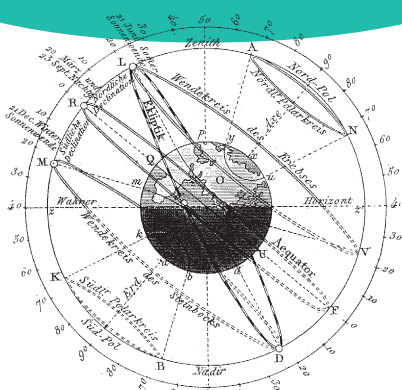


【解説】



PQQ ビタミン説へのアプローチ

野地なつ美^{*1,2}, 笠原和起^{*3}, 浅見忠男^{*1,4}

ビタミンは健康を維持する上で微量ではあるが必須の物質であり、体内でつくり出せないために食物から摂取しなければならない。ピロロキノリンキノン（PQQ）は栄養学的な知見からビタミンの候補と考えられてきたが、体内でどのような酵素と結びついているのかが謎のために、ビタミンとして認められていなかった。ここでは、再び PQQ がビタミンとしての可能性があると考えられるようになった経緯と、その後新しく得られた知見を紹介する。

日本でのビタミン研究の歴史は古い。有名な話としては、1910 年の鈴木梅太郎先生（当時東京帝国大学）による米ぬかからのオリザニン（ビタミン B₁）発見の話が挙げられる。当時、軍隊では白米中心の食事であったために兵士の多くが脚気を患っていたが、その治療にオリザニンが効果的であった、というのがその骨子である。これは世界初のビタミンの発見であるが、この優先権については諸説があり、鈴木先生の評価も一定していないようである。しかし、先生が主任研究員を兼任されていた理化学研究所のグループが、タラ肝油からビタミン A

を結晶化してビタミン剤の商品化（理研ビタミンの名で商品化）に成功し、大きな成果を挙げたことは明らかである。理研ビタミンは、子供の体位向上や結核の予防に効果があるということで大変に売れ、おかげで当時の理化学研究所の財政難を救ったようである。この研究を推進して帝国学士院賞を受賞された弟子の高橋克己先生は、研究に心血を注がれすぎたためか、若くして亡くなっている。

このビタミン B₁ の発見以来、全部で 13 種類のビタミンが知られているが、多くは 20 世紀初めから半ばにかけて報告されており、1948 年のビタミン B₁₂ 以後、新しいビタミン発見に関する報告はなかった。

時を経て 2003 年 4 月、多くの朝刊を飾った科学記事がある。「新しいビタミンを発見」という刺激的な見出しで、理化学研究所脳科学研究センターの笠原と加藤が 55 年ぶりにピロロキノリンキノンを新しいビタミンとして発見したことが報じられていた。記事には、ピロロキノリンキノン（PQQ）は必須アミノ酸の一つ、リジンの分解に欠かせない補酵素として働くこと、PQQ を与えないマウスはこれまでの報告どおり、繁殖能力の低下や毛並みの悪化などの異常が観察されたことが述べられている。しかし、PQQ がビタミンであることをはっきりさせるためには、リジン分解に働く酵素が PQQ を補酵素と

Approach to PQQ Vitamin Theory

Natsumi NOJI, Takaoki KASAHARA, Tadao ASAMI, ^{*1}理化学研究所中央研究所, ^{*2}明治大学大学院農学研究科, ^{*3}理化学研究所脳科学研究センター, ^{*4}東京大学大学院農学生命科学研究科

して要求するかどうかの直接的な証明が要求されていることもあり、現時点では14番目のビタミンとしては未だ確定されていない。筆者らはこの発見を契機として、共同研究グループを立ち上げた。笠原のグループはPQQの機能解析を、浅見らのグループはPQQの分析を担当することになった。この共同研究の過程で、動物や植物におけるPQQに関して新しい知見を得ることができた。

PQQとは？

PQQの研究は、*Acinetobacter calcoaceticus* のグルコース脱水素酵素が PMS-DCIP (phenazinemetosulfate-2,6-dichlorophenol-indophenol) を電子受容体にするが、NAD(P)やFAD補酵素は関与しないことを1959年にHaugeが報告し、置換型ナフトキノンである新しい酸化還元補酵素の存在が予測されたことから始まった⁽¹⁾。1979年にメタノール資化性細菌のメタノール脱水素酵素の補酵素の化学構造が決定され(図1)、分子構造の特徴に由来するピロロキノリンキノン(pyrroloquinoline quinone; PQQ)と命名された^(2,3)。その後、原核生物において様々なPQQ依存性の脱水素酵素の遺伝子や構造の解析が行なわれ、PQQ生産菌におけるPQQ生合成経路の解明も進んでいる。ここでは、真核生物におけるPQQの役割について、特に哺乳類におけるPQQの新たな可能性と、過去に報告がない植物におけるPQQの存在とその機能について述べる。

哺乳類における新規ビタミン候補化合物としてのPQQ

哺乳類におけるPQQの栄養学的研究は1980年代から進められてきた。PQQ欠乏餌を与えられたマウスは、幼若期の成長が悪い、免疫力や繁殖能力が低い、皮膚や血管壁がもろく毛が抜けやすいなどの異常を示すことが報告されている⁽⁴⁾。これらの異常は欠乏餌に微量のPQQを加えると改善されることから、PQQはビタミンの一種ではないかと推測された。しかし、体内でどのよ

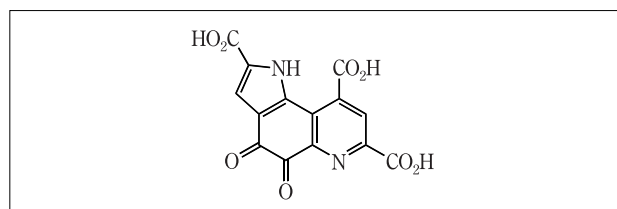


図1 ■ PQQ (pyrroloquinoline quinone) の構造

うな役割を担っているのか、つまりどのような酵素と結びついているのかが謎のために、ビタミンとして認められていなかった。

笠原らは、躁うつ病(双極性障害)に関わる遺伝子をクローニングする過程で、必須アミノ酸の一つであるリジンの分解に関わると推測される新しい遺伝子に着目した⁽⁵⁾。動物の体内でリジンは主に、2-アミノアジピン酸6-セミアルデヒド(AAS)に代謝され、さらに2-アミノアジピン酸(AAA)に酸化される(図2)。着目した遺伝子は、酵母においてAASがAAAに酸化される反応を触媒するAAS脱水素酵素の遺伝子と類似していた。遺伝子(cDNA)からタンパク質の一次構造を推測したところ、AAS脱水素酵素のN末端側にはアミノ酸を捕捉するための構造があり、C末端側には「PQQ酵素リピード配列」が8つ連続して存在していた(図3)。PQQ酵素リピード配列は、細菌のPQQ依存性脱水素酵素に共通して見つかる構造であり、この連続した配列によってPQQを捕捉する構造が形成されることを示している。この特徴的な構造がマウスのAAS脱水素酵素(mU26)に見つかったことから、AAS脱水素酵素は哺乳類において初めて見いだされたPQQを利用する酵素ではないかと考えられた。その後の解析から、PQQ酵素リピード配列をもつAAS脱水素酵素の遺伝子は、ヒトをはじめとする哺乳類だけでなく、その他の脊椎動物、無脊椎動物(ショウジョウバエ)、高等植物(イネ)にも広く分布していることが明らかになった(図4)⁽⁶⁾。

さらに、PQQを含まない餌をマウスに与え、リジン分

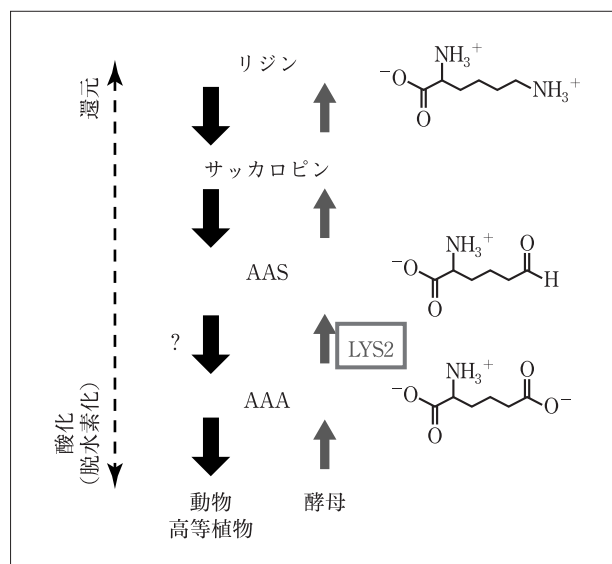


図2 ■ リジンの代謝経路

動物の体内において、リジンの分解はε-アミノ基の除去から始まる。この逆反応によって、酵母はリジンを生合成する。

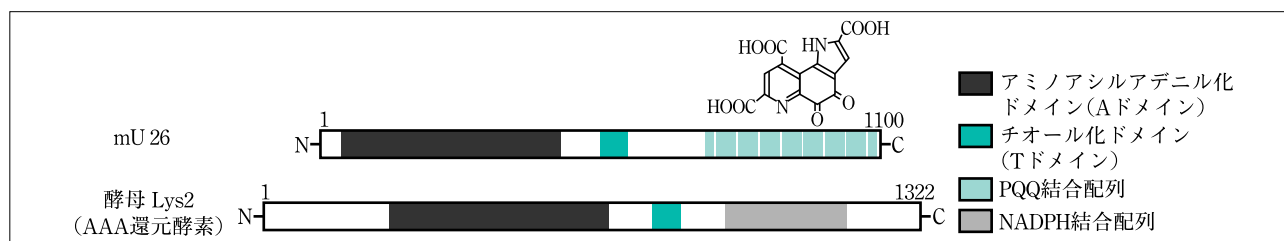


図3 ■ マウス AAS 脱水素酵素と酵母 AAA 還元酵素のドメイン構造の比較

N 末側のアミノアシルアデニル化ドメイン，ほぼ中央に位置するチオール化ドメインには，高い相同性が見られる。

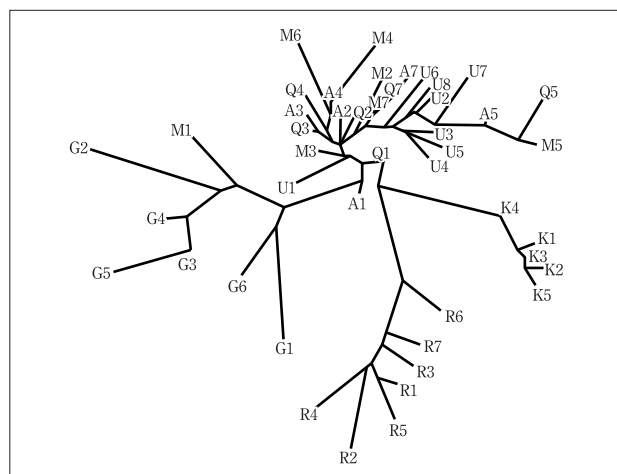


図4 ■ PQQ 酵素リピート配列をもつ AAS 脱水素酵素の遺伝子の系統樹

U: AAS 脱水素酵素, M: メタノール脱水素酵素 (*Methylobacterium extorquens*), A: アルコール脱水素酵素 (*Acetobacter pasteurianus*), Q: キノヘモプロテインアルコール脱水素酵素 ADHIB (*Pseudomonas putida*), G: G タンパク質 β -サブユニット 1 (ヒト), K: kelch (ショウジョウバエ), R: 染色体凝集の調節因子 (ヒト)

解における PQQ の重要性を調べた結果，これまでの報告通り，PQQ 欠乏マウスでは繁殖能力が低い，毛並みが悪いなどの異常が観察された。血液中のリジンと分解産物の AAA の量を測定したところ，PQQ 欠乏マウスでは PQQ 含有餌（約 900 ng/餌 1 g）を与えたマウスと比べると，AAA の量が有意に減少していた（図5）。AAS 脱水素酵素の反応産物である AAA の量が PQQ 欠乏マウスで少なかったことから，PQQ が AAS 脱水素酵素の酸化還元補酵素として働いていることが示唆された。しかし，AAS 脱水素酵素と PQQ との結合は実証されていないため，AAS 脱水素酵素の補酵素としての PQQ の直接的な機能については未解明の状態であり，PQQ がビタミンであるかは未だ議論の対象となっている^(7,8)。

栄養学的な側面に加え，PQQ の薬理学的効果についても多くの報告がある。カラゲニンによって誘発される浮腫の兆候が PQQ を腹腔内投与することで軽減されること⁽⁹⁾，CCl₄ のような薬剤で誘発される急性肝臓障害

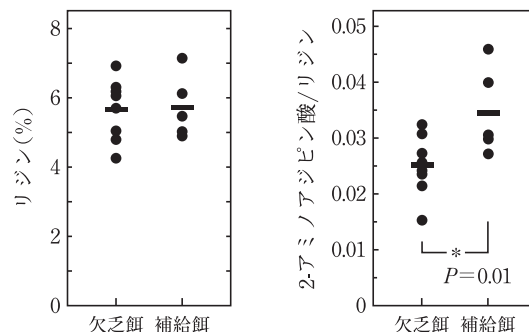


図5 ■ PQQ 欠乏マウスにおける血中成分の変化

の予防に効果的であること⁽¹⁰⁾が報告されている。これらは PQQ の活性酵素種（ROS）スカベンジャーの効果によるものであると考えられている。また，PQQ は神経細胞機能を保護することも知られている。たとえば，培養細胞を用いた実験で，PQQ がグルタミン酸受容体の N-メチル D-アスパラギン酸 (NMDA) 酸化還元部位を直接的に酸化することによって NMDA 毒性から神経細胞を保護すること^(11~13)や，PQQ が脳卒中や虚血の予防に効果的であること⁽¹⁴⁾が知られている。最近では，PQQ がパーキンソン病の原因要素となる α -シヌクレインの凝集を阻害すること⁽¹⁵⁾や大脳虚血の予防にも効果があること⁽¹⁶⁾が報告されている。

以上，PQQ がビタミンであるかどうかにかかわらず，我々ヒトにとって栄養学的，薬理学的に有用であることは示されている。現段階では，ヒトが PQQ を生合成することは確認されていない。にもかかわらず，Kumazawa らはヒトのすべての組織に PQQ が存在していることを報告しており⁽¹⁷⁾，このことから哺乳類は PQQ を食餌として摂取している可能性が高い。この際，他のビタミンと同様，植物性食品から多くを摂取している可能性が考えられ，実際に Kumazawa らは植物性食品中に比較的多くの PQQ が存在することを報告している⁽¹⁸⁾。しかし，植物中に存在する PQQ に関しては報告がなく，また，現在までにグラム陰性菌の一部でしか PQQ の生合成が確認されていないため，植物の PQQ の存在とそ

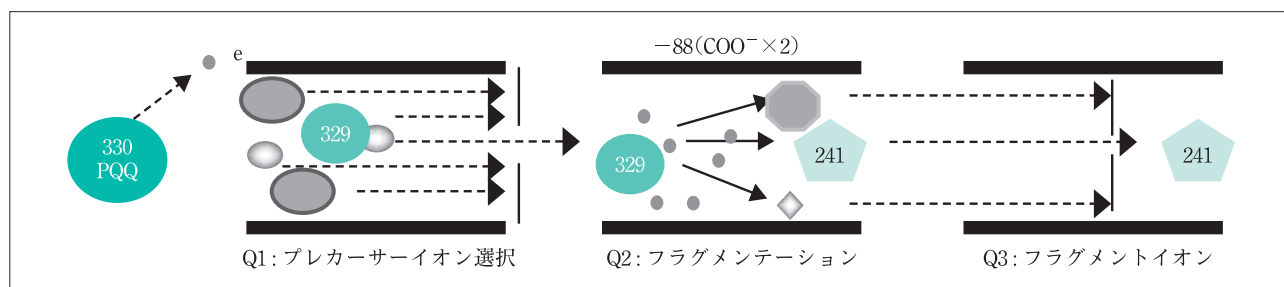


図6 ■ multiple reaction monitoring (MRM) の仕組み

分子量 330 の PQQ は ESI negative mode でイオン化され、 m/z 329 のプレカーサーイオンとなる。このプレカーサーイオンを Q1 で選択し、コリジョンセル (Q2) で選択したプレカーサーイオンのフラグメンテーションを起こし、Q3 でそのフラグメントイオン m/z 241 を得る。このような 2 段階フィルターを経ることによって、選択性が高いモードとなっている。

の由来、PQQ の植物における機能に関しては不明のままであった。筆者らはこの点を明らかにするために、植物に含まれる PQQ の由来について検討することにした。

植物における PQQ

分類学的に下位の原核生物から上位の哺乳類にわたる広範な生物において、PQQ の存在や機能に関する報告があるのに対し、植物における PQQ の存在や機能に関する報告は、植物性食品中 (野菜や果物) に PQQ が多く含まれるという報告に限られる。一方、現在までに PQQ は、一部のグラム陰性菌のみでその生合成が確認されており、他の生物では生合成されないと考えられている。また、植物にはキノプロテインと証明された酵素はまだ存在していない⁽¹⁹⁾。さらに、植物の葉面の裏側には PQQ 生産菌であるメタノール資化性細菌が共生していることが知られているだけでなく⁽²⁰⁾、無菌的に作出したマツのカルスからメタノール資化性細菌が検出されたという報告も存在する⁽²¹⁾。

これまでの報告を事実ととらえるのであれば、植物に由来する食品に含まれる PQQ はグラム陰性菌由来であると考えるのが妥当であろう。実際、主要な供給源が腸内細菌であるビタミン類もある。しかし、そのような腸内細菌類が PQQ を合成するという報告はない。また、PQQ だけが植物に共生した細菌由来であるということは、その摂取にいたる過程の複雑さからも生存戦略上からも動物にとって不利であると思われる。つまり、ビタミンを必要とする動物への進化の過程で PQQ だけを植物に共生した細菌から摂取している可能性は低いと筆者らは考えたのである。そこで、植物に多く存在すると考えられる PQQ の存在を確かめ、その由来、すなわちグラム陰性菌が生産した PQQ であるのか、植物自体に

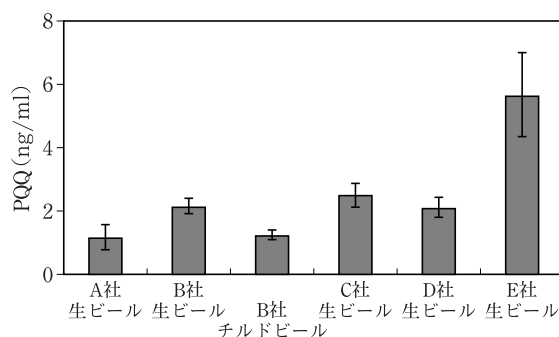


図7 ■ ビール中の PQQ 量

PQQ 生合成能があるのかを検討することにした。さらに、植物における PQQ の機能についても検討することにした。

野地らは、植物の PQQ の存在とその由来について検討するため、まず初めに LC/ESI-MS/MS を用いた新規簡易高感度 PQQ 分析法を開発した。PQQ の分析法はいくつかあるが、抽出操作が複雑である、物質の同定性が低いなど、困難な点があった。本分析法は MS/MS の分析モードの一つである MRM (multiple reaction monitoring) (図6) に基づいている。これにより様々なサンプル中の PQQ のレベルを迅速かつ簡便に分析できる上、分子構造の情報が取得できる信頼性の高いものである⁽²²⁾。筆者らはこの分析法を用いて様々な食品中の PQQ レベルの分析を行っており、一例として日本で生産されているビール中の PQQ 量を分析した結果を示す (図7)。この結果から、ビールには PQQ が含まれていること、その含有量は数ナノグラム/ml と多くはないこと、ビールの種類により若干の含有量の差があることがわかる。ビール会社が品質維持に努めていることを考えると、この差は製品毎の差と考えていいものと思われる。おそらく使用した原料や製造法の微妙な差が PQQ 含有量の差として反映されているのであろう。筆者らの

分析の結果、植物を原料とするほぼすべての食品からPQQが検出されており、その含有量も一定ではなく食品毎にかなりのばらつきがあることから、植物の種類によりPQQ含有量もかなり変動しているものと考えている。

さて本題に戻る。植物自体がPQQ生合成能を有しているかどうかの検証である。植物共生菌によるPQQ生産の可能性を否定するために、カナマイシン (Km) とハイグロマイシン (Hyg) をそれぞれ $20\mu\text{g/ml}$ 含む 1/2 MS 寒天培地を入れたシャーレにて両抗生物質耐性遺伝子を有するシロイヌナズナを3週間、無菌的に生育させ、分析した結果、PQQが検出された。さらに、このシロイヌナズナのPQQ画分はPQQ依存性のグルコース脱水素酵素の活性化能を有していることを確認した。つまり、分析化学的、生化学的にシロイヌナズナ中におけるPQQの存在を証明できたと考えている。この条件で生育させたシロイヌナズナには植物共生菌などの存在可能性が限りなく低いと考えられる。

以上の結果は、シロイヌナズナ自体がPQQ生合成能を有していることを強く示唆していると考えている。しかし先に述べたように、植物共生菌の存在の可能性が考えられる。PQQ生産菌(メチロトロフ)と一般的な細菌である。そこで一連の実験の最後に、上記条件で生育させたシロイヌナズナにおける菌の存在を確認する実験を行なった。メチロトロフ用の培地を2種類(C培地、阪井培地)作製⁽²³⁾、さらに一般的な菌が共存していないことを証明するためにLB培地を用意した。発芽後21日目の抗生物質含有培地上で無菌的に育てられた抗生物質耐性シロイヌナズナの葉をメチロトロフ用培地とLB培地に浮かべ、3日間振盪培養したが、本実験において無菌的に育てられた抗生物質耐性シロイヌナズナを浮かべた培地には菌の増殖が認められなかった。したがって、この研究で用いた抗生物質耐性シロイヌナズナにはメチロトロフの共生は認められず、検出されたPQQがメチロトロフ由来ではないことを確認できたと考えている。一方、土で育てたシロイヌナズナの葉は阪井培地とLB培地で菌の存在が認められた。阪井培地では、顕微鏡観察においてピンク色の菌、おそらくメチロトロフの存在を確認した。以上の事実を総合し、筆者らは植物自体がPQQを生合成しており、通常条件で生育させた植物では植物由来のPQQと細菌由来のPQQが混在していると結論した(投稿中)。

植物におけるPQQの機能

植物はPQQを生合成していると結論したが、それは植物におけるPQQの役割・機能とは一体どのようなものであろうか？これは筆者らが考えたPQQに関する次の課題である。植物体内におけるPQQの機能を解明する上で、内生PQQ量を変化させることが最も望ましい研究方法であると考えられる。しかし、植物におけるPQQについては生合成、代謝、分解のいずれの経路についてもまったく知見がなく、内生PQQ量を変化させることは現時点では不可能である。そこで、外生PQQが植物に与える効果についてシロイヌナズナを用いて検討することにした。

通常生育条件下において、PQQを培地に添加した場合、低濃度では形態に変化が見られない。しかし、ストレス条件下におけるPQQの効果を調べたところ、塩ストレス条件下で、PQQがシロイヌナズナに対して顕著なストレス耐性を付与することが示された(図8)。PQQの共処理によって、生存率は有意に濃度依存的に回復した。また、生存個体の形態も回復した。根の長さや葉の面積など、個体全般に形態が回復している様子が見られたことにより、PQQはストレス条件下における正常な成長において重要な役割を果たしている化合物である可能性が考えられた。塩ストレス条件下に見られたようなPQQ外生投与によるシロイヌナズナのストレス耐性獲得

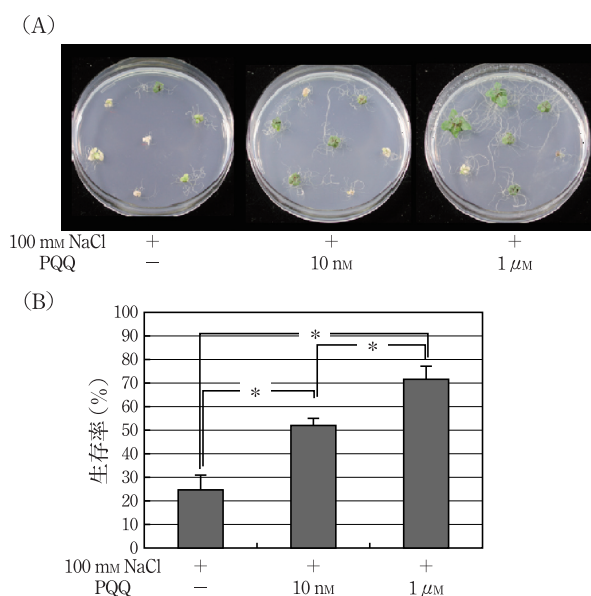


図8 ■ シロイヌナズナ (21 日齢) に対する塩ストレス条件下におけるPQQの効果

(A) 100 mM NaCl ストレス条件下における外生PQQの形態に及ぼす効果。(B) 100 mM NaCl ストレス条件下における外生PQQの生存率に与える影響。* $P \leq 0.01$

得現象は、高温ストレス、強光ストレス、有機溶剤に対するストレスなど、あらゆる非生物的ストレスに対して観察されることが明らかとなった。また、単子葉モデル植物のイネやマメ科モデル植物のミヤコグサでも、同程度のPQQによるストレス耐性付与効果が観察された。

どのようなメカニズムでこのようなストレス耐性もたらされているのだろうか？ 筆者らは、過去の報告から考えて、おそらくROSのスクャベンジャーとして機能しているだろうと推測していた。つまり、PQQは哺乳類にとってのビタミンとしての可能性があるだけでなく、植物における新規生理活性物質であると考えていた。PQQ生産菌が植物と共生し、その成長を助けているとの報告は多数あったものの、ほとんどがサイトカイニンやオーキシシンといった植物ホルモンからの視点で書かれた論文であったために、植物におけるPQQの研究を行なっているのは筆者らのグループだけであると考えていた。

しかし最近になって、植物におけるPQQに関する報告が筆者らにとっては突然な形で現われた。今年の2月、根に共生する細菌の植物生長促進効果の本体はPQQであると結論する論文が掲載されたのである⁽²⁴⁾。しかも、PQQはROSのスクャベンジャーとして非常に高い活性を有することも報告されていた。その活性はビタミンCの約100倍であった。この論文の著者らは、PQQが植物自体により生合成されることに関しては触れていないものの、今までに植物とPQQを結びつけた研究はまったくなかったために競争者を意識していなかった筆者らを少々驚かすことになった。今後は、植物の生長とPQQとの関係について調べた論文も増えてくるものと予想している。

以上述べてきたように、植物がPQQを生合成する可能性について示すことができた。しかし、この発見は真核生物がPQQを生合成することを示した初めての結果であるために、他の真核生物はPQQ生合成能を有しているかどうかという疑問が生じてくる。そこで、他の真核生物におけるPQQの存在と由来、機能について検討するため、進化的に植物より古い酵母を用いて酵母菌体内中のPQQの分析を行ない、生理機能について検討した。その結果、酵母にもキノプロテイン活性化能を有するPQQが存在し、さらにPQQによる塩ストレス耐性付与効果が観察された。このことから、PQQは植物、酵母をはじめとする多くの真核生物に対し生理的機能を有する物質であると考えている（投稿準備中）。

今後、筆者らのPQQに関する成果を実用に活かした展開が期待できる。沖永良部島では花き園芸が盛んであ

るが、台風時、強風と低圧により巻き上げられた海水が花き類に被害を及ぼすことが問題となっている。理化学研究所中央研究所の植物化学遺伝学ユニットのグループでは沖永良部島のグループと共同で、PQQ生産菌の培養液を滅菌し台風が近づく前に散布しその効果について追究している。現在のところ、台風来襲とのタイミングの問題があり、成果は得られていないが、実用化に向けて取り組んでいる。また、すでに述べたように、PQQは哺乳類に対して好ましい活性をもった化合物である。最近では、コラーゲンの維持にも効果的であることが報告されている⁽²¹⁾。このような活性と植物由来の物質という健康的なイメージを合わせることで、PQQを含むサプリメントや化粧品への展開も可能であると考えている。

謝辞：PQQ研究へのご助力、ご助言をいただいた理化学研究所脳科学研究センター加藤忠史グループディレクター、理化学研究所中央研究所中野雄司ユニットリーダー、山口大学大学院農学研究科松下一信教授、琉球大学大学院農学研究科外山博英教授、長崎大学大学院生産科学研究科工藤俊章教授、明治大学大学院農学研究科杉山民二教授、メチロトロフに関してのご助言をいただいた京都大学大学院農学研究科阪井康能教授に感謝いたします。

文献

- 1) J. G. Hauge: *Acta Chem. Scand.*, **13**, 2125 (1959).
- 2) J. A. Duine, L. Frank & J. K. Vanzeeleland: *FEBS Lett.*, **108**, 443 (1979).
- 3) S. A. Salisbury, H. S. Forrest, W. B. T. Cruse & O. Kennard: *Nature*, **280**, 843 (1979).
- 4) J. Killgore, C. Smidt, L. Duich, N. Romero-Chapman, D. Tinker, K. Reiser, M. Melko, D. Hyde & R. B. Rucker: *Science*, **245**, 850 (1989).
- 5) T. Kasahara & T. Kato: *Nature*, **422**, 832 (2003).
- 6) T. Kasahara & T. Kato: *Nature*, **433**, E11 (2005).
- 7) R. B. Rucker, D. Storms, A. Sheets, E. Tchapanian & A. Fascetti: *Nature*, **433**, E10 (2005).
- 8) L. M. Felton & C. Anthony: *Nature*, **433**, E10 (2005).
- 9) Y. Hamagishi, S. Murata, H. Kamei, T. Oki, O. Adachi & M. Ameyama: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **255**, 980 (1990).
- 10) T. Tsuchida, T. Yasuyama, K. Higuchi, A. Watanabe, T. Urakami, T. Akaiki, K. Sato & H. Maeda: *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **8**, 342 (1993).
- 11) E. Aizenman, K. A. Hartnett, C. Zhong, P. M. Gallop & P. A. Rosenberg: *J. Neurosci.*, **12**, 2362 (1992).
- 12) E. Aizenman, F. E. Jensen, P. M. Gallop, P. A. Rosenberg & L. H. Tang: *Neurosci. Lett.*, **168**, 189 (1994).
- 13) F. E. Jensen, G. J. Gardner, A. P. Williams, P. M. Gallop, E. Aizenman & P. A. Rosenberg: *Neuroscience*, **62**, 399 (1994).
- 14) J. M. Scanlon, E. Aizenman & I. J. Renolds: *Eur. J. Pharmacol.*, **326**, 67 (1997).
- 15) M. Kobayashi, J. Kim, N. Kobayashi, S. Han, C. Nakamura, K. Ikebukuro & K. Sode: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **349**, 1139 (2006).
- 16) Y. Zhang, P. J. Feustel & H. K. Kimelberg: *Brain Res.*, **1094**, 200 (2006).
- 17) T. Kumazawa, H. Seno, T. Urakami, T. Matsumoto & O. Suzuki: *Biochim. Biophys. Acta*, **1156**, 62 (1992).

- 18) T. Kumazawa, K. Sato, H. Seno, A. Ishii & O. Suzuki : *Biochem. J.*, **307**, 331 (1995).
- 19) 外山博英 : *Vitamin (Japn)*, **75**, 361 (2001).
- 20) Y. A. Trostenko, E. G. Ivanova & N. V. Doronia : *Microbiology*, **70**, 623 (2001).
- 21) A. M. Pirttila, H. Laukkanen, H. Pospiech, R. Myllyla & A. Hohtola : *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 3073 (2000).
- 22) N. Noji, T. Nakamura, N. Kitahata, K. Taguchi, T. Kudo, S. Yoshida, M. Tsujimoto, T. Sugiyama & T. Asami : *J. Agric. Food Chem.*, **55**(18), 7258 (2007).
- 23) H. Yurimoto, R. Hirai, H. Yasueda, R. Mitsui, Y. Sakai & N. Kato : *FEMS Microbiol.*, **214**, 189 (2002).
- 24) O. Choi, J. Kim, J. G. Kim, Y. Jeong, J. S. Moon, C. S. Park & I. Hwang : *Plant Physiol.*, **146**, 657 (2008).