

世界初のカリウム非依存性セシウム取込タンパク質の同定に成功

◆本件の概要

放射性セシウムは、原発事故が起きた際に土壤中に蓄積し、深刻な土壤汚染問題を引き起こします。この土壤汚染問題は放射性セシウムの他に有害重金属であるカドミウムやヒ素でも深刻な問題となっています。この問題の解決法として、本研究グループはファイトレメディエーションという手法に注目しました。この手法は、植物に土壤中の有害物質を吸収させて浄化させるというものです。しかし、この手法を確立するためにはその有害物質を吸収する輸送機構を解明する必要があります。本研究では、カリウム非依存性セシウム取り込みタンパク質を発見しました。これまでに単離されているセシウムの輸送体は本来の仕事はカリウムを輸送するもので、カリウムとセシウムを間違えて輸送するというものでした。本研究では、カドミウムやヒ素を輸送することが明らかになっている ABC タンパク質に着目し、130 種類あるシロイヌナズナの ABC タンパク質の中から、セシウムを輸送するタンパク質を選抜することを行いました。選抜した輸送体はセシウムを輸送しますが、カリウムは輸送しないことが明らかとなり、これまでのセシウム輸送体とは異なるものであることがわかりました。

以上のとおり、本研究成果は、世界初のカリウム非依存性セシウム取り込みタンパク質の発見であり、未だ確立されていないファイトレメディエーション法の実現に大きく近づくものです。

本研究には、本学から生物資源科学部 秋廣高志 助教が参加しています。秋廣 助教は本研究において、酵母を用いた放射性セシウムの輸送活性の測定および本学が所有する高性能分析装置である誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) を用いた元素分析を行いました。

掲載紙 : Molecular Plant

論文名 : ATP Binding Cassette Proteins ABCG37 and ABCG33 function as potassium-independent cesium uptake carriers in Arabidopsis roots

◆本件に関する写真

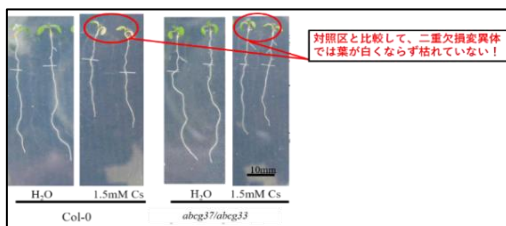


図 1. abcg33/abcg37-1 二重欠損変異体のセシウムに対する反応

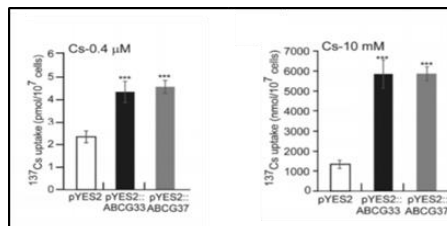


図 2. ABCG33 と ABCG37 を酵母菌による放射性セシウム吸収実験

◆本学連絡先

島根大学生物資源科学部 助教 秋廣 高志

TEL : 0852-32-6437

E-mail : akihiro <at> life.shimane-u.ac.jp ※ <at> は@に置き換えてください

◇その他

【添付資料 : あり (7枚) なし】

2021年2月15日

国立大学法人岩手大学
国立大学法人島根大学
国立大学法人東京大学大学院農学生命科学研究科

セシウムを効率的に取り込む植物タンパク質を世界で初めて同定

— 放射性セシウムで汚染された土壌を植物で浄化する手法の開発に前進 —

国立大学法人岩手大学は、国立大学法人島根大学、国立大学法人東京大学大学院農学生命科学研究科との共同研究により、セシウムを効率的に取り込む植物タンパク質を世界で初めて発見し、植物を用いて放射性セシウムで汚染された土壌を浄化するファイトレメディエーション（植物修復）法の実現可能性を初めて示しました。これは、岩手大学次世代アグリノベーション研究センター／農学部 Rahman Abidur（ラーマン・アビドゥール）准教授、島根大学学術研究院農生命科学系秋廣高志助教、東京大学大学院農学生命科学研究科田野井慶太郎教授らのグループによる研究成果です。

セシウムは、原発事故が起きた際などに拡散する放射性セシウムが土壌に蓄積し、深刻な土壌汚染問題を引き起こします。この解決法として、近年植物を使い土壌中の有害物質を吸収浄化させるファイトレメディエーション法が注目されています。過去の知見では、セシウムの植物内輸送の際にはカリウムの輸送も行われると考えられていました。そのため、セシウム輸送タンパク質を過剰発現させた遺伝子改変植物を使い土壌中セシウムを多く吸収させようとすると、土壌中カリウムもその植物に吸収されてしまうため、土壌中カリウムが枯渇し、植物の育たない土壌になってしまうといった問題点がありました。本研究では、まずモデル植物であるシロイヌナズナを使い、カリウムの輸送に影響しないセシウム取り込みタンパク質、ABCG33とABCG37を発見しました。更に、酵母を使った実験で、このタンパク質を高発現した酵母は、カリウム吸収量を増やすことなくセシウム吸収量だけを上昇させることを立証しました。以上の研究成果は、土壌中のカリウム枯渇を招くことなく植物で放射性セシウムを吸収できる可能性を示すものであり、放射性セシウム汚染土壌の完全なファイトレメディエーション法の実現に活用できると期待されます。本研究成果は、米国 Cell Press 社が発行する科学雑誌「Molecular Plant」に2021年2月13日（日本時間）に公開されました。

本研究成果のポイント

- ①カリウムの輸送に影響しないセシウム取り込み植物タンパク質、ABCG33・ABCG37を発見
- ②ABCG33とABCG37を高発現した酵母はセシウム取り込み量が増加することを立証
- ③ABCG33とABCG37を過剰発現させた植物は、放射性セシウム汚染土壌のファイトレメディエーション法の実現に活用できると期待

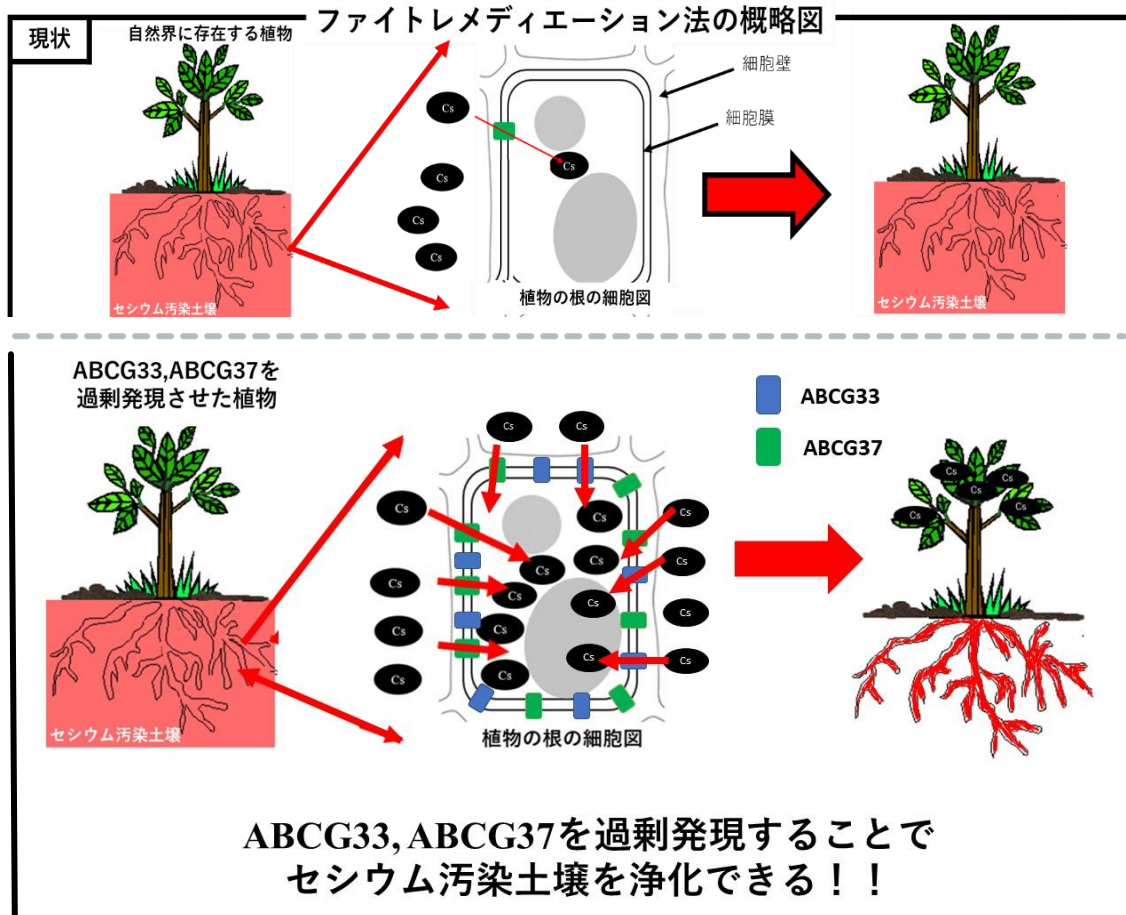


図 1. 研究成果の概要図. 本研究では、植物の根の細胞にセシウムを効率的に吸収できる ABC タンパク質ファミリーに属する 2 つのタンパク質、ABCG33 と ABCG37 を発見しました。将来、この 2 つのタンパク質を過剰発現した植物を創出できれば、土壤汚染で深刻な問題になっている放射性セシウムを効率的に除去できるファイトレメディエーション（植物修復）法が実現可能になると考えています。

1. 背景

土壌中には様々な物質が存在していますが、その中には人体に有害なカドミウムやヒ素といった有害金属も含まれています。原子力発電所の事故によって放出された放射性セシウムも有害金属の 1 つです。これらの有害金属によって土壌が汚染されると、食物連鎖を通して人体に蓄積されてしまうため、様々な病気の原因になります。土壌汚染問題を解決する様々な取組がこれまでに試されてきました。例えば、土壌表面を削り取る方法や、大量のカリウムを土壌に散布して植物にセシウムを吸収させなくする方法などが実際に行われました。しかし、これらの手法は、土壌環境を大きく変化させてしまうといった点や、経済的コストの面からも課題があり、決して有効な方法とは言えませんでした。そのため土壌中の有害物質を浄化する新たな手法開発が高く求められていました。

岩手大学では、平成30年4月に「岩手大学次世代アグリノベーション研究センター」を設置して、次世代農業イノベーションを目指した研究開発を行っております。本学農学部教員で当センターの一員でもあるラーマン准教授らによる研究グループは、放射性セシウムで汚染された土壌を浄化するために、ファイトレメディエーションという手法に注目しました。これは、土壌汚染地域で特定の植物（ファイト）を成長させながら有害物質を植物に吸収・蓄積させ、その植物を除去することで土壌汚染を浄化（レメディエーション）する方法です。この手法の利点は、従来法と異なり、土壌環境を大きく変化させずに汚染土壌の浄化ができることです。しかし、自然界の植物は、有害金属を吸収する際にカリウムも吸収する、即ち、カリウム依存性を有しています。そのため放射性セシウムに対して、ファイトレメディエーションを実現しようとする、土壌中のセシウムを多く吸収しようとするほどにカリウムも多く吸収されてしまい、土壌中のカリウムが枯渇して農業ができない土壌になってしまうという大きな問題点がありました。この課題を克服する為に、本研究グループは、カリウム非依存にセシウムを輸送するタンパク質を植物体内から見つけ出す必要があると考えました。

2. 研究手法・内容

研究グループは、植物から有害金属の輸送体を見つけるために、モデル植物であるシロイヌナズナ（注3）を使った過去の研究で、カドミウムやヒ素を輸送することが明らかになっているABCタンパク質（注2）に着目しました。まず、ABCタンパク質を発現しないシロイヌナズナ変異体を用いて、1.5 ミリモル濃度のセシウム下でスクリーニング（注4）を行い、高濃度セシウム濃度下で生存する変異体を探索しました。このスクリーニングでは、ABCタンパク質ABCG33とABCG37を発現しない変異体（二重欠損変異体）がセシウムの吸収を行いにくいことを発見しました（図2）。これにより、植物においてABCG33とABCG37の2つのABCタンパク質がセシウムの輸送に関与していることが考えられました。次に、この2つのABCタンパク質のセシウムに対する機能を明らかにするため、放射性セシウム（¹³⁷Cs）を利用して、ABCタンパク質ABCG33とABCG37を発現しない変異体（*abcg33abcg37* 二重欠損変異体）を使って放射性セシウム吸収能力を詳細に調べました。その結果、普通のシロイヌナズナに比べてABCG33とABCG37を持っていないシロイヌナズナの変異体の植物体内の放射性セシウム量は、有意に減少することが分かりました。この結果、ABCG33とABCG37はセシウムを取り込むタンパク質として植物体内で機能していることが明らかになりました。また、この変異体のカリウムに対する反応は自然のシロイヌナズナと同様であったことから、ABCG33とABCG37がカリウムの取り込みに影響しない、セシウム取り込みタンパク質であるという仮説が立てられました。

ABCG33とABCG37がカリウム非依存性のセシウム取り込みタンパク質であるのかを検証するために、本研究グループは、更に、ABCG33とABCG37を酵母菌（*Saccharomyces cerevisiae*）で発現させ、放射性セシウムの吸収実験を行いました。その結果、ABCG33と

ABCG37 を発現させた酵母菌では、発現させなかったものよりも放射性セシウム吸収量が有意に増加することを確認しました（図4）。更に、カリウム輸送体として知られていた 2 つのタンパク質 TRK1 と TRK2 を発現しない酵母変異菌に対して、ABCG33 と ABCG37、シロイヌナズナのカリウム輸送体（AtAKT1）をそれぞれ発現させる処置を施し、様々なカリウム濃度に対する酵母変異菌の反応を観察しました。その結果、ABCG33 と ABCG37 を発現させた酵母変異菌は、カリウム非存在下で成長することが出来なかった一方、カリウム輸送体を発現させた酵母変異菌は成長できることがわかりました（図5）。これらの結果により、ABCG33 と ABCG37 がカリウム輸送には関与していないことが立証されました。

3. 今後の展開

本研究では、植物においてカリウム非依存性セシウム輸送経路を世界で初めて解明し、その輸送に関わるカリウム非依存性セシウム取り込みタンパク質、ABCG33 と ABCG37 を発見しました。即ち、土壌中から植物体内にセシウムを吸収する新たな機構が明らかとなりました。ABCG33 と ABCG37 やその相同遺伝子をファイトレメディエーションに利用可能とされる植物で過剰発現させることができれば、放射性セシウムをより効果的に吸収する植物を創出できると考えられます。今後は、セシウムを含む有害金属除去に焦点を置いて、新たなファイトレメディエーション系の確立を目指した応用研究も進めたいと考えています。

【用語解説】

- 注1 ファイトレメディエーション：カドミウムやヒ素などによって汚染された土壌を、特定の植物を用いて、汚染物質を根から吸収・植物体内に蓄積させながら成長させ浄化するという、まだ確立されていない新しい手法。従来の方法とは異なり、植物を用いることで土壌環境を大きく変化させることなく汚染土壌を浄化することが出来るため、コスト面にも優れる。
- 注2 ABC タンパク質：細菌から動物まで、様々な生物がもっている非選択性輸送タンパク質。例えば、ヒトには 49 種類、この実験にも用いられているシロイヌナズナには 130 種類の ABC タンパク質が存在している。
- 注3 スクリーニング：自身の研究に関わる物質や条件で植物の反応を観察し、その反応の違いから目的の遺伝子などを探索する方法。
- 注4 シロイヌナズナ：学名は、*Arabidopsis thaliana*。双子葉モデル植物として世界中で広く用いられている。世代交代が早く、植物体も小さく実験のために扱いやすい。他のモデル植物としては、単子葉植物のイネなどが存在する。

本研究は、以下の研究事業の成果の一部として得られました。

- ・岩手大学次世代アグリイノベーションセンター研究費、科学研究費助成事業・基盤研

究（B）「低温ストレス応答の分子メカニズムを基盤とした低温耐性トマトの開発」
（岩手大学 Rahman 准教授）

- ・ 科学研究費助成事業・基盤研究（C）「究極の酵母タンパク質発現ライブラリーを用いたイネ膜輸送体の網羅的機能解析法の開発」（島根大学 秋廣助教）
- ・ J S T 戦略的創造研究推進事業・さきがけ「植物体内物質動態に関する表現型の定量評価基盤技術の構築」（東京大学大学院農学生命科学研究科 田野井教授）

【掲載論文】

掲載紙：Molecular Plant

論文名：ATP Binding Cassette Proteins ABCG37 and ABCG33 function as potassium-independent cesium uptake carriers in *Arabidopsis* roots

著者：Mohammad Arif Ashraf 岩手大学大学院連合農学研究科（研究当時）

秋廣 高志 島根大学学術研究院農生命科学系 助教

伊藤 圭汰 岩手大学大学院総合科学研究科 修士2年生

熊谷 沙耶香 岩手大学農学部植物生命科学科 学部生（研究当時）

杉田 亮平 東京大学大学院農学生命科学研究科 助教

田野井 慶太郎 東京大学大学院農学生命科学研究科 教授、J S T さきがけ

Rahman Abidur 岩手大学次世代アグリイノベーション研究センター／農学部植物生命科学科 准教授

公表日：2021年2月13日（日本時間）

URL：[https://www.cell.com/molecular-plant/fulltext/S1674-2052\(21\)00048-4](https://www.cell.com/molecular-plant/fulltext/S1674-2052(21)00048-4)

DOI 番号：10.1016/j.molp.2021.02.002

【本件に関するお問い合わせ】

岩手大学研究支援・産学連携センター／研究推進課

URA／課長 佐藤

電話：019-621-6850

メール：urapj@iwate-u.ac.jp

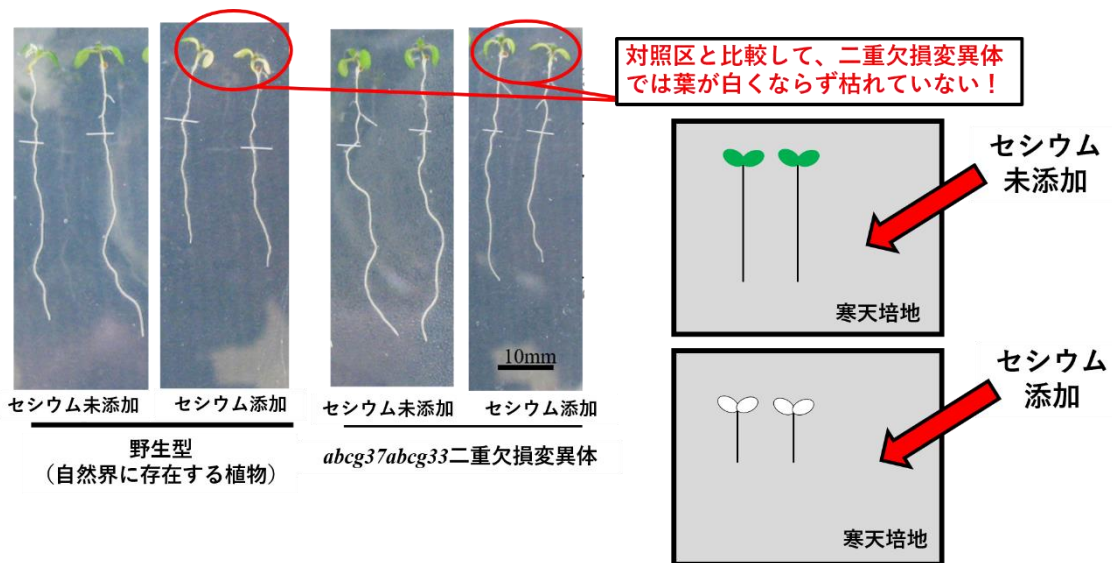


図2. シロイヌナズナの遺伝子変異体を使ってセシウム取り込みタンパク質のスクリーニングを行った実験結果。普通のシロイヌナズナ（野生株）では、1.5 ミリモル濃度でセシウムを培地に添加すると植物が過剰なセシウムを吸収してしまうため、枯れてしまい葉が白くなってしまう。一方、ABC タンパク質ファミリーに属する ABCG33 と ABCG37 が機能できない *abcg37abcg33* 二重欠損変異体は、培地からセシウムを吸収できなくなるので、セシウムに抵抗性をもち、セシウム添加培地上でも枯れずに生育することができる。

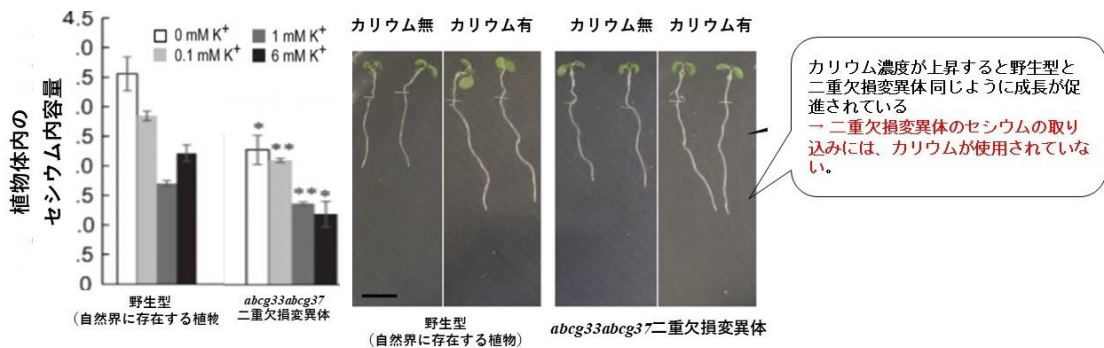


図3. 放射性セシウムを利用したシロイヌナズナの放射性セシウム吸収試験の結果。(A) シロイヌナズナ変異体 (*abcg33abcg37* 二重欠損変異体) のセシウム含量はカリウム濃度に関係なく、普通のシロイヌナズナ（野生株）より減少している。(B) *abcg33abcg37* 二重欠損変異体のカリウムの有無に対する反応は野生型と変わらない。

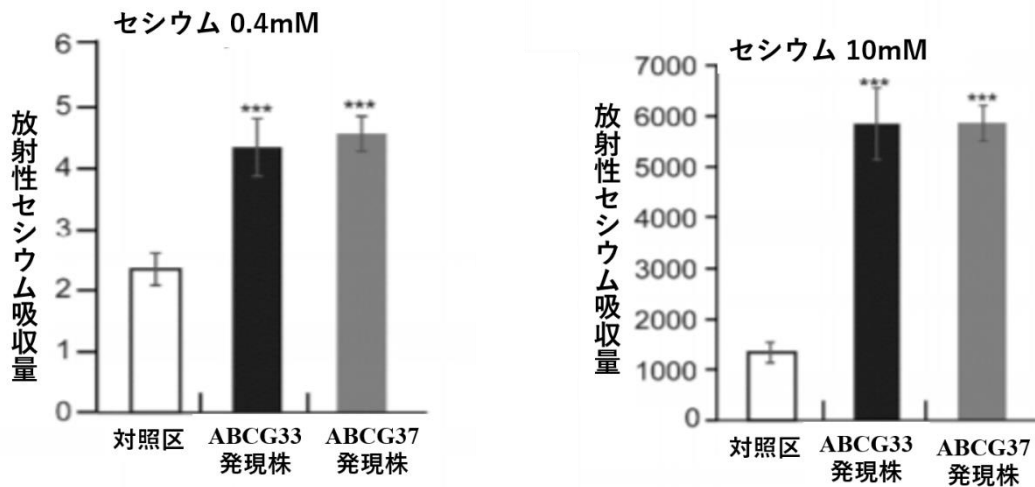


図4. 酵母菌を使った ABCG33, ABCG37 の機能解析実験の結果。遺伝子組み換え実験で ABCG33 と ABCG37 を発現させた酵母変異菌では、放射性セシウムの培地中濃度が低くても高くても普通の酵母菌（対照区）に比べて放射性セシウム吸収量が増加していた。

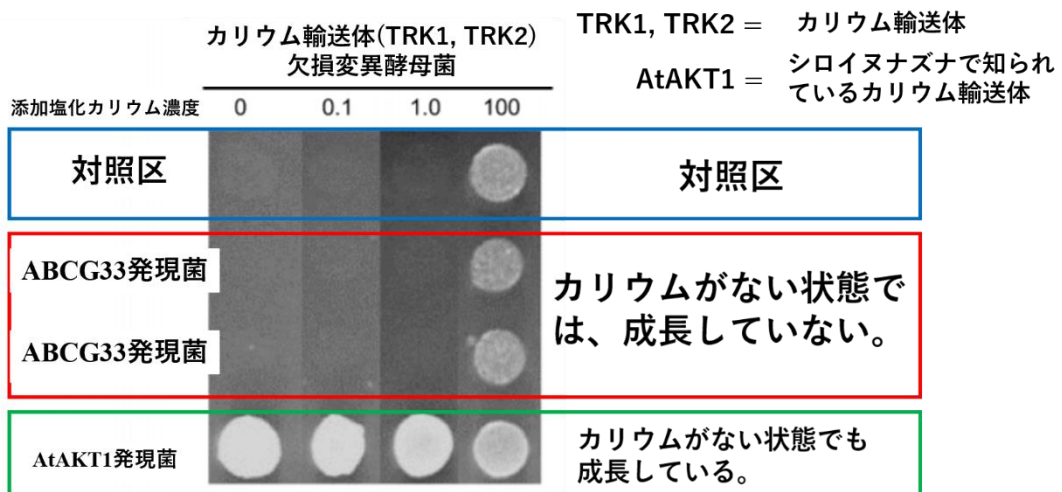


図5. ABCG33 と ABCG37 を酵母菌によるカリウム反応実験。添加塩化カリウム 0 ミリモル濃度でも培地には少量のカリウムが存在する。高親和性カリウム輸送体 (AtAKT1) が存在すると、カリウム添加のない (0 ミリモル濃度) の培地でも成長できるが、ABCG33 と ABCG37 導入酵母菌では、対照区と同様、カリウムが少ない状態では成長できない。