

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05756

研究課題名（和文）植物根圏におけるヨウ素還元機構の分析化学的、分子遺伝学的解明

研究課題名（英文）Studies on the molecular mechanism of iodine reduction in rhizosphere

研究代表者

西田 翔（Sho, NISHIDA）

佐賀大学・農学部・准教授

研究者番号：40647781

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）：本研究では、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて、植物根圏においてI03-をI-へと還元する原因分子、およびI03-還元能の責任遺伝子を同定し、植物のヨウ素還元機構を分子レベルで明らかにすることを目的とした。その結果、シロイヌナズナの根圏では、根から放出されるグルタチオンがI03-をI-へと還元することが明らかとなり、グルタチオン合成酵素遺伝子であるGSH1が根のI03-還元活性に関与することが示された。これに加え、根の細胞膜に局在するNADPHオキシダーゼもまたI03-還元に関わる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、地球環境におけるヨウ素循環の解明およびヨウ素動態の予測技術に貢献することが期待され、放射性ヨウ素を放出する核資源を安全に管理・活用する上で極めて重要な知見となる。これに加え、ヒトのヨウ素欠乏症抑制を目的としたヨウ素濃度を強化した作物の育成技術に繋がることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to identify a molecule causing the reduction of I03- to I- in rhizosphere and the causal gene using the model plant *Arabidopsis thaliana* for revealing the mechanism underlying iodine reduction by plants. We revealed that glutathione secreted from roots reduces I03- to I- in the rhizosphere of *A. thaliana* and glutathione synthase gene GSH1 is involved in the I03- reduction activity of roots. In addition, our data suggest that NADPH oxidases localized at the plasma membrane of root cells are also involved in the reduction of I03- in the rhizosphere.

研究分野：植物栄養学

キーワード：ヨウ素 根圏 グルタチオン シロイヌナズナ

1. 研究開始当初の背景

ヨウ素は人間の必須元素であり、甲状腺ホルモンの構成成分として必須な役割を担っている。ヨウ素は大陸の内陸部で不足しやすく、現在も世界54カ国以上で人々がヨウ素不足による健康被害のリスクに直面している。一方、環境中への放射性ヨウ素の拡散もまた重要な問題であり、とりわけ核燃料の再処理や地層処分等により放出される可能性のある長寿命放射性ヨウ素(^{129}I)の環境挙動を理解することは、核資源を安全に活用していく上でも重要な課題となる。

環境中においてヨウ素は主に I^- 、 IO_3^- および有機態ヨウ素として存在することが明らかとなっている。この内、 I^- の生成反応は植物や微生物などの生物による IO_3^- の還元反応に依存すると考えられている。しかし、未だに生物由来のヨウ素還元物質の実体は不明であり、ヨウ素還元反応の分子機構はヨウ素動態研究における大きな「問い」の一つとなってきた。

2. 研究の目的

先行研究において、申請者たちは植物の根が根圏の IO_3^- を I^- へと還元する能力を有することを明らかにしてきた。本研究では、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて、 IO_3^- 還元物質を化学的手法により同定するとともに、 IO_3^- 還元能の責任遺伝子を分子遺伝学的手法により同定することで、植物のヨウ素還元機構を分子レベルで明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) シロイヌナズナの根が放出する IO_3^- 還元物質の単離の試み

先行研究において申請者らは、シロイヌナズナの根が IO_3^- 還元物質を放出することを明らかにしていた。そこで、このシロイヌナズナの根が放出する IO_3^- 還元物質の同定を試みた。シロイヌナズナの根を1 mM Tris-HCl バッファー (pH 8) に24時間浸漬し、根から放出される滲出物質を捕集した。得られた滲出液は限外濾過した後、凍結乾燥により濃縮を行った。この滲出物質濃縮液を溶媒抽出(酢酸エチル、ブタノール)により有機層と水層に分液した後に、減圧蒸留により溶媒を除去した。得られた各画分における IO_3^- 還元活性を測定することで、 IO_3^- 還元物質の単離を試みた。 IO_3^- 還元活性の測定は、 IO_3^- から合成される I^- の量として測定した。また I^- の測定はイオンクロマトグラフィー-ICPMS、またはイオンクロマトグラフィーを用いて行った。

(2) シロイヌナズナ変異体および阻害剤を用いた IO_3^- 還元物質および関連遺伝子の同定

(1)で明らかとなった IO_3^- 還元物質候補の合成遺伝子を欠損したシロイヌナズナ変異体を手入し、変異体の根の IO_3^- 還元能を野生型植物のそれと比較することで、候補分子の IO_3^- 還元能への影響を検証した。さらに、候補分子の合成阻害剤を添加した培地で栽培した植物体の根の IO_3^- 還元活性を調査した。以上に加えて、候補分子の標品を IO_3^- と混合することで、直接候補分子の IO_3^- 還元活性を測定した。

(3) 非分泌型 IO_3^- 還元物質の存在の検証

シロイヌナズナの根の滲出液とシロイヌナズナの根を浸漬したままの溶液とで IO_3^- 還元活性を比較し、非分泌型の IO_3^- 還元物質の存在を検証した。また、適宜阻害剤を用いることで、非分泌型 IO_3^- 還元物質の候補分子の調査を行った。

4. 研究成果

(1) シロイヌナズナの根が放出する IO_3^- 還元物質の単離の試み

シロイヌナズナの根から得られた滲出物質濃縮液を酢酸エチルにより分液操作を行い、有機性画分および水溶性各画分の IO_3^- 還元活性を測定した。その結果、水溶性画分において IO_3^- 還元活性が検出された(図1)。さらにこの水溶性画分をブタノールにより分液操作を行い、各画分の IO_3^- 還元活性を測定した。その結果、やはり水溶性画分において IO_3^- 還元活性が検出された。これらのことから、シロイヌナズナの根が放出する IO_3^- 還元物質は極めて水溶性の高い化合物であることが明らかとなった。

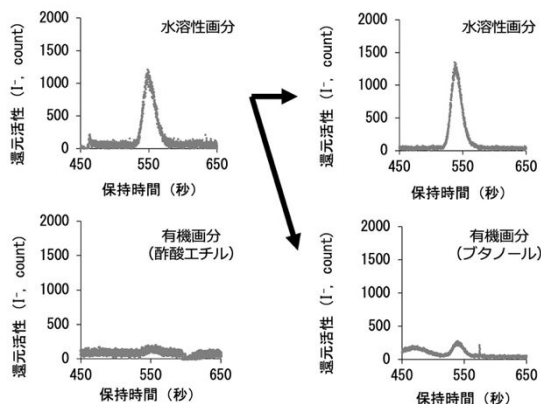


図1. IO_3^- 還元物質の単離

(2) シロイヌナズナ変異体および阻害剤を用いた IO_3^- 還元物質および関連遺伝子の同定

植物が合成する還元物質の内、水溶性を示すものとして、グルタチオンおよびアスコルビン酸が知られている。そこで、グルタチオン合成遺伝子 *GSH1* の機能欠損変異体 (*pad2-1*) およびアスコルビン酸合成遺伝子 *VTC2* の機能欠損変異体 (*vtc2-4*) の根の IO_3^- 還元能を野生型植物と比較した。その結果、*GSH1* の機能欠損変異体において有意な IO_3^- 還元能の低下が認められ、根の IO_3^- 還元能にグルタチオンが関与することが示唆された(図2)。一方、*VTC2* の機能欠損変異体では IO_3^- 還元活性に変化は認められなかった。

さらに、グルタチオン合成阻害剤である L-Bulthionine-(S,R)-sulfoximine (BSO) 存在下で栽培したシロイヌナズナの根の IO_3^- 還元能を調査した。その結果、BSO の処理濃度依存的に IO_3^- 還元能が低下することが明らかとなり、グルタチオンの IO_3^- 還元活性への関与が支持された。グルタチオンの IO_3^- 還元活性を直接的に確認するために、グルタチオンの標品を IO_3^- 溶液に添加し、 I^- 生成の有無を調査した。その結果、添加したグルタチオンの量依存的に I^- が生成されることが明らかとなり、グルタチオンが IO_3^- 還元活性を有することが示された。

先行研究により、植物の根からグルタチオンが放出されることが報告されていることから、グルタチオンは根から放出される IO_3^- 還元物質の一つであると結論づけた。

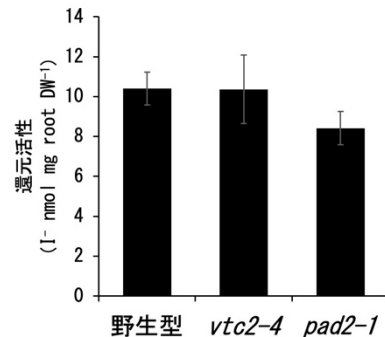


図2. 還元物質合成遺伝子欠損変異体における IO_3^- 還元活性

(3) 非分泌型 IO_3^- 還元物質の存在の検証

シロイヌナズナの根から捕集した滲出液と、シロイヌナズナの根を浸漬したままの溶液とで IO_3^- 還元活性を比較した。その結果、シロイヌナズナの根を浸漬したままの溶液の方が IO_3^- 還元活性が有意に高く、根に結合した非分泌型の IO_3^- 還元物質の存在が示唆された。

シロイヌナズナの根の細胞膜には、酸素を還元しスーパーオキシドを発生させる NADPH オキシダーゼ (RBOHs) が複数存在することが知られている。そこで、NADPH オキシダーゼ阻害剤である Diphenyleneiodonium chloride (DPI) 存在下で根の IO_3^- 還元活性を測定した。その結果、DPI の濃度依存的に IO_3^- 還元活性が低下することが明らかとなり(図3)、根の細胞膜局在型の NADPH オキシダーゼが IO_3^- 還元能に関与することが示唆された。

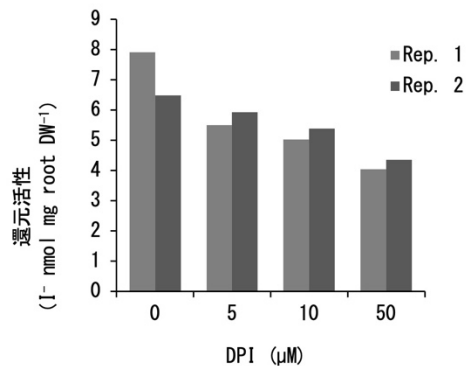


図3. NADPH オキシダーゼ阻害剤の IO_3^- 還元への影響 (2反復)

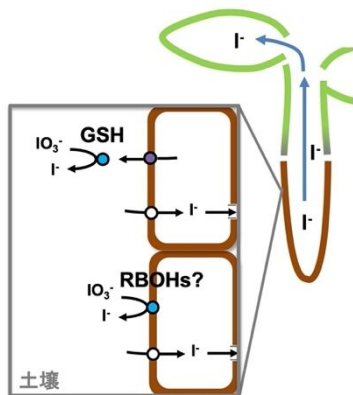


図4. シロイヌナズナ根圏におけるヨウ素還元と吸収の予測モデル

以上の(1)から(3)の研究結果により、シロイヌナズナの根圏では、根から放出されたグルタチオンが IO_3^- を I^- へ還元することが明らかとなった。これに加え、根の細胞膜に局在する RBOHs もまた IO_3^- 還元に関与する可能性が示唆された。生成された I^- は何らかのトランスポーターにより根の細胞に取り込まれ、植物の根や葉に蓄積すると考えられる。本研究成果は将来的に、地球環境におけるヨウ素循環の解明とヨウ素動態の予測技術、およびヨウ素レベルを強化した作物の育種技術に繋がることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sho Nishida, Ryoji Tanikawa, Shota Ishida, Junko Yoshida, Takafumi Mizuno, Hiromi Nakanishi, Naoki Furuta	4. 巻 11
2. 論文標題 Elevated expression of vacuolar nickel transporter gene IREG2 is associated with reduced root-to-shoot nickel translocation in <i>Noccaea japonica</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2020.00610	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 Makiha Fukuda, Toru Fujiwara, Sho Nishida	4. 巻 21
2. 論文標題 Roles of Non-Coding RNAs in Response to Nitrogen Availability in Plants	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8508
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21228508	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 該当する
1. 著者名 Sho Nishida, Aimi Takahashi, Lumi Negishi, Michio Suzuki, Naoki Furuta	4. 巻 67
2. 論文標題 Exploration of unknown nickel-containing proteins from plants by liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Soil Science and Plant Nutrition	6. 最初と最後の頁 114-119
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00380768.2020.1860645	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 Mutsumi Yamagami, Masumi Yanai	4. 巻 -
2. 論文標題 EFFECT OF RICE PLANT ROOT TTC-REDUCING ACTIVITY ON THE CHEMICAL FORM OF IODINE IN CULTIVATED SOIL SOLUTIONS	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Radiation Protection Dosimetry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rpd/nc0000	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 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 坂口文香, 井健祐, 丸山隼人, 佐々木孝行, 西田翔, 和崎淳, 信濃卓郎, 渡部敏裕 アルミニウム集積植物 <i>Melastoma marabathricum</i> におけるMATE遺伝子の機能解析
2. 発表標題 アルミニウム集積植物 <i>Melastoma marabathricum</i> におけるMATE遺伝子の機能解析
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2020年度岡山大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田大綱, 西田翔, 和崎淳
2. 発表標題 低リン耐性植物ハケアが形成するクラスター根の遺伝子発現解析
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2020年度岡山大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤百花, 西田翔, 丸山隼人, 俵谷圭太郎, 和崎淳
2. 発表標題 赤米とコシヒカリのリンリサイクル能の違いに関する遺伝子発現解析
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2020年度岡山大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西田翔, 岡崎俊樹, 古田直紀
2. 発表標題 シロイヌナズナにおけるAHA2およびORP2Bの変異によるニッケル耐性の上昇
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2020年度岡山大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akira Ishi, Sho Nishida, Naoki Furuta
2. 発表標題 Studies on the molecular mechanism of iodine reduction by Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 2020 Winter Conference on Plasma Spectrochemistry (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西田翔, 石井暁, 亀岡啓, 榎本拓央, 山上睦, 古田直紀
2. 発表標題 植物の根が分泌するヨウ素還元物質の探索
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2021年度北海道大会
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	山上 睦 (Mutsumi YAMAGAMI) (60715499)	公益財団法人環境科学技術研究所・環境影響研究部・副主任 研究員 (81103)	

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