

基因編輯農漁產品之國際現況及未來展望

黃慶輝

水產試驗所水產養殖組

前言

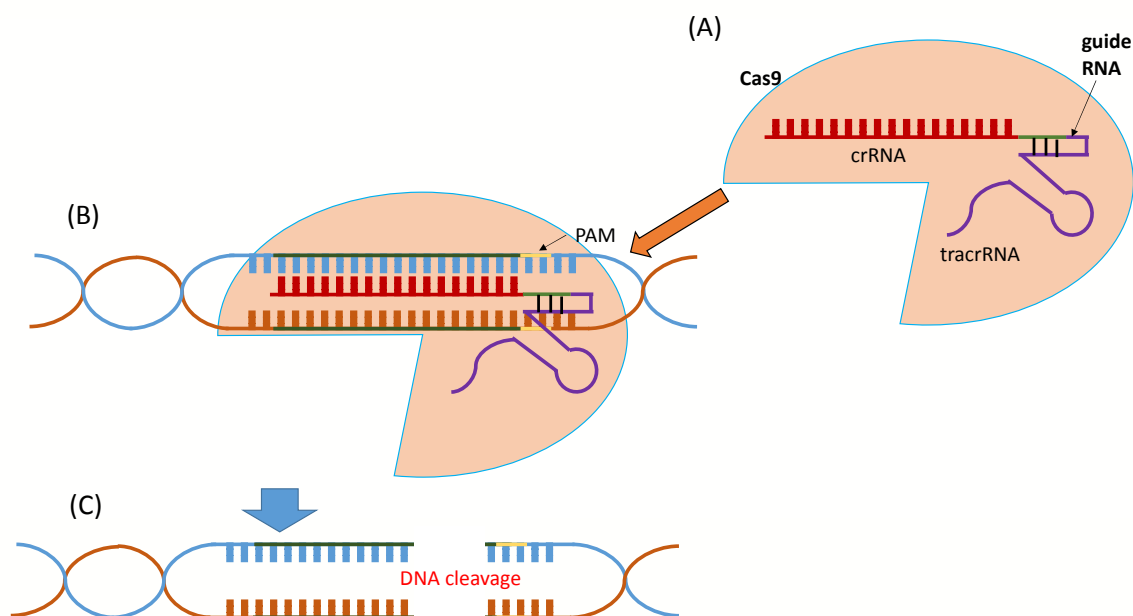
近年來，農業相關育種技術發展快速，其中又以基因編輯技術最受到注目，與以往相關之基因育種技術如輻射誘變或質體轉入外來基因等方式不同的是，基因編輯技術可對基因進行精確誘變，能大幅減少育種所需時間以及金錢成本，更重要的是，基因編輯技術可針對物種本身的基因進行編輯和調控，亦不同於透過以往人為轉入外源基因的方式來改良，原理上來說可開發出與傳統育種結果無異之新品種；另近年我國的水產養殖業目前面臨如：溫室效應等氣候變遷或病害等因素所造成的產量不穩定、進口水產品之競爭造成國內水產品價格難以提升、從業人口高齡化及年輕人從事相關產業之意願降低、能源價格及魚粉等飼料價格提高造成養殖成本上升及國民對於食品安全要求提升等課題，亦期待能透由這些新型的育種技術看見解決問題的新方向。

目前主流的基因編輯技術 CRISPR

目前已有之基因編輯技術包含 TALENs (transcription activator-like effector nucleases)、ZFN (zinc finger nuclease)、ODM

(oligonucleotide-directed mutagenesis) 及 CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) 等 (Gaj et al., 2013)，其中 CRISPR 為目前發展最為迅速，使用上相對容易之新技術，CRISPR 原本為細菌對抗外來質體或噬菌體的後天免疫系統，當外來的 DNA 侵入細菌內後，一般不會完全被分解，且細菌會對曾侵入的 DNA 產生記憶，當序列相同的 DNA 再次進入細菌時，會產生免疫反應以切除外來的 DNA。CRISPR 乃根據前揭細菌免疫防衛機制研發之新型基因編輯技術 (機制說明如圖)，此技術使用 Cas9 這類具序列切割活性的蛋白，這類蛋白可利用與之結合且與目標序列編碼互補之導引 RNA (guide RNA，包含用來識別目標 DNA 序列之 crRNA 及與 crRNA 序列部分互補並協助識別之 tracrRNA) 辨識序列上之特定位點，精準的剪斷目標 DNA 序列，斷裂的 DNA 分子便會啟動修復功能，修補基因組上的序列以達到讓目標序列失活，進而活化或抑制與目標序列相關基因的活性，而能在相對短的時間內得到與當前農漁業長期品系培育相同的結果。

因為 CRISPR 等新型的基因編輯技術可不需插入外來序列才能達到改變基因表現的特性，亦可望在目前各國法規對於基因改造農漁作物管制日趨嚴格之困境帶來一線曙



CRISPR 作用機制簡介

(A) Cas9 蛋白與 guide RNA 在生物細胞內形成蛋白複合體，guide RNA 包含用來識別目標 DNA 序列之 crRNA 及與 crRNA 序列部分互補並協助識別之 tracrRNA；(B) 蛋白複合體辨識細胞內的目標序列，並與間隔序列 (PAM，淡黃色序列) 旁之目標序列結合，此時複合體中 Cas9 活化並進行序列剪切；(C) Cas9-guide RNA 複合體將目標序列雙股 DNA 切斷 (cleavage)，造成目標基因失活

光；另因應分子生物學及遺傳學分析技術的發展，基因編輯技術等相關研究在水產養殖育種及水產品安全等相關研究領域皆受到重視，更希望此類遺傳工具能加速運用於水產養殖之育種上，使相關產業能受惠並加速蓬勃發展。

國際上對於基因編輯技術之管理態度

目前世界各國對於基因編輯技術所產生之農漁作物之管理態度上，主要判定依據為產生之農漁作物是否屬於基改技術之產物，其判別原則包含是否含有人為引入的特定基因片段、有無辦法檢測是否經過基因改造、

製造結果是否可能於自然環境中發生、及是否符合相關法規中基因改造之定義，倘不屬於基改作物之範疇則相關規定及列管程度通常較低；另基因編輯技術所生產的農漁作物是否歸屬基改技術，其判斷依據主要分為兩種 (余等，2019)：

一、製程導向 (process-based)

製程導向其管理對象包含技術、中間產物及最終產物皆需納入考量是否有進行基因改造，其考量面向複雜較不易釐清問題，所面對之爭議也較多，較不易達成共識，可能使相關技術發展遭受阻礙。

二、產品導向 (product-based)

產品導向其管理對象係針對最終產品進行規範，考量是否有進行基因改造，其管理

模式較為明確，其管理可行性也較高，並利於政府管理。

目前各國對於基因編輯技術農漁作物之相關規範

一、美國

美國一直以來相對於其它國家對於基因改造及基因編輯的農漁作物抱持著較為開放之態度，並以產品導向作為判斷，有關於基因編輯作物部分，美國農業部 (USDA) 亦認為基因編輯作物不同於基因改造作物，不需要受基因改造作物審查法規的管理，這也提升了農業相關生技產業及學術單位投入基因編輯作物的研發意願。

二、歐盟

相對於美國而言，歐洲對於基因編輯技術作物的規範相對保守，並傾向於用製程導向，歐洲聯盟法院 (EJC) 亦於 2018 年 7 月宣布，基因編輯的作物應適用於與傳統基因轉殖生物的法規限制。基因編輯作物相關的研究者及業者對此結果也感到失望，認為阻礙了農業技術的進展。

三、加拿大

加拿大對於基因編輯作物之管理，原則基於產品導向做規範。另一特點是，加拿大不以作物製造來源為基因改造、基因編輯或是傳統育種分類，而以「具新穎性狀的農作物」，並評估該具性狀之農作物是否具備相關安全性作為規範之判斷要點。

四、日本

雖然日本基改生物的定義同時具有過程導向與產品導向，但實務上，除非另外有其

它的證據，不含轉殖基因的產品一般不會不被認為是經過基改的產品。

五、澳洲

澳洲官方一般認為當技術包含導入新的基因，此類技術相當於基因改造。但當誘使序列單點突變的技術，則因導入的變化通常較小、可定義、可預測結果，視為非基改。而育種過程中使用基因工程技術，最後的成果不含外來的 DNA 時，則因相當於傳統育種不被視為基因改造。

六、中國

雖然目前中國對於基因改造食品其規範包含產品及製程導向，但由於基因編輯等新興育種技術目前在中國仍處於研究階段，目前尚未有較為具體的規範確立。

目前主要國家對於基因編輯技術之管理態度

國 別	導 向	管 理 態 度
美 國	產品導向	傾向開放不列管
歐 盟	製程導向	傾向保守並列管
加拿大	產品導向	傾向開放不列管
日 本	產品及製程導向兼有	傾向開放不列管
澳 洲	產品導向	傾向開放不列管
中 國	產品及製程導向兼有	尚不明確

目前國際基因編輯農漁作物應用現況

一、抗褐化蘑菇

由美國賓夕法尼亞大學研發 (Waltz, 2016)，利用 CRISPR 技術將一般所食用之雙孢蘑菇 (*Agaricus bisporus*) 中造成褐化的蛋白 polyphenol oxidase (PPO) 其基因做部分

剔除 (knock-out, 6 個剔除 1 個), 成功使蛋白活性降低 30%, 進而延緩蘑菇的褐化, 美國農業部 (USDA) 於 2016 年認定此抗褐化蘑菇因為不帶有外來 DNA, 不屬於基因作物, 可直接種植及販售, 也是美國第一個同意放行的 CRISPR 基因編輯物種。

二、高油酸大豆品系

由位於美國明尼蘇達州的 Calyxt 公司開發 (Demorest et al., 2016), 透過 TALENs 基因編輯技術, 製造高油酸 (oleic) 且低亞麻酸 (linolenic) 之大豆品系, 美國農業部認定該大豆品系不帶有外來 DNA, 因此不屬於基因改造作物, 所以不須管制, 並於 2018 年開始販售。

三、高 GABA 番茄

由日本筑波大學開發 (Nonaka et al., 2017), 原本番茄製造 GABA (γ -氨基丁酸) 的合成酵素會受到抑制蛋白控制, 只有在生存環境受到壓力較大 (番茄植株內鈣離子過高等情形) 時, GABA 合成酵素會與抑制蛋白分離, 開始製造大量 GABA, GABA 為動物進行神經活動之重要神經傳導物質, 近年來做為預防高血壓等功效保健食品的商業價值逐漸提高, 該研究團隊利用 CRISPR 將番茄中抑制 GABA 產生之抑制蛋白失活, 使番茄能持續製造 GABA 並儲存在番茄果實裡面。

四、無角牛

由美國 Recombinetics 公司開發 (Carlson et al., 2016), 因美國每年近 80% 乳牛及 25% 的肉牛皆須要進行去角, 以防止動物打架受傷且降低農民受傷風險, 該公司利用 TALENs 基因編輯技術, 嘗試培育出無角牛, 縮短傳統育種所須花費時間。但目前法

規仍有相關疑慮所以仍未上市, 這也是第一個利用於家畜上的基因編輯技術。

五、肌肉量增加之真鯛

該項技術由日本京都大學所研發 (Kishimoto et al., 2018), 利用 CRISPR 對真鯛進行肌肉生長抑制素 (myostatin) 基因 (*Pm-mstn*) 的完全剔除, 成功使真鯛魚體的肌肉量增加了 16%, 此肌肉量增加之品系其外型與目前為了增加肉量之吳郭魚育種結果相似, 同樣具圓胖體型且具有較寬的橫切面及較短之中椎骨, 這也是世界上第一個利用 CRISPR 基因編輯技術建立之海水養殖魚類品系。

結語及建議

不含外源基因之基因編輯農漁作物, 是否需要與傳統的基因改造作物一樣進行較為嚴格的管理與規範, 目前國際間尚無定論, 但世界貿易組織 (WTO) 中已有 14 個經濟體在 2018 年 12 月於實施衛生和植物檢疫措施委員會上共同發布「國際精準生物技術農業應用聲明」(The International Statement on Agricultural Applications of Precision Biotechnology), 期望能夠透過農業新興技術於各經濟體間的法規調和與合作, 進而促進產業發展, 爰未來為克服農漁業生產相關問題, 基因編輯技術之開發與應用之持續發展應是一國際方向, 我國相關農漁生技產業亦可考量目前國際趨勢, 進行基因編輯作物相關之研究, 農漁政單位亦可配合進行相關法規之制訂, 以促進相關產業發展, 以解決未來國內及全球性的糧食相關問題。