

ファイトレメディエーション植物に蓄積した重金属元素の
蛍光 X 線マイクロビームイメージング
 μ -SR-XRF imaging of heavy metals in the cells of hyper-accumulator plants

保倉明子^a, 小沼亮子^a, 中井 泉^a, 寺田靖子^b
Akiko Hokura^a, Ryoko Onuma^a, Izumi Nakai^a, Yasuko Terada^b

^a 東京理科大学理学部, ^b 高輝度光科学研究センター

^a Faculty of Science, Tokyo University of Science, ^b JASRI

土壤中の重金属を高濃度に蓄積することで知られているカラシナやシダに対して、Pb や As を添加した培地で栽培を行い、これらの細胞切片を作成して試料とした。単色化した X 線をフレネルゾーンプレートで集光したマイクロビームを試料に照射して蛍光 X 線を検出し、各元素のイメージングを行った。ビームサイズは $0.7 \times 1.2 \mu\text{m}^2$ であった。細胞レベルでの重元素のイメージングを行った結果、Pb は細胞壁において高濃度に蓄積されていることが明らかとなった。

The plant of mustard and fern, which are known as hyper-accumulator for heavy metal ions, were cultivated with the addition of Pb or As. Thin sections of the plants were prepared by microtome and were subjected to the μ -SR-XRF analysis in order to elucidate the distribution of such toxic elements in the plant in cell level. The monochromatic X-ray was focused by a Fresnel zone plate and the beam size was $0.7 \times 1.2 \mu\text{m}^2$. It was found that the two dimensional distribution of Pb for mustard was clearly obtained showing that Pb accumulated on the cell walls. On the other hand, those of As for fern was also determined.

背景と研究目的

ファイトレメディエーションとは、植物が環境汚染物質を蓄積・分解する能力を利用して環境の修復・汚染浄化をする、環境に優しいバイオテクノロジーである。ある種の植物は根から水分や養分を吸収するとき、環境にある As, Cd, Hg, Pb などを吸収し葉などに蓄積する。たとえばモエジマシダは 7000 ppm 以上のヒ素を蓄積する事が、2001 年の Nature 誌で報告されて注目

を集めた。¹⁾ファイトレメディエーションは植物の細胞が元素を蓄積するバイオテクノロジーの 1 つであり、農学的、生物学的に環境浄化の“技術”、“産業”としての研究が広く行われている。ところが、このような植物がなぜ重金属を高濃度に蓄積するのかという問題はもとより、重金属が植物の体内に取りこまれたあとにどのような足取りをたどるか、その蓄積部位すらもまだよくわかっていない。植物体内に存在

する植物ペプチドでキレート化した無毒化や液胞への固定化などが考えられるが、これを決定付けるような実験結果は未だにない。そこで本研究では、SPring-8のX線マイクロビームを線源とする蛍光X線分析(XRF)により、ファイトレメディエーション用植物体内で重金属元素がどこに蓄積しているかを細胞レベルで解明し、植物の重金属蓄積メカニズムについて考察を加えることを目的とした。

実験

重金属の蓄積が報告されており、ファイトレメディエーションへの実用化が期待されているアブラナ科のカラシナ(*Brassica juncea*)を試料とした。また群馬県下仁田のヒ素鉱山跡地でシダ植物を採取した。それぞれ1/2MS培地あるいは土壌に、Pb、Asを適量加えて栽培を行った。マイクロビームに適した試料調製方法について、植物を薄切片にして自然乾燥したもの、固定液に保存した切片、パラフィン包埋切片、凍結切片等を用意し、蛍光X線強度のS/N比や植物細胞学の点から最適な条件を検討した。

測定はSPring-8 BL37XUにて、単色化したX線をNTT-AT製のフレネルゾーンプレート²⁾で集光したマイクロビームを試料に照射し、Ge-SSD検出器を用いて各元素のイメージングを行った。X線のエネルギーと焦点距離は、Pb、Asに対してそれぞれ、14.6 keV (305 mm)、13.04 keV (265 mm)であり、ビームサイズは $0.7 \times 1.2 \mu\text{m}^2$ であった。一方組織レベルの元素分布を得るためには $50 \times 50 \mu\text{m}^2$ 、 $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ のビームを使用した。

結果と考察

50ミクロンのビームを用いて、植物組織レベルにおける元素分布を測定した結果、Pbを添加

して栽培したカラシナの茎では、その維管束部分においてPbが高濃度に蓄積していることが明らかになった。そこでその維管束部分に着目し、1ミクロンレベルのX線マイクロビームを適用し、元素のイメージングを行った。

結果の一例として、Pbを1300 μM 含むMS培地で栽培したカラシナの茎の薄片(50 μm)を固定液で保存した試料の分析結果をFig. 1に示す。(b)は分析領域の顕微鏡写真を、(c)はPb、(d)はCaの分布を表す。Fig. 1に見られるように、維管束付近の細胞においてPbの蛍光X線強度が強く観察された。このPbの分布はCaと正の相関が見られ、特に細胞壁における蓄積が明らかとなった。またその他の植物においても細胞壁においてPbが蓄積されていることが観察された。一方、ヒ素を添加して栽培したシダ植物においては、 $\mu\text{-SR-XRF}$ イメージングの結果、Asが師部で高濃度に見出され、Caの分布とは負の相関を示した。

このように植物の維管束部分における細胞サイズは10-100ミクロン程度であり、1ミクロンレベルのマイクロビームは一細胞における元素

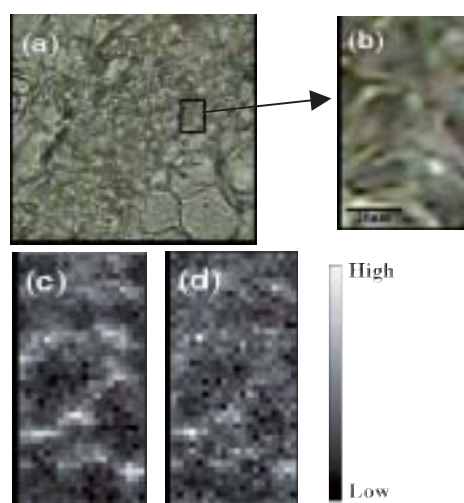


Fig. 1 The analytical results for the stem of mustard (*Brassica juncea*).
(a)(b) photograph by microscope,
(c)the imaging of Pb, (d)the imaging of Ca.

分布を観察するために非常に有効であることがわかった。

植物細胞はその構成要素、元素分布、元素の化学状態の複雑さから未解明部分が多く、様々な条件で栽培した植物試料について μ -SR-XRF イメージングを詳細に行うことで、重元素蓄積のメカニズムを解明することが期待される。今後、マイクロビーム形成技術の進歩と共にさらにナノ領域を見ることが可能となり、細胞内小器官である核、ミトコンドリア、葉緑体など生命の基本要素の本質に迫ることが可能となるであろう。

参考文献

- 1) L.Q. Ma, K.M. Komar, C. Tu, W. Zhang, and Y. Cai, *Nature*, **409**, 579 (2001).
- 2) Y. Suzuki *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* **40**, 1508 (2001).

キーワード

・ファイトレメディエーション
(phytoremediation)

植物が環境汚染物質を蓄積・分解する能力を利用したレメディエーション法（汚染浄化・修復法）。ファイト **Phyto** とは、植物のことを意味する。重金属を対象とする場合、土壌からの汚染を取り除くだけでなく、濃縮した重金属を植物から抽出・回収することが可能であり、再生利用が期待される。

・フレネルゾーンプレート(FZP)

FZP はX線を通す物質と遮断する物質とを交互に同心円状に繰り返した透過型回折格子で、光の回折と干渉効果によりレンズとして機能する集光素子。