

第3章 詳細調査

以下の4課題について、詳細に調査を行った

第1節 コンソーシアム1 健康機能性作物

第2節 コンソーシアム2 (1) 環境ストレス耐性植物の開発

第3節 コンソーシアム2 (2) 環境浄化・モニタリング植物の開発

第4節 新しい生物農薬の開発

第1節 コンソーシアム1 健康機能性作物

新事業創出研究開発事業

研究組織 代表者：高岩 文雄、実施期間：平成12年度－16年度

中課題名	所属（事業当時）	開始年度	終了年度	研究者
① 健康機能性作物の開発	独立行政法人農業生物資源研究所	12	16	高岩 文雄
② 生活習慣病予防作物の開発：血糖コントロール作用を持つペプチド含有米の開発	㈱三和化学研究所	12	16	城森 孝仁
③ 機能性共役脂肪酸を産生、蓄積するイネ、ナタネ及び野菜の開発	㈱植物工学研究所	12	15	今村 順
		16	16	河野 淳子
④ 感染症予防効果を有するラクトフェリン米の開発	全国農業協同組合連合会	12	15	金田 武夫
		16	16	羽生 友治
	国立大学法人茨城大学	12	16	安西 弘行
⑤ MAT ベクターによるマーカーフリー健康機能性作物の作出	日本製紙㈱	12	16	海老沼 宏安

ヒアリング協力者 高岩 文雄、現所属 独立行政法人農業生物資源研究所

ヒアリング実施日：平成23年1月14日

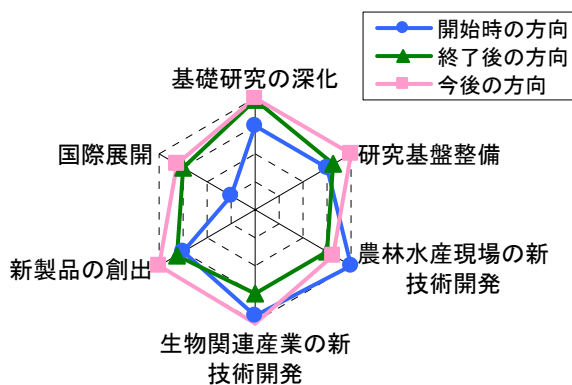
1. 研究の背景と位置付け

農作物に遺伝子組換え技術を用いて、糖尿病や肥満などの生活習慣病や肝炎ウイルスなどの感染症に対する予防・治療効果、あるいは花粉症などのアレルギー疾患に対する免疫緩和機能を付与することは、健康維持・増進や生活の質の向上に大いに貢献すると期待される。こうした健康機能作物は、現在既に諸外国で商品化されている、生産効率を重視した除草剤耐性や害虫抵抗性の遺伝子組換え作物とは異なり、上記のような疾病に苦しむ消費者からの切実な要望もあるため、世の中に受け入れられる可能性も高いと考えられる。

そこで、本コンソーシアムでは、健康機能成分を日本人の主食である米の可食部に高度蓄積させるシステムや抗生物質等の選抜マーカー遺伝子を除去するシステムをもとにして、健康機能作物を作成することとした。

2. 研究の展開

研究者へのアンケートおよびヒアリング調査の結果をスコア化し、新事業創出研究開発事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



コンソーシアム開始時は、農林水産現場や生物関連産業の新技术開発を研究の方向とした。終了時には、さらに基礎研究の深化や国際展開の方向性も高まり、今後は研究基盤整備や新製品の創出も高く掲げられている。

新事業創出研究開発事業の開始から今後の展望までの全体図を示した。

事業期間中の研究成果

マーカーフリーの疾病予防・治療米の作出手法を開発

スギ花粉アレルギーのヒトT細胞エピトープペプチドの遺伝子

インスリン分泌を促進するペプチドの遺伝子

マーカーフリーシステムを用いた遺伝子組換え

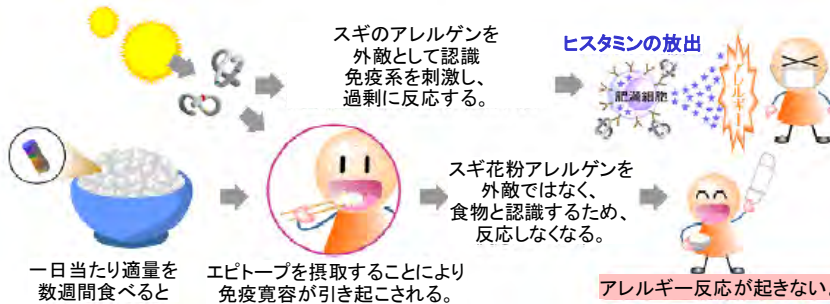
マーカーフリーシステムを用い、スギ花粉、糖尿病、高血圧などを予防・治療できる、健康機能性を付与した作物を作出し、安全性試験を展開。

スギ花粉症の緩和効果

血糖値コントロール効果

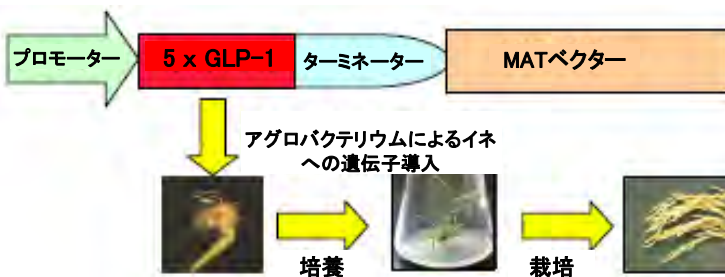
スギ花粉症緩和米、糖尿病予防米、血圧降下米などの作出

その後の展開



花粉症緩和米の開発

コメの胚乳にスギ花粉のアレルゲンを発現させたコメを開発し、アレルギーを抑える食物ワクチンを開発した。



糖尿病予防米の開発

コメにGLP-1を発現させ、糖尿病を予防する機能を付加させた。

疾病を予防・緩和する作物の作出法の確立

疾病予防・緩和するコメの開発

今後の展開



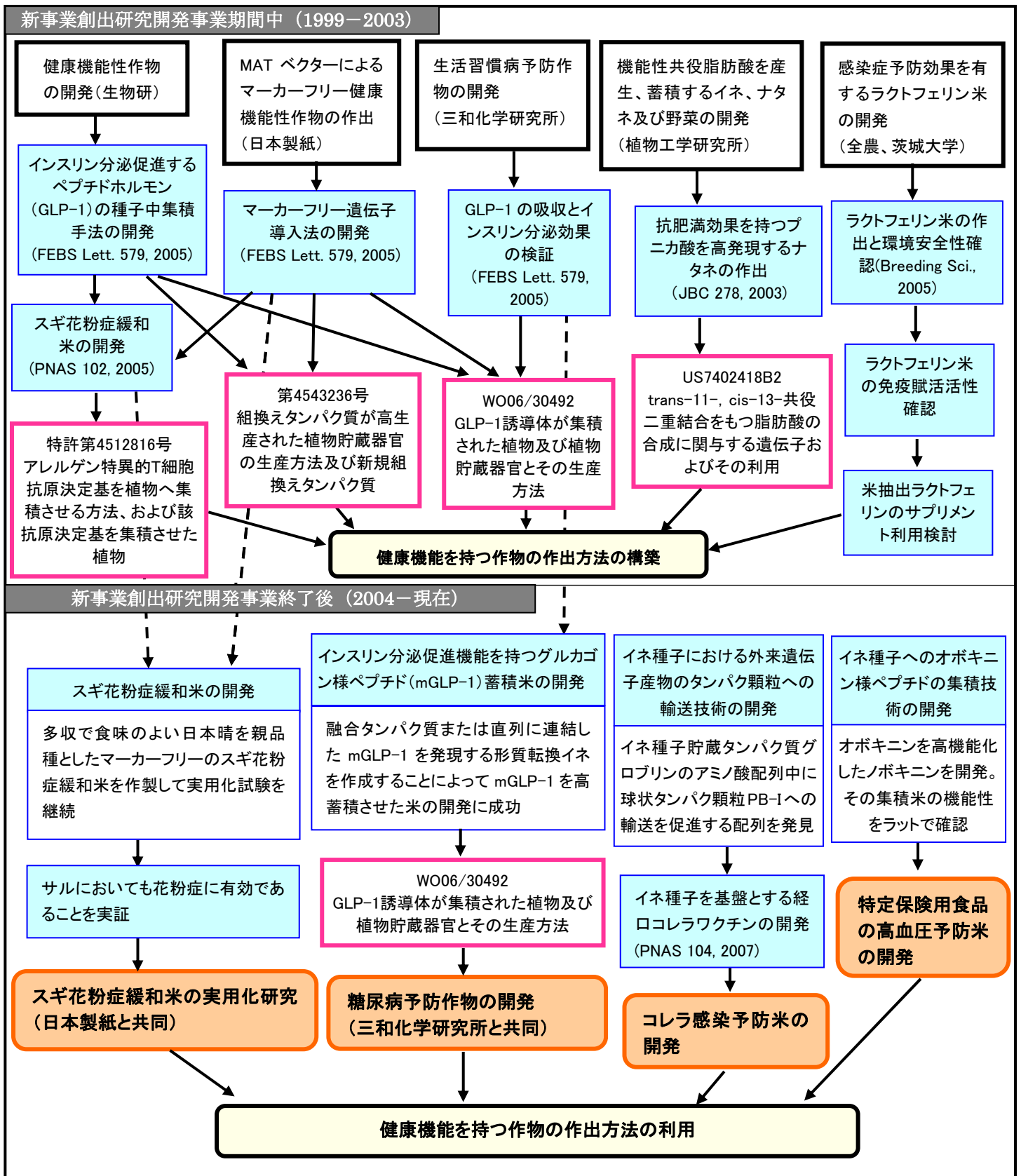
国民の健康維持と安全安心な食生活に貢献

夢

ヒトの健康維持に有効な遺伝子組換え作物が世に普及する

新事業創出研究開発事業の開始から終了後現在までの研究の展開を、文献・特許調査やヒアリング調査をもとにして俯瞰的に図に記した。

□ 中課題、 □ 研究成果、 □ 特許出願、 □ 実用化、 □ 効果



3. 新事業創出研究開発事業において実施された内容

(1) 研究目的

糖尿病、肥満等の生活習慣病や感染症、さらには主要なアレルギー疾患であるスギ花粉症に対して予防・改善効果のある機能性のペプチド・タンパク質・脂肪酸を、作物の可食部である種子中に特異的かつ高度に蓄積した健康機能性作物（主としてイネ）を開発する。関連する遺伝子の導入にあたっては、選抜マーカーである抗生物質耐性遺伝子などが脱離し、目的とする遺伝子だけが植物細胞内に導入・保持されるマーカーフリーシステムを活用して、それぞれの健康機能性作物を開発する。

(2) 研究内容

1) 共通基盤技術の開発

- ・形質転換体を選抜するときに用いる抗生物質耐性遺伝子を作物作出後に除去する方法を MAT ベクターシステムで開発し、マーカーフリー組換え作物を作出する効率を高める。また、イネにおいて作動することも確認されているこの技術を用い、消費者に安心感を与え商品価値の高い健康機能性マーカーフリー組換えコメを作出する。
- ・健康機能性成分をイネの種子中に高度かつ多面的に蓄積させるため、種子特異的プロモーターを開発する。

2) スギ花粉症に効果のあるペプチド含有米の開発

スギ花粉症の免疫緩和を目的として、スギ花粉症アレルゲンの T 細胞抗原決定基をコードする合成 DNA を貯蔵タンパク質遺伝子の可変領域に挿入し、高度発現システムを利用して、貯蔵タンパク質の一部として安定的に高度・集積させた組換え体イネを作出する。

3) 血糖コントロール作用を持つペプチド含有米の開発

血糖値は主としてインスリンによって制御されており、糖尿病患者はインスリン分泌を促進するペプチドホルモンが減少している。インスリン分泌不全 2 型糖尿病患者が毎日の食生活を通して食後過血糖を是正できるよう、このペプチドホルモンを高発現する米を遺伝子組み換え技術により作出する。

- ・摂取して吸収されるペプチドホルモンをデザインする。
- ・ペプチドホルモンを米に発現、貯蔵させ、安定に生産できるように遺伝子を構築する。
- ・新しい遺伝子組み換えシステムにより、安全な健康機能性作物として作出する。
- ・健康機能性作物について薬理効果や動物を用いた長期の食餌摂取試験を実施し安全性を確認するとともに、環境にもやさしい作物とする。

4) 感染症予防効果を有するラクトフェリン米の開発

母乳に含まれるラクトフェリン (LF) は、進入した病原菌を分解する免疫細胞を活性化する作用や、直接病原菌に作用して殺菌する作用がある。この LF を摂取すると胃腸内で消化されて、病原菌に対して LF より強い殺菌作用を有する小分子のラクトフェリシン (KFcin) に分解される。

- ・事業以前に作出されていた、米1kg当り0.5gのLFを生産するイネをプロトタイプとし、効率的なプロモーターやLFタンパク質の蓄積部位の特定を行って、新しい遺伝子組換え系を構築する。さらに、その組換え系を用いて高発現のLF、Lfcin生産イネを開発する。
- ・遺伝子組換え米でマウスを長期間飼育し、病原菌を感染させて予防効果の有無を判定する。あわせて、長期間動物に与えた場合、動物に他の悪影響を与えないかなどの安全性についても確認する。
- ・遺伝子組換えイネを栽培した場合、他の植物など環境に悪影響を与える可能性の無いことを実証することが必要であり、組換えイネの環境に対する安全性試験（イネの形態や生育特性・繁殖特性・雑草性・土壌微生物の変化など）を実施する。

5) 肥満予防効果等の機能を有する機能性共役脂肪酸を蓄積するイネ・ナタネの開発

ガン、心筋梗塞、脳卒中、糖尿病、肥満等の生活習慣病の治療や予防の有効成分の一つとして、共役脂肪酸が注目されており、中でも、共役リノール酸は、抗ガン作用、免疫向上作用、体脂肪の減少作用などの幅広い生理活性を有することが報告されている。

- ・毎日の食事で摂取するコメや野菜および食用油に、生理活性を持つ共役脂肪酸を十分量蓄積する作物の開発を行う。
- ・他の植物由来遺伝子を種子や葉で発現するイネやレタス、ナタネなどを作出する。
- ・作出した作物は、動物を用いた長期の食餌摂取試験により、その薬理効果や安全性を確認する。

(3) 主な研究成果

1) 選抜マーカー等を除去するシステムの開発

MATバクターを用いた種子胚盤を感染材料とする遺伝子導入法を開発した。さらに、ハイグロマイシン耐性遺伝子による遺伝子導入細胞の選抜と、遺伝子導入後の抗生物質耐性遺伝子を除去するため、HmMATバクターを構築し、マーカーフリー組換えイネの作出効率を高めた。このシステムを用いて、7Crp、GLP-1、ラクトフェリン、共役脂肪酸の合成遺伝子を効率的に導入したマーカーフリー組換えイネ（品種：日本晴）を開発した（図1）。

2) 高機能性成分をコメの可食部に高度蓄積させるシステムの開発

イネ種子における高度発現遺伝子について、プロモーターを単離してGUSレポーター遺伝子に連結してイネに導入し、プロモーター活性と発現部位を解析した。その結果、内胚乳への蓄積は26kDaグロブリンプロモーター、サブアリュールン組織へはグリテリンプロモーター、アリュールン組織や胚へはオレオシンプロモーターが、外来遺伝子を特異的に発現することを見出した。

3) スギ花粉症緩和米の開発

スギ花粉アレルギーの原因となっているアレルゲンのヒトT細胞抗原決定基を7個連結した人工ペプチド（7Crp、96アミノ酸）の発現遺伝子をイネに導入し、種子胚乳中に特異的に高度蓄

積された組換えイネを開発した。この米をマウスに摂食させ、スギ花粉アレルギー特異的な T 細胞の反応が 50%程度減少したことを確認した。このとき、アレルギー発症に強く関与する免疫グロブリン E (IgE) の産生量も 30%に抑えられていた。すなわち、開発した 7Crp 蓄積米を経口投与したマウスに、免疫寛容が誘導されることが明確となった。

4) 糖尿病予防米の開発

血糖値に依存してインスリン分泌を促進するヒト由来のペプチドホルモンであるグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) を、種子貯蔵タンパク質中に発現させる手法と、直接発現させる手法で、イネ種子胚乳中に高度蓄積させた組換えイネを開発した。この GLP-1 発現米 (品種: キタアケ) を加熱処理してマウスに摂食させた結果、血糖値の低下効果が確認された。

5) 感染症予防効果のあるラクトフェリン米の開発

グロブリンプロモーター、グルテリンシグナル、KDEL 配列の組み合わせにより、事業開始以前に作出されていたイネの約 5~10 倍 (平均 4 g/玄米 kg) のヒト LF を産生する系統を得ることに成功した。さらに、選抜マーカーとしてイネ由来アセト乳酸シンターゼ (ALS) 変異型遺伝子を利用して新薬剤ビスピリバックで選抜することにより 8 g/玄米 kg の系統を作出した。

このヒト LF 精米混合飼料を給餌したマウスでは、リンパ球やマクロファージの賦活活性に効果が高く、抗炎症効果や抗ウイルス効果が認められた。炊飯 LF 米ではこれらの効果はみられなかったが、コメからの抽出・精製による LF 標品コストは市販品の 1/10 であると試算された。

6) 抗肥満・抗がん作用を有するコメやナタネの開発 (図2)

ザクロやキカラスウリから単離した共役脂肪酸の一種、プニカ酸の合成酵素遺伝子をナタネおよびイネに導入し、これらの種子にプニカ酸が特異的に蓄積する組換え体を作成した。全脂肪酸中のプニカ酸の蓄積割合はナタネで 3.8%、イネで 5%であった。さらに、これらの種子より搾油したプニカ酸含有油の効果を動物摂餌実験で調べたところ、内臓脂肪蓄積抑制作用が認められた。



図1 健康機能性米の開発



図2 機能性共役脂肪酸蓄積作物の開発

4. 事業終了後の状況

(1) 研究発展状況

本課題の技術コーディネータの高岩文雄氏は、生研センターの基礎研究推進事業で平成8年度から平成12年度に実施された課題「生理機能調節性タンパク質集積作物の開発と利用に関する総合的研究」において「生理機能調整性タンパク質集積作物の分子育種」の研究を担当し、タンパク質をコメ可食部の胚乳に特異に集積するための遺伝子プロモーターを単離して、グリシニンを種子タンパク質あたり約10%程度集積させたコメの開発に成功した。本事業ではこの成果で培われた技術をさらに発展させるために4つの事業体が参画して、健康向上作物の研究開発に精力的に取り組み、スギ花粉症緩和米をはじめとした疾病の予防や治療が可能な作物を作出した。本事業に引き続き、農林水産省委託プロジェクト「アグリバイオ実用化・産業化プロジェクト」の一環として研究が推進された。これらの研究成果は、農林水産技術会議が毎年選定する農林水産研究成果10大トピックスの平成15年および平成17年に、それぞれ「ペプチド菓を多量に含む遺伝子組換え米の作出システムを開発」「スギ花粉症緩和米によるアレルギー症状の緩和・マウスで科学的有効性を証明」として第1位に認定されるなど、高く評価されている。

花粉症緩和米は実用化を目的として、日本製紙(株)との共同研究を進めている。開発当初は特定保健用食品を目指していたが、平成19年に厚生労働省より薬品として開発することとされ、平成21年にはサルにおける臨床試験でもアレルギー症状が緩和されることが実証された。コメという剤型で有効成分量を均一にする困難さなどの課題もあり、これまでにこの剤型での医薬品承認例はなく、医薬品開発ステップを踏んで食卓にのぼるには時間が必要だとみられてはいるが、日本発の遺伝子組換え作物の生物産業への利用としてトップを走り注目されている。その他、肥満抑制米(三和化学工業)、血圧調整米、コレラ予防米、コエンザイムQ10米などの研究が進められている。また、ベンチャー企業プリベンティックが2006年3月に農業生物資源研究所に設立された。ここでは、IL10やIL4などのサイトカインおよび抗体を大量に生産する米を作出して医療に役立てることを目標としているほか、組換えイネの作製とタンパク質生産の受託が行なわれている。

日本製紙では、経済産業省や農林水産省の複数のプロジェクトから外部資金を獲得し、マーカーフリーの高付加価値有用タンパク質産生組換え植物を創出すべく研究を続けている。遺伝子を導入したイネを選択する際に選抜マーカーを必要としないMATベクター®を開発し、23カ国で特許を取得した。遺伝子組換え米の栽培環境を整えるために栽培面積500平方メートルの大型温室を設置し、様々な有用タンパク質含有米の栽培検討を行っている。また植物工場でのイネの栽培の検討を行っている。組換え米を開放系圃場で栽培するためには超えなければいけない壁がたくさんあるが、植物工場での組換え体栽培は安全性の確保において優位性がある。本事業の研究分担者である海老沼宏安氏は研究現場から離れたが、日本製紙森林研究所の研究者が引き続き研究を行っている。

三和化学工業では、事業期間中の研究対象である血糖値依存的にインスリンを分泌する作用をもつペプチドホルモンであるグルカゴン様ペプチド1(Glucagon-like peptide-1、GLP-1)を米に高含量発現させ、その有用性を明らかにしている。この成果は、平成17年から18年には生研センターの「生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業・起業促進型」で「GLP-1発現米の糖尿病予防食品としての研究開発」のテーマで、市場化を視野に入れた安全性試験へと発展している。また、平成14年から20

年まで科学技術振興機構の戦略的創造研究推進事業「テーラーメイド医療を目指したゲノム情報活用基盤技術・転写調節系の分子解剖による糖尿病素因の探索」において、「液性因子薬剤の開発とインクレチン創薬」のテーマで資金を獲得し、精力的に実用化研究を進めている。

植物工学研究所で実施された機能性共役脂肪酸を産生するイネ、ナタネおよび野菜の作出の研究は、現在玉川大学農学部で継続され、ナタネへの遺伝子導入による脂質成分の改変研究が行われている。

(2) 新たな研究成果

1) 農業生物資源研究所

- ・種子中に外来有用タンパク質を安定的に集積させるシステムの開発

イネの種子で機能性タンパク質等を高レベルに発現させるための汎用的技術の開発を目指して、貯蔵タンパク質の細胞内輸送に関わる分子機構の解明に取り組んだ。その結果、イネ種子貯蔵タンパク質グロブリンのアミノ酸配列中に球状タンパク顆粒 PB-I への輸送を促進する配列を発見した。ER ストレスの回避により、物質の分解から蓄積へと転換することを発見し、種子中に目的タンパク質を集積する技術の確立に成功した。

- ・花粉症緩和米の開発

2005 年に農業生物資源研究所の隔離ほ場で栽培が開始され、マウスではくしゃみの数が 1/4 に軽減し、カニクイザルでも花粉症減感作用が確認された (図 1、図 2)。

- ・血圧調整米の開発

卵白由来タンパク質のオボキニンペプチドのアミノ酸配列を改変して高機能化させた 6 アミノ酸からなるノボキニンをコメに導入した。イネ種子の主要な貯蔵タンパク質であるグルテリンの可変領域に挿入してイネ種子胚乳に蓄積させた。さらに経口投与後に消化酵素で切断されるようにノボキニンの両末端にキモトリプシン切断サイトを結合している。ラットの実験により投与後 2 時間で血圧調整機能が認められた。

- ・インスリン分泌促進機能を有する改変グルカゴン様ペプチド (mGLP-1) 蓄積米の開発

インスリンの分泌を促進するペプチドホルモンである GLP-1 を高蓄積する米を開発するために、改変した mGLP-1 の融合タンパク質または直列に連結した mGLP-1 を発現する形質転換イネを作成することにより、mGLP-1 を高蓄積させた米の開発に成功した。

- ・イネ種子を基盤とする経口コレラワクチンの開発

コレラワクチンを種子に蓄積する遺伝子組換えイネを開発した。このイネの種子をマウスへ経口投与した結果、コレラ毒素に対する防御抗体が産生され、下痢の症状が抑えられたことから、経口コレラワクチンとしてのイネ種子の有効性が明らかになった。

2) 三和化学工業

- ・薬物耐性マーカーフリーの MAT ベクターを利用してイネの品種・日本晴に GLP-1 遺伝子を導入した。得られたイネを選抜し第 6 世代まで栽培した。組換えた遺伝子はゲノム上に 1 コピー存在

しており、米の形状は日本晴と差がなかった。また世代間で GLP-1 含有量に差が見られなかったことから GLP-1 発現米を確立することができた。

- 本組換え米を炊飯しマウスに与え血糖値の変化を調べたところ、GLP-1 発現米を与えたマウスの血糖は非発現米である日本晴を投与したマウスの血糖に比べ低く、GLP-1 発現米は加熱しても活性を失うことなく血糖値上昇を抑制した。
- GLP-1 レセプター欠損マウスに GLP-1 発現米と非発現米を炊飯して与えたところ両者に差が見られなかった。このことから GLP-1 発現米の血糖上昇抑制効果は GLP-1 によることが明らかになった。
- 自社販売薬である α グルコシダーゼ阻害薬ミグリトール（商品名セイブル）の投与により、上部小腸でのグルコース吸収が遅延することによりインクレチンが GIP から GLP-1 にシフトし、その結果、GLP-1 作用により膵 β 細胞が増殖することを明らかにした。
- インクレチンである GIP と GLP-1 は分解酵素 Dipeptidylpeptidase IV (DPP-IV)により直ちに血中で分解されて失活する。従って、DPP-IV 阻害薬は糖尿病の治療薬となる可能性があり、糖尿病薬として創薬開発を行なっている。小腸細胞における DPP-IV 遺伝子の発現は HNF-1 α (MODY3)と HNF-1 β (MODY5)で直接誘導され、変異によって転写効率や酵素活性が減弱することを明らかにした。従って、一連のインクレチン関連遺伝子は HNF 転写標的でもあり、有力な候補である。

3) 日本製紙

- 農林水産省の委託を受け、2007年1月より閉鎖型大型温室を小松島工場内に建設してスギ花粉症緩和米の実用化研究に必要な研究試料の栽培を行っている。栽培を行うのは栽培面積 500 平方メートルの大型温室で、温度と照明の制御により 3 期作が可能であり、年間 700 キログラムの米が収穫可能。
- 部位特異的組換え系 (R/RS) を用いて特定の位置に遺伝子を導入する技術としてイネ型 SDI システムを開発した。
- 閉鎖系植物工場でのタンパク質蓄積に有効な水耕栽培条件を検討した。またグロブリン、グルテリン、プロラミンの各貯蔵タンパク質のプロモーターを連結した mCTB 遺伝子を導入した組換え遺伝子を栽培した。
- コレラワクチン含有コメの作出に成功した。より有効な系統を選抜し純系化を進めている。得られた組換えタンパク質含有コメはロート製薬に供与し、そのワクチンとしての有効性や、安全性、生産品質評価を行った。栽培するための特定網室を設置し、栽培検討を行っている。

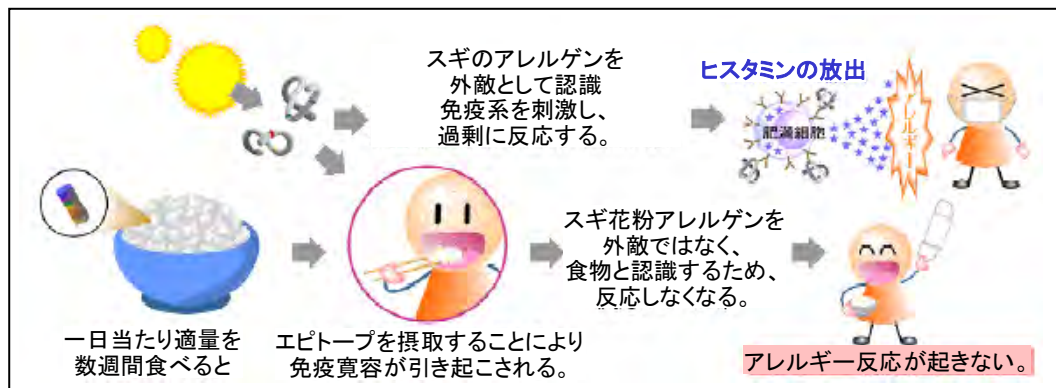


図1 スギ花粉症緩和米（経口ワクチン）の有効性

I. 遺伝毒性試験	花粉症緩和米を摂取することにより、遺伝子や染色体などに対して影響が出ないかを調べるため、3種類の試験を実施しました。	
	1. Ames（エイムズ）試験：ネズミチフス菌や大腸菌を用いて、遺伝子に突然変異を誘発させないかを調査する試験。	異常なし
	2. 染色体異常試験：ハムスターの培養細胞を用いて、染色体数や形態に異常を誘発させないかを調査する試験。	異常なし
II. 長期毒性試験	花粉症緩和米を一定期間摂取することにより、臓器等への影響が出ないかを調べるため、マウスとサルを用いて、長期に摂取した場合の毒性試験を実施しました。	
	1. マウス試験：マウスに13週間花粉症緩和米を給餌し、マウスの成長や行動、死亡率、臓器の異常、血液の異常等を調査する試験。	異常なし
	2. サル試験：サルに26週間花粉症緩和米を給餌し、サルの成長や行動、死亡率、臓器の異常、血液の異常等を調査する試験。	異常なし
III. 生殖・発生毒性試験	花粉症緩和米を摂取することにより、生殖や発生などに対して影響が出ないかを調べるため、ラットに花粉症緩和米を給餌して、2種類の試験を実施しました。	
	1. 生殖毒性試験：メスの受胎能、胚の初期発生、オスの精子数・形態・運動能について調査する試験。	異常なし
	2. 発生毒性試験：メスのラットを用いて出産前後の状態の観察と、その子供の反射・学習・行動・受胎能についての調査する試験。	異常なし
IV. 抗体産生性確認試験	花粉症緩和米が新たなアレルギーの原因物質になるか否かを確認するため、花粉症緩和米を13週間給餌したマウスと26週間給餌したサルの血清を用いて、スギ花粉やスギペプチドに対する抗体が産生しているかを試験しました。	抗体は産生していない（新たにアレルギーを誘発する可能性はないと考えられる）

図2 スギ花粉症緩和米の安全性評価試験結果の概要

（出典：農業生物資源研究所プレスリリース <http://www.nias.affrc.go.jp/press/2007/20070403/summary.html>）

(3) 波及効果

1) 科学技術的波及効果

日本人が主食とする米の胚乳に疾病予防機能を持つペプチドを特異的に高発現させる技術を開発したことにより、様々な疾病を予防・治療する植物ワクチンの開発が可能となり国内でも様々な機能性作物が開発されるようになった。また、本研究での MAT ベクターを利用した組換え米の作出技術は、世代をまたいで安定的に組換え米を系統化していくことを可能にし、今後様々な有用タンパク質の米での蓄積生産、経代栽培に活用できることが期待される。

組換え GLP-1 含有米に含まれる加熱処理した GLP-1 はコメ中に存在することで活性が保たれていると考えられ、安定性の低い有用タンパク質の生産にコメの利用が有効であることが期待できる。

MAT ベクターに引き続き部位特異的組換え系を用いた特定の位置に遺伝子を導入する技術として SDI システムを開発した。これにより確立できた高付加価値の組換え植物を迅速に作成する技術はタバコなどにも応用されている。「遺伝子組換え生物当の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(カルタヘナ法) の第二種使用の閉鎖系温室を設置しヒト IL-10 遺伝子組換え米の栽培委託を請け負い、わが国初の組換え作物の商業栽培をおこなっている。

2) 産業技術的波及効果

スギ花粉症緩和米は、特定保健用食品として開発されていたが 2007 年 3 月末に厚生労働省より医薬品としての開発が要請された。現在、コメによる経口投与薬としての試験が日本製紙と生物資源研究所の共同研究で進んでいる。また、GLP-1 タンパク質を生産させた糖尿病予防米は、三和化学研究所と共同で開発が継続されている。付加価値のある機能性米の開発に成功したことにより、機能タンパク質含有米の生産の可能性が広がっている。血圧調整米として卵白タンパク質由来のオボキニンのアミノ酸配列を改変した高機能化ペプチドを導入した米は、特定保健健康食品としての実用化に向けた研究開発として環境安全性、食品安全性試験が進められている。2006 年にはベンチャー企業プリベンティックが農業生物資源研究所で設立され、サイトカインなどの発現米の開発と遺伝子組換え米の受託開発が産業化されている。

さらに、経済産業省の「植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発」、「植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」、農林水産省の「アグリバイオ実用化・産業化研究」等のプロジェクトにおいて産官合同で実用化にむけて研究が進んでいる。医薬品をコメに蓄積させる技術の応用としてコレラワクチン含有米を作出し、東京大学医科学研究所と共同でカニクイザルによる実用化試験が行われている。遺伝子組換え作物が既に普及している海外での実用を目指し、衛生状態や経済状態の悪い環境でのコレラ対策として摂取の手間が要らないことやコストの面からも有望とされている。技術面では既にこれらの遺伝子組換え米を中心として開発が進められており、今後は経口投与用タンパク質医薬品や食品が認可され、普及に進む段階が産業界から待たれている。

3) 社会的波及効果

植物分野では 1990 年代から、分子農業として植物でワクチンを生産して精製することなく食物のままの形で投与する。食べるワクチン (edible vaccinn) が新しいワクチンとして注目されてきた。スギ花粉症患者は日本人の約 20%、予備軍は約 50%といわれ、花粉症関連の医療費は毎年約 3000 億円が供出されている。また、高血圧患者は日本で約 4000 万人おり、60 歳以上の高齢者では 6-7 割が高血圧症患者であるとされている。この医療費には年間約 2 兆円が支出されて

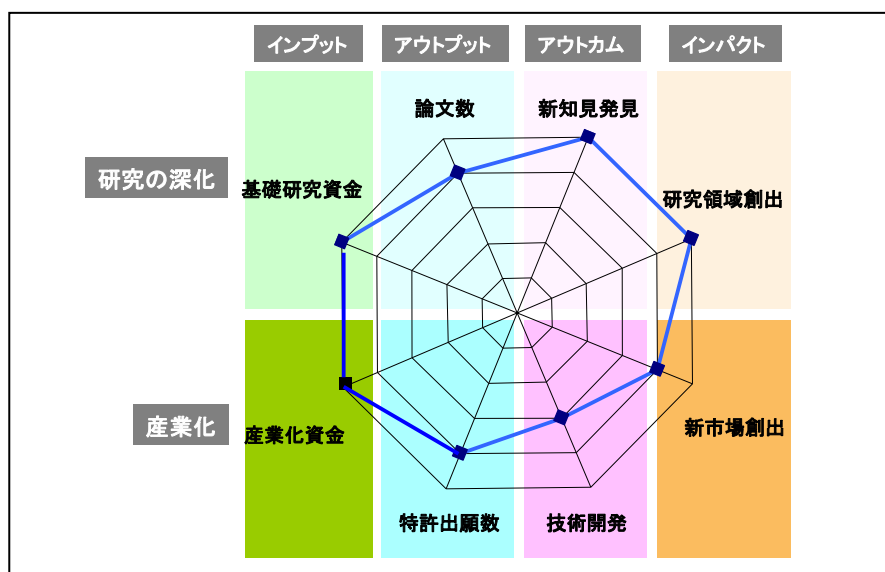
いる。このように、スギ花粉症緩和米や血圧調整米の社会貢献は高く、その開発が期待されている。

2006年に国連は「糖尿病の全世界的脅威を認知する決議」をおこなった。糖尿病は世界全人口の5～6%占めているといわれており、毎年増加している。この問題を速やかに解決することが求められている。加熱炊飯されたGLP-1に血糖値上昇抑制効果があることが明らかになり、GLP-1発現米の経口摂取により血糖値の調節ができる。これにより、製薬剤と異なる簡便な摂取が期待できる。

組換え植物の食糧としての摂取においては、安全性に対する配慮が重要である。本研究で開発されたマーカーフリーのMATベクターを利用することで、組換え体を選別するためのマーカーを組み込む必要がなくなり、消費者の安全性に対する不安解消に役立ち市場拡大にもつながる。スギ花粉による経済損失は2009年第一生命経済研究所の試算によると7500億円にも上る。スギ花粉米の開発はこの損失を大きく減らすことが期待できる。

(4) 成果・効果の分析 (対象：研究代表者)

検索調査結果、および研究者へのアンケートやヒアリングの結果から、基礎研究と産業化におけるインプット、アウトプット、アウトカム、インパクトをスコアリングし、本課題の事業期間から現在までの成果・効果を分析した。

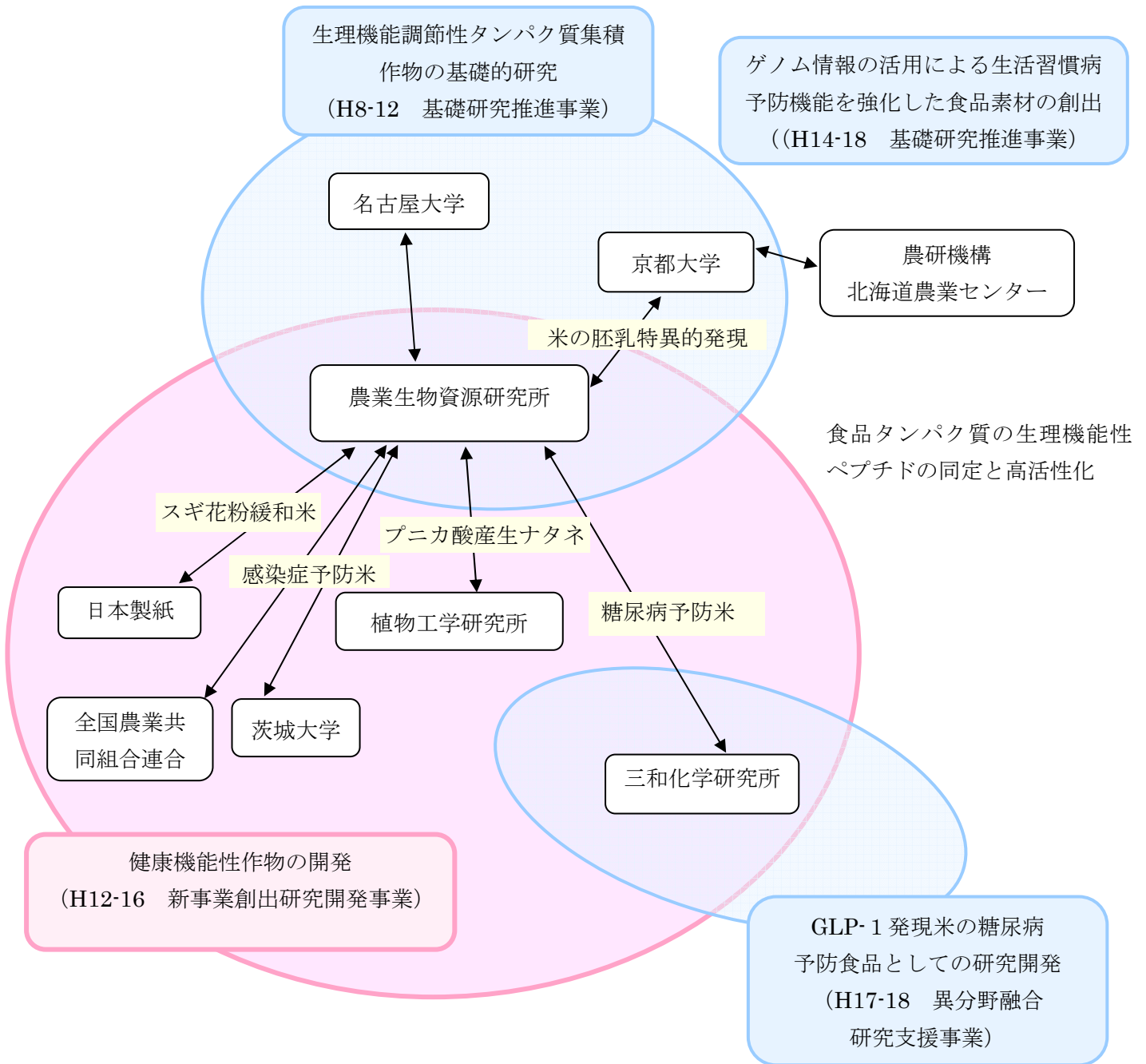


調査項目	インプット		アウトプット		アウトカム		インパクト	
	研究の深化	産業	研究の深化	産業	研究の深化	産業	研究の深化	産業
内容	基礎研究資金	産業化資金	論文数	特許出願数	新発見発見	技術開発	研究領域創出	新市場創出
最高値	5	5	4	4	5	3	5	4

基礎研究と産業化の両面を支援するための研究資金を十分に獲得し、その結果、得られた成果について数多くの論文発表および特許出願が行われている。研究の進化という面では、高生産性や抗害虫など生産者のニーズをターゲットとして既に海外で実用化されている第一世代の遺伝子組換え作物に対し、日々の食生活における疾病の予防や治療という消費者のニーズをターゲットとした第二世代の遺伝子組換え作物という新領域を創出したアウトカムやインパクトは極めて大きい。産業化の面では、開発の先端を進んだスギ花粉症緩和米が治療目的とされ医薬品扱いとされたことから、市場に出るまでにはまだ長い年月がかかるとみられている。

(6) コンソーシアム機関との共同開発状況

事業期間中および終了後のコンソーシアム内の研究グループの共同研究の状況を、アンケートおよびヒアリング調査結果をもとにして、下図に表した。



5. 有識者コメント

本研究は、新しいマーカーフリー遺伝子導入技術を開発するとともに、生活習慣病、感染症およびアレルギー疾患に対して予防・改善効果のあるペプチド、タンパク質あるいは脂肪酸を可食部の種子に蓄積する健康機能作物を開発する方法を確立しようとしたものである。大きな成果としては、MAT ベクターを用いたマーカーフリー遺伝子導入法など、目的とする健康機能作物を作出するための新規技術を開発したこと、および、スギ花粉症緩和米や抗肥満効果をもつプニカ酸を高発現するナタネ、感染症予防効果をもつラクトフェリン米などを実際に作出し、これによって健康機能をもつ作物の作出法を構築したことがあげられる。これらは、社会的、科学的、産業的に波及効果の極めて大きい優れた成果であり、その後、本事業を分担した研究機関において発展的に継続研究が行われている。現在までに、イネ品種日本晴を原品種とするマーカーフリースギ花粉症緩和米を作出してその効果をサルにおいて実証するとともに、インスリン分泌促進機能をもつグルカゴン様ペプチド蓄積米、コレラ感染予防米および特定保健用食品の高血圧予防米などの開発に成功している。我が国においては、遺伝子組換え作物を摂取することにはもちろん、栽培することにさえアレルギー反応を示す向きがある。健康機能作物が、認可、商業栽培され、市場開放されるまでにはなお時間が必要かもしれないが、本事業とその後の継続研究で開発された遺伝子導入技術や健康機能作物の作出技術は、諸外国に先んじる優れた技術である。研究をさらに発展させ、遺伝子組換えが重要な育種事業となっている国際社会の中で、我が国の優位性を示してほしい。

6. 成果論文

(1) 事業関連主要成果論文ランキング (対象：研究代表者)

1) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	35	Takaiwa, Fumio
2	17	Mason, Hugh S.
3	15	Yang, Moon-Sik
4	13	Daniell, Henry
5	12	Kim, Tae-Geum
5	12	Takagi, Hidenori
5	12	Yang, Lijun
8	11	Arntzen, Charles J.
9	10	Kang, Tae-Jin
10	9	Streatfield, Stephen J.

注1：太字、研究班

注2：下記の検索式を用いて“CHEMICAL ABSTRACT”からデータを得た

内容	検索式	件数	検索式 (CA)
ワクチン、アレルギー、コメ	L1	25	S (CEDAR(5A)POLLEN(5A)ALLERG? OR POLLINOSIS(W)(ALLEVIATING OR DESENSITIZING)) AND ((EDIBLE OR ORAL)(3A)VACCINE# OR RICE)
遺伝子組換え植物	L2	1,098	S (GENE(W)MODIFICAT? OR TRANSGENIC OR RECOMBINANT)(3A)(RICE OR PLANT#) AND (VACCINE# OR ALLERGY OR ALLERGEN# OR IRON(W)ACCUMULAT? OR DIABET? OR BIOPHARMING OR HEALTH(W)FOOD#)
遺伝子組換え食品	L3	181	S FOOD#(S)RECOMBINANT(3A)(PROTEIN# OR PEPTIDE#)
	L4	1,276	S L1 OR L2 OR L3
2000年以降	L5	1,150	S L4 AND PY>=2000
特許除外	L6	689	S L5 NOT P/DT

2) 主要成果論文数

事業期間中の主要論文数

年	2000	2001	2002	2003	2004	合計
海外誌	9	10	7	10	5	
国内誌	0	3	10	4	14	

(出典：終了時の研究成果報告書)

事業終了以降の主要論文数

年	2005	2006	2007	2008	2009	2010	合計
海外誌	20	17	10	9	22	7	
国内誌	13	10	9	10	16	6	

3) 被引用上位 10 論文の被引用数

事業前 (～1999)	事業中 (2000～・2004)	事業後 (2005～)
757	297	283

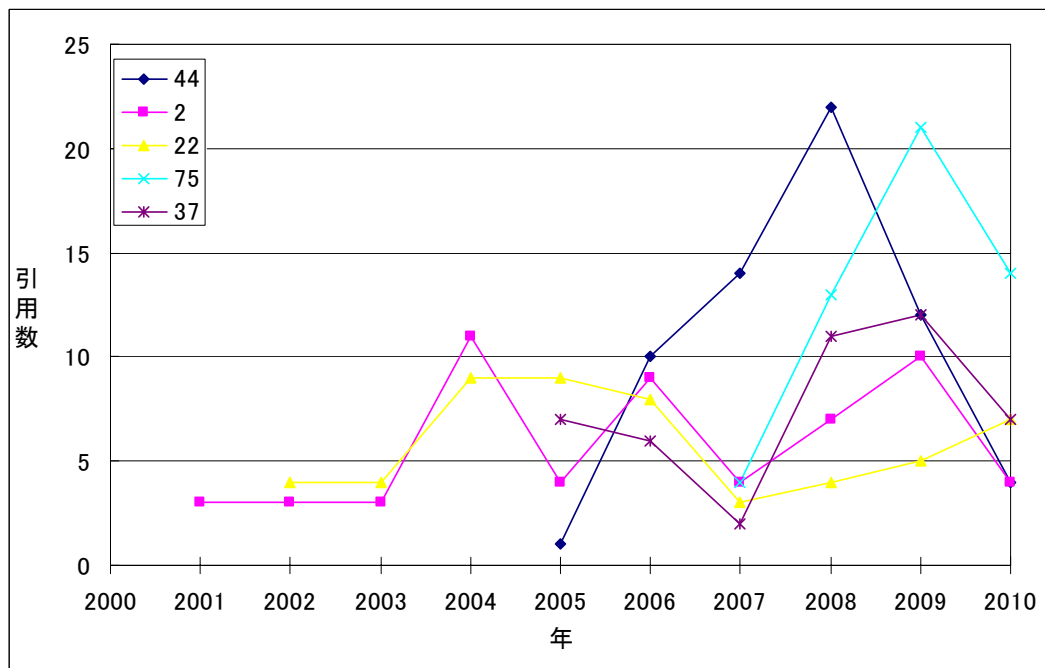
4) 被引用数上位 10 論文

事業前後の論文を対象として、新事業創出研究開発事業の期間中の成果論文を白抜き、終了後の成果論文を緑で示した。

順位	論文 No.	Year	Title	Authors	Journal, Vol.	引用数
1	44	2005	A rice-based edible vaccine expressing multiple T cell epitopes induces oral tolerance for inhibition of Th2-mediated IgE responses	Takagi H., Takaiwa F., et al.	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102	63
2	2	2000	Quantitative nature of the prolamin-box, ACGT and AACAA motifs in a rice glutelin gene promoter: Minimal cis-element requirements for endosperm-specific gene expression	Wu C.-Y. , et al.	Plant Journal, 23	58
3	22	2002	Rice SPK, a calmodulin-like domain protein kinase, is required for storage product accumulation during seed development: Phosphorylation of sucrose synthase is a possible factor	Asano T. , et al.	Plant Cell, 14	53
4	75	2007	Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination	Nochi T. , et al.	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 104	52
5	37	2004	Evaluation of tissue specificity and expression strength of rice seed component gene promoters in transgenic rice	Le Q.Q. , et al.	Plant Biotechnology Journal, 2	45
6	21	2002	Transgenic rice is a source of iron for iron-depleted rats	Murray-Kolb L.E. , et al.	Journal of Nutrition, 132	36
7	46	2005	Iron accumulation does not parallel the high expression level of ferritin in transgenic rice seeds	Qu L.Q., Yoshihara T. , et al.	Planta, 222	32
8	12	2001	A Rice Functional Transcriptional Activator, RISBZ1, Responsible for Endosperm-specific Expression of Storage Protein Genes through GCN4 Motif	Onodera Y., Suzuki A. , et al.	Journal of Biological Chemistry, 276	30
9	47	2005	Oral immunotherapy against a pollen allergy using a seed-based peptide vaccine	Takagi H. , et al.	Plant Biotechnology Journal, 3	29
10	30	2003	Antisense inhibition of isoamylase alters the structure of amylopectin and the physicochemical properties of starch in rice endosperm	Fujita N. , et al.	Plant and Cell Physiology, 44	28

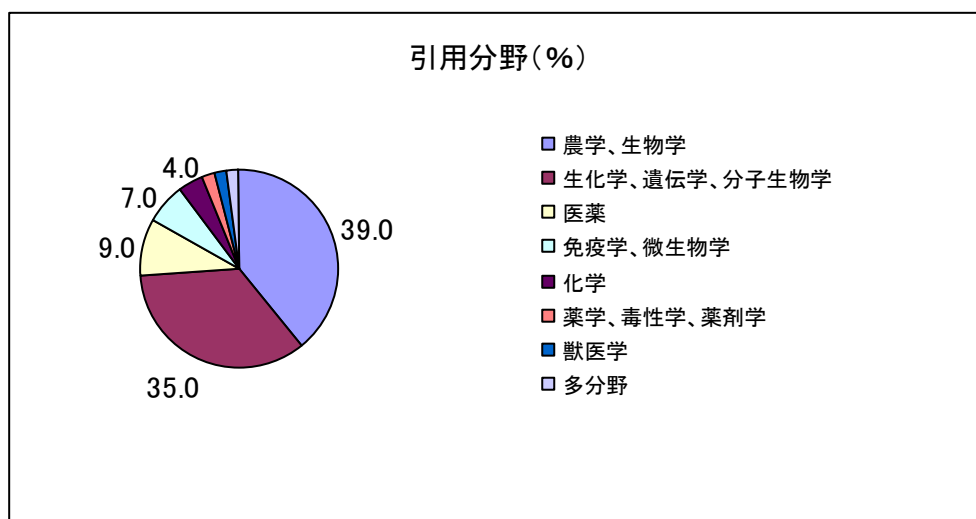
5) 被引用数の年次推移

被引用上位論文（5件）の引用数の年次推移を、事業期間中および終了後に分けて示した。



6) 引用論文の分野

被引用上位論文（10件）を引用した論文について、件数をそれらが掲載されている雑誌の分野別にまとめた。



7. 実用化データ

1) 特許出願

公開番号 または特許番号	発明・考案の名称	出願人・ 権利者名	発明者・考案者	出願 日
特開 2004-150888 特許第 3640388 号	標識された核酸またはタンパク質 の製造方法	独立行政法人農業 生物資源研究所 大 野清春	大野清春 小松 節子 高岩文雄	2002/ 10/29
特開 2003-334080 特許第 3940793 号	任意のペプチドを植物のタンパク 顆粒で蓄積させる方法	独立行政法人農業 生物資源研究所	川越靖 高岩文 雄	2002/ 5/15
特開 2005-130833 特許第 4019147 号	種子特異的プロモーターおよびそ の利用	独立行政法人農業 生物資源研究所	高岩文雄 曲楽 慶	2003/ 10/31
特開 2002-119282 特許第 4028956 号	イネ貯蔵タンパク質の発現を制御 する bZIP 型転写因子	独立行政法人農業 生物資源研究所 独 立行政法人農業食 品産業技術総合研 究機構	高岩文雄 小野 寺康之	2000/ 10/11
特開 2004-357568 特許第 4228072 号	アビジンをコードする人工合成遺 伝子	独立行政法人農業 食品産業技術総合 研究機構 独立行政 法人農業生物資源 研究所	與座宏一 大坪 研一 今村太郎 中村澄子 川崎 信二 高岩文雄	2003/ 6/4
特開 2004-321079 特許第 4512816 号	アレルギー特異的 T 細胞抗原決定 基を植物へ集積させる方法、およ び該抗原決定基を集積させた植物	独立行政法人農業 生物資源研究所	高岩文雄 高木 英典	2003/ 4/24
WO04/87910 特許第 4543236 号	組換えタンパク質が高生産された 植物貯蔵器官の生産方法及び新規 組換えタンパク質	独立行政法人農業 生物資源研究所 独 立行政法人農業食 品産業技術総合研 究機構 日本製紙株 式会社	杉田耕一 笠原 さおり 海老沼 宏安 高岩文雄 城森孝仁 林祐 二 田下聡 小 原由香里	2004/ 3/26
特開 2002-58492	外来遺伝子産物を植物の種子中に 高度に蓄積させる方法	独立行政法人農業 生物資源研究所 生 物系特定産業技術 研究推進機構	高岩文雄 多田 欣史	2000/ 8/22
特開 2007-111055	種子特異的プロモーターおよびそ の利用	独立行政法人農業 生物資源研究所	高岩文雄 曲楽 慶	2006/ 12/22
特開 2007-306941	種子特異的プロモーターおよびそ の利用	独立行政法人農業 生物資源研究所	高岩文雄 曲楽 慶	2007/ 8/24
WO05/96806	ワクチン遺伝子導入イネ	独立行政法人農業 生物資源研究所 株 式会社 東京大学 TLO 日本製紙株式 会社	清野宏 幸義和 廣井隆親 野地 智法 高岩文雄 高木英典 楊麗 軍 鈴木一矢 海老沼宏安 杉 田耕一 笠原さ おり	2005/ 4/8
特開 2008-109946	種子特異的プロモーターおよびそ の利用	独立行政法人農業 生物資源研究所	高岩文雄 曲楽 慶	2008/ 2/4
WO06/30492	GLP-1 誘導体が集積された植物及 び植物貯蔵器官とその生産方法	日本製紙株式会社 株式会社三和化学 研究所 独立行政法 人農業生物資源研 究所	杉田耕一 笠原 さおり 海老沼 宏安 高岩文雄 保田浩 城森孝 仁 林祐二 田 下聡	2004/ 9/14

公開番号 または特許番号	発明・考案の名称	出願人・ 権利者名	発明者・考案者	出願 日
特開 2008-295454	種子特異的プロモーターおよびその利用	独立行政法人農業 生物資源研究所	高岩文雄 曲楽 慶	2008/ 6/23
特開 2009-95244	ダニ抗原米	独立行政法人農業 生物資源研究所	高岩文雄 鈴木 一矢 楊麗軍	2007/ 10/12
特開 2009-254239	植物の内胚乳に特異的に発現する 遺伝子および該遺伝子のプロモ ーター、並びにそれらの利用	独立行政法人農業 生物資源研究所	高岩文雄 川勝 泰二	2008/ 4/11
特開 2009-273475	種子特異的プロモーターおよびそ の利用	独立行政法人農業 生物資源研究所	高岩文雄 曲楽 慶	2009/ 8/25
WO08/87998	RSIS を用いた簡便な遺伝子発現 抑制方法	独立行政法人農業 生物資源研究所	高岩文雄 保田 浩	2008/ 1/17
特開 2010-183904	組換え植物で発現して難抽出化し た組換えタンパク質の抽出・精製 方法	株式会社プリベン テック 独立行政法 人農業生物資源研 究所	藤原義博 関川 賢二 相木泰彦 高岩文雄 楊麗 軍	2009/ 12/25

2) 実用化

① スギ花粉症緩和米

農業生物資源研究所と日本製紙が共同で医薬品としての安全性試験および臨床試験を実施し、サルでそれぞれの有効性を評価している。

② 糖尿病予防米

農業生物資源研究所と三和化学研究所が共同で実用化試験を実施している。

③ 高血圧予防米

特定保健用食品としての実用化を目指し、イネ由来の選抜マーカー遺伝子を用いた血圧調整組換えイネの開発は、動物での有効性の確認、隔離ほ場での生物多様性評価、食品安全性評価を実施する予定。

④ コレラ予防米

特定保健用食品を目指して、カニクイザルを用いた動物実験などが進められている。

⑤ サイトカイン、抗体発現米

農業生物資源研究所から設立されたベンチャー企業プリベンテックにおいて開発が進められている。

⑥ 遺伝子組換えイネの作出受託

上記プリベンテックにおいて実施されている。

(付記) 主な調査参考資料

1. 農林水産生物資源研究所のホームページ
2. 株式会社日本製紙のホームページ http://www.np-g.com/about/research_forest.html
3. 三和化学研究所のホームページ

第2節 コンソーシアム2 (1) 環境ストレス耐性植物の開発

新事業創出研究開発事業

研究組織 代表者：篠崎和子、実施期間：平成12年度－16年度

	中課題名	所属（事業当時）	研究者
①	環境ストレス耐性遺伝子組換え作物の開発	独立行政法人国際農林水産業研究センター	篠崎 和子
②	環境ストレス耐性遺伝子組換え作物の開発	(株) 日立製作所	吉羽 洋周
③	ストレス耐性遺伝子組換え樹木の開発	王子製紙 (株)	日尾野 隆
④	環境マルチストレス耐性遺伝子組換え芝の開発	海水化学工業 (株)	常森 紀

ヒアリング協力者、篠崎 和子 現所属 東京大学大学院農学生命科学研究科応用化学専攻植物分子生理学研究室

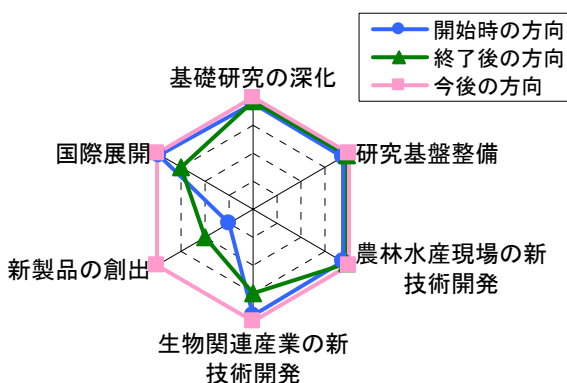
ヒアリング実施日：平成22年12月 2日

1. 研究の背景と位置付け

近年地球規模での温暖化による環境劣化は農業生産に大きな被害を及ぼし、また開発途上国では人口が増加を続けていることから、食料の安定供給は人類にとって最重要課題となっている。遺伝子組換え技術により農薬耐性や病虫害耐性作物が開発されてきたが、環境ストレス耐性植物の開発はその耐性機構が複雑であるため遅れていた。しかし種々の植物の遺伝子がゲノムレベルで明らかになり、1998年に本技術コーディネーターらが耐性関連遺伝子を発見して、モデル実験において高レベルの環境ストレス耐性植物の開発に成功した。本事業では、実用化可能な遺伝子組換え作物（イネ）や花卉（ペチュニア）、樹木や芝等の市場性の高い植物を用いて、産業創出への貢献を目指すこととした。また、環境耐性イネを開発することにより、世界を支える主要穀物であるトウモロコシやコムギ等への応用の道を拓き、食糧生産の安定化に貢献すると共に、環境耐性花卉、樹木や芝を開発することにより、環境保全や都市の緑化に貢献する。

2. 研究の展開

研究者へのアンケートおよびヒアリング調査の結果をスコア化し、新事業創出研究開発事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



事業開始当初から基礎研究の深化、研究基盤整備、および農林水産現場の新技术開発を研究の方向としている。新製品の創出については、事業期間終了時から現在へと大きく方向付けられており、成果の国際共同研究を中心とした応用に力が注がれている。

新事業創出研究開発事業の開始から今後の展望までの全体図を示した。

事業期間中の研究成果

環境ストレス耐性作物の作出

環境ストレス耐性イネの作出



調節遺伝子DREB1を導入し、乾燥・塩・低温のマルチストレス耐性イネを作出

環境ストレス耐性ユーカリの作出



ユーカリにDREB1Aを導入し、乾燥耐性を付与

耐塩性、耐乾燥性の各種作物を作出

その後の展開

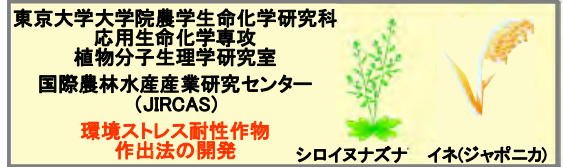
転写因子の導入による乾燥耐性の付与



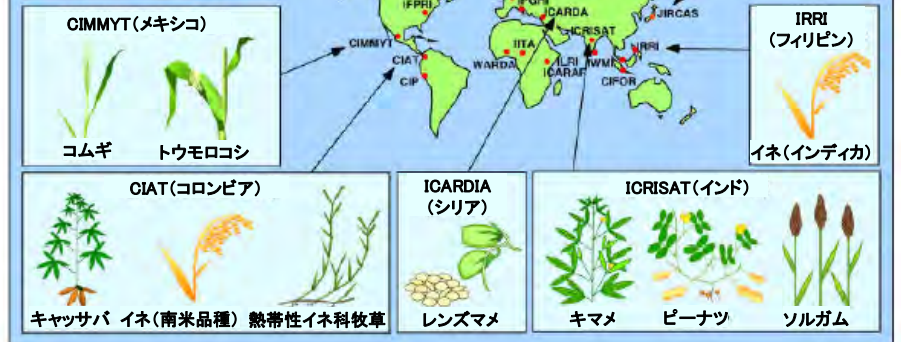
転写因子DREB1の導入により乾燥耐性コムギやピーナツを作出。

環境ストレス耐性作物の開発に向けた国際共同研究

世界各国との共同研究により環境ストレス耐性を付与した各種作物を作出。



CGIAR傘下の国際農業研究機関 環境ストレス耐性作物の開発



環境ストレスに強い作物の量産

今後の展開



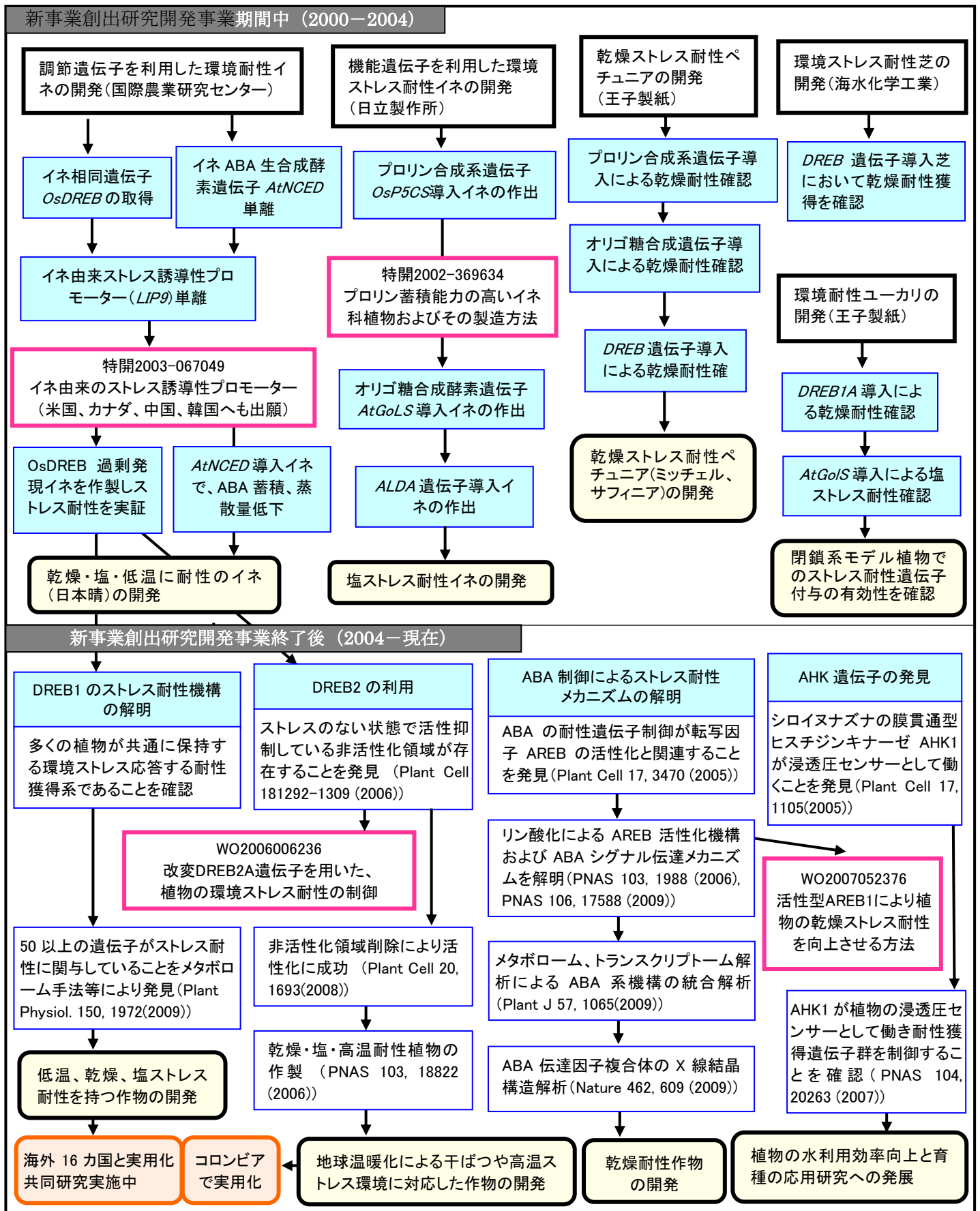
安定的な食糧生産

夢

研究成果を世界の食料増産につなげたい

新事業創出研究開発事業の開始から終了後現在までの研究の展開を、文献・特許調査やヒアリング調査をもとにして俯瞰的に図に記した。

□ 中課題、□ 研究成果、□ 特許出願、□ 実用化、□ 効果



3. 新事業創出研究開発事業において実施された内容

(1) 研究目的

近年、地球規模で緑地の砂漠化等の環境劣化や異常気象による農業被害が報告されている。これに対応するために、遺伝子組換え技術を活用した環境ストレス耐性植物を開発する。シロイヌナズナ等から単離した環境ストレス耐性遺伝子やストレス応答を制御する転写因子遺伝子等を用いて、環境ストレス耐性なイネや花卉（ペチュニア）、樹木（ユーカリ）や芝を開発し、新たな産業の創出、農業生産の安定化、環境保全、都市の美化などに貢献する。

(2) 研究内容

1) 調節遺伝子を利用した環境ストレス耐性イネの開発

- ・乾燥・塩・低温等の環境ストレスに対する耐性獲得のために働くシロイヌナズナの転写因子遺伝子の相同性遺伝子のイネからの単離とストレス応答や耐性獲得における機能の解明
- ・イネ由来の乾燥・塩・低温ストレス誘導性プロモーターの単離とそのストレスによる誘導性や組織特異性の解明、また取得プロモーターを利用した有用遺伝子を植物中でストレス時に特異的に発現させるベクター系の構築
- ・転写因子遺伝子及びストレス誘導性プロモーターを用いた乾燥・塩・低温ストレスに対して耐性を示す遺伝子組換えイネの開発

2) 機能遺伝子を利用した環境ストレス耐性イネの開発

- ・プロリン合成遺伝子またはオリゴ糖合成酵素遺伝子を用いた、塩ストレス耐性遺伝子組換えイネの開発。
- ・塩ストレス誘導性アルデヒド脱水素酵素遺伝子の単離と機能解析、およびその遺伝子をイネに過剰発現させることによる塩ストレス耐性組換えイネの開発。

3) 環境ストレス耐性ペチュニアの開発

- ・シロイヌナズナの転写因子遺伝子、プロリン合成酵素遺伝子、またはオリゴ糖合成酵素遺伝子を導入した、乾燥ストレス耐性を示す遺伝子組換えペチュニアの開発。

4) 環境ストレス耐性ユーカリの開発

- ・シロイヌナズナの転写因子の遺伝子導入による乾燥ストレス耐性遺伝子組換えユーカリの開発。
- ・ユーカリ由来のストレス応答性遺伝子の単離及びそのプロモーターの同定。このプロモーターを利用してユーカリにおけるストレス耐性付与遺伝子の効率的発現制御系の確立。

5) 環境ストレス耐性芝の開発

- ・環境ストレスに働く遺伝子を芝に導入による環境緑化に利用可能な芝の作出。

(3) 主な研究成果

1) 調節遺伝子を利用した環境ストレス耐性イネの開発

- ・乾燥・塩・低温等の環境ストレスに対する耐性獲得のために働くシロイヌナズナの転写因子遺伝子 *DREB* の相同性遺伝子をイネから単離して、*OsDREB* と名付け、ストレス応答や耐性獲得における機能を明らかにした。また、イネからシロイヌナズナの ABA 生合成酵素 *NCED* 遺伝子と相同遺伝子を単離した。
- ・イネ由来の乾燥・塩・低温ストレス誘導性プロモーター (*LIP9* や *OsNAC6* プロモーター等) を多数単離して、ストレスによる誘導性や組織特異性等の性質を明らかにした。また、単離したストレス誘導性の *LIP9* プロモーターを利用して、*DREB* 遺伝子等の有用遺伝子を植物中でストレス時に特異的に発現させるベクター系 (*LIP9:DREB1A*) を構築した。
- ・シロイヌナズナの環境ストレス耐性の獲得において機能する転写因子をコードする、*DREB* 遺伝子またはイネの *OsDREB* 遺伝子とイネのストレス誘導性プロモーター (*LIP9*) を用いて、乾燥・塩・低温ストレスに対して耐性を示す遺伝子組換えイネ (品種: 日本晴、コシヒカリ) を開発した。また、*DREB* 遺伝子を導入することにより、イネ中で多くのストレス耐性遺伝子群が誘導されていることをマイクロアレイ解析により明らかにした。(図 1、2、3)
- ・シロイヌナズナから単離した植物ホルモンのアブシジン酸 (ABA) の合成酵素をコードする遺伝子 *NCED3* 遺伝子を用いて、乾燥に対し耐性を示すイネ (日本晴) を開発した。

2) 機能遺伝子を利用した環境ストレス耐性イネの開発

- ・イネまたはシロイヌナズナのプロリン合成系遺伝子 *OsP5CS*、またはシロイヌナズナのオリゴ糖合成酵素遺伝子 *AtGolS* を用いて、塩ストレスに対して耐性を示す遺伝子組換えイネを開発した。これらの塩ストレス耐性イネではオリゴ糖やプロリンを多量に蓄積していることを明らかにした。
- ・イネの塩ストレス誘導性を示すアルデヒド脱水素酵素遺伝子 *OsALDH* を単離して、機能を解析し、その遺伝子をイネに過剰発現させることにより、塩ストレス耐性を示す組換えイネを開発した。

3) 環境ストレス耐性ペチュニアの開発

- ・シロイヌナズナの転写因子遺伝子 *DREB1A*、プロリン合成酵素遺伝子 *AtP5CS*、またはオリゴ糖合成酵素遺伝子 *AtGolS2* を導入した、乾燥ストレスに対して耐性を示す遺伝子組換えペチュニア (品種: ミッチェル、サフィニア) を開発した。乾燥耐性ペチュニアは、鉢植えや公園等に利用することにより、都市生活の美化に役立つと思われる。

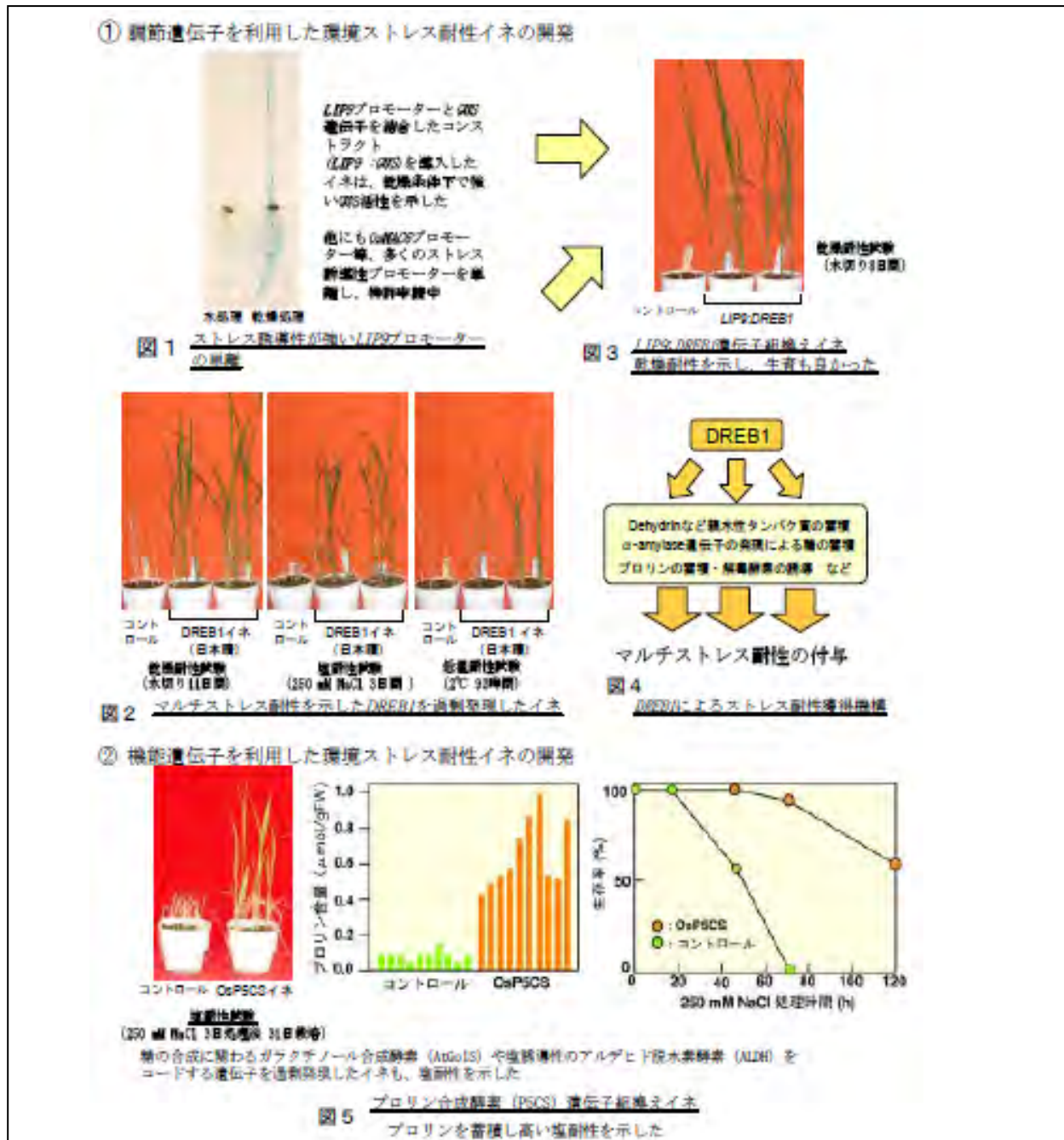
4) 環境ストレス耐性ユーカリの開発

- ・シロイヌナズナの転写因子をコードする *DREB1A* 遺伝子を導入して、乾燥ストレスに対して耐性を示す遺伝子組換えユーカリを開発した。乾燥耐性ユーカリは、特に海外において、緑地帯の回復や表土流出の防止等の地球環境保全に役立つと思われる。
- ・ユーカリ由来のストレス応答性遺伝子を単離して、そのプロモーターを同定した。このプロモーター

ターを用いることにより、ユーカリにおいてストレス耐性付与遺伝子を効率的に発現制御する系を確立した。

5) 環境ストレス耐性芝の開発

- ・コウライ芝に17種の乾燥耐性に関連する遺伝子を導入し、強い乾燥耐性を示す*DREB1*遺伝子導入株を取得した。また、従来の形質転換体作出技術では選抜過程を終えた再分化植物から発生したほふく茎由来株を得るまで約3年を要していたが、選抜以降の過程を改良することにより約半分の期間に短縮することができた。



出典：新事業創出研究開発事業（2004年度終了課題）研究成果
<http://brain.naro.affrc.go.jp/tokyo/gijutu/seikasyusassi/16seikasyu.pdf>

4. 事業終了後の状況

(1) 研究発展状況

本事業の技術コーディネーターの篠崎和子氏は、平成8年度から平成12年度に実施された新事業創出研究開発事業「乾燥・塩ストレス体制の分子機構の解明と分子育種への応用」において、遺伝子組換えによる環境ストレス耐性植物の創製に成功した。本事業では、3つの企業との共同研究により、その成果を作物、花、樹木、芝に応用する技術が確立されたが、日本においては組み換え植物の実用化に対して社会的認容を得ることは極めて困難であり、企業で開発を継続することは不可能と思われた。そこで、事業終了後には日本学術振興会や科学技術振興機構（JST）地球規模課題対応国際科学技術協力事業（SATREPS）、科学研究費植物環境突破力等から研究資金を得て、海外との共同研究活動を活発に行い、植物のストレス耐性機構の基礎的研究を続行するとともに地球規模で幅広く実用化することを目指した研究を展開している。その結果、*DREB* 遺伝子の環境耐性作物開発への利用研究に関しては国際的な広がりを見せ、国際農業研究協議グループ(CGIAR)などで16カ国と共同研究を行い、イネ、コムギなど多様な作物について、遺伝子導入やストレス誘導性プロモーターの利用を試みており、ほ場実験にまで進んだ例も多く、コロンビアでは実用化に至った。また、研究体制についても世界貢献を視野に入れて整備し、2001年の国際農林水産研究センター（JIRCAS）の設立に貢献し、組み換え植物に対する期待と必要性が高い海外の研究機関との共同研究の推進を強化している。

一方、国内研究については、事業により得られた基礎研究の成果がJIRCAS、東京大学及び理化学研究所との共同研究に引き継がれ、より多くの成果が生まれている。植物に関連する転写因子 *DREB* を中心とした植物の環境ストレス応答の制御や耐性獲得について、マイクロアレイやメタボローム解析を用いて研究を進め、*DREB1* 遺伝子は植物が共通に保持する環境ストレスに応答に対する耐性の獲得系であることを明らかにした。また *DREB2* タンパク質を解析することにより、改変 *DREB2* 遺伝子導入植物は、高い乾燥、塩、高温ストレス耐性を獲得することを発見した。

また、植物ホルモン ABA に関しては、理化学研究所との共同研究により、乾燥ストレス応答にかかわるメタボローム解析等により、ABA がその制御に重要な役割を持つこと、ABA のシグナル伝達経路の解明、更には ABA のシグナル伝達因子との複合体の X 線結晶構造解析等の基礎研究が進展している。これらの成果を基礎として植物の生長に必須である水に対するストレスセンサーに着目した「植物の水利用効率に関わるストレス感知機構解明と分子育種への応用」が平成22年度の生研センターのイノベーション創出基礎的研究推進事業に採択され、さらなる作物の機能向上の基礎研究と応用への道を築いている。

(2) 新たな研究成果

1) 転写因子 *DREB1* に関する研究

DREB1 は植物の低温耐性ストレス機構で働く転写因子であり、低温耐性遺伝子群の働きを活性化させる。本事業期間内に *DREB1* 遺伝子をストレス誘導性プロモーターと組み合わせてシロイヌナズナに導入すると、得られた遺伝子組み換え植物はこれまでにない高いレベルの乾燥・塩・低温耐性を示すことを確認していた。

- ・マイクロアレイやメタボローム解析を用いて、植物中ではストレス時に50以上の耐性遺伝子群

が働いていること、適合溶質として耐性獲得に働くことが示されている糖やアミノ酸が高レベルで蓄積されていることを明らかにした。

- ・タバコやイネの中で **DREB** 遺伝子を過剰発現させると、シロイヌナズナと同様に高レベルの乾燥・塩・低温耐性を獲得することなどから **DREB1** 遺伝子は多くの種類の植物が共通に保持する環境ストレスに応答する耐性獲得系であることを明らかにした。

2) 転写因子 **DREB2** に関する研究

DREB2 はシロイヌナズナの乾燥、塩、高温ストレス耐性機構で働く転写因子であり、植物の多くの耐性遺伝子を活性化するが、この遺伝子自体を植物中で高発現させても変化は認められなかった。

- ・本事業期間終了後、**DREB2** タンパク質には非活性化領域があり、非ストレス条件下では、この領域が **DREB2** の働きを抑えていることが分かった。この領域を削除して **DREB2** をシロイヌナズナに導入すると、乾燥、塩、高温ストレスに対する高い耐性が観察され、この植物体中では、多くのストレス耐性遺伝子の働きが強められた。
- ・その後、この系にはストップ機構があることが判明し、単子葉のイネや双子葉シロイヌナズナやダイズで検証したところ、植物毎に機能が異なっているためそれぞれの植物で検討する必要があることが明らかとなった。**DREB2** は地球温暖化による干ばつや高温ストレス環境に対応した作物の開発に重要な遺伝子と考えられる。

3) 環境耐性作物開発のための国際共同研究の推進

DREB 遺伝子の環境耐性作物開発への利用について国際共同研究を実施している。

- ・国際農業研究協議グループ(CGIAR)など 16 ヶ所以上と共同研究を行い、イネ、コムギ、トウモロコシ、マメ、イモ、牧草などの多様な植物について、遺伝子導入やストレス誘導性プロモーターの利用を試みている。世界の食料を支えるイネやコムギなどでは国際イネ研究所 (IRRI、イネ：インディカ) や国際トウモロコシコムギ改良センター(CIMMYT、コムギ)や国際熱帯農業研究センター(CIAT、南米産イネ)と共同で、それぞれ作物を取り決めて応用研究を実施中である。これらの研究所ではこれまで行ってきた従来の交配技術等による高収量品種の開発に加え、この **DREB** を用いた遺伝子組換え技術が新たな農業技術革新へと発展することが大いに期待されている。
- ・マメ科作物では国際半乾燥熱帯作物研究所 (ICRISAT、ピーナッツ、ピジョンピー) やブラジル農牧公社 (EMBRAPA、ダイズ) などとの共同研究を実施中である。(図1)

4) 植物ホルモン ABA (アブシジン酸) に関連する耐性メカニズムの解明

ABA は、高等植物に広く存在し、水ストレスの応答に重要なシグナル伝達物質である。多くのストレス応答性遺伝子は **ABA** 処理により発現が誘導されることが知られている。本事業でシロイヌナズナから単離した **ABA** 合成酵素をコードした遺伝子 *NCED3* を導入した乾燥耐性イネを開発した。また、劣悪環境適応で中心的な役割を果たす **ABA** のシグナル伝達経路とそこで機能する主要因子を

明らかにした。この系の人為的制御により劣悪環境に耐性を持つ作物の創製に寄与することが期待される。

- ・ ABA による耐性遺伝子群の制御において転写因子遺伝子 AREB が重要な機能を果たしていることを明らかにした。具体的には、植物体中ではそのままでは機能せず AREB タンパク質の複数個所がリン酸化され、その構造変化により活性化すること、またそのリン酸化には ABA によって活性化されるキナーゼが関与することを明らかにした。
- ・ 活性型 AREB タンパク質を植物体中で働かせると植物は高レベルの乾燥耐性を示した。またマイクロアレイによる解析により、多数の乾燥ストレス耐性遺伝子が増加して強い働きを示していることを確認した。(Proc. N.A.S.2006/02/06)
- ・ 理化学研究所との共同研究において、乾燥ストレス下で変動する代謝物質を質量分析法により測定するメタボローム解析を行う一方で、マイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析による遺伝子間の相関解析を行い、さらにこれらの統合解析を行った。その結果、乾燥ストレス応答性の代謝物質や合成関連遺伝子に関して、ABA 依存的な系や非依存的な系の存在などより多くの経路を包括的に明らかにすることが出来た。(The Plant Journal (2009) 57(6)1065-78)
- ・ ABA の細胞内シグナル伝達系について研究を進め、ABA の受容体結合から環境ストレス遺伝子発現までのシグナル伝達経路を確定した。(PNS (2009/09/21)) 次いで ABA がシグナル伝達因子と結合した複合体の X 線結晶解析を行うなど ABA の乾燥耐性ストレスの分子メカニズム解明へと進んでいる。(Nature (2009) 462, 609-614)

5) 浸透圧ストレスを受容するセンサー遺伝子の発見

シロイヌナズナの AHK1 という膜貫通型ヒスチジンキナーゼが酵母中で浸透圧センサーとして働くことを明らかにした (Plant Cell 2005)。その後理化学研究所と共同研究で、シロイヌナズナの AHK1 遺伝子が、植物の乾燥や塩害等による浸透圧ストレスを受容して、耐性獲得に働く遺伝子群を制御するセンサー遺伝子であることを明らかにした。この AHK1 遺伝子を有用遺伝子として用いることにより干ばつや塩害に強い作物を開発することが期待されている。(PNS2007/12/08)

6) 「植物の水利用効率に関わるストレス感知機構解明と分子育種への応用」プロジェクト開始

平成 22 年度の生研センターイノベーション創出基礎的研究推進事業に「植物の水利用効率に関わるストレス感知機構解明と分子育種への応用」(研究代表者：理化学研究所 篠崎一雄氏、研究実施機関 平成 22 年度～26 年度 5 年間)が採択された。(独)理化学研究所植物科学研究センター、東京大学及び(独)国際農林水産業研究センターと共同研究プロジェクトであり、植物の水利用効率の向上を図るため、植物における水分ストレスセンサーの解明及び水分ストレス感知から遺伝子発現に至る初期応答にかかわる分子システムの解析、更に解明されたこれらの遺伝子を利用して、植物の水利用効率に関わる新たな評価法を開発するとともに、今後の作物の分子育種に役立てることを目的としている。本代表者はこの中で浸透圧ストレスセンサーシステムの同定と水分利用効率の向上に関する分子種への応用の部分を担当する。

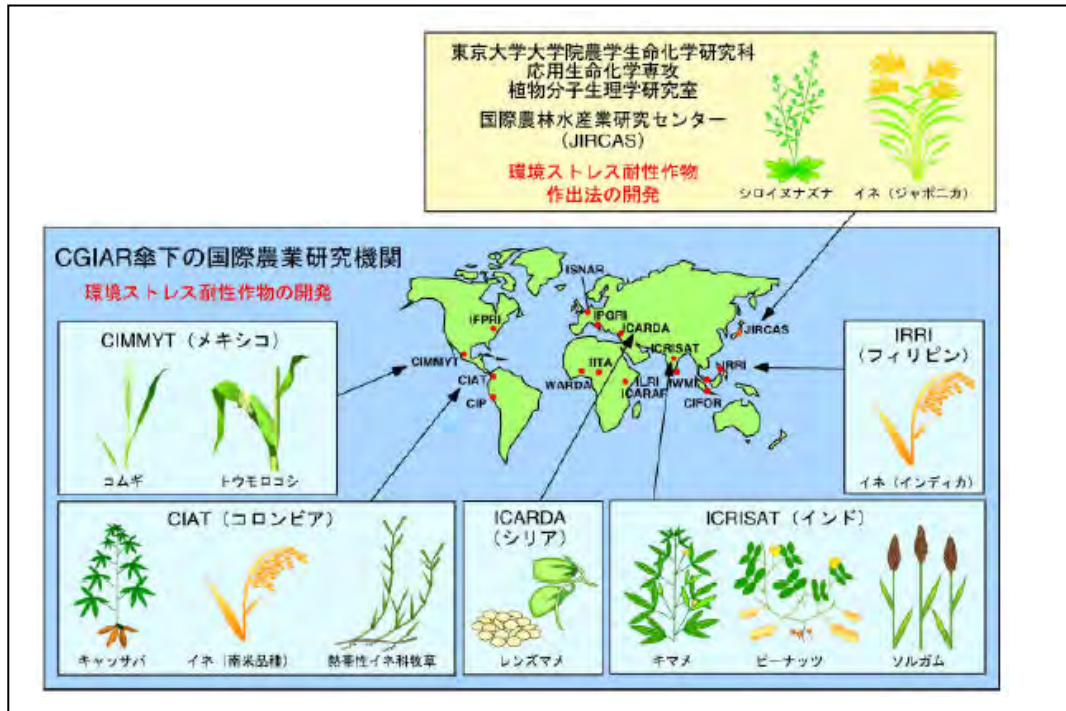


図1 環境ストレス耐性作物の開発に向けた国際共同研究

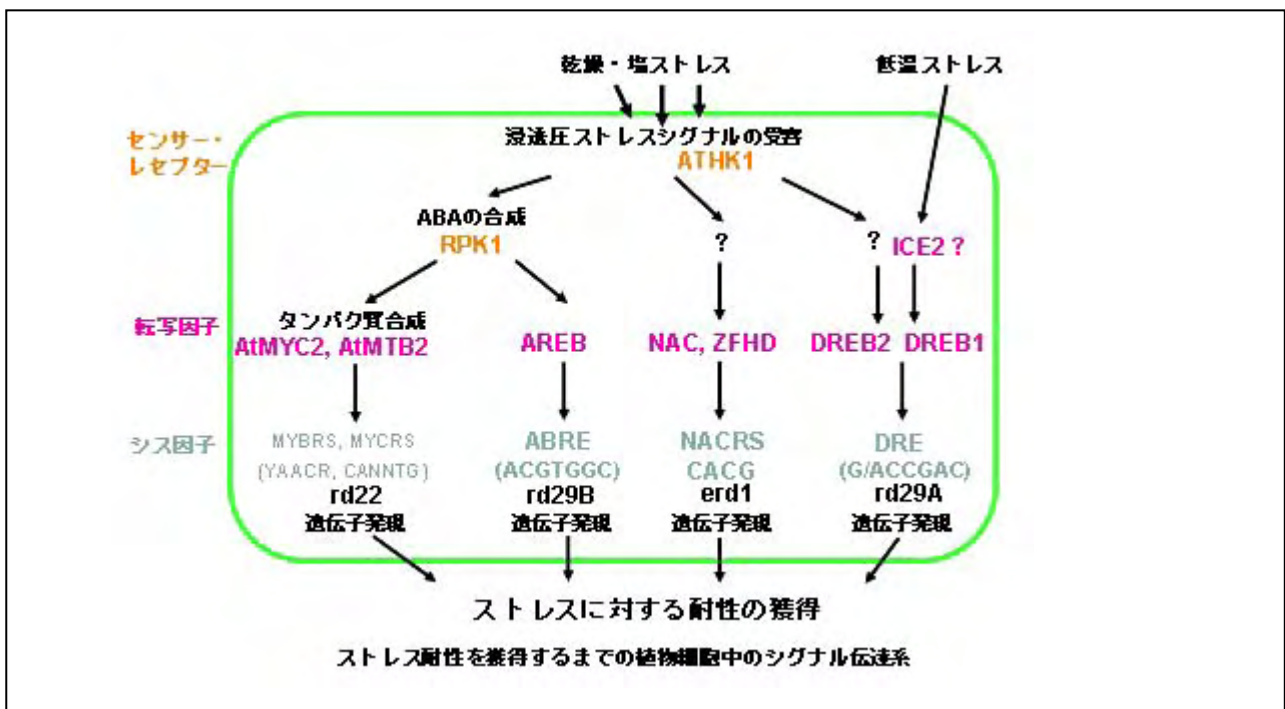


図2 ストレス耐性を獲得するまでの植物細胞中のシグナル伝達系

(出典：図1：「環境ストレス耐性作物の開発」、日本学術会議公開シンポジウム資料 (2010年8月6日)

図2：篠崎教授ホームページ http://park.its.u-tokyo.ac.jp/pmp/Research/Res1_j.html)

(3) 波及効果

1) 科学技術的波及効果

本事業を含む一連のストレス関連遺伝子に関わる研究から、高温、冷温、高塩濃度、乾燥などのストレスに応答する遺伝子として DREB や AREB などが発見され、地球規模での食糧生産の向上を目指す国際的共同研究が大きく広がった。世界で主食とされているイネやコムギなどでは、国際イネ研究所 (IRRI、イネ:インディカ)、国際トウモロコシコムギ改良センター (CIMMYT、コムギ)、国際熱帯農業研究センター (CIAT、南米産イネ) で DREB 遺伝子の活用研究が共同で行われている。また、タンパク質源であるマメ科作物は開発途上地域の国際半乾燥熱帯作物研究所 (ICRISAT、ピーナッツ、ピジョンピー) やブラジル農牧研究公社 (EMBRAPA、ダイズ) などで共同開発が行われている。

植物のストレス応答ネットワークの解明にトランスクリプトームとメタボロームの統合解析等、最先端の解析技術が導入された。その結果、上記遺伝子の他にもストレス耐性に関連する遺伝子が確認されており、今後更に作物の生産収量の向上や品質の向上へ適用する道が拓かれた。

2) 産業技術的波及効果

ストレス耐性作物に関する世界 16 ヶ国との実用化共同研究が実施され、ブラジル、フィリピン、メキシコなどでは場実験へと進んだほか、コロンビアでは実際に実用化が始まっている。一方、国内では遺伝子組換え作物の環境での利用について社会的なコンセンサスが得られておらず現在のところ実用化は厳しいと見られているが、生研センターなどの資金を獲得してさらに新たな耐性機構の解明と応用の研究が実施されている。

3) 社会的波及効果

地球温暖化や人口増加による世界的規模の食糧補給が社会的問題になっている。また世界各地での異常気象が農業に多大な被害を与えており、乾燥・塩・高温・低温等の環境ストレス耐性植物の開発はこれらの環境劣化や異常気象、人口増加に対応する新しい農業技術の革新をもたらすものとして、世界的に注目されている。開発途上国においては、環境ストレス耐性作物は農業生産力を向上させ、経済的な安定がもたらされる。植物分野における遺伝子組換え技術は日本が世界をリードしており、作物の栽培面積増加や栽培期間の長期化等農業生産力の増加により食糧増産への貢献が期待されている。

また、環境ストレス耐性植物の開発が樹木や花卉に及べば、二酸化炭素の吸収による地球温暖化の防止や都市に緑化に寄与することが出来ると考えられている。

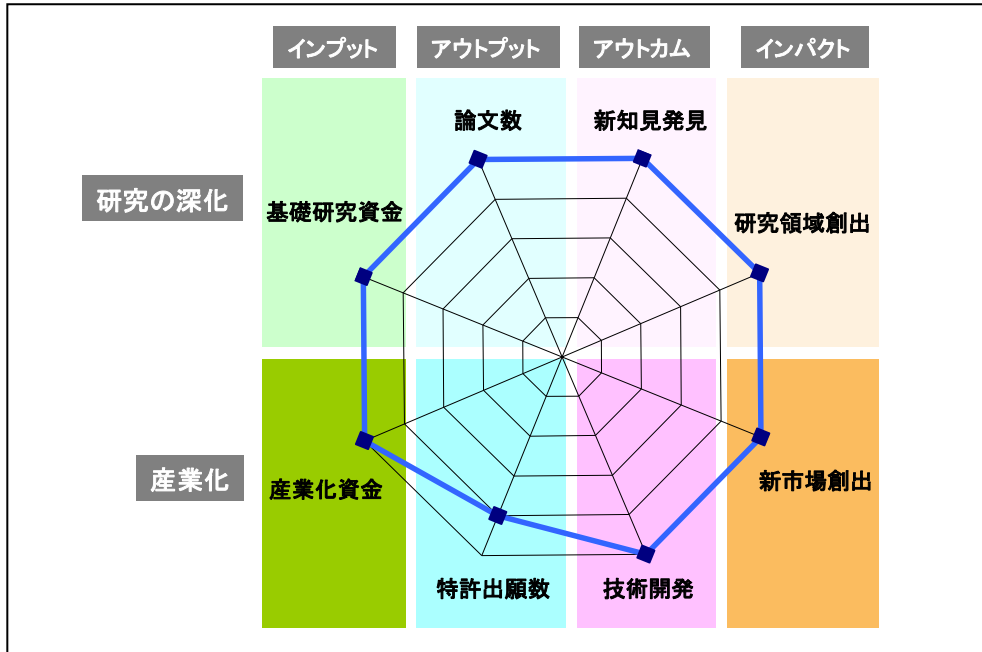
このような、環境ストレス耐性植物などの遺伝子組換え作物の利用が世界的に普及し、その有用性と安全性が認められれば、日本でも社会的許容が促進されることも期待されている。

4) 人材育成的波及効果

本事業の技術コーディネーターは、事業終了後、東京大学農学生命科学研究科 教授に就任(独法 国際農林水産業研究センター 特定研究主査併任)した。また、本事業を通して多くの学生が学位を取得したり、海外との共同研究に携わるなど、世界を舞台とした研究展開能力を獲得している。

(4) 成果・効果の分析 (対象：研究代表者)

検索調査結果、および研究者へのアンケートやヒアリングの結果から、基礎研究と産業化におけるインプット、アウトプット、アウトカム、インパクトをスコアリングし、本課題の事業期間から現在までの成果・効果を分析した。

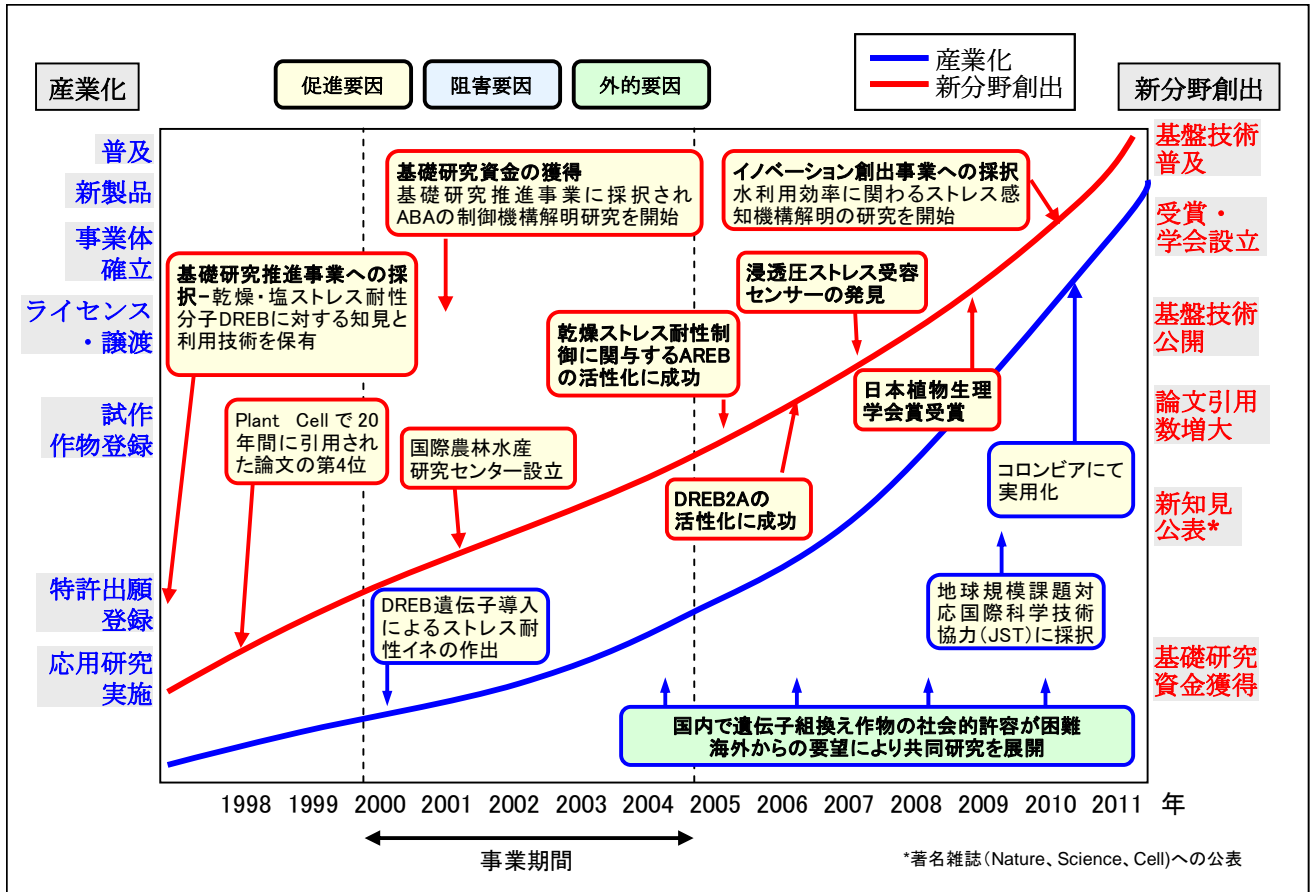


調査項目	インプット		アウトプット		アウトカム		インパクト	
	研究の深化	産業	研究の深化	産業	研究の深化	産業	研究の深化	産業
内容	基礎研究資金	産業化資金	論文数	特許出願数	新発見発見	技術開発	研究領域創出	新市場創出
最高値	5	5	5	4	5	5	5	5

基礎研究面では、生研センターや科学技術振興機構から潤沢な資金の採択を受けて、ストレス耐性に関連する遺伝子やそれらの機能発現メカニズムを最新の技術を利用して解析し、その結果は Plant Cell などの評価の高い雑誌に数多く掲載されている。これらの新発見が海外からの注目を浴び、共同研究が全世界に広がって大きなインパクトをもたらした。基礎研究で得られた知見は着々と産業化面に応用されて新たなストレス耐性作物が作出され、世界各地 16 カ国での新市場創出を目指した実用化共同研究が精力的に進められている。近年社会問題となっている地球温暖化の影響の懸念から、地球規模での食糧増産計画が推進され、産業化面でも波及が大きく現れている。

(5) 追跡チャート (対象：研究代表者)

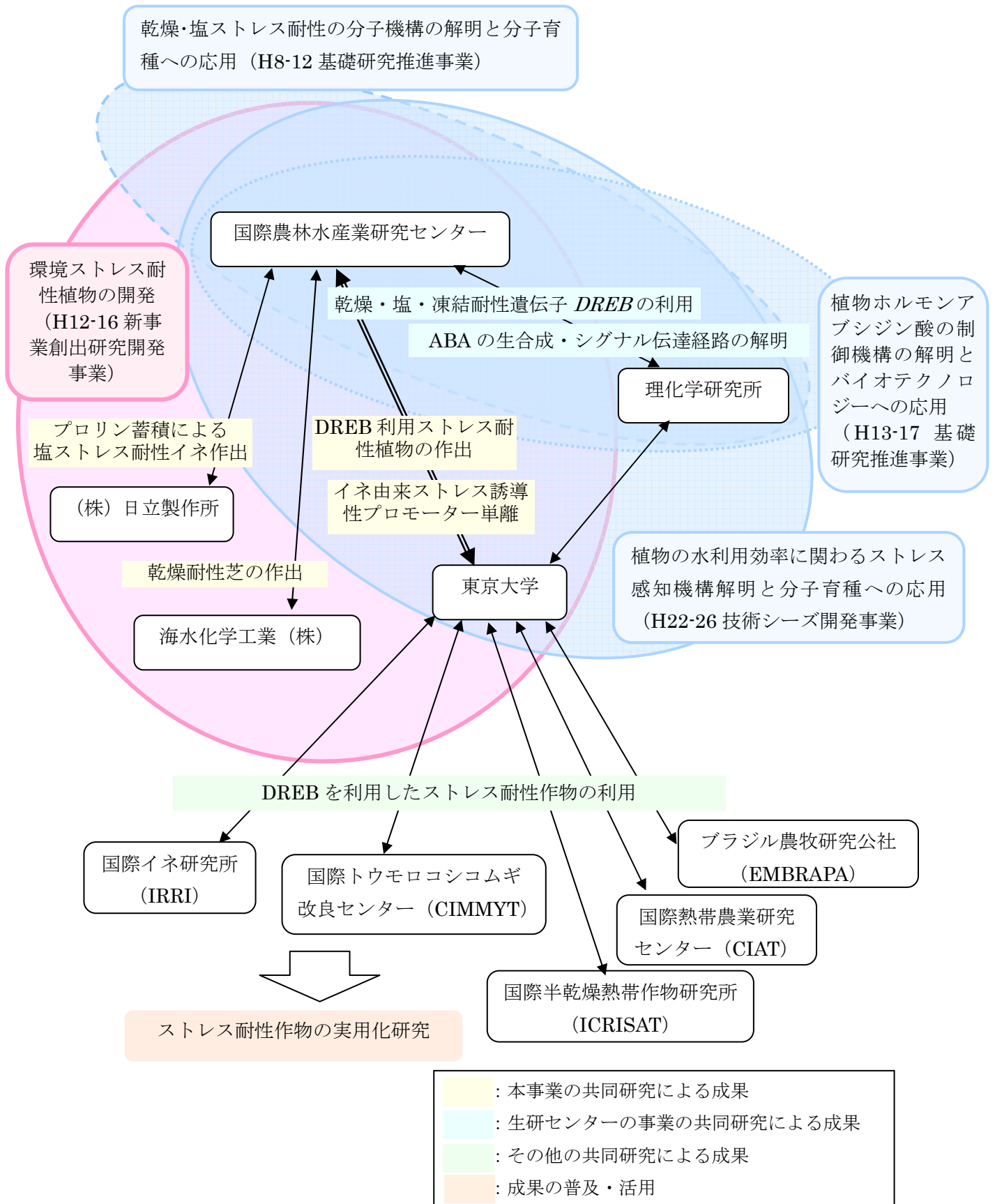
研究者へのアンケートおよびヒアリング調査結果をもとにして、事業期間前から現在までの時間経過に添った研究成果および産業化の成果を図示した。また、それらの転換点において影響を与えたと考えられる促進要因、阻害要因、外的要因を具体的に示した。



平成8年度から12年度に実施された基礎研究推進事業において、シロイヌナズナから乾燥・塩ストレス耐性分子 DREB やプロモーターを発見し、本事業の開始時には DREB 組換え植物作製の知見と技術を保有していた。本事業では、これらの知見と技術をもとにさらに研究を深め、ストレス耐性イネなどを作成した。また、国際農林水産研究センターを設立して研究成果を国際貢献につなげる基盤体制を構築した。国内では遺伝子組換え植物の利用は社会的に容認されていないこともあり、事業終了後は海外の消費者に視点を移し、これらの成果利用の要望が高かった世界各国と積極的に共同研究を推進したことにより、成果の応用研究が進展して実用化が現実となった。基礎研究でも数々の研究資金を獲得したことにより、理化学研究所などとの共同研究を進め、DREB に加えて ABA 制御系のストレス耐性機構や浸透圧ストレス受容センサー遺伝子の発見など多数の新たな成果を得た。これらの成果によりストレス耐性植物の利用という新分野を確固たるものとし、2009年には日本植物生理学会賞を受賞した。

(6) コンソーシアム機関との共同開発状況

事業期間中および終了後のコンソーシアム内の研究グループの共同研究の状況を、アンケートおよびヒアリング調査結果をもとにして、下図に表した。



5. 有識者コメント

近未来に想定される地球温暖化に伴って、環境ストレス、特に乾燥ストレスが高まると考えられており、植物の環境ストレス耐性の遺伝的改良は重要な課題である。

本研究は（１）調節遺伝子および（２）機能遺伝子を利用した環境耐性イネの開発、（３）モデル植物としてのペチュニアを用いた環境耐性植物の開発、（４）環境ストレス耐性ユーカリの開発、（５）環境ストレス耐性芝の開発、を目指して、国研と民間の研究者が協同して取り組んでいる基礎・基盤的研究である。

研究基盤の整備、新技術開発などにおいて優れた研究成果が得られている。本研究は新製品開発を目指す研究ではないので、応用的分野の展開は今後の課題である。代表的研究成果である DREB 遺伝子の解析に関しては世界をリードする成果とすることができ、今後の応用的研究によって地球環境変動に立ち向かう技術となることが大いに期待される。

6. 成果論文

(1) 事業関連主要成果論文ランキング (対象：研究代表者)

1) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	86	Yamaguchi-Shinozaki, Kazuko, Shinozaki, Kazuo
2	17	Maruyama, Kyonoshin
3	13	Kwak, Sang-Soo
4	12	Murata, Norio
4	12	Zhu, Jian-Kang
6	11	Hwang, Byung Kook
6	11	Kwon, Suk-Yoon
6	11	Nakashima, Kazuo
6	11	Seki, Motoaki

注1：太字、研究班

注2：下記の検索式を用いて“CHEMICAL ABSTRACT”からデータを得た

内容	検索式	件数	検索式 (CA)
転写因子、 遺伝子組換え	L1	35,755	S (TRANSCRIPTION(W)FACTOR# OR TRANSGENIC(S)(ARABIDOPSIS OR ORYZA(W)SATIVA OR RICE OR PLANT# OR PETUNIA)
ストレス	L2	10,772	S STRESS(5A)(RESISTAN? OR TOLERAN?) AND (ENVIRONMENTAL OR DROUGHT OR SALT OR SALINITY OR COLD OR WATER(W)DEFICIENCY)
	L3	2,127	S L1 AND L2
2000 年以降	L4	2,034	S L3 AND PY>=2000
特許除外	L5	987	S L4 NOT P/DT

2) 主要成果論文数

事業期間中の主要論文数

年	2000	2001	2002	2003	2004	合計
海外誌	11	7	8	10	15	
国内誌	0	0	1	1	2	

(出典：終了時の研究成果報告書)

事業終了以降の主要論文数

年	2005	2006	2007	2008	2009	2010	合計
海外誌	6	14	13	3	11	12	44
国内誌	0	3	2	1	1	0	7

3) 被引用上位 10 論文の被引用数

事業前 (～1999)	事業中 (2000～-2004)	事業後 (2005～)
4006	3628	1387

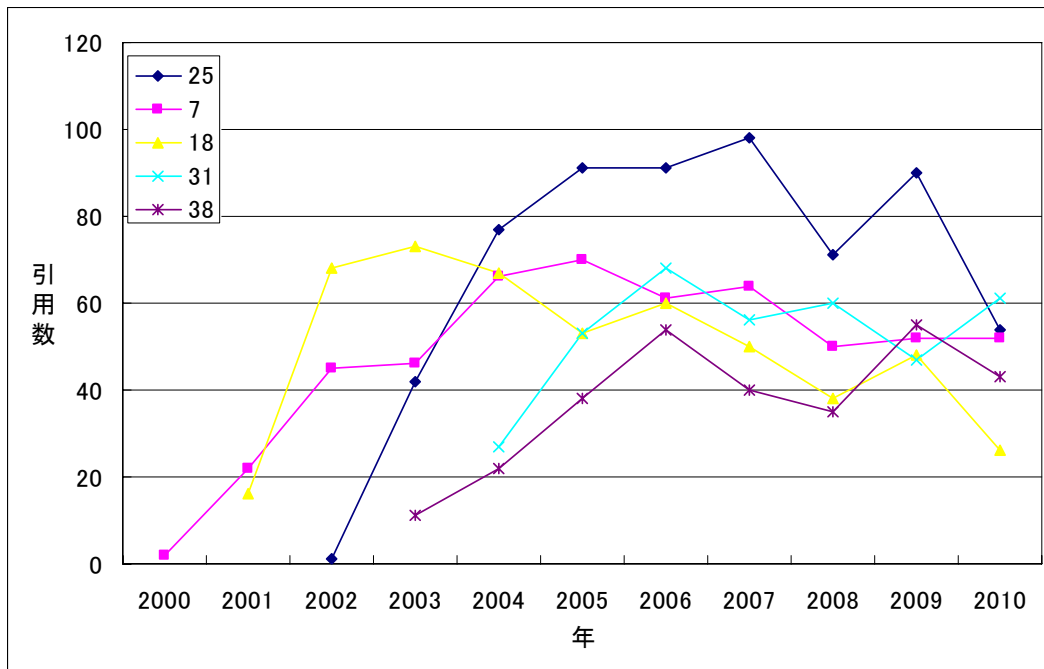
4) 被引用数上位 10 論文

事業前後の論文を対象として、新事業創出研究開発事業の期間中の成果論文を白抜き、終了後の成果論文を緑で示した。

順位	論文 No.	Year	Title	Authors	Journal, Vol.	引用数
1	25	2002	Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray	Seki M., et al	Plant Journal, 31, 279-292	616
2	7	2000	Molecular responses to dehydration and low temperature: Differences and cross-talk between two stress signaling pathways	Shinozaki K., Yamaguchi	Current Opinion in Plant Biology, 3, 217-223	530
3	18	2001	Monitoring the expression pattern of 1300 Arabidopsis genes under drought and cold stresses by using a full-length cDNA microarray	Seki M. , et al	Plant Cell, 13, 61-72	499
4	31	2003	Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses	Shinozaki K. , et al	Current Opinion in Plant Biology, 6, 410-417	372
5	38	2003	Arabidopsis AtMYC2 (bHLH) and AtMYB2 (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling	Abe H., Urao T. , et al	Plant Cell, 15, 63-78	298
6	2	2000	Arabidopsis basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions	Uno Y. , et al	PNAS, 97, 11632-11637	296
7	36	2003	OsDREB genes in rice, <i>Oryza sativa</i> L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold-responsive gene expression	Dubouzet J.G. , et al	Plant Journal, 334, 751-763	295
8	67	2006	Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses	Yamaguchi	Annual Review of Plant Biology, 57, 781-803	279
9	29	2003	Monitoring Expression Profiles of Rice Genes under Cold, Drought, and High-Salinity Stresses and Abscisic Acid Application Using cDNA Microarray and RNA Gel-Blot Analyses	Rabbani M.A. , et al	Plant Physiology 133, 1755-1767	257
10	27	2002	DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold-inducible gene expression	Sakuma Y. , et al	BBRC, 290, 998-1009	255

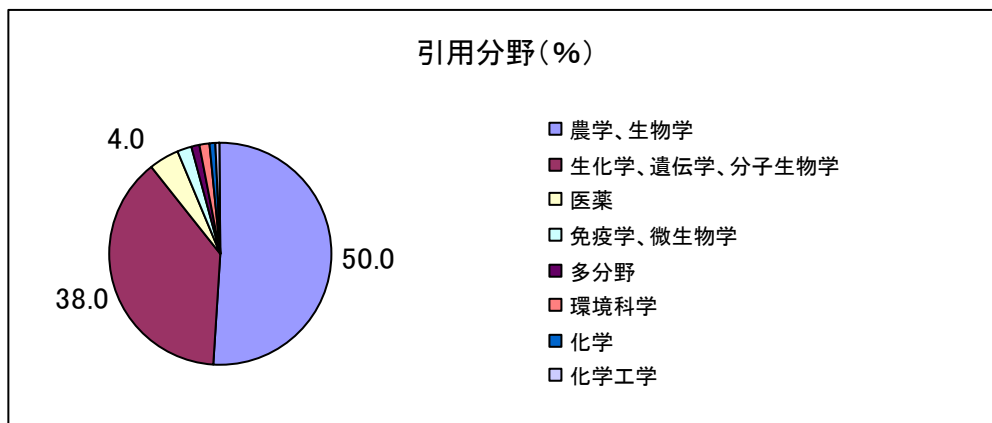
5) 被引用数の年次推移

被引用上位論文（5件）の引用数の年次推移を、事業期間中および終了後に分けて示した。



6) 引用論文の分野

被引用上位論文（10件）を引用した論文について、件数をそれらが掲載されている雑誌の分野別にまとめた。



7. 実用化データ

1) 特許出願

公開番号 または特許番号	発明・考案の名称	出願人・ 権利者名	発明者・考 案者	出願 日
特開 2004-275081 特許第 4219711 号	ストレス耐性遺伝子を用いた発根率や切花の花持ちが改善された植物の製造	独立行政法人国際農林水産業研究センター キリンホールディングス株式会社	篠崎和子 など	2003/ 3/14
WO04/85641 特許第 4219928 号	ストレス誘導性プロモーター及びその利用方法	独立行政法人国際農林水産業研究センター 独立行政法人農業食品産業技術総合研究機構	篠崎和子 など	2004/ 3/2
特開 2002-369634	プロリン蓄積能力の高いイネ科植物およびその製造方法	株式会社日立製作所 生物系特定産業技術研究推進機構 独立行政法人国際農林水産業研究センター 理化学研究所	吉羽洋周 など	2001/ 6/8
特開 2003-219891	植物の転写因子をコードする遺伝子	独立行政法人国際農林水産業研究センター 生物系特定産業技術研究推進機構	篠崎和子 など	2002/ 11/15
特開 2004-248638	イネ由来のストレス誘導性プロモーター	独立行政法人国際農林水産業研究センター 独立行政法人農業生物系特定産業技術研究機構	篠崎和子 など	2003/ 3/12
特開 2006-42730	単子葉植物の雄性不稔体の生産方法およびこれを用いて得られる植物体、並びにその利用	独立行政法人科学技術振興機構 独立行政法人産業技術総合研究所 独立行政法人国際農林水産業研究センター	高木優 など	2004/ 8/6
特開 2007-124925	活性型 AREB1 により植物の乾燥ストレス耐性を向上させる方法	独立行政法人国際農林水産業研究センター	篠崎和子 など	2005/ 11/1
特表 2008-505603	改変 DREB2A 遺伝子を用いた、植物の環境ストレス耐性の制御	独立行政法人国際農林水産業研究センター	篠崎和子 など	2004/ 7/7
WO07/32111	トウモロコシ由来のストレス誘導性転写因子	独立行政法人国際農林水産業研究センター	篠崎和子 など	2006/ 3/20

2) 実用化

海外でのほ場試験の実施

- ・ブラジル（乾燥・カンバツ耐性ダイズ）
- ・フィリピン（陸稲、スクリーンハウス実験）
- ・メキシコ（カンバツ耐性コムギ、フィールドテスト）
- ・コロンビア（野外圃場試験、実用化）

海外との実用化共同研究を実施中

- ・インド（乾燥耐性マメ、ピーナツ、研究企画）
- ・シリア、イカルダ（マメ）
- ・中国、パキスタン（遺伝子送付）

実用化

- ・コロンビア

(付記) 主な調査参考資料

1. 「環境ストレス耐性作物の開発」、日本学術会議公開シンポジウム資料 (2010年8月6日)
2. 篠崎和子研究室ホームページ http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/pmp/Research/Res1_j.html

第3節 コンソーシアム2（2）環境浄化・モニタリング植物の開発

新事業創出研究開発事業

研究組織 代表者：大川 秀郎、実施期間：平成12年度－16年度

	中課題名	所属（事業当時）	開始年度	終了年度	研究者
①	環境負荷化学物質のモニタリング用植物及び負荷軽減型作物の実用化研究	神戸大学農学部	12	16	大川 秀郎
②	環境負荷化学物質のモニタリング用植物及び負荷軽減型作物の実用化研究	独立行政法人 農業生物資源研究所	12	13	大川 安信
			13	14	小沢 憲二郎
			14	16	川東 広幸
③	環境浄化作物の開発	株式会社植物工学研究所	12	15	山田 幸生
④	環境モニタリング園芸植物の開発	サントリー株式会社	12	16	田中 良和

ヒアリング協力者 大川 秀郎、福山大学生命工学部 グリーンサイエンス研究センター

ヒアリング実施日：平成22年12月21日

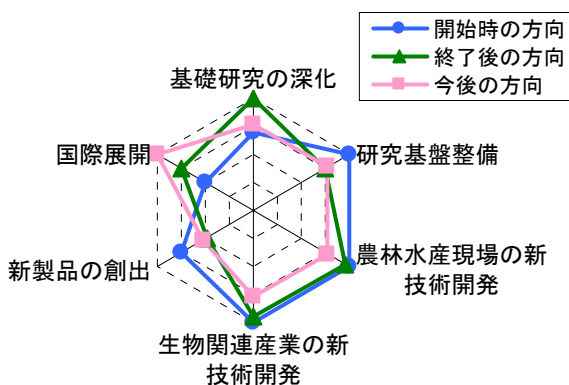
1. 研究の背景と位置付け

環境中で安定して長期に残留し、人の健康や生態系に影響を与えることが懸念されている化学物質は、環境負荷化学物質と呼ばれ、ダイオキシン類、環境ホルモン類、残留農薬などが該当する。これらの環境負荷化学物質が、環境および農林水産物を汚染し、生態系や人体に悪影響を及ぼすことが懸念されている。そのため、環境負荷化学物質をモニタリングし、負荷を軽減する新技術の開発が大きく求められている。

本コンソーシアムでは、環境負荷化学物質による汚染現場で利用することが可能で、生物機能に基づく、2次汚染の危険の少ない、モニタリング植物および負荷軽減作物を開発することとされた。

2. 研究の展開

研究者へのアンケートおよびヒアリング調査の結果をスコア化し、新事業創出研究開発事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。

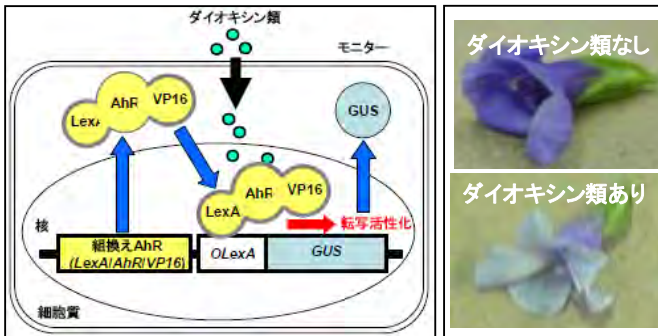


事業開始時は研究基盤整備、農林水産現場および生物関連産業の新技術開発に主な方向性を持って進められた。終了後にはそれらの新技術開発に加え、基礎研究の深化および国際展開という学術的な方向にも研究が向けられた。さらに今後は、国際的な拡大を意識した学術的な展開が図られている。

新事業創出研究開発事業の開始から今後の展望までの全体図を示した。

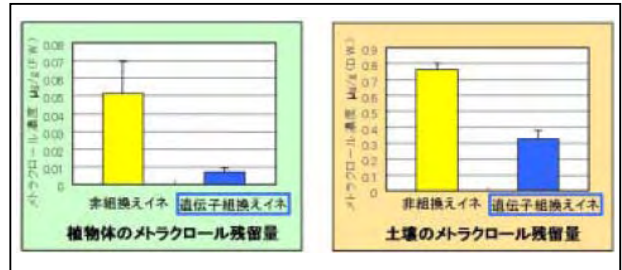
事業期間中の研究成果

ダイオキシン類モニタリング植物の作製法を構築



動物由来組換えAhR遺伝子を導入したタバコやトレンアにより、ダイオキシン類をモニタリングする技術を開発。

農薬分解植物の作製法を構築

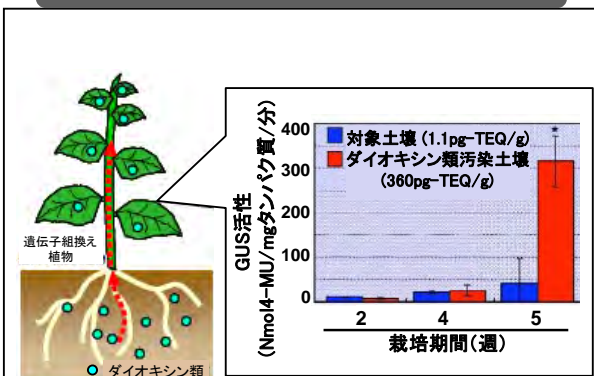


異物代謝酵素CYP2B6遺伝子組換えイネでは水田から吸収した除草剤メトラクロールをCYP2B6が代謝・分解し、植物体および土壌の残留量が顕著に低減。

植物によりダイオキシン類をモニタリングする、または環境浄化する基盤技術を構築

その後の展開

ダイオキシン類の簡易検出法を開発



組換え型AhRとGUSレポーター遺伝子を導入したタバコでは、吸収したダイオキシン類がGUS遺伝子を誘導発現してGUS活性が上昇。

環境モニタリング園芸品種を開発



実験室内における簡易検出法を構築

野外でのモニタリング法を構築

今後の展開



地球環境の保全

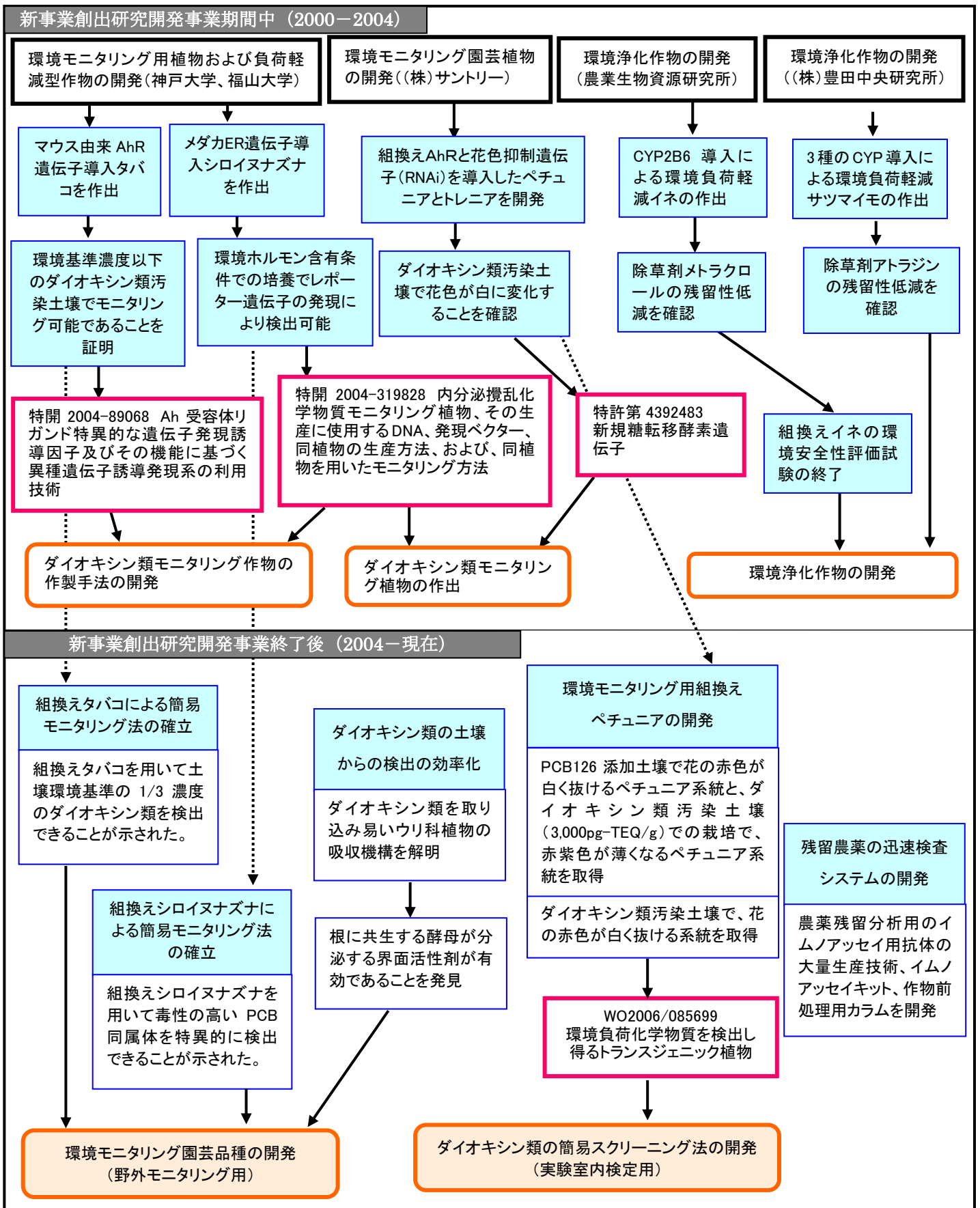
健康な生活の確保

夢

世界に実用化研究成果を広げる

新事業創出研究開発事業の開始から終了後現在までの研究の展開を、文献・特許調査やヒアリング調査をもとにして俯瞰的に図に記した。

□ 中課題、 □ 研究成果、 □ 特許出願、 □ 実用化、 □ 効果



3. 新事業創出研究開発事業において実施された内容

(1) 研究目的

植物は発達した根系を有しており、特に地面に並行に這うように伸びるほふく性に優れた品種では、根系を介してより広範囲の土壌から水分を吸収することができる。そのため、極めて低濃度の化学物質を集積することが可能であり、環境モニタリングに適している。そこで、有害物質によって花色が変化するモニター植物の開発を行う。

一方、動物にはダイオキシン類および環境ホルモン類をそれぞれ特異的に認識する、アрилヒドロカーボン受容体 (AhR) およびエストロジェン受容体 (ER) が存在しており、ダイオキシン類またはエストロジェン様の体外化学物質を特異的に認識して代謝・解毒する酵素系が発達している。このような受容体や化学物質代謝に関わる遺伝子を、遺伝子組換え技術によって植物に導入・発現させることにより、それらの化学物質のモニタリング植物を開発する。また、これらの遺伝子を利用することにより、化学物質負荷を軽減する環境浄化作物を開発する。

(2) 研究内容

1) 環境負荷化学物質のモニタリング用植物の実用化研究

- ・動物の AhR 系または ER 系、および残留農薬に特異的なレポーター遺伝子を導入した遺伝子系を導入した組換え植物を作出し、環境負荷化学物質のモニタリング性能を評価した。
- ・植物の体外化学物質の代謝酵素を探索した。

2) 負荷軽減用作物の実用化研究

- ・動物の異物代謝酵素 (シトクロム P450、CYP) 遺伝子をイネおよびサツマイモに導入し、形質転換体の残留農薬代謝・分解性能を評価して、水田および畑の残留農薬を代謝・分解して軽減する作物を作出した。

(3) 主な研究成果

1) ダイオキシン類のモニタリング用植物の開発

ダイオキシン類を特異的に認識する AhR 遺伝子系を導入し、定性的・定量的に検出するレポーター遺伝子系を導入した遺伝子組換えタバコを作出した。本タバコによりダイオキシン類の汚染を検出できることを確認した。

- ・細菌 DNA 結合因子、マウス AhR、およびウイルス転写活性化因子の遺伝子で構成した組換え AhR を作成した。レポーター遺伝子として β-グルクロニダーゼ (GUS) を使用し、これらをタバコに形質転換した。作成したタバコをダイオキシン類汚染土壌 (360pg-TEQ/g 土壌) で栽培した結果、GUS 活性が誘発されることが確認された。環境基準値が 1,000pg-TEQ/g 土壌であることから、本遺伝子組換えタバコの GUS 活性の大きさによりダイオキシン類汚染土壌のモニタリングが可能であることが示された。
- ・組換え AhR および花の色素の合成を抑制する花色抑制遺伝子 (RNAi) を導入した遺伝子組換えペチュニアとトレニアを作出した。これらをダイオキシン類汚染土壌 (360pg-TEQ/g 土

壤) で栽培した結果、花卉の色素合成が抑制され、花色が赤から白へ、また、青から白へと変化することが確認され、ダイオキシン類の汚染を花色の変化で検定することができることが示された。

2) 環境ホルモン類のモニタリング用植物の開発

シロイヌナズナにヒトまたはメダカの ER 由来遺伝子およびクラゲ緑色蛍光タンパク質 (GFP) を導入し、環境ホルモン類のモニタリング用植物を作出した (図 1)。

- ・ヒト ER 由来の組換え hER (LexA/hER/VP16) またはメダカ ER 由来の mER (LexA/mER/VP16)、およびレポーターとしての GFP を組合せた遺伝子系を導入したシロイヌナズナを作出した。これらを女性ホルモン・17β-エストラジオールを含む土壌、または環境ホルモン・4-t-オクチルフェノールを含む培地で培養した結果、RT-PCR 分析で顕著な GFP 遺伝子の転写の増加が認められた。特に、4-t-オクチルフェノールでは組換え hER に比べて組換え mER を用いることにより約 10,000 倍の感度上昇を達成した。

3) 負荷軽減用作物の作成

イネおよびサツマイモに動物の異物代謝酵素 (CYP) 遺伝子を導入することにより、水田と畑の残留農薬を代謝・分解して軽減する作物を作出した。

- ・CYP2B6 遺伝子を導入した遺伝子組換えイネ (日本晴) を特定網室における水田条件下で栽培し、除草剤メトクロールを水面に散布した結果、3 ヶ月後における土壌での残留量が非組換えイネでは 14%、組換えイネでは 6%まで減少した。本組換えイネは、除草剤メトクロールを水田から吸収・代謝して、 $13.5\text{mg/m}^2/3$ ヶ月の残留低減性能を示したことになる。本組換えイネは閉鎖系温室および特定網室における環境安全性評価試験を終了している。
- ・CYP1A1、CYP2B6 および CYP2C19 の 3 遺伝子を同時に導入した遺伝子組換えサツマイモを作出した。本組換えサツマイモは、除草剤アトラジンを受取り・代謝し、その植物体での残留量が 0.5 ppm (非組換え体では 2 ppm) であることが示された。この顕著な作物残留の低減性能に加え、土壌残留についても減少が認められた (図 2)。

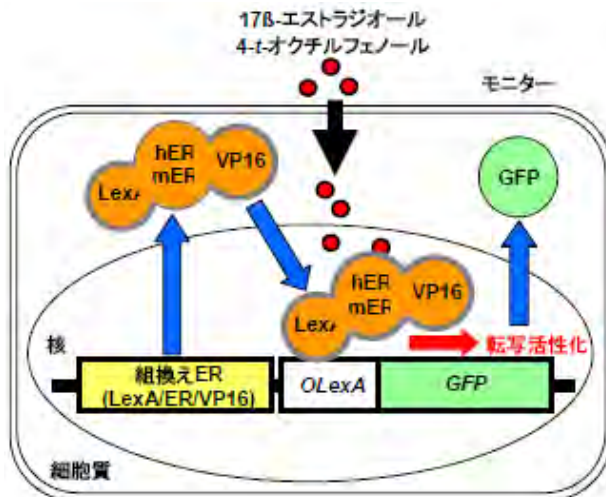


図1 遺伝子組換えシロイヌナズナによる環境ホルモン類のモニタリング

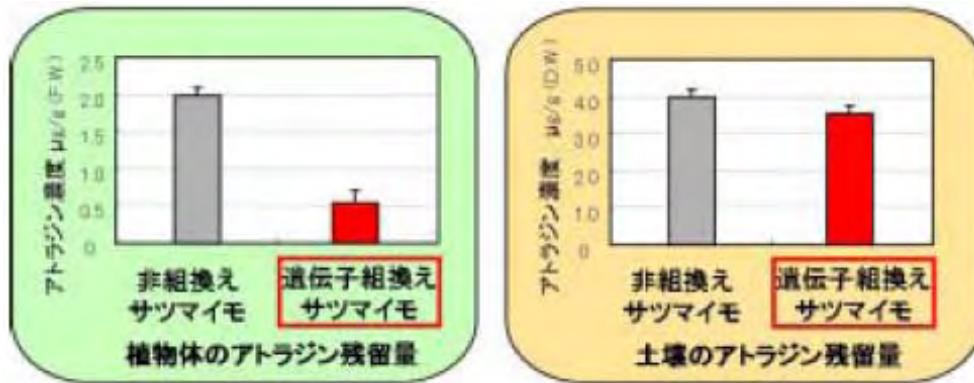


図2 CYP遺伝子を導入した遺伝子組換えサツマイモにおける除草剤残留の低減

4. 事業終了後の状況

(1) 研究発展状況

本事業は、大川秀郎氏を中心とした研究グループが、生研センターの競争的研究資金を効率的に活用して、学術的な基礎研究分野の創出から実用化検討までの道を切り開いていく応用研究に位置している。平成8年から平成12年に実施された、基礎研究推進事業「哺乳動物の高度に発達した薬物代謝機能を利用した環境負荷物質の代謝・分解技術の開発」において、植物への薬物代謝酵素 P450 の導入による外来異物代謝機能の付与技術が開発され、性能と環境安全性確認試験が行われた。本事業ではこの成果を実用化の観点からさらに発展させ、P450 導入イネおよびサツマイモの除草剤残留の低減をそれぞれ農業生物資源研究所および豊田中央研究所との共同研究により実証した。さらに、新たに2種の動物由来化学物質受容体である AhR や ER 遺伝子をプロモーターとして利用し、ダイオキシン類などの外来化学物質のモニタリングを実現する技術を開発した。そのうち AhR を用いた技術については、事業終了後の平成17年から平成18年にサントリー（株）と共同で異分野融合支援事業「ダイオキシン類モニタリング用植物の実用化」が実施され、花色素の合成阻害によるダイオキシンモニタリング植物作出技術を開発し、ダイオキシン類を汚染現場で検出する植物品種の作成技術基盤を確立している。これら一連の成果は、2006年に大川秀郎氏が日本農学賞を受賞した研究成果のうちの一つとなっている。

その後も農業生物資源研究所およびサントリー（株）との共同研究は継続され、環境負荷化学物質のモニタリング用植物及び負荷軽減型作物や園芸植物の実用化研究が進められている。サントリーとの共同研究では、環境負荷化学物質のモニタリング植物として、本事業において開始したペチュニアおよびタバコに続き、バーベナ、トレニア、シロイヌナズナも利用され、トレニアは品種登録に至るなど、実用化に向けて進捗している。一方、農業環境技術研究所との共同研究では、抗原抗体反応を利用した環境中の残留農薬検出システムの開発が進められた。本事業期間中の2000年6月に設立された（株）ホリバ・バイオテクノロジーは、その後2006年4月に（株）堀場製作所に吸収合併されたが、抗体を利用した残留農薬測定キットおよびシステムが継続して販売されている。また、国際的には、本事業と同時期に実施した HFSP（ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム）におけるアリゾナ大学とのシロイヌナズナ由来 P450 遺伝子の研究からも学術的な成果が蓄積されており、最近では中国との共同研究も注力されている。遺伝子組換え植物は、日本では産業上の認可を受けることが難しいとされているが、本事業に参画した田中良和氏らが開発した遺伝子組換え青いバラが2009年に切花として販売することが初めて認められたことから、遺伝子組換えモニタリング植物の実用化も期待されている。

(2) 新たな研究成果

1) ダイオキシン類の簡易スクリーニング方法の開発（実験室内検定用）（図1）

哺乳動物においてダイオキシンの毒性発現に係わるアрилヒドロカーボン受容体（AhR）に由来する組換え型 AhR にダイオキシン類が結合すると β -グルクロニダーゼ（GUS）レポーター遺伝子を誘導発現して GUS 活性を示す遺伝子組換え植物を作出した。

- ・組換え型 AhR と GUS レポーター遺伝子を導入した組換え体タバコ植物を、温室内でダイオキシン類汚染地域から採取した土壌（360pg-TEQ/g）で栽培した。その結果、植物体で顕著な GUS 誘導活性が認められ、本植物を用いて土壌環境基準値 1,000pg-TEQ/g の 1/3 濃度を検出できることが示された。（TEQ：毒性等量）

- ・同様に組換え型 AhR と GUS レポーター遺伝子を導入した組換え体シロイヌナズナを PCB126 (TEF:0.1) または PCB180 (TEF:0) を添加した培地で培養した。その結果、PCB126 濃度依存的に GUS 活性の上昇が認められ、一方、PCB180 濃度依存的活性上昇は確認されなかった。本植物は PCB 同族体のうち、毒性の高い同族体を特異的に検出できることが示された。(TEF : 毒性等価係数)
- ・上記組換え植物を利用した遺伝子組換え植物用実験室内検定マニュアルを作成した。

2) 環境モニタリング園芸植物の開発 (野外モニタリング用) (図 2)

組換え型 AhR にダイオキシン類が結合すると花色抑制遺伝子を誘導発現して、花色素の合成を阻害して花色を変化させる花卉新品種を作出し、それを用いたダイオキシン類の野外モニタリング技術の開発に成功した。

- ・組換え型 AhR と花色抑制遺伝子を導入した組換え体ペチュニアを作出した。これらをダイオキシン類汚染土壌 (360pg-TEQ/g) で栽培し、花の赤色が白く抜ける系統を取得した。(特許出願 WO2006/085699)
- ・PCB126 (1,000pg-TEQ/g) を添加した土壌での栽培で花の赤色が白く抜けるペチュニア系統と、ダイオキシン類汚染土壌 (3,000pg-TEQ/g) での栽培で、赤紫色が薄くなるペチュニア系統を取得した。

3) ダイオキシン類の土壌からの検出の効率化

ダイオキシンや PCB などの化学物質は、水に溶解しにくく土壌に吸着している。汚染土壌現場で利用するため、植物への吸収量を向上させた。また、化学物質の結合活性の高い受容体を選抜することにより、検出感度向上に成功させた。

- ・ダイオキシンを取り込み易いウリ科のカボチャやセイタカアワダチソウの吸収機構を研究した。その結果、根に共生している酵母が界面活性剤を分泌してダイオキシンとミセルを形成し、植物への吸収効率を高めていることが明らかになった。

- ・マウス由来受容体と比較して、モルモット由来受容体の方がダイオキシン結合活性が高いことを確認した。

4) イムノアッセイ法による残留農薬迅速検査システムの開発

農薬残留分析用のイムノアッセイ用抗体の大量生産技術、イムノアッセイキット及び作物前処理用カラムを開発した。さらに、各種作物由来の分析妨害物質による影響回避のための前処理方法を検討し、生産現場で適用が可能な分析法を開発した。(図 3)

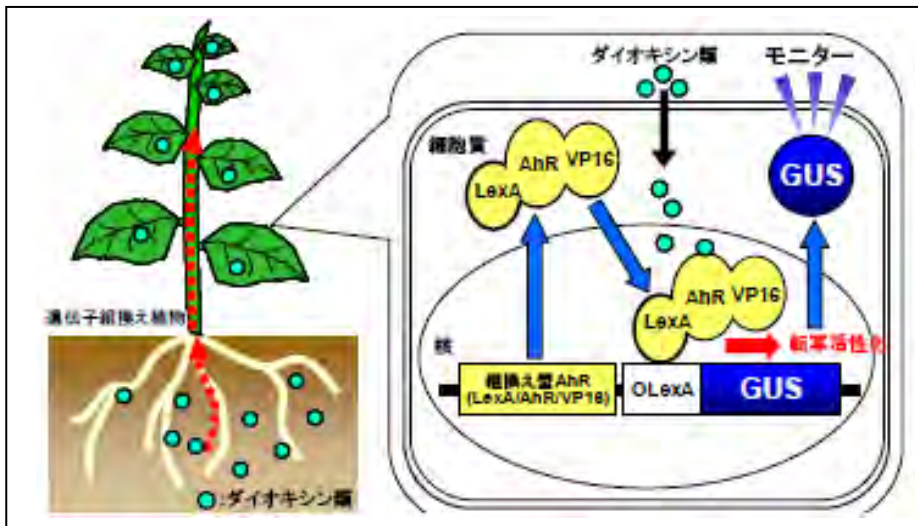


図1 ダイオキシン類の簡易スクリーニング方法の開発 (実験室内検定用)

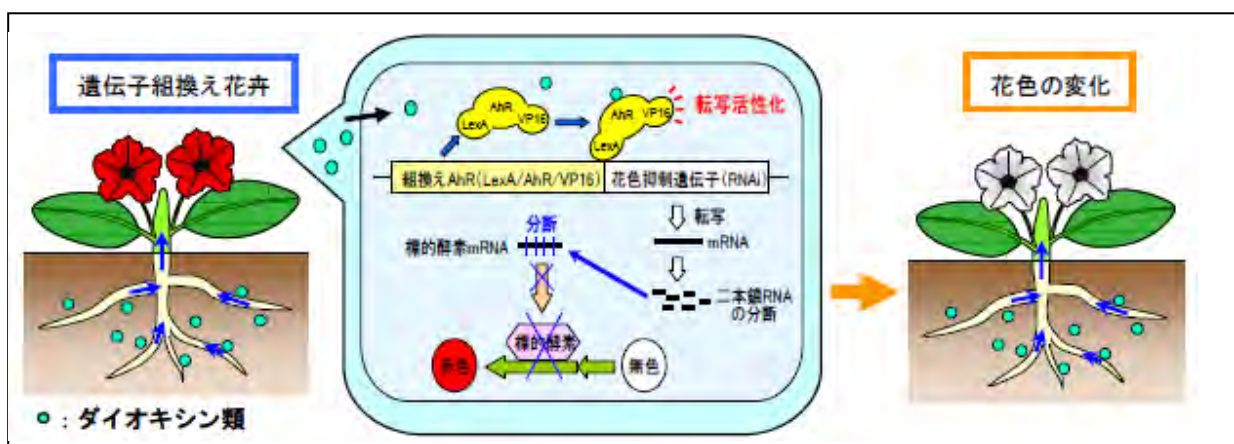


図2 環境モニタリング園芸品種の開発 (野外モニタリング用)

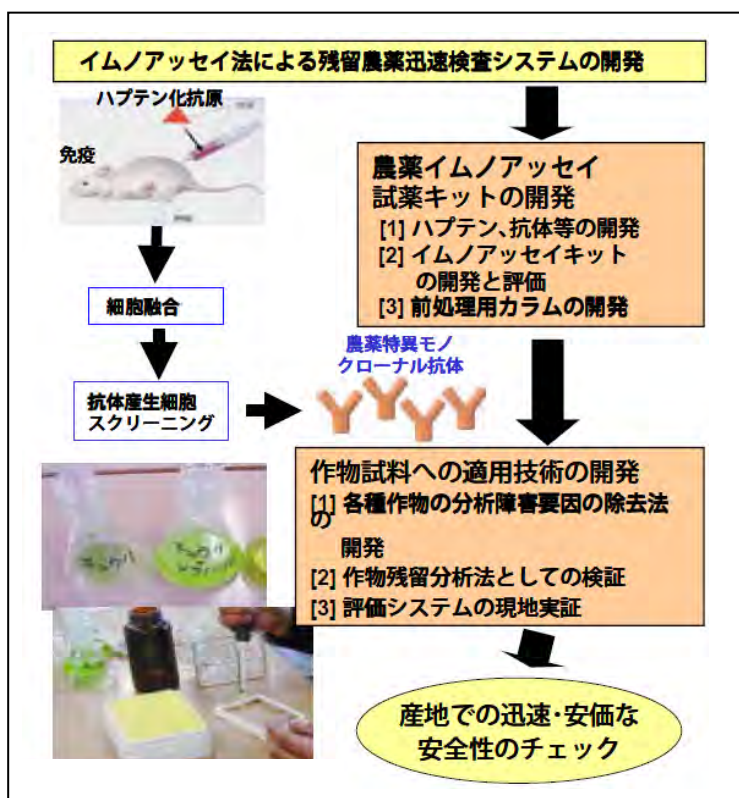


図3 イムノアッセイ法による残留農薬迅速検査システムの開発

(出典：
<http://www.afftis.or.jp/project/hightech/h15/pdf/1501i.pdf>)

(3) 波及効果

1) 科学技術的波及効果

環境汚染物質として知られるダイオキシン類の検出には、一般的にはガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) を用いた分析が行われていたが、本事業を含む一連の研究により、土壌中から植物により検出するという新たな方法が示された。この方法は、動物が持つダイオキシン受容体または環境ホルモン受容体遺伝子を、植物において活性判定可能なレポーター遺伝子のプロモーターとして利用するという新規な発想に基づくものである。このように動物の機能を植物に移すことにより、動物に対する毒性物質を植物で検出する評価方法は新分野として注目され、共同研究先も拡大している。

本事業開始前の平成 8 年に「免疫化学測定法研究会」が、化学物質を免疫化学の手法で迅速・簡便・高感度に測定する基礎研究、開発、普及、標準化を支援するために発足していたが、本事業において受容体を利用した植物による検出法が確立されたことを契機に、2006 年に「生物化学的測定法研究会」と名称が改められた。現在も経済産業省からの資金をもとに継続して産官学の研究支援と交流が続けられている。

2) 産業技術的波及効果

環境モニタリング植物や環境浄化植物は、化学的な検出機器分析法と比べて簡易で安価であり、環境汚染現場において検出できるという利点を有していることから、農業分野や環境分野で期待されている。しかし、日本では遺伝子組換え植物の環境中への放出が環境問題として懸念されていることから、実用化には時間が必要であると見られている。組換え植物が既に出回っている海外での応用や園芸用植物で認められた切花としての応用などが期待されている。

なお、本事業遂行の過程で得られた、ラットシトクロム P450 やヒトシトクロム P450 は住友化学 (株) から創薬用試薬として販売されている。また、抗原抗体反応を用いた技術の産業化については、環境ホルモン測定キットは、和光純薬 (株) から「環境汚染診断薬 LAS/APE ELISA キット」として販売され、残留農薬測定キットと測定システムは、その後も堀場製作所から「SmartAssay シリーズ」として販売され、測定項目も追加されている。

3) 社会的波及効果

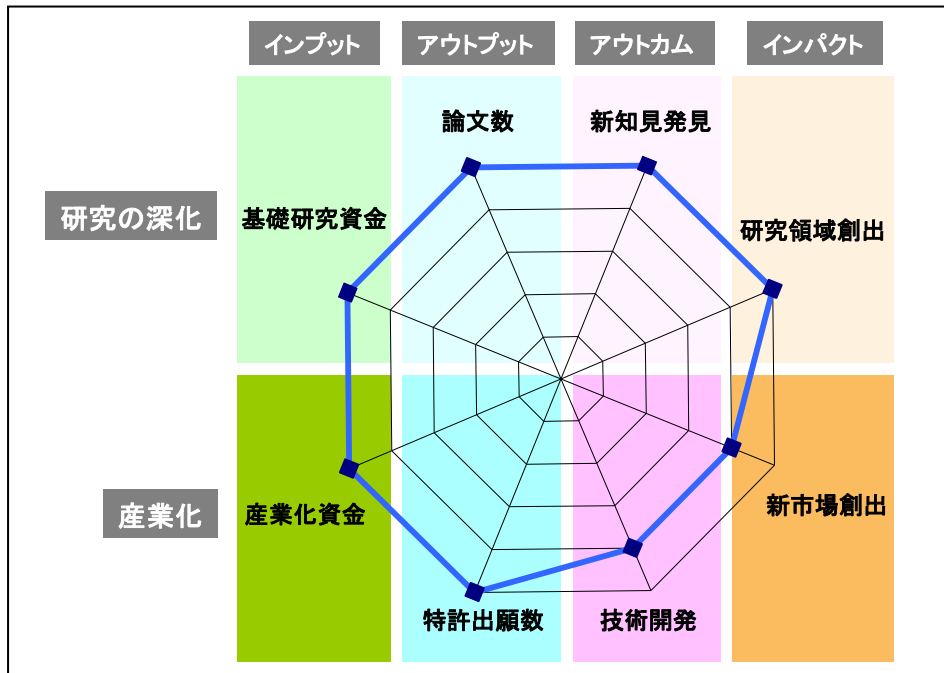
化学物質による環境汚染は、過去に PCB やダイオキシンなどが大きな社会的問題となり早急な取組みがなされたが、それ以降も残留農薬や放射性物質などの健康影響の懸念は依然として大きい。本事業の成果である植物によるモニタリング・環境浄化の手法は、機器分析による化学物質の同定と定量とは異なり、生物体への影響を直接見ることができる。また、操作に特殊な技術を伴わない色素系の検出法であれば、一般家庭にも普及できる可能性がある。ただし、遺伝子組換え植物の環境における利用の許容については、賛否両論があり国内での実現は先になるであろう。

4) 人材育成的波及効果

本事業において、多くの人材が育成された。研究代表者の大川氏が所属した神戸大学および福山大学の多くの大学院生が学位を取得し、公的研究機関や企業に職を得ている。また、大川氏自身も本事業の成果などをもとに 2006 年に日本農学賞を受賞し、その後福山大学のグリーンサイエンス研究センター長に抜擢された他、早稲田大学理工学部招聘研究教授や中国の薬科大学教授を併任するなど、その業績が大きく認められている。

(4) 成果・効果の分析 (対象：研究代表者)

検索調査結果、および研究者へのアンケートやヒアリングの結果から、基礎研究と産業化におけるインプット、アウトプット、アウトカム、インパクトをスコアリングし、本課題の事業期間から現在までの成果・効果を分析した。

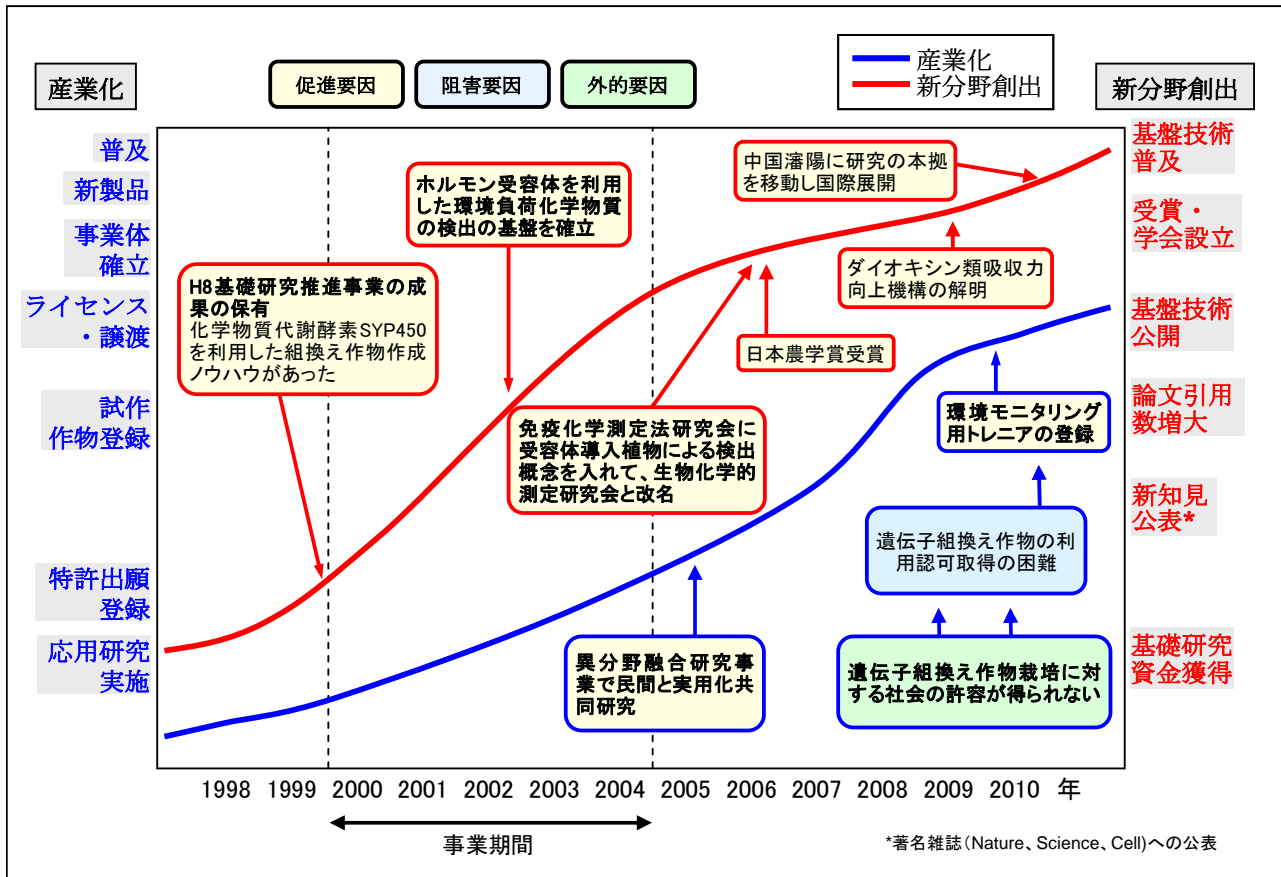


調査項目	インプット		アウトプット		アウトカム		インパクト	
	研究の深化	産業	研究の深化	産業	研究の深化	産業	研究の深化	産業
内容	基礎研究資金	産業化資金	論文数	特許出願数	新知見発見	技術開発	研究領域創出	新市場創出
最高値	5	5	5	5	5	4	5	4

基礎研究においては研究資金、論文数、新知見の発見が十分に獲得され、化学物質モニタリング・環境浄化に供することの可能な化学物質受容体をプロモーターとした遺伝子組換え植物の利用という新たな研究領域を創出した。産業化の面でも生研センター等から応用研究資金を得て産学官連携を遂行し、多くの特許出願も行い、抗原抗体反応を利用した化学物質の検出システムや試薬の販売が継続的に行われている。一方、本事業の中心的成果である遺伝子組換え技術を利用した植物による化学物質の検出系については、昨今の日本における遺伝子組換えに対する慎重な風潮もあり、市場への参入にはまだ時間が必要だと考えられている。

(5) 追跡チャート

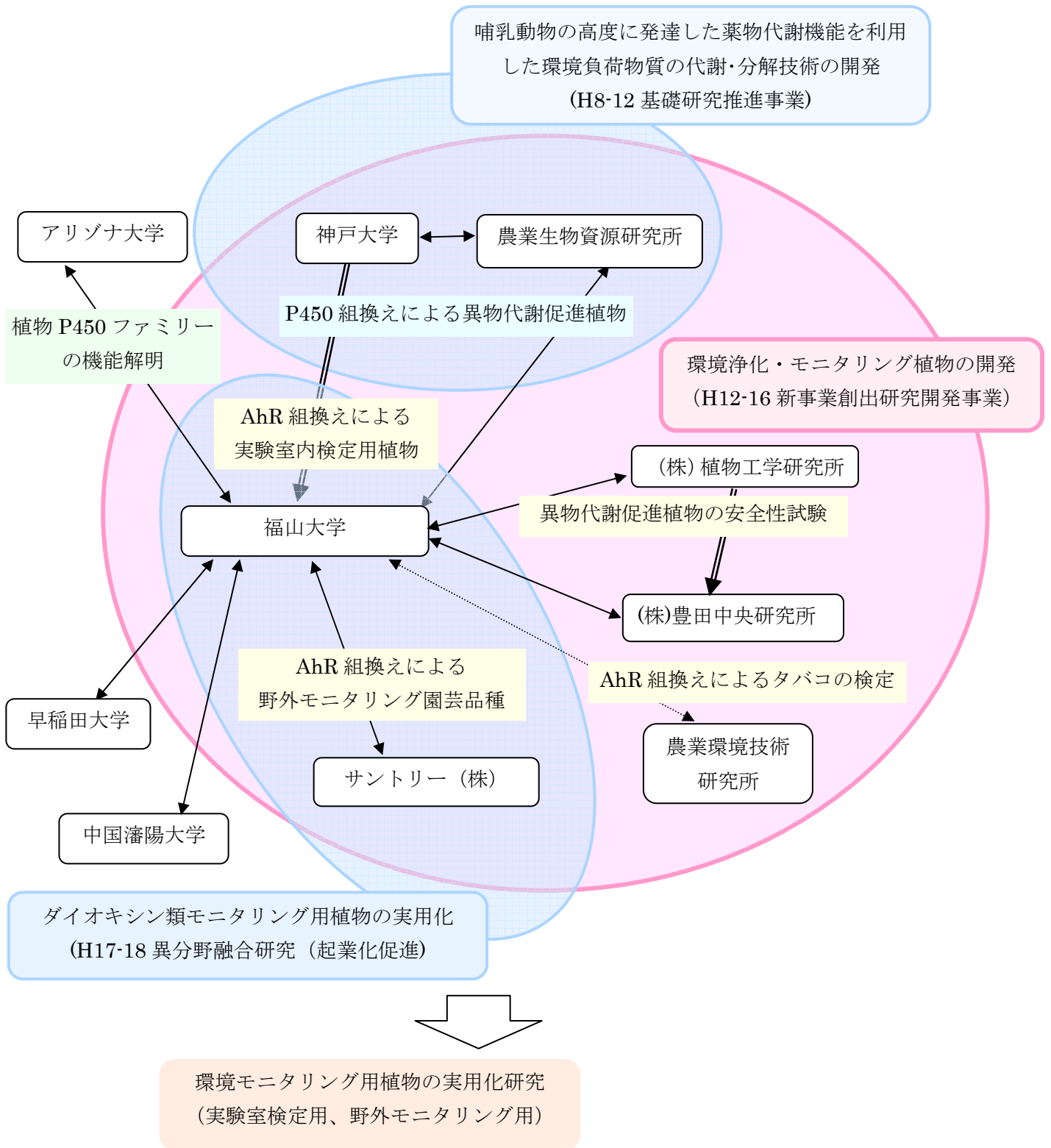
研究者へのアンケートおよびヒアリング調査結果をもとにして、事業期間前から現在までの時間経過に添った研究成果および産業化の成果を図示した。また、それらの転換点において影響を与えたと考えられる促進要因、阻害要因、外的要因を具体的に示した。



本事業では、平成8年に開始された基礎研究推進事業において、化学物質代謝酵素 SYP450 遺伝子を植物に導入して環境負荷物質を削減する方法を樹立しており、植物の遺伝子組換え技術や環境負荷物質の削減技術開発に対する知見や技術を十分に保有していたことが、本事業の成果が得られた要因の一つであった。事業期間中には、環境負荷物質の受容体を利用するという新たな概念の確立にも成功し、免疫化学測定法研究会に新規測定概念を導入して生物化学的即敵研究会へと拡張するなど、その成果を広く社会に浸透させた。これらの成果は日本農学賞の授賞に至っている。2011年度以降は中国瀋陽にて研究を継続し、アジア・世界へとその成果を広めていくなど、基礎研究の新分野創出の成果は大きい。産業化の面でも、平成17年度から異分野融合研究事業の資金を獲得して、引き続きサントリー（株）と本事業で得た技術の実用化に向けて進め、作出したトレニアの登録へと進展させたが、環境現場で作出した作物を役立てるには遺伝子組換え作物に対する社会の許容が得難いことが決定的なマイナス要因となっている。

(6) コンソーシアム機関との共同開発状況

事業期間中および終了後のコンソーシアム内の研究グループの共同研究の状況を、アンケートおよびヒアリング調査結果をもとにして、下図に表した。



- ： 本事業の共同研究による成果
- ： 生研センターの事業の共同研究による成果
- ： その他の共同研究による成果
- ： 成果の普及・活用

5. 有識者コメント

本事業は、生研センターの研究資金基礎研究推進事業(H8-H12)、新事業創出研究開発事業(H12-H16)、異分野融合支援事業(H17-18)を用いた、おおよそ10年間の事業である。本事業の主な目的として、「環境負荷化学物質による汚染現場で利用することが可能で、生物機能に基づく2次汚染の危険の少ない、モニタリング植物および負荷軽減作物の開発」が謳われている。

本事業における論文数、新知見、特許数、国際協力、品種登録などの基礎的実績は極めて評価できる。ヒトや動物由来の遺伝子による組換え植物の社会的受容には、国内的・国際的に厳しいものがあり、本事業の成果の実用化等にあたっては、該遺伝子組み換え植物の社会的受容性に関する評価および遺伝子ソースに関する戦略検証も必須であろう。

6. 成果論文

(1) 事業関連主要成果論文ランキング (対象：研究代表者)

1) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	25	Ohkawa, Hideo
2	20	Ohkawa, Yasunobu
3	15	Kawahigashi, Hiroyuki
4	14	Hirose, Sakiko
4	14	Inui, Hideyuki
6	10	Blair, Aaron
7	9	Hoppin, Jane A.
8	8	Alavanja, Michael C. R.
8	8	Vighi, Marco
10	7	Capri, Ettore

注1：太字、研究班

注2：下記の検索式を用いて“CHEMICAL ABSTRACT”からデータを得た

内容	検索式	件数	検索式 (CA)
	L1	238	S (CYTOCHROME(W)(P(W)450 OR P450) OR CYP2C9 OR CYP2B6 OR CYP1A1) AND (HERBICIDE#(S)(MARKER# OR TOLERAN? OR RESISTAN? OR DEGRDN OR DEGRADAT?) OR PHYTOREMEDIATION)
モニタリング 遺伝子組換え	L2	143	S (PHYTOMONITORING OR PHYTOREMEDIATION OR BIOASSAY(5A)(POLLUTANT# OR DIOXIN))(S)(TRANSGENIC OR RECOMBINATION)(3A)PLANT#
農薬リスク 評価	L3	841	S PESTICIDE(S)RISK(W)(EVALUATION OR ASSESSMENT)
	L4	1,206	S L1 OR L2 OR L3
2000年以降	L5	957	S L4 AND PY>=2000
特許削除	L6	883	S L5 NOT P/DT

2) 主要成果論文数

事業期間中の主要論文数

年	2000	2001	2002	2003	2004	合計
海外誌	0	9	7	10	6	32
国内誌	0	0	1	1	2	4

(出典：終了時の研究成果報告書)

事業終了以降の主要論文数

年	2005	2006	2007	2008	2009	2010	合計
海外誌	5	12	11	6	6	4	44
国内誌	0	3	2	1	1	0	7

3) 被引用上位 10 論文の被引用数

事業前 (～1999)	事業中 (2000～-2004)	事業後 (2005～)
457	254	127

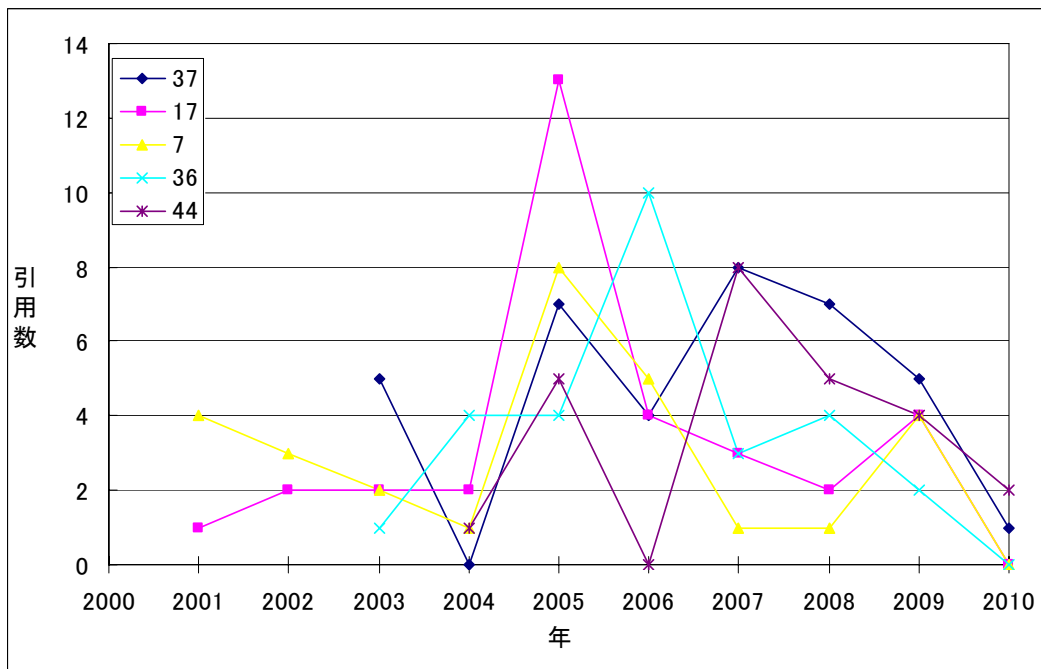
4) 被引用数上位 10 論文

事業前後の論文を対象として、新事業創出研究開発事業の期間中の成果論文を白抜き、終了後の成果論文を緑で示した。

順位	論文 No.	Year	Title	Authors	Journal, Vol.	引用数
1	37	2002	Molecular characterization and chromosomal localization of cytochrome P450 genes involved in the biosynthesis of cyclic hydroxamic acids in hexaploid wheat	Nomura T., et al.	Molecular Genetics and Genomics, 267	37
2	17	2001	Metabolism of herbicides and other chemicals in human cytochrome P450 species and in transgenic potato plants Co-expressing human CYP1A1, CYP2B6 and CYP2C19	Inui H. , et al.	Journal of Pesticide Sciences, 26	33
3	7	2000	Herbicide metabolism and cross-tolerance in transgenic potato plants co-expressing human CYP1A1, CYP2B6, and CYP2C19	Inui H. , et al.	Pesticide Biochemistry and Physiology, 66	29
4	36	2002	Molecular and biochemical characterization of torenia flavonoid 3'-hydroxylase and flavone synthase II and modification of flower color by modulating the expression of these genes	Ueyama Y. , et al.	Plant Science, 163	28
5	44	2003	Rearrangement of the genes for the biosynthesis of benzoxazinones in the evolution of Triticeae species	Nomura T. , et al.	Planta, 217	25
6	2	2000	Molecular cloning of novel cytochrome P450 species induced by chemical treatments in cultured tobacco cells	Yamada T. , et al.	Pesticide Biochemistry and Physiology, 68	23
7	68	2005	Transgenic rice containing human CYP2B6 detoxifies various classes of herbicides	Hirose S. , et al.	Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53	22
7	16	2001	Herbicide metabolism and tolerance in the transgenic rice plants expressing human CYP2C9 and CYP2C19	Inui H. , et al.	Pesticide Biochemistry and Physiology, 71	22
9	78	2006	Phytoremediation of the herbicides atrazine and metolachlor by transgenic rice plants expressing human CYP1A1, CYP2B6, and CYP2C19	Kawahigashi H. , et al.	Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54	21
9	5	2000	CYP78A1 preferentially expressed in developing inflorescences of Zea mays encoded a cytochrome P450-dependent lauric acid 12-monooxygenase	Imaishi H. , et al.	Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 64	21

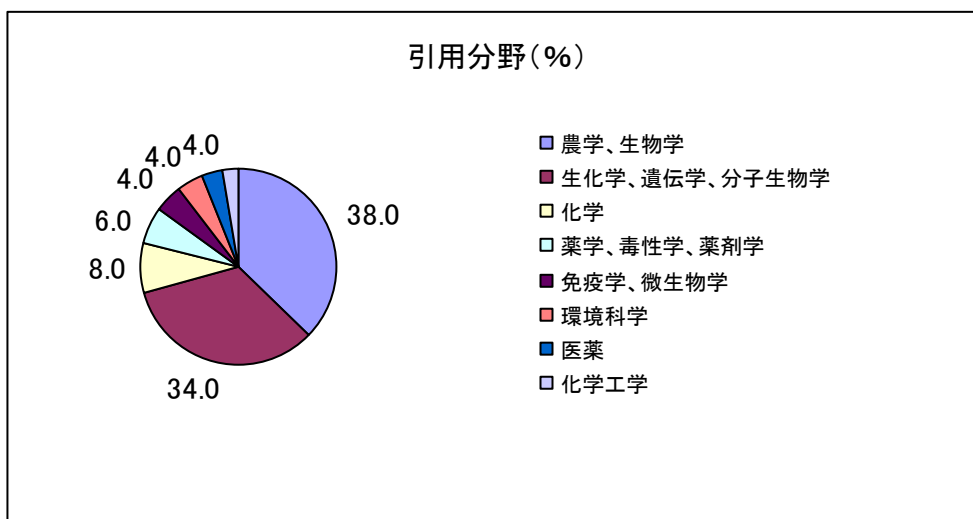
5) 被引用数の年次推移

被引用上位論文（5件）の引用数の年次推移を、事業期間中および終了後に分けて示した。



6) 引用論文の分野

被引用上位論文（10件）を引用した論文について、件数をそれらが掲載されている雑誌の分野別にまとめた。



7. 実用化データ

1) 特許出願

公開番号 または特許番号	発明・考案の名称	出願人・ 権利者名	発明者・考 案者	出願 日
特開 2002-145825	ビスフェノール A 化合物、免疫学的反応体、ハイブリドーマ及びビスフェノール A の測定方法	大塚化学株式会社	大川 秀 郎 など	2000/ 11/9
特開 2002-145870	シメトリン化合物、免疫学的反応体、ハイブリドーマ及びシメトリンの測定方法	大塚化学株式会社	大川 秀 郎 など	2000/ 11/9
特開 2001-275682	抗マラチオンモノクローナル抗体をコードする遺伝子	株式会社環境免疫 技術研究所	大川 秀 郎 など	2000/ 3/31
特開 2003-166991	トリフルラリン化合物、免疫学的反応体、ハイブリドーマ及びトリフルラリンの測定方法	大塚化学ホールデ ィングス株式会社	大川 秀 郎 など	2001/ 11/30
特開 2002-253259	抗ビスフェノール A 抗体をコードする遺伝子、組換えタンパク質およびその製造方法	株式会社バイオア プライドシステム ズ	大川 秀 郎 など	2001/ 3/2
特開 2002-262881	トリアジン系除草剤に対する抗体をコードする遺伝子、組換えタンパク質およびその製造方法	株式会社バイオア プライドシステム ズ	大川 秀 郎 など	2001/ 3/12
特開 2004-89068	Ah 受容体リガンド特異的な遺伝子発現誘導因子及びその機能に基づく異種遺伝子誘導発現系の利用技術	神戸大学長	大川秀郎	2002/ 8/30
特開 2005-35893	アラクロールハプテン、アラクロールに対する抗体およびそれを用いる免疫学的測定方法	株式会社ホリババ イオテクノロジー 大塚化学株式会社	松尾 良子 など	2003/ 7/15
特開 2005-106587	抗原抗体反応を用いた分析方法および装置	株式会社ホリババ イオテクノロジー	大川 秀 郎 など	2003/ 9/30
特開 2003-319779	環境ホルモンに対する結合能を有する蛋白質およびその製造法	日本エンバイロケ ミカルズ株式会社	大川 秀 郎 など	2003/ 2/28
特開 2005-247822	コプラナーPCB ハプテン、コプラナーPCB に対する抗体およびそれを用いる免疫学的測定方法	株式会社ホリババ イオテクノロジー 大塚化学株式会社	乾 秀 之 な ど	2004/ 5/25
特開 2006-129733	内分泌攪乱化学物質モニタリング植物、その生産に使用する DNA、発現ベクター、同植物の生産方法、および、同植物を用いたモニタリング方法	国立大学法人神戸 大学	乾 秀 之 な ど	2004/ 11/2

2) 実用化リスト

- ・組換え AhR 導入トレニアの登録

(付記) 主な調査参考資料

- 大川秀郎、神戸大学農学部・農薬生化学研究室 神戸大学大学院自然科学研究科・大川プロジェクト 神戸大学遺伝子実験センター・環境遺伝子機能解析研究分野・環境遺伝子機能制御研究分野 研究教育活動報告書、平成 16 年 3 月
- 堀場製作所ホームページ、<http://www.horiba.com/jp/horiba-advanced-techno/products/type/kit/>
- 生物化学測定法研究会ホームページ、<http://wwwsoc.nii.ac.jp/icsj/>
- 和光純薬ホームページ、http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/env/article/ape_kit.htm

第4節 コンソーシアム3新しい生物農薬の開発

新事業創出研究開発事業

研究組織 代表者：国見 裕久、実施期間：平成12年度－16年度

	中課題名	所属（事業当時）	開始年度	終了年度	研究者
①	ウイルス農薬の効果の強化及び安定性に関する基盤的技術の開発	東京農工大学大学院 共生科学技術研究部	H12	H16	国見 裕久
②	害虫防除用ウイルス農薬の開発	日本化薬（株）	H12	H15	榊井 昭夫 (H12-15)
		日本化薬（株）	H16	H16	志田 篤彦 (H16)
③	<i>Gliocladium</i> 菌を用いた新規土壌病害防除剤の開発 (当初は「微生物土壌消毒剤の開発」)	出光興産（株）	H12	H15	土井 清二 (H12-13)
		出光興産（株）	H14	H16	伊豆 進 (H14-16)

ヒアリング協力者：国見裕久 東京農工大学大学院農学府長（現所属）

ヒアリング実施日：平成22年12月13日（月）

1. 研究の背景と位置付け

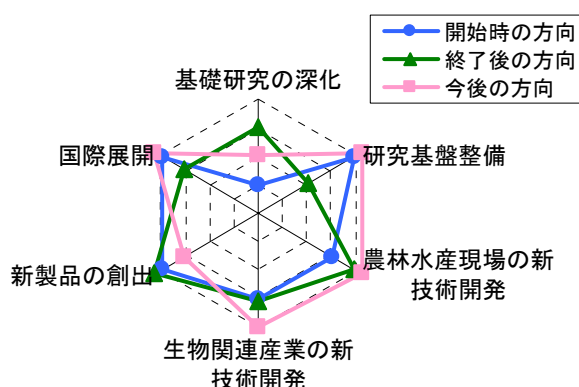
現在、地球上の1/7の人が飢餓に陥っていると推定され、さらに世界の人口は増加しつづけていることから、将来、深刻な食糧不足に陥ることが予想されている。新たな耕作地の開発は簡単ではなく、食糧増産のためには、単位面積当たりの農作物の収穫量を増大させる必要がある。食糧増産に繋がる重要な方法は、農作物の病気、害虫及び雑草による被害を軽減することであり、これまで化学合成農薬を利用した化学的防除法を主流に病虫害及び雑草防除が行われてきた。しかし、人畜や標的外の有用生物に対する毒性、抵抗性を獲得した昆虫の出現等の問題も出てきた。

一方、病虫害防除の場面においては、IPM（総合的有害生物管理）の実行が重要となっており、農地の生物多様性の保全が重視されることから、環境に優しい防除資材を積極的に利用していくことが求められている。

そこで本研究では、化学合成農薬の使用を低減させるために、人畜に安全性が高く、環境に優しい新しい生物農薬の開発を目指すこととした。

2. 研究の展開

研究者へのアンケートおよびヒアリング調査の結果をスコア化し、新事業創出研究開発事業の開始時、終了後、今後の研究の方向性をレーダー図で示した。



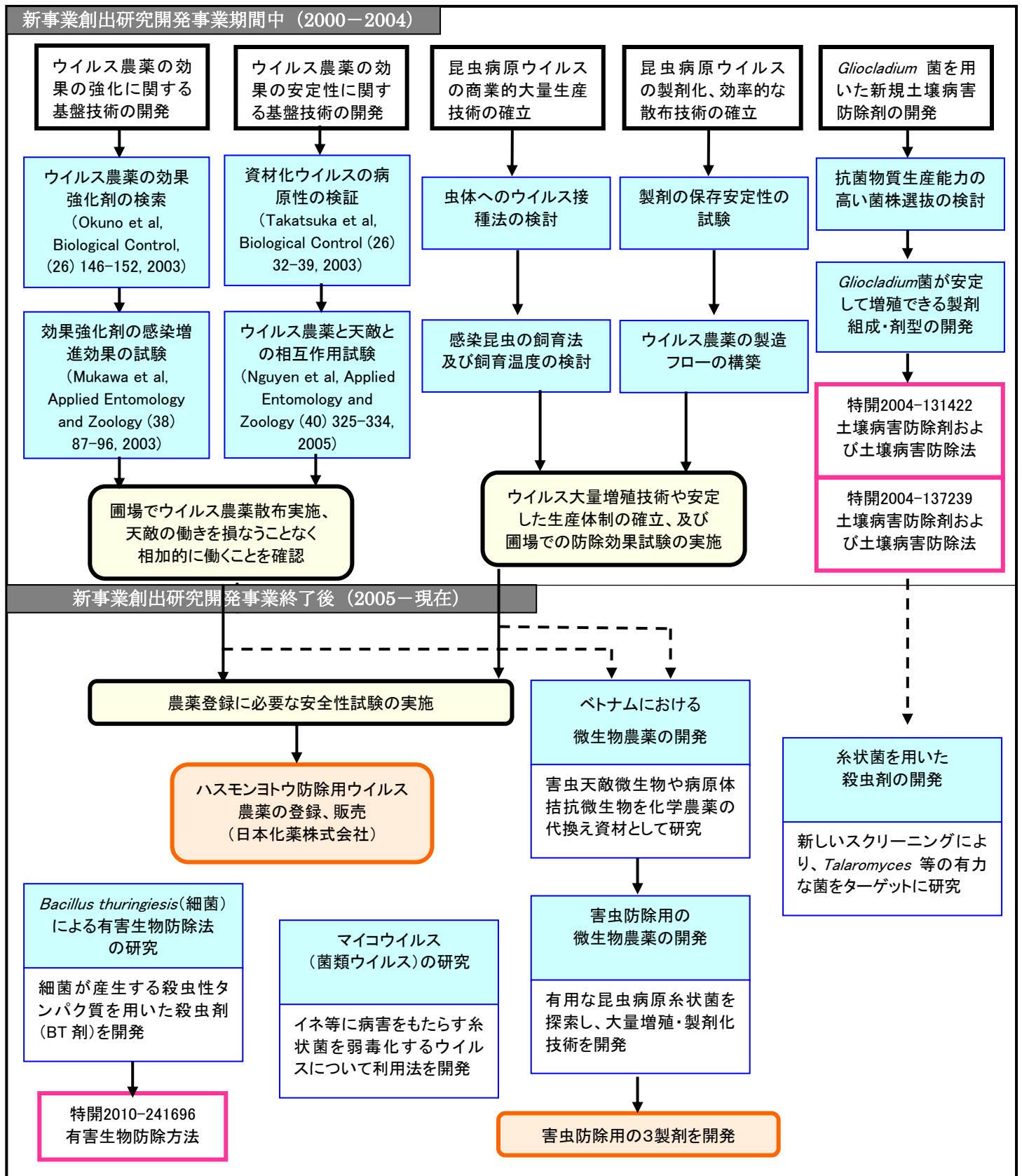
開始時から基礎技術及び応用技術の開発を行い、新製品の創出を目指してきた。有機的連携により研究の進展が見られ、開始時の計画通りほぼ目標に達した。今後はさらに新技術の開発および新製品の創出を進展させ、国際的な共同研究等の展開を図っている。

新事業創出研究開発事業の開始から今後の展望までの全体図を示した。



新事業創出研究開発事業の開始から終了後現在までの研究の展開を、文献・特許調査やヒアリング調査をもとにして俯瞰的に図に記した。

□ 中課題、□ 研究成果、□ 特許出願、□ 実用化、□ 効果



3. 新事業創出研究開発事業において実施された内容

(1) 研究目的

化学合成農薬の使用を低減させるために、人畜に対して安全性が高く環境に優しい生物農薬の開発を目指し、昆虫ウイルスを主成分とするウイルス農薬の開発に向けた基盤的技術を確立し、畑作物や野菜類に甚大な被害をもたらすハスモンヨトウ、及び果樹や茶に発生が増加しているハマキガ類を対象に、新防除素材としてウイルス農薬を開発することを目的とする。また、糸状菌 *Gliocladium* 菌の土壤病害防除効果を利用した製剤を開発することにより、安全で環境負荷の少ない微生物農薬を提供する。

(2) 研究内容

1) ウイルス農薬の効果の強化・安定性に関する基盤技術の開発

基盤技術の開発を行うために以下の項目を実施した。

- ・昆虫ウイルス資材の探索
- ・殺虫効果の強化剤の開発
- ・最適な施用技術の開発
- ・圃場での実証試験

なお、殺虫効果の強化剤とは、ウイルス農薬と混合して施用することにより、昆虫のウイルスに対する感受性を数十倍から数百倍増大させるスチルベン系の蛍光漂白剤である。このような効果を持つ新たな物質を探索することにより、殺虫効果の増強と安定化を図る。

また、圃場においてウイルス農薬散布実験を行い、防除効果の持続性、クモなどの天敵への影響等を調査した。さらに、ウイルス農薬と天敵の相互作用の実態を明らかにして、天敵の活動を最大限に活かしたウイルス農薬の利用法を開発した。

2) 害虫防除用ウイルス農薬の開発

害虫にのみ病原性があり、ヒトや環境には安全なウイルス農薬の開発を目指すこととし、①マメ類、キャベツ、ハクサイ、ナス、ピーマン等に甚大な被害をもたらす、その防除に大量の化学合成農薬が使用されているハスモンヨトウにのみ病原性がある核多角体病ウイルス(SINPV)、及び②リンゴ、ナシ等の主要害虫であるミダレカクモンハマキ、リンゴコカクモンハマキ等のハマキガ類に病原性がある昆虫ポックスウイルス(AfEPV)を研究対象として、以下の項目を実施した。

- ・ウイルスの商業的大量生産技術の確立
- ・適切な製剤化技術の確立
- ・効率的な施用技術の確立
- ・ヒト及び環境等への安全性確認
- ・農薬登録の取得
- ・農家の利用に供すること

ウイルスの大量生産では、ウイルスの増殖材料となる宿主昆虫の大量飼育技術、宿主昆虫を用いたウイルスの大量増殖技術、病原性の強化・環境耐性を備えた製剤化技術を開発し、ウイルス農薬の効率的な施用技術を開発して、農家圃場で防除効果を実証した。

3) *Gliocladium* 菌を用いた新規土壌病害防除剤の開発

2005年に使用全廃が予定されている臭化メチルの代替技術として、安全で環境負荷の少ない微生物利用技術を用い、新規土壌病害防除剤の開発を行うことを目指した。糸状菌の一種である *Gliocladium* 菌が増殖初期に生産し、広い範囲の病原微生物に作用する（広スペクトル）抗菌物質 Gliotoxin (GTX) の強い抗菌性と、その作用の速効性および環境中において速やかに分解消失する特性に着目し、以下の項目を実施した。

- ・ GTX 生産能力の高い菌株の選抜
- ・ *Gliocladium* 菌が安定して増殖できる「住処と餌」を重視した製剤開発
- ・ 製剤の効果向上と安定化
- ・ 本製剤の圃場評価、ヒトや環境に対する安全性
- ・ 剤型検討、製造プロセスの最適化
- ・ 微生物農薬として農薬登録を取得
- ・ 基礎検討として
 - 各病原菌に対する GTX 有効作用量の把握
 - 病害適用範囲の明確化
 - 土壌消毒効果と薬害の関連の解明

(3) 主な研究成果

1) ウイルス農薬の効果の強化・安定性に関する基盤技術の開発 (図1)

- ・ わが国で分離されたハスモンヨトウ核多角体病ウイルス (SpltNPV) には、遺伝的特性が異なる二つのタイプがあり、ハスモン型、リトラリス型と命名した。わが国のハスモンヨトウ自然個体群ではリトラリス型が優占していた。
- ・ リトラリス型のウイルスについて、殺虫活性が強く、ハスモンヨトウの致死までに要する時間が短いウイルスクローン (福山クローン No.1) を選抜し、資材候補ウイルスとした。
- ・ ウイルス感染を増進させる物質として知られている「ティノポール」のジエチルアミノ基を他の置換基に変換した化合物を作出したところ、化合物 CR が高い感染増進作用を有していた。
- ・ 圃場で SpltNPV を散布すると、SpltNPV は天敵の働きを損なうことがなく、両者は相加的に働き、ハスモンヨトウ個体群密度を抑制した。

2) 害虫防除用ウイルス農薬の開発 (図2)

- ・ ハスモンヨトウ幼虫を用いた SpltNPV の大量増殖技術 (増殖技術マニュアルを作成) を確立し、安定した生産体制を樹立した。
- ・ 公的試験機関の協力を得て SpltNPV の防除効果を調査した。ラジコンヘリや動力噴霧機で散布したところ、イチゴ、ダイズ、レタス、キャベツで発生するハスモンヨトウ幼虫に対して、高い防除効果があった。
- ・ SpltNPV の水和剤タイプの製剤は、冷蔵保存で約1年半感染性を維持していた。製剤製造技術マニュアルを作成した。

3) *Gliocladium* 菌を用いた新規土壌病害防除剤の開発 (図3)

- ・ 収集・保有している *Gliocladium* 菌の中から新規土壌病害防除剤の資材候補としてグリオクラディ

ウム・ビレンス Gv0928 株（グリオ菌）を選抜した。

- ・グリオ菌をフスマで培養し、実用的な製剤としてグリオ菌フスマ製剤（IK-1140）を開発した。
- ・公的試験機関の協力を得て、IK-1140 のネギ白絹病防除効果を調査した。IK-1140 を 100L/10a または 200L/10a、定植前土壌混和処理で、防除効果が高かった。

ハスモンヨトウ防除用ウイルス農薬の開発

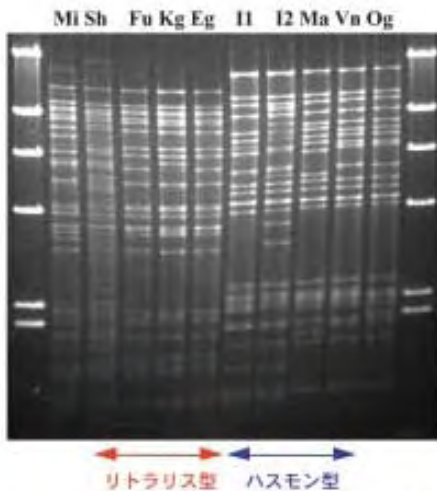


図1 各地で採集された SpITNPV の制限酵素断片パターン

Mi: 三島, Sh: 静岡, Fu: 福山, Kg: 鹿児島, Eg: エジプト, I1, I2: インド, Ma: マレーシア, Vn: ベトナム, Og: 小笠原

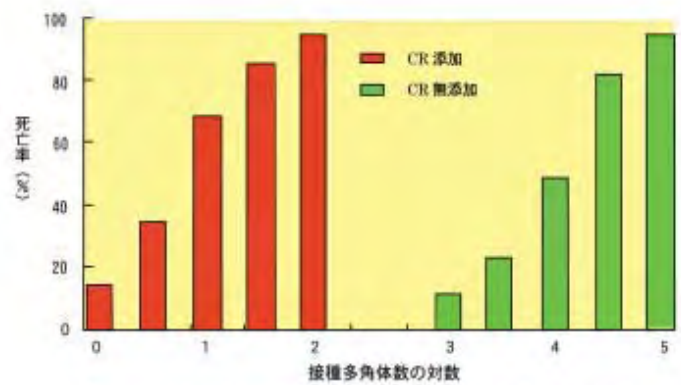


図3 ハスモンヨトウ4齢幼虫におけるウイルス感染増進物質 CR の SpITNPV に対する感染増進効果

北江電子顕微鏡写真

Gliocladium 菌を用いた新規土壌病害防除剤の開発



図7 グリオ菌処理によるネギ白絹病の防除効果

(出典 生研センターホームページ 新事業創出研究開発事業 平成16年度終了課題研究成果より)

4. 事業終了後の状況

(1) 研究発展状況

事業終了後も、日本学術振興会等から継続的に研究資金を獲得し、産学官連携研究を活発に行いながら、低環境負荷型の植物保護技術の開発を進めてきた。事業において実用化の見通しのついた、ハスモンヨトウ核多角体病ウイルスを主成分とするウイルス製剤は、終了3年後に農薬として登録され市販が開始されている。独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構の助成により2006年から、過度の化学農薬散布から農民への健康被害、河川や土壌の汚染等が問題となっていたベトナムにおいて、カントー大学と共同で微生物農薬の開発を行っている。途上国に対しては、国内企業と組んでBT剤による有害生物防除法の開発を行っており、特許も公開している。また国内においては、イネいもち病菌やアルタナリア菌を弱毒化するマイコウイルスを共同で研究し、生物防除資材としての利用法を開発中である。さらに、植物が元来保持する病害に対する抵抗性を高めるという、低環境負荷型の非殺菌性薬剤を用いた植物病害の防除法の開発も行っており、精力的に研究を進展させている。

(2) 新たな研究成果

1) 害虫防除用ウイルス農薬の登録・上市

事業期間中に開発され、高い防除効果が確認されたハスモンヨトウ防除用ウイルス製剤は、公的試験機関による数種の作物に対する圃場試験を実施し、農薬登録に必要な安全性試験を通過して、2007年3月に農薬として登録された。日本化薬株式会社が、「ハスモン天敵」という商品名で水和剤タイプの製剤として販売を開始した。適用作物は、イチゴ、ダイズ、レタス、キャベツであったが、次第にアスパラガス、シソ、ツルムラサキ、食用ギクなど適用作物の登録範囲が増えている。(図1)

2) ベトナムにおける微生物農薬の開発

ベトナムにおいて微生物農薬産業の育成に貢献することを目標として、害虫に感染する昆虫病原微生物や植物病原菌の拮抗微生物を資材化した微生物農薬の開発を2006年から行った。微生物農薬の素材となる新たな有用微生物を探索してその特性を解明した。さらに既に分離されている有用微生物の大量増殖法を確立し、製剤化法を開発して試作製剤を作製した。結果的に3種のカビの製剤を開発することができた。(図2)

3) *Bacillus thuringiensis* (バチルス・チューリンジエンシス) による有害生物防除法の研究

途上国においては、住友化学と組んでBT剤について開発を行っている。BT剤は、*Bacillus thuringiensis* が産生する殺虫性タンパク質をイチゴ、シソ、チャに施用してハスモンヨトウの幼虫などの有害生物を防除するために用いた。2010年に「有害生物防除方法」と題して特許を公開した。

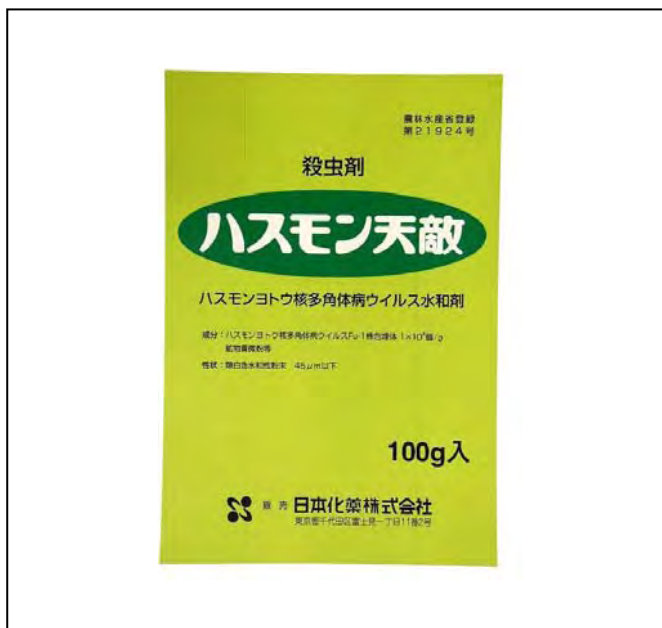


図1 登録・上市したハスモンヨトウ防除用ウイルス農薬



図2 ベトナムでの糸状菌殺虫剤の開発

(出典： http://www.s.affrc.go.jp/docs/aratana_keikaku/pdf/091117-kouen01.pdf)

(3) 波及効果

1) 科学技術的波及効果

日本では、微生物殺虫剤の利用が欧米と比べて遅れ、1970年代にマツカレハの細胞質多角体病ウイルスの製剤が微生物殺虫剤として初めて農薬登録された。昆虫ウイルスを利用したウイルス農薬の国内での登録はハマキ天敵2剤だったが、新事業創出研究開発事業において開発し事業後に登録したハスモン天敵は3番目となった。

2) 産業技術的波及効果

新事業創出研究開発事業においてウイルス農薬開発の基盤的技術を確立できたことにより、ウイルス農薬の製剤化が可能になった。ウイルス農薬の効果を強化し安定性を高めたこと、商業的大量生産技術及び効率的な施用技術を確立したことによって、ハスモンヨトウ核多角体病ウイルスを主成分とするウイルス農薬を登録・上市することができ、今後の使用拡大が期待されているところである。

3) 社会的波及効果

露地栽培においてウイルス農薬が普及することにより、化学合成農薬のように標的外の天敵を殺すことがなくなる。このため天敵の活動が増大し、標的害虫だけでなく、標的外の害虫も減少することが期待される。すなわち、化学合成農薬使用量の低減が期待され、環境調和型の農業体系が可能となった。

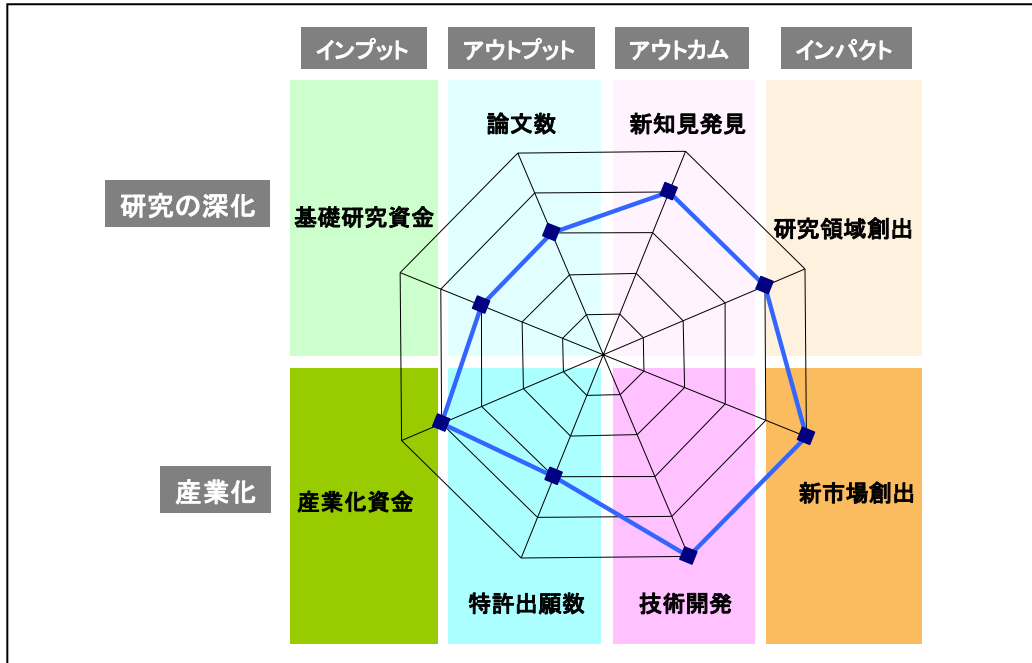
また、*Gliocladium* 菌を用いた新規土壌病害防除剤を開発したことによって、安全で環境負荷の少ない微生物農薬を代替技術として提供することができた。これにより、現在、土壌消毒が必須となっている農業現場においても、環境保全型農業を推進しながら農業生産性を維持できるようになった。

4) 人材育成的波及効果

新事業創出研究開発事業が、若手研究者の成長につながった。また、本事業をきっかけに、参画研究者の研究成果の評価が高まった。本研究に参画したポスドク研究者2名がアリスタライフサイエンス株式会社研究所の主任研究員、独立行政法人森林総合研究所にそれぞれ採用された。アリスタ社は、「ハマキ天敵」を発売している会社であり、海外に生産拠点をおいている。そのほか、本研究で開発した素材を用いて現在数名の研究者が博士研究を進めている。

(4) 成果・効果の分析 (対象：研究代表者)

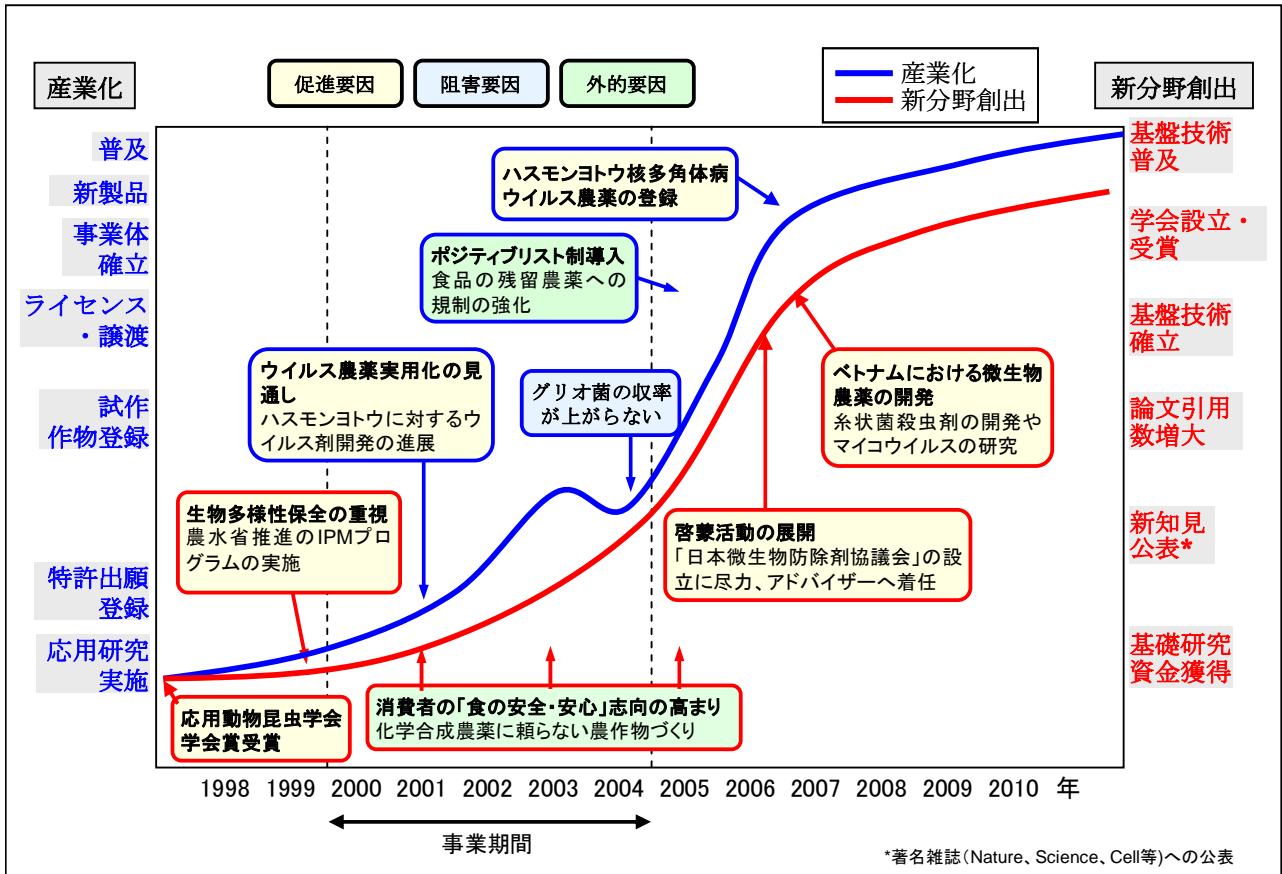
検索調査結果、および研究者へのアンケートやヒアリングの結果から、基礎研究と産業化におけるインプット、アウトプット、アウトカム、インパクトをスコアリングし、本課題の事業期間から現在までの成果・効果を分析した。



新事業創出研究開発事業の資金を獲得し、学術的にはアウトカム、インパクトの面で成果を得ており、生物農薬という新しい分野で知見を深めた。産業化においても新たな製品を市場に創出するなどの成果を得ており、アウトカム、インパクトの面で大きな成果が出ている。企業と共同で技術開発を行って新製品を創出するとともに、継続的に競争的資金を獲得して、国際展開を図って技術移転を行うなど研究・開発を進展させ、新市場の創出を行ってきた。

(5) 追跡チャート (対象：研究代表者)

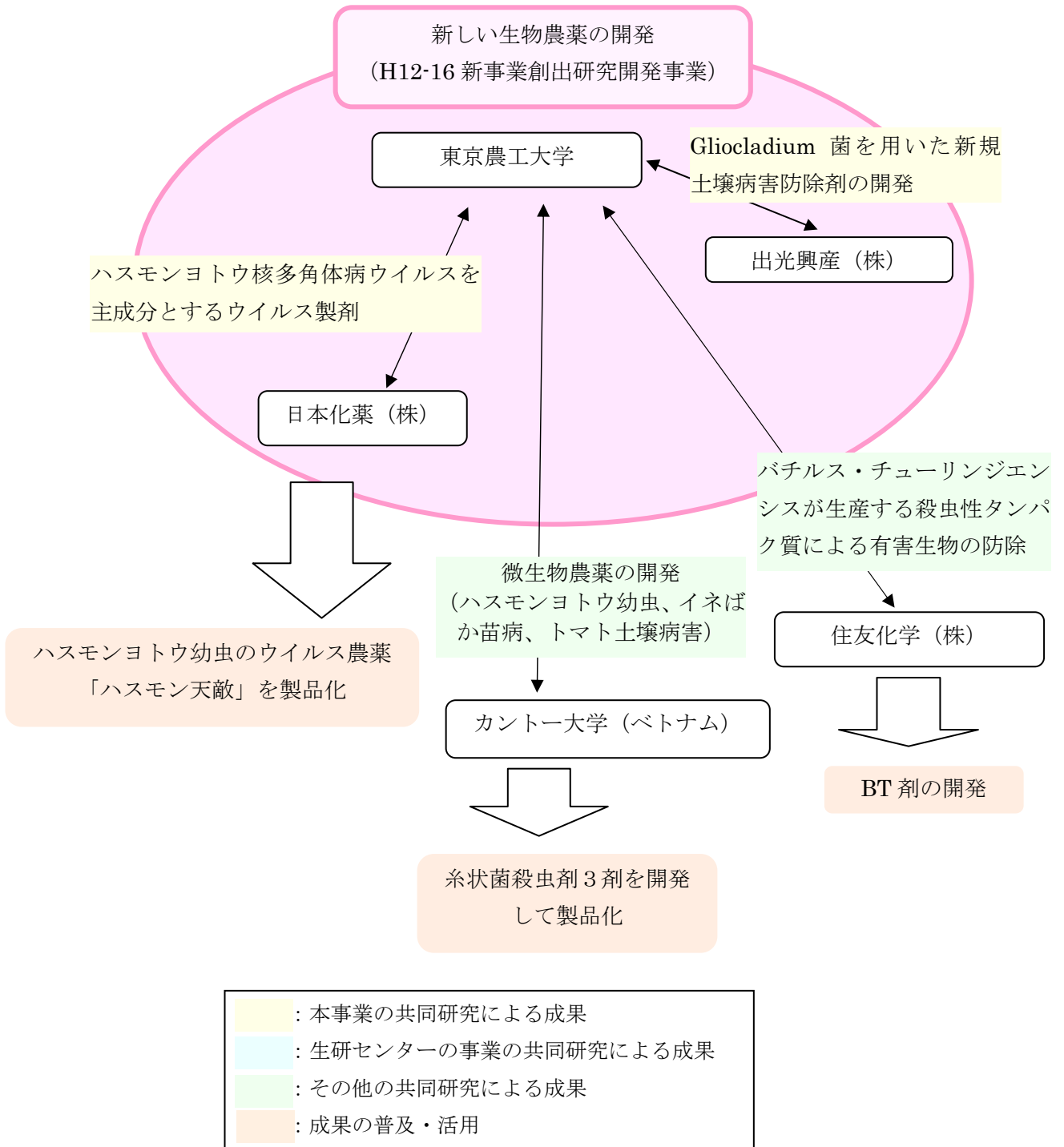
研究者へのアンケートおよびヒアリング調査結果をもとにして、事業期間前から現在までの時間経過に添った研究成果および産業化の成果を図示した。また、それらの転換点において影響を与えたと考えられる促進要因、阻害要因、外的要因を具体的に示した。



事業開始時から、産学の密接な連携によりウイルス農薬の開発が着実に進められたというプラス要因から始まり、中間評価時には新しい生物農薬として実用化の見通しがついた。環境負荷の少ない真菌を利用した新規土壌病害防除剤の開発は、ネギ白絹病に対する防除効果が認められたが、増殖が遅く収率が上がらなかったことが阻害要因となった。しかし、食の安全・安心志向の高まりから化学合成農薬に頼らない農作物作りを、という社会的ニーズがあったこと、また、ポジティブリスト制が2006年から導入され食品の残留農薬への規制が強化されたことが外的要因となったこともあって、産業化へ向けて顕著な成果がみられ、ハスモンヨトウ防除用ウイルス農薬の登録に至った。実用化に際して大学と企業とが協力できたことや、海外の大学とよく連携したことが大きく寄与し、研究の成果・波及効果が得られた。

(6) コンソーシアム機関との共同開発状況

事業期間中および終了後のコンソーシアム内の研究グループの共同研究の状況を、アンケートおよびヒアリング調査結果をもとにして、下図に表した。



5. 有識者コメント

科学的防除法を主体としてきた従来の農薬に対する様々な問題点の指摘から、選択性の高い、特に人畜には無害で、天敵にも影響を与えない、生物農薬が提唱されてきた。本事業はこの流れに沿うものとして、ウイルスや糸状菌を農薬として製剤化する試みであった。対象としたのはハスモンヨトウ核多角体ウイルスおよびハマキガボックスウイルス、また土壌消毒用 *Gliocladium* 菌の3者であった。事業期間の研究では、対象とするウイルスや菌の選抜から始め、農薬として実用化に耐え得る大量生産技術、製剤タイプの検討、実際の圃場試験等を経て、実用化が充分可能であることを示すことに成功した。事業終了後、これらは実際にウイルス農薬として実用化され登録されて商品化している。また途上国での微生物農薬開発を支援し、糸状菌農薬の作製に貢献した。この事業は生物農薬が基礎研究から実際に実用化されるにいたった実例として社会的なインパクトがあるのではないだろうか。ただ残念に思うのは、この事業での研究が個別の対象にとどまった限定的なものであり、汎用性のある（他の害虫にも適用できる）技術へ繋がるような基本的基盤的研究にはまだ広がっていないために、その後のこの分野の研究と技術開発が急速な発展を見せるほどには至っていないことである。

6. 成果論文

(1) 事業関連主要成果論文ランキング (対象：研究代表者)

1) 研究者ランキング

順位	件数	著者
1	9	Martin, Gregory B.
1	9	Schuster, David J.
3	6	Collmer, Alan
4	5	Bender, Carol L.
4	5	Kunimi, Yasuhisa
6	4	Ishiga, Yasuhiro
6	4	Kalb, Steve
6	4	Kim, Yonggyun
6	4	Kunkel, Barbara N.
6	4	Nakai, Madoka
6	4	Natwick, Eric T.
6	4	Rep, Martijn
6	4	Shurtleff, Aaron
6	4	Uppalapati, Srinivasa Rao

注1：太字、研究班

注2：下記の検索式を用いて“CHEMICAL ABSTRACT”からデータを得た

内容	検索式	件数	検索式 (CA)
	L1	3,774	S HOMONA(W)MAGNANIMA OR ARMYWORM OR ADOXOPHYES(W)HONMAI OR BACILLUS(W)THURINGIENSIS(7A)WATER(W)SOLUBLE(W)CELLULOSE OR TOMATO(3A)DISEASE
生物農薬	L2	246,872	S (VIRAL OR PESTICIDE# OR ANTIBIOTIC# OR VIRUSE# OR ?VIRUS OR VIRUS# OR PEST OR ENTOMOPOXVIRUS OR GRANULOVIRUS)(5A)(TREATMENT OR CONTROL OR INFECT?) OR VIRULENCE(A)MICROBIAL OR SEQUENCE#(5A)KILLING
	L3	463	S L1 AND L2
2000 年以降	L4	269	S L3 AND PY>=2000
特許削除	L5	228	S L4 NOT P/DT

2) 主要成果論文数

事業期間中の主要論文数

年	2000	2001	2002	2003	2004	合計
海外誌	0	1	2	2	3	8
国内誌	0	0	1	0	1	2

(出典：終了時の研究成果報告書)

事業終了以降の主要論文数

年	2005	2006	2007	2008	2009	2010	合計
海外誌	4	2	5	3	1	2	17
国内誌	2	1	-	1	-	2	6

3) 被引用上位 10 論文の被引用数

事業前 (～1999)	事業中 (2000～2004)	事業後 (2005～)
141	157	39

4) 被引用数上位 10 論文

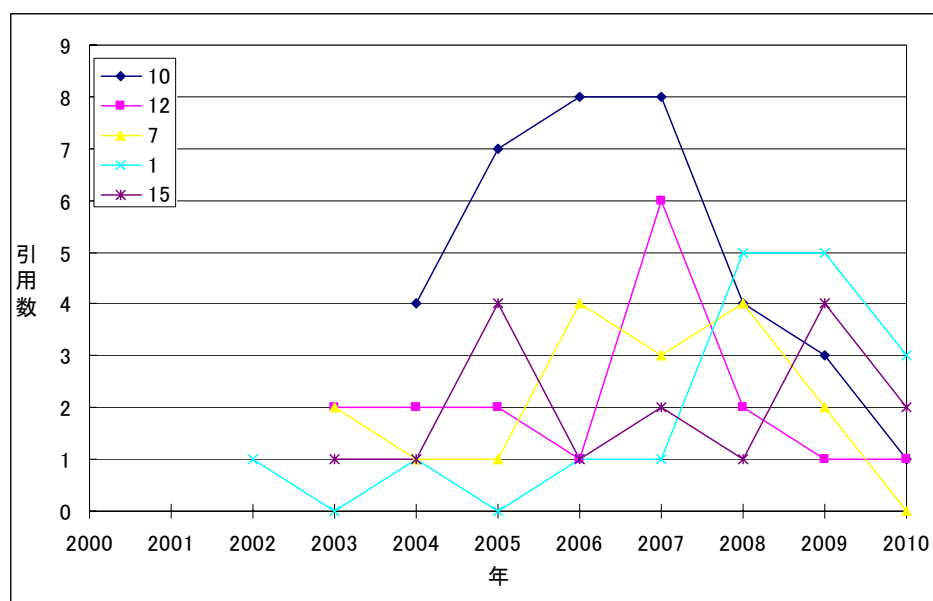
事業前後の論文を対象として、新事業創出研究開発事業の期間中の成果論文を白抜き、終了後の成果論文を緑で示した。

順位	論文 No.	Year	Title	Authors	Journal, Vol.	引用数
1	10	2003	Genome sequence and organization of a nucleopolyhedrovirus isolated from the smaller tea tortrix, <i>Adoxophyes honmai</i>	Nakai M., et al	Virology, 316	35
2	12	2003	Viral-enhancing activity of various stilbene-derived brighteners for a <i>Spodoptera litura</i> (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus	Okuno S., et al	Biological Control, 26	17
2	7	2002	Growth characteristics and competitive abilities of a nucleopolyhedrovirus and an entomopoxvirus in larvae of the smaller tea tortrix, <i>Adoxophyes honmai</i> (Lepidoptera: Tortricidae)	Ishii T., et al	Biological Control, 23	17
2	1	2000	Intestinal bacteria affect growth of <i>Bacillus thuringiensis</i> in larvae of the oriental tea tortrix, <i>Homona magnanima diakonoff</i> (Lepidoptera: Tortricidae)	Takatsuka J., et al	Journal of Invertebrate Pathology, 76	17
5	15	2003	Genetic and biological comparisons of ten geographic isolates of a nucleopolyhedrovirus that infects <i>Spodoptera litura</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Takatsuka J., et al	Biological Control, 26	16
6	11	2003	Characterization of <i>Adoxophyes honmai</i> single-nucleocapsid nucleopolyhedrovirus: Morphology, structure, and effects on larvae	Ishii T., et al	Journal of Invertebrate Pathology, 83	10
6	14	2003	Genotypic variation of a wild isolate of <i>Hyphantria cunea</i> nucleopolyhedrovirus	Kamiya K., et al	Journal of Biotechnology and Sericulture, 72	10
6	5	2002	Granulovirus prevents pupation and retards development of <i>Adoxophyes honmai</i> larvae	Nakai M., et al	Physiological Entomology, 27	10
9	17	2004	An entomopoxvirus and a granulovirus use different mechanisms to prevent pupation of <i>Adoxophyes honmai</i>	Nakai M., et al	Virus Research, 101	7
10	21	2005	Interaction between a nucleopolyhedrovirus and the braconid parasitoid <i>Meteorus pulchricornis</i> (Hymenoptera: Braconidae) in the larvae of <i>Spodoptera litura</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Nguyen D.H., et al	Applied Entomology and Zoology, 40	6
10	22	2005	Effects of temperature and photoperiod on the development and reproduction of <i>Adoxophyes honmai</i> (Lepidoptera: Tortricidae)	Nabeta F.H., Nakai M., Kunimi Y.	Applied Entomology and Zoology, 40,	6

順位	論文 No.	Year	Title	Authors	Journal, Vol.	引用数
10	18	2004	Impacts of tillage practices on hoppers and predatory wolf spiders (Araneae: Lycosidae) in rice paddies	Ishijima C., Motobayashi T., Nakai M., Kunimi Y.	Applied Entomology and Zoology, 39	6
10	13	2003	Nucleopolyhedrovirus enhancement by a fluorescent brightener in <i>Mythimna separata</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Mukawa S., Nakai M., Okuno S., Takatsuka J., Kunimi Y.	Applied Entomology and Zoology, 38	6
10	3	2001	Late male-killing phenomenon found in a Japanese population of the oriental tea tortrix, <i>Homona magnanima</i> (Lepidoptera: Tortricidae)	Morimoto S., Nakai M., Ono A., Kunimi Y.	Heredity, 87	6

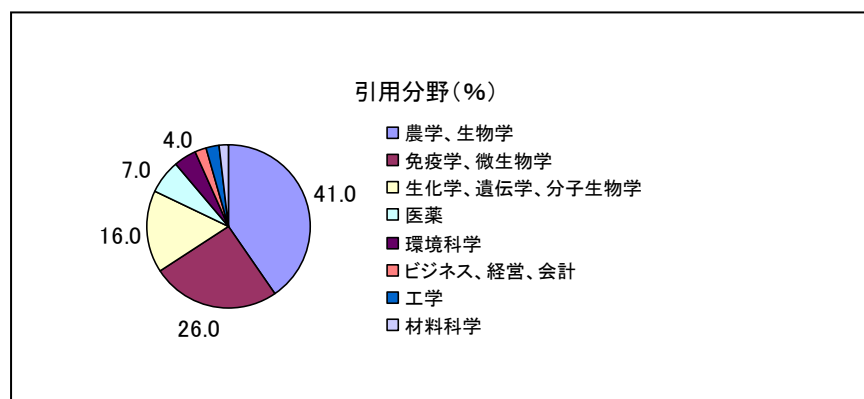
5) 被引用数の年次推移

被引用上位論文（10件）の引用数の年次推移を、事業期間中および終了後に分けて示した。



6) 引用論文の分野

被引用上位論文（10件）を引用した論文について、件数をそれらが掲載されている雑誌の分野別にまとめた。



7. 実用化データ

1) 特許出願

公開番号 または特許番号	発明・考案の名称	出願人・ 権利者名	発明者・考案 者	出願日
特開 2004-131422	土壌病害防除剤および土壌病害防除法	出光興産株 式会社	望月 正己	2002/10 /10
特開 2004-137239	土壌病害防除剤および土壌病害防除方法	出光興産株 式会社	望月 正己	2002/10 /21
特開 2010-241696	有害生物防除方法	国立大学法人 東京農工大 学,住友化学 株式会社	国見裕久,諫 山真二,丸山 威	2009/4/1

2) 実用化リスト

- ・日本化薬とハスモンヨトウ幼虫のウイルス農薬「ハスモン天敵」製品化（H19年）
- ・ベトナムにおいてカントー大学と共同で糸状菌殺虫剤を3剤開発
- ・住友化学と共同でBT剤の開発を行い、特許を公開

（付記）主な調査参考資料

1. バイオインダストリー Vol.27, No.9, 5-26 (2010)