

<p>研究代表者</p>	<p>所属学系・職名 生物・農学系学系・准教授 氏 名 水澤玲子</p>
<p>研究課題</p>	<p>生殖細胞に生じる突然変異率評価を目的とした針葉樹における遺伝解析 Genetic analysis for mutation rate evaluation using female gametophyte of conifer.</p>
<p>成果の概要</p>	<p>本研究の背景： 毎時数マイクロシーベルト以下の低線量率を長期に被ばくした場合のDNA配列突然変異についてはほとんど知見がない。その結果「実験環境下では問題のない低線量の被ばくであっても、長期的にはDNA配列に影響があるかもしれない」という福島県内の汚染地域における不安が残っている。このような不安を払拭するには、避難区域等に生育する生物に対する突然変異率の実測が急務であるが、そのような研究はほとんど存在しない。</p> <p>研究の概略と目的： このような現状を踏まえ、申請者らはスギの雌性配偶体を対象とした遺伝解析を行うことによって、格段に高精度かつ簡便に生殖細胞における突然変異率を明らかにできることを示した。さらに昨年、大熊町に生育するアカマツから採取したサンプルを対象とした同手法による分析で、突然変異が発生していることを確認した。しかし、放射線影響のない状態での突然変異率がわかっていないため、確認された突然変異が放射線影響によるものなのか、自発的に発生しているものなのか判断はついていない。本研究では大熊町以外の場所から採取されたサンプルの解析を進めることで、実測された突然変異が放射線影響かどうかを明らかにする。</p> <p>調査および実験内容： 研究チームは、帰還困難区域内および福島県内外で採取したアカマツとスギの種子を保管している。これらの種子を播種、発芽後に解剖し、雌性配偶体および子葉を取り出す。子雌性配偶体からはDNAを抽出し、それぞれの対象種で選抜済みのマイクロサテライトマーカーによる解析を行った。空間線量の低い大熊町以外の場所で採取されたサンプルについて、母樹と雌性配偶体の遺伝子型を比較し、突然変異の有無を明らかにする。大熊町においては約1/5000の確率で変異が確認されているので、今回の解析でもおよそ同数の解析を目指した。</p>

成果の概要	<p>今回分析に使用したサンプルは福島県福島市(福島大学構内)の調査地(約0.04~0.1μGy/h)に生育するもので、アカマツから採取した種子を解剖して、サンプルとなる雌性配偶体を取り出した。福島大学No1では92個体、福島大学No2では96個体、福島大学No3では81個体、福島大学No4では144個体、福島大学No5では95個体、福島大学No6では19個体、福島大学No7では33個体を使用した。</p> <p>解剖した雌性配偶体をTaKaRa BioMasher Standardで破碎後、QIAGEN plant mini kit を用いてDNAを抽出した。抽出したDNAはpde3、 pde14、 pdms009、 pdms039、 bcpd502、 bcpd006、 bcpd222、 bcpd705、 bcpd834の計9遺伝子座のマイクロサテライト遺伝子座をPCR増幅し、遺伝子型を決定した。</p> <p>結果と考察:</p> <p>福島大学No1、2、3、4、5、6、7の合計556サンプル、9遺伝子座を用い最終的に4573の遺伝子型を解析した。福島大学No1~7は約0.04~0.1 μ Gy/hのサイトで採取したものであり、すべての遺伝子座で突然変異は確認されなかった。したがって福島大学内のアカマツにおける突然変異率は、2.19×10^{-4}より低い値と推測できる。また、先行研究の大熊サンプルの突然変異率は1.97×10^{-4}であり、福島大学と大熊町のサンプルを合わせて計算した突然変異率は10.0×10^{-5}となる。</p> <p>シロイヌナズナの生殖細胞を用いた非照射におけるマイクロサテライトの突然変異に関する研究 (Marriage et al.2009) では、世代ごと遺伝子型ごとの自然突然変異率は8.87×10^{-4}であり、一般的なマイクロサテライト遺伝子座の突然変異率として知られている。ただし、観察されている突然変異率はマイクロサテライトの繰り返し配列によって異なるため、シロイヌナズナのマイクロサテライト配列ごとの突然変異率をアカマツのマイクロサテライトの配列と照らし合わせ補正した。その結果、今回使用したマイクロサテライト遺伝子座における突然変異率の期待値は、4.96×10^{-5}となった。これは福島大学と大熊町のサンプルを合わせた場合の実測値10.0×10^{-5}とほぼ同等である。</p> <p>福島大学と大熊町それぞれで変異率を検出しようとした場合、補正した突然変異率から考えて、それぞれ2倍以上のサンプル数の解析が必要である。しかし、サンプル数は少ないものの、大熊サイトで変異率が10倍以上になっているようであれば、現在のサンプル数でも複数の変異を検出している可能性が高く、今回の結果では顕著な変異率の上昇は生じていないと考えられる。</p>
-------	---