

【話 題】

チリで開催された国際会議「IUFRO Tree Biotechnology 2017」について

七里 吉彦<sup>\*,1</sup>

はじめに

2017年6月4日から9日にわたり、チリ共和国コンセプションの Sonesta Hotel Concepción (図-1, 2) において、国際会議「IUFRO Tree Biotechnology 2017」が開催された。本会議は IUFRO (国際森林研究機関連合) Working Group 2.04.06 (林木の分子生物学) の公式会議として、1985年に米国オハイオ州で開催されて以来隔年ごとに開催されており、南米大陸では初開催となる。チリの中部に位置するコンセプションは、約29万人が居住するチリ第2の都市であると共に、気候が温暖でユーカリやテーダマツ等の栽培に適していることから、日本を含む様々な企業が植林事業を展開している。18回目に当たる本大会では "Biotechnology: more productive and sustainable forests" というテーマのもと、世界22ヶ国から130名を超える研究者が参加し、招待講演3件、基調講演17件、口頭発表33件、ポスター発表38件がそれぞれ行われた。日本からは著者を含め3名が参加した。以下に、会議において著者が注目した発表を中心に紹介する。



図-1 Sonesta Hotel Concepción



図-2 講演会場

招待講演

招待講演として、チリ・カトリック大学の Rafael Vicuña 教授により「地球生命の起源」をテーマに基調講演が行われた。続いて、CORMA というチリの林業部門の起業家協会から Fernando Raga 氏による、チリの林業の現状や展望について説明があった。最後に、ノースカロライナ州立大学の Vincent Chiang 教授により「Forest Biotechnology の現在と未来」という演題で講演があった。

基調講演および口頭発表

セッション I: In vitro propagation technologies

本セッションでは、SweTree Technologies 社、ArborGen 社、ARAUCO 社の各社における、ヨーロッパパトウヒ、ポプラ及びマツの不定胚誘導を介したクローン苗の大量増殖技術が紹介された。未熟胚から単離した不定胚形成細胞の大量培養、それに続く不定胚誘導など、各過程が完全にオートメーション化されていた。ArborGen 社では1日あたり180,000もの不定胚を

\* E-mail: nanasato@affrc.go.jp

<sup>1</sup> 七里 吉彦 国立研究開発法人森林研究・整備機構 森林総合研究所森林バイオ研究センター

培地に置床するシステムを構築していた。CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> ガスの添加により不定胚の誘導効率を増大させる工夫もなされていた。また、どの会社もクローン苗の大量増殖と同時に生育のよいクローンの選抜育種を行っており、SweTree Technologies 社では +15% 以上の生育量のヨーロッパトウヒの個体をゲノミックセレクションにより選抜しているということであった。ArborGen 社は 17 品種、39,581 系統にも及ぶ凍結保存セルラインライブラリーを保有しており、育種や基礎研究へ利用している。FuturaGene 社は中国にて yellowhorn (*Xanthoceras sorbifolium*、ブンカンカ) や peony (*Paeonia rockii*、紫斑牡丹) という中国原産の樹木を活用するため、組織培養によるクローン苗の増殖技術を確立していた。これらは耐乾性に優れており、砂漠化した土地の再生への利用を目指しているとのことであった。さらに、ブンカンカの葉は茶の原料として、実には良質の油や薬用成分が含まれるなど多岐にわたる利用が可能であることも紹介されていた。

### セッション II: Genomic assisted breeding and selection

次世代シーケンサー (NGS) の発達により、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) やゲノミックセレクションといった、ゲノム全体を巨視的に解析する方法がごく一般的な技術になっているなか、本セッションにおいても、ユーカリ、ポプラ、テーダマツ、ダグラスファー、ヨーロッパトウヒにおいて NGS を活用したゲノム育種が紹介されていた。また、本セッションとは別に、マツ類の SNP 解析の国際コンソーシアムが主宰するオープンセミナーが開かれた。1998 年に 1 日あたり 138,000 個であった SNP 検出の解析速度は、2016 年ではその 14,500 倍にあたる  $2 \times 10^9$  個もの解析が可能となっており、データ集積スピードが爆発的に増大している。早期のマツ SNP チップ開発とその育種への利用が望まれる。遺伝子組換え樹木の実用化について先行きが不透明な中、多くの研究機関や企業がゲノム育種へ注力しており、本セッションの発表数は口頭、ポスター共に最も多かった。

### セッション III: Genetic engineering and biosafety

ArborGen 社での、ブラジルにおける材質向上や除草剤耐性などの有用形質を付与した遺伝子組換えユーカリの大規模野外試験が紹介された。現在も様々な組換え樹木を作製してテストを行っており、その作製規模は年間 1,000 系統にも及ぶ。組換え樹木の生産コストは高いものの、最終的には従来育種の品種と同程度の価格での販売を目指しているとのことであった。SweTree

Technologies 社は様々な大学などと協力しながら、有用遺伝子の大規模探索を行っていた。ポプラのバイオマス増産を目的に、80 遺伝子からなる 126 のコンストラクトをそれぞれ導入した組換えポプラを作製し、現在野外で試験中であり少なくともそのうち 15% についてポジティブな結果が得られているとのことであった。オレゴン州立大学の Strauss 教授により、RNAi 技術で *LFY* や *AG* など花成に関与する遺伝子の発現を抑制したポプラの野外試験の状況が紹介された。ある RNAi コンストラクトを導入したポプラについて、7 年間は標的遺伝子の発現が抑制されており、形態異常などは極めて低い割合であったというデータを紹介しつつ、森林管理協議会 (FSC) が遺伝子組換え樹木の商業栽培を事実上認めていない現状について、強い懸念を示していた。組換え樹木の有用性は極めて高いものの、組換え樹木を作製・試験する費用は長期間にわたる安全性評価の実施などにより高騰し、さらに商業栽培など実用化が不透明なことから遺伝子組換え樹木への投資は未だにリスクが高いという見解を示した。ただ、2050 年には人口が 90 億人を超えることが予想されており、食料だけでなく樹木由来のバイオマスの不足も指摘されるなか、組換え樹木の利用による『育種革命』が必要になるという持論を述べた。フランス国立農学研究所の Déjardin 博士により、シロイヌナズナの形質転換で用いられているフローラルディップ法をポプラ (*Populus nigra*) に応用した、遺伝子組換えポプラの迅速作製法が紹介された。シリンジを用いて花序にアグロバクテリウム懸濁液を注入することで、0.8% の効率で形質転換体を作出することに成功していた。この効率はシロイヌナズナにおける効率とほぼ同等である。また、ベルギー・ゲント大学の Hoengenaert 博士から、パーティクルガンを用いて、ゲノム編集技術のひとつである CRISPR/Cas9 システムをタンパク質-RNA 複合体の形で一過的に導入する方法 (直接導入法) により、ポプラの *PDS* 遺伝子破壊個体を作製したことが発表された。ドイツ・チューネン研究所の Bruegmann 博士はバイオマス増大を目的とした遺伝子組換えポプラ作出について紹介した。彼らは *SOCI* や *FUL* といった生殖生長への誘導に関与する遺伝子を CRISPR/Cas9 システムで破壊していた。これらのノックアウト変異体は、栄養生長が続くためバイオマス量の増大が見込めるとのことであった。

### セッション IV: Molecular understanding of tree growth, wood formation and adaptation to climate change

南アフリカ・プレトリア大学の Myburg 教授により、

トランスクリプトーム・eQTL・SNP 情報を駆使し、ユーカリにおける 11,658 個の木部特異的に発現する遺伝子群の中から 98,000 のヘテロ接合型 SNP の抽出に成功し、そこから木部形成のキーとなる因子を探索していることが紹介された。続いて、Myburg グループの研究者から、その候補因子である *GUX*、*GXM*、*TBL*、*RWA* 遺伝子ファミリーの網羅的な解析について示された。また、ドイツ・ヘルムホルツ環境研究センターの Tarkka 博士らにより、オークの全ゲノム情報を用いてオークの生育リズムに関与する遺伝子の解析が行われるなど、様々な樹木でゲノム情報が活用されている現状がうかがえた。遺伝子組換えによるリグニン成分の改変について複数のグループから発表があり、生合成経路の解明やリグニン量を減らす樹木の作製、またはリグニン成分改変の試みなどが紹介されていた。これらは、ゲノム情報がオープンになっているポプラやユーカリが主な研究対象であった。

### ポスター発表

セッション I～IV のポスター発表も併せて行われ (図-3)、著者もスギにおける効率的な外来遺伝子発現系の構築及びゲノム編集の試みについて発表を行った。オレゴン州立大学の Strauss 教授グループからは、RNAi 法によるポプラの *AG* オルソログの発現を抑制した遺伝子組換えポプラの野外試験の結果が示されていた。使われていたコンストラクトには、RNAi 効果を増大させる目的で *matrix-attachment-region* (MAR) という配列が T-DNA 領域内の発現カセット群を挟む形で 2 カ所付加されており、MAR 配列を付加したコンストラクトを導入した 13 イベントの内 11 イベント (85%) という高確率で *AG* 遺伝子の抑制に伴う花の形態異常が観察された。同グループはユーカリの CRISPR/Cas9 システムによるゲノム編集にも成功していた。*Parasponia* はバラ目の樹木で、マメ科植物の根粒菌と共生できる唯一の種である。このユニークな性質の分子メカニズムの解明のため、オランダ・ワーヘニンゲン大学の Geurts 博士らは植物ホルモンの生合成に関与する遺伝子を標的に CRISPR/Cas9 システムによるノックアウト個体を作製し、根粒菌の共生の有無などを調査した。彼らはアグロバクテリウム感染後 100 日で対立遺伝子の両方がノックアウトされた個体が 20 系統程度できるといふ、効率の良いゲノム編集系を確立していた。その他に、*Araucaria angustifolia* (パラナマツ) において、不定胚

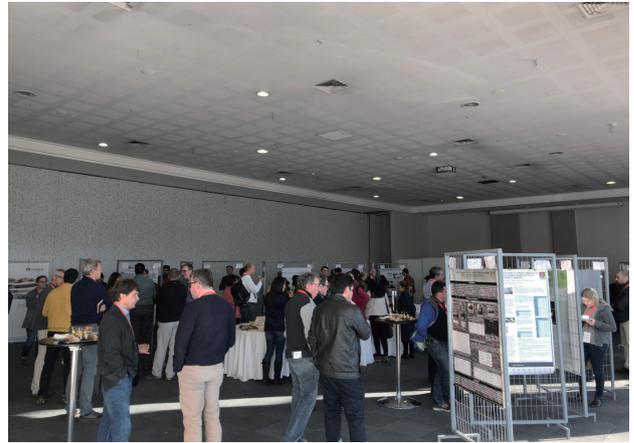


図-3 ポスター会場の様子

形成能に関与するマーカー遺伝子の探索が報告されていた。プロテオームと RNA-seq のデータを使い、ゲノム情報が明らかでない樹種において、不定胚形成に関与するマーカー遺伝子候補を探索するというものである。また、GWAS 解析によりポプラの発根に関与する遺伝子座の特定が進められていた。

なお、最優秀ポスター賞は、ポプラのグリコシルトランスフェラーゼ *PtaUGT72E1* の機能解析について発表したベルギー・ブリュッセル自由大学の Speckaert らが受賞した。

### 総合討論

最後に行われた総合討論では、現在の樹木のバイオテクノロジー分野が抱える問題などが論点となった。形質転換技術が開発されてからかなり経過しているにもかかわらず、依然として形質転換体を作成するコストが莫大な点、組織培養及び形質転換技術の技術継承をどのように行うかについて議論が交わされた。また、企業が保有している優良クローンや組織培養のノウハウなどを大学などとシェアすることにより、新たなブレイクスルーが起きるのではという指摘もあった。ここでも、FSC の遺伝子組換え樹木に対するスタンスについて懸念が示された。さらに、若い研究者に大会に参加してもらうための参加費用の補助制度の導入を求める意見が出た。女性研究者の大会運営に対する積極的な参画を推進するため、新たに会場から 2 名の女性研究者が委員に選出された。

なお、次回会議は 2019 年、米国ノースカロライナ州のローリーで開催されることが決定した。