

無花粉スギの簡易診断 ～無花粉苗大量増殖に向けた判定の簡易化～

SATテクノロジー・ショーケース2023

■ はじめに

現在、国民のおよそ4割がスギ花粉症に悩まされています。今植えられているスギ人工林を、花粉を全く飛ばさないスギ(無花粉スギ)へと置き換えていくことが、林業分野からの対策として期待されています。そのためには、1)各地で無花粉スギ品種開発の素材となりうる個体の探索、2)これらの素材を交配し、優良な形質を持った無花粉スギ品種を開発すること、3)無花粉スギの苗を効率的かつ大量に生産する技術の開発が必要となります。

このような背景から、私たちの研究グループは組織培養技術を用い、無花粉スギ苗を簡易かつ大量に増殖する手法の開発を行ってきました。この際取り組んだ課題の一つが、無花粉の細胞系統を判定する技術の簡易化でした。スギの無花粉の原因遺伝子は2021年に決定されましたが、その判定には高額なシーケンサー等を備えた遺伝子実験施設での解析が不可欠でした。今回開発した簡易判定法は高額な機器がなくても実施可能で、無花粉スギの選抜技術として様々な現場への普及が期待されます。

■ 活動内容

1. 組織培養によるスギ苗の大量増殖

組織培養による増殖法(図1)では、人工交配に由来する未熟なスギの種子を用い、未分化の細胞(カルス)を誘導します。この際、およそ半分の系統が無花粉となります。カルスを増殖させ特殊な培地に移すと、種子の胚と似た不定胚が大量に得られます。この不定胚を発芽させることで、容易に再生植物体が得られます。植物体は順化させた後、通常の実生と同様にコンテナ苗等として育成することができます。無花粉の細胞系統の判定が早ければ早いほど、その後の培養や苗の育成にかかる時間、手間とコストを大幅に削減することができます。

2. 無花粉の細胞系統の判定の簡易化

無花粉の原因遺伝子を持っているかの判定は、DNAの抽出、目的遺伝子の増幅(PCR等)、判定(電気泳動等)のステップからなります。この各ステップの簡易化を試み、簡易な無花粉の細胞系統の判定技術を確立しました。

●DNA抽出の簡易化:抽出技術および時期を検討し、カルスを材料とし、キレート樹脂の入った試薬に浸けて98℃以上に加熱するだけの簡易な方法で、1試料当たりわずか10分でDNA抽出ができるようになりました(図2A)。

●原因遺伝子判別マーカーの開発:無花粉の原因遺伝子の正常型および変異型の塩基配列が明らかにされたこ

とで、それぞれの対立遺伝子を増幅するマーカーや、遺伝子型を判定可能なマーカーを作成することができました。

●電気泳動いらすの判定システム:LAMPやSTH-PASを用いることで、無花粉原因遺伝子の有無や遺伝子型判別が、電気泳動をせずともできるようになりました(図2B)。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

プレスリリース:無花粉スギの苗木だけを量産する革新的技術を開発—DNA鑑定と組織培養で花粉症対策に貢献— <https://www.ffpri.affrc.go.jp/press/2022/20220228/>

動画:スギ花粉症の時代はスギ去りし過去になるか? <https://www.youtube.com/watch?v=eY8sdavDbkg> (YouTube)

国内特許:LAMPプライマーセット及びプライマー対(特開2021-153460)令和3年10月7日。

スギの雄性不稔遺伝子MSI判別マニュアル—森林総合研究所第5期中長期研究成果9(森林環境-3)—。

<https://www.ffpri.affrc.go.jp/pubs/chukiseika/5th-chuukiseika9.html>

組織培養による無花粉スギ苗の増殖マニュアル—森林総合研究所第5期中長期研究成果10(森林環境-4)—。

<https://www.ffpri.affrc.go.jp/pubs/chukiseika/5th-chuukiseika10.html>

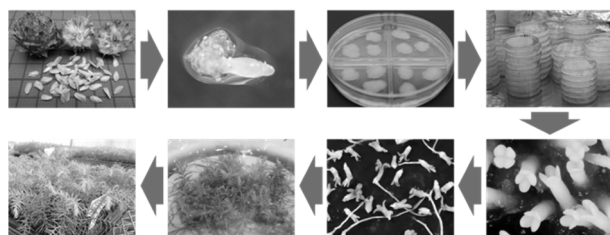


図1 組織培養による無花粉スギ苗の増殖方法

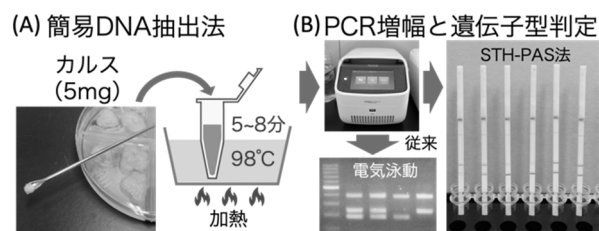


図2 簡易なDNA抽出法(A)と遺伝子型の判定(B)

謝辞:本研究は、農研機構生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」(28013B、28013BC)の支援を受けて行われました。

代表発表者 鶴田 燃海(つるた もみ)
所 属 国立研究開発法人 森林研究・整備機構
森林総合研究所 樹木分子遺伝研究領域
問合せ先 〒305-8687 茨城県つくば市松の里1
TEL:029-829-8266
Mail: mtsuruta@ffpri.affrc.go.jp

■キーワード: (1)無花粉(雄性不稔)スギ
(2)遺伝子診断
(3)簡易判別

■共同研究者: 上野 真義・丸山 毅・長谷川 陽一(国立研究開発法人 森林研究・整備機構 森林総合研究所 樹木分子遺伝研究領域)
森口 喜成(国立大学法人 新潟大学農学部)