
ERAプロジェクト調査報告

June 2012

バイオテクノロジー研究部会



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）とも密接な関係にあり、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。

ERA プロジェクト調査報告

2012. 6

バイオテクノロジー研究部会

2011年12月に発刊した ERA プロジェクト調査報告の第 4 号です。

遺伝子組換え作物の開発は、従来の害虫抵抗性や除草剤耐性といった形質に加え、いよいよ環境ストレス耐性などの新たな形質が実用化に向かって安全性評価の段階に入ってきています。そこで、本号では、No31～35の 5 報で、環境ストレスの代表例である乾燥耐性に関する論文を紹介いたします。このうち32、33、35号では、従来の環境安全性評価の考えや手法は、乾燥耐性の環境安全性評価にも十分適用しうることを示されております。こうした諸外国での考え方や前号でも紹介されました Problem Formulation の活用は、今後開発が予想される様々な新規形質の環境安全性評価手法の確立にあたって重要な指針になるものと考えられます。

後半では RNAi など新しい技術に関する論文をご紹介します。

目次

No.31	給水制限条件下のシロイヌナズナでは、生存率と生育量は同等ではない Survival and growth of <i>Arabidopsis</i> plants given limited water are not equal	1
No.32	非生物的ストレス起因の減収を防止するための GM に基づく農業特性のバイオセーフティ領域 Biosafety aspects of GM-based agronomic traits protecting against yield reduction due to abiotic stress	2
No.33	温故知新：既往のリスク評価手法の適用による非生物的ストレス耐性 GM 作物への対応 Back to the future : Old tools to meet new challenges for regulators from abiotic stress tolerant GM crops	3
No.34	収量及びストレス特性に関する事例研究：乾燥耐性トウモロコシ MON87460の栽培承認に向けた規制戦略への挑戦と克服 A case study for yield and stress traits : The challenges and success encountered in the regulatory strategy employed for drought tolerant corn, MON 87460	4
No.35	GM 植物の適応度の変化の可能性を評価する枠組みの開発：ストレス耐性植物は新しい範例を必要とするか？ Developing a framework to assess potential changes in fitness of GM plants : do stress tolerant plants need a new paradigm?	5
No.36	GMO のリスク評価に対する科学研究の貢献 ベルギーブリュッセルシンポジウム（2010年10月21-22日）からの教訓 Contributions from scientific research to the risk assessment of GMOs. Lessons learned from a symposium held in Brussels, Belgium, 21-22 October 2010	6
No.37	第Ⅲセッション エピジェネティック効果「GMO のリスク評価に対する科学研究の貢献、ベルギーブリュッセルシンポジウム（2010年10月21-22日）からの教訓」からの抜粋 Session III Epigenetic effects. From “Contribution from scientific research to the risk assessment of GMOs : Lessons learned from a symposium held in Brussels, Belgium, 21-22 October 2010”	7
No.38	第Ⅳセッション GM 植物の環境リスク評価のための圃場研究のデザイン 「GMO のリスク評価に対する科学研究の貢献、ベルギーブリュッセルシンポジウム（2010年10月21-22日）からの教訓」からの抜粋 Session IV Design of field studies contributing to the environmental risk assessment of GM plants. From “Contribution from scientific research to the risk assessment of GMOs : Lessons learned from a symposium held in Brussels, Belgium, 21-22 October 2010”	8
No.39	RNA 依存的 DNA メチル化「新しい作物育種技術－開発の現状と市場展開への期待」からの抜粋 RNA-dependent DNA methylation (RdDM) : From “New plant breeding techniques-State-of-the-art and prospects for commercial development”	9
No.40	植物における遺伝子発現抑制技術に関連する知的所有権の展開 The intellectual property landscape for gene suppression technologies in plants	10

給水制限条件下のシロイヌナズナでは、生存率と生育量は同等ではない

Survival and growth of *Arabidopsis* plants given limited water are not equal

Skiryecz A, *et al.*
Nature Biotechnology 29, 212-214, 2011

乾燥耐性作物の開発は現在の最重要課題の一つであり、関連する学術論文は多数あるが、研究成果の実用化例は少ない。その原因を解明する研究結果をベルギー・ゲント大学の研究グループが公開した。従来の研究は、極端な致命的乾燥条件下での生存率の高低から、乾燥耐性を判定するものであり、例えば気孔の機能など生存のための絶対的な節水・貯水機能を重視していた。しかし砂漠とは異なる温暖地域では、作物の乾燥死を阻止するような極端な耐性ではなく、バイオマスや種子収量の減少程度が実際問題として重要である。この点をテストするために、広範囲な文献に基づいて選出した、*Arabidopsis thaliana* (シロイヌナズナ) 変異25系統を供試し、致命的乾燥区 (S区) と、中程度乾燥区 (M区) における生育を比較調査した。その結果、M区で生育量が大であった系統はS区でも或程度の生育量を維持した。一方、S区での生存率の高低は、M区の生育量とは明らかな関係を示さなかった。以上から、S区のような極端な乾燥条件下での生存率は、農業的意義の深いM区のような中程度の乾燥条件下での生育量の指標とはならないと結論された。これが従来の文献が、乾燥耐性作物の作出につながりにくかった最大の理由とされた。

(訳者註：著名な篠崎博士の研究では、対照も枯死する2週間断水を乾燥区としており、乾燥区のみでの遺伝子発現に主眼をおいた傾向がみうけられる (藤田・篠崎 2006))

藤田泰成／篠崎和子 (2006) 「植物ホルモンの情報伝達ネットワークを利用して乾燥に強い植物を作る」 JIRCAS NEWS No.47 p.3

No.32

非生物的ストレス起因の減収を防止するための GM に基づく農業特性の バイオセーフティ領域

Biosafety aspects of GM-based agronomic traits protecting
against yield reduction due to abiotic stress

Session 5 : Organizing committees
SYMPOSIUM HANDBOOK

11th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified
Organisms : 81-96, 2010

非生物的ストレス、とくに乾燥耐性作物の開発が進展するにつれて、その環境バイオセーフティ領域が重要課題となっている。最大の論点は、既存とは異なる新しい評価の枠組み・手法の必要性の有無にある。本シンポジウム第5部会で、この問題は集中的に論議された。8報告中3報告は、データあるいは論旨が不明瞭であった。残る5報告中3報告は、実際の圃場試験の結果から、従来の枠組みにより非生物的ストレス耐性（含乾燥耐性）植物の環境リスクを評価できることを示した。

Smith（オーストラリア）：乾燥耐性ワタ、サトウキビ、コムギなど；本報告書 No.33参照

Sammons（米国）ら：乾燥耐性トウモロコシ（MON87460）；本報告書 No.34参照

Ellstrand（米国）：作物×近縁野生種の雑種後代など；（今後紹介予定）

の3例である。別の1例（Rüdelsheim [ベルギー] ら）は、広範囲な文献、試験例などから、既存の環境リスク評価の枠組みの有効性を理論的に示した（今後紹介予定）。残る1例（Sweet [英国] ら）は、種、特性、イベントをそれぞれ特異的に評価した結果を総合した考察を行い、現行枠組みの実効性に基づいて、場合によっては追加的枠組みの可能性を示唆した（本報告書 No.35参照）。これら5例の報告については、それぞれ単独により詳細な要旨が作成され、今後順次提供される予定となっている。

No.33

温故知新：既往のリスク評価手法の適用による非生物的ストレス耐性 GM 作物への対応

Back to the future : Old tools to meet new challenges for regulators from abiotic stress tolerant GM crops

Smith J

SYMPOSIUM HANDBOOK

11th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms : 81-83, 2010

オーストラリアで開発中の非生物的ストレス耐性 GM 作物には乾燥耐性ワタ、サトウキビ、コムギ、オオムギ；冠水耐性ワタ；窒素利用効率向上サトウキビ、コムギ、オオムギなどが含まれる。これら GM 作物のヒト及び他生物への毒性、他生物への遺伝子伝播などにおいて、従来と実質的に異なるリスクは検出されていない。しかし雑草性の増強が大きな懸念であった。オーストラリアには 1,200種以上の雑草に関する知識・経験があり、また GM 作物についてはその定着性・侵入性を対照植物と比較テストする標準的な雑草性リスク評価法が確立されている。これらの実績ある手法は、新しい非生物的ストレス耐性 GM 作物にも問題なく適用され、環境リスク評価が十分に実施されている。オーストラリア規制分野における結論として、雑草性リスク評価を含む従来の標準的環境リスク評価手法により、非生物的ストレス耐性作物の環境リスクも十分に評価しうるとしている。

(訳者註：オーストラリアは Office of Gene Technology が極めて充実しており、環境リスク評価の理論及び実施に優れた実績を有している。発表者はこの Office の長であり、従来から積み上げた 9 年間の実績に基づいての結論であることが注目される。)

No.34

収量及びストレス特性に関する事例研究：乾燥耐性トウモロコシ MON87460の栽培承認に向けた規制戦略への挑戦と克服

A case study for yield and stress traits : The challenges and success encountered in the regulatory strategy employed for drought tolerant corn, MON 87460

Sammons B, *et al.*
SYMPOSIUM HANDBOOK

11th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms : 85, 2010

米国モンサント社の研究グループが、乾燥耐性トウモロコシ MON87460の環境リスク評価圃場試験を、米国及びチリの複数個所において2006-2007年に実施した。試験は、十分に給水された給水区と、給水十分な期間の後に給水制限（後期栄養成長期から初期生殖成長期へかけて2週間25~40-60%の減水：日本モンサント株式会社，2009）した給水制限区の2つの条件で実施された。対照には、遺伝的背景が類似している標準的市販品種が供試された。MON87460は通常の農業形質を有し、他の非生物的ストレス耐性（高・低温、塩害）、栽培適地以外での生存性などは付与されていなかった。これらの結果から、MON87460は雑草性ポテンシャルには変化なく、非生物的ストレス耐性の増強もなく、栽培適地以外での生存性もないことが確認された。MON87460は上述の給水制限条件（中程度の乾燥条件）下で相対的に増収する（対象品種より減収率が低い）が、十分な給水条件下では、対照品種と有意な収量差を生じない。以上から、MON87460は新規の有害特性を有せず、また環境に対して有害影響を与えないと結論された。

（訳者註：前報 No.27と同様に、この乾燥耐性トウモロコシを極端な乾燥条件ではなく、中程度の乾燥条件下で相対的に増収するという特性を有する GM 品種であることが注目される。本品種は、目下数ヶ国で環境リスクが審査されつつある。）

日本モンサント株式会社（2009）：第一種使用規定承認申請書 乾燥耐性トウモロコシ（MON87460），日本版バイオセーフティークリアリングハウス，<http://www.bch.biodic.go.jp/>

No.35

GM 植物の適応度の変化の可能性を評価する枠組みの開発：ストレス耐性植物は新しい範例を必要とするか？

Developing a framework to assess potential changes in fitness of GM plants : do stress tolerant plants need a new paradigm?

Hails, R S, *et al.*
SYMPOSIUM HANDBOOK,

11th International Symposium on the Biosafety of Genetically modified organisms : 93-96, 2010

欧州委員会（EC）傘下の欧州食品安全機構（EFSA）研究者を中心としたグループが、表題の発表を行った。GM 植物の環境リスクは、第1に GM 植物自身の適応度の変化とこれに伴う定着性・侵入性の増強（ステージ I）、第2に自殖あるいは他殖（近縁野生種）後代の適応度増加による生態系への悪影響（ステージ II～IV）がある。ステージ I では親生物の生物学的情報、ステージ II ではジーンフローの有無とその成り行き（consequence）、ステージ III では後代の適応度の増加、ステージ IV は後代の耕地以外への拡散、などの検証が重要である。この段階的枠組みを非生物的ストレス耐性 GM 植物の環境リスク評価に適用した結果、次の結論が提示された。

- a) 適応度の指標は従来と同じで良い（発芽、生存、生育、種子数など）
- b) 条件を制御できる growth chamber での試験が重要
- c) 気候の影響をうける圃場試験は正確性が低い
- d) 現在の耕地以外でのテストでは、対照不在となり、相対的評価は実施できない。

（訳者註：本発表は EFSA 責任者 J.B. Sweet 氏によってなされ、非公式ながら EFSA の見解を示すものと理解される。非生物的ストレス耐性（例：乾燥耐性）GM 植物の安全性は、基本的には他の GM 植物（例：除草剤耐性、害虫抵抗性等）と同様な枠組みで実施可能と認めつつも、場合によっては追加的な手法・施設を示唆していると理解される。）

**GMO のリスク評価に対する科学研究の貢献
ベルギーブリュッセルシンポジウム（2010年10月21-22日）からの
教訓**

Contributions from scientific research to the risk assessment of
GMOs. Lessons learned from a symposium held in Brussels,
Belgium, 21-22 October 2010

Pauwels K, *et al.*
Environ. Biosafety Res. 9 (3) 113-121, 2010

ベルギー国立研究所の研究者が、表題のシンポジウム（ブリュッセルシンポ）の総括を行った。参加者は、EU 及びアフリカ地域の14ヶ国のアカデミア、諮問機関、バイオテク企業から100余名であった（<http://www.biosafety.be/ERA2010/abstracts.html>）。セッションは、I：GMO のリスク評価への科学的貢献、II：遺伝子導入ベクターとしての組換え微生物、III：エピジェネティック効果、IV：GM 植物の環境リスク評価のための圃場試験設計、V：オミクス解析、であった。（注：本要旨では、I、II、Vの要点を記述し、III及びIVは内容が多いため別個に後報する）。I：国際的に容認されている原則・概念・技術がEU 圏でも適用されている。多くの国で多分野専門家による諮問組織が設置され、科学研究とリスク評価の連携がはかられている。とくにリスク評価の特定のあるいは横断的トピックスを協議する会合により、経験・情報の収集・利用がはかられている（ベルギー、フランス、オランダ）。これにより、現行規制枠組み及びリスク評価方式の向上及び必然性のないデータの過剰要求の抑制が期待されている。II：GM 微生物のベクターとしての利用は基礎研究及び医療面での適用が主体である。とくに後者における遺伝子治療及びワクチン製造における研究例が報告され、付随して人体及び環境への影響の考慮が強調された。V：ゲノミクス、トランスクリプトミクス、プロテオミクス、メタボロミクスなどを包含するオミクス解析分野の研究例が報告された。しかし、これらの技術を GM 植物の環境リスク評価に適用するには、今後さらに研究の深化、標準性、有効性の向上が必要であると結論された。

**第Ⅲセッション エピジェネティック効果
「GMO のリスク評価に対する科学研究の貢献、ベルギーブリュッセルシ
ンポジウム（2010年10月21-22日）からの教訓」からの抜粋**

Session III Epigenetic effects.

From “Contribution from scientific research to the risk assessment of GMOs : Lessons learned from a symposium held in Brussels, Belgium, 21-22 October 2010”

Pauwels K, *et al.*

Environ. Biosafety Res. 9 (3) 113-121, 2010

本要旨では、前報（No.36）のブリュッセルシンポジウムの第Ⅲセッションーエピジェネティック効果について記述する。エピジェネティック効果の定義は「DNA 配列の変化を伴わずにおきるゲノム機能の変化」とされている。オランダ・ワーゲニンゲンの研究者の発表に基づいて、細胞レベルのエピジェネティック効果は次の3つのメカニズムに基づくとして理解された。i) DNA メチル化（脱メチル化）、ii) 非コード短鎖 RNA（miRNA、siRNA、shRNA 等）による遺伝子制御、iii) クロマチン修飾（ヒストンのアセチル化、メチル化等）。これらの制御メカニズムは一過的なものであるが、それに伴い変化したクロマチン状態は有糸分裂を経ても安定的に伝達され、生物の遺伝的表現型を決定するものである。最初にエピジェネティックな変化を引き起こす段階では、遺伝子組換え操作を伴う方法もあるが、その後代から後成的変化を保持し、かつ、組み換えた配列は除去された系統を選抜することで、DNA 配列を変化させずに、ゲノムに長期間安定した後成的効果をもたらすことが可能となる。別のワーゲニンゲン研究者から、RNAi 利用による逆育種（reverse breeding）の例が報告され、組み換えた遺伝子を持たない希望型の交雑種を短期間に作出できることが示された。エピジェネティック効果により作出されるこれらの植物が、EU の GM 規制の範囲に含まれるか否かは、GMO の定義を含む根本的問題であり、目下 EU レベルで討議されている。本セッションの討議では、エピジェネティック効果を構成する種々の要素と機能を細分化して追及するよりも最終的な表現型についてのリスク評価を行うことが実効性が高いと認識された。さらにリスク評価に関するデータの性格、量について議論が展開され、慣行育種に比較してはるかに膨大なデータを要求することへの疑問が提起され、リスク評価に直結する適切なデータを選択することの重要性が強調された。

**第IVセッション GM植物の環境リスク評価のための圃場研究のデザイン
「GMOのリスク評価に対する科学研究の貢献、ベルギーブリュッセルシ
ンポジウム（2010年10月21-22日）からの教訓」からの抜粋**

Session IV Design of field studies contributing to the
environmental risk assessment of GM plants.

From “Contribution from scientific research to the risk
assessment of GMOs : Lessons learned from a symposium held
in Brussels, Belgium, 21-22 October 2010”

Pauwels K, *et al.*

Environ. Biosafety Res. 9 (3) 113-121, 2010

本要旨では、前々報（No.36）のブリュッセルシンポジウムの第IVセッションについて記述する。圃場研究は、GMOの環境影響の一つの過程として幅広く実施されている。圃場研究の設定に際しては、作出されるデータが、環境リスク評価を向上し政策決定に貢献できるための熟慮が必要である。環境リスク評価の目的は、政策決定の対象となる計測量への損害の相対的評価であり、一般的な生態的基礎研究とは異なることへの認識が強調された。ドイツからの発表では、Bt トウモロコシ MON810（Cry 1 Ab）及び MON88017（Cry 3 Bb 1）について、広範囲な非標的生物に対する負のインパクトが検出されなかったことを示した（3年間試験）。しかし、実際の自然の昆虫密度（極低密度）条件では、データの信頼区間が広く、リスク評価を難しくしている。スペインからの発表では、除草剤（グリフォサート）耐性トウモロコシについて、広範囲な草食性及び捕食性節足動物に対する直接的な負のインパクトは検出されなかったが、これらの節足動物の生存量及び活動性は、除草効果よりも、食物連鎖を通じた相互作用により変動することを示した（4年間の試験）。これらの例は、実験室データのみでは得られないデータを与える圃場研究の有効性を示すと同時に、その限界を示すものでもあると理解された。欧州では、圃場研究を抑制する国が多く、また GM 反対派による妨害もあり、圃場研究を困難にしている。以上をまとめて本セッションでは、圃場研究を設定する際の目標・論理の明確化ならびに適切なデータを作出するための試験デザインの精度向上が、極めて重要であると結論された。

**RNA 依存的 DNA メチル化
「新しい作物育種技術－開発の現状と市場展開への期待」からの抜粋**

RNA-dependent DNA methylation (RdDM) : From “New plant breeding techniques-State-of-the-art and prospects for commercial development”

Lusser M, Parisi C, Plan D and Rodriguez-Cerezo E
JRC Scientific and Technical Reports, p.25, 88, 149-150., 2011

既報「新しい作物育種技術」(No.22) から、RdDM に関する部分を抜粋して本要旨に記述した。表題 RdDM の定義は、「植物体の DNA 配列 (例：プロモーター) と相同である RNA をコードするコンストラクトを植物体へ導入して短鎖 2 本鎖 RNA を作成し、これにより相同配列部分の DNA メチル化を誘起し、標的遺伝子の転写を抑制する」とされている。RdDM 技術の育種的価値は、植物体の特定遺伝子を、DNA 変異を生ずることなく、発現抑制することにある。発現抑制の成功率は90% に及ぶことが報告されている。DNA メチル化状態は世代を通じて、維持される。後期世代において、分離により、目標特性を保持し、かつ組換え DNA (RdDM コンストラクト) は除去された系統が選出され、育種的利用がはかられる。稔性遺伝子の DNA メチル化による雄性不稔トウモロコシ、澱粉粒形成抑制による低アミロースバレイショ、その他タバコ、ペチュニア、シロイヌナズナなど17件 (1999-2009) の研究文献が例示されている。RdDM 技術は、ストレス耐性、植物生育、防御機能、などへの役割も期待されている。DNA のメチル化は自然現象であり、植物細胞に広く発生している。RdMD はエピジェネティック効果の一種であり、長期的には衰退する可能性がある、(注：後報するように、長期的に安定して DNA メチル化状態を維持させる技術が近年開発されている)。RdDM 技術によるメチル化された DNA と自然にメチル化された DNA には全く違いがないため、RdDM コンストラクトが除去された系統では慣行作物と区別することはできない。DNA メチル化自体は自然現象であり、RdDM は DNA メチル化状態を変化させる以外の影響を与えない。RdDM の安全性懸念は、標的内在遺伝子の発現レベルの変化に関連する事項のみである。

植物における遺伝子発現抑制技術に関連する知的所有権の展開

The intellectual property landscape for gene suppression technologies in plants

Chi-Ham C, Clark K & Bennett AB
Nature Biotechnology 28, 32-36, 2010

米国カリフォルニア大学の研究者が、米国農業バイテクに適用されている、RNA-mediated gene suppression (RNAmgs) 技術の科学的発展と関連知的所有権 (IP) の展開の情報について詳述した。RNAmgs 技術は1994年の FLAVR SAVR トマト以来、多くの発見と適用を経て発展している。1980年代後半はアンチセンス、1990年代はコサプレッション、2000年以降は RNA 干渉 (RNAi) が主流である。アンチセンスの成果物には、追熟遅延トマト (FLAVR SAVR トマト)、低ニコチンタバコなど、コサプレッションでは追熟遅延トマト、高オレイン酸ダイズ、切花延命カーネーション、ウイルス抵抗性プラムなどがある。アンチセンスは2つの RNA の結合による mRNA の不安定化・崩壊、コサプレッションは内生遺伝子と外生遺伝子の相乗効果とされているが、どちらも発現抑制は完全ではなく、育種操作上の課題が残っていた。その後2本鎖 RNA (dsRNA) によるより強力な発現抑制効果が発見され、dsRNA の細胞内への導入による発現抑制技術 (RNAi) が発展した。さらにヘアピン構造を形成し dsRNA を生じる ssRNA を転写する DNA 構造物によって、発現抑制する技術として DNA-directed RNA (ddRNA) が開発された。ddRNA コンストラクトを形質転換した植物では、細胞内に安定して dsRNA を産生するので、長期的に安定して発現抑制効果を維持する利点がある。すでに多くの RNAi のための DNA コンストラクトが利用可能であるがさらに技術革新は継続している。以上に伴う IP の獲得合戦も活発である。1990年代までの IP の多くは間もなく期限切れとなり、現在は一般的な RNAi 技術の IP 獲得が主体である。さらに最近は、dsRNA を生体内に安定的に産生する DNA コンストラクトに関する IP 獲得が重要となっている。

ERA プロジェクト調査報告

2012年 6 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 西山徹

〒102-0083 東京都千代田区麹町 2-6-7

麹町 R・K ビル 1 階

TEL 03-5215-3535

FAX 03-5215-3537

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

