



展 TENBO 望

イオンビーム照射による 低カドミウム米の開発



石川 覚

Ishikawa Satoru

(独)農業環境技術研究所

1 はじめに

カドミウム (Cd) は主に顔料やメッキ、ニッカド電池等の材料として使用され、工業上有益な金属元素である。しかし、人体への毒性が強いため、現在では国際的にその使用を規制する方向にある。Cd は鉱物や土壌など自然界に広く存在し、多くの食品には天然由来の微量の Cd が含まれている。しかし一部の地域では、鉱山開発による河川や農地の Cd 汚染が深刻となり、特に富山県神通川流域で発生した「イタイイタイ病」は、飲料水やコメ等の農作物に含まれる高濃度の Cd が体内に蓄積したため、発症した。イタイイタイ病に認定された患者数は 196 人に上り、4 人の患者が今も生存している (2011 年末)。このような公害病が二度と起こらないように、国内では 1970 年に食品衛生法にて、飲料水とコメに含まれる Cd 濃度に基準値を設けた。コメの場合、「玄米中に Cd として 1.0 mg/kg 以上含有してはならない」という規制値となった。その一方、玄米で 1.0 mg/kg 以上を産出する地域では、土壌の入れ替えによる農地の復元 (客土) 事業が開始された。2012 年 3 月、富山県神通川流域において 33 年に及ぶ客土事業が終了したというニュースは記憶に

新しいが、いまだ客土事業が完了していない地域も日本各地に残されている。加えて、2011 年 2 月、玄米と精米に含まれる Cd 濃度の基準値は国際基準値に準拠して、従来の 1.0 mg/kg から 0.4 mg/kg 以下に引き下げられたため、低減対策が必要となる水田面積は更に増加すると予想される。

玄米に Cd を蓄積しない水稻の開発は、生産現場において最もニーズの高い低減技術の 1 つである。この技術は、1) これまでの栽培体系を変える必要がない、2) 広範囲に適用可能である、3) 種子の購入以外にコストがかからない、等の多くの利点を持つ。その一方、品種育成は通常、10 年以上の歳月を費やす場合が多く、加えて育種の素材となる Cd を吸収しにくい低 Cd 品種を見つけなくてはならない。あいにく、日本の品種は世界の品種に比べても Cd 濃度が低い部類に属するため¹⁾、交配によって、日本の品種に低 Cd の性質を付与することは非常に困難である。

そこで筆者の研究グループは、従来の交配育種ではなく、突然変異によって、Cd 吸収に関わる未知遺伝子に変異を誘発し、低 Cd 品種を開発する発想に至った。以下、その全容を紹介する。

2 イオンビーム照射による変異体の作出と低 Cd 変異体の選抜

イオンビームとは、水素イオンや炭素イオンなどを加速器（サイクロトロン）を使って高速に加速させたものをいい、医学、工学、農学分野において幅広く利用されている。イオンビーム育種の特徴は、効率良く目的の特性のみを変化させるワンポイント改良である²⁾。現在では主に花卉園芸植物の品種改良（花色の変異など）に利用されている。また、最大とも言える利点は、イオンビーム照射によって得られた植物は遺伝子組換えでないため、生産現場への導入が即可能なことである。

イオンビーム照射は(独)日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所の AVF サイクロトロンにて行った。コシヒカリの種子（玄米の胚）に炭素イオン ($^{12}\text{C}^{6+}$) を照射し、照射後の種子 (M_1) を栽培して得られた第 2 世代の種子 (M_2) を低 Cd 変異体の選抜用とした。約 3,000 個体の M_2 植物を Cd 汚染土壌の入ったポットで栽培し、個体別に玄米 Cd 濃度を測定したところ、照射していない普通のコシヒカリの 3% 未満しか Cd を含まない変異体を 3 個体見つけることに成功した³⁾。低 Cd コシヒカリ変異体 (low cadmium koshihikari mutant) の英名から lcd-kmt と以後記載する。

3 lcd-kmt の特性

Cd は根から吸収されて、玄米に到達する。それゆえ、根は Cd が玄米に到達するための最初の関門である。lcd-kmt の根による Cd 吸収をコシヒカリと比較したところ、著しく吸収が抑制されていることが分かった。Cd は亜鉛や鉄などの必須重金属元素を輸送するタンパク質を介して、根から吸収されることが報告されている^{4,5)}。lcd-kmt の場合、亜鉛、鉄、銅の吸収抑制は見られなかったが、マンガン吸収が著しく低下した。この結果は、Cd はマンガンと同

じ輸送システムで根に吸収されることを示している。

Cd で汚染された農地でコシヒカリと 3 つの lcd-kmt を栽培した時の玄米 Cd 濃度を図 1 に示す。コシヒカリの玄米 Cd 濃度は、基準値である 0.4 mg/kg を大幅に超過しているのに対し、すべての lcd-kmt の Cd 濃度は著しく低いことが一目瞭然である。稲わらの Cd 濃度も同様に低くなることから、人間だけでなく、稲わらを飼料とする家畜への Cd 曝露も大幅に減らせるであろう。lcd-kmt の優れた点は、Cd 濃度が低いことに加え、生育や収量等の農業上重要な形質がコシヒカリとほとんど変わらないことにある（ただし lcd-kmt3 は除く）。図 2 にコシヒカリと lcd-kmt1 の稲穂と玄米の写真を載せたが、見た目では両者の違いを識別できない。コシヒカリが最も多く作付けされている最大の理由はその良食味にある。lcd-kmt の食味を 20 名のパネラーによって評価したところ、コシヒカリ同等と判定された。よって、lcd-kmt は非常に実用性の高い低 Cd 変異体であることが分かり、イオンビームの特徴である有用な形質に変化を与えることなく、目的とする特性のみを

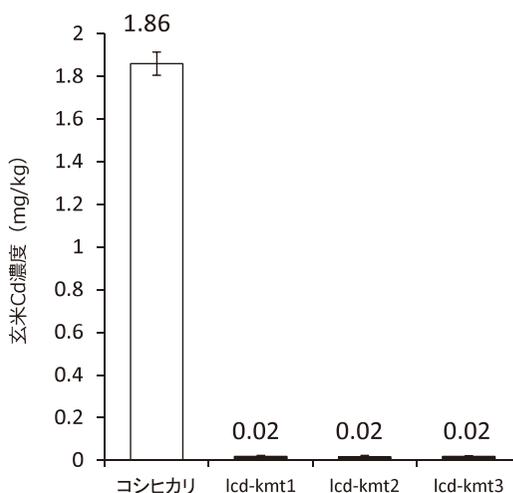


図 1 玄米 Cd 濃度の比較
3 つの低 Cd 変異体を見つけ、各々 lcd-kmt1, lcd-kmt2, lcd-kmt3 と名付けた



図2 草姿と玄米形質の比較
lcd-kmt1の草姿と玄米形質はコシヒカリ同等であった

ワンポイントで改良することに成功した³⁾。

4 原因遺伝子の特定と機能解析

重金属は、主にトランスポーターと呼ばれる膜タンパク質を経由して運ばれ、それは遺伝子によって制御されている。筆者の研究グループは、マップベースクローニング法（遺伝地図を基にDNAマーカーで候補染色体領域を絞り込み目的遺伝子を特定する手法）により、lcd-kmtの低Cdの原因は、*OsNRAMP5* 遺伝子の変異であることを突き止めた。*OsNRAMP5* は、細胞膜上に存在する重金属トランスポーター遺伝子であり、イネのマンガンや鉄、カドミウム輸送に関連することが最近報告されている^{6,7)}。面白いことに、この遺伝子に挿入された変異のタイプは3つのlcd-kmtですべて異なってい

た。*OsNRAMP5* 遺伝子は構造上、12個のエキソン（アミノ酸に翻訳される部位）と11個のイントロン（アミノ酸に翻訳されない部位）から成り立っている。lcd-kmt1の変異体は、*OsNRAMP5*の第10エクソンの末端領域にmPingA1⁸⁾と呼ばれる433bp（bpは塩基の単位）の塩基から成るトランスポゾン（転移因子）が挿入されていた。一方lcd-kmt2は、*OsNRAMP5*の第9エクソンに1bpの塩基の欠損があった。lcd-kmt3は*OsNRAMP5*を含む約277kbpの大きな塩基の欠損があり、12個の遺伝子が失われていた。なお、lcd-kmt3の生育が不良であった理由として、多くの遺伝子が喪失したためと思われる。3つの異なる変異はすべて*OsNRAMP5*の重金属トランスポーターとしての機能を失わせ、根のCd吸収が抑制されたことで、結果的に玄米のCd濃度が著しく低下したと考えられた³⁾（図3）。

5 DNAマーカーの開発

低Cdをもたらす*OsNRAMP5*の変異遺伝子をほかの品種に導入し、新たな低Cd品種を作出することも可能である。その際、DNAマーカーは非常に有効なツールになり得る。lcd-kmtの*OsNRAMP5*は人工的な変異により、コシヒカリや他の品種とは異なる塩基配列を持つ。その塩基配列の違いは個体を識別する際の目印（マーカー）となるため、これをDNAマーカーと呼ぶ。

例えば、Aという品種を低Cdに変えたいとする。その場合、A品種とlcd-kmtを交配し、雑種第1代（F₁）を作る。F₁は両親の遺伝子をすべてヘテロで持つため、更にA品種を繰り返し戻し交配し、低Cd遺伝子をホモ型で持つ個体のみをDNAマーカーで選抜する。そうすることで、低Cdの性質を持ち、その他の性質はA品種と全く同じという新たな低Cd品種を短期間に作るができる。

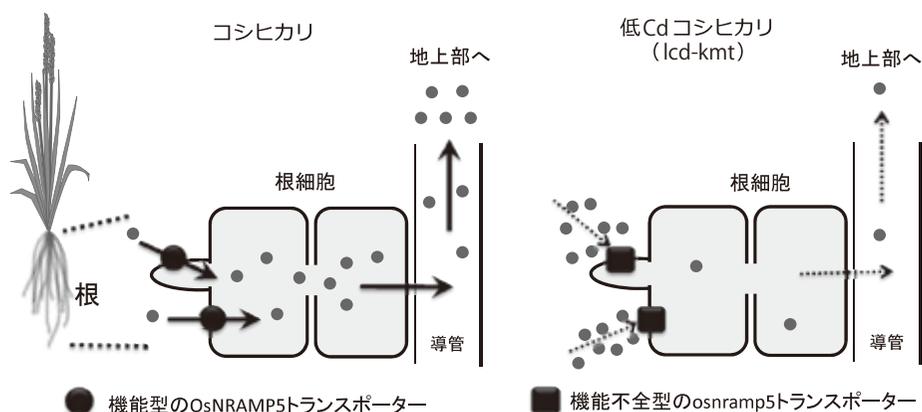


図3 低Cd コシヒカリ (lcd-kmt) のCd 吸収抑制機構 (概略図)
低Cd コシヒカリのlcd-kmtは、イオンビーム照射によってOsNRAMP5タンパク質が変異したため、Cd吸収能を失った

6 展望

低Cd コシヒカリであるlcd-kmtは、2013年度に品種登録出願する予定である。開発したDNAマーカーを活用すれば、効率的に各地域のブランド品種の低Cd化が実現可能となる。稲わらのCd濃度も低いため、飼料用の低Cdイネ品種の開発も期待できる。

農林水産省発行の「コメ中のカドミウム濃度低減のための実施指針」⁹⁾では、玄米に最もCdが蓄積しやすい出穂前後3週間の湛水管理(田に水を張った状態にすること)を奨励しており、日本全国の約4万haの水田で実施されている。湛水管理は土壌中のCdを不溶化して水稻にCdを吸収させなくする方法¹⁰⁾だが、その効果は土壌の性質や気象条件によって、不安定である。また長期間の湛水管理は、温室効果ガスであるメタンの発生を助長させるだけでなく、コメ中のヒ素濃度も増加させる。lcd-kmtや低Cd変異遺伝子を付与した品種を導入すれば、安定的にCd吸収を抑えるだけでなく、出穂期前後の湛水管理が不要になるので、メタン発生削減やヒ素濃度の低減に貢献できる。低Cd遺伝子を世界中のイネ品種に導入することで、コメ

を主食とする人々のCd摂取による健康被害リスクを最小限にすることが可能となるだろう。

【謝辞】

本成果は生物系特定産業技術研究支援センター「イノベーション創出基礎的研究推進事業」で得られた。共同研究者をはじめ関係者に心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Arao, T. and Ae, N., *Soil Sci. Plant Nutr.*, **49**, 473-479 (2003)
- 2) 田中淳, 放射線と産業, **132**, 30-35 (2012)
- 3) Ishikawa, S., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 19166-19171 (2012)
- 4) Remesh, S.A., *et al.*, *Plant Physiol.*, **133**, 126-134 (2003)
- 5) Nakanishi, H., *et al.*, *Soil Sci. Plant Nutr.*, **52**, 464-469 (2006)
- 6) Ishimaru, Y., *et al.*, *Sci. Rep.*, **2**, 286 (2012)
- 7) Sasaki, A., *et al.*, *Plant Cell*, **24**, 2155-2167 (2012)
- 8) Kikuchi, K. *et al.*, *Nature*, **421**, 157-170 (2003)
- 9) 農林水産省 http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_cd/pdf/cd_shishin_rice.pdf (2011)
- 10) 川崎晃ら, 日本衛生学雑誌, **67**(4), 478-483 (2012)