

---

# ERAプロジェクト調査報告

---

April 2018

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

2018. 4

バイオテクノロジー研究会

2018年の調査報告書第2号（通算第37号）をお届けします。

本号では、作物に害虫抵抗性を付与する *Bt* 蛋白質について、その非標的生物への影響を適切に評価する手法（No.339）、従来の *Bt* 蛋白質の環境安全性評価の総説（No.340）、及び新規 *Bt* 蛋白質の効果（No.343）についてご紹介します。また、除草剤耐性について、アセチル CoA カルボキシラーゼを利用した新たな除草剤耐性（No.344）及びグリホサート耐性ワタの環境影響（No.347）についてご紹介します。ゲノム編集については、その先駆けである Cibus 社の除草剤耐性カノーラの欧州における状況（No.345）及びゲノム編集全般の規制のあり方についての議論（No.345）を取り上げました。その他、ERA に関するトピックとして、キャッサバにおける遺伝的多様性（No.341）、組換え樹木の生物学的封じ込めの手法（No.346）及び核酸供与体としての *Pseudomonas chlororaphis* の安全性（No.346）についても併せてご紹介します。

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/namazu.cgi>

# 目次

No.360	<i>Bt</i> タンパク質の非標的生物に対する影響の室内評価試験において満たされるべき要件 Quality of laboratory studies assessing effects to <i>Bt</i> -proteins on non-target organisms: minimal criteria for acceptability .....	1
No.361	Cry34Ab1 及び Cry35Ab1 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 Cry34Ab1 and Cry35Ab1 proteins .....	2
No.362	栽培及び野生キャッサバとその近縁種の配列解析により明らかにされた広範な 種間交雑及び遺伝的多様性 Sequencing wild and cultivated cassava and related species reveals extensive interspecific hybridization and genetic diversity .....	3
No.363	ゲノム編集の規制はプロダクトベースであるべきである Regulate genome-edited products, not genome editing itself .....	4
No.364	<i>cryIIe</i> 遺伝子発現組換えトウモロコシの非チョウ目昆虫類の生存数、多様性、 集団構成に及ぼす影響 Effects of transgenic <i>cryIIe</i> maize on non-lepidopteran pest abundance, diversity and community composition .....	5
No.365	クリーピングベントグラスにおける同義突然変異 <i>ACCase</i> 遺伝子の過剰発現による <i>ACCase</i> 阻害除草剤耐性付与 Synonymous mutation gene design to overexpress <i>ACCase</i> in creeping bentgrass to obtain resistance to <i>ACCase</i> -inhibiting herbicides .....	6
No.366	宙に浮いた Cibus 社除草剤耐性カノーラの欧州認可 Cibus' herbicide-resistant canola in European limbo .....	7
No.367	<i>LEAFY</i> 遺伝子の抑制による組換え樹木の生物学的封じ込め Containment of transgenic trees by suppression of <i>LEAFY</i> .....	8
No.368	グリホサート耐性ワタにおける 2 種の異なる雑草管理システムに対する雑草および 地上捕食者の反応：ほ場調査 Weeds and ground-dwelling predators' response to two different weed management systems in glyphosate-tolerant cotton: A farmscale study .....	9
No.369	遺伝子組換え作物の核酸供与体としての <i>Pseudomonas chlororaphis</i> の安全性 Safety of <i>Pseudomonas chlororaphis</i> as a gene source for genetically modified crops .....	10

## ***Bt* タンパク質の非標的生物に対する影響の室内評価試験において 満たされるべき要件**

### Quality of laboratory studies assessing effects to *Bt*-proteins on non-target organisms: minimal criteria for acceptability

Schrijver AD, *et al.*

Transgenic Research 25: 395-411, 2016

ベルギー・スイス・ドイツの研究所・大学、欧州食品安全機関（EFSA）のグループによるレビューである。著者らは各国の承認申請及び公刊科学論文89編に基づいて25編を選出し、*Bt* タンパク質の非標的生物に対する影響評価試験について開発初期段階における室内試験を主体に検証した。

- (1) 対象組換え体及び *Bt* タンパク質特性：コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ59122系統、Cry34/35Ab1タンパク質。
- (2) 曝露量及び曝露法：事前のは場試験の結果等から非標的生物に実際には場で曝露されると推定される Cry34/35Ab1タンパク質の濃度を推定環境濃度（EEC）とし、EEC を基準に曝露量を決定した（Tier1テストでは10倍以上）。草食昆虫には *Bt* トウモロコシ葉、捕食昆虫には *Bt* トウモロコシ葉を給餌した草食昆虫、受粉者には *Bt* トウモロコシの花粉を給餌した。水生昆虫には精製 *Bt* タンパク質を溶解した水を与えた。
- (3) 非標的生物：1) 草食昆虫：ルリハムシ (*Gastrophysa viridula*：コウチュウ目)、オオカバマダラ (*Danaus plexippus*：チョウ目)、ヒメアカタテハ (*Vanessa cardui*：チョウ目) 等；2) 捕食性：クサカゲロウ (*Chrysoperla carnea*：アミメカゲロウ目)、オサムシ (*Poecilus cupreus*：コウチュウ目)、クロバエ (*Calliphora vomitoria*：ハエ目)、テントウムシ (*Hippodamia convergens*、*Coleomegilla maculata*、*Coccinella septempunctata*：コウチュウ目)、カメムシ (*Orius insidiosus*：カメムシ目)、ヤドリコバチ (*Nasonia vitripennis*：ハチ目) 等；3) 授粉者：ミツバチ (*Apis mellifera*：ハチ目)；4) 分解者：トビムシの幼虫 (*Folsomia candida*：トビムシ目)、ミミズ (*Eisenia fetida*：環形動物)；5) 非標的水生節足動物：ミジンコ (*Daphnia magna*)、イエカの幼虫 (*Culex quinquefasciatus*) 等。いずれの上記非標的生物の生育・平均体重・生存率などにおいて対象との有意差は検出されなかった（極少数例外あり）。
- (4) 調査条件の比較：適切な室内試験の実施においては、以下の8項目を満たすことが推奨されている。i) 供試物質のGM作物タンパク質に対する生化学的・機能的同等性、ii) 曝露仮説の実効性、iii) 曝露仮説における供試生物への曝露量の確認方法、iv) 陰性対照、v) 供試物質の活性の安定性、vi) 十分な反復数、vii) 影響評価の適切な測定値の設定、viii) 適切代表種の選択。8項目のうち、i)・iii)・iv)の3項目は室内試験において環境影響評価を行う上での必須の項目とされた。25論文中17論文（とくに4論文は科学的信頼性高）は必須項目を満たすと評定されたが、8論文は不十分と評価された。
- (5) 総括：*Bt* タンパク質（Cry34/35Ab1）の非標的生物に対する影響評価室内試験の科学的特性について信頼性を精査し、必須とされる評価項目3項目を特定した。これに基づいて各国諸機関では環境リスクの実質的不在が結論されている。（訳者註：Cry34/35Ab1については次報を参照されたい。）

## Cry34Ab1及びCry35Ab1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 Cry34Ab1 and Cry35Ab1 proteins

Center for Environmental Risk Assessment (CERA) ,  
ILSI Research Foundation  
CERA モノグラフ, 2013

(<http://ilsf.org/publication/a-review-of-the-environmental-safety-of-the-cry34ab1-and-cry35ab1-proteins/>)

ILSI 研究財団 CERA (環境リスク評価センター) は既報の他のレビューに続き、広範囲の科学論文や申請・承認資料など(73編)に基づいて、*Bt* タンパク質の一つである Cry34Ab1・Cry35Ab1 の環境安全性に関するレビューを行った。

- (1) 由来及び機能：2002年にある種の *Bt* 菌が産生するパラスポリン中に存在する *Bt* タンパク質として単離され、ウエスタンコーンルートワーム (*Diabrotica virgifera virgifera*) に殺虫性を有するが、アメリカタバコガ (*Helicoverpa zea*) 及びタマナヤガ (*Agrotis ipsilon*) には殺虫性を示さない新規の *Bt* タンパク質であることが分った。本 *Bt* タンパク質は単一のオペロンにコードされる分子量44 kDa (Cry34Ab1) と13~14kDa (Cry35Ab1) の2種類の *Bt* タンパク質であった。
- (2) 作用機作：他の殺虫 *Bt* タンパク質と同様に本タンパク質は標的昆虫による摂食により中腸内膜貫通孔を形成し細胞機能を低下させ致死させる。この機作はコウチュウ目の特徴である酸性中腸 (pH5.5~6.0) で発揮される (チョウ目のアルカリ性中腸と対照的)。
- (3) 発現量 (DAS-59122-7)：複数年・場所を含む Cry34Ab1及びCry35Ab1の既報最高濃度 (ng タンパク質/mg 乾物重) は、葉 (302及び126)、種子 (117及び3.7)、根 (102及び15.4)、花粉 (87.2及び0.15)、全植物体 (88及び18.1) である。この濃度はほ場における実際の曝露濃度の推定に用いられる。
- (4) 非標的生物への影響：一般に授粉虫 (ミツバチ)・土壌生棲虫 (含ミミズ) などに対する試験結果が多数公表されている。テストは場合により、ミツバチ、ウスバカゲロウ、寄生蜂、などを含む。また脊椎動物 (ニワトリ、ネズミなど) に拡大される場合もある。これらの試験を通じ本タンパク質が新しい障害・危害を生じた例は報告されていない。
- (5) 組換えトウモロコシが農業・自然環境中で生育することの影響：生物学的特性・表現型データから、雑草性・遺伝子伝播に関する影響は認められない。
- (6) 構成成分：従来品種の変動の範囲内であることが表 II.1~7に例示されている。
- (7) 総括：*Bt* タンパク質 Cry34Ab1/Cry35Ab1のコウチュウ目対象害虫に対する殺虫性、非標的生物及び導入作物への悪影響の不在、構成成分の正常性などから、本 binary タンパク質の環境安全性が立証された。(訳者註：他の *Bt* 産物は調査報告11、42、94、150を参照されたい)。



## 栽培及び野生キャッサバとその近縁種の配列解析により 明らかにされた広範な種間交雑及び遺伝的多様性

Sequencing wild and cultivated cassava and related species  
reveals extensive interspecific hybridization and genetic diversity

Bredeson JV *et al.*

Nature Biotechnology 34: 562-570, 2016

米国・ナイジェリア・フィジー・タンザニア・オーストラリアなどのグループ（共著者合計21名）による原著論文である。キャッサバ（*Manihot esculenta*）は熱帯畑作地域に広く栽培され5億以上の人々のカロリー源であるが、栄養繁殖性・約1年の長い作期・ウイルス羅病性など育種上の課題が多い。著者らは耐病性育種材料として世界各地の栽培種・野生種などの遺伝的要素を調査し、以下の結果を得た。

- (1) 染色体の構成： $n=18$ の連鎖群は、5対の相同染色体と2群の4本染色体（各種の切断と融合を経ている）により構成されている。既知33,033遺伝子の96.6%の染色体上の位置が特定された同属のパラゴムノキ（*Hevea brasiliensis*,  $2n=36$ ）とは染色体数が同じで多くの相同染色体を共有し、古4倍体を維持していると思われた。
- (2) 植物材料：世界各地の栽培種・野生種などの52保存株の配列解析を行った。i) 野生種由来ブラジル株（10株）、ii) 南米栽培種（7株）、iii) アフリカ在来種・改良種（16株）、iv) アジア・オセアニア品種（10株）、v) 野生種との交雑改良種（4株）、vi) その他（キャッサバ野生株、近縁種（*M. glaziovii*（インドゴムノキ）、*M. pseudoglaziovii*）、木本性品種、交雑種（*M. esc. flabellifolia*）；5株）、（計52）。
- (3) 遺伝的多様性（葉緑体配列）：明瞭な2群に分かれた。第1群はキャッサバ品種と交雑種（*M. esc. flabellifolia*）のみを含み、第2群は近縁種及び野生種から構成された。
- (4) 遺伝的多様性（核ゲノム配列）：明瞭な3群が存在した。第1群は殆どの栽培キャッサバ品種群、第2群は残りの *M. flabellifolia* 群、第3群はインドゴムノキ（*M. glaziovii*）群（野生種 W14を含む）。
- (5) 種間交雑：広範囲の種間交雑、遺伝子移入が判明した。食用野菜葉木性アフリカ品種あるいは別種とされていたブラジル品種は、両者ともキャッサバと *M. glaziovii* との自然交雑あるいは種間交雑であった。遺伝子移入源が特定不能のブラジル2品種が残った。
- (6) 近縁種からキャッサバへの有用形質の導入：1930～40年にタンザニアでキャッサバモザイクウイルス病抵抗性育種（Amani 計画）のための近縁種インドゴムノキ（*M. glaziovii*）から栽培種（*M. esculenta*）への大規模な遺伝子移入が行われた。現在の多数のアフリカ品種にはこの影響が存続している。
- (7) 総括：世界各地のキャッサバ栽培種・野生種の遺伝的配列を調査した結果、広範な種間交雑及び遺伝的多様性の存在が判明したが、栽培品種、特にアフリカでは多様性が低かった。

## ゲノム編集の規制はプロダクトベースであるべきである

Regulate genome-edited products, not genome editing itself

Carroll D *et al.*

Nature Biotechnology 34: 477-479, 2016

米国4大学の研究者が、ゲノム編集技術による短角乳牛の作出成功例に基づいて、規制がプロダクトベースで行われるべきことの科学的妥当性を論述した。

- (1) 標的遺伝子座：作業員及び家畜の安全性の見地から、乳牛飼育では除角（角を切り落とすこと）が一般的である。一方で、遺伝的に角のないあるいは短角の牛が存在する。短角遺伝子である *POLLED* には、短角肉牛型 (*Pc*) と角なし乳牛型 (*Pf*) の2種類の短角形質となる多型が存在するが、角なし乳牛型 *Pf* では低乳量となるため実用性は低い。米国研究者は短角肉牛型 *Pc* をゲノム編集により短角肉牛を作出した。
- (2) 短角乳牛の作出：乳牛培養細胞に対し、TALENs法によるゲノム編集により、*POLLED* 遺伝子座を *Pc* 型ホモに編集し、この核の体細胞核転移により2頭の乳牛を作出した。2頭は短角で10ヶ月後もその他の生育は正常であった。これはゲノム編集の本特性への適用の成功例であり、長い食習慣がある短角肉牛と同じ *Pc* 型を有する短角乳牛として今後の育種的发展が期待されている。
- (3) 米国食品医薬品局 (FDA) の規制：現行の FDA は組換え DNA 構成物を含む動物食品はすべて規制の対象としている。*Pc* 乳牛は外来の組換え遺伝子を有せず、作出されるアレル (対立遺伝子) は自然突然変異から生ずるアレルと全く同一であり、外来遺伝子の導入と同様な規制の対象となるかどうかは不明である。
- (4) 標的外 (off-target) 効果：ゲノム編集では標的配列以外の類似した配列に変異を生じさせる可能性を考慮する必要がある。本事例においても、開発者により標的外効果の可能性のある配列について調査が行われ変異が検出されないことが確認されている。他の事例においても、ゲノム編集は正確・特定のであることが確認されつつあり、家畜への利用においても十分安全であることが立証されている。
- (5) 最終産物の規制：米国科学技術政策局は、「規制は最終産物によってもたらされるリスクに応じて行使されるべきであり、プロセスあるいは技術に基づくべきではない」としている。ゲノム編集産物でも同様にプロセスではなくプロダクトに基づき評価されることが正当である。
- (6) 総括：短角乳牛の作出の成功例に基づいて、ゲノム編集の有利性が論述され、プロダクトベースの規制の正当性が明言された。



***cry1Ie* 遺伝子発現組換えトウモロコシの非チョウ目昆虫類の生存数、  
多様性、集団構成に及ぼす影響**

Effects of transgenic *cry1Ie* maize on non-lepidopteran pest  
abundance, diversity and community composition

Guo J *et al.*

Transgenic Research 25: 761-772, 2016

中国農業科学アカデミー研究者による原著論文である。著者らは新規作出の *Cry1Ie Bt* トウモロコシの非標的非チョウ目昆虫類に対する影響を調査して以下の結果を得た。

- (1) 組換えトウモロコシの作出：中国農業科学アカデミーは、アワノメイガ (*Asian corn borer; Ostrinia furnacalis*)、マメシクイガ (*soybean pod borer; Leguminivora glycinivorella*)、アメリカタバコガ (*cotton bollworm; Helicoverpa armigera*) などのチョウ目害虫を標的として新規 *Bt* タンパク質 *Cry1Ie* を分離し、これをトウモロコシに導入してイベント IE09SO34 を作出した。*Cry1Ie* は、*Cry1Ac*、*Cry1Ab*、*Cry1Ah*、*Cry1F* などとの併用が可能である。
- (2) 非チョウ目昆虫類の数度及び多様性：*Bt* 区と非 *Bt* 区の非チョウ目昆虫類数は、2012年は25,452個体 (22種/属) 及び23,105個体 (25種/属)；2013年は14,815個体 (25種/属) 及び18,258個体 (25種/属) であった。両年ともトウモロコシアブラムシ (*corn leaf aphid; Rhopalosiphum maidis*) が50~80% を占めていた。
- (3) 変動要因：分散分析において、年次・サンプリング期 (3葉期~完熟期、全10期) の2要因は、多様性2指標・全種数・全個体数に対して有意な変動要因であったが、*Bt* 区対非 *Bt* 区の差異は有意な変動要因ではなかった。
- (4) 非チョウ目昆虫類集団の構成：年次・サンプリング期・*Bt* 区対非 *Bt* 区の3要因により全体の変動の20.43%が説明された。集団の変動との相関係数 ( $R^2$ ) は、年次間：0.82、サンプリング期間：0.68、*Bt* 区対非 *Bt* 区間は相関を示さなかった。
- (5) 各要因内の相関：年次間及びサンプリング期間の相関係数は0.65及び0.51であったが、*Bt* 区対非 *Bt* 区間では無相関であった。
- (6) 総括：新規 *Cry1Ie Bt* トウモロコシの非チョウ目昆虫類の数度・多様性・集団構成などに対する影響を調査した。年次間及びサンプリング期間は有意差を示したが、*Bt* 区対非 *Bt* 区間では有意差を生じなかった。(訳者註：本組換えイベントの標的チョウ目害虫殺虫率のデータが不在であるが、新規 *Bt* トウモロコシの一例と理解される)。

## クリーピングベントグラスにおける同義突然変異 *ACC*ase 遺伝子の過剰発現による *ACC*ase 阻害除草剤耐性付与

Synonymous mutation gene design to overexpress *ACC*ase in creeping bentgrass to obtain resistance to *ACC*ase-inhibiting herbicides

Heckart DL *et al.*  
Transgenic Res 25: 465-476, 2016

米国大学グループによる原著論文である。内生遺伝子の過剰発現は時として転写後遺伝子サイレンシング (post-transcriptional gene silencing: PTGS) を引き起こすことが知られる。著者らはクリーピングベントグラスへの *ACC*ase (acetyl-coA carboxylase) 阻害除草剤耐性の付与を目的とし、同義突然変異 (synonymous mutation) *ACC*ase 遺伝子過剰発現体の作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) 除草剤非感受性 *ACC*ase の設計：AACase の感受性アミノ酸残基を置換 (イソロイシン→ロイシン) した *ACC*ase 阻害除草剤非感受型分子を設計した。更に、PTGS を避けるための同義置換変異を全域に導入した。
- (2) 導入遺伝子：1) 野生型 *ACC*ase；2) 野生型 *ACC*ase + 除草剤非感受型変異；3) 同義置換型 *ACC*ase；4) 同義置換型 *ACC*ase + 除草剤非感受型変異の4種類。
- (3) 形質転換クリーピングベントグラスの作出：上記4種の遺伝子の CaMV35S プロモーターによる過剰発現体当代のカルスを各500ずつ得た。形質転換カルス4種類及びベクター対照形質転換カルスを0.5  $\mu$  M sethoxydim 含有培地で選抜した結果、同義置換型 *ACC*ase + 除草剤非感受型変異を導入したカルスのみ6イベントが植物体へ再分化したが、他はすべて枯死した。6系統の除草剤非感受型同義置換型 *ACC*ase 過剰発現体のうち、4系統を試験に用いた。
- (4) *ACC*ase 阻害除草剤に対する耐性：非形質転換対照とともに温室内土壌生育し、8段階 (0~3200g/ha) 濃度の除草剤を散布し、2~4週間後の生存率を調査した。400g/ha (通常の2倍濃度) での対照及びイベント1~4の被害率は100%及び28~16%、緑葉率は0%及び50~62%であった。特にイベント4は高い耐性を示した。
- (5) 総括：非感受型アミノ酸置換及び同義置換導入を伴う合成 *ACC*ase 遺伝子の導入により、PTGS を回避しつつ *ACC*ase 阻害除草剤に対して耐性を示すクリーピングベントグラスが作出された。本手法は新しい除草剤耐性であり、他種への適用が期待される。

## 宙に浮いた Cibus 社除草剤耐性カノーラの欧州認可

Cibus' herbicide-resistant canola in European limbo

Fladung M

Nature Biotechnology 34: 473-474, 2016

米国大学研究者による短報である。

- (1) 除草剤耐性 GE カノーラの作出：米国サンディエゴ所在 Cibus 社はオリゴヌクレオチド誘発突然変異導入技術に基づく新規育種技術（Rapid Trait Development. System: RTDS™）を特許化し、非遺伝子組換え的手法による除草剤耐性カノーラを作出した。
- (2) ドイツ当局の対応：2014年7月 Cibus 社はドイツ当局（消費者保護食品安全局：BVL）に本カノーラの評価を申請した。2015年1月 BVL は本カノーラを規制対象外とする考えを示し、これは他国（フィンランド・スウェーデン・英国）と同様であった。これに対しドイツ・グリーンピース、テストバイオテックなどは猛然と反対し、反対表明を公表した。6月に BVL はこれらの反対を拒否したが、反対3団体はこれに対抗して行政訴訟を行った。この結果、BVL の本カノーラに対する決定は棚上げとなってしまった。
- (3) EC 新技術作業グループ：現行規制枠組みに基づいて2007年以来行った検討結果から、2011年に非公式最終報告を発表した。要点は、1) 最終産物が旧法と区別がつかない新技術（ODM、DNA エンドヌクレアーゼによるゲノム編集、逆育種など）産物は欧州規制の対象外とする。2) 新技術の安全性は2001/18/EC などの現行 EC 規制枠組みで十分評価可能である、であった。しかし、EC 当局は新育種技術産物に対する最終決定をまだ行っていない。この間に Cibus カノーラは米国で認可・栽培され、プレミアムがついて市販されている。（訳者註：現在多くの EU 諸国が EC 最終決定を待って身動きできない状態にある）。

## **LEAFY 遺伝子の抑制による組換え樹木の生物学的封じ込め**

Containment of transgenic trees by suppression of *LEAFY*

Klocko A L *et.al.*

Nature Biotechnology 34: 918-922, 2016

米国大学チームによる研究論文である。形質転換樹木の環境放出にあたっては、花粉や種子の大量生産・遠距離飛散による環境への拡散の抑制が課題である。著者らは RNAi による不稔ポプラの作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) *LEAFY* (*LFY*) 遺伝子抑制ポプラの作出：*LFY*は植物の雌・雄性花器形成の初期に必須とされている。シロイヌナズナにおける *LFY* 変異体の不稔性を参考に、ギンドロ (*Populus alba*) 雌品種6K10に RNAi 手法を適用し、対照より有意に *LFY* 遺伝子の発現が低下している14系統を選出した。(2012年)
- (2) ほ場生育における花器形成：選出14系統を2014年には場栽培した結果、12系統は花芽を形成し、対照と同様に開花した。2系統(イベント17及び139-1)は花芽が小さく、開芽も4日遅れ、中の花穂も小さく、種子を収容するワタ状の柔組織がなかった。同様な結果は2015、2016(室内試験)の3ヶ所にわたり確認された。
- (3) 解剖学的所見：前記2系統は柱頭及び胚珠がなく、小細胞塊だけが存在していた。
- (4) 栄養生長：不稔性2系統は、樹高、胸高直径、木質密度及び葉緑素含量、葉面積、葉比重、において対照と有意差がなく正常であった。
- (5) 総括：RNAi 手法により *LFY* 遺伝子の発現が抑制され、花器が形成されない不稔性ポプラ2系統が作出された。これら2系統の栄養生長は対照と有意差がなかった。今後育種規模における本結果の確実性・安全性の検証が必要である。

## グリホサート耐性ワタにおける2種の異なる雑草管理システムに対する 雑草および地上捕食者の反応：ほ場調査

Weeds and ground-dwelling predators' response to two different  
weed management systems in glyphosate-tolerant cotton:  
A farmscale study

Garcia-Ruiz E *et al.*

PLoS ONE 13 (1) : e0191408, 2018

スペイン公的研究機関研究者による報文。除草剤グリホサート耐性 GM 作物の栽培では、慣行の除草管理体系とは大幅に異なる除草管理プログラムが適用される。著者らはグリホサート耐性ワタを例に、ほ場レベルでの慣行及びグリホサート除草剤体系による生物多様性影響をほ場レベルで評価試験を実施した。

- (1) 植物材料：グリホサート耐性 GM ワタ GHB614系統
- (2) 調査サイト：スペイン南部セビリヤ州レブリハの商業綿花ほ場の一部。スペインの綿花栽培の98%はこの地域に集中する。調査ほ場では、少なくとも2年前から綿花が栽培される。
- (3) 除草剤管理：慣行除草剤管理体系 (C)：発芽前にフルオメツロン (ウレア系) 及びテルブチラジン (トリアジン系) 処理、発達中期にクレトジム (シクロヘキサジオン) 処理の2回。グリホサート管理体系 (G)：発達初期及び中期の2回、ラウンドアップ処理。
- (4) 実験デザイン：2008～2010年の綿花栽培季節に2 ha で栽培試験を実施した。全体を4区に分け、C及びG各2区ずつ無作為で配置。
- (5) 雑草：雑草密度はC区でG区に対して有意に低かった。G区はスベリヒユ量が増加したことから多様性はC区に対して低い傾向が認められた。
- (6) 捕食者：主要な節足動物類分類群 (クモ類、オサムシ類、ハネカクシ類、ハサミムシ類) の活動密度 (activity-density) は調査年によって変動が見られたが、G区-C区間での有意差は示されなかった。地上捕食性昆虫の総数は雑草密度に相関して、G区で有意に高かった。
- (7) 総括：グリホサート耐性作物—グリホサート除草管理体系が慣行農法と比較して生物多様性に対する影響が低いことが確認された。



## 遺伝子組換え作物の核酸供与体としての *Pseudomonas chlororaphis* の安全性

### Safety of *Pseudomonas chlororaphis* as a gene source for genetically modified crops

Anderson JA *et al.*

Scientific Reports 8:2862 | DOI:10.1038/s41598-018-21312-1, 2018

デュポンの研究者による論文。遺伝子組換え生物の安全性評価の評価要素として、安全な核酸供与体の使用がある。*Pseudomonas* 属は好気性グラム陰性桿菌であるが、特定の *Pseudomonas* 種は昆虫病原性を有すると以前に報告されており、天然の殺虫タンパク質の遺伝源として期待される。著者らは新規の殺虫性タンパク質をコードする IPD072Aa 遺伝子の核酸供与体である *Pseudomonas chlororaphis* について、供与体としての安全性評価を行った。

- (1) 環境における遍在：*Pseudomonas* 属は、*P. syringae*、*P. chlororaphis*、*P. fluorescens*、*P. putida*、*P. stutzeri*、*P. aeruginosa* および *P. pertucinogena* の7つの群に分類される。*P. chlororaphis* を含むほとんどの *Pseudomonas* 属は、環境中に普遍的に存在し、土壌や水域に広く分布しており、様々な生態系サービスを担当する。
- (2) 農業における安全な使用の歴史：1) *Pseudomonas* 属由来の生物農薬および植物保護製品：いくつかの *Pseudomonas* 由来の殺虫特性を有するタンパク質は、すでに農業において安全な使用の歴史を有している。2) *Pseudomonas* 属を核酸供与体とする GM 作物：1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸デアミナーゼ (ACCd)：成熟遅延トマト；ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ (HPPD)：イソキサフルトール (IFT) 除草剤耐性ダイズ系統及びワタ；アリルオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ-12 (AAD-12)；アリルオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ-12 (AAD-12)：アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性ダイズ及びワタなど。
- (3) 既知のヒトおよび植物病原体に対する系統発生的関連性：*Pseudomonas* 属には、*P. aeruginosa* (緑膿菌) および *P. syringae* を含む、いくつかのヒト病原体あるいは植物病原体が含まれている。緑膿菌は、環境中で比較的遍在しており、ヒトにも日和見感染しており、免疫機能が低下した際に呼吸器疾患を引き起こしうる病原体としてよく認識されている。*P. syringae* の植物に対する病原性はよく理解されている。米国および欧州の規制当局は、*P. chlororaphis* はヒトに健康上及び植物防疫上の懸念を提起しないと結論している。
- (4) 総括：既にいくつかの *Pseudomonas* 属が GM 作物の核酸供与体として利用実績があり、*P. chlororaphis* についてもヒトの健康上及び植物防疫上の懸念を提起しないことが確認された。



# ERA プロジェクト調査報告

2018年 4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 宮澤陽夫

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)