

---

# ERAプロジェクト調査報告

---

August 2015

バイオテクノロジー研究部会



ILSI  
Japan

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. 8

バイオテクノロジー研究部会

本号では、中国での広域な農家ほ場レベルにおける *Bt* ワタの *Bt* タンパク濃度変動調査、米国のトウモロコシにおける干ばつに対する感受性の推移、ブラジルの牛肉・ダイズ生産とアマゾン地域の森林伐採に関するレビュー、アフリカにおける GM 作物規制の諸問題等、諸国における課題を取り上げています。また、ユーカリに関して、ブラジルにおける GM 品種の植林承認、日本における多年継続評価試験及び OECD コンセンサス・ドキュメントの刊行について、さらに、シスジェニックリンゴ作出の事例や干ばつ耐性イネに関する研究を紹介しています。

なお、これまで調査報告でご紹介した文献抄訳は、下記の URL で閲覧可能です。

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

# 目次

No.221	遺伝子組換えユーカリの商業栽培認可を検討するブラジル Brazil considers transgenic tree .....	1
No.222	<i>Bt</i> ワタの <i>Bt</i> タンパク質産生に及ぼす農家ほ場管理の影響：中国農家ほ場における実証 Effect of farm management practices in the <i>Bt</i> toxin production by <i>Bt</i> cotton: evidence from farm fields in China .....	2
No.223	細菌由来 <i>choline oxidase</i> 遺伝子を導入した遺伝子組換えユーカリのバイオマス、 周辺植生、土壌微生物相に対する影響に関する多年継続評価試験 A multi-year assessment of the environmental impact of transgenic <i>Eucalyptus</i> trees harboring a bacterial <i>choline oxidase</i> gene on biomass, precinct vegetation and the microbial community .....	3
No.224	ユーカリ属木本の生物学に関するコンセンサス・ドキュメント Consensus Document on the biology of <i>Eucalyptus</i> spp. ....	4
No.225	米国中西部におけるトウモロコシ収量上昇に伴う干ばつ感受性の増大 Greater sensitivity to drought accompanies maize yield increase in the U.S. Midwest .....	5
No.226	地球の食料安全保障及び環境保全を改善するための注力箇所 Leverage points for improving global food security and the environment .....	6
No.227	公共政策及び牛肉・ダイズサプライチェーンへの介入によるアマゾン森林破壊の遅延化 Slowing Amazon deforestation through public policy and interventions in beef and soy supply chains .....	7
No.228	シスジェニックリング; その開発、特性評価、性能 Cisgenic apple trees; development, characterization, and performance .....	8
No.229	干ばつ及び浸透圧ストレス耐性向上のために組換えイネに導入された エチレン応答性転写因子 <i>JERF3</i> の機能解析 Functional analyses of ethylene response factor <i>JERF3</i> with the aim of improving tolerance to drought and osmotic stress in transgenic rice .....	9
No.230	途上国の GM 作物に関する規制的諸問題：アフリカにおける経験 Regulatory challenges for GM crops in developing economics: the African experience .....	10

## 遺伝子組換えユーカリの商業栽培認可を検討するブラジル

### Brazil considers transgenic tree

Ledford H.

Nature 512: 357, 2014

Nature 誌の在米国ボストン駐在員による短報。ユーカリ属はオーストラリア原産の早生常緑広葉樹である。世界中で熱帯～亜熱帯地域に広く植林され、その総植林地面積は2000万 ha、ブラジルはそのうち350万 ha の植林地を有する最大のユーカリ植林国である。そのブラジルで、イスラエルのバイオベンチャー、FuturaGene 社（現在は製紙・パルプ業世界大手 Suzano Pulp and Paper 社（本社ブラジル・サンパウロ市）の傘下）は、同社が開発した生育改善組換えユーカリの商業栽培をブラジル規制当局（ブラジル国家バイオセイフティー技術委員会；Brazilian National Technical Commission for Biosafety, CTNBio）に申請し、2014年9月にその公聴会が開かれた。

ブラジルでの遺伝子組換えユーカリの植林承認は、世界中に影響を与えるため大きな注目を集めている。同社が申請中の組換えユーカリは、シロイヌナズナ由来の細胞壁伸長を容易にすることで成長を促進する遺伝子を導入したもので、在来種よりも短い栽培期間（7年→5年半）で、より多くの木材収量（20%増）が得られるという。同社は、本組換えユーカリの植林は、温室効果ガスの排出量削減に貢献し、さらなる自然林の植林地への転換を抑制する点を強くアピールしている。オレゴン州立大 Steve Strauss 名誉教授（森林遺伝学）は、植林木は何年にもわたり環境に暴露されることから他の動植物や土壌に与える潜在的な影響は通常の農作物よりも大きく、花粉飛散も広範であることから、これまでの組換え作物の安全性評価をそのまま適用するべきでなく、樹木の生物学的特性にあった安全性評価を提起すべきであると指摘する。Strauss 教授は、ユーカリはブラジルにおいて、近縁野生種が存在せず、かつ、国土のほとんどの地域では特に侵襲的ではないと述べている。また、同社の8年にわたるほ場試験は、落ち葉分解物へのジーンフローや訪花ミツバチの蜂蜜の成分分析に至るまで細部にわたってデータを収集したが、いずれの結果からも重大な環境危害要因は特定できなかったと言う。組換えユーカリに関しては、2008年に米国 ArborGen 社が、同社が開発した耐冷性ユーカリに関する商業栽培を米国農務省に申請しているが、その結果は未だ示されていない。

本短報中では、2014年内に承認の可否が判断されると報じられていたが、実際に2015年4月10日、CTNBio は商業栽培を認可した<sup>1,2</sup>。これにより、組換え植林木の利用は今後世界規模で急速に進展するものと期待される。その一方で、この承認の1ヵ月前の2015年3月、組換え反対活動団体の活動家1000人によって同社のブラジル国内の育苗施設が襲撃され、苗が失われるという嘆かわしい事件もあった<sup>2</sup>。

組換えユーカリや植林木の安全性評価に関しては、本号の No.223、No.224、および既刊 No.171等も併せて参照されたい。

補足参考文献1：Nature 520: 268-269（2015）

補足参考文献2：Nature Biotechnology 33: 577（2015）

No.222

## ***Bt* ワタの *Bt* タンパク質産生に及ぼす農家ほ場管理の影響：中国農家ほ場における実証**

Effect of farm management practices in the *Bt* toxin production by *Bt* cotton: evidence from farm fields in China

Huang J, *et al.*

Transgenic Research 23: 397-406, 2014

中国の大学・国研研究グループによる原著論文である。*Bt* ワタの *Bt* タンパク質産生の態様について、従来の実験室・小規模試験ほ場のレベルから、広域の農家栽培ほ場のレベルに拡大して精査し、以下の結果を得た。Ⅰ. 試験区構成：(1) 農家ほ場：山東省（中国のワタ生産量2位）、河北省（同3位）、河南省（同4位）のワタ生産地域から20地点、813農家ほ場を無作為に選出；(2) 供試品種：共通市販公認品種6、農家選択地方品種5以上；(3) *Bt* 濃度測定：4葉/個体を採取し、北京にある植物保護センターへ冷蔵移送、標準法で *Bt* 濃度 (ng/g) を測定。Ⅱ. 結果：(1) 農家ほ場における *Bt* 濃度：生育前期である6月に最大、その後減少して生育後期の9月には最大値の50%以下に低下した。公認品種の濃度は地方品種を上廻らなかった。(2) ほ場管理による *Bt* 濃度の変動：窒素施用量の差 (100 kg/ha~200 kg/ha 以上) は *Bt* 濃度に有意差を生じなかった (7年前に実施された同様の試験では窒素施用量によって有意差が生じたが、すでに窒素過剰施用が一般的となっており、窒素施用による植物体の健全化による *Bt* 濃度増加効果は消失したものと考えられる)。一方、リン酸・カリウムの施用量 (50 kg/ha~100 kg/ha 以上) の増加及び堆厩肥の施用により、いずれも *Bt* 濃度が有意に増加した (近年のリン酸・カリウムの施用不足及び豚・鶏飼育の減少による堆厩肥施用の減少 (実施率23%) に起因している)。また、農家常用の自家採種種子の *Bt* 濃度は、市販種子より有意に低かった。Ⅲ. 政策的考慮：高濃度 *Bt* 発現は High dose / Refuge 戦略の必須条件である。農業近代化に伴う肥料施用のアンバランス (窒素の過剰、リン酸・カリウム・堆厩肥の不足) を早急に是正して、適切な高 *Bt* 濃度を維持する必要がある。Ⅳ. 総括：中国農家ほ場における *Bt* ワタの *Bt* タンパク質発現濃度は、地域・時期・種子品質・施肥のアンバランスにより大きく変動する。今後、リン酸・カリウム・堆厩肥の施用増加により、正常な高 *Bt* 濃度を維持し、害虫防除及び収量増加を図る必要がある。(注：本論文は世界第2位の *Bt* ワタ栽培国である中国における農家ほ場の *Bt* 濃度の変動とその原因を記述したものである。しかし、両者の生物学的脈絡については記述されていない。また、多変量解析がなされているが、結果の重複であるため省略した)

No.223

## バクテリア由来 *choline oxidase* 遺伝子を導入した遺伝子組換えユーカリのバイオマス、周辺植生、土壤微生物相に対する影響に関する多年継続評価試験

A multi-year assessment of the environmental impact of transgenic *Eucalyptus* trees harboring a bacterial *choline oxidase* gene on biomass, precinct vegetation and the microbial community

Oguchi T, et al.

Transgenic Research 23: 767-777, 2014

筑波大学・製紙会社の研究グループによる原著論文。今日までに市場化された組換え木本植物はパパイア及びポプラ（中国、小規模）の2種類だけであり、他作物に比べて極めて少ない。ユーカリ（600種以上）のほとんどはオーストラリア原産であるが、産業上重要な植林木であり、南米・欧州・アフリカ・アジアなどで広く植林されている。特に *E.globulus* は、合板、薪、材木、必須油脂などの原料として19世紀以来栽培されている。著者らは既往の研究で、2種のユーカリ（*E.globulus* および *E.camaldulensis*）にバクテリア由来の耐塩性遺伝子を導入した組換え系統を作出し、予備的ほ場試験を行っていた。これらの経験・知見に基づいて本研究では、耐塩性 *E.globulus* 系統のバイオマス、土壤微生物相、葉のアレロパシーについて2008～2011年にほ場試験を実施して、以下の結果を得た（対照は組換え体作成に用いた種子バルク由来の非組換え1系統、栽培優良系統樹2系統を用いた）。I. 結果：（1）バイオマス生産：当初10 cmであった幼木は3年間で幹長約6 m、基部直径約7 cmに達し、これらから算出された材積（バイオマス）は、約0.01 m<sup>3</sup>であった（例外優良系統樹2系統）。これら諸量は、組換え系統と対照との間に有意差はなかった。（2）土壤微生物相：放線菌、放線菌以外の細菌類、糸状菌の生菌数に、組換え系統と対照との間には有意差はなかった。（3）葉のアレロパシー：サンドウィッチ法及び土壤混合法のどちらも、組換え系統と対照との間には有意差はなかった。II. 総括：耐塩性遺伝子を導入した組換えユーカリ（*E.globulus*）は、バイオマス生産、土壤微生物相、アレロパシーにおいて、対照と有意差を生じなかった。今後、より大規模ほ場試験、塩害抵抗性評価試験が必要である。（注：ユーカリのERA関連生物学的特性については、次報No.224のOECDコンセンサス・ドキュメントを参照されたい）

No.224

## ユーカリ属木本の生物学に関するコンセンサス・ドキュメント

Consensus Document on the biology of *Eucalyptus* spp.

Working Group on Harmonization of Regulatory Oversight in  
Biotechnology

No.58 Series on Harmonization of Regulatory Oversight in  
Biotechnology, Environment Directorate, OECD, 2014

OECD バイオテクノロジー規制監督調和作業部会は、リスク/安全性評価に適切要件として加盟国が合意した領域を記述するコンセンサス・ドキュメント (CD) を刊行している。本 CD はユーカリ属の全般的教科書ではなく、ERA の基準となる生物学的特性について、主要 9 種を中心に記述されたものである。I : 分類、II : 起源及び栽培 (含形質転換: 耐塩性、耐冷性、耐病性、低リグニン含量)、III : 形態、IV : 生育 (生殖生理: 無性・有性生殖、種子拡散、種子休眠性)、V : 遺伝 (核型)、VI : 非生物学的相互作用 (温度、水分、塩分)、VII : 生物的相互作用 (菌根、病原菌、害虫)、VIII : 雑草性、IX : 交配システム及び交雑 (種内交雑、種間交雑、人工交雑)、X : ヒトの健康 (アレルギー性、薬用抽出油)。付表: 主要植林ユーカリ 6 種における自然交雑及び人工交雑の事例 (文献)。5 点の表、18 点の図 (多くは鮮明なカラー写真)、406 文献 (多くは 2000 年代の文献)。(注: 本 CD は、日本が提唱し、ユーカリの主要原産国であるオーストラリアがリード国 (執筆国) を受諾したことにより開始された。南米、南アフリカ、日本からも資料が提供されている。針葉樹種の CD が多くなかで、数少ない広葉樹種の CD である) なお、本 CD の全文コピーは、website ([www.oecd.org/chemicalsafety](http://www.oecd.org/chemicalsafety)) あるいは照会 (E-mail: [ehscont@oecd.org](mailto:ehscont@oecd.org)) により無料入手可能である。



## 米国中西部におけるトウモロコシ収量上昇に伴う干ばつ感受性の増大

### Greater sensitivity to drought accompanies maize yield increase in the U.S. Midwest

Lobell DB, *et al.*

Science 344: 516-519, 2014

米国・オーストラリアの大学研究グループによる調査報告である。干ばつは米国を含む世界の天水依存作物栽培に対する最大の障害の一つである。世界生産量の40%のトウモロコシ及び35%のダイズを産出する米国農家のほ場における干ばつ感受性は、種々の要因の影響を受けている。種々の要因とは、不耕起栽培、CO<sub>2</sub>濃度増加に伴う水利用効率の上昇、高栽植密度向き品種の普及、土壌害虫抵抗性品種の開発などである。著者らは、米国中西部トウモロコシ地帯農家ほ場における干ばつに対する感受性の推移の調査を目的とし、1995～2012年の収量及び播種期と気象データとを組み合わせ解析を行った。まず1地点1シーズンの全品種の平均収量から環境指数（EI）を算出した。ついで、特定品種の収量とEIとの対比から、当該品種収量の干ばつに対する感受性（sensitivity）を算出した。気候因子は、最低・最高気温、雨量、日中の飽差（VPD；空気中の飽和水蒸気圧と実際に含まれている水蒸気圧との差）を、播種前30日～播種後120日までの期間につき、30日ごとの平均値として算出した。その結果、トウモロコシ収量に対しては、播種後30～60日のVPDが最大の影響を与え、VPDの低下は収量を低下させることが分かった。原因のひとつには密植化（25%増：24,000→30,000本/ha）による個体当たりのVPD低下がある。ダイズでもVPDが最大の要因であり、またトウモロコシより雨量の影響が大きかった。トウモロコシでは、収量の絶対値の経年的増加は認められたが、VPDの低下による干ばつ感受性の増大を伴っていた。同様な解析を中西部トウモロコシ地帯に適用したところ、播種後60～90日のVPDが収量に最大の影響を与え、収量増に伴う干ばつ感受性の増大はいっそう顕著であった。予想される今後の少雨化から、今後50年間にVPDは20%増加し、トウモロコシ生産は15%減少し、VPDが改善されなければ、30%の生産減となる。以上から、過去18年間でトウモロコシの干ばつ感受性の低下はなく、高VPDの恒常的増加が認められる。干ばつ耐性組換え品種は成果待ちである。（注：米国から日本へのトウモロコシ、ダイズの輸出量の中長期的減少と、干ばつ耐性組換え品種の重要性の増加が示唆されている）

## 地球の食料安全保障及び環境保全を改善するための注力箇所

### Leverage points for improving global food security and the environment

West PC, *et al.*

Science 345: 325-328, 2014

米国大学研究グループによる報告である。世界食料安全保障は人類の最大の課題であるが、対策の効果を組織的に調査する例は少なかった。著者らは最近のデータ及びモデル計算に基づいて、地域・作物・要因の3要素を組み合わせて以下の解析を行った。対象作物は、全世界の農地の58%、作物カロリーの80%、灌漑水の92%、窒素・リン酸施用量の70%を占める17作物（含ワタ）とした。（1）収量格差（yield gap）：到達可能収量と実際収量との差を収量格差という。低収地域の収量格差を50%にまで引き上げられれば、8億5千万人分のカロリーが確保できる。とくに、収量格差の改善が期待される全農地の5%（アフリカ、アジア、東欧）で改善が図れれば、目標の半分は達成される。（2）環境負荷：全世界の温室効果ガス（GHG）の20~35%は農業が原因である。農業のGHGの主体は、熱帯林伐採によるCO<sub>2</sub>、畜産及び稲作からのメタン、施肥によるN<sub>2</sub>Oなどである。熱帯林伐採によるGHG発生の34%はブラジル（森林、牧畜、大豆作）、17%はインドネシア（アブラヤシ、植林）である。メタンの主因は中国（29%）、インド（24%）である。N<sub>2</sub>Oの56%は、中国、インド、米国が占めている。17作物における68%は3作物（コムギ、トウモロコシ、イネ）が占めている。施用窒素の60%、リン酸の48%は過剰施用である。その64~66%は中国、インド、米国の3カ国、58~60%は上記3作物が原因となっている。現在収量を維持しつつ、コムギは14~29%、イネ・トウモロコシは13~22%の投与削減が可能と推定される。（3）灌漑：全世界水消費量の90%は灌漑用である。蒸発散量が雨量を上回る雨量限定地域への灌漑水量の72%は、インド、パキスタン、中国、米国の4ヶ国が占めている。全体の59%はイネ・コムギにより、30%はワタ・トウモロコシ・サトウキビが占めている。サトウキビ・ワタはコムギの1.6~2.4倍の灌漑水を必要とする。（4）食餌格差（diet gap）：畜産物の摂取増加により食用作物の飼料化が急増している。1kgの牛肉の浪費は26kgのコムギの浪費に相当する。米国一人当たりの浪費カロリーは、インドの約100倍である。このため、米国はインドの7~8倍の農地を必要とする。畜産物の消費・浪費の小さい変化は、全体のカロリー供給に大きな影響を与えている。畜産物を摂取した場合のカロリーとその飼料として消費した作物のカロリーの差を食餌格差といい、米国26%、中国17%、西欧11%、ブラジル6%と推定される。もし、現在飼料にされる作物を人間が直接摂取すれば70%のカロリー増となり、40億人分のカロリーへ充当できる。（5）総括：世界の食糧安全保障及び持続的環境保全は、比較的少数の地域、作物、要因の組合せにより、効果的に対応できる可能性がある。関係機関がこれらの要点を取り入れた活動を行うことが期待される。

## 公共政策及び牛肉・ダイズサプライチェーンへの介入によるアマゾン森林破壊の遅延化

### Slowing Amazon deforestation through public policy and interventions in beef and soy supply chains

Nepstad D, *et al.*  
Science 344: 1118-1123, 2014

ブラジル・米国の研究所・大学の研究グループによるレビューである。ブラジルのアマゾン地域の森林伐採は、2005年の19,500 km<sup>2</sup>/年から2013年の5,843 km<sup>2</sup>/年へと70%減少し、その結果として、年間32億トンのCO<sub>2</sub>放出が削減された（参考：2013年のCO<sub>2</sub>排出量は360億トン（Global Carbon Project 調べ））。ここに至るまでには、以下の3段階の推移を経ている。（1）第1段階：1990年代後半から2004年にかけてダイズの収益性が増大し、栽培面積拡張のため、アマゾン南東部のマトトグロッソ州を中心に森林伐採が急増した。また牛肉生産も急増した。そこで、個人森林所有者を対象に森林法が急遽制定され、不伐採の法的保存林比率が50%から80%へと引き上げられたが実効性は極めて低かった。（2）第2段階：アマゾン地域でのダイズ生産が禁止され、生産量が2005～2006年に急落した。2004～2012年の保護林・在来林の比率は68%増加し、アマゾン地域の47%に達した。伐採違反検出体制も強化された。2006年には「Soy Moratorium」が実施され、2006年7月以後の伐採地からのダイズは市販ルートから除外された。（3）第3段階：ダイズ・牛肉生産の収益性が復活し、生産が増加した。2006～2013年までのダイズ生産50%増は、伐採地の新造成からではなく、すべて2006年以前の伐採地から生産された。森林保護は個人林から地域全体へと移行した。伐採抑制遵守に対する優先融資が導入され伐採率が高い36郡への融資が保留となった。その結果、11の郡での伐採が急減した。CO<sub>2</sub>放出削減への見返り融資も導入された。2009年10月以降の伐採畜産業者の牛肉は市販ルートから除外された。2012年に新森林法が策定され、法的保存林比率は変化ないが、2008年7月以前の伐採違反犯罪者が恩赦された。このように低伐採への移行に関する種々の積極的奨励により、2020年までに80%の伐採削減を目標としている。（4）伐採減少の持続性：伐採の動向は牛肉・ダイズ生産と関係が深い。もしも牛肉生産が停滞すればダイズ地帯へ侵入して牛肉生産の回復をはかり、このために減少するダイズ面積を回復するために、保護林以外の森林が新しい伐採の標的となる可能性がある。あるいは牛肉・ダイズの主産地がアマゾン南部のセラード地帯へ移行し、同地帯の森林伐採率がさらに上昇する可能性もある。無伐採ではない低伐採への移行を持続させるためには、牛肉・ダイズ生産者を含む関係全分野の協力とこれを支える公共政策の推進が必要である。（注：ブラジルは中国向けダイズの最大輸出国（560万トン/年）である）

## シスジェニックリンゴ；その開発、特性評価、性能

Cisgenic apple trees; development, characterization, and performance

Kren FA, *et al.*

Frontiers in Plant Science 6: Article 286 (doi:10.3389/fpls.2015.00286), 2015

オランダ・ワーゲニンゲン UR、スイス・チューリッヒ工科大学の研究者による報告。シスジェニックは EU が提唱する新しい植物育種技術 (NPBT) の一つである (本報告 No.88 参照)。本総説では、異なる 2 つの方法によるシスジェニックリンゴ作出の事例が報告されている。

[事例 1] リンゴ *MdMYB10* 遺伝子を利用したシスジェニックリンゴの作出

リンゴ *MdMYB10* 遺伝子はアントシアニン合成の制御に関わる転写因子をコードする。*MdMYB10* が発現すると、アントシアニン合成の活性化によって細胞内にアントシアニンが蓄積するため、赤色になる。プロモーター領域、ターミネーター領域を含む *MdMYB10* のゲノム DNA 断片 7.1 kbp を T-DNA 領域中に挿入した Ti-plasmid バイナリベクターを作製し、アグロバクテリウムに形質転換した。これをリンゴ 4 品種の外植片 (Gala:730、Junami:530、Mitchgls:2570、Wellant:1420) に感染させ、赤色に呈色したカルスを選抜し (Gala:6、Junami:3、Mitchgls:3、Wellant:0)、最終的に 10 再分化個体 (Gala:4、Junami:3、Mitchgls:3) を得た。形質転換効率は 0~0.55% であり、同時に実験したカナマイシン耐性遺伝子マーカーを含む Ti-plasmid バイナリベクターを用いた場合の効率 (0.22~13.8%) よりも低かった。得られたシスジェニックリンゴは、葉、果肉においてアントシアニンの蓄積がみられるが、それ以外は非組換え体との間で表現型の違いはなかった (果実は、非組換え台木リンゴにシスジェニックリンゴ穂木を接ぎ木して得ている)。

[事例 2] pM (arker) F (ree) ベクターシステムを利用したシスジェニックリンゴの作出

pMF ベクターは Schaar らが作成したもので、T-DNA 領域に醤油酵母の配列特異的 DNA 組換え酵素 R の認識配列 (RS) に挟まれた領域を持つ。RS に挟まれた領域 (RS 領域) は、デキサメタゾン (ステロイド系抗炎症剤; DEX) 誘導性改変 *R* 遺伝子および *NPTII* (抗生物質耐性マーカー) と *codA* (シチジンデアミナーゼ遺伝子; 5-フルオロシトシン (5-FC) によるネガティブ選抜のマーカー) の融合遺伝子を含み、カナマイシンによるポジティブ選抜後 DEX 処理を行い、5-FC でネガティブ選抜することで RS 領域を欠落した形質転換体を得られる。本実験では、目的遺伝子はリンゴ由来のリンゴ黒星病耐性遺伝子 *Rvi6* とし、プロモーター配列には *Rvi6* 自身のプロモーター配列 (SP (288 bp) と LP (2000 bp) の二種) あるいはリンゴ *rubisco* 遺伝子のプロモーター (1600 bp) を用いた。3 種のコンストラクトを品種 Gala へアグロバクテリウムを介して形質転換し、10 系統 (LP 2、SP 3、Rbc 2) のカナマイシン耐性系統を得た。さらに DEX 処理/5-FC 選抜を経て、RS 領域の欠落を PCR 等での確認を経て、最終的にリンゴ由来の核酸のみから構成される *Rvi6* 発現カセットのみを含み、マーカー遺伝子を持たない形質転換体 2 系統 (LP 0、SP 1、Rbc 1) を選抜した。選抜された 2 系統は、ほ場試験に供し、非組換え系統と比較して黒星病の罹患率が軽減されることを確認した。この黒星病耐性形質は複数年にわたり安定的であることも確認されている。

[結論] 2 種の方法によりシスジェニックリンゴを作成し、ほ場試験まで実施したことを報告した。ほ場試験データも含まれる本実験のデータは、シスジェニック系統は基本的に従来育種品種と同等であるという欧州食品安全機関 (EFSA) GMO パネルによる見解を支持するものである。

(注: 本報告の 2 シスジェニックリンゴはいずれもベクターバックボーンを含んでいると思われる。EC 指令 2001/18/EC (既刊 No.219 参照) との整合性も含め、シスジェニックの定義については議論が必要である。)

No.229

## 干ばつ及び浸透圧ストレス耐性向上のために組換えイネに導入されたエチレン応答因子 *JERF3* の機能解析

Functional analyses of ethylene response factor *JERF3* with the aim of improving tolerance to drought and osmotic stress in transgenic rice

Zhang H, *et al.*

Transgenic Research 19: 809-818, 2010

中国の国研・大学の研究グループによる原著論文である。イネは世界的に重要な食用作物であるが、水不足及び干ばつが最大の生産阻害要因である。著者らはトマト由来のジャスモン酸およびエチレン応答性転写因子 *JERF3* を双子葉作物のタバコに導入して、その干ばつ耐性、耐塩性、低温耐性を向上させた成果を既に得ている。その成果を単子葉作物のイネに応用して以下の結果を得た。(1) 組換えイネの作出：アグロバクテリウム法により *JERF3* 過剰発現組換えイネ（品種日本晴）3系統を作出した。(2) 干ばつ耐性及び浸透圧ストレス耐性：二葉期の幼苗に対し、7ないし8日間の無給水処理を行った結果、組換え区は葉・茎・根の生育が正常であったが、対照区は葉巻きが顕著で生育が減退した。3日間の25 mM ポリエチレングリコール処理による浸透圧ストレスに対しては、真水へ戻して5日後の生存率は、組換え区では60%以上であったが、対照区では全ての個体が回復せず枯死した。これらの結果から、組換え体では干ばつ耐性及び浸透圧耐性が増加していると判断された。(3) 生化学的特性：7日間の無給水処理後の植物について、浸透圧ストレス下での細胞内浸透圧調節に關与する可溶性糖類およびプロリン含量を調査した。組換え系統の可溶性糖量は非組換え対照系統と比較して4.5倍高かった。同様に組換え系統のプロリン含量は非組換え対照系統と比較して4.7~6.2倍高かった。(4) ストレス誘導性遺伝子：組換え系統では、通常栽培条件下でもストレス誘導性遺伝子の発現が認められ、*JERF3* 遺伝子によるストレス誘導性遺伝子を直接あるいは間接的に正の発現調節をすることが認められた。(5) 総括：*JERF3* 遺伝子の導入により、干ばつ耐性及び浸透圧ストレス耐性が向上された組換えイネ系統が作出された。これらの耐性向上は關連する他の生化学的特性及びストレス誘導性遺伝子の発現増強によっても確認された。本結果は他作物の環境ストレス耐性向上にも適用される可能性がある。(注：組換えイネ完全成体について、遺伝子発現及び環境ストレス耐性特性発現の安定性実証試験がさらに必要である)

## 途上国の GM 作物に関与する規制的諸問題：アフリカにおける経験

### Regulatory challenges for GM crops in developing economics: the African experience

Nang'ayo F, *et al.*

Transgenic Research 23: 1049-1055, 2014

アフリカ農業技術基金（AATF、在ケニヤ）の専門家による総説である。アフリカにおいて、農業部門は全労力の65%、全生産の32%を占める重要産業である。農家の主体は2 ha以下の小規模農家であり、自然災害（干ばつ、洪水、土壌侵食）に加えて病害虫が多発し、平均収量は1トン/haにすぎない。バイオテクノロジーはこの窮状を改善する方途として期待され、その推進起点として多くの国が生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書（通称、カルタヘナ議定書）を批准している。批准に伴う義務として要求される法制及び体制の両面の整備には以下のような種々の問題が存在している。（1）政策：アフリカ55ヶ国はGM農産物の安全性・倫理性・市場性に関し、肯定から否定までの広範囲の政策をとっている。（2）寛容的政策：GM作物の先駆的承認（南アフリカ：ワタ・トウモロコシ・ダイズ、ブルキナファソ：ワタ）。（3）予防原則：カルタヘナ議定書に準拠して予防原則を実施する国が多い（ケニヤ、ナイジェリア、ウガンダ、ガーナ、マラウイ）；GM作物の市場化保留・輸入禁止（ケニヤ・ウガンダ）。（4）禁止政策：GM作物の研究開発及びGM食品の輸入禁止（アンゴラ、ザンビア、ベナン）；損害賠償強化（エチオピア、タンザニア、トーゴ）。（5）立法・行政組織：多くの国が新しい法律・政令を定めた。しかし一部の国はこの作業が長期化し未完成である（ガーナ、ウガンダ、ナイジェリア）。（6）組織・機関の整備：多くの国が国家バイオセーフティ委員会を発足させた。しかし、その機能を発揮するための人材が不足し、専門家の育成も遅れている。（7）規制遵守：収穫後12ヶ月のモニタリング及び自生植物の除去が義務づけられている（ケニヤ、ウガンダ、南アフリカ）。しかし、種子休眠しない作物（トウモロコシ）にとっては過大な要求となっている。（8）公衆の参画：評価・市場化の過程でパブリックコメントが設定されている。しかし、多くの場合バイオテクノロジー反対派が優勢で、公正な意見が反映される機会は少ない。（9）総括：アフリカ諸国では、カルタヘナ議定書に対応した法制・体制の整備が過大負担となっており、安全性評価のため資料・データの過剰要求により経費・時間が増大し、非効率となっている。今後、バイオセーフティ領域の地域間協調、人材育成、開発・規制・公衆分野の交流促進、などによる改善が望まれる。（注：カルタヘナ議定書の途上国への影響については、既刊 No.97も参照されたい）

## ERA プロジェクト調査報告

2015年 8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)