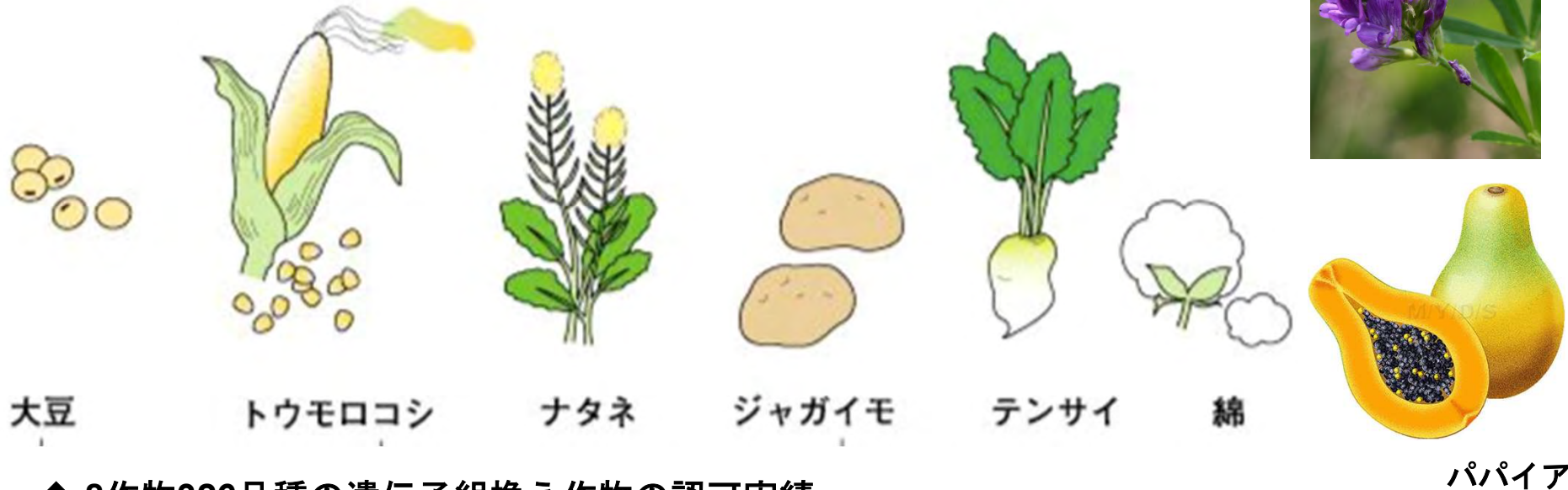


遺伝子組換え食品等の安全性審査の現状

日本で流通販売が認可されている8品種

アルファルファ



◆ 8作物326品種の遺伝子組換え作物の認可実績

○ 日本は1500万トンのトウモロコシと300万トンの大豆を主に米国から輸入している。 (約95%がGM 不分別)

<日本の米の生産高は約850万トン>

○ 輸入GM作物の大部分は家畜の飼料や加工食品に利用されている (2021年10月)

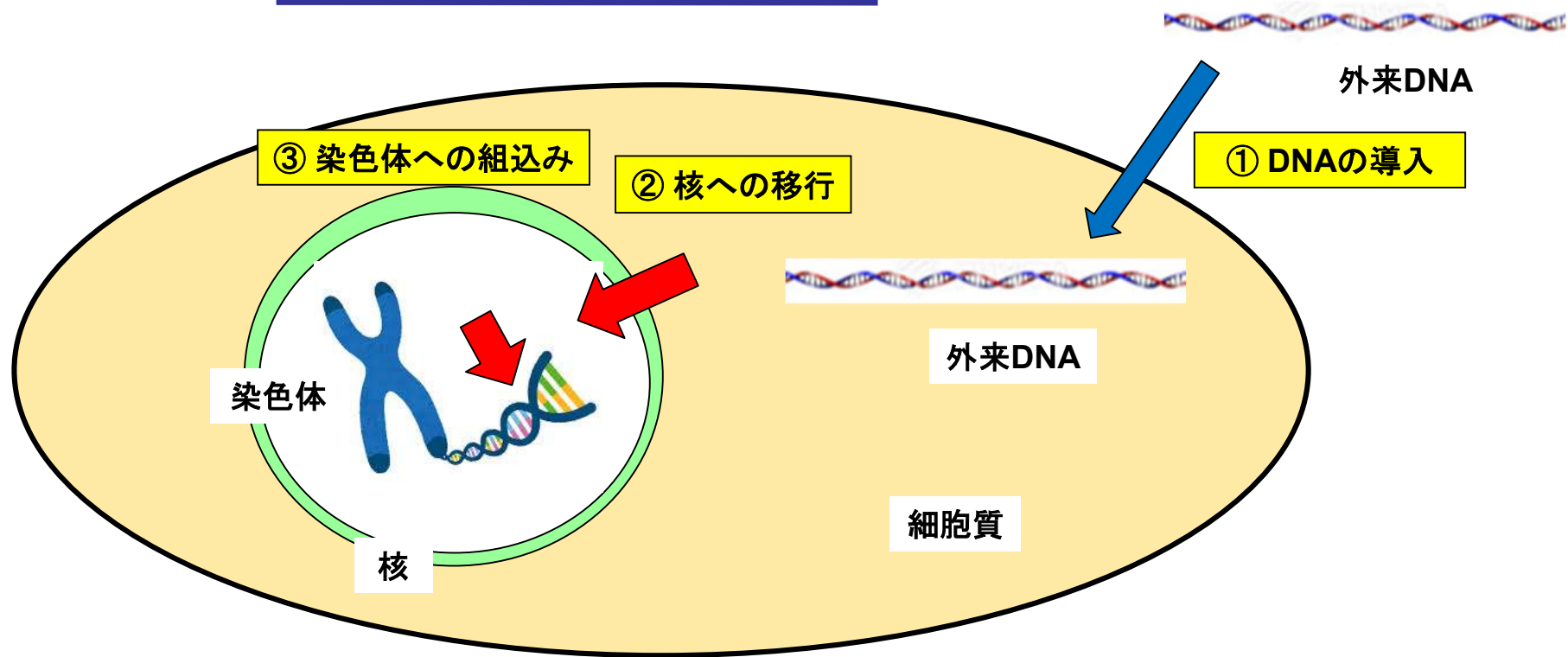
2021年11月5日 **On Line**

明治大学農学部

中島春紫

日本は世界一のGM食品輸入国

真核生物の性（その1）



◆ 動物や植物のように細胞内にはっきりした核を持つ生物を真核生物という

○ 真核生物のDNAは核内で染色体を構成する

・ それ以外の存在状況は異常であり、速やかに正常な状態に戻そうとする

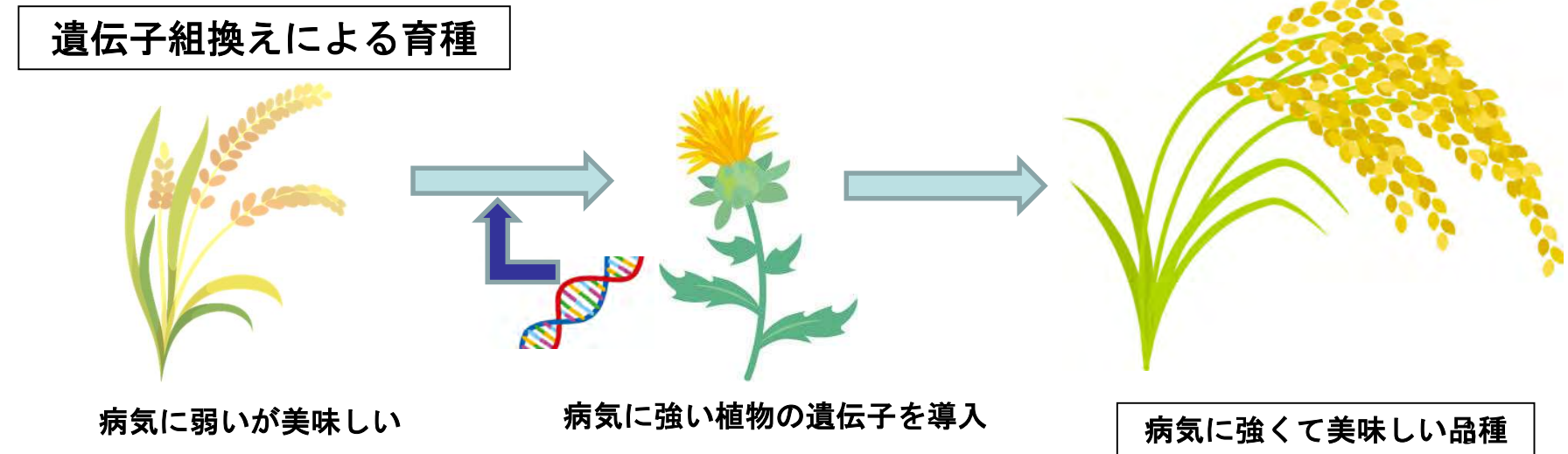
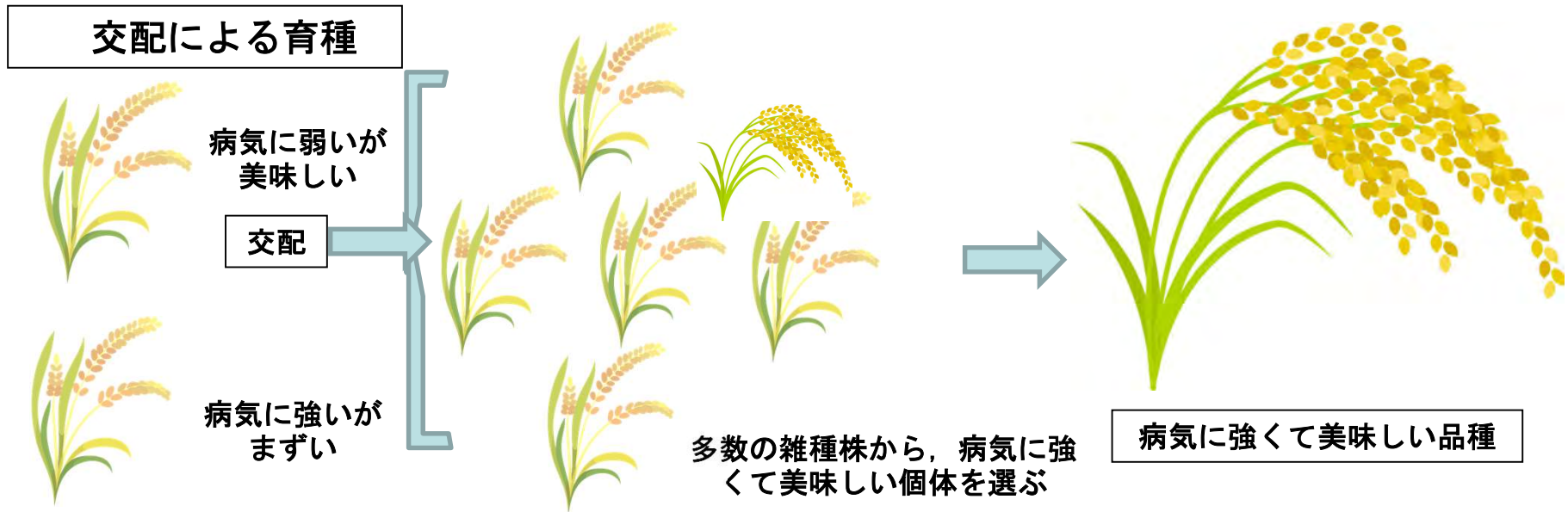
① DNAを細胞に導入する

<通常の遺伝子組換え操作>

② 細胞質に存在するDNA断片は、自動的に核に運び込まれる

③ 核内に存在するDNA断片は、自動的に染色体のどこかに組込まれる

従来の育種と遺伝子組換えによる育種



○ 病気の標的となる遺伝子が判明するとこのような育種が可能となる。美味しいは難しい・・・

「遺伝子組換え生物(GMO)」の定義

＜カルタヘナ法: 遺伝子組換え生物の取扱い法 2004年施行＞

【法律・政令】

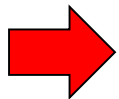
この法律において「遺伝子組換え生物等」とは、次に掲げる技術の利用により得られた核酸又はその複製物を有する生物をいう。

- 一 細胞外において核酸を加工する技術であって主務省令で定めるもの
- 二 異なる分類上の科に属する生物の細胞を融合する技術であって主務省令で定めるもの

【省令・告示】

主務省令で定める技術は、細胞、ウイルス又はウイロイドに核酸を移入して当該核酸を移転させ、又は複製させることを目的として細胞外において核酸を加工する技術であって、次に掲げるもの以外のものとする

- 一 細胞に移入する核酸として、次に掲げるもののみを用いて加工する技術
- イ 当該細胞が由来する生物と同一の分類学上の種に属する生物の核酸
- ロ 自然条件において当該細胞が由来する生物の属する分類学上の種との間で核酸を交換する種に属する生物の核酸
 - ◆ 同一種のDNAは除外（セルフクローニング）
 - ◆ 自然に起こる核酸の交換は除外（ナチュラルオカレンス）
 - ◆ 交配等従来から用いられているものは除外



外来遺伝子を含む生物が遺伝子組換え生物
＜天然には存在し得ないもの＞

“トウモロコシ生産農家”



- ◆ アメリカ中西部のコーンベルト地帯
- ◆ 大型機械の利用による生産性の向上と大型サイロへの貯蔵 <エレベーター>
- ◆ 米国は日本の食品安全委員会による安全性審査が終了するまで日本向けの商業栽培は行わない

○ 2020年のUSAの農産物輸出は約1,500億\$

○ 日本向けは117億\$ (約8%)

“エレベーター”



- 中北部の生産地からミシシッピ川にそって集められた穀物がニューオーリンズで荷積みされる
- ◆ さまざまな段階でIPハンドリング(分別流通)と品質チェックが行われている



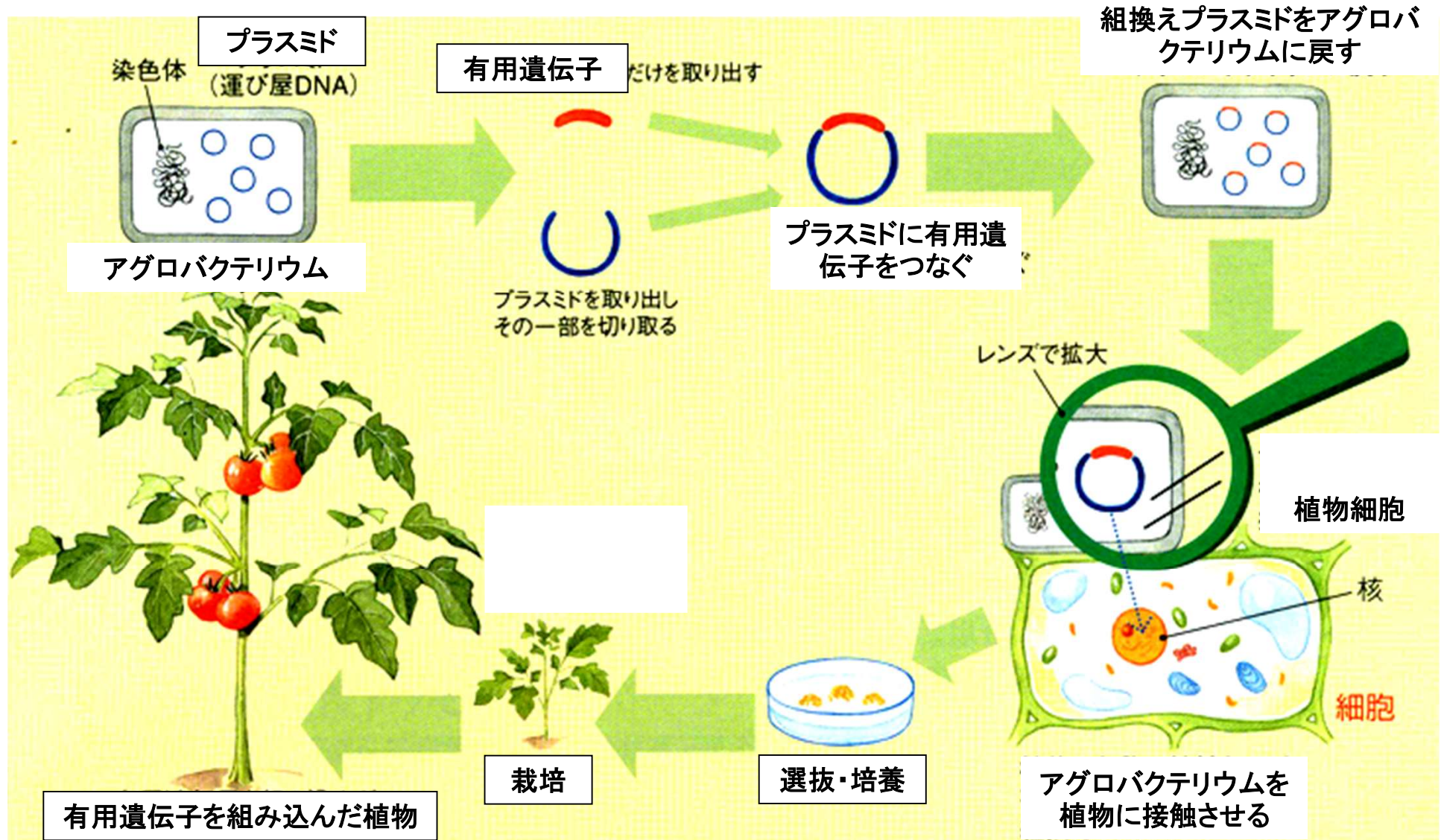
“日本へ”



- ◆ ミシシッピ川に沿って集荷し、ルイジアナ州ニューオーリンズで船積み
- ◆ パナマ運河を通行できる最大のタンカー(パナマックス:5万トン)への積み込み
- ◆ 1週間に4隻の割合で絶え間なく日本へ
- 日本の飼料・畜産を支える「見えざるインフラ」

食品安全委員会資料視察報告(2011)

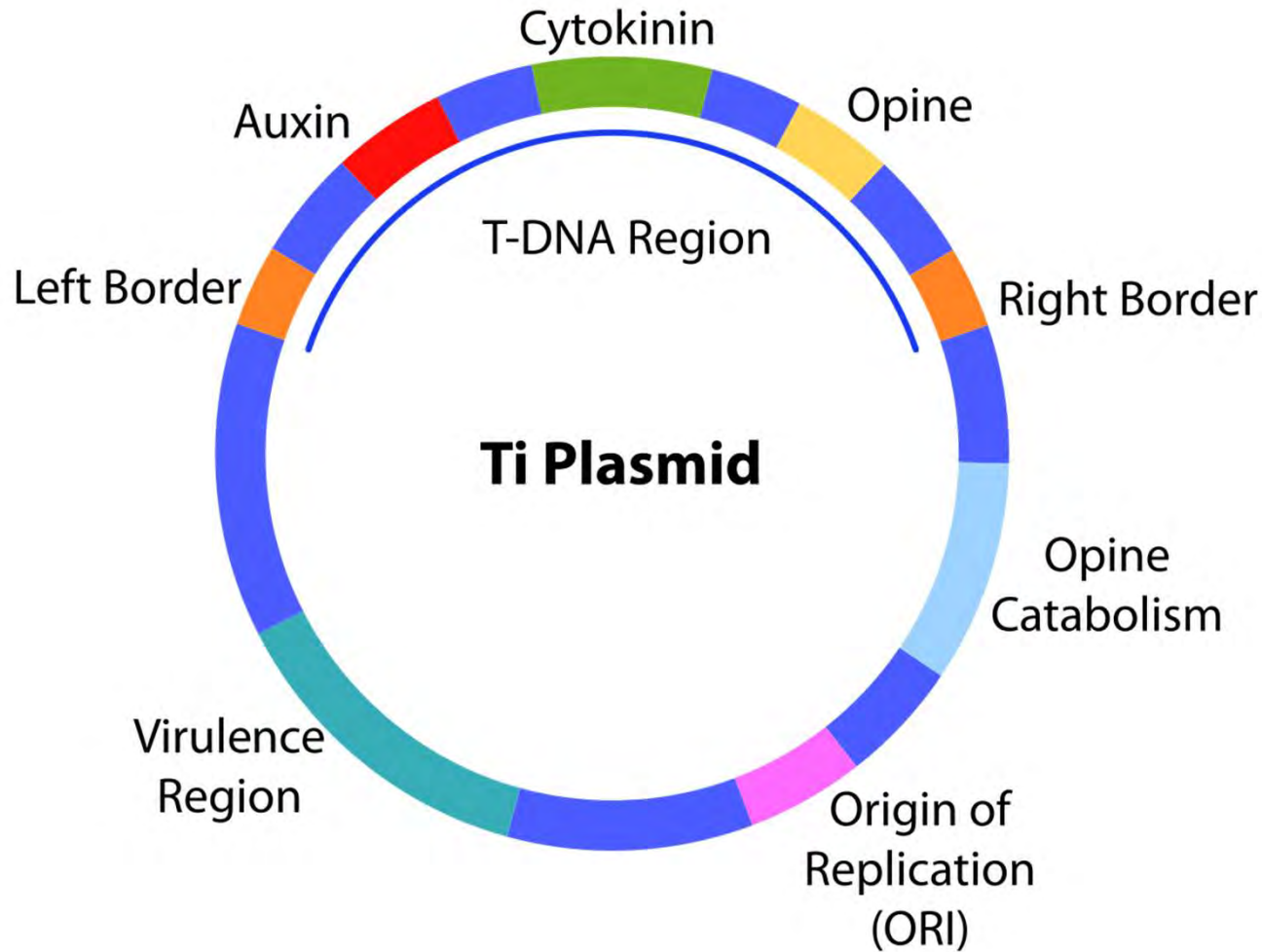
アグロバクテリア法による組換え技術



◆ *Agrobacterium*属土壌細菌は、プラスミドDNAの一部を植物の細胞に注入する能力をもつ。

○ 大腸菌を併用して標的遺伝子を組込んだプラスミドDNAを作製し、植物体に導入する

アグロバクテリア法の導入プラスミド



◆ 標的遺伝子はT-DNA Region に組込む

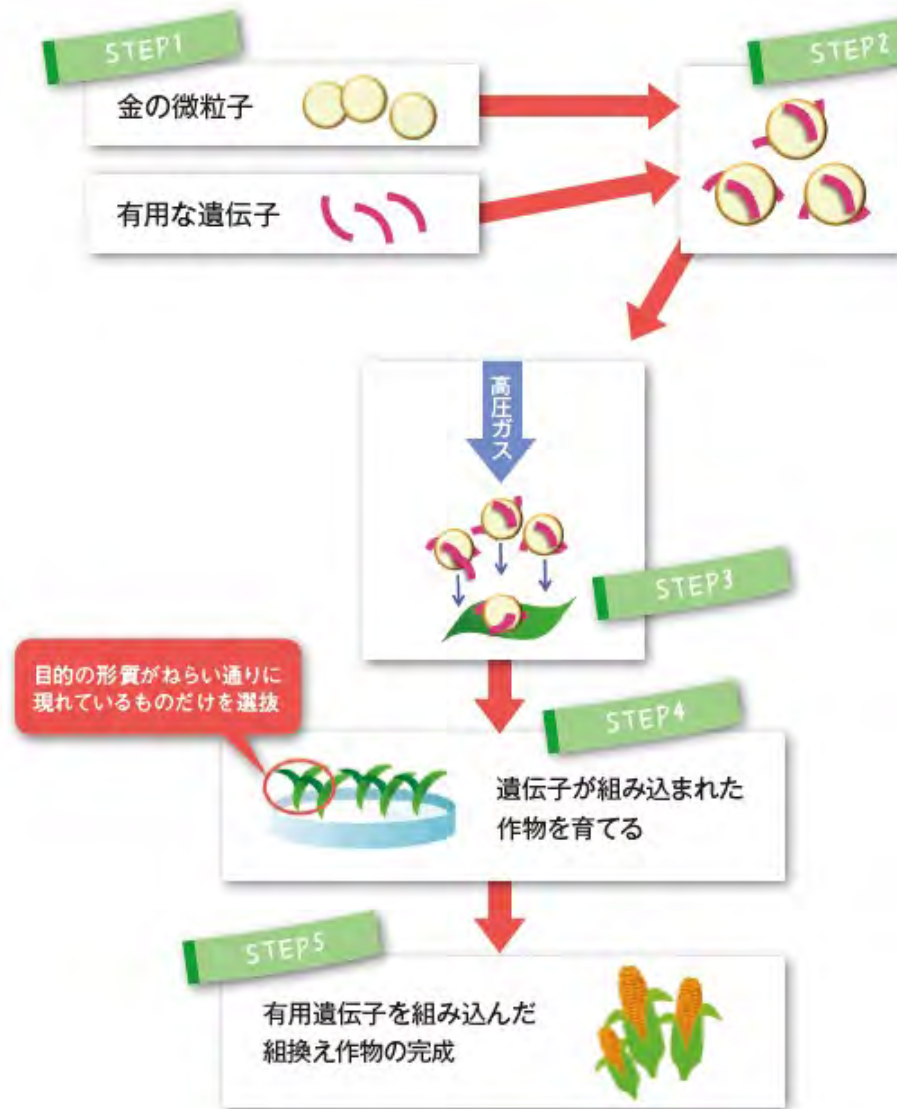
- ・マーカージン
- ・除草剤耐性
- ・害虫抵抗性

○ *Agrobacterium* に感受性の高い作物に適用される

◆ *Agrobacterium* のTiプラスミドのRight BorderからLeft Borderまで(T-DNA Region)が導入される

○ 多くの場合、組換え体はT-DNAの全領域が作物のゲノム中に1コピーだけ導入される

パーティクルガン法

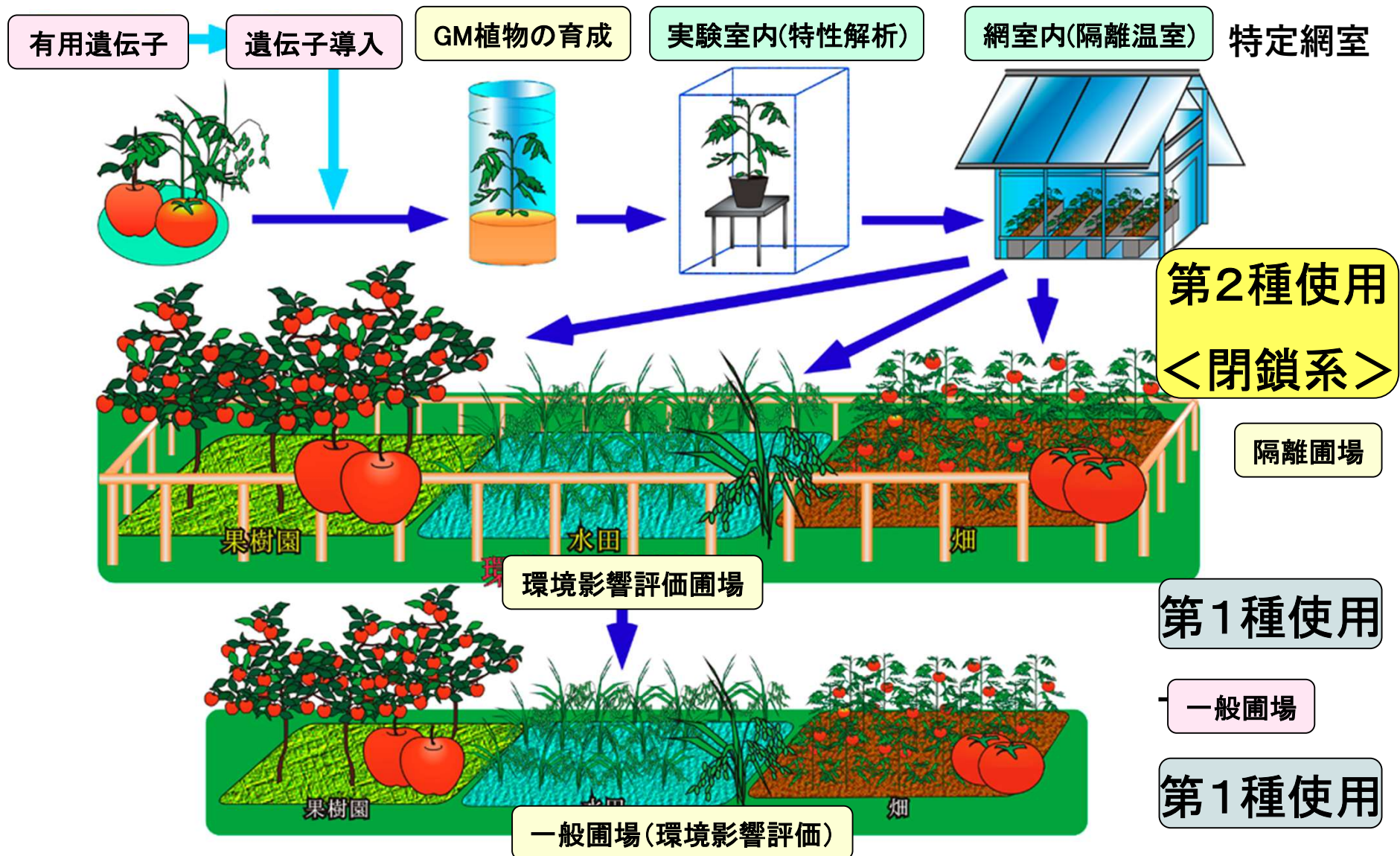


○ 1 μ m程度の金粒子に標的DNAを巻き付けて、高圧ガスにより植物細胞にDNAを叩き込む。

◆ 標的作物のゲノム中に不完全なDNA断片が複数導入されることが多く、後の安全性審査に時間がかかることがある。

<リングスポットウイルス抵抗性の遺伝子組換えパパイヤ>

遺伝子組換え植物の育成・栽培の手順



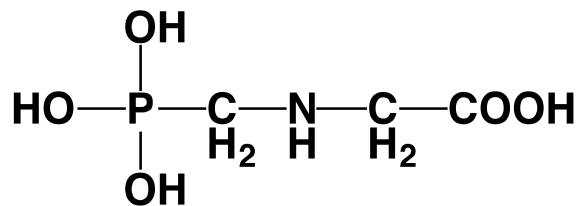
◆ 遺伝子組換え植物は、環境影響評価が完了するまでは外部環境に拡散することのないように、一定の仕様の施設で栽培しなければならない。 <第1種使用 = 商業栽培>

ラウンドアップ耐性ダイズ



【左図】 無除草 【中図】 通常の除草 【右図】 ラウンドアップ使用

- ◆ 大豆の栽培は雑草との戦い。除草しないと何を植えているのか分からない。
- ◆ 除草剤ラウンドアップは芳香族アミノ酸合成系の酵素EPSPSを阻害する。ラウンドアップに耐性の土壌微生物由来のEPSPS遺伝子をダイズに組込むと1発で除草完了。
- 土を掘り起こす除草作業が不要となるため、不起耕栽培が可能 <土壌浸食に対応>
- グルホシネート、ジカンバ、HPPD阻害型除草剤、アリルオキシアルカノエート系除草剤、PPO阻害型除草剤、イミダゾリン系除草剤などに耐性を示すものが開発されている。
- 主に、ダイズ、ナタネ、ワタなど
- 複数の除草剤に耐性を示すスタック株が主流となっている



【グリホサート glyphosate : 商品名ラウンドアップ】 ◆

残留性が低く、非常に使いやすい農薬

○ 非常に毒性が少ない。 <一般に除草剤は安全性が高い>

Bt トウモロコシ



孢子

Bt毒素



◆ トウモロコシの最悪の害虫はアワノメイガ。茎の内部に侵入するので通常の殺虫剤は届かない。

◆ **除草剤と違って、殺虫剤は人畜有害! 危険!!**

【Bt毒素】細菌 *Bacillus thuringiensis* が生産する内毒素タンパク質。特定の昆虫の消化管に毒性を示す。

○ チョウ目害虫抵抗性 Cry1, Cry2

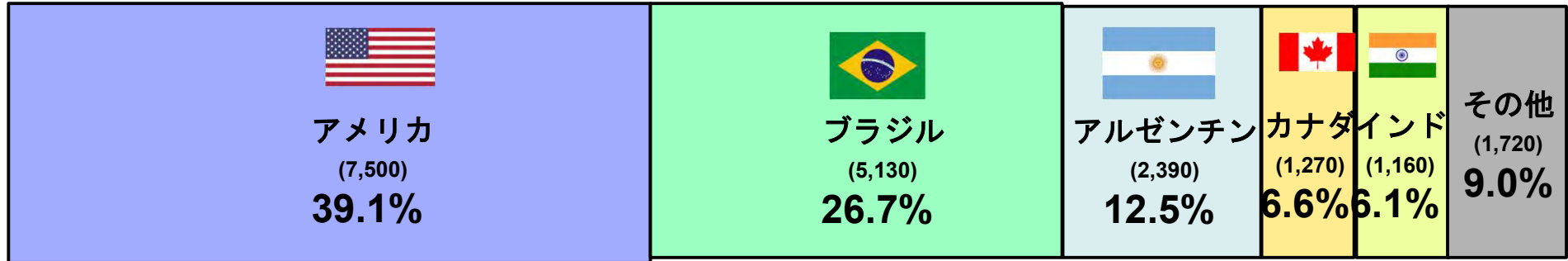
○ 甲虫目害虫抵抗性 Cry3

◆ 害虫抵抗性遺伝子は限られているので耐性昆虫発生の可能性を最小限にするため、非組換え作物を同時に栽培するように指導されている...

○ 除草剤に比べて種類が少ないが新しいタイプの殺虫活性を持つタンパク質が工夫されている

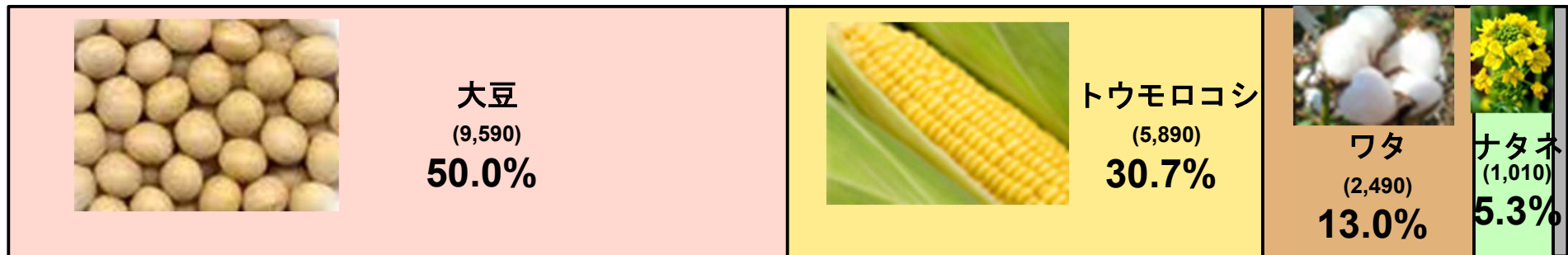
世界の遺伝子組換え作物栽培状況(2018)

「国別」 遺伝子組換え農作物の栽培面積率 (ISAAA 2018) 19,170万ha



(単位：万ha)

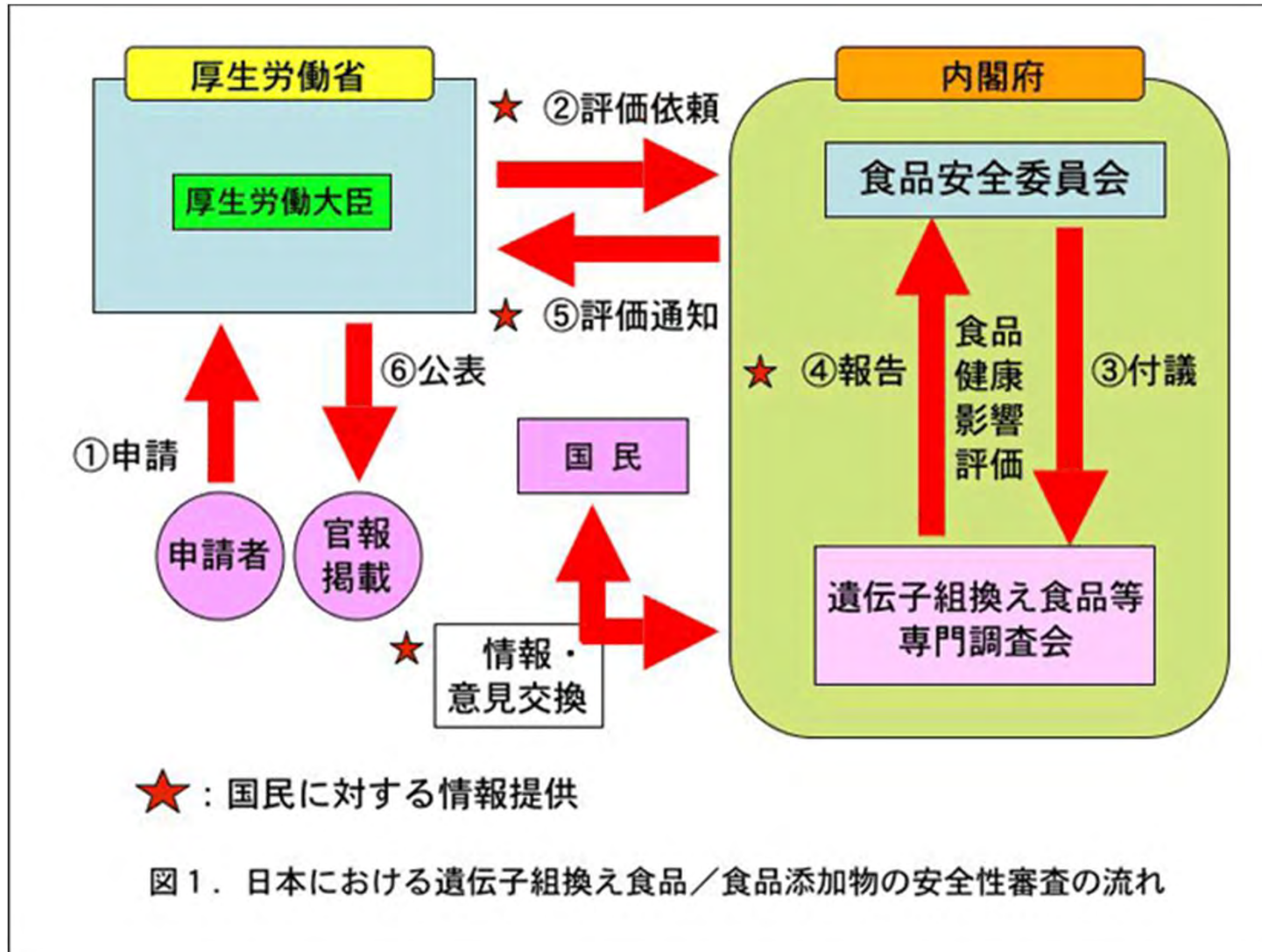
「作物別」 遺伝子組換え農作物の栽培面積率 (ISAAA 2017) 19,170万ha



(単位：万ha)

- 除草剤耐性ダイズ・綿・ナタネ ○ 害虫抵抗性トウモロコシ
- ◆ 遺伝子組換え農作物の栽培面積率は上位5ヶ国で91%を占める。2017年年比+1.1%
- 世界の大豆の78%,トウモロコシの30%|ワタの76%,ナタネ(カノーラ)の29%が遺伝子組換え
- ◆ 日本の耕地面積は440万ha。全世界では日本の国土の総面積3,780万haの約5.1倍、世界の耕作面積13.9億haの13.8%で遺伝子組換え農作物が栽培されている。
- 遺伝子組換えは特定の作物に限られている。米・麦・野菜では普及していない

安全性審査の流れ



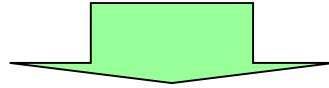
◆ 食品安全委員会は、食品安全基本法に基づいて内閣府に設置された「リスク評価機関」

○ 「リスク管理機関」である厚生労働省・農林水産省より個別案件について「諮問」を受け、科学的知見に基づき客観的かつ中立公正にリスク評価を行う・・・「忖度」しない

遺伝子組換え食品の安全性評価(1)

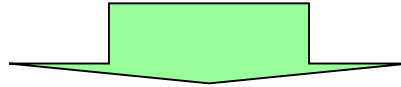
【1】 比較対象となる作物（食品）の安全な食経験があるか

◆ 絶対安全な食品というものは存在しない。従来の子組換えの作物などを比較対象とし、リスクが増えていないことを確認する。＜安全性審査の基本方針＞



【2】 導入される遺伝子およびその産物（タンパク質）に有害性はないか

◆ 導入される遺伝子により生産されるタンパク質について、ラットの90日間飼育試験などを行って安全性を評価し、通常の摂取量では有害事象が発生する恐れがないことを確認する。



【3】 遺伝子の挿入により、非意図的な栄養成分含量の変化や有害成分含量変化が生じていないか

◆ 比較対象作物に含まれる栄養阻害物質および各種の栄養成分含量を測定し、大きな変化が起こっていないことを確認する。

GM食品の安全性評価に要求される情報

- (1) 外来遺伝子と生産物の基本的情報
- (2) 外来遺伝子産物の安全性に関する情報

< 推定摂取量、毒性、アレルギー性 >

- (3) 生産物の消化液分解性および熱安定性
- (4) 外来電子の宿主への導入状況

< 構造、コピー数、宿主への導入状況と新生ORF産物の検討 >

- (5) 外来遺伝子の発現量と安定性
- (5) 遺伝子産物が宿主の代謝系に与える影響
- (6) 成分分析

< 生育阻害物質、アミノ酸、脂質、ミネラル etc. >

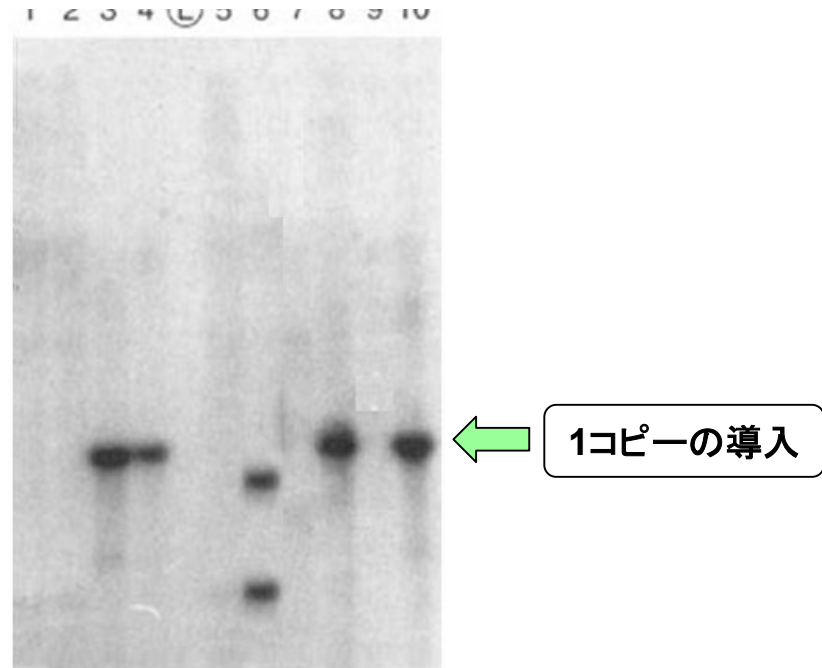
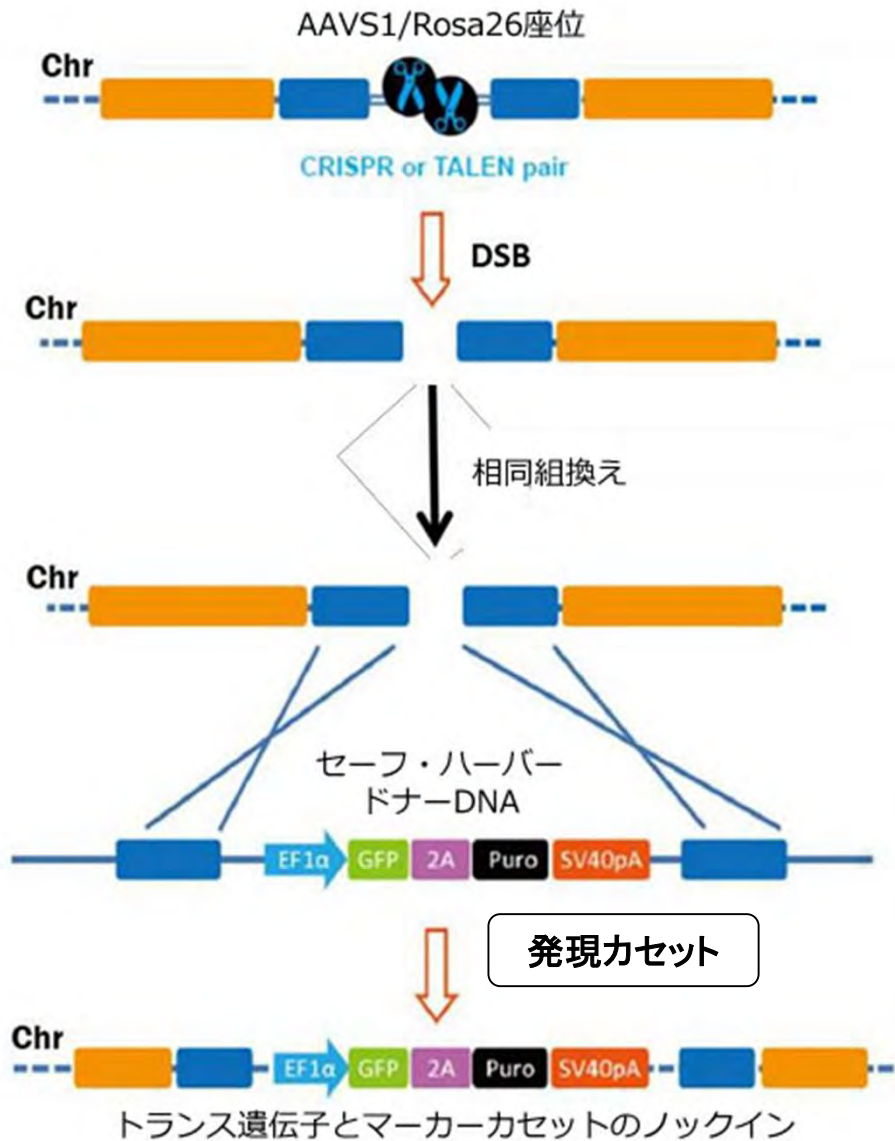


膨大なデータが必要!?

- ◆ 大メーカーでないと対応が難しい
- ◆ 大面積の栽培が見込まれる作物に限られる

- 相互作用のない形質同士の掛け合わせStackについては簡略化

組換え体の遺伝情報



◆ GM作物について外来遺伝子の組み込み様式に関するSouthernブロットなどの情報。

＜検出手段を確保するため＞

○ 近年は次世代シーケンサーを用いた解析も用いられる（目安Depth 75<）

○ 組み込み部位の継ぎ目について、ORF検索と毒性およびアレルゲン検索

○ 作物の場合、組換え当代から7代植え継いで安定性を確保する

発見カセット: プロモーター + 構造遺伝子 + ターミネーター + (マーカー)

遺伝子組換え食品の安全性評価(2)

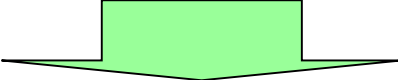
【4】 アレルギーを誘発する可能性はないか

- 【1】 挿入遺伝子の供与体が、アレルギーを引き起こすことが知られているか
- 【2】 挿入遺伝子産物(タンパク質)が、アレルギーを引き起こすことが知られているか
- 【3】 挿入遺伝子産物(タンパク質)が、加熱やタンパク質分解酵素処理に対して安定であるか
- 【4】 挿入遺伝子産物(タンパク質)に、既知のアレルゲンと共通するアミノ酸配列があるか

◆ 一定の基準にしたがってアレルゲンに関するデータベースと照合する

<連続8アミノ酸の一致 or 80アミノ酸以上で35%以上の一致>の場合、安全性の根拠必要

◆ 人工胃液および人工腸液による分解性試験。分解しやすいものは安全と考える

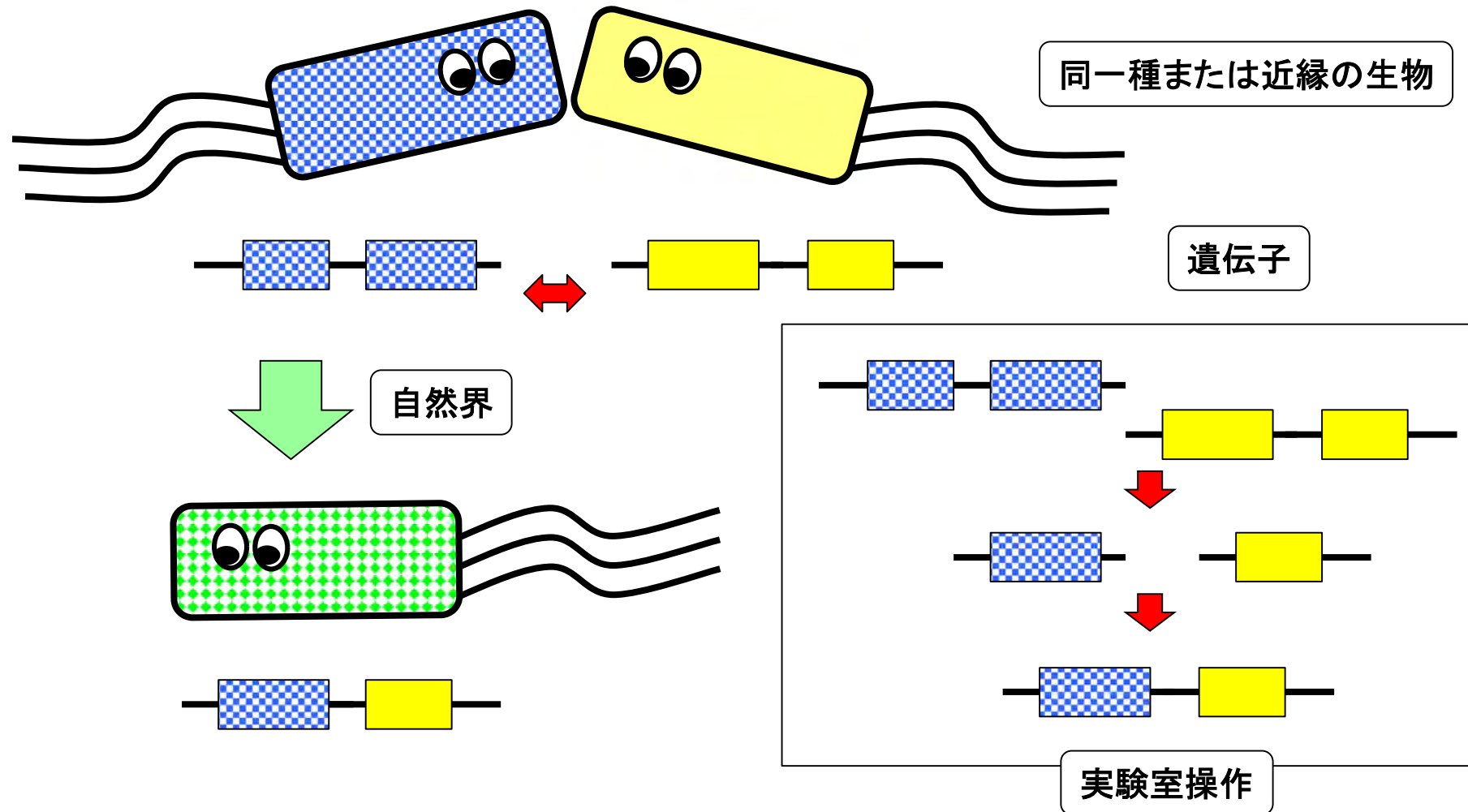


上記4項目で安全性が判断できないときには、アレルギー患者の血清に含まれているIgE抗体との反応性がないことを確認する



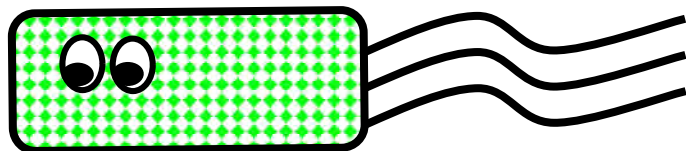
アレルギー患者の血清を用いる試験で、安全性が判断できないときには、ヒトでの皮膚テストや経口負荷試験などの臨床試験を行う

セルフクローニングとナチュラルオカレンス



- 同一種（または近縁）の微生物は、自然界で交雑または水平伝播により遺伝子を交換する。
- ◆ 両方の生物から単離した遺伝子を実験室で連結し、微生物に戻す
- ◆ 得られたもののDNAの塩基配列は同一なので、検査などでは区別がつかない
 - > 組換え体と同等の遺伝子構成が自然界に存在する場合は、遺伝子組換えとはしない

ナチュラルオカレンスの判断



ナチュラルオカレンス？

DNAの移行

査読付文献 etc.

組換え体と同等の遺伝子組成をもつ生細胞が自然界に存在する場合

Yes !

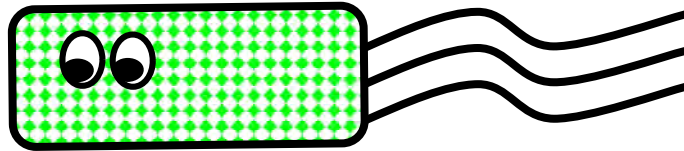
承認済み 9件

○ 特定の微生物種の間で天然で遺伝子交換を行うことが査読付きの学术论文で確認できること。この場合、一方の微生物種の遺伝子を他方の微生物に導入した組換え体は自然界に存在しうるとしてナチュラルオカレンスとなる。

◆ *Streptomyces*属の微生物種間での酵素遺伝子の導入など

遺伝子組換えとは見なさない：官報に載らない・表示義務なし

セルフクローニングの判断



セルフクローニング？

外来遺伝子を含まない

サザンブロット

PCR

ゲノムシーケンス etc.

最終的な微生物が、「組換えDNA技術によって最終的に宿主に導入されたDNAが、当該微生物と分類学上の同一種に属する微生物のDNAのみである場合」

Yes !

承認済み 5件

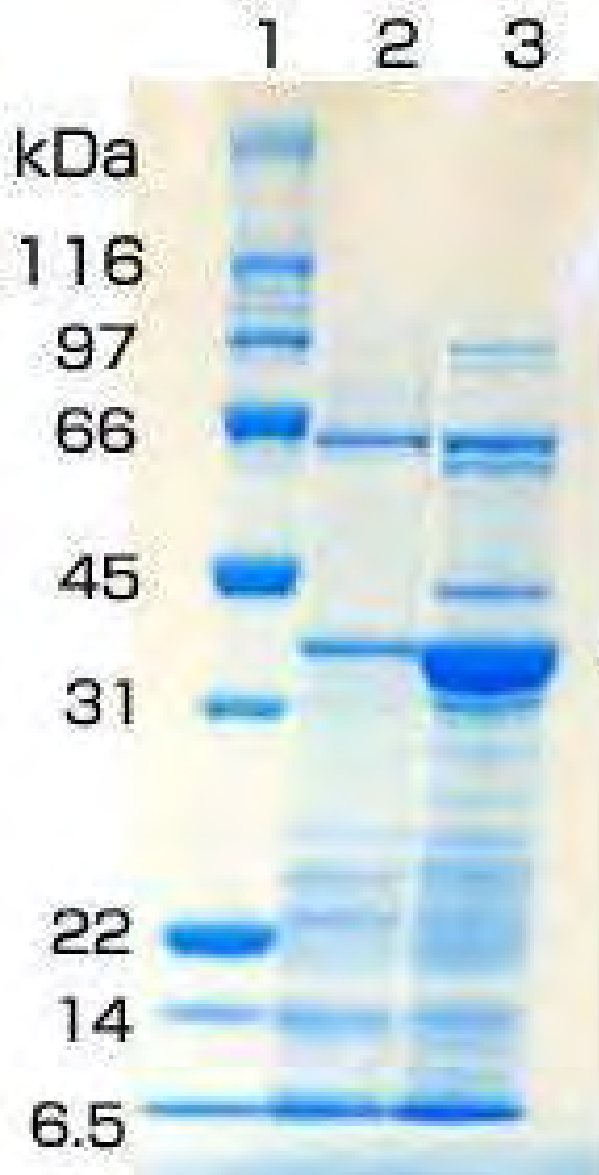
○ 外来遺伝子を含まないこと。導入された遺伝子やプラスミドが同一の微生物種に由来することを査読付き学術論文などにより確認できること

◆ 同一種の遺伝子を複数コピー導入した場合もセルフクローニングと判断されている

◆ 意図的に突然変異を導入された遺伝子を導入した場合は現在のところ承認された例がないが、遺伝子組換えとは見なさないゲノム編集による突然変異の導入が実用化されたこともあり、見直しが検討されている。
＜USDAでは1塩基の変異までOK＞

遺伝子組換えとは見なさない：官報に載らない・表示義務なし

酵素タンパク質



○ 製パンなどの加工助剤として使われるケースが多い

◆ 食品添加物と加工助剤の利用用途で審査に区別なし

○ 細菌や糸状菌を宿主とした食品用酵素の安全性審査

◆ 宿主の安全性と遺伝子組換えの形態

・ 細菌：プラスミド **etc**； 糸状菌：染色体組込み

・ 酵素の精製方法、純度（参考）

◆ 酵素自体の安全性

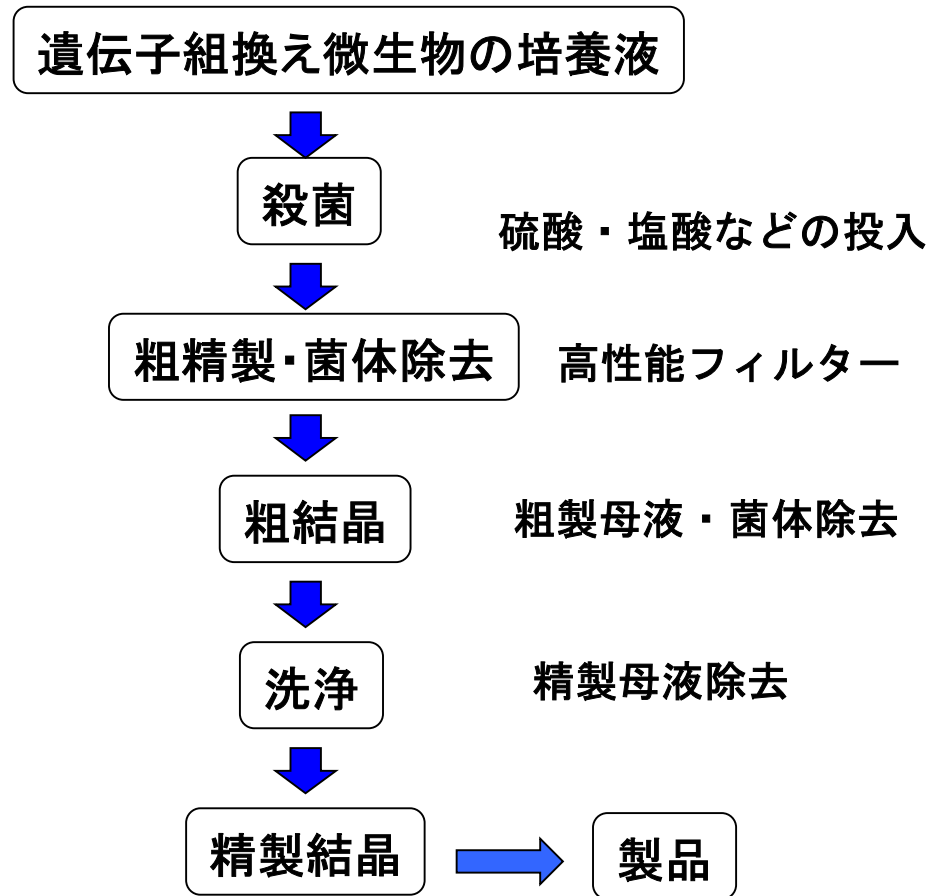
・ 食経験、外国での販売実績

・ アレルゲンの可能性：

アレルゲンデータベース検索

人工胃液・人工腸液・加熱安定性試験

高度精製食品添加物



「アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方」

○ 遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、菌体成分が除去され、生産物が結晶化などにより高度に精製されたものについては、遺伝子組換え食品とはみなさない。

遺伝子組換えとは見なさない：官報に載らない・表示義務なし

高度精製非タンパク質性食品添加物の安全性審査

精製された食品添加物



< 最終産物の安全性を評価する >

(1) 製品の精製度は、指定添加物として告示されているアミノ酸、ヌクレオチド、ビタミン、単糖類と同等もしくはそれ以上の精製度

(2) 従来の添加物に比べて、既存の非有効成分の含有量が当該添加物の安全上問題となる程度まで有意に増加しておらず、かつ有害性が示唆される新たな非有効成分を含有しない

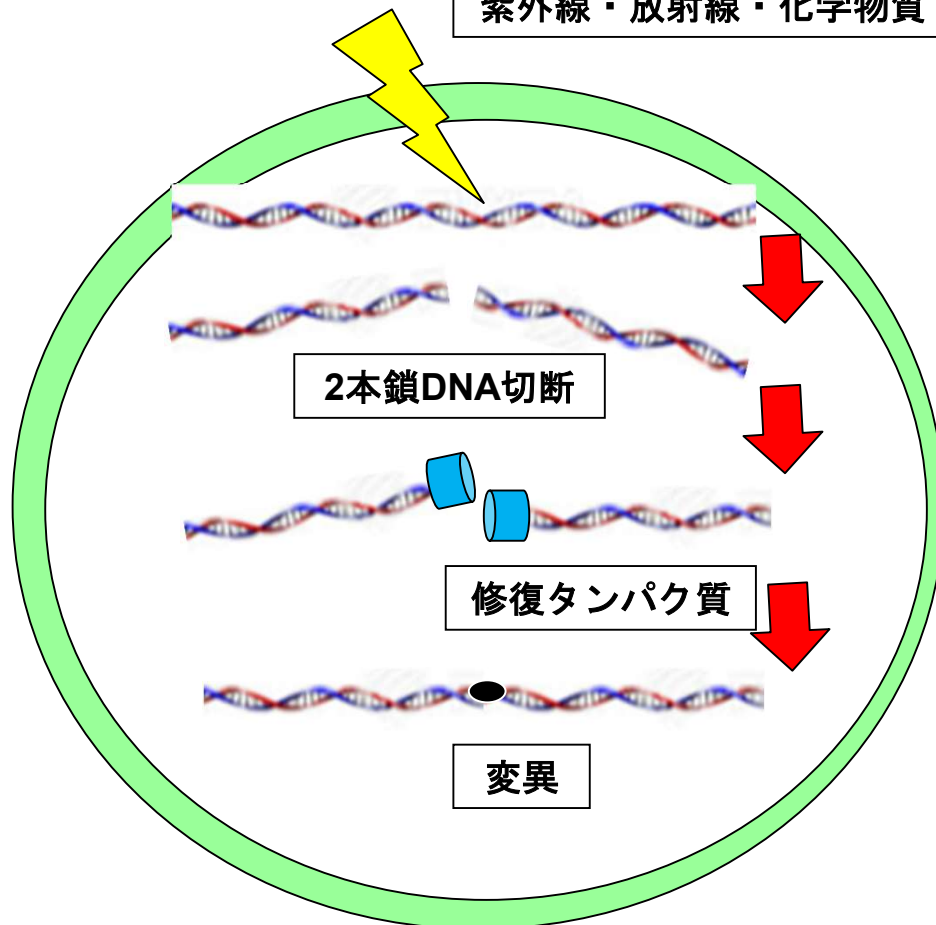
(3) 当該添加物の製造方法の概要、用途、化学構造、組成、物理化学的性質および品質を明らかにする



【要検討課題】

- ◆ 食品添加物リストに載っていないアミノ酸や糖類などは、公定書に記載がないので比較対象の選定が難しい。
- ◆ 従来品以上の純度のものについては自主判断可能とされたが、精製度には限度があることから、過剰スペックが要求されかねない
- ◆ 未同定不純物でも安全と判断する含有基準の策定が必要 <安全宿主の利用>

紫外線・放射線・化学物質



“真核生物の性”



○ 真核生物のDNAは核内で染色体を構成する

・ 2本鎖DNAの切断は一大事！

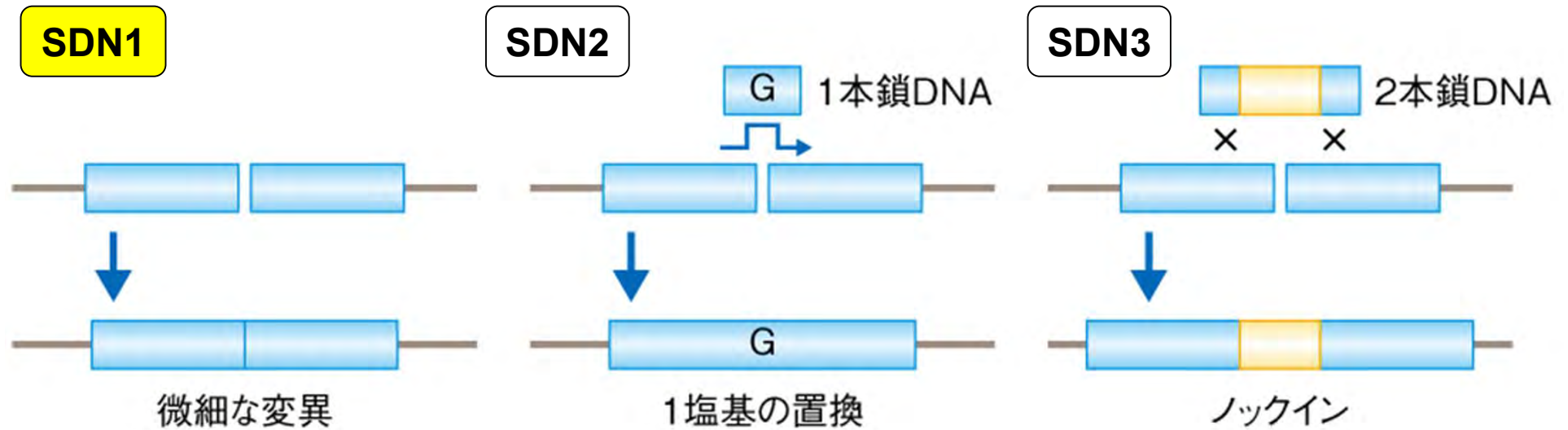
・ 何が何でも繋ぎ直す・・・修復に失敗するとプログラム細胞死が待っている

◆ 染色体DNAの監視機構が甘くなっているガン細胞は、正常細胞よりもゲノム編集しやすい・・・

・ 元通り修復できず、塩基配列が変化することがよくある！

→ 標的の遺伝子が破壊される

3タイプのゲノム編集技術



【ゲノム編集】ゲノムの特定の部位を意図的に改変することが可能な技術

○ 現状の「ゲノム編集技術応用食品」に用いられるゲノム編集技術3つのタイプに分けられる

◆ SDN1：DNA鎖の特定部位を切断し、修復時に起こる突然変異に期待する

◆ SDN2：DNA鎖の特定部位を切断し、修復時に鋳型DNAを用いて変異を導入する

◆ SDN3：相同組換えにより外来遺伝子・制御配列を導入する

SDN3は外来遺伝子を含むので遺伝子組換え生物

SDN1は理論的には従来の交配育種で同じものを取得可能

<ゲノム編集技術応用食品>

・・・SDN2は議論中・・・

遺伝子組換え vs ゲノム編集



除草剤耐性ダイズ（農業生物資源研）



高GABA含有トマト（筑波大学）

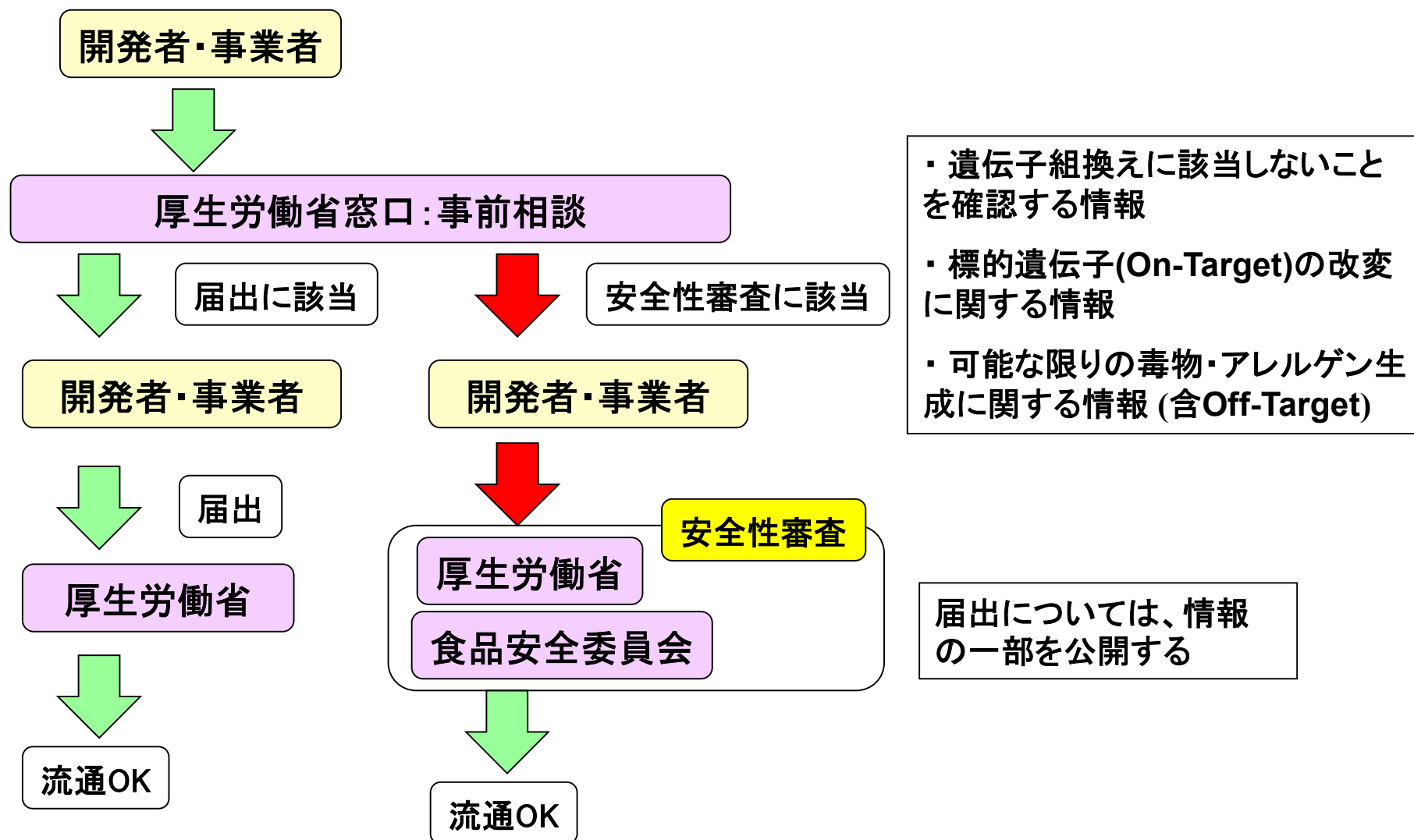
【遺伝子組換え】＜自然界には存在し得ない＞

- ① 外来の遺伝子を染色体の特定の位置に導入する技術がなかったため、在来遺伝子の破壊は難しかった。
- ② 外来の遺伝子を導入する「足し算」の遺伝子育種技術 **＜検出手段あり＞**
- ③ 生産者にメリットがある除草剤耐性・害虫抵抗性が普及している

【ゲノム編集】＜辛抱強く育種すればいつかは取得できる＞

- ① 染色体の特定の部位を切断する技術が基になっているので、在来遺伝子の破壊・加工が可能
- ② 在来遺伝子の破壊を行う「引き算」の遺伝子育種技術が主流 **＜検出手段なし＞**
- ③ 消費者にメリットが見えやすい作物が多く開発されている

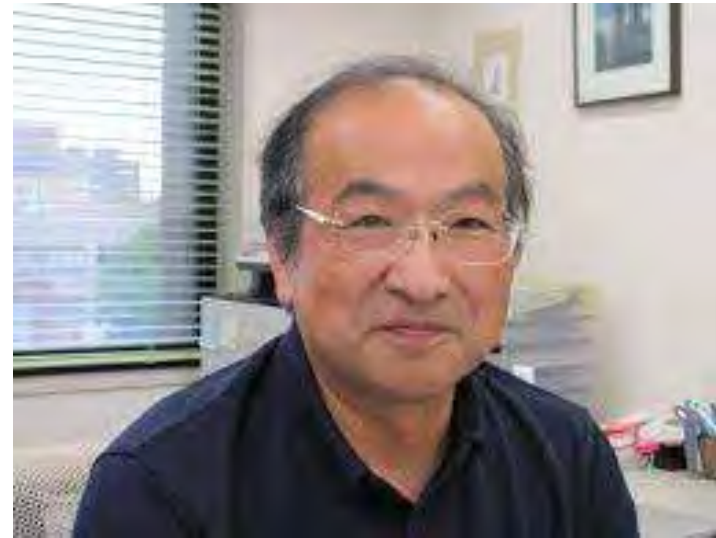
ゲノム編集技術応用食品の規制方針



◆ ゲノム編集技術応用食品については、当面の間、厚生労働省に設置される事前相談窓口で届出に該当するかどうかの判断を仰ぐことになる

◇ 事前相談に要する資料については、検討中。効率化のためチェックシートの作成が望まれる！

届出受理第1号（高GABA含有トマト）



筑波大学・江面浩教授の率いるグループが開発

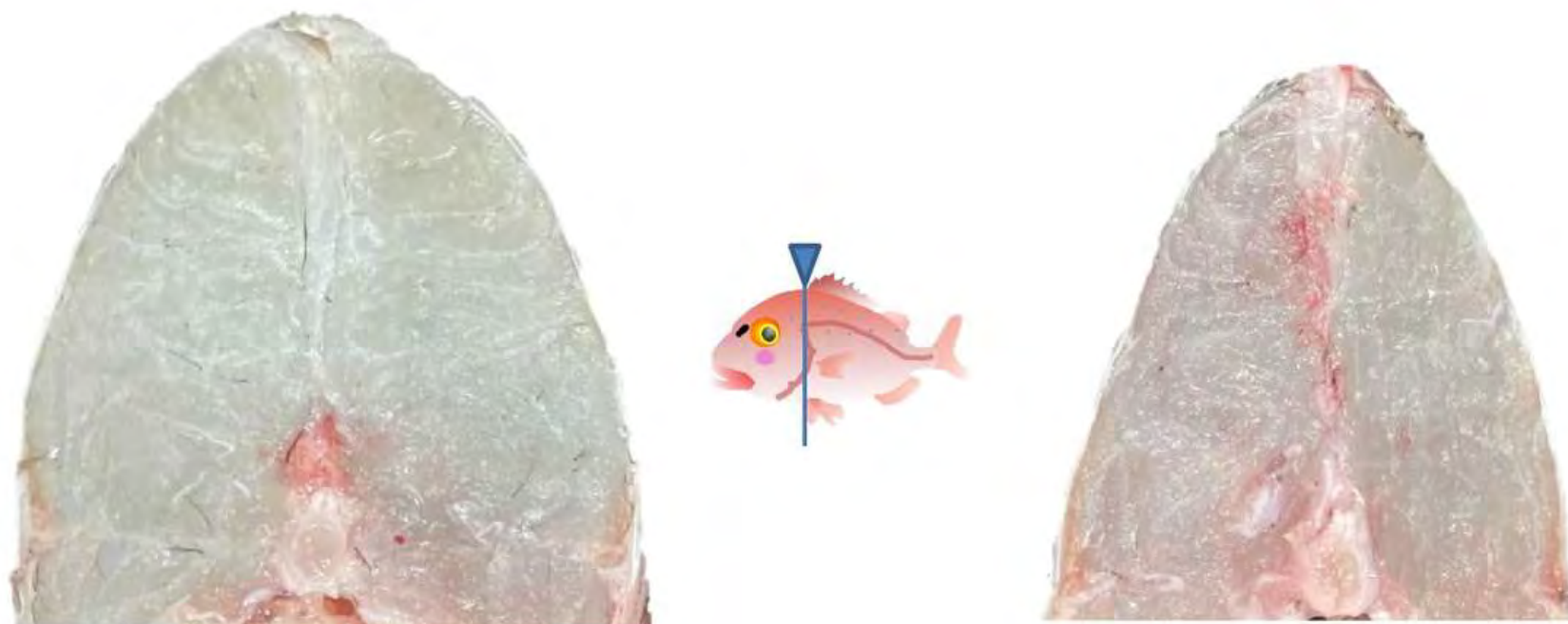
○ 2020年12月。厚生労働省は筑波大学・江面教授らの「高GABA含有トマト」の届出を受理

◆ GABAは生体内でグルタミン酸から合成されるアミノ酸の一種。抑制性の神経伝達物質であり、摂取すると血圧を下げる効果があるとされる。グルタミン酸からGABAを作る酵素のブレーキの部分をゲノム編集により破壊し、野生種の10倍以上のGABAを含むトマトを育種。

＜事前相談での審査項目：ほぼ1年がかり＞

◎ ゲノム編集部位の遺伝子構造 ◎ GABA・グルタミン酸など関連成分 ◎ 外来遺伝子が含まれていないこと ◎ 毒性物質生成の可能性 ◎ オフターゲットの可能性 ◎ 安定性 etc

届出受理第2号（可食部増大マダイ E189-90系統）



リージョナルフィッシュ社

○ 2021年9月 第2例となる可食部増大マダイの届出受理

【ミオスタチン myostatin】骨格筋で合成され、筋肉の合成を抑制する26kDaの糖タンパク質。

◆ ミオスタチン遺伝子欠損（14塩基欠失）のため、可食部が平均1.2倍、飼料利用効率が平均1.4倍改善された。

○ 魚には品種がなく養殖魚でも多様性が大きいいうえ、近親交配の影響も考慮する必要がある

“マッスル牛”



- 骨格筋の量は、IGF1遺伝子、myostatin遺伝子などのバランスにより制御される。
- 骨格筋の肥大を抑制するmyostatin遺伝子が機能を失うと、異様に筋肉量の多い個体となる。
- ◆ 突然変異によりmyostatin遺伝子が欠失し、筋肉モリモリとなる牛などの動物がときおり出現する。ベルギー産の肉牛ペルジャン・ブルーBelgian Blueはこの変異を固定化した系統

届出受理第3号（高成長トラフグ4D-4D系統）



同期間に1.9倍に生育する
リージョナルフィッシュ社

○ 2021年10月 第3例となる高成長トラフグの届出受理

【レプチン leptin】脂肪細胞が分泌し、視床下部に作用することにより摂食抑制とエネルギー消費促進をもたらす16kDaのペプチド性の抗肥満ホルモン。

◆ レプチン受容体遺伝子欠損（4塩基欠失）のため、食欲旺盛となったトラフグ個体は飼料利用効率・成長率が改善された。

◆ 外来遺伝子の有無、遺伝子改変部位でのアレルゲン生成可能性の他、ふぐ毒も検査

ゲノム編集技術対応の格差



【USA vs. EU】

○ USA：外来遺伝物質が残存するものは情報開示の対象。ただし、高度精製品は対象外
＜外来遺伝物質が検出可能なものは情報開示＞ **プロダクトベース**

◆ EU：自然には発生しないやり方で遺伝物質を改変する突然変異誘発による得られた生物は
GMOとする＜欧州司法裁判所：2018年7月＞ 規制方針について議論中 **プロセスベース**

【日本】遺伝子組換えについては基本的にプロダクトベースだが、外来遺伝子が含まれていないことなどの確認を求めているので部分的にプロセスベースの規制を行なっている。

○ ゲノム編集については法的には任意の届出制。安全性担保と情報収集の目的で、事前相談の形で申請内容の審査を行っている。申請者の善意に頼っているのが実情・・・