
ERAプロジェクト調査報告

September 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. 9

バイオテクノロジー研究会

2017年の調査報告書第4号（通算第33号）をお届けします。

本号では、国際アグリバイオ事業団（The International service for the Acquisition of Agri-biotech Applications, ISAAA）によるGM作物の栽培状況に関する報告、GM作物の育種・開発に関する報告及びリスク評価に関する報告をご紹介します。

ISAAAによる報告書からは、1. 遺伝子組換え作物の商業栽培が開始されてから20年間（1996～2015）における10のトピックス（322）、2. 世界各国においてほ場試験が実施されているGM作物（323）及び遺伝子発現抑制技術によって作出されたGM作物（324）に関する記事を紹介します。

また、育種・開発について、遺伝子組換え手法の1つであるアグロバクテリウム法により、導入コピー数が少ない形質転換体を作成するための手法の開発に関する報告（320）、イチゴ炭疽病抵抗性が強化されたGMイチゴに関する報告（326）ビタミンB6の産生量を増加させたGMキャッサバの作出に関する報告（327）を紹介します。

さらに、GM作物のリスク評価に関して、リスク評価の場面で広く用いられているプロブレム・フォーミュレーションの考え方に基づくウイルス抵抗性GMキャッサバから近縁野生種へのジーンフローのリスク評価に関する専門家会合報告（321）、害虫抵抗性ワタ及びトウモロコシが作物の害虫及び害虫を捕食する天敵昆虫に及ぼす影響（325）、メキシコにおける害虫抵抗性・除草剤耐性GMトウモロコシのリスク評価に関する報告及び遺伝子組換え藻の初めての屋外試験に関する報告（329）を紹介します。

なお、これまでに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/namazugi>

目次

No.320	アグロバクテリウム法による組換えトウモロコシにおける低コピー数形質転換体の取得効率向上のための戦略 Strategies to improve low copy transgenic events in <i>Agrobacterium</i> -mediated transformation of maize	1
No.321	アフリカにおける遺伝子組換えウイルス抵抗性キャッサバから近縁野生種へのジーンフローのリスク評価：専門家会合報告 Risk assessment of gene flow from genetically engineered virus resistant cassava to wild relatives in Africa : an expert panel report	2
No.322	商業栽培開始からの20年間（1996～2015）におけるバイオテク/GM作物の10のトピックス Top ten facts about Biotech/GM crops in their first 20 years, 1996 to 2015	3
No.323	多国において各種ほ場テスト中のGM作物の一覧 A list of selected biotech crops at various stages of field testing in different countries	4
No.324	遺伝子発現抑制技術によって作出された遺伝子組換え作物 Crops modified through RNA/Gene silencing mechanisms	5
No.325	Cry1Ac/Cry2Ab ワタ及び Cry1F トウモロコシを加害するハダニ（ <i>Tetranychus urticae</i> ：被食虫）と Cry タンパク質産生及び捕食天敵（ <i>Amblyseius andersoni</i> ）の捕食性との連関 The interaction of two spotted spider mites, <i>Tetranychus urticae</i> Koch, with Cry protein production and predation by <i>Amblyseius andersoni</i> (Chant) in Cry1Ac/Cry2Ab cotton and Cry1F maize	6
No.326	<i>T. harzianum</i> 由来遺伝子 <i>bgn13.1</i> の導入によるイチゴにおけるイチゴ炭疽病抵抗性の強化とこれに伴う生育阻害 Expression of the β -1,3-glucanase gene <i>bgn13.1</i> from <i>Trichoderma harzianum</i> in strawberry increases tolerance to crown rot diseases but interferes with plant growth	7
No.327	ほ場生育組換えキャッサバにおける必要摂取量を満たす生物的可給態ビタミン B ₆ の増加 Increased bioavailable vitamin B6 in field-grown transgenic cassava for dietary sufficiency	8
No.328	遺伝子組換えトウモロコシハイブリッド MON-89034-3 × MON-88017-3、MON-89034-3 × MON-00603-6、MON-00603-6 の形質：メキシコにおけるトウモロコシ生産の代替案 Plant characterization of genetically modified maize hybrids MON-89034-3 × MON-88017-3, MON-89034-3 × MON-00603-6, and MON-00603-6: alternatives for maize production in Mexico	9
No.329	遺伝子組換え藻類の屋外池における表現型の安定性と生態学的リスク評価 Evaluation of phenotype stability and ecological risk of a genetically engineered alga in open pond production	10

アグロバクテリウム法による組換えトウモロコシにおける 低コピー数形質転換体の取得効率向上のための戦略

Strategies to improve low copy transgenic events in *Agrobacterium*-mediated transformation of maize

Sivamani E *et al.*

Transgenic Res 24: 1017-1027, 2015

シンジェンタ社共同チームによる原著論文である。各種の組換え手法において、導入コピー数が少ないイベントの作出が強く要望されている。著者らは低コピー数の組換えトウモロコシを作出するための2つの戦略をアグロバクテリウム法に適用し、以下の結果を得た。親系統はNP2222、アグロバクテリウムはLBA4404株、コピー数の定量はTaqMan 定量PCR法を用い、1コピーのPMI遺伝子を有する既存のトウモロコシイベントを対照として、定量値が0.3~1.3を低、1.3以上を中~高コピー数とした。

- (1) 第1戦略：選択マーカー遺伝子であるPMI遺伝子の発現カセットを含むT-DNAとPMIに対するRNAi発現カセットを含むT-DNAの2つを独立に含むTiプラスミドベクターをトウモロコシに形質転換したところ、通常のPMI発現カセットのT-DNAのみを含むTiプラスミドを用いた場合、より形質転換効率は減少(36.5%→24.7%)するものの、低コピー数の形質転換体の出現率は上昇(43.0%→60.5%)した。これはPMIとそのRNAiコンストラクトの2つのT-DNAが同時に導入された場合、RNAiによってPMI発現が抑制され選抜されないため高コピー数の形質転換体の選抜が抑制されているものと考察される。
- (2) 第2戦略：内在の必須遺伝子をコサプレッションにより高コピー導入を抑制する試み。EPSPSやMADS box遺伝子を過剰発現する発現カセットをT-DNA中に含むTiプラスミドベクターとそれらを持たないTiプラスミドベクターでの導入コピー数を比較したところ、EPSPSやMADS box遺伝子を過剰発現する発現カセットをT-DNA中に含むTiプラスミドベクターで同様に低コピー出現率が上昇する傾向が確認された。
- (3) 総括：アグロバクテリウム媒介形質転換法における、RNAiによる選抜マーカー遺伝子のサイレンシングあるいは内在的必須遺伝子のコサプレッションによるサイレンシングにより、高コピー数の形質転換体導入を抑制し、低コピー数の形質転換体の選抜効率を向上させる新手法が提示された。選抜初期の効率増加に貢献すると考えられる。

注：PMI遺伝子は、大腸菌由来の遺伝子でマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸を可逆的に相互変換する活性を有するホスホマンノースイソメラーゼ(PMI)をコードする。通常、トウモロコシを含む多くの植物はマンノースを炭素源として生育できないが、PMI遺伝子の導入によって生存が可能となることを利用した選択マーカーとして利用される(チョウ目害虫抵抗性トウモロコシMIR162系統の申請書等の概要より)。

アフリカにおける遺伝子組換えウイルス抵抗性キャッサバから 近縁野生種へのジーンフローのリスク評価：専門家会合報告

Risk assessment of gene flow from genetically engineered virus resistant cassava to wild relatives in Africa : an expert panel report

Hokanson KE *et al.*

Transgenic Res 25: 71 ~ 81, 2016

キャッサバは世界10億、アフリカ2.5億の人々の食料・収入を支える重要作物であるが、2大ウイルス病～キャッサバモザイク病 (CMD) 及びキャッサバ黒すじ病 (CBSD) ～による損害が大きい。耐病性慣行育種を補うために、バイオテックを主体とするプロジェクト (Virus Resistant Cassava for Africa; VIRCA) が近年発足した。同プロジェクトは、農家に定着している CMD 抵抗性品種に RNAi 手法による CBSD 抵抗性を導入し、両ウイルス抵抗性系統を作出するほ場試験が進行中である。東アフリカの CBSD 抵抗性組換えキャッサバの放出による環境リスク評価では、キャッサバ栽培種と野生近縁種 (*Manihot glaziovii*; 和名マニホットゴムノキ) とは交雑の可能性があるため、CBSD 抵抗性遺伝子のジーンフローを主題とする国際専門家ワークショップが開催され、Problem Formulation によるリスク分析の結果が本報告にまとめられた。

- (1) 危害要因：CBSD 抵抗性遺伝子の *M. glaziovii* へのジーンフローによる危害としては、「*M. glaziovii* 集団における遺伝的多様性の喪失」と「他の種や生態系サービス、作物の収量や質への悪影響」の2点が設定された。
- (2) 「野生集団における遺伝的多様性／野生アリの喪失」に対するリスク分析
 - [仮説 1] CBSD 抵抗性遺伝子は野生型アリに比べて優位に受け継がれるか？—いいえ、CBSD 抵抗性は生殖強勢や花成頻度や花成時期に対する影響はない。
 - [仮説 2] CBSD 耐性と連鎖不均衡のある形質はあるか？—いいえ、連鎖不均衡が予想される因子は存在しない。
 - [仮説 3] アフリカの *M. glaziovii* 集団の遺伝的多様性は重要か？—いいえ、*Manihot* 属は南米起源でアフリカでは移入種である。
- (3) 「他の種や生態系サービス、作物の収量や質への悪影響」に対するリスク分析
 - [仮説 1] CBSD 耐性はアフリカの *M. glaziovii* にとって新たな特性か？—可能性は高い。
 - [仮説 2] CBSD 耐性は *M. glaziovii* の集団サイズの減退要因となりうるか？—可能性は低い、CBSD 耐性はキャッサバの花成や結実に直接影響せず、実生定着は通常複数の要因によって制御される。
 - [仮説 3] *M. glaziovii* はアフリカで雑草／侵襲性植物である—いいえ、報告はない。
 - [仮説 4] *M. glaziovii* は管理困難か？—いいえ、容易に防除可能である。
- (4) 結論：PF によるリスク分析により、いずれの危害へのリスクシナリオも否定されるため、CBSD 耐性組換えキャッサバのアフリカでの環境放出は環境への危害とならないと結論される。

(注：Illstrand [米国]・Raybould [シンジエンタ] などの国際的専門家が参画した集約であり、関係者の参考になると思われる。)

商業栽培開始からの20年間（1996～2015）における バイテク／GM作物の10のトピックス

Top ten facts about Biotech/GM crops in their first 20 years, 1996 to 2015

James C

ISAAA Briefs, BRIEF 51, 2015

GM作物の本格的栽培開始からの20年間における10のトピックスとして、以下が記述されている。

1. バイテク作物栽培累積面積（1996～2015）は20億 ha に達した（米国面積の2倍）；栽培28ヶ国、受益1800万農家中90%は途上国小農。
2. 1996～2004年まで、19年連続して栽培面積が増加した。2015年のGM作物の栽培総面積は1億7970万 ha；2014年より1%減少したが作物価格低下が原因（将来改善見込み）。
3. 4年連続して途上国におけるGM作物の栽培面積が増加した。先進国と途上国の割合は国別で8：20；面積で46：54となり、この傾向は継続される見込み。
4. スタック作物の栽培面積は5850万 ha で、全栽培面積に占める比率（2015）は33%（2014年より710万 ha 増）；14ヶ国でスタック作物（複数特性）を栽培。
5. 途上国トピックス：ブラジル・アルゼンチンの牽引により南米は最大のGM栽培地域となった；アジアではGMナスが栽培拡大、ゴールデンライス、組換えジャガイモ、組換えワタが今後注目；アフリカでは2015年に大干ばつによる大減収があり、アフリカ向け水有効利用トウモロコシプロジェクト（WEMA）が2017年のリリースを計画する耐乾性トウモロコシに注目があつまる。
6. 米国主要トピックス：InnateTM ジャガイモや Arctic[®] リンゴなど新規形質のGM作物の承認と栽培開始；最初のゲノム編集作物（SU カノーラ）の商業認可；組換えサーモンの承認；ゲノム編集技術「CRISPR」の研究開発利用の増加；耐乾性トウモロコシ栽培拡大（次項）；ダウとデュポン合併。
7. 耐乾性トウモロコシ栽培拡大：2013年から栽培が開始されたモンサント社の DroughtGardTM トウモロコシの栽培面積は当初の5万 ha から81万 ha（2015年）へと急拡大；同トウモロコシはWEMAに無償提供され、2017年にアフリカでも栽培化予定。
8. EUの現状：Bt トウモロコシの栽培国は5ヶ国で変わらずだが、栽培面積は2014年より18%減の約11.7万 ha。
9. 便益の総括：147件の研究成果のメタ分析の結果として、GM作物導入により、化学農薬使用の37%削減、作物収量の22%増、農家利益の68%増と報告（Qaimら、2014）。他にも、食料安全保障の改善や持続可能性、気候変動の抑制に貢献した。発展途上国の小規模農家の貧困緩和にも貢献した。一方で、バイテク作物は万能薬ではなく、連作の防止や耐性管理などの農業慣習の遵守が重要。
10. 将来展望：主要GM作物はすでに高採用率であり今後の栽培増の余地は少ないが、アジア・アフリカ地域への栽培増が期待される；新規87件がほ場試験中である；ゲノム編集由来新系統への期待は極めて大きい。

（注：ほ場試験中の87系統の概要は次の報告 No.323をご参照下さい。）

多国において各種ほ場テスト中の GM 作物の一覧

A list of selected biotech crops at various stages of field testing in different countries

James C

Appendix 7, ISAAA Briefs, BRIEF 51: 268-271, 2015

ほ場試験中の87件の作物別内訳と主要特性（ほ場試験実施国名）を記した。

- ・リンゴ（2件）：褐変防止（カナダ・米）；耐病性（ドイツ・スイス）
- ・アルファルファ（1件）：低リグニン（米）
- ・バナナ（4件）：ビタミン A 増強・耐病性・害虫抵抗性（ウガンダ）
- ・インゲンマメ（1件）：ウイルス病抵抗性（ブラジル）
- ・ナス（1件）：害虫抵抗性（インド）
- ・カメリナ（1件）： ω -3 脂肪酸強化（英）
- ・カノーラ（4件）：多剤除草剤耐性（豪・米・加）； ω -3 脂肪酸強化（米）、飼料特性改良（米）
- ・キャッサバ（2件）：ウイルス病抵抗性（ケニア・ウガンダ）；ビタミン A 増強（ナイジェリア・ケニア・ウガンダ）
- ・柑橘（1件）：耐乾性 + 耐病性 + 害虫抵抗性（米）
- ・ヒヨコマメ（1件）：害虫抵抗性（インド）
- ・ワタ（9件）：害虫抵抗性 / 除草剤耐性（パキスタン・インド・米・アフリカ諸国）；品質向上（米・豪）；N 利用効率向上（インド）
- ・トウモロコシ（12件）：耐虫性 + 除草剤耐性（インド・インドネシア・パキスタン・南アフリカ・米・ベトナム）；除草剤耐性 + 耐乾性（ケニア・ウガンダ・南アフリカ）；N 利用効率向上（米）；多収性（米・英）、ストレス耐性 + 多収性（米）
- ・ササゲ（1件）：害虫抵抗性（ブルキナファソ・ガーナ・ナイジェリア）
- ・ラッカセイ（1件）：耐病性 + カビ抵抗性（インド）
- ・マスタード（1件）：生産性向上（インド）
- ・キマメ（1件）：害虫抵抗性（インド）
- ・バレイショ（6件）：疫病抵抗性（オランダ・ベルギー・インド・バングラディッシュ・インドネシア）；疫病抵抗性 + 品質向上（米）；ウイルス抵抗性（アルゼンチン）
- ・イネ（10件）：害虫抵抗性（中国・インド）；N 利用効率向上（中国・インド）；N 利用効率向上 + 水利用効率向上 + 耐塩乾性（ガーナ・ウガンダ）；ビタミン A 増強（フィリピン・バングラディッシュ・インド・インドネシア）；害虫抵抗性 + 除草剤耐性（米）；多収性（インド）
- ・ベニバナ（1件）：高オレイン酸（豪）
- ・ヒマワリ（1件）： ω 9 脂肪酸強化（米）
- ・ソルガム（1件）：栄養強化（ケニア・ナイジェリア）
- ・ダイズ（9件）：除草剤耐性（ブラジル・米）；除草剤耐性 + 品質向上（ブラジル・南アフリカ）； ω -3 脂肪酸強化 + トランス脂肪酸低減（米）；害虫抵抗性・耐病性（米）；多環境ストレス耐性（アルゼンチン）；線虫抵抗性（米）；耐病 + 脂肪酸含量増加 + 飼料効率向上（米）；多収性（米）
- ・テンサイ（1件）：収量向上 + 耐乾性（ドイツ）
- ・サトウキビ（6件）：害虫抵抗性 + 除草剤耐性（豪・米）；収量向上 + 耐乾性（ブラジル）；耐乾性（・インド）；耐乾性 + バイオマス増加（・米・南アフリカ）；耐乾性 + 糖含量増加（インドネシア）；糖含量増加（・豪）；バイオマス増（米・南アフリカ）
- ・ヒマワリ（1件）； ω -9 脂肪酸強化（米）
- ・トマト（1件）：色味（カナダ）
- ・コムギ（8件）：耐乾性（豪・エジプト）；粒質改良（豪）；耐病性（中国）；耐乾性 + 耐病性（エジプト）；除草剤耐性（米）；害虫抵抗性（英）；粒質改良（豪）

遺伝子発現抑制技術によって作出された遺伝子組換え作物

Crops modified through RNA/Gene silencing mechanisms

James C

Appendix 6, ISAAA Briefs, BRIEF 51: 265-267, 2015

アンチセンス発現や RNAi 手法等の技術による遺伝子発現抑制によって作出・認可された遺伝子組換え作物について、主なものを抜粋した。

作物	イベント又は商品名	特性	開発者	承認
アルファルファ	KK179	リグニン生産変更	モンサント	2013
リンゴ	GD743等	果実褐変抑制	Okanagan	2015
インゲンマメ	Embrapa 5.1	ウイルス病抵抗性	EMBRAPA	2011
カーネーション	66	成熟・老化遅延	Florigene	1995
トウモロコシ	MON87411	コウチュウ目害虫抵抗性	モンサント	2014
パパイヤ	55-1, 63-1	ウイルス病抵抗性	ハワイ大学・コーネル大学	1996
	X17-2	同上	フロリダ大学	2008
	Huanong No.1	同上	南中国農大	2006
プラム	C-5	ウイルス病抵抗性	USDA-ARS	2007
バレイショ	AMO4-1020	デンプン／炭水化物変更	BASF	2014
	Innate 等	イモ品質改善	J.R. Simplot Co.	2014
	MLMT15-15等	ウイルス病抵抗性	モンサント (14イベント)	1997/1998
ダイズ	MON87705	油脂／脂肪酸変更	モンサント	2011
	DP305423	高オレイン酸含量	デュボン	2009
	260-05	高オレイン酸含量	デュボン	1997
スカッシュ	CZW3	ウイルス病抵抗性	セミニス・モンサント	1994
ピーマン	PK-SP01	ウイルス病抵抗性	北京大学	1998
タバコ	Vector 21-41	低ニコチン含量	Vector	2002
トマト	B	ポリガラクトツロナーゼ抑制	Zeneca・Petoseed	1994
	FLAVR SAVR	同上	モンサント	1992
	1345-4	成熟遅延	Plant Tech	1995
	Huafan No.1	成熟／老化遅延	華中農業大学	1997
	PK-TM8805R	ウイルス病抵抗性	北京大学	1998

(註：原表の一部に省略・圧縮がなされた)。

Cry1Ac/Cry2Ab ワタ及び Cry1F トウモロコシを加害するハダニ (*Tetranychus urticae* : 被食虫) と Cry タンパク質産生及び 捕食天敵 (*Amblyseius andersoni*) の捕食性との連関

The interaction of two spotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch, with Cry protein production and predation by *Amblyseius andersoni* (Chant) in Cry1Ac/Cry2Ab cotton and Cry1F maize

Guo Y-Y *et al.*

Transgenic Research 25: 33-44, 2016

Bt ワタ及び *Bt* トウモロコシの耕作面積の合計は、米国の全耕作面積の75%に及ぶ。ワタとトウモロコシの共通害虫であるダニ類による加害はこれを捕食する捕食天敵虫により抑圧されている。しかし、*Bt* 作物の捕食天敵に対する影響には懸念が残っていた。著者らは *Bt* 作物・害虫・天敵の3者を含む3重栄養連鎖研究によりこの関係を解明した。特に中間媒体(害虫)の質的变化が天敵に与える影響(pre-mediated-effect)を排除するために、*Bt* タンパク質により質的变化を受けない害虫を供試し、*Bt* タンパク質の天敵に対する直接的影響を重視した。

(1) 材料

- 1) 供試作物：*Bt* ワタ (Cry1Ac・Cry2Ab 発現)、*Bt* トウモロコシ (Cry1F 発現)
- 2) 加害虫：ハダニ (*T. urticae*) (*Bt* 非感受)
- 3) 天敵：カブリダニの一種 (*A. andersoni*)
- 4) 試験地：米国ニューヨーク州ジェニーバ市コーネル大学 NYSAES 温室

(2) 結果

- 1) *Bt* 作物の加害虫ハダニに対する影響：生命指標(生存率・発育期・個体数・孵化率)には、*Bt* 葉と非 *Bt* 葉供飼との間には有意差がなかった。
- 2) *Bt* 作物摂餌ハダニの *Bt* 濃度：一般感受性虫類には毒性を発揮する程度の十分な *Bt* 濃度を有し、この濃度が天敵に対する暴露濃度であることを示した。
- 3) 捕食天敵の *Bt* 選択性：*Bt* あるいは非 *Bt* 摂食ハダニに対して選択性を示さなかった。
- 4) ハダニに含まれる *Bt* タンパク質の天敵に及ぼす影響：*Bt* タンパク質の有無は天敵の生命指標に有意差を生じなかった。
- 5) 食物連鎖における *Bt* タンパク質濃度の変化：作物→加害虫(ハダニ)→天敵虫(カブリダニ)における被捕食者(作物・ハダニ)の *Bt* タンパク質濃度を1とした時の相対濃度(ハダニ・カブリダニ)は、Cry1Aでは $1/36 \cdot 1/18$ ；Cry2Abでは $1/27 \cdot 1/21$ ；Cry1Fでは $1/30 \cdot 1/24$ であり、*Bt* タンパク質濃度の大幅な低下が確認されたが、実際のダニ数とは無関係であった。

(3) 総括：*Bt* ワタ及び *Bt* トウモロコシは、供試害虫ダニに質的变化を与えず、さらにこれを捕食する捕食天敵の生命指標にも有意差を生じなかった。*Bt* 作物は生物的防除を含む総合害虫防除を補完するものと考えられる。

***T. harzianum* 由来遺伝子 *bgn13.1* の導入によるイチゴにおける
イチゴ炭疽病抵抗性の強化とこれに伴う生育阻害**

Expression of the β -1,3-glucanase gene *bgn13.1* from *Trichoderma harzianum* in strawberry increases tolerance to crown rot diseases but interferes with plant growth

Mercado J A *et al.*

Transgenic Res 24: 979-989, 2015

スペイン大学・国研共同チームによる原著論文である。イチゴは世界的重要果実であるが多くの病害による損失も大きい。既に子囊菌の一種トリコデルマ *T. harzianum* 由来のキチナーゼ（キチン分解酵素）利用バイオテック耐病性育種が進行中であるが、同種由来のグルカナーゼ（ β -グルカン分解酵素）利用による耐病性育種については情報が少ない。著者らはこの点について以下の研究結果を得た。

- (1) 病害抵抗性系統の作出：*bgn13.1* 遺伝子を親品種 Camarusa にアグロバクテリウム法で導入し、組換え系統を作出した。
- (2) 表現型：全般的に低草丈・低収量（果実数・果実サイズ）であり、特に3系統（TL2, 10, 15）は顕著であった。
- (3) β -グルカン分解活性：葉身中の活性はすべての系統では増加し、平均して対照の3倍であった。
- (4) イチゴ炭疽病抵抗性：病原菌 *Collectotrichum acutatum* に対する花冠（crown）・葉身・葉柄の病徴において、7系統は全体的に低く特に3系統（TL2, 6, 11）は花冠・葉身の病徴平均値は対照の1/3、TL11の病徴指数は対照の1/10以下であった。
- (5) 白紋羽病抵抗性：病原菌 *Rosellinia necatrix* に対する抵抗性により判定した。3系統（TL6, 10, 15）は高い抵抗性、3系統（TL1, 2, 11）は中程度の抵抗性を示した。
- (6) 総括：*T. harzianum* 由来遺伝子 *bgn13.1* の導入によりイチゴ炭疽病抵抗性イチゴが作出された。しかし、低草丈・低収量の欠点を伴うため、今後はこの対策が必要である。

ほ場生育組換えキャッサバにおける必要摂取量を満たす 生物的可給態ビタミン B₆の増加

Increased bioavailable vitamin B6 in field-grown transgenic
cassava for dietary sufficiency

Li K-T *et al.*

Nature Biotechnology 33: 1029-1032, 2015

スイス・オランダ・中国・ベルギーの共同研究原著論文である。キャッサバはアフリカ 2 億 5 千万人以上の主食であるが、一部地域ではビタミン B₆ 欠乏による心臓血管障害、糖尿病、神経障害、ナルコレプシーなどの障害が生じている。ビタミン B₆ は人の体内で生合成されないため、すべて食物から摂取される必要があり、人はキャッサバの根（主食）及び葉（野菜）を食用としている。著者らはバイオテクによる高ビタミン B₆ 含量キャッサバの作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) 組換え系統の作出：*A. thaliana* 由来の 2 遺伝子を CaMV35S プロモーター使用（35S 系統）及び Patatin プロモーター（根部発現強化）（PAT 系統）により、各 4 系統ずつを作出・供試した。
- (2) 表現型：草丈、地上部・地下部新鮮重には、対照と有意差がなかった。
- (3) ビタミン B₆ 含量：温室試験で組換え系統の根及び葉は対照の数倍のビタミン B₆ 含量を示した。葉での蓄積量は、35S 系統が PAT 系統よりずっと高いが、根での蓄積量は 35S 系統で対照の 1～3 倍程度に対して PAT 系統では 4 倍程度でやや高かった。
- (4) ビタミン B₆ 含量の安定性：栄養繁殖 2 世代のほ場栽培後の組換え系統は対照より安定的に高いビタミン B₆ 含量を示し、葉は 3.9～48.0 倍、根は 1.9～5.8 倍であった。
- (5) 煮沸によるビタミン B₆ 含量の低下：キャッサバ葉及び根は、含有毒性シアン化物を除去するため煮沸された後に摂食される。煮沸によりビタミン B₆ 含量は低下するが、平均して対照の 9 倍（葉）及び 4 倍（根）のビタミン B₆ 含量を維持していた。
- (6) 1 日当たり摂取量：必須ビタミン B₆ 量を満たすためには、成人 1 日当たり組換え葉 51 g 又は煮沸組換え根 505 g の摂取が必要と試算された。
- (7) 総括：*A. thaliana* 由来遺伝子の導入により、煮沸後も対照の 9 倍（葉）あるいは 4 倍（根）の高ビタミン B₆ 含量キャッサバが作出された。次のステップとしてほ場試験による農業特性の検定が必要である。

（注：ゴールデンライスのキャッサバ版の感があるが、バイオテクによるキャッサバの成分育種の一環と理解される）。

遺伝子組換えトウモロコシハイブリッド MON-89034-3× MON-88017-3、MON-89034-3× MON-00603-6、MON-00603-6の形質：メキシコにおけるトウモロコシ生産の代替案

Plant characterization of genetically modified maize hybrids MON-89034-3 × MON-88017-3, MON-89034-3 × MON-00603-6, and MON-00603-6: alternatives for maize production in Mexico

Díaz OH *et al.*

Transgenic Research 26: 135-151, 2017

モンサント社とメキシコの大学研究者グループによる報文。モンサント社の害虫抵抗性／除草剤耐性組換えトウモロコシをメキシコ国内の複数の地域では場栽培試験を実施し、環境リスク評価データの取得及び害虫抵抗性トウモロコシに含まれる *Bt* タンパク質のメキシコの標的害虫への効果を確認した。

材料と方法：

- (1) 供試トウモロコシ：MON-89034-3 x MON-88017-3トウモロコシ (*Cry1A.105*、*Cry2Ab2*、*CryBb1*、*cp4epsps*)、MON-89034-3 x MON-00603-6トウモロコシ (*Cry1A.105*、*Cry2Ab2*、*cp4epsps* 発現)、MON-00603-6 (*cp4epsps* 発現) の3種。
- (2) ほ場：メキシコ国内の13箇所のほ場サイト。5エコリージョンを含み、海拔0～2400 m、平均年間気温17～26℃、年間降水量100～1069 mm と多様な条件。
- (3) メタ分析：研究段階（小規模ほ場試験）32、パイロット段階（大規模ほ場試験）26の試験データのメタ解析により、従来品種との農業形質の違いを比較した。
- (4) 比較農業形質：初期生育程度実生活力、苗初期立ち本数、絹糸抽出期までの日数、開葯期までの日数、着雌穂高長、稈長、挫折型茎倒伏株数、転び型根倒伏株数、最終期株立本数、穀粒収量、穀粒中の含水分含量の11項目

結果：

- (1) 研究段階の結果：3つのGMハイブリッドは、苗立ち初期株立本数、絹糸抽出期までの日数、開葯期までの日数、挫折型茎倒伏株数、転び型倒伏株数、最終期株立本数に従来品種との間に有意差なし。一方、初期生育程度実生活力、着雌穂高長、稈長、穀粒収量、穀粒中の含水分含量は、従来品種との間に統計的に有意な違いがあったが、この違いによる環境リスクが増すとは考えにくいと期待されない。これは、世界の他の地域での栽培試験の結果と一致する。
- (2) パイロット段階の結果：従来トウモロコシハイブリッドと比較して、害虫抵抗性ハイブリッドにおける穀粒中の水分含量および穀物収量を除いて、3つのGMトウモロコシの雑種で測定された農業学および表現型の特徴に違いが検出されなかった。
- (3) 害虫被害：MON-89034-3 x MON-88017-3トウモロコシでは、コーンボローラ (*Diatraea* spp.)、コーンイヤーフーム及びヤガ又はヨトウ (*Helicoverpa zea* or *Spodoptera* spp.)、ヤナガ及びネキリムシ (*Agrotis* or *Spodoptera* spp.) のいずれの被害も従来品種と比較し有意に低減した。MON-89034-3 x MON-00603-6トウモロコシでは、コーンイヤーフーム及びヤガ又はヨトウ (*Helicoverpa zea* or *Spodoptera* spp.)、ヤナガ及びネキリムシ (*Agrotis* or *Spodoptera* spp.) の被害のみ従来品種と比較し有意に低減した。

結論：

3種のGMハイブリッドはいずれも従来品種と比べて環境リスクとなる生物学的生態学的変化はなく、また害虫抵抗性ハイブリッドは在メキシコの標的害虫被害にも抵抗性を示すため、メキシコ農家にとって有益な選択肢となる。

遺伝子組換え藻類の屋外池における表現型の安定性と生態学的リスク評価

Evaluation of phenotype stability and ecological risk of a genetically engineered alga in open pond production

Shawn J.S. *et al.*

Alga Research 24: 378-386, 2017

米国カリフォルニア大サンディエゴ校と企業との産学共同研究。藻類への遺伝子組換え技術の適用は、遺伝子組換え作物同様、食料、燃料、その他バイオ産物の生産性の改善への寄与が期待される。しかし、遺伝子組換え藻類の屋外での使用に関する環境リスクに関しては殆ど知見がない。そこで、筆者らは米国環境局より初の屋外池での組換え藻類の実験承認を得、以下の結果を得た。

材料と方法

- (1) 供試組換え藻類：宿主はイカダモの仲間の *Acutodesmus dimorphus*。C14:0脂肪酸合成酵素遺伝子及び *GFP* 遺伝子プラスチド DNA に相同組換えによって導入された組換え体（1系統）と非組換え体を屋外試験に供した。
- (2) 屋外試験場：カリフォルニア大学サンディエゴ校生物学フィールドステーション内。南北100 m 程度がフェンスで囲われ、温室や屋外プールが配置される。
- (3) 培養条件：通常は20 L 培養器（1%CO₂で曝気）培養されている。屋外池培養には、まず100 L ポリバックで予備培養したのち、800 L の屋外池（ビニールプール）で培養を開始した。17 日後ごとに培養液を2分して、倍のスケールで培養を続け、合計50日間培養した。屋外試験中、池の水量は活性炭フィルターろ過した水道水を適宜注水し、一定に保った。環境保護局からの要請により、屋外プールは防鳥ネットで覆った。

結果

- (1) 屋外プールでの増殖：組換え藻は非組換え体と比べ、増殖速度が遅い。
- (2) 屋外プールでの表現型：大部分の組換え藻で *GFP* 蛍光が観察された。C14:0脂肪酸含量は組換え藻で有意に高かった。しかし、非組換え体と組換え体の C14:0脂肪酸含量の差は、実験室（24倍）での差に比べて屋外では3倍程度と小さかった。また、他の主要脂肪酸や総脂肪酸量に違いはなかった。
- (3) 組換え藻類の拡散：風向きを考慮し、組換え藻培養プールから東及び北向きに5 m、20 m、50 m にトラップを設置し、組換え藻の飛散を調査した（PCR で検出）。組換え藻は近距離では検出されたが、距離が離れるほど検出頻度は低下した。また、実験を通じて飛散した藻はごく少量であり、一度検出されたトラップでもその後定着しなかった。
- (4) 侵入リスクの検証：地元の5つの湖から採水し、そこに組換え藻及び非組換え藻を接種し、増殖及びバイオマス生産を評価した。その結果、2つの湖の水で、組換え及び非組換え藻の両方が旺盛に生育したが、組換え藻と非組換え藻の間で増殖性・バイオマス生産に違いはなく、適合度に違いはないと結論した。

結論：

本研究は、屋外栽培における組換え藻の初めての屋外試験であり、今後の組換え藻のリスク評価の枠組に対して参考情報を与える。

ERA プロジェクト調査報告

2017年 9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)

会 長 木村修一

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 5F

TEL 03-5215-3535

FAX 03-5215-3537

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