* 17(2): 144-151 (査読有)

Ueda J., Miyamoto K., Uheda E., Oka M., Yano, S., Higashibata A. and Ishioka N. (2014) Close relationships between polar auxin transport and graviresponse in plants. *Plant Biology* 16 (Suppl. 1): 43 - 49, doi: 10.1111/plb.12101 (査読有)

Miyamoto K., Oka M., Uheda E. and Ueda J. (2013) Changes in metabolism of cell wall polysaccharides in oat leaves during senescence: relevance to the senescence-promoting effect of methyl jasmonate. *Acta Physiol. Plant.* 35: 2675 - 2683, doi: 10.1007/s11738-013-1299-5 (査読有)

Arai T., Toda Y., Kato K., Miyamoto K., Hasegawa T., Yamada K., Ueda J., Hasegawa K., Inoue T., and Shigemori H. (2013) Artabolide, a novel polar auxin transport inhibitor isolated from *Arthemisia absinthium*. *Tetrahedron* 69: 7001-7005, doi/10.1016/j.tet.2013.06.052 (査読有)

Miyamoto K., Marasek-Ciolakowska A., Góraj J., Węgrzynowics-Lesiak E., Ueda J. and Saniewski M. (2013) Morphactin stimulates stem elongation and thickening in decapitated shoots of *Bryophyllum calycinum* Salisb. *Acta*

Agrobot. 66(2): 21-28, doi: 10.5586/aa.2013.018 (査読有)

Ueda, J., Toda Y., Kato K., Kuroda Y., Arai T., Hasegawa T., Shigemori H., Hasegawa K., Kitagawa H., Miyamoto K. and Uheda E. (2013) Identification of dehydrocostus lactone and 4-hydroxy- β -thujon as auxin polar transport inhibitors. *Acta Physiol. Plant.* 35: 2251-2258, doi: 10.1007/s11738-013-1261-6 (査読有)

Fukuda K., Yamada Y., Miyamoto K., Ueda J. and Uheda, E. (2013) Separation of abscission zone cells in detached *Azolla* roots depends on apoplastic pH. *J. Plant Physiol.* 170: 18-24, doi: 10.1016/j.jplph.2012.08.008 (査読有)

Węgrzynowics-Lesiak E., Góraj J., Miyamoto K., Ueda J. and Saniewski, M. (2013) Effects of auxin polar transport inhibitors on the growth of the excised fourth internode in tulips. *J. Horticultural Res.* 21(2): 31-39, doi: 10.2478/johr-2013-0019 (査読有)

Ueda J., Góraj J., Węgrzynowics-Lesiak E., Miyamoto K. and Saniewski M. (2012) Morphactin substantially induced the fourth internode growth in decapitated tulips: Relevance to endogenous levels of indole-3-acetic acid. *J. Fruit & Ornamental Plant Res.* 20(2): 161-171, doi: 10.2478/v10290-012-0025-5 (査読有)

Ueda J., Tada T., Hoshino T., Miyamoto K., Uheda E. and Oka M. (2012) Isolation of *PsPINs* and *PsAUX1* cDNAs encoding putative auxin efflux and influx carriers and/or facilitators, respectively, from etiolated epicotyls of an agravitropic pea (*Pisum sativum* L.) mutant, *ageotropum*. *Biol. Sci. Space* 26: 32-41 (査読有)

[学会発表](計 28 件)

林 直哉、宮本健助、上田英二、上田純一、岡 真理子：黄化トウモロコシ芽生えにおけるオーキシン極性移動物質とその作用機構、第 57 回日本植物生理学会年会、2016 年 3 月 18 日～20 日、「岩手大学(岩手・盛岡市)」

宮本健助、岡 真理子、上田英二、上田純一：植物の成長戦略と重力 - 自発的形態形成と頂芽優勢の観点から -、第 30 回宇宙環境利用シンポジウム、2016 年 1 月 19 日～20 日、「宇宙航空研究開発機構・宇宙科学研究所(神奈川・相模原市)」

戸田雄太、岡田一穂、七村明宏、上田純一、宮本健助：モッコウ(*Saussurea costus*)に含まれるオーキシン極性移動制御物質とその作用機構、植物化学調節学会第 50 回大会、2015 年 10 月 23 日～25 日、「東京大学(東京、文京区)」

山崎隆弘、上田英二、上田純一、宮本健助：黄化エンドウ芽生え上胚軸鉤状部の成長・発達に対する重力の影響 - オーキシン極性移動およびエチレンの関与、第 5 回植物生理化学学会シンポジウム、2015 年 9 月 12

日、「筑波大学(茨城・つくば市)」

村山忠隆、上田英二、上田純一、宮本健助：黄化エンドウ芽生え上胚軸の成長・発達およびオーキシン極性移動に対する過重力の影響、第 5 回植物生理化学学会シンポジウム、2015 年 9 月 12 日、「筑波大学(茨城・つくば市)」

上田純一：植物の重力応答反応 - 特にオーキシン極性移動を中心として -、日本宇宙生物科学会第 29 回大会、2015 年 9 月 26 日～27 日、「帝京大学(東京・板橋区)」

林 直哉、宮本健助、上田英二、上田純一、鎌田源司、東端 晃、岡 真理子：オーキシン極性移動関連遺伝子の発現に対する重力の影響、日本宇宙生物科学会第 29 回大会、2015 年 9 月 26 日～27 日、「帝京大学(東京・板橋区)」

村山忠隆、上田英二、上田純一、宮本健助：黄化エンドウ芽生え上胚軸の成長・発達およびオーキシン極性移動に対する過重力刺激の影響、日本宇宙生物科学会第 29 回大会、2015 年 9 月 26 日～27 日、「帝京大学(東京・板橋区)」

長谷川 剛、小出麻友美、繁森英幸、長谷川宏司、上田純一、宮本健助：黄化エンドウ上胚軸の重力屈性制御に関わる成長調節物質の探索：重力応答突然変異体 *ageotropum* を用いた解析、日本植物学会第 79 回大会、2015 年 9 月 6 日～8 日、「朱鷺メッセ(新潟・新潟市)」

上田純一、黒田裕一、鎌田源司、岡 真理子、上田英二、宮本健助、東端 晃：植物の姿勢制御におけるオーキシンの重要性、第 29 回宇宙環境利用シンポジウム、2015 年 1 月 24 日～25 日、「宇宙航空研究開発機構・宇宙科学研究所(神奈川・相模原市)」

宮本健助、山崎隆弘、岡 真理子、上田英二、上田純一：黄化アラスカエンドウ芽生え上胚軸鉤状部の成長・発達に対する重力の影響：3次元クリノスタットおよび *ageotropum* を用いた解析、2015 年 1 月 24 日～25 日、「宇宙航空研究開発機構・宇宙科学研究所(神奈川・相模原市)」

山崎隆弘、上田英二、上田純一、宮本健助：黄化エンドウ芽生え上胚軸頂端鉤状部の成長・発達に対する重力の影響、第 4 回植物生理化学学会シンポジウム、2014 年 11 月 2 日、「東北波大学(宮城・仙台市)」

黒田裕一、鎌田源司、岡 真理子、宮本健助、上田英二、東端 晃、上田純一：第 4 回植物生理化学学会シンポジウム、2014 年 11 月 2 日、植物の姿勢制御におけるオーキシンの重要性、「東北波大学(宮城・仙台市)」

宮本健助、Saniewski, M., 上田純一：ジャスモン酸類によるスモモ (*Prunus domestica*) 果実におけるガム物質形成：ホルモン制御並びにガム物質の化学組成の観点から、植物化学調節学会第 49 回大会、2014 年 10 月 18 日～19 日「京都大学(京都、京都市)」

宮本健助：植物における多糖性物質の溢泌に関する生理化学的研究、植物化学調節学会第49回大会、2014年10月18日～19日「京都大学（京都、京都市）」

宮本健助、山崎隆弘、上田英二、上田純二：黄化エンドウ芽生え上胚軸鉤状部の成長・発達に対する擬似微小重力の影響、日本宇宙生物科学会第28回大会、2014年9月21日～22日、「大阪府立大（大阪・堺市）」

山崎隆弘、上田英二、上田純二、宮本健助：黄化 Alaska エンドウ芽生え上胚軸鉤状部の成長・発達に対する重力の影響 - クリノスタットを用いた解析、日本植物学会第78回大会、2014年9月12日～14日、「明治大学（神奈川・生田）」

Ueda J., Kamada M., Oka M., Miyamoto K., Uheda E. and Higashibata A.: Auxin polar transport is essential for graviresponse of etiolated pea seedlings. 41st Annual Meeting of the Plant Growth Regulation Society of America, 2014年7月13日～7月17日、「San Francisco（アメリカ）」

Miyamoto K., Kotake T., Saniewski M. and Ueda J.: Gummosis in bulbous plants of grape hyacinth, hyacinth and tulip: Focus on hormonal regulation and chemical composition of gums. 41st Annual Meeting of the Plant Growth Regulation Society of America, 2014年7月13日～7月17日、「San Francisco（アメリカ）」

黒田裕一、宮本健助、上田英二、上田純二：植物の重力応答反応はオーキシン動態から説明可能か、第3回植物生理科学シンポジウム 2013年7月18日、「神戸天然物化学株式会社バイオリサーチセンター（兵庫・神戸市）」

⑲ Miyamoto K., Oka M., Uheda E. and Ueda J.: Effect of simulated microgravity conditions on a 3-dimensional clinostat on lateral bud growth induced by removal of shoot apex in Alaska pea seedlings. 34th Annual Meeting International Gravitational Physiology, 2013年6月23日～6月28日、「穂の国豊橋芸術劇場（愛知・豊橋市、日本）」

⑳ 宮本健助、岡真理子、上田英二、上田純二：オートムギの葉の老化過程における細胞壁多糖類の変化：ジャスモン酸メチルの影響、日本植物学会第77回大会、2013年9月13日～9月15日、「北海道大学（北海道・札幌市）」

㉑ 戸田雄太、新井司、黒田裕一、長谷川剛、繁森英幸、長谷川宏司、北川仁一朗、宮本健助、上田英二、上田純二： - メチレン - - ラクトン構造を有する新規オーキシン極性移動阻害物質、植物化学調節学会第47回大会、2012年10月27日～10月28日、「山形大学（山形・鶴岡市）」

⑳ 小出麻友美、宮本健助、長谷川剛、Wai Wai Thet Tin、広瀬克利、上田純一、繁森英幸、長谷川宏司：エンドウの頂芽優勢に関わる生理活性物質の構造および機構、植物化学調節学会第47回大会、2012年10月27日～10月28日「山形大学（山形・鶴岡市）」

㉑ 上田純一、宮本健助、上田英二、岡真理子：黄化エンドウ芽生え上胚軸の重力応答反応とオーキシン動態、日本宇宙生物科学会第26回大会、2012年9月27日～9月29日、「阿波観光ホテル（徳島県・徳島市）」

㉒ 宮本健助、上田英二、長谷川宏司、上田純二：黄化エンドウ芽生えの頂芽切除による側芽の成長に対する擬似微小重力の影響、日本宇宙生物科学会第26回大会、2012年9月27日～9月29日、「阿波観光ホテル（徳島県・徳島市）」

㉓ 戸田雄太、加藤清隆、宮本健助、上田英二、新井司、繁森英幸、長谷川宏司、上田純二：ニガヨモギ (*Artemisia absinthium* L.) に含まれる新規オーキシン極性移動阻害物質、日本植物学会第76回大会、2012年9月15日～9月17日、「兵庫県立大学（兵庫・姫路市）」

㉔ Ueda J., Miyamoto K., Uheda E., Oka M., Yano S., Higashibata A., Ishioka N.: Close relationships between auxin polar transport and a gravitropic response of epicotyls in the early growth stage of etiolated pea seedlings. Plant Biology Congress 2012, 2012年7月29日～8月3日、「Freiburg（ドイツ）」

〔図書〕(計0件)

なし

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮本 健助 (MIYAMOTO, Kensuke)

大阪府立大学・高等教育推進機構・教授
研究者番号：10209942

(2) 研究分担者

上田 純一 (UEDA, Junichi)

大阪府立大学・理学(系)研究科・教授
研究者番号：40109872

長谷川 宏司 (HASEGAWA, Koji)

筑波大学・生命環境科学研究科(系)・
名誉教授
研究者番号：70094167

(3) 連携研究者

なし