

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 10 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011 ~ 2012

課題番号：23658059

研究課題名（和文） 高 pH 下でも安定な「鉄・キレート」を形成する化合物の探索

研究課題名（英文） Searching the Fe³⁺-chelate stable under high pH conditions

研究代表者

森 敏（MORI SATOSHI）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・名誉教授

研究者番号：90011915

研究成果の概要（和文）：

3 種のオリーブ品種をアルカリ土壌（貝化石土壌）で栽培して、その導管液を採取した。これをメタボローム解析し、検出された化合物総数は 6,087 個であった。この中から品種ごとにアルカリ土壌で特異的に誘導される化合物を検索し、オレアユーローパで 1,527 個、ミッションで 978 個、ネバで 4,173 個を見いだした。アルカリ土壌で 3 品種共に共通に特異的に含まれる化合物は 469 個であった。

研究成果の概要（英文）：

Three Olive species (*Olea europaea* var. *Europa*, var. *Mission*, and var. *Neva*) of 15 cm were cultivated in alkaline soil of 1 L pots in the phytotron under the conditions at 30° C (14 hr- light)/25° C (10 hr-dark). After two years' growth the shoots were cut at 5cm high from the roots and xylem exudates were harvested to the cotton wool in the 3mL Eppendorf tubes covered with aluminum foil for 48 hrs. The cottons were extracted with 70% ethanol and the ethanol was evaporated. Each residue was solubilized with MiliQ-water and was supplied for the Metabolome-analysis by Tof-Mass. The detected chemical compounds in all *Olea* species were 6087. The Number of the chemicals which have been synthesized and contained in xylem sap of *Olea* rather specific to alkaline soil than neutral soil was 1,527 in var. *Europa*, 978 in var. *Mission* and 4,173 in var. *Neva*. The number of the common chemicals among three varieties specific to alkaline soil was 469. I will select the compounds of chatecols and /or hydroxamate as the candidates for the chelating agents of Fe³⁺ in future. For example, unexpectedly, nicotianamine was detected although the amount was very low.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・植物栄養学・土壌学

キーワード：オリーブ 樹液 鉄欠乏 鉄キレート化合物 鉄キレート剤の検索

1. 研究開始当初の背景

双子葉植物はアルカリ土壌条件下で不溶態の酸化鉄を根の表層にある還元酵素 (FR01) で還元して2価鉄イオンとし、2価鉄イオントランスポーター (IRT1) を通して吸収している。しかし還元酵素活性が弱い植物はクロロシスになり極端な場合は生育不良で枯死する。これに対して現在アルカリ土壌で栽培される双子葉植物の鉄欠乏症に対して有効な資材として Fe-EDTA や Fe-EDDHA が用いられている。これらの資材は、低廉で有効なのだが、難分解性であり、人の口にはいと有害である。実際、フルーツなどでは果実の中にキレート剤が検出されている。諸外国では大量に葉面散布剤として用いられ、これが原因であると特定されていないが、難文快晴であるが故に実は河川や湖沼の環境汚染をひきおこしている。これに取って代わる易分解性の有効な資材がないので使用規制値が設けられていない。

いっぽう、イネ科植物はアルカリ土壌条件下では自らムギネ酸類を合成して根から根圏に分泌して不溶態の酸化鉄をキレートして3価鉄・ムギネ酸類として、3価鉄・ムギネ酸に特異的なトランスポーターを通してそのままの形で吸収している。このムギネ酸の合成には日本の研究者が成功しているが、残念ながら大量で低廉な合成には成功していない。

2. 研究の目的

地中海沿岸は石灰質土壌で形成されており、この地帯では、昔から広範にオリーブが主要な食用樹木として栽培されている。すなわち

オリーブは最強の鉄欠乏耐性の食用樹木である。そこで本研究ではオリーブの根の分泌液からアルカリ土壌条件下でも鉄を強力にキレートする物質があるのではないかとこの可能性を考えて、この未知化合物を同定することを目的とした。オリーブの木の根が他の作物に比べて強い還元力活性を有しているという報告はまだない。この未知物質を同定できれば、我々がムギネ酸合成経路を決定したと同様の作業で、オリーブ体内でのこの物質の合成経路を決定して、遺伝子導入や放射線育種によって根で大量に合成させれば、双子葉作物でもあえて Fe-EDDHA の様な有害な鉄剤を与えなくても、アルカリ土壌でも独自に生きていけることになるからである。

3. 研究の方法

香川県のオリーブ園芸業者から、オレアユーローパ、ミッション、ネバの3品種のオリーブ樹 (挿し木繁殖後2年目の幼木) を入手し、通常の沖積土壌 (香川土壌) と鉄欠乏土壌 (石川県貝化石土壌) で1年間人工気象器栽培した。一方野外温室でこれらの3品種を水耕栽培した。土耕栽培での鉄欠乏に対する耐性の順位は、ネバ>ミッション>オレアユーローパで、水耕栽培の観察結果からは耐性が弱いものは根が浅く根のバイオマスが少ないと考えられた。他方、継続的に水耕栽培を続けると根の周りに微生物よるバイオフィームができるので、根分泌物の採取は困難と判断した。そこで2年目からは、これまでのイネ科植物の鉄栄養の研究から鉄欠乏条件下で protocatechuic acid が根圏へ分泌されるが、同時に導管へも分泌される、という事象のア

ナロジーから、オリーブ樹でも「根圏への分泌物は導管へも分泌される」のアナロジーで、導管への分泌物を無菌的に採取することにした。人工気象器内で 14 時間（明：30℃）／10 時間（暗：25℃）の周期で上記の 2 種類の土壌条件下で各品種 3 連でオリーブ栽培を続け、栽培 20 週目に、根もとから 5 センチ高の部位で枝を切断して導管を露出し、切断面に直ちに 2mL のエッペンチューブに局方脱脂綿を詰めたものをかぶせ、クッキングホイルで遮光して人工気象器内に放置した。24 時間後に脱脂綿への分泌成分約 1mg を 70% エタノールで抽出し、エタノールを蒸散させた後にこの成分をメタボローム解析にかけた（民間委託）。一品種 3 連の導管いっぴつ液は少なすぎると困るので含量にして分析に供した。したがって分析サンプルは全部で 6 サンプルである。

4. 研究成果

メタボローム解析で検出された化合物総数は 6,087 個であった。この中から品種ごとにアルカリ土壌で特異的に誘導される化合物を検索し、オレアユーローパで 1,527 個、ミッションで 978 個、ネバで 4,173 個を見いだした。アルカリ土壌で 3 品種共に共通に特異的に含まれる化合物は 469 個であった。今後はこれらの化合物から鉄キレート力のあるカテコール系やヒドロキサム系化合物に的を絞って、3 価鉄や 2 価鉄と特異的に反応する化合物を選抜して行く予定である。実際の予想される「キレート・鉄」化合物の同定は、それが入手可能な試薬があれば購入して、我々が別途開発している高感度の蛍光キレート試薬を用いたカラムクロマトグラフ法で行う予定である。構造が未確定のものは有機合成研究者と共同研究を組織し有機合成して、その鉄キレート活性を上記蛍光クロマ

ト法で行う予定である。

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) Masuda H, Kobayashi T, Ishimaru Y, Takahashi M, May Sann Aung, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK.
Iron-biofortification in rice by the introduction of three barley genes participated in mugineic acid biosynthesis with soybean ferritin gene. *Frontiers in Plant Physiology*, Vol. 4, No. 132, 2013, オンラインジャーナル、査読有
doi: 10.3389/fpls.2013.00132

(2) Mori S, Hirato A, Tanoi K, Takeda K, Yamakawa T, Nakanishi H. Radioactive cesium flow in *Rhus vernicifera*. *Soil Science and Plant Nutrition*, Vol. 58, 2012, pp. 611-617 査読有
DOI:10.1080/00380768.2012.727188

(3) 森敏. セシウムを吸わないイネを開発しよう、学術の動向、2012 年 10 月号 pp. 36-39、査読無、
DOI.ORG/10.5363/tits.17.10_36

〔学会発表〕（計 15 件）

① 森敏、放射能の生物濃縮の現状、第 17 回「環境の保全と緑化に関わる資材・技術研究会」（金沢都ホテル）2013. 1. 29

② 森敏、放射能の生物濃縮：Ag-110m を中心に、「第五回 放射能の農畜水産物等への影響についての研究報告会」－東日本大震災に

関する救援・復興に係る農学生命科学研究科
の取組みー（東京大学安田講堂）2012.12.8

③中西啓仁・平戸昭・田野井慶太郎・森敏、
ウルシ樹体内での放射性セシウムの流れ、
2012年度土壤肥料学会関東支部大会、
2012.12.3（文部科学省研究交流センター）

④森敏・竹田弘毅・田中豊土・田野井慶太郎・
山川隆・中西啓仁、生物の放射性セシウム汚
染低下傾向についてータケノコは要注意、
2012年度土壤肥料学会関東支部大会、
2012.12.3（文部科学省研究交流センター）

⑤森敏・竹田弘毅・田野井慶太郎・山川隆・
中西啓仁、小動物によるセシウム（Cs-137）
の生物濃縮について、日本土壤肥料学会 2012
年度鳥取大会、2012.9.6（鳥取大学）

⑥森敏・竹田弘毅・田野井慶太郎・山川隆・
中西啓仁、小動物による銀（Ag-100m）の生
物濃縮について、日本土壤肥料学会 2012 年
度鳥取大会、2012.9.6（鳥取大学）

⑦中西啓仁・平戸昭・田野井慶太郎・竹田弘
毅・山川隆・森敏、マツ・スギ・ヒノキのセ
シウム汚染の現象学、日本土壤肥料学会 2012
年度鳥取大会、2012.9.4-6（鳥取大学）

⑧鈴木基史・森敏、津波被災土壌における鉄
供給材の効果、日本土壤肥料学会 2012 年度
鳥取大会 2012.9.4-6（鳥取大学）

⑨Suzuki M, Mori S. Effect of Fe-fertilizer
in the soil salinised by Tsunami. 16th
ISINIP (16th International Symposium on
Iron Nutrition and Interactions in Plants)
(Amherst, MA USA) 2012.6.17-21

⑩Matsuyama T, Sasamoto H, Suzuki M,
Kikuchi H, Nagasaka S, Mori S. Increase of
iron content in wheat grains by frequent
foliar application of Fe-organic acid
compound during reproductive stages.
16th ISINIP (16th International Symposium on
Iron Nutrition and Interactions in Plants)
(Amherst, MA USA) 2012.6.17-21

⑪森敏、平戸昭、中西啓仁、漆液中の放射性
セシウムの師管転流について、第53回日本植
物生理学会年会（京都産業大学）2012.3.16-18

⑫森敏、放射能の生物濃縮、シンポジウム「放
射能除染の土壌科学ー森・田・畑から家庭菜
園までー」（日本学術会議）2012.3.14

⑬森敏、農用地の放射能汚染について、第16
回緑化研究会 2012.1.31（金沢日航ホテル）

⑭森敏、放射性セシウム汚染の現象学、土壌
肥料学会関東支部大会 2011.11.26（千葉大学
園芸学部）

⑮森敏、鈴木基史、松山倫也、菊地弘泰、笹
本博彦微量要素の添加によるミズナ異常株の
低減、日本土壤肥料学会2011年度つくば大会
（つくば）2011.8.8-10

〔産業財産権〕

○取得状況（計1件）

名称：植物の鉄欠乏耐性を向上させるポリペ
プチドおよびその利用

発明者：西澤直子、森敏、小林高範

権利者：独立法人科学技術振興機構

種類：特許

番号：特許第 4998809 号

取得年月日：2012 年 5 月 25 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

NPO法人 植物鉄栄養研究会 (WINEP)

<http://www.winep.jp/>

WINEPブログ

<http://moribin.blog114.fc2.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森 敏 (MORI SATOSHI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・名
誉教授

研究者番号：90011915

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：