

酸素プラズマ照射による種子表面の分子の変化 Changes in Molecules on Seed Surface Due to Oxygen Plasma Irradiation

林 信哉, 林 焯淳
Nobuya Hayashi, Wei-Chun Lin

九大総理工, 台湾國立中山大學
Kyushu Univ., National Sun Yat-sen Univ., Taiwan

1. 研究背景

酸素プラズマを種子に照射することによって誘導される植物の発芽・成長促進効果について調べている。これまで、低圧プラズマや大気圧プラズマ中で生じる活性酸素をアブラナ属植物の種子に短時間（数分～数十分間）作用させた結果、発芽および成長の速度が加速し、発芽後の成長促進が数日から数週間にわたって持続することが明らかとなった¹⁾。

これまでプラズマ照射による成長促進のメカニズムを探索してきた。植物の成長特性や遺伝子発現変動解析により、プラズマ照射によって光合成、炭素固定、TCA回路、細胞周期等の各過程における律速反応を触媒する酵素をコードする遺伝子の発現が促進すると考えられる。プラズマは植物の成長期間に比してごく短時間（数秒から数分間）だけ作用することから、プラズマは植物種子に刺激として作用し、その情報はプラズマ照射後も植物内で保持されていると考えられる。この植物内情報保持メカニズムの一つとして、プラズマ照射によるエピジェネティックな遺伝子発現変動が見出されてきた²⁾。

一方で、植物種子がプラズマの刺激を最初に受け取る仕組みはまだ明らかになっていない。種子のプラズマ刺激受容メカニズムを明らかにするために、プラズマ照射による種子表面の化学構造の変化や、活性酸素のレセプターを見出すことを目的として研究を行っている。本研究では、酸素プラズマを作用させたアブラナ科種子表面の化学組成の変化を飛行時間型二次イオン質量分析（TOF-SIMS）法で計測することにより、プラズマが種子表面で直接引き起こす反応を明らかにすることを目的とする。

2. 実験装置および方法

サンプル種子としてアブラナ科のカイワレダイコンの未処理の種子を用いた。長さ100mm、内傾4mm程度のトーチ型大気圧バリア放電プラズマを大気環境下で生成した。10kHz、6kV程度の電力

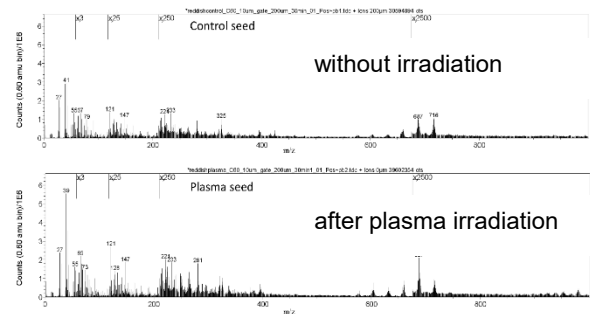


Fig. 1 Original TOF-SIMS spectra before and after plasma irradiation.

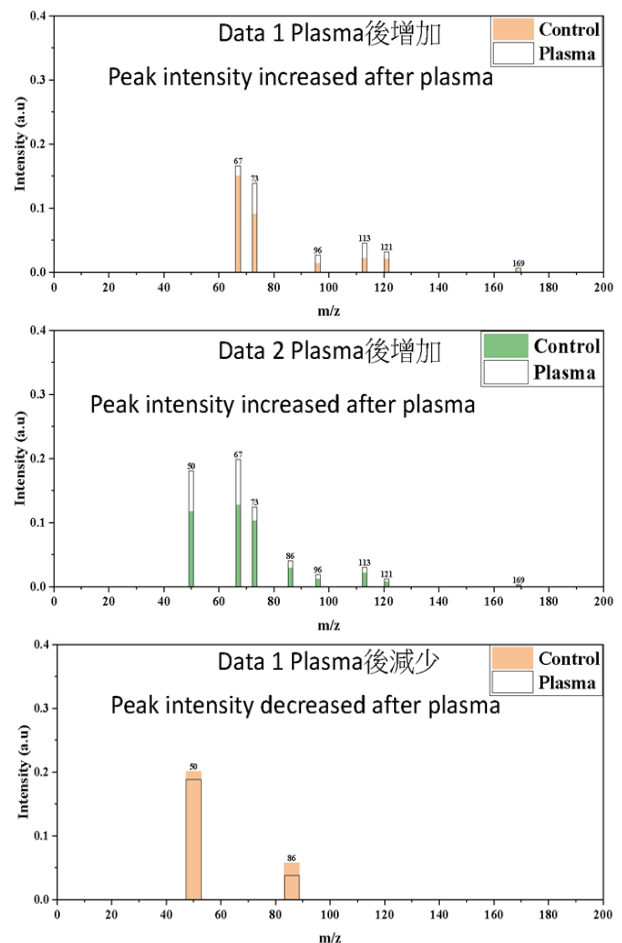


Fig. 2 Significant TOF-SIMS peaks after plasma irradiation. Spectra are categorized into increased and decreased peak intensities.

Possible molecules/compound

- 50 : H_2O_3 、 C_3N 、 H_3OP 、 C_4H_2 、 H_4NO_2
- 67 : H_3O_4 、 H_4O_2P 、 C_3HNO 、 C_2HN_3 、 C_4H_3O 、 $C_3H_3N_2$ 、 C_4H_5N 、 C_5H_7
- 73 : CHN_2O_2 、 C_2HO_3 、 C_6H 、 C_3H_5S 、 HN_4O 、 C_2H_2OP 、 $C_2H_3NO_2$ 、 C_3H_6P 、 C_2HOS 、 CH_3N_3O 、 $C_3H_5O_2$
- 86 : $C_3H_2O_3$ 、 CN_3O_2 、 $C_2H_3N_2P$ 、 $C_2H_2N_2S$ 、 C_3H_4NS 、 C_3H_3OP 、 CHN_3P 、 N_5O 、 $C_2H_2N_2O_2$ 、 C_3NO_3 、 C_2H_7OK 、 C_7H_2 、 C_3H_2OS
- 96 : C_8 、 CH_5O_3P 、 $C_3N_2O_2$ 、 CH_4O_5 、 H_2NO_5 、 C_2N_4O 、 $C_4H_2NO_2$ 、 $H_5N_2O_2P$ 、 CH_4O_3S 、 C_3HN_2P
- 113 : CH_6O_4P 、 $C_3HN_2O_3$ 、 $H_5N_2O_3S$ 、 C_8HO 、 $C_3H_3N_3S$ 、 C_5H_5OS 、 C_4H_3NOS 、 C_2HN_4S 、 CH_5O_6 、 CH_5O_4S 、 $C_3H_2N_2OP$ 、 $C_2HN_4O_2$
- 121 : HN_4O_4 、 $C_2H_3NO_5$ 、 $C_5HN_2O_2$ 、 $CH_4N_3O_2P$ 、 $C_3H_5O_3S$ 、 $C_5H_2N_2P$ 、 $C_3H_6O_3P$ 、 $CH_3N_3O_2S$ 、 H_3N_5OS 、 $C_2H_5N_2O_2S$ 、 $C_2H_4NO_3P$ 、 C_6HO_3
- 169 : $C_4HN_4O_4$ 、 $C_6H_3NO_5$ 、 $C_2H_6N_2O_5P$ 、 $CH_5N_4O_4S$ 、 $C_9HN_2O_2$ 、 $C_5H_4N_3O_2P$ 、 $C_3H_7NO_5S$ 、 $C_9H_2N_2P$

Fig. 3 Possible molecules generated on the seed surface after oxygen plasma irradiation.

で発生した活性種は、ガス流により放電部から15 mm程度下流に設置された種子に作用する。種子表面の分子の計測には、飛行時間型二次イオン質量分析法 (TOF-SIMS) を使用した。ビームプローブは C_{60}^+ であり、キャリブレーションのベースラインには $m/z=41$ のピークを用いた。ラスト領域は $200 \mu m \times 200 \mu m$ とした。

3. 実験結果および考察

本研究では、種子表面の変化の観察が可能になるよう改良したTOF-SIMS装置を用いた。Fig. 1にTOF-SIMS法によるプラズマ照射前後の種子表面の典型的な質量スペクトルを示す。プラズマ照射により、質量数が400程度までの分子の種類や量が増加していることが分かる。TOF-SIMSスペクトル上でプラズマ照射前後で顕著に強度が変化したピークをFig. 2に示す ($m/z = 0 - 200$)。図の上段および中段のスペクトルはそれぞれ種子上の計測位置が異なるものである。ここでは、未処理種子表面の分子のピーク強度に比して1.5倍以上または0.66倍以下となったピークのみを示している。いずれの測定位置においても、プラズマ照射後に顕著に増加する分子が複数種類存在することが分かる。これら二つのスペクトルで一致しないピークもあるが、概ね同じ m/z にピークが生じている。一致しないピークについては、計測点がアブラナ科植物種子に特徴的な斑紋構造の含水率の高い中央部と含水率の低い端部といった違いによるものと考えられる。またピーク強度比の差についても同様な理由によるものと考えられる。また、プラズマ照射によって初めて生成される分子は観察されなかった。

Fig. 2の下段は照射後に減少したピークのみを示したスペクトルである。プラズマ照射後に減少するピークは二つ見られる。分子量86のピークは

顕著に減少しており、活性酸素と効率的に反応する分子が存在することが分かる。

Fig. 3に、プラズマ照射により変化した種子表面分子の質量数および推定される分子式を示す。未処理の種子表面の分子が酸化することで減少し、減少した分子の酸化物または分解後酸化したものが生じたと推定される。例えば、質量数50の分子にOHが結合することにより質量数67の分子に変化したと推察される。 $m/z = 500$ 程度までの間で植物の成長促進に関係のある分子の変化として、シグナル伝達に重要なチオール化合物の酸化 (分子量121→169) およびグルタチオンの生成向上 (分子量163→307) が確認された。これらの種子表面に存在する活性酸素受容物質が、活性酸素による成長促進反応の起点として寄与している可能性が考えられる。

一方で、発芽を抑制する植物ホルモンとして知られているアブシジン酸 (分子量87) に相当するピークの減少や、抗酸化物質であり発芽抑制物質として知られているサポニン ($C_{30}H_{47}O$, 分子量423) の顕著な減少が見られた。種子表面の発芽抑制物質がプラズマにより分解除去された結果、発芽が促進した可能性がある。種子が吸水した後に、これら種子表面分子の変化が発芽や成長促進に影響を与えるものと考えられる。

- 1) Variation of antioxidative activity and growth enhancement of Brassicaceae induced by low-pressure oxygen plasma, R. Ono and N. Hayashi, Jpn. J. Appl. Phys. 54, 06GD03-1 - 06GD03-4 (2015)
- 2) Effect of oxygen plasma irradiation on gene expression in plant seeds induced by active oxygen species, R. Nakano, K. Tashiro, R. Aijima, and N. Hayashi, Plasma Medicine 6, 303-313 (2016)