

---

# ERAプロジェクト調査報告

---

April 2019

バイオテクノロジー研究会



特定非営利活動法人

国際生命科学研究機構

International Life Sciences Institute Japan

International Life Sciences Institute, ILSI は、1978年にアメリカで設立された非営利の団体です。

ILSI は、科学的な視点で、健康・栄養・安全・環境に関わる問題の解決および正しい理解を目指すとともに、今後発生する恐れのある問題を事前に予測して対応していくなど、活発な活動を行っています。現在、世界中の400社以上の企業が会員となって、その活動を支えています。

多くの人々にとって重大な関心事であるこれらの問題の解決には、しっかりとした科学的アプローチが不可欠です。ILSI はこれらに関連する科学研究を行い、あるいは支援し、その成果を会合や出版物を通じて公表しています。そしてその活動の内容は世界の各方面から高く評価されています。

また、ILSI は、非政府機関（NGO）の一つとして、世界保健機関（WHO）と協力関係にあり、国連食糧農業機関（FAO）に対しては特別アドバイザーの立場にあります。アメリカ、ヨーロッパをはじめ各国で、国際協調を目指した政策を決定する際には、科学的データの提供者としても国際的に高い信頼を得ています。

特定非営利活動法人国際生命科学研究機構（ILSI Japan）は、ILSI の日本支部として1981年に設立されました。ILSI の一員として世界的な活動の一翼を担うとともに、日本独自の問題にも積極的に取り組んでいます。

# まえがき

2019. 4

バイオテクノロジー研究部会

2019年の調査報告書第2号（通算第43号）をお届けします。

本号では、遺伝子組換え技術に関連する最近の研究事例として、ナタネの新規双方向プロモーターの機能をダイズにおいて評価した結果について（No. 421）、RNAi手法を用いて作出されたウイルス病抵抗性サトウキビについて（No. 423）、RNAi手法を用いて油品質を向上した組換えダイズについて（No. 424）、及び商業利用されている遺伝子組換えトウモロコシにおけるmiRNAのプロファイリング結果について（No. 429）紹介しておりますのでご一読ください。

また、世界の規制に関するトピックとして、ゲノム編集技術の取扱いやリスク評価に関する欧州専門家グループの記事（No. 420）、インドにおける遺伝子組換えカラシナの現状（No. 426）、途上国における規制制度の現状と展望に関する記事（No. 427）を、遺伝子組換え技術の利用に関連する世界動向として、ILSI研究財団環境リスク評価センター（CERA）の活動について（No. 422）、近年注目されている農業における微生物利用ベンチャーについて（No. 422）、中国における害虫抵抗性ポプラ開発の現状と展望について（No. 428）も紹介いたします。

なお、これまでに調査報告書においてご紹介した文献抄訳は以下のURLで閲覧可能です。

<https://ilsijapan.sakura.ne.jp/pnamazu/namazu.cgi>

## 目次

No.420	ゲノム編集による責任ある研究の推進：欧州の期待 Fostering responsible research with genome editing technologies: a European perspective	1
No.421	ナタネ由来の新規双方向性プロモーターのダイズにおける発現 Expression of a novel bi-directional <i>Brassica napus</i> promoter in soybean	2
No.422	CERA の活動 Recent activities of CERA, ILSI RF	3
No.423	ウイルス由来ショートヘアピン RNA は組換えサトウキビにおける サトウキビモザイクウイルスへの耐性獲得に寄与する A virus-derived short hairpin RNA confers resistance against sugarcane mosaic virus in transgenic sugarcane	4
No.424	RNAi 手法による <i>GmFAD2-1B</i> 遺伝子のノックダウンによる 組換えダイズ種子の油品質改善 Improved oil quality in transgenic soybean seeds by RNAi-mediated knockdown of <i>GmFAD2-1B</i>	5
No.425	新興の微生物ベンチャー企業が大金を得て大企業に挑戦 A new crop of microbe startups raises big bucks, takes on the establishment	6
No.426	活動家がインドの GM カラシナの希望を葬り去る Activists bury India's GM mustard hopes	7
No.427	途上国における遺伝子組換え産物の統御力の正当化 Rationalizing governance of genetically modified products in developing countries	8
No.428	中国における害虫抵抗性遺伝子組換えポプラの現状と開発 The current status and development of insect-resistant genetically engineered poplar in China	9
No.429	系統的 miRNome プロファイリングは遺伝子組換えトウモロコシ代謝における 異なるマイクロ RNA の差異を明らかにする Systematic miRNome profiling reveals differential microRNAs in transgenic maize metabolism	10

## ゲノム編集による責任ある研究の推進：欧州の期待

### Fostering responsible research with genome editing technologies: a European perspective

Chneiweiss H *et al.*

2017

Transgenic Research 26: 709-713

欧州の専門家グループによる投稿記事である。2017年1月現在のゲノム編集関係のピアレビュー文献は3,000以上に及ぶ。欧州アカデミー科学諮問会議は、ゲノム編集技術の倫理的・合法的・社会的側面に関する文書を2015年12月に公刊した。これに基づいてフランス国立保健医学研究機構 (INSERM) の倫理委員会は広範囲の関係者による表題の会合を2016年3月パリで開催した。その結果は、11ヶ国 (フランス・スペイン・ドイツ・スイス・ベルギー・アイルランド・マルタ・ポーランド・オーストリア・ポルトガル・英国)・19名の出席者により、以下の5項目に集約された。

- (1) ゲノム編集技術の可能性・効率性・安全性を査定する研究の推進：この目的のために、新規の運営委員会 (European Steering Committee: ESC) の設立が提言された。この委員会は、  
i) off-target 影響、ii) モザイク現象、iii) エピジェネティック影響の3領域についてその種類の特定と受容可能レベルの評価を行う。特に、ヒトの患者団体・倫理・社会・交信などの側面への配慮が重要である。
- (2) 遺伝子ドライブ技術の潜在的有害影響の評価：現行のGMOに対すると同様な、厳格な予防的隔離試験による十分なリスク評価が必要である。(1)のESCによるリスク解析マトリックスの作出が望ましい。
- (3) 人間の生殖系列細胞の核ゲノム改変の全面禁止の再評価：遺伝的難病治療へのゲノム編集技術の適用の可能性が考えられる。研究機関及び政策決定者は協力して、関連技術研究及びその適用範囲を決定すべきである。
- (4) 極端論者による本手法の独占及び過信による公衆の誤信の阻止：国際的バイオリスク管理組織の拡張が望ましい。
- (5) ヒトの治療と機能強化の区別による科学的研究及び革新の推進。
- (6) 総括：ゲノム編集技術による新規のリスクは検出されていないが、取扱いやリスク評価に関する国際的合意はなされていない。欧州連絡委員会を設立して関係分野への対応機能の強化が望ましい。

(注：本記事は個人意見の集約で国家機関を代表してはいないが、前出の作物・家畜・養殖魚に比べて欧州独特の観念的・消極的・慎重論の傾向が顕著である)。

(林 健一)

## ナタネ由来の新規双方向性プロモーターのダイズにおける発現

### Expression of a novel bi-directional *Brassica napus* promoter in soybean

Chennareddy S *et al.*

2017

Transgenic Research 26: 727-738

米国 Dow AgroSciences 社研究者による原著論文である。複数の優良特性を兼備した作物品種育成への要望が増加している。著者らは上流及び下流の両遺伝子を発現する双方向性プロモーター (bi-directional promoter) の開発を目的に研究し、以下の結果を得た。

- (1) ナタネ由来双方向性プロモーター (BEAP) : *EPSPS-A* 遺伝子 (芳香族アミノ酸生合成経路上の酵素遺伝子) の5' 上流配列 (*Brassica napus* *EPSPS-A* promoter: BEAP) は、下流に位置する *EPSPS-A* 遺伝子の発現のみならず上流に位置する機能未特定の *GOUF* 遺伝子の発現も制御する。発現量は、いずれの器官でも下流の *EPSPS-A* の方が上流の *GOUF* より高かった。
- (2) レポーター遺伝子 :  $\beta$ -グルクロニダーゼ (*GUS*) 及び緑色蛍光タンパク質 (*GFP*)。
- (3) コンストラクト : i) pDAB100331 (コンストラクト A) : BEAP の上流に *GUS* を、下流に *GFP* を融合 ; ii) pDAB100333 (コンストラクト B) : 上流に *GFP* を下流に *GUS* を融合。両コンストラクトとも選抜マーカーとして *pat* 遺伝子の発現カセットを別途含む。
- (4) 形質転換体の作成 : 両コンストラクトは、アグロバクテリウム媒介法にてダイズ品種 Maverick に導入した。
- (5) T<sub>0</sub>ダイズにおけるレポーター発現の観察 : *GUS* 発現はコンストラクト A では葉脈に局在、コンストラクト B では葉全体で均一であった。*GFP* の発現はレポーター遺伝子の融合位置による差は少なく、葉の表皮細胞、植物体の茎・葉柄であった。以上から、BEAP の双方向性及び上流下流間での発現特性が確認された。
- (6) 発現解析 (qRT-PCR) : 両コンストラクトとも BEAP の下流に接続したレポーター遺伝子の発現が、上流レポーター遺伝子の発現より有意に高かった。この傾向はナタネにおける *EPSPS-A* 及び *GOUF* の発現傾向と同様であった。
- (7) *GUS* タンパク質発現量 : (5) と同様な傾向であり、コンストラクト B (下流) では 7~33 ng/cm<sup>2</sup>、コンストラクト A (上流) では 0.5~3 ng/cm<sup>2</sup> であり、前者は後者より平均 8 倍高かった。
- (8) 遺伝性 : T<sub>1</sub>世代両コンストラクト合計 23 イベントに除草剤耐性検定を実施し、20 イベントについて安定した遺伝性を確認した。
- (9) 総括 : ナタネ由来双方向性プロモーターを導入されたダイズでも、ナタネと同様な双方向性のプロモーター活性が確認された。慣行ベクタースタックコンストラクト設計にかわる手法として考慮されることが期待される。

(註 : 実用特性遺伝子を用いた実証試験が必要である)。

(林 健一)

## CERA の活動

### Recent activities of CERA, ILSI RF

林 健一

2018

イルシー 133: 31-35

ILSI 研究財団環境リスク評価センター (CERA) で諮問会議名誉委員による短報である。

- (1) CERA の設立：2009年3月
  - (2) 本部：米国ワシントン DC
  - (3) 目的：農業バイテクの環境リスクに対する健全な科学の発展と適用を推進し、これにより食料・エネルギー・繊維の安全・持続的生産に貢献する。
  - (4) 構成：小規模な本部（幹部・研究員・職員）及び諮問会議。
  - (5) 諮問会議：農業バイテク関連外部専門家（米国3・オーストラリア1・日本1・ブラジル1・アフリカ1・欧州1（2011年退任））で構成され、本会合（1回／年）及び電話会議（2回／年）により、CERA に対して助言及び協議を行う。常任オブザーバーとして世界銀行及び OECD が出席する。
  - (6) CERA の活動分野：i) ERA 分野への組織的対応、ii) 受容環境、iii) LLP (low level presence: GM 生物の低水準存在) における ERA、iv) 途上国の ERA 支援。
  - (7) 活動の内容：「国際会合」（会議・シンポジウムなど）の開催あるいは参画（セッション議長）、さらにそれらの成果の集約あるいは国際的科学誌 (Transgenic research など) への「公刊」により、重要な科学的情報の国際的伝達に貢献している。
  - (8) 主要公刊文献：(記載番号)「調報」は ILSI Japan 刊行の「ERA プロジェクト調査報告」1) RNAi 作物のプロブレム・フォーミュレーション (CERA 報告書、2011；調報55)、2) 水系生態系の ERA (Transgenic Research 21: 813-842、2012；調報168)、3) カルタヘナ議定書の途上国へのインパクト (世界銀行討議資料8、2012；調報97)、4) GM 樹木の ERA (Plant Biotechnology Journal 11: 785-798、2013；調報171)、5) RNAi 作物のバイオセーフティ (Frontiers in Plant Science 6: 958、2015)、6) 隔離圃場試験データのトランスポータビリティ (Transgenic Research 23: 1025-1041、2014；調報183)、7) 特定タンパク質 (*Bt* など8種類) の環境安全性 (CERA モノグラフ 8 報；調報 5 報)、8) LLP (3段階) における ERA (Transgenic Research 23: 971-983、2014；調報170)、9) 低・僅環境影響 GM 作物の特定 (Transgenic Research 24: 783-790、2015；調報291)、10) OECD 合意文書 (57) (キャッサバ；2014)
  - (9) 総括：CERA は ERA に関する科学的情報及び安全性の国際的伝達に貢献してきたと要約される。独自資金の安定確保が今後の最大問題である。
- (註：CERA のセンター方式は2015年で終了し、2016年からは ILSI RF 本部直属チームによる活動が開始されている)。

(林 健一)

No.423

## ウイルス由来ショートヘアピン RNA は組換えサトウキビにおけるサトウキビモザイクウイルスへの耐性獲得に寄与する

A virus-derived short hairpin RNA confers resistance against sugarcane mosaic virus in transgenic sugarcane

Aslam U *et al.*

2018

Transgenic Research 27: 203-210

パキスタンの大学研究者による原著論文である。サトウキビは世界の製糖の75%の原料であり、新鮮重で12~16%、乾物重で50%のショ糖を提供する。サトウキビモザイクウイルス (SCMV) はその最大の病害であり光合成を阻害することで、パキスタンでは、茎で10~32%、糖で6~10%の減収をもたらすとされる。SCMVの外被タンパク質 (CP) は多面的機能を有し、ウイルスの移動やゲノムの複製などに関与している。著者らは RNAi 手法による SCMV 抵抗性系統の作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) RNAi コンストラクトの作出：SCMV の4つ優勢株の CP 配列に基づいて、2種類のショートヘアピン構造の RNA 分子 (shRNA2及び shRNA4) を設計した。
- (2) 組換えサトウキビの作出：サトウキビ品種 SPF-234及び NSG-311に、上記 RNA 分子をそれぞれ発現するコンストラクトをパーティクルガン法で導入した。shRNA2及び shRNA4コンストラクトによる組換え個体作出率は、品種 SPF-234背景では29%及び17%、品種 NSG-311背景では22%及び17%であった。
- (3) 組換えサトウキビの SCMV 抵抗性検定：罹病葉を5~7葉期の検定葉に機械的に接種し、30日後の CP mRNA の対照に対する低下率を測定した。品種 SPF-234の shRNA2及び shRNA4 導入による低下率は20%及び90%、品種 NSG-311では10%及び80%であり、どちらも shRNA4による低下率が顕著に大であり、ほとんど無発病であった。
- (4) 総括：サトウキビモザイクウイルスの外被タンパク質を標的にするショートヘアピン RNA の導入により、モザイクウイルス病抵抗性サトウキビ系統が作出された。この結果により、本手法の今後の適用拡大の可能性が示された。

(林 健一)



## RNAi 手法による *GmFAD2-1B* 遺伝子のノックダウンによる 組換えダイズ種子の油品質改善

Improved oil quality in transgenic soybean seeds by RNAi-mediated knockdown of *GmFAD2-1B*

Yang J *et al.*

2018

Transgenic Research 27: 155-166

中国吉林省農業バイテク研究所研究員による原著論文である。大豆油は世界の食用植物油の80%を占め、17%の飽和脂肪酸（パルミチン酸・ステアリン酸）20%の一価不飽和脂肪酸（オレイン酸）、63%の多価不飽和脂肪酸（リノール酸・リノレン酸）から構成されている。大豆油のオレイン酸含量（20%）は、カノーラ油（61%）、オリーブ油（75%）に比べて低いことから酸化安定性が低く、食用・工業用の使用を限定している。オレイン酸増加の既往研究は多いが、著者らはRNAi手法による高オレイン酸ダイズの作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) 組換え供試品種：研究歴の長い Williams 82及び栽培域の広い Shennong 9の2品種。
- (2) RNAi コンストラクトの作出：オレイン酸（18:1）からリノール酸（18:2）への転換を制御する主要酵素をコードする *GmFAD2-1B* を Williams 82から単離し、その配列に基づいてRNAi分子を設計した。本RNAi発現カセット及びマーカー遺伝子除草剤耐性 *bar* 発現カセット（選抜マーカー）を含むコンストラクトをアグロバクテリウム媒介法により上記2品種に導入し、自殖により T<sub>2</sub>、T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>世代（Williams 82系：8-3；Shennong 9系：9-1）を育成した。
- (3) *GmFAD2-1B* 遺伝子発現の変化：T<sub>4</sub>種子における *GmFAD2-1B* 遺伝子の発現量はいずれの系統においても対照より有意に低く、RNAi手法による抑制効果が顕著に示された。
- (4) T<sub>2</sub>種子中の脂肪酸組成：種子におけるオレイン酸含量比（mol%）は、8-3系統で対照の22.00%から78.83%へ、9-1系統で対照の19.74%から78.28%へ大幅に増加した。同時に、リノール酸含量比は56.05%（対照）から5.78%（8-3系統）及び57.23%（対照）から5.12%（9-1系統）へ低下、リノレン酸も6.76%（対照）から5.11%（8-3系統）へ、8.06%（対照）から4.90%（9-1系統）へと低下し、いずれも油品質の改善を示した。
- (5) T<sub>3</sub>-T<sub>4</sub>世代：T<sub>3</sub>及びT<sub>4</sub>種子における脂肪酸組成はT<sub>2</sub>世代と同様にオレイン酸含量が有意に高く、リノール酸含量が有意に低い傾向を維持したことから、油品質の改善が維持されていた。一方、総タンパク質及び総脂質量は、組換え系統と対照とは有意差はなかった。
- (6) 農業形質：莖長・分枝数・種子数・100粒重・収量などには対照と有意差はなかった。
- (7) 総括：RNAi手法によりオレイン酸含量が有意に高く、リノール酸含量が有意に低い油品質改善ダイズ系統が作出された。本手法はダイズ油品質改善の一手法として有効であると考えられる。

(林 健一)

## 新興の微生物ベンチャー企業が大金を得て大企業に挑戦

A new crop of microbe startups raises big bucks,  
takes on the establishment

Waltz E  
2017

Nature Biotechnology 35: 1120-1122

ネイチャーバイテク誌の報道員による短報である。

- (1) 基本的事項：植物と微生物の関係は、多くの場合相利共生であり、関係を最大限に向上できれば収量と保護の両面の飛躍的な向上が期待される。
- (2) 微生物能力利用の新展開：近年、微生物は肥料・農薬の対抗物として認識されつつある。2012年にバイエル社（在ドイツ）はAgraQuest社（生物的ペスト管理、在米国）に4億2500万米ドルを出資した。同年にBASF社（在ドイツ）はBecker Underwood社（微生物事業を主体とする農薬会社、在米国）を10億ドル以上で買収した。2013年にモンサント社（在米国）はNovozymes社（在デンマーク）と微生物産出物の供給に関する共同R & Dの提携を公表した。以降も、微生物ベンチャー業界は活発化し、多くの資金を集めている。2017年までに米国を中心に、大小10社以上の植物・微生物提携企業が発足している（付表省略）。
- (3) バイエル社の新企画：2017年9月、バイエル社はGinkgo Bioworks社（合成生物学企業、在米国）と1億ドルの共同提携を公表した。目的は窒素固定微生物の開発により、世界の肥料使用量の1/3を削減することとされた。現在、マメ科作物だけに限定されている窒素固定能力の他作物への付与は30～40年間不成功の難問である。バイエル社は難問と承知の上で、微生物を構築する新手法の発展に基づく解決を目指すとされている。
- (4) Indigo Ag社の新事業：2017年9月に、Indigo Ag社（微生物特定新企業、在米国）は、当初1億5600万ドル、後に3億ドルに拡大した資金を基に肥料・農薬に代る微生物を開発し、作物の増収を目指す新事業の発足を公表した。同社は2013年に創業し、まず世界中の異なる環境の植物・土壌から集めた膨大な収集微生物の特性をコンピューター整理し優れた特性を有する微生物（群）を特定し、これを種子に被覆した。微生物は発芽根により吸収され植物体内全域で繁殖する（内部寄生：endophyte）。内部寄生は環境条件に対応し、乾燥時には微生物は根に集中して根を増大して吸水量を増加させている。同社は地域の種子業者より、コムギ、ワタ、トウモロコシ、ダイズの種子を購入し、これに微生物被覆処理をした後に小売業者を経ずに農家へ直接販売する。収穫作物はプレミアム価格で買い戻し、製粉・醗酵・油脂・タンパク質会社に直接販売して利益を得る。以上は単なる種子販売ではなく農産業全体の構造改革と固定観念の打破を意味する。これには体制整備と資金調達が必要であり、短期間の大改革を危険視する専門家もいる。現在の世界販売額は肥料1,600億ドル、農業400億ドルであるが、同社の有用微生物内生作物により、販売量にかなりの変化がもたらされるかもしれない。

訳者註：作物と微生物の共生関係に基づく作物代謝回路に対する育種の強化あるいは遺伝子操作により、内生的収量性、抵抗性、耐性などが強化された新特性作物の作出が進行中であり、その成果が期待される。

（林 健一）

## 活動家がインドの GM カラシナの希望を葬り去る

### Activists bury India's GM mustard hopes

Jayaraman K

2017

Nature Biotechnology 35: 1124

ネイチャーバイテク誌報道員による短報である。インドの初の国産 GM カラシナ (*Brassica juncea*) は、条件付承認が得られているにも関わらず、インド国民の食卓には到達しないだろうと思われる。政府の規制当局である遺伝的操作評価委員会 (GEAC) はゴーサインを2017年5月に発表したが、最終承認を与える環境森林省は強力な GM 反対圧力団体に直面して承認発言をしなかった。「政府は反対派に対して立ち上がる勇気はないだろう」と識者はみている。政府の優柔不断は、デリー大学の D. Pental 博士らのチームにとって大きな後退であった。彼等は14年と1,000万ドル以上の公的資金によりカラシナ交雑種を作出し、これによりインドのカラシナ増産及び食用油輸入削減に貢献できると主張した。しかし、GM カラシナの市場化最終承認は、農家団体、市民団体、反対派の最高裁提訴により、保留扱いとなってしまった。「熱意喪失で技術も死滅する」と開発グループは嘆息した。インドで GM 作物がこのような障害をうけるのは今回が初めてではない。2009年に *Bt* ナスは GEAC の承認にもかかわらず、無期限の不使用とされてしまった。2002年には、GEAC は反対派の影響をうけて、デリー大学派と同様な手法で開発された GM カラシナの圃場試験を不許可とした。今回適用された雌親への雄性不稔遺伝子 (*barnase*)、雄親への稔性回復遺伝子 (*barstar*) 及び選抜マーカー除草剤耐性遺伝子 (*bar*) の3遺伝子は姉妹作物の GM ナタネの作出において20年以上の安全使用の歴史がある」と同大学派は述べている。しかし、反対派は GM カラシナにより、より多くの除草剤耐性作物や農薬会社を招来するだろうと述べている。今回の不承認によりインドの他の種子業界にも混乱が起きている。ムンバイにある Mahyco 社は、かつてモンサント社との提携により *Bt* ワタをインドに導入したが、他の南アジア・アフリカ諸国への耐害虫・耐乾燥 GM 技術の提供を計画中であり、*Bt* ナスは隣国バングラデッシュですでに承認されている。インドの GM カラシナについては、カラシナ主要生産3州を含む11州で反対を決定しており、承認は絶望的と思われる。

(註：確信的反対派の意識改革の困難性を意識させられる)。

(林 健一)

## 途上国における遺伝子組換え産物の統御力の正当化

### Rationalizing governance of genetically modified products in developing countries

Adenle A A *et al.*

2018

Nature Biotechnology Vol36 No.2: 137-139

著者ら（米国・英国・カナダ・アルゼンチン・中国・オランダ・OECD・IFPRI の研究者・専門家計10名）はFAO主催国際シンポジウム（2016）に参加し、その要旨を公刊した（ケンブリッジ大学出版2017）。本論文はその要旨に基づく投稿文である。新技術開発とともにGM作物は先進国ではますます発展しつつあるが、途上国では規制的監督の不適切・不活性により、GM産物の採用は危機的状況にある。為政者は健全・現実的なバイオセーフティ施策を実施するためのリスク解析の知識が不十分な場合が多い。これは極めて重大なことであり、我々は途上国の能力向上と訓練のために実施されている方途の再考を主張したい。我々はバイオテクノロジーが、2030年へ向けての国連の主目標（食料保障、栄養改善、持続的農業、環境耐性など）の達成に貢献することを確信している。これまでの多くの貢献の実績にかかわらず、GMOを危険視する動きが各地で強まっている。反対派活動家がこれに輪をかけて危険性を煽動している。この結果、とくに途上国で規制監督がGMOの発展と受入れの最大の障害となっている。国際機関の支持に基づく先進国の現在のリスク解析と規制制度は、途上国に波及していない。「precautional principle：予防原則」の賛成派（EU）と反対派（米国）との間の未解決の論争が混乱の原因であり、この傾向は途上国にも侵入している。EU圏における決定は多くの場合科学的ではなく政治的であり、この傾向が途上国にも波及している。例えばインドでは、カラシナ、ナス、ヒヨコマメの3つのGM作物の承認が、規制的障害により未承認となっている。同様に他の多くの途上国でも自主開発GM作物が不承認となっている。カルタヘナプロトコルへの社会経済的考慮の導入は、定義、適用、測定など不明確であり、科学的基盤を尊重するWTOと対立している。途上国における規制及び科学的能力の向上を今後の戦略とすべきである。毎度繰り返される短期訓練の実効性は低い。しばしば見逃されているのは、既存の環境管理、食品安全、農業機関－植物防疫・農業研究などに、必要とされる能力と技術が存在していることである。既存能力の発揮をはかるため、合目的性・実効性のある能力開発計画が必要であろう。カルタヘナプロトコルが継続される限り、解決より障害が増加するであろう。この障害は間違いなく新興のゲノム編集技術にも波及し、既にその徴候がある。途上国は自国をふくむ地域的適当性の高いGM作物の開発により、今後の相互協力関係が強化されると考えられる。最終的に必要なのは、GMO規制のための科学的政策に基づく、透明・厳正で各分野の意見に配慮した組織の確立である。

（林 健一）

## 中国における害虫抵抗性遺伝子組換えポプラの現状と開発

### The current status and development of insect-resistant genetically engineered poplar in China

Wang G *et al.*

2018

Frontiers in Plant Science 9: 1408

中国の研究グループによる総説。ポプラは中国の主な林木種の1つであり、かつ、分子生物学の研究における木本植物のモデル生物である。2001年に2イベントの *Bt* 遺伝子組換えポプラ (*Bt* ポプラ) の商業栽培が認可されて以降、中国におけるポプラの遺伝子工学はこの20年で急速に発展してきた。本レビューでは、中国における *Bt* ポプラの現状を紹介する。

- 1) 中国における害虫抵抗性ポプラの管理と商品化：中国では最初の *Bt* ポプラ (*Populus nigra*) の形質転換が1991年に報告された。中国政府は、2002年までに2種類の *Bt* ポプラ (*CryIAc+API* (後述) 及び *CryIA*、前者は2007年に認可取り消し) の商業栽培を認可したものの、それ以降は慎重な態度をとっている。今日までに新たに約22種類の害虫抵抗性ポプラが作出及び試験栽培が認可されるものの、商業栽培は承認されていない。
- 2) 害虫管理における *Bt* ポプラの有効性：*Bt* タンパク質はそのクラスによって作用する害虫のスペクトルが異なる。抵抗性害虫の発生を抑えるためには高発現系統が有効であるが、単一クローンの植林もまた様々な弊害が考えられることから、中-高用量の複数のイベントの混植が最も有効と考えられる。
- 3) 複数遺伝子の発現：植物のプロテアーゼインヒビターは天然の害虫防除物質であり、種子や球根等の貯蔵器官に高蓄積する。クワイ由来のプロテアーゼインヒビター (API) もその一つで *Bt* タンパク質と共発現させることで殺虫スペクトルの拡大に有効である。プロテアーゼインヒビター以外にも、クモ由来の殺虫性ペプチドと *Bt* タンパク質の共発現、クラスの異なる複数の *Bt* タンパク質の共発現も同様の効果を発揮する。
- 4) *Bt* タンパク質の発現と輸送：*Bt* ポプラ中の *Bt* タンパク質の発現レベルは、プロモーター及びイベントにより変動し、成長段階でも変動する。更に、*Bt* ポプラ中の *Bt* タンパク質は師管を介して移動することが接ぎ木実験によって証明されている。
- 5) 導入遺伝子および形質の安定性：木本植物は作物と比較して生活環が長いことから導入遺伝子の安定性の検証が課題となっている。野外では気候や環境要因も年ごとに変動する。*Bt* ポプラ (*CryIAc+API* 発現) を4年間の標的害虫の調査では、年ごとに害虫死亡率は変動したが、経時的な減少傾向はなく安定性を示す根拠の一つと考えられる。
- 6) 土壌微生物への影響：複数の *Bt* ポプラの圃場試験に基づく土壌微生物評価結果により、圃場土壌中微生物叢は場所や季節によって明らかに変動する一方、その殆どで組換え-非組換え間で有意な違いは報告されていない。
- 7) 非標的昆虫 (捕食昆虫) への影響：*Bt* ポプラ (*CryIAc+API* 発現) の葉を摂食したアブラムシの給餌は、テントウムシの幼虫期及び蛹期の死亡率、体重等に影響を与えない。*Bt* タンパク質が標的害虫やその捕食者の生息数等に影響することは自明と考えられるが、既報の圃場試験では必ずしも大きな影響が確認されていない (例外あり)。これは、昆虫コミュニティが形成する食物連鎖がそれほど単純ではなく、複雑であるためと考えられる。
- 8) 展望：新たな害虫抵抗性遺伝子の発見、複数遺伝子の形質転換・発現技術の改良、生物学的負荷の少ないマーカー遺伝子の利用あるいはマーカーフリー技術の開発、ゲノム編集の適用、抵抗性害虫出現リスク低減の施策や生物多様性への考慮等がある。

(小口 太一)

## 系統的 miRNome プロファイリングは遺伝子組換えトウモロコシ代謝における異なるマイクロ RNA の差異を明らかにする

### Systematic miRNome profiling reveals differential microRNAs in transgenic maize metabolism

Agapito-Tenfen SZ *et al.*

2018

Environmental Sciences Europe 30: 37

ノルウェー、ブラジル、ドイツの研究者グループによる原著論文。2本鎖 RNA (dsRNA) 発現は RNA 干渉 (RNAi) を利用した遺伝子発現調節技術として知られ、意図的に dsRNA を発現することで、標的遺伝子の発現を調節する。一方、RNAi を意図していない組換え体においても、非意図的に dsRNA が生じ、さらにそれが遺伝子発現を攪乱する可能性が懸念される。そこで著者らは、新規の手法により市販の GM トウモロコシにおける miRNA の網羅的解析 (miRNome) を実施し、以下の結果を得た。

- 1) 植物材料：GM トウモロコシ 3 系統、すなわち MON-00603-6 (RR)、MON89034-3 (*Bt*)、MON89034-3xMON-00603-6 (RR+*Bt*) 及び非組換え対照品種 (AG8025 系統)。発芽後 20 日間生育チャンバー (明期 16 時間 / 暗期 8 時間、25°C ± 2°C) で生育した実生の葉を採取し、RNA 抽出した。
- 2) miRNome 解析方法：抽出した全 RNA からアクリルアミドゲル電気泳動により 18-30 nt のサイズを分画、5' / 3' 両末端にアダプター及びインデックス配列を付加、cDNA 合成、PCR 増幅し、解析のためのライブラリーとし、次世代シーケンサー (Illumina HiSeq2500) でディープシーケンス解析を実施、18-26nt の miRNA の配列、頻度を得た。
- 3) miRNA プロファイリング：得られた miRNA 配列に基づく標的転写物の予測から、脂質代謝に関与する標的転写物を有する 20 の潜在的な新規 miRNA を同定した。また、96 のゲノムにコードされた塩基配列とは異なる配列を持つ miRNA (isomiR)\* が同定された。isomiR はオフターゲット効果の原因となりうることの懸念がある。
- 4) GM トウモロコシと非組換えトウモロコシ間での miRNome 比較：GM トウモロコシの挿入遺伝子配列と一致する miRNA は検出されなかったが、挿入遺伝子配列に由来することが疑われる miR がいくつか見つかった。リードの出現を詳細に解析、各 GM トウモロコシと非組換え対照間のペアワイズ比較した結果、13 の miRNA において発現の違いが見られた。
- 5) 展望：今回対照とした GM トウモロコシでは、新たな意図しない影響は確認されなかった。頑健で再現可能な miRNome 分析は、GMO 開発の任意の段階で非意図的影響の潜在的な可能性の評価手法となりうる。

\*実験医学 online バイオキーワード集を参照

# ERA プロジェクト調査報告

2019年4月 印刷発行

特定非営利活動法人  
国際生命科学研究機構 (ILSI JAPAN)

会 長 宮澤陽夫

理事長 安川拓次

〒102-0083東京都千代田区麹町3-5-19

にしかわビル5F

TEL 03-5215-3535

FAX 03-5215-3537

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