

## 環境への放出に関する諮問委員会(ACRE)

### 報告書 2 : 何故ゲノムに対する最新の理解が GMO のための新しい規制システムの必要性を実証するのか。

#### 要旨

我々のゲノムに対する理解は、規制についてのプロセスに基づいたアプローチと一致しない。このアプローチを継続的に採用してきた結果、問題が起き、更に今後益々問題が起きてくる。これは一貫性の問題である。即ち、環境的危害を生じさせる能力に関係なく、特定の技術によって作られた生物を規制しており、それ以外のものを規制しているのではないのだ。

新しい技術によって作られた生物の規制状況を分類することは次第に困難になってきている。というのは、指令の中での GMO の定義が、これらの技術の多くが想定されていない時代になされたからである。分子遺伝学の技術は急速に発展しており、組換え技術の利用が検知可能な足跡を残さないような方法で植物や他の生物を変更することが出来るようになってしまっている。ある場合には、その理由は生物自身が組換え技術を用いて操作されていないからである。

EU の規制アプローチが新しい技術で作られた生物に適合していないという我々の結論は、「伝統的な」GM 技術で作られた遺伝子組換え生物にもあてはまる。これらのことは GMO 法制度で対応されることは明白ではあるが、矛盾の可能性は本来備わっている。何故なら、それらは規制されていない生物に表現型の上では同一かもしれないからだ。

我々はプロセスベースの規制システムに伴う問題について強調してきており、最終製品の新規性を考慮出来る異なるシステムのメリットがあることを提案している。このようなシステムは新しく生まれ、現在は見通せない技術の発展から独立しており、表現型に伴う潜在的なリスクに注目するものだ。このアプローチは既存の規制に比べて多くの利点を持っており、既存の規制を改善又は置き換えるための提案の一部として検討すべきである。

#### 序文

環境への放出に関する諮問委員会(ACRE)は、主要な科学者と技術的専門家からなる独立した諮問委員会である。我々の主たる機能は、遺伝子組換え生物(GMO)の放出又は販売によってもたらせられるヒトの健康と環境へのリスクに関する法令に基づく助言を、英国の諸大臣及び地方分権政府の諸大臣に与えることである。

この報告書は、我々がその中で活動するところの規制枠組み<sup>1</sup>を検討する3つの報告書の内の2番目のものである。「GMOに関する証拠ベースの規制システムに向けて」と題する報告書<sup>2</sup>は、現行システムの基本的な問題点を明確にし、異なるアプローチを提案している。「現行 GMO 法制度の下での環境リスク評価のより効果的なアプローチに向けて」と題する報告書<sup>3</sup>は、法律を変えずに対応出来るかもしれない現行法規の下での問題点を明確にし、GM 作物の環境リスク評価に焦点をあてている。この報告書では、現行の GMO 定義と規制が、新しく出現する組換え技術によって作られた生物にとって、及びゲノム構造と後成的遺伝学に関する現在の知識の観点から、如何に目的に合致しているか、を検討する。

環境への GMO の計画的放出を管理する EU 指令の最初の版は 1990 年に採択された。これが遺伝子組換え微生物の抑制的使用を管理する指令と相まって、GMO を定義する EU のアプローチを確立した。このアプローチは、生物がどのように作られたかと遺伝物質への結果としての変更の性質に基づき、生物を定義するものである。しかしながら、現行 2001/18 指令(1)の最後の見直しを含み、多くの報告書は特定の新しい技術、ここでは新技術(NT)と言っているが、によって作られた生物に適用した場合の GMO の定義の明確さについての疑念を強調した。問題点をより詳細に検討したものには、「新しい技術」(即ち NT 2)についての欧州委員会のワーキンググループによる報告書と COGEM (3-5)による一連の論文がある。共同研究センターの報告書も NT(6)に関する有益な背景を提供している。

更に問題点に取り組むため、2012 年に英国の規制機関は ACRE に、法律の GMO の定義をどのように NT によって作られた植物に適用されるべきか、についての科学的見解を提供するよう依頼した。我々は、各 NT についての最も信頼できる科学的解釈を提供した(7)。この報告書は、GMO の定義は明確ではなく、従ってその方向で考えると、NT を使用して作られた製品の規制も不透明であると我々に結論付けさせた。

指令の中での GMO の定義は、それ(指令)が最初に施行された 1990 年に入手可能なゲノムの技術と知識に基づいていた。それ以降ゲノムの研究で作り出された膨大なデータは、GMO の定義の弱さを際立たせる。何故なら、指令は GMO を GMO が作られた方法によって定義しているからだ。我々はこの論文でこの証拠と GMO の規制との関係を検討する。

指令の GMO の定義は世界で販売されている殆どの遺伝子組換え生物に適用されることは明確であるが、1990 年以降<sup>4</sup>の GM 作物の評価と広く行われた栽培からの証拠が組み合わ

---

<sup>1</sup> Legislation controlling the Deliberate release of GMOs into the Environment.

<sup>2</sup> <http://www.defra.gov.uk/acre/files/Report-1.pdf>

<sup>3</sup> <http://www.defra.gov.uk/acre/files/Report-3.pdf>

<sup>4</sup> GM 作物の地球上の広さは 2012 年に約 1 億 7 千万ヘクタール(英国の約 7 倍)まで安定に増加した。その年に、途上国世界(52%)が初めて先進国世界(48%)よりもバイオテク

されて、NT で作られた生物を規制することは適切ではないという我々の幅広い結論を裏付ける。

異なる解釈がされ、最早確固たる科学的原則を基にはしていない定義の採択に起因する多くの結果がある。この論文では、作られた生物の新規特性に基づいて、多くの新しい製品により一貫して適用出来る規制アプローチの議論を我々は提起する。我々はまた、多くの NT の規制状況についての明確さの欠如が、如何に作物のバイオテクノロジーの革新と経済的成長に重要な影響を及ぼすか、を実証する。

### GMO の定義

EU の「環境への GMO の計画的放出」に関する指令（指令 2001/18/EC）の第 2 条は、以下のように GMO を定義している。

「ヒトを例外として、その中で遺伝物質が交配及び・又は自然の組換えでは起きない方法で変更された生物」

この定義の条件では、この指令は遺伝子組換えに繋がる又は繋がらない技術の例を提供している。これらの例は別紙（この論文の別紙 1 に有り）に含まれており、別紙に記載されていることが指令を支配する原則を際立たせている。即ち、生物の遺伝物質を変更するのに使われた技術が、その生物が法律の対象であるか否かを決定する、ということである。—このアプローチを表すために「プロセスベースの」という言葉が使われてきた。

明らかに、生物が開発されたプロセスがこれら別紙の対象であれば、その生物の規制状況（即ち、それが GMO であるか否か）は明確である。しかしながら、NT は別紙には記載されていないので、多くの NT によって作られた植物が GMO として定義されるか否かは、第 2 条の定義が適用されるか否かによる。第 2 条が如何に解釈されるべきかについては異なる見方が存在する。NT の使用は生物ゲノムに人工的に引き起こされた変化に繋がるが、このことは関係があるのか、これらの変化が繁殖、突然変異、遺伝子組換え及び選定によって自然に起きたであろうか、について異なる意見がある。NT に関する我々の報告書(7)で、もし生物の遺伝物質の変化が自然に起き得るのであれば第 2 条は適用されないと我々は結論付けた。我々はまた、もし第 2 条が別に解釈されていれば、法律を強制することが極めて困難になることに注目した。何故なら、これら NT によって作られた生物の多くが、従来の（非組換え）技術によって作られた物と判別不可能になるからである。

---

作物を生育した。[\(http://www.isaaa.org/\)](http://www.isaaa.org/)大豆と綿花の両方で、地球上の作付面積の 81%は GM 種である。

## ゲノム可塑性の知識

遺伝物質への変化が自然に起こり得たかを判断するために、生物の中で、又は生物相互の間で起こり得る遺伝的変異のレベルとタイプを理解する必要がある。第2条が最初に採択された1990年以来、この変化のベースラインの理解はゲノムに関する豊富な研究を通じて大幅に深まった。その結果今や、同じ種の個体の中、又は個体相互間に、遺伝物質（遺伝子型）が、DNA配列の意味で、そして化学構造（所謂後成的<sup>5</sup>修飾）の意味で、自然に異形の形式で存在することが出来ることを実証する科学的証拠が多く存在するのである。即ち、同じ種のゲノムと個体のエピゲノムの間の、更にどの単一個体の中でも自然の可塑性と可変性は高いのである。

2012年に、ウエーバー他（8）はゲノム可塑性がGM作物の安全性の問題にどのように関連しているかの詳細解析を発表し、ゲノムの多様性と可塑性を生じさせる自然に起きているメカニズムの多くの例を示した。

この証拠は、個体相互間及び個体の中にゲノム又は遺伝子型が高い可塑性と変化の状態が存在することを確立する助けとなる。ある場合には、このような異形は事実上同じバイオケミカル及び物理的特性（表現型）を持っている可能性がある。遺伝子と遺伝子外の変化が、いずれも変更された表現型になり得ることも自明のことであり、確かにこの多様性が自然の選択による進化の基である。

植物のゲノム可塑性のその他の証拠は、植物のゲノムとエピゲノム(9-16)に存在する多様性の探求に使われる新しいシーケンシング技術を含む最近の研究からもたらされる。これらの解析の結果は、DNA配列の多様性、特定配列の異なるコピー数(17)及びある種の中の個々の植物のDNAのメチル化のパターンの多様性を目立たせている。例えば、30世代前の共通祖先に由来する10ラインを用いた遺伝性の遺伝子外の多型の研究で、個別の遺伝子座でのエピ変異（表現型に影響を及ぼす安定した遺伝子外の変更、即ち表面的(outward)特性）は容易に検知出来、各菌株の中の約30,000のシトシンは特異的にメチル化(18)されることが示された。

かかる多様性は伝統的な植物と動物の繁殖のプロセスの根底にあり、ゲノムとエピゲノムのかかる可塑性(19)はこれらの生物に限定されているのではなく、バクテリア(20)からヒトまで広がっている。

---

<sup>5</sup> 遺伝子外とは、DNAのヌクレオチド配列の変化無しに遺伝子機能の変化に繋がる遺伝物質の変更のことである。変更はしばしば遺伝するが、必ずではない。

例えば、DNA 要素のエンサイクロペディア(ENCODE)プロジェクトは、ヒトゲノムの多くがタンパク質のためのコード化はしないが遺伝子の発現を規制することが出来、従って遺伝子外のメカニズムなどを通じて表現型を変更できる RNA 分子を生じさせることを明らかにした。従来は「ジャンク (くず) DNA」と思われていたものの新しく認識された役割は、同じ種(21)の個体間の遺伝子によるものと遺伝子によらない多様性の異なる由来となるかもしれない。

このような可塑性は大きく異なる表現型が遺伝子外の制御を受けるシステムの中で研究されている。例えば、アリの社会の階級構造が、それは多くの個体が異なる形態や行動を示す特徴があるが、胚発生(22)中に機能を発揮する遺伝子外の変更によってほぼ制御されていることが最近示された。この例は、ゲノムの遺伝子外の特徴の自然の多様性の高いレベルがどのように起きて表現型に影響することが出来るかを例証している。

上記のゲノム可塑性の形は、生命の異なる秩序の形式(19)の中の異なる広がり進化し、この多様性の境界(23)にはある程度理論的な限度はあるが、一つ又は数個の遺伝子を植物の既存の種に導入することは、自然界に存在するものに比べて極めて小さな変更であることは明確である。

第2条が書かれた時、生物のゲノムは比較的均一化され安定している(ゲノム配列がグローバル変動していて遺伝子外の異質さが特性化されていない中で)と考えられていた。従って、第2条は、生物の遺伝物質に人工的に誘導された変更の予想される範囲を補足することを期待されていた。今や自然の多様性の範囲はより完全に理解されているので、交配及び・又は自然の組換えによっては自然に起きない変更を特定することはよりやりがいのある課題であり、生物を定義する上でのこのアプローチは大いに疑問である。このため、同じ種の個体の中で、そして個体間で、表現型は不変でありながら遺伝物質は自然に変更された形で存在することが出来るのである。同様に、一つのヌクレオチド変化が大きな表現型の変化をもたらすことが出来る。

現行の規制は、生物が GMO としてあるべきかの決定(導入された変更に関わらず)に係るのは生物の遺伝物質への変更を起こすのに使用される技術である、と論じている。これは、その技術の使用に伴って生物の特性に好ましくない意図しない変化が生じる、という懸念に基づいている。しかしながら、意図しない効果は NT(新しい技術)又は組換え DNA 技術に特有なものではない。従来の繁殖プログラムは望ましい特性を持った生物を選び、意図しない、そして望ましくない特徴を持ったものを含めて、作られた生物の大部分を廃棄する。我々のゲノムに関する改善された理解は、これらの変化を、これらの種の根底にある遺伝子による、そして遺伝子によらない、多様性という観点から理解する。

結論として、(この変化が与えた新規特性によらずに) 生物のゲノムがどのように組換えられたかに基づく規制のアプローチの採択は、現在我々が持っているゲノムの可塑性に関する知識とは調和出来ない。このことは、定義を科学的に信用できる方法で解釈することの困難さに加えて、多くの影響をもたらすことになる。

## 1. 生物がどのように組換えられたかに基づいて生物を定義し規制することに伴う問題点

提起された問題のタイプに基づき、ここでは定義と規制の問題は緩やかに分類されている。場合によっては、NT の状況が具体的な課題を例証することに役立つ。NT にはシスジェネシス、部位特異的な突然変異生成、及び RNA 依存性 DNA のメチル化が含まれている。別紙 2 に各技術の概要が記載されている。

生物を、遺伝子型及びそれを作るために使用された技術によって規制上の分類をすることが矛盾を生じさせることは避けることが出来ない。我々は、除草剤耐性 (HT) 植物について議論していた時に「農業の足跡を管理する：新規農業システムのためのリスクとメリットの比較評価」(24) と題する 2007 年の報告書の中でこの点を強調した。この報告書で、我々は、伝統的な変異原性技術により発生した植物は対象外だが、組換え DNA 技術を使用した HT 植物の環境への影響は評価され管理されるだろうと述べた。我々はこの格差について報告書 1 でも議論する。

この不一致は NT によって作られた生物を検討するときにより明確になるだろう。例えば、シスジェニック生物と新規変異原性技術を使って作られた生物である。後者の場合は、同じ形質を示すだけでなく極めて似た技術を使用して作られた生物は異なる規制の状況になる可能性がある。

このことは現行規制アプローチに別の問題を提起する。それは遺伝子型の変化に基づく定義と特定の技術の使用は解釈次第であり、古くならないことは困難だ。

例えば、突然変異生成の伝統的形式(例：化学薬品又はイオン化放射線を使用して)を使用して開発された植物は GMO 規制から除外される。何故なら「突然変異生成」は指令 2001/18/EC の別紙 1B (別紙 1 を参照) に記載されているからである。しかしながら、同じ生物の中の同じ形質で同じ配列変更による異なる変異原性プロセス(亜鉛フィンガーヌクレアーゼ、転写アクティベーターのようなエフェクターヌクレアーゼ (TALENs) 又はオリゴヌクレアチド)を使用したものは規制される必要があるかもしれない。このことは EU 委員会と 28 の EU 加盟国規制機関が「突然変異生成」を別紙 1B に入れることをどう

解釈するかにかかっている。より近代的な突然変異生成方法が「組換え DNA 技術」の使用を含んでいるか否かについての彼らの意見もこの議論での適切な課題である。NT(2)に関する EU 委員会のワーキンググループの報告書に記載されているものを反映させた色々な結論がありそうだ。

他の NT は、そのプロセスの最後で作られた生物はいかなる挿入された又は組換え DNA をも含んでいないが、開発プロセスの 1 つの段階で GMO の定義によって捕捉された技術を含んでいるかもしれない。一つの例は逆繁殖(reverse breeding)である。このプロセスは GM 媒介物の使用が必要なので、規制機関によっては結果としての生物は指令 2001/18/EC の対象であると主張しそうだ。他の規制機関は、最終製品への変更は自然に、又は従来の繁殖を通じて起きたかもしれないので、第 2 条は、従って指令 2001/18/EC は適用されない、と主張するかもしれない。

RNA 依存 DNA メチル化(RdDM)は、希望する (遺伝する) 形質を作る生物に遺伝子外の変化を誘引する。生物の DNA 配列は変更されていないが、DNA の化学構造は変更されている。しかしながら、この変更 (通常特定の DNA ベースがメチル化されたもの) は細胞中の自然に起きるバイオケミカルプロセスによるもので、この場合定義を解釈することを特に困難にしている。

明らかに、異なる方法で作られた生物の (規制) 状況の解釈が異なる官庁間で一致しないことは望ましいことではない。このことは、2 つの異なる生物が、それぞれ同じ DNA 配列 (遺伝子型) と同じバイオケミカル及び物理的特性 (表現型) をもっていて、一方が規制され、もう一方が規制されないという可能性を惹起する。これに加えて、異なる EU 加盟国が異なる意見を持つ可能性もある。また、EU 外の異なる規制システムが異なる結論に達することもあり得る。

更に、NT は技術的進歩と科学的ブレイクスルーによって継続して開発されるであろう。この状態を管理する一つのやり方は、新しい技術が出てくる都度 EU の立場を合意することである。これは上記の理由で困難であろう。結果として、革新を支援する上で求められる規制上の確実性を提供することは出来そうもない。このことはまた科学的に正当化できないシステムを永続させることにもなる。

## 2. 革新と商取引は抑制されている

生物の (規制) 状況を取り囲む異なる解釈と不一致は、EU における経済成長と発展に否定的な影響を及ぼしかねない。例えば、合衆国のある申請者が最近規制機関から、ブドウア

ントシアニン規制遺伝子を含む **biolistic-generated GM** ブドウは植物保護法により規制対象外であると言われた。であればこの製品は速やかに潜在的な商業上の利益を生んで合衆国のこの部門の経済発展に貢献するはずである。

EU では、現在この製品が、シスジェニック GM 生物として、指令 2001/18/EC の下で規制されるべきか否かについて明確ではない。このように明確さを欠く状況で、EU のブドウ農家はこの新規製品の取り扱いを交渉したいとは思わないであろう。従って商業的な利益は全く得られない。同じ理由で、EU の企業は類似の形質の開発に投資をしないであろう。結果として、EU での革新と経済的発展は現在の不確実さのために否定的な影響を受けている。

EU の規制システムに申請書を提出して処理をすることは高価につくため、経済的可能性を実現する確率の高い作物・形質の組み合わせのみが開発されている。この中には、トウモロコシなど、作物の中の Bt 媒介の昆虫耐性及び除草剤耐性のものが含まれる。より少ない利益ではあるが作物の保護、持続可能な農業及び公共の利益をもたらすその他の形質は、EU の中で開発される可能性は少ない。何故なら、高い規制コストと不満足な規制体制とが相まって財政的リスクを過大なものにしてしているからである。我々は、EU の規制システムは経済成長と発展にとっての障害である、と結論付ける。

規制枠組みの対象でない方法と製品を開発することの財政的「報酬」は潜在的に依然としてかなり高い。従って企業は規制に「補足」されるのを避ける道を探すために大きな資源を投資するのである。このことは、開発された製品が規制の対象でないことを希望して NT を使うことが含まれるかもしれない。これらの生物の規制状況の明確さが依然として欠けてはいるが、遅く、費用がかかり、イライラさせられるほど不明瞭な GMO 規制システムのために、このようなアプローチは企業にとって経済的に意味のあることになるのだ。

このような状況は、環境上の利益のために GM 技術を適用することについて、哲学と経済学に及ぶイデオロギーの衝突を惹起するのだ。例えば、地球の環境に関する圧力が増加し続け、資源が減少し経済が停滞する状況では、問題解決の最も持続的で科学的な方法を探求しないことは、ひねくれていて道徳にも反するものと考えられるべきである。規制枠組みを再考することは、そのような広い範囲に及ぶ結論に取り組むことになる。

### **表現型ベースの規制の必要性**

NT の法的状況について EU 加盟国が合意する可能性はあるが、規制に「プロセスベース」のアプローチを採用した結果である固有の問題点を解決することは不可能であろう。特に、技術が将来（異なる生物の中で）どのように発展するか不透明な時に、生物がどのように作られたか、そして補足すべき又は排除すべき技術に注目しているため、同じ特性を持つ



た生物が異なった扱いを受ける可能性がある。従って、短期の解決策は魅力的であるかもしれないが、それらは科学的証拠と一致しないアプローチを永続させ、将来にわたって問題を生じ続けることになる。

もう一つの規制上のアプローチは、生物をその特性の新規性に基づいて分類することである。報告書1で定義したように、所謂「表現型に基づいた」アプローチである。我々は、規制機関が現行の法制度をこのアプローチを採用する枠組みに置き換えることを勧告する。この論文ではかかる枠組みの詳細については論じない。しかしながら、「農業システムの足跡を管理する」と題する我々の報告書（24-報告書1も参照）の中で新規農業製品とプロセスの評価のための「表現型ベース」のアプローチの概要に触れている。また、カナダが生物を作るために使用されたプロセスではなく、それらの表現型の特性に基づいて新規生物を捕捉する効果的な規制システムを運用していることは注目すべきことである。

表現型ベースのアプローチに移管することは、より科学的理解と一致することになり、現行のプロセスベースのシステムに固有の問題点に取り組む機会を与えてくれることになる。特に、規制についてのより一貫性を持ち柔軟性のあるアプローチを提供するはずである。

表現型ベースのアプローチは、新しい生物と製品の分類とリスク管理を、既存の生物と製品と比べた観察可能な特性（即ち表現型）の新規性に基づいて行うことを可能にする。時が経つにつれ、製品によっては最早新規とは見做されず、安全に使用してきた歴史に基づいて規制から外すことが出来る。このことは規制と事務管理の負担を軽くする。

更に、表現型ベースのアプローチは、それが現行の GM 技術によるものであろうが、NT 又は従来の植物繁殖によるものであろうが、表現型の変化が重要であることを認識する。それはまた、遺伝物質を変更するのに使われた方法に関係なく、意図しない結果が起きる可能性があるという事実を考慮する。新しい製品に伴うリスクは、製品が作られた方法ではなく製品の特性に従って評価されることになり、全ての新しい製品の安全性が確保される。

謝辞：ACREはこの報告書の審査に際しての建設的意見に対してフィル・マリノー教授に感謝申し上げる。

1. 指令 2001/18/EC 及び規則(EC) no. 1829/2003 の下での GMO 栽培の分野での EU の法制度枠組みの評価、及び指令 2001/18/EC の下での製品として又は製品の中の GMO の市場への提供。最終報告書：2011 年 3 月。
2. NT に関する EU 委員会ワーキンググループ - 最終報告書。
3. 新規植物繁殖技術 - 従来の植物繁殖と比較した新しい GM ベースの植物繁殖技術の結果。(2009) Schaart JG と Visser RGF. COGEM 研究報告書番号 2009-02。
4. 部位特異的な突然変異生成の観点からのオリゴヌクレオチドの状況。COGEM の助言と報告書 CGM/100701-03.
5. 植物バイオテクノロジーの新しい技術。COGEM 報告書 CGM/061024-02。
6. 新しい植物繁殖技術: 最新のものとは商業用開発の見込み。(2011) Lusser M, Parisi C, Plan D, Rodriguez-Cerezo E. JRC 科学及び技術報告書の中。
7. ACRE 助言: 植物繁殖に使用される新しい技術。2013 年 4 月。
8. 作物ゲノムの可塑性とその遺伝子組換え Breeding Stacks の食品と飼料の安全性との関連性。(2012). Weber N, Halpin C, Hannah CL, Jez JM. Plant Physiol 160:1842-1853
9. ゲノミクス: 絶え間の内多様性が最も美しい。(2011). Bevan, M. Nature 477: 415–416
10. <http://www.1001genomes.org/>,
11. 複数シロイヌナズナ集団の全ゲノムシーケンシング。(2011). Cao J et al., Nature Genetics 43: 956–963
12. サイレンシング突然変異体の包括的解析が Arabidopsis Methylome の複雑な規制を明らかにした。(2013). Stroud, H et al., Cell 152: 352-364
13. トウモロコシ近交の中の遺伝性非遺伝子の多様性。(2011) Eichten, SR et al., PLoS Genet 7 (11).
14. Hansey CN, Vaillancourt B, Sekhon RS, de Leon N, Kaeppler SM, et al. (2012) Maize

(*Zea mays* L.) RNA シークエンシングによって明らかになったゲノムの多様性。  
PLoS ONE 7(3):

15. Springer NM, Ying K, Fu Y, Ji T, Yeh C-T, et al. (2009) トウモロコシ近交がゲノム量の高レベルのコピー数多様性(CNV)と存在/不在 (PAV)を示す。 PLoS Genet 5(11):
16. 異質 4 倍体小麦ゲノムの中のエクソン捕捉によるヌクレオチドの標的を絞った解析とコピー数多様性。 (2011). Saintenac, C et al., Genome Biology 12:R88
17. 自然の中の遺伝子コピー数多型 (2010) Schrider DR and Hahn MW. Proc R Soc B 277: 3213-3221
18. シロイヌナズナ・メチロームの中の自然な非遺伝子的多様性(2011). Becker, C et al. Nature 480: 245–249
19. 差異パレオ進化パターンとプロセスからの植物と動物のゲノム可塑性の解読(2012)。 Murat F et al. Genome Biol Evol 4 (9): 917-928.
20. 単一分子リアルタイム DNA シークエンシングを伴うバクテリア・エピゲノミクスの時代到来。(2013) Davis BM et al. Curr Opin Microbiol 16: 192-198
21. Maher B. ENCODE: ヒト・エンサイクロペディア Nature. 2012 Sep 6;489(7414):46-8
22. *Ants Camponotus floridanus* と *Harpegnathos saltator* のゲノム全般で階級固有の DNA Methylomes (2012). Bonasio R et al., Current Biol 22: 1755-1764.
23. 微生物とウイルスの進化: 進化生物学のパラダイムシフトか? (2012). Koonin and Wolf. Front Cell Infect Microbiol. 2: 119.
24. 農業の足跡を管理する: 新規農業システムにとってのリスクとメリットの比較評価に向けて(2007)。 除草剤耐性 GM 作物の農場規模評価によって提起されたより幅広い課題についての ACRE サブグループの報告書。  
<http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20080727101330/http://www.defra.gov.uk/environment/acre/fsewiderissues/pdf/acre-wi-final.pdf>.

## 別紙 1

### 指令 2001/18/EC

#### 第 2 条

「生物」とは、遺伝物質を複製又は伝搬する能力を持つ全ての生物学的存在を言う。

「遺伝子組換え生物(GMO)」とは、ヒトを除いて、その中で遺伝物質が交配及び・又は自然の組換えによっては自然に起きない方法で変更された生物を言う。

この定義の条件の範囲内で：

- ・ 遺伝子組換えは、少なくとも別紙|A、第 1 部に列記された技術の使用を通じて起きる。別紙|A、第 2 部に列記された技術は遺伝子組換えをもたらすと考えられていない。

#### 第 3.1 条

この指令は、別紙|B に列記された遺伝子組換え技術を通じて取得された生物には適用されないものとする。

### 別紙|A

#### 第 2(2)条に参照された技術。

##### 第 1 部

第 2(2)(a)条に参照された遺伝子組換え技術は特に：

- ・ 生物の外で何らかの方法で作られた核酸分子をウイルス、細菌プラスミド又は他のベクターシステムに挿入し、それを、その中で自然には起きないが、その中で継続的繁殖の能力がある、宿主生物に組み込むことによる遺伝物質の新しい組み合わせを含む組換え核酸技術。
- ・ マイクロインジェクション、マクロインジェクション及びマイクロエンキャプシュレーションなど、生物の外で準備された遺伝性物質を直接生物に導入することを含む技術。

(3) 遺伝性の遺伝物質の新しい組み合わせを伴った生きた細胞が、自然には起きない方法で 2 つ以上の細胞の融合を通じて形成される細胞融合 (プロトプラスト融合を含む) 又は混成技術。

### 別紙|A

#### 第 2(2)条に参照された技術。

##### 第 2 部

第 2(2)(b)条に参照された遺伝子組換えをもたらさないと考えられている技術。但し、それらは組換え核酸分子、又は別紙|B によって除外されたもの以外の技術・方法で作られた遺伝子組換え生物の使用を含まない。

- ・ in vitro 受精、
- ・ 接合、形質導入、形質転換などの自然なプロセス、
- ・ 倍数性誘導。

## 別紙|B

### 第3条で参照されている技術

組換え核酸分子又は以下の技術・方法の1つ以上で作られたもの以外の遺伝子組換え生物の使用は含まないことを条件に、指令から除外されるべき生物を生じさせる遺伝子組換え技術・方法は；

- (1) 突然変異生成
- (2) 伝統的な繁殖方法で遺伝物質を交換できる生物の植物細胞の細胞融合（プロトプラスト融合を含む）

別紙2－新しい技術

新しい技術	概要
シスジェネシス/ イントラジェネシス	シスジェネシスは通常、従来の遺伝子組換えにより同じ又は近い関係（性的に適合性がある）の種からの完全な遺伝子配列の挿入を行う（別紙1 Aを参照）。挿入された DNA 配列（シスジェネ）は既に自然にゲノムの中に存在するかもしれない。イントラジェネシスは基本的にはシスジェネシスと同じであるが、導入される DNA は挿入前に「再編成(reorganize)」されている。
部位特異的な突然変異生成	<p><i>オリゴ特異的突然変異生成</i></p> <p>植物の培養細胞を DNA 配列に予測可能な変化を誘引する（極めて小さく、1 又は 2 bp）突然変異源として機能する DNA の短い破片（「オリゴ」。通常 20 - 100bp）に曝す。変化は「標的を定めて」いるので、新しい形質を作るには効果的な方法である。オリゴ DNA 分子は一時的にのみ存在し、宿主 DNA 配列（安定して遺伝する）の変化は宿主細胞 DNA 修理メカニズムの活動に由来する。（非植物システムでは、相同的組換えを通じてより大きな配列変化を起こすために ODM は使われることが出来る。）</p> <p><i>亜鉛フィンガーヌクレアーゼ(ZFN)特異的突然変異生成</i></p> <p>ZFN は、予め決められた遺伝子位置・配列の植物細胞の DNA に破損を誘引するタンパク質である。DNA 鎖が修理され（細胞自身のマシナリーを使って）ると、DNA 配列の変化（突然変異）が誘引され（例えば、bp の追加又は削減）選択される。</p> <p>ZFN タンパク質は通常 a)従来の遺伝子組換え b)プラスミド又はウイルスベクターからの一時的発現、を用いて細胞に届けられる。前者の場合、導入遺伝子は戻し交配によって最終製品から取り除くことが出来る。後者の場合、発現は一時的であり、最終的に選択された製品は ZFN 遺伝子は持っていない。ZFN は ODM に類似している。何故なら、タンパク質は DNA 配列に予測可能な変化（極めて小さく、1 又は 2 bp）を誘引する突然変異原として機能するからである。</p>
RNA 依存 DNA メチル化 (RdDM)	RdDM は遺伝子発現と植物表現型に安定的な変化を起こすことが出来るが、宿主の DNA 配列には変更はない。それよりも、

	<p>DNA 分子構造の変化が新しい形質・変更された特性を生じさせる。この種の変更は遺伝子外の組換えとして知られている。細胞培養と分子生物学的技術が開発の初期段階で遺伝子組換えの媒介物と一緒に使用されたかもしれないが、新しい遺伝子は最終製品には存在しない。</p>
逆繁殖	<p>逆繁殖による製品は、通常新しい・挿入された DNA は含んでおらず、従来の繁殖技術を使って、ずっとゆっくりではあるが、作ることが出来る。手短に言うと、エリートであるヘテロ接合の作物植物は通常、減数分裂時に染色体のクロスオーバーイベント数を減らす遺伝子によって遺伝子組換えされる。これら植物からの配偶子（その半分は導入遺伝子を持っていない）はそれから同型の植物（倍加単数体）を生じさせるために培養することが出来、その後エリートである親作物のヘテロ接合ゲノムを「再構成する」ために一緒に交配させられる。この技術は植物繁殖業界にとって極めて価値のあるものである。何故なら、結果としての子孫は特徴的に強化された活力を実証するからである。</p>