

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18764

研究課題名(和文)植物のセシウム吸収機構における無機栄養元素の相互作用

研究課題名(英文)Study of the effect of external and internal ion status on the uptake of cesium.

研究代表者

菅野 里美 (KANNO, Satomi)

筑波大学・生命環境系・特別研究員(RPD)

研究者番号：20586010

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、植物のセシウム吸収における分子機構の基礎的知見を得ることを目的としている。シロイヌナズナのAtHAK5遺伝子は、低カリウム条件で働く主要なカリウム輸送体遺伝子であり、その遺伝子発現はskor変異体株(地上部へのカリウム分配が抑制される)において抑制されていた。このことからAtHAK5遺伝子は、植物体内のカリウム環境により発現制御されることを示した。また、AtHAK5はセシウム吸収の主要輸送体遺伝子であり、セシウム吸収も同様に植物体内のカリウム環境により制御されることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：This research project studied with the view to obtain basic knowledge about molecular mechanisms of cesium (Cs) uptake by planta. Among the potassium (K) transporter family of Arabidopsis thaliana, AtHAK5, encoding high-affinity transporter, is a key gene for root K uptake under low external K conditions. We studied AtHAK5 gene expression in plant modified K distribution by using skor mutant that has less translocation rate of K from root to shoot. Interestingly, AtHAK5 expression decreased in skor mutant. This result suggests that AtHAK5 expression is regulated by internal K status and not only by external K concentration. In addition, since AtHAK5 is also a main contributor for Cs uptake, we evaluated Cs accumulation properties of skor. Our results show that skor is able to accumulate 50% less Cs compared to the wild type due to down regulation of AtHAK5. Altogether, we demonstrate that AtHAK5 is regulated by external and internal K status and is essential for both K and Cs uptake.

研究分野：植物生理学

キーワード：カリウム輸送体 セシウム AtHAK5 ファイトレメディエーション

1. 研究開始当初の背景

福島第一原子力発電所の事故を受けて、セシウム等の放射性物質の自然界での挙動について土壌、水系のフィールド調査がなされ多くの貴重な知見が得られている。土地の地形や土壌の物理的性質の調査結果から「セシウムは土壌への吸着が強い」、「田畑での作物への移行係数は低い」(文献1)等の報告がある。しかし、局所的にセシウム蓄積量の多い植物が見られることがあり、今後も土壌物理的側面からのセシウム挙動は継続して調査されるべき課題である。同様に植物側の吸収機構についても継続して新たな知見が得られれば、突発的に高集積植物が生じるのを防ぐことやファイトレメディエーションによるセシウム除去への応用に繋がるため重要である。植物側のセシウム吸収機構については、フィールドでのカリウム施肥とセシウム吸収量の関係やセシウム吸収の作物品種間差について研究が進められ農業の現場への迅速な応用が期待できる研究成果が得られてきた。しかし、セシウム吸収の分子機構に対する知見は、事故前の先行研究においてカリウム輸送体が寄与することが報告されているものの(文献2、3)未解明な点が多い。

一般に、根圏や植物体内のカリウム量がセシウム吸収を制御することが知られているが、研究者の過去の研究により、(1)イネのナトリウム共輸送体タイプのカリウム輸送体の場合、セシウム輸送はカリウムのみならず培地中ナトリウム量にも依存した吸収が見られたこと、(2)セシウム吸収への寄与が報告されているシロイヌナズナ *AtHAK5* 遺伝子の相同性遺伝子であるトマト *LeHAK5* は、カリウム、リン、鉄欠乏下でも遺伝子発現が誘導されること(文献4)から、セシウム輸送能を持つカリウム輸送体は、根圏の栄養元素環境条件によってもその働きに影響を受けることが予想されたことから研究の着想を得た。

2. 研究の目的

本研究は、植物栽培時の無機栄養環境が植物のセシウム吸収機構に与える影響を調べ、セシウム低吸収のための栽培方法やファイトレメディエーションへの応用のための新たな基礎的知見を得ることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、土壌という複雑なファクターを除き、水耕栽培の無機栄養元素条件と根の吸収能にのみ焦点を絞って実験を行った。実験材料には、モデル植物のシロイヌナズナを使用した。

(1)培地中のカリウム、リン、窒素の異なる濃度条件を設けてシロイヌナズナを栽培し、塩化セシウムを添加した際のその吸収量を ICP-MS (^{133}Cs)、ガンマカウンター、イメージング (^{137}Cs) により測定する。

(2)セシウム吸収量に差が生じた条件下に発現している輸送体遺伝子を qPCR により調べる。

(3)セシウム吸収に寄与すると思われるターゲット遺伝子の変異体株の解析を行い、セシウム吸収の分子機構を考察する。

4. 研究成果

先行研究にて、「トマト *LeHAK5* の発現量は、根圏の硝酸、リンや鉄の環境変化によっても上昇すること(文献4)」が報告されていたことから着想を得た研究であったが、「実際のカリウムの取り込み上昇は、カリウム欠乏条件下の時のみである(文献5)」ことが報告されていることが後に分かった。セシウムの吸収動態もこれに準じるものと予想されたため、まずカリウム環境の変化とセシウム吸収量について実験を進めることとした。

(1)根圏のカリウム環境とセシウム吸収量

カリウム濃度は、低環境を $10\ \mu\text{M}$ 以下、高環境を $1000\ \mu\text{M}$ 以上に設定した。水耕栽培した野生型株に $1\ \mu\text{M}$ の放射性セシウム (^{137}Cs) を投与しその吸収量をガンマカウンターおよびイメージングにより測定し、低カリウム

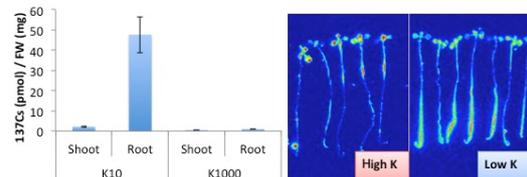


図1 14日間栽培したシロイヌナズナに ^{137}Cs を投与2時間後の ^{137}Cs 量(左)。8日間栽培した。植物に ^{137}Cs を投与0.5時間後の ^{137}Cs 分配イメージ(右)

条件での根のセシウム吸収量が増加することを確認した(図1)。

(2)カリウム輸送体の発現量比較

次に、根圏のカリウム環境の変化に応じてどのカリウム輸送体が発現しているのかを qPCR により調べた。シロイヌナズナのカリウム輸送体は36存在することが報告されているが、そのうち低カリウム環境で主に発現しているのは *AtHAK5* であることを確認した(図2)。このことから、シロイヌナズナにおいて *AtHAK5* は低カリウム環境での寄与が大きい遺伝子であり、セシウム吸収の主要な遺伝子

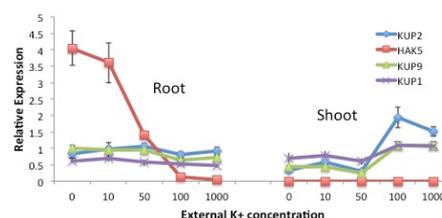


図2 カリウム輸送体遺伝子の発現

であることが確認された。

(3) 体内カリウム量と *AtHAK5* の相関関係

AtHAK5 の発現は、カリウム以外の元素環境変化においても変動するが、実際のカリウムの取り込みが変動するのはカリウム欠乏時のみということから体内カリウム量に注目することにした。体内カリウム量と遺伝子発現量について調べた結果、*AtHAK5* の遺伝子発現は外環境のカリウム濃度 $100 \mu\text{M}$ で急激に減少するのに対し、体内のカリウム量の変化に対しては相関関係があることが示された (図 3)。これまでの先行研究の中で、*AtHAK5* の発現制御については、細胞膜の分極によることや、転写因子の存在が知られているが、体内のカリウムとの関係について報告されたものはない。この結果から、体内のカリウム量を恣意的に変動させた場合にセシウムの取り込みが変化することが予想された。

(4) 体内カリウム動態を変動させた変異体株でのセシウム吸収量変化

(3) の結果から、体内のカリウム量が増えるカリウム輸送の変異体に注目することにした。カリウム輸送体遺伝子のうち *SKOR* は維管束周辺に発現するチャンネルで、根から地上部へのカリウム輸送に関わる遺伝子である。*skor* 変異体株は、地上部のカリウム含量が野生型株の半分に抑えられてしまう特徴を持つ。Cs の吸収量について ICP-MS にて比較したところ、*skor* は野生型株の半分以下に減少していた (図 4)。

skor のカリウム量は、野生型株に比較して少ないため、(3) のデータによれば *HAK5* の発現は上昇すると予想されるが、結果はその逆であった。このことから植物体内の特に地上部と根の間の元素バランスが *AtHAK5* の制御に重要であると考えられた。

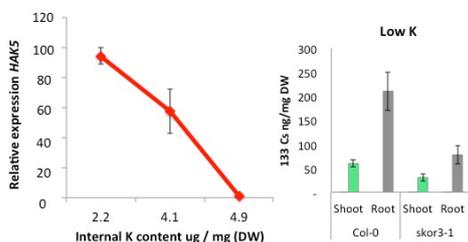


図 3 植物体内カリウム量と *AtHAK5* 発現量の相関 (左)

図 4 低カリウム条件下での野生型株と *skor* 変異体株での ^{133}Cs の吸収量比較 (右)

(5) *skor* 変異体株のカリウム・セシウム挙動

カリウムとセシウムの吸収移行について比較するため、カリウムのトレーサとして ^{85}Rb 、 ^{133}Cs を使用した。シロイヌナズナの根を 2 つに分けて一方にのみトレーサを添加し、24 時間後のトレーサの分配を比較した。カリウムのサーキュレーション (地上部およびトレーサを投与していない根への移行) は *skor*

変異体株にて減少するものの、セシウムはカリウムとは異なり、野生型株と同様な挙動を示した (移行総量は *skor* の方が少ない) (図 5)。このことから、*SKOR* はセシウムを直接輸送する遺伝子ではないことが分かった。しかし、一方で *SKOR* は植物体内のカリウム輸送をコントロールすることにより、セシウム輸送を担う *AtHAK5* の制御に係ることが示唆された。

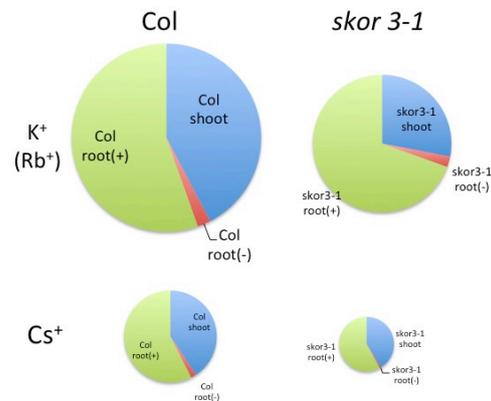


図 5 ^{85}Rb と ^{133}Cs の移行分配比較

(6) 結論

本研究により、*AtHAK5* は低カリウム条件下で働く主要な遺伝子であり、その遺伝子発現は体内のカリウム量 (根と地上部のバランス) によりコントロールされていることが示された。また、このことからセシウム吸収は、植物体内のカリウム環境により制御されていることが示された (図 6)。

植物体内外のカリウム条件とセシウム吸収条件について理解できたことから、この条件を基準としてリンや硝酸等の他の元素を変動させた際のセシウム取り込みについて、「他の元素環境の変化によりカリウム含量が変化し、そのことがセシウム吸収量に影響を与えるのか。」について引き続き研究を進めていきたいと考えている。

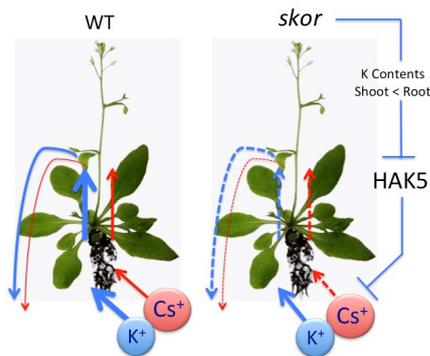


図 6 野生型株と *skor* 変異体株でのカリウムとセシウムの吸収モデル

<引用文献>

(1) 中西友子 “土壤汚染:福島の放射性物質のゆくえ” NHK 出版(2013)

(2) Qi Z., Hampton C. R., Shin R., Barkla B. J., White P. J., Schachtman D. P.

“The high affinity K⁺ transporter AtHAK5 plays a physiological role in planta at very low K⁺ concentrations and provides a cesium uptake pathway in Arabidopsis” J. Exp. Bot. 59, pp595-607, 2008

(3) Kobayashi D., Uozumi N., Hisamatsu S., Yamagami M. “AtKUP/HAK/KT9, a K⁺ transporter from Arabidopsis thaliana, Cs⁺ uptake in Escheria coli.” Biosci. Biotechnol. Biochem. 74, pp203-205, 2010

(4) Yi-Hong Wang, David F., Garvin, and Leon V. Kochian “Rapid Induction of Regulatory and Transporter Genes in Response to Phosphorus, Pottasium, and Iron Deficiencies in Tomato Roots. Evidence for Cross Talk and Root/Rhizosphere-Mediates Signals”, Plant Physiol, 130(3), pp. 1361-1370, 2002

(5) Francisco Rubio, Mario Fon, Reyes Rodenas, Manuel Nieves-Cordones, Ferdinando Aleman, Rosa M. Rivero and Vicente Martinez “A low K⁺ signal is required for functional high-affinity K⁺ uptake through HAK5 transporters”

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 2 件)

(1) Satomi KANNO, Ludovic MARTIN, Tatsuya NOBORI, Laurent NUSSAUME, Arain VAVASSEUR, Nathalie Leonhardt, “Internal and external K⁺ status affect the expression of the high affinity K⁺ transporter AtHAK5.”, XIV France-Japan Workshop on Plant Science 2017 “The developing plant in its environment”, 2017

(2) Satomi KANNO, Ludovic MARTIN, Tatsuya NOBORI, Laurent NUSSAUME, Arain VAVASSEUR, Nathalie Leonhardt, “Contribution of SKOR to Cesium absorption and translocation.” Seminaire du programme Toxicologie nucleaire, 2018

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菅野 里美 (KANNO, Satomi)

筑波大学・生命環境系・特別研究員(RPD)

研究者番号: 20586010

(4) 研究協力者

LEONHARDT, Nathalie
CEA Cadarache・BIAM・Researcher

VERY, Anne-Alienor
INRA・Montpellier・Researcher