

植物におけるシンクロトン光を用いた突然変異育種法の開発

佐賀県農業試験研究センター

○西美友紀、宮崎雄太、吉田桂一郎、木下剛仁、伊東寛史、高取由佳、松本和大、大藪榮興、三原実、中島寿亀、岡和彦

[1]

育種法開発に向けた取り組み

- 研究期間:平成20~23年度
- 予算:放射線利用・原子力基盤技術試験研究推進交付金(文科省交付金)

1. ビーム照射条件の解明 1)照射環境の検討 2)照射量の検討	3. 植物体における変異確認 1)照射植物の形質解析 2)変異形質の安定性確認
2. 遺伝子レベルの変異確認 1)照射植物の遺伝子解析 2)変異遺伝子の安定性確認	4. 変異効率の解明 1)変異の種類と変異率の検討 2)重イオンビームとの変異比較

[2]

供試品目の選定

作物

イネ



ダイズ



野菜

アスパラガス



イチゴ



花き

キク

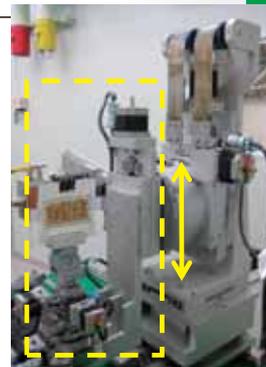


3

照射環境の検討

①照射台の検討

- BL09Aのビーム幅は**100×5mm**のため、一度に照射できる範囲が狭い
- 上下に25mmずつ可動できる照射台を用いることで、照射可能範囲を**100×50mm**に広げることができた



②照射時の容器の検討

- 培養物
滅菌済みプラスチックシャーレを利用
- 乾燥種子
再利用可能なカプトン膜を利用



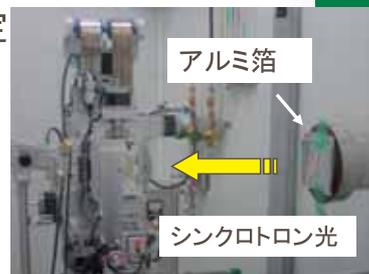
照射環境の検討

③照射時間の検討

- 照射範囲100×50mmに満遍なくシンクロトン光を照射
- ↓
- 照射台が上下するスピードから、ムラなく照射できる時間を5分に設定

④照射条件の検討

- 変異を効率的に起こす吸収線量を決定するために、低～高線量までを照射
- ↓
- 減衰板(アルミ)の厚さを変えることで、吸収線量を調節



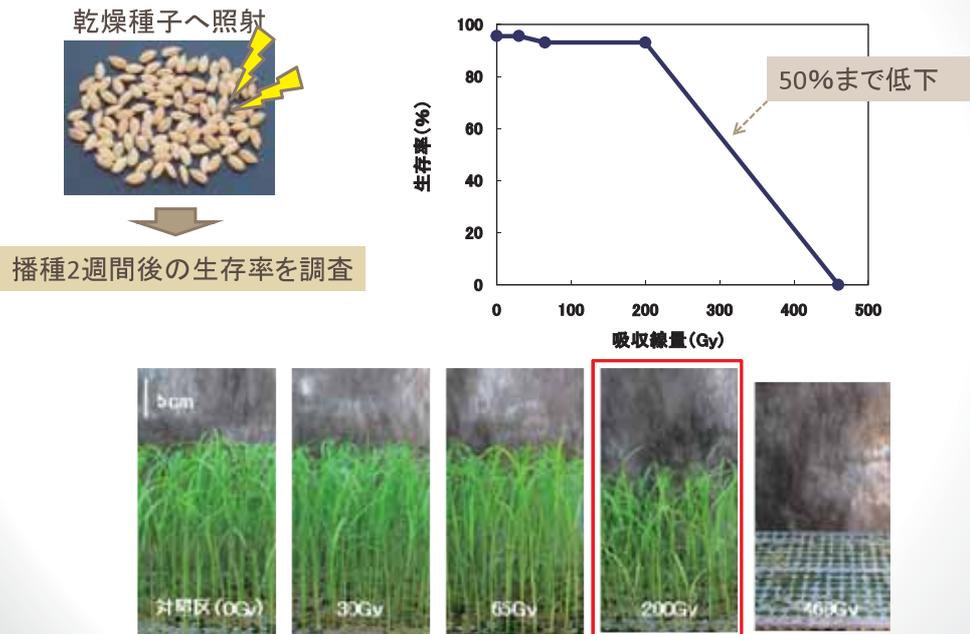
吸収線量の検討

変異を効率的に起こすためには・・・

低～高線量まで段階的に照射し、無照射区と比較して発芽率や生存率等がLD₅₀(半数致死量)になる線量を調査



吸収線量の検討～イネの場合～



[7]

吸収線量の検討結果

品目	照射材料	吸収線量 (Gy)
イネ	乾燥種子	200
ダイズ	乾燥種子	150
アスパラガス	培養物(カルス)	40～90
イチゴ	培養物(多芽体)	35～75
キク	培養物(葉片・腋芽)	9～18

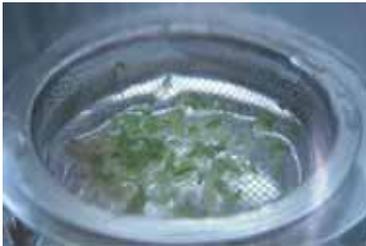
[8]

材料別吸収線量の比較

培養物

細胞に含まれる水分量

乾燥種子



>



間接作用

電子が水分子と反応 → OH基の発生によりDNAに障害

9

各品目における変異体の探索

検討した吸収線量を照射した個体を増やす

種子繁殖性

世代促進



M2世代で変異体選抜



M3世代で系統化し変異形質の再確認

栄養繁殖性

照射当代で変異体選抜



変異体を増殖
系統化し変異形質の再確認

10

変異体の探索 ～イチゴの場合～



[11]

変異の種類と変異発生率 ～イチゴ～

	線量	供試数	果皮色		葉形	葉色	不稔	変異株合計	変異発生率(%) 注1
			濃赤	淡赤					
無照射	0Gy	59	0	0	0	0	0	0	0.0
シンクロトロン光	35Gy	234	7	5	0	0	2	14	6.0
	75Gy	168	12	3	3	1	6	25	14.9
照射区合計		402	19	8	3	1	8	39	9.7

注1) 変異株数 / 供試数 × 100で算出

[12]

得られた変異形質



対照区の果実



果皮色変異体



対照区の葉



葉形変異体



[13]

他の変異原(重イオンビーム等)との比較

シンクロtron光照射

重イオンビーム照射



変異発生率の比較

シンクロtron光の変異原としての有用性を検証

[14]

変異原別の花色変異株数～キク～

変異原	吸収線量 (Gy)	合計	01 9701 9501 9202 9203					変異株数
			01	9701	9501	9202	9203	
0(対照)		53	0	0	0	53	0	0
シンクロtron光	10	265	2	8	4	244	7	21
	20	37	0	0	4	24	9	13
重イオンビーム	3	175	1	0	1	169	4	6
	6	145	1	0	4	137	3	8
	9	70	0	0	3	62	5	8

注1) 対照区及びシンクロtron光区は、2010年12月開花作型及び2012年1月開花作型で調査
 注2) 重イオンビーム区は、2012年1月開花作型で調査

(15)

得られた花色変異体



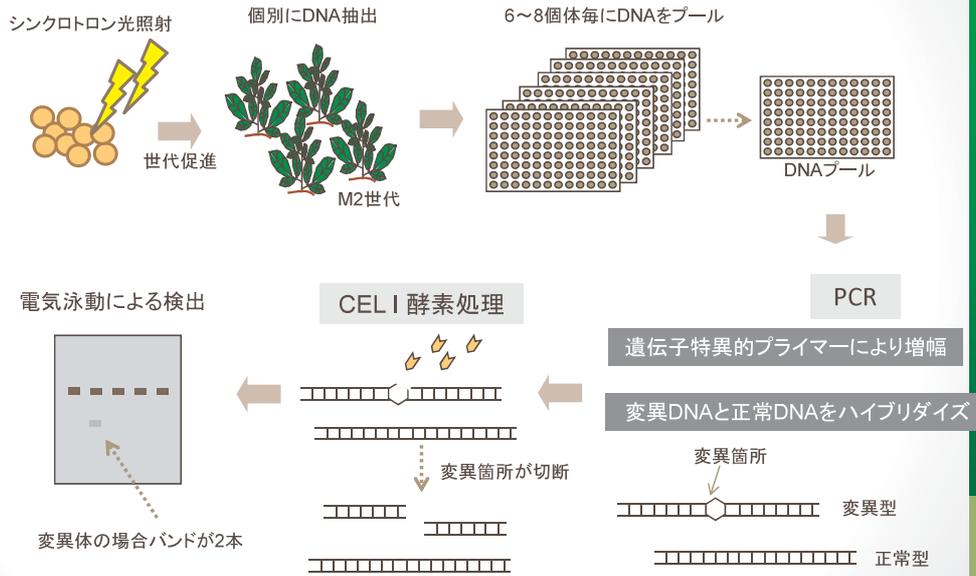
佐系1号

イオン

シンクロ

(16)

TILLING法による変異遺伝子の探索



DNAライブラリーと探索遺伝子

変異原	2009	2010	2010	合計
シンクロtron光	943	831	1174	2948
重イオンビーム		668		668
EMS			443	443
合計	943	1499	1617	4059

10の開花関連遺伝子について変異探索

TILLING法による変異遺伝子の探索

変異原	FT1	FT2	FT2 homolog	FT3	phy A1	Phy A2	CRY 2a	CRY 2b	CRY 2c	FT5a	合計
シンクロtron光	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
重イオンビーム	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EMS	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	4

シンクロtron光による変異体1個体を単離

(19)

まとめ ～変異原としてのシンクロtron光～

- 各品目において、変異誘発に有効と考えられる吸収線量を決定
- 決定した吸収線量でシンクロtron光照射を行い、各品目において**変異体を確認**
- 変異発生率は、重イオンビームと比較して**同等程度**
- 逆遺伝学的手法により、遺伝子への変異を確認



シンクロtron光は、**変異原として活用可能!!**

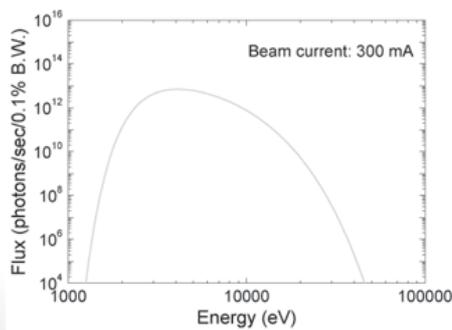
(20)

新たな取り組み ～エネルギー領域選択～

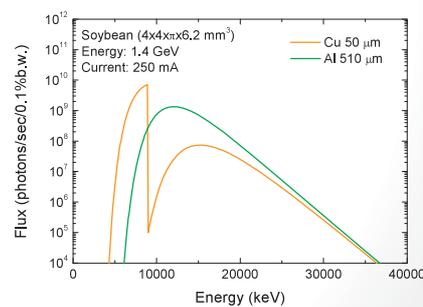
変異誘発に関与するエネルギー領域が存在？



金属フィルターの吸収端を利用してエネルギー領域を選択



白色光のエネルギー分布



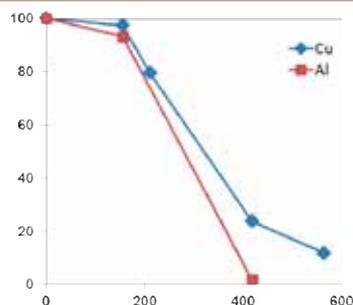
金属フィルターによるエネルギー分布

[21]

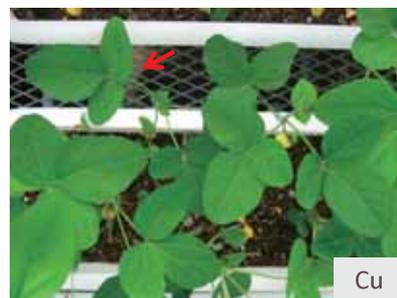
エネルギー領域選択 ～ダイズへの影響～

Al → 高エネルギー領域

Cu → 低エネルギー領域



播種1か月後の生存率



生存率への影響 → 大差なし
放射線障害？ → 差あり？

[22]

今後の展望

効率化

- エネルギー領域の選択による変異発生への影響
次世代での変異発生率、変異の種類を検証
- 他の金属フィルターを用いたエネルギー領域の検討
Niフィルター等
- 遺伝子レベルでの変異発生メカニズムの検証

実用化

- 実用品種の開発

(23)

