

葉緑体 stromule の生理と構造に関する研究

(応用生物) 安田浩之

【序論】

色素体 (plastid) は植物細胞に特有のオルガネラであり、そこには植物の独立栄養機能を支える重要な代謝経路の多くが局在する。また、色素体は二重の包膜で包まれ、固有の DNA とその複製・転写・翻訳系を持つ半自立的なオルガネラである。高等植物の色素体は植物体の器官・組織分化に対応して様々な機能と構造を持った形態に分化する。緑葉に存在する色素体は葉緑体という形態をとり、その機能は光エネルギーを利用した炭素固定(光合成)が主であるが、窒素・硫黄などの無機化合物を同化する代謝経路としての場でもある。近年、Green fluorescent protein (GFP) を組み込んだ形質転換植物の葉緑体からチューブが伸長する構造が確認された。(Koller et al.1997) このチューブ構造は stromule と呼ばれており、その構造と挙動から葉緑体間で代謝物質の交換・情報伝達に利用されている可能性が指摘されている。しかしながら、その生理機構の確定には至っていない。私の所属する研究室では既に、gfp 遺伝子を葉緑体ゲノムに導入したタバコの葉緑体形質転換体の作製と stromule の観察に成功している。本研究では、stromule の生理機能を解明するため、環境ストレスに対する stromule の応答について調べた。また、stromule 構造と細胞骨格との関係についても研究した。

【方法・実験材料】

《共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) 観察》

BIO-RAD 社製の共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) を使用した。通常の顕微鏡では細胞の内部構造が厚みを持つ関係上、細胞内構造の詳細を見分けることが困難であるが、共焦点レーザー顕微鏡を用いることにより、光学的に切片像を作製・取得することが可能となる。この特質を利用して、stromule の構造と運動についての観察を行った。試料は剃刀で葉・根に切り分け、乾燥ストレスを与えるために 10~15 分間空気中に放置した。その後、CLSM による解析を行った。

《GFP 形質転換体》

GFP は自身で長波長紫外線もしくは青色光を吸収し緑色の蛍光を発するタンパク質である。GFP を用いることで、生きた細胞内で目的のオルガネラ構造の可視化が容易にできる。本研究では、葉緑体ゲノムにオワンクラゲ由来の gfp 遺伝子を導入した形質転換体を作製し、CLSM による解析を行った。

《阻害剤処理》

植物には細胞骨格というタンパクフィラメントの網目構造があり、微小管・アクチンフィラメントの 2 種類で構成されている。stromule 構造と細胞骨格との関係を調べるため、骨格を形成する 2 種類のタンパク質に対する阻害剤 (チューブリンに対するコルヒチン・アクチンに対す

るサイトカラシン)を試料に作用させた。その濃度は 50 μ M に調整した。

【結果・考察】

《環境ストレス応答》

stromule は葉肉細胞内の葉緑体ではあまり発達していないが、根や花弁などの色素体では非常に発達した stromule が観察された。この事は、stromule の出現が組織特異的に制御されていることを示している。また、stromule と他のオルガネラ(例えば、核・ミトコンドリア)の接触が頻繁に見られた。この事から、葉緑体同士・葉緑体と他のオルガネラが相互作用していることが考えられる。また本研究では、葉緑体 stromule が様々な環境ストレスによって誘導されることを初めて見出した。図 1 は乾燥ストレスの例であるが、乾燥ストレスを加えて 1 時間後の細胞には、発達した stromule が観察された。他にも高浸透圧処理・塩ストレス・機械的ストレスによっても stromule の誘導が見られた。この現象は stromule がストレス適応において何らかの役割を果たしていることを示唆している。

《stromule 構造と細胞骨格》

乾燥ストレスによって stromule を誘導した後、アクチンフィラメントの阻害剤処理を行うと、その運動は数分後に完全に停止した。しかし、阻害剤処理後も葉緑体 stromule の構造は壊れることなく維持されていた。この結果から、stromule の運動は細胞骨格のアクチンフィラメントに依存しているが、その伸びたチューブ構造の維持には、アクチンフィラメントや微小管が関与していないことを示唆している。葉肉細胞を“押しつぶし法”で破壊し葉緑体を単離したところ、単離葉緑体から伸びる stromule が観察できた。従って、stromule 構造の形成や維持には葉緑体に存在する何らかの内的構造が関係していると考えられる。

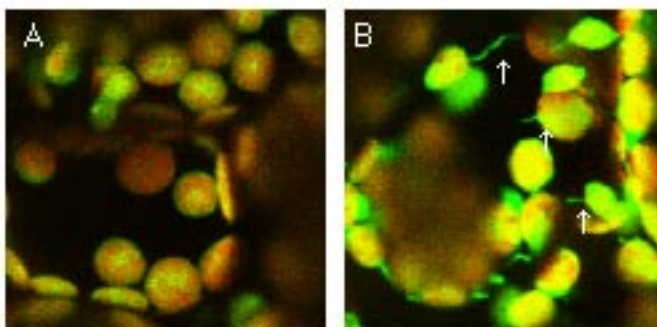


図 1 . タバコの葉肉細胞での乾燥ストレスによる stromule 誘導実験結果

(A) 乾燥処理前

(B) 乾燥処理 1 時間後

(注) が stromule を示す。

参考文献

- 1) GFP とバイオイメーjing 宮脇敦史 / 編 羊土社 (2000)
- 2) 植物の分子細胞生物学 中村研三・福田裕穂・町田泰則 秀潤社 (1995)