

■イオンビームで 有用な植物を創る



イオンビーム植物遺伝子研究グループ

田野茂光

1. はじめに

この研究は加速粒子線（イオンビーム）が植物に与える影響についてDNAや遺伝子のレベルで解析する目的で開始した。X線や γ 線については1928年にStadlerがX線を使ってトウモロコシに突然変異を誘発できることを報告して以来、色々な研究が進められてきた。

最近になってイオンビームを大気中に引き出して利用できるようになり、動物細胞に対する影響やガンの治療に利用する研究が世界中で急速に進展している。しかし、これらの装置は植物を扱った研究には不適当であったが、高崎研究所のTIARAに植物研究を主体にしたビームラインが設置されたことから、植物を材料にした研究が可能になった。

そこで、この研究では植物の遺伝子やDNAをターゲットにしてイオンビームの影響を解析することにした。では、植物は何をつかうか？普通の植物は一世代が一年かかるので、これでは研究が進まない。幸いにシロイスナズナ (*Arabidopsis thaliana*) は約40日で一世代が回ることや小さくて場所をとらない、遺伝子に関する研究が進んでいる、世界中でネットワークがあることなどから材料として取り上げた。次にイオンビームははたして今まで研究の進められてきたX線や γ 線と違った影響を植物の遺伝子やDNAに与えるのであろうか？既存の遺伝子や新しい遺伝子の解析のためには突然変異体が多く必要である。

限られた年限内にできることは、それ程多くはないが将来に向けて発展の可能性を含めて、今までにない

遺伝子を創ることができるか？イオンビームでDNAに誘発される損傷と修復に特異性があるか？を中心に研究を進めてきた。

2. 突然変異誘発率

まず色々な種類のイオンビームを種子に照射して生き残る割合を比較すると、イオンの種類によって違いがあることがわかったが、その後の研究では全部のイオン種について進めることができない、主に炭素イオンを用いた。

まずイオンビームで突然変異を効率よく誘発できなければ研究の進展が難しくなる。そこで3種類のすくにある遺伝子座 (tt:種の色が野生型よりもうすい, gl:葉や茎に毛がない, hy:胚軸が伸びる) を目印にして炭素イオンを照射した種子から得られた後代で3種類の突然変異体を探して電子線を照射したものと変異体の数を比較した。その結果は、表1に見られるように炭素イオンを照射したときには、遺伝子座の

表1 イオンビームの突然変異率

変異原	突然変異形質		
	tt 変異 グループ	gl 変異 グループ	hy 変異 グループ
220 MeV 炭素イオン	2.1(30倍)	1.5(7.1倍)	2.0(17倍)
2 MeV 電子線	0.07	0.21	0.12
突然変異率 ($\times 10^{-6}$) : 1 遺伝子／染色体／線量			

種類によって多少の違いはあるが、電子線より高い頻度で突然変異を誘発することができる。これらの遺伝子は違った染色体の上にあることから、どの染色体の上にある遺伝子に対しても突然変異誘発の頻度が炭素イオンの方が高いことが示唆された。

3. 紫外線抵抗性突然変異体

植物はもともと動物に比べて紫外線に対して抵抗性がある。これは紫外線を吸収して障害を起こさないようにする物質を合成蓄積しているからである。近年、フロンガスによるオゾンホールの拡大によって地表上へ到達する紫外線（UV-B）の量が増加して地球の生態系の変化や植物にも色々な障害を引き起こす可能性が示唆されている。特に280~320 nmの波長を持つUV-Bは、これを吸収したDNAの塩基の間にピリミジンダイマーを作り、その結果DNAの複製を阻害し、細胞を殺すことになる。将来このような状況を考えた場合に、紫外線に強い抵抗性を持った植物があれば有効に利用できるであろう。もちろん、紫外線で障害を全く起こさないものが望ましいかもしれないが、たとえ障害を起こしても、これを効率よく治すことができるものでもよい。今までに植物では紫外線に抵抗性を示す遺伝子は発見されていない。そこで炭素イオンで色々な突然変異体をつくる中で紫外線抵抗性の突然変異体を150または200 Gyの炭素イオン照射した種子の後代から選抜することを試みた。

照射種子（M1）から植物体を育て、種子（M2）をとり、この種子を播いて10日目からUV-Bを1日当たり10時間、10~13 kJ/m²の線量率で10~20日間照射し、生育のよいものを選抜した。用いたUV-Bの線量は、野生系統の生長を30~10%に減少させる量であり、日本の春や秋の積算線量に近いものである。最終的には1280粒の炭素イオン照射種子から得られた5100個体中で4系統が紫外線抵抗性系統として確立できた。勿論、選抜の過程で紫外線の連続照射により起こる非遺伝的な適応現象を避けるために二世代間は通常環境下で育てると同時に一部の種子にUV-Bの照射を行い、選抜を続けた。

紫外線抵抗性系統は、図1に明らかなように野生系統に比べて紫外線照射して生育させた場合、地上部だけでなく根の生育も優れていた。紫外線抵抗性の機構



図1 紫外線照射下での植物体の生長
野生系統（上）と炭素イオンで誘発した紫外線抵抗性系統（下）

は植物では明らかではないが微生物や動物細胞などで明らかになりつつあるDNA損傷の光回復や暗回復の機能を調べた。

植物の根は先端の細胞が損傷を受けるとその後の細胞分裂が停止して根は伸びなくなる。この現象を利用して暗いところでのばした根に紫外線を照射すると、損傷を受けた根はそれ以後伸びないが、損傷を受けてもそれを治す能力があれば、再び伸長を開始することができる。この実験結果では、明条件でよく修復がおきる系統、暗条件でおきる系統と共に、どちらの条件でも非常に修復能力の高い系統とにわかれ、同じ紫外線抵抗性系統にもそれぞれ違ったことがあることがわかった。特に抵抗性4系統のうち、UV22-15系統では7 kJ/m²のUV-Bを照射してもほとんど根の伸びは抑制されなかった（表2）。

得られた4系統の紫外線抵抗性変異体は、それぞれ

表2 紫外線抵抗性系統の特徴

	系統				
	野生株	UV2-19	UV7-9	UV12-13	UV22-15
明回復	+	++	+	++	+++
暗回復	+	+	++	+	+++
UV-B吸収物質	+	+	+	+	+
耐性以外の形質	無	無	無	毛の形態異常	成長遅延、開花遅延、丸葉

違った修復系を持つものと考えられ、抵抗性の機構を調べると共に、遺伝子の単離を目指している。

最近、除草剤抵抗性や微生物からの遺伝子で植物体内で毒素をつくらせ、害虫を殺す様にした耐虫性のトウモロコシやダイズなどがアメリカでつくられ市場に流通するようになってきたが、ヒトの健康や環境に与えるリスクなどの評価ができていないと言う理由で、EU諸国では批判が大きく、穀物そのものだけでなく、これらを原料にした食品に対しても輸入禁止の措置がとられている国が多い。将来紫外線抵抗性遺伝子が単離できて実際に作物に導入した場合には、他の遺伝子を導入した形質転換植物という見地からすれば、リスク評価の対象になるかもしれないが、将来の環境変化に対応できるように考えて置く必要がある。

4. 色素蓄積変異体

この変異体はアントシアニン色素を特異的に合成、蓄積するもので、シロイヌナズナで世界最初に誘発された遺伝子突然変異である。この遺伝子は開花して授粉が行われ、種子が生長を始めるごく初めの段階から種皮の細胞にのみスポット状にアントシアニンを蓄積する（図2）。

この遺伝子は単一劣性で第1染色体の約118cMの位置にあり、ASTと命名して遺伝子バンクに登録した。今までに判ったことはアントシアニン合成の経路で発現制御に関係する遺伝子であることが示唆され、今後の色素形成の研究に有効に利用できる。



図2 色素の蓄積状態
上：野生系統 下：色素蓄積変異体



図3 色素変異体はスポット状に色素を蓄積する

5. 終わりに

ここで述べた炭素イオンで誘発された突然変異体はごく一部で、研究の過程で40以上の新しい変異体が得られている。この中には将来色々な研究に有効に利用できると思われるものが多く、宝の山ができた。このほかに、協力研究でイオンビームの到達深度を制御し花粉に照射し、花粉の外殻に変化を起こさせて外来DNAを取り込ませることによって遺伝子の導入ができる可能性なども示唆され、今後の研究の進展が期待される。

イオンビームは植物でも高頻度で突然変異を誘発でき、今まで得られなかったような新しいものを創ることができることや、DNAに対しては欠失や転座などの大きな構造変化を誘発することが明らかになったことなど、多くの興味深い成果が得られ、初期の目的は完全ではないにしても達成されたと思う。

先端基礎研究センターで行った研究からできた芽は、今後高崎研究所の環境資源利用研究部植物資源利用研究室に引き継がれて研究が継続されることになっている。

最後に、研究を進めるにあたって植物遺伝子研究グループは、伊達センター長を始め推進室の皆様及び暖かく場所を提供して色々なご支援を頂いた高崎研究所の皆様に心より感謝致します。

