

従来のマイクロRRIS(図4)は光学像・蛍光像・RI分布像の3モードで画像を取得し、スーパーインポーズ(重ね合わせ)することが可能な装置として開発されました。しかし、多機能である反面、以下の問題がありました。

問題点1:2種類の光学系を用いるため、スーパーインポーズの際に恣意性が入り、高倍率観察時のRI分布像の位置精度が劣る。

問題点2:シンチレーターを植物体に密着させるための調整に時間がかかるため、RI添加直後の短時間に起こる現象を観察することが難しい。

問題点3:RI分布像の拡大にテーパーFOPを使用していることから、収差が少ない一方で拡大率に限界がある。

そこで本年度は、よりシンプルな光路を持ち、撮像前の調整が容易な装置を開発しました(図5)。これにより、以下のような改善効果が得られました。

改善点1:RI分布像と光学像の取得を同一光路に統合したことで、恣意性の無いスーパーインポーズが可能になった。また、RI像の取得にテーパーFOP(x5)よりも高倍率の対物レンズ(x20)が利用できるようになった。

改善点2:シンチレータープレートの自重によって試料とシンチレーターが密着するため、従来必要であった微調整が不要になり、RI添加から1分以内に観察を開始できるようになった。

図6はシロイヌナズナ根端で吸収された³²P標識リン酸の分布を解析した際の像です。光学像(グレースケール)にRI分布像(疑似カラー)をスーパーインポーズしてあります。このように、改良型マイクロRRISを用いることで、シロイヌナズナの根端数百μmという微小な領域における様々な元素の吸収動態を可視化することが可能になりました。

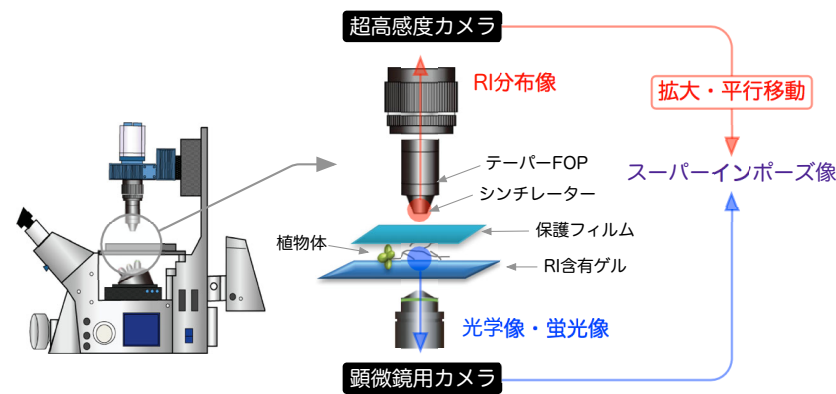


図4: 従来のマイクロRRIS

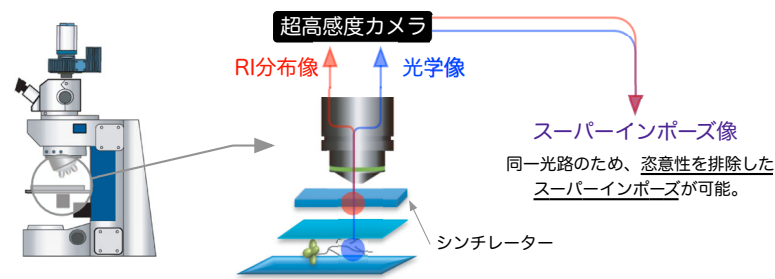


図5: 改良型マイクロRRIS

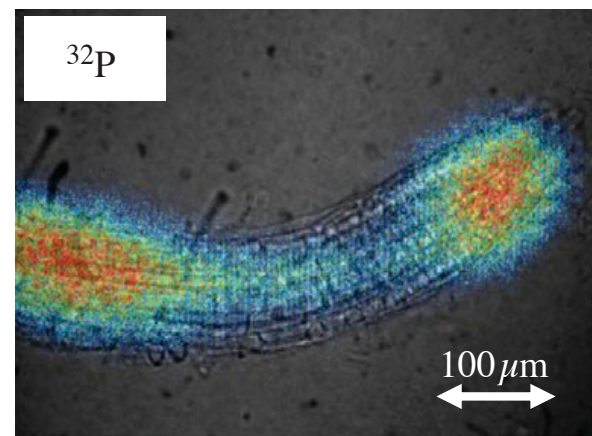


図6: 改良型マイクロRRISで撮像したシロイヌナズナ根端におけるRI分布

※ 本文中の図表は以下の文献から引用・加筆して作成しました。
Kanno et al.(2012) "Development of real-time radioisotope imaging systems for plant nutrient uptake studies" Phil. Trans. R. Soc. B vol.367, pp.1501-1508, doi: 10.1098/rstb.2011.0229

Laboratory of Radioplant Physiology

最先端・次世代研究開発支援プログラム

アイトープライミング技術基盤による 作物の油脂生産システム向上に向けての基礎研究

2011年号



写真:透明化したシロイヌナズナ

東京大学大学院農学生命科学研究科
応用生命化学専攻 放射線植物生理学研究室
〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1
tel: 03-5841-5440
fax: 03-5841-8193

シロイヌナズナの一生 ～生育ステージ分け～

ナタネは種子から油がとれる主要な油糧作物です。油脂増産には大きく分けて、①種子数を増やすこと②種子あたりの油含量をあげることに、この二つのアプローチが考えられます。①に関しては、肥料や光などの量の異なる条件下で植物を栽培し、得られた植物の種子重量などを求めることによって調査することができます。②に関しては、様々な条件下で得られた種子を化学的に分析することによって調査することができます。

ここでは①の導入編として、ナタネと同じアブラナ科に属し、小さく生長の早いシロイヌナズナを用いて実験を行い、どのような条件で育てたときに多くの種子が得られるのかを調査しました。

植物の栽培には、シロイヌナズナの研究で汎用的に用いられている水耕液を使用しました。通常濃度の水耕液で24日間栽培後、5倍から1/1000倍の5段階の濃度に調整した水耕液へ移植しました。移植後、経時的に各枝の莢数をカウントし、植物の生長に伴う莢数の増加の特徴を調査しました。

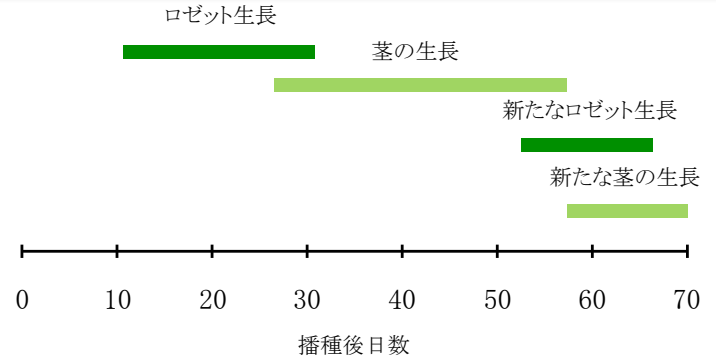


図1 1倍濃度で栽培した時の個体の生育段階 全ての濃度条件でほぼ同様の生育状況を示した

シロイヌナズナの生長の流れ

全ての水耕液濃度条件で、最初にロゼット葉が展開し、次に数本の茎が生長しました。播種50日目を超えた頃に、再度ロゼット葉の展開と茎の生長が見られました(図1)。ただし、茎の本数は水耕液濃度条件を反映して変化していました(図2)。

茎単位では莢数を分枝で調整

茎は数本が順番に発生しますが、発生した順番が遅いほど、茎あたりの莢数は減少しました。そこで、茎における莢の着き方を詳しく調査しました。茎は大きく分けて、主茎と分枝から構成されます(図3)。同一水耕液濃度条件下で栽培した時は、主茎部分(図3 ○部分)に着く莢数が、どの茎でも、ほぼ等しくなっていました。つまり、発生した順番が遅いほど、分枝に着く莢数が減少していました。このことは、茎単位で見たときの莢数は、分枝で調整されていることを示しています。

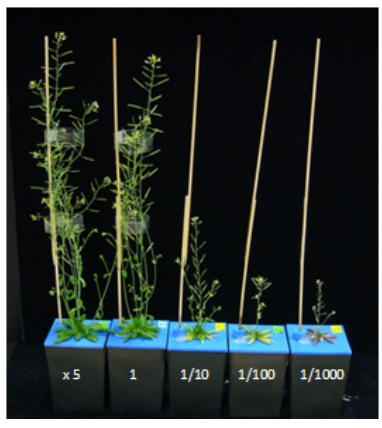


図2 異なる水耕液濃度下で栽培した時のシロイヌナズナ(播種後50日目)

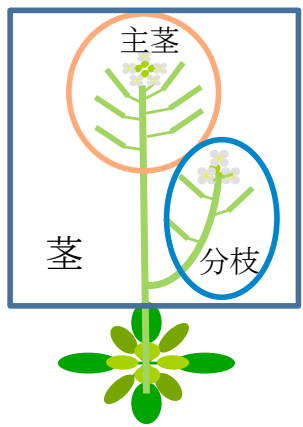


図3 シロイヌナズナの茎のモデル図(○主茎、○分枝)

まとめ

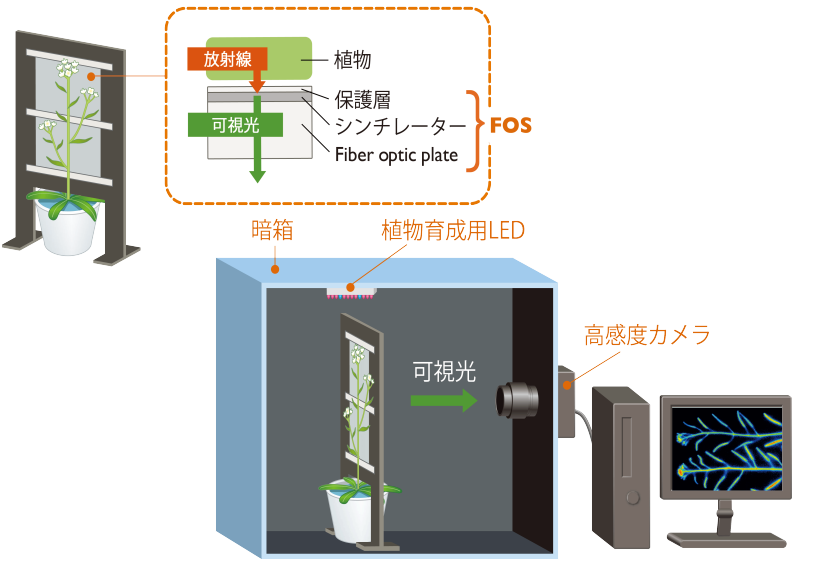
シロイヌナズナやナタネは抽台(花茎の抽出)以降、枯死するまで連続的に花を咲かせて莢を作り続けます。そのため、植物がどの生育段階にあるのかを判断することは、簡単ではありませんでした。今回、シロイヌナズナがロゼットと茎の生長を順番に繰り返していることや、水耕液濃度条件ごとに主茎および分枝由来の莢数の割合が変化することがわかりました。このことは、シロイヌナズナが与えられた栄養を有効利用するために、バイオマス小さくしたり養分の分配を調節した結果であると考えられます。現在は、これらの植物に元素イメージングの手法(後述)を適用することにより、植物の生長の戦略についてさらに深い考察を進めています。

RRIS (Real-time radioisotope imaging system)

当研究室で開発しているReal-time Radioisotope Imaging System (RRIS)は、デジタルオートラジオグラフィ装置の一種です。植物試料に含まれる放射性同位体(以下RI)が放出する放射線をシンチレーターを用いて可視光に変換し、この光を超高感度カメラで撮像することで、植物試料に吸収されたRIの2次元分布を画像化します。当研究室ではマクロRRISとマイクロRRISの2種類の装置を開発しており、マクロRRISは、数mmから数十cmの視野を持ち、マイクロRRISは光学顕微鏡レベルのRI分布を可視化するための装置です。

マクロRRIS

RRISの開発・改良における技術的課題の一つに、遮光と照明の両立があります。放射線から変換された光はとても弱いため、高感度カメラ周辺は完全に遮光されている必要があります。その一方で、植物の生存には強い照明が必要であり、当研究室ではこれら2つの相反する条件を同時に満たす方法を検討・改良してきました。そこで、今回は遮光と照明に関する改良の歴史を紹介します。



第1世代RRIS

遮光と照明を両立できず、暗条件のため、植物の生育ができず、短時間のみの実験しかできなかった。

第2世代RRIS

暗箱の中にさらに植物育成用のチャンバーを設置し、このチャンバー内のみを照明することにより、植物の育成に照明を使うことができたようになった。ただし、遮光に50 μm厚のアルミ板をつかっているため、透過性の高い放射線を出す同位体(³²P・¹⁰⁹Cd・¹³⁷Csなど)しか検出できなかった。

第3世代RRIS

コンピューター制御により、高感度カメラの撮影中は照明Off、撮影していない時は照明Onに自動制御。遮光板が不要なため、弱い放射線しか出さない放射性同位体(¹⁴C・³⁵S・⁴⁵Caなど)も検出できるようになった。