

科学委員会
新しい植物繁殖技術に関する科学的見解

パリ、2017年11月2日
(2017年4月26日に科学委員会により採択)

目次

目次	1
概要	4
見解の範囲	4
見解への序文	5
NPBTsにより取得された植物と製品の評価及びトレーサビリティ	5
サプライチェーン共存のための意味合い (ファーム(農場)からフォーク(食卓)へ)	7
取得された製品の新規特性に関連する健康と環境への直接的リスク	8
NPBTsにより取得された製品の使用にリスクがある場合、 健康と環境へのリスクを予防又は制限するための管理手法	9
EUカタログと指令2001/18/ECの規定の間の中間的オプションに関する提案	10
1. 序論	12
1.1 背景	12
1.2 作業プロセス	13
1.3 突然変異と自然変異に関する最先端技術と質問	13
1.3.1 NPBTsの一般的性質	15
1.3.2 NPBTsが提起した質問	17
1.4 植物種での自然遺伝的変異	18
1.4.1 遺伝的変異の起源	18
1.4.2 遺伝的変異の結末：自然進化(人の介入無し)	19
1.4.3 ゲノム内変異の特性	19
1.4.4 種内及び種間変異	20
1.4.5 ヒトの選定と作物進化	20
1.4.6 狙った突然変異、オフターゲット突然変異と自然変異	21
2. 用語と技術の定義	

2.1	マルチプレックスゲノム編集と複数部位固有組換えの同時生産	22
2.2	SDN-1、-2 と-3 の境界線	23
2.3	デリバリーと標的細胞へのエフェクター挿入に関する考察	23
2.3.1	アグロバクテリウム腫脹バクテリアを使用した形質転換	24
	アグロバクテリウム腫脹バクテリアは植物によっては	
	クラウンゴール病を発症させる	24
	アグロバクテリウム	24
2.3.2	直接形質転換	24
2.4	組換え細胞と植物の選定とマーカー導入遺伝子の除去の方法	25
2.5	植物全体の再生	25
2.6	一時的又は安定した植物形質転換	26
2.6.1	SDNs	26
2.6.2	RdDM	26
2.7	DNA 配列変更と表現型間の関係	27
3.	NPBTs で取得された植物と製品の評価とトレーサビリティ方法 (照会の第 1 点)	28
3.1	背景	28
3.1.1	規制環境	28
3.1.2	定義	28
3.1.3	科学委員会のやり方	30
3.2	GMO に由来する植物と製品の検出	31
3.3	デリバリー技術の検出	33
3.3.1	アグロバクテリウム	33
3.3.2	直接形質転換 (プロトプラスト、バイオリスティック等)	33
3.3.3	ウイルス	34
3.4	エフェクター検出	34
3.5	NPBTs で取得した植物と製品の検出の概要	34
3.5.1	NPBTs 検知、特定及びトレーサビリティに関する裏付け書類	34
3.5.2	概要表	35
3.5.3	結論	39
4.	サプライチェーン共存のための意味合い (前の点に関連する照会の第 2 点)	40
4.1	最終製品対植物繁殖方法	40
4.2	指令 2001/18/EC がある NPBT で取得された植物を 除外すると解釈された場合	41

4.3 指令 2001/18/EC がある NPBT で取得された植物を 含むと解釈された場合.....	41
5. 取得された製品の新規特性に関連した健康と環境への直接リスク (照会の第 3 点)	42
5.1 望ましい形質に由来するリスク	43
5.1.1 以前遺伝子組換えされていない作物の組換えに伴うリスク	44
5.1.2 潜在的な新規形質に伴うリスク	45
5.1.2.1 種の中の新規形質.....	45
5.1.2.2 新規形質 (合成生物学)	46
5.2 NPBTs に固有の意図しない影響によるリスク	46
5.2.1 エフェクター持続性に伴う意図しない影響.....	46
5.2.2 オフターゲット組換えと意図しないゲノム組換えに伴うリスク	47
5.2.3 狙った組換えに伴うリスク	49
5.3 NPBTs の効率と使用の技術的容易さによる繁殖の潜在的促進に伴うリスク	50
6. NPBTs によって取得した製品の使用にリスクがある場合、その使用による 健康と環境へのリスクを予防又は制限するための管理手法 (第 3 点に関連して照会の第 4 点).....	51
7. 社会経済的意味合いの評価を盛り込み、EU 地域で NPBT の使用を 規制するために有益と思われる EU カタログと指令 2001/18/EC の 規定の間の中間的オプションに関する提案 (第 7 点に関連した)	52
7.1 当該 2 つのシステムの概要.....	52
7.1.1 公式フランスカタログへの登録.....	52
7.1.2 GM 植物固有の EU システム.....	52
7.2 中間的取り決めに関する議論.....	53
7.2.1 導入された形質を別にして相違・同等性の概念.....	53
7.2.2 手順：具体的評価の必要性に関する個別評価に基づくシステム.....	53
7.3 評価方法案.....	56
参考文献一覧.....	58
附属書類 I:照会.....	65
附属書類 II：フレーミングレター.....	67
附属書類 III：ワーキンググループのメンバーリスト.....	71
附属書類 IV：科学委員会のメンバーリスト.....	72

別紙 V : 間接的で非特異性のリスク.....	75
別紙 VI : 用語集.....	83

概要

NPBT¹という略語は、植物繁殖のための技術の全ての異種のセットを意味する。EU で現在議論されている主たる課題はこれらの技術の規制枠組みであり、それら技術は農業部門で大いに関心を集めている。このことは、NPBTs で取得された植物の環境と健康に関する評価について、そしてどのようにそれらを検出し、追跡し、必要であればラベル付けをするかについて多くの質問を提起させる。

HCB 科学委員会は、科学委員会のワーキンググループ²による報告書と 4 つの全体会議³での討議を基にしてこの見解を作成した。その与えられた役割⁴は以下に関して環境大臣と農務大臣から照会された質問に答えることであった。

- NPBTs によって取得された植物と製品についての評価とトレーサビリティの方法。
- サプライチェーン共存についての意味合い（上記の点との関連で）。
- 取得された植物と製品の**新規特性**に伴う健康と環境への**直接的**リスク。⁵
- NPBT によって取得された植物と製品の使用にリスクがある場合、健康と環境へのリスクを予防又は制限するための**管理手法**。
- EU 領域で NPBTs の使用を規制するために有益と思われる EU カタログと指令 2001/18/EC の規定の間の**中間的オプション**に関する提案。

見解の範囲

この見解で、HCB 科学委員会は EU レベルで現在討議されている全ての NPBTs を考慮した。⁶委員会はまた TALENs⁷や CRISPR/Cas⁹などの関連技術をも検討して、討議を全て

¹ New Plant Breeding Techniques（新しい植物繁殖技術）。

² 別紙 III を参照。

³ 便宜上、科学委員会は用語のあるものについては別紙 VI の用語集で定義している。

⁴ HCB 理事会の決定による。別紙 II を参照。

⁵ このように照会は、NPBTs に伴う直接的で具体的なリスクと、それらが作る形質について HCB に尋ねることに限定した。形質転換、ランダム変異又は従来の繁殖方法によって取得された植物と共有される特性に伴うリスクについてはこの見解の別紙 V で説明している。

⁶ オリゴヌクレオチド主導の突然変異生成(ODM)、ジンクフィンガー・ヌクレアーゼ(ZFN)、シスジェネシス、イントラジェネシス、GM と非 GM 植物の接ぎ木、アグロ浸潤、RNA 依存 DNA メチル化(RdDM)を使用した遺伝子外組換え、及び逆繁殖（2006 年にオランダによって作成された技術一覧：ファクトシート参照。）

⁷ Transcription activator-like effector nucleases

⁸ Clustered regularly interspaced palindromic repeats/CRISPR-associated protein 9)

のヌル分離個体の使用及び RNA 干渉とこれらの技術のいくつかにより複数標的を一回で組替える機会の使用にまで広げた。この見解は農業的関心のある植物への NPBTs の使用に関するものである。

見解への序文

見解への導入において、科学委員会は作物種における自然な遺伝的変異の問題を取り上げている。科学委員会はまた特に **site-directed nuclease=SDN**（部位特異的ヌクレアーゼ）を使用して取得される突然変異の種類について説明している。自然の突然変異と比較し、そのように作られた品種のために検出、トレーサビリティ、評価及びリスク管理の問題を検討するために、ある NPBTs、特に SDN、によって取得できる突然変異を特性化するためにこの点は重要である。

科学委員会は、SDN 技術によって得られた突然変異はそのゲノム・ターゲティングによって定義されることに注目している。委員会はその見解の中で、狙った突然変異生成技術は、従来の突然変異生成技術又は自然に起きることによるもののように、希望しない（オフターゲットの）突然変異、機能の面で依然として特性化が不十分なゲノム配列を組み換えることが出来る突然変異、に関連しているかもしれない、と言っている。

見解は次に、照会に含まれている問題点を検討している。

NPBTs によって取得される植物及び製品のための評価及びトレーサビリティの方法

最初の質問は、NPBTs で取得された製品が従来の作物繁殖方法を用いて取得した製品と判別できるかどうかを見極めようとするものである。

もし公的機関が NPBTs によって取得された製品の共存規則と分子トレーサビリティを定めることを考慮するのであれば、⁹その取組みは NPBTs で取得されたものを判別する能力に大いに依存することになる。しかしながら、これらの技術のあるものは、取得された組換えが極めて確認し難いのである。

科学委員会は各種 NPBTs から取得した植物のトレーサビリティに関して考慮すべきものとして 3 点を決めた。

- ・ DNA（突然変異：挿入、欠失、置換等）の中の分子特性の検出可能性。

⁹ 遺伝子組換え植物(GMP)のためのものと同じ線に沿って。

- ・分子特性の根底にある技術の特定：もし DNA の分子変更が判明した場合、使用された技術までさかのぼることは出来るだろうか？
- ・食品加工と生産の日常的で実際的なスクリーニング：現在のスクリーニングツールを前提として、検出と同定の観点からの限界は何か？

更に、自然に起きる自然変異とランダムな突然変異の存在が（上記「見解への序文」を参照）、果たして NPBTs が実際に作物の繁殖に使用されたのかという問題を複雑にする可能性がある。

以下のアイデアが科学委員会での議論で提示された。

- ・組換えに関する情報無しには、ある導入遺伝子を検出するために分子ツールが使用される遺伝子導入植物の場合と違って、SDN-1、SDN-2、ODM、幾つかの SDN-3 技術、¹⁰RdDM、GM 植物への穂木の接ぎ木、そしてヌル分離個体によって取得されるものなど、NPBT によって取得される特定の製品の中の組換えを検出することは不可能であることに、科学委員会は注目している。
- ・更に、遺伝子導入植物の場合のように、NPBT によって取得された植物の検出が最終製品で又は生産の各種段階において可能である場合、混合の複雑さによっては、検出の技術的限界と組み合わされたサンプリング・バイアスが組換えによっては検出する能力に影響を与えることに、科学委員会は注目している。
- ・組換えられた遺伝子又は配列が分かっている場合に、分子変更が検出可能で定量化も可能であっても、その製品の DNA を調べるだけで組換えのために使用された元の技術を特定することは極めて困難であろう。遺伝子導入植物の場合のルールであるが、ブリーダーによる使用技術の通知と組換えを特定するための方法の利用可能性とが相まって、状況を是正する助けになるであろう。
- ・しかしながら、この情報が入手可能であると想定したとしても、以下のケースでは検出は不可能になってしまうだろう。接ぎ木のうちのある種類、ヌル分離個体¹¹、そして製品の混合が行われる処理チェーン(processing chain)。
- ・最後に、閉鎖環境での植物発生段階において、NPBT によってはエフェクター¹²が使用される。エフェクターDNA の断片の持続性は、トランスジェニックとなる植物を発生させるかもしれない。その導入遺伝子のために容易に同定出来てトレース出来るこれらの遺伝子導入植物は、閉鎖環境での GMO 要件の対象となり、これらエフェクターが植物に残っているか、これら植物の製品が市場に提供される場合は、その後指令 2001/18/EC の

¹⁰ 主としてシスジェネシスを通じて SDN-3 によって取得された植物。

¹¹ 遺伝子導入植物の非トランスジェニックの子孫（ファクトシート参照）。

¹² エフェクター：植物に望ましい組換えを実現するために使用される分子（タンパク質又は核酸(RNA 又は DNA)）（用語集、別紙 VI 参照）

対象となるであろうことに、科学委員会は注目している。従って科学委員会は、市場に提供されるエフェクターの無い(effector free)植物を重視することにしたのである。

従って：

- ・ 検出可能な遺伝子組換えを発生させるが明確に NPBT によるものとは言えない技術については、科学委員会は組換えに関する正確な情報が入手出来る場合と組換えについての情報が無い場合とを区別している。
 - 組換えに関する正確な情報がブリーダーによって提供される場合：この場合、分子(DNA)のトレーサビリティーは理論的に可能で、組換えに関する情報を伴った製品は、サプライチェーンを通して分子的に同定出来る¹³。しかしながら、ヌル分離個体と接ぎ木のあるケースでは、組換えを同定することは依然として技術的に困難である。同様に、非 GM 技術によっても実現出来る組換えについては、分子アッセイのみでは製品をもたらす可能性のある方法の間で区別が出来ない。書類上のトレーサビリティーのみがこれを可能にする。
 - 組換えについて情報が無い場合：この場合、SDN-1 と SDN-2、ODM と RdDM¹⁴について HCB 科学委員会は、正確なトレーサビリティーデータが無ければ、最終製品を特性化する分子方法が、製品が従来の方法で繁殖された植物から取得されたのか誘発された突然変異生成によって取得されたのかを検出出来ないので、トレーサビリティーは非常に複雑になるか時には不可能にさえなる、と結論付けた。
 - DNA 挿入（又は置換）技術（SDN-3、cis/intragenesis）については、GMO で使用したものと類似の検出方法が導入されても良いが、例えば SDN-3 とシスジェネシスのような組み合わせの場合、時に解釈が複雑になるかもしれない。

サプライチェーン共存のための意味合い（ファーム（農場）からフォーク（食卓）へ）

1つ以上の NPBT サプライチェーンと他のサプライチェーン（従来の、「GMO 無し」、有機栽培の、他）について共存政策が導入された場合、科学委員会はそれを実施することは実現可能であるか否かを質問した。委員会が設定したシナリオは利用可能なオプションを反映している。これら複数オプションのどれを選択するかはサプライチェーンと公共機関の問題である。

科学委員会は、商業用サプライチェーンの検出能力とそれらが共存する能力に重点を置いて、いくつかのシナリオを描いた。

¹³ 測定の限度内で、そして植物に適用された工業プロセス(industrial processing)の影響如何で。

¹⁴ RdDM のある形式では導入遺伝子の発現を必要としないので。

- ・第一に、**最終製品にのみ関心を持っているサプライチェーンについては**、繁殖技術に関係無く、¹⁵そのサプライチェーンが NPBTs により取得された製品が含まれているのかわからないのかによって定義されたのかは必ずしも問題ではない。
- ・**植物繁殖方法に関心を持っているサプライチェーンについては**、ある NPBTs によって組換えられた植物の分子検出は常にオプションではないが、作物の共存を規制する一助として書類によるトレーサビリティを導入しても良い。これらのサプライチェーンの仕様書を提案することは可能である。
- ・第二に、科学委員会は、もし指令 2001/18/EC がある **NPBTs を除くもの**と解釈される場合、製品の分子特性が書類のトレーサビリティを用いて区別される新しいサプライチェーンを設立することも出来る。
- ・もし指令 2001/18/EC がある **NPBTs を含むもの**と解釈される場合、特に NPBTs を使用する国々から輸入する製品について、又は NPBTs により取得された製品の偶発的存在の検出について、検出の問題が重要になり、技術的制約に大きく依存すると科学委員会は信じる。¹⁶
- ・共存政策が確立されるケースでは、**そして遺伝子組換えが検出出来る場合**、共存方法は共存に関する見解で示されている解析に基づくことが出来る、と科学委員会は指摘している。この方法は特に現場に該当する。

取得された製品の新規特性に関連する健康と環境への直接的リスク

リスクに関する照会の質問に答えて、科学委員会は NPBTs によって取得された製品の**新規特性に関連する直接的リスク**に重点を置いた。一方間接的リスクと他の繁殖方法(GM と従来の方法)と共通のリスクは別途列記している (見解の別紙 V)。

科学委員会は 3 種類のリスクを挙げている。

- ・その技術の最終製品への**意図しない影響** (例：エフェクターの持続とオフターゲットの組換え) に関するリスク。

¹⁵ 除草剤耐性など形質によっては特定の管理方法を必要とするかもしれないが。

¹⁶ 例えば、NPBTs によって取得された植物からの製品の存在についての規制上の閾値は検出能力に影響を与え、先に説明したように、場合によってはどの方法が使用されたかを判定することが出来ないことがある。

- ・これらの技術を使用して取得された品種のより速い生産とより速い培養に繋がる NPBT の使用の容易さに関するリスク。
- ・望ましい形質（新規形質、又は作物の新しい組換え）に関するリスク。

科学委員会は、新しい直接的リスクの中で、**技術的に回避可能な**エフェクター¹⁷の存在に関連するものが主たるリスクであるとの結論に達した。科学委員会は、エフェクターが存在しないことを確認することを推奨している。その確認は技術的に可能なのである。科学委員会は、植物ゲノムの中でのエフェクターの持続がその植物をトランスジェニックにすることに注目している。

その他のリスクは技術の**効率、速さ、そして複数の遺伝子組換えを一度に実現するオプション**（マルチプレックスゲノム編集）及び**新規形質**¹⁸を取得する可能性に関係している。

- 新しい品種のための繁殖プロセスの促進は農業改善の一要素かもしれないが、リスクも伴う。それは経済学的、社会的又は生態学的であろうと、農業生産と食品加工システムに影響を与える。従って、新しいバランスが働くことになるので、環境を規制する生態系サービスを含む機能する生態系と動態にプラスに又はマイナスに影響する可能性がある。
- 更に、NPBTs は農業的生態系に影響してこれらの技術により取得された新しい品種の採用を促進するが、生物学的多様性と関連する生態系サービスにとって新たな調整の問題をもたらす可能性もある。これらの遺伝子組換えが作物品種と性的に適合する野生の種に広まった場合、これらの問題はこじれるかもしれない。
- 望ましい**新規形質**に関連するリスクについては、科学委員会は**新規形質**を、その種自身及び・又は関連種に既に存在していない全く新しい形質の品種への導入と定義している。¹⁹この場合、科学委員会はいかなる**具体的なリスク**をも**特定出来ない**のである。何故なら、**その名の通りそれらの形質は今まで記述されたことが無いから**である。従って科学委員会は、その形質自身とそれが導入された種を考慮して**個別で評価**することを推奨している（以下を参照）。この関連で、科学委員会は予想外の生態系影響の可能性を議論している。その影響は新規形質の場合、植物の代謝作用を劇的に変更して大きいかもしれない。

¹⁷ エフェクターとは植物の中で希望する組換えを実現するために使用される分子（タンパク質又は核酸（RNA 又は DNA））である。

¹⁸ 新規形質の定義は別紙 VI の用語集にある。

¹⁹ 例を挙げて言うと、他の方法で既に取得された除草剤耐性形質は新規形質ではない。この特定のケースでは、使われた技術にかかわらず、除草剤が使われた方法について分野横断的な議論の余地がある。

-最後に、科学委員会は方向性をもったアプローチ（SDN と ODM）を用いたオフターゲットのゲノム組換えの問題を取り扱った。標的地域外での突然変異は、場合によっては植物の表現型に意図しない影響を及ぼすかもしれない。科学委員会は、技術的進歩の結果このようなオフターゲットの変更は大きく減少していることに注目した。委員会はまた、オフターゲットの変更はその他の幅広く使用されている規制外の技術でも見られることに注目している。後者（規制外技術？）はまた選択されたサイト外での突然変異をも誘発させる。科学委員会は、希望しない表現型効果を伴うオフターゲットの突然変異²⁰は一年生植物の場合戻し交配で排除することが出来る、と付け加えた。それにも関わらず、科学委員会は、多年生植物又は主として栄養繁殖を通じて繁殖する植物にとっては、これは難しい又は不可能でさえあることに注目している。この場合、個別でその他の分子データを要求しても良い。

**NPBTs によって取得された製品の使用にリスクがある場合、
健康と環境へのリスクを予防又は制限するための管理手法**

リスク管理手法が必要である場合、科学委員会は、それらの手法が以下に述べた提案に基づいて実施される評価の結果の観点から導入されることを提案する。²¹

エフェクターの存在に関連するリスクについて

エフェクターが依然として存在している植物は遺伝子導入植物である。指令 2001/18/EC は、このような植物は評価と適切な管理手法（調査と販売後監視を含む）の対象とすべきであると定めている。

オフターゲットの組換えに関連するリスクについて

より一般的には、科学委員会はブリーダーが形質をある種に導入する場合にいくつかの戻し交配を行うことを承知しており、このことがオフターゲットの組換えに関連するリスクを著しく減じるはずである。オフターゲットの突然変異に関連して望まれない効果が見られた場合、市場に提供される植物からそれを除外するために戻し交配を科学委員会は推奨する。

²⁰ NPBTs によって既に変更された植物に技術が使われた場合を含み、これは従来の種の繁殖の中で又は NPBTs によって取得された植物の中に現れた全ての望まれない突然変異に当てはまる。

²¹ 見解のセクション7を参照。

見解で定義された新規形質について

真に新規特性を持った植物の場合には評価が行われなければならない。この評価は導入された形質による。関係書類が検討された後、形質と種によって、評価は閉鎖された環境（生態的相互作用、特に生物学的多様性²²、を研究するために *in vitro* 又はメソコスムで）及び・又は圃場試験で行うことが出来る。

高速繁殖に関連するリスクについて

特に性的に適合する関連野生種への散布に関して、これらの植物の使用の結果起きるかもしれない農業生態系の変化のペースを制御するために、必要であれば新規形質をもった植物を時間と空間をかけた漸進的展開を伴った局地的管理が推奨されなければならない。

生物学的モニターについて科学委員会は以下の管理手法を提案する

直ちには特定できないその他のリスクを制限するため、科学委員会は新規形質（マルチプレックスゲノム編集によって取得されたものを含む）について生物学的モニターの導入を提案している。このモニタリングはこれらの種が複数年の間隔を置いて広く市場に提供された場合の行動について、特に生物学的多様性の効果について知識を得ることを可能にする。現在の農業行為に関する生物学的モニターシステムとネットワークは、これらの要件に適合させるべきである。これから定められる期間の後、そして得られた所見により、生物学的モニターが継続されるべきか否かについての評価が必要である。

最後に、科学委員会は NPBTs によって変更されなかった各種²³について長期的保存と遺伝子プールの管理の必要性を強調している。

EU カタログの規定と指令 2001/18/EC の規定の間の中間的オプションの提案

現在の取り決めに概説した後（GMP のリスク評価を求める指令 2001/18/EC と、培養、使用と環境についての品種の価値の評価を求める公式カタログへの登録）、科学委員会は中間的オプションの可能性を検討した。

公共政策立案者の承認に従い、ブリーダーは所轄官庁に彼らの各製品に関する分子と表現型のデータを含む関係書類を提供しなければならない、と科学委員会は提案している。²⁴

²² 付属書 VI を参照。

²³ 生物学的資源センターは NPBTs によって取得された種の展開を考慮しなくなる。

導入された組換えにより、また使用履歴を考慮して²⁵、分類手順は、評価が免除されていない GMO の評価、²⁶ 中間的評価の新しい形、又は（免除された GMO と従来の繁殖の場合のように）特定の評価からの免除を必然的にもたらずかもしれない。²⁷ これらのオプションは要求された情報と行われた評価を使用された技術、植物に付与された形質、に適応させることを可能にするだろう。CTPS、²⁸ANSES、²⁹InVS³⁰そして HCB などの機関はこの分類手順に国のレベルで参加することは可能である（それは EU レベルでの決定と一致するはずである）。

NPBTs の現在の発展段階に関わらず、科学委員会は、それが指令 2001/18/EC の意味での GMO にならない限り、評価システムを決定するのはその中に使われている技術だけではない、と信じている。異なる方法で取得されたその他のものから区別できない植物や製品を作る技術について、そのうちの一部は規制されていないかもしれないが、科学委員会はこれらの植物と製品の評価を、それらの形質及び特にそれら形質の新規性に関して行うこと、を推奨している。

1. 序論

1.1 背景

2016 年 2 月 22 日、「バイオテクノロジーに関する高等評議会」は、新しい植物繁殖技術(new plant breeding techniques=NPBT) (別紙 II) について環境・エネルギー・海洋大臣、Ségolène Royal、農業・食品加工業及び森林大臣、Stéphane le Foll、から意見を求められた。そこで HCB 理事会はその 2 つの委員会のためのガイドラインを示した書簡案を作成した。(別紙 II) その構成が HCB 議長、科学委員会及び事務局からの提案について理事会によって承認されたところの特別ワーキング・グループ(WG)が設立された (WG の構成は別紙 III を参照)。4 回の会議の後、WG は科学委員会での議論のために背景に関する情報を提供すべく報告書を提出した。その報告書は 2016 年 7 月 13 日の科学委員会の会議で検討され、2016 年 7 月 13 日、9 月 21 日、10 月 27 日及び 11 月 23 日に開催された科学委員会の議論の基となり、この科学委員会の科学的見解案となった。

²⁴ 科学委員会見解で要求される分子データを参照。

²⁵ 表現型が存在して農業に使われているのであれば。

²⁶ 指令 2001/18/EC に定められている通り。

²⁷ しかしながら、科学委員会は、植物繁殖に関する技術委員会(CTPS)による評価とそれに続くフランスの公式カタログへの登録は、その種を市場に提供するための要件である、と指摘している。

²⁸ 植物繁殖に関する技術委員会。

²⁹ 食品、環境及び労働衛生及び安全性に関するフランスの省庁。

³⁰ フランスの健康モニター機関（今は公衆衛生フランスの一部）。

作業プロセスと提起された問題の内容に移る前に、以下の点を指摘したい。

HCB 科学委員会の役割は、意見を求められた課題についての科学的側面を明確にすると共に、政策的選択の問題である規制と法律的オプションを提示することである。

委員会の科学的見解は経済、倫理及び社会委員会（Economic, Ethical and Social Committee=EESC）からの勧告とも合わされて HCB 見解となる。

以下の評価を読むに際しては、HCB 科学委員会は殆どこれら新しい植物繁殖技術(NPBTs)の使用に伴うリスクの特定のみに関する照会を扱ってきたことを念頭に置くこと。これらの技術によって取得された植物の栽培に関する情報を得た上での決定の目的のため、この評価は価値連鎖を通じての科学的及び農学的進歩及び NPBTs によって取得された植物の生産から生み出されるかもしれない利益を考慮しなければならなかった。

この科学的見解が農業的関心のある植物の栽培種に適用されることを指摘しておくことは重要なことである。従って、NPBTs はここでは野生種の組換えよりも栽培種の繁殖について議論されている。この見解は、研究所を超えて生育する農業的に関心のある植物を繁殖するためにこれらの技術を使うことに関するものである。このように、HCB 科学委員会は、この見解が解放的な耕作地で育成することが出来る植物に関するものであることに注目している。³¹ 植物品種のフランス公式カタログへの登録を意図していない中間植物であって研究目的のために研究所又は閉鎖された温室で育成されるものは、この見解の対象ではない。研究所での植物の組換えは、研究開発作業を管轄する規則の下で具体的なモニター及び報告の対象である。

科学委員会は、全ての農作業、特に作物地域を変更するもの又は自然又は合成分子の使用を伴うもの、は野生種が生息するバイオトープの発達に影響することに注目している。

1.2 作業プロセス

この科学的見解は、科学委員会の会議での討議を反映させるべく作成された。³² 最初の見解案は WG の報告書を基に事務局によって提出された。論争となった点も含め、会議で行われた討議は関連するセクションに反映されている。科学委員会は、「NPBTs に関する科学

³¹ 研究室での栽培について、フランスの規則（遺伝子組換え生物の封じられた中での使用に関する 2011 年 9 月 23 日の法令第 2011-1177 号）は操作に関する報告と組換え生物の適切な封じ込めを求めている。

³² 2016 年の 7 月 13 日、9 月 21 日、10 月 27 日及び 11 月 23 日開催。

委員会の中間報告」に添付された全ての討議された技術に関するファクトシートも更新した。科学的見解は照会の中で科学委員会に送付された質問の順番で構成されている。

1.3 突然変異と自然変異に関する最先端の科学技術と質問³³

新しい植物繁殖技術(NPBTs)の設計と使用と共に、新しい植物技術の急速な拡大は、多くの質問を提起する。ヨーロッパでの現在の NPBT 論争は、「新しい」遺伝子繁殖法の使用により取得された製品の規制枠組みを中心としている。というのは、それらが GMO 指令の対象であるか否かに疑問があるからである。³⁴これらの技術が採用されていくのであれば、この疑問を解決することは重要であり、危機的でさえある。サプライチェーンと消費者を含め、全ての関係者にとって言葉と説明が明確であることも重要である。

この主題の歴史から、³⁵議論されてきた技術のリストは異種³⁶であり「新しい植物繁殖技術(NPBTs)」という一般名称は混乱を起こさせるかもしれないことを指摘しなければならない。そこで：

それらは全て植物繁殖に適用されるが、検討される技術は必ずしも植物界固有ではない。例えば、部位特異的ヌクレアーゼ(SDN)とゲノム編集は、しばしば動物と医学にも使われる。

これらの技術は必ずしも新しくはない。接ぎ木は古い技術であるが、非遺伝子組換え(non-GM)穂木を遺伝子組換え(GM)台木に接ぎ木されたものは遺伝子組換えされたと見做すべきかどうかという疑問が生じる。

- ・ リスト条のあるものは技術そのものではないが、遺伝子工学の使用に繋がる。例えば革新的植物繁殖戦略（逆繁殖など）。これは規制の下での地位の疑問を生じさせる（ヌル分離個体の場合）。

³³ このセクションは分子遺伝子に関するいくつかの基本的情報を提供している。見解の他の部分と同様、そこに含まれている提案は作物に関するものに限ることを念頭に置くこと。

³⁴ GMO 使用に関する EU 指令は(1)遺伝子組換え生物の環境への計画的放出に関する指令 2001/18/EC と(2)遺伝子組換え微生物の封じ込めた状態での使用に関する指令 2009/41/EC である。

³⁵ 2006 年の COGEM による最初の報告書と、その後 EC の WG の設置及び委員会の共同研究センター(Lusser 他、2012 年)による平行調査で発見したことの高影響要素でのジャーナル(Nature Biotechnology)での公表。

³⁶ EC の WG で討議された NPBTs のリスト：オリゴヌクレアチド指向の突然変異(ODM)、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、シスジェネシス（イントラジェネシスを含む）、接ぎ木、耕地浸入、RNA 依存の DNA メチル化(RdDM)、逆繁殖及び合成ゲノミクス。読者はこれらの技術を説明したファクトシートを参照。

- NPBTs の組合せが可能であるという事実から更なる複雑さが出てくる（例えば、SDN-3 技術との標的を狙ったシスジェネシス）

EC で議論された NPBTs を基にして、この見解は以下に関するものである。³⁷

- i) ゲノムを標的にする NPBTs
 - a) 部位特異的ヌクレアーゼ (SDNs: ³⁸ZFN、³⁹MN、⁴⁰TALEN、⁴¹CRISPR⁴²/Cas9)
 - b) オリゴヌクレオチド指向突然変異生成(ODM、⁴³RTDS⁴⁴ など)
- ii) 遺伝子外の技術
 - a) **RdDM⁴⁵による遺伝子発現制御**
- iii) 遺伝子組換え技術を使用することに関する要素
 - a) 遺伝子組換え技術が使用されている具体的な状況
 - 1. **耕地浸入**
 - 2. 非 GM 穂木を GM 台木に、又は GM 穂木を非 GM 台木に**接ぎ木**。
 - b) 組替えられた配列の性質に関連する新しい概念
シスジェネシス・イントラジェネシス
- iv) 分離により遺伝子組換えが除去された組換え個体の子孫
 - a) 革新的繁殖戦略によって作られた**ヌル分離個体**（例：逆繁殖、各種加速繁殖法、種子生成技術など）

これらの技術によって与えられた形質の新規性について疑問が提起されるかもしれない。科学委員会は新規性を 2 種類に区別している。

- 他の種類又は他の関連する又は性的に相性の良い種の中で同定された色々な形質への導入。その意図は、アレル状態を導入することにより、既存の遺伝的多様性を高めることである。結果として、既に植物の中に存在する遺伝子配列の追加⁴⁶や遺伝子の機能の変更は無い。これは「種の中の新規形質」と呼ばれることになる。

³⁷ 個々のファクトシートで説明されている技術は太字になっている。追加のファクトシートは比較のために「従来」の遺伝子組換えに充てている。

³⁸ SDNs: Site-directed nucleases.

³⁹ ZFN: Zinc finger nuclease.

⁴⁰ メガヌクレアーゼ(MNs)は、WG がその技術が既に他の標的ツールに取って代わられたと考えたので、別紙のファクトシートには含まれていない。

⁴¹ TALEN: Transcription activator-like effector nuclease.

⁴² CRISPR: Clustered regularly interspaced short palindromic repeats.

⁴³ ODM: Oligonucleotide-directed mutagenesis.

⁴⁴ RTDS: Rapid Trait Development System.

⁴⁵ RdDM: RNA-dependent DNA methylation.

⁴⁶ シスジェネシスとイントラジェネシスについて追加の概念を明確にすることは重要である。遺伝物質が導入されるかもしれないが、挿入された遺伝子が種の中に異なるアレル状態で既に存在する又は同じ種の特定の品種に存在する。

- 種及び・又は関連する種の中に全く新しい形質の導入⁴⁷。新規形質ということは、遺伝子が問題の種の中に特定されてこなかった、又は既に存在する遺伝子の変更が種に新しい代謝経路又は新しい機能を導入するという事実に端を発している。これはこの見解では「新規形質」と呼ばれることになる。

1.3.1 NPBTs の一般的性質

- ゲノムを標的にする NPBTs

遺伝子組換えのためにゲノム部位の分子標的は、これら多くの新しい技術の重要な特徴である (SDNs: ZFN、MN、TALEN 及び CRISPR/Cas9 (HCB ウェブサイトの「科学委員会中間報告」とファクトシートを参照のこと))。

部位特異的ヌクレアーゼは、3つの目的のために特定の DNA 配列を標的とするときに使用出来る。

- (1) ゲノムの特定の部位を**標的とするが**、単一塩基ペア又は少数の (1 から数ダース) ヌクレオチドのランダムな突然変異 (挿入又は欠失) で **SDN-1** として知られている。
- (2) 遺伝子配列の部分又は全部を変更するアレル変換で **SDN-2** として知られている。
- (3) DNA 配列の標的部位への導入で **SDN-3** として知られている。

以下の図はこれらの技術が既存の状況にどのように当てはまるかを示している。(図 1)

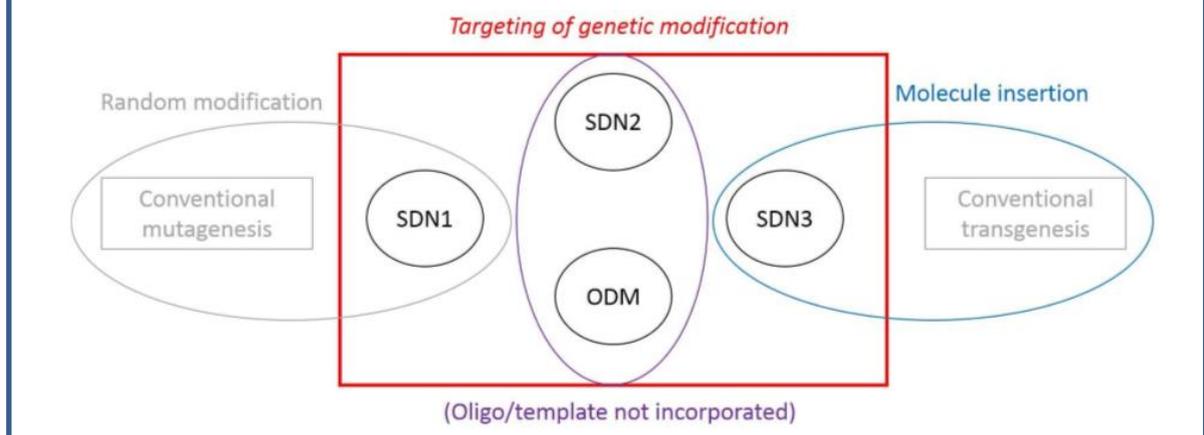


図 1 : NPBTs : SDN-1 は、自発的ではないが通常ゲノムの特定の部位を標的にして、標的となった遺伝子の機能消失 (遺伝子ノックアウト) に繋がる点で、従来の突然変異生成とは異なっている。ヌクレアーゼは、変異部位を標的とするために細胞の中に導入されるが、

⁴⁷ この区別はカナダの GMO 規則で強調されたもので、その種又は関連した種には存在していなかった新しい形質を持った品種の場合にのみ評価を行う。(http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/gmfagm/index-eng.php).

変異の性質は事前に定義されていない。SDN-2 では、DNA テンプレートが部位特異的ヌクレアーゼと共に細胞の中に導入され、組換えの性質の定義が可能となる。テンプレート自身はゲノムには組み込まれない。同じ目的は、オリゴヌクレオチド指向の突然変異生成 (ODM、RTDS) を使って達成することが出来る。SDN-3 は配列の標的部位への導入を可能にする。後者の技術を従来の遺伝子組換えと区別するのは、この導入遺伝子の挿入部位の標的設定なのである。

● 遺伝子外の技術

RNA 依存の DNA メチル化(RdDM)は、そのヌクレオチド配列を変更せずに所与の植物遺伝子の発現を制御 (増加又は減少) するために遺伝子外の変化⁴⁸を使う。このことは例えば代謝活動に変動を起こさせることが出来る。また植物と相互作用する生物の中の遺伝子の発現を制御することも出来るので、(例えば) 病原体を標的にすることも可能になる。科学委員会は、新しいアプローチが可能であり、これらの遺伝子外の変更が導入遺伝子又は特定のタンパク質の発現又は一時的な・安定した伝達を通して達成することが出来ることに注目している (例: 耕地浸入、メチルトランスフェラーゼ活動をする融合タンパク質を持った CRISPR(Cas-MT)、又は一時的ウイルス感染によって誘導される変更(VIGS))。一時的伝達によって、⁴⁹ 遺伝子発現制御の遺伝子外変更はいくつもの世代にわたって継承することが出来る。

● その他の技術

その他の技術は実際には方法である。「**非繁殖性の**」耕地浸入、遺伝子組換え植物の接ぎ木、シスジェネシス・イントラジェネシス、そして革新的選択戦略については、従来の交配を通じての遺伝物質の除去 (ヌル分離個体) であるが、その状況は明確にされる必要がある。

1.3.2 NPBT が提起する疑問

以下のセクションで、専門家の一部は突然変異と変異の概念を文脈に当てはめることを希望した。ある専門家は、観察する突然変異の種類が取り扱われることを希望した。それで討議は、自然に見られない突然変異が NPBTs を使って取得できるか否かに向けられた。これらの突然変異の出現と保持の問題が提起され、以下のパラグラフ (セクション 1.4) に繋がった。

⁴⁸ エピジェネティクスは遺伝子学的にコード化された形質の発現を制御する分子メカニズムを説明する。本見解は DNA メチル化によって取得された組換えについて検討している。そのような DNA 組換えは元に戻すことが出来、それは世代を超えて遺伝することが出来るが、それが保持されるか否かは環境による。その他の DNA 関連タンパク質の組換えは可能である。

⁴⁹ ゲノムへの導入に遺伝子組換え又は SDN-3 の的を絞った挿入を使えばより長く保持される発現は可能である。導入遺伝子が分離によって除去されれば、組換えの非永続性は明確である。

GMOに関する現在のEUの規制枠組みに関して、上記NPBTsの状況についての質問は主として既存の規則（主として指令2001/18/EC）の対象である技術との類似性に関するものである。欧州委員会は、これらの技術が指令2001/18/ECに定義されたGMOを発生させると考えているか、そしてそれらの技術はそのものとして規制されるべきか、評価の対象から外されるべきかについて判断を下すことが期待されている。

現在のところ、ある製品は**組換えDNAの新しい分子の挿入**を含む技術によって取得されればGMOである、と言える。規則は**誘導された突然変異**を対象としている。突然変異生成による製品は、安全使用の歴史から、評価から除外されている。

ゲノム変更に関するいくつかのNPBTの的を狙う能力は、評価要件に関する規制の緩和のための議論として提案されることが出来る。

マルチプレックスゲノム編集能力、即ち主として**新規形質**を取得するためにいくつかのゲノム組換えを一つのステージで実行する能力、も検討されなければならない。

組換えの**伝達と遺伝可能性**の問題も考慮されなければならない。

- (1) 遺伝子組換えの遺伝可能性とは対照的な一時的存在（細胞の中で数時間から数日までの短時間の存在で遺伝しない）。これはまた生殖細胞とは対照的に体細胞の組換えを対象としている（体細胞の組換えは栄養繁殖によっても遺伝することが出来る）。
- (2) 遺伝子組換えの遺伝子外の結果の遺伝可能性とは対照的な一時的存在（遺伝子外の変化は、ゲノムに遺伝物質を安定的に挿入することなしに誘導できる。しかしながら、安定的挿入では、分離により誘導遺伝子を除去した後遺伝することが出来る。）
- (3) 組換えDNAの遺伝可能性とは対照的な一時的存在は、突然変異を必要とした。

別の一連の質問は、特定の技術によって取得された製品の**検出**に関するものである。もし分子検出技術が製品を取得する技術間の違いを見分けられないのであれば、非DNAトレーサビリティ手法（技術的又は管理的トレーサビリティ）が一定の情報を提供できるかもしれない。

また潜在的リスクに関する**管理手法**の問題もある。NPBTsに固有のリスクがある場合には、それらは特定されなければならない、適切で相応の管理手法が提案されなければならない。

上に指摘した通り、絶え間なく発展する遺伝子組換え技術という背景に対する EU の法律について議論されている。評価の必要性の問題が提起される。特にもしある生物が評価の対象ではないやり方によって取得された別のものと区別できない場合には。

1.4 植物種における自然な遺伝子変異に関する考察

NPBTs によって取得された製品については、自然のばらつきとこれらの技術によって得られたばらつきの違いの問題がある。従来の技術と新しい技術の双方に関連するリスクと利益をどのように評価するかを理解するためにばらつきの概念を定義することは必須である。

ばらつきは評価の問題に対応することに関連がある。

- リスクという点で、NPBTs によって引き起こされた分子変化は定性的に及び・又は定量的に自然変異又は従来の植物繁殖技術によるものと違っているのだろうか？
- 特定・検出という点で、NPBTs の使用に関連した系統は自然変異又は従来の繁殖からどのように区別できるのだろうか？
- これらの両方の質問はその他の（オフターゲットの）突然変異の存在についても提起される。

1.4.1 遺伝的変異の源

生物学では、世代間の形質の遺伝的伝達はゲノムの伝達に基づいている（核と細胞質）。ゲノムの基本的な構成、即ち DNA 分子を構成しているヌクレオチドの配列、がキャリアである。遺伝子外の変化は、ヌクレオチド（又はクロマチン）の化学的構造を変更するがその配列は変更せず、ゲノムの発現に影響を及ぼす。

ゲノムは、塩基対の変化から欠失、複写、大きな DNA 破片の挿入又は染色体再配置などの大きな変更までにわたり、ゲノムの主要な構造に影響を及ぼす変更の影響を受けやすい。これらの変更は、DNA 複写・修復における誤り、置き換え可能な要素の活動、又は有性生殖に関連する染色体組換えから起きることがある。

このゲノムの自然変異の現象はどこでも起きるもので、全ての生活する生物（植物、動物及び微生物）にその生物に応じた割合で見られる（例：シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (Lynch, 2010)) の場合世代毎の約 1 億塩基対毎に 1 突然変異)。その結果、*Arabidopsis thaliana* のような小さなゲノムの植物の場合、それを作った種のゲノムと比べて、新しい種 1 粒のゲノムは平均して 1 つの突然変異を含んでいる (Ossowski 他, 2010)。小

麦のゲノムなど 120 倍大きなゲノムに線形外挿法を適用すると、数字は大まかに言って 1 つの種に 120 の突然変異ということになる。100 万体の小麦が植わっている 1 ヘクタールの畑では、収穫された全ての種のゲノムの研究で、元々撒かれた種のゲノムに比べて少なくとも 1 億 2,000 万の突然変異が現れることになる。この理論的計算の結論は、統計的に言うと、1 ヘクタールの小麦畑から収穫された穀物の全てのゲノムの中で、撒かれた穀物と比較して各遺伝子はその DNA 配列の中に 1 つの突然変異を持っていることになる。

言い換えると、小麦を 1 ヘクタール育てると、統計的に言って農民は各小麦の遺伝子から 1 つの突然変異が得られることになる（実際にはこれら突然変異の分布は均一ではない（セクション 1.4.3 を参照））。

これらの変化の大部分は、生物への又はその生物が属する集団の生態系への計測可能な影響をもって表現型異変と結びつけたり、相互に関連付けることは出来ない。現在のところ、これらの突然変異の殆どは「沈黙している」ものとして説明される。何故なら、それらは実際に沈黙しているか、又は我々の現在の観察方法ではその効果が表れないからである。

小麦、そして一般的に全ての穀物は、収穫したものが全て消費されれば、これらの突然変異は子孫に発現出来ない。もし収穫物の一部が再度撒かれたり繁殖目的に使われれば、突然変異のあるものは子孫に残ることになる。表現型に影響する突然変異（「沈黙しない」突然変異）は、壊滅しないとしても、それらが選択されてブリーダーが求める形質を提供しない限り、通常子孫に残らない。「沈黙した」突然変異（即ち、表現型に影響しない突然変異）は、非穀物に起きる突然変異と同じように進化する。それについては以下のセクションで説明する。

小麦に起きる自然の突然変異に関するこの議論は、全ての生きている生物に適用する。DNA 塩基配列は突然変異の影響を受けやすく、全ての種の遺伝子プール⁵⁰ は多くの変異を含んでおり、そのうちあるものは沈黙し、その他は沈黙しない。これらの突然変異は配偶子に存在し、従って子孫に伝わり、又は体細胞のゲノムの他の部分に存在し、従って伝わらない。

同様に、遺伝子外の組換えに関する研究（DNA メチル化、関連ヒストンの変更）は、伝達可能な遺伝子外の変化は存在することが出来、集団の中で変異の対象であることを示した。

1.4.2 遺伝的変異の運命：自然な進化（ヒトの介在無し）

⁵⁰ 2 人のヒトの個人は約 300 万の遺伝的変異によって分離されていて、細胞毎の 1500 までの体細胞突然変異が 1 人あたりに見られる（Science、2015 年 9 月 25 日、Vol.349、6255 号）

遺伝的変異の数に関する唯一の潜在的制限は自然な突然変異の割合である。しかし実際には、与えられた環境の中では、自然な集団の中での変異は(1)変異を増やそうとするプロセス（突然変異と、同様に、異なる集団の間の移動）と(2)変異を減らそうとするプロセス（遺伝的浮動（有限である集団の大きさによって制限される変異の累積）と自然な選択）、との間のバランスの結果である。

コード化しない、規制されない部位に現れる沈黙する突然変異、及びコード化する部位に現れる沈黙する突然変異（アミノ酸置換を誘導しない、従ってこれらの遺伝子によってコード化されたタンパク質配列の中の変化）は、「中立」と考えられる。つまりそれらは表現型を変更せず、自然淘汰にも影響されないのである。中立理論（木村、1984年）によると、遺伝的多様性は、それは集団の中の2つの無作為に選択された配列の間の可変の部位の比率と定義されるが、突然変異の割合と集団の大きさによって説明される。それは通常 0.01%から 5%の間（Gouesnard 他、2005年）である。

1.4.3 ゲノム内の変異の特徴

コード配列と非コード配列では、非コード配列よりも平均して遅い変異変化率を有しており（陰性選択が支配的であるため）、ゲノム内のその配置は種の中で安定している。反対に、非コード配列は、それは遺伝子発現を制御せず大部分に存在するが（例えば、トウモロコシの場合ゲノムの最大 98%）、平均してずっと高い割合で変化し、それらはしばしば置き換え可能な要素を含んでいる。

コード配列については、変異の度合いは遺伝子によって異なり、遺伝子機能と自然淘汰によって影響を受ける。後者は、環境全体の中での変異及び・又はゲノムの中の遺伝子環境に依存する。遺伝子組換えは常に新しい遺伝子の組合せ、従って新しい表現型変異、を生み出している（殆どの形質は多遺伝子である。その価値は多くの遺伝子の組合せによって決まる）。

1.4.4 種内及び種間変異

同じ種の個体及び集団の遺伝的変異は、通常種間の遺伝的相違よりも少ない。それにも関わらず、種は独立しておらず、必ずしも別個のものでさえない。近い関係の種（進化という時間軸では最近分化している）は、それらの先祖の種から引き継いだ変異の比率を共有している。更に異なる植物種の間での混成が可能であり、種の間で新しい変異が交換されて

いる。しかしながら、これは作物と野生種の間ではまだ一般的なことではない (Andersson と de Vicente, 2010 年、Dempewolf 他、2012 年)。⁵¹

1.4.5 人による選択と作物の進化

継続的に起きるゲノムの中の自然の変化を通じた遺伝的変異は生物の進化の基本である。また種内及び種間の遺伝的変異こそがブリーダーが彼らの植物を改善するために頼りにするものである。

特定の種と与えられた環境のために形質の最善の組合せを見つけることが、この 10,000 年の間植物と動物の家畜化と繁殖における主たる関心事であった。自然な突然変異生成を通じて遺伝的変異を作る膨大な数の組合せは、多くの繁殖オプションを提供するが、これも問題なのである。何故なら、選択の効果を弱める変異を除外しなければならないかもしれないからだ。植物ゲノム学における進歩 (Kole 他、2015 年) が、多分将来に NPBTs の補完物又は組合せの要素など、代替案をもたらすかもしれない。

科学委員会のあるメンバーは、目標を絞った突然変異の分布は、少なくとも 3つの点で自然の突然変異の分布とは異なる、と付け加えることを希望した。

- ゲノムの場所。
- SDN 技術による突然変異の種類 (挿入、欠失及び置換の比率、及びアミノ酸置換を伴うか否かという意味での結果)。
- 栽培漏れ、又は NPBT によって取得された栽培種と性的に相性の良い関連種のための適応値。

従来の突然変異生成により取得された突然変異の分布は、それ自身標的を定めた突然変異と自然の突然変異の分布とは異なる。

1.4.6 標的を狙った突然変異、オフターゲット (標的を外れた) 突然変異及び自然の変異

SDN 技術によって誘導された変化は、DNA の二本鎖切断(double-stranded break)に由来している。

- SDN-1 の場合、選択された植物は主として微小欠失(micro-deletion)又は微小挿入(micro-insertion)の形で標的を狙った突然変異を示し、これらの変化は通常遺伝子抑制を伴っている。抑制された遺伝子の自然変異体はより大きな分子多様性を持っている。これら

⁵¹ 野生植物ではより稀ではないが (Whitney 他、2010 年)

の突然変異は微小欠失と微小挿入のみならず置換、転座及びその他の再配置をも含んでいる。

- SDN-2 と ODM の場合、導入された突然変異は遺伝的多様性の一部として見られた変異を再生するが、それは農業的関心のある表現型に関連しているものとして選択されている。殆どの場合、同じ表現型が異なる突然変異から得ることが出来る。

従って、所与の遺伝子について、SDN-1、SDN-2 又は ODM による突然変異は栽培された品種に見られるものと同じかもしれないし同じでないかもしれない。

科学委員会のあるメンバーが、SDN の場合のオフターゲット突然変異の特性の問題を提起した。この問題は、それら突然変異は操作をしない場合に見られる突然変異とは異なるかもしれない、殆ど自然の変異のないゲノムの部位、特にゲノム情報を持っていない部位に影響するかもしれない、という事実に関係していた。科学委員会は、この見解の別のところで説明しているが、オフターゲット突然変異には以下の特性があることに注目した。

- それらは標的配列に類似した配列に見られる（技術により 1 から 5 ヌクレオチドの差異）。従って、それらは既知のゲノムでは計算的に予測出来、又は組換え細胞のシーケンシング又は専用の技術（ある程度の複雑さは伴うが）を使って同定出来る。
- オフターゲット突然変異の生化学は自然変異のものと同じである。SDN は DNA に二本鎖切断を生じさせるので、生理学的な修復システムを活用することになる。
 - ゲノムのある部位では殆ど変異が無いという事実は、これらの部位の機能的な重要性で説明される（陰性選択圧力）。これらの部位でのオフターゲットの突然変異による効果は、従って保持するか否かをブリーダーが選択できる表現型に関連している可能性は大いにある。
 - 与えられた部位でのある種の突然変異（例えば、反復領域での反復数の変動）は、これらの突然変異を起こすメカニズムによって影響されるが、いかなる特定のリスクを暗示するものではない。これらの領域での SDN が誘導した切断は、従って自然の切断とその後の生理学的修復の場合と同じ結果をもたらすものと思われる。
- SDN-2 と SDN-3 については、オフターゲットの突然変異の結果は SDN-1 の場合と同じである可能性が大きい。何故なら、テンプレート DNA が DNA 切断区域で組換えられる可能性は極めて小さいからである。これは ODM に見られるオフターゲットの

突然変異にも当てはまる。その場合は、オリゴヌクレオチドが機能するために配列相同性が必要なのである。

2. 用語と技術の定義

この見解で議論されている課題を理解するために、技術を理解することが重要である。従って科学委員会はファクトシート一式を作成した。⁵²

これらのファクトシートは WG と科学委員会の会議からの追加情報を基に更新されている。各技術について、細胞と分子に関する説明、実際的な詳細、使用の可能性、既存技術に比べての良い点と悪い点、検出とトレーサビリティの方法、開発段階とその他の背景的情報が述べられている。それらはこの文書の別紙 VII として添付されている。

一貫性を保つため、HCB 科学委員会は他の文脈で使用されるかもしれない特定の用語に特定の意味を持たせ、別紙 VI の用語集に説明をした。混乱を避けるため、この用語集はこの見解にのみ適用されることを科学委員会は明言する。

2.1 マルチプレックスゲノム編集と複数部位固有組換えの同時生産

SDN 技術は、ゲノムに同時に 1 つ以上の組換えを行うために使用することが出来る。

1 つの遺伝子座で

SDN-2 では、同じ遺伝子座での複数の突然変異、挿入、欠失を含む「修復テンプレート」を使用すると、ランダム突然変異生成又は自然の突然変異の選択では取得が極めて困難であるか統計的に不可能である植物を作ることが出来る。所与の遺伝子座で複数の突然変異が自然に起きることはあることを指摘しておきたい。マルチプレックスゲノム編集も組換えのトレースを可能にする。⁵³ これとは別に、そのような編集で遺伝子の機能を変更することも出来る。そうなればこれは新規形質である。同様に、SDN-3 技術は 1 つ以上の導入遺伝子を一つの遺伝子座だけに挿入することを可能にする。

複数の遺伝子座で

SDN 技術は、複数のヌクレアーゼ及び・又はガイド RNA 及び複数の修復テンプレートを導入することによりゲノムの複数の領域に同時に適用することが出来る (Raitskin と Patron、2016 年)。従って、複数の遺伝子又は配列の制御された遺伝子組換えを行うこと

⁵² これらのファクトシートは WG と科学委員会の会議からの追加情報を基に更新されている。

⁵³ コード化タンパク質配列を変更せずに特定の DNA 配列の組合せを通じてのトレーサビリティ。

が可能である。例えば、倍数体(polyploid)植物（6倍体の小麦など）（Wang 他、2014 年）で遺伝子の異なるアレルを同時に抑制(silencing)すること、遺伝子ファミリーを標的にする、そして同じ代謝経路の遺伝子組換えが出来ることになる。

その機能を変えるために一連の遺伝子を組換え、又は遺伝子の突然変異生成を通じて新規製品⁵⁴を得ることも理論的には可能になる。

現時点及び近い将来に 1) SDN エフェクターを容易に届ける(SDN-1、-2 又は-3 について)能力はマルチプレックスゲノム編集能力の重要な限界であり 2) 新しい機能の創造は主として研究の範疇であること、を指摘することは重要である。

2.2 SDN-1、-2 と-3 の間の境界線

各種ゲノム組換え戦略を SDN-1、SDN-2 又は SDN-3 に分類することは、各技術に関連する特性の説明を容易にする。これらの技術は、科学委員会が以下の点に合意しつつ議論の対象となってきた。

- SDN-2 は、ヌクレアーゼに誘導された切断により標的とされた遺伝子を組換えにより変更をさせるテンプレートの使用を通じて SDN-1 とは異なっている。
- SDN-2 の場合は組換えられた遺伝子は植物の中に存在し、ゲノムの中の自分の位置に残り、そのコピー番号を保持しているので、SDN-3 とは異なる。
- SDN-2 と SDN-3 の境界線は必ずしも明確ではない。SDN-2 では、取得された新しい DNA 配列は、DNA-3 が出来たように、例えば新しい RNA（小さな RNA など、短くても）の形成又は新しい形の RNA 発現制御に繋げることが出来るかもしれない。SDN-2 を SDN-3 から区別するために用いられる類似性のレベルは、もしそれが規制目的上求められるのであれば個別に決められなければならない（セクション 7 を参照）。

2.3 標的細胞の中へのデリバリーとエフェクター挿入に関する考察

細胞の中のベクターとエフェクターの挿入・持続性の問題は、NPBTs によって取得された品種のリスクとトレーサビリティに関する全ての議論の基本である。ベクター・エフェクターの持続性はリスクに影響を及ぼすことができるが（セクション 5.2.1 参照）、場合によっては、これらの技術によって取得された製品を同定するために使うことも出来る（セクション 3.3 参照）。

⁵⁴ 序文の新規性に関するパラグラフを参照（セクション 1.3）

現在のところエフェクターを導入するためのデリバリー手法は数多くある。

2.3.1 アグロバクテリウム・ツメファシエンシス・バクテリアを用いた形質転換

アグロバクテリウム・ツメファシエンシス・バクテリアは、植物によってはクラウンゴール病を発症させる。これらのバクテリアが植物の形質転換に使われた場合、Tiプラスミド⁵⁵T-DNA 遺伝子は置換され、菌株は病気を起こすことが出来ない (Simpson 他、1986 年)。

伝達されるべき構成概念を保持しているアグロバクテリウムは、植物細胞に接触して、組換え T-DNA をそれらの核の中に移動させる。各種の技術 (別紙 VII を参照) が形質転換された細胞を選択しホール植物(whole plant)に再生するのに使用されている。種によってはアグロバクテリウムで花器を植菌し、果実を成長させ、形質転換された種を選択することは可能である (生産された全ての種の中から数パーセントの形質転換された種を得る (Bechtold 他、1993 年))。NPBTs については、アグロバクテリウムは、繁殖には使われないが関心のある代謝体を抽出する基礎となる組織と接触させられる (ワクチンなど)。

2.3.2 直接形質転換

直接形質転換技術は、アグロバクテリウムを使用せずに化学的又は物理的な方法で高分子を植物細胞に導入するのに採用される全ての方法を含んでいる。

◦ プロトプラスト形質転換

植物細胞は酵素消化によりそのペクトセルロース壁を取り除かれ (従ってプロトプラストとなり)、DNA、RNA 又はタンパク質が分子 (ポリエチレングリコールなどの) 又は一時的に膜組織を弱めて透過性をもたせる電気ショックを用いて細胞の膜組織を通して導入される。CRISPR/Cas9 の場合、Cas9 タンパク質とガイド RNA は直接導入することが出来る (Woo 他、2015 年)、従って DNA は挿入されない。

◦ バイオリスティクス (遺伝子銃)

DNA 又は RNA でコーティングされた微小な金又はタングステンの粒子が *in vitro* で植物細胞に撃ち込まれる (爆撃)。これら粒子上の分子は細胞核の中に突き出て、それに対して彼らは行動する。予め組み立てられた核タンパク複合体を用いて、爆撃の試行が行われている。

⁵⁵ クラウンゴール病の原因である遺伝子を含む内生のバクテリア配列。

選択の後、形質転換した細胞からホール植物を再生することは可能である。個々の細胞ではなくつぼみが爆撃された場合、種が出来るまで植物を生育して、それから形質転換した種を選択することは可能である。

。 ヒゲ

DNA でコーティングされた針のような金属の繊維（ヒゲ）は高速で植物細胞と混ぜられ、細胞の膜組織を損ない、DNA が細胞質に、次に核に侵入出来るようにする。この技術はトウモロコシ（Kaeppler¹ 他、1990 年、Petolino と Arnold、2009 年）、米（寺川他、2005 年）、そして飼料植物とベントなどの芝植物（浅野他、1991 年）に使われてきたが、広まってはいない。

2.4 組換え細胞と植物を選択してマーカー導入遺伝子を欠失する方法

遺伝子工学法はしばしば非効率で、取得された殆どの細胞は組換えられていない。従って、**組換えられた細胞を選択する方法**を使用することが必要になる。これは化学的選択剤（形質転換していない細胞を除外するため）を用いるか、細胞、膜組織又は植物の分子スクリーニング（例えば PCR で）を行うかのいずれかで行うことが出来る。選択可能なマーカー遺伝子は、選択的な物質（除草剤、抗生物質）、代謝マーカー（マンノースを砂糖として使う、例えば PMI⁵⁶）又はカラーマーカー（GUS⁵⁷ 又は GFP⁵⁸）（Breyer 他、2014 年）に抵抗力を授ける遺伝子であるかもしれない。

選択可能なマーカーが最終製品に残留することを避けるため、それらは交配又はジゴサッカロミケスロウシ（除去された DNA が次世代に維持されていた稀な事例が報告されている。（Srivastava と Ow、2003 年））からの Cre-lox システム又は R/Rs システムによるマーカー一切除による負のマーカー選択などの各種戦略を用いて後で除去することが出来る（Gleave 他、1999 年）。これらの戦略はしばしば形質転換を要求する（導入遺伝子を除外するための「負の」分離監視）。

2.5 植物全体(whole plant)の再生⁵⁹

⁵⁶ PMI: Phosphomannose isomerase

⁵⁷ GUS: Beta-glucuronidase colours appropriate substrates.

⁵⁸ GFP: Green fluorescent protein, which fluoresces when exposed to a given wavelength.

⁵⁹ もしクローン増殖に使用されるのであれば、このステージは規制上の評価の対象ではない。ソマクローナル変異も新しい品種を作るのに使用することが出来る。ソマクローナル変異によって取得したいくつかの商業用品種（Chawla、2009 年）は、指令 2001/18/EC の目的上は誘発された突然変異生成の結果とは考えていない。

軽質転換は培養細胞で実施されるが、ホール植物が再生される必要がある。しかしながら、当面の間、細胞培養からホール植物再生への移管は、培養種の極めて少ない数についてのみ完成している。この移管は、遺伝子、非遺伝子又は望ましい組換えとは無関係なソマクローナル変異（Anderson 他、2016 年、Kaeppler 他、2000 年、Wei 他、2016 年）として知られている表現型変異（後者は遺伝子のそして非遺伝子の変化から生じる）に繋がるかもしれない。

望ましくない表現型と関連しているため誘発された遺伝子型変異は望ましくないが、原種との逆交配又は再生の後にそのような変異を示していない植物を選択することによってそれらを除外することは可能である。

2.6 一時的又は安定的植物形質転換

SDN 技術（エフェクター）で求められる成分のための異なるデリバリー方法は、それらの化学的特性（DNA、RNA 又はタンパク質）と共に、それらが安定的であるか一時的であるかを定める。もし SDN 技術に必要な一つ以上の成分が安定的な、遺伝性の形で存在していれば、その植物は遺伝子型が組換えられたものである。GMO の放出を防ぐためには、植物の中の取得された成分又はその一部が無いことが証明され文書化されなければならない。その技術を使用中に作られた中間的製品・植物は、プロセスの最後に取得された製品・植物の完成品とは区別されなければならない。

2.6.1 SDNs

SDN-1、SDN-2 及び SDN-3 技術を使う場合、世代を超えてゲノムの中で安定している望ましい DNA の組換え自体を、組換えを実現するために必要な成分の入力から区別することが重要である。後者は DNA、RNA 又はタンパク質の形で植物細胞の中に一時的に導入される（例えば、CRISPR/Cas9 の中のガイド RNA として）。

成分は以下を通じて導入されることが出来る。

- タンパク質の一時的デリバリー：エフェクターをタンパク質の形で導入することは、細胞の中にタンパク質が短期間存在することに繋がり、それは核酸の伝達の一部ではない。

- 一時的形質転換：ゲノムに統合されず、伝達されない DNA 又は RNA の断片の導入。この戦略は、遺伝子コード化エフェクターが中間的生物に一時的に存在することになる。エフェクターデリバリーがタンパク質の形で行われる場合のように、この一時的な形質転換

はエフェクタータンパク質と RNA が細胞内に短時間（数時間）存在することになり、それは核酸の伝達の一部ではない（Liang 他、2015 年）。

- **自立したレプリコンを用いた形質転換**:自立して再現する DNA 又は RNA の断片の導入。これは例えば再現することが出来る(RNA 又は DNA)ウイルス配列で、CRISPR ガイド RNA (VIGE: virus induced genome editing) (Ali 他、2015 年、Baltes 他、2014 年、Čermák 他、2015 年、Yin 他、2015 年)を十分に発現するために使用出来るものの場合である。エフェクター導入に使用出来るウイルスのあるものは種伝染性 (Kil 他、2016 年) であるが、殆どはそうではなく、子孫がそのウイルス配列を持っていないことを保証することは容易である。

- **統合されて最後に除去される形質転換**:安定した形質転換を通じての DNA 断片のゲノムへの統合。導入遺伝子はその後 2 つの技術で除外することが出来る。即ち、交配（ヌル分離）又は切除（セクション 2.4 参照）である。もし CRISPR が使用されれば、自己切除の可能性があり、追加のガイド RNA を含む構築物の中に存在して、導入遺伝子の除去に至る (Schaeffer と Nakata、2015 年)。

2.6.2 RdDM

二本鎖の制御 RNA を取得する技術は数多く存在する。

- 一時的形質転換：ゲノムに統合されることがなく、独立しては複製されない断片の導入。このことは中間的生物の中の導入遺伝子の一時的存在に繋がる。誘発されたメチル化は数世代にわたって安定的であり得る。
- 自立したレプリコンを用いた形質転換：自立的に複製する DNA 又は RNA 断片のデリバリー。これは、例えば VIGS (ウイルスに誘発された遺伝子サイレンシング) (Martin-Hernandez と Baulcombe、2008 年。Peele 他、2001 年) として知られている複製出来る(DNA 又は RNA)ウイルスのケースである。
- 統合された形質転換とヌル分離：ゲノム（形質転換）への DNA 断片の統合。導入遺伝子は交配又は切除によって除去することが出来る。

2.7 DNA 配列組換えと表現型の関係

表現型にとって遺伝子組換えの結果の問題は重要である。配列の組換えにより、もし植物

が成長し又は食されたときにリスクになるような植物に望まれない変更をもたらすことは望ましくない。とは言え、科学委員会は重要なこととして以下のように指摘している。

- 。作物に導入された遺伝子組換えは殆どの場合、既知であるか存在するが分子として特性化されていない配列の組換えである。これらの組換えは、農業的に関心のある表現型に関連する変異を複製することが意図されている。科学委員会は、その影響が新規である組換え⁶⁰（例えば新しい遺伝子機能のために）は、栽培の前にラボラトリーで実施されることを推奨している。特定の変異の農業利用は個別に研究されるべきである。
- 。機能的非コード化配列の突然変異によって引き起こされる表現型組換えを見つけることは可能である。従って使用される配列は特定され特性化されなければならない。それらが植物繁殖の目的で組換えられるのであれば、前提条件である。

3. NPBTs によって取得された植物と製品の評価とトレーサビリティの方法（照会の第1点）

このセクションでは、科学委員会は *SDN* 技術におけるエフェクターの存在又は不在、及びエフェクターの無い最終製品と一時的にエフェクターを発現する中間製品との違いを議論している。

3.1 背景

3.1.1 規制環境

閉じ込められた使用のための GMO

それらが放出され市場に提供されることを意図されていないのであれば、遺伝子組換え植物は指令 2001/18/EC の下でトレースされることはない。しかしながら、フランスでは GMO の閉じ込められた使用に関する報告⁶¹の対象であり、それは GMO の登録を通じてラボラトリーでのトレーサビリティを規定している。従って、閉じ込められた環境で成長した植物が市場に提供された植物の繁殖に使われるのであれば、変異の完全な「系譜」が提供されることが出来る。

⁶⁰ セクション 1.3 の新規性の定義を参照。

⁶¹ 指令 2009/41/EC の範囲内で規制されている報告。

放出された GMO

現在、GMO とそれに由来する製品のトレーサビリティは、規則(EC)No 1830/2003 で規定されている。これは添加物と調味料を含み、産業又は食品加工又は飼料用途を意図し、GMO によって構成され、GMO を含み、GMO から作られた、遺伝子組換え種から生産された製品のトレースを要求している。これら全ての製品については、それらのサプライチェーンを通じて、オペレーターは GMO の存在を書面にて顧客に通知しなければならない、それによって顧客が適切なラベル付けをすることが出来る。

フランスでは、検査は GMO を検出し、同定して定量化してラベル付け要求の遵守を確認する検査のための年次サンプリング計画に基づいて DGCCRF⁶² によって行われる。同様に、DGAI⁶³ は年次種監視計画を持っている。

これらの検査を行うため、所轄官庁は科学委員会が明確にすることを望んでいる方法と分子ツールを用いる。

3.1.2 定義

科学委員会は、新しい植物繁殖技術(NPBTs)によって取得される植物に由来する植物と製品の検出とトレーサビリティによって理解することを定義したいと思っている。

- **検出**：与えられたサンプルに NPBT によって取得された物の存在を確認する能力。存在する物の性質と数量に関する情報の精度は、使用したアプローチ、検出方法及びその物に関する利用可能な知識の量に依存する。各技術については、そのレベルより下では検出が不可能になる限界値がある。これは固定値ではなく、各検出技術の個別の改善により下げることが出来る。
- 既知の組換えの**検出限界**は、NPBT と検出に用いた方法の技術的限界に依存する。混合物の場合、希薄化により検出はより困難になる。
- **スクリーニングによる検出**：必ずしも正確な同定が出来なくても、NPBTs によって取得された物のサンプルの中の存在を明らかにする遺伝的要素の存在を認識する能力。

⁶² 競争方針、消費者関係及び詐欺監督総局（経済省）

⁶³ 食品総局（農業省）

調査した遺伝的要素は、組換え配列の一部又はそれを作り出すのに使われた技術を明らかにするかもしれない。

GMO の場合、それらは主として形質転換カセットを構成する遺伝的要素である。ある場合には、検出された要素が、その正体が特別な同定試験によって確認されなければならない既知の GMO の存在を示唆することがある。スクリーニングによる検出は、部分的に又は全部が通知されていない形質転換系統の存在を明らかにすることが出来る⁶⁴。

- **同定**: 所与の NPBT によって取得された物が試験したサンプルの中に存在することを確信する能力。

GMO にとって、これは形質転換カセットを構成している遺伝的要素間の結合部位断片の検出（構築物固有の検出試験）又は挿入物と周囲の植物ゲノムとの間の結合部位断片の検出（系統固有の検出試験）に基づいている。

- 未知の技術又は組換えの**検出の限界**は、NPBT、特に自然のゲノム変異の可能性、に依存する（セクション 1.4 を参照）。

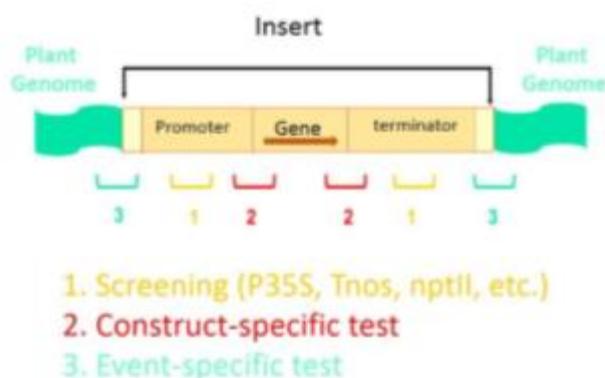


図 2 : PCR 増幅による GMO 検出・同定のための潜在的標的。PCR のために使用されたオリゴヌクレオチドは以下に示している。NPBT の場合、この検出戦略は SDN-3、イントラジェネシス及びシスジェネシス（後者についてはタイプ 1 とタイプ 3 のオリゴヌクレオチド）に使用することが出来る。

- **定量化**: 所与の NPBT によって取得された物のサンプルの中の数量を、それが属する種の合計ゲノム数との比較によって測定する能力。GMO にとってこの定量化は、

⁶⁴ 現在のところ導入遺伝子配列の数は「相対的に」少ないから。

ラベル付け規則（承認された意図しない存在の閾値を超えていれば義務である（規則(EC)No 1829/2003)）を適用出来るために必要である。

- 。 **トレーサビリティ**：登録された身元確認書類を使用して NPBTs によって取得された物の履歴、場所及び使用をトレースする能力。トレーサビリティシステムは国のそして国際的な標準（ISO 9000-2005、ISO 901-2008、ISO 22000、NF ISO 22004、ISO 22005-2007）に準拠していなければならない、サプライチェーンの中で出来るだけ統一されているように設計されること。それらは標準化された記録に基づいているものとし、定められた期間保存されなければならない（通常少なくとも 5 年）。EU では、**GMO トレーサビリティ**は各承認された系統に独自の識別子を割り当てて行われ、市場に提供された場合は全ての使用が（「農場から食卓まで」）トレース出来るようになっている（規則(EC)No 1830/2003 及び規則(EC)No 65/2004）。

これらの概念は、共存に関する 2012 年 1 月 17 日の HCB 見解の中で GMO について触れられている。⁶⁵

3.1.3 科学委員会のアプローチ

まず最初に、科学委員会は簡単に GMO の検出に利用できる遺伝的と表現型に関する方法を思い起こしたい。これらの方法は NPBTs によって取得された植物と製品の検出に関する今後の討議にとってのベースを形作るが、新しいアプローチが開発されるかもしれない。

科学委員会は、NPBTs のあるものによって誘発された意図しない組換えをデリバリー及びソマクローナル変異の段階で検出して同定する方法を検討した。デリバリーは従来の形質転換といくつかの NPBTs（セクション 2.3 を参照）に使われたが、自然変異が関わる従来の繁殖法又は突然変異によって取得された植物には使われない。

科学委員会は、これらのエフェクターが、植物が市場に提供される前に植物から除去されなければならないことに注目しながら、いくつかの NPBTs に使用される**エフェクターの検出**について討議した。これが行われなければ、外因的な配列の統合のために、その植物はトランスジェニックであると見做されたであろう。

NPBT の各タイプは、個別のファクトシートの中で研究された（別紙 VII）。このセクショ

⁶⁵ <http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/fr/avis/avis-sur-coexistence-definition-conditions-techniques-relatives-a-mise-culture-recolte-stockage>

ンの終わりにある要約表の前に科学委員会が NPBTs によって取得された植物・製品のトレーサビリティを容易にするために必要と判断する生物学的情報のリストがある。

そこには植物・製品の検出、同定及びトレーサビリティが、以下の3つの質問について述べられている。

- ・もし文書化されていれば組換えは植物及びその製品の中で検出可能か？
- ・その植物とその製品の中でこの組換えを行うために使用された技術は文書が無くても特定できるか？
- ・検出が可能であれば、異なる複雑さの混合物の中での偶発的な存在を、生産、加工及び流通プロセスでみつけるためにそれが使えるか？

3.2 GMO に由来する植物と製品の検出

市場では、食品チェーンを通してトレース出来ることを確実にするため、GMO とそれに由来する製品を検出して同定することが出来なければならない。その目的のため、欧州での全ての新しい形質転換についての承認申請が提出された都度、通知者によって開発され、その後検証された同定方法が必要である。

GMO 検出の標的は、ゲノムに挿入された遺伝子組換え DNA 配列、これらの配列から転写された RNA、RNA 翻訳によって取得されたタンパク質又は代謝作用によって取得された代謝体のいずれかである。代謝体は特定の生化学的分析によって検出することが出来る（例：菜種用のラウリン酸、又は米用のベータカロチン）。組換えタンパク質は酵素分析（例えば除草剤分解）及び免疫学的検定（ELISA（酵素免疫測定法）及び剥離試験）によって検出することが出来る。遺伝子組換え核酸配列は定性的又は定量的リアルタイム PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）、サザン又はノーザンブロット法、DNA チップハイブリダイゼーション及び第一、第二又は第三世代シーケンシング（次世代シーケンシング（next-generation sequencing =NGS））によって検出することが出来る。異なる PCR と異なるシーケンシング技術（例：ライゲーションが介在した PCR（Holck 他、2009））で複数標的を同時に検出するにはマルチプレックス法が可能である。

スクリーニング段階を最適化するために、共同研究センター(JRC)で使用されたもののように、プリスポットプレート(PSP)を用いた PCR 検出システムに検出支援システムを組み合わせたものが EU で承認されている全ての GMO を一回の PCR 実験(Rosa 他、2016)で検出する、又はトレーサビリティと解析データを組み合わせた決定支援システム(Bohanec 他、2017)で検出するために開発された。

他の方法とは異なり、遺伝子組換え DNA の検出は、試験される組織又は器官によって異なることがある導入遺伝子発現のレベル、植物の発育段階、遺伝子の背景又は環境の影響は受けない。一方、それは試験される植物の器官の中の導入遺伝子を持つ DNA の遺伝子成分の割合によって（そして導入遺伝子のコピー数によって）影響を受けることがある。例えば、遺伝子組換え植物によって受精させられた非遺伝子組換え植物の種の中のように（共存見解を参照⁶⁶）。

未承認 GMO の検出はスクリーニングに基づいて行われ、検出された遺伝要素が承認された GMO 又は非 GM 源（ウイルス及び土壌微生物等）に由来するものではないことが証明されなければならない、このことは時に極めて複雑なことになりかねない。同定の容易さは、調査対象である導入遺伝子の配列について入手可能な知識の程度による。情報があれば同定はより容易である（例えば、評価はされたが EU では承認されていない系統について、又は同じブリーダーによって取得された承認済系統と類似の遺伝構造を含む EU では未承認の系統）。植物全体(whole plant)の場合、あるサンプルが GMO（表現型、遺伝子の特定のタイプを含む抵抗）を含んでいると疑われる理由も同定を導く情報となる。反対に、もし情報が殆どない場合、同定は骨の折れるクローニングとシーケンシングの段階を踏むことになり、それは訴訟の場合と同じように、現在当たり前のよう出来ることではなく特別な状況においてのみ出来ることである。

配列であろうが取得された遺伝子組換えタンパク質についてであろうが、情報が全くない未知の GMO の検出もやはりスクリーニングに基づくことになるが、これでは試験ラボラトリーのデータベースに未だ記載のない遺伝要素のみを含んでいる GMO を検出することは出来ない。感度について言うと、試験されるサンプルに存在する遺伝物質の量が検出能力に影響を与えることがある。

試験されるサンプルとその組換え無しの同等品のオミクスデータ（全体遺伝子配列、プロテオーム及び転写データ）の盲検比較に基づくアプローチは、現在検討されているが

（Holst-Jensen 他、2012）通常のことと想定するのは未だ困難なようだ。技術の発達は確かにこの種のデータの製造時間とコストの漸減をもたらしたが、その後の生物情報学解析に必要な時間と技量に関する問題、又は基準ゲノムの存在、環境的に誘発された植物変異又は生理学の遺伝発現の程度への影響に関する問題、を取り除くには至っていない。

⁶⁶ <http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/fr/avis/avis-sur-coexistence-definition-conditions-techniquesrelatives-a-mise-culture-recolte-stockage>

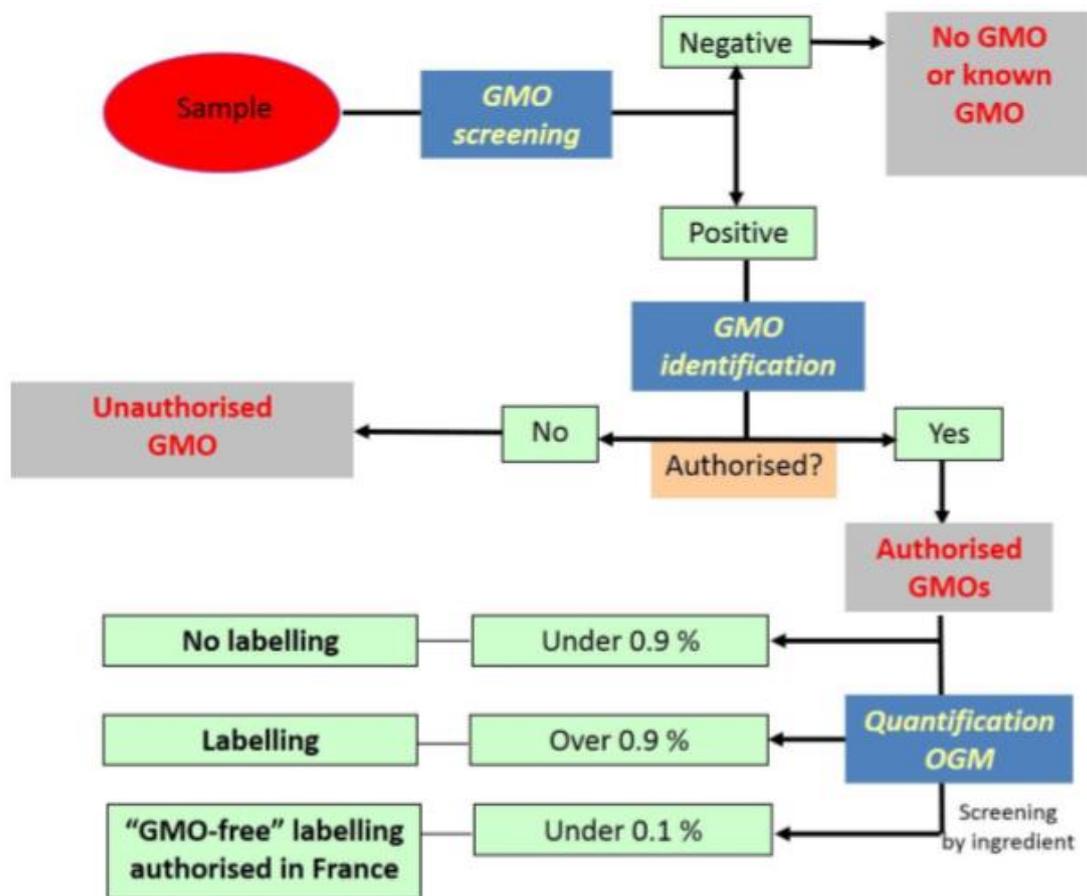


図3：GMOを見つけるサンプルテスト手順とラベル付けに関する結果。使用した検出技術の検出限度以下のGMOの存在の場合、そのサンプルの試験結果は陰性、その限度を超えた場合は陽性と見做される。上図での0.9%と0.1%の閾値はフランスのGMO規制による。

3.3 デリバリー技術の検出

通知された遺伝子組換えについては、検出は遺伝子組換え自体に集中すればよい。しかしながら、標的とする遺伝子組換えに加え、形質転換を取得するために使われた方法（デリバリー、形質転換、淘汰）も時には検出に使うことが出来る足跡を残すことがある。

3.3.1 アグロバクテリウム

アグロバクテリウムは、SDN、シスジェネシス、イントラジェネシス、ヌル分離個体及びRdDMの成分の導入にしばしば使用される。科学委員会はアグロバクテリウムからの小さなDNA断片の標的ゾーン（Brunaud他、2002）及びゲノムの他の場所（Schouten及びJacobsen、2007）での持続の可能性について討議した。

断片の大きさによっては、サザンブロット法（ゲノムの大きさ等により>50 又は 100 bp（塩基対））又は PCR（>20 bp）で検出されるかもしれない。小さな断片（<20 bp）の場合、次世代シーケンシングがある範囲内でそれらを特定出来るであろう。

もしこれらの断片が淘汰された形質に含まれる遺伝子と遺伝的にリンクしていないのであれば、これらの断片の数は、非遺伝子組換え植物と交配させることで劇的に減らすことが出来る。従って、科学委員会はこれらの断片が存在するかもしれないことに同意するが、植物の同定又は追跡可能性にそれらを使用することは難しく信頼性が無いと思う。他方、これらの断片の挿入が文書に残されているのであれば、それらは容易に検出されるであろう。ある種の中で特定できたのであれば、それらは追跡可能である。

同様の流れで、科学委員会は形質転換した植物の中のアグロバクテリウムが 1～2 世代にわたって持続する可能性について討議した。アグロバクテリウムは植物と自然に結びつく。科学委員会は、遺伝子組換え Ti プラスミドでのアグロバクテリウムの存在は必ずしも常に遺伝子組換え植物の検出には使えないことに同意した。というのは、殆どのバクテリアは遺伝子組換え段階の後でラボラトリーでの抗生物質治療で通常除去されており、それらの存在は植物の 1～2 世代後には僅か又は存在しないからである。それらは間違いなく販売された種には存在しない。自然の組換えられていないアグロバクテリウムは検出されるかもしれないが、それはその植物が遺伝子組換えである証拠にはならない。というのはこれらのバクテリアは自然に土壤に存在するからである。科学委員会としては、遺伝子組換え Ti プラスミドでのアグロバクテリウムの存在はその植物が遺伝子を組換えられていると分類するには使えない、と結論付けた。

3.3.2 直接形質転換（プロトプラスト、バイオリスティック等）

直接形質転換技術はそれによって取得された植物の中に検出することは出来ない。しかしながら、挿入されたベクターの断片はアグロバクテリウムの場合と同じ方法で検出することが出来る。

ある報告書は、ヌクレアーゼとガイド RNA をコード化するプラスミドを導入した植物プロトプラストでは、0.06%から 0.14%の割合でプラスミド DNA の僅かな挿入が切断部位に認められた（Kim 及び Kim、2016 年）ことを示している。しかしながら、挿入が無作為であることとこれらの系統が稀であることから、それにこれらの植物がブリーダーによって選択されないという事実から、これらの系統は検出には使えない。

3.3.3 ウイルス

もしウイルスのレプリコンが遺伝子組換えの成分の発現に使用されれば（例えば CRISPR SDN 技術でガイド配列を発現するための RNA 又は DNA (Yin 他、2015)),、それが持続しているとしてその検出は使用された技術の証拠を提供するであろう。

3.4 エフェクターの検出⁶⁷

もし SDN と RdDM 技術のエフェクターが除去されなければ、最終の植物は間違いなく GMO 規制の対象となる。従ってエフェクターの検出は重要なステップとなる（セクション 7 を参照）。エフェクター検出法も、特に SDN-1、SDN-2 及び SDN-3 技術については、プログラムの監視にも使うことが出来る。

エフェクターの配列がわかっている場合は、エフェクターは PCR と RT-PCR⁶⁸によって検出することが出来る（通知又は使用された全てのガイド RNA とヌクレアーゼ配列を列記したデータベース）。Cas9 及びその tracrRNA などのエフェクター、各種のメガヌクレアーゼ、そして TALENs 及び ZFNs などのヌクレアーゼが頻繁に使用される。種によってコードンの組換えを考慮して、保存してあるこれらの配列の一部を使用することは可能であるに違いない。プライマーの混合物の使用は、一部でも組換えられたエフェクター（切り詰められた、又は沈黙させられた）の同定に役立つ。このエフェクター検出の問題は技術の発展に照らして見直されるべきである。例えば一時的でない(non-transient)DNA デリバリーの場合のように、持続する全てのエフェクターを検出できることは重要である。

3.5 NPBTs によって取得された植物と製品の検出の概要

3.5.1 NPBTs の検出、同定及びトレーサビリティに関する裏付け書類

科学委員会は、NPBTs によって取得された植物・製品のトレーサビリティを容易にするための生物学的情報のリストについて合意した。この見解では、「書類によるトレーサビリティ (documentary traceability)」という言葉はこのリストのことである（ラベル付けについてはこのリストを全て使用することは義務ではない）：

NPBTs によって取得された製品についての裏付け書類：

トレーサビリティのための必須の生物学的情報：

- ・種と異種
- ・繁殖方法

⁶⁷ 序文のエフェクターの定義を参照。

⁶⁸ RT-PCR: RNA の逆転写、PCR に続く。

- ・デリバリー方法（該当する場合）
 - ・組換えで標的となる組織
 - ・組換えられる、又は導入される形質
 - ・表現型検査の方法
 - ・標的部位の配列（組換えの前後）と染色体の場所
 - ・SDNs に必要なエフェクターの存在又は不在（該当する場合）
 - ・可能であれば標準に従った独自の識別子

3.5.2 総括表

表 1：繁殖方法の検出と同定のための技術による選択肢の概要

技術 課題	SDN-1 最終製品 (即ち、エフェクター無し) (部位固有突然変異)	SDN-2 最終製品 (即ち、エフェクター無し) (アレル変換)	SDN-3 (配列挿入)	ODM (リコヌクレオチド指向 の突然変異生成)
DNA 組換えの検出 69	はい	はい	はい	はい
異質 DNA の安定 挿入	いいえ	いいえ	はい	いいえ
繁殖方法の同定	いいえ	いいえ。自然の異形と同等だから。組換えが分子署名 ⁷⁰ と組み合わせられれば可能。	自然の同等品がない限りはい。分子署名と組み合わせられれば時には可能。	通常いいえ。組換えが分子署名と組み合わせられれば可能。
指令 2001/18/EC の付属書 1B 記載 の技術による繁殖	はい	はい	組換えが自然に起きない限り いいえ。	はい
現場共存：検出	はい ⁷¹ 、そしてもし表現型と形質が成長部位に無い場合	はい*、そしてもし分子署名、又はもし表現型と形質が成長部位に無い場合	はい*。GMOs.	はい*、そしてもし表現型と形質が成長部位に無い場合

69 器官のゲノムの中の遺伝子組換えの同定は、それがどのように取得されたかは示さない。

70 分子署名は自然には見られそうにない予め定義されたヌクレオチドのパターンの挿入に際して存在する。従って、突然変異が単なる自然な異形の選択ではなく技術による、とすることが可能。

71 もし組換えが伝達されるのであれば、はい。それは植物の授粉の方法による。

技術 課題	SDN-1、SDN-2 又は ODM 台木への非 GM 穂 木	SDN-3 又は遺伝子組換え 台木への非 GM 穂木	非 GM 台木への GM 穂木 (SDN-1、SDN-2、SDN-3、 ODM、cis 及びイントラジェネシス)
DNA組換えの検出	台木について、はい。 穂木と果実について、い いえ。	台木について、はい。 穂木と果実について、い いえ。	穂木について可能。組換え技 術を参照（前頁の表を参照）。
組換え DNA の安 定挿入	いいえ。	台木について、はい。	可能。SDN-3、シズジェネシス及び イントラジェネシス。
繁殖方法の同定	植物全体(whole)につい て、いいえ。但し、分子 署名付き台木は除く。	台木について可能。 ⁷² 穂木と果実について、い いえ。	前頁の表を参照。
指令 2001/18/EC の付属書 1B 記載 の技術による繁殖	はい。	いいえ、シズジェネシスのある 種類を別にして。	各技術については前頁の表 を参照。
現場共存：検出	承認を要する遺伝子組換 え部分について、はい。	承認を要する遺伝子組換 え部分について、はい。	各技術については前頁の表 を参照。

⁷² 具体的な検出上の問題点については前頁の SDN-3 欄を参照。

技術 課題	RdDM (RNA 指向の DNA メチル化)	アグロインフィルトレーショ ン	シズジエネシ (性的適合性のあ る種からの DNA の導入)	イントラジエネシ (性的適合性のあ る種からの組換え DNA の導入)
DNA 組換えの検出	はい。技術的に複雑。	はい。	はい。	はい。
組換え DNA の安 定挿入	技術による。	いいえ。	はい。	はい。
繁殖方法の同定	トランスジエネシであ れば、はい。 RNA、CRISPR であ れば、いいえ。	はい、一時的に。	アグロバクテリウムによ る遺伝子組換えで あれば、はい。遺 伝子組換えが自然 に起きるのであれ ば、いいえ。	はい。
指令 2001/18/EC の付属書 1B 記載 の技術による繁殖	はい。	いいえ、しかし関 係ない。殆ど一時 的発現。	ある場合には可 能。	いいえ。
現場共存：検出	植物による不安定な 遺伝可能性と配偶子 プロフィールへの様々な 貢献	封じ込められた 使用のため関係 無い。	植物の授粉方法に よる転移。	植物の授粉方法に よる転移。

3.5.3 結論

殆どの場合、**組換えに関する情報があれば**、NPBTs によって取得された植物と製品は同定出来る。しかしながら、特に背景がわからなければ、見つけられた組換えが自然な組換えではなく実際に NPBTs の使用の結果である、又は他の技術によって取得された、と確信することは必ずしも常に可能ではない。トレーサビリティに関するデータ無しに調査すると、多くの誤った答えを得ることになりかねない。あるサンプルは、使用された検出技術の検出限界を下回る場合には NPBT によって取得された植物の存在について陰性の結果になり、この検出限界を超えた場合は陽性の結果になる。

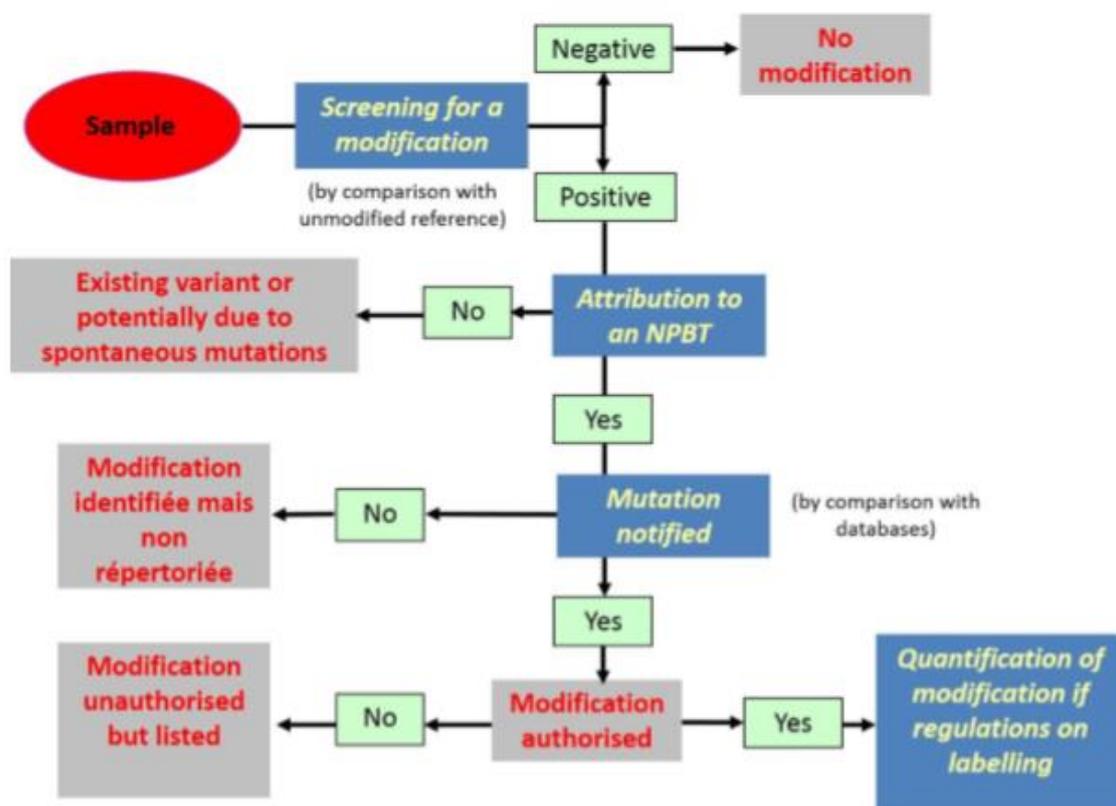


図4：NPBTによって誘発された組換えを見つけるサンプルテスト手順の可能性

4. サプライチェーン共存のための意味合い（前の点に関連する照会の第2点）

このセクションのために、以下の点が科学委員会の分科会で討議された。個別のサプライチェーンの商業的と非環境的側面及びそれらの共存性（GMOs と環境の共存ではなく）。

共存は、異なるサプライチェーン（農業、種、食品加工）に所属する各当事者に彼ら自身の規則を守ることを保証させようとする。現在、フランスでは共存は3種類の製品に関係している。⁷³

- GMOs を含むもの（0.9%を超えて）
- GMOs を含まないもの（0.9%に満たない）
- GMO フリー（0.1%未満又はフランスでは0.9%未満）、有機サプライチェーンを含む

承認された植物は既に評価されているので、目的は健康や環境を保護することではなく、NPBTs やその製品を使いたくないサプライチェーンが使うことを避けられるような方法で生産を行うことである。

4.1 最終製品対植物繁殖方法

最終製品だけに関心のあるサプライチェーンの場合：i)もし品種が NPBTs⁷⁴によって取得され、その製品がその種自身又は密接に関係のある種の遺伝的多様性の結果である場合、⁷⁵そして ii)それらの植物の特性が交配又は他の除外された技術によって取得されたものの特性と区別がつかない場合、区別が出来ないので共存の問題は起きない。

種又は密接に関係のある種の遺伝的多様性から選択されることがなかった NPBTs に由来する品種の場合、⁷⁶ 共存の問題は起きる。

最終製品だけに関心のあるサプライチェーンは、除草剤耐性又は新規形質など特定の形質を禁じる一方、彼ら自身の仕様を定めることが出来ることは注目すべきことである。これらのサプライチェーンが公式に認められると、具体的な方法を提案することが出来る。

植物繁殖方法に関心のあるサプライチェーンの場合：組換えを検出して同定することは必

⁷³ 食品への「GMO フリー」表示に関する 2012 年 1 月 30 日の規則 (EC) No 1830/2003 (EC, 2003)及び命令 No. 2012-128 (図 3 を参照)。

⁷⁴ SDN-1、SDN-2、RdDM 及び場合によってはイントラジェネシスとシスジェネシス。

⁷⁵ 混成化が可能である密接に関係する性的適合性のある種。

⁷⁶ 前の脚注を参照。

ずしもいつも出来るわけではないが、それでも書類による記録でトレースすることは可能である。ここでも、これらのサプライチェーンは仕様を示さなければならない。偶発的な組換えの存在のリスクについては、日常的な検出方法が欠如していることから絶対的な義務を課するのは困難であるが、最善の努力程度の義務（自発的監視、分離距離、緩衝地帯、境界除去、種の生産のための住み分けられたサプライチェーン等）は考えられる。

4.2 指令 2001/18/EC がある NPBT で取得された植物を除外すると解釈された場合

もし指令 2001/18/EC が、ある NPBT で取得された植物を除外すると解釈された場合、現在はそれらの植物の具体的なサプライチェーンは存在しない。しかしながら、各サプライチェーンは規則に抵触することなくトレーサビリティの技術（書類上のトレーサビリティも含め）の範囲内で自身の仕様を定めることは出来る。

4.3 指令 2001/18/EC がある NPBTs で取得された植物を含むと解釈された場合

もし欧州委員会がある NPBTs で取得された植物を指令 2001/18/EC に含めるとすれば、又は他の暫定的な規則を導入するのであれば、検出の問題が重要になる。そうすると、通知されている組換えと通知されていないものとを区別する必要がある。また遺伝子組換えがフランスで作物の中から、又は輸入品の中から、検出されるべきかによって状況は異なってくる。最後であるが重要なことは、状況は使用された NPBT の種類による、ということである。

もし組換えが同定された（例えば、その分子記述によって）場合、SDNs、ODM、イントラジェネシス及びシスジェネシスなどの NPBTs の場合は技術のシステムティックな貢献は無いが検出は可能であり、RdDM と GMO の移植片（殆どの場合）の場合は検出が極めて困難であり、ヌル分離個体の場合は実質的に不可能である。

もし組換えがデータベースに登録されている場合、特に高スループットシーケンシングでのスクリーニング方法が開発されていれば、ゲノム編集技術（突然変異、「メチル化」）及びヌル分離個体と移植についても検出は可能である。しかし、観察された組換えが NPBTs を使用して取得されたか否かを判別することは不可能な時もある。

もし遺伝子と表現型の組換えがデータベースに登録されていない場合、上記の技術的境界が事態をより困難にし、NPBTs によっては「NPBT フリー」のサプライチェーンで NPBTs によって取得された製品の存在を、それが偶発的であるか否かを問わず、検出することは事実上不可能である。既存の GMOs については既に行われたことであるが（Holst-Jensen

他、2012; Petrillo 他、2015)、適切な検出方法とデータバンクを開発することは、それに合ったラベル付けを伴った個別のサプライチェーンにとっては前提条件であろう。

しかしながら、科学委員会は、組換え製品の種類とその存在についての規制上の閾値は検出能力に影響していて、検出が多くの場合に不可能になっている、と指摘している。

5. 取得した製品の新規特性に関連した健康と環境への直接リスク (照会の第3点)

科学委員会は、ヒト、動物及び環境の微生物叢と共に、過去 20 年間にわたる GMO 培養と消費の主流化について討議した。特定されたリスクのそれぞれについて科学委員会は更にそれが直接的なリスクであり製品の新規特性に関連するものであるか、を調査した。「的はずれの組換え」の定義が明確になった。活発なエフェクターの検出されない持続性の可能性と潜在的結果が討議された。

HCB 科学委員会はここで予測可能なリスクについて検討する。と言うのは、開発リスク⁷⁷はその定義からして予測不可能であるので、現時点で開発リスクを議論することは不可能であるからである。科学的及び技術的知識の将来の発展は、リスクについての我々の理解を変えて、その結果必要な管理手法の変化をもたらす、と想定することは出来る。

リスクは特定された危険 (又は危険の源) とこの危険への曝露 (損害が起きる可能性) の結果である。

指令 2001/18/EC (付属書 II) と規則(EC)No 1829/2003 の下で、遺伝子組換え(GM)植物に関連する全ての潜在的に有害な特性は、比較対象としての同等の非 GM 植物の特性と比較することによって評価される。統計的に顕著な相違の生物学的関連性は、その後試験されるリスク仮説を構成する時に使用される。

- 食品用途の遺伝子組換え植物に関連する健康リスクの評価には、GM 植物とその非 GM 同等品との間の相違の生物学的関連性が、安全使用の歴史を持つ非 GM 基準品種のバッチと比較することにより判定される。
- 環境リスク評価のためには比較評価手順が推奨されるが、安全使用の概念が農業の環境への影響に適用されないので、同等限度は変動の限度によってではなく懸念の限度によって判定される。⁷⁸ 即ち、環境保護ゴールとの関連で測定されない GM 植物の全ての特性は、

⁷⁷ 開発リスクは、製品が発売されるときには未知であり、時間を経て科学的そして技術的知識が増えるに従って明確になるリスク、と定義される。

⁷⁸ この言葉は、それを超えると与えられた特性が環境に害を生じさせる (EFSA による、2010) に十分な大きさとなる限度を意味する。これらの限度は環境保護のゴールとの関係できめられる。

詳細なリスク評価の対象となる。繰り返される問題は、それらのゴールをどのように決めるか、ということである。

曝露評価は、耕作地面積とそこから取得できる製品の消費に関する事前見積に基づく。このパラメーターは農業従事者の組換え種・品種を基に決める。⁷⁹しばしば予測が困難であるこの採用は種々の社会的そして経済的パラメーター、気候の影響そしてサプライチェーンに関わっている各種当事者の戦略によっても変化する (Bonny, 2008)。このことは、遺伝子組換え品種の使用に繋がるか否かに関わらず、全ての農業にあてはまる。

指令 2001/18/EC (付属書 II) によると、**直接リスク**とは、GMO 自身を育成した結果により、そして事象の偶然の連鎖によっては起きない、ヒトの健康又は環境に対する基本的な影響を意味する。**間接リスク**とは、他の器官との相互作用、遺伝物質の移動、又は使用や管理の変更などのメカニズムを通じて、事象の偶然の連鎖によるヒトの健康又は環境に対する影響を意味する。⁸⁰

「取得された製品の新規特性」には2つの側面がある。望ましい形質から直接もたらされるものと、これら形質を取得するために使用される技術の意図しない効果によってもたらされるものである。

検討すべき点は：

- デリバリーの方法 (使用される場合)
- 組換えが指向されたという事実 (遺伝の指向性)
- 同時に複数の組換えをするというオプション (マルチプレックスゲノム編集)

取得された製品に加えて、2つの理由から遺伝子工学プロセスがリスク評価において考慮されなければならない。

- 組換え技術に伴うリスクがあるかもしれない。例えば、従来の淘汰に比較して、植物にタンパク質又は核酸をデリバリーすることにより構成される新規性。
- 1つ以上の形質で品種を発生させ、農業にとっての潜在的な金銭的価値のあるこれら技術の更に大きな有効性は、農業が直面するであろうより速い革新のペースと相まって (革新の採用は NPBTs の使用とは直接結びついていないが、多くの社会的経

⁷⁹ 科学委員会は、曝露は種よりも形質に関係することに注目している。従って、同じ形質が多くの異なる品種に存在する場合、これら全ての品種の採用が考慮されなければならない。

⁸⁰ 例えば、毒性と非標的器官又は土壌微生物への植物の影響は直接リスクである。間接リスクの例は、淘汰や遺伝子導入による毒への耐性の発現又は除草剤耐性植物の出現である。

済的要素に依存するから)、より幅広い品種の選択又は供給に繋がるかもしれず⁸¹、潜在的に農業従事者による採用が広がってかなりの曝露に繋がるかもしれない。

HCB 科学委員会は、これらのリスクは相互排他的ではないことに注目している。

HCB 科学委員会は、照会は取得された製品の新規特性に伴う直接リスクに関係しているが、照会は多くの間接リスクとこれら新規特性に関係ないリスクも明らかにしたということを目指したい。全てのヒトの活動がそうであるように、農業にも品種を市場に提供することにもリスクが伴う。これらのリスクは、従来の方法（交配）、規制された方法（遺伝子組換え）又は規制されない方法（誘発された突然変異）で取得された品種と同じように NPBTs にも適用される。これらの間接及び・又は非特異性のリスクは別紙 V に記載されている。科学委員会はまた、形質はその農業的価値のために導入され、従って評価において考慮することが重要であることに注目している。

5.1 望ましい形質に起因するリスク

科学委員会は以下の 3 点を強調したい。

- NPBTs の使用は新規形質が取得される（新規性とは限らない）ことを自動的に意味するものではない。⁸²SDN-1、SDN-2 及び ODM 技術の固有の利益は、1 つの種の特徴付けられたアレルをわずか数段階で異なる種に導入する能力にある。
- これらの技術によって取得された形質のあるものは GMO 規制対象外の他の技術（自然変異体の交配又は偶然の突然変異）によって、又は規制された技術（遺伝子組換え）によって取得できるかもしれない。例えば疾病耐性又は除草剤耐性植物（技術の重複）。
- 技術によっては一時的に異質の遺伝物質の導入を要する場合もある。組換えに用いられた（RNA、DNA 又はタンパク質）エフェクター及びベクター（アグロバクテリウム、ウイルス等）の持続は特にこれらの技術にとってリスクである（セクション 5.2 を参照）。分子とベクターの欠如は従って確認されなければならない。もしそのような分子が持続していれば、それは技術的に避けられるので科学委員会としては望ましくないと思っているが、この持続に関連するリスクの評価が実施されなければならない。

⁸¹ より多くの品種での異なる早熟率の導入及び・又は輪作で使用される複数種への同じ形質の導入。

⁸² 上記セクション 1.3 を参照。

ベクターとエフェクターの欠如が確認されたなら、直接リスクは全てのゲノム組換え技術と異種交配に共通となる（別紙Ⅴを参照）。これらのリスクに関する不確かさは、種に固有の遺伝的変異性とのギャップが増え、形質の新規性が確立するに従って、理屈として増大する。

他方、科学委員会は、これは調査範囲（直接リスク）には含まれていないが、新しい形質に繋がる農作業と食品加工プロセスの変化が個別で評価されなければならないことを指摘する。と言うのは、それらは全てのヒトの活動と同様、環境とヒトの健康に何らかの影響があるからである。同様に、照会の範囲外ではあるが、NPBTsを使用することの期待される利益の問題も、政策立案者によって考慮されなければならない。

5.1.1 以前に遺伝子組換えされていない作物の組換えに関連するリスク

これらは一般的には植物の繁殖に関連したリスクではあるが、NPBTsの使用の容易さのために、NPBTsに関連してより頻発する可能性がある。低減するコスト（これも関連する規制コスト次第である）と相まってNPBTの開発は遺伝子組換えによって以前に組換えられていない種の組換えに繋がるかもしれない。

関連するリスクの（先端的）評価の前後関係（assessment context）は、組替えられた形質だけではなく、種に関係してくる。

例を挙げて、作物が野生の繁殖パートナーがいた場合の散布に伴うリスクについてここで触れておきたい。散布リスクと野生で局地的に存在する種との混成に関する課題は、遺伝子組換え品種が無い種について必ずしも考慮されていない。他の種については評価方法が既に確立しているが、評価方法はNPBTsが使用されるかもしれない新しい種それぞれに個別で調整しなければならない。

科学委員会は、遺伝子組換え後に植物を再生させる技術的能力は新しい種の組換えを厳しく制限することを指摘したい。何故なら再生方法は極わずかな作物種のためにのみ開発されているからである。

5.1.2 潜在的新規形質に関連するリスク

科学委員会は、種⁸³の中の新規形質（セクション 1.3 参照）を、例えば、自然には存在せず合成生物学を用いて取得できる形質とは区別している。

5.1.2.1 種の中の新規形質⁸⁴

ある種の中の新規形質は⁸⁵、ここでの議論の上で、販売用として現在承認されている（従って EU カタログに掲載されている）ものと同じ種には存在しない形質と定義する。但し、その形質はその種の遺伝的多様性の範囲内には存在するかもしれない。新規形質は従来の繁殖方法、即ち誘蓮された突然変異または遺伝子組換え、によって選択出来るので、HCB 科学委員会はゲノム編集と特に遺伝子外の組換え技術が種の中に新規形質の出現を早めると信じている。但し、このリスクは NPBTs に固有のものではない。

現在開発中の新しい形質の中で、以下のもの（Ricroch と Henard-Damave、2015）に触れておきたい：

- 生物ストレス耐性：新しい種類の疾病及び害虫耐性、新しい種類の除草剤耐性。
- 非生物ストレス耐性：干ばつ、塩分、浸水
- 土壌栄養素の効果的利用：
- 栄養価：低非栄養化合物内容物、高栄養素内容物（例：ビタミン、ミネラル及び脂肪酸）
- 治療的分子生産

更に：

- 石油化学代替物
- ファイトレメディエーション

シスジェネシスとイントラジェネシスの場合、導入遺伝子が性的に適合する種に由来するという事実は、植物の品質と毒性（ナス科の場合：例えばトマトとジャガイモ）を無視して良いことにはならない。しかしながら、これらのリスクは従来の繁殖で現在起きているように、野生の植物からの希望する遺伝子をハイブリダイゼーションにより作物に移入することによるリスクに性質が似ている。

種を自然には成長出来ない環境（例えば塩分、干ばつ又は汚染土壌のために）に慣れさせる場合の潜在的リスクについても触れておきたい。そうすると、新しい区域に種が馴染む

⁸³ これらの新規形質について、カナダの指令 94-08 は定性的新規性（新しい形質がその植物種の安定的で、栽培された母集団に存在しない）と定量的新規性（その植物種の中の形質はその植物種の安定的で、栽培された母集団の中のその形質の範囲を著しく超えたレベルで存在する）との間を区別している。

⁸⁴ 新規性の定義については上記セクション 1.3 を参照。

⁸⁵ それは一般的に新規形質から区別されなければならない（セクション 1.3 を参照）。

ことに繋がるかもしれない。全ての新しい農作業と同じで、それらの影響はケースバイケースで公的機関によって評価及び・又は監視されなければならない。

作物種の新しい形質も機能ゲノム科学についての知識が増えた結果として出現するかもしれない。基礎と応用の両方の研究において、ゲノム編集技術はラボラトリーでの機能ゲノム科学の知識、特に多重遺伝子形質（Liu 他、2016）について、の取得を促進しなければならない。

5.1.2.2 新規形質（合成生物学）⁸⁶

分子進化によって取得された種又は他の関連種において遺伝子によって果たされない機能は、具体的な評価がされなければならない（セクション7を参照）。

5.2 NPBTs に固有の意図しない効果によるリスク

5.2.1 エフェクターの持続に関連する意図しない効果

記載した技術の多くで、他の種からのエフェクターが導入された中間的植物の繁殖が必要になる。SDN-1、SDN-2 及び SDN-3 組換えを発生させる技術はヌクレアーゼと、場合によってはガイド RNA を使用する（CRISPR/Cas9 システムのように）。以下の点に注目すべくである。

- ヌクレアーゼ発現の持続はより多くのオフターゲット組換えをもたらすかもしれない（Yee、2016）。
- ガイド RNA の持続性だけではいかなる具体的なリスクにも関係しないと思われる。
- ヌクレアーゼ（Cas9 などの）とガイド RNA の持続が一緒になってより多くのオフターゲット組換えをもたらすかもしれない。
- 更に、これらのエフェクターを含む植物の交配（例えば Cas9 を含む植物とガイド RNA を含む植物）は、子孫の代での遺伝子組換えをもたらすかもしれない。
- 最後に、ガイド RNA が、ヌクレアーゼとガイド RNA をコード化する導入遺伝子が安定して挿入されたゾーンに一致することで配列が認識される特別なケースでは、このような状況は遺伝子ドライブに繋がる可能性がある。それ故、遺伝子ドライブは特に意図しない場合には起きる可能性は低い。従って、それはトランスジェネシ

⁸⁶ 定義についてはセクション 1.3 を参照。

スの特別な種類であり⁸⁷、そのようなものとして評価されなければならない。ここでは遺伝子ドライブは考慮しない。

ヌクレアーゼ導入遺伝子を発現している「中間的」植物の環境への放出は、封じられた環境で使用することが出来る技術の場合には必要ではなく望ましくもない。⁸⁸もしエフェクターが DNA の形で持続するのであれば、取得された植物は GMO の定義に合致するので、指令 2001/18/EC の下で承認されなければならない。科学委員会は、エフェクターの持続は望ましくなく、申請者は商業用の種族はエフェクターフリーであることを確実にしなければならない、と考える。

結果として、科学委員会は、市場への提供の承認の前に DNA、RNA 又はタンパク質の形でエフェクターの不在が証明されなければならない、と主張する。

同様に、RdDM (RNA 依存の DNA のメチル化) を用いた組換えの場合、遺伝子組換えによる親の導入遺伝子が (安定的であるか否かは別にして) 遺伝するかもしれないリスクがある。

アグロインフィルタレーションの場合、リスクは形質転換が環境の中で植物の子孫によって安定して受け継がれるというものである。そうすると、それらは指令 2001/18/EC の目的上 GMO である。

GM 台木の非 GM である穂木の場合、いかなる導入遺伝子も望ましくない製品も、非 GM 部分とその子孫に伝達されていないことを確認しなければならない。台木はそれ自体で評価されなければならない。

5.2.2 オフターゲットの組換えと意図しないゲノム組換えに伴うリスク

意図しないゲノム組換えに伴うリスクは NPBTs に固有のものではない。それは、従来の繁殖又は誘発された突然変異を通じての形質の遺伝子移入からも起きる可能性があり、ブリーダーが望まない、又はブリーダーが知らない組換えを作った。しかしながら、HCB 科学委員会としてはこのセクションでこの問題を調査することを希望した。

⁸⁷ 遺伝子ドライブの継承は稀なことである。何故なら、遺伝子ドライブの部位はこの遺伝子ドライブを止めるかもしれない自然の突然変異の影響を受けるかもしれないが、導入遺伝子はメンデル遺伝よりもずっと早く集団によって受け継がれるからである。

⁸⁸ 効果を証明するデータの不在にも関わらず、HCB 科学委員会は、このような植物が健康と環境にリスクをもたらすかもしれない可能性を排除することが出来ない。

標的となったヌクレアーゼ(SDN)と導入遺伝子(ヌル分離個体、陰性マーカー選択、シスジェネシス、イントラジェネシス)、ODM、RdDM 及びアグロインフィルタレーションを用いる技術は、元々希望した組換え以外のゲノム組換えの潜在的リスクを抱えている。同じリスクは遺伝子組換え植物及び他の規制されていない植物繁殖方法にもある。科学委員会はこのセクションで関係する技術(デリバリー、プロトプラスト又は再生)に関係なく特定のNPBTsに固有の望ましくない組換えについて検討し、その次のセクションで遺伝子組換えGMO又は除外された技術にも見られるかもしれない望ましくない組換えについて検討する。

部位特異的なゲノム編集技術(SDNs、ODM、RdDM)の場合、オフターゲットの組換えが起きることもある。その他のゲノム工学技術は標的を定めておらず、⁸⁹それらは多くの望ましくない無作為の組合せを誘発するかもしれないが、それらは「オフターゲット」とは言えない。SDNsの場合、ヌクレアーゼはゲノムの他の部位、特に標的とする配列に似た配列を持ったもの、に働きかけるかもしれない。CRISPRについては、割れ目(cleavage)の場合に2つの別個の部位でゲノム再配置が見られたように(Pacher 他、2007)、オフターゲットの突然変異がガイドRNAから5塩基対まで異なる部位(Fu 他、2013、Jinek 他、2012、Tsai 他、2015)に見つかっている。これらの特異性の問題は他のヌクレアーゼにも存在する(Hendel 他、2015、Lin 他、2014)。

SDNs、ODM 及び RdDM によるオフターゲット組換えの種類は、使用される技術とデリバリーのモードに依存する。それらは一般的に言って化学的突然変異原及び放射線(規制されていない技術)によって取得される突然変異よりもずっと数が少なく、植物胚細胞に自然に起きる突然変異と同程度の数である。

これらのオフターゲットの組換えは、主としてヌクレアーゼの持続的発現(Yee、2016)及びデメチラーゼの場合に見られる。科学委員会は、技術が改善された特異性のあるヌクレアーゼ組合せを持った短期組換え酵素発現システムに向かっている、ことに注目している。このように、オフターゲットの突然変異のリスクは次第に減っている。CRISPR/Cas9 という特定のケースの場合、オフターゲットの組換えの割合は、Cas9 とガイドRNAの投与量とガイドRNAの最適選択による(Hsu 他、2013、Pattanayak 他、2013)。このようにこれらパラメーターの最適化はリスクを削減する(Peterson 他、2016)。

ガイドRNAの選択を通じてオフターゲットの突然変異を制限することは可能であるが、これをするには、植物のゲノム配列が分かっているとけない。自然な遺伝子変異性の範

⁸⁹ 化学的又は物理的突然変異原を用いた技術はゲノムの中にランダムにローカライズした突然変異を誘発するが、アグロバクテリウムを使用したDNA挿入技術は、ゲノムの挿入部位を狙うことは出来ない。

困が与えられているとして、基準配列は対象となっている種の配列に必ずしも合致するものではない。非コード配列は、特にそれらが機能していない場合、いつも正確にわかっているわけではない。従って、予見可能な結果を持っていない非機能性配列にオフターゲットの突然変異の可能性を特定することは困難である。ゲノム全体のシーケンシングによる確認は、それらゲノムの中の配列反復の大きさと多様性のために、作物の場合困難である。

誘発されたオフターゲット突然変異は、従って作物の大きなゲノムの場合正確に日常的に定量化することは困難である。この選定プロセス中の戻し交配は、(望ましい形質に遺伝子的に結びついているかもしれないものは別にして。しかしながらそれらはシーケンシングで見つけることが出来る) 殆どのオフターゲット突然変異を排除することが出来る。それにも関わらず、主として栄養繁殖によって再生産する果物の木や植物など多年生植物には戻し交配は技術的に使用が難しい。更に、オフターゲット突然変異は、植物を含む全ての生きた生物に見られる自然の突然変異と見分けるのは容易ではない。

オフターゲット突然変異を削減することは研究の中で活発な分野である。オフターゲット突然変異の頻度は新しい CRISPR/Cas9 システムを使用することにより、これらの突然変異を培養されたヒトの細胞に起きる自然の変異から見分けることは不可能である

(Kleinstiver 他、2016) と最近報告された、という程度まで削減することが出来る。これらのヌクレアーゼの異形は、検出可能なオフターゲット活動の無い原ヌクレアーゼと同等の (論文によれば 70%から 140%) オンターゲットの活動を維持している。モデル植物である *Arabidopsis thaliana*(シロイヌナズナ)についての他の分析は同様の結果を示した

(Peterson 他、2016)。⁹⁰

販売されることになっている品種の遺伝的背景との戻し交配によってオフターゲット突然変異を除去することはしばしば可能であるが、技術コストが極めて少くであり、戻し交配が難しい果物の木などの多年生植物の場合、ブリーダーはドナー親に頼ることなく (従って大いに時間の節約となる) 直接エリート品種を形質転換した方が良いと思うかもしれない。この場合、商業的遺伝的背景の特定のオフターゲット突然変異の可能性も、戻し交配によって除去されることになるだろう (但し、世代時間が長すぎるような多年生植物は除く)。

標的配列とある程度一致する配列の生物情報学的解析を通じてオフターゲット突然変異を評価し予測することは理論的には可能である。しかしながら、これは組換えする植物のゲノムに関する広範な知識がある場合にのみ可能である。

⁹⁰ このことを技術の使用に直接結び付けることが出来ずに、2つの転座事象がこの論文に見られる。

表現型効果を持ったオフターゲット突然変異は、取得された植物が栽培されている時は検出される。⁹¹

科学委員会は、ゲノムの特定された部位は SDN と ODM を使用したときのオフターゲット突然変異の頻度を測定するために、数年間ラボラトリーで配列しなければならないことをブリーダーたちに提案する可能性を検討した。こうすれば、これらオフターゲット効果のより多くの情報を集めこれら技術の野放しの使用を制限することを可能にする。しかしながら、今のところそのような記録を採ることは常に可能とは限らないようだ。と言うのは、その種のモデル種だけの配列ではなく、育成されている種の全部の配列を知ることが必要になるからだ。

5.2.3 狙った組換えを組み合わせることによるリスク

NPBTs のあるものは、同時に複数の遺伝子を組換える可能性をもたらす (Qi 他、2016)。このマルチプレックス遺伝子編集はこのような技術の特別な使用によるものであり、リスク評価について具体的な質問を提起する。こうして、ある遺伝子ファミリー又は代謝経路 (代謝工学) の中の全ての遺伝子の突然変異は新規形質⁹²の出現と多面的な効果の発現をもたらす可能性があり、従ってこれらの効果に伴う影響とリスクについての質問を提起することになる。

遺伝子のあるセットの突然変異は、制御経路 (制御ループの変更、「補償」効果) を通じて他の遺伝子や代謝経路の発現の変化に繋がる可能性がある。これらの変化は、それらが、表現型検査が徹底的でないために、化合物レベル又は特定の標的ではない病原体に対する感度を変更すれば、種の表現型に関する評価で検出されないかもしれない。

それぞれが遺伝子座の遺伝子の又は遺伝子外の変更によって、又は導入遺伝子 (cisgene 又は transgene (導入遺伝子)) によって制御されている多くの形質は、単一の種の中で結合させることが出来る。多くの遺伝子の又は遺伝子外の変更は、必ずしもそれら個々の表現型の変更 (エピスタシスの現象) の合計をもたらすわけではない (Phillips、2008)。

⁹¹ 科学委員会は、作物のオフターゲット組換えの影響に関連するリスクは、従ってこれらの技術がヒトの治療に使用されたときに現れるかもしれないものと同じ性格ではないことを指摘したい。患者におけるオフターゲット突然変異は彼らの身体の機能に、従って健康に、重大な影響を及ぼすことがある。この場合、ゼロに近づくオフターゲット効果の技術だけを使うことが重要である。ヒトのゲノムのシーケンシングが可能で早く、そして解析が容易であることからこのような検証を可能にしている。植物の繁殖には、もし望まれない突然変異の事象が植物の生存能力を損なうようであれば、その植物は単に繁殖プログラムでブリーダーによって選択されないだけのことである。

⁹² セクション 1.3 を参照。

5.3 NPBTs の効率と使用の技術的容易さによる繁殖の潜在的促進に伴うリスク

科学委員会は、新しい植物繁殖技術によってはそのペースと効率が新たな要素を提示していることに注目している。しかしながら、科学委員会は、作物のいずれの潜在的促進も組換えられた細胞からの植物全体(whole plant)を再生する能力に依存する、ということ指摘したい(別紙 V を参照)(Germana と Lambardi, 2016)。作物種にとって、これらの狙った方法は、異形の無作為の生産とその後の淘汰(環境に適応させた種の選択的繁殖)に基づき、生物学的発展のプロセスと共に中断する。NPBTs は作物種の中の形質の繁殖を導き、それは意図した形質変更の目的にとって、遺伝子組換えの低い可能性とランダムな突然変異によってはるかに制限が緩い。

NPBTs は、与えられた種に狙った改善を導入することを可能にし、これら植物の組換えを、ある遺伝子の中又は同時に複数の遺伝子の中の多くの部位を狙うことにより、作物種の繁殖の効果を促進することが出来る(Cambray 他、2011、Esvelt と Wang、2013、Woodruff と Gill、2011)(マルチプレックスゲノム編集を参照)。これらのランダムではなく狙った組換えは、繁殖プロセスに重要な変化をもたらす。種における自然の遺伝的変異では、アミノ酸置換を引き起こす多くの突然変異(多型性)が所与のタンパク質にしばしば見られる(セクション 2.1 参照)。他方、自然の集団からサンプルを採取した場合、所与の突然変異を見つける確率は極めて低い(0.1 から 0.0001 の間)(Wakeley、2009。Watterson、1975)。我々が、突然変異がランダムに表れるのを待ち(それはその後繁殖のために選択されるかもしれない)10 億の個体からなる集団をスクリーニング出来るのであれば、予め定義した新しい突然変異が所与の世代で見つかることは可能である。そのような集団の場合、2つの特定の別個の突然変異の組合せの確率は実質的にゼロである(平方して、10 億の個体における確立は 10^{-9} である)。新しい部位特異的突然変異生成技術は、植物繁殖のペースと可能性を変えている。というのは、それらの技術は、以前の実験で定義された多くの突然変異を同時に組み合わせることを可能にするからである。

従って NPBTs が共通して持っているのは、作物の繁殖を早めることが出来る、ということである。その結果としての影響は純粹に個別では評価できないが、全体としても評価しなければならない。

新しい品種にとっての繁殖プロセスの加速は農業改善の要素であるかもしれないが、リスクも伴うかもしれない。NPBTs がこれら技術で取得される新しい品種の採用を促進するであろうが、農業生態系への影響があるので、これは生物学的多様性と関連する生態系サービスにとっての新たな調整の問題に繋がるかもしれない。同様に、現在耕作されていない地域での新しい品種や種の栽培は、これら環境の生態系的特性を変えることになるかもし

れない。それでも、耕作されている地域といない地域双方での生物学的多様性は、ヒトの地域社会にとって欠かせない生態系的機能を、特に生態系サービスの規制の面と支援の面で（ミレニアム・エコシステム・アセスメント 2005⁹³）支えている。組換えられた形質の性格及び・又は新しい品種が導入された環境によって、農業生産と食品加工システムへの各種の経済的、社会的そして生態学的影響が予想される。起こり得る状況の範囲を所与として、新しい品種が新規形質を含んでいるのであれば、これらの革新が生態学的、農業生態学的、経済的及び社会的影響に関してモニターされることは有益であろう。

6. NPBTs によって取得された製品の使用にリスクがある場合、その使用による健康と環境へのリスクを予防又は制限するための管理手法（第 3 点に関連して照会の第 4 点）

評価

公的機関が適切な行動を取った後、セクション 7 に定められた提案を基に実施された評価の結果に鑑みて管理手法が導入されなければならない。

生物学的モニタリング

これらの新しい作物品種のあるもので発現した意図しない影響に関連する既知の又は強く疑われるリスクを防止又は緩和するのに必要となるかもしれないケース固有のモニタリング、作物の封じ込め又はオペレーター保護策を補足するために管理手法が提案されても良い。場合によっては生物学的モニタリングが必要であるかもしれない。このことは、作物が 1999 の **Outline Farming Act** によって最初の Bt（遺伝子組換え）トウモロコシのために導入されたものと同じパーセル・レジスター（これらパーセルと農業従事者の安全は当局によって保証されている）に記録されることを前提としている。⁹⁴ このネットワークは新しい品種のあるものの栽培の意図しない影響のモニタリングに拡大することが出来る。

NPBTs の結果としての農業生態系システムの変化のペースを制御するために、時間とスペースにおいて漸進的に拡大するようなこれら新しい植物の局地的管理を推奨するのが良いかもしれない。

エフェクターを発現する植物のスクリーニングは、承認された GMO とされていない GMO のスクリーニングの一部として行っても良い。

組換え無しの遺伝子プールの維持

科学委員会は、NPBTs で組替えられていない遺伝子資源のプールを保全することは重要で

⁹³ <http://www.millenniumassessment.org/en/>

⁹⁴ 詳細については用語集を参照。

あると考えている。

最後に、科学委員会は、関係する課題の複雑さのため、知識の進歩によってリスクとその結果についてより良く対応することが可能になる、と指摘する。

7. 社会経済的意味合いの評価を盛り込み、EU 地域で NPBTs の使用を規制するために有益と思われる EU カタログと指令 2001/18/EC の規定の間の中間的手法に関する提案 (第 7 点の関連で)

このセクションでは、科学委員会の分科会でメソコスムの手順と必要性について討議された。

7.1 当該 2 つのシステムの概要

カタログのための登録手順 (セクション 7.1.1、公式フランスカタログを例にして) と GMO に関する指令 2001/18/EC (セクション 7.1.2) による手順を比較するために、以下に概要を示す。

7.1.1 公式フランスカタログへの登録

フランスでは国のレベルで 2 つの公式カタログがある。「植物繁殖に関する技術委員会」によって管理されている「植物種に関する公式フランスカタログ」(CTPS) 及び各国のカタログの集合体である EU カタログである。国のカタログへの登録要件は国によって異なる場合があるので、ここでは公式フランスカタログについて述べる。

フランスでは、変種の種の販売は承認を必要とする。これは公式フランスカタログに登録することで達成され、その目的はユーザーに対して種が確かで公正な販売可能な品質のものであることを保証することである。新しい種が作られたならば、他の者と違っていること (distinctness)、均質であること (uniformity) そして安定している (stability) (DUS) という 3 つの要件、更に栽培する価値 (value for cultivation)、使用 (use) 及び環境 (environment) (VCUE) を満足していることを調べるために一連の試験を通らなければならない。従って、種によっては栽培に関する評価は産出量と成長の特性に関するものであり、使用の評価はタンパク質と反栄養素の含有量に関するものであり、環境評価は殺虫剤の使用を減らすために特定の害虫に対する耐性、それと資源 (水、窒素、リン等) の使用を減らすために非生物学的ストレスに対する耐性に関するものである。VCUE 試験は各種によって異なる。

例を挙げると、エンドウ豆は種の産出、タンパク質含有量、抗トリプシン要素、1000粒重、耐寒性（冬エンドウ豆のみ）そして耐倒伏性について評価され、小麦は成長習慣、耐寒性、耐倒伏性と耐派生、早期種蒔の適性、特定の疾病への耐性（茶色裾腐れ、さび（茶色と黄色）、包穎斑点、眼紋病）、産出高、最終使用品質、加工特性等について評価される。

7.1.2 GM 植物固有の EU システム

指令 2001/18/EC は遺伝子組換え植物（別紙 IB で除外されていなければ）の栽培と市場への提供について規制している。健康へのリスク（アレルギー性、毒性及び栄養成分）と環境へのリスク（直接と間接のリスク）の評価を実施しなければならない。⁹⁵ 指令は導入遺伝子挿入システムを対象としており、かかるシステムを含む植物の輸入又は栽培を、それらの遺伝的背景に関係なく、承認している（用語集、別紙 VI を参照）。

このようにして、従来の繁殖技術により取得された種は植物繁殖に関する技術委員会（CTPS）によって公式フランスカタログ登録のために評価され、遺伝子組換えによって取得された種はまず指令 2001/18/EC に定められた基準に従って評価され、次に CTPS によって評価される。

7.2 中間的取り決めに関する議論

7.2.1 導入された形質を別にした相違・同等性の概念

CTPS による DUS/VCUE 評価であろうと指令 2001/18/EC の下での評価であろうと、同様の非組換え品種に比べると評価の量は多い。しかしながら、新しい形質自体を別にしても、相違と同等性の概念は複雑である。どの基準植物が最も正統か？相違と同等性の別を決定するためにどの測定方法が使用されるべきか？表現型の試験（オミクス試験を含めて⁹⁶）？これらの評価には遺伝子の、表現型の、そして環境変化のどの範囲が含まれなければならないのか？

CTPS によって実施される表現型の試験は、徹底したものにはならないが、今までのところ環境と食品の安全性の面では効果的であることを示している。

⁹⁵ フランスでは健康に関する評価は「フランス食品、環境及び労働安全衛生庁(ANSES)」と HCB によって行われ、環境評価は HCB によって行われる。

⁹⁶ オミクス試験にはプロテオミクス、代謝学、高処理能力画像化等、表現型と見做される試験が含まれる。

将来、2つの品種の間で相違と同等性を決定する場合、マルチオミクスデータ解析がもう一つの方法かもしれない。それは、予見できない直接及び間接のリスクについてより良い理解を提供してくれるかもしれない。しかしながら、現在のところ測定の方法として使用するデータ、データベース及び指示の標準化の点でこの分野は未だ十分に開発されていない。いずれは現在の表現型試験を補足するかもしれない。

7.2.2 手順：具体的評価の必要性に関する個別評価に基づくシステム

科学委員会は、ブリーダーの申告に基づき、取得された製品とそれの取得に使用した技術に従って個別の評価を推奨する。

このように、科学委員会はブリーダーが評価機関に対して説明文書（簡単なガイド）を提出することを推奨する。

この機関は次に NPBTs によって取得された植物が特定され評価されるよう、情報を評価する。評価関係書類にはガイドブックが含まれているべきで、初期の段階に遺伝子組換えの評価の方向付けに役立つと思われる（図5）。

この簡易ガイドは該当する場合以下の情報を提供するべきである。

- 種
- NPBT によって組換える前の系統と植物素材の特定
- 繁殖方法
- デリバリー方法
- 組換えで標的となった組織
- 組換え又は導入された形質
- 系統の分子特性化
- 標的部位の配列（組換えの前後）と染色体の位置
- その技術を使用するために必要な成分の存在又は不在
- 表現型試験（組換え又は導入された形質のための表現型検査方法）
- 健康と環境への影響
- ブリーダーが追加すべきと考える全ての情報

まず第一ステップとして、この説明書類は遺伝子組換えを以下に定めた枠組みに従って分類することを可能にする。植物・製品が例えば SDN-2 又は SDN-3 によって取得されたのか、を判断しなければならないのはこの時点である。もしエフェクター（その技術を実行するために必要な成分）がその植物・製品に存在しているのであれば、それは事実上 GMO

であると考えられる。

この評価はまたその製品についての最先端の知識、特定されたリスク一覧（例：植物又は収穫された植物の部分の生化学的成分の組換えによるリスク・利益）の観点からの影響の解析、及び遺伝子組換えにより影響を受けた代謝経路の研究に基づいて行われるであろう。この評価により、新しい形質の予想される、そして不測の影響についてのより深い理解をもたらしてくれるであろう。結果として、それぞれのケースについて最終的な関係書類にとって必要な情報を明確にして、申請者にとっての指針が提供されることになるはずだ。

トレーサビリティに関する書類と最先端の知識に基づいて遺伝子組換えの状況を判定する機関は、示された枠組みに沿って植物の評価の方向付けが出来るであろう。

第二ステップとして、既存の規制によって定められた評価手順に供せられなかった植物・製品については、予想される（健康と環境への）直接及び間接リスク及び組換えられた植物から取得された製品に関連し、評価の過程で認識された（コストと）利益を評価するための表現型試験（図5）を通じての詳細評価が計画されるであろう。

食品用途の製品の中の新規形質⁹⁷の場合、毒性と栄養素生産の基準は欧州委員会の新規食品規制⁹⁸（製品の毒性とそれを普通食に含めることによる栄養的不均衡に関連する）に定められたものと類似であるかもしれない。その基準は現在「フランス食品、環境及び労働安全衛生庁(ANSES)」によって評価されている。この健康評価は環境評価によって補完されることが出来る。

⁹⁷ その定義についてはセクション 1.3 を参照のこと。

⁹⁸ http://ec.europa.eu/food/safety/novel_food/index_en.htm

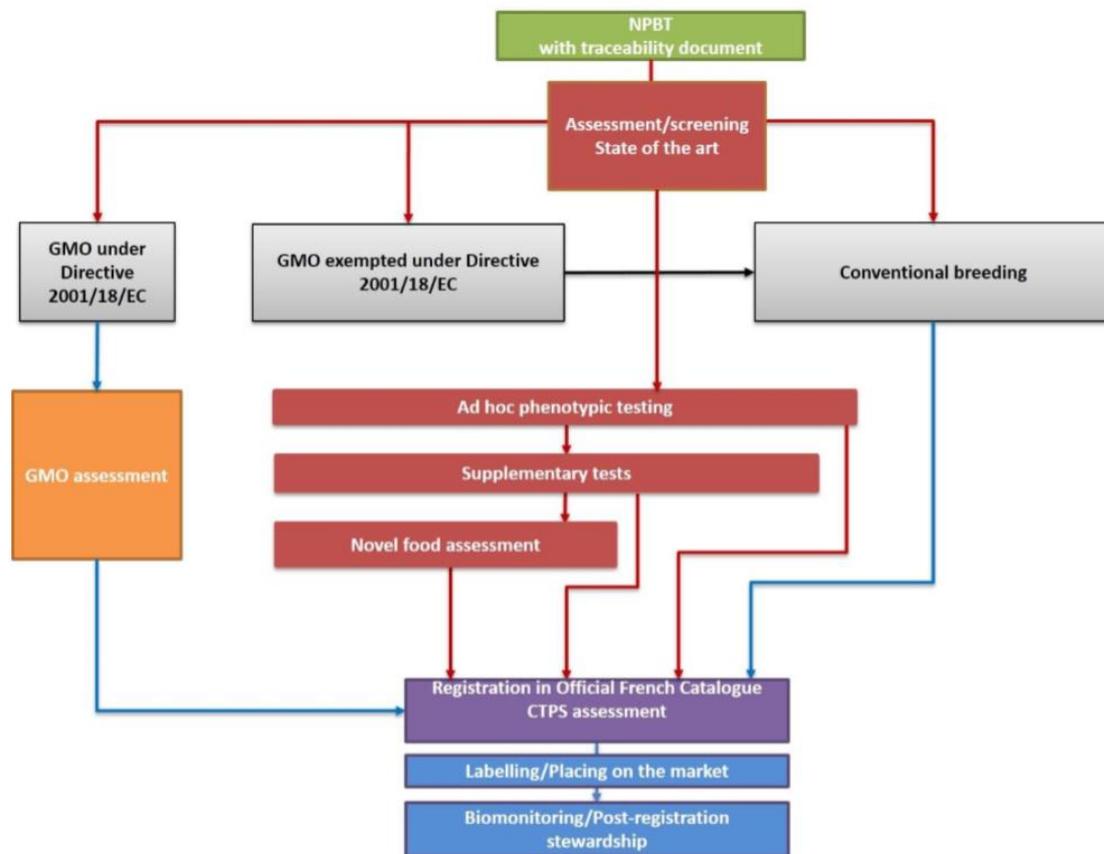


図5：NPBTsによって取得された植物の評価と市場への提供のための指令2001/18/EC（灰色で表示）で定められた評価とカタログへの登録（紫色で表示）の間の中間オプション案（赤で表示）。

場合によっては、第三ステップとして、特定の点を明確にし、登録後の管理責任のために、評価機関が補足試験を要求することがある。

透明性の観点から、専門家と市民社会に情報を提供するために、そのような試験も形質の新規性を明確にするように設計されものと思われる。新規性はリスクと関係が無いかもしれないが、それに関する知識が専門家と市民社会による選択及び革新が用いられる条件に影響を及ぼすかもしれない。

全てのケースで、市場に提供する前に公式フランスカタログへの登録が必要で、特定のケースでは販売後の生物的モニタリングがその後行われる。

7.3 評価方法案

新規形質

科学委員会は、NPBTs について列記されている多くのリスクが従来の繁殖として知られているものに関連しているものと何ら違わない、ということを見ており、そのため両方のケースで同じ評価プロセスを使用して良いことになる。評価方法を調整するために安全使用の歴史が考慮されなければならない。

現地での放出の前に評価のためにメソコスムの使用が、該当する場合は、考慮されても良い。

ヒトの健康への直接リスク

これらの懸念は、第一に、食事曝露とも合わさって植物とその副産物に存在するかもしれない新規成分の潜在的毒性及び栄養バランスの点での影響、第二に気中曝露（花粉）、皮膚曝露（特に労働者の間で）又は食品曝露に伴うアレルギー症状の可能性、である。これらのリスクは全ての新しい品種に共通するものである。

NPBTs に関する食品安全評価戦略は、これら技術のそれぞれの具体的な特徴を考慮しなければならない。

この点に関して、リスクの概要表、それらの明確な特徴及び関連する緩和方法（表 V.1）は 2 組の可能性のある標準に指針を提供する：

- 「従来の繁殖」：これには食品全般に適用される健康規制を除いて、食品安全評価のための特別な要件は想定されていない。
- 「遺伝子組換え」：上記 3 点を含め、具体的な規定が計画されている。

意図しない影響に由来する潜在的リスクの 10 の分類が特定された。即ち；エフェクターの持続性、ベクターの持続性、繁殖方法、意図しないゲノム組換え、デリバリーと再生によるオフターゲットのゲノム組換え、狙った組換えの組合せ、多面発現性、低分子干渉 RNA の発現、低分子干渉 RNA の散布、そして意図しない体系的多世代的影响、である。

これら分野のうち 2 つ（エフェクターの持続性と狙った組換えの組合せ）は SDNs に限定され、従ってエフェクターの不在を実証しなければならない。

その他の 2 つ（ベクターの持続性と繁殖方法）については、リスクは遺伝子組換えについ

て特定されており、関連する規定はこれら NPBTs に適用される。

低分子干渉 RNA の発現と散布というリスクについて、遺伝子組換えのための規定がシスジェネシス・SDN-3 技術に適用される。

従来の繁殖又はランダムな突然変異体（デリバリーと再生によるオフターゲットゲノム組換え、多面発現性、意図しない体系的多世代的影响）、及び非特異性のリスクについても特定されたリスクについては、原則として特別な規定を考慮する必要はない。

結論として、NPBTs についての食品安全性規定は、スペクトルの両端、即ち一方に従来の繁殖、そして他方に遺伝子組換え、に基づいたものでなければならない。

意図しない組換え

HCB 科学委員会は、部位特異的ヌクレアーゼを使用する時は、組換えの標的とされた部位と類似の配列を持っていると *in silico* で認められた部位は、可能な時いつでも配列解析されることを、推奨する。

狙った組換えの組合せ

生物的モニタリングと個別試験システムは当該品種に使用することが出来る。今日までこの種の組換えの例は無いので、科学委員会としてはこのような応用例は発生した都度、個別に研究することを推奨する。

規制された又は規制されていない技術によって既に取得された形質に関連するリスク

もし誘発された組換えがその種とその親戚にとっての変異の限度内に留まっているのであれば、リスクは従来の繁殖の結果のリスクと同じである。⁹⁹

規制された技術と規制されていない技術の双方で取得された植物に既に見られる農業生態系への影響のうち、あるものは予測可能であり、既に広く記録されている。その中には標的とする病原体の中の進化に続く耐性遺伝子の迂回が含まれる (Burdon 他、2014。Jones 他、2014)。同様に、Bt (遺伝子組換え) タンパク質を発現する品種の標的種の多くの集団は、耐性を示している (Devos 他、2013。Tabashnik 他、2013)。予想しなかった影響が時に見られた。しばしば引き合いに出される例は、テキサス不稔性細胞質を持ったトウモロコシの品種で、それはトウモロコシすす紋病の影響を受けやすかった (Smith 他、1971。Tatum、1971)。

・ ヒトの健康への直接リスク¹⁰⁰

これらは、第一に、食事曝露とも合わさって植物とその副産物に存在するかもしれない新規成分の**潜在的毒性**及び栄養バランスの点での影響に関するもの、第二に気中曝露 (花粉)、皮膚曝露 (特に労働者の間で) 又は食品曝露に伴う**アレルギー**症状の可能性、に関するものである。これらのリスクは全ての新しい品種に共通である。

・ 生態系の健全性への直接リスク

リスクの最初のタイプは、自然植物集団を形成することにより種の新しい表現型特性が野外で持続する、そして栽培区域の外に散布する (野生の集団) (Garnier と Lecomte、2016。Garnier 他、2006、2008) 能力を増した場合に、多分自然環境に侵略して (今日まで作物のために記録されていない) 散布と自然植物地域社会へ侵略するリスクを懸念するものである。このリスクの最初のタイプは、もしハイブリッドが持続性を増し及び・そして侵略能力を増したとすると (これも今日まで記録はない)、花粉による遺伝子の流れを通じて同じ種の野生型又は関連する野生種 (Chevre 他、1997) にも起きるかもしれない。

リスクの第二のタイプは、生態系の変更と特に植物と病原性の、寄生性の又は消費者生物、及び共生種又は共生者との間の栄養の相互作用を通じての生物多様性への影響に関するも

⁹⁹ NPBT を用いて一つの望ましい遺伝子をコード化して配列を挿入することはハイブリダイゼーションと戻し交配を通じて同じ遺伝子をコード化する伝統的な遺伝子移入よりもリスクが低いと考えるかもしれないが。

¹⁰⁰ 指令 2001/18/EC の意味合いにおいて。

のである。と言うのは、これらの生物は生物多様性の全ての範囲（バクテリア、菌類、植物、昆虫、他の動物など）からやってくる事が出来るからである。種に害虫耐性を持たせることを直接狙った、又は共生生物との相互作用を改善することを意図した形質の場合、標的とした生物への影響を非標的生物への影響と区別することは有益である。直接リスクには、非標的動物消費者への毒性効果、標的種を限定する（種の代替）地域社会への影響、及び種からの進化圧力に応える標的種の中の耐性進化をも含めることが出来る。

・間接リスク¹⁰¹

これらは農作業の変化（特定の活性成分の使用など、新しい品種に関連したものを含む（Bohan 他、2005。Lamichhane 他、2016））と「組換え」品種の増殖による望ましい又は望ましくない種のための生息環境の変更（成長の容易さ、進化的圧力）によって起きるかもしれない。

除草剤耐性の具体的な例：除草剤耐性植物の繁殖についての集会的化学的評価はフランス国立農業研究所(National Institute of Agronomic Research= INRA)から入手できる。¹⁰²この問題は HCB を含むどの組織においても専門の作業部会で検討することが出来る。

規制された技術(GMO)と規制されていない技術（従来の繁殖、ランダムな突然変異）の双方によるリスクの管理は、これらの種類のリスクの発現を特定してそれを制限する、又はそれらが発達するのを予防することを一般的に可能にするような生物学的モニタリングを必要とさせる。

望ましい形質に起因する潜在的リスクは個々の形質によって異なり、それを取得するために用いた技術の影響は受けない

作物の変化のペースへのヒトの影響に関連するリスク

作物種を変更する力は、表現型進化のより速い、ヒトに制御されたペースに繋がるかもしれない。部位特異的組換えは、ランダムな突然変異と遺伝子組換え系統に基づく生物的進化の規則によって中断し、その後自然淘汰が起きる（Vigouroux 他、2011）。このように、栽培化とランダムな変異の選択の影響に比べて、ヒトは自分たちが育成する生きた生物への影響を更に増すことが出来る。従ってヒトはその環境に対して小さくない影響を及ぼすのである。

¹⁰¹ 指令 2001/18/EC の意味合いにおいて。

¹⁰² <https://www6.paris.inra.fr/depe/Projets/Varietes-Vegetales-Tolerantes-aux-Herbicides>
（要約は英語版あり）

しかしながら、作物は栽培化されて以来、農業従事者及びブリーダーによる選定に依存する進化パターンを踏んできた (Vigouroux 他、2011)。こうして、最近まで、ヒトによる植物の人為的選択は、関係する遺伝子についての特別な知識に基づいたものではなかった。これはこの何年かの間に変化した。ランダムな突然変異生成技術は約 20 年前に始まり、通常は遺伝子の欠失である望ましい組換えの分子選定がそれに続いた (Mba、2013。McCallum 他、2000。Parry 他、2009。Suprasanna 他、2015。Tadele 他、2010。)

この 20 年の間には、複数遺伝子部位における、又は一度に複数遺伝子の、ランダムな組換えの幅広い組み合わせについての高生産性ラボラトリースクリーニングという選択肢、これはしばしば「指向進化」と呼ばれたアプローチだが、も見てきた (これはラボラトリーでの選定とランダム性を用いるのではあるが)。別のやり方は合理的な設計というものである (Castle、2004。Dixon 他、2003。Rao、2008。Yuan 他、2005。)。いずれの場合も、タンパク質又は代謝経路のラボラトリーでの改善は、部位特異的突然変異生成又は遺伝子組換えによる関心生物へのその導入へと続く。

生物学的多様性への Red Queen (遺伝子が生き残るためには進化し続けなければならないことの比喩) 効果

表現型変化などの進化的パラメーターの変化は、種間の相互作用に定性的変化をもたらすかもしれず、これらの植物が採用される程度によっては、生態系にとっての広範囲に及ぶ意味合いを持つ。

生物学的多様性への全体の影響は予測が困難である。と言うのは、影響は環境的暴露の程度に大いに依存するからである (既に該当することであるが、採用と作付様式の変化)。しかしながら、以下のことを指摘しておきたい。

- ・作物品種への迅速な耐性遺伝子の広範な展開を伴う標的害虫 (病原体、昆虫) へのより大きな選択圧。このような選択圧の増大の結果は不明である。理論上、NPBTs は複数の主要な及び・又は定量的耐性遺伝子を作物品種に同時に蓄積することを可能にする一方、この新しい選択圧に反応して進化する害虫の能力は減退するはずである (Burdon 他、2014。Jones 他、2014。)。しかしながら、耐性遺伝子の組み合わせの不適切な展開が反対の効果をもたらすこともある。ホストの範囲の変化など、他の進化の反応も害虫が新しい種にとって有害となることを伴って起きるかもしれない。この展開は非 GM 作物にも見られたことである (Stukenbrock と McDonald、2008)。

- ・もし植物の形質が農産化学（バイオ燃料、ポリマー、治療用分子等）などの新しい用途を許容するのであれば、干ばつと塩害など極端な条件に耐えられる植物品種を導入して、より広い土地で栽培を行い農業を新しい環境へ展開すること。¹⁰³ 農地の拡大は生物学的多様性が減衰する主要な理由である（Newbold 他、2015）。と言うのは、栽培されない生態系は農業生態系に代替されているからである。しかしながら、有益な影響（例えば、土壌により多くの炭素が備蓄され、温室効果ガスのより低い排出、又は化石燃料の使用の低減に繋がる）も期待されることを指摘したい。

HCB 科学委員会は、NPBT であろうと従来ものでであろうと、殆どの繁殖方法は、再播種に使用されるサンプリングのために偏りを示すことがあるので（Vigouroux 他、2011）、是正措置が必要になることを指摘する。

HCB 科学委員会は、更に、非作物植物の計画的変更（ブタクサのアレルギー性を減らすことなど）に関する課題は、別の文脈で検討されるべきであることを指摘したい。

デリバリーツールの持続性に関するリスク

SDNs、RdDM、ヌル分離個体、シスジェネシス及びイントラジェネシスの使用のために、細胞に反応物を導入する（デリバリー）多くの方法が可能である（セクション 2.3 を参照）。今まで、これらの方法は「従来」の GMO のみを対象としていた。アメリカ合衆国など、国によっては、デリバリー方法に基づいて遺伝子組換え植物を承認している。¹⁰⁴ 例えば、特定の方法でのバクテリア又はウイルスの使用の規制である。

アグロ・バクテリウム・デリバリーとアグロインフィルタレーションにとって、組換えられた T-DNA を運ぶバクテリアが他のバクテリアの配列又は真核性の配列を持って環境に広がるというリスクがある。このような放出自体は規制対象であり、従って SDNs、RdDM、ヌル分離個体、シスジェネシスそしてイントラジェネシスについて封じられた使用下で確認されなければならない。バクテリアは適切な抗生物質治療で排除できるが、これら植物の封じられない使用の前に、バクテリアが実際に不在であることが確認されなければならない。¹⁰⁵ このためには、デリバリーの種類とプロセス中及び植物にバクテリアが不在であること、それから販売されること、が文書になっていることが要求される。

¹⁰³ <http://institut.inra.fr/en/Objectives/Informing-public-policy/Foresight/All-the-news/ Agrimonde-Terraforesight-study>

¹⁰⁴ https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/SA_Regulations

¹⁰⁵ しかしながら、これらの植物は現在のところ封鎖された状態での使用目的であることを科学委員会は指摘したい。

自発的に複製するエピソーム（例えば、ウイルス配列）を通じたデリバリーの場合、この自発的な複製は持続するかもしれない。使用されるウイルス配列の殆どは、通常配偶子（ガメート）に侵入しないが（セクション 2.6.1 を参照）、十分な情報が無い場合、このことは確認されなければならない。

生物学の場合、プロトプラストの使用と細胞からの植物再生、多くの望まない遺伝子及び遺伝子外の組換えは避けられない（オフターゲットの影響を参照）。

組換え選択方法に関連したリスク

シスジェネシス、イントラジェネシス、トランスジェネシス、SDNs 及び RdDM 技術については、選択可能なマーカー（しばしば他の種からの組換え遺伝子。セクション 2.4 を参照）の持続性に関する更なるリスクがある。これら選択可能マーカーが除去され、その除去が損傷を起こしていないことを確実にしなければならない。もし選択可能マーカーが残っていると、その植物は規制に従って事実上 GMO であり、そのようなものとして評価されなければならない。

植物の中の低分子干渉 RNA に関連するリスク

シスジェネシス（例えばマイクロ RNA 遺伝子のシスジェネシス）及びイントラジェネシスの 1 サブカテゴリーは、マイクロ RNA の発現にある。即ち、種々のメカニズムを通じて遺伝子発現に干渉するアンチセンス RNA 又は二本鎖 RNA である (Auer と Frederick, 2009)。この場合、低分子干渉 RNA は、遺伝子発現の変更にとってのオフターゲット効果を起こすことがある (Molesini 他、2012。Xu 他、2006)。植物は short RNA のための増幅酵素を持っているので、後者 (short RNA?) は植物の中で増幅されて、異なった細胞に伝播される。

約 20 - 25 塩基対の short RNA の特異性は、特にマイクロ RNA の場合は低く (Xu 他、2006)、それがいくつかの塩基対の不一致で標的を抑制することがある (Molesini 他、2012)。このことは多くの遺伝子の発現に影響を及ぼすことが出来、従ってその植物がそのような遺伝子を持っている場合は、その散布容量又は代謝産物・毒の生産など、植物の表現型に影響することが理論的には出来る。植物は、この種の影響を及ぼすかもしれない多くのマイクロ RNA を、突然変異を通じて発現する。今日まで、科学委員会の知る限り、マイクロ RNA の突然変異を通じた毒性の誘導の例は無い。

低分子干渉 RNA の環境への放出に関連するリスク

イントラジェネシスが低分子干渉 RNA の発現にある場合、二本鎖 RNA が環境に放出されて他の生物に影響を及ぼすことがある。というのは、後者（他の生物）（線虫、節足動物、真核生物、単細胞生物など）は環境から二本鎖 RNA を輸入することがあるからである。¹⁰⁶ こうして二本鎖 RNA は他の非標的生物に到達して影響を及ぼすことが出来る（Ramesh、2013）。

これらのオフターゲット効果は、しかしながら、予想が困難であり、農業条件に見られる全ての生物を試験することは不可能である。

意図しない規則正しい複数世代的影響に関連するリスク

RdDM は、厳密には遺伝子（DNA メチル化）ではないが、他の遺伝子座への影響が意図しないで起きる複数世代的影響を及ぼすことを目指している。このように、これは多くの遺伝子の発現に影響することが出来る。

移植した遺伝子の場合、これらの意図しない影響は、植物の中での低分子干渉 RNA の規則正しい伝播を通じて起きることがある。

ヌル分離個体の場合、意図しない複数世代的影響は、特に DNA メチル化において、起きることがある。この種の影響は種間のハイブリダイゼーションにも見ることが出来、同じ種の従来のハイブリダイゼーションにさえも見ることが出来る。

科学委員会は、記録はされていないが、同じ性格のリスクは理論的にはハイブリダイゼーション全般に存在することに注目する。

ゲノムと環境に依存するリスク

2つの遺伝子組換えの組合せが予想出来ない表現型をもたらすかもしれないのと同じ方法で、各組換えは遺伝的背景と環境と相互に作用する。環境条件の影響の下での形質発現の変更は、ことなる環境条件で新しい品種を試験するときに考慮されるが、これは全ての可能性のある条件を網羅することは出来ない。当面、試験を補完したり代替するためにモデルを使用することは可能ではない。と言うのは、「遺伝子型×環境」相互作用の統計的モデル

¹⁰⁶ この現象は特に植物外の、昆虫など、病原体の中の遺伝子を狙うときに用いる（Youis 他、2014）。他の生物を狙うやり方は、外部の導入遺伝子（従来の GMO）を採用し、従ってイントラジェネシスの範疇には入らない。

ル又はゲノムの共変量を含めることは、予測ではなくより説明的である (Gauffreteau 他、2016。Gauffreteau, A.他、2015。Heslot 他、2014。)

ゲノムの状況の結果としての組換えは、遺伝子組換えが遺伝子的背景 (その他残りのゲノム) に関わらず承認されたのであれば、関係がある。同じ組換えを同じ種の異なる遺伝子的背景に導入すると、表現型とそのばらつきに異なる影響を及ぼすことがあり、他の種ではなおさらである (Chandler 他、2013。Hall 他、2007。Roles 他、2016。)

デリバリーと再生によるオフターゲットのゲノム組換えに伴うリスク

・ トランスフェクション及び・又は再生にプロトプラスト、アグロバクテリウムを使用することによる意図しないゲノム組換え

バイオリステイクスの場合、染色体量の変更を含み、プロトプラストの使用と細胞からの植物再生、望まない遺伝子と遺伝子外組換え (あるものは遺伝可能) はしばしば起きる

(Bairu 他、2011。Van den Bulk 他、1990。Jiang 他、2011。Kaeppler 他、1990。Machczynska 他、2015。Ong-Abdullah 他、2015。Rhee 他、2010。Stelflug 他、2014。)。更に、植物全体は従来の繁殖によって取得された品種のクローン増殖を通じて、分化されていない細胞から再生される。遺伝子型が同じ培養条件下でどのようにして色々な表現型になるのかは明確に理解されていない (Krishna 他、2016) が、一部の原因は知られているので、再生された植物へのそれらの影響を減らすための行動は取れる (Bairu 他、2011)。これ (原因?) には以下が含まれる: i) 変異又は *in vitro* 突然変異の無い遺伝子型及び器官形成よりも胚形成による再生に関連した遺伝子型 (もし入手可能であれば) の選択、ii) 外植片の培養と再生の間のより少ない通路、iii) 分化されていない組織の再生前の成長段階を出来るだけ短くしてより良い細胞サイクル制御を促進するために、出来るだけ低い成長調整物質濃度の使用、そして iv) DNA の切断と DNA の高メチル化と低メチル化のリスクの原因となる酸化ストレスによる既知のエフェクターの活動予防。アグロバクテリウム形質転換も時に意図しない組換えをもたらすことがある。例えば、バクテリア染色体 DNA の挿入 (Ulker 他、2008) 又は T-DNA の切断 (Shouten と Jacobsen、2007) を通じてである。

プラスミドがヌクレアーゼとガイド RNA の両方をコード化して植物プロトプラストがトランスフェクト (核酸の導入?) された場合、0.06% から 0.14% の割合で、プラスミドからの DNA のわずかな挿入が切断部位で起きることを論文が示した。

アグロインフィルタレーションの場合、導入遺伝子の望まない統合が同じ性格のオフターゲット効果をもたらすかもしれない。

それでも科学委員会は、これらのデリバリー方法を用いた遺伝子組換え植物の発生が 20 年間行われてきたこと、そして市場に提供されたいかなる植物もこれらの方法に関連した問題を提起したことを科学委員会は承知していないことを指摘したい。

・ SDN-3、シスジェネシス及びイントラジェネシス（従来の GMO と共に）の場合の統合部位による意図しないゲノム組換え

シスジェネシスとイントラジェネシスの場合、ゲノムへの導入遺伝子の挿入は、遺伝子座での内因性の遺伝子の妨害、統合部位又は遺伝子座での新しいコード化配列又は遺伝子発現の規制撤廃など、制御されない効果をもたらすかもしれない。シスジェネシスの場合、導入遺伝子は通常そのまま転写されるはずだが、挿入はノックアウト又は挿入が起きる内因性の遺伝子座との組み合わせを生じさせ、予想出来ない規制対象の配列及び異常な融合転写又はアンチセンス転写さえも生じさせて異常な導入遺伝子の発現に繋がるかもしれない、それは結局イントラジェネシスになる。

SDN-3 については、植物ゲノミクスの進歩により多分「避難港遺伝子座」の特定を可能にするであろう。避難港とは非コード化部位にあり、高く安定した遺伝子発現を持ち、導入遺伝子の挿入の標的となることが出来るものである（Cantos 他、2014）。

多面発現性に伴うリスク

遺伝子組換え（SDNs、ODM 及び RdDM）と導入遺伝子の挿入（イントラジェネシスとシスジェネシス）は、生物の望ましい表現型（多面発現性）に関連したもの以外の形質に影響を及ぼすことが出来る。多面発現的影響（即ち、標的遺伝子のみが組換えられるが、望ましい形質以外の植物形質に影響を及ぼす）は、狙った遺伝子組換えによって起きる。これらの影響はどのような植物繁殖方法（従来の繁殖、ランダムな突然変異、など）が用いられようと存在する。これら全ての方法を現場環境で試験して予測することは困難である。あるものはブリーダーによって繁殖プロセスの過程で、又は作物が育成される時に特定されるかもしれない。組換えによっては、例えば特定の成分のレベル又は特定の病原体に対する感受性のレベルを変えた場合、品種の表現型試験の最中にラボラトリーで検出されなかったかもしれない。ある場合には、SDNs、ODM 又は移植による遺伝子制御又はサイレンシングは、元々作物種では合成されたものではない多かれ少なかれ望ましくない、又は毒性の製品の合成を活性化するかもしれないことは考えられることだ。しかしながら、既知の例は無い。

新しい生態系の相互作用に伴うリスク

これらの新しい生態系の相互作用は植物、動物そして微生物が対象である。それらはある種の衰退に、そして絶滅にさえも、繋がるかもしれず、そして反対にその他の種を増殖させ、やがてこれら種が属していた地域社会の構成の変化に至るかもしれない。しかしながら、これらの種と地域社会は既に自然の突然変異の影響に曝されており、適合する機会を与えられてきた。自然の突然変異は生態系の進化の一部である生態系の相互作用を生じさせる。

結果として生じる新しいリスクは健康と環境に関係している。新しい生態系の相互作用の色々な種類が検討されなければならない。

- 免疫システムの正常な機能との関連における (O'Doherty 他、2014)、異なるヒトの、特に消化管の中の、微生物叢との相互作用、そして生じるかもしれない各種腸内毒素症。
- 植物の異なる微生物叢、及びそれら植物を食べる動物の微生物叢との相互作用。
- 土壌微生物との相互作用。後者（土壌微生物）は、土壌肥沃度、炭素貯蔵、及び水と空気の浄化と言った、生態系が機能する上での、及び生きた生物、特にヒトの、健康面での主要な役割を果たす。
- 他の種、特に授粉媒介者など、生態系が機能する上で主要な役割を果たすものとの相互作用。

これらの「新しい生態系相互作用」は、他の種による仲介を要せずにヒトに直接影響を及ぼすことが出来る。例えば、作られた新しいタンパク質は、アレルギー誘発性 (Traidl-Hoffman 他、2009) 又はヒトの健康に有益な成分 (ビタミン、酸化防止剤、ポリ不飽和脂肪酸など) の減少又は増加をもたらすかもしれない。

取得された新規形質は、ヒトと非ヒトの微生物叢への影響を含む評価システムによる、ヒト及び・又は生態系の個別のリスク評価を必要とさせる。

別紙 VI 用語集

一貫性を持たせるため、HCB 科学委員会は別の文脈で使用されるかもしれない特定の言葉に、この用語集で説明される特定の意味を付与することにした。誤解を避けるため、科学委員会はこの用語集がこの見解にのみ適用されることをここに明確にしたい。

エフェクター：植物に望ましい組換えをもたらすために使用される分子（タンパク質又は核酸（RNA 又は DNA））。

ベクター：この定義においては、ベクターは遺伝子を移動させるためのツールである。遺伝子の情報は容易には細胞に移動できないので、ベクターが必要である。

ベクターは 2 種類の分子からなっている。

- ・移動させられる分子：これが、RNA 又は DNA として、遺伝子情報を運ぶ。同じベクターは、異なった分子の種類を含め、多くの分子を移動させることが出来る。
- ・移動を可能にする分子の複合体。植物の場合、この複合体は通常ウイルスであるかバクテリアである。それは遺伝子情報を移動するために変更された微生物を含んでいる。ベクターとなる親生物の変更は、元の微生物の病原性を除外することを意図している。ベクターは *in vitro* で取扱い易く、移動の運搬手段となる。

移動の最中又はその後、遺伝子情報が挿入されている 2 番目のベクター成分が通常細胞から取り除かれる。

あるベクターは「*inert*（不活性）」と呼ばれる。何故なら、それらは物理化学的容量が遺伝物質を細胞に挿入されることを許容する合成分子で構成されているからである。移動の方法（複数）も存在していて、主として物理的なものである（エレクトロポレーション、超音波など）。

ベクターの選択は、その効率と持続性を考慮して、遺伝子情報がそこに移動するところの細胞に依存する。

タンパク質も、通常物理的な方法で、ベクターの形で移動される。その性質が何であれ、ベクターの使用は標的とする細胞の一時的な変更をもたらす。

新規の形質：当該生物の遺伝子の中に一つ以上の遺伝子を挿入することから生じる、又は一つ以上の遺伝子の発現の変更から生じる新しい特性。科学委員会は新規性の 2 つの種類

を区別する：

- 他の種、又は他の関連する又は性的に適合する種で特定された形質の種への導入：その目的は関心のあるアレル状態を導入することにより既存の遺伝的多様性を高めること。結果として、その植物に既に存在する遺伝子の遺伝子配列の追加¹⁰⁷や遺伝子の機能の変更は無い。
- ある種及び・又は関連する種への全く新しい形質の導入：¹⁰⁸新規形質は、遺伝子が当該種の中に自然に存在するのではない、又は既存遺伝子の変更が種に新しい代謝経路又は新しい機能を導入するという事実に由来する。

1999年の Outline Farming Act によって導入された生物的モニター：後者（Outline Farming Act）の目的は、以下について新しい GM の意図しない影響が生じることを確認し監視することであった。

- ・ 害虫集団
- ・ 野生の動植物
- ・ 水域環境
- ・ 微生物の集団（ウイルスを含む）

事実、意図しない影響のあるものは、大規模栽培の後でしかも年月を経た後にのみ生じるかもしれない（例：標的昆虫に耐性の発現、耐性を持つ雑草の発生）。しかしこれらの課題は、全ての変種の革新に影響するものであって、NPBTs によって取得された製品固有のものではない。販売後の監視手順は 2006 年に EFSA によって定められ、2011 年に更新された（EFSA、2011）。それらは EU AMIGA プロジェクト¹⁰⁹の期間中に評価のために試験された。このプロジェクトの結果は、どのように大規模監視を行うかを考える上で役に立つであろう。これはまた既存の監視と調査ネットワークを中心に組み立てることも出来る（EFSA、2014。Reboud 他、2013）。更に、植物保護の意図しない影響（欧州食品総局の植物保護及び品質局により調整される。2015 年 10 月に発行された Ecophyto II 計画のテーマ 3 を参照。）の監視を担当する国の植物に関する生物学的監視ネットワークと、国の疫学に関する作物調査のためのネットワークが存在している。

¹⁰⁷ シスジェネシスとイントラジェネシスについて追加の概念を明確にすることは重要である。遺伝物質が導入されるかもしれないが、挿入された遺伝子が異なるアレル状態で既に存在するか、同じ種の特定の品種に存在する。

¹⁰⁸ この区別はカナダの GMO 規則で強調されていて、その種又は関連する種に以前存在していなかった新しい形質を持つ品種の場合のみの評価について定めている。
(<http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/gmfagm/index-eng.php>)

¹⁰⁹ AMIGA, Assessing and Monitoring the Impacts of Genetically Modified Plants on Agro-ecosystems (FP7, 2011 - 2016): <http://www.amigaproject.eu/>

指令 2001/18/EC: 指令 2001/18/EC は GM 植物の栽培と市場への提供を（もし別紙 IB で除外されていなければ）規制している。それは導入遺伝子の挿入系統を対象として、遺伝的背景に関わらず、そのような系統を含む植物の輸入又は栽培を承認している。

遺伝子組換え植物の（食品又は飼料用途での輸入又は栽培のための）承認申請は、その栽培に関する情報（分類学的同定、繁殖、他の栽培された又は野生の植物種との相性、同等種の欧州での分布、生存性、花粉の質と生存能力、標的及び非標的生物との相互作用のメカニズム、栽培後の現地管理など）と共に植物に関する詳細な説明（指令 2001/18/EC の別紙 IIIB に定められている）を含んでいなければならない。

健康へのリスク（アレルギー性、毒性及び栄養成分）と環境へのリスク（直接及び間接のリスク、即時の又は遅発性リスク、及び累積する長期的影響）の評価が実施されなければならない。環境的リスクは、遺伝子組換え植物(GMP)を変換されていない生物と比較して評価される。指令の付属書 II は、考慮されなければならない悪影響を具体的に記載している。申請書は以下についての情報を含んでいなければならない。(i)植物間の遺伝子の流れを含む、持続性と侵襲性の可能性、(ii)植物から微生物への遺伝子導入の可能性、(iii)GMP と標的植物との間の相互作用、とその結果、(iv)GMP と非標的生物との間の相互作用、(v)生物地球化学的プロセスへの影響。曝露の経路も考慮されなければならない。最後ではあるが重要なこととして、リスク管理戦略が提案されなければならない。申請書は環境監視計画を中心に作成され、各種の危機的な状況のシナリオを伴った、販売後監視の概要を述べなければならない。この監視は2つの系統からなっている。予測可能な影響（例：標的昆虫での耐性の発生）のケース固有の監視と、一般的調査、即ち事前の想定無しのもの（Regnault-Roger、2014）である。

メソコスム：メソコスムとは、調査員が長い時間にかけてパラメーターの一部又は全部を変えて、特に微生物などの相互作用をする種への多くの気づかれずにすまされがちな生態系的影響を明らかにすることが出来る、制御された又は半ば制御された封じられた環境のことである。この試行期間は生態的相互作用が起きて、そのフィードバックが見られるまで十分な長さが必要である。現場での放出の前に評価が必要な場合に、メソコスムの利用が検討されるべきである。現場での試行に先立つこの種の研究は、微生物と動物土壌地域社会の機能の変化を見つけ、それらの原因を解析し（De Vries 他、2015。Wolfarth 他、2016）、更に小さな空間規模での地球規模の変化の影響を解析するのに役立つ（Stewart 他、2013）。

メソコスム研究は、微生物生態系に関する現在の知識の観点から、例えば新規形質の微生物叢多様性への影響の評価を可能にする。