

冬芽の自発休眠解除期における可溶性タンパク質組成の変化

共生基盤学専攻 バイオマス転換学講座 資源植物創成学 鈴木伸吾

1. はじめに

夏から秋にかけて樹木は翌春の成長のために越冬芽を形成する。芽が完成する晩秋の頃はまだ成長可能な環境にあるため、この時期の芽は芽自身が成長を抑制している状態（自発休眠状態）へ移行する。秋から冬にかけて長時間の低温に曝されると冬芽の自発休眠は解除され、生理的に開芽できる状態になる。しかし、冬季の低温環境によって冬芽は開芽が抑制される状態（強制休眠状態）へと移行する。強制休眠状態の冬芽は、春に向けて気温が上昇することで展開可能となる。そのため、自発休眠が解除される時期には、冬芽の外観には変化がみられなくとも生理的に変化があると考えられる。そこで本研究では、冬芽の自発休眠解除時期に生じる細胞内成分の変化のうち、特に可溶性タンパク質組成の変化に着目して分析をおこなった。

2. 実験方法

2011年秋から2012年春に採取したバッコヤナギとカラマツの花芽の休眠状態を調べるために、十数個の芽がついた枝を室内の長日条件下で水挿した。2週間後に開芽した芽の割合が75%以上となった時点を目安として自発休眠が解除された目安とした。また、自発休眠解除時期の芽の低温馴化の程度を調べるため、凍結抵抗性を測定した。芽を -3.0°C で凍結させてから、毎時 2.4°C の速度で冷却し、所定の温度に達したところで試料を取り出した。適量の脱イオン水を加えてから振とうして、傷害を受けた細胞から溶出した電解質の量を測定し、細胞の全電解質の50%が漏出する温度(LT_{50})を算出した。

可溶性タンパク質の抽出には芽鱗を除去した芽を使用し、これを破砕して試料重量の10~30倍の抽出液を加えてよく攪拌した。その後、高速遠心ならびに超遠心による遠心分離を行い、得られた上清を可溶性タンパク質抽出液とした。この抽出液のタンパク質濃度を測定して、濃度をそろえてから一次元ならびに二次元電気泳動を行った。またLC-MS/MSでの分析はLi et al. (2012)の方法に従って調製し、これを供試した。

3. 結果と考察

1) 自発休眠の解除と凍結抵抗性 開芽試験の結果、バッコヤナギでは12月初旬、カラマツでは12月下旬に自発休眠が解除されたことが示された。また、両樹種の凍結抵抗性は自発休眠解除時期には既に十分に高くなっていたことから、この時期には低温馴化による生理的変化は少ないと考えられた。

2) 電気泳動と網羅解析 電気泳動では明瞭な変化がみられなかったため、LC-MS/MSによる分析をおこなったところ、バッコヤナギでは41種、カラマツでは14種の可溶性タンパク質において自発休眠解除時期に量的変化がみられた。そのなかで、バッコヤナギでは熱ショックタンパク質(Hsp90)や40Sリボソームタンパク質などが、カラマツでは60Sリボソームタンパク質が自発休眠解除時期に増加した。両樹種で自発休眠解除時期にタンパク質合成や代謝に関わる酵素の増減がみられたが、自発休眠の解除に関わりそうな決定的な因子を見いだすことはできなかった。