

Analysis of the spatially-resolved metabolic distribution for unraveling the physiological response in plant tissue

中村, 純也

<https://doi.org/10.15017/1807122>

出版情報：九州大学, 2016, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済



氏 名	中村 純也			
論 文 名	Analysis of the spatially-resolved metabolic distribution for unraveling the physiological response in plant tissue (空間分解メタボローム技術による植物特異的な代謝動態解析)			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	割石博之
	副 査	九州大学	教授	立花宏文
	副 査	九州大学	准教授	石橋勇志

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年、植物体内の代謝物の挙動を包括的に捉え、ゲノム情報だけでは解明できない生命現象を理解することを目指した植物メタボロミクス研究が盛んに行われている。既存のメタボロミクス研究では網羅性・定量性に優れた分離技術と結合した質量分析装置を用いた分析手法が広く用いられている。しかしながら、既存の手法は測定サンプルから代謝物を抽出する過程が必須であることから組織内化合物の空間分布情報が消失する。特に果実は果皮や種子等の複雑な構造を有しており、部位特異的な代謝変動が生じていると考えられる。果実内の局所的な生理現象を詳細に理解するためには空間的かつ定量的な情報が必須となる。そこで生体内の *in situ* マッピング法として知られるマトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI) 法による質量分析イメージング (MSI) 技術に着目した。植物組織に対する MALDI-MSI 分析の手法はサンプルの性状に応じてサンプル調製法を検討する必要がある。そこで本研究では、世界で最も食される農作物の 1 つであり、かつ果皮、種子、ゼリー質等の複数の部位を持つトマト (*Solanum lycopersicum* L.) 果実をサンプルとし、果実の成熟過程や傷害応答による空間的な代謝変動を理解すべく、MALDI-MSI 分析による代謝物空間分布の可視化を試みている。

サンプル調製法検討の結果、包埋剤を用いることなく切片厚 10 μm の薄切片を作製している。また、代謝物分布可視化時に高空間分解能を達成するため、イオン化助剤である 9-aminoacridine を蒸着法と再結晶化法を組み合わせた手法により塗布し、MALDI-MSI 分析に供することにより、一度の分析で複数の一次代謝物 (アミノ酸、有機酸) と二次代謝物 (コーヒー酸) を同時可視化することに成功している。また、今回の MSI 分析結果は、分析対象物のカバレッジと定量性に優れるといわれている液体クロマトグラフィーと連結した質量分析 (LC-MS) 技術を用いて得られた結果と分析にかかる代謝物について定性的にも定量的にも同様の傾向を示すことを明らかにしている。これにより、MSI 分析はトマト果実内代謝物の量的変動の空間情報を取得可能な技術であることを示している。

次に、MALDI-MSI 技術を用いて未熟果実と成熟果実の熟度が異なる二者間の代謝物分布比較を行っている。その結果、成熟過程で増減する有機酸 (リンゴ酸) や旨味成分 (グルタミン酸、アデノシンーリン酸) の分布可視化に成功している。さらに他の代謝物分布を捉えるためにスプレーコーティング法により 2,5-dihydroxybenzoic acid をマトリックスとして塗布し、傷害ストレスによる傷害部周辺の生体防御物質であるトマチンの代謝動態を可視化している。その結果、成熟過程で増減するトマチンとその代謝物が傷害ストレスにより特異的な代謝動態が引き起こされ

ることを示している。トマチンは、未熟果実形成過程において生合成され、一旦蓄積した後、成熟過程において代謝され、無毒化されるという、これまでに報告されているトマチンの代謝動態を観察している。しかし、傷のような障害が付与されることで、傷害部周辺が死細胞化し、未熟果実形成過程で蓄積されたトマチンが、成熟過程で分解されることなく、障害部位に蓄積したままとなり、真菌類の侵入等に対して防御機構として機能することを推察している。

以上の結果は、MALDI-MSI 分析法が果実の局所的な代謝動態を可視化するために有用な技術であることを示している。今後、MSI 分析による未解明な植物の生理・形態学的基盤情報の提供を通して、生理現象の理解に貢献すると期待される。

以上、要するに、本研究は空間分解メタボローム技術による植物特異的な代謝動態可視化の有用性を示し、そのための分析技術を開発したものであり、今後の品種改良やポストハーベスト技術の発展に寄与する、価値ある技術を提供するものである。よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。