

ゲノム編集農産物を遺伝子組換えでないと証明する方策の提言

～リスク評価体系の合意に向けて～

ポイント

- ・ゲノム編集生物の農業応用において遺伝子組換え生物でないとは誤判断する要因を分析。
- ・試薬や培地の点検と、異なる DNA 解析法を組み合わせた、より信頼性高い証明方策を提案。
- ・本提言が日本におけるゲノム編集農産物のリスク評価体系の確立と合意の形成に寄与することを期待。

概要

北海道大学安全衛生本部の石井哲也教授らは、外来 DNA があるゲノム編集生物を遺伝子組換えではないと誤判断してしまう問題に取り組み、より信頼性の高い非組換え証明方策を見出しました。

農業分野で遺伝子改変技術、ゲノム編集を用いた動植物の育種が急速に進んでいます。日本など少なくとも 7 か国^{*1}は、事業者がゲノム編集農産品に外来 DNA がないと証明できるなら遺伝子組換え生物として規制しないという振興政策を採っています。しかし、外来 DNA を見逃して非組換えと誤判断した問題が起きました。そもそも、ある事象の非存在の証明は疑義を招きがちです。

本研究グループは、ゲノム編集で意図しない遺伝子組込みが起きた論文や、国外規制当局がゲノム編集動物を誤って組換えではないと判断したケースを詳細に分析しました。その結果、ゲノム編集農産品に外来 DNA が存在しないと証明するには、まず、外来核酸(DNA と RNA)が①ゲノム編集の試薬や、②細胞培養の培地に含まれるか慎重に確認する。含まれる場合、③ゲノム中の組込みリスクがある 3 部位について、標的部位の DNA シーケンシングに加え、原理などが異なる複数の DNA 分析法により得られた解析データをもって証明することが妥当と結論しました。

一方、対話を経た社会的合意があるならば、この外来 DNA 非存在の証明方策を緩和して施行する、逆に、特定農産品については適用の見送りもありえます。本研究を踏まえた提言が日本におけるゲノム編集農産物のリスク評価体系の確立と合意の形成に寄与することを期待します。

なお、本研究成果は、2021 年 12 月 7 日(火)公開の *Trends in Biotechnology* 誌にオンライン掲載されました。

【背景】

2020年にノーベル化学賞を受賞したCRISPR-Cas9をはじめとするゲノム編集を用いた品種改良は、作物や家畜などを中心に、世界各国で進んでいます。その背景には少なくとも7か国が採っている振興政策があります。これは外来核酸（あるいは遺伝物質）がないと証明されたゲノム編集生物を、遺伝子組換え生物規制の対象外とするものです。現在では例えば、米国ではゲノム編集で脂肪酸組成を変えたダイズ油が、日本ではGABAという成分が高含量になったトマトが市販されています。

しかし、米国でゲノム編集を使って開発された角なしウシについては、ブラジル規制当局で組換えでない認められ、繁殖させる直前、微生物由来の遺伝子などの組込みが見逃されていたことが2020年に判明し（Norris, A.L. et al. 2020）、この事業は頓挫しました。外来遺伝子の組込みがある農産品が必ずしも環境や人の健康に悪影響を与えとは限りませんが、本来組換え生物として規制されるはずにもかかわらず、無審査で市場に流通することになれば社会混乱を起こし、行政や事業者の信頼を失墜させかねません。しかし、ゲノム編集植物や動物に外来DNAがないことを証明する方策の合意はまだまだなく、規制当局は事業者が様々な方法で解析したデータに依存しているというのが現状です。

【研究手法】

ある事象が絶対存在しない証拠を求められることがあります。しかし、現実社会を考えれば、それが不可能であることは明らかです。その事象の存在を実証できる範囲で体系的に証拠が示されるなら、その証明は妥当とみなせます。これを基軸に、ブラジル規制当局がゲノム編集ウシを誤って組換えではないと判断したケースに加え、ゲノム編集によって意図しない遺伝子組込みが起きた論文を調べ、外来DNA組込みの発生と見落としの要因を分析し、ゲノム編集生物に外来DNAがないことを体系的に実証する方策を検討しました。

【研究成果】

論文調査の結果、動植物細胞のゲノム編集で意図せずに起きた外来DNAの組込みは、相同組換え修復HDR (Homology directed repair) *2よりも非同源性末端結合NHEJ (non-homologous end joining) *3のメカニズムで発生していました。また、動物細胞ではゲノム編集の酵素とともに導入したRNAが逆転写された事例や、細胞培養に使用した培地に含まれていたDNAが組込まれた事例がありました。ゲノム編集の動植物育種にはNHEJが多用されていますが、これら結果から、外来核酸(DNAとRNA)を含むゲノム編集の実験系ではNHEJやHDRにより意図しない組込みが生じる可能性があります。

ゲノム中の特定のDNA塩基配列を切断する酵素を使うゲノム編集には標的外のDNAを切断するリスクがあります。DNA切断を伴わない塩基編集でも、頻度は低いもののUVなどでDNA切断が起きます。外来核酸が含まれる系では、それら切断部位に外来DNAが組込まれる可能性があります。一方、上述したゲノム編集のHDRにより変更されたウシは全ゲノムシーケンシングで網羅的に解析されたものの、標的配列の近くに組込まれた外来遺伝子を見逃しました。よって、原理の異なるDNA解析法を補完的に複数組み合わせることで外来DNAの有無を慎重に確認することが重要です。

以上から、ゲノム編集生物に外来DNAが存在しないことをより信頼性高く証明するには、まず、外来核酸が①ゲノム編集の試薬や、②細胞培養の培地に含まれるか慎重に確認する。含まれる場合、③ゲノム中の外来DNA組込みリスクがある3部位（ゲノム中の標的としたDNA塩基配列を切断した部位、標的外の塩基配列を意図せず切断する部位*4、また、自然に生じうるDNA切断部位*5）について、標的部位のDNAシーケンシング（あるいは全ゲノムシーケンシング）のほか、原理などが異なる複数のDNA解析法（例えば、PCRとサザンブロット法を組み合わせる）から得られたデータに基づき証

明することが妥当と考察しました（図1）。

一方、規制当局がこの外来 DNA 非存在の証明方策を一律に求めれば、全事業者に相応の負担をかけるのも事実です。そのため、この証明方策を、ゲノム編集農産品がもたらしうる便益を考慮し、証明は2種類の解析法（例えば標的部位のシーケンシングと PCR など）で得られるデータで十分とするか、あるいは自然に生じる DNA 切断部位に関する解析は不要とする等、緩和する判断や、逆に、従来、組換え植物と比べ組換え動物の社会受容は乏しいこと、また近年の動物福祉の議論の高まりもふまえ、当面、ゲノム編集動物への適用を見送るという判断もありえます（米国の方針）。しかし、その施行に先立ち、対話を経た社会的合意が必要です。

【今後への期待】

日本では多くの消費者が組換え農産品を受容していない現状があります。一方、米国と同じく日本では、ゲノム編集で開発したトマトのほか動物2品種（マダイとトラフグ）が、事業者提供データに基づいて、組換え生物ではないと行政に認められ、その一部は販売開始されています。しかし、外来 DNA 組込みがないことの証明の方策に合意がないまま、今後も届け出が続けば、ブラジルと同様の出来事が起き、今後のゲノム編集農産品の社会受容に影響する恐れがあります。本提言が日本におけるゲノム編集農産品のリスク評価体系の確立と合意の形成に寄与することを期待します。

論文情報

論文名	Proving that a Genome-edited Organism Is not GMO. (ゲノム編集生物が遺伝子組換え生物ではないことの証明方策)
著者名	石井 恵 ¹ , 石井哲也 ¹ (¹ 北海道大学安全衛生本部)
雑誌名	Trends in Biotechnology (バイオテクノロジーの専門誌)
DOI	10.1016/j.tibtech.2021.11.001
公表日	2021年12月7日(火)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学 安全衛生本部 教授 石井哲也 (いしいてつや)

T E L 011-706-2126 F A X 011-706-2295 メール tishii@general.hokudai.ac.jp

U R L <https://researchmap.jp/tishii/>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

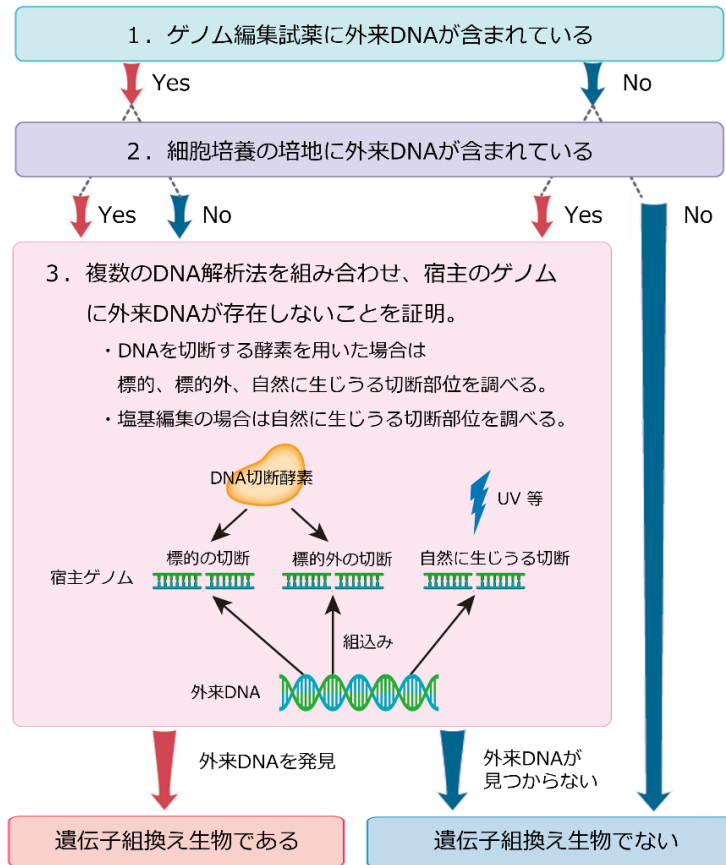


図 1.ゲノム編集生物が遺伝子組換え生物でないことを証明するアプローチ

【用語解説】

- *1 少なくとも7か国 … アルゼンチン、オーストラリア、ブラジル、チリ、コロンビア、日本、米国。
- *2 HDR (Homology directed repair) … ゲノム編集の遺伝子改変メカニズムの一種。切断されたゲノムの特定塩基配列と鋳型 DNA の相同性に基づく修復を利用するもの。
- *3 NHEJ (non-homologous end joining) … ゲノム編集の遺伝子改変メカニズムの一種。DNA 切断部分が、修復誤りを伴いつつ、再結合することを利用するもの。
- *4 標的外の塩基配列を意図せず切断する部位 … 通常、ゲノムには標的配列と似た配列が多く存在する。ゲノム編集の際、これら相同な配列を意図せず切断するリスクがあるが、この解析についても、現在合意はない。そこで、ゲノムデータベースで相同配列をリストアップした上で、用いる DNA 切断酵素を使った複数の分析法を組み合わせ、「標的外の塩基配列を意図せず切断する部位」を見定めて外来 DNA 組込みの有無を調べる。
- *5 自然に生じる DNA 切断部位 … UV などで偶発的に発生する DNA は上述のような推定はできない。しかし、①や②で確認した外来核酸の配列情報を基にした PCR やサザンブロットなど複数の方法を使うことでこの部位への外来 DNA 組込みの有無を調べる。