

平成22年 6月 1日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2009

課題番号：19780196

研究課題名 (和文) ポジトロンイメージングによる根粒-植物の共生システムの解明

研究課題名 (英文) Analysis of the relationship between nodule and plant by the positron-imaging

研究代表者

石井 里美 (ISHII SATOMI)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・量子ビーム応用研究部門・研究員

研究者番号：10391286

研究成果の概要 (和文)：放射性同位体の ^{13}N (半減期 9.97 分) により標識した窒素ガスを用いて、マメ科の重要な生理機能である窒素の固定を植物が生きたままの状態イメージングすることに成功した。具体的には、1)高純度の ^{13}N 標識窒素ガスの製造法を開発し、一定の酸素、窒素を含むガスを調製し、2)根粒を形成したダイズ植物個体の地下部に与え、根粒に固定される窒素をポジトロンイメージングによりイメージングし、3)短時間 (10 分間) の窒素固定速度を定量することに成功した。

研究成果の概要 (英文)：In this study, we have developed a method to produce ^{13}N -labeled radioactive nitrogen gas ($^{13}\text{N}_2$) with high purity. We fed the $^{13}\text{N}_2$ mixed with defined concentrations of O_2 and N_2 to the underground part of intact nodulated soybean plants and obtained movies of fixation of nitrogen gas using PETIS (positron-emitting tracer imaging system) successfully. The rates of fixation within 10 min were estimated quantitatively.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,100,000	0	1,100,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,200,000	330,000	2,530,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学・農業情報工学

キーワード：窒素固定、ダイズ植物、非破壊計測、ポジトロンイメージング技術

1. 研究開始当初の背景

窒素はアミノ酸やタンパク質、核酸の主成分であると同時に植物にとって最も重要な栄養元素である。大気には大量に窒素ガス (N_2) が存在しているが、ほとんどの生物はそれを

直接利用することができない。土壌微生物の一種である根粒菌はマメ科植物の根に感染すると根粒という器官を形成し、植物から栄養(光合成産物)をうけとり、代わりに窒素固定を行って植物に窒素栄養を供給する。この、

窒素固定は、マメ科植物にとって重要な窒素栄養源であるとともに、子実の収量を左右する重要な生理機構である。根粒における窒素固定のメカニズムや、固定された窒素栄養の地上部への輸送についての研究には、主に安定同位体の窒素 ^{15}N が用いられてきた。しかし、安定同位体の計測には植物体を分解する必要があるため、光条件や土壌成分など様々な環境の変化に対して窒素固定がどのような生理的応答を示すのかを自然な状態のまま観察することは不可能であった。植物研究用のポジトロンイメージング装置であるPETIS (positron-emitting tracer imaging system)と、ポジトロン放出核種トレーサーを利用して、植物体内における光合成産物や金属元素などの物質動態を非侵襲的かつ連続的に画像化し、定量的な解析を行うことで、さまざまな植物の機能を明らかにする研究を行っている。窒素 ^{13}N 標識窒素ガストレーサーとポジトロンイメージング装置を用いて、生きた植物の根粒における窒素固定及び窒素化合物の輸送を連続的に観察し、環境への応答性を明らかにしようとするものである。 ^{13}N 標識窒素ガストレーサーの製造法を開発し、ダイズ植物の地下部に与えることによって、生きたダイズに着生した根粒における窒素固定を画像化することを目指した。

2. 研究の目的

^{13}N 標識窒素ガスをイメージング用に開発し、ポジトロンイメージング装置を用いてダイズ植物における固定窒素の分布をイメージングし、根粒で固定された窒素の輸送について定量値を算出することを目的とした。

3. 研究の方法

二酸化炭素ガスに陽子ビームを照射し、 ^{13}N を製造した。照射済みのガスから二酸化炭素を除去する方法を検討した。

また、ダイズ植物の根に与え効率よく取り込まれるガス組成を検討した。ポジトロンイメージング装置への効率的な投与方法を検討しイメージングを行った。

4. 研究成果

(1) ^{13}N 標識窒素ガストレーサーの製造

^{13}N 標識窒素ガスは、イオンビームの一種である陽子ビームを二酸化炭素ガスに照射して生成した。まず、照射済みのガスを、ガスクロマトグラフィーに導入し、成分を分析した。結果、放射性成分は $^{13}\text{N}_2$ 以外にも含まれることがわかった。これは窒素固定以外の誤った画像を得る原因となるため、イメージングするためには精製が必要であった。また、二酸化炭素は植物および根粒の活性を阻害するため、除去する必要があった。さらに ^{13}N の半減期はわずか10分(9.97分)しかないため、 ^{13}N で標識した窒素ガスの製造から植物体への投与までは迅速に行わなければ

ならなかった。また、微弱な共生的窒素固定の様子を画像化するために窒素ガス以外に ^{13}N で標識された物質を一切含まないよう、短時間内に可能な限り高度な精製方法を検討

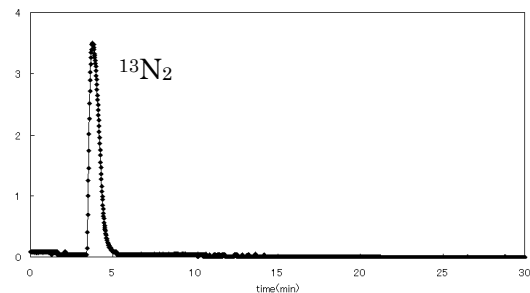


図1 ガスクロマトグラフィーに導入した結果単一のピークが得られた

した。照射試料からソーダライムを用いて化学的に二酸化炭素を取り除き、さらにこれをガスクロマトグラフィーによって分析し、含まれている窒素ガスのピーク部分だけを分取するという方法を採用し、(図1)所要時間を15分程度に抑えつつ10–30MBqの放射エネルギーを持つ、信頼性の高い精製を行うことに成功した。植物の生理に適した放射性標識ガスを製造することができた。

(2) 効率のよい ^{13}N 標識窒素ガスの与え方の構築

多くの根粒の着生したダイズの根をアクリル製のセ容器に封入し、根粒以外の部分を水で満たし、この水面を上下させることで短時間で ^{13}N 標識窒素ガスを導入する方法を確立した。

(3) ポジトロンイメージング装置によるイメージングの結果

根粒の活性を阻害せず、効率よく精製した ^{13}N 標識窒素ガスを酸素などと混ぜ、酸素:窒素(^{13}N 標識窒素ガスを含む):ヘリウムガス20:10:70の組成とし、根粒のついたダイズの根に10分間だけ投与し、その後新鮮な空気で洗い流した。投与後1時間にわたってポジトロンイメージング装置で撮像を行った。その結果、根粒の部分のみに明瞭なシグナルのある画像をえることに成功した。

これにより、世界で始めて、根粒が窒素を固定する様子を、植物が生きたままの状態画像化することに成功した。また、画像データから窒素固定速度を定量することができ、図の例では、1時間当たり約7マイクログラムの窒素が固定されていることがわかった。画像解析に成功したが、 ^{13}N 標識窒素ガスの精製の効率は数倍程度上げる余地がある。今後はこれを改善し、より長い撮像時間を実現することによって、根粒において固定された窒素化合物の地上部(茎や葉)への移行をイメージングにより画像化し、解析できるよう

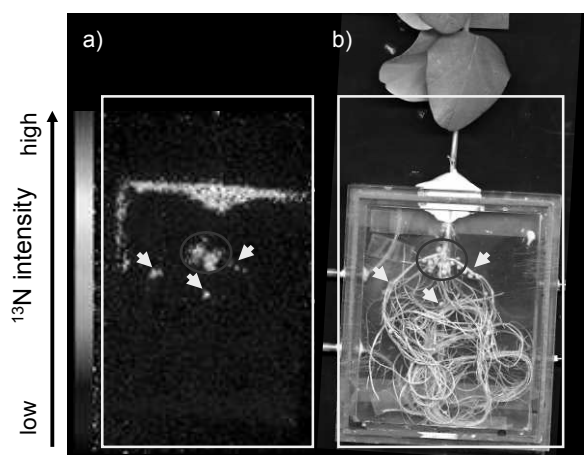


図 2 ダイズ植物の根粒に取り込まれた ^{13}N シグナル

- a) ポジトロンイメージングにより得られた画像。空気中 ^{13}N 標識窒素ガスを洗い流した後の画像をすべて重ね合わせたもの矢印および丸印の中にシグナルがあるのがわかる。
- b) 実験写真

になると期待できる。

本技術を利用すれば、同一のダイズの個体に対して繰り返し実験を行い、根の一つ一つの根粒が葉から光合成産物をどのように受け取り、土壌中の窒素肥料などの影響をどのように受けながら窒素固定を行うのかを探ることができる。本研究結果により、共生的窒素固定の仕組みの解明が飛躍的に進むことが期待できる。そして共生的窒素固定の利用効率を向上させる最適な栽培条件が確立できれば、我が国のダイズの生産量を倍増させることも可能と考えられる。さらに、無駄なく効果的な施肥方法の実現は、環境負荷を軽減した持続的な食糧生産に貢献すると考えられる。

本研究結果は世界の窒素固定の専門家が集まる国際窒素固定学会 (16th International Congress on Nitrogen Fixation, 2009 Montana) において発表し、好評を得た。また、論文として *Soil Science and plant nutrition* 誌で発表した。

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)

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Real-time imaging of nitrogen fixation in an intact soybean plant with nodules using ^{13}N -labeled nitrogen gas”

S. Ishii, N. Suzui, S. Ito, N. S. Ishioka, N. Kawachi, N. Ohtake, T. Ohshima and S. Fujimaki.
Soil Sci. Plant Nutr. vol. 55 pp660-666, 2009 査読有

2. “The production of ^{13}N -labeled nitrogen gas tracer and the imaging of nitrogen fixation in soybean nodules”

S. Ishii, N. Suzui, S. Ito, N. S. Ishioka, N. Kawachi, S. Matsushashi, N. Ohtake, T. Ohshima, S. Fujimaki
JAEA-review 2009-041 3-44 p106 査読有

3. “The Production of ^{13}N -labeled Nitrogen Gas for Imaging of Nitrogen Fixation by Soybean Nodule”

S. Ishii, N. Suzui, S. Ito, N. S. Ishioka, N. Kawachi, S. Matsushashi, N. Ohtake, T. Ohshima, S. Fujimaki
JAEA-review 2008-055 査読有

[学会発表] (計 5 件)

1. 石井 里美他 ^{13}N 標識窒素ガスを用いたダイズ根粒における窒素固定の非侵襲的画像化
日本土壤肥料学会 2009 年年会
2009 年 9 月 15 日 京都大学
2. 石井 里美、鈴木 伸郎、伊藤 小百合 他 Real-time imaging of nitrogen fixation in an intact soybean plant
第 16 回国際窒素固定学会
2009 年 6 月 19 日 アメリカ モンタナ
3. 石井 里美他 ^{13}N -標識窒素ガスを用いたダイズ根粒における窒素固定の非侵襲的イメージング
日本植物生理学会第 50 回年会 2009 年
3 月 21 日 名古屋大学
4. 石井 里美他 窒素固定イメージングのための ^{13}N 標識窒素ガスの製造
第 45 回アイソトープ・放射線研究発表会
2008 年 7 月 3 日 東京
5. 石井 里美 $^{13}\text{N}_2$ によるダイズ根粒菌窒素固定イメージングの試み
2007 年日本土壤肥料学会 東京大会
2007 年 8 月 23 日 東京農業大学 世田谷キャンパス

[図書] (計 1 件)

藤巻秀 石井里美 他 *Research Signpost Nitrogen Assimilation in Plants* 2010 年 366 ページ

〔その他〕

総説

藤巻 秀、石井里美、大山卓爾、空気中の窒素を養分にするマメ科植物の「根粒」の機能の画像化、放射線と産業 124 (2009), P33-35

新聞発表

平成 21 年 3 月 17 日発表、日刊工業、上毛、毎日、日経産業に掲載
植物ポジトロンイメージング技術により共生的窒素固定の観測に成功
－微生物が空気から作る肥料をダイズの生産に活かす－

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石井 里美 (ISHII SATOMI)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・量子ビーム応用研究部門・研究員

研究者番号：10391286