

カラマツ木部柔細胞由来の冬季誘導性タンパク質 (LkDRP1、LkDRP2) の同定

バイオマス転換学講座 資源植物創成学分野
能美彩香

【緒言】

北方に生育する樹木は冬の厳しい寒さによる凍結に対して適応機構を発達させている。樹木の組織ごとにその適応機構は異なり、木部柔細胞では深過冷却という適応機構を示す。深過冷却は、細胞外に氷晶が生じても細胞内の水分が脱水されず安定的に過冷却状態を維持する機構であり、樹木にとって致命的な細胞内凍結を防いでいる。本研究室では、樹木の深過冷却機構を解明するために研究をおこなっており、近年、フラボノール配糖体といった氷核形成阻害物質が深過冷却を促進していることを明らかにした。また、一方で深過冷却能が上昇する冬季に特異的に蓄積する糖やタンパク質群、特異的に発現する遺伝子群が存在することを明らかにしたが、それらの個々について深過冷却機構との関わりは不明のままであり、深過冷却機構の全容についてはまだ明らかになっていない。森本ら (2009) はカラマツの木部柔細胞で冬季に蓄積するタンパク質について調べ、深過冷却能の変動に対応して発現量が増減するタンパク質 (*Larix kaempferi* Deep supercooling Related Proteins : LkDRPs) を 16 個見出した。さらに、16 個全ての部分アミノ酸配列を予測し、そのうち 15 個は既存のタンパク質と相同性を示すことを明らかにした。その中で LkDRP1、LkDRP2 は *Picea glauca* の Late Embryogenesis Abundant protein (PgLEA) と高い相同性を示した。一般的に LEA はストレス応答性タンパク質として知られており、それらの中には凍結抵抗性に関連するものも知られている。よって、これら 2 つは深過冷却に関与する可能性が考えられた。そこで、本研究では LkDRP1、LkDRP2 をコードする遺伝子を単離し、その機能や深過冷却機構への関与を明らかにすることを目的とした。

【実験方法】

LkDRP1、LkDRP2 をコードする遺伝子を単離するため、カラマツ木部由来の cDNA ライブラリーをテンプレートとして PCR 反応をおこなって目的遺伝子を増幅し、サブクローニングの後にシーケンス解析をおこなった。

【結果と考察】

LkDRP1、LkDRP2 をコードする遺伝子の単離はできなかったが、これらの N 末端アミノ酸配列とアミノ酸残基が 1 つのみ異なるアイソフォーム、LkDRP1a (分子量 12.1kDa、等電点 8.2) と LkDRP2a、b、c (分子量 12.1、12.0、12.1kDa、等電点はいずれも 7.8) をコードする遺伝子が単離できた。これらの塩基配列から予測される分子量、等電点は LkDRP1 (分子量 13kDa、等電点 8.2) や LkDRP2 (分子量 13kDa、等電点 8.1) と極めて近いことが明らかになった。LkDRP1a や LkDRP2a、b、c について既存のタンパク質との相同性を NCBI の BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) を用いて検索したところ、前述の PgLEA のほかにイチヨウの抗菌性タンパク質 ginkbilobin2 も高い相同性を示した。このことから、これらは深過冷却のみならず、病原応答にも関わる可能性も考えられた。