

鉄欠乏下における *Hyoscyamus albus* 培養根のリボフラビン関連代謝の変動に関する研究

長崎大学大学院 生産科学研究科

比嘉 中

鉄は植物を含むすべての生物に必須の微量元素であるが、自然の状態では水に難溶性の3価の鉄として存在しており、植物は常に鉄欠乏の危機に直面している。特にアルカリ土壌の場合、鉄の溶解度はさらに低下するため、植物は生存することができなくなる。国連食糧農業機関によれば、世界の陸地のおよそ 30%はアルカリ土壌で、そのほとんどが乾燥、半乾燥地域に分布するとされている。これらの地域では、灌漑による大規模農業がおこなわれており、このまま土壌のアルカリ化が進めば砂漠化が進行し、食糧生産に大きな影響を与えると懸念されている。このため近年、鉄欠乏に強い植物の育成の研究が必要とされている。

本研究では鉄欠乏下でも成育できる植物を探索し、ナス科のヒヨス (*Hyoscyamus albus*) が鉄欠乏でも生育を続けることを培養根のレベルで明らかにした。その際、根からリボフラビンを放出する現象が見られた。鉄は呼吸や光合成など生体内の代謝における電子伝達に深く関与していることから、鉄欠乏に耐性を持つには、代謝の変動が伴うことが予想された。そこで、鉄欠乏耐性のメカニズムを解明する上で、リボフラビンの放出に関連した代謝の変動を明らかにすることが重要であると考え、この解明に取り組み、以下の結果を得た。

各章の概要は以下のとおり。

第1章 鉄欠乏耐性を示すヒヨスの根の特性

植物は根から鉄イオンを水に溶けた形で吸収する。そこで、培養根の系が確立している植物数種を用いて鉄欠乏下で培養し、ヒヨス培養根を鉄耐性モデル実験系として選抜し、以降の検討に使用した。

鉄欠乏下でヒヨスの根は根端の肥大化や側根数の増加といった形態的变化が顕著にみられた。また、生長を続けながら培地に黄色化合物を放出した。この黄色化合物は分析の結果、リボフラビンと判明した。鉄欠乏下では根端が黄色くなり、リボフラビンに特徴的な蛍光が観察されたこと、放出量が根端の大きさや数に依存したことから、根端が主な放出部位であると考えられた。

第2章 根圏へのプロトンポンプ阻害剤、有機酸およびリボフラビン添加の影響

リボフラビンの放出の外に鉄欠乏下で起きる根圏の変化を調べた。その結果、リボフラビンの放出や根の生長に先だって pH の低下やリンゴ酸とクエン酸の放出が検出された。そこで、プロトンポンプ阻害剤、有機酸やリボフラビンを培地に添加して、生長やリボフラビン放出量への影響を調べた。プロトンポンプ阻害剤の添加によりリボフラビンの放出が抑制されたが、有機酸で人為的に根圏の pH を低下させた場合、リボフラビンの放出量が増大した。また、リボフラビンを添加してもリボフラビンの放出量に影響がないことが判明した。これらの結果から、プロトンポンプの働きとリボフラビンの放出は直接には関係しないこと、リボフラビンの放出は鉄欠乏耐性を示す過程で代謝が変化した結果起こると考えられた。

第 3 章 鉄欠乏下での呼吸とリボフラビン放出の関連

鉄は電子伝達系に関与することから、鉄欠乏で特に影響を受けるものに呼吸が考えられた。そこで、酸素供給とリボフラビン放出量、呼吸活性を検討した。リボフラビン放出量は酸素が供給されるほど多くなった。また、鉄欠乏時は鉄十分時に比べ呼吸活性が上昇することが判明した。呼吸鎖を構成するタンパク質には鉄を多量に含むものが存在することから、呼吸活性の上昇と鉄欠乏とは矛盾すると考えられた。鉄欠乏耐性を持つには、呼吸鎖電子伝達系の改変が予想されたため、構成タンパクに特有の阻害剤を添加することで、どのタンパク質が鉄欠乏下で主に働いているかを検討した。その結果、動植物に共通の複合体 III、IV、植物に特有の代替デヒドロゲナーゼが呼吸の維持とリボフラビンの放出に主に働いていると考えられた。また、鉄欠乏下ではミトコンドリアの鉄含量が有意に減少していたことから、鉄イオンを多く必要とするフラボタンパクである複合体 I や II が機能しなくなった為に、不要なリボフラビンが放出された可能性が考えられた。

第 4 章 リボフラビン生合成関連遺伝子のクローニングと発現の経時変化

鉄欠乏下で起こる根からのリボフラビンの放出がリボフラビンの *de novo* 合成によるものか、フラボタンパク質などに結合している FMN や FAD の分解によるものかを明らかにしたいと考え、これらに関わる遺伝子のクローニングと発現の経時変化を調べた。リボフラビンの *de novo* 合成に関わる遺伝子 RibA/B、C、D の発現は鉄欠乏下で増大したが、リボフラビンを FMN、FMN をリボフラビンへ変換する RibK/FHY には差が見られなかった。したがって、放出されるリボフラビンは *de novo* 合成の亢進によるものと推測された。

以上、鉄欠乏に耐性を持つヒヨス培養根では鉄十分時とは異なる呼吸鎖電子伝達系が機能していることを明らかにした。また、鉄欠乏時には生体内の代謝の変動を反映してリボフラビン合成が亢進されていることを明らかにした。