
ERAプロジェクト調査報告

September 2022

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・安全性・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。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

2022.09

バイオテクノロジー研究会

2022年の調査報告書第3号（通算第60号）をお届けします。

本号では、まず遺伝子組換え技術を用いた研究として、イネ多収遺伝子の相同遺伝子の発現によるトウモロコシ多収系統の作出（No. 587）、耐病性と無機栄養分含量増加を組み合わせた多収・消費者健康増進キャッサバ品種の作出（No. 589）、カノーラにおける低温霜害脱緑色種子の作出機能の増進（No. 590）、転写因子の発現による高栽植密度多収・かんばつ耐性向上ダイズ系統の作出（No. 591）をご紹介します。

また、遺伝子組換え作物の評価に関する基礎的な知見として、トマト果実の β -カロテン含量増加によるアブシジン酸含量の増加及び貯蔵寿命の延長（No. 593）、ソルガムにおける花成期関連遺伝子を対象としたゲノム編集技術の適用（No. 594）、ポプラの微生物叢に変化を与える駆動因子の解析（No. 595）、コムギの穂の構造及び穀物収量に影響を与える遺伝子の同定（No. 596）をご紹介します。

さらに、海外での状況の報告事例として、乾田直播稲作イネの開発に関する総説（No. 588）、ホンジュラスにおける遺伝子組換えトウモロコシの生産及び社会的貢献に関する調査（No. 592）についてご紹介致します。

なお、これまでに調査報告書でご紹介した文献抄訳は、以下の URL で閲覧可能です。

<http://www.ilsijapan.org/ILSIJapan/COM/Rcom-bi.php>

目次

No.587	<i>BIG GRAINI</i> 相同遺伝子の発現によるトウモロコシ多収系統の作出 Maize <i>BIG GRAINI</i> homolog overexpression increases maize grain yield	1
No.588	少収より多収へ：genomics 育種に基づく乾田直播稲作イネ (DDSR) に問われる時代の要請への対応 More and more of less and less: Is genomics-based breeding of dry direct-seeded rice (DDSR) varieties the need of hour?	2
No.589	耐病性及び無機栄養増強のスタッキングによる多収・消費者健康増進キャッサバ品種の作出 Stacking disease resistance and mineral bio fortification in cassava varieties to enhance yield and consumer health	3
No.590	<i>ABI3</i> の遺伝的操作によるカノーラにおける低温霜害脱緑色種子の作出機能の増進 Genetic manipulation of <i>ABI3</i> confers frost-tolerant seed greening in canola	4
No.591	<i>GmMYB14</i> の発現によるブラシノステロイドの媒介による立体構造の制御に基づく高栽植密度多収・かんばつ耐性向上サイズ系統の作出 Over expression of <i>GmMYB14</i> improves high-density yield and drought tolerance of soybean through regulating plant architecture mediated by the brassinosteroid pathway	5
No.592	遺伝的改変トウモロコシのホンジュラスにおけるインパクト—生産及び社会的貢献 Genetically modified maize impacts in Honduras: production and social issues	7
No.593	トマト果実の β -カロテン含量の増加操作による ABA 含量の増加及び貯蔵寿命の延長 Manipulation of β -carotene levels in tomato fruits results in increased ABA content and extended shelf life	9
No.594	アグロバクテリウム介在の CRISPR/Cas9 体系の適用によるソルガムにおける標的突然変異の生成 An Agrobacterium-delivered CRISPR/Cas9 system for targeted mutagenesis in sorghum	10
No.595	ポプラ (<i>Populus</i> \times <i>euramericana</i> ‘Neva’) の微生物叢は、遺伝子導入よりむしろニッチや季節変化に影響される Niches and seasonal changes, rather than transgenic events, affect the microbial community of <i>Populus</i> \times <i>euramericana</i> ‘Neva’	11
No.596	<i>TaCol-B5</i> はコムギの穂の構造を変化させ、穀物収量を増加させる TaCol-B5 modifies spike architecture and enhances grain yield in wheat	12

Maize *BIG GRAIN1* homolog overexpression increases maize grain yield

BIG GRAIN1 相同遺伝子の発現によるトウモロコシ多収系統の作出

Simmons CR *et al.*

2020

Plant Biotechnology Journal 18: 2304-2315

米国の Corteva Agriscience 社 研究員による原著論文である。将来需要に応える作物収量は、1 株当たりではなく、反収（面積当たりの収量）の増加が必須であるべきであるが、これを明示する報告は乏しい。イネでは多収遺伝子 *BIG GRAIN1* (*Os-BGI*) が特定されている。著者らは *Os-BGI* と相同遺伝子による多収トウモロコシの開発を試み、以下の結果を得た。

(1) 多収組換えトウモロコシ系統 (*ZM-BGIH1*) の開発

公共機関からの提供材料から、イネ *BIG GRAIN1* のトウモロコシにおける相同遺伝子として、*ZM-BGIH1* 及び *ZM-BGIH2* が選出された。*ZM-BGIH1* を中程度の構成的発現を示す *ZM-GOS2* プロモーターに繋いだ発現カセットを含む T-DNA を構築し、アグロバクテリウム法によりトウモロコシ優良自殖系統 PH184C に導入した。単一遺伝子導入組換え系統は自殖され（温室）、さらに優良自殖系統 PHW3G と交配した T₃ 組換え種子が生産され、最終的に 4 系統 (E1~E4) が選出された。

(2) 組換えトウモロコシ系統の圃場収量試験

2 年間に北米 26ヶ所、101 試験が実施された。対照反収は、9.4~17.4 ton/ha であった。組換え系統は全体の 83% の試験で増収し、29% で有意、7 例で 1 ton/ha 以上の反収増を示した。4 組換え系統は平均 355 kg/ha の反収増を示し、E2 は 204.7 kg/ha、E1・E4・E3 は、399.1、406.7、415.4 kg/ha の反収増で、この 3 者間には有意差はなかった。農業形質では、開花期は 0.3~0.6% 遅れ、草丈・穂高は 2.6%・1.5% 増加した。発芽・苗立ち・葉の直立性・葉の大きさ・形・分けつなどには有意差はなかった。

(3) 穂及び穀粒の形態

4 系統の平均値は対照に対し、穀粒体積で 2.5%、1 粒重で 1.5%、粒密度で 1.4% 低かった。一方、対照に対し増加を示したのは、全粒数 (6%)、穀粒体積 (3.6%)、全粒重 (2.0%)、穂長 (2.6%)、着粒穂長 (2.3%)、穂直径 (2.4%) であった。穂の粒列数は最も顕著な増加を示し、対照 17.31 に対し、組換え系統は 17.86 (+3.1%) であり、最大 2 粒列数の差があった。以上から、組換え系統は対照に対し、1 粒重はやや低いが、穂直径及び粒列数の増加により全粒数が増加し、対照に対して平均 20% の反収増を示したことが確認された。

(4) 総括

トウモロコシ多収遺伝子 *ZM-BGIH1* が特定し、これを構成的に発現する組換え系統を作出、北米 26 地点、101 例の圃場収量試験が実施された。総平均で 355 kg/ha の増収、83% の試験で増収を示し、7 例は 1 ton/ha 以上の増収が記録された。開発組換え系統は、農業形質では 1 粒重が微減したが、粒列数の増加により一穂総粒数が増加し、対照に対し、平均 20% の増収を示した。本結果は、新開発系統による反収の明確な増加例であり、今後のトウモロコシ育種に有用な情報を与えることが期待される。

(林 健一)

More and more of less and less: Is genomics-based breeding of dry direct-seeded rice (DDSR) varieties the need of hour?

少収より多収へ：genomics 育種に基づく乾田直播稲作イネ (DDSR) に問われる時代の要請への対応

Sagdre D B *et al.*

2020

Plant Biotechnology Journal 18: 2173-2186

国際イネ研究所南アジアセンター (IRRI SAH)・インド大学・インド研究所の研究者によるレビュー資料である。イネは世界人口の半分の主食であり、4つの生態系—灌漑水田・天水畑地・天水低湿地・洪水常発地域—に栽培されている。将来の稲作の限定要因は水・労力の不足及び気候変動であり、大量の水を必要とする灌漑水田稲作の将来性が危惧されている。乾田直播稲作イネ (Dry direct-seeded rice; DDSR) は、節水・節労力・広域適応・機械化可能であり、灌漑稲作に代わる稲作体系として有望視されている。当面、灌漑稲作イネ品種が一時的な適用をされているが、DDSR に適した本格的な多収品種の育成が望まれている。著者らは、DDSR が具備すべき特性の研究、品種の開発に関するレビューを行い、以下の結果を得た。

(1) 主要特性の灌漑イネと DDSR との間の相関関係

50%開花日数は両稲作間に高い相関関係があった。有意ではないが、分けつ数・穂長・草丈には正の相関関係があったが、収量には有意ではない負の相関が示された。

(2) TPR と DDSR における主要特性の比較

1) 穀粒無機栄養特性 (128例を調査)：灌漑イネ及び DDSR は土壌中の O_2 発現による酸化作用により、ともに亜鉛及び鉄の吸収能力が低下し、種子中の含量が低下する。亜鉛含量は両体系間に高い相関関係があったが、鉄には相関がなく、DDSR では鉄補給の特別な考慮の必要性が示された。

2) 白葉枯病 (BLB) 抵抗性：接種試験結果は両体系間に高い相関 (+0.94) を示し、DDSR のための特別な検定試験は不必要と判断された。

(3) DDSR の具備すべき特性

遺伝子・供与体・染色体・文献名が明確な特性が列記された。

●初期整一出芽・初期生長力・吸水収量性 ●根長・根毛長・根毛密度 ●栄養・吸収力 ●嫌気下発芽力 ●耐倒伏性 ●雑草耐性・除草剤耐性 ●耐乾性・耐高温性・耐冷性 ●線虫抵抗性・タマバエ抵抗性・BPH (トビイロウンカ) 抵抗性 ●いもち病抵抗性・白葉枯病抵抗性

(4) DDSR の開発・育種

IRRI SAH では2014年以来広範囲な交配・選攻による DDSR 品種を開発中であり、有望系統が圃場試験中である。現在までに IR 97041-8-1-1-1が最有力である。同系統はフィリピン・バングラデシュ・ネパール・インドの DDSR よりも、2.9~30.1%多収である。ブラジルでは6トン/ha可能な多収品種、中国では耐乾・多収 (2~5%) 系統が、インドでも多収系統が開発されている。

(5) 総括

将来の稲作では、水・労力及び気候変動が限定要因として予想される。乾田直播稲作イネ (DDSR) は、灌漑水稲の代替体系として有望視されている。その特性として、整一初期出芽・嫌気下発芽力・旺盛な初期栄養生長・健全根による高栄養吸収力・耐倒伏性・乾田直播多収性などが特定された。DDSR の有する節水・節労力・気候変動対応性に基づいて、genomics-breeding を含む各種の DDSR 品種の開発・育種が国際的に進行中であり、今後が期待される。QTL 手法は一特性間の相互作用など遺伝子との直結性が低く、育種への直接的適用の段階にはないと判断された。

(林 健一)

Stacking disease resistance and mineral bio fortification in cassava varieties to enhance yield and consumer health

耐病性及び無機栄養増強のスタッキングによる多収・消費者健康増進 キャッサバ品種の作出

Narayanan N *et al.*

2021

Plant Biotechnology Journal 19: 844-854

米国 Danforth Plant Science 社及び USDA ARS の研究者による原著論文である。キャッサバは世界 8 億の人々のカロリー源であり、サブサハラ地域では主食となっている重要作物である。この地域では 2 つのウイルス病—キャッサバモザイク病 (CMD) 及びキャッサバ茶すじ病 (CBSD) —が大害を与えている。一部の品種は CMD に対する生来の抵抗性を有する。CBSD に対しては抵抗性遺伝子源がなく、当初の東アフリカ地域から徐々に西方に進展し、キャッサバ最大生産国のナイジェリアを脅かしている。著者らは、CMD 及び CBSD 抵抗性系統、さらに無機栄養強化系統の作出を試み、以下の結果を得た。

(1) 組換えキャッサバ系統の作出

- 1) p5001系：RNAi 手法によりシロイヌナズナ *SPINDLY (SPY)* 遺伝子 (注：ジベレリンシグナル伝達の制御因子として知られる) のキャッサバ相同遺伝子の発現を抑制した CMD 抵抗性組換え系統。NASE13 及び NASE14 (ともに東アフリカ品種) 及び TMS98/0505 (ナイジェリア品種)。
- 2) p9001系：p5001系にさらに鉄・亜鉛栄養強化のために鉄トランスポーター遺伝子 (*IRT1*) 及びフェリチン遺伝子 (*FER1*) を共発現させた組換え系統。TMS98/0505 及び TMS91/02324 (ナイジェリア品種)。

(2) p5001 及び p9001 組換え系統の CBSD 抵抗性 (温室接種試験)

非組換え対照系統は、接種 2～3 週間後で葉、ついで茎に CBSD を発症し、6～7 週間後には 80～100% の株が顕著な CBSD の病徴を示した。一方、組換え系統 NASE13、NASE14、TMS98/0505 (以上 p5001 系) 及び TMS98/0505 及び TMS91/02324 (p9001 系) では全く発病はなく、高い CBSD 抵抗性を示した。同様に生育 12～13 週間後の根でも、供試 97% (189/195) は発病がなかった。外被タンパク質 (CP) 由来 siRNA は CBSD 抵抗性程度も高い正の相関関係があった。

(3) p5001 及び P9001 組換え系統の CMD 抵抗性 (温室接種試験)

組換え系統 (NASE13、NASE14、TMS98/0505、TMS91/02324) は、高い抵抗性を示し、接種後も健全な生育を示した。

(4) p9001 組換え系統

p9000 系 (TMS98/5005 及び TMS91/02324) について、生育 16 週間後の根の鉄・亜鉛含量が調査された。組換え系統前者は対照に対し、鉄は 8～13 倍、亜鉛は 2～7 倍高い蓄積を示した。後者は、鉄は 3～5 倍、亜鉛は 2～13 倍の高含量を示した。組換え系統は、マンガン・コバルト・銅・カドミウムの含量増加を示した。(人体には無影響の低濃度)

(4) 総括

アフリカ・サブサハラ地域のキャッサバ品種に RNAi 手法が適用され、2 大ウイルス病—CMD (キャッサバモザイク病) 及び CBSD (キャッサバ茶すじ病)—抵抗性系統が作出された。加えて、同地域の人々の栄養向上のため、根の鉄及び亜鉛含量増強系統も作出された。本結果により、RNAi バイテク手法が、ウイルス病抵抗性及び無機栄養分の両者を増強させることが可能なことが示された。これらは今後のアフリカにおけるキャッサバ育種に有用な情報を与えることが期待される。

(林 健一)

Genetic manipulation of *ABI3* confers frost-tolerant seed greening in canola

ABI3の遺伝的操作によるカノーラにおける低温霜害脱緑色種子の 作出機能の増進

Perkins M *et al.*

2020

Plant Biotechnology Journal 18: 602-604

カナダの大学研究者による短報である。カノーラ (*Brassica napus*) は、北米及びユーラシアに広く栽培される重要作物であり、その種子から抽出される油は食用油として高い品質を有する。カノーラ種子は成熟につれて葉緑素が消失し、搾出油は緑色が消失し深黄色となる。しかし、成熟期に亜致死の低温霜害を受けると葉緑素が残留して種子の脱緑色が停滞し、搾油は緑色を呈し、異臭・貯蔵寿命短縮による大幅の品質低下がおこる。この緑色除去には、時間・費用がかかる。著者らは、シロイヌナズナの胚脱緑過程における異化作用の主役として、*ABSCISIC ACID INSENSITIVE3* (*ABI3*) を特定している。そこで著者らは *ABI3* を正常カノーラに導入し、低温処理後の種子の脱緑色化が増強された組換えカノーラ系統の作出を試み、以下の結果を得た。

(1) ABI3相同遺伝子の同定及び

シロイヌナズナ *ABI3* の相同遺伝子として、*BnABI3* が選定された。*BnABI3* を 35S プロモーターによって構成的に発現する発現カセットをアグロバクテリウム法によりカノーラ品種 Westar に導入され、組換え T₂ 系統 (L1 及び L2) が作出された。

(2) 組換えカノーラ系統の各種特性

- 1) 受粉後 3 週間 (通常生育) : 種子中の *BnABI3* の相対的発現量 (対照 : L2) は、受粉後 10 日で 1 : 4 ; 15 日で 4 : 10 ; 20 日後で 10 : 16 であり、組換え系統が対照より受粉後早期から常に対照より高かった。
- 2) 低温処理 (-4℃、6 時間) ; 受粉 24 日後に霜害を想定した低温処理として植物体全体に行った。
- 3) 成熟期 (受粉 54 日後、低温処理 30 日後) まで通常条件下で生育した各区を調査した。緑色種子の割合は、対照が組換え区より顕著に有意に高かった。これにより組換え系統の緑色種子抑制機能の発現が確認された。種子中葉線系含量 (mg/kg) は、対照 300 に対し、L1 は 110、L2 は 90 であり、どちらも有意に低かった。

(3) 表現型特性・農業特性

生育・表現型特性は対照と組換え系統間に差はなかった。農業特性も収量・草丈・葉面積・開花日数には差がなかった。組換え系統は、pod (さや) 及び小花柄の壁が少し厚くなった。これはさやの水分維持・落下防止に寄与すると考えられる。

(4) 搾油の品質

対照に対し、オレイン酸含量が L1 は 9 %、L2 は 12 % 増加した。これは高温調理耐性の増加が期待される。一方、リノール酸及びリノレン酸はどちらも約 20 % 低下した。

(6) 総括

正常生育のカノーラ種子は葉緑素が完熟までに消失し、搾油は深黄色となる。しかし成熟盛期に低温霜害に遭遇すると葉緑素は残存し、搾油は淡緑色となり、色・におい・貯蔵期間が低下し、品質が大幅に下落する。これに対し、シロイヌナズナ由来の *ABI3* 遺伝子が導入された組換えカノーラが開発された。組換え系統は、表現型・農業特性は対照と差異がなく、かつ成熟期低温に抵抗性を示し、種子の脱緑色が進行し、正常なカノーラ油が産出された。本結果は、*ABI3* 遺伝子 1 遺伝子のみ導入による低温による種子脱緑色の停滞防止及び搾油の品質保持の多面的機能の発現例として注目される。

(林 健一)

No.591

Over expression of *GmMYB14* improves high-density yield and drought tolerance of soybean through regulating plant architecture mediated by the brassinosteroid pathway

GmMYB14 の発現によるブラシノステロイドの媒介による立体構造の制御に基づく高栽植密度多収・かんばつ耐性向上ダイズ系統の作出

Chen L *et al.*

2021

Plant Biotechnology Journal 19: 702-716

中国の国研・米国の大学・日本の研究所（理研）の研究者による原著論文である。ダイズは食用油、タンパク質、バイオ燃料などを生産する重要なマメ科作物である。収量増加は大課題であり、数十年にわたり主として茎の生育調節による準矮性品種が作出されている。禾穀類では直立性葉に基づく立体構造（architecture）の改良による準矮性・蜜植性多収品種が作出されている（イネ・コムギ・トウモロコシ）。これに関連して、直立性葉の重要性が認識され、さらに葉の角度はブラシノステロイド（BR）の生合成関連遺伝子が重要因子であることが示された。しかし、立体構造と収量との間の相互関連性についての精査はなされていない。植物ではいくつかの転写因子が立体構造を制御する役割を果たしている。近年、シロイヌナズナで遺伝子 *GmMYB181* の発現により、草丈短縮・側根増加・種子増加などが報告された。しかし、立体構造と収量との関係は解析されていない。MYB タンパク質は植物転写因子のなかの最大グループであり、2次代謝産物の生合成に関与している。また、環境ストレスへの適応性も媒介している。著者らはダイズの *GmMYB14* の発現が脱水処理で上昇することを見出し、同遺伝子の拮抗耐性への関与の可能性を示唆した。以上の知見・成果に基づいて、著者らは準矮性・コンパクト立体構造・高栽植密度多収ダイズの作出を試み、以下の結果を得た。

（1）組換えダイズ系統の作出

ダイズ品種 Tianlong No.1 にアグロバクテリウム法により *GmMYB14* 遺伝子を導入し安定した T₂ 世代 5 系統を得た。このうちさらに立体構造の改良が顕著な 3 系統（OX1、OX9、OX12）を選抜した。

（2）組換えダイズ系統の表現型特性

- 1) 生育管理条件：顕著な立体構造の変化を示し、草丈・葉面積・葉柄長・葉柄角度、全根長が減少した。
- 2) 圃場：1) と同様な変化を示した。
- 3) 解剖学的調査：細胞の大きさ、とくに葉柄が減少していた。

（3）収量試験

- 1) 密植栽培条件（株間10cm） 2018年：OX9系統（T3世代）：草丈・節間長は減少、一方、主茎節数・主茎分枝数・主茎サヤ数・種子数・種子重（すなわち収量）は増加した。100

粒重には変化がなかった。2019年：OX1系統（T3世代）及びOX9系統（T4世代）は、2018年と同様の結果を示した。

2) 栽植密度試験：OX9系統（T4世代）、2019：株間5、10、20cmにおいて対照に対し、156.0%、93%、15.6%の増収を示し *GmMYB14* 系統は、高栽植密度適応性が高いことを示した。

(4) 組換え系統の干ばつ耐性

1) 温室ポット試験：ポリエチレングリコール及び節水処理（30日間）、OX1及びOX9組換え系統は対照より萎凋が少なく、側茎乾物重、根乾物重、側根数、全根長が対照より高く、かんばつ耐性の向上が認められた。

2) 圃場試験：株間10cmOX9系統（T3世代）：節水処理後においてOX9系統は対照よりさや数、種子数、種子重が高く、かんばつ耐性の向上が認められた。

(5) 総括

ダイズの立体構造、収量、干ばつ耐性を抑制する転写因子遺伝子として、*GmMYB14* が特定された。*GmMYB14* が導入された組換えダイズ系統は、安定したコンパクトな立体構造を維持し、圃場試験において、特に高栽植密度で、対照より有意に高い収量を示した。さらに圃場における干ばつ耐性も対照より高く、相対的に増収した。本成果は立体構造のコンパクト化による収量及び干ばつ耐性を向上したダイズの作出に対し、有用な情報を与えるものとして期待される。

(林 健一)

Genetically modified maize impacts in Honduras: production and social issues

遺伝的改変トウモロコシのホンジュラスにおけるインパクト —生産及び社会的貢献

Macall DM *et al.*

2020

Transgenic Research 29: 575 ~ 586

カナダ及びホンジュラスの大学及びコスタリカの国研の研究者による原著論文である。ホンジュラスは中米の共和国であり、トウモロコシの生産は同国の作物栽培面積及び食料保障の両面で極めて重要な活動であるが、各種のストレスにより生産性向上は阻まれている。2002年にはラテンアメリカで最初の GM トウモロコシの商業栽培が認可されているが、栽培は全国18州のうちの3州、特に1000 m 以上の高地に集中している。事態改善のため政府は GM 作物積極支援へと転じ、長年の規制システムを改善し、新しいガイドを2018年に公刊した。さらに規制システムを改善し、新育種技術 (NBT) 及びゲノム編集を視野に入れた分野を加えた。さらに GM 作物の安全性評価をプロセスベースではなく、プロダクトベースで行うことも確定された。このような各種の新発展を背景に、第1世代バイオテクノロジーのインパクト及び微妙な差異を記録し、今後のバイテク政策に資することが極めて有意義かつ重要であると認識された。そこで GM トウモロコシ栽培者の実体験に基づく広範囲の調査が実施された。著者らはこの調査結果を主要課題ごとに精査し、以下の結果を得た。

(1) 調査の構成

本調査はホンジュラスのトウモロコシ主要生産5州により企画され、Zamorano 大学の研究者によって実施された。同様の調査が先行して行われたコロンビア・フィリピン・南アフリカでの調査経験が探査され、ホンジュラス GM トウモロコシ農家の技術体験の脈絡化がはかられた。

- 1) 調査農家：慣行・*Bt* の両トウモロコシ栽培経験8年以上、大学研究との協力経験がある32農家（男性）が選出された。41%は完全自作地、40%は自作+借用農地；41%は大学卒、34%は高校卒；調査は124項目の面談会話；完全匿名；
- 2) 期間：2018~2019

(2) 調査結果

- 1) バイテク及び GM トウモロコシへの理解：回答者の84%は GM トウモロコシが分子生物学由来であることは認識していたが、GM トウモロコシ以外の知識はなかった。これは情報源が種子供給者（民間会社）であったことに原因があった。リフュージ（緩衝区）の実施者は65%であった。
- 2) GM トウモロコシのインパクト：94%は *Bt* トウモロコシの害虫防除効果を認め、追加薬剤散布はなかった。97%は高収量を報じたが、慣行トウモロコシの栽培変更は38%にとどまった。このことは GM トウモロコシ高収新技術体系の全面的適用は未完なことを示

した。

- 3) 経済的効果：全員が収入増と生活改善を報じた。殆どは1年1作で満足しており、また新しい農地借用までしての作付け増加は希望していなかった。
- 4) 環境及び保健面へのインパクト：殺虫剤は散布者の健康に悪影響があると思うと88%が回答した一方、GM トウモロコシは家畜に無害だと思うとの回答は94%であった。
- 5) 害虫管理・駆除の評価：84%は農薬散布無用となり、慣行の3～4回散布と対照的であった。肥料の数量には慣行と差がなかった。雑草には両者ともグリホサートで対応していた。
- 6) トウモロコシ収量：*Bt* トウモロコシは7.5トン/ha、慣行は5.0トン/ha、明瞭な収量差が報じられた。種子価格は*Bt*が慣行より2倍以上高価であるが平均して50%の増収が十分補うと報告された。試算では*Bt* トウモロコシは1ドルの投資増に対し、14.70ドルの総益増と報じられた。
- 7) 融資及び技術的支援：60%が融資支援を得ていた。資金提供者は種子会社・銀行・信用組合などであり、融資条件は好意的であり、融資の取付に困難はないと報告された。

(3) 総括

10年以上に渡り、GM トウモロコシは慣行トウモロコシを凌駕する便益を生じている。生産者は*Bt* トウモロコシの管理法を知っているが、62%は*Bt*・慣行に同様な管理を行っている。*Bt* トウモロコシ技術は経済的かつ労力節減的であり、特に農薬散布の減少による環境及び保健への便益が大きい。ホンジュラスにおける*Bt* トウモロコシに関する技術的蓄積は既に順調である。しかし政府により普及サービスが強化され、融資・情報などの支援が行われることが望まれる。

(林 健一)

Manipulation of β -carotene levels in tomato fruits results in increased ABA content and extended shelf life

トマト果実の β -カロテン含量の増加操作による ABA 含量の増加及び貯蔵寿命の延長

Diretto G *et al.*

2020

Plant Biotechnology Journal 18: 1185-1199

イタリアー・ドイツ・カナダ・米国・スペイン・中国の研究者による原著論文である。トマトは果実成熟に関する遺伝的・ゲノムの研究資料が多いことから、モデルシステムとして研究されている。果実成熟に伴う表現型の変化は、生化学的には ABA (アブシジン酸) の増加・エチレンの減少・果実各種特性の変化を伴っている。著者らは既に作出された *LYCOPENE β -CYCLASE* (*LCYb*) 導入による β -カロテン増加組換えトマトについて、全システムを包括した網羅的研究を行い、以下の結果を得た。

(1) *LCYb* 組換えトマト

シロイヌナズナ由来の *LCYb* 遺伝子をトマト由来の果実特異的プロモーター (PDS プロモーター) で発現する発現カセットが導入された。本研究では、ホモ接合の T4 世代の *LCYb1* 系統及び *LCYb3* 系統が供試された。

(2) *LCYb* 組換えトマト果実における β -カロテンの増強の作出

既製の *LCYb* 発現果実の β -カロテン含量が成熟 5 段階で調査された。安定的 T₂ 系統の果実は完熟期において対照より 4~10 倍高い β -カロテン含量及び 2~3 倍低いカロテノイド炭化水素含量を示した。

(3) *LCYb* 発現果実 (組換え果実と略記) の各種特性

1) 貯蔵寿命 (shelf life) の延長: 成熟初期の果実を 20.2°C・湿度 60.5% で貯蔵した。貯蔵 80~240 日で組換え果実は対照より明らかに長い貯蔵寿命を示した。

2) 果実健全化・水分維持: 組換え果実はこれらの特性を発揮した。

(3) 細胞壁及び上皮組織

完熟期の細胞壁からの抽出物は対照より有意に多い水溶性固形物含量を示した。上皮の厚さも組換え果実は対照より厚く、主成分であるクチンの量も多かった。

(4) 代謝産物

成熟盛期の果実及び上皮の天然有機化合物 72 種類が調査された。殆どの化合物は組換え系統が対照より高い含量を示した。特に 58 代謝物が調査され、13 代謝物 (5 アミノ酸、7 糖類など) が有意に高かった。

(5) アブシジン酸 (ABA) の増加及びエチレンの減少

ABA の蓄積は、対照では成熟初期に高く、以後完熟期にかけて減少、組換え系統では成熟初期ですでに対照より高く、完熟期では対照の 17 倍であった。着生果実から発散されるエチレンは成熟初期に高く、以後減少した。組換え系統ではエチレン発散が減少し、成熟盛期でも対照の 50% であった。

(6) カロテノイド・ABA・エチレンの相互関係

カロテノイドは、ABA の代謝前駆体であり、 β -カロテンから合成される。ABA は、 β -カロテンの増加に伴って増加する。ABA は極初期では成熟の引き金となるが、成熟中~盛では逆方向に作用してエチレンを減少させる。その結果、果実の成熟も遅延し、貯蔵寿命が延長される。以上からカロテノイドはエチレンを減少させる作用が大きいと判断された。

(7) 総括

LCYb (*LYCOPENE β -CYCLASE*) 導入組換えトマト果実の各種特性が調査された。組換えトマト果実では、 β -カロテンの増加、果実軟化の遅延、貯蔵寿命の延長が示された。これらの表現型特性は、生化学レベルでは、ABA (アブシジン酸) の増加、エチレンの減少、細胞壁物質の増加、上皮の肥厚などを伴っていた。カロテノイド改変技術 (engineering) がトマト果実の成熟にこのような重要かつ多面的発現を示したのは、本研究で最初であり、有用な情報として用いられることが期待される。

(林 健一)

An Agrobacterium-delivered CRISPR/Cas9 system for targeted mutagenesis in sorghum

アグロバクテリウム介在の CRISPR/Cas9体系の適用による
ソルガムにおける標的突然変異の生成

Char SN *et al.*

2020

Plant Biotechnology Journal 18: 319-321

米国の大学・開発機関の研究者による短報である。CRISPR/Cas9体系は真核生物に広く適用されている。ソルガムは世界第5位の重要穀物であるが、CRISPR/Cas9では不安定な結果が多く、適用が遅れていたが、最近数例が報告されている。著者らはソルガムの内生的遺伝子に対するCRISPR/Cas9体系の適用による標的突然変異生成 (targeted mutagenesis) を試み、以下の結果を得た。

(1) 標的突然変異系統の作出

花成期関連遺伝子である *SbFT* を標的とする CRISPR/Cas9コンストラクトをアグロバクテリウム法媒介法で、ソルガム P898012系統に導入した。遺伝子導入が確認された3系統のうち1系統のみで標的部位中の1塩基欠失 (-1) 及び4塩基欠失 (-4) が確認された (T0世代)。

(2) *SbFT* 標的突然変異の遺伝的伝達

上記 T0世代の自殖 T1世代の遺伝型は、-1のホモ：-1/-4のヘテロ：-4のホモの比は、およそ1:2:1であった。これにより、CRISPR/Cas9によって生成した標的突然変異がメンデルの法則に従い次世代へ伝達されることが確認された。

(3) *SbFT* 標的突然変異の花成期

T1世代の個体をガラス室で時期を変えて2回栽培し、花成時期を調査した。対照に対する開花期遅延は、8日及び10日であった。これにより *SbFT* に対する標的的特異的変異導入がソルガムの花成時期を遅延させることが確認された。

(3) 総括

CRISPR/Cas9による標的突然変異生成の研究がソルガムに対して実施された。花成期関連遺伝子である *SbFT* を対象として、CRISPR/Cas9によるゲノム編集の適用により、2種類の *SbFT* 変異系統が作出され、変異がメンデルの法則に従い次世代へ伝達することも確認された。以上から CRISPR/Cas9体系のソルガムへの適用が実証された。

(林 健一)

Niches and seasonal changes, rather than transgenic events, affect the microbial community of *Populus × euramericana* 'Neva'

ポプラ (*Populus × euramericana* 'Neva') の微生物叢は、
遺伝子導入よりむしろニッチや季節変化に影響される

Huang Y *et al.*

2022

Frontiers in Microbiology 12: 805261

中国の研究グループによる報文。根圏微生物叢やエンドファイト微生物叢の形成メカニズムと植物との関係の理解は、農業や生態系の保全において重要である。また、遺伝子組換え植物の商業的利用に際しても、周辺の微生物叢への潜在的影響の評価が不可欠である。筆者らは、2種類の *Bt* ポプラ及び対照非組換え体を対象とし、異なる季節に採取した植物の根圏土壌、根、師部における微生物叢解析及び比較を実施した。

1) 植物材料

ポプラ (*Populus × euramericana* 'Neva') *CryIAC-Cry3A-BADH* 遺伝子を導入した ECAA1 系統、*CryIAC-Cry3A-NTHK1* 遺伝子を導入した ECAB1 系統を line) 及びそれらの非組換え対照系統。河北省の植林地に2018年4月に各系統9個体1ブロックとしたセットを3反復、計81個体を植栽し、2020年の6月、8月、12月に各ブロックから1個体を無作為に選択・堀上げ、根圏土壌、根、師部を採取した。

2) 微生物叢分析

各土壌試料又は植物組織から DNA を抽出し、16S rDNA 領域のリボソーム RNA 遺伝子及び ITS 領域の配列類似性に基づき分類単位 (OUT) を決定し、比較した。

3) 結果の概要

いずれの実験区においても真菌よりも細菌の多様性の方が高い傾向があった。また、根圏土壌の微生物叢の多様性は、根及び師部よりも高い傾向があった。微生物叢は、サンプリング時季を通じて、おおむね一致していたが、存在量には大きな変動があり、特に師部での季節変動が大きかった。組換え体2系統と対照非組換え体の比較では、微生物叢組成には有意な違いはないものの、各 OUT の存在量には、サンプリングの時期毎に変動が認められた。微生物の存在量の変動の主な要因は、サンプリングの時期と場所によるものであると推定された。

4) 総括

16S rDNA と ITS アンプリコンシーケンスに基づき、圃場における組換えポプラ及び対照非組換えポプラの根圏及びエンドファイト細菌叢の多様性の評価試験を実施し、細菌性微生物叢の多様性は真菌性微生物叢のそれよりも有意に大きく、真菌は細菌よりも局所的な環境の不均質性が大きいことが示された。微生物叢の変化の主な駆動因子は生息環境と季節変化であり、ポプラの根圏土壌及びエンドファイトの微生物叢の豊かさは、遺伝子組換えイベントの影響を受けていないことが明らかになった。

(小口太一)

TaCol-B5 modifies spike architecture and enhances grain yield in wheat

*TaCol-B5*はコムギの穂の構造を変化させ、穀物収量を増加させる

Zhang X *et al.*

2022

Science 376: 180-183

米国の大学、中国の大学・研究所の研究グループによる原著論文。パンコムギ (*Triticum aestivum*、 $2n=6x=42$ 、AABBDD ゲノム) の穀物収量は、分けつ数、一穂あたりの籽数、粒重の3つの主要な要素によって影響を受け、これら3要素の1つでも増加すれば、収量を増やすことができる。筆者らは、マップベースドクローニングにより、コムギの穂軸の節数を決定する遺伝子座を決定し、その野生型アレルにより、分けつ数と一穂あたりの籽数の両方を増加させることに成功したことを報告した。

1) QTL 解析

コムギの一穂あたり籽数に関連する穂軸の節数に関連する量的遺伝子座 (QTL) 解析が行われた。パンコムギの2品種 (Citr 17600: 籽数多と Yangmai18) の交配集団による QTL 解析から、第7B 染色体に穂軸の節数の決定にかかわる QTL 座を同定した。更に、交雑と SSR 及び SNP マーカーによるマッピングにより、約32万塩基対に絞り込んだ。最終的に、絞り込まれた領域に含まれる、CONSTANTS 様 (COL) タンパク質をコードする *TaCol-B5* が原因遺伝子として決定した。

2) Citr176000型 *TaCol-B5* 過剰発現 Yangmai18の作出

品種 Citr176000より *TaCol-B5* をクローニングし、品種 Yangmai18へ導入 (トウモロコシユビキチンプロモーター) し、4系統の形質転換体を得た。得られた4系統の T1植物は、対照非組換え体よりも一穂あたり節数は3.5増加、籽数は、3.4増加した。更に、分けつ数も一株あたり1.3増加した。

3) 圃場試験 (T2世代)

T2植物において、通常よりも低密度 (40株/m²) での圃場栽培試験を行った。対照非組換え体と比較で、組換え体4系統の平均は、一穂あたり節数が2.4増加、穂長が7.3cm 増加、一穂あたり籽数が8.1増加、一株あたり穂数が2.3増加したが、千粒重は変化なかった。

4) 圃場試験 (T3世代)

T3植物において、通常のコムギ栽培の密度 (130株/m²) で圃場試験を行った。対照非組換え体との比較で、組換え体4系統の平均は、一穂あたり小穂数が0.9増加、穂長が4.4cm 増加、一株あたり穂数が0.29増加したが、千粒重に変化はなかった。しかし、一穂あたり籽数には有意な増加がなかった。これは密植による影響によるものと考えられる。最終的な収量は、7.8~19.8% (4系統平均11.9%) 増加であり、単一遺伝子操作の結果としては十分である。

5) *TaCol-B5* アレルと表現型

*TaCol-B5*及びその A、D ゲノムのホモログの発現量は、CItr176000と Yangmail8の間で違いがなかったことから、CItr176000型 *TaCol-B5*による表現型はタンパク質レベルの違いであることが示唆された。*TaCol-B5*の CItr176000型と Yangmail8型との間では3アミノ酸置換がある。酵母2ハイブリッドシステムにより、*TaCol-B5*と相互作用するセリンスレオニンキナーゼ TaK4が単離されており、両品種間で置換のあったアミノ酸のうちの1つ (Ser269/Gly269) は、TaK4によるリン酸化部位であったことが分かった。以上のことから、TaK4によるリン酸化の可否が *TaCol-B5*の表現型の違いとなることが示唆された。

6) *TaCol-B5*アレルの遺伝的保存性

ゲノムが開かれている10品種の普通コムギと5品種のデュラムコムギの *TaCol-B5*アレルは、全て Yangmail8型であった一方、4倍体の野生エマー小麦 (*T. turgidum*) 品種 Zavitan では CItr176000型であった。更に、*TaCol-B5*アレルの Ser269/Gly269置換を含む SNP マーカーにより1657コレクションを評価したところ、CItr176000型は33のみであった。

7) 総括

コムギの分けつ数、一穂あたりの粒数を同時に増加させる新規アレルとして、CItr176000型 *TaCol-B5*が単離された。栽培品種はこのアレルを殆ど持たないことから、今後、このアレルを利用することで、コムギ収量を大幅に改善する可能性が示された。

(小口太一)

ERA プロジェクト調査報告

2022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)

会 長 宮澤陽夫

理事長 児島宏之

〒135-0004東京都江東区森下3-13-5

グローバルビル5F

TEL 03-6284-0877

FAX 03-6284-0878

[http:// www.ilsijapan.org](http://www.ilsijapan.org)