

(提案 11)

(案)

報告

植物における新育種技術（NPBT：New Plant
Breeding Techniques）の現状と課題



平成 26 年（2014 年）〇月〇日

日 本 学 術 会 議

農学委員会・食料科学委員会合同 遺伝子組換え作物分科会
農学委員会 育種学分科会
基礎生物学委員会・統合生物学委員会・農学委員会合同
植物科学分科会

この報告は、日本学術会議農学委員会・食料科学委員会合同 遺伝子組換え作物分科会、農学委員会 育種学分科会、基礎生物学委員会・統合生物学委員会・農学委員会合同 植物科学分科会の審議結果をとりまとめ公表するものである。

日本学術会議農学委員会・食料科学委員会合同 遺伝子組換え作物分科会

委員長	佐藤 文彦（連携会員）	京都大学大学院生命科学研究科教授
副委員長*	鎌田 博（連携会員）	筑波大学大学院生命環境科学研究科教授
副委員長	西尾 剛（連携会員）	東北大学大学院農学研究科教授
幹 事	射場 厚（連携会員）	九州大学大学院理学研究院教授
	西澤 直子（第二部会員）	石川県立大学生物資源工学研究所教授
	福田 裕穂（第二部会員）	東京大学大学院理学系研究科教授
	石毛 光雄（連携会員）	独立行政法人農業生物資源研究所フェロー
	大杉 立（連携会員）	東京大学大学院農学生命科学研究科教授
	河野 重行（連携会員）	東京大学大学院新領域創成科学研究科教授
	小山 博之（連携会員）	岐阜大学応用生物科学部教授
	三枝 正彦（連携会員）	豊橋技術科学大学先端農業バイオリサーチセンター特任教授
	立川 雅司（連携会員）	茨城大学農学部教授
	塚谷 裕一（連携会員）	東京大学大学院理学系研究科教授
	野並 浩（連携会員）	愛媛大学農学部教授

*平成 26 年 3 月まで

日本学術会議農学委員会 育種学分科会

委員長	倉田 のり（第二部会員）	情報・システム研究機構国立遺伝学研究所系統生物研究センター長・生物遺伝資源センター長教授
副委員長	奥野 員敏（連携会員）	筑波大学北アフリカ研究センター研究員
幹 事	辻本 壽（連携会員）	鳥取大学乾燥地研究センター教授
幹 事	吉村 淳（連携会員）	九州大学大学院農学研究科教授
	石毛 光雄（連携会員）	独立行政法人農業生物資源研究所フェロー
	一井眞比古（連携会員）	一般社団法人国立大学協会専務理事、香川大学名誉教授
	祝前 博明（連携会員）	京都大学大学院農学研究科教授
	大杉 立（連携会員）	東京大学大学院農学生命科学研究科教授
	岡本 信明（連携会員）	東京海洋大学海洋科学部教授
	国分 牧衛（連携会員）	東北大学大学院農学研究科教授
	佐々木卓治（連携会員）	東京農業大学総合研究所教授
	高垣美智子（連携会員）	千葉大学大学院園芸学研究科教授
	武田 和義（連携会員）	岡山大学名誉教授
	西尾 剛（連携会員）	東北大学大学院農学研究科教授
	津村 義彦（特任連携会員）	独立行政法人森林総合研究所森林遺伝研究領域長

日本学術会議 基礎生物学委員会・統合生物学委員会・農学委員会合同 植物科学分科会

委員長	福田 裕穂（第二部会員）	東京大学大学院理学系研究科教授
副委員長	佐々木卓治（連携会員）	東京農業大学総合研究所教授
幹事	河野 重行（連携会員）	東京大学大学院新領域創成科学研究科教授
幹事	西谷 和彦（連携会員）	東北大学大学院生命科学研究科教授
	岡田 清孝（第二部会員）	自然科学研究機構理事
	鎌田 博（連携会員）	筑波大学大学院生命環境科学研究科教授
	川井 浩史（連携会員）	神戸大学自然科学系先端融合研究環内海域環境教育研究センター教授
	黒岩 常祥（連携会員）	東京大学名誉教授、日本学士院会員
	後藤 英司（連携会員）	千葉大学大学院園芸学研究科教授
	篠崎 一雄（連携会員）	独立行政法人理化学研究所植物科学研究センター長
	篠村 知子（連携会員）	帝京大学理工学部バイオサイエンス学科教授
	高橋 秀幸（連携会員）	東北大学大学院生命科学研究科教授
	塚谷 裕一（連携会員）	東京大学大学院理学系研究科教授
	戸部 博（連携会員）	京都大学名誉教授
	長田 敏行（連携会員）	法政大学生命科学部教授・学部長
	野口 哲子（連携会員）	奈良女子大学理学部教授
	野並 浩（連携会員）	愛媛大学農学部教授
	原 登志彦（連携会員）	北海道大学低温科学研究所・生物環境部門教授
	三村 徹郎（連携会員）	神戸大学理学部教授
	宮尾 光恵（連携会員）	独立行政法人農業生物資源研究所植物生産生理機能研究ユニット長

報告および付録の作成にあたり、以下の方々にご協力いただきました。

土岐 精一	独立行政法人農業生物資源研究所ゲノム機能改変研究ユニット長
雑賀 啓明	独立行政法人農業生物資源研究所主任研究員
原田 竹雄	弘前大学農学生命科学部教授
田部井 豊	独立行政法人農業生物資源研究所遺伝子組換え推進室室長
田中 淳一	独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所研究員
大澤 良	筑波大学生命環境科学研究科教授
吉川 信幸	岩手大学大学院連合農学研究科教授

本件の作成にあたっては、以下の職員が事務を担当した。

事務局	中澤 貴生	参事官（審議第一担当）
	渡邊 浩充	参事官（審議第一担当）付参事官補佐
	藤本紀代美	参事官（審議第一担当）付審議専門職

要 旨

1 作成の背景

2011 年、世界人口は 70 億を越え、2013 年には、大気中の CO₂ 濃度が 400 ppm を越えることとなった。人口爆発と食料生産における自然災害との相乗的影響を考えると、緊急に食料増産の技術開発が不可欠である。過去 50 年間、さまざまな農業技術の開発により作物の生産性が大幅に向上し、人口増加に見合った食料増産が可能であったが、農業の近代化は、それ自身が大量の化石燃料を消費することから、過度の化石燃料に依存しない新しい農業体系の導入による持続的な食料増産が必要となってきた。持続的農業の観点からして、植物のもっているさまざまな環境ストレス耐性や生産機能を向上させ、効率的な生産システムを開拓する必要がある。遺伝子組換え (genetically modified; GM) 技術を用いた植物の生産機能の開発については、多くの試みと進展が報告されているが、その実用化は限定的である。一方、新しい育種技術 (new plant breeding techniques; NPBT) が開発され、現在の GM 技術の限界を克服する方法として期待されている。本報告では、NPBT の現状と問題点を整理し、今日的課題である持続的農業生産性の向上に向けた技術基盤の開発に資することを試みた。

2 現状および問題点

現在、新しい育種技術 (NPBT) が急速に進展している。たとえば、ゲノム編集技術 (ZFN、TALEN、CRISPR/Cas9 など) では、内在する遺伝子塩基配列の特異的切断により、標的とする遺伝子内塩基の欠失、置換、あるいは、挿入が可能となる。また、遺伝子組換え体を台木とした接ぎ木や RNA ウイルスベクター法、あるいは、エピジェネティックな改変技術では、ゲノムに新たな遺伝子の挿入を起こすことなく、表現形質に変化がもたらされる。従って、これらの技術のあるものは、ゲノム遺伝子における大規模な遺伝子改変を引き起こさないことから、従来の遺伝子組換え体 (GMO) の規制の範疇に入らず、GMO に対しての懸念を解消している可能性がある。一方、これらの技術では、変異が限定的であるため、自然変異との識別が困難であり、改変そのものを検出できない可能性、従来の規制の網をすり抜けてしまう可能性、あるいは、国際的な合意に破綻をもたらす危険性がある。従って、迅速に、NPBT に対する我が国の評価を確立する必要がある。すでに、EU やオーストラリア等では、この新しい育種技術をどのように定義し、評価するのかの議論が始まっている。特に、大量の GMO を輸入・利用している我が国においては、国際的協調を維持し、市民に正しい理解を求めるためにも、NPBT について率先した緊急な議論が必要である。本報告では、まず、NPBT の概要を紹介するとともに、この新しい技術の受け入れにあたって考えるべきことを整理した。

3 報告の内容

(1) ゲノム編集

Zinc Finger Nucleases (ZFNs)、Transcription Activator-Like Effector Nucleases

(TALENs)、Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR) /Cas9 など、塩基配列特異的に二本鎖 DNA を切断する人工酵素の構築が可能となり、これら酵素を用いた内在遺伝子塩基配列の特異的切断、さらには、標的遺伝子の塩基配列に特異的な欠失、置換、あるいは、挿入を導入することによるゲノム編集が可能となっている。現時点では、標的遺伝子以外への塩基配列（オフターゲット）への影響を排除できないが、今後のデータの蓄積により、オフターゲットへの影響を軽減することも可能と考えられる。従って、新たな遺伝子の挿入をもたらさないゲノム編集技術の場合、自然変異、すなわち、非組換え体と区別できないことが考えられる。実際に、どれだけの変異であれば、自然突然変異と同等と見なすのか、また、検出ならびに管理をどうするのかという課題を十分に検討する必要がある。

(2) エピゲノム編集、ならびに、接ぎ木における課題

small RNA を介した DNA のメチル化やヒストン修飾によるエピゲノム編集では、DNA 塩基配列は変更されないが、同一遺伝子の多様な発現制御が可能であり、特に、量的な形質の改変が期待されている。エピゲノム編集では、遺伝子の挿入、改変を伴わないことから、変異体そのものは、現在のカルタヘナ法における規制の対象外となるとも考えられるが、その評価は確定していない。同様に、遺伝子組換え体(GMO)の台木に接ぎ木した穂木における開花と結実による収穫物もカルタヘナ法の規制の対象外となるとも考えられるが、同様に、その評価は確定していない。ゲノム編集において課題としたゲノムへの組み込みの可能性の排除、また、その検証をどのようにするかが課題である。

(3) 迅速・効率的育種のための技術

迅速・効率的育種のための技術として、Seed Production Technology (SPT)、Reverse Breeding、早期開花による世代交代技術などが開発されている。これらの技法において、重要な課題は育種の過程で外来遺伝子が導入されている個体は、GMO としてカルタヘナ法の規制を受けるが、育種が終了した後に導入遺伝子を遺伝分離により取除いた個体 (Null Segregant) をどのように取り扱うのかである。すでに、我が国においても、SPT プロセスにおける生産物については、遺伝子組換え体としての規制対象外と判断されている。ただし、Null Segregant であることをどのような基準で保証するかが今後の重要な課題である。

(4) アグロインフィルトレーションやアグロイノキュレーション法

アグロバクテリウムやウイルスベクターを用いた一過的遺伝子の導入発現によるアグロインフィルトレーションやアグロイノキュレーション法自体は植物育種技術ではない。すなわち、次世代植物には遺伝しないために、恒常的に外来遺伝子の発現を目的とした形質転換植物とは異なる。一方、アグロイノキュレーションを利用した果樹の世代促進技術は、そのプロセスで遺伝子組換え技術を利用するが、その産物（次世代の実生）には、導入遺伝子が伝播しないことが報告されている。上記の Null Segregant 同様、非組

換え植物の範疇に入ると判断されるが、如何に導入遺伝子が伝播していないことを証明できるかが課題である。

(5) シスジェネシスおよびイントラジェネシス

シスジェネシスおよびイントラジェネシスは、同種か交雑親和性のある近縁種の遺伝子あるいは塩基配列の導入という概念であり、育種の最終段階で外来 DNA が植物ゲノムに残存しないものである。遺伝子導入に必要な植物由来のボーダー配列や選抜マーカー遺伝子の除去の証明が不可欠になる。なお、ゲノム編集の基準と関係するが、何塩基の違いをもって外来遺伝子と判定するかの基準が重要である。

4 まとめ

以上述べてきたように、NPBT は多様な技術からなり、そのなかには、これまで以上に精度が高く、迅速で効率的なゲノム改変や育種促進が可能な技術や、従来の質的形質に加え量的形質にも適用が可能な技術も含まれている。従って、今後の変動する環境下での食料生産において NPBT は極めて重要な技術になることが予想され、今後、我が国としても作物に応じた技術開発が必要となる。一方、すでに指摘したように、NPBT によってもたらされた変異をどのように検知するのか、自然突然変異との違いをどう明確化するのか、また、予想外の変異や遺伝子機能改変をどう評価するのかなど、NPBT には多くの技術的課題も残されている。そのために、技術開発と並んで、NPBT 技術そのものや NPBT 技術で得られた作物の評価を継続的におこない、NPBT 技術にフィードバックすることが不可欠である。また、国際協調のなかで、世界共通の利用基準を作成することも極めて重要である。

NPBT の適切な受容には、市民の理解が不可欠である。そのためにも、NPBT の開発については、できるだけ多くの市民を巻き込んだ情報の公開が不可欠である。また、NPBT を用いた作物開発にあたっては、外来遺伝子の挿入や改変などが無いとして、独断的に非組換え体であると判断するのではなく、カルタヘナ法に従って、実験計画等を事前に申請し許可を得たうえ実験をおこなうという従前の方法に従って、管理運用し、知見を集積することが重要である。このような運用と実績の積み重ねから、我が国で NPBT についてのよりよいコンセンサスが生まれることを期待する。

目 次

1	はじめに.....	1
2	各技術の開發現状と特徴.....	2
(1)	ゲノム編集.....	2
①	標的変異	2
②	標的組換え	2
(2)	エピゲノム編集.....	3
①	エピゲノム編集の研究の現状.....	3
②	育種としてのエピゲノム編集.....	4
(3)	接ぎ木.....	4
①	組換え体を台木とする接ぎ木.....	4
②	接ぎ木点を介した DNA、mRNA、small RNA 伝搬.....	5
(4)	迅速・効率的育種のための技術.....	5
①	SPT (Seed Production Technology) プロセス.....	5
②	Reverse Breeding	7
③	果樹等の早期開花遺伝子を利用した世代短縮.....	8
④	Transgenic Male Sterility (TMS) 循環選抜.....	8
(5)	アグロインフィルトレーション (RNA ウィルスも含めて)	8
(6)	その他 (シスジェネシス、イントラジェネシス)	9
3	規制に関する現状・課題と世界的議論への対応.....	11
(1)	我が国における検討状況.....	11
(2)	アメリカにおける検討状況.....	12
(3)	EU における検討状況	13
①	NPBT を巡る検討経過	13
②	GM 規制との関連性	13
③	新規食品規則との重層的規制.....	13
(4)	その他の海外諸国における検討状況.....	14
(5)	国際機関の動向.....	14
4	GM 技術との違いおよび協調的併用	16
(1)	育種における GM 技術と NPBT	16
(2)	NPBT は GM 技術なのか否か？規制の枠組みからの考え方	16
(3)	生物多様性影響評価との関連について.....	17
5	社会への情報発信.....	19
6	今後の課題.....	20
(1)	ゲノム編集における課題.....	20
(2)	エピゲノム編集、ならびに、接ぎ木における課題.....	20
(3)	迅速・効率的育種のための技術における Null Segregant についての課題.....	20
(4)	アグロインフィルトレーションやアグロイノキュレーション法の課題.....	21
(5)	シスジェネシスおよびイントラジェネシスの課題.....	21

7	まとめ	23
	＜用語の説明＞	24
	＜参考図書＞	28
	＜参考文献＞	28
	＜参考資料1＞ 審議経過	34
	＜参考資料2＞ 公開シンポジウム	36
	＜付録＞	37

1 はじめに

2011年世界人口は70億を越え、2013年には、大気中のCO₂濃度が400 ppmを越えることとなった[1]。近年、頻発する巨大自然災害、特に、暴風雨の強大化は、世界各地に甚大な被害をもたらしている。幸い食料危機の深刻化は報告されていないが、温暖化に伴うコメの品質低下等、さまざまな影響がでてきている。最新のIPCC報告においても、地球温暖化が穀物生産性に深刻な影響を与えることが予測されている。人口爆発と食料生産における自然災害の相乗的影響を考えると、緊急に食料増産の技術開発が不可欠である。たとえば、FAOにおいて、2050年までに現在の食料生産を70%増大する必要があることが提言されている[2]。

過去 50 年間、食料生産性は増大しつづけ、人口増加に見合った食料増産が可能であった。これは、第2次大戦後の半矮性遺伝子を用いた多収品種の開発と窒素肥料を用いた緑の革命、さらには、灌漑や農薬など、さまざまな農業技術の開発により作物の生産性が大幅に向上してきた結果である。しかし、この農業の近代化は、それ自身が大量の化石燃料を消費する。持続的農業の観点から、植物のもっているさまざまな環境ストレス耐性や生産機能を向上させ、効率的な生産システムを開拓する必要がある。EU ならびに我が国では受け入れに対して抵抗がある遺伝子組換え体 (GMO) であるが、農作業に必要な化石燃料の使用量が軽減できることが指摘されている[3]。

GMO を用いた植物の生産機能の開発については、多くの試みと進展が報告されているが、その実用化は限定的である[4]。いろいろな理由が考えられるが、一つには、実用化に際してのさまざまな規制があげられる。これまで、食品として利用されてこなかった生物からの遺伝子の導入によって、作物のもつ毒性やアレルギー性、さらには栄養成分に変化がすることへの懸念がそのような規制の根底にある。別の懸念としては、現在用いられている遺伝子導入技術においては、導入する遺伝子が挿入される染色体領域を限定することが困難であるということがある。さらに、特定の形質を発現させる場合、すでにゲノム上にある内在遺伝子に追加して外来遺伝子が付与されるために、両者の相互作用により問題が生じる場合がある。このように、現状の GM 技術には、いくつかの課題があるが、GMO はこうした不安定性を評価した後、利用されている。

一方、新しい育種技術 (New Plant Breeding Techniques; NPBT) が開発され、現在の GM 技術の限界を克服する方法として期待されている。本報告で紹介される NPBT のいくつかでは、ゲノムにおける大規模な遺伝子改変を引き起こさないことから、従来の GMO において心配されている上記の懸念を解消している可能性がある。すでに、EU やオーストラリア等では、この新しい育種技術をどのように定義し、評価するのかの議論が始まっており、大量の GMO を輸入・利用している我が国においても、議論をはじめめる必要がある。本報告では、まず新しい育種技術の技術的概要を取りまとめるとともに、この新しい技術の受け入れにあたって考えるべきことを整理した。なお、ここで取りあげる新しい育種技術は、植物に限定するものではなく、微生物、動物にも適用されるものであるが、それぞれの生物種に固有の問題があることから、ここでは、食料生産に重要な作物育種に限定して、議論した。

2 各技術の開発現状と特徴

本章では、NPBT の各技術の開発の現状と特徴を概説する。

(1) ゲノム編集[5]

生物は、紫外線や環境ストレスといった環境的要因によって、また DNA 複製などの生物学的要因によって DNA にさまざまな損傷を生じる。そのなかでも、DNA 二重鎖切断 (DNA Double Strand Breaks: DSBs) は、重篤な損傷の一つである。DNA に生じた DSBs を修復するため、DSBs 周辺の配列と相同な DNA 塩基配列を鋳型として DSBs 部位を正確に修復する相同組換え (Homologous Recombination: HR) と、鋳型は用いずに DSBs 末端を修復する正確性に劣る非相同末端結合 (Non-Homologous End Joining: NHEJ) が知られている。これらの修復機構は、標的変異、標的組換えを導入するゲノム編集技術に利用されている。

① 標的変異

遺伝子に変異を導入する方法として、突然変異育種技術が広く利用されているが、放射線や薬剤等の処理によって生じたさまざまな種類の損傷、たとえば、DSBs が誤りがちな修復機構である NHEJ によって修復されることで、ランダムに変異が生じる。そのような変異集団は、表現型を指標に系統選抜する、あるいは Targeting Induced Local Lesions IN Genomes (TILLING) 等の分子生物学的手法を利用して目的とする遺伝子 (標的遺伝子) に変異をもつ系統を選抜することに利用される。従って、突然変異育種法では、目的の標的遺伝子を狙って変異を導入することはできない。また、塩基置換、欠失、挿入等の変異の種類を人為的に制御する技術も確立されていない。

従来の突然変異育種技術に対し、標的変異は、人為的、かつ特異的に標的遺伝子に DSBs などの DNA 損傷を生じさせることで、標的遺伝子に変異を導入しやすくする技術である。近年、人工的に任意の DNA 塩基配列を認識・切断することができる合成酵素 (人工制限酵素、人工ヌクレアーゼとも呼ぶ) の研究開発が進み、標的遺伝子を狙って DSBs を導入することが可能となってきた。これまでに利用されている人工制限酵素には、engineered MegaNucleases (MNs)、Zinc Finger Nucleases (ZFNs)、Transcription Activator-Like Effector Nucleases (TALENs)、Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR) /Cas9 があげられる (付録表 1、付録図 1 参照)。

② 標的組換え

標的組換え (いわゆるジーンターゲッティング) は、HR 機構を利用して標的遺伝子を改変する技術である。植物細胞内では、頻度は極めて低いが一定の頻度で標的遺伝子に DSBs が生じる。その DSBs 部位が修復される際、外から導入した標的組換え用ベクターが存在すると、その配列が鋳型となり、HR によって目的の変異が導入される。従って、この技術は標的変異とは異なり、目的の変異を狙って導入することが可能であり、標的変異より緻密な遺伝子改変が期待できる。一方、HR の鋳型となる外来 DNA

は導入する必要がある。

標的組換えでは、遺伝子破壊だけではなく、目的部位に塩基置換、小さい挿入や欠失などの変異を導入することもできる。一般的な標的組換えベクター（付録図 2）には、ゲノムに DNA が導入された細胞を薬剤耐性等で選抜するためのポジティブ選抜マーカーと DNA がゲノム上のランダムな位置に導入された細胞の生育を抑制するためのネガティブ選抜マーカーが含まれている。この 2 種類の選抜マーカーが作用することによって、標的組換え細胞が選抜できる。このポジティブ・ネガティブ選抜法は、理論上、どのような遺伝子にも対応できる汎用的な標的組換え法である。この方法では、標的遺伝子、またはその近傍にポジティブマーカー遺伝子が挿入されるが、それと同時に標的遺伝子に小さな変異を導入することができる（付録図 2）。しかし、マーカー遺伝子の挿入は、標的遺伝子やその近傍の遺伝子の発現に影響を及ぼす可能性があり、標的遺伝子に目的の点変異を導入した後、マーカー遺伝子を除去する技術が開発され、酵母の部位特異的組換えシステムである Cre/lox を利用して、標的組換えに成功した遺伝子座からマーカー遺伝子を除去したイネの作成が報告されている。

なお、作物における標的組換え技術において、もっとも重要な課題は効率の低さである。標的組換えの鋳型となる外来 DNA は、これまで、物理的方法、もしくはアグロバクテリウム法によって一過的に植物細胞に導入されており、効率が低かった。一方、シロイヌナズナにおいて、あらかじめ鋳型を染色体中に導入しておき、必要な時に鋳型を染色体から切り出して標的組換えを誘導する *in planta* 法が開発されている。また、タバコでは、自己複製をおこなうウイルスベクターを用いて鋳型を恒常的に大量に供給し、標的組換えを効率化する方法も報告されている。これらの技術は、今後、作物における標的組換え技術のブレークスルーとなると期待される。

(2) エピゲノム編集[6]

エピジェネティック現象（DNA のメチル化やヒストン修飾による遺伝子発現の変化）は新たな遺伝子発現制御機構として注目の技術である。すなわち、塩基配列からなるゲノム DNA 情報のもう一つ上位にあるゲノム像として「エピゲノム」の存在が明らかになってきている。生物の内的・外的環境がゲノムに記憶されて、世代を越えて遺伝（継承）する現象として、エピジェネティック現象は多くの生物において実証されつつある。

① エピゲノム編集の研究の現状

まず、エピジェネティックの変化に関わる RNA 因子とタンパク質（酵素）が次々と同定された。さらに、最先端の DNA 解析技術によって、植物におけるゲノム全領域のメチル化情報と各種転写物（RNAs）の相互関係の解析が可能となり、これまでのメンデル遺伝学からは説明できなかった生命現象をエピジェネティックの変化で説明できるようになりつつある。たとえば、雑種強勢は農業上極めて重要な一代雑種育種法であるが、エピジェネティックの状態と各種転写物の網羅的解析から F_1 雑種においてゲノム各所でエピジェネティックの変化が認められ[7]、その結果、隣接する遺伝子の発

現レベルにも変化が生じていると認められた[8]。また、接ぎ木における接ぎ木相手の形質転換現象や培養再分化体で見られる変異(ソマクロナール変異)においても、small RNA 産生に関わる複数の領域のメチル化度に大きな違いが見いだされ、エピゲノムの変化の関与が強く示唆されている。

エピジェネティックな変化は特定領域に自発的に起こるのみならず、トランスポゾンの転移によって転移先に隣接する遺伝子に、あるいは、small RNA がトランスに機能することによっても生じることが報告されている。

② 育種としてのエピゲノム編集

「エピゲノム編集」を利用して、特定遺伝子をターゲットとしたサイレンシングにより、作物に有用形質を付与させることができる。このために、その標的領域と相同な塩基配列情報からなる small RNA が利用できる。small RNA を産生するには small RNA を産生する DNA システムをゲノムに導入し、常時起動させる方法が一般的である。この場合ゲノムに導入した DNA を遺伝分離で排除し、エピゲノム編集されたゲノムのみを得ることも可能である。一方、RNA ウイルスゲノムをベクターとする VIGS (virus-induced gene silencing) 法 (本章(5)アグロインフィльтраーション参照) や、small RNA を効果的に篩管輸送する個体を台木として穂木に small RNA を供給する方法も有効であることが示されている (本章(3)接ぎ木参照) (付録図 3 参照)。特に、ヘテロ性が高い栄養繁殖性作物では種子繁殖しないことから、接ぎ木を介して接ぎ木相手にエピゲノム編集を発動させた個体を獲得する方法が有効と考えられる。

(3) 接ぎ木[6]

異なるゲノムを有する植物体を合体させて栽培する技術である接ぎ木は、紀元前から果樹栽培において優れた個体のクローン増殖手段として活用されてきた。なお、一般に根側に位置するものを台木、一方の茎葉側を穂木と呼ぶ。

① 組換え体を台木とする接ぎ木

根は「The Hidden Half」と称され、通常、植物体のおよそ半分の容量にもなる。根の表面積は地上部のその 100 倍にも相当するとの報告もあり、地中の養水分の吸収、茎葉部の支持など、極めて重要な役割をもつ。一方、土壌中には作物の連作によって特定の有害な菌や虫が増殖し、深刻な土壌病害がしばしば発生する。従って、各種の土壌病害抵抗性を付与する品種育成が作物栽培において極めて重要である。接ぎ木は、こうした抵抗性品種の作成に重要な役割を果たしてきている。

特に、抵抗性台木として利用されてきた野生種などの病害抵抗性の分子機構が近年解明されるとともに、抵抗性遺伝子を導入した組換え体を作成し、台木種とすることが可能となりつつある。この抵抗性台木に既存の優良栽培種を穂木として接ぎ木すれば病害耐性の作物体を栽培することができる。穂木は台木とは異なるゲノムをもつことから、遺伝子導入した遺伝子は存在せず、収穫した果実を非組換え体として取り扱

えることも考えられる（付録図 4 参照、遺伝情報の伝搬については、後節参照）。さらに接ぎ木個体の栽培においては、花粉飛散の問題も考慮する必要がないことから、GMO 忌避感の緩和につながると考えられる。現在、果樹を中心として GMO 台木種の開発がアメリカを中心に行われている。

② 接ぎ木点を介した DNA、mRNA、small RNA 伝搬

接ぎ木では、穂木に組換え遺伝子が存在しないことから非組換え体としての取扱いが可能であるとする考え方が一方、接ぎ木点を介して DNA の伝搬があるのではないかと議論がある。これまでの解析から、長距離の遺伝子伝搬は確認されていないが、接ぎ木点では細胞質ゲノム（葉緑体 DNA）が接ぎ木相手に転移するとの報告がある[9]。次世代シーケンサー等による接ぎ木のより詳細な解析が必要である。

さらに、接ぎ木では、台木と穂木の維管束組織の結合により、地下部と地上部間の RNA やタンパク質の篩管輸送も行われている。実際、篩管を介して約 20 塩基長の miRNAs (micro-RNAs) や siRNA (small-interfering RNA) といった small RNA が輸送されていることが知られている[10]。それらの分子は接ぎ木相手の輸送先において相同配列の mRNA や DNA に作用してジーンサイレンシングを発動する機能を有している。人工の miRNA や siRNA も同様に篩管輸送されることから、任意の遺伝子をターゲットとするサイレンシングを発動することで、穂木に対してこれまで無かった有用な形質を付与できる。さらに small RNA により接ぎ木相手の一部にエピゲノム編集を起こさせることも可能である[11]（本章(2)エピゲノム編集参照）（付録図 4）。

(4) 迅速・効率的育種のための技術[12]

近年、分子遺伝学の急速な進歩により生殖に関連する遺伝子等が明らかにされ、これらの遺伝子による生殖特性の制御により育種効率を高めることが実現可能となってきた。具体的には、GM 技術を用いた雄性不稔や、相同組換えの抑制による F₁ 品種からの親品種の再生 (Reverse Breeding)、さらにリンゴにおける早期開花による交雑育種の効率化が進められている。一方、これらの迅速・効率的育種に用いられた遺伝子は、交雑の効率化や世代促進には必要であるが、最終的な産物にはむしろ不要な場合が多い。ここでは、これら導入遺伝子を用いた生殖制御による育種効率の向上と、最終産物から遺伝分離で除去する（いわゆる Null Segregant とする）以下の 4 つの技術について技術的側面と現状について述べる。

① SPT (Seed Production Technology) プロセス

SPT (Seed Production Technology) プロセスは米国デュポン・パイオニア社が開発した F₁ 種子を効率的に生産するための技術で、トウモロコシにおいてすでに実用化されている[13]。

効率のよい採種方法の確立は F₁ 品種を実用化するための鍵である。一つの果実から多くの種子が得られる野菜類などであれば手交配の採種も可能であるが、それ以外の

作物では、自家不和合性や雄性不稔などで自殖を防ぎ、他殖種子のみを効率よく採種する必要がある。このため、現状では細胞質雄性不稔 (cytoplasmic male sterility; CMS) によるシステムが多く用いられているが、SPT 技術では雄性不稔性を誘導する系統として、花粉形成に必要な遺伝子に変異が入ることにより劣性ホモで雄性不稔を引き起こす遺伝子 (以下、「劣性不稔性変異遺伝子」とする) を用いている。この変異は突然変異によるものであり劣性不稔性変異遺伝子を有するトウモロコシは遺伝子組換え体ではない。核支配の劣性雄性不稔では、劣性ホモ接合体のみが雄性不稔を示し花粉を作ることができないため、F₁ 採種のために野生型のトウモロコシを交配すると後代は稔性を示す。核支配の劣性雄性不稔を維持するには栄養体で保存するしかなく、商業的な F₁ 採種には利用することができないと考えられてきた。そこで、核支配の劣性雄性不稔系統を維持するために考案されたのが SPT 維持系統である。

SPT 維持系統は、劣性不稔性変異遺伝子をホモにもつ不稔系統に、①稔性遺伝子 (前述の劣性不稔性変異遺伝子の野生型)、②花粉不活化遺伝子、③蛍光タンパク質遺伝子、の 3 つの遺伝子が染色体上の一ヶ所に導入されたものであり、図に示すような育種スキームで利用されている (図 1)。SPT では、「稔性遺伝子」と「花粉不活化遺伝子」は全く別の目的と機能を有している。「稔性遺伝子」は体細胞で機能し、劣性不稔性変異遺伝子の機能を補完して花粉を形成するために必要であり、花粉不活化遺伝子は雄性配偶体で機能し、導入遺伝子をもつ花粉のみを選択的に不活化する。SPT 維持系統には劣性不稔性変異遺伝子がホモで存在するために、本来であれば不稔となるが、導入された稔性遺伝子の作用により、花粉を形成することができる。しかし、花粉不活化遺伝子により、花粉親として後代に導入遺伝子を伝達できない。このため、SPT 維持系統の導入遺伝子はホモ接合で固定できない。SPT 維持系統を維持するには、種子親側からは導入遺伝子が伝達されるため、SPT 維持系統を自殖した後代種子で 1/2 で出現する導入遺伝子を有する種子を選抜する。導入遺伝子を有する種子は蛍光タンパク質遺伝子によって蛍光を発するので、ソーターによって蛍光を発する種子を選別することにより、SPT 維持系統を維持することができる。一方、蛍光を発しない種子には導入遺伝子がないため、雄性不稔となり、F₁ 採種の種子親として利用できる。本技術では、これらの遺伝子が非常に近接して導入されているために、SPT 遺伝子を含まない雄性不稔雌親種子を安定的に生産する遺伝学的精度は 99.999% よりも高いと報告されている。また、SPT 遺伝子を含む遺伝子組換え体が雄性不稔系統に混入したとしても、蛍光タンパク質遺伝子を指標とした機械的選別により 99.95% よりも高い精度で遺伝子組換え体を取り除くことができ、両方の精度を考えあわせると、SPT プロセスにおける遺伝子組換え体の検出精度は、99.9999995% となり、遺伝子組換え体が後代種子に混入する可能性は極めて低いと考えられる [13]。さらに、管理プロセスを徹底することにより、我が国でも、SPT プロセスを利用した F₁ ハイブリッド種子の利用が承認されるに至っている [14]。

現在、SPT プロセスが実用化されているのはトウモロコシであるが、理論上、他の作物にも応用可能な技術である。

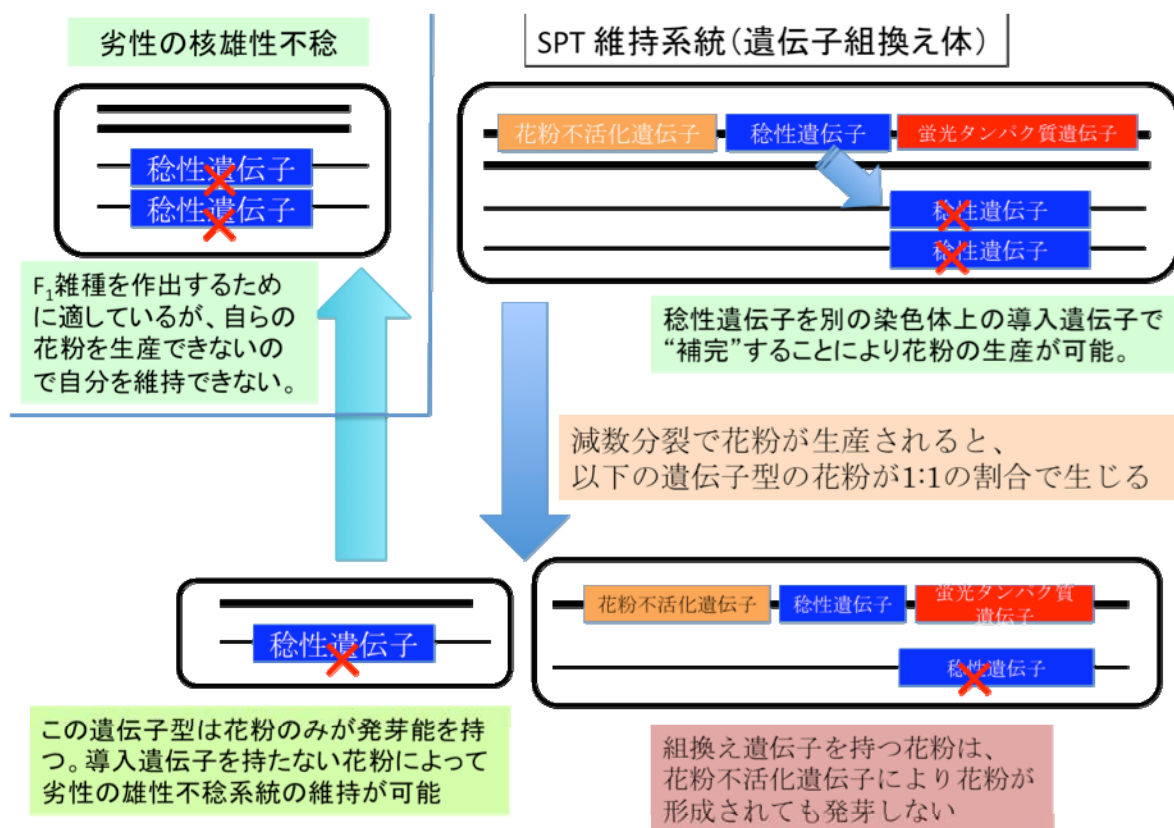


図1 SPTの基本スキーム (文献12より改変して引用)

② Reverse Breeding

F₁ 品種は2つのホモ化の進んだ自殖系統(親系統)を交配し、そのF₁で現れるヘテロシスや均質性を農業生産に利用するものである。Reverse BreedingはこのF₁の生殖細胞由来の個体からF₁親系統を再現しようとする試みである(付録図5参照)。

通常、F₁世代を自殖させてF₂世代を得ると均質性は失われ、一般に形質が劣化する。また、F₁世代における減数分裂時に、両親由来の染色体間で乗換えが生じ、遺伝的組換えが起こるので、F₂世代各個体の染色体は、F₁雑種の親系統の染色体が切れ切れの状態になり、形質が分離する。このため、そこからF₁の親系統を再現するのは不可能であった。しかし、近年、遺伝的組換えに関与する遺伝子が明らかにされ、一部の遺伝子の機能を欠失させると、遺伝的組換えが全く生じなくなることが明らかとなった。そこでF₁雑種の段階で、RNAi等の手法により上記遺伝子の機能を押さえ込むことで、減数分裂時の遺伝的組換えを起こらなくすることが可能になった。ここで得られる各染色体には、遺伝的組換えが生じていないので、これらをコルヒチン処理で倍加すると、各相同染色体については親系統のどちらかの染色体がホモ化した個体を得られ、自殖によって増殖させて系統にすることができる(ホモ化系統)。各個体が親系統のどの染色体を引継いだかは、DNAマーカー技術を用いれば明らかにできるので、相補的染色体組合わせをもつ系統を選んで相互に交配することによりF₁品種を再現して利用することが可能である。

Reverse Breeding は現在、シロイヌナズナ等の実験植物で試行されている段階である[15]。

③ 果樹等の早期開花遺伝子を利用した世代短縮

果樹等の木本性作物は一般に開花までに数年以上を要し、数回の交配が必要な近縁野生種からの戻し交雑による有用遺伝子の導入や有用遺伝子のピラミディング等には、極めて長い期間を要することが、育種の大きなボトルネックとなってきた。この開花までに要する期間を導入遺伝子によって大幅に短縮する取り組みが開始されている(付録図 6 参照)。

近年、開花に関わる遺伝子が数多く単離され、過剰発現することで花芽分化を強く誘導する遺伝子が明らかになってきた。ヨーロッパでは、ある種の転写因子を過剰発現させることでリンゴの 1 世代の期間を大幅に短縮し、遺伝的にやや遠縁の材料から耐病性遺伝子を導入する育種が進められている[16]。また、日本においても FT (フロリゲン) 遺伝子を用いたカンキツの世代短縮による育種が進められている[12] (付録図 6 参照)。

これらの取り組みにより、開花・結実までに一世代で 10 年近くかかる果樹等の木本性作物の育種が大幅に効率化されることが期待される。

④ Transgenic Male Sterility (TMS) 循環選抜

TMS 循環選抜はイネやコムギ等の自殖性作物の一般的な育種方法の限界を打破するために考案された。これに必要な遺伝子は、①優性の雄性不稔遺伝子、②ポジティブマーカー遺伝子、③ネガティブマーカー遺伝子の 3 つである(付録図 8 参照)。これらを一つのコンストラクトにして、ゲノム上の 1 箇所に導入する。この組換え系統は、優性の雄性不稔なので自殖はできず、ホモ化はできない(付録図 9 参照)。これを維持するには野生型の花粉により毎世代他殖が必要であり、理論上、後代において雄性不稔個体と稔性個体が 1:1 で分離する。ここで、ポジティブマーカーにより雄性不稔個体のみが選抜され、一方ネガティブマーカーでは稔性のある個体のみが選抜できる。選抜されたそれぞれの個体群を隔離圃場で互いに列植えにし、雄性不稔個体の列から採種すれば、他殖種子のみを得ることができる。この方法により自殖性植物でも大規模かつ持続的な他殖が可能になり、トウモロコシのように多様なゲノム断片を混ぜ合わせながら継続的に集団改良をおこなう循環選抜が効率的に実施可能になると期待される。

自殖性作物の品種は固定品種であり、最終的には、選抜した稔性個体を自殖させるはじめる段階で優性の雄性不稔性は不要となり、自殖系統や最終的に育成される品種は導入遺伝子を持たない Null Segregant になる。TMS 循環選抜を実現するための研究開発は、ゲノム情報が充実したイネにおいて日本で進められている[12]。

(5) アグロインフィルトレーション (RNA ウィルスも含めて) [17, 18]

アグロインフィルトレーション法は、目的タンパク質や RNA を植物の組織や葉で一過的に発現する技術である。本法の利点は、組換え植物を作製せずに、種子から育成した植物あるいは栄養繁殖植物で、迅速・簡便に目的遺伝子を発現できる点である。植物で目的遺伝子の機能や病害抵抗性反応の解析などを短期間で実施できるため、基礎研究分野で広く利用されている[19-21]。また、アグロインフィルトレーションと植物ウイルスの複製能を組み合わせ、外来遺伝子の発現あるいは内在遺伝子の発現抑制をおこなう技術（アグロイノキュレーションあるいはアグロインフェクションと呼ぶ）が多くの植物ウイルス種で開発され、基礎研究のみならず、医薬品材料やワクチン、抗体生産などに利用されはじめている[19]。詳細は、付録図 10 から 14 を参照されたい。

一方、こうしたウイルスベクターを利用した植物の開花／世代促進も研究が進展している。木本植物である果樹類は、種子が発芽して数年～十数年の間は栄養成長のみを繰り返して花芽の形成（花成）は起こらない。この幼若相から成熟相に相転換した果樹は、毎年春になると開花し、実を結ぶようになる。リンゴにおいても、種子を播いてから開花・結実するまで通常 5～12 年かかる。このように果樹類では新品種ができるまでに非常に長い時間（数十年）を必要とする。もし、一年生の草本植物と同じように、リンゴでも 1 年以内に開花して種子を採種できれば、品種改良にかかる期間を大幅に短縮できることになる。岩手大学の吉川らは、以下のように、ALSV ベクターを利用したリンゴの開花促進／世代促進技術を開発している。

AtFT 遺伝子を発現すると同時に MdTFL1-1 遺伝子の発現を抑制する ALSV-AtFT/MdTFL 発現ベクターをリンゴ実生に接種することにより、感染リンゴの 90%以上が接種後 1.5～3 ヶ月で早期開花し、さらにほとんどの個体は 6 ヶ月以上にわたって開花が連続することを報告している[22]。また、得られた次世代実生苗（35 株）におけるウイルス感染を遺伝子診断法で調べ、全個体がウイルスフリーであることを確かめている。ALSV は通常実施されているウイルス検定法（ELISA、RT-PCR など）で確実に診断できるウイルスのため、種子伝染の有無は容易に判定可能で、植物 RNA ウイルスは植物のゲノムに組み込まれることはないため、ウイルス検定でウイルスが検出されなければ、次世代個体にはウイルスも導入遺伝子も存在していないと判断される。すなわち、これらの個体は健全なリンゴ実生（非組換え体）と全く区別できないといえる。

(6) その他（シスジェネシス、イントラジェネシス）[23]

2000 年になって、従来の遺伝子導入技術のうちで、導入する遺伝子の供給源を、分類学上の同種や交雑和合性のある近縁種、さらに培養などにより核酸を交換できる近縁種に限る新しいカテゴリーが誕生し、前者をシスジェネシス(cisgenesis)、後者をイントラジェネシス(intragenesis)と呼ぶ[24, 25]。シスジェネシスの基本的な考え方は、2000 年に Jochemsen と Shouten によって紹介され[26]、2003 年に Nielsen らによって最初に定義づけられた[27]。現在のシスジェネシスの定義が国際的に広まったのは 2006 年の Shouten らの論文による[28, 29]。シスジェネシスでは、植物に導入する遺伝子はイントロンを含めた遺伝子のコード領域のみならず、プロモーターやターミネーターについて

も、自然界にある植物のものと全く同じ組み合わせを利用する。従って、遺伝子組換え技術を用いているものの、シスジェネシスによって得られる植物が新たに有する遺伝子塩基配列は、従来の交雑育種法によって得られる植物とほぼ同じとなる。この技術は、導入する遺伝子に制限はあるものの、従来の交雑育種に伴う劣悪形質の連鎖（リンケージドラッグ）を回避でき、有用形質のみを導入できるメリットがある。

シスジェニック植物のなかでは、疫病抵抗性のジャガイモとフィターゼ活性を向上させたオオムギの野外試験が行われており、イントラジェニック植物として、高アミロペクチンのジャガイモと加工特性を改変したジャガイモの野外試験も行われている。なお、黒星病抵抗性リンゴはシスジェネシスとイントラジェネシスで作成されており、それぞれが野外試験に進んでいる[24]。

3 規制に関する現状・課題と世界的議論への対応

(1) 我が国における検討状況

我々が日々接する食品や栽培している農作物は、食品として、あるいは、環境に対する安全性において一定のリスクをもっており、このことがリスク評価の前提に置かれている。通常の育種により得られた農作物であっても、人間や環境に対して、ある程度のリスクをもたらすものが存在するからである。ある程度のリスクが避けられないことは、社会的に容認されるとともに、こうした慣行育種や自然の変異（突然変異を含む）によって生じるリスクと比較し、それを超えないものに関しては受け入れるというのが、安全性評価のベースにある。

NPBT を利用して得られた農作物のなかには、慣行育種や人為突然変異によっても同等のものが得られる場合がある。ゲノム編集技術や一過的に遺伝子組換えの手法を使用したとしても、結果として得られるものが慣行育種によるものと差異がない場合には、少なくともリスクという観点からは、同等の取扱いとすることが合理的であると考えられる。逆に、NPBT を用いた農作物やその由来製品のもつリスクが増大している場合には、リスクの程度に応じて、適正な評価をおこなうとともに、必要な管理措置を講じることが適切と考えられる。

ただし、こうした科学的な安全性やリスクという次元の問題とは別に、法令上の定義において、NPBT が規制対象となりうるかどうかという論点が存在しうる。

我が国における GMO の規制は、環境安全性に関してはカルタヘナ法（正式名称：「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」）、食品安全性に関しては食品衛生法、飼料安全性に関しては飼料取締法（正式名称：「飼料の安全性の確保および品質の改善に関する法律」）により規制されている。しかし、NPBT を用いて作出された生物が、これらの法律で規定される GMO に当たるかどうかに関しては、いまだ整理されていない。

それぞれの規制の根拠法における遺伝子組換えの定義も同一の文言として規定されているわけではないため、それぞれの国内法上の定義に照らして判断をおこなうことが必要となる。そのため厚生労働省および農林水産省等においては、NPBT の安全性に関わる情報収集を進めるとともに、規制上の位置づけに関して検討が進められている。カルタヘナ法に関しては、6 省庁（文部科学省、農林水産省、厚生労働省、環境省、経済産業省、財務省）の共管であることから、これらの省庁間での検討と合意が最終的には必要である。

以上のように、NPBT に関しては、安全性評価上の観点とともに、法令上の位置づけという観点から検討する必要がある。現行規制においては、遺伝子組換え生物に関しては安全性評価をおこなうとともに、遺伝子組換えと見なされないものはこうした安全性評価から免除されてきた。NPBT 利用の場合には、非遺伝子組換えでありながらも、そのリスクが無視できない場合には、別途安全性の評価および措置を検討することも考慮されてよいと考えられる。後述するように、EU ではこうした方向での検討がなされつつある。これら以外にも、当面、次のような諸点が検討課題としてあげられる。

- ・ 現行の GM 食品規制においては、安全性を確認したうえで、GM 食品を流通させる際には、製品への表示義務とともに、検知や区分管理などの対応が行政や事業者に対して求められる。しかし、NPBT を用いて作出した農作物の検知には技術的な制約が存在する。すなわち、塩基配列の欠失などに関しては、検知ができない場合があること、またたとえ何らかの変異が検知できたとしても、その変異が人為的なものと同定 (identification) することができない場合がある。制度的要請とテクニカルな制約について検討する必要がある。
- ・ 基礎研究から応用研究、実用化に至る一連の研究開発過程において、一過的に GM 技術を用いる場合などにおいて、情報の適切な受け渡しが行われない恐れがある。特に、規制の大枠が定まっていない現状にあっては、来歴情報が適切に受け渡されないまま、NPBT によって改変された動植物の移動が生じる可能性がある。規制が明確になった段階で無用の混乱を生じないようにすることが重要である。
- ・ 一過的に GM 技術を用いる手法の場合、最終製品に外来遺伝子が残存していないものが作出される。こうした製品については、非遺伝子組換え扱いとすることが想定される。しかし、このように外来遺伝子が残存していないことに関して、どのような手法によって、誰の責任において確認するのかという点が課題になる。なお、国内においては、デュポン社の DP-32138-1 を用いた SPT (Seed Production Technology) プロセスによるハイブリッド・トウモロコシ品種に関して、これを非遺伝子組換えとするという決定がなされた (2013 年 1 月) [14]。この決定は厚生労働省および農林水産省によるものであり、上記イベント (1 事例) に対する決定であり、技術そのものに対する判断ではない。また種子生産工程における選別過程など品質管理を考慮したうえでの決定である。
- ・ NPBT に関する消費者や市民に対する情報提供や情報開示はほとんど進んでいない。技術的内容に関する難しさはあるかも知れないものの、消費者や市民の関心は、こうした技術が開発される背景やその技術応用が適正に社会のなかで管理されているか、不当なリスクや分配上の不公正がこの技術によってもたらされないかといった点に向けられる。いわば新技術を巡る適切なガバナンスが形成されているかどうか問われている。こうした点に関する情報提供や情報開示、コミュニケーション活動について今後積極的に考慮すべきである。

続いて、以下では海外諸国 (アメリカ、EU 等) における NPBT に関する検討状況について概況を述べる。

(2) アメリカにおける検討状況

アメリカにおいては、GMO の規制は、農務省 (USDA)、食品医薬品局 (FDA)、環境保護庁 (EPA) の 3 省庁が分担し、それぞれの根拠法のもとで規制されている。アメリカの規制当局による NPBT の判断は、基本的に現行の規制枠組みに照らして、ケースバイケースでおこなわれていると考えられる。詳細は、付録を参照のこと。

(3) EUにおける検討状況

① NPBT を巡る検討経過

EUにおいては、2007年4月にオランダ政府からの要請によりNPBTの規制上の位置づけに関して検討が開始された。翌年には、欧州委員会のもとで新技術検討ワーキンググループ（NTWG）が組織され、加盟国からの専門家を交えて、技術の規制上の検討をおこなうとともに、2011年4月には欧州食品安全機関（EFSA）に対して、技術ごとのリスク評価を依頼した。またこれらと並行して、欧州共同研究センター・技術予測センター（JRC-IPTS）においては、研究開発や特許取得動向の調査[25]、海外の専門家を交えたワークショップが開催された[30]。

EU加盟国においても、オランダやイギリス、ドイツなど一部の加盟国では、個別に検討されており、これらの国における開発上の関心の高さを反映している。特に、2012年はじめにNTWGの最終レポート[31]がとりまとめられて以降、加盟国（ドイツ、イギリス）や業界団体（欧州種子協会等）などから、最終レポートに対するポジション・ペーパーが公表されつつある（概ねNTWGの考え方が支持されている）。ただし、GMOに懐疑的な団体からは、NPBTに対する批判が表明されつつあり、専門家にとどまらない幅広いステークホルダーによる議論がなされつつある。

② GM 規制との関連性

EUにおいては、GMO規制の対象は、環境放出指令（2001/18/EC）附属書I A Part 1における定義にもとづいている。従って、NPBTにより作出した生物がGMに当たるかどうかに関しては、この定義における規定に照らして、検討されることになる。

各技術に対する上記NTWGによる検討結果の詳細はここでは割愛するが、規制対象か否かに関する判断の鍵となっているポイントは、次の点に集約される。すなわち、新規の遺伝子が、ゲノム内に安定的に導入され、当該の遺伝子が、後代に継承され、最終的生物に残存するかどうか、という点である。この点に関して「該当する」場合には、EU指令の規制対象であると判断されている（逆に該当しない場合には規制対象外と判断）。ただし、NTWGによるレポートは法的拘束力をもつものではなく、最終的には欧州委員会による公式の政策決定がなされる必要がある。現時点では、NTWGからの見解も、一つの解釈に過ぎず、EUレベルでの決定を待つ必要がある。しかし、政策決定にはなお時間を要するとみられる。2014年には欧州議会選挙や欧州委員の交代などが行われるため、本格的な検討は、こうした政治過程が一段落して以降とみられている。

③ 新規食品規則との重層的規制

環境放出指令はGMOに対して規制するものであるが、GMOではないと判定されたものであっても、食品成分が大きく異なるなどの新規性を有するものに関しては、何らかの規制が必要であるとEUでは考えられている。具体的には、「新規食品規則」（Novel

Food Regulation、現在、改訂中) による規制の可能性が検討されている。新規食品規則の規制対象となるかどうかは、今後決定される改訂新規食品規則における定義の内容を吟味する必要がある。このように EU においては、NPBT に関して、①遺伝子組換えかどうかという規制上の観点だけでなく、非遺伝子組換え扱いであった場合も、②成分変化や食品としてのリスクの有無に関しては別途規制するという、重層的な規制枠組みが検討されているといえよう。

(4) その他の海外諸国における検討状況

食品安全分野においては、オーストラリアとニュージーランド (NZ) は、合同食品基準機関 (FSANZ) を設置しており、同機関は 2012 年 5 月に NPBT に関するワークショップを開催した。結果は「New Plant Breeding Techniques: Report of a Workshop hosted by Food Standards Australia New Zealand」(2013 年 7 月) [32]として公表された。

環境安全性に関しては、豪州においては遺伝子技術規制局 (OGTR)、NZ においては環境保護庁 (EPA) が所管しており、それぞれ独自に NPBT に対する規制を検討している。なかでも NZ の EPA は、2013 年 4 月に ZFN-1 および TALEN についてのみ、これを GM 規制の対象外として判断する政策決定を行った。ところが、この政策判断に対して、環境 NGO がその判断の無効を求めて提訴するに至った。現在、裁判係争中であり、政府は裁判所の最終的決定を待っている状況にある。提訴の背景には、国際的な規制方針がまだ流動的な状況で NZ が独自に規制対象外と判断したことが、NZ の農産物輸出に悪影響を及ぼすのではないかという危機感が存在する。このように NZ では、世界的にももっとも早い規制上の決定を行ったこと自体が問題とされ、当該決定が凍結されることとなった。国際的な調整を巡る議論の必要性がここでも確認できる。

アルゼンチンにおいては、政府内での検討が進んでいる模様であり、基本的には EU の立場と近いと考えられる。その他、中国や韓国においては、まだ規制上の取扱いに関しては検討が進んでいない状況にある。

(5) 国際機関の動向

NPBT に対する規制上の取扱いが国際的に異なった場合、特に農産物や食品、動植物の輸出入に関して混乱を引き起こしかねない。NPBT に関する規制に関して国際的な調整が図られる必要がある。このような問題意識から、我が国は、GMO に関する規制監督の国際的調和に関して議論を行ってきた OECD のワーキンググループ (Working Group on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology) に対して、本件を議題として取りあげることを提案した。この提案を受けて、OECD では上記ワーキンググループにおいて検討することを決定し、2014 年 2 月には最初の会合としてワークショップが開催された。今後、数年をかけて NPBT を巡る安全性および規制上の取扱いに関して、OECD の場で議論が重ねられる予定である。GMO の規制の基本的考え方について、長年にわたって科学的な指針を提示してきた OECD において、NPBT が検討議題として取りあげられたことは非常に大きな意義があり、今後の検討過程に注目する必要がある。この他の機関、

たとえば、Codex、カルタヘナ議定書締約国会議などでは、いまだ検討されるには至っていない。

以上のように、NPBT に対する規制上の検討は、まだ十分に進んでいないものの、アメリカなどでは一部の NPBT 関連製品について規制対象外との判断が示されている。こうした動きは、今後南米などでも同様に進み、規制対象外として商業化されていく可能性がある。これらの政策上の判断が依拠している規制は、国ごとに異なっているとともに、NPBT の登場を契機として現行規制を見直そうとする動きはみられない。このことは、GM 作物において生じた米欧間の規制ギャップが、NPBT に関しても発生する可能性を示している。OECD における規制監督の調和に関する議論も始まったばかりであり、NPBT を巡る国際的政策の動向に関しては、どの程度の国際的調和が進むか不透明な状況にある。今後の NPBT に対する各国の政策対応と開発動向に関して、引き続き注視する必要がある。

4 GM 技術との違いおよび協調的併用

(1) 育種における GM 技術と NPBT

GM 技術は、従来の育種と比較して、短期間にしかも少ない個体数の育種素材から新品種を育成することが可能になるとされている。また、遺伝子供給源を交雑不可能であった遠縁の植物や、植物界以外の動物や微生物にも広く求めることができ、遺伝的改良の可能性が拡大すると期待されている。しかし、この技術は特定の遺伝子を導入し、品種改良をおこなうのには適しているものの、収量性など複数要因に関わる量的形質の改変への適用は端緒についたばかりであり、その限界も指摘されている。一方、近年、植物の生命現象の分子レベルでの理解を踏まえた分子育種学の発達とともに、NPBT の開発が進んできている。特にエピゲノム編集は、第 1 世代の GMO が質的形質の改変を主にしていたのに対し、収量性や耐病性など量的形質に関わる変異との相関が報告されており [7, 8, 10]、高次のゲノム変異拡大技術として期待されている。

(2) NPBT は GM 技術なのか否か？規制の枠組みからの考え方

NPBT が遺伝子組換えであるか否かについては、Podevin et al (2012) [33] の総説において議論されている。NPBT の発展の背景には、育種過程の促進という大義がある一方、GM 作物を含む GMO に対する消費者の懸念を抑えられるのではないかという期待もある。しかし、NPBT の開発は、単に GMO に関するさまざまな懸念を回避するという単純なものではなく、早急に解決すべき実に多様な規制上の課題を明白にしている。すなわち、NPBT の進展により、現在の GMO 規制システム全体の見直しが必要となる。Podevin et al (2011) [33] は今後の NPBT の規制について考えるべき課題として 5 点あげている。詳細は、付録を参照してほしい。

第 1 の課題は、「規制をプロセスベースにするのかプロダクトベースにするのか」である。アルゼンチンおよび EU 諸国で採用されているプロセスベース規制では遺伝子組換えと非遺伝子組換えの境界領域を作り出す NPBT のような技術に対応することが極めて難しい。しかも、法的に柔軟に対応することも困難である。我が国の GMO 規制枠組みは、プロセスを注視しながら、基本的にはプロダクトベースである。現在の GM 規制の枠組みではゲノム中に「核酸」が残存するか否かが基本的基準となるため、NPBT で新たな枠組みが必要になるのか否かをまず議論しなければならない。

第 2 の課題は、「NPBT の規制の枠組みとリスクアセスメント法が、NPBT によって作出される植物の特性が人や動物の健康に与える影響あるいは環境影響リスクのレベルに釣り合ったものか」である。すなわち、NPBT では組換え DNA を一過的に使用する、あるいは安定的に挿入するために GM 技術が用いられるが、最終的なゲノム変化は通常育種で期待されるものと区別できないことが多い。従って、プロダクトベースという観点からすると、NPBT によって生み出された植物は GMO よりは通常育種の植物に近くなる。このことはこれまでの GMO 規制の枠組みに疑問を投げかけるものである。

第 3 の課題は、「NPBT がもたらすかもしれない害を防ぐことの他に、食料安全保障、経済の発展、消費者の信頼の構築などの政治的目的を満たすためのイノベーションを刺激す

る規制枠組みやアセスメント法の整備をどうするのか」である。この意味はこれまでに各国で確立されてきたGMO規制の枠組みが、規制の負担を避け消費者に受け入れられやすい新たな育種技術の発展を生んだ側面があるということである。NPBTでは、中小企業あるいは研究機関がこれまでのGMO規制のような非常に高い負担を強いる規制要件に従わなくてもよいという利点があるとされる。しかもその製品は消費者の懸念払しょくにつながるものであるとされる。しかし、開発者はもちろんのこと規制者も法律対象となるNPBTの判別を明確にしなければならない。さらに、NPBTに何らかの規制の枠組みを作るのであれば、消費者に受け入れられる議論の過程が不可欠である。GMOで招いたような市場問題あるいは消費者からの不信というリスクの低減にはオープンな議論が不可欠である。

第4の課題は、「国際協調を可能にするNPBTの規制枠組みの確立」である。本報告で論議されているNPBTについて法律の規制対象となるのか、あるいは従来の育種法と同じ扱いとなるのか、現在各国で議論されている最中である。

第5の課題は、「害をもたらす可能性が等しいプロダクト間でリスクアセスメント法の不一致を避ける」ことである。これは第2の課題とも重なる問題であり、プロセスベースなのかプロダクトベースなのかという問題に行き着く。NPBT規制要件としても、プロセスではなく、植物の種類、形質、環境、用途、そしてこれらの組合せに関連したリスク評価が重要である。

(3) 生物多様性影響評価との関連について

以下、下野（2013）[34]を引用しながらNPBTと生物多様性影響に関する現時点での考え方をまとめる。

GMO（LMO）に該当する動植物を利用する際には、カルタヘナ法に定められた手順にのっとり、措置を取ることが求められる。GMO利用は、環境中への拡散を防止しつつおこなう利用（第二種使用等）と防止しないでおこなう利用（第一種使用等）とに分けられる。特に、第一種使用等の際には、事前に生物多様性を損なう恐れを評価すること、すなわち「生物多様性影響評価」が求められる。具体的には、

- ① 遺伝子組換え生物等が、農耕地以外の生態系に侵入して、その繁殖力の強さなどにより、在来の野生動植物を駆逐してしまうこと（競合における優位性）
- ② 遺伝子組換え生物等が近縁の野生種と交雑して、野生種が交雑したものに置き換わってしまうこと（交雑性・競合における優位性）
- ③ 遺伝子組換え生物等が作り出す有害物質によって周辺の野生動植物や微生物が死滅してしまうこと（有害物質の産出）

などの状況が生じた場合、生物多様性影響が生じたと判断される。

この観点からNPBTを見てみると、ZFNを用いてゲノムの特定の位置に遺伝子などの長いDNAを挿入するZFN-3はこれまでのGM技術の範疇に入り、その結果作られた産物を野外に出す場合はGMOと同等の評価が求められると考えられる（EFSA 2012）[35]。シスジェネシス・イントラジェネシスについては、セルフクローニングあるいはナチュラルオカレンスに相当するとも考えられるが、欧州食品安全機関（EFSA）のGMOに関する作業部

会は、イントラジェネシスにより作出された植物は、GMOと同様に、これらの生産技術に関連する新たなリスクを考慮するべきであるとしている（EFSA 2012）[36]。一方、シスジェネシスにより作出された植物のリスクは、従来の育種法により作出された植物のリスクと同程度であるとしている（EFSA 2012）[36]。その他の技術によって作成された産物については、従来の育種法で作られたもの、あるいは自然条件下で生じたものと識別することが難しく、そのリスクの判断には議論が分かれる。上述したように、我が国においても、生物多様性影響評価は最終産物の示す形質にもとづいて行われており、使われている技術や識別可能性によって判断されるものではない。しかし、産物にこれまでになかった新たな形質が付与されているのであれば、法規制の対象とはならなくても、関係者はその植物が生物多様性に及ぼすリスクが低いことを自主的に確認する必要があることは言うまでもない。

もう一つ重要な観点は、NPBTの有効性を論じる際に、我が国の食料生産の状況を念頭に置くべきであるということである。国産農畜産物の強みを生み出す画期的な新品種の開発を加速化するため、NPBTはその実現の鍵を握る重要な技術になりうると考えられている。しかしながら、GM技術により改良された農作物や食品に対する消費者・生産者の懸念が根強く存在するため、上述したように情報公開の原則にもとづきながら消費者・生産者を巻き込んだ議論が不可欠であり、社会受容をどのように高めていくかが重要な課題となる。

5 社会への情報発信

2013 年は遺伝子組換え植物が作製されて 30 年となる節目であった。初めての GMO である日持ちするトマト「フレーバーセーバー」が 1996 年に市販されて以来、GMO の栽培面積は増加の一途をたどり、現在 1 億 7000 万ヘクタール（世界の耕地面積の約 10%）にも及んでいる。また、栽培する国は米国やカナダ等の先進国にとどまらず、ブラジル、アルゼンチン、インド、中国等の新興国等、28 カ国に及んでいる。我が国は GM 作物を栽培していないが、日常的に輸入している飼料（トウモロコシ 約 1500 万トン）や食料油原料（大豆 約 270 万トン、ナタネ 約 230 万トン）は、合計すると我が国のコメ生産量（約 850 万トン）をはるかに上回り、かつ、これらのほとんどは、GMO 栽培国である米国（トウモロコシや大豆）やカナダ（ナタネ）から輸入されていることから、我が国は、GMO をもっとも利用している国の一つといえる。

一方、GMO の栽培・利用は規制・管理されている。当初予想された「規制は、新しい技術の導入にあたっての予防措置であり、そのうちに消費者の懸念は消えるだろう」、「米国の巨大企業による特許の独占に対する対応である」という推測を越えて、GMO、GM 食品に対する消費者の忌避感根強い。我が国では、「GMO は使っていません」という不使用表示が認められたことにより、GMO は危険であるという認識が継続している。

もともと、食品のゼロリスクを証明することには無理があり、従って GMO においても、そのゼロリスクを証明することは不可能である。また、2012 年フランスの研究者が発表した、GM トウモロコシによるラットの発がん性に関する論文が話題になったように、社会、特に、マスコミは、極端な事例を取りあげることが多い。一方、こうした論文はその後解析上の問題が指摘されることが多く、この論文も発表後（2013 年末）出版社により掲載撤回となっているが、そのことの報道はない。これまでに報告されている論文をメタ解析した論文の結果も、これまでに発表された論文の多くは GMO に問題がないことを明らかにしている[4]。

このように、GMO の現実と一般人の理解の間には、乖離がおりやすく、NPBT を利用するにあたって事前にも十分な情報を紹介する必要がある。特に、GM 技術で起こったような、研究者や開発者の独善的判断ではなく、多くの利害関係者に、より早く、かつ、より正確な情報を周知し、その理解を深めることが不可欠と考えられる。

では、どのように NPBT を周知していけばよいのであろうか。これまでに NPBT を紹介するシンポジウム等の活動において、研究者の関心は、主に、技術的なメリットであり、その社会的受容に関しての視点、ならびに議論は少なかった。あるいは、独断的に、ある種の NPBT は非遺伝子組換えであるという論文が発表されることもあった[37]。しかし、こうした一方的発表は必ずしも一般市民の理解を深めるには至っていない。従って NPBT の実利用にあたっては、専門家とともに一般市民も巻き込んだ議論が必要である。特に、食に対する完全性を求める傾向はマスメディアによって増幅され、一度広がった風評はなかなか消えることはない。少なくとも、継続的な意見交換によって、より正確な知識をマスメディア関係者にもってもらうことが重要である。科学者自身の発信力が不十分であることを

自覚しつつ、サイエンスリテラシーを高める努力が必要である。

6 今後の課題

前述のように、国、あるいは地域による GMO に関する制度の違いがあり、NPBT を一律に評価することは困難であるが、NPBT が従来の GMO の範疇ではカバーしきれないものであり、新たな評価基準が必要であることは間違いない。ここでは、各技術に関連した課題を取りまとめる。

(1) ゲノム編集における課題

ゲノム編集における課題としては、技術的な課題とともに、いわゆる標的遺伝子以外の配列へのオフターゲットの影響を排除できるのかという課題、ならびに、どれだけの変異であれば、自然突然変異と同等と見なすのかという課題がある。また、植物では、一過的な発現系によるゲノム編集系はまだ確立しておらず、また、一過的な発現系といえども、外来遺伝子が導入されることによるゲノムへの組み込みの可能性を如何に排除し、かつ、検証するのかという課題がある。

(2) エピゲノム編集、ならびに、接ぎ木における課題

エピゲノム編集では、DNA 塩基配列は変更されず、DNA やヒストン等の修飾により、柔軟で多様な遺伝子情報の発現が生みだされることから、現在のカルタヘナ法における規制の対象となるのか、ならないのかということが議論となっている。たとえば、オーストラリアの専門家は Null Segregant であっても、形質が継承される場合には、GM の規制対象となる可能性を指摘している。また、人工 small RNA によるエピゲノム編集するための外来遺伝子は交配により除去可能であり、種子非伝搬性の RNA ウイルスベクターや接ぎ木による small RNA を供与した場合には、small RNA 産生用 DNA がエピゲノム編集個体に残らないことから、従来の GMO には全く該当しないという意見があるが、上述のゲノムへの組み込みの可能性の排除、また、その検証をどのようにするかは、同様に課題である。

(3) 迅速・効率的育種のための技術における Null Segregant についての課題

迅速・効率的育種の過程で外来遺伝子が導入された個体は、GMO としてカルタヘナ法の規制を受けるが、育種終了後に、導入遺伝子を遺伝分離により取除いた個体 (Null Segregant) の取扱いをどうするかは重要課題である。Null Segregant は GM 規制から外すべきであるとする専門家もいるが、オーストラリアの専門家は導入遺伝子がなくとも形質が継承される場合 (DNA メチル化など) は GM 規制の対象になる可能性を指摘している。いずれにせよ、導入された遺伝子が残存しないことの証明が重要である。

なお、EU の環境放出令では、一度でも試験管内で構成された遺伝子を導入したものは組換え体としての扱いとなるプロセスベースの考え方を取っているが、EU 新技術ワーキンググループ (NTWG) では確実に導入遺伝子を含まないと証明された Null Segregant の

後代は遺伝子組換え体ではないとしている。また、オーストラリア・ニュージーランドの科学パネルも、SPT プロセスや早期開花による世代促進技術によって作出される Null Segregant について、「GM 食品と見なすべきではない」と結論している。

我が国は最終的には生産物ベースのアプローチを取っていることから、導入遺伝子の残存がないことを科学的に証明でき、また導入遺伝子の混入を防げる確実な管理手法が整っていれば、組換え体の規制の対象外と判断される。実際、SPT プロセスにおける生産物については、導入遺伝子が残存しないと判断できる十分な管理手法がとられていることを条件に、GM トウモロコシとしての規制対象外と判断された。ただし、Null Segregant をどのようにして保証するかはケースバイケースで判断されるとしている。

(4) アグロインフィルトレーションやアグロイノキュレーション法の課題

アグロインフィルトレーションやアグロイノキュレーション法は、NPBT の一つに取りあげられているが、この技術自体は植物育種技術ではない。主に、目的遺伝子の発現や内在性遺伝子の発現抑制を、GM 植物の作出なくおこなう技術である。当然ではあるが次世代植物には遺伝せず、恒常的に外来遺伝子の発現を目的とした形質転換植物の作出とは一線を画する。

一方、ALSV ベクターを利用した果樹の世代促進技術は、そのプロセスで GM 技術を利用するが、その産物（次世代の実生）には、導入遺伝子が伝播しないことから、非組換え植物と判断すべきであると考えられる。この場合にも、如何に、導入遺伝子が伝播していないことを証明できるかが課題である。

(5) シスジェネシスおよびイントラジェネシスの課題

シスジェネシスおよびイントラジェネシスでは、植物に導入できるのは、同種か交雑親和性のある近縁種の遺伝子あるいは配列であることから、育種の最終段階で外来 DNA が植物ゲノムに残存してはならない。しかし、シスジェネシスおよびイントラジェネシスでも遺伝子は従来のアグロバクテリウム法やパーティクルガン法などで導入するため、アグロバクテリウム法を用いた場合、T-DNA 領域の両端にあるボーダー配列も同時に植物ゲノム中に挿入される。また、目的遺伝子が導入されていることを確認するために GMO の開発では、多くは微生物由来の抗生物質耐性遺伝子をマーカー遺伝子として利用している。この場合、シスジェネシスおよびイントラジェネシスの定義に当てはまらない。

従って、T-DNA 領域のボーダー配列と相同性をもつ同種または交雑親和性のある近縁種由来の配列 P (Plant) -DNA の利用が報告されている[38, 39]。選抜マーカー遺伝子の除去は、足跡を残さないトランスポゾンの利用や、部位特異的組換えシステムの利用[40]、さらに同種または交雑可能な植物種由来の除草剤耐性遺伝子利用などがある[41, 42]。また、ダブルトランスフォーメーションにより目的遺伝子と選抜マーカー遺伝子を別の染色体に導入して、後代の遺伝分離で選抜マーカー遺伝子を除くことも検討されている。いずれにせよ、外来遺伝子が導入されていないことの証明が不可欠になる。

従って、どこまでが、外来遺伝子と判定されるかの基準が必要となる。Lusser ら (2011) は、20bp ルールの適用を提言している[25]。20bp ルールとは、生物のゲノム中には短い塩基配列であれば偶然に存在する可能性があり、トウモロコシのゲノムサイズ (2.5×10^9 / 半数体ゲノム) があれば、意図的な遺伝子組換えの結果として同定するためには、少なくとも 20bp の塩基配列に関する情報が必要と計算されるというものである。従って、植物種によってゲノムサイズは異なるものの、20bp 以上の外来配列が存在する場合のみ、植物における遺伝物質の新しい組合せと見なそうとする提案である。NPBT プラットフォームの提言では、「外来 DNA の短い配列 (20bp) を導入する技術の利用では、GMO は作出されないと結論づける」としているが、欧州委員会等で認可されたものではない。

以上のように、NPBT には、複数の技術が含まれており、一律に評価することは困難であるが、ある種のゲノム改変技術は従来の GM 技術における大規模な遺伝子改変とは区別して考えるべきであるという専門家の意見が多い[32]。またすでに紹介したように、我が国でも Seed Production Technology (SPT) 技術において、最終産物には、外来遺伝子が混入しないという保証がなされることにより、F₁ 雑種種子としての最終産物は非遺伝子組換え作物として取り扱ってよいという判断がなされるに至っている[14]。

繰り返しになるが、ゲノム編集で作成した変異体には、変異部位以外、変化は生じないことが想定され、作成の過程で遺伝子組換え技術を用いたかどうかの判断は、最終産物からは、極めて困難である。従って、管理は不要と考える研究者もいるかもしれないが、これまでの遺伝子組換え研究、ならびにその利用の歴史を考えると、最終的に非遺伝子組換えと同等として、認可を得るまでは、従前通りの管理をおこなうことが極めて重要である。また、一部には、作成経過が分かるように追跡可能なためのマーカー、あるいは、遺伝子を除去するためのしくみを導入し、管理を徹底すべきであるという意見もある[43, 44]。重要なことは、最小限の遺伝子組換えであるゲノム編集により作成された植物を厳格に管理、評価し、ゲノム編集した植物体における随伴する変異の有無、形質の変化を現時点で最先端の科学技術により明確にすることである。なお、よく知られているように、組織培養をするだけで、ゲノム全体にわたり塩基の変異が生じる。また、全塩基配列を最新の次世代シーケンサーで解読した場合にも、技術的に数塩基の変異を検出することは、困難である。従って、20 塩基の妥当性は検討を要するにしても、数塩基の変異は自然変異に含まれるとし、評価していくことが妥当と考えられる。こうしたコンセンサスを確立するためにも、遺伝子組換え体における挿入遺伝子等に関するデータを収集することが緊急かつ不可欠である。

今年になって (2014 年 2 月)、OECD において NPBT に関するワークショップが開催され議論が開始されたが、OECD 加盟国においても Null Segregant、ナチュラルオカレンスについての議論は始まったばかりである。すでに述べたように NPBT により作製された変異体は、自然変異と区別がつかず、現在の遺伝子組換え作物の管理に関する多くの法令と整合しなくなる恐れがある。今後の議論を注視するとともに、より速やかな国際基準の策定のために、我が国の研究実績をより深め、国際基準の策定に貢献する必要がある。

繰り返しになるが、NPBT を用いた変異体の作製については、国内においても、すでに、数多くの実験がなされていると考えられる。各研究者が独自に組換え体か組換え体でないかの判断するのではなく、プロセスにおいて GM 技術を用いるものに関しては、従来どおりの GM 指針に従って、管理報告することが適切であり、それを徹底することが重要である。

7 まとめ

以上述べてきたように、NPBT は多様な技術からなり、そのなかには、これまで以上に精度が高く、迅速で効率的なゲノム改変や育種促進が可能な技術や、従来の質的形質に加え量的形質にも適用が可能な技術も含まれている。従って、今後の作物育種において NPBT は極めて重要な技術になることが予想され、今後、我が国としても作物に応じた技術開発が必要となるであろう。一方で、すでに指摘したように、NPBT によってもたらされた変異をどのように検知するのか、自然突然変異との違いをどう明確化するのか、また、予想外の変異や遺伝子機能改変をどう評価するのかなど、NPBT には多くの技術的課題も残されている。そのために、技術開発と並んで、NPBT 技術そのものや NPBT 技術で得られた作物の評価を継続時におこない、NPBT 技術にフィードバックすることが不可欠である。また、国際協調のなかで、世界共通の利用基準を作成することも極めて重要である。

NPBT の適切な受容には、市民の理解が不可欠である。そのためにも、NPBT の開発については、できるだけ多くの市民を巻き込んだ情報の公開が不可欠である。また、NPBT を用いた作物開発にあたっては、外来遺伝子の挿入や改変などがないとして、独断的に非組換え体であると判断することなく、カルタヘナ法に従って、実験計画等を事前に申請し許可を得たうえ実験をおこなうという従前の方法に従って、管理運用し、知見を集積することが重要である。このような運用と実績の積み重ねから、よりよいコンセンサスが生まれることを期待する。

<用語の説明>

Cre/lox：特定の DNA 配列 loxP を標的として DNA 組換えをおこなう酵素 cre によって誘導される部位特異的組換えシステム。

CRISPR/Cas9 [Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat/Cas9]：DNA を認識する RNA 分子、および DNA 切断タンパク質 Cas9 の組合せにより、任意の DNA 塩基配列を認識し切断することができるシステム（詳細は付録表 1 参照）。

DNA DSBs [DNA Double Strand Breaks]：DNA の二重鎖切断。

MNs [engineered MegaNucleases]：超稀少塩基配列認識ヌクレアーゼ（たとえば、I-SceI は 18 塩基を認識）を改変し、より長い塩基（たとえば、40 塩基）を特異的に切断することのできるように改変したヌクレアーゼ。

FT [FLOWERING LOCUS T] 遺伝子：花成形成を誘導するタンパク質ホルモンをコードし、フロリゲン遺伝子とも呼ばれる。

GM [Genetically Modified] 技術：遺伝子組換え技術。生物のもつ遺伝子を人工的に改変し、別の種類の生物の遺伝子に組み込む、あるいは、増殖させる技術。

GMO [Genetically Modified Organism]：遺伝子組換え生物。遺伝子組換え技術により作成した生物。本報告では、植物（作物）に限定して取り扱う。

in planta 法：植物個体を用いておこなう遺伝子組換え手法。たとえば、花芽に直接アグロバクテリウムを感染させることにより、直接、形質転換体（種子）を得る方法。本文に記載の例では、植物体のなかに外来遺伝子を組み込み、それを鋳型とした相同組換えを想定している。

miRNA [micro-RNA]：細胞内に存在する 20–25 塩基ほどの RNA であり、他の遺伝子の発現を調節する機能を有するノンコーディング RNA の一種。siRNA と異なり、内在遺伝子より生じるヘアピンループ構造から生成する。通常ヘアピンの内部に部分的不対合をもつ。

NPBT [New Plant Breeding Techniques]：新しい育種技術。従来の遺伝子組換え技術より、より精密なゲノム編集やエピゲノム編集等により、生物の特性を改変する技術。

Null Segregant：遺伝子導入により、目的とする育種を終了した後に、遺伝分離により導入遺伝子を取除いた個体。

Reverse Breeding：F₁ 品種におけるヘテロシス（雑種強勢）や均質性は自殖においても、減数分裂時の染色体間で乗換え等により失われる。Reverse Breeding は減数分裂時の遺伝的組換えを抑制することにより、F₁ から親系統や F₁ 品種を再現する試みである。

siRNA [short-interfering RNA]：ウイルス RNA の転写抑制等、外来遺伝子の発現抑制に関わる小分子 RNA であり、二本鎖 RNA から生成し、標的 mRNA に完全相補的に機能する。

small RNA：miRNA や siRNA など 20 数塩基からなる小分子 RNA。外来遺伝子のみならず、内在遺伝子の発現制御に関与していることが明らかになっている。

SPT [Seed Production Technology]：劣性不稔性変異遺伝子をホモにもつ不稔系統に、①稔性遺伝子（前述の劣性不稔性変異遺伝子の野生型）、②花粉不活化遺伝子、③蛍光タ

ンパク質遺伝子、の3つの遺伝子が染色体上の1ヶ所に導入されたSPT維持系統は、本来であれば不稔となるが、導入された稔性遺伝子の作用により花粉を形成することができる。しかし、花粉不活化遺伝子により、花粉親として後代に導入遺伝子を伝達できない。このため、自殖した後代種子で1/2で出現する導入遺伝子を有する種子を蛍光タンパク質遺伝子によって発する蛍光によって選別し、SPT維持系統を維持する技術（詳細は、報告図1参照）。

TALENs [Transcription Activator-Like (TAL) Effector Nucleases]: 植物病原細菌キサントモナスがもつ転写因子様タンパク質のDNA結合ドメイン (TAL effector) とヌクレアーゼドメインの融合により任意のDNA塩基配列を認識・切断することができる合成酵素の1種（詳細は付録表1参照）。

TILLING [Targeting Induced Local Lesions IN Genomes]: ゲノムや遺伝子上の単一あるいは数塩基の変異を検出する方法。ミスマッチ塩基対を認識する酵素（通常はCEL1）で変異点を切断し、野生型と異なる塩基の位置を明らかにできる。

TFL 遺伝子: FT のホモログ遺伝子であるが、FT 遺伝子とは逆に、花成の誘導を阻害し、TFL の変異により花成が促進する。

Transgenic Male Sterility (TMS) 循環選抜: 自殖作物においてポジティブ／ネガティブ選抜可能な優性の雄性不稔系統（付録図7、8参照）を作出することにより、雄性不稔個体を人為的に選抜し、他殖交雑育種に用いる技術。

VIGS [Virus-Induced Gene Silencing]: ウイルスのゲノム上に植物の内在性遺伝子の配列を挿入し、過剰発現させることにより、相同性をもつ内在の遺伝子の発現を抑制する技術。

ZFNs [Zinc Finger Nucleases]: 酵母から動植物まで幅広く認められるDNA結合ドメイン (zinc finger モチーフ) とヌクレアーゼドメインの融合により任意のDNA塩基配列を認識・切断することができる合成酵素（人工ヌクレアーゼ）の1種（詳細は付録表1参照）。

アグロイノキュレーション (アグロインフェクション): アグロバクテリウム法により導入した植物ウイルスの自己増殖能を利用して外来遺伝子を植物体で発現させる、あるいはVIGSを利用して内在性遺伝子を発現抑制する技術。

アグロインフィルトレーション: アグロバクテリウム法を用いて、植物体において、一過的に外来遺伝子を発現する技術。

アグロバクテリウム法: アグロバクテリウム（通常は、*Agrobacterium tumefaciens*）がもつプラスミドに目的遺伝子を組み込み、植物細胞に感染することにより植物細胞中に遺伝子導入する技術。

アミロペクチン: 澱粉を構成するグルコースのポリマーの1形態。直鎖であるアミロースと異なり枝分かれ構造をとり、アミロペクチンのみの澱粉はモチ性となる。

イントラジェネシス (intragenesis): 植物体に導入する遺伝子は、同種か交雑親和性のある近縁種であるが、遺伝子のコード領域やプロモーター、あるいはターミネーターを組み合わせ、自然界にある遺伝子とは違った形で植物体に導入する遺伝子組換え。

エピゲノム編集：DNA における塩基配列の変化を伴わず、構成塩基の一つであるシトシンのメチル化や DNA を含む高次の構造体であるヒストンの修飾等により遺伝子の発現を制御する技術。

オフターゲット：導入した遺伝子、たとえば、siRNA や miRNA により、特定の遺伝子の発現を抑制しようとした場合に、配列の認識特異性が低いなどの原因のために、標的の遺伝子以外の遺伝子の発現に直接的に影響が及ぶこと。

ゲノム編集：任意の塩基配列を認識する人工ヌクレアーゼを用いて特定のゲノム遺伝子に欠損や塩基置換や遺伝子挿入を起こす標的変異技術や、外来 DNA との相同組換えにより特定の遺伝子を改変する標的組換え技術のように、標的ゲノム配列を狙って改変する技術。

細胞質雄性不稔 [cytoplasmic male sterility; CMS]：細胞質のオルガネラ（通常はミトコンドリア）がもつ遺伝子型と対応する核遺伝子型の不適合により生じる不稔。

サイレンシング（遺伝子発現抑制）：small RNA を介した mRNA の分解、翻訳抑制、あるいは、エピジェネティクスによる遺伝子発現抑制等により生じる。

自家不和合性：ある植物個体の正常に発達した花粉が、同じ個体の正常な柱頭に受粉しても受精に至らないこと、あるいは、種子形成にいたらないこと。アブラナ科、ナス科、バラ科等で知られており、自殖を防ぐ機構と考えられている。

シスジェネシス (cisgenesis)：導入する遺伝子を同一種あるいは交雑可能な種に由来するものとし、自然界にある植物のものと、プロモーター、イントロンを含めた遺伝子のコード領域、ターミネーターについて、全く同じ組み合わせとする遺伝子組換え。

ジャガイモ疫病：植物病原菌 (*Phytophthora infestans*) により引き起こされる病害。1840 年代アイルランドを中心に甚大な飢饉をもたらした。

新規食品規則 [novel food regulation]：EU の食品規則であり、1997 年の規則導入以前に欧州ではほとんど消費されていなかった食品および食品成分（食品添加物は除く）、新たに開発された、もしくは新しい製法や技術によって生産された食品、および、第三国ではこれまで安全に食されてきたが、EU では昔から消費されていなかった食品などの新規食品に対する安全性を担保する規則。

セルフクローニング：カルタヘナ法施行規則において規定されている技術であり、同種の生物の核酸のみを用いて加工する技術を用いて加工した場合をさす。

相同組換え [Homologous Recombination: HR]：DSBs の修復機構の一つ。本来は、相同染色体や姉妹染色分体等、損傷部位と相同性のある配列を鋳型に欠損部位をコピーすることで DSBs 部位を正確に修復するシステム。標的組換えに利用される。

ソマクロナール変異：組織培養や細胞培養において生じる体細胞変異。培養した当代で変異形質が現れることが多く、メンデル遺伝に従わない変異形質も多い。

ダブルトランスフォーメーション：目的遺伝子と選抜マーカーのような異なる導入遺伝子ベクターをもつアグロバクテリウムを用いて、二重に細胞を形質転換すること。形質転換はランダムに起こることから、一定の頻度で、目的遺伝子と選抜マーカー遺伝子が、同一の細胞に、かつ別の染色体に導入される。このようにして作成された個体に

においては、後代の遺伝分離で選抜マーカー遺伝子を除くことが可能となる。

ナチュラルオカレンス (natural occurrence) : 自然界で遺伝子交換をする生物種間で生じ得る遺伝変異。微生物の遺伝子組換え実験においては、クローン化する遺伝子が由来する生物種、プラスミドのようなベクターが由来する生物種、クローン化したベクターを導入した生物種のすべてが同じでなくても、実質的に自然界で起こりうると思われる場合に、自然に起こりうる現象として評価される。

ネガティブマーカー: リボヌクレアーゼのように、その存在によって、導入された細胞が、選抜時に致死となり、排除される遺伝的形質。

パーティクルガン: 物理的遺伝子導入法の一つ。導入したい遺伝子を金属粒子に付着させ、高圧のガス圧により物理的に生物細胞中に導入し、ゲノム遺伝子を形質転換する技術。

非相同末端結合 [Non-Homologous End Joining: NHEJ] : 鋳型は用いずに DSBs 末端を修復するシステムであり、相同組換えよりも正確性に劣る。

標的組換え (ジーンターゲッティング) : 相同組換え (HR 機構) を利用して標的遺伝子を改変する技術。植物細胞内では、頻度は極めて低いが一定の頻度で標的遺伝子に DSBs が生じる。その DSBs 部位が修復される際、外から導入した標的組換え用ベクターが鋳型となり、HR によって目的の変異を導入する技術。

標的変異: 任意の塩基配列を認識する人工ヌクレアーゼを用いて特定のゲノム遺伝子に DSBs を生じ、その結果として任意のゲノム遺伝子に欠損や塩基置換を起こすこと、あるいは、そのようにして生じた変異。

フィターゼ: イノシトールの 6 リン酸エステルであるフィチン酸の分解酵素。フィチン酸はリン酸の貯蔵形態の一つであるが、飼料中において吸収が低く、畜産廃棄物による環境汚染の原因の一つである。

ポジティブマーカー: 除草剤抵抗性のように、その存在によって選抜時に導入された細胞が生き残る遺伝的形質。

雄性不稔: おしべの形成不全や花粉稔性の低下等、雄性因子の不全により生じる不稔現象。

有用遺伝子のピラミディング: 複数の有用遺伝子を組み合わせ、優良な形質をもつ作物を育種する技術。たとえば、多収性と半矮性の組合せによる優良品種の育成が試みられている。

リンケージドラッグ: 交雑育種において、導入すべき目的遺伝子の近傍も連鎖により導入されること。

<参考図書>

- 江面浩・大澤良編著 植物分子デザイン第178委員会監修「新しい植物育種技術を理解しよう—NBT(new plant breeding techniques)—」国際文献社(2013)
- 鎌田博(企画)「育種技術の新展開—NBT、ゲノム編集、そして社会的対応」遺伝 2014年3月号
- 鎌田博(企画)「新しい遺伝子改変技術と有用植物の育成」植物の生長調節 2013年48巻2号

<参考文献>

- [1] Biello, D. (2013) 400 PPM: Carbon dioxide in the atmosphere reaches prehistoric levels.
<http://blogs.scientificamerican.com/observations/2013/05/09/400-ppm-carbon-dioxide-in-the-atmosphere-reaches-prehistoric-levels/>
- [2] FAO (2012) World Agriculture Towards 2030/2050: The 2012 revision summary,
http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/esag/docs/AT2050_revision_summary.pdf
- [3] ISAAA (2008) 国連のミレニアム開発目標 (MDG) と、より持続可能な農業への遺伝子組み換え作物の貢献について.
<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/37/pressrelease/pdf/Brief%2037%20-%20Press%20Release%20-%20Japanese.pdf>
- [4] DeFrancesco, L. (2013) How safe does transgenic food need to be? Nature Biotech., 31, 794-802.
- [5] 遠藤真咲、土岐精一 (2014) 植物におけるゲノム編集. 遺伝, 68, 135-139.
- [6] 葛西厚史、原田竹雄 (2014) 植物におけるエピゲノム編集. 遺伝, 68, 140-144.
- [7] Groszmann, M., Greaves, I.K., Fujimoto, R., Peacock, W.J., Dennis, E.S. (2013) The role of epigenetics in hybrid vigour. Trends Genet., 29, 684-690.
- [8] Stroud, H., Ding, B., Simon, S.A., Feng, S., Belizzi, M., et al. (2013) Plants regenerated from tissue culture contain stable epigenome changes in rice. eLIFE, 2, e00354.
- [9] Stagemann, S., Bock, R. (2009) Exchange of genetic material between cells in plant tissue grafts. Science, 324, 649-651.
- [10] Harada, T. (2010) Grafting and RNA transport via phloem tissue in horticultural plants. Sci. Hortic., 125, 545-550.
- [11] Kasai, A., Bai, S., Li, T., Harada, T. (2011) Graft-transmitted siRNA signal from the root induces visual manifestation of endogenous post-transcriptional gene silencing in the scion. PLoS ONE, 6, e16895.

- [12] 田中淳一、田部井豊 (2014) NBT による生殖制御によって育種効率を高めようとする取り組み—SPT(seed production technology)プロセス、リバーブリーディング、果樹の早期開花、自殖性作物の TMS 循環選抜. 遺伝, 68, 117-124.
- [13] 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会新開発食品調査部会(2013) DP-32138-1 トウモロコシを用いた Seed Production Technology (SPT) プロセスについて (企業提出資料) <http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000002tccm-att/2r9852000002tcwe.pdf>
- [14] 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会新開発食品調査部会 (2013) 資料及び審議結果 <http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000002tccm-att/2r9852000002tck7.pdf>
- [15] Wijnker, E., Deurhof, L., van de Belt, J., et al. (2014) Hybrid recreation by reverse breeding in *Arabidopsis thaliana*. Nature Protocols, 9, 761-772.
- [16] Wenzel, S., Flachowsky, H., Hanke, M-V. (2013) The Fast-track breeding approach can be improved by heat induced expression of the FLOWERING LOCUS T genes from poplar (*Populus trichocarpa*) in apple (*Malus x domestica* Borkh.). Plant Cell Tiss. Organ Cult., 115, 127-137.
- [17] 今 辰哉、吉川信幸 (2014) アグロインフィルトレーション法による遺伝子発現と遺伝子機能解析. 遺伝, 68, 125-129.
- [18] 吉川信幸、山岸紀子 (2014) RNA ウイルスを用いた果樹の開花促進と育種年限の短縮. 遺伝, 68, 112-116.
- [19] 岡部佳弘、三浦健次 (2013) 新しい植物育種技術を理解しよう (江面・大澤編), (株) 国際文献社, pp. 87-97.
- [20] Kapila, J. De Rycke, R., Van Montagu, M., Angenon, G. (1997) An Agrobacterium-mediated transient gene expression system for intact leaves. Plant Sci., 122, 101-108.
- [21] Ratcliff, F., Martin-Hernandez, Baulcome, D.C. (2001) Technical Advance: Tobacco rattle virus as a vector for analysis of gene function by silencing. Plant J., 25, 237-245.
- [22] Yamagishi, N., Kishigami, R., Yoshikawa, N. (2014) Reduced generation time of apple seedlings to within a year by means of a plant virus vector: a new plant-breeding technique with no transmission of genetic modification to the next generation. Plant Biotech. J., 12, 60-68.
- [23] 阿部清美、田部井豊 (2014) シスジェネシスとイントラジェネシス. 遺伝, 68, 150-152.
- [24] Holme I. B., Wendt T., Holm P. B. (2013) Intragenesis and cisgenesis as alternatives to transgenic crop development. Plant Biotechnol J., 11, 395-407.
- [25] Lusser, M., Parisi, C., Plan, D. and Rodríguez- Cerezo, E. (2011) New plant breeding techniques. State-of-the-art and prospects for commercial development. JRC Technical Report, EUR 24760 EN.
- [26] Jochemsen, H., Schouten, H.J. (2000) Ethische beoordeling van genetische

- modificatie. In: ‘Toetsen en Begrenzen. Een Ethische en Politieke Beoordeling van de Moderne Biotechnologie’ (Jochemsen, H. ed), pp. 88-95. Amsterdam, Netherlands: Buijten and Schipperheijn.
- [27] Nielsen, K.M. (2003) Transgenic organisms—time for conceptual diversification? *Nat. Biotechnol.*, 21, 227-228.
- [28] Schouten, H. J., Krens, F.A., Jacobsen, E. (2006a) Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants: International regulations for genetically modified organisms should be altered to exempt cisgenesis. *EMBO Rep.*, 7, 750-753.
- [29] Schouten, H. J., Krens, F.A. and Jacobsen, E. (2006b) Do cisgenic plants warrant less stringent oversight? *Nature Biotechnol.*, 24, 753.
- [30] Lusser, M. and Emilio R. C. (2012) Comparative regulatory approaches for new plant breeding techniques Workshop Proceedings, JRC-IPTS, EUR 25237 EN. <http://ftp.jrc.es/EURdoc/JRC68986.pdf>
- [31] New Techniques Working Group (2012) Final Report, European Commission.
- [32] 食品安全委員会(2013) オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関(FSANZ)、新しい植物育種技術に関するワークショップ概要
<http://www.fsc.go.jp/fsciis/foodSafetyMaterial/show/syu03860720208>
- [33] Podevin et al. (2012) Transgenic or not? No simple answer! *EMBO Reports*, 13, 1057-1061.
- [34] 下野綾子 (2013) 新たな植物育種技術で作成された植物の規制と生物多様性影響評価。新しい植物育種技術を理解しよう。江面、大澤 (編集), 国際文献社、東京, P99-110
- [35] EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) (2012a) Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed using Zinc Finger Nuclease 3 and other Site-Directed Nucleases with similar function. *EFSA J.*, 10, 2943
- [36] EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) (2012b) Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed through cisgenesis and intragenesis. *EFSA J.*, 10, 2561.
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2561.pdf>
- [37] Watanabe, T. et al. (2012) Non-transgenic genome modifications in a hemimetabolous insect using zinc-finger and TAL effector nucleases. *Nature Comm.*, DOI:10.1038/ncomms2020.
- [38] Conner A. J., Barrell P. J., Baldwin S. J., Lokerse A. S., Cooper P. A., Erasmuson A. K., Nap J., Jacobs J. M. E. (2007) Intragenic vectors for gene transfer without foreign DNA. *Euphytica*, 154, 341-353.
- [39] Rommens C. M., Bougri O., Yan H., Humara J. M., Owen J. C. M., et al. (2005) Plant-derived transfer DNAs. *Plant Physiol.*, 139, 1338-1349.
- [40] Tuteja N., Verma S., Sahoo R. K., Raveendar S., Reddy I. N. (2012) Recent advances in development of marker-free transgenic plants: regulation and biosafety concern.

- J. Biosci., 37, 167-197.
- [41] Okuzaki, A., Toriyama, K. (2004) Chimeric RNA/DNA oligonucleotide-directed gene targeting in rice. *Plant Cell Rep.*, 22, 509-512.
- [42] Endo, M., Osakabe, K., Ono, K., Handa, H., Shimizu T. et al. (2007) Molecular breeding of a novel herbicide-tolerant rice by gene targeting. *Plant J.*, 52, 157-166.
- [43] Tsukaya, H. (2013) Design for controllability. *EMBO Reports*, 14, 3.
- [44] 塚谷裕一 2013年11月16日 朝日新聞朝刊 「オピニオン」
- [45] Talianova, M., Janousek, B. (2011) What can we learn from tobacco and other Solanaceae about horizontal DNA transfer? *Amer. J. Bot.*, 98, 1231-1242.
- [46] Voinnet, O., Rivas, S., Mestre, P., Baulcombe, D. (2003) An enhanced transient expression system in plants based on suppression of gene silencing by the p19 protein of tomato bushy stunt virus. *Plant J.*, 33, 949-956.
- [47] 山岸紀子・吉川信幸 (2010) 植物ウイルスベクターを用いた遺伝子機能解析. *ウイルス*, 60, 155-162.
- [48] Rybicki, E. P. (2010) Plant-made vaccines for humans and animals. *Plant Biotechnol. J.*, 8, 620-637.
- [49] D' Aoust M.A., Lavole, P.O., Couture, M.M., et al. (2008) Influenza virus-like particles produced by transient expression in *Nicotiana benthamiana* induce a protective immune response against a lethal viral challenge in mice. *Plant Biotechnol. J.*, 6, 930-940.
- [50] D' Aoust M.A., Couture, M.M., Charland, N., et al. (2010) The production of hemagglutinin-based virus-like particles in plants: a rapid, efficient and safe response to pandemic influenza. *Plant Biotechnol. J.*, 8, 607-619.
- [51] Sainsbury, F., Lommonosoff, G.P. (2008) Extremely high-level and rapid transient protein production in plants without the use of viral replication. *Plant Physiology*, 148, 1212-1218.
- [52] Sainsbury, F., Thuenemann, E.C., Lomonosoff, G.P. (2009) pEAQ: versatile expression vectors for easy and quick transient expression of heterologous proteins in plants. *Plant Biotechnol. J.*, 7, 682-693.
- [53] Musiychuk, K., Stephenson, N., Bi, H., et al. (2006) A launch vector for the production of vaccine antigens in plants. *Influenza Other Respir. Viruses*, 1, 19-25.
- [54] Gleba, Y., Klimyuk, V, Marillonnet, S. (2007) Viral vectors for the expression of proteins in plants. *Curr. Opin. Biotech.*, 18, 134-141.
- [55] Huang, Z., LePore, K., Elkin, G., et al. (2008) High-yield rapid production of hepatitis B surface antigen in plant leaf by a viral expression system. *Plant*

- Biotechnol. J., 6, 202-209.
- [56] Porta, C., Spall, W.E., Loveland, J., et al. (1994) Development of cowpea mosaic virus as a high-yielding system for the presentation of foreign peptides. *Virology*, 202, 949-955.
- [57] Dalsgaard, K., Uttenthal, A., Jones, T.D., et al. (1997) Plant-derived vaccine protects target animals against a viral disease. *Nature Biotechnol.*, 15, 248-252.
- [58] Igarashi, A., Yamagata, K., Sugai, T., et al. (2009) Apple latent spherical virus vectors for reliable and effective virus-induced gene silencing among a broad range of plants including tobacco, tomato, *Arabidopsis thaliana*, cucurbits, and legumes. *Virology*, 386, 407-416.
- [59] Yamagishi, N., Sasaki, S., Yamagata, K., et al. (2011) Promotion of flowering and reduction of a generation time in apple seedlings by ectopical expression of the *Arabidopsis thaliana* FT gene using the Apple latent spherical virus vector. *Plant Mol. Biol.*, 75, 193-204.
- [60] 吉川信幸・山岸紀子(2012) 植物潜在性ウイルスベクターを利用した植物の開花促進. *植物の生長調節*, 47, 45-51.
- [61] Sasaki S, Yamagishi N, Yoshikawa N. (2011) Efficient virus-induced gene silencing in apple, pear and Japanese pear using Apple latent spherical virus vectors. *Plant Methods*, 7, 15-25.
- [62] Haverkort, A. J., Struik, P. C., Visser, R. G. F., Jacobsen, E. (2009) Applied biotechnology to combat late blight in potato caused by *Phytophthora infestans*. *Potato Res.*, 52, 249-264.
- [63] Vanblaere T., Szankowski I., Schaart J., Shouten H., et al. (2011) The development of a cisgenic apple plant. *J. Biotechnol.*, 154, 304-311.
- [64] Han, K.M., Dharmawardhana, P., Arias, R.S., Ma, C., Busov, V. et al. (2011) Gibberellin-associated cisgenes modify growth, stature and wood properties in *Populus*. *Plant Biotechnol. J.*, 9, 162-178.
- [65] Holme, I. B., Dionisio, G., Brinch-Pedersen, H., Wendt, T., Madsen, C. K., et al. (2012) Cisgenic barley with improved phytase activity. *Plant Biotechnol. J.*, 10, 237-247.
- [66] Joshi, S. G., Schaart, J. G., Groenwold, R., Jacobsen, E., Schouten, H. J., et al. (2011) Functional analysis and expression profiling of HcrVf1 and HcrVf2 for development of scab resistant cisgenic and intragenic apples. *Plant Mol. Biol.*, 75, 579-591.
- [67] Molesini B., Pii Y., Pandolfini T. (2012) Fruit improvement using intragenesis and artificial microRNA. *Trends in Biotechnol.*, 30, 80-88.
- [68] de Vetten, N., Wolters, A., Raemakers, K., van der Meer, I., ter Stege, R., et

- al. (2003) A transformation method for obtaining marker-free plants of a cross-pollinating and vegetatively propagated crop. *Nat. Biotech.*, 21, 439-442.
- [69] Weeks, J. T., Ye, J., Rommens, C. M. (2008) Development of an in planta method for transformation of alfalfa (*Medicago sativa*). *Transgenic Res.*, 17, 587-597.
- [70] ISAAA (2011) Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011
<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/43/executivesummary/default.asp>
- [71] Canadian Food Inspection Agency (CFIA) (2012) Directive 94-08: Assessment criteria for determining environmental safety of plants with novel traits. Science branch, Office of Biotechnology, Ottawa, ON, Canada.
<http://www.inspection.gc.ca/plants/plants-with-novel-traits/applicants/directive-94-08/eng/1304475469806/1304475550733#ch6>
- [72] COGEM (2009) Should EU Legislation Be Updated? Scientific developments throw new light on the process and product approaches. COGEM Report CGM/090626-03
- [73] Kuzuma, J., Kokotovich, A. (2011) Renegotiating GM crop regulation. Targeted gene modification technology raises new issues for the oversight of genetically modified crops. *EMBO Reports*, 12, 883-888.
- [74] Walts, E. (2012) Tiptoeing around transgenics. *Nature Biotechnology* 30:215-216.
- [75] 田部井豊 (2010) 遺伝子組換え植物の利用における遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(カルタヘナ法)の概要と生物多様性影響評価. *日本農薬学会誌*, 35, 145-150.
- [76] 小池文人 (2010) 「外来植物のリスクアセスメントと新しい群集生態学」 種生物学会編 『外来生物の生態学 進化する脅威とその対策』, 文一総合出版 pp291-323.

＜参考資料 1＞ 審議経過

平成 23 年

12 月 1 日 遺伝子組換え作物分科会（第 1 回）

○第 22 期における分科会構成などの確認と今期の分科会活動の討議。「新しい技術を用いた遺伝子組換え作物について」評価をおこなうことを決定。

12 月 27 日 植物科学分科会（第 1 回）

○第 22 期における分科会活動の討議。GM 植物について、遺伝子組換え作物分科会と協力して活動することを決定。

平成 24 年

2 月 1 日 遺伝子組換え作物分科会（第 2 回）

○新しい遺伝子組換え技術に対する対応について、EU 等海外の情勢や国内の開発状況について、情報交換。各界からの意見聴取と議論のためにシンポジウム開催を決定。（この間、シンポジウムの趣旨・内容について議論をおこなうとともに、持ち回りで委員の承認を得る。）

3 月 26 日 育種学分科会（第 2 回）

○育種学分科会における 5 テーマ審議および提言取りまとめについて審議。「GMO と育種」に関連して遺伝子組換え作物分科会とシンポジウム共催、ならびに合同分科会開催を決定。

5 月 14 日 遺伝子組換え作物分科会／育種学分科会 合同分科会（第 3 回）

○シンポジウム開催。（この間、報告取りまとめのための資料収集をおこなう。）

7 月 11 日 植物科学分科会（第 2 回）

○シンポジウムの報告、ならびに、遺伝子組換え植物の今後について審議。

平成 25 年

8 月 26 日 植物科学分科会（第 3 回）

○遺伝子組換え作物分科会での議論を踏まえ、NBT の導入にあたり問題となる点について議論。

9 月 21 日 育種学分科会（第 4 回）

○「GMO と育種」に関して遺伝子組換え作物分科会と議論を継続することを決定。

10 月 15 日 遺伝子組換え作物分科会（第 4 回）

○提言・報告の取りまとめについて討議し、報告を作成することを決議。ワークショップ「植物の新育種技術に関するワークショップ：規制面からの考察および検討」にて情報収集、意見交換。

11 月 21 日 遺伝子組換え作物分科会（第 5 回）

○最新の NBT の動向、ならびに、個別の技術的課題について論議。報告の構成を議論し、執筆担当者、ならびに、今後のスケジュールを決定。

12月5日 遺伝子組換え作物分科会（第6回）

○「遺伝子組換え（GM）植物の産業利用における課題～NBTを巡る議論に向けて～」を開催し、情報収集、課題整理。（この間、執筆者による報告原案の作成、メール会議により報告案の検討）

平成26年

1月20日 植物科学分科会（第4回）

○遺伝子組換え作物分科会での議論を踏まえ、遺伝子組換え植物について審議。

3月27日 育種学分科会（メール会議）

○遺伝子組換え作物分科会作成の暫定報告案、ならびに修正案について。

4月15日 遺伝子組換え作物分科会（第7回）

○分科会・報告について審議。（その後、メール会議によって報告最終案の策定、承認）

4月15日 植物科学分科会（メール会議）

○遺伝子組換え作物分科会作成の暫定報告案を検討し、一部表現等修正の後、表出に加わることを承認。

○月○日 日本学術会議幹事会（第○回）

報告「植物における新育種技術（NPBT：New Plant Breeding Techniques）の現状と課題」について承認

＜参考資料２＞ 公開シンポジウム

「新しい遺伝子組換え技術の開発と植物研究・植物育種への利用～研究開発と規制を巡る国内外の動向～」 （平成 24 年 5 月 14 日 日本学術会議講堂）

「植物 RNA ウイルスベクターを用いた遺伝子発現と植物育種への利用」	吉川信幸
「人工ヌクレアーゼを基盤とする動物におけるゲノム編集」	山本 卓
「植物における標的遺伝子改変技術の展開」	土岐精一
「RdDM を含む植物におけるエピジェネティック変異の誘導と後代への伝達」	木下 哲
「植物の接ぎ木を利用した接ぎ木相手の形質転換」	原田竹雄
「遺伝子組換え農作物の開発および規制に関する国際状況」	立川雅司
「New Plant Breeding Techniques (NBT) を巡る国際動向」	鎌田 博

<付録>

1 各技術の開發現状と特徴・メリット・デメリットの詳細

(1) ゲノム編集[5]

① 標的変異

従来の突然変異育種技術に対し、標的変異は、人為的に標的遺伝子に DSBs などの DNA 損傷を生じさせることで、標的遺伝子に変異を導入しやすくする技術である。近年、人工的に任意の DNA 配列を認識・切断することができる合成酵素（人工制限酵素、人工ヌクレアーゼとも呼ぶ）の研究開発が進み、標的遺伝子を狙って DSBs を導入することが可能となってきた。これまでに利用されている人工制限酵素には、engineered MegaNucleases (MNs)、Zinc Finger Nucleases (ZFNs)、Transcription Activator-Like Effector Nucleases (TALENs)、Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR) /Cas9 があげられる。これらの特徴を付録表 1、付録図 1 にまとめる。いずれの技術においても、作物の染色体上の標的遺伝子に変異を導入できたことが報告されており、基礎研究のみならず分子育種にも利用されている。たとえば、MNs を利用して標的遺伝子を破壊することで雄性不稔トウモロコシが、TALENs を利用して標的遺伝子の発現調節部位を一部欠失させることで白葉枯病に耐性を示すイネが作出されている。当然ながら、これらの技術には一長一短があるため、必要に応じて使い分けていくことが必要である。また、国内では上記の人工制限酵素に関する基本技術は開発されていないため、実用化には外国企業の特許許諾が必要となる可能性が高い。なお、これらの技術は、内在性 DNA だけではなく、ウイルス等外来から侵入した DNA も切断することが可能であることから、耐病性付与に応用する研究が進められている。また、ヌクレアーゼドメインの代わりに転写活性化／抑制因子を結合した人工転写制御因子や、ヒストンや DNA を修飾するタンパク質を結合させることでエピゲノム編集にも応用できることが期待されている。

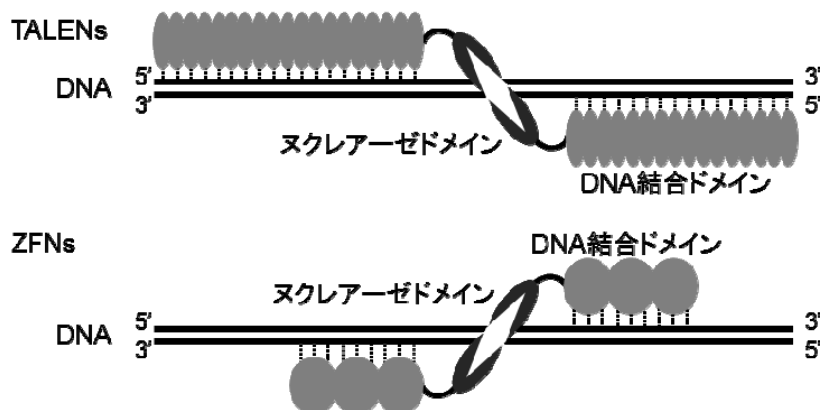
従来の突然変異育種と標的変異技術の違いは、ランダムに DNA 損傷を導入するか、標的遺伝子特異的に DNA 損傷を導入するか、という点にある。従って、標的変異技術における技術的課題は、従来の突然変異育種技術における課題と共通するところがある。すなわち、変異原となる人工制限酵素の処理方法（人工制限酵素の発現部位や発現量の制御）、導入される変異スペクトラムや変異頻度の制御、変異が導入された細胞の選抜方法やクローン化方法という 3 つの要素技術の改良である。いずれの要素技術も相互に関係しているため、各条件を総合的に最適化していく必要がある。特に、変異スペクトラムの人為的制御は、標的変異技術においても、突然変異育種法においても重要な要素技術の一つであると考えられる。ラットにおいては、DSBs 末端の削り込みに関わるエキソヌクレアーゼと TALENs を併用することにより、TALENs 単独で使用したよりも導入される欠失の長さは長くなることが報告されている。また、DSBs 末端の保護に関わる Ku80 を欠損したシロイヌナズナでは、ZFNs によって生じる欠失の長さが長くなることが報告されている。しかしながら、欠失を大きくする以外の方法は

現状では確立されていない。たとえば、DSBs 部位に塩基置換を主として誘導する様にバイアスをかけることはできず、今後の研究の進展が待たれる。また、動物細胞では細胞に核酸やタンパク質を直接導入する技術が確立しており、人工制限酵素をコードする RNA や人工制限酵素タンパク質を細胞内に導入することで標的遺伝子の変異体を得ることが可能である。この方法では人工制限酵素量を厳密に制御できるため、人工制限酵素の処理技術を一般化することが容易である。一方、植物ではそのような技術はまだ確立されていないため、一般的には、人工制限酵素の発現プロモーター等の改良によって人工制限酵素量を調節している。

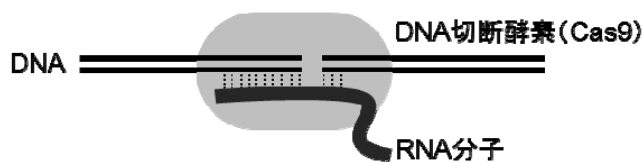
(1) 既存の制限酵素の改変(MNs)



(2) DNA結合ドメインとヌクレアーゼドメインの融合酵素



(3) DNAと相補的なRNA分子とDNA切断タンパク質の複合体(CRISPR/Cas)



付録図1 これまでに開発されている人工制限酵素の種類

TALENs は1塩基を1モチーフで、ZFNs は3塩基を1モチーフで認識する

(雑賀啓明博士原図)

付録表 1 現在使用されている人工制限酵素の特徴

	MNs	ZFNs	TALENs	CRISPR/Cas9
構造（付録図 1 参照）	既存のメガヌクレアーゼの改変	DNA 結合ドメイン（zinc finger モチーフ）とヌクレアーゼドメインの融合	DNA 結合ドメイン（TAL effector）とヌクレアーゼドメインの融合	DNA を認識する RNA 分子、および DNA 切断タンパク質 Cas9
DNA の認識配列長	20 塩基前後	1 タンパク質あたり 9～12 塩基	1 タンパク質あたり 15～25 塩基	20 塩基程度
特許権者	Precision BioScience, Cellectis	Sangamo	Cellectis, Two Blades Foundation	多数の特許が出願されていると予想される。
デザインの容易さ	難	難	易	易
ベクター作製の容易さ	難と思われる	難	やや難（ベクターの作製方法は複数ある）	易
内在性遺伝子の標的変異に成功した作物例	ワタ、トウモロコシ	トウモロコシ、ダイズ、タバコ	イネ、タバコ、オオムギ	タバコ、イネ、コムギ
その他の特徴	人工制限酵素の大きさがもっとも小さいため、細胞内へのデリバリーが容易であると考えられる。	zinc finger モチーフは一つのモチーフで 3 塩基を認識する。	TAL effector の Repeat Variable Diresidues (RVD) は、一つのモチーフで 1 塩基を認識する。メチル化シトシンを認識する RDV が開発されている。DNA 切断効率を高めるためにベクターの改良が進んでいる。	2012 年に論文が発表されて以来、植物を含むさまざまな生物において成功例が報告されている。

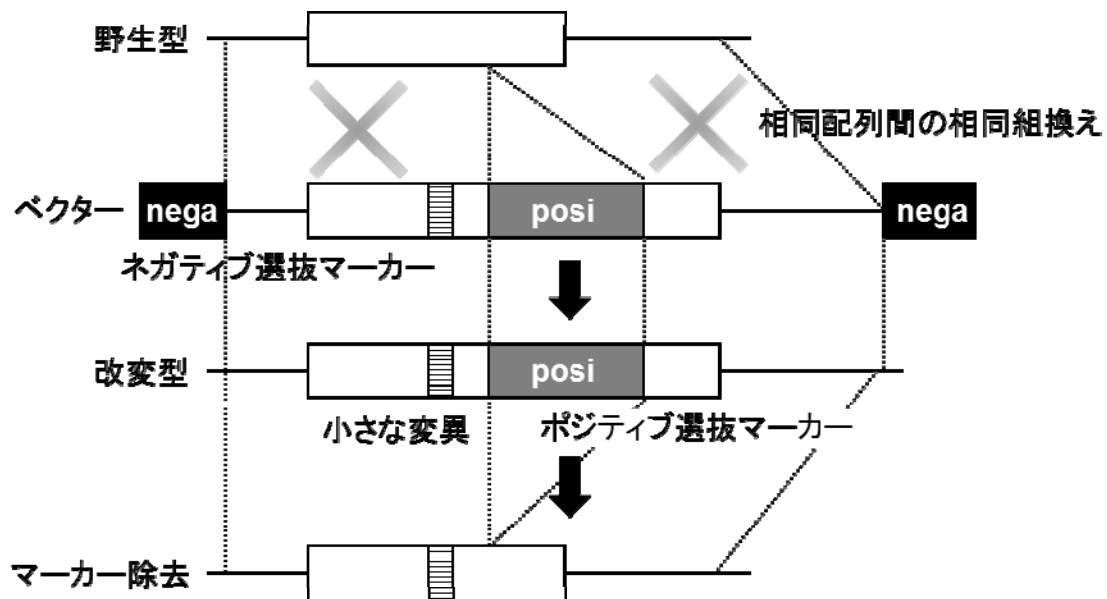
（雑賀啓明博士作成）

② 標的組換え

標的組換え（いわゆるジーンターゲッティング）は、HR 機構を利用して標的遺伝子を改変する技術である。植物細胞内では、頻度は極めて低いが一定の頻度で標的遺伝子に DSBs が生じる。その DSBs 部位が修復される際、外から導入した標的組換え用ベクターが鋳型となり、HR によって目的の変異が導入される。従って、この技術は標的変異とは異なり、目的の変異を狙って導入することが可能であるため、標的変異より緻密な遺伝子改変が期待できる。一方、HR の鋳型となる外来 DNA を必ず導入する必要がある。

作物において、内在性遺伝子の標的組換えに成功したことが報告されているのは、イネ、トウモロコシ、ワタ、タバコ等である。イネにおいては、国内のグループが 2002 年に成功例を世界に先駆けて発表し、継続的に標的組換えに関する論文を報告している。標的組換えを利用すれば内在性遺伝子を狙い通りに破壊することが可能である。たとえば、フィチン酸合成酵素を破壊することで無機リン酸含量を高めたトウモロコシが作出されている。標的組換えは、遺伝子破壊だけではなく、目的部位に塩基置換、小さい挿入や欠失などの変異を導入することも可能である。たとえば、標的遺伝子に塩基置換を導入する標的組換え法により、除草剤耐性タバコやイネ、トリプトファン含量を高めたイネなどが作出されている。また、ワタやトウモロコシにおいては、標的部位に目的の外来遺伝子を多数導入する遺伝子スタッキングの成功例も報告されている。さらに、標的遺伝子をさまざまに改変した変異体を作成し、それらのなかから目的の表現型をもつ系統を選抜する trait discovery に応用することが可能である。一般的な標的組換えに用いるベクターには、2 種類の選抜マーカーが使われている（付録図 2）。ゲノムにベクターが導入された細胞を薬剤耐性等で選抜するためのポジティブ選抜マーカーとベクターがゲノム上のランダムな位置に導入された細胞の生育を抑制するためのネガティブ選抜マーカーである。この 2 種類の選抜マーカーが作用することによって、標的組換え細胞を選抜することが可能である。このポジティブ・ネガティブ選抜法は、理論上はどのような遺伝子にも対応できるため汎用的な標的組換え法である。この方法では、標的遺伝子、またはその近傍にポジティブマーカー遺伝子が挿入されるが、それと同時に標的遺伝子に小さな変異を導入することが可能である（付録図 2）。たとえば、小さな変異としてアミノ酸置換を引き起こす変異を導入すれば、酵素活性など、標的遺伝子がコードするタンパク質の機能を改変することが可能である。しかし、マーカー遺伝子の挿入は、標的遺伝子やその近傍の遺伝子の発現に影響を及ぼす可能性があるため、標的遺伝子に目的の点変異を導入した後、マーカー遺伝子を除去する技術開発が進められている。これまでに、イネにおいては、酵母の部位特異的組換えシステムである Cre/lox を利用して、標的組換えに成功した遺伝子座からマーカー遺伝子を除去することに成功したことが報告されている。また、足跡を残さない新しいマーカー除去技術として、昆虫のトランスポゾン piggyBac を利用する方法や、単鎖アニーリングと呼ばれる DNA 損傷修復機構を利用する方法が開発され

ている。それぞれヒトの iPS 細胞や酵母において成功例が報告されており、作物の標的組換え技術への応用が期待されている。



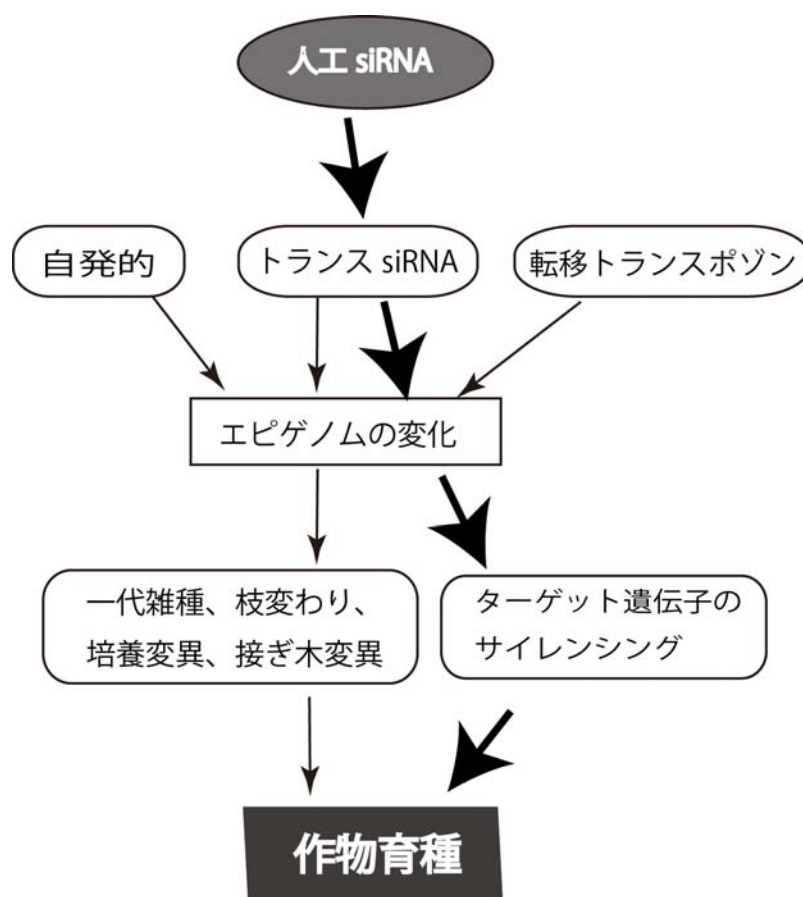
付録図2 ポジティブ・ネガティブ選抜法を用いた標的組換えとマーカー遺伝子の除去
(雑賀啓明博士原図)

作物における標的組換え技術において、もっとも重要な解決すべき課題は効率の低さである。一般的に、標的組換えに成功する確率は、ベクターがゲノム上のランダムな位置に挿入する確率の $10^{-3} \sim 10^{-6}$ 程度であるといわれている。標的組換えに成功した細胞を選抜するためには、効率的な鋳型 DNA の供給、鋳型 DNA と内在性遺伝子との HR 頻度の向上、標的組換えに成功した細胞の確実な選抜といった3点が重要であると考えられ、これらの要素技術開発が精力的に行われている。特に、HR 頻度は標的組換え頻度を決定するもっとも重要なポイントである。植物を含むさまざまな生物種において、人工制限酵素を利用して標的遺伝子に人為的に DSBs を誘導することで HR 効率や標的組換え効率をあげることに成功している。また、DSBs 修復において HR と NHEJ は拮抗していることから、NHEJ 欠損変異体で人工制限酵素を発現させることでも標的組換え効率をさらに向上できることが報告されている。さらに、ニワトリにおいては、標的組換えの際、DSBs の誘導とともに DSBs 末端の削り込みに関わるエキソヌクレアーゼ遺伝子やヘリカーゼ遺伝子を共発現させることで、標的組換え効率をさらに向上できることが報告されている。これらの方法では、HR が生じるタイミングに人工制限酵素等を働かせる必要があるため、厳密な条件設定をおこなう必要がある。一方、鋳型 DNA の供給法についても、新しい技術が報告されている。このことについては、報告本文参照のこと。

(2) エピゲノム編集[6]

「エピジェネティック」とは元来は発生学の分野で登場した用語であった。すなわち、

英国の発生生物学者コンラッド・ワディントンが 1950 年代に提唱した「細胞の分化は後戻りできない谷を転がり落ちるボール」の「エピジェネティックランドスケープ（後成的遺伝風景）」の概念図において使用された。一つの受精卵が細胞分裂を進め、それぞれの細胞に個性が獲得されさまざまな器官に分化していく過程を解説する図であったが、何故同一ゲノムを有する細胞が多様な器官に分化するかは謎であった。その後の分子生物学的研究から DNA を構成する塩基（シトシン）のメチル化や DNA に結合している円盤状タンパク質（ヒストン）のアミノ酸残基における化学的修飾が関与していることが見いだされ、1960 年代からは「DNA 塩基配列の変化を伴わない体細胞分裂または減数分裂に伴う遺伝子機能における遺伝的な変化」を取り扱う学問をエピジェネティクスと言及するに至った。



付録図 3 エピゲノム演習の育種への活用（原田竹雄博士原図）

① エピゲノム編集の展望

エピゲノム編集体の獲得は DNA 塩基配列を変更するものではなく、その上位の情報を変更して柔軟で多様な遺伝子情報の発現を生み出すしくみである。また、人工 small RNA 産生のために導入した外来遺伝子は交配による遺伝分離を介して除去可能である。さらに、種子非伝搬性の RNA ウイルスをベクターに使用した場合や、接ぎ木で small RNA を供与した場合には、small RNA 産生用 DNA がエピゲノム編集体に残らないと考えられることから、従来の GMO には全く該当するものではないとする意見がある。また、

ヘテロ性が高い栄養繁殖性作物では種子を経ない栄養繁殖となることから、接ぎ木を介して篩管輸送された small RNA により接ぎ木相手の一部にエピゲノム編集を発動させ、その部位より個体を獲得するシステムが有効となる。

エピゲノムの安定性については基本的には可塑性を有している機構と理解されており、特に生殖細胞を経たエピ変異の継承については議論がある。これまでの研究からは、メチル化領域のほとんどは安定的に次代に継承されるものの、一部については消失する例も報告されている。メチル化の持続性と非持続性を決定している要因については、標的配列中のシトシンの配位とその出現頻度の違いによることが報告されているが、普遍的な必須要因かは現在のところ明らではない。一方、アラビドプシスの全ゲノムの解析研究からはほとんどのメチル化領域は 30 世代を通して安定維持・継承することが報告されている。

作物の全ゲノム塩基配列の解読が終了したことから、目的領域に相補な人工 small RNA を機能させることで任意の遺伝子を標的とするエピゲノム編集の設計は容易に実行できると考えられ、今後、エピゲノム編集により多くの有用な品種改良体の作出が期待される。

(3) 接ぎ木[6]

果樹は自家不和合性のためゲノムのヘテロ性が高く種子を用いての系統増殖はできないことより、接ぎ木や挿し木などの栄養繁殖手段が必要となる。そこで、一たび優れた品種・系統が獲得された場合、適切な台木種に接ぎ木して、その穂木をクローンとして増殖してきた。これらの栽培を通して栽培家たちは、台木が樹勢、果実の成長、気象への適応、そして害虫や病原菌に対する抵抗性などに影響を及ぼすことに気付き、それらの特性を有する台木クローンを選抜してきた。このようなクローン台木はおよそ 150 年前からリンゴ栽培で活用され、接ぎ木はほぼすべての果樹栽培における普遍的技法となっている。

近年ではトマト、ナス、メロン、キュウリなどの蔬菜においても接ぎ木が適用されており、それらは世界的に拡大している。永年生の果樹での接ぎ木栽培のみならず、一年生作物においても活用される理由は、穂木には無い有用形質（たとえば土壤病害抵抗性）を有する台木種を使用することにある。すなわち、台木の根と果実の優良品性をコラボして「良いところ取りの栽培を実現する技術」である。本邦においてはトマト栽培の約 9 割は接ぎ木で行われており、接ぎ木苗を大量生産する接ぎ木ロボットも開発されている。

① 接ぎ木点を介した DNA 伝搬

接ぎ木点を介して DNA の伝搬があるのでは？との議論がある。これまでの解析から接ぎ木点では細胞質ゲノム（葉緑体 DNA）が接ぎ木相手細胞内に移行することが知られている。最近の報告では、葉緑体（色素体）ゲノムそのものの伝搬が認められている[9]。その伝搬機構として、接ぎ木点での台木と穂木の両細胞間で癒着が成立する際には、新たな原形質連絡糸が形成される。その形成当初においては連絡糸の孔径が巨

大であり、色素体そのものがある頻度で接ぎ木相手側に移行するとの考察がある。また、ある種の植物間で、遺伝子の水平移動を示唆する結果が報告されている[45]。一方、核ゲノムが接ぎ木相手に転移する例は現在のところ知られていないが、次世代シーケンサー等による接ぎ木のより詳細な解析が必要である。

② 接ぎ木点を介した RNA 伝搬

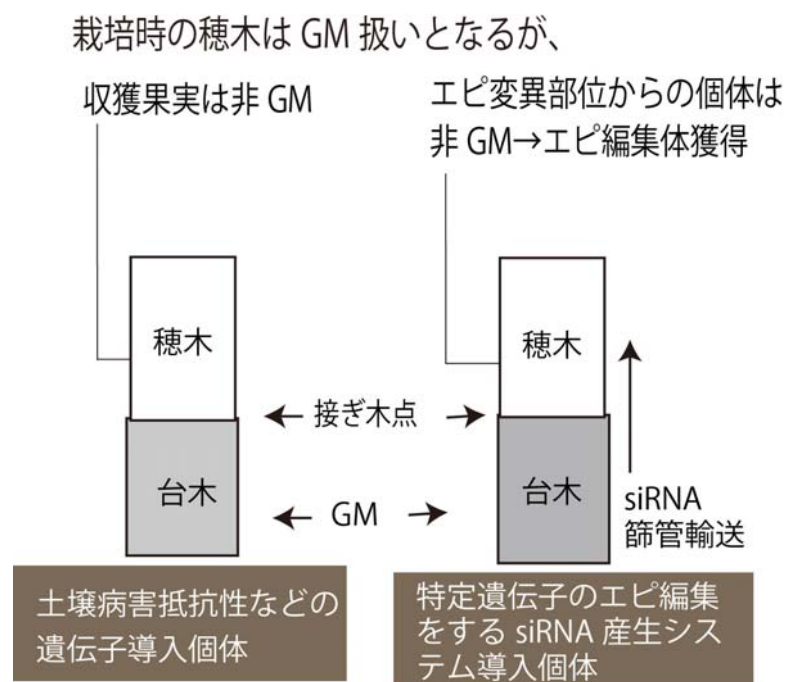
接ぎ木が成立しゲノムを異にする植物個体が一体として生育するためには、台木と穂木の維管束組織が結合されて導管、篩管の長距離輸送システムが成立し機能することを意味する。このため、本来の地下部と地上部間の RNA やタンパク質の篩管輸送も台木と穂木間で行われる。篩管においては特定のタンパク質や RNA が運搬されており、それらは器官間の調和的成長を実行するための重要な情報として機能している。このことから、接ぎ木実験において花成ホルモン（フロリゲン）が接ぎ木相手に花芽を形成させるように、人工的に目的の RNA やタンパク質を輸送するしくみを組込んだ台木を使用すると、接ぎ木相手の穂木にその効果を生み出すことが可能となる。

穂木において有用となる形質を付与できる mRNA やタンパク質を台木から輸送する系の作出が試みられており、そのシステムが完成すれば、台木による穂木の改良技術が活発化すると予測される。mRNA の篩管輸送は複数の遺伝子転写物でも報告されており、その一部においては輸送された mRNA が輸送先で機能し、接ぎ木相手にその表現型が現われることも確認されている[10, 11]。それらの間で共通する RNA 立体構造が解析され、篩管輸送ドメインの探索が進められている。

③ 接ぎ木と small RNA による NPBT

篩管には約 20 塩基長の miRNAs (micro RNAs) や siRNA (small interfering RNA) といった small RNA も輸送されている。それらは接ぎ木相手の輸送先において相同配列の mRNA や DNA に作用してジーンサイレンシングを発動する機能を有している。これまでの研究から、台木から特定の small RNA を穂木に輸送させることで穂木の形質を改良できることが判ってきた。人工の miRNA や siRNA を効果的に篩管輸送することが可能であることから、任意の遺伝子をターゲットとするサイレンシングを接ぎ木相手に発動することで、穂木に対してこれまで無かった有用な形質を付与できる技術となる。また、small RNA 輸送の詳細なメカニズムが解明されれば、より効果的に必要な量だけ必要な部位へ輸送できる技法が開発され、台木からの人工 RNA により穂木の多様な形質が改良できよう。

さらに small RNA により接ぎ木相手の一部にエピゲノム編集を起こさせることも可能である（付録図 4）。その編集部位より個体を獲得すれば、エピゲノム編集体が生産できることも実証されている[6, 10, 11]。また、small RNA を台木から輸送させて、穂木の花粉における染色体分離に関わる遺伝子にサイレンシングを発動する系も検討されており、small RNA による生殖細胞での機能制御技術が注目されている。



付録図 4 GM 個体の接ぎ木相手における一つの考え方（原田竹雄博士原図）

(4) 迅速・効率的育種のための技術[12]

作物育種はこれまでに、①交雑等によって変異の幅を拡大、②得られた集団から目的に合致した個体や系統を選抜の操作を繰返すことにより、作物を大きく改変してきた。これらの操作は作物固有の生殖に関する特性（自殖か他殖か、一般に種子繁殖か栄養繁殖か、一世代に要する期間、種子の数など）と密接な関係にあり、これらの特性は見方を変えたと大きな制限要因となってきた。また、近年多くの作物でF₁品種が増加しているが、その採種方法も作物固有の生殖に関する特性に大きく依存している。

本項では、導入遺伝子による生殖制御で育種効率を高め、最終プロダクトからは遺伝分離で除去される（いわゆる Null Segregant となる）技術として、報告に記載した 4 つの技術について補足説明をする。

① SPT (Seed Production Technology) プロセス

SPT (Seed Production Technology) プロセスの技術的概要は報告ならびに図 1 に示す通りである。

SPT プロセスが難解な理由は、「稔性遺伝子」が機能を失って雄性不稔になることと「花粉不活化遺伝子」を混同しやすいことにある。「稔性遺伝子」と「花粉不活化遺伝子」は全く別の目的と機能を有している。「稔性遺伝子」は、劣性不稔性変異遺伝子の機能を補完して花粉を形成するために必要であり、花粉不活化遺伝子は導入遺伝子をもつ花粉のみを選択的に不活化する。

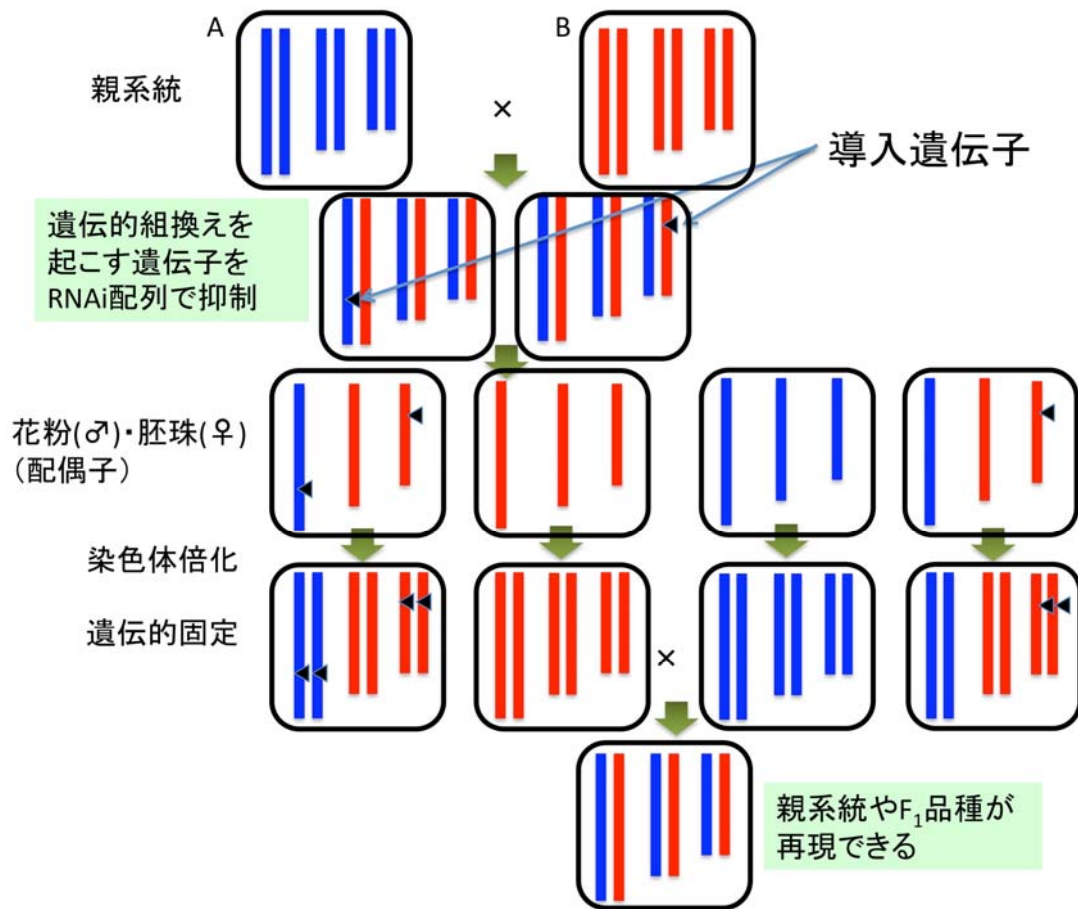
SPT プロセスを理解するもう一つの鍵は SPT 維持系統が導入遺伝子に関してホモ固定できず、その後代で理論上 1:1 分離を示すことである。SPT 維持系統には劣性不稔性変異遺伝子がホモで存在するために、本来であれば不稔となるが、導入された稔性遺伝子が機能を補完することにより、SPT 維持系統は花粉を形成することができる。しかし、SPT 維持系統は花粉不活化遺伝子により、花粉親として後代に導入遺伝子を伝達できない。このことは、SPT 維持系統の導入遺伝子がホモ固定できないことを示しており、導入遺伝子を維持するためには常に導入遺伝子を持たない花粉が必要であることを示している。導入遺伝子について、花粉親からは必ず野生型のアリルが、SPT 維持系統から導入遺伝子のアリルが伝わるか、野生型のアリルが伝わるかの確率は、それぞれ 50%なので、野生型花粉によって得られた次代集団では、常に導入遺伝子の有無について、理論上 1:1 分離比になる。花粉不活化遺伝子を有する花粉は不活化されているので、SPT 維持系統が生産する発芽する花粉は、導入遺伝子が抜けた Null Segregant の花粉であり、非遺伝子組換えトウモロコシの花粉となる。

以上のように、非遺伝子組換え花粉のみが活性を持ち、SPT 維持系統は稔性遺伝子が劣性ホモ型なので、この花粉は従来維持が不可能と考えられていた核支配劣性雄性不稔の花粉に他ならない。

それでは、SPT 維持系統の維持はどうするのであろうか？SPT 維持系統では導入遺伝子を有する花粉が発芽しないため、SPT 維持系統を自殖させると花粉親側からは導入遺伝子を持たないアリルが伝達される。種子親側からは導入遺伝子を有する染色体と

有していないアリルが 1:1 に分離するため、後代種子において導入遺伝子を有するものと有しないが 1:1 で出現する。導入遺伝子を有する種子は蛍光タンパク質遺伝子によって蛍光を発するので、ソーターによって蛍光を発する種子を集めることにより、効率よく SPT 維持系統を維持することができる。SPT 維持系統の花粉により核支配の劣性雄性不稔系統は維持・増殖されるので、SPT 維持系統の子の世代が F_1 採種に利用される。そこで得られた孫世代が F_1 品種に相当し、生産・消費される穀実はひ孫世代に相当することになる。

② Reverse Breeding



付録図5 リバースブリーディングの基本的スキーム

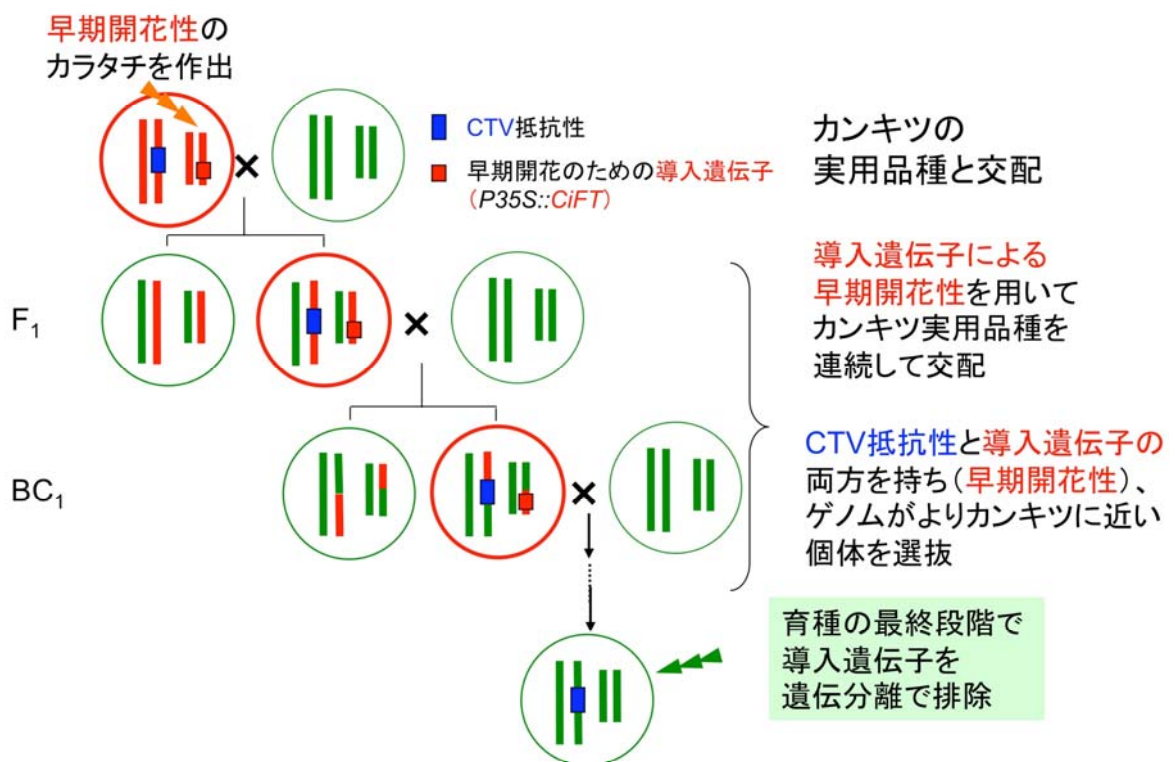
(文献 15、田中淳一、田部井豊博士による改変を引用)

③ 果樹等の早期開花遺伝子の利用した世代短縮

FT 遺伝子を利用したカンキツ取り組みを例に、早期開花遺伝子を利用した世代短縮の手順について以下に紹介する。カンキツトリステザウィルスは、カンキツに甚大な被害を及ぼすウィルスとして広く知られている。カラタチの果実は食用には向かないが、カンキツトリステザウィルスに強い抵抗性を持ち、この抵抗性は優性一遺伝子に支配されることが知られていた。まず、カンキツの FT 遺伝子のカンキツトリステザウィルスに強い抵抗性をもつ近縁種のカラタチに導入することで、約 1 年で開花し 2 年

程度で結実するカラタチを得ることができる。得られた早期開花するカラタチを食用のカンキツと交配して雑種を得る。雑種のうち半数は、FT 遺伝子を持ち早期開花する。また、早期開花する雑種のうち半数がカンキツトリステザウィルス抵抗性であり、これらは DNA マーカーにより判別できる。カンキツトリステザウィルス抵抗性と早期開花性をもつ雑種を食用カンキツの戻し交雑を進めることで、抵抗性を残しつつ食味等について食用カンキツの特性に近づける。食用カンキツの特性に近付いた時点で、FT 遺伝子を遺伝分離で除くこと (Null Segregant) で、遺伝子組換えでないカンキツトリステザウィルス抵抗性カンキツ個体を選抜できる (付録図 6)。

上記の取り組みにより、開花・結実までに長期間を要する一世代に 10 年近くかかる果樹等の木本性作物の育種が大幅に効率化されることが期待される。



付録図 6 カラタチがもつ優性 1 遺伝子支配のカンキツトリステザウィルス (CTV) 抵抗性をカンキツ実用品種へ取り込むための取り組み (文献 12 より改変して引用)

④ Transgenic Male Sterility (TMS) 循環選抜

TMS 循環選抜はイネやコムギ等の自殖性作物の一般的な育種方法の限界を打破するために考案された。1990 年代以降、イネやコムギ等の自殖性作物の単収増加の速度が顕著に低下している。これは自殖性作物育種の通常の育種方法が、いわば「2 品種かけ合わせ育種」であり、優良な品種を育成するには優良な品種間の交配を行わねばならず、これを繰り返すことで「ゲノムの均質化」が急速に進み、結果として似たような

特性の品種を交配しても、個々の特性を大きく上回るものが出にくくなる状況に陥っていることを反映していると考えられる。

一方、イネ、コムギと並ぶ世界の三大作物であるトウモロコシの収量は、イネやコムギを超えて、現在でも持続的な増加を見せている[12]。トウモロコシの品種は F_1 品種であるが、 F_1 品種の収量が増加しているということは、 F_1 の親系統の改良が進んでいるということである。トウモロコシの F_1 の親系統は自殖性作物の品種と同じ遺伝的にホモ系統であるが、その育種方法は「2 品種かけ合わせ育種」とは異なる。トウモロコシ育種においては、その他殖性、すなわち、「一箇所に植えておけば互いに交雑し合う性質」を利用して、他殖と自殖を繰返しながら集団の特性を持続的に改良する方法（循環選抜）が広く使われている。当初、遺伝的に幅広い材料を集めて集団を作っているため、これらを他殖させることにより、タイプの異なる多様なゲノム断片を“混ぜ合わせ”ながら淘汰圧を加えることで、集団内に多様性が維持され、「ゲノムの均質化」が進みにくいシステムになっている。

自殖性作物の育種の限界を打破するために、トウモロコシのような育種システムを、本来自殖性であるイネやコムギでも効率的に実現する必要がある。これまでも SPT で使われている「核遺伝子の機能が欠損したことによる劣性の雄性不稔」を用いた方法が提案・試行されてきたが、自殖性作物の主要な育種方法とはなり得なかった。その理由は、育種家がもっとも多忙な開花期に雄性不稔個体を調査せねばならないことが主因であった。また、この問題を回避するために開花期以前に容易に雄性不稔個体が判別できるよう、連鎖する形質マーカーを利用する方法も考案されたが、世代を重ねると連鎖が切れてしまう問題があった。

TMS 循環選抜では、幼苗段階でポジティブ／ネガティブ選抜可能な優性の雄性不稔系統を組換え技術によって作出し、これを利用する（付録図 7、図 8 参照）

TMS 循環選抜用作物は、優性の雄性不稔なので自殖はできずホモ化できないことになる。従って、これを維持するには野生型の花粉が必要になる。このため、優性の雄性不稔は毎世代他殖し、種子親（組換え系統）からは、組換え系統から導入遺伝子を有する染色体を受継ぐか、導入遺伝子のない染色体を受継ぐかのどちらかであり、花粉親は野生型であるため、理論上、雄性不稔個体と稔性個体が 1:1 で毎世代分離することになる。

ここで、ポジティブマーカーにより雄性不稔個体のみが選抜され、ネガティブマーカーにより導入遺伝子をもつ個体が淘汰され、導入遺伝子を持たない個体、すなわち稔性のある個体のみが選抜できることになる。選抜されたそれぞれの個体群を隔離圃場で互いに列植えにし、雄性不稔個体の列から採種すれば、他殖種子のみを得ることができる。他殖種子はまた雄性不稔個体と稔性個体が理論上 1:1 で分離するので、前述のようにポジティブ／ネガティブ選抜と他殖を毎世代繰返すことが可能になる。TMS 循環選抜では自殖性作物であっても、効率的に自殖と他殖を制御し、ゲノム断片を“混ぜ合わせる”ことが可能になる。タイプの異なる多数の品種を起点に、このような他殖集団を作出すれば、大規模かつ持続的な他殖が可能になり、トウモロコシ育種のよ

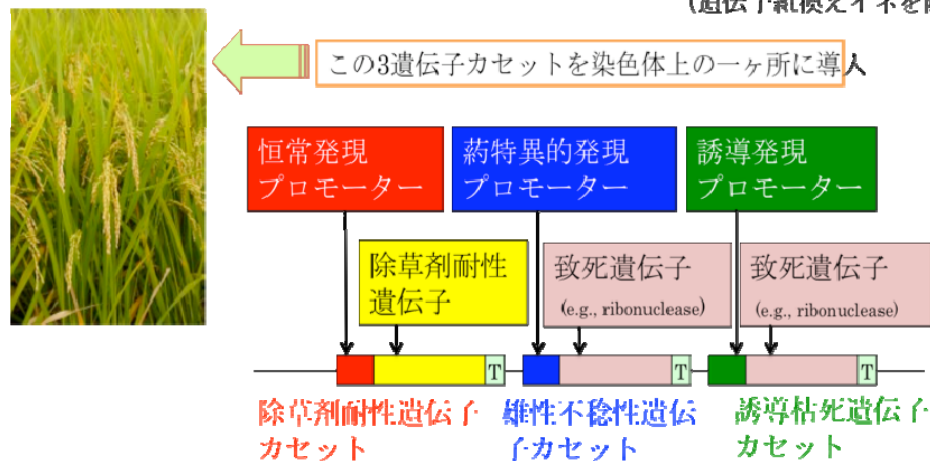
うな育種が自殖性作物のイネやコムギ等でも効率的に実施可能になり、自殖性作物の直面する現状を打破できると期待される。

自殖性作物の品種は固定品種であり、最終的には自殖させて遺伝的固定度を高める必要がある。固定系統はネガティブマーカーで選抜された導入遺伝子を持たない稔性個体から選抜する必要がある。固定系統を得るために、選抜した稔性個体を自殖させ始める段階で優性の雄性不稔性は不要となり、最終的に育成される品種は導入遺伝子を持たない Null Segregant になる。

TMS 循環選抜を実現するための研究開発は、日本が世界の先陣を切って、まずゲノム情報が充実したイネにおいて進められている。

循環選抜用植物に必要な性質

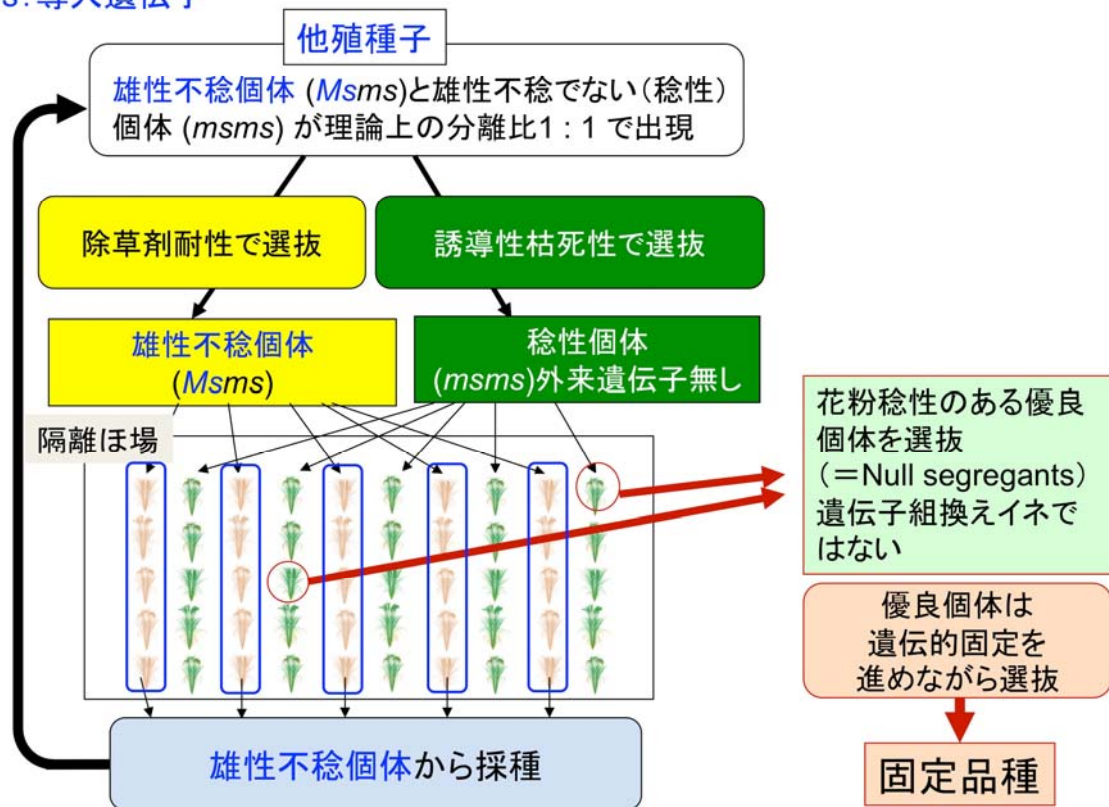
- ・ **優性の雄性不稔性** 交雑を容易にするため
- ・ **除草剤耐性 (ポジティブマーカー)** 雄性不稔個体を選抜するために
- ・ **誘導枯死性 (ネガティブマーカー)** 稔性個体を選抜するために
(遺伝子組換えイネを除去するため)



付録図 7 循環選抜用植物に必要な性質とそれを実現しえる 3つの遺伝子カセット

(文献 12 より改変して引用)

Ms: 導入遺伝子



付録図8 TMS 循環選抜の基本スキーム（文献12より改変して引用）

⑤ Null Segregant についての GM 規制上の取扱い

本項目では作物の生殖に関する特性を、育種の効率化のために一時的に改変して利用する技術を紹介した。生殖特性を改変するために、種々の外来遺伝子を導入している。外来遺伝子が導入されている個体では、遺伝子組換え農作物としてカルタヘナ法の規制を受けるが、育種が終了した後に、導入遺伝子を遺伝分離により取除いた Null Segregant について、科学的な見地にもとづいて適切な取扱いを考えておく必要がある。

2011年9月に開催されたJRCのワークショップでは、6カ国（アルゼンチン、オーストラリア、カナダ、日本、米国、南アフリカ）の専門家が意見交換をしており、そのなかに Null Segregant についても意見交換された。アルゼンチンは Null Segregant は GM 規制から外すべきと発言しているが、オーストラリアは導入遺伝子が抜けても形質が継承される場合（RdDM などの場合）は GM 規制の対象になる可能性を示した。日本は導入された遺伝子が抜けたことを証明する重要性を示した。

EU の環境放出令では、一度でも試験管内で構成された遺伝子を導入したものは組換え体としての扱いとなるプロセスベースの考え方を取っているが、規制の矛盾点も指摘されている。NPBT に関する検討をおこなうために、EU に新技術ワーキンググループ（NTWG）が設立され、2011年12月にNTWGは欧州委員会に最終報告を行っている。そのなかで、確実に導入遺伝子を含まないと証明された Null Segregant の後代は遺伝子

組換え体ではないとしており、ドイツ政府の ZKBS (Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit) の意見書も Julius Kühn 研究所の見解も、それを支持している。

豪州・ニュージーランドでは、専門家を集めた科学パネルが設置され、NPBT に関する科学的な知見の収集等が進められ、2012 年にワークショップを開催、SPT プロセスや早期開花による世代促進技術によって作出される Null Segregant について、「遺伝子組換え食品と見なすべきではない」との意見書[32]をワークショップの結論としている。

2014 年 2 月に OECD において NPBT に関するワークショップが開催され議論が開始されるようであるが、OECD 加盟国においても Null Segregant についての議論は十分に行われてないと聞くが、今後の議論を注視する必要がある。

なお、我が国は最終的には生産物ベースのアプローチを取っており、導入遺伝子の残存がないことを科学的に証明でき、また導入遺伝子の混入を防げる確実な管理手法が整っていれば、組換え体の規制の対象外と判断される。実際、SPT プロセスにおける生産物については、導入遺伝子が残存しないと判断できる十分な管理手法がとられていることを条件に、遺伝子組換えトウモロコシとしての規制対象外と判断された。ただし、Null Segregant であることをどのようにして保証するかはケースバイケースで判断される。

(5) アグロインフィルトレーション (RNA ウィルスも含めて) [17]

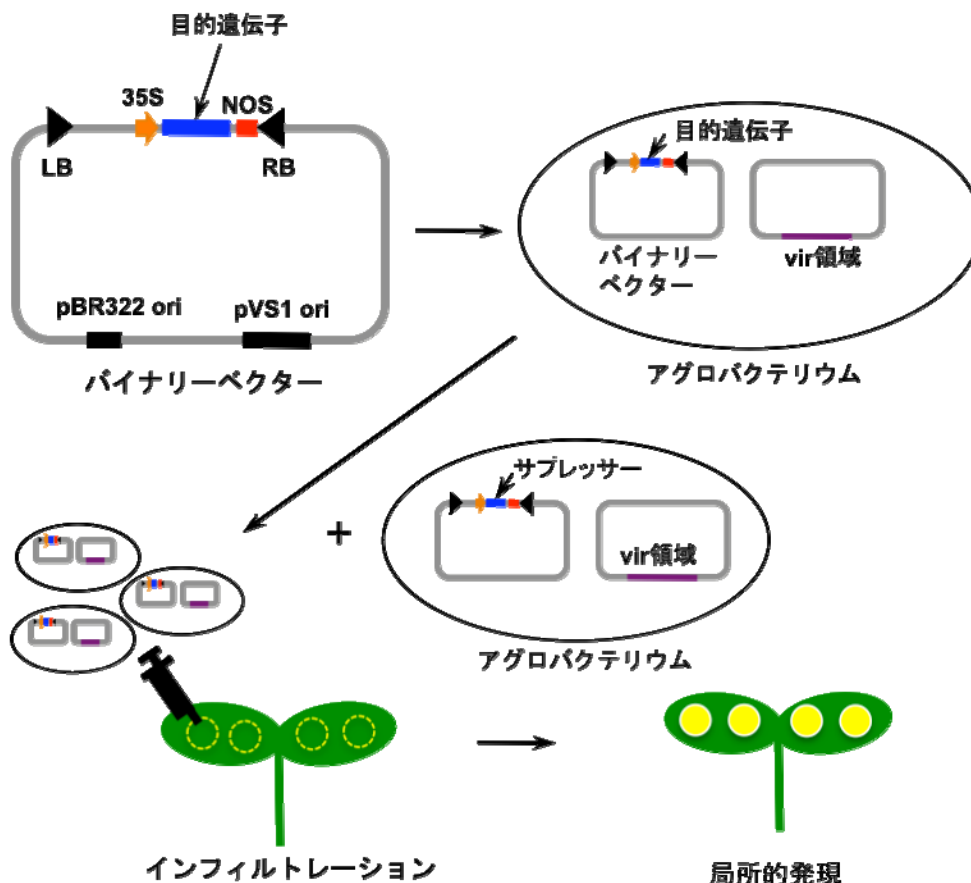
① アグロインフィルトレーション法の原理

アグロインフィルトレーション法に利用されるアグロバクテリウム (以前は学名を *Agrobacterium tumefaciens* と記載していたが、現在は自然分類にもとづき *Rizobium radiobacter* (Ti) が用いられる) は果樹や花卉類に根頭がんしゅ病と呼ばれる病気を引き起こす植物病原細菌で、細胞内に腫瘍誘導プラスミド (Ti プラスミド) を保有している。アグロバクテリウムが植物に感染すると、Ti プラスミド内の T-DNA 領域が宿主植物の染色体ゲノム DNA に挿入される。この T-DNA 領域には植物ホルモンの生合成遺伝子が存在し、植物の染色体ゲノム DNA に挿入された T-DNA 領域から成長ホルモンが生産される結果、感染部位にクラウンゴール (腫瘍) が形成される。植物バイオテクノロジー分野においては、T-DNA 上にある病原性関連遺伝子 (植物ホルモン生合成遺伝子等) を除去し、その代わりに外来遺伝子を挿入できるように改変された改良型 Ti プラスミドが用いられる。これは小型化された T-DNA 領域とその両端にある境界配列 LB と RB (T-DNA 領域の植物染色体 DNA への挿入に必要な配列) を含み、バイナリーベクターと呼ばれる (付録図 9)。また植物で目的遺伝子を発現するためのプロモーターとしては、カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) の 35S プロモーターなどが利用される。外来遺伝子発現用ベクターの構築では、はじめに目的遺伝子をバイナリーベクターの CaMV35S プロモーター下流に連結する (付録図 9)。この組換えバイナリーベクターを一度大腸菌で増殖・精製後、vir 領域 (T-DNA を細胞に送り込むために必要な

遺伝子群を含む領域)を有する Ti プラスミドを保持したアグロバクテリウム細胞に導入する。目的遺伝子を導入した T-DNA 領域と vir 領域をそれぞれ含む 2 種類のプラスミドベクターが細胞内で共存しているアグロバクテリウムをアグロインフィルトレーション実験に供試する (付録図 9)。

広義のアグロインフィルトレーションにはシロイヌナズナで形質転換体の作出を目的としたフローラル・ディップ法も含まれるが、通常アグロインフィルトレーションと呼ばれる場合には、植物体で一過的に外来遺伝子を発現する技術を指している。一般によく用いられるアグロインフィルトレーション法では、針無シリンジにアグロバクテリウム培養液を入れ、注射する要領で菌液を植物葉組織内に注入する (付録図 9)。アグロインフィルトレーション実験でもっとも利用されるベンサミアナタバコは、組織や葉が柔らかいため細菌培養液を容易に葉の細胞間隙に浸潤させることができる (付録図 9)。また、植物体全体にアグロバクテリウムを浸潤させる場合には、植物を細菌液に沈め、真空ポンプ等で減圧することで細菌を組織内に注入するバキューム・インフィルトレーションが利用される。いずれの方法にせよ、植物種 (たとえば果樹やマメ類など) によっては葉組織が固く、細菌液を浸潤させることは難しいため、ウイルスベクターと組み合わせる場合を除いては、アグロインフィルトレーションが適用できる植物はタバコの仲間など一部に限定されることになる。アグロバクテリウムが組織内に注入された後、Ti プラスミドの T-DNA 領域が核に入り、植物の RNA ポリメラーゼの働きで CaMV 35S プロモーター下流に導入された目的遺伝子の mRNA が転写され、タンパク質が翻訳される。目的タンパク質が発現する細胞は、細菌液が注入された組織内に限定され、植物体全体に広がることは無い (付録図 9)。

植物は、ウイルスやトランスポゾンのような分子寄生体に対する防御機構として RNA サイレncing 機構を備えている。アグロインフィルトレーションによって目的遺伝子を発現させた場合にも RNA サイレncing が誘導される。その結果、目的遺伝子の mRNA の分解が生じて、目的タンパク質の発現が抑制されてしまう。一方、ほぼすべての植物ウイルスは宿主となる植物に感染するために、RNA サイレncing を抑制するタンパク質 (サブプレッサー) を自身のゲノムにコードしている [46]。アグロインフィルトレーション法による安定的な遺伝子発現やタンパク質の大量生産には、活性の高いサブプレッサータンパク質を共発現させて RNA の分解や発現タンパク質の分解を抑制することが有効なことが明らかになっている (付録図 9)。



付録図9 アグロインフィルトレーションに用いられるバイナリーベクターの遺伝子構造とインフィルトレーション法（文献17より改変して引用）

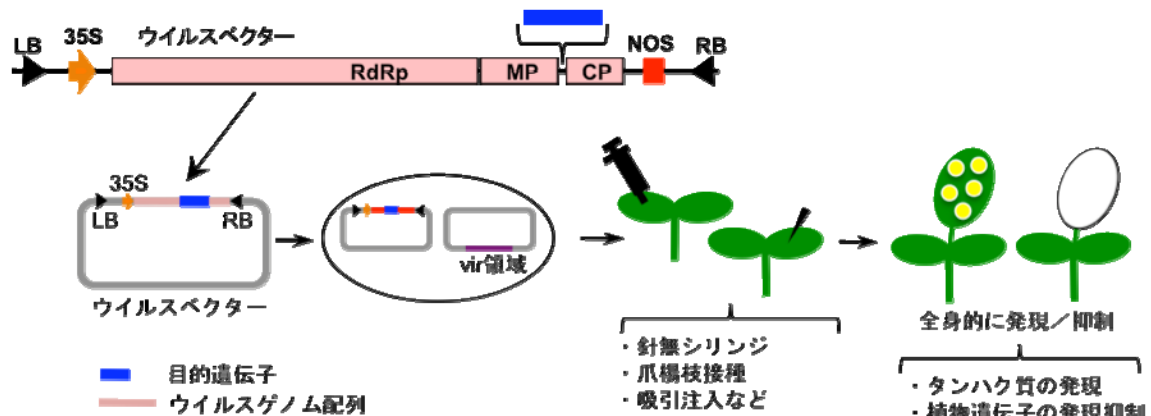
目的遺伝子をバイナリーベクターに組み込み、アグロバクテリウムに導入する。続いて培養液を植物の葉に針無シリンジを用いてインフィルトレーションする。この時にサイレンシングサブプレッサー遺伝子を共発現させると目的タンパク質の発現量が増加する。

35S: CaMV 35S プロモーター、NOS: ノパリン合成酵素遺伝子ターミネーター配列、LB: 左側境界配列、RB: 右側境界配列、pVS1 ori: アグロバクテリウム複製開始起点、pBR322 ori: 大腸菌複製開始起点。

② アグロイノキュレーション（アグロインフェクション）

植物ウイルスは、植物細胞に侵入するとウイルスゲノム核酸の複製とウイルスタンパク質の合成をおこない、増殖する。ウイルスベクターとは、このウイルスの自己増殖能を利用して外来遺伝子を植物体で発現させる、あるいは反対にウイルス誘導ジーンサイレンシング（VIGS）を利用して内在性遺伝子を発現抑制するために改良された研究用ツールである[47]。上述したようにアグロインフィルトレーション法では植物発現用プロモーターの下流に目的遺伝子を組み込むが、この目的遺伝子の代わりに完全長のウイルスゲノムが正確に転写されるようにプロモーター下流に挿入してやると

(付録図 10)、感染・増殖能のあるウイルス RNA が転写されることになる。転写されたウイルス RNA は複製を開始して細胞内で増殖し、細胞間移行と維管束を經由した長距離移行を繰り返して植物体全体に感染を拡大することができる。このように、植物ウイルスの複製能とアグロインフィルトレーション法を組み合わせ、外来遺伝子の発現や内在遺伝子の抑制をおこなう方法をアグロイノキュレーションあるいはアグロインフェクションと呼んでいる。アグロインフィルトレーションでは目的タンパク質が発現する細胞は細菌液が注入された組織内に限定され、全身に広がることは無いが、アグロインフェクションでは最初に注入された組織の細胞で複製を開始したウイルスはやがて周辺細胞や上位葉に移行する。その結果、植物体全体で目的タンパク質を発現させることができるため、ワクチン等を大量に植物で発現させたい場合にはアグロイノキュレーションが利用される。



付録図 10 アグロイノキュレーションに用いられるウイルスベクターと接種法

(文献 17 より改変して引用)

ウイルスゲノム全体をバイナリーベクターに組み込み、ウイルスベクターを構築する。植物ウイルスゲノムには少なくとも複製酵素 (RdRP)、移行タンパク質 (MP)、および外被タンパク質 (CP) の 3 種類のタンパク質がコードされている。外来遺伝子導入部位を導入したウイルスベクターをアグロバクテリウムに導入する。続いて培養液を植物の葉に針無シリンジによるインフィルトレーションや爪楊枝接種法で植物の葉に導入する。ウイルスは増殖を開始し、植物体全体に広がり、目的タンパク質の発現や発現抑制が起こる。図中の記号は付録図 9 と同じ。

③ アグロインフィルトレーション法の利用例

ア アグロインフィルトレーション

(ア) 遺伝子の機能解析

目的タンパク質を一過的に発現してその機能を解析しようとする場合には、アグロインフィルトレーションは非常に簡便で迅速な方法である。たとえば、CaMV 35S プロモーター下流に緑色蛍光タンパク質 (GFP) 遺伝子を挿入したバイナリ

ーベクターを含むアグロバクテリウムをベンサミアナタバコに針無シリンジでインフィルトレーションすると、注入後2日目にはGFP 蛍光を観察することができる。植物ウイルスゲノムにコードされたタンパク質にサイレンシングサプレッサー活性があるかどうかの解析には、GFPを発現するベンサミアアナタバコ(line 16C) が利用される。この原理は、16C ベンサミアアナタバコに GFP 遺伝子をもつバイナリーベクターをアグロインフィルトレーションすると、サイレンシングが誘導されて元々発現していた GFP 蛍光が消失する。この時にウイルスの候補遺伝子を含むバイナリーベクターを共発現させると、もし候補遺伝子のタンパク質がサプレッサー活性を有すると GFP 蛍光は消失しないで逆に強く光ることになる(付録図 11A)。ほとんどのウイルスサプレッサー活性は 16C ベンサミアアナタバコを用いて解析されている。

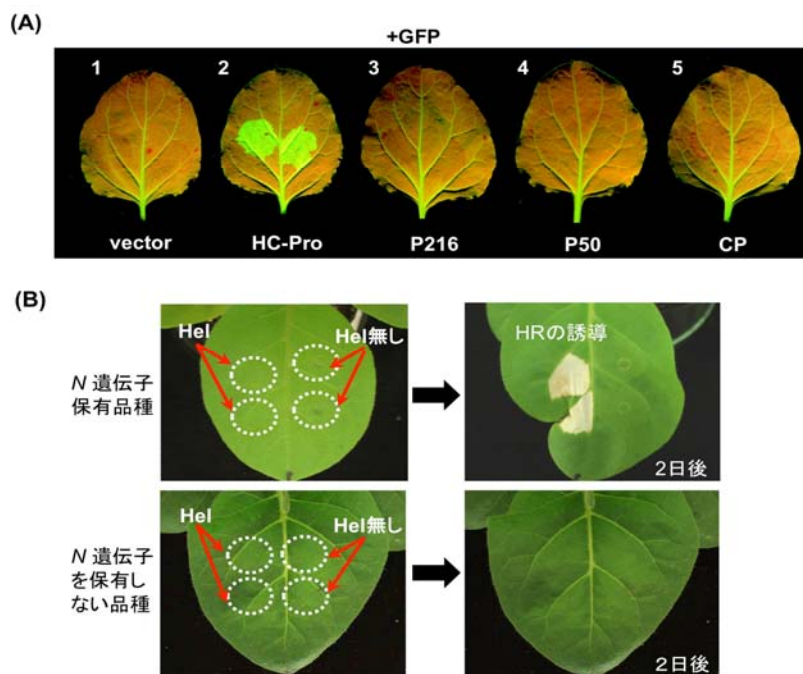
(イ) 病害抵抗性の解析

タバコモザイクウイルス (TMV) やトマトモザイクウイルス (ToMV) に対する抵抗性遺伝子(*N*遺伝子)を保有するタバコ品種に TMV や ToMV を接種すると、過敏反応 (HR) による局部え死斑点が形成され、ウイルスはえ死斑点の周辺に閉じ込められる。この HR を誘導するウイルス因子 (エリシター) である 130/180K タンパク質のヘリカーゼ (Hel) 領域をバイナリーベクターに導入し、*N* 遺伝子を保有するタバコ品種と保有しないタバコ品種にアグロインフィルトレーションすると、Hel 領域を繋いだバイナリーベクターでは HR による細胞死が誘導される(付録図 11B)。Hel を持たない対象区では HR 誘導は起こらない。これは、バイナリーベクターから発現した Hel タンパク質がタバコの *N* 遺伝子産物と相互作用し、抵抗性反応 (HR 誘導遺伝子の活性化) が誘導された結果である。このように、病原体のどのタンパク質が抵抗性反応を誘導するか、さらにそのタンパク質のどの領域 (アミノ酸配列) が HR 反応の誘導に関わるかなどを解析することができる。

(ウ) 医薬品／ワクチン生産

植物でワクチンのような医薬品を生産しようとする研究の多くは、当初、遺伝子組換え植物を用いて行われてきた。最近、操作の簡便性や短時間で多量に目的遺伝子を発現できるために、アグロインフィルトレーション法による一過的発現系が盛んに利用されるようになった[48]。たとえば、バイナリーベクターのプロモーター下流にインフルエンザウイルスの haemagglutinin (HA) 遺伝子を導入して、ベンサミアアナタバコにアグロインフィルトレーションすると、6 日後には多量の HA タンパク質 (50 mg/kg 生葉) が蓄積し、ウイルス様粒子 (VLP) が形成された。この VLP をベンサミアアナタバコ葉から精製してマウスに免疫すると、インフルエンザウイルスに対する強い免疫応答が誘導され、植物でのワクチン生産の可能性が実証された[49, 50]。アグロインフィルトレーション用のバイナリ

ーベクターも高発現用に改良されている。たとえば、ササゲモザイクウイルス (CPMV) -RNA2 の 5' -および 3' -非翻訳領域間に目的遺伝子を挿入するように改良された pEAQ ベクターでは、植物ウイルスのサプレッサータンパク質 (P19) と共発現することで、多量のタンパク質 (GFP で 0.5~1.5 g/kg ベンサミアナタバコ生葉) が生産されることが報告されている[51, 52]。



付録図 11 アグロインフィルトレーション法によるウイルスサプレッサー活性の解析 (A) と過敏感反応の誘導 (B) (文献 17 より改変して引用。撮影：吉川信幸博士)

(A) GFP 遺伝子をもつバイナリーベクターと解析対象のウイルス遺伝子を導入したバイナリーベクターをアグロインフィルトレーション法でベンサミアナタバコ (16C) で共発現させると、候補遺伝子にサプレッサー活性がある場合には GFP 蛍光が強く発光する。図では HC-Pro は強い活性を有するが、P216、P50、CP にはサプレッサー活性が無いことがわかる。

(B) トマトモザイクウイルスの 130/180K タンパク質ヘリカーゼ (Hel) 領域をアグロインフィルトレーション法で発現させると、N 遺伝子をもつタバコ品種では過敏感反応による細胞死が誘導される。

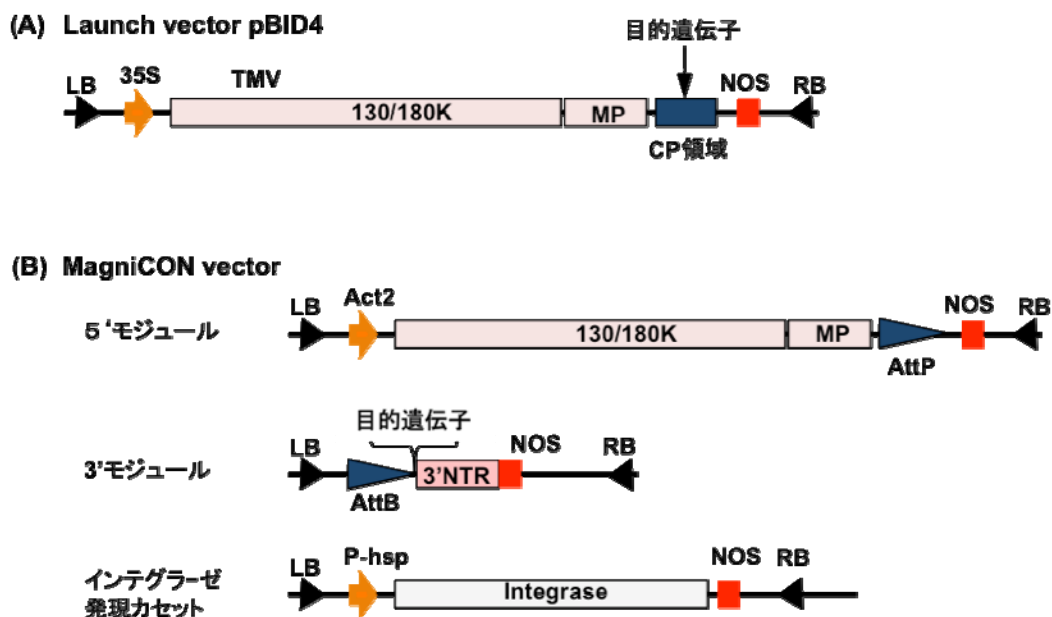
イ アグロイノキュレーション (アグロインフェクション)

アグロインフィルトレーションでは、一過的、局所的に外来遺伝子を発現させることはできるが、菌体が浸潤していない組織や上位葉、さらに植物体全体で目的遺伝子の発現や機能解析をおこなうことは基本的にできない (付録図 9)。これに対して、植物ウイルスの全ゲノム配列をバイナリーベクターの 35S プロモーター下流に挿入したプラスミドをアグロイノキュレーションで植物に導入した場合には、植物

体全体で目的遺伝子の発現や機能解析をおこなうことができる。これは、転写されたウイルス RNA が複製・増殖を開始し、細胞間移行を経て、上位葉や植物体全体に広がるためである。これまでに TMV、CPMV、タバコ茎えそウイルス (TRV)、ジャガイモ X ウイルス (PVX)、DNA ウイルスであるジェミニウイルスなど多数の植物ウイルスでアグロイノキュレーション可能なウイルスベクターが報告されている[34]。

(ア) ワクチン生産

付録1(5)③(ウ)で述べたように植物でワクチンを生産しようとする研究では、アグロインフィルトレーション法と植物ウイルス複製能を組み合わせ、多量のタンパク質を発現させる技術が開発されている。その一つは、複製能力の非常に高いタバコモザイクウイルス (TMV) のレプリコンを利用したもので、バイナリーベクターの 35S プロモーター下流に TMV-RNA 配列を連結し、TMV 外被タンパク質 (CP) の代わりに目的遺伝子を挿入するように改良されたベクター (launch vector pBID4) である (付録図 12A)。このベクターをベンサミアナタバコにアグロイノキュレーションすると、植物細胞の核で ssDNA が合成され、続いて TMV の RNA ポリメラーゼ (POL) と細胞間移行タンパク質 (MP)、目的遺伝子の配列を含む RNA が転写される。この RNA は細胞質に移動し、TMV-RNA ポリメラーゼが翻訳されて RNA の複製が開始されるとともに、目的遺伝子のタンパク質が翻訳・蓄積が起こる[53]。TMV は CP 遺伝子を欠いてもベンサミアナタバコで細胞間移行することができ、アグロバクテリウムを注入した領域から周辺組織に広がる。ただし全身移行はできないため、植物体全体で目的タンパク質を発現しようとする場合にはバキューム・インフィルトレーションで植物体全体に細菌液を浸潤させる必要がある。TMV の複製能を利用した高発現ベクターとしては MagniCON ベクターが開発されている (付録図 12B)。これは、3つのモジュール、すなわち TMV ゲノムの 5' -モジュール (5' 非翻訳-POL-MP 領域を含む)、3' -モジュール (目的遺伝子の導入部位と 3' 非翻訳領域)、そしてインテグラーゼの発現カセットからなり、これらのバイナリーベクターと一緒にベンサミアナタバコにアグロイノキュレーションすると、TMV 複製能を利用して細胞内で多量の目的タンパク質を発現させることができる[54]。MagniCON ベクターで B 型肝炎ウイルスの表面抗原 (HBsAg) をベンサミアナタバコで発現させた実験では、アグロイノキュレーション後 10 日で、295 mg/kg 生葉の HBsAg が生産された[55]。また、植物ウイルス粒子表面に動物ウイルスのエピトープ配列を提示し、ワクチンに利用できる植物ウイルスベクターも開発されている[56, 57]。



付録図 12 アグロイノキュレーション用の高発現型ウイルスベクター

(吉川信幸博士原図)

(A) TMV のレプリコンを利用したウイルスベクターで、CP 領域に目的遺伝子を導入する。
 (B) MagniCON と呼ばれる高発現型ウイルス (TMV) ベクターで、3つのモジュールからなる。これらをインフィルトレーションすると、インテグラーゼにより 5' モジュールと 3' モジュールが連結して TMV-RNA の複製が開始され、目的遺伝子が発現する。
 Act2 と P-hsp はプロモーター、AttP と AttB はインテグラーゼによる組換え部位、3' NTR は TMV-RNA の 3' 末端非翻訳領域

(イ) ウイルス誘導ジーンサイレンシング (VIGS) による遺伝子機能解析

植物に RNA ウイルスが感染すると、ゲノム RNA の複製型 2 本鎖 RNA あるいはゲノム RNA 内で部分的に形成された 2 次構造が RNase III-type dsRNA endonuclease 活性をもつ Dicer-like enzyme (DCL) により 20 数塩基の siRNA に切断される。これらウイルスゲノム配列由来の siRNA は RNA-induced silencing complexes (RISC) に取り込まれ、siRNA と相補的な配列をもつ標的 RNA (ウイルスゲノム RNA) を RISC が分解する。VIGS 用に構築されたウイルスベクター (VIGS ウイルスベクター) に植物遺伝子の一部を連結し、これを植物に感染させると、上で述べたように RNA サイレncing 機構が誘導されてウイルス RNA が RISC の標的になると同時に、ベクター内に連結されていた植物遺伝子配列に相同な植物 mRNA が分解されるため、その発現は特異的にノックダウンされることになる。

1995年に報告されたタバコモザイクウイルス (TMV) ベクターを用いたベンサミアナタバコの phytoene desaturase (PDS) 遺伝子の発現抑制が、植物における VIGS ウイルスベクターの最初の報告である。VIGS ウイルスベクター開発初期の報告はその対象植物がベンサミアナタバコに集中していたが、これはこの植物

がウイルス感染に対して感受性が高く、VIGS によるノックダウンの表現型が現れやすいという特性によるものであった。現在でも多くのベクターはベンサミアナタバコで利用されているが、それらに加えて、トマトやジャガイモなどのナス科植物、ダイズなどのマメ科植物、各種ウリ科植物やバラ科果樹類で安定的に VIGS を誘導できるベクターが開発され、VIGS は植物遺伝子の機能解析のための重要なツールとなっている[47]。非常にわかりやすい例として、リンゴ小球形潜在ウイルス (ALSV) ベクターによる植物の遺伝子機能の解析について紹介する。ALSV は RNA1 と RNA2 の 2 種類のゲノムをもつ径約 30nm の小球形ウイルスで、自然界ではリンゴでのみ発生が報告されているが、人為的に接種すると多数の植物種 (バラ科、ナス科、ウリ科、マメ科、ミカン科、リンドウ科など) に感染し、ほとんどの植物種において無病徴 (潜在) 感染する。また、多くのウイルスと異なり、ALSV は茎頂分裂組織にも侵入して増殖できるため、茎頂分裂組織での遺伝子発現に利用できる。ALSV はウイルスベクターに適した特徴を有していると言える。

ALSV ベクターは、ウイルスゲノムである RNA1 と RNA2 それぞれの完全長をバイナリーベクターの CaMV 35S プロモーター下に導入した感染性ウイルスクローンをもとに、RNA1 と RNA2 内に外来遺伝子導入部位を付加して構築したものである (付録図 13A)。ALSV ベクターを用いた VIGS の例を示す。ベンサミアナタバコのカロテノイド生合成に関与する phytoene desaturase (PDS) 遺伝子の断片 (200 ~ 300 塩基対) をバイナリーベクター内の ALSV RNA2 遺伝子導入部位へと連結し、アグロイノキュレーションによってベンサミアナタバコに接種すると、接種後 10 日ころからベンサミアナタバコの上位葉の葉脈が白色化をはじめ、その後に新たに展開する葉はすべて葉全体が白化した (付録図 13B)。この白化現象は、ALSV ベクターに導入した PDS 遺伝子の mRNA が植物の RNA サイレンシング機構の標的となり、PDS 遺伝子の mRNA の発現が抑制されて、カロテノイドの合成が阻害された結果である。このように、ALSV ベクターは植物全体に侵入・感染し、効率よく標的遺伝子の RNA サイレンシングを誘導する[58]。

(ウ) RNA ウイルスベクターを利用した植物の開花／世代促進

木本植物である果樹類は、種子が発芽して数年～十数年の間は栄養成長のみを繰り返して花芽の形成 (花成) は起こらない。この幼若相から成熟相に相転換した果樹は、毎年春になると開花し、実を結ぶようになる。リンゴにおいても、種子を播いてから開花・結実するまで通常 5 ~ 12 年かかる。このように果樹類では新品種ができるまでに非常に長い時間 (数十年) を必要とする。もし、一年生の草本植物と同じように、リンゴでも 1 年以内に開花して種子を採種できたら、品種改良にかかる期間を大幅に短縮できることになる。ここでは筆者らが行った ALSV ベクターを利用したリンゴの開花促進／世代促進技術について紹介する。

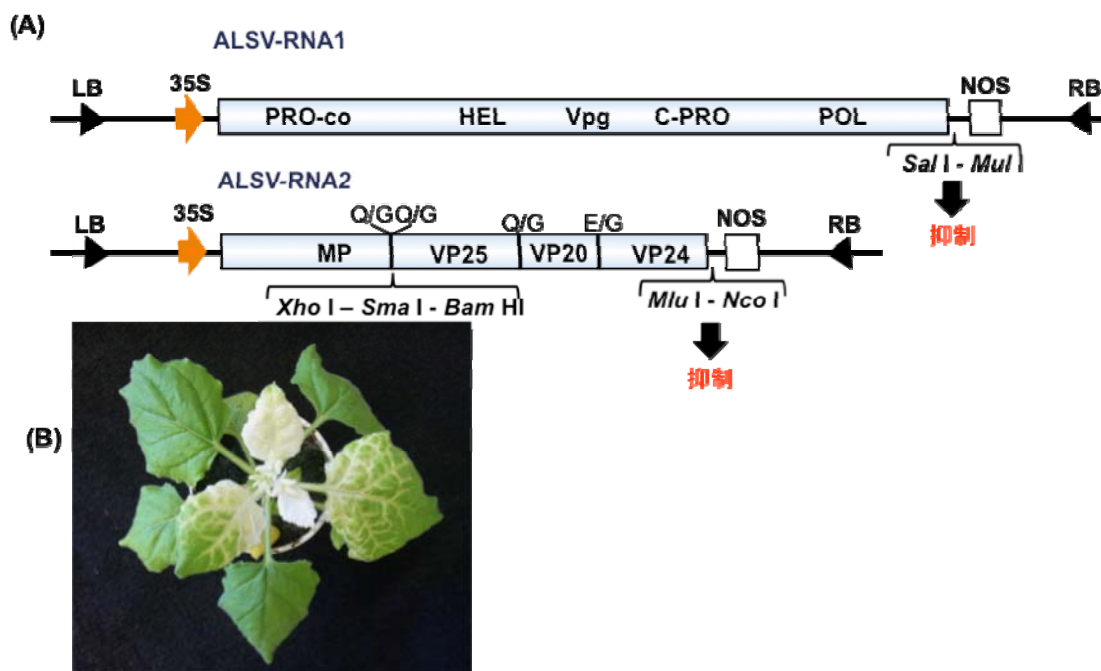
先ず ALSV-RNA2 ベクター (付録図 13A) の MP と Vp25 の間にシロイヌナズナの

フロリゲン遺伝子 (AtFT) を挿入したベクター (ALSV-AtFT) を構築した。リンゴの葉に直接アグロノキレーション法で接種するのは難しいため、ベンサミアナタバコに接種し、ウイルスを増殖させた。続いて、感染植物から抽出した全 RNA をパーティクルガン法で発芽直後のリンゴ子葉に感染させた結果、約 30% の感染個体で接種後 1.5~2 ヶ月 (7~8 本葉期) に花芽が形成され開花が誘導された [59, 60]。通常、リンゴの開花には発芽後 5~12 年かかるが、これが約 2 ヶ月に短縮されたことになる。これらの花は外観上正常な形態を示すとともに花粉は稔性をもち、リンゴ成木の花へ授粉すると果実が形成されて次世代の種子を得ることができた。しかし、ALSV-AtFT 感染リンゴの開花率は約 30% 程度にとどまり、また開花時期が 7~8 本葉期に限定されて、しかも一度しか開花しなかった。タバコやシロイヌナズナ、ペチュニアなどの草本植物では感染個体の 100% で早期開花が誘導されるのに対して、リンゴでは開花率が低く、また開花回数が 1 度と少ないのは、草本植物と比較して木本植物ではより複雑な開花制御機構が働いていることによると考えられた。筆者らは以前、ALSV ベクターでリンゴ TFL1 遺伝子 (MdTFL1-1) を VIGS で抑制すると、一部 (感染個体の約 10%) のリンゴ実生苗で開花が誘導され、その個体では連続して開花を繰り返すことを報告した [61]。そこで、ALSV-AtFT ベクターに改良を加え、AtFT 遺伝子を発現すると同時に MdTFL1-1 遺伝子の発現を抑制する ALSV-AtFT/MdTFL を構築した (付録図 13C)。このベクターは ALSV-RNA2 に AtFT 遺伝子が、ALSV-RNA1 の 3' 末端非翻訳領域に MdTFL1-1 遺伝子の一部 (201bp) が挿入されている。これをリンゴ実生に接種すると、驚くべきことに、感染リンゴの 90% 以上が接種後 1.5~3 ヶ月で早期開花し、さらにほとんどの個体は 6 ヶ月以上にわたって連続して開花を続けた [22]。これらの結果は、リンゴの開花制御には FT 遺伝子と TFL 遺伝子の発現量のバランスが重要なことを示唆している。早期開花したリンゴ実生の間で人工授粉すると、果実が形成され、そのなかには外観上正常な種子も得られた。これらの種子は低温処理 (休眠打破) すると発芽をはじめ、その後正常に生育した。得られた次世代実生苗 (35 株) についてウイルス感染の有無を遺伝子診断法で調べたところ、全個体がウイルスフリーであることが確かめられた。ALSV は通常実施されているウイルス検定法 (ELISA、RT-PCR など) で確実に診断できるウイルスのため、種子伝染の有無は容易に判定可能である。植物 RNA ウイルスは植物のゲノムに組み込まれることはないため、ウイルス検定でウイルスが検出されなければ、次世代個体にはウイルスも導入遺伝子も存在していないことになる。すなわち、これらの個体は健全なリンゴ実生 (非組換え体) と全く区別できない。

以上から、ALSV ベクターを利用した果樹の世代促進技術は、そのプロセスで遺伝子組換え技術を利用するが、その産物 (次世代の実生) は非組換え植物と判断すべきであると考えられる。

アグロインフィルトレーションやアグロノキレーション法は、NPBT の一つに取りあげられているが、この技術自体は植物育種技術ではない。主に、植物

で目的遺伝子の発現や内在性遺伝子の発現抑制を、組換え植物を作出すること無くおこなう技術である。当然ではあるが次世代植物には遺伝しないために、恒常的に外来遺伝子の発現を目的とした形質転換植物の作出とは一線を画する技術である。アグロインフィルトレーション法のメリットは、有用遺伝子の機能解析や病害抵抗性個体の効率的選抜を迅速かつ簡便におこなうことができる点で、NPBT の一つとして改良を加えられながら今後さらに利用範囲が広がり、必要不可欠な基盤技術となるであろう。



付録図 13 リンゴ小球形潜在ウイルス (ALSV) ベクター(A)、ALSV-AtFT によるベンサミアナタバコの PDS 遺伝子の発現抑制(B)、および開花促進用 ALSV ベクター(C)
(文献 17 より改変して引用。撮影：吉川信幸博士)

- (A) ALSV バイナリーベクター。3 カ所の外来遺伝子導入部位が付加されている。
- (B) ALSV-RNA2 にタバコ *PDS* 遺伝子の一部を組み込んだ ALSV-tPDS をベンサミアナタバコにアグロインキュレーションすると、VIGS 誘導によって PDS 遺伝子の mRNA は分解されて色素 (カロテノイド) の生合成経路が阻害され、葉が白色化する。
- (C) リンゴ早期開花用 ALSV ベクター (ALSV-AtFT/MdTFL)。AtFT 遺伝子の発現と MdTFL 遺伝子の抑制を同時におこなうことができる。

(6) その他（シスジェネシス、イントラジェネシス）[23]

遺伝子組換え植物（以下、「GM 植物」とする）は、導入する遺伝子の供給源を交配が可能な近縁種のみならず、動物や微生物、ウイルスなど生物の分類上の種を越えて幅広い生物種に求めることができる。それらの遺伝子は、試験管内で適切なプロモーターやターミネーターと組み合わせた後に、アグロバクテリウム法やパーティクルガン法などの遺伝子導入技術を用いて植物細胞に導入される。2000 年になって、シスジェネシスおよびイントラジェネシスという新しいカテゴリーが誕生した[24, 25]。

シスジェネシスでは、植物に導入する遺伝子はイントロンを含めた遺伝子のコード領域のみならず、プロモーターやターミネーターについても、自然界にある植物のものと全く同じ組み合わせを利用するものである。この技術は、導入する遺伝子に制限はあるものの、従来の交雑育種に伴う劣悪形質の連鎖（リンケージドラッグ）を回避でき、有用形質のみを導入できるメリットがある。リンケージドラッグは、果樹などのように一世代が長い作物や、倍数性や無性生殖を有する植物（ジャガイモやバナナなど）を交配育種する際に問題となる。また、一世代が長いために交雑育種や世代促進が困難な果樹などで有用遺伝子を短期間に導入することを可能にする。一例として、リンゴでは、野生種のリンゴである *M. floribunda* 由来の黒星病抵抗性遺伝子（Vf 遺伝子）を栽培リンゴへ導入して品種「Goldrush」を育成するために 68 年かかったことを考えると、シスジェネシスに期待がよせられることが理解されると思われる。

現在までにシスジェネシスを用いて育成された植物の例としては、(1) 野生種の疫病菌抵抗性遺伝子を導入して菌類疫病抵抗性を獲得した栽培種のジャガイモ[62]、(2) 野生種の黒星病抵抗性遺伝子を導入して黒星病抵抗性を高めたリンゴ[63]、(3) 植物の伸長生長等を調節する植物ホルモンであるジベレリンの生合成やシグナル伝達に関与する遺伝子を導入して、大きさや形を改変したポプラ[64]、(4) フィチン酸消化酵素であるフィターゼ合成遺伝子を導入して、種子に含まれるフィターゼの量を増やしたオオムギ[65]、などがある。このうち、(2)に関しては、イントラジェネシスを用いても、同じ遺伝子を発現させ、黒星病抵抗性を高めたリンゴが育成されている[66]。

イントラジェネシスは、植物体に導入する遺伝子の供給源はシスジェネシスと同様で、同種か交雑親和性のある近縁種となるが、遺伝子のコード領域やプロモーター、あるいはターミネーターを組み合わせることでシスジェネシスより多くの選択肢があり、自然界にある植物本来の遺伝子とは違った形で植物体に導入できる。たとえば、プロモーターの選択により遺伝子の発現量や発現部位を変えることが可能であり、また目的とする遺伝子の配列をプロモーターに対して反対方向（アンチセンス鎖）に配置したり、あるいは遺伝子の配列の一部を順方向-逆方向（逆位反復配列）に配置することによって、RNA 干渉（RNAi）を誘導して標的遺伝子の発現の抑制も可能である[67]

イントラジェネシスを用いて育成された植物の例としては、1) アミロースの生合成に関与する遺伝子の発現を抑制して、アミロペクチン含有量を高くしたジャガイモ[68]、2) リグニンの生合成に関与する遺伝子を抑制してリグニン含量が低下したアルファルファ[69]、などがある。

シスジェニック植物のなかでは、疫病抵抗性のジャガイモとフィターゼ活性を向上させたオオムギの野外試験が行われており、イントラジェニック植物として、高アミロペクチンのジャガイモと加工特性を改変したジャガイモの野外試験も行われている。なお、黒星病抵抗性リンゴはシスジェネシスとイントラジェネシスで作成されており、それぞれが野外試験に進んでいる[24]。

① シスジェネシスとイントラジェネシスの導入遺伝子に関する議論

シスジェネシスおよびイントラジェネシスでは、植物に導入できるのは、同種か交雑親和性のある近縁種の遺伝子あるいは塩基配列であることから、育種の最終段階で外来 DNA が植物ゲノムに残存してはならない。しかし、シスジェネシスおよびイントラジェネシスでも遺伝子は従来のアグロバクテリウム法やパーティクルガン法などで導入するため、アグロバクテリウム法を用いた場合、T-DNA 領域の両端にあるボーダー配列も同時に植物ゲノム中に挿入される。また、目的遺伝子が導入されていることを確認するために、遺伝子組換え作物の開発では、多くは微生物由来の抗生物質耐性遺伝子をマーカー遺伝子として利用している。これによりシスジェネシスおよびイントラジェネシスの定義に当てはまらなくなる。

これを回避するため、T-DNA 領域のボーダー配列と相同性をもつ同種または交雑親和性のある近縁種由来の配列 を利用するもので、これは P (Plant) -DNA と名づけられた[38]。ジャガイモでは P-DNA が単離され利用されている[39]。選抜マーカー遺伝子の除去には、足跡を残さないトランスポゾンを利用する方法や、部位特異的組換えシステムを利用する方法[40]、さらに同種または交雑可能な植物種由来の除草剤耐性遺伝子の利用などが考えられるだろう[41, 42]。また、ダブルトランスフォーメーションにより目的遺伝子と選抜マーカー遺伝子を別の染色体に導入して、後代の遺伝分離で選抜マーカー遺伝子を除くことが検討されるなど、技術的な対応がなされている。

一方、Lusser ら (2011) は、20bp ルールより「外来遺伝物質」の導入を伴わないシスジェネシスおよびイントラジェネシスを提言している[25]。20bp ルールとは、生物のゲノム中には短い塩基配列であれば偶然に存在する可能性があり、トウモロコシのゲノムサイズ (2.5×10^9 / 半数体ゲノム) があれば、意図的な遺伝子組換えの結果として同定するためには、少なくとも 20bp の塩基配列に関する情報が必要と計算されることに由来する。従って、植物種によってゲノムサイズは異なるものの、20bp 以上の外来配列が存在する場合のみ、植物における遺伝物質の潜在的に新しい組合せと見なそうとするものである。NPBT プラットフォームの提言では、「外来 DNA の短い配列 (20bp) を導入する技術の利用では、GMO は作出されないと結論づける」としているが、あくまでも提言であり、欧州委員会等でオーソライズされたものではない。報告では、20bp 以下であれば外来遺伝子と見なさないというものである。

② EFSA によるシスジェネシス／イントラジェネシス植物の安全性評価の考え方

遺伝子組換え生物の EFSA パネルは、欧州委員会よりシスジェネシス／イントラジェ

ネシス植物の安全性評価に関する諮問を受けて、2012年に意見書[36]を提出しているので、その概要について紹介したい。

ア 遺伝的変異の導入、ゲノムの変化、遺伝子発現の修飾

遺伝的変異の導入等によるリスクを考える場合、従来の交雑育種と遺伝子組換え農作物のリスクと比較して検討する必要がある。

- ・シスジェネシス、イントラジェネシスや遺伝子組換えのいずれも、遺伝子を導入することでゲノムの変化が予想されるが、この変化はあらゆる過程とメカニズムによって引き起こされるものであり、従来育種や遺伝子組換え／シスジェネシス／イントラジェネシス植物作成の過程で引き起こされたゲノムの望ましくない変化があれば、戻し交配で取り除くことができる。
- ・遺伝子発現の変化については、従来育種においても親系統より雑種後代においてゲノム全体の遺伝子発現のパターンが変化し、それが農業生産性の改善に望ましい変化である。発現プロファイルは、遺伝子型と環境要因の相互作用によってさらに変化するものであり、シスジェネシス、イントラジェネシスや遺伝子組換えでも同様である。
- ・遺伝子導入に伴う挿入変異として、ゲノムの破壊、欠失、再配列などの変化は、シスジェネシス、イントラジェネシス、遺伝子組換えに限定されるものではなく、トランスポゾンやレトロトランスポゾンのような稼働遺伝子によっても引き起こされる。
- ・新規オープンリーディングフレーム (ORF) の生成については、植物ゲノムに DNA 断片を挿入するすべてのプロセスにおいて不規則に起こるもので、これも従来の育種やシスジェネシス、イントラジェネシス、遺伝子組換えでも生じるものであり、また新規の ORF が必ずしも危険性を意味するものではない。

イ 遺伝資源と生産物に関連した安全性

シスジェネシスとイントラジェネシスの遺伝子供与体は、同種か交雑親和性のある近縁種に限られる。利用される遺伝子供与体（栽培品種、在来種、近縁野生種など）によって、いくつかのシスジェニック植物が想定される。それらは、a) 遺伝子供与体がヒトの食経験をもつ場合、b) 遺伝子供与体の食経験はないものの従来型の育種に利用されている場合、c) 遺伝子供与体は未だに品種改良に用いられてはいないが、それらがコードするタンパク質構造と機能において遺伝子ファミリーに関する知識がある場合、d) いずれにも該当しない場合で、すなわち、遺伝子供与体が品種改良に利用されたことがなく、遺伝子ファミリーとタンパク質の機能性が明らかにされていない場合である。

シスジェネシスとイントラジェネシスでは、従来の交雑育種に伴うリンケージドラッグを回避できるので、不必要な形質や危険性は導入されないことなどから、近縁野生種由来の遺伝子を用いたシスジェネシスにおいては、導入遺伝子によって生じる危険性は従来育種と類似している。イントラジェネシスではシスジェネ

シスや従来育種では見られない新たな組合せによる遺伝子カセットができるため、新規形質は新たな危険性を伴う可能性があり、GM 植物特有の危険性ともみなせると結論している。

ウ シスジェネシスおよびイントラジェネシスの規制上の扱い

このようなシスジェネシスおよびイントラジェネシス技術によって作出された植物を GM 植物として規制の対象にするかについては、国によって方針が異なる。

EFSA の報告がなされたものの、シスジェネシス／イントラジェネシスについては EU でも多様な意見がある。オランダ議会下院はシスジェネシスを GMO 法案の対象から除外すべきと推奨しており、EU においても非 GM 植物としての扱いを主張しているが、現時点ではフランスやドイツ、スイスなどは GM 植物としての扱いを求めている。そもそも、EU の環境放出令によるとシスジェネシスも GM 植物として扱われることになるが、今後の議論で除外される可能性は残されている。オランダの COGEM は、「シスジェネシスによって生成された植物が GMO かどうかではなく、このような特殊な GMO を規制の対象から除外すべきかどうかなのである」と提言している。

EU 以外の国におけるシスジェネシスとイントラジェネシスの扱いとして、米国やオーストラリアはケースバイケースの判断としている。オーストラリアは外来遺伝物質が導入されていなければ除外されるとしているが、どのような方法で導入されていないことを証明するかなどの詳細は明らかでない。

日本も規制に関する判断を示していないが、カルタヘナ法のもとにある「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律施行規則」第二条一号の通りであれば、同種または交雑和合性のある近縁種の遺伝子だけを導入した場合は遺伝子組換え農作物にあたらないことになる。ただし、ここでも外来遺伝子が存在しないことをどのように証明するかが重要になる。一方、食品衛生法にもとづく安全性評価ではカルタヘナ法と別の観点で判断される可能性がある。平成 26 年 2 月 24 日に開催された食品安全委員会（第 504 回）の「食品安全基本法第 24 条の規定にもとづく委員会の意見の聴取に関するリスク管理機関からの説明について」において、シスジェネシスで作成された「打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）」について説明がある。これが、日本におけるシスジェネシスの議論の端緒となると思われるので、今後の議論が注目されるところである。

2 規制に関する現状・課題と世界的議論への対応：アメリカにおける検討状況の詳細

アメリカにおいては、遺伝子組換え生物の規制は、農務省（USDA）、食品医薬品局（FDA）、環境保護庁（EPA）の3省庁が分担し、それぞれの根拠法のもとで規制されている。アメリカの規制当局による NPBT の判断は、基本的に現行の規制枠組みに照らして、ケースバイケースで判断されていると考えられる。

(1) アメリカ農務省（USDA）

USDA における規制上の判断のポイントは、導入遺伝子や導入方法において、植物病害（Plant Pest）が関係しているかどうかという点である。その背景には、USDA の規制根拠法が植物保護法（Plant Protection Act）であり、①遺伝子組換え技術を使用し、かつ②導入遺伝子やベクターが植物病害に由来しているものについて、USDA が規制対象としていることによる。この両者に該当するかどうかという点を USDA としてケースバイケースで判断していると考えられる。NPBT を利用した植物の作出過程において植物病害が関連していない場合には、規制対象外と見なされ、USDA は規制を及ぼす権限を有していないと判断される。USDA においては、すでに NPBT に関する開発者からの質問に対して個別に回答を行っており、その結果については USDA-APHIS のウェブサイトに掲載されている。

(2) 食品医薬品局（FDA）

FDA は、遺伝子組換え由来の食品に関して、開発者との間で任意のコンサルテーションにもとづき安全性を評価している。これまでのところ、NPBT に関しては FDA 内部で明確な方針を定めるまでには至っていない。今後、企業向けガイダンスなどを NPBT のために出すかどうかは現時点では不明である。とはいえ、現行の FDA の規制枠組みはケースバイケースでのコンサルテーションをおこなうという意味で非常に柔軟であり、特段の対応をする必要がないという可能性も存在する。FDA が 1992 年に出したガイダンスも「新しい植物品種（New Plant Variety）」に対するものであり、十分に包括的なガイダンスをすでに出していると解釈することも可能である。

(3) 環境保護庁（EPA）

EPA は、植物内保護物質（PIPs）と呼ばれる農薬成分を植物体内で生成させる GM 作物に対して、連邦殺虫剤・殺菌剤・殺鼠剤法（FIFRA）にもとづく規制を行っている。EPA においても、NPBT 由来植物に関しては、ケースバイケースで規制上の判断をおこなう方針とみられる。これは 1 塩基の変異であったとしても、PIPs をもたらすような変異を引き起こすことが理論的にはありうるためである。また EPA は、2011 年 3 月にシスジェネシスにより作出した作物に関して PIPs の登録規制（PIP registration）の対象から外すとの提案を行ったものの、具体的な手続きは進んでいない。

3 GM 技術との違いおよび協調的併用

育種において GM 技術と NPBT の果たす役割について、より詳細に記述する。

(1) 育種における GM 技術と NPBT

育種という言葉が使用される場合に、育種イコール「変異作出技術」あるいは「変異拡大技術」として用いられることが多い。「育種技術」は変異拡大、変異の導入、選抜、固定の全過程を指すのである。従って、「遺伝子組換え技術 (GM)」および「新育種技術 (NPBT)」と称される技術については、それぞれが果たせる役割を明確にしておく必要がある。また、「育種技術」は、常に育種目標の設定、素材の選定、選抜、品種育成までに使われた労力・時間・経費の投入コストに対する得られた品種の経済価値の相対的比率である「育種効率」により評価される。近未来的に提案される多くの技術も「育種」事業のなかでの有効性が問われることになる。コストに見合うか否かということは、遺伝子情報の入手がこの数年で十分の一になったという技術的進歩によって大きく左右されるが、得られた品種の経済的価値にもとづくことを理解しておく必要がある。

育種とは、人間が希望する方向へ生産機能を改変し、これまでにない新しい有用な遺伝子型をもった集団を創造するための操作技術であり、育種の実体は技術を駆使した「事業」である。多くの場合、既存品種の不良形質の改良に主体が置かれるため「品種改良」とも呼ばれる。極めて簡単に言えば、育種技術とは、植物集団中にある有用な遺伝子の頻度を高めること、あるいは特定の遺伝子を固定させることによって、また異なる集団にある有用な遺伝子を交配などにより集積させることによってより性能が優れた集団を作りあげる手順のことである。従って、生物個体の遺伝的改変技術は育種の基盤となるが、育種そのものと定義が異なる。

① 育種目標の設定

育種目標は、特定の作物種において既存品種の改良すべき目標である。一般に、育種には数年から数十年という長い年月が必要とされるため、育種目標の設定にあたっては、現時点の生産者や消費者の要望を満たすだけでなく、将来の国際情勢、社会経済状況、需要動向はもちろんのこと、環境の変動などを見据えることが必要になる。日本の主要作物であるイネ、コムギ、ダイズなどの育種目標においては飛躍的な収量増加による低コスト化とともに、国民が要求する特徴的な品質や成分をもち、付加価値の高い農産加工品を生産することによる国際競争力を付与することを目指されてきた。

農作物の種類ごとに育種目標は異なるが、共通の育種目標としては、収量性向上、品質改良、環境ストレス耐性向上があげられる。収量性向上は、光合成産物を生産するソース機能の増強とその蓄積に必要なシンク機能の拡大、さらにはソースからシンクへの光合成産物の転流効率の向上が育種目標となるであろう。品質改良においては、国民の食習慣や嗜好に応えるのは当然のこととし、その特性を活かした独自の加工技術を駆使することでさらに付加価値の高い製品を提供できる品種育成が目標になる。

環境耐性に関連しては、本来近縁植物種を含む植物遺伝資源に含まれる病虫害抵抗性や環境ストレス耐性の機能を活用することが重要であるが、一方で、バイオテクノロジーによって植物のもつ耐性機能の強化、あるいは他の生物種の遺伝子を植物ゲノムに組み込んで、従来の予想を超える耐性機構を構築することが目標になる。

② 育種技術としての NPBT と GM

特定の形質の遺伝的改変によって植物育種が可能であるかのように誤解されているが、形質の遺伝的改変がなされた系統を作出しても、その系統がすぐに新品種になることはほとんどない。遺伝的改変技術が育種のなかで果たす役割を過大評価してはいけないが、改変技術無くして育種技術の発展もあり得ない。

事実、遺伝子組み換え技術の進展は目覚ましく、世界的に栽培されている除草剤耐性ダイズや害虫抵抗性トウモロコシは、1996 年より商業栽培が始まり、1996 年には世界の遺伝子組換え農作物の栽培面積は 170 万 ha であったが、15 年後の 2011 年には 1 億 6,000 万 ha まで急増し、これは日本の国土の 4.2 倍に相当するまで広がり、改変技術の重要性を示している (ISAAA 2011) [70]。

遺伝子組換え技術は、遺伝子もしくは遺伝子群を細胞へ導入する遺伝子導入技術と、導入前後の形質転換をしようとする植物にあわせた組織培養または栽培法から構成されており、この技術を駆使すれば、遺伝的背景を変えことなく目的の遺伝子領域だけを導入できるので、既存の品種や優良系統へ多数の集団を用い何世代にもわたる交雑と選抜を繰り返し、育成までに長い時間が必要とされる従来の育種と比較して、短期間にしかも少ない個体数の育種素材から新品種を育成することが可能となるとされている。また伝統的な植物育種で扱える遺伝子供給源は、交配可能な同一種や近縁野生種に限られるが、形質転換技術を利用すると、遺伝子供給源を交雑不可能であった遠縁の植物や、植物界以外の動物や微生物にも広く求めることができ、遺伝的改良の可能性が拡大する。その意味で遺伝子組換え技術を用いた育種が急速に進められてきた。しかし、この技術は除草剤耐性や耐虫性などの特定の遺伝子をピンポイントに導入し、品種改良をおこなうのには適しているものの、収量性など複数要因が関わる量的形質の改変をおこなうことは端緒についたばかりであり、その限界も指摘されている。

しかし、一方で、植物の営みを分子レベルで理解し、それを利用して有用遺伝子を導入して作物を改良しようとする学問分野としての分子育種学が誕生している。分子育種学は基礎的な分子生物学を基盤にして育種との結びつきを視野に置いた学問分野である。事実、育種に応用できる新技術としてエピジェネティクスを利用した遺伝子発現の抑制や人工制限酵素を用いて相同性組換えを起こさせるターゲティングなどの開発も進んできている。特にエピジェネティクスは分子育種の方策として期待されている。分子育種第 1 世代の遺伝子組換え作物が質的形質の改変を主にしているのに対し、エピジェネティクスでは収量性や耐病性など量的形質に関わる変異の作出にも成功している例が報告されはじめており、標的遺伝子の改変はもとよりゲノム全体の変異拡大技術と

して期待されている。

(2) NPBTは遺伝子組換え技術なのか否か？規制の枠組みからの考え方

このNPBTが遺伝子組換えであるか否かについては、Podevin et al (2012) [33]が総説により議論している。NPBTの発展の背景には、育種過程の促進という大義があるが、一方ではGMOに対する消費者の懸念に対して、通常育種でも得られるであろう系統を作出するというフレーズによって、その潜在的懸念を抑えられると期待するところがあることもあろう。しかし、バイオテクノロジーによる新たな育種法とそれによる製品は、それらが必ずしも既存の製品定義、規制の枠組み、GMOリスク評価に適合しないため、NPBTの開発は、単にGMOに関するさまざまな懸念を回避するというような単純なものではなく、早急に解決すべき実に多様な規制上の課題を投げかけているのである。GMOか否かの判断が必要とされているのである。もし、これらがGMOであるとされるのであれば、現在の規制システム全体の見直しも必要となる。Podevin et al (2012) [33] は今後のNPBTの規制を考えるべき課題として5点あげている。彼女らの提案にもとづきながら、NPBT開発が保有する規制に関する問題の整理を試みる。

第1の課題は、「規制をプロセスベースにするのかプロダクトベースにするのか」である。アルゼンチンおよびEU諸国で採用されているプロセスベース規制ではNPBTのようなGMOと非GMOの境界領域を作り出すような技術に対応することが極めて難しい。しかも、法的に柔軟に対応することも困難といえる。我が国のGMO規制枠組みは、プロセスを注視しながら、基本的にはプロダクトベースであると言えよう。現在のGM規制の枠組みではゲノム中に「核酸」が残存するか否かで基本的仕分けになるためNPBTではやはり新たな枠組みが必要になるのか否かを議論しなければならない。このプロセスベースとプロダクトベースについてはさまざまな理解がなされているが、典型的な事例として除草剤耐性について紹介する。除草剤耐性はGM技術以外の方法でも導入ができる。ナタネを例にすれば、アトラジン耐性は従来型育種で導入され、イミダゾリノン耐性は突然変異育種、グリホサート耐性はGM技術である。完全なプロダクトベースの規制枠組みをもつカナダでは、除草剤耐性の上記3種のナタネはいずれも法の対象となる。これらのナタネ系統（プロダクト）は同じ新たな形質（除草剤耐性）をもつため、同一の環境影響評価を必要とされる。一方、EUではGM技術によって育成された作物自身の承認（ライセンス）が必要とされ、化学変異原や放射線による突然変異は規制の対象外となる。従ってDNAのごく短い断片であるオリゴヌクレオチドを利用した部位特異的突然変異で育成された作物はGM規制枠内であり、従来型の育種の産物（プロダクト）は規制対象にならない。アメリカはカルタヘナ議定書の非批准国であるが、遺伝子組換え作物（プロダクト）のみを規制対象としている。カナダは真にプロダクトベースの規制をしている稀な国である。カナダにおいて、新しい植物とは、①カナダで栽培されている種が有していない形質をもつ。あるいは、②カナダで栽培されている種が有している形質でも、その形質の幅から顕著に逸脱する形質をもつという要件を満たすものである。

それらを野外で利用する際には、以下の基準をもとに環境安全性評価が義務づけられ

る。(CFIA 2012) [71]。

- ① 新規形質をもつ植物が農耕地以外の生態系に侵入し、雑草化する可能性
- ② 新規形質をもつ植物が近縁の野生種と交雑し、また交雑種が雑草化する可能性
- ③ 新規形質をもつ植物が有害となる可能性（有害物質を算出する等）
- ④ 新規形質をもつ植物あるいは新規形質そのものが人を含む他の種へ与えるインパクト
- ⑤ 生物多様性に及ぼすインパクト

さらにカナダでは野外での使用が承認された後も、環境への長期影響があると想定される場合には、「スチュワードシップ計画」が求められる。スチュワードシップは慎重で責任ある管理を意味する。計画には想定される影響が生じないような措置を定めるとともに、もし影響が生じた場合にはそれを軽減する措置を定め、措置の有効性を監視する必要がある。具体的には耐虫性形質を導入した遺伝子組換え植物を作成した場合、環境への長期影響として抵抗性をもつ昆虫の出現があげられる。抵抗性昆虫が出現しにくいよう、耐虫性組換え植物以外にも非組換え植物を育成する区画を設けるといった措置、栽培者や販売者など関係者の教育、抵抗性昆虫が出現した場合の報告体制、緩和措置の効果の監視などが求められる。

NPBTに関してプロセスベースにするのかプロダクトベースにするのかの議論も今後生じると予想されるが、GM技術での議論を参考にして進める必要がある。特にこのプロセスベースかプロダクトベースかについてはCOGEM（オランダ遺伝子組換え委員会）の報告（COGEM 2009）[72]が参考になる。

第2の課題は、「NPBTの規制の枠組みとリスクアセスメント法が、NPBTによって作出される植物の特性が人や動物の健康に与える影響あるいは環境影響リスクのレベルに釣り合ったものか」である。すなわち、NPBTでは組換えDNAを一過的に使用する、あるいは安定的に挿入するためにGM技術が用いられるが、最終的なゲノム変化は通常育種で期待されるものと区別できないことが多い。従って、プロダクトベースという観点からすると、NPBTによって生み出された植物はGMOよりは通常育種の植物に近くなる。このことがこれまでのGMO規制の枠組みに疑問を投げかけるのである。NPBTによって生じる変異は通常育種でも作り出される変異とされるため、NPBTによって「意図しない変異」が生じるのか、その変異はNPBT特有のものなのかを判断しなければならない。しかし、組織培養中に生じる意図しない変異はNPBT特異的とはいえず、GMO規制枠の範疇外である。GM技術による一過性のDNAの存在はプロセスベースではGM規制の範囲であるが、プロダクトベースでは対象外となる。しかし、GMO規制枠から外す場合には当然であるが、ゲノム中に存在しないことの証明が必要となる。

第3の課題は、「NPBTがもたらすかもしれない害を防ぐことの他に、食料安全保障、経済の発展、消費者の信頼の構築などの政治的目的を満たすためのイノベーションを刺激する規制枠組みやアセスメント法の整備をどうするのか」である。この意味はこれまでに各国で確立されてきたGMO規制の枠組みが、規制の負担を避け消費者に受け入れられやすい新たな育種技術の発展を生んだ側面があるということである。NPBTでは、中小企業あるい

は研究機関が非常に高い負担を強いる規制要件に従わなくてもよいという利点があるとされる。しかもその製品は消費者の懸念払しょくにつながるものであるとする。

一方で、これらのNPBTは従来のGM技術を用いた多くの大企業がその開発に取り組み、実績をあげていることも事実である。このことがNPBTの理解を妨げる可能性もある。開発者はもちろんのこと規制者も法律対象となるNPBTの判別を明確にしなければならない。さらに、NPBTに何らかの規制の枠組みを作るのであれば、消費者に受け入れられる過程が不可欠である。Kuzma and Kokotovich(2011) [73] は開発関係者と市民の関与によってNPBTの規制に関して責任の共有を可能にすると述べている。GMOで招いたような市場問題あるいは消費者からの不信というリスクの低減にはオープンな議論が不可欠であると言える。しかし、標的遺伝子を明確にするNPBTと精度が低いGMとの違いは多くの消費者のなかでは見失われていくと考えられることにも留意する必要がある。Kuzuma and Kokotovich(2011) [73] は「大衆がこれらの違いを区別するとは思いません」と述べている。さらに、「人々は選択と情報へのアクセスについて心配しているのであり、技術の規制を監視する人物を信頼している」とも述べている。Walters(2012) [74]はNPBTにより育成された作物がGMO規制の枠組みを回避し、非遺伝子組換えであると主張されていることに対しての検討をおこない、情報公開の必要性について強調している。

第4の課題は、「国際協調を可能にするNPBTの規制枠組みの確立」である。NPBTは、いわゆる「育種家の遺伝子プール(Breeder's gene pool)」を大きくし、このプールから類縁遺伝子型の間で少量のDNAを簡便に移動させることができるようにする技術である。育種家のプールからのDNAを挿入することもできるが、この挿入は遺伝子組換えとは違い、植物ゲノム内で高度に標的化されたものである。これにより育種家はゲノム配列を変えずに形質を修飾できるのである。アメリカは植物病原体(アグロバクテリウム)の助けなしで作出されたシスジェニック植物を規制する枠組みを持たないし、権限がないとしている。オーストラリアでは特定のシスジェニック植物は規制対象であるとしている。EUでもその規制に関する議論はなされているが結論はでていない。2014年に開催されるOECD委員会において今後の規制の枠組みに関する議論の必要性が議題になるが、端緒についたばかりである。

本報告で論議されている NPBT について法律の規制対象となるのか、あるいは従来の育種法と同じ取扱いとなるのか、現在各国で議論されている最中である。我が国では議論が始まったばかりだが、欧州では、欧州委員会の要請のもと、欧州共同研究センターと保健・消費者保護研究所により、これらの新たな植物育種技術の技術面や利用の状況等について調査が行われ、報告書が公表された(Lusser et al. 2011) [25]。ここでは、その報告書をもとに、①新しい技術が遺伝子組換え技術を用いているか、②用いている場合には導入した外部核酸が最終産物に残存しているか、③最終産物は従来の育種法で作られたもの、あるいは自然条件下で生じたものと識別できるか、について述べる。③の「識別」は、EU 法案で LMO と承認されるには、その証拠を示す方法があることが前提であるためである。新たな植物育種学技術によって導入された変化を検出できるとともに、その変化が新たな植物育種学技術によるものだと識別できる必要がある。つまり同

じような変化が自然条件下でも起こりうる、あるいは規制対象ではない従来の変異技術（化学的または放射線突然変異）でも作り出せる場合、変化を検出できたとしても、その変化が新たな植物育種学技術によるものだと識別できないことになる。

第5の課題は、「害をもたらす可能性が等しいプロダクト間でリスクアセスメント法の不一致を避ける」ことである。これは第2の課題とも重なる問題であり、プロセスベースなのかプロダクトベースなのかという問題に行き着く。上述したようにカナダの考え方は常に一貫している。NPBT規制要件としても、プロセスではなく、植物の種類、形質、環境、用途、そしてこれらの組合せに関連したリスク評価が重要である。

(3) 生物多様性影響評価との関連について

NPBTと規制に関しては、下野（2013）[34]に詳しい。GMO（LMO）に該当する動植物を利用する際には、カルタヘナ法に定められた手順にのっとり、措置を取ることが求められる。GMO利用は、環境中への拡散を防止しつつおこなう利用（第二種使用等）と防止しないでおこなう利用（第一種使用等）とに分けられる。特に、第一種使用等の際には、事前に生物多様性を損なう恐れを評価すること、すなわち「生物多様性評価」が求められる。

ここで守るべき生物多様性は日本に従来成育している在来動植物種である。生物どうしは捕食や競合などのような相互作用を通じて関係し合っている。長年にわたる相互作用の結果、その環境に適応的な形質をもつ個体や個体群が残る。このようなバランスしている生物のセットが在来生物相であり、それは歴史的かつ地域固有の存在だと考えられている。それに対して、持ち込まれた遺伝子組換え生物等が、それまでになかった種類や程度の相互作用をもたらした場合、その変化に対応が間に合わない在来種は減少あるいは絶滅する恐れがある。生物多様性評価ではその恐れについて評価することになる（田部井 2010）[75]。具体的には、

- ① 遺伝子組換え生物等が、農耕地以外の生態系に侵入して、その繁殖力の強さなどにより、在来の野生植物を駆逐してしまうこと（競合における優位性）
- ② 遺伝子組換え生物等が近縁の野生種と交雑して、野生種が交雑したものに置き換わってしまうこと（交雑性・競合における優位性）
- ③ 遺伝子組換え生物等が作り出す有害物質によって周辺の野生動植物や微生物が死滅してしまうこと（有害物質の産出）

などの状況が生じた場合、生物多様性影響が生じたと判断される。

この観点からNPBTを見てみると、ZFN-3（EFSA 2012a）[35]はこれまでの遺伝子組換え技術の範疇に入り、その結果作られた産物を野外に出す場合はGMOと同等の評価が求められるだろう。シスジェネシス・イントラジェネシスについては、セルフクローニングあるいはナチュラルオカレンスに相当するとも考えられるが、欧州食品安全機関（EFSA）の遺伝子組換え作物に関する作業部会は、イントラジェネシスにより作出された植物は、GMOと同様に、これらの生産技術に関連する新たなリスクを考慮するべきであるとしている（EFSA 2012b）[36]。一方、シスジェネシスにより作出された植物のリス

クは、従来の育種法により作出された植物のリスクと同程度であるとしている（EFSA 2012b）[36]。その他の技術によって作成された産物については、従来の育種法で作られたもの、あるいは自然条件下で生じたものと識別することが難しく、そのリスクの判断には議論が分かれる。上述したように、我が国においても、生物多様性影響評価は最終産物の示す形質にもとづいて行われており、使われている技術や識別可能性によって判断されるものではない。しかし、産物にこれまでに無かった新たな形質が付与されているのであれば、法規制の対象とはならなくても、新たな形質が付与された場合に、その植物が生物多様性に及ぼすリスクが低いことを関係者が自主的に確認する必要があることは言うまでもない。

これまで存在しなかった外来の生物の野外への放出における生物多様性への影響は、有害な化学物質の放出などに比べると不確定要素が大きい。しかも、少数の個体の放出であっても生物が増殖することにより時間とともに影響が拡大すること、生物の放出をやめても影響の拡大がとどまらず、いったん広範囲に分布が拡大すると、もとに戻すことが難しい事象が起こる（小池 2010）[76]。従って新たな形質をもつ生物を野外に出す場合には、意図しない結果を生じさせる可能性に常に留意しなければならない。一方で、利用した技術（プロセス）によって産物（プロダクト）の安全性が決まるわけではないので、あくまでも産物の形質にもとづいて（プロダクトベース）事例ごとに安全性を評価するべきと考える。

もう一つ重要な観点とは、NPBTの有効性を論じる際に、我が国の食糧生産の状況を念頭に置くべきであるということである。国産農畜産物の強みを生み出す画期的な新品種の開発を加速化するため、NPBTはその実現の鍵を握る重要な技術になりうると考えられている。しかしながら、GM技術により改良された農作物や食品に対する消費者・生産者の懸念が根強く存在するため、上述したように情報公開の原則にもとづきながら消費者・生産者を巻き込んだ議論が不可欠であり、社会受容をどのように高めていくかが重要な課題となる。