
ERAプロジェクト調査報告

June 2020

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・安全性・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。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

2020.06

バイオテクノロジー研究会

2020年の調査報告書第3号（通算第50号）をお届けします。

本号では、No.499において、遺伝子組換えダイズにおける環境影響評価に際し取得された隔離ほ場試験データの横断的評価について報告し、データの国際的可搬性について論じております。この報告はILSI Japanによる支援を受けたプロジェクトでありますので、ご一読ください。

また、No.490において遺伝子組換え食品・飼料の有害性を報じる文献の科学妥当性を精査した総説を、No.496において遺伝子組換え作物の耕作面積と利益との関係性について解析した総説を、No.498において*Bt*作物のパフォーマンスと環境ストレスとの関係性について論じた総説を紹介しています。

遺伝子組換え技術を用いた研究としては、アフラトキシンの蓄積を抑制する遺伝子組換えピーナッツの作出（No.491）、でんぶん組成を改変した遺伝子組換えコムギの作出（No.492）、*Bt*ワタにおける異なる生育期・遺伝子型・作期・地理での*Bt*タンパク質発現安定性（No.493）、*Bt*イネの非標的ウンカに対する生態的抵抗性の発現（No.494）、干ばつ応答性遺伝子の導入による干ばつ耐性イネの作出（No.495）、ジベレリン生合成量改変による多収・ストレス耐性の遺伝子組換えイネの作出（No.497）を紹介しています。

なお、これまでの調査報告書は、以下のURLで閲覧可能です。

<http://www.ilsijapan.org/ILSIJapan/COM/Rcom-bi.php>

目次

No.490	GM 食品 / 飼料の有害影響の証拠として通常引用される科学的研究の資質 Characterization of scientific studies usually cited as evidence of adverse effects of GM food/feed	1
No.491	アフラトキシンを寄せ付けないピーナッツ：閾値が重要 Peanuts that keep aflatoxin at bay: a threshold that matters	2
No.492	デンプン合成必須酵素遺伝子に対する突然変異の組合せによる コムギ穀粒のアミロース含量、炭水化物配分、種子硬度の変動 Combining mutations at genes encoding key enzymes involved in starch synthesis affects the amylose content, carbohydrate allocation and hardness in the wheat grain	3
No.493	生育期・遺伝子型・作期・地理的位置を網羅する Bollgard-II 交雑種における Cry1Ac 及び Cry2Ab2 タンパク質の発現の安定性 Stability of expression of Cry1Ac and Cry2Ab2 in Bollgard-II hybrids at different stages of crop growth in different genotypes across cropping seasons and multiple geographies	4
No.494	<i>Bt</i> イネによる非標的ウンカに対する生態的抵抗性発現の可能性 <i>Bt</i> rice could provide ecological resistance against nontarget planthoppers	5
No.495	<i>OsASR5</i> 遺伝子導入に基づく ABA 及び H_2O_2 をシグナルとした 気孔閉鎖機能による干ばつ耐性イネの作出 <i>OsASR5</i> enhances drought tolerance through a stomatal closure pathway associated with ABA and H_2O_2 signalling in rice	6
No.496	遺伝子組換え作物：全世界及びラテンアメリカにおける動向とダイナミクス Transgenic crops: trends and dynamics in the world and in Latin America	7
No.497	イネにおける特定の変異型 GA2酸化酵素遺伝子の異所的発現による 収量及びストレス耐性向上 Ectopic expression of specific GA2 oxidase mutants promotes yield and stress tolerance in rice	8
No.498	<i>Bt</i> 作物のパフォーマンスに対する環境ストレスの影響 The Impact of Environmental Stress on <i>Bt</i> Crop Performance	9
No.499	日本の遺伝子組換えダイズの環境リスク評価のための隔離ほ場試験による ファミリーアリティの蓄積 Consideration of familiarity accumulated in the confined field trials for environmental risk assessment of genetically modified soybean (<i>Glycine max</i>) in Japan	10

Characterization of scientific studies usually cited as evidence of adverse effects of GM food/feed

GM 食品 / 飼料の有害影響の証拠として通常引用される科学的研究の資質

Sánchez MA and Parrott WA

2017

Plant Biotechnology Journal 15: 1227-1234

ChileBio (CropLife チリ) 及び米国大学研究者によるレビューである。GM 作物は史上最も研究された作物である。GM 作物の安全性に関する研究のうち有害性を報じるのは 5% であるが、これらがメディアでとりあげられ、危険性が誇大宣伝されている。これらの報告は、極少数の GM 作物を対象としているにも関わらず、すべての GM 作物へ疑義を呈すために利用され、さらに、少数の実験室から、重要性・客観性が低い季刊誌に出版されている。著者らは既往 51 文献から GM 作物の有害性を報じる 35 文献を選出・精査し、以下の結果を得た。

- (1) 精査 35 論文：1) 出典：GM 食品 / 飼料の有害影響を報じる 4 レビュー (Domingo and Bordonaba, 2011; Dona and Arvanitoyannis, 2009; Magaña-Gómez and de la Barca, 2009; G-E. Seralini, 2011) が有害性の根拠として引用する論文、並びに GM Free USA、GM Free India 及び GM Watch がインターネット上で引用する論文から選抜。2) 主要対象イベント：①除草剤耐性ダイズ 40-3-2 (43%)；②害虫抵抗性トウモロコシ MON810 (23%)；非市場化バレイショ・エンドウ (9%)；その他トウモロコシ NK603、MON863、BT176 など。20% の文献はイベント名不記載。3) 35 論文の地理的分布：数地域・数実験室に特化されている。20 論文 (57%) は欧州、うちイタリア 15 論文 (43%)；エジプト 6 論文 (17%)；米国 1 論文 (オーストラリアで論文化)。4) 被引用論文の頻出著者：Malatesta グループ (イタリア) 11 論文；Trabalza-Marinucci (イタリア)；Tudisco と Infascelli (イタリア) 4 論文；Seralini (フランス) 3 論文。
- (2) 精査 35 論文の科学的資質：GM 食品 / 飼料の安全性に関しては特に次の 3 点が重要である (EFSA2011、ILSI2008、Codex など)。1) 対照と試験品種とは同質遺伝子系統であるべきであり、同一の起源 (例：同一圃場；類似条件；同一作期) であるべきである。これにより対照と試験区との間の栄養的差異を縮小できる。2) 試験開始前に正しい統計的手法が選択され、試験を通じて便宜的に変更されるべきではない。さらに統計的有意差は必ずしも生物学的に有意とは限らない。共通同一種間の生理学的パラメーター (母数) の通常範囲を考慮すべきである。3) 十分に正しく設計された GM 給餌試験において、若干の差異・変異が観察された場合には、同様な効果を示さなかった同様な既往の他研究と対比されるべきである。結果の喰い違いは想定できる概説を持って論述されるべきである。35 論文はこれら 3 点の一部あるいはすべてを侵害しており、科学的に適正なものはない。(本文中にはこれらの不完全・不適当な多数の例示があるが省略する)。
- (3) 総括：GM 食品 / 飼料の有害影響を示すものとして通常引用される 35 論文を選出して精査を行った。その結果これらのすべての論文には材料・手法・検討に誤りが存在し、GM 食品 / 飼料の有害影響を支持する科学的論文の資質を有していないことが明示された。

(林 健一)

Peanuts that keep aflatoxin at bay: a threshold that matters

アフラトキシンを寄せ付けないピーナッツ：閾値が重要

Sharma KK *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal 16: 1024-1033

国際半乾燥熱帯作物研究所（ICRISAT、在インド）及び米国農務省・大学研究者による原著論文である。アフラトキシンは、*Aspergillus flavus* 及び *A. paraciticus* が産生する免疫抑制・発がん性猛毒物質である。サブサハラアフリカ及び南アジア途上国では高い濃度のアフラトキシンを含有しているピーナッツ・ピーナッツバターが市販され、約20億人が欧州の安全閾値4 ppbをはるかに超える量を摂食している。生育中のピーナッツはアフラトキシン産生菌が滞留している土壌により汚染され、産生菌の分生孢子・菌核に感染する収穫前感染が増大する。アフラトキシン産生菌抵抗性ピーナッツの開発は長年の課題であった。著者らは *A. flavus* 感染抵抗性遺伝資源の開発を目的に戦略的研究を行い、以下の結果を得た。

- (1) 抵抗性発現二重戦略：1) 微生物抵抗性ポリペプチド (defensins) によるアフラトキシン防御、2) 侵入 *A. flavus* に対する宿主誘導性遺伝子サイレンシング (HIGS) によるアフラトキシン産生抑制
- (2) 組換えピーナッツの作出：*A. flavus* 羅病性品種 JL24に、アグロバクテリウム法によって *Medicago sativa* または *M. truncatula* 由来の抵抗性遺伝子を導入した OE-Def 系統、及びアフラトキシン生合成遺伝子に対する逆位反復配列を導入した HIGS 系統を得た。1) OE-Def イベント：*defensin* 遺伝子を過剰発現し、発現タンパク質は細胞外あるいは小胞体に保持される。2) HIGS イベント：*A. flavus* のアフラトキシン産生を宿主植物誘導性 RNAi により抑制した組換え体である。1) からは16の T₁ イベント、2) からは8つの T₁ イベントが、T₂、T₃ 世代へ進められた。
- (3) 組換えピーナッツの *A. flavus* 感染抵抗性：完熟ピーナッツ子葉に対し、1 ml 当たり 5×10^4 *A. flavus* 孢子濃度の生物検定を行い、72時間後に調査した。西アフリカ産アフラトキシン汚染抵抗性品種 (RC) も対称区として用いた。1) 侵入・コロニー形成抵抗性：OE-Def 系統は、極めて効果的に侵入・コロニー形成を抑制した。一方、OE-Def 系統からの null segregate (以下 null)、野生型 JL24、RC、HIGS 系統は抵抗性が低く、かなりのコロニー形成を示した。2) アフラトキシン蓄積量：蓄積量の野生型に対する低下率は OE-Def 系統が98.5~99.0%、HIGS 系統は85.0~99.9%であった。特に OE-Def の数系統は2 ppb 以下であったのに対し、null は2000 ppb 以上、RC は500 ppb 以上の蓄積量であった。同様に、HIGS 数系統も、null、野生型、RC に対し、有意性の高い蓄積量の低下を示した。
- (4) 抵抗性の世代間安定性：自殖数世代を通じて抵抗性は一貫して安定した発現を示し、世代間の確実な伝達を示した。
- (5) 総括：猛毒性アフラトキシンに対する抵抗性発現のための二重戦略により、*A. flavus* の感染・増殖、アフラトキシンの蓄積をほぼ完全に抑制する組換えピーナッツ系統が作出された。本成果の食品安全性問題に対する貢献が期待される。

(林 健一)

Combining mutations at genes encoding key enzymes involved in starch synthesis affects the amylose content, carbohydrate allocation and hardness in the wheat grain

デンプン合成必須酵素遺伝子に対する突然変異の組合せによる
コムギ穀粒のアミロース含量、炭水化物配分、種子硬度の変動

Botticella E *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal 16 : 1723-1734

イタリア及びデンマークの大学研究者による原著論文である。コムギ胚乳の70~80%はデンプンであり、通常アミロース：アミロペクチン比は1：3である。この組成の変更は、コムギ粉の種々の特性に大きな変化をもたらす。著者らは突然変異誘発手法により、3段階のアミロース組成の変異系統を作出し、その生理化学的特性及び機能性を調査し、以下の結果を得た。

- (1) アミロース及びアミロペクチンの一般的特性：アミロースが無いコムギデンプンは糯性(waxy)と云われ、水分吸収・保持性が高く硬化が遅く、低温貯蔵性が高く、食品及びバイオ燃料としての評価が増加している。一方、アミロースは消化されるのが遅く過食による超過カロリー摂取のリスクが低い。また膵臓酵素への抵抗力が高く、大腸の微生物叢の基質として持続し、レジスタントスターチ(難消化性デンプン)として評価されている。
- (2) アミロース含量3段階の突然変異系統の作出：コムギ品種 Cadenza (アミロース比34%)のデンプン合成主要3種類の遺伝子(顆粒結合性澱粉合成酵素遺伝子(*GBSSI*)、可溶性澱粉合成酵素遺伝子(*SSIIa*)、デンプン分岐酵素遺伝子(*SBEIIa*))のそれぞれを標的に、突然変異誘発によるノックアウト操作を行い、最終的に3段階のアミロース含量、突然変異系統を作出した。
 - 1) *GBSSI* 変異体 (アミロース含量0%)：①親品種と類似特性：平均粒重・全デンプン含量・アミロペクチン構造・レジスタントスターチ比率、②親品種より増加した特性：結晶性(野生型46%から54%への増加、結晶の大半はA型)・種子硬度18%増・糊化温度2%増等であった。
 - 2) *SSIIa* 変異体 (アミロース含量46%)：親品種に対し、種子重30%減、全デンプン含量33%減、レジスタントスターチ比率7倍増、デンプン粒は通常の楕円形球あるいは円形粒状の形態がくずれている。結晶性は変化少なかったが、ほとんどV型であった。種子硬度は30%増、糊化温度は低下、水分吸収低下、粘度低下がみられる。
 - 3) *SBEIIa* 変異体 (アミロース含量79%)：平均種子重及び全デンプン含量は増減なし。種子硬度38%増、レジスタントスターチ比率36倍増、結晶性は39%へ低下大半はV型、大型楕円球デンプン粒は変形し、円形粒は消失した。ゼラチン化温度は上昇、*SSIIa* 変異体と同様の粘度低下がみられた。
- (3) 主要特性値の親品種との比較(1)・(2)・(3)系統の順に列記)：①種子百粒重(g)：4.7・4.5・3.3・4.2；②種子硬度：61.8・73.5・80.5・86.1；③全デンプン(%)：58.9・57.2・38.6・57.0；④レジスタントスターチ比率(%)：0.2・0.2・1.4・7.2；⑤結晶性(%)：46・54・43・39；⑥A型結晶性(%)：78・93・30・32。
- (4) 非デンプン炭水化物：野生型コムギ穀粒に含まれる非デンプン炭水化物は、フルクタン(穀粒重の2.8%)、水溶性アルファグルカン(2.05%)、ショ糖(1.7%)など。これらの炭水化物は一般に突然変異系統の方が高い傾向がある。
- (5) 総括：コムギのデンプン合成主要3遺伝子に対し、突然変異ノックアウト手法の適用により、アミロース含量3段階(0、46、79%)の変異系統が作出され、それらの穀粒及びデンプンの変化が調査された。アミロース・アミロペクチン比の変異性の理解は各種の食品・非食品産業にとって有益であり、本研究の結果が有効利用されることが期待される。

(林 健一)

Stability of expression of Cry1Ac and Cry2Ab2 in Bollgard-II hybrids at different stages of crop growth in different genotypes across cropping seasons and multiple geographies

生育期・遺伝子型・作期・地理的位置を網羅する Bollgard-II 交雑種における Cry1Ac 及び Cry2Ab2タンパク質の発現の安定性

Dhanaraj AL *et al.*

2019

Transgenic Res 28 : 33-50

モンサント研究センター（インド）及びモンサント社（米国）の研究者による原著論文である。インドは現在世界第一のワタ生産国である。これは2006年以來の *Bt* ワタの栽培によるものである。栽培地域は、北部（短期栽培・灌漑）及び中・南部（長期栽培・灌漑又は天水）であり、770万人以上が、1,160万 ha の *Bt* ワタ栽培に従事している。著者らはこれら *Bt* ワタ（Bollgard-II）が発現する2種類—Cry1Ac 及び Cry2Ab2—の *Bt* タンパク質について大規模な調査を行い、膨大なデータを取りまとめて以下の結果を得た。

- (1) 調査対象形質：1) *Bt* タンパク質：2種類；2) シーズン（作期）：12（2009–2015）；3) 交雑種：種内（166）・種間（12）；4) 地域（ロケーション）：38；5) 植物組織：3：頂生葉・未開花さや・さや外果皮；6) 生育時期：6；幼植物／開花／成熟）。
- (2) 各組織平均発現量：作期：地域を網羅した変異は各組織を通じて類似しており、以下の平均発現量（ $\mu\text{g/g}$ 乾物重）を示した。1) Cry1Ac：頂生葉：6.15~11.61；未開花さや：3.82~8.09；さや外果皮：3.35~6.63；2) Cry2Ab2：頂生葉：258.14~542.71；未開花さや：264.45~512.38；さや外果皮：241.09~459.74。
- (3) 各要因及びその傾向：1) 生育時期：両タンパク質とも栄養生長期に発現最高値を示し、以後開花・成熟期へと漸減した。2) hybrid（交雑種）：種内交雑（*Gossypium hirsutum* 同士の交配）166例と種間交雑（*G. hirsutum* × *G. barbadense*）12例とは類似した発現量を示し、交雑種内の差異は顕著ではなかった。3) 地域：38地域間の発現は、類似しており、地域間差は顕著ではなかった。4) 植物組織：3種類の組織間では、未開花さやが最も変動が大であり、他の2組織は相対的に変動が小であった。5) 作期：12の作期は発現量に最大の影響を与えた要因であり、ついで、交雑種×作期×生育時期の交互作用の影響が大であった。6) 接合体種類：インドでは hemizygous（半接合体）が homozygous（同型接合体）より多い。しかし、Cry2Ab2の *Bt* タンパク質の発現量は同型接合体の方が大であった。
- (4) 総括：インドは世界第一のワタ生産国であり、これはワタ交雑種 Bollgard-II が作出する2種類の *Bt* タンパク質—Cry1Ac 及び Cry2Ab2—のワタ害虫 bollworm に対する殺虫性に依存している。この *Bt* タンパク質の安定的・効果的発現を確認するために、作期・地域・遺伝子型・植物組織などを網羅した大規模調査が実施され、全体的に安定的・効果的な *Bt* タンパク質の発現が確認され、*Bt* ワタの存在価値が認識された。

（林 健一）

***Bt* rice could provide ecological resistance against nontarget planthoppers**

Bt イネによる非標的ウンカに対する生態的抵抗性発現の可能性

Wang X *et al.*

2018

Plant Biotechnology Journal 16: 1748-1755

中国及びスイスの研究者による原著論文である。中国は複数の *Bt* イネ系統を開発しており、ニカメイチュウ (*Chilo suppressalis*) を含む鱗翅目害虫の防除に使用されている。これらの *Bt* イネは主として Cry1、Cry2、Cry9タンパク質を発現し、非標的種への直接的毒性は報告されていない。ウンカ (半翅目) もイネの害虫であるが、*Bt* タンパク質には非感受性である。予期しない現象として、*Bt* イネ上のウンカが隣接する非 *Bt* イネへと移動し、その結果 *Bt* イネ上のウンカ (トビイロウンカ及びセジロウンカ) が減少することが多発していた。著者らはこの現象を解明するために種々の調査を行い、以下の結果を得た。

- (1) 標的鱗翅目害虫の *Bt* 及び非 *Bt* イネ上の生存率：ニカメイチュウの切断イネ茎上の生存率は、1 令幼虫 5 日後の非 *Bt* イネ上は 87.6%、*Bt* イネ上は、0.00% であり、*Bt* イネのニカメイチュウ防除は完全である。3 令幼虫 3 日後では非 *Bt* イネ 83.7%、*Bt* イネ 83.0% と有意差は消失したが、非 *Bt* イネ上のニカメイチュウの体重は *Bt* イネ上より有意に大であり、*Bt* イネのニカメイチュウに対する抑制効果が示された。
- (2) ニカメイチュウ幼虫食害 *Bt* 及び非 *Bt* イネに対するトビイロウンカの選択：室内試験では、非食害 *Bt* イネ及び非 *Bt* イネに対するトビイロウンカの選択性はなかった。しかし食害をうけたイネに対しては、*Bt* イネあるいは非 *Bt* イネの区別なく、顕著な選択性が示された。*Bt* イネ及び非 *Bt* イネがともに食害を受けた場合はトビイロウンカの吸汁性は選択性を示さなかった。以上からトビイロウンカは *Bt* あるいは非 *Bt* に対する選択性はなく、ニカメイチュウ幼虫による食害イネに対する顕著な選択性を有することが示された。
- (3) ニカメイチュウ幼虫食害有あるいは無のイネ上のトビイロウンカの適応度：生育 8 日のトビイロウンカ若虫の新鮮重は、ニカメイチュウ幼虫食害イネ吸汁区が非食害イネ吸汁区より有意に大であった (*Bt* イネ区)。これによりトビイロウンカの適応度はニカメイチュウ幼虫食害区で有意に増大することが示された。
- (4) 圃場におけるトビイロウンカの行動：ニカメイチュウ卵を接種後 20、30、40 日後の圃場からのトビイロウンカの量はニカメイチュウ幼虫食害の非 *Bt* イネ区が微食害の *Bt* イネ区より有意に多かった。
- (5) ニカメイチュウ幼虫の加害の誘因となる食害イネにおける揮発性物質の生成：非 *Bt* イネに常在する 36 物質の大半 (55.6%) は食害により顕著に増加した。特に 3~80 倍に著増した 4 物質は既往の研究によりトビイロウンカが好むことが示されている。同様に既知 50 種類のアミノ酸の 74% が食害により有意に増加していた。
- (6) 生態的抵抗性：以上の結果は、標的害虫幼虫による食害減少により、*Bt* イネがウンカに対する生態的抵抗性を発揮したと集約される。
- (7) 総括：鱗翅目 (ニカメイチュウ) 抵抗性 *Bt* イネ上のウンカ類 (トビイロウンカ) の数は、ニカメイチュウ非抵抗性非 *Bt* イネよりも顕著に少ない現象が多発している。これはニカメイチュウ幼虫の食害を受けた非 *Bt* イネが、トビイロウンカの嗜好性が高い揮発性物質を発生し、またイネ体内により多くのアミノ酸が生成されることにより、トビイロウンカが誘引されることが原因であった。この結果、鱗翅目抵抗性 *Bt* イネは非標的のウンカ類に対して、「生態的抵抗性」を有すると集約される。

(林 健一)

OsASR5 enhances drought tolerance through a stomatal closure pathway associated with ABA and H₂O₂ signalling in rice

OsASR5遺伝子導入に基づく ABA 及び H₂O₂をシグナルとした気孔閉鎖機能による干ばつ耐性イネの作出

Li J *et al.*

2017

Plant Biotechnology Journal 15: 183-196

中国・韓国・国際イネ研究所（在フィリピン）の研究者による原著論文である。干ばつは世界の農作物の生育・収穫に大損害を与える最強ストレスのひとつである。イネについても、長期的水不足の予測から、干ばつ耐性品種の作出が重要課題であるが、進展は遅い。著者らは陸稲から干ばつ耐性遺伝子の利用による干ばつ耐性系統の作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) ASR 遺伝子の陸稲及び水稲における発現の様相：作物の干ばつ耐性に関与するアブシジン酸シグナル伝達遺伝子、*ASR* (*Abscisic acid, stress and ripening*) 遺伝子の発現の様相を、陸稲品種 IRAT109及び水稲品種日本晴について調査した。イネが所有する6つの *ASR* のうち、*OsASR5* 遺伝子について調査を進めた。*OsASR5* 遺伝子は干ばつにより幼植物から成熟期にかけて各種の器官に発現したが、生殖生長期の葉鞘及び茎組織における発現レベルは IRAT109が日本晴より高かった。さらに、PEG、NaCl、低温、ABA、エチレンによる処理1~2時間後に *OsASR5* は著増した。これらの結果、*OsASR5* は複数のストレスに反応して増加し、特に陸稲で顕著なことがわかった。
- (2) イネにおける *OsASR5* による浸透圧及び干ばつ耐性の発現：大腸菌及びシロイヌナズナを用いた予備試験の後に、イネについて調査した。*OsASR5* を水稲品種日本晴に導入し、組換え7系統のうち発現の高かった2系統について調査を進めた。NaClあるいはマンニトールによる浸透圧ストレス条件下で、*OsASR5* 系統は対照より枝条の生育及び新鮮重が大であり、阻害程度が低かった。また生育3週間の幼植物の PEG による浸透圧ストレス処理からの回復率は、対照が21.6~22.5%に対し、*OsASR5* 系統は31.6~52.5%の高率を示した。さらに分けつ期1週間の灌漑中断処理からの回復率は、対照の5.5~6.6%に対し *OsASR5* 系統は33.3~41.1%と有意に高かった。干ばつ条件下での葉の相対水分含量も有意に高く、水分蒸発抑制が認められた。
- (3) 気孔開度の変化：干ばつ条件下での *OsASR5*：対照の気孔開度は完全閉鎖が62.0：43.1%；一部開口は36.7：54.4%；完全開口には有意差はなかった。気孔密度には差がなかったが、気孔開度 (conductance) は前者が有意に低かった。
- (4) アブシジン酸 (ABA) 代謝への影響：干ばつ条件下で内在 ABA は組換え・対照の両系統で増加するが、増加程度は組換え系統が対照より顕著に大である。この ABA の増加により、気孔閉鎖、機能が作用し、より高い相対含水量が維持されている。
- (5) 干ばつストレスによる H₂O₂ 発生：葉身の H₂O₂ 濃度が上昇しこれにより気孔閉鎖機能が増大することが示された。
- (6) 総括：陸稲品種 IRAT109由来の *OsASR5* の導入により、干ばつ耐性イネ系統が作出された。同系統は干ばつ条件下で葉のアブシジン酸及び H₂O₂ の発現量が増大し、気孔閉鎖機能が作用して、体内水分含量が相対的に高く維持され、干ばつ耐性を有することが確認された。本系統の育種的利用が期待される。

(林 健一)

Transgenic crops: trends and dynamics in the world and in Latin America

遺伝子組換え作物：全世界及びラテンアメリカにおける動向とダイナミクス

Barragán-Ocaña A *et al.*

2019

Transgenic Res 28: 391-399

メキシコの国研研究者による情報短報である。遺伝子組換え作物は現在、世界的に栽培されている。しかし、遺伝子組換え作物支持論者と反対論者との間の長い間の争点でもある。著者らは1996～2016年の20年間の遺伝子組換え作物生産及び栽培面積と利益との間の関係の動向とダイナミクスについて種々の統計的手法を用いて調査し、以下の結果を得た。

- (1) 遺伝子組換え作物の栽培面積：1996年の170万 ha から2016年の1億8500万 ha へと増加した。ラテンアメリカの栽培面積（100万 ha）は、ブラジル49.1、アルゼンチン23.8、パラグアイ3.6、ウルグアイ1.3、メキシコ0.1である。域内の特定国では、遺伝子組換え作物栽培への支援的政策が認められる。アルゼンチン・ブラジル・パラグアイ・ウルグアイの面積増は全世界の面積増と高い相関を示している。
- (2) 耕作地当たりの利益率の解析：1996年から2016年の間に、組換え作物の栽培は、年平均7万米ドルの利益を生み出した。換算すると世界規模で平均14.86 ha 毎に100万米ドルの利益を生み出す。この割合は、期間を通して一様であり、遺伝子組換え作物の耕作地と利益の間には決定論的な関係があると理解される。
- (3) 遺伝子組換え作物支持論と反対論の要点：1) 支持論：生産増加とコスト削減は、最終的に消費者に利益を与えると主張されている。バイオテクノロジーに関しては研究及び市場化の経験が豊富であり、蓄積された知識はすでにいくつかの農業的問題の解決に貢献している。今後さらに対応を強化すべき分野として、耐旱性作物、生産性向上、作物栄養価、気候変動などがある。2) 反対論：環境及び人畜の健康への懸念に固執している。基本的問題は、環境及び経済的関心、知的所有権、政治的問題である。より直接的には、遺伝子組換え品種の在来慣行品種への望ましくない交雑、大規模栽培での遺伝子組換え種子の混入と農家の出費増加、在来品種の保全などである。これらの反対論は米国・カナダなどの遺伝子組換え作物大国では常在しており、ラテンアメリカ主要国～ブラジル・アルゼンチン・チリ・メキシコ・コロンビア～などでも対応が求められている。
- (4) 総括：遺伝子組換え作物の作出と市場化は、ラテンアメリカを含む全世界的傾向である。1996～2016年の20年間の遺伝子組換え作物栽培面積増加とそれらのもたらす利益との関連について、種々の統計的手法により解析がなされた。遺伝子組換え作物の耕作面積と利益の間には決定論的な関係があるものの、政治的背景によりその選択は国ごとに異なり、その利益の恩恵には地域差がある。

(林 健一)

Ectopic expression of specific GA2 oxidase mutants promotes yield and stress tolerance in rice

イネにおける特定の変異型 GA2酸化酵素遺伝子の異所的発現による収量及びストレス耐性向上

Lo S-F *et al.*
2017

Plant Biotechnology Journal 15: 850-864

台湾の国研・大学及び理研の研究者による原著論文である。近年のイネ世界生産量の停滞を背景に不良環境における多収イネ品種の育成が重要な将来課題となっている。著者らは内在ジベレリンの生産量の適度な抑制によるイネの形態 (architecture) 及び機能の向上による多収イネ品種の作出を試み、以下の結果を得た。

- (1) 変異型 OsGA2ox6分子の設計：イネを含む禾穀類の草型と分けつは、ジベレリン (GAs) により抑制されている。特にジベレリン合成の鍵酵素である GA2酸化酵素の一つ、GA2ox6は、内在ジベレリンの生産を種々の程度に弱めることでイネの形態と機能を変化させている。そこでアミノ酸置換を導入した変異型 GA2ox6をイネ (品種台中65) で発現させて変異による影響を評価した。その結果、特に効果が大きかった141番目及び343番目のアミノ酸を置換した、2つの変異型 GA2ox6 (A141E 及び G343A) の過剰発現体について以下の解析を行った。非形質転換体 (NT) 及び野生型 OsGA2ox6の過剰発現体 (GA2ox6-WT) を対照として用いた。
- (2) 組換えイネの主要形質値：1) 農業形質：NT・A141E・G343A・GA2ox6-WT の順に列記した。草丈 (cm)：63.3・40.7・25.2・12.3；有効分けつ数/株：10.6・13.5・16.2・12.9；一株粒数：900・1130・870・470；収量 (ton/ha)：4.22・4.92・3.28・na；収穫指数：0.55・0.77・0.89・na；茎葉/根 (比数)：100・70・68・64；全葉緑素 (NT=100)：100・135・120・130；光合成速度：100・117・121・127；2) 環境ストレス耐性：乾燥：100・300・360・250；塩害：100・130・160・190；熱：100・100・170・190；低温：100・120・130・150；3) 耐病性：白葉枯病 (感染領域：cm)：2.5・1.2・1.1・0.8；苗立枯病 (苗重減少率)：30%・15%・15%・15%；バカ苗病 (病菌移動距離 (cm)：3.5・1.3・1.0・0.8以上から、GA2酸化酵素である GA2ox6の変異による内生ジベレリンレベルの変化により、突然変異体 A141E では、草丈短縮、有効分けつ増加、根の伸長増大、葉緑素・光合成速度増大、ストレス耐性・耐病性向上などのメリットを生じている。G343A は、収量では A141E より低い、ストレス耐性・耐病性では A141E 以上の結果が得られている。
- (3) New Plant type (NPT) への接近：緑の革命以後の新しい多収イネ草型 (NPT) は、少けつ (9-10本/株)；無効分けつ消失；200-280粒/穂；直立濃緑厚葉；高活性深根などが提唱されている。本研究の A141E 過剰発現体はいくつかの特性においてこの NPT に接近していると考えられる。
- (4) 総括：GA2酸化酵素 GA2ox6の変異酵素により、内在ジベレリンの生産が変化し、イネの形態及び機能が向上し、New Plant type に接近した多収イネ系統作出の道筋が示された。本手法の他作物への応用が期待される。

(林 健一)

The Impact of Environmental Stress on *Bt* Crop Performance

Bt 作物のパフォーマンスに対する環境ストレスの影響

Girón-Calva PS *et al.*

2020

Frontiers in Plant Science 10: 3389

スペイン、英国の大学及び公的研究期間、民間環境コンサルタント会社の研究者による総説。*Bt* 作物は20年以上にわたって商業的に栽培され、標的害虫の防除において非常に効果的であることが証明されている。しかしながら、その害虫防除効果は環境要因により変動する。筆者らは、*Bt* 作物の害虫防除効果と環境ストレスの関連性に関する研究論文（約70報）を精査し、将来にわたり *Bt* 作物の恩恵を維持するための方策を考察する。

- (1) 導入遺伝子発現の変動と害虫防除効果の変動：*Bt* 遺伝子の転写活性は器官や成長ステージによって変動し、転写レベルと摂食した標的害虫の生存率は負の相関関係がある。加えて、*Bt* タンパク質の蓄積レベルは、単純に転写レベルだけでなく、気温、塩ストレス、干ばつストレス及び高 CO₂濃度等の環境ストレスにも影響を受ける。ただ、環境ストレスによる *Bt* タンパク質の蓄積レベルの変動は環境条件や作物によっても異なり、一般化することは難しい。
- (2) 一次代謝との関係：ストレスは植物の一次代謝に影響を与え、特に窒素代謝の低下は *Bt* タンパク質の蓄積レベルと相関がある。例えば、高温、干ばつ、及び高 CO₂条件は総可溶性タンパク質量を低下させ、それに伴って *Bt* タンパク質量も低下する例が多く知られる。ただ、塩やオゾンストレス下では、総可溶性タンパク質量と *Bt* タンパク質量の挙動が一致しないケースもある。
- (3) 二次代謝との関係：植物のテルペノイドやグルコシノレート等の二次代謝物は、抗害虫作用を持つ。これらの二次代謝物と *Bt* タンパク質の害虫防除効果の間に正又は負の相関があることが知られる。
- (4) データの頑健性：これまでの *Bt* 作物の害虫防除効果と環境要因の試験は、チャンバーや温室等の制御された環境によるものが殆どである（野外圃場1例）。屋外では、様々な生物学的要因及び非生物学的要因が複雑な相互作用が存在し、模式化された実験環境での試験結果が圃場試験では再現されないケースも多い。今後、より多くの圃場試験データが求められる。
- (5) 総括：*Bt* 作物の標的害虫防除効果は、環境要因による *Bt* タンパク質レベルの変動、植物の害虫防除効果のある二次代謝物生産との相互作用等により変動する。将来にわたり *Bt* 作物の有用なパフォーマンスを維持するには、植物と害虫の間のより詳細な相互作用、植物・害虫双方の環境要因による影響等に関する学際的な理解が必要である。

(小口 太一)

Consideration of familiarity accumulated in the confined field trials for environmental risk assessment of genetically modified soybean (*Glycine max*) in Japan

日本の遺伝子組換えダイズの環境リスク評価のための隔離ほ場試験によるファミリアリティの蓄積

Matsushita A *et al.*

2020

Transgenic Res 29: 1596-1605

デュポン・プロダクション・アグリサイエンス、バイエル クロップサイエンス、ダウ・アグロサイエンスの日本法人、及び筑波大学の研究者による原著論文。日本での遺伝子組換え作物の認可に係る環境リスク評価では、原則、日本の国内で実施した隔離ほ場試験データによる環境影響評価が求められる。著者らは、これまでに日本での認可承認に際して行われた11件の遺伝子組換えダイズの隔離ほ場試験データの横断的評価から以下の報告を行った。

- (1) 対象とした隔離ほ場試験：①イベント：Dow AgroSciences 社、DuPont Pioneer 社、Monsanto 社が開発し、日本で承認済みの組換えダイズ11イベント。付与特性は、除草剤耐性、害虫抵抗性、栄養成分改変、及びそのうち2つの組み合わせ。②実施時期：2005～2015年。③場所：茨城、栃木、静岡、福岡。
- (2) 農業特性：11の隔離ほ場試験で測定された農業特性（発芽率又は苗立率、開花期、成熟期、主茎長、節数、枝の数、莢数、裂莢性）は、それぞれの組換え体と対照非組換え体の間で差はなかった（一部例外）。また、11隔離ほ場試験をまたぎ、それぞれの農業形質について、組換え体の値及び対となる対照非組換え体の値を x 軸、y 軸に撮った分散図プロットの相関分析では、全ての形質において相関係数0.8以上の高い相関がみられた。
- (3) 耐冷性及び越冬性：至適条件下で発芽させた幼植物体を4℃のチャンバー又は平均気温3℃の屋外に移したところ、2-5週間で全ての組換え体及び対照非組換え体は枯れた。また、収穫後一部残した植物はいずれも冬季を通じて生存することは無かった。
- (4) 花粉：開花前の蕾から花粉を採取して花粉の生存率を評価した結果、いずれの組換え体も対照非組換え体の間に差はない。花粉サイズも同様に差はない。
- (5) 生産性：MON-87708-9は個体あたりの総穀粒重及び100粒重が対照非組換え体より有意に高かった。MON887705-6の100粒重、MON87751-7の個体あたりの総穀粒もそれぞれの対照非組換え体より有意に高かった。
- (6) 発芽率（又は苗立率）：隔離ほ場試験により得た種子の発芽率（苗立率）は全て90%以上であり、組換え体と対照非組換え体の間に有意な違いはなかった。
- (7) 後続作物の影響：後作試験及び鋤込み試験により評価した。いずれの試験でも、組換え体区及び対照非組換え体区の間で、検定植物としたダイコン実生の発芽率及び成長に統計的な有意な差は無かった。
- (8) 土壌微生物：栽培期間中の植物の株元から土壌サンプルを採取し、希釈平板培養法にて、糸状菌、細菌及び放線菌のコロニー形成数を評価した。組換え体及び対照非組換え体から採取した土壌の間に統計的有意差はなかった。
- (9) 交雑性試験：組換えダイズに隣接して非組換えダイズを栽培し、組換え体からの花粉による他殖率を評価した。11イベントほとんどで他殖はない（0%）か、他殖が観察された場合でも0.10～0.23%であり自然交雑の範囲内であった。
- (10) ダイズのファミリアリティの向上への貢献：農業特性値は、隔離ほ場試験毎に変動があるが、それぞれの試験における組換え体と対照非組換え体の間では高い相関が認められることから、環境による変動が大きいと考えられる。日本での遺伝子組換え植物の安全性評価は宿主植物のファミリアリティが基準となっており、今後さらに観測データを集積していくことで安全性評価の信頼性向上に役立つ。
- (11) 評価データセットの国際可搬性：現在、日本の組換え作物の生物多様性影響評価では、トウモロコシ及びワタでのみ外国で取得されたデータの可搬性が認められている（一部特性のみ）。今回評価した日本で実施した11イベントの組換え体と対照非組換え体の相関プロットに米国で実施されたこれらの11イベントの結果をプロットしたところ、日本で実施した隔離ほ場試験結果の変動の範囲内であり、かつ高い相関性が示された。このことは、ダイズでも米国で収集されたデータセットが環境影響評価に利用可能であると考えられる。
- (12) 総括：組換えダイズの環境影響評価に際する隔離ほ場試験で蓄積されたデータはダイズのファミリアリティ向上に寄与する。それにより、わが国での組換えダイズの環境影響評価に米国で収集されたデータセットを利用した評価の可能性が示された（なじみ深い特性のみ）。米国でのCFTは日本で行われるCFTよりも大規模に行われており、データセットの信頼性は高いと考えられ、開発者と規制当局の両方に対する規制対応の負担軽減及びリスク評価の質の向上に寄与する可能性がある。

(小口 太一)

ERA プロジェクト調査報告

2020年6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東京都千代田区麴町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)