アイソトープと生命科学

古川純　　アイソトープ総合センター
生命環境科学研究科生命共存科学専攻助教
（ふるかわ じゅん／植物生理学）

はじめに

筑波大学アイソトープ総合センターの職員として採用され、あっという間の1年が過ぎようとしている。現在の状況といえば、センターの管理業務や自らの研究に関して多くの方々のご指導・ご助力を得てどうにかこなしている、といったところではなかろうか。知識を深め経験を積むことで、早く一人前の管理者・研究者にならねばと思う日々である。

私の専門は植物栄養・生理学であるが、アイソトープならびに放射線との縁は、大学4年の時に放射線を使って植物の機能を解明しようとする研究室に入って以来である。大学の放射性同位元素施設のみならず、当時から日本原子力研究所（現　日本原子力研究開発機構）や理化学研究所など様々なRI施設で実験する機会に恵まれたことは、現在の職務を遂行していく上で大変幸運であった。これらの施設で受けた教育訓練や実際に施設を利用して研究を行った経験を、管理業務や教育・研究に活かしていきたいと思っている。

また、アイソトープ総合センターは学内共同利用施設の一つとして全学的な放射線管理・教育を担う一方、多様な非密封アイソトープの使用が可能な研究拠点でもある。生命科学の研究に携わる者として、センターにおける研究活動をさらに推進する上でアイソトープをどのように活用していくのかについて、主に植物分野の研究から考えていることを述べてみたい。

生命科学におけるアイソトープの利用

少し前までは、生命科学におけるアイソトープの利用といえば^{32}Pや^{35}Sを用いた核酸やタンパク質のラベリングが中心であったが、現在では化学発光や蛍光試薬を用いた様々なnon-RIの手法が確立されたことにより、これら核種の利用量は減少傾向にある。とはいえアイソトープを利用した実験の重要性が衰えた訳ではなく、替わって増加しているのが様々な金属元素のアイソトープの利用である。生体内の機能分子で

ある酵素タンパク質にはその活性中心に金属元素を必要とするものがあり、鉄を活性中心に持つシトクロムcや構成要素として亜鉛を必要とするジンクフィンガータンパク質などがよく知られている。また、タンパク質の一部として金属元素を含むことが示されていても、その機能が明らかになっていない酵素も数多く存在している。このような金属タンパク質の機能を明らかにすることは、様々な生体反応の過程を理解する上で重要であり、今後研究の進展が期待される分野であることは間違いない。さらに、これらの金属タンパク質を構成し、機能させるための金属を生体がどのように吸収し、必要とされる器官まで輸送しているのかを明らかにすることも、等しく重要なテーマである。生体中の金属元素の多くは含有量が極めて少ないことから、その吸収や輸送機構の解明に向けたアプローチとしてアイソトープは特に有用なツールとして活用されている。近年では、分子生物学的な実験手法との相乗効果により様々な金属輸送タンパク質が決定され、輸送体に関する研究が植物生理学、植物栄養学における“ホット”な分野となっている。

実際の対象物を見る！

上に述べた金属元素でも同様であるが、^{14}Cでラベルした有機化合物などのアイソトープを利用するメリットは、自らの興味の対象そのものの動きをトレースできる点にあると考えている。遺伝子組換えにより輸送体のタンパク質を酵母やアフリカツメガエルの卵母細胞で発現させる異種発現系は、輸送体の基質特異性を解明するために広く用いられているが、これらの系においてアイソトープは「間違いなくこの物質を輸送している」ことを示す有効な手段となっている。自らの実験を顧みれば、有機酸の輸送体をコードしている遺伝子を決定している際に、クエン酸は運ぶがリンゴ酸は通さない、という性質を明らかにできたのはまさしくこの特徴のおかげであった。今でも^{14}Cラベルしたクエン酸の輸送活性のみが認められた時のほっとした気持ちを覚えている。またアイソトープを利用して輸送活性を測定する際の特徴として、パルス的な処理が可能である点が挙げられる。異種発現系であれ組換え生物であれ、生きた細胞を用いて輸送体の活性を測定しようとすれば、内在性の物質が多量であるために、測定中に輸送体によって運ばれた量を定量することが困難になる場合があるからである（特に対象が先に述べたクエン酸やリンゴ酸のように代謝に関連するような物質であればなおさらである）。このような実験系でもアイソトープの放射能を測定すれば正確に輸送活性を求めることが可能であ

る。

また実際にラベルした物質を対象とすると言う意味では、アイソトープを使える質量分析装置という可能性について少し考えてみたい。田中耕一氏のノーベル賞受賞が裏付けているが、“類似のアミノ酸配列を持つタンパク質がデータベースに登録さえされていれば、興味のあるタンパク質をコードする遺伝子を即座に決定することも可能である”、という技術は生命科学において非常に大きなインパクトを与えた。アイソトープの役割は対象となるタンパク質を選択する際の手がかりになることであるが、現状では、見つけたタンパク質をもう一度最初からnon-RIで精製し直さなければ質量分析装置での解析を行うことができない。これは対象となるタンパク質が極めて微量である場合などに大きな問題となる点であり、また常に時間、コストの面で不利に働いている。もし、アイソトープによってラベルされたタンパク質をそのまま質量分析装置で解析できれば大きなアドバンテージとなると期待され、同業他“大”の友人達との気の置けない会話から出てくる願望ではあるものの、そのような設備が整えば、生命科学におけるアイソトープがさらに魅力的な存在になるのではないかと思われる。

いささか現実から離れた話（＝夢？）に脱線してしまったが、最後に実際のプロジェクトについて紹介したいと思う。

私のプロジェクト

高等植物における金属元素の集積には、根による吸収、導管への積み込み、蒸散流に乗った地上部への輸送、地上部における器官・細胞レベルでの分配、局在など様々な場面で必要とされる多くの機構が関わっている。生育に必要な栄養が欠乏した環境では、その栄養に対する獲得機構を働かせ、また、重金属を多く含む土壌や塩濃度が高いなどの悪条件下では、細胞に毒性をもたらす元素を細胞外や液胞に排出したりキレート形成により無毒化したりする機構を活性化させる。このような恒常性の維持には特定の金属に対してただ一つの機構が働くのではなく、多くの機構が協調して機能することが必要であると考えられている。また逆に、金属の輸送体には複数の金属に対する輸送活性を持つものもあることから、ある遺伝子が決まった金属だけではなく複数の金属の恒常性維持に関与する可能性も示されている。これらは個々の金属輸送タンパク質や金属結合タンパク質などに対する研究から得られた知見を統合し、再構築することが植物栄養学に求められていることを示している。

そこで植物の金属集積機構を統合的に解析するために、生体内の金属元素の挙動を

網羅的に解析し（＝メタロミクス）、植物が持っている機能（＝遺伝子）と照らし合わせて解析する試みをスタートさせている。まずマメ科のモデル植物であるミヤコグサと様々なアイソトープ（^{7}Be、^{22}Na、^{46}Sc、^{48}V、^{51}Cr、^{54}Mn、^{59}Fe、^{58}Co、^{65}Zn、^{74}As、^{75}Se、^{84}Rb、^{85}Sr、^{88}Y、^{88}Zr、^{95m}Tc、^{103}Ru、^{99}Rh）を用いた解析を行い、主要な実験系統であるMiyakojima MG-20とGifu B-129で金属の集積量を測定した。これまでの解析から、この実験系統間ではFe、Zn、SrおよびYの集積量がMiyakojima MG-20の地上部で多くなっていることが明らかになってきた。ミヤコグサではMiyakojima MG-20とGifu B-129のそれぞれの染色体を部位ごとに区別できる多数のマーカーが用意されており、これらを用いた解析から、染色体上のどの部分がどちらに由来するものであるかが分かっている交配系統が200以上用意されている。これらの系統を用いて再度メタロミクス解析を行えば、Miyakojima MG-20の染色体のどこに存在している遺伝子が、たとえば鉄の集積に関わっているかを明らかにすることができる。このような染色体上の遺伝子の位置を遺伝子座（QTL）と言うが、集積に寄与するQTLを金属ごとに明らかにすることにより、いろいろな元素間で共通に利用されているQTLや、ある元素に特異的に働いているQTLの知見が得られると考えられ、植物の金属集積機構の協調性と独立性が示されるのではないかと考えている。このような情報は、土壌中の重金属を植物を用いて吸収・浄化しようとするファイトレメディエーションに利用可能な遺伝子情報資源となるばかりでなく、ファイトマイニング（植物採鉱）への可能性を開くものとして期待されている。将来的にはダイズなどバイオマスの大きな植物を用いた環境浄化や、鉱石の偏在から近年その安定供給が問題になっている希土類元素の集積に応用できる日が来ることを期待している。