
ERAプロジェクト調査報告

September 2016

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

2016. 9

バイオテクノロジー研究部会

2016年の調査報告書第3号（通算第28号）をお届けします。

1報目は、組換え *Bt* 作物栽培の環境への影響に関するもので、Cry 1 Ac を発現する *Bt* ワタが1997年に導入された中国での抵抗性害虫についての研究です。現在は、他作物の栽培が抵抗性害虫発生を抑制する自然緩衝区としての役割を果たしていますが、その実効性を大規模試験により検証した論文です。結果として、自然緩衝区による一定の効果は確認されましたが、今後は複数種の *Bt* スタックワタの導入、非 *Bt* ワタなども併用した栽培が有効ではないかと結論付けています。

次に、2014年1月にカナダで開催された、GM作物による非意図的効果（unintended effect）に関する国際集会の報告を取り上げました。この集会は、非意図的効果について専門家間で科学的知識・経験の共通的理解を深め、今後のGM作物に対するリスク評価を向上することを目的に開催されましたが、この論文は著名な講演者を含む19名の共著による集会の正式報告です。集会の共通的理解として、「慣行育種を含む全ての遺伝的変化には非意図的効果が存在すること」、「非意図的（unintended）と有害（harmful）は同義語ではない」ことが合意されています。

レビュー論文は2報取り上げています。1報目はシミュレーションにより、世界の各地域（代表的3作付体系）及び地球規模における収量ギャップ（yield gap：収量ポテンシャル・収量推定値と実際の収量との差）を解析した論文です。もう1報は、従来育種によるトウモロコシ乾燥耐性品種の育成のために実施した育種・開発研究を、開発企業が取りまとめた論文です。

組換え植物に関する原著論文としては、昆虫病原性線虫由来の遺伝子を導入した組換えトマトの害虫抵抗性・ストレス耐性試験結果の報告、ウドンコ病抵抗性に関する遺伝子を導入した組換えコムギの解析結果の報告、除草剤アトラジンの分解酵素を導入した組換え牧草によるアトラジン分解の報告、pH感受型の硝酸膜輸送体関連遺伝子を過剰発現させた組換えイネの収量が増加したとの報告を取り上げています。

短報としては、気象モデルにより今後米国では長期かつ深刻な干ばつが予測されるという報告、さらに、ゲノム編集の規制に関して、CRISPR-Cas 9 を使って開発したマッシュルームに対して、米国農務省が規制対象とはしないことを確認したという報告の2報を取り上げました。なお、このマッシュルームのケースが、米国農務省のCRISPR-Cas 9によりゲノム編集された生物に対する最初の判断です。

なお、これまでの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/namazugi>

目次

| | | |
|--------|--|----|
| No.271 | 組換え <i>Bt</i> 作物に対する抵抗性害虫発生を遅延させるための自然緩衝区戦略の大規模試験 Large-scale test of the natural refuge strategy for delaying insect resistance to transgenic <i>Bt</i> crops | 1 |
| No.272 | GM 作物における非意図的効果の遺伝的基盤と検出 Genetic basis and detection of unintended effects in genetically modified crop plants | 2 |
| No.273 | 地域的・世界的関連における収量ギャップの解析－レビュー論文 Yield gap analysis with local to global relevance – A review | 3 |
| No.274 | 米国コーンベルトに適した乾燥耐性トウモロコシの育成：発見から製品化へ Breeding drought-tolerant maize hybrids for the US corn-belt: discovery to product | 4 |
| No.275 | 気候モデルが予測する米国のより長くより深刻な干ばつ Model predict longer, deeper U.S. droughts | 5 |
| No.276 | 昆虫病原性線虫 <i>Xenorhabdus nematophila</i> 由来 GroEL のトマトにおける異所的発現は オオタバコガに対する抵抗性及び塩・熱ストレス耐性を向上させる Ectopic expression of GroEL from <i>Xenorhabdus nematophila</i> in tomato enhances resistance against <i>Helicoverpa armigera</i> and salt and thermal stress | 6 |
| No.277 | 圃場生育の <i>Pm3b</i> 遺伝子発現コムギのトランスクリプトームへの影響は、遺伝子導入 よりも環境要因の方が大きい The environment exerts a greater influence than the transgene on the transcriptome of field-grown wheat expressing the <i>Pm3b</i> allele | 7 |
| No.278 | バクテリア由来の改変アトラジン分解酵素遺伝子を発現する 4 種類の牧草による アトラジンの生物的分解 Biodegradation of atrazine by three transgenic grasses and alfalfa expressing a modified bacterial atrazine chloro hydrolase gene | 8 |
| No.279 | イネの pH 感受型硝酸膜輸送体の過剰発現は収量を増加させる Overexpression of a pH-sensitive nitrate transporter in rice increases crop yields .. | 9 |
| No.280 | ゲノム編集された CRISPR マッシュルームは米国では規制を逃れる Gene-edited CRISPR mushroom escape US regulation | 10 |

No.271

組換え *Bt* 作物に対する抵抗性害虫発生を遅延させるための自然緩衝区戦略の大規模試験

Large-scale test of the natural refuge strategy for delaying insect resistance to transgenic *Bt* crops

Jim L *et al.*

Nature Biotechnology 33: 169-174, 2015

中国大学・国研及び米国大学の研究チームによる報告。中国北部では、1,000万人以上の農家により、およそ270万 ha の耕地でワタが栽培されるが、*Helicoverpa armigera* (和名：オオタバコガ) の被害は深刻である。そこで、*Bt* ワタ (Cry1Ac) が1997年に導入され、2011年には全ワタ耕作地の95%以上で採用された。中国では米・豪などの諸国とは異なり、非 *Bt* ワタによる緩衝区は要求されていない。一方、同地域にはオオタバコガが加害するワタ以外の作物 (トウモロコシ・ダイズ・ラッカセイ・その他) の耕作地が2,500万 ha に及ぶことから、これらが緩衝区の役割を果たすと考えてきた。しかし、この仮説には科学的根拠がなかった。そこで、著者らは2010-13年、北部6省、46地点 (合計70,916幼虫) の実測値とシミュレーションによる推定値とを比較して他作物による緩衝区 (これを自然緩衝区 [natural refuge] と称している) の実効性を検証した。(1) シミュレーション: 1) 第1例: 害虫の抵抗性の前提条件: 抵抗性遺伝子を1遺伝子座と仮定し、自然緩衝区56%及び0%の場合の抵抗性害虫発生率を、その抵抗性遺伝子が優性ホモ・ヘテロ・劣勢ホモの場合に分けて推定した2010年抵抗性害虫個体率0.93% (実測)。無自然緩衝区では抵抗性害虫率が2013年には95%以上に達した。自然緩衝区56%区 (妥当代表値) では、優性遺伝で14%、相加性遺伝で4.3%、劣性遺伝で1.8%であった。2) 第2例: 前提条件: 抵抗性遺伝子が、3つの遺伝子分離様式 (優性ホモ・ヘテロ・劣勢ホモ) に従ったと仮定し、緩衝区を40%-90%の間における抵抗性害虫発生率を推定した2015年の抵抗性害虫率は自然緩衝区90%区で1.1%、40%区で29%であった。非劣性 (優性+相加性) 抵抗性害虫率は、自然緩衝区90%区では2010年の40%を維持したが、自然緩衝区40%区では80%以上に達した。(2) 実測値とシミュレーション値との比較: 2010~13年の抵抗性害虫率は0.93%から5.5%と6倍増加したが、この推移はシミュレーション値の推移とよく一致していた。非劣性抵抗性害虫率は40%から80%へと増加し手法間の差はなかった。(3) 総括: 本解析は自然緩衝区の実効性を検証した最初の報告である。自然緩衝区による抵抗性発生遅延に一定の効果は確認されたが、非 *Bt* ワタによる緩衝区の効果には及ばないことがわかった。今後、複数種の *Bt* スタック系統ワタ、非 *Bt* タンパク質導入系統ワタなどと併用した栽培が有効であると考えられる。

GM 作物における非意図的効果の遺伝的基盤と検出

Genetic basis and detection of unintended effects in genetically modified crop plants

Ladics GS *et al.*

Transgenic Research 24: 587-603, 2015

2014年1月カナダ・オタワで表題の国際集会が開催された。本レビューは著名な講演者を含む19名（米・加・豪・英・独・仏・スイス・オランダ及び4大開発企業）の共著による本集会の正式報告である。（1）集会の目的：非意図的効果の専門家間で科学的知識・経験に関する共通的理解を深め、今後の環境リスク評価の向上に資する。（2）植物遺伝的変異の分子的基盤：1塩基変化・トランスポゾン・遺伝子水平移動・T-DNA挿入などに基因する非意図的効果は植物に共通的・平常的に発生している。植物ゲノムは非常に動的・可変的であり、再配列が頻発している。（3）GM植物の非意図的効果の分子的基盤：挿入効果に加えて、体細胞変異、多面的発現（コードタンパク質の生化学的機作・作物種内変異多様性などを含む）などが非意図的効果に関係している。（4）非意図的効果における慣行育種とバイオテクノロジーの類似性：両者とも、意図的挿入特性の発現確認後の選抜及び不良表現型の除去を含む共通的过程を経過する。カナダでは遺伝子操作の有無による区別は行わず、新規特性植物（Plant with Novel Trait; PNT）として両者を一様に審査している。PNT系統は、表現型及び農業形質について、安全既存品種との比較のもとに安全性が確認されている。食品は特に厳格であるが、非意図的効果による不認可はこれまで報告されていない。（5）仮説誘導による非意図的効果の評価：プロブレム・フォーミュレーションの評価目標を耐乾性、雑草性、非標的生物影響のリスク評価を例にあげ解説、これまでに食品・飼料の安全性評価（アレルギー性など）を通じて、有害な非意図的効果の出現は報告されていない。（6）最新技術の適用：プロテオミクス、メタボロミクスなどのオミクス手法の非意図的効果特定への適用は実効性が未確認である。（7）総括：共通的理解として次の2項が合意された。1）慣行育種を含むすべての遺伝的改変には非意図的効果が存在する、2）“非意図的（unintended）”と“有害（harmful）”は同意語ではない。目標特性（農業特性・構成成分）及び各種検定における安全性の維持により、非安全性非意図的効果の出現が抑制されている。オミクス手法の非意図的効果への適用の実効性は確認されていない。

地域的・世界的関連における収量ギャップの解析 - レビュー論文

Yield gap analysis with local to global relevance - A review

van Ittersum MK *et al.*

Field Crops Research 143: 4-17, 2013

オランダ・米国・豪州の研究グループによるレビューである。将来へ向けての農業生産の持続的増強 (sustainable intensification) の重要性が増加している。著者らは多数の収量データを用いて Yield gap (収量ギャップ、 Y_g) の評定の主要要因に関するレビューを行った。(1) 用語: Yield potential (収量ポテンシャル、 Y_p) 及び Water-limited yield (水分のみ限定要因とした場合の収量推定値、 Y_w): Crop simulation model による、養水分・各種ストレスによる制限がない時の収量ポテンシャル (Y_p) あるいは、水分のみ限定要因とした場合の収量推定値 (Y_w); Average yield (平均収量、 Y_a): 農家平均収量 (実際の収量); 収量ギャップ (Y_g): Y_p または Y_w と Y_a との差。(2) 各地域ごとの収量ポテンシャル (Y_p) 及び収量ギャップ (Y_g) の推定: 代表的3作付体系として西ケニアの天水トウモロコシ栽培、米国ネブラスカ州の灌漑トウモロコシ栽培、豪州ビクトリア州の天水コムギ栽培を選定し、それぞれの地域ごとに収量ポテンシャルのシミュレーションを行い、収量実測値と比較した (収量の単位は、トン/ha)。西ケニア: $Y_a = 1.7$, $Y_w = 5.4$, $Y_g = 3.7$, $Y_g : Y_a$ 比 = 2.2。ネブラスカ州: $Y_a = 13.2$, $Y_p = 14.9$, $Y_g = 1.6$, $Y_g : Y_a$ 比 = 0.1。ビクトリア州: $Y_a = 1.9$, $Y_w = 2.6$, $Y_g = 0.9$, $Y_g : Y_a$ 比 = 0.4。ケニアにおいてシミュレーションと実際の収量較差が大きい。豪州天水栽培では収量は降水量に依存するが、ケニアでは降水量以外の要因により収量が制限されている。(3) 地球規模でのシミュレーションによる収量推定: 世界各地データ (直近1~20年分) を統合したシミュレーション解析により、4作付体系 (米国ネブラスカ州 - 灌漑トウモロコシ栽培及び天水トウモロコシ栽培、オランダ - 天水コムギ栽培、豪州南東部 - 天水コムギ栽培) の収量を推定し、実測収量と比較した。米国灌水及び天水栽培、オランダ天水栽培については、直近5年のデータに基づくシミュレーションにより比較的高精度な予測が可能であることが示された。一方、豪州天水栽培については予測精度が低かった。(4) 総括: 今後より詳細なデータ (土壌、栽培体系等) が利用可能になることでシミュレーション精度の向上が期待される。また、グローバルシミュレーション手法は実測データのない土地での収量予測が可能となるため、農業生産持続的増強に関する、基礎的情報としての活用が期待される。

米国コーンベルトに適した乾燥耐性トウモロコシの育成：発見から製品化へ

Breeding drought-tolerant maize hybrids for the US corn-belt: discovery to product

Cooper M *et al.*

Journal of Experimental Botany 65: 6181-6204, 2014

デュポン・パイオニア（在米国及びチリ）によるレビュー論文である。干ばつが頻発する米国コーンベルトに適した乾燥耐性トウモロコシの育成は長年の大課題である。著者らは同社がこの目的のために長年にわたり実施してきた育種・開発研究をとりまとめた。（１）乾燥耐性品種育種の歴史的経緯：1930年以降、品種・栽培条件・環境の組み合わせと収量に関する調査事例が数多く蓄積され、これが乾燥耐性品種育種の出発点となっている。（２）試験区間の収量に関する分散分析：3～4集団を11試験区（2年（2011-12）×2ヶ所（米国 Woodland・チリ Viluco）×3水条件（灌漑・節水1・2段階）、2012のチリ節水2が欠落）で栽培試験し、収量を調査した。収量は水条件で変動したが、すべての灌漑区収量分散は有意であり、品種差に起因していた。（３）既存品種の乾燥耐性の比較：14品種について4回の水制限試験で収量を調査した。その結果、各4回の試験結果は互いに0.70～0.90の高い相関があった。4回の試験結果の結果、供試した14品種のうち8品種を高乾燥耐性品種に分類した。（４）生理学的特性：生育25～100日間の根部保水量及び植物体バイオマス量は、乾燥感受性品種は乾燥耐性品種より早く消耗し、その結果収量も前者が後者より低かった。（５）乾燥耐性の早期検定・既往結果から、雄穂の開葯と雌穂の絹糸抽出期の時間差（ASI）の長短と耐干性の弱強との密接な関係が検出された。そこで、ASI 形質と相関する遺伝子座を特定することで、分子マーカーによる乾燥耐性の早期検定が可能となった。（６）AQUAmax®の開発：以上の諸成果に基づいて、新しい品種 AQUAmax® が作出され、2012年より作付けが開始されている。本品種は既存及び近年の他品種より多収・乾燥耐性であり、灌漑で15トン/ha以上、干ばつでも8トン/haの収量を記録した。（７）総括：適切な選抜地、水管理試験、生理学的特性及び分子マーカーなどの総合的利用により、乾燥耐性トウモロコシの組織的開発の可能性及び実例が示された。これは米国コーンベルトの収量安定・向上に貢献すると考えられる。

気候モデルが予測する米国のより長くより深刻な干ばつ

Model predict longer, deeper U.S. droughts

Underwood E
Science 347: 707, 2015

サイエンス誌特派員による短報である。米国ニューメキシコ州チャコ溪谷の奇怪な砂岩の廃墟は、13世紀の50年以上の大干ばつでアメリカインディアンが放棄した居住地の史跡であり、干ばつ地居住者への警告である。土壌水分量は降水量と気温から計算することが可能で、気候推計に基づくことで今後100年間程度の土壌水分量の推移が予測可能である。一方で、過去の土壌水分量を木の年輪から推測する方法がある。全米から集めた様々な年代にわたる1800点以上の年輪コレクションから過去1000年の土壌水分量を推定した。この結果を比較すると、今後到来が予測される干ばつは、チャコ溪谷を廃墟に変えた13世紀の大干ばつ以上のものであるという、恐るべき予測を示した。もし温室効果ガスの蓄積がこのまま続けば、今世紀末までに米国南西部及び中西部が深刻な干ばつにおそわれる予測であった。この大干ばつの発生確率は80%以上であり、これまでより長く深刻なものが予想され、コロラド川が干上がることも予想される。この干ばつを管理することはおそらく不可能で、人々は800年前のチャコ溪谷と同様に居住地を失うことであろう。

No.276

昆虫病原性線虫 *Xenorhabdus nematophila* 由来 GroEL のトマトにおける異所的発現はオオタバコガに対する抵抗性及び塩・熱ストレス耐性を向上させる

Ectopic expression of GroEL from *Xenorhabdus nematophila* in tomato enhances resistance against *Helicoverpa armigera* and salt and thermal stress

Kumari P *et al.*

Transgenic Research 24: 859-873, 2015

インドの大学・国研グループによる原著論文である。GroELはバクテリアのタンパク質シャペロンである。著者らは昆虫病原性線虫 *Xenorhabdus nematophila* 由来の GroEL ホモログ XnGroEL を発現する組換えトマトを作出し、その害虫抵抗性及び各種ストレス耐性を調査して以下の結果を得た。(1) 組換えトマトの作出：慣行品種 Pusa Early Dwarf にアグロバクテリウム法により *XnGroEL* 遺伝子を導入し、独立した3系統 (T1世代) を選出して以下の調査を行った。(2) 害虫抵抗性：組換えトマト及び対照トマトの葉を用い、トマトの大害虫であるオオタバコガへの給餌試験に供試した。飼育4日後の3系統の致死率は100、90、100%であり、生存幼虫は生育・体重の大幅な減少が顕著であった。対照区の致死率は18%、生存幼虫は正常に生育・蛹化した。(3) ストレス耐性 (リーフディスク)：1) 塩ストレス処理 (NaCl; 200、400、600 mM)：対照区は急速に変色・萎凋したが、組換え区は変化が少なく、葉緑素含量は対照区の1.2~1.7倍であった。2) 低・高温ストレス処理：4 °C 及び42 °C 処理による葉緑素含量は組換え区が対照区の1.4~1.6倍であった。3) その他：組換え区の葉緑素含量は対照区より、脱水処理 (マンニトール) で1.3~1.6倍、重金属 (CdCl₂) で2倍以上高かった。(4) ストレス耐性 (植物体)：塩ストレス処理 (NaCl 200 mM × 2週間) 及び熱ストレス処理 (42 °C × 16時間) により、対照区は顕著な巻葉・変色・萎凋を示したが、組換え区は変化が少なかった。NaCl 及び熱処理による、植物体相対含水量は1.7倍及び2倍、植物体の光合成効率は1.5倍及び1.7倍高かった。また体内過酸化水素含量は2倍及び1.8倍低下、有害酸化物発生阻害酵素群の濃度は2~3倍高かった。(5) 総括：XnGroEL タンパク質を発現する組換えトマトが、害虫抵抗性及び各種ストレスに対する耐性を発揮することが確認された。今後より広範囲の評価が必要である。

圃場生育の *Pm3b* 遺伝子発現コムギのトランスクリプトームへの影響は、遺伝子導入よりも環境要因の方が大きい

The environment exerts a greater influence than the transgene on the transcriptome of field-grown wheat expressing the *Pm3b* allele

Quijano CD *et al.*
Transgenic Research 24: 87-97, 2015

スイス国研・大学グループによる原著論文である。コムギうどんこ病は13~34%の減収をもたらす大病害である。著者らはうどんこ病抵抗性 R 遺伝子座 *Pm3*の抵抗性アリル *Pm3b*を慣行品種 Bobwhite SH9826に導入した組換えコムギ *Pm3b*#1及び *Pm3b*#2並びにそれらのヌル分離個体 (null segregant; *Sb*#1及び *Sb*#2)を選出し、それらのトランスクリプトームをマイクロアレイにより解析・比較して以下の結果を得た。

- (1) クラスタ分析：うどんこ病人工接種殺菌剤無処理区（人工接種区）と殺菌剤処理区とは明らかに群別された。各群内では1例を除き組換え群（GM群）とヌル分離個体群（null群）との群別は不明瞭であり、組換え遺伝子の有無は反映されなかった。
- (2) 主成分分析：2009年の栽培試験では第1主成分は全変異の49.4%を占め、*Pm3b*#1・*Sb*#1と *Pm3b*#2・*Sb*#2とが群別する傾向があった。第2主成分は33.8%を占め、人工接種区と殺菌剤処理区とが群別された。2010年の栽培試験ではこれらの傾向は不明瞭であった。これらの結果からトランスクリプトームに及ぼす影響は、組換え遺伝子の有無よりも環境の方が大であることが示された。
- (3) GM群と null群との発現遺伝子数の比較：発現遺伝子数はGM群・null群ともに人工接種区が殺菌剤処理区より多かった。殺菌剤処理区が発現遺伝子数にはGM群と null群との間に *Pm3b*#1では差異はなく、多面的発現表現型を示した *Pm3b*#2でもわずかな数遺伝子の差であった。
- (4) 総括：うどんこ病抵抗性組換えコムギのトランスクリプトームに対して、抵抗性遺伝子の有無よりも環境（年次・病原菌の有無）の方がより大きい影響を与えると結語される。同様な結果は他の先行研究でも示されている。

バクテリア由来の改変アトラジン分解酵素遺伝子を発現する4種類の牧草によるアトラジンの生物的分解

Biodegradation of atrazine by three transgenic grasses and alfalfa expressing a modified bacterial atrazine chloro hydrolase gene

Vail AW *et al.*

Transgenic Research 24: 475-488, 2015

米国大学・国研グループによる原著論文である。アトラジンは広葉雑草除草剤として米国で広く使用されているが、土壌・地下水の汚染が懸念されている（欧州では使用が禁じられている）。著者らはアトラジン分解酵素遺伝子を導入した4種類の組換え牧草を作出してそれらのアトラジン生物的分解能力を調査し、次の結果を得た。

- (1) 組換え牧草の作出：*Pseudomonas* sp. ADP 株より単離したアトラジン分解酵素遺伝子 *atzA* の改変遺伝子 *p-atzA* をアグロバクテリウム法により、トールフェスク・ペレニアルライグラス・スイッチグラス・アルファルファに導入した。
- (2) アトラジン耐性：1) 寒天培地：アトラジン10 µg/ml 含有寒天培地で14日間培養後の耐性個体率は、トールフェスク：75%、ペレニアルライグラス：100%、スイッチグラス：96%、アルファルファ：59%であった。
- (3) 培養液水耕（4～6週間）：トールフェスクはアトラジン濃度6.5 µg/ml でも生育可能。スイッチグラスは2.5 µg/ml で対照群に対し新鮮重量2.2～3.4倍増、水利用1.8～2.7倍増。アルファルファは1.0 µg/ml で新鮮重量22～55% 増、水利用7～13% 増であった。
- (4) アトラジン分解能力 (*in vitro*)：植物体抽出液中のアトラジンの分解産物であるヒドロキシアトラジンが検出されたことにより、*p-atzA* タンパク質の葉・茎・根における存在が、トールフェスク、スイッチグラスおよびアルファルファについて確認された。
- (5) アトラジン吸収・分解能力 (*in vivo*)：アトラジン0.5 µg/ml 含有培養液で14日間水耕栽培した。組換え体及び対照系統の植物体中へのアトラジン取り込み率（組換え体 (%)；対照系統 (%)）は、トールフェスク19.6；10.3、アルファルファ34.1；3.8であった。分解産物（不特定代謝産物は除外）の植物体中（葉 (%)；茎 (%)；根 (%)）における存在率は、トールフェスク：25.5；41.0；25.7、アルファルファ：75.7；58.5；61.7であった。アトラジン残存率は、トールフェスク：16.4；6.9；44.1、アルファルファ：1.9；2.1；2.1であった。以上から吸収されたアトラジンの大部分が分解されたことが示された。
- (6) 総括：以上から組換え牧草の人工培地中のアトラジンに対する生分解能が実証された。今後は土壌生育試験による検証が必要である。

イネの pH 感受型硝酸膜輸送体の過剰発現は収量を増加させる

Overexpression of a pH-sensitive nitrate transporter in rice increases crop yields

Xiaorong F *et al.*

PNAS 113: 7118-7123, 2016

中国の大学及び英国 John Innes Centre の共同研究。細胞内 pH の恒常性維持は生物にとって不可欠である。植物においては、窒素源の化学的形態（硝酸態とアンモニア態）が細胞内 pH の決定要因の一つとなっている。イネの硝酸膜輸送体タンパク質をコードする遺伝子 *OsNRT2.3* には 2 種類のスプライス多型が存在する。筆者らは、pH 感受性を示す *OsNRT2.3* アイソフォームを過剰発現させることでイネの収量が大幅に改善することを報告した。

- (1) *OsNRT2.3* のスプライス多型：516 アミノ酸残基をコードする *OsNRT2.3a* は木部組織で発現し、根から地上部への長距離輸送に関与する。486 アミノ酸残基をコードする *OsNRT2.3b* は主に地上部の師部で発現する。
- (2) *OsNRT2.3b* の pH 感受性：アフリカツメガエル卵母細胞を用いた膜輸送体アッセイ系の解析の結果、*OsNRT2.3b* は pH7.4 以上の条件でのみ硝酸を膜輸送した。一方、*OsNRT2.3a* には pH 感受性はなかった。
- (3) pH 応答性モチーフ：データベース解析の結果、*OsNRT2.3a*、*OsNRT2.3b* いずれも膜貫通領域中に 1 つ pH 応答モチーフがある。pH 応答モチーフは *OsNRT2.3b* では細胞内側に配置するが、*OsNRT2.3a* は細胞外側にあった。*OsNRT2.3b* の細胞内側の pH 応答モチーフに変異を導入すると pH 感受性は失われた。
- (4) 過剰発現イネの作出と室内試験：*OsNRT2.3a* 又は *OsNRT2.3b* cDNA を過剰発現する形質転換イネ（品種：日本晴）固定系統をそれぞれ 3 又は 4 系統確立した。室内栽培試験の結果、*OsNRT2.3b* 過剰発現系統では収量及び窒素利用効率为非組換え体及び *OsNRT2.3a* 過剰発現体と比べて有意に向上していた。
- (5) 圃場試験：最も高収量性の *OsNRT2.3b* 過剰発現 O8 系統を施肥 3 条件（75、150、300 kg 窒素 /ha）及び無施肥（対照）で圃場における収量調査を行った。施肥条件での O8 系統の収量は無施肥と比較して 35~54% 増収であった。窒素利用効率は通常施肥（300 kg 窒素 /ha）で 26~47% 増、通常の 1/4 の施肥（75 kg 窒素 /ha）で 80~75% 増であった。
- (6) 師部 pH：*OsNRT2.3b* 過剰発現体の師部 pH は硝酸態又はアンモニア態窒素供与条件で 7.1 又は 6.8 であり、同条件での対照の師部 pH（約 8 又は約 7.4）と比較し、いずれの窒素施肥条件でも師部の pH の恒常性が改善されていた。一方、*OsNRT2.3b* 過剰発現体ではリン及び鉄の吸収が非組換え体よりも高かった。師部が恒常的に低 pH に維持されることによる陽イオン吸収の改善が推察される。
- (7) 結論：pH 感受型硝酸膜輸送体 *OsNRT2.3b* 過剰発現体は窒素源の化学的形態によらず、細胞内 pH 恒常性維持をすることで、収量及び窒素利用効率を改善した。細胞内 pH 恒常性の改善は、気候変動や様々な土壌での農業生産に寄与すると期待される。

ゲノム編集された CRISPR マッシュルームは米国では規制を逃れる

Gene-edited CRISPR mushroom escape US regulation

Waltz E

Nature 532: 293, 2016

フリーランスの科学記者による Nature 誌の短報。米国農務省が CRISPR-Cas 9 によってゲノム編集されたマッシュルームを規制対象としないことを確認した。

今回規制の対象外とすることが確認されたマッシュルームはペンシルバニア州立大学の植物病理学者 Yinong Yang 教授によって開発された、褐変の原因酵素であるポリフェノールオキシダーゼの遺伝子 *PPO* を CRISPR-Cas 9 技術によりノックアウトしたマッシュルーム（英名：white button mushroom 学名：*Agaricus bisporus*、和名：ツクリタケ）である。Yang 教授は2015年10月に米国農務省動植物検疫局（APHIS）に申請し、公聴会等を経て、2016年4月13日付で規制除外とする文書が発行された。APHIS は、このバイテクマッシュルームは植物ペストに該当する外来 DNA が含まないことから、彼らの規制からは除外されると判断した。米国農務省は既に、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）や TALEN によってゲノム編集されたバイテク植物の幾つかを同様に規制除外とする判断を示しているが、CRISPR-Cas 9 によってゲノム編集された生物としてはこのマッシュルームが最初の判断となった。米国農務省での審査を通過した作物は、次に食品医薬品局（FDA）による食品安全性の審査を受けることができる。

APHIS が根拠とする規制の枠組みは、1980年代・1990年代に遺伝子組換え体（GMO）に対応するために改変されたものであるが、（外来遺伝子の導入を伴わない）ゲノム編集技術は多くの場合、植物ペストに該当する外来 DNA が含まれないことから彼らの規制からは除外される。米国は、GMO の規制に関するルールの見直しを進めており、これに関連して、米国科学アカデミー（US National Academies of Sciences, Engineering and Medicine）は今後5～10年におけるバイオテクノロジーにおける進歩の予測に関する委員会を新たに立ち上げた。

一方、Yang 教授は本技術の実用化に向けて起業を検討している。過去18ヵ月間に、他のバイテク企業により遺伝子組換え技術による非褐変リンゴや非褐変ジャガイモが商品化されているように、調理した野菜や果物の変色防止や貯蔵期間の延長を目的とした褐変抑制技術は商業的価値が高い。しかし、本技術は昨年9月、ペンシルバニア州立大学が特許を出願しており、起業に向けては大学との調整が必要である。

ERA プロジェクト調査報告

2016年9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 安川拓次

〒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)