
ERAプロジェクト調査報告

April 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

2020.04

バイオテクノロジー研究会

2020年の調査報告書第2号（通算第49号）をお届けします。

本号では、まず遺伝子組換え技術を用いた研究として、トウモロコシ収量の増大を目的としてトウモロコシ内在性遺伝子の突然変異型遺伝子の導入を試みた事例（No.480）、グリホサート耐性キャッサバの作出事例（No.481）、イネツングロ病の抵抗性を向上させたイネの作出を試みた事例（No.482）、干ばつ・霜害耐性を向上させた組換えコムギの作出を試みた事例（No.484）、コムギにおいてウドンコ病の抵抗性向上を試みた事例（No.486）、ナタネ油の増産を目的とし、種子重量及び器官サイズの増大を試みた遺伝子組み換えセイヨウナタネの事例（No.487）、加えて、No.488では対流圏オゾン層に有害なイソプレン合成遺伝子の発現抑制を試みたポプラの事例についても紹介しています。また、No.483ではコウチュウ目に対する新規抵抗性タンパク質 PIP-47Aa が作出され、その特性が詳述されており、新規の殺虫成分として今後の適用の拡大が期待されます。

また、ゲノム編集技術については、CRISPR/Cas9を用いてトマト野生種で新たに栽培に適した特性の達成を試みた事例が報告されています（No.485）。

そして、No.488では、カルタヘナ法に基づくわが国のゲノム編集生物規制の状況について紹介されています。この報告では、世界における現在の規制状況の紹介とともに、我が国での規制状況、またそれに至った経緯についても解説されていますのでご一読ください。

なお、これまでに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.480 | 変異型 <i>ZmDA1</i> または <i>ZmDAR1</i> 遺伝子の過剰発現に基づくトウモロコシのデンプン合成能力の増強による種子収量の向上 Over-expression of mutated <i>ZmDA1</i> or <i>ZmDAR1</i> gene improves maize kernel yield by enhancing starch synthesis | 1 |
| No.481 | EPSPS 座位におけるアレルの変化に基づくキャッサバのグリホサート耐性の強化 Allele exchange at the EPSPS locus confers glyphosate tolerance in cassava | 2 |
| No.482 | CRISPR/Cas9による新たな <i>eIF4G</i> 突然変異アレルに基づくイネツングロスフェリカルウイルス (RTSV) 抵抗性イネの作出 Novel alleles of rice <i>eIF4G</i> generated by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis confer resistance to <i>Rice tungro spherical virus</i> | 3 |
| No.483 | <i>Pseudomonas mosselii</i> からの新規選択的殺虫性タンパク質によるトウモロコシ root worm の制御 A selective insecticidal protein from <i>Pseudomonas mosselii</i> for corn rootworm control | 4 |
| No.484 | 転写因子 TaHDZipI-5の過剰発現により干ばつ及び霜害耐性が向上した組換えコムギ系統の作出 Overexpression of the class 1 homeodomain transcription factor TaHDZipI-5 increases drought and frost tolerance in transgenic wheat | 5 |
| No.485 | ゲノム編集手法の利用による野生トマトの革新的栽培化 <i>De novo</i> domestication of wild tomato using genome editing | 6 |
| No.486 | 組換え遺伝子 <i>Pm3e</i> の発現によるウドンコ病圃場抵抗性組換えコムギ系統の作出と fitness costs の不在 Field grown transgenic <i>Pm3e</i> wheat lines show powdery mildew resistance and no fitness costs associated with high transgene expression | 7 |
| No.487 | セイヨウナタネにおける DA1の発現抑制に基づく種子重量及び器官サイズの増大 Down-regulation of BnDA1, whose gene locus is associated with seeds weight, improves the seeds weight and organ size in <i>Brassica napus</i> | 8 |
| No.488 | カルタヘナ法に基づくわが国のゲノム編集生物規制の状況 Regulatory Status of Genome-Edited Organisms Under the Japanese Cartagena Act | 9 |
| No.489 | 大気へのイソプレン放出のない交雑ポプラ植林の生産性 High productivity in hybrid-poplar plantations without isoprene emission to the atmosphere | 10 |

Over-expression of mutated *ZmDA1* or *ZmDAR1* gene improves maize kernel yield by enhancing starch synthesis

変異型 *ZmDA1* または *ZmDAR1* 遺伝子の過剰発現に基づく
トウモロコシのデンプン合成能力の増強による種子収量の向上

Xie G *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal 16: 234-244

中国大学研究者による原著論文である。作物収量の重要決定要素は種子重量と種子数である。DA1及びDAR1はユビキチン受容体であり、細胞増加に対して負の制御因子となっている。DA1の1アミノ酸変異（358番目のアルギニン→リシンへ）の発現は、器官及び種子の大型化をもたらすことが報告されている。著者らは変異型 DA1発現によるトウモロコシ収量の増大を試み、以下の結果を得た。

- (1) 組換え作物の作出：トウモロコシ内在遺伝子 *ZmDA1* 及び *ZmDAR1* 及びそれぞれの突然変異型遺伝子をアグロバクテリウム法によりトウモロコシ inbred line DH4866に導入し、*ZmDA1* 7系統、*ZmDAR1* 12系統、変異型 *ZmDA1* 15系統、変異型 *ZmDAR1* 17系統を作出した。各系統から3系統ずつを選出し、以後の試験に供した。
- (2) 組換え系統の表現型変異（T₃世代圃場試験）：V₉期において、草丈・葉形（長さ・幅）・葉鞘色には非組換え体と比べて顕著な差異はなかった。未成熟葉と成熟葉の間には若干の差異があったが、全葉面積には大差はなかった。
- (3) 収量試験（T₃-T₅世代圃場試験）：2014年の結果では、変異型 *ZmDA1* 系統及び変異型 *ZmDAR1* 系統は非組換え体に対して、種子重（100粒重）は有意に増加、1列粒数及び1穂粒数は有意に増加、この結果両者の積である面積当たり収量（kg）も有意に増加した。2013-2015年の結果では、変異型 *ZmDA1* 系統は非組換え体（438kg）に対し、15%、16%、22%の増収、変異型 *ZmDAR1* 系統は18%、22%、21%の増収を示した。一方、*ZmDA1* 系統及び *ZmDAR1* 系統は全ての系統で減量し、減収が明瞭であった。変異型 *ZmDA1* 及び変異型 *ZmDAR1* 系統の増収は、もっぱら胚乳重量の増加によるものであり、胚重量には差異はなかった。
- (4) 組換え系統のデンプン特性：胚乳の主成分はデンプンであり、T₃-T₄世代の種子デンプン含量は変異型 *ZmDA1* 及び変異型 *ZmDAR1* が対照より11%及び14%高かった。これにより組換え系統におけるデンプン蓄積の増強が確認された。また両系統では10 μm 以下の小型のデンプン顆粒が WT より多数蓄積されていた。両系統では基底胚乳転送細胞層が十分生育し、より多い栄養分（糖）のシンク器官への流入を促進していると考えられた。
- (5) 総括：変異型遺伝子の過剰発現により、種子の重量及び種子数の両者が増加した高収量組換えトウモロコシが作出された。本系統は種子のデンプン含量においても非組換え体より有意に高かった。

(林 健一)

Allele exchange at the EPSPS locus confers glyphosate tolerance in cassava

EPSPS 座位におけるアレルの変化に基づくキャッサバのグリホサート耐性の強化

Hummel AW *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal 16: 1275-1282

米国大学・民間研究所の研究者による原著論文である。グリホサートは雑草防除剤のなかで、高い防除効果・低コスト・低残存性・広適用性・安全性などに優れ、広く利用されている。グリホサートに対する耐性は EPSPS 遺伝子によるものであり、同遺伝子を構成するアレルの発現の変化により、耐性も変化することが知られている。著者らはこの関係をキャッサバについて調査し、以下の結果を得た。

- (1) 組換え試験の設定：1) EPSPS 発現に関係するプロモーター：①キャッサバ内在プロモーター、②カリフラワーモザイクウイルス35S プロモーターのタンデムリピート (2x35S)；2) EPSPS 変異体：① GAAT・② TIPA 及び③ TIPI (ともにアミノ酸単塩基突然変異)。以上、プロモーター 2 種類、アレル 3 種類の組み合わせそれぞれをキャッサバ品種 TME204 にアグロバクテリウム法で導入し、組換え個体を作成した。
- (2) 組換え試験結果：1) シキミ酸蓄積量：組換え個体の葉片をグリホサート処理し、シキミ酸蓄積量を調査した (耐性の増大につれ蓄積量は減少する)：①キャッサバ内在プロモーター区：アレル間には大差なくいずれも中程度の蓄積量を示したが、非組換え体よりは低かった。② 2x35S 区：3 種類のアレルは無～極低の蓄積量で高いグリホサート耐性を示した。非組換え体及び野生型アレルは有意に低い耐性を示した。2) グリホサート散布試験：温室生育組換え体にグリホサートを散布し、被害を1 (無)～7 (枯死) 段階で調査した。①キャッサバ内在プロモーター区：アレル間には大差なく、いずれも段階 4 程度の被害を示した。② 2x35S 区：アレル区はすべて段階 1～3 の低被害で高い耐性を示した。非組換え区はすべて段階 7 の最低の耐性を示した。以上から、グリホサート耐性構築にあたっては、EPSPS 発現に関与するアレルの種類及び有効なプロモーター (例：2x35S) についての考慮が重要であることが示された。
- (3) ゲノム編集：以上の組換え試験からの知識に基づいて、グリホサート最適耐性発現へ向けてのゲノム編集個体が試作された。同個体は、表現型は正常、通常の範囲のキャッサバ特性を有し、ゲノム編集手法の有効性が示唆された。
- (4) 総括：除草剤グリホサート耐性遺伝子 EPSPS の発現に関与するプロモーター、アレルを組合せた組換え試験を実施し、グリホサート高抵抗性キャッサバの作出に関する基本的要件を集約した。特に耐性構成要素の強い発現の必要性が示された。ゲノム編集では除草剤耐性の試作品が作出され、重要特性強化育種の方向への今後の展開が示唆された。

(林 健一)

Novel alleles of rice *eIF4G* generated by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis confer resistance to *Rice tungro spherical virus*

CRISPR/Cas9による新たな *eIF4G* 突然変異アレルに基づく イネツングロスフェリカルウイルス (RTSV) 抵抗性イネの作出

Macovei A *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal. 16: 1918-1927

国際イネ研究所 (IRRI、在フィリピン) 及び米国大学の研究者による原著論文である。イネツングロ病 (RTD) はイネに大損害を与えるウイルス病であり、*Rice tungro spherical virus* (RTSV) と *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) との交互作用により発生し、両者ともヨコバイにより媒介される。RTBV は病徴発現に、RTSV はヨコバイによる RTBV の伝播及び病徴の強化などを補助する促進ウイルスとして機能している。RTBV だけに感染している植物は2次伝播源とはならず、大圃場では RTSV 抵抗性品種がイネツングロ病の減少に貢献している。このため著者らは RTSV に着目し、これに CRISPR/Cas9手法を適用して、イネツングロ病抵抗性イネの作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) RTSV 抵抗性：慣行品種に存在する本抵抗性は、翻訳開始因子4 γ (*eIF4G*) によって制御されている劣性特性である。イネツングロ病に対する新しい抵抗性給源を作出するために、RTSV 感受性広域インディカ品種 IR64の *eIF4G* に CRISPR/Cas9手法により、突然変異が誘発された。*eIF4G* 遺伝子の4,140~4,414塩基までの間の3ヶ所を標的とする種類のガイドRNAが調整され、アグロバクテリウム法により IR64に導入された。平均形質転換効率は48%であり、ガイドRNAの種類に応じて再生イベントは1146系統、1147系統、1148系統と指名された。
- (2) 突然変異誘発系統の RTSV 抵抗性：Cas9を含有していないことが確認された T₂世代の RTSV 抵抗性を検定した。1147系統由来のすべての T₂世代は RTSV に対する完全抵抗性を有していた。一方、1146系統及び1148系統由来の T₂世代の RTSV 抵抗性は一貫性がなく、抵抗性は不完全であった。
- (3) 1147系統の農業特性：温室試験において、RTSV を接種した1147系統の T₂世代は、同様に RTSV を接種した IR64よりも草丈・穂数・稈実粒数・稈実粒重が有意に大であった。
- (4) その他の特性：1147由来系統は RTSV 抵抗性の T₂から T₃世代への確実な世代間伝達を示した。また off-target 変異も検出されなかった。さらに挿入された Cas9も検出されず、非 GM 作物として取り扱われる可能性を示した。
- (5) 総括：*eIF4G* アレルに対する CRISPR/Cas9による突然変異誘発により、RTSV に対する完全抵抗性イネ1147系統が作出された。同 T1147系統は温室試験で対照イネ品種 IR64より多収を示し、また RTSV 抵抗性の世代間伝達も確認された。さらに同系統は Cas9を含有せず、非 GM イネ RTSV 抵抗性素材としての使用の可能性が示された。

(林 健一)

A selective insecticidal protein from *Pseudomonas mosselii* for corn rootworm control

Pseudomonas mosselii からの新規選択的殺虫性タンパク質による トウモロコシ root worm の制御

Wei JZ *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal. 16: 649-659

デュポンバイオニア社（米国）の研究員による原著論文である。Western corn rootworm (WCR) は米国及び欧州のトウモロコシに大損害を与えるコウチュウ目の害虫である。その幼虫は根を喰害して養水分の吸収を阻害するため、生長阻害・倒伏を引き起こし、年間1,000億円の損害が報じられている。2003年以來の *Bt* トウモロコシの開発により WCR の損害は減少し、農家に種々の便益が与えられた。しかし、近年一部の WCR は *Bt* トウモロコシに対する抵抗性を発現し、防除が不安定となっている。このため、新しい WCR 殺虫性タンパク質の開発が求められている。著者らは土壌細菌から分離したタンパク質に WCR に対する新規の殺虫効果を発見し、その特色を以下のように報告した。

- (1) 土壌細菌 *Pseudomonas mosselii* 水溶性タンパク質の WCR に対する殺虫性：米国内で採集した土壌サンプルからバクテリア系統を分離し、その細胞培養物の水溶性タンパク質を WCR の人工飼料に混合する生物検定を行った。分離系の1種は WCR に対し強い殺虫性を示し、*P. mosselii* 由来であると確認され、ゲノム特性が特定された。
- (2) 新規殺虫性タンパク質 PIP-47Aa の特性：複合クロマトグラフィー及び人工食餌生物検定などの過程を経て、本タンパク質は PIP-47Aa と正式に命名された。
- (3) PIP-47Aa の主要虫類に対する殺虫性：1) corn rootworm 類：幼虫の50%が死亡する LC₅₀、50%が生育抑制をうける IC₅₀µgは、WCR が LC₅₀ : 52.45µg/ml、IC₅₀ : 20.93µg/ml、southern corn rootworm が LC₅₀ : 255.30µg/ml、IC₅₀ : 59.10µg/ml、northern corn rootworm が LC₅₀ : 122.03µg/ml、IC₅₀ : 10.74µg/ml といずれも顕著な殺虫性を示した。2) 他のコウチュウ目：最高テスト濃度 (ppm) 及び効果は、San Antonio beetle : 1167・死亡；Crucifer flea beetle : 500・死亡；Spotted lady beetle (益虫) : 1000・不活性；3) チョウ目：Black cutworm : 730・不活性；Corn earworm : 730・不活性 Fall armyworm : 730・不活性；Soybean looper : 730・不活性；European corn borer : 730・不活性；4) 半翅目：Lygus bug : 300・不活性；southern green stink buy : 300・不活性。以上から PIP-47Aa タンパク質は数種の beetle に対し、特に corn rootworm (3種類) に強い殺虫性を有することが示された。
- (4) PIP-47Aa の組換え植物における WCR 被害減少：圃場栽培における根の平均被害スコアは、非抵抗性対照が1.98、Cry34Ab1/Cry35Ab1が0.03、PIP-47Aa 組換え系統は0.84で対照より有意に低く、若干の個体は商用閾値0.5以下を示した。
- (5) WCR 中腸との特異的親和性：PIP-47Aa は WCR の中腸特定部位の膜皮と特異的である、他の *Bt* 類とは異なる親和性を有し、これが他とは異なる新規の殺虫性の要因であった。
- (6) 総括：土壌細菌 *P. mosselii* の抽出分離体から WCR に対する新規抵抗性タンパク質 PIP-47Aa が同定され、その特性が詳述された。PIP-47Aa は他の *Bt* 類などとは結合特異性の異なる新規の非 *Bt* 殺虫成分であり、今後の適用の拡大が期待される。

(林 健一)

Overexpression of the class 1 homeodomain transcription factor TaHDZip1-5 increases drought and frost tolerance in transgenic wheat

転写因子 TaHDZip1-5の過剰発現により干ばつ及び霜害耐性が向上した組換えコムギ系統の作出

Yang Y *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal 16: 1227-1240

オーストラリアの大学研究者による原著論文である。オーストラリアのコムギ・オオムギ生産にとって開花期における突然の霜害は生殖組織に損害を与え、しばしば大減収をもたらす。これを回避するための後期栽培は生育末期の高温・干ばつ害により減収、品質低下を生じている。このため霜害及び干ばつ耐性作物の開発が重要課題となっている。著者らはストレス耐性コンストラクトの導入により、霜害及び干ばつ耐性組換えコムギの作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) 組換えコムギの作出：転写因子 *TaHDZip1-5*を発現するコンストラクトを調整し、これをバイオリスティック法により優良コムギ品種 *Gladius* に導入した。同型接合の T₁及び T₂種子が選出され、T₃系統：L1、L2、L4が、表現型及びストレス耐性テストに供試された。
- (2) 表現型調査：1) 灌水十分区：L2及び L4系統は草丈・分けつ数・穂数・全乾物重・一株粒数・一粒重では対照に匹敵あるいはやや減少し、一株粒重では有意に低下した。一方 L1はすべての形質において減少が大であった。2) 干ばつ区：すべての形質において T₁及び対照区とも大幅に減少し、両区の差は縮小した。
- (3) 干ばつ耐性：生育3週間の植物体に対する干ばつ処理により、生存率は対照では10%まで低下したが、L2及び L4区は60~80%を維持し、組換え系統は対照より有意に高い干ばつ耐性を示した。
- (4) 霜害耐性：生育3週間の植物体に T₁系統は6.5時間、-7℃；T₃系統は6.5時間、-8℃の低温処理を行った後の生存率を調査した。-7℃区では、対照40%、L2：50%、L3：80%、L4：70%；-8℃区では、対照：5%、L2：20%、L3：25%、L4：15%の生存率を示し、組換え系統が有意に高い生存率を示した。
- (5) 総括：ストレス耐性コンストラクトを既存優良品種 *Gladius* に導入し、干ばつ及び霜害耐性組換えコムギ系統が作出された。干ばつ及び霜害耐性では、組換え系統は対照と同等あるいはやや減少の生育を示したが、収量関連形質では、対照と同様に大幅に減少し、減収した。今後、収量関連特性の向上が課題と考えられた。

(林 健一)

De novo domestication of wild tomato using genome editing

ゲノム編集手法の利用による野生トマトの革新的栽培化

Zsögön A *et al.*

2018

Nature Biotechnology 30: 1211-1216

ブラジル・米国・ドイツの大学研究者による原著論文である。現在の収量・生産性に関する主要作物の長期間の育種の結果、遺伝的多様性が失われている。多くの栽培化特性は、機能喪失あるいは機能獲得の突然変異に由来している。これらの特性は最近の CRISPR/Cas9 手法により、再び創生されることが可能と考えられる。著者らはゲノム編集を用いることにより、野生植物が有するストレス耐性、収量ポテンシャル、栄養価などの特性を損なうことなく、現在の栽培種の好評特性を導入し栽培化することができると考え、トマト野生種を例に以下の結果を得た。

- (1) トマト野生種 (*Solanum pimpinellifolium*) のゲノム編集目標遺伝子座：1) 生育特性 (栄養成長から生殖成長への転換) (*SELF PRUNING; SP*)、2) 果実の形 (*OVATE; O*)、3) 果実の大きさ (*FASCIATED; FAS*)、4) 果実の重さ (*FRUIT WEIGHT; FW2.2*)、5) 果実数 (*MULTIFLORA; MULT*)、6) 栄養の質 (*LYCOPENE BETA CYCLASE; CycB*)。
- (2) ゲノム編集の目標：目標遺伝子座に CRISPR/Cas9 手法により、機能喪失突然変異アレルを作出する。6 遺伝子のコーディング領域の特定配列を目標とする 6 つの gRNA を含むベクターを作出した。
- (3) 突然変異系統の作出：6 遺伝子座のうち 4 つについて完全な変異導入が確認された T₁ 50 系統から 2 座位を選出し、T₂ 系統を選出し、以下の調査を行った。
- (4) ゲノム編集 T₂ 系統の表現型：1) *SP* 座一般生育：草丈縮小によるコンパクト化；sympodial unit の減少；有限生長性、2) *OVATE* 座：楕円形果；降雨裂果減少；3) *FW2.2* 座：野生型と識別できる変化は検出されなかった。
- (5) 第 2 回ゲノム編集：第 1 回では目標とならなかった遺伝子座を中心に同様の手法で第 2 回を実施した。
- (6) 第 2 回目主要表現型：1) *MULT* 座：分枝型花序；2) *FAS* 座：fruit locule 数 4 倍増；果実重 200% 増；3) *CycB* 座：リコピン含量 /kg は、市販トマト 92 mg/kg、野生トマト 234 mg/kg、ゲノム編集野生トマト 510 mg/kg であり、編集トマトは、市販トマトの 5 倍、野生トマトの 2 倍の高リコピン含量を示した。この高含量は他の β -カロチン、ルテインなどの蓄積に負の影響は与えていない。
- (7) 表現型の安定性：T₂、T₃ 世代を通じ、栽培化のため編集された重要特性は一貫して安定的に伝達されていることが確認された。
- (8) 総括：野生植物に対して、戦略的に明確な目標をもった逆遺伝学により、新しい作物が短期間に作出されることがトマトを例に報告された。果実の数、大きさ、形、栄養価、植物体の草姿などの改変が一回のゲノム編集により達成されている。他の主要作物への適用の可能性が考えられる。

(林 健一)

Field grown transgenic *Pm3e* wheat lines show powdery mildew resistance and no fitness costs associated with high transgene expression

組換え遺伝子 *Pm3e* の発現によるウドンコ病圃場抵抗性組換えコムギ系統の作出と fitness costs の不在

Koller T *et al.*

2019

Transgenic Res 28 : 9-20

スイスの大学研究者による原著論文である。コムギにおけるウドンコ病 (powdery mildew) は世界的に損害の大きい菌類病であり、多くの抵抗性品種が育成されているが不完全である。コムギ遺伝子 *Pm3* は17アレルを有し、各アレルはウドンコ病菌株 (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici* : Bgt) の明確な範囲に対して、抵抗性を有する。著者らは *Pm3* の3アレルを導入した組換えコムギによる Bgt 抵抗性コムギの作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) 組換え系統の作出：*Pm3e* 遺伝子カセットをバイオリスティック法により春コムギ品種 Bobwhite に導入した。共通的に同型接合完全長コピーを有し、挿入座位が異なる4種類の組換え系統 (E#1、E#2、E#3、E#4) が作出された (E#3は異型を含むため以後除外)。
- (2) 組換え系統のウドンコ病抵抗性検定 (各型ウドンコ病常発圃場、4年間) : 2015・16・17・18年のウドンコ病発生 : E#1は無・無・痕跡・無 ; E#2は痕跡・無・痕跡・痕跡 ; E#4は4年とも少であり、3系統とも高レベルのウドンコ病抵抗性を示し、特にE#1は完全な抵抗性を示した。これに対し、対応する抵抗性喪失系統 (null 系統) は、ウドンコ病の発生が激しかった。以上からE#1、E#2、E#4の3組換え系統は、ウドンコ病広範抵抗性を有すると結論された。
- (3) 高レベル抵抗性に伴う fitness costs : 1) 開花期遅延 : E#1にはわずかな遅延が散見されたが、E#2及びE#4には遅延はなかった。2) 小穂枝種子セット率 : 有意差はなかった。3) 収量 : 3系統及び null 系統間に有意差はなかった。以上から fitness costs は存在しないと判断された。
- (4) トランスジーン発現及び *Pm3e* タンパク質蓄積量 : どちらも組換え3系統は null 系統より有意に高かった。
- (5) 総括 : コムギのウドンコ病抵抗性遺伝子 *Pm3e* の高度発現によりウドンコ病圃場抵抗性コムギ3系統が作出された。本結果のコムギのウドンコ病抵抗性育種への貢献が期待される。

(林 健一)

Down-regulation of BnDA1, whose gene locus is associated with seeds weight, improves the seeds weight and organ size in *Brassica napus*

セイヨウナタネにおける DA1 の発現抑制に基づく種子重量
及び器官サイズの増大

Wang JL *et al.*

2017

Plant Biotechnology Journal. 15: 1024-1033

中国の大学及び農業科学アカデミーの研究者による原著論文である。*Brassica napus* L. (セイヨウナタネ) は世界的に重要な油料植物であり、バイオ燃料の主要原料である。近年、化石燃料の減産を補うためのナタネ油の増産が望まれているが、含油率増加はすでに上限でありセイヨウナタネのバイオマス増加による全油料の増産が期待されている。DA1及びDAR1はユビキチン受容体であり、種子のサイズを負に調節する。また、シロイヌナズナの AtDA1 の発現抑制は、外皮の細胞増殖の増加により、種子及び器官サイズを大きくする。そこで、1 アミノ酸置換のシロイヌナズナ DA1 (AtDA1^{R358K}) を過剰発現する改変セイヨウナタネを作出し、以下の結果を得た。

- (1) 改変セイヨウナタネの作出：バイナリベクター-35S::AtDA1^{R358K} が調製され、野生型セイヨウナタネに flower dipping 法により導入され、改変セイヨウナタネが作出された。
- (2) 改変セイヨウナタネの各種形質における特性：1) 対照より有意に増加した形質：①幼植物：子葉重及び芽生植物重；②葉：長さ、幅、面積；③花：花卉の長さ、幅、面積；④莢：長角果の幅、⑤種子：千粒重；⑥茎：直径；⑦植物、体：新鮮重；2) 有意に減少した形質：葉の柵状組織平均サイズは約70%減少、(葉の大型化は、細胞数の増加による)。3) 改変による影響が検出されなかった形質：一次枝梗数；一次枝梗長角果数・花序当たり長角果数・一莢当たり種子数。
- (3) 総括：シロイヌナズナ変異型 AtDA1 (AtDA1^{R358K}) の過剰発現による BnDA1 の発現抑制により、種子重量及び器官が大型化された改変セイヨウナタネ系統が作出された。一株種子重量 (収量) は13.22%、千粒重は21.23%増大し、他器官、子葉、葉、花、種子 (長角果) も対照より有意に増大し大型化された。この結果、BnDA1 のセイヨウナタネ育種への適用が期待される。

(林 健一)

Regulatory Status of Genome-Edited Organisms Under the Japanese Cartagena Act

カルタヘナ法に基づくわが国のゲノム編集生物規制の状況

Tsuda M *et al.*

2020

Frontiers in Bioeng. Biotechnol. 7: 387

日本の大学研究者グループによる総説論文。わが国は昨年、ゲノム編集技術由来生物についての規制アプローチを決定した。著者らは、その決定に係る経緯及び規制内容について解説した。

- (1) 世界中のゲノム編集生物の現在の規制状況：2018年6月、OECDは「ゲノム編集に関するOECD会議：農業への応用—健康、環境、規制への影響」を開催した。ゲノム編集作物の規制アプローチは各国で異なる。米国、アルゼンチン、チリ、ブラジル、オーストラリアは、最終産物（作物）に外来核酸を含まないものに関しては、外来核酸の不在が確認できれば、規制にあたるものではないとの考え方を表明している。一方、欧州司法裁判所はゲノム編集技術もGM技術に含まれるとの判決を出した。ニュージーランドは、外来核酸不在のゲノム編集作物についてLMOの規制から除外する判断をしたが、その後高等裁判所によりその判断が覆された。
- (2) わが国における議論の経緯：従前からあるわが国のカルタヘナ議定書の国内担保法であるカルタヘナ法では、プロダクトベースの考え方に基づいており、最終産物に外来核酸が不在の場合は、LMOでないと判断される。2014年8月、日本学会会議は、報告書「新しい植物育種技術(NPBT)の現状と問題点」の中で初めてゲノム編集技術由来生物の規制アプローチに関する議論の必要性を示した。その後、農水省、環境省の諮問機関及び、内閣府に設置されたバイオ戦略検討ワーキンググループから規制アプローチ決定が必要との意見を示され、2018年6月に発表された日本政府の科学技術イノベーション総合戦略2018では、ゲノム編集技術由来生物の規制状況のカルタヘナ法及び食品衛生法の下での規制アプローチの年度内の明確化が盛り込まれた。これを受け、2019年2月にまず、環境省が、外来核酸が不在のゲノム編集生物(SDN-1由来)について、カルタヘナ法上のLMOではないとする最終判断を示した。
- (3) 日本におけるゲノム編集生物の規制状況：環境省の決定は、ゲノム編集技術由来の生物のうち、いわゆるSDN-1について、その最終産物のうち、作成の過程で挿入された外来核酸が戻し交配によって抜けたもの(ヌル分離体)について、従来の突然変異育種由来の最終産物と変わるものでないとの考えに基づく。環境省の判断に基づき、カルタヘナ法における主務省である厚労省、農水省及び文科省もまた2019年秋までに、その取扱い方針を順次示した。主務省は開発者に対し、宿主生物の生物学的特性及び作成過程、外来核酸不在に関する確認方法等に基づく事前相談を受け付け、規制外となること判断された場合にも、これらの情報の提出を要求する。また、規制対象外となった場合でも、生物多様性への影響について懸念が生じた場合には、使用者は速やかにカルタヘナ法に基づく生物多様性への影響を緩和のための措置を講じる必要がある。
- (4) 総括：わが国は、ゲノム編集技術由来生物について、SDN-1由来の生物は、従来の育種技術によって生産された生物と類似していると考えられるため、カルタヘナ法に基づく規制の対象とはしないという明確なゲノム編集生物の規制アプローチを決定した。一方で、SDN-2由来の生物に関しては、わが国のカルタヘナ法での規制対象とした一方、一部の国ではSDN-1同様規制対象外としており、国ごとに規制が異なる場合があるので注意喚起が必要である。今後わが国が決定した規制及びその判断基準等が、他国での規制アプローチの意思決定に役立つことが期待される。

(小口 太一)

High productivity in hybrid-poplar plantations without isoprene emission to the atmosphere

大気へのイソプレン放出のない交雑ポプラ植林の生産性

Monson RK *et al.*

2020

PNAS 117: 1596-1605

米国の大学、及びドイツの大学・研究所のグループによる報文。交雑ポプラの植林地は、バイオ燃料とバイオマスの供給源となるが、対流圏オゾン層に有害なイソプレンの排出が問題となっている。著者らは、RNA 干渉 (RNAi) によるイソプレン合成遺伝子の発現抑制を介したイソプレン放出抑制組換えポプラについて、米国の2か所で野外栽培試験を実施し、以下の結果を得た。

- (1) イソプレン放出抑制組換えポプラ：イソプレン合成遺伝子を標的する RNAi コンストラクトを含む T-DNA を灰色ポプラ (*Populus × canescens*) にアグロバクテリウム媒介法によって導入した。8 週齢の組換え体発根幼苗でイソプレン蓄積量を測定し、15 系統を選抜した。
- (2) 野外試験1：オレゴン州立大学のピービー樹木園（北緯44.7°、西経123.2°）で RNAi 15 系統、及びベクター対照 3 系統及び非組換え対照 1 系統を用いて2012～2015年の3年間、野外栽培試験を実施した。RNAi 系統と対照（ベクター対照及び非組換え体）では、葉からのイソプレン放出量に有意な差異があったが、栽培試験中総光合成量及び地上部バイオマス量に有意な違いはなかった。実験終了後に掘り上げ、地下部のバイオマス量も調査したが有意差はなかった。
- (3) 野外試験2：アリゾナ大学の植林地（北緯32.3°、西経110.5°；夏季4か月の平均気温35.6℃）で、RNAi 2 系統、ベクター対照 1 系統及び非組換え対照 1 系統を用いて2013～2016年の4年間、野外栽培試験を実施した。最初の2年は施肥・灌漑ともに十分な条件、後半2年は、低施肥無灌漑とした。系統間×年間での統計解析により、RNAi 2 系統とベクター対照 1 系統の間で地上部バイオマスに有意差は検出されなかった。一方、2年目のバイオマス成長量について、組換え 3 系統と非組換え対照の間に有意な差はみられたが、RNAi 系統とベクター対照系統の間で有意差がないことからイソプレン産生量とは関連がないと結論した。実験終了後に測定した地下部バイオマスにも違いは認められなかった。
- (4) プロテオーム解析：イソプレン放出抑制系統 (RNAi) と対照（ベクター対照及び非組換え対照）の間で、プロテオームの比較を行ったところ、カロテノイドやテルペノイド合成に関連する酵素量がイソプレン抑制系統で低下していた。カロテノイドやテルペノイドは、非生物学的ストレスによる酸化障害を軽減することが知られており、その低下により、非生物学的ストレスに対する耐性が低下する可能性が懸念される。
- (5) 総括：オゾン層に有害なイソプレン放出抑制は、ポプラ植林地のバイオマス生産性に影響を与えないことが確認された。一方で、RNAi によるイソプレン合成遺伝子の発現抑制系統はカロテノイドやテルペノイド量の低下による非生物学的ストレスに対する耐性低下の懸念もあり、今後も評価が必要である。

(小口 太一)

ERA プロジェクト調査報告

2020年4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)