
ERAプロジェクト調査報告

April 2015

バイオテクノロジー研究部会



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）とも密接な関係にあり、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

2015. 4

バイオテクノロジー研究部会

本号では、*Bt* タンパク質が標的生物を捕食する寄生バチに影響を及ぼさないことを含む非標的生物に対する影響に関する報告を2報紹介しています。また、環境ストレス耐性を付与したイネやポプラ、多重ウイルス耐性サツマイモ、RNAi 技術を利用した休眠性強化コムギやリゲニン低減スイッチグラスに関する報告に加え、遺伝子組換え作物の開発から製品化までの過程の包括及びRNAi 技術を用いた植物のリスク評価の課題と、多岐にわたる報告を紹介しています。

目次

No.201	難分解性を低減した遺伝子組換えスイッチグラスの2年にわたる圃場試験 Two-year field analysis of reduced recalcitrance transgenic switchgrass	1
No.202	宿主介在影響を除去したことによる、捕食寄生バチ <i>Costesia mcrginiventris</i> に対する Cry 1 F を発現する <i>Bt</i> トウモロコシの悪影響がないことの実証 Eliminating host-mediated effects demonstrates <i>Bt</i> maize producing Cry 1 F has no adverse effects on the parasitoid <i>Cotesia marginiventris</i>	2
No.203	南ヨーロッパの圃場における <i>Bt</i> トウモロコシが非標的生物に対して影響が ないことの証明：26節足動物分類群のメタ解析 No effects of <i>Bacillus thuringiensis</i> maize on nontarget organisms in the field in southern Europe: a meta-analysis of 26 arthropod taxa	3
No.204	南アフリカにおける多重ウイルス抵抗性組換えサツマイモの作出 Development of transgenic sweet potato with multiple virus resistance in South Africa	4
No.205	植物における RNAi 技術のバイテク利用：リスク評価の考慮点 Biotechnological uses of RNAi in plants: risk assessment considerations.....	5
No.206	<i>OSRIP18</i> 遺伝子の過剰発現によるジャポニカ型イネの耐乾燥性及び耐塩性の向上 Over-expression of <i>OSRIP18</i> increases drought and salt tolerance in transgenic rice plants	6
No.207	転写因子 <i>AtDREB1A</i> をストレス誘導的に発現する組換えインディカ型 イネにおける耐乾燥性の大幅な強化 Stress-inducible expression of <i>AtDREB1A</i> transcription factor greatly improves drought stress tolerance in transgenic indica rice	7
No.208	<i>AtSTOI</i> 遺伝子の過剰発現による交雑ポプラ (<i>Populus tremula</i> x <i>P. alba</i>) の耐塩性向上 Overexpression of <i>AtSTOI</i> leads to improved salt tolerance in <i>Populus tremula</i> x <i>P. alba</i>	8
No.209	遺伝子組換え作物：概念から製品化まで Genetically engineered crops: From idea to product	9
No.210	コムギ及びオオムギの <i>DOG1</i> 様遺伝子によるコムギの種子休眠性の制御 A transgenic approach to controlling wheat seed dormancy level by using Triticeae <i>DOG1-like</i> genes	10

難分解性を低減した遺伝子組換えスイッチグラスの2年にわたる圃場試験

Two-year field analysis of reduced recalcitrance transgenic switchgrass

Baxter HL *et al.*

Plant Biotechnology Journal 12: 914-924, 2014

米国の大学及び公的研究機関の研究グループによる原著論文。スイッチグラス (*Panicum virgatum* L.) は、高バイオマス収量性、広い栽培適応性、少ない労力投入での栽培が可能であることから、リグノセルロース系バイオマス資源化植物として最も有力視される草本植物の一つである。スイッチグラスを初め、草本系バイオマス作物をバイオ燃料として利用するには、まず細胞壁多糖を単糖あるいはオリゴ糖に分解（糖化）し、その後エタノール発酵によりエタノールに転換するが、リグニンは酵素糖化を著しく阻害する。このため、低リグニン草本系バイオマス植物の育種が望まれている。本報告では、先行研究により作出されたリグニン生合成の鍵酵素であるカテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (COMT) を RNAi により発現抑制した遺伝子組換えスイッチグラス 2 系統を 2 年、圃場試験に供し、細胞壁成分や生産性の検定等を実施した。

[結果] 圃場試験デザイン：テネシー大学 East Tennessee Research and Education Center (ETREC) 敷地内の圃場 (22.9 m x 25.0 m) で 2 年連続で (2011, 2012) 実施した。COMT-RNAi 組換え体 2 系統 (T 1 世代) 各 10 プロット及びそれぞれの対照区各 5 プロットの合計 30 プロットを無作為に配置、各プロットには 9 個体を植栽、栽培した。発現試験：圃場に植栽した植物の COMT 発現量を調査し、両 RNAi 系統ともに対照系統と比較して発現抑制が確認された。リグニン：栽培中期（旺盛に栄養成長中のステージ）及び後期（成長終了して枯れ上がったステージ）の 1 作期当たり 2 回、総リグニン量及び S/G 比を調査した。総リグニン量は中期で最大 14.5%、後期で最大 12.0% 低下した。S/G 比は、中期で最大 36%、後期で最大 39% 低下した。細胞壁糖組成：後期における細胞壁の結晶性セルロースのセルロース及びヘミセルロース構成比は 39% 及び 28~32% であり、2 年目の試験でのみヘミセルロースが非組換え体に比べて高かった。2 年目の試験では、結晶性セルロース総量も非組換え体と比べて有意に高かった。糖化性及びエタノール収量：糖化性は中期に収穫した葉で最大 18.7%、後期で最大 34.2% の改善がみられた。エタノール収量は、最大 28.2% の改善がみられた。農業形質：草丈、直径、分けつ数、乾燥重量について調査したところ、系統ごと、年ごとにデータにばらつきがあったが、大きな差はなかった。また、訪問昆虫の種類や食害程度に組換え体と非組換え体で差はなかった。また、さび病への罹患性も組換え体と非組換え体で差はなかった。

以上の結果から、本低リグニンスイッチグラスは、バイオマス生産性や罹病性に負の影響が認められず、バイオ燃料生産の改善に貢献することが期待される。

(注：今回の圃場試験は、あくまで特性評価が目的であり、今後の商業化にあたっては生物多様性への影響に関する評価試験が必要である。)

[用語説明]

S/G 比：リグニンはリグニンモノマーと呼ばれるフェニルプロパノイド化合物の高度重合体であり、モノマーの種類によってグアイアシルリグニン (G リグニン)、シリングルリグニン (S リグニン) 等に分類される。S/G 比とは S リグニンと G リグニンの構成比を示し、S/G 比が高いほど脱リグニン加工が容易となる。

No.202

宿主介在影響を除去したことによる、捕食寄生バチ *Cotesia marginiventris* に対する Cry1F を発現する *Bt* トウモロコシの悪影響がないことの実証

Eliminating host-mediated effects demonstrates *Bt* maize producing Cry1F has no adverse effects on the parasitoid *Cotesia marginiventris*

Tian JC *et al.*

Transgenic Research 23: 257-264, 2013

米国・中国・スイスの研究グループによる原著論文である。*Bt* 作物の非標的生物 (NTO) に対する影響に関する既往の研究の殆どは影響がないことを報告している。しかし、近年負の影響の報告が数例ある。これらの報告では、捕食寄生昆虫が *Bt* タンパク質を摂取した標的害虫に産卵し、宿主が捕食寄生幼虫の蛹化前に死亡することで、結果的に捕食寄生昆虫の生存・生育に影響を与えている。しかし、これは NTO (捕食寄生昆虫) への影響と認識すべきではない。著者らは捕食寄生昆虫に対する *Bt* タンパク質の直接的影響について調査するため、*Bt* タンパク質によって影響を受けない抵抗性害虫を捕食寄生昆虫の宿主として供試し、以下の結果を得た。

(1) 三者間相互作用検定：[給餌] Cry1F を発現する *Bt* トウモロコシ葉あるいは対照の非 *Bt* トウモロコシ葉；[一次消費者] Cry1F 抵抗性ツマジロクサヨトウ (*Spodoptera frugiperda*；2006年コスタリカに出現した系統、ジョージア大学で系統保存)；[二次消費者] ヨトウの天敵である捕食寄生ハチ *Cotesia marginiventris*。(2) 結果：1) 捕食寄生バチに対する *Bt* タンパク質の影響：捕食寄生ハチの繭形成日数、羽化日数、寄生率、繭数からの成虫発生率、成虫性比の全項目で、一次消費者の給餌中の *Bt* タンパク質の有無に起因する有意差は検出されなかった。2) その他の影響：捕食寄生バチの集団サイズ、生存期間にも一次消費者の給餌中の *Bt* タンパク質の有無に起因する有意差は検出されなかった。3) *Bt* タンパク質の濃度：一次消費者では *Bt* トウモロコシ葉の4%、二次消費者ではさらに低下し、幼虫/繭/成虫のいずれも検出限界以下であった。(3) 総括：以上から、*Bt* タンパク質は捕食寄生バチに影響を及ぼさない。このことは世代を超えて持続されると結論される。

(注：本論文の著者の一人である J. Romeis (スイス) は *Bt* 作物の ERA の世界的リーダーであり、抵抗性害虫の宿主利用の有効性は、別の複数の研究でも実証されている。)

No.203

南ヨーロッパの圃場における *Bt* トウモロコシが非標的生物に対して影響がないことの証明：26節足動物分類群のメタ解析

No effects of *Bacillus thuringiensis* maize on nontarget organisms in the field in southern Europe: a meta-analysis of 26 arthropod taxa

Comas C *et al.*

Transgenic Research 23:135-143, 2014

スペインの大学研究グループによる原著論文である。欧州では1986年以来 *Bt* トウモロコシの栽培が認可され、害虫対策や環境保全に貢献している。その一方で、非標的生物（NTO）に対する影響への懸念から室内・圃場試験が義務づけられている。スペインはEU圏最大の *Bt* トウモロコシ栽培国であり、EU圏栽培全体の30%、116,030 haに達する。過去12年間のEU圏（スペインを含む）での圃場試験のほとんどは、*Bt* トウモロコシが非標的節足動物に対して影響がないことを報告している。しかし、統計的検出力が低い小規模試験の結果の検討は不十分であった。著者らは、個々の試験結果を結合して検討するメタ解析を導入し、*Bt* トウモロコシのNTOに対する影響の包括的検討を行った。（1）メタ解析：すでに別の研究グループにより、*Bt* トウモロコシの非標的生物に対する影響のメタ解析（42、45、63研究の包括的解析）が報告されている。本研究では、2000～2010年間の報告の中から、節足動物を対象として、食植性動物、捕食動物、雑食動物、寄生者、分解者の機能を網羅するスペイン内の13件の圃場試験研究を選定した。調査は、NTOの個体数（abundance）を、3種の調査手法（目視、捕獲穴、粘着テープ）ごとに区分して分析した。（2）結果：目視、捕獲穴、粘着テープの各方法による個体数測定値は、すべての分類群のNTOにおいて、*Bt*区と対照の非*Bt*区との間には有意差が検出されなかった。（3）総括：メタ解析の結果、調査対象とした節足動物26分類群すべての個体数は、*Bt* トウモロコシと対照非組換えトウモロコシの間で有意差は検出されなかった。

No.204

南アフリカにおける多重ウイルス抵抗性組換えサツマイモの作出

Development of transgenic sweet potato with multiple virus resistance in South Africa

Sivparsad BJ, Gubba A

Transgenic Research 23: 377-388, 2013

南アフリカの大学研究グループによる原著論文である。サツマイモは南アフリカの農村居住者の重要な主食作物であるが、主要ウイルスであるサツマイモ斑紋モザイクウイルス (Sweet potato feathery mottle virus) 及びサツマイモクロロティックスタントウイルス (Sweet potato chlorotic stunt virus) に加えて、サツマイモウイルス G (Sweet potato virus G)、サツマイモマイルドモットルウイルス (Sweet potato mild mottle virus) の複合的発生による低収量が常態化している。健苗の使用励行や慣行育種による対策は効果が低い。そこで著者らは、他の研究により効果が確認されている、4種のウイルス外被タンパク質断片を連結した組換えタンパク質の発現により、上記4種類のウイルスに対する多重抵抗性サツマイモの作出を試みた。(1) 手法：タンデムに連結した4種類のウイルスの外被タンパク質断片をトマト黄化壊疽ウイルス (Tomato leaf curl Taiwan virus) のヌクレオキャプシド (Nタンパク質) の部分配列の下流に連結した融合タンパク質をコードする遺伝子をアグロバクテリウム法によりサツマイモ品種 Blesbok へ導入した。(2) 結果：1) 組換え体の作出：300外植片に感染し、最終的に6系統が鉢上げまで至った。サザンプロット法により、6系統にはいずれも導入遺伝子が1コピーのみ挿入されていると推定された。2) 温室におけるウイルス抵抗性検定：ウイルス病台木へ組換え体接穂を接木した。12週間後に対照の非組換え体は、葉の変形、変色、茎の湾曲など、激しいウイルス感染病徴を呈した。組換え体では、病徴の発現が遅延し、程度も軽微であり、明らかな抵抗性を示した。(3) 総括：本手法により、複数のウイルスに対する多重抵抗性サツマイモの作出が可能であることが示された。今後、圃場試験による抵抗性の確認が必要である。

(注：複数の外被タンパク質の融合には、2種類のベクターが、D. Gonsalves 博士 (リングスポットウイルス抵抗性パイヤ作出者 [ハワイ]) から提供されている。)

植物における RNAi 技術のバイテク利用：リスク評価の考慮点

Biotechnological uses of RNAi in plants: risk assessment considerations

Casacuberta JM *et al.*

Trends in Biotechnology 33: 145-147, 2015

RNA 干渉 (RNAi) を利用した GM 作物の商業栽培が間近となる中、欧州食品安全機関 (EFSA)、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ)、米国環境保護庁 (US EPA) 等のリスク評価機関及び ILSI-CERA では、既存の GM 作物のリスク評価と同じアプローチによるリスク分析が適当であるかどうか検討が進められている。スペイン、イタリア、ベルギー、フランスの大学・公的研究機関・EFSA の研究グループによる本報告では、ヒト/動物の健康リスク及び非標的遺伝子が非意図的に抑制されることによる環境リスクの可能性、あるいはそれらを想定したリスク評価のあり方について考慮すべき点を論述している。

RNAi とは、20~30残基の短鎖 RNA によって相補的な配列を含む mRNA の分解促進あるいは翻訳抑制を生じ、結果として特定の遺伝子発現を抑制する現象である。RNAi は真核生物で保存された現象である。人工的に短鎖 RNA (shRNA 等) を発現させることで意図的に RNAi を誘発して標的遺伝子発現を抑制する手法は、基礎研究では既に広く遺伝子機能の評価研究に利用されている。RNAi を利用した GM 作物の開発も進められ、新たな遺伝子抑制技術としてだけでなく、類似する遺伝子ファミリーの一斉発現抑制、近縁種間で RNAi を引き起こす汎用 RNA 構造物、作物を摂食した害虫の遺伝子発現の制御等、様々な新たな機能をもつバイテク作物開発への活用が考えられている。これら RNAi を利用した GM 作物は、既存の GM 作物と同様にリスク評価データによる安全性の確認が要求される。しかし、RNAi を利用した GM 作物は基本的に内生タンパク質の抑制が目的であり、主として新たに導入されたタンパク質の毒性やアレルゲン性等に基づいてリスク評価が実施される既存の GM 作物の評価の枠組では、十分にリスクを評価できない可能性がある。さらに、RNAi を誘発する人工的 RNA 構造物が非標的遺伝子 (オフターゲット) へ作用する可能性に關しても懸念されている。RNAi を利用した GM 作物では、GM 作物自身の遺伝子発現だけでなく、GM 作物を摂食した昆虫や感染した真菌等の非標的的真核生物に取り込まれ、取り込んだ生物の遺伝子発現にも影響をおよぼす可能性があり、また RNAi は通常非常に短い配列によって特異性を発揮するためオフターゲットの予測は非常に難しい。オフターゲットの予測は、主にバイオインフォマティクス手法によって検証されているが、PARE (切断された mRNA 配列から miRNA を予測する手法) のような新たな分子生物学的手法も積極的に活用されるべきである。今後のリスク評価の課題として、(i) ゲノムデータの充実 (現在は限られた作物でしか利用できない)、(ii) まだ理解が十分でない RNAi の特異性決定のメカニズムの理解、(iii) 摂食を介した非標的生物での RNAi が発揮する範囲の解明を挙げている。RNAi を利用した育種は新しい育種技術の一つであり今後多様な応用が期待されており、適切なリスク評価手法の検討及び規制面での対応が求められる。

No.206

***OSRIP18*遺伝子の過剰発現によるジャポニカ型イネの耐乾性 及び耐塩性の向上**

Over-expression of *OSRIP18* increases drought and salt tolerance in transgenic rice plants

Jiang S-Y *et al.*

Transgenic Research 21: 785-795, 2012

シンガポール国立大学研究グループによる原著論文である。イネに対する主要な環境ストレスは、干ばつと塩害である。すでに多くの他の研究により、ストレス対策として浸透圧耐性が重要視されている。そこで著者らは、イネ自身のリボゾーム不活性タンパク質（RIP）の一種（イネ Ribosome inactivating protein gene 18; *OSRIP18*）を恒常的に発現する発現カセットを含む遺伝子構造物をアグロバクテリウム法によりジャポニカ型イネ品種日本晴に導入した。最終的に、新生及び成熟の葉、穂、根の6部位での発現が確認され、かつ遺伝子発現カセットが1コピー導入された11系統を選出し、これにポリエチレングリコール（PEG）及びNaClによる浸透圧試験を実施した。（1）結果：1）組換え系統表現型：植物体の形状、穂の稔性などすべて正常で親品種と差異はなかった。2）PEG処理：30%PEG溶液に2時間処理すると、非組換え個体は葉の萎凋、葉巻などを呈したが、組換え体は正常であった。3）NaCl処理：200 mM NaCl溶液で8時間処理でも、組換え体に影響は見られなかった。4）特に高い耐性を示した2系統に対する高ストレス暴露試験：i）生育2週間の幼植物を30%PEG溶液で4時間処理後、2週間通常管理後の生存率は、対照区では約50%であったのに対し、組換え体では90%以上であった。ii）200 mM NaCl含有土壌に4日間生育、その後通常栽培2週間後の生存率は、対照では57%であったのに対し、組換え体では89~94%であった。（2）総括：*OSRIP18*を導入したジャポニカ型イネは、非ストレス下での表現型は正常であり、浸透圧耐性試験において、対照よりも高い耐性を有することが実証された。

（注：Zhang *et al* (2010)（後日本調査報告で紹介予定）により、節水・断水処理とPEG処理に対する生育反応の密接な類似性が報告されている。本研究では節水栽培による実際の検定はないが、PEG処理により実際の耐乾性を推測することは差支えないと考えられる。）

No.207

転写因子 *AtDREB1A* をストレス誘導的に発現する組換えインディカ型イネにおける耐乾燥性の大幅な強化

Stress-inducible expression of *AtDREB1A* transcription factor greatly improves drought stress tolerance in transgenic indica rice

Ravikumar G *et al.*

Transgenic Research 23: 421-439, 2014

インド国研の研究グループによる原著論文である。乾燥ストレスはイネの最大の減収要因である。著者らは、既に他の数作物で成功例がある環境ストレス耐性を総合的に向上させる転写因子とこれを有効化するプロモーターとの結合物を作製し、これを導入した組換えイネを作出して以下の結果を得た。(1) 組換え体の作出：シロイヌナズナ由来のストレス誘導プロモーター *rd29A* プロモーター下に転写因子 *AtDREB1A* 遺伝子を結合し、これをアグロバクテリウム法によりインディカ型イネ品種 Samba Mahsuri へ導入した。(2) 耐乾燥性系統の作出：12,000カルスに感染し、第一段階として、1コピー導入（サザン確認）の T₃ 世代 5 系統を選抜した。(3) ポリエチレングリコール（PEG）処理による選抜：5葉期の T₃ 植物 5 系統を 20%PEG 処理し、最終的に耐性系統 BG32-24 を選抜した。(4) 栄養生長期選抜：10葉期に14日間の無灌水断水処理を行った。非組換えの対照は4日後から萎凋・葉巻を生じ、2週間後には枯上り、再灌水5日間によっても回復しなかったが、耐性系統では全く障害がなく高い耐性を示した。(5) 生理的特性：無灌水処理により対照区では葉身相対含水率及び葉緑素含有率が減少したが、耐性系統では変化がなかった。プロリン含量は無灌水処理により急増するが、増加量は耐性系統では対照区の2倍以上であった。イオン漏出も無灌水処理により経時的に増加するが、耐性系統での増加量は対照区の半分程度であり、再灌水により耐性系統では、ストレス処理前の水準に戻ったが、対照区では高いままであった。(6) 生殖生長期選抜（開花期14日間断水処理）：小穂稔実率及び収量（稔重）は耐性系統では微減、対照区では半減、再灌水により耐性系統では回復したが、対照区では回復しなかった。(7) 非組換え慣行耐乾燥性3品種との比較：栄養生長期28日間、開花期後30日間の無灌水処理では、耐性系統は障害少なく、2週間の再灌水により80~90%に回復したが、非組換え慣行品種はすべて障害が甚大で、再灌水処理も効果なくすべて枯死した。(8) 収量性向上：耐性系統では、非ストレス条件でも対照区に比べて増収した。増収の要因としては、プロリン含量増加による浸透圧耐性の増加、収量と強く相関がある止葉面積の増大などの関与が考えられる。(9) 総括：*AtDREB1A* 遺伝子を導入した組換えインディカ型イネは、生理的特性を阻害することなく、栄養・生殖の両生長期における耐乾燥性を強化した。この結果は、他の植物における *rd29A::AtDREB1A* 導入の結果と同様であり、耐乾燥性イネ品種育成への価値ある材料となることが期待される。

No.208

***AtSTO1* 遺伝子の過剰発現による交雑ポプラ
(*Populus tremula* x *P. alba*) の耐塩性向上**

Overexpression of *AtSTO1* leads to improved salt tolerance in
Populus tremula x *P. alba*

Lawson SS, Michler CH
Transgenic Research 23: 817-826, 2014

米国農務省森林局研究者による短報である。ポプラは、北米・中米・欧州・アジアに広く分布する重要な温帯早生広葉樹種であり、塩害が主要な生育阻害要因となる。著者らは他の研究成果を参考に、耐塩性組換えポプラ作出を目的に研究し、以下の結果を得た。(1) 組換えポプラの作出：交雑ポプラ (*Populus tremula* x *P. alba*; 組換えが容易、生育が早い) に、シロイヌナズナ由来の *SALT TOLERANT 1* (*AtSTO1*) 遺伝子を導入し、最終的に組換え体3系統を作出した。(2) 耐塩性試験：温室生育6ヶ月の組換え体及び非組換え体(対照)を、NaCl濃度0(対照区)、75、150、200 mMの水耕栽培を行い、30日後の諸形質における変化を調査した。1) 形態的形質：i) 乾物重：対照区を含むいずれの実験区においても、非組換え体に比べて組換え体で有意に高い。また、塩濃度の増加に伴う乾物重の減少は、非組換え体と比べて組換え体で小さい。ii) 幹径及びシュート高：対照区では組換え体と非組換え体の間で差はないが、塩処理区では組換え体で有意に高い。2) 生理的形質：i) 葉緑素含量：対照区では組換え体と非組換え体の間で差はないが、塩処理区では組換え体で有意に高い。組換え体は最大36%減、対照は77%減、ii) 葉身光合成速度・気孔導通性・細胞間CO₂濃度：対照はNaCl濃度増加につれて激減、組換え体は無処理区では対照より増加、その後NaCl濃度の増加につれて激減した。(3) 総括：*AtSTO1* 遺伝子導入により組換えポプラは、形態的及び生理的諸形質において、NaClに対する耐塩性が向上していると結論される。今後、実際の植栽ポプラ成木に対する効果の確認が必要である。(注：本論文は耐塩性ポプラ作出の初期のプロトコル固めとして理解される。)

遺伝子組換え作物：概念から製品化まで

Genetically engineered crops: From idea to product

Prado JR *et al.*

Annu.Rev. Plant Biol. 65: 769-790, 2014

モンサント社研究グループ（12名）が、GM作物の開発端緒の概念から製品化までの全般的過程に関する論文を公表した。（1）開発前期：1）遺伝子探索：育種目標に基づいて、広範に渡る遺伝資源から導入候補遺伝子が選抜される。2）第1段階：候補遺伝子は、バイオインフォマティクス手法等によりアレルギー性あるいは毒性がないことの確認を行った後、アグロバクテリウム法またはパーティクルボンバードメント法により宿主植物のゲノムに導入され、遺伝型の異なる複数の系統（イベント）として作出される。これらイベントは人工気象室や温室で育成・選抜（病虫害抵抗性・除草剤耐性など）され、要求される基準を満たすイベントが選抜され、圃場試験へ移行する。3）第2段階：選抜されたイベントは、分子生物学的手法により導入遺伝子の発現・伝達を確認された後、圃場試験により、特性発現の安定性や農業形質の評価が実施される。（2）開発後期：1）第3段階：i）食品・飼料安全性評価：国際認定手法による安全性評価が実施され、GM作物の実質的同等性が確認される。ii）環境リスク評価：広範囲な地域・環境において、生物多様性影響評価（雑草性、侵入性、病虫害抵抗性、非標的生物への影響、その他負の影響の有無など）が精査される。本過程では Problem Formulation が重用される。iii）審査申請書類作成：蓄積された安全性データは、規制機関の要求に対応するため慎重に選別・編集される。申請国・機関により要求項目が異なるため、種々の考慮が必要となる。2）第4段階：i）審査申請書類の提出：GM作物の国家・地域間移動の促進のため、広範囲な規制機関へ提出される。諸要求に対応する提出には、多くの経費・時間を要し、なお成否が不透明な場合もある。ii）作物の最適化：栽培地域ごとに最適化した作物を開発するため、開発したGM作物は、慣行優良品種と交配する。後代系統はさらに2年間の圃場試験を経て、実際に農家の手に渡る作物となる。（3）総括：GM作物は安全性の科学的評価に基づいて、複雑かつ多重的段階を経て作出される。これにより、各種抵抗性増加・生産性及び品質向上、環境負荷減少などのメリットを有するGM作物が作出される。（注：開発者の信念・確信に基づき、科学的記述を基調とした公正な論文であり、関係者の参考になると考えられる。）

No.210

コムギ及びオオムギの *DOG1* 様遺伝子によるコムギの種子休眠性の制御

A transgenic approach to controlling wheat seed dormancy level
by using Triticeae *DOG1*-like genes

Ashikawa I *et al.*

Transgenic Research 23: 621-629, 2014

日本の農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究所の研究グループによる原著論文である。種子の休眠性は多くの作物の生活史・適応性に関与する重要な特性である。コムギなど多くの穀物で休眠性欠如によって穂発芽を生じ、穀物の収量・品質の低下を招く。一方、深すぎる休眠性は同調的な発芽を阻害し、オオムギの麦芽醸造等で問題を生じる。特に日本のコムギは、休眠性が低く穂発芽しやすいが、従来の慣行育種では解決されていない。そこで著者らは既往の成果に基づいて、休眠性強化組換えコムギの作出を意図して以下の結果を得た。(1) 組換えコムギの作出：休眠性強化の効果が確認されているシロイヌナズナ *DOG1* 遺伝子類似の2遺伝子、*TaDOG1L4* (コムギ由来) あるいは *HvDOG1L1* (オオムギ由来) の過剰発現及び *TaDOG1L4* 発現抑制 (RNAi 利用) コンストラクトをアグロバクテリウム法により品種 Fielder に導入し、組換え体各3系統を作出した。(2) 発芽試験：温室生育・開花60日後の種子を収穫し、さらに5~10℃の春化处理を行った種子を用いて、通常発芽試験を行った。(3) 過剰発現体での休眠性強化：対照は5日以内で発芽率90%以上に達するが、*TaDOG1L4* 過剰発現体では90%以上に達するまでに8~9日、*HvDOG1L1* 過剰発現体では6~8日を要した。以上から両組換え系統とも休眠性強化が確認された。(4) その他の形質：形態的及び生育に対照との差異は認められなかった。(5) 発現抑制体での休眠性低下：発現抑制体の発芽は、対照と比較し1日早くなった。ただ、休眠打破処理をした対照の発芽と比べると2日程度遅く、*DOG* 以外の休眠因子の存在が予想される。(6) 品種の休眠性の比較：休眠性の異なる6品種 (低：東山18号、山陰1号、ミナミノ、農林61号、やや高：Fielder、高：善光寺) の内生 *TaDOG1L4* 遺伝子発現を調査したところ、発現量と休眠性には相関はなかった。(7) 総括：*TaDOG1L4* 遺伝子導入により、他の農業形質には変化なく、種子の休眠性が強化された組換えコムギ系統が作出された。今後圃場試験により、実効性を追証する必要がある。

ERA プロジェクト調査報告

2015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)

理事長 西山徹

〒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)