

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確認結果

令和3年10月19日
経済産業省商務・サービスグループ
生物化学産業課生物多様性・生物兵器対策室

1. 概要

「ゲノム編集技術の利用により得られた生物であってカルタヘナ法に規定された「遺伝子組換え生物等」に該当しない生物の取扱い及び当該生物を拡散防止措置の執られていない環境中で使用することに当たっての情報提供について（要請）」（令和元年7月10日付20190627 商局第2号）に基づき、株式会社ユージェネより情報提供書の案が提出された。情報提供書の内容については、令和3年5月27日に独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）においてカルタヘナ法第一種評価手法検討委員会を開催し、学識経験者から意見を聞き、以下の2. 確認の内容のとおり①遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（カルタヘナ法）における「遺伝子組換え生物等」に該当しないこと、②情報提供書の案のとおり使用等した場合に生物多様性に影響を及ぼさないと考察できることを確認した。

2. 確認の内容

（1）生物の名称及び概要

Euglena gracilis GSL2 欠失変異体（GSL2 KO #28 株）

- CRISPR-Cas9 を用いて *Euglena gracilis* (eu029 株) の *GSL2* 遺伝子（UDP グルコース（ウリジン二リン酸グルコース（糖ヌクレオチドの一種））から β -1,3-グルカン（別名：パラミロン（炭水化物の一種））を合成する酵素をコード）をノックアウトすることで、パラミロンが合成されない株となっている。

（2）使用等の目的・内容

- 遺伝子組換え微細藻類の第一種使用に係る生物多様性影響評価ガイドンス策定に当たっての実験に使用し、評価手法の検討や妥当性の確認を行う。実験では、レースウェイ式オープンポンド（10m² 培養槽（約 1600L））を用い、2021年9～11月中に4週間の飛散試験を実施する。

（3）遺伝子組換え生物等への該当性の有無

<情報提供書の内容>

- ゲノム上の確認される変化は、変異導入部位の 240 bp の欠失のみである。周辺部分を含めた染色体領域を PCR で増幅し、シーケンシングすることにより、一種類の欠失配列だけが存在し、元の配列が残存していないことを確認した。
- RNA 以外の核酸を用いないため、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼによる RNA の増幅維持、もしくは逆転写酵素を利用したゲノムへの組み込みがなければ、残存していることはないと考えられる。
- PCR 法でも RNA、DNA の双方が検出されない。

- ▶ オフターゲット効果（対象とする部位以外への変異誘導）の検討については、株式会社ユーグレナと理化学研究所が合同で実施した *E. gracilis* eu029 株のドラフトゲノム解析において、ターゲット配列 c が、対象遺伝子のみが存在していることを確認している。

(4) 形質の変化の確認

<情報提供書の内容>

- ▶ *GSL2* は β - 1,3 - グルカン合成酵素のオルソログとしてユーグレナには 2 種の CDS 配列 (*GSL1*, *GSL2*) が報告されているが、*GSL2* はノックダウンにより、パラミロン合成に参与していることが明らかになった。また、UDP-グルコース（ウリジン二リン酸グルコース（糖ヌクレオチドの一種））から β - 1,3 - グルカン合成する反応に必要であることが生化学的に示されている。
- ▶ このため *GSL2* 欠損株ではパラミロンが蓄積しない。その結果、基質となる UDP-グルコースは細胞内に蓄積するか、解糖により消費されて代謝物が蓄積するか、もしくは細胞外に放出されるものと推測される。増殖の速さには変化がなく、光・糖がない条件で貯蔵多糖がないために早く死ぬ傾向にある。

(5) 生物多様性影響の考察

<情報提供書の内容>

①他の微生物を減少させる性質

- ▶ 実験室内での培養環境下において、宿主と比較して増殖が若干遅く、最終到達密度も低い。宿主には抗生物質など他の微生物の生育を阻害する物質の生産は知られていない。また、今回導入した変異により、代謝されない過剰 UDP-グルコース（糖ヌクレオチドであり、糖代謝の中間体となる）が新たな阻害物質の生産につながる報告例はない。

②病原性

- ▶ 宿主にはこれまでに知られている病原性は存在しない。また、標的遺伝子は UDP-グルコースから β - 1,3 - グルカン合成する酵素をコードすることが生化学的に示されているため、その欠失変異体においては、パラミロンが生成しなくなり、グルコースもしくはその代謝物が蓄積するものと考えられる。グルコースを過剰投与して培養した宿主も同様に病原性がないことが示されているため、対象遺伝子の欠損による新たな病原性は生じていないと推測される。

③有害物質の産生性

- ▶ 宿主にはこれまでに知られている有害物質の産生性はない。また、標的遺伝子は UDP-グルコースから β - 1,3 - グルカン合成する酵素をコードすることが生化学的に示されているため、その欠失変異体においては、パラミロンが生成しなくなり、グルコースもしくはその代謝物が蓄積するものと考えられる。グルコースを過剰投与して培養した宿主も同様に有害物質の産生性が報告されていないため、対象遺伝子の欠損による新たな有害物質産生性は生じていないと推測される。

④核酸を水平伝達する性質

- ▶ 作出の過程で人工ヌクレアーゼ遺伝子、およびベクターを使用していないため、異種核酸 DNA が水平伝達することはない。RNA が残存していた場合も個体間で水平伝達する例は報告されていない。

⑤ その他の性質

- ▶ 上記のほかに、生物多様性に影響を与え得る性質はないと判断した。

⑥ 上記に基づく生物多様性影響が生じる可能性に関する考察

- ▶ パラミロンが合成できない株であり、それ以外に特筆すべき効果は現れない。パラミロンを合成できないことにより、一般的な野生株と比較して環境変化に弱いと予想され、一方で、増殖も宿主と比較して特に速くなく（むしろ環境によっては遅い）、余剰なグルコースを細胞分裂のエネルギーとして効率的に利用できるようになるわけではない様子である。代謝改変による影響も、パラミロン材料となるグルコースが細胞内に残存する以上の効果は推定されず、以上の検討結果から、観察された形質は生物多様性に影響を及ぼさないと考察できる。