

イネにおけるトレハロース代謝の生理機能に関する研究

食品安全・機能性開発学講座 機能性食品変換学分野
藪内 威志

[背景と目的] トレハロースは、無脊椎動物や菌類等に多量に存在し、エネルギー源やストレス保護物質として機能しているが、高等植物中には極微量にしか存在しない。近年、植物のトレハロース生合成遺伝子が多重性に富み、生長、形態形成、ストレス耐性、光合成等の調節に関与していることが明らかにされている。そこで本研究では、イネにおいて、生合成遺伝子の1つである *OsTPP1* に着目し、その生理機能を解明する目的で①ストレス応答時のトレハロース蓄積、② *OsTPP1* 過剰発現株&欠損株の低温耐性、③トレハロース代謝による光合成の調節に関する研究を実施した。

[方法] 野生株(品種:ゆきひかり or 日本晴)と *OsTPP1* 過剰発現株&欠損株を用いて実験を行った。①では1週間水耕栽培を実施し、低温、塩(150 mM NaCl)、乾燥のストレス処理を施し、経時的に根組織をサンプリングし、細胞内可溶糖抽出して、パルス電流検出器付き高速イオンクロマトグラフィーに供し、ラクトースを内部標準物質としてトレハロース蓄積量を定量した。②では発芽後10日間通常に生育させ、その後 *OsTPP1* 過剰発現株では4°Cで9日間、欠損株では4°Cで7 or 8日間の低温処理を与え、再び1週間生育させた後、生存率を測定した。③では、*OsTPP1* 過剰発現株の第7葉を用いた RT-PCR 法による光合成関連遺伝子の発現量解析を実施した。また光合成測定装置(LI-6400)による CO₂ 固定量を指標にした光合成活性測定を実施し、*OsTPP1* 過剰発現株&欠損株の光合成能について評価した。

[結果及び考察] ①では、ストレス処理後早期にトレハロースが蓄積し、その後2回目の蓄積も確認された。この蓄積量の変化とトレハロース生合成遺伝子 *OsTPP1*&*OsTPP2* の発現量の変化が相関していたので、トレハロース代謝がストレス応答に関与していることが示唆された。②では *OsTPP1* 過剰発現株が野生株に比べ非常に高い生存率を示した一方で、欠損株では野生株と生存率に大きな違いはなかった。従ってイネでは *OsTPP1* がストレス耐性に関与しており、*OsTPP1* の機能は *OsTPP2* など、*OsTPP1* 以外の TPP によって代替されると考えられ、同時にそれがトレハロース生合成系の多重性の役割の1つであることが示唆された。③では野生株を用いて常温時(25°C)と低温下(12°C)での光合成活性(A)、およびその際のトレハロース量(B)を測定した所、低温下では常温時に比べ、Aは低下し、逆にBは増加していた。これは *OsTPP1*&*OsTPP2* の低温誘導によって、その基質であり、光合成の正の調節因子とされている Trehalose-6-phosphate (Tre6P) 量が減少したためではないかと考えられた。*OsTPP1* 欠損株では、低温によるAの低下およびBの増加が野生株より緩和されていた。また、*OsTPP1* 過剰発現株では一連の光合成関連遺伝子の発現量が野生株に比べ低下し、Aも野生株に比べ低下していた。これは恒常的に発現する *OsTPP1* により、Tre6P 量が常に減少しているためであると考えられた。A&B どちらの変化もストレス応答でのトレハロース代謝系の活性化によると考えられるが、*OsTPP1* の機能はその調節に重要であることを示唆している。以上本研究により、イネではトレハロース代謝系を介したストレス耐性獲得機構および光合成調節機構が存在していることが明らかにされた。