

N-10

水溶液中のリン源の種類による *Raphanus sativus* のタンパク質変動解析Protein analysis of *Raphanus sativus* depending on the type of phosphorus source in the aqueous solution○田村陸翔<sup>1</sup>, 松下祥子<sup>2</sup>, 森杉侑紀<sup>1</sup>, 中村亜紀<sup>2</sup>, 鈴木佑典<sup>2</sup>\*Rikuto Tamura<sup>1</sup>, Shoko Matsushita<sup>2</sup>, Yuki Morisugi<sup>1</sup>, Aki Nakamura<sup>2</sup>, Yusuke Suzuki<sup>2</sup>

Phosphate is an essential nutrient for plant growth. It has been reported that the combination and the ratio of phosphate ( $H_3PO_4$ ) and phosphonic acid ( $H_3PO_3$ ) improves grain yields compared to the individual applications of these compounds. However, the different phosphate conditions to enhance grain yield is unclear. In this study, we analyzed the changes in protein expression associated with grain yield in *Raphanus sativus* under hydroponic culture conditions containing phosphate. The results, demonstrated a correlation between the expression level of 55 kDa proteins and grain yields under phosphate conditions.

## 1. 緒言

リン酸は植物の成長と発育に必須な栄養素とされている。そのリン酸の中でも、分子式  $H_3PO_4$  で表される(正)リン酸と  $H_3PO_3$  で表されるホスホン酸は、それぞれ単体で肥料として用いるよりも組み合わせてバランス良く施用することにより、収量が増加傾向にあることが報告されている<sup>[1]</sup>。しかし、リン酸の組み合わせにより収量が増加する機構は未だ不明である。そこで本研究では、モデル植物としてアブラナ科カイワレ大根 (*Raphanus sativus*) を水耕栽培条件で生育し、タンパク質発現変化に着目しながら、リン酸の種類と比率による収量変動機構を明らかにすることとした。

## 2. 方法

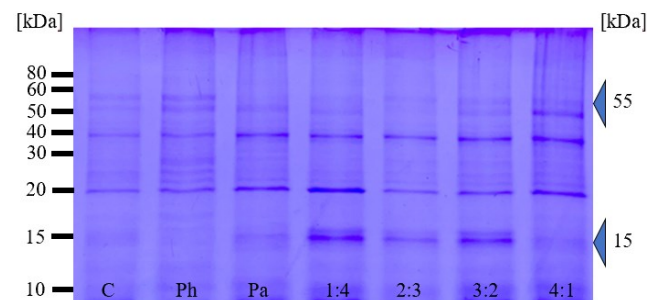
*Raphanus sativus* を暗所にて発芽させ (n=20), リン源未添加群 (対照群) とリン酸およびホスホン酸を単体 (5 mM) または混合 [リン酸:ホスホン酸 (v:v)=1:4, 2:3, 3:2, 4:1] した水溶液を用いて、明暗所 12 時間毎の環境下で生育した。この際、水溶液量は 20 mL とした。播種後、7 日目の茎の長さを計測し、生育度を算出した。また、葉を採取して粉碎後、RIPA buffer を用いてタンパク質を抽出した。SDS-PAGE によりタンパク質を分子量毎に分離後、泳動後のゲルを Coomassie Brilliant Blue (CBB) 染色し、ゲル内のタンパク質を質量分析にて解析した。

## 3. 結果

生育度はリン酸単体添加群において最も生育度が向

上し、対照群の約 1.69 倍であった。一方、ホスホン酸単体添加群は最も低く、対照群の約 0.98 倍であった。また混合群においては、リン酸:ホスホン酸 (v:v)=1:4, 4:1 と比較して 2:3, 3:2 の試料の生育度が向上した。

SDS-PAGE の結果、単体添加群と比較して、混合群における 15 kDa 付近のバンドが強く検出された。また、55 kDa 付近のバンドにおいてリン酸添加群のバンドがホスホン酸添加群と比較して 1.12 倍濃く検出された。



**Figure 1.** SDS-PAGE results for each phosphorus source (C; control, Ph; 5 mM Phosphate, Pa; 5 mM Phosphonic acid, Ph:Pa (v:v)=1:4, 2:3 3:2, 4:1)

## 4. 考察

リン酸は通常、鉄やアルミニウムといった金属イオンと結合しやすいことが知られている。本実験で水溶液を調製するために用いた水には、これらの金属イオンは含まれていなかったことから、生育度が向上したと考えられた。一方、ホスホン酸は根や葉からの吸収や作物全体での移行が速く、過剰に施用すると生理障害が生じやすい<sup>[1]</sup>ことから、高濃度でのホスホン酸添加により、生育度がリン酸単体添加群と比較して生育が阻害されたと考えた。

SDS-PAGE にて、違いが見られた 50-60 kDa は分子量および質量分析からルビスコ大サブユニットの可能性が考えられた。このルビスコタンパク質は光合成に関与しており、収量と関連したと考えられた。今後、光合成能など詳細な解析が必要であると考えられた。

## 参考文献

[1] 小宮山鉄兵:「亜リン酸肥料の特徴とその効果」, グリーンレポート, No.504, pp16-17, 2011.

1: 日大理工・学部・応化 2: 日大理工・教員・応化