

シロイヌナズナのストレス応答性膜タンパク質 MP210の機能解析

食品安全・機能性開発学講座 機能性食品変換学分野
藤澤奈津子

【背景と目的】

低温馴化は植物が持つ低温適応機構で、一定期間低温に晒されることによって低温に対する耐性が飛躍的に高まる現象のことである。自然界で植物は晩秋の低温を感じ取り馴化を進めることによって、冬期のマイナス気温にさらされても生存が可能になる。この機構の分子レベルにおける解明は、低温耐性作物の作出など、寒冷地農業の発展に寄与すると期待される。本研究では低温馴化過程で誘導されるシロイヌナズナの機能未知膜タンパク質MP210に着目し、各種環境ストレス応答性と生理機能を解析することによって、耐凍性をはじめとした各種環境ストレス耐性におけるこのタンパク質の機能を明らかにすることを目的とした。

【方法】

MP210の細胞内局在を解析するため、タマネギ表皮細胞にMP210とGFPの融合遺伝子をパーティクルガンを使用して導入し、一過的に遺伝子を発現させることで局在を観察した。環境ストレス応答性は、低温、乾燥、塩ストレス処理を施したシロイヌナズナseedlingを使用し、半定量的RT-PCRによって発現量の変化を比較した。植物体におけるMP210の役割を調べるためT-DNA挿入変異体を用い、凍結、乾燥、塩ストレス耐性を野生型と比較した。

【結果】

SOSUI プログラムによる解析の結果、MP210はN末端側に持つ2つの α -ヘリックス構造により膜にアンカーしていることが予測された。そこでタマネギ細胞内でMP210-GFP融合タンパク質を一過的に発現させたところ、小胞体膜と考えられる網目状構造および細胞膜においてGFP蛍光が観察された。従って、MP210は細胞内で小胞体膜および細胞膜に局在することが示された。半定量的RT-PCRによる発現解析から、MP210は低温、乾燥、塩ストレスの何れのストレスによっても誘導されることが明らかになった。また、変異体の解析によって、MP210欠損体は野生型に比べ凍結ストレス耐性に顕著な差はないものの、乾燥ストレス耐性が著しく低下することが明らかになった。一方で変異体の耐塩性は野生型に比べ上昇することが明らかになった。

【考察】

MP210はその構造予測から、N末端の疎水領域をアンカーとしてC末端側の親水領域が膜表面を覆うと予想される。従って細胞レベルの水欠乏状態において、細胞膜および小胞体膜上で膜同士の異常接近を防止する等、膜の安定化に寄与するのではないかと考えられる。その一方でイオン毒性に対しては、同じく膜上に局在するNa⁺/H⁺アンチポーターの働きを阻害する等、負的作用を持つのではないかと推測される。今後はノックアウト変異体に加えて過剰発現体を作成し、これらを用いて耐凍性、耐塩性、乾燥耐性を解析することでより詳細な機能解明を進めていく必要がある。