

亜セレン酸に曝露されたインゲン、リョクトウ、およびアズキの スプラウトにおけるセレノホモランチオニンの蓄積

西村 聡史, 山城 大, 吉田 宗弘[†]

(関西大学化学生命工学部栄養化学研究室*)

(受付 2021年8月23日, 受理 2021年9月28日)

Accumulation of selenohomolanthionine in sprouts of common beans, mung beans, and azuki beans exposed to selenite

Satoshi NISHIMURA, Dai YAMASHIRO, Munehiro YOSHIDA

Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Chemistry,

Materials and Bioengineering, Kansai University

Summary

Sprouts of common beans, mung beans, and azuki beans were cultivated in an environment exposed to selenite at a level of 1, 5, 10 or 20 $\mu\text{g Se/mL}$, and the molecular species of selenium produced were analyzed by high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. Selenohomolanthionine (SeHL), S-methylselenocysteine (MSeC), and selenomethionine (SeM) were identified in the sprout of all beans at 20 $\mu\text{g Se/mL}$ exposure. The amount ratio of the three selenoamino acids was about 1/1/0.5 for SeHL/MSeC/SeM in common beans, but SeHL accounted for most of the selenium molecular species in mung beans and azuki beans. When the exposure concentration was 10 $\mu\text{g Se/mL}$ or less, the amount ratio was the same as in the case of 20 $\mu\text{g Se/mL}$ in common beans and azuki beans, but in mung bean, an amount of MSeC was close to that of SeHL. These results indicate that SeHL is the major selenium metabolite in sprouts of common beans, mung beans, and adzuki beans exposed to selenite, and that these bean sprouts have a low ability to methylate selenol.

セレンは、ヒトを含む脊椎動物、線虫、および一部の細菌や古細菌の生存に必須の微量元素であり、これらの生物種の体内においては、システインの硫黄原子をセレンに置換したセレノシステイン (SeC) 残基をもつセレノプロテインの形態で種々の機能を発現している¹⁾。しかし、植物はこのようなセレノプロテインを有しておらず、生存のためにセレンを必須としていないと考えられている。

セレンは毒性が強いため、土壌から無機セレン化合物の曝露を受けた植物は、セレンを反応性の低い分子種に変換していると考えられる²⁾。われわれは、亜セレン酸ナトリウム溶液で水耕することによって得られるセレン強化スプラウト中の主要なセレンの化学種は含セレンアミノ酸である Se-メチルセレノシステイン (MSeC) であるが、インゲン *Phaseolus vulgaris*, アズキ *Vigna angularis*, オオムギ *Hordeum vulgare* などのスプラウトにおいては未知のセレン化合物が生成していることを示した³⁾。この未知のセレン化合物は、高セレン環境下で栽培された一部の野菜

類にも検出できることから⁴⁾、セレンに曝露された一部の植物においては一般的な分子種とも考えられた。近年、いくつかのセレン蓄積植物において、含セレンアミノ酸であるセレノホモランチオニン (SeHL) が検出されている⁵⁾。われわれも、亜セレン酸を曝露したリョクトウ *Vigna radiata* のスプラウトに SeHL が存在することを定性的に示した⁶⁾。以上のことは、亜セレン酸に曝露された上記のマメ科およびイネ科植物のスプラウトに存在を認めた未知セレン化合物が SeHL であることを強く示唆している。そこで本研究では、異なる亜セレン酸曝露水準のもとでインゲン、リョクトウ、アズキのスプラウトを栽培して、未知セレン化合物の同定を行うとともに、セレン分子種の組成を検討した。

**所在地：大阪府吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

[†]連絡先 (Corresponding author), Tel: 06-6368-0970, E-mail: hanmyou4@kansai-u.ac.jp

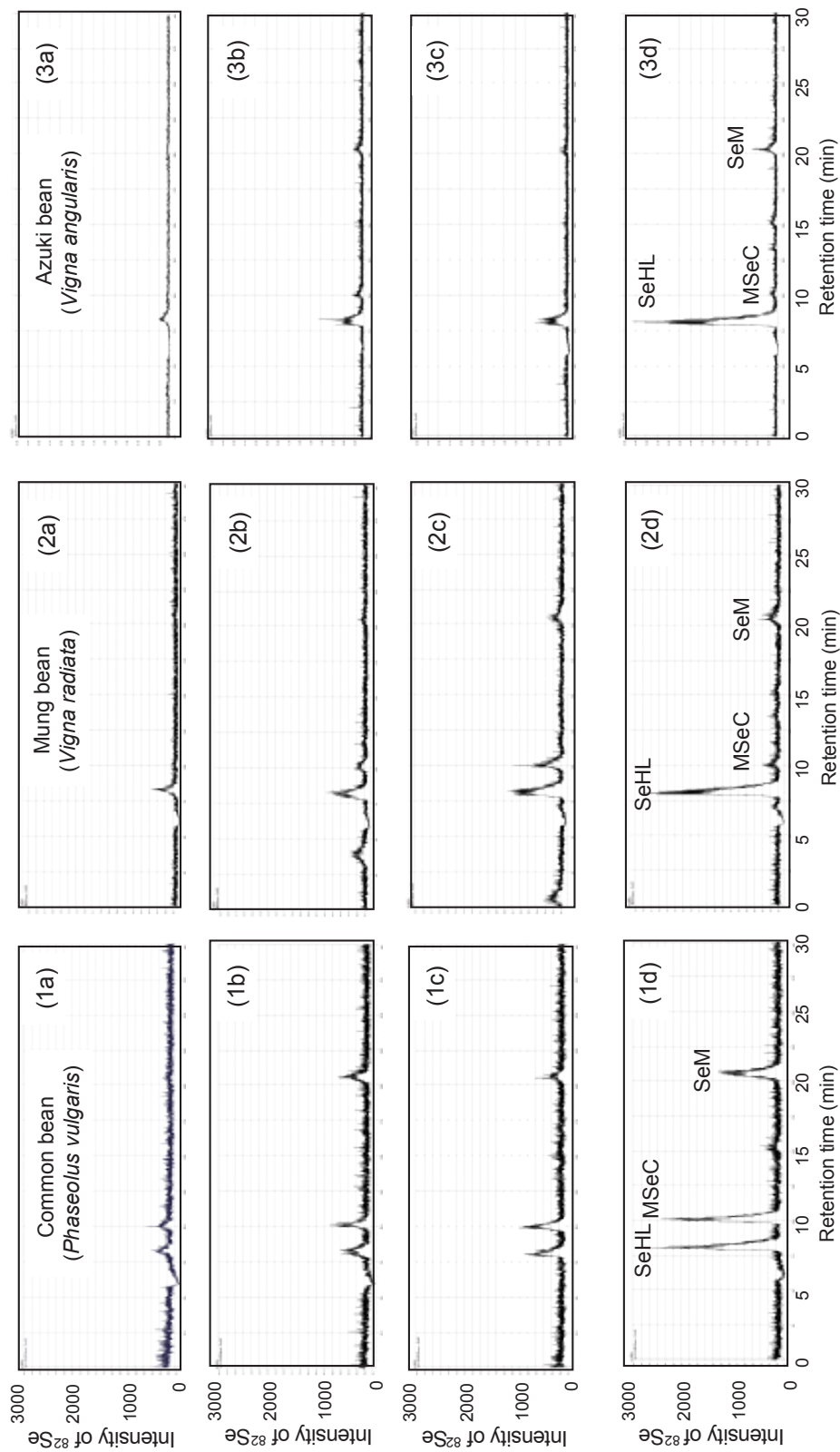


Fig. 1 Elution pattern of 0.1M HCl extract obtained from selenite-exposed sprout in HPLC-ICPMS. Each column indicates an HCl extract from sprouts of common beans (1), mung beans (2), and azuki beans (3) in order from the left. In each row, the exposure concentrations are 1 µg Se / mL (a), 5 µg Se/mL (b), 10 µg Se/mL (c), and 20 µg Se/mL (d) in order from the top.

実験方法

1. 亜セレン酸曝露環境下でのスプラウトの栽培

市販されているインゲン、リョクトウ、アズキの種子を、セレン濃度 1, 5, 10, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の亜セレン酸ナトリウム溶液に 30 分間浸漬した。その後、種子を各濃度の亜セレン酸ナトリウム溶液を含ませた脱脂綿の上に置き、25 $^{\circ}\text{C}$ で 12 日間栽培した。発芽するまでは暗条件、発芽後は明条件とした。栽培終了後、得られたスプラウトの茎と葉を分析用の試料とした。

2. セレン曝露スプラウトに含まれるセレン分子種の分析・同定

ハサミを用いて細かく裁断したスプラウトの茎と葉に 10 倍量の 0.1 M 塩酸を加え、ガラス棒で押し潰して含有されるセレン化合物を抽出した。抽出液を遠心 (1,500 \times g, 30 分) し、上清を 0.45 μm のフィルターでろ過したものを、セレン分子種の分析・同定用の試料とした。

セレン化合物の分析・同定は、検出を誘導結合質量分析 (ICPMS) における質量数 82 とする高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて行った。HPLC におけるカラムは、Develosil[®] RPAQUEOUS-AR (野村化学, 瀬戸), カラム温度は 30 $^{\circ}\text{C}$, 移動相は 2.5 mM ブタンスルホン酸ナトリウム, 4 mM マロン酸, 15.9 mM テトラメチルアンモニウムヒドロキシドを含む pH 2.3 (希硝酸を用いて調整) の 0.05 % メタノール溶液, 移動速度は 0.5 mL/min とした。保持時間を標準セレン化合物と比較することにより、溶出されるセレン化合物を同定した。標準セレン化合物としては、セレノメチオニン (SeM, Sigma-Aldrich, Saint Louis), セレノシスチン ((SeC)₂, Sigma-Aldrich, Saint Louis), MSeC (東京化成, 東京), SeHL を用いた。SeHL の標準品は千葉大学の小椋康光教授より供与いただいた。

結果と考察

Fig. 1 に、亜セレン酸を曝露した 3 種のマメ科植物スプラウトから調製した塩酸抽出液の HPLC-ICPMS による分析結果をまとめた。セレン濃度 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の亜セレン酸に曝露されたインゲンのスプラウトにおいては、保持時間 8.2 分, 10.4 分, および 21.5 分付近に明瞭なピークが認められ、これらは標準化合物の溶出時間との比較によって、それぞれ SeHL, MSeC, SeM であると同定できた。なお、(SeC)₂ は今回の HPLC の条件では SeHL よりも早く溶出されるが、検出されなかった。検出できた 3 種の含セレンアミノ酸の量比は、SeHL と MSeC がほぼ等量, SeM がこれらのほぼ半量であった。一方、セレン濃度 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の亜セレン酸に曝露されたリョクトウとアズキのスプラウトにおいても 3 種のセレノアミノ酸が検出されたが、インゲンとは異なり、量的には SeHL が圧倒的に多かった。

10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下のセレン濃度の亜セレン酸を曝露した場

合も、これらのセレノアミノ酸が検出されたが、その量は 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の曝露に比較してかなり少なかった。低濃度曝露における 3 種のセレノアミノ酸の量比は、インゲンでは 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 曝露の場合とほぼ同様、リョクトウでは 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とは異なり MSeC が SeHL に近い量が生成、アズキでは 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と同様に SeHL が圧倒的であった。

以上のことは、以前に亜セレン酸曝露を受けたインゲンやアズキなどのスプラウトで検出されていた未知セレン化合物が SeHL であり、かつこれらのスプラウトでは SeHL が主要なセレン代謝物であることを示している。

植物は亜セレン酸を還元し、生じたセレニド (HSe^-) からシステインシスターゼによって SeC を生成する⁷⁾。セレノール (SeH) 基の反応性が高いため、SeC は植物にとって有害である。多くの植物は、SeH 基をメチル化して MSeC に変換し、その毒性を軽減していると考えられる。今回、検討した 3 種のマメのスプラウトにおいて、亜セレン酸曝露時の主代謝物が MSeC でないのは、SeH 基をメチル化する能力が低いためだと考えられる。

ところで、SeHL の硫黄アナログであるホモランチオニンはホモシステインから生成する。植物では、ホモシステインのチオール基はメチル化されてメチオニンが生成する。植物においてホモランチオニンを蓄積する事例は知られていないが、メチオニン合成系を欠いた *Aspergillus nidulans* においてホモランチオニンの蓄積が認められている⁸⁾。したがって、真菌類と同様に、植物でもメチオニン合成系が不十分であると、ホモシステインからホモランチオニンが生成すると考えられる。植物におけるセレノアミノ酸の代謝が含硫アミノ酸代謝に倣っていると仮定するなら、SeHL は、SeC と同様に SeH 基を有するセレノホモシステインから生成すると考えられる。以上より、アズキ、リョクトウ、インゲンでは、SeC の SeH 基だけでなく、セレノホモシステインの SeH 基をメチル化する能力も低いため、セレノホモシステインを SeHL に変換して蓄積し、SeH 基に由来する毒性を軽減していると考えられる。最近、メチオニン含有量がきわめて少ないトルラ酵母に亜セレン酸を曝露すると SeHL が蓄積することが報告されていることも⁹⁾、この仮説を支持するものといえる。今後、SeHL の動物における生理活性について検討していきたい。

参考文献

- 1) Hong LK, Diamond AM (2021) Selenium. in Present Knowledge in Nutrition, 11th ed, vol 1, ed by Marriott BP, Birt DF, Stallings VA, Yates AA, Academic Press, London, pp. 443–456.
- 2) 吉田宗弘 (2008) 植物に存在する含セレンアミノ酸の同定と生理機能. 化学と生物 46 : 564–570.
- 3) Sugihara S, Kondô M, Chihara Y, Yûji M, Hattori H, Yoshida M (2004) Preparation of selenium-enriched sprouts and identification of their selenium species

- by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Biosci Biotech Biochem* 68: 193-199.
- 4) Yoshida M, Sugihara S, Inoue Y, Chihara Y, Kondô M, Miyamoto S, Sukcharoen B (2005) Composition of chemical species of selenium contained in selenium-enriched shiitake mushroom and vegetables determined by high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Nutr Sci Vitaminol* 51: 194-199.
 - 5) Ogra Y, Kitaguchi T, Ishiwata K, Suzuki N, Iwashita Y, Suzuki K (2007) Identification of selenohomolanthionine in selenium-enriched Japanese pungent radish. *J Anal At Spectrom* 22: 1390-1396.
 - 6) 水谷泰輔, 吉田宗弘 (2010) セレン蓄積植物に存在する含セレンアミノ酸の LC-MS による同定. *微量栄養素研究* 27 : 88-91.
 - 7) Sors TG, Ellis DR, Salt DE (2005) Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynth Res* 86: 373-389.
 - 8) Paszewski A, Grabski J (1975) Homolanthionine in fungi: accumulation in the methionine-requiring mutants of *Aspergillus nidulans*. *J Acta Biochim Pol* 22: 263-268.
 - 9) Bierla K, Suzuki N, Ogra Y, Szpunar J, Lobiński R (2017) Identification and determination of selenohomolanthionine – The major selenium compound in *Torula* yeast. *Food Chem* 237: 1196-1201.