

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05756

研究課題名(和文)膜輸送メカニズムに基づく放射性セシウム低吸収きのこの作出

研究課題名(英文) Production of low radiocesium-absorbing mushrooms based on membrane transport mechanisms

研究代表者

小松 雅史 (Masabumi, Komatsu)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：90737313

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)：セシウムを吸いにくいきのこを作出することを目的として、野生の子実体にて放射性セシウム濃度の種間差が大きいシタケ属菌を中心とした食用菌株の液体培養試験を行った。菌体中のセシウム濃度は同族のルビジウムの濃度と有意な正の相関が認められた一方、種間差や菌株の差は数倍程度と小さく、野外での濃度差を説明するような種や株は培養試験からは得られなかった。セシウム吸収に特異的に関連する遺伝子の探索を行うため、モデル菌であるウシグソヒトヨタケをセシウム添加培地、および非添加培地で液体培養し、RNA-seqを実施して遺伝子発現の網羅的解析を行ったが、処理間で候補となり得る発現の違いは認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

野外条件のきのこについては、放射性セシウム濃度に大きな(10倍以上の)種間差が認められているにも関わらず、本試験の結果、液体培養試験では2-3倍の濃度差が認められるのみであった。この結果から野生きのこの放射性セシウムの濃度差は菌糸体のセシウムを吸収する能力では説明できないと考えられた。他の要因としては菌糸体から子実体へのセシウムの転流やセシウムの濃度が高い位置に菌糸を発達させる性質が考えられることから子実体に着目した試験や生態的な調査が必要になる。

研究成果の概要(英文)：To produce mushrooms with low-level radiocesium, we conducted liquid culture tests of edible fungi, mainly pholiota species with large interspecies differences in radiocesium concentration in fruitbodies under wild condition. The concentrations of cesium in the fungi showed significantly positive correlation with the concentrations of rubidium, a member of the same family. However, the differences among species and strains were small, only a few times, and no species or strains that could explain the differences in concentration in the field were obtained from the culture tests. To search for genes specifically related to cesium absorption, the model fungus Ushigusohitoyotake was cultured in liquid medium with and without cesium, and RNA-seq was performed for comprehensive analysis of gene expression, but no differences in expression that could be candidates were observed between.

研究分野：森林放射線生態学

キーワード：放射性セシウム きのこ 出荷制限

1. 研究開始当初の背景

福島第一原子力発電所事故により環境中に大量の放射性物質が放出された。結果として福島県を中心とした東日本の広い範囲の陸域で放射性物質汚染が引き起こされた。放出された放射性物質のうち、量が多く半減期の長いセシウム 137(¹³⁷Cs)の長期的な影響が懸念されている。放射性セシウム汚染の影響を特に受けているものとして、きのこが挙げられる。菌類は放射性セシウムを効率よく吸収する性質があり、野生・栽培問わず広域で食品のきのこの放射性セシウム濃度の基準値(100Bq/kg)の超過が検出され、結果として出荷制限が課された。2020年11月現在、野生きのこは117市町村(うち15市町村で一部品目の解除)で、また栽培きのこのうち、露地(野外)栽培の原木しいたけは93市町村(うち56市町村は部分解除)で出荷が制限されている。さらに、きのこだけでなく、原木きのこ栽培の材料となるコナラ等の樹木も広域で利用できない状態にある。こうした問題を解決するため、申請者らは「セシウムを吸わないきのこは作出可能か」という問いに至った。

チェルノブイリ原子力発電所の事故以降、ヨーロッパを中心に行われた研究によって、野生きのこの放射性セシウム濃度は種によって大きく異なることが示された(IAEA, 2010)。福島原発事故後の日本国内での研究でも種によって異なることが示され、例えば同じスギタケ属に属するきのこの中でもチャナメツムタケの濃度は高く、ナメコは低い、といった結果が報告された。

近年イネでは、カリウムの膜輸送体遺伝子の1種であるOsHAK1の機能を失った株でセシウムの吸収が大幅に減少することが示されており、同様に真菌類についても、セシウムの吸収をコントロールする膜輸送体が発見されれば、セシウム低吸収きのこを開発することが可能になると考えた。

2. 研究の目的

そこで本研究では、真菌類の放射性セシウム吸収に関与する膜輸送体を明らかにし、遺伝子組換え試験により、セシウム吸収をコントロールする菌株の作出を試みることを目標とした。そのため、真菌類のセシウム添加培地での培養試験を行い、セシウムの吸収能力の種間差や菌株差の有無を明らかにすることとした。その結果セシウム能力に差が認められた菌株が得られた場合、菌株の膜輸送体遺伝子を中心とした遺伝子解析を行うこととした。セシウムは同族のカリウムやルビジウムと似た挙動を示すことが知られている。そこで菌株培養試験ではセシウムと併せてルビジウム濃度についても測定を行った。また、モデル菌であるウシグソヒトヨタケを用いて、セシウムと同族のカリウムに対するセシウム吸収への影響を調べたほか、セシウム添加培地と非添加培地で培養したウシグソヒトヨタケの遺伝子発現を網羅的に調べるため、RNA-seq解析を行うこととした。

3. 研究の方法

(1) セシウム添加培地での菌体培養試験

材料として用いる種は培養のしやすさと将来的に栽培可能なきのこへの応用を検討するため、主に腐生性(枯死木や落葉といった枯れた有機物を分解してエネルギーを得るタイプ)の菌類を用いた。特に野外条件で種によってきのこの放射性セシウム濃度が大きく異なるスギタケ属の菌株を中心に試験を行った。安定同位体のセシウム 133(¹³³Cs)を一定量(50μM)含むYMG培地で培養した菌体を洗浄、凍結乾燥後した菌体を硝酸によって湿式灰化し、ICP-MSを用いて菌体中の¹³³Cs濃度およびルビジウム濃度を定量した。

(2) モデル菌ウシグソヒトヨタケを用いた遺伝子発現の網羅的解析

ウシグソヒトヨタケ菌株を用いて(1)と同様に菌体培養を行った。ただし、カリウム濃度を5mM, 15mM, 50mMとなるように添加した。さらに、セシウム添加/非添加の最少培地で培養したウシグソヒトヨタケ菌体のRNAを抽出し、RNA-seq解析を行った。

4. 研究成果

(1) セシウム添加培地での菌体培養試験

図1に¹³³Cs添加培地で培養した菌糸体の¹³³Cs濃度を示した。¹³³Cs濃度は同じ菌株の反復処理で近い値が得られたが、種ごとの高低の傾向は得られなかった。特に野生条件において、高濃度の¹³⁷Csが検出されるチャナメツムタケの¹³³Cs濃度についても他の樹上性の種の菌株と同程度または低い値を示した。また菌株間の¹³³Cs濃度差は最大で3倍であった。これらの結果から、野外でのセシウムの濃度差を説明するような種や株の差は培養試験からは得られなかった。

図2に培養菌糸体について¹³³Csと同族のルビジウム(Rb)の濃度の関係を示した。各菌糸体中の¹³³Cs濃度とRb濃度の間には有意な正の線形関係が認められた。Csの吸収能力はRbの吸収能力によって一部説明可能であることが確認された。

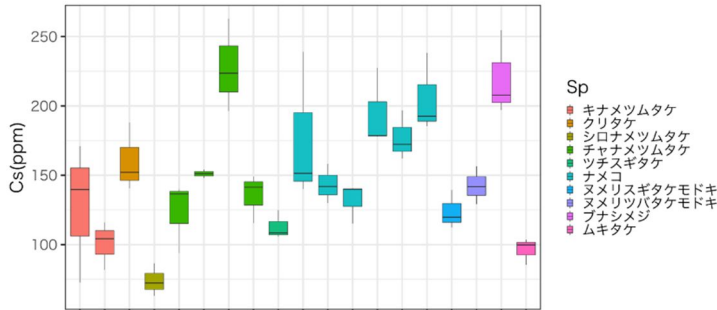


図1. ¹³³Cs添加液体培地で培養した菌株の¹³³Cs濃度

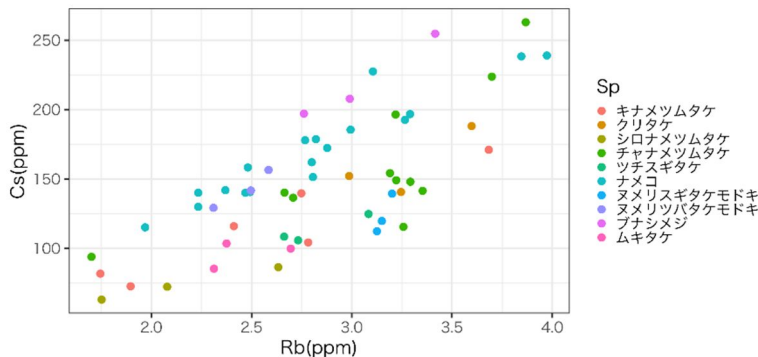


図2. ¹³³Cs添加液体培地で培養した菌株の¹³³Cs濃度とルビジウム(Rb)濃度の関係.

(2) モデル菌ウシグソヒトヨタケを用いた遺伝子発現の網羅的解析

培地に添加するカリウム濃度を変化させて培養した結果、培地中のカリウム濃度が高いほど菌体のセシウム濃度は減少した(図3左)。菌体と培地に含まれるカリウムおよびセシウムの濃度比を比較したところ、カリウム添加量が少ないほどカリウムの濃度比はセシウムの濃度比よりも大きくなり(図3右) 選択的にカリウムを吸収している可能性が考えられた。

ウシグソヒトヨタケをCs添加および非添加培地で培養し、RNA-seqを実施した。比較解析を行ったところ、いくつかの部位で発現量の処理間差が認められたものの、Csの吸収をコントロールすることが期待されるような明瞭な発現の差異は得られなかった。

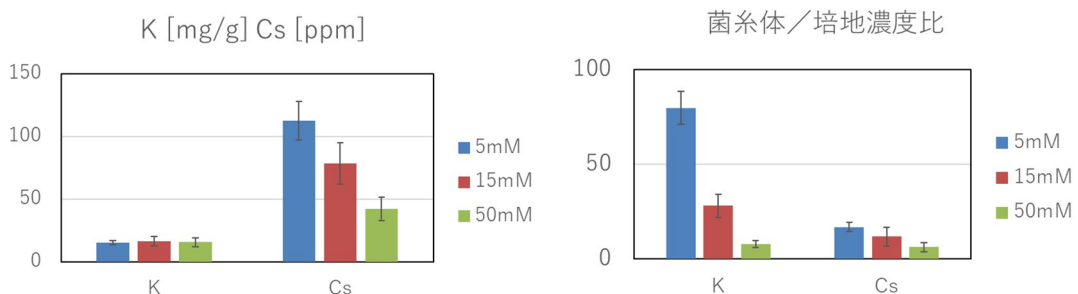


図3.(左)培地中のカリウムを変化させた場合のウシグソヒトヨタケ菌体中のカリウムおよびセシウム濃度(右)同実験下での菌糸体と液体培地のカリウムおよびセシウムの濃度比

<参考文献>

IAEA (2010) Handbook of Parameter Values for the Prediction of Radionuclide Transfer in Terrestrial and Freshwater Environments. Technical Reports Series No. 472.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Komatsu Masabumi, Nishina Kazuya, Hashimoto Shoji	4. 巻 255
2. 論文標題 Extensive analysis of radiocesium concentrations in wild mushrooms in eastern Japan affected by the Fukushima nuclear accident: Use of open accessible monitoring data	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Environmental Pollution	6. 最初と最後の頁 113236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envpol.2019.113236	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Komatsu Masabumi, Suzuki Narimi, Ogawa Shuta, Ota Yuko	4. 巻 222
2. 論文標題 Spatial distribution of 137Cs concentrations in mushrooms (Boletus hiratsukae) and their relationship with soil exchangeable cation contents	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Environmental Radioactivity	6. 最初と最後の頁 106364 - 106364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jenvrad.2020.106364	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0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 橋本 昌司、小松 雅史、三浦 寛	4. 発行年 2021年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 238
3. 書名 森林の放射線生態学－福島を森を考える－	

〔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	中沢 威人 (Nakazawa Takehito) (80608141)	京都大学・農学研究科・助教 (14301)	

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