

遺伝子組換え植物・食品を巡る最近の状況

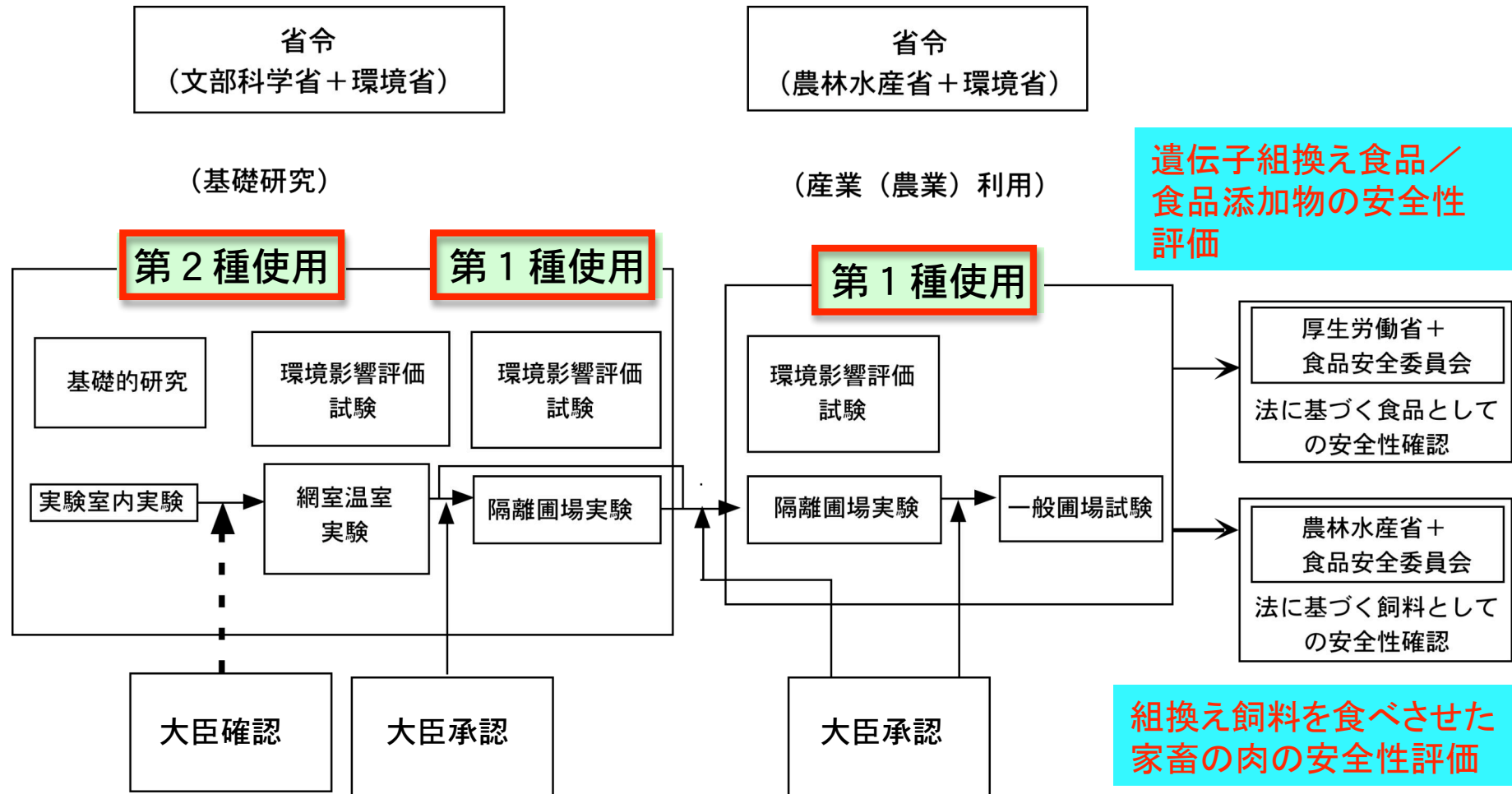
～新植物育種技術(New Plant Breeding Techniques)への対応～

- ・遺伝子組換え植物・食品(食品添加物を含む)の安全性確保:
従来のシステム(カルタヘナ法やその他の規則に基づく対応)
- ・NBTの議論の発端:EUにおける検討とEUレポートの公表
- ・2011年9月にスペインで開催されたNBTワークショップ
- ・米国における対応およびEUにおける対応
- ・今後の研究・開発動向

鎌田 博

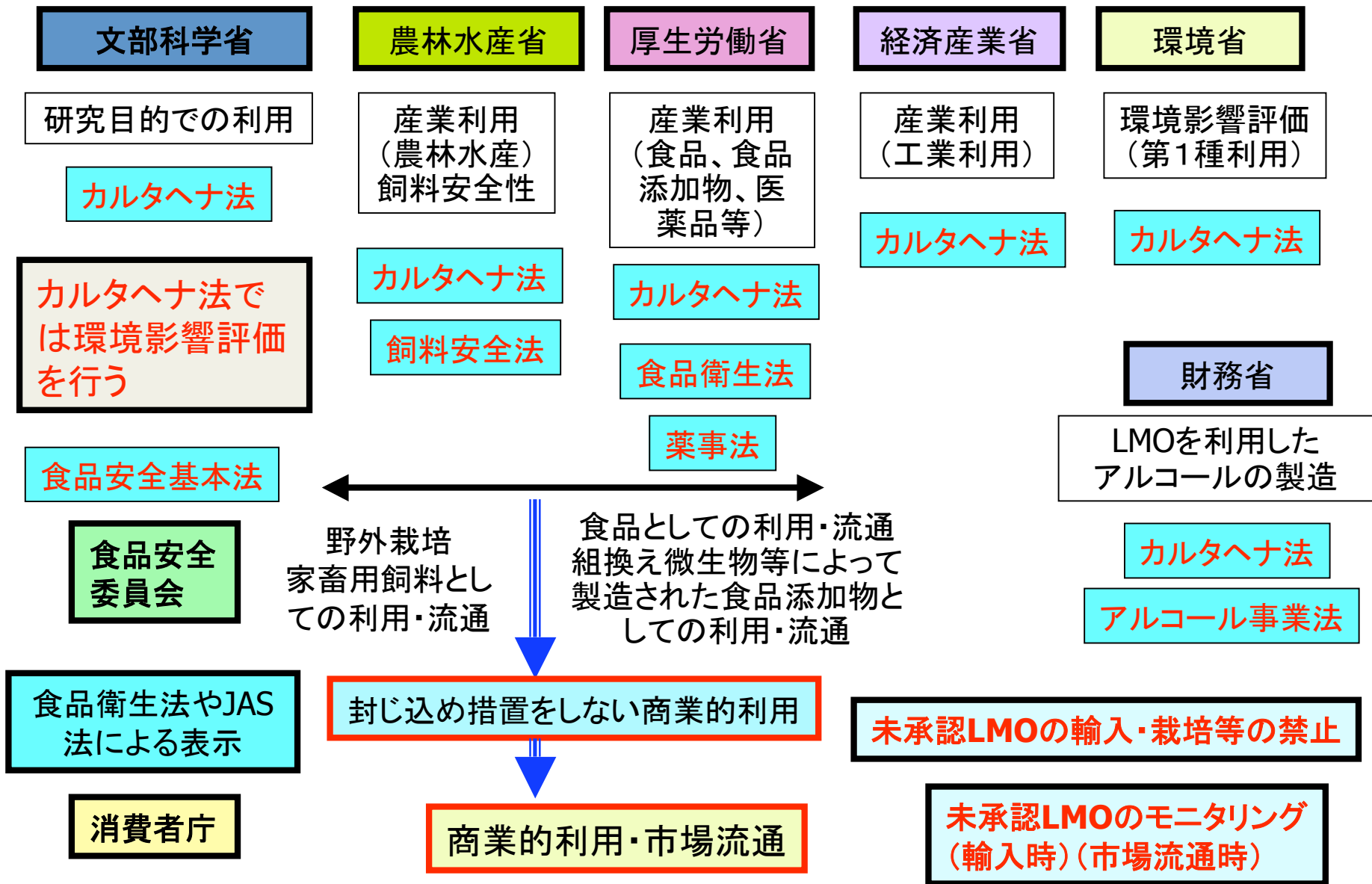
(筑波大学生命環境系・遺伝子実験センター)

遺伝子組換え実験や遺伝子組換え生物の開発・利用は
法的な規制のもと、安全を慎重に確認しながら進められている



我が国における遺伝子組換え植物の実験の流れ

日本における遺伝子組換え生物等(LMO)の安全性確保のための仕組み・規制



N B T の 経 緯

- ・EUでは、2007年から、NBTに関する議論を進め、2011年、JRC-IPTSとJRC-IHCPの共同で、報告書(**New plant breeding techniques : State-of-the-art and prospects for commercial development**)を公表。

- ・その過程では、世界中で発表されている論文や特許を調べるとともに、開発会社への聞き取り調査等を行ってきた。

- ・この問題は、一つの国や地域で解決できるものではなく、**世界で議論する必要**があるとの結論となった。

- ・特定の国の関係者に集まってもらい、**科学的議論のみをする**(規制そのものに関する議論はしない)こととなった。

- ・日本に対しては、JRCから、日本からの参加者の招聘依頼があり、鎌田と橘田が参加することとなった。

- ・状況を政府関係者に説明し、協議をした上で、鎌田と橘田がスペインのセビリャで開催されたワークショップ(2011年9月)に参加した。

JRC (the European Commission's Joint Research Center)

IPTS (Institute for Prospective Technological Studies)

IHCP (Institute for Health and Consumer Prospection)

EU報告書にあるNew Plant Breeding Techniques

(1) Zinc finger nuclease technology (ゲノム編集)

(広く、人工ヌクレアーゼとして対応) (塩基配列を変化させる)

1) ZFN-1 (修復用配列を導入せず、ZFN遺伝子のみを導入する場合)

2) ZFN-2 (修復用配列とZFN遺伝子を導入し、数塩基置換する場合)

3) ZFN-3 (数キロの塩基配列を含む修復用配列とZFN遺伝子を導入し、数キロの塩基配列が部位特異的に導入される場合)

(2) Oligonucleotide directed mutagenesis (ODM) (ZFN-2やZFN-3と類似)

(3) CisgenesisとIntragenesis

(同種・遺伝子交換可能種由来遺伝子のみを導入する)

1) Cisgenesis (プロモータやターミネータ等も変更しない)

2) Intragenesis (プロモータやターミネータ等を組み合わせて変更する)

(4) RNA-dependent DNA methylation (RdDM) (エピゲノム編集)

(塩基配列を変化させず、DNAのメチル化状態のみを変化させる)

(5) 組換え体を用いた接ぎ木 (grafting on GM rootstock)

(6) Reverse Breeding (外来遺伝子によって染色体間相同組換え等を抑制した上で、花粉培養等によって目的遺伝子をホモで持つ個体を選抜する場合等)

(育種を効率化させるが、育成した品種中に、外来遺伝子を残さない)

(7) Agro-infiltration

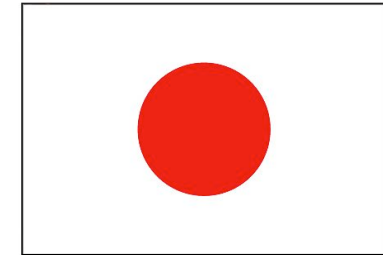
1) agro-infiltration "sensu stricto" (体細胞組織で局所的に非増殖性核酸を導入)

2) agro-inoculation (agro-infection) (体細胞組織にウィルス等を導入)

3) floral dip (*Agrobacterium*の接種) (次世代で組換え体を選抜)

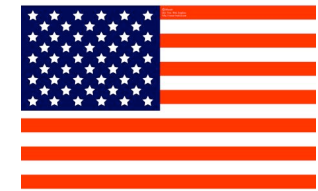
(8) Synthetic Genomics

スペインのセビリアで2011年9月に開催されたNBTワークショップ



会議開催前に、主催者から報告を求められていた事項

- ・各国の規制のフレームワーク
- ・言葉(GMOあるいはevent等)の定義
- ・現時点でのNBTに対する検討状況
- ・今後の連絡窓口



(オブザーバー参加)

GMとnon-GMの接ぎ木による苗生産
果樹生産や品種改良における取り扱い？

接ぎ木



外来遺伝子無し

収穫した実は
GM、non-GM？

外来遺伝子無し

なっている果実はGM、non-GM？

個体全体としてはキメラ植物としてGM扱い

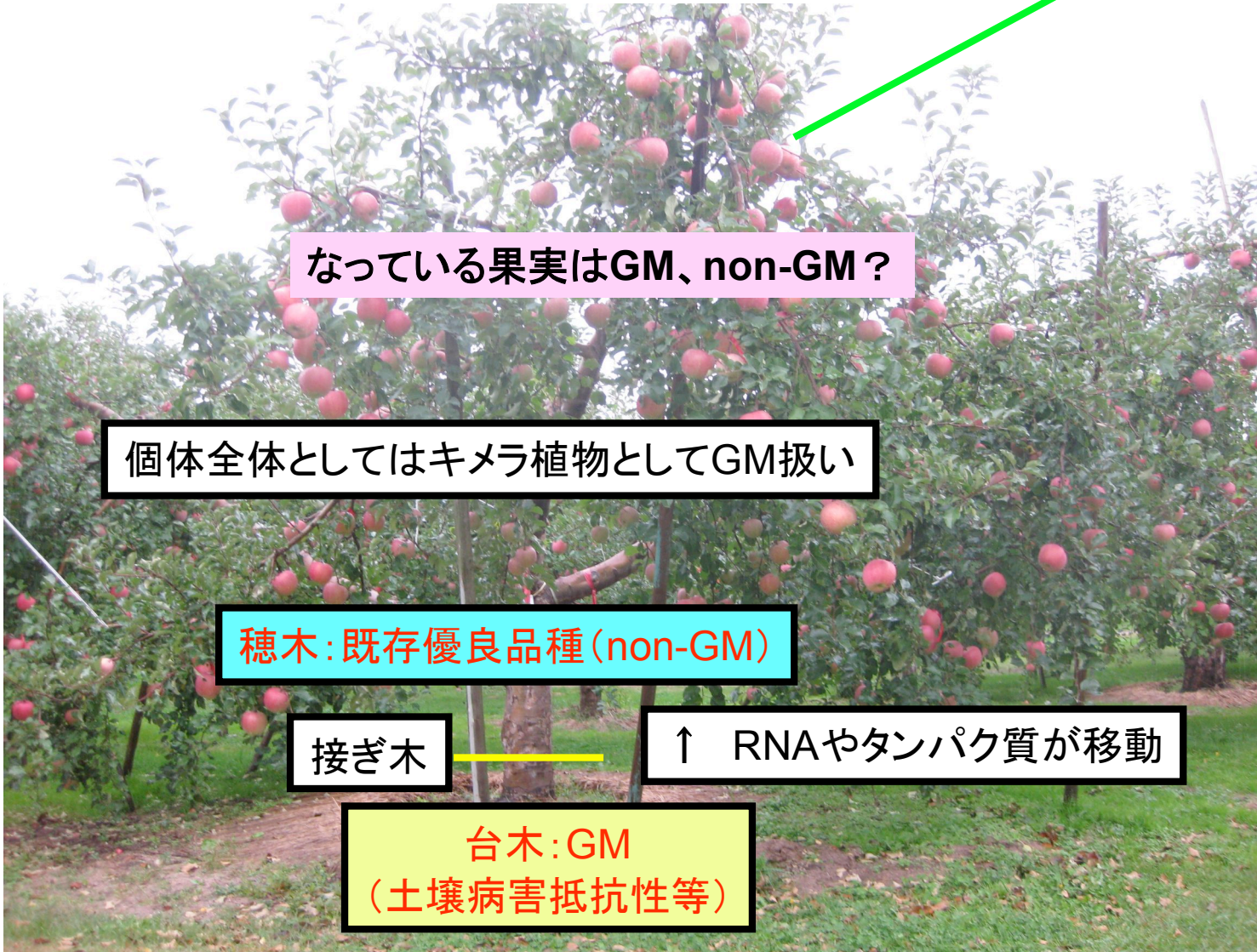
穂木：既存優良品種 (non-GM)

接ぎ木

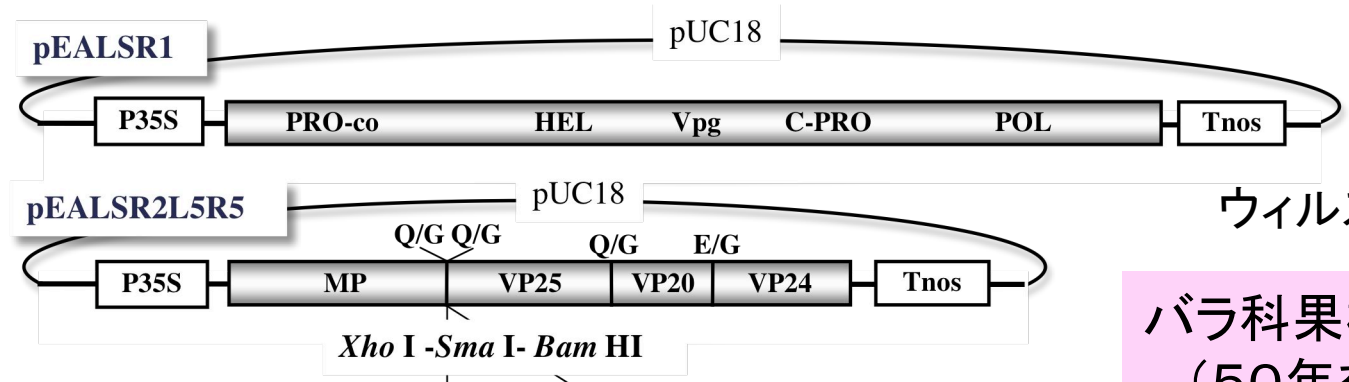
↑ RNAやタンパク質が移動

台木：GM
(土壤病害抵抗性等)

種子を蒔いて
育てた後代苗は
GM、non-GM？



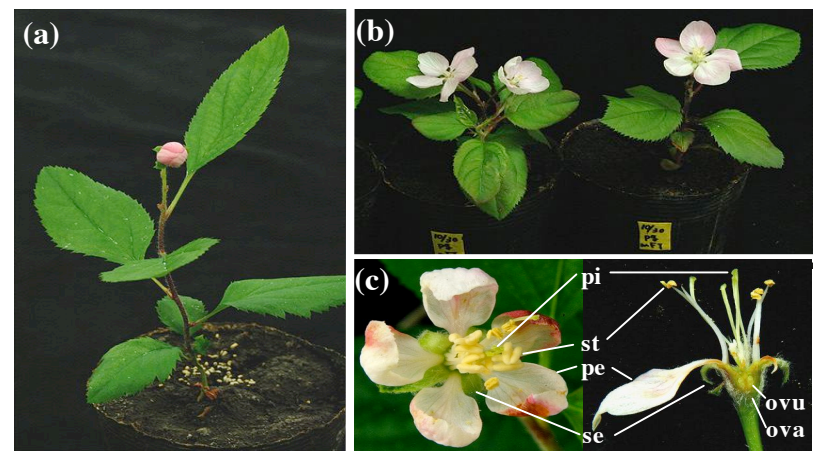
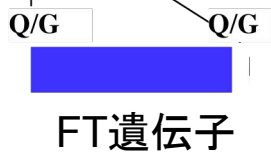
agro-inoculation



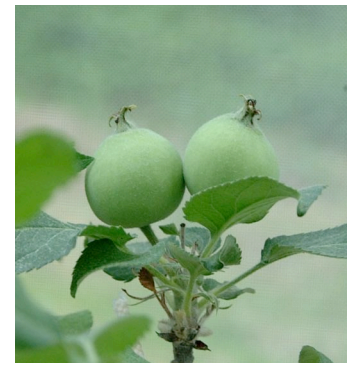
ウイルスを用いた遺伝子導入

バラ科果樹育種の超短期化
(50年を5~10年に!)

Construction of ALSV vector



FT遺伝子を人為的に強制発現させることで咲いた花の花粉を使って交配させ、交配3ヶ月後には普通の実がなり、次世代の種子もとれた。次世代では組換えウイルスは検出されない。もちろん、リンゴゲノム中に外来遺伝子は検出されない。

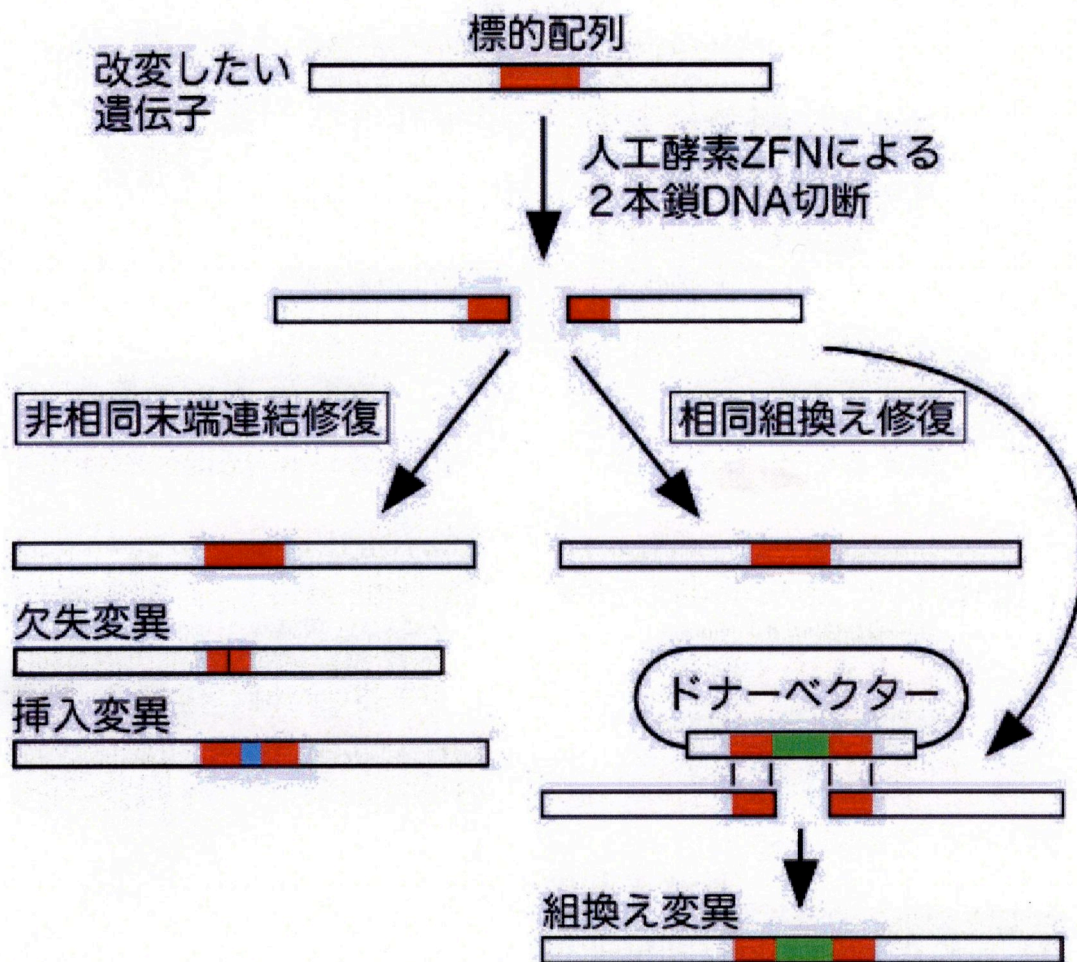
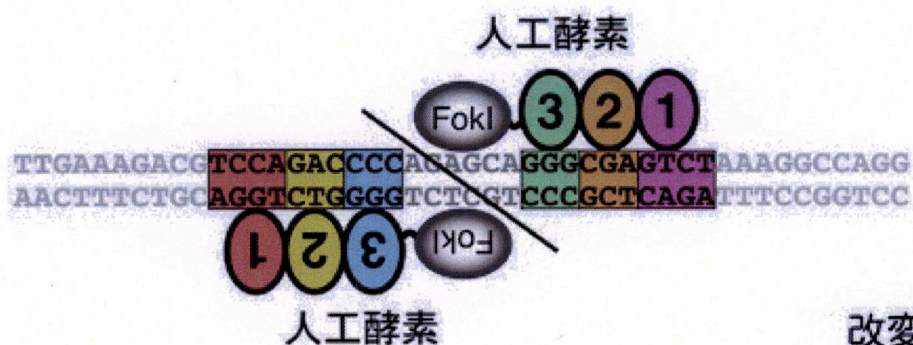


外来遺伝子無し ↓

リンゴでは、通常、種子発芽後、5~10年ようやく花が咲き、実を付ける。このため、リンゴの品種改良には50年程度かかる。FT遺伝子を人為的に強制発現させると、発芽2ヶ月程度で花が咲くため、品種改良のスピードが飛躍的に早くなると期待されている。

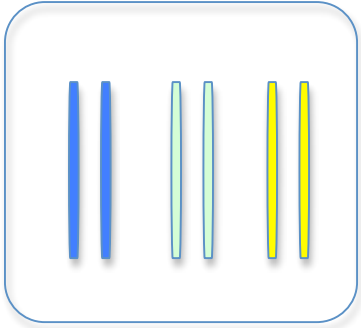
交配後代植物はGM、non-GM?

人工ヌクレアーゼ を用いたゲノム編集



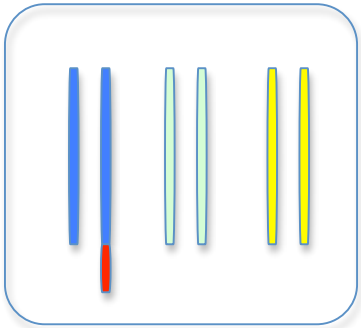
外来DNA導入による意図的ゲノム編集における宿主ゲノムDNAの変化(1)

宿主



外来DNA
(人工ヌクレアーゼ等)

GM

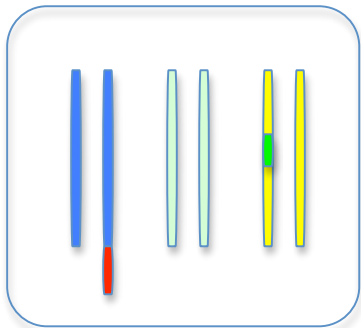


組換え体
(ヘミ接合体)

意図的なゲノム編集の結果としての変化

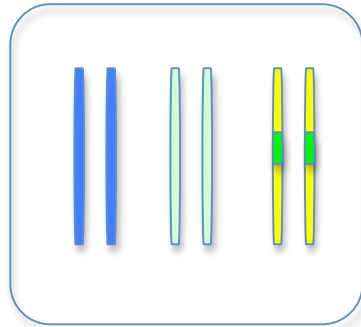
- ・塩基の欠失のみが起こる場合
(自然突然変異でも起こりうる)
- ・アミノ酸置換が起こる場合
(置換数にもよるが、自然突然変異でも起こりうる)
- ・意図的に新たなコード配列を特定部位に導入する場合
(外来タンパク質が発現するため、GMOに該当する)

GM



ゲノム編集

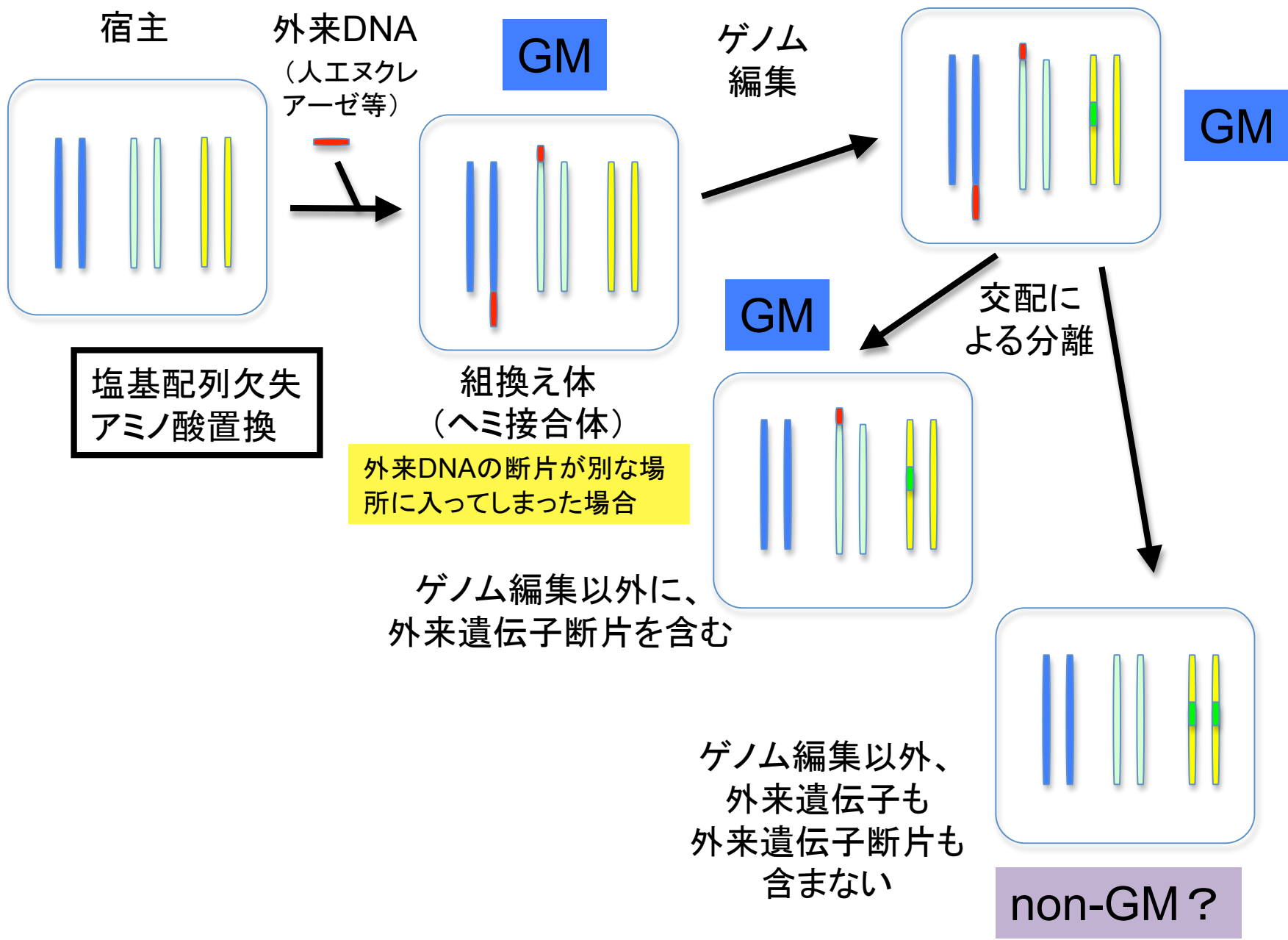
ゲノム編集以外には、
外来遺伝子は含まない



交配による分離

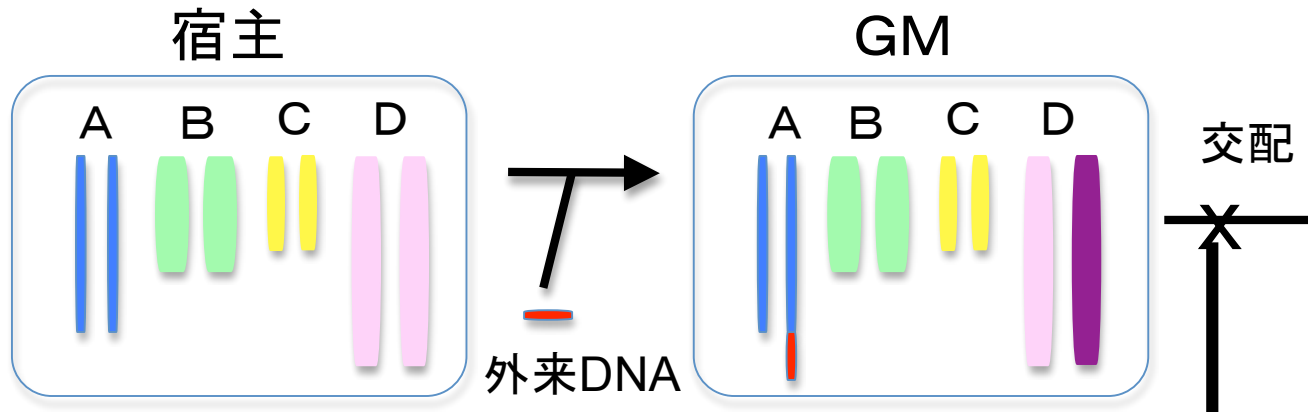
non-GM?

外来DNA導入による意図的ゲノム編集における宿主ゲノムDNAの変化(2)



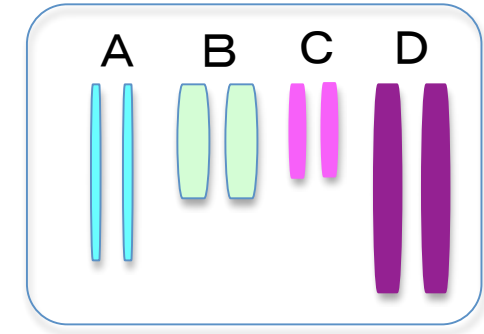
Reverse Breedingによる品種改良

non-GM



育種年限短縮や優良個体の効率的選抜等を可能にする遺伝子(目的によって選択)

必要に応じて何回か交配

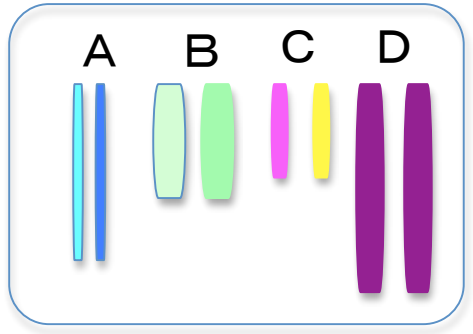


早期開花性遺伝子
(育種年限の短期化)

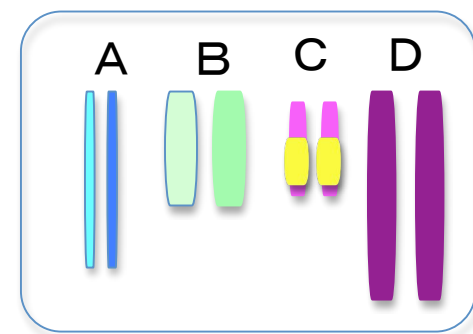
外来遺伝子を持たない個体を選抜

相同組換え抑制遺伝子
(ホモ個体の効率的育成)

雄性不稔性遺伝子
(F1雑種種子の効率的生産)



目的の染色体構成を持つ個体を選抜



この時の報告書が2012年2月に公表された

JRC Scientific and Technical Reports

「Comparative regulatory approaches for
new plant breeding techniques

(Proceedings of September 2011 workshop)」

(詳細と各国の発表資料はJRC (Joint Research Center) のHP)

関連する論文や意見等が国際学術誌に次々と公表されている

Nature Biotechnology, Vol. 30, No. 3, March 2012

Agnostic about agriculture

Existing agbiotech traits continue global march

Confronting the Gordian knot

Agbiotech 2.0

Tiptoeing around transgenics

Deployment of new biotechnologies in plant breeding

米国の状況

・今回対象となっている技術で作られた数例の植物系統について、基本的に規制の対象ではないとの判断が既になされている。
(この点については、2012年5月、米国の行政担当者が来日した時に直接確認した)

例：ダウ社が開発した技術(EXZACT™:人工ヌクレアーゼの1種)で作られた品種等

その他の事例は以下を参照

http://www.aphis.usda.gov/biotechnology/reg_loi.shtml

EUのEFSA(European Food Safety Authority)の見解

Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed through **cisgenesis** and **intragenesis**. EFSA J., 2012; 10(2):2561

- ・基本的な考え方として、intragenesisで育成したものと同様、cisgenesisで育成したのもEU規制の従来の規制ガイドラインで対応可能、さらなる規制は不要
- ・ケースバイケースではあるが、イベント特異的情報は少なくとも良いだろう。
- ・cisgenesisと通常の育種のものと同じハザードである。一方、intragenesisは通常の組換えと同じように新たなハザードがありうる。
- ・ただし、いずれの技術であっても予期せぬ影響がありえ、その頻度や程度は変動するものである。一般的に、育種過程で、望ましくない形質は除かれる。暴露の頻度。
(一般的な**リスク評価の考え方を適用** $\text{リスクの程度} = \text{ハザードの程度} \times \text{暴露量}$)

Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed using **Zinc Finger Nuclease 3** and other **Site-Directed Nucleases** with similar function
EFSA J., 2012; 10(10):2943

- ・基本的な考え方として、EU規制の従来の規制ガイドラインで対応可能、さらなる規制は不要としている。

最も主要な論点

- ・”Detection”と”Identification”を区別して議論する。
 - ・検知できないものは？
 - ・検知はできるがNBTによるものであることを同定できないもの(突然変異と区別ができないもの)は？

今後の研究・開発動向

- ・応用・実用化研究ばかりでなく、基礎研究での技術開発・利用が急速に進んでいる。
- ・さらに新しい技術開発とその利用が活発化している。
- ・現在、中国でも関連技術を使った新品種育成が急ピッチで進められている模様。
- ・植物ばかりでなく、動物でも人工ヌクレアーゼを使った実験系統の育成や利用が急速に進んでいる。



Cosmic Blue™

TALEN技術を使って育成された
観賞用ゼブラフィッシュ(縞が入って
いる)
米国EPAによって、遺伝子組換え生
物としての規制を受けないものとして
認定され、市販されている

上のゼブラフィッシュ系統と遺伝子組換
え系統(GloFish)(観賞魚として既に市
販されている)の交配によって得られた
観賞用ゼブラフィッシュ
本系統も米国で市販されている

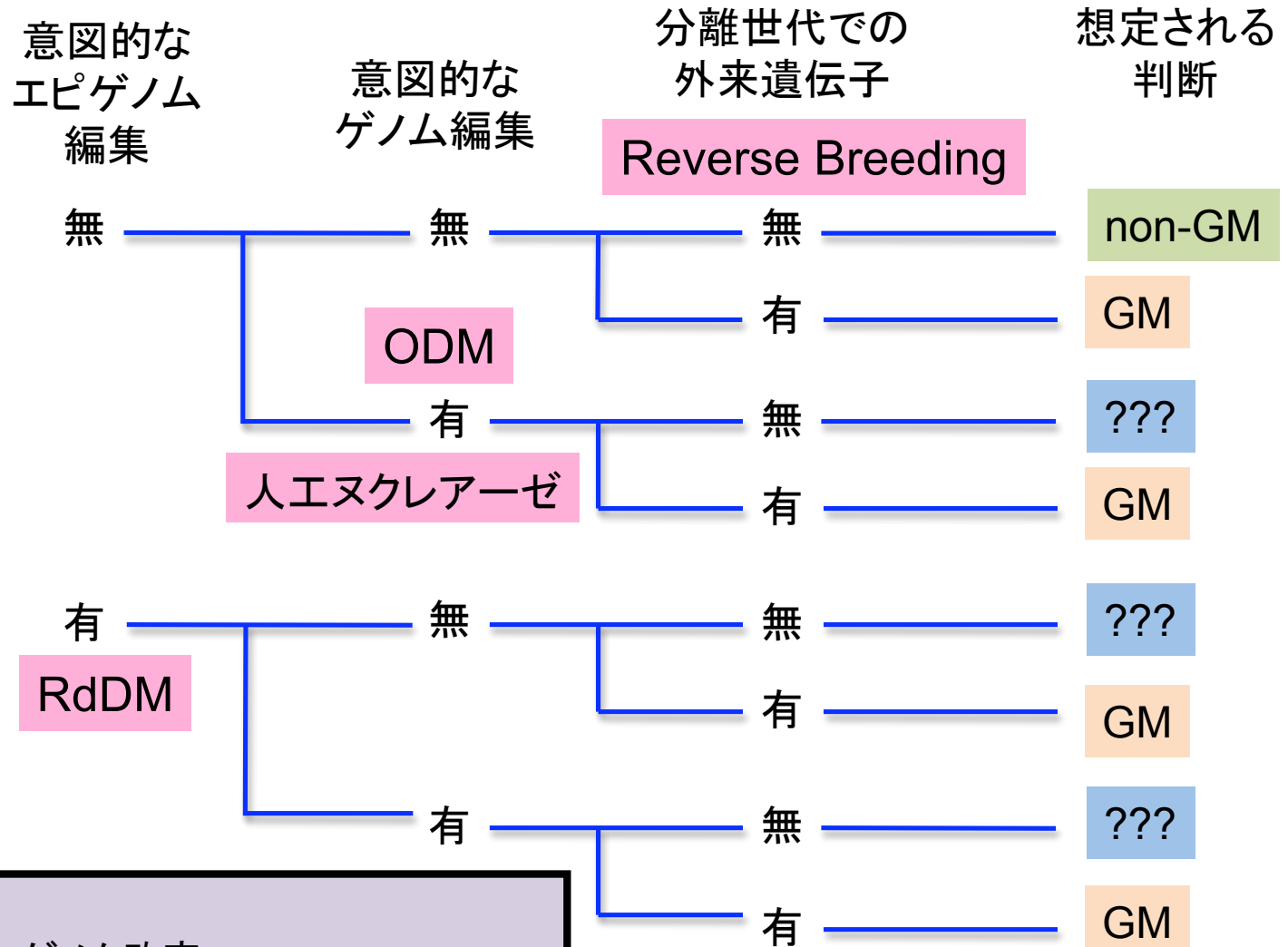


Galactic Purple™

外来遺伝子導入生物の後代における多様な変化とその分離

ゲノム編集とは別

- Cisgenesis
Intragenesis
- Grafting
- Agro-infiltration



関連する既存技術

- ・相同組換えを利用したゲノム改変
- ・RNAiによる内在遺伝子の発現抑制
- ・自然突然変異のウイルス接種(弱毒ウイルス)
- ・自然感染ウイルスの遺伝子断片の導入(ウイルス耐性)