

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05461

研究課題名(和文) 高硫黄含有アブラナ科伝統野菜の硫黄代謝制御系の解析

研究課題名(英文) Analysis of the regulation system of sulfur metabolism in high sulfur-containing Japanese heirloom vegetables of the Brassicaceae family

研究代表者

伊藤・山谷 紘子 (YAMAYA-ITO, Hiroko)

日本大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：80648684

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：機能性酸化型含硫化合物の含有量を高めた野菜の育成のためには、イオウ(S)の代謝制御に関する知見を得ることが必要となる。そこで、根域S濃度を上昇させた時のアブラナ科伝統野菜の有機態S代謝を司る鍵酵素の活性を調べ、S吸収能にて分類して解析を行った。S吸収能が低い品種では、無機態Sとともに有機態Sの含有量も増加しており、有機S代謝へ導く酵素ATPSと酸化型含硫化合物合成経路へと導く酵素APKの間で相関が認められた。つまり、S吸収能が低い品種群では吸収した余剰Sを、無機態Sとして液胞等に蓄えるとともに、有機態S、特に酸化型含硫化合物合成に分配する機構が働いている可能性が高いことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

機能性を持つ有機態イオウ(S)化合物の含有量を高めることができれば、摂食目的に合う機能性成分高含有野菜を育成することが可能となる。本課題では、アブラナ科植物はS吸収能により余剰Sの分配傾向が異なり、品種レベルで独自のS吸収・S代謝制御機構を有していることを明らかにした。さらに根域S濃度上昇に反応して有機態S化合物合成経路の鍵酵素が活性化され、有機態Sの割合が増加する品種の選抜に成功した。今後、選抜した品種における、S含有量の増加またはS機能性成分生合成経路が促進される時に増加する物質あるいは現象を解析することで、機能性成分高含有野菜の選抜マーカーとしての利用に繋げることができると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In order to cultivate vegetables with a high content of functional sulfur(S)-containing compounds, it is necessary to elucidate the activation mechanism of the organic S compound synthesis pathway. In this study, we classified Brassicaceae heirloom vegetables based on their S-absorption capacity, and compared the activity of key enzymes controlling organic S metabolism under the condition of increasing the rhizosphere sulfate concentration. In the cultivars with low S absorption capacity, the content of both inorganic and organic S was increased, and a correlation was observed between the enzyme ATPS which leads to organic S metabolism, and the enzyme APK which leads to the metabolism of oxidized sulfur-containing compounds. These results suggest that the cultivars with low S absorption capacity may be stored the surplus S as inorganic S in vacuoles and also distributed the surplus S to organic S, especially for oxidized sulfur-containing compounds.

研究分野：植物栄養学

キーワード：イオウ代謝 伝統野菜 アブラナ科植物 機能性成分 酵素

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者は、機能性成分の多くが植物の有機態イオウ (S) 化合物であることに着目し、これらの有機態 S 化合物含有量を調節し、高めることができれば、摂食目的に合う機能性成分高含有野菜を育成することができると考えている。そのためには、植物における S 吸収と体内代謝系がどのように制御されているかを解析する必要がある。

アブラナ科のシロイヌナズナがモデル植物として全ゲノムの解析がなされて以来、硫酸イオントランスポーター (Maruyama *et al.*, 2015, Takahashi, 2019) または S 代謝 (Kopriva *et al.*, 2012, Aarabi *et al.*, 2020) に関する研究が精力的に行われている。しかし、モデル植物などの特定の植物についての解析は進んでいるものの、本研究で取り扱っている「多数の一般的な植物 (野菜)」を対象とした S の取り込み能力や S 濃度、そして有機態 S 化合物への同化量などの S 代謝に関する研究は少ない。

申請者の所属研究室では、シロイヌナズナを供試植物として、カドミウム (Cd) ストレス負荷時における、有機態 S 化合物ファイトケラチンの生合成系に関わる各酵素遺伝子の発現を調べている。その際に、目的物質の代謝に直接的に関与する鍵遺伝子のみを多量発現しても、体内 S 含有量が律速となり、目的物質の生合成量が制限されることをこれまでに明らかにしている (Hiruta *et al.*, 2006)。また、40 品種のアブラナ科伝統野菜を用いて、S 供給量が生育や S 吸収に及ぼす影響を調査し、根域 S 濃度を増加させた時に、地上部 S 濃度が上昇する品種だけでなく、S 濃度が変化しない品種が存在することも明らかにしている (Yamaya-Ito *et al.*, 2020)。つまり、これらの結果は、アブラナ科の植物は品種単位で独自の S 吸収調節機構や S 代謝制御機構を持っている可能性があることを示唆している。

2. 研究の目的

これまでの研究成果から、アブラナ科の植物において有用な有機態 S 化合物の含有量を増加させるためには、従来行われてきた目的物質の代謝の鍵酵素 (遺伝子) の特定とともに、多量の S を外部から取り込む生体内機構を解明することも必要であると考えられた。そこで本研究では、アブラナ科伝統野菜を S 吸収能にて分類したのち、それらの根域 S 濃度を上昇させた時の (1) 有機 S 代謝を司る鍵酵素 ATP sulfurylase (ATPS)、APS reductase (APR) と APS kinase (APK) の活性と (2) 無機態 S と有機態 S 含有量の変化を品種間で比較し、体内への S 取り込み量が増加した時の S の分配機構を解析した。

3. 研究の方法

申請者は日本全国に存在するアブラナ科伝統野菜 48 種の中で、根域 S 濃度の増加により生育が良好になる品種、または S 含有量が乾物重あたり 1% を超える品種を明らかにしている (Yamaya-Ito *et al.*, 2020)。本研究では過去に当研究室にて行われた実験のデータを再解析し、根域 S 濃度の増加時に地上部 S 濃度が顕著に増加する S 吸収能が高い伝統野菜 6 品種と、ほとんど変化しない S 吸収能が低い 8 品種を選抜し、実験に供した。

これらの植物は改変 Hoagland 水耕液 (イオウ濃度 0.1 mM、pH 5.8) で馴化栽培した後、本葉 1~2 枚時に S 濃度を 0.2 (コントロール)、0.4、0.8 mM に調製した水耕液に移植し、栽培した。その後、本葉 10 枚展開時に、最上位葉から数えて第 3 葉、第 5 葉、根部をサンプリングし、それぞれの部位の酵素 ATP sulfurylase、APS reductase と APS kinase の酵素活性を測定した。また、無機態 S と有機態 S は凍結、粉碎した植物体から純水にて抽出後、イオン交換樹脂にて分画した。有機態 S は硝酸により湿式分解を行い、それぞれの S 量を ICP にて測定した。

4. 研究成果

(1) 根域 S 濃度の増加が ATPS 活性に与える影響

根から吸収した無機硫酸イオンを有機 S 代謝へと導く酵素である ATPS の活性を測定したところ、根域 S 濃度の変化による一定の傾向は見られず、品種によって異なった。また、一部の品種においては、0.4 mM S 区では活性が上昇するが、0.8 mM S 区では活性が低下する傾向を示した。これらの結果から、ATPS 活性には品種ごとに独自の至適基質濃度が存在していることが示唆された。

(2) 根域 S 濃度の増加が APR 活性に与える影響

ATPS の触媒で合成された APS を還元同化経路 (一次代謝経路) へと導く酵素 APR は、全ての品種において根よりも葉で活性が高く、その差は 2 倍程度であった。APR は代謝の最終生成物であるシステインやグルタチオンによりフィードバックレギュレーションがかかる酵素であるが、根域 S 濃度増加に伴う APR 活性は、コントロール区と同程度かそれ以上の値を示した。このことから APR 活性は、根域 S 濃度が増加しても減少することなく、恒常的に維持されているものと考えられた。

(3) 根域 S 濃度の増加が APK 活性に与える影響

APS を酸化型含硫化合物生合成経路 (二次代謝経路) へと導く酵素 APK は、葉よりも根で比較

の高い活性を示した。また、葉のAPK活性は根域S濃度間で比較した時の差が極めて小さく、品種間における差も比較的小さかった。一方、根におけるAPK活性は根域S濃度による活性の差異が大きかった。さらに、S吸収能が低い品種の中には、根域S濃度の増加に伴って活性が増加する品種も存在した。

(4) 根域S濃度の増加が植物体内の有機態S/無機態Sの含有量に与える影響

S吸収能が高い品種群と低い品種群より各3品種ずつ選び、根域S濃度を増加させた時の有機態Sと無機態S含有量を測定した。その結果、植物体S含有量の増加に伴い、全ての品種において無機態S含有量が増加した。また、特にS吸収能が低い品種においては、無機態S含有量とともに有機態S含有量も増加する傾向が見られた。

(5) S代謝系鍵酵素間における活性の相関

根域S濃度を増加させた時、植物体内の余剰Sが無機態のまま蓄積するのか、有機態代謝に分配されるのか、また有機態代謝に分配されたSが還元同化経路と酸化型含硫化合物物合成経路のどちらに優先的に分配されるのかを調べるために、ATPS、APR、APKの活性の相関を調査した。ATPS活性とAPR活性の相関を調査したところ、両酵素活性間には相関関係は見られなかった。一方、ATPS活性とAPK活性の相関を調査したところ、根では両酵素間に相関は見られなかったが、葉では正の相関が見られた。さらに、S吸収能が高い品種と低い品種に分けて解析を実施したところ、低い品種においては有意に正の相関があることが分かった(図1)。この解析により、根域S濃度が増加した時に有機代謝へ導くATPSと酸化型含硫化合物物合成経路へ導くAPKの両酵素の活性が高まる品種を選抜することができた。

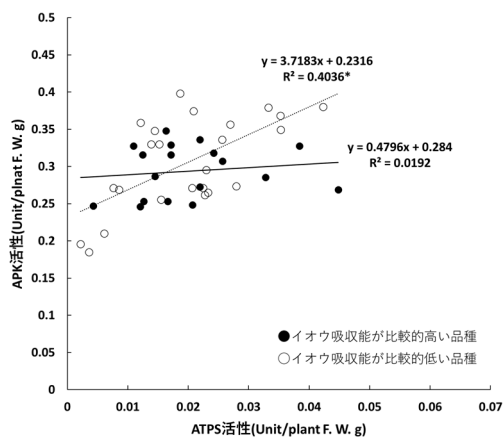


図1. 地上部ATPS活性およびAPK活性の相関

(*はt検定にて危険率5%で有意差が認められた)

また、APR活性とAPK活性の相関を相対値にて評価した結果、両酵素間に相関関係は見られず、特に葉においてはAPR活性が変化してもAPK活性はほとんど変化しなかった。

(6) 考察

植物体器官ごとのAPR活性の傾向(葉>根)および、APK活性の傾向(葉<根)は供試伝統野菜間で共通していたことから、アブラナ科全体に共通した傾向である可能性が高い。さらにAPRやAPKは恒常性が高く、根部S供給量を増やしても還元同化経路と酸化型含硫化合物物合成経路のいずれかに優先的に代謝されることはなかった。

また、S吸収能が低い品種において、有機S代謝へ導く酵素ATPSと酸化型含硫化合物の代謝へ導く酵素APK間で相関が認められた。これらの品種では、体内S含有量の増加に伴い、無機態Sとともに有機態Sの含有量も増加していた。これらのことから、S吸収能が低い品種群では、吸収した余剰Sを無機態Sとして液胞等に蓄えるとともに、有機態S、特に酸化型含硫化合物物合成に分配している可能性が高いことが明らかとなった。

一方、S吸収能が高い品種においては、ATPSとAPK活性に相関は見られず、植物体内中の余剰Sは無機態Sとして蓄積する傾向があることが示された。このことから、S吸収能が高い品種群では、吸収した余剰Sを液胞等に蓄える機構が働くことが示唆された。

さらに本研究では、アブラナ科伝統野菜において根域S濃度の増加によりATPS活性とAPK活性が増加する品種を選抜することができた。今後これらの品種の酸化型含硫化合物の定性定量分析を行い、機能性を持つS酸化型含硫化合物が増加しているか否かを調べる必要がある。加えて、選抜した品種における、S含有量の増加またはS機能性成分物合成経路が促進される時に増加する物質あるいは現象を解析することで、機能性成分高含有野菜の選抜マーカーとしての利用に繋げることができると考えられる。

引用文献

- Aarabi, F. *et al.*, *Trends in plant science*, 25, 1227-1239, 2020
- Hiruta A. *et al.*, *Abstracts of 18th World Congress of Soil Science*, pp.221, Philadelphia, Pennsylvania, USA, 2006
- Kopriva S. *et al.*, *Plant Science*, 3, 1-9, 2012
- Maruyama-Nakashita, A. *et al.*, *The Plant Cell*, 27, 1279-1296, 2015
- Takahashi, H., *Journal of Experimental Botany*, 70, 4075-4087, 2019
- Yamaya-Ito, H. *et al.*, *Soil Science and Plant Nutrition*, 66, 854-863, 2020

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 佐野佑哉, 長谷川功, 野口章, 新町文絵, 伊藤(山谷)紘子
2. 発表標題 根域イオウ濃度がアブラナ科伝統野菜のAPS reductase活性に及ぼす影響
3. 学会等名 2022年度 土壤肥料学会関東支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yamaya-Ito, H., Shinmachi, F., Noguchi, A., Hasegawa, I
2. 発表標題 How high is the sulfur content of Japanese heirloom vegetables of the Brassicaceae family?
3. 学会等名 S Bio2021 Glucosinolate (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 米山 忠克・長谷川 功・関本 均(編) 分担執筆: 伊藤(山谷)紘子	4. 発行年 2023年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 232
3. 書名 新植物栄養・肥科学 改訂版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------