



Evolutionary Theory for

CONSTRAINED & DIRECTIONAL DIVERSITIES

Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 4 No. S5 (2020)

新学術領域研究

# 進化の制約と方向性

～微生物から多細胞生物までを貫く表現型進化原理の解明～



号外 食虫植物ハエトリソウの記憶の仕組みを解明

表紙: 米国ノースカロライナ州に自生するハエトリソウ *Dionaea muscipula*  
(基礎生物学研究所 須田啓、長谷部光泰)

# Calcium dynamics during trap closure visualized in transgenic Venus flytrap

Hiraku Suda, Hiroaki Mano, Masatsugu Toyota, Kenji Fukushima, Tetsuro Mimura, Izuo Tsutsui, Rainer Hedrich, Yosuke Tamada, Mitsuyasu Hasebe

*Nature Plants* (2020) 6, 1219-1224

<https://doi.org/10.1038/s41477-020-00773-1>

The leaves of the carnivorous plant Venus flytrap, *Dionaea muscipula* (Dionaea) close rapidly to capture insect prey. The closure response requires two successive mechanical stimuli to sensory hairs on the leaf blade within approximately 30 seconds. An unknown biological system in Dionaea is thought to memorize the first stimulus and transduce the signal from the sensory hair to the leaf blade. Here, we link signal memory to calcium dynamics using transgenic Dionaea expressing a Ca<sup>2+</sup> sensor. Stimulation of a sensory hair caused an increase in cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>) starting in the sensory hair and spreading to the leaf blade. A second stimulus increased [Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub> to an even higher level, meeting a threshold that is correlated to the leaf blade closure. Because [Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub> gradually decreased after the first stimulus, the [Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub> increase induced by the second stimulus was insufficient to meet the putative threshold for movement after about 30 seconds. The Ca<sup>2+</sup> wave triggered by mechanical stimulation moved an order of magnitude faster than that induced by wounding in petioles of *Arabidopsis thaliana*<sup>4</sup> and Dionaea. The capacity for rapid movement has evolved repeatedly in flowering plants. This study opens a path to investigate the role of Ca<sup>2+</sup> in plant movement mechanisms and their evolution.

# 食虫植物ハエトリソウの記憶の仕組みを解明

2020年10月6日 自然科学研究機構基礎生物学研究所 プレスリリース

<https://www.nibb.ac.jp/press/2020/10/06.html>

食虫植物は葉で小動物を誘引、捕獲、消化、吸収し、栄養としています。ハエトリソウはアメリカ合衆国のノースカロライナ州とサウスカロライナ州だけに分布する食虫植物です。二つ折りになった葉の上に毛(感覚毛)が生えており(図1)、1回触っただけでは閉じませんが、30秒以内にもう1回触ると、約0.3秒で閉じ、小動物を挟み込んで食べてしまいます(図1)。このことは、最初の刺激を30秒間記憶していることを示しています。脳も神経も無い植物が記憶することから、その仕組みは広く興味を持たれ、多くの研究者が研究を行ってきました。そして、1988年にドイツのホディックとシーバースは、カルシウムイオン濃度変化が関与しているのではないかという仮説を提唱しました(図2)。しかし、ハエトリソウでカルシウムイオン濃度を細胞にダメージを与えずに測定する方法が無く、真偽が不明でした。基礎生物学研究所の須田啓大学院生真野弘明特任助教、玉田洋介助教(現宇都宮大学)、長谷部光泰教授らを中心とした研究グループは、ハエトリソウへの遺伝子導入技術(外来遺伝子を生物に導入する技術)を確立し、カルシウムイオンと結合して緑色蛍光を発するタンパク質の遺伝子をハエトリソウに導入しました。そして、細胞内カルシウムイオン濃度変化を可視化することに成功しました。その結果、1回目の刺激で細胞内カルシウムイオン濃度が上昇し、2回目の刺激で1回目の細胞内カルシウムイオン濃度に上乗せして、さらにカルシウムイオン濃度が上昇、閾値(限界値)を超えることで葉が閉じることを発見しました(図3)。一方、1回目の刺激で上昇した細胞内カルシウムイオン濃度は、時間とともに減少し(図3)、ホディックとシーバースの仮説のように(図2)、約30秒を超えると、2回目の刺激を与えても、細胞内カルシウムイオン濃度が閾値を超えないために、葉が閉じないことがわかりました。この観察結果から、ハエトリソウの記憶はカルシウムイオン濃度変化によって説明できることがわかりました。

今後は、接触刺激がどのような仕組みでカルシウムイオン濃度を変化させるか、変化したカルシウムイオン濃度がどのように運動を引き起こすか、そして、ハエトリソウの速い運動が普通の植物の何を変えることで進化できたのかを解明することが課題です。そして、将来的には、動かない普通の植物を動くようにできるかもしれません。

この成果は英国時間2020年10月5日付でNature Plants誌に掲載されます。

## 【研究の背景】

普通の植物は根から栄養を吸収します。しかし、湿地のような貧栄養地では、根から栄養を吸収できません。食虫植物は小動物を誘引、捕獲、消化、吸収することで、根だけではなく、葉から栄養を摂取し、貧栄養地でも生育することができます。食虫植物の1種であ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とサウスカロライナ州の湿地帯だけに自生します。二つ折りになった葉の縁にたくさんの刺があると同時に、葉の上面に6本の細い毛(感覚毛)が生えており(図1)、条件が良いと約0.3秒で閉じます。

葉が閉じる仕組みは、曲がる側の細胞で細胞内のカリウムイオンと塩素イオンが細胞外に放出され、細胞内の浸透圧が細胞外より減少し、水が細胞内から細胞外に出ることで、細胞の細胞膜に囲まれた部分が収縮するのではないかと考えられています。野菜を塩漬けにすると萎れる状態です。これだけだと、動きはゆっくりなのですが、ハエトリソウの葉は弾力があり、葉は外側に反り返った状態になっているため(図1)、座屈現象(構造物に徐々に荷重を加えると、あるところで急に大きく変形する現象)によって葉が一気に表側に反り返ることが知られています。下敷きがぺこぺこ動くのと同じ現象です。



図1 ハエトリソウの自生(左)と捕虫(中、右)。葉の表側にある感覚毛(中)を2回刺激すると葉が閉じる(右)。閉じた葉(右)はコオロギを捕獲している。

閉じる速度に加え、ハエトリソウの葉の持つもう一つの巧妙な点は、感覚毛を1回触っただけでは閉じず、30秒以内にもう1回触ると閉じる点です。2回さわらないと閉じないことで、偶然、雨やゴミなどがあっても閉じないメリットがあると考えられています。2回の刺激で閉じるということは、1回目の刺激を記憶する仕組みがあるはずですが、約30秒を超えると2回目の刺激で閉じなくなるということは、記憶は約30秒しか保持されないこととなります。これまでこのハエトリソウの短期記憶の仕組みについて多くの研究が行われてきました。感覚毛を刺激すると、動物の神経細胞のように、葉の電位変化(活動電位)が起こることが、1873年に発表されました。その後、動物細胞で、一次情報として細胞膜上を伝わる活動電位が、細胞膜にあるカルシウムチャンネル(カルシウムイオンを選択的に通過させる通路)を制御し、細胞に変化を起こすことがわかってきました。植物細胞でも、活動電位によってカルシウムチャンネルが活性化され、細胞外から細胞内へカルシウムイオンが流入し、原形質流動などの細胞の働きが変化することがわかってきました。このような状況のもと、ドイツのボン大学のホディックとシーバースは、ハエトリソウの活動電位が細胞内カルシウムイオン濃度を上昇させ、その結果、葉が運動するというモデルを提唱しました。さらに、カルシウムイオン濃度変化によって記憶現象が説明できるのではないかと仮説を提唱しました(図2)。この仮説は、1)感覚毛を刺激すると活動電位が発生し、活動電位によって細胞内のカルシウムイオン濃度が上昇する、2)カルシウムイオンあるいはそれによって制御される分子が閾値を超えた量まで蓄積すると葉が閉じる、3)1回の刺激ではカルシウムイオンの上昇は閾値を超えることができず、閾値を超えるには、少なくとも2回の刺激が必要である、4)カルシウムイオン濃度は1回目の刺激で上昇後、徐々に減少し、30秒以上たつと、2回目の刺激を与えてもカルシウムイオン濃度が閾値を超えることができないというものです。

しかし、ホディックとシーバースの仮説を検証するには、細胞内のカルシウムイオン濃度がどのように変化するかを観察することが必要です。しかし、ハエトリソウにおいて細胞内カルシウムイオン濃度を検出する方法が無く、提唱から30年以上に亘って、仮説の真偽がわかりませんでした。

### 【研究の成果】

細胞内のカルシウムイオン濃度を検出するには、カルシウムイオンと結合すると光を発するようなセンサータンパク質をハエトリソウで働かせることが必要です。そのためには、センサータンパク質の遺伝子をハエトリソウに導入することが不可欠です。須田啓氏は、中学校で食虫植物の自由研究を行い、食虫植物において、獲物を捕らえたという信号が葉全体にどのように伝わるかに興味を持ちました。この興味を追求するため、大学院生として基礎生物学研究所で研究を始めました。ハエトリソウに遺伝子導入する技術を開発するため、2年半に渡って、さまざまな実験を繰り返しましたが、失敗が続きました。しかし、暗い場所で育てたハエトリソウは実験がうまくいきやすいことに気づき、さらに条件を最適化することで、ハエトリソウに遺伝子導入することに世界で初めて成功しました。

## ホディックとシーバース (1988)の仮説

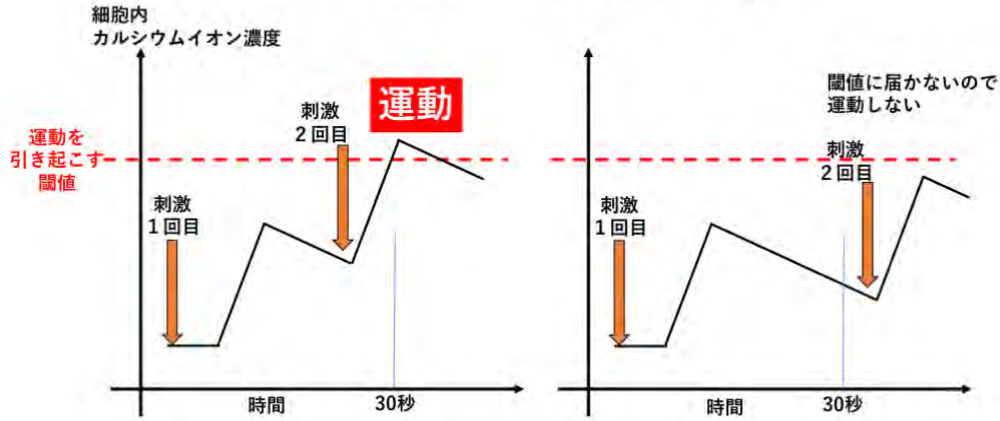


図2 ホディックとシーバース(1988)の仮説の模式図

ハエトリソウにカルシウムイオンと結合すると緑色蛍光を出す GCaMP6f タンパク質をコードする遺伝子を導入し、細胞内のカルシウムイオン濃度をモニターすることが可能なハエトリソウを作成しました。感覚毛を1回刺激すると、感覚毛から葉全体に同心円状に緑色の蛍光が広がりました(図3上段)。そして、広がった後、蛍光は時間がたつにつれ、徐々に減少しました(図3中段)。2回目の刺激を与えると、1回目よりも強い蛍光が広がり、葉は閉じました(図3下段)。この観察結果は、ホディックとシーバースの仮説が正しいことを支持し、ハエトリソウの記憶は細胞内のカルシウムイオンの量の変化で説明できることが示されました。

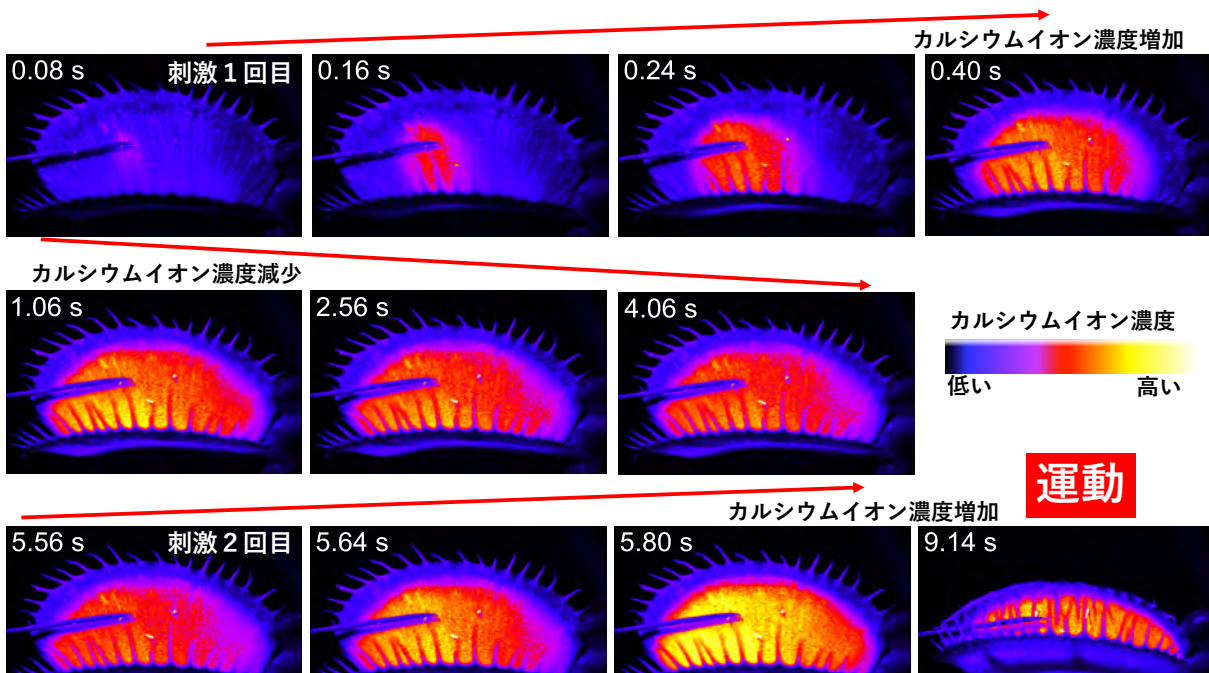


図3 ハエトリソウの葉のカルシウムイオン濃度変化を可視化した写真。カルシウムイオン濃度が上がると赤色が濃くなり、さらに濃くなると黄色になる。図中の s は秒を現す。

動画のダウンロード: <https://www.nibb.ac.jp/pressroom/news/uploads/20201006/trap.mov>

動画では、カルシウムイオンの蛍光を緑で示してあります。カルシウムイオン濃度が上がると緑色が濃くなります。

### 【今後の展望】

活動電位がどのようにカルシウムイオン濃度上昇を引き起こすのか、カルシウムイオンはどのような分子機構で細胞の膨圧を変化させ、運動を引き起こすのかが今後の研究課題です。また、これらの仕組みを明らかにすることにより、どんな遺伝子や仕組みが変化することで、通常の植物からハエトリソウが進化したかを明らかにしたいと思っています。そして、普通の植物を動くようにすることも可能になるかもしれません。

### 【発表雑誌】

雑誌名 Nature Plants

掲載日 英国時間 2020 年 10 月 5 日 16 時(日本時間 2020 年 10 月 6 日 0 時)

論文タイトル: Calcium dynamics during trap closure visualized in transgenic Venus flytrap

著者: Hiraku Suda, Hiroaki Mano, Masatsugu Toyota, Kenji Fukushima, Tetsuro Mimura, Izuo Tsutsui, Rainer Hedrich, Yosuke Tamada, Mitsuyasu Hasebe

DOI: 10.1038/s41477-020-00773-1

### 【研究サポート】

本研究は文部科学省科学研究費補助事業のサポートを受けて実施されました(17J08569, 17H05007, 18H05491, 18H04790, 16K14761, 17H06390)。

## **Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 4 No. S5**

発行 : 2020 年 11 月 25 日

発行者 : 新学術領域研究「進化の制約と方向性～微生物から多細胞生物までを貫く表現型  
進化原理の解明～」(領域代表者 倉谷 滋)

編集 : Constrained & Directional Evolution Newsletter 編集委員会(編集責任者 深津 武馬)

領域 URL : <http://constrained-evo.org/>