

2. NBTに関するリスクコミュニケーションの検討

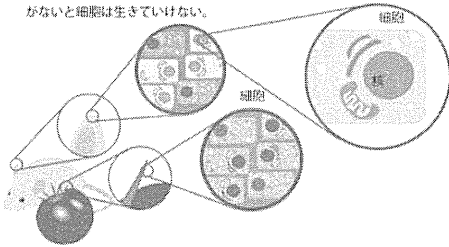
2-C 研究結果

(1) 説明資料の作成

染色体や遺伝子、DNAなどの用語を説明します。

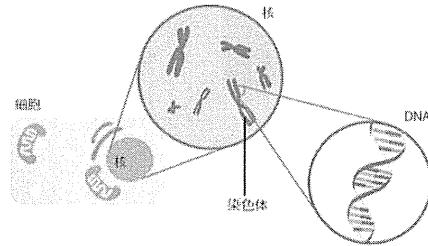
細胞とは：

ほとんどの生物は細胞によってできていて、生物の身体を構成する最小単位。細胞1つは、中心に核を持っていて、核は細胞全体を支配していて、これがないと細胞は生きていけない。



染色体とは：

細胞の核の中には染色体がある。染色体は小さく折り畳まれたDNAの鎖が集まってできている。



DNAとは：

DNAは2本の鎖がお互い絡まりあったような構造をしている。2本の鎖かららせん状になっていることから、これを二重らせん構造と言う。このらせんの中に4種類の塩基と呼ばれる部分(GCAT)があり、この塩基の並び順によって生命の情報が記録される。



遺伝子とは：

遺伝子には外見や性質、個性などを決定する情報が含まれているため、生命の設計図とも言われている。2重螺旋であるDNAに遺伝子(設計図)がいくつも集まっている。

染色体や遺伝子、DNAなどの用語を説明します。

遺伝情報とは：

遺伝情報は個人によって異なり、遺伝情報の違いが性別、毛色等の個性を決めている。塩基の並び方を一部変更することで、違った遺伝情報・違った個性を持つ生物を創造することができる。



ゲノムとは：

生物が持つ遺伝情報全体のこと、染色体に存在する全DNA(遺伝情報)をあらわす。

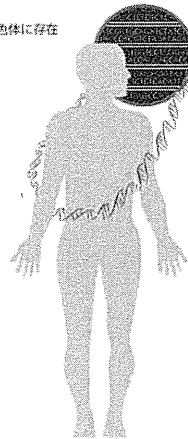
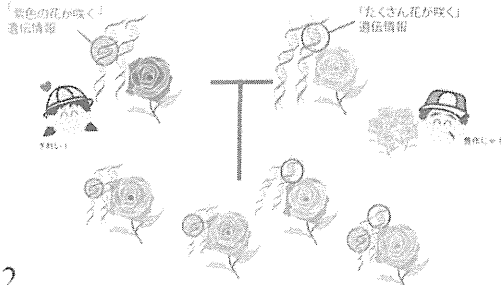


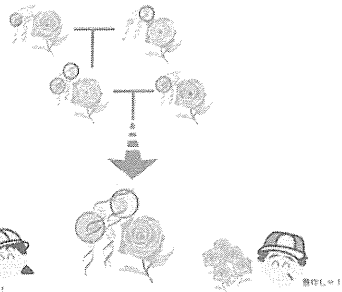
図 12 用語解説

下記の説明は遺伝子組換え技術がどういったものが説明をしています。

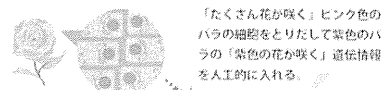
1. 紫色のバラは「紫色の花が咲く」遺伝情報を、ピンク色のバラは「たくさん花が咲く」遺伝情報を持ちます。これらをかけ合わせると...



2. 紫色のバラの「紫色の花が咲く」遺伝情報やピンク色のバラの「たくさん花が咲く」遺伝情報を持つバラができます。

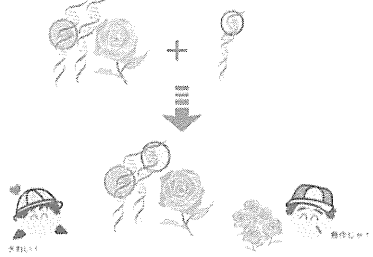


3. できたバラ同士で更にかけて合わせを行います。このようなかけ合わせをくり返すと、紫色のバラの「紫色の花が咲く」遺伝情報とピンク色のバラの「たくさん花が咲く」遺伝情報の両方を持っている「紫色の花が、たくさん咲く」バラができます。これが従来の品種改良です。



「たくさん花が咲く」ピンク色のバラの細胞をとりだして紫色のバラの「紫色の花が咲く」遺伝情報を人工的に入れる。
遺伝情報を人工的に入れた細胞から「紫色の花が、たくさん咲く」バラができる。
「紫色の花が、たくさん咲く」バラの種を植えると、同じ「紫色の花が、たくさん咲く」バラができるようになる。

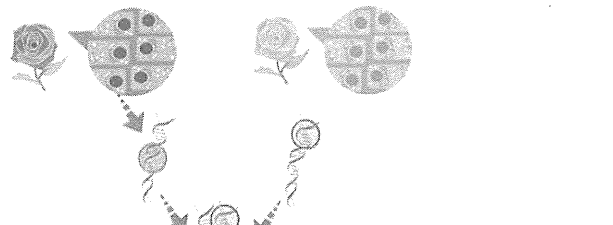
4. 遺伝子組み換え技術を使って、「紫色の花が、たくさん咲く」バラを作ることできます。遺伝子組換え技術では、「たくさん花が咲く」ピンク色のバラに紫色のバラの「紫色の花が咲く」遺伝情報を直接入れて「紫色の花が、たくさん咲く」バラを作ることができます。



5. このように、遺伝子組換え技術を使えば品種改良と同じように「紫色の花が、たくさん咲く」バラを作ることができます。しかも、従来の品種改良がかかっていたコストと時間を削減でき、効率よく改良ができます。

図 13 遺伝子組み換え技術

下記の説明は、セルフクローニングという技術を説明しています。



1. 遺伝子組換えのバラは、ピンク色のバラと紫色のバラの遺伝子から作られます。

2. できたバラはバラ由来のDNAしか持っていません。

3. そのため、遺伝子組換えのバラは、アサカオヤスイートピー、ハンジーなどのバラとは違う種類の植物の遺伝情報は持っていません。
このように、種の違う植物由来のDNAを持たず、同じ種由来のDNAしか持たないように遺伝子組換えすることをセルフクローニングと言います。

図 14 セルフクローニング

下記はナチュラルオカレンスという技術の説明です。

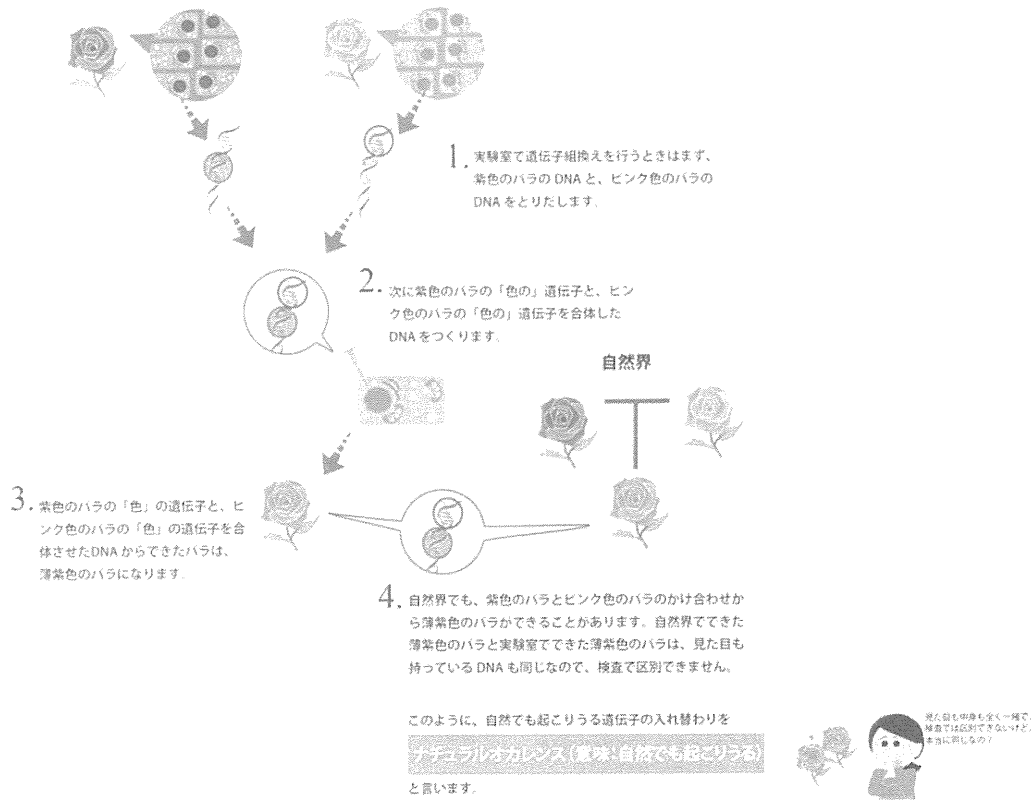


図 15 ナチュラルオカレンス

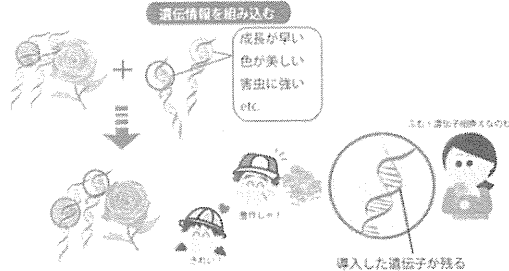
次世代植物育種技術 (NBT)

1. 品種改良を行う新しい技術として、

次世代植物育種技術 (NBT)
New Plant (新しい植物)
Breeding (育てる)
Techniques (技術)

というものがあります。日本ではこの技術を使った作物は市場に出ていませんが、海外では実用化されている技術もあります。

2. 従来の遺伝子組換え技術のおさらい



今までの遺伝子組換え技術を使うと、作物の品質をよくする、病気に強くするなどの品種改良を、効率よく行うことができます。出来上がった作物は、遺伝子に遺伝子組換え特有の特徴が残るため、検査をすれば遺伝子組換えをした作物だとわかります。

3. 次世代植物育種技術 (NBT) とは？
 遺伝子組換えの痕跡が残らない遺伝子組み換え技術



NBT を使うと今までの遺伝子組み換え技術と同じように、作物の品質をよくする、病気に強くするなどの品種改良を、効率よく行うことができます。しかし、NBT では従来の遺伝子組換え技術と違って、出来上がった作物の遺伝子に遺伝子組換え特有の特徴が残らず、遺伝子組換えなのかわからない場合があります。

図 16 次世代植物育種技術

ゲノム編集

次世代植物育種技術にはどんな技術があるの？

ゲノム編集 動植物の持つDNAの修復力によって、遺伝子の変化を起こす技術

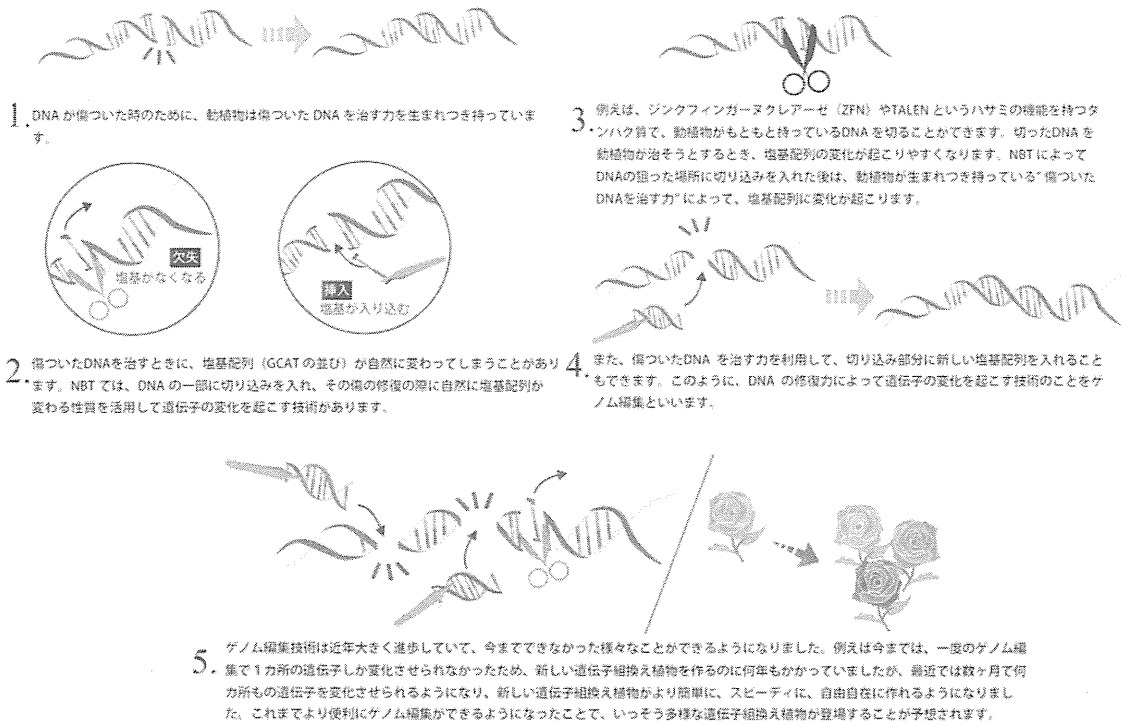


図 17 ゲノム編集

ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）

次世代植物育種技術にはどんな技術があるの？

植物の持つDNAの修復力によって、遺伝子組換えを起こさせる技術

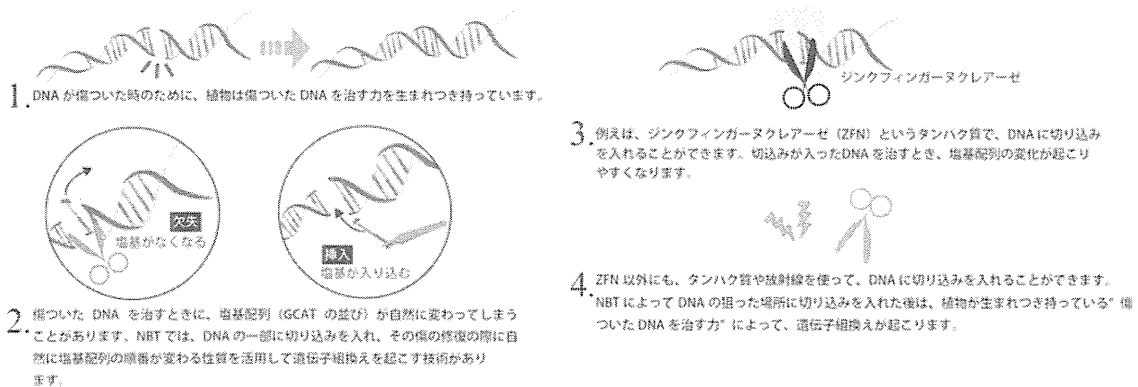


図 18 Zinc finger nuclease (ZNF)

クリスパーキャス(CRISPR CAS)

DNAの編集が可能なCRISPR-CASによるDNAの編集

ゲノム編集をするとき、DNAに切り込みをいれます。このとき、動物がもともと持っているウイルスに対する免疫能力を利用してDNAに切り込みを入れる技術があります。

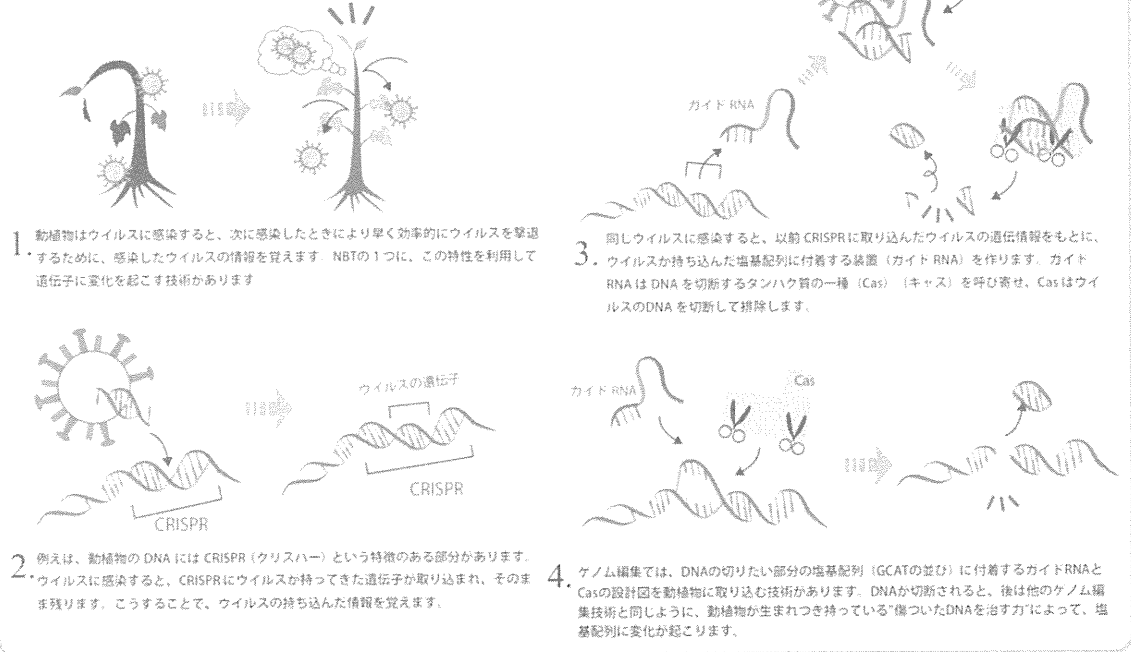


図 19 CRISPR CAS

メチル化

次世代植物育種技術にはどんな技術があるの??

遺伝情報に付着させて、使う遺伝子を取捨選択する技術

動物の色や形などの特徴がどのように表れるかは、遺伝子によって決まります。動物は、持っているすべての遺伝子情報を使っているわけではありません。色や形などを現す遺伝子を取捨選択することにより、動物が持つ特徴を左右することができます。

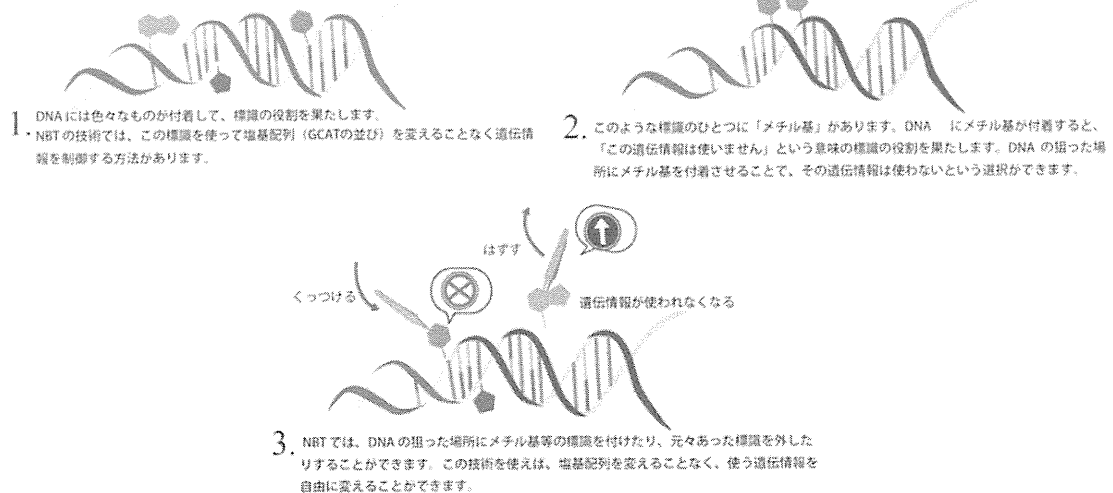


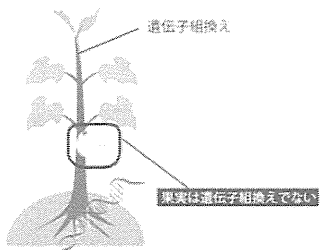
図 20 メチル化

接ぎ木

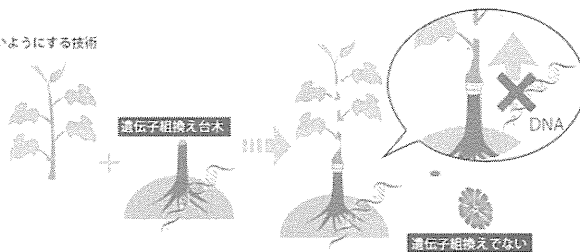
次世代植物育種技術にはどんな技術があるの？

作物のなる木や苗だけを遺伝子組換えにする技術

栽培や育種の過程で遺伝子組換え技術を利用するが、人が食べる部分は遺伝子組換えではないようにする技術



1. NBTの技術では、栽培や育種の過程で遺伝子組み換え技術を使っても、人が食べる作物や種の遺伝子は組換えられない植物を作ることができます。



2. 例えば、接ぎ木を利用した技術でこのような植物を作ることができます。遺伝子組換えをした台木に、遺伝子組換えではない苗木を接ぎ木します。標から接ぎ木した部分までは遺伝子組換えですが、接ぎ木では、DNAは台木から穂木に移動できないという特徴があるので、接ぎ木した部分から上は遺伝子組換えではなく、その部分になる実も遺伝子組換えではありません。

図 21 接ぎ木

(2) アンケート調査

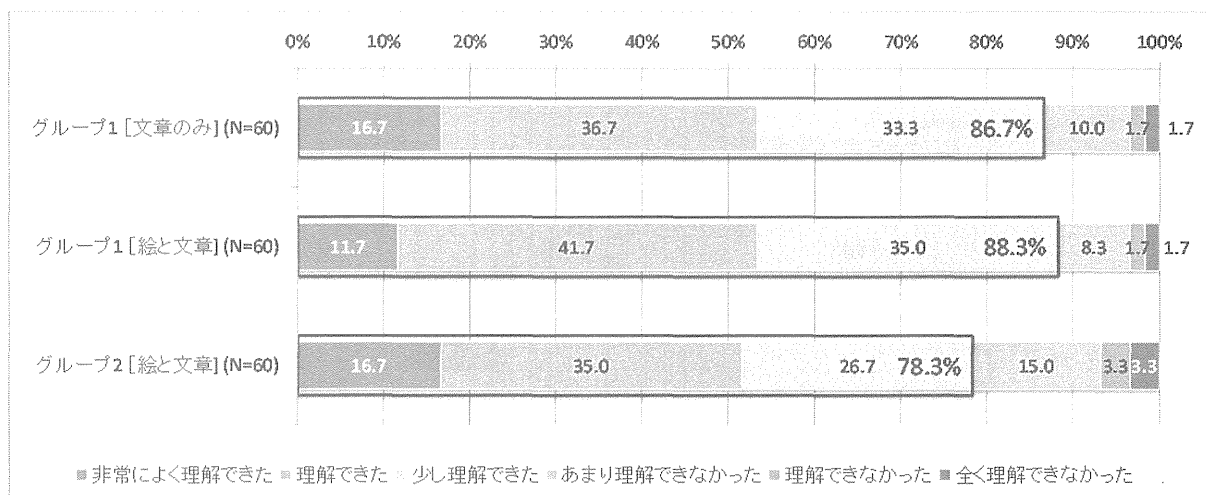


図 22 細胞に対する理解度

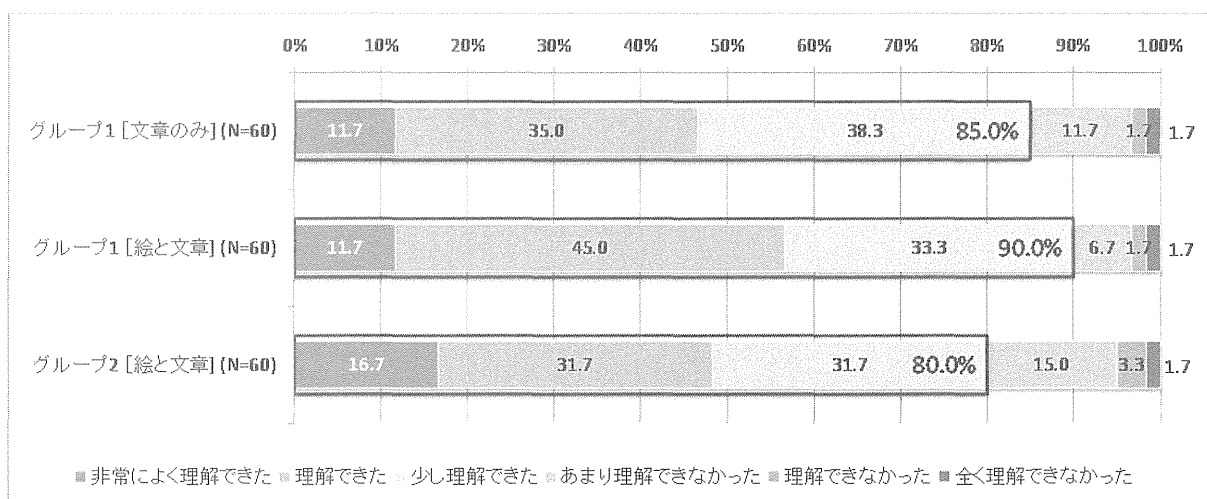


図 23 染色体に対する理解度

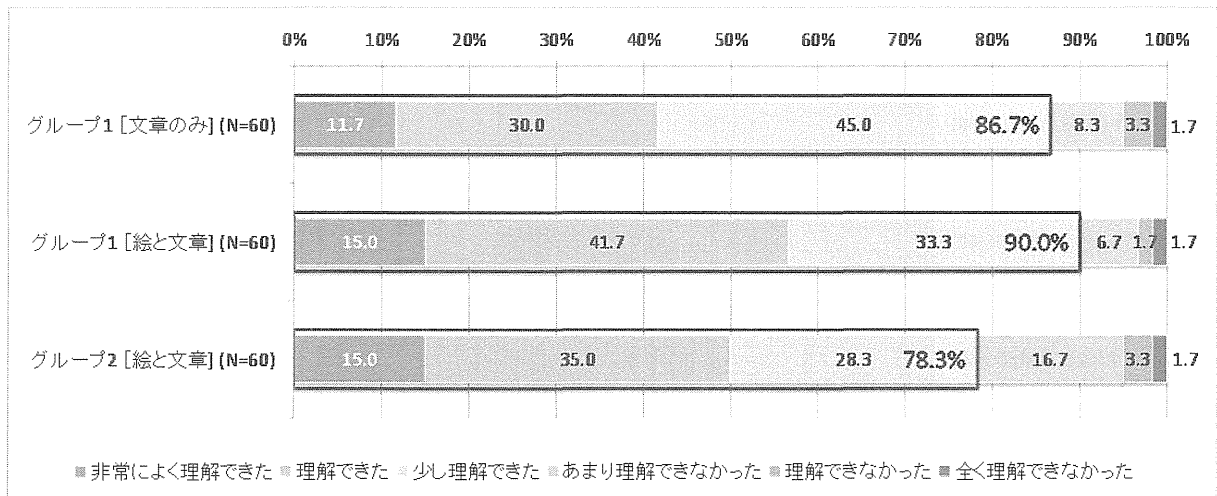


図 24 DNA に対する理解度

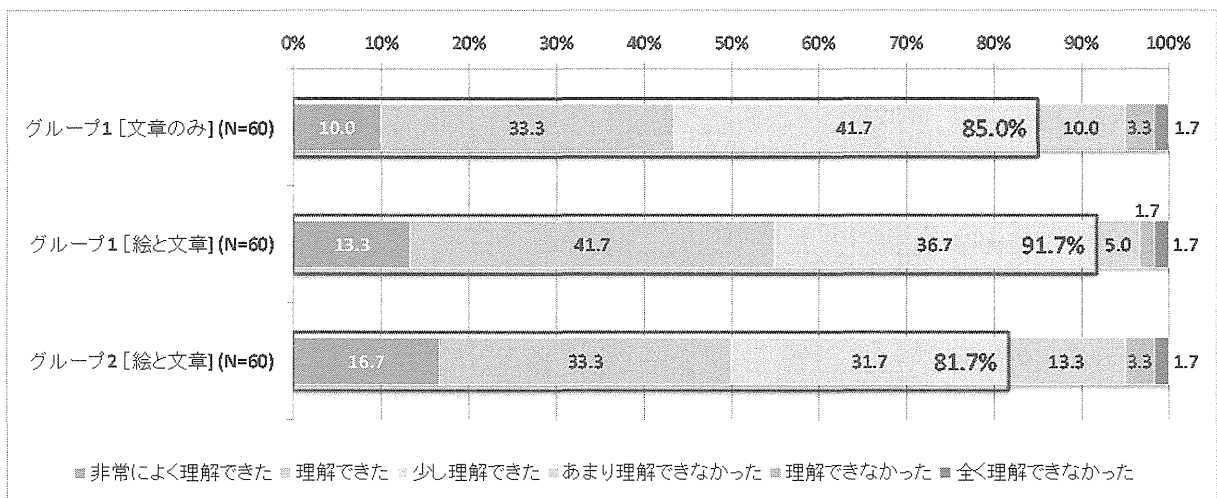


図 25 遺伝子に対する理解度

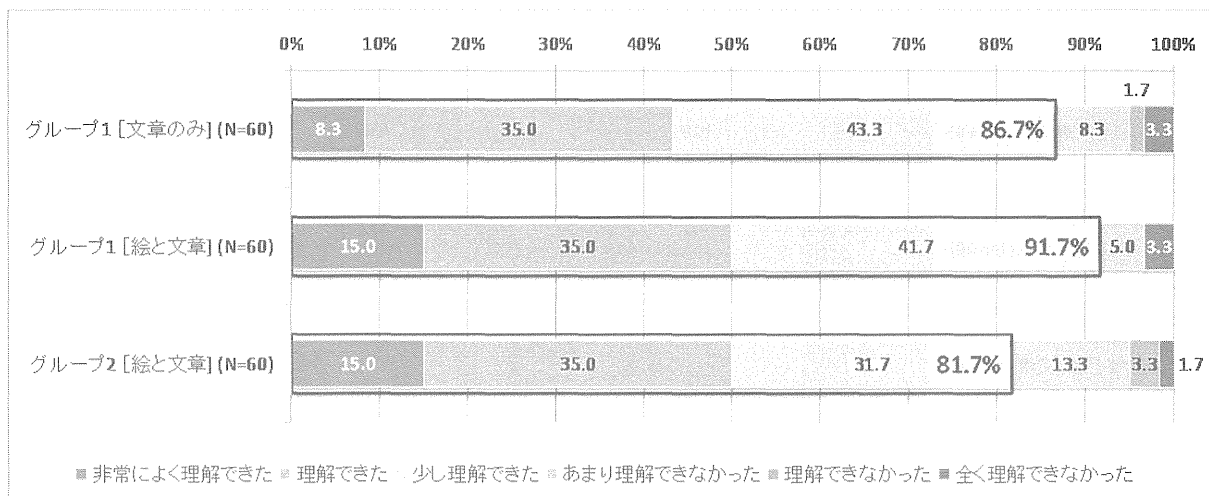


図 26 遺伝情報に対する理解度

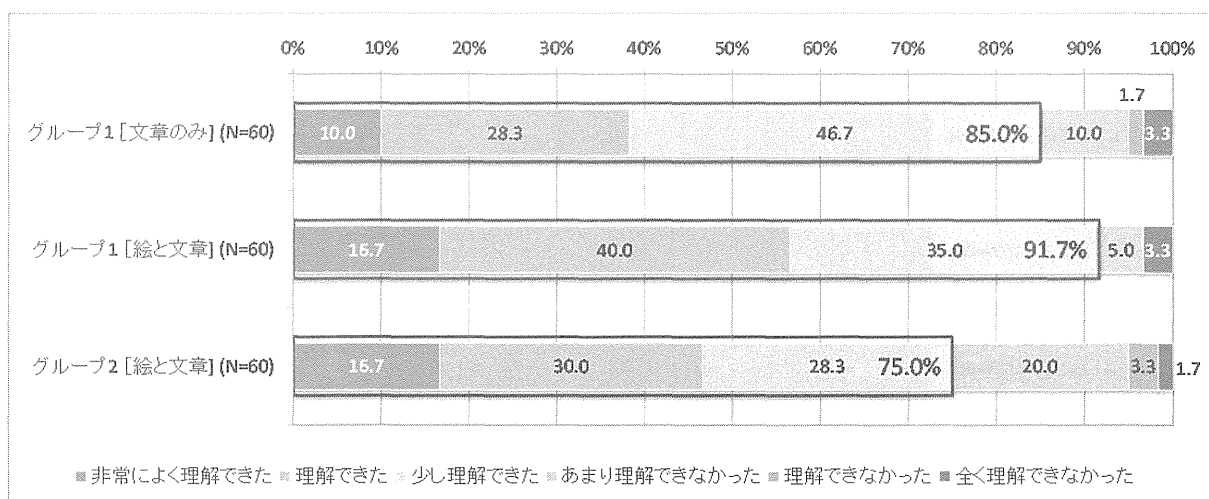


図 27 ゲノムに対する理解度

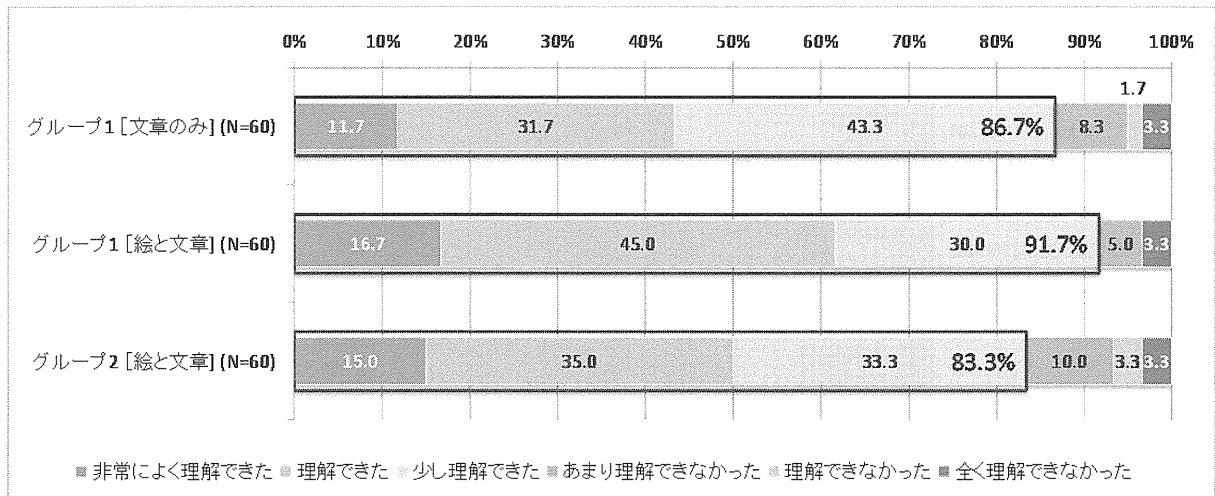


図 28 基本的な遺伝子組み換え技術に対する理解度

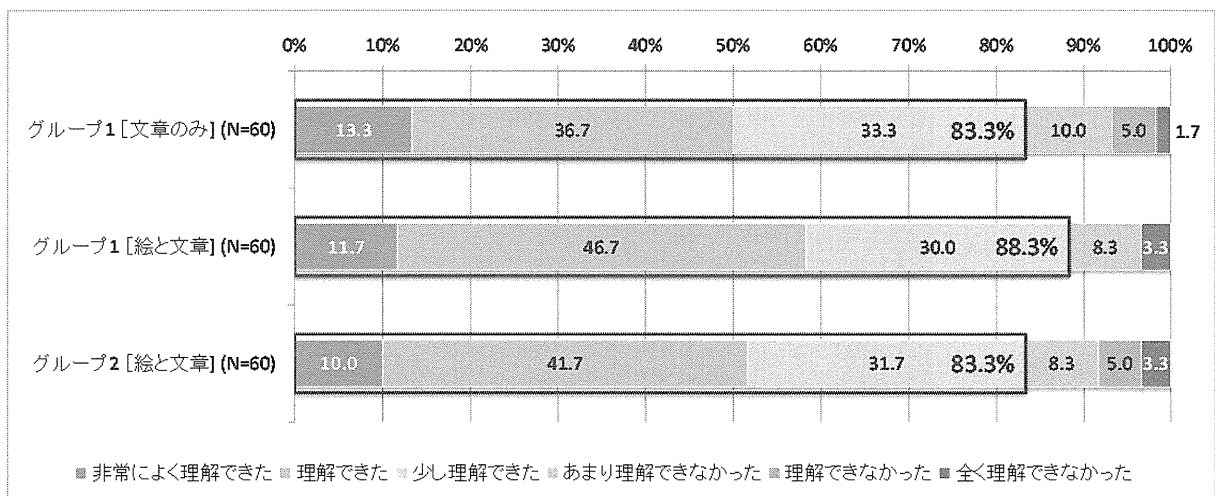


図 29 セルフクローニングに対する理解度

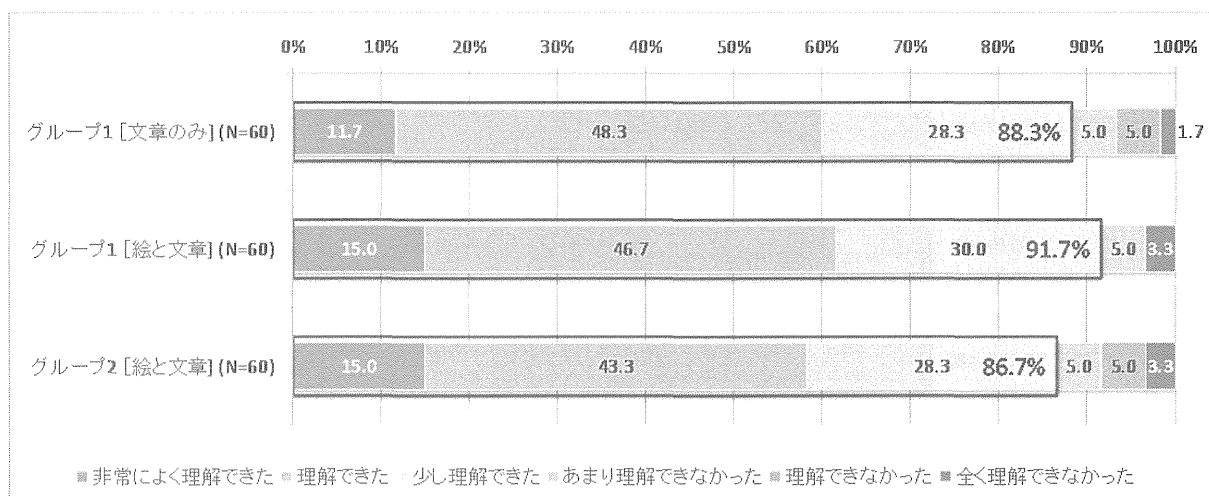


図 30 ナチュラルオカレンスに対する理解度

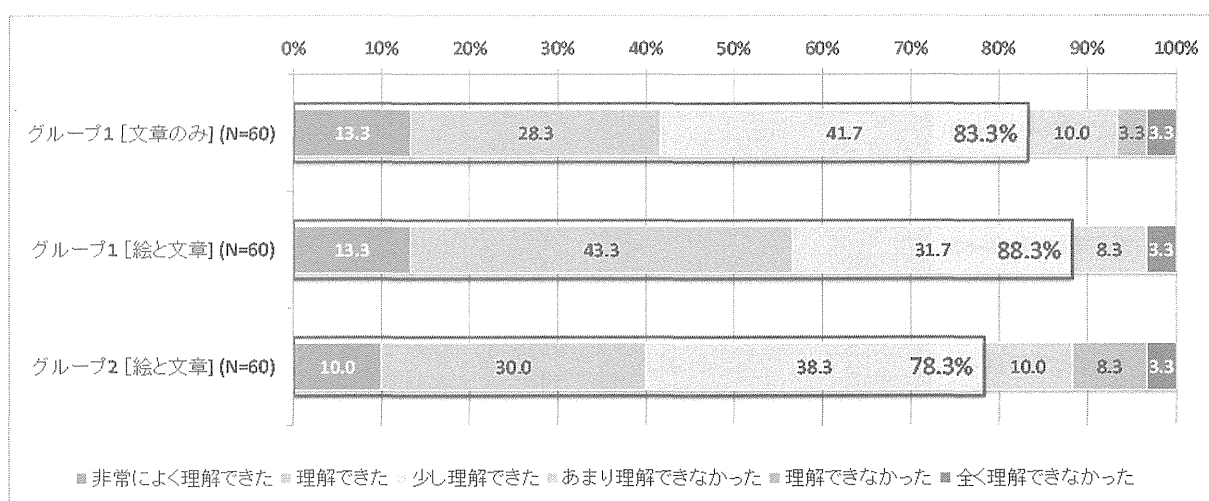


図 31 NBTに対する理解度

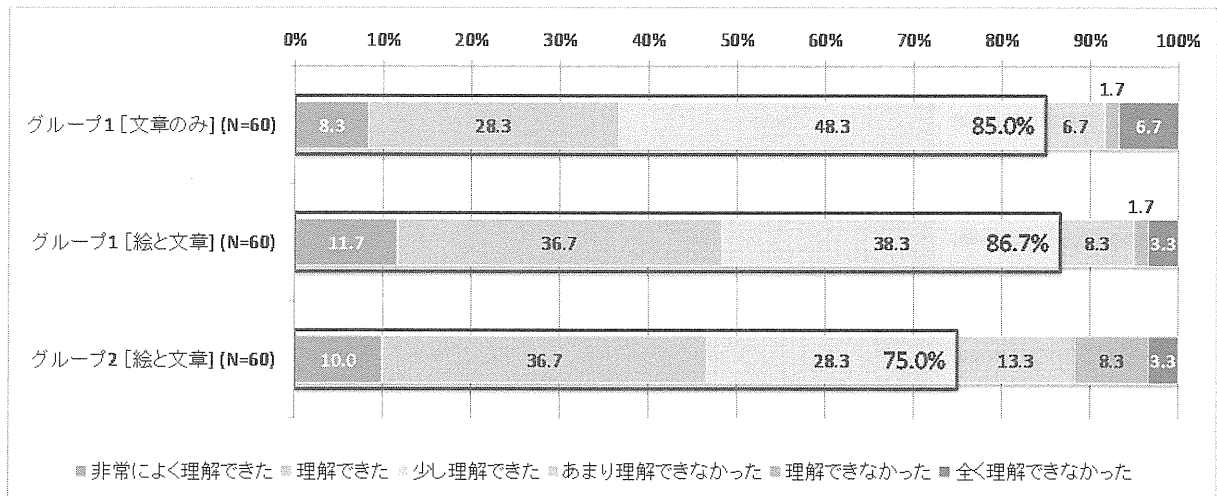


図 32 ゲノム編集に対する理解度

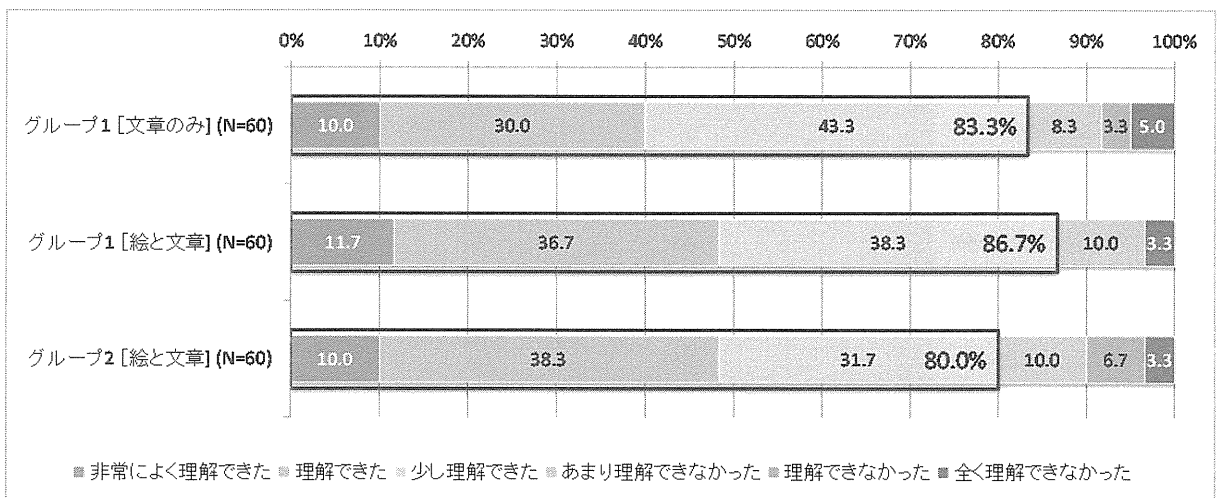


図 33 Zinc finger nuclease (ZNF) に対する理解度

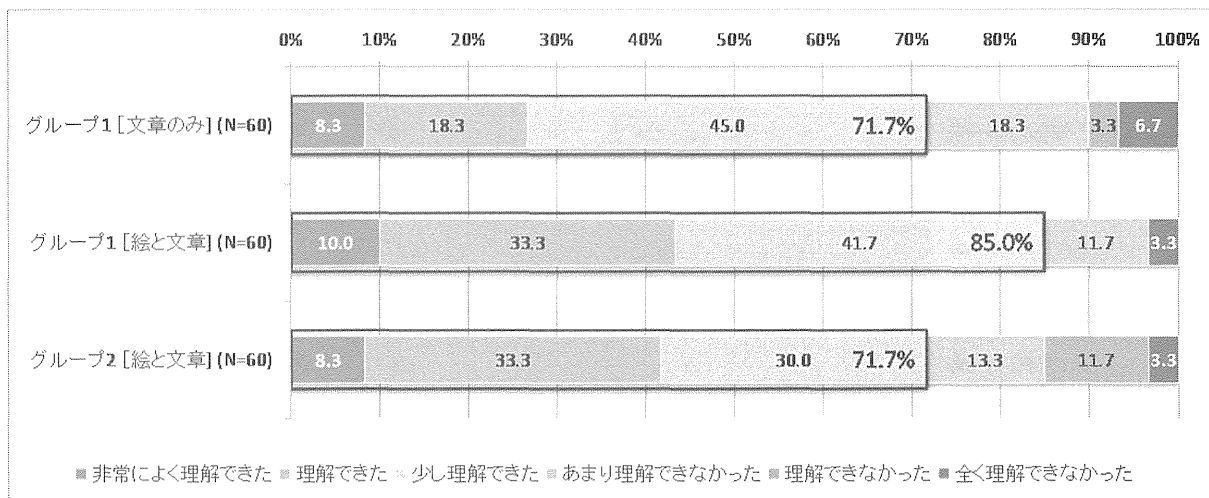


図 34 CRISPR CAS に対する理解度

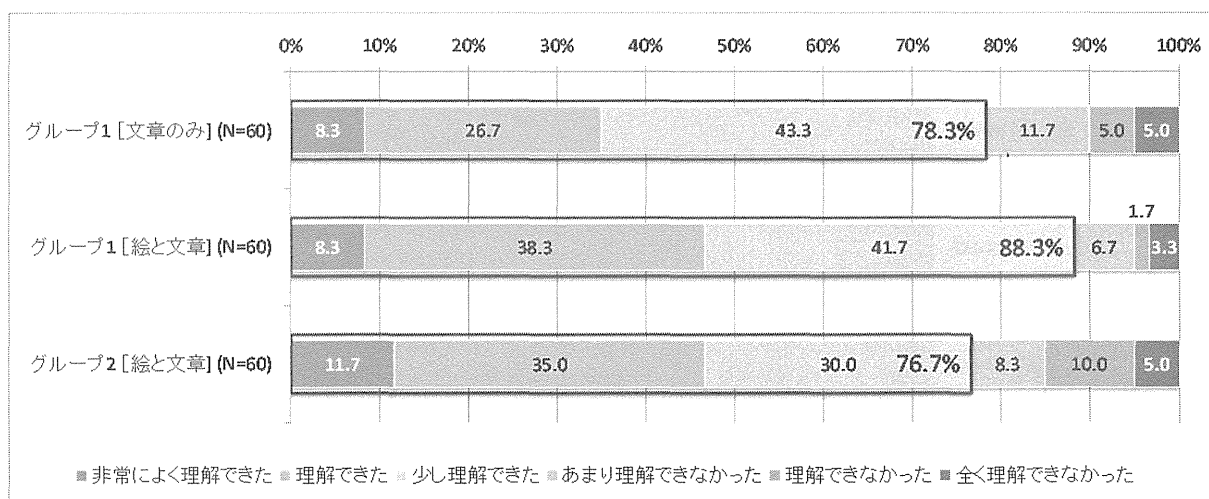


図 35 メチル化に対する理解度

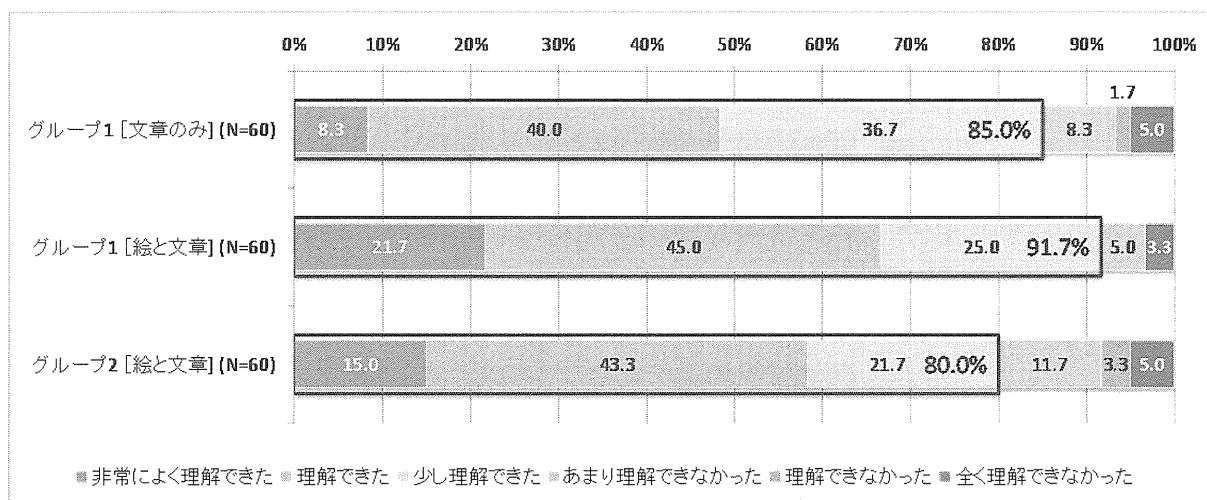


図 36 接ぎ木に対する理解度

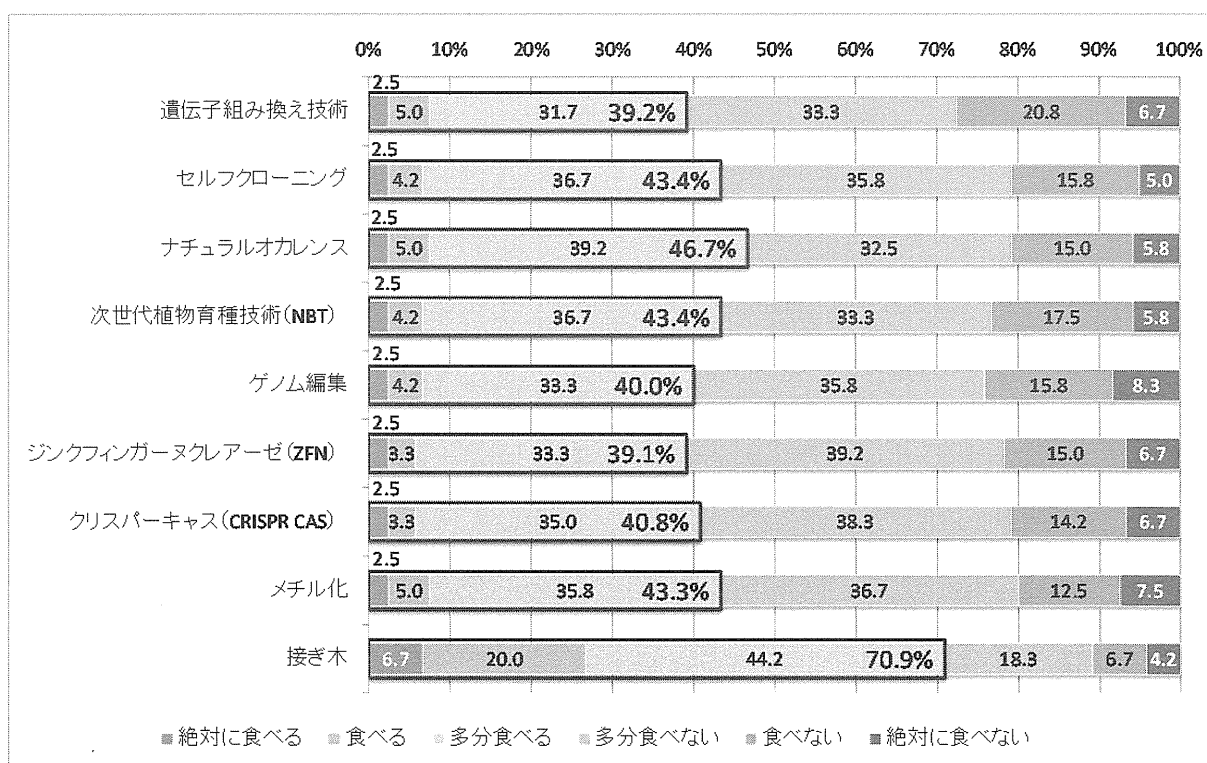


図 37 バイオテクノロジー技術で品種改良された作物に対する摂食意向

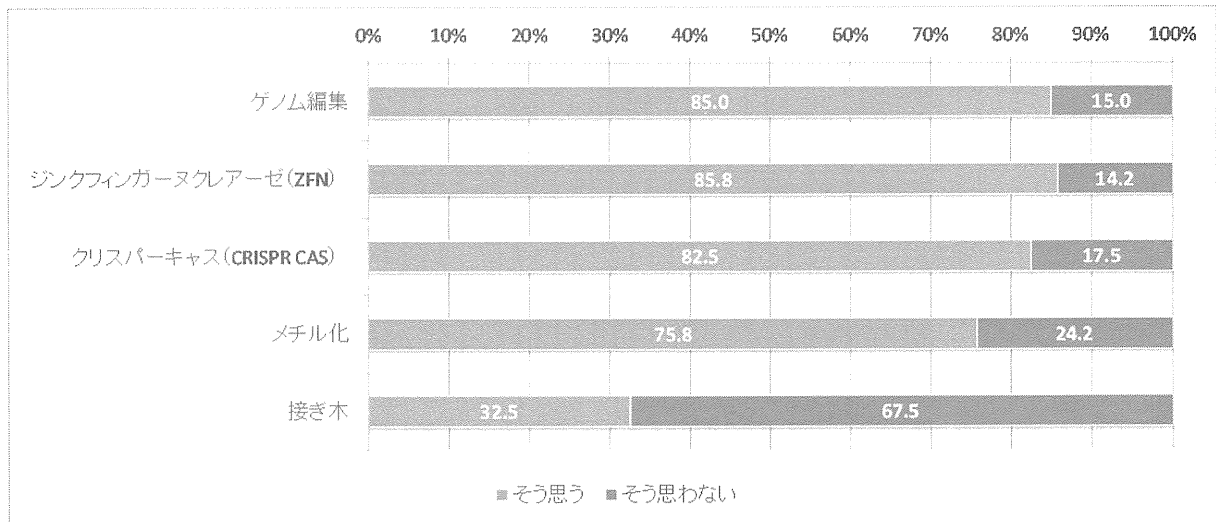


図 38 NBT 技術で品種改良された植物は遺伝子組み換え植物だと思うか

(遺伝子組換え体の安全性に関するポストゲノム手法導入のための調査研究(1))

研究分担者 小関良宏 東京農工大学大学院工学研究院教授

研究要旨

遺伝子組換え作物は世界で広く利用されているが、3大作物(トウモロコシ、ダイズ、ナタネ)、2大特性(害虫抵抗性、除草剤耐性)がその大部分を占めている。しかしながら、イネやコムギ等の作物を宿主としたり、乾燥抵抗性や栄養成分改変、機能性分子付与等の新たな特性を導入したり、新たな組換え作物の開発も盛んに進められており、そのいくつかは、既に商品化に近いところまで進んでいる。また、魚類や家禽類を宿主とした食用を目的とした組換え生物の開発・商品化もすすめられている。多様化する組換え体の食品としての安全性評価に際し、科学的知見としてオーム解析や成分分析等の一斉分析手法によって得られるデータの有効性の検証を目的とし、モデル組換え体を材料に、一斉分析を実施する。本年度は、高温ストレス耐性サツマイモの可食部である塊根を対象とし、食品五成分の栄養成分分析を行い、分析値を従来品種の値と比較した結果、大きな差異は認められないことが確認された。

研究協力者

小口太一(筑波大学生命環境系/遺伝子実験センター)

菊池 彰(筑波大学生命環境系/遺伝子実験センター)

A. 研究目的

遺伝子組換え作物は世界で広く利用されているが、3大作物(トウモロコシ、ダイズ、ナタネ)、2大特性(害虫抵抗性、除草剤耐性)がその大部分を占めている。しかしながら、近年では、イネやコムギ等の新たな作物を宿主とした組換え作物や、乾燥抵抗性や栄養成分改変、機能性分子付与等の新たな特性の作物への導入した組換え体の開発が進んでいる。これら新たなタイプの組換え作物の開発は、既に商品化に近いところまで進んできている。また、食用を目的として、魚類や家禽類を宿主とした組換え生物の開発・商品化も

すすめられている。多様化する組換え体の食品としての安全性評価に際し、科学的データとしてのオーム解析や栄養成分分析等の一斉分析手法によるデータの活用可否や有効性の検証を目的とし、本研究グループでは、モデル組換え体材料を様々な成分分析試験に供し、その分析値の従来品種や非組換え体との比較から、組換え体の食品における安全性評価への活用の有効性等を検証する。

B. 研究方法

<植物材料>

高温ストレス耐性遺伝子組換えサツマイモおよび非対照組換えサツマイモ(品種:高系14号)は、特定網室下で8月中旬から11月中旬までの3ヶ月間プランター栽培し、収穫した塊根の一部を、独立行政法人科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業(CREST)(研究代表者重岡成)より分与を受けた。

<食品成分分析>

組換え体2系統および非組換え体1系統各1個体より収穫した塊根（表皮は剥離）各100gを、日本食品分析センターに送付し、五成分（水分、たんぱく質、脂質、炭水化物、灰分）およびエネルギーの分析を依頼した。水分は常圧加熱乾燥法、たんぱく質はケルダール法、脂質は酸分解法、灰分は灰化法により評価した。エネルギーと水分は下記の計算式により求めた。

$$\text{炭水化物} = 100 - (W + P + L + A)$$

W：水分、P：たんぱく質、L：脂質

C：炭水化物、A：灰分

C. 研究結果

組換え体および同環境で栽培した非組換え体の塊根の栄養成分分析結果に大きな違いは見られなかった(図)。また、同分析値を日本食品成分分析表(五訂増補)および農研機構食品総合研究所の組換え農作物の安全性評価のための食品データベース収載データと比較を行ったところ、本試験分析値では炭水化物が少なく、水分が多い傾向が確認された(図)。また、炭水化物量の低下により、エネルギーも減少した。

D. 考察

組換え体と非対照組換え体の間で塊根の栄養成分分析結果に大きな違いが見られなかったことから、本組換え体に利用された高温ストレス耐性遺伝子の導入によりサツマイモ塊根の栄養成分に大きな違いが生じないことが示唆される(図)。また、本試験分析結果と日本食品標準成分表に収載のデータとの炭水化物量の違いは、本試験分析試料が特定網室でのプランター栽培という高温ストレスに暴露される条件下で栽培され

たことから、栽培環境の違いに起因すると考察される。今後、本組換えサツマイモを隔離圃場等で栽培・収穫し、栄養成分を比較し、検証することが望ましい。

E. 結論

特定網室で栽培した高温ストレス耐性組換えサツマイモと対照非組換え対照系統との間で塊根の栄養成分に大きな差異はなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 謝辞

本研究の一部は、独立行政法人科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業(CREST)(研究代表者重岡成)として実施した。

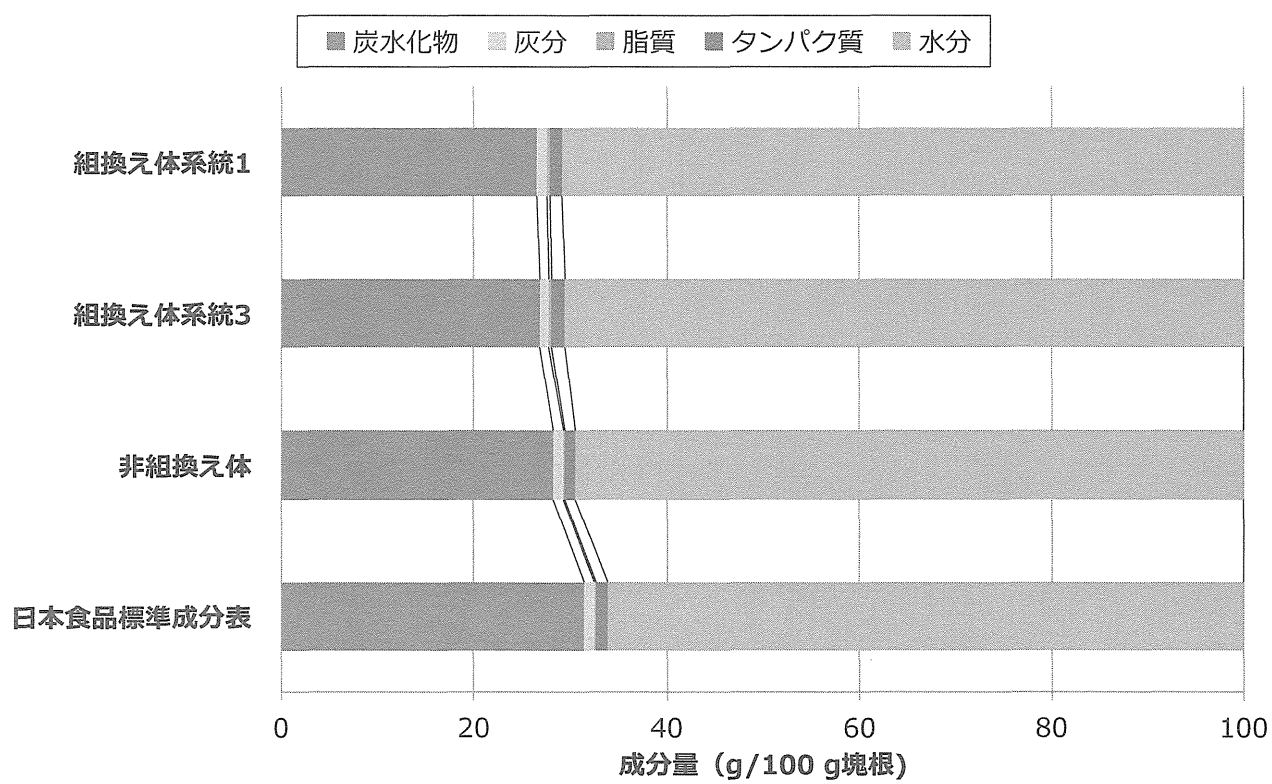


図 環境ストレス耐性サツマイモ塊根の栄養成分分析の結果

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)

「新開発バイオテクノロジー応用食品の安全性確保並びに国民受容に関する研究」

分担研究報告書(平成26年度)

(遺伝子組換え体の安全性に関するポストゲノム手法導入のための調査研究(2))

研究分担者 小関良宏 東京農工大学大学院工学研究院教授

研究要旨 これまでの遺伝子組換え植物は害虫抵抗性や除草剤抵抗性といった比較的単純なものであったが、最近では、機能性を付与したものや遺伝子組換え植物同士の交配によって、複数の機能を持たせるなど、複雑かつ多様な植物が生み出されている。また、植物にとどまらず、バクテリア、魚、ニワトリなど植物以外の遺伝子組換え生物も実用化されつつある。これらのように多様化、複雑化しつつある遺伝子組換え生物を由来とする食品の安全性について評価する場合、その複雑性や多様性、また安全性評価すべき観点もはっきりとしないといった問題点がある。そこで本研究では、これらの安全性を評価するうえでどのような評価が可能であるか検討するために、耐塩性シロイヌナズナのスタック系統、成長ホルモン遺伝子導入アマゴおよびにフラジェリン遺伝子導入乳酸菌についてトランスクリプトーム解析を行った。その結果、スタック系統ではストレス応答遺伝子の発現の増強、アマゴではアレルゲン遺伝子の発現低下、乳酸菌では特定のゲノム領域の発現増加が確認された。

協力研究者

宮原平 (東京農工大学大学院工学研究院)

A. 研究目的

現在では遺伝子組換え植物が食品として身近に流通している。これらの遺伝子組換え食品は安全性評価が科学的になされたうえで安全に流通しているものである。しかし、近年、さまざまな機能を付加した遺伝子組換え植物が開発され、また、組換える遺伝子も、従来のような害虫抵抗性や除草剤耐性などのシンプルな機能付加ではなく、もともとその宿主が持つ代謝経路を改変するものや、複合的な要因によって環境耐性を付加する等、それらの安全性を評価する場合に、その評価すべき観点が多様化、複雑化している。また、

最近では遺伝子組換え植物のみならず、遺伝子組換えニワトリやサーモン等の遺伝子組換え動物も開発され実用化されつつある。これらはこれまでに存在していなかったものであり、安全性評価の方法等について検討しておく必要があると考えられる。さらには、最近問題となっているのは、遺伝子組換え植物同士を交配して得られる後代種である。これらは遺伝子を組換えて付与された機能が‘スタック’することによって、耐性・抵抗性等の向上を図っているものであるが、これらのように遺伝子を組換えたものをさらに交配した後代において、形質にどのような変化が表れているかについて研究されている例は少ない。そのため、今後増えるであろうスタック系統についてもそれらの組換え遺伝子の検知技術や安全性評価基準について調べておく必要がある。今年度は

シロイヌナズナに耐塩性を付与した遺伝子組換え個体同士を交配したスタック品種のアレイ解析と昨年度解析したサンプル数が少なかった成長ホルモン遺伝子 (growth hormone 1: GH1) 導入アマゴを用いたアレイ解析、さらにフラジェリン遺伝子を導入した遺伝子組換え乳酸菌の次世代シーケンサーによる遺伝子発現解析を行なった。

B. 研究方法

B-1 植物材料

シロイヌナズナスタック系統は、まず環境耐性遺伝子の例として、塩性植物であるシチメンソウ (*Suaeda japonica*) から耐塩性向上効果を持つ遺伝子として当研究室で単離された fructose bisaldolase 相同遺伝子 (*SjFBA*) と *relA/spot* 相同遺伝子 (*SjRSH*) をカリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーター下流に連結したベクターを構築し、アグロバクテリウムを介してフローラルディッピング法によってシロイヌナズナに導入して作成された系統を用いた。スタック系統は、*SjFBA* 組換え体の花粉を *SjRSH* 組換え体のめしべに受粉させて交配作出したものを使用した。

GH1 導入アマゴは生育段階を生重量 100, 125, 150 g に分けたものをヘテロ GH1 組換えアマゴと非組換えアマゴの 2 種について水産総合研究センター増養殖研究所名古屋博之育種グループ長に分与していただいた。

フラジェリン遺伝子導入乳酸菌 (*Lactobacillus casei* IGM393 株) およびベクターコントロールである組換え乳酸菌からの total RNA 抽出物は国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部五十君静信博士より分与していただいた。

B-2 RNA 抽出方法

シロイヌナズナからの total RNA 抽出は RNe-

asy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いて行い、方法はそのマニュアルに従った。

アマゴからの total RNA 抽出は筋肉組織を液体窒素中で磨砕した後に、RNase-free 水に懸濁しその上清から NucleoSpin RNA Blood Kit (MACHERY-NAGEL) を用いて RNA 抽出を行った。方法はそのマニュアルに従った。

乳酸菌からの total RNA 抽出は、国立医薬品食品衛生研究所食品管理部榎田和彌博士によって RNeasy Kit (Qiagen) を使用して行っていただいたものを分与していただいた。

B-3 マイクロアレイおよび次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析

シロイヌナズナスタック系統のアレイ解析ではチップは Arabidopsis オリゴ DNA マイクロアレイ Ver. 4.0 を使用した。これはシロイヌナズナの全遺伝子および転写産物をカバーしているものである。

GH1 遺伝子導入アマゴのアレイ解析では、マイクロアレイチップはアマゴと同じサケ科のサーモンの DNA マイクロアレイチップ (Salmon Gene Expression Microarray 4x44) を用いた。このチップ上には約 43,000 のプローブが固定化されている。いずれのアレイ解析もタカラドラゴンジェノミクスセンターの委託解析を用いた。

乳酸菌のトランスクリプトーム解析には適したアレイチップを用意できなかったため次世代シーケンサーによる mRNA 網羅的解析 (RNA-seq) によって組換え体とベクターコントロールでの遺伝子発現解析を行った。解析は、rRNA 枯渇処理の後、次世代シーケンサー HiSeq2000 によって 2000 万リードでユーロフィン社に委託した。