

話 題

植物の突然変異と育種

大野 豊^{*1}・横田 渉^{*2}

Induced Mutagenesis and Breeding of Plants

Yutaka OONO^{*1} and Watalu YOKOTA^{*2}

Abstract

Ion beams are useful tools for induced mutagenesis and breeding of plants. They are characteristic of high linear energy transfer and distinct from gamma-rays or electron beams; wider mutation spectrum, higher mutation frequency, and higher rate of large insertion or deletion on DNA. Not only more than 30 newly registered plant varieties but also new valuable microorganisms have been generated by ion beams accelerated by the AVF cyclotron in TIARA. Developing effective methods to isolate mutants with specific traits is a future challenge.

1. はじめに

日本原子力研究開発機構・高崎量子応用研究所のイオン照射研究施設 TIARA (Takasaki Ion accelerators for Advanced Radiation Application) はバイオ技術及び材料科学の研究開発用に特化した施設で、AVF サイクロトロン (K110)、3 基の静電加速器 (3 MV タンデム、3 MV シングルエンド及び 400 kV イオン注入装置) を擁している。イオンビームの利用分野は新機能材料開発、材料評価・解析技術開発、遺伝子・細胞レベルでの放射線生物影響解明、突然変異育種、医療応用技術開発など多岐に亘る。様々な要求に応えるため、H から Bi まで、20 keV から 560 MeV までの広範囲のビームに加え、静電加速器ではクラスターイオンビームを提供している。ビームの形態や照射の方法も多様で、大面積均一ビーム、パルスビーム、マイクロビーム、単一イオン、複数の静電加速器による 2 重または 3 重の多重ビーム照射、マイクロビームを用いた PIXE 分析及び微細加工等が可能である。

サイクロトロンでは、バイオ・材料分野の特徴的な照射実験形態に合わせて、加速器の改良や技術開発を施設の完成後に行った。各照射実験が短時間で頻りにビームを切替えるためにヨーク等が

熱平衡に達せず、磁場が変化することに起因してビーム強度が絶えず変る現象が定常運転開始直後から顕著に現れた。このため、メインコイルの発熱の伝導を防ぐ熱遮蔽を施し、5°C 以上あったヨーク温度の変動を 0.1°C に抑えてメイン磁場強度の変化 ($\Delta B/B$) をそれまでの 1/100 程度の 1×10^{-5} 以下に低減させた¹⁾。この対処はビーム強度のみならずビーム位相の安定性を格段に高め、直径 1 μm のマイクロビーム²⁾ や単一パルスビーム³⁾ の形成を可能にした。本特集の別稿で取上げられる半導体研究では、1 回の実験で複数種のビームを使うため、カクテルビーム加速⁴⁾により質量数対価数比 $M/Q \cong 2.0, 2.9, 4.0, 5.0, 5.3, 6.4$ の各 M/Q グループ内で 2~6 種類のビームを数~10 分程度で切替えている。

TIARA では磁場によるラスタースキャン装置を備えた鉛直ビームライン (図 1 の V_3 の階下) で大面積均一照射が行われており、本稿ではその装置を用いた植物の育種研究及び新品種開発の概要を解説する。

2. イオンビームによる突然変異育種

2.1 イオンビーム育種とは

育種とは、生物を遺伝的に改良し、より有用な性質を付与しようとするものであり、イオンビー

*1 日本原子力研究開発機構量子ビーム応用研究センター Quantum Beam Science Center, JAEA
(E-mail: ohno.yutaka@jaea.go.jp)

*2 日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所 Takasaki Advanced Radiation Research Institute, JAEA

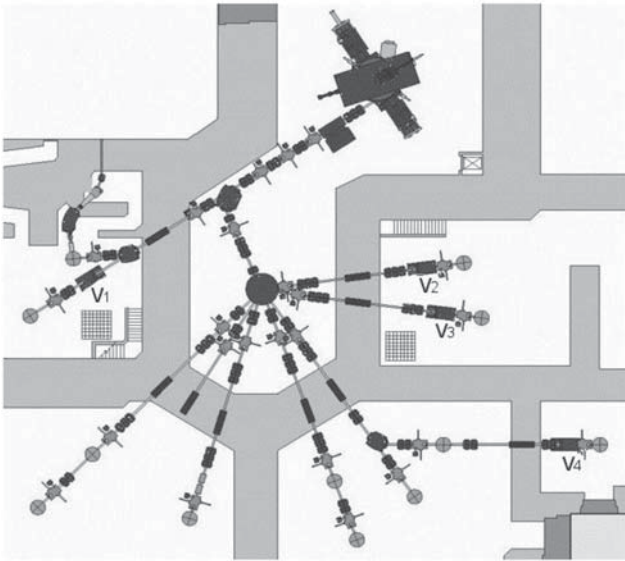


図1 サynchrotronのビームラインの配置。V₁-V₄が階下の鉛直ラインにビームを偏向する電磁石。

ム育種は、イオンビームによって生じる突然変異を利用した育種のことである。突然変異を利用した育種はガンマ線などでも可能であるが、イオンビーム育種が注目されるのにはいくつかの理由がある。例えば、キクやカーネーションの花色変異体の解析では、赤い花の親株に照射した場合、ガンマ線では主に赤からピンク系の変異体ができるのに対し、イオンビームでは赤系に加えオレンジや黄色系の変異体も出現するなど、変異のスペクトルが広いことがわかっている⁵⁾。また、遺伝子情報が豊富で広く植物研究者に扱われているモデル植物であるシロイヌナズナでは、種子の色や葉表面の毛に関する変異体の出現を指標とした電子線とイオンビームの効果の比較で、イオンビームの方が変異率が高いこと、そして大きなDNA欠失を誘発することが多いことも明らかになっている(図2)⁶⁾。

このようなイオンビームとガンマ線や電子線との変異誘発の効率やスペクトルの違いは、線エネルギー付与の違いに起因すると考えられている。高い線エネルギー付与のイオンビームは、生体を構成する組織や細胞に対して、その飛程に沿って高密度にエネルギーを付与する。そのためイオンビームでは、DNA鎖切断などが近接しておこり、重篤なDNA損傷が誘発される確率が高いと考えられており、ガンマ線や電子線とは異なる変異が誘発されることが期待されている。

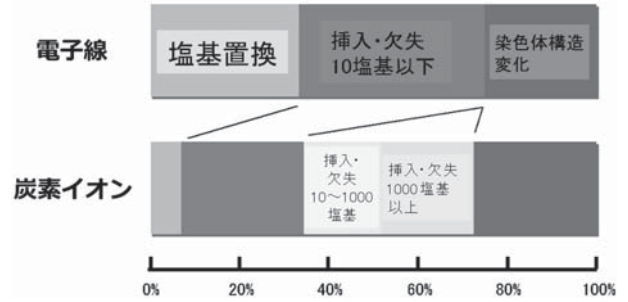


図2 電子線と炭素イオンによる変異の比較(文献6)を基に作図)。イオンビームによる変異では、電子線に比べ、10個以上の塩基が挿入または欠失したDNAが多く、塩基置換は少ない。



図3 深度制御種子照射装置。大気中に取り出したビームをパレット上の試料に照射する(左上)ため、鉛直ビームライン(矢印)の末端に設置され、試料パレットを収容できるストッカー(左下)が装着されている。

2.2 イオンビーム育種に用いる照射装置

イオンビーム育種で用いられる装置(深度制御種子照射装置, 図3)は、鉛直ビームラインの末端に設置された試料搬送機と試料ストッカーからなる。試料(60 mm × 60 mm まで)3個を粘着テープなどで固定した長さ320 mm × 幅60 mmのプラスチック製パレットを試料ストッカーにセットし、搬送機でビーム取出し窓の直下の照射野内に移動させて照射を行う。大気中に取り出された直径10 mmのイオンビームは、試料パレットが移動する方向に1 Hz、それと直交する方向に50 Hzで走査され、およそ70 mm × 70 mmの範囲を照射し、中心部の50 mm × 50 mmの範囲ではほぼ均一となる。1試料当りの照射時間は20~60秒程度である。試料ストッカーには一度に20枚の試料パレットを収容できるので、最大

60 個の試料を連続して照射することが可能である。

2.3 イオンビーム育種の流れ

イオンビーム育種の流れは、植物種や育種目標によって大きく異なるが、育種目標や材料の検討、マシンタイムの確保等に半年、予備照射と生育後の観察を繰り返し、照射条件や照射前後の育成条件・選抜法を検討するのに1～2年程度、さらに多数の照射集団より変異体を選抜し、その品質評価を行うのに1～2年程度かかると見込まれる。既存のものとは異なる優れた形質を安定に保持していることが確認できれば新しい品種となる。

イオンビームは、種子で増殖する植物では種子に、種子を得難い植物では脇芽などの分裂組織に照射する。照射に適した組織が得られない場合は、葉片や花弁片に照射し、組織培養系で細胞分裂を人工的に誘導し、植物体を再生させる（再分化という）場合もある（図4）。どの方法であっても、イオンビームの飛程内に、細胞分裂して将来植物体になる分裂組織を含んでなければならない。試料中でのイオンの飛程は条件によって異なるが、イオンビーム育種でよく使われる 220 MeV の $^{12}\text{C}^{5+}$ の場合は水中で約 1 mm, 320 MeV の $^{12}\text{C}^{6+}$ の場合は約 2 mm となる。種子が大きすぎたり、分裂組織が表皮などに覆われてイオンビームが届かない位置にある場合には、不必要な組織を取り除くなどの工夫が必要である。

種子や組織には多数の細胞が存在し（図5）、それらが分裂し生長することにより個体が形成される。従って、照射により変異細胞が生じたとしても、それは組織を構成する細胞群の一部に過ぎず、得られた植物体は、変異細胞が分裂して形成された部分と、正常細胞からなる部分のキメラ体である。種子ができれば、種子を収穫し後代の植物を得ることにより、種子を介さない場合は切戻しという作業によりキメラ性を解消する。こうして得られる多数のイオンビーム処理植物の集団の中から、特定の育種目標（例えば花色変異など）を指標として選抜を行うのである。

2.4 イオンビーム育種的主要成果

世界で初めてのイオンビーム育種の成果が TIARA から発表されたのは 1998 年のことである。以来、深度制御種子照射装置を用いたイオンビーム育種が国内外の多くの団体により試みられ

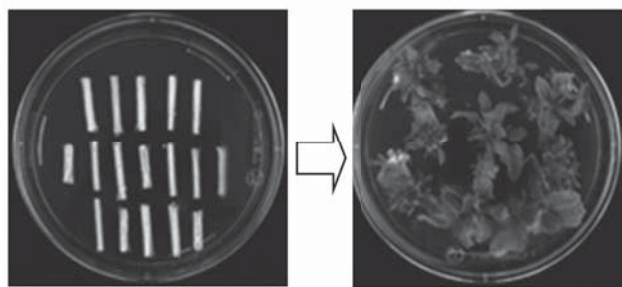


図4 組織培養の例（ポプラの場合）.（左）ポプラの茎より切り出した茎片組織。この組織にイオンビームを照射する。（右）植物ホルモンを含む培地上で5週間培養した後の様子。植物体が茎片から再生している。

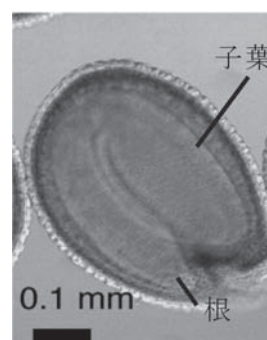


図5 シロイヌナズナの種子（種皮を透明化している）。種子の中には既に多数の細胞からなる幼植物体が存在している。

ている。これまでに実用化にまで至ったものだけでもキク、カーネーション、芳香シクラメンなどの花色変異体、低温肥大性のメロン、高窒素酸化物吸収能を持つ壁面緑化植物、カドミウムをほとんど含まないイネ等を中心に計 30 以上の品種・系統を数える。特に鹿児島県農業開発総合センターと共同で開発した半無側枝性輪ギク「新神（アラジン）」（側枝・側蕾の発生が少なく、芽摘み作業が省力化できる品種）は、全国 20 県以上で栽培されている^{†1}。また、最近では、微生物を対象とした育種でも成果が上がっており、群馬産業技術センターと共同で開発された、清酒香気成分であるカプロン酸エチル高生産性の酵母は、群馬県内の酒造蔵に頒布され、この酵母と群馬の米、水を使って醸造されたオール群馬の吟醸酒が県内の販売店で市販されている⁷⁾。

^{†1} <https://www.pref.kagoshima.jp/ag11/pop-tech/zenbu/0084.html>

2.5 イオンビーム育種研究のこれから

一般に突然変異はランダムに起こると考えられており、特定の変異のみが起こるようにコントロールするのは不可能であると考えられている。しかし、これまでのイオンビーム変異体の解析から、変異は全くランダムで起こるものでもないことを示唆するデータも得られている。例えばキクでは、葉片や花弁片にイオンビームを照射して、再分化させた個体から花色変異体を選抜するのであるが、花弁片を用いると葉片を用いた時に比べ、花色変異体の出現率が高いことが明らかになっている⁸⁾。そのような原因を明らかにするため、私たちは、様々な条件で照射した個体の全ゲノムを比較し、変異のパターンや頻度、ゲノム内の分布がどのような因子に影響されているのか調べているところである。変異に影響を与える因子を明らかにし、特定の変異を効率よく誘発する手法が開発できれば、イオンビームの有用性がますます高まると思われる。

3. おわりに

イオンビームの有効性が認知されるに連れて、イオンビーム利用を検討する農業生産者や研究者がますます増えてきている。育種しようとする植物の特性に精通し、明確な育種目標を持つ中小企業や生産者ユーザーをしっかりと支援することが大きな成果の創出に重要である。高崎量子応用研究所では、「明日を創り、暮らしを守る量子ビーム利用支援事業」を実施し、一般の民間団体・企業の新品種の作出にも貢献している^{†2)}。

イオンビーム育種は、一般市民にもわかり易くかつ華やかな成果を提示でき、加速器とは縁遠い人々に加速器について知る良い機会を提供でき

る。今後も、この日本独自の育種技術を駆使して、良い成果を継続して創出していきたいと考えている。

謝 辞

本稿執筆にあたり助言をいただいた日本原子力研究開発機構量子ビーム応用研究センター 長谷純宏研究主幹に御礼申し上げます。

参考文献

- 1) S. Okumura, et al., “Magnetic field stabilization by temperature control of an azimuthally varying field cyclotron magnet”, *Rev. Sci. Instrum.* 76, 033301, 2005
- 2) M. Oikawa, et al., “Focusing high-energy heavy ion microbeam system at the JAEA AVF cyclotron”, *Nucl. Instrum. Meth. B260*, 85-90, 2007
- 3) S. Kurashima, et al., “Enhancement of beam pulse controllability for a single-pulse formation system of a cyclotron”, *Rev. Sci. Instrum.* 86, 073311, 2015
- 4) M. A. McMahan, et al., “Using a cyclotron plus ECR source for detector evaluation and calibration”, *Nucl. Instrum. Meth. A253*, 1-9, 1986
- 5) A. Tanaka, et al., “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.* 51, 223-233, 2010
- 6) N. Shikazono, et al., “Analysis of mutations induced by carbon ions in *Arabidopsis thaliana*”, *J. Exp. Bot.* 56, 587-596, 2005
- 7) 増淵 隆, 佐藤 勝也, 鳴海 一成, 上山 修, “イオンビーム育種技術による清酒酵母の開発”, *バイオインダストリー* 30, 65-71, 2013
- 8) M. Okamura, et al., “Tissue-dependent somaclonal mutation frequencies and spectra enhanced by ion beam irradiation in chrysanthemum”, *Euphytica* 202, 333-343, 2015

^{†2)} <http://www.jaea.go.jp/02/press2015/p15060102/>