

## 雄性不稔スギにみられた花粉形成障害の多様性

○寺西秀豊（富山大学大学院医学薬学研究部公衆衛生学）

斎藤真己（富山県農林水産総合技術センター森林研究所）

平 英彰（元新潟大学大学院）

安枝 浩（国立相模原病院）

林 節男（富山県立大学短期大学部）

**はじめに：** 花粉症の根本的予防対策としてスギ花粉飛散源対策が注目されている。なかでも不稔スギを利用した植林、森づくりは根本的花粉源対策として期待されている。不稔スギは、1992年平らによって富山市で初めて発見された。富山不稔1号と命名されたが、その後、新潟、福島、神奈川、青森などでも発見されている。ここでは富山不稔1号の遺伝子を引き継ぐ、村松（M1）、新潟で発見された新潟不稔1号（N1）、新潟不稔3号（N3）、新潟不稔5号（N5）、および新潟不稔8号（N8）についてイムノブロット法により検討したので報告する。

**対象と方法：** スギ雄花は2009年2月に採取した。雄花を光学顕微鏡で観測すると共に、以下のようイムノブロット法によってアレルゲンを観察した。すなわち、雄花を包埋、凍結し、クライオスタットで切片を露出させ、露出面にPVDFメンブレンを押し付け、雄花抗原を転写した。その後、BSAでブロッキングして、スギ抗原（Cry j 1, Cry j 2）に対する抗体で反応させ、アルカリフォスファターゼ標識抗イムノグロブリン抗体で処理後、BCIP/NBT試薬（フナコシ、VEC社）で染色した。得られたブロットはスキャナーで取り込み、拡大して観察した。使用した抗体はウサギポリクロナール抗Cry j 1抗体、ウサギポリクロナール抗Cry j 2抗体、およびマウスモノクロナール抗Cry j 1抗体（J1B01, J1B07）であった。

**結果と考察：** M1, N3は四分子期（tetrad）の段階で生長が障害されていた。N1, N5は小孢子（microspore）に異常が認められ、N1では核が萎縮、消失していた。N5では小孢子分裂期の異常で核が分裂せず、一核期にとどまっていた。N8は正常な小細胞が形成されるものの、その後の小孢子分裂に異常が認められ、正常の2細胞性の花粉と共に、核の形態異常の認められるものが出現していた。

イムノブロット法による観察では、いずれの不稔スギもスギ花粉抗原の出現量が減少し、形態的にも萎縮していることが示された。N8においてはウサギポリクロナール抗Cry j 1抗体によるイムノブロット像が比較的鮮明に得られた。マウスモノクロナール抗Cry j 1抗体（J1B01）によってCry j 1の存在が確認された。N8ではウサギポリクロナール抗Cry j 2抗体によって、Cry j 2の存在が証明された。このことは、N8は今回検討した雄性不稔の中では最も成熟過程の進んだ段階の雄性不稔であり、Cry j 1とCry j 2の発現時期以降に障害が起こっていることを示唆している。

これらの結果は自然界に出現する雄性不稔には様々なものが存在し、スギ花粉成熟段階の様々な障害を反映していることを示している。今後も、これらの不稔スギの活用のために、更なる検討が必要とされている。