

加速器施設の突然変異育種利用 - 重イオンビーム育種技術の開発 -

阿部 知子

理化学研究所仁科加速器科学研究センター イオン育種研究開発室

物理学者 Röntgen は 1895 年 X 線を発見し、1901 年第 1 回ノーベル物理学賞を受賞した。Muller は 1927 年 X 線によるショウジョウバエ突然変異体を発見し、1946 年ノーベル生理学・医学賞を受賞した。植物では、Stadler が 1928 年トウモロコシやオオムギの突然変異誘発を示した。日本では、1939 年サイクロトロンで発生する中性子線によるショウジョウバエの突然変異誘発、1941 年 X 線による一粒系コムギの早生変異体選抜などがあり、放射線育種場に 1961 年ガンマーフィールドが完成、照射を開始した。育成した直接利用 127 品種のうち、最も品種数が多い植物種はキクの 38 品種である¹⁾。その後、新しい放射線について、1990 年からイオンビームを、2008 年から佐賀県農業試験研究センターが放射光を、品種改良技術として開発している。

イオンビーム（粒子線）は、原子から電子をはぎとった原子核（イオン）を加速器で高速化したものである。細胞を通過するとき、その飛程に DNA があると切断する。イオンには質量と電荷があり、物質に与えるエネルギーが大きく、一粒でも DNA 二本鎖を切断し修復が難しい損傷を与え変異を誘発する。世界に 6 つある品種改良を目的に大気中で植物への照射を実施している加速器施設うち 4 つが日本にあり、世界を先導する技術である。育成した新品種（直接利用）は花き植物を中心に 60 を超え、対象品目は食用作物、薬用植物、微生物や海洋生物に広がっている。従来、放射線照射では半致死線量で変異体を選抜してきたが、目的以外の有用な形質への影響を低減するには低線量照射が望まれる。炭素イオンや放射光では低線量照射においてキクで高い変異率を得ている（表）^{2,3)}。一方、近年 DNA シーケンサーの性能向上に伴う配列決定コストの低下により、モデル植物では全ゲノム情報に基づいた変異箇所解析が可能となった。その結果、イオンビームでは、目的ごとにイオン種を選択するオンデマンド照射技術を提案する。即ち、炭素イオン照射は変異率が高く、一遺伝子破壊による機能欠失変異体が殆どであるため品種改良に、アルゴンイオン照射は数 kb～数十 kb の大欠失や染色体再構築が高頻度に発生するため⁴⁾、タンデム重複遺伝子の破壊、顕性や新奇形質の獲得に適する。また、微生物の変異誘発は鉄イオン照射を推奨している⁵⁾。

表. キク花色変異誘発における放射線照射条件の最適化

品種	照射部位	変異原	線量 (Gy)	生存率 (%)	調査数	変異率 (%)
千代 (茨城県)	培養体	γ線	80	46.1	149	18.8
		X線	7	43.1	118	9.3
		炭素イオン	10	93.7	57	14.0
佐賀SK1 (佐賀県)	穂木	放射光	11	88.3	117	39.3
		炭素イオン	9	95.0	175	50.3

引用文献

- 1) H. Nakagawa and H. Kato, Bull. NARO, Crop Sci. **1** (2017) 33、2) 鈴木一典、加速器利用研究グループ植物照射ユーザー会報告書 2003 (2004) 11、3) 坂本健一郎、九州シンクロトロン光研究センター 10 年史 (2018) 53、4) Y. Kazama et.al., Plant J. **92** (2017) 1020、5) H. Ichida et.al., Mut. Res. **639** (2008) 101

**加速器施設の突然変異育種利用
—重イオンビーム育種技術の開発—**

阿部 知子
理化学研究所仁科加速器科学研究センター
イオン育種研究開発室
埼玉県和光市

巨大加速器の
秘密基地

SIP 戦略的イノベーション創造プログラム
本研究の一部は、内閣府 戦略的イノベーション推進プログラム(SIP)「次世代農林水産業
創造技術」(管理法人:農研機構 生物系特定産業技術研究支援センター)によって実施されました。

放射線の発見とノーベル賞、そして生物利用

1895年: エックス線の発見
1896年: 放射線の発見(ウラン鉱石からアルファ線の発生)
1897年: 電子の発見
1898年: 放射能の発見
(新元素ラジウムとポロニウムの発見)
1901年: W. C. Röntgen: 放射線X線の発見
1903年: A. H. Becquerel: 自発的放射線の発見
1906年: P. Curie, M. Curie: 放射現象に関する共同研究
1906年: J. J. Thomson: 気体の電気伝導に関する理論および実験的研究
1908年: E. Rutherford: 元素の崩壊、放射性物質の化学に関する研究
1911年: M. Curie: ラジウムおよびポロニウムの発見とラジウムの性質およびその化合物の研究
(F. Joliot-Curie, Irene. Joliot-Curie、人工放射性元素(³⁰P)の研究): 1935年
1927年: X線によるショウジョウバエの突然変異体の発見
1928年: X線によるトウモロコシやオオムギへの変異誘発実験(L. J. Stadler.)
1946年: H. J. Muller: X線照射による突然変異体発生の発見

ノーベル物理学賞
ノーベル化学賞
ノーベル生理学・医学賞

エックス線からイオンビーム

電子線(イオンビーム)
アルファ線(ヘリウムの原子核)
ガンマ線(中性子が放出する電子)
ベータ線(水素の原子核)
陽子線(水素の原子核)
中性子線
中性子
陽子
水素原子
酸素原子
電子
原子核
水分子
水素原子核
酸素原子核
水分子(0.1cm) → 酸素原子(1億分の1cm) → 酸素原子核(1兆分の1cm)

Mutagenomics: 変異体を用いて新しい遺伝子を見つける

一粒系コムギ(福井県立大学)、コムギ・ダイズ(農研機構) 生物材料(植物・微生物)
アサカオ(NBRP:九州大学・遺伝研)
シロイヌナズナ・イネ(理研)

バイオリソース → 変異体 → 突然変異育種 → 新品種
リシーケンス → ゲノム解析

遺伝子機能解析
遺伝子発現の制御
新規遺伝子の発見

DNA複製・修復機構

エピジェネティクス・進化
Chromosome: 4
Var
120 kb inversion + 3 kb insertor
Chromosome 3

変異率の上昇と多様な変異体の獲得
どんな材料に、どう照射するか?
ゲノムにどんな変化が起きているのか?

既知変異体: 既知遺伝子をPCR法で増幅しシーケンスで変異箇所を決定
1変異体 = 1変異遺伝子
照射後代個体: リシーケンスにより全ゲノム上の変異箇所を抽出
1個体 = 10変異遺伝子(ホモ) = 100変異箇所(ホモ+ヘテロ)

**RIビームファクトリー (RIBF)
重イオンビーム加速器施設: サイクロトロン**

2300トン
Nh(ニホニウムNihonium)
原子番号113(超) + 83番(ビスマス)
2006年
超重元素研究グループ
RILAC
GARIS
E5室
生物照射実験室
AVF
IRC
RRC
SRC
1500トン
2800トン
2014年 WACAME ビームライン整備
(Wide AppliCable to Mutagenesis Experiment)

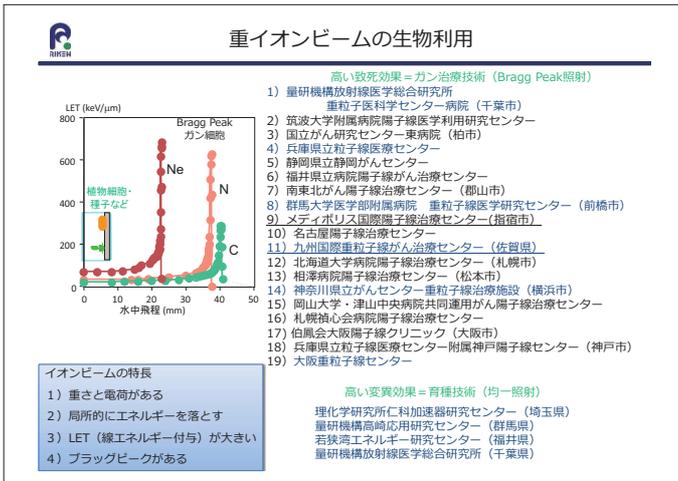
E5 ビームライン生物照射装置

3号機 2004年4月 (50サンプル/1時間)

濾心管 ホモ チューブ 袋 (ハイブリバック)
照射後代
2015
2017
正確なLET照射
鉄イオン照射

Ryuto H. et al., J. Biomed. Nanotech. 2, 88(2006)
Ryuto H. et al., Plant Biotech. 25, 119(2008)

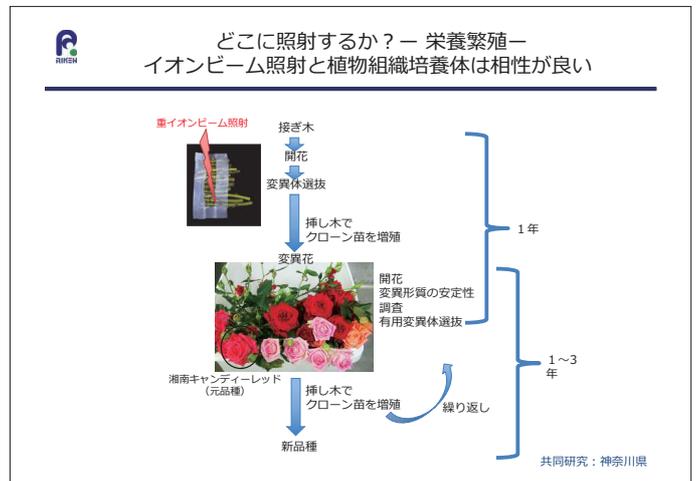
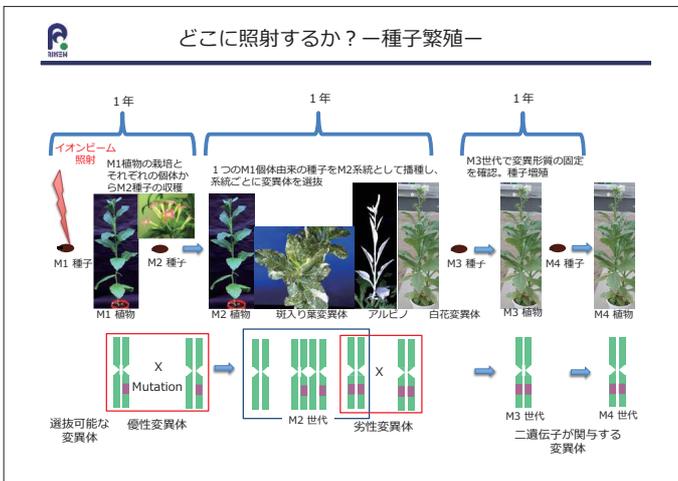
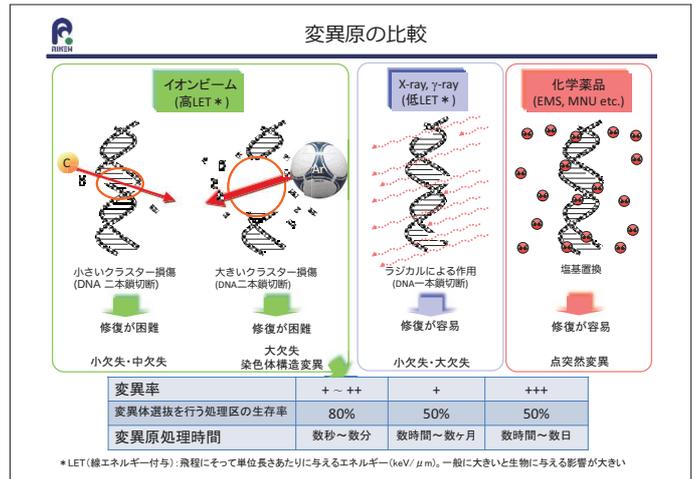
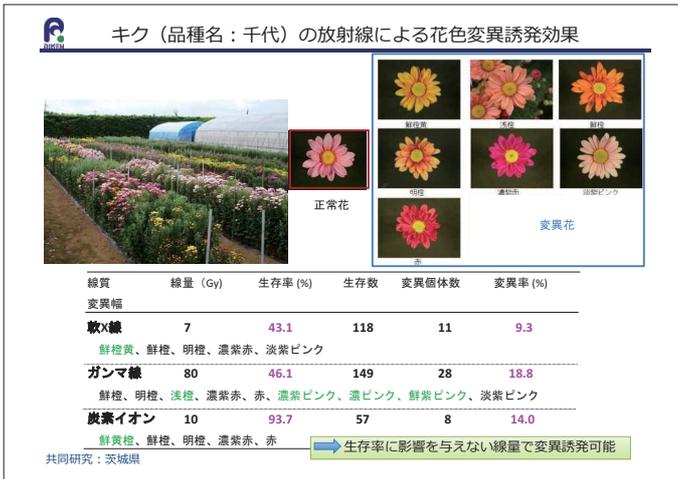
2017年 板フレーム用カセットを製作「脱 ピニールテープ」宣言



育種技術：生物の多様性を高め、目的のものを選抜する

	概要	課題
交雑育種	違った形質を持った品種を掛け合わせる	目的の形質をえるために時間と労力が非常にかかる
突然変異育種	人為的に突然変異を誘発する	目的とする形質のみを改善できないため、ある程度度の交雑育種を経る
細胞工学 (細胞融合・染色体倍加など)	違った形質を持つ細胞を融合する。染色体を倍加する。	育種目的や作物が限定される。
分子育種 (遺伝子組換え・ゲノム編集など)	人為的な遺伝子操作により目的の遺伝子を導入あるいは破壊する	遺伝子や作物が限定される。社会受容性が十分ではない

化学変異剤
放射線照射：γ線やX線照射が従来技術
加速器施設で発生するイオンビーム (日本独自の技術)



栄養繁殖系において高い変異率（数%～数十%）

形質	照射部位	変異率(%)
栄養繁殖系		
自家不和合・雄性不稔		
バーベナ	莖	09-2.8
シクラメン	塊茎	6.7
花色・花型		
ペニユニア	子房	1.0
ダリア ^a	莖頂	20.3-50.1
バラ ^b	穂木	3.1-51.7
キク	莖・挿し穂	4.5-14
トリアナ	葉片・莖	1.6-18.8
シンビジウム ^c	プロトコム様	5.0-6.3
わい性		
ホトトギス ^d	胚様体	2.4
種子系		
わい性		
ヒエ	乾燥種子	0.1
ソバ ^e	乾燥種子	0.6
ピーマン ^f	乾燥種子	1.3
耐塩性		
イネ（日本晴）	吸水種子	1.2
多収性（長粒）		
イネ（日本晴）	吸水種子	0.6

最終生産物の増殖系で照射

重イオンビーム育種技術（理研） 新品種、植物30品種、酵母2株を市場に

山形県の黄色米食用ギョウの収穫時期

晩生 & 大粒化 10月出荷 山形44号 (山形県)

ねばりっく2号 (新千歳)

2014~

2010~

2015~

白濁(長崎県) 9月出荷で奇形花が少ない

福楽しいーラス(熊本, 2014~) ポリアニールオキシゲナーゼ活性が低下

園芸学会 2016年度 年間優秀論文賞

さがほのか IC20-L01株 (濃赤色、晩生)

13kg⁺ 28g⁺ 60%以上(後) 後援農産試験研究センター)

青穂系材・優良変異体

仁科堂(理研FB)

2011~

埼玉(酵母) 埼玉(酵母)

2015~

スマイルホール (ハウス食品)

Kato et al., Sci. Rep. 6, 23779 (2016)

特長 1) 生存率が低下しない低線量照射で変異誘発
2) 変異率が高い
3) 新規変異体が得られる
4) 育種年限が短い

特許第3577530号: 突然変異体植物の作出方法
特許第4671488号: 不稔植物の作成方法
特許第3787697号: 重イオンビーム照射によるキメラ植物の作出方法
特許第5257875号: 微生物に対する突然変異誘発方法

https://zakkokujp.exblog.jp/18637541/

イオンの種類 (LET, Linear Energy Transfer)は 変異率やDNAの壊れ方に影響を与えるか？

一般的にLETが大きくと生物に与える影響が大きい

LET (線エネルギー付与): 飛行にそって単位長さあたりに与えるエネルギー (keV/μm)

12C¹²⁺ 23, 14N¹⁴⁺ 30, 20Ne²⁰⁺ 63, 40Ar⁴⁰⁺ 290, 64Fe⁶⁴⁺ 640

DNA二本鎖切断が
発生する
位置
位置
位置

C ion Fe ion

水中におけるイオントラック構造のシミュレーション
Ballarini et al. (2008) New J. Phys. 10, 075008より引用

シロイヌナズナ変異率の比較

イオン	LET (keV/μm)	M ₁ 植物体数	M ₂ 植物体数	変異体数 (%)	hy + gl 変異
WT					
C	22.5	3,734	27,765	11 (0.40)	
gl	LET _{max} 30.0	3,056	29,595	23 (0.78)	
	290	5,863	57,771	23 (0.40)	
hy	Ar 290	5,726	51,686	27 (0.52)	

変異率(%) = 変異体数 / M₂植物体数

EMS ⇒ 0.87
ethyl methanesulfonate
X-ray ⇒ 0.32
Koorneef et al. (1982)

LET_{max} (30keV/μm) は一般的に変異率が高い化学変異剤EMS並みの変異率を示した
Kazama et al., BMC Plant Biol 11, 116 (2011)

最先端・次世代研究開発支援プログラム (内閣府)

LETmax照射 = 一遺伝子破壊 (既知遺伝子のPCR解析)

一遺伝子破壊

塩基置換 小さい欠失 (<1kb) 大きい欠失 染色体構造変異

23 keV/μm 290-450Gy (n = 12) Kazama et al., BMC Plant Biol 11, 116 (2011)

LETmax 30 keV/μm 400Gy (n = 8) Kazama et al., BMC Plant Biol 11, 116 (2011)

113 keV/μm 150Gy (n = 26) Shikazono et al., J. Exp. Bot. 56, 587 (2005)より引用

290 keV/μm 50Gy (n = 24) Hirano et al., Mut. Res. 735, 19 (2012)

変異率が高いLETmaxは一遺伝子破壊の割合が高い
→ 品種改良に適している

LETが大きくなると、大欠失と染色体構造変異の割合が高まる

290 keV/μm は、数kbから数十kbの大欠失や染色体構造変異の割合が高い
→ シロイヌナズナ、ソバ、イネにおいて致死効果が高い

最先端・次世代研究開発支援プログラム (内閣府)

2016年 全ゲノム解析が容易に 炭素イオンとアルゴンイオンのゲノム変異比較

炭素イオン(C) アルゴンイオン(Ar)

変異箇所数 / 1 変異体 23箇所 (5 遺伝子) 13箇所 (9 遺伝子)

それぞれ8 変異体について全ゲノム解析し、変異箇所を抽出した。
内側の線は染色体再構築や大きな欠失 (≥100 bp) の。
外側の線は塩基置換や小さな欠失 (<100 bp) の位置を示す。

290 keV/μm は、大欠失や染色体再構築の割合が高い → 染色体再構築の技術として使える
変異遺伝子数は少ない → 原因遺伝子の特定が容易
1個体で十分な変異データが獲得できる → 変異体を選ばなくても変異特性の解析が可能に

Kazama et al. (2017) Plant J., 92, 1020-1030

