

ゲノム編集食品の安全性は どうやって確認されるの？

ソラニンを作らないゲノム編集じゃがいも 編

ソラニンを作らないゲノム編集じゃがいもは実際にはまだ届出にはなっていません。
本資料は、ソラニンを作らないゲノム編集じゃがいもを例に挙げ、届出・流通に至るまでにどのように安全性が確認されるかを想定して作成したものです。

～目次～

- ソラニンを作らないじゃがいもを作るには？
- ゲノム編集じゃがいもの作成
- ゲノム編集じゃがいもが流通するまで
- 開発されたゲノム編集食品が日本国内に流通するまでのフロー



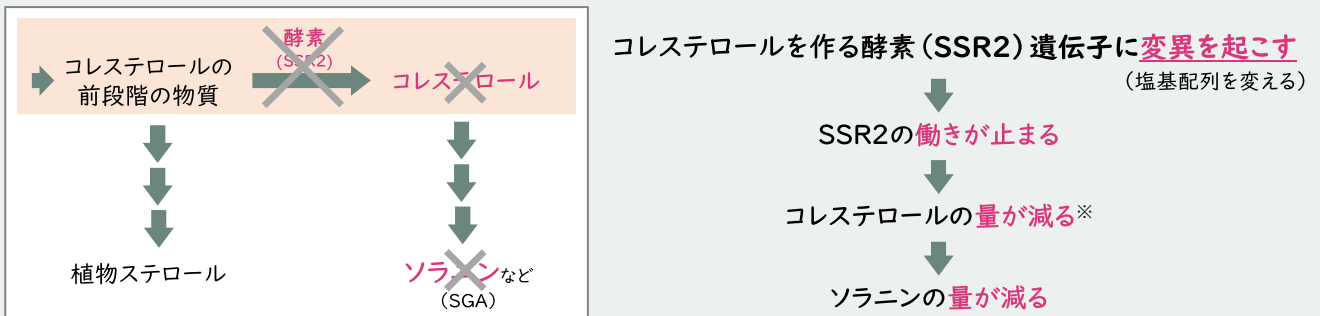
ソラニンを作らないじゃがいもを作るには？

じゃがいもの芽や皮にはソラニンなどの天然毒素※が含まれており、ソラニンによる食中毒は毎年発生しています。流通の途中でソラニンが増えないように注意が払われていますが、食の安全を確保するためにはソラニンを作らないじゃがいもの開発が望まれています。

※ソラニン、チャコニン、トマチンなどのステロイドグリコアルカロイド(SGA)

じゃがいものソラニンの量を減らすには？

ソラニンはコレステロールから生成されます。



※コレステロールはSGA共通の前駆体です。コレステロールが作られなくても植物に必要な植物ステロールは生成されます。

SSR2遺伝子に変異を起こす手段は？

突然変異

じゃがいもには同じ遺伝子が4つあるので、すべてのSSR2遺伝子に自然に変異が起こる可能性は極めて低い(これまでも起きていない)

ゲノム編集

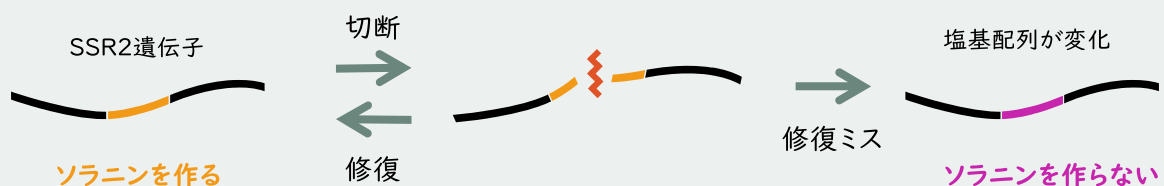
狙った遺伝子(SSR2遺伝子)をピンポイントで切断し、変異を起こすことができる

じゃがいものソラニンを減らすには、SSR2遺伝子に変異を起こす以外に、発芽を防ぐ方法も有効です。日本ではじゃがいもへ放射線を照射し発芽に係る遺伝子に変異を起こして発芽を防ぐことが認められています。

ゲノム編集とは？

目的の性質を得るために望ましくない働きをする**遺伝子を切断**する技術です。

遺伝子が切断されると、生物がもつ修復作用によって通常は正常に修復されます。しかし、修復ミスで異なる塩基配列に変化すると、遺伝子の機能が失われます※。



※遺伝子は、放射線や紫外線、生体内で発生する活性酸素などをうけて絶えず損傷しています。そのため、細胞には遺伝子の損傷を修復する機能があり、通常は正常に修復されます。修復ミスで遺伝子に変異が生じると、その遺伝子は働かなくなります。

ゲノム編集じゃがいもの作製

1



開発者

ソラニン生成に関する遺伝子 (SSR2遺伝子) のどこを切断するかを決めます。

遺伝子を切断する

ゲノム編集では、切断したい場所の塩基配列に結合する分子を作成すると、その分子が結合した場所を切断することができます。



SSR2遺伝子のどこを切断する？

切断したい場所に結合する分子が目的部位のみに結合するよう、他に同じ配列がない場所を切断するようにします。



1. 切断したい場所を決める



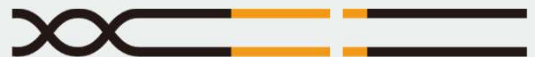
2. 切断したい場所に結合する分子を作る



3. 分子が結合した場所を切断する



4. 遺伝子上の目的部位が切断される



2



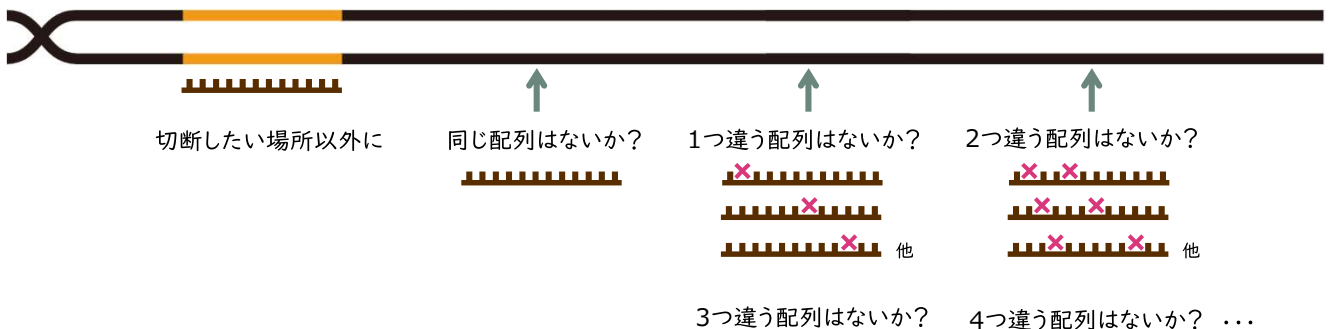
開発者

切断したい場所と似ている配列がゲノム上の他の場所に存在しないかを調べます。

じゃがいものゲノム情報は、世界中の誰もが利用できるデータベースに公開されています。そのゲノム情報を用いて、切断したい場所と似ている配列が他にないかを確認します*。

*必要に応じて複数の検索ツールを用いて似ている配列 (オフターゲット候補) を確認します。

- ・CRISPRdirect (<https://crispr.dbcls.jp>)
- ・Cas-OFFinder (<http://www.rgenome.net/cas-offinder>) など



もし似ている配列があれば、ゲノム編集後に切断されていないか確認します。

3



開発者

ゲノム編集を行い、SSR2遺伝子を切断します。

じゃがいものゲノム編集方法

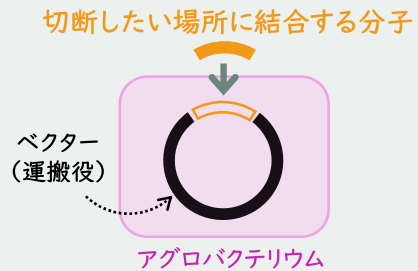
切断したい場所に結合する分子を、アグロバクテリウム※1によってじゃがいもの細胞内に入れます。

役割を果たした後の分子は除去されます※2。

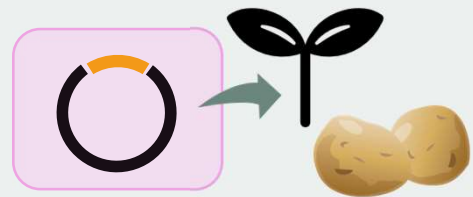
※1 アグロバクテリウムは、自分の塩基配列の一部を植物に送り込む能力がある土壌細菌です。切断したい場所に結合する分子の塩基配列を含むベクターをアグロバクテリウムに持たせて植物に送り込みます。

※2 一過的に目的タンパク質を発現させた場合は、細胞内にある酵素で分解されます。ゲノムに入った場合は交配などで取り除かれます。

1.ベクターに切断したい場所に結合する分子の塩基配列をつなぐ



2.アグロバクテリウムをじゃがいもの苗に感染させて、切断したい場所に結合する分子を送り込む



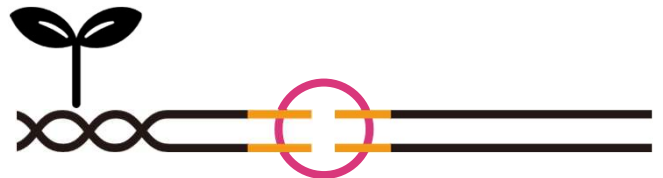
4



開発者

ゲノム編集後、SSR2遺伝子に変化が生じた個体だけを選び出します。

1. ゲノム編集後の苗を育てる
2. 苗からDNAを取り出す
3. SSR2遺伝子に変化が生じたかを確認する※
4. 変化が生じた個体だけを選抜する



※泳動パターンを確認すると、ゲノム編集で切断された後にDNAに変異が生じたかを識別できます。

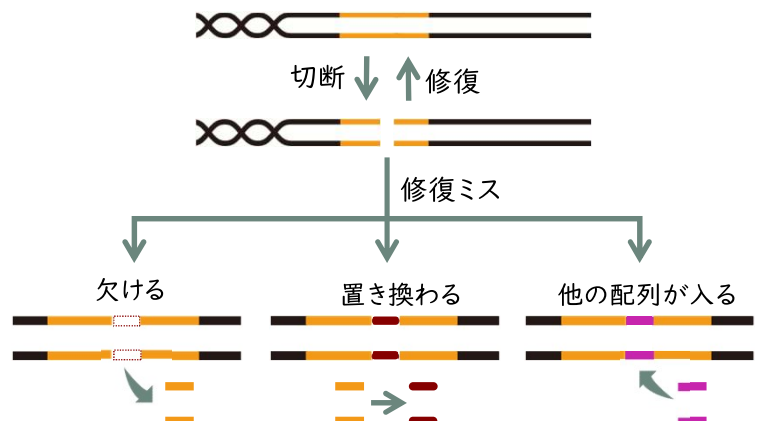
5



開発者

ゲノム編集でSSR2遺伝子の配列の変化を調べ、遺伝子の働きが失われたかどうかを確認します。

- 切断された遺伝子は生物によって修復されますが、その際、変異が生じることがあります。どのような変異が生じるかは予測できません。
- 配列にどのような変化が起きたのかを調べて、遺伝子が働かなくなったことを確認します。

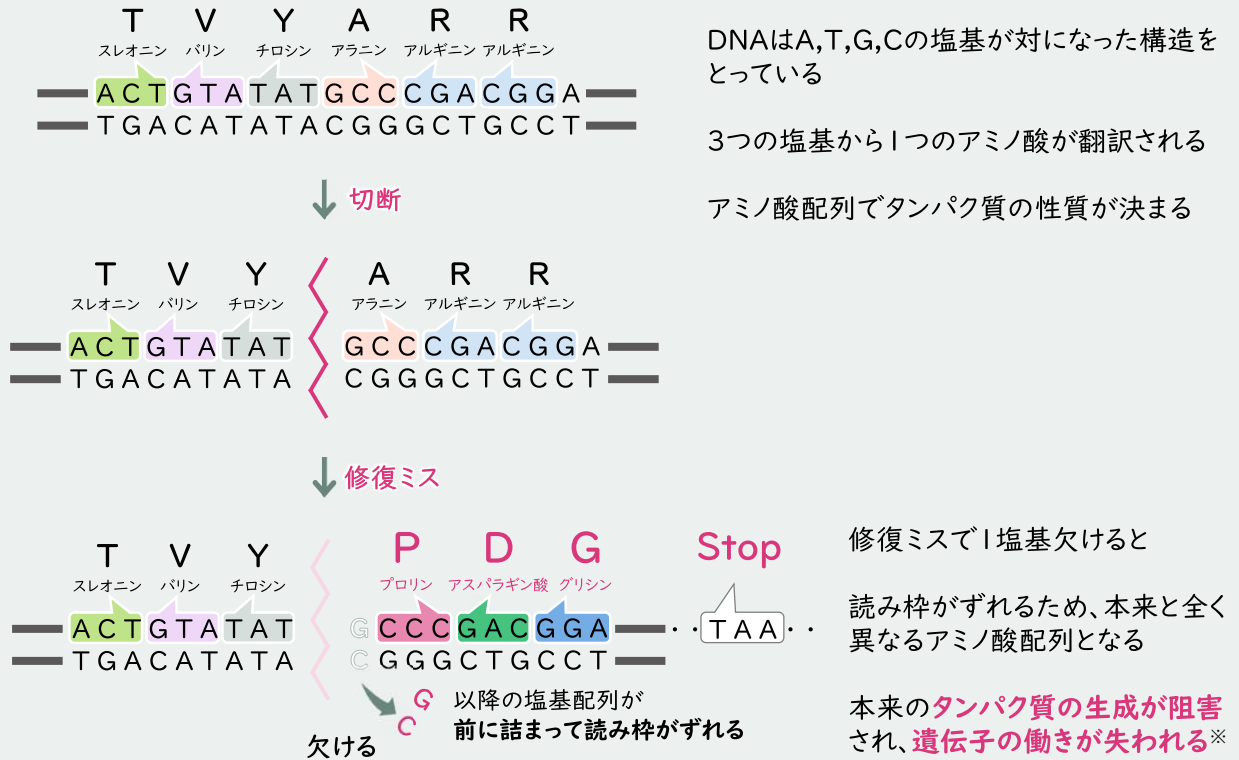


配列の調べ方

ゲノム編集されたじゃがいものSSR2遺伝子周辺の領域の塩基配列をすべて調べます。

- 切断した部分の塩基配列に欠失などの変化が生じていることを確認する
- 塩基配列が変化してSSR2遺伝子の正常な働きが失われたことを確認する

塩基配列の変化によって遺伝子の働きが失われる



※欠失ではなく置換の場合には、それ以降のアミノ酸配列が変化せず遺伝子の働きが失われなくてもあります。

6



開発者

配列の変化によってアレルギーの原因となる物質が生じないかを確認します。

アミノ酸の読み枠がずれたことで新しくタンパク質を生成する配列になっていないかを検索ツール※を用いて調べます。

※NCBIのOpen Reading Frame Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) など

アレルギーの原因となる物質の情報を集めたデータベース※を用いて、アレルギーを引き起こすタンパク質と共通する構造がないかを調べます。

※必要に応じて複数のアレルゲンデータベースを用いて確認します。

- ・メリーランド大学他のCOMPARE (<http://db.comparedatabase.org/>)
- ・ネブラスカ大学のデータベース (<https://farrp.unl.edu/resources/farrp-databases>)
- ・ADFS: Allergen Database for Food Safety (<https://allergen.nihs.go.jp/ADFS/>) など

7



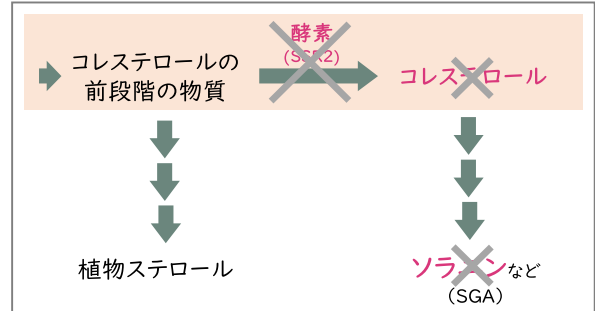
開発者

配列の変化によって他の毒性物質が生じないかを確認します。

SSR2遺伝子が働きを失ったことで外の毒性物質を生成する配列になっていないかをデータベース※を用いて調べます。

※NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)
UniProt (<https://www.uniprot.org/>) など

- SSR2遺伝子が毒性物質の生成に関わっていないか
- コレステロールの前段階の物質が増えて他の毒性物質が作られることはないか



8



開発者

切断場所と似た配列がある場合は、その配列を調べて変化が生じていないことを確認します。

ゲノム編集前にチェックした似たような配列をもつ場所の塩基配列を調べて、ゲノム編集前後で変化していないかを確認します。

9



開発者

アグロバクテリウムを除去し、除去されていることを確認します。

- アグロバクテリウムの除去
ゲノム編集後の苗をアグロバクテリウムが育たない抗生物質を含む環境で育てて除去します。
- アグロバクテリウムが除去されていることの確認
アグロバクテリウムが育ちやすい栄養に富んだ環境で育て、アグロバクテリウムが増殖しない(アグロバクテリウムが含まれていない)ことを確認します。

10



開発者

じゃがいものゲノムにじゃがいも以外のものが含まれていないことを確認します※。

※外来核酸(ベクター等)がゲノム編集じゃがいもに残存していないことの確認

ベクターが分解されてなくなっていることを2種類以上の方法で調べます。

PCR法	PCRでベクターの配列が増えないことを確認する
サザンブロットング法	ベクターのDNAが検出されないことを確認する
表現型からの解析	ベクターを含む場合に示す性質がみられないことを確認する
次世代シーケンサー	全ゲノム配列を読み、ベクターの配列が含まれていないことを確認する

11



開発者

実際に育ててみてソラニン含有量の減少を確認するとともに、通常のじゃがいもと比べて他に差異がないか※を確認します。

※形質(性質)が変化していないことの確認

- ゲノム編集じゃがいもは通常のじゃがいもと比べて
 - ・ ソラニン含有量が減っているか
 - ・ 生合成経路に関連する成分の含有量に差異がないか

ゲノム編集じゃがいもが流通するまで



開発者

1. 解析結果を添えて厚生労働省に事前相談を行う



3. 安全性が確認できるまで追加の資料の提出を求める



2. 安全性の確認が十分行われているかを確認する

事前相談



厚生労働省



遺伝子組換え食品等調査会



12



開発者

事前相談書類を作成し、解析結果の資料を添えて、厚生労働省へ事前相談を行います。

事前相談書類に記載する内容

- ① ゲノム編集食品の品名・品種、概要、利用方法、利用目的
- ② ゲノム編集技術の方法、改変の内容
- ③ 外来の遺伝子がないことに関する情報
- ④ 新たなアレルギー物質や毒性物質が増えていないことに関する情報
- ⑤ 関連する主要成分の変化に関する情報（代謝系に影響する改変の場合）
- ⑥ 上市予定年月（決定している場合）

解析結果の資料（例）

- ・ SSR2遺伝子の配列がどう変化したかを調べた解析結果
- ・ 電気泳動を行った際の泳動写真
- ・ 指定した場所と似ている配列の有無を調べた検索結果
- ・ 新たなタンパク質を生成しないかを調べた検索結果
- ・ アレルゲン性・毒性を持たないことを調べた検索結果
- ・ ソラニン含有量等の測定結果
- ・ それぞれの測定や解析方法の詳細

など

13



厚生労働省

事前相談資料を受け取り、調査会に安全性の確認を依頼します。

厚生労働省は事前相談の資料に不備がないことをチェックした後、この分野に詳しい専門家からなる「薬事・食品衛生審議会（食品衛生分科会新開発食品調査部会遺伝子組換え食品等調査会）」（以下、調査会）に内容の確認を依頼します。

14



調査会

提出された資料をもとに安全性の確認に必要な解析が十分に行われているかを確認します。

調査会メンバーは提出された事前相談書類や解析結果資料の内容をチェックし、届出の条件※を満たしているか、安全性の確認に必要な解析が十分に行われているのかを確認します。

※届出の条件：外来の遺伝子を含まず、1～数塩基の変異

15 厚生労働省



指摘事項を伝え、追加の解析や情報を添えた書類の再提出を求めます。

調査会で書類の内容を確認した結果、十分に安全性が解析されていると判断できない場合は、さらなる情報の提出や追加の解析を求めます。

【事前相談資料の記載例と調査会からの指摘事項を想定して作成した一例】

※ここでは簡潔に例示していますが、実際の事前相談書類は複数ページにわたって詳細に書かれています。

1 開発した食品の品目・品種名及び概要（利用方法及び利用目的）

開発者側の申請書類の内容	調査会からの指摘事項
本ゲノム編集じゃがいもは、品種名〇〇じゃがいも（系統名□□）を改変して開発したソラニン低減じゃがいもである。	
コレステロールの前駆体からコレステロールを生合成する酵素（SSR2）の遺伝子機能を失わせることで、コレステロールから合成されるソラニンの量を減らした。	・詳しい代謝経路に関する資料を提出してほしい
ゲノム編集じゃがいもの利用方法はこれまでのじゃがいもと同様であり、食用として利用される。	

2 利用したゲノム編集技術の方法及び改変の内容

開発者側の申請書類の内容	調査会からの指摘事項
アグロバクテリウム法により品種〇〇じゃがいもの細胞内へゲノム編集に必要なツール（切断したい場所に結合する分子）を入れ、SSR2遺伝子に変異をおこした。	・どのような配列のベクターを用いてゲノム編集を行ったのか？
切断場所はSSR2遺伝子の□□の領域である。△個の個体にゲノム編集したところ、◇個の個体に1塩基欠失の変異がみられ、ソラニンの含有量が減っていることを確認した。	・SSR2遺伝子のどこに改変を加えたのか、切断されて変異が生じた場所の配列がわかる図を提出してほしい ・どのようにソラニン含有量を測定したか？何個体を調べて、その結果それぞれの測定値はどうだったか？データベースなどを参考にすると栽培条件下の変動の範囲内か？
その後◎年間ゲノム編集じゃがいもの苗を育て続けても、遺伝子の変異は維持されている。形質は遺伝的に安定である。	

その他、これまでに行われた研究報告からわかっている情報を適宜引用し、用いたゲノム編集技術の種類と実際に行った操作、SSR2遺伝子の詳細なども書類に記します。

3 外来遺伝子及びその一部の残存の確認に関する情報

開発者側の申請書類の内容	調査会からの指摘事項
<p>アグロバクテリウムによって一過的に目的タンパク質を発現させる方法を用いているため、外来遺伝子はじゃがいものゲノムに挿入されない。外来遺伝子が残存していないことは、PCR法、サザンブロッティング法、表現型からの解析により確認した。</p>	<ul style="list-style-type: none"> PCR法で用いたプライマーの位置やその塩基配列はどうだったか？すべてをカバーするように設計されているか？コントロールやネガティブコントロールには何を用いたか？泳動写真を提出してほしい サザンハイブリダイゼーション解析のプローブの位置はどこか？目的の断片が検出されたか？シグナル検出の画像を提出してほしい
<p>アグロバクテリウムは抗生物質〇〇を含む培地で培養して除去した。除去後、アグロバクテリウムが増殖しないことを確認した。</p>	<ul style="list-style-type: none"> アグロバクテリウムの除去はどのような条件で行ったのか？ 除去後、どのような条件でアグロバクテリウムの増殖の有無を確認したのか？

各試験法で分析はどのような条件で、どの機器を使用して行ったか等を、補足資料に記します。

4 確認されたDNAの変化がヒトの健康に悪影響を及ぼす新たなアレルゲンの産生及び既知の毒性物質の増加を生じないことの確認に関する情報

調査会からの指摘事項	調査会からの指摘事項
<p>SSR2遺伝子以外が切断されないかを調べるため、切断したい場所に似た配列の有無を〇〇のデータベースを用いて検索した。□塩基の配列が異なる場所が△箇所あったので、その配列を調べ、変化していないことを確認した。</p>	<ul style="list-style-type: none"> 配列が変化していないことを示すシーケンスの確認はどのように行ったのか？PCRの結果を波形データとして示してほしい 複数のデータベースを用いたか？
<p>切断場所周辺で新たなタンパク質が生じる可能性がないかを◇◇ツールを用いて調べた。アレルゲンが生じる可能性がないかを◎◎ツールを用いて調べたところ、新規アレルゲンはみられなかった。</p>	<ul style="list-style-type: none"> 新たなタンパク質が生じる可能性はどのような条件で検索し、その結果どうだったのか？ アレルゲン解析ツールの検索条件は？ 複数のアレルゲン解析ツールを用いて確認すべきである
<p>SSR2遺伝子は毒性物質の生合成に関わっていないので毒性物質は増えないと予想される。</p>	<ul style="list-style-type: none"> じゃがいもに含まれる他の毒性物質（レクチンなど）の含有量に変化がないか実際に確認すべきである

切断したい場所に似た配列（オフターゲット候補）の有無を調べた検索結果と、ゲノム編集によってその配列に変異が生じていないかを調べた結果等を補足資料として提出します。

5 特定の成分を増加・低減させるため代謝系に影響を及ぼす変更の有無

開発者側の申請書類の内容	調査会からの指摘事項
代謝系に影響を及ぼす変更を行った。	・目的遺伝子周辺の生合成経路を示してほしい
通常のじゃがいもは太陽光にさらされるとソラニンが蓄積されるが、ゲノム編集じゃがいものソラニン蓄積量は極めて少なかった。	・どのような栽培条件のもとで比べた結果か？同一条件のじゃがいもを何個体調べているか？
ゲノム編集によってコレステロールの前駆体の含有量が増加することが考えられるが、植物ステロールの生合成に使われ、新たな有害物質が生じることはない。	・コレステロール前駆体や植物ステロールの含有量を調べたデータがあれば提出してほしい

通常のじゃがいもとゲノム編集じゃがいものソラニン含有量の比較データ等を補足資料として提出します。

16



開発者

指摘事項に対応する修正を加えた書類を作成して再提出します。

指摘事項に回答するため、開発者はさらなる解析を行うなど追加の情報を盛り込んだ事前相談書類を作成し、再提出します。

17



調査会

再提出された事前相談書類を再度確認し、さらなる指摘事項があれば追加の情報を求めます。

調査会で再び確認を行います。不十分な点があれば、開発者に書類の再提出を求めます。このやりとりは必要な確認がなされるまで繰り返されます。

18



厚生労働省

安全性が確認されていると判断できる場合は、申請者に届出書類を提出するよう求めます。

19



開発者

届出書類を作成します。

20



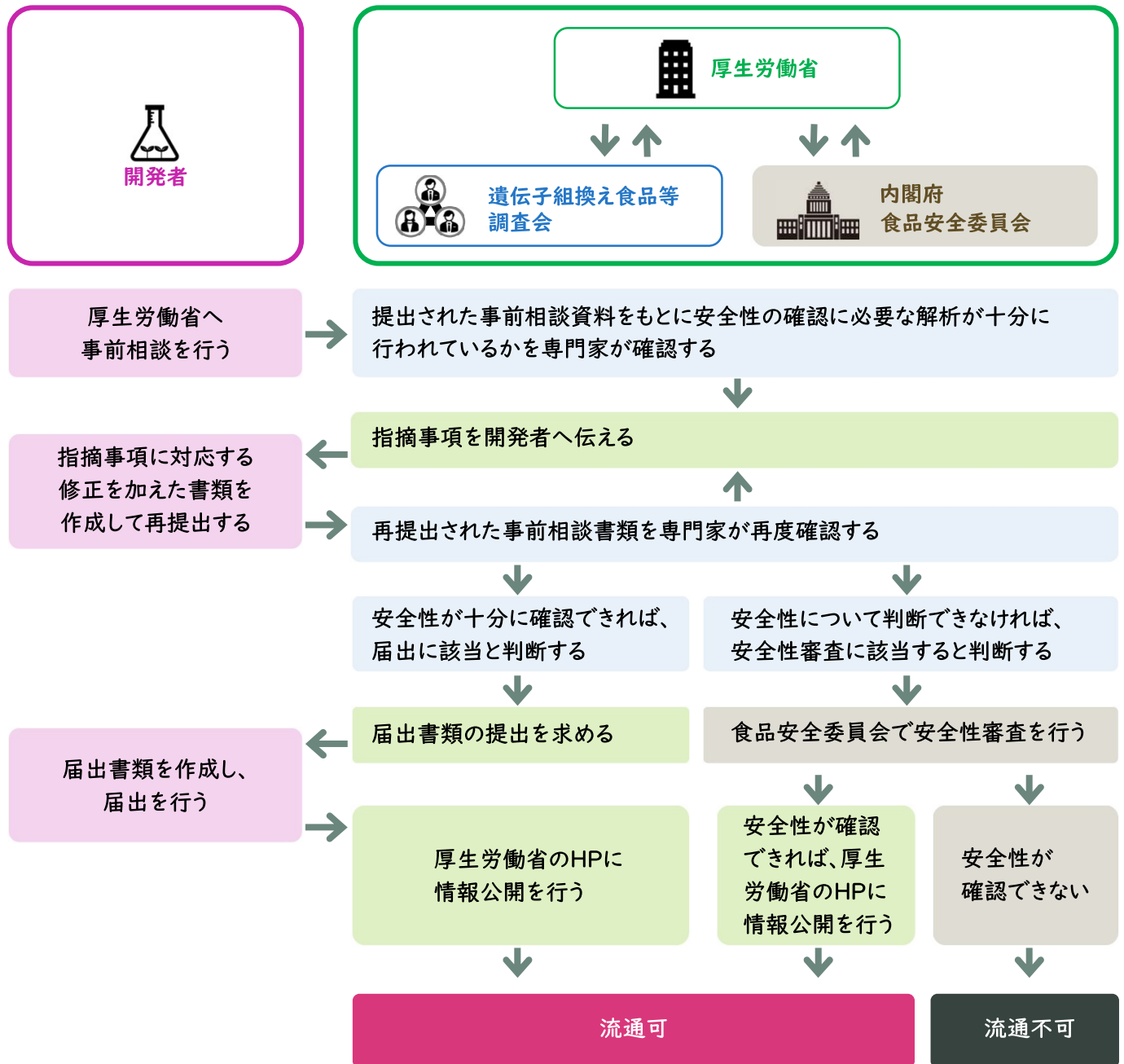
厚生労働省

届出を受理すると、厚生労働省のHPに届出情報を公開します。

21

ゲノム編集じゃがいもの国内流通が可能となります。

開発されたゲノム編集食品が日本国内に流通するまでのフロー



ゲノム編集食品の開発者は、必要な解析を行っています。
 開発時に十分な解析が行われたかを、事前相談で専門家が詳細にチェックします。
 安全性が確認されていると判断されたゲノム編集食品は、届出情報が公表された後、日本国内で流通可能となります。

※これまでに届出されたゲノム編集食品の届出書類は厚生労働省HPで確認できます。
 (https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/bio/genomed/newpage_00010.html)

【参考資料】

- 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 (厚生労働省HP)
- これまでに届出されたゲノム編集食品の公開資料 (厚生労働省HP)
- ゲノム編集技術の利用により得られた生物の使用等に係る実験計画報告書 (国立研究開発法人理化学研究所からの提出書類) (文部科学省HP)
- 秋山ら、生物の生長調節、52 (2)、92-98、2017
- 梅基ら、科学と生物、56 (8)、566-572、2018