特 集

最新放射線化学（応用編）

27 農学と放射線化学 —イオンビーム育種，照射食品検知法—

菊地正博，小林泰彦[†]

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構量子ビーム科学研究部門・
高崎量子応用研究所・放射線生物応用研究部
370-1292 群馬県高崎市綿貫町 1233
[†]kobayashi.yasuhiko@qst.go.jp

農学分野では古くから農作物の品種改良に放射線による突然変異誘発が利用され，最近では高LET放射線を用いたイオンビーム育種によって農作物のみならず花卉類や樹木，産業微生物にも新しい品種が数多く創出されている。食品への放射線照射は世界的に実用化が進んでいるが，日本ではジャガイモの照射芽止めだけが許可されている。照射食品の表示の正しさを担保するため様々な検知法が開発され，簡便で汎用性のある新しい検知法の開発も進められている。

Key Words: mutation breeding, ion-beam breeding, food irradiation, irradiated food detection method, electron spin resonance spectroscopy

1. 農学への放射線利用

農学の様々な分野で放射線が利用されている¹⁾。例えば，放射線による突然変異誘発を利用した農作物の品種改良（放射線育種），収穫したジャガイモやニンニクに放射線を照射し休眠後の発芽を抑制することによって高品質を保ちながら長期保存と周年供給を可能にする照射芽止め，防除対象の虫を人工的に大量飼育して放射線で不妊化して野外に放ち，野生虫の繁殖機会を奪って次世代の個体数を減少させ撲滅に導く不妊虫放飼法，穀類・青果物の害虫の殺虫による保存中の食害防止及び食害痕から始まるカビの繁殖とカビ毒産生の防止，輸入熱帯果実・柑橘類などに潜む検疫害虫の不妊化による侵入防止（植物防疫）などがある。特に植物防疫における放射線処理は，非加熱処理のため品質劣化が少なく，環境汚染につながる薬剤も使わないというメリットが大きいため，オゾン層破壊物質としてその使用全廃が進められている

臭化メチルによる燻蒸処理の代替法として国際的に実用化が急拡大している²⁾。

他にも，香辛料・乾燥野菜類などの加工食品原材料の菌数低減，冷蔵・冷凍食肉魚介類の殺菌による食中毒防止と腐敗防止（日持ち向上），無菌充填システムにおける食品容器の滅菌，さらにはRIを用いた植物体内での栄養塩や光合成産物あるいはカドミウムなど有害な重金属類の元素動態の解明研究も農学への放射線利用に含めることができよう。

本稿では，これらの広範な応用例の中から農学と放射線化学との接点の例として，放射線育種と「イオンビーム育種」，及び「照射食品検知法」を取り上げ，原研高崎研（現・量研機構・高崎研）での取り組みを中心に解説する。

2. 放射線育種とイオンビーム育種

2・1 放射線による植物の突然変異誘発

放射線育種とは，自然に起きている突然変異を人為的な放射線照射によって積極的に誘発

し、言わば進化を加速する技術である。1920年代に米国のL. J. StadlerがX線によるオオムギやトウモロコシの突然変異誘発に成功したのが始まりとされ、以来多くの作物の品種改良に成果をあげてきた。

突然変異とは、細胞分裂時のDNA複製エラーや、放射線・活性酸素種などの物理的・化学的な要因で生じたDNA損傷の修復エラーなどが原因となって遺伝情報を担うDNAの塩基配列や染色体数・構造に変化が生じ、生物の形質が変化する現象である。突然変異は生物進化の原動力であり、長い歴史の中で様々な変異体を作り出された結果、現在の地球上の生命の多様性がもたらされた。

イオンビームすなわち加速器で発生させた高速の荷電重粒子線は、X線や γ 線などの光子放射線と同様、入射した細胞中の物質を電離することによってDNA損傷を生成する。しかし、光子放射線では物質中でランダムに起こるコンプトン散乱（光子と電子の衝突）とそれに続く二次電子のカスケードによるクラスター状のエネルギー付与（スパー, spur）が空間的・時間的に離れてゲノム全体にまんべんなく生じるのに対し、イオンビームではスパーはイオンの飛跡に沿って極めて高密度かつ同時に生じると考えられる。このような物理過程の違いはイオンの飛跡を中心とする二次電子の空間分布を表すトラック構造としてモデル化され、その計算シミュレーションの結果はOHラジカル、水和電子などの活性種や過酸化水素などの分子生成物の収量への影響として実験的に証明されている³⁾。

アルファ線やイオンビームなどの高LET放射線に特有の生物効果はこのトラック構造に依存すると考えられ、放射線防護における放射線加重係数設定の根拠になるとともに、その特徴を活かした重粒子がん治療が実用化された。そしてイオンビームを植物の突然変異誘発に利用する「イオンビーム育種」の研究は、1980年代後半、当時の日本原子力研究所高崎研究所（現・量研機構・高崎研）が中心となって世界に先駆けて開始された⁴⁾。

2・2 イオンビーム誘発突然変異の特徴

イオンビームではX線や γ 線、電子線などの低LET放射線と異なり、飛跡に沿って高密度の電離が誘起されるため、遺伝子には複雑な損傷が生じ、複数塩基に及ぶ欠失や置換、染色体の逆位や転座などのダイナミックな遺伝子の再配置が起こりやすいのではないかと。原研・高崎研の田中らは、このアイデアを検証するため、モデル植物シロイヌナズナを用いて電子線（2MV, LET=0.2keV/ μ m）と炭素イオンビーム（18.3MeV/u, LET=113keV/ μ m）を照射し、生存率を同程度にわずかに低下させる線量（電子線：750Gy、炭素イオンビーム：150Gy）での突然変異誘発効果を比較したところ、炭素イオンビームでは吸収線量あたりの突然変異率が電子線の約20倍高いことや、逆位や転座などの染色体の大きな構造変化を引き起こしやすいことを見出した⁴⁾。

並行して、キクやカーネーションなどの園芸作物の花弁や葉片の培養組織に γ 線またはイオンビームを照射し、再生個体から得られた変異体の花色や花形の変異スペクトルを調査した結果、イオンビーム誘発突然変異では、1) 突然変異率が高く、少ない試料数や小さな圃場でも成果が期待できる、2) 変異の幅が広く、新しい形質が得られる可能性が高い、3) 低い線量でも決定的な変異を生じるため目的とする形質変化だけを狙ったワンポイント改良が可能で、望ましくない変異形質を取り除くための戻し交配が不要、などの優れた特長があることを明らかにした。表1と図1にその一例を示す。

一般的に、ある程度までは線量が増加するほど突然変異率も高くなるが、同時に不要で有害な変異の誘発も増え、健全な再生個体が得られ難くなる。また、高崎研イオン照射研究施設（TIARA）で利用可能なイオンビームのエネルギーと飛程（撃ち込み深度）及び照射試料の形態により標的部位におけるLET値の選択も制約される。これらの条件を踏まえて実用品種の開発にも取り組み、無側枝性（脇芽が少なく手

表1 放射線の線種による突然変異スペクトルの違い⁴⁾

処理	親株: 桃色花卉をもつキクの品種(太平)					
	花色変異率(%)					
	白色	淡桃色	濃桃色	橙色	黄色	複色/条斑
非照射	0	0.3	0	0	0	0
ガンマ線	0	27.7	2.1	0	0	0
炭素線	0.3	4.6	0.3	0.3	0.2	10.2

図1 キクへのイオンビーム照射で無側枝変異のみを誘発したワンポイント改良

摘みの重労働から解放される)を有し, かつ低温開花性に優れた(冷夏でもお盆用の出荷に間に合う)輪ギク, 新花色のバーベナやオステオスペルマム, バラ状の花弁を持つカーネーション, 芳香性シクラメンなどの花卉類にとどまらず, カドミウム低吸収性イネや縞萎縮病耐性オムギ, 二酸化窒素を高吸収し壁面緑化に適したヒメイタビ, トゲの消失したユズなどの穀類や果樹でも多くの新品種を作出し, 最近では重力屈性が変化し栽培特性が向上したヒラタケや吟醸香を高産する清酒用酵母, アミラーゼやプロテアーゼなどの有用酵素を高産する麹菌, 微生物肥料として輸送・保存時に高温暴露による活性低下が少ない高温耐性根粒菌など産業微生物の育種にも成果をあげている^{4,5)}。これらの有用な新品種を最も効率的に作出できる線量は, 対象となる植物や微生物によって大きく異なるが, 概ね数Gy~数十Gyである。

3. 食品照射と検知法

3.1 放射線殺菌・滅菌と食品照射

放射線による殺菌・滅菌処理には, 1) 温度上昇が小さく熱に弱い材料や生鮮・冷凍品でも処理可能, 2) 薬剤残留の恐れがないため安全性が高く, 滅菌後の処理も不要で環境汚染もない, 3) 放射線の透過力が大きいいため形状を問わず内部まで均一に処理でき, 出荷前の最終梱包状態での処理も可能, 4) 連続処理が可能で効率的, 5) 滅菌効果は吸収線量で決まるため工程管理と滅菌の保障が簡便, などのメリットがある。特に食品や農作物に放射線を照射して殺菌, 殺虫, 芽止めなどを行うことを「食品照射」, 放射線処理された農産物や食品を「照射食品」と呼ぶ⁶⁾。

照射食品の毒性学的・微生物学的な安全性と栄養学的な健全性はWHOや各政府機関によって繰り返し確認され, その結果, 食品照射は公衆衛生や地球環境の保全に寄与する有効な手段として国際的に認められ, コーデックス国際食品規格(Codex規格)にも採択され, 世界各国でスパイス・ハーブ類や食肉・魚介類の殺菌, 熱帯果実や柑橘類の検疫処理などが実用化されている⁷⁾。

医療器具や食品容器などの滅菌に必要な吸収線量は数十kGyであるが, 食中毒防止や腐敗防止(日持ち向上)のための殺菌は1kGy~数十kGy, 検疫害虫の殺虫・不妊化は100~500Gy, 沖縄県で実施されている不妊虫放飼法におけるウリミバエの不妊化は60~70Gy, ジャガイモの芽止めは60Gyで達成できる⁷⁾。

日本を除くすべての先進国が, 国際機関によ

る科学的評価に基づいて安全性を評価し、食品照射の規格・基準を整備してきた中で、日本では、1972年に許可されたジャガイモの照射芽止め以外は食品衛生法で禁止されたままであり、2000年12月の全日本スパイス協会による厚生省（当時）への香辛料の放射線殺菌許可の要請も放置されているのが現状である⁸⁾。

3・2 照射食品検知法

食品照射が許可された場合でも、消費者による自由な選択のために照射食品である旨の表示が必要ではないか、という意見がある。そこでEUでは製品への表示を義務付け、その表示の正しさを担保するため欧州標準化委員会（CEN）が定めた標準分析法（照射食品検知法）を用いて市販流通品のモニタリング調査を行っている。CEN標準分析法として採択された10種類の検知法のうち9種類がCodex標準分析法としても採択されている⁹⁾。

食品への照射履歴の有無を判別する検知法は、その原理に基づいて以下の3つに大別できる。

- (1) 物理的検知法：食品中のセルロース、骨、結晶性糖質などにトラップされたラジカルや、農産物・食品に付着・混入している砂埃のような鉱物質に蓄積されたエネルギーを、電子スピン共鳴（ESR）法、熱ルミネッセンス（TL）法、光刺激ルミネッセンス（PSL）法などで検出する方法。
- (2) 化学的検知法：食品中に含まれる脂質などの放射線分解生成物（炭化水素や2-アルキルシクロブタノン類）をガスクロマトグラフィー・質量分析（GC/MS）法などで検出する方法。
- (3) 生物学的検知法：食品中に含まれる動植物細胞内のDNA損傷量をコメットアッセイ法（単細胞電気泳動法）で解析する方法や、生菌数と死菌数の比率あるいは生残菌の種類の観察によって照射の有無を推定する方法など。

日本では、食品衛生法に違反する照射食品の

流通を防ぐために、TL法（平成19年7月6日通知、平成21年8月7日改正）、アルキルシクロブタノン法（平成22年3月30日通知）、ESR法（平成24年9月10日通知）の3種の検知法が厚生労働省の通知法（公定法）として用いられている¹⁰⁾。

TL法は、食品そのものではなく、不純物として食品に付着・混入した鉱物を回収し、そこに蓄えられた放射線のエネルギーが加熱によって解放される際の発光量を測定する物理的検知法である。測定によって照射履歴の情報は失われるが、続いて基準線量の放射線を照射した後再び発光量を測定し、最初の測定時の昇温-発光スペクトルとの比較によって照射履歴線量を推定する。清浄な食品からは鉱物の回収が困難であるが、泥や砂の付いた食品では比較的高感度に検出でき、香辛料、野菜・果実、茶、アサリ、エビなどに適用される。

アルキルシクロブタノン（ACB）法は、食品中の脂質から放射線分解産物として生成した2-アルキルシクロブタノンをGC/MSで検出する化学的検知法である。ACBは放射線に特異的な生成物とされ、現状では最も信頼性が高い方法であるが、ACBの分離操作には熟練を要する。

ESR法は、食品中に生成した比較的長寿命のラジカルの不対電子を検出する方法で、乾燥香辛料ではセルロースラジカル、骨付き肉や貝類では骨や貝殻に生じたラジカル、乾燥果実では結晶性糖質のラジカルが測定される。試料調製が簡単で、原理的に非破壊測定である。照射で生成したラジカルが測定時まで安定に存在している必要があるため、水分含量の多い生鮮食品には向かないとされている。

3・3 照射肉・果実を識別する新規ESR検知法

1990年代後半の米国で牛肉パテを感染源とする食中毒が大流行し、日本でも2012年の夏に飲食店などでの牛生レバーの提供が禁止されたことなどから、食中毒対策の切り札の一つとして放射線殺菌への期待が高まった。Codex標準分析法では照射肉類の検知にはGC法かACB

図2 牛生レバーのESRスペクトル (−196°C)

法が用いられるが、分離操作が煩雑で時間がかかる。そこで著者らは、簡便で汎用性のある検知法を開発するため、あえて従来は不向きと考えられていたESR法を用いて照射後のレバー中に残存するラジカルの検出を試みた。

冷蔵状態で γ 線照射した牛生レバー試料を用いて液体窒素温度でESR測定したところ、328mT付近に強いメインピークが観測され、その高磁場側と低磁場側に小さなサイドピークが存在することを見出した(図2)。線量を変えて測定したピーク強度をプロットすると、サイドピークでは線量が増加するとほぼ直線的に応答する線量依存性が確認され、照射牛生レバーの検知にESR法が適用できる可能性が示された¹¹⁾。

植物や農産物に有害な病害虫の侵入・蔓延を防ぐために国際植物防疫条約(IPPC)が締結され、植物検疫措置に関する国際基準(ISPM)を定めている¹²⁾。病害虫発生地域から無発生地域への寄生農産物の移動(輸入)は禁止されているが、薬剤燻蒸や低温・高温処理など一定の条件を満たした消毒処理によって輸入を解禁することができる。従来燻蒸処理に使われてきた臭化メチルはオゾン層破壊物質として使用全廃が進められていることから、代替法としての放射線照射に期待が集まった。そして2003年にはIPPCで「放射線照射を植物検疫処理法として利用するための指針(ISPM#18)」が採択され、放射線処理は国際的に認知された植物検疫(消毒)措置となった^{2, 8)}。日本では食品衛生法

図3 マンゴー果肉粉末のESR測定 (24°C)

図4 パパイヤのESRシグナル強度の線量応答

で禁止されているため蒸熱処理、低温処理、臭化メチル燻蒸処理が行われているが、将来照射による植物検疫が可能になれば安くて美味しい完熟熱帯果実が輸入でき、消費者のメリットは大きい。そこで、簡便な照射生鮮果実の検知法としてESR法の適用可能性を検討した。

γ 線照射した市販のマンゴー果実を果皮、果肉に分けて凍結乾燥後に粉碎し、それぞれ室温でESR測定を行ったところ、果肉・果皮で計測したスペクトルの336mTにメインピーク、その両脇に小さいサイドピークが確認された(図3)。メインピークは試料の粉碎時に生じたラジカルと考えられたが、サイドピークの強度は線量とともに増加した¹³⁾。

さらに、照射後に凍結乾燥した市販のパパイヤ果肉を粉碎して室温でESR測定すると同時に、より迅速な測定を目指して、パパイヤ生果肉を凍結乾燥せずにそのまま液体窒素温度での

ESR測定を行い、メインピークとサイドピークの検出に成功した。液体窒素温度での生果肉の測定の場合は、試料の磨砕によるラジカル発生がないため、メインピークでもピーク強度が線量に対して直線的に増加した。サイドピークは測定法に依らず直線的な線量応答を示しており(図4)^{14, 15)}、照射生鮮果実の迅速な検知が可能と考えられる。

4. おわりに

イオンビームのトラック構造がどのように初期化学活性種の生成量と空間分布、そしてDNA損傷の構造と配置を規定し、DNA修復タンパク質群とのどのような相互作用を経て最終的に突然変異の誘発に至るのか？これは重粒子線による細胞致死効果が高いのはなぜか、いわゆるクラスターDNA損傷や概念上の難修復性DNA損傷の実態は何かという問題と重なるものである。植物細胞内での色素の生合成経路など形質発現に関与する遺伝子群が未解明の場合、変異形質の予測や制御⁵⁾は容易ではないが、進展が著しいゲノム解析技術に放射線化学的・分光学的手法も取り入れた全く新しいアプローチによるイオンビーム誘発突然変異の分子機構の全容解明が期待される。

ESR法による照射履歴の検知の適用範囲が生レバーや生鮮果実など水分を多く含んだ食品にも広がる可能性が示された^{14, 15)}。検知法によって照射履歴の有無と表示の正しさを判別できるが、その照射食品を流通させるかどうかはそれぞれの国の判断である。しかし、少なくとも国際的に合意された国際植物防疫条約で認められた処理については、国内外で整合性がとれているべきだろう。

文 献

- 1) 林 徹, 食品・農業分野の放射線利用, 幸書房(2008)
- 2) 等々力節子, 食品照射, **50**(1), 47–58 (2015)
- 3) 平山亮一, 伊藤 敦, 古澤佳也, 放射線化学, **89**, 9–12 (2010)
- 4) Tanaka, A., Shikazono, N. and Hase, Y., Studies on biological effects of ion beams on lethality, molecular nature of mutation, mutation rate, and spectrum of mutation phenotype for mutation breeding in higher plants, *J. Radiat. Res. (Tokyo)*, **51**, 223–233 (2010)
- 5) 長谷純宏, 化学と生物, **52**(10), 659–664 (2014)
- 6) 小林泰彦, 菊地正博, 放射線化学, **88**, 18–27 (2009)
- 7) <http://www.jrafi.jp/Fltoha.htm>
- 8) 等々力節子, 放射線化学, **100**, 80–82 (2015)
- 9) http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/publication/files/52_p41.pdf
- 10) <http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/other/2012/dl/120910-02.pdf>
- 11) 菊地正博, 小林泰彦, 食品照射, **50**(1), 9–12 (2015)
- 12) <http://www.maff.go.jp/j/syoutan/syokubo/keneki/ippc.html>
- 13) 菊地正博, M. S. Hussain, 森下憲雄, 鵜飼光子, 下山雄平, 小林泰彦, *RADIOISOTOPES*, **58**(12), 789–797 (2009)
- 14) 菊地正博, 下山雄平, 鵜飼光子, 小林泰彦, *RADIOISOTOPES*, **60**(4), 163–171 (2011)
- 15) 菊地正博, 下山雄平, 鵜飼光子, 小林泰彦, *JAEA-Review*, **2012-46**, 78 (2013)

Abstract

Modern Radiation Chemistry (Applications) 27 Radiation Chemistry Applied for Agriculture —Ion-beam Breeding, Detection Methods for Irradiated Foods—

Masahiro KIKUCHI and Yasuhiko KOBAYASHI[†]: National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology, 1233 Watanuki-machi, Takasaki-shi, Gunma Pref. 370–1292, Japan, [†]kobayashi.yasuhiko@qst.go.jp

Since the ionizing radiation for agriculture has been utilized as a tool of cultivar improvement, a lot of plants having new characters were created by heavy ion-beams. While food irradiation is realized for many purpose among many countries, only sprouting inhibition of potatoes is permitted in Japan. Several detection methods of irradiated foods were developed to confirm the food labeling. Novel methods are also done in progress for detecting various kinds of irradiated foods.