
ERAプロジェクト調査報告

June 2019

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

2019. 6

バイオテクノロジー研究部会

2019年の調査報告書第3号（通算第44号）をお届けします。

本号では、遺伝子組み換え技術に関する研究報告として、セイヨウスモモ、マンダリン、ポプラの3種の樹木に関する報告を掲載しており、セイヨウスモモの報告ではその研究蓄積から果樹育種の将来性（No.431）、マンダリンでは遺伝子組換え体におけるカンキツ潰瘍病抵抗性の強化（No.432）、ポプラではRNAi手法を用いた遺伝子組換えポプラにおける遺伝子拡散の生物学的封じ込め技術への応用（No.439）が検討されております。他にも、遺伝子供給源としてのシュードモナス属数種の安全性（No.430）、遺伝子組換えカイコより紡糸された絹織物の内在性抗菌特性（No.433）、フィターゼを内在する組換えコウキクサの新飼料として可能性（No.434）、Cry蛋白質とキメラVipタンパク質を共発現による組換えワタ系統における抵抗性害虫に対する抑制効果（No.436）、ペクチン生合成抑制によるバイオ燃料作物の糖化・生育の向上について（No.437）等、今回も幅広い事例の論文を紹介しています。

また、海外の情報として、EU各国がGM作物栽培に関する自主的決定機能を備えることに対する研究者の提言（No.435）、および増加する世界の食料需要を満たすための様々な施策についての研究（No.438）についても紹介しておりますので、ご一読ください。

なお、これまでに調査報告書において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.430	遺伝子組換え作物への遺伝子供給源としてのシュードモナス・クロロラフィスの安全性 Safety of <i>Pseudomonas chlororaphis</i> as a gene source for genetically modified crops	1
No.431	セイヨウスモモ (<i>Prunus domestica</i> L.) の遺伝子工学における蓄積成果と将来方向 Current achievements and future directions in genetic engineering of European plum (<i>Prunus domestica</i> L.)	2
No.432	イネ由来 <i>Xa21</i> 遺伝子発現組換えマンダリンにおけるカンキツ潰瘍病抵抗性の強化 Enhanced resistance to citrus canker in transgenic mandarin expressing <i>Xa21</i> from rice	4
No.433	遺伝子組換えカイコ系統の絹糸より紡糸された絹織物の内在性抗菌特性 Intrinsic antimicrobial properties of silk spun by genetically modified silkworm strains	5
No.434	新規飼料添加物としてフィターゼを含有する組換えコウキクサ (<i>Lemna minor</i> (L.)) の諸特性 Insights into phytase-containing transgenic <i>Lemna minor</i> (L.) as a novel feed additive	6
No.435	欧州連合 (EU) が GM 作物栽培に関する各国自主的決定機能 (opt-in mechanism) を 備えるべき理由 Why the European Union needs a national GMO opt-in mechanism	7
No.436	キメラ <i>Bt</i> タンパク質 <i>Vip3AcAa</i> と <i>Cry1Ac</i> を共発現する組換えワタ系統が発揮する <i>Cry1Ac</i> 抵抗性 cotton bollworm に対する有効な抑制効果 Transgenic cotton co-expressing chimeric <i>Vip3AcAa</i> and <i>Cry1Ac</i> confers effective protection against <i>Cry1Ac</i> -resistant cotton bollworm	8
No.437	ペクチン生合成抑制によるバイオ燃料作物の糖化・生育の向上 Sugar release and growth of biofuel crops are improved by downregulation of pectin biosynthesis	9
No.438	世界の食料供給：持続可能な作物生産のための光合成効率の改善 Feeding the world: improving photosynthetic efficiency for sustainable crop production	10
No.439	<i>AGAMOUS</i> と <i>SEEDSTICK</i> の RNA 干渉抑制はポプラの花器官のアイデンティティを 変化させ花器官の決定性、胚珠の分化、および種毛の発育を損なう RNA interference suppression of <i>AGAMOUS</i> and <i>SEEDSTICK</i> alters floral organ identity and impairs floral organ determinacy, ovule differentiation, and seed-hair development in <i>Populus</i>	12

遺伝子組換え作物への遺伝子供給源としての
シュードモナス・クロロラフィスの安全性

Safety of *Pseudomonas chlororaphis* as a gene source for
genetically modified crops

Anderson JA *et al.*

2018

Transgenic Research 27: 103-113

デュポン・パイオニア社（米国）の研究者による原著論文である。現行のGM作物安全性評価の一環として、導入特性の供給源生物の安全性に関する情報が求められている。著者らはシュードモナス（*Pseudomonas*）属の数種の細菌の広域の農業特性供給源としての実績を取りまとめた。

- (1) シュードモナス属の一般的特性：地球の水・陸系に普遍的に存在する桿形・好気性・グラム陰性の細菌であり、100種以上の種・亜種があり、7つのグループに分類されている。
- (2) 農業バイオテクにおける安全適用例：1) 生物農薬：i) *P. fluorescens*：霜害・細菌病抑制；野菜・花の真菌病防御；侵入雑草抑制、ii) *P. chlororaphis*：温室観賞植物・野菜の真菌病防御、禾穀類真菌病防御；芝生・観賞植物用の殺菌剤、iii) その他：貯蔵果実・バレイショの汚染防止；芝生真菌病防御 2) 遺伝子供給源：i) *P. chlororaphis*：エチレン抑制・成熟遅延トマト ii) *P. fluorescens*：除草剤イソキサフルトール耐性遺伝子 *hppd* 導入ダイズ・ワタ；iii) 旧分類シュードモナス：アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性遺伝子 *aad-12* 導入ダイズ・ワタ 3) 害虫抵抗性新研究：*P. fluorescens*：アブラムシ・シロアリ・その他の害虫に対する殺虫剤としての可能性公刊（既報2013年）；*P. chlororaphis* 由来の *ippo72Aa* 遺伝子がトウモロコシにコウチュウ目害虫抵抗性を付与することを確認（新研究（2016年））
- (3) 保健・環境影響：米国及びEU（EFSA・EC）により、*P. chlororaphis* の人間の保健（病原性・毒性・アレルギー性）に対する安全性が確認されている。同様に *P. fluorescens* について野生生物・水系生物・非標的昆虫・絶滅危惧種などの生態系生物に対する有害作用は特定されていない。
- (4) 総括：数種のシュードモナス属細菌の農業実用特性供給源としての実効性が各種領域において確認された。害虫抵抗性に関する新研究の発展が期待される。

（林 健一）

セイヨウスモモ (*Prunus domestica* L.) の遺伝子工学における蓄積成果と将来方向

Current achievements and future directions in genetic engineering of European plum (*Prunus domestica* L.)

Petri C *et al.*

2018

Transgenic Research 27: 225-240

スペイン・モロッコ・米国の研究者によるレビューである。スモモは、モモ・ネクタリンに次ぐ重要核果類であり、6倍体のセイヨウスモモが最重要市場品種である。著者らは遺伝子工学の適用が一般に困難である核果類のなかで、研究成果が多いセイヨウスモモについて、蓄積された成果と将来方向をレビューした。

- (1) セイヨウスモモの遺伝子工学：果樹バイオテクノロジーの最大の難点は、外植片からのシュート再生率が無あるいは極めて低いことである。しかし、セイヨウスモモは種子由来の外植片からのシュート再生能が高く、遺伝子工学の適用が進んでいる。
- (2) 初期の組換え試験：1991年にセイヨウスモモの組換え / 再分化に関する初期のプロトコールが示された。外植片として成熟種子由来の胚軸片、選抜マーカーとしてカナマイシン耐性 (*npt II*)、導入法としてアグロバクテリウム媒介法が使用された。その後、このプロトコールは改良を重ねられ、選抜マーカーとしてハイグロマイシン耐性 (*hpt*)・ホスホマンノースイソメラーゼ (*pmi*; マンノースを炭素源として利用可能となる) が追加され、組換え率向上 (最高42%)、発根組換え植物の確保 (温室6ヶ月) などが達成された。
- (3) 有用農業特性の導入：
 - i) プラムポックスウイルス (PPV) 抵抗性：PPV はセイヨウスモモ最大の病害であるプラムポックス病 (別名 Sharka 病) の病原体である。種々の経緯を経て、PPV の外被タンパク質 (CP) に対するヘアピン RNA 構造遺伝子の RNAi 効果に基づくサイレンシングが実証され、PPV 抵抗性系統が作出された。抵抗性は長期・安定的であり米国農務省により Honey Sweet と登録され、規制3機関 (APHIS・FDA・EPA) により承認された初代 GM 多年生木本となった。本品種の後代系統・品種は規制対象外扱いであり、現在もセイヨウスモモの PPV 抵抗性遺伝子源として活用されている。
 - ii) 果実軟化遅延：モモ由来のアンチセンス mRNA のサイレンシング効果により、エチレン発生が抑制され、軟化遅延系統が作出された。
 - iii) 土壌病害抵抗性：アジア産ラン由来の抗菌タンパク質遺伝子 (*gafp*) の導入により、根腐病及び線虫抵抗性系統が作出された。根頭腫瘍を形成する細菌病に対しては、RNAi 手法が適用され抵抗性系統が作出された。

- iv) 非生物的ストレス耐性：ホウレンソウ及びエンドウ由来の遺伝子を導入した塩類耐性系統が作出された。アスコルビン酸ペルオキシダーゼ活性が強化された1系統は耐旱性及び光合成能力が増大していた。これらの系統は、耐塩・耐旱性台木としての利用が期待されている。
 - v) プラム樹のサイズ・樹形の変更：ジベレリン受容体のノックダウンや低発現個体の選抜により、矮性・半矮性の品種あるいは台木の作出が考えられる。
 - vi) 早期連続開花及び高速育種：ポプラ由来の *Flowering Locus T1* 遺伝子 (*PtFT1*) を用いた組換え系統は、10ヶ月以内に連続開花・結実性を示した。この傑出した特性の新系統は米国農務省の高速育種 (FasTrack breeding) における交配、また通常温室での育種にも用いられ、優良特性の早期導入がはかられている。特にトライフルーツとして世界的販路を有する品種「French prune」は、プラムボックス病に弱いため、高速育種により、Honey Sweet の PPV 抵抗性を導入中である。これら高速育種育成品種は、熱帯地域あるいは温室集約栽培も考えられている。
- (4) 将来方向：ゲノム編集技術からは、病害虫抵抗性、除草剤耐性、果実品質向上などへの適用が期待される。果樹における遺伝子型不特定育種過程への遺伝子工学の適用を助成する研究も今後必要である。
- (5) 総括：セイヨウスモモの遺伝子工学への適応性及び各育種領域における研究・技術の発展により、有用農業特性が付与された組換えセイヨウスモモが作出された。実用面では、米国承認の PPV 抵抗性品種 Honey Sweet の作出、早期開花結実性利用の「高速育種」の実施、などがある。今後これらの遺伝子工学の慣行育種への適用によるプラムを含む果樹育種の発展が期待される。

(林 健一)

イネ由来 *Xa21* 遺伝子発現組換えマンダリンにおける カンキツ潰瘍病抵抗性の強化

Enhanced resistance to citrus canker in transgenic mandarin
expressing *Xa21* from rice

Omar AA *et al.*

2018

Transgenic Research 27: 179-191

米国・エジプトの大学研究者による原著論文である。「W. Murcott (ダブルマーコット)」マンダリンは高収・甘味・種子なしの世界的重要なカンキツ品種であるが、citrus canker (カンキツ潰瘍病: CC) 抵抗性が低く、商品価値に損害をうけている。本病は、カンキツ潰瘍病菌 (*Xanthomonas citri subsp. citri*: *Xcc*) の気孔又は外傷部から侵入 (風害・傷) により発生するが市販のカンキツ類に抵抗性遺伝子は存在していない。著者らはイネ由来の細菌病抵抗性遺伝子の利用を試み、以下の結果を得た。

- (1) プラスミドの作出: 標識用として小胞体に発現する緑色蛍光タンパク質遺伝子 (*gfp*)、イネ細菌病抵抗性遺伝子 (*Xa21*) の 2 遺伝子を保有するプラスミドを作出した。
- (2) 組換え系統の作出: 慣行品種 W. Murcott マンダリンのカルス系統よりプロトプラストを分離し、これとプラスミドとを原形質融合し、最終的に組換え 10 系統を作出した (アグロバクテリウム法はマンダリンには不成功な例が多いため採用しなかった)。作出系統は対照と形態的な差異はなかった。
- (3) 組換え系統のカンキツ潰瘍病抵抗性: 1) *Xa21* 発現量: 対照非組換え 2 系統の発現量は 0 であった。供試 9 組換え系統はいずれも *Xa21* 発現が認められた。2) 接種試験: 病原細菌懸濁液を組換え体着生葉への圧力浸透法により、接種した。非組換え対照区は接種 5 日後で発症し、9 日後にはすべての葉が過激病害斑点を示した。一方、組換え体葉は発症が遅く、一部の葉は全く病斑を生じなかった。
- (4) 総括: 慣行品種 W. Murcott マンダリンにイネ由来細菌病抵抗性遺伝子 *Xa21* を原形質融合により導入し、カンキツ潰瘍病抵抗性が強化された組換えマンダリン系統が作出された。同系統は目下圃場栽培による抵抗性検定を実施中である。

(林 健一)

遺伝子組換えカイコ系統の絹糸より紡糸された絹織物の内在性抗菌特性

Intrinsic antimicrobial properties of silk spun by genetically modified silkworm strains

Saviane A *et al.*

2018

Transgenic Research 27: 87-101

イタリアの国研・大学の研究者による原著論文である。近年、絹糸は織物に加えて、新しい手工芸的あるいはバイオ医療的材料としての利用が進み、これに伴い粗剛な物理化学的加工法から、柔軟な生物学的手法、例えば抗菌性ペプチド (AMPs) の付与が適用されつつある。著者らは AMPs を導入したカイコを作出し、以下の結果を得た。

- (1) AMPs の選定とプラスミド構築：AMPs は昆虫固有の抗微生物免疫性の主要因である数種類の中から研究歴の長い Cecropins B (Cec B) 及び Moricin (Mor) を選定し、プラスミドを構築した。
- (2) 組換えカイコの作出：多化性野生種へのプラスミドの注射に次ぐ中間親／多化性種との数世代の戻し交雑などを経過して、最終的に *cec B* 導入 3 系統 (*CEC B-6*, *-10*, *-11*) 及び *mor* 導入 1 系統 (*MOR*) の 4 系統の組換えカイコが作出された。
- (3) 組換えカイコの絹糸腺における各 AMP 遺伝子の発現量：対照に対して、*CEC B* 系統は 280 ~ 2200 倍、*MOR* 系統は 200 倍の mRNA が検出された。
- (4) 繭重量 (絹糸収量)：*CEC B-6* 及び *CEC B-10* は日本種 129 系と *CEC B-11* 及び *MOR* は中国種 124 系とそれぞれ 5 回以上の戻し交雑を行った。平均 1 繭殻重 (g) は日本種対照 0.254 に対して *CEC B-6* は 0.250、*CEC B-10* は 0.253、中国種対照 0.262 に対して *CEC B-11* は、0.264、*MOR* は 0.257 といずれも有意差はなく、繭重の低下はなかった。
- (5) 抗細菌特性：i) 繭：12 週以上室温で放置繭をカリウム緩衝液に 6 時間浸漬、生菌数測定用プレートに塗布し 48 時間後に検鏡した。細菌群落総数 (CFU/ml) は、日本種対照： $\sim 3 \times 10^7$ 、： 0 、*CEC B-10*： $\sim 1 \times 10^4$ ；中国対照： $\sim 5.7 \times 10^6$ 、*CEC B-11*： $\sim 8 \times 10^5$ 、*MOR*： $\sim 1 \times 10^5$ であり、いずれも組換え繭が対照より有意に低く、抗細菌特性が示された。ii) 絹織物：組換え絹糸を用いた絹織物の対照に対する大腸菌減少率 (%) は、*CEC B-6* が 72、*CEC B-10* が 51、*CEC B-11* が 55、*MOR* が 97 であり、組換え絹織物が有意に高い抗細菌特性を示した。
- (6) 総括：抗細菌性ペプチド Cec B あるいは Mor が導入された組換えカイコが作出された。産生された繭及び絹織物は、高い抗細菌性特性を示した。本手法による絹糸の新しい用途への発展が期待される。

(林 健一)

新規飼料添加物としてフィターゼを含有する 組換えコウキクサ (*Lemna minor* (L.)) の諸特性

Insights into phytase-containing transgenic *Lemna minor* (L.) as a novel feed additive

Ghosh M *et al.*

2018

Transgenic Research 27: 211-224

韓国・インドの大学研究者による原著論文である。植物飼料は家畜飼料の主要成分である。しかし、抗栄養素であるフィチン（フィチン酸）の影響を受け、飼料の全リン酸の30%しか家畜に吸収されていない。一方、フィターゼはフィチンあるいはフィチン酸に対する加水分解酵素であり、リン酸及び他の無機成分の家畜への吸収率を増加させる。著者らは、飼料的価値がある野性型コウキクサ（フィターゼ含量極微量）にフィターゼを導入した組換えコウキクサを作出し、以下の結果を得た。

- (1) 導入酵素フィターゼ：真正子の菌コウジカビ属の *Aspergillus nidulans* 由来のフィターゼ（野生型コウキクサのフィターゼの6,000倍の活性）を野性型コウキクサに導入して、組換えコウキクサを作出した。
- (2) 飼料の調製（4種類）：A：市販飼料、B：組換えフィターゼ投与飼料、C：本組換えコウキクサ含有、D：野生型コウキクサ含有。
- (3) 給餌試験：韓国産ブロイラー（雄）に対して上記4種類の飼料の給餌試験を、孵化4～7週間に行った。
- (4) 結果：1) 生育：初期個体重222～284gから、7週給餌後、A区：2031g、B区：2881g、C区：2993g、D区：1775g；B区・C区はA区・D区より高い値、とくにC区は最高値を示したが、有意差ではなかった。飼料摂取量も同様の傾向、B区・C区間には差異はなかった。2) 血液学的及び血清指標：赤血球沈降速度及びヘモグロビン量は、フィターゼ補強区（B・C区）は非補強区（A・D区）より有意に高かった。また、ナトリウム、カリウム、リン酸、カルシウム、血清総タンパク質量において、B・C区はA・D区より高かったが、B区とC区との間には差がなかった。3) 無機物含量（%）（7週間後）：1) 脛骨：リン酸含量は、B・C区（7.43・8.70）に対しA・D区（4.41・4.89）；Ca含量はB・C区（15.47・18.08）に対しA・D区（10.53・9.64）であり、フィターゼ補強区（B・C区）が非補強区（A・D区）より有意に高かった。2) 糞便：リン酸含量は、B・C区（1.36・1.22）に対しA・D区（2.28・2.02）、カルシウム含量は、B・C区（3.50・3.54）に対しA・D区（6.78・5.62）であり、いずれもB・C区がA・D区より低かった。これによりフィターゼ補強区的环境負荷の低下の可能性が示された。
- (5) 想定遺伝子の生物学的パスウェイ：（すべての実証データ不在の想定仮説のため省略）
- (6) 総括：A. *nidulans* 由来のフィターゼを導入した組換えコウキクサが鶏ブロイラー種用飼料として作出された。組換えコウキクサは、ブロイラーの生育及びリン酸及びカルシウム代謝に好影響を与えた。フィターゼを内在する新飼料としての発展が期待される。

（林 健一）

欧州連合 (EU) が GM 作物栽培に関する各国自主的決定機能 (opt-in mechanism) を備えるべき理由

Why the European Union needs a national GMO opt-in mechanism

Eriksson D *et al.*

2018

Nature Biotechnology 36: 18-19

欧州12ヶ国（スウェーデン・ポルトガル・スロベニア・デンマーク・イタリア・ベルギー・オランダ・フィンランド・ハンガリー・ドイツ・ポーランド・チェコ）の大学・国研などの14人の研究者・専門家による提言が、本誌編集部レビュー記事として掲載された。

(1) 関連事項の経緯：

- 1) EC への11ヶ国連名書簡：2009年にEU11ヶ国はECに連名書簡を送り、自国内でのGM作物栽培に関する自由裁量を与える提議の推進を求めた。この背景にはEUの頑迷な規制枠組みの改善への期待があった。
- 2) EC指令2015/412 (opt-out 指令) の実施：2015年の本指令により加盟国は自国内におけるGM作物の栽培を、以下の理由により、制限あるいは禁止できることを定めた。理由：環境政策、都市・国家計画、土地利用、社会経済的インパクト、越境GM作物対策、農業政策、公衆政策。背景には、安全性を含む複雑な事情から、GM作物栽培の各国レベルの判断の尊重及びEUのGM規制過程の改良への期待があった。
- 3) EU委員会における投票：2017年3月にEU上告委員会は、GMトウモロコシ3イベントの栽培化の可否を問う投票を行った。しかし結果は可否ともに法定多数を確保できず、票決不能であった。先立つ2017年1月のEC規制委員会の投票も、同様不結果で票決不能であった。この結果、opt-out 指令は加盟国の投票動向の改善とはならず、さらに10ヶ国近くが、ERA承認を前提に、数種のGM作物の国内栽培を希望していることが分かった。

(2) 「opt-in」新指令の提言：以上の経緯に基づき、EU12ヶ国グループはECに対して「opt-in」新指令の提言を行った。提言は「加盟国は、EFSAによるERA承認を前提に独自の判断に基づいて、域内におけるGM作物の栽培を認可する」とされた。示唆された「opt-in」指令には現行のEU規制制度の問題点への対応が示されている。

- 1) GM作物の栽培の可能性を含めて、各国事情に基づくGM作物の採用・不採用の選択により、現行のEUの「補足的機能限定原則」に適合している。
- 2) 特定加盟国の農家向けなど特定の文脈に即したリスクと便益の判断を向上する。
- 3) 一貫性が得られ、市場状況の予測可能性の向上と不必要な承認遅延の減少がもたらされる
- 4) 各国の意向を無視したEU政策の強行が阻止される。
- 5) 政治的諸過程における政治的圧力が排除される、などである。Opt-out 支持国は従来のようにOpt-out 支持投票を行う必要はなく、単にopting in (自主的GM採用決定)を行わない立場にとどまることができる。

(訳者註：本論文が編集部レビュー記事となったことが注目される)

(林 健一)

No.436

キメラ *Bt* タンパク質 Vip3AcAa と Cry1Ac を共発現する組換えワタ系統が発揮する Cry1Ac 抵抗性 cotton bollworm に対する有効な抑制効果

Transgenic cotton co-expressing chimeric Vip3AcAa and Cry1Ac confers effective protection against Cry1Ac-resistant cotton bollworm

Chen W-b *et al.*

2017

Transgenic Research 26: 763-774

中国の国研研究者による原著論文である。中国北部では Cry1Ac を発現する *Bt* ワタの20年近い連作により、Cry1Ac 抵抗性 cotton bollworm が発生し、ワタ生産を不安定にしている。一方、Vip 系統 *Bt* タンパク質は Cry 系統とは異なる作用機作を有し、とくに Cry1Ac 抵抗性害虫に対する抑制効果が大きい。著者らは、Vip3Aa1 と Vip3Ac1 から合成したキメラ *Bt* タンパク質 Vip3AcAa を設計し、Cry1Ac と共発現する組換え *Bt* ワタを作出し、Cry1Ac 抵抗性 cotton bollworm に対する抑制効果を調査した。

(1) 供試 cotton bollworm : 1) Cry1Ac 感受性系統 : LF、2) Cry1Ac 抵抗性系統 : LF5 及び LF60。

(2) 殺虫性検定試験 :

1) *Bt* タンパク質給餌試験 : 3 系統の供試 cotton bollworm に Vip3AcAa (単用)/Cry1Ac (単用)/Vip3AcAa · Cry1Ac (両者の混合) を表面塗布した試料を給餌した際の致死率 (%) は、LF で 64/60/90、LF5 で 67/36/86、LF60 で 68/41/86 であった。Vip3AcAa · Cry1Ac 混合による組合せ効果は明瞭であり、単用区より常に高い致死率 (抑制効果) を示し、また LF5 及び LF60 害虫は Cry1Ac 抵抗性により、Cry1Ac 単用区の致死率が低下した。さらに実測致死率は、成分間に交互作用なしと仮定した推定値と同等の値を示した。

2) Vip3AcAa · Cry1Ac 共発現組換えワタの効果 : 抵抗性害虫 (LF5 · LF60) に対する非 *Bt* ワタ 及び Cry1Ac 単独発現ワタを給餌した際の効果 (致死率) は 29~40% 及び 40% 程度と同等であるに対し、Vip3AcAa · Cry1Ac 共発現組換えワタ給餌では、67~69% と、高い殺虫効果を示した。

(3) 害虫中腸への結合 : Vip3AcAa と Cry1Ac との結合部位は異なり、また遺伝子配列にも相同性はなく、両者は相互に独立的に作用すると考えられた。

(4) 総括 : Cry1Ac 抵抗性ワタ害虫 cotton bollworm 対策として、Vip3AcAa と Cry1Ac の組み合わせによる新組換えワタ CV163 系統が作出された。CV163 系統は Cry1Ac 抵抗性 cotton bollworm に対して、67~69% の高い致死率を発揮し、顕著な抑制効果を示した。これにより、CV163 系統が害虫抵抗性ピラミッド系統作出のための有力な親系統候補であることが示された。

(林 健一)

ペクチン生合成抑制によるバイオ燃料作物の糖化・生育の向上

Sugar release and growth of biofuel crops are improved by downregulation of pectin biosynthesis

Biswal AK

2018

Nature Biotechnology 36: 249-257

米国の大学・国研など42名の研究者による原著論文である。非食料・非飼料のバイオマスのバイオ燃料化は、化石燃料とは異なり、温室効果ガスの放出の大幅な抑制が期待される。しかし、そのためには非柔軟性・難分解性の細胞壁を、化学的あるいは酵素的手法により、糖化・易分解化する必要がある。施設・経費を要する。著者らは遺伝子操作による細胞壁の糖化を試み、以下の結果を得た。

- (1) ペクチン生合成遺伝子の特定：草本及び木本植物に共通に存在し、細胞壁多糖類で最も複雑な構造を有するペクチン化合物に注目し、ペクチン生合成遺伝子 *GAUT4* を特定した。
- (2) *GAUT4* 発現抑制システムの作出：草本のスイッチグラス及びイネ並びに木本のポプラに存在する *GAUT4* を、RNAi 手法により発現を抑制 (Knock Down: KD) する系統 *GAUT4-KD* 系統を作出した。
- (3) *GAUT4-KD* 系統諸形質における増減 (温室試験) :
 - 1) *GAUT4* 遺伝子発現量の低下率 (%) : スイッチグラス : 62%、イネ : 71%、ポプラ : 64%
 - 2) バイオマス中のグルコース含量の増加率 : スイッチグラス : 13%、イネ : 31%、ポプラ : 7%
 - 3) 全糖増加率 : スイッチグラス : 15%、イネ : 14%、ポプラ : 7%
 - 4) 生育増加率 : スイッチグラス : 草丈16%、バイオマス170% ; イネ : 草丈23%、分げつ数59%、バイオマス56% ; ポプラ (生育3ヶ月) : 樹高8~46%、幹直径11~49%、葉の大きさ48%、葉の含水率9%、バイオマス44%、幹乾物重43%。
- (4) スイッチグラス圃場試験 (3ヶ年) : 1) *GAUT4* 遺伝子発現量低下率 : 1年目52%、2年目60%、3年目70%、2) 分げつ増加率 : 2年目38%、3年目91% ; 3) バイオマス : 2年目89%、3年目435% ; 4) 3年目糖化率 : 483%、エタノール収量 : 517%、以上から RNAi 適用効果は3ヶ年を通じて維持され、温室試験と同様な傾向が確認された。
- (5) *GAUT4-KD* の効果 : ペクチンの主成分であるガラクトuron酸の減少率は、スイッチグラス81%、イネ74%、ポプラ52%であり、この減少により、細胞壁の非柔軟性の低下、糖化促進、植物体の生育促進などがもたらされたと考えられる。
- (6) 総括 : スイッチグラス・イネ・ポプラについて、細胞壁ペクチン生合成遺伝子発現抑制系統 *GAUT4-KD* が作出され、植物体の糖化促進及びバイオマス増加が確認された。圃場生育3年のスイッチグラスは、対照に対し、糖化及びエタノール生産で7倍増、バイオマスで6倍増を示した。これらの増量の主要因は、ペクチンの主要素であるガラクトuron酸の RNAi 手法による抑制によるものであった。

(林 健一)

世界の食料供給：持続可能な作物生産のための光合成効率の改善

Feeding the world: improving photosynthetic efficiency for sustainable crop production

Simkin AJ *et al.*

2019

J. Experimental Botany 70: 1119-1140

英国の国研・大学研究グループによる総説。増加する世界の食料需要を満たす作物生産には、大幅な反収の増加が求められる。そこで、植物の光合成プロセスの遺伝子工学的改善による生産性向上が注目される。本総説では、カルビン・ベンソン（CB）回路、光呼吸、および電子輸送の操作によるバイオマス増産に関する研究動向を紹介する。

- 1) 光合成と収量：光合成による光エネルギーからバイオマスへの転換効率は、収量の決定要因である。CB回路による理論上の最大エネルギー転換効率は、4.6%であるが実際の圃場での効率はその半分以下である。CB回路中で律速となる sedoheptulose-1,7-bisphosphatase (SBPase) 等の酵素を改善することができれば転換効率が増加すると考えられる。
- 2) 遺伝子組換えによる光合成改善の実証例：SBPase 過剰発現タバコは若い葉での CO₂同化効率が向上、ショ糖・デンプン蓄積量が増加し、30%のバイオマス増加が観察された。シロイヌナズナ、タバコ、トマトで炭素同化及びバイオマス収量を改善した。これらの改善は、シロイヌナズナ、トマト、コムギ、イネ等を用いた同様の研究からも支持されている。シアノバクテリアは SBPase に加え fructose-1,6-bisphosphatase (FBPase) の活性も有する酵素 (cyFBP/SBPase) を有しており、これを過剰発現した組換えタバコでは、バイオマスの40~50%増加が観察された。同様の結果は、レタス、タイズを用いた同様の研究からも支持されている。この結果から FBPase もまた CB回路を律速していると推察される。さらに、別の CB回路酵素 FBPA を過剰発現した組換えタバコは、高 CO₂濃度 (700 ppm) 下での CO₂固定が1.5倍、70-120%のバイオマス増加が観察された。一方で、通常 CO₂濃度下 FBPA 過剰発現タバコのバイオマスは、野生型比10-30%増であり効果は小さかった。
- 3) 光呼吸：RuBisCOはRuBPのカルボキシル化反応と酸化反応の両方を触媒する。RuBPの酸化反応は、O₂を取り込み、CO₂を放出するプロセスで光呼吸と呼ばれる。光呼吸によるエネルギー消費は、エネルギー転換効率低下の要因となるが、通常よりもエネルギー消費を抑制することができる新たなバイパスの導入による改善が取り組まれる。
- 4) 電子伝達系：阻害剤や発現抑制を用いた研究から電子伝達系においてチトクロム (Cyt) b₆f が電子伝達速度の重要な決定因子であることが示唆されていた。藻類 (*Porphyra yezoensis*) で銅欠乏下に電子伝達体として働く Cyt c₆をシロイヌナズナの葉緑体で発現させたところ、

CO₂同化、光合成電子伝達の効率及びバイオマスを増加させた。これは、Cyt c₆がシロイヌナズナ本来の電子伝達体である cyt b₆f に置き換わった効果と推察される。

- 5) 多標的操作: シアノバクテリア由来の無機炭素トランスポータータンパク質 (ictB) の過剰発現は単独でもバイオマス収量を向上させるが、CB 回路の酵素 (SPBase, FBPA) と共発現させることでより高いバイオマス収量が得られる。CB 回路と光呼吸の両強化も同様にそれぞれの単独よりも高いバイオマス収量を与える。
- 6) 負の効果: すべての光合成プロセス改変が正の結果を与えるわけではない。例えば、CB 回路の TK 酵素の過剰発現は、SBPase 等の過剰発現とは逆に成長低下や葉の白化が見られる。また、光呼吸をバイパスさせる GCS H タンパク質の組織特異的過剰発現は光合成効率やバイオマスを増加させる一方、構成的発現は、葉面積やバイオマスの減少を示した。
- 7) 変動する光環境に対する応答: 自然界では、光強度は秒単位、分単位で変動する。急な光量の変化は時として光合成装置に障害を与える。強光下では葉が吸収した光エネルギーを熱として消散させる非光化学消光 (NPQ) によって光合成装置を保護する。遺伝子組換えによって NPQ を強化したタバコは、光防護の向上だけでなく、CO₂固定能も向上させ、温室及び圃場の両条件でバイオマス収量を14~20% 増加させた。
- 8) 総括: 作物の反収改善は食料需要への対応のため、不可欠である。光合成プロセスと作物の収量は密接な関係にあり、ゲノム編集などの新しい植物育種技術等のアプローチ無含め改良を進めていく必要がある。

(小口 太一)

AGAMOUS と SEEDSTICK の RNA 干渉抑制はポプラの花器官のアイデンティティを変化させ花器官の決定性、胚珠の分化、および種毛の発育を損なう

RNA interference suppression of *AGAMOUS* and *SEEDSTICK* alters floral organ identity and impairs floral organ determinacy, ovule differentiation, and seed-hair development in *Populus*

Lu H *et al.*

2019

New Phytologist <https://doi.org/10.1111/nph.15648>

米国、中国の大学研究者グループによる原著論文。林木は花粉や種子を広範囲に拡散するため、組換え林木の環境放出に際しては、生物学的な封じ込めが望ましい。筆者らは花器官のホメオティック遺伝子である *AGAMOUS* の発現抑制により花器官を変異させた遺伝子組換えポプラを作出し、圃場試験を行った。

- 1) 標的遺伝子: *AGAMOUS* は花器官のホメオティック遺伝子として知られるが、雌雄異株の花器官に対する機能は未解明である。今回は、ポプラ (*Populus trichocarpa*) の *AGAMOUS* オーソログである *PtAG2* の配列をもとに設計した RNAi コンストラクト (PTG、MPG) を設計した。
- 2) 形質転換体の作成: 上記 RNAi コンストラクトを早咲き・雌株のギンドロ (*Populus alba*) 6K10 にアグロバクテリウム媒介法で形質転換した。
- 3) 花器官の表現型: PTG 導入22系統、MPG 導入13系統、非組換え体24個体を圃場で栽培し、花器官の表現型を調査した結果、PTG 導入系統、MPG 導入系統及び非組換え体の開花率は、100%、92.3% 及び95.8%、花器官に異常が見られた割合は、27.3%、91.7% 及び0% であった。非組換え体の花序は、50~80の雌花からなり、雌花は4つの柱頭といくつかの胚珠をもつ。種子は発達すると種毛を有する。花器官に異常が見られた17系統のうち、10系統の花器官には、葯様の器官が発達していたが、いずれも花粉は有しなかった。また、花器官に変化がみられた系統では、花芽の発芽 (bud break) が非組換え体よりも約1週間早かった。
- 4) 種子形成: 花器官に異常が見られた16系統 (PTG 導入 5系統、MPG 導入 11系統) について、種子の生存率を調査した結果、16系統中10系統が稔性のある種子が得られなかった。また、稔性がある種子が得られた6系統でも非組換え体と比較し、種子総数は減少した。
- 5) 遺伝子発現: 調査した全ての系統において、ギンドロ内生の *AGAMOUS* (*PaAG1*、*PaAG2*) 発現量が低下していた。また、種子が得られなかった系統では、*AGAMOUS* に加えて、2つの *SEEDSTICK* (別名 *AGAMOUS-LIKE*) オーソログ遺伝子 (*PaSTK-1*、*PaSTK-2*) の発現量が減少していた。
- 6) 圃場での生育: RNAi 組換えポプラの成長形質 (胸高直径、樹高、及び体積指数) において非組換え体と有意な差は見られなかった。また、葉の大きさやクロロフィル量等にも変化はなかった。
- 7) 総括: *AGAMOUS* の発現抑制は、雌雄異株のポプラの花器官を変化させた。また、*AGAMOUS* や *SEEDSTICK* 遺伝子の両発現抑制ポプラ系統では、稔性のある種子が形成されず、遺伝子組換えポプラの遺伝的封じ込め技術として有望である。 (小口 太一)

ERA プロジェクト調査報告

2019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)

会 長 宮澤陽夫

理事長 安川拓次

〒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)