

生体における微粒子の機能と制御
2018 年度年度採択研究者

2020 年度 年次報告書

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

昨年度、植物培養細胞上清から精製した細胞外小胞の small RNA シーケンス解析とプロテオーム解析を行い、細胞外小胞特異的な small RNA とタンパク質の同定に成功した。しかしイメージング解析では、大半の細胞外小胞は RNA を含まないことが明らかであった。今年度は詳細な Optiprep 密度勾配遠心を行って small RNA を多く含む画分を特定し、その画分のタンパク質を同定することで細胞外小胞を介した small RNA 輸送メカニズムを明らかにしようとした。

40%, 20%, 10%, 5%の Optiprep 溶液を用いて密度勾配遠心を行った結果、10-20% 界面画分で small RNA の濃度が最も高かった。プロテオーム解析では 10-20% 界面に特定の膜交通因子やテトラスパニンが最もよく濃縮されており、20-40%界面にはプロトン ATPase やオーキシン排出キャリアなどの細胞膜タンパク質が濃縮されていた。これらの細胞膜タンパク質はユビキチン化されて MVB (multivesicular body) へと取り込まれ液胞へと運ばれる経路が知られていたが、細胞外へも運ばれ細胞外小胞になることが示唆されていた。この結果より、植物にも密度で区分できる細胞外小胞の存在が確認でき、また特定の膜交通因子の解析により small RNA 輸送メカニズムを解明できる可能性が得られた。

またイメージング解析により small RNA と結合する AGO タンパク質が高温ストレスで細胞質で顆粒形成することを確認した。これまでのプロテオームでは AGO タンパク質が同定されていなかったが、細胞質で顆粒形成するタンパク質は細胞外小胞に含まれる場合も多い。そこで高温処理時における細胞外小胞プロテオーム解析を行った。その結果、HSPs などの細胞質顆粒は細胞外小胞画分に含まれたが、AGO タンパク質は含まれなかった。