

ストレス負荷におけるベタレイン含有植物タンパク質の変動解析

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 生態化学生物学 花井悠介

1. はじめに

活性窒素種 (RNS) は活性酸素種 (ROS) と同様に, ストレス負荷により細胞内で過剰に生成され, 細胞構成成分の酸化劣化に加え, タンパク質をニトロ化・ニトロソ化修飾し, それらの活性変化をもたらすことが知られている。植物においても, 低・高温, 塩などのストレス負荷に伴う ROS・RNS の増加が報告されており, 環境ストレス応答への関与が注目されている。水溶性含窒素植物色素であるベタレインは, 赤色を示すベタシアニン, 黄色を示すベタキサンチンに分類され, ヒユ科, サボテン科など一部植物に分布が限られている。ベタレインは *in vitro* において高い抗酸化活性を持ち, 植物細胞内でも抗酸化機能を有することが示唆されているが, ベタレイン含有植物がストレスに曝された際の ROS・RNS 生成およびストレス負荷時のベタレインの機能に関する報告は殆どない。そこで本研究では, 植物細胞内におけるベタレインの生理的機能解明の一環として, ベタシアニンまたはベタキサンチン蓄積量の異なる *Beta vulgaris* から, テンサイ (SB), アカビート (RB), スイスチャード白 (SW), 黄 (SY), 赤 (SR) を用い, NaCl または高温ストレスを負荷した際の細胞内 ROS・RNS 生成量およびタンパク質の挙動をそれぞれ比較した。

2. 材料・方法

SB, RB およびスイスチャード芽生えに 1~5 日間の 150 mM NaCl または 35°C 高温処理を施した後, 胚軸の可溶性タンパク質を回収し, SDS-PAGE および抗ニトロチロシン抗体を用いたウェスタンブロッティングにより分析した。また細胞内の ROS・RNS については, $\cdot O_2^-$ は nitro blue tetrazolium (NBT), H_2O_2 は diaminobenzidine (DAB), NO は diaminofluorescein-2 diacetate (DAF2-DA), $\cdot OH$ および ONOO \cdot は aminophenyl fluorescein (APF) を用いて検出した。

3. 結果と考察

当該 NaCl または高温処理により, 全ての植物芽生えで生重量が減少し, 特に高ベタシアニン蓄積群の RB, SR での減少量が大きかった。タンパク質変動解析の結果, 各植物においてストレス処理による CO_2 固定酵素の RuBisCO 大サブユニットの断片化が見られた。これに加え, 高温処理スイスチャードでは抗酸化酵素のモノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼ (MDAR) の分解が確認された。これらのタンパク質の断片化・分解は, 低ベタシアニン蓄積群の SB, SW, SY において, より促進されていた。さらに, 高温処理 SR においてのみ H_2O_2 消去酵素の 2-システインペルオキシレドキシシン (2-CP) が検出され, 高度にニトロ化修飾されていた。また細胞内 ROS・RNS の蓄積量を比較したところ, 低ベタシアニン蓄積群の SB, SW, SY はストレス処理を施した際に, H_2O_2 , $\cdot OH$, ONOO \cdot を高ベタシアニン蓄積群の RB, SR より蓄積する傾向にあった。

これらの結果から, 高ベタシアニン蓄積群である RB や SR では, ROS・RNS の蓄積を抑えることにより, ストレス負荷下においてもタンパク質断片化・分解が抑制されていることが示唆された。

表 1 高温処理スイスチャードにおける ROS・RNS 生成量とタンパク質の変動

	H_2O_2	$\cdot OH$ および ONOO \cdot	RuBisCO LSU 断片化率	MDAR 分解率	2-CP発現
低ベタシアニン群(SW・SY)	多	多	高	高	—
高ベタシアニン群(SR)	少	少	低	低	+