
透明化手法を用いた米粒タンパク質の 3次元分布の可視化

(京大院農)

○菊池茂花, 小川剛伸, 谷 史人

【目的】 米粒内部のタンパク質は、食味を決定する重要な因子である。割断した米粒断面の顕微鏡観察、あるいは外表面から徐々に削った米粉末の化学分析により、米粒は外表面ほどタンパク質を多く含有することはよく知られている。しかし、粒内全域にわたり、一細胞レベルでのタンパク質の詳細な分布については不明である。演者らは、麺などの食品を透明にする SoROCS 溶液を開発しており、蛍光観察と組み合わせる透明蛍光化法により、内部のマイクロ構造を計測可能にしている。しかし、米粒は細胞壁を有しているため、SoROCS 溶液が十分に内部まで浸潤せず、十分な透明度を達成できなかった。本研究では、米粒の透明度を劇的に向上する手法を開発して、米粒内におけるタンパク質の分布をサブミクロンレベルの空間分解能で3次元的に解明することを目的とした。

【方法】 米粒は市販のものを用いた。米粒を透明化した後、ライトシート顕微鏡を用いて蛍光標識した米粒内部のタンパク質を3次元的にイメージングした。

【結果】 植物学の分野では、葉に葉液を浸潤させる際、葉をセルラーゼとペクチナーゼで処理する手法が開発されている。そこで、同様に米粒を酵素処理することで SoROCS 溶液の浸潤を促進できるようにした。しかし、米粒を酵素溶液に浸漬すると、米粒にひび割れが生じた。これは、浸潤の初期に、急激な膨潤が起こることで、内部応力が局所集中するためであると考えられた。そこで、処理前の米粒の含水率を上昇させること、かつ溶液の粘度を高めること、さらに浸潤初期に低温を保持することで浸潤初期の膨潤速度を抑制することを試みた。米粒を気相吸着により含水率を約 37%高めた後に、100%フルクトース溶液に酵素を添加した高粘度溶液で処理した。その後、浸潤させる溶液を SoROCS 溶液に置換して、5°Cから段階的に温度を上昇させた。その結果、ひび割れを生起せず、かつ非常に高い透明度を達成した米粒を得ることができた。この米粒をライトシート顕微鏡で計測することで、米粒全体のタンパク質の分布をはじめて 3 次元的に可視化することに成功し、米粒内において、タンパク質は局所的に不均一に分布していることを一細胞レベルで明らかにした。