

トピックス

植物中のビタミン B₆ 濃度の上昇は植物の成長とストレス耐性に対し
悪影響をもたらすのかIncrease in vitamin B₆ concentration affect badly on growth
and stress-tolerance of a plant

植物はアーキア、カビ、酵母、マラリア原虫などと同じく、ピリドキサル 5'-リン酸 (PLP) 合成酵素を持ち、ビタミン B₆ をデノボ合成する。加えて、動物と同じく、図に示す PLP のサルベージ合成経路に関与する酵素を持つ。最近、Daub¹⁾らは、このサルベージ経路に関与する 2 種類の酵素、ピリドキシン (PN)/ピリドキサミン (PM) 5'-リン酸オキシダーゼ (以後、オキシダーゼとする) およびピリドキサル (PL)/PN/PM キナーゼ (以後、キナーゼとする) をコードする遺伝子に変異を持つ植物 (シロイヌナズナ, *Arabidopsis thaliana*) が野生株に見られない、興味深い表現型を示すことを報告した。すなわち、植物では、B₆ 濃度の上昇が植物体の成長やストレス耐性に強い悪影響を与えるというのである。

キナーゼ遺伝子に 1 塩基変異を持ち、本酵素活性が低下もしくは無いと考えられる変異植物²⁾は、野生株に比べ、PLP 濃度が、当然、低下していると予想されたにもかかわらず、実際はその反対で、野生株よりも 9 倍も高い PLP 含有量が測定された。植物試料中には多種多量の

蛍光性夾雑物があり、實際上、蛍光検出 HPLC 法の適用は不可能であることを、我々は報告している³⁾。したがって、この値をそのまま鵜呑みにできないが、標準法であるバイオアッセイ法で求めた B₆ 総量でもこの変異株は野生株の約 1.5 倍高い含有量となっているので、この変異株中の PLP 含有量がある程度増えていると思われる。したがって、このキナーゼ変異株の示す形質は、B₆ 過剰が原因であると考えられることができる。ただ、活性に関係なく、酵素タンパク質自体が遺伝子発現を調節している例が、最近、多く報告されるようになっていたので、酵素タンパク質の発現量と質の変化が表原型の変化に影響している可能性も否定できないが、ここでは、著者等の意見に従い、B₆ 過剰が表原型変化の原因と考える。

一方、オキシダーゼ遺伝子⁴⁾のプロモーターに変異を持つ変異植物はバイオアッセイ法により、野生株よりも、僅かではあるが有意に B₆ 総量が低いことがわかった。(この場合も、HPLC 法で求めた B₆ 量とバイオアッセイ法で求めた値で、不一致が認められたが、バイオアッセイ法

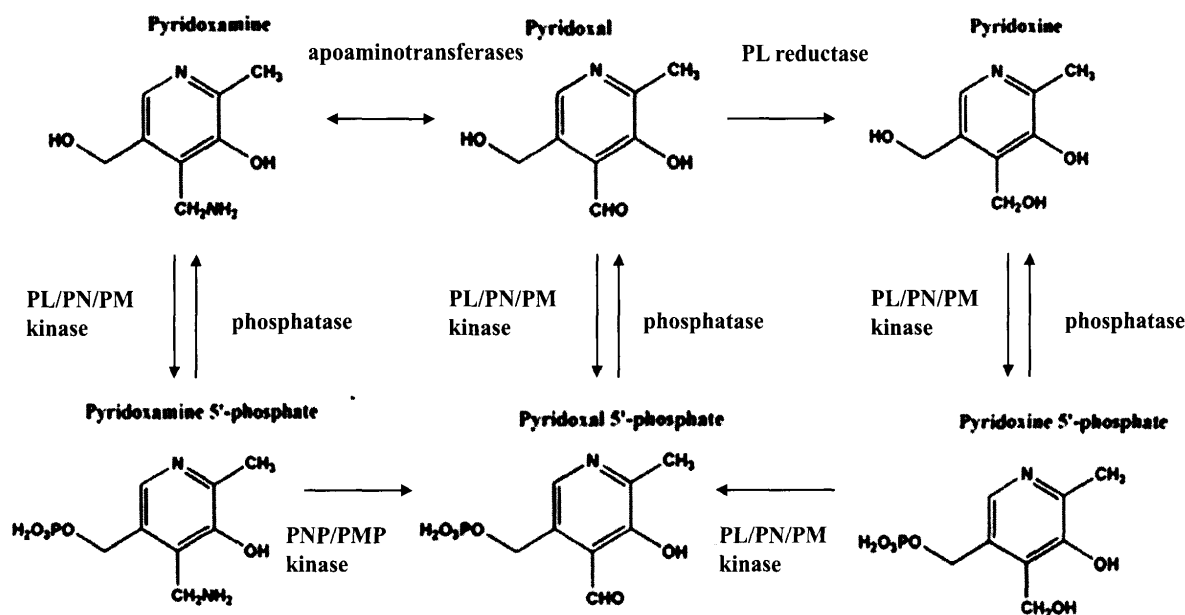


図. PLP のサルベージ合成経路

の値を採用するほうが良いと思われる。)この場合も、酵素タンパク質自体の発現量と質の変化が原因となっていることは否定できないが、本株の示す表原型は B₆ 欠乏が原因となっているものと考えることができる。

つまり、この論文では、野生株と B₆ 過剰ならびに欠乏株の表原型を調べていることになる。3 種類の株で差の見られる表原型を中心にして、表にまとめた。非常に興味深いのは、土壌栽培の場合、B₆ 過剰株で白化や矮小化が観察されるが、B₆ 欠乏株ではこれらが観察されなかつ

たことである。また、試験管培養においては、B₆ 過剰株で根の成長が著しく抑制され、欠乏株ではそれほど抑制されていない。これらの結果は、B₆ 過剰により、特に、根の成長が強く抑制されることを示した。ヒトでも、長期に亘る大量のピリドキシン摂取が B₆ 過剰症を引き起こすことはよく知られているが、植物では、より強い影響が出ていることが興味深い。また、欠乏株が土壌栽培では野生株と同じ成長を示すことは、土壌中から B₆ の供給があることを示唆している。土壌からどの程度の B₆ が供

表.

項 目		野生株	オキシダーゼ変異植物		キナーゼ変異植物
変異遺伝子型		なし	<i>pdx3-1</i> ,	<i>pdx3-2</i>	<i>sos4-1</i>
変異箇所		なし	遺伝子のプロモーター領域		遺伝子の1塩基変異
キナーゼ活性		100%	不明		不明
キナーゼ発現量		100%	不明		不明
オキシダーゼ活性		100%	65%	65%	150%
オキシダーゼ発現量		100%	100%	30%	不明
発現型					
土壌栽培	植物体の状態	正常	野生株と同じ		白化, 矮小化
	第一花芽観察日	30.3日	野生株と同じ		1.5日遅れ
	第一花開花日	45.2日	野生株と同じ		野生株と同じ
	長角果あたりの種子数	34.5個	やや少ない	差なし	やや少ない
	乾物重	100%	82%	87%	50%
試験管栽培	種子発芽率	95.8%	野生株と差なし		野生株と差なし
	根の成長(15日目)	100%	80%	73%	30%
	葉の重量	100%	77%	67%	83%
ストレス耐性					
100 mM Sucrose	根の成長	114%	128%	124%	28%
	茎の重量	100%	110%	124%	100%
100 mM NaCl	根の成長	68%	73%	82%	12%
	茎の重量	78%	88%	91%	77%
強照度栽培	相対乾物重	150%	100%	84%	130%
低温栽培	相対乾物重	約70%	野生株と同じ		野生株より有意に少ない
節水栽培	植物体の状態	小さい	野生株と同じ		野生株より耐性
ビタミンB ₆ 含有量					
バイオアッセイ	総量	100%	野生株より僅か有意に少ない		150%
HPLC	PLP	100%	野生株と同じ		900%
	PM	100%	野生株と同じ		200%
	PN	100%	野生株と同じ		200%
PLP合成酵素					
	PDX1活性	100%	野生株より低い		野生株より高い

給されるのか、いまだ不明であり、今後の興味深い研究課題である。

ストレス耐性に関して、表に示すように、B₆過剰株はスクロースとNaClにより強い浸透圧ストレスを受け、根の成長が著しく抑えられた。一方、節水栽培に対する耐性はB₆過剰株で有意にあがった。これに対し、B₆欠乏株では、野生株と比較して、ストレス耐性の項目で、著しく耐性の下がるものは無く、野生株と同じか、むしろ若干耐性が高くなっている。

結果として、植物(シロイヌナズナ)では、B₆過剰が、成長に対して、非常に悪影響を及ぼしていることがわかった。つまり、植物は、B₆濃度を狭い範囲で微妙にコントロールする必要があることになる。表に示すように、サルベージ経路に関与する酵素遺伝子の変異に連動するように、デノボ合成に関与するPLP合成酵素の活性が変化している。これは、植物体内で、B₆総量と個々のB₆濃度をバランスよく調節することの重要性を示唆していると思われる。B₆総量のバランスをとるために必要な、植物体でのB₆の供給と排出は、動物よりも複雑であると思われるが、その仕組みはほとんど明らかにされていない。B₆を供給する経路は、デノボ合成と根からの吸収であるが、B₆を減少させる仕組みはわかっていない。根からの排出系があるかどうか不明である。根からの排出に関連して、我々は、酵母では、ピリドキサルレダクターゼがB₆(PN)の排出に関与していることを報告している⁵⁾。植物にも、この酵素をコードすると思われる遺伝子があるので、植物にもPN排出系が存在する可能性はある。さらに、この点に関連して、共生窒素固定細菌である根粒菌がB₆分解経路を持っていることは興味深い⁶⁾。一見、この経路は根粒菌には必要がないように思われるが、植物がB₆過剰を嫌うとすれば、この経路での、B₆分解が植物に対して利益をもたらすと予想されるからである。

Daub等¹⁾の論文でも示されているように、植物試料中のB₆定量に関して、蛍光検出HPLC法とバイオアッセイ

法で大きな差が認められる。このことは、本論文の結果を考察する上で、大きな障害となっている。HPLCに代わる簡易で信頼性の高いB₆分別定量法の開発が急がれる。

Key Words : vitamin B₆, salvage and de novo synthetic pathway, pyridoxal 5'-phosphate, *Arabidopsis thaliana*, pyridoxine/pyridoxamine oxidase

Kochi University, Faculty of Agriculture Toshiharu Yagi
高知大学農学部 八木 年晴

文 献

- 1) González E, Danehower D, Daub M E (2007) Vitamer levels, stress response, enzyme activity, and gene regulation of *Arabidopsis* lines mutant in the pyridoxine/pyridoxamine 5'-phosphate oxidase (PDX3) and the pyridoxal kinase (SOS4) genes involved in the vitamin B₆ salvage pathway. *Plant Physiol* **145**, 985-996
- 2) Shi H, Zhu J-K (2002) SOS4, a pyridoxal kinase gene, is required for root hair development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **129**, 585-593
- 3) Nishimura S, Nagano S, Crai C A, Yokochi N, Yoshikane Y, Yagi T (2008) Determination of individual vitamin B₆ compounds based on enzymatic conversion to 4-pyridoxolactone. *J Nutr Sci Vitaminol* **54**, 18-24
- 4) Sang Y, Barbosa J M, Wu H, Locy R D, Singh N K (2007) Identification of a pyridoxine (pyridoxamine) 5'-phosphate oxidase from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett* **581**, 344-348
- 5) Morita T, Takegawa K, Yagi T (2004) Disruption of the *plr1*⁺ gene encoding pyridoxal reductase of *Schizosaccharomyces pombe*. *J Biochem* **135**, 225-230
- 6) Yuan B, Yoshikane Y, Yokochi N, Ohnishi K, Yagi T (2004) The nitrogen-fixing symbiotic bacterium *Mesorhizobium loti* has and expresses the gene encoding pyridoxine 4-oxidase involved in the degradation of vitamin B₆. *FEMS Microbiol Lett* **234**, 225-230