

論文の内容の要旨

論文題目 新規に開発したラジオアイソトープ可視化法による
イネ種子内のカドミウム動態の研究

氏 名 廣瀬 農

■背景・目的

カドミウムが人体に与える悪影響は、1960年代、イタイイタイ病によって広く知られるようになった。2010年現在でも日本人は暫定耐容基準の約40%のカドミウムを摂取しており、その40%以上は米由来である。米は一般的に精米してから摂取されるため、玄米すなわちイネ種子内部のカドミウム分布は、精米処理によるカドミウム除去率に影響する重要な知見である。種子へのカドミウムの移行量は、根からカドミウムが吸収される際の開花後日数 (DAF : Days After Flowering) によって大きく変動することが知られているが、カドミウム吸収時の DAF が種子内部のカドミウム分布に与える影響はほとんど検討されていない。そこで本研究では、放射性同位体である ^{109}Cd をトレーサーとし、新規に開発したラジオアイソトープ可視化手法を用いることで、カドミウムを経根吸収した際の DAF がイネ種子内部のカドミウム動態に与える影響の解析を試みた。

■ラジオアイソトープの3次元可視化法

本研究ではイネ種子中のカドミウム動態を解析するため、ラジオアイソトープの3次元可視化法を開発した。この技術は凍結試料の連続切片に対してオートラジオグラフィを行い、このデータを計算機処理することで試料に吸収されたラジオアイソトープの分布を立体的に可視化するものである。凍結切片作製法の検討、モンテカルロシミュレーションを併用したオートラジオグラフィ撮像系の改良、連続切片データのレジストレーション精度向上等の検討・改良を重ねることで、イネの種子に吸収されたラジオアイソトープの分布をボクセルサイズ $10 \times 10 \times 100 \mu\text{m}$ の立体像として可視化する技術を確立した。この技術を用いることで、以下の2点の知見を得た。

1) 開花から吸収処理までの経過日数が増加するに従い、根から新規に吸収されたカドミ

ウムが侵入できない領域が形成される。したがって、登熟末期に吸収されたカドミウムは、精米処理によって除去されやすい種子表層に局在することが示された。この領域は 14C 標識スクロースをトレーサーとした実験でも観察され、デンプン蓄積に伴う種子中央部のガラス化の影響が示唆された。

2) イネ種子の胚乳内部に風船状の形態を持つカドミウム集積構造が観察された。この構造は ^{109}Cd 吸収処理時期と無関係に、開花後一定の日数で形成された。このようなカドミウムの局在構造については、既往の文献に報告が無く、本研究によって初めて明らかにされた可能性がある。

■マイクロオートラジオグラフィのプロトコル検討

マイクロオートラジオグラフィとは、写真乳剤の薄膜を感光体とし、現像後の試料を光学顕微鏡または電子顕微鏡で検鏡する高解像度オートラジオグラフィの総称である。本研究では、既往のマイクロオートラジオグラフィ実験に含まれる各種の要素技術の組み合わせを検討し、植物凍結切片の観察に適した 3 種類のプロトコルを考案した。これらのプロトコルを用いることで、前述の 3 次元可視化法では解像力不足で困難であった、隣接する微細組織間のラジオアイソトープ局在部位の判別が可能となった。本研究で構築したプロトコルを用いた解析により、 ^{109}Cd は登熟中の種皮に局在し、種子へのカドミウムの輸送に種皮が関与している可能性が示唆された。

■総括

本研究ではイネ種子内部のカドミウム動態解析のため、二つの実験手法を開発・検討した。これらの手法は凍結試料に前処理不要で適用可能であり、ラジオアイソトープの核種を選ばず利用可能なため、イネ種子内のカドミウム分布の解析だけではなく、広く植物中の放射性トレーサー解析に応用可能である。開発した手法を用いた解析結果から、イネの種子内部におけるカドミウムの動態に、イネの根からカドミウム吸収時期が影響することが実証された。同時に、胚乳中に風船状のカドミウム集積構造が形成されること、種子表層部の局在部位が種皮であること等の新奇知見を得た。これらの発見は今後のイネ種子中のカドミウム動態解明の手がかりとなることが期待される。

■発表論文

(1) 2010 年 3 月 Radioisotopes Vol. 59, No. 3, pp. 155-162

“Evaluation of Cd-109 Detection Performance of a Real-Time RI Imaging System for Plant Research” (Yamawaki, M., Hirose, A., Kanno, S., Ishibashi, H., Noda, A., Tanoi, K., Nakanishi, T.M.) → double first

(2) 2012 年 8 月 Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry (in press)

“Development of a ^{14}C Detectable Real-Time Radioisotope Imaging System for Plants under Intermittent Light Environment” (Hirose, A., Yamawaki, M., Kanno, S., Igarashi, S., Sugita, R., Ohmae, Y., Tanoi, K., Nakanishi, T.M.)

(3) 2012 年 8 月 Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry (in press)

“Carbon-14 labelled sucrose transportation in an *Arabidopsis thaliana* using an imaging plate and real time imaging system” (Ohmae, Y., Hirose, A., Sugita, R., Tanoi, K., Nakanishi, T.M.)

(4) 2012 年 12 月 Journal of Experimental Botany Vol. 64, No. 2, pp. 507-517

“Characterization of Rapid Intervascular Transport of Cadmium in Rice Stem by Radioisotope Imaging” (Kobayashi, N.I., Tanoi, K., Hirose, A., Nakanishi, T.M.)