

(様式第5号)

X-線の波長および照射量がダイズの突然変異集団に及ぼす影響についての  
分子生物学的解析

Molecular biological analysis for the effect of X-ray wavelength and irradiation  
dose on mutagenized soybean populations

穴井 豊昭・鈴木 章弘・江上 由佳  
Toyoaki Anai・Akihiro Suzuki・Yuka Egami

佐賀大学 農学部  
Faculty of Agriculture, Saga University

- ※1 先端創生利用（長期タイプ）課題は、実施課題名の末尾に期を表す（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）を追記してください。
- ※2 利用情報の公開が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後2年以内に研究成果公開（論文（査読付）の発表又は研究センターの研究成果公報で公表）が必要です（トライアル利用を除く）。
- ※3 実験に参加された機関を全てご記載ください。
- ※4 共著者には実験参加者をご記載ください（各実験参加機関より1人以上）。

## 1. 概要

本研究では、ダイズに対するシンクロトロン光を用いた最適な突然変異誘発条件を確立するため、X-線の波長特性、エネルギー量および照射に用いる種子の水分含量を変化させ、発芽率および生存率を比較した。その結果、波長特性による違いは観察されなかったが、300Gy 処理区で生存率が約 50%程度となることと、種子の水分含量は 10%より 20%の方が発芽率、生存率ともに顕著に向上することが明らかとなった。

### (English)

In this study, in order to establish optimal conditions for soybean mutagenesis by using X-ray from synchrotron, we compared the germination rate and survival rate of irradiated soybeans which were irradiated different wavelength and dose of X-ray in different seed moisture conditions.

As a result, we could not observe difference in between different wavelengths conditions, but we found survival rate was about 50% in 300Gy treatment group and seed moisture content at 20% was more effective in both germination rate and survival rate.

## 2. 背景と目的

近年の作物ゲノム塩基配列情報の蓄積に伴い、個々の有用遺伝子を標的とした機能の改変が可能となり、様々な作物種でゲノム編集や TILLING 法や HRM 法を用いた逆遺伝学的な突然変異体の単離による新たな育種素材の開発が注目を集めている。しかしながら、現行の逆遺伝学的な変異体スクリーニング法の多くでは、変異導入効率が高い EMS が変異体集団の作成の際の変異原として使用されており、こうして得られる変異はほとんどは一塩基置換型である。このような一塩基置換変異体のうちで確実に標的遺伝子の機能がノックアウトされた個体を得るためには、ナンセンス変異を生じた個体を選抜する必要があるが、ナンセンス変異が得られる確率は比較的 low、ミスセンス変異しか得られなかった場合には、変異遺伝子の機能を個別に評価するステップが必要となり、その過程で多大な労力が必要となる。

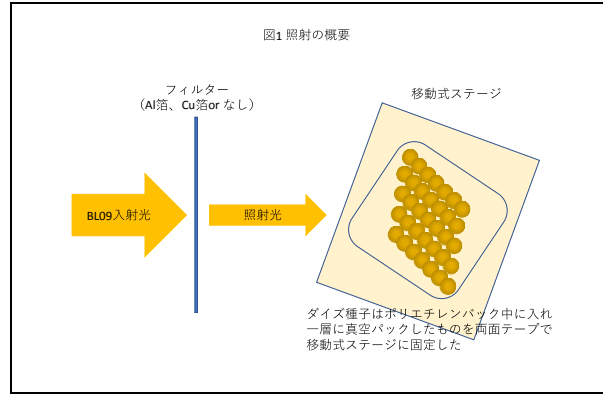
そこで本研究では、シンクロトロン光照射の条件を最適化し、高頻度に塩基欠失型の変異を導入した変異体集団を作成するための技術開発を行う。

### 3. 実験内容（試料、実験方法、解析方法の説明）

予め調湿処理を行い、水分含量を10%および20%に調整したダイズ種子サンプル（品種：フクユタカ、各条件につき100粒）に対し、白色光、Alフィルター透過光、Cuフィルター透過光のそれぞれで、100Gy、200Gy、300Gy、400Gyの計9条件でX線照射を行った。

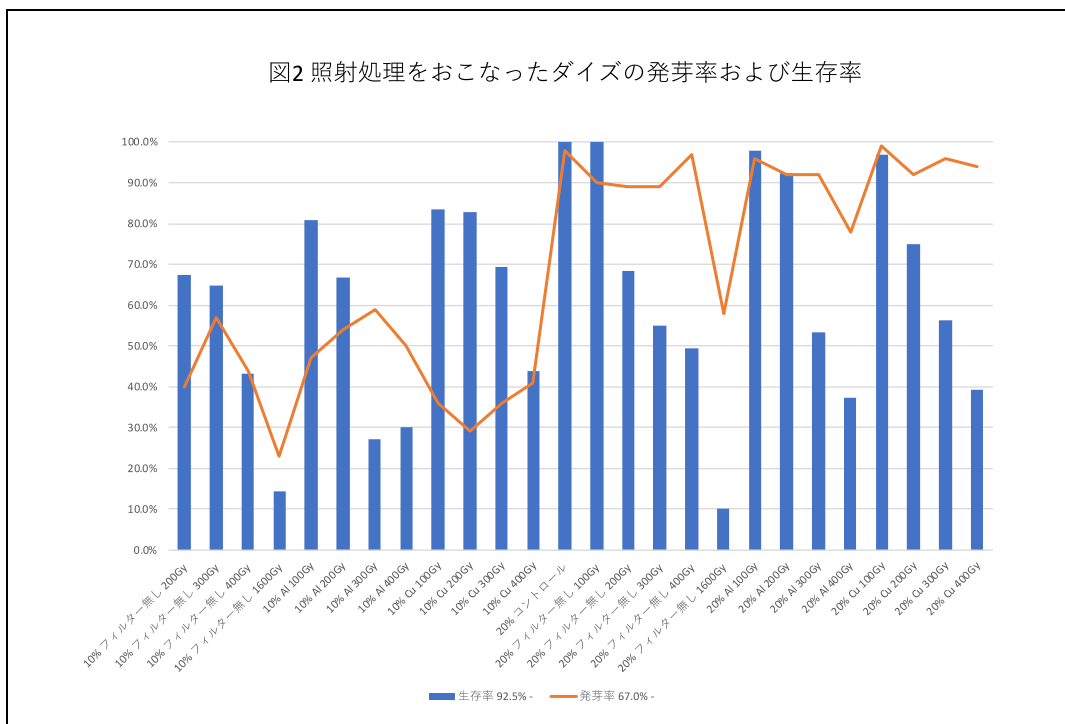
その後、全ての種子を苗箱に播種し、それぞれの条件での発芽率および3週間後の生存率を調査した。

このうち一部の植物体は、圃場に移植し栽培を行っており、今後は、次世代の種子が得られ次第、温室内で栽培し、ゲノムDNAを解析することで、照射に用いる線質と種子水分含量の違いが変異率や変異様式に与える影響を調査する予定である。



### 4. 実験結果と考察

照射処理を行ったダイズ種子の発芽率および生存率に基づいてそれぞれの処理区の評価を行なったところ、フィルターの種類や有無による効果はほとんど認められず、いずれの条件においても、エネルギー量の増加に従って生存率が低下していることが明らかになった。また、突然変異誘発の際の最適照射量の目安とされる50%の生存率に達するのは、いずれの条件においても300Gy前後であることが明らかになった。さらに、種子の水分含量の違いはフィルターの違いよりも明確な違いが観察され、20%の水分含量の種子の方が10%のものに比べて顕著な発芽率および生存率の向上が観察された。この結果から、種子中の水分含量の増加が何らかのメカニズムを介して、X線照射のダメージを軽減した可能性も考えられることから、今後のゲノム解析の結果を踏まえてさらに考察してゆく必要があると考えられた。



## 5. 今後の課題

各処理区における突然変異率と突然変異の形態を明らかにするため、M1 種子を採種した後、次世代の植物体を栽培し、これらの個体から抽出した DNA を次世代シーケンサーを用いて解析する必要がある

## 6. 参考文献

## 7. 論文発表・特許 (注：本課題に関連するこれまでの代表的な成果)

## 8. キーワード (注：試料及び実験方法を特定する用語を2～3)

ダイズ、水分含量、突然変異誘発

9. 研究成果公開について (注：※2に記載した研究成果の公開について①と②のうち該当しない方を消してください。また、論文(査読付)発表と研究センターへの報告、または研究成果公報への原稿提出時期を記入してください(2018年度実施課題は2020年度末が期限となります)。

長期タイプ課題は、ご利用の最終期の利用報告書にご記入ください。

- |                |        |   |    |
|----------------|--------|---|----|
| ① 論文(査読付)発表の報告 | (報告時期： | 年 | 月) |
| ② 研究成果公報の原稿提出  | (提出時期： | 年 | 月) |