

植物体内におけるミネラルアンタゴニズム によるストレス発現機構の解明

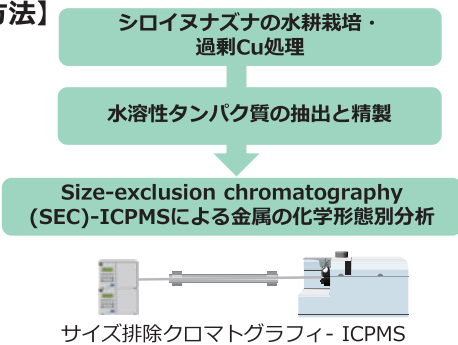
研究代表者 古田 直紀 研究員

● Cuが競合的に結合するシロイヌナズナ由来Niタンパク質の探索

【概要】

植物における重金属障害は、金属タンパク質において起こる必須金属と有害金属との競合作用（アンタゴニズム）に起因するとされているが、具体的にどの金属タンパク質において競合作用が起きるのかが明らかにされていない。我々はSize exclusion chromatography-誘導結合プラズマ質量分析法（ICPMS）を用いることで、シロイヌナズナにおいてCuが競合的に結合すると思われるNiタンパク質を検出することに初めて成功した。

【方法】



1. SEC-ICPMSを用いた金属タンパク質分析

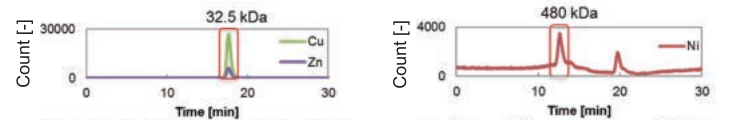


図. ウシ赤血球由来Cu/Zn-SODのクロマトグラム (SOD: Superoxide Dismutase) 図. ナタメ由來Ureaseのクロマトグラム

➢ SEC-ICPMSを用いることで、各金属タンパク質を分離、検出できることを確認した。

2. NiとCuが競合するタンパク質の検出

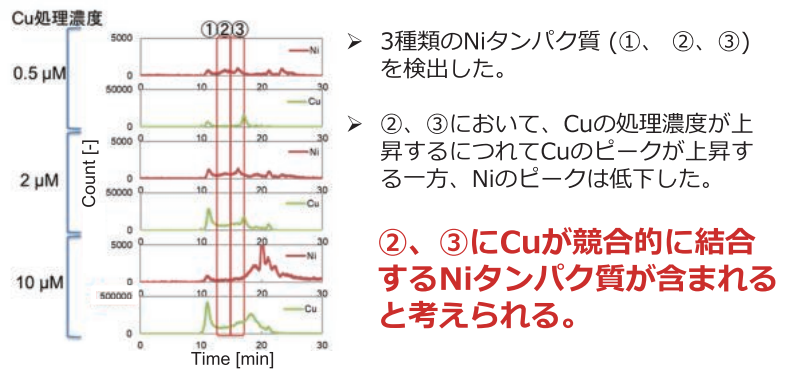


図. シロイヌナズナ由来金属タンパク質のクロマトグラム

➢ 3種類のNiタンパク質 (①、②、③) を検出した。

➢ ②、③において、Cuの処理濃度が上昇するにつれてCuのピークが上昇する一方、Niのピークは低下した。

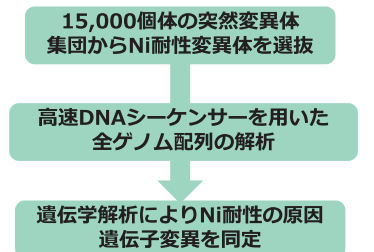
②、③にCuが競合的に結合するNiタンパク質が含まれると考えられる。

● シロイヌナズナにおけるNi耐性を強化する遺伝子変異の探索

【概要】

作物におけるNiの過剰害は古くから問題となってきたものの、被害を低減する具体的な方策は未だ得られていない。我々はシロイヌナズナの突然変異体集団から高いNi耐性を示す変異体を単離することに成功し、さらに高速DNAシーケンサーを用いた遺伝学解析により4番染色体上にNi耐性の原因となる遺伝子変異が座上进行することを明らかにした。そして、Ni耐性に関わる新規遺伝子候補を見出した。

【方法】



1. Ni耐性変異体の単離

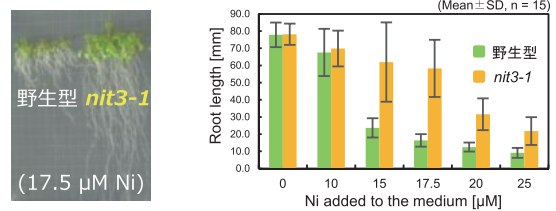
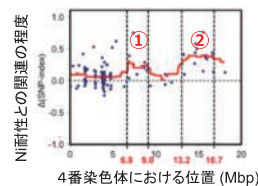


図. Ni過剰培地におけるNi tolerance (nit) 3-1および野生型植物の生育

2. 遺伝学解析によるNi耐性の原因となる遺伝子変異の同定



4番染色体における位置 (Mbp)

| 遺伝子 | アミノ酸置換 | |
|--------|---------|----------|
| | 野生型 | nit3-1 |
| ① 遺伝子A | CGA/Arg | IGA/Stop |
| ② 遺伝子B | GGA/Gly | AGA/Arg |

図. Ni耐性と関連する遺伝子座 (左)、およびそれらの領域においてアミノ酸置換が生じていた遺伝子 (右)

①または②に新規のNi耐性関連遺伝子が座上进行と考えられる。