

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

令和3年度 総括・分担研究報告書  
【21KA1002】

研究代表者 近藤 一成

令和4（2022）年11月

## 目次

### I. 総括研究報告書

近藤 一成	1
-------	---

### II. 分担研究報告書

#### 1. リスクコミュニケーションに関する研究

小泉 望	5
------	---

#### 2. ゲノム編集に関する情報収集解析

近藤 一成	17
-------	----

#### 3. ゲノム上の意図しない変化の網羅的解析手法の開発と環境整備

柴田 識人	37
-------	----

#### 4. メタボロームインフォマティクスによる未知化合物推定

早川 英介	67
-------	----

#### 5. アレルゲン性予測、食物アレルゲン解析、リスク評価と AI

安達 玲子、為広 紀正	71
-------------	----

#### 6. 新規アレルゲン性評価手法開発のための基盤的研究

富井 健太郎	79
--------	----

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

	87
--	----

I . 総括研究報告書

II. 分担研究報告書

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

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

令和3年度 総括・分担研究報告書  
【21KA1002】

研究代表者 近藤 一成

令和4（2022）年11月

## 目次

### I. 総括研究報告書

近藤 一成	1
-------	---

### II. 分担研究報告書

#### 1. リスクコミュニケーションに関する研究

小泉 望	5
------	---

#### 2. ゲノム編集に関する情報収集解析

近藤 一成	17
-------	----

#### 3. ゲノム上の意図しない変化の網羅的解析手法の開発と環境整備

柴田 識人	37
-------	----

#### 4. メタボロームインフォマティクスによる未知化合物推定

早川 英介	67
-------	----

#### 5. アレルゲン性予測、食物アレルゲン解析、リスク評価と AI

安達 玲子、為広 紀正	71
-------------	----

#### 6. 新規アレルゲン性評価手法開発のための基盤的研究

富井 健太郎	79
--------	----

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

	87
--	----

I . 総括研究報告書



II. 分担研究報告書

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

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

総括研究報告書

研究代表者 近藤 一成 国立医薬品食品衛生研究所

**研究要旨：**

ゲノム編集技術や合成生物学を利用した食品等の開発が活発に行われている。これら食品の安全性を確保する上で必要な解析手法の開発が求められている。近年、多様な遺伝子改変技術が開発されているが、その技術の使用による意図しない変化をゲノム DNA 配列、有毒成分を含む代謝成分、およびタンパクアレルギー性の3つの観点から評価できる網羅的な手法はこれまで存在しない。

本研究では、今後安全性を確認する上で必要とされる評価解析手法を開発、実用化を行い広く公開することによって誰もが高品質の解析ができることを主な目的としている。これにより開発申請者が行うゲノム編集食品の解析水準を一定以上に担保できると期待される。研究の結果、ゲノム編集食品の意図しないゲノム DNA の変化でオフターゲットとともに重要な外来 DNA の残存性検出について、各種次世代シーケンシング技術を組み合わせることで網羅的に検出する手法を検討した。代謝成分分析では、質量分析インフォマティクスによって標準品がなくても構造推定が可能な手法を検討した。また、アレルギー性評価手法については、既知アレルギーだけではなく新規アレルギーも検出可能な手法を機械学習で開発して実用化を行うとともに、新たな視点である MHC-II 結合性の機械学習・深層学習による予測に取り組んだ。両手法を併用することによって、より高精度なアレルギー性予測システムが構築できると期待される。本研究のもう一つの目的であるリスクコミュニケーションの推進では、ゲノム編集のほかに諸外国で研究が活発な合成生物学利用食品等に対するリスクコミュニケーション手法の検討を行った。この中では、昆虫食、植物ベース代替肉、培養肉、代替乳、微細藻類の代替タンパク質に関する意識調査を行い、昆虫食に対する忌避感ももっとも強く植物ベース代替肉に対する受容度が最も高いことが分かった。これらの結果を参考に、合成生物学を含むフードテック製品に対するリスクコミュニケーション手法を開発していく。

本研究班は、研究代表者を含む以下の7名から構成され各分担課題について研究を行った。

研究分担者	安達 玲子	(国立医薬品食品衛生研究所)
研究分担者	為広 紀正	(国立医薬品食品衛生研究所)
研究分担者	柴田 識人	(国立医薬品食品衛生研究所)
研究分担者	小泉 望	(大阪公立大学)
研究分担者	早川 英介	(沖縄科学技術大学院大学)
研究分担者	富井 健太郎	(産業技術総合研究所)

以下に、研究目的、方法、および研究成果の概要を記載する。研究内容の詳細については、各分担報告書に記載した。

## A. 研究目的

遺伝子改変技術を応用した食品開発は、技術的には外来遺伝子導入による遺伝子組換え食品（GM 食品）から生物自身が持つ内在性遺伝子改変で新たな形質を生み出すゲノム編集技術応用食品（ゲノム編集食品）へ、また、その生物が持たない多数の遺伝子を導入した酵母などから新規食品機能成分を産生させる合成生物学利用へと変化している。現在、主要技術であるゲノム編集技術では DNA 2 本鎖切断を誘導するオリジナル手法から、1 本鎖切断から 1 塩基編集を行う塩基置換編集（Base editing）、これを発展させ数塩基の自由な組合せの塩基編集（prime editing）、さらに標的配列への制限をなくした PAM レス（PAM 配列を要求しない）編集、RNA 編集など非常に多様な手法が生み出され、そこから想定される意図しない変化も一様でないことが明らかになりつつある。したがって、配列に依存しない意図しない塩基変化やそこから生じる代謝成分の変化を網羅的に検出または予測し、その変化が与える影響を正確に評価することは、食品の安全性確保において急務の課題である。

規制制度の面では、最近 EFSA はゲノム編集技術の SDN-1,2 および ODM について外来遺伝子挿入による影響を目的とした既存安全性評価項目の多くは必要なく、遺伝子導入やそれに伴う変化がなければ従来変異育種を超えるハザードは同定できないとしている。一方で、一過的としても外来遺伝子発現があるゲノム編集食品は、そもそも外来遺伝子導入のない放射線を用いた従来変異育種とも異なることから、ゲノム編集技術特有の変化を明らかにしておくことが必要である。また、EFSA は分子特性解析において NGS（次世代シーケンシング）解析の必要要件を整理、従来の遺伝子組換え食品の枠組みを拡張した新たな枠組みの検討も議論されている。国内では、ゲノム編集食品届出制度が開始されたが、新たに動物において植物

にはない生物固有の課題についても整理する必要もある。

本研究では、（1）多様な遺伝子改変技術と開発に関する情報収集、（2）一様でない意図しない変化の影響解析のための手法開発（ゲノム、代謝成分、アレルギー性）、（3）ゲノム編集食品の理解の前段階として不可欠な国内 GM 食品利用の現状と審査届出制度の理解に重点したリスクコミュニケーション（若手研究と連携）、（4）リスク評価側の最新技術理解と能力向上、人材育成を柱に若手研究代表者とも連携して実施する。

## B. 研究方法

本研究班構成では、意図しないゲノム DNA 配列の変化の解析手法開発と実用化を柴田が、意図しないタンパクの生成に伴うアレルギー性の評価手法開発と実用化およびアレルギーデータベース ADFS の維持更新を安達、為広、富井が、また、意図しない代謝物変化の網羅的開発手法の開発と実用化を早川が担当した。リスクコミュニケーションについては、合成生物学利用食品に重点を置きながら小泉が担当した。

意図しないゲノム DNA 配列の変化の解析では、SITE-seq 法をもとにして解析環境として web 環境のように実行できる Galaxy、および Docker を開発検討した。アレルギー予測では、ペプチドの MHC-II 結合性予測を機械学習または深層学習で行う手法の開発検討を行うにあたり、先行研究の調査を実施した。リスクコミュニケーションは、合成生物学について新たなコンセプトで作られた食品に関する具体例、規制、社会受容に関する国内外の事例調査、多様なステークホルダーの受け止め方の調査、代替タンパク質に対する 5,000 人規模の意識調査をおこなった。

## C. 研究成果

各課題について研究を実施した結果、以下の成果を得た。

#### 1) 意図しないゲノム DNA 配列の変化

ゲノム編集食品の安全性評価において重要な外来性 DNA の残存の有無を網羅的に調べる方法として、全ゲノムシーケンズによって得られたデータを用いた解析手法の標準化に取り組んだ。その結果、ゲノムへの挿入が想定される外来性 DNA 配列が予め（部分的にでも）判明していれば、ショートリードシーケンサーおよびロングリードシーケンサーによって得られた全ゲノムシーケンズデータを構造変異解析やアセンブリ解析に供することで、外来性 DNA 残存の有無、挿入箇所、挿入された配列を明らかにすることが可能である。

#### 2) アレルゲンデータベース ADFS の維持更新

令和 2 年 6 月から令和 3 年 5 月までの 1 年間に NCBI PubMed に掲載された論文から、エピトープ配列決定に関する 9 報のピアレビューを行い、6 種のアレルゲンについて、総数 27 のエピトープ情報を ADFS に追加し、データベース更新を実施した。

#### 3) アレルゲン性評価手法

先行研究が用いている学習用データセットを調査して、機械学習に要する正例／負例のデータセットとして活用できることを確認した。また、ヒト由来 MHC クラス II 分子配列情報と構造情報を関連付けた。MHC クラス II 分子とペプチドとの結合部位における両者の残基間相互作用の関係性を抽出する作業を重点的に行なっている。

#### 4) リスクコミュニケーション手法

合成生物学を含めたフードテックに関する調査から、植物ベース代替肉および培養肉、組換えタンパク質を混合することで製造する代替乳、合成生物学により作られる食品添加物などの研究開発、実用化が主に海外で進んでいることが明らかとなった。

昆虫食、植物ベース代替肉、培養肉、代替乳、微

細藻類の代替タンパク質に関する意識調査では、昆虫食に対する忌避感がもっとも強く植物ベース代替肉に対する受容度が最も高い傾向にあった。今後これらの結果を踏まえて、最適なリスクコミュニケーション手法を検討していく。

### D. 健康危険情報

該当なし

研究業績、知的財産権の出願などは、各分担報告書を参照。

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」  
分担研究報告書（令和3年度）

リスクコミュニケーションに関する研究

研究分担者 小泉 望 大阪府立大学 教授

研究要旨：

従来の遺伝子組換え作物・添加物そして最近、実用化の始まったゲノム編集食品に続き合成生物学やフードテックと呼ばれる新たなバイオテクノロジーを用いて得られた食品が特に海外で登場している。これらの食品を本研究では「新たなコンセプトで作られた食品」と呼び、その近い将来の国内での実用化を念頭に効果的なリスクコミュニケーション手法を開発することを目指した。今年度はまず各方面からの情報収集が必要であると考え、新たなコンセプトで作られた食品に関する具体例、規制、社会受容に関する国内外の事例調査、多様なステークホルダーの受け止め方の調査、代替タンパク質に対する5,000人規模の意識調査をおこなった。具体例としては、植物ベース代替肉および培養肉、組換えタンパク質を混合することで製造する代替乳、合成生物学により作られる食品添加物などの研究開発、実用化が主に海外で進んでいることが明らかとなった。規制、社会受容に関する調査についても欧米が進んでいる。多様なステークホルダーの意見からは、リスクコミュニケーションにおいては、新しいコンセプトの説明、安全性に加え栄養面の観点からの議論、表示・ネーミングの検討などが重要であり、実用化を見越してホライゾンスキャニングの観点からのリスクコミュニケーション手法、規制の整備が求められるという意見が出た。昆虫食、植物ベース代替肉、培養肉、代替乳、微細藻類の5種類の代替タンパク質に関する意識調査では、昆虫食に対する忌避感がもっとも強く植物ベース代替肉に対する受容度が最も高い傾向にあった。この結果は2022年度により詳細に分析する。

A. 研究目的

新たなバイオテクノロジーによって作られる食品としては、現在は除草剤耐性や害虫抵抗性を持つ遺伝子組換え農作物に由来する食品（遺伝子組換え食品）が主流であり、1996年に実用化が始まり既に25年以上利用されている。また遺伝子組換え微生物由来の添加物（ビタミンや精製酵素など）も2001年から使用されている。遺伝子組換え技術を用いた食品と添加物を比較すると前者ではリスクコミュニケーションが困難な状況が続いている。諸外国でも同様で、単なる科学的な説明に加えてELSI（倫理的・法的・社会的課題）が関与しコミュニケーションを複雑にしている。一方、添加物については今のところ、そうした混乱は見ら

れない。

2021年秋に我が国においてゲノム編集技術応用食品（ゲノム編集食品）の実用化が始まった。具体的にはGABA高蓄積トマト、可食部増量マダイ、高成長トラフグである。ゲノム編集食品に関するリスクコミュニケーションはその実用化の数年前から複数の機関により始まっている。行政、国の研究機関、大学、NPOなどである。開発者により設立されたベンチャー企業もコミュニケーション活動に積極的に関与している。遺伝子組換え食品では市場に導入されてからコミュニケーション始まったのに対してゲノム編集食品では実用化の前に対応がとられたこともあり、現状では比較的冷静なリスクコミュニケーションが行われている。

既存の遺伝子組換え食品、ゲノム編集食品に続き新しいバイオテクノロジーを用いた食品が登場しつつある。その製造法や性質、用途が多岐に渡るため一般的な呼称は定着していないが「合成生物学 (Synthetic biology: Synbio)」あるいは「フードテック」と言った用語が使われることが多い。しかし、Synbio、フードテックの概念はかなり漠然としており、分類のされ方も様々である。両方の要素を持つ食品も少なくないがイコールではない。遺伝子組換え技術あるいはゲノム編集食品技術が使われることもあるが、一概に遺伝子組換え食品と同列に扱うのは適当でない場合が多い。Synbio とフードテックの両方の概念を併せ持ち遺伝子組換え技術をつかった食品の例として、米国の Perfect Day 社が開発した乳製品(実際に乳製品と呼べるかどうかは議論の余地がある)が挙げられる。同社では、牛乳の主要なタンパク質を遺伝子組換え技術により微生物で生産し、そのタンパク質を混合することで牛乳(代替乳:これも定着した用語ではない)あるいはアイスクリームを模した食品を製造することに成功している。こうした食品はすでに米国では実用化されており、動物に由来しないのでビーガンの人にも受け入れられている。

この乳製品に限らず「ポスト新たなバイオテクノロジーによって作られた食品」とでもいうべき食品を本研究では「新たなコンセプトで作られた食品」と呼ぶ(世間一般に認知された用語ではないことに注意)。しかし、前述のように「新たなコンセプトで作られた食品」は本研究で扱おうとする食品は幅広いことから明確な定義づけは容易ではない。また海外では Novel food、Innovative food といった呼ばれ方をすることもある。今後の日本での呼称については検討の余地があろう。

新たなコンセプトで作られた食品の特徴として、全てでは無いが「アニマルフリー」、「生物資源の保護」などのいわゆる遺伝子組換え作物の特徴である効率性とは違うコンセプトが挙げられる。

さらにアニマルフリーは環境負荷の低減、動物愛護などの異なる観点からとらえられる。環境負荷の低減は家畜の飼育による温室効果ガス排出量、水使用量、エネルギー使用量の軽減を意味する。例えば牛のげっぷが温室効果ガスのかなりの部分を占める。生物資源の保護の例としては微生物でのバニリン(バニラの香気成分)生産などがあげられる。この場合、バニリンの合成に関わる複数の酵素の遺伝子が導入されており新たな代謝系が構築されたといえる。こうした方法は、合成生物学、Synbio と呼ばれるが狭義な合成生物学の厳密な定義には当てはまらない。

また、世界人口の増加と生活レベルの向上に伴う肉食の増加によるタンパク質クライシスが懸念されている。そのため代替肉の研究開発も盛んである。代替肉は大きくは主に大豆を原料としたダイズミート(エンドウなどが使われる場合もある)に代表される植物ベース代替肉(人工肉)と細胞培養で牛などの細胞を培養し、それを成型する培養肉に大別される。植物ベース代替肉は特にバーガーなどを中心にすでに国内外で実用化されている。米国では Impossible foods と Beyond meat が有名である。前者は遺伝子組換え技術を使いダイズのレグヘモグロビンを酵母で生産し、添加物として使用している。レグヘモグロビンの添加により、動物肉(主に牛肉)が含む血液の風味が加えられているとされる。国外(主に米国)ではすでに実用化されているが、国内では遺伝子組換え技術を用いていることから安全性審査が求められ実用化のハードルは高いと考えられる。

以上、例を挙げてきたような新たなコンセプトで作られた食品が主として国外で次々と開発され実用化されているが、その国内における認知度は低いと考えられる。近い将来こうした食品が国内でも流通する可能性は十分予想され、ホライズン・スキニングの考え方に基づき新たなコンセプトで作られた食品の安全性について効果的なリスクコミュニケーション手法を開発することは円滑な

厚生労働行政に資すると考えられる。

まず各方面からの情報収集が必要であると考え、2021年度は①新たなコンセプトで作られた食品の国内外の事例調査、②新たなコンセプトで作られた食品に対する多様なステークホルダーの受け止め方の調査、③代替タンパク質に対する5,000人規模の意識調査をおこなった。

## B. 研究方法

① 新たなコンセプトで作られた食品の国内外の事例調査については、植物ベース代替肉（DAIZ など）および培養肉（主としてインテグリカルチャー）に関するオンラインセミナーに参加し、情報収集を行った。加えて、データベース（新聞記事、企業情報、論文等）を用いて、近年話題となった食品の情報、開発中の食品の技術情報等を収集した。無料で使用できるデータベース、大阪府立大学図書館で閲覧可能なデータベースの検索を行うとともに、三菱ケミカルリサーチにJSTPlusのデータ分析を依頼した。特許情報についてはQuestel Cyber Patent社のOrbitデータベースを利用した調査を三菱ケミカルリサーチに依頼した。これらのオンライン調査により国内外の新しいコンセプトで作られる食品の具体例について、その開発される社会的背景などを調べるとともに国内外の規制、社会受容の状況についても検討した。

② 多様なステークホルダーの受け止め方の調査としては2回のワークショップをオンラインにて実施した。1度目の参加者は、社会心理学、科学技術社会論、分子生物学の研究者、NPO（バイオ系）職員、生協職員、消費者団体職員（生協とは異なる）、主婦である。2度目の参加者は科学技術社会論（1度目とは異なる）、栄養科学、分子生物学の研究者、主婦である。ワークショップの冒頭で新しいコンセプトで作られた食品について概説した上で、そうした食品が日本に導入される際に起こると考えられる問題について議論した。

③ 5つの代替タンパク質（昆虫食、培養肉、大豆ミート、代替乳、微細藻類）に関する一般的なイメージや受容、その期待などを比較するために、オンラインにて質問紙調査を実施した。調査は代替タンパク質のそれぞれの短い説明文を事前に読んだ上で、全部で17問の質問項目に選択肢を選んで回答してもらった。調査は調査会社（楽天インサイト）に委託し、代替タンパク質の消費者を想定し、日本全国の20歳から65歳の男女5,000人の登録モニターを対象として実施した。

## C. 研究結果および考察

### ① 新たなコンセプトで作られた食品の事例調査 <代替肉>

国際的な代替タンパク質、中でも代替肉のブームはもともと肉食の多い欧米（西洋）を中心に起こったとされる。肉を食せないことは西洋人にとって、肉食文化でなかった日本人よりも深刻な問題である。世界人口の増加によるタンパク質クライシスのため肉が食べられなくなることに備えるために開発が行われている。A.研究目的で記載したようにImpossible foodsとBeyond meatによる代表的な植物ベース代替肉がすでに実用化されている。

日本国内でも複数の植物ベース代替肉が大手の食品メーカー等により食品化されている。多くが大豆ミートと呼ばれ大豆を原料としている。大豆臭さが商品化の1つのネックとなっており、そのもととなる成分の軽減を目指した大豆の育種も行われている。ベンチャー企業DAIZは発芽大豆を原料として「ミラクルミート」を開発し、2022年1月に日清食品との共同開発を発表している。この発表では「新たな食の創造」と「環境問題の解決」が謳われている。ミラクルミートは全国展開しているハンバーガーチェーン「フレッシュネスバーガー」のパテにも採用されている。こうした代替肉の表示については今後の検討課題である。国内の培養肉の研究開発を担うベンチャー企業と



してインテグリカルチャーが挙げられる。単なる細胞の寄せ集め（塊）に留まらず筋繊維を培養装置内で再現することを目指している。植物ベース代替肉が既に流通しているが培養肉はコスト面からも実用化に至っていない。

#### <代替乳>

A.研究目的でも代替乳については触れたが、牛乳の構成要素（主としてタンパク質）を微生物で生産し混合することで代替乳・人工乳を作ることが出来る。この製品には従来のプロセスと比較して多くの利点がある。まず、微生物はバイオリアクター内で成長することができ、抗生物質やホルモン剤の添加の問題を回避し、牛の飼育による土地の占有や環境負荷の問題解決につながる。また細胞培養の期間は乳牛の飼育期間よりもはるかに短くて済み、需要に応じて供給量を調節することも容易い。さらに、必要に応じてその組成を変えることが容易である。ラクトフェリン、カゼインの比率を変えることで、健全な発育を促すために、よりヒトの母乳に近い組成に近づけることが可能である。さらに、乳糖や主要な乳アレルギーである $\beta$ -ラクトグロブリンなどの成分を容易に除去することができる。こうした多くの利点があるが日本では遺伝子組換え技術を利用していることから、その規制の仕組みが整っていないと考えられ、実用化には至っていない。

#### <食品添加物>

リモネン、サビネン、バニリンなどの香料は、遺伝子組換え技術により経済的かつ持続的に供給することができる。リモネンとサビネンは、テルペン前駆体であるゲラニルニリン酸（GPP）から合成されるモノテルペノイドに属する。しかしGPPは、細胞の成長に不可欠なイソプレノイド化合物の生合成にも深く関わる。そこで、リモネンとサビネンの合成能を強化するために、代替前駆体としてネリルニリン酸（NPP）を導入し、NPPからリモネンとサビネンを合成するように代謝経路が設計された。

バニリンを生産するように設計された遺伝子組換え大腸菌もある。バニリンは、細胞にとって有害であるため、人工的な転写調節因子を用いてバニリンの生産性を向上させた。現在天然のバニリンはシェアの1%に満たず合成バニリンが大半である。こうしたSynbioバニリンは既に販売されているが、市場へ定着するかどうかは現状では判断が難しい。

上記以外でも、遺伝子組換えを用いて生産された香料は、食品製造プロセスに直接応用できる可能性を持っている。例えば、ホップがビールに寄与する主要な香気成分であるリナロールとゲラニオールを生合成経路を有する遺伝子組換えビール酵母が構築されている。この酵母細胞をビール製造に用いたところ伝統的なホップを使用したビールよりもより強くホップの風味が感じられたとされる。

ビタミンなどの機能性物質、色素などの主として植物由来の二次代謝産物を、その生合成系の複数の遺伝子を導入することにより微生物で生産する試みも多くなされている。具体的には、テルペノイド、カロテイド、メナキノン-7、アスタキサンチンなどである。微生物に限らず植物を宿主として高生産させる例もある。こうした物質は成分としては化合物としては元の生物由来のものと同じだが、その利用に関しては規制をクリアする必要がある。すでに多くの遺伝子組換え添加物が国内で認可され利用されていることから、これらの化合物の利用に関して大きな議論は無いと推測される。

Omega-3 脂肪酸の生産に取り組んでいる例もある。オメガ3系の $\alpha$ リノレン酸とオメガ6系のリノール酸は、ヒトが生成できない必須脂肪酸である。エイコサペンタエン酸（EPA）やドコサヘキサエン酸（DHA）のような長鎖のPUFAは、人間の体内で合成できるが、必要量には足りないため食事で補う必要がある。魚油、魚介類は、オメガ脂肪酸の供給源として利用されているが、資源枯渇

等から解決が望まれている。植物、特に種子作物は、微量の PUFA の良質な供給源であるが、EPA や DHA 合成に必要なデサチュラーゼやエロンガーゼを欠くためこれら長鎖脂肪酸を合成できない。BASF の DHA 含有量を高めた GM キャノーラは、全 12 遺伝子からなる遺伝子カセットが導入されている。DHA 量は魚油に匹敵しており、環境・消費者・持続可能性の全てにおいて利点を持つ遺伝子組換え作物となった。藻類においては、さらに高いレベルでの蓄積が確認されている。

乳中に 3 番目に多く含まれる固形成分である 2'-フコシルラクトースとラクト-N-ネオテトラオースは母乳中に 3 番目に多く含まれる固形成分であるが、大腸菌で生産されたオリゴ糖が最近、米国食品医薬品局 (FDA) と欧州食品安全機関 (EFSA) により、乳児用粉ミルクの添加物及び新規食品添加物として承認された。

#### <規制について>

EU において合成生物学に特化した規制は存在しない。合成生物学の技術や手法は、従来の遺伝子工学における技術・手法の発展的なものと捉えられている。したがって、合成生物学を応用して得られた生産物については、遺伝子組換え生物を取り扱う指令及び規則の対象となる。欧州食品安全機関 (EFSA) は GM 微生物・植物に関する既存のガイドラインが、SynBio 由来の微生物・植物のリスク評価に概ね適用できるとしている。ただし、特定の領域におけるガイドラインの開発や、SynBio の発展に伴うガイドラインの更新が必要であることも指摘している。

米国では遺伝子組換え生物に対しては、プロダクトベースで、最終製品に関わる既存の規制枠組を適用して規制されている。遺伝子組換え技術を用いた研究開発のための指標として、国立衛生研究所 (NIH) のガイドラインがある。合成生物学の進展に伴い、このガイドラインにおいて「合成 DNA」を用いた研究を対象とするよう定義が改訂された。ただし、これらのガイドラインは、民間企業が

実施する研究開発には適用されない。合成生物学を利用して得られた最終産物が食品 (食品添加物: 意図的に食品に加えられる成分を含む) である場合は、製品は、連邦食品・医薬品・化粧品法に基づいて食品医薬品局 (FDA) による監督下に置かれる。最終産物が、食品添加物に該当する場合は、食品添加物として FDA の承認を受けるか、GRAS (Generally Recognized As Safe) 認定を取得する必要がある。また、サプリメントの原料として用いる成分については、新規ダイエタリー成分として安全性評価を受ける枠組がある。培養肉については、家畜と家禽の細胞株由来の細胞培養技術を使った食品の規制に関して、FDA と農務省食品安全検査局 (USDA-APHIS) が協力して監督することとしている。

日本において、合成生物学に特化した規制は存在しない。「培養肉」については、新開発食品のひとつとして、規制枠組の検討が行われている段階である。新しいコンセプトで作られた食品は、そのコンセプトが新しいものであってもその殆どが従来の食品衛生法の範囲で規制できると考えられる。しかし、例えば Impossible foods の代替肉に含まれる組換えレグヘモグロビンや Perfect day が生産する組換えカゼインなどの組換え精製タンパク質の扱いは必ずしも明確でない (検討中かもしれない)。また、これらの食品の表示についての議論は現状では行われていないように考えられるが、市場への導入にはその検討が不可欠である。

#### <社会受容について>

欧米では合成生物学全般に関する意識調査が行われており、その応用の可能性について、製品のどのような「特徴」や「特性」が社会的な嗜好や優先順位に合致するのか? 合成生物学の特定の技術の受容に関して、人々の判断には何が影響するのか。「オープンソース化」や「生命が創造されている」という認識などが人々の判断に影響を与えるのか? 合成生物学の開発に関わる主要なステークホルダー (科学者、産業界、政策立案者など) は、

社会の優先事項や期待に沿って、開発や商業化のプロセスをどのように「微調整」し、どのような情報や知識を交換する必要があるのか？といった疑問が呈されている。こうした情報は効果的なリスクコミュニケーションや規制の仕組みを確立するための基礎となる可能性がある。

代替タンパク質については豆類由来、藻類由来及び昆虫由来代替タンパク質、並びに植物由来代替肉及び培養肉という5つに焦点を当て91件の論文に基づき、これらの社会的受容の要因を解析し、以下の結論を導き出している。受容率については昆虫の代替タンパク質が最も低く、次いで培養肉が続いている。一方、受容が高いのは豆類代替タンパク質と植物由来代替肉であった。

日本でも主として代替タンパク質に関する複数の調査が行われている。(独)農畜産業振興機構は植物由来の食肉代替食品の動向について、各国の消費者へのアンケートを行い、2021年6月に報告書「各国における食肉代替食品の消費動向」を発表している。公益財団法人日本食肉消費総合センターは令和2年10月に首都圏及び京阪神圏に居住する20歳以上の食肉を自身で購入し、食した人1,800人を対象にインターネットにより「食肉に関する意識調査」を実施し、「代替肉(植物肉)」について回答を得ている。国内の民間調査会社によっても植物由来代替肉のアンケートが行われている。「MyVoice」は2020年12月に約10,000名を対象にアンケートを実施している。また、(株)ぐるなびが、20~60代のぐるなび会員1,000名を対象に、2021年1月に「代替肉」に関して調査を行っている。

## ② 新たなコンセプトで作られた食品に対する多様なステークホルダーの受け止め方

ステークホルダーに対して、A.研究目的で述べた植物ベース代替肉(特にバーガー)、代替乳製品(アイスクリーム)、Synbioによるバニリン生産を新たなコンセプトで作られた食品として紹介し

た。殆どのステークホルダーは植物ベース代替肉にはある程度馴染みがあるものの代替乳製品や合成生物学によるバニリンに関しては初めて耳にしてイメージ出来ない印象であった。

議論の内容を主に「栄養面」、「ネーミング・表示」、「消費者への説明・リスクコミュニケーション」とそれらを踏まえた「意識調査のあり方」に分類した。意識調査のあり方は③の意識調査への参考資料とした。以下に、それぞれのカテゴリーの意見の要約を記載する。

### <栄養面>

- ・ 植物由来という動物由来よりも健康に良いイメージがあるかもしれないが、タンパク質、カルシウム、鉄分などが不足する健康被害は無いのか。タンパク質のアミノ酸組成も異なるのでは無いか。
- ・ 日本人は西洋人と比べ豆腐、納豆などの大豆製品をすでにかかなりの量摂取している。これ以上、食べると大豆イソフラボンの過剰摂取にならないか。
- ・ 疫学調査の結果、ビーガンやベジタリアンは特定のミネラルが不足することが明確。そうした観点から植物ベース代替肉の栄養価に関するネガティブな意見があまり聞かれないのは疑問。

### <ネーミング・表示>

- ・ 「代替肉」、「代替〇〇」ではなく、タンパク源としての新しい食品という位置づけで良いのではないか。代替とすると、元の食品と同じ性質が求められる。日本では昔から大豆を食べているから代替と言わなくても良いのではないか。無理に既存の食品を模倣するのではなく「全く新しいおいしいタンパク源」で良いのではないか。しかし、その場合、どのようなネーミングが適切なのかという問題もある。
- ・ 「肉」には定義がある。肉の公正競争規約などで、動物の肉・畜肉でないと「肉」と言えないというルールがある。大豆ミートという言い方が消費者の誤解を招かないようにしなければなら

い。

- ・ 食品偽装が問題化した歴史もあるので、表示ルールが難しい。新しい技術がある一方で抵抗勢力もあるのが事実。食品の真正性がないとごまかしたものになる。代替ならそれがわかるようにするようにする必要がある。
- ・ 欧州はミルクが神聖なものなので、ミルクでないものをミルクと言っただけではいけないというルールがある。わざわざ「〇〇ミルクは乳製品ではありません」といった打消しの表示が求められる。
- ・ 海外では裁判になっている例もある。「ベジバーガー」という言葉をめぐって、食肉団体が「肉不使用食品に、バーガー、ステーキという表現は不適切であると主張。一方で、食肉としての意識調査ではなく持続可能な食品としての意識調査を行うと、そのようなネーミングは認められるべきだ」という意見も出てきている。
- ・ 表示・ネーミングは重要。消費者が感じる感覚とは別に「ルール」というものがあるから表示の問題は単純ではない。消費者団体の理解や世相の変化も踏まえながら表示ルールを作っていくべき。

#### <消費者への説明・リスクコミュニケーション>

- ・ 世界の環境を考えると、22世紀を生きていくために、必ずしも自分が食べたいからという事ではなく考え方そのものを育てる教育も必要ではないか。自分が食べたいからとか既存の食を守るという観点からだけではなく、SDGs等を考えたうえで食を選ぶという考え方を入れていく教育ツール(コミュニケーション)にもなり得る話題だと思う。リスクリテラシーの教材としてこの話題を使うのも面白いのではないか。例えば、「あなたが今日豆腐ハンバーグを食べることだっただけで一つのSDGsかもしれない」という言い方もできる。
- ・ 一般的に消費者は新しい技術のものは不安に思う傾向がある。新しい科学でいろいろな食品が出て、添加物などが知らないうちに出回ってしま

う事に対する不安を抱く人たちに対して、その不安解消をすることが目的ならば、このような背景(新しいバイオ食品が食糧の安定供給を支え得ること等)を説明しておくことも、リスクミではないか。

- ・ 「そもそも食べ物についてどう考えるか、ゼロリスクはない」という共通理解なしには議論が出来ない。あまり知られていないだけで既に添加物など遺伝子組換え食品は私たちが食べていることをどう伝えるかという観点も必要。
- ・ 培養肉の認知度が低い中で、リスクミとしては、まずは培養肉について知ってもらうこと、次に実際手に取って見てもらえるかということの二つの段階がある。リスク認知が効いてくるのが前者。後者については、環境負荷軽減、おいしい、新しい食品、などの理由で手に取る人がいる。それぞれの人に応じたコミュニケーションが求められる。
- ・ 論点を分けるという点に関していえば、一つの食品に限らなくても、自然にゆだねていて不作で入手困難な時に、新しい科学技術の力で安定的に供給できるということも、科学的なものを否定する人たちへの説明になり得るのではないか。
- ・ 日本にも入ってくる可能背が高い。何かで規制しないと法律違反になってしまうが、国の準備が追い付いていないのではないか。

#### <意識調査のあり方>

- ・ 新たなコンセプトで作られた食品には、いろいろな要素が含まれているため、実施者が定義を明確にする必要がある。その上で、社会的受容に対してどのような意識調査を行うかを絞り込む必要がある。どのような食品を例として取り上げるのが良いかについては、イメージしやすいものがよい。例えば大豆ミートはどうか。
- ・ 大豆ミートについて、身近で関心が持てたので、早速購入して食べてみた。自分は、比較的新しい技術に対して不安を感じにくいタイプのような気がするが、大規模アンケートで、他の人は

どのように感じるものなのかが気になる。

- ・ 栄養に関する要因などをもう少し明らかにしてからアンケートを進めるべきかもしれない。どういう形で社会に広めていくべきなのか、課題は単純ではないと、皆の意見を聞いて感じて。今後、考えてみたい。
- ・ 賛成の為、反対の為、ではなく、現状の実態調査と食べたいかどうかの意識調査により、ある程度モデルを示すことはできる。しかしその結果をもとに、必ずしも推進を目指すべきではない。
- ・ 合成生物学の場合、遺伝子組換えの使い方が今までの遺伝子組換え作物とは違うものともいえる。科学を説明するにしても区別が必要。論点を絞らなければ、拡散してしまうので、何かに特化したほうが良い。
- ・ 科学的あるいは社会的背景の両極端だけではなく、その間に様々な論点がある。食品安全のリスクを狭義に捉えて、食品の安全性についてのみ議論をすれば、環境負荷などの論点は出てこないはず。ケノム編集や遺伝子組換え食品についても食品安全以外にも議論が展開されている。新しいコンセプトのバイオ食品に関しても、消費者の関心事になるであろうポイントを挙げて、それぞれの重みを調べるのが重要では無いか。

### ③ 代替タンパク質に対する意識調査

②での議論を踏まえ意識調査の設計を試みたが、結果的にはむしろ①の欧米での代替タンパク質に関する包括的な調査研究との比較を念頭に代替タンパク質に特化することとした。5,000人の一般モニターの多くは本研究で扱う食品に馴染みが無いと考えられることや開発される社会背景が一律で無く、説明・比較が難しいこともテーマを絞った要因である。具体的には「昆虫食、培養肉、大豆ミート、代替乳、微細藻類」の比較を行った。

ウェブ上で行った17問からなるアンケートの前に5種類の代替タンパク質について以下の説明を行った。

-----  
食糧危機、環境問題、健康や倫理的な観点などから、従来の肉や魚などの動物由来肉に代わる食材として国内外で「代替タンパク質」の研究開発が進んでいます。以下の5つが「代替タンパク質」の実例です。説明を読んでその後のアンケートに答えて下さい。

#### ○ 昆虫食

昆虫は世界中特定の重要なタンパク質源として、古くから食されてきました。日本では蜂の子などが例として挙げられます。最近では、コオロギやその粉末などが国内外で食品として使われています。

#### ○ 植物由来代替肉（大豆ミート）

大豆等を中心としたタンパク質に富む植物原料がハンバーガーなどに使われています。米国を中心に牛肉などの動物由来肉の味や食感により近づける工夫されています。日本でも大豆ミートとして様々な商品が販売されています。

#### ○ 培養肉

牛などの動物の細胞を培養して肉の形に成形した食材です。動物個体を飼育することはありませんが、動物の細胞を食することになります。現在は研究開発は行われていますが、コスト面から実用化にまでは至っていません。

#### ○ 代替乳製品

牛乳の主要なタンパク質を遺伝子組換え技術を用いて微生物で生産し、混合することで牛乳に近い食品、その加工品を再現します。米国では、すでにアイスクリームの原料などに使われています。

#### ○ 微細藻類（クロレラなど）

クロレラ、ユーグレナ、スピルリナなどのタンパク質に富む微細藻類を乾燥・粉末化したものが主に健康食品として国内外で流通しています。現在、食品に適した微細藻類の探索、利用が進んでいます。

-----

結果の詳細な解析は 2022 年度に実施するが、一例として図 1 に「以下の食材をご自身が食べることに、あなたの意見に近いものはどれですか。」という設問に対する回答結果を示す。ある程度予想していたが、昆虫食に対する忌避感が高く、植物ベース代替肉（大豆ミート）に対する受容度は高い。

また、食品としての嗜好（美味しそう、健康に良さそう）に関しては 5 つの食品で大きな差が見られたが、環境に良い、持続可能などという要因については食品間で余り差は見られず、高い関心が示唆された。

#### D. 結論

概ね当初の研究計画通りに新しいコンセプトで作られた食品（Novel Food、新しいバイオ食品）の具体例の洗い出し、こうした食品に対する異なるステークホルダーの意見聴取、そしてそれらをもとに 5,000 人規模の意識調査を実施した。

明らかとなったことは海外では新しいコンセプトによる食品の開発が日本よりもかなり進んでおり、社会受容に関する調査研究例も多い。日本でも最近、昆虫食、大豆ミートに関心が高まっているが必ずしもその背景にある環境問題等に関する情報が提供されているとは言えない。既存の酪農家への配慮などの要因も考えられる。

新しいコンセプトで作られた食品の概念をどこまで広げるかは、規制や社会受容を考える上で検討する必要がある。多様なステークホルダーから意見を聞くことは今後のリスクコミュニケーションを考える上で非常に有益であり、2022 年度は議論の深堀を行う。5,000 人の意識調査の詳細な解析も 2022 年度の早い時期に実施する。この調査は代替肉に特化したものであったが、より多様な食品に対する意識についても必ずしも大規模調査に拘らず実施する。

#### E. 研究発表・業績

##### 1. 論文発表

- 1) 小泉望、四方雅人 (2022) ゲノム編集食品の取り扱いに関するルール 化学と生物 60, 150-153
- 2) Masato Nakamura, Mamoru Nozaki, Yuji Iwata, Nozomu Koizumi, Yasushi Sato (2022) THESEUS1 is involved in tunicamycin-induced root growth inhibition, ectopic lignin deposition, and cell wall damage-induced unfolded protein response. Plant Biotechnology, (印刷中) DOI: 10.5511/plantbiotechnology.21.1224a
- 3) Rikako Hirata, Tomoya Makabe, Kei-ichiro Mishiba, Nozomu Koizumi, Samir M. Hamdan, Yuji Iwata (2022) Unpaired nucleotides on the stem of microRNA precursor are important for precise cleavage by Dicer-Like1 in Arabidopsis. Genes to Cells (印刷中) doi: 10.1111/gtc.12927
- 4) 小泉望 (2021) 遺伝子組換え食品とゲノム編集食品 食の安全安心通信 41、1

##### 2. 学会発表

無し

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働省科学研究費補助金（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」  
分担研究報告書（令和3年度）

ゲノム編集に関する情報収集解析

研究分担者 近藤 一成 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨：

ゲノム編集動物、植物、マッシュルームについて研究開発状況調査から、動物ではゼブラフィッシュのほかブタや昆虫が、植物ではコメ、コムギ、トウモロコシ、トマトなどの生物種について報告が多く、形質としてはウイルス耐性など耐病性、収量増加や環境耐性などが研究されている。技術的には、大部分が CRISPR/Cas9 でオフターゲットの低減なども検討されている。合成生物学を利用した食品等の調査では、代替肉の作製や栄養素、機能性成分等の増加に関する研究が、多くの遺伝子を導入することによって実施されている。合成生物学を利用した植物について、EFSA レポートにあるケーススタディーの3つについても考察した。アレルギータンパクの幅広い pH 条件での人工胃液による分解性について検討を行うために、難消化性の卵白オボムコイドを対象としてその精製を行った。リスクコミュニケーションの一環として、ゲノム編集技術の理解を促進するためのビデオ教材を作成、公開した。

研究協力者

中島 治 国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

遺伝子改変技術を応用した食品開発は、技術的には外来遺伝子導入による遺伝子組換え食品（GM 食品）に加えて、生物自身が持つ内在性遺伝子の改変で新たな形質を生み出すゲノム編集技術応用食品（ゲノム編集食品）が、また、その生物が持たない多数の遺伝子を導入した酵母などから新規食品機能成分を産生させる合成生物学利用が盛んに研究され、今後事例が増加すると考えられる。現行の遺伝子組換え食品等の安全性審査やゲノム編集食品事前相談で確認される取扱い要件で用いられる評価基準が、今後登場する新しい技術に対応できるかを検討する必要がある。そこで、ゲノム編集技術を用いた食品等（以下、ゲノム編集食品）に関して、技術が登場した 2012 年からの

遡って研究開発状況とその傾向を調査する。また、アレルギー性評価における項目、人工消化液によるアレルギータンパクの分解性について、通常条件の pH1.2 以外の pH による分解度の変化を検出して本試験試験結果の重要性を考察する。リスクコミュニケーションの研究として、2 段階のレベルからなる資料を作成して、その効果や課題を検討する。

B. 研究方法

1. 研究開発に関する文献調査

データベースとして PubMed を主に用いて 2012 年 1 月から 2021 年 11 月 30 日までに出版された論文について検索した。対象は、ゲノム編集動物、ゲノム編集植物、ゲノム編集マッシュルームとした。用いた検索式は、次の通りである。

(1) ゲノム編集動物

((CRISPR OR Cas9 OR Cas12 OR CasX OR

Cas3 OR Cas13 OR Cas14) AND (pig OR pork OR swine OR cow OR cattle OR chicken OR fish OR zebrafish OR medaka OR tilapia OR sheep OR goat OR insect OR silkworm OR sea urchin OR mosquito)) NOT review

(2) ゲノム編集植物

((“zinc finger nuclease” OR ZFN OR TALEN OR “TAL effector” OR CRISPR OR Cas9 OR Cpf1 OR Cas12a OR Cas3 OR Cas13 OR Cas14 OR CasX OR “base editing” OR “prime editing”) AND plant) NOT review

(3) ゲノム編集マッシュルーム

(“zinc finger nuclease” OR ZFN OR TALEN OR “TAL effector” OR CRISPR OR Cas9 OR Cpf1 OR Cas12a OR Cas3 OR Cas13 OR Cas14 OR CasX OR “base editing” OR “prime editing”) AND mushroom NOT drosophila NOT review

検索によりヒットした総説を除く科学文献から、タイトル・書誌情報とアブストラクトの情報を csv ファイルに保存した後に、重複および目的外文献を手作業で削除した。次に、この得られた論文情報ファイルから、独自の R プログラムを用いて、以下の情報を抽出してファイルの右カラムに加えて情報整理を行った。

- a) ゲノム編集技術のどの技術が使用されたか
- b) オフターゲット (off-target) について調査しているか
- c) 標的遺伝子は
- d) 目的の生物種は (事例が多い生物種はなにか)

アブストラクトは日本語訳を加えて、excel ファイルにまとめた。また、2012 年から約 10 年の調査結果からその傾向を Python プログラムで tSNE (t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding) クラスタリング解析した。

次に、合成生物学に関する研究開発状況調査を行った。合成生物学は、技術の名称でもなく、一つの学問領域を示すような用語のため、ゲノム編集のような PubMed を用いたキーワード検索が容易ではない。そこで、合成生物学に関する総説にある内容から、調査に必要なキーワードを選別して開発状況調査を行った。

2. 人工消化液によるタンパク分解性試験 (酵素濃度・pH 条件の影響)

EFSA では人工胃液による消化性試験において、単一条件ではなく、pH 条件、酵素ペプシン濃度を変化させて、実際の環境に近いように幅が広い条件で試験することを検討している。日本においても、同様の方法をすぐに安全性評価の中に採用することは難しいが、そのような多様な条件下での分解性の変化を把握しておくことは重要である。代表的なアレルゲンの分解性試験には、高度に精製されたタンパクが不可欠である。これまで、アレルゲンタンパクとしてピーナッツや卵白オボムコイドなどいくつかのタンパクを自ら高度に精製したものを試料として検討を行ってきた。今年度は、OVM を人工胃液で分解させたときに得られる断片と IgE との間の結合性を調べることを目的とする。その前段階として、本年度は分解させていない OVM を用いて IgE 抗体によるウエスタンブロットティングの条件検討を行った。

3. リスクコミュニケーションのための説明資料作成

一般市民向けの、レベルの異なる資料を作成、ビデオスタイルにして国立医薬品食品衛生研究所・生化学部ホームページに公開した。今後これらを活用しながら、どのような方法が効果的のかななどを明らかにしていく。また、別途若手研究 (代表: 田口) で実施している研究内容と成果との連携をしながら進めていく。こちらでは、独自の資料を見た前後の意識の変化を追跡している。



## C. 研究結果および考察

### 1. 研究開発に関する文献調査

ゲノム編集植物については、2012年1月から2021年11月30日までで3,168の論文がヒットした。重複と不要なファイルを取り除くことで最終的に1,695件の論文が抽出された (Table 1)。クラスタリング解析結果からの全体傾向は、コメ、ダイズ、コムギ、トウモロコシ、ポテト、トマトのほか柑橘類が一つのクラスターを形成していることから独自の多くの研究が行われていることが示唆された。形質では収量増加や環境耐性がよく研究されている (Fig.1A)。技術的には、CRISPR/Casシステムが93%と最も多かった (Fig.2-1)。Casの中では、様々な改良版が開発されているものの現在でもオリジナルの Cas9 がもっと多く使用されていた (Fig.2-2)。種ごとでは基礎研究にも用いられることが多いコメやシロイヌナズナが最も報告数が多く、トマト、タバコ、コムギ、トウモロコシなどである (Fig.3)。調査した論文の中で、オフターゲット変異について検討している割合は117/137であった (Table 2)。

ゲノム編集マッシュルームでは、霊芝、ヒラタケ、シイタケ、エリンギ、スエヒロタケなどの報告があったが1から3件程度、全体で11件と少なかった。オフターゲット変異や意図しない変化の解析までしている論文はなかった (Table 3)。

ゲノム編集動物では、2012年1月から2021年11月30日までで2,981の論文がヒットした。重複と不要なファイルを取り除くことで最終的に1911件の論文が抽出された (Table 4)。技術的には、CRISPR/Casシステムが94%と最も多かった (Fig.4-1)。また、植物同様に Cas の中でも、様々な改良版が開発されているものの現在でもオリジナルの Cas9 が98%ともっと多く使用されていた (Fig.4-2)。種ごとでは基礎研究にも用いられることが多いゼブラフィッシュが最も報告数が多く、

次にブタのゲノム編集報告が多かった (Fig.5)。ブタは、ヒトの神経変性疾患の病理学的特徴をより忠実に再現できることから用いられているほか、重要な食肉として耐病性に関する研究が主である。昆虫は、基礎研究として色素やにおい、羽に関する遺伝子などの研究がされているが、クラスタ解析では分離した集団として検出されなかったことから (Fig.1B)、幅広い目的で使用されているのかもしれない。オフターゲット変異について何らかの検討している割合は少なく17であった。

以上の調査結果から、ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 が発表されて約10年が経過し、その間に Cas9 の選択性や編集効率を上げる研究が精力的にされてきたが、現在においても主流は Cas9 であることが分かった。また、DNA 2本鎖切断を起こさないため安全性が高いと期待された塩基編集は実用化においてあまり利用されていない。様々な改良がされているものの予期できない変異の可能性があることや塩基編集用ツールが複雑であることも要因と考えられた。

(別添参考資料：文献調査ファイル)

合成生物学の研究開発調査では、「合成生物学」の定義はないが、次のような概念と考えられる。

「作りたい物質を作るように DNA の塩基配列を設計して合成し、その DNA を生物に導入することで目的とする物質を生物に作らせること。そのために、目的とする物質を作るための代謝経路を新たに構築する必要があり、さまざまな遺伝子を導入すること。」

合成生物学を利用して、食品分野では、どの生物を改変して、どういう製品を開発しているかをしらべたところ、以下のものであった (Table 5)。人工肉や代替肉 (植物由来) 作製時の肉の赤身成分の再現をめざすものや、リコペン、アスタキサンチン産生など健康志向に向けた製品開発が行われている。以下に詳しく記載する。

### 【代替肉の作製】

合成生物学を用いて、色、味、風味などを本物の肉に近づける。なお、このような製品の場合は、何との比較で安全性を評価すればいいのかが課題である。

#### 色：ヘムやヘモグロビンを合成

- ・ 大腸菌でグルコースから遊離ヘムを産生する
- ・ 出芽酵母でヘム合成経路を変化させる

#### 味、風味：脂肪酸を合成

- ・ アルカン資化酵母でアセチル-CoA 経路を変化させる
- ・ 油化生産酵母で脂肪酸シンターゼを変化させる
- ・ アルカン資化酵母で NADPH やアセチル-CoA の合成経路を変化させる
- ・ 大腸菌で脂肪酸合成系を変化させる

#### 【栄養素、機能性成分等の増加】

リコペン、アスタキサンチン、メナキノン、ヒト母乳オリゴ糖 (2'-フコシルラクトース、ラクト-N-ネオテトラオース) 産生できるように、カロテノイド合成に必要な遺伝子群を導入する。

この場合は、多くの遺伝子 (10 以上の遺伝子など) 導入をした生物の安全性評価は、従来の考え方であれば、加えた遺伝子とその産物のタンパクの性質を個別に確認していくことになるが、相互作用などをどう確認するかが課題である。

その他では、次のような研究が行われている。

#### 【乳製品】

大腸菌や酵母にカゼインや乳清タンパク質を作らせ、これらのタンパク質からヨーグルトやアイスクリーム等を作る。

また、合成生物学を利用した植物の環境リスク評価の既存ガイドラインの妥当性評価について報告した EFSA Scientific Report から、合成生物学を利用した植物で 3 つのケーススタディーを上げている。このうち 2 つについては以下のとおりである。

#### <ケーススタディー 1>

植物では通常合成されないビタミン B12 (コバラミン) を合成できるように、バクテリアビタミン B12 生合成経路に関わる複数の組換え遺伝子挿入することによって作出された GM スイートコーン。ここでは、植物の中でこの大きな生合成経路を再構築することは、各遺伝子の発現レベルや相互作用などを考えると評価が難しい問題である。

#### <ケーススタディー 2>

ゲノム編集を用いたコムギゲノム中の複数  $\alpha$  グリアジン遺伝子の欠失による低グルテンコムギの作出である。6 倍体ゲノムの中の全てのグリアジンとグルテニンを正しく特定し、該当する非常に多くの箇所すべてを導入遺伝子なしに構築することは技術的には可能である。この場合はすべての箇所の分子特性解析と新たに生成する ORF から毒性・アレルギー性を調査解析しなければならない。

現在考えられる最も重要なことは、10 以上など非常に多くの遺伝子を導入して一つの生合成経路を構築するとき、個々の遺伝子について従来のように一つずつ評価していくことでいいのか、一つの生合成経路を構築したことによる植物の影響 (特に、その植物が持たない生合成系の導入) まで考慮すべきか、また、どのようにそれを評価すべきかのアプローチを一度検討していくことではないか。合成生物学を利用した食品や食品素材はまだ具体的な事例は少ないが、今後増加してくると考えられる。評価をする上での問題や課題の抽出を早く行っていく必要があると考えられた。

#### 2. 人工消化液によるタンパク分解性試験 (酵素濃度・pH 条件の影響)

オボムコイド (OVM) は分解抵抗性のアレルゲンタンパクである。そこで、pH のわずかな差による人工消化液による影響を検討することを目的に条件検討を行った。これまで、市販 OVM での検討から、市販品は卵アレルギー患者血清と反応し

なかったため、今回の検討では独自に卵白から精製を行って両 OVM の患者血清に対する反応を比較検討した。

独自に卵白から精製したタンパク質は OVM であることが LC-MS/MS によって確認できた。自分で精製した OVM と試薬として購入した OVM を比較すると、電気泳動で分離して CBB 染色をしたときに検出される混入物が異なっていた。自分で精製した OVM の場合は、OVM よりも高分子の混入物（混入物 1）が含まれていた。試薬として購入した OVM の場合は、OVM よりも低分子の混入物（混入物 2）が含まれていた（Fig. 6A）。

ウェスタンブロッティングの様々な検出条件を試したところ、OVM のバンドをスメアとして弱く検出することができた。自分で精製した OVM と試薬として購入した OVM の両方からこのスメアが検出された（Fig.6B）。

市販品と今回抽出した精製品は、ともに IgE ウェスタンで OVM を検出している。これらを用いて今後、各 pH 条件で人工胃液による分解を行いその IgE 結合性を検討して、pH の影響を明らかにする。

### 3. リスクコミュニケーションのための説明資料作成

ゲノム編集技術の理解のために、初級編と中級編の技術説明資料をパワーポイントで作成、また、見やすいようにビデオ形式にして国立医薬品食品衛生研究所生化学部のホームページに掲載した（<http://www.nihs.go.jp/dnfi/GMO.html#13>）。

パワーポイント資料とそれをビデオ化したものを比較して見てもらったところ、後者の方が圧倒的に理解しやすいという意見が多かった。

## D. 結論

ゲノム編集動物、植物は基礎研究から応用研究まで活発に行われている。技術的には現在では非常に多くの関連手法があるものの、Cas9 が依然と

してゲノム編集技術の中心である。塩基編集やプライム編集など新しい方法も利用されており、今後応用例が増加すると考えられる。多様な技術を応用して作製した食品について、どのような点に着目して安全性の確認を行っていくのか、現在よく用いられている Cas9 での欠失導入の時とどう違うのかなどを整理しておくことが重要である。

合成生物学利用食品についても、これまでの遺伝子組換え食品の安全性評価の仕組みでどこまで対応可能で、どこから対応できないのか、また今後どのような新たな評価の仕組みが必要であるかを整理しておく必要がある。リスクコミュニケーションによる国民受容の促進のためには、より分かりやすく、かつ、理解しやすい媒体で提供することが重要である。

## E. 研究発表・業績

### 1. 論文発表

該当なし

### 2. 学会発表

- 1) 曾我慶介、中村公亮、成島純平、吉場聡子、木俣真弥、江木智宏、岸根雅宏、真野潤一、橘田和美、高島令王奈、柴田識人、近藤一成：改正食品表示基準に対応した遺伝子組換えとうもろこし混入の判定に係る定性 PCR 検査法の開発、日本食品衛生学会第 117 会学術講演会、東京、2021 年 10 月 26 日
- 2) 高島令王奈、江木智宏、曾我慶介、峯岸恭孝、成島純平、吉場聡子、柴田識人、中村公亮、近藤一成、岸根雅宏、真野潤一、橘田和美：改正食品表示基準に対応した遺伝子組換えダイズ混入の判定に係る定性 PCR 検査法の開発、日本食品衛生学会第 117 会学術講演会、東京、2021 年 10 月 26 日
- 3) 吉場聡子、成島純平、曾我慶介、柴田識人、近藤一成：安全性未承認の遺伝子組換えナタネの試験法開発、第 58 回全国衛生化学技術協議会年会、名古屋、2021 年 11 月 25-26 日

- 4) 柴田識人、曾我慶介、成島純平、吉場聡子、江木智宏、高畠令王奈、近藤一成：遺伝子組換えダイズ・トウモロコシ定量のための内標比の算出、第 58 回全国衛生化学技術協議会年会、名古屋、2021 年 11 月 25-26 日
- 5) 曾我慶介、成島純平、吉場聡子、江木智宏、真野潤一、高畠令王奈、橘田和美、中村公亮、柴田識人、近藤一成：「遺伝子組換え出ない」表示確認に係る新定性検査法の試験室間共同試験による妥当性評価、第 58 回全国衛生化学技術協議会年会、名古屋、2021 年 11 月 25-26 日
- 6) 成島純平、木俣真弥、志波優、権藤崇裕、秋元智、曾我慶介、吉場聡子、中村公亮、柴田識人、近藤一成：ゲノム編集作物におけるオフターゲット予測法の検討、第 44 回日本分子生物学会年会、横浜、2021 年 12 月 2 日
- 7) 近藤一成、成島純平、曾我慶介、吉場聡子、柴田識人、坂田こずえ、田口千恵、加藤怜子：ヒト細胞 TK6 を用いた CRISPR/Cas による構造変異 (SV) 解析の検討、第 44 回日本分子生物学会年会、横浜、2021 年 12 月 3 日

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働省科学研究費補助金（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」  
分担研究報告書（令和3年度）

多様な遺伝子改変技術から生じる意図しない変化の網羅的解析手法の開発と環境整備に関する研究

研究分担者 柴田 識人 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨：

本研究では、ゲノム編集食品の安全性評価の一つである外来性 DNA の残存の有無を網羅的に調べる方法として、全ゲノムシーケンズによって得られたデータを用いた標準的解析手法の開発に取り組んだ。本研究成果より、挿入が想定される外来性 DNA 配列が予め分かっている場合、ショートリードシーケンサーおよびロングリードシーケンサーによって得られた全ゲノムシーケンズデータを SV 解析やアセンブリ解析に供することで、外来性 DNA の残存の有無、挿入箇所、挿入された配列の内容を明らかにすることが可能であると示唆された。この一連の解析が、高い再現性を持つ標準的な手法として確立できれば、開発者および評価者双方が同一の解析環境で外来性 DNA の残存を評価できることになり、ゲノム編集食品の安全性評価の精緻化に役立つと共に、当該食品に対する国民の理解促進にも貢献できると期待される。

研究協力者

曾我 慶介（国立医薬品食品衛生研究所）  
吉場 聡子（国立医薬品食品衛生研究所）  
成島 純平（国立医薬品食品衛生研究所）

A. 研究目的

2019 年より開始されたゲノム編集食品の事前相談・届出制度では、外来遺伝子およびその一部が残存しないことを調べる手法の一つとして次世代シーケンサー（Next generation sequencer; NGS）を挙げている。また外来性 DNA の残存ばかりでなく、ゲノム編集技術によって生じる意図しない遺伝子変化全般の網羅的解析において、NGS データによる解析は有効であると考えられていることから、こうした遺伝子変化に起因すると思われる、新たなアレルゲンや毒性タンパク質・代謝物が生成される可能性を論じる上でも、今後これが重要な解析手法になると予想される。しかしながら NGS 解析を公定試験法とするには、

解析の必要要件や標準的手順が明確になっておらず、これらの点が課題となっている。また NGS のように大規模に塩基配列を解読する技術は、PCR 増幅された短い塩基配列を決定するショートリードシーケンサーのような従来からある手法の他に、長い単一分子の塩基配列を決定するロングリードシーケンサーが開発されるなど技術革新も進んでいることから、これらシーケンサーの特性を把握した上で、ゲノム編集食品における遺伝子変化の網羅的な解析にこれらがどう活用できるか検討する必要もある。一方でこれらシーケンサーによって行われてきたこれまでの変異解析研究では、50 bp 以上の比較的大きな変異である構造変異 (Structural Variant, SV) の検出は、ヒト以外ではあまり検討されていないのが実状であり、食用生物を研究対象とする際にはこの点も解決すべき課題となる。

本研究では、ゲノム編集食品の意図しないゲノム上の変化を対象に、ショートリードシーケンサーおよびロングリードシーケンサーによる全

ゲノムシーケンスデータを用いた解析手法の開発と標準化を目的として、外来性 DNA を有する試料をモデルとした SV 検出手法の検討を行った。

## B. 研究方法

### 1. サンプル

外来 DNA 残存モデルサンプルとして除草剤耐性遺伝子組換えダイズ RRS2 系統の粉砕試料 Monsanto MON89788 Soybean Powder 994.0 g 超/kg (AOCS; 0906-B、以後 RRS2 と表記)、コントロールサンプルとして Monsanto Non-Modified Soybean Powder 1.0 g 未満/kg (AOCS; 0906-A、以後 nonGM と表記) を購入した。

### 2. ゲノム DNA 抽出

各ダイズ粉砕試料 0.3 g から以下に示す CTAB (Cetyl trimethyl ammonium bromide) 法により、ゲノム DNA を抽出。

- 1) 1.5 mL の CTAB 抽出 buffer (1.5% CTAB, 75 mM Tris-HCl pH 8.0, 15 mM EDTA, 1.05 M NaCl) を加え、56°C で 30 分間、振盪しながら加温。
- 2) 1.25 mL のイソアミルアルコール:クロロホルム = 1:24 を加え、混合し、Hula mixer (Thermo Fisher Scientific) を用いて 30 rpm で 15 分間混合。
- 3) 遠心分離し、上清を回収。上記工程を 2 回繰り返す。
- 4) 上清に 100  $\mu$ L の 10%CTAB を加え混合。
- 5) 遠心分離し、上清を回収。CTAB 沈殿 buffer (1%CTAB, 50 mM Tris-HCl pH8.0, 10 mM EDTA) を 1.5 mL 加え、混合して、DNA と CTAB の複合体の沈殿を形成させる。
- 6) 遠心後に、上清を除去。沈殿に対し、1 M NaCl を 500  $\mu$ L および RNase A (ニッポンジーン) を 1.5  $\mu$ L 加え、55°C で 30 分間処理。

- 7) エタノール沈殿を行い、脱塩後に超純水にて DNA ペレットを溶解。

### 3. イルミナライブラリー調製およびショートリードシーケンス

MagAttract HMW DNA kit (QIAGEN) を用いて、抽出したゲノム DNA を精製および低分子 DNA を除去。精製した DNA は 200 ng ずつを用いて Illumina DNA Prep, (M) kit (Illumina) により、シーケンスライブラリーを調製。Qubit Fluorometer (Thermo Fisher Scientific) および Bioanalyzer 2100 (Agilent) により定量・定性を行い、それぞれ 15 nM に希釈の後、等量ずつ混合して DNA ライブラリーとした。シーケンスは HiSeq X Ten (Illumina) による 150 bp  $\times$  2 のペアエンドシーケンスを受託企業へ外注した。

### 4. ナノポアライブラリー調製およびロングリードシーケンス

Short read eliminator XS (Circulomics) を用いて、抽出したゲノム DNA より低分子 DNA を除去。続いて、1  $\mu$ g の DNA を用いて Ligation Sequencing Kit (Oxford Nanopore Technologies; SQK-LSK109) によりシーケンスライブラリーを調製し、Qubit Fluorometer により二本鎖 DNA 濃度を測定。調製したライブラリーを PromethION フローセル (R9.4.1) に供し、PromethION (Oxford Nanopore Technologies) により 72 時間のシーケンスを実施した。

### 5. ショートリードシーケンスデータを用いた SV 解析

得られたリードデータをクオリティコントロールツール「FastQC (ver. 0.11.9)」で確認すると、概ね良好なデータであったが、Phred スコアが 20 を下回るリードや、ライブラリー調製に用いたアダプター配列が含まれていたことから、リードデータのトリミングツール「Trim Galore! (ver.

0.6.7)」を用いて  $Q < 20$  リードの除去、シーケンスアダプター配列の除去および 40 bp 以下のリードの除去を行った。ダイズの参照ゲノム配列「Glycine\_max\_v2.1.dna.toplevel.fa」に対して、上記処理済みのリードシーケンスデータをマッピングツール「BWA-MEM (ver. 0.7.17-r1188)」によってマッピングした。ダイズの参照ゲノム配列は EnsemblPlants (<http://plants.ensembl.org/>) より取得した。「Samtools (ver. 1.13)」によってマッピングファイルを圧縮し、ソート、インデックスファイルを作成。また「Picard (ver. 2.26.0)」の MarkDuplicates を用いて PCR duplicate リードを除去。SV caller には「DELLY (ver. 0.8.7)」「GRIDSS (ver. 2.12.1)」「Manta (ver. 1.6.0)」「SvABA (ver. 1.1.0)」を用いて、参照ゲノム配列に対する SV 解析を実施し、全て Normal/Tumor 解析を実施し、RRS2 にのみ特異的に見られる SV 変異を検出した。

パラメーターは全てデフォルトで行い、コールされた SV のうち、Filter が PASS のみを抽出。

「DELLY」で生成された binary variant call format (bcf) ファイルは「bcftools (ver. 1.13)」で variant call format (vcf) ファイルに変換。「GRIDSS」のフィルタリングには「GRIPSS (ver. 1.11)」を使用。

## 6. ロングリードシーケンスデータを用いた SV 解析

ナノポアシーケンサーにおいて、解析ソフト「MinKNOW (20.06.18)」にて取得したポア通過時の電流変化データ (fast5 format) を、base caller「Guppy (ver. 5.0.11)」の high accuracy mode によりクオリティスコア 9 以上のリードを塩基配列 (fastq format) へと変換した。一般的にナノポアシーケンサーのデータは読み初めの数十 bp の正確性が低いと言われているため、リードデータのトリミングツール「NanoFilt (ver. 2.8.0)」の --headcrop オプションを用いて、リードデータから 5' 側の 50 bp を除去。トリミングされたシーケ

ンスデータは「NanoPlot (1.38.0)」を用いてクオリティを確認。ダイズの参照ゲノム配列「Glycine\_max\_v2.1.dna.toplevel.fa」に対して、上記シーケンスデータをマッピングツール「Minimap2 (ver. 2.21-r1071)」により -ax map-ont オプションを指定してマッピングした。「Samtools」によってマッピングファイルを圧縮し、ソート、インデックスファイルを作成。SV caller には「Sniffles (ver. 1.0.12)」または「cuteSV (ver. 1.0.11)」を用いた。

デフォルトパラメータでは SV を検知する最小リードは両ツールともに 10 であったが、有効なアライメントリードの最小値が「Sniffles」では 2,000 bp、「cuteSV」では 500 bp と異なっている。また、ナノポアシーケンサーで得られたデータの SV 解析では、「cuteSV」のオプション --max\_cluster\_bias\_DEL を 200 から 100 に、--diff\_ratio\_merging\_DEL を 0.5 から 0.3 変更することが推奨されているが、本検討ではパラメーターはデフォルトとして、参照ゲノム配列に対する SV 解析を実施した。得られた vcf ファイルを用いて、「bcftools」の isec オプションを用いて、nonGM と RRS2 で共通する変異を差し引き、RRS2 にのみ特異的に見られる SV 変異を抽出した。

## 7. 全ゲノムシーケンスデータを用いた RRS2 T-DNA 配列の再構築

RRS2 の T-DNA 配列情報は米国特許 (US76232985 B2) から取得した (Figure 1)。この RRS2 T-DNA 配列に対し、「FASTX Toolkit (ver. 0.0.14)」の fasta\_formatter コマンドの -w オプションを 60 に指定して、一行当たり 60 文字の FASTA ファイルとした。作成した T-DNA 配列 (4385 bp) を参照ゲノム配列として、ショートリードシーケンスデータは「BWA-MEM」にて、ロングリードシーケンスデータは「Minimap2」により -ax map-ont を指定してマッピングし、各全ゲノムシーケンスデータから RRS2 T-DNA

を含むリードを抽出。「Samtools」 view コマンドの -F オプションを 4 に指定してマッピングされなかったデータを除き、「Samtools」で FASTQ ファイルに変換した。ショートリードシーケンズデータは、「KmerGenie (ver. 1.7051)」を用いてアセンブリに最適な k-mer 値を推定、「SeqKit(ver. 2.0.0)」を使って作成した FASTQ の平均リード長を調べ、Picard CollectInsertSizeMetrics を行ってライブラリーの平均インサート長を調べた。さらに、抽出した T-DNA リードを「Velvet (ver. 1.2.10)」を用いてアセンブリした。ロングリードシーケンズデータは「Flye (ver. 2.9)」を用いて --nano-hq および -i 5 オプションを指定してアセンブリした。各アセンブリ結果は RRS2 の T-DNA 配列とのマルチプルアライメントに供したが、GenomeNet (<https://www.genome.jp/>) の CLUSTALW にて実施した。

## C. 研究結果

### 1. 全ゲノムシーケンズデータ解析の標準的手順に向けて検討すべき課題

#### 1) データ解析の概要

ショートリードシーケンサーやロングリードシーケンズによって得られたデータの一般的な解析の流れは以下の通りとなる。

- ① Base calling: データを塩基配列情報に変換
- ② Quality check: 塩基配列情報の質を確認
- ③ Mapping: 参照ゲノム配列との相同性を基に、解読された塩基配列情報の位置を決定
- ④ SV calling: SV 変異の探索
- ⑤ Filtering: SV 変異候補の選抜

これら各段階の技術や手法は日進月歩で進化しているが、公定試験法としての利用という観点で考えると、その性能比較や手順の整備などの面で、例えば以下のような検討すべき課題がある。

- ① シーケンサーの性能比較
- ② 参照ゲノム配列の有無および整備

#### ③ マッピングツール

#### ④ SV caller の選択

上記課題のうち、本研究では①, ②, ④について検討を行なった。マッピングツールについても種々の手法が提唱されている。例えばロングリードシーケンズデータのマッピングツールとしては数年前まで「BWA-MEM」が主流であったが、より高速で動く「Minimap2」が開発されてからはこちらに置き換わっている。その他にも SV caller の「Sniffles」の開発者が変異解析用に開発したマッピングツールである「NGMLR」を用いた解析報告も多い。本研究では、これらマッピングツールを使用した解析報告や評判などを考慮して、ショートリードシーケンズデータには「BWA-MEM」、ロングリードシーケンズデータには「Minimap2」にて実施した。

### 2) シーケンサーについて

大規模に塩基配列を解読するシーケンサーは、ショートリードシーケンサーとロングリードシーケンズの2種類に大別できる。代表的な機種についてその性能を Table 1 にまとめた。概して、ショートリードシーケンサーは正確性が高い反面、PCR による増幅を行うためライブラリー中に配列依存的な PCR バイアスが生じる可能性があることおよび、長いリピート配列の解読が弱い。一方ロングリードシーケンサーは正確性の面では劣るものの、PCR 等の増幅を行わず、1分子の DNA を直接シーケンズするためショートリードと比較して配列依存性が低く、リピート配列の解読に強いといった特徴があるとされている。またその変異解析ツールについても各々のシーケンサーの特徴を踏まえた専用のツールが開発されつつある。本研究では、ショートリードシーケンサーとロングリードシーケンズとして各々1機種ずつ選び、解析手順、変異判定にかかる性能を比較検討することにした。なおロングリードシーケンサーについては、Oxford Nanopore



Technologies 社 (ONT) のナノポアシーケンサーおよび Pacific Bioscience 社 (PacBio) の Sequel システムの 2 種類が有力である (Table 1)。PacBio の Sequel は正確性も高いが、ランニングコストが高く、必要ゲノム量も多く要求されることが特徴である。一方で、ナノポアシーケンサーの正確性は 90% ほど悪いが、データ量選択の自由度が高く、ランニングコストが比較的低いことと、ゲノム必要量が Sequel より少ないことが特徴である。また、近年の base caller の修正により、一番正確なモードでは約 98% に上ることが報告された。以上より、ロングリードシーケンサーはナノポアシーケンサーを検討することとした。

### 3) 様々な生物種の参照ゲノム配列について

ゲノム編集技術が報告されて以降、様々な動物・植物においてこうした技術の応用研究がなされてきた。例えば、令和元年度厚生労働省科学研究費補助金 (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」報告書によると、2018 年から 2019 年にかけて文献報告された食品となる植物へのゲノム編集技術の応用例では、コメ (130 件)、トマト (45 件)、コムギ (21 件)、トウモロコシ (20 件) が上位 4 品目であった。すなわちこれら品目は、今後ゲノム編集食品として事前相談・届出される可能性が高い品目であると考えられ、全ゲノムシークエンスで得られたデータを解析ができるよう、参照ゲノム配列を優先的に整備しておくべきであると考えられる。今回のモデルサンプルとして用いたサイズも含め、5 品目の参照ゲノム配列を調査し、Table 2 にまとめた。各品目とも系統毎に登録されており、また参照ゲノム配列としては未完成のものもあるなど、整備度合いについても違いがあることが分かった。

### 4) 変異解析ツールについて

変異解析で使用するバイオインフォマティクスツールについて、これまでに様々なものが開発されて GitHub 等に公開されている。しかし、開発されて間もないツールも数多くあることから、それらのツールを利用して解析を進める前に各ツールの長所・短所を文献等で予め整理することが重要である。また、多くのツールは Linux 環境で開発されており、これらのツールを Windows や Mac の OS で動作させることが困難なこともしばしばみられる。しかし、Mac ではターミナルで Unix コマンドが利用できること、および Windows も Windows Subsystem for Linux (WSL) の開発により、Windows OS 上で Linux を利用できるようになったことで、ツール利用への敷居は徐々に下がっている。さらに近年は Anaconda という Python ディストリビューションにより、同一環境における多くのツールの共存による互換性の問題を、各環境を隔離してパッケージ管理を行うことで回避できるようになった。また、Docker というコンテナ仮想化を用いて、アプリケーションを配置するオープンプラットフォームにもバイオインフォマティクスのツールがライブラリーとしてアップされるようになり、純正 Linux 機でなくても、手軽にツールを導入し利用できる環境が整いつつある。このような環境を鑑みて、汎用性が高い方法として適用可能な方法の情報収集および整理を行った (Table 3, 4)。さらに SV caller の性能比較を行った論文 (Kosugi et al. Genome Biology (2019) 20, 117, Mahmoud et al. Genome Biology (2019) 20, 246) などを参考にしつつ、ショートリードシークエンスデータには「Manta」「DELLY」「GRIDSS」「SvABA」、ロングリードシークエンスデータには「Sniffles」「cuteSV」にて SV 解析を行うことにした。

## 2. シークエンス結果の概要

### 1) ショートリードシークエンスについて

ショートリードシーケンサーとして、HiSeq (Illumina) を検討した。ゲノム DNA の状態はアガロースゲル電気泳動を実施し、概ね高分子量であることを確認したのち、ライブラリー調製に供した (Figure 2A)。調製した DNA ライブラリーの品質は Bioanalyzer 2100 (Agilent) で確認した (Figure 2B)。Bioanalyzer のエレクトロフェログラムより 150-1500 bp の平均分子量は、RRS2 サンプルで 568 bp、コントロール (non-GM) サンプルで 589 bp であった。また各サイズの DNA が概ね正規分布し、プライマーダイマーや分解された DNA 等の低分子 DNA のピークが見られないことから、正常な DNA ライブラリーであることを確認した。ショートリードシーケンスを実施したところ、ダイズゲノムサイズを約 1.1 Gb として見積ると、その 60 倍以上のカバレッジを満たすデータを取得した。生データ量およびその統計値は Table 5 に示した。

## 2) ロングリードシーケンスについて

ロングリードシーケンサーは ONT 社のナノポアシーケンサーである PromethION を検討した。長鎖リードデータを大量に得るために低分子塩基を除去し、シーケンサーにアプライする前の DNA の状態はアガロースゲル電気泳動で確認した (Figure 3)。ロングリードシーケンスを実施し、得られた生データ量およびその統計値を Table 6, 7 に示した。RRS2 サンプルでデータ量は 79 Gb、N50 は 25.1 kb、nonGM サンプルでデータ量は 48.6 Gb、N50 は 5.5 kb であった。ダイズゲノムサイズを約 1.1 Gb として見積ると、取得データでは、RRS2 サンプルで 71.8 倍、nonGM サンプルで 44.2 倍のカバレッジ、ベースコールおよびフィルタリング後のデータでは、RRS2 サンプルで 47.2 倍、nonGM サンプルで 23.5 倍のカバレッジであった。

## 3. SV 解析の結果

各シーケンズデータについて実施した SV 解析で検出された変異の結果をまとめた (Table 8)。また RRS2 サンプルにおける T-DNA 配列の挿入について、各 SV caller ツールの結果をまとめた (Figure 4)。偽陽性を除くため、RRS2 サンプルで検出された SV から nonGM サンプルで検出された SV を差し引いた結果 (RRS2/nonGM) を載せている。但し、「Sniffles」で解析したデータでは差し引くことができなかった。また「GRIDSS」および「SvABA」での解析については、変異の種類を同定することができなかったため、BND (breakend) としてまとめて表記している。変異の種類毎の総数で比較すると、「Manta」および「DELLY」と比較して、「Sniffles」および「cuteSV」では挿入と欠損変異の数が多い傾向にあった。「cuteSV」による解析について差し引き前後の SV 総数を比較すると、RRS2→RRS2/nonGM で、INS (26891→26793)、DEL (24721→23252)、DUP (587→459)、INV (156→148)、BND (3090→2597) と、各 SV の 1~22% の減少にとどまった。

ショートリードシーケンズデータでは、RRS2 の T-DNA 配列挿入部を変異として検出できたのは GRIDSS のみであったが、アルゴリズムの問題により非ヒト生物を対象にした解析では「挿入」変異とは判定されなかった。一方ロングリードシーケンズデータでは、「Sniffles」および「cuteSV」とともに RRS2 の T-DNA 配列挿入部を「挿入」変異として判定できた。挿入配列として「Sniffles」は 3509 bp、「cuteSV」は 4254 bp と予測したが、RRS2 サンプルの実際の T-DNA 挿入長は 4324 bp であり、「cuteSV」の方がより近い値であった。

## 4. RRS2 T-DNA 配列の再構築

RRS2 の T-DNA 配列に対して、ショートリードシーケンズデータを「BWA-MEM」によりマッピングしたところ、全リード中、RRS2 T-DNA 配列にマッピングしたのは 1481 リードのみであり、全て RRS2 サンプル由来で、nonGM サンプ

ルは1リードもマッピングされなかった。抽出した1481リードをFASTQ形式に戻し、「SeqKit」を使って平均リード長を調べたところ、147.7 bpであった。これらのことから、RRS2 T-DNA 領域のシークエンスカバレッジは、1481 (リード数) × 147.7 (平均リード長) / 4385 (T-DNA 配列長) = 49.88…となることから、およそ50倍とした。またこのライブラリーのMEDIAN\_INSERT\_SIZEは337 bpで、アセンブリに最適なk-mer値はk=91であった。よって、「velveth」のhash値は91とし、「velvetg」の-ins\_lengthは330、-exp\_covは50としてアセンブリを実行したところ、4463 bpのコンティグが1本のみ生成された。

RRS2のT-DNA配列に対して、ロングリードシークエンスデータを「Minimap2」によりマッピングしたところ、全リード中、RRS2 T-DNA配列にマッピングしたのは58リードのみであり、全てRRS2サンプル由来で、nonGMサンプルは1リードもマッピングされなかった。抽出した58リードをロングリードアセンブラー「Flye」を用いてアセンブリしたところ、長さ91213 bpの1本のコンティグが得られた。平均カバレッジは13倍であった。

生成された各コンティグ配列の内部配列にはRRS2 T-DNA配列に相当する配列が確認された。そこで、この各コンティグ配列を参照ゲノム配列のRRS2 T-DNA配列と比較した結果、ショートリードシークエンスデータにより得られたコンティグ配列はT-DNA配列(4385 bp)と完全に一致していたが、ロングリードシークエンスデータにより得られたコンティグ配列は4384 / 4385 bp(99.9%)と一塩基の不一致が見られた(Figure 6)。不一致が見られた箇所はTが8塩基連続する配列であり、8番目のTが欠損していた。

#### D. 考察

本研究では、ゲノム編集食品の意図しないゲノム上の変化を検出するために、全ゲノムシーケン

スデータを用いた解析手法の確立と標準化を目的としている。今年度は、モデル試料として遺伝子組換えダイズRRS2を用い、外来性DNAの残存を確認する手法について検討した。

一般的なショートリードシークエンスおよびロングリードシークエンスによって得られたデータの解析スキームをもとに、測定機種、参照ゲノム配列、SV callerなどによる解析結果への影響をまず検討すべきであると考えた。そこで、測定機種についてはショートリードシークエンサーとロングリードシークエンサー各々の代表的な機種を用いてモデル試料の全ゲノムシークエンスデータを取得し、各々の機種でよく使われているSV callerによりその性能を比較した。その結果、ロングリードシークエンサーによって得られた全ゲノムシークエンスデータの解析により、遺伝子組換えダイズRRS2において外来性遺伝子挿入が検出されたこと、さらにどちらの機種で得られた全ゲノムシークエンスデータであっても遺伝子組換えダイズRRS2ゲノムサンプルにおいて挿入されたDNA配列が再構成できることが分かった。すなわち、当該ゲノム編集食品に残存している可能性が疑われる外来性DNA(Cas9やgRNAを細胞導入する際に使用したベクターなど)が予め分かっていたら、その残存の有無や位置、そして挿入されたDNA配列などを調べることが可能であることを示唆している。したがって今後はこうした解析スキームの必要要件を考える必要がある。今回は例えばショートリードシークエンサーのデータでは60倍以上のカバレッジがあり、対象としたRRS2サンプルには4000 bp以上の遺伝子挿入があった。シークエンスデータの解析における必要要件を考える上では、以下の点などについて検討する必要があると考えている。

- ・どの程度のカバレッジが必要か？
- ・長さの異なる遺伝子挿入でも検出できるのか？
- ・挿入長と必要なカバレッジの関係

ゲノム編集食品における外来性 DNA の残存を調べる方法として、ショートリードシーケンスおよびロングリードシーケンスで得られた全ゲノムシーケンスデータを用いて、SV 解析による挿入位置の同定やアセンブリによる残存配列の同定が可能であることが今回の検討より示唆された。残存性を調べる既存の方法として他にサザンブロット法や PCR 法などがあるが、挿入位置と配列をほぼ正確に決定できることは全ゲノムシーケンスデータを用いた今回の解析手法の利点であると言える。一方こうした全ゲノムシーケンスデータを用いた外来性 DNA の残存を解析する別の方法として、k-mer 法を利用したものも報告されている (Itoh et al. (2020) Sci. Rep.)。これは、挿入が想定される外来性 DNA 配列を断片化し、対象生物個体の全ゲノムシーケンスデータと網羅的に比較照合することで、外来性 DNA 配列の断片を検出する手法である。20 塩基以上の断片であればその挿入箇所を同定できると言われている。簡便なスクリーニング方法としては優れた方法と言えるが、20 塩基より短い挿入では判定の正確性に欠ける、挿入配列の全容はこの手法だけでは分からないなどの課題もある。今回我々が試みた SV 解析とアセンブリ解析を組み合わせた手法との比較や両手法の併用の可能性なども今後検討する必要がある。

ゲノム編集食品の意図しないゲノム上の変化という観点で考えると、欠損・逆位・重複・これらの複合など挿入以外の遺伝子変異も十分に考えられる。挿入変異同様、これら他の変異は当該食品の安全性を考える上でハザードとなり得ることから、これらの同定も重要な課題となる。今回の検討でも様々な SV caller で他種類の遺伝子変異についても調べたが、Table 8 に示す通り、SV caller 毎にその種類や数が大きく異なっていた。従ってこの Table 8 に示す SV の総数には偽陽性を含んでいる可能性が高い。また挿入変異についても、RRS2 の T-DNA 配列のような挿入される可能性

がある外来性 DNA が予め分かっていたら、挿入の有無やその位置を特定することも可能であるが、そのような可能性のある外来性 DNA が不明であった場合、ゲノム編集技術に起因する意図しない挿入変異を正しく評価できる保証がない。従ってこうした様々な変異を正しく評価できる系の構築が望まれる。現状検出される SV 総数の違いは、SV caller の性能や判定アルゴリズムの違いにも起因するが、参照ゲノム配列の不備による偽陽的な変異も、この要因の一つと考えられる。今後こうした点も考慮しながら、評価系の構築を行う必要がある。また変異検出の性能評価という観点から、各変異の種類毎に標準的サンプルを用意する必要もあると考えられる。合わせて検討したい。

## E. 結論

本年度の検討より、残存する可能性がある外来性 DNA 配列が予め分かっていたら、ショートリードシーケンスおよびロングリードシーケンスによって得られた全ゲノムシーケンスデータを用いた SV 解析とアセンブリ解析を組み合わせることにより、その残存した DNA 配列のゲノム挿入の有無や位置、そしてその挿入配列を明らかにできることが分かった。これは、ゲノム編集食品の事前相談・届出制度で求められている「外来遺伝子およびその一部が残存しないことを調べる手法」として全ゲノムシーケンスデータを利用した評価手順を提起したことになり、開発者および評価者にとって信頼性の高い安全性評価を可能にするものである。今後手順の標準化やその解析に必要な要件について検討する必要がある。

## F. 研究発表・業績

### 1. 論文発表

該当なし

### 2. 学会発表

- 1) 曾我慶介、中村公亮、成島純平、吉場聡子、木俣真弥、江木智宏、岸根雅宏、真野潤一、橘田和美、高島令王奈、柴田識人、近藤一成：改正食品表示基準に対応した遺伝子組換えとうもろこし混入の判定に係る定性 PCR 検査法の開発、日本食品衛生学会第 117 会学術講演会、東京、2021 年 10 月 26 日
- 2) 高島令王奈、江木智宏、曾我慶介、峯岸恭孝、成島純平、吉場聡子、柴田識人、中村公亮、近藤一成、岸根雅宏、真野潤一、橘田和美：改正食品表示基準に対応した遺伝子組換えダイズ混入の判定に係る定性 PCR 検査法の開発、日本食品衛生学会第 117 会学術講演会、東京、2021 年 10 月 26 日
- 3) 吉場聡子、成島純平、曾我慶介、柴田識人、近藤一成：安全性未承認の遺伝子組換えナタネの試験法開発、第 58 回全国衛生化学技術協議会年会、名古屋、2021 年 11 月 25-26 日
- 4) 柴田識人、曾我慶介、成島純平、吉場聡子、江木智宏、高島令王奈、近藤一成：遺伝子組換えダイズ・トウモロコシ定量のための内標比の算出、第 58 回全国衛生化学技術協議会年会、名古屋、2021 年 11 月 25-26 日
- 5) 曾我慶介、成島純平、吉場聡子、江木智宏、真野潤一、高島令王奈、橘田和美、中村公亮、柴田識人、近藤一成：「遺伝子組換え出ない」表示確認に係る新定性検査法の試験室間共同試験による妥当性評価、第 58 回全国衛生化学技術協議会年会、名古屋、2021 年 11 月 25-26 日
- 6) 成島純平、木俣真弥、志波優、権藤崇裕、秋元智、曾我慶介、吉場聡子、中村公亮、柴田識人、近藤一成：ゲノム編集作物におけるオフターゲット予測法の検討、第 44 回日本分子生物学会年会、横浜、2021 年 12 月 2 日
- 7) 曾我慶介、吉田光範、吉場聡子、成島純平、柴田識人、近藤一成：ナノポアシーケンス技術を用いたスギヒラタケの全ゲノムアセンブリの検討、第 44 回日本分子生物学会年会、横浜、2021 年 12 月 3 日
- 8) 近藤一成、成島純平、曾我慶介、吉場聡子、柴田識人、坂田こずえ、田口千恵、加藤怜子：ヒト細胞 TK6 を用いた CRISPR/Cas による構造変異(SV)解析の検討、第 44 回日本分子生物学会年会、横浜、2021 年 12 月 3 日

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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」  
分担研究報告書（令和3年度）

メタボロームインフォマティクスによる未知化合物推定

研究分担者 早川 英介 沖縄科学技術大学院大学

研究要旨：

本研究はゲノム編集等の技術により作られた食品中の未知化合物の迅速な検出・解析を可能にする解析システムの構築である。本年度は従来のスペクトルライブラリをさらに拡張することに加え、未知化合物の構造推定のためのアルゴリズム解析システムに実装した。これにより、未知化合物の構造クラスだけでなく、部分構造候補を網羅的に推定することが可能になった。さらに本解析システムのアプリケーションとしてゲノム編集トマトの代謝成分変化を液体クロマトグラフィー質量分析で網羅的に分析し、得られたデータを解析することで本アプローチの有効性を示した。

## A. 研究目的

ゲノム編集などの新しい技術を応用して作られた食品の開発が近年活発に行われている。一方で新たな技術で作られた生物には想定外の代謝の変化とそれに伴う未知・新規の化合物の生成などが懸念されている。そのような想定外の化合物を正確・迅速に検出してリスク管理を行うことが今後重要になってくることは明らかである。

食品分析においては質量分析が定性・定量の目的で広く用いられているが、特定の化合物のみを測る“ターゲット分析”が主流である。しかし、ターゲット分析ではゲノム編集等で危惧される未知化合物等を検出することはできない。そこで本研究では食品の質量分析データから未知化合物の迅速な検出と構造推定を可能にするデータ解析プラットフォームの開発を目的として研究を行った。

## B. 研究方法

液体クロマトグラフィー連結型質量分析（LC-MS）によるノンターゲット分析データをもとに、フラグメントスペクトル類似度による未知化合物

解析を行う解析システムの機能拡張を行った。数百種類の新たな標準物質の組織的な分析に加え、植物などの試料由来のスペクトルデータに関しては内在性代謝物のアノテーションを行うことでスペクトルライブラリの大幅な拡張を行った。さらに、ライブラリ内のスペクトルに対する類似度から未知化合物の部分構造・共通構造を自動的に推測・リスト化する機能を実装し、構造推定に向けた構造解析機能の大幅な強化を行った（図1）。

さらに、解析システムのアプリケーションとしてゲノム編集トマトの未知化合物群に関して LC-MS 分析データを用いた比較定量解析と構造解析を行った。

## C. 研究結果および考察

本研究では前研究班（H30-食品-一般-002）においてすでに根幹部分を構築していたデータ解析システムに関して、標準品および標準試料を組織的に分析し、フラグメントスペクトルライブラリの拡充を図った。これまでに1000種以上の標準化合物、200種以上の食品・植物などの標準試料を分

析し、それらを標準化されたスペクトルライブラリとして整備した。この分析データに関して化合物クラス・内在化合物情報・毒性情報等の各種情報を整備することにより、分析データの中からスペクトル・構造類似性を見出せる範囲が飛躍的に広がった。さらに、このスペクトルライブラリを利用してフラグメントイオンの化学構造を推定し、スペクトル類似性から未知化合物の部分構造を直接示す機能を実装した。

本解析システムの有用性を示す一つのアプリケーションとしてゲノム編集トマトと非編集トマトに関して未知化合物群の比較定量および構造推定（化合物構造クラス・部分構造）を行った。ゲノム編集により変動しているとされる GABA およびその代謝系の化合物以外にも多数の未知化合物がゲノム編集トマトにおいてシグナルが増強していることが分かり、それら化合物の構造クラス・部分構造についても推定された（図 2）。今回の結果では、検体数が限られるためゲノム編集前後の差が有意かどうかはわからないが、本システムが代謝成分の変化を捉え、その構造を推定するための有用なツールであることを示すことができた。

今後は部分構造情報等を構造データベース・理論的な構造生成等の技術と連携することで、未知化合物の精密な構造自体の推定のワークフローが確立できると考える。

## D. 結論

今年度は未知化合物の解析システムのスペクトルライブラリおよび構造解析機能の拡張を行うとともに解析アプリケーションとしてゲノム編集トマトを LC-MS 分析・データ解析を行った。機能が拡張された本解析プラットフォームにより、すでに知られている GABA 代謝系以外の未知化合物の量的・質的変動を検出することができ、それら未知化合物の構造クラス・部分構造の推定を行った。これはゲノム編集食品の想定外の代謝の変動・未知化合物の発生を示唆するとともに、本解析シス

テムの迅速性・有効性を示している。

今後は構造推定機能の発展とともに、ゲノム編集食品を含む様々な食品試料への適応が期待される。

## E. 研究発表・業績

### 1. 論文発表

無し

### 2. 学会発表

日本食品化学学会 第 27 回総会・学術大会 (2021.6.10)、オンライン開催 「質量分析インフォマティクスによる食品中の未知化合物の解析プラットフォーム」(早川英介, 渡邊寛, 近藤一成) LC-MS/MS によるノンターゲット分析データから未知化合物を解析するシステムを紹介した。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性確保推進研究事業）  
「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」  
分担研究報告書（令和3年度）

新規アレルゲン性予測手法開発のための基盤的研究

研究分担者 近藤 一成 国立医薬品食品衛生研究所生化学部 部長  
研究分担者 安達 玲子 国立医薬品食品衛生研究所生化学部 室長  
研究分担者 爲廣 紀正 国立医薬品食品衛生研究所生化学部 主任研究官

研究要旨：

本研究では、遺伝子改変技術応用食品のアレルゲン性について、より高い精度での評価・予測を可能とすることを目的として、アレルゲン性予測手法-1（allerStat）の検証、及びアレルゲン性予測手法-2（MHC-II 結合性予測手法）開発のためのデータセットの準備を行った。allerStat に関しては、アレルゲン特異的アミノ酸配列パターン（連結 ASP）と既知エピトープとのアミノ酸配列比較を行ったところ、連結 ASP の 24.3%は既知エピトープと高い相同性を有することが示された。また、国立医薬品食品衛生研究所にて運用・公開しているアレルゲンデータベース（Allergen Database for Food Safety, ADFS）に関して、令和2年6月から令和3年5月までの1年間に NCBI PubMed に掲載された論文から、エピトープ配列決定に関する9報のピアレビューを行い、6種のアレルゲンについて、総数27のエピトープ情報を ADFS に追加し、データベースの更新を行った。これらの情報更新により ADFS のアレルゲン及びイソアレルゲンのアミノ酸配列情報は2,379、エピトープ既知のアレルゲン数は260となった。また、ADFS ウェブページのデザインを全面的に更新し、遺伝子改変技術応用食品のアレルゲン性評価に有用なデータベースである ADFS を充実させることができた。

また、allerStat 実用化のためにプログラムの改良、および、判定器の拡充を行いより高精度なアレルゲン予測システムの構築を行った。

A. 研究目的

遺伝子改変技術を応用した食品開発は、技術的には、外来遺伝子導入による遺伝子組換え食品から、内在性遺伝子の改変を行うゲノム編集技術応用食品へ、また、酵母等に多数の外来遺伝子を導入し新規食品機能成分を産生させる合成生物学の利用へと変化している。現在、ゲノム編集技術では多様な手法が生み出されており、これらの手法による意図しない塩基変化も一様ではないことが明らかになりつつある。従って、このような意図しない変化、及びそこから生じる代謝成分の変化を検出または予測し、その変化が与える影響を正確に評価することは、食品の安全性確保において急務の課題である。

バイオテクノロジー技術を用いて開発された食

品のリスクの1つに、アレルゲン性増大の可能性がある。本研究では、国立医薬品食品衛生研究所生化学部にて管理・公開している、アレルゲン性予測機能（FAO/WHO 法等）を装備したアレルゲン・エピトープ情報データベース（Allergen Database for Food Safety, ADFS）について、新規アレルゲン及びエピトープ情報の収集・解析等によりアレルゲン性評価に関する検討を行い、遺伝子改変技術応用食品のリスク評価に資するデータベースとなるよう、情報を更新し内容を充実させる。

また、AI を活用した新規高精度アレルゲン性予測手法の開発を進める。令和2年度までの先行研究班では、機械学習によりアレルゲン及び非アレルゲンタンパク質から抽出した特徴的なアミノ酸配列パターンを利用してアレルゲン性を予測する手法（アレルゲン性予測手法-1、allerStat）を開発してきた。本研究班では、この予測システムを検



た。

## B. 研究方法

### アレルギー性予測手法-1 (allerStat) の検証

先行研究班において開発を進めた allerStat の検証を行うため、抽出されたアレルギー特異的アミノ酸配列パターン (allergen-specific pattern, ASP) と既知のエピトープとの比較を行った。抽出された ASP のうち、アミノ酸配列がオーバーラップしているものは連結させて整理し、1 つのパターンとして取り扱った (連結 ASP)。連結 ASP と ADFS に記載されているエピトープ配列との配列の類似性を BlastP により検討した。

### アレルギー性予測手法-2 (MHC-II 結合性予測手法) 開発のためのデータセットの準備

機械学習/深層学習を利用して MHC-II とペプチドとの結合性予測手法を開発するための学習データセットについて精査し、他の研究分担者に情報提供を行った。

### ADFS 登録アレルギー (アミノ酸配列情報) のアップデート

米国ネブラスカ大学リンカーン校が運営しているアレルギーデータベース (AllergenOnline) における登録アレルギーのアップデート内容を、ADFS に反映させた。

### ADFS エピトープ情報の追加

令和 2 年 6 月から令和 3 年 5 月までの 1 年間に NCBI PubMed に掲載された論文から、キーワード検索により、エピトープ配列決定に関するものを抽出した。キーワードとしては、IgE、epitope、linear、conformational、sequence、recognition 等々のワードを使用し、これらを複数組み合わせで 6 通りの検索式を作成して検索を行った。この検索により抽出されてきた論文についてピアレビューを行った。その結果エピトープ情報を報告していると判断された論文について、そのエピトープ情報を整理し、ADFS のデータに追加した。

### ADFS ウェブページのデザイン更新

ADFS をより活用しやすいものとするため、ADFS ウェブページのデザインを全面的に更新した。

## C. 研究結果

### アレルギー性予測手法-1 (allerStat) の検証

先行研究班において開発を進めた、機械学習によりアレルギー及び非アレルギータンパク質から抽出した特徴的なアミノ酸配列パターンを利用してアレルギー性を予測する手法 (allerStat) の検証を行うため、アレルギータンパク質のアミノ酸配列から抽出された ASP と、ADFS に記載されている既知のエピトープとの配列比較を行った。allerStat において、アレルギーから抽出された ASP は 5,994 個であった。これらの中にはアミノ酸配列がオーバーラップしているものもあったため、このような配列を連結させて整理したところ、整理後の ASP (連結 ASP) の数は 1,072 個であった。連結 ASP のアミノ酸配列と既知エピトープとの配列を BlastP により比較したところ、連結 ASP のうちの 260 個 (24.3%) がエピトープ配列と高い相動性を示した。図 1 に配列比較例を挙げる。例えば、パターン 537 は、種実類のアレルギーにおいて同定された 7 つのエピトープと高い相同性を有しており、アレルギー間の交差反応性が示唆された。さらに、連結 ASP のうち 225 個 (20.1%) はエピトープ配列と完全に一致していることが示された。

### allerStat の実用化のための改良と高精度化

allerStat の結果表示において、現行システムでは数値のみが表示される。この値の意味付けが一般公開したときの課題であった。そこで、アレルギー及び非アレルギータンパク質の中で、自身の予測したタンパクアミノ酸配列が、その位置に相対的に位置するかを表示できるように改良した。これにより、自身の予測結果が、アレルギー性があるかどうかの判断が視覚的に可能になった。

### アレルギー性予測手法-2 (MHC-II 結合性予測手法) 開発のためのデータセットの準備

アレルギーによる感作の第一段階である、アレルギータンパク質由来のペプチドが抗原提示細胞表面の MHC-II 上に提示されるステップに着目し、ヒト MHC-II とペプチドとの結合性をアレルギー性予測に活用するため、機械学習/深層学習を利用して MHC-II とペプチドとの結合性予測手法を開発するための学習データセットについて精査した。既報の予測手法で使用されているデータセッ

ト等に関して、開発担当の研究分担者に情報提供を行った。

#### ADFS 登録アレルゲン（アミノ酸配列情報）のアップデート

米国ネブラスカ大学リンカーン校が運営しているアレルゲンデータベースである AllergenOnline は、登録アレルゲンの全てが国際的なアレルギーの専門家チームによるピアレビューを経ており、登録データの信頼性が非常に高いデータベースである（但しエピトープ情報は含まない）。ADFS における登録アレルゲンは平成 20 年度に AllergenOnline の登録アレルゲンと統合し、その後も AllergenOnline のアップデートに伴って ADFS 登録アレルゲンのアップデートを行っている。令和 3 年度においても引き続きこのアップデート作業を実施した。

#### ADFS エピトープ情報の追加

令和 2 年 6 月から令和 3 年 5 月までの 1 年間で、キーワード検索により抽出された論文は 18 報であった。その中からエピトープ情報が記載されていると思われる 9 報を選択し（表 1）、ピアレビューを行った。その結果、6 報の論文から 6 種のアレルゲンについて、総数 27 種のエピトープ情報を新たに追加した（表 2）。

上記のアレルゲン及びエピトープ情報更新作業により、最終的に、ADFS のアレルゲン及びイソアレルゲンのアミノ酸配列情報は 2,379、エピトープ既知のアレルゲン数は 260、構造既知のアレルゲン数は 183、糖鎖付加アレルゲン数は 127 となった。

#### ADFS ウェブページのデザイン更新

ADFS をより活用しやすいものとするため、ADFS ウェブページのデザインを全面的に更新した。その際、"Search by Country (Food Allergen Labeling)"や"Search by Taxonomy"という検索項目を新たに設定し、日本・米国・EU の食品表示制度における食物アレルゲン表示品目や主要なアレルギー原因食品のアレルゲンに関する検索がより容易に行えるようにした。

更新版 ADFS は、これまでと同じ URL にて令和 4 年 2 月 21 日に公開した。

(<https://allergen.nih.gov/jp/ADFS/database>)

## D. 考察

本研究では、AI を活用した新規アレルゲン性予測手法開発に向けて、アレルゲン性予測手法-1(allerStat)の検証、及びアレルゲン性予測手法-2(MHC-II 結合性予測手法) 開発のためのデータセットの準備を行った。allerStat に関しては、連結 ASP と既知エピトープとのアミノ酸配列比較を行ったところ、連結 ASP の 24.3%は既知エピトープと高い相同性を有することが示された。allerStat に関しては、現在細かな点の修正等プログラムの整備を進めており、今後の実用化・公開を目指す。

また、令和 2 年 6 月から令和 3 年 5 月までの 1 年間で、アレルゲン及びイソアレルゲンのアミノ酸配列情報を 40 種追加、また、6 種のアレルゲンについて総数 27 のエピトープ情報を追加した。

本研究では、AI を活用した 2 種のアレルゲン性予測手法の開発・実用化を進め、高精度アレルゲン性予測法の構築を目指し、また、アレルゲンデータベース ADFS のさらなる整備を行っている。本研究には、遺伝子改変技術を応用した食品のアレルゲン性をより高い精度で評価・予測するシステムの構築に資するものである。

## E. 結論

本研究では、遺伝子改変技術応用食品のアレルゲン性について、より高い精度での評価・予測を可能とすることを目的として、アレルゲン性予測手法-1(allerStat)の検証、及びアレルゲン性予測手法-2(MHC-II 結合性予測手法) 開発のためのデータセットの準備を行った。allerStat は、令和 4 年度内に一般公開予定で準備を進めており、より制度が高いアレルゲン予測システムとして広く活用されることが期待される。また、令和 2 年 6 月から令和 3 年 5 月までの 1 年間に NCBI PubMed に収載された論文から、エピトープ配列決定に関する 9 報のピアレビューを行い、6 種のアレルゲンについて、総数 27 のエピトープ情報を ADFS に追加した。また、AllergenOnline の登録アレルゲン（アミノ酸配列情報）に関するアップデートを ADFS に反映させた。これらの情報更新により、遺伝子改変技術応用食品のアレルゲン性評価に有用なデータベースである ADFS を充実させることができた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Okazaki F, Momma K, Hirakawa Y, Kawai N, Yamaguchi-Murakami Y, Adachi R, Mori Y, Kondo Y, Narita H. Determination of severe peach allergens, gibberellin-regulated protein, and lipid transfer protein, using monoclonal antibodies. J Nutr Sci Vitaminol, in press.

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

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」  
分担研究報告書

新規アレルゲン性評価手法開発の基盤研究と AI のリスク評価への応用

研究分担者 富井 健太郎 産業技術総合研究所

研究要旨：

食物アレルギー発症の細胞分子生物学的メカニズム、アレルゲン物質と関与生体分子を登録するデータベース（IPD-IMGT/HLA、IEDB）、HLA 分子-ペプチド結合予測法の先行研究（NNAlign\_MA、NetMHCIIpan-4.0、DeepSeqPanII、MHCAttnNet、MHCII3D など）が用いた学習用データセットに関する調査を行なった。これらには、HLA 遺伝子名・アレルグループ・アレル型、アレルゲンペプチド配列、アフィニティー、アッセイなどの情報を含んでおり、機械学習に要する正例/負例のデータセットとして使用する。次に、ヒト由来 MHC クラス II 分子配列情報（UniProtKB/Swiss-Prot：15 配列）と構造情報（PDB： $\alpha$  鎖=216、 $\beta$  鎖=193）とを関連付けた。現在、アレルゲンペプチド-MHC クラス II 分子複合体の構造データを IMGT のデータを用いて解析し、MHC クラス II 分子とペプチドとの結合部位における両者の残期間相互作用の関係性を抽出する作業を重点的に行なっている。これらのリソースは、新規アレルゲン性予測法の開発に役立つことが期待できる。

研究協力者

池田 修己 産業技術総合研究所  
坂無 英徳 産業技術総合研究所

A. 研究目的

第二次産業革命を契機として、世界の人口増加、温暖化による砂漠化などによる農地面積の減少、作物収穫量の低下、農業従事者の減少などの諸問題によって世界的な食糧不足への懸念が強まっている。こうした問題を背景に、害虫抵抗性や除草剤耐性をもたせることで収量増を見込める遺伝子組み換え作物（GMO）の実用化が進んでいる。日本では遺伝子組み換え作物規制条例で栽培を規制しているが、家畜飼料用がほとんどではあるものの輸入に依存しているトウモロコシ、ダイズ、菜種などは半量が既に遺伝子組換え作物であると推定されている。

GMO に対してはアレルゲン性が遺伝子改変食

品の安全性が問われているが、すべての遺伝子組換え食品のアレルゲン性を実験的に評価するのはコストの面から現実的ではない。このため、科学的根拠をもつ信頼性のある評価方法の確立が求められている。適切なリスク管理対策の適用により、遺伝子改変食品のアレルゲン性リスクを低減することが出来るかもしれない。

組換え DNA 技術で導入した新規遺伝子産物（タンパク質）や形質転換による意図しない新規タンパク質のアレルゲン性予測方法としては、FAO（国連食糧農業機関）/WHO（世界保健機関）が提唱しているデータベースに登録済みのアレルゲンタンパク質との相同性比較（[1] 80 個の連続したアミノ酸配列について 35%以上の相同性、[2] 6~8 個の連続したアミノ酸配列の完全一致）が標準的に使用されている。

しかし、配列長が短い既知アレルゲン性ペプチドとの類似性に基づくため偽陽性が高いことが指

摘されている。また、進化に基づくアミノ酸置換行列を用いる配列類似性比較は、オフターゲット効果による変異をもつ新規タンパク質に対するアレルギー性の判定には十分ではない可能性がある。

機械学習は使用する学習データに強く依存する。アレルギー発症の機序において、MHC分子は種々のペプチドを結合し、T細胞に抗原提示を行い、T細胞受容体との結合によってサイトカインの産生や細胞傷害性活性が起こる。近年、必ずしもMHC分子とペプチドとのアフィニティーおよびオフレートとT細胞の活性化が一致していないことが明らかとなっている。したがって、T細胞活性化/不活性化の実験的根拠をもつpositive/negativeデータの選定およびデータセットの準備には特段の注意を要する。

標的配列と類似した配列のオフターゲット検索しかできない点を克服すべく、人工知能を活用して相同性がないアレルギー性タンパクの予測や非天然型アミノ酸を含むペプチド-MHCクラスII分子間結合予測法の開発を行う。

研究計画初年度の今年度は、既存予測手法が使用した機械学習法およびデータセットについて調査した。次に、MHCクラスII分子-アレルギー性ペプチド-T細胞受容体複合体の立体構造データを用いて、ペプチド結合クレフトにおけるMHCクラスII分子-アレルギー性ペプチド間の相互作用状態について解析した。

## B. 研究方法

### (1) 公的データベース

機械学習に使用するためのMHCクラスII分子の配列情報およびアレルギー情報を収めたデータベース(UniProt/Swiss-ProtKB、IPD-IMGT/HLA)からデータファイルをダウンロードした。UniProtエントリに記載されている生体高分子立体構造データベースPDBとの相互参照情報を利用し、両データベース間のエントリ情報を関連づけた。

さらに、IEDBからアレルギー性ペプチドとエピトープ、結合分子名、HLA遺伝子名・アレルギー・アレルギー型、アレルギーペプチド配列、アフィニティー、アッセイなどの情報を含むデータをダウンロードした。これらの多くは、既存の予測法が学習/テスト用データセットとして使用したエントリを含んでいる。

### (2) 先行研究予測法

先行研究として、既に提案されている主な予測法(ProPred、RANKPEP、MHCpred、MHC2Pred、SVRMHC、MixMHC2pred、NNAlign\_MA、NetMHCIIpan-4.0、MHCII3D、DeepSeqPanII)について調査した。さらに、これらのうち、NNAlign\_MA、NetMHCIIpan-4.0、MHCAttnNet、MHCII3D、DeepSeqPanII予測法が使用したデータセットについても調査した。

### (3) 抗原ペプチドとMHCクラスII分子間相互作用解析

ペプチドとMHCクラスII分子間相互作用の関係性を調べるために、IMGTにおいて抗原ペプチドとMHCクラスII分子とT細胞受容体の複合体の立体構造データを検索した。さらに、PDBe PISA (Proteins, Interfaces, Structures and Assemblies)を用いて、IMGTへの検索で得られた複合体構造における抗原ペプチドとMHCクラスII分子間の相互作用状態について調査した。

### (4) 人材育成(統計学、バイオインフォマティクス、AI分野)

分担研究者および協力研究者と共同で行うことで、インフォマティクス関連技術の取得に努める。

## C. 研究結果および考察

### (1) 公的データベース

UniProt/Swiss-ProtKBからヒトMHCクラスII $\alpha$ 鎖(各1配列、計6配列:DRA、DQA1、

DQA2、DPA1、DMA、DOA)、 $\beta$ 鎖(各1配列、計9配列:DRB1、DRB3、DRB4、DRB5、DQB1、DQB2、DPB1、DMB、DOB)を抽出し、構造情報(PDB: $\alpha$ 鎖=216、 $\beta$ 鎖=193)と関連付けた。さらにIPD-IMGT/HLAからアレル遺伝子由来タンパク質配列情報(合計8,331配列)をダウンロードした(表1)。IPD-IMGT/HLAデータベースにおけるHLA遺伝子データ登録数は年々増加しているが、HLA抗原型ごとによって配列数に大きな開きがある。

### (2) 先行研究予測法

提案されている11種類のMHCクラスII-ペプチド結合予測法(ProPred、RANKPEP、MHCpred、MHC2Pred、SVRMHC、MixMHC2pred、NNAlign\_MA、NetMHCIIpan-4.0、MHCAttnNet、MHCII3D、DeepSeqPanII)に関して、採用しているアルゴリズム、サーバURLの一覧を表2にまとめた。これらのうち、5種類の予測法が開発の際に使用した学習用データセットについても調査した(表3)。多くの予測法はIEDBに登録されているデータをリソースとして使用し、データセットを継承あるいは統合するなどの工夫を行ない、量と質の確保に努めている。MixMHC2predでは著者らがLC-MS/MSを用いた実験によって新規ヒトMHAクラスII結合ペプチド(77,189リガンドペプチド)を同定し、これを評価用データセットとして使用している。

ただし、これらのすべてのペプチドデータがMHCクラスII分子との結合が実験によって検証されたデータだとしても、学習用データとして利用する場合は、T細胞受容体が結合しT細胞応答が確認できているデータかどうかをIEDBの登録情報を基に精査する必要がある。

### (3) 抗原ペプチドとMHCクラスII分子間相互作用解析

IMGTのウェブサイトにてペプチド-MHCクラスII分子-T細胞受容体の複合体を形成してい

る立体構造データを検索した結果、29の複合体が得られた。この29複合体中には、DRA:24、DQA1:25、DRB1:18、DRB3:2、DRB5:4、DQB1:24チェーンが含まれていた。現在、PDBePISAを用いて、得られたMHCクラスII分子とアレルゲン性ペプチドとの結合部位における両者の残期間相互作用の関係性を抽出する作業を重点的に行なっている。これらのデータは、新規アレルゲン性予測法の開発に役立つことが期待できる。

## D. 結論

計画3カ年中の1年目において概ね予定通りに進捗し、先行研究の調査やデータセットの整備などの基盤構築を行えることができた。次年度では、グラフ表現学習法あるいは他の機械学習法との組み合わせに適用することによって、食物アレルギー発症に重要な3次元構造の特徴を抽出する学習モデルの構築、モデルと予測精度の検証・評価を行う。

## E. 研究発表・業績

1. 論文発表  
無し
2. 学会発表  
無し

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

研究成果の刊行に関する一覧表  
(令和3年度)

書籍

なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
小泉望、四方雅人	ゲノム編集食品の取り扱いに関するルール	化学と生物	60	150-153	2022
Masato Nakamura, Mamoru Nozaki, Yuji Iwata, Nozomu Koizumi, Yasushi Sato	THESEUS1 is involved in tunicamycin-induced root growth inhibition, ectopic lignin deposition, and cell wall damage-induced unfolded protein response.	Plant Biotechnology	印刷中	DOI: 10.5511/plantbiotechnology.21.1224a	2022
Rikako Hirata, Tomoya Makabe, Kei-ichiro Mishiba, Nozomu Koizumi, Samir M. Hamdan, Yuji Iwata	Unpaired nucleotides on the stem of microRNA precursor are important for precise cleavage by Dicer-Like1 in Arabidopsis.	Genes to Cells	印刷中	doi: 10.1111/gtc.12927	2022
小泉望	遺伝子組換え食品とゲノム編集食品	食の安全安心通信	41	1	2021
Okazaki F, Momma K, Hirakawa Y, Kawai N, Yamaguchi-Murakami Y, Adachi R, Mori Y, Kondo Y, Narita H.	Determination of severe peach allergens, gibberellin-regulated protein, and lipid transfer protein, using monoclonal antibodies.	J Nutr Sci Vitaminol	in press.		2022

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 合田 幸広

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 生化学部・部長  
(氏名・フリガナ) 近藤 一成 (コンドウ カズナリ)

## 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

## 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。



機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 合田 幸広

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 生化学部 室長  
(氏名・フリガナ) 安達 玲子 (アダチ レイコ)

## 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

## 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 合田 幸広

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 生化学部・室長

(氏名・フリガナ) 柴田 識人 (シバタ ノリヒト)

## 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

## 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について  
(平成26年4月14日科発0414第5号)」の別紙に定める様式(参考)

令和4年4月13日

厚生労働大臣

~~(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿~~~~(国立保健医療科学院長)~~

機関名 国立研究開発法人産業技術総合研究所

所属研究機関長 職名 理事長

氏名 石村 和彦

次の職員の(元号) 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 (令和)4年度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)
- 研究課題名 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(21KA1002)
- 研究者名 (所属部署・職名) 人工知能研究センター・研究チーム長  
(氏名・フリガナ) 富井 健太郎・トミイ ケンタロウ

## 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査(※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

## その他(特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

## 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について  
(平成26年4月14日科発0414第5号)」の別紙に定める様式(参考)

令和4年4月13日

厚生労働大臣  
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿  
(国立保健医療科学院長)

機関名 国立研究開発法人産業技術総合研究所

所属研究機関長 職名 理事長

氏名 石村 和彦

次の職員の(元号) 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 (令和)4年度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)
- 研究課題名 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(21KA1002)
- 研究者名 (所属部署・職名) 人工知能研究センター・研究チーム長  
(氏名・フリガナ) 富井 健太郎・トミイ ケンタロウ

## 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査(※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

## その他(特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況 受講  未受講

## 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。



厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 合田 幸広

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 生化学部・主任研究官

(氏名・フリガナ) 爲廣 紀正 (タメヒロ ノリマサ)

## 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

## 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。