

トピックス

植物の環境順応に応答したチアミンの生合成制御 Regulation of thiamin biosynthesis during plant acclimation

細胞内小器官による区画化は細胞内で同時に生じる互換性のない化学反応を可能としているが、それらが相互に協調して機能するためには細胞内小器官間の複雑な情報伝達システムが必要である。事実、植物の葉緑体、ミトコンドリア、および核などの細胞内小器官は、順行性や逆行性のシグナル伝達経路によってそれぞれの代謝活性が協調するように厳密に統合されている¹⁾²⁾。現在までに、葉緑体とミトコンドリアにおける主要なエネルギー生成過程である光合成と呼吸が高度に相互制御されていることが明らかになると共に、時々刻々変動する環境への順応において、多くの代謝産物が細胞内小器官間の潜在的なシグナル因子として提唱されてきている。それらには葉緑体とミトコンドリアに共通して存在するビタミンやその類縁体が含まれ、特にビタミンC(L-アスコルビン酸, AsA) およびビタミンB₁(チアミン)の2つが注目されている³⁾。

植物において、AsAは最も豊富にかつほとんどの組織の細胞内小器官に普遍的に存在する水溶性の抗酸化物質であり、活性酸素代謝だけでなく補酵素や電子伝達など多様な生理的役割を担っている⁴⁾。一方、チアミンの補酵素型であるチアミンピロリン酸(TPP)は葉緑体での光合成、ミトコンドリアでのピルビン酸の酸化的脱炭酸反応やクエン酸回路、および細胞質でのペントースリン酸経路やアルコール発酵に関する酵素などにおける必須の補酵素である⁵⁾⁷⁾。さらに、チアミンは直接的に抗酸化物質として活性酸素の除去に、間接的には細胞のエネルギー貯蔵にも寄与している⁷⁾⁹⁾。実際に、それら2つのビタミンの生合成能は周囲の環境変動に合わせてダイナミックに変化する。これまでに、AsAの生合成経路やその調節機構については過去の複数のトピックスで取り上げられているため¹⁰⁾¹¹⁾、本トピックスでは、植物におけるチアミン生合成制御の環境応答とその生理的役割について、現在までに得られている知見を紹介したい³⁾。

植物において、チアミン生合成の大部分は葉緑体内で行われる(図1)¹²⁾。チアミンはピリミジンとチアソー

ル骨格から成るが、ピリミジン部には5-アミノイミダゾールリボヌクレオチド(AIR)とS-アデノシルメチオニン(SAM)を基質として、2段階の反応で合成される4-アミノ-2-メチル-5-ヒドロキシメチルピリミジンピロリン酸(HMP-PP)が利用される。また、NAD⁺とグリシンは2段階の反応で4-メチル-5-β-ヒドロキシエチ

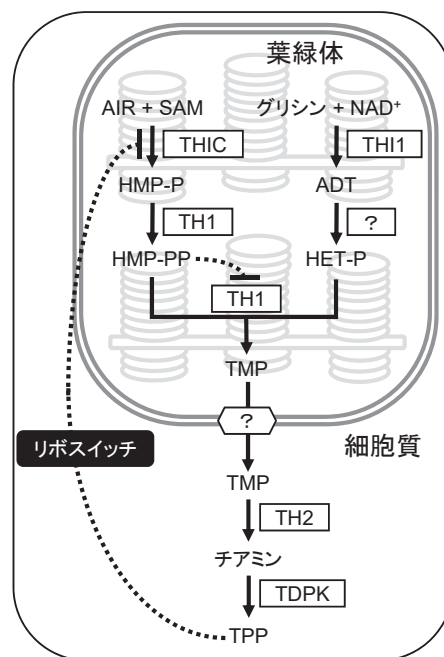


図1 植物におけるチアミンの生合成経路と制御
酵素反応および輸送は実線、抑制は破線で示している。
AIR: 5-アミノイミダゾールリボヌクレオチド, SAM: S-アデノシルメチオニン, HMP-P: 4-アミノ-2-メチル-5-ヒドロキシメチルピリミジンピロリン酸, ADT: アデニル化チアゾール中間体, HET-P: 4-メチル-5-β-ヒドロキシエチルチアゾールピロリン酸, HMP-PP: 4-アミノ-2-メチル-5-ヒドロキシメチルピリミジンピロリン酸, TMP: チアミン-リン酸, TPP: チアミンピロリン酸, THIC: HMP-Pシンターゼ, THI1: HET-Pシンターゼ, TH1: チアミン-リン酸ピロホスホリラーゼ, TH2: ハロ酸デハロゲナーゼファミリーホスファターゼ, TDPK: TPPキナーゼ。

ルチアズールリン酸(HET-P)に変換され、チアズール部が合成される。その後、HMP-PPとHET-Pが縮合され、チアミンーリン酸(TMP)が合成される。TMPは細胞質に輸送され、チアミンに脱リン酸化された後に、補酵素型のTPPが生成する。それらの過程の中で、アデニル化チアズール中間体(ADT)からHET-Pへの反応を触媒する酵素および葉緑体から細胞質への輸送体は未同定である。また、チアミンーリン酸ピロホスホリラーゼ(TH1)はHMP-Pのリン酸化反応およびHMP-PPとHET-Pとの縮合反応の両方を触媒する二機能性酵素である¹³⁾。

前述のように、TPPの補酵素としての役割は植物においてもすでによく実証されているが、チアミン自身の代謝制御の重要性は不明な部分が多い。これまでに、TPP生合成の初発反応である4-アミノ-2-メチル-5-ヒドロキシメチルピリミジンリン酸(HMP-P)の合成反応を触媒するHMP-Pシンターゼ(THIC)の発現および細胞内チアミンレベルは概日リズムにより制御され、明期に増加し暗期に減少することが明らかになっている⁵⁾。また、THIC pre-mRNAの3'領域にあるTPP応答性リボスイッチを介した転写後調節は細胞内チアミンレベルのフィードバック制御に関わっている(図1)¹⁴⁾。すなわち、細胞内TPP濃度が高いとき、TPPがリボスイッチアプタマーに結合することでナンセンス変異依存mRNA分解が生じ、THIC pre-mRNAレベルが低下する。実際に、THICをノックダウンしたシロイヌナズナに、リボスイッチ領域を変異させたTHIC遺伝子を導入した株では、正常なTHIC遺伝子を導入した株と比較して細胞内TPPおよびTMPレベルがそれぞれ約1.3倍および3倍に増加した⁵⁾。注目すべきは、このTPP応答性リボスイッチ変異株では様々な代謝産物レベルの日周変動性が抑制されていたことである⁸⁾。特に、短日条件で栽培後に長日条件に移行させた際に顕著な違いが認められた。すなわち、正常THIC遺伝子導入株では、種々のアミノ酸、糖および有機酸の日周変動の振幅が短日から長日への移行に伴い変化したが、TPP応答性リボスイッチ変異株では大部分のそれらの変化が認められなかった⁸⁾。また、変化が認められなかった代謝産物には、TCA回路や光呼吸に関わるものが多く含まれていた。TCA回路は細胞の炭素代謝制御の中心であり、他の多様な代謝に影響を及ぼす。TCA回路における中間体の細胞内レベルの変化は概日リズムが異常な変異株においてもしばしば認められている。これらの事実は、主要な炭素代謝を含む代謝ネットワークの日周変動にตอบสนองした制御にチアミンが重要な役割を果たしていること、および植物の代謝の柔軟性や

日長変化への順応には、適切な細胞内チアミンレベルの維持が重要であることを示すものである⁸⁾。

その他、過剰なHMP-PPはチアミンーリン酸ピロホスホリラーゼ(TH1)活性の阻害剤として働く可能性が示されている(図1)¹⁵⁾。重要な点は、THICとHET-Pシンターゼ(TH11)を過剰発現させても細胞内チアミンレベルが増加しないことである¹⁶⁾。これは、チアミン生合成制御の複雑性だけでなく、細胞内代謝調節におけるチアミンレベル維持の重要性を示唆するものである。

細胞内チアミンレベルを変化させた植物では、矮化、葉のクロロシス、生長や開花の遅延、環境適応能力の低下、および収量低下が認められた⁵⁾⁶⁾¹⁷⁾。それらの中で、クロロシスや開花遅延などの表現型は光環境に依存していた。この事実は、チアミンが一次代謝だけでなく、他の多様な代謝の制御やそれらの環境順応にも重要な役割を担っていることを示唆するものである。

チアミン生合成は高塩濃度、浸透圧、糖欠乏および酸化ストレスなどの非生物学的ストレス下で活性化された¹⁸⁾²⁰⁾。それらのストレスはTPP生合成およびチアミン依存性酵素の遺伝子発現を誘導し、結果としてチアミンとTPPの細胞内レベルが上昇する。沈水/低酸素状態は根のチアミン生合成酵素遺伝子の発現パターンに影響を与えた²¹⁾。これは、低酸素下ではエネルギー生産が呼吸からピルビン酸発酵に切り替わるが、TPPは発酵に関与するピルビン酸デカルボキシラーゼの補酵素としても作用するためであると考えられる。他にも、高温、低温、および乾燥ストレス下でもチアミン生合成酵素およびチアミン依存性酵素の発現量が変化した²²⁾²³⁾。重要なことは、それらの発現レベルの変化は一過性なことであり、しばらく後に定常状態に戻る。これらの事実も、正常条件下だけでなく、環境変動への順応過程での代謝の柔軟性に対するチアミンレベルの重要性を示すものである。生物学的ストレス下でのチアミンの役割についての報告は僅かではあるが、チアミン処理により病原菌関連遺伝子(PR)の発現誘導および、アブシジン酸やジャスモン酸合成の促進を介して真菌、細菌、ウイルスなどの病原菌に対する全身獲得抵抗性を含む免疫反応が活性化することが示されている²⁰⁾²⁴⁾。

以上のように、植物の多様な代謝に関与するチアミンの生合成は環境変動にตอบสนองして細胞機能を最適に維持するために厳密にかつ迅速に制御されている。したがって、チアミンが細胞内小器官間のシグナル伝達にも働くことは合理的であると考えられるが、その制御機構の実態も含めて現時点ではまだ不明な点が多く、今後の研究の課題となっている。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2020.9.7 受付)

Key words :vitamin B₁, thiamin, plant, riboswitch, photoperiod

Department of Food and Nutritional Science, College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University, 1200 Matsumoto-cho, Kasugai, Aichi 487-8501, Japan

Noriaki Kumagai, Kazuya Yoshimura

中部大学応用生物学部食品栄養科学科

熊谷 憲明, 吉村 和也

文 献

- 1) Pesaresi P, Schneider A, Kleine T, Leister D (2007) Interorganelle communication. *Curr Opin Plant Biol* **10**, 600-606
- 2) Kleine T, Leister D (2016) Retrograde signaling: Organelles go networking. *Biochim Biophys Acta* **1857**, 1313-1325
- 3) Laise R-S, Alisdair R.F, Fayeze A (2020) Ascorbate and thiamin: metabolic modulators in plant acclimation responses. *Plants* **9**, 101
- 4) Ishikawa T, Maruta T, Yoshimura K, Smirnov N (2018) Biosynthesis and regulation of ascorbic acid in plants. *In: Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants*. Springer, pp.163-179
- 5) Bocobza S.E, Malitsky S, Araújo W.L, Nunes-Nesi A, Meir S, Shapira M, Fernie A.R, Aharoni A (2013) Orchestration of thiamin biosynthesis and central metabolism by combined action of the thiamin pyrophosphate riboswitch and the circadian clock in Arabidopsis. *Plant Cell* **25**, 288-307
- 6) Khozaei M, Fisk S, Lawson T, Gibon Y, Sulpice R, Stitt M, Lefebvre S.C, Raines C.A (2015) Overexpression of plastid transketolase in tobacco results in a thiamine auxotrophic phenotype. *Plant Cell* **27**, 432-447
- 7) Asensi-Fabado M.A, Munne-Bosch S (2010) Vitamins in plants: Occurrence, biosynthesis and antioxidant function. *Trends Plant Sci* **15**, 582-592
- 8) Rosado-Souza L, Proost S, Moulin M, Bergmann S, Bocobza S.E, Aharoni A, Fitzpatrick T.B, Mutwil M, Fernie A.R, Obata T (2019) Appropriate thiamin pyrophosphate levels are required for acclimation to changes in photoperiod. *Plant Physiol* **180**, 185-197
- 9) Subki A, Abidin A, Balia Yusof Z.N (2018) The role of thiamine in plants and current perspectives in crop improvement. *In: B Group Vitamins—Current Uses and Perspectives*. pp.33-44, IntechOpen, London, UK
- 10) 吉村和也, 石川孝博 (2014) VTC2 の転写制御はアスコルビン酸合成の明/暗調節に必須である: 複雑なアスコルビン酸生合成制御機構のマスタースイッチ. *ビタミン* **88**, 535-537
- 11) 竹内崇, 丸田隆典, 石川孝博 (2015) 植物のアスコルビン酸輸送体がついに同定された: PHT4; 4 による葉緑体へのアスコルビン酸輸送. *ビタミン* **89**, 286-288
- 12) Raschke M, Burkle L, Muller N, Nunes-Nesi A, Fernie A.R, Arigoni D, Amrhein N, Fitzpatrick T.B (2007) Vitamin B1 biosynthesis in plants requires the essential iron sulfur cluster protein, THIC. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 19637-19642
- 13) Machado C.R, de Oliveira R.L, Boiteux S, Praekelt U.M, Meacock P.A, Menck C.F (1996) Thi1, a thiamine biosynthetic gene in Arabidopsis thaliana, complements bacterial defects in DNA repair. *Plant Mol Biol* **31**, 585-593
- 14) Bocobza S.E, Aharoni A (2008) Switching the light on plant riboswitches. *Trends Plant Sci* **13**, 526-533
- 15) Rapala-Kozik M, Olczak M, Ostrowska K, Starosta A, Kozik A. (2007) Molecular characterization of the thi3 gene involved in thiamine biosynthesis in Zea mays: cDNA sequence and enzymatic and structural properties of the recombinant bifunctional protein with 4-amino-5-hydroxymethyl-2-methylpyrimidine (phosphate) kinase and thiamine monophosphate synthase activities. *Biochem J* **408**, 149-159
- 16) Goyer A (2016) Thiamin biofortification of crops. *Curr Opin Biotechnol* **44**, 1-7
- 17) Hsieh W.-Y, Liao J.-C, Wang H.-T, Hung T.-H, Tseng C.-C, Chung T.-Y, Hsieh M.-H (2017) The Arabidopsis thiamin-deficient mutant pale green 1 lacks thiamin monophosphate phosphatase of the vitamin B1 biosynthesis pathway. *Plant J* **91**, 145-157
- 18) Sayed S.A, Gadallah M.A.A (2002) Effects of shoot and root application of thiamin on salt-stressed sunflower plants. *Plant Growth Regul* **36**, 71-80
- 19) Tunc-Ozdemir M, Miller G, Song L, Kim J, Sodek A, Koussevitzky S, Misra A.N, Mittler R, Shintani D (2009) Thiamin confers enhanced tolerance to oxidative stress in Arabidopsis. *Plant Physiol* **151**, 421-432
- 20) Ahn I.P, Kim S, Lee Y.H (2005) Vitamin B₁ functions as an activator of plant disease resistance. *Plant Physiol* **138**, 1505-1515
- 21) Ribeiro D.T, Farias L.P, de Almeida J.D, Kashiwabara P.M, Ribeiro A.F, Silva-Filho M.C, Menck C.F, Van Sluys, M.A (2005) Functional characterization of the thi1 promoter region from Arabidopsis thaliana. *J Exp Bot* **56**, 1797-1804
- 22) Ferreira S, Hjerno K, Larsen M, Wingsle G, Larsen P, Fey S, Røpstorff P, Salome Pais M (2006) Proteome profiling of Populus euphratica oliv. Upon heat stress. *Ann Bot* **98**, 361-377
- 23) Wong C.E, Li Y, Labbe A, Guevara D, Nuin P, Whitty B, Diaz C, Golding G.B, Gray G.R, Weretilnyk E.A, Griffith M, Moffatt B.A (2006) Transcriptional profiling implicates novel interactions between abiotic stress and hormonal responses in Thellungiella, a close relative of Arabidopsis. *Plant Physiol* **140**, 1437-1450
- 24) Ahn I.P, Kim S, Lee Y.H., Suh S.C (2007) Vitamin B₁-induced priming is dependent on hydrogen peroxide and the NPR1 gene in Arabidopsis. *Plant Physiol* **143**, 838-848