

濱田 隆宏

岡山理科大学理学部
准教授

植物における小分子 RNA 輸送メカニズムの解明

§ 1. 研究成果の概要

植物培養細胞の上清からの精製度の高い細胞外小胞の生化学的単離方法の検討、及び構成成分の同定を行った。シロイヌナズナ培養細胞及びタバコ培養細胞の上清を種々の担体を用いた密度勾配遠心法や脂質アフィニティーカラムにより処理し、細胞外小胞画分を得た。得られた画分をスフィンゴ脂質を標識する蛍光色素で処理して観察したところ、100 nm から 500 nm 程度の顆粒が確認された。次に細胞外小胞画分から RNA を抽出し、small RNA が含まれているかどうかを確認した。バイオアナライザー解析では植物の small RNA と思われる 21 nt と 24 nt の small RNA の存在が確認された。そこで次世代シーケンサーを用いた small RNAseq を行った。培養細胞全体を破砕して抽出した small RNA をコントロールとしてプロファイルを調べると、細胞外小胞画分に特異的に濃縮されている small RNA 群があることが明らかになった。また細胞外小胞画分のプロテオーム解析を行った結果、細胞外小胞に濃縮されると知られているテトラスパニンが豊富に含まれていることが明らかになった。また細胞膜に関連する膜輸送関連タンパク質、細胞壁局在タンパク質、細胞膜タンパク質、プラズモデスマータ関連タンパク質なども豊富に同定された。

植物培養細胞から培地中に分泌された細胞外小胞を回収し、細胞外小胞の内容物を解析する。

