
ERAプロジェクト調査報告

March 2022

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

2022.03

バイオテクノロジー研究会

2022年の調査報告書第1号（通算58号）をお届けします。

本号では、遺伝子組換え作物の実用化に関連して、メキシコ大統領が演説で言及した GM 作物禁止を「全面禁止・現状維持・全面解禁」という3つのシナリオを想定して影響を解析した短報 (No.567)、中国華北地方での *Bt* ワタの栽培面積減少に伴う害虫のオオタバコガ数・非 *Bt* 作物の被害・殺虫剤使用量の関連性を報告した論文 (No.576) を紹介しています。

既に関連された遺伝子組換え作物に関しては、今後商品化が期待されるオメガ-3脂肪酸生成新規組換えカノーラ2イベントについての短報 (No.572)、既に米国で認可されたウイルス抵抗性プラムのウイルス抵抗性の長期安定性・安全性を検証した論文 (No.575) を報告しています。

また、遺伝子組換え植物の作出及び評価を行った論文として、葉の含油量を高めた遺伝子組換えソルガムの作出 (No.568)、RNAi によりリポキシゲナーゼ発現を抑制したマーカーフリー（不在）遺伝子組換えコムギの遺伝子挿入部位の特定と評価 (No.569)、開花関連遺伝子の発現抑制により開花期を遅延させた遺伝子組換えアルファルファの飼草品質と管理の向上 (No.570)、シロイヌナズナ由来の plant pattern recognition receptor である病害免疫レセプター *EFR* 遺伝子を導入した遺伝子組換えウマゴヤシ（マメ科植物）と共生窒素固定菌との関係及び根のバクテリア病害抵抗性 (No.571)、コムギを加害するムギヒゲナガアブラムシ生育に必須遺伝子の同定とその発現を抑制する RNAi を導入したアブラムシ抵抗性遺伝子組換えコムギの作出 (No.574) を紹介しています。さらに、ゲノム編集植物の作出・評価としては、ナタネの草丈・分枝数に関与する重複相同遺伝子のノックアウトによる草型改良・収量増加ナタネの作出の論文 (No.573) を紹介しています。

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.567	新規種子の国際的隔離—メキシコが意図する GM 作物禁止の食料・環境安全保障分野の含蓄 No country for new seeds: food and environmental security implications of Mexico's intended ban on GM crops	1
No.568	脂質生合成の向上によるソルガム葉の油含量の増加 Up-regulation of lipid biosynthesis increases the oil content in leaves of <i>Sorghum bicolor</i>	2
No.569	マーカー不在・挿入部位特定遺伝子導入による貯蔵性改善及び脂質含量向上組換えコムギの開発と評価 Development and characterization of marker-free and transgene insertion site-defined transgenic wheat with improved grain storability and fatty acid content	3
No.570	<i>MsFTa1</i> の発現抑制によるアルファルファの飼草品質及び管理の向上 Improvement of alfalfa forage quality and management through the down-regulation of <i>MsFTa1</i>	5
No.571	ウマゴヤシにおけるシロイヌナズナ由来病害免疫レセプター、 <i>EFR</i> 遺伝子の発現による根バクテリア病抵抗性の増強と窒素固定共生関係の維持 Expression of the <i>Arabidopsis thaliana</i> immune receptor <i>EFR</i> in <i>Medicago truncatula</i> reduces infection by a root pathogenic bacterium, but not nitrogen-fixing rhizobial symbiosis	6
No.572	魚油のオメガ-3脂肪酸新規給源としての GM カノーラ作物の最新情報 Update on GM canola crops as novel sources of omega-3 fish oils	7
No.573	ナタネ (<i>Brassica napus</i> L.) の2つの <i>BnaMAX1</i> 相同遺伝子を標的とする CRISPR/Cas9 手法の適用による草型改良と収量増加 Knockout of two <i>BnaMAX1</i> homologs by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis improves plant architecture and increases yield in rapeseed (<i>Brassica napus</i> L.)	8
No.574	植物を介した RNAi によるムギヒゲナガアブラムシの侵入と摂取に関与する必須遺伝子のサイレンシングに基づくアブラムシ抵抗性コムギの作出 Silencing an essential gene involved in infestation and digestion in grain aphid through plant-mediated RNA interference generates aphid-resistant wheat plants	9
No.575	‘ハニースウィート’ プラムにおける RNA 干渉に基づくウイルス抵抗性の長期の効果と安全性 Long-Term Efficacy and Safety of RNAi-Mediated Virus Resistance in ‘HoneySweet’ Plum	10
No.576	<i>Bt</i> コットンの栽培面積の縮小による地域的な害虫の復活、作物損失及び殺虫剤使用の増加 <i>Bt</i> cotton area contraction drives regional pest resurgence, crop loss, and pesticide use	11

No country for new seeds: food and environmental security implications of Mexico's intended ban on GM crops

新規種子の国際的隔離—メキシコが意図する GM 作物禁止の食料・環境安全保障分野の含蓄

Barrera E *et al.*

2020

Transgenic Research 29: 165-170

メキシコの大学研究者による短報である。

(1) メキシコ大統領の GMO 禁止発言

メキシコのアンドレス・マヌエル・ロペス・オブラドール現大統領は2018年12月の就任演説の中で、GMO の導入・使用の禁止を農業政策の優先事項の一項目とする旨の発言を行った。これまでのところ、実際の政策には、反映されていないが、著者らは、全面禁止・現状維持・全面解禁の3段階を想定して、公刊論文に準拠した広範・深化した解析を行い、以下の結果を得た。

(2) 現行の規則枠組み

包括的 Biosafety Law に基づき、GMO の開発・使用・公開が規制されている。6 省庁・科学技術会議長官による GMO バイオセーフティ委員会 (CIBIOGEM) が設立され、GMO の取扱いが検討されている。農業 GMO は特に審査が厳重で多くの資料・データが要求されている。このため開発大企業以外の申請は少ない。政府は国内の関係機関・研究所・大学に対して種々の支援を行っている。

(3) 3段階の GMO 禁止・規制の正負の影響 (公刊15文献に準拠)

シナリオ	食料安全保障	環境影響	経済展望
1) 全面禁止	負 - 環境耐性・病虫害抵抗性 GM 作物の減少による農作物減収、食料不足	負 - 多発する病虫害・雑草を抑制するための化学薬剤多投による環境悪化	負 - 収量減少・耕地荒廃による農村の貧困化、市民経済の不安定化
2) 現状維持	正 - GMO 発展による国内増産への貢献、気候変動への対応 中立 - 現行の GMO の多くは非食用利用	正 - Bt 品種による農薬減少 負 - 林地の農地化増大	正 - 現行の GM 作物は換金作物であり収益に貢献
3) 全面解禁	負 - 換金作物の偏重による食用作物の不況、輸入種子への依存増大	負 - 農薬多投、林地への農地侵入、GM 品種多用による在来種への圧迫	正 - 生産増による短期的収益増 負 - 土地過開発・農薬多用による長期的悪影響による収益減少

(4) 将来展望

トウモロコシはメキシコの主食であり精神的・文化的の中核でもある。にもかかわらず、政府は国際市場で収益性の高い作物を推進する。メキシコでは、セディージョ元大統領により、1993~2003年に一度 GM 作物栽培に制限がされた経緯がある (期間後の GM トウモロコシ栽培の認可については現在も係争中)。それらの結果、トウモロコシの輸入が増加し、国内栽培、特に在来品種の栽培が減少し、農家の高齢化・都市への人口移動がこれに拍車をかけている。GM トウモロコシの盲目的な禁止論は、メキシコのトウモロコシ栽培自体の衰退にもつながるというパラドックスが生じている。

(5) 総括

メキシコでは GMO 禁止の大統領演説がなされた。しかし著者らは、食料・環境の確保、経済性の維持などへの貢献を熟慮して「現状維持」が最適として勧告している。

(林 健一)

Up-regulation of lipid biosynthesis increases the oil content in leaves of *Sorghum bicolor*

脂質生合成の向上によるソルガム葉の油含量の増加

Vanhercke T *et al.*

2019

Plant Biotechnology Journal 17: 220-232

オーストラリアの国研（CSIRO）及び大学の研究者による原著論文である。現在、世界の植物油の86%は食用・飼料用、14%は生物燃料原料として利用される。油糧種子の長期的・世界的不足が予想されているため、種子に代わる植物組織由来の植物油の開発が世界的課題となっている。著者らはソルガムの広域適応性・高バイオマス生産性に注目して、葉の含油量を高めたソルガム系統の作出を試み、以下の結果を得た。

(1) ソルガムの特性

1年生イネ科作物で温～熱帯の広域・低肥沃地に適応し、主食種子作物中で第5位の重要作物である。C₄植物でソルガムは水利用効率・光合成能力・耐乾性が高く、生育5ヶ月で15～60トン/haのバイオマスを生産する。ソルガムには、穀粒利用・糖蜜利用・飼料利用の3タイプがあるが、本報告では穀粒利用の品種 Tx430を供試した。

(2) 組換えソルガムの作出

植物油の60%以上はトリアシルグリセロール（TAG）を多く含む油糧種子から由来している。葉のTAG含有率は通常1%程度である。葉のTAG増加既往例（タバコ）に基づき、3種類のTAG関連遺伝子（WR11、DGAT1、Oleosin-L）をボンバードメンド法でソルガムに導入した。以下、効果が大きい02系統（WR11、DGAT1、Oleosin-L、全てユビキチンプロモーター）及び03系統（WR11はPEPCプロモーター（葉肉特異的）、DGAT1とOleosin-Lはユビキチンプロモーター）の結果を紹介する。

(3) 組換えソルガム葉のトリアシルグリセロール含量

最下位展開葉のTAG含量を3生育期（栄養成長・穂ばらみ・成熟）に調査した。成熟期TAG含量（%乾物重ベース）は、02系統が6.1、03系統は7.6%、対照は0.2%であった。対応する全脂質含量（TFA）は、8.7、9.7、1.6%であった。さらに再生分けつでは、03系統が成熟期止め葉で最高値を示し、TAGは8.4%、TFAは9.9%に達した値を示した。一方、茎及び対照のTFAは3%及び0.3%であった。

(4) 脂肪酸の変化

TAGの増加に連動して、すべての系統でリノレン酸が増加した。次いで、02系統ではパルミチン酸、03系統ではオレイン酸が増加した。

(5) デンプン及び糖の変化

03系統では、デンプン含量が7.4倍及び15.3倍の低下を示した。02系統は有意な低下を示さなかった。03系統は、ショ糖で2倍、三糖では10倍以上の低下を示したが、02系統の低下は対照と同じであった。単糖類の低下は少なかった。

(6) 組換えソルガム葉におけるTAG蓄積性状（穂ばらみ期）

03系統では、葉肉細胞の液体部分に多数の油滴（droplet）として蓄積されて、葉鞘への蓄積は少なかった。02系統では、中間量の油滴が葉間細胞と葉鞘の両方に蓄積されていた。

(7) 総括

予想される油料種子由来の植物油の長期的・世界的不足を補完する目的をもって、葉のTAG含量を増加した組換えソルガム系統が、遺伝子組換え手法により作出された。同系統の最高値では、成熟期の止葉で8.4%を示した。本研究は葉の脂質含量を増加した組換えソルガム作出の第一段階であり、同分野の今後の発展に有用な情報を提供することが期待される。

（林 健一）

Development and characterization of marker-free and transgene insertion site-defined transgenic wheat with improved grain storability and fatty acid content

マーカー不在・挿入部位特定遺伝子導入による貯蔵性改善及び脂質含量向上組換えコムギの開発と評価

Cao X *et al.*

2020

Plant Biotechnology Journal 18: 129-140

中国の国研及び大学の研究者による原著論文である。組換え育種の発展において、マーカー不在 (marker-free) かつ挿入部位が特定された (MFTID) 組換え技術が望まれる。コムギの形質転換はこれまでパーティクルガン法によることが多かったため、MFTID 組換え系統は作出されていない。主要穀類の世界的備蓄 (約 1 億トン/年) の安定化のため、これら穀粒作物の貯蔵性 (storability) の向上は重要課題である。また、リポキシゲナーゼ (LOX) は、植物中の脂質を酸化し、穀粉や植物油の品質低下の原因となる。著者らは、種子における LOX 遺伝子の発現抑制のための RNAi 分子を発現する MFTID 組換えコムギ系統の作出を試み、以下の結果を得た。

(1) 組換えコムギ系統の作出

マーカー不在作出法として、double right border (DRB) T-DNA ベクターが用いられた。DRB T-DNA ベクターとは、1つのレフトボーダー (LB) と2つのライトボーダー (LB に近い方から RB2、RB1と呼ぶ) を含む T-DNA ベクターで、長短2種類の T-DNA が植物ゲノムに挿入した植物が比較的高い頻度で得られる。本報告では、LB-RB2間に LOX 遺伝子に対する RNAi 分子の発現カセット、RB2-RB1間に選抜マーカー (Bar) 発現カセットを含む。後代から短い方の T-DNA のみを含む個体を選抜することでマーカー不在の形質転換体を得ることが可能である。本 DRB ベクターをアグロバクテリウム法によりコムギ品種 KN199に導入し、自殖 T0を経て最終的に、T4世代において、マーカー不在かつ RNAi カセットがホモ接合の4系統 (GLRW-1、-3、-5、-8) が選抜された。

(2) ゲノム中の挿入部位の特定

TAIL-PCRにより、4系統のうち GLRW-3及び-8について、挿入部位が特定された。

(3) 穀粒及び穀粉における LOX 活性 (温室試験)

- i) 種子の LOX 活性：温室試験で得た種子の LOX 活性は GLRW 系統が対照より有意に減少した。
- ii) 穀粉の LOX 活性：上記の種子から得た穀粉の LOX 活性は、GLRW 系統が対照に対して 26.80%~33.35%減であった。
- iii) 種子及び穀粉中の不飽和脂肪酸酸化産物 (MDA) はすべての系統が対照より有意に低かった。

以上から、GLRW 系統の種子あるいは穀粉中の LOX 活性の低減が明示された。

(4) 人工劣化処理試験

40℃、湿度90%の人工劣化処理5日後の発芽率は対照30%に対しGLRW系統は40%、10日後は0%対10%と、GLRW系統の貯蔵性の向上が示された。また発芽後の幼植物の生育もGLRW系統が対照より健全であった。

(5) 不飽和脂肪酸含量の増加

5種類の不飽和脂肪酸の種子中の含量の対照に対する増加率は、GLRW-1系統が3.70%、GLRW-3系統が10.31%、系統5が3.86%であった(2016年産種子)、2017年産種子では全体的に増加し、25.74%、27.56%、14.13%であった。

(6) 農業特性

春化栽培及び普通栽培において、主要農業特性値は対照と有意差はなかった。

(7) 総括

RNAi手法による*LOX*遺伝子の発現抑制により、脂質酸化を抑制し、種子の貯蔵性や穀粉品質が向上した組換えコムギ系統が作出された。さらに作出された4系統は全てマーカー不在、うち2系統はコムギゲノム中の挿入部位も明らかとしたMFTID組換えコムギ系統である。これらの成果は今後のコムギ育種に有用な情報を与えることが期待される。

(林 健一)

Improvement of alfalfa forage quality and management through the down-regulation of *MsFTa1*

*MsFTa1*の発現抑制によるアルファルファの飼草品質及び管理の向上

Lorenzo CD *et al.*

2020

Plant Biotechnology Journal 18: 944-954

アルゼンチンの国研・大学の研究者による原著論文である。アルファルファは、完全長日性・多年性・他殖性・マメ科の世界で最重要な牧草の一種である。高品質（茎葉タンパク質）・高バイオマス収量・広域適応性・耐乾性（深根性）・高 N_2 固定能力など優れた特性を有する。アルファルファは年に数回刈り取られるが、飼草品質は花成時期の前後で変化し、花成時期前の刈り取りは良品質・少収であり、花成後の刈り取りは、多収・低品質となる。刈り取り適期の判定は容易ではない。著者らはアルファルファの長日性を操作して開花期を遅延させた系統による品質・管理の向上を試み、以下の結果を得た。

(1) 花成促進組換え系統の作出

既往の研究成果に基づいて、花成遺伝子として *MsFTa1* を特定し、これを発現抑制する人工マイクロRNA (amiRNA) を設計した。この発現カセットをアグロバクテリウム法によりアルファルファ品種 Patricia に導入し、最終的に4つの系統 (E1、E2、E5、E8) を選出した。

(2) 抑制系統における花成時期

得られた4系統では *MsFTa1* の発現が低下し、花芽形成節数及び第1花出現日数の両面で明瞭な花成時期の遅延が認められた。特に E1、E2、E8系統は、頂芽柔組織に花芽形成は皆無であった。また全節数及び根重は野生と差異はなく、正常な正育を示した。花成時期遅延は平均約30日であった。

(3) 抑制系統の草型 (architecture) とバイオマスの配分

抑制系統は節間長短縮によって、草丈及び節高が減少したが、分枝数は野生型と差異はなかった。この傾向は4ヶ月には消失した。節の縮小により全バイオマス重量は減少したが、葉のバイオマス重量は減少しなかった。その結果、葉/茎のバイオマス比率は顕著に増加し、飼草の品質向上が明示された。この傾向は120日後でも顕著であった。

(4) 抑制系統飼草の品質

中性及び酸性繊維、及びリグニンが有意に低下し、品質向上が認められる。また一部の系統は粗タンパク質も増加した。

(5) 特性の維持

複数の刈り取り及びその後の特性を通じ、抑制系統の花成遅延特性は安定的に維持・発現されることが確認された。これにより本系統の圃場栽培への適応性が示唆された。

(6) 総括

アルファルファの花成遺伝子 *MsFTa1* の発現抑制により、花成時期遅延 (約30日) 組換え系統が作出された。同系統は草型が変化して葉のバイオマス比率が茎の比率より高く、消化率の向上が示された。これらの特性は世代を通じて安定的に維持された。これらの品質及び管理の両面における向上は、農家の作業・経営の向上に貢献することが期待される。

(林 健一)

Expression of the *Arabidopsis thaliana* immune receptor *EFR* in *Medicago truncatula* reduces infection by a root pathogenic bacterium, but not nitrogen-fixing rhizobial symbiosis

ウマゴヤシにおけるシロイヌナズナ由来病害免疫レセプター、*EFR* 遺伝子の発現による根バクテリア病抵抗性の増強と窒素固定共生関係の維持
Pfeilmeier S *et al.*

2019

Plant Biotechnology Journal 17: 569-579

英国・フランスの研究所及びスイスの大学の研究者による原著論文である。近年、plant pattern recognition receptors (PRRs) のバイテク手法による種間導入が、広域・持続性耐病性育種として発展中であり、既にトマト、イネ、コムギで成果が報告されている。しかし、PRRs の他の便益提供生物に対する影響の有無は不明である。著者らはアブラナ属由来の PRRs、*EFR* 遺伝子をマメ科植物ウマゴヤシ (*Medicago truncatula*) に導入し、共生窒素固定生物及び根のバクテリア病害に対する抵抗性発現を研究し、以下の結果を得た。

(1) 組換え植物の作出

組換え対象として既に経験があるマメ科植物ウマゴヤシを選定した。固有の便益提供者として空中窒素固定生物 *Sinorhizobium meliloti* が選定された。対象病害として根バクテリア病菌 *Ralstonia solanacearum* を特定した。シロイヌナズナ由来の PRR である *EFR* 遺伝子の発現カセットをアグロバクテリウム法でウマゴヤシ栽培種 R108 に導入し、最終的に安定 2 系統 (26-8 及び 18-1) を得た。非組換え null 系統 (26-2 及び 18-3) を対照として設定した。

(2) *EFR* 組換え系統と窒素固定菌との長期共生関係の維持

- 1) 共生初期の反応 (接種10日後): 組換え・対照の両系統とも、根元先端の微小コロニー、小節 (こぶ) 原基の形成、小節外形には差異がなかった。しかし、小節数では組換え系統が微減し、26-8 系統は 35%、18-1 系統は 25% 低下した。
- 2) 共生後期の反応 (接種後 4 週間): 生育 (表現型・新鮮重) には有意差はなかった。組換え系統では、*EFR* 蓄積が根部 (主根・側根・小節) で認められた。表現型・全小節数・窒素固定酵素活性などには有意差がなかった。以上から組換え系統における *EFR* 発現は、窒素固定共生菌の着生及び長期的な共生関係の維持に支障はもたらさないことが示された。

(3) 根バクテリア萎凋病 (bacterial wilt) 抵抗性

接種試験を行い 5~10 日間の病徴の発展及び生存率を調査した。26-8 系統は有意に、18-1 系統は外見上、ともに対照より高い抵抗性を示した。接種 5~10 日間の生存率は、組換え 26-8 系統と対照 26-2 系統では、90~30% 対 70~10%、組換え 18-1 系統と対照 18-3 系統では 90~10% 対 50~10% であった。

(4) 総括

アブラナ植物由来 PRR である *EFR* 遺伝子を異所的に発現する組換えウマゴヤシが作出された。*EFR* 発現組換え系統は、空中窒素固定菌との長期的共生関係は支障なく維持し、また根萎凋バクテリア病菌に対して有意に高い抵抗性を示した。以上から、共生関係の維持と病害抵抗性の増強との両特性の両立が確認された。

(林 健一)

Update on GM canola crops as novel sources of omega-3 fish oils

魚油のオメガ-3脂肪酸新規給源としてのGMカノーラ作物の最新情報

Napier JA *et al.*

2019

Plant Biotechnology Journal 17: 703-705

英国の研究所、ノルウェー・英国の大学の研究者による短報である。

(1) 背景

現在、海産魚油の75%は養殖漁業向けであり、その80%はサケその他の魚類の養殖に用いられている。その主要成分であるオメガ-3脂肪酸、特に主要成分であるEPA及びDHAは不足しており、その補充用として他の海洋生物（オキアミ・プランクトン）、発酵寒天、組換え生物（酵母）などが充当されている。一方、陸地産の組換え植物によるオメガ-3脂肪酸合成も試みられており、シロイヌナズナ・カメリナ（4%以下）による初期的成果がある。近年、組換えカノーラ（*B. napus*）によるオメガ-3脂肪酸の安定的作出が、米国の民間2社から報告され、これらは以下の特徴を有する。

(2) オメガ-3脂肪酸生成新規組換えカノーラ

- 1) LBFLFK 系統：BASF 社開発。組換え親品種「Kumily」（オレイン酸高含有、エルシン酸は無含有）。農務省 APHIS 審査資料：コンストラクトの分子情報、親品種種子の脂肪酸組成など、組換えには11遺伝子を使用。組換えカノーラ種子の主成分：EPA7%、DPA3%、DHA1%。
- 2) NS-B50027-4系統：Nuseed 社開発。組換え親品種「AV Jade」（オレイン酸含量は Kumily よりさらに高く、エルシン酸は含有無し）、EPA 及び DHA 生合成のために8遺伝子を使用、組換えカノーラ種子の主成分：EPA0.5%、DPA1%、DHA10%。

(3) 展望

上記2イベントは陸生植物に適用された代謝組換え研究の最先端の高度な成果物である。圃場栽培のための APHIS 認可は間近いと思われる。食用・飼料用のためにはさらに FDA の認可が必要であるが、これも順調に得られると予想される。これにより、組換えカノーラによるオメガ-3脂肪酸の生産の基礎は整えられると考えられる。実際の用途は、不足している養殖漁業向けの魚油の補充にあると考えられる。さらにカプセル化による養殖魚・家畜・人間への提供も可能であろう。カノーラの生産は世界的に長期・安定しており、供給源は十分に確保されることが考えられる。

(4) 総括

米国において組換えカノーラのオメガ-3脂肪酸の使用が間もなく認可されると予想される。これにより、養殖魚、家畜、人間の保健の維持・増進に対する植物バイオテクの新しい貢献が期待される。

(林 健一)

Knockout of two *BnaMAX1* homologs by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis improves plant architecture and increases yield in rapeseed (*Brassica napus* L.)

ナタネ (*Brassica napus* L.) の2つの *BnaMAX1* 相同遺伝子を標的とする CRISPR/Cas9手法の適用による草型改良と収量増加

Zheng M *et al.*

2020

Plant Biotechnology Journal 18: 644-654

中国の国研・米国の大学の研究者による原著論文である。ナタネ (*Brassica napus* L.、 $2n=38$ 、AACC) は食用油及びバイオ燃料の主要原料であり、その分枝数は草型及び収量に關与する主要要因である。*B. napus* は、*B. rapa* ($2n=20$ 、AA) と *B. oleracea* ($2n=18$ 、CC) との交雑による異質倍数体であり、ほとんどの遺伝子は重複し、機能的に余剰である。近年、ゲノム編集による倍数性植物の遺伝子のノックダウンが、コムギ・ワタ・バレイショで報告されている。著者らはナタネの重複相同遺伝子にゲノム編集手法を適用し、以下の結果を得た。

(1) ゲノム編集突然変異系統の作出

春播ナタネ品種「862」が親品種として選出された。親品種が有する2つの遺伝子 *BnaMAX1* は相互に類似する相同遺伝子であり、草丈及び脇芽作出に關与している。このため2つの sgRNA が設計され、*BnaMAX1* に対するゲノム編集が実施された。その結果、4種類の対立遺伝子突然変異系統並びに変換遺伝子不在系統が作出された。さらに自殖、ついで期待表現型系統作出のための同時突然変異の実施により、最終的に、半矮性・分枝数増加の3突然変異系統 (S1-5、S1-8、S1-11) を得た。

(2) 最終選抜突然変異系統の特性 (野生型・S1-5・S1-8・S1-11の順に列記)

- 1) 草丈 (cm) : 130・130・70・70
- 2) 全分枝数 : 3・3・9・9
- 3) 長角果数 : 180・170・300・270
- 4) 1株収量 (g) : 3・3・4・4

以上から最終選抜系統 S-8及び S-11が対照に対して有意に草丈は低く、全分枝数・長角果数・収量は有意に増加した有望系統として選抜された。

(3) 総括

ナタネの草丈及び分枝数に關与する相同遺伝子 *BnaMAX1* にゲノム編集手法を適用し、安定したやや草丈短く、分枝数が増加した突然変異系統が作出された。本系統はさらに改良点として、分枝角度の縮小、直立葉、脱粒減少などがあるが、将来の理想多収型への育種材料として有用な遺伝資源となることが期待される。

(林 健一)

Silencing an essential gene involved in infestation and digestion in grain aphid through plant-mediated RNA interference generates aphid-resistant wheat plants

植物を介した RNAi よるムギヒゲナガアブラムシの侵入と摂取に関与する
必須遺伝子のサイレンシングに基づくアブラムシ抵抗性コムギの作出

Sun Y *et al.*

2019

Plant Biotechnology Journal 17: 852-854

中国の国研・ベルギーの大学・英国の研究所・大学の研究者による短報である。アブラムシは多くの作物に吸汁被害及び媒介ウイルス病の被害を与える大害虫である。抵抗性遺伝資源が乏しいため、その防除はもっぱら農薬散布に依存しており、抵抗性害虫の発生、非標的生物への悪影響による環境悪化などが危惧されている。特に、ムギヒゲナガアブラムシ (*Sitobion avenae*) は中国・欧州・北米に棲息し、穀粒を加害する大害虫である。著者らは農薬に代わる植物由来の抵抗性に基づくムギヒゲナガアブラムシ抵抗性作物の作出を試み、以下の結果を得た。

(1) ムギヒゲナガアブラムシ新規遺伝子の特定・命名

2013年以來の既往成果に基づいて、ムギヒゲナガアブラムシのコムギ種子への摂取・吸収に伴ってムギヒゲナガアブラムシ体内に発現する新規遺伝子を分離・特定し、*SaZFP* と命名した。*SaZFP* の発現は、3 令期に最高に達し、以後漸減する様相を示した。

(2) *SaZFP* 標的 RNAi 分子の設計

SaZFP の配列情報に基づいて、これを標的とする人工的 RNAi 分子を設計した。

(3) RNAi 分子給餌試験

In vitro 合成された (2) の RNAi 分子 (dsDNA) のムギヒゲナガアブラムシに対する給餌試験が行われた。RNAi 分子を摂取したムギヒゲナガアブラムシの *SaZFP*mRNA は急速に低下し、致死率は給餌 2 回後で 50%、8 回後には 80% に達し、対照より有意に低い値を示した。以上から RNAi 分子のムギヒゲナガアブラムシに対する高い殺虫性が確認された。

(4) 組換えコムギの作出

RNAi 分子の発現カセット (ユビキチンプロモーター) をコムギ品種 Cadenza に導入され、組換え 22 系統が作出された。さらに 3 系統が選出され、以下の試験に供試された。

1) 組換えコムギ給餌試験：給餌 3 令期のムギヒゲナガアブラムシの *SaZFP* の相対発現量は対照より有意に低下した。

2) 組換えコムギ給餌によるムギヒゲナガアブラムシの各種健康度指標の変化：致死率は給餌 6 日後から増加し、18 日後では 80% に達した。寿命・産卵の期間は有意に短縮し、ムギヒゲナガアブラムシ集団全体の生育量が有意に低下した。

3) 組換えコムギの給餌中止による変化：ムギヒゲナガアブラムシ内の *SaZFP* 発現は給餌中止により徐々に回復し、中止 1~4 日間で対照に対し、20.3% から 79.8% へと回復した。組換えコムギ給餌ムギヒゲナガアブラムシの後代系統は、対照の非組換えコムギ上でもなお高い致死率を示した。

(5) 総括

コムギを加害するムギヒゲナガアブラムシの生育に必須の新遺伝子 *SaZFP* が分離・特定・命名された。この *SaZFP* の発現を抑制する RNAi 分子が開発され、この RNAi 分子を発現する組換えコムギが作出された。本組換えコムギはムギヒゲナガアブラムシの健康度、寿命、集団生育量を有意に低下させ、ムギヒゲナガアブラムシによる減収を軽減した。本研究は昆虫遺伝子に対する RNAi 手法によるアブラムシ防除の新しい可能性を示すものとして期待される。

(林 健一)

Long-Term Efficacy and Safety of RNAi-Mediated Virus Resistance in ‘HoneySweet’ Plum

‘ハニースウィート’ プラムにおける RNA 干渉に基づくウイルス抵抗性の長期の効果と安全性

Singh K *et al.*

2021

Frontiers in Plant Science 12: 726881

米国、チェコ、ポーランドの国立研究機関及び大学の研究グループによる報文。RNAi 手法によるウイルス抵抗性獲得は効果的な手法として確立しているが、実用化はあまり進んでいない。‘ハニースウィート’ プラムは、プラムポックスウイルス (PPV) を病原体とするシャカル病に対する高い効果が認められ、米国では栽培認可されているが、米国以外で認可している国はない。著者らは、欧米各地で実施される ‘ハニースウィート’ プラムの隔離ほ場試験に基づき、ウイルス抵抗性効果の安定性及び安全性について検証した。

(1) 接ぎ木における PPV 抵抗性効果の安定性

2002年にチェコ共和国プラハの試験ほ場で PPV 罹病性の品種 St. Julian の9台木に ‘ハニースウィート’ プラム接ぎ穂と PPV が感染した別品種 Emma Leppermann 接ぎ穂を同時に接ぎ木し、2006~2017年の10年間、毎年、qPCR によりウイルス感染の有無を調査した。品種 Emma Leppermann 接ぎ穂では、PPV のコートタンパク質遺伝子が検出されたが、‘ハニースウィート’ 接ぎ穂では、10年間、検出されることはなかった。

(2) 複数地点による PPV 抵抗性評価

スペイン、チェコ共和国、及び米国の試験ほ場で栽培される ‘ハニースウィート’ プラム及び罹病性の ‘Stanley’ の成木から、葉及び果実をサンプリングし、PPV の感染の有無を RNAseq 解析により評価し、‘Stanley’ からは PPV が検出されたものの、‘ハニースウィート’ からは検出されないことが確認された。

(3) 低分子 RNA プロファイル

‘ハニースウィート’ の導入遺伝子由来の低分子 RNA の発現量は、様々な環境 (接ぎ木、栽培地域) によらずほぼ一定であり、それは内生の低分子 RNA の量の1/10以下であった。また、罹病性品種ではウイルス感染により内生低分子量が大きく変動した。

(4) マウス給餌試験

包括的な90日間のマウス給餌試験では、マウスの健康への悪影響は示されなかった。

(5) 総括

人工 RNAi 分子導入によるウイルス抵抗性が長期・異なる環境において安定して効果を発揮することが確認された。また、給餌試験によりマウスの健康への影響も示されなかったことから、懸念されていた人工 RNAi 分子のオフターゲットによる健康影響もないことが示唆された。

(小口 太一)

***Bt* cotton area contraction drives regional pest resurgence, crop loss, and pesticide use**

***Bt* コットンの栽培面積の縮小による地域的な害虫の復活、作物損失及び殺虫剤使用の増加**

Lu Y *et al.*

2021

Plant Biotechnology Journal DOI: <https://doi.org/10.1111/pbi.13721>

中国の公的研究所、フランスの大学、在米国際食糧政策研究所の研究グループによる原著論文。*Bt* タンパク質発現による組換え作物は害虫被害からの効率的な防除を可能にするが、景観マトリックス全体での *Bt* 作物栽培の効果に関する情報は無い。筆者らは、中国華北地方における *Bt* ワタの栽培面積とオオタバコガ (*Helicoverpa armigera*) 数の変動に着目し、*Bt* ワタの栽培が地域の農業生態全体にあたる影響について、以下の内容を報告した。

(1) 華北地方での *Bt* ワタ栽培面積

1997年の *Bt* ワタの商業導入以降、*Bt* ワタの採用率は急速に増加し、華北地方での全ワタ栽培面積あたりでの *Bt* ワタの栽培面積率は2011年以降、100%に達した。その一方、ワタから他の作物への転換が進み、全作物栽培面積あたりの *Bt* ワタ栽培面積率は2007年の10%超から2019年には約2%まで低下した。

(2) オオタバコガ数の変動

Bt ワタの導入により華北地方でのオオタバコガ数は一時減少傾向にあった。しかし、同地域でのオオタバコガ数は、2007年から2019年の間で約1.9倍に増加した。全作物栽培面積あたりの *Bt* ワタ栽培面積率とオオタバコガ数（対数）の間には負の相関が認められた（効果量 -2.44 、 $P < 0.001$ ）。

(3) 非 *Bt* 作物の収量損失及び殺虫剤使用

オオタバコガ数の増加に伴い、同地域の非 *Bt* 作物（つまりトウモロコシ、ラッカセイ、ダイズ）の収量損失は1.5~2.1倍、殺虫剤使用量は2.0~4.4倍に増加した。

(4) 非 *Bt* 作物の被害増の農業生態学的考察

オオタバコガが孵化する春先で食料となる葉をたくさん持つワタは、孵化直後のオオタバコガの唯一の食料源であったが、*Bt* ワタのワタ栽培あたりの採択率が100%に達する以前は、オオタバコガの多くは非 *Bt* ワタ畑に留まることで、他の非 *Bt* 作物（トウモロコシ、ラッカセイ、ダイズ）へのオオタバコガ被害を抑止していたと考えられる。しかし、*Bt* ワタのワタ栽培あたりの採択率が100%達成し、加えて、全作物栽培面積あたりの栽培面積率が低下したことで、この構図が崩れ、ワタ以外の非 *Bt* 作物への被害が顕著になったと考察される。

(5) 総括

Bt ワタのワタ栽培あたりの高採択率及び全作物栽培面積あたりの栽培面積率の低下によって、オオタバコガ数の再増加が引き起こされた。今後、*Bt* ワタ栽培地域中にリフュージを設定する等の農業生態学的対策と組み合わせた地域での害虫被害低減戦略が必要と考えられる。

(小口 太一)

ERA プロジェクト調査報告

2022年 3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 児島宏之

〒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)