

シロイヌナズナのセレンの取り込み, 輸送,
耐性機構に関する研究の現状と展望老川 典夫^{1,2)}¹⁾関西大学先端科学技術推進機構*, ²⁾関西大学化学生命工学部**)

(受付 2017年8月22日, 受理 2017年10月19日)

Current and further aspects of research for selenium uptake,
transport, and tolerance in *Arabidopsis thaliana*Tadao OIKAWA^{1,2)}¹⁾High Technology Research Core, Kansai University*²⁾Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering, Kansai University**)

Summary

Selenium (Se) is one of essential micronutrients for human and animals. But for plant, selenium is not an essential micronutrient, and excess amount of selenium is toxic. Most plants cannot grow in soil containing selenium, but several kinds of plants can grow well in such soil and accumulate selenium. The selenium hyperaccumulated plant can accumulate selenium more than 1,000 mg per kg dry weight. Many researchers have studied selenium tolerance in plant extensively on hyperaccumulators such as *Astragalus bisulcatus* and *Stanleya pinnata*, although *Arabidopsis thaliana* is a representative model Dicotyledon plant.

In this mini review, I describe the current aspects of research for selenium uptake, transport, and tolerance in *Arabidopsis thaliana* and the further aspect of selenium tolerance in *Arabidopsis thaliana* in relation to homocysteine methyltransferase in this organism.

1. はじめに

セレン (Se) は、ヒトや動物にとって必須微量栄養素であるが¹⁾、植物にとっては必須微量栄養素でないばかりか過剰なセレンは植物にとって毒性がある。一般に、セレンを含む土壌では、多くの植物は生育できないが、一部の植物は生育することができ、このような植物は乾燥重量 1 kg あたり 100 mg 未満のセレンを蓄積することができるが、これ以上高濃度のセレン濃度には耐えることはできない。しかし、いくつかの植物では、セレンに対する耐性機構が発達しており、乾燥重量 1 kg あたり 100 mg 以上のセレンを常に蓄積することができる。これらの植物は、セレン蓄積植物と呼ばれ、さらにいくつかのセレン蓄積植物は、乾燥重量 1 kg あたり 1,000~15,000 mg のセレンを蓄積ことができ、セレン高蓄積植物と呼ばれる。セレン高蓄積植物としては、*Astragalus bisulcatus* (ギバナオウギ)²⁾ や *Stanleya pinnata* (デザートプリンスプラム)³⁾ などが知られている。これらのセレン高蓄積植物については、

セレンの蓄積機構が詳細に研究されている⁴⁾。一方、セレン非蓄積植物のセレン耐性機構や蓄積機構については未だ不明な点が多い。

本稿では、セレン非蓄積植物でありまた双子葉植物のモデル植物であるシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) に焦点をあて、シロイヌナズナのセレンの取り込み、輸送及び耐性機構についてこれまでの報告に基づいて概説するとともに、著者らの最近の研究成果に基づき、シロイヌナズナのセレン耐性機構に関する研究の今後の展望について述べる。

2. シロイヌナズナのセレンの取り込みと輸送機構

植物は、セレンをセレン酸 (SeO_4^{2-})、亜セレン酸 (SeO_3^{2-} ; HSeO_3^- ; H_2SeO_3) などの無機セレンや、セレノシステイン (SeCys)、セレノメチオニン (SeMet) などの有機セレンとして根から取り込むことができる⁵⁾。セレン酸の根圏から根の細胞への取り込みは、シロイヌナズナ

*所在地：大阪府吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

**所在地：大阪府吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

の AtSULTR1;1 や AtSULTR1;2 トランスポーターと相同性の高い high-affinity sulfate transporters (HASTs) によって触媒されることが知られている⁶⁾。Davidian らは⁷⁾、シロイヌナズナのセレン酸耐性 T-DNA 挿入変異株からセレン酸耐性変異株 (sell-11 株) のスクリーニングに成功し、sell-11 株では AtSULTR1;2 遺伝子に T-DNA が挿入されており、シロイヌナズナの HASTs のうち、唯一 AtSULTR1;2 がセレン酸耐性に関与することを明らかにした。また Davidian らは⁷⁾、シロイヌナズナの野生株及び sell-11 株の芽生えを、1 mM 硫酸を唯一の硫黄源として生育させた後、1 mM 硫酸を含む培地、1 mM 硫酸+0.25 mM セレン酸を含む培地、硫酸及びセレン酸を含まない培地でそれぞれ生育させ、これらの個体の根及び葉の中に含まれる硫酸及びセレン含有量を測定した。その結果、sell-11 株の硫酸の取り込み量は、野生株に比べて根及び葉のいずれの部位においても全ての培地で著しく減少することを明らかにした。また、sell-11 株のセレンの取り込みは、1 mM 硫酸+0.25 mM セレン酸を含む培地においてのみ認められ、野生株に比べて根及び葉のいずれの部位においても著しく減少することを明らかにした。シロイヌナズナのゲノム中には、少なくとも 12 の HAST ホモログをコードする遺伝子が存在する。これらの遺伝子がコードするタンパク質の系統樹解析を行うと、Fig. 1 のようになる。進化的に AtSULTR1;2 の祖先タンパク質となる AtSULTR1;1 がシロイヌナズナのセレン酸耐性に直接関与しない点は興味深い。

シロイヌナズナの HASTs のホモログ遺伝子は、セレン高蓄積植物をはじめとする他の被子植物のゲノム中にも存在している⁸⁾。セレン非蓄積植物である *Brassica juncea* (カラシナ) の SULTR1;1 や SULTR1;2 をコードする遺伝子は、硫酸を含まない培地で生育させた根において発現量が増加することが知られている。興味深いことに、硫酸を含まない培地で生育させた *B. juncea* の根の SULTR1;1 遺伝子の発現は、0.5 mM の硫酸を培地に添加するとほぼ完全に抑制され、5.0 mM の硫酸を培地に添加すると完全に抑制される。また 0.5 mM あるいは 5.0 mM の硫酸を含む培地にセレン酸を 0.02 mM 添加すると、*B. juncea* の根の SULTR1;1 及び SULTR1;2 をコードする遺伝子の発現量は増加する⁹⁾。

亜セレン酸は、根において速やかに有機セレン化合物に変換されるが、セレン酸は、直ちに木部に輸送される¹⁰⁾。シロイヌナズナの AtSULTR2;1, AtSULTR2;2, AtSULTR3;5 は、木部中でのセレン酸の輸送に関与していると考えられている⁶⁾。またセレンは、非常に限られた量であるが、木部中を SeMet やセレンオキシド (SeOMet) の形で輸送される¹⁰⁾。シロイヌナズナでは、低親和性の硫黄トランスポーターである AtSULTR2;1, AtSULTR2;2 は、木部中での細胞内へのセレン酸の取り込みに関与していると考えられており、また AtSULTR3;5 は、AtSULTR2;1 を調節する機能を有していると考えられているが、セレン酸自体の取り込みには関

与しないと考えられている¹¹⁾。AtSULTR2;1, AtSULTR2;2 をコードする遺伝子の発現も、硫黄の欠乏やセレン負荷によって誘導されることが明らかとなっている¹²⁾。

セレン酸は、色素体の中で有機セレン化合物に変換されて同化されている¹³⁾。AtSULTR3;1 は、葉緑体の細胞膜に局在しており、セレン酸の色素体への輸送に関与すると考えられている¹⁴⁾。セレン酸は、まずアデノシン三リン酸スルフィアーゼ (ATPS) によって活性化されアデノシン 5'-ホスホセレン酸 (APSe) に変換され、生成した APSe は、還元型グルタチオンを電子受容体として、アデノシン 5'-ホスホ硫酸レダクターゼ (APR) によって亜セレン酸に還元される。シロイヌナズナゲノム中には、ATPS をコードする 4 つの遺伝子と APR をコードする 3 つの遺伝子が存在しており¹⁴⁾、またこれらの遺伝子は他の植物のゲノム中にも同数存在していることが報告されている。AtSULTR1;1, AtSULTR1;2, AtSULTR2;1, AtSULTR2;2, AtSULTR3;1, AtSULTR3;5 のシロイヌナズナにおける分布を模式的に表すと、Fig. 2 のようになる。

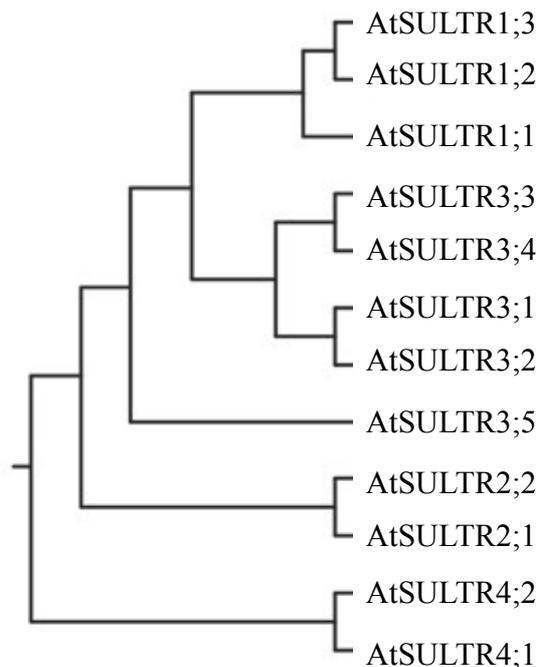


Fig. 1 Phylogenetic analysis of high-affinity sulfate transporter homologs of *Arabidopsis thaliana*

The phylogenetic tree of high-affinity sulfate transporter homologs of *Arabidopsis thaliana* was drawn using a Clustal W multiple sequence alignment (<http://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>). The accession numbers of proteins used for phylogenetic analysis were shown as follows: Sulfate transporter 1;1 (AT4G08620); Sulfate transporter 1;2 (AT1G78000); Sulfate transporter 1;3 (AT1G22150); Sulfate transporter 2;1 (AT5G10180); Sulfate transporter 2;2 (AT1G77990); Sulfate transporter 3;1 (AT3G51895); Sulfate transporter 3;2 (AT4G02700); Sulfate transporter 3;3 (AT1G23090); Sulfate transporter 3;4 (AT3G15990); Sulfate transporter 3;5 (AT5G19600); Sulfate transporter 4;1 (AT5G13550); and Sulfate transporter 4;2 (AT3G12520).

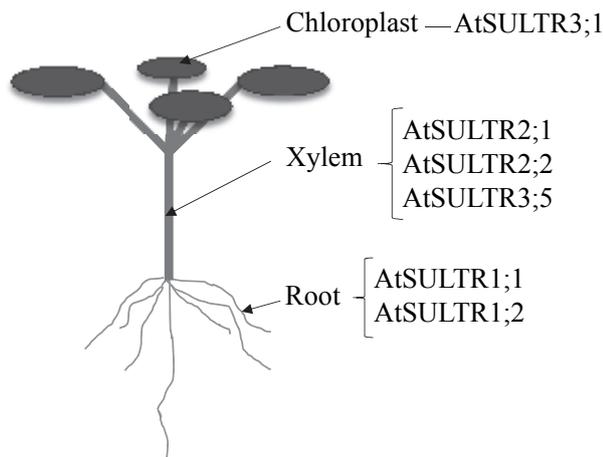


Fig. 2 Schematic representation of distribution of high-affinity sulfate transporter homologs in *Arabidopsis thaliana*

3. シロイヌナズナのセレン耐性機構とその今後の展望

植物に対するセレンの毒性は、根から取り込まれた亜セレン酸やセレン酸が、セレノシステインやセレノメチオニンに変換され、これらのセレンアミノ酸がタンパク質中のシステイン残基やメチオニン残基と置換することにより、正常に機能することができなくなることによって発現する¹⁵⁾。特にタンパク質中のシステイン残基のセレノシステイン残基への置換は、ジスルフィド結合の形成や酵素の基質結合を妨げる。したがって、植物は、植物体内のセレノシステインやセレノメチオニンを、毒性の少ないセレン化合物や揮発性のセレン化合物に変換することによって、セレン耐性能を獲得することができると考えられている¹⁶⁾。セレン高蓄積植物 *Astragalus bisulcatus* では、これらの無機及び有機セレン化合物に由来するセレン濃度は、花、茎、葉、根の順に高いことが明らかとなっている¹⁶⁾。花の中では、萼片、花卉、雌蕊(雌しべ)、未成熟種子、雄蕊(雄しべ)の順に、セレン濃度が高いことが明らかとなっている¹⁶⁾。

一方、セレノシステインメチルトランスフェラーゼ(SMT; EC 2.1.1.280)は、SeCysをSe-メチルセレノシステイン(SeMSeCys)に変換する反応を触媒する¹⁷⁾。また

S-アデノシルメチオニン:メチオニンメチルトランスフェラーゼ(MMT; EC 2.1.1.12)は、SeMetをメチル化しSe-メチルセレノメチオニン(SeMSeMet)に変換する反応を触媒する¹⁷⁾。シロイヌナズナをはじめとするセレン耐性の低い植物のゲノムには、機能性SMTは存在しないと考えられており¹⁸⁾、またシロイヌナズナのゲノム中には、一つのMMTが存在している¹⁸⁾。シロイヌナズナのゲノム中には、セレン高蓄積植物 *A. bisulcatus* のSMTと同一性の高い3つのホモシステインメチルトランスフェラーゼ(AtHMT-1, AtHMT-2, AtHMT-3; EC 2.1.1.10)のホモログ遺伝子がある。2000年、Andrew D. Hansonらは、シロイヌナズナのAtHMT-1 (accession no. T46013)とAtHMT-2 (accession no. H37463)を大腸菌で発現させ、発現タンパク質(AtHMT-1, AtHMT-2)をそれぞれ精製し、*in vitro*で酵素科学的性質を検討した¹⁹⁾。その結果、組み換えAtHMT-1(rAtHMT-1)と組み換えAtHMT-2(rAtHMT-2)は、共に分子質量約36kDaのモノマー酵素であり、Zn結合モチーフを有し、両者は約55%の一次構造相同性を示した。

rAtHMT-1とrAtHMT-2は、共にS-メチルL-メチオニン(SMM)と(S,S)-S-アデノシルメチオニン(AdoMet)を*in vitro*でメチル基供与体として用いることが明らかにされた。rAtHMT-1とrAtHMT-2のSMMとAdoMetに対する K_m 値(μM)はそれぞれ29と50、1,950と225であり、rAtHMT-1とrAtHMT-2は共にSMMに高い親和性を示した。また、rAtHMT-1とrAtHMT-2は、メチル基受容体の特異性について大きな違いが見られた(Table 1)。

rAtHMT-1はL-ホモシステインのみならず、D-ホモシステイン、L-システイン、D-システインもメチル基受容体として利用したが、rAtHMT-2はrAtHMT-1同様L-ホモシステインとD-ホモシステインをメチル基受容体として利用したが、L-システインやD-システインはほとんどメチル基受容体とし機能しなかった。またrAtHMT-1とrAtHMT-2は、*A. bisulcatus*のSMTと高い同一性を示すにもかかわらず、*in vitro*でDL-セレノシステインをメチル基受容体としないと報告している。Andrew D. Hansonらの研究後にシロイヌナズナの全ゲノムの解読が終了したために、彼らは恐らくAtHMT-3の存在に気づい

Table 1 Methyl acceptor specificity of rAtHMT-1 and rAtHMT-2 of *Arabidopsis thaliana*

	Methyltransferase activity (nmol/min/mg)	
	rAtHMT-1	rAtHMT-2
L-Homocysteine	114.5 ± 4.0	12.6 ± 0.2
D-Homocysteine	21.2 ± 1.5	10.8 ± 0.2
L-Cysteine	3.3 ± 0.9	< 0.05
D-Cysteine	3.4 ± 0.2	< 0.05
DL-Selenocysteine	< 0.05	< 0.05

Cited from reference 19).

ておらず *in vitro* での機能評価を行っていないのではないかと考えられる。最近吉田らは、セレン酸、亜セレン酸などの無機セレンや L-セレノメチオニン、メチル L-セレノシステイン、L-セレノシスチンなどの有機セレン暴露がシロイヌナズナの生長と遺伝子発現量に及ぼす影響を解析した²⁰⁾。その結果、セレン無添加群の mRNA の発現量をセレン添加群の mRNA の発現量と比較すると、興味深いことに AtSULTR, AtHMT-1, AtHMT-2 などの mRNA の発現量に差は見られなかったが、AtHMT-3 の mRNA の発現量は、セレン添加群では上昇傾向が見られた²⁰⁾。また筆者らは、AtHMT-3 が *in vitro* で HMT 活性を示すことを明らかにしている²¹⁾。シロイヌナズナのセレン耐性機構については、AtHMT-3 を対象にした研究例はなく、今後これらの研究が進展すれば、シロイヌナズナの新たなセレン耐性機構が明らかになる可能性があると考ええる。

謝 辞

本研究は文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（平成 25 年～平成 29 年）により実施している研究である。

参考文献

- White PJ, Brown PH (2010) Plant nutrition for sustainable development and global health. *Annals of Botany* 105: 1073-1080.
- Trelease SF, Di Somma AA, Jacobs AL (1960) Seleno-amino acid found in *Astragalus bisulcatus*. *Science* 132: 618.
- Virupaksha TK, Shrift A (1963) Biosynthesis of selenocystathionine from selenate in *Stanleya pinnata*. *Biochimica et Biophysica Acta* 74: 791-793.
- White PJ (2016) Selenium accumulation by plants. *Ann Bot* 117: 217-235.
- White PJ, Broadley MR, Bowen HC, Johnson SE (2007) Selenium and its relationship with sulfur. In: Hawkesford MJ, de Kok LJ, editors., eds. *Sulfur in plants - an ecological perspective*. Dordrecht: Springer, 225-252.
- Gigolashvili T, Kopriva S (2014) Transporters in plant sulphur metabolism. *Frontiers in Plant Science* 5: 422.
- Kassis El E, Cathala N, Rouached H, Fourcroy P, Berthomieu P, Terry N, Davidian J-C (2007) Characterization of a selenate-resistant *Arabidopsis* mutant. Root growth as a potential target for selenate toxicity. *Plant Physiology* 143: 1231-1241.
- Takahashi H, Buchner P, Yoshimoto N, Hawkesford MJ, Shiu S-H (2012) Evolutionary relationships and functional diversity of plant sulfate transporters. *Frontiers in Plant Science* 2: 119.
- Schiavon M, Pilon M, Malagoli M, Pilon-Smits EAH (2015) Exploring the importance of sulphate transporters and ATP sulphurylases for selenium hyperaccumulation - comparison of *Stanleya pinnata* and *Brassica juncea* (Brassicaceae). *Frontiers in Plant Science* 6: 2.
- Li H-F, McGrath SP, Zhao F-J (2008) Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist* 178: 92-102.
- Kataoka T, Hayashi N, Yamaya T, Takahashi H (2004) Root-to-shoot transport of sulfate in *Arabidopsis*. Evidence for the role of SULTR3;5 as a component of low-affinity sulfate transport system in the root vasculature. *Plant Physiology* 136: 4198-4204.
- Takahashi H, Watanabe-Takahashi A, Smith FW, Blake-Kalff M, Hawkesford MJ, Saito K (2000) The roles of three functional sulphate transporters involved in uptake and translocation of sulphate in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal* 23: 171-182.
- Pilon-Smits EAH (2012) Plant selenium metabolism - genetic manipulation, phytotechnological applications, and ecological implications. In: Womg MH, editor., ed. *Environmental contamination: health risks and ecological restoration*. Boca Raton, FL: CRC Press, 293-311.
- Cao MJ, Wang Z, Wirtz M, Hell R, Oliver DJ, Xiang CB (2013) SULTR3;1 is a chloroplast-localized sulphate transporter in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 73: 607-616.
- Van Hoewyk D. (2013) A tale of two toxicities: malformed selenoproteins and oxidative stress both contribute to selenium stress in plants. *Annals of Botany* 112: 965-972.
- José R. Valdez Barillas², Colin F. Quinn², John L. Freeman², Stormy D. Lindblom, Sirine C. Fakra, Matthew A. Marcus, Todd M. Gilligan, Élan R. Alford Ami L. Wangeline, and Elizabeth A.H. Pilon-Smits (2012) Selenium distribution and speciation in the hyperaccumulator *Astragalus bisulcatus* and associated ecological partners. *Plant Physiology* 159: 1834-1844.
- Zhao D-Y, Sun F-L, Zhang B, Zhang Z-Q, Yin LQ (2015) Systematic comparisons of orthologous selenocysteine methyltransferase and homocysteine methyltransferase genes from seven monocots species. *Notulae Scientia Biologicae* 7: 210-216.
- Tagmount A, Berken A, Terry N (2002) An essen-

- tial role of S-adenosyl-L-methionine:L-methionine S-methyltransferase in selenium volatilization by plants. Methylation of selenomethionine to selenium-methyl-L-selenium-methionine, the precursor of volatile selenium. *Plant Physiology* 130: 847-56.
- 19) Ranocha P, Bourgis F, Ziemak MJ, Rhodes D, Gage DA, Hanson AD (2000) Characterization and functional expression of cDNAs encoding methionine-sensitive and -insensitive homocysteine S-methyltransferases from *Arabidopsis*. *J Biol Chem* 275: 15962-15968.
- 20) 大塚政志, 廣瀬侑太郎, 細見亮太, 老川典夫, 吉田宗弘 (2017) 無機および有機セレン化合物曝露がシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の生長と遺伝子発現量に及ぼす影響. 第34回日本微量栄養素学会学術集会講演要旨集: 7.
- 21) 寺田俊輝, 山中一也, 吉田宗弘, 老川典夫 (2017) シロイヌナズナ由来ホモシステイン S-メチルトランスフェラーゼ3遺伝子の*in vitro*での機能解析. 第34回日本微量栄養素学会学術集会講演要旨集: 15.