

報告年月日	2005 年 2 月 22 日
報告者氏名	鎌田 崇
職種 (○で囲む)	○研究員 RA
所属 (RA のみ)	研究科 専攻 ( 大学配属 年度入学)
担当 (指導) 教員氏名	上村 松生
申請研究テーマ (50 字以内)	シロイヌナズナの低温馴化過程における適合溶質の細胞内局在性の変化
採用によって得られた成果  具体的に記すこと。 (今年度の申請をふまえて、何が解決され、何が問題として残ったか、予想していなかった結果など)  各項目の長さを適宜調整し、全体で2ページに収まるように記すこと。  図表を入れても構わない。	<p><b>研究背景と目的</b></p> <p>植物は低温馴化過程で凍結耐性を向上させるが、その要因の一つに適合溶質（糖類やアミノ酸など）の細胞内への蓄積がある。過去の報告から、適合溶質の働きとしては、1) 細胞へ蓄積することにより浸透圧を上昇させる効果、2) 凍結脱水条件下において膜系やタンパク質を保護する効果、の大きく二つが考えられており、この二つの要素が凍結耐性向上に大きく寄与していると考えられている。また、植物の凍結傷害の初発部位が細胞膜であることも明らかにされている。</p> <p>これらの報告から、一般的に適合溶質は細胞膜を保護するためにサイトゾルに局在化していると考えられているが、その仮説を裏付けする、信頼性の高い報告は提出されていない。しかし、適合溶質の細胞内局在性を明確にしない限り、適合溶質の凍結耐性向上への効果について正しい理解を得ることは出来ない。</p> <p>そこで我々は、『適合溶質は、細胞膜を保護するためにサイトゾルに局在化しているのではないか?』との仮説を検証するために、実験植物であるシロイヌナズナを用いて、適合溶質の細胞内局在性の調査を行った。</p> <p><b>研究方法</b></p> <p>適合溶質は水溶性の低分子（糖類やアミノ酸）であるため、従来の水系を用いた細胞内コンパートメントの分画法（パーコールグラジエントやスクロースグラジエント）では、各コンパートメントからの適合溶質の漏出の影響がどうしても無視できないものであった。そこで我々は、疎水性溶媒を用いた細胞内コンパートメントの分画法である、Nonaqueous Fractionation 法を用いて、4 つの細胞内コンパートメント（葉緑体、ミトコンドリア、サイトゾル、液胞）における適合溶質の局在性を測定した。この方法は、各コンパートメントの親水性マーカー酵素のフラクションにおける分画パターンと、適合溶質の分画パターンを重回帰分析法にかけることで、各コンパートメントにおける適合溶質含量を推定する方法である。我々は以前、コムギ葉を用いて同様の実験系を確立しており、本研究ではその方法をシロイヌナズナの葉に適用し、実験を行った。</p>

## 成果と考察

はじめに、本研究では適合溶質として糖類およびアミノ酸を対象としているが、本報告時点では糖類の分析のみが終了しているため、それについて報告を行う。なお、ミトコンドリアマトリックスには糖類は存在しないと考えられるため、細胞内コンパートメントとして、葉緑体・液胞・サイトゾルの3ヶ所の結果のみ示した。

結論から言えば、低温馴化処理によって最も糖類が蓄積していた部位は液胞であり、次いでサイトゾル、葉緑体の順であった。しかし、各コンパートメントにおける糖の蓄積パターン、およびその種類は異なった変化を見せた（図参照）。

この結果は、低温馴化過程において糖が最も蓄積する部位が液胞であることを示しており、当初の仮説『適合溶質は、細胞膜を保護するためにサイトゾルに局在化しているのではないか?』を否定する結果であるように見える。しかし、この結果は新鮮重当たりの糖含量（mg）で示しているため、各コンパートメントの容積を考慮していない。この事は、糖の“濃度”を考慮する場合、細胞内で大きな容積を占める液胞と、小さな容積しか占めないサイトゾルとでは、同じ糖含量であっても濃度に大きな差が出ることを示唆しており、今後は各コンパートメントの容積を考慮した、糖の評価が必要になると考えられた。

また、適合溶質のひとつであるプロリンの蓄積が、凍結耐性向上に非常に重要であることが報告されており、今後は各コンパートメントにおけるアミノ酸（特にプロリン）の蓄積についても調査する必要があると考えられた。

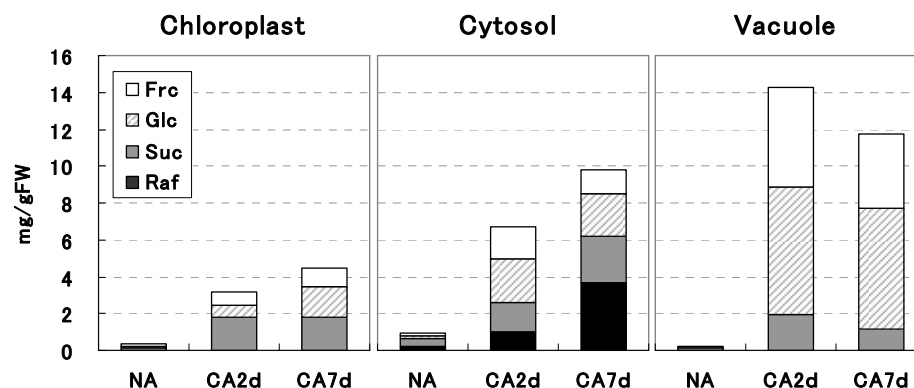


図) 低温馴化過程における糖含量の各細胞内コンパートメントにおける変化

凡例は、Frc : Fructose、Glc : Glucose、Suc : Sucrose、Raf : Raffinose、  
NA : Non Acclimation、CA : Cold Acclimation、n=3。

発表論文など :

Kamata, T. and Uemura, M. Solute accumulation in wheat seedlings during cold acclimation: contribution to increased freezing tolerance. *CryoLetters* 25:311-322 (2004)

学会発表など : なし