
ERAプロジェクト調査報告

February 2015

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。

まえがき

2015. 2

バイオテクノロジー研究部会

2015年の最初の調査報告書（通算第20号）をお届けします。

本号では、害虫抵抗性の新しい方法に関するもの（アブラムシを含む）や除草剤耐性の新しい作用機作による除草剤耐性雑草の出現抑制に関するものが抄録されています。またCERA（環境リスク評価センター）による殺虫性タンパク質に関する会合の報告と環境安全性のレビューが1つずつ。*Bt* トウモロコシの非標的生物への影響調査、同じくモニタリングに関する考慮、チャのストレス耐性、葉緑体コードのタンパク質の父性遺伝の頻度がきわめて低いこと、気候変動と食料保障が含まれています。

本号で抄録文献は200となり、ますます検索システムの必要性が出てきています。

<https://ilsijapan.sakura.ne.jp/pnamazu/namazuz.cgi> をどうか活用してください。

目次

No.191	酵素および発現カセットの最適化による広範な 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸 ジオキシゲナーゼ (HPPD) 阻害型除草剤耐性ダイズの開発 Broad 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitor herbicide tolerance in soybean with an optimized enzyme and expression cassette	1
No.192	Event 5307 トウモロコシ栽培へ向けての eCry 3.1 Ab の非標的生物への影響調査と 生態リスク評価 Nontarget organism effects tests on eCry 3.1 Ab and their application to the ecological risk assessment for cultivation of Event 5307 maize	2
No.193	害虫抵抗性 GM 植物の非標的生物に対する環境影響検定生物種の選定 Surrogate species selection for assessing potential adverse environmental impacts of genetically engineered insect-resistant plants on non-target organisms	3
No.194	<i>osmotin</i> 遺伝子導入組換えチャにおけるストレス耐性及び品質の向上 <i>Osmotin</i> -expressing transgenic tea plants have improved stress tolerance and are of higher quality	4
No.195	アブラナ科植物における葉緑体遺伝子の低頻度の父性遺伝 Low frequency paternal transmission of plastid genes in <i>Brassicaceae</i>	5
No.196	気候変動が世界食料保障に与える影響 Climate change impacts on global food security	6
No.197	第一世代 <i>Bt</i> トウモロコシに対するウエスタンコーンルートワームの抵抗性獲得： 管理及びモニタリングに関する考慮 Resistance evolution to the first generation of genetically modified <i>Diabrotica</i> -active <i>Bt</i> -maize events by western corn rootworm: management and monitoring considerations	7
No.198	アブラムシ介在植物ウイルスの外被タンパク質を利用したアブラムシ抵抗性付与 Toxin delivery by the coat protein of an aphid-vectored plant virus provides plant resistance to aphids	8
No.199	RNA の致死的摂取 A lethal dose of RNA	9
No.200	Cry 1 F タンパク質の環境安全性に関するレビュー A review of the environmental safety of the Cry 1 F protein	10

酵素および発現カセットの最適化による広範な 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ (HPPD)

Broad 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitor herbicide tolerance in soybean with an optimized enzyme and expression cassette

Siehl DL, *et al.*

Plant Physiology 166 : 1162-1176, 2014

デュポン社の研究グループによる原著論文。除草剤グリホサートおよびグルホシネートとこれらの除草剤耐性 GM 品種の多用による除草剤耐性雑草の出現を抑制するため、異なる作用機作の除草剤耐性品種の開発が求められる。HPPD は、プラストキノンの生合成に係る酵素で、この阻害型除草剤は植物にカロテノイド欠乏を引き起こし、白化、枯死させる。これまでも、HPPD 阻害型除草剤非感受性酵素の導入による耐性植物の開発例は報告されているが、特定の HPPD 阻害型除草剤に限った耐性であった。本研究では、ダイズ及びトウモロコシの内在性 HPPD の発現制御、局在性に関する生物学的解析、および、トウモロコシ HPPD を用いた HPPD 阻害型除草剤に非感受性の新規 HPPD の分子エンジニアリングを経て、広範な HPPD 阻害型除草剤耐性ダイズを開発したことを報告している。

[結果] (1) 内在性 HPPD の細胞内局在：トウモロコシでは葉緑体のみ、ダイズでは葉緑体および細胞質に局在が見られた。また、ダイズでの局在には N 末端の42アミノ酸残基が必須であった。(2) 多剤非感受性 HPPD 分子の開発：飽和変異法 (saturation mutagenesis) を経て、新規に8つの阻害剤非感受性変異型分子を得、最終的に HPPD 阻害型除草剤5剤 (テンボトリオン、ジケトニトリル (イソキサフルトール分解産物)、トプラメゾン、メソトリオン、スルコトリオン) に対して非感受性の1分子を選抜した。(3) 形質転換ダイズの作出：ダイズ HPPD の N 末端86アミノ酸と新規非感受性トウモロコシ HPPD 全長配列をコードする融合配列を、ダイズ HPPD プロモーターのみ、および、CaMV35S エンハンサー配列を付加したダイズ HPPD プロモーターで発現する発現カセットを含むコンストラクトをダイズに形質転換した。T0 植物は、温室にて、HPPD 阻害型除草剤2剤 (メソトリオン、テンボトリオン) を処理し、それぞれ各30個体程度の形質転換体を得た。その後も世代促進しながら、耐性評価、固定系統を選抜した。(4) 圃場試験：T3 世代固定系統で実施。HPPD 阻害型除草剤3剤 (メソトリオン、テンボトリオン、イソキサフルトール) を処理に対し、いずれの選抜系統も耐性を示した。最終的に8系統を選抜し、様々な環境条件や遺伝的背景での試験が進行中である。

エンバク (*Avena sativa*) あるいはバクテリア (*Pseudomonas fluorescens*) 由来の特定の HPPD 阻害型除草剤 (メソトリオンあるいはイソキサフルトール) に対して非感受性を示す改変 HPPD 遺伝子を用いた HPPD 阻害型除草剤耐性 GM ダイズの開発が先行している。本論文は、複数の HPPD 阻害型除草剤に耐性を示すことから、除草剤抵抗性雑草の出現抑制に向けて、より有用と考えられる。

No.192

Event 5307 トウモロコシ栽培へ向けての eCry3.1 Ab の非標的生物 への影響調査と生態リスク評価

Nontarget organism effects tests on eCry3.1 Ab and their
application to the ecological risk assessment for cultivation of
Event 5307 maize

Burns A, Raybould A
Transgenic Research 23 : 985-994, 2014

シンジェンタ社の研究者による原著論文である。シンジェンタ社のトウモロコシ Event 5307は、Cry 1 Ab と改変 Cry 3 A とのキメラである新しい殺虫性タンパク質 eCry 3.1 Ab を産出する。eCry 3.1 Ab は、ヨーロッパアワノメイガ、アメリカタバコガなどのチョウ目害虫には殺虫性を持たないが、ウエスタンコーンルートワーム (*Diabrotica virgifera virgifera*) などのコウチュウ目害虫に対して殺虫性を有する。著者らは未調査であった非標的生物への影響について以下の試験・調査を行った。(1) 給餌試験対象非標的生物：葉面節足動物 2 種 (テントウムシ、カメムシ)、土壤生物 3 種 (ハネカクシ、オサムシ、ミミズ)、受粉昆虫 1 種 (ミツバチ)、陸棲動物 2 種 (ウズラ、マウス)、水棲動物 2 種 (エビ、ナマズ)、計10種 (規制により調査が要求される種を含む)。(2) 飼料中の eCry 3.1 Ab の濃度：テントウムシ：353 μ g/g 飼料、カメムシ及びハネカクシ、オサムシ：400 μ g/g 飼料、ミミズ：10.3 μ g/g 土壌、ミツバチ：50 μ g/g ショ糖溶液、ウズラ：900mg/kg 体重、マウス：2000mg/kg 体重。ナマズ：41% 飼料 (穀粒を飼料に直接混入)。エビには、Event 5307 トウモロコシ葉身をそのまま与えた。(3) 給餌試験期間：テントウムシ：21日、カメムシ：12日、ハネカクシ：79日、オサムシ：57日、ミミズ：14日、ミツバチ：24日、ウズラ：14日、マウス：14日、エビ：5日、ナマズ：28日。(4) Event 5307 の eCry 3.1 Ab 平均濃度の最高値 (μ g/g 新鮮重、全米 3 地点)：葉身：51.74、穀粒：3.53、根：6.48、花粉：0.22、全植物体：18.62 (老化期：4.89)。(5) 給餌試験結果：非標的生物10種の生存率、個体重、個体重増分、蛹化までの期間、次世代個体数、致死率、などの測定形質において、Event 5307 と対照の準同質遺伝子系統の間には有意差が検出されなかった。(6) 棲息域における推定暴露濃度：最高暴露を想定して (4) の数値を採用。(7) 損害発生指数 (Hazard Quotients;HQ)：eCry 3.1 Ab の [(6) の濃度] / [(2) の濃度] を HQ とした。HQ は、葉面生物：0.130~0.147以下、土壤生物：0.016~0.63以下、ミツバチ：0.004以下、ウズラ：0.02以下、ネズミ：0.0009以下、エビ：1以下、ナマズ：0.7以下。HQ から、棲息地で実際に暴露される濃度は、有意な影響を示さない濃度よりはるかに低濃度 (例外1例) であることが示された。(7) 総括：Event 5307栽培による eCry 3.1 Ab への暴露が、代表的非標的生物に与える生態リスクは、極少あるいは無であると結論される。(注：生態リスク評価に関する周到・綿密な文献であり、関係者の参考になると思われる)。

害虫抵抗性 GM 植物の非標的生物に対する環境影響検定生物種の選定

Surrogate species selection for assessing potential adverse environmental impacts of genetically engineered insect-resistant plants on non-target organisms

Carstens K, *et al.*

GM Crops and Food 5 : 11-15, 2014

CERA（環境リスク評価センター、在ワシントン）は9名の研究者・専門家（米国・スイス・ベルギー・ブラジル・アルゼンチン・フィリピン・開発企業2社）による表題の会議を2012年に開催し、その内容を本報告として公表した。（1）殺虫性タンパク質の影響評価：多くの国において Tier-based-testing（段階的試験）が実施されている。1）一次試験（low-tier test）：圃場の10倍以上の高濃度殺虫性タンパク質を含有する人工飼料による室内給飼（暴露）試験。ここで対照と有意差が検出されなければ次の2）は不要となる、2）二次試験（high-tier test）：圃場栽培による試験であり、要因が複雑化して精度が低下するので、必要な場合にのみ実施される。（2）非標的生物影響評価試験：1）市場化申請ごとの試験実施：不要（アルゼンチン、EU〔条件付〕、米国）；要（ブラジル、メキシコ、フィリピン）、2）段階的試験のガイドライン：有（ブラジル・EU・フィリピン）、無（アルゼンチン・メキシコ・米国）、3）検定に用いる生物種の指定：有（フィリピン、米国）、無（アルゼンチン・ブラジル・メキシコ・EU）、（3）非標的生物影響評価試験に用いる生物種選定基準の必要性：上記（2）における国際的不一致・不調和を改善する必要性が認識された。改善により、非標的生物影響評価試験の重複実施の回避、異なる地点における非標的生物影響評価データの相互利用の可能性増加、規制・開発の両面における負担軽減、などが期待される。（4）検定代表種選定において考慮される点：1）基本的生態的機能：草食者、送粉者、捕食者、捕食寄生者、有機物分解者；2）暴露経路；3）食物連鎖圃場。（5）代表種候補の選定：既存の主要作物に関連する節足動物のデータベースを利用する；草食者：チョウ目、コウチュウ目、カメムシ目、ハエ目；捕食者：コウチュウ目、ハチ目、カメムシ目；捕食寄生者：ハチ目、ハエ目、コウチュウ目；分解者：トビムシ目、ハエ目、コウチュウ目。（6）一次試験供試代表種の選定：想定被害虫種と生態的機能類似性だけでなく、系統分類類似性に基づいて、代表種を選定すべきである。（7）実施上の考慮：代表種選定は、上記以外に、大量飼育容易性、人工飼料摂取性、室内実験適応性などの考慮が必要となる。総括：以上から検定データの適用範囲の広い代表種が選定・使用され、非標的生物影響評価試験の効率が向上すると考えられる。（注：本報告の代表種は、小動物・水虫生物は含まれていない）。

***osmotin* 遺伝子導入組換えチャにおけるストレス耐性及び品質の向上**

Osmotin-expressing transgenic tea plants have improved stress tolerance and are of higher quality

Bhattacharya A, *et al.*

Transgenic Research23 : 211-223, 2013

インドの国研・大学研究者による原著論文である。チャ (*Camellia sinensis* L. (O.) Kuntze) はアジア、アフリカ、南米の20ヶ国以上で栽培されている重要な換金作物である。嗜好飲用に加え、医療、栄養、殺菌などの用途によりチャの需要は急増している。しかし、チャの生育・収量には多くの障害があり、種々の非生物的ストレス、特に乾燥ストレスによる損害が大きい。このため著者らは乾燥耐性組換えチャの作出を目的に研究を行い、以下の結果を得た。(1) 組換えチャの作出：タバコ由来の *osmotin* 遺伝子 (浸透圧制御によりストレス耐性を付与するタンパク質 *osmotin* をコードする) をパーティクルガン法によりチャ品種 Kangra jat に導入し、最終的に組換え5系統を作出した。(2) シュートによる浸透圧ストレス耐性試験 (*in vitro*) : ポリエチレングリコール (PEG) 含有培地上に、シュートを3~30日生育させ、浸透圧ストレスに対する耐性を調査した。PEG濃度の増加 (5~20%) とともに非組換え対照系統では葉の褐変が増加したが、組換え系統は15%区まで葉の褐変を生じなかった。3~30日間にわたり組換え系統は枝條長、枝條数、葉数、相対生長率が対照より有意に高かった。(3) 新枝條による浸透圧ストレス耐性試験 (室外) : 枝條長8cm、3節以上の新枝條を、PEG培地 (濃度は10及び20%) に2、4、8、12、24時間浸漬し、反応を調査した。葉部の顕著な被害 (褐変・枯死) は、対照ではPEG10%区8時間以降、20%区4時間以上で発生したが、組換え系統では10%区12時間、20%区8時間以降に発生し、対照より高い耐性を示した。さらに、新枝條を24時間PEG溶液に浸漬した後に新鮮水へ移し、回復程度を調べた。対照は10%区・20%区とも8時間以上の浸漬で非回復 (枯死) であったが、組換え系統は10%区12時間、20%区8時間まで高い回復力を示した。(4) ストレス耐性関連酵素の活性 : 活性酸素抑制による耐性向上酵素として、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD)、アスコルビン酸過酸化酵素 (APX)、カタラーゼ (CAT) の葉中濃度を測定した。組換え系統はPEG10%、20%区において3種類の酵素とも対照より有意に高い濃度を示した。(5) 品質関連物質 : カフェイン及びフラバノール類のPEG処理後の濃度は、組換え系統が対照より有意に高かった。(6) 総括 : 組換えチャは、浸透圧ストレス耐性 (乾燥耐性) 及び葉の品質において対照系統よりも有意に高く、市場の要求に応える特性を有していると判断される。この特性は栄養繁殖により後代に維持される。(注 : 今後、実際の乾燥耐性との整合性、ERAなどの問題が残っている)。

アブラナ科植物における葉緑体遺伝子の低頻度の父性遺伝

Low frequency paternal transmission of plastid genes in *Brassicaceae*

Schneider A, *et al.*

Transgenic Research DOI 10.1007/s11248-014-9842-8, 2014

ドイツの大学の研究グループによる原著論文。葉緑体コードの遺伝子の遺伝様式は多くの植物で母性遺伝である。このため、葉緑体ゲノムへの遺伝子導入は、花粉による遺伝子拡散を防ぐための生物学的封じ込め技術と考えられている。しかし、花粉を介した葉緑体の遺伝が低頻度でも起こることが懸念されている。本研究では、シロイヌナズナのアクセッション間、および、葉緑体形質転換セイヨウナタネを用いた花粉を介した葉緑体の移動の頻度が十分に低いことを検証した。

[結果] (1) シロイヌナズナを用いた検証：2種類のアクセッション、*Ler-ms 1-1* (雄性不稔 [核ゲノム、劣性ホモ]、除草剤アトラジン感受性 [葉緑体ゲノム]) および *Ler-Ely* (雄性稔性 [核ゲノム]、除草剤アトラジン耐性 [葉緑体ゲノム]) 合計5,000個体を圃場にて隣接して栽培し、*Ler-ms 1-1* から F1 種子300,000を得た。得られた種子の一部を用い、核ゲノムの雄性不稔遺伝子の遺伝型を検定したところ、雑種は全体の70%であった。残りの全種子を除草剤アトラジン含有培地に播種したところ、4個体の耐性個体を得た。葉緑体の遺伝型解析の結果、耐性個体は、いずれも *Ler-ms 1-1* 型と *Ler-Ely* 型の両方を含んでいた。この結果、父性遺伝の頻度は、 1.9×10^{-5} と推測された。(2) 葉緑体形質転換セイヨウナタネの作出：セイヨウナタネ葉緑体ゲノムの *rps 7/rps12/rps16* 領域に相同組み換えによってスペクチノマイシン耐性遺伝子およびグルホシネート耐性遺伝子発現カセットを導入するコンストラクトを導入するプラスミドを作出し、パーティクルボンバードメント法によって11,000の胚軸片 (品種 Drakkar) に打ち込み、スペクチノマイシン耐性を示すカルスから再分化個体10系統を得た。うち1系統 (T36) について、遺伝子導入がされていて、形態異常がないこと、グルホシネート耐性を有することを確認し、以降の実験に使用した。

(3) セイヨウナタネにおける葉緑体父性遺伝の検証：葉緑体形質転換ナタネ (品種 Drakkar) を花粉親と非形質転換ナタネ (品種 Obreey) を種子親として交配し、F1 種子39,000粒を得た。100粒を用い、全体の99%が雑種であることを確認した後、残り全種子をグルホシネート耐性試験に供したが、耐性個体は得られなかった。この結果、父性遺伝の頻度は、 2.6×10^{-5} 以下と推測された。

以上の実験の結果から、アブラナ科植物の葉緑体の父性遺伝の頻度は極めて低く、生物学的封じ込めとしての有効性が示された。

気候変動が世界食料保障に与える影響

Climate change impacts on global food security

Wheeler T, von Braun J
Science341 : 508-513, 2013

英国・ドイツの大学研究者によるレビューである。(1) 食料保障 (Food Security) : FAO は 1996年の世界食料サミットで採択されたローマ宣言の中で、食料保障が、供給可能性 (Availability)、入手可能性 (Access)、栄養性 (Utilization)、安定性 (Stability) の4要因で構成されると定義した。(2) 気候変動 : 1850年以降現在までに平均気温は 0.8℃上昇し、その主な原因は人間活動 (主として化石燃料の消費) 及び土地利用変化による温室効果ガス (CO₂・メタンなど) の放出の増加である。CO₂濃度は1834年の284ppm が2013年には397ppm に達した。このまま推移すれば今世紀末には気温が 1.8~4.0℃上昇し、アジアの夏期雨量の増加、アフリカの乾燥は一層進行すると予測されている。(3) 関連研究 : 1990年の気候変動に関する政府間パネル (IPCC) 第1回報告以降の食料保障に関する学術論文の割合は、大半 (70%) が供給可能性に関するもので、以下入手可能性11.9%、栄養性13.9%、安定性 4.2%であった。供給可能性は気候と生産との直接的関係が明瞭であるのに対し、他3要素は生物物理的要因、経済的要因、社会的要因などが関係するため、研究が困難であったと考えられる。(4) 供給可能性 : 最近20年の諸研究報告は、気候変動の負の影響は高緯度より低緯度地域で大きいとのほぼ一致した結果を示している。特にアフリカ及び南アジアは2050年までに平均8%の減収が予測されている。アフリカにおける減収予測は、コムギ17%、トウモロコシ5%、ソルガム15%、ミレット10%、南アジアでは、トウモロコシ16%、ソルガム11%、イネは減収見込みなしである。両地域をまとめると、コムギ・トウモロコシ・ソルガム・ミレットは減収し、イネ、キャッサバ、サトウキビは不明確となっている。これらの結果は、主要作物偏重・飼料用草地については検討していない・平均値の変化として気候変動を考慮している点 (一過的な異常気象等は除外) などの不完全性があるが、気候変動による作物収量低下の概要を示している。(5) 入手可能性・栄養性・安定性 : (注 : 研究例が少なく記述も具体性を欠くため省略する)。(6) 総括 : 為政者へのメッセージ : 1) 世界人口70億中20億は、現在でも食料保障が確保されておらず、特にアフリカ及び南アジアが困窮している。2) 気候変動の農作物収量への悪影響は今後さらに増加し、特に既存の被害地では損害がさらに深刻・甚大となる。3) これまでの温室効果ガス蓄積の悪影響をからみて、将来の食料保障対策を直ちに実施すべきである。4) そのためには、技術・管理領域に加えて、貿易、在庫、栄養、社会政策など、気候変動に対する総合的政策の推進が肝要である。

第一世代 *Bt* トウモロコシに対するウエスタンコーンルートワームの抵抗性獲得：管理及びモニタリングに関する考慮

Resistance evolution to the first generation of genetically modified *Diabrotica*-active *Bt*-maize events by western corn rootworm: management and monitoring considerations

Devos Y, *et al.*

Transgenic Research 22 : 269-299, 2013

欧州食品安全性機関 (EFSA)・米国農務省・ハンガリーの研究グループによるレビューである。*Bt* トウモロコシは環境・農家収益に大きく貢献しているが、一方では対象害虫における抵抗性の出現が問題視されている。著者らは北米・EU 圏で大害虫であるウエスタンコーンルートワーム (*Diabrotica virgifera virgifera*; WCR) を対象に、広範囲な文献 (211編) の精査に基づき以下のレビューを行った。(1) WCR の発生：北米在来害虫であり、1992年に欧州でも発見され、現在では欧州19ヶ国で発生し、今後も増加が危惧されている。(2) 抵抗性の出現：1) 実験室・温室：Cry 3 Bb 1 (2 イベント)、Cry34Ab 1/Cry35Ab 1 (1 イベント)、mCry 3 A (1 イベント) に対する抵抗性の出現が確認された。2) 圃場：1) と同様な抵抗性の出現が確認された。特に、単一・同一イベントの連続使用により、短期間 (3~5 年以内) に抵抗性が出現する事例が特徴的であった。(3) 抵抗性の出現の原因：1) 高濃度/緩衝区戦略 (High dose/Refuge Strategy) の検証：i) *Bt* タンパク濃度：各イベントが発現する毒性濃度による生存率は、EPA が要求する基準生存率 0.01% の100倍以上の高率であり、十分に高い毒性濃度は発現されていなかった。ii) 抵抗性対立遺伝子頻度：数例の推定値では当初に期待した 0.001 以下よりずっと高い頻度であった、iii) 抵抗性遺伝子の優劣関係：dominance value (1; 完全優性~0; 完全劣性) は 0.285~0.75 であり、当初期待した完全劣性ではなかった、iv) 無作為交配 (random mating)：抵抗性雄と感受性雌との交雑は無作為的ではなく、数方向の選択性が存在していた。v) 以上から、高濃度/緩衝区戦略を構成する諸条件が完全に満たされていないことが判明した。2) 適応度：適応度コストと抵抗性出現との関係は不明確、3) 自生実生：幼虫の移動先として抵抗性を温存させる可能性がある。(4) モニタリング：抵抗性出現の早期診断として、圃場から WCR を採取し、人工給餌試験により LC₅₀ あるいは EC₅₀ に注目するモニタリングが重要である。(5) 対策：抵抗性出現の完全阻止は困難であるが、軽減・遅延方策として以下がある。1) 慣行殺虫剤の一部使用、2) トウモロコシ以外の作物との輪作、3) 5~10% の非 GM 種子との混植栽培、4) 新しい作用機作の *Bt* タンパク質、5) 新しい作用機作による殺虫剤、6) スタック系統、7) RNAi の利用、8) 高濃度/緩衝区戦略条件の励行、9) *Bt* トウモロコシの統合的病害虫管理 (IPM; Integrated Pest Management) への取り組み。

No.198

アブラムシ介在植物ウィルスの外被タンパク質を利用した アブラムシ抵抗性付与

Toxin delivery by the coat protein of an aphid-vectored plant
virus provides plant resistance to aphids

Bonning BC, *et al.*

Nature Biotechnology 32 : 102-105, 2014

米国・オーストラリアの大学研究者による原著論文である。Btタンパク質はチョウ目・コウチュウ目害虫に対する殺虫効果により大きな実益をもたらしているが、カメムシ目吸汁害虫（アブラムシ、ヨコバイ、ヘヒリカメムシなど）に対しては殺虫効果がなく、被害が激増している。著者らはBtとは異なる殺虫機作による吸汁害虫防除を目的に研究し、以下の結果を得た。（1）殺虫性植物ウィルス外被タンパク質の作出：エンドウひだ葉モザイクウィルスの外被タンパク質にクモ由来の高度殺虫性ペプチドを連結した融合タンパク質（融合外被タンパク質と呼称）を作出した。（2）融合外被タンパク質の殺虫性検定：大腸菌に発現させた本タンパク質を含む人工飼料を、4種類のアブラムシを対象に給餌試験を行った。融合外被タンパク質区では4種とも有意に高い致死率を示した。LC₅₀濃度の約2倍の濃度の融合外被タンパク質区では、致死率100%であった。しかし、非標的のチョウ目昆虫では影響は皆無であった。（3）融合外被タンパク質の殺虫機作：吸汁により腸管内にとりこまれた融合外被タンパク質は、腸管壁を透過して血体腔（hemocoel）へ侵入・拡散し、虫体に対する神経毒素として作用し、虫体を麻痺・致死させる。（4）組換え植物による生物検定：シロイヌナズナに融合外被タンパク質発現カセットを導入した組換え植物（T₂世代）を作出し、2種のアブラムシの飼育試験を行った。17日後、2種のアブラムシはいずれも融合外被タンパク質導入植物上では有意に減少したが、対照植物区では増殖を続けた。組換え植物は健全な生育を継続したが、対照植物ではアブラムシの被害が大きく、壊疽をおこした。総括：融合外被タンパク質による殺虫性はBtとは異なり、腸管透過・血体腔侵入拡散の経路による神経毒素による致死作用に基づいている。アブラムシ抵抗性組換え植物作出の新技术と考えられる（注：今後、実際の作物に導入したアブラムシ抵抗性作物が作出されることが望ましい）。

RNA の致死的摂取

A lethal dose of RNA

Kupferschmidt K
Science341 : 732-733, 2013

サイエンス誌リポーターの短報である。2006年のノーベル賞受賞以後、RNAiはウイルス病、ガン、心臓血管病などの人類の病気克服に貢献すると期待された。しかし以後7年、RNAiは人の疾病治療ではなく、新しい害虫防除への利用が注目されている。(1) RNAi 殺虫性の機作：標的害虫の標的遺伝子の特定部位配列と相同的な二本鎖 RNA (dsRNA) を転写する DNA コンストラクトを植物に導入する。本コンストラクトを導入した植物を食害した害虫は dsRNA を摂取する。摂取された dsRNA は害虫細胞内へ入り、小さな RNA (siRNA) に細断される。siRNA は対応する配列を有する内生 RNA の機能に干渉してタンパク質発現を阻害し、害虫は致死する。(2) 殺虫作用の特異性：RNAi は、特定された標的遺伝子配列特異的に干渉する。このため殺虫効果は、特定害虫に対して特異的に発現する。例えば、4種のショウジョウバエのうち1種にだけ殺虫効果を有する RNAi の開発が報告されている(2009年)。(3) RNAi に基づく害虫抵抗性作物の開発：モンサント社が先陣をきっており、2012年にウエスタンコーンルートワーム (*Diabrotica virgifera virgifera*; WCR) に対して殺虫性を有する抵抗性品種を開発し、併せて標的害虫以外の種に対する殺虫効果はほとんど無いことを示した。同社は10年以内の認可獲得を期待している。Smaghe社は国際ポテトセンター(在ペルー)との協力のもとに、サツマイモの大害虫であるアリモドキゾウムシ (*Cylas formicarius*、英名: sweet potato weevil) を標的とした遺伝子を探究中であり、他にアリ類、イモムシ類、甲虫類 (pollen beetle) に対して有効な標的遺伝子を探究している。これまで研究ではイナゴや甲虫類には有効であるが、チョウや蛾に対しては効果が低く、このため、ワタミムシ、ヨトウムシ、イネメイチュウなどの主要作物害虫への応用は困難視されている。(4) その他の問題：1) 抵抗性発現：標的遺伝子における配列変更による抵抗性発現の可能性は低いと考えられる。モンサント社が行う *Bt* との併用は有効と思われる。2) 公衆の反対：中国による食品中の RNA 残留説は、他の複数の研究により否定されている。3) RNA の直接施用：RNA を含む灌水による植物体への直接施用は、外界での RNA の急速分解から、可能性は低いと考えられる。(注：非 *Bt* 害虫防除法の一つとして注目される)。

Cry1F タンパク質の環境安全性に関するレビュー

A review of the environmental safety of the Cry1F protein

CERA Monograph 2013

(<http://www.ilsa.org/ResearchFoundation/CERA/Publications/Cry1f-monograph.pdf>) , 2013

本レビューは殺虫性タンパク質 Cry 1 F に関して、広範囲な文献・資料（140編）に基づき、その環境安全性を記述したものである。Cry 1 F は Cry 1 群中の他のサブグループ（Cry 1 A、Cry 1 B、Cry 1 C など）とは異なる新しいサブグループである。Cry 1 F はコウチュウ目害虫には作用しないが、以下のチョウ目害虫に対して強い殺虫性を有する。ニセアメリカタバコガ (*Heliothis virescens*)、シロイチモジヨトウ (*Spodoptera exigua*)、ソイビーンルーパー (*Pseudoplusia includens*)、アメリカタバコガ (*Helicoverpa zea*)、ヨウトウガ (*Spodoptera frugiperda*)、ヨーロッパアワノメイガ (*Ostrinia nubilalis*) などである。2013年には Cry 1 F トウモロコシ（9ヶ国）及び Cry 1 F ワタ（2ヶ国）の栽培認可がなされている。本レビューでは、Cry 1 F タンパク質の由来、作用機作、植物体中の発現、非標的節足動物（ミツバチ、テントウムシ、ウスバカゲロウ、オオカバマダラ、寄生蜂など）、節足動物以外の非標的生物（ミミズ、ウズラ、ニジマス、ニワトリ、ブタ、ネズミ）などに対する影響、Cry 1 F 作用の表現型、雑草性、侵入性、遺伝子伝播、植物体の構成成分などが詳述されている。さらに Cry 1 F の発現（部位、時期）、植物体の主要構成成分などが多数の付表で示されている。以上に基づいて、組換えトウモロコシ及びワタにおいて発現する Cry 1 F タンパク質は、表現型及び構成成分を既存品種の範囲内にとどめ、非標的生物への危害を増加することなく、雑草性・侵入性の増加もなく、環境に負の影響を与える可能性は極めて低いと結論される。

（注：本調査報告シリーズにおける既報の CERA モノグラフ：CP 4 EPSPS (No. 4)、Cry 1 Ac (No.11)、PAT (No.76)、Cry 1 Ab (No.94)、Vip 3 Aa (No.150)）。

ERA プロジェクト調査報告

2015年 2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 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)