

メンデル性遺伝によらない 除草剤抵抗性

公益財団法人日本植物調節剤研究協会
技術顧問

與語 靖洋

これまで3回にわたり、植物における形質発現のうち、メンデル性遺伝によらない変化、すなわち遺伝子発現をエピジェネティックに制御する機構について紹介してきた（與語 2022a, b, c）。このことをきっかけに、検索エンジン等を利用してインターネットを旅していたら、除草剤抵抗性発現機構を俯瞰した総説（Gaines *et al.* 2020）に出会った。この総説では、200報近い論文を参照して、作用点や非作用点抵抗性だけでなく、遺伝子発現、いわゆるゲノミクスやトランスクリプトミクスとの関連性、さらには倍数性、除草剤耐性作物、除草剤発見に至るまで幅広くカバーしている。今回はこの総説でも取り上げている除草剤抵抗性のエピジェネティック制御に関連した総説を含む論文をいくつか紹介する。

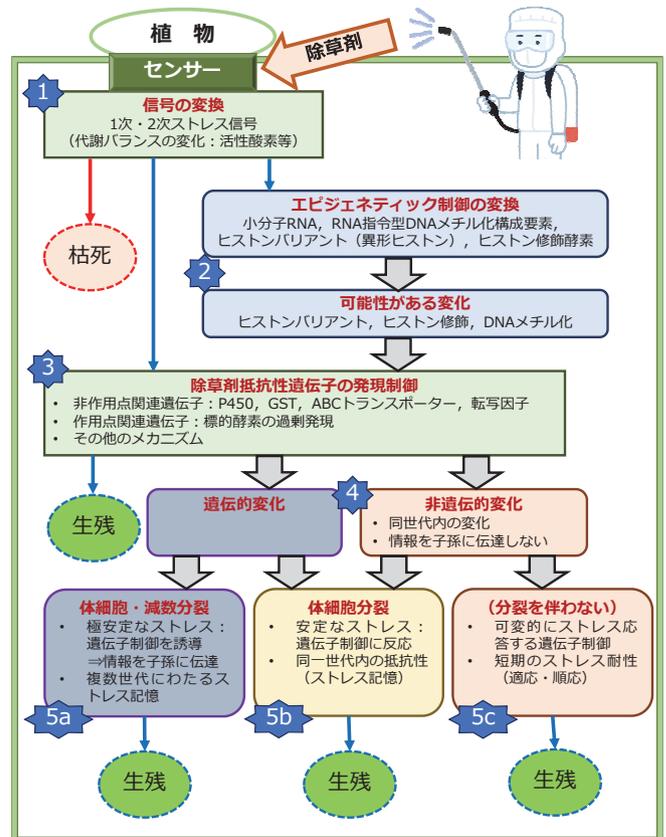


図-1 除草剤ストレスによって誘導されるエピジェネティックな制御モデル (Markus *et al.* 2018 の図を和訳して若干改訂)

1. 除草剤抵抗性雑草におけるエピジェネティックな制御

Markus *et al.* (2018) は、エピジェネティクスと除草剤抵抗性雑草との関連性を取り上げ、除草剤ストレスに対する植物反応のモデルを提唱した（図-1）。概説すると、植物は外界からの信号、ここでは除草剤のストレスに対して、最終的に大きく分けて2つの反応をする。“生残”と“枯死”である。ストレスを受けた植物において、活性酸素の増大等の様々な内生的反応（“信号の変換”図中の青色・星形の数字①）が起これ、ストレスに耐えることができれば生残し、できなければ枯死に至る。除草剤ストレスに耐えるために必要な遺伝子発現が制御（③）される際、ストレス信号を直接受け取る流れと、エピジェネティックな制御を介する流れ（②）がある。何れの場合も、その後遺伝的变化の有無（④）の段階を経由した応答はストレスの安定性に大きく左右される。極めて安定的なストレスに対する遺伝子制御の情報は子孫に伝わる。この場合、合減数分裂や体細胞分裂が関与して、複数世代にわたってストレスが記憶される（⑤a）。一方、可変的なストレスの場合、受けたストレスに各個体が順応するとどまり、ストレスがなくなれば元に戻る。すなわちストレスは記憶されない（⑤c）。その中間にあるのが、体細胞分裂だけが関与す

る安定的なストレスに反応する遺伝子制御である。この場合、ストレスは記憶されるものの、その世代限りである（⑤b）。エピジェネティックな制御はその⑤a～cの何れの反応にも関係する。なお、適応や順応は進化との関連性が強いと考えられるものの、ここでは適応（adaptation）と順応（acclimation）を明確に分けている。適応が遺伝的・非可逆的・長期的・永続的、つまり主に⑤aに該当するのに対して、順応は非遺伝的・可逆的・短期的・一過的な変化、つまり主に⑤cに対応すると捉えている。

2. 核外 DNA の過剰発現によるグリホサート抵抗性

グリホサートの作用点は、5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素（EPSPS）であり、グローバルHRACコードは9である（與語 2021a）が、雑草のグリホサート抵抗性には様々な機構が存在する（與語 2021b）。2021年3月に発刊されたヨーロッパ雑草学会の機関紙「Weed Research」の第61巻2号において、除草剤抵抗性発現に関する特集（Special Issue on Developments in Herbicide Resistance）が組まれた。その中で「染色体外のEPSPS遺伝子の過剰発現に關与する環状DNA¹⁾によるメンデル性遺伝に

依存しない遺伝はグリホサート抵抗性を元に戻す機会を与えることができるか？」と題した記事が掲載された (Jugulam 2021)。答えはYesで、主に上記⑤cに相当する。

ここで取り上げている雑草のうち、ヒユ属 (*Amaranthus* spp.) については、その1年前にグリホサート耐性機構の論文がThe Plant Cellに掲載された (Molin *et al.* 2020)。彼らは、わが国でも蔓延しているヒユ属の帰化植物オオホナガアオゲイトウ (*A. palmeri*)、米国等で蔓延しているヒユモドキ (*A. tuberculatus*)、和名はないが*A. hypochondriacus*を対象に、染色体外の環状DNAは、EPSPS遺伝子の過剰発現だけでなく、これらの種間における遺伝子領域の保存、つまり同じ遺伝子を異なる種間で共有することにも関与している。また、同論文において、環状DNAが“ゲノム可塑性”にも寄与することにも言及している。聞き慣れない言葉だが、要するに遺伝子の水平伝播²⁾や、生物の進化に結びつく特性である。これらの結果は、Markus *et al.* (2018) における主に⑤aに相当する。

他に、ムギクサ類 (*Hordeum glaucum*) でも、メンデル性遺伝によらない遺伝子増幅によるグリホサート抵抗性が南オーストラリアで見ついている (Adu-Yeboah *et al.* 2021)。論文によれば、この雑草のF2世代の個体群のグリホサート抵抗性は、親世代の抵抗性と感受性のバイオタイプの中間的性質を示すものの、少し複雑な薬量反応曲線を描く。そこでEPSPS遺伝子のコピー数を調べると、感受性 (雌: コピー数の平均=1) と抵抗性 (雄: 同=12) の親を掛け合わせたF1世代では親のコピー数の中間 (同=7) 付近に集中的に分布する。一方、F2世代におけるコピー数は1~26、つまり感受性親から抵抗性親の2倍まで幅広く分布し、さらにグリホサート処理後に生残した植物においては、コピー数の分布が多い側に若干シフトすることが明らかとなった。このことから後代のグリホサート抵抗性の主要因として、環状DNAにおけるEPSPS遺伝子の増幅を示唆した。ここで興味深い視点は“体細胞モザイク³⁾”である。生物はエピジェネティックに起こる変異の有無にかかわらず細胞分裂を繰り返しながら成長するため、起こった変異から見れば体細胞がモザイク状になる。そのためストレスに対する反応の違いも、遺伝子変異の種類や変異した細胞数で決まることになる。これは主に⑤bに相当すると思われる。

3. 量的形質によるHPPD抵抗性

ヒユモドキの4-HPPD (HRACコード: 27) 阻害剤抵抗性もメンデル性だけでは説明できない (Murphy *et al.* 2021)。この場合、QTL (量的形質遺伝子座, Quantitative Trait Locus) 解析からも推定できるように、

非メンデル性遺伝のうちの多因子性遺伝に相当する (與語 2022a)。この雑草のF1世代におけるtembotrioneに対する抵抗性の程度は15 (R (抵抗性) × S (感受性)) ~20倍 (R×R) であった。QTL解析の結果、具体的な機構としてP450でないことが推測される程度しか解明されないものの、この抵抗性に関与する少し大きめのDNA配列 (スキャフォールド) が2つ見つかった。次に擬似F2世代における同剤の生物検定では、それぞれのスキャフォールドにおいて感受性のホモ同士から、ヘテロを介して抵抗性のホモ同士までを掛け合わせると、それぞれの個体への影響はある程度のバラツキを持って分布するが、その平均値は抵抗性遺伝子の数が多いほど段階的に耐性が高まっていた。因みに擬似F2世代における広義の遺伝率⁴⁾は、中程度 ($H^2 = 0.556$) であった。

なお、この雑草の4-HPPD阻害剤抵抗性バイオタイプの出現は2011年に最初の報告があるが、ALS阻害剤 (HRACコード: 2) 抵抗性バイオタイプは1993年に既に見ついている。現在は6つの作用点が異なる除草剤 (HRACコード: 2, 4, 5, 9, 14, 27) に対して抵抗性バイオタイプの報告があり、多剤耐性も最大5つの異なるHRACコードに対するバイオタイプが見ついている。

4. 癌(がん)の進行

人体の話だが、環状DNAの由来の一つに細胞分裂ごとに生じるDNAの切断があり、切断されたDNAが環状化して細胞内に残る。ここで登場するのが“エピゾーム (episome) ⁵⁾”である。実はこのエピゾームに癌を誘発する遺伝子がコードされている。さらにそれらが集合体 (クラスター) を形成して、その遺伝子の転写活性を高め、結果として癌の進行を助長するのである。逆にクラスターが形成されないと転写活性が低下することも明らかになっている。その現象に着目して、これら誘発やクラスター化を阻害する抗癌剤の創薬研究が行われ、薬剤送達システム (DDS) と組み合わせ、健康な細胞への影響を最小限に抑えつつ、癌細胞の増殖をピンポイントで低下させる治療法の開発を目指している。

植物もこのような癌の進行と同様な機構を持っているのだろうか? そうであれば、除草剤抵抗性を獲得した雑草であっても、当該除草剤の慣行量と環状DNAの転写活性を特異的に抑制する物質を混合処理することで防除できるであろう。

5. 除草剤の抵抗性誘導

エピジェネティック制御は自発的、遺伝的、または環境

の影響を受けて誘導されるとしている (Markus *et al.* 2018)。
また、除草剤の非作用点選択性に関与する植物体内代謝における第1相反応の主たる酵素であるP450や、第2相反応の主たる酵素であるグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) は、除草剤のストレス (信号) によって誘導されること、またこれらの誘導には植物種間差があることはよく知られている。つまり、普段は寝ている遺伝子が除草剤のストレスで目を覚ます、まさにエピジェネティック制御が行われている。植物におけるP450の分子種は動物に比べて多く、200以上あることが知られているものの、除草剤と必ずしも1対1で対応するのではなく、場合によって1つのP450分子種が作用点の異なる複数の除草剤を代謝し、そのことが“多剤耐性”に通じている。また、紫外線や温度のような物理的ストレスが、化学物質の解毒代謝や病原微生物への耐性に寄与するケースもあり、異物代謝を含むストレス応答はとても複雑である。

今回取り上げた除草剤抵抗性雑草は、多くの場合メンデル性遺伝の主役であるセントラルドグマ以外の遺伝子情報が関与して耐性を獲得しており、まさに遺伝学の“パラダイムシフト”、すなわち定説を覆すことが起こっている。

雑草管理の現場において、茎葉処理型除草剤を葉齢限界よりも大きい雑草に処理、または処理適期でも薬量が低すぎると、効果不十分で残草することがある。そのような不適切な薬剤処理が除草剤抵抗性雑草の出現を助長することを示す研究成果も2000年初頭から出ている。植物は、動物と異なり、個体自体は“動けない”。そのため、植物は不定期かつ大きく変動する外部環境における生存戦略として、より柔軟かつ効率的にストレス応答する能力を備えている。その能力の一つにエピジェネティック制御があり、雑草管理をより難しいものになっていると思われる。だからこそ、このような雑草のストレスに対する応答機構を明らかにすることで、より合理的な除草剤抵抗性雑草対策の構築も可能になるであろう。

参考文献等

- Adu-Yeboah, P. *et al.* 2021. Non-Mendelian inheritance of gene amplification-based resistance to glyphosate in *Hordeum glaucum* (barley grass) from South Australia. *Pest Management Science* 77, 4298-4302.
- Gaines, T. A. *et al.* 2020. Mechanisms of evolved herbicide resistance. *Journal of Biological Chemistry* 295(30), 10307-10330.
- Jugulam, M. 2021. Can non-Mendelian inheritance of extrachromosomal circular DNA-mediated *EPSPS* gene amplification provide an opportunity to reverse resistance to glyphosate? *Weed Research* 61, 100-105.
- Markus, C. *et al.* 2018. Epigenetic regulation – contribution to herbicide resistance in weeds? *Pest Management Science* 74, 275-281.
- Molin, W. T. *et al.* 2020. The eccDNA replicon: A heritable, extranuclear vehicle that enables gene amplification and glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *The Plant Cell* 32, 2132-2140.
- Murphy, B. P. *et al.* 2021. Genetic architecture underlying HPPD-inhibitor resistance in a Nebraska *Amaranthus tuberculatus* population. *Pest Management Science* 77, 4884-4891.
- 與語靖洋 2021a. 除草剤のRACコード. 植調 55(8), 21-22.
- 與語靖洋 2021b. 植物はどのようにして除草剤に耐性を持つのか? 植調 55(9), 21-22.
- 與語靖洋 2022a. 遺伝について. 植調 56(1), 11-13
- 與語靖洋 2022b. セントラルドグマと形質発現. 植調 56(2), 7-9
- 與語靖洋 2022c. 優性と劣性はどうやって決まるのか? 植調 56(3), 8-9.

注

- 1) 自己複製できる核外遺伝子であるプラスミド (plasmid) のうち環状構造をしたもの。プラスミドの多くは環状構造をしているため、ほぼ同義と考えられる。
- 2) 種を超えて遺伝子 (DNA) が伝わること。すなわち親子関係がない生物の遺伝子を取り込むこと。世代を超えてすなわち親子関係で遺伝子が伝わることを“垂直伝播”という。
- 3) 個々の体細胞に後天的 (エピジェネティック) な変異が生じることにより、一つの個体において変異がある細胞とない細胞が混ざった状態になること。

- 4) 広義の遺伝率は、表現型 (全) 分散に対する遺伝分散の比率、すなわち個体の表現型のうち遺伝によって決まる程度のこと。一方、狭義の遺伝率は、表現型分散に対する相対的遺伝分散の比率、すなわち個体の表現型のうち育種価によって決まる程度のこと。
- 5) 自己複製できる核外遺伝子であるプラスミド (plasmid) のうち、核外だけでなく核内すなわち染色体内に組み込まれる能力を持つもの。エピゾームの“エピ”は“エピジェネティック”と同じで、中心にはないけど、周りにあるイメージ。