

シロイヌナズナの根圏におけるヨウ素酸還元機構の研究

Studies on the mechanism of iodine reduction in the rhizosphere of *Arabidopsis thaliana*

応用化学専攻 石井 暁
ISHII Akira

1. 緒言

人間にとってヨウ素は甲状腺ホルモンの合成に不可欠な必須微量元素である。ヨウ素の摂取量が不足すると、甲状腺腫や甲状腺機能低下症に代表されるヨウ素欠乏症を引き起こす。中部アジアやアフリカ、中央・東ヨーロッパなどの内陸地域を中心として、世界人口の約 30% でヨウ素の摂取量が不足しているといわれている¹⁾。対策の一つとして農業的及び遺伝学的手法による農作物の栄養強化 (Biofortification) が試みられている²⁾。そのためには植物におけるヨウ素の蓄積メカニズムの解明が重要となる。本研究ではモデル植物であるシロイヌナズナを用いて、高等植物におけるヨウ素の蓄積メカニズムの解明を目的とした。

2. 実験

2-1. 植物栽培実験

本研究ではシロイヌナズナの自然変異系統 36 種類 (Arabidopsis Biological Resource Center, USA)、特に Col-0 系統を用いて実験を行った。植物体内および導管液中のヨウ素の化学形態を調査するため、KIO₃ (特級, 関東化学) を含む水耕液でシロイヌナズナを栽培した。また、根におけるヨウ素酸の還元について調査するため、寒天培地上でシロイヌナズナを栽培した。

2-2. ヨウ素の化学形態別分析

導管液を除くすべての試料におけるヨウ素の化学形態別分析は、Ion Chromatography (IC : ICS-2000, Dionex, Column : IonPac AS11-HC, Dionex) -Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICPMS : 7500ce, Agilent) を用いて¹²⁷I を測定することで行った。また、植物体内および導管液中のヨウ素の化学形態別分析については、Size Exclusion Chromatography (SEC : PU-1580i, JASCO, Column : Asahipak GS-320, Shodex)-ICPMS を用いて行った。

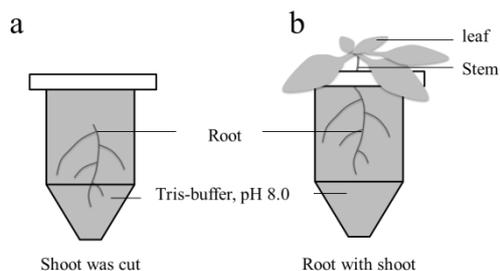


図 1 緩衝溶液に根を浸した模式図

- a. 地上部を切断して緩衝溶液に浸した図
b. 地上部を残して緩衝溶液に根を浸した図

2-3. 手順

植物体内の水溶性ヨウ素および導管液の採取

水耕栽培したシロイヌナズナを地上部と根に分けて収穫し、凍結破碎、凍結乾燥した後、超純水に浸し、水溶性ヨウ素を抽出した。また、水耕栽培したシロイヌナズナの地上部を切り取り、根の基部から漏出する導管液を脱脂綿に採取した。

根のヨウ素酸還元速度の測定

シロイヌナズナの根を切断し、図 1, a に示すように KIO₃ を含む緩衝溶液 (pH 8.0) に浸した。その後、根を取り出し、緩衝溶液中に含まれる I⁻ を定量した。また、根の切断による影響を調査するため、地上部を残した根を、図 1, b に示すように KIO₃ を含む緩衝溶液に浸し、生成される I⁻ を定量した。

根圏滲出液のヨウ素酸還元能の評価

シロイヌナズナの根を切断し、図 1, a に示すように緩衝溶液に浸して、根の滲出液を捕集した。緩衝溶液から根を取り除き、限外ろ過フィルター (MWCO: 3 kDa) でろ過した。ろ液とフィルター上に残った濃縮液の体積を揃え、それぞれに KIO₃ を加えて静置した後、各溶液中で生成した I⁻ を定量した。

3. 結果及び考察

3-1. 植物体内におけるヨウ素の化学形態別分析

シロイヌナズナへのヨウ素の暴露は IO₃⁻ の形態で行っていたにも関わらず、地上部および根のど

ちらにおいても、IC-ICPMS および SEC-ICPMS とともに I のピークのみが検出された。この結果から、シロイヌナズナは IO_3^- を還元し、I の形態で体内にヨウ素を蓄積することが明らかになった。また、導管液においても、同様に I のみが検出された。このことから、シロイヌナズナは根、あるいは根圏で IO_3^- を還元し、I として導管を介して根から地上部へと輸送することが明らかになった。

3-2. 植物根圏におけるヨウ素酸還元能の検証

根を浸した緩衝溶液では、根を浸していない緩衝溶液と比較して IO_3^- の濃度が低下し、新たに I が検出された (図 2)。

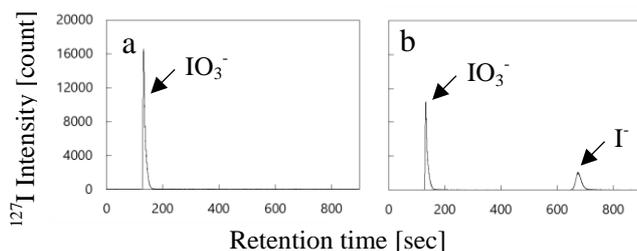


図 2 根のヨウ素酸還元能の検証

a. 根を浸していない緩衝溶液, b. 根を浸した緩衝溶液

この結果から、シロイヌナズナは根において IO_3^- を I に還元することが確認された。また、地上部を切り取り緩衝液に浸した根(図 1, a) における I の生成量と、地上部を残したままの個体の根 (図 1, b) における I の生成量に有意差は無かったことから、根の内部で生成した I が導管液を介して漏出した可能性は認められなかった (図 3)。この結果から、根におけるヨウ素酸の還元は根圏において行われていることが示唆された。

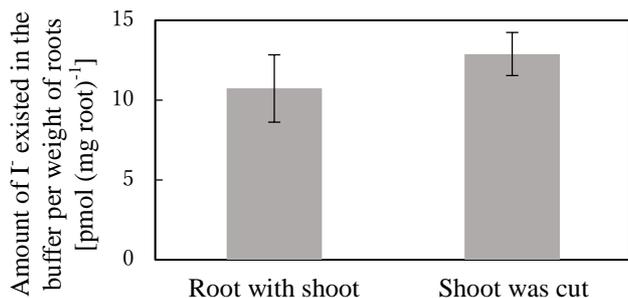


図 3 地上部の切除による、根における I の生成量への影響

根のヨウ素酸還元活性は緩衝溶液中に含まれる KIO_3 濃度に応じて上昇し、 $25 \mu\text{M}$ KIO_3 付近で還元速度の上昇は緩やかになる傾向が認められた。この傾向が酵素反応の反応速度曲線に類似していることから、根のヨウ素酸還元活性が酵素活性のように振る舞うことが明らかになった。

3-3. 根圏滲出液のヨウ素酸還元能の評価

根の滲出液を捕集した溶液を限外ろ過し、フイ

ルター上に残った濃縮液とろ液のヨウ素酸還元活性を調査したところ、還元物質はろ液に濃縮していることが明らかになった。以上のことから植物の根は 3 kDa 以下の非タンパク質性ヨウ素酸還元物質を根圏へと放出し、 IO_3^- を還元していると考えられた。

3-4. ヨウ素酸還元能の系統間差の評価

ヨウ素酸還元能には系統間でバリエーションがあり、その差は最大で約 4 倍であった (図 4)。各系統は遺伝型が異なるため、還元能の差は遺伝型の違いに由来すると考えられる。これは、シロイヌナズナの根におけるヨウ素酸還元に関連する遺伝子が存在することを示唆している。

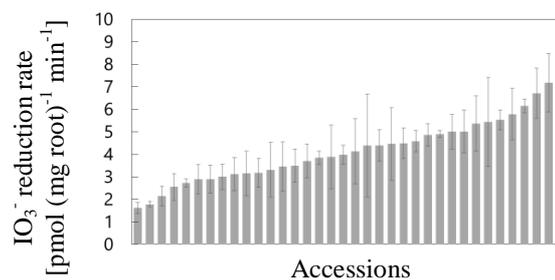


図 4 36 系統のシロイヌナズナにおけるヨウ素酸還元活性

4. 結論

本研究により、シロイヌナズナは土壤中の IO_3^- を根において還元し、導管液を介して I の形態で地上部へと輸送し、体内に蓄積することが明らかになった。この根におけるヨウ素酸の還元は、根が放出する 3 kDa 以下のヨウ素酸還元化合物によって根圏において行われていることが示唆された。また、36 系統のシロイヌナズナのヨウ素酸還元活性には系統間で差がみられたことから、根におけるヨウ素酸還元活性に関連するヨウ素酸還元に関連する遺伝子の存在が示唆された。

引用文献

- (1) Andersson, M. et al. *J Nutr.* **2012**, *142*, 744-750.
- (2) Claudia, K. et al. *Front. Plant Sci.* **2013**, *4* (205), 1-10.

対外発表

- 1) 石井暁, 西田翔, 池田智洋, 古田直紀: プラズマ分光分析研究会 2018 筑波セミナー, 2018, 茨城, ポスター発表.
- 2) 石井暁, 西田翔, 池田智洋, 古田直紀: 日本分析化学会第 67 年会, 2018, 宮城, 口頭発表.
- 3) Ishii Akira, Sho Nishida, Furuta Naoki: 2020 Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, 2020, Arizona, USA, Poster.