

「遺伝子組み換え技術の利用で バラは手間をかけずに育てられるか」

中3-D-05 大田 奈絆

目次

はじめに

仮説

第1章 仮説に至った情報

第1節 バラについて

第2節 クチクラ層とは

第3節 実験

第2章 遺伝子組み換え技術

第1節 遺伝子について

第2節 設計情報の提示の仕方

第3節 遺伝子組み換え技術

第3章 考察

おわりに

参考文献

はじめに

小学校の社会の授業などで稲作を教わる。生産者のコメントによく「手間暇をかけて作っています」と書かれていた。確かにこのコメントは米を食べる人達からすれば、その生産者の米に安心感が高まるため、良いコメントだと感じるだろう。しかし、これから将来を考える人にとってはどうだろうか。真面目な人にとっては、なにも引っかけからないと思うが、サボり癖のある人にとってはとても引っかけだろう。「将来、米の農家をするのはごめんだ」などと思われてしまうと農業の担い手不足に拍車をかけてしまうだろう。実際、私は思っていた。手間暇をかけることも愛情深く育てることも別に他人がしている分には見えても気持ちの良いもののため別に良い。しかしながら、自分がしている姿を想像できなかった。私は昔から如何に効率よく結果を残すかというのを大事にしてきたためであろう。そのため、私は「手間をかけてより良いものにする」育て方よりも、「手入れをせずよりよいものにする」育て方を考えたいと思っていた。そこで私は自分の好きな花の1つである、又手入れを多く必要とするため、育て難いイメージが多いバラ。「それをいかに手入れを怠り育てることができるか」について考えたくなった。そこから遺伝子組み換え技術に興味を持ったのはすぐの話で、私はすぐに遺伝子組み換え技術とバラの育て方についての疑問を結びつけ今回この機会に調べようと思った。

仮説

葉の表皮にあるクチクラ層を遺伝子組み換え技術を使用し厚くすることでバラに乾燥耐性の強化、生物の侵入を防ぐことが向上し必然的に手入れを少なくできるのかと考える。

第1章 仮説に至った情報

第1節 バラについて

バラ科バラ属の総称。バラの成形は低木、又は木本性のつる植物で葉や茎にとげを持つものが多い。バラの自生地は北の方に多く分布する為耐寒性に優れ、冬は-5℃まで耐えることができる。又、5~35℃の中温が生育適温。日光を好み1日合計で4時間当たればよいが、高温は好まない。そのため5月以降の強すぎる日差しに注意が必要。葉焼け・根が焼ける原因となる。(葉焼けはそれ以外に水不足などのストレスでも起こる)そのため株全体を遮光する必要がある。又水やりは鉢植えの場合、土の表面がしっかり乾いたときにすればよい。葉は互生し、1種を除き奇数羽状複葉で、托葉があるが葉柄から独立するも

の又は一部が合着するものがある。品種により光沢のない葉とツヤのある照り葉がある。アブラムシやカミキリムシなどの害虫がバラにつきやすく、葉に黒や茶の斑点がつく黒星病、葉や茎に白い粉をかけたような症状がでるうどんこ病などと病気にかかりやすい。



図1 奇数羽状複葉

植物の葉の形態の一種。小葉が葉軸の左右に並び、先端に一小葉があるもの。

*黒星病…カビ（糸状菌）によって伝染する病気。雨水（特にはねかえり）を介しカビが葉から侵入する。

葉に侵入すると褐色又は黒っぽい斑点が徐々に広がり、病斑部の周りから黄変し落葉する。

バラの場合、発病後落葉し枝にはシミができ、株が衰弱し、美しい花が咲かない。

つまり、大前提として「少ない水分量で育つこと」そして「外部からの生物の侵入を防ぐこと」、「葉が太陽光を反射させること」この3つが可能になることでバラの手入りを少なくてすることにつながると考える。

第2節 クチクラ層とは

クチクラ層は植物体からの水の発散、外部からの生物や物質の侵入、紫外線による傷害を防いでいる(図2)。乾燥地や日光が強い海岸に生える植物、照葉樹の葉などでは特にク

クチクラ層がよく発達している。逆に

地中部の根では地上部に比べてクチクラ層の発達が弱く、特に水を吸収する先端部周辺ではほとんど発達していない。また乾燥耐性が不要ない沈水植物でもクチクラ層の発達はほとんど見られない。



図2 クチクラ層の役割

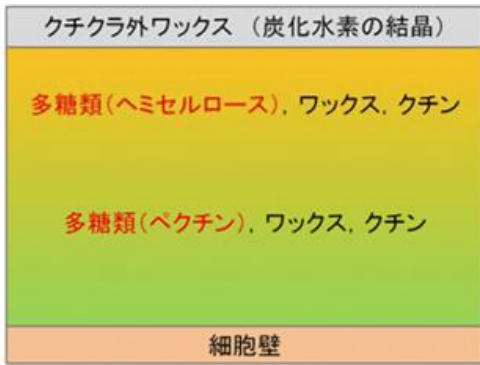
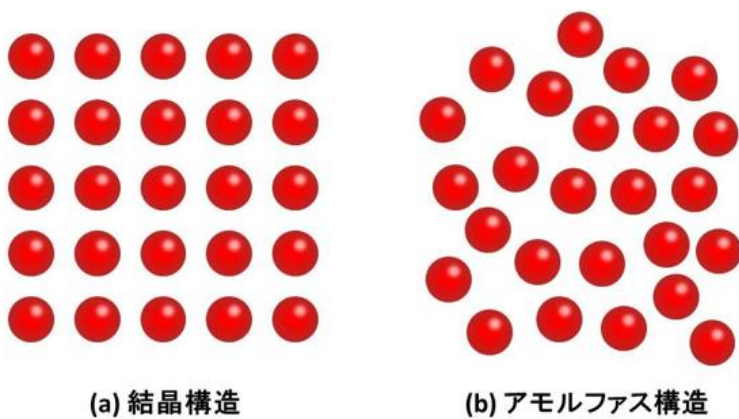


図3 葉の構造

葉の構造として、植物の葉面の一番外側にはワックスだけの層があり、これは結晶構造からアモルファス構造まで様々の状態を示す。そして、この下にクチクラ層がある。クチクラ層は更に2層に分けて考える事ができ、上部の層は全部脂性の物質からできた完全にクチクラ化された層。下部の層はクチンを主体とする層で、細胞壁の炭水化物繊維が伸びて入り込んでいる事もある。クチクラ層の下はいわゆる細胞壁で、セルロースなどの多糖類炭水化物や少量のタンパク質

が含まれている。この説明は一般的な構造についてであって、勿論例外はある。また、表面のワックスクチクラ層は必ずしも一様に葉面を覆っているのではなく、所々ひびや、裂け目、細孔などが存在しているのがふつう。(図3)



*結晶構造・アモルファス構造

(a)原子が周期的に並んでいる構造。代表的なものは食塩、ダイヤモンドなど。(図4左)

(b)原子が不規則に並んでいる構造。ガラスやゴムなど。結晶性物質に比べ熱伝導性、電気伝導性が低い。(図4右)

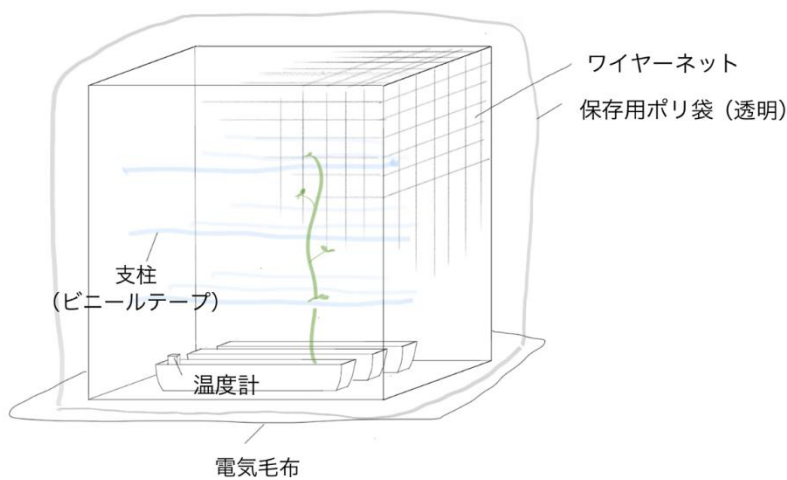
図4 結晶構造・アモルファス構造

よって第1節で提示した、クチクラ層を厚くすることによりクチクラ層本来の機能が強化され「少ない水分量で育つこと」、「外部からの生物の侵入を防ぐこと」、「葉が太陽光を反射させること」この3つが可能になるのではないかと考えた。

第3節 実験

第1章・2節の最後にも述べたように「クチクラ層を厚くすることにより『少ない水分量で育つこと』、『外部からの生物の侵入を防ぐこと』、『葉が太陽光を反射させること』この3つが可能になる」と考えた。そこで私はクチクラ層の厚くすることで本当に機能が強化され、水分の蒸発を防ぎ、少ない水分量で育つことができるのかを証明するため以下の実験を行った。

実験方法・ 道具



- ・ワイヤーネット
- ・保存用ポリ袋(透明)
- ・ビニールテープ
- ・温度計
- ・電気毛布
- ・ワセリンリップ

今回の実験は季節が冬だったため、簡易的な温室

図5 簡易温室の図

(図5)を自作し、温度を

21℃～22℃を保ちながら行った。そして、成長が早く比較的寒さに強い植物であるエンドウを用いた。

葉の裏側にクチクラ層を厚くするかわりにワセリンリップを塗り、水を与えずに何日間枯れないのかを観察した。何も塗らないもの、1回塗りしたもの、2回塗りしたものをそれぞれ2株ずつ用意した。用意した株は予め温室で発芽させ10日間育てたものにした。実験期間の目安は2週間としたが、2週間が経過してもまだかろうじて枯れていなかったため実験を継続させ、最後の株が枯れるまで観察した。*図6のように



図6 株の配置

[1], [2]は何も塗らずに、[3], [4]は1回塗りしたものの、[5], [6]は2回塗りしたもの

実験結果

列 1	何もなし [1]	何もなし [2]	1回塗り [3]	1回塗り [4]	2回塗り [5]	2回塗り [6]
1 日 目	根本も先も 芯があり特 に変わった 事もなし	根本も先 も芯があ り特に変 わった事 もなし	根本も先 も芯があ り特に変 わった事 もなし	根本も先 も芯があ り特に変 わった事 もなし	根本も先 も芯があ り特に変 わった事 もなし	根本も先 も芯があ り特に変 わった事 もなし
3 日 目	” (写真1)	” (写真1)	”	”	先だけ枯 れていた	”
6 日 目	” (写真3)	根本は芯 があった が先が枯 れている (写真2)	”	”	枯れた	”
8 日 目	根本は芯が あるが先が 枯れかかっ ている	根本は芯 があるが 先が枯れ ている	”	”	/	”
9 日 目	根本は芯が ある先が枯 れている	枯れた	根本は芯 があるが 先が枯れ ている	“	/	”
10 日 目	前日よりも 萎れている 部分が広が り根元が柔 くなってい る (写真4)		根本は芯 があるが 先が枯れ ている (写真4)	根本は芯 があるが 先が枯れ ている (写真4)	/	” (写真5)

11 日 目	枯れた (写真6)		前日より も枯れて いる部分 が広がり 根元が柔 らかくな っている	根本は芯 があるが 先が枯れ ている		根本は芯 があるが 先が枯れ ている
13 日 目			枯れた	前日より も萎れて いる部分 が広がり 根元が柔 くなっ ている。		前日より も枯れて いる部分 が広がり 根元が柔 くなっ ている。 (写真7)
14 日 目				枯れた		前日より も枯れて いる部分 が広がり 根元が柔 くなっ ている。
15 日 目						枯れた (写真8)

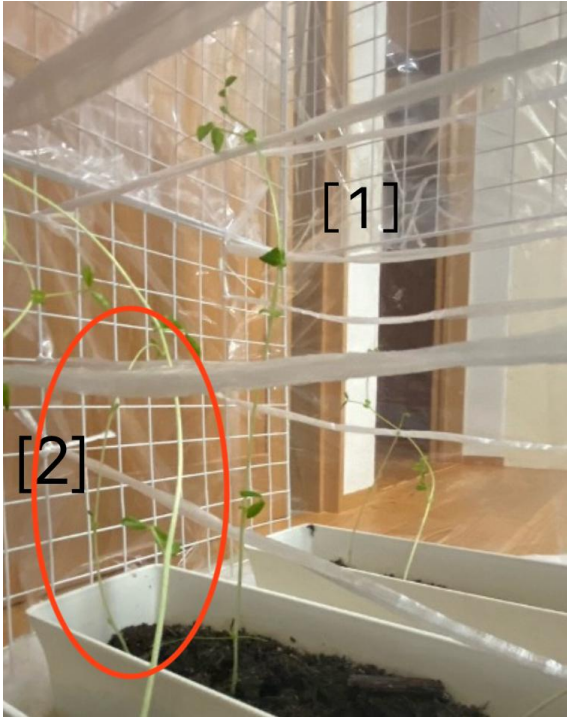


写真1 [1] [2] 3日目



写真2 [2] 6日目

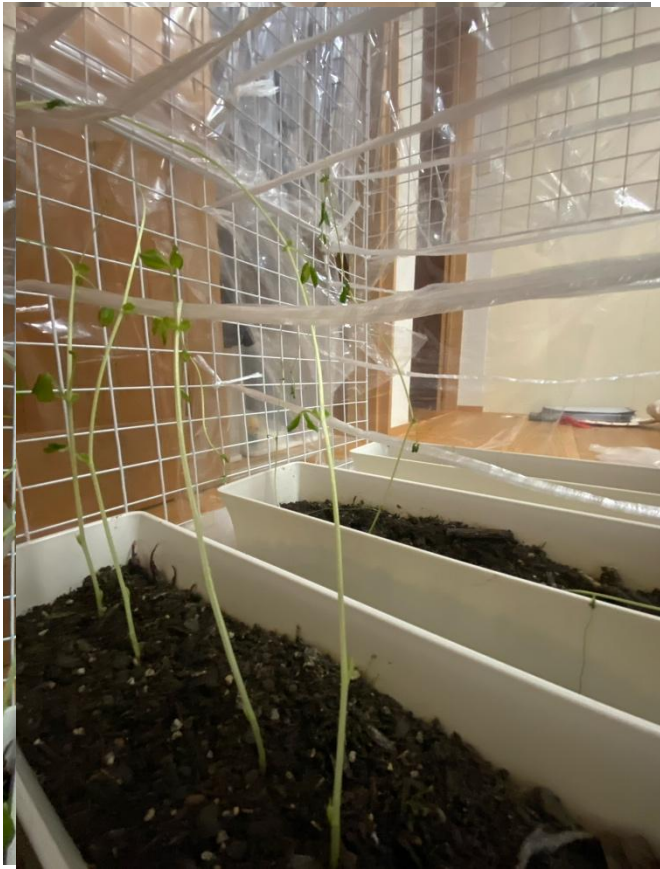


写真3 写真5 [6] 10日目

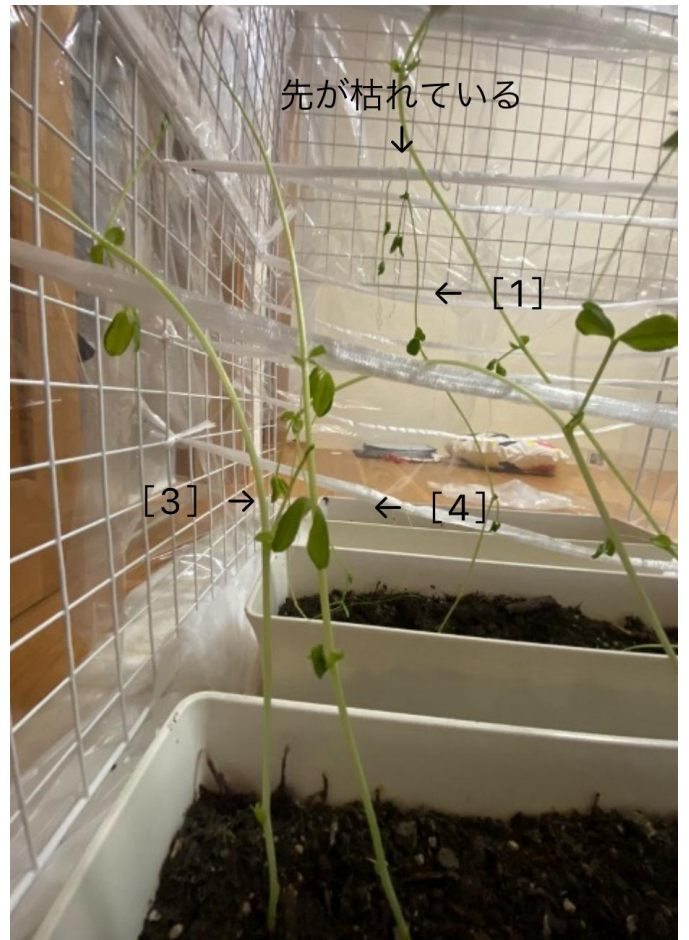


写真4 [1] [3] [4] 10日目



写真8 [6] 15日目



写真6 [1] 11日目



写真7 [6] 13日目

考察

[1] [2] よりも [3] [4] [6] の方が長く枯れずにいた。[2] と [6] では5日間もの差が出た。そして [3] [4] [6] を比較しても差ができた。これらのことから、クチクラ層が厚くなる方がはるかに水がない状況で生きることが分かった。[5] が枯れてしまった理由については次の理由が考えられる。出し入れ口に近いため比較的寒さに強いエンドウであるが寒さにやられてしまったからということ。その証拠に [5] が植えられた鉢は実験する前に [5] 以外発芽した直後枯れてしまったというものがある。(エンドウは特に発芽直後までは寒さに強いいため発芽だけはした。)

すると [1] [2] も先に枯れた理由は出し入れ口に [3] の鉢よりも近かったためだと思うだろう。しかし [3] [4] [6] を比較しても差があるためクチクラ層が厚くなることで水分が無い状況でも長く育つということは変わらないと考える。

よって、クチクラ層を厚くすることはクチクラ層が持つ機能を強化すると考える。

第2章 遺伝子組み換え技術

第1節 遺伝子について

まず、遺伝子とは細胞の種類に応じて機能する特定のタン

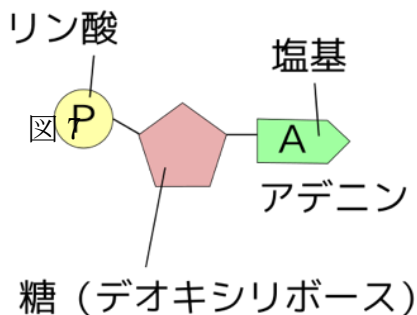


図7 ヌクレオチドの構造

パク質(体の20%はタンパク質でできている)の設計情報が記録された領域のこと。そして遺伝子の本体が、DNA(デオキシリボ核酸)である。DNAは図7のようにリン酸、糖(デオキシリボース)、塩基(アデニン(A) チミン(T) グアニン(G) シトシン(C)の4

種類)で構成されているヌクレオチドが鎖のように連なっている。2本のヌクレオチドの鎖がどちらも螺旋状を描きそれが合体して、図8のようにいわゆる二重螺旋構造をしている。つまり塩基同士が向かいあう構造になっており、向かい合う塩基はアデニン(A)はチミン(T)と、グアニン(G)はシトシン(C)と決まっている。

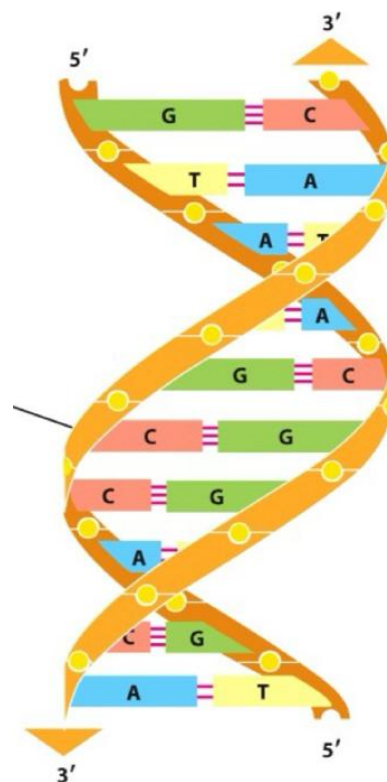


図8 DNAの二重螺旋構造

第2節 設計情報の提示の仕方

第1節でも述べたようにDNAはタンパク質の設計情報が記録されている。しかし、タンパク質はアミノ酸が多数結合してできた高分子化合物であるため、DNAにはタンパク質ではなくアミノ酸を指定する情報がある。

では、2種類の塩基対でどのように20種類のアミノ酸を指定するかというと、塩基3個が1組となって1つのアミノ酸を指定している。

第3節 遺伝子組み換え技術

遺伝子組換え技術とは、ある生物が持つ遺伝子(DNA)の一部を、他の生物の細胞に導入して、その遺伝子を発現(遺伝子の情報をもとにしてタンパク質が合成されること)させる技術のこと。ひとまず遺伝子組み換え技術の方法の簡単な全体像を理解してもらいたい。例えば、ある病気に弱い甘いトマトがあったとする。そこで、病気に強く甘いトマトにするため遺伝子組み換え技術を利用する。他の植物から病気に強い遺伝子を制限酵素

(はさみ)で切り取りリカーゼ(のり)を使いトマトの DNA に繋ぐ。そうすることで病気に強く甘いトマトになる。

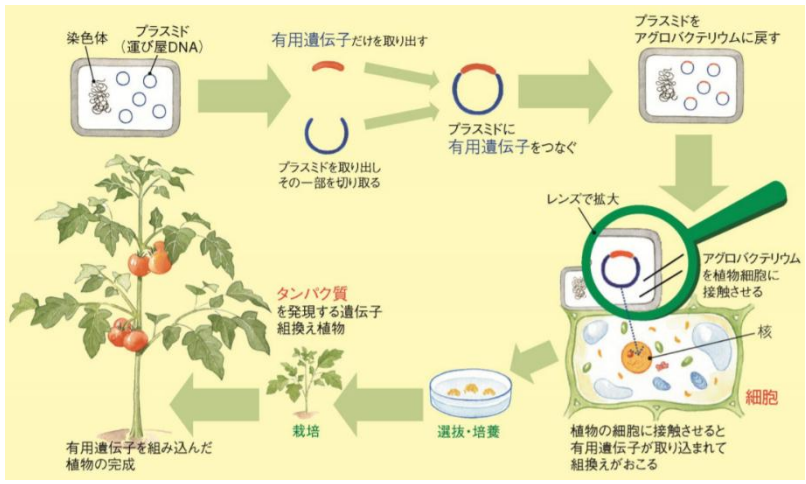


図 10 遺伝子組み換え技術の土まひま手順

少し細かく説明すると、有用遺伝子を含む DNA を制限酵素で処理して断片化し、それを同じ制限酵素で処理したプラスミドにリガーゼで結合させる。そして有用遺伝子を組み込んだプラスミドをアグロバクテリウムに戻す。そして、植物の細胞に有用遺伝子持つプラスミドを感染させることで有用遺伝子を組み込んだ

植物が完成する。(図つまり遺伝子組み換えはウイルスと同じようなことをしているといえる。

*制限酵素…細菌は、バクテリオファージの感染など外からの侵入に対して身を守る防御機構を備えており、外来の DNA を自分自身が持つエンドヌクレアーゼによって分解し、ファージの増殖を“制限”する。この制限能に関わるエンドヌクレアーゼが制限酵素であり、制限エンドヌクレアーゼともよばれる。

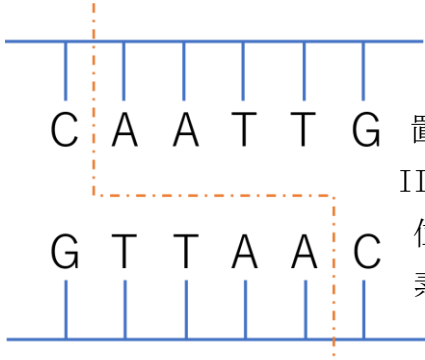


図 11 パリンドローム配列

制限酵素は、二本鎖 DNA の特定の塩基配列を認識して結合し、切断する。切断に必要な因子や切断の仕方(位置)によって I~III 型の 3 種類に分けられる。I 型、III 型は切断部位が一定でないのに対し、II 型は特定の部位を切断するため、一般に遺伝子組換え実験には II 型酵素が用いられる。

II 型制限酵素は、多くの場合、4~8 塩基対 (bp) から成る相補鎖の配列も互いに同じであるパリンドローム(回文)配列を認識し、配列内部の対称的な位置を切断する。(図 11)

第3章 考察

第1章ではクチクラ層を厚くすることはクチクラ層が持つ本来の機能を強化させることが分かった。そして第2章では遺伝子組み換えの大まかな手順を理解した。その上で次のような考察をした。クチクラ層を厚くするにはクチクラ層を厚い植物の遺伝子をいれるといたため硬葉樹林であるオリーブの遺伝子を入れるとよいというものだ。クチクラ形成に必要な十分な制御遺伝子は発見されており「MYB106」、「MYB16」である。「National library of medicine」のサイトでオリーブの「MYB106」「MYB16」の位置を調べてみると図12、図13の位置にあることが分かった。

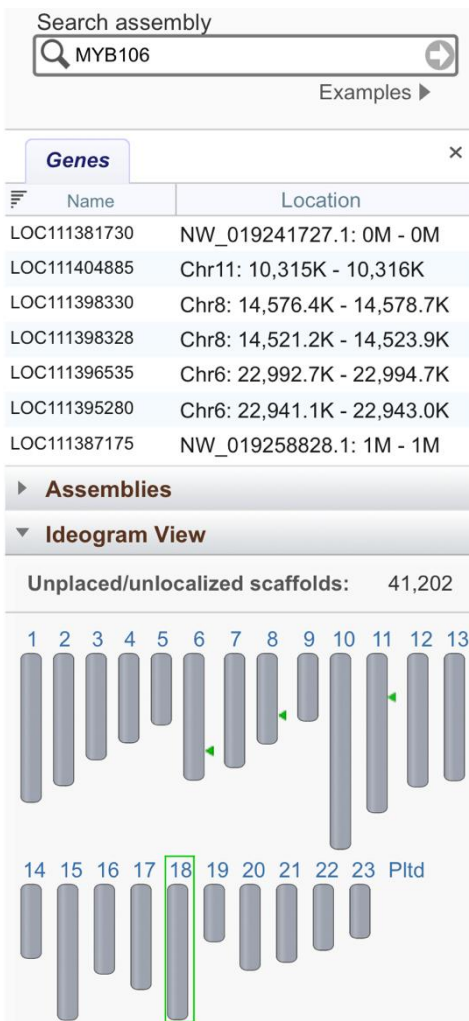


図12 オリーブの MYB106 の位置

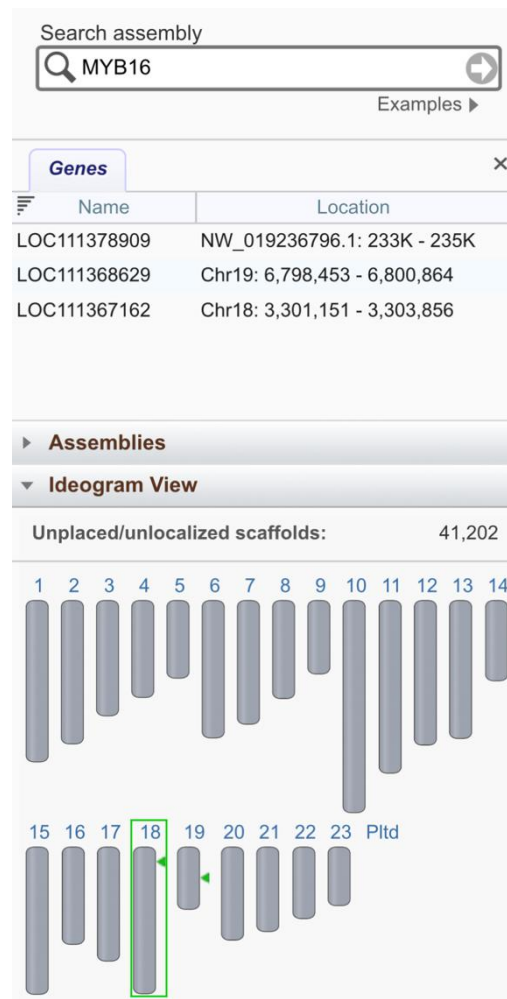


図13 オリーブの MYB16 の位置

しかし一つ一つの遺伝子が何に作用しているかがこのサイトからでは分からなかったが、これらの遺伝子のどれかを組み込むことでオリーブがもつクチクラ層の特徴が発現することは分かった。

(ブロットイング)。DNA が移し取られた膜に、目的の遺伝子領域の一部と相補的な配列からなる DNA プローブを反応させる(ハイブリダイゼーション)。これで DNA 断片と DNA プローブの間で新たな 2 本鎖 DNA を形成される。この DNA プローブは、あらかじめラジオアイソトープ (RI) ラベルまたはジゴキシゲニンラベルされているので、ハイブリダイゼーション終了後、RI ラベルの DNA プローブを使用した際はそのまま X 線フィルムに膜を感光させることにより、目的の遺伝子を含む DNA 断片のシグナルバンドを検出する。ジゴキシゲニンラベルされた DNA プローブを使用した場合、アルカリフォスファターゼやペルオキシダーゼとよばれる酵素が結合したジゴキシゲニンに対する抗体を膜と反応させる。その後、アルカリフォスファターゼやペルオキシダーゼの存在下で発光を呈する試薬を反応させ、膜を感光フィルムに感光させることで目的 DNA 断片のシグナルバンドを検出することができる。

目的の遺伝子を持つ DNA 断片と、目的の DNA を切ったのと同じ制限酵素で切断したベクター DNA (プラスミド) を混合させることでアニール(核酸分子を相補鎖結合させる事)させリガーゼで連結させる。連結させたプラスミドをマイクロインジェクションでアグロバクテリウムにいれ、植物細胞と共培養させ再分化させる。それにより完全な植物体を再生することができると思う。

これを「LOC11404885」以外の遺伝子も同じことを行うことで、どれかしらの遺伝子が作用し、クチクラ層が厚くなったバラができる思う。

おわりに

遺伝子組み換え技術の方法を説明するのは簡単だ。「ある生物が持つ遺伝子 (DNA) の一部を他の生物の細胞に導入して、その遺伝子を発現させる技術のこと」このようにすぐに説明でき、説明を受けた側も理解に時間がいらないうらう。しかし、この研究で「どうやって遺伝子の一部を切り離すのだろうか」や「どうやって他の生物の細胞に入れるのだろうか」など「そういえば、これはどうしてできるのだろうか」という疑問が多く出てきた。こんなに説明が容易い技術が、ここまで疑問だらけになるほど奥深いものとは思っておらず、かなり困惑したがとても楽しかった。「なんとなく遺伝子組み換え技術って賢そうに見えるから」という安直すぎる理由から始めた研究が、ここまで奥深く興味深いものになるなんて思いもしなかった。

最後に少し本音を書くと、かなり自分の中では未知なものの研究だったため「疑問がでる→調べる→調べた内容でまた疑問がでる→調べる」この繰り返しが終わりのないよう見えかなりしんどかった。

参考文献

第1章

<https://elm3.web.fc2.com/top/ruijisyu-miwakekata-hoka/noibara-terihanoibara-miyakoibara-yamaibara.html>

ばらの特性 その2

<https://www.city.okayama.jp/museum/rose-breeding/characteristic-02.html>

バラに適した気温の範囲

https://www.picturethisai.com/ja/care/temperature/Rosa_hybrida.html

植物の表面を覆うクチクラ形成に重要な制御遺伝子を発見

https://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2013/pr20130524/pr20130524.html

植物の葉のクチクラ構造を分子レベルで解明

https://www.kyoto-u.ac.jp/sites/default/files/embed/jaresearchresearch_results2019documents190424_201.pdf

AGC 化学品カンパニー 用語集 アモルファス構造

<https://www.agc-chemicals.com/jp/ja/fluorine/glossary/0013.html#:~:text=結晶構造を持たず,構造を持つ物質です%E3%80%82.>

第2章・第3章

遺伝子と染色体

<https://www.msmanuals.com/ja-jp/home/01-知っておきたい基礎知識/遺伝学/遺伝子と染色体>

東邦大学 理学部 遺伝暗号 (genetic code) (コドン、codon)

https://www.toho-u.ac.jp/sci/biomol/glossary/bio/genetic_code.html

制限酵素認識配列検索ツール「Takara Cut-Site Navigator」

https://www.takara-bio.co.jp/research/enzyme/enzyme_search.php#disp_sample_name

National Library of Medicine

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

リケラボ 制限酵素によるインサートとベクターの切断

<https://www.rikelab.jp/post/3177.html>

アグロバクテリウム法で植物工学を理解する

<https://chibanian.info/agrobacteriumho2024/>

JEOL オートラジオグラフィー

<https://www.jeol.co.jp/words/emterms/20190605.095822.html#gsc.tab=0>

遺伝子工学の技術

<http://www.sc.fukuoka-u.ac.jp/~bc1/Biochem/genetech.htm>

末端標識したゲノム DNA 断片の 2 次元電気泳動法

https://www.rerf.or.jp/library/list/periodicals/rerf_update/backnumber/bascgen/asakawa/

AMBIS アニール

<http://www.ambis.co.jp/glossary/2008/08/anneal.html#:~:text=同義語として、DNA 再生,させる事を意味する%E3%80%82>

【知識／技術】 担当者が知っておきたい遺伝子組換え作物の知識②（遺伝子組換え技術）

<https://bioinsight.co.jp/reference/reference01/466/>

Nikon マイクロインジェクション

https://www.microscope.healthcare.nikon.com/ja_JP/applications/life-sciences/microinjection

「これからはじめる人のためのバイオ実験基本ガイド」 武村政春・編著 杉村和人／園田雅俊／村雲芳樹・著発行 2010/12/01