

**植物とその変異体のメタボローム解析**

**概要**

「天然」植物エキスへの陽子 NMR のアプリケーションは、抽出可能な代謝物質のかなりの範囲の指紋を提供できるようになりました。複雑なサンプルから前処理なしで代謝物質を見つける能力は、特定の代謝プロフィールで高いスループット分析と変異体のスクリーニングに適しています。従来の NMR には、植物代謝物質の全体的な定性的なキャラクター化で利点があります。ヘテロ核 NMR 法は急速に発達したので、現在、原種と変異体の間の分子と構造の違いが、簡単に研究できるようになりました (福島等、(2002))、そして、同じ方法が代謝構造にも利用できると思われます。(菊池等、(2004))。

**安定同位体によるソリューション: Nuclear Magnetic Resonance (NMR)**

NMR をベースにした植物代謝学の基本的な概念は、菊池等によって (2004) 提案されました。これらの著者は、シロイヌナズナにそれぞれ、C と N 源として  $^{13}\text{C}$  で標識したブドウ糖のみと  $^{15}\text{N}$  で標識した硝酸塩だけを供給することにより組織培養でユニフォームに標識されたシロイヌナズナを製造しました。 $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$  のような安定同位体は核磁気共鳴 (NMR) を用いて、ユニフォームに標識された代謝物によって完全なメタボロームの代謝物質を同定することができます。たとえば、このように、シロイヌナズナの原種と変異体のメタボロームの違いが研究されました (菊池等、(2004))。安定同位体で植物を標識することによって、種から成熟体までの完全なライフサイクルの期間、安定同位体  $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$  で標識することにより、すべての器官と植物構成要素へほぼ同じ比率で同位体を取り込みます。サブストレートが 99%  $^{13}\text{C}$  や 99%  $^{15}\text{N}$  を含むとき、すべての植物構成要素はほとんど同じ 99% にユニフォームに標識されます。その後、目的 (i. e. 代謝物質) の構成成分は、NMR による分析のためにサンプルを抽出し混合することができます。

**代表的結果**

図 1 は、植物がどのように一様に  $^{13}\text{C}$  と  $^{15}\text{N}$  安定同位体①をユニフォームに標識され、その後ヘテロ核 2D NMR②でどのように分析されたかについて説明しています。安定同位体標識植物は、代謝物質のシグナル③が高いレベルで高感度の分離を示しました。異なる変異体のスペクトラ④の引き算により、試料の中で、増加した代謝物質と減少した代謝物質⑤の定量的な外観を眺めることができました (菊池等 2004)。

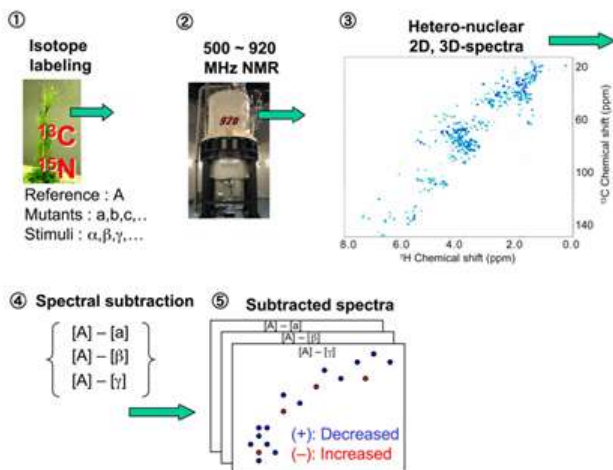


図1 NMRによる代謝物質分析の原理。

著者はNMRが安定同位体標識化を使った植物代謝学のキーテクノロジーになると結論しました、「新しく開発されたNMR技術と同位体標識化の使用は、植物代謝学のために新しい道を開きます」(菊池等、2004)。

#### 引用

Fukushima K, J Kikuchi, S Koshiba, Y Kuroda, S Yokoyama. 2002.

Solution structure of the C-terminal domain of DEF45/ICAD. A structural basis for the regulation of apoptotic DNA fragmentation.

*Journal of Molecular Biology* 321: 317-326.

Kikuchi J, K Shinozaki, T Hirayama. 2004.

Stable Isotope Labeling of *Arabidopsis thaliana* for an NMR-Based Metabolomics Approach.

*Plant Cell Physiology* 45: 1099-1104.