

林木における DNA 技術実用化プロジェクトの目的と 実施成果の総括

近藤 禎二 ⁽¹⁾

Teiji Kondo ⁽¹⁾

Purpose and Progress of DNA Technique Application Project in Forest Trees

1 背景

バイオテクノロジーの中でもDNA解析技術の進歩には目を見張るものがある。「林木におけるDNA技術実用化プロジェクト」を開始した平成6年度には、ヒトのゲノム研究が国際プロジェクトとして進められ、約30億個の塩基すべてを読んでしまおうという途方もない量の研究が始められていた。植物では、イネのゲノムにおいてDNAマーカーを用いた詳細な連鎖地図の作成、物理地図の作成について、わが国で精力的に研究が進められ、世界のトップの地位を確立していた。育種に利用できるマーカーとしてはこれまで蛋白質の多型であるアイソザイムが用いられていたが、いかにせんマーカー数が少なく育種のための情報量としては不十分であった。DNA解析技術は、それまで用いられてきたRFLP法にRAPD法を新たに加えることで情報量を格段にふやすことができ、作物育種においては品種識別や有用形質と連鎖したDNAマーカーの検出が可能になってきた。林木育種は時間がかかり、遺伝的な情報の蓄積が少ないことから、何とかこれを克服する技術がないかと、以前から模索中であった。以上の状況の中で、DNAマーカーを林木育種に活用することに大きな期待が寄せられた。

2 プロジェクトの目的と内容

今後の林木育種事業にとってDNA解析技術が普遍的な技術となるべきであるという認識のもと、本プロジェクトが平成6年度から開始された。DNA解析技術は、新たな技術として早急に確立することが望まれていること、研究対象樹種及び分析回数等が極めて多いこと、各育種場に研究対象が分散保存されていること等から、平成6年度は林木育種センター本所においてDNA解析技術の林木育種への実用化のための基礎となる研究開発に着手し、平成7年度以降に、育種場について2場ずつ研究設備の整備が行われた。研究設備についてはDNAの単離及びRAPD分析に必要な、遠心分離機、分光光度計、遺伝子増幅装置、電気泳動装置、写真撮影装置等の機器が整備された。

(1) 林木育種センター九州育種場

〒861-1102 熊本県菊池郡西合志町大字須屋2320

Kyushu Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center

2320 Suya, Nishigoshi, Kikuchi, Kumamoto 861-1102 Japan

本プロジェクトの事業内容は次の通りである。

第1. DNA分析による精英樹等の品種分類

- ・精英樹のクローン識別, 系統分類
- ・在来品種の識別及び在来品種と精英樹との関係説明
- ・交配家系から育成した新品種の識別

第2. 有用形質と連鎖したDNA標識の解明

- ・有用形質を有する個体及びその交配家系のDNA分析による, 有用形質と連鎖したDNA標識の解明

3 実行経過と成果概要

上記の事業内容を実施するにあたって, 本所において基礎的技術の開発を先導的に行った。本所においては, 当時に開発されていたDNA解析技術の中で, 実験設備の整備が比較的ローコストであり, 実験が簡便で, 得られる情報量が多いことからRAPD法を採用し, 手法の開発を図った。RAPD法については, 森林総合研究所生物機能開発部遺伝科において一応の手順が確立されていたことから, 遺伝科において指導を受け技術を導入した。また, 林木を用いたRAPD分析についてはいくつかの研究論文が海外の学術雑誌に掲載されていたので, それらも参考にし改良に努めた。各育種場においては, 本所からの情報及び育種場が所在する地域の大学の情報により技術を確立した。

事業内容の「第1. DNA分析による精英樹等の品種分類」の1番目の課題「精英樹のクローン識別, 系統分類」については, 本所では関東育種基本区のスギ精英樹について取り組み, 基本区内の約9割の精英樹にRAPD法を適用し, そのうちの約4分の3のクローンの識別に成功した。クローン識別についてはアイソザイムがこれまで利用されていたが, これでは半分に満たないクローンしか識別できず, RAPD法を用いることで大幅な向上が認められた。また, アイソザイムよりも微小な違いを検出でき, 地域間の遺伝的な違いをより感度よく検出できた。この成果については学術雑誌への投稿の関係で本号には間に合わなかったが, いずれ詳細に報告する予定である。各育種場においても, 本プロジェクトの第1の目的であるクローン識別のための技術を確立しており, 育種材料の管理等に利用できるまでになっている。2番目の課題の「在来品種の識別及び在来品種と精英樹との関係説明」については, 精英樹の中に在来品種が多数含まれている九州において特に重要である。これまでは外部形態やアイソザイムにより関係の解明がなされていたが, 九州大学との連携によりDNAマーカー(標識)を用いた関係の解明が大幅に進み, DNA解析技術の優秀性が証明された。3番目の課題の「交配家系から育成した新品種の識別」については, 特にまとまった研究を行っていないが, 品種識別の研究においてRAPDマーカーを既に多く得ており, それらは一般に優性であることから, 交配家系の識別に利用可能な段階にある。

2つ目の事業内容である「有用形質と連鎖したDNA標識の解明」では「有用形質を有する個体及びその交配家系のDNA分析による, 有用形質と連鎖したDNA標識の解明」という課題だけを設けた。有用形質を支配する遺伝子の非常に近い場所にあるDNAマーカーを検出し, それによって早期選抜に役立てようとするものである。林木育種センターでは, これまでに蓄積した育種素材が多い。その中でもクロマツのマツバナタマバエ抵抗性は1個の優性遺伝子で支配されていることが東北育種場において明らかにされていたことから, これについてDNAマーカーの検出を試み, 最終的に数個のDNAマーカーの検出に成功した。

以上の成果は、実用的価値が高いものであるが、学術的にも非常に質が高く、国内の学術雑誌のみならず海外の一流の学術雑誌にも掲載された。海外の雑誌に掲載されたものについては出版社の許可を得て邦文で本号の中に紹介している。

4 今後の課題

本プロジェクトを実行した結果、DNA解析技術が林木育種の効率的推進に大きく寄与することが明らかとなった。一部の成果については既に実用技術として利用できるところまで来ており、今後とも研究を深める必要性が出てきた。

品種の識別については、実用的にほぼ十分なところまで来ており、採種園や採穂園のクローン管理には利用できる。残された課題としては、RAPD法の再現性をよくすることと識別の能力を上げることである。そのためには、塩基配列の明らかなマーカーやAFLP法の利用が考えられる。スギの精英樹についてはRAPD法によってこれまでに膨大なデータが得られ、地域間での違いがより鮮明になってきた。この情報を今後の交雑育種にいかにか活かしていくかも非常に重要な今後の研究課題である。

有用形質と連鎖したDNA標識の解明については、マツパノタマバエ抵抗性についてかなり質のいいマーカーを検出することができ、実用的な価値が出てきた。今後は、マツパノタマバエ抵抗性について残された研究分野について継続して研究するとともに、本プロジェクトで対象としなかったマツノザイセンチュウ抵抗性については是非取組む必要がある。

また、現在スギの材質についてQTL解析を行っているが、このような量的形質についてもマーカーを検出する必要がある。林木、特に針葉樹ではゲノムの量がイネに比べてはるかに多いことから、塩基配列の解読にこだわらずDNAマーカーの検出に努め、利用していく中でゲノムの情報を蓄積していくことが当面重要であると考えられる。