

氏名(本籍)	キップコリル エライジャ レッルメン (ケニア)			
学位の種類	博士(生物工学)			
学位記番号	博甲第5531号			
学位授与年月日	平成22年6月30日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	Risk Assessments on Salt Stress Tolerant Transgenic Eucalypts Associated with Soil Rhizosphere Microorganisms (土壌根圏微生物に関する耐塩性遺伝子組換えユーカリのリスク評価)			
主査	筑波大学教授	Ph.D.	渡邊和男	
副査	筑波大学准教授	博士(学術)	中島敏明	
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	内海真生	
副査	筑波大学教授	農学博士	内山裕夫	

論文の内容の要旨

植物は自然の中で低温、干ばつや塩分などの様々な非生物的ストレスにさらされている。塩分は、植物の成長や生産性に大きな負の影響を持つ主要な非生物的ストレスである。したがって、耐塩性の獲得は高塩濃度の環境にさらされた植物にとって重要である。遺伝子工学は、植物に非生物的ストレス耐性を付与する方法の一つである。しかし、環境ストレス耐性遺伝子組換え植物が、土壌と微生物のコミュニティとその機能に及ぼす潜在的な影響に関する知見はあまり得られていない。土壌は貴重な資源であり、地上の生物の生活やその多様性は土壌に大きく依存している。そのため、遺伝子組換え樹木が土壌に与える影響および、微生物群集に与える潜在的な影響を理解することが必要である。遺伝子組換え植物の環境バイオセーフティに関するリスク評価(環境影響評価とそのモニタリング)は生物多様性条約(CBD)中のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書(バイオセーフティ議定書)ならびに日本政府の国内法規制の下で要求されている。遺伝子と環境の相互作用を考慮し、塩ストレス耐性遺伝子組換え植物の環境リスク評価は、塩分ストレス条件下と非ストレス条件下の両方で行われるべきである。

本研究では、先行研究において、塩水を灌漑した条件下で耐塩性を示したマングローブ(*Bruquiera sexangula*)から単離された耐塩性を付与する mangrin 遺伝子を導入した、遺伝子組換えユーカリ(*Eucalyptus camaldulensis*)を使用した。本実験では、土壌の健全性の生化学と微生物に対する、*E. camaldulensis* の mangrin 遺伝子の潜在的な環境リスクを特定網室にて評価した。土壌には多様なグループの微生物が存在し、その様々な機能はすべての土壌生態系の健全性に貢献する複雑なシステムである。しかし、すべての土壌微生物に対する遺伝子組換え植物の影響を評価することは不可能である。そこで実験を以下のように設定し、塩ストレス条件下で以下の指標について測定を行った。1) 培養(細菌、菌類および放線菌)による、培養可能な菌群の総数の計測、2) リボソーム遺伝子間スペーサー分析(Ribosomal Intergenic Spacer Analysis)による、培養困難な微生物の多様性の確認、3) 土壌酵素活性測定による微生物コミュニティ機能の評価。加えて、植物の根の皮質に感染し、土壌とのアソシエーションを形成する特定のグループであるアーバスキュラー菌根菌(AM)を用いた研究を行った。

最初に、遺伝子組換えと非遺伝子組換え植物の根圏土壌中の（細菌、真菌、および放線菌）の数を調べた。計測された細菌、真菌、放線菌の数には、遺伝子組換えと非遺伝子組換え植物の間には有為な違いは観察されなかった。

第二に、真菌と細菌の RISA 解析を行った。その結果、遺伝子組換え植物と非遺伝子組換え植物の間の両条件の下で、多様性を示すバンドパターンはほぼ同じであり、異なる非組換え体遺伝子型間の変異程度であると考えられた。よって、両条件下真菌と細菌の多様性に顕著な差はないと考えられる。

第三に、土壌中のリン、硫黄、炭素と窒素の生物循環に関与する酵素として、5種類の酵素活性（アルカリホスファターゼ、アрилサリフェース、 β -グルコシダーゼ、脱水素酵素、およびプロテアーゼ）を生化学的指標として測定した。異なる生育時期でのサンプルを定期的に行い、活性の変遷をモニターした。いずれの酵素においても、遺伝子組換え体と非遺伝子組換え体間で活性に著しい差は検出されなかった。

最後に遺伝子組換え植物が、上記の指標の測定上の任意の有害な影響の可能性を持っていないことを確認した後、遺伝子組換え植物であることがアーバスキュラー菌根菌（AM）の感染に影響を与えるかどうかの検討と、塩ストレスが AM の感染に与える影響についての評価を行った。その結果、AM は植物の耐塩性に関して遺伝子組換えとの相乗効果があることが判明した。分散分析の結果、遺伝子組換え植物は、非遺伝子組換えの対応の間に有意差は見られなかった。これは、*mangrin* 遺伝子の *E. camaldulensis* への形質転換によって、AM の感染の能力は変化せず、遺伝子組換えと mycorrhization が塩ストレスに対して相乗的効果と可能性を示す。

総じて、本研究においては、特定網室条件について、耐塩性を付与した遺伝子組換えユーカリの土壌環境影響はリスクのおそれがないと見なされた。よって、当該観点からは、*mangrin* 遺伝子を導入した耐塩性を付与した遺伝子組換えユーカリの供試系統は、今後隔離ほ場等での第一種使用を行うことが生物多様性影響評価の観点からは可能であると考えられた。

審査の結果の要旨

規制科学の研究として新規の情報を提供しており、研究の結果、遺伝子組換え植物は土壌中の微生物群集に影響を与えていないと結論付けたところは情報のない樹木について新しい方向性を提供し、今後の GM 樹木利用研究へ資するところ大である。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。