

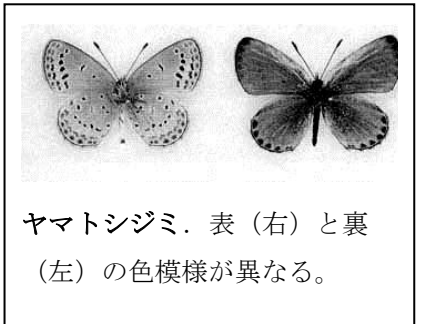
## チョウのゲノム変異解析： 福島原発による放射能汚染の生物学的影響をゲノムレベルで調べる

### < 研究目的 >

ヤマトシジミ（鱗翅目、シジミチョウ科）と呼ばれている小型チョウを用いて、福島第一原子力発電所の事故により放出された放射性物質による遺伝的損傷を検討するのが本研究の目的である。特に、本研究では、ヤマトシジミのゲノムを迅速に解析することにより、ゲノムレベルでの変異を発見することを目的とする。

我々は原発事故以前からヤマトシジミに注目して研究を進めてきた。我々のグループは、これまでに野外調査、交配実験、形態観察、人工照射実験などを行い、その成果を *Scientific Reports* 2: 570 に発表した。特にヨーロッパでは各メディアにおいて取り上げられ、大きな反響を呼んだ。

しかしながら、ゲノム上の変異を特定するには至っていない。本研究では、福島原発周辺で採集されたヤマトシジミのゲノムに変異が入っていること、および、人工的に外部被曝あるいは内部被曝させた場合にも、同様にゲノムに変異が入ることを検証する。これらの結果により、福島第一原子力発電所の事故による放射能汚染によって生態系に負荷がかかっていることを実証する。本研究は、低線量被曝が生体に与える影響を世界で最初にゲノムレベルで明らかにする。



ヤマトシジミ、表（右）と裏（左）の色模様が異なる。

### < これまでの研究 (Scientific Reports 2: 570) >

ヤマトシジミは北海道を除く日本全域に棲息する小型チョウである。人家や公園など、人の生活する場所で特に繁栄するという性質がある。われわれは、ヤマトシジミを研究室内で連続的に世代を重ねて飼育する方法（継代飼育法）を確立した。この方法を用いて、福島原発の影響を調べた。

2011年5月に福島周辺地域からヤマトシジミを採集したところ、若干の異常形態がみられ、翅のサイズが縮小がみられた。翅のサイズの縮小は、個体全体が小型になっていることを意味する。翅のサイズ採集地の地面の放射線量と有意に相関していた。つまり、放射線量が高いほど、翅は小型になっていた。

これらそれぞれの地域から採集してきた個体に卵を産ませ、子世代の幼虫・蛹を飼育したところ、原発からの距離が近いほど、卵から羽化までに多くの日数を要することがわかった。また、子世代にも形態異常がみられた。この異常が遺伝するかどうかを検討するため、異常を示した親を選択し、卵を産ませ、孫世代の幼虫・蛹を飼育したところ、かなりの割合で子世代の親と類似か同一の異常形質を持った孫世代の成虫が得られた。さらに、触覚が二股に分かれている形態異常など、子世代にはみられなかった異常もみられた。

2011年9月に福島周辺地域からヤマトシジミを採集したところ、異常率は28%に達した。これは5月の2倍以上である。それらの子世代では異常率は60%に達した。

以上の結果を実験室で再現するために、最大55mSvあるいは125mSvの外部被曝を沖縄産ヤマトシジミに対して行った。沖縄産ヤマトシジミは福島原発の影響をほぼまったく受けていないと考えられる。形態異常、翅のサイズの縮小や生存率の低下がみられた。また、沖縄産個体を放射性物質に汚染されている福島産の食草を食べさせて育てた。これによって内部被曝されたことになる。外部被曝の場合と同様に、形態異常、翅のサイズの縮小、生

存率の顕著な低下がみられた。

これらの結果を総合し、福島原発周辺の地域では、原発からの放射能汚染によってヤマトシジミが生理的・遺伝的な損傷を受けていると結論した。しかしながら、どの遺伝子のどの部分が損傷されているのかといった具体的な変異箇所についてはまったく不明のままである。そこで、福島産のヤマトシジミのゲノムを原発の影響を受けていない地域のゲノムと比較することによって、その損傷箇所を特定する。もし特定できれば、ゲノムに傷が入ったことの決定的な動かしがたい証拠となる。このことは、原発からの放射能汚染が生物に多大な影響を与えていることを示している。

## ＜ 研 究 計 画 ＞

研究は、おおまかに分けると、以下の2部から成る。

- (1) 汚染地域数地点からの成虫個体の採集とそのゲノム解析による損傷部位の特定
- (2) 汚染食草による飼育とそのゲノム解析による損傷部位の特定

### (1) <サンプリングとゲノム解析>

これまでの結果を踏まえ、いわき市/福島市からのサンプリングを予定している。ヤマトシジミは水田や畑や公園内で繁殖するため、そのような採集候補地をあらかじめ絞り込んでおき、効率的に採集を行う。採集と同時に線量調査には、シンチレーションサーベイメータ ( $\gamma$ 線用) および GM サーベイメータ ( $\beta$ 線用) の両方を用いる。採集した雌個体から 100 個ほどの卵を得、次世代を得る。これらは基本的に遺伝的背景が類似しているため、集合体としてゲノム解析に用いることができる。しかしながら、その時点で異常がみられることが重要である。

ゲノム DNA を 50  $\mu\text{g}$  ほど精製し、タカラバイオの高速シーケンス解析受託に提出する。本サービスは次世代シーケンサーを用いたペアエンド解析とメイトペア解析を組み合わせて作業を行い、優れたアセンブラー (情報処理プログラム) を用いることで、高効率でゲノム解析を遂行することができる。

参照配列としては、放射能汚染の影響を受けていない個体群のゲノム配列が必要である。その候補としては、東北地方の秋田県の秋田市、青森県の深浦町、山口県の宇部市、沖縄県西原町、そして東京などを予定している。これらの個体群のゲノムレベルでの違いを検証することで、放射線のゲノムに与えた傷を特定することができるだろう。

ただし、この時点では、どの変異が本当に放射線によるものなのかは必ずしも確実にはわからない。自然な状態でもそれなりに変異はあるからである。

### (2) <内部被曝とゲノム解析>

上記の問題点を克服するために、宇部市などの正常個体群を用いて内部被曝実験を実施する。汚染地域から集めた食草を食べさせて幼虫を育てることで内部被曝させる。その後、異常を示す雌から得られた子世代からゲノムを抽出し、解析する。この結果を内部被曝以前の個体から得られたゲノムと比較することで、内部被曝による傷の有無を検証する。

## < 使 途 内 訳 >

■ゲノム解析費：3Gbp 程度のゲノムドラフト配列解析—タカラバイオに委託

1) **ゲノム解析** <スキャフールド配列(コンティグ同士を連結させた配列)を取得する方法による>

○作業内容

- ・ペアエンドライブラリー作製
- ・mate-pairライブラリー作製(3k、10k)
- ・HiSeqによるシーケンス取得(ペアエンド100bp、合計80Gb相当)
- ・アセンブル
- ・遺伝子予測、アノテーション

○価格、納期：400万円(税別)、5か月

2) **5サンプルの変異解析**

○作業内容

- ・ペアエンドライブラリー作製 5検体分
- ・HiSeqによるシーケンス取得(ペアエンド100bp、合計60Gb相当)
- ・変異塩基抽出 5検体分

○価格、納期：271万円(税別)、約2.5か月

1)+2)：400万円(5ヶ月)+271万円(2.5ヶ月) =**671万円(7.5ヶ月)**

■消耗品費 (合計 300 千円)

ゲノム DNA 精製キット、QIAGEN, **30 万円**

■旅費：沖縄発、福島・秋田・青森・宇部・東京におけるヤマトシジミ・食草採集

各 200 千円として **100 万円**

**見積総額 = 801 万円**

琉球大学理学部 大瀧丈二

問合せ先：琉球大学理学部大瀧丈二研究室内

野原千代 chiyodon@gmail.com

090-7863-9016