

突然変異育種の現状と展望 —品種育成と遺伝子機能解明のた めの突然変異リソース—

中川 仁

独立行政法人農業生物資源研究所

放射線育種場 場長

茨城県常陸大宮市上村田2425

ngene@affrc.go.jp

放射線育種場（IRB）の歴史

昭和31年 9月 原子力の研究、開発及び利用に関する長期計画（第1回）

「ガンマーフィールドその他の施設の整備を図る」ことが計画の内容に盛り込まれた。（昭和34年度から3カ年計画で農林省にガンマーフィールドを設けることとし予算化(原子力予算)された。

昭和35年 4月 農林省設置法の一部改正により新たに放射線育種場が設立

（業務内容） ・農林省関係試験研究機関の要請により農林作物への照射を行う。

・放射線育種のため照射ほ場における照射方法及び放射線による変異並びに遺伝に関する調査研究を行う。

・照射ほ場に貸与ほ場を設け各種植物について大学、公共及び民間の試験研究機関等から依頼を受けたものについても照射を行う。

昭和36年 3月 ガンマーフィールド完成

昭和37年 3月 昭和37年度原子力開発利用基本計画

事業の大綱の中で「放射線育種場のような大規模な施設、装置については関連研究機関の共同利用を図る」とされた。

昭和39年 2月 ガンマーグリーンハウス完成

昭和40年 4月 放射線育種場共同利用施設設置（東京大学農学部附属施設）

全国大学関係等の業務を処理するための共同利用施設；ガンマーフィールド等の施設を大学等の研究者も共同利用できるようにすることを目的に設立されたものである。

昭和41年10月 ガンマールーム完成

昭和45年 農林省農業技術研究所に統合

昭和58年 農林水産省農業生物資源研究所の支所

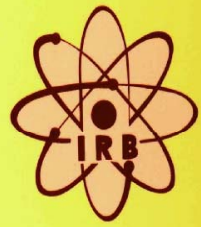
平成13年 独立行政法人農業生物資源研究所の研究グループ。



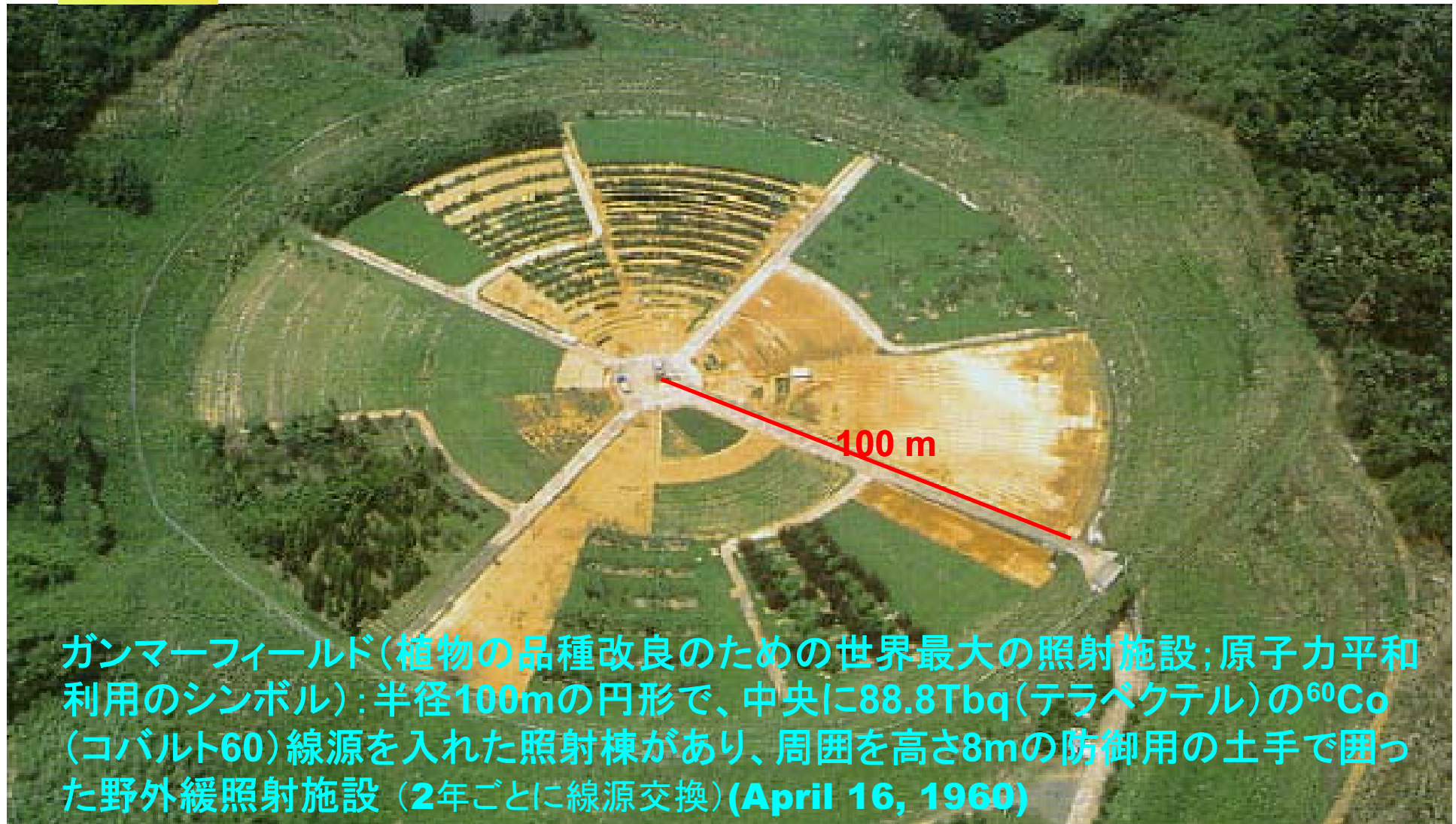
放射線育種場の役割

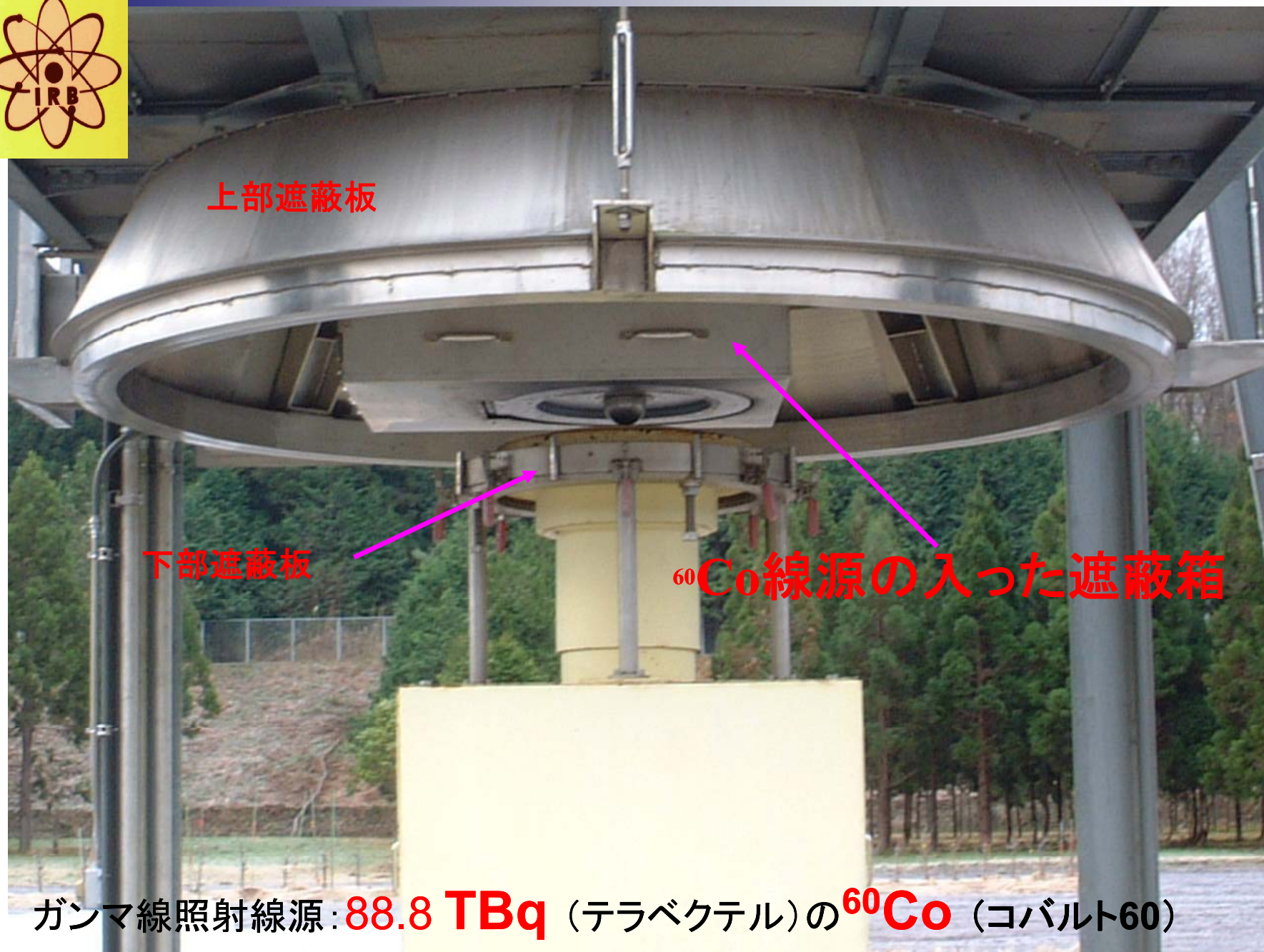
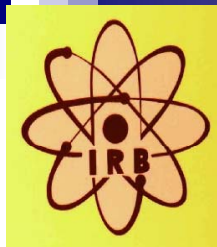


- 1) 放射線で作り出した突然変異を利用した作物の品種改良
- 2) 効率的に変異を作り出す基礎研究
突然変異が起こる仕組みを明らかにする、突然変異を効率的に作り出す研究
- 3) 大学、民間企業、都道府県からの依頼照射(育種利用)と共同研究



ガンマーフィールド



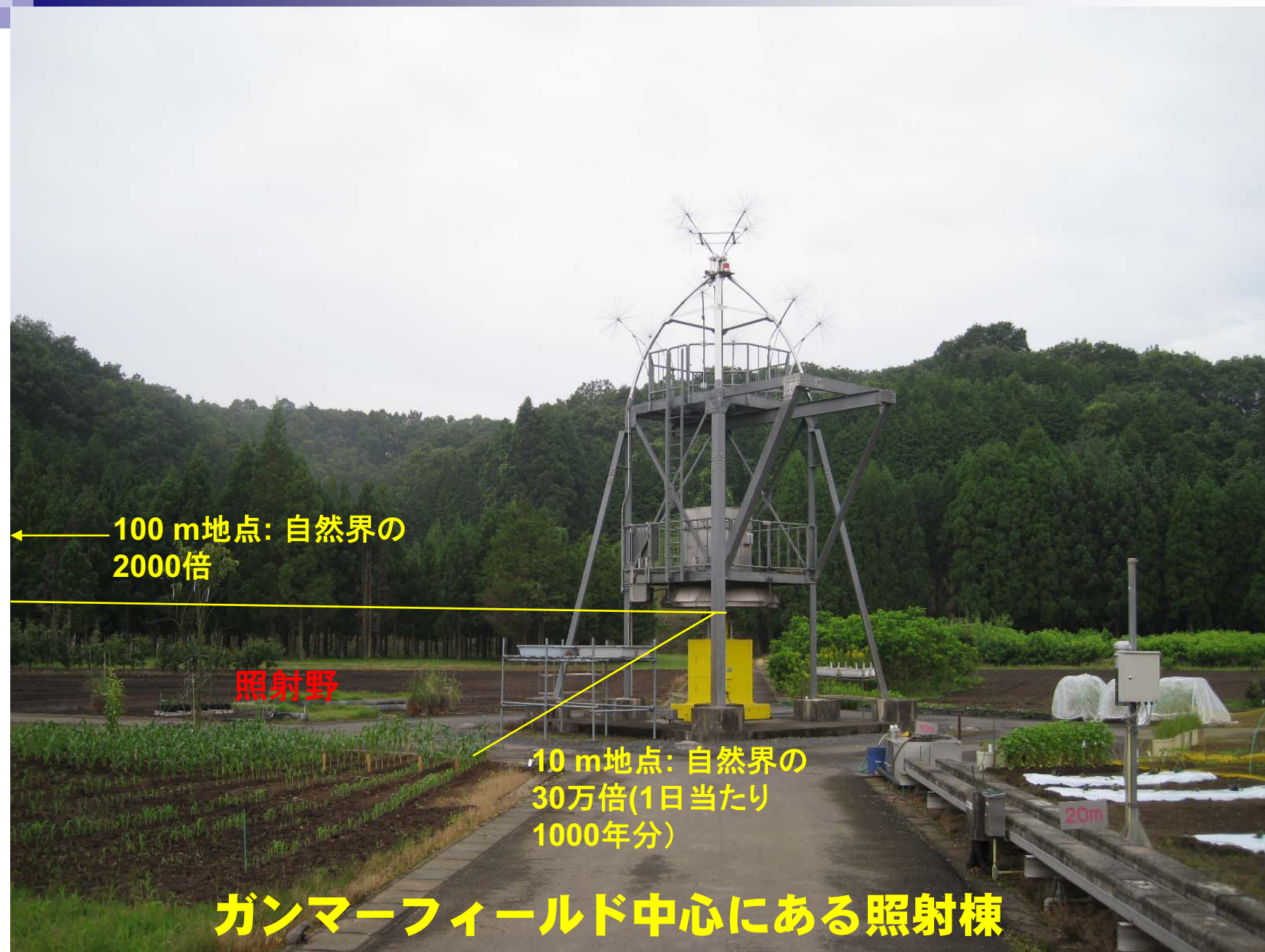


上部遮蔽板

下部遮蔽板

^{60}Co 線源の入った遮蔽箱

ガンマ線照射線源: **88.8 TBq** (テラベクテル)の ^{60}Co (コバルト60)



← 100 m地点: 自然界の
2000倍

照射野

10 m地点: 自然界の
30万倍(1日当たり
1000年分)

ガンマフィールド中心にある照射棟

その他のガンマ線照射施設



ガンマールーム : 54m²
44.4 TBq ⁶⁰Co 線源を用いた室内急照射用の遮蔽施設で種子、球根やイモ類、培養した組織などに照射できる。4年ごとに線源交換
(1966)



ガンマーグリーンハウス : 半径7m(150m²)の正八角形の温室で、霜に弱い熱帯作物のための緩照射施設。(照射線源は¹³⁷Cs: 1964)2008年に廃止

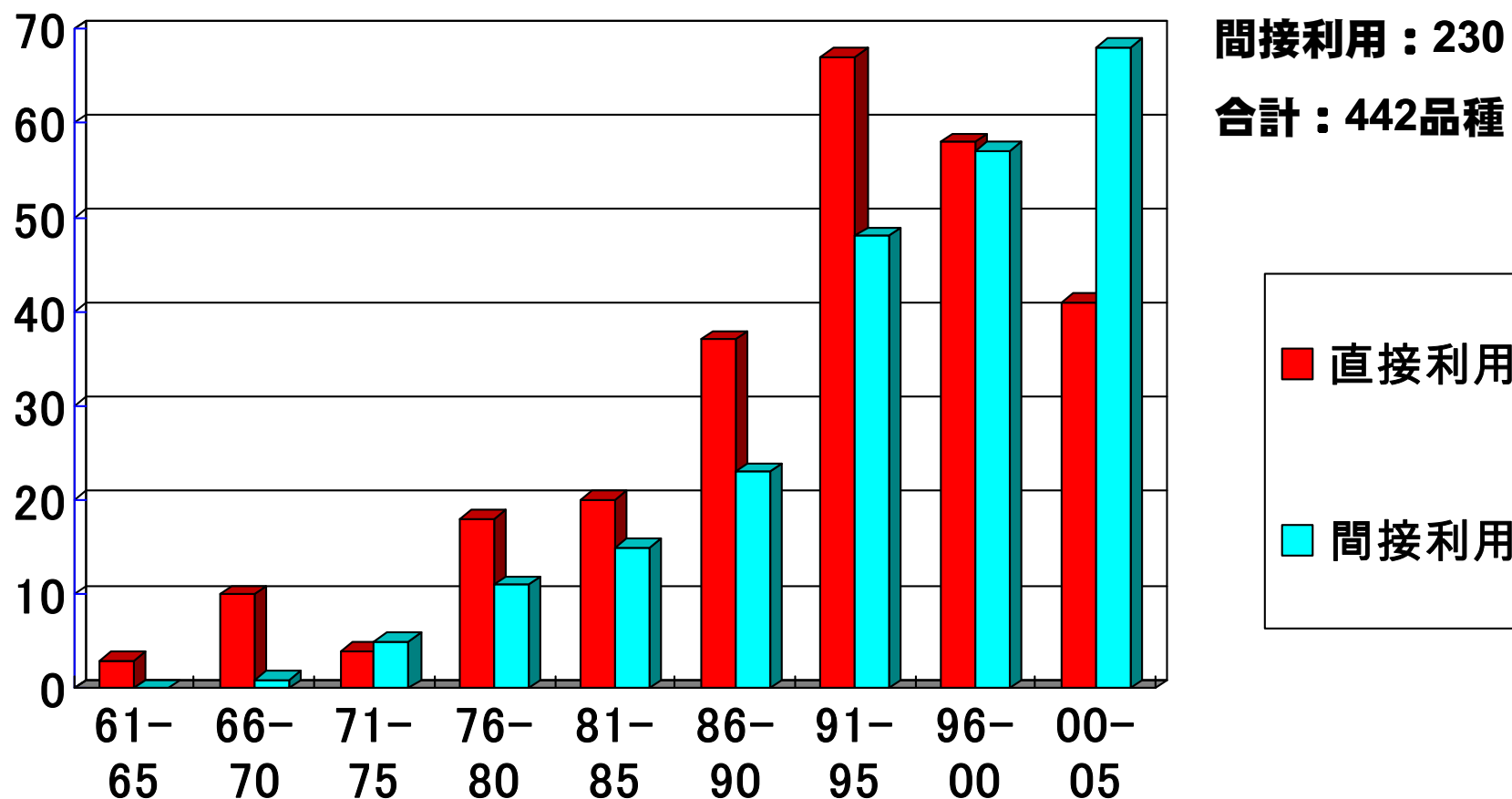


日本で育成された突然変異品種数の推移(1961-2005)

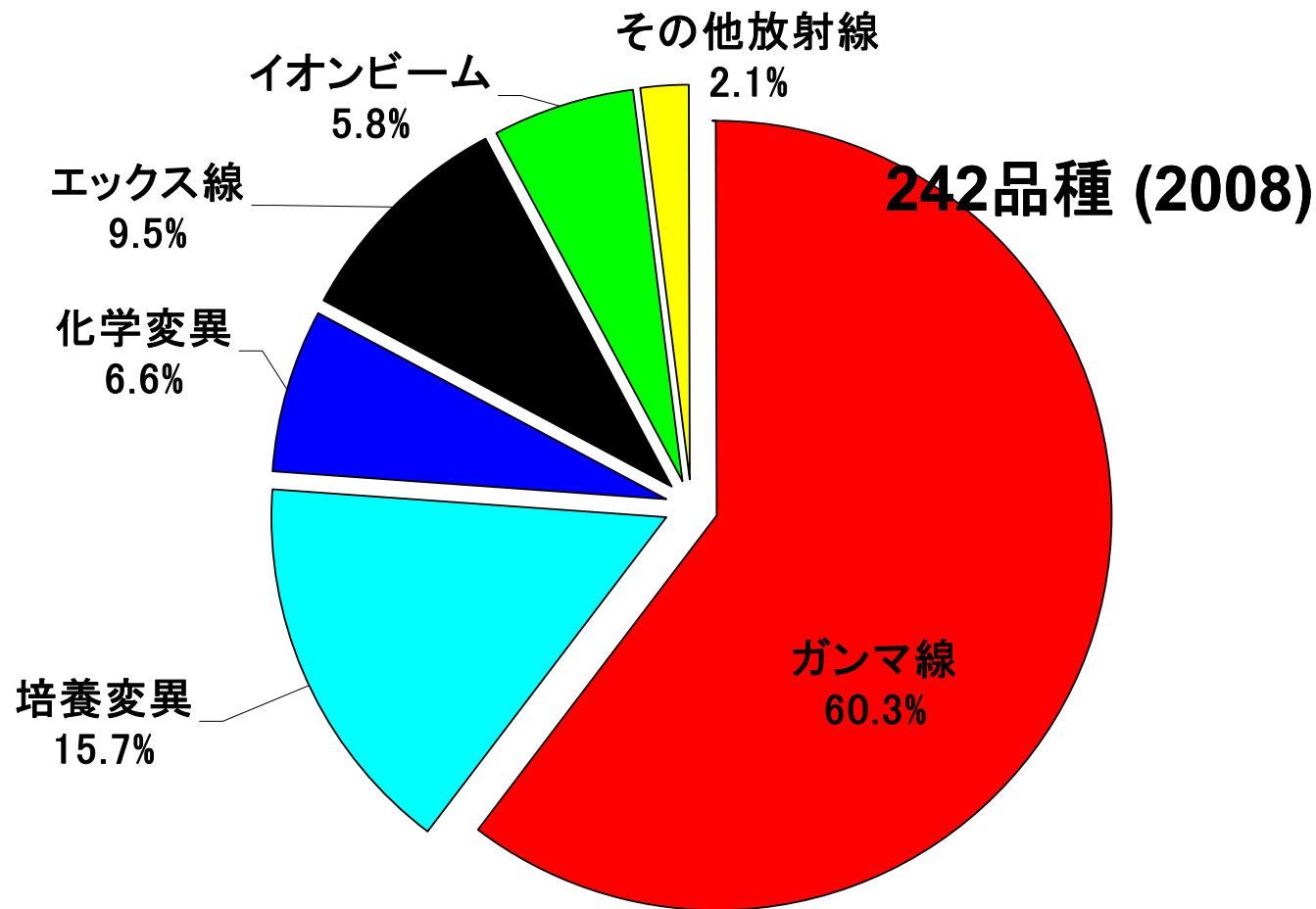
直接利用 : 212

間接利用 : 230

合計 : 442品種



突然変異育種法別の育成品種内訳





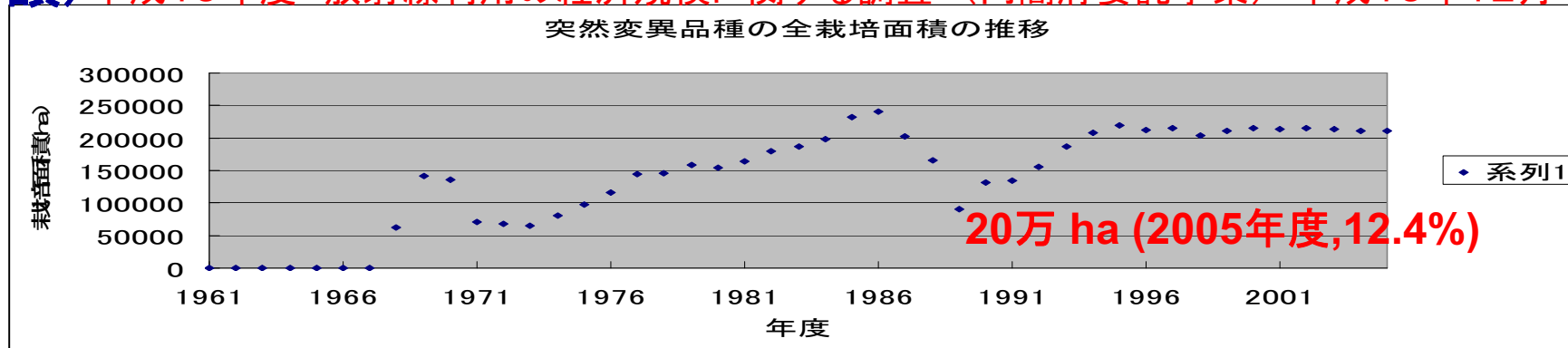
突然変異直接利用品種数(2008)

	突然変異品種 ¹	放射線利用	ガンマ線利用	IRB ²
61作物	242	188	146	100
イネ	31	14	12	11
コムギ	2	2	2	0
オオムギ	4	4	3	0
ダイズ	16	15	14	9
キク	48	45	31	29
バラ	10	5	5	4
スターチス	6	6	6	0
エニシダ	8	8	8	8
リンゴ	2	2	2	2
ナシ	3	3	3	3
その他	107	81	61	34

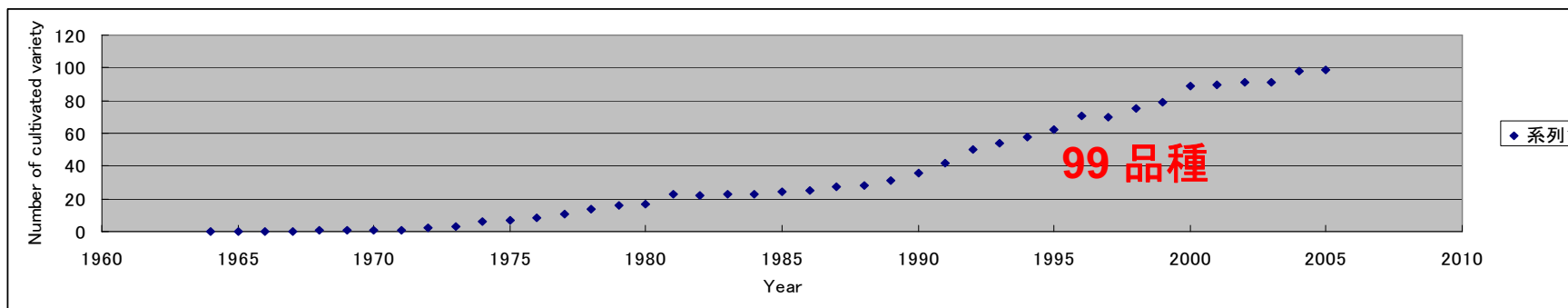
1:化学変異原、培養変異、放射線すべてを含む;2:放射線育種場で照射したもの

我が国の突然変異品種の全栽培面積、品種数および経済的効果(販売額)

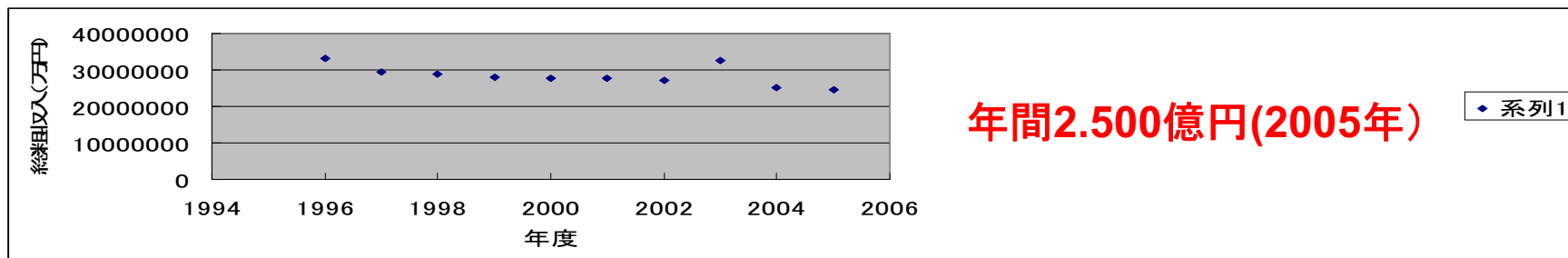
平成19年度 放射線利用の経済規模に関する調査 (内閣府委託事業) 平成19年12月



日本で栽培されている放射線突然変異品種数の推移



経済的効果(農家の突然変異品種イネの粗収入額の推移) 全品種同額で推定



ダイズ突然変異品種と1997、2004、2005年の栽培面積

品種名	1997	2001	2005
ライデン ¹	80	8	
ワセスズナリ ¹	120		
むらゆたか ¹ (X線)	3,507	5,910	2,466
コスズ ¹	498	863	576
いちひめ ¹		35	130
アキタミドリ ¹		8	87
ナンブシロメ ²	1,246	1,550	1,534
トモユタカ ²	2		
鈴の音 ²	10	50	
エルスター ²			447
スズサヤカ ²			10
リュウホウ ²	1,150	7,050	8,033
全栽培面積 (ha)	6,613	15,474	13,283 (9.4%)
農家の粗収入	20億円	59 億円	52 億円

1: 突然変異直接利用品種; 2: 間接利用品種

ガンマフィールド内での 突然変異の作出



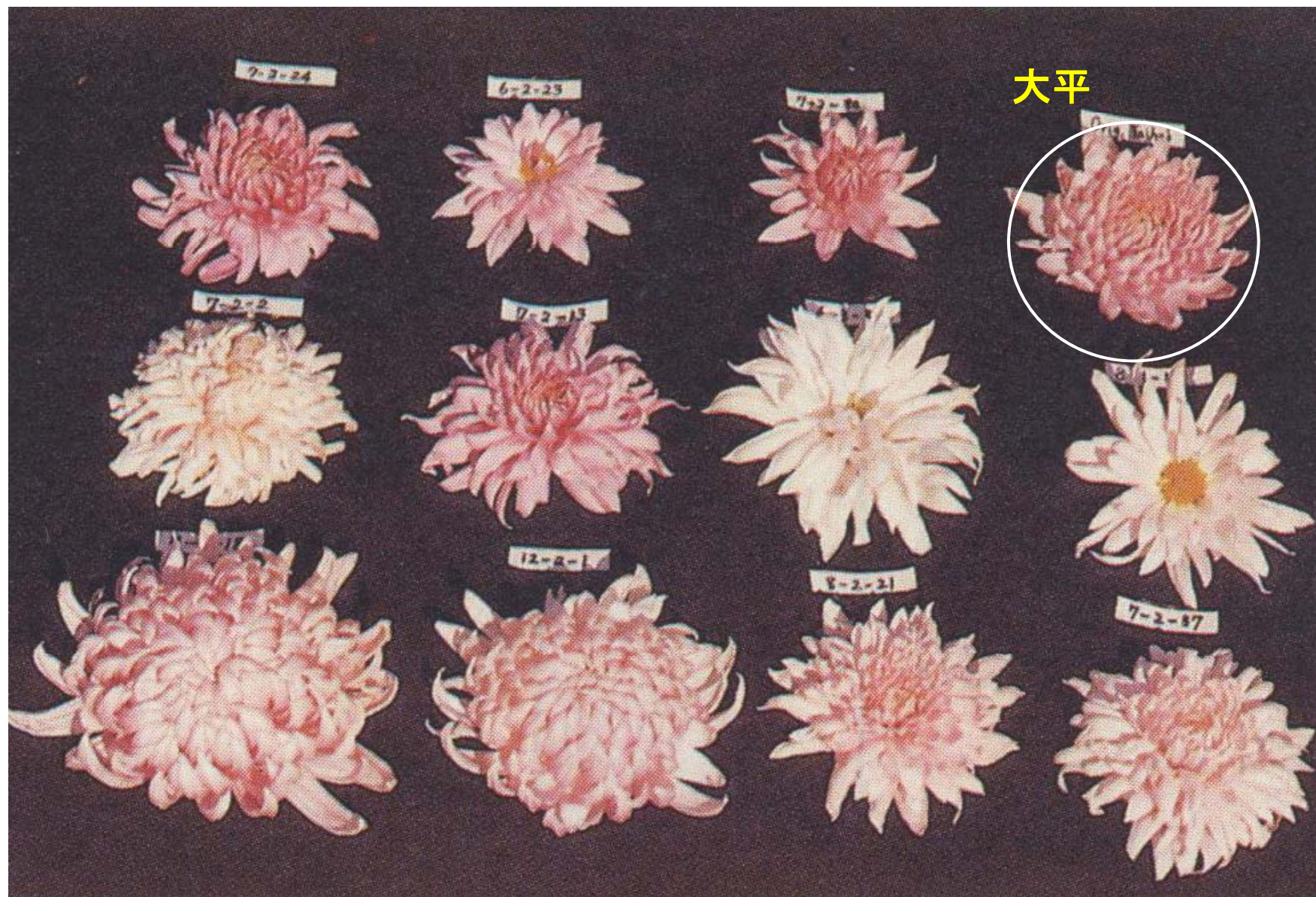
ガンマ線照射花卉の培養と、
脱分化、再分化



元品種(大平:右端上)から作出した色の変異



元品種(大平:右端上)から作出した花の形態変異



ガンマ線照射と花卉培養で育成した キク品種

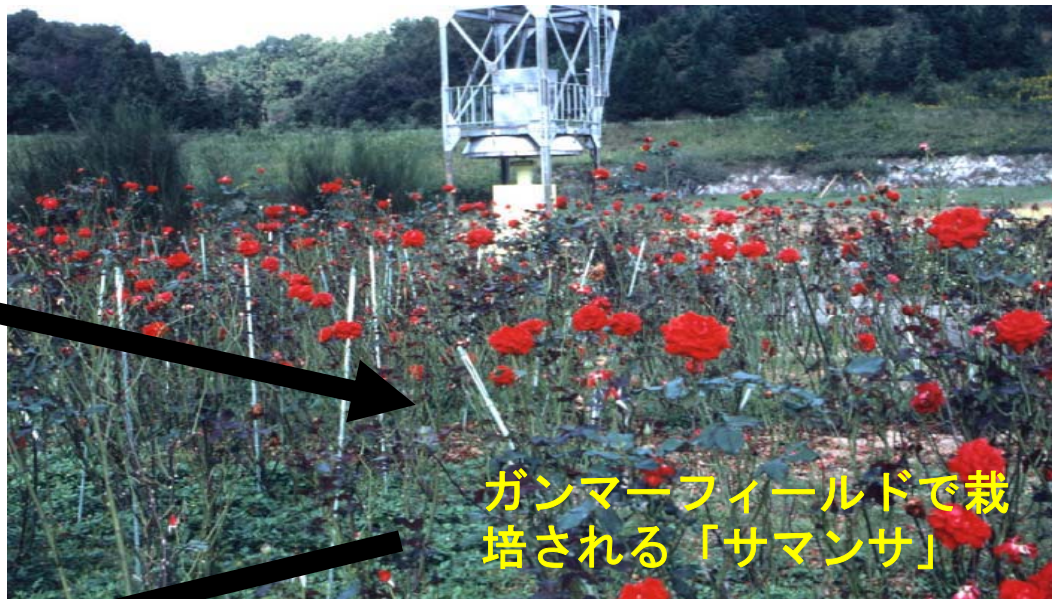


A: 南風の初雪(はえのはつゆき); B: 南風の燦(はえのきらめき); C: 南風の紅(はえのくれない); D: 南風的美童(はえのみやらび); E: 南風の夕暮(はえのゆうぐれ); F: 南風の輝(はえのかがやき)

ガンマーフィールドでの緩照射によるバラ品種の育成



原品種「サマンサ」



ガンマーフィールドで栽培される「サマンサ」



「ひたちスマイル」



ひたちポエニー

ガンマーフィールドで変異を誘発し、切り戻しと栄養体繁殖によって特性を固定する



なし「二十世紀」の
耐病性枝変わり

黒斑病抵抗性なし品種
「ゴールド二十世紀」の
育成

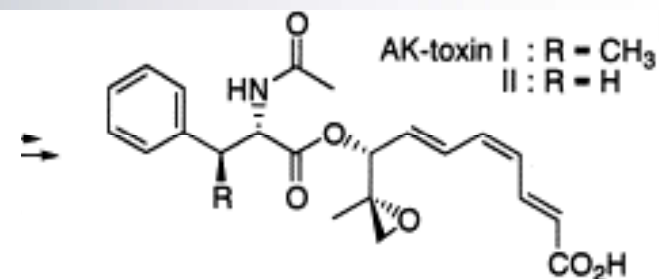


病気に弱い
「二十世紀」



病気に強い「ゴールド
二十世紀」

葉を用いた耐病性の検定法の確立 (病原菌が作り出す毒性物質を用 いる)



AKトキシシン

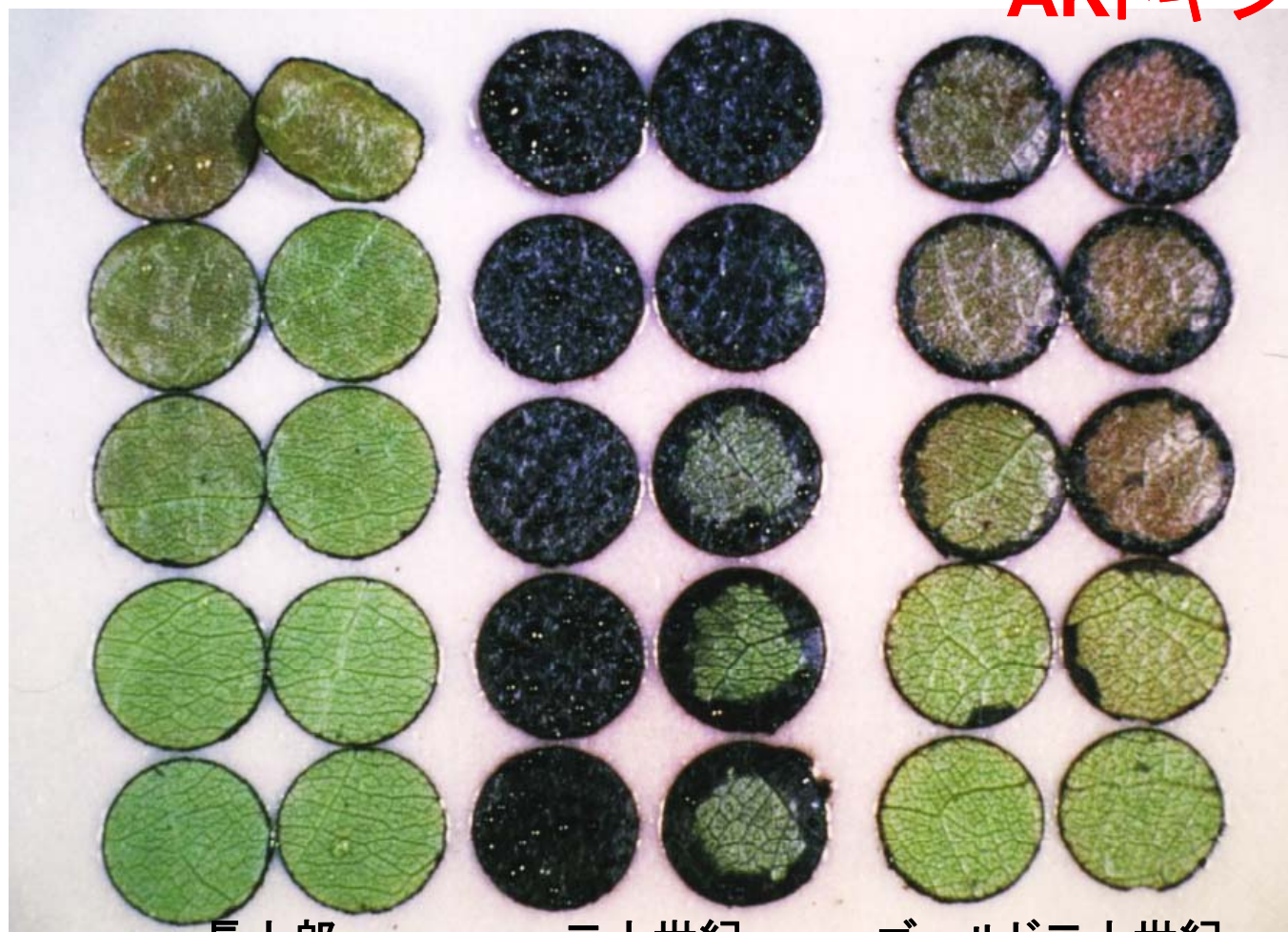
第1葉

第2葉

第3葉

第4葉

第5葉



長十郎

二十世紀

ゴールド二十世紀

ガンマー線照射により作り出された黒斑病に耐病性の
ナシ品種（低農薬・低投入持続型栽培への転換）



ゴールド二十世紀

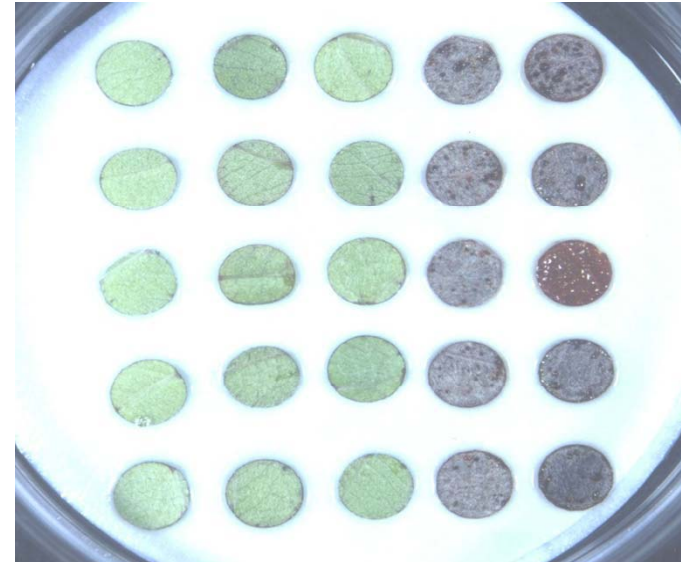


寿新水



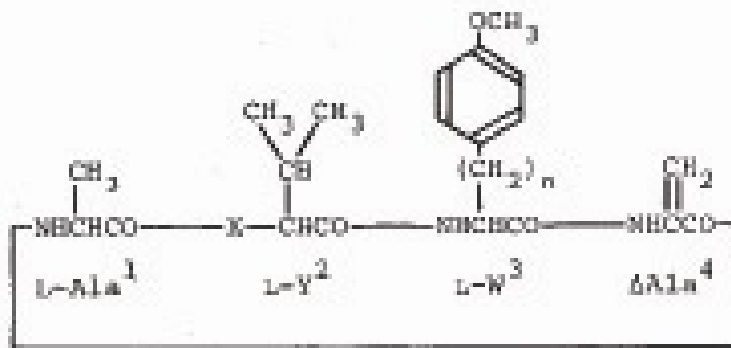
おさゴールド

ガンマ線緩照射による斑点落葉病抵抗性 リンゴ品種「放育印度」の育成



つがる ふじ 放育印度 インド スターキ

ング

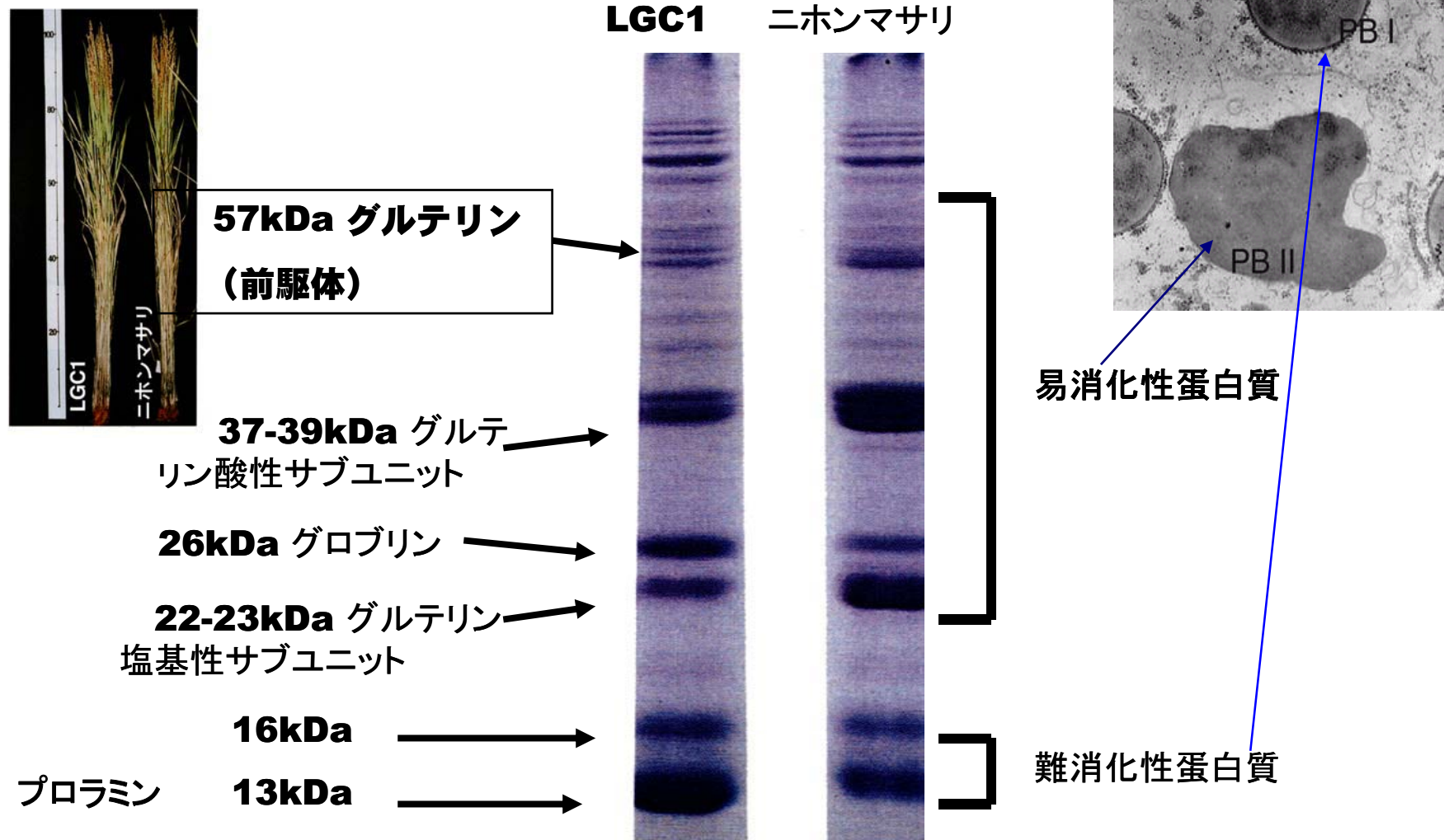


AMトキシン

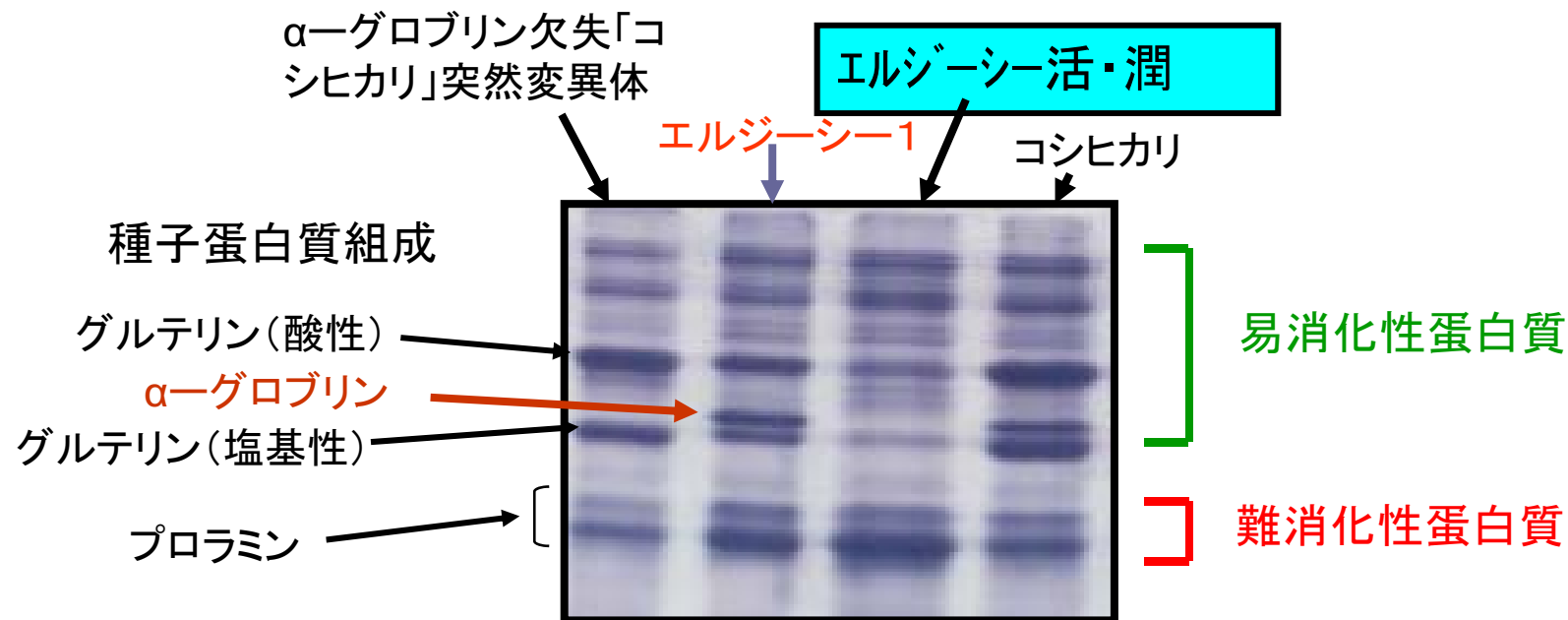
葉を用いた抵抗性の検定

- 突然変異体は病気に抵抗性
- 耐病性以外の性質は変化なし
- 花粉稔性はやや低くなるが、問題になる程度ではない。
- 2003年度に品種登録申請

SDS-PAGE を用いた種子蛋白の解析と突然変異体, LGC1 (Low glutelin content 1: グルテリン含量が 50%に減少)



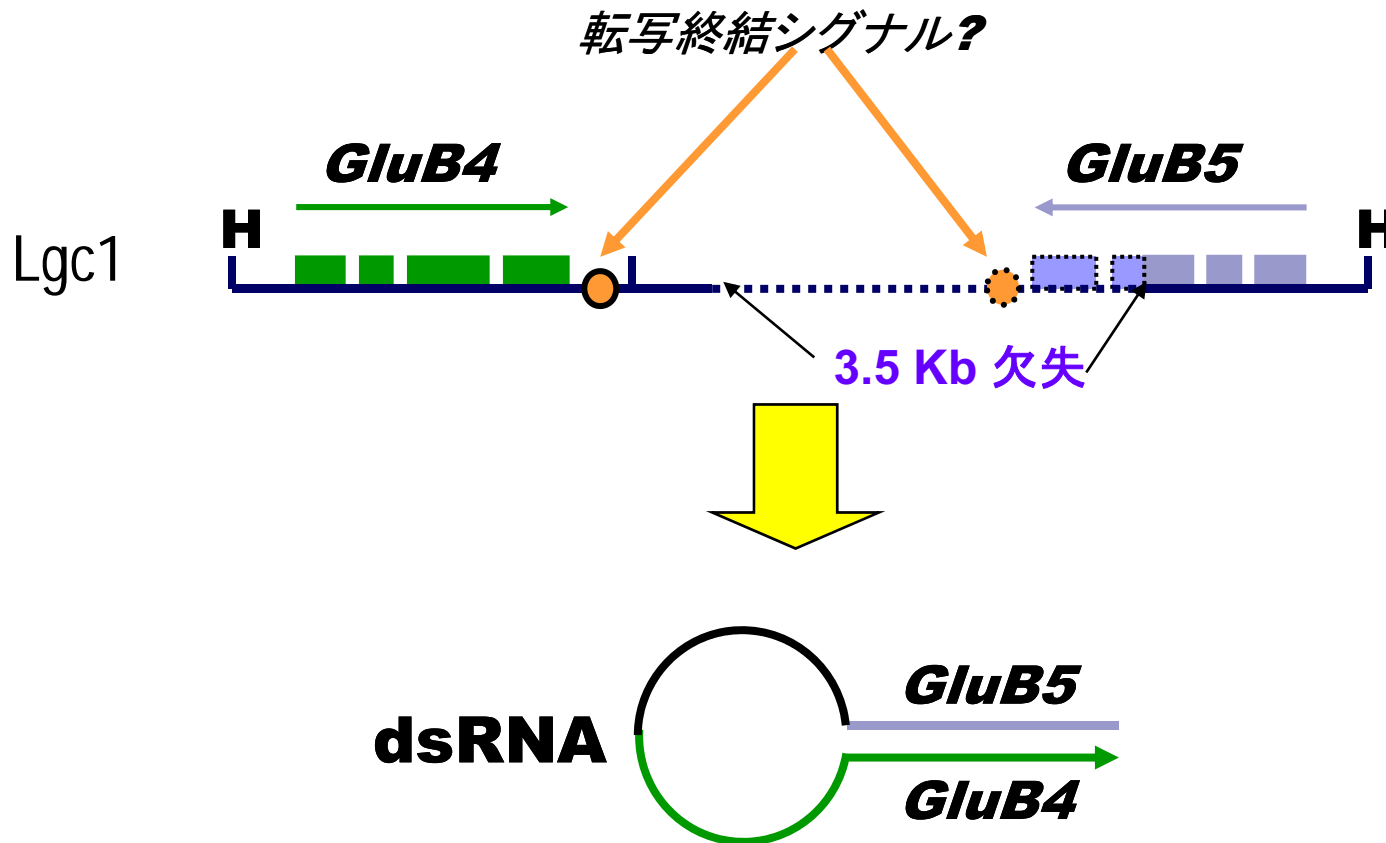
食味を改善し、もっと易消化性蛋白質を低くするために



新たな低蛋白質(易消化性蛋白質)品種の育成

「LGC1」(易消化性蛋白質含量が従来品種よりも50%以下になった): 化学変異原「LGC-活」と「LGC-潤」(30%以下になった)(ガンマ線照射「コシヒカリ」突然変異体との交配)

*Lgc1*突然変異メカニズムの 分子的説明



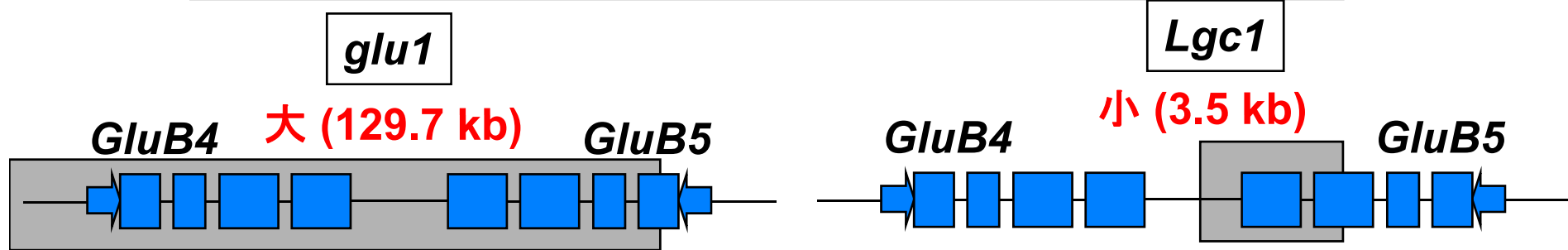
RNA干渉(RNAi)によって突然変異が引き起こされることを示した世界初の例となった。(Kusaba *et al.* (2003) *The Plant Cell* 15:1455-1467)

ガンマ線により誘発されたDNA変異

CAO	deletion	1 bp
CAO	deletion	3 bp
CPS	deletion	1 bp
GA3ox	deletion	1 bp
GluA1	deletion	1 bp
GluA2	deletion	1 bp
GluA2 *	substitution	1 bp
PLA1 *	deletion	5 bp
GluB4/5	deletion	>10 kb
α -globulin	deletion	>15 kb
α -globulin	deletion	>90 kb

数bpの小さい欠失あるいは非常に大きい欠失

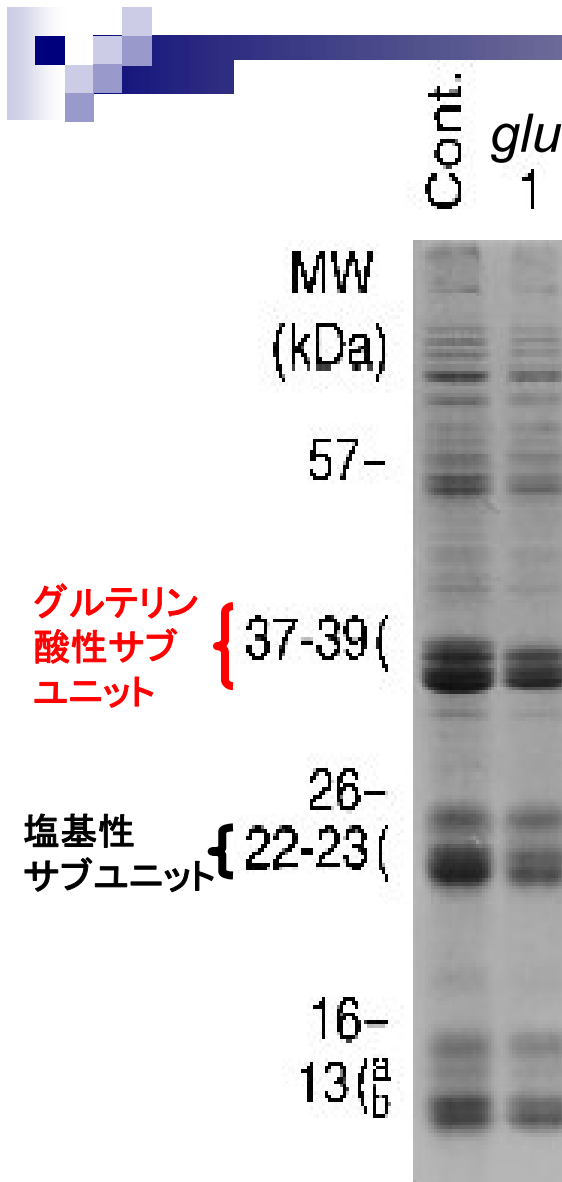
*glu1*と*Lgc1*はどちらも*GluB4/B5*に生じた突然変異であるが表現型が大きく異なる



	表現型	遺伝性の優劣	メカニズム
<i>glu1</i>	グルテリン酸性サブユニットの1つが欠失する	劣性	2つの遺伝子のノックアウト
<i>Lgc1</i>	グルテリン量が全体的に低下する	優性	RNAiによるグルテリン遺伝子族の転写抑制

誘発されたdeletionのサイズと位置の違いが突然変異の表現型に大きく影響することを示した例:ガンマ線、イオンビーム、中性子で誘発されやすいdeletionサイズが異なるならば、使い分ける意味がある。

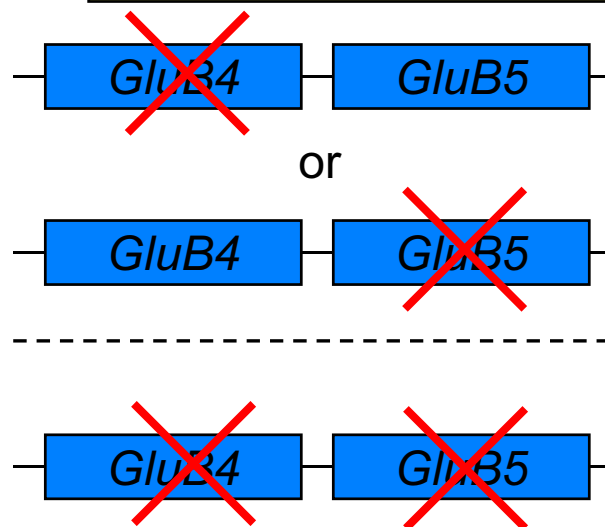
1. Morita R, Kusaba M, Iida S, Nishio T, Nishimura M (2007) Knockout of glutelin genes which form a tandem array with a high level of homology in rice by gamma irradiation *Genes & Genetic Systems* 82:321-327



GluB4 と GluB5酸性サブユニットの推定アミノ酸配列

	10	20	30	40	50	60
GluB5	QLFGPNVNPWHNPRQGGFREC	FDRLQAFEPLRRVRSEAGVTEYFDEKNEQFQCTGTFTVI				
GluB4	QLFGPNVNPWHNPRQGGFREC	FDRLQAFEPLRRVRSEAGVTEYFDEKNEQFQCTGTFTVI				
	70	80	90	100	110	120
GluB5	RRVIEPQGLLVPRYSNTPGMVYIIQGRGSMGLTFPGCPATYQQQFQQFLPEGQSQSQKFR					
GluB4	RRVIEPQGLLVPRYSNTPGMVYIIQGRGSMGLTFPGCPATYQQQFQQFLPEGQSQSQKFR					
	130	140	150	160	170	180
GluB5	DEHQKIHQFRQGDIVALPAGVAHWFYNEGDAPVVALYVFDLNNNANQLEPRQKEFLLAGN					
GluB4	DEHQKIHQFRQGDIVALPAGVAHWFYNEGDAPVVALYVFDLNNNANQLEPRQKEFLLAGN					
	190	200	210	220	230	240
GluB5	NNREQQMYGRSIEQHSGQNI FSGFNNE LLSEALGVNALVAKRLQGQNDQRGEIIRVKNGL					
GluB4	NNREQQMYGRSIEQHSGQNI FSGFNNE LLSEALGVNALVAKRLQGQNDQRGEIIRVKNGL					
	250	260	270			
GluB5	KLLRPFAQQQEQAAQQQEQAAQYQVQYSEEQQPSTRCN					
GluB4	KLLRPFAQQQEQAAQQQEQAAQYQVQYSEEQQPSTRCN					
	250	260	270			

酸性サブユニットは完全に一致



GluB4 と B5どちらかの
ノックアウト
→野生型と同じ形質

GluB4と B5両方の
ノックアウト
→低グルテリン形質

Iida et al.1997

誰が最初にステイグリーン遺伝子を解析したか？



遺伝解析に用いた7つの形質の一つ

種子

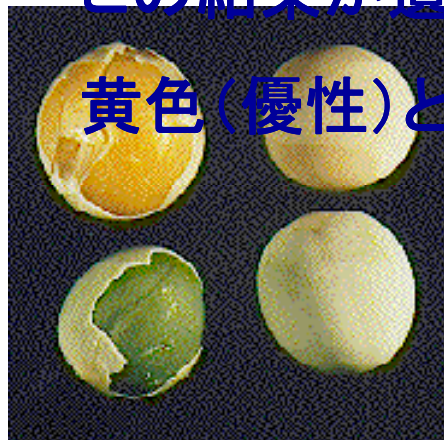
成熟葉

老化葉

この結果が遺伝子が発見された3番目の形質となった

黄色(優性)と緑色(劣性)の種子の遺伝子をイネで解明

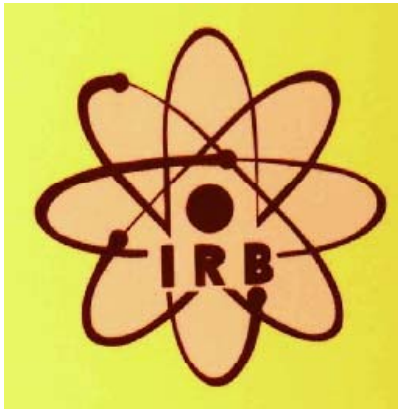
突然変異体



/ locus



野生型



ガンマフィールドシンポジウム



「ガンマフィールドシンポジウム」(2009は第48回)は毎年7月中旬に水戸市で開催。

シンポジウム後、講演集は英文誌「**Gamma Field Symposia**」(最新号は第46巻)として発行。

現在、1-46号は農業生物資源研究所のホームページに掲載。

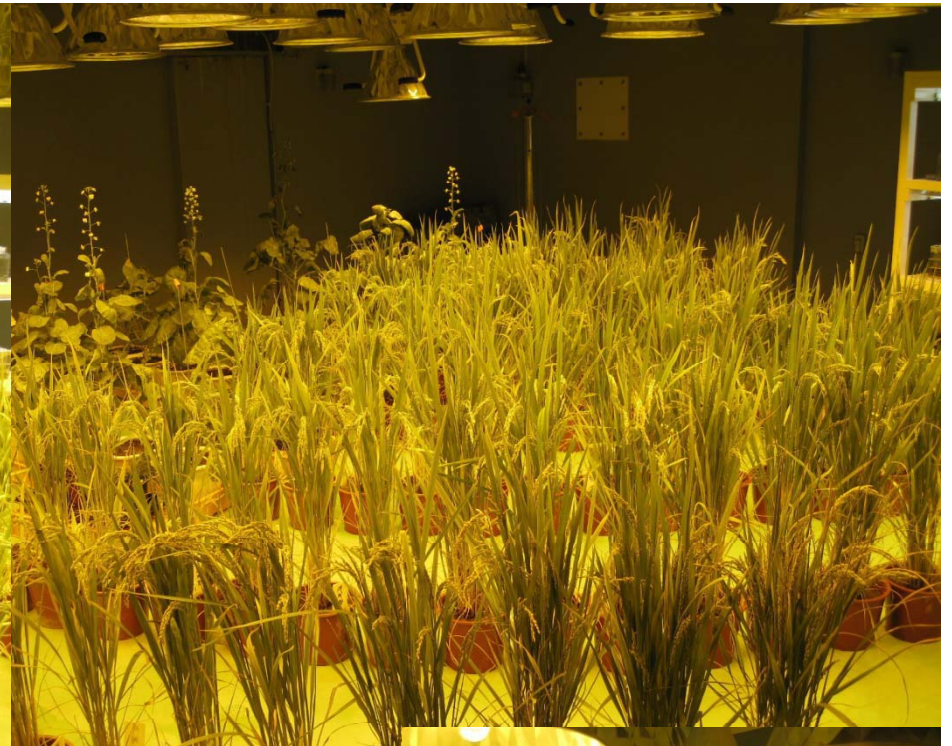
<http://www.nias.affrc.go.jp/eng/gfs/index.html>

ガンマーファイトロン



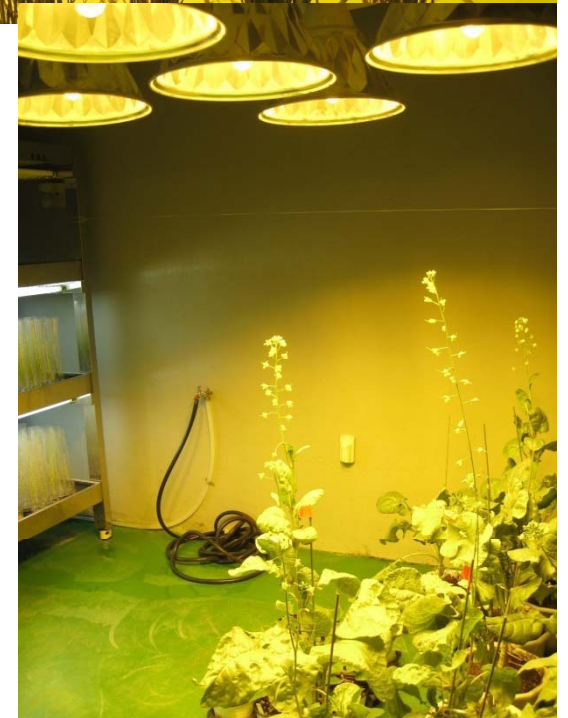
韓国原子力研究所 (KAERI)
先端放射線技術研究所 (井邑市)





韓国原子力
研究所
(KAERI)

先端放射線
技術研究所
(井邑市)の
ガンマーファ
イトロン





2008年、マレーシア、クアラルンプール郊外にあるMINTに建設されたガンマーグリーンハウス: Courtesy of Dr. Rusli Ibrahim



「ガンマグリーンハウスにおけるガンマ線緩照射技術による変異誘発」トレーニング／
ワークショップ：2009年8月3-7日、マレーシア原子力庁



今後

- アジアにおいてはガンマフィールドに代表されるガンマ線緩照射施設による突然変異育種への期待が大きく、韓国、マレーシアおよびベトナムから技術協力が求められている。
- 放射線育種場は50年近い研究の歴史を持ち、アジアのリーダーとして指導的立場に立って技術協力を進める責任は大きい。

問題点

- ・これまで原子力予算で行ってきた線源交換と管理費(年間約3000万円)が重荷になっている。