

穀類（イネ科植物）の細胞壁構築における重力の作用

若林 和幸

4～5億年前、海から陸上への進出に際して生物は1gの重力に対抗して、その体を支える必要が生じたと考えられる。動物では骨や筋肉を発達させて重力に対抗している。一方、植物では、この骨や筋肉に相当するものが細胞壁である。植物の細胞壁は個々の細胞を取り囲み、構造的強度を与えることで植物体を支えると同時に、その形や大きさを直接的に規定している。このような支持体としての機能の他に、細胞壁は病害虫や微生物の侵入に対する防御や、道管形成に見られるような水や養分の輸送に関係した機能を持ち、植物の生活環の維持に必須の構造体である。細胞壁構成成分の量や組成、構造は植物体の成長や分化に伴い大きく変化することから、それら成分の代謝は高等植物の成長や形態形成の調節に密接に関連している。これまでに、重力や光、温度などの環境要因は細胞壁構成成分の代謝に影響してその量や構造を変化させ、その結果細胞壁の物性が変わることによって植物体の成長や形態形成を調節することが示されている。^{1,2)}

著者らは、穀類（イネ科植物）細胞壁に特徴的な構造であるフェノール化合物による多糖間ネットワークの構築についての研究を行ってきた。この多糖間ネットワークはイネ科植物細胞壁の構築・構造維持に不可欠な成分であり、細胞壁強度の調節に重要な役割を果たしている。³⁻⁵⁾ これまでの研究から、フェノール化合物の合成がネットワーク形成制御の重要なステップであり、光や水分条件などの環境シグナルはこの合成系に作用してネットワーク形成を調節していることが示されている。^{6,7)} 現在、この多糖間ネットワーク形成における重力の作用についての研究を進めており、これに関連する研究課題“Regulation by gravity of ferulate formation in cell walls of cereal seedlings”が第4回ライフサイエンス宇宙実験国際公募で採択され、実験実施に向けた準備を進めている。この研究は、高等植物の細胞壁構築に対する重力の役割を解明するだけでなく、人類にとって必須の食糧資源である穀類を宇宙の微小重力環境で効率よく栽培・生産するための基礎的知見となると考えられる。本稿ではこの研究課題について解説する。

イネ科植物細胞壁の構造

成長中の高等植物の細胞壁は主に一次壁からなり、図

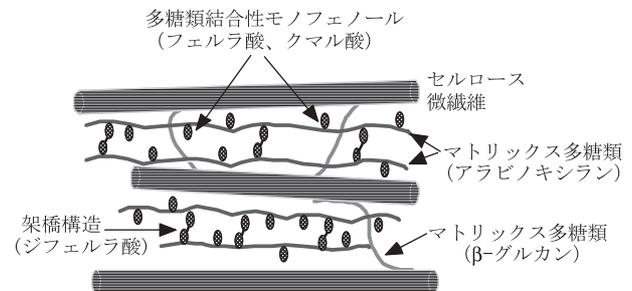


図1. イネ科植物細胞壁の構造模式図

1に示すように、結晶性のセルロース微繊維間をマトリックス多糖類が埋める構造をしている。本特集の横山・西谷の稿に詳しく説明されているように、穀類であるイネ、コムギ、トウモロコシなどの単子葉イネ科植物は、エンドウやヒマワリ、あるいは、近年モデル植物として多用されているシロイヌナズナなどの双子葉植物とは異なったマトリックス組成を持っている。⁴⁾ イネ科植物細胞壁の主要マトリックス多糖類は、アラビノキシランと β -グルカンである。細胞の加齢（細胞成長）に伴い β -グルカンは急速に減少するのに対して、アラビノキシランは増加して成熟細胞ではマトリックス多糖類の大半を占める。⁴⁾ イネ科植物のアラビノキシランのアラビノース残基にはフェルラ酸や p -クマル酸などのフェノール化合物（モノフェノール）がエステル結合しており、その主成分はフェルラ酸である。フェルラ酸の一部は細胞壁中のペルオキシダーゼによる酸化的カップリング反応により2量体となり、ジフェルラ酸が形成される（図2）。³⁾ ジフェルラ酸はアラビノキシラン間を架橋することで、多糖間ネットワークが形成される。この架橋構造が増えると多糖間ネットワークが強固になり細胞壁が

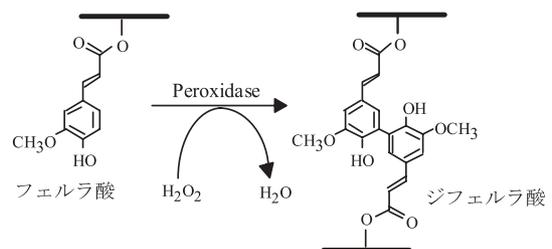


図2. ジフェルラ酸による多糖間架橋構造

強く（固く）なると考えられている。事実、ジフェルラ酸量の増加に伴い細胞壁の力学的強度が増すことが報告されている。^{5,6,8)} 一方、ジフェルラ酸量の増加抑制や減少は細胞壁強度の低下と関係していることが示されており、^{7,9)} また、この多糖間ネットワークの形成異常は植物細胞・組織の形態異常・崩壊の一因となっていることが報告されている。¹⁰⁾

ジフェルラ酸架橋構造の形成

ジフェルラ酸による多糖間架橋は、図3に示す経路で形成される。まず、細胞質内でフェニルプロパノイド経路によりフェニルアラニンを出発物質としてフェルラ酸が合成された後、多糖類に転移・結合されフェルラ酸-多糖類複合体ができる。その後、この複合体は細胞外に分泌されて細胞壁に組み込まれ、細胞壁中のペルオキシダーゼの作用によりジフェルラ酸が形成される。この経路から、フェルラ酸の合成、フェルラ酸-多糖類複体の形成、細胞壁中でのフェルラ酸の重合の3つの過程が、ジフェルラ酸形成の制御ポイントと考えられてきた。

イネ、コムギ、トウモロコシ、オートムギを用いたこれまでの研究より、細胞壁中のジフェルラ酸量とフェルラ酸量との間には非常に高い相関があり、⁵⁾ 光や水分欠乏などの環境シグナルもその比率には影響しないことから、^{6,7)} ジフェルラ酸の生成量は細胞壁中のフェルラ酸量に依存すると考えられた。また、成長過程での細胞壁多糖類量と細胞壁フェルラ酸量の変化を調べたところ、成長に伴い単位多糖類量あたりのフェルラ酸量が大きく増加することや、^{5,11)} 光や水分欠乏は多糖類量にはほとんど影響せずフェルラ酸量だけを大きく変化させたこと

から、^{6,7)} フェルラ酸の合成が重要なポイントであると考えられた。そこで、フェニルプロパノイド経路の最初のステップであり、この経路の律速酵素であるフェニルアラニンアンモニアリアーゼ（PAL）活性を測定したところ、活性と細胞壁フェルラ酸の増加量との間で非常に高い相関が見られた。たとえば、幼葉鞘の成長過程でPAL活性が急速に増加する時期には細胞壁のフェルラ酸量も大きく増加しており、活性が低下するとフェルラ酸量の増加も小さくなった。⁷⁾ また、光照射により細胞壁フェルラ酸量が増加するときPAL活性が上昇しており、⁶⁾ 一方、水分欠乏や植物ホルモンのアブシジン酸処理によりフェルラ酸量の増加が抑制される時PAL活性も低いレベルに抑えられていることが示された。^{7,12)} したがって、1g条件下で生育している植物では、ジフェルラ酸形成は主にPAL活性のレベルで調節されると考えられる。

近年、高等植物の細胞壁代謝に対する重力の影響を調べる方法として、1gより大きい重力環境、すなわち過重力環境下での解析の有効（有用）性が示されている。^{2,13,14)} 本特集の曾我の稿で説明されているように、過重力環境は遠心分離機を用いることで容易に作り出せ、長時間の処理が可能である。地上実験として行った過重力環境での解析から、300gの条件下で数日間生育させたコムギ芽生えでは、1g対照に比べてPAL活性が一過的に増大し、細胞壁のフェルラ酸量も増加した。¹⁵⁾ さらに、過重力下ではジフェルラ酸の増加量がフェルラ酸に比べて大きく、フェルラ酸に対するジフェルラ酸の割合が高くなっていった（表1）。¹⁶⁾ 特に、後者の結果は、長時間の過重力条件下では細胞壁中でのジフェルラ酸の形成が促進されることを示しており、その機構として細胞壁ペルオキシダーゼの活性が増加している可能性が考えられる。

一方、過去に行われた宇宙実験では、軌道上（宇宙）の微小重力条件下で生育させたマツの芽生えにおいて、PALおよび細胞質ペルオキシダーゼの活性が地上対照に比べて低下することが報告されている。¹⁷⁾

表1. 過重力条件下で生育させたコムギ幼葉鞘細胞壁のジフェルラ酸（DFA）とフェルラ酸（FA）の比率。

	Ratio (DFA / FA)	
	day 2	day 4
Control	0.047	0.059
HG	0.069	0.104

吸水させたコムギ種子を暗所で遠心分離機を用いて設定した300gの過重力条件下で2～4日間生育させた。Control, 対照（1g）；HG, 過重力（300g）。

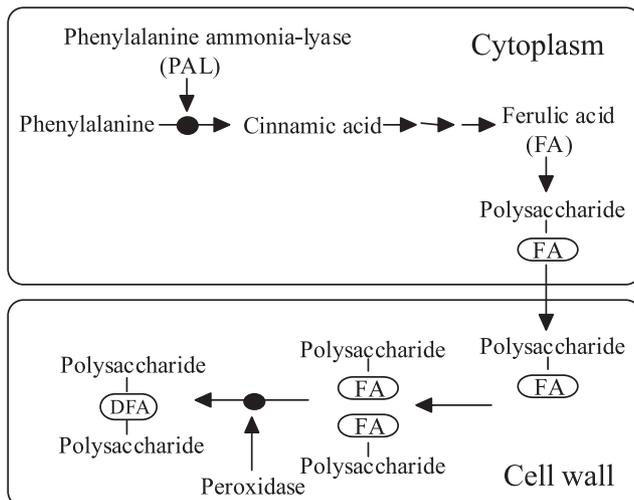


図3. フェルラ酸とジフェルラ酸の合成経路

宇宙実験計画

これまでの結果から、宇宙実験では「微小重力条件下では、PALおよび細胞壁ペルオキシダーゼ遺伝子の発現量が減少してこれら酵素活性が低下することでジフェルラ酸形成が抑制され、その結果、多糖間ネットワークが緩み細胞壁強度が低下する」という実験仮説を検証することを目的としている。このために、軌道上で発芽・生育させた芽生えを凍結した状態で地上に回収して、遺伝子発現量、酵素活性、細胞壁結合性フェノール化合物量、細胞壁多糖類組成、細胞壁の物性についての解析を行う。実験では地上で種子を寒天などの保水性素材上に播種・固定した後、低温（4°C程度）保存した状態で打ち上げる。イネやコムギは低温保存した状態ではほとんど発芽しないことから、軌道上に到着後インキュベーター内に移して温度を上げることで発芽を誘導する。打ち上げたサンプルの半分は国際宇宙ステーション（ISS）に設置予定の遠心分離機上に培養容器ごとセットして宇宙環境での1g対照とし、残りはそのまま微小重力環境で生育させる。その後、成長段階に応じて3～4段階のステージで植物を培養容器ごとサンプリングして冷凍ユニットに入れ凍結保存する計画である。したがって、軌道上での操作は、基本的に植物が植えられた容器を出し入れするだけである。普段の地上での実験を考えると、これらの操作・作業は簡単で短時間（数分から十数分）で行えることから支障はないと思われたが、軌道上でのクルーの作業タスクからすると決して軽微なものではないとの指摘があり、実験の実施に向けてサンプル数やサンプリングステージについて検討を進めている。このように実験設備やクルータイムなどのリソースの制約を受ける宇宙実験を効果的に実施するためには、これまでの地上研究や宇宙実験から検証すべき仮説や対象を絞り込んでおくことが重要であると思われる。

アメリカ政府の宇宙政策の変更や巨額の建設費用問題、スペースシャトルのトラブルからISSの規模縮小が示されている。これに伴い建設が予定されていた施設・設備の見直しが行われる見通しで、今後、ISSで予定されている実験がどのように進められるのかは明らかになっていない。しばらく前までは、2005～6年頃にはISSが完成して、その運用開始とともに生物を対象とした宇宙実験の機会も飛躍的に増えると期待されていた。しかし、数年後のスペースシャトルの運用終了やISSの未完成打ち切りにより、これからの宇宙実験の実施にも多大な影響が出ると思われる。地上では得難い宇宙環境での実験が一部の研究者に限られることなく、今後とも、多くの人々に参加の機会が確保されることが重要である。

本稿で述べた宇宙実験の推進に対する宇宙航空研究開発機構ならびに日本宇宙フォーラムの支援に感謝する。

文 献

- 1) Hoson, T.: *J. Plant Res.*, **111**, 167 (1998).
- 2) Hoson, T. and Soga, K.: *Int. Rev. Cytol.*, **229**, 209 (2003).
- 3) Fry, S. C.: *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **37**, 165 (1986).
- 4) Carpita, N. C.: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **47**, 445 (1996).
- 5) Kamisaka, S. *et al.*: *Physiol. Plant.*, **78**, 1 (1990).
- 6) Parvez, M. M. *et al.*: *Physiol. Plant.*, **99**, 39 (1997).
- 7) Wakabayashi, K. *et al.*: *Plant Physiol.*, **113**, 967 (1997).
- 8) Tan, K. S. *et al.*: *Physiol. Plant.*, **83**, 397 (1991).
- 9) Kawamura, Y. *et al.*: *J. Plant Physiol.*, **156**, 689 (2000).
- 10) Nishikubo, N. *et al.*: *Plant Cell Physiol.*, **41**, 776 (2000).
- 11) Wakabayashi, K. *et al.*: *J. Plant Res.*, **110**, 311 (1997).
- 12) Wakabayashi, K. *et al.*: *Plant Cell Physiol.*, **38**, 811 (1997).
- 13) Soga, K. *et al.*: *Plant Cell Physiol.*, **40**, 581 (1999).
- 14) Soga, K. *et al.*: *Plant Cell Physiol.*, **41**, 509 (2000).
- 15) Wakabayashi, K. *et al.*: *Adv. Space Res.*, (in press).
- 16) Wakabayashi, K. *et al.*: *Physiol. Plant.*, **125**, 127 (2005).
- 17) Cowles, J. R. *et al.*: In *Plant Cell Wall Polymers*, p. 203, ACS Symposium Series 399, American Chemical Society, Washington, DC (1989).