

# パーティクルガン遺伝子導入による大気汚染好性植物の創出

広島大学理学研究科遺伝子科学

森川弘道

周知のごとく化石エネルギーの消費には大気環境汚染問題が不可避であり、エネルギー消費（燃焼）はNO<sub>x</sub>（NOとNO<sub>2</sub>の混合物）の生成、大気中への排出を伴う。窒素酸化物は酸性雨などの環境問題を引き起こす大気汚染の元凶物質の一つである。酸性雨が地球規模で問題となって久しい。この問題の存在自体、いまや大気に放出された窒素酸化物の総量規制が、地球規模で緊急の課題であること、地球の大気浄化能力にはすでに限界が見えつつあること、また、三元触媒法技術などの現存の汚染物質放出量低減のための工学的技術だけでは不十分であることを端的に示している。

植物はこれまで公害の“犠牲者”または、環境破壊の“被害者”として捉えられられて来た。演者は数年前、“攻撃的な”植物をつくる方が面白いのではないか、人間にとての「悪環境」を逆に“好み”、汚染物質を肥料として生育し、汚染物質が無くなれば死に至るような植物を作れるのではないかと考えた。耐性から“好性”への発想の転換である。この様な植物を“大気汚染好性植物”（Air-Pollutant-Philic Plant）と呼ぶことにし、以来、“好性植物”的分子生物学について研究を進めてきた<sup>1-3)</sup>。

米山ら<sup>4)</sup>は、大気中のNO<sub>2</sub>は気孔を介して植物葉内へ取り込まれ、葉緑体のGS-GOGAT系により、アミノ酸、タンパク質まで同化されることを報告している。すなわち、植物は大気中のNO<sub>2</sub>を吸収・代謝する能力を有している。この能力は植物の窒素代謝生理においてどの様な意義をもつのか、また植物は進化過程でいつこの能力を獲得したのかは謎である。何れにせよ、植物はNO<sub>2</sub>を“窒素肥料”として利用しうる代謝系を持っており、大気中のNO<sub>2</sub>ガスの低減、大気浄化装置として機能しうる（している）ことになる。

遺伝生態学的研究により、例えば英國工業地帯に生育する植物（*Lolium perenne* L. cultivars）のSO<sub>2</sub>耐性は後代に伝播することなど、植物の大気汚染物質耐性の形質は遺伝的に安定であることが報告されている<sup>5)</sup>。従って、「好性形質」も遺伝的に安定であることは充分考えられる。

演者らはまず、自然界の植物のNO<sub>2</sub>同化能力にはどれほどの差異があるのかの調査から研究を開始した<sup>1, 2)</sup>。道路端で採取した野生草本植物17科43属52種、広島市植物公園より供与いただいた栽培草本植物30科55属61種および栽培木本植物26科37属37種合計150種（500個体以上）を対象とした。これら植物を暴露チャンバー内で明所下、4±1 ppm（環境基準の約100倍）の15NO<sub>2</sub>に昼間、8時間一回暴露する実験条件で植物試料の乾物重量当たりのNO<sub>2</sub>ガス由来の還元態窒素量（NO<sub>2</sub>-N/g乾物重）を求め、この窒素量を植物のNO<sub>2</sub>同化能力とした。

その結果、最もNO<sub>2</sub>同化能力が高いのは野生キク科ダンドボロギク（5.7mgNO<sub>2</sub>

$\text{N}_2\text{-N/g乾物重}$ ）であり、アナス科イオナンタ（ $0.006\text{mgN}_2\text{-N/g乾物量}$ ）が最小であった。両者の同能力には3桁の差があった。 $\text{NO}_2$ 同化能力の高い野生植物はキク科（ダンドボロギク、ベニバナボロギク、ヒメジョオン、アメリカセンダングサ、アキノノゲシ、オオアレチノギク、ノボロギク、ヨモギ、ホウキギク、オニノゲシなど）が多く、イネ科やアナス科の植物は一般に $\text{NO}_2$ 同化能力は低かった<sup>2)</sup>。栽培植物ではタバコ、ボリッジ、ロベージ、ディル、ペパーミント、インパチェス、キク、カモマイル、ラベンダー、コスモスなどが比較的高かった<sup>2)</sup>。木本植物で $1.0\text{mgN}_2\text{-N/g乾物重}$ 以上の同化能を示したのは調べた限りではジャスミンのみであったが、最近トヨタ自動車との共同研究によりさらに70種近く調査したところ、ユーカリやアカシアの仲間はダンドボロギクに匹敵する $\text{NO}_2$ 同化能力を持つことが見いだされた<sup>6)</sup>。

一般論としては、植物の $\text{NO}_2$ 同化能力には供試植物の個体差、生育過程での生理栄養条件、齢、アッセイ時の生理栄養条件、測定部位など様々な因子が関与すると考えられる。これら因子についての系統的な検討は多大な時間と費用のかかることであり、今後焦点を絞って生理生化学的に系統的に研究する必要がある。個体差については野生植物12種（10—20個体／種）について調べた限り、7—27倍（最大値はセイタカアワダチソウ）であり、上述の植物間“差”は個体間のバラツキでは説明できない。

なぜこのように植物種間で $\text{NO}_2$ 同化能力に大きな“幅”があるのかを遺伝子とその発現レベルで解析することは分子生物学的に興味ある課題である。いずれにせよこの結果は、スクリーニング、選抜、または遺伝子操作による好 $\text{NO}_2$ 植物の探索、育成が可能であることを強く示唆するものである。

演者らの予備的実験結果によると、 $\text{NO}_2$ 代謝能力の高い植物と低い植物との間には、気孔開閉応答に対する $\text{NO}_2$ の効果に差異はなく、気孔開閉は植物葉の $\text{NO}_2$ 吸収の律速にはならないと推定された<sup>2)</sup>。従って、演者らは $\text{NO}_3^-$ （または $\text{NO}_2^-$ ）イオンの輸送や細胞内の関連酵素の活性発現などの要因が植物の $\text{NO}_2$ 同化能力を決めていると推定している。

これまでに調査した合計200種以上の植物について $\text{NO}_2$ 由来の還元態窒素の全還元態窒素に占める割合（%）を調べると、この割合が5%以上である植物が30種以上見出された。ダンドボロギク、タバコ、ユーカリは10%以上の値を示した。この結果は植物の葉面からの $\text{NO}_2$ 吸収による窒素同化が、植物の窒素代謝生理において重要な意義を有しうることを示している。また、この値の高いダンドボロギク、タバコ、ユーカリなどは“ $\text{NO}_2$ 好性植物の候補”と考えられる。我々の実験では $\text{NO}_2$ 濃度環境基準の約100倍であるが、マメ科植物において $\text{NO}_2$ 同化能力は $\text{NO}_2$ 濃度に比例することが報告されており<sup>7)</sup>、これらの植物が大気中の $\text{NO}_2$ 吸収・同化に威力を發揮することは十分期待される。植物中の遊離アミノ酸は約一週間で代謝回転すると言われるので、これら植物種の中から、葉面から吸収する $\text{NO}_2$ のみを窒素源として生育できる個体を選抜出来るかも知れない。

硝酸代謝関連に関与するNR、NiR、GS、GOGAT酵素タンパク質は、

(N R以外)葉緑体に局在しているが、これら酵素の遺伝子はすべて核染色体DNA上にコードされている<sup>8)</sup>。また、N i Rなどの硝酸代謝関連酵素遺伝子の発現は生物時計の制御下にあり、これら酵素の活性は夜間に低下し、このため植物にとって有害な亜硝酸イオンやアンモニアが蓄積し、植物は害を蒙るとされている<sup>9, 10)</sup>。従って、これら酵素の遺伝子を核または葉緑体ゲノムに導入し、植物を改変すれば、さらにNO<sub>2</sub>ガス代謝能力の高い植物が得られる可能性がある。

そこで、シロイヌナズナ(NO<sub>2</sub>同化能力は調査した植物種中ベストテンに入る)を用いて、形質転換、遺伝子のクローニングあるいはN R欠損株の取得の研究を進めてきた<sup>1, 2)</sup>。これまでに、ホウレンソウN i RのcDNAをCaMV 35Sプロモーター、NOSターミネーターに結合した発現ベクターを導入したトランスジェニック植物を取得した。この植物のNO<sub>2</sub>同化能力の解析、ノザン分析、酵素活性、イオン蓄積の解析は現在進行中である。また、シロイヌナズナN i R遺伝子およびcDNAを単離、塩基配列を決定した。N R欠損株も得ている。このN i R遺伝子、cDNAやN R欠損株などを用いて形質転換による研究を進めている。我々の研究は未だ実証的データに乏しいが、植物のNO<sub>2</sub>代謝に関する分子生物学分子生理学を深めることにより、大気汚染好性植物育成の夢を達成したいと考えている。グリーンベルトや公園植栽に用いられている植物から、たとえば組織培養によるソマクローナル変異などをを利用して、“好NO<sub>2</sub>性枝変わり”を選抜し、“好NO<sub>2</sub>性品種”を育成することは比較的容易と考えられる。好性植物による大気環境の改善の日もそれほど遠くはない期待している。

本研究は豊原源太郎講師、藤田耕之輔教授（広島大）、井田正二助教授（京都大食研）のご協力、また、広島大学分子形質発現学講座のスタッフ、学生との共同研究によるものである。また、本研究は（財）地球環境産業技術開発研究機構（R I T E）および（財）中国電力技術研究財団の研究助成および文部省科学研究費によるものであり、また、（株）日本医化器械製作所、電気化学計器（株）のご支援をいただいた。ここに厚く御礼申し上たい。本稿は「化学と生物」32:74(1994)を改変したものである。

#### 引用文献

- 森川弘道、鎌田光宜、檜垣朝、田中俊憲、神幸夫、入船浩平：植物細胞工学、4, 298(1993).
- Morikawa, H., Higaki, A., Nohno, M., Kamada, M., Nakata, M., Toyohara, G., Fujita, K., Irifune, K.: in Research in Photosynthesis eds. Murata, N. Vol. IV, 79-82, Kluwer Academic Publishers (1992)
- Kamada, M., Higaki, A., Jin, Y., Seki, M., Sawasaki, T., Ida, S., Toyohara, G., Iriune, K., Morikawa, H.: in Research in Photosynthesis eds. Murata, N. Vol. IV, 83- 86, Kluwer Academic Publishers (1992)
- Yoneyama, T., Sasagawa, H., Totsuka, T., Yamamoto, Y.: Progress report in 1976-1977. Report of special research project, NIES R-2.

103-111 (1978)

5. Winner, W. E., Coleman, J. S., Gillespie, C., Mooney, H. A., Pell, E. J.: in *Ecological Genetics and Air Pollution*, eds. Taylor, Jr., G. E., Pitelka, L. F., Clegg, M. T. 177-202 Springer-Verlag (1991)
6. 松井邦夫, 檜垣朝, 木谷和重, 森川弘道: 日本植物生理学会1993年度年会講演要旨集 p. 85 (1993)
7. Rogers, H. H., Campbell, J. C.: *Science* 209, 333-335 (1979)
8. 山谷知行: 化学と生物, 12, 813 (1988).
9. Yoneyama, T., Sasakawa, H.: *Plant Cell Physiol.* 20, 263-266 (1979)
10. Yoneyama, T., Sasakawa, H., Ishizuka, S., Totsuka, T.: *Soil Sci. Plant Nutr.* 25, 267-275 (1979)