
ERAプロジェクト調査報告

November 2016

バイオテクノロジー研究会



特定非営利活動法人

国際生命科学研究機構

International Life Sciences Institute Japan

International Life Sciences Institute, ILSI は、1978年にアメリカで設立された非営利の団体です。

ILSI は、科学的な視点で、健康・栄養・安全・環境に関わる問題の解決および正しい理解を目指すとともに、今後発生する恐れのある問題を事前に予測して対応していくなど、活発な活動を行っています。現在、世界中の400社以上の企業が会員となって、その活動を支えています。

多くの人々にとって重大な関心事であるこれらの問題の解決には、しっかりとした科学的アプローチが不可欠です。ILSI はこれらに関連する科学研究を行い、あるいは支援し、その成果を会合や出版物を通じて公表しています。そしてその活動の内容は世界の各方面から高く評価されています。

また、ILSI は、非政府機関（NGO）の一つとして、世界保健機関（WHO）と協力関係にあり、国連食糧農業機関（FAO）に対しては特別アドバイザーの立場にあります。アメリカ、ヨーロッパをはじめ各国で、国際協調を目指した政策を決定する際には、科学的データの提供者としても国際的に高い信頼を得ています。

特定非営利活動法人国際生命科学研究機構（ILSI Japan）は、ILSI の日本支部として1981年に設立されました。ILSI の一員として世界的な活動の一翼を担うとともに、日本独自の問題にも積極的に取り組んでいます。

まえがき

2016. 11

バイオテクノロジー研究会

2016年の調査報告書第4号（通算第29号）をお届けします。

本号では、作物の収量増加への応用も期待される、トウモロコシの幹細胞増殖を調節するシグナル伝達経路を解明した論文を紹介しています（No.289）。また日本の研究グループの成果として、葉緑体形質転換によるタバコおよびレタスにおけるビタミンE構成成分改変の事例を取り上げています（No.284）。他に、グリホサート耐性遺伝子を1種類あるいは2種類導入した遺伝子組換えタバコにおけるグリホサート耐性の比較研究（No.281）、モンサント社の新規ジカンバ耐性組換え作物の開発状況に関する短報（No.282）、機能性を高めた遺伝子組換え作物をめぐる状況についてのレビュー（No.283）、エチレン受容体を器官特異的に発現させた遺伝子組換えメロンの栽培特性の研究（No.285）、Simplot社の遺伝子組換えバレイショの開発状況に関する短報（No.286）、非標的節足動物の環境リスク評価におけるデータトランスポートビリティーを検証した論文（No.287）、およびネグサレセンチュウ抵抗性を有する遺伝子組換えテッポウユリの作出（No.288）を紹介しています。

なお、これまで調査報告でご紹介した文献抄訳は、以下のURLで閲覧可能です。

<https://ilsijapan.sakura.ne.jp/pnamazu/namazu.cgi>

目次

No.281	グリホサート N-アセチルトランスフェラーゼ及びグリホサート非感受型 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸シンターゼを同時発現する組換えタバコはそれらのうち単一の遺伝子を発現する組換えタバコより強いグリホサート耐性を示す Transgenic tobacco simultaneously overexpressing glyphosate N-acetyltransferase and 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase are more resistant to glyphosate than those containing one gene.....	1
No.282	モンサント社の雑草対策に新加入したジカンバ Monsanto adds dicamba to its cache to counter weed threat.....	2
No.283	機能性を高めた組換え作物の現状と市場化の可能性 Status and market potential of transgenic biofortified crops	3
No.284	葉緑体形質転換によるタバコ及びレタスのビタミン E 含量及び構成成分の向上 Improvement of vitamin E quality and quantity in tobacco and lettuce by chloroplast genetic engineering.....	4
No.285	組換えメロン (<i>Cucumis melo</i> L.) における <i>CRC::etr1-1</i> 遺伝子発現がエチレン生産、性表現型、着果及び果実成熟に及ぼす影響 Effect of <i>CRC::etr1-1</i> transgene expression on ethylene production, sex expression, fruit set and fruit ripening in transgenic melon (<i>Cucumis melo</i> L.)	5
No.286	米国農務省による新世代 GM バレイショの認可 USDA approves new-generation GM potato	6
No.287	殺虫性二本鎖 RNA 発現 GM トウモロコシの圃場試験に基づく非標的節足動物に対する環境リスク評価データのトランスポートビリティ Transportable data from non-target arthropod field studies for the environmental risk assessment of genetically modified maize expressing an insecticidal double-stranded RNA	7
No.288	細菌由来の改変アトラジン分解酵素遺伝子を発現する 4 種類の牧草によるアトラジンの生物的分解 Biodegradation of atrazine by three transgenic grasses and alfalfa expressing a modified bacterial atrazine chloro hydrolase gene.....	8
No.289	テッポウユリ品種 Nellie White におけるシスタチン遺伝子発現による根を食害する線虫抵抗性の獲得 Expression of a cystatin transgene can confer resistance to root lesion nematodes in <i>Lilium longiflorum</i> cv. 'Nellie White'	9

グリホサート N-アセチルトランスフェラーゼ及びグリホサート非感受型 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸シンターゼを同時発現する組換えタバコはそれらのうち単一の遺伝子を発現する組換えタバコより強いグリホサート耐性を示す

Transgenic tobacco simultaneously overexpressing glyphosate N-acetyltransferase and 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase are more resistant to glyphosate than those containing one gene

Liu Y *et al.*

Transgenic Research 24: 753-763, 2015

中国国研及び大学グループによる原著論文である。グリホサート N-アセチルトランスフェラーゼ (GAT) 及びグリホサート非感受型 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸シンターゼ (非感受型 EPSPS) は除草剤グリホサートに対する耐性を発現する。著者らは GAT 遺伝子及びグリホサート非感受型 EPSPS 遺伝子の AM79aroA 遺伝子を同時発現するスタック組換えタバコを作出し、そのグリホサート耐性を調査した。

- (1) 組換えタバコの作出: GAT または AM79aroA をアグロバクテリウム法で導入した T₂ 個体を作成し、さらにそれらの交雑によってスタック交雑種を作成した。
- (2) グリホサート耐性 (培地生育): グリホサート 2mM 含有培地生育 2 週間後の葉身は、非組換え対照区では完全に枯死したが、スタック個体は正常であった。根長は対照区が 0 cm、GAT 単独及び AM79aroA 単独導入個体はそれぞれ 0.5 cm、スタック個体は 1.7 cm であり、スタックによるグリホサート耐性強化が示された。
- (3) グリホサート耐性 (土壌生育): ポット土壌生育 6-8 葉個体に 18 L/ha (通常の 8 倍濃度) のグリホサート液を散布し、2 週間後に測定した。対照区は完全に枯死し、GAT 単独及び AM79aroA 単独導入個体は葉辺が壊死したが、スタック個体の生育には異状がなかった。新鮮重は単独導入個体で 22.8~23.1g、スタック個体で 64.4g であり、スタック個体がより強い耐性を示した。
- (4) 代謝バランス: 6-8 葉期の個体に通常の 4 倍濃度のグリホサートを散布し、5 日後の葉を分析してタバコで特定されている 60 の代謝産物の増減を調査した。代謝物量に増減が見られた代謝産物の数は、AM79aroA 単独個体が増 24 及び減 2、GAT 単独個体が増 7 及び減 2、スタック個体が増 1 及び減 1 であった。グリホサート感受性の指標となるシキミ酸蓄積量は、AM79aroA 単独個体が 2.19 倍、GAT 単独個体が 10 倍、交雑種では変化がなく、耐性の強化が示された。
- (5) 総括: グリホサート耐性遺伝子 AM79aroA 及び GAT を併有するスタック交雑種は、単独導入組換え体よりグリホサート耐性が強化されると結語される。これにより高濃度グリホサート散布による耐性雑草防除が可能となる (注: 耐性雑草に対する防除効果を明示するデータが必要である)。

モンサント社の雑草対策に新加入したジカンバ

Monsanto adds dicamba to its cache to counter weed threat

Waltz E

Nature Biotechnology 33: 328, 2015

フリーランスの科学記者による短報である。米国農務省（USDA）は2015年1月に除草剤ジカンバ耐性組換え作物を初めて承認した。それらはモンサント社が開発したジカンバ耐性ワタ及びダイズ品種であり、ワタ品種は除草剤グルホシネート耐性も併有している。この複数の除草剤に耐性をもつGMワタ品種の最大の目的は、最も普及している除草剤グリホサートに対する耐性雑草の急増への対抗である。ジョージア州では生長が早い雑草アマランサスが耐性を獲得し、農家は手作業による除草が必要となった。この事態に対し、モンサント、ダウ、デュポン、シンジェンタ、バイエルなどの主要開発企業は、既存のグルホシネート、2, 4-D、HPPD など2種類以上の除草剤耐性を組み合わせたGM品種を開発した。これまでに、ダイズ・トウモロコシ・ワタなどの除草剤耐性スタック品種約10種類がUSDAにより認可されている。新しいジカンバ・グルホシネート両耐性GMワタ品種は、これらの認可品種群に新加入することになる。新しいジカンバ・グルホシネート両耐性GMワタ品種は、ジカンバモノオキシゲナーゼ（DMOタンパク質）の発現により、急速にジカンバを不活化させる。ジカンバとグルホシネートへの耐性のスタックにより、ワタ栽培農家への新しい除草体系の提供が期待される。耐性雑草対策は、多様な方策の組み合わせが重要である。モンサント社はグリホサートでの例を教訓に、ワタ栽培農家のための実効性が高い雑草管理法を提供している。2011年には、これをトウモロコシ及びダイズに拡大している。一部では、ジカンバ耐性作物は除草剤使用量が増加するかもしれないとの懸念がある。モンサント社は残っている環境保護庁（EPA）からの認可を待っているところである。

機能性を高めた組換え作物の現状と市場化の可能性

Status and market potential of transgenic biofortified crops

De Steur *et al.*

Nature Biotechnology 33: 25-29, 2015

ベルギー・ゲント大学の研究者グループによるレビューである。第1世代 GM 作物は農業特性の改良により農家へ大きな便益を提供しているが、消費者への直接的メリットは相対的に低い。著者らは消費者への貢献が期待されている機能強化組換え作物（第2世代 GM 作物）について、その研究・開発・市場化などを、ピアレビュー文献に基づいて解析した。

- (1) 研究・開発動向：過去20年間に遺伝子組換えによる機能性を高めた作物の研究・開発が世界的に進行している。60文献中35文献は機能性の重要知見、19はマイクロレベル（消費者動向）、6はマクロレベル（健康効果・コスト/便益解析）である。
 - 1) ビタミン含量強化：ゴールデンライスのプロビタミン A の蓄積が好例であり、トウモロコシ・キャッサバ・バレイショ・コムギが後に続いている。これらは種子外層あるいは胚より内部の胚乳に存在するため、精白過程で除去されず栄養分として摂取される。葉酸含量を100倍増やしたイネもある。ビタミン C 増強は非常に難しい。
 - 2) ミネラル含量強化：鉄及び亜鉛が主目標であり、主給源は土壌、補助的に葉面散布があるがイネ及び雑穀には鉄と亜鉛を結合させて不可給態とするフィチン酸が存在するため、低フィチン酸育種が慣行・バイオテク栽培法の両面で行われている。イネ（鉄・亜鉛・銅）、トウモロコシ（鉄）、オオムギ（鉄、亜鉛）などがある。
 - 3) 多元的強化作物：イネ（葉酸・プロビタミン A・鉄・亜鉛）、トウモロコシ（葉酸・プロビタミン A・ビタミン C・ビタミン E・鉄）、バレイショ（プロビタミン A・ビタミン C・ビタミン E）などがある。
- (2) 消費者動向・市場化：動向（容認意識・購買意欲）に関する文献はイネが突出して多く、ついでコムギ、ブロッコリー、トマト、バレイショ、キャッサバ、リンゴなどがある。容認傾向は自国内に貧栄養層をかかえる中国・ブラジルで高い。開発中の機能性を高めた作物は市場化未定のものが多い。加えて、反 GM の規制・政治的障害も存在している。ゴールデンライスがその悪例である。機能性を高めた作物はなお改善すべき点があるが、今後の地球規模の栄養改善・健康増進への重要な一環としてその発展が期待される。

葉緑体形質転換によるタバコ及びレタスのビタミン E 含量及び構成成分の向上

Improvement of vitamin E quality and quantity in tobacco and lettuce by chloroplast genetic engineering

Yabuta Y *et al.*

Transgenic Research 22: 391-402, 2013

日本の大学グループによる原著論文である。ビタミン E (トコフェロール) はヒトの心臓血管病・がん・アルツハイマー病の発症減少や免疫機能向上に役立つ重要な必須物質であり、主として葉緑体で合成される。トコフェロール類には、 α -、 β -、 γ -、 δ -トコフェロール及び α -、 β -、 γ -、 δ -トコトリエノールの 8 種のアイソフォームがあり、 α -トコフェロールがヒトにおける活性が最も高い。著者らは葉緑体形質転換法 (パーティクルガン使用) によりタバコ及びレタスの葉緑体形質転換システムを作出し、以下の調査を行った。

- (1) 葉緑体形質転換タバコの作出：トコフェロールシクラーゼ (TC) 導入タバコ系統 (pTTC 系統)、 γ -トコフェロールメチルトランスフェラーゼ (TMT) 導入タバコ系統 (pTTMT 系統) 及びその両方を導入したタバコ系統 (pTTC-TMT 系統) を作出した。
- (2) 葉緑体形質転換タバコにおける TC 及び γ -TMT の発現： γ -TMT 活性は、pTTMT 及び pTTC-TMT 系統で非形質転換対照の 1.4~1.5 倍に増加していた。TC 活性は、pTTC 系統、pTTC-TMT 系統いずれも対照との有意差がなかった。
- (3) 葉緑体形質転換タバコにおけるトコフェロール含量：総トコフェロールレベルは、対照に比べて pTTC 系統で 1.4~1.6 倍、pTTC-TMT 系統で 2.1~2.2 倍に有意に増加した一方、pTTMT 系統では有意差がなかった。ヒトに対する活性が高い α -トコフェロールは pTTC-TMT 系統のみで有意な増加が示された (約 1.2 倍)。
- (4) 葉緑体形質転換レタスにおける TC 導入の効果：TC 導入葉緑体形質転換レタス系統 (pLTC) を作出し、レタスにおける TC 導入の実効性を調べた。pLTC 系統では、総トコフェロールレベルが非形質転換対照に比べて 1.2~1.3 倍に有意に増加したが、ヒトに対する活性が高い α -トコフェロールには有意差がなかった。
- (5) 総括：葉緑体形質転換によるトコフェロール代謝酵素遺伝子の導入は、ビタミン E 含有量の強化に有効であると結語される。

(注：最重要である α -トコフェロール増加効果は限定的であり、今後改善する必要がある)。

組換えメロン (*Cucumis melo* L.) における *CRC::etr1-1* 遺伝子発現 がエチレン生産、性表現型、着果及び果実成熟に及ぼす影響

Effect of *CRC::etr1-1* transgene expression on ethylene production, sex expression, fruit set and fruit ripening in transgenic melon (*Cucumis melo* L.)

Switzenberg JA *et al.*

Transgenic Research 24: 497-507, 2015

米国ミシガン州立大学の研究グループによる原著論文である。メロンには雌雄同株型と雄株と両性花を有する雄花両性花同株型 (andromonoecious) の2通りの花性があるが、品種・環境により雄花と両性花の割合が変動し、生産を不安定にしている。多くの既往の研究はエチレンがメロンの性表現型に大きく影響することを示している。シロイヌナズナのエチレン受容体 *etr1-1* 遺伝子の発現は、エチレンに対する感受性を高め、両性花及び雌花の増加に寄与すると考えられるが、恒常的な *etr1-1* 遺伝子の発現はエチレンの関わる他の代謝への影響により、結果的に両性花を失わせる結果となる。そこで、子房及び蜜腺特異的プロモーター (*CRC* プロモーター) に *etr1-1* 遺伝子を連結した発現カセット (*CRC::etr1-1*) をメロンに導入したところ、期待通り両性花及び雌花数が増加することが温室試験によって確認されている。そこで、筆者らは、温室試験で得たエチレンの効果を圃場試験で検証するために以下の調査を行った。

- (1) 組換えメロン：慣行メロン品種 Hale's Best Jumbo (HBJ) に、アグロバクテリウム法で *CRC::etr1-1* 発現カセットを導入した形質転換体 T₂ 世代 2 系統 (M5 及び M15) を圃場試験に供した。
- (2) エチレン産生及び性表現型：*etr1-1* 導入組換え系統は側芽におけるエチレン発生が非組換え対照の 2～6 倍であった (M15 系統で有意)。両性花芽数及び開花した両性花数は、*etr1-1* 導入組換え系統で有意に多く (2～3 倍)、最初に両性花が着いた節の位置が対照よりも 7～10 節有意に少なかった (日数にして 8～10 日)。また、両性花のうち、50% は、典型的な両性花ではなく、雌花化していた (対照区は 0%)。
- (3) 着果、収量、成熟：1 株当たり着果数は対照 3～4 に対して *etr1-1* 導入組換え系統では 6～8、果重は対照 (1.4～1.5 kg) に対して *etr1-1* 導入組換え系統 (1.2 kg) と低く、総収量には有意差がなかった。しかし、M5 系統は初期収量が対照の 2～3 倍増であり、市場価値が増加した。一方で、M15 系統は成熟遅延が生じた。
- (4) 総括：*etr1-1* を器官特異的に発現した組換えメロンは、エチレン発生量、雌花数、早期着果数などが増加し、市場価値が向上すると結論される。(注：例外あり)

米国農務省による新世代 GM バレイショの認可

USDA approves new-generation GM potato

Walz E

Nature Biotechnology Vol.33 No.1: 12-13, 2015

フリーランスの科学記者による短報である。バレイショは収穫・運搬・貯蔵・調理の過程で打ち身による褐変を生じやすく、商品価値が下落する。米国農務省（USDA）は2014年9月に打ち身による褐変が少ないGMバレイショ、Innateの市販栽培を認可した。開発者は国際的大企業グループではなく、アイダホ州にあるバレイショ専門会社 Simplot 社であった。Simplot 社は2001年以降の独自のバイテク計画の一環として、バレイショのポリフェノール酸化酵素（PPO）に着目し、専ら塊茎に発現する PPO アイソフォーム *ppo5* を標的に RNAi によるサイレンシングにより抑制し、褐変を減少させた。この結果は収穫から調理まで長い過程に関与する多数の人々の悩みを軽減するものであり、4億ポンドのロスを解消するとの試算もある。同様な PPO サイレンシングによる無褐変リンゴがカナダで開発され、USDA の認可待ちである。これらの成果に注目して、研究者たちは同様な酵素的に褐変を有するレタス・サクランボ・アボカド・バナナなどへの同手法の応用を検討している。本バレイショは品質に加えて環境面でも優れた特性を有する。学者は「このバレイショは侵入性・雑草性を有さず、また他のバレイショへの遺伝子伝播もない」と述べている。しかし、依然として反 GM 派はクレームをつけ、「病害抵抗性に関与するアスパラギンに対するサイレンシング影響」に言及している。同社はすでに実施した病害研究で十分対応できるとしている。Simplot 社の当面の目標は fresh cut などの新鮮食品市場であり、ファストフード等の外食産業への参入は将来目標としている。Innate バレイショは現在、FDA の確認待ちであり、2015年4月の試験的上市を目指している。これとは別に Simplot 社は、冷凍保存・疫病抵抗性バレイショの開発を推進中である。

殺虫性二本鎖 RNA 発現 GM トウモロコシの圃場試験に基づく非標的節足動物に対する環境リスク評価データのトランスポートビリティー

Transportable data from non-target arthropod field studies for the environmental risk assessment of genetically modified maize expressing an insecticidal double-stranded RNA

Ahmad A *et al.*

Transgenic Research 25: 1-17, 2015

モンサント社（米国・アルゼンチン・ブラジル）研究グループによる原著論文である。

著者らはコーンルートワーム（*Diabrotica* spp.）への抵抗性を目的とした新たな害虫抵抗性遺伝子である、殺虫性二本鎖 RNA について、米国、アルゼンチン、ブラジルの計14地点での圃場試験に基づく非標的節足動物に対する環境リスク評価を調査した。

- (1) 供試組換えトウモロコシ：殺虫性二本鎖 RNA 転写産物 *Snf7*、*Bt* タンパク質 Cry3Bb 1、除草剤グリホサート耐性 *cp4 epsps* 遺伝子を含む害虫抵抗性除草剤耐性トウモロコシ MON87411系統。
- (2) 試験地：米国 4 地点（2012）、アルゼンチン 4 地点（2012-13）、ブラジル 6 地点（2013-14）
- (3) 非標的節足動物の個体数：プロットあたり 1 個体以上いることなどの最低基準を満たした代表20種を調査対象として選定した。試験地により調査対象種の数異なるが 3 地域・14地点において、のべ128種について統計解析を行った。128種のうち、123種において、組換え系統 MON87411栽培区と対照区との間には有意差はなかった。
- (4) 共通的代表 9 種の特定：前記（3）の代表20種のうち、アブラムシ、捕食性ハサミムシ、クサカゲロウ、テントウムシ、ヨコバイ類、ハナカメムシ、寄生蜂、ケシキスイ（吸汁甲虫）、クモの 9 種は、3 地域中少なくとも 2 地域において、各地域内の少なくとも 4 地点で共通的存在し、個体数には有意差がなかった。これら 9 種は、トウモロコシ圃場生態系の草食性・寄生性・捕食性に関する代表種として特定された。
- (5) 非標的節足動物による食害：米国では 2 種、アルゼンチン・ブラジルでは 3 種によるトウモロコシ生育中～後期の食害には、MON87411と対照との間には56例中53例において有意差がなかった。
- (6) 代表種とデータトランスポートビリティー：（3）で特定された 9 種は、広域において分布し、トウモロコシ圃場生態系の草食性・寄生性・捕食性の役割を果たすことから、トウモロコシの環境リスク評価における代表種として適格であると判断される。同時に一地点から assessment end point が類似する他地点へのデータとして利用することが可能と考えられる。これにより不必要な追加テストの省略・コスト・時間の削減が期待される。
- (7) 総括：MON87411トウモロコシの、非標的節足動物に対する相対的安全性が確立された。同時に代表虫類 9 種の特定及び地点間のデータトランスポートビリティーの根拠が示された。
（注：環境リスク評価におけるデータのトランスポートビリティーの一環として影響力を有する論文であると考えられる）。

テッポウユリ品種 Nellie White におけるシスタチン遺伝子発現による根を食害する線虫抵抗性の獲得

Expression of a cystatin transgene can confer resistance to root lesion nematodes in *Lilium longiflorum* cv. 'Nellie White'

Vieira P *et al.*

Transgenic Research 24 : 421-432, 2015

米国農務省及び大学の研究グループによる原著論文である。植物寄生線虫は農業収益減少の第3要因である。特に、ネグサレセンチュウ (root lesion nematodes、学名 *Pratylenchus penetrans*) は主要農作物 (トウモロコシ・コムギ・イネ・マメ類・バレイショ・サトウキビ・ワタ・アーモンド・クルミ・ユリ・バラ) を含む400種以上の植物に寄生し、被害を及ぼす。ネグサレセンチュウ抵抗性の慣行育種には限界があり、農薬散布による防除は環境汚染を生ずる。著者らはバイオテクによるネグサレセンチュウ抵抗性テッポウユリの作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) 組換え材料及び組換えユリの作出：ネグサレセンチュウ抵抗性遺伝子 *Oc-I Δ D86* (ジャボニカイネ由来のシスタチンの86番目のアスパラギン残基を欠失させた改変型シスタチンをコードする遺伝子) を、アグロバクテリウム法でダイズ毛状根 (モデルテスト用) 及びテッポウユリ品種 Nellie White にパーティクルボンバードメント法で導入した。
- (2) *Oc-I Δ D86* 導入によるネグサレセンチュウ抵抗性試験：
 - 1) 組換えダイズ毛状根：形質転換が困難なユリに先行して、*Oc-I Δ D86* 遺伝子によるネグサレセンチュウ抵抗性の早期検定用モデルテストとして実施された。作出した組換え毛状根7系統全てで、非組換え対照に比べてネグサレセンチュウ数が有意に減少し、3系統で50%以上の減少、他4系統も40%~27%の減少を示した。
 - 2) 組換えテッポウユリ：組換え5系統中4系統は、対照に比べてネグサレセンチュウ数が75~50%減少した。これらの高いネグサレセンチュウ抵抗性は世代を通じて安定して伝達され、キメラ現象もなく、形態的異状もなかった。また、根及び植物体の生育量も対照より増加した。*Oc-I Δ D86* 発現によるネグサレセンチュウ抵抗性獲得はタバコでも報告されており、加えて地上部及び土壤生物系 (含非標的センチュウ) への悪影響がないことが示されている。
- (3) 総括：*Oc-I Δ D86* 導入によるネグサレセンチュウ抵抗性テッポウユリの作出が確認された。今後、同様な手法の他の観賞用植物への応用も可能と考えられる。

FASCIATED EAR3を介したトウモロコシの器官原基からのシグナル伝達が幹細胞の増殖と収量形質を調節する

Signaling from maize organ primordia via FASCIATED EAR3 regulates stem cell proliferation and yield traits

Je Bl *et al.*

Nature genetics 48: 785-791, 2016

米国コールド・スプリング・ハーバー研究所、マサチューセッツ大学、デュポンパイオニア、英国ケンブリッジ大学による原著論文。植物の茎頂分裂組織は、形成中心で発現する転写因子 WUSCHEL と幹細胞で発現する分泌性シグナル分子である CLE ペプチドの前駆体 CLAVATA のフィードバックループにより維持される。転写因子 WUSCHEL は隣接した領域での幹細胞の形成を転写活性化により直接的に促進する。一方、CLAVATA は下流のシグナル伝達を介して、形成中心の細胞数を抑制する仮説がたてられていたが、その実態は明らかにされていなかった。CLE ペプチドの受容体としては、ロイシンリッチリピート (LRR) 型受容体が知られるが、著者らは、トウモロコシの雌穂に奇形 (帯化) を生じる変異体 (*fasciated ear3; fea3*) の原因遺伝子が LRR 型受容体をコードすることを明らかとし、さらにこの遺伝子がトウモロコシ収量性改良に利用できる可能性を報告した。

- (1) *fea3*変異体の表現型：*fea3*変異体の SAM は野生型と比べて有意に大きい ($p < 0.001$)。雄花は野生型と比べて太い。雌穂は粒列数は野生型と比べて多いが、粒列が不規則で穂長が短く、奇形である。
- (2) *fea3*変異体の原因遺伝子の単離と発現：マーカー解析により特定された第3染色体の *fea3* アリルには約20遺伝子が座乗していた。このうちの1遺伝子が LRR 様タンパク質をコードしており、シーケンス解析の結果、第2エクソン (LRR ドメイン内) にレトロトランスポゾン断片の挿入により終止コドンの出現が確認されたことから原因遺伝子と断定し、*FEA3* 遺伝子とした。*FEA3* 遺伝子はシグナル配列、12回の LRR、膜貫通ドメインから成る LRR 型受容体をコードする。*FEA3* 遺伝子プロモーター配列に *FEA3* 遺伝子と赤色蛍光タンパク質 (RFP) 遺伝子の融合遺伝子のトウモロコシへの導入によるレポーター解析の結果、形成中心特異的に赤色蛍光が観察され、FEA 3 タンパク質が形成中心で発現することが示唆された。
- (3) FEA 3 に結合する CLE ペプチドの同定：*fea3*変異体及び野生型トウモロコシの茎頂に4種類の CLE タンパク質を投与したところ、*fea3*変異体は ZmFCP 1 ペプチドにのみ感受を示さなかった。この結果から、FEA 3 のリガンドとして ZmFCP 1 ペプチドが推定された。ZmFCP 1 は比較的最近発見された CLE ペプチドでこれまで対応する受容体の報告はなかった。
- (4) 弱い *fea3*変異アリルによる収量改善：SAM 拡大及びこれに伴う雌穂の粒列数の増加からはトウモロコシの収量増加が期待される。これまでの *fea3*変異体 (*fea3-0*) はナンセンス変異

で、非常に大きな影響を茎頂分裂組織に及ぼし、茎頂分裂組織の巨大化とそれに伴い雌穂粒列数は増加するが、雌穂全体の発達は阻害され収量は減少した。そこで、LRR ドメインの C 末近傍あるいは LRR と膜貫通ドメインの間の 1 アミノ酸が置換した新たな変異体 *fea3-2*、*fea3-3*を得た。*fea3-2*及び *fea3-3*変異体の雌穂の表現型は、粒列数で1.28及び1.31倍、1穂あたりの粒数で1.56及び1.29倍、雌穂重で1.50及び1.15倍と、収量形質に野生型と比較して有意な増加が示された。

- (5) 結論：今回、形成中心で CLE シグナルを受容する LRR 型受容体 FEA 3 が同定され、幹細胞ニッチ（形成中心）に対する負のフィードバック調節の実例を示した。さらに、弱い *fea3* 変異アリルがトウモロコシの収量形質を増強することを示すことにより、この新しいシグナル伝達フィードバックの育種への応用を実証した。今後の育種研究の展開が期待される。

ERA プロジェクト調査報告

2016年11月 印刷発行

特定非営利活動法人
国際生命科学研究機構 (ILSI JAPAN)

理事長 安川拓次

〒102-0083東京都千代田区麹町3-5-19

にしかわビル5F

TEL 03-5215-3535

FAX 03-5215-3537

[http:// www.ilsijapan.org](http://www.ilsijapan.org)