

---

# ERAプロジェクト調査報告

---

August 2019

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

2019. 8

バイオテクノロジー研究会

2019年の調査報告書第4号（通算第45号）をお届けします。

本号では、国際アグリバイオ事業団（ISAAA）が発表した2017年の世界の遺伝子組換え作物の商業栽培に関する状況（No.441）及び各国における承認状況（No.442）をご紹介します。また、遺伝子組換え技術の開発を推進している中国において、Bt イネの商業栽培が進まない理由及びその打開策について考察した論文（No.444）を紹介しています。

また、遺伝子組換え技術を用いた研究のうち、農業生産への貢献を目指しウドンコ病耐性のコムギを作出した研究（No.445）を取り上げます。さらに、物質生産に関するものとしてタバコにH5N1型鳥インフルエンザ抗原を産生させた研究（No.440）及びリグニン分解酵素の導入によるリグノセルロースを活用した物質生産に関する研究（No.448）の2報を紹介します。

近年、日本でも開放系での飼育が開始された遺伝子組換えカイコですが、中国では遺伝子組換え技術を用いてその生活環の一部として存在する休眠に影響を及ぼす遺伝子に関する研究が行われています（No.443）。

ゲノム編集に関して、2018年7月に欧州司法裁判所においてゲノム編集を含めた新作物育種法（NPBT）により作出された品種は規制対象となるという裁定が行われました。本号では、規制対象外となる従来育種技術により作出された品種との区別ができないとが及ぼす影響について検証し、科学ベースでプロダクトベースによった評価の必要性に関する議論を紹介いたします（No.446、No.447）。

なお、これまでに調査報告書において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.440 | タバコ種子における H5N1型鳥インフルエンザ赤血球凝集抗原の高度蓄積技術<br>High accumulation in tobacco seeds of hemagglutinin antigen from<br>avian (H5N1) influenza .....  | 1  |
| No.441 | 市場化バイテク/GM 作物の世界的状況：2017年<br>Global status of commercialized Biotech/GM crops in 2017 .....  | 2  |
| No.442 | 市場化バイテク/GM 作物の世界的状況：2017年<br>Global status of commercialized Biotech/GM crops in 2017 .....  | 3  |
| No.443 | 非休眠性カイコにおける休眠ホルモン及び休眠ホルモン受容体遺伝子の過剰発現の影響<br>Effects of transgenic overexpression of diapause hormone and diapause hormone<br>receptor genes on non-diapause silkworm.....   | 4  |
| No.444 | 中国における <i>Bt</i> イネの発展と現状<br>The development and status of <i>Bt</i> rice in China .....   | 5  |
| No.445 | <i>Pm3e</i> 導入組換えコムギのウドンコ病耐性及び他農業特性への悪影響の不在に関する<br>圃場試験による検証<br>Field grown transgenic <i>Pm3e</i> wheat lines show powdery mildew resistance and no<br>fitness costs associated with high transgene expression.....   | 6  |
| No.446 | EU 法廷が示す新作物育種法をめぐる欧州規制制度の不完全性<br>EU court casts now plant breeding techniques into regulatory limbo .....  | 7  |
| No.447 | 遺伝子編集作物に関する欧州法定判定に対する科学的レビューの実施要求<br>A call for science-based review of the European court's decision on<br>gene-edited crops .....  | 8  |
| No.448 | シロイヌナズナにおけるラッカーゼ-セルロース結合モジュール融合タンパク質の<br>発現によるリグノセルロースバイオマスの酵素糖化性の改善<br>Expression of a fungal <i>laccase</i> fused with a bacterial cellulose-binding module improves<br>the enzymatic saccharification efficiency of lignocellulose biomass in transgenic<br><i>Arabidopsis thaliana</i> ..... | 9  |
| No.449 | MinION シークエンス技術の欧州市場における未承認 GM ペチュニアの分析への適用<br>MinION sequencing technology to characterize unauthorized GM petunia plants<br>circulating on the European Union market .....   | 10 |

No.440

## High accumulation in tobacco seeds of hemagglutinin antigen from avian (H5N1) influenza

### タバコ種子における H5N1 型鳥インフルエンザ赤血球凝集抗原の 高度蓄積技術

Ceballo Y *et al.*

2017

Transgenic Research 26: 775-789

キューバ及びカナダの国研・ベルギー大学の研究者による原著論文である。鳥インフルエンザは鳥類、特に家禽に大害を与えるウイルスによる呼吸器感染症である。特に、アジア系 H5N1 型鳥インフルエンザはアジア以外の北米、アフリカ、欧州、中東、ロシアなどにも大害を与えた (2015 年)。従来への対応では、宿主に免疫反応を誘起させる抗原の供給量に限界があった。著者らは植物種子 (タバコ) を用いた H5N1 型鳥インフルエンザの赤血球凝集抗原 (HA) の安価な生産技術とこれを用いた抗体調製を試み、以下の結果を得た。

- (1) 組換えタバコ種子の作出：として、インゲンマメの貯蔵タンパク質の発現調節配列 (プロモーター+5' 非翻訳領域) に H5N1 型鳥インフルエンザの HA をつないだ発現カセットを含むコンストラクトをアグロバクテリウム法により、タバコ品種 BHmN に導入し、T<sub>0</sub>植物27個体を得た。
- (2) T<sub>1</sub>種子の HA 含量：T<sub>1</sub>種子の HA 含量は0.3~3.0mg/g 種子であった。特に I-13系統及び I-20系統で HA 含量が高かった。
- (3) 抗原の作出：I-13系統の T<sub>1</sub>種子から可溶性タンパク質を採取し、免疫原性試験の抗体とした。
- (4) 免疫原性 (抗原が免疫応答を誘起する能力：immunogenicity) 検定：1) 免疫ニワトリの作出：生育3週間の白色レグホーン鶏に対し、(3) の抽出液 (組換え HA 20 $\mu$ g含有) を28日間隔において2回皮下接種し、免疫を行った。2) 赤血球凝集抑制 (HI) 試験：免疫ニワトリの血清中の赤血球凝集抑制から力価により検定した。力価は、2回目の免疫時の28日後には3/10個体で有意に高い値を示し、以後、最初の免疫から35、49日目にかけて増加を続けた。49日後では、調査した個体の6割が鳥インフルエンザ保護国際基準値以上の力価を示した。
- (5) 総括：H5N1型鳥インフルエンザの HA を種子中で高蓄積する組換えタバコ種子が作出された。同組換えタバコの種子の水溶性抽出物を皮下接種によるニワトリの免疫が実施され、2回の免疫により、抗 HA 抗体が作出され、赤血球凝集抑制反応が確認された。タバコ種子による大量・簡易・安価な抗原提供に基づく鳥インフルエンザ対応策としての発展が期待される。

(林 健一)

## Global status of commercialized Biotech/GM crops in 2017

### 市場化バイテク／GM作物の世界的状況：2017年

ISAAA

2018

ISAAA Briefs, 53 全 143 頁

国際アグリバイオ事業団（ISAAA）による表題報告書の要点を以下に列記した。

- (1) バイテク作物栽培全面積・国数：1億8980万 ha・24ヶ国
- (2) バイテク作物栽培面積比率
  - 1) 当該作物世界合計（バイテク＋非バイテク）に対する比率：ワタ80%、ダイズ77%、トウモロコシ32%、カノーラ30%
  - 2) バイテク作物全面積に対する比率：ダイズ50%、トウモロコシ31%、ワタ13%、カノーラ5%、アルファルファ・サトウダイコン・パパイヤは各々1%以下、その他（カボチャ・ジャガイモ・ナス・リンゴなど）1%以下
  - 3) バイテク作物特性比率：除草剤耐性47%、スタック41%、害虫抵抗性12%、ウイルス抵抗性1%以下
- (3) バイテク全面積中比率（%）及び主要バイテク作物（10万 ha 以上）：
  - 1) 米国：40%、トウモロコシ・ダイズ・ワタ・カノーラ・サトウダイコン・アルファルファ・パパイヤ・カボチャ・バレイショ・リンゴ
  - 2) ブラジル：26%、ダイズ・トウモロコシ・ワタ
  - 3) アルゼンチン：12%、ダイズ・トウモロコシ・ワタ
  - 4) カナダ：7%、カノーラ・トウモロコシ・ダイズ・サトウダイコン・アルファルファ・ジャガイモ
  - 5) インド：6%、ワタ
  - 6) パラグアイ：2%、ダイズ・トウモロコシ・ワタ
  - 7) パキスタン：2%、ワタ
  - 8) 中国：1%、ワタ・パパイヤ
  - 9) 南アフリカ：1%、トウモロコシ・ダイズ・ワタ
  - 10) ボリビア：1%、ダイズ
  - 11) ウルグアイ：1%、ダイズ・トウモロコシ
  - 12) オーストラリア：1%以下、カノーラ・ワタ
  - 13) フィリピン：1%以下、トウモロコシ
  - 14) ミャンマー：1%以下、ワタ
  - 15) スーダン：1%以下、ワタ
  - 16) スペイン：1%以下、トウモロコシ
  - 17) メキシコ：1%以下、ワタ
  - 18) コロンビア：1%以下、トウモロコシ・ワタ

(林 健一)

## Global status of commercialized Biotech/GM crops in 2017

## 市場化バイテク／GM作物の世界的状況：2017年

ISAAA

2018

ISAAA Briefs, 53 全 143 頁

国際アグリバイオ事業団（ISAAA）による表題報告書より、GM作物の累計承認数及び累計輸入限定（非栽培）認可数についてまとめた。

## (1) 累計承認数（上位10ヶ国、1992～2017）

| 順位 | 国名      | 食用    | 飼料    | 栽培  | 合計    |
|----|---------|-------|-------|-----|-------|
| 1  | 日本*     | 295   | 197   | 154 | 646   |
| 2  | 米国      | 185   | 179   | 175 | 539   |
| 3  | カナダ     | 141   | 136   | 142 | 419   |
| 4  | 韓国      | 148   | 140   | 0   | 288   |
| 5  | EU      | 97    | 97    | 10  | 204   |
| 6  | ブラジル    | 76    | 76    | 76  | 228   |
| 7  | メキシコ    | 170   | 5     | 15  | 190   |
| 8  | フィリピン   | 88    | 87    | 13  | 188   |
| 9  | アルゼンチン  | 61    | 60    | 60  | 181   |
| 10 | オーストラリア | 112   | 15    | 48  | 175   |
| 11 | その他     | 622   | 346   | 107 | 1,075 |
|    | 合計      | 1,995 | 1,338 | 800 | 4,133 |

(\*研究会注：日本では、食用の承認数に掛け合わせ系統（スタック）も含まれ、栽培については隔離ほ場試験の承認数も含まれているため、承認数が他国より多くなっている。)

(2) 2017年承認の特徴：承認総数176；70.8%はスタック品種・系統（40%は除草剤耐性／害虫抵抗性、その他除草剤耐性／受粉制御（雄性不稔）、害虫抵抗性／病害抵抗性、除草剤耐性／収穫物品質、など）；承認作物の順位：トウモロコシ・ワタ・ジャガイモ・カノーラ・ダイズ

(3) バイテク作物輸入限定（非栽培）国：1996年以来合計43ヶ国（17+26EU圏）が非栽培の食料・飼料・加工（FFP）の輸入を認可している。これらの国は、ブルキナファソ・キューバ・エジプト・インドネシア・イラン・日本・マレーシア・ニュージーランド・ノルウェー・パナマ・ロシア・シンガポール・韓国・スイス・台湾・タイ・トルコ・EU圏26ヶ国、である。輸入認可作物は、トウモロコシ（14ヶ国）、ダイズ（10ヶ国）、ワタ（8ヶ国）、カノーラ（7ヶ国）であり、近年ジャガイモが加わっている。

(林 健一)



## Effects of transgenic overexpression of diapause hormone and diapause hormone receptor genes on non-diapause silkworm

### 非休眠性カイコにおける休眠ホルモン及び休眠ホルモン受容体遺伝子の過剰発現の影響

Gong C *et al.*

2017

Transgenic Research 26: 807-815

中国の大学研究グループによる研究短報である。カイコは絹糸生産あるいは研究材料として重要な生物である。カイコは生育の諸段階で休眠性を発揮する。休眠は単なる「眠り」ではなく、生活環の一部として遺伝的に組み込まれた発育停止期である。発育段階により、卵休眠、幼虫休眠、蛹休眠、成体（蛾）休眠などがあり、どれも内分泌系のホルモンが関与している。なかでも、休眠ホルモン（DH）及びその受容体（DHR1）は休眠性発現の鍵とされている。著者らはDH及びDHR1の非休眠性カイコに与える影響について初めての調査を行い、以下の結果を得た。

- (1) 組換えカイコの作出法：機能型 *DH*、*DHR1* 遺伝子は、休眠性カイコ系統 *Dazao* より単離した。また、目的遺伝子の発現調節には、酵母の *GAL4/UAS* 発現調節系が用いられた。形質転換はトランスポゾン利用ベクターを用いた。*GAL4* 発現カセット（カイコの細胞質 *actin* プロモーター制御）を含む形質転換ベクター（A4G4）と標的配列 *UAS* の下流に目的遺伝子（*DH* 又は *DHR1*）を繋いだ発現カセットを含む形質転換ベクター（*UASDH* 及び *USADHR1*）を作成、非休眠性カイコ系統（*Nistari*）に形質転換し、形質転換体を得た。
- (2) 交雑後代の作出：A4GA 導入株と *UASDH* 導入株、A4GA 導入株と *USADHR1* 導入株を交配させ、*DH* 過剰発現体（A4GA/*UASDH*）及び *DHR1* 過剰発現体（A4GA/*USADHR1*）を得た。
- (3) *DH* あるいは *DHR1* の過剰発現の様相：mRNA レベルの発現量を、幼虫・成虫・蛹・蛾・卵の各時期に調査した。*DH* 過剰発現体における *DH* 発現は、幼虫 3 令 1 日目～蛹 4 日目までは極めて低く、その後急増して蛹 6 日目で最高値、9 日目に 2 回目の最高値に達し、以後急減し、 $F_2$  卵（72時間後）まで発現は極小であった。*DHR1* 過剰発現体における *DHR1* 発現も *DH* と類似していた。以上から、非休眠性カイコ蚕に導入された休眠性遺伝子は、蛹時期の中～後期に集中的に急増し、その他の時期の発現量は極めて低いことが分かった。
- (4) *DH* あるいは *DHR1* の過剰発現の休眠関連遺伝子への発現影響：既知11遺伝子の mRNA レベルの発現量を調査した。*DH* 過剰発現体については、蛹世代で 3 遺伝子、蛾世代で 3 遺伝子、卵世代で 2 遺伝子が、対照と有意差のある発現を示した。*DHR1* 過剰発現体についても、ほぼ同様であったが、*DH* 過剰発現体の方が *DHR1* 過剰発現体より発現影響が明瞭であった。
- (5) 表現型形質に対する影響：*DH* あるいは *DHR1* 過剰発現した非休眠性カイコは、幼虫及び蛹の表現型、蛹体重に対照との有意差はなかった。さらに両者の  $F_1$  及び  $F_2$  卵（7/55例外）は、休眠性卵の産出はなかった。
- (6) 総括：*DH* または *DHR1* の単独の過剰発現は、休眠関連遺伝子の発現に影響を及ぼすが、非休眠性系統の非休眠性の打破には不十分であった。 (林 健一)



## The development and status of *Bt* rice in China

### 中国における *Bt* イネの発展と現状

Li Y *et al.*

2016

Plant Biotechnology Journal 14: 839-848

中国の農業科学アカデミー及び米国大学の研究者によるレビュー文献である。中国は農業バイオテックを推進し、作出された組換え作物は多数あるが、市場化が認可されたのは、ワタ・ポップラ・スイートペッパーの3GM作物だけである。組換えイネ、特に害虫抵抗性 *Bt* イネは重視され、2系統には農林省から Biosafety Certificate (BC) が2009年に与えられているが、未だ市場化されていない。著者らはその原因を精査し、改善の方途を示唆した。

- (1) 中国のイネ生産：人口増に備えて、2030年までは収量7.85トン/ha、コメ総生産2億トンが必要とされている。新規の *Bt* イネ系統は1989年以来1ダース以上作出され（含スタック系統）、2009年には2系統に対し農林省から Biosafety Certificate (BC) が交付されているが、今日まで市場化されていない。
- (2) *Bt* イネの採用に関する諸問題：1) 規制：1993年以後の種々の変遷を経て、2000年に農林省が農業バイオテックの研究及び安全性評価の責任機関となり、比較的良好な組織運営がなされている。2002年～2012年に2775件の申請を受理し、圃場試験許可459件、BC交付1830件に及ぶが、市場化承認は7件10イベントに過ぎない。
- (3) *Bt* イネの安全性評価：
  - i) 非標的生物への影響：有益昆虫（ウスバカゲロウ・テントウムシ・ミツバチ）、昆虫捕食・寄生生物・吸汁昆虫（ヨコバイ・ウンカなど）・カイコなどに対する有害影響は検出されていない。
  - ii) 土壤生態系：イネの茎葉・根などは土壤中で比較的短時間で分解される。土壤微生物（バクテリア）やトビムシなどへの有害影響は検出されていない。
  - iii) 遺伝子伝播：イネは自殖性のため品種間伝播は極めて低い。野生イネ（*Oryza rufipagon*）へは1.21～2.19%の伝播率が報告されているが、近年の12年間の研究では、F<sub>1</sub>雑種は3～5年で消失し、長期的な伝播はないと報告されている。雑草イネ（weedy rice）への伝播は低率ながら発生し、交雑F<sub>1</sub>の生長量増加が記録されているが、伝播は限定的とされている。
  - iv) 食品安全性：実質的同等性による安全性確認がなされている。またネズミの106週間飼育試験により、長期的安全性も確認されている。
- (4) 農家の反応：2省330農家2002～4年の調査では、いずれも農薬使用量の減少及びイネの増収を認めている。関連して、健康増及び収入増も認められている。
- (5) 公衆の反応：2010年の広範囲4,239人の調査では、21%がバイオテック技術を認知、大半が低理解・不認知であり、漠然としたGM作物への懸念が存在している。この結果の原因は、i) バイオテックの複雑性、ii) 科学者発言の不統一・混乱、iii) 研究者の公衆教宣への無関心、iv) メディアの消極的公宣、などがある。
- (6) 総合的結論：*Bt* イネのERA（含食品）の相対的安全性は確認されているが、市場化されていない。最大のネックは公衆のバイオテック技術（含 *Bt* イネ）に対する認知の乏しさであり、この改善が最も重要である。このためには、行政・研究・メディアによる公衆への教宣活動の積極的強化が極めて重要である。

(注：Referencesとして *Bt* イネのERA 関連英語文献130編が記載されている)

(林 健一)

## Field grown transgenic *Pm3e* wheat lines show powdery mildew resistance and no fitness costs associated with high transgene expression

### *Pm3e* 導入組換えコムギのウドンコ病耐性及び他農業特性への悪影響の不在に関する圃場試験による検証

Koller T *et al.*

2019

Transgenic Research 28: 9-20

スイスの大学研究者による原著論文である。ウドンコ病 (powderymildew) はコムギの共通的大病害である。抵抗性育種は長年行われているが効果は限定的である。著者らは遺伝子導入による圃場抵抗性系統の作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) 抵抗性組換え系統の作出：ウドンコ病抵抗性品種 W150より、抵抗性遺伝子 *Pm3e* を、羅病性春コムギ品種 Bobwhite に biolistic 法により導入し、安定的組換え 3 系統 (E#1、E#2、E#4) を T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub>、T<sub>3</sub> 世代にわたり作出、以下の実験に供試した。
- (2) 組換え系統のウドンコ病圃場抵抗性：羅病性 2 品種を側面に配置した検定圃場を使用した。すべての組換え系統は高度のウドンコ病圃場抵抗性を 4 作期にわたり示した。E#1 系統は完全抵抗性 (2015, 2016, 2018)・痕跡羅病 (2017)；E#2 は完全抵抗性 (2016)・痕跡羅病 (2015, 2017, 2018)；E#4 は 4 作期にわたり軽度の羅病であった。一方、それぞれの非組換え対照は、すべて激甚羅病性を示した。この結果により、*Pm3e* によるコムギウドンコ病広域圃場抵抗性の附与が明示された。
- (3) 導入遺伝子の発現及びタンパク質の蓄積：E#1 及び E#2 は、両特性において E#4 より有意に高かった。
- (4) 農業特性：組換え 3 系統は、E#2 及び E#4 では収量、枝幹上の結実粒数比率及び開花までの日数は対照と有意差が無く、Fitnesscosts は存在していなかった。しかし、E#1 は開花が他系統より数日遅延し、枝幹上の結実粒数比率においても有意差が認められた。
- (5) 総括：ウドンコ病抵抗性遺伝子 *Pm3e* の導入及び圃場試験により、ウドンコ病広域圃場コムギ系統が作出された。本結果のコムギ育成計画への適用の期待がもたれる。

(林 健一)

## EU court casts now plant breeding techniques into regulatory limbo

### EU 法廷が示す新作物育種法をめぐる欧州規制制度の不完全性

Purnhagen K P *et al.*

2018

Nature Biotechnology Vol 36 No.9: 799-800

オランダ・ワーゲニンゲン大学研究者による投稿論文である。

- (1) EU 法廷の最終判定：2018年7月25日に EU 法廷は、mutagenesis（突然変異誘発）を用いた NPBT（新作物育種法）産物を、EU 規制の枠内に組み込むという最終判定を行った。この判定は期待に逆行する規制強化を示すものであった。
- (2) 最終判定の文言：「mutagenesis を用いた NPBT によりもたらされるすべての生物は、EU 規定2001/18/EC の発効期日に遡及して、同規定の規制範囲内の GMO として取り扱われる」。
- (3) 最終判定の過程：EU 法廷は協議した関連法定及び公立団体からの提供材料を精査し、とくに EU 規定の序文における詳述事項の文言を参照として重視した。その結果、最重要な「長期間安全使用」の NPBT への適用が実在しないと判断され、規制枠内扱いの最終判定がなされたと思われる。
- (4) 最終判定の内容：1) 少範囲（慣行的放射線照射あるいは化学薬品処理による *in vitro* mutagenesis）は規制枠外、2) 栽培以外の食品・飼料・環境保全などにも本判定が適用される。
- (5) 最終判定の影響：1) 規制分野：規制対象外である産物と識別不可能な NPBT 由来産物を有効に識別・規制することは不可能である。2) 貿易分野：輸入産物に混入する NPBT 由来産物を識別・除去することは不可能であり、有効な表示が実施できない。
- (6) 最終的要約：EU 法廷は科学的事実確認を本来の職務としていない。今回の最終判定は、EU の現行規制の不完全性・不十分性を EU 法廷が EU 規制当局へ差し戻すものである。これを機会に EU 為政者は EU 規制制度の改革を真剣に検討すべきである。

(林 健一)

No.447

## A call for science-based review of the European court's decision on gene-edited crops

遺伝子編集作物に関する欧州法定判定に対する科学的レビューの実施要求

Urnov FD *et al.*

2018

Nature Biotechnology Vol 36 No.9: 800-802

米国の研究所・大学・研究者による投稿論文である。最近、欧州司法裁判所はゲノム編集植物の GMO への分類及び欧州 GM 規制枠内への組み入れという最終判定を行った。この判定は農業発展のための科学を無視するとともに、農業の持続性及び世界食料保障の発展を阻害するものとして、著者らは大きな懸念を表明している。以下はその理由である。

- (1) 突然変異：生物における新特性発現の源であり、特に農作物では顕著である。初期の自然突然変異の利用に続いて、20世紀前半からは放射線照射あるいは化学薬品処理による人為突然変異が多用され、異形・不利特性の除去をへて、今日まで300品種が実用化されている。
- (2) 交雑育種：初期から現在までの最重要・最普遍的育種方法は、同種品種間の人為交配による交雑育種法であり、現在の品種の大部分は本手法に由来している。以上、突然変異及び交雑育種による品種は、安全とみなされ、EU 規制の対象外である。
- (3) 組換え技術 (transgenesis)：主要作物を含む多くの作物のゲノム配列の解明により、ゲノム上の目標遺伝子の位置が解明され、*in vitro* 手法の発達とともに、種内あるいは種間の遺伝子レベルの直接的交配が急増した。この通称「組換え品種」は、ISAAA 報告 (2017) によると24ヶ国、1億8980万 ha に栽培され、全米ダイズ、トウモロコシ、カノーラの90%以上を占めている。しかし、EU 圏ではトウモロコシ1品種、13万 ha 余の栽培に過ぎない。EU 農家は この品種以外の GM 作物の栽培は禁止されており、入手の手段もない。1996年の市場化以来、GM 作物の有害影響は報告させていない。
- (4) ゲノム編集技術：2009年に発表された本技術は、上記の3技術とは異なる以下の特徴を有する。i) 作出されるゲノムの変更は正確に標的部位に集中する。ii) 目標ゲノムに外来 DNA を残さない、これが組換え技術と大きく異なる特徴である。iii) 予想特定変異だけを作成する。iv) 他の既存特性 (耐病性・耐気候変動性など) との複合的組合せが可能。2009年以來の50種以上の植物に適用され、実用品種として、良脂肪ダイズ・褐変防止マッシュルーム・アクリルアミド低減ジャガイモ・耐病性コムギなどが作出されている。すでに米国など数ヶ国では、小突然変異のみのゲノム編集品種は規制対象外となっている。欧州司法裁判所判定は何の科学的根拠を有していない。著者らは「欧州司法裁判所の科学的レビューを行うべきである」と言う国際植物分子生物学会の要求 (2018) を支持している。新品種は、processではなく、product (表現型特性) で評価される重要性は依然として存続している。

(林 健一)

**Expression of a fungal *laccase* fused with a bacterial cellulose-binding module improves the enzymatic saccharification efficiency of lignocellulose biomass in transgenic *Arabidopsis thaliana***

シロイヌナズナにおけるラッカーゼ-セルロース結合モジュール融合タンパク質の発現によるリグノセルロースバイオマスの酵素糖化性の改善

Iiyoshi R *et al.*

2017

Transgenic Research 26: 753-761

日本の大学・国研研究グループによる報文。化石資源の代替としてリグノセルロースバイオマス資源の利用への関心が高まっているが、処理にかかるコスト高からほとんど活用されていない。著者らは、リグニン分解酵素とセルロース結合ドメインを結合した融合タンパク質 (Lac-CBD) の導入により、植物の生育や形態に影響を与えることなしに酵素糖化の改善を図る手法を提唱している。本報告では、双子葉植物における有効性を検証するため、Lac-CBD をシロイヌナズナに導入し、酵素糖化性及び細胞壁成分分析を行い、以下の結果を得た。

- 1) Lac-CBD コンストラクト：カワラタケ (*Trametes vericolor*) 由来のリグニン分解酵素ラッカーゼ III 遺伝子 (*Lac*) にセルロソーム生産菌 (*Clostridium cellulovorans*) のセルロース結合タンパク質のセルロース結合ドメイン (*CBD*) を結合した融合タンパク質を発現する人工遺伝子を作成した。
- 2) イネにおける先行研究：*Lac-CBD* 過剰発現イネでは、乾燥させた葉による酵素糖化試験により糖化性が非組換え体より約1.5倍に向上した。また細胞壁成分分析の結果、組換え体では、非結晶性セルロースが増加、結晶性セルロース及びリグニンが減少していた。
- 3) Lac-CBD 導入シロイヌナズナの作出：イネに導入した *Lac-CBD* 融合遺伝子をシロイヌナズナ用の発現ベクターに移し、アグロバクテリウム法でシロイヌナズナに導入した。
- 4) 酵素糖化試験：形質転換シロイヌナズナ (T1世代) より採取した花茎を乾燥・粉砕したものを試料とし、酵素糖化試験を行った。その結果、*Lac-CBD* 導入シロイヌナズナではベクター対照よりも1.2倍以上糖化性が向上した個体が確認された
- 5) 細胞壁組成分析：酵素糖化性が向上した系統の細胞壁組成は、結晶性セルロースのみが対照より有意に高かったが、非結晶性セルロース及びリグニンは対照と有意差がなかった。また、非結晶性セルロース画分において、組換え体ではグルコースが減少し、キシロースが増加していたことからヘミセルロースが増加したことが示唆された。
- 6) 総括：*Lac-CBD* 融合遺伝子による酵素糖化性改善が単子葉植物だけでなく、双子葉植物でも有効であることが示された。ただ、細胞壁組成への影響は、イネとシロイヌナズナで異なっており、今後さらなる検討が必要である。双子葉植物での有効性が確かめられたことから、今後は本植物への適用を目指したい。 (小口 太一)



## MinION sequencing technology to characterize unauthorized GM petunia plants circulating on the European Union market

### MinION シークエンス技術の欧州市場における未承認 GM ペチュニアの分析への適用

Fraiture MA *et al.*

2019

Scientific Reports 9: 7141

ベルギー、ハンガリー、チェコ共和国の国研による原著論文。2017年4月、フィンランド食品安全局は国内で流通しているオレンジ色のペチュニアの複数の品種が、未承認の組換え体であることを報告、その後他の EU 諸国でもこれら未承認組換えペチュニアの流通が確認された。これらの未承認ペチュニアが単一のイベントを起源とするものなのか、複数のイベントが存在するのか等を含め、その実態把握は困難であった。そこで、筆者らは、MinION シークエンシング技術を用い、市場の組換えペチュニアの遺伝子型分析を実施し、以下の結果を得た。

- 1) オレンジ色ペチュニアに関する既報：1987年、Meyer らはトウモロコシ A1 遺伝子（ジヒドロフラボノール4-還元酵素；DFR）をペチュニアに導入・発現させることでオレンジ色花卉のペチュニアを得たことを報告していた。
- 2) MinION: Oxford Nanopore technology 社が開発した安価・小型のデバイスによる次世代シークエンスプラットフォーム。PCR 産物をライブラリーとし、直接配列決定することが可能である一方、エラー率は10~20%と比較的高い。
- 3) ペチュニア：ハンガリー及びチェコ共和国の市場から23商品のペチュニアを購入した。
- 4) スクリーニング分析：多くの欧州承認 GM 作物に含まれる標的マーカー配列（p35S、pNOS、tNOS、Cry1Ab/Ac、t35S）、及び未承認マーカー配列（t35S pCAMBIA）、A1 遺伝子及びカリフラワーモザイクウイルス特異的マーカー配列（CAP 及び CRT2）について、定量 PCR 分析を行った。その結果、23商品のうち、花色が黄色の2商品で全てのマーカーが陰性であったのに対し、他21商品は p35S、pNOS、t35S、A1 の4マーカーが陽性、他は陰性という共通のパターンを示した。
- 5) 隣接ゲノム配列の決定：スクリーニング法によって GM と疑われた21承認について、p35S の正方向及び逆方向のプライマーを用いたゲノムウォーキング法によって遺伝子導入位置に隣接するペチュニアゲノム配列を含む DNA 断片を増幅した。100~1500bp の増幅産物を得、これにバーコード配列を付加した後に MinION により配列を決定した。この結果、21商品の全てが Meyer らの既報と同一のコンストラクトを含むことが確認された。また、挿入位置に隣接するペチュニアゲノムの配列もほぼ一致した。
- 6) 本組換えペチュニア特異的プライマーの開発：MinION の配列結果より設計したプライマーを用い、サンガー法によるシークエンスを行い、精度の高い隣接ゲノム配列を得た。これを元

に、隣接ゲノム配列と導入コンストラクト中の $\beta$ ラクタマーゼ遺伝子の間のジャンクション部位をマーカーとするプライマー対を新たに設計した。新たに設計したプライマー対を用いた定量 PCR 分析の結果、21商品全てで増幅を確認した。

- 7) 総括：MinION によるシーケンス解析は、短時間に複数のサンプルのシーケンスの同時分析が可能であり、市場より入手した GM ペチュニアの隣接配列の特徴づけに非常に有効であった。一方で、エラー率は若干高いため、リアルタイム PCR 分析用のプライマー解析にはサンガー法によるシーケンス分析が推奨される。

(小口 太一)



# ERA プロジェクト調査報告

2019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)

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)