

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K11663

研究課題名(和文)植物培養細胞を用いた高精度な低線量放射線生物影響モニタリング手法の開発

研究課題名(英文) Development of a highly accurate method for monitoring biological effects of low-dose radiation using plant cultured cells

研究代表者

高橋 真哉 (Takahashi, Shinya)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：80370419

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：福島第一原子力発電所事故に起因する放射性物質土壌汚染による低線量放射線の生物影響が懸念されているが、その直接的な評価は未だに困難である。研究代表者らは、染色による色素沈着を検出可能なモニタリングカルスを用いて、空間線量率上昇に伴う相同組み換え頻度の増加を確認してきた。本研究では、精緻な低線量放射線の生物影響評価のため、高線量区域で相同組み換え頻度による現地での影響評価をおこなうとともに、ゲノムDNAへの変異誘発率の評価を試みた。その結果、相同組換え頻度の上昇が見られる一方で、有意な変異率の増加は確認できなかったことから、これらの空間線量の範囲では変異は蓄積していない可能性が考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

福島第一原発事故に起因する環境中の放射性物質汚染がどのように生物に影響を与えるかは未だに不明な点が多い。本研究では、植物由来培養細胞の実験系を用いることで、生物影響を可視定量化すると同時に、深刻な影響の一つである変異誘発率の評価を現地で実施した。研究例が多い放射線量の計測に加えて、本研究による生物影響についての定量評価を得られたことで、比較的線量率が高い環境での環境モニタリングが可能になると期待する。

研究成果の概要(英文)：Although there is concern about the biological effects of low doses of radiation due to radioactive soil contamination resulting from the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant accident, direct assessment of such effects is still difficult. We have confirmed an increase in the homologous recombination frequency (HRF) with increasing ambient dose rate using monitoring callus in which pigmentation by staining can be detected. In this study, for the purpose of precise evaluation of biological effects of low-dose radiation, we attempted to evaluate the HRFs in high-dose areas and the mutation induction rate to genomic DNA. As a result, while an increase in HRF was observed, no significant increase in mutation rate was observed, suggesting that mutations may not have accumulated in these ranges of ambient dose rates.

研究分野：植物環境分子生物学

キーワード：低線量放射線 植物 カルス DNA相同組み換え モニター遺伝子

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

放射線は生物にとって有害であり、細胞死やガン化の原因となることが知られている。放射性物質が生活圏へ放出された福島第一原子力発電所事故から13年が経過し、当初と比較して空間線量率も低減しつつあるが、線量率が高い帰還困難区域（年間積算線量が20 mSvを下回らない恐れがあり立入りが制限されている地域）では今後長期間にわたり放射線の継続的な環境影響モニタリングが必要になる。野外の放射性物質汚染は、空間線量率測定や土壌・水質に対する直接測定が行われ、生物体への蓄積も確認されている。一方、ゲノムDNAの変異など、生物への直接的影響については定量的評価が困難であり、かつ効果的なモニタリング手法も存在しない。近年植物において、放射線により生成するDNA損傷が刺激となって相同組み換えが起こり、予め分割して導入されたりポータ遺伝子が、正常型になり機能回復する現象をモニタリングする評価方法が開発されている。研究代表者らは、染色による色素沈着を検出可能なβ-グルクロニダーゼリポータ遺伝子導入カルス（モニタリングカルス）を用いて、空間線量率上昇に伴う相同組み換え頻度の増加を確認しているが、未だ一部で残る高線量区域（空間線量 7 μGy/hr 以上）での影響評価や実際のゲノム変異頻度と相同組み換え頻度の相関については明らかにできていない。

2. 研究の目的

本研究は、より精緻な低線量放射線の生物影響評価のため、高線量区域での影響評価をおこなうとともに、ゲノムDNAへの変異誘発率の評価を試みた。

3. 研究の方法

(1) β-グルクロニダーゼ(GUS)活性の検出による相同組み換え頻度の定量

体細胞相同組み換え頻度を可視的に検出・評価可能な改変β-グルクロニダーゼ(GUS)遺伝子を持つシロイヌナズナ植物体系統(1415系統)よりカルスを作成した(図1)。次に、福島県内の高線量汚染地域にて放射性物質により汚染された現場土壌中に、密封した寒天培地プレート上に移植したカルスを静置し、約30日間曝露をおこなった。曝露後、カルスのGUS染色により青く染色されたスポット数を実体顕微鏡下で観察して測定をおこない、生重量を測定することで、生重量当たりのGUSスポット数として相同組み換え頻度を算出した。

(2) ゲノム配列解読による変異誘発頻度の評価

福島県内の高線量汚染地域、および汚染がない地点にて放射性物質により汚染された現場土壌中に、密封した寒天培地プレート上に移植したカルスを静置し、約30日間曝露をおこなった。曝露後、カルスを凍結保存し、ゲノムDNA抽出を行った。ゲノムDNAは次世代シーケンサーを用いたゲノムリシーケンスを行い、シロイヌナズナゲノムデータベースをリファレンスゲノムとして、非汚染土壌と汚染土壌における変異誘発率を比較した。

4. 研究成果

(1) 高線量区域での相同組み換え頻度の定量

高線量区域での相同組み換え頻度の定量を行い、影響評価を行った。福島県内の帰還困難区域内の空間線量率7~16 μGy/hrの4地点にモニタリングカルスを埋設し、一定期間の曝露後に回収して、GUS染色を行った。その結果、この範囲での高線量地点に埋設したカルスの相同組み換え頻度の上昇が確認された。

(2) 高線量区域での変異誘発頻度の評価

福島県内の帰還困難区域内の空間線量率約10 μGy/hrの高線量地点、および対象区として0.13 μGy/hrの地点に埋設したカルスから、ゲノムDNA抽出を行い、次世代シーケンサーを用いた変異頻度解析を行った。有意な変異率の増加は確認できなかった。

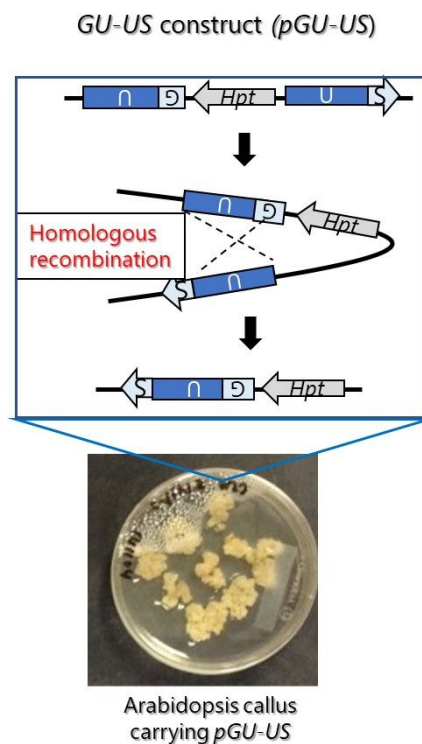


図1 改変GUS遺伝子を持つシロイヌナズナ植物体系統より作成したカルス



図2 現地でのカルス埋設の様子

次に、帰還困難区域内の空間線量率 7.7, 18 $\mu\text{Gy/hr}$ の 2 地点、および対象区としてつくば 1 地点 (0.09 $\mu\text{Gy/hr}$) にモニタリングカプセルを埋設し、一定期間の曝露後に回収して、変異頻度解析を行った。3 地点における点突然変異、および挿入・欠失について評価を行ったが、3 地点で有意な変異率の増加は確認できなかった。

以上の事から、これらの空間線量の範囲では変異は蓄積していない可能性が考えられる。これは、今回モニタリングを行った区域では、放射線曝露による DNA 損傷がすぐに修復されている可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 玉置雅紀	4. 巻 602
2. 論文標題 野生生物はどのような影響を受けたのか？	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 現代科学	6. 最初と最後の頁 56-60
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 橋本昌司, 堅田元喜, 大橋伸太, 眞中卓也, 岩上翔, 小松雅史, 玉置雅紀, 大久保達弘, 篠宮佳樹, 渡邊仁志, 山下尚之, 平井敬三	4. 巻 63
2. 論文標題 シンポジウム「森林の中で放射性セシウムはどう動いているのか？ 研究者がわかりやすく解説します」の開催	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 森林立地	6. 最初と最後の頁 13-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Shinya, Kojo Kei H., Hasezawa Seiichiro	4. 巻 84
2. 論文標題 Quantification of Ultraviolet-B Stress-Induced Changes in Nuclear and Cellular Sizes of Tobacco Bright Yellow-2 Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 CYTOLOGIA	6. 最初と最後の頁 347 ~ 351
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1508/cytologia.84.347	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 高橋真哉, 玉置雅紀
2. 発表標題 DNA相同組換えレポーター遺伝子を持つカルスを用いた現場でのバイオモニタリングの実施
3. 学会等名 第85回日本植物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 玉置雅紀, 高橋真哉
2. 発表標題 DNA損傷モニタリング植物を用いた低線量放射線によるDNA変異蓄積量の評価
3. 学会等名 第62回大気環境学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋真哉, 玉置雅紀
2. 発表標題 DNA相同組み換えレポーター遺伝子を持つ植物培養細胞を用いた帰還困難区域におけるバイオモニタリング実施
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinya Takahashi, Masanori Tamaoki
2. 発表標題 Detection of DNA damage from radiation by Arabidopsis callus harboring an alternative β -glucuronidase reporter gene in field of Fukushima, Japan
3. 学会等名 EMBO Workshop “Plant genome stability and change 2020” (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋 真哉、玉置雅紀
2. 発表標題 DNA相同組み換えレポーター遺伝子を持つ植物培養細胞を用いた帰還困難区域におけるバイオモニタリング実施
3. 学会等名 2021年度ERAN年次報告会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋真哉, 玉置雅紀
2. 発表標題 DNA相同組み換えレポーター遺伝子を持つシロイヌナズナカルスによる野外低線量放射線影響の検出
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋真哉, 玉置雅紀, 中嶋信美
2. 発表標題 DNA相同組み換えレポーター遺伝子を持つシロイヌナズナカルスを用いた野外での低線量放射線影響の検出
3. 学会等名 第84回日本植物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 玉置雅紀
2. 発表標題 福島原発事故により野生生物や生態系にどのような影響があったのか?
3. 学会等名 第132回日本森林学会大会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 玉置雅紀
2. 発表標題 原発事故により福島の生き物はどうなったのか?
3. 学会等名 2021年度森林立地シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 玉置雅紀, 高橋真哉
2. 発表標題 低線量放射線の花成誘導に与える影響
3. 学会等名 第60回大気環境学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋真哉, 玉置雅紀
2. 発表標題 DNA相同組み換えレポーター遺伝子を持つシロイヌナズナカルスを用いた野外低線量放射線影響の検出
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋真哉, 玉置雅紀
2. 発表標題 DNA相同組み換えレポーター遺伝子を持つシロイヌナズナカルスを用いた野外での低線量放射線影響の検出
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 玉置雅紀
2. 発表標題 DNA 損傷を可視化できる植物の開発とこれを用いた放射線影響評価
3. 学会等名 環境創造センター成果報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 1.玉置雅紀, 高橋真哉
2. 発表標題 DNA損傷モニタリング植物を用いた低線量放射線によるDNA変異蓄積リスクの評価
3. 学会等名 第59回大気環境学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	玉置 雅紀 (Tamaoki Masanori) (00311324)	国立研究開発法人国立環境研究所・福島支部・室長 (82101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------