©2024 筑波大学生物学類

細胞壁改変イネを用いた塩ストレス応答の解析

藤井　智代（筑波大学 生物学類）　　指導教員：岩井　宏暁（筑波大学 生命環境系）

【背景・目的】

植物は外界の環境から塩や乾燥といったストレスを受け、あらゆる生理・生化学的な反応を生じる。特に塩ストレスの場合、多くは植物の生長や成育に影響を及ぼし、塩害は現代の農業における脅威のひとつである。塩ストレスは、Na^+イオン毒性と浸透圧ストレスに分けることができる。植物はこれらのストレスを感知すると、様々な応答をすることによって、塩ストレス耐性を獲得する。塩ストレスにより細胞外の Na^+濃度が増加すると細胞内にNa^+が流入し、細胞質におけるNa^+濃度が上昇する。高濃度のNa^+は植物にとって有害であり、このNa^+を細胞外へと排出または液胞内に隔離するため複数のNa^+輸送体が活性化する。この活性には、NHX 型遺伝子や SOS (Salt Overly Sensitive)遺伝子といった特定の遺伝子の発現が必要であることがわかっている。特に SOS5 に関して、細胞表層に局在する GPI アンカータンパクをコードしていることが明らかにされ、細胞壁構造に重要なchitinase-like protein (AtCTL1)が塩ストレスに重要であることが示される。このように塩ストレス応答の一部が細胞壁構造と関係している可能性が示唆されているが、細胞壁構造と塩ストレスとの関係はほとんど理解されていないのが現状である。

植物の細胞壁はセルロース、ヘミセルロース、ペクチン、構造タンパク質、糖タンパク質、リグニンなどから構成される。塩ストレスの影響として、細胞壁中のペクチンを例に挙げると、通常ペクチンはCa^{2+}で架橋しているが、細胞壁中のNa^+が増加することによって、Ca^{2+}の架橋が減少することが分かっている。また、近年の研究によって、細胞壁成分(リグニンやアラビノース)の生合成遺伝子が塩ストレス耐性に寄与しうることが示された。

細胞壁組成は、生物・非生物ストレスへの応答において変化することが知られているが、その変化は種や細胞によって異なるため、不明な点が多い。そのため、本研究の目的は、イネにおける細胞壁組成の変化が塩ストレス耐性にどのような影響を及ぼすかについて理解することである。いくつかの細胞壁改変イネを用いて塩耐性を調べた予備実験の結果、ペクチン分解酵素である PG2 の過剰発現体において塩耐性に変化があった。PG2 の過剰発現体ではペクチン量が減少すると推測されるが、ペクチン量の変化とイネの塩ストレス耐性の関係を明らかにするために、*OsPG2-FOX*に着目して調査を行った。

【材料・方法】

・イネの生育

イネ(*Oryza sativa*)の日本晴、OsPG2 の過剰発現体である*OsPG2-FOX*、自家交配により分離し、OsPG2 を過剰発現するコンストラクトを含まないヌルセグリガント個体である *OsPG2-WT*の種子を 3 日間吸水させた後、2 週間の水耕栽培を行った。水耕栽培の最後の 3 日間は 100mM NaCl 条件で塩処理を行った。イネは根と地上部に分けてサンプリングし、生重量 (FW) を計測した。

・細胞壁組成の解析

サンプリングした *OsPG2-FOX* と *OsPG2-WT* の中で生育が揃っているものを選び、細胞壁を抽出した。TFA 処理によって、セルロースを含む TFA 不溶画分と、ペクチンとヘミセルロースを含む TFA 可溶画分に分けた。アンスロン硫酸法、カルバゾール硫酸法を用いて中性糖と酸性糖の量を測定し、ガスクロマトグラフィーを用いて、細胞壁を構成する糖の組成を解析することによって、TFA 可溶画分、不溶画分に含まれる単糖の定量を行った。

【結果・考察】

・イネの塩耐性

塩処理前から塩処理後の FW の増加量を比較すると、地上部と根の両方において、*OsPG2-FOX*の増加量が最も大きかった。

・細胞壁組成の解析

アンスロン硫酸法の結果、地上部においては、TFA 可溶、不可溶の両画分で *OsPG2-FOX* と *OsPG2-WT* の中性糖量は塩処理を行うことによって増加した。根においては、TFA 可溶画分では同様に増加したが、TFA 不可溶画分では、*OsPG2-WT* の中性糖量は減少したのに対し、*OsPG2-FOX*は変化しなかった。

カルバゾール硫酸法の結果、地上部においては、TFA 可溶画分と不可溶画分の両方で酸性糖量が増加したが、どちらにおいても *OsPG2-WT* でより大幅に増加した。一方、根においては、TFA 可溶画分ではどちらの系統でもあまり変化しなかったが、TFA 不可溶画分では両者で同様に減少した。

ガスクロマトグラフィーの結果については発表会にて報告する。

地上部と根で糖の変化が異なっていることから、塩ストレスに対する応答は部位によって異なる可能性が高い。