

新たな育種技術 (New Plant Breeding Techniques : NPBT) 平成30年12月18日(火)



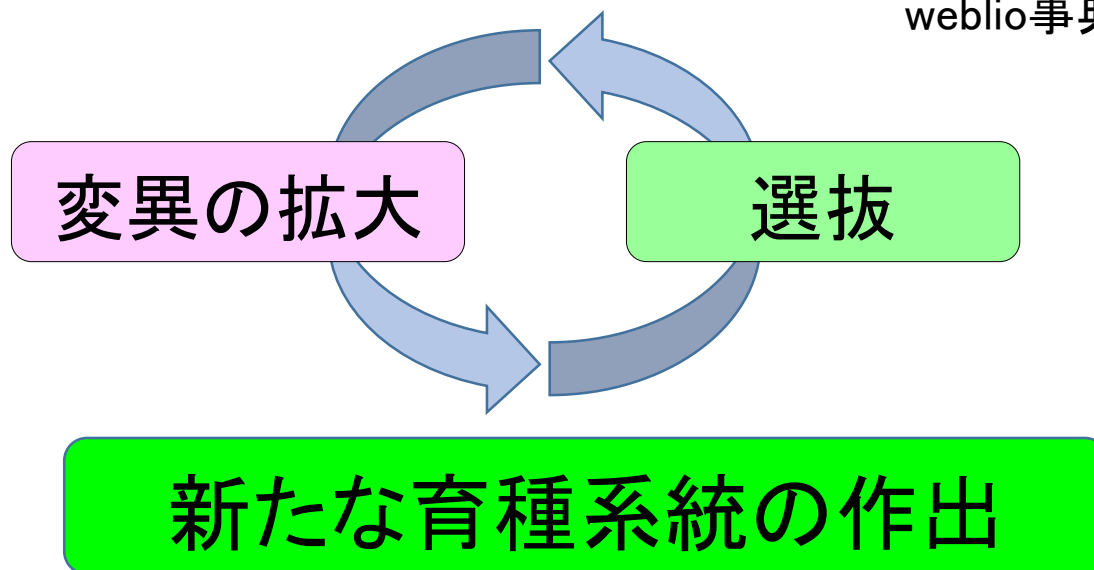
農研機構 生物機能利用研究部門
遺伝子利用基盤研究領域
田部井 豊

生物の遺伝質を改善して作物・家畜の新しい種類、すなわち「新種」を作り出すことを意味する。

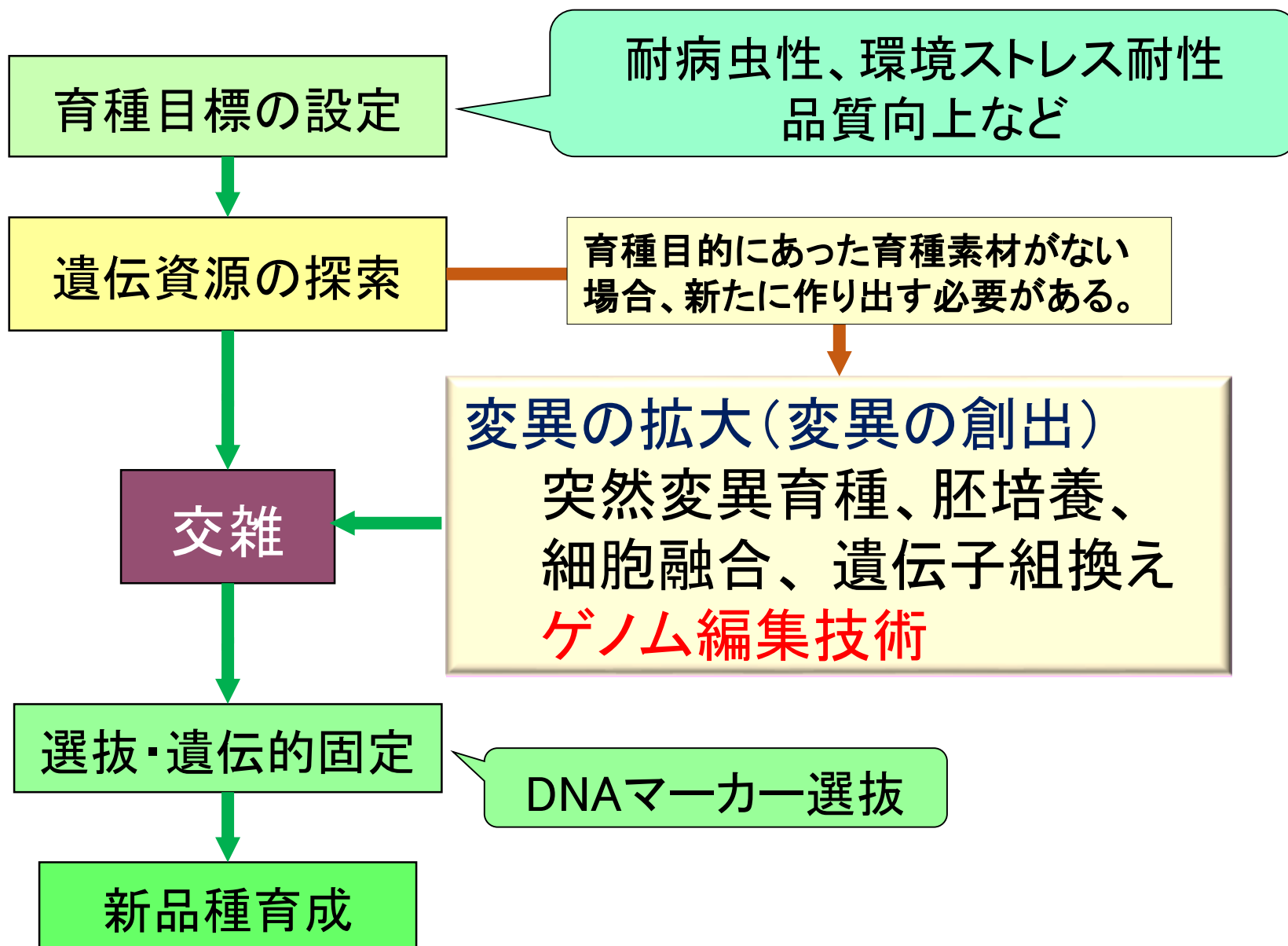
松尾孝嶺・育種学

生物のもつ遺伝的性質を利用して、利用価値の高い作物や家畜の新種を人為的に作り出したり、改良したりすること。交雑法・突然変異法やバイオテクノロジーの利用などの方法がある。品種改良。

weblio事典より,一部改変



品種改良の流れ

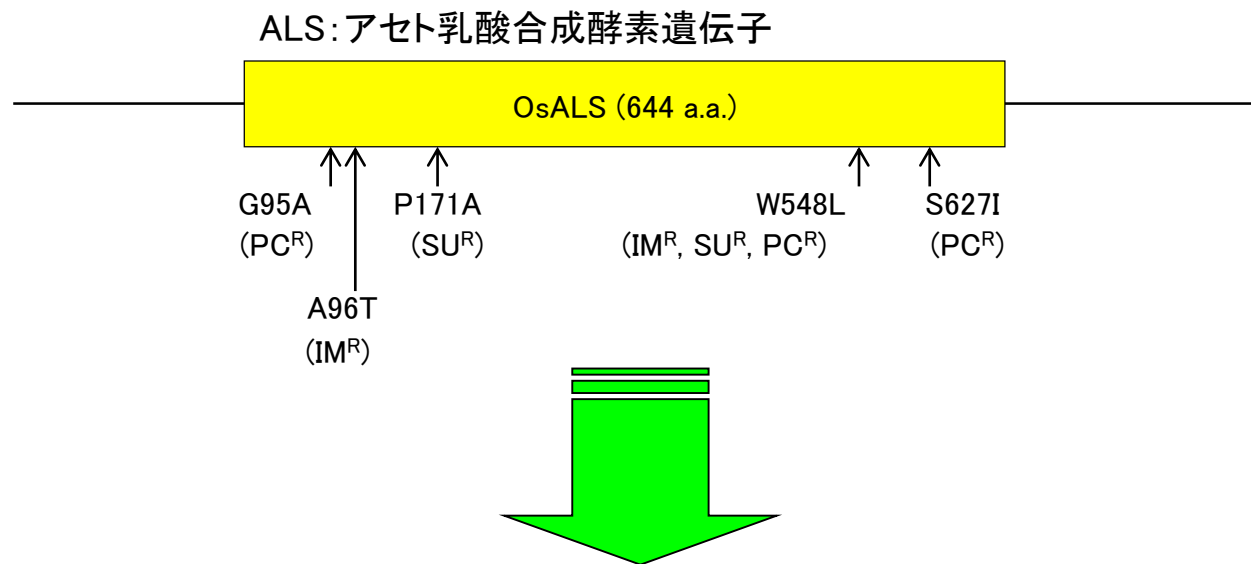


1～数塩基の多型が、農業上有用な形質を作物に付与する場合も多い

- ・作物のゲノム情報が塩基配列レベルで明らかにされるようになってきた
- ・比較ゲノム・タンパク質工学の進展により、有用なタンパク質をデザインすることが可能になってきた



脱粒性を決める配列
日本晴 ATTTCA
カサラス ATTGCA



除草剤耐性作物の開発
ゲノム上の標的とする遺伝子に狙いを定め、塩基配列レベルで改変する技術が必要とされている。

例：受粉しなくても実がなるナス

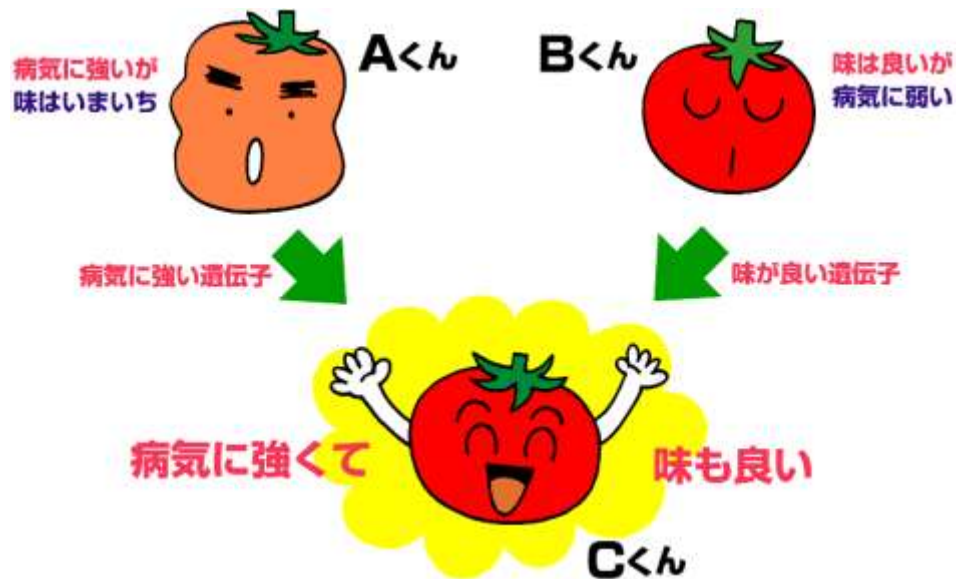


植物ホルモンの合成に関する遺伝子の一部(約4,600文字分)が無くなると、受粉しなくても実が大きくなるようになる。

写真：タキイ種苗株式会社より

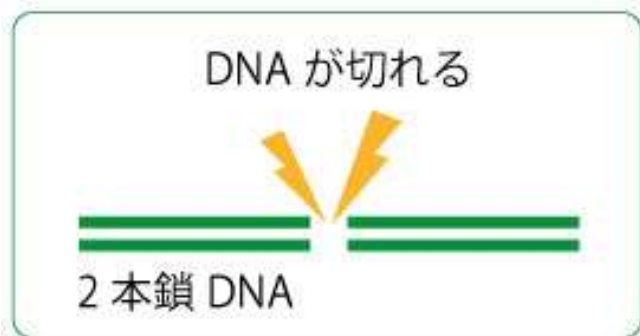
交雑育種

人為的な交雑によりその中から雑種集団を作り出し、両親のもつ優良形質をそなえた新しい品種を選抜する方法



- 1～数塩基の挿入、欠失、置換や遺伝子の欠失は、従来の育種技術または自然界でも起こりうること
- 劣悪な形質は育種過程で選抜される

様々な理由でDNAが切れることは頻繁に良く起こっている。
生物は切れても元通りにするが、たまに修復ミスが起こる。



どのような修復変異か



- 修復ミスがおこると変異が生じる。
- 変異が起こる場所によって、生物の性質が変わることがある。
- これが突然変異となる。
- **その確率は10万～100万分の1と推定**

その他、染色体の複製時にDNAのコピーミスが起こり、突然変異が起こることもあります。

突然変異育種(放射線育種)



ガンマーフィールド



照射塔



二十世紀 ゴールド二十世紀

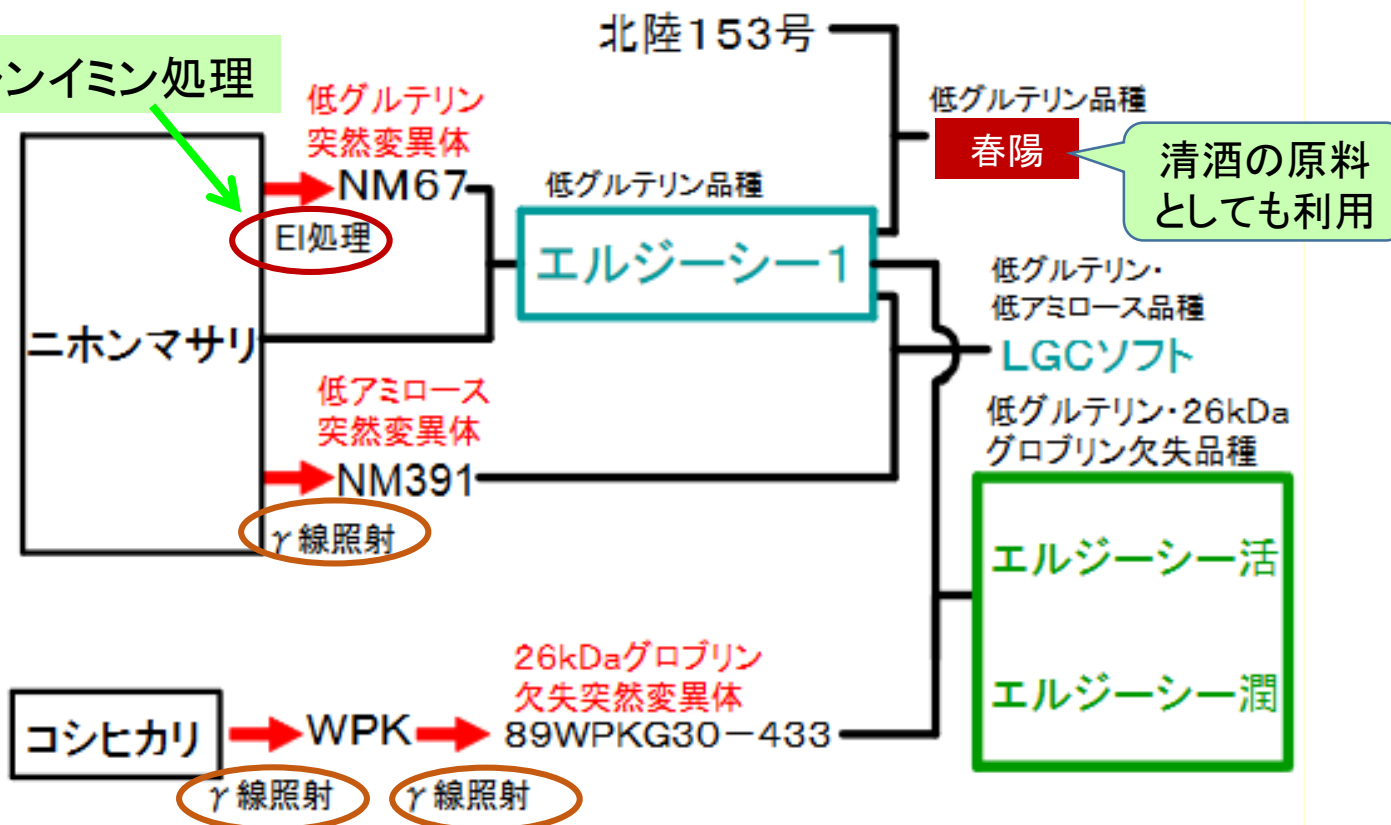
＜黒斑病抵抗性ナシ「ゴールド二十世紀」などの育成＞



色変わりのキク

突然変異育種による低グルテリン米の開発

EI処理:エチレンイミン処理



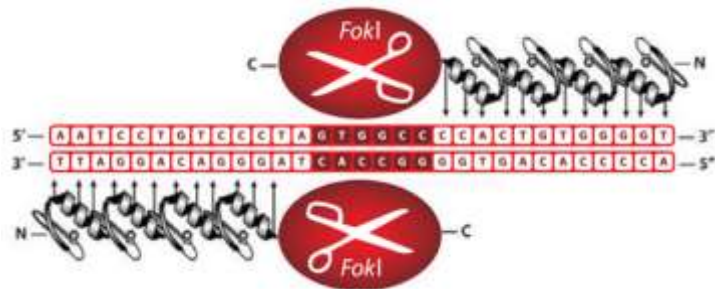
- エルジーシー1は易消化性であるグルテリンが1/2以下に減少し、難消化性のプロラミンが2倍程度に増加した品種。

変異の種類	個体数
小さな欠損 (1~16bp)	15
大きな欠損 (9.4~129.7Kbp)	4
塩基置換	3
逆位	2
合計	24

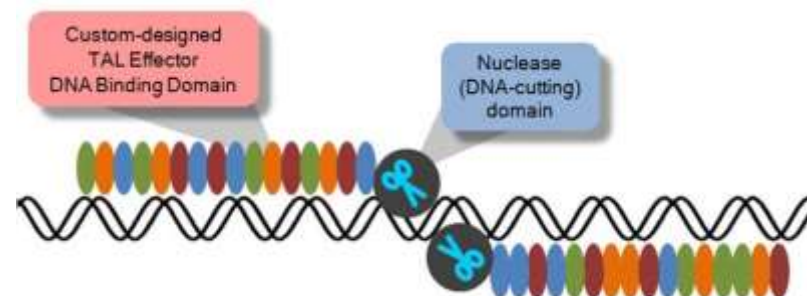
Dose rate 10~50 Gy·h⁻¹, Total dose 100 ~320 Gy

Morita et al. (2009) Genes Genet Syst. 84:361-370

ZFN (ジンクフィンガーヌクレアーゼ)

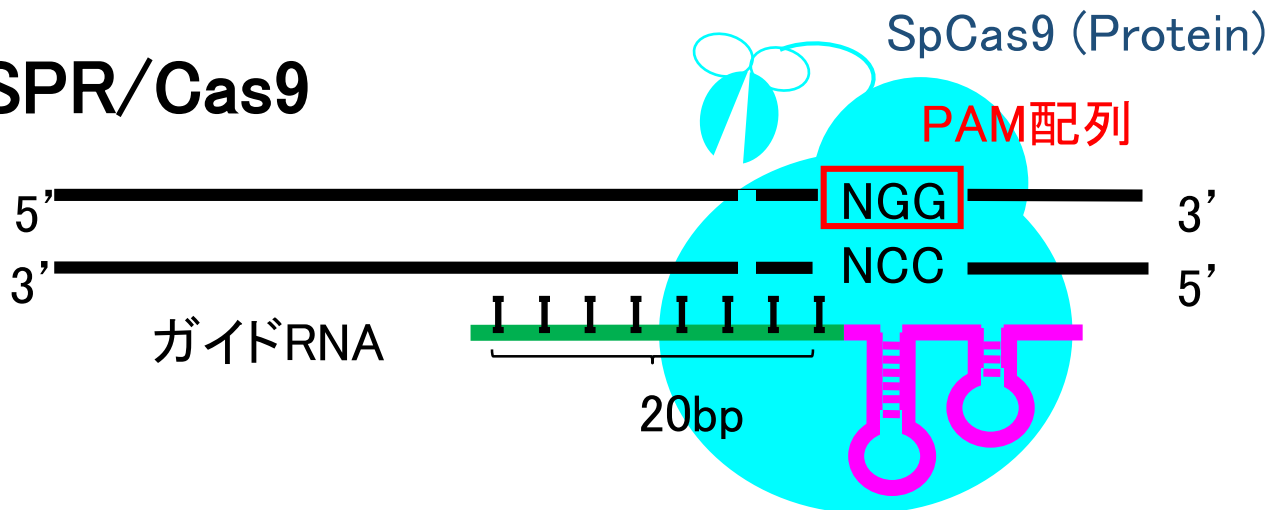


TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nuclease)



20-30アミノ酸から構成されるDNA結合タンパク質
特異的なDNA配列と結合
FoK I ヌクレアーゼがDNAを切断

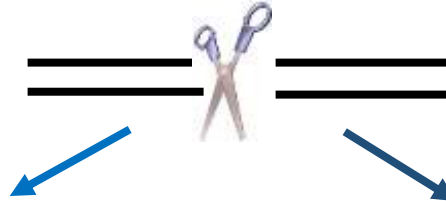
CRISPR/Cas9



ゲノム編集とは？

SDN-1
(数塩基の欠失・挿入)

標的遺伝子の切断

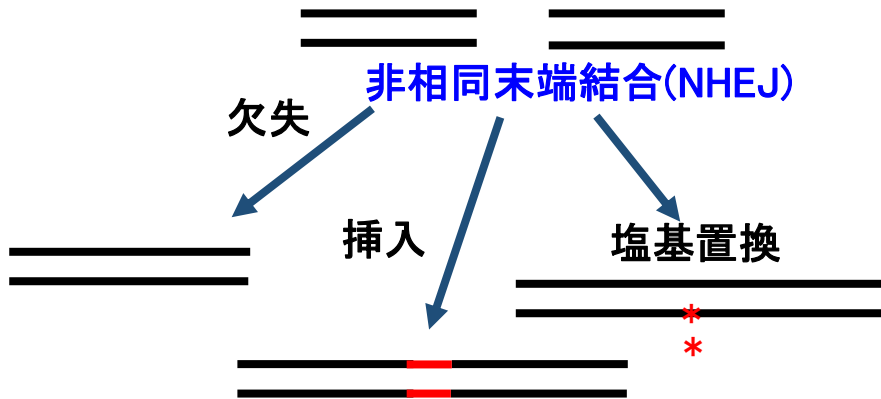


SDN-2
(数塩基の置換)

SDN-3
相同組換えによる遺伝子導入

① 標的変異

鋳型を使わないDNA修復

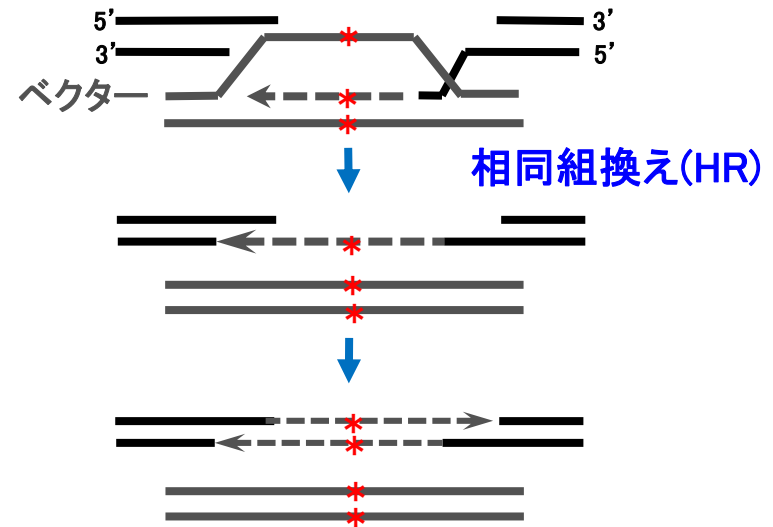


切断部位に欠失・挿入・塩基置換が導入できる

突然変異体と区別がつくのか？

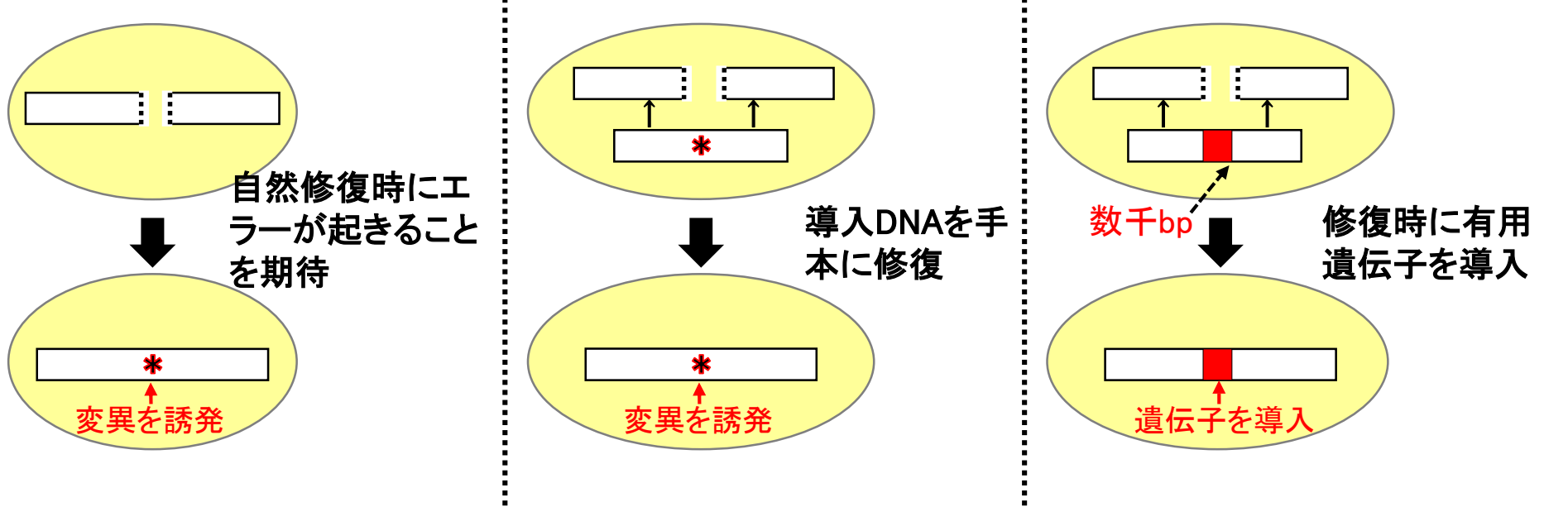
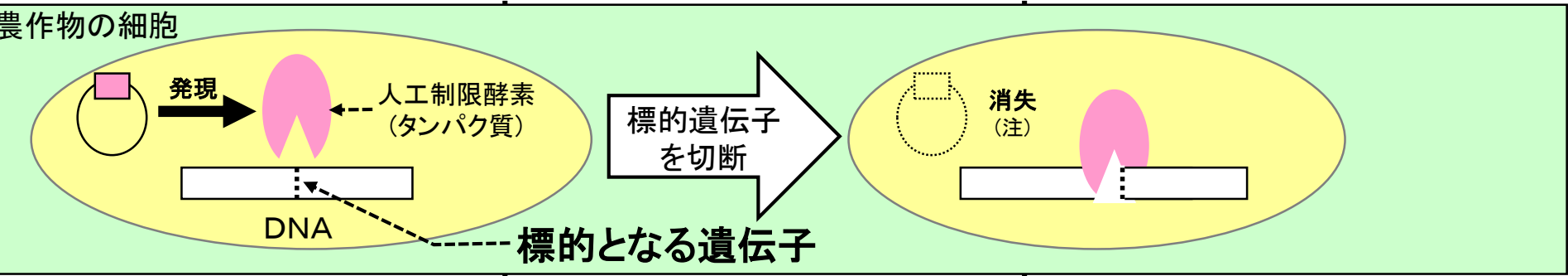
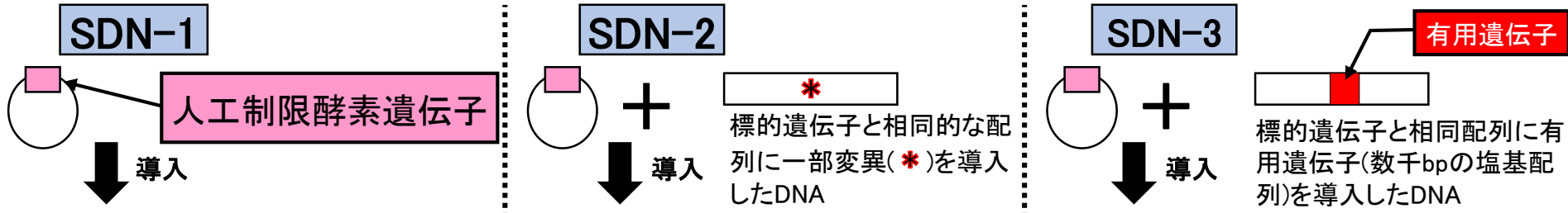
② 標的組換え (ジーンターゲティング)

鋳型を使うDNA修復



遺伝子の望むべき部位に欠失・挿入・塩基置換・モチーフ交換が誘導できる

ゲノム編集技術の手法による分類



国内で開発中のゲノム編集技術を利用した作物等

超多収イネ ※



イネの収穫量をもっと増やして低コスト化。

甘くて長持ちトマト ※



日持ちが良くなれば完熟してから収穫が可能になり、長距離輸送もできる。

芽が出ても安心ジャガイモ ※



新芽に含まれる天然毒素ソラニンやチャコニンは食中毒の原因。

切っても涙の出ないタマネギ ※



従来育種で涙の出ないタマネギが商品化されているが、ゲノム編集技術で次世代型品種を開発中

紫色のシャインマスカット ※



糖度が高く皮ごと食べられ、栽培もしやすいシャインマスカットを、様々な色で揃えたい。

白いままマッシュルーム



時間がたったり手荒く扱えば茶色くなり、廃棄される。

おとなしいマグロ ※



マグロは養殖中に網に衝突するなど約3割が死亡。

肉厚マダイ



myostatin 遺伝子(骨格筋増殖の抑制遺伝子)のノックアウトによる筋肉量増加の研究
提供: 京都大学

超多収イネ（国内初の野外栽培試験を2017年より開始）



現在の食用
品種
(5 ton/ ha)

飼料用育成
系統
(10 ton/ ha)

一穂あたりの粒数の増加
と種子の大型化

ゲノム編集



隔離ほ場における
栽培

隔離ほ場試験について、文部
科学省及び環境省から承認

選抜系統

PCR及びサザン分析など
でヌルセグリガントを選抜



隔離ほ場栽培(つくば市)

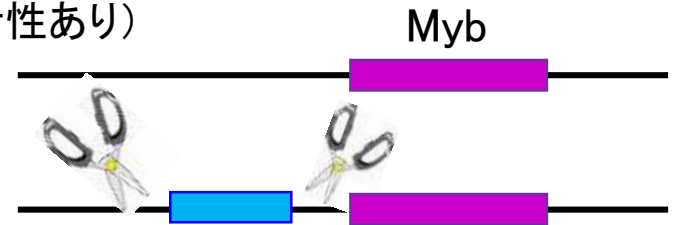
ゲノム編集技術を用いる際には選抜、育種過程を経る

赤色のシャインマスカット

シャインマスカット
=ブドウの希望の星



着色あり
(Myb活性あり)



着色なし
(Myb活性なし)

レトロトランスポゾンの挿入

2006年品種登録

ブドウの女王
「マスカットオブアレキサンドリア」の孫

- マスカット香 ●肉質良好●日持ち性良
- 裂果性なし ●栽培容易
- ★もう二度と育種できないほどの芸術品

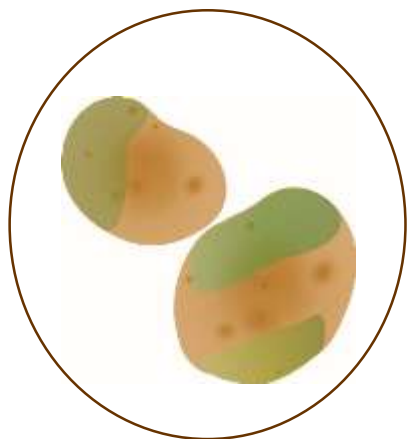
 **PLOS** | ONE

RESEARCH ARTICLE

CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis
in grape

Ikuko Nakajima¹*, Yusuke Ban¹*, Akifumi Azuma¹, Noriyuki Onoue¹, Takaya Moriguchi¹,
Toshiya Yamamoto¹, Seiichi Toki^{2,3,4}, Masaki Endo²* *

果樹研究所中島主任研究員より提供 一部改訂



ジャガイモの芽や緑色の部分にはソラニンという毒素が作られ、食中毒の原因となる。

ソラニンの合成過程で働く酵素
遺伝子にゲノム編集で変異を起こす



**ソラニンをほとんど作らない
ジャガイモ**



ジャガイモによる食中毒発生の状況

年	発生件数	摂取者数	患者数
2014	3件	223人	106人
2013	3件	38人	9人
2012	3件	62人	28人
2011	1件	47人	5人
2010	3件	82人	42人

厚生労働省 食中毒発生事例より作成

海外で開発中のゲノム編集技術を利用した作物(例) Waxy corn

- ・従来の育種技術でワキシーコーンが育種されている。
- ・米国では毎年およそ50万エーカーでワキシーコーンが栽培。
- ・従来のワキシーコーンはハイブリッドトウモロコシに比べて収量面で劣っている。
- ・ワキシーコーンはアミロペクチン(デンプン)を多く含んでおり、ワキシーコーン由来のデンプンは加工食品や接着剤・光沢紙などの非食品用途に広く利用。
- ・一般的にワキシーコーンは、「identity-preserved (IP)」と呼ばれる閉鎖系ループ生産システムにより、契約栽培されている。



CRISPR-Casにより育成された次世代ワキシーコーンハイブリッドを開発

①



②



③



くらしとバイオプラザ21の資料より

人工制限酵素をコードする**DNA**をゲノムに挿入し、
ゲノム編集が達成された後代で外来遺伝子が抜けた個体を選抜する。

