# 放射光蛍光 X 線分析および放射性同位体分析による モエジマシダ前葉体におけるヒ素とリンの in vivo 解析

柏原輝彦<sup>1,2</sup>,保倉明子<sup>1,3</sup>,中井泉<sup>1</sup> <sup>1</sup>東京理科大学理学部応用化学科,<sup>2</sup>広島大学大学院理学研究科地球惑星システム学専攻, <sup>3</sup>東京電機大学工学部環境化学科

# In vivo analyses of arsenic and phosphorus in the gametophyte of Pteris vittata L. using SR-XRF and radioisotope

Teruhiko Kashiwabara<sup>1,2</sup>, Akiko Hokura<sup>1,3</sup>, Izumi Nakai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Applied Chemistry, Faculty of Science, Tokyo University of Science, <sup>2</sup>Depertment of Earth and Planetary Systems Science, Graduate School of Science, Hiroshima University <sup>3</sup>Department of Green and Sustainable Chemistry, School of Engineering, Tokyo Denki University

### 1.はじめに

モエジマシダ(Pteris vittata L.)は,陸上におけるヒ素(As) 高集積植物(ハイパーアキュムレーター)として 2001 年に 初めて報告されたシダである[1]。乾燥重量に換算して最 高で 22,000 ppm もの高濃度で As を吸収・蓄積し,その大 部分を地上部へ蓄積する特異的な性質をもつことから,現 在,ファイトレメディエーション(植物を利用した環境浄 化)への応用が最も期待されている植物である。実際に, 欧米ではモエジマシダを用いたファイトレメディエーショ ンは既に実用化されており,日本でも実用化段階へ移行し つつある[2]。

ヒ素はそのヒトに対する毒性から環境化学的に注目を集 めている元素であるが、植物にとっても毒性の高い元素で あるため、モエジマシダのもつ高い As 耐性および蓄積能 は植物生理学的な観点からも非常に興味深い。これまで、 原子吸光法や HPLC/ICP-MS などによる As の定量分析や 化学形態分析、さらに SEM-EDS、EPMA による微小領域 のマッピング等が世界各地で精力的に行われ、モエジマシ ダは地上部の羽片に 90%以上の As を蓄積すること、その 大部分が As(III) に還元された状態で存在していること等 が明らかとなっている。また、As は同族必須元素である P の吸収経路を介して体内に吸収されること、細胞内小器 官である液胞への区画化(封じ込め)やタンパク質との結 合による As の無毒化等、モエジマシダ体内での吸収・移 行・解毒・蓄積の各プロセスについて様々な説も提唱され ている [3-5]。

このような中で,我々は放射光蛍光X線分析および XAFS 解析を重金属蓄積植物の研究へ先駆的に導入し,モ エジマシダを含むいくつかの植物体内における As, Cd, Zn, Pb, Cu等の有害元素の分析を行うことで,植物のもつ重金 属の蓄積機構に関して様々な知見を得てきた [6-11]。この 手法は,上述した従来からの分析手法とは異なり,非破壊 分析であり,かつ重元素の分布および化学形態に関する情 報が大気中で感度良く得られるため,分析結果をそれぞれ の組織構造がもつ生理機能と結びつけることを,植物が生 きたままの状態で行えるという大きな利点をもつ。さらに, マイクロビームを用いれば,細胞レベルの空間分解能で分 析を行うことも可能であり, ミクロからマクロまでの様々 な階層をもつ植物生理の研究において, 優れた方法論の一 つと成り得る。

通常の植物と異なり、モエジマシダ体内に蓄積された As のほとんどが As(III) に還元されることは注目すべき現 象である。一般的に, As は地球表層の酸化的環境におい て As(V) の方が安定であり、また、As(III) の方が生物にと ってより有毒な形態と考えられている。従って、なぜモエ ジマシダ体内でAsが還元されるのかといった問題は、大 量蓄積機構との関連から非常に興味深い。一方, As は同 族必須元素の P と化学的挙動が似ていることから、P の代 謝経路への侵入が As の示す強い毒性の一因として考えら れている。従って,正常な生命活動を維持するためには, 植物体内における AsとPの識別が鍵になると考えられる。 以上のような, (i) As の生体内還元作用, および (ii) As と Pの識別機構の二つの問題に対する理解は、モエジマシダ における "Asの大量蓄積"と"正常な生命活動の維持"と いう一見相反する二つの現象を両立する特異な生理機構の 解明には不可欠であり、そのためには As と P 等の元素の 挙動(分布,化学形態)を植物体各組織やライフサイクル に沿って一つ一つ明らかにしていくことが重要となる。

本稿では、このような背景の下に行ったモエジマシダ前 葉体に関する研究[11]の一部を紹介する。後述するように, 前葉体は胞子発芽からの初期の姿であり、その生長過程に おいて様々な組織構造を発達させるため、組織構造の有無 と元素の挙動との関係性を議論するのに適した系である。 同時に、この系を対象として異なる植物種ごとの比較を行 うことで、生長過程における As の挙動の共通性および特 異性を見出すことが期待できる。この点に着目して我々は, 前葉体における As と P の比較解析を試みた。ただし、P に関しては軽元素であり、大気中では蛍光X線が著しく減 衰してしまうため As と同様の in vivo 分析は難しい。そこ で, 放射性同位体を相補的に用いることで, 植物体内の P の挙動も生きたまま分析し、As との比較を行った。本研 究のポイントは、(i) 放射光蛍光X線分析を用いた As の挙 動解析, (ii) 放射性同位体を用いた P の挙動解析, (iii) 他 のシダ植物との比較、という三つのアプローチをモエジマ

シダ前葉体に適用することで、生長過程に沿ったAsとP の比較解析を行い、As高集積植物としてのモエジマシダ 特有の生理機構に関する知見を *in vivo*の測定によって得 たことである。

## 2. モエジマシダ前葉体の生長過程における As の分布と 化学形態の評価

モエジマシダはそのライフサイクルにおいて胞子体と前 葉体の二種類の世代をもつ。胞子体は通常我々の身の回り で目にするシダ植物の姿であり,維管束や羽片等の組織 構造が発達し,バイオマスも大きくAs蓄積量も多いこと から,多くの研究対象として用いられてきた[3-8]。一方, 前葉体は細胞1~5層程度のシート状の構造をもち,胞子発 芽からの初期の段階の姿である。胞子体と異なり形態が単 純である,生長が比較的早く環境を制御しやすい,均一な 栽培が可能で実験結果の再現性が取りやすい等の利点があ ることから,近年,特に分子生物学的な研究に適した系と して注目され始めている[12]。

これまで,胞子体と比較して前葉体についての分析例は ほとんどなかった。それは,前葉体のサイズが小さく,か つ空気中で乾きやすいといった特徴をもつため,大気中で 生きたまま扱うことが困難であったことが理由の一つとし て考えられる。そのため,胞子発芽から前葉体を介して胞 子体の組織構造を成熟させる生長過程において,モエジマ シダ体内における As の分布はどう変わるのか,あるいは As の還元機構はいつ発現するのか,といった基本的な情 報は明らかになっていなかった。これらは,実際の As 汚 染サイトでモエジマシダがどのように成長していくのか, あるいはその生長過程にどのような特徴があるのかを明ら かにしていく上でも重要な情報である。

前葉体のような微小試料の分析には、高感度、かつ高い 空間分解能をもった分析法が必要であり、さらに生きたま まの状態で分析を行うには、大気中で扱えることが望まし い。そこで我々は、放射光マイクロビーム蛍光X線分析お よび XAFS 解析を適用し、いくつかの異なる生長段階の モエジマシダ前葉体について、As の分布と化学形態を調 べた。

生長過程をいくつかのステージに分類し,以下の三つの ステージに着目した。すなわち,胞子発芽からまだ特別な 構造を持たないステージ1(発芽から約2週間),生長点を 明確にもちハート型になり,生殖器が発達したステージ 2(発芽から約1ヶ月),受精後,胞子体が立ち上がり前葉 体と共存するステージ3(発芽から約2ヶ月)である。そ れぞれのステージのシダをAs濃度50ppmの培地(H<sub>2</sub>AsO<sub>4</sub> で調製)で3日間栽培し,As投与を行った。これらを寒 天で包埋してアクリルプレートに固定し,保水することで 長時間生きたままの状態を保てるように工夫し,測定に供 した。XRF二次元イメージングをPFBL-4Aで,XAFS解 析をPFBL-12Cで行った。二次元イメージングの測定に 際し,前葉体はステージ毎に試料サイズが大きく異なる ことから,異なる集光法を用いて,それぞれ4μm(V)× 4 μm(H) (K-B ミラー, ステージ 1), 30 μm(V) × 30 μm(H) (ポ リキャピラリー, ステージ 2), 200 μm(V) × 200 μm(H) (ス リット, ステージ 3) のビームサイズを得て試料に照射した。

Fig. 1 にそれぞれの生長ステージにおける As の XRF イ メージングの結果を示す。イメージングは測定範囲内で得 られた蛍光X線強度の最大点を赤、最小点を青に対応させ た 256 階調のカラースケールで示してある。まず、ステー ジ1(Fig. 1(a))では、Asは主に胞子と仮根にそって存在 し、また、うっすらとシート状の細胞にも見られた。次 にステージ2(Fig. 1(b))では、シート状の細胞層にそって As が一様に分布する一方で、仮根の付け根付近、すなわ ち生殖器が発達する部位では As はほとんど検出されない ことが明らかとなった。これに対し、受精後のステージ3 (Fig. 1(c))では、As は胞子体の地上部に蓄積されており、 成熟した胞子体についてこれまで報告されてきたように, As を効率的に地上部へ移行させるしくみが存在すること が示唆された。このように、各生長ステージで見られる組 織構造の発達に対応して, As の体内分布が変化する様子 を可視化することに成功した。一方, 各ステージの前葉体 における As K-edge XANES を Fig. 2 に示す。KH<sub>2</sub>AsO<sub>4</sub> を 添加した培地において As は As(V) で存在しているが (Fig. 2(c)), 全てのステージの前葉体において取り込まれた As は大部分が As(III)の形態で存在していることが分かる (Fig. 2(d)-(g))。これより、組織構造の発達によらずに植物 体内で As の還元が起きることが明らかとなった。

また注目すべきはステージ2のイメージング結果におい て,生殖器付近でAsの存在量が低いことである。一般的に, Asに対する植物の耐性は,Asを液胞へ区画化することに よってなされるという細胞レベルの無毒化機構が考えられ ている。今回得られたAsの分布は生殖器という重要な組 織からのAsの隔離,すなわち組織レベルのスケールでの Asの区画化を反映している可能性が考えられることから, モエジマシダ前葉体において,組織レベルでもAs耐性機 構が備わっていることが示唆された。

さらに, 生長ステージによらずに As の還元が生じるこ とも特筆すべき点である。これまで行われてきた他の植物 との比較から, As の還元はモエジマシダのハイパーアキ ュムレーターとしての特徴であると考えられているが, こ の還元は主に葉で起きるといった報告 [13] や, 根で起き るといった報告 [14] 等が様々あり, この還元がどこで生 じるのかについては, 明確な結論は出ていなかった。これ に対し, 本研究では, 根, 茎, 葉といった胞子体独自の組 織, あるいは前葉体の生殖器や生長点といった組織の有無 と関わらず, 胞子発芽からの初期の段階 (ステージ 1) か ら還元が生じることを明らかにし, As の還元は各々の細 胞に備わっている基本的な性質を反映していることを示し たと言える。

以上のように,前葉体はモエジマシダのもつ組織構造と As の挙動の関係を議論するのに適した系であるといえる。 胞子発芽から前葉体を介して組織構造を成熟させるモエジ マシダの生長過程において,Asの分布と化学形態をこの



#### Figure 1

The distribution of arsenic in *P. vittata* gametophytes in different growth stages. SP: spore, RH: rhizoid, RA: reproductive area, GA: gametophyte part, FS: frond of sporophyte, RS: root of sporophyte. The red squares in photographs are measurement areas by XRF imaging.



#### Figure 2

Arsenic K-edge XANES spectra of reference materials and the gametophytes of *P. vittata.* 

ように追跡にしていくことで,各組織構造およびその機能 がAsの蓄積に果たす役割に関して,なんらかの手がかり を見出すことが期待できる。今後,タンパク質や遺伝子の 発現等に関する生物学的データと組み合わせて詳細な実験 を行うことは,生長過程で発現するAs高集積植物として の特異的な生化学プロセスの存在,あるいは植物個体全体 のシステムとしてのAs蓄積機構の発達等を理解していく 上で有効であろう。



(c) A. yokoscense (before fertilization)

#### (d) A. yokoscense (after fertilization)

### Figure 3

The distribution of arsenic in gametophytes of *P. cretica* and *A. yokoscense* before/after fertilization. RH: rhizoid, RA: reproductive area, GA: gametophyte part, FS: frond of sporophyte, RS: root of sporophyte. The red squares in photographs are measurement areas by XRF imaging.

## 3. オオバノイノモトソウおよびヘビノネゴザの前葉体に おける As の分布と化学形態の評価

近年,モエジマシダ以外にも As を蓄積するシダ植物が いくつか報告されている。モエジマシダと同じ Pteris 属 に分類されるオオバノイノモトソウ (Pteris cretica L.) は, As のハイパーアキュムレーターとして、地上部と地下部 にそれぞれ 2,800 ppm, 750 ppm の As を蓄積することが報 告されている一方で[15], 無性生殖というモエジマシダと は異なる生殖様式をとる。また、従来から Cd, Cu, Pb, Zn のハイパーアキュムレーターとして知られるヘビノネゴザ (Athyrium yokoscense) [16,17] は、As の蓄積能をもつ一方 で, 地上部に約 900 ppm, 地下部に約 2,200 ppm というモ エジマシダとは異なる体内分布を示すことが報告されてい る [18]。このようにモエジマシダと生殖様式や As の分布 が異なるシダを比較・研究することは、As 大量蓄積に関 する3種のシダの共通性や特異性等の新たな知見につなが ると期待される。しかしながら、モエジマシダ以外の前葉 体において As を分析した例はなく, 生長過程における As の挙動にどのような特徴があるかは分かっていない。そこ で我々は, 放射光蛍光X線分析を用いて, オオバノイノモ トソウとヘビノネゴザの前葉体についても研究を進めた。 そして, モエジマシダ前葉体に関して得られた知見と比較 することで、それぞれのシダの特性(生殖様式, 蓄積様式) と As の挙動がどう関係するのかを見出すことを目指した。

実験では、モエジマシダにおいて特に特徴的であった 受精前後の二つのステージ (ステージ2と3) に着目した。 それぞれの植物種に対し、50 ppm (オオバノイノモトソ ウ)、1 ppm (ヘビノネゴザ)の濃度で As を投与した (培地 は KH<sub>2</sub>AsO<sub>4</sub> で調製)。3 日間後、寒天包埋して保水したも のを分析に供した。分析は PF BL-4A と BL-12C で行った。

オオバノイノモトソウとヘビノネゴザにおける As の XRF イメージングの結果を Fig. 3 に示す。まずオオバノイ



Figure 4

Arsenic K-edge XANES spectra of reference materials and gametophytes of *P. cretica* and *A. yokoscense* before fertilization.

ノモトソウの前葉体は、受精前(Fig. 3(a))、シート状の細 胞と比較して生殖器付近に As の蓄積が見られることが明 らかとなった。また、受精後のステージ (Fig. 3(b)) では、 前葉体と胞子体の両方に As が分布している様子が見られ た。これに対し、ヘビノネゴザ前葉体については、受精前 の前葉体 (Fig. 3(c)) において, うっすらと細胞の形に沿っ て As が存在する一方で、他の二つのシダとは異なり、As は仮根に多く存在していた。また, 受精後のステージ (Fig. 3(d))においても、Asは胞子体の根に多く存在しており、 他の二つのシダのような地上部への移行はほとんど見ら れなかった。一方, XANES 測定の結果 (Fig. 4), どちら の前葉体においても As の還元が起こっていることが明ら かとなった (Fig. 4(d),(e))。さらに、ヘビノネゴザに関し ては(Fig. 4(e)),他の二つのシダと比較しておよそ 1.0 eV 低エネルギー側にピークトップがあり、これは参照物質で ある As<sub>2</sub>S<sub>3</sub> と同じピークトップのエネルギーであることか ら、AsはSと結合していることが推定された。

これら二種類のシダの前葉体における As の分布に関す る報告は、本研究が初めてであった。特に、無性生殖を示 すオオバノイノモトソウにおいて、受精前のステージで生 殖器周辺に As が多く存在していることは、有性生殖を示 すモエジマシダと対照的であり、それぞれの生殖様式の違 いを反映した興味深い結果が得られたといえる。これらの シダは互いに Pteris 属に分類されている一方で、胞子発芽 から1ヶ月後の前葉体では既にそれぞれの特徴を備えてお り、特に生殖器付近に As を蓄積させないことがモエジマ シダの特徴の一つとして明らかになったといえる。一方、 ヘビノネゴザは従来から、Pb, Cu, Zn 等の重金属を根に特



Figure 5

The distribution of phosphorus in gametophytes of *P. vittata* before/ after fertilization. RH: rhizoid, RA: reproductive are, FS: frond of sporophyte, RS: root of sporophyte.

異的に蓄積することが知られているが,Asについても同 様に胞子体の根に蓄積されている様子が可視化されると同 時に,受精前の前葉体の仮根にもAsを多く蓄積している ことが明らかとなった。前葉体の仮根は,養分吸収に関し て胞子体の根と役割が似ているということは従来から言わ れているが,Asの蓄積についても,胞子体の根と同様の 性質をもつと推測された。

ヒ素の化学形態に関する報告も、これらの前葉体につい ては本研究が初めてである。通常の植物の場合, As の還 元は、解毒機構の一過程として、グルタチオン (GSH) や ファイトケラチン (PCs) 等のチオール基を含む化合物と の錯生成によって起こり、その結果、Asの隣接原子はS になると考えられている [19]。一方,地上部への輸送の一 過程として、根における木部へのAsの積み込みは、ハイ パーアキュムレーターかどうかを問わず、主にオキシア ニオンの形態(亜ヒ酸とヒ酸)に対して行われるため、As-GHS や As-PCs は地上部へあまり輸送されないといった報 告もなされている [20]。本研究では、As 蓄積能をもつ三 種のシダにおいて共通して As の還元が認められたが、三 種のうち、ハイパーアキュムレーターでないヘビノネゴザ のみ As-S 結合の存在が示唆された。このことは、上記の ような As の解毒および輸送に関する従来の報告と矛盾な く、以下のように解釈することができる。すなわち、ヘビ ノネゴザでは受精前の維管束組織を持たない前葉体は、細 胞レベルで As-S 結合をもつ錯体を形成して As を解毒す る。そして受精後,維管束組織が発達したステージでは, 解毒・蓄積された As はオキシアニオンではないことから 木部への積み込みは行なわれず、胞子体地上部への移行は ほとんど見られない。これに対し、ハイパーアキュムレー ターである二つのシダ (モエジマシダとオオバノイノモト ソウ)は、ヘビノネゴザとは異なる解毒機構をもち、オキ シアニオンとして As を還元するため, 受精後, 維管束組 織の発達と共に胞子体地上部へ移行した様子が観測される。

ここで明らかになった重要なことは、As の還元機構は 細胞レベルで備わった現象であり維管束等の特定の組織構 造の有無とは関係なく起きる現象で、この還元機構の違い が植物種による As の地上部への移行の有無を決めている 可能性があることである。As とチオール基を含む化合物 との間に明確な関係が認められないにも関わらず,なぜ通 常より高い As 耐性を示すのかといったハイパーアキュム レーターのもつ解毒機構は未だに分かっていない。しか しながら,このように植物間の As の分布や化学形態の違 いに着目することで,As の解毒機構と体内分布の関係に ついて一つの仮説を提示することができた。これにより, As の還元機構の詳細を調べることが,ハイパーアキュム レーターにおける As の蓄積挙動の特異性を明らかにする 上でも重要な課題の一つであることが改めて示唆されたと 言える。

# 4. 放射性同位体元素を用いたモエジマシダ前葉体における P のイメージング

以上に示してきたように,放射光蛍光 X 線分析では As のような重元素の分布および化学形態については大気中で 感度よく分析できるものの,軽元素の蛍光 X 線は空気中 で著しく減衰してしまうため,植物が生きた状態での分析 は難しいといった問題点も持つ。一方で,有害重金属元素 に限らず,多量必須元素を含むより多くの元素を非破壊で 分析できれば,様々な生理現象を突き止めることができる はずである。特に同族元素であり,化学的挙動が似ている Pは,As高集積植物であるモエジマシダ体内において,様々 な場面で As と競合関係を引き起こすと考えられるため, その挙動を把握することは重要な課題である。

しかしながら,これまでなされてきたモエジマシダのP に関する研究では,胞子体については器官レベルの定量や SEM-EDSによる分析が行われているのみであり[4],さら に前葉体に関しても,そのサイズの小ささから個体レベル の定量分析しかなされていない[12]。そのため,Asにつ いてこれまで得られた知見との比較・検討は十分ではなか った。そこで,放射性同位体 (RI)を用いたPの分析を放 射光蛍光X線分析と相補的に用いることで,モエジマシダ におけるPの挙動を非破壊で明らかにすることを試みた。

試料には、受精前後のモエジマシダ前葉体を用い、P のトレーサーとして、 $\beta$ 線放出核種である<sup>32</sup>P(半減期: 14.3 日、最大 $\beta$ 線エネルギー:1.711 MeV)を用いた。P 濃度 4.1 ppm の通常培地に<sup>32</sup>P を PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>の形態で添加し、 As も AsO<sub>4</sub><sup>3-</sup>の形態で 50 ppm になるように添加した。こ の培地で前葉体を栽培することで、<sup>32</sup>P の投与を行った。3 日間の投与期間の後、洗浄してイメージングプレートに露 光した。その後、イメージングプレートの読み出しを行い、 P のイメージング像を得た。

Fig. 5(a) は受精前のモエジマシダ前葉体についての P の 分布である。P は前葉体全体に分布し,特に仮根付け根お よび生殖器周辺の数百ミクロン角の範囲内に多く存在し ていることが明らかとなった。一方,Fig. 5(b) は受精後の ステージについてのイメージング結果である。P は植物体 全体に行き届いており,主に,胞子体地下部の根と,伸長 途中の葉の先端に多く蓄積されていることが明らかとなっ た。このように,受精前後の植物体内の P の分布を,組 織レベルの空間分解能で可視化することに成功した。 一般的に,通常の植物は As 投与によって枯死し,その 体内において P は地上部に,As は地下部に多いという元 素分布を示すことが知られている。これに対し,As に耐 性をもつモエジマシダでは,これまでの成熟した胞子体に おける器官別の定量分析から,As は地上部に多く,P は 地下部に多いという異なる元素分布を示すという報告がな されており,胞子体地上部へAs を効率的に輸送・蓄積す ることがハイパーアキュムレーターとしての重要な特性の 一つであると考えられてきた。本研究の受精後のステージ の結果でも,胞子体地上部へのAs の蓄積 (Fig. 1(c))と, 胞子体地下部へのP の蓄積 (Fig. 5(b))が可視化されたこ とから,受精後のまだ早いステージの胞子体においてもこ のようなモエジマシダ特有のAsとPの関係が実現されて いることが明らかとなった。

さらに今回,受精前の前葉体において,生殖器付近の 数百ミクロン角の範囲内に P が多く蓄積されていること (Fig. 5(a))が明らかとなった。これは放射光マイクロビー ムで明らかになった As の挙動 (Fig. 1(b))と対照的である ことから,この部位において P を蓄積し,As を蓄積させ ない何らかの生理機構が存在することが示唆されたと言え る。このような組織レベルでの As と P の認識機構の存在 を報告したのは本研究が初めてであり,今後,モエジマシ ダ前葉体の生殖器付近に着目して,タンパク質や遺伝子等 に関するより生物学的なアプローチを行うことで,モエジ マシダのもつ As と P の認識機構に関して新たな知見が得 られることが期待される。

以上のように、モエジマシダにおける As と P の挙動の 違いが、これまでより高い空間分解能で植物体全体につい て明らかになった意義は大きい。植物体のもつ各組織は、 それぞれ植物個体全体に対して異なる役割をもつため、当 然、組織によって、元素の要求度や元素の働きは異なる。 そのため、それぞれの組織において異なった As と P の関 係が存在する可能性がある。従って、本研究のように、高 い空間分解能で As と P の挙動を可視化することができれ ば、鍵となる組織を特定し、その組織のもつ本来の生理機 構との関連性から、識別に関する手がかりを得られる可能 性がある。すわなち、放射光蛍光 X 線分析と同時に放射 性同位体を相補的に用いて P の *in vivo* 解析を行うことは、 As 蓄積に関して植物体内に存在する生理機構の解明に有 効なアプローチであると言える。

## 5.まとめ

本稿では,放射光蛍光X線分析および放射性同位体分析 の二つの非破壊分析法を用いて行ったモエジマシダ前葉体 における As と P の *in vivo* 解析,および他のシダ植物との 比較に関する研究を紹介した。本研究により,モエジマシ ダ,オオバノイノモトソウおよびヘビノネゴザの三種のシ ダ植物前葉体について,胞子発芽からの生長過程における As と P の挙動に関する基本的な情報を *in vivo* で得ること に成功し,(i) As の生体内還元作用,および,(ii) As と P の認識機構に関して,いくつかの有用な知見を得ることが できた。今後,より高い空間分解能での比較解析,あるい は様々な栽培条件下での検討等を実現させて引き続き分析 を行うことで,それぞれの元素の挙動の違いを,ミクロか らマクロまでの様々なスケールで詳細に明らかにすること ができるであろう。

植物体内の元素の挙動(元素の局在,化学形態変化,動 態等)は,遺伝子やタンパク質,細胞,組織,器官等のさ まざまな階層で存在する生体物質や,それらが働くことに よって起こる生理現象そのものである。したがって,植物 体内の元素の挙動を化学的側面から解明していくことは, その背後にある生理機構の存在を明確化していくことを意 味し,生物学的知見を得るための基礎的データを与える。 今後,本研究のようなアプローチがモエジマシダを含む 様々な重金属蓄積植物のもつ特異な生理現象の理解に貢献 することを期待する。

## 謝辞

本稿では,著者である柏原輝彦が東京理科大学大学院の 修士課程在学時に行った研究で得られた成果の一部を紹介 させていただきました。本研究を行うにあたり,(株)フ ジタの北島信行博士,理化学研究所の阿部知子博士には試 料や栽培場所を提供していただき,さらに植物生理学上の 沢山のディスカッションをしていただきました。また東京 大学大学院農学生命科学研究科の中西友子教授,田野井慶 太助教には RI 実験に際して甚大なご協力をいただきまし た。高エネルギー加速器研究機構の飯田厚夫教授には,マ イクロビームのセットアップ等でお世話になりました。こ の場を借りて皆様に御礼申し上げます。なお,本実験は PF BL-4A, 12C (課題番号:2004G332, 2006G124, 2007G638) にて行われました。

## 参考文献

- Ma L.Q., Komar K.M., Tu C., Zhang W., Cai Y., Kennelley E.D., *Nature*, **409**, 579 (2001).
- [2] 北島信行:モエジマシダによるヒ素浄化, "メタルバ イオテクノロジーによる環境保全と資源回収-新元素 戦略の新しいキーテクノロジー"植田充美,池道彦 監修シーエムシー出版, p.84-90 (2009).
- [3] Chen R., Smith B.W., Winefordner J.D., Tu M.S., Kertulis G., Ma L.Q., *Anal. Chim. Acta*, **504**, 199-207, (2004).
- [4] Lombi E., Zhao F.-J., Fuhrmann M., Ma L.Q., McGrath S.P., New Phytol., 156, 195-203 (2002).
- [5] Webb S.M., Gaillard J.-F., Ma L.Q., Tu C., *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 754-760, (2003).
- [6] Hokura A., Omuma R., Terada Y., Kitajima N., Abe T., Saito H., Yoshida S., Nakai I., J. Anal. At. Spectrom., 21, 321-328 (2006).
- [7] 柏原輝彦,保倉明子,北島信行,小沼亮子,斉藤宏之, 阿部知子,中井 泉,分析化学,55,743-748 (2006).
- [8] Kitajima N., Kashiwabara T., Fukuda N., Endo S., Hokura A., Terada Y., Nakai I., *Chem. Lett.*, 37, 32-33 (2008).

- [9] Fukuda N., Hokura A., Kitajima N., Terada Y., Saito H., Abe T., Nakai I., J. Anal. At. Spectrom., 23, 1068-1075 (2008).
- [10] 三尾咲紀子,柏原輝彦,保倉明子,北島信行,後藤文之,吉原利一,阿部知子,中井泉, X線分析の進歩, 40,183-193 (2009).
- [11] Kashiwabara T., Mitsuo S., Hokura A., Kitajima N., Tomoko A., Nakai I., Metallomics (2010) in press.
- [12] Gumaelius L., Lahner B., Salt D.E., Banks J.A., Plant Physiol., 136, 3198-3208 (2004).
- [13] Kertulis G.M., Ma L.Q., MacDonald G.E., Chen R., Winefordner J.D., Cai Y., *Environ. Exp. Bot.*, **54**, 239-247 (2005).
- [14] Zhao F.-J., Ma J. F., Meharg A.A., MacGrath S.P., New Phytol., 181, 777-794 (2009).
- [15] Zhao F.-J., Dunham S.J., McGrath S.P., New Phytol., 156, 27-31 (2002).
- [16] Honjo T., Suganuma H., Satomi N., J. Phytogeogr. Taxon., 32, 68-80 (1984).
- [17] Yoshihara T., Tsunokawa K., Miyano Y., Arashima Y., Hodoshima H., Shoji K., Shimada H. Goto F., *Plant Cell Reports.*, 23, 579-585 (2005).
- [18] Van T.K., Kang Y., Fukui T., Sakurai K., Iwasaki K., Aikawa Y., Phuong M., *Soil Sci. Plant Nutr.*, **52**, 701-710 (2006).
- [19] Kraemer U., Pickering I.J., Prince R.C., Raskin I., Salt D.E., *Plant Physiol.*, **122**, 1343-1353 (2000).
- [20] Huang Z.-C., Chen T.-B., Lei M., Liu Y.-R., Hu T.-D., *Environ. Sci. Technol.*, 42, 5106-5111 (2008).

(原稿受付日:2010年3月28日)

## 著者紹介

柏原輝彦(Teruhiko Kashiwabara)

広島大学大学院理学研究科地球惑星システム学専攻(D2),

日本学術振興会特別研究員 (DC2)

最近の研究:重元素の化学種変化と安定同位体比の変動の 関係,微量元素の水溶解性と生体必須性との関係。

E-mail: teruhiko-hekeke@hiroshima-u.ac.jp

保倉明子 (Akiko Hokura) 東京電機大学工学部環境化学科 准教授 最近の研究:重金属蓄積植物の放射光蛍光X線分析,環境 中微量元素の動態解明。

E-mail: hokura@mail.dendai.ac.jp

中井 泉 (Izumi Nakai) 東京理科大学理学部応用化学科 教授 最近の研究:放射光X線分析の新領域への応用,物質史研 究法の開発と考古学,鑑識科学,食品科学への応用。 E-mail: inakai@rs.kagu.tus.ac.jp