

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 加藤万理代

カドミウム (Cd) は人間の健康に悪影響を及ぼす有害元素であり、主食への混入が問題となる。これに対して鉄、亜鉛、銅は動植物にとって必須の元素である。人間の栄養においては、特に鉄の不足が深刻であり、主食における含有量を増強することが効率良い摂取のために必要である。イネは、その可食部が米であり、アジアを中心として重要な主食となっている。穀物可食部の子実中の元素は、主に篩管経由で運搬されると考えられている。従って、重金属の篩管による転流を制御することが、穀物可食部中の重金属の制御につながる。

遊離イオン状態の重金属は反応性が高く、細胞にとって有害である。また、篩管液は弱アルカリ性であり、高濃度のリン酸を含むため、重金属は何らかの化合物との結合体として存在し、移行していると考えられる。本研究は、イネから得られるごく微量の篩管液を用い、Cdの化学形態を、他元素との比較を行いつつ、明らかにすることを目的としている。

第1章では、サイズ排除液体クロマトグラフィー (SEC) と連結したグラフィイト炉原子吸光分析法による篩管液中重金属の分画分析を行った。Cdを添加した合成培土で栽培したイネから篩管液を採取し、分析したところ、イネ篩管液中のCdは遊離イオンではなく、ほぼ全てが結合型であった。主要なCd結合物質複合体は約13 kDaであり、この物質はプロテアーゼ処理によってCdを解離させ、残った結合型Cdの割合が約25%に低下した。このように、Cdの主な結合相手はタンパク質であることが明らかとなった。しかし、このタンパク質様Cd結合物質は、イオン交換クロマトグラフィーによる高塩濃度、逆相クロマトグラフィーによる有機溶媒の影響でCdを解離させやすい性質を持っていた。

次に、サイズ排除液体クロマトグラフィーに連続した誘導結合プラズマ質量分析装置 (SEC-ICPMS) を用い、篩管液中の多元素の化学形態を同時に分析した (産業技術総合研究所との共同研究)。その結果、Cdの最大ピークは鉄、亜鉛、銅、マンガン、モリブデン、ニッケル、コバルト、ケイ素、リンのいずれとも一致しなかった。Cdの2番目に高いピークは、銅とニッケルの複数のピークのうちの1ピークと重なった。このように篩管液中Cdのメインの結合物質は他の元素と異なることが明らかとなった。このことはCdの篩管移行を他の元素と独立して制御できる可能性を示唆している。

鉄、亜鉛、銅、ニッケル、コバルトがいずれも大きな溶出ピークを持ち、互いに重なる保持時間には、植物が生産する低分子量重金属結合物質であるニコチアナミン (NA) とデオキシムギネ酸 (DMA) が溶出していた。銅、ニッケル、コバルトがほぼ同時に溶出する保持時間には、ヒスチジンやシステインなどのアミノ酸が多く溶出するため、これらの重金属とアミノ酸との結合が示唆された。マンガン、モリブデン、ケイ素はそれぞれ1本のピークを示した。篩管液中のケイ素の形態は $\text{Si}(\text{OH})_4$ であると考えられる。リンは1本の大きなピークと数本の小さなピークが認められた。大きなピークは、おそらく無機態のリン酸であり、小さなピークは有機態のリンと推定される。

第2章では、Cd 汚染土壌で栽培したときに Cd の吸収特性が異なるイネの品種を用い、篩管液・導管液中 Cd 濃度、植物体中 Cd 濃度、および篩管液中 Cd の化学形態の比較を行った (農業環境技術研究所との共同研究)。用いたイネ品種は、玄米中 Cd 濃度が高い密陽 23 号 (ジャポニカ - インディカ交雑種)、茎葉中 Cd 濃度は高いが玄米中 Cd 濃度が低くなる LAC23 (熱帯ジャポニカ種)、対照としてコシヒカリ (ジャポニカ種) である。これらを、Cd 汚染土壌と Cd を添加した合成培土で栽培し、篩管液、導管液、植物体地上部を採取した。篩管液 Cd 濃度は、コシヒカリと密陽 23 号の間には有意な差がなく、LAC23 はそれらより低い、という傾向が認められた。導管液 Cd 濃度は、密陽 23 号が有意に高く、コシヒカリと LAC23 は有意な差がなかった。これらの結果から、LAC23 は篩管に積み込まれてシンク器官へ運搬される Cd の量が少ないため、茎葉中 Cd 濃度が高く玄米中 Cd 濃度が低くなる。密陽 23 号は根によって土壌から吸収する Cd の量が多いために、最終的に玄米中 Cd 濃度が高くなると推測された。

第3章では、Cd の対照として鉄 (Fe) の篩管液中での化学形態に着目した。イネ篩管液中の Fe は主に3種類の化合物に結合していることが分かった。Fe 結合物質の候補の保持時間を SEC で調査した結果、Fe の最大ピークはニコチアナミン (NA) とデオキシムギネ酸 (DMA) の保持時間と一致した。NA と DMA を分離するため、篩管液を陰イオン交換液体クロマトグラフィーと原子吸光分析法により分析した。その結果、Fe は DMA に結合していることが示唆された。また、篩管液の SEC 溶出画分の中で Fe 含量が最大となる付近を、エレクトロスプレーイオン化質量分析装置で測定したところ、この画分中には NA、DMA が検出され、DMA 含量が最大の画分に DMA と Fe の結合体が検出された。よって、篩管液中の Fe の結合物質の一つとして DMA を同定した。

以上本論分は、イネの篩管液中の Cd の主な化学形態はタンパク質との結合体であること、Fe のそれはデオキシムギネ酸との結合体であるなど篩管液中の重金属について新しい知見を述べており、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。