

2023 年度年次報告書
植物分子の機能と制御
2022 年度採択研究代表者

杉山 龍介

千葉大学 大学院薬学研究院
助教

特化代謝のリサイクル経路がもたらす C/N/S 循環システムの理解

研究成果の概要

本研究では、「特化代謝産物は植物内で分解され一次代謝にリサイクルされるか」の解明を目指し、C, N, S それぞれの栄養循環に対応する複数の特化代謝産物についてリサイクル経路の存在を原子レベルで証明するべく実験を進めている。2023年度は主に以下の内容を実施した。

オウレン培養細胞を用いたベンジルイソキノリンアルカロイド(BIA)の代謝解析

オウレン根茎で高蓄積するベルベリンなどの BIA が植物内で分解・リサイクルされている可能性を検証するため、オウレン培養細胞による研究をさきがけ 2 期生の神戸薬科大学 山田泰之講師と共同で進めた。

まず、窒素欠乏応答を観察するための各種培養条件を概ね決定した。窒素欠乏条件で BIA の分解により生じたと推測される化合物を LC-MS を用いて探索し、そのうちの一つの構造を NMR 解析等により決定した。並行して、フィーディング実験に用いる安定同位体ラベル化 BIA の生産も行った。¹⁵N 置換 LS 培地を用いてオウレン細胞を 2 世代培養したところ、主要な BIA 4 種類における ¹⁵N 取り込み率は 90%以上であった。固相抽出、分取 HPLC、イオン交換を用いた精製スキームを確立し、¹⁵N ラベル化 BIA の安定生産に成功した。

安定同位体フルラベル化シロイヌナズナ種子の作成と逆ラベル実験の検討

シロイヌナズナをモデルに、窒素・硫黄原子のほとんどが ¹⁵N および ³⁴S で置換されたラベル化種子を得た。ラベル化種子に対応する安定同位体培地で発芽後、12 ウェルプレートに移植し、硫黄十分、硫黄欠乏、硫黄欠乏+グルコシルレート添加の 3 条件でさらに栽培した。実生の抽出物中の安定同位体取り込み率を LC-MS で解析したところ、硫黄欠乏+グルコシルレート添加条件では Cys, Met 中の ³⁴S 比率が 30%近くまで低下していた。この結果は以前 ³⁴S ラベル化合物を用いて行った順ラベル実験 (Sugiyama *et al.*, *PNAS*, 2021) の結果とよく類似しており、逆ラベル実験が有効であることが示された。