## 科学研究費助成事業

研究成果報告書



今和 6 年 6 月 1 9 日現在

_	
	機関番号: 82502
	研究種目: 基盤研究(C) ( 一般 )
	研究期間: 2019 ~ 2023
	課題番号: 1 9 K 0 6 6 2 2
	研究課題名(和文)重イオンビームによる高頻度変異誘発の分子基盤の解明
	研究課題名(英文)Clarification of molecular basis for high mutation frequency induced by heavy ion beams
	研究代表者
	石井 公太郎(Ishii, Kotaro)
	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学研究所 計測・線量評価部・主任研究員
	研究老悉是:50632965
1	交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):重イオンビームは電離放射線の一種である。放射線が進行方向の単位長さ当りに周囲 に与えるエネルギーを線エネルギー付与(LET:単位はkeV/µm)と呼ぶ。シロイヌナズナの乾燥種子ではLET = 30 keV/µmで変異率が最大値となり、290 keV/µmでは欠失や重複などの大規模な染色体再編成が誘発される。 本研究では変異率の最大値や欠失サイズの規模の最大値における生物学的要因を調査した。変異率の最大値に関 しては、DNA修復酵素の1つであるRPA1E遺伝子がその候補として挙げられた。また、ゲノム中の必須遺伝子の分 布が欠失サイズの上限を決める要因であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義 重イオンビーム照射では、その物理学的パラメーターであるLETを選択することで、植物に誘発できる突然変異 の種類と規模を選択することができる。塩基置換などの小さい変異であれば小さいLETを、多くの遺伝子を含む 巨大欠失や染色体レベルでの再編成であれば大きなLETを選択すれば良い。一方で、突然変異は、傷つけられた DNAを生物が修復する過程で生じるため、照射技術のさらなる高度化のためには生物学的なパラメーターを解明 する必要がある。本研究では、欠失サイズの制御には必須遺伝子の分布を考慮する必要があることを明らかにし た。これは、欠失規模のさらなるテーラーメード化を可能にする発見と言える。

研究成果の概要(英文):A heavy ion beam is a type of ionizing radiation. The energy imparted by the radiation to the surroundings per unit length in the direction of travel is referred to as linear energy transfer (LET; keV/ $\mu$ m). In Arabidopsis dry seed, the mutation rate reaches a maximum at LET = 30 keV/ $\mu$ m, and at 290 keV/ $\mu$ m, large-scale chromosome rearrangements such as deletions and duplications are induced. The objective of this study was to investigate the biological factors influencing the maximum mutation rate and the maximum size of deletions. Regarding the maximum mutation rate, the RPA1E gene, one of the DNA repair enzymes, has been identified as a potential candidate. The distribution of essential genes in the genome was also found to be a factor in determining the upper limit of deletion size.

研究分野: 植物遺伝学

キーワード: 重イオンビーム DNA修復 線エネルギー付与 植物

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等に ついては、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

#### 1.研究開始当初の背景

重イオンビームは電離放射線の一種であり、主に植物や微生物への変異原として用いられて いる。変異率が高く、ターゲットとする形質以外への影響が少なく、表現型が多様という特長を もつ(文献)。重イオンビームの物理的特徴の1つが高い線エネルギー付与(LET:単位は keV/µm)である。LETとは、放射線が進行方向の単位長さ当りに周囲に与えるエネルギーであり、 X線のLETが0.2 keV/µmであるのに対し理研では22.5 - 4,000 keV/µmの範囲の重イオンビー ムを照射できる。クロマチン断片化についての生物学的効果比は100 keV/µm 程度で最大と言わ れている(文献)。

シロイヌナズナ乾燥種子への照射実験で、LET = 30 keV/µm (LET30)で変異率が最大値をとる ことを発見した(文献)。その変異率はLET = 22.5 keV/µm (LET22.5)と比べて約2.5 倍であ り、LET = 61.5 keV/µm ではLET22.5 と同等の低い値だった。一方、LET30 とLET = 290 keV/µm (LET290)の重イオンビームを照射し、自殖させて3世代目で全ゲノム変異解析を行ったところ、 LET290 では100 bp 以上の規模の欠失・挿入や大規模な変異が約4.4 倍の頻度で生じていた(文 献)。

クロマチン断片化のピークではない LET の範囲に植物の変異率のピークが存在し、また、わず か7.5 keV/µmの差で変異率が上昇するの原因として、何らかの生物学的応答の違いが LET30 で の重イオンビーム照射における変異率の上昇の原因となっていると考えた。そこで、LET25 と LET30 での重イオンビーム照射後の遺伝子発現を比較したところ、LET30 照射区で、DNA 修復に 関与する RPA1E 遺伝子が高発現することを発見した。さらに、RPA1E 遺伝子のヌル変異体に対す る重イオンビーム照射では、LET30 での変異率上昇がみられなくなった。植物では、DSB が生じ ると相同組換え(HR: Homologous Recombination)と典型的な非相同末端結合(C-NHEJ: Canonical Non-Homologous End Joining)、代替的な非相同末端結合(A-NHEJ: Alternative NHEJ) よる修復を行う。ここで、RPA1E遺伝子産物である RPA 複合体は DSB 部位に結合する。RPA 複合 体が RAD51 をリクルートして RAD51 フィラメントが形成されることで HR による修復が起こる。 哺乳類では DSB 部位に結合している RPA 複合体が DNA 合成酵素の1つ Pol によって除去され ることにより、A-NHEJによる修復が起こることが報告されている(文献 。これらの情報を元に、 RPA1E 遺伝子の発現上昇により高変異率化が生じる仮説を以下のように立てた: LET30 での照 射では過剰な RPA 複合体が生産され RAD51 のリクルートを阻害する。すると Pol を介した A-NHEJ による修復が増進される。HR では変異は生じないが、A-NHEJ では修復ミスにより変異が生 じる。すなわち、過剰な RPA 複合体による RAD51 の阻害により高頻度変異誘発が引き起こされ る。



図 1. 想定される至適 LET における高頻度変異誘発のメカニズム

LET30 とLET290 の重イオンビームでの変異誘発の結果(文献)から、LET が高いほど誘発される欠失変異の大きさも大きくなることが予想される。しかし一方で遺伝可能な欠失変異の大きさには限度があると考えられる。第一に動原体や染色体末端を含むような欠失変異をもつ細胞は正常な細胞分裂が行えず、そのような欠失は後代に遺伝することはできない。また、ゲノム中には多くの必須遺伝子が存在する(文献、)。これらは個体の形態形成や配偶子形成に関与し、遺伝子領域を含むような欠失変異はホモ接合型では遺伝できないと考えられる。しかし、これまでゲノムレベルで必須遺伝子と欠失変異の関係性について論じられたことはなかった。

本研究は、一つにはシロイヌナズナにおいて LET30 での照射による高頻度変異誘発の生物学 的原因を明らかにすることを目的とする。そのため、LET22.5 と LET30 での重イオンビーム照射 による変異率の違いが、過剰な RPA タンパク質の発現による A-NHEJ による修復の促進によると いう仮説を証明する。また、LET22.5 と LET30 での重イオンビーム照射で DSB 部位に結合する RPA1E や Pol タンパク質の量を比較する。

また、またもう一つは、欠失変異の大きさの上限を決定する生物学的要因を解明することを目 的とする。そのために、LET = 100 keV/µm (LET100)・LET = 200 keV/µm (LET200)・LET290 の 重イオンビームを照射したときの欠失変異の大きさを調査し、ゲノム中の必須遺伝子が関与す るかを評価する。

3.研究の方法

(1) 研究に用いた材料

シロイヌナズナの野生株(Col-0)と RPA1E 遺伝子の T-DNA 挿入変異体を用いた。T-DNA 挿入変 異体は英国ノッティンガム大学の Nottingham Arabidopsis Stock Centre (NASC)から入手した。 変異がホモ接合型であることを PCR で確認し、自殖させて次世代の種子を得た。

(2) シロイヌナズナ RPA1E 遺伝子過剰発現変異体(RPA1E-ox)の作製

過剰発現プロモーター35Sの下流に RPA1E 遺伝子を結合したコンストラクトを作製し、PA1E 遺 伝子のヌル変異体に形質転換した。形質転換個体を自殖させて2世代目、3世代目を得て、抗生 物質含有培地で育成した。コンストラクトには抗生物質抵抗性遺伝子も含まれているため、それ ぞれの世代での抗生物質抵抗性個体の比率を調べることで、35S::RPA1E 遺伝子を1コピーのみ もつ系統を得た。qPCR により RPA1E の発現が安定して高いものを選抜して以後の実験に用いた。

(3) LET30 と LET22.5 の重イオンビーム照射で誘発される変異の解析

野生株と RPA1E-ox 変異体の乾燥種子に対して LET30 または LET22.5 の重イオンビームを 300 Gy 照射した。それぞれの照射区について照射当代の個体を自殖させて照射 2 世代目の個体を得 た。個体からそれぞれゲノム DNA を抽出し、全ゲノムシーケンスを行い、変異解析パイプライン AMAP(文献)を用いて全ゲノム解析を行った。

#### (4) RPA1E・Pol タンパク質の DSB 部位での結合量の測定

シロイヌナズナの Pol タンパク質と RPA1E タンパク質のペプチド抗体を作製した。当初は LET30 と LET22.5 の重イオンビームを乾燥種子に照射し、吸水4時間後にタンパク質を抽出する ことを想定していたが、貯蔵タンパク質の影響のため、播種後約2週間の幼苗に照射し、4時間 後にタンパク質を抽出してウエスタンブロットを行い、抗体を評価した。

(5) LET100/LET200/LET290 の重イオンビームで誘発される変異の解析

野生株の乾燥種子に対して LET100 または LET200、LET290 の重イオンビームをそれぞれ 150 Gy、75 Gy、50 Gy 照射した。自殖により各照射区 96 個体の照射 2 世代目(M2)を作製した。さら に 1 つの M2 につき 2 つの 3 世代目(M<sub>3</sub>)を作製し、各 M<sub>3</sub> 系統 40 個体から DNA を抽出した。シロ イヌナズナのタンデム重複遺伝子(TAG)3,469 遺伝子を検出するための DNA アレイを作製し、ア レイ CGH により各 M3 系統の欠失を検出した。検出された欠失がホモ接合型で遺伝可能(ホモ欠 失)か、ヘテロ接合型でしか遺伝不可能(ヘテロ欠失)かを調べるため、各 M3 系統 15 個体につ いて PCR または 7 個体について qPCR を行った。大きなヘテロ欠失をもつ M3 系統については各 系統 10-15 個体の DNA を抽出し、(3)と同様に AMAP により変異解析を行い、欠失変異の大きさ を決定するとともに、染色体再編成のプレークポイントを検出した。

(6) 変異と必須遺伝子のゲノムへのマッピング

シロイヌナズナの必須遺伝子についての既報(文献、)から811個の必須遺伝子をリスト アップし、ゲノム配列上へマッピングした。同様に、(5)で94系統のM₃から検出された合計149 個の欠失変異と、既報の22の変異系統で検出された欠失変異(文献、、、)をゲノム 配列上へマッピングした。さらに(5)で検出された染色体再編成のブレークポイントと、既報の 変異体の染色体再編成のブレークポイント合計532箇所をゲノム配列上へマッピングした。

4.研究成果

(1) LET30 と LET22.5 の重イオンビームで誘発される変異の違い

LET30 と LET22.5 の重イオンビームを照射した野生型の後代それぞれ 18 個体ずつ、*RPA1E*-ox 変異体の後代それぞれ 8 個体ずつの変異解析を行った。同定された変異は野生株では LET30 と LET22.5 で個体あたりそれぞれ 36.4 箇所と 31.6 箇所で、*RPA1E*-ox 変異体で LET30 と LET22.5 で 個体あたりそれぞれ 30.1 箇所と 32.1 箇所で、それぞれの線量区で有意差はみられなかった。また、Chang ら(文献) による分類指標をもとに、欠失のうち A-NHEJ により修復されたものの 割合を調べたところ、野生株では LET30 で 34%、LET22.5 で 36%を占め、*RPA1E*-ox 変異体では LET30 で 17%、LET22.5 で 25%を占め、各線量区で有意差はみられなかった。LET30 と LET22.5 で 観察された変異の差は A-NHEJ による修復の促進によるものではないことが示唆された。

しかし、変異のうち100 bp以上の規模の欠失・挿入や染色体 再編成を大規模変異とすると、野生型において全ての変異箇所 数に対する大規模変異の箇所数の割合は、LET30 で5.5%、 LET22.5 では3.2%であり、LET30 ではLET22.5 より高い割合で 大規模変異が誘発されていた(p < 0.05、カイ二乗検定)。一塩 基置換や100 bp未満の規模の欠失・挿入といった小規模変異が 遺伝子発現に影響をする場合でも、多くの場合は1遺伝子にの み影響するのに対し、大規模変異は欠失や転座の規模に応じた 数の遺伝子発現に影響を与えることが考えられる。LET30 での 高頻度変異誘発に大規模変異の誘発されやすさが関与すること が示唆された。

(2) RPA1E・Pol タンパク質の DSB 部位での結合量の測定 重イオンビーム照射で生じた DSB 部位における RPA1E タンパ ク質とPol タンパク質の結合量を LET30 と LET22.5 で比較す るため、それぞれのタンパク質を特異的に認識する抗体の作製 を試みた。それぞれのタンパク質のペプチドを合成し、ペプチ ド抗体の作製を行った。当初は重イオンビームを乾燥種子に照 射し、吸水させて4時間後にタンパク質を抽出してウエスタン ブロットを行うことを想定していたが、種子に含まれる貯蔵タ ンパク質の影響を受ける可能性が明らかになったため、播種後 約2週間の幼苗に対して重イオンビームを照射し、4時間後に タンパク質を抽出してウエスタンブロットに用いることにし た。RPA1E 抗体では目的分子量にシグナルを得ることができな かった。Pol 抗体では目的分子量にシグナルを得たが、バンド が複数得られたことから、現在、抗体のアフィニティー精製を 行い、利用できるかを検討している。

(3) LET100/LET200/LET290 の重イオンビームで誘発される欠 失の大きさ

LET100、LET200、LET290の重イオンビームを照射した野生型の照射3世代目各192系統のうち、合計94系統から欠失変異が

検出された。照射区ごとに欠失の長さを集計したところ、LET による長さの分布の違いはみられ なかった。つまり、LET100 から LET290 の範囲では欠失の長さは変わらないことがわかった。

(4) ゲノム中の必須遺伝子の分布が ホモ欠失の大きさに影響する

(3)で検出された各欠失を PCR と qPCR によりホモ欠失とヘテロ欠失に分 類した。LET によらずそれぞれの欠失の 長さの分布を比較したところ、ヘテロ 欠失の平均長はホモ欠失の平均長より も有意に大きかった(図 1、p < 0.01:Wilcoxon rank-sum test) この 現象の原因として、欠失に含まれる必 須遺伝子の影響が予想された。そこで、 シロイヌナズナの既知の必須遺伝子 811 個について、隣接する必須遺伝子間 の距離の分布を、理論上のホモ欠失の 最大値と定義してホモ欠失の分布と比 較したところ、必須遺伝子間の距離の 平均長はホモ欠失の平均長よりも有意 に大きかった(図1、p < 0.01:Wilcoxon rank-sum test) これらのことからゲ ノム中の必須遺伝子の分布がホモ欠失 の大きさに影響を及ぼすことが示唆さ れた。

(5) ゲノム中の必須遺伝子の分布と 誘発変異の分布の比較

(3)で検出された各欠失に加え、これ までに報告された 22 系統の変異体の 欠失変異を加えての 94 個のホモ欠失



図 3. 遺伝子と欠失変異の分布 染色体を白い楕円 で示す。染色体下部の数字は染色体番号を示す。必 須遺伝子と非必須遺伝子の位置をそれぞれ赤と青 の線で染色体の外側に示す。ヘテロ欠失とホモ欠失 の位置をそれぞれ赤と青の四角で染色体の内側に 示す。Bar = 10 Mbp。Ishii et al. (2024) Front. Plant Sci. 15 より引用。



図 2. ヘテロ欠失、ホモ欠 失、必須遺伝子間の距離 の大きさの分布の箱ひげ 図 \*\*\*: P < 0.01 (Wilcoxon rank-sum test) Ishii et al. (2024) Front. Plant Sci. 15 より 引用。

と55 個のヘテロ欠失とした。ゲノム中のそれぞれの欠失の分布と必須遺伝子の分布、さらにシ ロイヌナズナのエコタイプ間で変異のある 1,740 個の遺伝子を非必須遺伝子と定義してその分 布を比較した(図2)。ホモ欠失とヘテロ欠失のそれぞれ 10%と 6.6%で非必須遺伝子の領域が重 複していた。その一方で、ホモ欠失には必須遺伝子の領域と重複するものが1個もなかったのに 対し、ヘテロ欠失の 2.2%で必須遺伝子の領域が重複していた。これらのことから必須遺伝子の 分布が欠失の大きさの上限に影響することが示唆された。

同様に本研究の全ゲノム変異解析で検出された染色体再編成のブレークポイントとこれまで に報告されたブレークポイント 532 箇所と必須遺伝子の分布を比較したところ、光合成独立栄 養生育条件で必須である MARA5 遺伝子以外で必須遺伝子領域と重複するブレークポイントはみ られず、必須遺伝子の分布が染色体再編成の遺伝にも関与することが示唆された。

以上より、LET30 と LET22.5 での重イオンビーム照射での誘発変異の比較では、*RPA1E* 遺伝子 の過剰発現による A-NHEJ での修復の促進は確認されなかった。一方で、全変異に対する大規模 変異の割合が LET30 で高かったことから高頻度変異誘発に大規模変異が寄与することが示唆さ れた。その背後にある分子的基盤については今後の研究課題である。また、欠失変異の大きさは LET の上昇とともに大きくなるものの、ゲノム中に分布する必須遺伝子の分布によって上限が制 限されることが示唆された。このため LET100 から LET290 の間では欠失の大きさに差は生じな いことがわかった。

< 引用文献 >

Abe, T., Ichida, H., Hayashi, Y., Morita, R., Shirakawa, Y., Ishii, K., Sato T., Saito H., Okumoto Y. (2021). "Ion beam mutagenesis - an innovative and effective method for plant breeding and gene discovery" in Mutation breeding, genetic diversity and crop adaptation to climate change, eds. Sivasankar, S., Ellis, T. H. N., Jankuloski, L., Ingelbrecht, I. (CABI, Oxfordshire, UK), 411–423.

Suzuki M., Kase Y., Kanai T., Yatagai F., Watanabe M. (1997) LET dependence of cell death and chromatin-break induction in normal human cells irradiated by neon-ion beams, Int. J. Radiat. Biol. 72(5):497-503

Kazama Y, Hirano T, Saito H, Liu Y, Ohbu S, Hayashi Y, Abe T. (2011) Characterization of highly efficient heavy-ion mutagenesis in *Arabidopsis thaliana*, BMC Plant Biol 11:161.

Kazama Y., Ishii K., Hirano T., Wakana T., Yamada Y., Ohbu S., Abe T. (2017) Different mutational function of low- and high-linear energy transfer heavy-ion irradiation demonstrated by whole-genome resequencing of Arabidopsis mutants, Plant J. 92(6):1020–1030.

Mateos-Gomez P.A., Kent T., Deng S.K., McDevitt S., Kashkina E., Hoang T.M. Pomerantz R.T. Sfeir A. (2017) The helicase domain of Polθ counteracts RPA to promote alt-NHEJ, Nat. Struct. Mol. Biol. 24(12):1116-1126.

Lloyd J.P., Seddon A.E., Moghe G.D., Simenc M.C., Shiu S. (2015) Characteristics of plant essential genes allow for within- and between-species prediction of lethal mutant phenotypes. Plant Cell 27:2133–2147.

Meinke D.W. (2019) Genome-wide identification of *EMBRYO-DEFECTIVE* (*EMB*) genes required for growth and development in Arabidopsis. New Phytol. 226:306–325.

Ishii K., Kazama Y., Hirano T., Hamada M., Ono Y., Yamada M., Abe T. (2016) AMAP: A pipeline for whole-genome mutation detection in Arabidopsis thaliana, G3: Genes Genet. Sys. 91:229–233.

Hirano T., Kazama Y., Ishii K., Ohbu S., Shirakawa Y., Abe T. (2015). Comprehensive identification of mutations induced by heavy-ion beam irradiation in *Arabidopsis thaliana*. Plant J. 82:93–104.

Hase Y., Satoh K., Seito H., Oono Y. (2020). Genetic consequences of acute/chronic gamma and carbon ion irradiation of *Arabidopsis thaliana*. Front. Plant Sci. 11.

Sanjaya A., Kazama Y., Ishii K., Muramatsu R., Kanamaru K., Ohbu S., et al. (2021) An argon-ion-induced pale green mutant of *Arabidopsis* exhibiting rapid disassembly of mesophyll chloroplast grana. Plants 10:848.

Chang H.H.Y., Pannunzio N.R., Adachi N., Lieber M.R. (2017) Non-homologous DNA end joining and alternative pathways to double-strand break repair, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 18:495–506.

## 5.主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件(うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件)	
1.著者名 Ishii Kotaro, Kazama Yusuke, Hirano Tomonari, Fawcett, leffrey A., Sato Muneo, Hirai Masami	4.巻 <sup>15</sup>
Yokota, Sakai Fujiko, Shirakawa Yuki, Ohbu Sumie, Abe Tomoko	
2. 論文標題	5 . 発行年
Genomic view of heavy-ion-induced deletions associated with distribution of essential genes in Arabidonsis thatiana	2024年
3. 維誌名	6.最初と最後の頁
Frontiers in Plant Science	-
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.3389/fpls.2024.1352564	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	-
1	<b>A</b>
Nhat Vuong Quoc, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Ohbu Sumie, Kunitake Hisato, Abe Tomoko, Hirano	-4 · 2: 10
Tomonari	
2.論文標題	5.発行年
Double Mutant Analysis with the Large Flower Mutant, ohbana1, to Explore the Regulatory Network Controlling the Flower and Seed Sizes in Arabidopsis thaliana	2021年
3. 雑誌名	6.最初と最後の頁
Plants	1881 ~ 1881
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.3390/plants10091881	有
オーブンアクセスオープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共者
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共者 
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名	国際共者 
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomaka Euliwara Mekata T	国際共者 - 4.巻 10
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Sanjaya Alvin、Kazama Yusuke、Ishii Kotaro、Muramatsu Ryohsuke、Kanamaru Kengo、Ohbu Sumie、Abe Tomoko、Fujiwara Makoto T. 2 論文標題	国際共者 - 4.巻 10 5.举行年
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Sanjaya Alvin、Kazama Yusuke、Ishii Kotaro、Muramatsu Ryohsuke、Kanamaru Kengo、Ohbu Sumie、Abe Tomoko、Fujiwara Makoto T. 2.論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll	国際共者 
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Sanjaya Alvin、Kazama Yusuke、Ishii Kotaro、Muramatsu Ryohsuke、Kanamaru Kengo、Ohbu Sumie、Abe Tomoko、Fujiwara Makoto T. 2.論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana	国際共者 
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Sanjaya Alvin、Kazama Yusuke、Ishii Kotaro、Muramatsu Ryohsuke、Kanamaru Kengo、Ohbu Sumie、Abe Tomoko、Fujiwara Makoto T. 2.論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana 3.雑誌名	国際共者 - 4 . 巻 10 5 . 発行年 2021年 6 . 最初と最後の頁
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Sanjaya Alvin、Kazama Yusuke、Ishii Kotaro、Muramatsu Ryohsuke、Kanamaru Kengo、Ohbu Sumie、Abe Tomoko、Fujiwara Makoto T. 2.論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana 3.雑誌名 Plants	国際共者 - 4 . 巻 10 5 . 発行年 2021年 6 . 最初と最後の頁 848~848
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T. 2.論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana 3.雑誌名 Plants	国際共者 - 4 . 巻 10 5 . 発行年 2021年 6 . 最初と最後の頁 848~848
<ul> <li>オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)</li> <li>1.著者名 Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.</li> <li>2.論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana</li> <li>3.雑誌名 Plants</li> <li>掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子)</li> </ul>	国際共者 - 4 . 巻 10 5 . 発行年 2021年 6 . 最初と最後の頁 848~848 査読の有無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) 1.著者名 Sanjaya Alvin、Kazama Yusuke、Ishii Kotaro、Muramatsu Ryohsuke、Kanamaru Kengo、Ohbu Sumie、Abe Tomoko、Fujiwara Makoto T. 2.論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana 3.雑誌名 Plants 掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.3390/plants10050848	国際共者 - 4 . 巻 10 5 . 発行年 2021年 6 . 最初と最後の頁 848~848 査読の有無 有
<ul> <li>オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)</li> <li>1.著者名 Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.</li> <li>論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana</li> <li>3.雑誌名 Plants</li> <li>掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.3390/plants10050848</li> <li>オープンアクセス</li> </ul>	国際共者 - 4 . 巻 10 5 . 発行年 2021年 6 . 最初と最後の頁 848~848 査読の有無 有 国際共著
<ul> <li>オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)</li> <li>1.著者名 Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.</li> <li>1.論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana</li> <li>3.雑誌名 Plants</li> <li>掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants10050848</li> <li>オープンアクセス オープンアクセス</li> </ul>	国際共者 - 4 . 巻 10 5 . 発行年 2021年 6 . 最初と最後の頁 848~848 査読の有無 有 国際共著 -
オープンアクセス         オープンアクセスとしている(また、その予定である)         1.著者名         Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.         2.論文標題         An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana         3.雑誌名         Plants         掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)         10.3390/plants10050848         オープンアクセス         オープンアクセス         オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共者 - 4 . 巻 10 5 . 発行年 2021年 6 . 最初と最後の頁 848~848 査読の有無 有 国際共著 -
オープンアクセス       オープンアクセスとしている(また、その予定である)         1.著者名       Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.         2.論文標題       An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana         3.雑誌名       Plants         掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)       10.3390/plants10050848         オープンアクセス       オープンアクセスとしている(また、その予定である)         (学会発表)       計24件(うち招待講演 4件/うち国際学会 2件)         1.発表者名       第	国際共者 - 4 . 巻 10 5 . 発行年 2021年 6 . 最初と最後の頁 848~848 査読の有無 有 国際共著 -
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)         1.著者名 Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.         2.論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana         3.雑誌名 Plants         掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants10050848         オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)         (学会発表) 計24件(うち招待講演 4件/うち国際学会 2件)         1.発表者名 生駒拓也,西嶋遼,池田美穂, Nagalla Asanga Deshappriya, 阿部知子, 風間裕介	国際共者 - 4.巻 10 5.発行年 2021年 6.最初と最後の頁 848~848 査読の有無 有 国際共著 -
オープンアクセス       オープンアクセスとしている(また、その予定である)         1.著者名       Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.         2.論文標題       An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana         3.雑誌名       Plants         掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子)       10.3390/plants10050848         オープンアクセス       オープンアクセスとしている(また、その予定である)         (学会発表)       計24件(うち招待講演 4件/うち国際学会 2件)         1.発表者名       生駒拓也,西嶋遼,池田美穂, Nagalla Asanga Deshappriya, 阿部知子, 風間裕介	国際共者 - 4.巻 10 5.発行年 2021年 6.最初と最後の頁 848~848 査読の有無 有 国際共著 -
オープンアクセス       オープンアクセスとしている(また、その予定である)         1.著者名       Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.         2.論文標題       An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana         3. 雑誌名       Plants         掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子)       10.3390/plants10050848         オープンアクセス       オープンアクセスとしている(また、その予定である)         (学会発表)       計24件(うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件)         1. 発表者名       生駒拓也,西嶋遼,池田美穂,Nagalla Asanga Deshappriya,阿部知子,風間裕介	国際共者 - 4.巻 10 5.発行年 2021年 6.最初と最後の頁 848~848 査読の有無 有 国際共著 -
オープンアクセス       オープンアクセスとしている(また、その予定である)         1.著者名 Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.         2.論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana         3.雑誌名 Plants         掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants10050848         オープンアクセス オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)         (学会発表) 計24件(うち招待講演 4件/うち国際学会 2件)         1.発表者名 生駒拓也,西嶋遼,池田美穂,Nagalla Asanga Deshappriya,阿部知子,風間裕介	国際共者 - 4 . 巻 10 5 . 発行年 2021年 6 . 最初と最後の頁 848~848 査読の有無 有 国際共著 -
オープンアクセス         オープンアクセスとしている(また、その予定である)         1.著者名 Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.         2.論文標題 An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana         3.雑誌名 Plants         掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants10050848         オープンアクセス オープンアクセス         オープンアクセス         ビ学会発表] 計24件(うち招待講演 4件/うち国際学会 2件)         1.発表者名 生駒拓也,西嶋遼,池田美穂, Nagalla Asanga Deshappriya, 阿部知子, 風間裕介         2.発表標題 シロイヌナズナの染色体で遺伝子量補償は起こるのか	国際共者 - 4 . 巻 10 5 . 発行年 2021年 6 . 最初と最後の頁 848~848 査読の有無 月 国際共著 -
オープンアクセス       オープンアクセスとしている(また、その予定である)         1.著者名 Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.         2.論文標題 An Argon-lon-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana         3.雑誌名 Plants         掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.3390/plants10050848         オープンアクセス         オープンアクセス         パープンアクセス         1.発表者名         生駒拓也,西嶋遼,池田美穂,Nagalla Asanga Deshappriya,阿部知子,風間裕介         2.発表標題 シロイヌナズナの染色体で遺伝子量補償は起こるのか	国際共者 - 4.巻 10 5.発行年 2021年 6.最初と最後の頁 848~848 査読の有無 有 国際共著 -
オープンアクセス       オープンアクセスとしている(また、その予定である)         1. 著者名       Sanjaya Alvin, Kazama Yusuke, Ishii Kotaro, Muramatsu Ryohsuke, Kanamaru Kengo, Ohbu Sumie, Abe Tomoko, Fujiwara Makoto T.         2. 論文標題       An Argon-Ion-Induced Pale Green Mutant of Arabidopsis Exhibiting Rapid Disassembly of Mesophyll Chloroplast Grana         3. 雑誌名       Plants         掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)       10.3390/plants10050848         オープンアクセス       オープンアクセスとしている(また、その予定である)         (学会発表) 計24件(うち招待講演 4件/うち国際学会 2件)         1. 発表標題         シロイヌナズナの染色体で遺伝子量補償は起こるのか	国際共者 - 4.巻 10 5.発行年 2021年 6.最初と最後の頁 848~848 査読の有無 有 国際共著 -

日本育種学会第145回講演会

4 . 発表年

2024年

石井公太郎, 風間裕介, 平野智也, Jeffrey A. Fawcett, 酒井富士子, 白川侑希, 大部澄江, 阿部知子

2.発表標題

重イオンビームで誘発される欠失変異と必須遺伝子のシロイヌナズナゲノム上での 分布に関する俯瞰的解析

3.学会等名 日本遺伝学会第95回大会

4 . 発表年

2023年

1.発表者名
 生駒拓也,池田美穂,西嶋遼,阿部知子,風間裕介

2.発表標題

シロイヌナズナの染色体で遺伝子量補正は起きるのか

3.学会等名 日本遺伝学会第95回大会

4 . 発表年

2023年

1.発表者名 石井公太郎,浅野円花,阿部知子,河野重行

2.発表標題

クロレラゲノム配列の更新と重イオンビーム誘導変異体の染色体再編成の解析

3.学会等名

日本植物学会第86回大会

4.発表年 2022年

\_\_\_\_

1.発表者名 石井公太郎,風間裕介,平野智也, Jeffrey A. Fawcett,白川侑希,大部澄江,阿部知子

#### 2.発表標題

全ゲノム変異解析による重イオンビーム誘発変異のLET・線量依存性

3 . 学会等名

理研シンポジウム「重イオンビーム育種による持続可能な社会や特産品生産の実現」(招待講演)

4 . 発表年 2023年

生駒拓也, サンジャヤ アルビン, 池田美穂, 西嶋遼, 村井耕二, 阿部知子, 風間裕介

2.発表標題

シロイヌナズナ染色体における遺伝子量補正の調査

3.学会等名第94回日本遺伝学会

\_\_\_\_

4 . 発表年 2022年

1.発表者名

杉田和陽, サンジャヤ アルビン, 西嶋遼, 田中裕之, 伊藤武彦, 村井耕二, 阿部知子, 風間裕介

2.発表標題

シロイヌナズナの新規染色体部分的重複変異体における遺伝子発現変動とクロマチン動態

3.学会等名

第94回日本遺伝学会

4 . 発表年 2022年

1.発表者名

上田純平,風間裕介,阿部知子,村井耕二

2 . 発表標題

時計遺伝子WPCL1の欠失による一粒系コムギ早生変異体の早生性を抑制するイオンビーム変異体late-heading 1の解析

3.学会等名

日本育種学会第141回講演会

4.発表年 2022年

. .

 1.発表者名 黛隆宏,松田彩花,畑下昌範,高城啓一,阿部知子,村井耕二,風間裕介

2.発表標題

重イオンビームを用いた園芸植物トレニアの花形変異体の作出

3 . 学会等名

北陸植物学会第12回大会

4.発表年

2022年

1.発表者名 生駒拓也,サンジャヤ アルビン,池田美穂,西嶋遼,阿部知子,風間裕介

2.発表標題

シロイヌナズナで遺伝子量補正は起きるのか

3.学会等名北陸植物学会第12回大会

4 . 発表年

2022年

1.発表者名

杉田和陽, サンジャヤ アルビン, 西嶋遼, 田中裕之, 伊藤武彦, 阿部知子, 風間裕介

2 . 発表標題

染色体再編成が植物ゲノムに及ぼす影響

 3.学会等名 北陸植物学会第12回大会

4 . 発表年 2022年

1.発表者名 風間裕介

2.発表標題

重イオンビーム誘発欠失変異を用いた植物性染色体の研究

3 . 学会等名

若狭湾エネルギー研究センター第24回研究報告会(招待講演)

4.発表年

2022年

1.発表者名

Yusuke Kazama and Tomoko Abe

2.発表標題

Effect of Linear Energy Transfer in the heavy-ion mutagenesis and breeding

3 . 学会等名

The 32nd annual meeting of MRS-J(招待講演)(国際学会)

4 . 発表年 2022年

Takahiro Mayuzumi, Ayaka Matsuta, Masanori Hatashita, Keiichi Takagi, Tomoko Abe, Koji Murai, and Yusuke Kazama

## 2.発表標題

Heavy-lon Beams with High Linear Energy Transfer frequently produces morphological mutants in the M1 generation of an ornamental plant Torenia fournieri

3 . 学会等名

The 32nd annual meeting of MRS-J(国際学会)

4.発表年 2022年

1.発表者名

黛隆宏,松田彩花,畑下昌範,高城啓一,阿部知子,村井耕二,風間裕介

2.発表標題

重イオンビームを用いたトレニア変異系統の作出

3.学会等名

日本育種学会第140回講演会

4.発表年 2021年

1.発表者名

石井 公太郎, 風間 裕介, 平野 智也, Jeffrey A. Fawcett, 酒井 富士子, 白川 侑希, 大部 澄江, 阿部 知子

2.発表標題

重イオンビームで誘発される欠失変異と必須遺伝子のシロイヌナズナゲノム上での分布に関する俯瞰的解析

3.学会等名

日本育種学会第141回講演会

4.発表年 2022年

1.発表者名

杉田和陽、Sanjaya Alvin、西嶋遼、村井耕二、阿部知子、風間裕介

#### 2.発表標題

シロイヌナズナの新規染色体再編成変異体で見られたダイナミックな 形態変化

3 . 学会等名

日本育種学会第141回講演会

4.発表年 2022年

石井公太郎、風間裕介、浅野円花、竹下毅、阿部知子、河野重行.

# 2.発表標題

クロレラの内部倍数性とAr・Feイオンビーム照 射による染色体の分断化と再構成

3.学会等名日本藻類学会第45回大会

4 . 発表年

2021年

1.発表者名

野村文希、風間裕介、阿部知子、村井耕二.

2.発表標題

イオンビーム照射により作出されたPpd-1欠失「農林61号」変異系統の解析

3.学会等名

第15回ムギ類研究会

4.発表年 2020年

## 1.発表者名

橋本佳澄、西浦愛子、風間裕介、市田裕之、阿部知子、村井耕二.

2.発表標題

重イオンビーム照射によって作出された超極早生コムギ変異体\*extra early-flowering 4 \* (\*exe4\*)の花成関連遺伝子の発現解析

3.学会等名 第15回ムギ類研究会

おい回ムて短い九五

4.発表年 2020年

1.発表者名

風間裕介.

2.発表標題

重イオンビームで拓く染色体再編成のサイエンス

#### 3 . 学会等名

北陸植物学会 令和2年度大会(招待講演)

4 . 発表年 2020年

石井公太郎、風間裕介、浅野円花、阿部知子、河野重行.

## 2.発表標題

Ar・Feイオンビーム照射によって生じるクロレラ染色体の断片化と染色体再編成

3.学会等名日本育種学会第138回講演会

4.発表年

2020年

1.発表者名

南壮二郎、渡邊遥、大部澄江、阿部知子、風間裕介.

2.発表標題

ゲノム編集を用いたシ ロイヌナズナへの染色体再編成の導入

3.学会等名

日本育種学会第138回講演会

4.発表年 2020年

1.発表者名

南壮二郎、渡邊遥、大部澄江、阿部知子、風間裕介.

2.発表標題

ゲノム編集を用いたシ ロイヌナズナへの巨大逆位の導入

3.学会等名

日本遺伝学会第92回大会

4.発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

必須遺伝子は必須だった – 染色体に「塗り絵」することで変異が遺伝する条件を解明 – https://www.riken.jp/press/2024/20240417\_3/index.html Frontiers in Plant Science誌に発表した論文Genomic view of heavy-ion-induced deletions associated with distribution of essential genes in Arabidopsis thalianaについてプレスリリースを行った。

## 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	風間 裕介 (Kazama Yusuke) (80442945)	福井県立大学・生物資源学部・教授 (23401)	

## 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
---------	---------