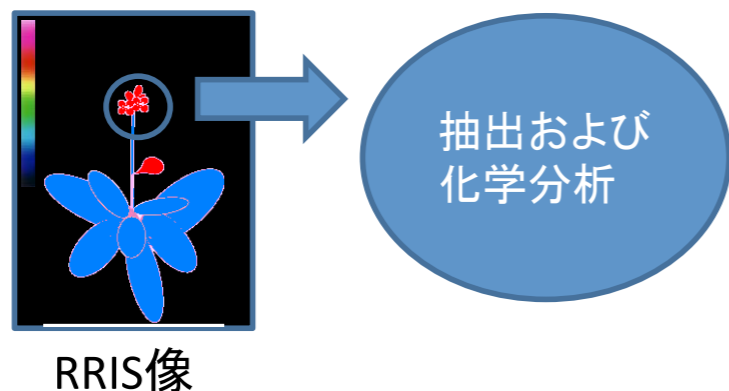


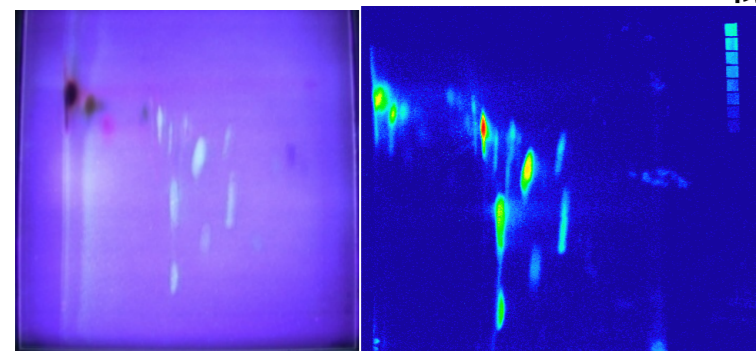
化学分析

植物は、吸収した無機元素から代謝により、様々な化合物を生成します。イメージングで観察された元素(RI)がどのような化合物に取り込まれているかを化学分析により、明らかにすることを目的として研究を行っています。特に油脂の材料となる炭素(C)について、光合成による固定から脂肪酸生成過程を追跡を試みています。これにより、特定の条件下で固定されたCがどの代謝経路に優先的に供給されるかを知ることができると考えられます。

ラジオアイソトープ(RI)を用いたRRIS像から、RIが、どのような化学形態で存在するのかを知るためには、化学分析をする必要があります。そこで、いくつかの抽出、分析方法を用いてRIの取り込まれた化学物質の形態を化学分析を用いて調査しています。



RRIS像



プリムリン染色像

¹⁴CのIP像

図6 TLCでの脂質の2次元展開図

プリムリン染色により脂質の存在を確認し、各脂質への¹⁴Cの分配をイメージングプレートにより検出した。

薄層クロマトグラフィを用いて、脂質を分離し、各脂質における¹⁴Cの分配の調査を試みました(図6)。これにより、¹⁴CO₂を供与した時期に同化された炭素がどの脂質へ取り込まれるかを知ることができます。現在、分離を確認できた脂質について定性、定量、¹⁴Cの分配比について調査しています。

タンデム4重極型のUPLC-MS/MS(Xevo TQ MS, Waters)を用いて、化合物測定系の構築を試みました。現在までに植物の恒常性確保に重要な84種の化合物について測定可能となりました。

さらに、炭素の安定同位体¹³Cを供与した植物体から抽出した含¹³C代謝産物について定量を試みました(図7)。炭素の放射性同位体¹⁴Cと安定同位体¹³Cを同時に供与するダブルトレース法を用いることにより、イメージングで観察された炭素(¹⁴C)がどのような化合物に取り込まれているかを、含¹³C代謝産物における質量数の違いから測定できます。

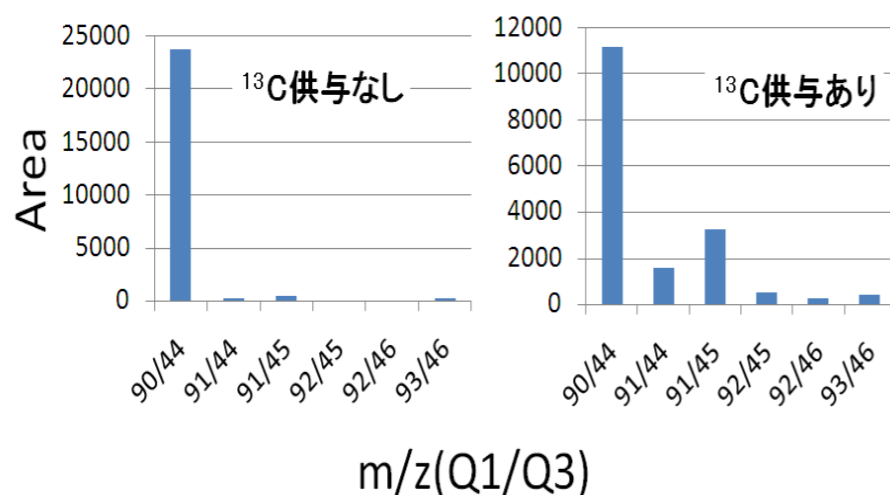


図7 含¹³Cアラニン(C₃H₇NO₂)の測定結果
¹³Cを供与した植物体(播種後28日目)より抽出したアラニンは¹³Cを含むため、分子量が異なる。

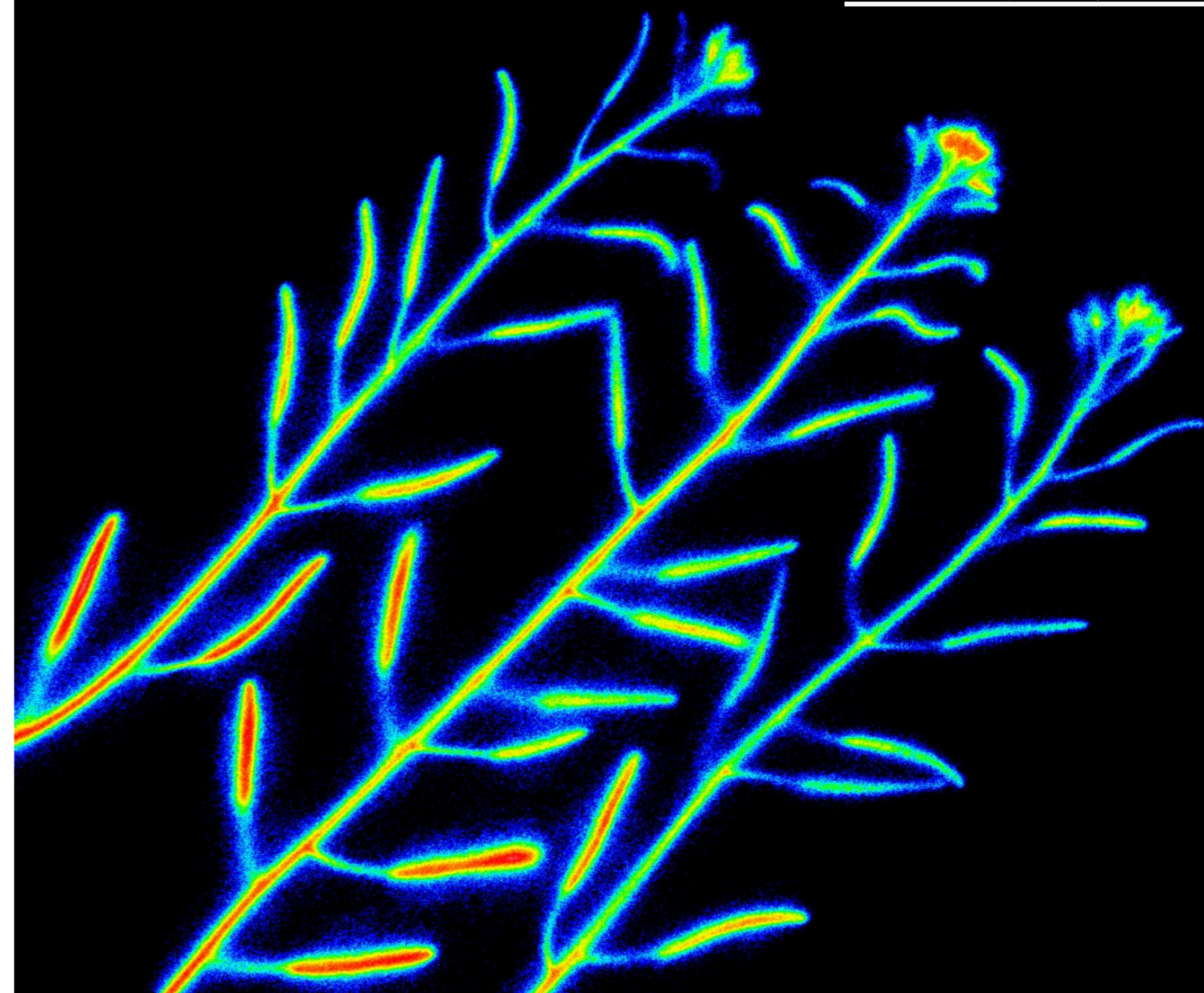
■連絡先 中西友子 E-mail : atomoko@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

Laboratory of Radioplant Physiology

最先端・次世代研究開発支援プログラム

アイトープライメージ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

2012年 8月号



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

写真:シロイヌナズナ
Rb-86吸収後、IPにて撮影

シロイヌナズナの生育に伴う元素の吸収

ナタネの油脂増産を目指し、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研究を行っています。これまでに、シロイヌナズナの水耕液の濃度そのもの、あるいは特定の元素の量を調整した環境下で植物を栽培し、生長の仕方、茎の伸長や莢数のカウントによって調べてきました。今回は、栽培中にサンプリングした水耕液の元素分析から、植物がどの時期にどのような栄養の吸収の仕方をするのかを調べました。

●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倍濃度に調整した水耕液に移植し、栽培しました。水交換の際に水耕液をサンプリングし、元素分析の手法により、植物による2日分の元素の吸収量を調査しました。

与えた量に対して植物が吸収した量の割合として元素の利用率を調査しました。すると、1/100、1/10、1および5倍条件の順に利用率は高くなっており(1/1000倍条件は検出感度以下)、低濃度下で栽培した植物ほど、与えられた養分を一生懸命吸収していることがわかりました(図1)。また、2日当たりの元素

の吸収量について見てみると、濃度条件だけでなく、生育ステージによっても元素の吸収の仕方は異なっていました。すなわち、植物が元気に生長しているときはそのバイオマス量に比例して元素の吸収量も増加するのかもしれないとそうではありませんでした。生長中にも関わらず、ある元素の吸収量が減少し、一方別の元素の吸収量が最大となるようなステージもあったのは興味深い点でした(図2)。

このことは、植物がどの部位を育てているのか、各々の部位がどの成熟段階なのかによって必要な元素の種類や量が異なるためだと考えられます。ここでの検討だけでは、どの部位がどの元素をどれだけ必要としていたの

かは、わかりませんでした。後述のイメージングの技術は、それらの知見を与えてくれると思われ(図3)。

生育ステージによって、必要な元素の量は異なることがわかりましたが、それでは要求量の少ないステージでは栄養をあまり与えなくても、与えた場合と同じように育つのでしょうか。また、必須元素を与えることが減収を導くような時期があるのでしょうか。なお、既往の研究によると、イネは出穂期にNやPを与えると収量減につながるとの報告があります。現在は、生育ステージによって栄養の与え方を変え、どの時期の施肥がより収量に貢献するの

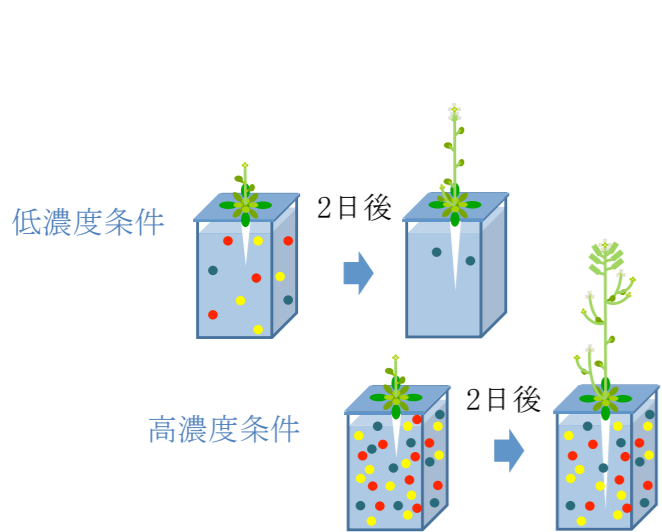


図1 低濃度条件と高濃度条件での栄養の利用のイメージ

低濃度条件では吸収量は小さいが、植物は与えられた栄養を貪欲に吸収する。一方高濃度条件下では、吸収量は大きいものの、その利用率は小さい。また、生育ステージによって各々の元素の必要量も異なる。

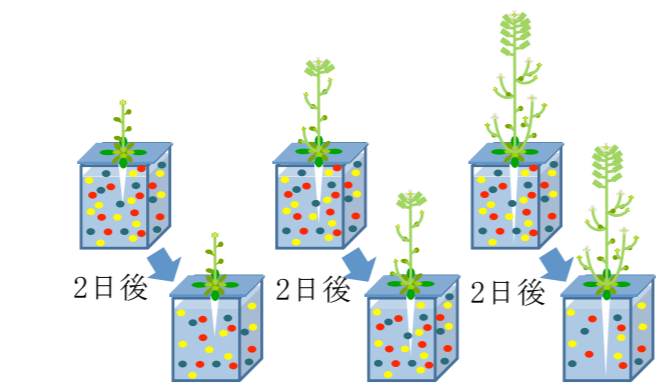


図2 生育段階ごとの栄養の吸収のイメージ
植物のバイオマスが増加する時期に必ずしも多くの栄養を吸収するわけではなかった。

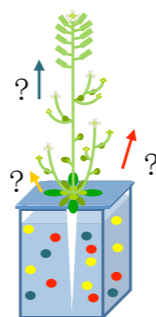


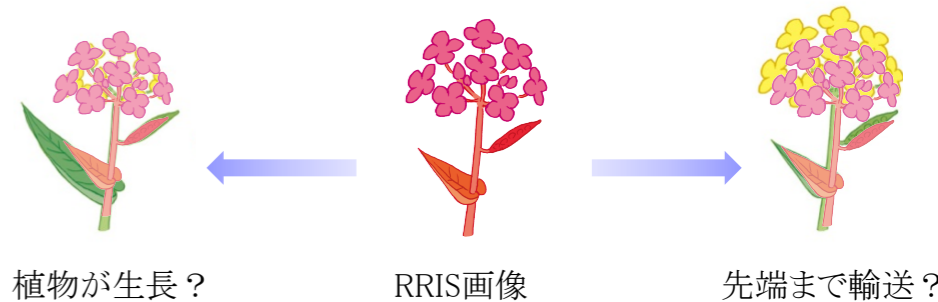
図3 イメージング手法導入のイメージ

イメージング手法の導入により、ある元素がどの部位にどの程度吸収されるのかが明らかになる。

スーパーインポーズ(RRIS + デジタルカメラ)

RRISでは、植物が吸収した元素(アイソトープ)をシンチレータで可視光に変え、その可視光を高感度カメラで撮影することにより、植物を破壊せずに吸収した元素をリアルタイムに見ることができます。本研究室ではこのRRISの開発、改良、および吸収する元素のタイミングや量などの研究を行っています。

●これまでのRRISの課題として、必ずしも吸収した元素が植物全体に輸送するわけではなく、また撮影中にも植物が生長していくため、その元素が植物体のどの位置にあるのかを把握するのが難しいことがありました。



●そこで、前号で紹介した、照明のOn/Offに合わせ、照明がOnの間(高感度カメラがOff時)にデジタルカメラによる植物の実画像を取得し、RRISによる画像とデジカメ画像を重ね合わせるスーパーインポーズを開発いたしました。このシステムにより、植物の生長に合わせて、元素の吸収、輸送を映像化することができるようになりました(図4)。

図5は、シロイヌナズナにルビジウム(Rb-86)を吸収させた連続写真です。このように、吸収した元素が植物のどの位置まで輸送されたかが、視覚的にわかる様になりました。

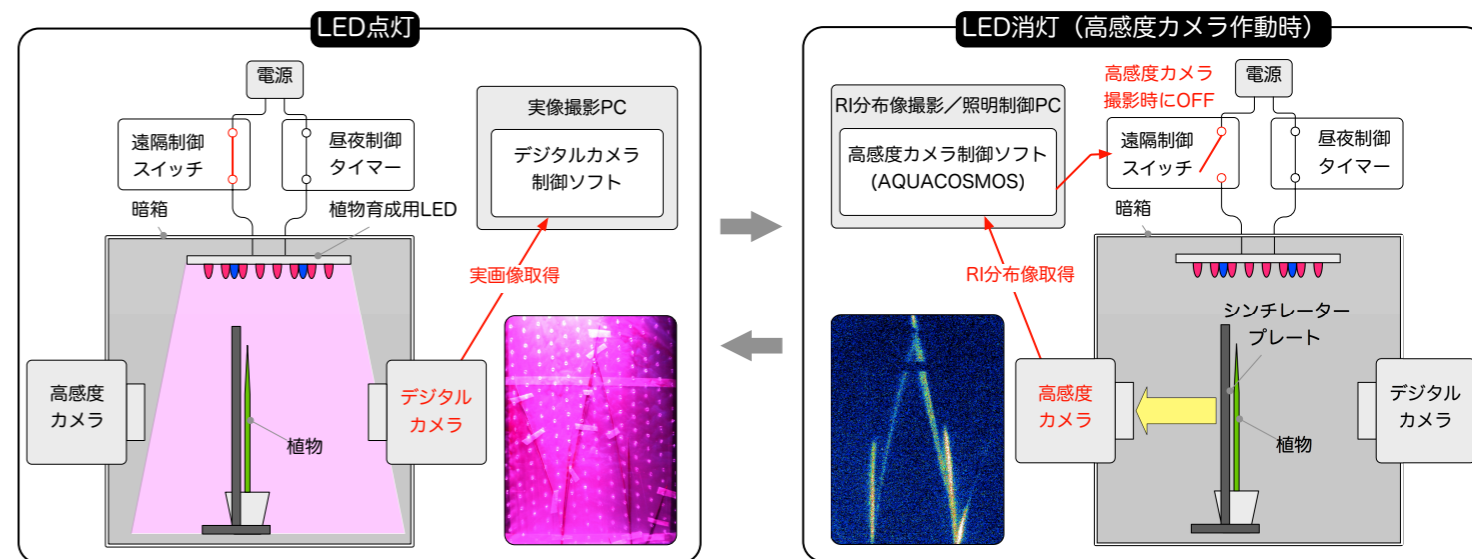


図4 RRISシステム概要図

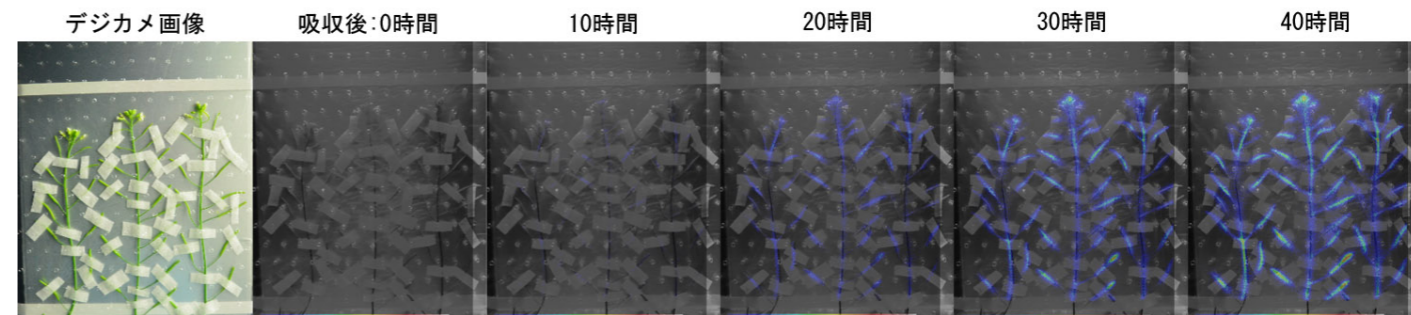


図5 Rb-86のRRIS像