# ERAプロジェクト調査報告

February 2017

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

2017. 2 バイオテクノロジー研究会

2017年の調査報告書第1号(通算第30号)をお届けします。

本号では、中国・フランスの国研・米国の大学のグループによる Bt 遺伝子の組換え B. napus から B. juncea 集団中への遺伝子移入による影響を調べた論文を紹介しています(No.290)。他に、ブエノスアイレス(2013)・サンチアゴ(2014)で low-level presence(LLP)に関するワークショップが開催され、GE 作物が栽培用種子へ微量混入した条件での環境リスクを低あるいは無影響と特定するための指標の提案(No.291)。最近の文献資料148編に基づいて、スタック品種のゲノム安定性及び食品・飼料安全性への影響についての論述(No.292)。除草剤耐性遺伝子 ahas がダイズの生物的窒素固定能力及び子実収量に与える影響(No.293)。栽培ナス科植物のウドンコ病羅病性 MLO同類遺伝子群の特定及びタバコ羅病性遺伝子 NtMLOIの機能の特性(No.294)。市場化が認可された無褐変 GM リンゴの短報(No.295)。RNAi 由来 GE 植物の非標的生物リスク評価のためのバイオセーフティ研究(No.296)。米国における農業バイオテクノロジーの規制の見直しを紹介する短報(No.297)。ダウ・アグロサイエンス社が開発したアリルオキシアルカノエートジオキシゲナーゼー1 遺伝子導入トウモロコシにおける2.4-ジクロロフェノキシ酢酸の代謝と残渣(No.298)。オオムギにおけるアグロバクテリウム媒介形質転換効率に関わるゲノム領域を探索・同定した論文(No.299)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、以下の URL で閲覧可能です。

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

# 目次

No.290	Bt 組換え遺伝子の移入が野生 Brassica juncea の生育及び生殖に及ぼす影響	
	The effect of Bt-transgene introgression on plant growth and reproduction in	
	wild <i>Brassica juncea</i> ······	1
No.291	GE 作物を種子への微量混入条件での環境リスクを低あるいは無影響と	
	特定するための指標の提案	
	Proposed criteria for identifying GE crop plants that pose a low or negligible risk to	
	the environment under conditions of low-level presence in seed	2
No.292	作物ゲノムの柔軟性と遺伝子組換えスタック品種の食料・飼料安全性との関連	
	Crop genome plasticity and its relevance to food and feed safety of genetically engineered Breeding stacks	3
No.293	除草剤耐性遺伝子 ahas がダイズの生物的窒素固定能力及び子実収量に与える影響	
	Impact of the ahas transgene for herbicides resistance on biological nitrogen	
	fixation and yield of soybean ·····	4
No.294	栽培ナス科植物のウドンコ病羅病性 MLO 遺伝子群の特定及びタバコ羅病性遺伝子	
	NtMLO1の機能の特性	
	Identification of candidate MLO powdery mildew susceptibility genes in cultivated	
	Solanaceae and functional characterization of tobacco NtMLO1	5
No.295	市場化が認可された無褐変 GM リンゴ	
	Nonbrowning GM apple cleared for market	6
No.296	RNAi 由来 GE 植物の非標的生物リスク評価のためのバイオセーフティ研究	
	Biosafety research for non-target organism risk assessment of	
	RNAi-based GE plants	7
No.297	農業バイオテクノロジーの規制の見直しを検討する米国	
	U.S. to review agricultural biotech regulations	8
No.298	アリルオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ -1遺伝子導入トウモロコシ (Zea mays)	
	における2,4- ジクロロフェノキシ酢酸の代謝と残渣	
	Metabolism and Residues of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in DAS40278-9	
	Maize (Zea mays) Transformed with Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 Gene	9
No.299	オオムギにおけるアグロバクテリウム媒介形質転換効率に関わるゲノム領域の特定	
	Genomic regions responsible for amenability to Agrobacterium-mediated	
	transformation in barley	10

# Bt 組換え遺伝子の移入が野生 Brassica juncea の生育及び 生殖に及ぼす影響

The effect of *Bt*-transgene introgression on plant growth and reproduction in wild *Brassica juncea* 

Liu Y B et al. Transgenic Research 24: 537-547, 2015

中国・フランスの国研・米国の大学のグループによる原著論文である。野生 B. juncea(2n=36, AABB ゲノム)は、B. napus(2n=38, AACC ゲノム)の栽培種と交雑親和性を有する。著者らは組換え B. napus の Bt 遺伝子の B. juncea 集団中への遺伝子浸透について網かご( $0.5m\times0.5m\times1.5m$ )栽培試験を行い、以下の結果を得た。

- (1) 供試材料: B. juncea を、種子親として Cry1AC 遺伝子を保有する B. napus GT1系統(T3世代)と交配して F1世代を作出した後、B. juncea と2世代戻し交雑し BC2世代を得た。BC2世代のうち、導入遺伝子を有する株を組換え BC2系統(trBC2)とし、有さない株を非組換え BC2系統(ntrBC2)とした。
- (2) 栽培条件:網かご内で、直径0.3mの円形枠内に、trBC<sub>2</sub>/ntrBC<sub>2</sub>の割合が100、75、50、25、0%となるようにtrBC<sub>2</sub>系統及びntrBC<sub>2</sub>系統計8個体を栽培した。
- (3) 害虫処理: 開花初期に3齢の cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*; オオタバコガ) 30匹/植物個体、1週間処理した。
- (4) 生育・収量:①害虫処理なし: $trBC_2$ 系統100% 区は  $trBC_2$ 系統 0% 区(全て  $ntrBC_2$ 系統)と 比較し、種子数・種子重・収穫比(種子重/全重)は2倍、バイオマス量・千粒重は有意差なしであった。 $trBC_2$ / $ntrBC_2$ 混合区では種子重に若干変動があった。②害虫処理あり: $trBC_2$ 系統100% 区は  $trBC_2$ 系統 0% 区と比較し、バイオマス2倍、種子数3.4倍、種子重3.0倍、千粒重・収穫比には有意差がなかった。 $trBC_2$ / $ntrBC_2$ 混合区では、いずれの指標にも  $trBC_2$ 系統/ $ntrBC_2$ 系統間で有意差がなかったが、混合区ごとの収量は  $trBC_2$ 系統混合比率の上昇に伴い増加した。害虫無処理区ではこの傾向はなかった。

考察:①害虫不在下における各系統の生育特性: $trBC_2$ 系統100% 区は、 $ntrBC_2$ 系統100% 区より高い生育・繁殖特性を示した。ただし、この結果は遺伝子挿入に伴うリンケージ効果による偶然のものと考えられる。 $trBC_2/ntrBC_2$ 混合区では、 $ntrBC_2$ 系統が  $trBC_2$ 系統より生育・繁殖特性が高い場合があった。これは、競合による選択圧に  $ntrBC_2$ 系統が応答したためであると考えられる。② 害虫存在下における各系統の生育特性: $trBC_2$ 系統100% 区は  $ntrBC_2$ 系統100% 区と比較し、高い生育特性を示した。また、 $trBC_2/ntrBC_2$ 混合区では、 $ntrBC_2$ の生育特性は  $trBC_2$ の比率が上昇するに伴い漸増傾向にあった。この原因として、食害が  $ntrBC_2$ 系統において種子生産への資源配分を誘導した可能性が考えられる。また「halo 効果」( $ntrBC_2$ 系統加害葉から隣接する  $trBC_2$ 健全葉への害虫移動習性による  $ntrBC_2$ 系統の間接的保護)の可能性も考えられる。上記の要因により、害虫の加害が無い場合でも定常的に存在する場合にも、組換え体と非組換え体の比率は一種の平衡状態に達すると示唆される。③区画収量(バイオマス重および種子数):害虫処理区では  $trBC_2$ 系統の比率の上昇に伴い増加した。害虫無処理区ではこの傾向は無かった。したがって、害虫の加害が定常的に存在する場合には近隣に生育地が拡大する可能性はある。しかし、大規模農地とは異なり野生種集団ではそのような加害は起こりにくいため、野生種集団への拡大は抑止されうるであろう。

# GE 作物を種子への微量混入条件での環境リスクを低あるいは無影響と 特定するための指標の提案

Proposed criteria for identifying GE crop plants that pose a low or negligible risk to the environment under conditions of low-level presence in seed

Roberts A *et al.*Transgenic Research 24: 783-790, 2015

栽培種子の low-level presence (LLP) に関するワークショップが、CERA・ILSI RF によりブエノスアイレス (2013)・サンチアゴ (2014) で開催された。本報告は主要参加者 (米国・アルゼンチン・チリ・ブラジル・カナダの科学者・政府規制者・開発企業 計12名) による要約・提言である。

- (1) OECD・WG コンセンサスドキュメント No.55 (2013): 10ヶ国が LLP (種子・コモディティ) を経験。未承認 GE 産物を環境から排除するための諸対策 (輸入禁止・異株除去・収穫物の非種子利用など)。リスク評価が主要点。
- (2) 段階的アプローチ (Roberts *et al.* 2014; 本調査報告 No.170): e 曝露量が小さいことを考慮し 4 段階の対応を提言。
- (3) ブエノスアイレス・サンチアゴ ワークショップ: 1) 低・無環境リスク GE 作物の特定に要する3大指標(criteria): i) 人的管理がない環境への定着・拡散がないこと(宿主作物種に関する当該栽培地での経験や知識(ファミリアリティ); 当該作物の生物学; 輸入国における長年の栽培実績・環境が類似した他国における安全栽培実績; 親和性野生種の有無など)。 ii) 導入特性による環境への有害影響がないこと(導入特性が環境影響を受けて生じる表現型の理解: 同一・類以特性導入 GE 作物の環境悪影響の不在; 当該特性導入他種 GE 作物の類以環境における環境悪影響の不在など)。 iii) 既往 ERA において環境悪影響がないこと(生育・繁殖関連特性の安定的発現; 輸出・輸入国間の GE 作物利用の類以性; 科学性・信頼性の高い既往 ERA 結果の共有など)。 2) リスクが低い/わずかな GE 作物のリスト作成の提言: 1) に基づいて、各国政府は LLP の発生以前に、環境リスクが低い/わずかである GE 作物のリストを作成することが可能である。これにより、環境及び生物多様性の保全及びバイテク産物の効果的利用という、共通的努力の推進の一助となることが期待される。このリストは最終的には各国政府の政治的判断事項である。
- (4) 総括:既往及び最近の国際的成果に基づいて、LLP(種子)における環境リスクが低い/わずかな GE 作物の指標を特定する科学的根拠が示された。さらにこの指標をみたす GE 作物リストの作成の利点が論述された。

### 作物ゲノムの柔軟性と遺伝子組換えスタック品種の 食料・飼料安全性との関連

Crop genome plasticity and its relevance to food and feed safety of genetically engineered Breeding stacks

Weber N et al. Plant Physiol.160: 1842-1853, 2012

ILSIバイテク食品委員会は、表題のプロジェクトを支援し、作業チーム(英国・米国大学・EPA・主要開発企業)による本論文を公表した。2011年時点で、異なる組換え作物間の交配により作出された品種(スタック品種)は世界の組換え作物栽培面積の26%(訳者註:ISAAA2015年資料(James C, 2015)では33%)を占め、ますます重要性が増加している。著者らは最近の文献資料148編に基づいて、スタック品種のゲノム安定性及び食品・飼料安全性への影響について以下の論述を行った。

- I. 作物のゲノム安定性:(1) 慣行育種:交雑により目的遺伝子以外の DNA も導入されるが、食品・飼料に新規・未知の有害物の産生は報告されていない。(2) ゲノム安定性変動要因:慣行作物では、相同組み換え、DNA 反復配列、トランスポゾン、一塩基多型、人為突然変異(ガンマ線照射)等の諸要因による変動が知られている。(3) 組換え作物:組換え遺伝子の編入によりゲノムは変化する。導入 DNA の変異性により多数の変異体が形成されるが、分子特性検定、圃場検定(複数地・年)により表現型の安定性、従ってゲノムの安定性が厳重に調査され、最終的な市場化産物(GM 作物)が選出される。
- II. 作物のゲノム不安定性と食品・飼料安全性との関連:ゲノム再配置(genomic rearrangement)と食品・飼料安全性の関連は立証されていない。FAO・WHO は慣行育種における遺伝子及びタンパク質配列の多様性の増加によるアレルギー性の増加はないと認めている。作物ゲノムのランダム変化が新しい健康危害要因を生ずることは実証されていない。ゲノム構造に差異がある作物間のゲノム安定性の差異は立証されていない。スタック品種のゲノムが非組換え品種あるいはシングルの組換え品種よりも安定性が低いという理由はない。従って、タンパク質の変化・新たな機能獲得のポテンシャルにも、組換え品種(シングルあるいはスタック)と非組換え品種との間に差異はない。
- Ⅲ. 総括:スタックによるゲノム不安定性の増加は立証されていないことから、ゲノム不安定性が スタック品種の食品・飼料安全性に影響を及ぼすとは考えられない。

### 除草剤耐性遺伝子 ahas がダイズの生物的窒素固定能力及び 子実収量に与える影響

Impact of the *ahas* transgene for herbicides resistance on biological nitrogen fixation and yield of soybean

Hungria M *et al.*Transgenic Research 24:155-165, 2015

ブラジル国研・大学・民間研究グループによる原著論文である。ブラジルの GM ダイズの栽培面積は世界第 2 位で、3660万 ha(訳者註:ブラジルのダイズ栽培面積は4220万 ha、世界の GM ダイズ面積比率は82%、ブラジルは92%、(James C, 2014))。ブラジルで栽培されるダイズの生物的窒素固定量(BNF)は、人工肥料150億ドルに相当し、加えて環境保全効果も大きい。従って GM ダイズの BNF に対する影響を把握することは重要である。著者らは除草剤耐性 GM ダイズについて大規模な圃場試験を行い以下の結果を得た。

- (1) 実験条件:①供試ダイズ品種:イミダゾリノン系除草剤耐性遺伝子(ahas)導入品種 CV127、対照親品種及び慣行品種、②作期・試験地:夏作2006/7年・2007/8年 各 7 ヶ所、短期作2007年 6 ヵ所、計 3 作期20ヶ所、③処理区:CV127品種+イミダ系除草剤、CV127+慣 行除草剤、慣行品種+慣行除草剤の 3 処理区、④ BNF 指標:生育 R2期(登熱中期)の根瘤数・根瘤乾物重・茎葉乾物重・茎葉 N 含量(全 N・ウレイド態・硝酸態)
- (2) 結果:① ahas 遺伝子の BNF に対する影響:全般的には検出されなかった (例外あり)、②除草剤の BNF に対する影響:全般的には検出されなかった (例外あり)、③作期・試験地の BNF に対する影響:作期・試験地間で BNF パラメーターに大きな差異があったが、一貫した 傾向はなかった、④ ahas 遺伝子及び除草剤の子実収量への影響:全般的には検出されなかった。収量変動には一貫性がなかった。
- (3) 総括:ブラジル内3作期20ヶ所の圃場試験において、ahas 遺伝子及び関連除草剤がダイズのBNF指標及び子実収量に及ぼす影響は検出されなかった。この結果は他の既往関連研究結果と一致した。

### 栽培ナス科植物のウドンコ病羅病性 MLO 遺伝子群の特定及び タバコ羅病性遺伝子 NtMLO 1 の機能の特性

Identification of candidate *MLO* powdery mildew susceptibility genes in cultivated Solanaceae and functional characterization of tobacco *NtMLO1* 

Appiano M *et al.*Transgenic Research 24: 847-858, 2015

オランダ・イタリア・中国の研究グループによる原著論文。Mildew Locus O (MLO) 遺伝子群は、ウドンコ病(powdery mildew)罹病性遺伝子群として多くの農作物に大害を与えている。一方、MLO遺伝子の機能喪失突然変異体(mlo)はウドンコ病抵抗性を有することがオオムギで発見され、他の種(トマト・エンドウマメ・コショウ・パンコムギ)でも確認されたことから、栽培作物の育種に利用されている。著者らは3種のナス科作物からMLO遺伝子を同定し、さらに罹病性タバコに導入し、以下の結果を得た。

- (1) ナス科作物の MLO 遺伝子の同定:トマト由来の抵抗性遺伝子 (SIMLOI) のコード配列から設計したプライマーを用いた PCR によりナス、バレイショ、タバコの cDNA より得た増幅産物をもとに、ナス SmLMOI 遺伝子 (1572 bp)、バレイショStMLOI 遺伝子 (1557 bp)、タバコNtMLOI 遺伝子 (1560bp) を同定した。
- (2)分子系統解析:MLO タンパク質の分子系統解析の結果、SmMLO1遺伝子、StMLO1遺伝子、NtMLO1遺伝子は、いずれもトマト及びコショウの罹病性遺伝子と同じクレードに分類された。
- (3) NtMLOI遺伝子の機能の確認: SIMLOI遺伝子の機能欠失突然変異体トマト(Slmlo系統)に NtMLOI遺伝子を一過的に過剰発現させた後、トマトウドンコ病胞子懸濁液を散布し、15日後の発病程度を0(完全抵抗性)~3(完全罹病性)で評価した。SlmloI系統は0.5、NtMLOI過剰発現系統は1.7~1.8、罹病性トマト(対照)は3であった。NtMLOI遺伝子の導入によりトマトウドンコ病への罹病性が付与されたことから、NtMLOI遺伝子はSIMLOI遺伝子を機能的に相補することが確認された。
- (4) NtMLOI遺伝子の一塩基多型による機能喪失:一塩基多型が生じた変異型 NtMLOI遺伝子 (MLO タンパク質ファミリーで保存されている N 末端から198番目のグルタミンがアルギニンに置換された NtMLO タンパク質をコードする)を Slmlo 系統に過剰発現させた結果、罹病性は付与されなかった。
- (5) 総括:ナス科作物(ナス・バレイショ・タバコ)のウドンコ病罹病性 *MLO* 遺伝子が特定され、それらが系統発生的にトマト、コショウと共通祖先群であることが判明した。*MLO* 遺伝子を利用したウドンコ病抵抗性育種の進展が期待される。

#### 市場化が認可された無褐変 GM リンゴ

#### Nonbrowning GM apple cleared for market

Waltz E Nature Biotechnology 33: 326-327, 2015

フリーランスの科学記者によるネイチャーバイテク誌の短報。米国農務省は2015年2月褐変 (browning) しない初めての GM リンゴを認可した。

- (1) 非褐変 GM リンゴ (Arctic apples) の作出:開発者はカナダの小規模民間会社 Okanagan Specialty Fruits である。果実・野菜にはポリフェノールが広く存在しているが、切断・圧傷されるとポリフェノール酸化酵素 (PPO) の作用により酸化されて褐変物質 (キノン) へ変化する。同社は RNAi サイレンシングにより少なくも 4 個の PPO 遺伝子を抑制する手法を開発し、これをリンゴ品種 Granny Smith 及び Golden Delicious に導入し、複数の無褐変リンゴ品種を開発した。すでに22,000本が植え付けられ、2016年秋には展示される予定である。同社はカナダの認可も申請している。
- (2)米国果樹組合の反応:少なくも3団体が認可に反対した。理由は安全性ではなく、市場混乱、 特に輸出である。しかし、後に1団体は開発社の透明性・消費者尊重の立場を評価し、軟化し た。
- (3)表示問題:開発者は「GM」という直接表示ではない間接表示を考えている。FDA の認可を 待って「無褐変リンゴ」などのロゴが選択される予定である。
- (4) Arctic リンゴの安全性: リンゴは典型的な家庭に適した健康そうな食品なため、各種の意見がある。利点は視覚・食味の向上、褐変防止剤の使用減少、貯蔵・輸送性の増大、カットリンゴの利用増大などがある。懸念材料は、PPO抑制に起因する影響、特に病原菌罹病性の増大である。開発社は複数年・場所の果樹園における厳正なモニタリングで対照リンゴとの間に差異が認められなかった結果から反論している。

(訳者註:米国農務省は米国民間会社開発のRNAiサイレンシングによる無褐変バレイショを2014年11月に認可している(本調査報告 No.286)。米国農務省はまた、ゲノム編集による無褐変マッシュルームは規制対象としないことも確認している(本調査報告 No.280))。

# RNAi 由来 GE 植物の非標的生物リスク評価のための バイオセーフティ研究

Biosafety research for non-target organism risk assessment of RNAi-based GE plants

# Roberts A *et al.*Frontiers in Plant Science 6 Article 958, 2015

第13回 ISBGMO(ケープタウン・南アフリカ、2014年11月)併設シンポジウム「RNAi 植物の環境影響」(CERA 座長)の講演者(CERA・EFSA・アフリカ・米国)による包括論文である。

- (1) 非標的生物(NTOs)に対する加害経路:①植物内の dsRNA 形成→② NTOs への暴露(3 経路:生きた植物の摂取、枯死植物の摂取、根滲出物又は水系溶存物)→③摂取された dsRNA が分解されない→④ NTOs による dsRNA の細胞への取り込み→⑤ RNAi による NTOs の相補 mRNA のサイレンシング→⑥ NTOs の生存能力へ影響→⑦ NTOs 集団の退化。1 段階でも欠落すれば加害は発生しない。
- (2)節足動物における環境 RNAi:無脊椎動物中では節足動物が最大の害虫・益虫群を構成している。摂取 dsRNA に対して、コウチュウ目が最大の感受性を有し、チョウ目は感受性にバラツキがあり、殺虫活性を示すにはコウチュウ目より高い濃度の dsRNA が必要である。dsRNA の効果は、dsRNA 濃度及び長さ、暴露の時期と期間、dsRNA の摂取と分解 RNAi の活性化など種々の要因で変化する。
- (3) 脊椎動物における環境 RNAi: 現行の研究のほとんどは哺乳動物(人間・マウス)の潰瘍・ガンに対する治療効果である。しかし、効果の再現性・持続性などの科学的データが不十分であり、統一的理解は確立していない。
- (4) 潜在的非標的遺伝子効果(Off-Target Gene Effects: OTGE): 植物及び人間細胞での発生が知られているが、一般にはdsRNAの十分な摂取・存在及び配列補完性が前提条件である。非標的遺伝子への効果の予測には2つの方法があり、Bioinformaticsは正攻法であるが、配列情報を必須とする点で、また系統発生的NTOバイオアッセイは反応の不一貫性の点が、それぞれ難点となっている。
- (5) dsRNA の環境持続性:微量の土壌粒子表面吸着を除いて、土壌中の茎葉残渣中の dsRNA は 急速に分解されて残存しない。食物連鎖では siRNA ではなく長い dsRNA だけが伝達される ため、siRNA によるサイレンシングは発生しない。
- (6) 総括:dsRNA の環境影響経路について包括的解析が行われた。しかし、生物の環境暴露 dsRNA に対する感受性及び OTGE に関与するパラメーターに関する現在の知識は不十分であり、今後の研究を要する。

(註:RNAi 作物のリスク評価、データ要求、規制などは本論文の対象外である。)

#### 農業バイオテクノロジーの規制の見直しを検討する米国

U.S. to review agricultural biotech regulations

Servick K Science 349: 131, 2015

サイエンス誌記者による短報。米国国務省は2015年に米国農業バイテク推進担当3機関(FDA、 USDA、EPA)をアップデートする意向を発表した。第1の目的は、遺伝子改変植物・動物の安全 性決定に関与するこれら3機関の役割の明確化である。第2の目的は、慣行的GM規制や外の可能 性がある CRISPR などのゲノム編集技術の台頭を考慮した規制過程をアップデートするためであ る。現行規制を通過するのに苦労していた多くの研究者や企業家は計画されたレビューを歓迎して いる。安全性と規制要求の不確実性により多くの研究者や小会社はバイテク産物開発に参加できな くなっている。農業バイテク産物規制枠組みは1986年設立、1992年改定以降は変化していない。旧 式な枠組みはいくつかの規制過程に混乱を生じている。例えばデング熱抑制のための不稔蚊は動物 薬品として FDA が目下レビュー中であるが、ホタル遺伝子導入の観賞植物はアグロバクテリウム 不使用のため EPA も USDA もレビューしていない。国務省の新たな計画では、関係 3 機関の責任 者による作業グループが結成され、当該産物の責任機関を明確化する。1年以内に現行規制枠組み を更新し、健全な科学に立脚した評価を実施するための長期的戦略を定める。CRISPR などによる 産物のレビュー適用の可否も討議候補である。農務省は CRISPR による長期保存バレイショ及び健 康油脂ダイズは GM 植物の範囲外であると決定した。識者はゲノム編集技術に対する明確な判断を 期待している。さらに、新作業グループには、新たなバイテク技術のブレークスルーにより将来発 展する新領域を定期的に探知する先見的計画の構築が期待されている。

(訳者註:新手法のための新規制ではなく、プロダクトベースの環境リスク評価に基づく規制設定が基本原則である。)

# アリルオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ - 1 遺伝子導入トウモロコシ (Zea mays) における2,4- ジクロロフェノキシ酢酸の代謝と残渣

Metabolism and Residues of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in DAS40278-9 Maize (*Zea mays*) Transformed with Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 Gene

Zhou X *et al.* J. Agric. Food Chem. 64: 7438-7444, 2016

ダウ・アグロサイエンス社による報文。ダウ・アグロサイエンスが開発した DAS-40278-9トウモロコシは、微生物由来のアリルオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ-1(AAD-1)タンパク質の発現により、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)に代表されるフェノキシ酢酸系除草剤に対して耐性を示す。本報告では、DAS-40278-9トウモロコシにおける2,4-D 代謝経路および残渣分布を理解することを目的とし、以下の結果を報告した。

- (1) DAS-40278-9トウモロコシにおける2,4-D 代謝の調査: プランター (縦1.5 m × 横0.91 m × 深さ0.46 m) で栽培した DAS-40278-9トウモロコシを用い、<sup>14</sup>C でラベルした2,4-D の代謝を調査した。発芽前、V4及び V8ステージ (本葉 4 葉及び 8 葉抽出期) の 3 回、<sup>14</sup>C-2,4-D をスプレー処理 (合計3.36 kg/ha) し、3回目の処理から42日後に地上部、66日後に部位ごとの試料 (穀粒、穂軸、茎葉) をサンプリングを行い、<sup>14</sup>C-2,4-D の代謝を調査した。その結果、2,4-D は2,4-ジクロロフェノール (2,4-DCP) に代謝され、その後速やかに配糖体となることがわかった。
- (2) 圃場試験による非組換えトウモロコシの2,4-D 代謝物の調査:米国及びカナダの25地点で実際に商業栽培されているトウモロコシに対し、栽培期間中3回、2,4-D を処理(合計1,120 g/ha)し、3回目の処理から60日後に地上部、約90日後に部位ごとの試料(穀粒、穂軸、茎葉)をサンプリングし、2,4-D 代謝物及びその配糖体の残渣を調査した。2,4-D 及び2,4-DCP は大部分の穀物サンプルでは検出されず、地上部および茎葉で最大8.076  $\mu$  g/g、平均では1.0  $\mu$  g/g 以下であった。
- (3) 総括: DAS-40278-9トウモロコシにおける2,4-D の代謝経路は、非組換えトウモロコシとほぼ 同様であり、新たな代謝産物・代謝経路は観察されなかった。この結果を受け、米国環境保護 庁(US EPA) は、DAS-40278-9トウモロコシの審査に対する追加データを2,4-D の残留のみ に設定した。2,4-D に対する米国 EPA の許容誤差は穀粒、地上部、茎葉でそれぞれ0.05、6、50 ppm であり、今回の結果はいずれもこれを大幅に下回るものであった。

# オオムギにおけるアグロバクテリウム媒介形質転換効率に 関わるゲノム領域の特定

Genomic regions responsible for amenability to *Agrobacterium*—mediated transformation in barley

Hisano H & Sato K Scientific Report 6, Article number: 37505 (doi:10.1038/ srep37505), 2016

岡山大資源植物科学研究所のグループによる報文。同種の植物であっても、アグロバクテリウムによる形質転換効率は品種間で非常に異なることはよく知られているが、その原因はほとんど解明されていない。筆者らは、オオムギのアグロバクテリウム媒介形質転換が容易な品種「golden promise (GP)」と困難な品種「はるな二条 (HN)」及び品種「Morex (MO)」を用い、アグロバクテリウム媒介形質転換効率に関わる領域(Transformation Amenability; TFA)を探索・同定した。

- (1) HN × GP 交配集団:筆者らが確立した未熟胚を用いたアグロバクテリウム媒介形質転換系での GP の形質転換効率は約10% である。一方、HN は同法で形質転換体は得られない (0/261)。GP と HN の交雑後代 (F1) の未熟種子胚 (F2) 3013を同法での形質転換した結果、抗生物質マーカーによる選抜で293カルス、最終的に60の独立した再分化体を得た。ゲノムワイドな124SNP マーカーによるゲノム型解析の結果、60個体はそれぞれ異なる遺伝型であった。アリル毎の遺伝型の分離比の比較から、染色体 3 H 及び 2 H で GP 型の出現頻度が有意に高いことが示され、それぞれの領域を TFA1及び TFA2、3と命名した。
- (2) MO × GP 交配集団: GP と MO の交雑後代 (F1) の未熟種子胚 (F2) 1722個から得られた形質転換体 2 系統について、ゲノム型解析の結果、染色体3H の TFA1、染色体2H の TFA2、3の遺伝型は、2 系統いずれも GP 型あるいは GP/MO ヘテロであることが確認された。
- (3) 総括:同定されたゲノム領域は、オオムギにおけるアグロバクテリウム媒介形質転換に必要な 因子を含む可能性が高い。これらの遺伝子座を導入することで、任意のハプロタイプのオオム ギ品種の形質転換効率の向上が期待される。

# ERA プロジェクト調査報告

2017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 安川拓次 〒102-0083東京都千代田区麹町 3 - 5 -19 にしかわビル 5 F TEL 03-5215-3535 FAX 03-5215-3537 http://www.ilsijapan.org