

無菌水耕栽培したイネの根から分泌されるタンパク質の プロテオーム解析

生物共生学講座 植物栄養生態学分野
吉村 誠子

【背景と目的】 植物は根から酸性ホスファターゼやキチナーゼなどを分泌して根圏に働きかけていることが知られているが、これまでの研究は特定のタンパク質に着目した研究がほとんどであり、網羅的に分泌タンパク質を研究した報告は少ない。タンパク質による根圏環境の制御を総合的に解析するためには、分泌されているタンパク質の全体像を対象とする必要がある。そこで本研究ではプロテオーム解析を適用した。供試植物は無菌的に水耕栽培したイネ (*Oryza sativa* L. cv. Nipponbare) とし、根から分泌されたタンパク質全てを対象に、根からどのようなタンパク質が分泌されているのか解析した。また、低リン栄養ストレスに応答して分泌タンパク質プロファイルは変化するのかも検証した。

【方法】

■ 無菌水耕栽培とリン処理

無菌水耕栽培を行い、その水耕液中に含まれるタンパク質を回収し、それらを根から分泌されたタンパク質であるとした。イネは合計で播種後22日間栽培し、その間低リン処理を12日間行った。低リン条件(-P)とコントロール(+P)はそれぞれ3反復設定した。

■ nano-LC-MS/MS によるタンパク質の同定

nano-LC-MS/MS による分析は農業・食品産業技術総合研究機構の協力のもと行った。

【結果及び考察】

■ 病原性微生物に対する防御に関わるタンパク質

最も注目すべきことは、病原性微生物の感染を防ぐ働きのあるタンパク質が非常に多く検出されたことである。例をあげると、ペルオキシダーゼ、 β -グルカナーゼ、キチナーゼなどである。そこで、PR タンパク質(病原微生物の生育抑制活性を有すると報告されているタンパク質)を防御に関わるタンパク質の判断基準として用いた(Van Loon et al, 2006)。その結果、コントロールで検出されたタンパク質は58種類であるが、その内の22種類がPR タンパク質であった。

■ DUF26ドメイン配列を有する機能未知タンパク質

今回、-P とコントロールでそれぞれ3反復ずつ栽培を行った。その全ての栽培において Os04g0659300 という、DUF26 ドメイン配列を有するタンパク質を検出した。以前我々の研究室で行った研究においてもイネ栽培の培養液中からこのタンパク質は検出され、培養液中での分泌量も多いと推定されている(Shinano et al, 2011)。以上の結果を考慮するとOs04g0659300は機能が未知であるが、何らかの重要な役割を根圏で担っている可能性が強く示唆され、その機能解明は今後の課題である。