

## ミヤコグサの突然変異体とその見分け方

### 1. はじめに

生物の基本的な性質の一つとして、親から子へ性質が伝わることで親子が似通った性質を持つ遺伝という現象がある。親から子へ伝わる性質のことを遺伝形質と言い、単に形質と呼ぶことも多い。親から子に伝わる遺伝情報の主な担い手である遺伝子に何らかの要因で変化が生じる（遺伝子突然変異）と、場合によっては遺伝形質が変化した子が生まれることがある。これが突然変異体である。遺伝子突然変異は常に一定の頻度で発生しているが、紫外線・放射線の照射や特定の化学物質はこの頻度を飛躍的に上昇させる。宇宙空間では宇宙線と呼ばれる一種の放射線を浴びるので、地球上よりも遺伝子突然変異の頻度が高まると予想される。

### 2. ミヤコグサの突然変異体

ミヤコグサの突然変異体で変化が見られる形質としては、根粒の有無、葉・茎・種子などの色、花・葉など器官の形や大きさ、葉と葉の間隔・葉の太さなど植物全体の形やバランス、光など外部環境に対する応答などに関するものがある。ミヤコグサ (*Lotus japonicus*) はマメ科植物の遺伝子を研究するためのモデル植物なので、遺伝子の役割を調べる目的のために、遺伝子突然変異を誘発させる薬剤で処理したり放射線を当てたりして多数の突然変異体が人為的に作り出されている。宮崎大学とイギリスのジョンイネスセンターでは、突然変異体のコレクションを WEB で公開し希望する研究者に配付する事業を行っている。ここでは代表的な突然変異体について簡単に解説することとし、その他の突然変異体については、写真を閲覧できるサイトを紹介するので参照していただきたい。

#### (ア) 根粒に関する変異形質

##### ① 根粒無し.

根粒菌を接種しても全く根粒ができない。当然空気中の窒素を利用することもできないため、肥料を十分与えないと窒素栄養不足になる。その場合、葉の緑色が薄い、茎が赤い、生育が悪いなどの症状が現れる。

##### ② 窒素固定能力無し.

全ての根粒が窒素固定能力をもたない。窒素固定をしている根粒は、ふっくらとして薄いピンク色をしているのに対して、窒素固定能力の無い根粒は小さめで色が青黒い。やはり窒素栄養不足の症状が出る。

<http://www.apsnet.org/mpmi/covers/1998/mjl98cvr.htm>

##### ③ 根粒が異常に多い.

やや小さめで形の揃わない根粒が多数できる。通常は、根粒のできる領域がある部分に限られているのに対し、この変異体では根の先端から基部にかけて広い範

圃に根粒ができる。

<http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/seiripl/naiyou.html> (図1右)

### (イ)色に関する変異形質

#### ① 種皮・莢の色が薄い。

野生型の種皮が濃い黒褐色をしているのに対して薄い茶色を呈する。種皮色以外に、花卉の赤い筋が見られないなど、他にも影響を与える場合もある。



#### ② 茎の色が赤い。

今回の実験で用いる MG-20 Miyakojima という品種は本来茎が緑色であるが、この突然変異体は茎が赤い。

#### ③ 葉が赤く緑色が薄い。茎だけではなく葉も赤い。



### (ウ)器官サイズに関する変異形質(写真はそれぞれ左側が野生型)

#### ①小さい葉



#### ②大きい花



### (エ)環境応答に関する変異形質

- ① 就眠運動をしない。ミヤコグサは他のマメ科植物と同様夜になると葉を閉じる就眠運動をする。基礎生物学研究所の川口博士により就眠運動をしないミヤコグサの突然変異体がとられている。

#### (オ) その他の変異形質

- ① 莢ができて花が落ちない。エチレンという植物ホルモンに感じなくなった突然変異体では、受粉して子房が膨らんでも花が落ちない。

#### (カ) ウェブ上で見ることのできるミヤコグサの突然変異体

- ① -Legume base- *Lotus japonicus* (宮崎大学フロンティア科学実験総合センター)

<http://www.shigen.nig.ac.jp/bean/lotusjaponicus/top/mutant.jsp>

Mutant lines (EMS 変異体) をクリック、次いで「特徴閲覧」をクリックすると変異体をまとめた表が現れる。見たい変異体の特徴をクリックすると特徴別リストが表示される。さらに Line 欄の数字をクリックすると各ライン (系統) の写真を見ることができる。

- ② *Lotus japonicus* mutant finder (ジョンイネスセンター; 英語)

<http://data.jic.bbsrc.ac.uk/cgi-bin/lotusjaponicus/>

左下の欄で器官 (Architecture, Flower, Fruit...) を選んでクリックし、その右隣の欄で特徴をクリックし「SEARCH」ボタンを押すと該当する系統番号が表示される。番号をクリックすると表が現れ、右端の「Images」のフィアル名をクリックすると画像が表示される。画像が登録されていない系統も多い。

### 3. ミヤコグサ変異体を捜す上での留意点

突然変異体の形質は大半が劣性遺伝し、2 倍体であるミヤコグサの場合、その形質は二つの相同染色体の同じ遺伝子座に変異を持つ個体 (ホモ接合体) のみに現れる。放射線の照射などにより偶然二つの相同染色体の同じ遺伝子座に遺伝子突然変異が生じる確率は無視できるほどに小さい。突然変異体の探索は形や色を目で見て確認するのが基本であるが、これらの性質は遺伝情報の影響を受けるほか、様々な環境要因によっても大きく変化する。このため、突然変異体の探索には以下のような点に留意する必要がある。

- (ア) 次世代種子の取得. 宇宙空間で保存された種子は、基本的に相同染色体の一方のみが変異遺伝子をもつヘテロ接合体と考えられる。突然変異体を探索する前に、まず宇宙空間で保存された種子 ( $M_1$  種子) を発芽させて植物体 ( $M_1$  植物) を栽培し、次世代の種子 ( $M_2$  種子) を得る必要がある。ミヤコグサの花では自然に自家受粉が行われ、この際にヘテロ接合体から生じる子供は確率的に  $1/4$  が変異遺伝子のホモ接合体になる。 $M_1$  植物は各個体を番号等で区別し、個体毎に  $M_2$  種子を収穫しておくことと便利である。適度な水やりと病虫害の駆除に努め、健全な種子が実るようにする。不健全な種子から育つ植物は栄養不足のために形態異常が見

られることがあり，本来の突然変異体を探索する妨げとなる。

#### (イ) 突然変異体の探索（スクリーニング）。

##### ① $M_2$ 植物の栽培。

なるべく多数の $M_2$ 種子を蒔くのが望ましい。 $M_2$ 種子が多数収穫できた場合は，各 $M_1$ 植物由来の $M_2$ 種子から一定の数（例えば 10-50 粒程度）を選んで蒔く。そうすることで，特定の $M_1$ 個体由来の種子に偏ることなく少しでも多くのバリエーションを持つ $M_2$ 植物を利用できる。 $M_2$ 種子の収穫量が少ない場合は，可能なら全ての種子を播種して変異体の探索に使用してもよい。それぞれの学校・施設に適した方法で播種・栽培してよいが，同じ場所で同時に少数の野生型 MG-20 Miyakojima を栽培し形質比較の基準にする。 $M_1$ 植物と同様適度な水やりと病虫害の駆除に注意し，全ての植物が同じように健全に生育できるようにする。

##### ② 突然変異体候補の見つけ方。

栽培を続けながら植物を観察し，特定の器官の形・大きさ・色や植物全体の様子が野生型と異なるかどうかをチェックする。気になる植物を見つけたら，札を立てたり茎にテープを巻くなどして他の植物と区別して観察を続ける。幼植物の段階で異常が見られても成長すると野生型と変わらなくなる場合も多い。花・莢の様子を観察したら，丁寧に根全体を掘り起こし，土を水で洗い流して根と根粒の様子を観察する。根と根粒の見目はわずかな環境の変化で大きく異なるので突然変異体の識別は多少難しいかもしれない。予め野生型の根粒をよく観察し，ある程度（直径 5 mm 程度）以上の大きさで，ふっくらと丸く，薄いピンク色をしているという正常根粒の特徴を覚えておく。根の全体をよく調べ，正常な根粒が一つもついていなければ根粒形成に関する変異体の可能性がある。

(ウ) 次世代 ( $M_3$  植物) での形質確認。野生型と異なる形質が見られた $M_2$ 植物は変異体の候補ではあるが，次の $M_3$ 世代にその形質が遺伝しなければ突然変異体ではない。特に，生育の悪い植物ではしばしば形態・色の異常が見られるがその性質は遺伝しないことが多い。変異体候補である $M_2$ 植物の栽培を続け，次世代 ( $M_3$ ) の種子を収穫する。 $M_2$ 植物と同様に $M_3$ 植物を育て形質を観察する。劣性遺伝形質の場合， $M_3$ 植物では全ての個体に $M_2$ 植物と同じ変異形質が現れるはずである。一部の突然変異体では生育が途中で停止したり，花の形態異常などにより次世代 $M_3$ 種子が実らないことがある。この場合，同じ $M_2$ 植物個体から収穫された別の個体（兄弟）で同様の形質が見られるかを確認する。理想としては，疑わしきは変異体候補として多めに拾い上げ，遺伝の有無を次世代で厳正に確認するのがよい。しかし，途中経過で一喜一憂すると疲れるので，「拾って驕らず，捨てて腐らず」という心がけで平常心を保つのがよい。