

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03952

研究課題名(和文)植物根への有害重金属元素の侵入をくい止める～植生回復を目指した研究基盤の確立

研究課題名(英文)Control of the penetration of toxic heavy metal elements into plant roots - Establishment of a research base for vegetation restoration

研究代表者

中村 進一 (Nakamura, Shin-ichi)

東京農業大学・生命科学部・教授

研究者番号：00322339

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：食の安全を脅かす存在のひとつであるカドミウムの蓄積量が少ない畑作物の栽培技術の確立は喫緊の課題である。先行研究で植物根に部位特異的に与えたグルタチオンがアブラナの地上部へのカドミウムの移行と蓄積を選択的に抑制することを明らかにしている。しかし、この現象の分子メカニズムは十分に解明されているとはいえない。本研究によって、グルタチオンは地上部基部でのカドミウム返送を活性化することも確認できた。また、グルタチオンは施用する部位によって異なる重金属元素の制御機構を活性化することが明らかになった。葉に与えたグルタチオンが植物体の地上部への亜鉛の移行と蓄積を活性化していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

グルタチオンによって活性化されるカドミウム動態を制御する複数の物質動態制御機構の存在を明らかにできた。様々な生理活性を持つグルタチオンに新たな生理学的な意義を見出すことができた。本研究で得られた成果を応用展開することで、低Cd吸収作物を持続的に生産するための新たな栽培技術を創出できる。そして、この新規栽培技術は、多くの生産現場が望む遺伝子組み換え技術を利用しない、即効性のある畑作物のCd対策となり得る。さらに有害重金属元素の植物根への侵入を抑制し、効果的に根細胞壁に留めることができれば、植物の重金属耐性を強化でき、重金属元素汚染土壌での植物(農作物)の栽培も可能になる。

研究成果の概要(英文)：Establishment of cultivation technology for field crops with low accumulation of cadmium (Cd), one of the threats to food safety, is an urgent issue. Our previous research has shown that glutathione, given to plant roots site-specifically, selectively inhibits Cd translocation from roots to shoots and Cd accumulation in shoots of oilseed rape plants. Molecular mechanisms of this phenomenon are not fully understood. This study revealed that glutathione, applied to roots, activate Cd return to roots at the shoot base. Our research also demonstrated glutathione has different functions depending on the site where it is applied. Glutathione applied to leaves activated Zinc (Zn) translocation and Zn accumulation in shoots.

研究分野：植物栄養学、植物生理学

キーワード：グルタチオン カドミウム 亜鉛 ポジトロンイメージング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究の主な研究対象であるカドミウム(Cd)は我々の食の安全性を脅かす要因の一つである。近年、コメにおいては Cd 含量を削減する対策として、イオンビーム育種によって、Cd を吸収しないイネが作出されるなどの対応が進んでいる。その一方で、畑作物についてはその対策が遅れているのが実状である。今後は様々な農作物に Cd 含量の厳格な規制値が設けられることが予想される。畑作物の Cd 対策は急務である。

我々の研究グループでは、アブラナの根への部位特異的なグルタチオン(GSH)の施用が植物体の地上部への Cd の移行と蓄積を選択的に抑制する現象を見出している。この現象の要因の一つが GSH による植物根における Cd 保持能の活性化であることも明らかにした。根細胞壁における Cd 保持機構の分子メカニズムを解明し、根細胞の外側に Cd を効果的に留めておくことができれば、可食部分の Cd 含量の少ない作物を栽培することが可能になる。さらに、植物に重金属元素耐性が付与されることで農耕不可能な重金属汚染土壌においても作物の栽培が可能になる新たな栽培技術の創出へと繋がっていく。そして、GSH によって制御される植物根における Cd 動態の制御機構の解明を目指す本研究テーマを提案するに至った。

2. 研究の目的

本研究では、これまでの研究成果を礎に植物根における GSH の作用機構を分子レベルで解明することを目指す。植物根に与えた GSH が植物体の地上部への重金属元素 (主に Cd)の移行・蓄積を抑制する時、様々な重金属元素動態の制御機構に影響を及ぼしている。本研究では、その中でも根の細胞壁で起こっていることを中心に分子機構の解明に挑む。以下に掲げる 5 つの課題に取り組み、新たな栽培技術の創出に向けた研究基盤を確立したい。

本研究課題で取り込むのは、(1) GSH に応答する根タンパク質の同定、(2) GSH が根の細胞外の Cd 動態に及ぼす影響の評価、(3) ポジトロンイメージング技術を用いた Cd 動態の解析、(4) アラビドプシス形質転換体を利用した GSH の作用機構の解明、(5) GSH 処理が亜鉛動態に及ぼす影響の評価 の 5 項目である。

3. 研究の方法

研究目的のところに掲げた 5 つの研究課題を検討するために、以下のような実験を行った。

(1) GSH に応答する根タンパク質の同定

アブラナ根から抽出したタンパク質を二次元電気泳動法を用いて分離する。ペプチドマスフィンガープリンティング法を用いて、根に与えた GSH に応答するタンパク質を同定することを試みた。

(2) GSH が根の細胞外の Cd 動態に及ぼす影響の評価

トランスクリプトーム解析の結果を検証して、Cd の存在に応答して、根の細胞外で機能する遺伝子を検索した。

(3) ポジトロンイメージング技術を用いた Cd 動態の解析

アブラナ及びアラビドプシス形質転換体の Cd 動態をポジトロンイメージング技術を用いて可視化した。得られた画像データから、各植物体における Cd 動態の数理解析を行った。

(4) 形質転換体を利用した GSH の作用機構の解明

作出したアラビドプシス形質転換体を用いて Cd 吸収実験を行った。処理後に収穫したアラビドプシスの元素分析から、GSH の作用機構の解明を試みた。

(5) GSH 処理が亜鉛動態に及ぼす影響の評価

GSH をアブラナの根や葉に部位特異的に与え、様々な重金属元素動態に及ぼす影響を収穫した植物体の元素分析から調べた。葉に与えた GSH が亜鉛動態に及ぼす影響を確認することができた。そのため、この現象の分子メカニズムを解明するため、トランスクリプトーム解析などを行った。

4. 研究成果

(1) GSH に応答する根タンパク質の同定

Cd 処理及び Cd + GSH 処理を行ったアブラナから根タンパク質を抽出し、二次元電気泳動法により分離した。検出できたタンパク質の組成を比較した。GSH 処理に応答して、複数のタンパク質の存在量が変化していた。ペプチドマスフィンガープリンティング法の実験系を確立して、当該タンパク質の同定を試みた。

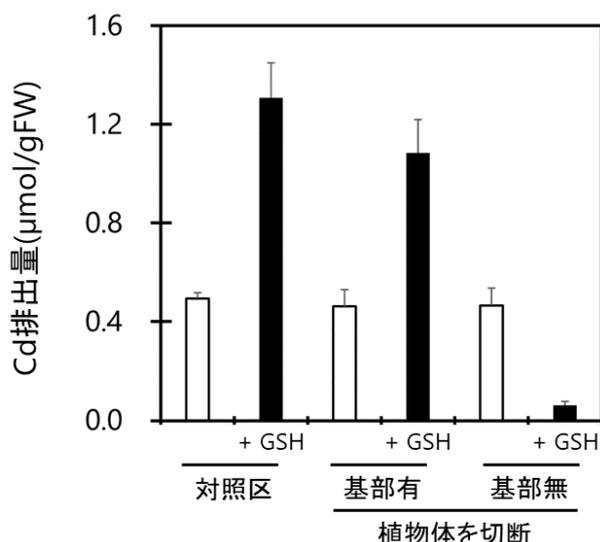


図 1 地上部基部の存在が根からの Cd 排出に及ぼす影響

また、根から排出される Cd 動態についても調べた。その結果、根からの Cd 排出には地上部基部の存在が「鍵」となっていることを確認できた。地上部基部を切断したアブラナ根における Cd 排出を調べた。Cd + GSH 処理を行ったアブラナ根からの Cd 排出は地上部基部を除くことで有意に抑制された(図 1)。一方、GSH 処理を行わないアブラナでは地上部基部の存在は根からの Cd 排出にほとんど影響していなかった(図 1)。これらの実験結果は GSH 処理されたアブラナの地上部基部から返送される Cd が根からの Cd 排出に影響していることを示唆している。

(3) ポジトロンイメージング技術を用いた Cd 動態の解析

ポジトロンイメージング実験には Cd のポジトロン放出核種(放射性同位体)である ^{107}Cd を用いた。実験植物にアブラナ及びアラビドプシスを用いて、Cd 動態に GSH が及ぼす影響を撮像した。アブラナのポジトロンイメージング実験では得られた画像データの中でも地上部基部に着目して、画像解析を行った。地上部基部を根と茎の境界部分で 2 つに分けて、それぞれに関心領域(画像解析対象)を設定した(地上部基部上部・地上部基部下部)。画像解析の結果、Cd 処理アブラナの地上部基部下部と Cd + GSH 処理アブラナの地上部基部下部では、Cd の蓄積のパターンにほとんど差がみられなかった。一方、Cd 処理アブラナの地上部基部上部と Cd + GSH 処理アブラナの地上部基部上部の比較では、Cd + GSH 処理アブラナで Cd の蓄積が抑制されている様子を観察することができた。この実験結果は GSH が地

(2) GSH が根の細胞外の Cd 動態に及ぼす影響の評価

Cd 処理及び Cd + GSH 処理を行ったアブラナの根において発現応答する遺伝子をトランスクリプトーム解析によって網羅的に調べた。得られた発現応答する遺伝子のスクリーニングを行った。遺伝子産物(遺伝子がコードするタンパク質)の主な存在場所が「細胞外」であるものを検索した。その結果、細胞壁の構造を変える機能を持つタンパク質をコードする複数の遺伝子の発現量がグルタチオン処理に応答して、増加していた。発現量が増加している遺伝子の中にはペクチンメチルエステラーゼをコードする遺伝子が含まれていた。ペクチンメチルエステラーゼは細胞壁の成分のひとつであるペクチンに構造変化をもたらす。ペクチンの構造変化は細胞壁における重金属元素の保持能に影響を及ぼすことが報告されている。

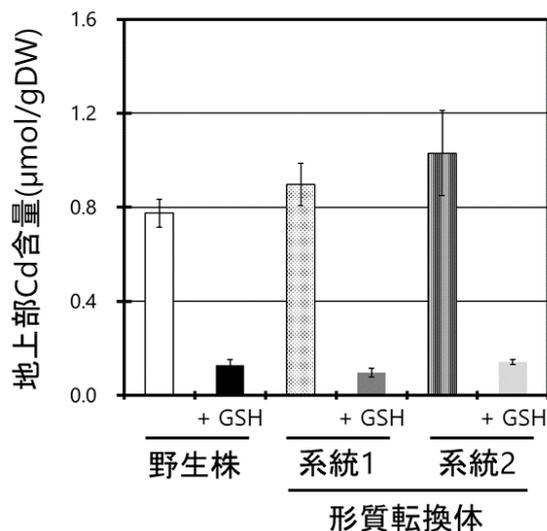


図 2 アラビドプシス形質転換体の地上部における Cd の蓄積

上部基部における Cd 返送を活性化していることを示唆している。

(4) アラビドプシス形質転換体を利用した GSH の作用機構の解明

根において GSH 合成能を高めたアラビドプシス形質転換体の植物体の各部位における Cd 蓄積量を調べた。この実験によって、根の細胞内で存在量が有意に増加した GSH が Cd 動態に及ぼす影響を評価できる。作出した形質転換体と野生株の地上部における Cd の蓄積を比較すると、形質転換体では植物体の地上部への Cd の移行と蓄積の抑制が起こっていなかった(図 2)。むしろ、形質転換体では地上部における Cd の蓄積には、わずかではあるが増加傾向がみられた(図 2)。また、根における Cd の蓄積量にも増加傾向がみられた。形質転換体では根における Cd の蓄積の増加量が野生株と比較して大きかったため、アラビドプシス形質転換体における Cd 移行率は野生株のそれと比較すると、わずかではあるが減少していた。

一方、根に GSH 処理を行ったアラビドプシスでは野生株、形質転換体のいずれも通常の Cd 処理を行った植物と比較すると地上部に蓄積する Cd の量が有意に減少していた。内性の GSH 量を増加させても Cd の移行抑制にはほとんど影響が見られなかったが、水耕液に添加した GSH はアブラナと同様に植物体の地上部への Cd の移行と蓄積を抑制していた。このような実験結果は GSH は主に根の細胞の外側で機能し、植物体の地上部への Cd の移行と蓄積を抑制していることを示唆している。

(5) GSH 処理が亜鉛動態に及ぼす影響の評価

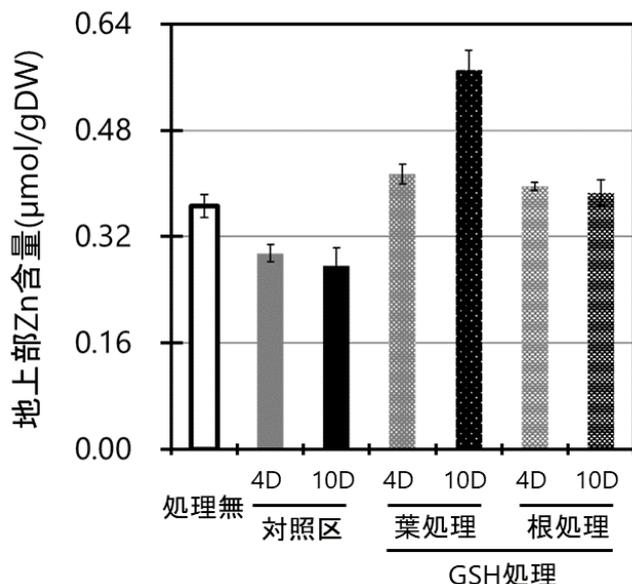


図 3 GSH の施用がアブラナの亜鉛動態に及ぼす影響

GSH の施用が他の重金属元素動態に及ぼす影響を調べた。葉に GSH を与えたアブラナでは植物体の地上部への亜鉛の移行と蓄積が活性化していた(図 3)。葉の亜鉛含量が GSH 処理によって有意に増加していた。一方、根に GSH を与えた場合、亜鉛動態に及ぼす影響はほとんど見られなかった(図 3)。また、化学形態が異なる酸化型グルタチオンには亜鉛動態に及ぼす影響がほとんどみられなかった。これらの実験結果は GSH の与えた部位によって異なる情報が根に伝達され、重金属元素動態が制御されていることを示している。亜鉛とカドミウムは元素周期表では同じ第 12 族に属する元素である。それぞれの元素の化学的な性質には類似した点が多く、植物体内では同様の挙動をとることも報告されている。しかし、本研究で得られた実験結果はアブラナが亜鉛とカドミウムを明らかに別のものとしてとらえ、その体内動態を制御していることを示している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Li, J.-S., Suzui, N., Nakai, Y., Yin, Y.-G., Ishii, S., Fujimaki, S., Kawachi, N., Rai, H., Matsumoto, T., Sato-Izawa, K., Ohkama-Ohtsu, N., and Nakamura S.	4. 巻 305
2. 論文標題 Shoot base responds to root-applied glutathione and functions as a critical region to inhibit cadmium translocation from the roots to shoots in oilseed rape (<i>Brassica napus</i>)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Science	6. 最初と最後の頁 110822
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.plantsci.2021.110822	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakamura Shin-ichi, Wongkaew Arunee, Nakai Yuji, Rai Hiroki, Ohkama-Ohtsu Naoko	4. 巻 283
2. 論文標題 Foliar-applied glutathione activates zinc transport from roots to shoots in oilseed rape	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Science	6. 最初と最後の頁 424 - 434
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.plantsci.2018.10.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Wongkaew Arunee, Nakamura Shin-ichi, Suzui Nobuo, Yin Yong-Gen, Ishii Satomi, Kawachi Naoki, Kojima Katsuhiko, Sekimoto Hitoshi, Yokoyama Tadashi, Ohkama-Ohtsu Naoko	4. 巻 283
2. 論文標題 Elevated glutathione synthesis in leaves contributes to zinc transport from roots to shoots in <i>Arabidopsis</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Science	6. 最初と最後の頁 416 - 423
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.plantsci.2018.11.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Wongkaew Arunee, Nakamura Shin-ichi, Sekimoto Hitoshi, Yokoyama Tadashi, Ohkama-Ohtsu Naoko	4. 巻 285
2. 論文標題 Phloem-specific overexpression of AtOPT6 in <i>Arabidopsis</i> enhances Zn transport into shoots	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Science	6. 最初と最後の頁 91 - 98
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.plantsci.2019.04.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Shin-ichi, Suzui Nobuo, Yin Yong-Gen, Ishii Satomi, Fujimaki Shu, Kawachi Naoki, Rai Hiroki, Matsumoto Takashi, Sato-Izawa Kanna, Ohkama-Ohtsu Naoko	4. 巻 290
2. 論文標題 Effects of enhancing endogenous and exogenous glutathione in roots on cadmium movement in <i>Arabidopsis thaliana</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Science	6. 最初と最後の頁 110304 ~ 110304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.plantsci.2019.110304	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Arune Wongkaew, Shin-ichi Nakamura, Tadashi Yokoyama, Naoko Ohkama-Ohtsu
2. 発表標題 Assessment of glutathione transporter AtOPT6 functions on sink organs in <i>Arabidopsis</i>
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2018年度神奈川大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 李俊松、及川彰、中井雄治、中村進一、大津直子
2. 発表標題 カドミウム存在下での根へのグルタチオン添加に応答する遺伝子の発現解析および導管液と篩管液のメタボロミクス解析
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2018年度神奈川大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村進一、ワオンケオアルニー、中井雄治、頼泰樹、大津直子
2. 発表標題 アブラナの葉へ施用したグルタチオンは根から地上部への亜鉛の移行を活性化する
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Nakamura, N. Suzui, Y.-G. Yin, S. Ishii, S. Fujimaki, N. Kawachi, K. Noge, H. Rai, K. Izawa-Sato, T. Matsumoto
2. 発表標題 Evaluation of the effect of glutathione in root zone on cadmium behaviors in oilseed rape plants
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村進一
2. 発表標題 ボジトロンイメージング技術を利用して高等植物のカドミウム動態制御機構を明らかにする
3. 学会等名 第58回アイソトープ・放射線研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中井 雄治 (Nakai Yuji) (10321788)	弘前大学・地域戦略研究所・教授 (11101)	
研究分担者	鈴井 伸郎 (Suzui Nobuo) (20391287)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 放射線生物応用研究部・主幹研究員（定常） (82502)	
研究分担者	頼 泰樹 (Rai Hiroki) (30503099)	秋田県立大学・生物資源科学部・准教授 (21401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野下 浩二 (Noge Koji) (40423008)	秋田県立大学・生物資源科学部・助教 (21401)	
研究分担者	大津 直子 (Ohkama-Ohtsu Naoko) (40513437)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授 (12605)	
研究分担者	及川 彰 (Oikawa Akira) (50442934)	山形大学・農学部・准教授 (11501)	
研究分担者	尹 永根 (Yin Yong-Gen) (50609708)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 放射線生物応用研究部・主任研究員(定常) (82502)	
研究分担者	俵谷 圭太郎 (Tawaraya Keitaro) (70179919)	山形大学・農学部・教授 (11501)	
研究分担者	野副 朋子 (Nozoe Tomoko) (90590208)	明治学院大学・教養教育センター・講師 (32683)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関