

---

# ERAプロジェクト調査報告

---

February 2020

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

2020.02

バイオテクノロジー研究会

2020年の調査報告書第1号（通算48号）をお届けします。

本号では、遺伝子組換え技術を用いた研究のうち、収量、品質低下、防除費の増大をもたらすさび病やすす紋病への抵抗性遺伝子組換えトウモロコシの作出（No.474）、干ばつ・高温耐性向上のために CRISPER-Cas9でゲノム編集したトウモロコシ（SDN-3）や遺伝子組換えしたバレイショ（No.471、472）に関する研究を紹介します。

また、アフリカ向けの窒素利用効率の高い遺伝子組換えイネ系統の開発（No.476）や点突然変異による雄性不稔トウモロコシ系統の作出とその窒素利用効率の向上に関する研究（No.477）を紹介します。

さらに、遺伝子組換え作物の評価に関する基礎的な知見として、害虫抵抗性 *Bt* 遺伝子組換えイネが非標的節足動物に対する影響について網羅的に解析した研究（No.473）、遺伝子組換えトウモロコシの環境リスク評価データにおける可搬性の有効性に関する研究（No.478）、RNAi 手法による超低ゴシポール含有遺伝子組換えワタの害虫抵抗性に関する研究（No.479）を紹介します。

その他、食用の遺伝子組換えワタが米国で最初に承認された事例（No.475）、ゲノム編集技術の急発展に対応した科学者達による国際的団体の発足、ヒトゲノム編集に対する倫理・道德面に関する討議（No.470）について紹介します。

なお、これまでに調査報告書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.470	CRISPR-Cas 急発展を受け、科学者組織がゲノム編集技術の監視を呼びかける As CRISPR-Cas adoption soars, summit calls for genome editing oversight	1
No.471	CRISPR-Cas9法による ARGOS8の改変によるトウモロコシの干ばつ圃場における収量の改善 ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions	2
No.472	<i>HSc70</i> アレルの温度対応発現に基づくバレイショの熱（中高温）耐性の遺伝的操作 Engineering heat tolerance in potato by temperature-dependent expression of a specific allele of <i>HEAT-SHOCK COGNATE 70</i>	3
No.473	<i>Bt</i> イネは非標的節足動物にリスクを与えるか？中国における網羅的解析の結果 Does <i>Bt</i> rice pose risks to non-target arthropods? Results of a meta-analysis in China	4
No.474	持久型病害抵抗性遺伝子 <i>Lr34</i> によるさび病及びすす紋病抵抗性トウモロコシの作出 The durable wheat disease resistance gene <i>Lr34</i> confers common rust and northern corn leaf blight resistance in maize	5
No.475	最初の食用ワタ種子の承認 First edible cotton seed go-ahead	6
No.476	アフリカ向けの窒素利用効率向上イネ系統の開発及び圃場収量性能 Development and field performance of nitrogen use efficient rice lines for Africa	7
No.477	トウモロコシ <i>Ms44</i> 遺伝子における点突然変異による優性雄性不稔の作出と窒素利用効率の向上 A single point mutation in <i>Ms44</i> results in dominant male sterility and improves nitrogen use efficiency in maize	8
No.478	多様な地域での単一イベント及びスタックイベント遺伝子組換えトウモロコシの農業形質に基づいたリスク評価の一貫性のある結論 Consistent Risk Assessment Outcomes from Agronomic Characterization of GE Maize in Diverse Regions and as Single-Event and Stacked Products	9
No.479	RNAi 手法による超低ゴシポール含有ワタにおける構成的および誘導的害虫抵抗性の検証 Constitutive and induced insect resistance in RNAi-mediated ultra-low gossypol cottonseed cotton	10

No.470

## **As CRISPR-Cas adoption soars, summit calls for genome editing oversight**

**CRISPR-Cas 急発展を受け、科学者組織が  
ゲノム編集技術の監視を呼びかける**

Smalley E

2018

Nature Biotechnology 36: 485

ネイチャーバイテク誌報道員による短報である。ゲノム編集技術の急発展に対応して、国際的協議・検討組織が発足している。2018年3月23日に、欧州バイテク研究者グループ・パリ会合は、「ゲノム編集の研究・創造責任遂行連合（ARRIGE）を発足させた。その2日前には、ネイチャー誌は、科学・技術・社会研究者の呼びかけに基づいて、「世界ゲノム編集観測所（global gene editing observatory）」の設立の提唱を出版した。これらの先導的活動は、研究者集団がどのようにゲノム編集に関する議論へ関与し、議論の先導を行うかを問うものである。これに先行して2015年12月には、米国科学アカデミー、英国王室アカデミー、中国科学アカデミーより「ヒトゲノム編集国際サミット」が召集され、人類ゲノム編集の倫理に関する討議がなされた。同サミット事務局が会合後に発表した基本方針証明では、人間の胚改変試験の直接的非難は行っておらず、安全性・倫理性に関する議論の深化及びゲノム編集に関する規制の調和への努力を強調している。これまでの活動は対象が限定的で広い範囲を含んでいないという批判がある。科学者は遺伝資源の編集あるいは人間医療への適用に関心が強く、微生物・家畜への関心は不十分である。さらにより広い範囲（一般人・患者・非政府及び政府機関・資金提供者・関連会社など）の人々並びにより広い地域（アフリカ・東南アジア・中南米など）からの討議への参画が必要とされている。さらに倫理・道徳面からの討議も必要である。

総括：2015年の「ヒトゲノム編集国際サミット」に引続いて、ゲノム編集に関する二つの国際的組織（ARRIGE 及び global observatory）が組織化され、活動を開始している。しかし対象が当面の事項が多く、課題、人選、地域の拡大によるより広範囲からの討議参画が要望されている。

（林 健一）

## ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions

### CRISPR-Cas9法による ARGOS8の改変による トウモロコシの干ばつ圃場における収量の改善

Shi J *et al.*  
2017

Plant Biotechnology Journal 15: 207-216

米国デュポン・パイオニア社研究者による原著論文である。既往研究により植物ホルモンであるエチレンは、干ばつ・高温などの非生物的ストレスに対する植物の反応を制御する上で重要な役割を果たすことが知られている。また、エチレン生合成を制御されたトウモロコシは、干ばつ圃場での子実収量が相対的に増加すると報告されている。ARGOS8遺伝子は、エチレン反応に対する負のフィードバック制御遺伝子（発現増加によりエチレン合成が減少する）である。これに基づく既往のトウモロコシの干ばつ耐性育種には限界があった。著者らは CRISPR-Cas9手法により ARGOS8 遺伝子をエチレンによらず構成的に発現する形質転換体を作成し、以下の結果を得た。

- (1) ARGOS8構成的発現植物の作出：トウモロコシ野生型近交系品種 PH184C 及び B73の ARGOS8 遺伝子座に対し、CRISPR-Cas9法を適用し、①内生プロモーターと5' -非翻訳領域の間に GOS2プロモーターを挿入形質転換体、②内生プロモーターと GOS2プロモーターを置換した形質転換体を作成し、それぞれ、ARGOS8-v1及び ARGOS8-v2とした。なお GOS2プロモーターは、中程度の構成的発現（moderate level of constitutive expression）を誘導する。
- (2) 変異体の性状：生育は正常であり表現型は対照と差はなかった。ARGOS8-v1及び ARGOS8-v2の葉における ARGOS8遺伝子の発現量はそれぞれのヘテロ接合体とホモ接合体の間で約2倍の違いがあった。
- (3) 収量試験：全米8ヶ所で収量試験を行った。非干ばつ地の4ヶ所では、子実収量は対照と差がなく、約13トン/haであった。また成熟期の干ばつ被害地（2ヶ所）でも収量差はなかった。しかし、開花期干ばつ被害の2ヶ所での収量は、変異系統で8.67トン/ha、対照で8.34トン/haとなり、過剰発現体で有意に増収となった。
- (4) 総括：CRISPR-Cas9手法（SDN-3）により ARGOS8の中庸な過剰発現体を作成された。トウモロコシ ARGOS8形質転換体は、干ばつ圃場試験において対照より有意に高い子実収量を与えた。これは、干ばつ抵抗性トウモロコシ育種への CRISPR-Cas9手法の適用に関する基礎資料となると考えられる。

(林 健一)

## Engineering heat tolerance in potato by temperature-dependent expression of a specific allele of *HEAT-SHOCK COGNATE 70*

### *HSc70*アレルの温度対応発現に基づくバレイショの熱（中高温）耐性の遺伝的操作

Trapero-Mozos A *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal. 16 : 197-207

英国の大学・研究所の研究者による原著論文である。バレイショはイネ・コムギに次ぐ3番目の主食作物であり、14~22℃を生育適温とするが、高温、とくに成熟期、により品質・収量が激減する。著者らはQTL（量的形質遺伝子座）解析により中高温耐性遺伝子の特定を試み、以下の結果を得た。

- (1) 交配集団：二倍体 *Solanum phureja* 及び *S. tuberosum* の交雑二倍体クローン系統 HB171 (13) 及び 99FT1b5を交雑親とする分離集団06H1を用いた。
- (2) 塊茎収量の QTL 解析：交雑二倍体集団06H1の188遺伝子型を22℃及び28℃で栽培し、塊茎収量を調査した。約8000の SNP マーカーによる収量の QTL 解析の結果、連鎖グループ1、4、9 から QTL の存在が見いだされた。
- (3) 塊茎収量遺伝子 *HSc70* の特定：連鎖グループ4からさらに原因遺伝子の絞り込んだところ、収量と強く相関する *Hsc70* が同定された。
- (4) *HSc70* の多型：06H1集団の170遺伝型について、*HSc70* 座の多型を PCR 解析により調査したところ、4つのアレル (A1、A2、A3、A4) が特定され、A2アレルを含む遺伝子型では、A2を含まない遺伝子型よりも20℃及び28℃で塊茎新鮮重及び乾物重がいずれも有意に高かった。A1・A2及びA3・A4は、それぞれ06H1分離集団の片親である HB171 (13) 及び99FT1b5に由来する。
- (5) 一過的発現による耐熱性の確認：ベンサミアナタバコの葉に、アグロインフィルトレーションにより A2 *HSc70* を一過的に発現させたところ、高温処理 (45℃12時間) による細胞障害の発生率が、対照の90% から60% に有意に改善した。
- (6) 配列比較：*HSc70* の4アレルのプロモーター配列を比較したところ、A2アレルでは翻訳開始点上流約500 bp の位置にある TA 繰り返し配列が他の3アレルよりも長かった。ベンサミアナタバコの一過的発現系で A2アレルの TA 繰り返しデリベーション実験を行ったところ、TA の繰り返しが長い (8回、10回) 場合でのみ、*HSc70* の高発現及び細胞障害の緩和がみられた。
- (7) A2 *HSc70* 導入組換えバレイショの作出：バレイショ栽培品種 Desiree に A2型の *Hsc70* を導入した形質転換体を作成した。形質転換体の葉における *Hsc70* の発現量は、22℃一定の条件では対照と有意差がなかったが、28℃や40℃の中高温処理で有意な発現誘導を示す系統が確認された。非組換え体は40℃処理により細胞障害を示すが、熱依存的発現誘導を示す系統では細胞障害の緩和が観察された。
- (8) A2 *HSc70* 導入組換えバレイショの塊茎収量試験：A2 *HSc70* 導入組換えバレイショの塊茎収量は22℃では非組換え体と比べて違いはないが、28℃では非組換え体と比べて塊茎収量が増加した。
- (9) 総括：交雑二倍体バレイショ集団に QTL 解析を適用し、高温耐性に関わる新たな QTL として *HSc70* の存在を確認した。*HSc70* の高温耐性アレルである A2 *HSc70* は、中高温 (28℃) で対照より有意に高く発現し、中高温下での塊茎収量低下を緩和した。以上から *Hsc70* の耐熱 (中高温) 性バレイショ育種への利用が期待される。

(林 健一)

No.473

## Does *Bt* rice pose risks to non-target arthropods? Results of a meta-analysis in China

*Bt* イネは非標的節足動物にリスクを与えるか？  
中国における網羅的解析の結果

Dang C *et al.*  
2017

Plant Biotechnology Journal. 15 : 1047-1053

中国の国研・米国 USDA の研究者による総括文献である。イネは世界第1の主食作物であり、中国の *Bt* イネは1989年以来 Cry1A、Cry1C、Cry2A、Cry1Ab/Vip3H などが作出され、ニカメイガ、コブノメイガ、その他のチョウ目害虫の防除に効果的であることが示されている。しかし、その非標的生物に対する影響については変動があった。著者らは中国における *Bt* イネの非標的生物に対する影響について研究室試験40文献282調査、圃場試験27文献585調査について網羅的解析を行い、以下の結果を得た。

- (1) 研究室試験：生態的機能を有する生物集団の生存・発育に及ぼす顕著な影響は認められなかった。同様に捕食生物・寄生生物・腐食性生物の繁殖には対照との差はなかった。草食生物は産卵数の減少から集団が縮小した。*Bt* イネ上のチョウ目を餌とした捕食生物の一部は発育が少し抑制されるが、大部分は影響されなかった。
- (2) 圃場試験：アザミウマを含む草食生物の生存数は対照より有意に減少した。捕食生物の3主要目一クモ目、カメムシ目、甲虫目一には対照と有意差がなかった。生物寄生生物・非生物寄生生物の生存数の増減は微少であった。
- (3) 総括：中国における *Bt* イネが、その上に生存する機能的節足動物に及ぼす影響について広範囲な室内及び圃場試験文献に基づいて、網羅的解析が行われた。室内試験は圃場試験より変動が少なく、一貫した信頼性の高い結果を示した。以上を総括して、*Bt* イネの非標的生物に対する影響は無視できる程度の軽微であると総括された。

(林 健一)

## The durable wheat disease resistance gene *Lr34* confers common rust and northern corn leaf blight resistance in maize

持久型病害抵抗性遺伝子 *Lr34*によるさび病及びすす紋病抵抗性トウモロコシの作出

Sucher J *et al.*

2017

Plant Biotechnology Journal. 15 : 489-496

スイス・フランス・ドイツの大学・研究所の研究者による原著論文である。トウモロコシの菌類病は、収量・品質の低下、防除費の増大など大損害を与える。単独主働遺伝子による抵抗性は、耐性菌類の出現により崩壊する例が多い。これに対し複数の部分的抵抗性遺伝子の集合体は持久的抵抗性を与えることが既にコムギなどで示されている。コムギ遺伝子 *Lr34*はコムギの多系菌類病に対する持久的・部分的圃場抵抗性を有する。著者らはこの多系抵抗性のトウモロコシへの導入を試み、以下の結果を得た。

- (1) 組換えトウモロコシの作出：交雑種 Hi-II にアグロバクテリウム法により *Lr34res* (抵抗性アレル) を導入し、最終的に安定的 T<sub>2</sub>3イベント-161、163、164を選出した。
- (2) 病原性解析：1) 生物寄生菌：さび病：3 イベントとも対照と比べて顕著に強い抵抗性を示し、特に163及び164は接種後12日でも肉眼で見える病徴を示さなかった。161では極小の胞子錐が観察された。病菌細胞壁成分であるキチン含量 ( $\mu\text{g/g}$  新鮮重) は161 : 0.93 ; 163 : 0.10 ; 164 : 0.089、対照は2.67~3.41 ; 3 イベントは対照より有意に低かった。2) 半生物寄生菌：すす紋病：接種後10日では3 イベントには識別可能病徴はなかったが、対照は明瞭な病徴を示した。14日後の病徴発現は、3 イベントが対照より軽微であった。接種13日後の病斑面積 (比数) は、対照の500以上に対し、3 イベントは200~300と有意に低かった。
- (3) 葉先端壊死 (Leaf Top Necrosis : LTN) の発現と正常生育：接種後6週間には3 イベントとも軽度のLTNを発現した。しかし、草丈と地上部新鮮重は、対照と有意差はなかった (ガラス室試験)、この正常生育は圃場試験での再確認が必要である。
- (4) 総括：コムギ由来の持久的多系抵抗性遺伝子 (*Lr34res*) の導入により、さび病及びすす紋病抵抗性トウモロコシが作出された。本手法の有効な適用範囲についてのデータの蓄積が重要と考えられる。

(林 健一)

## First edible cotton seed go-ahead

### 最初の食用ワタ種子の承認

Waltz E

2018

Nature Biotechnology Vol.36 No.12:1126

ネイチャーバイテク誌の報道員による短報である。

- (1) 食用種子生産組換えワタの承認：米国規制機関は2018年10月に食用向種子を生産する組換えワタ植物を承認した。
- (2) ワタ植物の天然毒素：ワタは植物体内に天然毒素であるゴシポール (gossypol) を作出する。ゴシポールは昆虫類に有害であり、害虫に対する天然防除機能を有する。本毒素は人間及びほとんどの単胃動物—ブタ・鳥・魚・ネズミー—にも有害である。
- (3) 組換えワタの作出：テキサス A&M 大学の研究者は、種子のゴシポール生合成の鍵酵素である  $\delta$ -カジネン合成酵素遺伝子を RNAi により不活性化し、毒性を97%低下 (残存3%) した種子を結実する組換えワタ植物を作出した。この残留毒素濃度は300ppm であり、FDA の安全閾値以下であった。種子以外のゴシポール濃度には変化がなく、害虫天然防除機能を維持していた。
- (4) 食用ワタ種子の利用：市場化により生産者などに利益を与え、また食品化により人間及び家畜への新しいタンパク質供給源となると考えられる。
- (5) 規制関連事項：本組換えワタ植物は USDA が植物病虫害 (plant pest) とみなすアグロバクテリウム法により作出を経て承認されたものであり、規制監督制度の対象となっている。USDA は本年8月に  $\omega$ -3 脂肪酸を増加した組換えナタネ植物を同様に承認している。

(林 健一)

## Development and field performance of nitrogen use efficient rice lines for Africa

### アフリカ向けの窒素利用効率向上イネ系統の開発及び圃場収量性能

Selvaraj MG *et al.*

2017

Plant Biotechnology Journal. 15 : 775-787

熱帯農業国際センター (CIAT、在コロンビア)・コロンビア大学・東京大学・米国研究所の研究者による原著論文である。FAO 予測では2035年までに26%のコメ増産が必要とされている。サブサハラアフリカの年間コメ生産量及び輸入量はそれぞれ約1200万トン (5500億円) である。同地域のコメ生産の最大限定要因は窒素供給量であり、低濃度窒素条件下での窒素利用効率 (NUE) の高いイネ系統の作出が最重要課題となっている。著者らは組換え手法により NUE が向上したイネの作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) 組換えイネの作出：アフリカ向イネ品種 NERICA 4 (New Rice for Africa 4) に、NUE 向上の実績 (カノーラ・イネ) がある barley alanine amino transferase (*HvAlaAT*) をアグロバクテリウム法により独立した 6 系統の形質転換系統を作出し、以下の試験に供試した (NUE1~6 系統と呼称)。
- (2) 圃場栽培試験 1 回目 (2012)：1) 栽培条件：CIAT 水田に全 6 系統 (T<sub>3</sub>世代) を 3 段階の窒素施肥 (農業施用量 (180 kg/ha) と同量 (N100%)、半量 (N50%)、無 (N0%)；移植栽培。2) 結果：①子実収量 (g/株)：すべての区で窒素施用量の増大につれて増加した。N0%・N50%・N100%の収量は、NUE-2系統は16.51・32.87・40.92；非組換え対照系統は14.30・25.64・32.84；非組換え栽培品種は18.62・35.00・42.56であった。低窒素区 (N50%) で NUE-2系統は、非組換え対照系統の30%増、栽培品種にはほぼ匹敵する収量を示した。②茎数・穂数：子実収量と平行的な増加を示した。③その他：稈長・穂長・1000粒重・地上部バイオマス重量なども窒素の増肥により増加した。
- (3) 圃場栽培試験 2 回目 (2013)：1) 栽培条件：CIAT 水田移植試験、N3段階、NUE 組換え体 2 系統 (NUE-2及び NUE-6；T<sub>3</sub>世代) を供試した。2) 結果：①子実収量増加率 (%)：N50% 及び N100% 区の収量に対応する非組換え対照区の収量に対する増加率は、NUE-2が 29.5%・24.6%・NUE-6が 25.9%・14.2% であり、どちらも N50% 区 (低窒素条件) で最大の増加率を示した。
- (4) 圃場栽培試験 3 回目 (2013~2014)：1) 栽培条件：サンタローサ天水陸田直播試験、NUE-2 及び NUE-6 の 2 系統、窒素水準は N50% のみ。2) 結果：①子実収量：非組換え対照系統は水田条件の50%減の13 g に対し、NUE-2及び NUE-6は減収が少なく、非組換え対照系統の33.8%及び26.9%増を示し、これは主として穂数増によるものであった。
- (5) 水耕試験：NUE-2及び NUE-6を NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 50及び500 μm で水耕栽培した。43日後に NUE-6は両窒素濃度で非組換え対照系統より分枝根及び根乾物重が大であった。NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 50 μM 区で NUE-2は非組換え対照系統より分けつ数・茎及び根バイオマス量が大であった。同じ高 N 区で NUE-2及び NUE-6は非組換え対照系統に対し、全窒素量における窒素吸収効率の増加率は、54.2%及び77.6%であった。
- (6) 総括：*HvAlaAT* 遺伝子導入により 2 水田・1 天水陸田、3 作期において、N50% 区の子実収量及びバイオマスが非組換え対照系統より有意に高い。低窒素条件下で窒素利用効率が高い NERICA4 2 系統 (NUE-2及び NUE-6) が作出された。実際の低窒素稲作地域への適用の可能性が考えられる。

(林 健一)

## A single point mutation in *Ms44* results in dominant male sterility and improves nitrogen use efficiency in maize

### トウモロコシ *Ms44* 遺伝子における点突然変異による 優性雄性不稔の作出と窒素利用効率の向上

Fox T *et al.*

2017

Plant Biotechnology Journal 15: 942-952

デュポン・パイオニア社（米国）の研究者による原著論文である。トウモロコシは雌雄同株であり、完全な交雑種子を得るためには、同じ株の雄穂を除去あるいは抑制する必要がある。従来、雄穂の機械的除去、細胞質雄性不稔、雄穂薬剤処理などが用いられてきたが、労力・経費を要し、なお不完全であった。一方、トウモロコシ増収のための窒素肥料の利用効率は投入量の1/3であり、残りの2/3は吸収されずに環境へ排出され、汚染の原因となっており、窒素利用効率の向上が重要課題となっている。生殖生長初期のトウモロコシは雄穂先熟であり、雄穂は雌穂より優先的に栄養分を吸収して生育・充実が雌穂より先行している。著者らは、雄性不稔変異トウモロコシにおいて、各種窒素施肥条件における収量を調査し、以下の結果を得た。

- (1) *Ms44* 遺伝子の特定：*Ms44* は薬特異的遺伝子である。脂質輸送タンパク質をコードし、タペート組織特異的に発現することにより雄穂先熟が維持されている。
- (2) *Ms44* 突然変異系統：雄性不稔を示す *Ms44* 突然変異系統では、*Ms44* 遺伝子の点突然変異により、1 アミノ酸残基置換される。この1 アミノ酸置換により、*Ms44* タンパク質のプロセッシングが無効となり、タペート細胞から葯室へのタンパク質の分泌が阻害され、葯の生育が停止し、優性雄性不稔が作出される。この突然変異表現型を通常の inbred へのアグロバクテリウム法で導入し、優性雄性不稔 inbred が作出された。
- (3) *Ms44* 突然変異系統の生長特性：成熟前半の  $V_9 \sim V_{17}$  期に *Ms44* 変異系統では WT に比べて多くの窒素が雄穂から雌穂へ移動した。 $V_{17}$  期では、雄穂のバイオマスは64.7%減少し、逆に雌穂のバイオマスは24.6%増加した。この結果 *Ms44* 変異系統は WT より一穂当たり粒数が、9.6% (35粒/穂) 増加した。
- (4) *Ms44* 変異系統の収量検定：*Ms44* 変異系統にアスター系統を授粉して交雑種子を作出し、複数ヶ所の圃場試験により収量性を調査した。
  - 1) 低窒素条件下の収量性：低窒素 (-30%) 条件下では *Ms44* 変異系統は WT に対し3.3~5.7%、平均4% (352kg/ha) の収量増を示した。極低窒素 (-50%) 条件下では6.7~10.0%、平均8.5% (579kg/ha) の収量増を示した。以上から低窒素条件の WT に対する相対的収量増が確認された。
  - 2) 干ばつ耐性検定：適正水分条件下では *Ms44* 変異系統は WT に対し0.9% (126 kg/ha) の増収を示した。開花期干ばつ区では収量差は少なかった。種子充実期の干ばつでは、WT に対し1.6% (126 kg/ha) の有意な増収を示し、干ばつ耐性の向上を示した。
- (5) *Ms44* (雄性不稔) の維持系統：人工的 miRNA による雄性不稔回復系統を作出し、維持系統とした。
- (6) 総括：著者らは「トウモロコシに雄性不稔を発生させることにより雄穂優先先熟性を減少させ、開花期により大型・充実した雌穂の発達を促進し、ストレス条件下の種子収量を増加させる」との仮説を設定し、これに基づき葯内タペータムにおけるアミノ酸の点突然変異を利用して、完全な優性雄性不稔系統 (*Ms44* 突然変異系統) を作出し、仮説を実証した。本系統は他法に比べて、一穂種子数増加、実施の簡易・完全性、多様な inbred との交雑による優良交雑種の作出などの利点を有し、さらに低窒素・干ばつ害などのストレス条件下でも WT に対する相対的収量増を示した。ストレスが日常的であるアフリカ地域などへの適用の可能性が期待される。

(林 健一)

## Consistent Risk Assessment Outcomes from Agronomic Characterization of GE Maize in Diverse Regions and as Single-Event and Stacked Products

多様な地域での単一イベント及びスタックイベント遺伝子組換えトウモロコシの農業形質に基づいたリスク評価の一貫性のある結論

Clawson EL *et al.*

2019

Crop Science 59: 1681-1691

バイエルクロップサイエンス社による研究報文。遺伝子組み換え作物の環境リスク評価のためのほ場試験は、承認を受ける国ごとに各国で実施が要求され、また要求される調査項目もばらばらである。著者は、米国、アルゼンチン、ブラジル、メキシコ、パキスタンで組換えトウモロコシをほ場栽培試験により得た農業形質特性値の比較を基に、筆者らの主張する環境リスク評価データの可搬性の有効性を主張した。

- 1) 栽培試験地：2004～2014年にかけて、アルゼンチン、ブラジル、メキシコ、パキスタン及び米国の計104サイトで実施。
- 2) 植物材料：害虫抵抗性 MON89034 イベント、除草剤耐性 NK603 イベント及びその交雑スタックイベント MON89034xNK603。これらの組換えイベントを、22の異なる遺伝型背景で評価。
- 3) 評価した農業形質：初期及び最終発芽数、穂長、植物高、開花期、耐倒伏性、穀粒水分等、25形質。
- 4) 統計解析：ほ場栽培試験によって得た観測値から、イベント間、地域間、試験間及びこれらの相互作用等を変量とした統計学的モデル（混合モデル；MIXED model）を構築し、それぞれの変量における変動の大きさを評価した。
- 5) 結果：地域及び試験間ではデータの変動が大きかったが、これは気候帯の違いに起因するものと考えられた。一方、イベント間及びイベントと地域の相互作用等での変動は1%未満であり、また、各組換え体の非組換え対照（準同質系統）との有意な違いもないと判断された。
- 6) 総括：各地域間で農業形質の変動は存在するものの、同一地域内における組換えイベント間の変動はないことから、ある地域で評価された組換え体と非組換え体間の評価データは、他の地域へ可搬性があることを支持する。評価データの可搬性は、地域（国）ごとで実施されている冗長なほ場試験に代わることができ、組換え作物の規制対応に係るコスト削減に寄与するであろう。

(小口 太一)

## Constitutive and induced insect resistance in RNAi-mediated ultra-low gossypol cottonseed cotton

### RNAi手法による超低ゴシポール含有ワタにおける構成的および誘導的害虫抵抗性の検証

Hagenbucher S *et al.*

2019

BMC Plant Biology 19: 322

スイスの公的研究機関及び米国大学の研究グループによる報文。ワタは繊維に加え、油分とタンパク質を多く含む綿実を生産するが、綿実には、ヒトや家畜に有害なテルペノイド化合物であるゴシポールを含む。そこで、RNAi手法によりゴシポール含有を極めて低濃度に改変した組換えワタが開発されているが、害虫抵抗性の低下が懸念されていた。そこで著者らは2系統の超低ゴシポール含有組換えワタ系統の害虫抵抗性の検証を行った。

- 1) 植物材料：RNAi手法により種子特異的に $\delta$ -カジネン合成酵素遺伝子をノックダウンした超低ゴシポール含有組換えワタ（66-49B系統及び66-274系統）、及び非組換えワタ（品種 Coker 312）。
- 2) 供試害虫：エジプトヨトウ（英語名 African cotton leafworm；学名 *Spodoptera littoralis*）
- 3) 子葉を用いた試験：発芽後10日目の実生の子葉を用い以下の実験を行った。
  - 1) テルペノイド含量：子葉に幼虫を投与し、開始直後及び4日目のテルペノイド含量を定量したところ、組換え2系統はいずれのステージでも非組換え系統より有意に低下していた。組換え2系統のテルペノイド含量は極低濃度であり、組換え2系統では、摂食直後で28.5%/20.0%、4日目で33.3%/38.9%が未検出であった。
  - 2) 給餌試験：組換え2系統及び非組換え対照系統の葉を幼虫に7日間給餌し、生育を比較した。給餌した3系統の間で7日間での生存率に違いはなかった。しかし、幼虫の体重は、組換え2系統で対象系統に対して有意に高い傾向が認められた。
- 4) 本葉を用いた試験：播種後4-5週間の成熟したワタから採取した本葉を用いて以下の試験を行った。
  - 1) テルペノイド含量：未処理の葉におけるゴシポール濃度は、組換え1系統で他2系統（組換え体他1系統及び非組換え系統）より有意に低濃度であった。害虫摂食後のゴシポール濃度は5倍以上に増加するが、組換え1系統のみ低濃度の傾向は変わらなかった。 $\delta$ -カジネン合成酵素下流のゴシポール以外の化合物の濃度の高低もゴシポールと同様の関係であった。
  - 2) 給餌試験：無傷の各組換え系統と非組換え系統の葉を給餌した幼虫の成長に有意な違いはなかった。また、いずれの植物においても摂食によりテルペノイド産生の誘導がかかるため、誘導前後の葉では、幼虫の成長に違いを与えるものの誘導後の各組換え系統と非組換え系統の間には有意な違いはない。
- 5) 結論：成熟した植物においては、超低ゴシポール組換えワタと非組換えワタの間で害虫（エジプトヨトウ）幼虫の成長に与える影響はないと判断された。この結果は、超低ゴシポール含有組換えワタが従来ワタ品種の食料・飼料用として安全性の高い代替品となりうることを支持する。（一方で、組換え—非組換え系統間でのゴシポール濃度の差が成熟植物よりも大きい実生段階では、害虫に対して弱い可能性も示唆されている。）

（小口 太一）

# ERA プロジェクト調査報告

2020年2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)

会 長 宮澤陽夫

理事長 安川拓次

〒102-0083東京都千代田区麴町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)