

---

# 植物バイオテクノロジー報告書

---

December 2024

バイオテクノロジー研究会



特定非営利活動法人

国際生命科学研究機構

International Life Sciences Institute Japan

International Life Sciences Institute, ILSI は、1978年にアメリカで設立された非営利の団体です。ILSI は、科学的な視点で、健康・栄養・安全性・環境に関わる問題の解決および正しい理解を目指すとともに、今後発生する恐れのある問題を事前に予測して対応していくなど、活発な活動を行っています。現在、世界中の400社以上の企業が会員となって、その活動を支えています。多くの人々にとって重大な関心事であるこれらの問題の解決には、しっかりとした科学的アプローチが不可欠です。ILSI はこれらに関連する科学研究を行い、あるいは支援し、その成果を会合や出版物を通じて公表しています。そしてその活動の内容は世界の各方面から高く評価されています。アメリカ、ヨーロッパをはじめ各国で、国際協調を目指した政策を決定する際には、科学的データの提供者としても国際的に高い信頼を得ています。特定非営利活動法人国際生命科学研究機構（ILSI Japan）は、ILSI の日本支部として1981年に設立されました。ILSI の一員として世界的な活動の一翼を担うとともに、日本独自の問題にも積極的に取り組んでいます。

# まえがき

2024. 12

バイオテクノロジー研究会

2024年の植物バイオテクノロジー報告書第3号（通算第68号）をお届けします。

本号では、米国における遺伝子組換えセイヨウナタネの生育状況調査を No.656で、ストレス耐性向上遺伝子組換えジャガイモの実証研究を No.659で、タバコをモデルとした接ぎ木面での蛋白質移動の検証結果を No.660で取り上げています。

ゲノム編集に関しては、次世代ツールの特性と可能性について No.657で、EUの規制案へのドイツ研究者グループによる意見書を No.661で紹介しています。また植物でのジーンドライブ研究例を No. 658で紹介しています。

なお、これまでの報告書は、以下の URL で閲覧可能です。

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

植物バイオテクノロジー報告書の送付方法には郵送とメール配信の2種類がございます。送付方法の変更、もしくは送付停止を希望される方は ILSI 事務局 ([ilsijapan@ilsijapan.org](mailto:ilsijapan@ilsijapan.org)) までご連絡ください。

## 目次

No.656	米国における遺伝子組換えキャノーラ集団の存続と環境中の導入遺伝子の意図しない存在 Persistence of genetically engineered canola populations in the U.S. and the adventitious presence of transgenes in the environment	1
No.657	ゲノム、エピゲノム、ミトコンドリアゲノム編集のための次世代 CRISPR 技術 Next-generation CRISPR technology for genome, epigenome and mitochondrial editing	3
No.658	ClvR (Cleave and Rescue) 配偶子キラーが植物のジーンドライブの条件を整えつつある Cleave and Rescue gamete killers create conditions for gene drive in plants	6
No.659	Parakletos 遺伝子欠失によるジャガイモのストレスレジリエンスの向上 Enhanced stress resilience in potato by deletion of <i>Parakletos</i>	8
No.660	タバコにおける組換え体 - 非組換え体間の接ぎ木面を介したルシフェラーゼタンパク質の移動 Discontinuous Translocation of a Luciferase Protein beyond Graft Junction in Tobacco	10
No.661	EU の新しいゲノム技術に関する道筋は、私たちをどこへ導くのでしょうか？ Where does the EU-path on new genomic techniques lead us?	11

## Persistence of genetically engineered canola populations in the U.S. and the adventitious presence of transgenes in the environment

米国における遺伝子組換えキャノーラ集団の存続と環境中の  
導入遺伝子の意図しない存在

Steven E. Travers *et al.*

PLoS ONE 19(5): e0295489.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0295489>

本論文は、アメリカのノースダコタ州立大学の研究者らによって、逸出した遺伝子組換え（GE）除草剤耐性（HR）キャノーラの生育状況について2010年に調査した結果（Schafer *et al.* 2011）に対して、比較的長い時間を隔てた11年後の2021年に同様に実施した調査結果からその差異や変化を考察したものである。逸出したGE キャノーラについての報告は、遺伝子組換え作物の栽培が開始された頃は頻繁であったが、近年では稀であり最近の現状に関する情報が少なかったこと、またこうした比較例は日本における輸送中のこぼれ落ちにより逸出したGE キャノーラ個体の生育や拡大状況の考察にも参照できる結果であることから選定した。

- ✓ 米国は1990年代半ばにGE キャノーラを導入し、2024年現在ではほとんどがGE キャノーラである。
- ✓ Schafer らの研究グループは、2010年に米国のキャノーラの大規模栽培地であるノースダコタ州で逸出したGE HR キャノーラ集団について、道路沿い集団の75%以上がGE HR（グリホサートまたはグルホシネート耐性）キャノーラであること、発生源は特定できないがおそらく輸送中の種子の流出が原因であろうと推定されることを報告している。
- ✓ 2021年に同じ研究グループによって2010年と同じ調査が行われ、①ノースダコタ州における自生する個体群（GE および非遺伝子組換え【non-GE】）の現在の分布状況、②自生個体群におけるGE HR 個体の頻度、③道路沿いサンプル中の non-GE 個体の頻度、の3点を明らかにすることを目的として実施された。
- ✓ 調査は2021年6月14日から7月7日まで、ノースダコタ州のキャノーラが栽培されている広範囲の地域に存在する主要な東西に走る幹線道路に約8 Km ほどの片側か両側に2×50 m の調査区を設定し、調査区の左右1 m までを対象区域として識別可能な *Brassica napus* 個体数をカウントした。各地点からはランダムに1個体がサンプリングされ、EPSPS タンパク質およびPAT タンパク質を検出できるストリップ試験により、GE HR キャノーラと non-GE キャノーラが識別された。
- ✓ 2021年は、キャノーラがサンプリングされた623地点中42%（約262地点・個体）に導入遺伝子が検出され、そのうちの76%に当たる199個体は少なくとも1つの導入遺伝子の発現が識別された。うち67%（約175地点・個体）がPAT タンパク質陽性、8%（約21地点・個体）がCP4 EPSPS タンパク質陽性、1.1%（3地点・個体）が両タンパク質を検出した。この両タンパク

質が検出された個体については、PAT と CP4 EPSPS 導入個体それぞれが存続して互いの交雑により生産された個体であり、GE キャノーラの継続的な存続の間接的な証拠であると述べている。また、輸送ルートから離れた地点での GE キャノーラも検出されたことも、継続的な存続を支持していると述べている。

- ✓ ここ10年の間に米国のキャノーラ生産が増加（約26%）したことがわかっているものの、2021年にサンプルが採取された623カ所という地点数は2010年に比べて1%少なく、個体数も2010年は18,960個体に対して、2021年は9,884個体と大きく減少する結果であった。
- ✓ また、特にグルホシネート耐性品種の栽培が増加した事実に一致して、調査でも2010年は49%の割合でPAT タンパク質が検出されていたことに対して、2021年は67%が検出された。対して、CP4 EPSPS タンパク質の検出頻度は、2010年の51%に対して2021年には10%と減少した。
- ✓ サンプル中の non-GE 個体の割合は、2010年の19.9%から2021年は24.2%と増加した。GE HR の最新の栽培面積割合は95%であるため、この non-GE 個体の検出割合は高い。これらの non-GE 個体は GE の導入遺伝子が脱落したものなのか、かつての non-GE 個体が野生化したものなのかは結論づけられなかった。
- ✓ この non-GE 個体の発生率の高さは、野生化した *B. napus* が自然環境中で長期的に存続し得ることを示唆しているため、GE 個体が野生化し存続していくことにもつながる結果であると述べている。
- ✓ 2010年に対して2021年に GE HR 個体の割合が減少した理由として、2021年のキャノーラ生育期間を通して持続した深刻な干ばつによって逸出個体が死滅した可能性によって説明できるかもしれないと著者は述べている。
- ✓ 逸出種子が大量に流出してもその死亡率は高いが、輸送経路沿いには逸出キャノーラ集団は維持される。つまり、選抜ストレスがかかっても変動的に個体群は存続し、毎年新しい種子が生産されていることが裏付けられたと著者は述べた。
- ✓ ただし、2010年と2021年の調査は、輸送経路沿いという場所のバイアスがかかっており、今後は経路から遠い地点を含めた調査も行うべきであると述べている。
- ✓ 4倍体（複二倍体）の *B. napus* ゲノムの解析の複雑さを克服できる研究の進展を待って、non-GE 個体の由来など明らかにすることが待たれるとした。

（津田麻衣）

## Next-generation CRISPR technology for genome, epigenome and mitochondrial editing

### ゲノム、エピゲノム、ミトコンドリアゲノム編集のための次世代 CRISPR 技術

Cia-Hin Lau *et al.*

2024

Transgenic Research <https://doi.org/10.1007/s11248-024-00404-x>

本論文は、生物医学研究分野における CRISPR ツールの特性の紹介、CRISPR ベースの核ゲノム・エピゲノム・ミトコンドリアゲノム編集に期待されることと課題、そして CRISPR/Cas9 の臨床試験での応用における倫理的・社会的考慮事項をまとめたレビューである。ツールの特性などは植物分野にも応用できる知見であるとともに、オフターゲット効果など医学分野で懸念される事項が述べられており、これらは場合によっては他の生物への利用においても考慮すべき点もあり参考となる情報であることから選定した。

- ✓ 近年、ゲノム編集ツールの CRISPR システムは、標的部位配列を認識する PAM 配列の認識要件を緩和して、標的範囲と編集チャンスを拡大するように設計された Cas9 バリエーションが報告されている。
- ✓ Cas9 ニッカーゼ (Cas9n) は、二本鎖切断ではなく 1 本鎖に傷を生成する仕組みである。この Cas9n をペアで利用することで、従来の Cas9 よりもオフターゲット変異誘発の可能性が低くなる。
- ✓ dCas9 (ヌクレアーゼ不活性 Cas9) は、Cas9 の 2 つの切断ドメインに変異を導入し Cas9 の触媒活性を不活化することで、切断を伴わずに Cas9 を標的 DNA に結合させることができる。
- ✓ Cas12a は、HNH エンドヌクレアーゼドメインとガイド RNA の構成要素の一つである tracrRNA がいないため Cas9 よりも小さく、ガイド RNA も短くなっている。PAM 配列から離れた配列を切断し、5' 突出末端が発生する二重鎖切断を誘導する。変異誘発効率は Cas9 と同等であるが、平滑末端を生成する Cas9 よりも遺伝子挿入や置換の効率を高める。
- ✓ Cas13 は、ガイド RNA と結合して相補配列を切断する RNA 編集ツールである。
- ✓ CRISPR ベースの核ゲノム編集：遺伝子をノックアウトする・遺伝子をノックインする 2 つの適用が最も一般的である。Cas9 切断部位のインデルが引き起こすナンセンス変異を利用する以外に、ドナー配列を修復するテンプレート配列が、相同組換え修復を介してゲノムに導入される遺伝子修正や、修復テンプレート無しに目的の変異を導入する塩基編集やより優れたプライム編集が普及しつつある。
- ✓ DNA を切断し別の場所に移動する酵素であるトランスポザーゼとゲノム内およびゲノム間で DNA 断片を新しい場所に移動させることができるインテグララーゼの DNA 挿入メカニズムをヌクレアーゼ欠損 CRISPR-Cas システムの DNA 標的化機構と統合することによって、長い配

列の挿入に利用されている。ただし、挿入効率や送達性、オフターゲット挿入の懸念など臨床段階で使用するにはまだ課題が多い技術である。

- ✓ CRISPR ベースのエピゲノム編集：根本的には DNA 配列を変化させることなく遺伝子発現を制御できる技術であり、疾患関連遺伝子の調節や治療に応用可能である。
- ✓ エピジェネティック修飾因子や転写調節因子は、DNA 損傷やオフターゲット変異を誘発することなくエピジェネティック状態や遺伝子発現を書き換えるなど、核ゲノム編集よりいくつかの利点がある。
- ✓ 最近では、転写調節のみならず、ゲノム再配置や核再構成や高次ゲノム構成の追跡などにも利用されているが、ゲノム編集効率とエピジェネマークの細胞間伝達性などの課題が残っている。
- ✓ 技術的には困難にはなるが生体内エピゲノム編集は、生体内ゲノム編集と比較して編集効果は可逆的かつ制御可能であり、モザイク現象やオフターゲット変異発生を回避できるため、倫理的および社会的問題を最小限に抑えられる技術である可能性がある。
- ✓ CRISPR ベースのミトコンドリアゲノム編集への試み：ミトコンドリアには、相同性によって DNA を修復する機構がないため、損傷を受けたミトコンドリアは無傷の環状 mtDNA を代わりに増幅し、野生型 mtDNA のコピー数を増やす。変異 mtDNA を選択的に除去するよりも、変異した配列を編集する方法が興味深い方法である。ただし、ミトコンドリアゲノムの配列置換や遺伝子修正は既存の方法より困難であり、CRISPR フリーのミトコンドリア塩基編集、ZFN ベース、TALEN ベースの手法が採用されてきた。ZFNs や TALEN などのゲノム編集ツールによって、変異したミトコンドリア DNA (mtDNA) を標的に切断、直鎖化することによって mtDNA のヘテロプラスミーを変化させ、変異した mtDNA を除去することに成功している。
- ✓ CRISPR/Cas9ベースのミトコンドリアゲノムを標的とした技術開発として、特定のターゲット配列へのガイド RNA の送達や効率化が取り組まれている。例えば Cas9タンパク質と外来で短い相同腕を持つ一本鎖 DNA を共に送達することで、相同組換えを介して変異した mtDNA を修復できることが示されたが、塩基編集によって内因性の DNA 修復機構と外因性のドナーテンプレートを使用せずに編集できる方法が提案されている。
- ✓ ゲノム編集技術における安全性、倫理的および社会的懸念：潜在的な免疫原性、標的外編集、不完全編集は安全性に関わる技術的に考慮すべき事項である。CRISPR をヒト治療に適用する例としては、2024年 8 月までに癌や血液疾患など100件以上の臨床試験による治療が進行中である。これらはすべて生殖細胞ではなく体細胞を編集して行われている。
- ✓ ヒトへの CRISPR 適用の倫理面に関する懸念は特に大きい。基本的に技術としては、赤ちゃんの治療・病気予防・機能強化に適用できる可能性があるものの、実際に生殖細胞や胚を編集することは、オフターゲットな変異挿入の他に、デザイナー特性が導入される可能性への安全性と倫理的観点での考慮事項がある。実際に2018年10月には、CRISPR 双子が誕生し倫理的・社会的な懸念を引き起こした。
- ✓ 一方で、胚の編集は薬物試験や治療介入のモデルなどに有用でもある。
- ✓ ミトコンドリアゲノム編集にもいくつかの倫理的懸念がある。母親から受け継いだミトコンドリア DNA 変異が子孫に遺伝することを防ぐミトコンドリア置換療法は、健康なドナーの無核ドナー卵母細胞質を、遺伝性ミトコンドリア疾患を持つレシピエントの卵子に移植する方法であり、すでにこの技術で数名の乳児が誕生している。ただし、核 DNA とミトコンドリア



DNA が不適合となる可能性、母親のミトコンドリアが持ち越される可能性、置換されなかったミトコンドリアが再び優勢となってしまう“reversion”現象の可能性などに関わる安全性について懸念されている。また、体外受精により乳児が生まれた際に男性一人と女性2人の3名の遺伝物質に由来する可能性が生じることは最大の倫理的懸念点となる。

- ✓ 最後に、CRISPR 技術は重篤な症状を伴うこれまでは不治であった遺伝性疾患の治療に有望ではあるが、形質を強化するなどの非治療的用途は利用されるべきではない。治療用途においても症状を緩和、改善できる療法があるのであれば、編集による治療は最後の選択肢とするべきである。

(津田麻衣)

## Cleave and Rescue gamete killers create conditions for gene drive in plants

ClvR (Cleave and Rescue) 配偶子キラーが植物の  
ジーンドライブの条件を整えつつある

Georg Oberhofer *et al.*

2024

Nature Plants 10: 936-953

本論文は、カリフォルニア工科大学のグループが開発した植物に適用する ClvR という新しいジーンドライブ技術に関する報告である。植物へのジーンドライブは、雑草管理や望ましい農業形質を個体群で管理できる可能性を持つ期待の高い技術であるが、同時に、集団の適応度を大きく変化させる可能性があり、実際に利用するには考慮する課題が多い技術でもある。本論文は、植物で初のジーンドライブ研究例であることから選定した。

- ✓ ジーンドライブとは、遺伝的な要素が競合する対立遺伝子の変異体などよりも高い割合で生存可能かつ繁殖能力のある子孫に伝達される場合に起こる現象である。
- ✓ 植物でのジーンドライブの応用は多数提案されているものの、まだ実施に適用した報告はなく、本論文がはじめての報告となる。
- ✓ 毒素-解毒剤の組み合わせによるジーンドライブ要素 (TA エlement) は、原核生物、真菌類、動物、植物などに広く自然界にみられる要素である。TA エlementは染色体上にあり、毒素と解毒剤の機能を連鎖的にコードする1つ以上の遺伝子で構成されている。毒素はTA エlementを持つ親の全ての減数分裂産物や子孫に分配され、その際、このエlementを受け継いだ子孫だけが解毒剤を発現できる。つまりTA エlementを持たない子孫は死滅し、エlementを持つ子孫の頻度が相対的に増加する。
- ✓ 本研究で開発された ClvR システムは2つの構成要素からなる。1つ目は Cleaver toxin と呼ばれ、Cas9と複数のガイドRNAなどのDNA配列修飾酵素が毒素の役割を果たし、成体で配偶子の生存に必要な遺伝子を破壊して確実に死なせる。もう一つの構成要素は Rescue/Antidote と呼ばれる ClvR エlementである。このエlementを持つ配偶子では、毒素が破壊する遺伝子と同じ遺伝子で損傷していないものが解毒剤のように機能して生存できる。
- ✓ このレスキュー機能は、植物集団に広げたい機能の目的遺伝子と連鎖させているため、生存できる配偶子は目的遺伝子を必ず持つことになる。
- ✓ ClvR システムは、シロイヌナズナにおける小胞と細胞膜の融合に関与し普遍的に発現するR-SNAREタンパク質であるYKT61をコードする配列内をターゲットとするガイドRNAとCas9を含むCleaverエlementと、*Arabidopsis lyrata* YKT61遺伝子を含むゲノム断片をRescueエlementとして作出された。ClvR エlementには、実際にジーンドライブで集団内に広めたい遺伝子の代わりとして3種類の遺伝子をそれぞれ含むコンストラクトで試験された。
- ✓ このシロイヌナズナ用の ClvR コンストラクトは、アグロバクテリウムを用いたフローラル

ディップ法により形質転換された。

- ✓ 1つ以上の ClvR 要素がヘテロ接合性である T<sub>1</sub>種子を自家受粉して、ClvR 要素がホモ接合となった T<sub>2</sub>世代を得た。T<sub>2</sub>世代を野生型と交配させ、得られた T<sub>3</sub>世代の花粉と胚珠をそれぞれ野生型と交配させ T<sub>4</sub>世代を得た。
- ✓ T<sub>4</sub>世代で ClvR エlementを持つ個体の割合は、T<sub>3</sub>世代の花粉を用いた場合に99%以上、T<sub>3</sub>世代の胚珠を用いた場合に50~100%という結果となり、雌雄による伝達に差異が見られた。以降、T<sub>5</sub>世代まで野生型を掛け合わせて検証したが、ClvR エlementの伝達率は、親やその親(祖父母)の雌雄に関係なく、常に花粉を介して伝達される場合に非常に高く、胚珠を介した場合も高いものの一定のエスケープ個体が見られた結果は T<sub>3</sub>世代と同等であった。
- ✓ これは、ClvR を持たない花粉は死滅し、持つ花粉は効率的に救済されたことによりその後代での伝達率が高まったためであると考察されている。
- ✓ また、ClvR において Cas9 と Rescue/改変したい遺伝子/gRNA がゲノム上の異なる位置に存在する場合、はじめは Cas9 と結びついた Rescue/改変したい遺伝子/gRNA が広がる。しかし、複数世代進むと遺伝的組換えがおこり、Cas9 が非 ClvR 染色体に移動して切断の機能が低下するため、最終的にはジーンドライブの潜在能力が失われる。
- ✓ このことはつまり、この ClvR によるジーンドライブ技術は、自己限定的に設計でき、限られた世代においてのみ目的遺伝子を拡散させ、その後は制御することができることを意味する。
- ✓ シロイヌナズナに導入した遺伝子はケーススタディの報告であり、実際にはこのシステムにおいて目的とする植物に応じて多様に設計可能であることが重要な点である。例えば雑草や外来種を局所的に排除・抑制して絶滅の危機に瀕する種を回復させるなど、植物におけるさまざまな課題に広く対応できる可能性を持つという点で期待できる技術である。

(津田麻衣)

## Enhanced stress resilience in potato by deletion of *Parakletos*

*Parakletos* 遺伝子欠失によるジャガイモのストレスレジリエンスの向上  
Zahid MA *et al.*  
2024  
Nature Communications 15: 5224

スウェーデン、デンマーク、スロバキアの大学研究者グループによる共同研究。気候変動に対して農業生産性の頑健性を維持するためには、新たなリソースの開拓が必要である。筆者らはプロテオミクス技術を利用した新たなスクリーニング手法により、新規の生物ストレス／非生物ストレスの両方のストレス応答に関与する新規遺伝子を単離し、その遺伝子を利用した生物ストレス／非生物ストレスの両方に耐性を示すジャガイモを得た。

### 1) 細菌感染ジャガイモのプロテオミクスによる新規ストレス応答タンパク質の単離

無病化したアグロバクテリウムを感染したジャガイモ（品種 *Désirée*）のプロテオームを非感染個体と比較し、アグロバクテリウム感染により有意に増加するタンパク質114種類と有意に低下するタンパク質51種類を得た。この中からアグロバクテリウム感染により含有量の変化が大きく、かつ、遺伝子ファミリーが小さい、5 遺伝子（タンパク質）を選抜し、以降の解析に用いた。

### 2) 候補遺伝子のベンサミアナタバコにおける選抜

5つの候補遺伝子（タンパク質）について、ゲノム情報からベンサミアナタバコから相同遺伝子を同定した。これら5 遺伝子をそれぞれベンサミアナタバコで過剰発現あるいは発現抑制し、ジャガイモ疫病菌（*Phytophthora infestans*）に対する反応を評価した。その結果、過剰発現により *P. infestans* 感染の重症度を増加させ、発現抑制によりその逆の表現型を示す、*Parakletos* タンパク質を同定した。

### 3) *Parakletos* タンパク質の配列特性

*Parakletos* タンパク質の配列は、既知のドメインやタンパク質と有意な相同性を示さなかった。一方、主要な植物種（トウモロコシ、イネ、コムギ、オオムギ、テンサイ、シロイヌナズナ、リンゴ等）において、その相同遺伝子が保存されていた。また、予測アルゴリズムによりチラコイドに局在することが推定され、ベンサミアナタバコにおける mCherry 融合タンパク質遺伝子の一過的発現によっても確認された。

### 4) *Parakletos* タンパク質の機能解析

エリシター作用を持つフラジェリン部分ペプチド（flg22）処理や *P. infestans* 接種によって、*Parakletos* タンパク質は急速かつ一過的に減少した。そこで、病原菌感染の主要な二次メッセンジャーである ROS 及び  $\text{Ca}^{2+}$  イオンの応答に着目したところ、*Parakletos* 過剰発現体は flg22 による ROS バーストの誘導が有意に低下した。同様に、*Parakletos* 発現抑制体では、flg22 による  $\text{Ca}^{2+}$  バーストが有意に増大した。これらの結果から、*Parakletos* は病原体感染による

ROS および Ca<sup>2+</sup> シグナルの抑制因子であることが示唆された。

5) *Parakletos* 欠失変異体ジャガイモの耐病性

*Parakletos* を CRISPR-cas9により欠失させたゲノム編集ジャガイモを用い、病原菌に対する応答を調査した。*Parakletos* 欠失ジャガイモでは、*P. infestans* 及び *Alternaria solani* (トマト輪紋病菌) に対する感受性が非組換え対照ジャガイモよりも低かった。

6) *Parakletos* 欠失ジャガイモの非生物ストレス耐性

*Parakletos* 欠失ジャガイモの塩害及び干ばつに対する耐性を評価したところ、非組換え対照ジャガイモよりも高い耐性が示された。一方、変異体と非組換え対照ジャガイモの間で、非ストレス時の草丈、バイオマス量、及び他の可視形質に有意差は検出されなかった。

7) *Parakletos* 欠失ジャガイモほ場における収量評価

スウェーデン南部のボルゲビーに所在する試験圃場でスウェーデン農業委員会の承認の下、圃場試験を行った。*Parakletos* 欠失ジャガイモ2系統及び非組換えジャガイモ各10個体を4反復によるランダムブロックデザインで栽培した。その結果、*Parakletos* 欠失系統では、疫病の重症度が対照群よりも有意に低く、20%の増収が認められた。

8) 総括

プロテオミクスデータに基づくスクリーニングにより、*Parakletos* という新規のチラコイド膜局在性の防御抑制タンパク質が同定された。*Parakletos* 遺伝子破壊は、複数の病原体に対する耐性、及び、非生物ストレスに対する耐性の両方を強化した。これらの形質は、試験圃場での試験によっても確認され、収量が少なくとも20%増加した。本研究の成果は、最重要食料作物であるジャガイモのストレスレジリエンスや増収に寄与する新たな分子育種手法となることが期待される。

(小口太一)

## Discontinuous Translocation of a Luciferase Protein beyond Graft Junction in Tobacco

### タバコにおける組換え体 - 非組換え体間の接ぎ木面を介した ルシフェラーゼタンパク質の移動

Miyahara T *et al.*

2024

Food Safety 12: 1-16

千葉大、筑波大、大阪公立大の研究グループによる共同研究。組換え体 - 非組換え体間の接ぎ木技術は、新しい植物育種技術の一つであり、食品生産技術としても利用が期待されます。一方、接ぎ木面を介した転写産物やタンパク質の移動については知見が不足しており、どのように安全性が担保されるべきかの規制態度は定まっていない。そこで、ホタルのルシフェラーゼ (LUC) 遺伝子を導入した組換えタバコと非組換えタバコの接ぎ木をモデルとし、接ぎ木面を介した mRNA やタンパク質の移動について検証し、以下の結果を得た。

#### 1) 台木から穂木の接ぎ木面を介したタンパク質移動

接ぎ木から 3 ~ 8 週間後の非組換え穂木/LUC 組換え台木の接ぎ木タバコの非組換え穂木においてルシフェラーゼ活性を調査した。その結果、非組換え穂木におけるルシフェラーゼ活性は殆どのサンプルでバックグラウンドレベルであったが、接ぎ木面に近い部位の一部でやや高い (最高119 RLU/ $\mu$ g タンパク質の) 活性が認められた。

#### 2) 穂木から台木の接ぎ木面を介したタンパク質移動

穂木と台木の組み合わせを逆にした接ぎ木タバコを用いて、非組換え台木の茎及び台木から生じた側枝におけるルシフェラーゼ活性を調査した。その結果、非組換え台木の茎からはルシフェラーゼ活性が殆ど検出されないが、台木から生じた側枝の茎及び葉の一部から最高で2,200 RLU/ $\mu$ g タンパク質の活性が検出された。

#### 3) mRNA 移動の検証

非組換え穂木/LUC 組換え台木の接ぎ木タバコの非組換え穂木を対象に、RNAseq 法による発現解析を行った。その結果、非組換え体穂木から LUC mRNA は検出されなかった。

#### 4) 総括

LUC 遺伝子を導入したタバコと非組換えタバコを用いた接ぎ木を用い、ルシフェラーゼ活性を指標とした接ぎ木面を介したタンパク質の移動について検証した結果、接ぎ木面を介して LUC タンパク質が移動する可能性が示唆された。組換え - 非組換え接ぎ木タバコの非組換え部位で検出されたルシフェラーゼ活性は、組換え部位でのルシフェラーゼ活性 (約280,000 RLU/ $\mu$ g タンパク質) の1/100以下と低かった。しかし、アレルゲン性を有するタンパク質の場合はアレルギー反応を引き起こす可能性が十分あり、今後、組換え - 非組換え接ぎ木の食品安全性評価の際には、考慮すべきである。

(小口太一)

## Where does the EU-path on new genomic techniques lead us?

EUの新しいゲノム技術に関する道筋は、  
私たちがどこへ導くのでしょうか？

Bohle F *et al.*

2024

Frontiers Genome Editing 6: 1377117

ドイツ連邦自然保護庁の研究者グループによる展望論文。2023年7月に欧州委員会（EC）が発表したゲノム技術（NGT）によって作られた植物に関する新たな規制を提案した。著者らはこれまでGM植物のリスク評価を行ってきた観点から、本規制提案に対する解説及び意見を記している。

### 1) 経緯

欧州連合（EU）では、遺伝子組換え生物（GMO）の環境への意図的な放出及びGMO由来の製品の商業利用に関しては、指令2001/19/EC及び規制No1829/2003（EC）によって規制してきた。ゲノム編集技術台頭以降、最終産物に外来核酸を持たないNGTが2001/19/ECの適用除外となる議論があったが、2018年の欧州司法裁判所判決により、NGTが指令2001/19/ECの適用となることが明確化された。しかし、最近になり、ECは、指令2001/19/ECは外来核酸を有するNGTのみに適用され、最終産物に外来核酸を含まないNGTは適用とならないとする新たな規制提案を示した。この提案では、任意の数のヌクレオチドの欠損／逆位、及び最大20の任意の遺伝子へのヌクレオチドの挿入／置換、内生遺伝子の破壊を伴わないシスジェニック改変等をNGT1、これを超える改変をNGT2と定義し、NGT1は従来育種由来の植物と同等とし指令2001/19/ECの規制対象外とするとした。

### 2) 開発中のNGTの94%が適用

現在開発が進められるNGT全148から明確にGMOと判定される15、情報不足で判定ができない48を除いた85のうち、60及び20はNGT1及び推定NGT1に分類された。つまり、ゲノム編集植物の94%は、リスク評価なしで欧州内での商業利用が可能になる。NGT1に分類された植物には、栄養素含有量を改変、産業志向の形質改変、栽培に関連する形質改変（種子脱粒性の低下）、生物学的ストレス耐性、除草剤耐性、非生物学的ストレス耐性などが含まれる。

### 3) 開発中のNGT1の環境放出で考えられるリスク

- 生物学的及び非生物学的ストレスの耐性向上は、環境中における植物の適応度向上が期待され、周囲の生態系への侵入リスクの向上が考えられる。
- 種子脱粒性低下形質が交雑可能な近縁野生種に移行した場合、近縁野生種の適応度を下げることが懸念される。
- 現行のGM作物（除草剤耐性、害虫抵抗性）からの転換による農薬使用量の潜在的な増加

### 4) NGT1による害虫に作用するRNAi産生植物の可能性

NGT1では、任意の20塩基のヌクレオチドのゲノム編集が可能である。このため、害虫のゲ

ノムを標的とした RNAi 構造物を産生する植物を NGT1 の範疇で作成することは可能である。この技術は、標的昆虫だけでなく、非標的昆虫にも作用する潜在的なリスクがあるが、NGT1 の範疇となれば、事前のリスク評価なしに環境中に放出することが可能である。

#### 5) 総括

NGT1 に対する大幅な規制緩和により、今後、NGT1 アプリケーションによる新品種の商業利用が増大することが予想される。一方で、現在の NGT1 アプリケーションは、環境と人間の健康という関連分野の両方に潜在的なリスクをもたらす可能性があることも明らかになった。したがって、現行の EU の新たな規制提案による、NGT1 由来作物を従来育種作物と同等であるとする定義には疑義があり、再考すべきと展望している。

(小口太一)





# 植物バイオテクノロジー報告書

2024年12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)

理事長 宮澤陽夫

〒135-0004東京都江東区森下3-13-5

グローバルビル5F

TEL 03-6284-0877

FAX 03-6284-0878

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