

植物の重力感受機構モデル～デンブン平衡石仮説～の再検証

1. はじめに

I conceive myself to have fully proved that the radicles of germinating seeds are made to descend, and their germens to ascend, by some external cause, and not by any power inherent in vegetable life: and I see little reason to doubt that gravitation is the principal, if not the only agent employed, in this case, by nature.

1806年、T. Knightはマメ科植物が重力によって屈曲すること（重力屈性反応）を実験的に証明し、上記のように結論付けた。彼は、水車に連結した水平回転する円盤に種子を固定し、発芽してくる植物体が遠心力と重力の合成ベクトルに沿って屈曲することを示した。植物が重力加速度に応答するならば、同じ加速度である遠心加速度によってその応答が干渉されるはず、と考えた点は圧巻である。以後200年以上もの間、重力屈性はC. Darwinなどの多くの研究者によって研究されてきた。

一般的に植物は、重力に対する器官の傾き（重力変化）を感じ、根を重力の方向に、胚軸や花茎などの地上部を重力と反対方向に屈曲させる（図1A）。この一連の重力屈性反応の中で重力感受は最も初期に起こる重要なイベント

である。しかし植物がどのように重力変化を感じるか未だに大部分が不明である。現在、最も有力な植物の重力感受モデルは「デンブン平衡石仮説」と呼ばれるもので、その起源は意外に古く1900年にHaberlandtとNěmecによって提唱されたものに由来する。この仮説によると、デンブンを蓄積した色素体であるアミロプラストが、重力方向に沈降することで重力変化を感じると考えられており、これまでに幅広い支持を得ている¹⁾。ここ数年、ゲノム科学や分子生物学の目覚ましい発展を背景に、重力感受に関わる重要な因子が明らかになってきた。本稿では、最近得られた分子遺伝学的・生理学的知見を、アミロプラスト/重力感受の文脈の中で関連付けて、デンブン平衡石仮説を再検証する。

2. デンブン平衡石仮説

モデル植物であるシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いた研究により重力感受に関わる細胞が明らかになってきた。根の先端に存在するコルメラ細胞を分子遺伝学的または外科的手法を用いて除去した時、根の重力屈性能が著しく減少した^{2,3)}。一方、胚軸および花茎の重力屈性が完全に欠損した *shoot gravitropism (sgr) 1* および *sgr7* 変異体を単離し、形態学的解析を行った結果、これらの変異体では内皮細胞層が欠失していることが明らかになった⁴⁾。よって根ではコルメラ細胞が、地上部では内皮細胞が重力屈性に必須であることが示唆された。興味深いことに、これらの細胞には共通して沈降性のアミロプラストが存在す

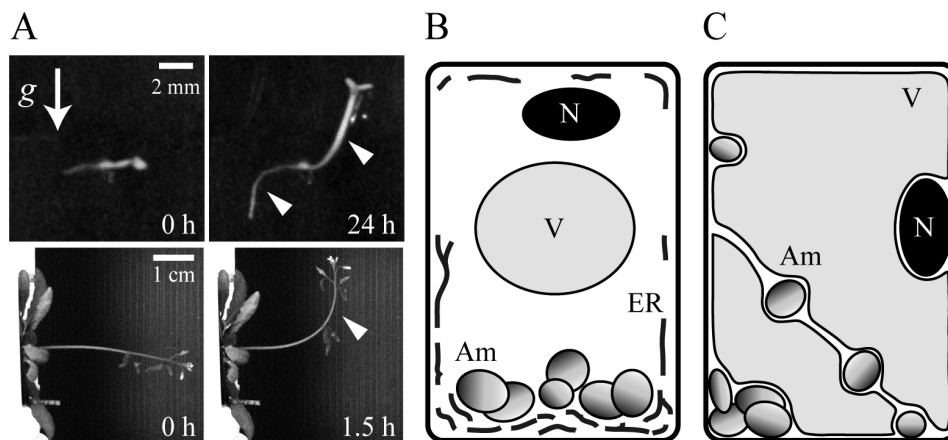


図1 シロイヌナズナの重力屈性および重力感受細胞の模式図
A. シロイヌナズナの根、胚軸および花茎の重力屈性反応（矢じり）。暗所下で水平に横たえて24時間後の黄化芽生え（上）と1.5時間後の花茎（下）。
B, C. 根冠コルメラ細胞(B)および地上部内皮細胞(C)の模式図。Am, アミロプラスト; N, 核; V, 液胞; ER, 小胞体; g, 重力

ることが知られており(図1B, C), デンプン平衡石仮説に基づいて, コルメラ細胞および内皮細胞がそれぞれの器官の重力感受を担っていると考えられている。

近年シロイヌナズナの重力屈性変異体が多数単離され, デンプン平衡石仮説を支持する生理学的・分子遺伝学的証拠が揃ってきた。 *phosphoglucumutase* (*pgm*) 変異体はデンプン合成能が著しく低下しており, アミロプラスト内にデンプンが殆ど蓄積していない。そのためコルメラ細胞および内皮細胞のアミロプラストが正常に沈降せず, 野生型と比べて根および地上部共に重力屈性能が低下している⁵⁾。また, アミロプラスト内のデンプン量が野生型と比べて50~60%に低下している変異体 (*acg20* および *acg27*) が単離・解析され, デンプン含有量が低下するにつれて重力屈性能が減少することが示唆された。さらにこれらの重力屈性変異体に5~10 gの過重力を負荷した時, 1 gでは正常に沈降していないアミロプラストが過重力方向に沈降すると共に, 重力屈性が野生型と同程度まで回復した⁶⁾。これらの結果は, アミロプラストの重力方向への物理的変位(沈降)が重力感受に重要であり, この沈降にはデンプンの蓄積によって生じる細胞質との密度差が深く関わることを示唆する。

デンプンの蓄積とは異なる原因で重力屈性に異常を示す変異体も多数単離されている。これらの変異体の解析を通して, アミロプラストの沈降には密度差だけではなく, 細胞内オルガネラも密接に関わることが明らかになってきた。一般的に地上部内皮細胞には, その細胞容積のほとんどを占めるような中央液胞が存在し, アミロプラストは液胞膜に取り囲まれた狭い細胞質空間に存在する(図1C, 2A)。地上部重力屈性変異体として単離された *sgr2* および *sgr4/zig* 変異体の内皮細胞のアミロプラストは, デンプンが蓄積しているにもかかわらず, 重力方向に沈降していなかった^{7,8)}。液胞膜の蛍光イメージングを行った結果, 野生型の液胞膜は恒常的に形を変化させるなど極めて動的であり, 原形質系(transvacuolar strand)と呼ばれる液胞膜が深く陥入した構造が頻繁に観察された⁹⁾(図2A)。一方, これらの変異体の液胞では共通して, 原形質系が殆ど観察されないなど野生型に見られる動的性質が著しく失われていた。さらにアミロプラストは, 流動性を失った液胞によって細胞の上下に押し付けられるかのように分散しており, 植物体を水平に横たえても重力方向への沈降は観察されなかった⁹⁾。分子遺伝学的解析の結果, *SGR2* 遺伝子は液胞膜や未知の内膜系コンパートメントに局在するホスホリパーゼA1様タンパク質を, *SGR4/ZIG* 遺伝子は液胞

や前液胞区画(prevacuolar compartment)に局在する液胞への小胞輸送に関与するQb-SNARE VTH11をコードしており, いずれも液胞の機能に関与すると考えられるものであった^{7,8)}。これらの結果は, 内皮細胞におけるアミロプラストの運動は密度差以外に, 自身を取り巻く細胞内環境要因の一つである液胞動態に強く依存することを示唆する。*sgr2* および *sgr4/zig* 変異体の内皮細胞に野生型の各遺伝子を特異的に発現させると, 重力屈性が回復すると共にアミロプラストの沈降が観察された。よって, 内皮細胞におけるこれらの遺伝子の機能が, アミロプラストの沈降を可能にする液胞動態に重要であり, この沈降によって重力感受できると考えられる。

3. デンプン平衡石仮説からシグナル分子へ

ここまで述べた内容はいずれもデンプン平衡石仮説を支持するものであるが, アミロプラストの沈降はどのようなシグナルに変換されるのだろうか。仮にこの変換を担う分子実態を重力センサーと定義するならば, 植物の重力センサーとはどのようなものだろうか。残念ながら, これらの問いに対する分子レベルでの結論はまだ出ていない。しかし, 近年のイメージング技術の向上によりシグナル分子の候補が見えてきた。

根や胚軸の重力屈性がCa²⁺キレーター(EGTA)や伸展活性化(stretch activated [SA])チャネルのブロッカーであるガドリニウムイオン(Gd³⁺)で抑制されることが古くから知られていた。また, 動物のみならず植物においてもCa²⁺が細胞内セカンドメッセンジャーとして幅広く働くことが知られていた。これらの実験的背景に基づき, アミロプラストの沈降が膜の伸展を介したSAチャネルの活性化を引き起こし, その結果細胞質Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)上昇が起こるのではないかと考えられた。すなわちCa²⁺がシグナル分子, SAチャネルが重力センサーであると想定された。しかし, Ca²⁺感受性蛍光色素を用いたコルメラ細胞のCa²⁺イメージングの結果, 重力変化に伴う[Ca²⁺]_i変化は検出されなかった¹⁰⁾。従って少なくともシロイヌナズナのコルメラ細胞において, 重力変化は検出できるレベルの[Ca²⁺]_i変化を引き起こさないとと言える。一方, Ca²⁺結合性発光タンパク質を用いたシロイヌナズナ幼植物体地上部のCa²⁺イメージングを行った結果, 胚軸および葉柄において重力変化に伴う[Ca²⁺]_i上昇が引き起こされることが分かった¹¹⁾。薬理的解析の結果, この[Ca²⁺]_i上昇にSAチャネルが関与することが示唆されており, アミロプラスト/SAチャネルというシグナル変換を想像させる。

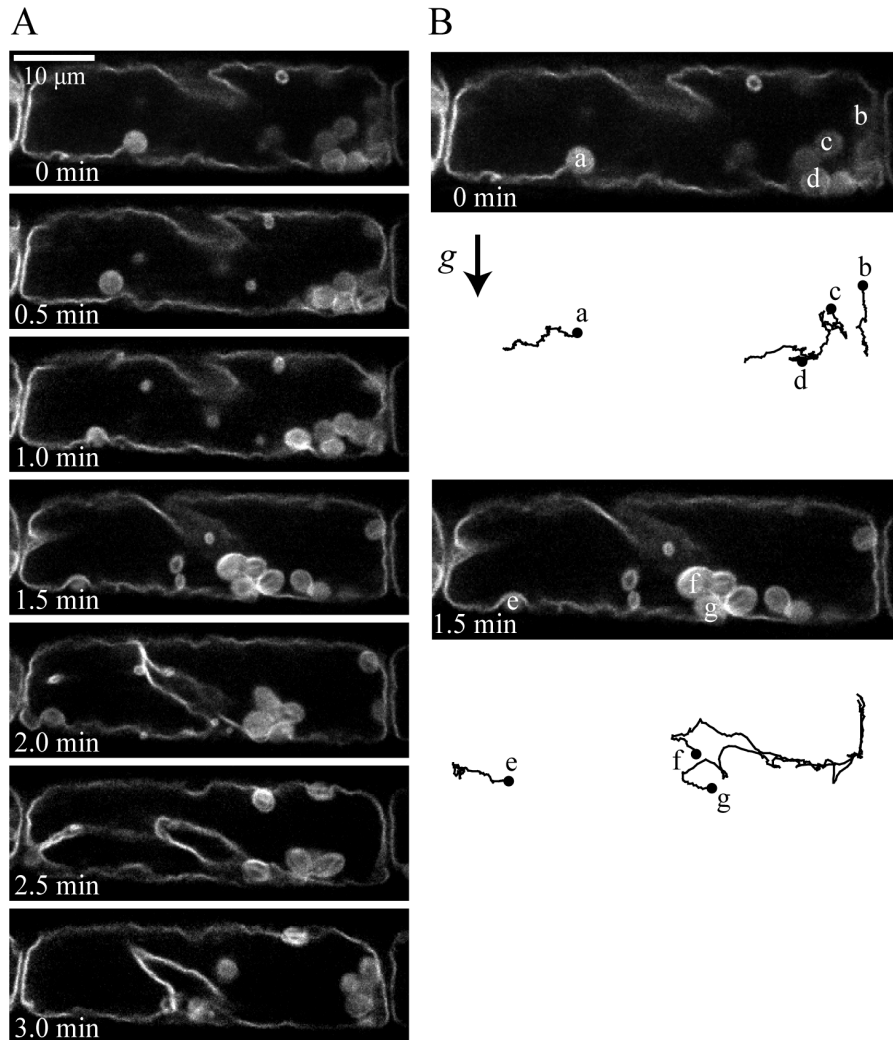


図2 シロイヌナズナ花茎内皮細胞を水平に横たえた(90°回転させた)時の液胞膜およびアミロプラストの動態変化

A. 90°回転後3分間の花茎内皮細胞のタイムラプス観察. 白く線状に見えるのが液胞膜, 白く球状に見えるものがアミロプラスト. B. 90°回転後のアミロプラストの単粒子動態解析. アミロプラスト(a~g)の蛍光輝度重心を0~1.5分(上)および1.5~3分の間(下), 追跡した軌跡が示されている. 黒丸はそれぞれのアミロプラストの始点を意味する. 90°回転後, 多くのアミロプラストは重力方向へ分布を移動させるが(0~1.5分), その後重力と反対方向への移動など, 沈降とは異なる運動が見られる(1.5~3分).

しかし, この $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が内皮細胞で起こるのかどうか, さらにアミロプラストの沈降によって引き起こされるのかどうかといった点は, 明らかになっていない. Ca^{2+} のシグナル分子としての可能性については, 今後細胞レベルでの検証が必要である.

ここまで薬理的・生理学的研究に基づいてアミロプラスト/SAチャネルのシグナル変換機構を想定してきたが, そもそも μm オーダーの大きさのアミロプラストに作

用する力はSAチャネルを活性化できるのだろうか. 動物やバクテリアで研究が進んでいるSAチャネルを例に, このモデルを検証してみる. アミロプラストを半径(r) $1.0 \times 10^{-6} \text{ m}$, 密度(ρ_{Am}) $1.5 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$ の球体とみなし¹²⁾, 細胞質の密度(ρ_c)を $1.1 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$, 重力加速度(g)を 9.8 m/s^2 とすると, 1個のアミロプラストに発生する力(F_{Am})は

$$F_{Am} = 4/3\pi r^3 (\rho_{Am} - \rho_c) g \approx 0.02 \text{ pN}$$

と見積もることができる。ヒト血管内皮細胞の Ca^{2+} 透過性 SA チャンネルは、サブ pN の力で開くことが示唆されており¹³⁾、 F_{Am} よりも 1 ケタ大きい。これは、1 個のアミロプラストに作用する力では、このタイプの SA チャンネルは開かないことを意味する。しかし、一つの植物細胞には複数 (>5 個) のアミロプラストが存在し、これらが膜などに同時に作用すれば、SA チャンネルを活性化できるオーダーの力が発生する。つまり、アミロプラスト/SA チャンネルというシグナル変換機構は理屈上不可能ではない。しかし、この見積もりでは一つの細胞あたり数個の SA チャンネルしか活性化しないことになり、仮に植物にこの変換機構が備わっていたとしても、この微弱なイオン濃度変化をシグナルとして捉えるのは難しいかもしれない。一方、大腸菌の SA チャンネルである MscL は、約 40 pN の力で開くことが分子動力学シミュレーションで示されており¹⁴⁾、アミロプラストに作用する力ではこのタイプの SA チャンネルは開かない。植物においてアミロプラスト/SA チャンネルのシグナル変換機構を考える場合、SA チャンネルの感度(開きやすさ)が重要な要素であり、既知の SA チャンネルよりも高感度な SA チャンネルを想定しなければ、この変換機構は実現しないかもしれない。

Ca^{2+} 以外でシグナル分子として注目されているのが、 H^+ (pH) である。pH 感受性蛍光色素および蛍光タンパク質を用いたコルメラ細胞の細胞質 pH イメージングを行った結果、重力変化による一過性の pH 上昇(アルカリ化)が起こることが明らかになった¹⁵⁾。この重力応答性のアルカリ化を、ケージド H^+ の紫外光照射による H^+ の遊離により阻害した時、根の重力屈性が部分的に抑制された。さらに興味深いことに、*pgm* などの重力屈性変異体ではこのアルカリ化が観察されなかった。これらの結果は、デンブンプンが蓄積したアミロプラストが、直接的または間接的に重力屈性に関わるアルカリ化を引き起こすことを示唆する。一方地上部においても、トウモロコシで重力変化に伴う pH 変化が報告されており¹⁶⁾、 H^+ が根および地上部における重力感受過程のシグナル分子である可能性が高い。しかし、ここでも pH 変化を引き起こす分子機構は明らかになっておらず、アミロプラスト/重力感受の文脈の中で H^+ のシグナル分子としての位置づけは定まっていない。今後は、分子機構を解き明かすと共に、アミロプラストの沈降と関連付けた研究が必要である。

4. デンブンプン平衡石仮説に残された問題点

アミロプラストの沈降と重力屈性反応を繋ぐデンブンプン平

衡石仮説は一見矛盾がないように見える。しかし、個々のデータを慎重に見ると、デンブンプン平衡石仮説では説明できない現象が存在することに気づく。

前述の通り *pgm* 変異体のアミロプラストは、デンブンプンがほとんど蓄積しておらず、正常に沈降していない。それにも関わらず重力屈性能は完全には失われず、花茎では野生型に比べてやや低下する程度である。この結果は、デンブンプンの蓄積は必ずしも重力感受に必須ではなく、デンブンプンが蓄積していないアミロプラストでも部分的に重力感受できることを示唆する。仮に *pgm* 変異体のアミロプラストに分化する前の前駆体であるプロプラスチド程度の密度 ($\rho_p \approx 1.2 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$) があり⁵⁾、その僅かな密度差によって重力感受できるとする。この場合、デンブンプンはアミロプラストの密度を上昇させることで、重力変化に対する感度を上げる役割を果たしているのかもしれない。もしそうであれば、デンブンプン平衡石仮説におけるデンブンプンの位置づけ(役割)を見直す必要があるだろう。

近年、ライブセルイメージングによるアミロプラストの動態解析の結果、コルメラ細胞と内皮細胞ではデンブンプン平衡石仮説のイメージが大きく異なることが明らかになってきた。コルメラ細胞のアミロプラストは、重力変化後十分な時間が経つと、すべてが細胞底面に沈降し、その場でほとんど動くことなく極めて静的であった¹⁷⁾。またその沈降過程は、粘性流体中を粒子が沈降するような振舞いであった。仮に、アミロプラストが粘性率 (η) 20 cP の細胞質¹²⁾を一定の速度 (v_g) で沈降したとすると、 v_g はストークスの法則により

$$v_g = 2(\rho_{\text{Am}} - \rho_c)r_g^2/9\eta \approx 0.04 \mu\text{m/s}$$

となる。この値は、コルメラ細胞のアミロプラストの平均沈降速度とよく一致する¹⁷⁾。つまり、コルメラ細胞のアミロプラストの挙動は、粘性流体中の粒子の沈降に近いと言える。一方、花茎内皮細胞のアミロプラストは水平に横たえた後、大部分が重力方向に沈降し始めるが、その動きは非常に複雑かつ不均一で、単純な粒子の沈降として捉えることができない(図 2A, B)。また、重力変化後十分な時間が経過しても恒常的に動き回りながら重力方向へ偏って分布しており、コルメラ細胞のような「静的な平衡石」とは随分異なる。同じ平衡石と呼ばれるアミロプラストにこのような差が生じるのは、それぞれの細胞内環境の違いに起因すると考えられる。前述の通り、内皮細胞のアミロプラスト動態は液胞に強く影響を受けるなど、重力による沈降と自身を取り巻く環境因子との相互作用によって状態が決まると考えられる(図 1C)⁹⁾。一方、コルメラ細胞の中

中央液胞はあまり発達しておらず、アミロプラストは比較的広い細胞質空間を束縛されることなく沈降するように見える(図1B)¹⁷⁾。デンプン平衡石仮説は、重力感受に関わるアミロプラスト動態を、“沈降”という動作の結果として捉えており、コルメラ細胞のアミロプラストのような「静的な平衡石」を説明することは可能かもしれない。しかし、内皮細胞のアミロプラストのような“沈降”とランダムな“拡散”が繰り返される「動的な平衡石」を説明するのは難しく、さらにこの複雑な状態をシグナルに変換するモデルも想定されていない。今後、内皮細胞の重力感受機構を解き明かす上で、この動的な平衡石を捉えるための新たな仮説を立てる必要があるだろう。

一方、デンプン平衡石仮説では説明できない重力屈性反応もいくつか報告されている¹⁾。シャジクモの節間細胞は平衡石を持たないにも関わらず重力屈性を示す。イネの根は、アミロプラストが正常に沈降しているにもかかわらず、根を満たしている水耕栽培用の溶液の密度を上昇させるにつれて重力屈性が抑制される。これらの現象を説明するために、protoplast pressure 仮説が提唱された¹⁸⁾。この仮説によると、オルガネラの沈降ではなく、植物細胞そのものが細胞壁に囲まれた空間を沈降することで重力変化を感受すると考えられている。残念ながら、この仮説は水棲植物または水棲器官で僅かに報告されているだけで、陸上植物でこの感受機構が用いられているか明らかになっていない。しかし、これらの結果は、植物には複数の重力感受機構が存在することを示唆しており、今後はデンプン平衡石仮説と異なる重力感受機構の存在も視野に入れる必要もあるだろう。

5. おわりに

およそ100年前に提唱されたデンプン平衡石仮説は、今もなお有力な仮説として支持されている。しかし分子遺伝学的・生理学的研究を背景に、部分的にその解釈を変える必要性が出てきた。第一に、デンプンは必ずしも重力感受に必須ではなく、植物の重力に対する感度を上げる役割を果たしているかもしれない。つまり、プロプラスチド程度の密度差と沈降を可能にする細胞内環境が揃えば、重力受容できると思われる。第二に、平衡石(アミロプラスト)の動態は根と地上部で大きく異なり、根のアミロプラストはストークスの法則に従う粒子の沈降として捉えることができそうだが、地上部のアミロプラストは沈降とランダムな運動がつり合った状態として捉える必要がありそうである。つまり、地上部において平衡石は単なる“石”の沈降

ではなく、その動的状態の中に重力感受に関わる運動が存在すると考えられる。これらの知見は、デンプン平衡石仮説に新たな方向性を与えると共に、植物の重力感受機構を解き明かす上で重要な着眼点となるだろう。

- 1) Kiss, J.Z. (2000) *CRC Crit. Rev. Plant Sci.*, 19, 551–573.
- 2) Blancaflor, E.B., Fasano, J.M., & Gilroy, S. (1998) *Plant Physiol.*, 116, 213–222.
- 3) Tsugeki, R. & Fedoroff, N.V. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 12941–12946.
- 4) Fukaki, H., Wysocka-Diller, J., Kato, T., Fujisawa, H., Benfey, P.N., & Tasaka, M. (1998) *Plant J.*, 14, 425–430.
- 5) Caspar, T. & Pickard, B.G. (1989) *Planta*, 177, 185–197.
- 6) Fitzelle, K.J. & Kiss, J.Z. (2001) *J. Exp. Bot.*, 52, 265–275.
- 7) Kato, T., Morita, M.T., Fukaki, H., Yamauchi, Y., Uehara, M., Niihama, M., & Tasaka, M. (2002) *Plant Cell*, 14, 33–46.
- 8) Morita, M.T., Kato, T., Nagafusa, K., Saito, C., Ueda, T., Nakano, A., & Tasaka, M. (2002) *Plant Cell*, 14, 47–56.
- 9) Saito, C., Morita, M.T., Kato, T., & Tasaka, M. (2005) *Plant Cell*, 17, 548–558.
- 10) Legue, V., Blancaflor, E., Wymer, C., Perbal, G., Fantin, D., & Gilroy, S. (1997) *Plant Physiol.*, 114, 789–800.
- 11) Toyota, M., Furuichi, T., Tatsumi, H., & Sokabe, M. (2008) *Plant Physiol.*, 146, 505–514.
- 12) Audus, L.J. (1962) *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 16, 197–226.
- 13) Hayakawa, K., Tatsumi, H., & Sokabe, M. (2008) *J. Cell Sci.*, 121, 496–503.
- 14) Gullingsrud, J. & Schulten, K. (2003) *Biophys. J.*, 85, 2087–2099.
- 15) Fasano, J.M., Swanson, S.J., Blancaflor, E.B., Dowd, P.E., Kao, T.H., & Gilroy, S. (2001) *Plant Cell*, 13, 907–921.
- 16) Johannes, E., Collings, D.A., Rink, J.C., & Allen, N.S. (2001) *Plant Physiol.*, 127, 119–130.
- 17) Leitz, G., Kang, B.H., Schoenwaelder, M.E., & Staehelin, L.A. (2009) *Plant Cell*, 21, 843–860.
- 18) Staves, M.P. (1997) *Planta*, 203, S79–84.

豊田 正嗣¹, 森田(寺尾) 美代^{1,2}

(¹奈良先端科学技術大学院大学・

バイオサイエンス研究科

² さきがけ, JST)

Re-examination of starch-statolith hypothesis, a model for gravity sensing mechanism in plants

Masatsugu Toyota¹ and Miyo Terao Morita^{1,2} (¹Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology, Takayama 8916–5, Ikoma, Nara 630–0192, Japan; ²Precursory Research for Embryonic Science and Technology (PRESTO), JST)