

ベタレイン色素種及び含有量の異なるスイスチャード(*Beta vulgaris*) カラータイプ間の温度ストレス応答比較

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 生態化学生物学 林 寛容

1. はじめに

活性酸素種(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発生し, 細胞構成成分を酸化する。植物色素ベタレインには, 赤系ベタシアニンと黄系ベタキサンチンがあり, ナデシコ目の限られた植物種及び一部の菌類に分布する。ベタレインは *in vitro* で高い RNS・ROS 消去能力を持つことから, 植物細胞においてもストレス環境で抗酸化能を有することが示唆されるが, 不明な点が多い。これまでに, ベタレイン蓄積植物のスイスチャードに温度ストレスを負荷すると, カラータイプ間でタンパク質分解, RNS・ROS 検出量などに違いが生じることが確認されている。そこで本実験では, タンパク質と同様に重要な細胞構成成分の一つである脂質に注目し, レシチンリポソーム及びスイスチャードを用いて, 脂質過酸化に対するベタレインの効果を検討した。また, 近年同定されたベタレイン生合成遺伝子のスイスチャードカラータイプ間における発現およびストレス負荷による変動を比較した。

2. 方法

卵黄由来レシチンリポソームをモデル脂質, アカビートから精製したベタニンモデルベタレインとし, 最も毒性の強い RNS の一つであるペルオキシナイトライト (ONOO⁻) 依存性脂質過酸化反応の抑制能を調べた。過酸化脂質はチオバルビツール酸 (TBA) 比色法を用い, TBA 反応産物 (TBARS) として定量した。また, スイスチャード (*Beta vulgaris* var. *cicla*) 白 (W), 黄 (Y), 赤 (R) の子葉期 (播種後 12 日生育)・本葉期 (播種後 40 日生育) に 35°C 高温処理を 3 日, 6 日間施した。胚軸部及び葉部の過酸化脂質は Lipid Hydroperoxide (LPO) として検出した。更に, ベタレイン生合成遺伝子 *CYP76AD1*, *BvDODA1*, *BvMYB* の発現挙動を SYBR Green I 法を用いた Real Time PCR によって解析した。

3. 結果と考察

リポソームモデル系において, 1 mM ONOO⁻ によって誘導された TBARS 増加量は, 70 μM ベタニン存在下で 5% 以下に有意に抑制された。代表的な抗酸化剤であるアスコルビン酸と比較した結果, ベタレインはアスコルビン酸の約 7 倍の極めて強い脂質過酸化反応抑制能を持つことが明らかとなった。スイスチャード子葉期には, W・Y・R 共に 35°C 処理による LPO の増加は見られなかったが, 本葉期では, ベタレイン含量の少ない W の葉部のみで 1.8 倍に有意に増加した。このことより, ベタレインは, 子葉期よりもより成長段階の進んだ植物体にて抗酸化機能を示す可能性が示唆される。また, ベタレイン生合成遺伝子の探索を行ったところ, R・W ではベタシアニン合成に関わる *CYP76AD1* が見つかったが, 主にベタキサンチンを蓄積する Y では, C 末端の 80 アミノ酸が欠失した不活性型 *CYP76AD1* のみが検出された。更に, 子葉期における *CYP76AD1*, *BvDODA1* (ベタシアニン・ベタキサンチン合成遺伝子), *BvMYB* (*CYP76AD1* 転写因子) の発現量を調べたところ, ストレス処理によってすべてが減少する傾向が見られた。

本研究から, 植物発達段階の違いがベタレインの機能評価に非常に大きな影響を及ぼすことが示された。今後, 様々な成長段階の植物体を用いた検討を行うことにより, ベタレインの植物体内での機能・役割の理解につながることを期待される。