

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「新たなバイオテクノロジーを用いて得られた食品の安全性確保と
リスクコミュニケーションのための研究」
総合分担研究報告書

ゲノム編集の特性、安全性に関する調査研究

研究分担者 吉場 聡子 （国立医薬品食品衛生研究所）

研究要旨:

本研究では、ゲノム編集技術の発展に伴って発展している RNA 編集技術について、その技術の特徴や有効性、研究開発状況の調査を行い、現状の把握を行なった。まず、文献データベースを用いて、ゲノム編集全般に関する文献調査を行い、研究分野についてその傾向の分析を行った。さらに、その中から RNA 編集に関係するキーワードを抽出し、RNA 編集技術を利用した研究の文献収集を行って、その情報をもとに、技術の概要及び応用研究、課題等についてまとめた。本調査より、RNA 編集技術は現在、ヒトを対象とする研究が主であり、疾患の原因となる遺伝子が明らかになっている中枢神経系を中心とする神経疾患やがんの治療研究が始まっている一方で、植物における RNA 編集の応用研究は見当たらず、現時点では食品分野への応用は可能性が低いと考えられた。

A. 研究目的

CRISPR/Cas9 をはじめとするゲノム編集技術は、現在医療から農業・畜産などさまざまな分野で研究が行われており、社会的にも実装が進んでいる。ゲノム編集は、比較的容易にゲノムの恒久的な改変が行われることから、実用においては、特にオフターゲット（意図しない DNA の改変）リスクを低減すること、適切に安全性評価を行うことが重要な課題となっている。

一方で、ゲノム編集技術の発展に伴って、さまざまな技術や新たな分野が派生的、相乗的に発展してきている。その中で RNA 編集技術は、ゲノム DNA を改変することなく、RNA 配列を編集することで遺伝情報を書き換えるため、リスクの高いゲノム編集に比べてより安全に遺伝情報を操作できると期待されている。

本研究では、まず近年のゲノム編集技術に関する研究の動向を調査し、その傾向を把握する。さらに RNA 編集技術について文献調査を行い、その技術の特徴、有効性、技術的な問題点などを把握し、現在医療分野での研究開発が著しいこの技術の、食品分野への応用の可能性を探ることを目的とする。

B. 研究方法

文献データベースとして、PubMed を用いて、以下の通りキーワードによる検索及び情報取得

を行った。

ゲノム編集に関する文献調査

E-utilities (Entrez API)を利用して、Python を用いて論文の PMID, Journal, Title, Doi, Abstract, Year, Month, Status, MeSH, Keyword の情報を csv 形式で取得した。検索ワードは「genome + editing」、期間は 2010/01/01 - 2020/10/08 とした。さらに取得した文献情報の中から、Title, Abstract, MeSH に含まれる単語を抽出して、クラスター分析 (Mini Batch K-平均化法) を行った。文献の収集及びデータ分析にあたっては、参考文献 1、2 を参考とし、Python の実行は全て JupyterLab 上で行った。

RNA 編集技術に関する文献調査

ゲノム編集に関する文献のクラスター分析で得られたキーワードを参考として、RNA 編集に関する 5 種類の検索用キーワード「ADAR or C-to-U or A-to-I or adenosine-to-inosine or cytidine-to-uridine, mRNA + editing, messenger + RNA + editing, site-directed + RNA + editing, Cas13 + RNA + editing」、期間 2017/01/01 - 2020/10/13 でそれぞれ PMID, Journal, Title, Doi, Abstract, Year, Month, Status, MeSH, Keyword の情報を csv 形式で取得した。さらに、ファイルの統合と重複除去を行った後、項目の整理及び技術に関する論

文の抽出を行い、重要と思われる論文をエクセルファイルにまとめて「RNA 編集技術に関する文献」とした。

C. 研究結果と考察

1. ゲノム編集に関する文献調査

研究方法に記載の方法で、ゲノム編集に関する文献を 17,499 報 (2010.1.1-2020.10.8) 取得した後、クラスター分析により、ランダムに選んだ 4,000 の文献を 60 のクラスターに分類した。その結果、deaminase, adar, adenosine などの RNA 編集に関係するキーワードを含むクラスターに多くの論文が含まれることがわかった。またその結果を tSNE により可視化した。類似性の高いキーワードを含むクラスターはより近傍に配置されるが、RNA 編集に関係するキーワードを含むクラスターの近くに mitochondria, plant, transcriptome, histone, chromatin などのキーワードを含むクラスターが見られた。また、plant は、crop, breeding などと合わせて、ゲノム編集に関わる多くのクラスターに含まれており、広い分野に渡って研究されていることが示唆された。

2. RNA 編集技術に関する文献調査

研究方法に記載の方法で、RNA 編集技術に関する文献 (2017.1.1-2020.10.13) を取得した。キーワードにより回収した文献数は多かった (1,753 報) もの、その中で、RNA 編集技術を用いた研究の数は予想より少なく、多くはゲノムの一塩基編集 (base editing) に関する研究であった。ゲノム編集技術に比べると RNA 編集技術はまだ開発途上であること、応用分野が限られることなどが考えられ、また、現時点では医療分野での研究が主であり、食品分野への応用はほぼ見られなかった。

3. RNA 編集技術について

RNA 編集技術は、一度編集を行うと恒久的にその遺伝情報が細胞に変化が受け継がれるゲノム編集と異なり、DNA 配列には変化を加えず、転写産物である RNA に対して塩基の書換えを行う技術である。RNA 編集は、細胞が持つ進化的に保存されたシステムであり、1987 年に脱アミノ化酵素 adenosine deaminase (ADAR) が RNA 編集活性を持つことが報告されてから、そのメカニズムや利用について研究が行われてきたが、近年のゲノム

編集技術の発展で改めて注目されることになった。

現在 ADAR を用いた RNA 編集システムは、内在の ADAR を利用することで、核酸オリゴの導入のみで編集が可能な RESTORE、LEAPER などのシステムと、ADAR の酵素活性を含むデアミナーゼドメインに Cas13 などの RNA 認識モジュールを連結した、REPAIR、RESCUE などのシステムの 2 種類に大別される。特に、*in vivo* での治療においては、外来遺伝子の導入が不要になる前者のシステムは、安全性の面からも大きなメリットがあり、臨床への応用に向けた研究も行われている。

D. 結論

RNA 編集は、ゲノム DNA に恒久的な変化を加えることなく、効果も一過性のため、ゲノム編集に比べてリスクが低いというメリットがある。一方で、編集効率が低いこと、編集の多様性が不十分であること、またオフターゲットの予測や検証方法などの情報が少ないことなど、テクノロジーとしてはまだゲノム編集ほど確立されていない分野である。現時点では RNA 編集技術は、医療分野での利用が主であり、特に点変異を病因とする中枢神経系疾患の治療で研究が進んでいる。一方で、編集効果の持続が重要になる、作物への利用はあまりアドバンテージがなく、応用研究が見られなかった。

参考文献：

- 1) <https://github.com/tatsuya-takahashi/PubMed-API-Script>
- 2) <https://nbviewer.jupyter.org/github/tatsuya-takahashi/PubMed-API-Script/blob/master/PubMed.ipynb>

E. 研究発表・業績

なし

F. 健康危険情報

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし