

新たな育種技術を活用した新規食品の
安全性評価手法等に関する調査

報告書

令和6年3月29日

株式会社三菱ケミカルリサーチ

目次

第1章 調査の概要	1
第2章 調査目的及び方法	6
1. 事業名	6
2. 調査の目的	6
3. 調査の内容	6
(1) 有識者へのヒアリング	7
① 有識者選定	7
② 意見聴取の項目	7
(2) 文献等の収集・整理	7
① データベース	8
② 検索	8
③ 文献リストの作成	8
(3) 諸外国の安全性評価の手法に関する調査	9
① 国・地域における NPBT の取扱いに関する情報	9
② 評価事例の調査	9
③ 諸外国と日本の制度等の比較まとめ	9
第3章 調査結果	10
1. NPBT 技術のまとめ	10
(1) 背景	10
(2) NPBT 技術について	11
(3) NPBT 技術の解説	13
① ゲノム編集技術	13
①-1 CRISPR	14
①-2 ZFN	16
①-3 TALENs	17
② Oligonucleotide directed mutagenesis (ODM)	18
③ Cisgenesis and Intragenesis	18
④ RNA-dependent DNA methylation (RNA 依存的 DNA メチル化=RdDM)	19
⑤ Grafting (Transgrafting)	19
⑥ Reverse Breeding	21
⑦ Agro-infiltration (agro-infiltration “sensu stricto”, agro-inoculation, floral-dip)	22
⑧ Seed Production Technology (PHI)	23
⑨ TMS 循環選抜	24
⑩ ウィルス活用の世代促進技術	25
(4) NPBT の研究開発動向	26
2. 精密発酵	38

(1) 精密発酵とは何か	38
① 伝統的な発酵	39
② バイオマス発酵	39
③ 精密発酵	39
(2) 精密発酵に注目が集まる背景	40
(3) 精密発酵によるイノベーション	41
(4) 精密発酵の将来展望 ⁴²	41
(5) 精密発酵の将来的課題	42
(6) 細胞農業について	43
(7) ゲノム編集技術を利用した発酵技術に係る推奨論文（レビューを含む）	44
3. 検索・収集した文献のまとめ	62
(1) 検索	62
① ゲノム編集	64
② ODM	70
③ Cisgenesis & Intragenesis	72
④ RdDM	77
⑤ Grafting (Transgrafting)	82
⑥ Reverse Breeding	87
⑦ Agro-infiltration	89
⑧ Seed production Technology	91
⑨ TMS 循環選抜	92
⑩ ウィルス活用の世代促進技術	93
(2) NPBT のリスクについて	95
① 検索結果のまとめ	95
② WEB 検索による追記	97
(3) その他	114
① 遺伝子組換え作物の呼び名の調査	114
② プロテインレビューについて	117
③ NPC - New Protein Consultations	118
4. 諸外国の安全性評価の手法に関する調査	121
(1) 各国・地域における NPBT の取扱いに関する情報	121
(2) EU：新しいゲノム技術（NGT）規制法案（植物）	125
① 提案規則の構成	126
② 第1章：対象、範囲、定義	128
③ 第2章：カテゴリー1 NGT 植物の取扱い	129
④ 第3章：カテゴリー2 NGT 植物の取扱い	130
(3) 英国：2023年遺伝子技術（精密育種）法と規制枠組み	131
① 遺伝子技術（精密育種）法	131
② FSA による新たな枠組みの提案	134

(4) FSANZ：オーストラリア・ニュージーランド食品基準規約の改正提案 P1055	139
(5) 評価事例の調査	141
① FDA <Calyxt 社>	147
② カナダ <Cibus 社>	150
第4章 ヒアリング	152
1. 対象者	152
2. 結果のポイント	152

第1章 調査の概要

近年、New Plant Breeding Technique (NPBT：植物の新しい育種技術) と呼ばれる一連の技術に対して高い関心が集まっている。遺伝子組換えの技術を育種過程の中で利用するが、最終産物（作物）には、遺伝子組換えの痕跡が残らない（すなわち、自然の変異と区別できない）技術であり（一部、最終産物に異種遺伝子導入を含む）、従来の遺伝子組換え生物の作出方法と一線を画す技術として注目される。

また、NPBT は、欧州グリーンディールに基づく欧州委員会のファーム・トゥ・フォーク（F2F）戦略においても、バイオテクノロジーを含む革新的な技術が持続可能性向上に役割を果たす可能性があるとし、社会経済的な面からも本技術は強力なツールとして注目されている。

本稿では、NPBT として、①ゲノム編集技術、②オリゴヌクレオチド誘導変異 (ODM)、③シスジェネシス及びイントラジェネシス、④RNA 依存性 DNA メチレーション、⑤接ぎ木、⑥逆育種、⑦アグロインフィルトレーション、⑧Seed Production Technology (SPT)、⑨TMS 循環選抜、⑩ウィルス活用世代促進技術を取り上げ、各技術について概説するとともに、NPBT に関連する文献を検索し、同時にそれらの食品としての安全性やリスク分析に関連した文献を抽出し、その内容を取りまとめた。検索については、商用データベース (JDream III) を利用した。

また、微生物におけるゲノム編集技術に着目し、精密発酵について概説するとともに、ゲノム編集を応用した微生物由来の食品や食品添加物について取りまとめた。NPBT の中では、ゲノム編集に関連するリスク分析が数多くなされているが、その他の NPBT 技術についての懸念事項や応用の課題等についても総説等を取りまとめた。

次に、NPBT に関連した諸外国の安全性評価手法についても取りまとめた。加えて、公表された NPBT の評価事例についても取りまとめた。対象国は、米国、カナダ、EU、オーストラリア・ニュージーランドとした。

さらに、欧州では、「標的突然変異誘発及びシスジェネシスにより作出された植物 (plants produced by targeted mutagenesis and cisgenesis)」に関する法制化が開始され、2023年7月5日、「特定の NGT (New Genomic Techniques) により得られた植物に関する提案」が採択されたことから、本件を取りまとめた。

また、イギリスでは、「遺伝子技術（精密育種）法案 (The Genetic Technology (Precision Breeding) Bill)」が2022年5月に議会に提出され、議論がなされてきた。その概要を取りまとめた。

その他に、遺伝子組換え作物の呼び名の調査を実施し、GMO 以外にどのように呼ばれているかについて取りまとめた。プロテインレビューについても、その内容を調査し、「FDA から企業へのレター」「New Protein Consultations」について調査した。

本調査開始直後に有識者ヒアリングを実施し、NPBT の調査範囲や調査すべき文献、報告書等について助言を受け、本調査に反映させた。

以下に、各国における食品としての安全性評価の枠組みをまとめた。

【食品】 各国における食品としての安全性評価の枠組み

国・地域	規制担当機関	遺伝子組換え植物		ゲノム編集植物の規制	
		規制の枠組み	評価事例の公表	規制の枠組み (緑:GMO規制から除外、 黄:簡易手続きを設定)	評価事例の公表
EU	欧州食品安全機関 (EFSA) ^{*1}	GM 食品・飼料規則 (Regulation (EC) 1829/2003)の下で GM 食品を 規制	●有り 【 EU Register of authorised GMOs 】 ¹	2023年7月に NGT 植物に関 する規則案を公表。 【 Commission proposal on plants obtained by certain new genomic techniques 】 NGT 植物を二つのカテゴリー に分類し、カテゴリー1(従来植 物と同等)に該当する場合は現 行の GMO 法規制から除外、カ テゴリー2 に該当する場合は現 行の GMO 法規制を適用する。	▲現時点では無し 「カテゴリー1 NGT 植物」について、デ ータベースを構築・ 公開予定
英国	食品基準庁 (FSA)	GM 食品(イングランド)規則の 下で GM 食品を規制	●有り 【 GMO authorisations 】 ²	2023年3月に遺伝子技術(精 密育種)法を制定。 【 Genetic Technology (Precision Breeding) Bill 】 精密育種生物の環境放出・上 市にあたっては、所定の届出・ 確認を実施。 精密育種生物から生産された 食品・飼料は、主務大臣の販売 許可が必要(具体的な承認プロ セスは、FSA が策定中であり、 2023年11月に枠組案を発 表)。	▲現時点では無し 「食品・飼料向け PBO」の公的登録簿 を作成・公開予定

*1 : 食品安全性評価機関

¹ <https://webgate.ec.europa.eu/dyna2/gm-register/> (2024.3.12 アクセス)

² https://data.food.gov.uk/regulated-products/gmo_authorisations (2024.3.12 アクセス)

国・地域	規制担当機関	遺伝子組換え植物		ゲノム編集植物の規制	
		規制の枠組み	評価事例の公表	規制の枠組み (緑:GMO規制から除外、 黄:簡易手続きを設定)	評価事例の公表
米国	食品医薬品局 (FDA)	連邦食品・医薬品・化粧品法 (FFDCA) に基づき、食品安全性を規制。 バイオテクノロジー植物由来製品について、開発者との自主的な市販前協議 (voluntary premarket consultations) プログラムを構築	●有り 【 New Plant Variety Consultations Inventory 】 ³	FDA と開発者とのバイオテクノロジーコンサルテーションにおいて、新品種の開発に用いられた技術 (従来育種、遺伝子組換え、ゲノム編集) を区別しない。ただし、2024 年 2 月に業界向けガイダンスを公表し、より簡易な手続きとして「自主的な市販前会議 (voluntary premarket meetings)」を設定した。 【 Foods Derived from Plants Produced Using Genome Editing 】	▲現時点では無し 「自主的な市販前会議」の記録リストを公開予定
カナダ	カナダ保健省 (HC)	食品医薬品規則の下で、「新規食品 (Novel Food)」を規制	●有り 【 Completed safety assessments of novel foods including genetically modified (GM) foods 】 ⁴	2022 年、植物育種製品の新規性の解釈に関するガイダンスを公表し、新規食品に該当しない要件を明確化。 【 Health Canada Guidance on the Novelty Interpretation of Products of Plant Breeding 】	●有り Novel Food に該当する場合は左記リスト 該当しない場合は下記のリスト 【 List of non-novel products of plant breeding for food use 】 ⁵

4

³ <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=NewPlantVarietyConsultations> (2024.3.12 アクセス)

⁴ <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/approved-products.html> (2024.3.12 アクセス)

⁵ <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/transparency-initiative/list-non-novel-products-plant-breeding-food-use.html> (2024.3.12 アクセス)

国・地域	規制担当機関	遺伝子組換え植物		ゲノム編集植物の規制	
		規制の枠組み	評価事例の公表	規制の枠組み (緑:GMO 規制から除外、 黄:簡易手続きを設定)	評価事例の公表
オーストラ リア・ニュー ジーランド	食品基準局 (FSANZ)	食品基準規約(FSC)の下で、 「遺伝子技術を使用して生産さ れた食品」を規制	●有り 【 Food Standards Code Schedule 26 Food produced using gene technology 】 ⁶	2021 年、FSC における「遺伝 子技術を使用して生産された食 品」の定義を改正する提案を行 ったが、 <u>その後の手続きは進ん でおらずまだ最終化はされてい ない。</u> 【 Proposal P1055 – Definitions for gene technology and new breeding techniques 】 提案では、特定の食品を市販 前の安全性評価及び GM 食品 としての承認から除外する目的 で、プロダクトベースの具体的 な基準を定義に含める、として いる。	△未定
日本	厚生労働省	食品衛生法の下で「遺伝子組換 え食品等」を規制	●有り 【 安全性審査の経た旨の公 表がなされた遺伝子組換え食品及 び添加物一覧 】 ⁷	2019 年、ゲノム編集技術応用 食品の取扱要領を公表した。最 終的に自然界又は従来の育種 技術でも起こっている範囲内の 遺伝子変化のものは届出、そ れを超える遺伝子変化のもの は安全性審査の対象となる。 【 ゲノム編集技術応用食品及 び添加物の食品衛生上の取扱 要領 】	●有り 届出に該当する場合 は下記のリスト 【 ゲノム編集技術応 用食品及び添加物 の食品衛生上の取 扱要領に基づき届出 された食品及び添 加物一覧 】 ⁸

⁶ <https://www.legislation.gov.au/F2015L00450/latest/text> (2024.3.12 アクセス)

⁷ <https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/001220523.xlsx> (2024.3.12 アクセス)

⁸ https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/bio/genomed/newpage_00010.html (2024.3.12 アクセス)

第2章 調査目的及び方法

1. 事業名

新たな育種技術を活用した新規食品の安全性評価手法等に関する調査

2. 調査の目的

本調査事業では、ゲノム編集技術に代表される新たな育種技術（New Plant Breeding Technique：NPBT）を活用して作出された植物（食品や飼料）や同様の技術を用いて作製した微生物により生産された食品、飼料又は添加物の安全性評価手法の検討に資するため、国内外での研究動向や海外評価機関における評価手法の検討状況等に関する情報を収集し、整理・分析を行い、今後の評価指針の見直しに当たって活用することを目的としている。

3. 調査の内容

調査の流れを図1（7ページ）に示す。以下の三つの流れに沿って実施した。

(1)NPBT に関して知見を有している有識者を選定する。有識者には、ガイドラインや評価事例の取りまとめで意見を伺うほか、文献リストの作成や重要文献選定に関しても、意見を伺う。(2)NPBT に関する文献等を収集・整理する。検索については、商用データベース（JDream III）を利用する。文献リストを作成（国内20件以上、国外50件以上）し、重要なものに関しては、翻訳する。(3)諸外国の評価手法について取りまとめる（対象国：米国、カナダ、EU、オーストラリア・ニュージーランド）。ガイドライン等を海外政府機関の公開情報サイトから入手し、評価項目、評価に必要なデータの内容、安全性に係る判断基準等に関する情報、参照文献を整理する。a) 重要なものに関しては、和文にて取りまとめる。また、b) 評価事例について取りまとめる。事例ごとに、準拠したガイドライン情報を示した上で、評価対象品目、評価項目、評価項目ごとの根拠データ又は文献、評価結果を整理して取りまとめる。c) 評価基準において、NPBT由来のタンパク質の有無やその評価基準に着目し、タンパク質に関する評価「プロテインレビュー」について取りまとめる。

【追加調査】

1. ゲノム編集を実施した精密発酵について取りまとめる。
2. イギリスの動向について取りまとめる。

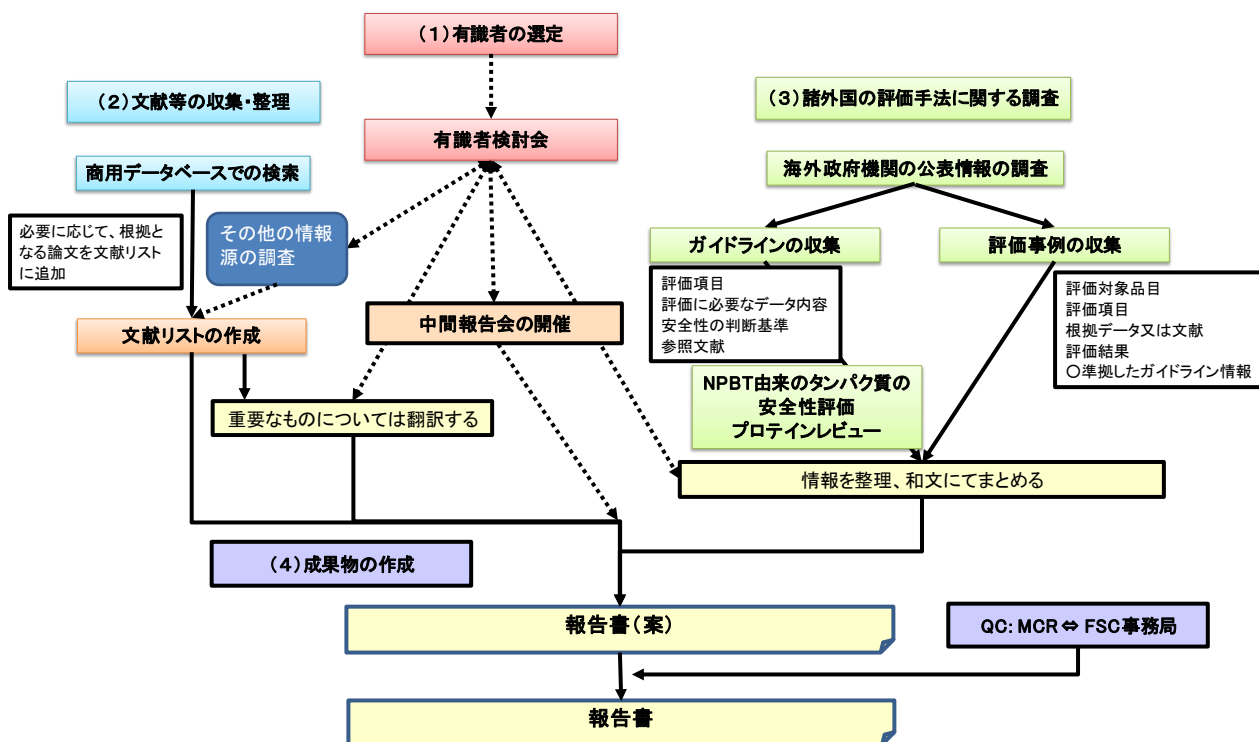


図 1 調査の流れ

(1) 有識者へのヒアリング

① 有識者選定

①植物科学、②食品の安全性、③社会科学の各分野から専門家を選定し、ヒアリングを実施する。

② 意見聴取の項目

有識者には、以下の点に関して助言、確認を得る。

- 本事業における NPBT の調査範囲及び環境影響評価の取扱い。
- 文献リストの妥当性、重要論文選定の妥当性。
- 調査した海外機関及びそのサイトの妥当性及び追加事項への助言。
- ガイドラインについて、調査した評価項目、評価に必要なデータの内容、安全性に係る判断基準等に関する情報、参照文献。
- 評価事例について、評価対象品目、評価項目、評価項目ごとの根拠データ又は文献、評価結果の整理結果。
- 英文の適切な和訳への助言と確認。

(2) 文献等の収集・整理

文献の収集は、下記①に示すデータベースを利用する。②に示す検索式を用いて文献

を抽出し、要旨を読むことで分類しながらリスト化する。

データベースへの掲載は随時実施されていることから、検索は、本事業開始直後に 1 回、事業終了に近い 1 月後半にもう 1 回、の計 2 回実施する。

① データベース

JDream III を利用。

データベース	データベースの概要
JDream III	【概要】 科学技術振興機構(JST)がデータを作成し、(株)ジー・サーチが提供している文献データベース。 <u>収録開始が 1981 年</u> で、今回調査対象とする期間をカバーしている。科学技術全分野に関する文献情報(日本語抄録)を約 4,000 万件収録しており、国内だけでなく、世界 50 数か国の情報を含んでいる。

② 検索

下記に示すキーワードを組み合わせた検索式を作成する。

- ・ 育種技術
- ・ ゲノム編集
- ・ オリゴヌクレオチド指定突然変異 (ODM)
- ・ シスジェネシス・イントラジェネシス
- ・ RNA 依存性 DNA メチル化 (RdDM)
- ・ 接ぎ木
- ・ 逆育種
- ・ アグロインフィルトレーション
- ・ Seed Production Technology (SPT)
- ・ TMS 循環選抜

③ 文献リストの作成

文献リストの作成についてのポイント。

- a) ゲノム編集に関連した論文が多く検索でヒットすると予測されるが、NPBT の各技術についてバランスをとりながら、取り上げる。
- b) 論文の内容が理解できるように、キーワードを記載する。データベースに付与されている分類 (シソーラス及び準シソーラス) に加えて、要約を読むことで、重要なワードを拾い上げる。
- c) 「リスク」評価に関連しているかどうかを確認できるように、欄を設ける。
- d) エクセル表も作成し、ソート可能なものとし、活用できるようにする。

また、微生物についても同様に、拾い上げて文献リストにまとめる。

(3) 諸外国の安全性評価の手法に関する調査

① 国・地域における NPBT の取扱いに関する情報

情報収集の対象として、仕様書別紙 1 に示された評価機関にアクセスし、各機関について、NPBT の取扱いに関する調査を実施する。

② 評価事例の調査

評価事例に関しては、安全性評価が行われた評価事例について、評価対象品目、評価項目、提出データ又は文献、評価結果を整理し、和文にて取りまとめる。

③ 諸外国と日本の制度等の比較まとめ

NPBT のリスク評価に関して、諸外国、地域と日本の制度とを比較して表にまとめる。

第3章 調査結果

1. NPBT 技術のまとめ

(1) 背景

近年、New Plant Breeding Technique (NPBT: 植物の新しい育種技術) と呼ばれる一連の技術に対して高い関心が集まっている⁹。遺伝子組換えの技術を育種過程の中で利用するが、最終産物(作物)には、遺伝子組換えの痕跡が残らない(すなわち、自然の変異と区別できない)技術であり(一部、最終産物に異種遺伝子導入を含む)、従来の遺伝子組換え生物の作出方法と一線を画す技術として注目される。

また、欧州グリーンディールに基づく欧州委員会のファーム・トゥ・フォーク(F2F)戦略においても、バイオテクノロジーを含む革新的な技術が持続可能性向上に役割を果たす可能性があるとし、社会経済的な面からも本技術は強力なツールとして注目されている^{10,11}。

NPBTが世界各国で広く知られるきっかけとなったJRC(European Commission Joint Research)のレポート(Lusser et al., 2011)では、New Plant Breeding Technique(植物の新しい育種技術)として、以下に示す八つの技術が紹介されている。これらは、ヨーロッパを中心に開発が進められ、米国や欧州の企業により応用されてきたもので、関連特許の出願人国籍の分布で米国が65%、EUが26%であることが報告されている(Lusser et al., 2011)。

Lusserらが紹介した八つの技術

- ①ジンクフィンガーヌクレアーゼ技術(ZFN)、②オリゴヌクレオチド誘導変異(ODM)、③交配可能な種の遺伝子を導入したシスジェネシスやイントラジェネシス、④RNA依存性DNAメチレーション、⑤台木に遺伝子組換え体を利用する接ぎ木で、次世代には遺伝子が伝達されない栽培手法、⑥逆育種、⑦アグロインフィルトレーション、⑧合成ゲノム

その後ZFNに加え、TALENs、CRISPR/Cas system等のゲノム編集関連の技術開発が進み、ゲノム編集技術を中心として、世界各国で規制についての議論が進められてきた。本章では、まず、どのような技術がNPBTとして取り扱われているかを取りまとめ、それらに係るリスクについての考察を行う。

⁹ Lusser M et al. New plant breeding techniques. State-of-the-art and prospects for commercial development. 2011 JRC Scientific and Technical Reports, Publications Office of the European Union, Luxembourg.

¹⁰ Clemens et al. Europe's Farm to Fork Strategy and Its Commitment to Biotechnology and Organic Farming: Conflicting or Complementary Goals? Trends in Plant Science 2021; 26; 600-606

¹¹ Costa et al. Breeding next generation tree fruits: technical and legal challenges. Horticulture Res 2017; 4;17067

(2) NPBT 技術について

NPBT 技術については、多くの総説や成書があるので、表 1 にその一部について取り上げられた技術とともに示す。

表 1 NPBT に関する総説及び成書

機関 発表年	書誌事項	概要（技術等）	リンク先
日本学術会議 2014 年	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 8 月 26 日	研究開発 (1) ゲノム編集 ① 標的変異 ② 標的組換え (2) エピゲノム編集 ① エピゲノム編集の研究の現状 ② 育種としてのエピゲノム編集 (3) 接ぎ木 ① 組換え体を台木とする接ぎ木 ② 接ぎ木点を介した DNA、mRNA、small RNA 伝搬 (4) 迅速・効率的育種のための技術 ① SPT（Seed Production Technology）プロセス ② 逆育種 ③ 果樹等の早期開花遺伝子を利用した世代短縮 ④ Transgenic Male Sterility（TMS）循環選抜 (5) アグロインフィルトレーション（RNA ウィルスも含めて） (6) その他（シスジェネシス、イントラジェネシス） 規制 日本、米国、EU、その他	報告書 https://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-22-h140826.pdf
農林水産技術会議 新たな育種技術研究会 2015 年	ゲノム編集技術等の新たな育種技術（NPBT）を用いた農作物の開発・実用化に向けて 新たな育種技術研究会 平成 27 年 9 月	研究開発及び規制の動向 (1) 人工制限酵素を利用したゲノム編集技術 (2) オリゴヌクレオチド誘発突然変異導入技術 (3) シスジェネシス／イントラジェネシス (4) RNA 依存性 DNA メチル化技術 (5) 遺伝子組換え台木を利用した接ぎ木 (6) 逆育種 (7) アグロインフィルトレーション (8) Seed Production Technology（SPT）プロセス 規制上の取扱いに関する検討状況 (1) EU (2) 米国 (3) オーストラリア (4) その他国際的な動向	ゲノム編集等の新たな育種情報 https://www.afrc.maff.go.jp/docs/anzenka/NPBT1.htm 報告書 https://www.afrc.maff.go.jp/docs/anzenka/attach/pdf/npbt-6.pdf

機関 発表年	書誌事項	概要（技術等）	リンク先
大澤良, 江面 浩 編著 植物 分子デザイン 第 178 委員会 監修 2013 年	新しい植物育種技術を理解しよう	技術解説 1. 人工ヌクレアーゼを利用したゲノム編集技術 2. オリゴヌクレオチド指定突然変異導入技術 3. シスジェネシス/イントラジェネシス 4. RNA 依存性 DNA メチル化 5. 接ぎ木による新しい遺伝子組換え技術の開発 6. 逆育種 7. アグロインフィルトレーション(アグロバクテリウム浸漬) 新たな植物育種技術で作製された植物の規制と生物多様性影響評価	成書 https://bunken.co.jp/shop/item/978-4-902590-33-3/
European Commission JRC TECHNICAL REPORT 2011 年	New plant breeding techniques. State-of-the-art and prospects for commercial development Lusser M, Parisi C, Rodriguez Cerezo E, Plan D. Luxembourg (Luxembourg): Publications Office of the European Union; 2011. JRC63971	Techniques 1. Zinc finger nuclease (ZFN) technology (ZFN-1, ZFN-2 and ZFN-3) 2. Oligonucleotide directed mutagenesis (ODM) 3. Cisgenesis and Intragenesis 4. RNA-dependent DNA methylation (RdDM) 5. Grafting (on GM rootstock) 6. Reverse Breeding 7. Agro-infiltration (agro-infiltration "sensu stricto", agro-inoculation, floral dip) 8. Synthetic Genomics	Report https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC63971
Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari Bari, Italy 2016 年	GMO Acceptance in the World and Issues for the Overcoming of Restrictions: Cisgenesis, RNA Transfer, Rootstock to Shoot Delivery, Novel Methods of Transformation Poltronieri, Palmiro IN: Biotransformation of Agricultural Waste and By-Products, The Food, Feed, Fibre, Fuel (4F) Economy 2016, Pages 309-341	Techniques Category 1: Transient introduction of recombinant DNA Category 2: Stable introduction of recombinant DNA during an intermediate step in the development of NPPs Category 3: Stable integration of recombinant DNA Gene Modification Using TALEN and Zinc-finger Nucleases, CRISPR/Cas9 Nuclease System Cisgenesis and Intragenesis Genetically Modified Rootstock Grafting Other Plant Improvement Techniques Accelerated Transformation of Woody Plants and Early Flowering	Book https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128036228000124?via%3Dihub
European Commission 2017 年	New techniques in Agricultural Biotechnology High Level Group of Scientific Advisors Explanatory Note 02 Brussels, 28 April 2017	Techniques Genome editing technique ODM, Site-directed Nucleases cisgenesis & intragenesis Agro-infiltration RNA-dependent DNA methylation Reverse Breeding Comparisons vs CBT(convensional Breeding techniques) and ETGM(Established Techniques of Genetic Modification)	Book https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/103eb49f-4047-11e7-a9b0-01aa75ed71a1/language-en

機関 発表年	書誌事項	概要（技術等）	リンク先
European Commission JRC TECHNICAL REPORT 2021年	New Genomic Techniques: State- of-the-Art Review Broothaerts, W., Jacchia, S., Angers, A., Petrillo, M., Querci, M., Savini, C., Van den Eede, G. and Emons, H. JRC121847 ISBN 978- 92-76-24696-1 ISSN 1831-9424 doi:10.2760/710056 Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2021	Techniques Group 1: Genome editing involving double-strand breaks Group 2: Genome editing without DNA double-strand break ODM, Base-editing, Prime-editing Group 3: Editing of the epigenome Group 4: Site-directed RNA editing RNA base editing, Oligonucleotide- mediated RNA interference, CRISPR/Cas-mediated PAM- (in)dependent RNA interference, RNA splice isoform manipulation	Report https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/5a661f2b-a180-11eb-b85c-01aa75ed71a1/language-en/format-PDF/source-search

上記の総説等を参照し、本稿では、下記の10の技術について取りまとめた。以下に、各技術の概要を示す。

(3) NPBT 技術の解説

① ゲノム編集技術

現在、国際的に最も広く使用されているゲノム編集技術は、ZFN、TALEN、及び CRISPR システムなどである。このうち、使いやすさから、CRISPR/Cas システムが主流となっている（図2）。

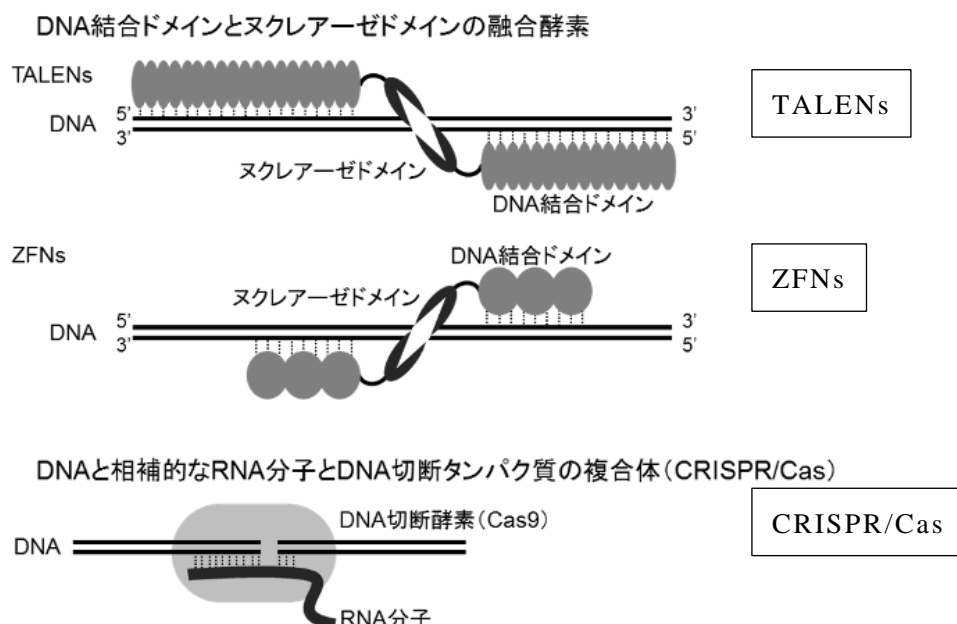


図2 ゲノム編集の種類

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。一方、CRISPR/Cas では、RNA鎖との相補鎖が認識される。

(出典：植物における新育種技術 (NPBT : New Plant Breeding Techniques) の現状と課題 日本学会議 2014年)

①-1 CRISPR

CRISPR システムは RNA ガイド (gRNA) 下での DNA 対合に基づくものであり、細菌の CRISPR/Cas 複合体に関する知見を応用したものである。この RNA-DNA 相互作用により、①-2 及び①-3 で示す ZFN や TALEN システムよりも効率的で汎用性が高く、安価な方法で配列特異性を設計することができる。さらに、カスタマイズされた Cas 複合体の使用により、塩基スイッチング酵素や転写制御因子を組み込んだり、翻訳後修飾を加えたりすることで、ゲノム編集のツールキットが拡張されている (表 2)。

ヌクレアーゼ不活性化 Cas9 (Cas9 の酵素活性を不活化したもの: dCas9) は、DNA 鎖切断を生じることなく、gRNA によって誘導された DNA 配列を標的とする Cas9 の結合を可能にする。dCas9 と転写抑制因子又は活性化因子との結合により、遺伝子発現を修飾するための適応可能なツールが構成できる。さらに、Cas9 とデアミナーゼの融合は、C-T 及び A-G 塩基置換 (ベースエディターとして知られる) に有用であることが示されている¹²。

改良型 CRISPR/Cas9 システムとして、「プライム編集」ツールも挙げられる¹³。このアプローチでは、逆転写酵素 (RT) が Cas9 ニッカーゼと融合し、gRNA が RT 活性のために鋳型 RNA と連結される。これにより、目的の塩基配列を標的とし、鋳型 DNA 無しで一度に複数の塩基を編集することができる。

表 2 CRISPR system の応用技術^{12,13,14}

システム	概要
Base-editing	二本鎖ゲノムを切断することなく、ゲノム編集をする方法に base-editing がある。シトシン塩基エディター (CBE: cytosine base editor) は、ヌクレアーゼ活性を欠失した dCas9 タンパク質 (又は、一本鎖のみ切断するように改変された Cas9 ニッカーゼ) をシチジンデアミナーゼに融合させることによって作成される。PAM 部位近くの小さな編集ウィンドウ内でシチジンをウリジンに変換でき、その後、ウリジンは塩基切除修復によってチミジンに変換され、C から T (又は G から A) への変異を引き起こす。同様に、アデニン塩基エディター (ABE: adenine base editor) は、アデノシンをイノシンに変換するように設計されており、イノシンは細胞によってグアノシンのように扱われ、A から G (又は T から C) の変異を引き起こす。CBE はトマト、コムギ、イネ、トウモロコシ、シロイヌナズナなどで報告がある。ABE はコムギ、イネ、シロイヌナズナ、アブラナなどで報告がある。これらの塩基エディターは、PAM 配列に近接する非常に狭いウィンドウで動作するように設計されているが、より広い編集ウィンドウで幅広いスペクトルの一塩基変異体を作成する技術も開発されている。
Epigenetic Editing	Epigenetic とは、histone modification, DNA methylation, DNA demethylation, gene imprinting, chromatin remodeling など、DNA 配列に手を加えることなくゲノムを改変することを指す。これらの epigenetic modifications は、植物では一般的なものである。例えば、Gallego-Bartolomé らは、dCas9 システムとヒト DNA 脱メチル化酵素 (TET1cd) を融合して FWA 遺伝子 (ゲノム刷り込みを受けている遺伝子で、DNA メチレーションのモデルとして利用される) を標的とし、FWA 遺伝子特異的な脱メチル化により、その発現を上昇させ、シロイヌナズナの花の遅咲きを実証した。すなわち、DNA の脱メチル化/メチル化によって植物のゲノムをエピジェネティックに改変し、標的の DNA 脱メチル化を実現し、「遅咲き」という表現型を開発した。これらのエピジェネティックな修飾は、次の分離株でも維持された。

¹² 2021 年 3 月 CRDS-FY2020-FR-04 研究開発の俯瞰報告書 ライフサイエンス・臨床医学分野 (2021 年) 2.4.4 ゲノム編集・エピゲノム編集 https://www.jst.go.jp/crds/pdf/2020/FR/CRDS-FY2020-FR-04/CRDS-FY2020-FR-04_20404.pdf (2023.10.12 アクセス)

¹³ <https://bio-sta.jp/development/1660/> (2023.10.12 アクセス)

¹⁴ Kantor et al. CRISPR-Cas9 DNA Base-Editing and Prime-Editing (2020) Int J Mol Sci 21 6340, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7503568/>

システム	概要
Prime-editing	Prime-editing は、Cas9 ニッカーゼと逆転写酵素の複合体とガイド RNA (pegRNA: 一般的な gRNA と異なり、DNA と結合する領域に加えて、目的の情報を追加編集した RNA 文字列を含む) を組み合わせた「サーチ&リプレース機構」によってゲノムを精密に編集する新しいゲノム編集技術である。Prime-editing システムは、ドナーテンプレートを必要とせず、DSB (二本鎖切断) の生成無しに、挿入、欠失及び全ての塩基変換を実行することが可能である。主な目的は、ゲノム編集の効率を上げることであり、この目的のために、prime editor 1、prime editor 2、prime editor 3 という三つの主要な技術開発が達成された。植物では、コムギ、イネ、トウモロコシで prime editor の利用に成功しているが、更なる研究が必要とされている。

CRISPR/Cas システムには、細菌と古細菌の細胞間で二つのクラス (クラス I 及びクラス II) が存在し、それらは一連の相互作用で働く Cas エフェクターの機能と構造によって分類されている (表 3、表 4)。特に、クラス I のシステムは、様々な Cas エフェクターの複合体によって形成されることを特徴とし、クラス II のシステムは、単一のエフェクター Cas タンパク質を利用することを特徴としている。クラス I とクラス II は、さらに六つのタイプ (タイプ I~VI) に分類される。クラス I システムにはタイプ I、III、IV が含まれ、クラス II システムは残りの 3 タイプ (II、V、VI) が含まれる (表 3、表 4)。これらのうち、タイプ II はゲノム編集効率が高いため、最もよく利用されている。クラス I は CRISPR/Cas システムの 90% を占めるが、システムが複雑なため研究が少なく、ゲノム編集に使用されることはほとんどない¹⁵。

表 3 CRISPR/Cas システムの分類 (1)

システム	概要
クラス I タイプ I, III, IV	クラス I のうち、タイプ I CRISPR/Cas システムは、複数の Cas タンパク質が相互作用して、CRISPR-associated complex for antiviral defense (Cascade) と名付けられた複合体を形成する。タイプ I システムは、一本鎖 DNA 鋳型に対する ATP 非依存性ヌクレアーゼ活性と ATP 依存性ヘリカーゼ活性を示すタンパク質をコードする Cas3 という特徴的な遺伝子を持つ。タイプ III CRISPR/Cas システムは、サブタイプ A~D があり、サブタイプ B は、RNA も標的とすることができる。Cas10 遺伝子を持つことを特徴とし、Cas10 は、これらのシステムで同定されたエフェクター複合体のうち、大きなサブユニットを構成している。タイプ IV CRISPR/Cas システムは、プラスミド上にあり、プラスミドと宿主の相互作用による防御システムを構築している。
クラス II タイプ II, V, VI	Class II のうち、タイプ II CRISPR/Cas システムは、古細菌には存在しない。一方、細菌ゲノムの約 5% に存在し、特に、病原体に多く存在する。タイプ II CRISPR/Cas システムの機能は、Cas9 遺伝子の発現により、外部 DNA を標的として切断するマルチドメインタンパク質を発現することにある。Cas9 とは別に、全てのタイプ II CRISPR/Cas 遺伝子座は、Cas1 及び Cas2 遺伝子も含んでいる。これらの遺伝子は一つ又は二つであり、その転写により tracrRNA と呼ばれる特殊な RNA 分子が生成される。クラス I のタイプ I 及び III は、CRISPR/Cas 遺伝子に由来する Cas エンドリボヌクレアーゼが CRISPR 前駆転写体 (pre-crRNA) を切断するが、これとは異なり、クラス II のタイプ II は内在性の RNアーゼ III と tracrRNA を利用して pre-crRNA を切断する。

¹⁵ 徳島大学の刑部らは、2020 年、クラス I、タイプ I に分類される CRISPR-Cas (Cas3+Cas10) が、生体内でのゲノム編集に活用できることを示した。

表 4 CRISPR/Cas システムの分類 (2)

Class	Type	Pre-crRNA Processing	Effector Protein(s)	Target Cleavage	Target
I	I	Cas6	Cascade complex	Cas3	dsDNA
			(Cas8, Cas7, Cas5, Cas6, Cas11 and Cas3)		
	III	Cas6	Cas7, Cas5, Cas10	Cas10	dsDNA/ssRNA
	IV	Cas6	Cas7, Cas5, Csf1	不明	dsDNA
II	II	RNA III/Cas9	Cas9	Cas9	dsDNA
	V	Cas12	Cas12	Cas12	dsDNA/ssDNA/ssRNA
	VI	Cas13	Cas13	Cas13	ssRNA

CRISPR システムは、トウモロコシ、ダイズ、ワタ、コムギ、イネ、ナタネ、トマト、バナナなど、ほとんどの商業用遺伝子組換え作物で実験的に使用されている¹⁶。さらに、リンゴ、オレンジ、ブドウ、ナシ、アプリコットなどの果樹¹⁷や *Dendrobium officinale* (ラン)、*Ipomoea nil* (アサガオ)、*Petunia hybrid* (ペチュニア)、*Torenia fournieri* (ウイッシュボーンフラワー) などの観賞用の花にも使用されている¹⁸。CRISPR によって得られる形質は、糖や脂肪酸、色素の代謝、除草剤耐性、病原体耐性、発生改変など、幅広い分野に及んでいる¹⁹。

①-2 ZFN

ZFN は、Zinc finger 構造を基礎とした DNA 認識モジュールと FokI ヌクレアーゼの DNA 切断ドメインとの融合体である。Zinc finger ヌクレアーゼは、二本鎖 DNA の塩基配列を識別して、ゲノム上の特定の部位を切断する機能を持つ人工タンパク質 (酵素) である。ZFN が認識する塩基配列は、任意に変えることができる。また、repair template (short template) と呼ばれる短い塩基配列や、stretch of DNA と呼ばれる数キロベースもの長さの DNA を特定の部位に挿入することも可能である。

ZFN のこの機能を利用することで、ゲノム上の特定の塩基配列を認識後、切断、あるいは必要な塩基配列を持つ DNA 断片を挿入することで、意図した遺伝子組換え植物 (部位特異的変異体) を作製することができる技術である。この技術は大きく、三つに分けられる。

ZFN-1: 特定の配列で切断後、細胞の DNA 修復機構により修復を行うことで、

¹⁶ Miladinovic et al. (2021) Targeted plant improvement through genome editing: from laboratory to field. *Plant Cell Rep* 40,935-951.

¹⁷ Costa et al. Breeding next generation tree fruits: technical and legal challenges.(2017) *Horticulture Research* 4, 17067.

¹⁸ Sirohi et al. (2022) CRISPR/Cas9 System: A Potential Tool for Genetic Improvement in Floricultural Crops 64, 1303-1318.

¹⁹ Petolino (2015) Genome editing in plants via designed zinc finger nucleases. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*.51(1), 1-8.

短い欠失や挿入を起こし、変異を導入する。

ZFN-2： 特定の配列で切断後、repair template（任意の配列）を用いた修復を行わせることで、必要な遺伝子変異を起こさせる。

ZFN-3： 特定の配列で切断後、stretch of DNA（導入したい遺伝子などを用いた修復）を行わせることで、部位特異的遺伝子導入を行う。

動物を中心に開発が進んだが、植物における応用例も報告されている。

Shukla ら（2009）²⁰は、フィチン酸塩合成酵素である IPK1 遺伝子を破壊、あるいは IPK1 遺伝子を破壊すると同時に、除草剤耐性遺伝子の PAT を挿入できることを実験的に証明し、ZFN 法が植物でも応用可能であることを明らかにした。

ZFN ゲノム編集は、トマトの成長、イネのデンプン代謝、リンゴとイチジクの雌雄稔性、ダイズの RNA サイレncing 遺伝子、コムギのイミダゾリノン系除草剤耐性の付与等、様々な表現型に関与する内在性遺伝子改変に用いられている²¹。しかしながら、ZFN の設計は依然として複雑で技術的に困難なプロセスを伴うことや、その有効性がしばしば低いこともあり²¹、商業栽培されているものは見当たらない²²。

①-3 TALENs

ZFN と同じ人工ヌクレアーゼである TALENs が作製されている。TALENs は、ジンクフィンガードメインの代わりに、transcription activator-like effectors (TALEs) という DNA 結合ドメインを用いて塩基認識を行い、ZFN と同じく FokI ヌクレアーゼで DNA を切断する。TALENs は、植物病原菌であるキサントモナス (Xanthomonas) から発見され、ターゲットとなる植物遺伝子 (DNA) に特異的に結合し、遺伝子を制御することが明らかになっており、この認識機能が応用された。

TALENs は、34 個のアミノ酸残基から成るペプチドの TALE ユニットがタンデムリポートしている構造を持つ。各ユニットは、Repeat-Variable-Direct Repeats (RVD) と呼ばれる可変領域 (2 アミノ酸残基) を持っている。この RVD を変えることで A、T、G、C に特異的な 4 種類の TALE ユニットを作製することができる。個々の TALE リポートは単一のヌクレオチドを標的とするため、より柔軟な標的設計が可能になり、ZFN によって標的化できるものと比較して潜在的な標的部位の数が増加する。TALENs によるゲノム編集は、シロイヌナズナ、タバコ、ブラキポディウム、オオムギ、ジャガイモ、トマト、サトウキビ、アマ、ナタネ、ダイズ、イネ、トウモロコシ、コムギで報告されている²¹。

Calyxt 社の高オレイン酸ダイズは、TALENs を利用したもので、2019 年に上市されている²²。

²⁰ Shukla VK et al. (2009) Precise genome modification in the crop species *Zea mays* using zinc-finger nucleases. *Nature*. 459:437-441.

²¹ Zhang et al. (2018) Applications and potential of genome editing in crop improvement. *Genome Biol.* 19, 210.

²² Tuncel et al. (2023) Genome-edited foods. *Nature Reviews Bioengineering* 1, 799-816

② Oligonucleotide directed mutagenesis (ODM)

部位特異的変異誘発法。ゲノム上の任意の遺伝子の数ベースの挿入あるいは置換・切除を行うことにより、主に翻訳時のアミノ酸配列の変異を導入する方法である。人工的に合成したオリゴヌクレオチド（20～100 base）を、PEG法、エレクトロポレーション法、パーティクルガン法などを用いて細胞内に導入し、細胞の持つ修復機構によってゲノムに変異を導入する。導入したい遺伝子の配列を両端に持ち、そこに変異を導入した領域（通常、1～4ヌクレオチドのミスマッチ）を組み込んでオリゴヌクレオチドを設計することによって、特定の部位に変異を導入することができる。ゲノムに導入された変異は、次世代に継承されるが、変異導入時に細胞内に打ち込んだオリゴヌクレオチドは分解されてしまうため、次世代に継承されることはない。また、この方法は、細胞単位での変異導入であるため、変異細胞を選抜後、再分化させて植物体を得る必要がある。

実施例として、トウモロコシに除草剤イミダゾリノンへの抵抗性を付与するために、アセトヒドロキシ酸合成酵素（AHAS/ALS）のポイントミューテーションを誘導した例がある（Zhu et al., 2000）。これは、トウモロコシカルスにパーティクルガンでオリゴヌクレオチドを導入した後、変異体を再分化させて、除草剤耐性トウモロコシを得たものである。また、同じイミダゾリノン系除草剤クロロスルフロン耐性の付与を目的として、タバコやナタネにエレクトロポレーションによりオリゴヌクレオチドを導入して変異体を得た例もある（Beetham et al., 2009、Ruiter et al., 2003）。これら以外にも多くの植物に様々な目的で利用されている。

2023年に①に記載した Calyxt 社を買収した Cibus 社は、ODM を効率良く迅速に実施する手法（Rapid Trait Development System™ / RTDS®）を開発し、スルホニルウレア系及びイミダゾリノン系除草剤耐性のナタネを作出している²³。

③ Cisgenesis and Intragenesis

シスジェネシスという用語は、Schouten ら（2006）²⁴によって導入されたもので、その種自体、又はその種と従来から交配可能な種のみ由来する遺伝子を用いた植物の遺伝子組換えと定義されている。導入される遺伝子は、ゲノムに付加される余分なコピーであり、イントロン、ネイティブプロモーター、ターミネーターを通常のセンス方向で含む変異個体である。イントラジェネシスでは、導入された遺伝因子であるイントラジーンは同種又は性的に適合する遺伝子プール種に由来するものである。イントラジーンは、異なる遺伝子や遺伝子座の異なるプロモーター領域やターミネーター領域によって駆動され得るため、ハイブリッド遺伝子である。挿入された DNA 配列は、遺伝要素の新たな配列を形成し、その

²³ <https://cibus.com/our-business.php> (2023/11/21 アクセス)

²⁴ Schouten, H. J., Krens, F. A., and Jacobsen, E. (2006). 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.

結果、出発ゲノムと比較して機能的に改変されたものとなる (Salonia et al., 2020)²⁵。

シスジェネシスは、同種の植物、又は、交雑可能なドナー植物に本来存在している遺伝子を指し示すシス遺伝子 (cis gene) を導入する遺伝子組換え技術を指し、従来育種においても交雑により導入が可能で、遺伝子組換え技術を用いなくても同様の遺伝子導入が可能な技術と考えられる。

イントラジェネシスの場合は、プロモーターやターミネーターの組合せが変わる。すなわち、本来は、A プロモーター+A コーディング領域であったものを、A プロモーター+B コーディング領域のような変更を伴う。あるいは、A プロモーター+RNAi を目的とした C コーディング領域の断片というようなコンストラクトもあり得る。

シスジェネシス/イントラジェネシスに対して、従来の遺伝子組換えは、交雑不能な植物や動物、微生物に由来する遺伝子、合成遺伝子の導入が行われるものであり、トランスジェネシスと呼ばれる。

④ RNA-dependent DNA methylation (RNA 依存的 DNA メチル化=RdDM)

RNA 依存的 DNA メチル化は目的遺伝子の塩基配列を基に small RNA を合成し、それと相同な DNA (ゲノム) (=目的遺伝子) をメチル化することにより、目的遺伝子をサイレンシングする技術 (メチル化による発現抑制) である。短く切断された二本鎖 RNA (siRNA) 断片上の塩基配列に従ってメチル化が進む。

small RNA の配列に相同であることが条件となるため、部位特異的であり、また、エピジェネティック効果²⁶であることから、ゲノム上の遺伝子配列を変化させることなく、遺伝子発現を制御できる点がポイントとなる。この DNA メチル化状態は、次世代にも継承される。

後代においてメチル化が維持されていることから、導入された RdDM 誘導に用いたコンストラクトを含まない系統を選抜することで、目的の遺伝子にメチル化が生じた非組換え植物を作出することが可能となる。RdDM によって起きたメチル化と、もともと存在したメチル化を区別することは困難であり、RdDM 誘導コンストラクトが除去された系統では、従来の育種で育成された植物との区別がつかない。

⑤ Grafting (Transgrafting)

接ぎ木は 20 世紀に東アジアからヨーロッパに導入され、過去 30 年間で人気が高まった。接ぎ木植物は、トマト (*Solanum lycopersicum*)、スイカ (*Citrullus*

²⁵ Salonia F et al. (2020) New Plant Breeding Techniques in Citrus for the Improvement of Important Agronomic Traits. A Review. *Front. Plant Sci.*, Volume 11 - 2020 | <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01234>

²⁶ エピジェネティクス (英語: epigenetics) とは、クロマチンへの後天的な修飾により遺伝子発現が制御されることに起因する遺伝学あるいは分子生物学の研究分野である。近年、エピジェネティクスの機序が遺伝子発現に関与している事例も多数報告されるようになってきており、分子生物学上の一大領域を形成しつつある学問分野である。

lanatus)、メロン (*Cucumis melo*)、ナス (*Solanum melongena*)、キュウリ (*Cucumis sativus*)、トウガラシ (*Capsicum annuum*) などの商業生産に使用されている。米国の温室では 10 万本以上の接ぎ木トマトが使用され、6 万本が露地に植えられていると推定されている。ネマトーダや土壌病原菌への抵抗性、様々な abiotic なストレス (low water availability and drought, flooding, nutrients deficiency, high salt concentrations, heavy metals toxicity, and low or high temperatures) への耐性に応用されている²⁷。

細胞壁の合成を助けるセルラーゼが豊富な植物が接ぎ木に適している。オーキシン等のホルモンの関与により、組織の再構築が促されている (オーキシントランスポーターが関与)。最初に篩管が形成され、根が生長を始めて、木管がつながる。

遺伝子組換え植物に非遺伝子組換え植物を接ぐという、接ぎ木技術の応用が NPBT として注目されている。遺伝子組換え植物を台木とし、穂木は非組換え植物を用いる。したがって、穂木から得られる果実には外来遺伝子は含まれない。

この技術は多くの場合、根に対してウィルス抵抗性を付与するために、ジャガイモ、ブドウ、メロン、マメ、キュウリなどに用いられている。また、根の張りを良くするような組換え体作出 (リンゴ、バラ、クルミ)、生育改善 (メロン)、浸透圧調節対策 (オレンジ) など知られている。例えば、台木に根の張りを良くし、土壌伝染病に対して抵抗性を持つ GM 植物を用いれば、収量の増加を期待することができる。

しかしながら、台木は GMO であり、環境への影響を考慮する必要がある。根から地上部への物質輸送については、近年解析が進み、small RNA (RNAi) やタンパク質、代謝物質が篩管を通して移行していることが明らかになっている。したがって、根から移行した GM 植物由来タンパク質が果実などに蓄積する可能性も考えられる。また、台木に RNAi が用いられていた場合、RdDM によって穂木のゲノムにメチル化が起きる可能性もある。これは、後代に継承されることもあり、上述の RdDM と同様に区別がつかない。

●弘前大学農学生命科学部 生物資源学科 植物分子育種学研究室 原田竹雄教授は、RNA 篩管長距離輸送機構による接ぎ木園芸作物の新規品種改良技術の開発を進め、ユニークな NPBT の成果を発表した²⁸。

開花ホルモン (フロリゲン) のような接ぎ木伝搬能を有する成長制御物質の存在は古くから指摘されていたが、これらの物質の実体は篩管を通して目的部位に長距離輸送されているタンパク質や RNA 分子であることが明らかとなってきた。そこで、原田は、この輸送機構を応用し、特定の遺伝情報 (RNA) をよりの確に運搬できるシステムを開発し、その系を付与した組換え台木に接ぎ木することに

²⁷ Tsaballa A. et al. (2021) Vegetable Grafting From a Molecular Point of View: The Involvement of Epigenetics in Rootstock-Scion Interactions. *Front. Plant Sci.* 07 January 2021

²⁸ Takeo Harada (2010) Grafting and RNA transport via phloem tissue in horticultural plants *Scientia Horticulturae* 125:545-550

よる、穂木の新規品種改良技術を創出した。本技術の特徴は、既存の栽培品種を直ちに改良できること、また、組換え台木を用い、穂木には導入 DNA が存在しないため、花粉飛散による組換え遺伝子の漏出问题をクリアした。開花を早めることで、時間の掛かる果樹の交配育種を効率化することに成功した。

⑥ Reverse Breeding

種苗を生業とする企業にとって重要な要素の一つに、いかにたくさんの変異に富んだ *germplasm* (遺伝資源) を持つかが挙げられる。種苗会社の多くが、M&A を繰り返すのも老舗種苗会社の持つ *germplasm* の資産を獲得することが目的の一つとなっている。

germplasm の数を増やすために、種苗会社は、世界各地から近縁種を収集することに加え、交配を繰り返して変異に富んだ系統の作出に努めている。

しかし、大きな問題として、交配で得た優良な形質は、メンデルの法則に従って後代で分離するため、品種として固定させるのに多くの時間と手間がかかることが挙げられる。種苗各社は、これらの時間を節約するべく様々な努力を重ねている。マーカーを利用した育種などは、分子生物学と育種が結び付いた、GMO 作出以外の大きな成果といえる。

Reverse Breeding (逆育種) は、希望する遺伝子型を持つホモ接合体の親系統を、優秀な遺伝子型を持つ植物の花粉などから RNAi と染色体倍加系統作出技術を組み合わせて作出する方法であり、組換え遺伝子を持たず、希望する型の交雑種を短期間に得られる方法として開発された。その親系統を掛け合わせることで、目的の遺伝子型を持つヘテロ接合体 (F1) を得ることができる。バッククロスや圃場での選抜を必要としないため、これまでよりも大幅に短い期間で、選抜した植物と同じ遺伝子型を持つ優良なヘテロ接合体をコンスタントに得ることができる。

Reverse Breeding は基本的には次のステップより成り立っている (図 3)。

- ① 優秀なヘテロ接合体を選ぶ。この段階で選んだヘテロ接合体を再現することができるのが本技術のポイント (親系統が確定している F1 個体なら、そのまま、親系統を F1 作製に利用できるが、自然界の集団から選ばれた場合には、ホモの親系統が特定できないことが多く、本技術の特徴が発揮できる)。
- ② 選んだ系統の *meiotic recombination* (減数分裂組換え) を *dmc1* や *spo11* などを RNAi によってサイレンシングすることにより抑制する (これらの遺伝子は、減数分裂時の組換えに関与していることが知られており、これらの働きを抑制すると組換えが生じにくくなる)。
- ③ 選んだヘテロ接合体から単相 (n) である *microspore* (未熟花粉胚) を得る。
- ④ 半数体倍加技術 (*doubled haploid*) により、③を 2 倍体化してホモ接合体

(2n) の細胞を得る。

⑤ ④を生育して、2倍体の植物を作出する。

⑥ これらの中から、サイレンシング時に導入した遺伝子を持たず、かつ、再現したいヘテロ接合体の組合せを作れる系統を選抜する。⑥の組み合わせを選んで掛け合わせることにより、①で選んだヘテロ接合体を再現することが可能となる。

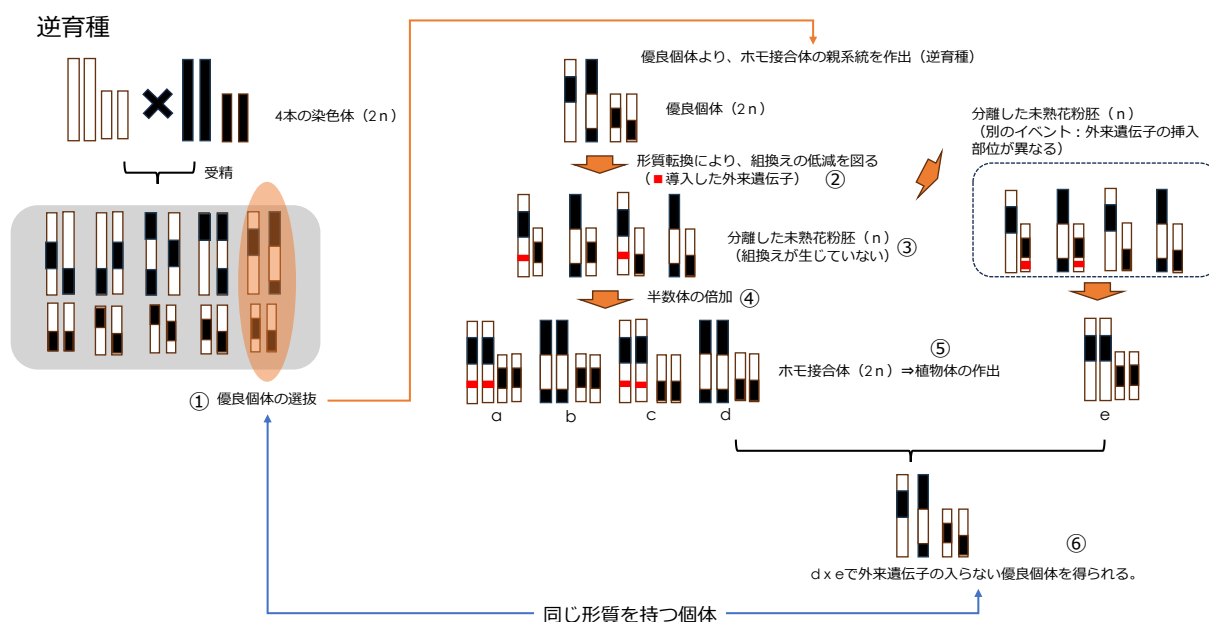


図3 Reverse Breeding の模式図

(a)通常の減数分裂では、染色体の組換えが起こり、遺伝子型が異なる子孫が無限に生じる。(b)組換えが起こらない場合 (RNAi (赤バンド) などの挿入【②】)、分離がシンプルとなる【③】。半数体から2倍体を作製すること【④、⑤】で、ある確率で親系統と同じ系統【①】を獲得することができる【⑥】。

(参照：Wijnker and de Jong, 2008)²⁹

Reverse Breeding を行うためには、染色体数が12以下であること、かつ、倍加系統を得られる品種である必要がある (染色体数が多い種では、作製すべき doubled haploid の数が増えていくため)。また、doubled haploid の作製時やサイレンシングのステップで変異が起きる可能性も否定できない。

⑦ Agro-infiltration (agro-infiltration “sensu stricto”, agro-inoculation, floral-dip)

遺伝子を導入する組織やコンストラクトにより、agro-infiltration は三つのタイプに分類される。

a. 「Agro-infiltration sensu stricto」: 生殖細胞以外 (主に葉) に、複製されな

²⁹ Wijnker E, de Jong H (2008) Managing meiotic recombination in plant breeding. Trends in Plant Science 13:640-6466

いコンストラクトを含むアグロバクテリウムを浸透させることにより、浸透させたエリアのみで局所的に導入遺伝子が発現するタイプ。植物ゲノムに遺伝子が組み込まれることはない。

- b. 「Agro-inoculation」 or 「agro-infection」：生殖細胞以外（主に葉）に、全長のウィルスベクターに外来遺伝子を組み込んだものを接種（浸透）させることで、全身性の遺伝子発現を行うタイプ。組換えウィルスを利用するも、植物自体は形質転換されることがない。
- c. 「Floral dip」：生殖細胞（主に花）を DNA コンストラクトを含むアグロバクテリウムに浸すことで、次世代の胚への形質転換を行う。多くの場合は実生のステージにおいて、選抜を行う。Floral dip は、世代を超えて安定な形質転換植物を得ることを主な目的としている。

⑧ Seed Production Technology (PHI)

F1 ハイブリッドを作製する技術。GMO を途中で使うものの、次世代での分離を経て選抜することで、取り扱う種子は全て非組換え体となる。種子生産企業のみで多大なメリットがあるもので、農家や消費者にメリットがあるものでない。米国や日本、オーストラリアでは規制を受けないという確認が得られたことから様々な植物への応用が図られている³⁰。

背景：トウモロコシのハイブリッド種子は、雄系統と雌系統をある割合で並べて植え、雌系統の雄穂を切断することで、確実な異系統間の交雑を行わせて生産されている。しかし、確実な雄穂切除は人海戦術に頼らざるを得ないことから、大量の種子生産を行う種苗会社としては、多大な労力と経費を使う工程となっている。そこで、花粉のできない系統を比較的簡単に作ることができれば、雌系統として利用でき、大きな経費節減となる。ただ、花粉のできない種子を作ると今度は雌系統を維持することができなくなる。この相反する形質を両立させる必要があり、これまでに幾つかの技術が開発されてきた。例えば、リボヌクレアーゼと除草剤耐性の組み合わせにより、除草剤処理で生き残った分離固体（GMO）のみがリボヌクレアーゼを発現し雄性不稔となる仕組みがある。この場合は、GMO であることから安全性審査が必要となる。あるいは、自然界から雄性不稔となる遺伝子とそれを回復する遺伝子を見つけ出して、応用した例（ナタネ）もある。この場合は、自然界から見つけ出すのに多くの労力を必要とした。本技術は、このような様々な手法のデメリットを排除すべく、遺伝子組換え技術は利用するが、最終産物は GMO でない一般的な F1 種子を生産する目的で考え出された技術である。

★雄性不稔系統作出のためのメカニズム：三つの遺伝子と、色（蛍光色）の付

³⁰ Wu Y et al. (2016) Development of a novel recessive genetic male sterility system for hybrid seed production in maize and other cross-pollinating crops. *Plant Biotechnology Journal* 14:1046–1054

いた種子を選別する選別機を利用する。

★雄性不稔系統（ms45）を親株とする。

MS45 遺伝子を導入することで、雄性不稔が回復し花粉が 3 対 1 の割合でできる。しかし、MS45 と α -アミラーゼがリンクしており、花粉は育つものの、3/4 の組換え遺伝子を持った花粉は、テンプレが分解されて中身が充実せず枯死する。生き残った花粉は、全て導入遺伝子を持たないことになる（1/4 の割合）。この花粉からできた種子は、ms45 であり、全て雄性不稔となる。こうして、雄性不稔の雌系統を維持することが可能となる。

万が一、導入遺伝子を持つ花粉が受粉した場合は、同時に DsRed2 遺伝子の働きで色が付くので、ソーターで排除することができる。これによって、0%に近い確率で、非遺伝子組換えの種子を作出することができる。

⑨ TMS 循環選抜

循環選抜は、品種改良で実施している選抜方法の一つで、選抜と交雑とを繰り返して優良遺伝子を集積しようとする操作をいう。自殖も他殖も容易なトウモロコシの育種で開発され、主に他殖性作物に応用されてきた。

まず供試材料から優良個体を複数選抜し、次の世代で個体間の相互交配や自然交雑を行う。この交雑種子を栽培して、順次、後の世代にわたって同様の選抜と交雑とを繰り返していく。循環選抜には表現型選抜法、一般組合せ能力循環選抜法、特定組合せ能力選抜法、相反循環選抜法などがある。

自殖性作物であるイネの場合は、遺伝的多様性が起こりにくい。そこで、遺伝子組換え技術を用いて不稔イネを作製し、遺伝的に多様な集団を作る技術が TMS 循環選抜と名付けられた³¹。

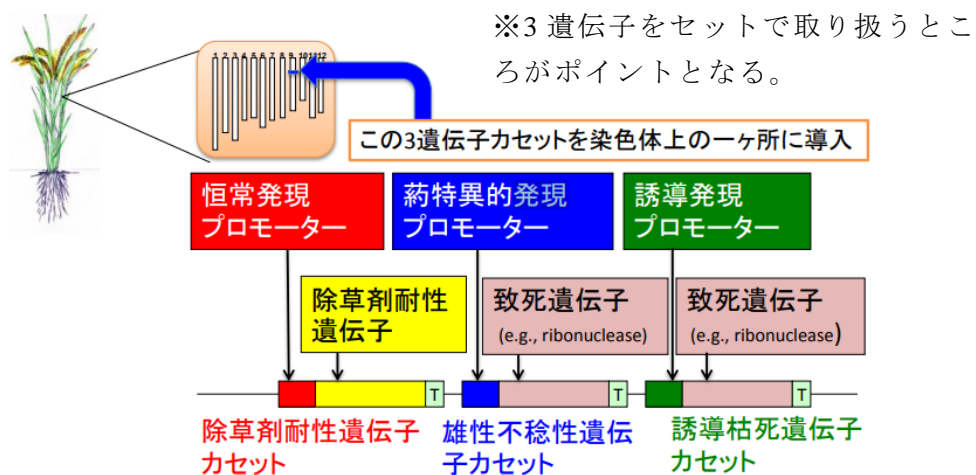


図 4 TMS 循環選抜の遺伝子挿入イメージ

³¹ Tanaka (2010) Transgenic Male Sterility Permits Efficient Recurrent Selection in Autogamous Crops. Crop Science50. 1124-1127.

(出典：自殖性作物の高効率循環選抜育種法 (TMS 循環選抜) について³²)

- a. 雄性不稔遺伝子 (*Ms*) をヘテロで持つことにより、*msms* との掛け合わせで、常に *Msms* と *msms* が 1 : 1 で分離し、集団の半分が他殖となる。
- b. 次世代を除草剤耐性で選抜することにより、雄性不稔個体 (*Msms*) を選抜できる (他殖によりゲノムの組換えが生じ、次世代に多様性が生じる)。
- c. 誘導性の致死遺伝子を発現させることにより、挿入遺伝子を持つ個体は枯死する。これにより、他殖でゲノムの組換えが起こり、多様性を持った次世代のうち、外来遺伝子を持たない個体のみ生き残る (挿入遺伝子を持った個体は、雄性不稔として次の選抜に利用するとともに、挿入遺伝子を持たないもので、優良個体は、選抜を進めながら遺伝的固定を進める)。

⑩ ウィルス活用の世代促進技術

ウィルス活用の世代促進技術は、ゲノムを改変した植物ウィルス (ALSV) ベクターを用い、外来遺伝子を植物体に発現させる方法で、一過的な外来遺伝子の発現や内在性遺伝子の発現抑制に利用でき、開花まで長時間を要する果実類の早期開花を可能にする技術である。

笠島らは、リンゴ潜在球状ウィルス (ALSV) ベクターを用いたイチゴのウィルス誘発開花 (VIF) について報告している³³。研究では、ウィルス誘導性遺伝子サイレンシング (VIGS) の役割をするヌクレオチドを保持するタバコガラガラウィルス (TRV) ベクターを用いた ALSV ベクターを作製している。植物におけるウィルス感染に対する防御機構である VIGS により、特定の遺伝子の発現が抑えられる現象を利用し、VIF を誘導してイチゴの生成時間を短縮することに成功している。RNA ウィルスである ALSV ベクターは植物の機能を改変しても、植物ゲノムに取り込まれることはなく、細胞に一過性にしか感染しないため、感染個体から得られた次世代植物に移行することはほとんどない。イチゴの場合は、花粉粒や胚珠に感染する ALSV が受粉後にイチゴの胚で分解されることが示唆されたと報告している。

また、吉川ら (2014) は、植物 RNA ウィルスベクターの利用について次のように述べている³⁴。ALSV ゲノムを改変して構築した ALSV ベクターは、一過的な外来遺伝子の発現や内在性遺伝子の発現抑制に利用できる。ALSV は植物ゲノムに取り込まれることはなく、また感染個体から得られた次世代植物のほとんどに移行しないため、ALSV ベクター技術を利用して植物の機能を改変しても、(ゲノム編集などの場合) その子孫は遺伝子組換え植物には相当しない。

³² <https://www.affrc.maff.go.jp/docs/committee/nbt/attach/pdf/2nd-1.pdf> (20240129 アクセス)

³³ Li C et al. (2019) Virus-induced gene silencing and virus-induced flowering in strawberry (*Fragaria × ananassa*) using apple latent spherical virus vectors. *Horticulture Research* 6:18-33

³⁴ 吉川ら (2014) 植物 RNA ウィルスベクターを利用した植物の新育種技術。JATAFF ジャーナル 2 巻 8 号

(4) NPBT の研究開発動向

Eckerstorfer ら (2019)³⁵は、2011～2017 年までの NPBT の各技術の発表件数を分析し、意図しない影響について、下記の技術ごとに分析した。ここで考察した全ての nGM (new genomic modification) は、様々なタイプと頻度の意図しない変化をもたらす可能性があるが、その急速な開発が、意図しない影響の検出と排除を損なう可能性があるとしている。そのため、意図しない変化を特定したり、望ましくない外来遺伝子配列がないことを確認したりするための適切な分子特性評価を含む、nGM のケース固有の市販前リスク評価を実施する必要があると述べている。評価した技術は、以下のとおりである。

- 1) 塩基の編集 (base editing) を含めたゲノム編集技術 (CRISPR、TALENs、ZFNs を含む)
- 2) ODM
- 3) RdDM 遺伝子発現のエピジェネティック制御
- 4) シスジェネシスとイントラジェネシス
- 5) トランスグラフトリング、接ぎ木における GM 台木の利用
- 6) アグロインフィルトレーション
- 7) 一倍体誘導及び逆育種、複雑な育種スキームを支援するために開発された技術など

下記の表は、2011 年から 2017 年にかけて発表された、各技術に関する論文を応用分野別にまとめたもので、CRISPR 技術に関するものが圧倒的に多いことが分かる。

表 5 2011～2017 年に発表された nGMs の様々な応用に関する論文³⁵

Applications	nGMs	Genome editing					RdDM	CG	IG	TG*	nGMs to support breeding	
		CRISPR*	TALEN	ZFN	MN	ODM					AI	HI
JAN. 2011–DEC. 2015												
Total number	n.a.	10	17	5	1	6	7	4	n.a.	14	9	
JAN. 2016–JUNE 2017*												
Total number (172)	114	8	7	1	1	1	2	4	23	4	7	
SDN-1	99	5	4	–	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
SDN-2	5	–	–	–	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
SDN-3	4	3	3	1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Base editing	4	–	–	–	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Other types of genome editing	2	–	–	–	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
OBJECTIVE OF APPLICATIONS (JAN. 2016–JUNE 2017)												
Method development	72	1	2	1	–	–	1	1	6	–	3	
Basic research	22	1	2	–	–	–	–	–	7	4	1	
Applied development	20	6	3	–	1	1	1	3	10	–	2	

SDN, site-directed nuclease; CRISPR, CRISPR (Clustered regularly interspaced short palindromic repeat)-directed nuclease; TALEN, Transcription activator-like effector nuclease; ZFN, Zinc-Finger-directed nuclease; MN, Meganucleases; ODM, Oligonucleotide-directed mutagenesis; RdDM, RNA dependent DNA methylation; CG, Cisgenesis; IG, Intragenesis; TG, Transgrafting; AI, Agro-infiltration; HI, Haploid induction; Other types of genome editing: different variants of CRISPR-based genome editing, including use of nickases; n.a.: not applicable.

*For the use of CRISPR-based systems for genome editing and transgrafting literature was only screened for the time period Jan. 2016–June 2017.

Bold values indicate total numbers of publications for individual nGMs for the indicated time periods.

³⁵ Eckerstorfer et al. (2019) An EU Perspective on Biosafety Considerations for Plants Developed by Genome Editing and Other New Genetic Modification Techniques (nGMs) Front. Bioeng. Biotechnol. 7:31. doi: 10.3389/fbioe.2019.00031

本論文では、これまでのところ栽培目的でリスク評価された植物がごく僅かであり、様々な用途に対する知識や経験が不十分であることから、ケース別のリスク評価に基づいて、nGMのバイオセーフティ監視のための一般的な枠組みを実施すべきと主張しており、以下の要素を組込んだケースを提案している。

- (i) 開発された形質の性質、
- (ii) 導入された改変の予期せぬ結果、
- (iii) 類似製品に関する利用可能な経験、
- (iv) 各国が定める関連する保護目標の考慮
- (v) 最終製品に意図せず導入された遺伝子組換え体の存在
- (vi) 表現型に悪影響を及ぼす恐れのあるオフターゲット改変
- (vii) その他の意図しない遺伝的変化の存在を評価するための適切な分子特性評価
- (viii) 特定の nGM に関連するもっともらしいリスク問題に関連するパラメータを具体的に試験するための表現型特性評価

※さらに詳細を「2. 検索・収集した論文のまとめ (2) NPBT のリスクについて ②WEB 検索による追記」 (98 ページ) の中でまとめた。

FAO (2022) は、2022 年に Gene editing and agrifood systems³⁶と題したレポートを公表している。ゲノム編集と農産物システムに関する科学と証拠に基づいたこの論文では、ヒトの飢餓、ヒトの健康、食品の安全性、環境への影響、動物福祉、社会経済への影響など、ゲノム編集の最も重要な側面についてバランスのとれた議論が行われている。社会的影響と経済的な利益の分配、本質的な倫理的懸念とガバナンスと規制の問題が取り上げられ、公共部門と民間部門の単独又は連携した役割が要約されている。また、将来、農産物システムの変革を支援するためにゲノム編集がどのように利用される可能性があるかについて、様々なシナリオが提示された。

ここで、ゲノム編集により作出された改良品種のリストを確認できる。

表 6 アグリフードシステムにおけるゲノム編集技術の応用³⁶

生物種	形質	出典
食品及び飼料の品質向上		
Camelina	Improved fatty acid composition	[1] Ozseyhan, M. E., Kang, J., Mu, X. & Lu, C. 2018. Mutagenesis of the FAE1 genes significantly changes fatty acid composition in seeds of Camelina sativa. Plant Physiology and Biochemistry: PPB, 123, 1–7. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.11.021
Lettuce	Increased vitamin C content	[2] Zhang, H., Si, X., Ji, X., Fan, R., Liu, J., Chen, K., Wang, D. & Gao, C. 2018. Genome editing of upstream open reading frames enables translational control in plants. Nature Biotechnology, 36(9): 894–898. https://doi.org/10.1038/nbt.4202
Oilseed rape	Improved fatty acid composition	[3] Huang, H., Cui, T., Zhang, L. et al. 2020. Modifications of fatty acid profile through targeted mutation at BnaFAD2 gene with CRISPR/Cas9-mediated gene editing in Brassica napus. Theoretical and Applied Genetics, 133: 2401–2411. https://doi.org/10.1007/s00122-020-03607-y

³⁶ <https://www.fao.org/3/cc3579en/cc3579en.pdf> (20240129 アクセス)

生物種	形質	出典
Potato	Reduced acrylamide formation	[4] Clasen, B.M., Stoddard, T.J., Luo, S., Demorest, Z.L., Li, J., Cedrone, F., Tibebe, R., Davison, S., Ray, E.E., Daulhac, A., Coffman, A., Yabandith, A., Retterath, A., Haun, W., Baltés, N.J., Mathis, L., Voytas, D.F. & Zhang, F. 2016. Improving cold storage and processing traits in potato through targeted gene knockout. <i>Plant Biotechnology Journal</i> , 14: 169–176. https://doi.org/10.1111/pbi.12370
Soybean	Improved fatty acid composition	[5] Animal and Plant Health Inspection Service, USDA. 2022. Plant-Trait-Mechanism of Action (MOA) combinations that have been determined by APHIS not to require regulation under 7 CFR part 340. https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/permits-notifications-petitions/confirmations/moa/moa-table
Tomato	High content of γ -aminobutyric acid (GABA)	[6] GABA-enriched tomato is first CRISPR-edited food to enter market. 2022. https://www.nature.com/articles/d41587-021-00026-2.epdf?no_publisher_access=1&r3_referer=nature
Wheat	Low gluten content	[7] Sánchez-León, S., Gil-Humanes, J., Ozuna, C.V., Giménez, M.J., Sousa, C., Voytas, D.F. & Barro, F. 2018. Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. <i>Plant Biotechnology Journal</i> , 16: 902–910. https://doi.org/10.1111/pbi.12837
		[8] Wheat can be made gluten safe for people with coeliac disease by using gene editing. 2019. https://www.wur.nl/en/newsarticle/wheat-can-be-made-gluten-safe-for-people-with-coeliac-disease-by-using-gene-editing.htm
Wild tomato	De novo domestication – High antioxidant content	[9] Zsögön, A., Čermák, T., Naves, E.R., Notini, M.M., Edel, K.H., Weigl, S. & Peres, L.E.P. 2018. De novo domestication of wild tomato using genome editing. <i>Nature Biotechnology</i> , 36(12): 1211–1216. https://doi.org/10.1038/nbt.4272
Brewer's yeast	Flavour improvement in fermented beverages	[10] Mertens, S., Gallone, B., Steensels, J., Herrera-Malaver, B., Cortebeek, J., Nolmans, R. et al. 2019. Reducing phenolic off-flavors through CRISPR-based gene editing of the FDC1 gene in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> x <i>Saccharomyces eubayanus</i> hybrid lager beer yeasts. <i>PLoS ONE</i> 14(1): e0209124. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209124
農業形質の向上		
Alfalfa	High yield	[11] Editar el genoma de la alfalfa para aumentar su rendimiento. 2019. http://ria.inta.gob.ar/sites/default/files/actualidadimasd/3-editar_el_genoma_de_la_alfalfa_para_aumentar_su_rendimiento.pdf
Banana	Fungus protection	[12] Dale, J., James, A., Paul, J.Y. et al. 2017. Transgenic Cavendish bananas with resistance to <i>Fusarium wilt</i> tropical race 4. <i>Nature Communications</i> , 8: 1496. https://doi.org/10.1038/s41467-017-01670-6
	Protection against bacterial wilt, fusarium wilt and banana streak virus	[13] African scientists urge use of gene editing to improve crops. 2019. https://allianceforscience.cornell.edu/blog/2019/09/african-scientists-urge-use-gene-editing-improve-crops/
	Protection against bunchy top virus	[14] Developments in Delegations on Biosafety Issues, ENV/CBC/MONO(2021)19. 2021. https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/cbc/mono(2021)19&doclanguage=en
Cacao	Protection against fungal disease	[15] Fister, A.S., Landherr, L., Maximova, S.N. & Guiltinan, M.J. 2018. Transient expression of CRISPR/Cas9 machinery targeting TcNPR3 enhances defense response in theobroma cacao. <i>Frontiers in Plant Science</i> , 9: 268. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00268
Cassava	Reduced cyanide levels	[16] Genome editing of the staple crop cassava to eliminate toxic cyanogen production. 2020. https://innovativegenomics.org/projects/genome-editing-staple-crop-cassava-eliminate-toxic-cyanogen-production/
	Virus resistance	[17] Gomez, M.A., Lin, Z.D., Moll, T., Chauhan, R.D., Hayden, L., Renninger, K., Beyene, G., Taylor, N.J., Carrington, J.C., Staskawicz, B.J. & Bart, R.S. 2019. Simultaneous CRISPR/Cas9-mediated editing of cassava eIF4E isoforms nCBP-1 and nCBP-2 reduces cassava brown streak disease symptom severity and incidence. <i>Plant Biotechnology Journal</i> , 17(2): 421–434. https://doi.org/10.1111/pbi.12987
Cherry	Virus resistance	[18] Song, G.-q., Sink, K.C., Walworth, A.E., Cook, M.A., Allison, R.F. & Lang, G.A. 2013. Engineering cherry rootstocks with resistance to <i>Prunus necrotic ring spot virus</i> through RNAi-mediated silencing. <i>Plant Biotechnology Journal</i> , 11: 702–708. https://doi.org/10.1111/pbi.12060

生物種	形質	出典
Citrus	Protection against citrus canker	[19] Peng, A., Chen, S., Lei, T., Xu, L., He, Y., Wu, L. & Zou, X. 2017. Engineering canker-resistant plants through CRISPR/Cas9-targeted editing of the susceptibility gene Cs LOB 1 promoter in citrus. <i>Plant Biotechnology Journal</i> , 15(12): 1509–1519. https://doi.org/10.1111/pbi.12733
Cucumber	Protection against multiple viruses	[20] Chandrasekaran, J., Brumin, M., Wolf, D., Leibman, D., Klap, C., Pearlsman, M., Sherman, A., Arazi, T. & Gal-On, A. 2016. Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology. <i>Molecular Plant Pathology</i> , 17(7): 1140–1153. https://doi.org/10.1111/mpp.12375
Flax	Herbicide tolerance	[21] Sauer, N.J., Narváez-Vásquez, J., Mozoruk, J., Miller, R.B., Warburg, Z.J., Woodward, M.J., Mihiret, Y.A., Lincoln, T.A., Segami, R.E., Sanders, S.L., Walker, K.A., Beetham, P.R., Schöpke, C.R. & Gocal, G.F.W. 2016. Oligonucleotide-mediated genome editing provides precision and function to engineered nucleases and antibiotics in plants. <i>Plant Physiology</i> , 170(4): 1917–1928. https://doi.org/10.1104/pp.15.01696
Grapevine	Drought tolerance	[14] Developments in Delegations on Biosafety Issues, ENV/CBC/MONO(2021)19. 2021. https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/cbc/mono(2021)19&doclanguage=en
Maize	Fungus resistance	[22] Shi, J., Gao, H., Wang, H., Lafitte, H.R., Archibald, R.L., Yang, M., Hakimi, S.M., Mo, H. & Habben, J.E. 2017. ARGOS8 variants generated by CRISPR/Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. <i>Plant Biotechnology Journal</i> , 15(2): 207–216. https://doi.org/10.1111/pbi.12603
Oilseed Rape	Herbicide tolerance	[23] Wu, J., Chen, C., Xian, G., Liu, D., Lin, L., Yin, S., Sun, Q., Fang, Y., Zhang, H. & Wang, Y. 2020. Engineering herbicide-resistant oilseed rape by CRISPR/Cas9-mediated cytosine base-editing. <i>Plant Biotechnology Journal</i> , 18(9): 1857–1859. https://doi.org/10.1111/pbi.13368
Potato and sugar beet	Disease-resistant varieties	[24] Dobrovidova, O. 2019. Russia joins in global gene-editing bonanza. <i>Nature</i> , 569(7756):319–320. https://doi.org/10.1038/d41586-019-01519-6
Rice	Salt tolerance	[25] Farhat, S., Jain, N., Singh, N., Sreevathsa, R., Dash, P.K., Rai, R. & Rai, V. 2019. CRISPR/Cas9 directed genome engineering for enhancing salt stress tolerance in rice. <i>Seminars in Cell & Developmental Biology</i> , 96: 91–99. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31075379/
	Fungus protection	[26] Li, T., Liu, B., Spalding, M. et al. High-efficiency TALEN-based gene editing produces disease-resistant rice. 2012. <i>Nature Biotechnology</i> , 30: 390–392. https://doi.org/10.1038/nbt.2199 https://doi.org/10.1038/nbt.2199
	Salt tolerance	[27] Duan, Y.B., Li, J., Qin, R. Y., Xu, R.F., Li, H., Yang, Y.C., Ma, H., Li, L., Wei, P.C. & Yang, J.B. 2016. Identification of a regulatory element responsible for salt induction of rice OsRAV2 through ex situ and in situ promoter analysis. <i>Plant Molecular Biology</i> , 90(1-2): 49–62. https://doi.org/10.1007/s11103-015-0393-z
Sorghum	Increased protein content	[28] CRISPR-edited sorghum could provide needed protein to 500 million people in sub-Saharan Africa. 2019. https://geneticliteracyproject.org/2019/11/21/crispr-edited-sorghum-could-provide-needed-protein-to-500-million-people-in-sub-saharan-africa/
	Striga resistance	[41] Mallu, T.S., Mutinda, S., Githiri, S.M., Odeny, D. & Runo, S. 2021. New pre-attachment Striga resistant sorghum adapted to African agroecologies. <i>Pest Management Science</i> , 6: 2894–2902. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33576100/
Soybean	Nematode resistance	[29] Evogene and TMG Announce Collaboration to Develop Nematode Resistant Soybean through Genome Editing. 2018. https://www.evogene.com/press_release/evogene-and-tmg-announce-collaboration-to-develop-nematode-resistant-soybean-through-genome-editing/
Tomato	Bacterial resistance	[30] de Toledo Thomazella, D.P., Brail, Q., Dahlbeck, D. & Staskawicz, B.J. 2016. CRISPR/Cas9 mediated mutagenesis of a DMR6 ortholog in tomato confers broad-spectrum disease resistance. <i>BioRxiv</i> , 064824. https://doi.org/10.1101/064824
	Provitamin D3 enhanced	[40] Li, J., Scarano, A., Mora Gonzalez, N., D'Orso, F., Yue, Y., Nemeth, K., Saalbach, G., Hill, L., Oliveira Martins, C., Moran, R., Santino, A. & Martin, C. 2022. Biofortified tomatoes provide a new route to vitamin D sufficiency. <i>Nature Plants</i> . https://doi.org/10.1038/s41477-022-01154-6

生物種	形質	出典
Wheat	Fungus protection	[31] Wang, Y., Cheng, X., Shan, Q. et al. 2014. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. <i>Nature Biotechnology</i> , 32: 947–951. https://doi.org/10.1038/nbt.2969
動物の育種		
Applications in Chicken	Protected against avian leukosis virus	[32] Koslová, A., Kučerová, D., Reinišová, M., Geryk, J., Trefil, P. & Hejnar, J. 2018. Genetic resistance to avian leukosis viruses induced by CRISPR/Cas9 editing of specific receptor genes in chicken cells. <i>Viruses</i> , 10(11): 605. https://doi.org/10.3390/v10110605
Dairy cattle	Hypoallergenic milk	[33] Edición génica en animales para la producción de leche hipoalergénica2. 2021. https://www.argentina.gob.ar/inta/tecnologias/edicion-genica-en-animales-para-la-produccion-de-leche-hipoalergénica
	Polled	[38] Carlson, D.F., Lancto, C.A., Zang, B., Kim, E.-S., Walton, M. et al. 2016. Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines. <i>Nature Biotechnology</i> , 34: 479–481. https://www.nature.com/articles/nbt.3560
Fish (tiger puffer and red sea bream)	Increased growth	[34] Japan embraces CRISPR-edited fish. 2022. <i>Nature Biotechnology</i> , 40: 10. https://doi.org/10.1038/s41587-021-01197-8
Goat	High-yielding cashmere goats	[39] Li, X., Fei, H., Xiao, H., Hui, W., Bai, D., Wang, X., Liang, H., Cang, M., Liu, D. 2019. Generation of Tβ4 knock-in Cashmere goat using CRISPR/Cas9. <i>International Journal of Biological Science</i> , 15: 1743–1754. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31360116/
Salmon	Sterility and disease resistance	[35] 10 Unusual Applications of CRISPR Gene Editing. 2020. https://www.labiotech.eu/best-biotech/crispr-applications-gene-editing/
Swine	Double muscled	[39] Li, X., Fei, H., Xiao, H., Hui, W., Bai, D., Wang, X., Liang, H., Cang, M., Liu, D. 2019. Generation of Tβ4 knock-in Cashmere goat using CRISPR/Cas9. <i>International Journal of Biological Science</i> , 15: 1743–1754. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31360116/
	Increased tolerance to cold temperatures and leaner meat	[36] China's CRISPR push in animals promises better meat, novel therapies, and pig organs for people. 2019. https://www.science.org/content/article/china-s-crispr-push-animals-promises-better-meat-novel-therapies-and-pig-organs-people
	Protection against swine fever	[37] CRISPR immunizes pigs against PRRS—deadly viral disease that costs \$600 million annually. 2019. https://geneticliteracyproject.org/2019/06/26/podcast-crispr-immunizes-pigs-against-prrs-deadly-viral-disease-that-costs-600-million-annually/

ここでは、下記のように記載されている。

潜在的なハザードを特定し、それに対応するリスクを新製品の商業化に先立って評価することは、その安全で持続可能な利用を確保するとともに、一般の人々の懸念を和らげるためにも重要である。潜在的な影響のカテゴリーには、環境、生物多様性、食品の安全性と栄養面におけるヒトの健康への影響が含まれる。ゲノム編集製品の安全性を確保すると同時に、小規模な開発者やイノベーターに過重な規制負担をかけないためには、ゲノム編集製品を評価するための適切な方法が重要になる。ゲノム編集の経済的影響は、特に LMICs (low-and middle-income countries) の小規模生産者やサプライチェーンの更に下流の生産者が、ゲノム編集製品をどの程度利用できるようになるかにかかっている。ゲノム編集には、作物保護への支出を削減し、労働需要を減少させる可能性もある。農家レベルでの潜在的なプラスの影響は、種子を含む投入資材の品質次第である。ゲノム編集に関連する社会的・倫理的懸念は、科学者や開発者に対する信頼、リスクと利益の配分に関する懸念、自然性や文化的価値観の違いに関する疑問などに影響される。本質的な倫理的懸念や動物福祉を含むこれらの問題は今後解決されなければならないだろう、としている。

Allergenicity について

他のトランスジェニック作物と同様に、導入された新規タンパク質に関連する新たなアレルギー誘発性又は交差アレルギー誘発性が、SDN-3 用途でも潜在的に発生する可能性がある。対照的に、SDN-1/2 の場合、アレルギーに関連する潜在的なリスクは内因性アレルゲンの増加である可能性があり、特に宿主作物が植物である場合、放射線、化学的突然変異誘発、体細胞クローン変異などの技術を使用して得られた突然変異体でもこの結果が発生する可能性がある。⇒分析評価は、GMO と同じ。

Toxicity について

ゲノム編集は、以前の技術と比較して、ブリーダーが潜在的に危険な突然変異体をより確実に廃棄するのに役立つ可能性のあるより多くの洞察を提供する。⇒分析評価は、GMO と同じ。

成分分析について

SDN-1 及び SDN-2 修飾によるオフターゲット編集や意図しない DNA 挿入が発生する可能性があり、食品の安全性への影響を評価する際にはこれを考慮する必要がある (Lema, 2021)³⁷。意図した改変は安全であり、既に食品中に存在している可能性もあるが、意図しない挿入やターゲットを外した編集により、栄養素、毒素、又はアレルゲンに関する食品の組成が変化する可能性がある。より安価で効率的な DNA シーケンシングの出現により、バイオインフォマティクスのアプローチに加えて、全ゲノムシーケンシング (WGS) がゲノム編集食品の変化を検出して評価することが提案されている (Lema, 2021)。ゲノム編集作物における意図しない編集やエピジェネティック効果から生じる内因性毒素やアレルゲンの変化は、成分ごとの組成アプローチを使用して評価することもできる。これには、どの化合物を試験するかについての事前の知識が必要である。⇒分析評価は、GMO と同じ。

Seyran & Craig (2019)³⁸ は、「New Genomic Techniques: State-of-the-Art Review」で、NPBT の概要の紹介、NPBT 由来の製品が、政府の規制の対象となるか、あるいはそのようにならないかもしれない既存の植物製品とどのように異なるか、又は異なるか、そして、それらが GMO 規制の監視下にあるか、あるいは逃れることができるかどうかについての情報を提供している。

特に明らかなこととして、主要な地域における規制状況が確実になるまでは、植物育種のイノベーションは停滞するリスクがあり、市場展開の遅れ（コストが高くなる）と

³⁷ Lema, M. 2021. Regulatory assessment of off-target changes and spurious DNA insertions in gene-edited organisms for agri-food use. *Journal of Regulatory Science*, 9(1):1-15.

³⁸ Seyran E and Craig W (2019) New breeding techniques and their possible regulation. *AgBioForum* 2018; 21(1): 1-12

貿易の混乱の両方は、互換性がなく調和のとれていない規制慣行と政策が原因である可能性が高いことを示唆している。

Seyran ら (2019) は、Modern Biotechnology における NPBT 技術別の塩基配列の変異の程度及び外来遺伝子挿入の有無との相関図を論文の中で示した。外来遺伝子の有無と規制の関わりが分かりやすく示されている (図 5)。

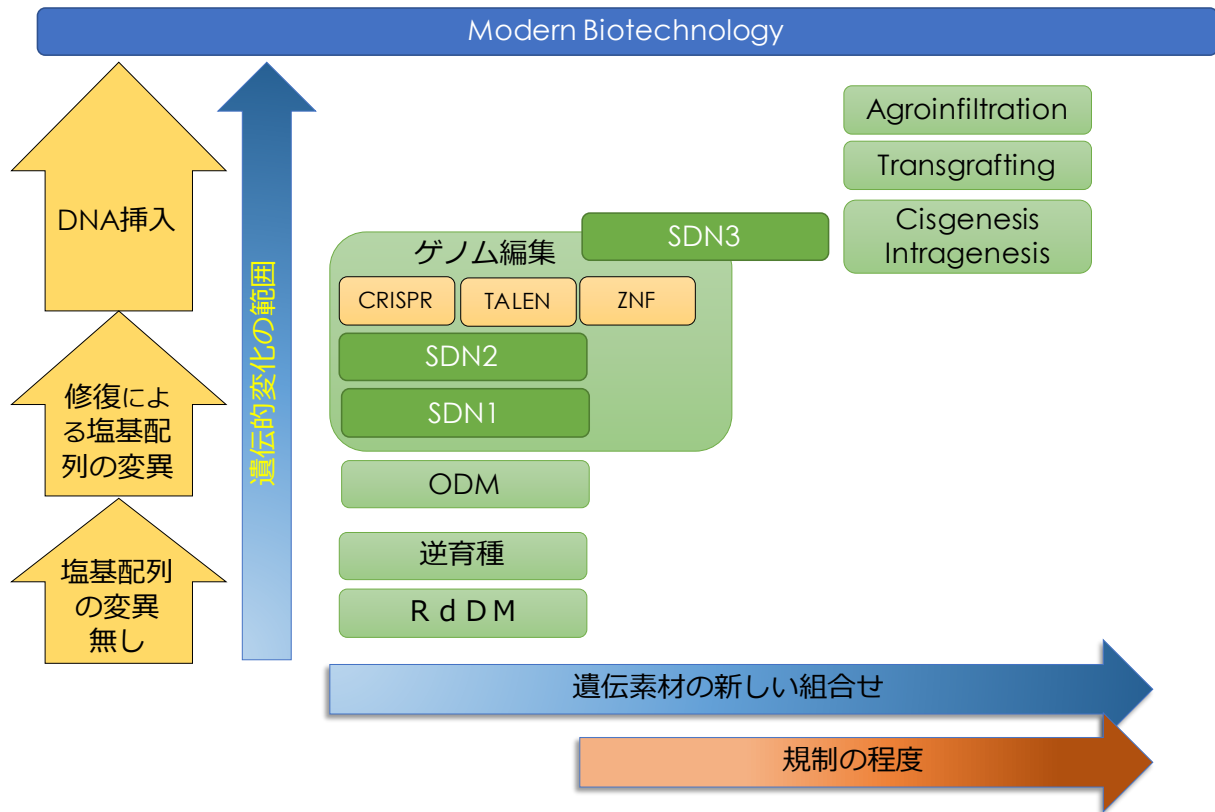


図 5 NPBT の相関図

(出典 : Seyran & Craig (2019) ³⁸ の図を改変)

さらに、Seyran (2019) ら ³⁸ は、各 NPBT 技術の持つリスクについて、様々な意見を下記のようにまとめている。

Agroinfiltration

RNAi を使用する場合、遺伝子制御に対する遺伝的なエピジェネティック効果によって引き起こされる予期せぬ効果が生じる可能性があるが、このような意図しないメチル化は、他の非 NPBT 育種技術でも自然発生的に組織培養又は化学修飾の結果として起こる可能性がある。今日までに、この技術が植物育種選抜プログラムに使用された場合、子孫にはアグロバクテリウムの遺伝物質がまったく含まれていないことが判明している。したがって、GM アグロバクテリウムとその T-DNA が存在する限り、種子から成長した子孫は GMO と見なされるべきではない。

Cisgenesis and Intragenesis

本技術は通常、人工の遺伝子構築物を植物ゲノムに移入することに基づいている。したがって、ほとんどの場合、得られた製品は遺伝物質の新しい組み合わせが組み込まれていると考えられる。これは、GMO とみなされる。しかし、EFSA は、シス遺伝子が宿主の遺伝子プールに由来し、ドナー植物のシス遺伝子と同じであるため、結果として生じる危険は従来の育種された植物に関連するものと同様であると結論付けている。

ゲノム編集技術

CRISPR/Cas システムは植物においてオフターゲット効果を引き起こすことが知られている。ガイド RNA のヌクレオチド配列によっては、CRISPR/Cas ヌクレアーゼは、RNAi システムによる細胞遺伝子発現の制御に対して意図しない有害な影響を引き起こす可能性がある。しかし、宿主配列の標的化精度が高いことから、CRISPR/Cas9 法が他の遺伝子の発現に意図しない悪影響をもたらす可能性は低いとしている。

接ぎ木

接ぎ木されたリンゴの場合、接ぎ木への遺伝子導入の証拠は見つかっておらず、穂木の生殖細胞への遺伝子導入はありそうにないと結論付けた報告がある。このことは、穂木によって生産される花粉も種子もトランスジェニック起源の配列を含まないため、環境への導入遺伝子の流入が生物学的安全性の懸念となるのは、GM 台木が実生を生産できる場合のみであるという報告によって支持されるとしている。ただし、特定の管轄区域（アルゼンチンなど）では GMO 規制当局がそのような植物を監督下に置くことを要求する可能性は十分にある。

ODM

ODM により、新規タンパク質の形成を引き起こし、特定の状況下では、意図しない望ましくない効果をもたらす突然変異を導入する可能性はある。プロセスベースの観点から見ると、ODM を通じて生成された植物は、法的な GMO の定義にリストされている最新のバイオテクノロジー技術に依存しているため、GMO になるが、プロダクトベースの観点から見ると、自然にも発生する可能性があるという主張をすることができる。したがって、それらは GMO として考慮されるべきではない。

逆育種

逆育種などでは、シャトル生物に由来する遺伝物質のセグメントを除去したり、外来遺伝子配列を挿入せずにそれらを改変したりすることが可能である。したがって、結果として得られる植物は、プロセスベースの規制システムにとって難問であり、規制当局はほとんど立場を示していない。

RdDM

現在の分析検出方法では、RdDM 誘導性のメチル化パターンと天然のメチル化パターンを区別できないため、植物が RdDM によって修飾されているかどうかを明確に識別することはできない。また、エピジェネティックな変異は RdDM の結

果として発生する可能性があるが、*in vitro* 組織培養段階を経た植物育種の結果として生じるあらゆる植物でも発生する可能性があることも認められている。したがって、これらの製品を規制できるかどうか、またどのように規制できるかについて、プロセスベースの規制システムと同じ難問が生じる。

Broothaerts ら (2021)³⁹は、NGTs (new genome techniques=NPBT) の多様な作用機序と適用性に関する技術的状況を提供することを目的に、JRC のテクニカルレポートに「New genomic techniques: State-of-the-Art Review」を発表した。この研究では、主要な NGT をレビューし、その特徴について説明している。様々な NGT の同定は、2020 年 1 月 31 日までの体系的な文献レビューに基づいて実施している。NGT を相互作用に基づいて四つのグループに区分している。

1) DNA 内に二本鎖切断を引き起越す技術。2) DNA 二重らせんを切断することなく、あるいは一本鎖 DNA 切断のみを生成することなく、ゲノム編集を達成する技術。3) エピゲノム変化を誘導する技術。4) RNA に特異的に作用する技術 (RNA 編集)⁴⁰。各グループ内では、幾つかの NGT がその作用機序、誘導される修飾、及びこの技術を適用できる生物とともに説明されるとともに、現時点での理解における意図しない可能性のある変更 (オフターゲット) と技術的な制限に関する情報がまとめられている。

表 7 に様々な生物において NGTs により誘導される核酸修飾のタイプを示す。

また、表 8 には、植物、動物、微生物についてどのような技術が応用されたかを示している。調査した技術の全てが、動物へ応用されている。植物とそれ以外の微生物 (酵母も含む) を比較すると、動物より少ないものの、多くの技術が等しく応用されていることがわかる。RNA 編集は、動物でのみ実施されている。バクテリアと酵母を比較すると、応用技術に差があるが、後述するように、酵母を含む微生物での技術の発達に伴って植物への応用が促進されたものと思われる。

³⁹ Broothaerts W, Jacchia S, Angers A, Seidor MP (2021) New Genomic Techniques: State-of-the-Art Review. JRC Technical Report JRC Technical Report 121847

⁴⁰ David B. T. Cox DBT et al. (2017) RNA editing with CRISPR-Cas13. *Science* 358:1019-1027

表 7 様々な生物において NGTs により誘導される核酸修飾のタイプ³⁹

Purpose	Intended sequence alteration	Type of NGT	Type of organism ¹	Donor template	Modification	Comments
Sequence correction	Substitution of one or a few bases	Base editing	P, A, F, B	No	Mostly C↔T or A↔G, with some exceptions	Additional base substitutions are possible with specific techniques. Requires a PAM, and usually changes all identical bases (e.g. all C's) in the targeted region
		Site-directed nuclease (SDN)	P, A, F, B	No	All base substitutions possible	Substitution is result of error-prone repair processes, which may generate random sequence variations at the targeted site, including base substitution(s)
		Oligo-nucleotide-directed mutagenesis (+ SDN)	P, A, F, B	Oligo-nucleotide (DNA or DNA/RNA)	One or a few base substitutions, defined by donor template	Oligonucleotide donor may contain one or up to 4 centrally located base mismatches, which maybe converted to the target sequence with low efficiency. Creation of a nearby double-strand break by a SDN may increase the substitution efficiency
		Prime editing	P, A, F	No DNA template, but extended guide RNA functions as RNA template	One or a few base substitutions, defined by RNA donor template	Extended guide RNA is reverse transcribed into oligonucleotide DNA template for insertion. Specific substitution of all bases possible, even when several identical bases are present in the targeted region; relaxed PAM requirement
		Site-specific recombination	P, A, F, B	Oligo-nucleotide, flanked by recombinase recognition sequences	Replacement of short target sequence	Precise replacement of target sequence, flanked by recombinase recognition sequences, with donor sequence, often leaving one copy of the recognition sequences behind
	Substitution of contiguous sequence	Site-specific recombination	B	ssDNA or dsDNA flanked by homology arms	Replacement of donor sequence	Recombineering in bacteria using recombinase systems involving several proteins (e.g. λ Red system)
		Site-specific recombination	P, A, F	dsDNA, flanked by recombinase recognition sequences	Replacement of donor sequence	Sequence replacement by homologous recombination at target site defined by short recognition sequences (present in the genome or inserted previously), often leading to their duplication
		Site-directed nuclease (SDN)	P, A, F, B	dsDNA template with homology arms	Replacement of donor sequence	Sequence replacement by homologous recombination, following a double-strand break at the target site
	Sequence disruption ²	Insertion of disruptive sequence in coding sequence or promoter region	Site-specific transposition	B, (A)	dsDNA transposon with transposase sequence and/or other sequences	Insertion of donor sequence
Site-directed nuclease (SDN)			P, A, F, B	No	Deletion or insertion of random basepairs	Double-strand breaks generated by a SDN may be repaired by error-prone processes, resulting in short random deletions or insertions of 1 or a few bp, occasionally up to over 100 bp
Site-directed nuclease (SDN)			P, A, F, B	dsDNA template with homology arms	Sequence replacement by donor sequence	Sequence replacement by homologous recombination leading to insertion of reporter or selection gene, following a single double-strand break at the target site
Site-specific recombination			P, A, F, B	dsDNA, flanked by recombinase recognition sequences	Sequence replacement by donor sequence	Precise replacement of target sequence, flanked by recombinase recognition sequences, with donor sequence (e.g. reporter or selection gene), often leaving one copy of the recognition sequences behind

1 植物 (P)、ヒトを含む動物 (A)、真菌及び酵母 (F)、細菌 (B)

2 塩基配列の破壊は、タンパク質コード配列に停止コドンを生じさせる塩基置換 (配列補正を参照)、あるいはエクソンのスキップに起因する場合もある。

Purpose	Intended sequence alteration	NGT	Type of organism	Donor template	Modification	Comments
Sequence deletion	Deletion of a partial or whole gene sequence	Two site-directed nucleases or two sgRNAs	P, A, F, B	No	Sequence deletion	Use of a pair of SDNs or two sgRNAs targetted to the ends of the sequence to be deleted removes the intervening sequence
		Prime editing	P, A, F	Extended guide RNA includes a donor RNA template	Sequence deletion, defined by RNA donor template	Specific deletion of sequence up to 80 bp has been shown in human cells, relaxed PAM requirement
		Site-specific recombination	P, A, F, B	dsDNA, flanked by recombinase recognition sequences	Sequence deletion, defined by donor template	Precise replacement of target sequence, flanked by recombinase recognition sequences, with (shorter or empty) donor sequence, often leaving one copy of the recognition sequences behind.
Sequence insertion	Insertion of new sequence	Site-directed nuclease (SDN)	P, A, F, B	dsDNA template with homology arms	Sequence insertion, defined by donor template	Sequence insertion by homologous recombination (or other repair pathways), following a single double-strand break at the target site.
		Site-specific recombination	P, A, F, B	dsDNA, flanked by recombinase recognition sequences	Sequence insertion, defined by donor template	Precise insertion of donor sequence at target sequence, flanked by recombinase recognition sequences, often leaving one copy of the recognition sequences behind
		Prime editing	P, A, F	Extended guide RNA functions as RNA template	Sequence insertion, defined by RNA donor template	Insertion length limited by pegRNA sequence length (shown up to 44 bp insertion); relaxed PAM requirement
Gene regulation	Activation of gene transcription	DNA demethylation	P, A, B	No	Removal of methyl groups from gene promoter region	Demethylation may not be specific and can affect other genes
		Histone H3K27 acetylation	P, A, B	No	Enrichment of acetylated H3K27 at target site	Variable effect in different cells and different targets
		Transcription activation (CRISPRa)	P, A, F	No	H3K27 acetylation, H3K4 trimethylation	Duration of the effect is variable and not well understood
	Repression of gene transcription	DNA methylation	P, A, B	No	<i>De novo</i> addition of methyl groups to gene promoter region	Effect may not be specific and can affect other genes
		Histone H3K27 deacetylation	P, A, B	No	Removal of acetyl groups from H3K27	Variable effect in different cells and different targets
		Histone H3K4 demethylation	P, A, B	No	Removal of methyl groups from H3K4	Variable effect in different cells and different targets
		CRISPR interference (CRISPRi)	P, A, F	No	H3K9 & H3K27 trimethylation, ...	Duration of the effect is variable and not well understood
	RNA sequence correction	Substitution of a single base in mRNA	RNA base editing	A	Chemically stabilised DNA oligonucleotide or sgRNA	Deamination of adenosine or cytosine in RNA
Modulation of pre-mRNA splicing		RNA splice isoform manipulation	A	No	Exon in- or exclusion from mature mRNA	Exon inclusion or exclusion depends on the positioning of the splicing effector
RNA knockout	RNA degradation	RNA interference	P, A, B	No	Cleavage of RNA	Based on Type II (Cas9), Type III or Type VI (Cas13) CRISPR-Cas systems, some of which require a PAMmer oligonucleotide. Also chemically-stabilised oligonucleotides or small interfering RNA (siRNA) may have the same effects

表 8 様々な生物へ応用された NGTs の概要³⁹

New Genomic Technique	Plants	Animals	Fungi, Yeast	Bacteria
Homing endonuclease (HE)	X	X	X	X
Zinc Finger Nuclease (ZFN)	X	X	X	
Transcription activator-like effector nuclease (TALEN)	X	X		
CRISPR-Cas ^a	X	X	X	X
Oligo-directed mutagenesis	X	X	X	X
Base editing	X	X	X	X
Prime editing	X	X	X	
Site-specific recombination	X	X	X	X
Site-specific transposition		X		X
Epigenetic modifiers	X	X		X
Epigenetic activators/repressors	X	X	X	
RNA base editing		X		
Oligonucleotide-mediated RNA interference		X		
CRISPR-Cas-mediated PAM-dependent RNA interference		X		
CRISPR-Cas-mediated PAM-independent RNA interference	X	X		X
RNA splicing alteration		X		

^a Clustered regularly interspaced short palindromic repeats-associated protein

2. 精密発酵

(1) 精密発酵とは何か

近年「精密発酵」という言葉が使われるようになった。例えば、代替タンパク質産業の進展を目指す Good Food Institute (GFI)⁴¹は、「精密発酵」を以下のように定義している。

精密発酵は、微生物を「細胞工場」として利用し、特定の機能性成分を作る特殊な発酵方法であり、タンパク質、ビタミン、酵素、天然色素、脂肪などを作ることができ、植物性食品や細胞性食品の風味や食感、機能的特性などを向上させる高付加価値な原料を生産することができる。

現在では、発酵は、従来型の発酵、バイオマス発酵、及び精密発酵という三つの種類に分けて議論する論文が多く見られる（例えば、Teng et al., 2021）⁴²。

GFIでも、発酵由来の製品及び発酵を利用した製品を図6（38ページ）のように分類している。

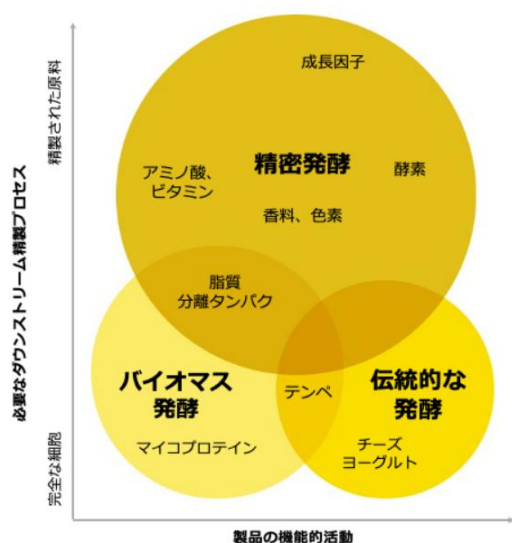


図6 発酵由来の製品及び発酵を利用した製品の論理図

（出典：2022年度業界動向レポートサマリー版（Good Food Institute））⁴³

⁴¹ GFIは代替タンパク質産業の進展を目指す国際的な非営利組織。2023年6月に（一社）細胞農業研究機構（JACA）と日本を含む地域で細胞性食品（いわゆる「培養肉」等）を含む代替タンパク質の分野を進展させるための協力関係を築くことで合意。JACAは、細胞性食品開発のスタートアップやアカデミア、国内の企業を含む計50以上（※2023年6月13日時点）の団体により構成される研究組織で、日本において細胞性食品の規制や業界ガイドラインについての提言を目指している。

⁴² EMBO reports 22: e52680 | 2021, <https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/embr.202152680>（2024.3.11アクセス）

⁴³ <https://gfi.org/wp-content/uploads/2023/01/2022-SOTIR-Summary-Japanese.pdf>（2024.3.11アクセス）

① 伝統的な発酵

植物由来の成分を無傷の生きた微生物の嫌気性消化を利用して生産する伝統的な発酵は、独特の風味と食感、特徴ある栄養組成を持つ製品をもたらす。例としては、味噌、納豆や真菌 *Rhizopus* を使用してダイズを発酵させて作るテンペ、様々な乳酸菌を使用して製造するチーズやヨーグルトがある。

② バイオマス発酵

バイオマス発酵では、多くの微生物の急速な成長と高いタンパク質含有量を利用して、大量のタンパク質を効率的に生産する。微生物バイオマス自体が成分として機能し、細胞を無傷又は最小限に処理した状態で、例えば、細胞を分解して消化率を向上させたり、更に高いタンパク質含有量に濃縮したりすることができる。このバイオマスは、食品の主成分として、又はブレンドした食品の主要成分の一つとして機能する。バイオマス発酵の例としては Quorn 社（イギリス）⁴⁴と MeatiFoods 社（米国）⁴⁵の製品がある。Quorn 社は真菌の一種である糸状菌 *Fusarium venenatum* を発酵させ、マイコプロテインを生産し、これを主成分とした製品「Quorn」を販売している。MeatiFoods 社は独自の菌糸体を成長させて、自然な繊維質の食感を持つ代替肉ブロックを生産している。

③ 精密発酵

特定の機能性成分を生産するための「細胞工場」として微生物宿主を使用する。野生型微生物を使用した食品関連製品（グルタミン酸 Na や酵素など）の工業規模での発酵は、それほど新しいものではない。発酵は古くから微生物を使ったアルコール飲料、加工食品の製造技術として、幅広く利用されてきた。そして近年、微生物を使って化学物質、バイオ燃料、酵素、タンパク質、医薬品を大規模に製造する工業的発酵として発展を遂げてきた。アミノ酸、核酸、有機酸、抗生物質等の生理活性物質、各種酵素、バイオポリマー原料、燃料の製造がその一例である。

これらの機能性成分は通常、高い純度を必要とするが、産生量は少ない。産生量を高めるために、製造の主体である微生物に対しては最適な微生物のスクリーニング技術、生産性を高めるための変異技術、培養法の最適化が試みられてきた。近年では遺伝子組換え技術や、ゲノム編集技術、代謝工学等が適用され、環境に負荷を与えない技術として、更なる発展が期待される技術領域となっており、これらの技術を伴う発酵方法として「精密発酵」(Precision Fermentation) という呼び名が定着しつつある。

一方これらの発酵技術は、植物ベースの製品又は培養肉の感覚特性及び機能的特性の改善にも利用されている。例としては、新規スタートアップ企業 Perfect Day 社（米国）のミルクタンパク質、ClaraFoods 社（米国）の卵タンパク質、

⁴⁴ <https://www.quorn.us/news/how-is-quorn-made-introduction-to-quorn-and-mycoprotein> (2023.11.10.アクセス)

⁴⁵ <https://meati.com/> (2023.11.10 アクセス)

Impossible Foods 社（米国）の代替肉の風味向上成分であるヘムタンパク質の生産などがある。精密発酵では、酵素、香料、ビタミン、天然色素、及び脂肪も生産することができる⁴³。

精密発酵という用語は新しい用語であるため分かりにくい、合成生物学と似た概念である。合成生物学は分子生物学や情報学、遺伝子工学、代謝工学などの融合領域で近年注目を集めている。生命システムをデザインしていく方法論であり、生命の起源を探る理学的な研究や有用物質生産を目指す工学的な応用がなされている。ただし合成生物学の適用先は製薬領域、エネルギー領域といった幅広い領域が想定されるが、「精密発酵」という用語は農産物で作られてきた食品・素材の生産を想定して使われることが多い。

なお精密発酵に見られるような微生物を用いた食品向けの分子を生産・抽出することは以前から行われてきた。例えば、チーズを作る際に牛乳を凝固させるために使われる仔牛由来のレンネットの主成分であるキモシンを微生物によって作らせ、抽出し利用する手法が開発され、1989年に欧州で実用化されて以降、世界で広く使用されている。

（2）精密発酵に注目が集まる背景

微生物を用いた精密発酵が注目されている背景として、「社会的背景」と「技術的な背景」が挙げられる。

社会的背景として、環境問題への関心の高まりがある。例えば、畜産が出す温室効果ガスは、GHG排出全体の14.5%を占めるともいわれており、これは自動車と航空機が出す量に匹敵する。また、カカオバターの生産においては、栽培のための森林伐採などの課題が存在する。さらに気候変動や世界情勢におけるリスクの中で、食料の安全保障が注目されている⁴⁶。このような中で、低環境負荷で持続可能な食品生産の在り方が求められている。

同時に、生物工学において技術的な発展が見られ、DNAを読み書きするコストが大幅に下がってきた。例えばゲノム解析コストは次世代シーケンサの登場によって2000年と比較して2021年段階で1/100,000以下に低下し、ゲノムを読むことが容易になってきた。さらにCRISPR/Cas9システムの登場により、DNA配列を細胞内で精度高く切断・導入することが可能になり、DNAを「書く」自由度が向上した。この技術の進展とあいまって、大規模なゲノムデータを分析する生物情報学が発展し、ゲノムデータの活用の知見が溜まるとともに合成生物学も発展してきた。

そのような中、これらの生物工学的・合成生物学的な技術を用いて微生物などから食品や素材を作ると、低環境負荷で、かつ「分子レベル」で従来の食品・農産物の成分と同じものができ、品質の高いアニマルフリー製品ができるという考えが生まれた。そこで持続可能な生産手段として「精密発酵」という用語が生まれ注目が集まってきた。

⁴⁶ Myers S.S. et al. Annu.Rev. Public Health 38.259-277(2017)

(3) 精密発酵によるイノベーション⁴⁷

合成生物学の発展により、食品成分を持続的に製造するための技術として精密発酵が出現したことは、食品発酵における極めて重要な発展である。精密発酵は、標的分子発酵生産のためのスターターとして遺伝子組換え微生物を使用するものであり、従来は動物・植物原料から調達されていたさまざまな食品原料の製造に精密発酵が利用される事例が増えている。そのような製品の例としては、前述の **Perfect Day** 社（米国）によるミルクタンパク質の他に、**Geltor** 社（米国）によるゼラチンの製造、**Evolva-Cargil** 社（スイス-米国）によるバニラ、サフラン及びステビオール配糖体、**Conagen** 社（米国）によるラクトフェリン及びヒト母乳が挙げられる。

一方、合成生物学は、標準化、モジュール部品の抽象化、製造から遺伝子工学への設計の切り離しなどの工学設計原則を組み込んで、遺伝子工学の設計、構築、テストを合理化することにより、遺伝子工学の延長として過去 20 年にわたって発展してきた。合成生物学は、他の分野と比較しても、遺伝的プログラミング、代謝経路工学、代謝工学、DNA 合成とアセンブリ、コンピュータ支援設計を含む学際的なアプローチである。それは、遺伝子工学において特定の遺伝子の単なる改変を超えて、標的機能を満たす新しい遺伝子構築物の作製にまで及ぶ。

現在のように精密発酵が多様な食品成分の生産への応用を拡大させていることは、合成生物学の進歩の直接の結果であり、DNA 配列決定と合成コストの削減、及び **CRISPR/Cas9** などのゲノム編集ツールの開発によって促進された。更なる進歩により、副産物の生成を最小限に抑えながら、「利用可能な全てのリソースが目的の化合物を生産するために転用される合成細胞工場」の設計に向けた進歩が可能になると考えられる。実際、合成生物学と精密発酵は、限られた耕地、気候変動、人口増加によって制限されている伝統的な農業や畜産業への人類の依存を減らし、持続的に世界に食料を供給し、食料安全保障を確保できるようにすると考えられている。

(4) 精密発酵の将来展望⁴²

酵素、ビタミン、天然食品着色料などの多くの食品添加物は、微生物の発酵によって生成される。例として、リボフラビン又はビタミン B2 は、*Ashbya gossypii* という真菌による発酵によって生成される。前述したチーズ製造用のレンネットの主な供給源は遺伝子組換え細菌である。ビタミン C は現在、桿菌 *Pantoja agglomerans* と同じく桿菌 *Aureobacterium* による発酵と、更なる化学合成の組み合わせによって生産されている。特定の化合物を大量に安価に生産するための標的発酵は、食品産業に革命をもたらしたが、多くの副産物も生成し、生産効率が低下し、下流の精製が困難になる。発酵は何千年もの間使用されてきたが、未開発の大きな可能性と無限の可能性が存在している。

⁴⁷ Recent developments in fermentation technology: toward the next revolution in food production(2022) <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821292-9.00026-1>

ここでは、精密発酵の将来展望についてまとめる。発酵由来の原料から新しいタンパク質源、型破りな原料を使用した食品まで、現在の食品システムでの応用が可能である。プロバイオティクスや多様な生理活性を有する発酵食品は、健康の観点からも望ましいものである。

また、バイオマス発酵により、効率的な代替タンパク質源として、タンパク質生産コストを削減し、何百万人もの人々を栄養失調から救うことができる可能性がある。また、家畜の需要が減少することによる環境へのプラスの影響もある。

微生物の合成能力を利用することにより、土地、水、動物の飼料を節約しながら、温室効果ガスの排出と汚染を削減することができる。また、精密発酵による特定の分子の利用により、食品業界や化学業界のニーズを満たすほぼあらゆる成分を安価に大規模に生産することが可能になる。

微生物は細胞工場として大きな可能性を示しているが、それは様々な「オミクス」ツールと合成生物学の導入を伴う精密発酵によってのみ可能になると思われる。

(5) 精密発酵の将来的課題

オーストラリア連邦科学産業研究機構（CSIRO）の Terefe は、精密発酵の課題について次のようにまとめている⁴⁷。

- ① 規模拡大、経済性及び持続可能性：食品添加物をターゲットとしている多くのスタートアップは、いまだ初期ステージが多く、規模拡大が課題となっている。
- ② 消費者受容：製品について天然と同じであれば、精密発酵由来製品であることは明示されないことから、消費者に信頼してもらうための教育や透明性が必要である。
- ③ 倫理的な懸念：合成生物学的なアプローチにおいては、遺伝的変異というよりは、「新しい生命の形成」に近いことから、倫理的懸念が生じる。また、環境への拡散や制御できない増幅などに対する安全性確保が必要である。伝統的な動植物由来製品を微生物に置き換えることから、特に途上国の農家への影響が課題であり、遺伝子源から派生する利益を共有する必要がある。
- ④ 規制面：規制に関しては、現在、検討が行われている国が多く、技術の発展に追いつかない懸念がある。
- ⑤ 大容量発酵と下流における加工ができる可能性：専門家の不足や商業設備の不足が、大量発酵生産のボトルネックとなる懸念があり、発酵設備への投資が望まれる。

大容量発酵設備について、グローバルニュートリショングループの武田氏は雑誌「食品と開発」において以下のように述べている⁴⁸。

現在、世界で稼働している発酵設備は 61,000 キロリットルとされ、そのうち食品用に使用され

⁴⁸ 代替たんぱく質開発における精密発酵の可能性 食品と開発 Vol.58 No.4

る容量はわずか 2,000 キロリットルである。微生物由来のタンパク質生産は、2030 年までに 1,000 万キロリットルの生産能力が必要になると試算されており、これは現在の生産能力の 100 倍以上である。どのような形であれ、今後はインフラが整備されることが必要不可欠となる。

一方、精密発酵による肉類似体の生産については課題も多い。細胞ベースの肉類似体の生産においては、生産コストが高いことから、まだ実験室での研究段階にあり、現状では植物由来の肉類似体に動物肉の風味と食感を与えるヘムタンパク質を発酵生産し、植物由来タンパク質に添加することに留まっている^{49,50}。

さらに微生物による代謝産物の生産にはまだまだ多くの課題が残っている。生物学における CRISPR 干渉の応用に関して、Peters ら (2016) は、*B. subtilis* の全ての必須遺伝子をロックダウンして表現型を調査し、そのデータが将来の目的のための不可欠な体系的な研究フレームワークを提供する⁵¹というゲノム編集技術の有用性を示した。一方で Bilal ら (2022) は、*Kluyveromyces marxianus* を例にとり、*K. marxianus* が産業バイオテクノロジーの堅牢なホストであるが、*K. marxianus* による関連する代謝産物産生のメカニズムに関する完全な洞察を得るためには、遺伝子、代謝経路、主要な酵素、及び調節に関する知識のギャップを理解することが重要であると述べている⁵²。

(6) 細胞農業について

「細胞農業」という用語は、2015 年に米国に本拠を置く第 3 セクターグループ New Harvest のエグゼクティブ ディレクターである Isha Data 氏によって初めて作られた。細胞農業というラベルの下に括られる潜在的な将来の製品には、組織工学によって生産された培養肉及び牛乳、組換え DNA 発酵技術によって生産された皮革と卵白などの動物由来製品が含まれる。

これらの例が示唆するように、細胞農業は通常、使用される技術形式に基づいて二つのタイプに分類される⁵³。

一つ目は「組織工学に基づく細胞農業」と呼ばれるものであり、生きている（又は最近死亡した）動物から細胞を採取し、これらの細胞を培養して細胞の増殖と分化を制御して形成を指示するものである。目的の細胞タイプ（肉の場合は筋肉と脂肪、革の場合は皮膚など）の量を増やす。

二つ目は「発酵ベースの細胞農業」と呼ばれるもので、典型的には微生物の遺伝子組

⁴⁹ High-level secretory production of leghemoglobin in *Pichia pastoris* through enhanced globin expression and heme biosynthesis *Bioresource Technology* Volume 363, November 2022, 127884

⁵⁰ 培養肉に関しては、2020 年 12 月に世界で初めて GOOD Meat 社がシンガポールで鶏肉の販売を開始し、2023 年には、Upside Food 社とともに、米国の規制当局から販売許可を得ている。

⁵¹ Peters, J. M. et al. (2016). A Comprehensive, Crispr-Based Functional Analysis of Essential Genes in Bacteria. *Cell* 165 (6), 1493–1506

⁵² Bilal M et al. (2022) Bioprospecting *Kluyveromyces marxianus* as a Robust Host for Industrial Biotechnology. *Front Bioeng Biotechnol.* 10:851768

⁵³ <https://new-harvest.org/what-is-cellular-agriculture/>(2024.3.11 アクセス)

換えが含まれる。組換え DNA を導入した酵母や藻類を作り、糖含有培地中で発酵させると有機分子が生成される。その後、それを加工して牛乳や皮革などの身近な製品をバイオファブリケーションすることができる。

発酵ベースの細胞農業に関しては、その歴史的系譜はチーズの製造に使用される工業的に生産されたレンネットにまで遡ることができる。レンネットは、1990年代以来、通常は屠殺された反芻動物から採取された酵素の代わりに、組換え DNA 技術を使用してきた。ただし、この技術を使用しているメーカーは細胞農業という用語を採用しておらず、新興細胞農業コミュニティ内で取り上げられていない。同様に、バニリンのようなフレーバー分子や油など、植物で自然に生成される一部の製品は発酵を使用して製造できるが、これらは現在まで一般に細胞農業として分類されていない。「発酵ベースの細胞農業」について、公表された資料では直接「精密発酵」との関連には触れられていないが、その内容は精密発酵であるとも考えられる。

(7) ゲノム編集技術を利用した発酵技術に係る推奨論文（レビューを含む）

表 9 に精密発酵とゲノム編集に関わる論文のリストを示し、それぞれ重要と思われる論文について概要をまとめた。

表 9 精密発酵とゲノム編集に関わる論文のリスト

No.	論文タイトル(和訳)	生産物	利用微生物	利用技術
1	<i>Yarrowia lipolytica</i> の遺伝子編集と遺伝子調節技術における進歩と機会		<i>Yarrowia lipolytica</i>	CRISPRi(CRISPR 干渉)、合成生物学、代謝工学、機能ゲノミクス
2	<i>Bacillus subtilis</i> からの増強メナキノン - 7 生産における進歩	ビタミン K7 (メナキン-7)	<i>Bacillus subtilis</i>	CRISPRi 及び CRISPRa(CRISPR 活性化) システム
3	微生物細胞工場における CRISPR の応用: ゲノム再構成から代謝ネットワーク再プログラミングまで		microbial cell factories	CRISPR、代謝工学、転写制御
4	メタン栄養細菌のゲノム編集: 潜在的な標的と利用可能なツール	タンパク質	好気性 <i>Methanotroph</i> (メタン栄養細菌)	ゲノム編集、代謝工学
5	Cas9 を用いたセルロース系加水分解物の利用促進のための <i>Issatchenkia orientalis</i> の代謝工学		<i>Issatchenkia orientalis</i>	Cas9 ベースのゲノム編集代謝工学
6	プロバイオティクス細菌のゲノム編集: 現状と展望	プロバイオティクス	プロバイオティクス微生物	CRISPR/Cas システム
7	産業バイオテクノロジーの堅牢な宿主としての生物探査 <i>Kluyveromyces marxianus</i>	工業的関連酵素、バイオエタノール、細胞タンパク質、プロバイオティクス、フルクトース、フラクトオリゴ糖、ワクチン	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	CRISPR/Cas 9、代謝工学
8	CRISPR-Cpf1 と組換えを組み合わせることで、大腸菌のゲノム編集を迅速かつ効率的に行う	L-ヒスチジン	<i>E. coli</i>	ダブルプラスミド遺伝子編集システム pEcCpf1/pcrEG、代謝工学
9	産業バイオテクノロジーにおける CRISPR 製のより環境に優しい製品とプロセス	L-トリプトファン、カロテノイド、クエン酸、1,3-プロパンジオール、フェニルエタノール、スクアレン	<i>Aspergillus niger</i> 、 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	CRISPR/Cas 9、酵素工学
10	Icewine 発酵中のワイン酵母におけるグリセロール取り込みの重要性を決定するための CRISPR/Cas9 ゲノム編集の使用		アイスワイン酵母 <i>S. cerevisiae</i> K1-V1116	CRISPR/Cas 9
11	CRISPR/Cas9 アプローチは、エタノールの生産を促進するために GPD2、FPS1、及び ADH2 を欠失させた Engineered <i>Saccharomyces cerevisiae</i> を構築した	バイオエタノール	<i>S. cerevisiae</i> SCGFA	CRISPR/Cas 9、代謝工学
12	CRISPR/Cas9 ゲノム編集による醤油醸造に関する比較遺伝子解析	醤油	<i>Aspergillus sojae</i>	CRISPR システム
13	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 細胞工場の開発のための CRISPR/Cas9 システム		<i>S. cerevisiae</i>	CRISPR/Cas 9 システム
14	<i>Corynebacterium glutamicum</i> における L-ヒスチジンの効率的な合成のためのコンビナトリアルタンパク質工学と代謝工学	L-ヒスチジン	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	

No.	論文タイトル(和訳)	生産物	利用微生物	利用技術
15	植物テルペノイド生産のための代謝摂動と合成生物学戦略 更新された概観	植物テルペノイド(ゲラニオール、ゲラニアル、ネラル、シトロネラ、シトロネラルなど)	<i>Lavandula angustifolia</i> (真正ラベンダー)、キンギョソウ(<i>Antirrhinum majus</i>)GPPS-SSU、 <i>E. coli</i> 、 <i>S. cerevisiae</i>	代謝工学
16	テルペノイド生産のためのシアノバクテリア宿主への植物ファミリーTPSのエンジニアリング	テルペノイド(イソプレネン、 β -フェランドレン、ファルネセン、アモルファジエン、スクアレンなど)	シアノバクテリア	代謝工学
17	γ -アミノ酪酸の最近の進歩:生理学的及び免疫機能、濃縮及び代謝経路	γ -アミノ酪酸(GABA)	<i>E. coli</i>	代謝工学
18	増強グロビン発現とヘム生合成による <i>Pichia pastoris</i> におけるレグヘモグロビンの高レベル分泌生産	タンパク質(レグヘモグロビン)	<i>Pichia pastoris</i> (メタノール資化酵母)	染色体にマルチコピー方式で LegH 発現カセットを組み込み
19	タンパク質生産のための <i>Aspergillus</i> の開発における最近の進歩	タンパク質	<i>Aspergillus</i>	ゲノム編集とハイスループットスクリーニングプラットフォーム

No.1

Advances and opportunities in gene editing and gene regulation technology for *Yarrowia lipolytica* (*Yarrowia lipolytica* の遺伝子編集と遺伝子調節技術における進歩と機会) Microbial Cell Factories volume 18, Article number: 208 (2019)

Yarrowia lipolytica は、様々な産業用途向けのバイオ製造プラットフォームとして登場している⁵⁴。この非従来型酵母の代謝工学は、従来の分子遺伝子工学ツールを通じて始まった。そして、CRISPR/Cas9、トランスポゾン、TALENなどの遺伝子/ゲノム編集システムの最近の進歩により、*Y. lipolytica* の合成生物学、代謝工学、機能ゲノミクスの応用が大幅に拡大している。*Y. lipolytica* で働いている CRISPR/Cas9 の最初の報告は、Schwartz らによって発表された⁵⁵。この研究では、sgRNA の発現が CRISPR/Cas9 活性を制限するものとして同定された。

Y. lipolytica における遺伝子発現の調節

CRISPR 干渉 (CRISPRi) は、N9A 及び H10A 変異を有する Cas9 (dCas840) と、特定の遺伝子を抑制の標的とする sgRNA を発現することによって、*Y. lipolytica* で開発された。相同組換えを改善するために、CRISPRi 抑制のために幾つかの標的が選択された (KU70、KU80、DNL4、MIH1、ZDS1、STT4、SIN3、TUB1 及び TUB4)。

Y. lipolytica における遺伝子編集と発現調節の今後の進展

⁵⁴ *Yarrowia lipolytica* は石油成分である n-アルカンや油脂などの脂質を炭素源およびエネルギー源として利用するユニークな能力を持つ酵母

⁵⁵ Schwartz CM et al.(2016) Synthetic RNA polymerase III promoters facilitate high-efficiency CRISPR-Cas9-mediated genome editing in *Yarrowia lipolytica*. ACS Synth Biol. 5:356-9.

より高い忠実度と代替の PAM 配列選好性を備えた改良された Cas9 バリエーションは、ゲノム全体の異なる配列を標的とするのに役立つ。これは、相同組換え装置コンポーネントを過剰に発現したり、NHEJ (non-homologous end joining、非相同末端結合) コンポーネントをダウンレギュレーションしたりすることで達成できる。

Y. lipolytica のゲノムスケール工学と機能ゲノミクス

機能ゲノミクス研究では、表現型と迅速に相関させることができる系統のかつゲノム全体の調和のとれた変異が必要である。Patterson ら⁵⁶は、534,000 を超える独立したエルメストランスポゾン(HTn;Addgene 113332)をゲノム全体にランダムに挿入した。エルメストランスポゾンライブラリーを使用して、増殖後の挿入変異体の存在量の変化を測定することにより、グルコース又はグリセロールの成長に必須、準必須 (LC) 及び非必須の遺伝子を分類した。その結果、*Y. lipolytica* の遺伝子のほぼ 22%が必須に分類され、9.3%が低信頼度必須であり、67.8%が非必須であった。

機能ゲノミクスとゲノムスケール工学の将来の進歩

代替基質における遺伝子必須性に関するノックアウトライブラリースクリーニングの拡張は、CRISPR/Cas9 の簡単な応用である。同様に、CRISPR/Cas9 ノックアウトライブラリーを他の有用な産生表現型のスクリーニングに拡張することが期待される。

No.2

Advances in Enhanced Menaquinone-7 Production From *Bacillus subtilis* (*Bacillus subtilis* からの増強メナキノン - 7 生産における進歩)

Front. Bioeng. Biotechnol., 19 July 2021 Sec. Synthetic Biology Volume 9 - 2021

Bacillus subtilis (枯草菌) から生合成されたビタミン K7 のサブタイプであるメナキノン-7 (MK-2) が、従来の化学合成技術よりも効率的に生産されることが証明された。相同組換えの従来の遺伝子編集法は生合成経路を改善するが、CRISPR/Cas9 は従来のゲノム編集技術の欠点を解決する可能性がある。これらの理由から、今後の研究では、MK-7 同化経路における CRISPRi (CRISPR 干渉) 及び CRISPRa (CRISPR 活性化) システムの遺伝子編集ツールの応用を調査する必要がある⁵⁷。

Bacillus subtilis の遺伝子編集ツールの将来展望

B. subtilis 遺伝子発現を調節するために、幾つかの標準化された技術が現在設計されている⁵⁸。マーカーのないこれらの遺伝子発現システムは、CRISPR/Cas9 システムが解決できる可能性がある。近年、*B. subtilis* の DNA 配列、調節因子、代謝物に関する情報を含む幾つかのデータベースがある。CRISPR/Cas9 システムは、この情報を探索して、任意の所望の遺伝子座位置で遺伝子を削除、変異、又は挿入することができる。このメ

⁵⁶ Patterson K, et al. (2018) Functional genomics for the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. *Metab Eng.* 48:184–96.

⁵⁷ Commichau, F. M. et al. (2014). Overexpression of a Non-native Deoxyxylulose-dependent Vitamin B6 Pathway in *Bacillus Subtilis* for the Production of Pyridoxine. *Metab. Eng.* 25, 38–49.

⁵⁸ Popp P.F. et al. (2017). The *Bacillus* BioBrick Box 2.0: Expanding the Genetic Toolbox for the Standardized Work with *Bacillus Subtilis*. *Sci. Rep.* 7, 15058. doi:10.1038/s41598-017-15107-z

カニズムにより、CRISPR/Cas9 システムは *B. subtilis* ゲノム編集のゲームチェンジャーになった。

Lu ら (2019) は、CRISPRa と CRISPRi の最適なターゲティングウィンドウを決定し、異なる遺伝子の発現を同時に活性化又は阻害する場所特異的 gRNA を設計することにより、システムを単一のマスターレギュレーターとして使用できることを証明した⁵⁹。彼らは、強力なプロモーターをスクリーニングして律速酵素発現を増加させ、フィードバック阻害を緩和して経路を最適化することができる、CRISPR 支援オリゴヌクレオチドアニーリングベースのプロモーターシャッフリング (OAPS) 戦略を適用した技術を開発している。生合成経路の適用に関しては、OAPS を dCas9 を介した多方向転写プログラムと組み合わせて、*B. subtilis* の BLA (Bacterial liquefying α -amylase、細菌液化型 α -アミラーゼ) 産生を 260 倍に増加させた。

今回の研究結果は更に、CRISPRi 及び CRISPRa 系が非常に効果的であり、単一遺伝子ロックダウン又は活性化及び全遺伝子機能スクリーニングに適用できることを証明した。生物学における CRISPR 干渉の顕著な応用は、Peters ら (2016) によって実験されており、*B. subtilis* の全ての必須遺伝子をロックダウンして表現型を調査し、そのデータは将来の目的のための不可欠な体系的な研究フレームワークを提供している⁶⁰。

Dong ら (2020) は、キシロースによって CRISPRi 系を誘導し、乳酸-n-ネオテトラオース (LNnT) の産生を更に増加させた。したがって、CRISPR/dCas9 システムは、MK-7 同化経路で最も効果的な遺伝子編集ツールの一つになるという仮説を立てている⁶¹。

No.3

Applications of CRISPR in a Microbial Cell Factory: From Genome Reconstruction to Metabolic Network Reprogramming (微生物細胞工場における CRISPR の応用:ゲノム再構成から代謝ネットワーク再プログラミングまで)

ACS Synth. Biol. 2020, 9, 9, 2228-2238

適切に設計された微生物細胞工場は、その持続可能で環境に優しい機能により、化学、製薬、食品業界で幅広い用途がある。最近、CRISPR 及び CRISPR-Cas システムが、原核細胞及び真核細胞でゲノム編集及び転写調節を行うための強力なツールとして開発された。したがって、これらのツールは、ゲノムを再構築するだけでなく、代謝ネットワークを再プログラミングすることによっても微生物細胞工場を構築するのに役立つ。このレビューでは、効率的な微生物細胞工場の建設における CRISPR 技術の最近の重要な進歩と潜在的な使用について要約している。さらに、CRISPR ベースのツールの改善とアップグレードに関する将来の展望についても説明している。

⁵⁹ Lu, Z. et al. (2019) CRISPR-assisted Multi-Dimensional Regulation for fine-tuning Gene Expression in Bacillus Subtilis [J]. Nucl Acids Res. 47 (7)

⁶⁰ Peters, J. M. et al. (2016). A Comprehensive, Crispr-Based Functional Analysis of Essential Genes in Bacteria. Cell 165 (6), 1493-1506

⁶¹ Dong, X. et al. (2020). Crispri-guided Multiplexed fine-tuning of Metabolic Flux for Enhanced Lacto-N-Neotetraose Production in Bacillus Subtilis. J. Agric. Food Chem. 68, 2477-2484

No.4

Genome Editing in Methanotrophic Bacteria: Potential Targets and Available Tools (メタン栄養細菌のゲノム編集:潜在的な標的と利用可能なツール)

Microbiology volume 91, pages613-630 (2022)

Methanotroph (好気性メタン栄養細菌) は、メタンを資化するユニークな酵素メタンモノオキシゲナーゼを持ち、メタンを成長基質とする。この代謝能力により、メタンを微生物細胞タンパク質及び様々な標的代謝産物の生産に利用することを目的としたバイオテクノロジー用途にとって、methanotroph は魅力的な対象となっている。これらのバイオテクノロジーへの現在の関心の高まりは、天然ガスの主成分であるメタンと嫌気性発酵プロセスで生成されるバイオガスの高度可用性によって推進されている。好気性 methanotroph は周囲温度と圧力でメタンを酸化するため、メタンを様々な付加価値製品に変換するための天然の細胞工場となっている。メタン利用に基づくバイオテクノロジーの更なる発展には、ゲノム編集技術を適用して、特性を改善した生産株を取得する必要がある。長い間、methanotroph の代謝工学の進歩は、それらの特定の代謝特性とこれらの細菌の取り扱いの困難さによって妨げられていた。本稿では、メタン栄養性細菌の代謝工学分野における最新の成果を概観し、これらの微生物のゲノム編集のための潜在的な標的と現在利用可能なツールを特定する。これらの技術は、バイオテクノロジーに関連する特性を持つ菌株を構築し、好気性 methanotroph の代謝特性の詳細な研究を行う可能性を開く。

No.5

Cas9-Based Metabolic Engineering of for Enhanced Utilization of Cellulosic Hydrolysates (Cas9 を用いたセルロース系加水分解物の利用促進のための *Issatchenkia orientalis* の代謝工学)

J. Agric. Food Chem. 2022, 70, 38, 12085-12094

過酷な環境条件に対して高い耐性を示す *Issatchenkia orientalis* (セルロース分解能の強い酵母) は、酸性条件下で発酵阻害剤を含むセルロース加水分解物から燃料及び化学物質を製造するための有望な代謝工学宿主である。*I. orientalis* の遺伝的ツールは存在するが、それらは栄養要求性変異体を必要とするため、宿主株の選択は限られている。著者らは、任意の *I. orientalis* 株を操作するための薬剤耐性遺伝子 (cloNAT) ベースのゲノム編集法を開発し、キシロース発酵のために様々なソースから分離された *I. orientalis* 株を設計した。具体的には、*Scheffersomyces stipitis* のキシロースリダクターゼ、キシリトールデヒドロゲナーゼ、及びキシロキナーゼを、Cas9 ベースのゲノム編集を介して、四つの *I. orientalis* 株(SD108、IO21、IO45、及び IO46)の目的の染色体遺伝子座に統合した。得られた菌株(SD108X、IO21X、IO45X、及び IO46X)は、pH 調整や窒素源がなくてもセルロース系及びヘミセルロース系の加水分解物から効率的にエタノールを生産した。それらは異なる発酵能力を示したため、セルロース系加水分解物

を使用して燃料及び化学物質を製造するには、宿主 *I.orientalis* 株の選択が重要であった。

No.6

Genome editing of probiotic bacteria: present status and future prospects (プロバイオティクス細菌のゲノム編集:現状と展望)

Biologia volume 77, pages1831-1841 (2022)

プロバイオティクス微生物のエピジェネティックな特徴は、腸内の微生物叢の機能的役割を定義し、それらの有益な特性の探索を更に容易にする。

分子生物学とゲノミクスの分野での発展は、微生物工学への道を開いた。CRISPR-Cas などのゲノム編集ツールの出現は、免疫応答の強化、抗菌特性、及びバイオ医薬品への応用のためのプロバイオティクスにおける遺伝子工学の新しい可能性に革命をもたらした。本稿では、腸内細菌叢のエピゲノム工学におけるゲノム編集の現状と、各種 CRISPR-Cas システムの役割について議論する。CRISPR/Cas システムのアプリケーションは、遺伝子発現を調節し、所望の代謝産物を生成するためのプロバイオティクス微生物を改変するために利用することができる。これらの技術は、代謝工学への新しいアプローチを明らかにし、不十分な生合成経路の解明が期待できる。さらに、これらのツールの将来の見通しは、腸内細菌叢と宿主の間の相互作用を調べるために適用することができ、したがって、新しい治療法の開発に貢献することができる。

No.7

Bioprospecting *Kluyveromyces marxianus* as a Robust Host for Industrial Biotechnology (産業バイオテクノロジーの堅牢なホストとしての生物探査 *Kluyveromyces marxianus*)

Front Bioeng Biotechnol. 2022 Apr 20:10:851768

Kluyveromyces marxianus は、ケフィア穀物、発酵乳製品、砂糖産業の下水、植物、サイザル麻の葉などの多様な生息地から一般的に分離されている、従来とは異なる新しい食品グレードの酵母である。最速の成長、耐熱性、幅広い基質スペクトル（すなわち、ヘミセルロース加水分解物、キシロース、1-アラビノース、d-マンノース、ガラクトース、マルトース、砂糖シロップ糖蜜、セロビオース、及び酪農産業）などの有益な形質のユニークなセットにより、この酵母は様々な食品及びバイオテクノロジー産業での用途にとって特に魅力的な宿主となっている。*Saccharomyces cerevisiae* とは対照的に、*K. marxianus* 株のほとんどは明らかにクラブツリー陰性⁶²であるか、好気性呼吸特性を持ち、好気性アルコール発酵に耐える可能性は低い。これは、望ましくない副産物としてのエタノールの形成が好気性条件下で回避され得るので、バイオマス形成に関連

⁶² 酵母の酸素呼吸によってグルコースの一部が炭酸ガスと水になることをパスツール効果と呼び、グルコースの存在によって酸素呼吸が抑制され、アルコール発酵が起きる現象をクラブツリー効果と呼ぶ。またクラブツリー効果は絶対好気条件下でのアルコール発酵の出現と定義される。

する生成物の大規模生合成にとって望ましい表現型である。ここでは、*K. marxianus* が、優れた天然の特徴を持つ様々な工業的関連酵素、バイオエタノール、細胞タンパク質、プロバイオティクス、フルクトース、フラクトオリゴ糖、ワクチンを生産するための堅牢な酵母細胞工場としての潜在的な用途に関する現在の洞察について議論する。さらに、バイオテクノロジーの改良と新しいバイオテクノロジーツールの開発、特に *K. marxianus* の CRISPR/Cas9 支援による精密ゲノム編集について説明する。最後に、現代のバイオテクノロジー、食品、飼料、製薬業界における *K. marxianus* の利用範囲を拡大するための進行中の課題、結論、及び将来の見通しも徹底的に精査されている。結論として、*K. marxianus* による関連する代謝産物産生のメカニズムに関する完全な洞察を得るためには、遺伝子、代謝経路、主要な酵素、及び調節に関する知識のギャップを理解することが重要である。

No.8

Combining CRISPR - Cpf1 and Recombineering Facilitates Fast and Efficient Genome Editing in *Escherichia coli* (CRISPR/Cpf1 と組換えを組み合わせることで、大腸菌のゲノム編集を迅速かつ効率的に行う)

ACS Synth. Biol. 2022, 11, 5, 1897-1907

CRISPR ベースのゲノム編集技術は、低コスト、高効率、簡単な操作、及び複数の機能の利点により、様々な微生物で広く使用されている。本研究では、CRISPR/Cpf1 をベースに、効率的かつ高速なダブルプラスミドゲノム編集システム pEcCpf1/pcrEG を *Escherichia coli* で構築した。まず、100 種類の PAM 領域において、遺伝子ノックアウトと組み込み効率を検証した。その後、形質転換法を最適化し、このシステムの遺伝子ノックアウト又は遺伝子組み込みの効率を約 21% に向上させ、*E. coli* BL3 (DE1) のゲノムに長尺断片を組み込むことができた。また、プラスミド pEcCpf1 の相同組換え系を置き換えることでシステムを最適化し、90 スクレオチド一本鎖プライマーを用いて、正確な一点突然変異、ターミネーター挿入、ショートシーケンス挿入、又は遺伝子ノックアウトを高効率で実行できる pEcCpf7H を実現した。さらに、複数の遺伝子を同時に編集することができる。次に、これら二つのシステムを他の *E. coli* 株で実証した。最後に、アプリケーションとして、このシステムを使用して、操作された株における L-ヒスチジンの合成経路を設計した。振とうフラスコ中の L-ヒスチジンの力価は 7.16 g/L に達し、値は出発株と比較して 84.1% 増加した。したがって、本研究は大腸菌の代謝工学に有効なツールを提供した。

No.9

CRISPR-Made Greener Products and Processes in Industrial Biotechnology

(産業バイオテクノロジーにおける CRISPR 製のより環境に優しい製品とプロセス)

Genetic Engineering and Biotechnology News (GEN) April 3, 2023

CRISPR/Cas9ゲノム編集は、その速度、精度、汎用性により、工業微生物生産と化学合成に不可欠なツールに急速になりつつある。CRISPR は、酵素工学と経路改変を通じて産業バイオテクノロジーの効率を大幅に向上させることができ、既に応用されている。

CRISPR:ゲームを変える (game changer) ツール

CRISPR/Cas9ゲノム編集技術の商業市場への参入により、産業微生物学において不可欠なツールとなっている。平均して、細菌ゲノムには約 30 の生合成遺伝子クラスターが含まれており、30 の異なる天然物をコードしている可能性がある。CRISPR/Cas9 遺伝子工学は、工業生産に有効に使用できる微生物株の数を増やし、それらの代謝経路の多くを大規模生産に適した効率にすることによって、ヒトが利用できるこれらの製品の範囲を拡大している。産業バイオテクノロジーにおけるこの技術の可能性は、精度と汎用性を兼ね備えており、細胞内の複雑な細胞プロセスを様々な方法で操作できるため、無限の可能性を秘めている。

主要な CRISPR/Cas9 修飾生合成経路

CRISPR/Cas9ゲノム編集は、有機及び無機化学物質、及び宿主細胞によって自然に産生されない新規製品の生合成を改善する強力な方法である。CRISPR 修飾細胞を使用して製造されているトップ化合物には、カロテノイド、クエン酸、1,3-プロパンジオール、フェニルエタノール、スクアレンなどがある。

カロテノイドは、様々な食品や植物に自然に含まれる黄色、オレンジ、赤の色素である。CRISPR/Cas 変異ライブラリーは、カロテノイド産生におけるより効率的な酵素変異体を特定するために使用され、酵母におけるカロテノイド産生が 11 倍改善された⁶³。クエン酸は柑橘系の果物に自然に含まれているが、酸性化剤や香料として使用するために毎年数十億トンが製造されている。CRISPR/Cas9 は、主力生産微生物である *Aspergillus niger* の生産効率を高めるために使用されている。

CRISPR はまた、ポリマー製造の重要な構成要素である 1,3-プロパンジオールの生産を強化し、様々な工業製品や溶媒として使用されている。CRISPR を使用して、この化合物の産生は、腸内細菌科のグラム陰性桿菌、*Klebsiella pneumoniae* においてほぼ 50% 増加した。

フェニルエタノールは、食品や化粧品に使用される香りのよいアルコールである。CRISPR は、酵母のストレス耐性株によるこの花の香りのフェニルエタノールの過剰発現を設計するために使用されている。同じ戦略を使用して、このホストで他の芳香族化合物を生成することができる⁶⁴。

サメ肝油に大量に含まれる化合物であるスクアレンは、化粧品の成分であり、ワクチンのアジュバントとして使用される。CRISPR は、グルコースからスクアレンを高効率で生産するように細菌を改変するために使用され、より持続可能な生産をサポートして

⁶³ Jakočiūnas, T. et al. (2018). CasPER, a method for directed evolution in genomic contexts using mutagenesis and CRISPR/Cas9. *Metabolic Engineering*, 48, pp.288–296

⁶⁴ Li, M. et al. (2021). CRISPR-mediated multigene integration enables Shikimate pathway refactoring for enhanced 2-phenylethanol biosynthesis. *Biotechnol Biofuels* 14, 3 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13068-020-01852-3>

いる⁶⁵。

CRISPR を用いた酵素工学

産業バイオテクノロジーにおける CRISPR の主な用途の一つは、酵素工学である。CRISPR-guided DNA ポリメラーゼは、突然変異誘発のためにヌクレオチドを標的にするために使用でき、非常に高い標的変異率を提供し、酵素機能に有益である可能性のある様々な新規変異を導入する。このアプローチは *E. coli* で使用されており、アミノ酸合成に関与する新しい酵素のエンジニアリングにより、L-トリプトファン⁶⁶の生産が約 40% 増加した⁶⁶。

CRISPR は、遺伝子を削除、ノックダウン、又は過剰発現することにより、代謝経路を最適化するためにも使用できる。画期的な例では、CRISPR/Cas9 を使用して酵母の脂肪酸生産経路の八つの遺伝子を欠失させ、数日で遊離脂肪酸の生産を 30 倍に増加させた。

他のアプローチには、様々な化合物の産生を促進するために使用されてきた転写抑制 (CRISPRi) を使用して競合する経路をノックダウンすることが含まれる。このアプローチの利点は、標的とする遺伝子の組み合わせに応じて抑制の強さを変更できることである。

同様に、転写活性化 (CRISPRa) を使用して遺伝子をアップレギュレートし、産生を増加させることができる。CRISPRi 法と CRISPRa 法はどちらも、細胞代謝における複数の経路を同時に微調整できる *multiplex engineering* に非常に有用である。

多くの企業がこれを利用し始めている。例えば、米国を拠点とする Ginkgo Bioworks 社は、製薬会社、食品メーカー、化粧品会社と提携して、この強力な技術の生合成の可能性を実現するため、CRISPR/Cas9 により幅広い目的で細胞を改変している。

No.10

The Use of CRISPR/Cas9 Genome Editing to Determine the Importance of Glycerol Uptake in Wine Yeast During Icewine Fermentation (Icewine 発酵中のワイン酵母におけるグリセロール取り込みの重要性を決定するための CRISPR/Cas9 ゲノム編集の使用)

Fermentation 2019, 5(4), 93

Icewine juice に含まれる高濃度の糖は、発酵する *Saccharomyces cerevisiae* に強いストレスを引き起こし、細胞が水分を失い、サイズが縮小する。酵母は、グリセロールを合成するための高浸透圧グリセロール応答を活性化することによってグリセロールの内部濃度を増加させ、そしてグリセロールを環境から細胞内に活発に輸送することによ

⁶⁵ Park, J. et al. (2019). Heterologous Production of Squalene from Glucose in Engineered *Corynebacterium glutamicum* Using Multiplex CRISPR Interference and High-Throughput Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(1), pp.308–319.

⁶⁶ Wen, X. et al. (2017). Production of L-tryptophan by Microbial Fermentation. *Progress in Applied Microbiology*.

て、このストレスに対抗することができる。H⁺/グリセロールシンポーター⁶⁷である St11p は、浸透圧ストレス誘導にもかかわらず、グルコース抑制及び不活性化であると以前に特徴付けられていた。Icewine 発酵における St11p の役割を更に調査するために、STL9 を欠く一般的な Icewine 酵母 *S. cerevisiae* K1-V1116 の株を構築するための迅速な単一プラスミド CRISPR-Cas1 ベースのゲノム編集法を開発した。

Icewine 発酵では、 Δ STL1 株は親株と比較して発酵性能が低下し、グリセロールと酢酸の生産が増加した。これらの結果は、St11p によるグリセロールの取り込みが、グルコースのダウンレギュレーションの可能性にもかかわらず、K1-V1116 の浸透圧的に困難な Icewine 発酵において重要な役割を果たすことを示している。

この研究は、CRISPR/Cas9 ゲノム編集が、市販のワイン酵母 K1-V1 における St1116p によるグリセロール取り込みの役割を研究するための効果的なツールであることを示している。開発された CRISPR/Cas9 ゲノム編集法は、通常、実験用酵母株でのみ使用される時間とコストを節約する戦略を採用することにより、迅速な株工学的方法を可能にする。K1-V1116 は、ゲノム配列情報やワイン醸造学的性質が不足しているにもかかわらず、設計が困難ではないことがわかった。Icewine 発酵における改変された K1-V1116 欠損 STL1 の使用は、St11p が過酷な高浸透圧条件下での浸透圧耐性に寄与するという考えを支持する重要なデータを生成した。

No.11

CRISPR/Cas9 Approach Constructed Engineered *Saccharomyces cerevisiae* with the Deletion of GPD2, FPS1, and ADH2 to Enhance the Production of Ethanol

(CRISPR/Cas9 アプローチは、エタノールの生産を促進するために GPD2、FPS1、及び ADH2 を欠失させた Engineered *Saccharomyces cerevisiae* を構築した)

J Fungi (Basel). 2022 Jul; 8(7): 703

グリセロールと有機酸の過剰な蓄積は、工業用エタノール生産の過程でエタノール含有量の減少を引き起こした。本研究では、CRISPR/Cas9 アプローチを用いて、エタノール生産の改善のために、GPD2、FPS1、及び ADH2 の欠失による *Saccharomyces cerevisiae* 工学株を構築した。RNA シーケンシング及びトランスクリプトーム解析を用いて、遺伝子発現に対する遺伝子欠失の影響を調べた。その結果、GPD2、FPS1、ADH2 を同時に欠失させた *S. cerevisiae* SCGFA は 23.1 g/L のエタノールを生成し、50 g/L のグルコースを基質とした野生株と比較して 0.18% 増加した。SCGFA 株は、グルコース 1g あたり 0.462g のエタノール変換率を示した。また、SCGFA 中のグリセロール、乳酸、酢酸、コハク酸の含有量は、野生株と比較してそれぞれ 22.7%、12.7%、1.19%、8.1%、19.9%、20.7% 減少した。Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 分析によると、アップレギュレーションされた遺伝子濃縮は、解糖系、脂肪酸、及び炭素代謝が SCGFA のエタノール生産に影響を与える可能性を示した。

⁶⁷ シンポート (symport) は、細胞膜などのリン脂質膜にある膜貫通型タンパク質を介して、複数の分子またはイオンを同方向に輸送する機構である。共輸送ともいい、シンポートを行う膜タンパク質をシンポーター (symporter) または共輸送体という。

た。工業株 SCGFA はバイオエタノールの生産において大きな可能性を秘めていた。

No.12

CRISPR/Cas9 genome editing for comparative genetic analysis related to soy sauce brewing in *Aspergillus sojae* industrial strains (CRISPR/Cas9 ゲノム編集による醤油醸造に関する比較遺伝子解析)

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, Volume 87, Issue 10, October 2023, Pages 1236-1248

Aspergillus sojae は伝統的に醤油醸造に使用されてきた。*A. sojae* では遺伝子組換え技術が確立されているが、様々な産業株への適用は困難である。これまでも *A. sojae* の遺伝子改変のための CRISPR/Cpf1 システムを開発してきたが、汎用性の高い改変のためには別のゲノム編集システムが必要であった。また、*A. sojae* では CRISPR システムを用いた反復的な遺伝子改変は確立されていない。本研究では、CRISPR/Cas9 システムを用いて、*A. sojae* の突然変異誘発、遺伝子欠失/組込み、染色体領域の大量欠失を示した。また、ゲノム編集プラスミドを強制的にリサイクルする方法による反復的な遺伝子改変にも成功した。また、醤油醸造に関連する遺伝子組換えの影響が *A. sojae* 工業株間で異なることを明らかにした。これらの結果から、CRISPR/Cas9 システムを用いた本稿の手法は、*A. sojae* の遺伝子改変に有効なツールであることが示された。

No.13

CRISPR/Cas9 Systems for the Development of *Saccharomyces cerevisiae* Cell Factories (*Saccharomyces cerevisiae* 細胞工場の開発のための CRISPR/Cas9 システム)

Front. Bioeng. Biotechnol., 19 November 2020 Sec. Synthetic Biology Volume 8 - 2020

Saccharomyces cerevisiae 合成酵母細胞工場は、大規模な工業用化学薬品から高価値の医薬品化合物に至るまで、様々な製品を持続的に供給するための優れたソリューションを提供する。合成生物学は、代謝経路が集中的に研究され、操作される分野である。クラスター化された CRISPR/Cas9 技術は、合成生物学のための最先端のゲノム編集技術として登場した。最近、様々な CRISPR/Cas9 システムの使用が、一塩基分解能編集、多重ゲノム編集、転写調節、及びゲノムスケールの修飾のための酵母工学の分野にまで拡大されている。このようなシステムの進歩は、より少ない労力と時間で加速された微生物工学につながり、細胞遺伝学と生理学の理解も高めた。

CRISPR/Cas9 ベースのツールは、遺伝子操作や合成生物学のための革新的で汎用性の高いプラットフォームと考えられている。

gRNA の設計と発現は、遺伝子間の編集効率に深刻な影響を与える重要な要素である。考えられる理由の一つは、gRNA の二次構造の形成である可能性がある。通常、幾

つかの gRNA を新しいターゲットについてテストする必要がある。しかし、各 gRNA の標的効率を検証することは、時間のかかるプロセスである。予測可能な精度は、更なる改善が必要である。幾つかのソフトウェア、ルール、アルゴリズムが確立されている (例えば、Zhang Lab Guide 設計リソース⁶⁸、CRISPR direct⁶⁹、CHOPCHOP、及び酵母独自の gRNA ツール⁷⁰など)。

CRISPR システムの更なるアプリケーションを制限する別の重要な問題は、特にマルチサイト統合とゲノムスケールエンジニアリングにおける酵母の形質転換効率である。サイズが大きく、採用されるドナーDNA の数が増えると、同時に細胞に入る可能性が低くなり、ゲノム編集のための修復テンプレートの使用が制限される可能性がある。また、より多くのドナーDNA が細胞に入ることができれば、CRISPR によって促進される組み込み効率を高めることができることも明らかになった。報告された HI-CRISPR と、短く追跡可能な統合細胞バーコード(MAGESTIC)を用いたマルチプレックス化された正確なゲノム編集は、どちらも HDR ドナーを一つのプラスミド内の gRNA カセットと結びつけ、高効率で DNA 送達を促進するための有用な戦略を提供した。

CRISPRa に現在採用されている活性化ドメインは、最大 1,000 倍までアップレギュレートされた強度を持つ誘導性プロモーターと比較して、限られた活性化しか提供できなかった⁷¹。したがって、より効率的な活性化ドメインをスクリーニング又は操作するか、遺伝子を活性化するための新しい戦略を開発する必要がある。

制限はあるが、CRISPR システムの開発は間違いなくゲノム操作の新時代を生み出した。セルフファクトリーエンジニアリングの DBTL サイクル (合成生物学の考え方) では、構築ステップに時間がかかるが、CRISPR テクノロジーによりこのプロセスが加速した。CRISPR/Cas9 システムを使用すると、1 週間で 8 回のゲノム編集を行うことができるが、以前は完了するまでに数週間かかっていた。CRISPR システムは、ゲノムスケールの代謝モデルから学んだ新しい設計原則や自動ロボットシステムからの効率的な処理オプションと統合すると、将来、より強力なツールになる可能性がある。

No.14

Combinatorial Protein Engineering and Metabolic Engineering for Efficient Synthesis of l-Histidine in *Corynebacterium glutamicum*

(コリネバクテリウム・グルタミカムにおける l-ヒスチジンの効率的合成のためのコンビナトリアルタンパク質工学と代謝工学)

ACS Synth. Biol. 2023, 12, 4, 1275-1286

⁶⁸ Bao Z. et al. (2015). Homology-integrated CRISPR-Cas (HI-CRISPR) system for one-step multigene disruption in *Saccharomyces cerevisiae*. *ACS Synth. Biol.* 4 585–594.

⁶⁹ Billingsley J. M. et al. (2016). Technology development for natural product biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Curr. Opin. Biotechnol.* 42 74–83.

⁷⁰ Biot-Pelletier D., Martin V. J. (2016). Seamless site-directed mutagenesis of the *Saccharomyces cerevisiae* genome using CRISPR/Cas9. *J. Biol. Eng.*

⁷¹ Lian J. et al. (2018b). Recent advances in metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*: new tools and their applications. *Metab. Eng.* 50 85–108. 10.1016/j.ymben.2018.04.011

本研究では、L-ヒスチジンの効率的な生合成のための *Corynebacterium glutamicum* 組換え株を構築した⁷²。まず、L-ヒスチジンフィードバック阻害を緩和するため、ATP ホスホリボシルトランスフェラーゼ変異体 HisG を T235P-Y56M 分子ドッキングとハイ スループットスクリーニングに基づいて構築し、0.83 g / L の L-ヒスチジンが蓄積され た。次に、HisG を含む律速酵素を過剰発現させた T235P-Y56MPRPP シンテターゼと競 合経路の *pgi* 遺伝子をノックアウトし、L-ヒスチジン産生を 1.21 g / L に増加させた。 さらに、活性酸素種レベルを低下させ、ATP の供給を強化することによってエネルギー 状態を最適化し、振とうフラスコで 3.10 g/L の力価に達した。最終的な組換え株は、抗 生物質や化学誘導剤を添加することなく、3 L バイオリアクターで 5.07 g/L の L-ヒスチ ジンを生産した。全体として、この研究は、コンビナトリアルタンパク質工学と代謝工 学による L-ヒスチジン生合成のための効率的な細胞工場を開発した。

No.15

Metabolic Perturbation and Synthetic Biology Strategies for Plant Terpenoid Production—An Updated Overview (植物テルペノイド生産のための代謝擾動と合成生 物学戦略 更新された概観)

Plants 2021, 10(10), 2179

テルペノイドは、一次代謝(フィトール、植物ホルモンのジベレリン、カロテノイド 色素など)と強い関連があるが、他のテルペノイドは植物の一般的な二次代謝産物であ る。

近年、テルペン生合成に関わる酵素や調節因子をコードする遺伝子が発見され、その ゲノム位置や発現様式、長期進化などが調べられている⁷³。テルペノイド骨格は、IPP (イソペンテニルピロリン酸) とその異性体ジメチルアリルピロリン酸 (DMAPP) の 8 つの前駆体から合成される。テルペン生合成は、二つの独立した生合成経路を含む複雑 なメカニズムである。細胞質メバロン酸 (MVA) 経路は、ほとんどの真核生物 (全ての 哺乳類、植物の細胞質ゾル及びミトコンドリア、真菌)、古細菌、及び一部の細菌に 見られる。

植物におけるテルペノイドの代謝工学

MEP 経路の一つの鍵となる遺伝子、すなわち DXS と DXR が過剰発現するトランスジ ェニックタバコが作出され、その結果、それぞれモノテルペノイドとセスキテルペノイ ドのリナロールとカリオフィレンの含有量が増加した。*Agrobacterium tumefaciens* に よるトランスジェニックハッカタの開発は、イソペンチルジホスファテ (IPP) イソメ ラーゼ及びリモネン合成酵素遺伝子による形質転換を媒介し、高レベルのテルペノイド 産生をもたらした。*Lavandula angustifolia* (真正ラベンダー) における HMG CoA レ ダクターゼの過剰発現は、高レベルのリナロール産生をもたらした。別の研究では、キ

⁷² コリネ型細菌、*C. glutamicum* は L-グルタミン酸を培地中に排出する微生物として 1950 年代に日 本で分離された。

⁷³ Noriega, P. Terpenes in Essential Oils: Bioactivity and Applications; IntechOpen: Rijeka, Croatia, 2020.

ンギョソウ(*Antirrhinum majus*)GPPS-SSU がトマト果実で過剰発現され、ゲラニオール、ゲラニアル、ネラル、シトロネラ、シトロネラルなどのモノテルペンが産生された。

別の研究では、*Perilla frutescens* (エゴマ) リモネンシンターゼがタバコ植物に導入され、トランスジェニック植物の色素体と細胞質ゾルでリモネン形成が検出された。ペチュニアでは、S-リナロール合成酵素の過剰発現により、新たに形成されたリナロールのモノテルペン産生がもたらされた。

テルペノイドの合成生物学

合成生物学に基づく高価値の化学生産の最もよく知られている例は、96年間の最適化の後、工学的 *Escherichia coli* とパン酵母である *Saccharomyces cerevisiae* で合成された抗マラリア薬アルテミニシンの前駆体であるアルテミニン酸である。さらに、*E. coli* にアビーズグランディス GPP 合成酵素及びハッカスリモネン合成酵素遺伝子を共発現させることにより、特殊なリモネン及びペリリルアルコール製造システムを確立した。最適な遺伝子調節と成長環境により、35 mg/L のリモネン力価が得られた。

No.16

Engineering plant family TPS into cyanobacterial host for terpenoids production

(テルペノイド生産のためのシアノバクテリア宿主への植物ファミリーTPS のエンジニアリング)

Plant Cell Reports volume 41, pages1791-1803 (2022)

テルペノイドは、二次代謝産物として植物によって自然に合成され、多様で複雑な構造を持ち、バイオエネルギー、食品、化粧品、医薬品に複数の用途がある。これにより、イソプレン、 β -フェランドレン、ファルネセン、アモルファジエン、スクアレンなどのテルペノイドの生産は価値があり、それらの産業需要は植物源だけでは満たすことができない。それらは、植物に存在するメチルエリスリトールリン酸経路 (MEP) 及びメバロン酸経路 (MVA) を介して合成される。遺伝子工学の出現と合成生物学と代謝工学における最新の成果により、テルペノイドの微生物合成が可能になった。シアノバクテリアは、太陽光と CO₂ を利用して、このための有望な宿主であることを示している。シアノバクテリアは、テルペノイド合成の前駆体を生成するための MEP 経路を持っている。テルペノイド合成は、MEP 経路を過剰発現し、MVA 経路遺伝子を操作することによって増幅することができる。所望のテルペノイドによれば、植物界に特有のテルペン合成酵素をシアノバクテリアに取り込まなければならない。細胞工場として使用する生物を設計するには、細胞の成長が妨げられたり、代謝フラックスが乱れたりするなどの欠点がある。このレビューでは、MEP 経路と MVA 経路の比較、これらの経路の課題とともに過剰に表現するための戦略を示している。

No.17

Recent advances of γ -aminobutyric acid: Physiological and immunity function, enrichment, and metabolic pathway (γ -アミノ酪酸の最近の進歩:生理学的及び免疫機能、濃縮及び代謝経路)

Front. Nutr., 22 December 2022 Sec. Nutrition and Food Science Technology
Volume 9 – 2022

γ -アミノ酪酸 (GABA) の微生物発酵の初期の研究は、主に濃縮 GABA の生産に大腸菌を使用することに焦点を当てていた。近年、*Lactobacillus* (乳酸菌)、*Aspergillus* (カビ)、*Saccharomyces* (酵母) などのより安全な微生物が GABA 食品の製造に広く使用されている。微生物発酵によって得られた GABA の含有量は、植物に含まれる濃度よりも高く、0.191~22.373 g/L の範囲であり、*Monascus* (ベニコウジカビ) 発酵が最高の収量を記録した。

グルタミン酸デカルボキシラーゼ (GAD) は、5'-リン酸ピリドキサーール (PLP) 依存性酵素ファミリーに属し、L-Glu の GABA への脱炭酸を触媒する GABA 合成の重要な酵素である。GAD が GABA に触媒するプロセスは、3段階に分けることができる。

(1) 基質の非存在下では、 ϵ -NH₂ シッフ塩基と共有結合して内部アルデヒドイミン構造を形成する。

(2) L-Glu が触媒活性ポケットに入ると、PLP と α -NH₂ が結合して外部アルデヒドイミンを形成し、それによって脱炭酸反応を活性化してキノン中間体を形成する。

(3) キノン中間体は構造的に不安定であり、すぐに PLP と結合してアルデヒドイミン構造を形成し、GABA を放出する。

分子生物学的手法の発展に伴い、多くの植物や微生物で *gad* 遺伝子がクローニングされ、その発現が試みられた。*E. coli* から *gadA* 及び *gadB* 遺伝子がクローニングされている。トマトの GABA 代謝経路の重要な因子である SIGAD3 は、RNAi 技術によって同定された。SIGAD3 の過剰発現は、成熟した緑と赤のトマト果実の mRNA レベルを 20-200 倍に増加させ、その結果、GABA 含量が有意に増加したが、果実や栄養器官の発達中に異常は見られなかった。これに基づいて、C 末端に 87 ヌクレオチドが欠損し、SIGAD3 のコード配列を有する果実特異のプロモーターを過剰発現させた。結果は、単一の SIGAD3 過剰発現を有する変異株と比較して、新しいゲノム編集が赤色成熟トマト果実の GABA 含量を更に改善することを示した⁷⁴。

No.18

High-level secretory production of leghemoglobin in *Pichia pastoris* through enhanced globin expression and heme biosynthesis (増強グロビン発現とヘム生合成による *Pichia pastoris* におけるレグヘモグロビンの高レベル分泌生産)

Bioresource Technology Volume 363, November 2022, 127884

⁷⁴ Besse Aet al. The GABA transaminase, ABAT, is essential for mitochondrial nucleoside metabolism. Cell Metab. (2015) 21:417–27. doi: 10.1016/j.cmet.2015.02.008

様々なヘム含有タンパク質、特にヘモグロビンが、様々な微生物を使用して産生されている^{75,76}。出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)では、グロビタンパク質の発現とヘム生合成経路のエンジニアリング (HEM3 の過剰発現など) のバランスをとることで、ヒトヘモグロビンの発現レベルが酵母細胞タンパク質全体の約 3~4% に有意に改善された⁷⁶。

酵母のヘム生合成経路は、ミトコンドリアで一般的なポルフィリン前駆体である 5-アミノレブリン酸 (ALA) がサクシニル CoA から合成され、グリシンが Hem1p によって合成される二つの反応から始まっている。ALA は細胞質に送達され、Hem3p によってポルホビリノーゲン (PBG) に変換され、その後、2 分子の PBG が脱アミノ化され、Hem3p によってヒドロキシメチルピランが形成される。コプロポルフィリノーゲン III からヘムへの最後の 3 段階のステップは、Hem2014p、Hem2012p、及び Hem2015p によって触媒される三つの連続的な反応を介して、ミトコンドリアで発生する。

ダイズレグヘモグロビンは、肉類に肉の風味と色を与える重要な食品添加物である。以前の研究では、ヘム経路遺伝子の個々の過剰発現を介して、*Pichia pastoris* (メタノール酸化酵母) の活性不均一なヘムペルオキシダーゼの力価を上げることができず⁷⁷、*P. pastoris* ではヘム経路をより精巧に再構築する必要があることが示されている。ここでは、遺伝子投与量の最適化とヘム経路の固定化により、機能性レグヘモグロビンを高収量で分泌できる *P. pastoris* 株を開発した。この研究は、高価な前駆体を外因的に添加することなく、LegH の高分泌産生のために *P. pastoris* を操作することを目的としている。まず、誘導性プロモーターと構成プロモーターの両方の制御下で、形質転換後ベクター増幅 (PTVA) 及び CRISPR/Cas9 を介したゲノム編集法を使用して、*P. pastoris* の染色体にマルチコピー方式で LegH 発現カセットを組み込んだ。誘導性発現と構成的発現の組み合わせにより、レグヘモグロビンの産生が最高になった。次に、ヘム生合成経路遺伝子を個別又は組み合わせて過剰発現させ、LegH の分泌量を増加させた。これらの工学的戦略により、レグヘモグロビンの分泌量は 83 倍以上増加し、最大レグヘモグロビン力価とヘム結合比はそれぞれ 3.5 g/L と 93% に達した。

No.19

Recent advances in the development of *Aspergillus* for protein production

(タンパク質生産のための *Aspergillus* の開発における最近の進歩)

Bioresource Technology Volume 348, March 2022, 126768

Aspergillus は組換えタンパク質の工業生産に広く使用されている。安全性と幅広い基

⁷⁵ Arredondo-Peter R. et al. (1997) Molecular cloning of the cowpea leghemoglobin II gene and expression of its cDNA in *Escherichia coli*. Purification and characterization of the recombinant protein *Plant Physiol.* 114:493-500.

⁷⁶ Liu L. et al. (2014) Balanced globin protein expression and heme biosynthesis improve production of human hemoglobin in *Saccharomyces cerevisiae* *Metab. Eng.* 21:9-16

⁷⁷ Krainer F.W. et al. (2015) Optimizing cofactor availability for the production of recombinant heme peroxidase in *Pichia pastoris* *Microb. Cell Fact.* 14, Article number: 4

質利用スペクトルに加えて、その効率的な翻訳後修飾と強力なタンパク質分泌能力は、工業生産における優れたタンパク質生産細胞工場を開発するための大きな利点がある。しかし、*Aspergillus* の遺伝子操作の難しさと、異なる異種タンパク質の発現レベルの違いは、その更なる開発と応用を妨げていた。最近では、CRISPR ゲノム編集とハイスループットスクリーニングプラットフォームの開発により、*Aspergillus* 菌の幅広い修飾と応用の開発が容易になった。一方、マルチオミクス解析や多重化遺伝子工学は、効果的な知識マイニングを促進してきた。

さらに、*Aspergillus* は、様々な安価なバイオマス材料を使用して急速に成長及び繁殖できるため、工業生産のコストを大幅に削減できる。*A. nidulans*、*A. niger*、*A. oryzae* などの一部の種は、米国食品医薬品局(FDA)によって一般的に安全(GRAS)と認められており、工業生産におけるヒトへの安全要件を満たしている。

現在、一部の工業用 *Aspergillus* 株は、突然変異育種や遺伝子工学によって探索されており、工業用及び医薬品用酵素の発現に重要な役割を果たしている。しかし、ほとんどの天然株は、収率が低く、過酷な産業条件に対する耐性が弱いため、工業規模で直接使用されることはほとんどない。また、*Aspergillus* 属の相同タンパク質と異種タンパク質の発現量の不一致も無視できない問題である。また、*Aspergillus* 研究における遺伝子操作は、比較的長時間と手間がかかるため、高効率のタンパク質発現システムへの開発と関連メカニズムの解析が著しく妨げられている。

近年、急速に開発された CRISPR、オミクスシーケンシング、及びハイスループットスクリーニング技術は、*Aspergillus* 発現系の開発⁷⁸のための強力なツールを提供している。Lu ら (2020) は、マルチオミクスアプローチを使用して、低酸素条件下での酵素産生に関連する *A. niger* の細胞制御メカニズムを研究し、*Aspergillus* 細胞工場の体系的な設計と最適化の基礎を提供した⁷⁹。突然変異誘発とスクリーニングは、過酷な産業条件に対するひずみ改善のための伝統的で効果的な戦略である。従来のスクリーニング法では、スクリーニングのスループットと効率が低いため、優れた変異株を迅速に得ることができない。近年、*Aspergillus* 菌に対しては、従来の時間と労力のかかるスクリーニング法を克服するために、幾つかの効率的なハイスループットスクリーニング法が開発されている⁸⁰。

⁷⁸ Comyn, S.A., Magnuson, J.K. (2020) Molecular and Genetic Strategies for Enhanced Production of Heterologous lignocellulosic enzymes. In Grand Challenges in Biology and Biotechnology, edited by H. Nevalainen. 281-313.

⁷⁹ Liu E. et al. (2020) Process optimization and scale-up production of fungal aryl alcohol oxidase from genetically modified *Aspergillus nidulans* in stirred-tank bioreactor *Bioresour. Technol.* Volume 315, 123792

⁸⁰ Beneyton T. et al. (2016) High-throughput screening of filamentous fungi using nanoliter-range droplet-based microfluidics *Sci. Rep.* 6, Article number: 27223

3. 検索・収集した文献のまとめ

(1) 検索

表 10 に示す検索式を用い、データベースとして JDream III を用いて、NPBT に関する論文を検索した。その結果、育種技術関連で 2,588 件ヒットし、そのうち、個々の NPBT 技術について対象を絞って検索した。総説等では、複数の技術紹介があり、重複しているものもある。

表 10 検索結果

JDreamⅢの検索結果			
使用データベース: JSTPlus(1981-)41,458,830 件、JMED Plus(1981-)11,316,051 件(2023.06.20 更新/本年度 11 回)			
検索条件※ (縦棒): or と同じ、(nW): 前後は語順通りで間に n 文字以内あっても良い、/AL: 検索範囲が標題、抄録、索引語、/ALE: 検索範囲が AL にプラスして英語標題、英語抄録			
式番号	検索式	ヒット件数	備考
L1	育種技術 /AL or ("Breeding Technique" or "Breeding Techniques" or "Breeding Technology" or "Breeding Technologies" or (NPBT or NBT) and plant)/ALE or 次世代遺伝子組換え技術/AL	2,588	育種技術
L2	L1 AND (JPN/CY or JA/LA)	1,820	国内に限定
L3	L1 NOT L2	768	国外(国内を除去)
L4	L1 AND ((ゲノム編集 or 遺伝子編集 or ゲノムエディティング)/AL or ("Gene Editing" or "Genome Editing" or "Genomic editing")/ALE)	266	ゲノム編集
L5	L1 AND (オリゴヌクレオチド オリゴヌクレオチド(2W)指定 指向 指示 指令 誘発 部位 特異(3W)変異/AL or "oligonucleotide-directed mutagenesis"/ALE)	5	オリゴヌクレオチド指定突然変異(ODM)
L6	L1 AND ((シスジェネシス or イントラジェネシス)/AL or (cisgenesis or intragenesis)/ALE)	17	シスジェネシス・イントラジェネシス
L7	L1 AND (RNA(1W)依存 指向 指示 指令 誘導 による(2W)DNAメチル化 DNAメチレーション/AL or (エピゲノム or エピゲノミクス)/AL or ("RNA-directed DNA methylation" or epigenome or epigenomics)/ALE)	18	RNA 依存性 DNAメチル化(RdDM)
L8	L1 AND ((接木 or 接ぎ木)/AL or (grafted or grafting or graftage)/ALE)	42	接ぎ木
L9	L1 AND (逆育種/AL or ("reverse breeding" or "inverse breeding")/ALE)	6	逆育種
L10	L1 AND ((アグロインフィルトレーション or 農業浸透 or 農業濾過 or 農業ろ過 or 農業浸潤)/AL or (agroinfiltration or agroinfiltration or "agro infiltration")/ALE)	5	アグロインフィルトレーション
L11	L1 AND (種子生産/AL or ("Seed Production Technology" or "Seed Production Technologies")/ALE)	14	Seed Production Technology (SPT)
L12	L1 AND ((循環選抜 or 雄性不稔)/AL or "transgenic male sterility"/ALE)	38	TMS 循環選抜

L13	L1 AND ((世代促進 or 世代進歩 or 世代進展 or 発生促進 or 発生進歩)/AL or ("generation advancement" or "generation advance")/ALE) AND ((ウイルス or ウィルス)/AL or virus/ALE)	4	ウイルス活用の世代促進技術
-----	--	---	---------------

各テーマについて、ノイズのチェックをした後、表 11～表 20 にまとめた。調査した論文の内、リスク評価に関する記載があるものについては、「安全性について」の欄に言及した。

本検索は、令和 5 年 8 月 24 日に第 1 回目を実施し、令和 6 年 1 月 12 日に第 2 回目を実施したものであるゲノム編集に関して、差分として 6 報を追加した。その他の技術においては、有用な情報は確認できなかった。

① ゲノム編集

表 11 ゲノム編集＋リスク評価の結果

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Genetically modified organisms: adapting regulatory frameworks for evolving genome editing technologies	Biological Research (Web)	55	1-14	2022	Pablo Rozas et al.	Institute for Biological and Medical Engineering, Universidad Catolica de Chile, Chile	世界中の規制フレームワークに、遺伝子改変生物の定義やゲノム編集ツールの進化をどのように考慮に入れるか (抄録より) 各国のゲノム編集作物の種、作付面積、形質のまとめ、作物以外の微生物・医薬品・環境問題への応用について記載	ゲノム編集による作物の規制の枠組みの現状を提示、各国の GMO 規制において、安全性評価に作出された製品を重視するか/使用された技術を重視するかに言及。
The Generic Risks and the Potential of SDN-1 Applications in Crop Plants	Plants (Web)	10	2259	2021	Kawall Katharina	Fachstelle Gentechnik und Umwelt, Germany	作出された作物及びゲノム編集プロセスの両者の特性を考慮した上で、SDN-1 応由来作物のケースに応じたリスク評価の必要性を示した。(抄録より)	SDN-1 を用いたゲノム編集技術により作出された、マーケット指向の作物について、3 項目に分類。具体例については紹介無し。 SDN-1 で改変された植物は、栽培品種から知られている形質を含むが、新しい遺伝的背景で発現しているため、対応する標的遺伝子が異なる種で異なる機能又は相互作用を有する可能性があるため、従来の又は天然の対応物と同一視できない。SDN-1 で改変された植物の約半分は、ゲノムに複雑な遺伝子変異を含んでおり、ゲノム編集植物のリスク評価には、プロセスと最終製品の両方に関するデータが個々に必要となる。
CRISPR for accelerating genetic gains in under-utilized crops of the drylands: Progress and prospects	Frontiers in Genetics (Web)	13	999207	2022	Sharma Kiran K et al.	Sustainable Agriculture Programme, The Energy and Resources Institute (TERI), India	ゲノム編集作物の規制環境について述べ、ゲノム編集植物の不合理な精査が、結果として非常に望まれる技術的發展の進化と進歩に厳しい影響をもたらすことを示唆する。(抄録より)	CRISPR/Cas を中心に、乾燥地域での栽培に適した形質をもつゲノム編集作物を紹介。

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Gene-Editing Technologies and Applications in Legumes: Progress, Evolution, and Future Prospects	Frontiers in Genetics (Web)	13	859437	2022	Baloglu Mehmet Cengiz et al.	Department of Genetics and Bioengineering, Faculty of Engineering and Architecture, Kastamonu University, Turkey	政府によるゲノム編集規制がもたらす制約は主要な懸念となる。この文脈において、EUと米国におけるゲノム編集戦略の規制枠組みの比較についても論じた。(抄録より)	—
Precision Genome Editing Toolbox: Applications and Approaches for Improving Rices Genetic Resistance to Pathogens	Agronomy (Web)	12	565	2022	Chattopadhyay Anirudha et al.	Pulses Research Station, Department of Plant Pathology, SD Agricultural University, India	ゲノム編集に関連するリスクと制限、規制面と、複雑な生物的ストレスに対する長期的な抵抗力を得るべくイネゲノムを再形成するための展望に焦点を当てた。(抄録より)	技術面の懸念事項、規制面の課題について言及。
Applications and Potential of Genome-Editing Systems in Rice Improvement: Current and Future Perspectives	Agronomy (Web)	11	1359	2021	Tabassum Javaria et al.	State Key Laboratory of Rice Biology, China National Rice Research Institute, China	遺伝子改変イネに関連する規制面及びリスクに加え、base editorとprime editor、及びそれらのイネ形質改良への応用といった、CRISPRシステムの発展について論じる。(抄録より)	ターゲット遺伝子ごとに応用の具体例の紹介。 リスク評価について具体的な記述無し。
Future-Proofing EU Legislation for Genome-Edited Plants: Dutch Stakeholders' Views on Possible Ways Forward	Agronomy (Web)	11	1331	2021	Berg Jan Pieter van der et al.		EU法制度の潜在的適応について、オランダの植物育種部門の利害関係者と検討するため、ゲノム編集由来植物の将来的な規制について5つの異なるシナリオを詳述した。これらのシナリオをもとに、植物育種におけるゲノム編集の潜在的適用、さらに課題と機会について深く議論した。 マルチプレックス Crispr 技術。	—
Genomic Editing: The Evolution in Regulatory Management Accompanying Scientific Progress	Frontiers in Bioengineering and Biotechnology (Web)	10	835378	2022	Goberna Maria Florencia et al.	National Directorate of Bioeconomy, Secretariat of Food, Bioeconomy and Regional Development, MAGyP, Argentina	アルゼンチンの現在のゲノム編集作物の基準では、相談を受けたときにその基準が更新され、規制状態について決定される。この調節の目的は、全ての生物(動物、微生物及び植物)について同一のNBT決議下で独立して考慮し、市販の遺伝的に改変された生物(GMO)の規制に紐づけないことである。	アルゼンチンでの規制、実際の事例のタイプ別分析、国際協力。

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Genetic Variation and Unintended Risk in the Context of Old and New Breeding Techniques	Critical Reviews in Plant Sciences	40	68-108	2021	Singer Stacy D	Lethbridge Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Canada	本レビューにおいて、著者は、自然突然変異と、様々な従来手法及び遺伝子導入、ゲノム編集を含むバイオテクノロジー育種アプローチを通して起こる突然変異の頻度を比較することにより、「リスク」と考えられているものをまとめて植物育種の文脈に置き換え、これらの懸念に光を当てることを試みた。次に、これらの変化がどのように非予想リスクに翻訳されるか、また、ゲノム編集作物を取り巻く現在の世界的な規制の非同期性について議論する。	育種によって誘発される可能性のあるゲノム変化は、作物の安全性に悪影響を与える表現型の変化につながる可能性が信じられないほど低いといえる。ゲノム編集された植物は、技術自体に起因するオフターゲット変異があったとしても、ほとんど示されていない。バイオテクノロジー由来の作物は、従来の栽培作物と比較して安全性に関する懸念が根強く残されているが、これらの懸念は立証されていない。
Global Regulation of Genetically Modified Crops Amid the Gene Edited Crop Boom - A Review	Frontiers in Plant Science (Web)	12	630396	2021	Turnbull Crystal et al.	Faculty of Biosciences, Institute of Plant Science, Norwegian University of Life Sciences (NMBU), Norway	本レビューでは、初期の議論を足場として特にゲノム編集作物が既存のフレームワークにいかに対応するかについて言及することで、現状の GM 作物に関する世界の法的状況を整理した。	—
Regulatory barriers to improving global food security	Global Food Security	26	Null	2020	Smyth Stuart J.	Department of Agricultural and Resource Economics, University of Saskatchewan, Canada	本稿では、食品安全保障を改善するような革新的作物と食品技術の採用に関して、規制による障壁がもつ対処する課題について述べた。	—
Genome Edited Crops Touch the Market: A View on the Global Development and Regulatory Environment	Frontiers in Plant Science (Web)	11	586027	2020	Menz Jochen et al.	Julius Kuehn Institute (JKI) - Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute for Biosafety in Plant Biotechnology, Germany	本稿では、現在及び将来的な国際規制環境及び市場指向形質を持つゲノム編集作物に関する最新の動向について概観した。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Genome Editing for Resistance to Insect Pests: An Emerging Tool for Crop Improvement	ACS Omega	5	20674 - 20683	2020	Tyagi Shaily	ICAR-National Institute for Plant Biotechnology, India	本レビューを通して、著者らは植物における害虫耐性を設計するのに用いられる種々のゲノム編集戦略の集塊化に着手した。	リスクについては、書かれていない。昆虫と植物の両方を改変する先駆的研究について述べている。昆虫を抑止すべく植物をゲノム編集するだけでなく、植物を攻撃する能力を低下させるべく害虫をゲノム編集することを行っている。昆虫のマルチオミクスアプローチを使用したストレス応答性遺伝子の同定が必要で、同定された耐性遺伝子をハイスループット形質転換技術により多重編集し、ゲノム編集を用いた昆虫管理である。
How should we regulate products of new breeding techniques? Opinion of surveyed experts in plant biotechnology	Biotechnology Reports	26	Null	2020	Lassoued Rim et al.	Department of Agricultural and Resource Economics, University of Saskatchewan, Canada	ここでは、現在及び将来の新しい育種技術及び派生製品を受け入れるために、どのようなアプローチが国家の同意に値するかについて、植物バイオテクノロジーにおける国際専門家へ聞き取り調査を行う。	—
The regulatory current status of plant breeding technologies in some Latin American and the Caribbean countries	Plant Cell, Tissue and Organ Culture	141	229-242	2020	Gatica-Arias Andres	Laboratory of Plant Biotechnology, School of Biology, University of Costa Rica, Costa Rica	熱帯作物へのバイオテクノロジー技術の運用について解説し、ラテンアメリカとカリブ海地域における地域間の規制について考察した。	—
Maximum vs minimum harmonization: what to expect from the institutional and legal battles in the EU on gene editing technologies	Pest Management Science	75	2310-2315	2019	Purnhagen Kai P & Wesseler Justus HH	Department of Social Sciences, Wageningen University, The Netherlands	本論文では、EUの多層の法秩序に対して利用可能な様々な選択肢について法及び経済学的観点から議論した。	—
新しい育種技術(NBTs)であるゲノム編集技術の社会への適用の動向	STI Horizon	5	23-28	2019	伊藤裕子	科学技術・学術政策研	科学技術予測センター 主任研究官による報告。技術的なまとめとともに、日本、米国、EUの規制について最新情報がまとめられている。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Normative Criteria and Their Inclusion in a Regulatory Framework for New Plant Varieties Derived From Genome Editing	Frontiers in Bioengineering and Biotechnology (Web)	6	176	2018	Hamburger David J. S.	Faculty of Law, University of Passau, Passau, Germany	NPBT のような新技術のための適切な規制体制を立案するために、関心と懸念を同定した。次に、これらの関心がどのように互いに関連するかを決定し、相反する需要を調整するための規制概念を提示した。	—
Impacts of growing and utilising genetically modified crops and forages - a New Zealand perspective	New Zealand Journal of Agricultural Research	66	389-418	2023	Caradus John	Grasslanz Technology Ltd, New Zealand	ニュージーランドでは、遺伝的に修飾した(GM)生物は、遺伝子または他の遺伝的材料が in vitro 技術で修飾されている生物を意味し、ゲノム編集のような新しい育種技術(NBT)も含まれる。ここでは (a)GM 植物や GM 飼料を給餌した動物から生産される食品に対する消費者動向の重要性、(b) GM 飼料が動物飼料に含まれる場合、消費者動向によりニュージーランド牧畜農家によって生産される食品の需要と受容を減少させるかどうかを考察した。規制の観点から、焦点は、それらの開発で使用されるプロセスより遺伝的改変の最終産物に関連する利益やリスクの課題である。	—
Current insights and advances into plant male sterility: new precision breeding technology based on genome editing applications	Frontiers in Plant Science (Web)	14	1223861	2023	Farinati Silvia et al.	Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment (DAFNAE), University of Padova, Italy	近年、CRISPR/Cas 関連ツールにより媒介された遺伝子ノックアウト技術が植物雄性不稔(MS)系統作出に利用されている。本稿は、MS を誘導できる最近の新しい GE ベースの育種応用に焦点を当てている。MS 変異体生産における CRISPR/Cas システムの今後の課題と新しい潜在的応用及び望ましい対立遺伝子の導入と正確な育種戦略のための過渡的形質転換系とトランス世代ゲノム編集による CRISPR 編集 DNA フリーの生成について論じている。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Tools and targets: The dual role of plant viruses in CRISPR-Cas genome editing	Plant Genome	16	e20220	2023	Uranga Mireia Daros Jose-Antonio	Instituto de Biologia Molecular y Celular de Plantas, Consejo Superior de Investigaciones Cientificas - University. Politecnica de Valencia, Valencia, 46022, Spain	植物 RNA ウイルスは、ウイルス誘導ゲノム編集 (VIGE) に従い、CRISPR/Cas 反応成分の一時的なデリバリーベクターとして使用できる。ここでは、植物における組織培養フリーエディティングを達成するための戦略に焦点を当てて、最近の進歩をレビューした。	—
The African continent should consider a harmonized consultative and collaborative effort towards coordinated policy and regulatory guidelines across the fields of biotechnology	Frontiers in Bioengineering and Biotechnology (Web)	11	1211789	2023	Masehela Tlou Samuel and Barros Eugenia	South African National Parks, Scientific Services, Skukuza, South Africa	本論文では、様々なバイオ安全政策の開発と実施におけるいくつかのアフリカ諸国の進歩について探求し、遅れている国が直面する課題と制約について詳述されている。	アフリカにおけるバイオ政策と規制
The potential of metabolomics in assessing global compositional changes resulting from the application of CRISPR/Cas9 technologies	Transgenic Research	32	265-278	2023	Drapal Margit et al.	Department of Biological Sciences, Royal Holloway University of London, UK	本研究では、メタボローム分析を用い CRISPR 関連蛋白質の導入の影響を分析したところ、すべての場合、差異試験に基づく多変量解析において、それらのメタボロームにおける有意差を示さなかった。本研究は、技術の評価とその評価に重要なゲノム編集作物の特性化に関する基本的データを提供する。また、このアプローチは、メタボロミクスが新しい植物育種アプローチから生成された作物/食品の日常製品ベース分析に寄与することを示唆した。	安全性の評価にメタボロミクス分析の利用を示唆

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
U.S. EPA oversight of pesticide traits in genetically modified plants and recent biotechnology innovation efforts	Frontiers in Plant Science (Web)	14	11260-06	2023	Mendelsohn Michael et al.	Emerging Technologies Branch, Biopesticides and Pollution Prevention Division, Office of Pesticide Programs, United States Environmental Protection Agency, United States	米国 EPA の NPBT に対する考え方をまとめた。	EPA の NPBT に関わる規制について

② ODM

表 12 ODM+リスク評価の結果

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Certain new plant breeding techniques and their marketability in the context of EU GMO legislation - recent developments	New Biotechnology	51	49-56	2019	Zimny Tomasz et al.	Institute of Law Studies, Polish Academy of Sciences, Warszawa, Poland	指令 2001/18/EC の第 2 条(2)によれば、突然変異誘発の技術/方法によって得られた生物はその規定の意味の範囲内で遺伝子組換え生物を構成すると解釈される。指令 2001/18/EC の第 3 条(1)によれば、従来多くの用途で使用されており、長い安全記録を有する突然変異誘発の技術/方法によって得られた生物のみがその指令の範囲から除外されると解釈される。 CJEU によるケース C-528/16 の最近の判決は、GMO 法の広範な適用を選択し、NBT 中の SDN、ODM、CRISPR などのゲノム編集技術の製品については GMO の規制制度の対象となるとしている。	個別に ODM,SDN に対する法規制について述べており、リスクについては無し。

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
次世代遺伝子組換え技術を用いた作物の現状と問題点	食品衛生学雑誌	55	231-246	2014	近藤一成 中村公亮	国立医薬品食品衛生研究所	<p>欧州では、現行の枠組み Directive 2001/18/EC を基に、外来遺伝子が残存するかどうかも考慮して GMO 規制に含まれるか除外されるかの整理を慎重に行っており、除外されるものについても改定される Novel Food Regulation により必要に応じて承認審査制度が導入される可能性がある。次世代組換え技術の中で、エピジェネティック変異を誘導する RdDM, ODM や SDN-1, -2 は小さな欠失又は数塩基の置換や挿入を特異的に誘導することができるが、その改変は random mutation で自然界でも起こりうる変化である。そのため、変異は検出できるがこの両者の違いは判別できないことから GMO 規制から除外される可能性が高い。</p> <p>次世代組換え技術を用いて作製された作物が GMO 規制対象かどうかということ、その作物の食品安全性は必ずしも一致しない。用いる技術と関係なく遺伝子改変によって作られる食品の安全性を考えることが重要である。</p>	ODM はベクターを用いていないため組換え DNA 技術に当たらず、改変後には数塩基置換又は欠失以外にはゲノム上の配列は改変前と同じである。オリゴヌクレオチドがゲノムに挿入される可能性があるため、目的の変異(置換や欠失)以外の改変が起きていないかの確認が必要である。エクソン中の 1 又は 2 塩基欠失(挿入)により機能遺伝子をノックアウトした場合は、それ以降フレームシフトにより異なる融合タンパク質が発現する可能性があるため、このタンパク質の安全性を確認する必要がある。DNA/RNA キメラなどを用いるオリゴヌクレオチドの安定性を増せば、効率は上がるが非特異的な影響が比例して大きくなるので、点突然変異を導入する場合、その近傍も変異導が入されることがあるため塩基配列の確認が不可欠である。RNA を含む分子を用いた場合、生物が本来持つ RNA サイレncing の機構に影響する可能性や最終産物にどう影響するかを考える必要がある。
[新たな育種技術の開発と実用化に向けて] 欧州における新たな育種技術の研究開発について	JATAFF ジャーナル	2	10-14	2014.08.01	田部井豊	農業生物資源研究遺伝子組換え研究センター	<p>ワーゲニンゲン大学では、シスジェネシスを用いてリンゴ黒星病抵抗性リンゴや赤い果肉のリンゴ、疫病耐性のジャガイモの開発と野外試験を実施。Keygene 社は、オリゴヌクレオチド指定突然変異導入技術(ODM)により除草剤耐性ペチュニア等を開発し、Rijk Zwaan 社は逆育種で染色体ごとの特性の育種利用を促進。いずれの訪問先でも、外来の導入遺伝子が残らない技術で開発された植物を GM 植物から除外することを望んでいる。</p>	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
New plant breeding techniques: state-of-the-art and regulatory approaches	育種学研究	15	2	2013.10.12	LUSSER Maria	Joint Res. Centre (JRC), European Commission (EC)	現代のバイオ技術(GMO)によって生産された生物を規制する調和のとれたEU法は1990年にさかのぼり、GMOの定義はそれ以来更新されていない。過去10年間で、新しい植物育種技術が開発された。欧州委員会共同研究センター(JRC)の将来技術研究所(IPTS)は、JRCの健康消費者保護研究所(IHCP)と協力して、これらの技術の先端性、開発レベル、育種部門による現在の採用及びそれらに基づく作物の将来の商業化の見通しを検討した。この研究では、文献及び特許検索、野外試験のデータベースでの検索、植物育種家を対象とした調査、及び公的及び民間部門の参加者とのワークショップの方法が使用された。さらに、これらの技術の検出に関する課題が評価された。この研究は、技術的な利点だけでなく、商業化の課題(技術的制約、受け入れ、規制)も特定されている。	ODMでは、植物ゲノムに標的変異を誘導するためにオリゴヌクレオチドが使用される。それらは相同DNAを標的とし、修復機構を通じて部位特異的なヌクレオチドの置換、挿入、欠損を誘導する。オリゴヌクレオチドとの実験プロトコールが適切に設計されていれば、ODMによって誘発される変異は高度に特異的になるはずで、意図しない変化や環境への影響が少ないと期待されている。ODMによって開発された生物は、放射線照射や化学的突然変異誘発などの従来の育種技術に基づく突然変異生物体と区別できない。安全性の問題は、ODMに限らず突然変異生物体の持つ、内因性遺伝子の発現の変化又は内因性タンパク質のアミノ酸配列の特定の変化に関連している可能性がある。

③ Cisgenesis & Intragenesis

表13 Cisgenesis & Intragenesis＋リスク評価の結果

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
New plant breeding techniques and their regulatory implications: An opportunity to advance metabolomics approaches	Journal of Plant Physiology	258-259	Null	2021	Enfissi Eugenia M.A et al.	Department of Biological Sciences, School of Life Sciences and the Environment, Royal Holloway University of London, United Kingdom	遺伝子組換え作物の既存の状況をレビューし、新しい植物育種技術(NPBT)の可能性について述べている。	過剰な規制が生じ、行政的・経済的負担が生じないようにすることが議論されている。メタボロミクスは、植物育種におけるバイオテクノロジーの進歩と同時に発展してきたオミクス技術である。メタボロミクス技術を発展させ、新規植物育種技術の成果を特徴づけることで、学術的、バイオセーフティ的、産業的な観点から有益な結果を得られる可能性がある。

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
New Plant Breeding Techniques in Citrus for the Improvement of Important Agronomic Traits. A Review	Frontiers in Plant Science (Web)	11	1234	2020	Salonia Fabrizio et al.	CREA - Research Centre for Olive, Fruit and Citrus Crops, Italy	NPBT は、果実樹木種に対する伝統的育種限界を克服し、特性及び生物的及び非生物的ストレスに対する耐性を改善し、(クローン)選択により新しい品種を得ることができる。柑橘類は、その複雑な種生物学的特性(無種子性、アポミクシス、高いヘテロ接合性、及び長い幼若性相)及び in vitro 操作の適性のため、NPBTs を利用することができ、柑橘類における病害抵抗性遺伝子 CsLOB1 を用いたゲノム編集は、スイートオレンジ及びグレープフルーツにおける Citrus bacteria canker に対する耐性を誘導することに成功している。	—
Why Organic Farming Should Embrace Co-Existence with Cisgenic Late Blight-Resistant Potato	Sustainability (Web)	9	172	2017	Gheysen Godelieve & Custers Rene	Faculty of Bioscience Engineering, Department of Molecular Biotechnology, Ghent University, Belgium	照射又は化学物質を用いた突然変異誘発技術を通して得られた生物は GMO 指令の対象となっていない。したがって、このような突然変異体は有機農業で使用できる。シスジェネシス技術は、複数の耐性遺伝子を1段階で導入することにより、そのような耐性を達成することができる。これらの多重耐性植物は育種により導入され得る天然遺伝子のみを含む。本稿に示される事例において、シスジェネシス植物は GMO 法制の条項に抵触しないので、それらは有機農業において法的に使用できる。シスジェネシスで作製された疫病耐性ジャガイモは、有効性が示されており、従来のジャガイモ栽培における必要な殺菌剤散布を大きく減らすことによって環境的に有益であるだけでなく、有機ジャガイモ栽培における病害圧力も低減する。有機農業で認められる品種とシスジェネシスで作出された品種との違いを比較している。	シスジェネシスは、どちらの場合も、受容植物の性的に適合する遺伝子プールからの遺伝子のみが導入されるため、育種と非常に似ている。シスジェネシスの場合、選択された遺伝子のみが品種に導入され、毒性や味が悪いなどの望ましくない形質をもたらす不要な遺伝子は導入されない。このため、シスジェネシスは従来の育種よりも安全であるとさえ考えられる。ハイスループット配列解析により、育種中に広範な DNA 修飾が発生し、サツマイモやタバコなどの一部の植物が Agrobacterium 由来の T-DNA を天然に持っていることも明らかになった。筆者らは、「この新しい知識を活用して、現代のテクノロジーに対する見方を再考し、科学の進展に基づいて GMO への見解を調整することが重要」としている。また、新たな作物品種は、その開発に使用された方法とは独立して、ケースバイケースのリスク評価を受ける必要があると結論している。

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
New Biotechnological Tools for the Genetic Improvement of Major Woody Fruit Species	Frontiers in Plant Science (Web)	8	1418	2017	Limera Cecilia et al.	Department of Agricultural, Food and Environmental Sciences, Università Politecnica delle Italy	このレビューでは、より高度なバイオテクノロジー技術のメカニズムと、木質果実種の改良におけるその応用について説明し、これらのバイオテクノロジーツールと、これらの技術を通じて得られた植物及び製品に適用されるEUのバイオセーフティ規制との関係を考察している。	果樹への応用の観点から、安全性の評価について考察している。シスジェネシス及びイントラジェネシスについては、バイオセーフティの懸念が少ない可能性があるとして述べている。
Molecular breeding technologies and strategies for rust resistance in wheat (<i>Triticum aestivum</i>) for sustained food security	Plant Pathology	67	771-791	2018	Savadi S.et al.	ICAR - Indian Institute of Wheat and Barley Research (IIWBR), India	NPBTの技術紹介をコムギの形質改良を中心に紹介。既存の分子育種ツールにゲノム選択(GS)、シスジェネシス、イントラジェネシス、ゲノム編集技術(GET)、RNA依存性DNAメチル化(RdDM)、逆育種のNPBT技術を比較している点がユニーク。	—
Molecular characterization of genetically-modified crops: Challenges and strategies	Biotechnology Advances	35	302-309	2017	Li Rong et al.	Joint International Research Laboratory of Metabolic & Developmental Sciences, China	新規植物育種技術(NPBT)により作出された作物を含む、より多くの新規開発GM作物が商業化に向けてパイプラインに並ぶ中、認可又は未認可のGM(UGM)作物の分子特性解析のために、次世代シーケンサを中心とした代替的オミクスアプローチが開発されている。本総説では、まずこれらの方法を要約し、その課題を取り上げ、NPBTによって作出された遺伝子組換え作物の分子特性解析のための可能な戦略について議論し、世界的な情報共有データベースと、費用対効果が高く、正確で包括的な分子特性解析アプローチの必要性を強調している。	シスジェネシスは、見分けることができないとしている。ゲノム編集については、これらによって引き起こされるリスクを完全に排除することはできず、ゲノム編集によって生成された作物は、意図した効果の確認と潜在的なオフターゲット修飾の発見の両方に焦点を当てたスクリーニングと特性評価が必要としている。
Opportunities for Products of New Plant Breeding Techniques	Trends in Plant Science	21	438-449	2016.05	Schaart Jan G.et al.	Wageningen UR Plant Breeding, The Netherlands	NPBTsを用いて作出した製品の可能性をレビュー。シスジェニックジャガイモ遺伝子型のような新しい耐病性の生成についても議論している。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
次世代遺伝子組換え技術を用いた作物の現状と問題点	食品衛生学雑誌	55	231-246 (J-STAGE)	2014	近藤一成中 村公亮	国立医薬品食品衛生研究所	<p>欧州では、現行の枠組み Directive 2001/18/EC を基に、外来遺伝子が残存するかどうかも考慮して GMO 規制に含まれるか除外されるかの整理を慎重に行っており、除外されるものについても改定される Novel Food Regulation により必要に応じて承認審査制度が導入される可能性がある。次世代組換え技術の中で、エビジェネティック変異を誘導する RdDM, ODM や SDN-1, -2 は小さな欠失又は数塩基の置換や挿入を特異的に誘導することができるが、その改変は random mutation で自然界でも起こりうる変化である。そのため、変異は検出できるがこの両者の違いは判別できないことから GMO 規制から除外される可能性が高い。</p> <p>次世代組換え技術を用いて作製された作物が GMO 規制対象かどうかということ、その作物の食品安全性は必ずしも一致しない。用いる技術と関係なく遺伝子改変によって作られる食品の安全性を考えることが重要である。</p>	ODM はベクターを用いていないため組換え DNA 技術に当たらず、改変後には数塩基置換又は欠失以外にはゲノム上の配列は改変前と同じである。欠点は、改変される効率が低い点や目的点突然変異導入箇所の前後も変異が入る可能性がある点である。オリゴヌクレオチドがゲノムに挿入される可能性があるため、目的の変異(置換や欠失)以外の改変が起きていないかの確認が必要である。エクソン中の 1 又は 2 塩基欠失(挿入)により機能遺伝子をノックアウトした場合は、それ以降フレームシフトにより異なる融合タンパク質が発現する可能性があるため、このタンパク質の安全性を確認する必要がある。DNA/RNA キメラなどを用いるオリゴヌクレオチドの安定性を増せば、効率は上がるが非特異的な影響が比例して大きくなるので、点突然変異を導入する場合、その近傍も変異が導入されることがあるため塩基配列の確認が不可欠である。RNA を含む分子を用いた場合、生物が本来持つ RNA サイレncing の機構に影響する可能性や最終産物にどう影響するかを考える必要がある。
[新たな育種技術の開発と実用化に向けて]欧州における新たな育種技術の研究開発について	JATAFF ジャーナル	2	10-14	2014.08.01	田部井豊	農業生物資源研究 遺伝子組換え研究センター	<p>NBT の技術開発の現状を調査するために、ワーゲニンゲン大学と民間企業 2 社 (Keygene 社と Rijk Zwaan 社) を訪問した。ワーゲニンゲン大学では、シスジェネシスを用いてリンゴ黒星病抵抗性リンゴや赤い果肉のリンゴ、疫病耐性のジャガイモの開発と野外試験を行っていた。Keygene 社は、オリゴヌクレオチド指定突然変異導入技術 (ODM) により除草剤耐性ペチュニア等を開発し、Rijk Zwaan 社は逆育種で染色体ごとの特性を育種に利用することを進めていた。いずれの訪問先でも、外来の導入遺伝子が残らない技術で開発された植物を GM 植物から除外することを望んでいた。</p>	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
次世代遺伝子組換え生物の生物多様性影響評価手法の確立及び遺伝子組換え作物の区分管理技術等の開発 第3章 海外における生物多様性影響評価・区分管理に関する知見の調査解析(3)欧州等における新規遺伝子組換え植物の生物多様性影響評価をめぐる新知見の分析検討	農林水産省 農林水産技術会議事務局研究成果		592-597	2014.03.31	松尾和人	農業環境技術研	欧州における遺伝子組換え作物に関する環境リスク評価の現状とその考え方について、文献情報に基づき、取りまとめた。また、新たな育種技術に関する欧州の動向とシスジェネシス、イントラジェネシス、部位特異的ヌクレアーゼ3,ODN技術、及びその産物が従来の規制の範囲内に収まるのかどうか、新たな規制の必要性の有無に関して文献調査などにより情報を取りまとめた。	文献依頼
バイオが貢献して拓く未来社会 8 植物の品種改良技術の最近の進歩と将来展望	バイオサイエンスとインダストリー	72	240-253	2014.05.01	江面浩	筑波大 生命環境系	本論文では、従来の植物育種技術について説明するとともに、NBTの代表的な6つの技術、すなわち、人工ヌクレアーゼ、オリゴヌクレオチド指定突然変異(ODM)、シスジェネシス/イントラジェネシス、RNA依存性DNAメチル化(RdDM)、遺伝子組換え台木への接ぎ木、及び逆育種を概説し、その規制のあり方、今後の展望と課題について述べている。	文献依頼
育種技術の新展開—NBT,ゲノム編集,そして社会的対応シスジェネシスとイントラジェネシス	生物の科学 遺伝	68	150-152	2014.03.01	阿部清美 & 田部井豊	農業生物資源研	一般的な遺伝子組換えとシスジェネシス及びイントラジェネシスの違いについて、写真を示し解説した。シスジェネシスは、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同様に、自然に存在するものである。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、一般のGM植物に比べて利用できる遺伝子に制約があるものの、遺伝子のコード領域やプロモーターを組み合わせ、自然界にある植物体本来の遺伝子とは違った形で植物体に導入する場合をいう。	—

④ RdDM

表 14 RdDM+リスク評価の結果

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名のみ	所属機関名のみ	内容	安全性について
トランスジェニック RdDM 台木に接ぎ木した非トランスジェニック穂木のおミクスプロフィール	Food Safety (Web)	10	13-31(J-STAG E)	2022	Kodama Hiroaki et al.	Graduate School of Horticulture, Chiba University, Japan	sRNA を受け取る植物体から得た食品の安全性を評価するために、非トランスジェニック穂木に対する RdDM の仲介に關与する台木由来 sRNA の影響を調べた。結論として、RdDM 誘導台木への接ぎ木は、sRNA の低レベルの伝達を引き起こし、その結果、穂木における DNA メチル化が制限されることを見出した。しかし、sRNA 伝達と、穂木のトランスクリプトームとメタロームプロフィールの非常にわずかな変化の間の因果関係は、不明のままである。RdDM 台木による接ぎ木のための安全性評価点について論じた。	マルチオミクスアプローチは、安全性評価において重要な要素の一つである。一方、食経験に基づいた詳細な分析も重要である。
Prospects and challenges of epigenomics in crop improvement	Genes & Genomics	44	251-257	2022	Huang Yuhong et al.	State Key Laboratory of Plant Cell and Chromosome Engineering, Institute of Genetics and Developmental Biology, Innovation Academy for Seed Design, Chinese Academy of Sciences, China	イネ、トウモロコシ、及びコムギのエピゲノミクス研究における最近の進展をレビューしたもの。特筆すべきものとして、Wang らは、シロイヌナズナにおいて CG DNA メチル化の異所性ターゲティングを開始できる細菌性メチルトランスフェラーゼ SssI を発見した。その後、Basudev らは、特定の遺伝子座に CG メチル化を直接導入し、遺伝的に維持できる二つの CRISPR ベースの細菌メチルトランスフェラーゼ (MQ1) 系を開発した。これらのツールはいずれも、植物遺伝学において利用可能な CRISPR ベースの標的 DNA メチル化ツールを拡張し、エピジェネティック作物工学への道を提供するものである。著者らは、「標的化可能なエピゲノム編集ツールは、遺伝子座特異的なクロマチン修飾に直接的な転写及び機能的結果を割り当てることを可能にする」としている。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名のみ	所属機関名のみ	内容	安全性について
Rapid analysis of GBSS1 and Vinv genes expressed in potato tubers using microtubers produced in liquid culture medium	Plant Cell Reports	39	1415-1424	2020	Wakasa Yuhya et al.	Institute of Agrobiological Sciences, National Agriculture and Food Research Organization, Japan	野生型由来のマイクロ塊茎と RdDM を介した転写遺伝子サイレンシングシステムに由来するマイクロ塊茎における塊茎発現遺伝子(GBSS1 及び Vinv)の発現を調べた。両方の遺伝子の発現は、マイクロチューバーと正常な塊茎の間で類似していた。さらに、マイクロチューバーがウェスタンブロットや共焦点免疫蛍光顕微鏡分析に使用できることを実証した。これらの結果から、マイクロ塊茎を用いた発現解析は、ジャガイモ中の GBSS や Vinv などの塊茎発現遺伝子の解析に便利なツールであることが示唆された。	—
DNA メチル化の多様性と動特性 作物育種のためのエピゲノム資源とツール	Breeding Science	69	191-204	2019	Kawakatsu Taiji	Institute of Agrobiological Sciences, National Agriculture and Food Research Organization, Japan	モデル植物シロイヌナズナにおける DNA メチル化機構、多様性、ダイナミクス、及び農学的機構について説明。ハイスループットシーケンシング技術の進歩は豊富な DNA 配列データの生成を可能にし、全ゲノム遺伝子発現パターンと DNA メチル化パターンの統合解析から、DNA メチル化の基本的メカニズムと機能が明らかになった。エピゲノムにおけるメチル化の課題は、変異の復帰であり、メカニズムの探求が求められる。	—
Molecular breeding technologies and strategies for rust resistance in wheat (<i>Triticum aestivum</i>) for sustained food security	Plant Pathology	67	771-791	2018	Savadi S. et al.	ICAR - Indian Institute of Wheat and Barley Research (IIWBR), India	農業におけるトランスジェニックの広範な応用は、バイオセーフティへの懸念によって妨げられている。NPBT 技術は、作物植物を以前よりも精密に操作する驚異的な能力を提供し、持続的な食糧生産のための作物改良努力を加速させるだけでなく、食用作物に関連する安全性の懸念を克服するとしている。	RNAi の存在ではなく RNAi の記憶に起因して形質が変化した植物の子孫は、遺伝子発現の自然なエピジェネティックな制御を持つ植物に匹敵する。したがって、この技術によって作出された植物は、導入された外来 DNA が植物内に保持されないため、非遺伝子組換え植物と同等になる。

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名のみ	所属機関名のみ	内容	安全性について
接ぎ木によるエピゲノム編集作物の作出	バイオサイエンスとインダストリー	75	238-239	2017.05.10	葛西厚史 原田竹雄	弘前大 農学生命科学	伴細胞のプロモーター下で CaMV35S プロモーターの一部を逆位反復配列としてタバコで発現し、伴細胞において 35S プロモーター領域(標的領域)の二本鎖 RNA を産生する。これを穂木として、接ぎ木により台木に siRNA を移送することで、台木の篩管周辺細胞群の標的領域をメチル化できた。ここから、側根が発達することから、側根の再生個体を作成することで、転写型サイレンシング(TGS)を起動する個体を得ることができる。	ゲノム編集と同様にオフターゲットを考慮する必要がある。
新しい作物育種法としてのエピ変異誘発	JARQ	49	301-305	2015	KASAI Atsushi HARADA Takeo	Lab. of Plant Breeding and Genetics, Fac. of Agriculture and Life Sci., Hirosaki Univ, Japan	対応する二本鎖(ds)RNAを形成させるために逆位反復配列から成る導入遺伝子を使用すると、低分子干渉RNA(siRNA)を植物細胞において産生させることができる。この siRNA は RNA 誘導 DNA メチル化(RdDM)径路によって相同期 DNA のメチル化を誘発する。形質転換法、ウイルスを利用した一過性発現によるメチル化、接ぎ木を利用した方法を紹介。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名のみ	所属機関名のみ	内容	安全性について
次世代遺伝子組換え技術を用いた作物の現状と問題点	食品衛生学雑誌	55	231-246	2014	近藤一成 中村公亮	国立医薬品食品衛生研究所	欧州では、現行の枠組み Directive 2001/18/EC を基に、外来遺伝子が残存するかどうかを考慮して GMO 規制に含まれるか除外されるかの整理を慎重に行っており、除外されるものについても改定される Novel Food Regulation により必要に応じて承認審査制度が導入される可能性がある。次世代組換え技術の中で、エピジェネティック変異を誘導する RdDM, ODM や SDN-1, -2 は小さな欠失又は塩基置換や挿入を特異的に誘導することができるが、その変化は random mutation で自然界でも起こりうる変化である。そのため、変異は検出できるがこの両者の違いは判別できないことから GMO 規制から除外される可能性が高い。次世代組換え技術を用いて作製された作物が GMO 規制対象かどうかということと、その作物の食品安全性は必ずしも一致しない。用いる技術と関係なく遺伝子改変によって作られる食品の安全性を考えることが重要である。	「一過的にあるいはゲノムに挿入されない植物 RNA ウィルスを用いてプロモーター領域の DNA メチル化を誘導した場合、ベクター由来配列やウィルスが完全に除去されているかの確認が重要。標的とする配列以外に DNA のメチル化が誘導されることが報告されていることから、標的配列以外へのオフターゲット効果を考慮する必要がある。RdDM により誘導された DNA メチル化修飾は、数世代を経て退化していくので、ゲノム中 DNA メチル化修飾のパターンの安定性について考慮する必要がある。エピジェネティック修飾の変化は、ゲノムの高次構造に影響を与えることから、1 次構造配列の変化のみならず多角的な評価を行い、他の遺伝子発現に与える影響も考える必要がある。低分子 RNA が関与する他の技術にも共通の点であるが、作物由来の低分子 RNA (miRNA, siRNA など) を摂取した場合のヒトなど生物に与える影響についてはリスクを考慮する必要がある。」としている。
[新たな育種技術の開発と実用化に向けて]国内での新しい育種技術の開発概要	JATAFF ジャーナル	2	20-23	2014.08.01	土岐精一	農業生物資源研 農業生物先端ゲノム研究センター	NBT 技術の中でも注目されている、ゲノム上の標的遺伝子を改変するゲノム編集技術と、標的遺伝子の塩基配列を変えずに発現を制御するエピゲノム編集技術について、国内における研究開発状況を紹介。	—
バイオが貢献して拓く未来社会 8 植物の品種改良技術の最近の進歩と将来展望	バイオサイエンスとインダストリー	72	240-253	2014.05.01	江面浩	筑波大 生命環境系	従来の植物育種技術について説明するとともに、NBT の代表的な 6 つの技術、すなわち、人工ヌクレアーゼ、オリゴヌクレオチド指定突然変異 (ODM)、シスジェネシス/イントラジェネシス、RNA 依存性 DNA メチル化 (RdDM)、遺伝子組換え台木への接ぎ木、及び逆育種を概説。	ジーンサイレンシングの不安定性と変異が課題。サイレンシングの程度は、メチル化の程度に加え、個体差がある。長期間で安定した RdDM 技術の開発が必要。

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名のみ	所属機関名のみ	内容	安全性について
エピジェネティックな遺伝子発現制御と植物の形質改変	化学と生物	52	241-248	2014.04.01	金澤章	北大 大学院農学研究院	ウィルスベクターを用いて RNA-directed DNA methylation を誘導し、外来遺伝子をもたずに特定の内在性遺伝子の発現が抑制された植物を作出した研究を紹介。	—
育種技術の新展開—NBT,ゲノム編集,そして社会的対応【Part2:ゲノム編集】植物におけるエピゲノム編集—その原理と接ぎ木による誘導	生物の科学 遺伝	68	140-144	2014.03.01	葛西厚史 原田竹雄	弘前大 農学生命科学	エピゲノム編集という新たな品種改良技術の開発への取り組みについて紹介。	—
NBT 5)植物育種技術としてのエピ変異体作出法	バイオサイエンスとインダストリー	71	462-465	2013.09.01	葛西厚史 原田竹雄	弘前大 農学生命科学	エピ変異について、siRNA を介したエピジェネティック変異発動の過程を説明。エピジェネティック変異と植物生理現象について、雑種強勢を説明する siRNA による DNA メチレーションの関与モデルを示し、解説。エピジェネティック変異を利用した品種改良技術について、節管長距離輸送 siRNA を介したエピ変異体獲得法のモデルを紹介。	—
エピミュータジェネシスと次世代育種への展開	育種学研究	15	42-50	2013.06.01	前川雅彦ら	岡山大 資源植物科 研	シンポジウム報告として、エピジェネティックな生命現象を掘り下げるとともに、育種に利用可能なエピジェネティックな方法論を他の新しい育種技術との関連において解説。	—

⑤ Grafting (Transgrafting)

表 15 Grafting (Transgrafting) + リスク評価の結果

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Omics Profiles of Non-GM Tubers from Transgrafted Potato with a GM Scion	Food Safety (Web)	11	ROMBU NNO.D-22-00010(J-STAGE)	2023	Miyahara Taira et al.	Graduate School of Horticulture, Chiba University, Japan	「トランスグラフト」はトランスジェニック植物体を非トランスジェニック植物体に移植する移植法である。形質転換したジャガイモ植物を用いて、非GM 台木の可食部に対する遺伝子組換え(GM)穂の影響を調べた。GM 又は対照(野生型)ジャガイモ植物から調製した穂を非 GM ジャガイモ台木に接ぎ木した。塊茎収穫の後、GM と対照植物の間のジャガイモ収量における有意差は観察されなかった。また、ステロイドグリコアルカロイド、毒性代謝産物の蓄積に差は見られなかった。栄養組成にも差がないことを見出した。これらの結果は、穂における導入遺伝子発現が非トランスジェニックジャガイモ塊茎の代謝に限られた効果を有することを示した。	新しい作物を育種する場合は、有害な二次代謝産物の生成を低く保つ必要があり、そのためには、マルチオミクスアプローチが有用としている。また、sRNA により誘導される変化に関する食品安全の評価が必要としている。
Quantitative Analysis of Florigen for the Variability of Floral Induction in Cabbage/Radish Inter-generic Grafting	Plant and Cell Physiology (Web)	63	1230-1241 (WEB ONLY)	2022 .09	MOTOKI Ko et al.	Kyoto Univ. Japan	フロリゲン蓄積の定量的分析による、長い世代時間を持つ重要な野菜作物であるキャベツ(Brassica oleracea L.var.capitata)の接ぎ木誘導開花における変動性を促進する因子についての調査。台木で産生された FT タンパク質の総量の増加は接ぎ木したキャベツの安定な花成誘導にとって重要であり、これは FT 転写と台木の葉面積の増加により達成されると結論。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Omics Profiles of Non-transgenic Scion Grafted on Transgenic RdDM Rootstock	Food Safety (Web)	10	13-31(J-STAGE)	2022	Kodama Hiroaki et al.	Graduate School of Horticulture, Chiba University, Japan	sRNA を受け取る植物体から得た食品の安全性を評価するために、非トランスジェニック穂木に対する RdDM の仲介に関与する台木由来 sRNA の影響を調べた。結論として、RdDM 誘導台木への接ぎ木は、sRNA の低レベルの伝達を引き起こし、その結果、穂木における DNA メチル化が制限されることを見出した。しかし、sRNA 伝達と、穂木のトランスクリプトームとメタボロームプロファイルの非常にわずかな変化の間の因果関係は、不明のままである。RdDM 台木による接ぎ木のための安全性評価点について論じた。	マルチオミクスアプローチは、安全性評価において重要な要素の一つである。一方、食経験に基づいた詳細な分析も重要である。
Insight into Plant Grafting and Its Regulation	ACM Proceedings		211-216	2021	Wang Kexin	Northwest Agriculture&Forestry University, China	接ぎ木部分の再生の機構を解明することを目的とした論文。	—
Engineering Metabolism in Nicotiana Species: A Promising Future	Trends in Biotechnology	39	901-913	2021	Molina-Hidalgo Francisco Javier et al.	Ghent University, Department of Plant Biotechnology and Bioinformatics, Belgium	タバコを中心とした分子農業への NPBT の応用の紹介。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Effect of Transgenic Rootstock Grafting on the Omics Profiles in Tomato	Food Safety (Web)	9	32-47(J-STAGE)	2021	Kodama Hiroaki et al.	Graduate Scholl of Horticulture, Faculty of Horticulture, Chiba University, Japan	接ぎ木トマト果実に及ぼすβ-グルクロニダーゼ(GUS)をコードする導入遺伝子の影響について評価。接ぎ木植物は、台木のGUS遺伝子の有無に関わらず、果実発育速度や新鮮重に差が見られなかった。果実試料について、トランスクリプトーム(NGS-イルミナ)、プロテオーム(ショットガンLC-MS/MS)、メタボローム(LC-ESI-MS及びGC-ESI-MS)、一般的な食品成分分析を行った。さらに、導入遺伝子の有無別の接ぎ木植物間で異なる検出項目(2倍以上)を同定した。トランスクリプトーム分析の結果、平均約18500遺伝子の発現を検出し、6つの遺伝子だけが異なる発現をしたと判定された。プロテオームプロファイルに見られるペプチドの2442ピークの主成分分析の結果、有意差は見られなかった。LC-ESI-MS分析及びGC-ESI-MS分析の結果、それぞれ、合計93のピーク群と114のピーク群が同定され、二つの群だけが2倍以上の差を示した。一般的な食品成分分析の結果にも有意差は見られなかった。これらの多重オミクスのデータから、GUS導入遺伝子を持つ台木への接ぎ木が、接いだ種に遺伝的又は代謝的変化を誘導しないことを示した。	ここで紹介したマルチプルオミクス解析は、導入遺伝子産物が宿主の代謝と相互作用する接ぎ木植物の安全性評価に応用できるかもしれない。RNA分子と導入遺伝子由来の翻訳されたタンパク質産物が移植接合部を通過する動きは依然として不確実であり、食品の安全性評価の観点から更なる調査が必要である。
New plant breeding techniques and their regulatory implications: An opportunity to advance metabolomics approaches	Journal of Plant Physiology	25	Null	2021	Enfissi Eugenia M.A. et al.	Department of Biological Sciences, School of Life Sciences and the Environment, Royal Holloway University of London, United Kingdom	遺伝子組換え作物の既存の状況をレビューし、新しい植物育種技術(NPBT)の可能性について述べている。	過剰な規制が生じ、行政的・経済的負担が生じないようにすることが議論されている。メタボロミクスは、植物育種におけるバイオテクノロジーの進歩と同時に発展してきたオミクス技術である。メタボロミクス技術を発展させ、新規植物育種技術の成果を特徴づけることで、学術的、バイオセーフティ的、産業的な観点から有益な結果を得られる可能性がある。

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
New Biotechnological Tools for the Genetic Improvement of Major Woody Fruit Species	Frontiers in Plant Science (Web)	8	1418	2017	Limera Cecilia et al.	Department of Agricultural, Food and Environmental Sciences, Universita Politecnica delle Marche Italy	このレビューでは、より高度なバイオテクノロジー技術のメカニズムと、木質果実種の改良におけるその応用について説明し、これらのバイオテクノロジーツールと、これらの技術を通じて得られた植物及び製品に適用されるEUのバイオセーフティ規制との関係を考察している。	果樹への応用の観点から、安全性の評価について考察している。シスジェネシス及びイントラジェネシスについては、バイオセーフティの懸念が少ない可能性があるとして述べている。
接ぎ木によるエピゲノム編集作物の作出	バイオサイエンスとインダストリー	75	238-239	2017.05.10	葛西厚史 原田竹雄	弘前大 農学生命科学	伴細胞のプロモーター下でCaMV35Sプロモーターの一部を逆位反復配列としてタバコで発現し、伴細胞において35Sプロモーター領域(標的領域)の二本鎖RNAを産生する。これを穂木として、接ぎ木により台木にsiRNAを移送することで、台木の篩管周辺細胞群の標的領域をメチル化できた。ここから、側根が発達することから、側根の再生個体を作成することで、転写型サイレンシング(TGS)を起動する個体を得ることができる。この新育種法を用いたエピゲノム編集によるジャガイモの品種改良の事例を報告する。本技術は接ぎ木栽培が可能な作物への適用が容易であることから、リンゴなどの果樹の育種への応用が期待される。	—
Biotechnology and apple breeding in Japan	Breeding Science	66	18-33(J-STAGE)	2016	Igarashi Megumi et al.	Hirosaki Industrial Research Institute, Japan	リンゴは、経済的に重要な果実農作物であり、育種家は、世界中で改良特性を備える新規栽培品種を開発し続けている。近年では、トランスグラフト化、ウィルスベクター及びゲノム編集のような遺伝的改良に関する新技術が出現した。これらの技術の使用で、異種遺伝子が最終製品において存在しておらず、これらは、リンゴ育種への利用に関して重要な有用性を示すことを述べた。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
次世代遺伝子組換え技術を用いた作物の現状と問題点	食品衛生学雑誌	55	231-246 (J-STAGE)	2014	近藤一成 & 中村公亮	国立医薬品食品衛生研究所	EUなど欧州では、現在現行の枠組み Directive 2001/18/EC を基に、外来遺伝子が残存するかどうかも考慮して GMO 規制に含まれるか除外されるかの整理を慎重に行っており、除外されるものについても改定される Novel Food Regulation により必要に応じて承認審査制度が導入される可能性がある。次世代組換え技術の中で、エピジェネティック変異を誘導する RdDM、ODM や SDN-1、-2 は小さな欠失又は数塩基の置換や挿入を特異的に誘導することができるが、その改変は random mutation で自然界でも起こりうる変化である。そのため、変異は検出できるがこの両者の違いは判別できないことから GMO 規制から除外される可能性が高い。 次世代組換え技術を用いて作製された作物が GMO 規制対象かどうかということと、その作物の食品安全性は必ずしも一致しない。用いる技術と関係なく遺伝子改変によって作られる食品の安全性を考えることが重要である。	遺伝子組換え台木由来のタンパク質や代謝物、遺伝子組換え台木に組み込まれた RNA サイレンシングのコンストラクト由来の低分子 RNA の移行等が報告されており、その残存やタンパク質の安全性の確認及び代謝物の変化の確認が必要である。ゲノム上の塩基配列はそのままであるが、形質が変化した穂木をどのように扱うのかの議論が必要。RNA サイレンシングを誘導する台木の土壌など環境影響は、従来の遺伝子組換え体同様に考慮する必要がある。
バイオが貢献して拓く未来社会 8 植物の品種改良技術の最近の進歩と将来展望	バイオサイエンスとインダストリー	72	240-253	2014 .05. 01	江面浩	筑波大 生命環境系	従来の植物育種技術について説明するとともに、NBT の代表的な 6 つの技術、すなわち、人工ヌクレアーゼ、オリゴヌクレオチド指定突然変異 (ODM)、シスジェネシス/イントラジェネシス、RNA 依存性 DNA メチル化 (RdDM)、遺伝子組換え台木への接ぎ木、及び逆育種を概説した。	—
育種技術の新展開—NBT,ゲノム編集,そして社会的対応【Part2:ゲノム編集】植物におけるエピゲノム編集—その原理と接ぎ木による誘導	生物の科学 遺伝	68	140-144	2014 .03. 01	葛西厚史 & 原田竹雄	弘前大 農学生命科学	エピゲノム編集という新たな品種改良技術の開発への取り組みについて紹介。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
新しい遺伝子改変技術と有用植物の育成 植物の接ぎ木を利用した接ぎ木相手の形質転換	植物の生長調節	48	125-134	2013 .12. 20	葛西厚史 & 原田竹雄	弘前大 農学生命科学	接ぎ木技術の特徴は、既存の栽培品種を RNA 輸送システム導入個体に接ぎ木するだけで改良できること、また、改良個体には導入 DNA が存在しないため従来の組換え体には該当せず、花粉飛散による組換え遺伝子の漏出問題をクリアできることにある。	—

⑥ Reverse Breeding

表 16 Reverse Breeding+リスク評価の結果

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Creating novel ornamentals via new strategies in the era of genome editing	Frontiers in Plant Science (Web)	14	1142866	2023	Jin Chunlian et al.	Floriculture Research Institute, Key Laboratory for Flower Breeding of Yunnan Province, China	観賞用植物のトランスジェニック育種の現状を概観し、作物育種において既に成功が証明されており、ゲノム編集の助けを借りて観賞用植物の育種に適応できる四つの有望な育種戦略を提案。組換え操作、ハプロイド誘導体の作製、クローン種子の生産、及び逆育種について解説している。また、これらの各戦略の研究進捗状況、適用状況、実現可能性についても述べられている。	—
Meiotic crossover reduction by virus-induced gene silencing enables the efficient generation of chromosome substitution lines and reverse breeding in Arabidopsis thaliana	Plant Journal	104	1437-1452	2020	Calvo-Baltanas Vanesa et al.	Laboratory of Genetics, Wageningen University & Research, the Netherlands	逆育種は、CO(交差組換え)形成の一時的ダウンレギュレーションから利益を得る育種技術である。この技法は本質的に植物交雑の逆であり、ハイブリッドから親系統を抽出する方法である。Arabidopsis thaliana の野生型ヘテロ接合体における減数分裂遺伝子 MSH5 を標的化することにより、ウイルス誘導遺伝子サイレンシング(VIGS)を用いて CO 形成を一過性に低減する可能性を示した。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Molecular breeding technologies and strategies for rust resistance in wheat (<i>Triticum aestivum</i>) for sustained food security	Plant Pathology	67	771-791	2018	Savadi S. et al.	ICAR - Indian Institute of Wheat and Barley Research (IIWBR), Regional Station, India	農業におけるトランスジェニックの広範な応用は、バイオセーフティへの懸念によって妨げられている。NPBT技術は、作物植物を以前よりも精密に操作する驚異的な能力を提供し、持続的な食糧生産のための作物改良努力を加速させるだけでなく、食用作物に関連する安全性の懸念を克服するとしている。	—
次世代遺伝子組換え技術を用いた作物の現状と問題点	食品衛生学雑誌	55	231-246 (J-STAGE)	2014	近藤一成 中村公亮	国立医薬品食品衛生研究所	欧州では、現行の枠組み Directive 2001/18/EC を基に、外来遺伝子が残存するかどうかを考慮して GMO 規制に含まれるか除外されるかの整理を慎重に行っており、除外されるものについても改定される Novel Food Regulation により必要に応じて承認審査制度が導入される可能性がある。次世代組換え技術の中で、エピジェネティック変異を誘導する RdDM, ODM や SDN-1, -2 は小さな欠失又は数塩基の置換や挿入を特異的に誘導することができるが、その改変は random mutation で自然界でも起こりうる変化である。そのため、変異は検出できるがこの両者の違いは判別できないことから GMO 規制から除外される可能性が高い。次世代組換え技術を用いて作製された作物が GMO 規制対象かどうかということと、その作物の食品安全性は必ずしも一致しない。用いる技術と関係なく遺伝子改変によって作られる食品の安全性を考えることが重要である。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
[新たな育種技術の開発と実用化に向けて]欧州における新たな育種技術の研究開発について	JATAFF ジャーナル	2	10-14	2014 .08. 01	田部井豊	農業生物資源研究 遺伝子組換え研究センター	ワーゲンゲン大学では、シスジェネシスを用いてリンゴ黒星病抵抗性リンゴや赤い果肉のリンゴ、疫病耐性のジャガイモの開発と野外試験を実施。Keygene社は、オリゴヌクレオチド指定突然変異導入技術(ODM)により除草剤耐性ペチュニア等を開発し、Rijk Zwaan社は逆育種で染色体ごとの特性の育種利用を促進。いずれの訪問先でも、外来の導入遺伝子が残らない技術で開発された植物をGM植物から除外することを望んでいる。	—
バイオが貢献して拓く未来社会 8 植物の品種改良技術の最近の進歩と将来展望	バイオサイエンスとインダストリー	72	240-253	2014 .05. 01	江面浩	筑波大 生命環境系	従来の植物育種技術について説明するとともに、NBTの代表的な6つの技術、すなわち、人工ヌクレアーゼ、オリゴヌクレオチド指定突然変異(ODM)、シスジェネシス/イントラジェネシス、RNA依存性DNAメチル化(RdDM)、遺伝子組換え台木への接ぎ木、及び逆育種を概説。	—

⑦ Agro-infiltration

表 17 Agro-infiltration+リスク評価の結果

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Recent Advances of In Vitro Culture for the Application of New Breeding Techniques in Citrus	Plants (Web)	9	938	2020	Poles Lara et al.	Food and Environment (Di3A), Department of Agriculture, University of Catania, Italy	柑橘類の遺伝子組換えの最近の知見。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
New plant breeding techniques and their regulatory implications: An opportunity to advance metabolomics approaches	Journal of Plant Physiology	25 8- 25 9	Null	2021	Enfissi Eugenia M.A. et al.	Department of Biological Sciences, School of Life Sciences and the Environment, Royal Holloway University of London, United Kingdom	遺伝子組換え作物の既存の状況をレビューし、新しい植物育種技術(NPBT)の可能性について述べている。	過剰な規制が生じ、行政的・経済的負担が生じないようにすることが議論されている。メタボロミクスは、植物育種におけるバイオテクノロジーの進歩と同時に発展してきたオミクス技術である。メタボロミクス技術を発展させ、新規植物育種技術の成果を特徴づけることで、学術的、バイオセーフティ的、産業的な観点から有益な結果を得られる可能性がある。
Molecular breeding technologies and strategies for rust resistance in wheat (Triticum aestivum) for sustained food security	Plant Pathology	67	771-791	2018	Savadi S. et al.	ICAR - Indian Institute of Wheat and Barley Research (IIWBR), Regional Station, India	農業におけるトランスジェニックの広範な応用は、バイオセーフティへの懸念によって妨げられている。NPBT技術は、作物植物を以前よりも精密に操作する驚異的な能力を提供し、持続的な食糧生産のための作物改良努力を加速させるだけでなく、食用作物に関連する安全性の懸念を克服するとしている。	—
次世代遺伝子組換え技術を用いた作物の現状と問題点	食品衛生学雑誌	55	231-246 (J-STAGE)	2014	近藤一成 & 中村公亮	国立医薬品食品衛生研究所	遺伝子組換え技術を用いた作物の技術の紹介、安全面の評価、安全規制や検出・検知の可能性等を整理し、今後の動向を含め解説。次世代組換え技術としては、シスジェネシス・イントラジェネシス、オリゴヌクレオチド指向変異導入、部位特異的変異導入、遺伝子組換え台木又は穂木との接ぎ木(トランスグラフティング)、RNA 依存性 DNAメチル化、逆育種、Seed Production Technology、アグロインフィルトレーションを挙げている。	アグロインフィルトレーションに関しての安全上の懸念点については、言及がない。
育種技術の新展開—NBT,ゲノム編集,そして社会的対応【Part1:NBT】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	生物の科学 遺伝	68	125-129	2014 .03. 01	今辰哉 吉川信幸	岩手大大学院農学研究所	アグロインフィルトレーション法は、植物病原細菌である Rizobium radiobacter(Ti)(旧 Agrobacterim)を用いて、目的とするタンパク質や RNA を植物組織で一過的に発現する技術。	—

⑧ Seed production Technology

表 18 Seed production Technology + リスク評価の結果

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
次世代遺伝子組換え技術を用いた作物の現状と問題点	食品衛生学雑誌	55	231-246 (J-STAGE)	2014	近藤一成 中村公亮	国立医薬品食品衛生研究所	欧州では、現行の枠組み Directive 2001/18/EC を基に、外来遺伝子が残存するかどうかを考慮して GMO 規制に含まれるか除外されるかの整理を慎重に行っており、除外されるものについても改定される Novel Food Regulation により必要に応じて承認審査制度が導入される可能性がある。次世代組換え技術の中で、エピジェネティック変異を誘導する RdDM, ODM や SDN-1, -2 は小さな欠失又は数塩基の置換や挿入を特異的に誘導することができるが、その改変は random mutation で自然界でも起こりうる変化である。そのため、変異は検出できるがこの両者の違いは判別できないことから GMO 規制から除外される可能性が高い。次世代組換え技術を用いて作製された作物が GMO 規制対象かどうかということ、その作物の食品安全性は必ずしも一致しない。用いる技術と関係なく遺伝子改変によって作られる食品の安全性を考えることが重要である。	作出過程の途中で遺伝子組換え体を用いるが、最終産物には遺伝子組換え体中の遺伝子やその断片は除去されている。日本国内においても個別事例として SPT トウモロコシは GMO 規制対象外と判断されている。このような null segregant は、GMO 規制対象から除外されると考えられるが、外来遺伝子が完全に除去されていることが確実に証明されることが必須としている。
育種技術の新展開—NBT,ゲノム編集,そして社会的対応【Part1:NBT】 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,リバースブリーディング,果樹の早期開花,自殖性作物の TMS 循環選抜	生物の科学 遺伝	68	117-124	2014 .03. 01	田中淳一 田部井豊	農業・食品産業技術総合研究機構 作物研	遺伝子組換えによって作物の生殖に関する特性、すなわち、自殖や他殖、遺伝的組換え、1 世代に要する期間などを制御しその後導入した遺伝子を遺伝分離で除くという、四つの技術を紹介。	—

⑨ TMS 循環選抜

表 19 TMS 循環選抜＋リスク評価の結果

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Progress in recurrent selection of soybean in Hokkaido, northern Japan	育種学研究	24	41	2022.09.23	山口直矢ら	道総研 中央農試	循環選抜育種法について概説。	—
[新たな育種技術の開発と実用化に向けて]自殖性作物における高効率循環選抜育種法の開発に向けて	JATAFF ジャーナル	2	24-29	2014.08.01	田中淳一	農業・食品産業技術総合研究機構 作物研	自殖性作物においても効率的な循環選抜を可能にするために、マーカー形質によりネガティブ/ポジティブ選抜が可能な優性の雄性不稔系統を組換え技術によって作出。これを利用し、TMS 循環選抜として実現することを目指す。	—
育種技術の新展開—NBT,ゲノム編集,そして社会的対応【Part1:NBT】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,リバースブリーディング,果樹の早期開花,自殖性作物のTMS 循環選抜	生物の科学 遺伝	68	117-124	2014.03.01	田中淳一 & 田部井豊	農業・食品産業技術総合研究機構 作物研	遺伝子組換えによって作物の生殖に関する特性,すなわち,自殖や他殖,遺伝的組換え,1世代に要する期間などを制御し,その後導入した遺伝子を遺伝分離で除くという,四つの技術を紹介。	—
日中協力材木育種科学技術センター計画における技術開発の現状	林木の育種		19-23	2008.02.25	河村嘉一郎ら	国際協力機構	優良種苗による造林と林木遺伝資源の保存を推進し,生態環境改善を行うことを目的とし,循環選抜育種技術等が利用された。樹木の育種は,循環選抜育種を利用。	—

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
Combination of reversible male sterility and doubled haploid production by targeted inactivation of cytoplasmic glutamine synthetase in developing anthers and pollen	Plant Biotechnology Journal	5	483-494	2007.07	Ribarits Alexandra	Univ. Dep. at the Vienna Biocenter, Vienna, Austria	雄性不稔:タベータム組織媒介性の胞子体雄性不稔は茎葉作物で利用されるが、小胞子特異的な配偶体雄性不稔はどのような農作物にでも適用可能であるという利点がある。	—
Development of basic breeding methods of white clover (<i>Trifolium repens</i> L.).	東北農業試験場研究報告		21-145	1991.03	山田敏彦	東北農試	個体レベルの研究として自家和合性因子を用いた循環選抜法の可能性を検討。	—

⑩ ウィルス活用の世代促進技術

表 20 ウィルス活用の世代促進技術+リスク評価の結果

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
リンゴ小球形潜在ウィルスベクターを用いたイチゴ (<i>Fragaria x ananassa</i>) の遺伝子サイレンシング(VIGS)と高速開花(VIF)技術の確立	AIC News Letter		40-42	2021	笠島一郎 山岸紀子 吉川信幸	岩手大 次世代アグリイノベーション研究センター	イチゴの色素合成関連遺伝子の一部を導入した ALSV ベクター(ALSV-FaPDS)を作製し、「よつぼし」と「ドーバー」苗に接種したところ、葉が白色化し、VIGS を効率よく誘導することができた。シロイヌナズナの FT 遺伝子を導入した ALSV ベクター(ALSV-AtFT)をイチゴ実生苗に接種したところ、接種後約 2 か月から開花し始め、その後結実した。後代の実生苗からは ALSV は検出されなかった。	—
[新たな育種技術の開発と実用化に向けて]植物 RNA ウィルスベクターを利用した植物の新育種技術	JATAFF ジャーナル	2	30-35	2014.08.01	吉川信幸 山岸紀子 今辰哉	岩手大 大学院農学研究科	ALSV ベクターの特徴と植物への導入(接種)法、ALSV ベクターを利用した植物の開花及び世代促進、ALSV 感染による宿主 DNA のメチル化とその子孫への遺伝、次世代個体がウィルスフリーであることの検証について紹介。	「ALSV は植物ゲノムに取り込まれることはなく、また感染個体から得られた次世代植物のほとんどのに移行しないため、ALSV ベクター技術を利用して植物の機能を改変しても、その子孫は遺伝子組換え植物には相当しない」と考えている。

標題	資料名	巻	ページ	発行年	著者名	所属機関名	内容	安全性について
果樹における先端ゲノム解析と新しい研究の展開 No.1 早期開花性を利用したカンキツにおける新しい育種技術の開発	果実日本	69	90-93	2014.08.15	遠藤朋子	農業技術研究機構 果樹研	幼若期間の短縮を図る戻し交配技術の世代促進育種法について解説。本法は、カンキツ類が元来もつ開花の遺伝子を導入、常時発現させ一世代の生育時間の短縮を図り世代促進をさせた。	育成過程で遺伝子組換え技術の利用はするが、最終品種ではそれがないという新しい交雑育種法。
NBT 3)非病原性植物 RNA ウィルスを用いた新育種技術(NBT)の開発	バイオサイエンスとインダストリー	71	360-364	2013.07.01	吉川信幸	岩手大大学院農学研究科	作物育種における植物潜在性 RNA ウィルスを用いた果樹の世代促進技術の開発、特に開花技術について紹介。	—

(2) NPBT のリスクについて

① 検索結果のまとめ

ゲノム編集に関連する潜在的なリスクについて、Marie-Berengere ら (2019)⁸¹は、次のように述べている。ゲノム編集技術(CRISPR/Cas9 など)は、意図した効果(部位特異的及び特異的修飾)を生み出すことが期待されるが、意図しない効果の可能性を考慮し、評価することが求められる。

①特殊な酵素などのゲノム編集のために細胞に導入される分子エフェクターの存在に起因するリスクを考慮する。②オフターゲットの生成リスクを考慮する。オフターゲット修飾を防止するようにパラメータを最適化することにより、オフターゲット生成リスクが軽減する。③取得した新規の形質発現に起因する健康や環境に対する直接的なリスクを考慮する。このような形質発現によるリスクは個々の形質に固有であり、ゲノム編集技術に固有のものではない。

ゲノム編集植物のゲノム情報解析、リスク評価の必要性について、Katharina (2021)⁸²は、次のように述べている。SDN-1 で改変された植物は、栽培品種から知られている形質を含むが、新しい遺伝的背景で発現している。対応する標的遺伝子が異なる種で異なる機能又は相互作用を有する可能性があるため、従来又は天然の対応物と同一視することはできない。SDN-1 で改変された植物の約半分は、ゲノムに複雑な遺伝子変異を含んでおり、ゲノム編集植物のリスク評価には、プロセスと最終製品の両方に関するデータが個々に必要となる。また、Katharina ら (2020)⁸³は、ゲノムの不規則性を検出するオミクス技術の開発と標準化の必要性について述べている。ゲノム編集は、遺伝物質への意図した変化だけでなく、意図しないオンターゲット効果、意図しないオフターゲット効果、染色体の再配列などが生じ、ゲノムの不規則性を引き起こし、意図しない機能喪失の突然変異、又は、タンパク質機能の変化が起こる可能性がある。ゲノム編集によるオフターゲット効果や意図しないオンターゲット効果の検出、ゲノム制御への影響の分析を可能にするリスク評価、ゲノムの不規則性を検出するオミクス技術の開発と標準化が必要であるとしている。

一方で、リスクについてはさほど心配ないとしている論文もある。

Singer ら (2021)⁸⁴は、育種によって誘発される可能性のあるゲノム変化は、作物の安全性に悪影響を与える表現型の変化につながる可能性が信じられないほど低いと述べている。ゲノム編集された植物は、技術自体に起因するオフターゲット

⁸¹ Marie-Berengere T. et al. (2019) Where are we with unintended effects in genome editing applications from DNA to phenotype: focus on plant applications, *Transgenic Res* 28:125–133.

⁸² Katharina K.(2021) The Generic Risks and the Potential of SDN-1 Applications in Crop Plants, *Plants* 10, 2259.

⁸³ Katharina K. et al. (2020) Broadening the GMO risk assessment in the EU for genome editing technologies in agriculture. *Environmental Sciences Europe* 32:106.

⁸⁴ Singer S. D. et al. (2021) Genetic Variation and Unintended Risk in the Context of Old and New Breeding Techniques. *Critical Reviews in Plant Sciences* VOL. 40, NO. 1, 68–108.

ット変異があったとしても、ほとんど示されておらず、バイオテクノロジー由来の作物は、従来の栽培作物と比較して安全性に関する懸念が根強く残されているが、これらの懸念は立証されていないと記載している。また、Fedorova Maria ら (2020)⁸⁵も、ゲノム編集は、従来の品種で起こり得るのと同様の意図された代謝変化を引き起こすと予想され、意図しない代謝変化はるかに少ないといえらると述べている。意図しない代謝変化は、従来の品種、特に古典的な突然変異育種によって生成された品種で発生する可能性のあるものよりも小さく、予防することができ、管理しやすいものである。生産方法に関係なく、ヒト、家畜、環境に安全な市場品種が提供可能であると記載している。

オリゴヌクレオチド指向突然変異導入は、ゲノム上の標的となる塩基配列に対して相等的かつ1塩基程度の変異を有する、20 から 100 塩基の短い DNA 又は RNA 配列 (オリゴヌクレオチド) を細胞中に導入して変異を誘発し、細胞内でのミスマッチ修復機構を利用して望みの位置に小さな置換や欠失を導入する手法である。

近藤ら (2014)⁸⁶は、次世代遺伝子組換え技術のひとつとして ODM について記述している。ODM はベクターを用いていないため、改変後には数塩基置換又は欠失以外にはゲノム上の配列は改変前と同じである。しかし、改変される効率が低い点や目的変異箇所の前後で意図せざる突然変異が発生する可能性があることから、その悪影響を考える必要があり、考慮すべき点として次の 5 項目をあげている。

1. 非特異的な変異導入が起きる可能性がある。
2. オリゴヌクレオチドがゲノムに挿入される可能性があるため、目的の変異 (置換や欠失) 以外の改変が起きていないかの確認が必要である。
3. エクソン中の 1 又は 2 塩基欠失 (挿入) により機能遺伝子をノックアウトした場合は、それ以降フレームシフトにより異なる融合タンパク質が発現する可能性があるため、このタンパク質の安全性を確認する必要がある。
4. DNA/RNA キメラなどを用いるオリゴヌクレオチドの安定性を増せば、効率は上がるが非特異的な影響が比例して大きくなるので、点突然変異を導入する場合、その近傍も変異が導入されることがあるため塩基配列の確認が不可欠である。
5. RNA を含む分子を用いた場合、生物が本来持つ RNA サイレncing の機構に影響する可能性や最終産物にどう影響するかを考える必要がある。

一方、LUSSER Maria (Joint Res. Centre (JRC), European Commission (EC))

⁸⁵ Fedorova M. et al. (2020) Obligatory metabolomic profiling of gene-edited crops is risk disproportionate. *The Plant Journal* 103 : 1985-1988.

⁸⁶ 近藤 一成、中村 公亮、総説 次世代遺伝子組換え技術を用いた作物の現状と問題点、食衛誌 Vol. 55, No. 6, 231-246 (2014).

⁸⁷らは、ODM はオリゴヌクレオチドとの実験プロトコールが適切に設計されていれば、ODM によって誘発される変異は高度に特異的になるはずで、意図しない変化や環境への影響が少ないとしている。ODM によって開発された生物は、放射線照射や化学的突然変異誘発などの従来の育種技術に基づく突然変異体と区別できず、安全性の問題があるとすれば、ODM に限らず突然変異生物体の持つ、内因性遺伝子の発現の変化又は内因性タンパク質のアミノ酸配列の特定の変化に関連している可能性があるとして述べている。

雄性不稔のキーワードで抽出された論文がほとんどで、TMS 循環選抜に関するものは抽出されなかった。

ウイルス活用の世代促進技術は、ゲノムを改変した植物ウイルス (ALSV) ベクターを用い、外来遺伝子を植物体に発現させる方法で、一過的な外来遺伝子の発現や内在性遺伝子の発現抑制に利用でき、開花まで長時間を要する果実類の早期開花を可能にする技術である。

笠島ら (2019) ⁸⁸は、リンゴ潜在球状ウイルス (ALSV) ベクターを用いたイチゴのウイルス誘発開花 (VIF) について報告している。研究では、ウイルス誘導性遺伝子サイレンシング (VIGS) の役割をするヌクレオチドを保持するタバコガラガラウイルス (TRV) ベクターを用いた ALSV ベクターを作製している。植物におけるウイルス感染に対する防御機構である VIGS により、特定の遺伝子の発現が抑えられる現象を利用し、VIF を誘導してイチゴの生成時間を短縮することに成功している。RNA ウィルスである ALSV ベクターは植物の機能を改変しても、植物ゲノムに取り込まれることはなく、細胞に一過性にしか感染しないため、感染個体から得られた次世代植物に移行することはほとんどない。イチゴの植物の場合は、花粉粒や胚珠に感染する ALSV が受粉後にイチゴの胚で分解されることが示唆されたと報告している。

また、吉川ら (2014) ³⁴ は、ウイルス活用技術について次のように述べている。ALSV ゲノムを改変して構築した ALSV ベクターは、一過的な外来遺伝子の発現や内在性遺伝子の発現抑制に利用できる。ALSV は植物ゲノムに取り込まれることはなく、また感染個体から得られた次世代植物のほとんどに移行しないため、ALSV ベクター技術を利用して植物の機能を改変しても、その子孫は遺伝子組換え植物には相当しないと記述している。

② WEB 検索による追記

上記の検索に加え、NPBT リスクに係る論文を WEB 上で検索し、重複も含め

⁸⁷ LUSSEY M. et al. (2011) New plant breeding techniques. State-of-the-art and prospects for commercial development. JRC 63971

⁸⁸ Li et al. (2019) Virus-induced gene silencing and virus induced flowering in strawberry (*Fragaria × ananassa*) using apple latent spherical virus vectors. Horticulture Research 6:18

て要点を翻訳してまとめた。

表 21 その他の総説

No.	タイトル	内容
1	A New Zealand Perspective on the Application and Regulation of Gene Editing MINI REVIEW article Front. Plant Sci., 12 September 2018 Sec. Plant Biotechnology Volume 9 – 2018	ニュージーランドにおける遺伝子編集の規制及びゲノム編集の状況判定への申請
2	An EU Perspective on Biosafety Considerations for Plants Developed by Genome Editing and Other New Genetic Modification Techniques (nGMs) POLICY AND PRACTICE REVIEWS article Front. Bioeng. Biotechnol., 05 March 2019 Sec. Biosafety and Biosecurity Volume 7 – 2019	ゲノム編集とその他の新しい遺伝子組換え技術(nGM)によって開発された植物のバイオセーフティに関する考慮事項に関するEUの視点
3	Canadian regulatory aspects of gene editing technologies Transgenic Res (2019) 28:165–168	ゲノム編集技術に関するカナダの規制的側面
4	New Plant Breeding Techniques and Risks Associated with their Application	新しい植物育種技術とその応用に伴うリスク
5	Plants Developed by New Genetic Modification Techniques—Comparison of Existing Regulatory Frameworks in the EU and Non-EU Countries Front. Bioeng. Biotechnol., 19 February 2019 Sec. Biosafety and Biosecurity Volume 7 – 2019	プロセス指向又は製品指向の規制トリガーが、バイオテクノロジー製品全般、特にnGMアプリケーションの規制に適しているかどうかについて、欧州及び非欧州諸国で現在実施されている様々な規制の枠組みの幾つかの特徴を分析し、EUでのこのテーマに関する更なる議論に情報を提供することを目的としている
6	Revisiting Risk Governance of GM Plants: The Need to Consider New and Emerging Gene-Editing Techniques REVIEW article Front. Plant Sci., 21 December 2018 Sec. Plant Biotechnology Volume 9 - 2018	遺伝子組換え植物のリスクガバナンスの再考:新しいゲノム編集技術を検討する必要性
7	New plant breeding techniques and their regulatory implications: An opportunity to advance metabolomics approaches Journal of Plant Physiology 258-259 (2021) 153378	新しい植物育種技術とその規制への影響:メタボロミクスアプローチを前進させる機会

No.1

A New Zealand Perspective on the Application and Regulation of Gene Editing

(遺伝子編集の応用と規制に関するニュージーランドの視点)⁸⁹ MINI REVIEW article Front. Plant Sci., 12 September 2018 Sec. Plant Biotechnology Volume 9 - 2018 <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01323>

ニュージーランドにおけるゲノム編集の規制

遺伝子組換え作物を取り巻く世界的な社会的・規制的状況は、多くの異なる規制制度が実施されており、依然として複雑である。主な違いは、プロセスベースフレームワークとプロダクトベースフレームワークのどちらを使用するかである。現在の規制の枠組みが整った後に開発されたゲノム編集の規制については、まだ世界的なコンセンサスがなない。米国、カナダ、アルゼンチンを含む幾つかの国は、最終植物に導入されたDNAが含まれないゲノム編集技術は規制されないことを決定した。対照的に、欧州連合(EU)は最近、全てのゲノム編集技術を従来の遺伝子組換え生物と同じように規制することを決定した(2018年現在)。ニュージーランドの主要輸出先である中国とオース

⁸⁹ <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.01323/full>

トラリアを含む他の国は、規制アプローチをまだ決定していない。

ニュージーランドは、1996年有害物質及び新規生物法（HSNO）という厳格なプロセス主導の規制枠組みを使用して GM 生物を規制している。この法律は、遺伝子又は遺伝物質が *in vitro* 技術によって改変された生物として GMO を非常に広く定義している。この法律が可決された時点で使用されていた多くの技術は、体細胞変異、細胞融合、化学的及び物理的突然変異誘発など、この広い定義によって捕捉されている。

ゲノム編集の状況判定への応用

HSNO 法は、申請者が、ある生物がニュージーランドで GM として規制されているかどうかについて、環境保護局（EPA）による決定を求めるためのメカニズムを提供している。2012年、林業に特化した Crown Research Institute である Scion（接ぎ木の穂木が由来）は、この手順を使用して、ゲノム編集された生物がどのように規制されるかについての決定を求めた。HSNO の定義には、「任意の数の複製を通じて、遺伝又はその他の方法で派生した」遺伝子組換えは GMO として分類されることを明記する条項が含まれている。

CRISPR/Cas9 技術が開発される前に提出された Scion の申請では、「Zinc Fingerヌクレアーゼ及び TALENs の使用による編集生物が、編集装置を運ぶために導入遺伝子を使用せずに送達された時に遺伝子組換え生物として分類される生物をもたらすかどうか」を決定することを目指した。

Scion のアプリケーションは、宿主ゲノムへの導入遺伝子の挿入を含まないゲノム編集技術は、化学突然変異誘発とプロセスと結果が類似していると主張した。そのため、「染色体数の変化又は染色体再構成を引き起こす化学的又は放射線治療」の例外として、HSNO 規制に含める必要があるとしている。

EPA の決定

2013年4月の決定で、EPA は、Scion が提案した非トランスジェニックゲノム編集アプローチは、化学的突然変異誘発と遺伝子操作の両方に類似していると結論付けた。ただし、変更には外来 DNA の導入を伴わない化学物質の使用が含まれるため、化学的突然変異誘発に似ている（環境保護局、2013年）。EPA は更に、規則は、化学的突然変異誘発の製品を法の下で GMO として規制されることから除外しており、提案された修正は規則に記載されているものと十分に類似しており、また除外されるべきであり、それらから生じる生物は GMO と見なされるべきではないと結論した。

高等裁判所への異議申し立て

EPA の決定は、ニュージーランドの持続可能性評議会によって高等裁判所に上訴され、2013年11月に審理された。2014年5月20日に下された判決の主な検討事項は、特定の技術が免除される技術のクローズドリストであるかどうか、又は除外される技術の種類のカテゴリーを記述しているかどうかであった（ニュージーランド高等裁判所は、1998年の HSNO 規則に記載されている技術のリストはクローズドリストであり、

例外リストへの追加は政治的決定であり、行政上の決定ではないと結論付けた。これに基づいて、EPA の当初の決定は破棄され、現在、全てのゲノム編集はニュージーランドの GM 手順として規制されている。

今後の展望

ゲノム編集は、新しい酵素機能、塩基編集、同時マルチターゲットアプローチ技術の範囲と適用性を高める。長期の育種プログラムを必要とせずに、家畜作物の野生型近縁種の迅速な *de novo* 遺伝子編集ベースの家畜化の最近の実証は、ニュージーランドで特に適用可能である。具体的な例としては、キウイフルーツやラジアータパインなどがあり、これらは比較的栽培化されておらず、野生型の遺伝子型が多数存在するが、収穫後の貯蔵期間や貯蔵寿命の延長など、本質的な商業的形質の導入が必要である。

No.2

An EU Perspective on Biosafety Considerations for Plants Developed by Genome Editing and Other New Genetic Modification Techniques (nGMs) (ゲノム編集とその他の新しい遺伝子組換え技術 (nGM) によって開発された植物のバイオセーフティに関する考慮事項に関する EU の視点)

POLICY AND PRACTICE REVIEWS article Front. Bioeng. Biotechnol., 05 March 2019 Sec. Biosafety and Biosecurity Volume 7 - 2019 ⁹⁰

nGM (New Genome Modification Techniques) 植物の急速な開発は、意図しない影響の検出と排除を損なう可能性がある。本稿では、以下の nGM を取り上げた。

- ・ 部位特異的ヌクレアーゼ (SDN) によるゲノム編集
- ・ 合成オリゴヌクレオチドによるゲノム編集
- ・ RNA 依存性 DNA メチル化、遺伝子発現のエピジェネティックな制御を修飾するためのアプローチ
- ・ シスジェネシスとイントラジェネシス
- ・ 接ぎ木、特に GM 台木の使用
- ・ アグロインフィルトレーション
- ・ 半数体誘導と逆育種

nGM アプリケーションに関連する意図しない影響に関する考慮事項

- ・ 意図しない遺伝的及びエピジェネティックな変化も、それぞれの特定の nGM メカニズムから生じる可能性がある。よく知られている例は、ゲノム編集のアプローチに関連するオフターゲット修飾である。それらは典型的には、標的遺伝子座と十分に高い類似性を共有するゲノム配列で発生するため、分子編集ツールと関連してオフターゲット編集につながる可能性がある。オフターゲット活性は、他の nGM、例えば RdDM アプローチと関連していることもある。そのような場合、標的部位だけ

⁹⁰ <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2019.00031/full> (2024.3.19 アクセス)

でなく、他のゲノム遺伝子座もエピジェネティックに改変される。

- ・ 遺伝子組換え技術や他のバイオテクノロジーの方法と同様に、現在利用可能な nGM は、意図した分子変化のみを植物に導入するのに十分に特異的ではない。したがって、特定の nGM 法によって様々な意図しない分子変化が導入される可能性があり、これらの分子変化は、改変された植物の特性に影響を与える表現型効果につながる可能性がある。
- ・ 意図された変更のためのゲノム標的部以外でのゲノム位置での意図しない変更
- ・ 修飾の意図された部位の近傍での意図しない分子変化

例えば、以下のような外因性エフェクター分子をレシピエント植物細胞に導入して、nGM プロセスを開始する必要がある。

- I. 例えば、ゲノム編集のためのヌクレアーゼや特定の nGM に必要な分子ツールを発現するための植物細胞の安定した遺伝的形質転換のための組換え DNA コンストラクト
- II. nGM 関連成分の一過性発現のための組換え DNA コンストラクト
- III. 特定の DNA、RNA 又は核酸タンパク質複合体

意図しない遺伝的又はエピジェネティックな変化は、形質転換の副作用又はレシピエント細胞への方法関連成分の転移の副作用として導入される可能性がある。

また、遺伝子組換え技術の使用を伴う nGM アプローチのために、植物細胞のレシピエントゲノムに遺伝子コンストラクトを組み込むことによって、意図しない変化が生じる可能性もある。これは、例えば、シスジェネシス/イントラジェネシス、トランスグラフトのための台木の形質転換、トランスジェニックコンストラクトからの SDN 成分の発現に基づくゲノム編集アプローチに関連している。例えば、Braatz ら (2017) は、全ゲノムシーケンシングにより、CRISPR/Cas9 発現コンストラクトによるセイヨウアブラナの形質転換により、改変植物のゲノムにベクター骨格配列が少なくとも 5 回独立して挿入されていたことを見出している⁹¹。

nGM により付与された形質に関する考察

付与された形質は、次のクラスに分類される。

- (1) 除草剤耐性(HR)
- (2) 耐病性 (ウイルス性、細菌性、真菌性植物病原体)
- (3) 成分の変更
- (4) 環境ストレス要因に対する適応度の向上及び形態学的又は生殖植物の特性の変化

除草剤抵抗性を有する遺伝子組換え植物 (1)

nGM は、幾つかの農作物で様々な除草剤に対する耐性を発達させるために使用される。イタリアや米国で栽培された ALS (acetolactate synthase) 阻害剤抵抗性イネは、

⁹¹ Braatz, J. et al. (2017). CRISPR-Cas9 targeted mutagenesis leads to simultaneous modification of different homoeologous gene copies in polyploid oilseed rape (*Brassica napus*). *Plant Physiol.* 174, 935–942. doi: 10.1104/pp.17.00426

近縁の野生種と交雑し、HR 抵抗性雑草がこれらの交雑事象から出現した⁹²。最近、シロイヌナズナでは、修飾された EPSPS の発現レベルの上昇が、オーキシン含量の上昇や組換え植物の繁殖力の増加などの多面的効果につながる可能性があることが示されている⁹³。

組成変化を伴う遺伝子組換え植物 (2)

組成を変えた様々な nGM 植物は、主にゲノム編集アプローチによって、一部はシスジェネシス/イントラジェネシスによって開発された。ターゲットとする特性の例は、次のとおりである。

- ・ ジャガイモとコメの糖分とデンプン含有量の CRISPR/Cas 媒介 (SDN-1) 変化
- ・ CRISPR/Cas を介した遺伝子の SDN-1 ノックアウトによる脂質組成の変化
- ・ キノコの褐変を低減するための CRISPR/Cas を介した SDN-1 ゲノム編集、サトウキビ中のリグニンの TALENs を介した減少、ZFN によるトウモロコシのフィチン酸の減少、ジャガイモの貯蔵能力と加工品質を低下させる成分の TALENs を介した減少
- ・ コムギ中の α -グリアジンの CRISPR/Cas を介したサイレンシングによる抗栄養グルテンの含有量の減少
- ・ 米の香りを増加させる物質の含有量を変更する遺伝子の TALEN を介したノックアウト
- ・ リンゴのアントシアニン含有量を増やし、加工中のジャガイモ塊茎のアクリルアミド形成の可能性を低下させるためのシスジェニック修飾

様々な用途に対する知識や経験が不十分であることから、以下の要素を組み込んだケース別のリスク評価に基づいて、nGM 植物のバイオセーフティ監視のための一般的な枠組みが更に実施されることを主張している。

- I. 開発された形質の性質導入された変更の意図しない結果
- II. 同等の製品で利用可能な経験
- III. それぞれの国によって指定された関連する保護目標を考慮したケース固有のリスク評価要件

意図しない影響に関する nGM 植物を特徴付けるための 10 段階のアプローチの提案

ステップ 4~6 は、ゲノム編集アプリケーションに固有である。その他のステップは、全ての nGM アプリケーションに関連する。遺伝子組換え植物のリスク評価のための具体的な基準を開発するためには、これらの点は、新たな知識と最先端の分析方法に基づいて更に精緻化される必要がある。

⁹² Ishii T., and Araki M. (2017). A future scenario of the global regulatory landscape regarding genome-edited crops. *GM Crops Food* 8, 44–56. doi: 10.1080/21645698.2016.1261787

⁹³ Fang J. et al. (2018). Overexpressing exogenous 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) genes increases fecundity and auxin content of transgenic arabidopsis plants. *Front. Plant Sci.* 9:233. doi: 10.3389/fpls.2018.00233

- (1) 適用した nGM アプローチの具体的な特性（方法の詳細や対象植物種など）を検討し、意図しない変化を誘発する可能性が知られているかどうかを確認する。これには、オフターゲットアクティビティが含まれるが、これらに限定されない。
- (2) 意図しない変更/オフターゲットアクティビティの特定の可能性を示している、比較可能なアプローチの以前の使用から情報が入手可能かどうかを確認する。
- (3) 遺伝的にリンクされていない意図しない改変が、最終製品の開発に使用される交配によって除去される確率を評価する。この評価は、最終製品の育種履歴に基づいている必要がある。
- (4) バイオインフォマティクスツールを使用して、それぞれの植物種のゲノムのオフターゲット変化の可能性のある場所を予測する。適切なゲノム配列データが利用できない場合は、全ゲノムシーケンシングアプローチを使用して、実際のオフターゲット修飾を確認する。
- (5) 利用可能な一連の *in vitro* 試験法を適用して、特定のゲノム編集法の「潜在的なオフターゲット切断部位のスーパーセット」を特定する。これにより、バイオインフォマティクスに基づく潜在的なオフターゲット部位の予測の品質をチェックすることができる。
- (6) 上記及びより広範な潜在的なオフターゲット部位のセットに基づいて、ターゲットシーケンシングを使用して、予測されたゲノム遺伝子座における実際のオフターゲット変化を検出する。また、ターゲットシーケンシングを使用して、目的の修飾に遺伝的にリンクされているゲノム領域、つまり、意図した変化の標的配列の近傍を評価する。

No.3

Canadian regulatory aspects of gene editing technologies（遺伝子編集技術に関するカナダの規制的側面）

Transgenic Res (2019) 28:165-168⁹⁴

新しい改良された形質を持つ植物や動物を生産することができる遺伝子編集技術の開発は、植物や動物の育種の世界に革命をもたらし、急速に商業的実装現実へと進んでいる。しかし、規制の観点から、カナダ政府は、ゲノム編集を、植物や動物の望ましい形質を発達させるために使用される現在の方法に加わる別のツールと見なしている。これは、カナダが、形質の新規性、又は植物又は動物製品がカナダの環境又は市場に入ること起因する潜在的なリスクに焦点を当てているためであり、それが作製されたプロセスや方法ではない。カナダ食品検査庁は、新しい形質を持つ植物や新しい家畜飼料の環境放出の規制を担当し、カナダ保健省は新規食品の規制を担当している。カナダ環境・気候変動省は、カナダ保健省と協力して、環境への侵入を規制している。全ての場合において、これらの新規産物は、従来の育種、突然変異誘発、組換え DNA 技術、又は遺

⁹⁴ Ellens K.W. et al.(2019) Canadian regulatory aspects of gene editing technologies. Transgenic Res (2019) 28:165-168

伝子編集などの植物又は動物の育種の他の方法の結果である可能性がある。この斬新なアプローチにより、カナダの規制制度は、植物や動物の育種科学における新たな発展に効率的に適応し、リスクに応じた規制上の決定が可能になる。このアプローチは、科学的根拠に基づく規制の専門知識を維持しながら、イノベーションを促進する。カナダの規制当局は、提案者と協力して、ゲノム編集由来の製品が新規製品の定義を満たしているかどうか、及び市販前評価の対象となるかどうかを判断している。したがって、カナダの既存の規制制度は、ゲノム編集を含む植物又は動物の育種における新しいイノベーションや技術に対応するのに適した立場にある。

同じ結果を達成するために植物や動物の育種に使用されている技術が多数あるため、カナダの製品ベースの規制は、同等の製品を同様に扱う一貫したリスクベースのアプローチを提供している。さらに、カナダの規制には、法律の改正を必要とせずに、遺伝子編集のような革新的な新技術の製品を含めることができる柔軟性がある。結局のところ、これは一貫した意思決定を可能にするシステムであり、科学に基づいた規制の道筋であり、どちらもイノベーションをサポートするために不可欠である。

植物の非限定的な環境放出の場合、PNT (plants with novel traits) は、一つ又は複数の形質が意図的に導入された植物として定義され、導入された形質がカナダで栽培されている種の個体群にとって新しく、特定の用途に影響を与える可能性がある植物として定義される。

環境とヒトの健康に関する植物の安全性

市販前の安全性評価では、カナダの環境が PNT によって影響を受ける可能性がある 5 つの主要な基準を、適切な比較対象作物の潜在的な影響と比較して考慮する。これらの基準には以下が含まれる。

- (1) 雑草の可能性
- (2) 遺伝子流動の結果
- (3) 植物害虫の可能性
- (4) 非標的生物への影響
- (5) 生物多様性

さらに、環境管理も環境放出の安全性評価の要素となる場合がある。

No.4

New Plant Breeding Techniques and Risks Associated with their Application (新しい植物育種技術とその応用に伴うリスク)

April 2014 DOI: 10.13140/2.1.3448.1449⁹⁵

95

https://www.researchgate.net/publication/273141996_New_Plant_Breeding_Techniques_and_Risks_Associated_with_their_Application

本研究では、新しい植物育種技術（NPBT）について、特に NPBT によって開発された作物の潜在的リスクの評価に関連する問題について議論している。このような側面は、ヨーロッパ及び世界レベルで進行中のバイオセーフティの議論における新たなトピックである。本報告書は、様々な NPBT アプローチの概要を説明し、それぞれの NPBT 作物の潜在的な悪影響の検討に関連する詳細を強調している。この研究は、例えば EU で実施されている遺伝子組換え生物のリスク評価に関する現在の要件が、NPBT 作物の潜在的なリスクに対処するための適切な枠組みを提供するかどうかを検討している。さらに、NPBT 作物の評価に関する一連の基準が議論され、NPBT 作物のリスク評価に関連する未解決の問題が特定される。したがって、この研究は、農業で使用する NPBT 作物のバイオセーフティの問題に適切に対処する方法を更に議論するためのインプットを提供する。

本研究で検討した新しい植物育種技術（NPBT）の特徴

作物育種促進への NPBT の適用に関する幾つかの未解決の問題が現在議論されており、主にこれらの NPBT が現在の GM 作物に対して実施されているような規制枠組みの対象となるかどうかの問題となっている。別の議論の方向では、NPBT 作物の生物学的安全性に関連する問題に焦点が当てられている。この研究では、多数の異なる NPBT のバイオセーフティの側面を分析し、これまであまり注目されていなかった側面に取り組んでいる。NPBT 作物の規制状況に関する問題は過去数年よりもはるかに大きくなっている。

結論

このレポートで示された分析から次の結論が導き出される。

- ・ 実際、個々の NPBT はアプローチと特性が大きく異なる。これらの特性に基づいて、幾つかの NPBT は様々な製品の開発に応用されている。
- ・ 一部の NPBT は、標的となる作物種のゲノム DNA を安定した遺伝可能な形で特定の方法で修飾するために使用される。他の NPBT は、組み込まれていない遺伝要素の一過性発現や遺伝子発現のエピジェネティックな制御の変更（例：agroinfiltration/agroinfection, RdDM⁹⁶）によって、標的植物の遺伝子発現を変化させることを目的としている。NPBT アプリケーションの 3 番目のグループ（例：MAS(Marker Assisted Selection)、reverse breeding のような TSB (Technology Strategy Board)、加速育種、種子生産技術）は、選抜やその他の育種プロセスを促進するツールとして適用される。育種目的を達成するには、育種中間体の遺伝子改変が必要になる場合がある。ただし、最終的な育種製品にはこれらの GM 改変が含まれることは意図されていない。
- ・ 顕著な特徴は、NPBT がほとんど組み合わせて使用されることである。したがって、製品を開発するには、単一の NPBT が、GM 技術及び従来の育種アプローチを使用して、他の NPBT と組み合わせられる。

⁹⁶ RNA 指令型 DNA メチル化 (RNA-directed DNA methylation, RdDM)

- NPBT によって開発された製品に関しては、非常に特異的なものもあり、他のアプローチでは容易に生成できないものもある（例：標的突然変異と標的を絞った組換え構築物の組込み、エリート雑種を再構成するための親系統の逆育種、果樹などの作物の急速な加速育種）。
- 他の製品、特に特定の広範な除草剤に対して耐性を与える形質を持つ NPBT 作物は、NPBT との関連性がそれほど高くない。同様の作物系統が、GM 技術によって、また幾つかの作物種における従来の育種によって開発された。これらの作物は表現型と用途が同等であるため、リスクの可能性が同様であることが特徴であり、これは同等のリスク評価アプローチで対処する必要がある。
- レポートでは、各 NPBT について、改造の種類の特성에対応するリスク問題がまとめられている。一方で、様々な潜在的リスクが意図された改変と関連付けられる可能性がある（例：悪影響にも関連する可能性のある形質をもたらす対立遺伝子/突然変異/調節エフェクターの導入）。一方で、NPBT の適用による意図しない影響から潜在的な悪影響が生じる可能性がある。これらの意図しない影響の一部は、NPBT のプロセスで使用する必要があるが、特定の NPBT に固有ではない、*in vitro* 細胞/組織培養などの方法によるものである。同様の効果は、これらの技術を従来の育種に適用した場合にも発生する可能性がある。
- GM 技術は、NPBT プロセスの過程におけるツールとして、直接的（Cisgenesis/Intragenesis、transgrafting、floral dip）又は間接的（agroinfiltration、TSB、SSN（sequence-specific nuclease））によるヌクレアーゼ媒介部位特異的突然変異誘発）に使用される。
- GM 技術の間接的な適用では、導入された改変は育種中間体のみが存在することが意図されており、最終育種産物には存在しないことが意図されている。最終製品には、そのような NPBT に特有の修飾が含まれていない必要がある。これにより、特定の NPBT 作物の特異的検出の可能性が制限されており、これはリスク評価とモニタリングにも関連する問題である。

No.5

Plants Developed by New Genetic Modification Techniques—Comparison of Existing Regulatory Frameworks in the EU and Non-EU Countries POLICY AND PRACTICE REVIEWS article Front. Bioeng. Biotechnol., 19 February 2019 Sec. Biosafety and Biosecurity Volume 7 - 2019 ⁹⁷

新しい遺伝子組換え技術（nGM）の開発は、他の情報源では「新しい育種技術」とも呼ばれ、その規制に関する世界的な議論を引き起こしている。

古典的な遺伝子組換え技術と並行して、農業用作物等の開発のために、植物を含む生物の「遺伝子組換え」を目的とした幅広い「新しい遺伝子組換え技術」（nGM）が開発された。

⁹⁷ <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2019.00026/full> (2024.3.19 アクセス)

この論文で取り上げる nGM の範囲には、次の手法が含まれる。

- ・ 部位特異的ヌクレアーゼ (SDN) によるゲノム編集 (例: CRISPR ヌクレアーゼ TALENs、ZFN、又はメガヌクレアーゼを使用。SDN ベースの技術は、マルチプレックスゲノム編集や「塩基編集」及び転写制御の修飾。
- ・ 合成オリゴヌクレオチドによるゲノム編集。オリゴヌクレオチド指向性突然変異誘発 (ODM) とも呼ばれる
- ・ RNA 指向性 DNA メチル化。遺伝子発現のエピジェネティックな制御を修飾するためのアプローチ
- ・ シスジェネシスとイントラジェネシス
- ・ 接ぎ木、特に接ぎ木における GM 台木の使用
- ・ 農業浸透
- ・ 半数体誘導と加速育種。即ち、複雑な育種スキームを支援するために開発された技術の例

一般に、SDN アプローチには三つのタイプがある。

- I. 特定の SDN によって導入された二本鎖切断のエラーを起こしやすい修復によって生じる、特定の場所でゲノム DNA 配列にランダムな変化を導入するアプリケーション (SDN-1 タイプのアプリケーション)。
- II. トランスで供給される DNA テンプレート配列によって指示されるゲノム標的に小さな特異的配列変化を導入するための、部位特異的二本鎖切断の相同性依存的修復に基づくアプリケーション (SDN-2 タイプのアプリケーション)。
- III. 異種起源の大きなサイズの DNA 要素を特定の場所のレシピエントゲノムに相同依存的に導入するアプリケーション (SDN-3 タイプのアプリケーション)。

これらの基本的なタイプのゲノム編集に加えて、最近、幾つかの追加のアプローチが開発された。

nGM は、特定の nGM 法の特長、又は開発プロセス全体で使用される他のバイオテクノロジー技術 (例: *in vitro* 植物細胞培養、植物プロトプラストの生成と使用、単一細胞又は組織培養からの生存可能な植物の再生方法) に関連する、意図しない修飾が導入される様々な可能性と関連している。このような意図しない修飾の表現型の結果によっては、有害な表現型効果をもたらす可能性がある。このようなリスクは、環境への悪影響に関連する除草剤耐性形質など、特定の新しい形質に直接関連している可能性がある。ハザードは、これらの変更在意図しない表現型が追加されている場合、意図された変更と間接的に関連付けることもできる。潜在的な危険の別の原因は、特定の nGM 又はバイオテクノロジー手法の組合せによって最終製品の開発プロセスを通じて導入される意図しない変化であり、例えば、ゲノム編集によって開発された nGM は、標的遺伝子座以外のゲノム配列でのオフターゲット修飾が有意に負の表現型変化をもたらす場合、悪影響と関連している可能性がある。

欧州及び非欧州の異なるバイオセーフティフレームワークの分析と比較

本研究では、アルゼンチン、オーストラリア、ブラジル、カナダ、EU、ニュージーランド、ノルウェー、南アフリカ、スイス、米国におけるバイオセーフティに関する規制の枠組みの相違点と類似点を調査した。特に、リスク評価の一般的な要件を含め、nGMアプリケーションがこれらのフレームワークによってどのようにカバー及び規制されているかを検討する。さらに、これらのシステムの現在のレビューと提案された修正案、特に nGM アプリケーションに適切に対処するために開発されたものを分析する。

それぞれの法律は、規制の範囲を定義し、製品又は生物の定義を提供するが、規制当局、利害関係者、及び文献調査の結果から、ほとんどがプロセスベースであると考えられている。EU の定義は、特に多くの法律専門家によってプロセスベースであると広く考えられている (Krämer, 2015, Spranger, 2015)。他の専門家は、EU のトリガーはプロセスベースとプロダクトベースの両方であるという意見を持っている (Kahrmann et al., 2017)。

米国とカナダは、バイオテクノロジーの応用に関する規制の枠組みを確立するために、既存の国内法を使用 (及び更新) している。これらの国では、プロダクトベースのトリガーを使用して規制対象製品を定義する。ただし、米国とカナダでは異なるトリガーが採用されている。

バイオセーフティフレームワークの一般的な類似点と相違点

分析されたバイオセーフティの枠組みは、様々な国の立法背景に対して確立されたものである。主な違いの一つは、米国やカナダのように、バイオセーフティ規制に関する既存の法律を使用して適応させるか、新しいセクター別のバイオセーフティ法を制定するかの決定であった。世界レベルでは、他の分析対象国や EU を含むほとんどの国が後者のアプローチを採っている。

nGM アプリケーションの規制のためのプロセス指向又は製品指向の規制トリガーの長所と短所

nGM の出現により、新しいバイオテクノロジー製品の一貫した規制は更に困難になっている。私たちの研究で収集された情報では、全ての農産品及び食品に適用される部門別規制は、それぞれのバイオセーフティフレームワークに従った要件と比較して、比較可能な幅と基準のリスク評価を提供していないことを示している。したがって、特定の nGM アプリケーションがそれぞれのバイオセーフティフレームワークに該当するかどうかの決定は、これらのアプリケーションに提供されるリスク評価の範囲と品質にとって重要である。意図しない遺伝的及びエピジェネティックな変化も、それぞれの特定の nGM メカニズムから生じる可能性がある。

よく知られている例は、ゲノム編集のアプローチに関連するオフターゲット修飾である。それらは典型的には、標的遺伝子座と十分に高い類似性を共有するゲノム配列で発生するため、分子編集ツールと関連してオフターゲット編集につながる可能性がある。オフターゲット活性は、他の nGM、例えば RdDM アプローチと関連していることもあ

る。そのような場合、標的部位だけでなく、他のゲノム遺伝子座もエピジェネティックに改変される。

No.6

Revisiting Risk Governance of GM Plants: The Need to Consider New and Emerging Gene-Editing Techniques (遺伝子組換え植物のリスクガバナンスの再考:新しいゲノム編集技術を検討する必要性)

REVIEW article Front. Plant Sci., 21 December 2018 Sec. Plant Biotechnology Volume 9 - 2018 | <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01874>⁹⁸

本稿は、新たに出現したゲノム編集技術が、確立されたリスクガバナンス戦略にもたらず潜在的な課題について論じている。

新しいゲノム技術のリスク評価の課題

新しいゲノム編集技術がどのように規制されるかについての現在の議論において、現在のリスク評価方法論がこれらの技術から生じる生物を分析するのに十分であるかどうかについての根本的な議論を欠いている。このセクションでは、まず、新しい指向性突然変異誘発技術から生じる植物の ERA (Environmental Risk Assessment) について、現在の EU の GMO フレームワークを採用する際の潜在的な課題を検討し、続いて、新しい技術による食品及び飼料製品に対して現在のガイドラインを使用する際の課題に焦点を当てる。最後に、リスク評価全般、特にトレーサビリティと検出に関する課題について述べる。

環境リスク評価

現在の EU ERA の枠組みは、遺伝子組換えの古典的な技術（例えば、パーティクルガン法やアグロバクテリウム法）によって生産された遺伝子組換え作物のために設計されたものである。ECJ の裁定によると、新しい技術や新興技術の製品は全て GMO に分類されるため、この枠組みがどのように実施されるのかという疑問が生じている。特に、新しい遺伝子編集技術から生じる製品の評価をサポートするためにガイダンスをどのように適応させるかには未解決の問題が残っている。

一般的に、フレームワークの良し悪しは、その最も弱い要素によって決まることを考えると、新しい指向性突然変異誘発技術に対する現在の EU ERA フレームワークの適合性を判断する一つの戦略は、特に科学界によって継続的に批判されている要素に焦点を当てることである。

焦点

新しい指向性突然変異誘発技術の環境リスク評価は、新しい遺伝子編集技術の産物が

⁹⁸ Agapito-Tenfen, S.Z. et al. (2018) Revisiting Risk Governance of GM Plants: The Need to Consider New and Emerging Gene-Editing Techniques. *Front. Plant Sci.*, 21 December 2018 Sec. Plant Biotechnology Volume 9.

従来の遺伝子組換え植物とは複雑さが異なる可能性があることを考えると、作物全体を含むように焦点を変更する必要があるかもしれない。現在、実質的な同等性の概念に基づいて、形質又は新しく発現したタンパク質の変化のみがフレームワークの実施において強調されている。さらに、毒素と抗毒素を含むように試験化合物の範囲を拡大する必要があるかもしれない。

リリース後の監視

新しいゲノム編集技術では、遺伝子組換えではない従来の品種でも同様の変異が見られる場合、リリース後のモニタリングを実施することは難しい場合がある。これは、例えば CRISPR/Cas9 の場合、従来の育種技術でも達成できる、又は自然に起こり得る幾つかのヌクレオチド塩基対を含む突然変異が標的に操作される、新しい遺伝子編集技術に特有の課題である。このような製品（特に SDN-1 カテゴリー）では、変更の種類（又は変更を達成するために使用される技術）に関する事前の知識なしに、設計された変更を識別して特定の技術に関連付けることは不可能である。したがって、部位特異的突然変異誘発の新しい技術の特定の生成物は、修飾された生物を識別するためにマーカー配列の存在を必要とする現在のフレームワークの要件に基づいて検出、追跡、又は監視することはできない。

多くの作物では、ゲノム編集技術を使用して、遺伝子機能をノックアウト又は変更するために、標的遺伝子の様々な部分を削除する。これらの作物は、遺伝子組成が変化しても、これらの植物のゲノムに導入遺伝子 DNA が組み込まれていないため、導入遺伝子のない作物と呼ばれることもある。欠失の目的は、ほとんどの場合、ウィルス感染やその他の植物害虫に関与する遺伝子発現を排除又は変化させ、作物を特定の感染性病原体に対する耐性を高めることである。

このような遺伝的変化は、栽培作物にとっては有利であるが、耕作地からの花粉が野生の近縁種に広がると、大きな選択的優位性を推測し、高い正の選択を生み出す可能性がある。このような遺伝子流動は遺伝子組換え作物にとって大きな懸念事項であり、共存対策（野生個体群との距離の延長など）が実施されない限り、耐病性遺伝子編集作物の栽培の現実的な結果である可能性がある。多くの遺伝子は複数の機能を持っているため、特定の遺伝子機能をノックアウト又は変更すると、意図した効果に加えて、意図しない経路も変化する可能性がある。予期せぬ意図しない変化を評価するには、ノンターゲットの全ゲノムプロファイリング、リリース後のモニタリング、及び一般的なサーベイランスが必要である。

リスク評価:新しいゲノム編集技術による意図しない変化の検出

遺伝子組換え食品と飼料の環境リスク評価とリスク評価に関する現在の EFSA ガイドラインは、意図的及び意図しない分子変化に関連する潜在的な危険を特定することから始まる。潜在的な危険性は、分子の説明、非 GM 対応物との比較データに基づいて評価され、それに続く毒物学的、アレルギー性、及び栄養学的評価、及びルーチン PCR 及びシーケンシングプロトコール、及びウェスタンブロット、ELISA テスト、又は新しく導

入されたタンパク質の発現を評価するための他の分光光度法などの標準的なタンパク質定量プロトコールで評価される。ハザードの特性評価と同定の背後にある考え方は、遺伝子組換えに使用される技術の説明、形質転換に使用される核酸の供給源と特性評価、挿入を意図したヌクレオチド配列を含む使用されるベクターの性質と供給源、実際に挿入/削除又は変更された配列に関する情報、及び配列の発現、及び挿入/修飾された配列の遺伝的安定性、そして GM 植物の表現型安定性に関する十分な情報を提供することである。

新しい遺伝子編集技術は、ノックアウトプロセスの一環として、意図的又は意図せずに、切断型ポリペプチド及び/又はアンチセンス媒介性 mRNA 崩壊を生成する可能性がある。このような産物は、導入遺伝子ベースの遺伝子組換え作物では意図しない効果と見なされるが、この場合の望ましい表現型（すなわち、害虫又は除草剤に対する耐性）は、非機能的な遺伝子産物を生成する目的遺伝子のヌクレオチド変化によって得られる。

新規及び新興遺伝子編集植物の分子特性評価とトレーサビリティ

Cas9 特異性は急速に進歩し、ガイド RNA の選択、タンパク質及びガイドエンジニアリング、新規酵素、及びオフターゲット検出法が著しく改善された。Cas9 タンパク質は、オフターゲット部位で DNA に結合し、切断することが依然として示されている。インシリコ予測や、潜在的なオフターゲット部位の *in vitro* 及び細胞ベースの試験に関連する現在の限界に対処するために、ゲノム全体で Cas9 オフターゲット活性を測定するための究極の偏りのない方法は、実際の遺伝子編集生物での WGS (Whole Genome Sequencing) である。WGS は、ゲノム全体の高分解能の塩基ごとのビューを提供し、他の方法では見落とされる可能性のある大小の変異を捕捉することができる。その結果、WGS は、遺伝子発現及び表現型解析のフォローアップ研究における検査のための潜在的な意図しない変異を特定するのに役立つ。

結論

現在のリスク評価フレームワークは、古典的な GM 技術の製品のために開発された。2018 年 7 月 25 日の欧州司法裁判所の判決が指摘しているように、新しく出現した遺伝子編集技術は、いかなる生物においても安全な使用の長い歴史を欠いている。実際、科学文献によると、バイオテクノロジーのコミュニティは、基本的なレベルで、そのような技術の効率と応用用途の改善に依然として焦点を当てている。この現実を踏まえると、今後のこの分野にとって重要な問題は、バイオテクノロジーの安全な使用を規制するかどうかではなく、どのように規制するかである。

現行の枠組みとその実施の幾つかの側面は、より広範な分野での進展に照らして再検討の恩恵を受ける立場にある。これらの対応の例として、標的及び非標的効果を特定するための試験生物の選択が含まれる。編集された植物/派生製品全体を効果試験のストレッサーとして使用する。ハザードの分子特性評価にオミクスを含めるための分子技術のレパートリーの拡大、特に、環境、ヒト、動物の健康に対する新しい遺伝子編集技術

による製品の影響を評価するための適合性を高めるために、リスク評価ガイダンスを改訂する必要があるかもしれない。

現時点では、バイオセーフティ研究と RRI (Responsible Research and Innovation) アプローチに根ざした遺伝子組換え植物のリスクガバナンスを前進させる機会が提供されている。このようなアプローチを検討すると、ゲノム編集技術の製品、意図された効果と意図しない効果及び標的及びオフターゲット活性について、より多くの、より良いリソース、透明性のある、独立したリスク評価の必要性が指摘される。

No.7

New plant breeding techniques and their regulatory implications: An opportunity to advance metabolomics approaches (新しい植物育種技術とその規制への影響:メタボロミクスアプローチを前進させる機会)

Journal of Plant Physiology 258-259 (2021) 153378⁹⁹

近年、既存の遺伝子組換え技術をベースに、新しい植物育種技術 (NPBT) が次々と登場している。これらのアプローチには、アグロインフィルトレーション、接ぎ木、シスジェネシスとイントラジェネシス、遺伝子編集技術が含まれる。これらの新しい技術をどのように規制すべきか、かなりの議論を巻き起こしてきた。また、過度な規制が生じて行政や経済の負担が生じないように、懸念も提起されている。本稿では、遺伝子組換え作物の現状を概観し、幾つかの NPBT の可能性について述べる。メタボロミクスは、植物育種におけるバイオテクノロジーの進歩と並行して発展してきたオミクス技術である。メタボロミクス技術を進歩させ、学術的、バイオセーフティ、産業的観点から有益な方法で、新しい植物育種技術の成果を特徴付ける機会が更にある可能性がある。

Cisgenesis and Intragenesis

NPBT の共通の特徴は、non GM comparator (非組換え対象) との類似性が高まっていることである。例えば、伝統的な遺伝子導入は、任意の生物の遺伝子が植物ゲノムに挿入されるときに発生するが、シスジェネシスとイントラジェネシスは、性的に適合する種からの遺伝子の導入を指す。シスジェネシスとイントラジェネシスの違いは、イントラジェネシスでは様々な交差適合種からの遺伝要素の要素が利用されることであるが、シスジェネシスでは、標的遺伝子内に未変化のイントロンと調節要素が存在する、より保守的なアプローチが利用される。

NPBT の特性評価を改善するためのメタボロミクスプラットフォームのアップグレード

トランスジェニック植物及び変異体のメタボロミクス特性評価は、植物代謝の理解を深めるだけでなく、それ自体がメタボロミクス技術を進歩させる上で重要な役割を果たしてきた。例えば、遺伝子組換えジャガイモと従来の品種との間の実質的な同等性の評

⁹⁹ Enfissi, E.M.A et al. (2021) New plant breeding techniques and their regulatory implications: An opportunity to advance metabolomics approaches. Journal of Plant Physiology 258-259 (2021) 153378.

価や、トランスジェニックエンドウ豆のプロファイリングのための NMR の使用は、確固とした実験をまとめた最初の例であった。

メタボロミクスは、非生物的及び生物的ストレスに関連する植物代謝の変化を特定するために日常的に使用されている。また、植物育種において、コアコレクション又はマッピング集団間で自然に発生する変異を特定するために使用されている。

既知及び未知の標的と除草剤を比較することによって除草剤の作用機序を特定したり、健康安全面に対処したりメタボロミクスを使用した報告も存在する。NPBT 出力に適用できるこれらの例の共通の特徴は、標的経路に対して実行される分析の包括的な性質である。前駆体は定量的に分析され、抽出も最適化される。さらに、その中間体は、標的経路だけでなく、最終生成物やその誘導体も分析される。将来的には、本物の標準品又は十分に特徴付けられた変異抽出物のソースを特定することが重要になるであろう。実際、経路全体にわたる編集された変異体は、識別を目的とした真正の標準又は抽出物のソースとして機能する可能性がある。メタボロミクス/代謝物プロファイリングの最も初期かつ影響力のある例の一つは、GC-MS を使用して変異体及びトランスジェニックシロイヌナズナを分析することについて記載されたものである。この報告以来、GC-MS は植物の代謝物の変化を評価する際の「ゴールドスタンダード」になった。これらの分析からの出力は、使用される植物種及び組織に応じて、通常 100~150 の化合物の相対定量をもたらす。このアプローチに適した化合物の種類は、糖、ポリオール、有機酸、アミノ酸、脂肪酸、及び一部のテルペノイドである。このタイプの分析には依然として多数の未知の要素が存在し、「既知の未知の要素」として照合されることがよくある。GC-MS によって同定される化合物の範囲を広げる一つのアプローチは、より本格的な標準を実行するか、高分解能の正確な質量分析と組み合わせた GC 分離を使用することである。

主成分分析 (PCA) や部分最小二乗法 (PLS-DA 又は OPLS-DA) などの判別分析やその他のパッケージなどの多変量統計分析のアプリケーションは通常、品種と比較対象間の重要な差別化要因を特定するために使用できる。これらの分子の特徴や推定代謝物を使用して、より多くの代謝物プロファイリングやターゲットを絞った分析を行うことができる。この階層的又は多層的なアプローチは、コナジラミ耐性の付与に関連するキッサバの代謝産物の変化の決定に使用されている。

結論と展望

NPBT は、世界の食料・栄養安全保障の課題に対処する可能性を秘めたイノベーションの新しいパッケージを提供する。科学的には、これらの NPBT 出力を特徴付けるために、分析技術をアップグレード及び進歩させる絶好の機会も提供する。これは特にメタボロミクスに当てはまり、細胞の生化学の本質的な性質のために、ゲノム技術で達成された範囲の広さに達していない。長期的には、そのような組合せにおける多大な努力と、30 年間にわたって新しい除草剤の作用機序が存在しなかったことを考慮すると、除草剤開発に対するメタボロミクスのアプローチがより普遍的な方法で採用されていなかったのは驚くべきことである。外来 DNA が存在しないゲノム編集植物を分析するため

のメタボロミクスの使用も、プロダクトベースの評価のために提案されている。このようなこれまでの実績を考慮すると、メタボロミクスが NPBT からの成果を特徴づける上で重要な役割を果たさない理由はない。

学術的にも産業の研究開発や安全性の観点からも、主要な問題の一つは、メタボロミクスの大幅な進歩が、他の「オミクス」技術と同等であること、又はそれを補完する堅牢性を確保するためにどのように行われるかということである。最終的な目標は、1回の分析で、変化した生化学段階や調節プロセス、あるいは派生食品が従来の対応する食品とどのように異なるかを正確に特定できるメタボロミクス技術である。メタボロームの本質的な化学的多様性とダイナミックレンジにより、現在及び予見可能な将来において、これは達成されそうにないが、現状を改善することは可能である。これらの進歩は通常、対処されている生物学的問題と関連している。例えば、生合成酵素の既知の変化を伴う植物の特徴を明らかにする場合、そのアプローチは、特徴付けられていない転写因子の影響の解明や食品の監視とは大きく異なる。特定の経路に参与する生合成経路の酵素又は制御因子の場合、最終生成物と中間体を確認するために問題の経路が最初に分析される可能性がある。明らかな例は、アントシアニン及びフェニルプロパノイドを増加させるトランスジェニック植物の特性評価である。この場合、標的経路の産物が包括的に分析され、次に GC-MS 代謝物プロファイリングを使用して一次/中間代謝における関連する変化が確認された。これは、アントシアニン生成を調節する転写因子が、実際には前駆体の供給を調節していることを示している。他の例には、中間代謝、色素体タイプ及び/又は植物ホルモンの変化をもたらすカロテノイド生合成の操作が含まれる。

(3) その他

① 遺伝子組換え作物の呼び名の調査

遺伝子組換え作物は、OECD のガイドラインに沿った規制を実施している国では、GMO と英語名では呼ばれている。米国のみ、例外として Genetically Engineered Crop (GE) や Bioengineered Food (BE) を使用しているが、HP などのサイトでは GMO という文言も使用されている。一方、カルタヘナ法では、GMO の代わりに LMO (Living Modified Organisms) の文言が使われている。

表 22 遺伝子組換え作物等の呼び方

国	管轄	日本語/和訳	英語/中国語	参照サイト
日本	厚労省	遺伝子組換え食品	Genetically Modified Foods (GM foods)	https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/bio/idenshi/index.html https://www.mhlw.go.jp/english/topics/foodsafety/dna/01.html
		ゲノム編集食品	Food Derived from Genome Editing Technology	https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/bio/genomed/index_00012.html https://www.mhlw.go.jp/content/000550824.pdf
	農水省	遺伝子組換え飼料	Genetically Modified Feeds	https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/seibutsu_tayousei.html https://www.maff.go.jp/e/policies/ap_health/petfood/attach/pdf/index-22.pdf
		遺伝子組換え農作物	Genetically Modified Farm products	https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/seibutsu_tayousei.html https://www.maff.go.jp/e/policies/ap_health/petfood/attach/pdf/index-19.pdf

国	管轄	日本語/和訳	英語/中国語	参照サイト
日本		遺伝子組換え植物	Genetically Modified Plants	https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/seibutsu_tayousei.html https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/abou/pdf/sop_on_gmo_bio_safety_eng.pdf
		遺伝子組換え動物		https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/seibutsu_tayousei.html https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/seibutsu_tayousei.html
		遺伝子組換え微生物		https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/seibutsu_tayousei.html https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/seibutsu_tayousei.html
		(ゲノム編集技術で作出された生物)ゲノム編集飼料	Genome Edited Feeds	https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/tetuduki/nbt.html https://www.maff.go.jp/e/policies/ap_health/petfood/attach/pdf/index-22.pdf
		(ゲノム編集技術の利用により得られた生物)ゲノム編集農林水産物		https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/tetuduki/nbt.html
	環境省	遺伝子組換え生物	Living Modified Organisms (LMO)	https://www.biodic.go.jp/bch/index.html https://www.biodic.go.jp/bch/index.html
		(ゲノム編集技術の利用により得られた生物)		https://www.env.go.jp/press/106439.html https://www.env.go.jp/content/000064948.pdf
	消費者庁	遺伝子組換え食品		https://www.caa.go.jp/policies/policy/consumer_safety/food_safety/food_safety_portal/genetically_modified_food/
		ゲノム編集技術応用食品		https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/quality/genome/
	米国	USDA	遺伝子組換え作物	Genetically engineered (GE) Crops
バイオ工学食品			Bioengineered (BE) Foods	https://www.ams.usda.gov/rules-regulations/be https://www.federalregister.gov/documents/2018/12/21/2018-27283/national-bioengineered-food-disclosure-standard
FDA		遺伝子組換え生物	GMO (genetically modified organism)	https://www.fda.gov/safety/fdas-regulation-plant-and-animal-biotechnology-products
EPA		遺伝子組換え農薬	genetically engineered pesticides	https://www.epa.gov/regulation-biotechnology-under-tsca-and-fifra/epas-regulation-biotechnology-use-pest-management
欧州	EC	遺伝子組換え生物	genetically modified organisms (GMOs)	https://food.ec.europa.eu/plants/genetically-modified-organisms_en
		遺伝子組換え食品・飼料	genetically modified (GM) food and Feed	https://food.ec.europa.eu/plants/genetically-modified-organisms_en
		新しいゲノム技術製品	New Genomic Techniques (NGT) products	https://food.ec.europa.eu/plants/genetically-modified-organisms/new-techniques-biotechnology/ec-study-new-genomic-techniques_en
	EFSA	遺伝子組換え生物	genetically modified organisms (GMOs)	https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/gmo
		遺伝子組換え食品・飼料	genetically modified (GM) food and Feed	https://www.efsa.europa.eu/en/applications/gmo/regulationsandguidance
		(動物及びその農業/食品/飼料製品における新しいゲノム技術(NGT))	New Genomic Techniques (NGT) in animals and their agri/food/feed products	https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-8311
イギリス	Food Standard Agency (FSA)	遺伝子組換え生物	genetically modified organisms (GMOs)	https://www.legislation.gov.uk/uksi/2020/1421/note/made
		遺伝子組換え食品・飼料	genetically modified (GM) food and Feed	https://www.legislation.gov.uk/wsi/2023/379/contents/made

国	管轄	日本語/和訳	英語/中国語	参照サイト
オーストラリア	FSANZ	遺伝子組換え生物	genetically modified organism (GMO)	https://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/Part_1_with%20App_A.pdf
		遺伝子組換え食品	genetically modified (GM) foods	https://www.foodstandards.gov.au/consumer/gmfood/gmoverview/Pages/default.aspx
		新しい育種技術を使用して派生した食品	Food derived using new breeding techniques	https://www.foodstandards.gov.au/consumer/gmfood/Pages/Review-of-new-breeding-technologies-.aspx
ブラジル	National Technical Commission on Biosafety (CTNBio)	遺伝子組換え生物	genetically modified organism (GMO)	http://ctnbio.mctic.gov.br/en/leis/-/asset_publisher/NT53w3Yb7zpx/content/lei-n-11-105-de-24-03-2005
		(精密育種革新技術)	(Precision Breeding Innovation (PBI) Techniques)	http://ctnbio.mctic.gov.br/en/calendario-2017?p_p_auth=2PiBjXHM&p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2233506&_101_type=content&_101_urlTitle=resolucao-normativa-n%2C%BA-16-de-15-de-janeiro-de-2018&redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fen%2Fleis%3Fp_p_id%3D%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dmaximized%26p_p_mode%3Dview%26_3_groupId%3D0%26_3_keywords%3DPrecision%2BBreeding%2BInnovation%2B%26_3_struts_action%3D%252Fsearch%252Fsearch%26_3_redirect%3D%252Fen%252Fleis%253Fp_p_id%253D%2526p_p_lifecycle%253D0%2526p_p_state%253Dmaximized%2526p_p_mode%253Dview%2526_3_struts_action%253D%25252Fsearch%25252Fsearch%2526_3_groupId%253D0%2526_3_keywords%253D2018%2526_3_format%253D%2526_3_orderByCreateDate%253D%2526_3_delta%253D20%2526_3_advancedSearch%253Dfalse%2526_3_andOperator%253Dtrue%2526_3_orderByCol%253DcreateDate%2526_3_orderByType%253Dasc%2526_3_resetCur%253Dfalse%2526cur%253D2
アルゼンチン	National Advisory Commission on Agricultural Biotechnology (CONABIA)	遺伝子組換え生物	genetically modified organisms (GMOs)	https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/resoluci%C3%B3n-79-2017-287337
		新育種技術から得られた製品	product obtained by New Breeding Techniques (NBT)	https://www.argentina.gob.ar/agricultura/alimentos-y-bioeconomia/nuevas-tecnicas-de-mejoramiento-nbt
中国	国家衛生健康委員会	遺伝子組換え食品	转基因食品	https://www.gov.cn/zhengce/content/2019-10/31/content_5447142.htm
	農業農村部	農業用ゲノム編集植物	农业用基因编辑植物	http://www.moa.gov.cn/ztzl/zjyqwgz/zcfg/202201/t20220124_6387559.htm http://www.moa.gov.cn/ztzl/zjyqwgz/zcfg/202201/t20220124_6387559.htm
インド	Government of India's Food Safety and Standards Authority of India (FSSAI)	遺伝子組換え生物	Genetically Modified Organisms (GMO)	https://www.fssai.gov.in/upload/uploadfiles/files/Draft_Notification_GM_Food_21_11_2022.pdf
		遺伝子組換え食品	genetically modified (GM) Food	https://fssai.gov.in/upload/press_release/2018/07/5b5e9df27f418Press_Release_GM_Food_Regulations_26_07_2018.pdf

国	管轄	日本語/和訳	英語/中国語	参照サイト
	Department of Biotechnology Ministry of Science & Technology (DBT India)	ゲノム編集生物	Genome Edited (GE) Organisms	https://dbtindia.gov.in/sites/default/files/Draft_Regulatory_Framework_Genome_Editing-9jan2020.pdf
WHO/FAO		遺伝子組換え生物	Genetically Modified Organisms (GMOs)	https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/food-genetically-modified
		遺伝子組換え作物	Genetically Modified Crops (GM crops)	https://www.fao.org/policy-support/tools-and-publications/resources-details/en/c/1477336/
		遺伝子組換え食品	Genetically Modified Foods (GM foods)	https://www.fao.org/3/y0820e/y0820e05.htm https://www.mhlw.go.jp/topics/idsnshi/codex/04-02.html
		遺伝子組換え微生物	Genetically Modified Microorganisms (GMMs)	https://www.who.int/publications/m/item/safety-assessment-of-foods-derived-from-genetically-modified-microorganisms https://www.mhlw.go.jp/topics/idsnshi/codex/04-03.html
Cartagena protocol	Convention on Biological Diversity	遺伝子組換え生物	Living Modified Organisms (LMO)	https://bch.cbd.int/protocol https://www.mofa.go.jp/mofaj/gaiko/kankyo/jyoyaku/cartagena.html

② プロテインレビューについて

下記サイトの FDA から企業へのレターについて内容を取りまとめる。

<https://www.fda.gov/media/167098/download>



April 13, 2023

Dear Manufacturers and Developers of New Plant Varieties:

The Food and Drug Administration (FDA or we) is aware that some companies are exploring the transfer of genes for proteins that are food allergens (including major food allergens) into new plant varieties used for food. For example, a developer could add the gene for an allergenic animal protein to a new plant variety to provide a non-animal source of the protein for use as an ingredient in another food. This could result in the presence of an unexpected allergen in that food. Because adverse reactions to food allergens can be severe or even life-threatening, including when the allergen is present at low levels, we think it is important to reach out to manufacturers and developers now, while such plant varieties are still in early research and development stages. We are not aware of any foods currently in the U.S. market from these types of new plant varieties. Like all food producers, developers of new plant varieties containing an unexpected allergen have a responsibility to ensure that the products they market are safe and lawful. In addition to the food safety risks, if unexpected and unlabeled allergens enter the food supply, this could have other consequences for food producers, such as needing to recall the affected products.

食品医薬品局（FDA）は、食物アレルギー（主要食物アレルギーを含む）であるタンパク質の遺伝子を食用植物新品種に導入することを検討している企業があることを承知している。例えば、開発者はアレルギーとなる動物性タンパク質の遺伝子を新しい植物品種に導入することで、そのタンパク質の非動物性供給源を別の食品の成分として使用することができる。その結果、その食品に予期せぬア

レルゲンが存在する可能性がある。食物アレルギーに対する有害反応は、アレルギーが低レベルで存在する場合を含め、重篤で又は生命を脅かすことさえあるため、そのような植物品種がまだ初期の研究開発段階にある今、製造業者や開発業者に働きかけることが重要であると考えます。現在、このような新しい植物品種から作られた食品が米国市場で販売されていることを私たちは知らない。全ての食品製造業者と同様に、予期せぬアレルギーを含む植物新品種の開発者は、販売する製品が安全かつ合法であることを保証する責任がある。食品安全上のリスクに加え、予期せぬ表示されていないアレルギーが食品供給源に混入した場合、影響を受けた製品の回収が必要になるなど、食品製造業者にとって別の影響が生じる可能性がある。我々は本日、このような新品種の開発者に対し、製品開発の初期段階において、関連する法的要求事項を遵守し、アレルギーが意図せず食品に混入しないよう他の植物や食品と隔離された状態で植物原料を保管するために必要な措置を慎重に検討した上で、我々に相談することを強く推奨する。

③ NPC - New Protein Consultations

FDA は、下記に示すように、新たなタンパク質を発見させる GMO 開発者に対してあらかじめタンパク質の安全性に関するコンサルテーションを実施してきた。これが Protein Review に当たる可能性もあるので、NPC についてまとめた。

食用を目的とした植物の新品種の開発者を対象として出された、「業界向けガイダンス：食品用途を目的とした植物の新品種によって生産される新しい非農薬タンパク質の食品安全性の早期評価に関する推奨事項」¹⁰⁰（2006 年 6 月）は、開発中の植物の新品種における新しいタンパク質の食品安全性を早期に評価するための手順について FDA より説明されている。

バイオテクノロジー手法が伝統的か最新であるかに関わらず、結果として食品の成分になると予想されるタンパク質は、食品に一般的に見られるタンパク質と同じか、又は非常によく似ている。FDA は、そのような物質に関連する食品安全上の懸念は、その植物種からの食品中の新しいタンパク質が感受性のある人々にアレルギー反応を引き起こしたり、ヒトや動物にとって毒素になったりするという可能性に限定されると考えている。

開発プロセスの早い段階での開発者と FDA とのコミュニケーションは、新しい植物品種の新しいタンパク質に関する潜在的な食品安全上の問題を、その植物品種からの材料が食品供給に不用意に混入する前に、開発の早い段階で確実に解決するのに役立つ。なお、新しいタンパク質の早期食品安全性評価の提出は、新しい生物工学的に改変された植物品種に由来する食品に関する FDA とのバイオテクノロジー協議に代わるもので

¹⁰⁰ <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-recommendations-early-food-safety-evaluation-new-non-pesticidal-proteins-produced>

はない。つまりバイオテクノロジーに関する協議プロセスでは、食品組成の意図しない変化の可能性など、食品の特性に基づいて食品の安全性と規制問題を完全に評価する。

新しい植物品種によって生産された新しい非農薬タンパク質の早期食品安全性評価に関する推奨事項に基づいて協議が完了した全ての新しいタンパク質については、協議リストが作成されている¹⁰¹。これまでに18件がリスト化されており、そのうち特徴的な5件について以下に示した。

表 23 協議リスト (抜粋)

NPC No.	タンパク質 (供給源)	開発者	評価		備考	NPC 提出日
			項目	手段		
4	red fluorescent protein, DsRed2 (イソギンチャク <i>Discosoma</i> sp. から単離された DsRed タンパク質の変異体)	Pioneer Hi-Bred International, Inc.	アレルギー誘発性	1)DsRed2 タンパク質のアミノ酸配列と既知又は推定タンパク質のアレルゲン配列とのバイオインフォマティクス比較 2)in vitro 胃消化試験 3)DsRed2 遺伝子源、使用と曝露の履歴の評価	DsRed2 タンパク質は、幾つかの花虫類で同定されている赤色蛍光タンパク質(RFP)ファミリーに属する。 DsRed2 タンパク質スクリーニングマーカーとして利用することにより、近交系種子の生産中に不要な赤色蛍光種子を迅速かつ高感度に検出し、効率的に除去できる。DsRed2 タンパク質が食品/飼料及び穀物経路に侵入するとは予想されず、DsRed2 タンパク質に曝露される可能性は非常に低い。	2006.10.17
			毒性	バイオインフォマティクス分析:BLASTP アルゴリズムを用いて、既知のタンパク質毒素と DsRed2 タンパク質配列の類似性検索		
5	glyphosate N-acetyltransferase GAT4621 (<i>Bacillus licheniformis</i> から gat 遺伝子をクローニングし、DNA シャッフリングを繰り返して得た変異体)	Pioneer Hi-Bred International, Inc.	アレルギー誘発性	1)GAT4621 タンパク質のアミノ酸配列と既知のタンパク質アレルゲン配列とのバイオインフォマティクス比較 2)in vitro 胃及び腸消化試験 3)GAT4621 配列の N 結合型グリコシル化解析 4)gat4621 遺伝子源と使用又は曝露の履歴の評価	トランスジェニック作物における GAT4621 タンパク質の発現により、広範囲の除草剤グリホサートに対する耐性が得られる。 GAT4621 タンパク質は、グリホサートを解毒して非除草性形態の N アセチルグリホサートを生成する。 GAT4621 タンパク質は、植物や微生物に遍在する他の N-アセチルトランスフェラーゼに見られる特徴を保持しており、決定的なモチーフとして含まれている GNAT ファミリーは、植物、哺乳動物、菌類、藻類、細菌を含む全ての生物に存在する。	2007.02.05
			毒性	バイオインフォマティクス分析:BLASTP アルゴリズムを用いて、既知のタンパク質毒素と GAT4621 タンパク質配列の類似性検索		
12	5-enolpyruvate shikimate-3 phosphate synthase (EPSPS ACE5) (一般的な土壌)	Athenix Corporation	アレルギー誘発性	EPSPS ACE5 タンパク質のアミノ酸配列の FASTA 検索アルゴリズムや BLASTP アルゴリズムを用いたバイオインフォマティクス分析	EPSPS ACE5 は、グリホサート耐性 S-エノールピルビルシキミ酸 -3-リン酸シンターゼ (EPSPS) 酵素である。天然の EPSPS GRG23 タンパク質から、指向性進化タンパク質工学戦略を使用して誘導された。合計 10 個のアミノ酸が変更され、	2009.10.07
			毒性	マウスにおける 14 日間の急性経口毒性試験		

¹⁰¹ <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=NewProteinConsultations>

NPC No.	タンパク質 (供給源)	開発者	評価		備考	NPC 提出日
			項目	手段		
	細菌である <i>Arthrobacter globiformis</i> から単離された EPSPS GRG23 タンパク質から誘導された酵素)				天然酵素と比較して、グリホサートに対する高い耐性と高い耐熱性を示す。 農作物に除草剤グリホサートに対する耐性を与えるため、EPSPS ACE5 タンパク質をトランスジェニックトウモロコシで発現させた。 EPSPS ACE5 は、植物、細菌、真菌種に共通の酵素クラスである EPSPS 酵素として機能することが示され、既知のアレルゲンや毒素との顕著な配列相同性はない。	
17	isopentenyltransferase (IPT) (<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のアデニル酸イソペンテニルトランスフェラーゼ酵素)	Arcadia Biosciences, Inc	アレルギー誘発性	1) IPT タンパク質のアミノ酸配列の FASTA 検索アルゴリズムや BLASTP アルゴリズムを用いたバイオインフォマティクス分析 2) 模擬胃液における消化試験 3) IPT タンパク質のグリコシル化解析	イソペンテニルトランスフェラーゼは、細胞分裂を促進する植物ホルモンであるサイトカイニンの生合成における律速段階反応を担う。 トランスジェニックコムギ・イネ・タバコの IPT タンパク質のレベルは、葉及び種子組織中で低いか (最高値はコムギの葉で 0.30µg/g 乾燥重量) 検出限界を下回っていたことから、トランスジェニック植物で発現される IPT タンパク質がヒトや動物に対して安全性の問題を引き起こさないことを示唆している。	2017.04.03
			毒性	動物毒素データベース 2.0 (ATDB2.0) を使用したバイオインフォマティクス分析		
18	AC1 glucanase (DNA ライブラリーから単離した GraINzyme® カルボヒドラーゼ AC1 酵素)	Agrivida, Inc.	アレルギー誘発性	1) AC1 グルカナーゼタンパク質のアミノ酸配列の FASTA 配列アラインメントアルゴリズムを用いたバイオインフォマティクス分析 2) 模擬胃液における消化試験 3) AC1 遺伝子源の使用又は曝露の履歴の評価	粘性のある NSP (可溶性非デンプン多糖類) が多く含まれる穀物から生産された飼料は単胃動物の胃腸管の消化管の粘度を高め、栄養素の消化率の低下などの悪影響をもたらす。消化を改善するためにグルカナーゼなどの酵素を飼料として使用することが承認されている。	2017.10.05
			毒性	BLASTP アルゴリズムを使用した NCBI の非重複タンパク質データベースと AC1 のアミノ酸配列のバイオインフォマティクス比較	Agrivida の GraINzyme® 技術を使用して AC1 グルカナーゼ遺伝子を発現するように操作されたトウモロコシ植物は、穀物 1 グラムあたり 2~400 単位のグルカナーゼ活性を生成する。 提供したデータと情報に基づいて、AC1 タンパク質がヒトにアレルギー反応を引き起こす可能性は低く、ヒト又は動物が摂取しても有毒である可能性は低いと判断した。	

4. 諸外国の安全性評価の手法に関する調査

(1) 各国・地域における NPBT の取扱いに関する情報

情報収集の対象として、下記に示した評価機関にアクセスし、各機関について、NPBT の取扱いについて調査を実施した。表 24 に、関連するサイトの URL を記すとともに、各国、地域の NPBT の取扱い方針等についてまとめた。

表 24 各国・地域における NPBT の取扱いに関する情報

国・地域	対象機関	NPBT の取扱い
国際機関	世界保健機関 (WHO)	世界保健機関 (World Health Organization: WHO) のサイトでは、ヒトのゲノム編集に関する記載はあったものの、食品に関してゲノム編集技術等を扱った記載は検索ではヒットしていない。
	国際連合食糧農業機関 (FAO)	2022 年に「Gene editing and agrifood systems」と題した機関誌 (issue paper) を発行し、遺伝子編集技術が農業食品システムの変革にどのように貢献するかについて検討した。その後、FAO は遺伝子編集に関連する食品安全の問題を取り上げ、2023 年 4 月に「Gene editing and food safety」 ¹⁰² を発行した。この文書は、遺伝子編集を食品生産に適用する際の食品安全の問題について、最先端のレビューを提示する。また、各国の遺伝子編集食品の規制状況の概要や、食品安全評価に関する既存の Codex 文書の適用可能性についてのレビューも含む。食品安全を担当する各国の規制当局が、遺伝子編集由来の製品に関する政策や規制基準を策定し、実施するための重要な考慮事項を示すものである。
	コーデックス委員会 (CAC)	「Biotechnology」の分野で原則・ガイドラインを作成している。植物に関しては CXG 45-2003 が該当する ¹⁰³ 。ここには、タンパク質の安全性評価に関する記載はある (Paragraphs 34-43, Annex 1) が、NPBT に関する記載はない。上記の FAO 文書において、既存のガイドラインの適用可能性について論じている。
EU	欧州委員会 (EC)	2021 年 4 月 29 日に、「EU 法 (Directive 2001/18/EC、Regulation (EC) 1829/2003、Regulation (EC) 1830/2003、Directive 2009/41/EC) の下での新しいゲノム技術 (Novel Genomic Techniques: NGTs) の状況に関する調査報告」として以下を公表している ¹⁰⁴ 。COMMISSION STAFF WORKING DOCUMENT - Study on the status of new genomic techniques under Union law and in light of the Court of Justice ruling in Case C-528/16 この成果に基づいて、EC は、標的突然変異誘発及びシスジェネシスにより作出された植物 (plants produced by targeted mutagenesis and cisgenesis) に関する政策措置 (法制化) を開始した。その後、具体的な法案の提案「Proposal for a REGULATION OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL on plants obtained by certain new genomic techniques and their food and feed」が、2023 年 7 月に公表された ¹⁰⁵ 。 なお、EU から離脱した英国は、独自にゲノム編集生物を規制する法案を策定し、2023 年 3 月に「遺伝子技術 (精密育種) 法」 ¹⁰⁶ が可決成立した。 同法に基づき、食品基準庁 (Food Standards Agency: FSA) は、2023 年 11 月に、食品・飼料向けの精密育種生物に対する新たな規制枠組みを提案した ¹⁰⁷ 。

¹⁰² <https://www.fao.org/3/cc5136en/cc5136en.pdf>

¹⁰³ https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FFStandards%252FCXG%2B45-2003%252FCXG_045e.pdf (2024.01.31 アクセス)

¹⁰⁴ https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-04/gmo_mod-bio_ngt_eu-study.pdf (2023.10.17 アクセス)

¹⁰⁵ https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-09/gmo_biotech_ngt_proposal_2023-411_en.pdf (2023.10.17 アクセス)

¹⁰⁶ <https://www.legislation.gov.uk/ukpga/2023/6/contents/enacted> (2024.2.26 アクセス)

¹⁰⁷ <https://www.food.gov.uk/news-alerts/consultations/consultation-on-proposals-for-a-new-framework-in-england-for-the-regulation-of-precision-bred-organisms-used-for-food-and-animal> (2024.2.26 アクセス)

国・地域	対象機関	NPBT の取扱い
	欧州食品 安全機関 (EFSA)	<p>EFSA は、「シスジェネシス及びイントラジェネシスにより開発された植物」に関して、2012 年に「科学的意見書(2012 年 EFSA 意見書)」を公表していた。この意見書について、2022 年 10 月に、新しいゲノム技術(New Genomic Techniques:NGTs)に関する現在の技術水準と入手可能な知識を考慮して、最新版「Updated scientific opinion on plants developed through cisgenesis and intragenesis」¹⁰⁸を公表した。</p> <p>また、欧州委員会が NGTs に関する規制を策定するに当たり、「標的変異誘発、シスジェネシス及びイントラジェネシスのゲノム技術により生産された植物」について、実行可能なリスク評価基準に関する EFSA の意見書を作成するよう要請したことを受け、上記の更新版意見書やその他の知見を基に、「Criteria for risk assessment of plants produced by targeted mutagenesis, cisgenesis and intragenesis」¹⁰⁹を公表した。</p> <p>一方、EFSA は、EU における食品安全のリスク評価機関として、GMO の申請に関する各種ガイドランスを作成している。GM 植物由来食品に関する科学的ガイドランスは以下であり、この中でタンパク質の評価についても触れている。「Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants」¹¹⁰</p> <p>その他、タンパク質の安全性評価に関連すると思われる科学的ガイドランスとして、以下が挙げられる。</p> <p>「Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants」¹¹¹</p> <p>「Explanatory note on the determination of newly expressed protein levels in the context of genetically modified plant applications for EU market authorization」¹¹²</p> <p>「Human dietary exposure to GMO food」¹¹³</p>
米国		<p>米国は、「バイオテクノロジーに対して固有の新しい法律を策定しない」という方針で、他の多くの国とは異なる規制アプローチを採用している。最近では、2019 年 6 月に「農業バイオテクノロジー製品の規制枠組みの近代化(Modernizing the Regulatory Framework for Agricultural Biotechnology Products)」に係る大統領令(Executive Order:EO)が出され、ゲノム編集などの技術で作出された作物に関連して、農業バイオテクノロジーにおける低リスク製品については過度の規制から免除するように、各機関に対し指示が出された。</p> <p>2022 年 9 月、バイオテクノロジーのイノベーションを加速し、健康、農業、エネルギーを含む複数の分野にわたって米国のバイオエコノミーを成長させることを目的として、大統領令(EO) 14081「持続可能で安全、安心なバイオエコノミーに向けたバイオマニュファクチャリングとバイオテクノロジーのイノベーションの推進」が発令された。特に EO 14081 は、科学とリスクに基づいた、予測可能で効率的で透明性のある規制システムに役立つ規制を明確化及び合理化することにより、バイオテクノロジーの安全な使用をサポートすることを目的としている。2022 年 12 月、ホワイトハウス科学技術政策局(OSTP)は EPA、FDA、USDA と連携して、特に新規のバイオテクノロジー製品に関連した、バイオテクノロジー規制の調整枠組みにおける規制の曖昧さ、ギャップ、又は不確実性を特定するのに役立つケーススタディを含む関連データと情報を求める要請を行った¹¹⁴。</p>

¹⁰⁸ <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2022.7621> (2023.10.17 アクセス)

¹⁰⁹ <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/7618> (2023.10.17 アクセス)

¹¹⁰ <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2150> (2023.10.17 アクセス)

¹¹¹ <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4862> (2023.10.17 アクセス)

¹¹² <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1466> (2023.10.17 アクセス)

¹¹³ <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5802> (2023.10.17 アクセス)

¹¹⁴ [https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO\(2023\)29/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO(2023)29/en/pdf) (2023.10.26 アクセス)

国・地域	対象機関	NPBT の取扱い
	米国農務省 (USDA)	<p>USDA は、2020 年 5 月、バイオテクノロジー規則 (7 CFR Part 340) の最終規則¹¹⁵を策定した。本規則の下では、「規制免除 (Exemption)」「規制ステータス審査 (Regulatory Status Review)」「許可 (Permitting)」の三段階がある。</p> <p>「規制免除」の категорияの一つに、ゲノム編集技術により作出され「そうでなければ従来の育種技術によって開発され得た改変植物」の定義を満たすものがある。ゲノム編集由来の生物のうち、次のいずれかの種類の変更が一つのみ行われている植物は、規制の対象外である。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 外部から修復テンプレートが導入されない場合の標的 DNA 切断による細胞修復に起因する変化。 2. 標的部位での一塩基対置換。 3. 植物の遺伝子プールで存在することが知られている遺伝子の導入、又はそのような遺伝子の既知の対立遺伝子や遺伝子プールで起こることが既に知られている構造変化に相当する変化¹¹⁶。 <p>さらに USDA は、当該カテゴリーに関して 2023 年 10 月に追加で五つの除外要件の提案¹¹⁷を行い、最終決定へ向けて調整している。</p>
	米国食品医薬品局 (FDA)	<p>FDA による食品規制の原則として、「食品添加物 (食品に意図的に添加されるもの)」については市販前承認が必要である。そこで、バイオテクノロジーを利用して生産された製品中にこれまで認められていない「食品添加物」が含まれている場合は、市販前承認の対象となる。ただし、通常の「食品」や、食品に添加される物質であってもこれまでの経験から「一般に安全とみなされるもの (Generally Recognized As Safe: GRAS)」については、その対象外である。</p> <p>FDA は、バイオテクノロジー植物由来製品について、それらが安全で合法的なものであることを確認するための、開発者との自主的な協議プログラム (Consultation Programs on Food from New Plant Varieties) を構築している¹¹⁸。このプログラムにおいては、植物新品種がどのような方法で開発されたか (従来育種、遺伝子組換え技術、ゲノム編集技術) によらず、最終的な製品についての確認が行われる。</p> <p>ただし、FDA は 2024 年 2 月に、業界向けガイダンス「Foods Derived from Plants Produced Using Genome Editing」¹¹⁹を公表し、当該ゲノム編集植物由来の食品リスクが「自主的な市販前協議 (voluntary premarket consultations)」の対象に該当しない (食品安全上の疑問や規制上の配慮が生じる可能性が低い) と判断された場合のより簡易な手続として、「自主的な市販前会議 (voluntary premarket meetings)」を設定した。</p> <p>また、FDA は、新規のタンパク質 (農薬ではないもの) に関して、早期 (開発初期段階) に協議を行うプログラム「Early Food Safety Evaluation Program (New Protein Consultations)」を設置しており、2006 年にガイダンスを発行している¹²⁰。</p>
	米国環境保護庁 (EPA)	<p>2020 年 10 月に、農薬としての登録要件及び (残留) 許容値の免除を規定する要件から特定の PIPs (植物導入保護剤) を免除する目的で、「新しい技術に由来する特定の PIPs の免除 (Exemptions of Certain Plant-Incorporated Protectants (PIPs) Derived from Newer Technologies)」に関する規則案を提案した。この提案の原則は、バイオテクノロジー (ゲノム編集技術などの新しい技術を含む) により作出された特定の PIPs について、「EPA の安全要件を満たしている PIPs よりも大きなリスクをもたらさない」「従来育種によっても作出し得る」という条件を満たす限りは、規制が免除されるというものである。本提案規則は 2023 年 5 月に最終化され、FIFRA (連邦殺虫剤・殺菌剤・殺鼠剤法) に基づく登録要件、及び FFDC A (連邦食品医薬品化粧品法) に基づく食品・飼料残留物の許容要件から免除するための規定 (40 CFR 174 の改定) が制定された¹²¹。</p>

¹¹⁵ 最終規則の発表当初、USDA-APHIS は「SECURE Rule : Sustainable, Ecological, Consistent, Uniform, Responsible, Efficient (SECURE) Rule」の名称を用いていたが、その後用いないこととして公式サイトからも削除している。

¹¹⁶ アメリカ穀物協会 (2020) 「米国政府による遺伝子組換え生物の規制と植物バイオテクノロジー技術に関する米国農務省の新しい規則 (SECURE ルール)」

¹¹⁷ https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/stakeholder-info/sa_by_date/sa-2023/brs-340-exemptions (2024.2.26 アクセス)

¹¹⁸ <https://www.fda.gov/food/food-new-plant-varieties/consultation-programs-food-new-plant-varieties> (2023.10.25 アクセス)

¹¹⁹ <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-foods-derived-plants-produced-using-genome-editing> (2024.3.8 アクセス)

¹²⁰ <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-recommendations-early-food-safety-evaluation-new-non-pesticidal-proteins-produced> (2023.10.25 アクセス)

¹²¹ <https://www.epa.gov/pesticides/epa-finalizes-rule-accelerate-use-plant-incorporated-biotechnologies-protect-against> (2023.11.02 アクセス)

国・地域	対象機関	NPBT の取扱い
カナダ	カナダ保健省 (HC)	2021年3月に、HCは、遺伝子編集技術を使用して開発されたものを含め、どの植物育種製品が新規食品として市販前通知を必要とするかを明確にするため、新しいガイダンス(案)を作成した。このガイダンス(案)は、パブリックコメントで寄せられた意見を基に修正が加えられ、2022年に「Novel Foodの安全性評価に関するガイドライン(Guidelines for the Safety Assessment of Novel foods)」(2006年)のAppendix Iとして追加された ¹²² 。また、食品用に開発されたゲノム編集植物であって、Novel Foodに該当しない(Novel Foodの定義を満たさないため、市販前届出の対象にはならない)ものについて、自主的な通知プロセス「透明性イニシアティブ(Transparency initiative: TI)」を導入している。HCは、作出した製品に関する簡潔な情報を提供するように開発者に推奨し、当該情報をオンラインで一般公開する ¹²³ 。
オーストラリア、ニュージーランド	オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関(FSANZ)	FSANZは、ゲノム編集などの新しい育種技術(NBT)の利用により得られた食品に対し、どのようにコードを適用するかを検討するため、2017年頃からレビュー(見直し)を開始した。その結果として、2019年12月に最終報告書「Review of food derived using new breeding techniques」 ¹²⁴ を公表した。報告書では、「既存及び新規の遺伝子テクノロジーに対応し、より明確かつ適切に対応できるように、規則の定義を改正及び最新化すること」が提案された。2020年以來、FSANZはオーストラリア・ニュージーランド食品基準規約(Code、コード)における「遺伝子技術を使用して生産された食品」及び「遺伝子技術」の定義を修正する提案に取り組んでおり、2021年10月に、「提案P1055-遺伝子技術と新しい繁殖技術の定義」 ¹²⁵ を公表した。コードにおけるGM食品の定義を改訂・更新することにより、どの食品が、特に新しい遺伝子技術の一部を使用して作られた食品が、規制目的のGM食品であるかどうかを明確にすることを目指している。FSANZは、2021年末に第1回のパブリックコンサルテーションを募集し、改定案の定義基準に関して寄せられたフィードバックを検討した後、更なる評価を実施している ¹²⁶ 。2回目のパブリックコンサルテーションの実施は遅れており、2024年2月時点では「2024年早期」と見込まれている。
日本	農林水産省 ^{127, 128, 129}	<ul style="list-style-type: none"> ゲノム編集飼料等の開発者等は、当該食品の流通前に農林水産省に事前相談を行う。 農林水産省は、当該食品が届出/安全確認のいずれの対象に該当するかを、必要に応じて専門家の意見を聴いた上で判断する。 届出に該当すると判断された場合、開発者等は農林水産省に届出をし、農林水産省はその情報をウェブサイト公表する。 安全確認が必要と判断された場合は、農業資材審議会において審議される。
	厚生労働省 ^{130, 131}	<ul style="list-style-type: none"> ゲノム編集技術応用食品等の開発者は、当該食品の流通前に厚生労働省に事前相談を行う。 厚生労働省は、当該食品が届出/安全性審査のいずれの対象に該当するかを専門家の意見を聴いた上で判断する。 最終的に自然界又は従来の育種技術でも起こっている範囲内の遺伝子変化のものは届出、それを超える遺伝子変化のものは安全性審査の対象となる。 ※ 必要に応じてその取扱いなどについて、食品安全委員会へ諮問する場合がある。 届出と判断された場合、開発者などは厚生労働省に対し、届出を行う。厚生労働省は、開発者などから届出された情報の一部を厚生労働省のウェブサイトで公表する。 安全性審査と判断された場合(ほとんどが「組換えDNA技術応用食品」に該当)、食品安全委員会での食品健康影響評価を経る。

¹²² <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/legislation-guidelines/guidance-documents/guidelines-safety-assessment-novel-foods-derived-plants-microorganisms/guidelines-safety-assessment-novel-foods-2006.html#a5> (2023.11.02 アクセス)

¹²³ <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/transparency-initiative.html> (2023.11.02 アクセス)

¹²⁴ <https://www.foodstandards.gov.au/sites/default/files/consumer/gmfood/Documents/NBT%20Final%20report.pdf> (2024.2.26 アクセス)

¹²⁵ <https://www.foodstandards.gov.au/food-standards-code/proposals/p1055-definitions-for-gene-technology-and-new-breeding-techniques> (2024.2.26 アクセス)

¹²⁶ [https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO\(2023\)29/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO(2023)29/en/pdf) (2023.10.24 アクセス)

¹²⁷ https://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/siryo/biofeed_22.html (2023.11.02 アクセス)

¹²⁸ https://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/siryo/attach/pdf/biofeed_22-12.pdf (2023.11.02 アクセス)

¹²⁹ https://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/siryo/attach/pdf/biofeed_22-13.pdf (2023.11.02 アクセス)

¹³⁰ <https://www.mhlw.go.jp/content/000709708.pdf> (2023.11.02 アクセス)

¹³¹ <https://www.mhlw.go.jp/content/000549349.pdf> (2023.11.02 アクセス)

(2) EU：新しいゲノム技術（NGT）規制法案（植物）

欧州では、近年の現代バイオテクノロジーの進歩に基づく新しい技術の開発に対し、どのように対応すべきかについて、これまで検討が重ねられてきた。2018年7月、欧州司法裁判所（European Court of Justice）が「人為突然変異技術（mutagenesis）由来製品に対する、環境放出指令（Directive 2001/18/EC）上の法的位置付け」について判断を下した（Case C-528/16¹³²）ことを受け、欧州理事会（European Council）は2019年11月、新しいゲノム技術に関する研究を提供するよう欧州委員会（European Commission）に要請した。

この調査結果として、欧州委員会は2021年4月に、「EU法（Directive 2001/18/EC、Regulation (EC) 1829/2003、Regulation (EC) 1830/2003、Directive 2009/41/EC）の下での新しいゲノム技術（Novel Genomic Techniques：NGTs）の状況に関する調査報告¹³³」を公表した。

上記の成果に基づいて、欧州委員会は、「標的突然変異誘発及びシスジェネシスにより作出された植物（plants produced by targeted mutagenesis and cisgenesis）」に関する法制化を開始し、2023年7月5日、「特定のNGT（New Genomic Techniques）により得られた植物に関する提案¹³⁴」を採択した。本提案は、EUの「Farm to Fork strategy¹³⁵」及び「Biodiversity strategy for 2030¹³⁶」の各戦略を支援する立法案パッケージの一部、という位置づけになっている。

提案された規則¹³⁷は、同じ植物からの遺伝物質を含む植物（標的突然変異誘発）、あるいは交雑可能な植物からの遺伝物質を含む植物（イントラジェネシスを含むシスジェネシス）を対象とし、これらの植物（NGT植物）に関する規制を定めたものである。トランスジェニック植物（交雑不可能な種からの遺伝物質を含むもの）は、現状のまま引き続きGMO法規制の対象となる。

¹³² Judgment of the Court (Grand Chamber) of 25 July 2018. (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1578450700192&uri=CELEX:62016CJ0528>) (2024.3.11 アクセス)

¹³³ COMMISSION STAFF WORKING DOCUMENT - Study on the status of new genomic techniques under Union law and in light of the Court of Justice ruling in Case C-528/16 (https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-04/gmo_mod-bio_ngt_eu-study.pdf)

¹³⁴ Commission proposal on plants obtained by certain new genomic techniques (https://food.ec.europa.eu/plants/genetically-modified-organisms/new-techniques-biotechnology_en) (2024.3.11 アクセス)

¹³⁵ Farm to Fork (https://food.ec.europa.eu/horizontal-topics/farm-fork-strategy_en) 食品システムを公平で健康的で環境に優しいもの（持続可能なもの）にすることを目的とした「European Green Deal（欧州グリーンディール）：2050年までに温室効果ガスの純排出量をゼロにする、資源利用から切り離された経済成長を実現、どんな人もどんな場所も取りこぼさない」の中核をなす戦略（2024.3.11 アクセス）。

¹³⁶ Biodiversity (https://environment.ec.europa.eu/strategy/biodiversity-strategy-2030_en) 2030年までに欧州の生物多様性を回復軌道に乗せることを目指す。「European Green Deal（欧州グリーンディール）」の中核をなす戦略（2024.3.11 アクセス）。

¹³⁷ Proposal for a REGULATION OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL on plants obtained by certain new genomic techniques and their food and feed, and amending Regulation (EU) 2017/625 (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A52023PC0411>) (2024.3.11 アクセス)

EC は、NGT 植物を二つのカテゴリー（カテゴリー1、カテゴリー2）に分類し、それぞれに異なる市場投入のプロセスを導入することを提案している（表 25）。カテゴリー1 に該当する場合は、現行の GMO 法規制（安全性評価、表示、トレーサビリティ）から除外される。カテゴリー2 に該当する場合は、現行の GMO 法規制の要件が適用される。

表 25 EC 提案による NGT 植物を市場投入するためのプロセス

<p>カテゴリー1 の NGT 植物： 自然発生又は従来育種によっても発生する可能性のある NGT 植物</p>	<p>提案規則の Annex I で設定された基準に基づいて検証手順の対象となる。 上記の基準を満たす NGT 植物は従来植物と同様に扱われ、GMO 法の要件から免除されることになる。 カテゴリー1 の NGT 植物に関する情報は、種子のラベル表示、公共データベース、及び植物品種の関連カタログを通じて公表される。</p>
<p>カテゴリー2 の NGT 植物： 上記以外の全ての NGT 植物</p>	<p>現行の GMO 法の要件が適用され、市場に投入される前にリスク評価と認可の対象となる。 これらは、GMO として追跡、ラベル表示される。また、遺伝子組換えの目的を示すための任意のラベルを表示する可能性もある。 リスク評価、検出方法、モニタリングの要件が様々なリスクプロファイルに対して適応される。 持続可能性目標に貢献できる特性を備えた NGT 植物には、規制上のインセンティブが利用可能になる。</p>

本提案規則が法律として成立するには、閣僚理事会及び欧州議会において加盟国が採択する、という通常の立法手続きが行われることになる。

2024 年 2 月 7 日、欧州議会において本提案規則に対する第 1 読会（1st reading）の採決が行われ、加盟各国との交渉を進めるとの立場を採択（賛成 307 票、反対 263 票、棄権 41 票）した¹³⁸。欧州議会は、NGT 植物に二つの異なるカテゴリーと 2 組の規則を設けるという提案規則に賛成しているが、カテゴリー1 NGT 植物が従来植物と同等であるとされる基準（改変のサイズ、数：表 28 参照）については提案規則の修正を希望している。今後、欧州議会は、最終的な法律に関して加盟各国との交渉を進める予定である。

以降では、提案された規則について概要をまとめる。

① 提案規則の構成

提案規則は 4 章及び三つの附属書で構成され、第 1 章では対象や範囲、定義が示され、第 2 章でカテゴリー1 NGT 植物、第 3 章でカテゴリー2 NGT 植物に関する規定が示されている（表 26）。

¹³⁸ <https://www.europarl.europa.eu/news/en/press-room/20240202IPR17320/new-genomic-techniques-meps-back-rules-to-support-green-transition-of-farmers> (2024.3.8 アクセス)

表 26 提案規則の構成

第 1 章 一般条項	
第 1 条	対象
第 2 条	範囲
第 3 条	定義
第 4 条	NGT 植物の上市以外の目的での意図的放出及び NGT 製品の上市
第 2 章 カテゴリー 1 NGT 植物及びカテゴリー 1 NGT 製品	
第 5 条	カテゴリー 1 NGT 植物の位置付け
第 6 条	上市以外の目的での意図的放出に先立つカテゴリー 1 NGT 植物の位置付けに関する検証手続き
第 7 条	NGT 製品の上市に先立つカテゴリー 1 NGT 植物の位置付けに関する検証手続き
第 8 条	加盟国、欧州委員会、EFSA 間での情報交換システム
第 9 条	カテゴリー 1 NGT 植物の位置付けを公表するデータベース
第 10 条	カテゴリー 1 NGT 植物生殖材料（育種材料含む）の表示
第 11 条	機密保持
第 3 章 カテゴリー 2 NGT 植物及びカテゴリー 2 NGT 製品	
第 12 条	カテゴリー 2 NGT 植物及びカテゴリー 2 NGT 製品の位置付け
第 1 節 カテゴリー 2 植物の上市以外の目的での意図的放出	
第 13 条	指令 2001/18/EC 第 6 条に記載されている通知の内容
第 2 節 食品・飼料以外のカテゴリー 2 製品の上市	
第 14 条	指令 2001/18/EC 第 13 条に記載されている通知の内容
第 15 条	監視に係る特定条項
第 16 条	第 23 条（承認済みのカテゴリー 2 NGT 植物）に基づく表示
第 17 条	更新後の承認の有効期間
第 3 節 食品・飼料用途のカテゴリー 2 NGT 植物及びカテゴリー 2 食品・飼料の上市	
第 18 条	範囲
第 19 条	規則 (EC) No 1829/2003 の第 5 条及び第 7 条に記載されている承認申請に係る特定条項
第 20 条	EFSA の意見に係る特定条項
第 21 条	更新後の承認の有効期間
第 4 節 カテゴリー 2 NGT 植物及びカテゴリー 2 NGT 製品の共通条項	
第 22 条	持続性に関連する形質を有するカテゴリー 2 NGT 植物及びカテゴリー 2 NGT 製品へのインセンティブ
第 23 条	承認済みのカテゴリー 2 NGT 製品の表示
第 24 条	カテゴリー 2 植物の意図しない混入を防ぐ措置
第 25 条	栽培
第 4 章 最終条項	
第 26 条	委任の行使
第 27 条	実施法令
第 28 条	欧州委員会の手続
第 29 条	ガイダンス
第 30 条	監視・報告・評価
第 31 条	他の EU 法における言及

第 32 条	行政審査
第 33 条	規則 (EU) 2017/625 の修正
第 34 条	発効及び適用
附属書 I	NGT 植物の従来植物との同等性の基準
附属書 II	カテゴリー2 NGT 植物及びカテゴリー2 NGT 製品のリスク評価
附属書 III	インセンティブに関連する形質

② 第 1 章：対象、範囲、定義

本規則は、NGT 植物の上市以外の目的（野外試験など）での意図的な放出、NGT 植物由来の食品・飼料の上市、NGT 植物由来の食品・飼料以外の製品の上市について、規則を定めるものである（第 1 条）。

本規則で用いられる用語は、第 3 条に規定される（表 27）。

NGT 植物及びそれに由来する製品は、当該 NGT 植物が、手続きを経てカテゴリー1 NGT 植物であると宣言（declaration）されたものか、カテゴリー2 NGT 植物として承認（authorisation）を受けたものである場合に限り、意図的放出あるいは上市をすることができる（第 4 条）。

表 27 提案規則における定義

第 3 条	定義
本規則においては、以下の定義を適用する。	
(1)	指令 2001/18/EC に規定された「生物（organism）」、「意図的放出（deliberate release）」及び「上市（placing on the market）」の定義 規則 (EC) No 178/2002 に規定された「食品」「飼料」の定義 規則 (EC) No 1830/2003 に規定された「トレーサビリティ」の定義 欧州議会・理事会規則 (EU) 2016/2031 に規定された「植物（plant）」の定義 「EU における植物生殖材料の生産・販売に関する欧州議会・理事会規則に関する委員会の提案」に規定される「植物生殖材料（plant reproductive material）」の定義
(2)	「NGT 植物（NGT plant）」とは、標的突然変異誘発又はシスジェネシス、あるいはそれらの組み合わせによって得られる遺伝子組換え植物を意味する。ただし、NGT 植物の開発中に一時的に挿入された可能性のある、育種家の遺伝子プールの外部に由来する遺伝物質が含まれていないことを条件とする。
(3)	「遺伝子組換え生物（genetically modified organism）」又は「GMO」とは、指令 2001/18/EC の第 2 条(2)に定義されている遺伝子組換え生物を意味する。ただし、指令 2001/18/EC の附属書 IB にリストされている遺伝子組換え技術を通じて得られた生物を除く。
(4)	「標的突然変異誘発（targeted mutagenesis）」とは、生物のゲノム中の正確な位置に DNA 配列の改変をもたらす突然変異誘発技術を意味する。
(5)	「シスジェネシス（cisgenesis）」とは、育種家の遺伝子プールの中に既に存在する遺伝物質を、生物のゲノムに挿入する遺伝子改変技術を意味する。
(6)	「育種家の遺伝子プール（breeders' gene pool）」とは、一つの種及びそれを交配できる他の分類学的種（これには胚救出、誘導倍数性、ブリッジ交雑などの

高度な技術を使用することによる交配も含まれる)において利用可能な全遺伝情報を意味する。

- (7) 「カテゴリー1 NGT 植物 (category 1 NGT plant)」とは、以下のいずれかの NGT 植物を意味する。
 - (a) 附属書 I (Annex I) に規定されている従来 of 植物と同等の基準を満たす。
 - (b) (a)で言及した NGT 植物の子孫である。これには、そのような植物の交配によって得られた子孫を含む。ただし、指令 2001/18/EC 又は規則 1829/2003 の対象となるような、更なる改変がないことを条件とする。
- (8) 「カテゴリー2 NGT 植物 (category 2 NGT plant)」とは、カテゴリー1 NGT 植物以外の NGT 植物を意味する。
- (9) 「食品用 NGT 植物 (NGT plant for food use)」とは、食品又は食品生産原料として使用される NGT 植物を意味する。
- (10) 「飼料用 NGT 植物 (NGT plant for feed use)」とは、飼料又は飼料生産原料として使用される NGT 植物を意味する。
- (11) 「NGT 植物から生産される (produced from a NGT plant)」とは、全体又は一部が NGT 植物に由来するが、NGT 植物を含まない/NGT 植物で構成されていないことを意味する。
- (12) 「NGT 製品 (NGT product)」とは、NGT 植物を含む/NGT 植物で構成される食品・飼料以外の製品、並びに、NGT 植物を含む/NGT 植物で構成される/NGT 植物から生産される食品・飼料を意味する。
- (13) 「カテゴリー1 NGT 製品 (category 1 NGT product)」とは、その製品が含む/その製品を構成する NGT 植物が、カテゴリー1 NGT 植物である製品を意味する。また、食品・飼料の場合には、カテゴリー1 NGT 植物から生産されている製品も該当する。
- (14) 「カテゴリー2 NGT 製品 (category 2 NGT product)」とは、その製品が含む/その製品を構成する NGT 植物が、カテゴリー2 NGT 植物である製品を意味する。また、食品・飼料の場合には、カテゴリー2 NGT 植物から生産されている製品も該当する。
- (15) 「中小企業 (SME : small or medium sized enterprise)」とは、欧州委員会勧告 2003/361/EC の意味の範囲における SME を意味する。

③ 第2章：カテゴリー1 NGT 植物の取扱い

第2章は、「標的突然変異誘発又はシスジェネシスによって得られた NGT 植物が、自然にあるいは従来育種技術によっても作出され得たかどうか」を、附属書 I に規定された基準 (表 28) を用いて確認 (verify) する手続きを規定している。この基準では、規定された5種類の改変を20個以内の範囲で有する場合に、カテゴリー1 NGT 植物とされる。

カテゴリー1 NGT 植物に対しては既存の GMO 規制の要件が適用されず (第5条)、カテゴリー1 NGT 植物は従来植物に適用される規定の対象として扱われる。

カテゴリー1 NGT 植物の確認要請 (verification request) 手続は、上市以外の目的 (野外試験など) での意図的放出の場合 (第6条) は放出を予定する加盟国の当局に、NGT 製品の上市目的の場合 (第7条) は欧州食品安全機関 (European Food Safety Authority : EFSA) に、それぞれ規定の書類を提出する。

EFSA は、要請を受理してから 30 営業日以内に、当該 NGT 植物がカテゴリー 1 の基準を満たしているかどうかの判断声明を出す。その声明を受理した後、EC は 30 営業日以内に、カテゴリー 1 NGT 植物であるかどうかについて宣言する決定文書を作成し、決定の概要については官報（Official Journal of the European Union）で公表する（第 7 条）。

EC は、カテゴリー 1 NGT 植物と判断したものをリスト化するデータベースを構築し、公開する（第 9 条）。

カテゴリー 1 NGT 植物を含み、第三者が利用できる生殖材料（plant reproductive material）は、育種目的や科学的用途のものであれ、また有償か無償かに関わらず、「cat 1 NGT」の用語と NGT 植物の識別番号を記した表示をしなければならない（第 10 条）。これらのカテゴリー 1 NGT 植物材料は、有機農業に用いることはできない（第 5 条）。

表 28 Annex I : NGT 植物の従来植物との同等性の基準

NGT 植物は、レシピエント/親植物との差異が、標的部位と配列類似性を共有する DNA 配列（バイオインフォマティクスツールによって予測可能なもの）において、(1)から(5)で言及したタイプの遺伝的改変について 20 個を超えないものである場合に、従来植物と同等であるとみなされる。

- (1) 20 ヌクレオチド以下の置換又は挿入
- (2) 任意の数のヌクレオチドの欠失
- (3) 遺伝子組換えにより内因性遺伝子が妨げられないことを条件とする以下のもの
 - (a) 育種家の遺伝子プールに存在する連続した DNA 配列の標的挿入
 - (b) 内在性 DNA 配列と、育種家の遺伝子プールに存在する連続する DNA 配列との標的置換
- (4) 任意の数のヌクレオチド配列の標的化された逆転配置
- (5) 結果として得られる DNA 配列が育種家の遺伝子プールの種に既に存在している（場合により(1)及び/又は(2)で認められた改変を伴うこともある）ことを条件とする、任意のサイズのその他の標的改変

④ 第 3 章：カテゴリー 2 NGT 植物の取扱い

第 3 章は、カテゴリー 1 の基準を満たさず、そのため第 2 章に定められた手続には該当しない NGT 植物（カテゴリー 2 NGT 植物）に対して適用される手続を規定している。

カテゴリー 2 NGT 植物及びカテゴリー 2 NGT 製品には、本規則において除外されない限り、既存の GMO 規制法が適用される（第 12 条）。

第 1 節（第 13 条）：上市以外の目的（野外試験など）での意図的な放出に関しては、指令 2001/18 のパート B の手続を適用。

第 2 節（第 14～17 条）：食品・飼料以外の製品の市場投入に関しては、指令 2001/18 のパート C の手続を適用。

第 3 節（第 18～21 条）：GM 食品・飼料の市場投入に関しては、規則（EC）No

1829/2033 の手続を適用。

なお、既存の GMO 規制法の適用は、NGT 植物に適合するように調整の上で行われる。その適合の主なものは、以下のとおりである。

- ▶ リスク評価は、本規則の附属書 II に従って行う。
- ▶ 検出法・識別法・定量法を提供することが不可能な場合には、検出法の要件に準拠するためのモダリティを用いる。
- ▶ 既存のリスクプロファイル監視要件と定期的な更新の必要性については、必要でない場合には非適用とすることが可能。

附属書 III Part I リストに掲載された形質（持続可能性の観点から品種の性能に貢献する可能性のある形質）を有するカテゴリー2 NGT 植物に対しては、規制上のインセンティブが適用される（第 22 条）。ただし、附属書 III Part II リストに掲載された形質（除草剤耐性）を有するものは除かれる。

カテゴリー2 NGT 植物・製品は、既存の GMO 法におけるトレーサビリティ及び表示要件の対象となり、遺伝子改変によりもたらされた形質について言及することもできる（第 23 条）。

指令 2001/18 で認められている加盟国の自国領土内での GMO 栽培拒否権については、カテゴリー2 NGT 植物には適用されない（第 25 条）。各加盟国は、有機作物・慣行作物中にカテゴリー2 NGT 植物が意図せず混入することを回避するための共存措置を採らなければならない（第 24 条）。

（3）英国：2023 年遺伝子技術（精密育種）法と規制枠組み

① 遺伝子技術（精密育種）法

英国政府は、2021 年 9 月 29 日に、「遺伝子技術の規制に関する政府の方針」¹³⁹ を発表し、今後の「英国における既存の遺伝子組換え生物（GMO）規制の緩和」に関して政府方針を示した。この中で、「ゲノム編集技術やその他の技術によって生産された生物のうち、従来育種によっても開発され得るものについては遺伝子組換え生物の規制から除外するべく、規制上の定義を見直す。また、それらの上市に必要な規制措置を検討する。」というアプローチが提示された。

上記のアプローチに従って、農業におけるゲノム編集技術使用の促進に向け、「遺伝子技術（精密育種）法案（The Genetic Technology (Precision Breeding) Bill）」が 2022 年 5 月に議会に提出され、議論がなされてきた。この法案は、精

¹³⁹ <https://www.gov.uk/government/consultations/genetic-technologies-regulation/outcome/genetic-technologies-regulation-government-response> (2024.2.26 アクセス)

密育種（ゲノム編集）された植物及び脊椎動物（ヒトを除く）、並びにそれらを用いて開発された食品・飼料製品を対象として、それらの認可・市場投入を容易にするべく、より簡略化した規制措置を導入することを提案したものである。

この法案は、下院（庶民院：House of Commons）及び上院（貴族院：House of Lords）での審議を経て、2023年3月23日に「2023年遺伝子技術（精密育種）法（以下、PB法と記載）」¹⁴⁰として制定された。

PB法は、5部48条で構成され（表29）、一部の規定を除いて2023年3月23日から施行される（第48条）。また、一部の規定を除いてイングランド及びウェールズのみ適用される（スコットランド及び北アイルランドは除外）（第47条）。

表 29 2023年遺伝子技術（精密育種）法（PB法）の構成

第1部（Part 1） 精密育種：定義	
第1条	精密育種生物
第2条	「植物」「動物」の意味
第2部（Part 2） 精密育種生物：環境放出、上市、リスク評価	
第3-4条	環境放出
第5-16条	上市
第17条	リスク評価
第18条	登録
第19-21条	監視及び査察
第22-25条	環境放出及び上市に関する一般条項
第3部（Part 3） 精密育種生物から生産された食品・飼料	
第26条	精密育種生物から生産された食品・飼料の規制
第27条	食品・飼料の上市承認：登録
第28条	第3部の義務（Part 3 Obligation）の監視及び査察
第29条	「Part 3 Obligation」の意味
第30条	第3部の解釈
第4部（Part 4） 執行	
第31-32条	関連する違反の執行：一般条項
第33-37条	執行通知
第38条	費用
第5部（Part 5） 一般規定	
第39-48条	

PB法の各部の要点を以下に記載する。

第1部：定義

¹⁴⁰ <https://www.legislation.gov.uk/ukpga/2023/6/contents/enacted>（2024.2.26アクセス）

精密育種生物の定義を、表 30 に抜粋した。精密育種生物とみなされる条件は第 1 条第 2 項に示されている。

表 30 PB 法における精密育種生物の定義（第 1 条抜粋）

第 1 条 精密育種生物
<p>(1) この法律において、「精密育種生物」とは、精密育種植物又は精密育種動物をいう。</p> <p>(2) 本法の適用において、以下を満たす場合に、生物は「精密育種された」ものである。</p> <p>(a) ゲノムの特徴は、現代のバイオテクノロジー（modern biotechnology）の適用によりもたらされたものである。</p> <p>(b) 現代のバイオテクノロジーの適用によりもたらされるゲノムの特徴の全てが、安定している。</p> <p>(c) 現代のバイオテクノロジーの適用によりもたらされるゲノムのあらゆる特徴は、選抜技術との併用であるか否かに関わらず、従来プロセスのみによっても生じ得たものである。</p> <p>(d) ゲノムは、現代のバイオテクノロジー以外には、いかなる人為的改変技術の適用によってもたらされた特徴を含まない。</p> <p>(3) 本法において「現代のバイオテクノロジー」とは、遺伝子組換え生物（意図的放出）規則 2002（S.I. 2002/2443）の規則 5 (1)(a)又は (b)に記載される技術をいう。</p> <p>(4) 生物のゲノムの特徴は、有性生殖であれ無性生殖であれ、その生物が繁殖するたびに増殖可能であれば「安定」している。</p> <p>(5) 生物のゲノムの特徴が従来プロセスから生じたものであるかどうかを判断する際には、以下を考慮しない。</p> <p>(a) その特徴のコピー数</p> <p>(b) エピジェネティックな状態</p> <p>(c) ゲノム中の位置</p> <p>(6) この項において、「従来プロセス」とは、以下を意味する。</p> <p>(a) 植物については、以下のいずれか。</p> <p>(i) 有性受精 (ii) 自然突然変異 (iii) 試験管内受精 (iv) 倍数性の誘発</p> <p>(v) 胚培養 (vi) 接ぎ木 (vii) 突然変異誘発</p> <p>(viii) 遺伝物質を交換することができる生物間の植物細胞の、(i)から(vii)に含まれるプロセスによる体細胞交雑又は細胞融合</p> <p>(b) 動物については、以下のいずれか。</p> <p>(i) 有性受精 (ii) 自然突然変異 (iii) 人工授精 (iv) 体外受精</p> <p>(v) 胚移植 (vi) 倍数性誘導 (vii) 始原生殖細胞の回収及び移植</p> <p>(7) 「人為的改変技術」とは、1990 年環境保護法第 6 部の意味の範囲において、遺伝子又はその他の遺伝物質を人為的に改変することができる技術をいう。</p> <p>(8) - (11)</p> <p>(略)</p>

第 2 部：精密育種生物の環境放出、上市、リスク評価

精密育種生物の環境放出・上市を行う場合は、所定の届出（notification）・確認（precision bred confirmation）を行わなければならない（第 3 条、第 5 条）。

主務大臣（Secretary of State）は、これらの届出等を記載した精密育種登録簿（register）を作成し、維持する義務を負う。当該登録簿は、電子的手段により公衆が無償でアクセスできるようにしなければならない（第 18 条）。

政府は、イングランド域内に向けて輸入、又はイングランド域内において取得

される精密育種生物について、環境への放出・上市前に環境リスク評価の実施を求め、規則を制定することができる（第 17 条）。

第 3 部：精密育種生物から生産された食品・飼料

精密育種生物から生産された食品・飼料は、主務大臣の販売許可（marketing authorisation）を得た上で上市するものとし、その販売許可の申請・承認プロセスを確立する権限は食品基準庁（Food Standards Agency : FSA）に与える（第 26 条）。また、上市する際にはトレーサビリティを確保するための要件を課す（第 26 条）。

また、当該食品・飼料の販売許可に関する所定の事項を記載した登録簿の作成・維持・公開は、FSA が行う（第 27 条）。

第 4 部：執行

政府は、PB 法に基づく義務の遵守を確保するため、通知（notice）により関係者に対して法令遵守（compliance）、特定の活動の禁止（stop）又は罰金（monetary penalty）を命じる制度（第 33 条～第 35 条）を設けるべく、規則を制定する。

② FSA による新たな枠組みの提案

上述のとおり、FSA は、PB 法により、食品・飼料向けの精密育種生物（Precision Bred Organisms : PBO）に対する新しい上市前承認プロセスを確立し、販売許可を得た PBO に関する公的登録簿（public register）を作成・維持する権限を付与されている。

新たな規制枠組みに関する原案は、FSA（イングランド、ウェールズ、北アイルランドを管轄）/スコットランド食品基準庁（Food Standards Scotland : FSS）の作業部会が作成した。イングランド、ウェールズ、北アイルランド、スコットランドの各自治政府関係者、非政府の利害関係者などとも協議を行った。また、科学的見地からは、新規食品・プロセス諮問委員会（Advisory Committee on Novel Foods and Processes : ACNFP）からの助言を得た¹⁴¹。

これらの結果を踏まえて、FSA は、2023 年 11 月 8 日に、新たな枠組みの提案を公表し、パブリックコンサルテーションを開始した¹⁴²。

このコンサルテーションでの提案のうち、「上市前承認システム」及び「販売承認を受けた食品・飼料向け PBO の公的登録簿」に関する提案内容を、以下にま

¹⁴¹ FSA からの助言の依頼に対し、ACNFP は 3 回の声明（2022 年 9 月、2023 年 1 月、2023 年 7 月）を発表した。（<https://acnfp.food.gov.uk/Statements> : PGT Statements、2024.2.26 アクセス）

¹⁴² <https://www.food.gov.uk/news-alerts/consultations/consultation-on-proposals-for-a-new-framework-in-england-for-the-regulation-of-precision-bred-organisms-used-for-food-and-animal>（2024.2.26 アクセス）

とめた（カッコ内の番号は、提案資料の中の見出し番号）。

i) 食品・飼料向け PBO の上市前承認システム

ACNFP からの独立した科学的助言：FSA は、規制アプローチの開発を裏づけるために、精密育種において使用される技術についての現在の科学的理解に関する助言を提供するよう ACNFP に依頼した。ACNFP の遺伝子技術製品（PGT）に特化した小委員会がこの作業を担当して、その結果を ACNFP 本委員会に報告し、その結果、この作業に関して 3 回の声明が発表された。（8.7）

各声明の要点は、表 31 のようになっている。

表 31 PBO の規制アプローチに関する ACNFP の声明の要点

第 1 回 ACNFP 声明（2022 年 9 月）	総合的なリスクと階層づけ
<ul style="list-style-type: none"> ➤ ACNFP は、「PBO が本質的に TBO よりも危険であるという証拠は認められなかった」と勧告した。しかし、この急速に発展中のテクノロジーから様々な成果が得られる可能性があることも認識しており、そのため ACNFP は 2 段階アプローチを推奨した。（8.8） 	
第 2 回 ACNFP 声明（2023 年 1 月）	トライアージ質問と階層判定
<ul style="list-style-type: none"> ➤ ACNFP は、食品・飼料向けとして提案された全ての PBO に対して、「更なる精査が必要かどうか、その結果 PBO がどの段階に分類されるべきか」を決定するためのトライアージ質問を特定した。（8.9） ➤ トリアージ質問は、以下に焦点を当てている。（8.10） <ul style="list-style-type: none"> 新規性（Novelty）：当該 PBO が、新規食品としての評価を必要とするか。 組成（Composition）：毒性、栄養品質、アレルギー誘発性に関して、食品・飼料の安全性リスクに影響を与える組成に重大な変化があるか。 その他の安全上の懸念（Other safety concern）：上述の新規性や組成に関する考慮事項以外に、PBO の安全性への影響に関して重大な不確実性があるくまれないケースにおいて、更なる検討のための道筋を提供することを目的としているか。 ➤ トリアージ質問への回答で更なる精査が必要であることが示された場合、PBO は Tier 2 に分類される。それ以外の低リスク PBO は Tier 1 に分類される。（8.11） <ul style="list-style-type: none"> Tier 1：PBO のうち、潜在的な安全性リスクが理解されている TBO に非常に似ているものは、事例に応じた（bespoke）安全性評価が必要とされる理由はなく、市場へのより簡単なルートがあるだろう。 Tier 2：データの更なる分析が必要な形質を持つ PBO。具体的には、新規性、組成変化（毒性・アレルギー誘発性・栄養の質・品質に影響を与える可能性のあるもの）のある PBO、その他の安全性に関する懸念（潜在的な食品・飼料の安全性リスクについて更なる検討が必要なもの）のある PBO が含まれる。これらの PBO については、PBO の特性のより詳細な試験を含む、事例に応じた（bespoke）安全性評価プロセスが行われる。 	
第 3 回 ACNFP 声明（2023 年 7 月）	データ要件
<ul style="list-style-type: none"> ➤ ACNFP は、データ要件（食品・飼料向けの PBO の安全性評価を裏付けるために FSA が要求すべきデータ）を検討し、二つの潜在的なモデル（以下「Model 1」及び「Model 2」と記載）を提案した。提案されたモデルは、範囲が多岐にわたり、最終的にどのモデルを提案するかについては、リスクを管理するのに何が釣り合うと考えられるかを考慮して、FSA 理事会が決定するよう委ねられた。（8.12、8.13） ➤ Model 1、Model 2 のいずれも、以下の情報が要求される。（8.14） 	

- ✓ 遺伝子変化の性質と目的
- ✓ 変更を行うために使用された方法
- ✓ 生物の遺伝物質の意図しない変化（いわゆる「オフターゲット効果」）の可能性を最小限に抑えるために行われる分析・手順
- ✓ 食品・飼料としての使用を目的とした部分とその用途の特定
- ✓ 関連種の食品・飼料の安全な使用の歴史
- ✓ 組成及びアレルギー誘発性に対する変更の予測される影響
- ✓ デューデリジェンスの一環として開発者が管理する、当該種の既知のハザード（例：反栄養因子、毒素、アレルゲンなど）の検討

➤ Model 1 と Model 2 の主な違いは、階層ステータスを判定するためにトリアージ段階で考慮される構成データの量である。（8.15）

Model 1：意図した遺伝子変化に関連する潜在的な安全リスクのほぼ記述的な評価。これには、意図した組成変更（食品・飼料の品質又は安全性に関連する場合）が達成されたことを確認するための初期データが必要である。意図した変更がどのように発生したか、及び食品・飼料の安全性に関する懸念が発生する可能性についての情報が必要となる。

Model 2：Model 1 で必要な情報とデータに加えて、組成に関する追加のルーチンデータも必要になる（必要に応じて栄養素・抗栄養素、毒物学、アレルギー誘発性など）。これにより、より高いレベルの安全性が保証される。

上市前承認システムの提案：FSA は、食品・飼料向けの PBO の規制に対して、上市前承認システムのアプローチを提案する。この枠組みには二次立法が必要となる。食品・飼料向け PBO によって生じるリスクを理解・管理するため、ACNFP の提案する分類とデータ要件に基づいた 2 段階の規制アプローチを提案する。（8.20）

FSA は、トリアージ段階での PBO の階層ステータスを決定するためのデータ要件と基準について、ACNFP が提案する Model 1 を採用することを提案する。（8.25）

上市前承認プロセスの概要を、表 32 及び図 7 に挙げる。

表 32 FSA が提案する上市前承認プロセスの概要

Tier 1 PBO (8.26)

- ✓ 食品・飼料向け Tier 1 PBO は、FSA への通知が必要である。
- ✓ 開発者は、トリアージ段階で ACNFP 基準を適用して Tier を判定し、Tier 1 に該当する食品・飼料向け PBO を FSA に通知する。
- ✓ FSA は通知を受領したことを認知し、PBO が食品・飼料への使用を認可されるよう主務大臣に勧告する（8.38、8.39 を参照）。
- ✓ 食品・飼料の販売承認を付与された Tier 1 PBO の開発者は、FSA からその旨の通知を受け取り、FSA は PBO を公的登録簿に登録する。

Tier 2 PBO (8.27、8.28)

- ✓ 食品・飼料向け Tier 2 PBO は、他の規制対象製品と同様に FSA への申請が必要となる。
- ✓ 開発者は、トリアージ段階で ACNFP 基準を適用して Tier を判定し、Tier 2 に該当する食品・飼料向け PBO に関しては、次の内容を記載した申請書を提出する必要がある。
 - ・ ACNFP が提案する Model 1 で要求される、Tier 2 ステータスがどのように判定されたかを示すデータ

- ・ PBO が Tier 2 として判定された要因（新規性、構成、その他の懸念事項）に関連する事例に応じた（bespoke）リスク評価に必要な可能性がある追加で特定されたデータ。
- ✓ FSA は、リスク分析プロセスに従って、事例に応じた（bespoke）リスク評価を実行し、続いてリスク管理を実行する。
- ✓ このプロセスの完了後、FSA は主務大臣に対し、PBO が食品・飼料への使用を（使用条件の有無に関わらず）認可されるべきか、認可されるべきでないかを勧告する（8.38、8.39 を参照）。
- ✓ 食品・飼料の販売承認を付与された Tier 2 PBO の開発者は、FSA からその旨の通知を受け取り、FSA は PBO を公的登録簿に登録する。

ガイダンス：FSA は、プロセスの運用に関する事務的・技術的ガイダンスを作成する。PBO の Tier 1/Tier 2 トリアージに必要なデータの概要を、開発者による自己決定（self-determination）を支援する形式で示す技術的ガイダンスを策定し、利害関係者との協議を経て公表する。PBO が Tier 2 と判定される可能性のある各要因（新規性、組成、その他懸念事項）に必要なとされる追加データについては、事例に応じた（bespoke）対応となるが、ガイダンスではそれらに対し予測可能なものを特定する。（8.30）

透明性：食品・飼料向け PBO は「規制対象製品」となるため、関係者は FSA ウェブサイトにある「規制対象製品申請登録簿（Register of Regulated Product Applications）」で届出（Tier 1）及び申請（Tier 2）を閲覧することができるようになる。

食品・飼料向け PBO の届出・申請は、事例管理システム（Case Management System）で管理・追跡可能であり、開発者はいつでも進捗状況を確認することができる。

販売許可を取得した食品・飼料向け PBO は、FSA が管理する公的登録簿に登録される。（8.31）

販売承認を満たす要件：PB 法の第 26 条(3)項には、食品・飼料向け PBO の販売承認を発行するために満たすべき要件を規定する二次立法について示している。FSA は、次の条件を全て満たすよう二次立法において規定することを提案する。（8.40）

- ✓ 上市前承認の対象となる製品は、Defra 大臣により PBO であると確認されている（又は確認された PBO の適格な子孫である）。
- ✓ 承認の下で PBO から生産された食品・飼料は、ヒトや動物の健康に悪影響を及ぼさない。
- ✓ 当該食品・飼料の販売方法が消費者を誤解させない。
- ✓ 当該食品・飼料の生産が環境に悪影響を与えない。
- ✓ 当該食品・飼料を、代替となることが合理的に予想される食品・飼料の代わりに摂取しても、ヒトや動物が栄養学的不利益を被らない。

ii) 食品・飼料向け PBO の公的登録簿

提案の背景：他の規制商品と同様、消費者、業界、執行当局を含むあらゆる利害関係者が利用できる公開登録簿を設けるべきであり、これには階層（Tier）に関係なく全ての PBO を含めるべきである。

消費者調査及び幅広い利害関係者との対話から、消費者は、公的登録簿は、透明性確保のために存在し、食品・飼料向け PBO が効果的に規制されていることを保証すべきであると強く感じていることが示された。また、編集の目的（つまり、生物が精密育種された理由）に関する情報と、関連する安全性評価の詳細を登録簿に含めるべきであると指摘された。

提案：FSA は、それぞれの食品・飼料向け PBO について、以下の情報を備えた公的登録簿（消費者が要求する情報を含む）を設けることを提案する。

(8.50)

- ✓ PBO の名称
- ✓ 承認保持者
- ✓ 編集の目的
- ✓ 承認日
- ✓ 承認の条件（例：必須の製品レベル情報として提示すべきもの）
- ✓ 承認された各 PBO に固有の参照番号（URN）。（これは検索機能を助けると同時に、企業が希望すればこの URN を商業文書に記載することができる。）
- ✓ PBO ステータスを確認する Defra 登録簿における関連エントリへのリンク
- ✓ 安全性評価の詳細

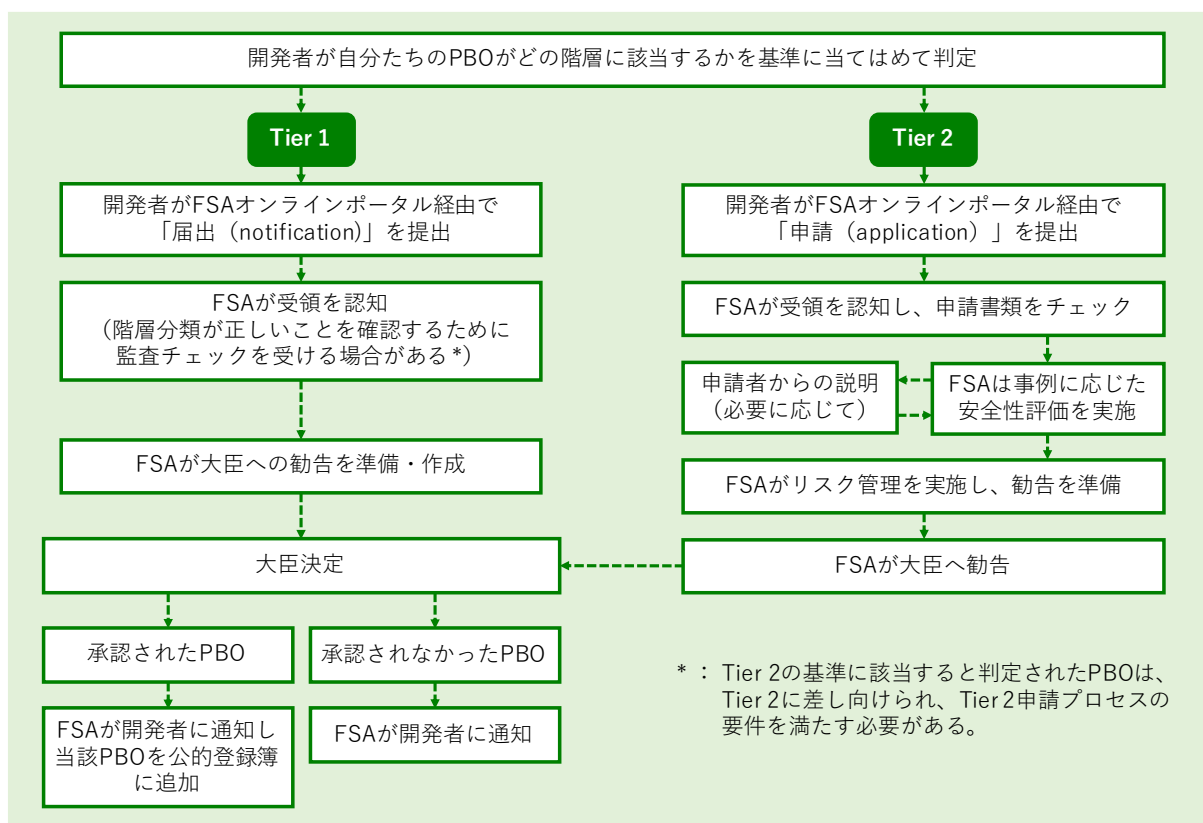


図 7 FSA が提案する食品・飼料向け PBO の上市前承認プロセス図

(転載： Consultation on proposals for a new framework in England for the regulation of precision bred organisms used for food and animal feed, Annex A, p.3)

透明性

食品・飼料向けPBOに関する以下の情報は、FSA公式サイト (food.gov) または科学諮問委員会のウェブサイトでもオンライン公開される可能性がある
(いずれも企業機密情報は除く)

- 有効な届出 (Notification) / 申請 (Application) の概要：FSAの規制製品申請公開登録簿に掲載
- 科学委員会の検討：会議資料及び議事録
- FSA安全性評価書
- 承認済みの食品・飼料向けPBOに関する情報：公開登録簿に掲載

(4) FSANZ：オーストラリア・ニュージーランド食品基準規約の改正提案 P1055

FSANZ は、既存・新興・将来の遺伝子技術によって生産される食品により適切に適応できるように、2017 年頃から見直し (レビュー) 作業を行った結果、食品基準規約 (Food Standard Code：コード) における定義をより明確にし、更新することを提案している。2021 年 10 月に発表された改定案 P1055¹⁴³ (表 33) は、コードにおける「遺伝子技術を使用して生産された食品 (food produced using gene technology)」及び「遺伝子技術 (gene technology)」の定義を修正する提案である。これらの定義により、コードの下でどの食品が遺伝子組換え (GM) 食品として分類されるかが決まる。

¹⁴³ <https://www.foodstandards.gov.au/food-standards-code/proposals/p1055-definitions-for-gene-technology-and-new-breeding-techniques> (2024.3.11 アクセス)

表 33 食品基準規約改定案 (P1055) の概要

FSANZ の評価では、オーストラリア・ニュージーランド食品基準規約 (コード) の「遺伝子工学」及び「遺伝子工学を使用して生産された食品」の現在の定義を次のように修正する必要がある：

- 「遺伝子技術」に対するプロセスベースの定義を改正・拡張して、従来育種を除く全ての遺伝子組換え手法を定義の範囲に含める。
- 「遺伝子技術を使用して生産された食品」の定義を改正し、特定の食品を市販前の安全性評価及び GM 食品としての承認から除外する目的で、プロダクトベースの具体的な基準を定義に含める。関連する全ての除外基準を満たしていない食品は、引き続き FSANZ への申請が必要である。

FSANZ の評価では、安全な使用の歴史を持つ従来の食品と特性及びリスクが同等である場合、NBT 食品及び精製成分はコード目的の GM 食品であってはならない。GM 食品は、改訂された定義の下で市販前の安全性評価と承認を引き続き必要とし、承認された GM 食品は必須の表示の対象となる。

これらの規制の変更は、諮問委員会の設立や執行機関や業界による実施を支援するための新しいガイダンス資料の開発など、非規制的措置によって支援されることが提案されている。

全体として、このアプローチは以下を行うものである。

- 新しい技術によって生産された GM 食品が安全であるという確実性を提供する。
- 技術の発展に伴い、規制範囲のギャップの可能性を制限する。
- 従来の食品と同じ特性を持ち、従来の食品よりも大きなリスクをもたらさない食品を除いて、リスクに釣り合うものとする。
- 食品の特性に基づいて、以下を満たす除外基準を設定する：
 - ・ そのような製品が改訂された定義によってカバーされた場合に発生するであろう施行上の課題の幾つかを回避する。
 - ・ 現在の製品ベースの GM 表示要件に適合している。

2021 年 10 月～12 月に実施された 1 回目のパブリックコンサルテーションで、FSANZ は利害関係者に対し、P1055 で提案したアプローチについてコメントするよう求めた。

これに対し、関係者から合計 1,736 件の応募があった。

FSANZ は 2022 年 11 月、提出者によって表明された見解とコメントを要約した利害関係者フィードバック概要レポートを公開した¹⁴⁴。

提出された意見は、多様な問題について幅広いコメントを提供しており、FSANZ は提起された問題を五つの主要なテーマにグループ化した (図 8)。

¹⁴⁴ <https://www.foodstandards.gov.au/sites/default/files/food-standards-code/proposals/Documents/P1055%20Stakeholder%20Feedback%20Summary%20Report.pdf> (2024.3.11 アクセス)



図 8 第 1 回パブリックコンサルテーションで浮かび上がったテーマ

フィードバックから得られた主な結果は、テーマごとに表 34 のように要約される。

表 34 パブリックコンサルテーションで得られた主な結果

テーマ	結果	結果の要約
1. リスクと安全性	1	NBT 食品のリスクや安全性また、一部の NBT 食品を市販前安全性評価から除外するメリットについては、意見が分かれている。
2. 規制の問題	2	提出者の大多数は、コードにおける「遺伝子技術」及び「遺伝子技術を使用して生産された食品」の現在の定義の改訂を支持している。しかし、「遺伝子技術」の定義を拡大すべきかどうかを含め、定義をどのように改訂すべきかについては意見が分かれている。
	3	「遺伝子技術」の定義及び製品ベースの除外基準に対して提案された定義基準が明確ではないことについて、提出者らから多くの懸念が提起された。
3. 規制以外の問題	4	提出者は概して業界ガイダンス資料の作成を支持したが、諮問委員会 (advisory committee) の有用性については多くの提出者が懸念及び疑問を呈し、これには規制上の負担が増大するのではないかと懸念が含まれていた。
4. 政府の監視	5	全ての NBT 食品に対する政府の監督の必要性と、一部の NBT 食品を市販前安全性評価から除外することの経済的及びその他の利点の可能性については、意見が分かれている。
5. その他の関連問題	6	GM 食品の表示は、購入の選択権を行使したい一部の提出者にとって引き続き重要な問題である。これらの提出者は、NBT を使用した食品にも GM 表示を適用することも求めている。
	7	多くの提出者は、オーストラリアの農業産業が世界的な競争力を維持し、貿易の継続を可能にするために、国内外での規制の調和の重要性を引き続き強調した。
	8	コンプライアンスと施行の観点からトレーサビリティの利点とリスクについては意見が分かれている。

(5) 評価事例の調査

表 35 に各国・地域における評価事例の概要を示した。表 36 にその具体的な評価事例の承認・確認状況を示した。

表 35 各国・地域における評価事例の概要

国・地域	対象機関	評価事例の概要
EU	欧州食品安全機関 (EFSA)	NPBTに関する評価事例は見あたらない。
米国	米国農務省 (USDA)	免除確認 (Confirmation of Exemption) 及び規制状況審査 (Regulatory Status Review: RSR) の要請に対する、USDA-APHIS の回答は、それぞれ以下のリストに掲載されている。 ・Confirmation Letters ¹⁴⁵ ・Regulatory Status Review Table ¹⁴⁶ なお、最終規則に移行する以前の、規制状況の確認 (問い合わせ) に対する回答については、以下のリストに掲載されている (ゲノム編集品目も含む)。 ・Regulated Article Letters of Inquiry ¹⁴⁷
	米国食品医薬品局 (FDA)	「Consultation Programs on Food from New Plant Varieties」において協議が完了した品目は、データベースに掲載されており、ファイル番号 (バイオテクノロジー届出ファイル番号 biotechnology notification file number, BNF No.) により協議を識別している。1994 年に最初の植物バイオテクノロジーに関する協議を完了し、2019 年 2 月、ゲノム編集植物品種 (オレイン酸のレベルが増加するように改変されたダイズ品種) に関する最初の協議を完了した。2023 年 6 月には BNF No.186 までの公式文書を発出した ¹⁴⁸ 。
	米国環境保護庁 (EPA)	EPA は、植物中の農薬成分である植物導入保護剤 (Plant Incorporated Protectants: PIPs) を規制する権限を有し、これによりバイオテクノロジー製品の規制を行っている。NPBT を念頭に規則の改定が行われている。2020 年 10 月に、EPA は、農薬としての登録要件及び (残留) 許容値に関する要件から特定の PIPs を免除する目的で、「新しい技術に由来する特定の植物導入保護剤 (PIPs) の免除 (Exemptions of Certain Plant-Incorporated Protectants (PIPs) Derived from Newer Technologies)」に関する規則案を提案した。そして、提案に対して寄せられたパブリックコメントを検討した後、2023 年 5 月 25 日に最終規則を公表している。 その結果、①性的に適合する (sexually compatible) 植物中に見られる遺伝子と合致 (match) するよう遺伝子を挿入又は改変されたもの、②遺伝子工学を用いた改変により遺伝子の活性が低下又は除去され、それにより植物病害に対して抵抗性を有するようになったものは免除が適用される。①の場合、PIPs 開発者は自社の PIPs が免除の対象であることについて EPA の確認が追加的に必要になるが、②の場合、PIPs 開発者は免除が適用されるかどうかを自身で判断することができる ¹⁴⁹ 。
カナダ	カナダ保健省 (HC)	自主的な通知プロセス「透明性イニシアティブ (Transparency initiative: TI)」が導入されており、開発者が HC の提出物管理・情報ユニット (Submission Management and Information Unit: SMIU) に提出した TI 製品情報フォームに記載された情報に問題がない場合、HC は、遺伝子編集植物製品に由来する食品が新規性のないものであるという開発者の意見に同意するかどうかを判断する。同意する場合、TI 製品に関する情報の概要が「食品用植物育種の非新規製品リスト (List of non-novel products of plant breeding for food use ¹⁵⁰)」に公開される。 Corteva 社が開発した CRISPR 編集ワキシーコーンは 2020 年 2 月に、「新規性がない」ため政府の安全性評価を受ける必要はないとの判断を CH より受けた ¹⁵¹ 。

¹⁴⁵ <https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/regulatory-processes/confirmations/responses/cr-table> (2023.11.03 アクセス)

¹⁴⁶ <https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/regulatory-processes/rsr-table/rsr-table> (2023.11.03 アクセス)

¹⁴⁷ https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/Regulated_Article_Letters_of_Inquiry (2023.11.03 アクセス)

¹⁴⁸ <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=NewPlantVarietyConsultations> (2023.10.25 アクセス)

¹⁴⁹ EPA Finalizes Rule to Accelerate Use of Plant-Incorporated Biotechnologies to Protect Against Pests
(<https://www.epa.gov/pesticides/epa-finalizes-rule-accelerate-use-plant-incorporated-biotechnologies-protect-against>) (2024.3.20 アクセス)

¹⁵⁰ <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/transparency-initiative/list-non-novel-products-plant-breeding-food-use.html> (2023.11.03 アクセス)

¹⁵¹ <https://cbn.ca/wp-content/uploads/GM-Waxy-Corn-Corteva-product-profile-CBAN.pdf> (2023.11.04 アクセス)

国・地域	対象機関	評価事例の概要
オーストラリア、ニュージーランド	オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関(FSANZ)	NPBTに関する評価事例は見当たらない。 NBT 食品は開発の初期段階にあり、オーストラリアとニュージーランドでは食品供給に NBT 食品はない(2021年10月更新) ¹⁵² 。
日本	農林水産省	「ゲノム編集飼料及び飼料添加物の飼料安全上の取扱要領」に基づき、事前相談を終えた上で届出の対象に該当すると判断されたゲノム編集飼料及び飼料添加物は、2023年11月2日現在、6品目である ¹⁵³ 。既に上市されている品目は、サナテックシード株式会社の GABA 高蓄積トマト、リージョナルフィッシュ株式会社の可食部増量マダイ及び高成長トラフグである。
	厚生労働省	ゲノム編集技術応用食品及び添加物の食品衛生上の取扱要領に基づいて届出された食品及び添加物は、上記の農林水産省の一覧表と同じ内容である ¹⁵⁴ 。

表 36 各国のゲノム編集生物等の具体的な承認・確認状況

* 上市が確認されたものは、黄色の背景色でハイライト(2022年10月現在)

国・地域	生物名	形質	利用された技術	承認・確認状況	URL
EU	-	2'-Fucosyllactose (オリゴ糖の一種)の生産	CRISPR/Cas9	新規食品として EFSA においてリスク評価中	https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO(2022)23/en/pdf (2023.11.07 アクセス)
	Pichia pastoris (酵母)	ダイズレグヘモグロビンの生産	形質転換後のベクター増幅と CRISPR/Cas9	申請はリスク評価中 [申請: EFSA-GMO-NL-2019-162]	https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO(2023)29/en/pdf (2023.11.07 アクセス)
	トウモロコシ	-	CRISPR/Cas9 と遺伝子組換え技術の組合せ	申請はリスク評価中[申請: EFSA-GMO-NL-2020-172、DP-915635-4]	https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO(2023)29/en/pdf (2023.11.07 アクセス)
イギリス	コムギ	穀物中のアスパラギンの低下(アクリルアミドへの変換減少)	CRISPR/Cas9	Rothamsted Research 社は、ハートフォードシャー州を拠点としたゲノム編集コムギの圃場試験を実施する許可を環境・食糧・農村省(DEFRA)から得た。2026年までの最長5年間のプロジェクト。CRISPR 編集コムギの屋外試験はヨーロッパで初めて。	https://www.world-grain.com/articles/15759-uk-approves-genome-edited-wheat-field-trial (2023.11.07 アクセス)
米国 * ゲノム編集生物等の承認や規制対象外との	レタス	褐変防止	ゲノム編集(具体的な技術は不明)	Intrexon Corporation より申請。2019年2月に米国農務省より規制に該当しないと回答を受けた。GreenVenus, LLC は、2020年に本レタスの野外栽培と商業販売を開始した。 ※ ¹⁵⁵	https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/18-243-01_a4_air_cbidel.pdf (2023.11.07 アクセス)

¹⁵² <https://www.foodstandards.gov.au/consumer/gmfood/Pages/Review-of-new-breeding-technologies-.aspx> (2023.11.04 アクセス)

¹⁵³ https://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/siryo/ge_todokede.html (2023.11.05 アクセス)

¹⁵⁴

https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/bio/genomed/newpage_00010.html (2023.11.05 アクセス)

¹⁵⁵ 2023年に上市(Nature reviews bioengineering <https://doi.org/10.1038/s44222-023-00115-8>)という情報があるが、市場に出たという記事は見当たらず、確認されていない。

国・地域	生物名	形質	利用された技術	承認・確認状況	URL
確認が多数行われているが、一部を掲載	ダイズ	高オレイン酸、低リノレン酸	TALEN	Calyxt 社より申請。ゲノム編集ダイズには五つの標的遺伝子が欠失した元のダイズ植物の遺伝物質のみが含まれているため、規制に該当しないと 2020 年 5 月に米国農務省より回答を受けた。	https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/20-066-01-air-response-signed.pdf (2023.11.07 アクセス)
	トウモロコシ	収量特性の強化	CRISPR-Cas	Inari Agriculture 社作出のトウモロコシ Zea mays が §340.1(b)(1) に記載されている免除条件を満たし、7 CFR パート 340 に基づく規制から免除されたとの APHIS からの回答が 2023 年 8 月に出された。[23-209-02cr]	https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/confirmation-response/23-209-02cr-request.pdf (2023.11.07 アクセス)
	ジャガイモ	塊茎の品質の変化	CRISPR-MAD7	Phytoform Labs 社作出のジャガイモが §340.1(b)(1) に記載されている免除条件を満たし、7 CFR パート 340 に基づく規制から免除されたとの APHIS からの回答が 2023 年 5 月にあった。[23-060-01cr]	https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/confirmation-response/23-060-01cr-request.pdf (2023.11.07 アクセス)
	ダイズ	種子の組成の変化	CRISPR 3.0	種子組成を改善するために改変された Benson Hill 社作出のダイズ Glycine max が、§340.1(b)(1) に記載されている免除条件を満たし、7 CFR パート 340 に基づく規制から免除されることが、2023 年 4 月に確認された。[23-033-01cr]	https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/confirmation-response/23-033-01cr-request.pdf (2023.11.07 アクセス)
	トウモロコシ	生殖機能の変化	CRISPR/Cas1 2a	Syngenta Seeds 社作出のトウモロコシ Zea mays が §340.1(b)(1) に記載されている免除条件を満たし、7 CFR パート 340 に基づく規制から免除されたとの APHIS からの回答が 2023 年 4 月にあった。[23-062-01cr]	https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/confirmation-response/23-062-01cr-request.pdf (2023.11.07 アクセス)
	コメ	除草剤耐性	CRISPR/Cas	HPPD (hydroxyphenylpyruvate dioxygenase) 阻害除草剤に対する耐性を目的として改変された Bioheuris 社作出の米が、§340.1(b)(2) に記載されている免除条件を満たし、7 CFR パート 340 に基づく規制から免除されることが、2023 年 3 月に確認された。[23-033-02cr]	https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/confirmation-response/23-033-02cr-request.pdf (2023.11.07 アクセス)
カナダ	コメ	除草剤耐性	従来の育種：古典的な突然変異誘発	2023 年 10 月に RiceTec 社の RTM1 ライスが非新規製品リストに公開された。市場への最も早い参入は 2026 年。	https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/transparency-initiative/list-non-novel-products-plant-breeding-food-use.html (2023.11.13 アクセス)

国・地域	生物名	形質	利用された技術	承認・確認状況	URL
	コムギ	除草剤耐性	従来 of 育種 ; 古典的な突然変異誘発	2023 年 5 月に Limagrains Cereal Seeds 社の AXigen®コムギが非新規製品リストに公開された。市場への最も早い参入日は 2024 年。	同上
	イエローカラシ	除草剤耐性	従来 of 育種 ; 古典的な突然変異誘発	2023 年 3 月に Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC) の YM-ALS-205 イエローカラシが非新規製品リストに公開された。市場への最も早い参入日は 2028 年。	同上
	からし菜	辛味を抑えて風味を向上	CRISPR/Cas12a	2023 年 3 月に Pairwise Plant Services 社のからし菜 (GT22、GT23、GT24、GT28、GT29、GT30) が非新規製品リストに公開された。市場への最も早い参入日は 2023 年。	同上
	ジャガイモ	より高い塊茎セット	CRISPR/Cas9	2022 年 12 月に J.R. Simplot 社の JA36 ジャガイモが非新規製品リストに公開された。市場への最も早い参入日は 2024 年。	同上
	コムギ	高アミロースデンプン	従来 of 育種 ; 古典的な突然変異誘発	2022 年 7 月に Arista Cereal Technology の高アミロースコムギが非新規製品リストに公開された。市場への最も早い参入日は 2022 年。	同上
	コメ	除草剤耐性	従来 of 育種 ; 古典的な突然変異誘発	2022 年 7 月に RiceTec 社の RTA2 ライスが非新規製品リストに公開された。市場への最も早い参入日は 2023 年。	同上
	アルファルファ	リグニンポリマー組成の変更による飼料の品質の変更	TALEN	2022 年 7 月に Calyxt 社の IQ アルファルファが非新規製品リストに公開された。市場への最も早い参入日は 2023 年。	同上
	マスタード	除草剤耐性	従来 of 育種 ; 古典的な突然変異誘発	2021 年 10 月に Mustard 21 Canada 社のマスタード (BJ-ALS-B653 と BJ-ALS-A653) が非新規製品リストに公開された。市場への最も早い参入日は 2024 年。	同上
	キャノーラ	除草剤耐性。交配後のハイブリッド系統の肥沃度の回復	従来 of 育種 ; 異種交配	2020 年 10 月に BASF Canada 社のキャノーラ品質 RF3 が非新規製品リストに公開された。市場への最も早い参入日は 2026 年。	同上
	トウモロコシ	ワキシートウモロコシ	CRISPR/Cas9	Corteva 社 (2019 年に DowDupont から独立) が開発。2020 年 2 月、カナダ保健省より、「新規性がない」ため、政府の安全性評価を受ける必要はないとの判断を受けた。この製品は「食品として安全に使用されてきた品種と同等」であるとした。	https://cban.ca/wp-content/uploads/GM-Waxy-Corn-Corteva-product-profile-CBAN.pdf <2023.11.03 にアクセス>

国・地域	生物名	形質	利用された技術	承認・確認状況	URL
オーストラリア、ニュージーランド	現時点では、ゲノム編集生物等の承認や規制対象外との確認を行ったという情報は見当たらない。				
日本 156,157	トマト	GABA 高蓄積 (87-17 系統)	CRISPR/Cas9	サナテックシード株式会社が開発。食用、栽培用、飼料用として、2020 年 12 月に規制当局に情報提供が行われ、「遺伝子組換え生物等」に該当しないこと、生物多様性影響は想定されることが確認された。2021 年 5 月よりゲノム編集トマト青果物の販売を開始した。	https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/tetuduki/attach/pdf/nbt_tetuzuki-4.pdf <a href="https://sanatech-seed.com/ja/20210915/<上記二つとも2023.11.05にアクセス>">https://sanatech-seed.com/ja/20210915/<上記二つとも2023.11.05にアクセス>
	マダイ	可食部増量	CRISPR/Cas9	リージョナルフィッシュ株式会社が開発。食用、陸上での飼育、飼料用として、2022 年 12 月に規制当局に情報提供が行われ、「遺伝子組換え生物等」に該当しないこと、生物多様性影響は想定されることが確認された。販売開始は、初めの系統で 2021 年 10 月、追加系統で 2023 年 1 月。	https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/tetuduki/attach/pdf/nbt_tetuzuki-3.pdf <2023.11.05 にアクセス>
	トラフグ	高成長	CRISPR/Cas9	リージョナルフィッシュ株式会社が開発。食用、陸上での飼育、飼料用として、2022 年 12 月に規制当局に情報提供が行われ、「遺伝子組換え生物等」に該当しないこと、生物多様性影響は想定されることが確認された。販売開始は、初めの系統で 2021 年 11 月、追加系統で 2023 年 1 月。	https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/tetuduki/attach/pdf/nbt_tetuzuki-2.pdf <2023.11.05 にアクセス>
	トウモロコシ	ワキシートウモロコシ	CRISPR/Cas9	コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社の子実デンプンのアミロペクチン含有量が増加したトウモロコシを、ゲノム編集技術を用いて作出した。ゲノム編集食品の届出としては 4 例目、穀物としては 1 例目になる。2023 年 3 月に厚生労働省と農林水産省へ届け出た。上市は未定。	https://bio-sta.jp/news/administrati on/4418/ (2023.11.05 アクセス) https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/001075000.pdf (2023.11.05 アクセス)
	トマト	GABA 高蓄積 (206-4 系統)	CRISPR/Cas9	サナテックシード株式会社が開発。食用、栽培用、飼料用として、2023 年 7 月に規制当局に情報提供が行われた。2020 年 12 月に届け出た系統(87-17 系統)と同じ変異であり、品種としての違い以外で異なる点はない。上市は未定。	https://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/siry o/attach/pdf/ge_todokede-2.pdf (2023.11.05 アクセス) https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/001126815.pdf (2023.11.05 アクセス)

¹⁵⁶ https://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/siry o/ge_todokede.html (2023.11.13 アクセス)

¹⁵⁷

https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iry ou/shokuhin/bio/genomed/newpage_00010.html (2023.11.13 アクセス)

国・地域	生物名	形質	利用された技術	承認・確認状況	URL
	ヒラメ	高成長	CRISPR/Cas9	リージョナルフィッシュ株式会社は2023年10月、厚生労働省にゲノム編集応用食品として「高成長ヒラメ」を届け出た。食欲を抑制するレプチン受容体に関わる遺伝子を働かなくさせた。上市は未定。	https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/001160416.pdf (2023.11.05 アクセス) https://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/siryo/attach/pdf/ge_todokede-4.pdf (2023.11.05 アクセス)
	ジャガイモ	ステロイドグリコアルカロイド低生産性	プラチナTALEN	国立研究開発法人理化学研究所より、研究目的として、2021年4月に規制当局に情報提供が行われた。「遺伝子組換え生物等」に該当しないこと、生物多様性影響が生ずる可能性等について適切な記載となっていることが確認された。	https://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n2263_02.pdf (2023.11.05 アクセス)
	イネ	フロリゲン遺伝子をゲノム編集	CRISPR/Cas9	国立大学法人東京大学より、研究目的として、2021年6月に規制当局に情報提供が行われた。「遺伝子組換え生物等」に該当しないこと、生物多様性影響が生ずる可能性等について適切な記載となっていることが確認された。	https://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n2277_02.pdf (2023.11.05 アクセス)
	コムギ	穂発芽耐性	CRISPR/Cas9	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構より、研究目的として、2021年9月に規制当局に情報提供が行われた。「遺伝子組換え生物等」に該当しないこと、生物多様性影響が生ずる可能性等について適切な記載となっていることが確認された。	https://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n2285_02.pdf (2023.11.05 アクセス)
	Euglena gracilis (微生物)	GSL2 欠失	CRISPR/Cas9	株式会社ユーグレナより、屋外での利用を目的として、2021年9月に規制当局に情報提供が行われた。「遺伝子組換え生物等」に該当しないこと、生物多様性に影響を及ぼさないと考察できることが確認された。	https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/mono/bio/cartagena/euglena_kakuninkekk.a.pdf (2023.11.05 アクセス)
	イネ	イネ品種コシヒカリの開花期決定遺伝子・概日時計構成因子遺伝子の改変	CRISPR/Cas9	国立大学法人東京大学より、研究目的として、2023年7月に規制当局に情報提供が行われた。「遺伝子組換え生物等」に該当しないこと、生物多様性影響が生ずる可能性等について適切な記載となっていることが確認された。	https://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n2389_02.pdf (2023.11.05 アクセス)

① FDA <Calyxt 社>

FDA は1990年代に Plant Biotechnology Consultation Program (植物バイオテクノロジー協議プログラム) を創設した。植物の新品種の開発者と協力して、その新品種から作られた食品を市場に出す前に安全かつ合法であることを確認できるように支援してきた。この協議プログラムは任意だが、植物の新品種の開発者は、新しい遺伝子組換え植物から食品を市場に出す前に、定期的にこのプログラ

ムに参加している¹⁵⁸。

協議のプロセスは以下のとおりである。

新しい植物品種から食品を商品化しようとする開発者は、まず食品に関連する安全性、栄養、その他の規制上の問題を特定し、安全性と規制の評価を行う。その評価の概要を FDA に提出すると、提出物はバイオテクノロジー通知ファイル（BNF : biotechnology notification file）として指定される。FDA は概要に含まれるデータと情報を評価し、未解決の食品安全性又は規制上の考慮事項（新たな毒素やアレルゲンが含まれていないか、伝統的に育種されたものと栄養的に異なるかなど）を特定する。開発者と協力して問題の解決に必要な情報を入手した後、安全性と規制の問題が解決されると、FDA は植物開発者に書簡を送付し協議が終了する。関連情報は Web サイトの「新しい植物品種からの食品に関する相談」セクションに掲載され、一般公開される。

GE 植物品種由来の食品に関するバイオテクノロジー協議の目録には、バイオエンジニアリング食品に関する完了した全ての最終協議がリストされており、ファイル番号（BNF No.）により協議を識別する¹⁵⁹。

米ミネソタ州ローズビルに本社を置く Calyxt 社は、最先端のゲノム編集技術と技術的専門知識を商業戦略と組み合わせ、より健康的な成分を市場に提供している。Calyxt 社は、初の市販ゲノム編集製品となる、TALEN 技術を用いた高オレイン酸ダイズ（FAD2KO ダイズ）について、FDA に協議のための情報を提出した。FDA はデータと情報の評価を行い、脂肪酸組成改変ダイズについてのバイオテクノロジー協議の完了に関する公式文書（BNF(Biotechnology Notification File) No. 164 への回答書）を 2019 年 2 月に発出した。

Calyxt 社が提供した情報によると、当該ダイズは、脂肪酸不飽和化酵素遺伝子 FAD2-1A 及び FAD2-1B における変異の結果として、オレイン酸含有量が増加し、リノール酸含有量が低下している。Calyxt 社は、自社が実施した安全性及び栄養評価に基づき、FAD2KO ダイズ由来の食品は現在市場にある高オレイン酸ダイズ由来の食品と同程度に安全であること、食品添加物として市販前の承認が必要となるような新しいタンパク質やその他の物質が食品に導入されていないこと、FAD2KO ダイズからの油は、「高オレイン酸ダイズ油」の基準と一致する脂肪酸プロファイルを持っていることなどを結論付けている。

FDA は、これらの結論を裏付けるデータと情報を評価し、FAD2KO ダイズが連邦食品医薬品化粧品法に基づくヒトの食品に関わる他の規制問題を引き起こすかどうかを検討した上で、現時点では FAD2KO ダイズからの食品の安全性、栄

¹⁵⁸ <https://www.fda.gov/food/food-new-plant-varieties/consultation-programs-food-new-plant-varieties> (20240105 アクセス)

¹⁵⁹ <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=NewPlantVarietyConsultations> (20240105 アクセス)

養、規制遵守についてこれ以上の質問はないとした。

2020年6月、Calyxt社の高オレイン酸低リノレン酸（HOLL）ダイズは、USDA機関である動物衛生検査局（APHIS）のバイオテクノロジー規制サービスによる「Am I Regulated?」（その後2020年8月に施行された最終規則に置き換わった）に基づき、非規制品とみなされた。Calyxt社のHOLLダイズは、USDAによって非規制品とみなされている合計八つのCalyxt製品（高繊維コムギ、高オレイン酸ダイズ、改良された品質のアルファルファ、冷蔵保存可能なジャガイモ、褐変を軽減したジャガイモが含まれる）の一つである¹⁶⁰。

表 37 BNF No. 164 の評価概要（Calyxt社製の高オレイン酸ダイズ FAD2KO）^{161, 162}

用途	評価項目	評価手段	評価結果	回答日
FDA 食品安全応用栄養センター(CFSAN: Center for Food Safety and Applied Nutrition) による評価				
食品	意図された遺伝子変化	PCR 増幅、その後の直接配列決定を使用	FAD2-1A*では 63 bp、FAD2-1B では 23 bp の欠失を確認。この変異によりタンパク質が切断されて不活性化すると予測	2019.02.22
	TALEN DNA の欠如	全ゲノム配列決定とバイオインフォマティクス分析	TALEN 形質転換ベクターDNA が存在しないことを確認	
	意図された形質の特徴付け	FAD2KO ダイズ及び親品種(対照)の油・種子中の脂肪酸レベルの計測	FAD2KO ダイズは、対照と比較して、オレイン酸のレベルが増加し、リノール酸、パルミチン酸及びリノレン酸のレベルが減少	
	安全性や栄養に関連する他の成分に意図しない変化がないことの確認	主要な栄養素、反栄養素、有毒物質の計測	FAD2KO ダイズレベルが対照及び文献値と同様であることを確認	
FDA 獣医学センター(CVM: Center for Veterinary Medicine)による評価				
飼料	遺伝子変異の特定	TALEN 標的部位の PCR 増幅、ヌクレオチド配列決定、及び野生型 DNA 配列とのアラインメント解析	バイオインフォマティクスを使用して、編集された配列のヌクレオチド配列、TALEN 発現ベクター配列の不在を確認	2019.02.22
	意図しないオフターゲットの変化	バイオインフォマティクス分析を使用して、転写活性化因子のようなエフェクター配列の特異性を検証	TALEN が標的とする FAD2 遺伝子と密接に関連する七つの遺伝子配列のヌクレオチド配列に変化無し	

¹⁶⁰ <https://geneticliteracyproject.org/2020/06/08/usda-approves-second-generation-gene-edited-soybean-with-healthier-oil-profile/> (2023.11.14 アクセス)

¹⁶¹ <https://www.fda.gov/media/120708/download> (20240105 アクセス)

¹⁶² <https://www.fda.gov/media/120660/download> (20240105 アクセス)

用途	評価項目	評価手段	評価結果	回答日
	タンパク質の安全性	バイオインフォマティクス分析を使用して、編集された配列に関連する潜在的な新しいオープンリーディングフレーム(ORF)を特定し、編集されたタンパク質やその他の潜在的な推定ペプチドが毒性を持つ可能性があるかどうかを評価	編集されたタンパク質のタンパク質配列及びその他の潜在的な推定ペプチドは、「毒素」のキーワードフィルターを使用した国立バイオインフォマティクス情報センターの非重複タンパク質配列データベースの配列と固有の一致は不検出 膜結合タンパク質はダイズ種子に含まれる総タンパク質の微量成分であるため、野生型ダイズと比較して安全性リスクの増加はないと Calyxt は結論	
	栄養組成	OECD のコンセンサス文書で推奨されている成分を選択し、FAD2KO ダイズと従来ダイズ(対照)の栄養組成を分析	FAD2KO ダイズ種子に含まれる類似物質、繊維分析物、アミノ酸、イソフラボン及び抗栄養素のそれぞれの平均値が、対照の平均値と同じであった FAD2KO ダイズミール及びそれに由来する飼料は、現在市販されている他のダイズ品種由来のミールと同様に安全であり、脂肪酸プロファイルを除いて、組成又はその他の関連パラメータにおいて実質的に異なるものではない	

*FAD₂-1A, FAD₂-1B : omega-6 fatty acid desaturase -1A, -1B (オメガ 6-脂肪酸不飽和化酵素-1A, -1B) FAD₂ファミリーのタンパク質は、一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸から多価不飽和脂肪酸であるリノール酸への変換を触媒する。

② カナダ <Cibus 社>¹⁶³

Cibus 社は、ODM である Rapid Trait Development System (RTDS™、オリゴヌクレオチド指向性突然変異誘発法) を使用した遺伝子改変技術を開発し実用化している。以下に紹介するキャノーライメント 5715 は、RTDS の一工程である組織培養中にソマクロナル変異として選抜された株由来であり、ODM の結果ではないと確認されている。NPBT の評価事案ではないものの、Cibus 社は、RTDS を利用して同様の開発を実施しており、カナダにおける評価項目が確認できることから、ここに紹介する。

Cibus US LLC は、従来キャノーラ品種と比較してイミダゾリノン及びスルホニル尿素除草剤に対する耐性が向上した Cibus キャノーライメント 5715 を開発した。このキャノーライメントは、*BnAHASIC* 遺伝子と *BnAHAS3A* 遺伝子にそれぞれ特定の一塩基変異を持っている。両遺伝子はアセトヒドロキシ酸シンターゼ (AHAS) 酵素のタンパク質サブユニットをコードしており、イミダゾリノン及びスルホニル尿素系除草剤は、AHAS 酵素の活性部位に結合し、これらの重要なアミノ酸の合成を妨げる。AHAS 酵素の各サブユニットにおける一塩基変異により、酵素の構造が変化し、イミダゾリノン及びスルホニルウレア系除草剤の

¹⁶³ <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/approved-products/novel-food-information-cibus-canola-event-5715-imidazolinone-sulfonylurea-herbicide-tolerant.html> (20240105 アクセス)

結合親和性が低下し、キャノーラ植物に除草剤耐性が与えられる。

BnAHASIC 遺伝子の一塩基変異のドナーとして、野生型親株 BN2 の変異体が選択された。この変異体は、RTDS™を使用した除草剤耐性系統の作出過程においてソマクローナル変異体として生成されたものであることが確認されている。

カナダ保健省（HC：Health Canada）は、新規食品（Novel Food）の安全性評価のガイドラインに従って、このキャノーラ品種の包括的な評価を実施した。同省は、Cibus Canada Inc.の法的関連会社である Cibus US LLC に対し、Cibus キャノーライイベント 5715 の食品使用に異議がないことを 2013 年 12 月に通知した。

動物飼料としてのその使用に関連する問題は、カナダ食品検査庁（CFIA：Canadian Food Inspection Agency）の既存の規制プロセスを通じて個別に対処されている。CFIA は、動物飼料での使用を目的とした Cibus キャノーライイベント 5715 の環境、動物及びヒトの健康の安全性について提供された情報を評価し、環境と飼料の安全性の観点からは懸念がないと結論付けた。

2023 年 6 月、ODM 技術を持つ Cibus 社は、前述の Calyxt 社と合併した¹⁶⁴。

表 38 Cibus キャノーライイベント 5715 の評価概要

価項目	評価手段	評価結果
栄養	Cibus キャノーラ イベント 5715 及び対照品種で測定 ・抽出油の脂肪酸 ・脱脂粉のタンパク質、油、灰分、粗繊維、アミノ酸、フィチン酸、トリプシン阻害剤など	幾つかの分析物（43 個中 19 個）が、対照品種と比較して統計的に有意な差を示したが、Cibus キャノーラ イベント 5715 におけるレベルは、キャノーラに関する OECD コンセンサス文書（2011、2001）で発表された範囲内であったため、これらの差異は許容できると考えられた。
化学 / 毒物学	Smart® キャノーラ や Clearfield® キャノーラ など以前に承認された、BnAHAS3A 遺伝子の一塩基変異が組み込まれた他のキャノーラ系統の証拠	既知のタンパク質毒素との類似性の欠如、変異タンパク質が熱に不安定であること、擬似胃液（SGF）中で分解されること、及びキャノーラ油の消費による予想される暴露が無視できるという証拠に基づいて、カナダ保健省は以前のキャノーラ系統を食品用途として承認した。
	GenBank タンパク質データベースを使用したバイオインフォマティクス分析	BnAHAS1C 遺伝子に由来する野生型及び変異型 AHAS タンパク質の両方を既知の毒素と比較した結果、有意な一致は見つからなかった。
	変異体 BnAHAS1C が SGF に曝露されたときに分解され、高温で変性するかどうかの試験	SGF 研究の結果は、方法論と結果の解釈が難しいため有効とはみなされなかったが、キャノーラ油の製造には大規模な化学処理、濾過、及び高温が使用されるため、油に存在するタンパク質の量はごく僅かであると判断した。
アレルギー誘発性	一塩基変異 AHAS タンパク質と Allermatch データベースにリストされているアレルゲンとの間のアミノ酸相同性について in silico 検索を実施	35%を超える同一性を持つ八つの連続するアミノ酸の検索基準を使用しても、一致するものは見つからなかった。 キャノーラ油は高度に加工されており、加熱、溶媒抽出、トースト、漂白（粘土による濾過）、水蒸気蒸留（脱臭）などのプロセスが含まれる。これらのプロセスはタンパク質を変性させて除去するため、最終的なキャノーラ油のタンパク質源は無視できるほどであり、アレルギー誘発性の懸念を引き起こすとは予想されない。

¹⁶⁴ <https://investor.cibus.com/news-releases/news-release-details/cibus-announces-closing-merger-calyxt-create-industry-leading> (2023.12/07 アクセス)

第4章 ヒアリング

1. 対象者

ヒアリングは、植物科学領域がご専門の大阪公立大学小泉望教授（農学研究科 応用生物科学専攻 植物分子育種学研究グループ）、太田大策教授（農学研究科 応用生物科学専攻 代謝機能学研究グループ）、佐々木伸大教授（農学研究科 応用生物科学専攻 食料安全科学研究グループ）、食品の安全性評価領域がご専門の昭和女子大学近藤一成教授（食健康科学部食品安全マネジメント学科）、社会科学領域がご専門の名古屋大学大学院立川雅司教授（環境学研究科）に対して実施し、各ご専門の立場からご意見をいただいた。

2. 結果のポイント

- NPBT は、育種技術としてその変異の機構としてゲノム編集や ODM、シスジェネシスなどが挙げられているが、アグロインフィルトレーションは明らかに、手法のひとつであり、区別が必要。
- ゲノム編集に続いて、接ぎ木により形質改変された作物が新たな製品として出てくる可能性があるが、まだ、接ぎ木による形質改変作物の商業化は知られていない。接ぎ木については、台木由来の sRNA は穂木に移送されても、分解が早いことから、穂木を切り離した後は、安全性に関する接ぎ木のリスクは低い。
- 一方、台木から遺伝子産物が Non-GM の穂木に移行することは明確であるが、穂木の可食部に移行したかどうかを判断するのは、検出限界以下となり現実的に困難である。カルタヘナの観点からは、遺伝子が導入されていないので定義上は GM ではないが、Non-GM として扱ってよいということは、簡単ではなく、さらなる検討が必要である。
- EU では、SDN 1 と SDN2 の違いは、20bp の挿入か否かで区切られている。
- ゲノム編集だからという事ではなく、何をしたのか、何が起こったのかについて明らかにするのが重要。

本報告書は、内閣府食品安全委員会事務局の請負業務として、株式会社三菱ケミカルリサーチが実施した令和5年度「新たな育種技術を活用した新規食品の安全性評価手法等に関する調査」の成果を取りまとめたものです。したがって、本報告書の複製・転載・引用等には内閣府食品安全委員会事務局の事前の承認手続きが必要です。