
ERAプロジェクト調査報告

June 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. 6

バイオテクノロジー研究部会

本号では、世界中で広く栽培されているサツマイモが「自然な」GM 作物であったという報告や、分子エンジニアリングを介した農薬と GM 作物の新たな利用法の提案、種子の品質改良を目的とした GM イネの解析に関する報告、バラ科植物の耐病性組換え体作出の報告、アグロバクテリウム法における外側骨格領域の遺伝傾向の解析を紹介しています。また総説、解説として、ナタネ種子の遺伝子組換え手法による品質改良についての総説、ベトナムでの低農薬栽培の現状、本調査報告 No.198で紹介した組換えウイルスを利用した害虫防除手法の開発、食糧問題への遺伝子組換え技術の貢献を紹介しています。

なお、これまで調査報告でご紹介した文献抄訳は、下記の URL で閲覧可能です。
<https://ilsijapan.sakura.ne.jp/pnamazu/namazu.cgi>

目次

No.211	サツマイモ栽培品種のゲノムにはアグロバクテリウムの T-DNA 由来の配列が存在する： 天然の遺伝子組換え食用作物の一例 The genome of cultivated sweet potato contains <i>Agrobacterium</i> T-DNAs with expressed genes: An example of a naturally transgenic food crop	1
No.212	セイヨウナタネ種子品質の遺伝学的改良 Genetic enhancement of <i>Brassica napus</i> seed quality	2
No.213	イネ由来の I 型リポキシゲナーゼ (<i>OsLOX2</i>) のイネ種子の発芽と長寿性に関する 相反する効果 <i>OsLOX2</i> , a rice type I lipoxygenase, confers opposite effects on seed germination and longevity	3
No.214	イネにおける <i>OsMRP5</i> 遺伝子の種子特異的サイレンシングは種子のフィチン酸含量 及び粒重を低下させた Seed-specific silencing of <i>OsMRP5</i> reduces seed phytic acid and weight in rice	4
No.215	ベトナムにおける「農薬津波」からの転換 Vietnam turns back a 'tsunami of pesticides'	5
No.216	アブシジン酸受容体の分子エンジニアリングを用いた植物水利用の農薬による制御技術 Agrochemical control of plant water use using engineered abscisic acid receptors	6
No.217	ウイルス利用による植物害虫の撲滅 Plant pest destruction goes viral	7
No.218	モモ由来ウドンコ病抵抗性遺伝子座 O (<i>PpMlo1</i>) 遺伝子のアンチセンス発現による オランダイチゴにおける種横断的ウドンコ病抵抗性の付与 Antisense expression of peach mildew resistance locus O (<i>PpMlo1</i>) gene confers cross-species resistance to powdery mildew in <i>Fragaria x ananassa</i>	8
No.219	バレイショ疫病に対する 3 重抵抗性遺伝子組換え体作出におけるベクターの集積 並びに抵抗性遺伝子の集群的遺伝 Vector integration in triple <i>R</i> gene transformants and the clustered inheritance against potato late blight	9
No.220	飢餓追放の実現へ向けて Making hunger yield	10

No.211

サツマイモ栽培品種のゲノムにはアグロバクテリウムの T-DNA 由来の配列が存在する：天然の遺伝子組換え食用作物の一例

The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: An example of a naturally transgenic food crop

Kyndt T *et al.*

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 112: 5844-5849, 2015

ベルギー及び中国の大学、在ペルーの国際農業研究協議グループ（CGIAR）傘下の国際イモ類研究センター、米国農務省の研究グループによる原著論文。アグロバクテリウムは植物に感染する植物病原細菌の一種であり、自らの DNA 断片の一部（transfer DNA；T-DNA）を感染した植物のゲノム配列中に導入する。これ自体は自然現象であるが、この現象は植物への遺伝子導入技術としても広く利用されている。今回、筆者らはサツマイモにおける small RNA の動態に関するメタゲノム解析の過程で、栽培種サツマイモ（*Ipomoea batatas* [L.] Lam. 品種 Huachano）のゲノムにアグロバクテリウム属の T-DNA 配列に由来する 2 種類の領域（IbT-DNA1 と IbT-DNA2）の存在を発見したことを報告している。

IbT-DNA1 はオーキシン合成系酵素をコードする *iaaM* 遺伝子を含む 4 つの ORF を含む。IbT-DNA2 は 5 つ以上の ORF を含んでいる。これら T-DNA 由来配列に座乗する ORF は、栽培種サツマイモにおいて発現していることが確認された。中南米、アフリカ、アジア、オセアニアから収集された栽培種サツマイモ及び近縁野生種の遺伝子コレクションを用いた T-DNA 由来配列の有無及び DNA 多型の解析により、進化及び栽培化における保存性を検証した。その結果、IbT-DNA1 は調査した 291 遺伝子型全ての栽培種に普遍的に存在が確認された一方、野生種からは検出されなかった。これは、栽培化以前にアグロバクテリアからサツマイモ祖先種への DNA の水平移動があったことを示唆している。対照的に、IbT-DNA2 については調査した 217 遺伝子型のうち野生種を含む 45 遺伝子型で確認された。これらの事実は、植物の進化や栽培化の過程において、原核生物、真核生物間の遺伝子の水平移動の関与を示す実例である。また、T-DNA 由来配列の有無と塊根収量が相関しているとのデータもあるという。この結果は、伝統的に食料作物として利用されているサツマイモ栽培種がいわゆる遺伝子組換え作物であったことを示すものであり、消費者の遺伝子組換え食品に対して抱く不自然なものであるという印象に対して一石を投じるものとなるであろう。

セイヨウナタネ種子品質の遺伝学的改良

Genetic enhancement of *Brassica napus* seed quality

Hannoufa A, *et al.*

Transgenic Research 23: 39-52, 2014

カナダ・米国の研究グループによるレビューである。セイヨウナタネ（カノーラ）の種子は、圧搾油は食用として、搾油後の粕（ミール）は家畜飼料として広く利用される。セイヨウナタネの品種改良は脂質成分やタンパク質組成の改良を中心に進められており、この分野に関しては多くの研究論文が発表されている。一方、二次代謝物については報告が少ないが、食用油・飼料としての品質において同様に重要な要素である。そこで、著者らは種子中の二次代謝物に関する遺伝学的改良に焦点をあて、セイヨウナタネの品質改良についてレビューした。①圧搾油の品質改良：1) カロテノイド：抗酸化色素であり、ナタネ油の酸化防止、食品・化粧品の着色、飼料利用における栄養増強等の用途がある。組換え・RNAi手法などによる種子中の含有量増加が試みられているが、副次的効果を伴う場合が多い。2) 葉緑素：未成熟緑色種子中の葉緑素は多少光合成への貢献はあるが、圧搾油の品質を大幅に低下させる。RNAi手法による葉緑素生合成酵素の抑止による低葉緑素系統が作出されている。3) トコフェロール類：ビタミンEと総称される。強力な抗酸化機能を有して不飽和脂肪酸の酸化を抑制する。機能性成分として消費者にも望まれる。シロイヌナズナやトウモロコシ由来のトコフェロール合成系酵素の遺伝子導入により、含有率向上系統が作出されている。4) フィトステロール類：植物のステロール成分で、食餌からのコレステロール吸収を阻害することで、ヒトや家畜の血中コレステロールを低下させる機能を有する。放線菌由来のステロール代謝系の酵素遺伝子の導入による機能強化が試みられている。②ミールの品質改良：1) グルコシノレート：アミノ酸由来の二次代謝物であり、哺乳動物の胃に有害作用を及ぼす。このため、低含量品種 Bronowski を利用し、低含量 (30 $\mu\text{mol/g}$ 以下) の品種 (いわゆるカノーラ) が圧搾油品種の標準となっている。最近では代謝工学 (metabolic engineering) により更に低含量 (10 $\mu\text{mol/g}$ 以下) の系統が作出されている。2) シナピン：アブラナ科の油糧種子固有の成分で、植物にとっては有益な成分であるが、抗栄養作用や摂食した家畜の肉や乳に不快な風味を与える。種々の組換え手法により低含量系統が作出されている。3) フィチン酸：種子の主要な含リン成分であり、フィチン酸を多く与えた家畜・養殖魚の排泄物は環境 (河川) 汚染をもたらす。組換え手法による低含量化はアブラナ科植物では成功していない。4) 繊維：ミール重量の1/3を占め、高含量は品質を低下させ家畜の摂食性を低下させる。組換え手法・RNAi手法により低含量系統が作出されている。③総括：慣行育種による品質向上には限度がある。生理・代謝過程の理解に基づく組換え手法の利用により、セイヨウナタネの種子・油粕の品質向上は今後さらに推進されることが期待される。(注：文献 (107編) の多くは最近 (2000年代) の報告である。)

No.213

イネ由来の I 型リポキシゲナーゼ (*OsLOX2*) のイネ種子の発芽と長寿性に関する相反する効果

OsLOX2, a rice type I lipoxygenase, confers opposite effects on seed germination and longevity

Huang J *et al.*

Transgenic Research 23: 643-655, 2014

中国の国研・大学の研究グループによる原著論文である。イネの穀粒の生産と種子の貯蔵は、穀粒の品質劣化や種子の生存率低下をどう抑えるかが鍵となる。ある種のリポキシゲナーゼ (LOX) による貯蔵脂質の分解が発芽に関与することは知られていたが、LOX の貯蔵期間中の種子の寿命に及ぼす影響は不明であった。そこで著者らはイネの LOX の一種である *OsLOX2* 遺伝子の過剰発現体及び発現抑制体 (RNAi を利用) を作出し、発芽・寿命を調査した。宿主品種は Wuyujing 7 及び日本晴 (ともにジャポニカ)。T1世代でホモの個体を選抜し、それから得た T2種子を実験に用いた。(1) 発芽: 1) 胚形成・発芽初期における内生 *OsLOX2* 遺伝子の発現: 胚では開花後 9~15日に急増、その後減少した。発芽種子では、初期 4日間に胚で発現、根では 4日後に急増、6日以降低下し、一定水準を維持した。以上から内生 *OsLOX2* 遺伝子の胚形成・発芽初期における重要性が示された。2) 内生 *OsLOX2* 遺伝子の局在: 細胞質で作用し、葉緑体では作用しない。3) 過剰発現による発芽促進: 吸水後24時間後の発芽率は、非組換え体で 5% 以下であったのに対して過剰発現体では 20~30% で有意に高かった。吸水後36時間以降は、過剰発現体、非組換え体ともに高い発芽率を示し、両者の間で有意な差はなかった。4) 発現抑制による発芽抑制: 48時間後発芽率は、対照 40% に対して発現抑制体は 30% 以下、72時間は 100% に対し 40~80% と有意に低かった。以上 1)~4) から、*OsLOX2* の種子活性向上効果が確認された。(2) 寿命: 種子を湿度 80%、温度 40°C に保持する操作を失活処理とした。16日間の失活処理後の発芽率は、対照 80% に対して過剰発現体は 40~60% と有意に低く、自然貯蔵 2年後に相当する発芽率低下を示した。以上から人工的失活処理により、組換え系統はより加齢され、対照より寿命が短くなることが示された。発現抑制体は 25日間の不活化処理後の発芽率は対照が 70% 以下に対して 90% 近い発芽率 (例外 2 系統) を示し、過剰発現体とは反対に寿命延長効果があった。トリフェニルテトラゾリウムクロライド (TTC) による発芽能力鑑定では対照では 50% に対し、発現抑制体は 60~70% と有意に高く、不活化処理試験と同様に *OsLOX2* 遺伝子の発現抑制による長寿化が示された。(3) 総括: 以上から、*OsLOX2* は種子の発芽を促進し、反対に寿命は短縮させる効果を有すると結論される。(注: RNAi による長寿化は、新米味重視の日本市場における米穀の品質維持の効果も期待される。)

No.214

イネにおける *OsMRP5* 遺伝子の種子特異的サイレンシングは種子の フィチン酸含量及び粒重を低下させた

Seed-specific silencing of *OsMRP5* reduces seed phytic acid
and weight in rice

Li W-X *et al.*

Transgenic Research 23: 585-599, 2014

中国の国研・大学研究グループによる原著論文である。フィチン酸は穀物や豆類種子のリンの主要な貯蔵形態であり、フィチン（亜鉛イオンや鉄イオンとの塩）として存在する。フィチン酸は多くの金属イオンをキレートするためヒトや家畜にとって金属イオンの吸収を妨げる抗栄養因子となるだけでなく、単胃哺乳類に吸収されず排出されたフィチンは環境（河川）汚染をもたらす。このため、低フィチン酸作物の育種が望まれるが、イネではこれまでに単離された数少ない低フィチン酸突然変異体は、いずれも収量の大幅な低下を伴うもので育種利用は難しい。そこで著者らはトウモロコシにおける低フィチン酸育種の成功例を参考とし、新手法による低フィチン酸組換えイネ種子の作出を試み、以下の結果を得た。[結果]（1）低フィチン酸系統の作出：低フィチン酸突然変異系統から同定された *OsMRP5* 遺伝子を種子特異的に RNAi により発現抑制した日本晴の形質転換体を作成し、最終的に低フィチン酸系統 6 系統を得た。選抜の過程でそれぞれの系統の Null Segregant（各組換え系統の世代促進・選抜過程で生じる導入遺伝子を持たない個体）も選抜し、その後の実験における対照として用いている。（2）種子のリン含量評価：無機リン (Pi) は対照非組換え体及び Null Segregant 個体と比べて 4.9~7.5 倍に増加した。フィチン酸態リンは対照の 35.8~71.9% に減少した。総リン量は 3 系統で有意に減少した。さらに、組換え系統において無機リンとフィチン酸態リンの和が総リン量に占める割合が増加したことから、DNA、脂質など他成分へのリンの分配が減少し、無機リン含量が増加していることが示唆された。（3）発現抑制体における *OsMRP5* 遺伝子発現：本発現抑制体では、種子特異的プロモーターを利用することで種子特異的に *OsMRP5* 遺伝子発現を RNAi により抑制することを意図している。発現抑制体における *OsMRP5* 遺伝子発現量は対照に比べて種子全体で 50~70%、胚乳では 60~70% に減少し、葉及び茎では変化がなかったことから種子特異的発現抑制が確認された。（4）農業形質：発現抑制体の草丈・1 株分けつ数は有意差がなかったが、種子重は有意に低下した。また発芽率は 55~90%、出芽率は 55~80% で、有意な低下を示した。この結果から、発現抑制体の種子収量・活性への負の影響が示された。総括：低フィチン酸育種による栄養価改善、環境汚染減少を目的として、イネ由来のフィチン酸関連遺伝子 *OsMRP5* の発現抑制によってフィチン酸含量が 35.7~71.9% 減少したイネ組換え系統が作出された。しかし、種子の収量・活性の低下を伴うため、今後さらに改善する必要がある。（注：改善の具体的対策は示されていない。）

No.215

ベトナムにおける「農薬津波」からの転換

Vietnam turns back a 'tsunami of pesticides'

Normile D

Science 341: 737-738, 2013

サイエンス誌報道員によるレポートである。ベトナム南部の地域植物防疫センターの害虫研究者は、過去何十年もの間、稲作農家に対し農薬使用削減の利点を説明したが効果がなかった。そこで2001年に950戸の稲作農家に対し、低農薬栽培の効果を体験させるプログラムを実施した。プログラムは、多量の種子・肥料及び随時の農薬散布の慣行法と、少量の種子・肥料及び播種後40日間農薬無散布の新手法である。驚いたことに両方法間には収量差はなく、新手法は減コストにより8~10%の純益増となった。国際農業研究協議グループ傘下の国際稲研究所（IRRI）の専門家によれば、このプログラムの体験以後、メコンデルタ稲作農家の間に新手法が浸透したことで農薬散布が従来の5回から1回以下に減少したと評価し、この成功を東南アジア全域へ広めようとしている。国連食糧農業機関（FAO）のレポートによれば、東南アジア11ヶ国では1990~2010年の間に農薬輸入額は7倍となり、農薬の過剰使用により害虫以外の益虫類・鳥・両性類も無差別に被害を受けて減少してしまったことで、イネに甚大な被害を与える害虫であるトビイロウンカ（*Nilaparvata lugens*）が増加し、最近5年間のアジア稲作に大きな被害を与えたが、メコンデルタ地域では被害が少なかった。緑の革命による増収から、イネ農家は種子・肥料・農薬の多用が常習となり、生育初期から農薬を散布するようになった。その結果、多くの天敵生物が減少したことで、生育後期のトビイロウンカが大発生し、イネの大減収が生じている。ベトナムでは3減（種子・肥料・農薬）・3増（収量・品質・収入）政策を大々的に推進し、最近では畦畔の花・野菜栽培による天敵誘引・収入増を試みている。このような成功に対し、他国の専門家は判断を保留している。ニュージーランド・オーストラリアの研究者は、データをより科学的に精査した結果を元にこれを検証する論文の発表を進めているという。一方、最近ウンカの大量発生により40万 ha の農地で損害を受けたタイでは、ベトナムの例に注目し、播種後40日間の農薬無散布を推進しようとしている。これらの革新的手法は、種子・肥料・農薬をセットにした大販売網を有するマーケットとの戦いを克服しなければならない。ベトナムは、農薬業者の登録制や過大広告の取締りなどの法制化を進めている。農家への正しい情報・技術の提供は今後も重要な課題である。

No.216

アブシジン酸受容体の分子エンジニアリングを用いた植物水利用の 農薬による制御技術

Agrochemical control of plant water use using engineered
abscisic acid receptors

Park S-Y *et al.*
Nature 520: 545-550, 2015

米国の大学研究者による研究グループによる報文。気候変動や人間活動に起因する水不足は農業生産における最大の懸念事項の一つである。水が不足すると、植物は植物ホルモンの一種であるアブシジン酸（ABA）含量の増加を介して、気孔の閉鎖や他の防御反応を引き起こすことで水消費量やストレス耐性を向上する。このため、植物の水消費の改善や乾燥ストレス耐性を制御するための戦略として、ABA 受容体の活性化を操作することが有望であるが、これまで農薬としての使用が承認された ABA アンタゴニストはまだ開発されていない。そこで、筆者らは、分子エンジニアリングによって、安全性が認められている既存の農薬によって活性化される ABA 受容体の作出に挑戦した。

〔結果〕① ABA 受容体タンパク質：ABA 受容体 PYR1タンパク質において ABA とのリガンド結合に関連する領域をエンジニアリングの対象とし、475種類の変異体を作成した。②スクリーニング：変異 PYR1 475種類 x 認可済み農薬 15種類（除草剤を除く）の計7125組み合わせについて受容体-リガンド結合アッセイを実施し、最終的に最適な組み合わせ、PYR1^{MANDI}（6アミノ酸残基置換）とマンデリック酸アミド系殺菌剤であるマンジプロパミドの組み合わせを見出した。PYR1^{MANDI} のマンジプロパミドに対する感受性はナノモラーレベル（IC₅₀ = 27 nM）と非常に高感度である。③結晶学的解析：PYR1はリガンド結合ポケットを構成するアミノ酸残基を改変することにより、反応するリガンドを比較的容易にデザインすることが可能であることがわかった。④形質転換体による試験：PYR1^{MANDI} を発現するシロイヌナズナ及びトマトを開発した。PYR1^{MANDI} 形質転換シロイヌナズナあるいはトマトは、マンジプロパミド処理により気孔が閉鎖することが確認された。また播種後3週間の PYR1^{MANDI} 形質転換シロイヌナズナ及び対照非組換え体にマンジプロパミドを2回処理後、11日間灌水停止したところ、形質転換体は生存したが対照非組換え体は枯死した。〔考察〕受容体タンパク質の分子エンジニアリングを用いて、一つの農薬を新しい目的に転用することに成功した。同様の戦略は植物の他の受容体にも適用できると考えられ、新たな農作物の改良方法として期待される。

No.217

ウイルス利用による植物害虫の撲滅

Plant pest destruction goes viral

Whitfield AE *et al.*

Nature Biotechnology 32: 65-66, 2014

米国カンサス州立大学・ウイスコンシン大学の合同チームが、Bonning らが開発した新たなアブラムシ抵抗性付与に関する研究成果（本調査報告 No.198で紹介）に対する支援・情宣を目的とした解説短報を公表した。約100種のアブラムシの仲間は害虫である。アブラムシは単為生殖により年間15~30世代を経過し、1植物体上の累計虫数は数百から数千匹に達する。米国ダイズ作だけでも年間損害額は700億円に達する。アブラムシを含む半翅目吸汁害虫に対して *Bt*タンパク質は効力がなく、他の慣行農薬による駆除には限界がある。吸汁害虫は減収被害に加えてウイルス病を媒介するという別な被害ももたらす。アブラムシは、ウイルス病の28%を媒介し、またルテオウイルス（luteovirus）の唯一の媒介害虫でもある。ルテオウイルスは、感染植物の篩管液をアブラムシが吸汁することでアブラムシの腸管に取り込まれるのだが、アブラムシを媒介して他の植物に感染するためには、一度、アブラムシの腸管上皮細胞内に侵入・中腸膜を貫通することで血体腔に移入、さらに唾液腺に移入する必要がある。ウイルスが細胞内へ侵入する過程はアブラムシ-ルテオウイルス間の特異的な反応である。そこで Bonning らはこの過程を利用して、殺虫性クモ毒素とルテオウイルス外被タンパク質との融合外被タンパク質を作出することで、クモ毒素をアブラムシ特異的に血体腔内へ取り込ませる系を開発した。クモ毒素は人畜及びアブラムシ中腸内までは無害であるが、中腸膜の貫通を経て血体腔へ移行し、アブラムシに対する殺虫性を示す。一方、内生の外被タンパク質は不溶性なため中腸膜は貫通できないが、外被タンパク質にプロリンリッチ配列を付加することで可溶化し、中腸膜をウイルス粒子を形成せずに貫通することを可能にした。以上から、殺虫性融合外被タンパク質のアブラムシ血体腔への移行による殺虫性の発現という、革新的なアブラムシ防除体系が確立され、さらに組換え植物による生物検定によりその実効性が確認された。これが本研究の成果であり、この成果は幅広い半翅目吸汁害虫（吸汁のみ+吸汁・ウイルス媒介）の防除に適用される可能性を有すると結語される。（注：実用化には、標的害虫（アブラムシ）及び標的植物の両面における環境影響評価による補強が必要である。）

No.218

**モモ由来ウドンコ病抵抗性遺伝子座 O(*PpMlo1*) 遺伝子のアンチセンス
発現によるオランダイチゴにおける種横断的ウドンコ病抵抗性の付与**

Antisense expression of peach mildew resistance locus O
(*PpMlo1*) gene confers cross-species resistance to powdery
mildew in *Fragaria x ananassa*

Jiwan D *et al.*

Transgenic Research 22: 1119-1131, 2013

米国ワシントン州立大学研究グループによる原著論文である。ウドンコ病 (powdery mildew) は1,000種以上の植物種を犯す大病害であり、硫黄主成分の農薬散布による従来の対策は、経費・環境面に問題があった。既往の優性抵抗性遺伝子の場合、病原菌侵入後の細胞を中心に局在する死滅組織中へ病原菌を閉じ込める機作が作用し、病痕による識別が容易であるが、遺伝資源に限界があった。近年、機能欠失型変異遺伝子による抵抗性付与が注目されている。例えばオオムギのウドンコ病抵抗性変異遺伝子 *Mlo* 及びシロイヌナズナにおける同様事例などである。これらの変異は、膜貫通型タンパク質への変異で広範なウドンコ病菌に対する抵抗性を示す。著者らはこの機作を利用してウドンコ病抵抗性イチゴの作出を目的に以下の結果を得た。(1) 宿主植物：テストの第1段階として多数種を有するバラ科植物を重視し、オランダイチゴを供試した。(2) バラ科植物 *Mlo1* 相同遺伝子の単離：オオムギ及びシロイヌナズナとの相同性により、モモの BAC ライブラリーより *PpMlo1* 遺伝子をクローニングした。(3) 形質転換体の作出：*PpMlo1* 遺伝子をセンス方向及びアンチセンス方向で発現するコンストラクトを調製し、アグロバクテリウム法によりイチゴを形質転換し、センス8系統、アンチセンス9系統を選出し、温室内の土壌栽培に移した。(4) ウドンコ病抵抗性検定：イチゴ特異的ウドンコ病の分生子を植物体に塗布して病斑面積率から抵抗性を検定した。罹病率は対照25%、センス系統60%以上であったのに対し、アンチセンス系統は無被害であり高い抵抗性を示した。この結果は、分子的解析の結果と一致した。(5) 総括：モモ由来のウドンコ病抵抗性遺伝子 *PpMlo1* のアンチセンス導入による発現抑制体イチゴは、イチゴ特異的ウドンコ病に対し高い抵抗性を示した。本手法のバラ科植物への適用は初めてであり、今後の適用拡大が期待される。(注：*Mlo* 遺伝子の植物系統樹による分布解析がなされているが、省略した。)

No.219

バレイショ疫病に対する3重抵抗性遺伝子組換え体作出におけるベクターの集積並びに抵抗性遺伝子の集群的遺伝

Vector integration in triple *R* gene transformants and the clustered inheritance against potato late blight

Xhu S *et al.*

Transgenic Research 22: 315-325, 2013

オランダ・ワーゲニンゲン UR (University & Research center) の研究グループによる原著論文である。植物の形質転換法として一般的なアグロバクテリウム法では、Ti プラスミドベクター等の中の2つのボーダー配列 (LB、RB) に挟まれた T-DNA 領域のみが植物ゲノム中に挿入されるとされているが、実際には、LB 側の境界はやや不正確で T-DNA 配列の外側配列 (ベクターバックボーン) も植物ゲノムに挿入されてしまう場合がある。一方、EC 指令2001/18/EC は、「環境放出の GM 品種は外骨格配列を含んではならない」と明記している。この条件の実現性を検討するために著者らは3つのバレイショ疫病抵抗性遺伝子を導入したバレイショを用い、以下の結果を得た。結果①挿入遺伝子の発現組合せ：(1) 組換え体の作出：3種の抵抗性遺伝子 (*sto1*、*vnt1*、*bib3*) 及び *nptII* を保有するベクターを供試し、アグロバクテリウム法により非抵抗性品種 Desiree を宿主とする組換え試験を行い、カナマイシン選抜により組換え体128個体を作成した。(2) ベクター集積 (発現組合せ) の解析：i) 98個体 (全体の77%) は3種の抵抗性遺伝子全部を有し、うち73個体は外骨格配列及び両ボーダー配列のどちらも存在しなかった；ii) 23個体 (全体の18%) は LB、8個体 (全体の6%) は両ボーダー配列を有していた；iii) 28個体 (全体の22%) は *nptII* のみ有し、うち25個体は外骨格配列を有していた；iv) 28個体 (全体の22%) は外骨格配列を含んでいた；v) 92個体 (全体の70%) は T-DNA の挿入数は、3コピー以下であった。1コピーの個体では、35個体中34個体は外骨格配列を含まず、2~3コピーでは57個体中9個体が外骨格配列を有していた。一方、3コピー以上有する個体では、半数が外骨格配列を含み、かつより長い外骨格配列を有していた；vi) 外骨格配列を有した28個体中27個体が LB に隣接する *tetA* を含んでおり、*tetA* が外骨格配列存在のスクリーニングマーカーとして有効であるとしている。結論：作出した組換え体全体の45% は3種全ての抵抗性遺伝子を有し、かつ外骨格配列及びボーダー配列がどちらも不在であり、EC 指令の条件を満たしていた。結果②抵抗性遺伝子の遺伝：3種全ての抵抗性遺伝子を含む組換え体3系統を非抵抗性品種 Katahdin と交配し、カナマイシン耐性の後代個体についてウドンコ病2菌系の接種試験を行った。その結果、T-DNA 中の4遺伝子は1つの群となって行動し、メンデル法則に従って遺伝することが確認された。

飢餓追放の実現へ向けて

Making hunger yield

McClung CR
Science 344: 699-700, 2014

米国ダートマス大学研究者による短報である。過去半世紀の間に世界の農業生産は倍増した。しかし、世界人口が90億に達する2050年までに、我々は限られた農地と水、悪化する気候変動の中で農業生産をさらに倍増しなければならない。過去70年の農業生産には緑の革命による一大飛躍があった。コムギでは半矮性への草型改良により、強稈・耐肥性強化・収穫指数向上による多収が達成され、イネ・トウモロコシでも同様な戦略により増収が得られた。これらの増収は個体当たりではなく、土地面積当たりの個体数の増加、すなわち栽植密度の増加によるものであった。これらの発展は分子的機作の知識に基づくものではなかった。しかし今では、コムギやイネの短稈化はホルモンの発現回路の変更によることが分かっている。分子機作と特性発現との関係の解明が進み、DNA マーカー育種がトウモロコシ・イネ・ダイズ・コムギで進展中である。組換え技術により少数遺伝子を導入した、害虫・病害抵抗性、除草剤耐性などの組換え作物が成果を発揮している。組換え技術による遺伝的改変は、特定の生物化学的回路の変更も可能としている。ゴールデンライス、生長期延長による増収ダイズ、水・窒素利用効率を向上した作物、さらにはイネを含めたC₃作物へのC₄光合成経路導入による光合成能力の増大も目標とされている。一方で、組換え作物、特に組換え食品に対する消費者の懸念は持続している。この懸念を軽減する努力は、科学的事実・根拠に基づく反論・説得を主体としているが、あまり成功していない。科学者集団は科学的根拠を越えることをためらっている。しかし、新技術の展開による組換え作物の意義を主張すべきである。将来の世界人口を支えるためには、慣行育種、分子育種、遺伝的改変の3領域の多岐にわたる活動の強化が必須の課題である。我々は、「新しい緑の革命」により、将来の人類を支える使命を担っているのである。(注：バイテクの消極的弁解から、バイテクの意義・貢献の積極的主張への転換を明記したのが本論説の注目すべき特徴であると思われる。)

ERA プロジェクト調査報告

2015年 6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)