
ERAプロジェクト調査報告

July 2017

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・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

2017. 7

バイオテクノロジー研究会

2017年の調査報告書第3号（通算第32号）をお届けします。

本号では、ブラジルで深刻な被害をもたらした干ばつ（No.312）及び気候変動による茶葉の品質の変化（No.313）等、農業を含め人間活動に大きく影響する気候変動についての近年の報告をご紹介しますとともに、気候変動の要因の一つである温室ガスを工業バイオテクノロジーによって利用する試み（No.314）についてご紹介します。育種分野では、応用が期待される遺伝子組換え技術を用いた研究事例として、トマト・バレイショ・イチゴの病害抵抗性の向上（No.310及びNo.311）、オオムギの栄養成分の改変（No.316）並びにイネの開花調節（No.319）をご紹介します。また、古典的な遺伝子組換え技術であるパーティクルガン法を用いた場合の導入遺伝子の様態解析（No.315）をご紹介します一方、最新のゲノム編集技術に関する報告として、日本発のCRISPR-Cas9 シチジンデアミナーゼ融合酵素によるイネ・トマトのゲノム編集（No.318）についても取り上げました。その他、遺伝子組換え動物の先駆けである組換えサケについての報告（No.317）も併せてご紹介します。

なお、これまでに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/namazu.cgi>

目次

No.310	バレイショ及びトマトのシロイヌナズナ由来羅病性 <i>DND1</i> オーソログ遺伝子の抑制による疫病及びウドンコ病抵抗性の付与 Down-regulation of <i>Arabidopsis DND1</i> orthologs in potato and Tomato leads to broad-spectrum resistance to late blight and powdery mildew	1
No.311	シロイヌナズナ <i>NPRI</i> 遺伝子による広範病害抵抗性イチゴの作出 The <i>Arabidopsis NPRI</i> gene confers broad-spectrum disease resistance in strawberry	2
No.312	ブラジルの干ばつ：森林伐採への警告 Brazil's drought: Beware deforestation	3
No.313	工業バイテク技術による温室ガスの化学原料生産への転用 Industrial biotechs turn greenhouse gas into feedstock opportunity	4
No.314	気候変動に起因する茶葉品質の変動 Reading the tea leaves for effects of climate change	5
No.315	パーティクルガン法によって遺伝子導入した形質転換コムギにおける同時導入遺伝子の分布 The distribution of cotransformed transgenes in particle bombardment-mediated transformed wheat	6
No.316	貯蔵タンパク質含量を標的とした改変による大麦穀粒アミノ酸構成成分の向上 Targeted modification of storage protein content resulting in improved amino acid composition of barley grain	7
No.317	食品としての安全性承認がなされた遺伝子組換えサケ GM salmon declared fit for dinner plates	8
No.318	CRISPR-Cas9 シチジンデアミナーゼ融合酵素を利用したイネ、トマトのゲノム編集 Targeted base editing in rice and tomato using a CRISPR-Cas 9 cytidine deaminase fusion	9
No.319	栽培環境によらないイネの花成制御技術 Synthetic control of flowering in rice independent of the cultivation environment	10

バレイショ及びトマトのシロイヌナズナ由来羅病性 *DND1* オースログ遺伝子の抑制による疫病及びウドンコ病抵抗性の附与

Down-regulation of *Arabidopsis DND1* orthologs in potato and Tomato leads to broad-spectrum resistance to late blight and powdery mildew

Sun K *et al.*

Transgenic Research 25: 123-138, 2016

オランダ大学研究グループによる原著論文である。疫病 (late blight) 及びウドンコ病 (powdery mildew) はバレイショ及びトマトの主要な病害であるが、農薬散布・*Bt* 作物による対策では、環境影響や抵抗性発現などで限界があった。著者らはシロイヌナズナ由来の羅病性遺伝子 *DND1* を RNAi 手法により発現抑制することによる抵抗性系統の作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) トマト及びバレイショからの *DND1* オースログ遺伝子の同定：BLAST 解析によりトマト、バレイショより、各1つずつのオースログ遺伝子を同定し、それぞれ *SlDND1*、*StDND1* とした。
- (2) トマト及びバレイショにおける *DND1* オースログ遺伝子の発現：葉、根、花き、果実 (トマトのみ) 塊茎 (バレイショのみ) での *DND1* 発現を調査したところ、いずれの器官でも発現はみられた。発現量は、花きで最も高く、葉での発現より15倍以上高かった。
- (3) RNAi 系統の作出：トマト及びバレイショのいずれの *DND1* も標的とする RNAi コンストラクト2種を設計した。
- (4) バレイショにおける *DND1* RNAi 表現型：抑制の程度が異なる複数の RNAi 系統 (T0) の葉及び塊茎へ疫病菌を接種したところ、弱い抑制系統及び非組換え対照は顕著な病徴を示したが、強い抑制系統は病徴がなく高度の抵抗性を示した。この抵抗性は複数の疫病菌系統及びウドンコ病に対しても発揮された。
- (5) トマトにおける *DND1* RNAi 表現型：RNAi 系統 (T1) の葉に、ウドンコ病を接種したところ、非組換え対照に比べ、菌糸生産量が有意に抑制された。さらに、T2世代において、ウドンコ病菌及び疫病菌接種による耐性試験を実施したところ、いずれに対しても高度の抵抗性を示した
- (6) 副次影響：トマトでは、*DND1* 抑制により矮化及び葉の壊死 (ネクロシス) が散見される。バレイショでは、矮化はみられず、壊死も軽微であった。
- (7) 総括：RNAi 手法により疫病及びウドンコ病抵抗性バレイショ及びトマトが作出された。本手法の他作物・他病害への適用の可能性が示された。

シロイヌナズナ *NPR1* 遺伝子による広範病害抵抗性イチゴの作出

The *Arabidopsis NPR1* gene confers broad-spectrum disease resistance in strawberry

Julliany K *et al.*

Transgenic Research 24: 693-704, 2015

米国大学グループによる原著論文である。イチゴは世界各地で栽培される重要な果物であるが、多数の病害による損害も大きく、慣行抵抗性育種には限界があった。著者らは組換え手法による抵抗性イチゴの作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) 病害抵抗性組換えイチゴの作出：シロイヌナズナ由来の広範病害抵抗性遺伝子 *AtNPR1* を慣行品種「ハワイ-4」にアグロバクテリウム法により導入し、*AtNPR1* 過剰発現組換えイチゴを作出した。
- (2) 組換えイチゴの炭疽病抵抗性：根冠部及び葉柄に炭疽病分生孢子混合懸濁液を散布、20日後の発病を評価したところ、組換え区は病徴発現少なく発病個体率も30%以下であったが、対照区は典型的な病徴を示し、発病率も有意に高かった。
- (3) ウドンコ病抵抗性：接種10日後において、組換え体数個体は病徴を示さなかった。残りの一部系統は中程度の抵抗性を示した。対照区は明瞭な病徴を示した。
- (4) 角点病（細菌病）抵抗性：接種7日後において、対照区は顕著な病徴を示したが、組換え区では接種病斑の拡大が無～少であり、強～中の抵抗性を示した。
- (5) 表現型への影響：組換え個体は茎が短縮し、ランナー・果実の発生・着生も抑制された。抑制の程度は *AtNPR1* の発現量と正の相関を示した。
- (6) 総括：シロイヌナズナ由来 *AtNPR1* 遺伝子の導入により、糸状菌（3種類）及び細菌（1種類）に対する広範病害抵抗性イチゴが作出された。今後は、抵抗性を維持しつつ表現型への不利な影響を軽減した系統の作出が必要である。

ブラジルの干ばつ：森林伐採への警告

Brazil's drought: Beware deforestation

Nazareno AG, Laurance WF
Science 347: 1427, 2015

ブラジル及びオーストラリアの大学グループによる2015年の短報である。ブラジルは世界最大の再生可能水資源の供給源である。そのブラジルは、現在、1930年以来最悪の干ばつによる深刻な水危機に直面している。水危機は国の穀倉である南東ブラジルの広大地域に波及し、作物生産、産業活動、数百万の人々に悪影響を与えた。政府は遅ればせながらの緊急対策を発表した。早急な行動は必要ではあるが、アマゾン雨林のような広大な熱帯雨林を保全する重要性を理解することが、より効果的な気候変動対策を推進し、将来の干ばつを減少させるためにも必須要件である。長期研究から、アマゾン流域は年間約9300 km³の水蒸気を植物及び土壌からの蒸発散により生産し、このうち3400 km³は南米南部に移送されている。このことは、自然生態系では森林と大気は基本的には同じ水をリサイクルし、なお大量の水蒸気を流域全域に移送していることを示している。これらの要素のどれ一つでも失われれば全生態系に回復困難な損害を与えることになる。ブラジルが受けた干ばつは、通常ならば中央及び南東部に与えられる水蒸気の枯渇が原因である。アマゾン地域の雨量は2013年から2014年にかけて半減している。アマゾン雨林の降雨量の変化は、進行中の人為的な森林の農地転用・伐採・破壊が原因であり、今後さらに悪化するであろう。地球気候変動が懸念されているなかで、森林を回復し森林伐採・破壊を防止するのはブラジルなどの途上国の重要な戦略である。これが実施されなければ、近年のような深刻な干ばつの頻度はさらに増加するであろう。

工業バイテク技術による温室ガスの化学原料生産への転用

Industrial biotechs turn greenhouse gas into feedstock opportunity

Peplow M

Nature Biotechnology 33: 1123-1125, 2015

フリーランスの科学記者による報道記事。2015年9月にドイツで大気中の二酸化炭素の有効利用に関する国際会議が開催された。旧来の化学的手法に代わる炭素捕捉利用（Carbon Capture and Utilization; CCU）技術として、遺伝子工学やハイスループットスクリーニングや生物的合成等の生物的手法が報告された。基本的には微生物による燃料及び化学原料の製造である。独立栄養体藻類により、二酸化炭素から脂質、さらにバイオディーゼルなどを生産する施設の2018年市場化が計画されている。しかし、この手法は平面大面積を要する欠点がある。より単純に光合成バクテリアにより二酸化炭素から種々の有用化学物質の前駆体となるピルビン酸を生産する手法も開始されている。さらに、組換え手法によりトウモロコシ由来のエタノールの10倍の高効率で微細藻類からエタノールを生産する施設が建設されている。ただ、これらのエタノール生産は、石油価格の下落により、コスト的に厳しい状況におかれている。このためエタノールよりも価格の高い、ペンキや合成ゴムなどの原材料となるブタノールを生産する手法も開始されている。また、天然バクテリアにより二酸化炭素と水素によりアセテートを生産する手法が開発され、製鋼業界との連携が模索されている。また、遺伝子組換え技術により活性を向上させた炭酸脱水酵素を用いて二酸化炭素から可溶性炭酸ガス溶液を作出し、これから安価に炭素を回収する技術も開発されている。これら多くの生物的基盤のCCU技術の成否は、その経済性に依存している。ドイツではCCU推進策の一つとして、自動車燃料5%のバイオ燃料使用の義務化が論じられた。CCUは付加価値を作出する技術であり、二酸化炭素の地下埋蔵計画よりも現実的・建設的技術であると考えられる。

気候変動に起因する茶葉品質の変動

Reading the tea leaves for effects of climate change

Larson C

Science 348: 953-954, 2015

中国を拠点とする科学記者による短報である。2015年、米国モンタナ州立大学は米国国立科学財団（NSF）のグラントにより、気候・茶品質・農家生計に関する4年研究計画を発足させた。彼等は著名な中国南西部雲南省の茶葉化学成分を分析し、気候変動が茶の風味に与える影響を調査する。茶の風味にかかわる複雑な二次代謝産物は一般作物の収量よりも気候変動に対してはるかに敏感であると考えられる。この研究の最適地として、著名なプーアル茶の産地である亜熱帯中国の雲南省が選ばれた。本研究結果は地域気候に依存するコーヒーやチョコレート、おうとう等の作物にも適用されると考えられる。茶品質の鍵は雨量である。雲南では年間雨量の80%がモンスーン期に降り、茶葉は乾期の2倍の速度で生育し、品質は逆に低下する。品質重要成分である二次代謝産物（カテキン及びメチルキサンチン）はモンスーン期に乾期の半量に減少する。これら二次代謝産物は、茶樹を過剰紫外線や病害虫から保護し、人間の健康にも有益なことが知られている（例えばカテキンは心臓病や前立腺癌のリスクを下げ、血中コレステロール値を低下させる）。加えて、高温の茶品質への影響も懸念されている。雲南省都昆明の年間平均気温は過去50年間に1.5℃上昇している。30年間にモンスーンの開始は約20日間遅延している。現在、雨期産のプーアル茶の405ドル/kgに対し、乾期産のプーアル茶には680ドル/kgの高値がついている。乾期の延長は一時的の収益増をもたらす。しかし、長期的には葉芽減少・植物体枯死により収益減となるであろう。既にアッサム茶として著名なインドアッサム地方の夏は、茶樹生育限界の35℃をこえている。気候変動による茶への影響が、最高級のプーアル茶のように“苦い”ものにならないことが切望される。

No.315

パーティクルガン法によって遺伝子導入した形質転換コムギにおける 同時導入遺伝子の分布

The distribution of cotransformed transgenes in particle
bombardment-mediated transformed wheat

Han Y *et al.*

Transgenic Res 24: 1055-1063, 2015

中国科学アカデミー・米国農務省の合同チームによる原著論文である。パーティクルガン法は植物への遺伝子導入法として広く適用されているが、導入遺伝子の染色体中での態様についてはよく理解されていない。著者らはパーティクルガン法により遺伝子導入・形質転換した普通コムギ（AABBDD ゲノム、 $2n=42$ ）について、染色体中の導入遺伝子の様態について解析し、以下の結果を得た。

- (1) 供試材料：コムギグルテン含量の上のためのグルテニン遺伝子あるいは選抜マーカー *bar* 遺伝子の発現カセットを含むプラスミド DNA をパーティクルガン法により同時導入した50組換え系統より45系統を選出・供試した（T5～T9世代が中心）。
 - (2) 実験方法：発芽実生の根端から観察試料を調製し、グルテニン遺伝子、*bar* 遺伝子それぞれ異なる蛍光色素で標識したプローブを用いて、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション（FISH）解析を行った。
 - (3) 遺伝子導入位置：45例中38例では、2～3個のプラスミド DNA が同一座位に導入されていた。残る7例では両プラスミド DNA が異なる座位へ導入されており、うち4例は同一染色体上、3例は異なる染色体上に導入されていた。染色体上の導入位置は末端・中間・動原体部分を含むほぼ全域にわたっていたが、遠域部分にやや多い傾向があった。両プラスミドが同一座位導入されたケースでは、両遺伝子が分離する機会は低く、マーカー遺伝子（*bar*）の除去は困難であると予想された。3例では染色体再配置（rearrangement）が認められた。
- （訳者注：導入位置と特性発現との関係の補足資料が望ましい）。

貯蔵タンパク質含量を標的とした改変による 大麦穀粒アミノ酸構成成分の向上

Targeted modification of storage protein content resulting in improved amino acid composition of barley grain

Sikdar MSI *et al.*

Transgenic Research 25: 19-31, 2016

デンマーク・バングラディッシュ・英国・ブラジルの共同チームによる原著論文である。プロラミンはイネ科種子胚乳に含まれるアルコール可溶性の貯蔵性タンパク質である。オオムギでは栄養価の低いCホルデイン、コムギでは ω グリアジンがプロラミンの主体である。著者らはRNAi手法によるオオムギCホルデインと ω グリアジン遺伝子の発現抑制を試み、以下の結果を得た。

- (1) 組換えオオムギ (T0) の作出：オオムギCホルデイン遺伝子あるいはコムギ ω グリアジン遺伝子 (オオムギCホルデイン遺伝子と81%の相同性) を標的とする2種類のRNAiコンストラクトを設計、アグロバクテリウム法により品種 Golden Promise に導入、CホルデインRNAi系統24、 ω グリアジンRNAi系統28のT0個体を得た。
- (2) T1穀粒のタンパク質組成：CホルデインRNAi系統T0植物に自家受粉により稔実したT1穀粒のCホルデインタンパク質量は、RNAiコンストラクト導入数が1または2コピーの系統では顕著な減少が観察された一方、3コピー以上が挿入された系統では効果がなかった。 ω グリアジンRNAi系統も、同様に導入数が1ないし2コピーの系統でCホルデイン量が顕著に減少し、3コピー以上では効果がなかった。
- (3) T2穀粒のプロラミン組成：CホルデインRNAi系統及び ω グリアジンRNAi系統のうち、導入コピー数2以下の13及び15系統についてT2種子を得、同様にプロラミンを分析したところ、Cホルデイン量は最大で94.7%減少していた (ω グリアジンRNAi系統)。
- (4) アミノ酸構成：Cホルデイン量が最少のT2系統では、非必須アミノ酸が減少 (プロリン15.0%、グルタミン2.9%減) し、必須アミノ酸は増加した (リジン11.1%、トレオニン10.7%、メチオニン29.8%、ロイシン6.4%増) であった。
- (5) 総括：RNAi手法により、オオムギのCホルデインタンパク質を減少させ、必須アミノ酸を増加させることを示した。本研究はすべて温室で生育した植物による結果であるため、今後は場試験に基づく評価データが必要である。

食品としての安全性承認がなされた遺伝子組換えサケ

GM salmon declared fit for dinner plates

Walt E

Nature Biotechnology 34: 7-9, 2016

2015年11月19日、米国FDAはGMサケの食品としての市場化を認可した。GM動物市場化の初認可である。今回認可されたGMサケについて、フリーランスの科学記者が認可までの経緯を報告した。

- (1) 開発者：米国マサチューセッツ州所在の AquaBounty Technologies 社。
- (2) 導入特性：キングサーモン (Chinook salmon) 由来の成長ホルモン遺伝子をタイセイヨウサケ (Atlantic salmon) に導入し、2倍の成長速度を有する。
- (3) 施設：2ヶ所の内陸湛水施設：1) 卵生産：カナダ、プリンスエドワード島、2) GMサケ飼育：パナマ。両施設は4重の物理的障壁により、外界から隔離されている。さらに、全雌3倍体 (不妊) による生物的障壁を併せることで、GMサケの外界への脱出の可能性は皆無であることをFDAも認めている。
- (4) 承認の経過：GMサケの最初の作出は1989年。1993年にFDAとの協議が開始されたが、当時FDAにはGM動物に対応する指針がなかった。以後、FDAは広範囲の関係者と協議を重ね、2009年にGM動物対応指針を定めた。FDAは同社の申請書・試験データ・GM施設を精査し、初申請より20年余を経て、GMサケを認可した。
- (5) GMサケの安全性：1) 環境安全性：(3)で既述の通りGMサケの外部河川・外洋への脱出の危険性は皆無である。2) 食品安全性：GMサケ肉の安全性は十分テストされている。しかし、反対派は成長ホルモンの長期的影響を危惧し、FDAによるGMラベリング指針の決定を主張し、議会は当面の国内販売保留を通告した。ラベリングの最終決定はFDA所管事項である。
- (6) 関係分野への影響：内外の学界・業界に好影響を与え、今後の研究・開発の発展が期待される。(米国：GMヤギ・ブタ；キューバ：GMティラピア；中国：GMコイ)。(註：OECD・WGのコンセンサスドキュメント「タイセイヨウサケの生物学」は最終稿を審査中である)。

CRISPR-Cas9シチジンデアミナーゼ融合酵素を利用した イネ、トマトのゲノム編集

Targeted base editing in rice and tomato using a CRISPR-Cas9 cytidine deaminase fusion

Shimatani Z *et al.*

Nature Biotechnology doi:10.1038/nbt.3833, 2017

神戸大、筑波大、名城大の研究グループによる原著論文。ゲノム編集技術は、ゲノム上の特定配列を認識し、ヌクレアーゼドメインによって二本鎖切断を導入し、その修復過程で塩基の欠損や挿入が起こることで、標的遺伝子特異的に変異導入する技術である。筆者らは、ゲノム編集技術の一つ、CRISPR-Cas9システムのヌクレアーゼ活性をシチジンデアミナーゼ活性に置換した新しいゲノム編集技術 Target-AID を構築し、イネ及びトマトへの適用事例を併せて報告している。

- (1) Target-AID：ヌクレアーゼ機能を欠損した *Cas9* 遺伝子にウミヤツメ (*Petromyzon marinus*) 由来の *cytidine deaminase* 遺伝子を融合することでガイド RNA によって認識される標的配列を切断するのではなく、標的配列中のシトシン塩基をチミン塩基に置換する。
- (2) イネへの適用：アセト乳酸合成酵素 (ALS) 阻害剤除草剤に対して耐性となる点突然変異として知られるイネ *ALS* 遺伝子の287番目のシトシンへの置換を特異的に誘導する Target-AID を作成、この発現カセットと抗生物質耐性マーカー遺伝子を含むコンストラクトをアグロバクテリウム法でイネゲノムに導入した。抗生物質耐性カルス411について除草剤イモザマックスに対する耐性を評価したところ、14カルスが除草剤耐性を示した (3.41%)。この14カルスについて標的箇所をシーケンス解析した結果、うち7カルスで狙い通り標的シトシンのチミンへの塩基置換が確認された。
- (3) トマト：トマトのエチレン受容体遺伝子 *ETR* への点突然変異導入を標的とする Target-AID を作成、アグロバクテリウム法によりトマトに導入した。得られた形質転換体 (T1) で標的配列のシーケンス解析の結果、狙い通りシトシンがチミンへ塩基置換された系統があった一方、その多くは塩基欠失による変異体であった。同様にジベレリンシグナル伝達関連遺伝子 *DELLA* を標的とした Target-AID を用いた事例では、得られた変異体は塩基欠失によるものであったが、T2後代で *DELLA* 欠損を持ちかつ Target-AID コンストラクトを持たないマーカーフリーのゲノム編集技術による *DELLA* 欠損系統を得ることに成功した。
- (4) オフターゲット：標的配列以外のゲノム配列に非特異的変異誘発 (オフターゲット) がないか調査し、イネ・トマトいずれにおいても明らかなオフターゲットは検出されなかった。
- (5) 総括：新たなゲノム編集技術 Target-AID を開発し、単子葉・双子葉いずれにおいても使用可能であることを示した。

(注：現状、塩基置換の効率が低く、塩基欠失誘導がほとんどであるが、日本初の新たなゲノム編集技術として期待される。)

栽培環境によらないイネの花成制御技術

Synthetic control of flowering in rice independent of the cultivation environment

Okada R *et al.*

Nature Plants 3: 17039 | doi: 10.1038/nplants2017.39, 2017

農研機構、東京大学の研究グループによる原著論文。作物の花成時期は、収量や収穫物の品質に強く関連するが、栽培環境に依存する形質である。筆者らは、イネの花芽形成を誘導するフロリゲン遺伝子 *Hd3a* と花芽形成抑制遺伝子 *Ghd7* 遺伝子の両方の発現を人為的に改変することで、農業処理により花成時期を人為的に調節することができるイネの開発を報告した。

- (1) 超遅咲きイネ：*Ghd7*の過剰発現イネ 2 系統 (T1世代) は、茨城県つくば市でのほ場試験でいずれも非組換えの対照品種 (キタアオバ) と比較し、有意に遅咲きとなった。うち 1 個体は 3 年間まったく出穂しなかった。
- (2) フロリゲンによる超遅咲き形質の回復：超遅咲きとなった *Ghd7* 過剰発現イネに対し、イネのフロリゲン遺伝子 *Hd3a* を *Hd3a* (*Ghd7*により発現抑制) / *OSHI* (茎頂分裂組織特異的) / *PLA1* (葉原基特異的) プロモーターで発現制御するコンストラクトを導入したところ、*OSHI* / *PLA1* プロモーターで *Hd3a* を発現制御させることで対照系統よりも早咲きとなった (例外 1)。
- (3) プラントアクチベーター[†]誘導プロモーターの探索：イネ遺伝子発現データベースより、プラントアクチベーターによって発現誘導される 12 のイネ遺伝子を選抜した。これら遺伝子のプロモーター配列に *Hd3a* を連結した発現カセットを *Ghd7* 恒常的発現カセットとともにイネ (品種日本晴) に導入し、プラントアクチベーターによる *Hd3a* 発現誘導を調査したところ、このうちの一つ *Os01g0108400* プロモーターのみプラントアクチベーター処理特異的に *Hd3a* を発現誘導した。
- (4) 温室 / チャンバー試験：*Os01g0108400* プロモーター::*Hd3a* 発現カセットと *Ghd7* 恒常的発現カセットを含むコンストラクトを導入した複数の組換え体 (T0 を株分けした個体) 59 系統を温室 (短日；花成誘導の日長条件) で栽培したところ、プラントアクチベーター未処理では出穂せず処理により特異的に出穂する系統 6、処理により出穂期が短縮する系統 12 (うち 6 系統は 1 週間以上短縮、うち 2 系統は 2 カ月以上短縮) であった。さらに、うち 1 系統の T2 世代を長日 (花成被誘導の日長条件) のチャンバー試験で出穂期を調査したところ、プラントアクチベーター処理特異的な出穂誘導はヘミ接合体でのみ観察され、ホモ接合体では処理未処理にかかわらず、ヌル分離体よりも早咲きとなった。*Ghd7* 恒常的発現のみの場合は、ホモ接合体でも遅咲きになることから、筆者らは本コンストラクトのホモ接合体での早咲き化は *Os01g0108400* プロモーター活性による *Hd3a* の異所的発現によると推察している。
- (5) ほ場試験：温室 / チャンバー試験で処理の場合でのみ出穂する系統のうち 1 系統について T3 後代を用いてほ場試験により出穂期を評価したところ、ほ場でもプラントアクチベーター処理の場合のみ出穂することが確認された (ヘミ接合体のみ)。
- (6) プラントアクチベーター処理から出穂までの日数：様々な季節 (日長条件) での温室や長日のチャンバーで育成した植物 (T0) を用い、プラントアクチベーター処理から出穂までに要す日数を調査したところ、処理からおおよそ 45 日であった。
- (7) 総括：フロリゲンと花成抑制因子及びプラントアクチベーター誘導プロモーターの利用により、出穂期を自由に操作できるイネを開発した。出穂期のコントロールにより、収量や収穫物の品質等の最適化が可能となり生産効率の向上が期待される。

(注：本研究のほ場試験は全て農研機構の隔離ほ場で実施され、日本国内のほ場で組換え植物の特性評価試験を行った数少ない研究事例である。)

† プラントアクチベーター：植物自身の免疫機能を利用して作物の病害を防除する薬剤。本実験では、オリゼメート (MeijiSeika ファルマ) やルーチン (バイエルクロップサイエンス) を用いている。

ERA プロジェクト調査報告

2017年 7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)