
ERAプロジェクト調査報告

December 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・安全性・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。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

2020.12

バイオテクノロジー研究会

2020年の調査報告書第6号（通算第53号）をお届けします。

本号では、遺伝子組換え技術を用いた報告として、No.520でバイオ燃料生産のためのトリテルペン生合成能を向上した組換えタバコの作出、No.523で菌類病及びウイルス病抵抗性組換えブドウ系統の作出、No.524で家畜健康増進のためのフルクタン生合成能を向上した組換えペレニアルライグラスの作出、No.526で収量増加に関与する遺伝子群の特定及びRNAiを用いたノックダウントウモロコシの作出を紹介しています。

また、非遺伝子組換え手法を利用した品種改良として、No.521ではイネ系統を用いた細菌病原菌に対する広域抵抗性及び罹病性に関与する遺伝子群の特定、No.522ではイネの粒長に関与する複数遺伝子群の特定、No.525でカチオン/プロトン対向輸送遺伝子が塩耐性に関与を示すメタ解析の結果を紹介しています。

さらに、No.527では隔離ほ場試験のデータトランスポータビリティについてウイルス病抵抗性組換えインゲンマメを用いた事例研究、No.528では遺伝子組換え作物のリスクと利益について、No.529では食糧安全保障のための新しい植物育種技術について紹介しています。

なお、これまでの調査報告書は、以下のURLで閲覧可能です。

<http://www.ilsijapan.org/ILSIJapan/COM/Rcom-bi.php>

目次

No.520	トリテルペン及びメチル化トリテルペン代謝発現組換えタバコの圃場生育における農業的及び化学的性能評価 Agronomic and chemical performance of field-grown tobacco engineered for triterpene and methylated triterpene metabolism	1
No.521	イネ MAGIC 集団で特定されたバクテリア病害に対する広域抵抗性及び羅病性に関する対立遺伝子の変異 Allelic variation for broad-spectrum resistance and susceptibility to bacterial pathogens identified in a rice MAGIC population	2
No.522	<i>OsLG3b</i> の選択的スプライシングによるジャポニカ稲の粒長及び収量の制御 Alternative splicing of <i>OsLG3b</i> controls grain length and yield in <i>japonica</i> rice	3
No.523	組換えブドウの病害抵抗性の発現は T-DNA 及び包括的ゲノムメチル化におけるウイルス関連配列と相関している Expression of disease resistance in genetically modified grapevines correlates with the contents of viral sequences in the T-DNA and global genome methylation	4
No.524	フルクトシルトランスフェラーゼの発現によるフルクタン生合成能力を向上した組換えペレニアルライグラス (<i>Lolium perenne</i> L.) の分子育種 Molecular breeding of transgenic perennial ryegrass (<i>Lolium perenne</i> L.) with altered fructan biosynthesis through the expression of functosyltransferases	5
No.525	カチオン / プロトン対向輸送 1 遺伝子の過剰発現による塩耐性増加：メタ解析 Increased salt tolerance with over expression of cation/proton antiporter 1 genes : a meta-analysis	6
No.526	トウモロコシの収量増加に関与する新規ステイグリーン QTL の特定及び特性評価 Identification and characterization of a novel stay-green QTL that increases yield in maize	7
No.527	隔離圃場試験に基づく結論のトランスポータビリティ：ブラジルで開発されたウイルス抵抗性組換えインゲンマメを用いた事例研究 Transportability of conclusions from confined field trials : A case study using the virus resistant transgenic bean developed in Brazil	8
No.528	遺伝子組換え作物のリスクのみの評価はリスクが高い Risk-only assessment of genetically engineered crops is risky	9
No.529	食糧安全保障のための新しい植物育種技術 New plant breeding technologies for food security	10

Agronomic and chemical performance of field-grown tobacco engineered for triterpene and methylated triterpene metabolism

トリテルペン及びメチル化トリテルペン代謝発現組換えタバコの圃場生育における農業的及び化学的性能評価

Jiang Z *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal 16: 1110-1124

米国大学研究者による原著論文である。従来は喫煙用原料であったタバコは、近年は薬品・バイオ燃料の原料として注目されつつある。タバコは年間170トン/haのバイオマスを生産し、組換えタバコは乾物重の6%の脂質・脂肪酸を生産し、バイオ燃料・バイオディーゼルの原料となりうることを示されている。スクアレン (squalene) 及びボツリオコッセンは、直鎖の炭素鎖からなる油性物質でトリテルペン的一种であり、コレステロールまたはメチル化トリテルペンの生合成の重要な中間体であるとともに、それ自体広域な工業的適用により価値が高い。著者らはすでにガラス温室試験により数種類の組換えタバコのトリテルペン合成能力を検証しているため、本研究では3か年の圃場試験での実証を試み、以下の結果を得た。

- (1) スクアレンとボツリオコッセン：高等植物では、細胞質でスクアレン、葉緑体でボツリオコッセンの合成系が存在する。
- (2) 供試組換え系統：組換えタバコは先行研究で作出されたものを用いた。FPS (ファルネシル二リン酸合成酵素) とSQS (スクアレン合成酵素) の2酵素をコードする遺伝子を導入したものをスクアレン系統、FPSとボツリオコッセン合成酵素 (SSL) の2酵素をコードする遺伝子を導入したものをボツリオコッセン系統、さらに、それぞれの酵素について葉緑体移行シグナル付与の有無により、細胞質型と葉緑体型の2種類の合計4系統を供試する。さらに、これらに追加でTMT (トリテルペンメチル基転移酵素) を導入したものをメチル化系統がある。
- (3) サンプルング：1) 年次：2012~2014；2) 生育時期：緑葉期 (45~50日)・老熟葉 (80~100日)；3) 葉位：最上位完全展開葉；4) 目標：葉緑体・細胞質；5) 測定：トリテルペン含量；農業特性 (草丈・全重 葉面積など)、光合成能力 (光合成能率、コンダクタンス*など)。
- (4) スクアレン系統のトリテルペン蓄積量 (2012~2013)：葉緑体型スクアレン系統の代表的系統G1の葉緑体では、野生型に対し、緑葉で49~94倍、老葉で32~165倍のトリテルペンを蓄積した。一方、細胞質型スクアレン系統は、トリテルペン蓄積量は対照と大差なかった。一方、農業特性はトリテルペン蓄積量とは相関なく、ほぼ対照と同等であり、比率は草丈96~90%、全重99~98%、葉重97~89%、葉面積110~87%を維持した。
- (5) ボツリオコッセン系統のトリテルペン蓄積量：この系はバイオ燃料を目標としている。葉緑体型ボツリオコッセン系統の代表的系統tc10の葉緑体でのボツリオコッセン蓄積量は、細胞質型ボツリオコッセン系統の細胞質でのボツリオコッセン蓄積量と比較し、緑葉で11~24倍、老

熟葉で10～33倍のトリテルペン蓄積量であった。緑葉>老熟葉の傾向は（4）と同様であった。しかし tc10系統では、農業特性は著しく減少し、草丈74～73%、全重58～66%、葉重65～68%、葉面積68～58%へと低下し、葉は萎凋・葉緑素欠乏を示した（野生型比）。光合成能力は、野生型と有意差はなかったが、コンダクタンス*は増加した。

- (6) メチル化トリテルペン系統の化学的分析 (2014) : (4) 及び (5) の組換えタバコに対し、さらに、TMT 酵素遺伝子を導入した各種組換え体における、スクアレン及びボツリオコッセンのメチル化割合を調査した。葉緑体型スクアレン・メチル化系統では、葉緑体のスクアレン全量の57～71%がメチル化された。葉緑体型ボツリオコッセン系統のメチル化系統の葉緑体のボツリオコッセンもまた、62～73%がメチル化された。一方、細胞質型トリテルペンメチル化系統における細胞質のトリテルペンのメチル化割合は、いずれも低かった。また、細胞質型トリテルペンメチル化系統はいずれも農業特性の顕著な低下がみられた。
- (7) 系統間の比較：各系統の2014年の農業特性（草丈・バイオマス・葉面積）及びトリテルペン蓄積量の総括的比較がなされた。葉緑体型スクアレン系統では、葉緑体におけるトリテルペン含量を大幅に向上し、かつ、農業特性は対照と有意差がないことから、工業的スケールアップの有力候補と判断された。ボツリオコッセン系統及びメチル化トリテルペン系統は、対照より有意に高いトリテルペンを産生するものの農業特性の低下が著しく、工業的スケールアップは不適切と判断された。
- (8) 総括：圃場生育の組換えタバコ系統のトリテルペン生合成能力は、既往のガラス室試験と同様の結果を示し、次世代への安定的に伝達されていた。特に、葉緑体型スクアレン系統は対照に対して農業特性では有意差なく、トリテルペン産生量は数十倍であり、工業的スケールアップの有力候補と判断された。

*コンダクタンス…気孔における水移動と蒸散の尺度

(林 健一)

Allelic variation for broad-spectrum resistance and susceptibility to bacterial pathogens identified in a rice MAGIC population

イネ MAGIC 集団で特定されたバクテリア病害に対する 広域抵抗性及び羅病性に関する対立遺伝子の変異

Bossa-Castro AM *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal 16: 1559-1568

米国・フランス・マリの大学、国際イネ研究所（在フィリピン）、熱帯農業国際センター（在コロンビア）の研究者による原著論文である。アフリカ・サブサハラにおけるインディカ稲栽培は、バクテリア二大病害—白葉枯病（bacterial leaf streak: BLS・原因菌 *Xanthomonas oryzae* pathovars (pv.) *Xoc*、50%減収）及び褐斑細菌病（bacterial blight: BB・原因菌 *X. oryzae* pathovars (pv.) *Xoo*、20%減収）により不安定であり、抵抗性品種の育成が望まれている。広域病害抵抗性を所有する QTL（量的特性遺伝子座）の育種への適用は従来限定的であった。MAGIC（Multiparent advanced generation intercross）集団は、多様な遺伝的構成及び相同染色体間の相同組換え等の遺伝的組換えがあり、広域抵抗性のための QTL を特定する有力な給源と考えられる。著者らはイネの MAGIC 集団を用いて上記のバクテリア病原に対する QTL の特定を試み、以下の結果を得た。

- (1) イネ MAGIC 集団：本研究では、以前 IRRI が作成したインディカ 8 品種の相互交配により作成した MAGIC 集団 S4 世代（200 ラインより構成）、及び S8 世代（340 ラインより構成）を用いた。
- (2) 抵抗性目標病原：1) 白葉枯病 *Xoc* 2 系：BA15・MA13；2) 褐斑細菌病 *Xoo* 2 系：BA13・MA11
- (3) 抵抗性 QTL 領域の特定：目的は、バクテリア病原の接種による病徴の長さを測定し、MAGIC 集団中の抵抗性及び羅病性に関する QTL を特定することである。1) GWAS（Genomewide Association Studies）解析：S4 及び S8 集団より、それぞれ 42 及び 369 の抵抗性と関連する SNP が同定された。また、S8 より同定された 369 の SNP のうち、103 は 4 系統全ての細菌に対して抵抗性を示した 103 SNP から、5 つの抵抗性 QTL を同定した。2) IM（Interval Mapping）解析：S4 及び S8 集団より、それぞれ 19 及び 37 の細菌系統特異的抵抗性 QTL が同定された。3) QWAS と IM の結果の統合：S8 でそれぞれの解析法で単離された抵抗性遺伝子座を統合し、最終的にサブサハラ稲作 2 大バクテリア病原細菌に多重抵抗性を示す 14 QTL が同定された。
- (4) 総合結果：MAGIC S8 集団から、サブサハラ稲作 2 大バクテリア病原細菌に対して広域スペクトルの抵抗性を示す 14 の QTL を同定した。他に、菌株特異的に抵抗性を示す 37 の QTL も同定された。同定された QTL 及び SNP マーカーは、将来のマーカー利用選抜に使用可能と考えられる。MAGIC の基礎は、エリート 8 品種であり、本研究で特定された抵抗性 QTL は速やかな育種計画に組み込まれ、白葉枯病及び褐斑細菌病に対する持続的抵抗性品種の開発に貢献すると期待される。

(林 健一)

Alternative splicing of *OsLG3b* controls grain length and yield in *japonica* rice

OsLG3b の選択的スプライシングによるジャポニカ稲の粒長及び収量の制御

Yu J *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal 16: 1667-1678

中国の大学・国研の研究者による原著論文である。米粒の大きさは粒長・粒幅・粒厚により決定される。重要育種目標であるが、粒長に関する研究例は少ない。著者らは幅広い領域から粒長の遺伝的解析及び生態型の研究を行い、以下の結果を得た。

- (1) 粒長に關与する QTL の特定：極大粒品種 SLG-1 (SLG；千粒重58.8g) と小米品種日本晴 (NIP；千粒重23.3g) との交配後代の解析から特定された QTL の数は、粒長：5、粒幅：3、粒厚：1、粒重：4であった。さらに粒長 QTL として *gGL3-2* が第3染色体長腕上に特定された。極大粒品種 SLG は少なくとも3つの大粒アレル (*gw2*, *gs3*, *TW6*) を累積していた。さらに戻し交配集団を用いた SNP 解析により *gGL3-2* に対する遺伝子として *OsLG3b* (*Ory3a satra long grain 3b*) が特定された。同遺伝子は外花穎 (lemma) と内花穎 (palea) の特定の細胞の分化に關与している。
- (2) 粒長遺伝子 *OsLG3b* の変異：多数品種の調査から、平均89%の高い遺伝力を有する幅広い有意な変異が検出された。*OsLG3b* は粒長に關与する6つの SNP を有していた。このうち4つは第7イントロンと第8イントロンのスプライシングサイト近傍に偏在しており、SLG ではC末端を欠いた *OsLG3b* を発現していた。短い転写産物が認められた。さらに、NIP に SLG 型 *OsLG3b* アレルを導入した組換え体の粒長は SLG 水準となったことから SLG 型アレルが粒長の増大に關与することが示された。
- (3) *OsLG3b* のハプロイド分析：インディカ (156品種)、ジャポニカ (100品種)、野生イネ (*O. nivara* (7アクセッション) 及び *O. rufipogon* (7アクセッション)) の *OsLG3b* のハプロイドを調査した。その結果、野生イネの *OsLG3b* アレルは全て HIP 型であった。一方栽培イネにおいても、多数派は NIP 型であり、SLG 型は、熱帯ジャポニカ14品種、温帯ジャポニカ9品種及びインディカ2品種のみで少数派であった。さらに進化系統樹の解析から、SLG 型アレルは、熱帯ジャポニカの栽培化の後に出現し、以後の育種により他のグループへ拡散したと考えられる。このことは、別に行った塩基多様性の解析において、SLG 型アレルは他のグループより低い値を示したことも支持された。
- (4) イネ栽培品種の粒長に対する4遺伝子の効果：*OsLG3b* に加え、既に粒長の決定との関連が報告されている *GS3*, *GW8*, *TGW6* を合わせた4遺伝子の交互作用を480品種について調査した結果、相乗的效果が認められた。インディカに比べて温帯ジャポニカは粒長が短く、*OsLG3b* の SLG 型アレルの導入により粒長の増大をはかる可能性が認められた。
- (5) 総括：稲の粒長に關与する QTL (量的特性遺伝子座) として *OsLG3b* が特定された。*OsLG3b* は穂及び種子の発育段階で発現が増加した。*OsLG3b* の長粒アレルは、熱帯ジャポニカの栽培化以後にインディカ及び温帯ジャポニカに移入されたことが示された。短粒の温帯ジャポニカは、今後長粒アレルの導入による長粒化の可能性を有すると考えられた。

(林 健一)

Expression of disease resistance in genetically modified grapevines correlates with the contents of viral sequences in the T-DNA and global genome methylation

組換えブドウの病害抵抗性の発現は T-DNA 及び包括的ゲノムメチル化におけるウイルス関連配列と相関している

Bosco DD *et al.*

2018

Transgenic Research 27 : 379-396

ブラジル農業畜産開発公社 (Embrapa) の研究者による原著論文である。ブドウの菌類病・ウイルス病は収量及び品質 (果実・ワイン) を低下させる大病害である。菌類病には薬剤散布、ウイルス病には病株の除去・補充などの慣行対策があるが、いずれも実効性には限界があった。著者らはバイテク手法による耐病性組換え系統の作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) 組換えブドウ系統の作出：種子なし品種 BRS Clara 及びワイン用品種シャルドネの不定胚 (SE) 及び茎頂分裂組織 (SAM) に、アグロバクテリウム法により遺伝子を導入し、組換え系統を作出した。導入した遺伝子は、2つの細菌病害抵抗性遺伝子 *MaCHIT1* (糸状菌 *Metarhizium anisopliae* 由来キチナーゼ遺伝子) 及び *SnOLP* (イヌホオズキ *Solanum nigrum* 由来 *osmotin* 様遺伝子)、及び rapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3) のコートタンパク質に対するヘアピン RNA 分子 (2種類) である。
- (2) 組換え系統の菌類病抵抗性：*MaCHIT1* 及び *SnOLP* 導入組換え系統に、病原菌 *Botrytis cinerea* の培養切片と組換え体上位第3葉 (表側) との室内密着培養による葉上の病斑を調査した。接種後11日後の病変葉面積は WT の92% に対し、*MaCHIT1* 組換え系統では60% であり、WTの方が組換え系統より病変葉面積が1.5倍広かった。*SnOLP* 系統は WT と大差なく、9日後にはすべて壊死した。
- (3) 組換え系統のウイルス病抵抗性：GLRaV-3コートタンパク質遺伝子の hpRNA 導入組換え系統に、ウイルス病原 GLRaV-3を保有する穂木の接ぎ木試験を行った。供試した12系統すべてで葉巻きウイルスの病徴が出現し (1系統軽微)、病原ウイルスの細片が検出された。一方、GLRaV-3 hpRNA 導入組換え系統は WT よりウイルス濃度が低く、サイレンシングの程度は安定していた。ウイルス病原の平均的蓄積レベルは、WT が GLRaV-3 hpRNA 導入組換え系統より3.2~2.4倍高かった。茎頂分裂組織由来の系統は体細胞由来系統より平均転写コピー数が多く、ウイルス増殖率が20%低かった。
- (4) ゲノムメチル化の包括的解析・本研究結果がゲノムメチル化の包括的見地から解析された。メチル化された DNA とウイルス由来の連鎖的配列との間の高い関連が示された。
- (5) 総括：微生物病害抵抗性遺伝子の導入により菌類病及びウイルス病抵抗性組換えブドウ系統が作出された。抵抗性は完全ではなかったが、野生型 (WT) に対し数倍の抵抗性が安定的に発現された。

(林 健一)

Molecular breeding of transgenic perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) with altered fructan biosynthesis through the expression of fructosyltransferases

フルクトシルトランスフェラーゼの発現によるフルクタン生合成能力を向上した組換えペレニアルライグラス (*Lolium perenne* L.) の分子育種

Badenhorst PE *et al.*
2018
Molecular Breeding 38: 21

オーストラリアの国研・大学の研究者による原著論文である。ペレニアルライグラスは、温帯地域で最も重要な多年生牧草である。フルクタン (fructan) はフルクトースからなる多糖の総称で、開花植物の15%に含有されている。牧草では家畜の摂取・栄養を増進する重要成分であり、高フルクタン育成はオーストラリアの牧草育種の大目標である。著者らはすでにフルクタン生合成遺伝子の導入による高フルクタン組換え T₀ 3イベント (3567、4528、10274) を作出しており (Panterら、2017)、本研究ではこれら T₀ 3イベント及び関連系統の圃場試験を実施し、以下の結果を得た。

- (1) 圃場試験：1) 2008/2009年：初生 T₀ イベント150、対照非組換え母系統 (Flp418-20)；2) 2009/2010年：T₀ イベント80 (75未選択・5選択済)、対照 (Flp418-20、育種集団など)；3) 2010/2011年：T₀ イベント (3567、4528、10247)、交配 T₁ 系統：(3567、4528) × 育種系統対照、慣行品種など；4) 2011/2012年：T₀ イベント、交配 T₁ 系統 (2010/11試験より選抜)、対照関連品種など；
- (2) 組換え T₀ イベント・交配 T₁ 系統の特性調査 (2008～12年の特性平均値集計表より抜粋)：
- 1) バイオマス収量：① T₀ イベント：イベント3567・4528は2011年春～2012年夏、イベント10274は2011年春～2012年冬まで4作期連続して、対照より有意に多かった。② 選抜 T₁ 後代：3567後代及び4528後代ともに2010年春以降2012年冬まで6作期連続して対照 F₁ null 系統より有意に多かった。
 - 2) フルクタン含量：① 偽茎 i) T₀ イベント：3567・4528は2008年春以降2012年夏まで6作期連続で、イベント10274は2009年春～2012年夏まで対照より有意に多かった。ii) 選抜 T₁ 後代：3567・4528後代は2011年夏から2012年夏まで対照 F₁ null 系統よりも有意に多かった。② 葉身：i) T₀ イベント：イベント3567・4528は2008年春から2011年春まで6作期連続で対照より有意に高かった。ii) 選抜 T₁ 後代：4528後代は2010年春から2011年春まで3作期連続して対照より有意に高かった。
 - 3) WSC (可溶性炭水化物)：① T₀ イベント：イベント3567・4528は2009年春から2011年春まで、10274は2012年夏まで対照より有意に高かった。② 選抜 T₁ 後代：4528後代は2010年春から2012年夏まで4作期連続して対照より有意に高かった。
 - 4) 牧草品質向上特性：① T₀ イベント：3イベントとも IVDMD (*in vivo* dry matter

digestibility) が2009年春から4作期連続で対照より有意に高かった。②選抜 T₁後代：4528後代は2010年春から2012年夏まで4作期対照より有意に高かった。

5) 牧草品質低下特性：ヘミセルロース・セルロース・リグニンが主体の品質低下成分 NDF (中性デタージェント繊維) は T₀3イベントとも有意に低い値を示し品質が向上した。

(3) 特性間の関連：T₀イベントのバイオマス収量、フルクタン含量、牧草品質などにおける高性能特性は、変化することなく後代に伝承されている。一般にフルクタン含量はWSCと正の相関を有し、高フルクタン含量は高WSCをもたらしている。さらに高WSCはIVVDMDの増加及びNDFの低下をもたらし、顕著な牧草品質の向上をもたらされている。以上から組換え T₀ イベントにおけるフルクタン含量の増加に基づくWSC及びIVVDMDの増加、NDFの低下をもたらし、顕著な牧草品質の向上をもたらされている。以上から組換え T₀ イベントにおけるフルクタン含量の増加に基づく、WSC及びIVVDMDの増加、NDFの低下など、牧草の収量・品質の向上につながる一連の特性の関連が明示された。

(4) 総括：フルクタン生合成遺伝子の導入により、フルクタン含量(茎葉・葉身)が増加した有望な組換えペレニアルライグラスが作出された。組換え T₀ 3イベントの圃場試験が実施された結果、バイオマス収量・フルクタン含量・WSC含量・IVVDMDなどが増加し、NDFが低下するなど、諸特性の向上が示され、収量・品質が向上した。本組換えペレニアルライグラスの、今後のオーストラリアの畜産業への貢献が期待される。

(林 健一)

Increased salt tolerance with over expression of cation/proton antiporter 1 genes : a meta-analysis

カチオン / プロトン対向輸送1遺伝子の過剰発現による塩耐性増加： メタ解析

Ma Y-C *et al.*
2017

Plant Biotechnology Journal 15: 162-173

中国の国研・大学及び米国大学研究者による原著論文である。現在世界農地の少なくとも50%はNaClの塩害をうけており、塩害耐性作物・品種の作出は育種の大課題である。*cation/proton antiporter 1 (CPA1)* (カチオン / プロトン対向輸送1) 遺伝子はNaCl耐性遺伝子として最も広く使われている。メタ分析とは、多数の研究結果の統計的総合であり、統計的有意性ではなく、研究手法・結果の一貫性を解析し、成果の科学性・普遍性を示すものである。著者らは塩害に対する植物の反応に関するCPA1の結果を総合するメタ解析を行い、以下の結果を得た。

- (1) CPA1遺伝子の作用機序：CPA1は細胞のNa⁺/H⁺交換タンパク質をコードし、イオンの平衡性を調節している。K⁺により活性化された細胞質酵素はNa⁺により阻害される。高いK⁺/Na⁺比は正常の代謝維持に貢献している。Na⁺/H⁺対向輸送はH⁺をNa⁺と交換することにより、Na⁺イオンを細胞膜の外へ排出する。CPA1遺伝子群はNa⁺/H⁺交換作用を有し、Na⁺を分画し、Na⁺の細胞膜内への通過を低下させている。これにより、細胞内のK⁺濃度を正常に維持している。
- (2) 引用文献の厳選：12の電子データベースから612文献を一次選出し、CPA1使用、手法・結果などの科学性・一貫性を精査して、不備のある573文献を除外し、別に選んだ12文献を加え、合計51文献を厳選し、メタ解析を行った。
- (3) CPA1導入による主要特性値：CPA1供与植物は、24属30種、遺伝子受容植物は18種であった。CPA1群の中ではNHX1及びSOS1が主体であった。調査19特性中以下の10特性は対照（非組換え体）より25%以上の増加を示した—茎葉Na⁺・茎葉K⁺・根Na⁺・根K⁺・茎葉K⁺/Na⁺比・根K⁺/Na⁺比・葉身葉緑素含量・全乾物重・根長・種子発芽率—。種子発芽率は2.5倍、葉身葉緑素含量及び全乾物重は2倍、根K⁺/Na⁺比及び根長は50%の増加を示した。
- (4) カチオン：CPA1の導入により根K⁺の増加が明示された。根K⁺は一般に液体培地が固体あるいは土壌培地より高かった。根K⁺発現増加は、NaCl処理1～5日で30%、以後6～10日で50～55%で平衡し、以後消滅する。単子葉植物の根K⁺は、双子葉植物より、遺伝子受容植物で2倍、CPA1供与植物で4倍強く発現し、供与植物と受容植物が異属の場合は同属より組換え効果が大きかった。
- (5) サイズ特性：茎葉乾物重・全乾物重の増加は、低ストレスが高ストレスより約3倍多かった。培地の種類は根長に影響しなかった。CPA1の形質転換はNaCl処理された供与植物と受容植物が異なる属の場合、根長を2倍以上増加させた。
- (6) 総括：厳選した51文献に基づいて、CPA1遺伝子によるNaCl耐性の増加に関するメタ解析が行われました。CPA1遺伝子導入により、19特性のなかで主要10特性値が25%以上の増加を示した。根K⁺などの陽イオン効果も検討された。本研究結果は今後の耐塩性作物・品種の育種に貢献すると考えられる。

(林 健一)

Identification and characterization of a novel stay-green QTL that increases yield in maize

トウモロコシの収量増加に関与する新規ステイグリーン QTL の 特定及び特性評価

Zhang J *et al.*

2019

Plant Biotechnology Journal 17: 2272-2285

米国ダウデュポン社、米国及びエジプトの大学の研究者による原著論文である。将来の食料需要の増加に備える多収品種の育成は世界的大課題である。最も効果的な増収手段は成熟期の茎葉の老化を防止してステイグリーン特性を助長し、成熟期の光合成のソース能を増大することである。ステイグリーンに関する断片的研究は多いが遺伝子（酵素）-生理-表現型（収量）を組織的に網羅した研究は少ない。著者らはステイグリーンに関連する諸要因を特定し、多収系統の作出につながる研究を実施し、以下の結果を得た。

(1) *nac7* RNAi QTL 組換えイベントの作出：マッピングプログラムから、イリノイ高タンパク質1 (IHP1：老化大) とイリノイ低タンパク質1 (ILP1：老化小) を選出し、両者の交配から新規老化関連 QTL を同定し、その QTL の中から NAC ドメイン転写因子をコードする *nac7* 遺伝子を特定した。*nac7* を RNAi 手法によるノックダウン組換え体 (*nac7* RNAi イベント) を作出し、老化抑制特性発現の材料として用いた。

(2) *nac7* RNAi イベントの諸特性：

- 1) 老化減少：エリート自殖系統 PHR03 との交配イベント e1.17 及び e1.18 はどちらも老化が対照より少なく、老化抑制効果が明示された。
- 2) 圃場栽培におけるステイグリーンの維持：*nac7* RNAi との交雑種は標準圃場栽培においてステイグリーン指標が対照の4.3に対し4.9~7.7と高い値を示し、ステイグリーン特性の維持が示された。
- 3) 圃場栽培における収量増加：米国2州10地点2ヶ年の圃場試験を実施した。対照系統との比較による増収は、1年目では0.28~0.45トン/ha、2年目は0.25トン/ha、2か年の平均で0.25トン/haであった。以上から、*nac7* RNAi イベントは圃場栽培において老化抑制によるステイグリーン特性を発揮し、収量増加をもたらすことが明示された。
- 4) 生理的諸特性：R1期（成熟初期）における *nac7* RNAi イベント3系統は対照よりバイオマスは16.6%、葉身窒素含量は11.3%多かったが、種子窒素含量には有意差はなかった。細胞老化の生物学的指標とされている3種類の酵素は老化に伴い発現が増加するが、*nac7* RNAi イベントは発現が有意に低かった。
- 5) 光合成関連遺伝子：光合成のカルビン回路に関係する主要酵素である PFPC、AST、RuBisCo などの発現は対照より高く、成熟期の光合成能力の低下は少なかった。*nac7* RNAi イベントは、その他の葉の老化に関与する酵素の発現の鍵となるプロセスを制御していることが示された。

(3) 総括：葉の老化を制御して緑色を維持するステイグリーン特性は、成熟期の光合成ソース能を増加し、増収することが知られている。新たに同定されたトウモロコシの老化 QTL 中より同定された老化遺伝子 *nac7* を RNAi 操作により抑制した *nac7* RNAi イベントが作出された。*nac7* RNAi イベントは対照より老化が少なくステイグリーンが延長され、葉面積、葉身窒素含量、バイオマス、光合成関連酵素遺伝子発現などが高く、自殖系統との交雑種は平均0.25トン/haの増収を示した。これらの結果は今後のトウモロコシあるいは他作物の増収育種の参考になると考えられる。

(林 健一)

Transportability of conclusions from confined field trials : A case study using the virus resistant transgenic bean developed in Brazil

隔離圃場試験に基づく結論のトランスポートビリティ：ブラジルで
開発されたウイルス抵抗性組換えインゲンマメを用いた事例研究

Vesprini F *et al.*

2020

Frontiers in Bioeng. Biotechnol. 8: 815

アルゼンチン農業水産省・国研、ILSI アルゼンチン、バイエルクロップサイエンス（アルゼンチン）、の研究者による事例研究である。

- (1) インゲンマメの栽培：インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*) は1年生双子葉植物で中米・南米地域を原産地とし、世界的に栽培されている。ブラジルは世界最大の生産の消費国であり、広く栽培され、300万トン/年を生産している。アルゼンチンは約50万トン/年を生産し、栽培の95%は北西部の標高300~1000mの地域に集中している。
- (2) BGMV 抵抗性インゲンマメ Embrapa5.1 (E5.1と略記) の開発：BGMV (ビーンゴールデンモザイクウイルス) は野生種やダイズなどマメ科植物を宿主とするホワイトフライにより媒介され、ダイズ栽培の増加につれて急増した大病害であるが、十分な抵抗性を有するインゲンマメは未開発であった。ブラジル農業畜産開発公社 (Embrapa) は特別プロジェクトを推進し、ジーンサイレンシングによる BGMV 抵抗性インゲンマメ (E5.1) を開発した。同系統は各種審査を完了して、2011年に栽培・食用が認可された。
- (3) データトランスポートビリティ適用の検討：ILSI アルゼンチンのバイテク作業部会にサブチームが設置され、E5.1を用いたブラジル内の隔離栽培試験 (CFT) の結論のアルゼンチンへの適用について研究が推進された。
- (4) 地理的に異なる地域間のデータトランスポートビリティ：近年地理的に異なる地域間のデータトランスポートビリティを、トウモロコシ・ダイズで例証した文献が増加している。これら文献を参考に ILSI サブチームは、データトランスポートビリティを有効に適用するための判断基準 (criteria) として以下の3項目を設定した。
 - i) 試験設計及び手法の適切性
 - ii) 評価エンドポイントの関連性及び一貫性
 - iii) CFT 実施地の環境条件の多様性
- (5) ブラジルにおける E5.1インゲンマメを用いた CFT の精査：ILSI サブチームは上記3基準に基づいて2008~2009年に実施された CFT のデータを精査した。
 - (i) 試験設計及び手法の適切性：供試材料は E5.1インゲンマメ及び対照の非組換え親品種 (Orathe)、完全乱塊法 (8 反覆)、標準栽培管理、ANOVA 適用；成分組成解析には最近

のインゲンマメ成分データベースを用いた。

- (ii) エンドポイントの関連性・一貫性：収量及び収量関連多数特性を実測、その結果、農業表現型的特性には、生物学的に留意すべき有意差は検出されなかった。成分分析では、炭水化物、無機物、アミノ酸、非栄養成分などに異状は検出されなかった。
 - (iii) CFT 実施地の環境条件の多様性：インゲンマメの代表的栽培地域として3つの州 -Goias (GO)・Parana (PR)：Minas Gerais (MG)- が選出された。多様性指標として、緯度・経度、水収支歴、温度、湿度、雨量、土壌タイプが考慮された。実施地は栽培地の多様性を十分にカバーしており、各種特性値は実施地間の差として農業的に妥当な差異を示し、多様性を反映していた。ILSI サブチームは、3つの判断基準によると、本研究結果の結論はアルゼンチンにおけるリスクの可能性の評価のために“transportable”であると結論した。
- (6) 総括：ILSI アルゼンチンのバイテク・サブチームは3つの判断基準を設定して、BGMV 抵抗性インゲンマメ E5.1の開発国ブラジルにおける CFT の結果を精査した。E5.1インゲンマメと対照との間には農業表現型的特性では生物学的に留意すべき有意差は検出されず、また成分組成解析では実質的同等性が示された。以上から、ブラジルにおける CFT の結論のアルゼンチンにおけるリスク評価へのトランスポートビリティが例証された。本事例研究の結果は、今後の関係分野における重複作業の削減、経費・労力・時間の軽減に貢献することが期待される。

(林 健一)

Risk-only assessment of genetically engineered crops is risky

遺伝子組換え作物のリスクのみの評価はリスクが高い

Herman RA *et al.*

2020

Trends in Plant Science 24: 58-68

コルテバ社による意見論文。分野や用途に関わらず、新技術にはリスクを伴うが、拒絶は技術導入によって本来得られる利益を失うというリスクを伴う。著者らは、遺伝子組換え作物について、現代農業のおかれる状況に即して、そのリスクと利益についての再考を促している。

- (1) 現代農業のおかれる状況：現代農業の最も注目すべき特性は規模の大きさに特徴づけられ、遺伝子組換え技術を含む近年の導入技術は、主に大規模農業での生産性の向上に特化している。
- (2) 作物のリスクの再評価：適応度の向上による雑草化、近縁野生種への花粉によるジーンフロー及びそれにより生じた雑種の雑草化は遺伝子組換え技術特有のリスクと議論される。しかし、組換え作物導入以前から、作物と近縁野生種との交雑する可能性はそもそも存在し、害虫抵抗性や除草剤耐性の導入は従来育種でも行われてきたことを考慮すると、これまで組換え特有と考えられてきたリスクの多くは、近代農業の大規模化によるリスクと言える。また、それ以前の小規模農業もまた、自然破壊により行われている。
- (3) 組換え作物による経済的リスク：害虫抵抗性組換え作物や除草剤耐性組換え作物は、在来作物、合成殺虫剤、選択的除草剤等の旧来の技術を置き換えるものであることから、旧来の技術依存産業に対する破壊的な経済的リスクをもたらしたことは事実である。
- (4) 組換え作物による環境リスク：組換え作物の導入は、農業生態系の生物多様性を減少させるとの主張もあるが、例えば、害虫抵抗性組換え作物の導入は従来殺虫剤散布より環境への負荷は少ない等、実際には、従来技術よりも生物多様性への影響は小さいと評価される。
- (5) 組換え作物への誤解：組換え技術は、交雑できない異種を核酸ドナーとして利用することで画期的な新品種の作出を可能とすることから、従来育種よりもリスクが高いという主張がある。しかし、遺伝子組換えのメカニズムへの理解の深化により、実際には、遺伝子組換え技術による育種では、従来非組換え育種と比べ、むしろ、ゲノムへの影響は小さいことが明らかとなっている。
- (6) 組換え作物の健康上の利益：農薬使用量削減は環境に対してだけでなく、農業従事者の健康上の利益としても評価できる。他にも、害虫抵抗性品種導入によるマイコトキシン産生カビ被害の減少、褐変抑制ジャガイモによるアクリルアミド低減、脂肪酸不飽和度の改変等の健康上の利益も挙げられる。
- (7) 組換え作物の経済的利益：第一世代組換え作物は、生産の効率化により、生産者及び消費者の双方に経済的利益が生じる。生産者利益の実例として、先駆的に組換え作物の導入を決断したブラジルとアルゼンチンは、主に選択的除草剤のコスト削減及び環境的に有益な保全耕うんの採用による年間二期作による収量の増加によって実現された平均的な農業所得の向上（ブラジルでは248億米ドル、アルゼンチンでは211億米ドルの累積経済的利益）を可能にした。
- (8) 総括：組換え作物は、利益を考慮しないことによるリスクにより、本来社会全体に受けられる利益が失われていると考えられる。組換え作物は、非常に低いリスクと実質的な利益の両方について科学的に明らかになっている良い例である。したがって、農業システムや食物連鎖への適切な組み入れから社会が利益を得ることができるよう、利益と、これらの利益を見送るリスクを、遺伝子組換え作物のリスク評価に含めることが不可欠である。

(小口 太一)

New plant breeding technologies for food security

食糧安全保障のための新しい植物育種技術

Zaidi SS-e-A *et al.*

2019

Science 363: 1390-1391

ベルギー、ドイツ、サウジアラビアの大学、パキスタンの公的研究機関、及び CGIAR 傘下国際稲研究所 (IRRI) の研究者による意見論文。世界の飢餓の解消や持続的開発目標達成に向けて、新しい植物育種技術 (NPBT) が果たす役割や今後の課題について展望している。

- (1) 組換え作物：組換え作物の採用は収量の向上、農薬使用量の削減により、貧困の解消や栄養改善に寄与する。しかし、組換え作物を採用している途上国はごくわずかであり、アフリカやアジアの多くの国々は、リスクの誤認や欧州への輸出市場を失う懸念から採用を躊躇している。
- (2) ゲノム編集技術：組換え作物に関する懸念の多くは、種を超えた核酸の移入を理由としている。NPBT の一つであるゲノム編集技術は、内生遺伝子の改変に基づく技術であり、最終製品に外来核酸を含まない。特に CRIPR-Cas を利用したゲノム編集は、最も有力なシステムの一つとして台頭してきており、イネ、小麦、トウモロコシなどの主要な穀物や、バナナ、キャッサバなどの多く作物へ応用が広がっている。ゲノム編集作物が最終製品に外来核酸を含まないことは、規制手続きのコストを下げ、開発途上国の農家にとって改良種子をより手頃な価格にする可能性がある。
- (3) ゲノム編集技術普及への課題：今後ゲノム編集技術を含む NPBT の普及を進めるには、透明性のあるコミュニケーション、研究者やイノベーションシステムの他の利害関係者のトレーニング、効率的で情報に基づいた規制が課題となる。このためには、官民パートナーシップや政府間イニシアティブによる官民、国際連携が必要である。公的資金で運営されている国際農業研究諮問グループ (CGIAR) は、地域や国の研究機関と協力して、食糧安全保障作物のほとんどを対象とし、品種改良を進めていることから、NPBT 普及に向けた中立的なコーディネーターとなり得る。
- (4) ゲノム作物により解決が期待できる問題：ゲノム編集技術の導入により、即効性のある解決策を提供できる例として、以下が例示されている：西アジア及び北アフリカのコムギ栽培におけるうどんこ病害、南北アフリカのトウモロコシ栽培における干ばつ被害、東南アジアの稲作におけるいもち病害、白葉枯病害、干ばつ被害、東及び中央アフリカのキャッサバ栽培におけるキャッサバ褐色条斑病害、西及び中央アフリカのバナナ栽培におけるフザリウム青枯病害。
- (5) 展望：飢餓の解消に向けては、発展途上国の農村部における零細農家の所得を向上させることが重要である。ゲノム編集のような新しい植物育種技術 (NPBT) は、地球上の各地域で抱えている食料安全保障上の諸問題について、即効性をもって解決できる可能性を有している。慎重な展開と科学的な情報に基づいた規制によって、世界の社会経済発展や食糧安全保障に大きく貢献できることを主張する。

(小口 太一)

ERA プロジェクト調査報告

2020年12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)