

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05380

研究課題名(和文) コメのヒ素濃度を低下させる新規変異遺伝子の機能解明

研究課題名(英文) Characterization of rice mutants in which arsenic levels were lower in grains.

研究代表者

林 晋平 (Hayashi, Shimpei)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門・主任研究員

研究者番号：40781323

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：土壤中のヒ素はイネの根から吸収されコメに蓄積する。コメのヒ素蓄積を抑える未知の仕組みを解明するため、コメのヒ素濃度が低減したコシヒカリの変異体las1とlas3を解析した。las1の解析により、イネ組織内のヒ素の流れに影響を与える新しいタンパク質の存在を明らかにした。また、las3の解析により、低酸素状態の根で働く代謝酵素アルコールデヒドロゲナーゼ2の活性が失われると、出穂期のヒ素輸送体の働きが抑えられ、コメを含む地上部組織のヒ素濃度が低減することを解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国において、コメはヒ素の主要な摂取源であるため、健康リスク低下のためにコメのヒ素濃度を低減させる技術の開発が求められている。本研究で解析した低ヒ素変異体は、より高度な低ヒ素品種を生む育種素材になりうるとともに、解明した低ヒ素化のメカニズムはコメのヒ素濃度を低減させる技術の開発に活用できる。また、las3解析の成果として、水田等の低酸素環境に根を張る植物において低酸素状態の根の代謝が土壌元素吸収に大きく影響する例を示したことは、新たな研究の視野を開拓するもので、学術的な意義も大きい。

研究成果の概要(英文)：To understand the mechanism for accumulation of arsenic in rice grains, two mutants in which arsenic levels were lower in aerial tissues containing grains were analyzed. Analysis of one of the mutants, las1, identified a novel protein required for normal flow of elements including arsenic in rice tissues. Additionally, analysis of the other mutant, las3, demonstrated that a defect in alcohol dehydrogenase 2, which is a metabolic enzyme largely produced in roots under hypoxic condition, repressed transporters of arsenic during the heading stage, and thereby arsenic levels in aerial tissues were reduced.

研究分野：植物分子生物学

キーワード：ヒ素 米 イネ 土壌 変異

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

農耕地土壌には天然由来のヒ素が含まれており、特に水田では、溶出したヒ素が植物に吸収されやすい形態をとる。そのため、イネは他の作物に比べ非常に多くのヒ素を土壌から吸収しコメに蓄積してしまう。コメはヒトの主要なヒ素摂取源であり、コメのヒ素による健康被害リスクを減らすことが喫緊の課題となっている。研究代表者らは、世界に先駆けてコメのヒ素濃度が低い変異体 *las1* と *las3* を発見した。どちらもヒ素との関わりが知られていない遺伝子に変異が生じており、新しい低ヒ素系統であると同時に、不明な点の多いヒ素蓄積メカニズムに光を当てるものだった。

2. 研究の目的

コメのヒ素濃度が低い変異体 *las1* と *las3* の解析を通じて、コメのヒ素蓄積を抑える未知の仕組みの解明を目指した。

3. 研究の方法

las1 と *las3* において、ヒ素の挙動（根での吸収、地上部への移行、隔離、穂への分配等）のどのステップが野生株と異なるのかを特定し、原因遺伝子の変異によりその違いが生まれる仕組みの仮説を立て、検証を行った。具体的には、主に以下の解析を行った。

(1) 変異体の元素測定

変異体において、ヒ素の挙動が野生株とどのように異なるのかを特定するため、組織ごとに分けてサンプリングを行ない、誘導結合プラズマ質量分析計等を用いてヒ素濃度を測定した。ヒ素と通り道を共有することが知られるケイ素やリンの濃度変化も同様に調査した。

(2) 形質転換植物等の作製と分析

変異体の原因となっている遺伝子及びそれらと関連する遺伝子の働きを調べるため、遺伝子工学的技術を用いて、改変した遺伝子のイネへの導入やイネの特定の遺伝子の破壊などを行ない、その遺伝子を設計図として作られるタンパク質の挙動や、イネへの影響を分析した。

(3) 変異体でコメのヒ素蓄積が抑えられる仕組みの仮説検証

変異体における元素の挙動や原因遺伝子の働きのデータを基にヒ素蓄積が抑えられる仕組みの仮説を立て、裏付けとなる各種データを取得した。

4. 研究成果

(1) 低ヒ素変異体 *las1*

元素分析の結果、コメ収穫期の *las1* 変異体は、ヒ素濃度が、玄米では約 3 割低下し、地上部全体では半分以下となっていた(図 1)。地上部のヒ素濃度は、若い植物でも野生株より低下していた。

土壌からの元素吸収において、ヒ素と通り道を共有することが知られるケイ素とリンについて、地上部に含まれる濃度を調べたところ、ケイ素の濃度は野生株とほとんど変わらなかったが、リンの濃度は野生株よりも高くなっていった。

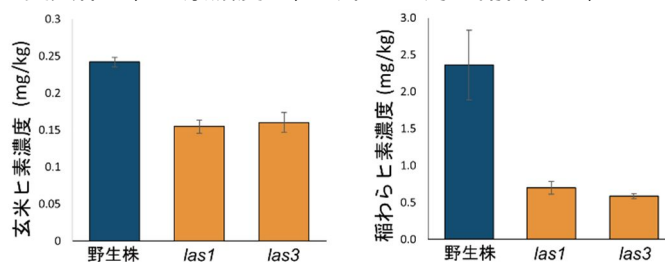


図1 低ヒ素変異体のヒ素濃度

las1 変異体では、機能未知の遺伝子に変異が生じ、この遺伝子を設計図として作られるタンパク質が破壊されていた。このタンパク質(変異を持たない野生型)が細胞のどこで働くのかを調べるために、蛍光を発するタンパク質と融合させてイネで産生させたところ、細胞膜から蛍光が検出された。細胞膜全体からではなく、細胞の片側、もしくは局所に集まる特徴が認められた。この特徴から、細胞膜の特定の領域に集まり、細胞膜を介した物質の流れの向きなどに影響を与えるタンパク質であることが強く示唆された。今後は、ヒ素やリン以外に影響を受けている元素を把握し、低ヒ素化の仕組みを詳細に解明するため、現在、*las1* 変異体における様々な元素の分析を進める。

las1 の原因遺伝子産物の特徴を明らかにしたことで、これまで機能未知であった膜タンパク質がヒ素を含む元素の流れに関わることが明らかになった。*las1* の原因遺伝子には類似の構造を持つ遺伝子が複数存在するため、これらについても変異株を作製し分析を進めている。

(2) 低ヒ素変異体 *las3*

元素分析の結果、コメ収穫期の *las3* 変異体は、ヒ素濃度が、玄米では約 3 割低下し、地上部

全体では半分以下となっていた（図1）。地上部のヒ素濃度は、若い植物では野生株と差がなかったが、穂が出始める時期（出穂期）以降に野生株よりも低くなることがわかった。

土壌からの元素吸収において、ヒ素と通り道を共有することが知られるケイ素とリンについて、地上部に含まれる濃度を調べたところ、リンの濃度は野生株と変わらなかったが、ケイ素の濃度が野生株よりも低下していた。土壌からのケイ素の吸収（ケイ酸として吸収）は出穂期に盛んになり、ケイ素とヒ素の地上部への蓄積に大きく寄与することから、*las3* 変異体では、出穂期のケイ酸の吸収が抑えられている可能性が考えられた。ケイ酸の吸収を大きく担うケイ酸輸送体の遺伝子の挙動を調べたところ、野生株では、出穂期に遺伝子の働きが著しく高まり、これと同調してヒ素とケイ素の蓄積量も高まっていた（図2）。一方で、*las3* 変異体では、出穂期のケイ酸輸送体の遺伝子の働きが抑えられ、ヒ素とケイ素の蓄積量も低下していた。このことから、*las3* 変異体では、変異の影響により、出穂期のケイ酸輸送体の働きが抑制されることで玄米を含む地上部のヒ素濃度が低減されていることが強く示唆された。

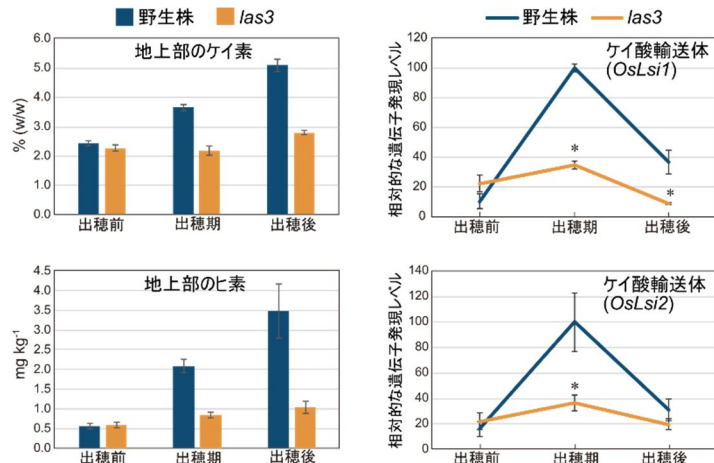


図2 出穂期前後のケイ素・ヒ素・ケイ酸輸送体の挙動

las3 変異体では、アルコールデヒドロゲナーゼ 2 (ADH2) という酵素に変異が生じ、機能が大きく失われていることがわかった。イネには、ADH2 とほぼ同じ酵素活性をもつと推測される酵素 ADH1 と ADH3 が存在しているが、ADH1 または ADH3 を破壊したイネでは低ヒ素化は認められなかった。アルコールデヒドロゲナーゼは、ヒトではエタノールをアセトアルデヒドに変換する酵素としてよく知られているが、植物では、酸素欠乏時のエネルギー生産でピルビン酸から生まれるアセトアルデヒドをエタノールに変換する酵素として働くことが知られている。イネに含まれる ADH1, 2, 3 の量を分析した結果、低酸素状態のイネの根においては、ADH2 が最も量の多い主要なアルコールデヒドロゲナーゼであり、これが ADH1 と ADH3 との大きな違いであることがわかった。低酸素状態でアルコールデヒドロゲナーゼの働きが低下すると、細胞内の pH が低下することが知られているため、根を低酸素状態に置いたところ、*las3* 変異体の根細胞の pH は、野生株よりも低下していることがわかった。細胞内 pH を低下させる作用のある試薬を投与するとケイ酸輸送体の遺伝子の働きが抑えられたことなどから、*las3* では、低酸素状態の水田の根において ADH2 の働きが低下したことによる細胞内 pH の低下がケイ酸輸送体の働きを抑制して、コメを含む地上部のヒ素濃度が低下したと考えられる（図3）。

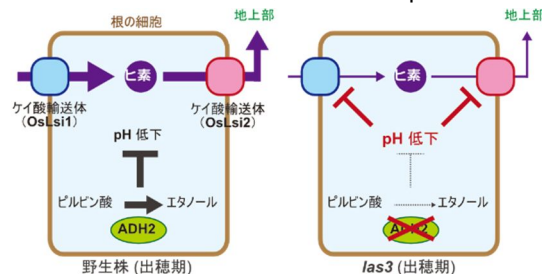


図3 *las3* 変異体の低ヒ素化メカニズムのモデル

この *las3* の研究成果をまとめた論文は、希少なコメの低ヒ素変異体を発見し、その意外なメカニズムを示したことで、これまで未知であった ADH2 の役割を解明したこと、低酸素状態の根における細胞内の現象が土壌元素の吸収に大きく影響するという新しい視点を示したことで高く評価され、Plant Physiology 誌に受理された。

コメのヒ素濃度を低減させる技術を開発する上で、ケイ酸輸送体を抑制するという発想は従来からあったが、ケイ素はイネの生育に不可欠な元素であるため、ケイ酸輸送体を破壊すると、生育に大きな悪影響が出てしまう。一方で、ADH2 の変異は、ケイ素とともに最もヒ素を吸収してしまう出穂期に限定してケイ酸輸送体の働きを弱くする効果があり、生育への悪影響を小さくしてヒ素の吸収を低下させられることがわかった。この知見は、将来的なコメのヒ素濃度低減技術の開発に大きく貢献することが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Hayashi Shimpei, Kuramata Masato, Abe Tadashi, Yamaguchi Noriko, Takagi Hiroki, Tanikawa Hachidai, Iino Manaka, Sugimoto Kazuhiko, Ishikawa Satoru	4. 巻 186
2. 論文標題 Deficiency in alcohol dehydrogenase 2 reduces arsenic in rice grains by suppressing silicate transporters	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 611 ~ 623
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/plphys/kiab086	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石川 覚、林 晋平、倉俣 正人、安部 匡
2. 発表標題 イネのヒ素吸収抑制に関わる突然変異遺伝子の解析
3. 学会等名 第25回ヒ素シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石川 覚、林 晋平、倉俣 正人、安部 匡
2. 発表標題 嫌気条件においてヒ素集積が抑制されるイネ変異体の解析
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2019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	石川 覚 (Ishikawa Satoru) (40354005)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環境変動研究センター・ユニット長 (82111)	

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
---------	---------