

食品衛生基準科学研究費補助金
食品安全科学研究事業

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6年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 柴田 識人

令和7（2025）年 3月

目 次

I. 総括研究報告

柴田 識人	-----	1
-------	-------	---

II. 分担研究報告

1. ゲノム編集技術応用食品に関する情報収集と解析

柴田 識人	-----	5
-------	-------	---

2. ゲノム上の意図しない変化を網羅的に解析する手法の開発と整備

曾我 慶介	-----	13
-------	-------	----

3. 新規アレルゲン性予測手法開発のための基盤的研究

爲廣 紀正	-----	39
-------	-------	----

4. メタボロームインフォマティクスによる代謝物評価手法の構築

早川 英介	-----	49
-------	-------	----

5. リスクコミュニケーションに関する研究

小泉 望	-----	53
------	-------	----

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	65
---------------------	-------	----

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

食品衛生基準科学研究費補助金(食品安全科学研究事業)
「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推進のための研究」

令和 6 年度 総括研究報告書

研究代表者 柴田 識人 国立医薬品食品衛生研究所 生化学部長

研究要旨

ゲノム編集技術や合成生物学など、多様な技術を応用した食品の開発が活発化しており、こうした新たなバイオテクノロジーに基づく食品の安全性を確保に資するリスク管理上の規制について、世界各国で定まりつつある。そこで、規制に係る多様な観点の把握と必要な対策を講じるなど、国際調和に向けて取り組むことが重要となる。本研究課題では、多様なゲノム編集技術を用いた食品の安全性を確保するために、ゲノム編集の標的配列に依存しない意図しないゲノム変化とその影響を網羅的かつ正確に評価するシステムの構築、およびゲノム編集技術応用食品や遺伝子改変技術などを利用した細胞性食品(細胞培養食品や精密発酵など)の国民受容の向上に資する取り組みを行なっている。そしてこうした各研究課題に反映させるべく、諸外国のリスク管理上の観点や課題を調査した。ゲノム編集技術応用食品に関する諸外国のリスク管理に関する調査では、シスジェネシス・イントラジェネシスの取扱いや動物福祉に関する規定、さらにタンパク質コード領域以外を標的としたゲノム編集品目への対応について、現行の我が国での取扱要領には課題があると分かった。ゲノム上の意図しない変化を網羅的に解析する手法では、次世代シーケンサーの活用を検討した結果、繰り返しを有する外来配列ではロングリードシーケンスを用いたアセンブリ解析が有効であること、およびオフターゲット編集箇所の *in vitro* 予測手法である SITE-seq 法は複数回実施することで蓋然性の高い箇所を絞り込める可能性があることを示した。新規アレルゲン性予測手法開発のための基盤的研究では、アレルゲンデータベース ADFS の情報更新とシステム改修を行うと共に、液体クロマトグラフィー質量分析法を活用した網羅的アレルゲン性評価システム開発の検討、AIを活用した新規高精度アレルゲン性予測手法の開発において protBERT や protGPT2 などの自然言語処理技術が性能向上に有効であることを明らかにした。メタボロームインフォマティクスによる代謝物評価手法の構築では、多様な食品分析に対応可能な代謝経路に関する体系的に整理したデータベースを構築すると共に、化学分析の質量スペクトルデータの類似性に基づいたネットワーク解析により、未知の食品成分の構造やリスクを予測可能なシステムの検討を行った。リスクコミュニケーションに関する研究では、ゲノム編集動物を中心に動物福祉の考え方や言説など調査すると共に、精密発酵についてその定義・背景・具体的な製品・課題・各国の規制などについて調査した。精密発酵では、その定義が様々なステークホルダーによって異なることを見出し、我が国においては規制の枠組みがまだ定まっていないことを踏まえると、これがリスクコミュニケーションを複雑にする可能性が示唆された。

本研究課題は、研究代表者を含む 5 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	曾我 慶介	(国立医薬品食品衛生研究所)
研究分担者	爲廣 紀正	(国立医薬品食品衛生研究所)
研究分担者	早川 英介	(国立大学法人九州工業大学)
研究分担者	小泉 望	(公立大学法人大阪公立大学)

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

ゲノム編集技術が確立されて以降、食の安全を担保し持続可能な食品供給システムの構築に貢献するツールの一つとして、ゲノム編集技術や合成生物学を利用した食品の開発が活発化している。こうした多様なゲノム編集技術を用いた食品の安全性を確保するには、ゲノム編集の標的配列に依存しない意図しないゲノム変化とその影響を網羅的かつ正確に評価するシステムの構築が不可欠である。またゲノム編集技術応用食品、および遺伝子改変技術などを利用した細胞性食品（細胞培養食品や精密発酵など）の社会実装を促進するために、国民受容の向上に資する取り組みも不可欠である。

我が国では 2019 年にゲノム編集技術応用食品および添加物の食品衛生上の取扱要領が定められ、事前相談・届出制度が開始されており、同取扱要領に基づき届出された食品が複数公表されているが、諸外国においてもゲノム編集技術応用食品の規制が検討・制定され、市販が認可されたものもある。いずれの国の規制においても食品の安全性確保を目指したものではあるが、そこにはリスク管理上の固有の考えに基づく多様性が見られる。したがって、ゲノム編集技術応用食品の国際調和のためには、諸外国と我が国のリスク管理の違いを把握すること、そしてその違いに伴う我が国のリスク管理上の課題を抽出すること、さらに、上述した「意図しないゲノム変化とその影響を網羅的かつ正確に評価するシステムの構築と国民受容の向上に資する取り組み」に、こうした課題を反映させることが重要となる。

本研究では、(1)多様なゲノム編集技術を用いた食品に関するリスク管理の国際動向の調査

と問題点の整理、(2)ゲノム上の意図しない変化による影響を網羅的に評価する、最新技術を活用した手法の開発(ゲノム、アレルゲン、代謝物)、(3)多様なゲノム編集技術応用食品に対する様々な立場のステークホルダー間の合意形成を目指したリスクコミュニケーション、といった各課題について、各分担研者が連携しながら実施する。

B. 研究方法

本研究班構成では、ゲノム編集技術応用食品に関する諸外国のリスク管理に関する情報(規制・市販承認品目など)に関する情報収集と我が国における課題の整理を柴田が、意図しないゲノムの変化を網羅的に解析する標準的手法の開発とその必要要件の整備を曾我が、意図しないタンパク質の生成に伴うアレルゲン性を評価する新規手法の開発とアレルゲンデータベース ADFS の更新および改修を爲廣が、意図しない代謝物を網羅的に評価するためにメタボロームインフォマティクスを活用したシステムの構築を早川が担当した。さらにリスクコミュニケーションとして、ゲノム編集技術応用食品および細胞性食品の社会受容向上に資する資料作成の準備・調査を小泉が担当した。

C. 研究結果と考察

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. ゲノム編集技術応用食品に関する情報収集と解析

ゲノム編集技術応用食品に使用される技術やリスク管理項目などの国際動向を調査し、

我が国におけるゲノム編集技術応用食品の安全性を確保する上で今後検討すべき問題点の明確化を試みた。その結果、諸外国と比較し、シスジェネシス・イントラジェネシスの取扱いや動物福祉に関する規定、さらにタンパク質コード領域以外を標的としたゲノム編集品目への対応について、現行の我が国での取扱要領には課題があると分かった。また諸外国では、ダイズ、コメ、コムギといった主要穀物において、ゲノム編集技術応用食品の市販認可されたものがあることも踏まえると、規制に関する国際調和が急務であると思われる。

2. ゲノム上の意図しない変化を網羅的に解析する手法の開発と整備

ゲノム編集技術応用食品等のリスク管理項目として挙げられている外来遺伝子の残存の確認やオフターゲット編集箇所の予測手法について、次世代シーケンサーを用いた全ゲノムシーケンス解析の活用および改良に取り組んだ。その結果、外来遺伝子の残存の確認について、ショートリードシーケンスを用いたアセンブリ解析は困難であった繰り返しを有する外来配列について、ロングリードシーケンスを用いたアセンブリ解析が有効であることを示した。ただし異なる染色体に同じ外来遺伝子が残存した場合には、参照するリファレンスゲノムの有無など、まだ課題がある。また次世代シーケンサーを用いたオフターゲット編集箇所の *in vitro* 予測手法である SITE-seq 法について、複数回実施することで蓋然性の高い箇所を絞り込める可能性があることを示した。今後様々なガイド RNA においても実施し、同様の傾向が見られるか検証する必要がある。

3. 新規アレルゲン性予測手法開発のための基盤的研究

国立医薬品食品衛生研究所にて運用・公開している ADFS について、令和 5 年 6 月から令和 6 年 5 月までに 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 10 報のピアレビューを行い、4 種のアレルゲンについて総数 14 のエピトープ情報を追加するデータベース更新を実施すると共に、データベースのセキュリティ向上に係る管理システムの改修を実施した。公開データベースとしての性能とセキュリティを維持していくには、引き続き、定期的な更新・改修が今後必要になると考えられる。

多様な遺伝子改変技術を応用した食品に生成される意図しないタンパク質のアレルゲン性を評価・予測するため、液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS/MS) を活用した網羅的アレルゲン性評価システムの開発を試みた。また先行研究により開発が進められてきた AI を活用した新規高精度アレルゲン性予測手法に関して、protBERT や protGPT2 などの自然言語処理技術を応用することで、アレルゲン性予測性能の向上が認められた。このように最先端の技術導入により高性能のアレルゲン性予測ツールが開発可能であることを示された。

4. メタボロームインフォマティクスによる代謝物評価手法の構築

多様なゲノム改変技術を応用した食品に生成される、または生成量に変化した意図しない代謝物について、その代謝経路も含めて包括的に評価するために、メタボロミクスデータ解析技術を活用した食品中の代謝物の網羅的な解析システムの開発に取り組んだ。その準備として、WikiPathways のオープンな代謝経路情報を基盤として、代謝物・酵素・遺伝子などの多様な情報を統合して、多様な食品分析に対応可能な代謝経路に関する体系的に整理したデータベースを構築した。また化学分析の質量スペクトルデータの類似性に基づいたネットワーク解析により、未知の食品成分の構造やリスクを予測可能なシステムの検討を行った。今後より大規模なデータによる予測結果の信頼性の検証やさまざまなユ

ーザーが利用しやすいプラットフォームの構築が必要になると考えられる。

5. リスクコミュニケーションに関する研究

ゲノム編集技術応用食品、および遺伝子改変技術などを利用した細胞性食品（細胞培養食品や精密発酵など）の社会実装を促進するために、国民受容の向上に資する取り組みを実施した。

精密発酵については、その定義、注目される背景、具体的な製品、手順、課題、各国の規制について調査を行った。特にその定義については様々なステークホルダーによって多様であること、また我が国においては規制の枠組みがまだ定まっていないことにより、リスクコミュニケーションを複雑にすると予想されることから、対象物をある程度絞るなどの工夫が必要と考えられる。

細胞性食品に関して平易なリスク資料をつくるための情報収集とその取捨選択を行った。今後リスクコミュニケーションのためのコンテンツ作成を行う。

動物福祉に関する考え方、規制について整理するとともにゲノム編集動物に関する論文、言説を収集、整理した。特に動物福祉について、関連論文は少ないものの、動物愛護団体からは反発する意見が多いことから、消費者の考えなど引き続きの調査が必要であると考ええる。

D. 結論

ゲノム編集技術応用食品に関する規制上の国際調和を図る上で、諸外国との違いや検討すべき課題が明確になった。またゲノム編集技術応用食品や細胞性食品のリスクコミュニケーションにおいて、今後の課題や取り組みの方向性が明らかとなった。さらに多様なゲノム編集技術を応用した食品のリスク管理に必要不可欠な、ゲノム上の意図しない変化による影響（ゲノム、アレルゲン、代謝物）を網羅的に評価するシステムについて、最新技術を活用した手法の開発と整備を進めて

いる。

E. 健康危険情報

該当なし

研究発表や知的財産権の出願などは各分担報告書を参照。

食品衛生基準科学研究費補助金(食品安全科学研究事業)
「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推進のための研究」
令和6年度 分担研究報告書

ゲノム編集に関する情報収集と解析

研究分担者 柴田識人 国立医薬品食品衛生研究所 生化学部長

研究要旨

ゲノム編集技術応用食品に使用される技術、開発品目、リスク管理項目などの国際動向を調査し、我が国におけるゲノム編集技術応用食品の安全性を確保する上で今後検討すべき問題点の明確化を試みた。現行の取扱要領は諸外国の規制と合致する面も多く、諸外国で市販認可されている品目についても詳細な情報が入手できたものについては対応可能と考えられる。他方で、諸外国との規制面では、我が国の取扱要領では明確な規定が定まっていない、シスジェネシスやイントラジェネシスの取扱いや、動物福祉に関する規定を定めている国があることが分かった。また市販・開発品目への対応については、諸外国では主要穀物でゲノム編集が認可された品目があること、および我が国の事前相談・届出事例ではまだない、タンパク質コード領域以外を標的としたゲノム編集品目の開発事例があることなど、今後検討すべき課題があると分かった。

A. 研究目的

我が国では2019年にゲノム編集技術応用食品および添加物の食品衛生上の取扱要領が定められ、事前相談・届出制度が開始されており、同取扱要領に基づき届出された食品が複数公表されている。他方で諸外国においても当該食品の規制が検討・制定されており、市販を認可されたものも公表されている。仮に我が国の取扱要領と諸外国の規制が異なる場合、または諸外国で市販または開発されているゲノム編集技術応用食品が我が国の取扱要領で対応できない場合、国際貿易上の不利益を被る恐れがある。本研究課題では、ゲノム編集技術応用食品に使用される技術、開発品目、リスク管理項目などの国際動向を調査し、我が国におけるゲノム編集技術応用食品の安全性を確保する上で今後検討すべき問題点を明確化することを目的とする。

B. 研究方法

日本におけるゲノム編集技術応用食品の届出情報の収集

消費者庁および厚生労働省のホームページより、届出に関して事業者より提出された公開情報、および新開発食品調査部会遺伝子組換え食品等調査会におけるゲノム編集食品等の確認結果を入手。届出された食品の品目や概要、改変の内容、ゲノム変化に関する検討などを調べた。

諸外国における市販が認可されたゲノム編集技術応用食品の情報収集

各国規制当局が公開している情報、非営利団体 Genetic literacy project が公開している認可されているゲノム編集食品に関する情報などを収集し、品目、概要、改変の内容などを調べた。

諸外国でのゲノム編集技術応用食品の規制

各国規制当局が公開している情報より、ゲノム編集食品に関する規制動向を調べた。

C. 研究結果

1. 我が国において届出情報が公開されたゲノム編集技術応用食品

2025 年 4 月 30 日時点において、我が国では 8 品目 10 件の届出情報が公開されている。これら公開情報を元に、遺伝子改変の内容や手法、オフターゲット変異等の確認方法などを表 1 にまとめた。生物種には多様性が見られるが、いずれも CRISPR-Cas9 を用いて開発された食品であり、多くは標的遺伝子のタンパク質コーディング領域 (CDS) について数塩基程度の欠損または挿入となっている。また消費者庁のホームページにおいて「安全性審査対象のゲノム編集技術応用食品等」に該当する掲載がないことから、現行の取扱要領でカバーできない案件は今のところないと考えられる。

他方で、オフターゲット変異評価として合計 7 種類の *in silico* 予測ツールが使われていること、外来遺伝子有無の確認方法としても様々な手法が利用されていることが分かった。これら手法の標準的な解析手順や必要要件は現行の取扱要領で規定されていないことから、各事業者に委ねていると推察される。

2. 諸外国における市販が認可されたゲノム編集食品

日本以外の諸外国で市販が承認されたゲノム編集食品について、遺伝子改変の内容や手法などを表 2 にまとめた。詳細な情報を入手できない品目も多数あるが、改変内容が把握できたものについては、現行の我が国の取扱要領でカバーできない品目はないと考えられる。なお市販認可された品目の特徴として、この 1-2 年ほど中国で認可されるゲノム編集食品の品目が急増していること、またダイズ、コメ、コムギといった主要穀物が諸外国で認可されている点が挙げられる。なおコムギについては、Rothamsted Research が開発したゲノム編集低アスパラギンコムギ (CRISPR-

Cas9 による *Asn2* 遺伝子の欠損によって、アスパラギンが低下することで、アクリルアミドの産生が抑制される) の圃場試験がイギリスにおいて実施されている。

3. 諸外国におけるゲノム編集食品の規制

諸外国のうち、いくつかの主要な国々におけるゲノム編集食品への規制 (案を含む) を表 3 にまとめた。各国ごとに規定の違いはあるものの、日本と同様に、ゲノム編集技術に由来し、最終製品に外来遺伝子が残存していないものについては従来育種のものと同様に扱うという考えを取っている国が多く見られる。他方で、シスジェネシス・イントラジェネシスに関する取り扱いに言及しているケース (EU やフィリピン、おそらくオーストラリア・ニュージーランドも該当)、および動物福祉の観点を盛り込んでいるケース (イギリスやアメリカ) も見られたが、これらは日本の現行の取扱要領ではカバーできていない課題であると考えられる。

D. 考察

今回調査したゲノム編集食品の市販認可状況や各国の規制等の国際動向を踏まえ、日本の現行のゲノム編集技術等応用食品に関する取扱要領の課題について議論したい。

1. オフターゲット変異評価と外来遺伝子有無の確認方法

これまでに届出された各品目において、オフターゲット変異評価には様々な *in silico* 予測ツールが使われており、外来遺伝子有無の確認方法としても PCR 法、Southern hybridization 法、全ゲノム配列解析、Southern-by-sequencing、Target capture sequencing と届出ごとに複数の手法が用いられている。

まずオフターゲット変異評価について、現状この *in silico* 予測でミスマッチ 2~3 のオフターゲット候補部位が

- ・「ない」→オフターゲット変異部位はないと判断
- ・「あり」→その候補部位でのみ、変異の有無を調査

となることから、*in silico* 予測法の精度が非常に重要となる。取扱要領では複数の予測法を使用することになっているが、その性能は異なると考えられることから、*in silico* 予測法間で性能を比較しておくことは重要である。また *in silico* 予測法の網羅性にも懸念がある。令和 3-5 年度 厚生労働科学研究費補助金 (21KA1002) にて我々が報告したように、実際にコメでゲノム編集を起こした際に、既存の *in silico* 予測法ではなかなか探索されにくい、実験的なオフターゲット探索法である SITE-Seq 法では見出されたオフターゲット候補部位で、実際に変異が起きていたことがあった (Narushima J., et.al. *Genes Cells*. 2022;27:706)。 *in silico* 予測法以外のツールの利用についても周知や推奨する必要がある。

また外来遺伝子有無の確認方法として、各々の手法についても、標準的な解析手順や必要要件が定まっていない状況では、事前相談として事業者が提出する実験結果の内容と量、および解釈の際に苦慮することが考えられる。本研究班では分担研究者の曾我が全ゲノム配列解析に係る標準的な解析手順や必要要件を検討しているが、当該課題の取りまとめを急ぐと共に、他の手法についても標準化を検討すべきであると提案する。

2. 諸外国における市販が認可されたゲノム編集食品

諸外国で市販認可された品目の特徴として、この 1-2 年ほど中国で認可されるゲノム編集食品の品目が急増していること、またダイズ、コメ、コムギといった主要穀物が諸外国で認可されている点が挙げられる。これは中国との地理的かつ貿易上の関係性、および主要穀物の国際貿易における重要性を考慮すると、輸入時における「意図せざる」混入の可能性とその影響が懸念される。他方で、日本のゲノム編集技術等応用食品の取扱

要領では、「事前相談の対象となるゲノム編集技術応用食品等は、原則として商品化を目的として既に開発されたものに限るものとする」とあることから、日本での商品化を事業者が想定していない場合には、そもそも「意図せざる」混入に対処しようがない。世界各国でゲノム編集食品の販売が認可され時始めていることを踏まえると、少なくとも国同士で届出内容の詳細を共有するなどの国際的な枠組み作りが必要ではないだろうか。

3. 諸外国におけるゲノム編集食品の規制との調和

諸外国で制定され始めているゲノム編集食品の規制について、多くの面で日本のものと共通点が見られる一方で、シスジェネシス・イントラジェネシス、および動物福祉などについて日本では定まっていない観点が盛り込まれていることが分かった。各国固有の事情によって、細かい点で規制が異なることはあり得ることはあるが、ここに挙げた 2 点は、今後各国の規制に盛り込まれていくと想定される点であり、我が国においてこの点での対応が遅れれば、国際貿易において不利益を被ると想定されることから、関連する規制の国際調和に向けた検討は必要である。本研究班では、動物福祉について分担研究者の小泉により調査研究を行っているが、その他の点についても引き続きこれらの点の調査・整理を行う。

4. 取扱要領で想定している標的遺伝子

日本においてこれまでに届出がなされているゲノム編集食品は、多くは標的遺伝子の CDS における塩基欠損または挿入であり、これにより当該遺伝子がコードするタンパク質の機能を欠損させるものである。また例外としてコルテバ・アグリサイエンス株式会社が届出したワキシートウモロコシはアミロース合成酵素 Wx1 の CDS を含む遺伝子領域を欠損したもので、広義では標的タンパク質の機能欠損の一種と考えられる。他方でゲノム編集の標的は CDS に限らない。標的遺伝子

の 5' 上流領域にあるエンハンサーやプロモーター領域をゲノム編集することで、標的遺伝子の mRNA 発現を制御することが可能であり、標的遺伝子の 3' 側非翻訳領域をゲノム編集することで、標的遺伝子の mRNA の安定性や翻訳効率を制御することが可能である。またノンコーディング RNA(ncRNA)は標的 mRNA の翻訳を阻害などに働くことから、ncRNA をゲノム編集することで、標的遺伝子の mRNA 発現量を制御することができる。こうした CDS 以外を標的としたゲノム編集食品の研究開発は行われており、論文報告も多数なされている (Chen YH., et. al. J. Exp. Botany. 2023;74:6158)。従って今後 CDS 以外を編集標的として開発された食品の事前相談が行われる可能性は十分あるわけだが、我が国の取扱要領がこうしたケースに対応できるか検証したい。

・外来遺伝子の残存性やオフターゲット編集

オンターゲットの編集標的がどこであれ、外来遺伝子の残存性やオフターゲット編集は現行の取扱要領の元でも検討する対象となっており、CDS 以外を編集標的としたことに起因する特異性はないと考えられる。

・アレルギー性

CDS 以外を編集標的とした場合、標的遺伝子がコードするタンパク質の発現量には影響がみられるものの、新たなオープンリーディングフレームが生成されるわけではないので、新たなアレルギー性物質が産生される可能性はほぼないと推定される。

・代謝物

CDS 以外を編集標的とした場合、標的遺伝子の発現制御や翻訳制御を意図したものであるため、オンターゲット変異に起因したトランスクリプトーム全体への影響を注意する必要があるかもしれない。例えば、エンハンサーやプロモーター領域をゲノム編集した場合には、近傍にある標的以外の遺伝子発現制御にも関与しているケースもありうるので、影響の有無を確認する必要がある

かもしれない。また ncRNA をゲノム編集した場合には、この変異 ncRNA が標的以外の mRNA を認識してその翻訳を阻害する可能性がある。こうしたトランスクリプトーム全体への影響は、メタボロームへの影響、場合によっては有害物質の産生につながる可能性があることから、特に注意が必要になる。本研究班では分担研究者の早川によりメタボローム解析手法の確立に向けた検討を進めているが、トランスクリプトーム解析についても標準的手法の構築が必要要件の整備などを進める必要があると思われる。

E. 結論

ゲノム編集技術応用食品に使用される技術、開発品目、リスク管理項目などの国際動向を調査し、我が国の取扱要領で対応可能か検討した。現行の取扱要領は諸外国の規制と合致する面も多く、諸外国で市販認可されている品目について、詳細な情報が入手できたものについては対応可能と考えられる。他方で、諸外国との規制面での相違点(シスジェネシス・イントラジェネシス、動物福祉)や市販・開発品目への対応(主要穀物、CDS 以外を標的とした編集)などについて、今後検討すべき課題があると分かった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Fukuda N., Soga K., Taguchi C., Narushima J., Sakata K., Kato R., Yoshida S., Shibata N., Kondo K. Cell cycle arrest combined with CDK1 inhibition suppresses genome-wide mutations by activating alternative DNA repair genes during genome editing. J. Biol. Chem., 2024, 300, 107695.

2) 田口千恵, 柴田識人, 近藤一成. ゲノム編集

食品安全性確保の取り組み周知と現在の安全性確認手法に関する調査研究. 食品衛生学雑誌. 2024, 65, 89-94

3) 柴田識人. ゲノム編集技術応用食品の事前相談・届出制度. PHARMTECH JAPAN. 2024, 40, 91-94

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

該当なし

実用新案登録

該当なし

その他

該当なし

表1. 日本において届出情報が公開されているゲノム編集食品

品目名	届出年月日	系統	届出者等	上市年月日	標的遺伝子	改変の内容	機能への影響	使用技術	導入方法	オフターゲット変異評価	外来遺伝子有無確認方法
GABA 含有量を高めたトマト	2020/12/11	87-17 系統	サナテックライフサイエンス株式会社	2021/9	<i>GAD3</i> グルタミン酸脱炭酸酵素	1 塩基挿入	自己阻害領域除去 →GAD 活性の向上	CRISPR/Cas9 発現カセット ベクター	アグロバクテリウム法	GGGenome,CasOFFinder 3 塩基までのミスマッチ	PCR 法 Southern hybridization 法
可食部増量 マダイ	2021/9/17	E189-E90 系統	リージョナルフィッシュ株式会社	2021/10	ミオスタチン	—	骨格筋肥大抑制の阻害 →可食部増加	CRISPR/Cas9 mRNA+gRNA	マイクロインジェクション法	CasOFFinder 2 塩基までのミスマッチ	PCR 法 全ゲノム配列解析 k-mer 法
	2022/12/5	E361-E90 系統 系統の追加	リージョナルフィッシュ株式会社	2023/1	ミオスタチン	14 塩基欠損 (エクソン 1)	骨格筋肥大抑制の阻害 →可食部増加	CRISPR/Cas9 mRNA+gRNA	マイクロインジェクション法	CasOFFinder 2 塩基までのミスマッチ	PCR 法 全ゲノム配列解析
高成長トラフグ	2021/10/29	4D-4D 系統	リージョナルフィッシュ株式会社	2021/11	レプチン受容体	—	食欲抑制シグナル阻害 →摂食促進	CRISPR/Cas9 mRNA+gRNA	マイクロインジェクション法	GGGenome,CasOFFinder 2 塩基までのミスマッチ	PCR 法 全ゲノム配列解析 k-mer 法
	2022/12/5	系統の追加	リージョナルフィッシュ株式会社	2023/1	レプチン受容体	4 塩基欠損 (エクソン 11)	食欲抑制シグナル阻害 →摂食促進	CRISPR/Cas9 mRNA+gRNA	マイクロインジェクション法	GGGenome,CasOFFinder 2 塩基までのミスマッチ	PCR 法 全ゲノム配列解析 k-mer 法
PH1V69CRISPR-Cas9 ワキシートウモロコシ	2023/3/20	PH1V69 系統	コルテバ・アグリサイエンス株式会社	上市未定	<i>Wx1</i> アミロース合成酵素	4 kb 欠損 5'側 プロモーター領域 ～3'側非翻訳領域	アミロース合成の減少 →アミロペクチンの増加	CRISPR/Cas9 RNP (gRNA x 2)	パーティクルガン法	自社ソフトウェア 2 塩基までのミスマッチ	定量 PCR 法 Southern-by-Seq.
GABA 含有量を高めたトマト	2023/7/27	206-4 系統	サナテックライフサイエンス株式会社	上市未定	<i>GAD3</i>	1 塩基挿入	自己阻害領域除去 →GAD 活性の向上	CRISPR/Cas9 発現カセット ベクター	アグロバクテリウム法	CRISPRdirect,CasOFFinder 3 塩基までのミスマッチ	PCR 法 Southern hybridization 法
高成長ヒラメ	2023/10/24	8D 系統	リージョナルフィッシュ株式会社	2024/4	レプチン受容体	8 塩基欠損 (エクソン 9)	食欲抑制シグナル阻害 →摂食促進	CRISPR/Cas9 RNP	マイクロインジェクション法	CasOFFinder, CCtop 2 塩基までのミスマッチ	PCR 法
高小型塊莖数 ジャガイモ	2024/10/16	JA36	J.R. Simplot Company	上市未定	<i>Gn2</i>	1-2 塩基欠損 (3 アレル) 110 塩基欠損 (1 アレル)	塊莖数調節因子の欠損 →塊莖数増加	CRISPR/Cas9 発現カセット ベクター	アグロバクテリウム法 ー過的発現	CasDesigner, GuideScan 2 塩基までのミスマッチ	Taregt capture Seq. PCR 法
可食部増量 ティラピア	2025/4/25	13D 系統	リージョナルフィッシュ株式会社	上市未定	ミオスタチン	13 塩基欠損	骨格筋肥大抑制の阻害 →可食部増加	CRISPR/Cas9 RNP	マイクロインジェクション法	CasOFFinder, CCtop 2 塩基までのミスマッチ	PCR 法

表2. 海外において市販が認可されたゲノム編集食品

品目名	国、年	開発企業	標的遺伝子	改変の内容	機能への影響	使用技術	導入方法
褐色防止マッシュルーム	USA (2016)	Pennsylvania State University	<i>PPO</i> Polyphenol oxidase	1-14 塩基欠損	褐色防止	CRISPR/Cas9 発現カセットベクター	PEG-mediated transformation
可食部増量 ティラピア	アルゼンチン (2018)	AquaBounty Intrexon	ミオスタチン	26 塩基欠損	骨格筋肥大抑制の阻害 →可食部増加	CRISPR Nuclease mRNA	マイクロインジェクション 法
高オレイン酸ダイズ	USA (2019)	Calyxt	<i>FAD2-1A</i> <i>FAD2-1B</i>	63 塩基欠損 (FAD2-1A) 23 塩基欠損 (FAD2-1B)	脂肪酸の不飽和化阻害 →オレイン酸の増加	TALEN	アグロバクテリウム法
苦味抑制カラシナ	USA (2023)	Pairwise	Myrosinase	複数箇所での欠損、逆位	苦味抑制	CRISPR/Cas12a	アグロバクテリウム法
褐色抑制バナナ	フィリピン (2023, 2024)	Tropic Biosciences	—	—	褐色抑制	CRISPR-Cas9	—
高オレイン酸ダイズ	中国 (2023)	山东舜丰生物科技 有限公司	<i>FAD2-1A</i> <i>FAD2-1B</i>	—	脂肪酸の不飽和化阻害→オ レイン酸の増加	—	—
短毛牛	USA (2024)	Acceligen	プロラクチン 受容体	—	短毛 →耐熱性の向上	CRISPR/Cas9 RNP	マイクロインジェクション 法
褐色防止レタス	USA (2024)	Intrexon	<i>PPO</i>	—	褐色防止	CRISPR	アグロバクテリウム法
光周期感受性低下ダイズ	中国 (2024)	山东舜丰生物科技 有限公司	<i>ELF3a</i>	—	光周期感受性の低下→低緯 度地域での栽培が可能に	—	—
高オレイン酸ダイズ	中国 (2024)	苏州齐禾生科生物 科技有限公司	<i>FAD2-1A</i> <i>FAD2-1B</i>	—	脂肪酸の不飽和化阻害→オ レイン酸の増加	—	—
半矮性トウモロコシ	中国 (2024)	山东舜丰生物科技 有限公司	<i>Br2</i>	—	半矮性→転倒防止と作付 密度の向上→収量の向上	—	—
病害抵抗性コムギ	中国 (2024)	苏州齐禾生科生物 科技有限公司 中国科学院	<i>MLO-A1, B1,</i> <i>D1, X</i>	—	病害抵抗性	—	—
収量向上ダイズ	中国 (2024)	苏州齐禾生科生物科技 有限公司 北京齐禾生科生物科技 有限公司	<i>Ln</i>	—	さやあたりの種子数の増加	—	—
早熟ダイズ	中国 (2024)	中国种子集团有限公司	<i>E1, E1Lb</i>	—	開花抑制の阻害と 成熟期間の短縮	—	—
収量向上トウモロコシ	中国 (2024)	未来生物科技 (海南) 有限公司 华中农业大学	<i>NL4</i>	—	—	—	—
品質改良イネ	中国 (2024)	苏州齐禾生科生物科技 有限公司 江苏省农业科学院 北京齐禾生科生物科技 有限公司	<i>Wx</i>	—	アミロース含量の制御	—	—
除草剤耐性コムギ	中国 (2024)	苏州齐禾生科生物 科技有限公司 中国科学院	<i>ALS</i>	—	スルホニルウレア系除草剤 の標的変異	—	—

表3. ゲノム編集食品に対する諸外国の規制

国・地域	関連規則	内容
EU	Commission proposal on plants obtained by certain new genomic techniques (案)	Novel genomic techniques (NGTs; target mutagenesis, シスジェネシス、イントラジェネシスを含む)で作出された植物を2つのカテゴリーに分け、カテゴリー1 (自然発生または従来育種でも発生する可能性のある NGT 植物) は GMO 法の要件から免除され、従来育種植物と同様に扱われる
イギリス	The Genetic Technology (Precision Breeding) Bill	精密育種された生物 (植物、ヒト以外の脊椎動物) について、環境放出や上市を行う際に、所定の届出と確認を求める 精密育種動物に対する届出情報の中に、動物福祉に関わる規定が盛り込まれている
米国	植物 : FDA-2019-D-4658, Foods Derived from Plants Produced Using Genome Editing: Guidance for Industry 動物 : GFI #187A Heritable Intentional Genomic Alterations in Animals: Risk-Based Approach GFI #187B Heritable Intentional Genomic Alterations in Animals: The Approval Process	植物 : パイオテクノロジー由来の植物を含む New Plant Varieties (NPV) 由来の食品について、事業者は FDA との自主的な市販前会議または協議の実施が推奨され、その食品の安全性や合法性を確認し、FDA はその内容の概要を公開する 動物 : 遺伝子工学を用いて改変・開発された動物は Intentional Genomic Alterations (IGA) を有する動物として、その規制の枠組み案が提案されているが、動物福祉に関わる規定が盛り込まれている
カナダ	Health Canada Guidance on the Novelty Interpretation of Products of Plant Breeding	植物育種の遺伝子組換え製品に由来する食品のうち、「Novel Food」は市販前の届出が必要となるものの、「Novel Food」には当たらないものを明確に規定しており、最終植物製品に外来遺伝子が存在しないような遺伝子改変を有する植物由来食品などを挙げている
オーストラリア・ニュージーランド	P1055 - Definitions for gene technology and new breeding techniques (案)	外来 DNA ではなく、生物のゲノム中における新規 DNA を含む食品を遺伝子組換え食品と定義していることから、ゲノム中にも新規 DNA を含まないゲノム編集生物由来の食品 (シスジェネシスで作出された食品を含むと想定) は遺伝子組換え食品ではないとなる
アルゼンチン	Resolución 21/2021	新育種技術によって作出された製品は、GM 規制の対象となるか、Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) による事前協議を行うが、新しい遺伝物質の組み合わせのない製品は Non-GM となり、従来の製品として扱われる。
中国	农业用基因编辑植物安全评价指南 (试行)	外来遺伝子を導入しないゲノム編集植物を対象とし、環境安全や食品安全リスクへの影響データを求める
フィリピン	Resolution No.1, s2020 Memorandum Circular 89 No. 8	Modern biotechnology (遺伝子組換えやゲノム編集など) を用いて novel combination (従来育種では不可能な遺伝子の組合せ) を含まない場合は、GMO として扱わない (シスジェネシスとイントラジェネシスは Non-GMO 扱い)
シンガポール	Regulatory framework for the use of genome edited crops in food and/or animal feed	ゲノム編集技術に由来し、最終製品に外来遺伝子を含まない製品は、GMO ではないとし、従来育種生物と同等のものとして登録
韓国	Transboundary Movements of Living Modified Organisms Act	ゲノム編集技術に由来し、最終製品に外来遺伝子を含まない製品は、GMO ではないとする (案)

食品衛生基準科学研究費補助金(食品安全科学研究事業)
「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推進のための研究」
令和6年度 分担研究報告書

ゲノム上の意図しない変化を網羅的に解析する手法の開発と整備に関する研究

研究分担者 曾我慶介 国立医薬品食品衛生研究所 生化学部 第二室長

研究要旨

本研究では、ゲノム編集技術応用食品等の安全性評価項目として挙げられている外来遺伝子の残存の確認やオフターゲット箇所の予測に関する既存手法を改良し、現在の科学技術に即した実行性の高い方法論を整備することを目的としている。今年度は、解析が困難な箇所として、同じ外来配列が繰り返して挿入されているケースをモデルに、残存が想定される T-DNA 情報を基に次世代シーケンサーを用いた全ゲノムシーケンス解析を検討した。繰り返しを有する外来配列はショートリードシーケンスを用いたアセンブリ解析は困難であったが、挿入されている外来配列より長いロングリードシーケンスを用いたアセンブリ解析が有効であることを示した。さらに、アセンブリ解析結果の妥当性を確認するために、想定挿入配列にマッピングしたリードを抽出し、リファレンスゲノム配列を用いた構造変異解析を行うことで、挿入箇所を推定することが有効であることを示した。オフターゲット予測では、*in vitro* 評価法である SITE-seq 法の偽陽性が多い問題点に着目し、より合理的な解釈を行うため、複数回実施することで蓋然性の高い箇所を絞り込める可能性があることを示した。今後、ゲノム編集技術等を応用し、様々な農作物が開発されることが想定されるが、合理的な安全性評価が可能な体制を構築するために、本研究で得られた知見や方法論が利活用されることを期待する。

研究協力者

成島純平 国立医薬品食品衛生研究所生化学部

次世代シーケンサー(NGS)を用いた確認方法がゲノムワイドに解析可能な方法として注目されている。

A. 研究目的

我が国では2019年よりゲノム編集技術応用食品(ゲノム編集食品)等の事前相談・届出制度が開始され、2024年10月16日時点において食品衛生上の取扱要領に基づき7品目9件がゲノム編集食品として届出・公表され、一部はすでに流通している。この制度では、届出対象となるゲノム編集食品の届出情報の一部に①「外来遺伝子及びその一部の残存が無いことの確認に関する情報」および②「確認されたDNAの変化がヒトの健康に悪影響を及ぼす新たなアレルゲンの産生及び含有する既知の毒性物質の増加を生じないことの確認に関する情報」が挙げられ、いずれも

届出情報①に関しては、これまでの研究において、NGSによる全ゲノムシーケンス(WGS)データを用いたアセンブリ解析(以下、アセンブリ法)の有用性を示している(令和3～5年度厚生労働科学研究「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確保とリスクコミュニケーションのための研究」報告書)。一方で、2024年4月には、欧州食品安全機関(EFSA)からEFSA JournalのStatementとして「Technical Note on the quality of DNA sequencing for the molecular characterisation of genetically modified plants」が発刊され、NGS解析の考慮点として挿入配列の性質(反復配列等)的に通常の解析では困難な場合、超ロングリード等を組み合わせる必要性に

ついて触れられている。

届出情報②に関しては、オフターゲットが起こる蓋然性の高いと推定される配列について、CRISPRdirect 等の *in silico* ツールを複数組み合わせ、アレルゲンや既知の毒性物質と相同性検索により照合することを求められる。先行研究において、NGS を活用した *in vitro* オフターゲット予測法 the selective enrichment and identification of tagged genomic DNA ends by sequencing (SITE-Seq) 法で予測される配列の一部に関して、*in silico* ツールのみを用いた場合は予測できないことが確認され、*in silico* および *in vitro* の予測法を組み合わせたスキームの重要性を示している (Narushima et al, Genes Cells, 2022)。一方、その SITE-Seq 法は偽陽性が多い点が問題として挙げられ、データの正確性の向上が求められる。

上述した通り、これら NGS 解析の有用性が挙げられる一方で、いくらか課題も明らかになっており、ゲノム編集食品の届出情報①または②に対応した安全性評価においてより洗練された方法論の整備が求められる。そこで本研究では、通常の NGS 解析では困難な反復配列等にも適用可能なユニバーサルな方法論を構築するために、ロングリードシーケンスの検討を行う。また、偽陽性をより低減化させた *in vitro* オフターゲット評価法の検討を行う。上記を実施することでゲノム上の意図しない変化を網羅的に解析する方法の開発と整備を目指す。

B. 研究方法

同じ外来配列を繰り返し有する作物ゲノムデータ作成

外来遺伝子が繰り返して残存する作物ゲノムモデルとして、カリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーター (P35S)、ホスフィトリシンアセチル基転移酵素 (Pat) 遺伝子およびカリフラワーモザイクウイルス 35S ターミネーター (T35S) のコンスト

ラクト (P35S-pat-T35S) が単数体ゲノムに直列で 2 コピー挿入された遺伝子組換え (GM) 大豆 LibertyLinkSoybean (A2704-12 系統) (図 1 参照) をモデルとした。GM 作物の配列情報等が掲載されている公開データベース Nexplorer (<https://bioit-webapp-prod.sciensano.be/nexplorer/>) を参考に、P35S-pat-T35S (1,324 bp) を直列で繋いだ A2704-12 系統の GM コンストラクト (外来遺伝子全長 5,400 bp) を Fasta 形式で作成した (図 1)。この配列をリファレンスゲノムに挿入することで、疑似データを下記の通り作成した。

ケーススタディ①: P35S-pat-T35S 配列が直列で近位に繋がったモデル (P35S-pat-T35S 配列 2 コピー)

大豆リファレンスゲノム「Glycine-max-v2.1.dna.toplevel.fa」の 1 番染色体: chr1: 24,617,123 に A2704-12 系統の GM コンストラクトを挿入。(5,400 bp 挿入)

ケーススタディ②: ケーススタディ①に加え、同 GM コンストラクトが別染色体にも挿入されたモデル (P35S-pat-T35S 配列 4 コピー)

大豆リファレンスゲノム「Glycine-max-v2.1.dna.toplevel.fa」の 1 番染色体: chr1: 24,617,123 および 8 番染色体: chr8: 10,021,534 に A2704-12 系統の GM コンストラクトを挿入 (5,400 bp 挿入×2 箇所)

ショートリードシーケンスのシミュレーションデータ作成・アセンブリ法

概要を図 2A に示した。シミュレーター「ART」を用いて HiSeq X PCR free (150 bp) モード、ペアエンド式を指定して、シミュレーションデータを作成した。ツール「Trim-Galore!」によってトリミング後、アライナー「BWA」で A2704-12 系統の GM コンストラクトにマッピングし、ツール「Samtools」によってマッピングされたリードを抽出した。抽出リードを用いてアセンブラ「SPAdes」を用いてアセンブリを行った。マッピング状況の確認はゲノム可視化ソフトウェア IGV: Integrative Genomics Viewer

(<https://igv.org/>)を用いた。

ロングリードシーケンスのシミュレーションデータ作成・アセンブリ法

概要を図 2B に示した。シミュレーター「PBSIM」によって、全ゲノムシーケンスの qshmm QSHMM-ONT-HQ モデル(ナノポアシーケンサーモデル)、正確性 93.9288%としてシミュレーションデータを作成した。アライナー「minimap2」によって、A2704-12 系統の GM コンストラクトにマッピングし、「Samtools」によってマッピングされたリードを抽出した。抽出リードを用いてアセンブラ「Flye」を用いてアセンブリを行った。マッピング状況の確認は IGV を用いた。アセンブリ法の妥当性確認に GM 大豆リファレンスゲノムとして Williams 82 品種の「Glycine_max_v2.1.dna.toplevel.fa」、Zhonghuang 13 品種の「GWHAAEV000000000.genome.fasta」、Lee 品種の「glyma.Lee.gnm1.BXN C.genome_main.fna」を用いた。リファレンスゲノムに抽出リードを「minimap2」でマッピングし、SV コーラー「Sniffles」(オプション --minsupport 4, --minsvlen 50)を用いて構造変異を検出した。

k-mer 解析

k-mer 解析ツールは伊藤らが開発した「Kmer Analysis 2.3.1」(Itoh et al. Sci. Rep. 10, 4914, 2020.)を使用した。解析に当たっては、コントロールとして外来遺伝子の残存がない野生型の WGS データが必要であったため、ダイズリファレンスゲノム「Glycine_max_v2.1.dna.toplevel.fa」より「ART」で約 60×の疑似 WGS データをシミュレーションした。そして、A2704-12 の GM コンストラクトを用いて外来遺伝子の検出を行った。

ゲノム DNA の抽出と精製

ヒト胎児腎由来 HEK293T 細胞は、10%FCS とカナマイシンを含む DMEM 培地を用いて、37°C、5% CO₂ の条件下で培養した。

75 cm² フラスコ 2 個分の HEK293T について、0.5%トリプシン-5.3 mM EDTA 溶液で剥離し、冷

却 PBS 緩衝液で 2 回洗浄した。細胞は 10 mL の冷却 PBS で再懸濁し、細胞濃度は約 $2 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ cell/mLとした。培養細胞からのゲノム DNA の抽出と精製は、DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN)を用いて、付属のプロトコルに従って実施した。

ガイド RNA の調製

本検討での標的は、NGS を用いた *in vivo* オフターゲット予測法である Genome-wide, Unbiased Identification of DSBs Enabled by sequencing (GUIDE-Seq) 法の原著論文 (Tsai et al, Nat Biotechnol, 2015) で用いられていた vascular endothelial growth factor A (VEGFA) および Fanconi anemia group F protein (FANCF) の遺伝子配列とした。ガイド RNA の合成と精製には、SureGuide gRNA Synthesis Kit (Agilent)を用いた。付属プロトコルに従い、本検討では、長鎖型の (extended backbone) シングルガイド RNA を合成した。ガイド RNA の調製に使用したオリゴは「表 1」に示した。ガイド RNA 量は、Qubit RNA BR Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) で測定し、濃度はその分子量 (108 bp) をもとに算出した。

SITE-Seq ライブラリの調製とシーケンス解析

SITE-Seq のシーケンスライブラリは、以前に報告した方法 (Narushima et al, Genes Cells, 2022) を一部改変して調製した。最終 Cas9 濃度が 64 nM、256 nM、または 1,024 nM となるよう調製し、Cas9 濃度に対して 5 倍のモル量のガイド RNA を添加して Cas9-ガイド RNA 複合体を形成した後、3 µg のゲノム DNA を添加して 37°C 16 時間インキュベートし、二本鎖切断を誘導した。また Cas9 は添加するが、ガイド RNA を添加せずにゲノム DNA とインキュベートする陰性コントロール条件も同時に調製した。調製したライブラリは Qubit DNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) および Bioanalyzer 2100 (Agilent) を用いた DNA のクオリティチェック (QC) 後、NextSeq 1000/2000 P1

Reagents (300 Cycles) または MiniSeq Mid Output Kit (300 cycles) (Illumina) を用いて 150 bp のペアエンドシーケンスを実施した。なお、SITE-Seq の原著論文 (Cameron et al, Nat Methods, 2017) では同じヒトゲノムにおいて 62~246 万リードペアのシーケンスを実施していたため、各ライブラリにつき約 200 万リードペアを目安にシーケンスを実施した。

シーケンスにより得られた Fastq ファイルは、「Trim-Galore!」によりアダプタトリミングを実施した後、アライナー「bowtie2」または「BWA」によりヒトリファレンスゲノム「GRCh38p.13」にマッピングした。生成された SAM ファイルは「Samtools」を用いて BAM ファイルへ変換・ソートした後、IGV で可視化するのに必要なインデックスファイルを作成した。カットサイトの検出には SITE-Seq の原著論文 (Cameron et al, Nat Methods, 2017) にて公開されている Python プログラムを使用した。なお、初期ピーク検出の最小リード深度、カットサイト検出の最小リード数はいずれもデフォルト値である 5 リードとした。

C. 研究結果

1. 同じ外来配列がゲノム内に挿入された場合の解析に係る検討

同じ外来配列が複数挿入された場合、従来通りショートリードシーケンスで解析すると、同配列の挿入部位を識別できない可能性がある。本検討では、挿入塩基の全長を網羅するようなロングリードシーケンスを含め、NGS によるアセンブリ法を検討する。同じ配列が近位にある場合と、別染色体にあるケースの 2 パターンを想定し、解析シミュレーションを行った。

ケーススタディ①: A2704-12 (同配列が直列で近郊に繋がっている場合)

ショートリードシーケンスの WGS データを大

豆ゲノムあたり 60×としてシミュレーションにより取得し、アセンブリ法により挿入配列およびその周辺の取得を試みたところ、1 本のコンティグが形成された。しかし、形成されたコンティグは挿入配列 5,400 塩基に満たず、4,271 塩基であった (表 2)。形成コンティグについて確認するために、GM コンストラクト配列挿入箇所付近のマッピング状況を確認すると、2 つ目の P35S-pat-T35S (1,324 bp) 配列を境にコンティグ形成がされていないことが分かった (図 3)。二回繰り返す P35S-pat-T35S 部位は各リードがマルチマッピングされ、各 P35S-pat-T35S 配列の位置を識別できない状況であった。以上より、ショートリードシーケンスではリード長より長くかつ同じ配列が近郊に存在した場合、60×以上のデータを用いても同配列の境界付近のアセンブリに失敗することが示された。

次に、ロングリードシーケンスを検討した。ロングリードシーケンスの WGS データを大豆ゲノムあたり 60×、平均リード長約 13,000 塩基としてシミュレーションにより取得し、アセンブリ法により挿入配列およびその周辺の取得を行ったところ、1 本のコンティグが形成され、境界を含む挿入配列を正確に再現した (表 3)。また、GM コンストラクトの挿入塩基長が 5,400 bp であることからリード平均塩基長が同等の 5,400 塩基または約 2 倍長の 10,000 塩基でデータ量を 30×として 3 回の独立したシミュレーションデータにおいても同様に再現された (表 3)。得られたコンティグ長も数万塩基におよび、GM コンストラクトおよび周辺配列の情報を幅広く取得できていた。参考までに、アセンブリ法で再現されたコンティグおよびその際のマッピングリードのアライメント状況を IGV で示した (図 4)。ショートリードシーケンスと比較して、リードエラーが多いことも特徴として挙げられる。

ケーススタディ②: A2704-12 系統の GM コンストラクトが別染色体にも挿入された場合

ショートリードシーケンスの WGS データを大豆ゲノムあたり 60×としてシミュレーションにより取

得し、アセンブリ法により挿入配列およびその周辺の取得を試みたところ、1本のコンティグが形成された。しかし、形成されたコンティグは一か所のみでかつ挿入配列 5,400 塩基に満たず、4,272 塩基であった(表 4)。形成コンティグを確認するために、GM コンストラクトの挿入箇所付近のマッピング状況を確認すると、ケーススタディ①同様に、2 つ目の P35S-pat-T35S(1,324 bp) 配列を境にコンティグ形成がされていないことが分かった(データさず)。また、別染色体の情報も得られなかった。以上より、ショートリードシーケンスでは同配列が複数存在した場合、識別ができず、同配列の境界付近のアセンブリに失敗することが確認された。

ロングリードシーケンスの WGS データを大豆ゲノムあたり 30×以上でシミュレーションにより取得し、アセンブリ法により二か所の挿入配列およびその周辺の取得を検討した。リード長を検討するために、シミュレーション平均塩基長を複数検討したところ、平均塩基長が長いほど、挿入部位二か所を共に再構築するアセンブリの成功率が高くなった(表 5)。再現の成功条件を比較したところ、リード数は大きく変わらなかったが、マッピングリードの平均塩基長が $17,588 \pm 4,903$ (N50: 25,333) であったのに対し、再現できなかった条件のマッピングリードの平均塩基長は $12,272 \pm 5,034$ (N50: 18,052) とマッピングされたリードの平均長が明確に異なっていた(表 6)。正確に 2 箇所の配列を再現できない場合の失敗例は大きく分けて 2 つであった。1 つめのケースは複数本のコンティグが形成されるケースで 1 番あるいは 8 番染色体の P35S-pat-T35S あるいは GM コンストラクト配列を境にコンティグが分断されていた。この場合、挿入配列以外は正確に再現されており、周辺配列の情報は得られていた。2 つめのケースは、1 本のコンティグのみ形成されるケースで 1 番または 8 番染色体のどちらかが正確に再現されたが、もう片方の情報が得られてい

なかった。

ロングリードシーケンスのアセンブリ法の妥当性確認方法の検討

ケーススタディ②のように、ロングリードシーケンスを用いても染色体間で同配列が含まれる場合は正確に再現できない場合もあった。よって、得られたコンティグ情報の妥当性を確認する方法論が必要である。そこで、公開されているリファレンスゲノム配列を用いて、その妥当性を確認する方法を検討した。3 種類の大豆リファレンスゲノムに対して、アセンブリ法で失敗してしまった指定塩基長 5,400 ロングリードからの抽出リードをマッピングし、構造変異検出ツール「Sniffles」で変異検出を行ったところ、全てのリファレンスゲノムにおいて、挿入箇所を 1 および 8 番染色体であることを特定し、その位置情報の抽出に成功した(図 5)。よって、この位置情報とアセンブリで得られたコンティグ情報とを照合することで、その妥当性を確認することは有効とみられる。

k-mer 法による各ケーススタディの検証

外来遺伝子の検知に関しては、k-mer 法が利用されている。各ケーススタディにおいて、ショートリードの WGS データを用いて k-mer 法での検出を検証したところ、ケーススタディ①および②どちらの場合でも外来配列であることを検出した(図 6)。2 箇所ある P35S-pat-T35S(1,324 bp) 配列は他の部位と比べて G 値が約 2 倍大きかった。また、ケーススタディ②のように該当挿入箇所が 2 箇所に存在した場合は、挿入箇所が 1 箇所のケーススタディ①と比べて、G 値が約 2 倍大きかった。

2. SITE-Seq の正確性向上に係る検討

SITE-Seq 一度の施行では、多数のオフターゲット候補部位が検出されるため、実際に CRISPR/Cas システムを用いたゲノム編集で起こりうるオフターゲットの蓋然性が高い部位としての

解釈は難しい。本検討では、SITE-Seq を独立した実験として 2 回実施し、得られた結果の解釈について検討した。

ライブラリーの調製およびシーケンス

別々のフラスコで培養した細胞から、それぞれ別個で抽出したゲノム DNA をアガロースゲル電気泳動で確認した(図 7)。その結果、低分子の DNA はほとんど確認されず、概ね高分子の高品質なゲノム DNA が抽出できたことが示唆された。よってこれらのゲノム DNA を用いて SITE-Seq 解析を実施した。調製したライブラリーの QC を行ったところ、低分子のアダプターは認められなかった(図 8)。

シーケンスで得られたリードの統計値を表 7 に示す。おおむね 200 万リードペア以上のデータ量を取得したが、Rep. 2 の陰性コントロールおよび VEGFA では 200 万リードペアを下回った。一方で、データのクオリティを示す Q30(%)ではいずれのデータでも良好であったため、これらのデータを用いて SITE-Seq 解析を実施した。得られたペアエンドリードのうち、Cas9 による切断面をシーケンスしているリード 1 に関して「Trim Galore!」によってトリミングを実施し、解析に供した。トリミング後の各データの統計値については表 7 に示した。

VEGFA を標的した SITE-Seq 解析結果

トリミング後のリードは「BWA」を用いてヒトファレンスゲノム「GRCh38.p13」へアライメントし、カットサイト判定プログラムによるオフターゲット予測部位の検出を実施した。その結果、Rep. 1 および Rep. 2 ともに、いずれの最終 Cas9 濃度においても本来の標的である VEGFA が予測部位として検出されていた(図 9)。このことから、真のオフターゲット部位は 2 回の施行で共通して検出されると仮定し、2 施行間で検出された全予測部位を比較した。その結果、Rep. 1 では 1,947 箇所、Rep. 2 では 2,681 箇所の予測部位が検出され、2 施行

間で共通して検出された予測部位は 978 か所であった(図 10A)。続いて、除かれた予測部位の妥当性を確認するために、既報(Tsai et al, Nat Biotechnol, 2015)の GUIDE-Seq のオフターゲット予測結果と比較した。その結果、GUIDE-Seq の原著論文で示された 22 箇所の全予測部位が、SITE-Seq 解析を 2 回施行した際に共通して検出された予測部位に含まれていた(図 10A)。

本検討の解析部分ではアライナーに「BWA」を使用しているが、SITE-Seq の原著論文で使用されていた「bowtie2」を用いてリードをアライメントし、同様に解析を実施したところ、GUIDE-Seq で検出された 1 箇所については SITE-Seq のいずれの解析でも検出されなかった(図 10B)。当該予測部位は Chr5: 56,876,246 付近のオフターゲットであり、ガイド RNA のミスマッチは 4 塩基であった。IGV にてアライメント状況を確認すると、「BWA」を用いた場合では Rep. 1 および Rep. 2 の 256 および 1,024 nM のいずれでも十分なリードのマッピングが確認された(図 11A)。一方で、「bowtie2」では最長 70 塩基程度の短いリードがわずかにマッピングしているのみであった(図 11B)。よって「bowtie2」で当該予測部位が検出されなかった理由は、マッピングリードがカットサイト検出に必要な閾値である 5 リードを下回ったことが原因とみられる。このアライメントの差が生じた理由については、リード中に含まれる低クオリティの配列やリファレンスと異なる配列を除いて正確性の高い配列をアライメントさせる Soft-clipping 機能の有無によるものと考えられる。「BWA」は Soft-clipping 機能を有するが、「bowtie2」は有していない。実際に「BWA」でアライメントされたリードについて詳細を確認すると、いずれのリードにおいても 5' 上流側において Soft-clipping がみられたことから、用いたリファレンスゲノムと HEK293T 細胞との配列の相違がある可能性がある。

FANCF を標的した SITE-Seq 解析結果

次に、FANCF を標的とした SITE-Seq データについても同様に解析を実施した。その結果、Rep. 1、Rep. 2 ともにいずれの最終 Cas9 濃度においても本来の標的である FANCF が予測部位として検出された一方で、検出された予測部位の合計は Rep. 1 では 8,166 箇所、Rep. 2 では 53,367 箇所、検出された予測部位数は VEGFA と比較して十倍～数十倍程度大きく差が生じた(図 12)。各 Cas9 濃度データを合算した Rep 間で共通して検出された予測部位は 140 箇所となり、オフターゲットサイトとしての蓋然性の高い箇所をかなり絞りこむことができた(図 13A)。実際に GUIDE-Seq で検出された 9 箇所の予測部位のうち、8 箇所は SITE-Seq の 2 回の施行で共通して検出された予測部位に含まれていた。しかし、1 箇所のみ、SITE-Seq で検出されなかった部位が存在し、その 1 箇所の予測部位について詳細を確認すると、当該予測部位は Chr3: 196,144,387 付近のオフターゲットで、ガイド RNA とのミスマッチ数は 5 塩基であった。IGV 上でアライメント状況を確認したが、いずれのアライナーを用いた場合でも 1 リードもアライメントしていなかった(データ示さず)。

D. 考察

1. 同じ外来配列の繰り返し挿入および異なる染色体間での挿入の検出について

本研究において、従来の方法では難しいとされる同じ外来配列が繰り返して残存する場合の検出に関して、次世代シーケンサーを用いたシミュレーションによる検証を行った。同じ外来配列が長い場合はショートリードシーケンスではカバーできないことからアセンブリ法による検出は困難であった。しかし、ロングリードシーケンスにより、外来配列をカバーするリード長が得られれば、アセンブリ法により再現することができた。しかし、その同じ外来配列の挿入部位が異なる染色体に

複数存在する場合はロングリードシーケンスでも完全にアセンブリで再現できない場合があることが確認された(表 5)。成功と失敗時でそれぞれマッピングリードのパラメータを確認すると、リード数よりもリード長が関係していると考えられた(表 6)。繰り返して存在する外来配列の周辺を明らかにするには、その領域を網羅し、かつその外側のユニークな配列を含む長いリードが必要である。

実際に利用する場面は、何箇所挿入されているかは不明なため、ロングリードを用いて挿入箇所の当てを付け、得られたアセンブリの妥当性を確認できるような方法論も必要である。そこで本研究では、近年ロングリードシーケンスで活用される構造変異検出法に着目し、大豆リファレンスゲノム配列を利用して、挿入変異箇所を検出することで、アセンブリ法の結果の妥当性を確認した。アセンブリ法で失敗してしまった際の抽出リードを用いて、3 種類の公開されている大豆リファレンスゲノムから、染色体の特定箇所に挿入変異があることを確認することができた。この構造変異検出の閾値として今回デフォルトの「サポートリード4」を用いているが、30×以上のデータセットを用いているため、十分検出されたと考えられる。よって、アセンブリ法により、外来遺伝子の有無を検知および周辺配列情報を取得する際、まず T-DNA 等を有するベクター配列にマッピングしたリードを用いてアセンブリ法を行うと共に、その抽出リードを用いてリファレンスゲノムを参照して変異解析を行うことで、外来遺伝子の挿入されている位置情報を明らかにし、得られたアセンブリの妥当性を確認することが有効な方法と考えられる。一方で、リファレンスゲノムが存在しないような生物種で、アセンブリ法の妥当性を確認する方法論はまだ検討できていないため、今後の課題である。

2. k-mer 法でのケーススタディの検証

ショートリードシーケンスデータを用いて、k-mer 法での外来遺伝子の検出を行ったところ、ケ

ースタディ①②の両ケースにおいて、GM コンストラクト全長域で有意に検出された。また、二箇所挿入されるケーススタディ②ではケーススタディ①より有意に検出されたことから外来遺伝子の検出という点では、k-mer 法はユニークな挿入配列であれば同配列の検出能力が高いことが確認された。しかし、ショートリードシーケンスでは挿入箇所の特定制と周辺配列の再現が困難であることから、従来通り、k-mer 法で外来遺伝子の検出を行い、必要に応じてロングリードシーケンスを用いたアセンブリ法によって挿入様式を明らかにする方法論が適切と考えられる。近年 k-mer 法に加え、農研機構のグループから GenEditScan (<https://github.com/hirsakai/GenEditScan>) という新たなツールが開発された。このツールでは統計検定が補正される機能が追加され、偽陽性を抑えたとされる。

近年、挿入ベクターに宿主生物の内在プロモーター配列を組み込んだものが使われることが増えている。また、シスジェネシス等の議論もあることから、作物内在配列の意図せぬ挿入なども検知されることが望ましい。しかし、内在配列を検知することは、NGS においても組換えやゲノム編集の前後で同配列が多数含まれることから、これまでと同じスキームで検知することは困難と予想される。今後はそのような検出法を新たに開発・整備することを検討する予定である。

3. SITE-Seq の解釈

SITE-Seq はあらゆる生物種において、ゲノム DNA さえ抽出されれば実際に二本鎖切断されるオフターゲット箇所を予測できる点で有用な *in vitro* 予測法である。しかし、GUIDE-Seq のような *in vivo* 予測法と比べて検出される予測箇所が多く、オフターゲットの起こりうる蓋然性をそれぞれ検証する必要があり、結果の解釈が難しいケースが想定される。そこで、SITE-Seq を独立した施行で 2 回実施することで結果の解釈について検討した。VEGFA において、2 回の施行で共通して

検出された予測部位は単独で検出された予測部位と比べて約 50~65%減少した。FANCF においては、共通して検出された予測部位は単独で検出された予測部位と比べて約 98.3~99.7%減少した。これらの結果は、SITE-Seq 解析を複数回実施することでオフターゲットの起こりうる蓋然性の高い候補配列を絞り込めることを示唆している。実際に、GUIDE-Seq で予測されたほとんどのオフターゲット部位は、2 回の施行で絞り込まれた予測部位からも確認されており、その可能性を支持するものであった。GUIDE-Seq で検出されて SITE-Seq で検出されなかった 1 箇所に関しては、*in vivo* と *in vitro* での Cas9 のアクセシビリティの差、または用いたヒト細胞種の違い等の原因が挙げられるが、考察の域を出ていない。しかし、複数の方法に加え、SITE-Seq で複数回確認することでより正確な予測が可能となると考えられた。本検討では 2 回の施行で SITE-Seq 解析を実施したが、より多く実施した場合に更に絞り込みが可能か検証する予定である。また別のガイド RNA でも実施し、同様の傾向が得られるか確認する。

データ解析において「BWA」と「bowtie2」を比較すると、「BWA」は Soft-clipping 機能を有し、より多くのリードをマッピングするため検出される予測部位も多くなる傾向がみられた(図 9、12)。これはオフターゲット候補部位の検出数の増加につながる一方で、図 11 で示した通り、特に予測部位付近がリファレンスゲノム配列と実サンプルで配列に個体差がある場合でも検出ができる可能性があるため、偽陰性を減少させるのに有効と考えられる。アライナーの検討も引き続き進めていく予定である。

E. 結論

解析が難しいとされる反復配列の解析法を検討するため、同じ外来配列が直列で存在する場合を模して、NGS シミュレーションを行った。ショートリードを用いたアセンブリ法では同じ外来配

列が繰り返し挿入された箇所の周辺配列を正しく得ることは困難であったが、挿入配列より長いロングリードを用いることで、周辺配列をアセンブリすることに成功した。実際にアセンブリ法を利用する場面は、挿入箇所の情報が皆無なため、リファレンスゲノム配列を用いた変異検出により、挿入箇所の推定を予め実施しておくことの有効性を示した。今後は内在プロモーターを含む外来配列が挿入されたケース等のより難しい場면을想定した解析法の検討を行う。SITE-Seq を用いた *in vitro* オフターゲット予測では、多数の予測部位が検知され偽陽性が懸念されていたが、複数回実施することでその蓋然性の高い部位を絞り込める可能性が示唆された。今後その検証を行っていく予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

該当なし

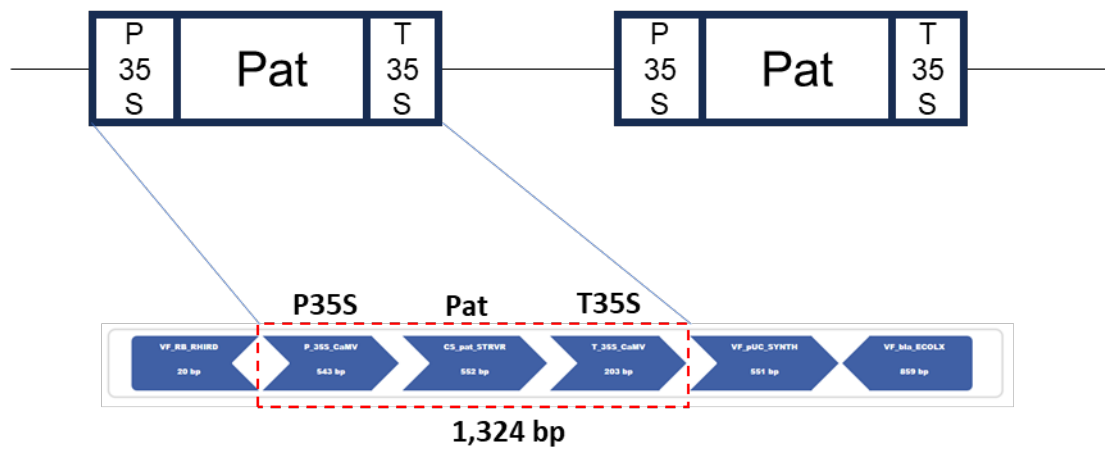
実用新案登録

該当なし

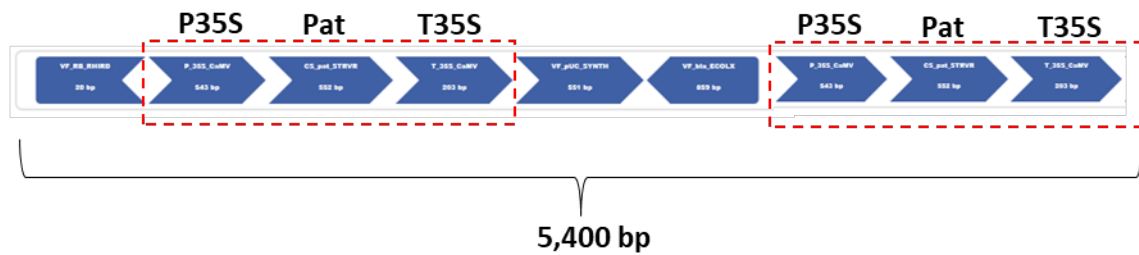
その他

該当なし

A2704-12系統のGM挿入配列



A2704-12系統のGM挿入配列の一部を
Nexplorerから取得



大豆リファレンス配列
Glycine-max-v2.1.dna.toplevel.faに挿入



A2704-12系統のゲノムを模した配列データ（Fasta形式）作成

図1 遺伝子組換え大豆 LibertyLinkSoybean(A2704-12 系統)のゲノムデータ作成

P35S: カリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーター、Pat: ホスフィノトリシンアセチル基転移酵素の遺伝子、T35S:カリフラワーモザイクウイルス 35S ターミネーター。

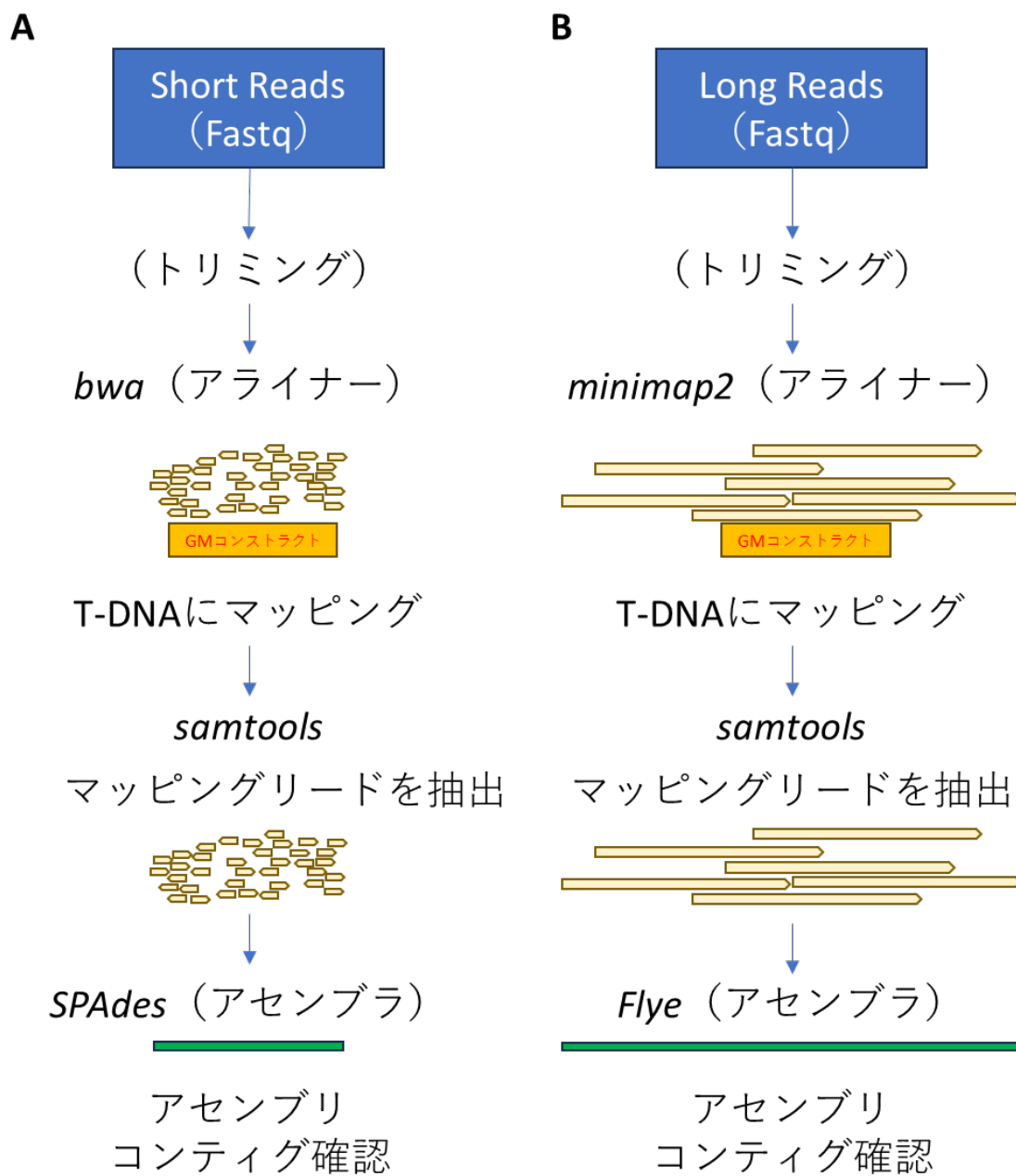


図2 アセンブリ法の概略図

斜体英字で示したものは利用したバイオインフォマティクスツール名を指す。

A) ショートリードシーケンスを用いた方法、B) ロングリードシーケンスを用いた方法

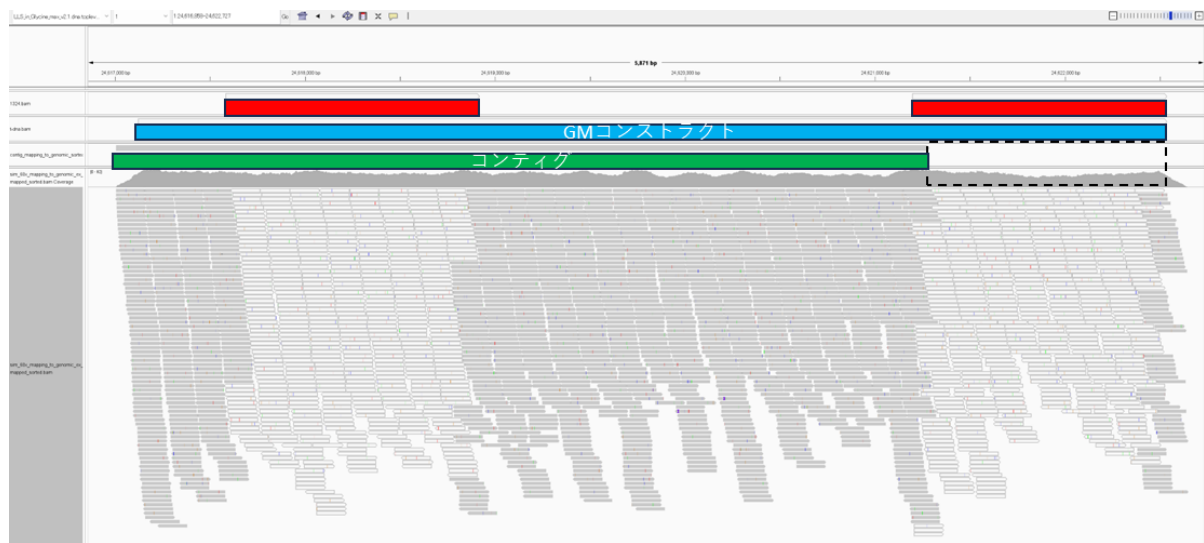
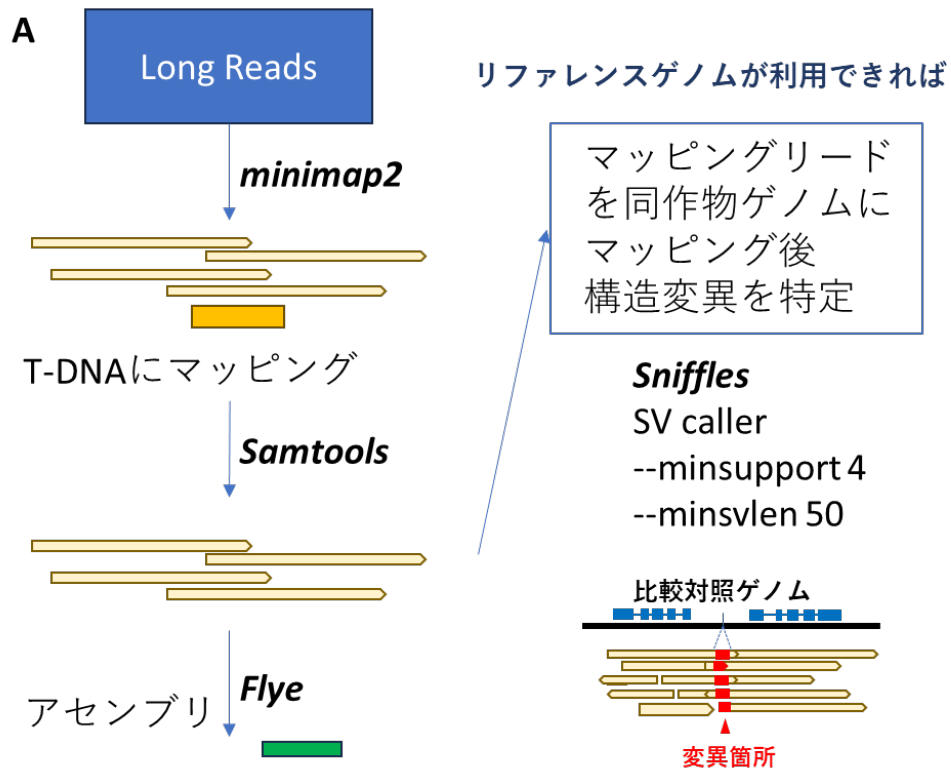


図3 ショートリードシーケンスを用いたアセンブリ法による A2704-12 の GM コンストラクトの検出
1 番染色体:chr1: 24,617,123 付近を示す。赤い領域に P35S-pat-T35S、青い領域に GM コンストラクト、
緑の領域に形成されたコンティグをそれぞれゲノムブラウザ IGV により可視化した。点線の領域は挿入配
列を網羅できなかった箇所を指す。また、シーケンスリードをそれぞれマッピングした様子を示した。
P35S-pat-T35S 箇所はマルチマッピング(白抜き:MAPQ=0)となった。



図4 ロングリードシーケンスを用いたアセンブリ法による A2704-12 の GM コンストラクトの検出
1 番染色体:chr1: 24,617,123 付近を示した。赤い領域に P35S-pat-T35S、青い領域に GM コンストラクト、
緑の領域に形成されたコンティグを各々ゲノムブラウザー IGV により可視化した。リードの中にところどころ
見られる紫の箇所はロングリードシーケンスエラーに起因したリファレンスゲノムと異なる配列を含むこと
を示している。



B

コンティグ名	座標	変異
①Glycine_max_v2.1.dna.toplevel.fa /Williams 82 (cultivar)		
1	24,617,126	INS
8	10,021,534	INS
②GWHA AEV00000000.genome.fasta/Zhonghuang 13(cultivar)		
GWHA AEV000000001	26,327,564	INS
GWHA AEV000000008	10,171,644	INS
③glyma.Lee.gnm1.BXNC.genome_main.fna /Lee (cultivar)		
glyma.Lee.gnm1.Gm01	25,388,371	INS
glyma.Lee.gnm1.Gm08	10,238,127	DEL
glyma.Lee.gnm1.Gm08	10,246,308	INS
glyma.Lee.gnm1.Gm08	10,273,673	DEL

図5 アセンブリ法結果の妥当性確認スキーム案

斜体英字で示したものはバイオインフォマティクスツール名を指す。

A) スキーム案、B) 各大豆リファレンスゲノムを用いて「Sniffles」で構造変異検出を行った結果を示した。

INS は挿入変異、DEL は欠失変異を指す。

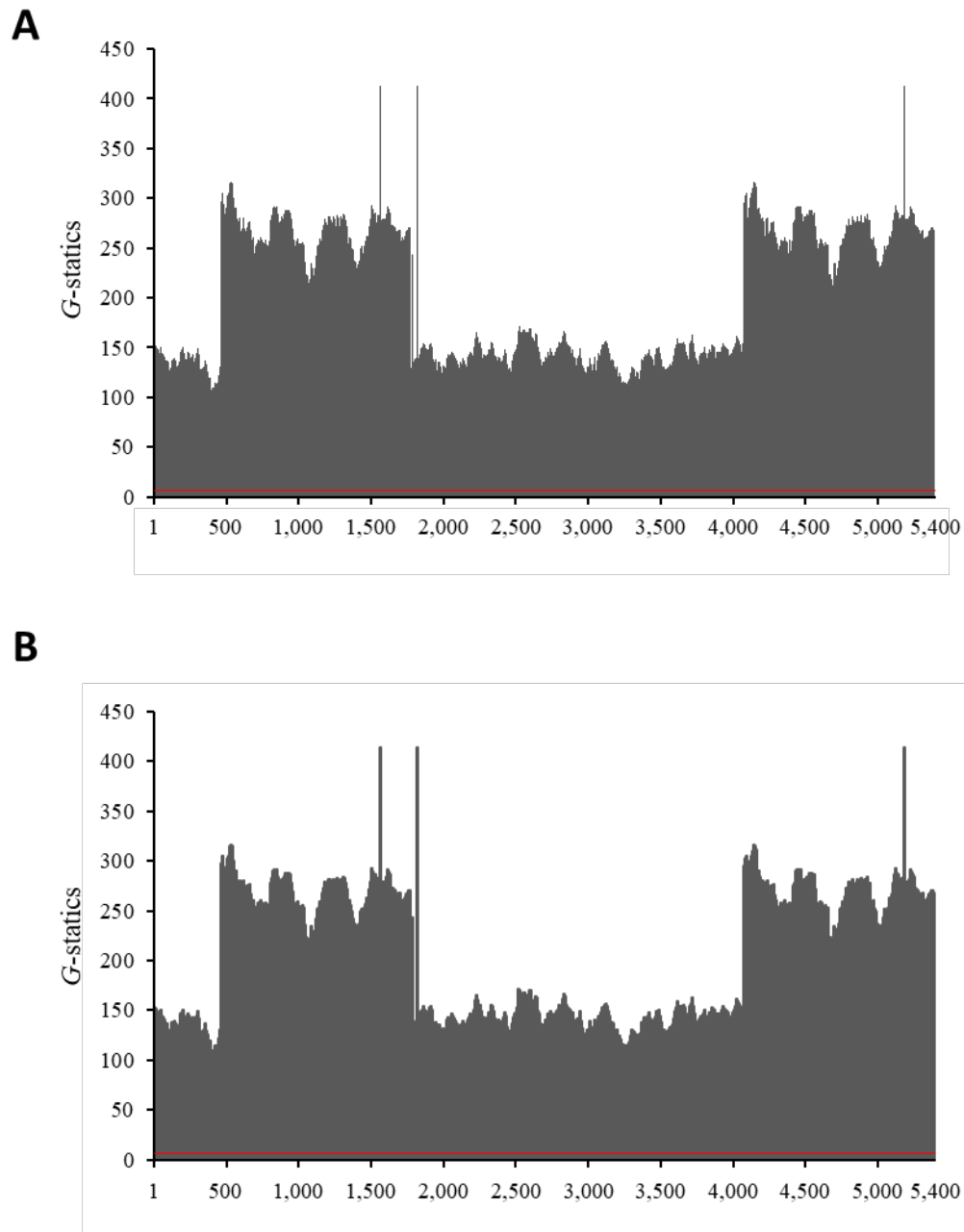


図6 A2704-12 における GM コンストラクトの k-mer 法による検出

GM コンストラクト配列上の各位置 (横軸) で検出された k-mer の数に基づく G 検定結果を示した。

1%有意水準(6.634)は赤線で示した。A) ケーススタディ①、B) ケーススタディ②

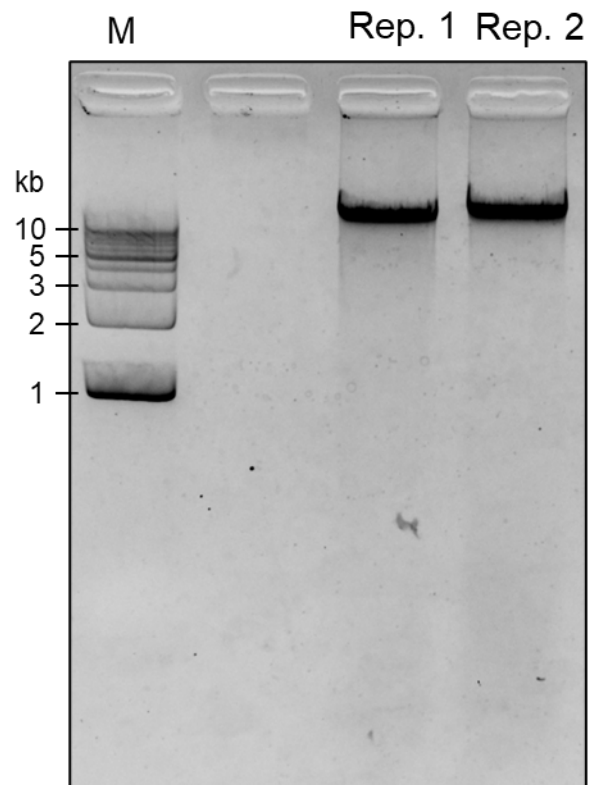
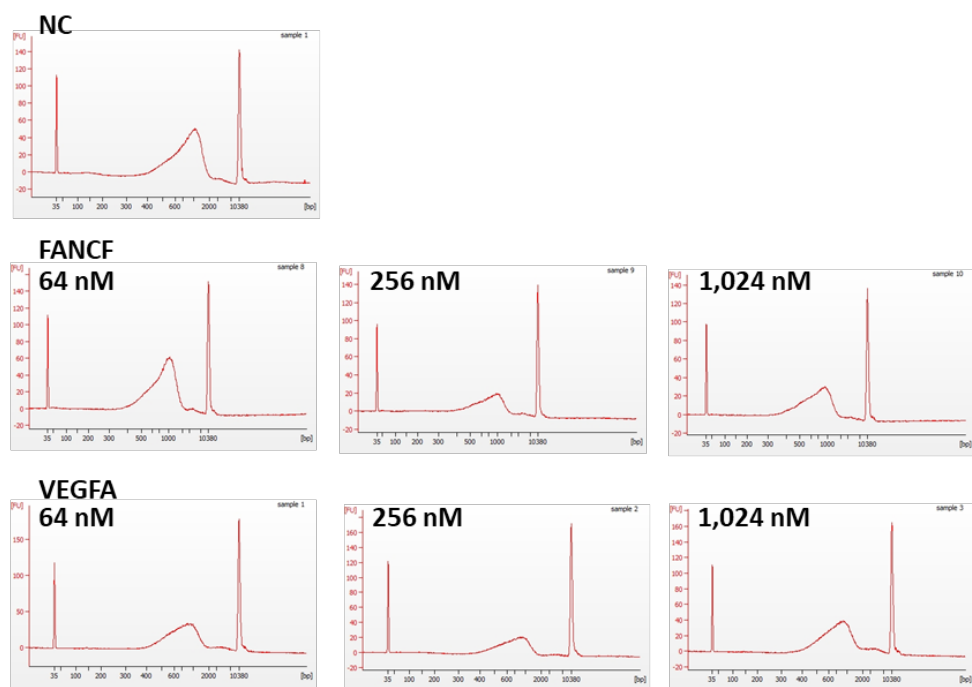


図7 SITE-Seq に供したゲノム DNA の品質確認

HEK293T 細胞 (n=2) から抽出したゲノム DNA を 1%アガロースゲルにて電気泳動した。

M: 1 kb Ladder Marker

A



B

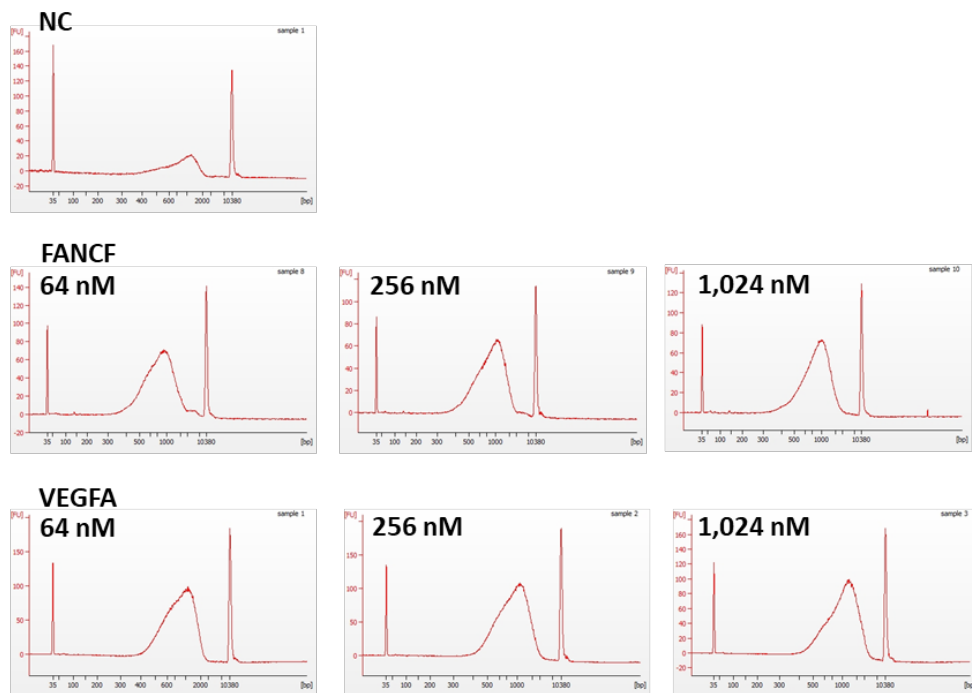


図8 SITE-Seq ライブラリの QC 結果

調製したライブラリは Bioanalyzer 2100 にて泳動した。内部マーカーとして Lower marker は 35 bp、Upper marker は 10,380 bp を示す。A) Rep1、B) Rep2

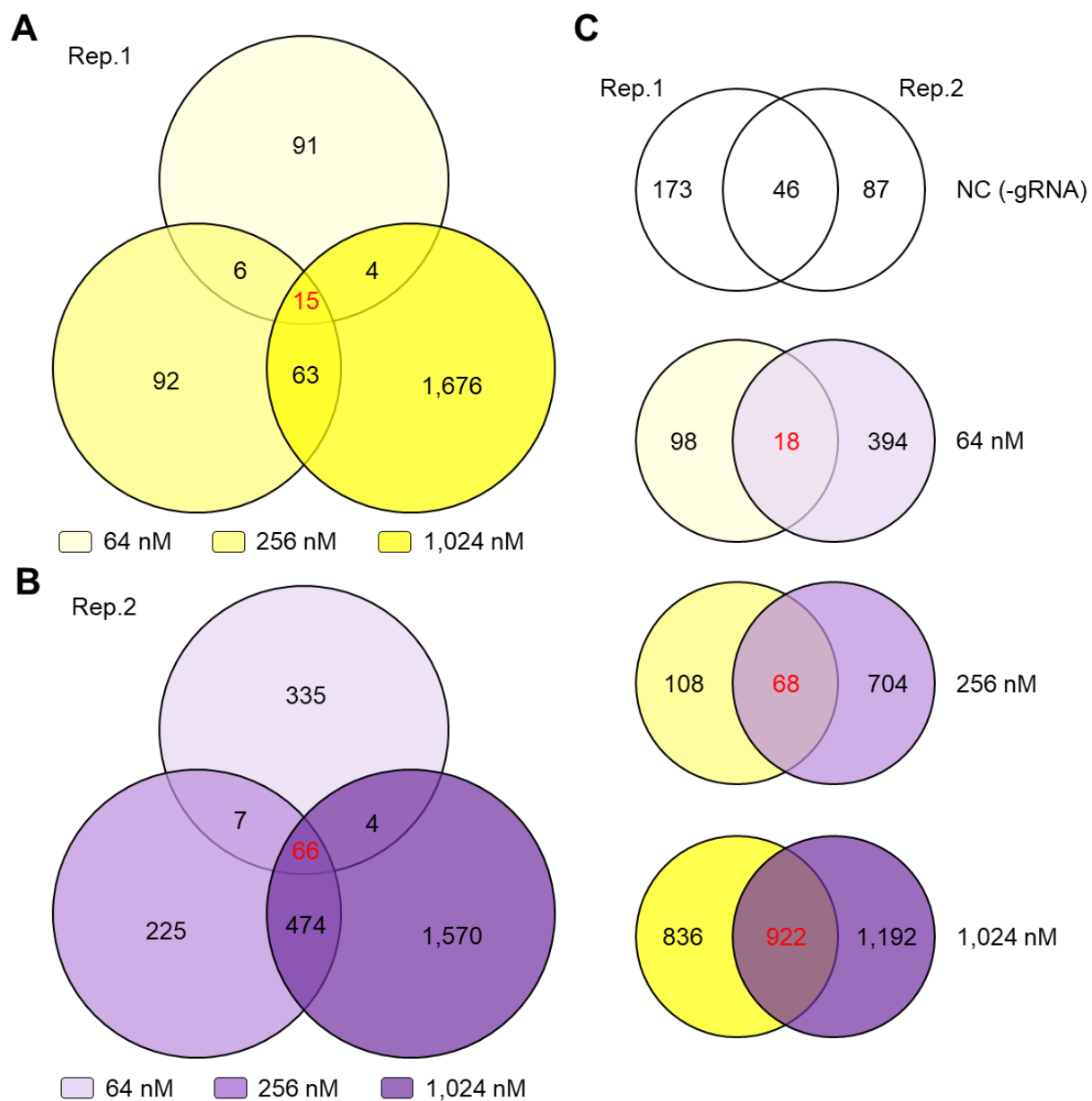


図9 VEGFA を標的とした SITE-Seq 結果

SITE-Seq は最終 Cas9 濃度 64 nM, 256 nM, 1,024 nM で実施した。(A) は Rep. 1、(B) は Rep. 2 の各濃度間で共通して検出されたカットサイト数を表す。(C) Rep. 1、2 の各濃度間で共通して検出されたカットサイト数を表す。本来の標的である VEGFA が検出された区分は赤字で示した。なお各濃度において検出されたカットサイトのうち、ネガティブコントロール (NC (-gRNA)) 条件で検出されたカットサイトは差し引いて表示した。

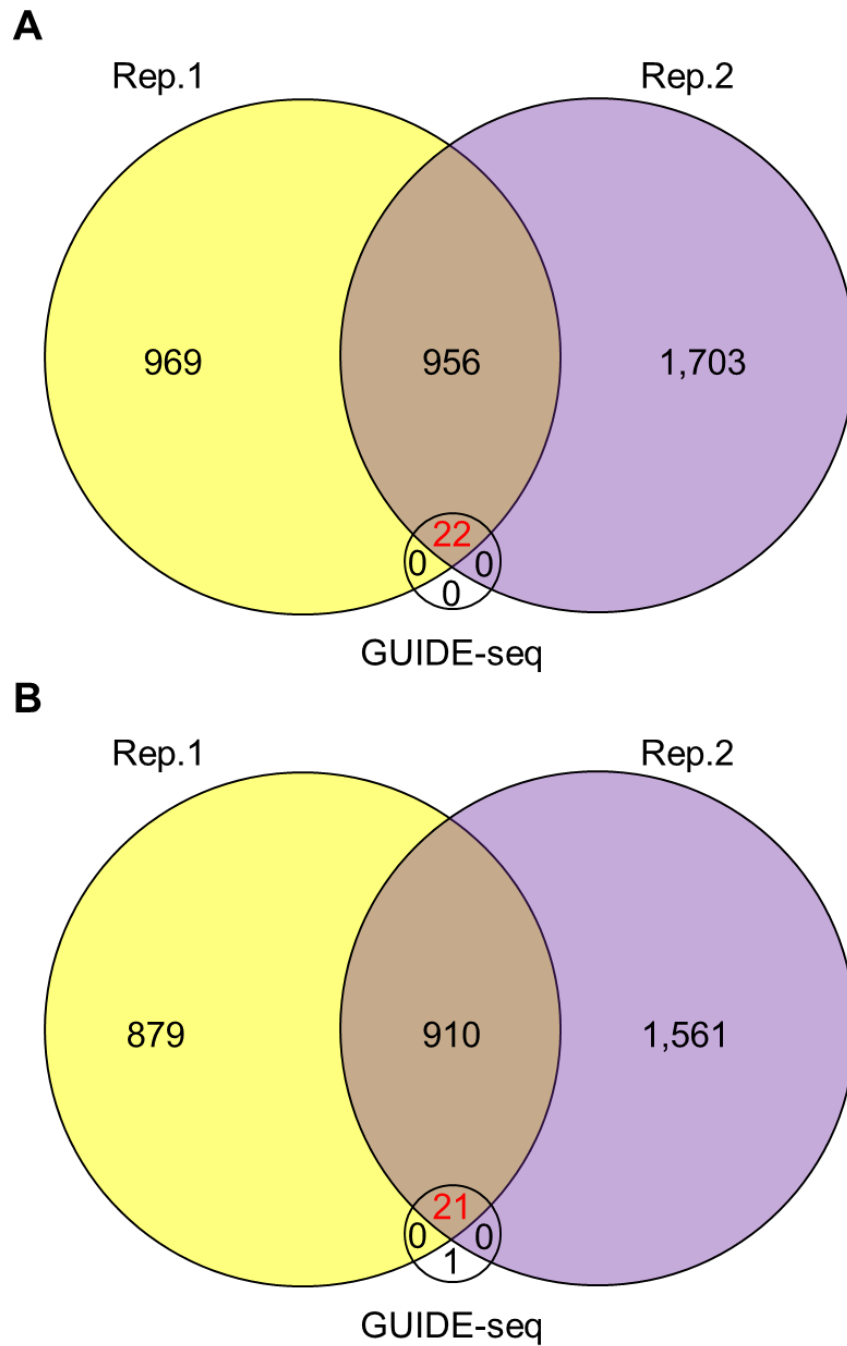


図10 VEGFA を標的とした SITE-Seq と GUIDE-Seq 結果の比較

最終 Cas9 濃度 64、256、1,024 nM において検出された全てのカットサイトを、Rep 間および GUIDE-seq の結果と比較した。(A) は BWA、(B) は bowtie2 を用いてリードのアライメントを実施した。本来の標的である VEGFA が検出された区分は赤字で示した。

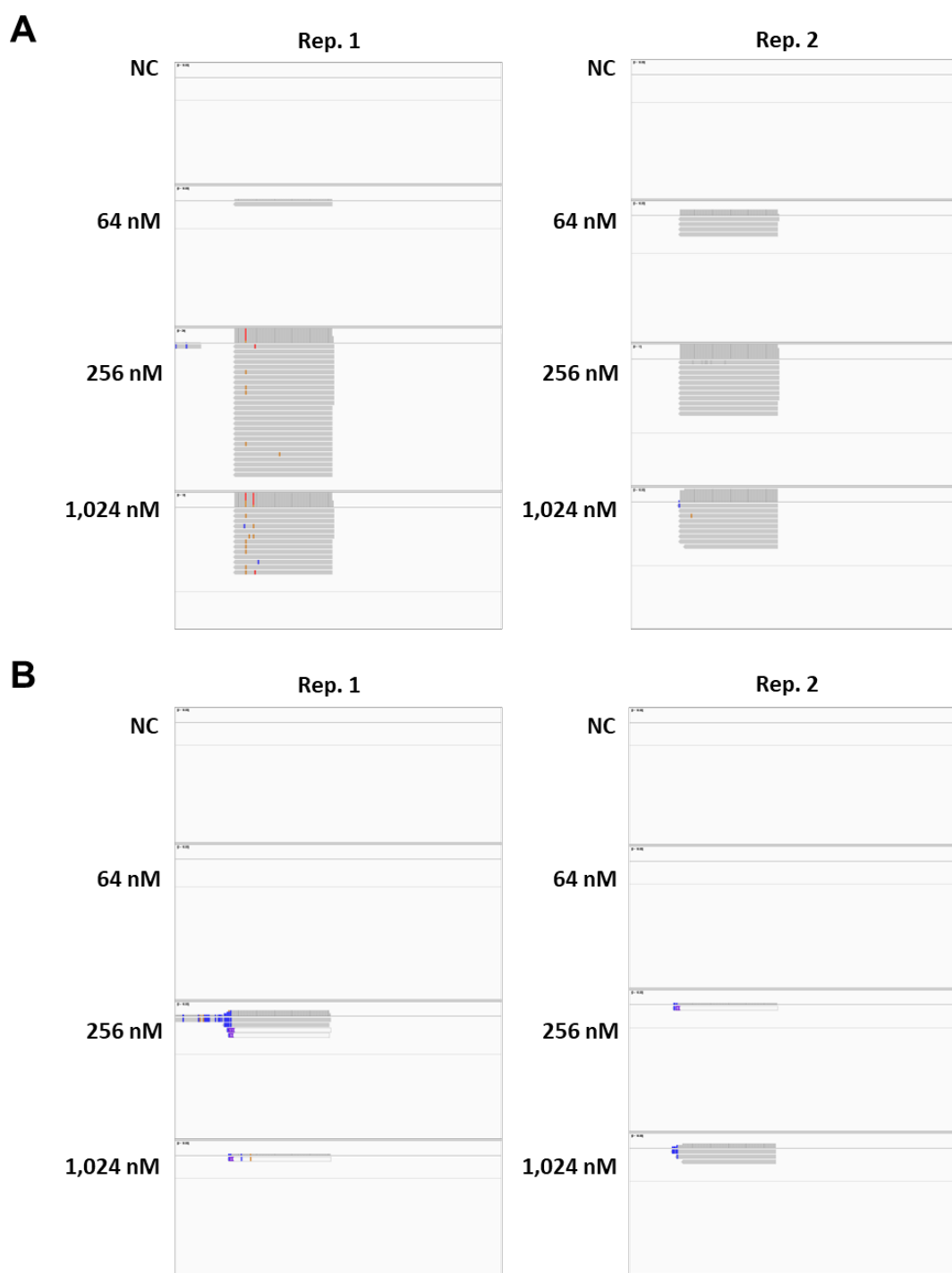


図11 bowtie2 で検出されなかったオフターゲット予測部位付近の IGV 図

図 10B において GUIDE-seq のみで検出されたカットサイト (Chr5: 56,876,246 付近) について、IGV にてリードアライメント状況を示す。(A) は BWA、(B) は bowtie2 でアライメントした IGV 図を示す。リード表示の window 幅はいずれも 218 bp とした。

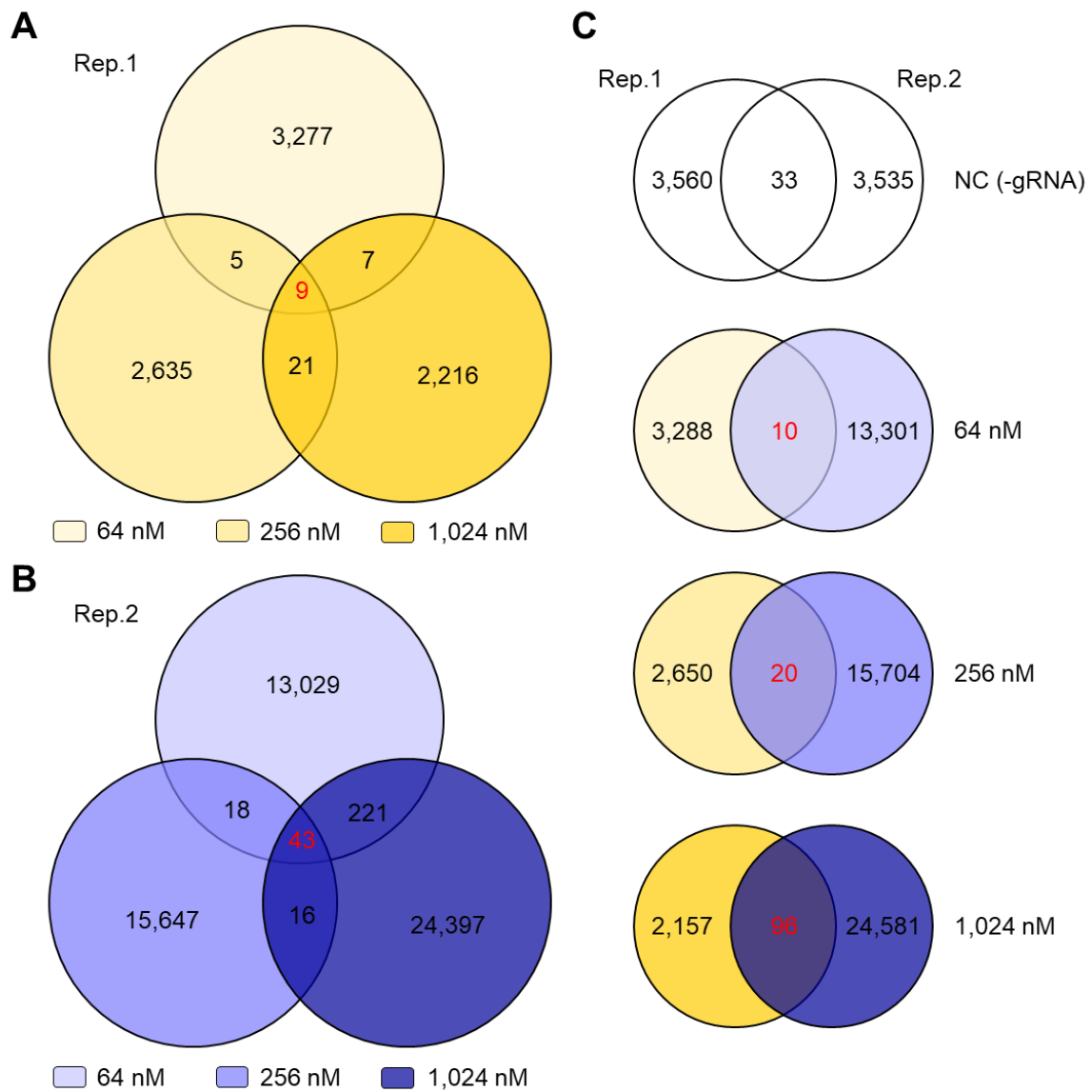


図12 FANCFを標的とした SITE-Seq 結果

SITE-Seq は最終 Cas9 濃度 64 nM, 256 nM, 1,024 nM で実施した。(A) は Rep. 1、(B) は Rep. 2 の各濃度間で共通して検出されたカットサイト数を表す。(C) Rep. 1、2 の各濃度間で共通して検出されたカットサイト数を表す。本来の標的である VEGFA が検出された区分は赤字で示した。なお各濃度において検出されたカットサイトのうち、ネガティブコントロール (NC (-gRNA)) 条件で検出されたカットサイトは差し引いて表示した。

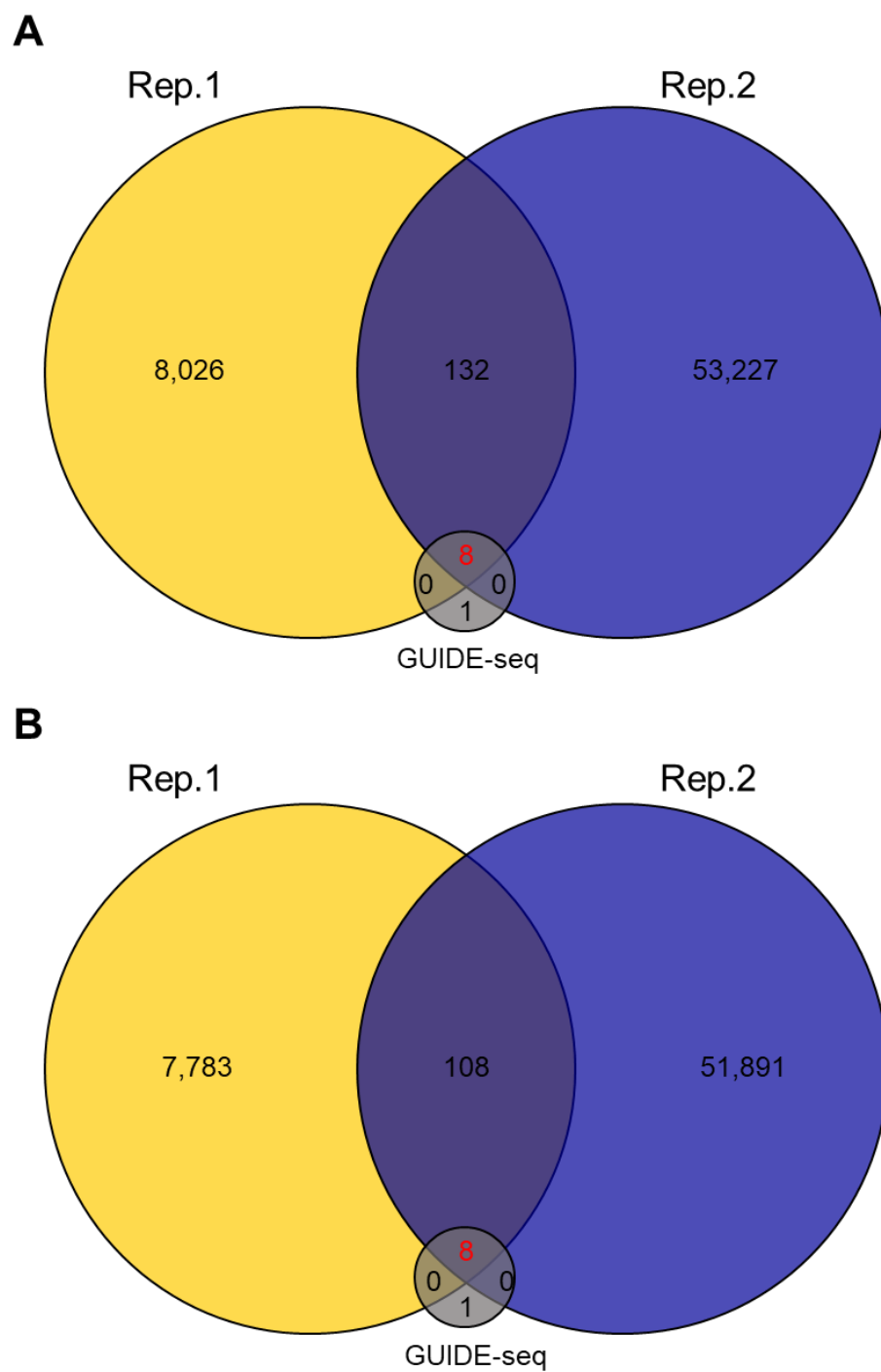


図13 FANCFを標的とした SITE-Seq と GUIDE-Seq 結果の比較

最終 Cas9 濃度 64、256、1,024 nM において検出された全てのカットサイトを、Rep 間および GUIDE-Seq の結果と比較した。(A) は BWA、(B) は bowtie2 を用いてリードのアライメントを実施した。本来の標的である FANCF が検出された区分は赤字で示した。

表1 本研究で使したオリゴ一覧

オリゴ名	配列 (5'-3')	備考
VEGFA_gRNA_Fwd	CGATGTAATACGACTCACTATAGGGGGTGGGGGAGTTTGCTCC†GTTT TAGAGCTATGCTGAAA	sgRNA synthesis
FANCF_gRNA_Fwd	CGATGTAATACGACTCACTATAGGGGAATCCCTTCTGCAGCACC†GTTT TAGAGCTATGCTGAAA	
sgRNA_G_Rev	AAGCACCGACTCGGTGCCACTTTTCAAGTTGATAACGGA CTAGCCTTATTTAACTTGCTATGC TTTTCAGCATAGCTCTAAACG‡	
Adapter1_Fwd	[BioOn]GTTGACATGCTGGATTGAGACTTCCTACACTCTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCT	Adapter1 oligo
Adapter1_Rev	GATCGGAAGAGCGTCGTAGGGAAAGAGTGTAGGAAGTCTCAATCCAGCATGTCAAC	
Adapter2_Fwd	[PHO]GATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCC	Adapter2 oligo
Adapter2_Rev	GGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCT	
Recovery_PCR_Fwd	GGAGTTCAGACGTGTGCTCTTC	Recovery PCR primer
Recovery_PCR_Rev	GTTGACATGCTGGATTGAGACTTCC	
Index-UDI0001-Fwd	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACAGCGCTAGACACTCTTCCCTACACGACG	i5 Indexing PCR primer
Index-UDI0002-Fwd	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACGATATCGAACACTCTTCCCTACACGACG	
Index-UDI0003-Fwd	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACGCGAGACGACACTCTTCCCTACACGACG	
Index-UDI0004-Fwd	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTATGAGTAACACTCTTCCCTACACGACG	
Index-UDI0007-Fwd	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACACATAGCGACACTCTTCCCTACACGACG	
Index-UDI0008-Fwd	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACGTGCGATAACACTCTTCCCTACACGACG	
Index-UDI0016-Fwd	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACCTACAGTTACACTCTTCCCTACACGACG	
Index-UDI0017-Fwd	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACATATTCACACACTCTTCCCTACACGACG	
Index-UDI0018-Fwd	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACGCGCCTGTACACTCTTCCCTACACGACG	
Index-UDI0069-Fwd	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACCATGCCATACACTCTTCCCTACACGACG	
Index-UDI0070-Fwd	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTGCATTGCACACTCTTCCCTACACGACG	
Index-UDI0005-Rev	CAAGCAGAAGACGGCATACTAGATCAGTGGATGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTC	i7 Indexing PCR primer
Index-UDI0013-Rev	CAAGCAGAAGACGGCATACTAGATAGACTTGGGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTC	
Index-UDI0014-Rev	CAAGCAGAAGACGGCATACTAGATGAGTCCAAGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTC	
Index-UDI0039-Rev	CAAGCAGAAGACGGCATACTAGATACCCTTAGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTC	
Index-UDI0040-Rev	CAAGCAGAAGACGGCATACTAGATGTTGTCCGGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTC	
Index-UDI0051-Rev	CAAGCAGAAGACGGCATACTAGATAACCTGTTGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTC	
Index-UDI0052-Rev	CAAGCAGAAGACGGCATACTAGATGGTTACCGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTC	
Index-UDI0063-Rev	CAAGCAGAAGACGGCATACTAGGCAAGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTC	
Index-UDI0064-Rev	CAAGCAGAAGACGGCATACTAGATTCGAATGGGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTC	

†下線部は標的配列を表す

‡太字は標的配列の3'末端の塩基に対して相補的な塩基を表す

表2 ケーススタディ①におけるショートリードデータとアセンブリ結果

	リードデータ					マッピングされたリードデータ				コンティグ		
	カバレッジ	リード数	全塩基数	N50	Q30 (%)	リード数	全塩基数	N50	Q30 (%)	SPAdes	塩基長	コンティグ
Read 1	60	189,642,461	28,363,589,009	150	95.6	2,249	335,954	150	91.9	○	4,271	1
Read 2		189,642,461	28,338,265,020	150	88.2							

表3 ケーススタディ①におけるロングリードデータとアセンブリ結果

PBSIM 条件 平均塩基長	リードデータ							マッピングされたリードデータ					コンティグ		
	カバレッジ	リード数	全塩基数	平均リード長	N50	平均Q		リード数	全塩基数	平均リード長	N50	平均Q	Flye	塩基長	コンティグ
—	60	4,453,839	58,714,329,016	13,183	24,847	12.4		85	2,391,023	28,130	42,003	12	○	120,379	1
5,400	30	5,291,879	29,354,951,877	5,547	9,136	11		60	484,384	8,073	12,041	10.8	○	50,959	1
5,400	30	5,290,340	29,354,947,101	5,549	9,144	11		50	382,684	7,654	11,369	10.5	○	32,480	1
5,400	30	5,285,892	29,354,949,025	5,553	9,147	11		59	531,895	9,015	15,335	11.5	○	42,641	1
10,000	30	2,892,635	29,354,964,988	10,148	16,882	11		43	967,296	22,495	31,648	10.7	○	92,620	1
10,000	30	2,894,368	29,354,963,029	10,142	16,882	11		42	763,870	18,187	22,636	10.5	○	72,470	1
10,000	30	2,892,438	29,354,963,340	10,148	16,915	11		46	763,780	16,604	25,776	10.8	○	67,083	1

表4 ケーススタディ②におけるショートリードデータとアセンブリ結果

	リードデータ					マッピングされたリードデータ				コンティグ		
	カバレッジ	リード数	全塩基数	N50	Q30 (%)	リード数	全塩基数	N50	Q30 (%)	SPAdes	塩基長	コンティグ
Read 1	51.55	189,642,403	28,363,612,742	150	95.62	4,427	661,443	150	91.89	○	4,272	1
Read 2		189,642,403	28,338,196,891	150	88.17							

表5 ケーススタディ②におけるロングリードデータとアセンブリ結果

PBSIM 指定塩基長	平均塩基長	N50	マッピングリード 平均塩基長	マッピングリード N50	成功率
5,400	5,550	9,100	8,530	12,451	0/3
6,000	6,160	10,150	9,330	13,872	1/3
7,000	7,150	11,800	11,170	16,863	2/3
8,000	8,155	13,500	14,090	20,957	3/3
9,000	9,150	15,200	14,030	23,019	2/3
10,000	10,145	16,900	16,490	17,658	3/3
11,000	11,130	18,600	19,773	29,225	3/3
12,000	12,130	20,300	20,274	29,732	1/3
13,000	13,130	22,000	22,127	32,770	3/3
—	13,170	24,850	24,770	34,940	3/3

表6 リード長とアセンブリ成功との関係

	成功時 マッピングリード				失敗時 マッピングリード			
	リード長	N50	Q 値	リード数	リード長	N50	Q 値	リード数
平均	17,588	25,334	11.4	97.1	12,272	18,052	11.4	107.1
SD	4,903	7,438	0.6	22.8	5,034	7,442	0.5	20.6

表7 SITE-Seq 解析で用いたリードデータの統計値

トリミング前

リード名	リード数	総塩基数	最小塩基長	平均塩基長	最大塩基長	Q20(%)	Q30(%)
Rep. 1							
陰性コントロール_Read1	3,277,963	494,972,413	151	151	151	93.26	92.08
陰性コントロール_Read2	3,277,963	494,972,413	151	151	151	91.06	89.55
FANCF_64nM_Read1	3,039,985	459,037,735	151	151	151	96.71	92.45
FANCF_64nM_Read2	3,039,985	459,037,735	151	151	151	93.00	86.44
FANCF_256nM_Read1	2,601,806	392,872,706	151	151	151	96.88	92.79
FANCF_256nM_Read2	2,601,806	392,872,706	151	151	151	93.24	86.78
FANCF_1024nM_Read1	2,947,411	445,059,061	151	151	151	96.89	92.76
FANCF_1024nM_Read2	2,947,411	445,059,061	151	151	151	93.26	86.77
VEGFA_64nM_Read1	2,728,815	412,051,065	151	151	151	92.87	91.66
VEGFA_64nM_Read2	2,728,815	412,051,065	151	151	151	90.68	89.16
VEGFA_256nM_Read1	3,077,165	464,651,915	151	151	151	93.40	92.26
VEGFA_256nM_Read2	3,077,165	464,651,915	151	151	151	91.14	89.67
VEGFA_1024nM_Read1	2,638,928	398,478,128	151	151	151	92.94	91.72
VEGFA_1024nM_Read2	2,638,928	398,478,128	151	151	151	90.40	88.81
Rep. 2							
陰性コントロール_Read1	1,826,890	275,860,390	151	151	151	93.79	92.38
陰性コントロール_Read2	1,826,890	275,860,390	151	151	151	90.34	87.79
FANCF_64nM_Read1	3,378,558	510,162,258	151	151	151	96.77	92.52
FANCF_64nM_Read2	3,378,558	510,162,258	151	151	151	92.97	86.37
FANCF_256nM_Read1	3,432,299	518,277,149	151	151	151	96.85	92.7
FANCF_256nM_Read2	3,432,299	518,277,149	151	151	151	93.15	86.71
FANCF_1024nM_Read1	3,028,504	457,304,104	151	151	151	96.77	92.54
FANCF_1024nM_Read2	3,028,504	457,304,104	151	151	151	92.85	86.16
VEGFA_64nM_Read1	1,521,549	229,753,899	151	151	151	93.33	91.85
VEGFA_64nM_Read2	1,521,549	229,753,899	151	151	151	89.52	86.90
VEGFA_256nM_Read1	1,456,968	220,002,168	151	151	151	93.24	91.79
VEGFA_256nM_Read2	1,456,968	220,002,168	151	151	151	88.45	85.71
VEGFA_1024nM_Read1	1,827,450	275,944,950	151	151	151	93.15	91.77
VEGFA_1024nM_Read2	1,827,450	275,944,950	151	151	151	86.71	83.81

トリミング後

file	リード数	総塩基数	最小塩基長	平均塩基長	最大塩基長	Q20(%)	Q30(%)
Rep. 1							
陰性コントロール_Read1	3,277,866	488,809,832	20	149.1	151	93.86	92.69
FANCF_64nM_Read1	3,039,906	456,452,774	20	150.2	151	96.82	92.6
FANCF_256nM_Read1	2,601,729	390,727,711	20	150.2	151	96.99	92.93
FANCF_1024nM_Read1	2,947,359	442,502,742	20	150.1	151	97.00	92.90
VEGFA_64nM_Read1	2,728,627	406,539,837	20	149.0	151	93.55	92.35
VEGFA_256nM_Read1	3,076,976	458,573,990	20	149.0	151	94.02	92.88
VEGFA_1024nM_Read1	2,638,776	393,376,044	20	149.1	151	93.57	92.35
Rep. 2							
陰性コントロール_Read1	1,826,061	272,546,377	20	149.3	151	94.48	93.10
FANCF_64nM_Read1	3,378,347	507,296,933	20	150.2	151	96.88	92.66
FANCF_256nM_Read1	3,431,988	515,081,237	20	150.1	151	96.95	92.84
FANCF_1024nM_Read1	3,028,352	453,878,712	20	149.9	151	96.89	92.69
VEGFA_64nM_Read1	1,520,441	226,043,900	20	148.7	151	94.12	92.68
VEGFA_256nM_Read1	1,455,493	213,062,960	20	146.4	151	94.13	92.73
VEGFA_1024nM_Read1	1,826,748	257,126,872	20	140.8	151	94.38	93.08

食品衛生基準科学研究費補助金(食品安全科学研究事業)
「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推進のための研究」
令和 6 年度 分担研究報告書

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 爲廣紀正 国立医薬品食品衛生研究所 生化学部 第三室長

研究要旨

本研究では、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 5 年 6 月から令和 6 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 10 報のピアレビューを行い、4 種のアレルゲンについて、総数 14 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 のアレルゲンおよびイソアレルゲンのアミノ酸配列情報は 2,447、エピトープ既知のアレルゲン数は 315 となった。加えて、データベースへの不正なアクセス等を回避するため ADFS のシステムを大幅に改修し、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となるよう充実化を進めた。

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指し、液体クロマトグラフィー質量分析法(LC-MS/MS)を活用した網羅的アレルゲン性評価システムの開発を試みた。アレルゲンを含む食品としてカシューナッツに着目し、ADFSなどで集積した知見を基にエピトープ配列を含む酵素消化ペプチド断片を標的ペプチドとして分析したところ、2 種類のペプチドが分析対象候補として有用であることを確認した。また、先行研究により開発が進められてきた AI を活用した新規高精度アレルゲン性予測手法に関する検証等を進めた結果、LLM システムを採用することで予測性能の向上が期待できることが示された。

研究協力者

田口千恵 国立医薬品食品衛生研究所生化学部

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。

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性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、意図しない変化、およ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(国立衛研)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、遺伝子改変技術応用食品等のリスク評価に活用できるよう、過去一年間に報告された新規アレルゲンおよび新規エピトープに関する情報を整理し、内容の充実化を図る。また、システムやデータに損壊を与える可能性がある情報セキュリ

ティ上のリスクを回避するため、データベース自体の脆弱性に関する見直しを進める。

近年、アレルゲンが食品に含まれているかを確認する分析手法として、高速液体クロマトグラフ・タンデム四重極型質量分析計 (LC-MS/MS) による網羅的な定性・定量分析が国際的に検討されている。こうした国内外での現状を踏まえ、本研究では、バイオテクノロジー技術を用いて開発された食品に含まれるアレルゲンを予測・検出する方法として、LC-MS/MS を活用し、ADFS で集積したアレルゲンに関する知見に基づく新たな網羅的なアレルゲン性評価システムを開発する。また、先行研究に引き続き、最新の AI 技術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。

B. 研究方法

ADFS エピトープ情報の追加

新たなバイオテクノロジーを用いて得られた食品に含まれるタンパク質についてアレルゲン性等を予測・評価するため、これまで国立衛研では、アレルゲンデータベース (ADFS) を管理・公開している。最新の情報が利用できるデータベースとして継続的に運用するため、令和 5 年 6 月から令和 6 年 5 月までの過去 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・収集した。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、確度の高いエピトープ情報が掲載され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 データベースに追加した。

ADFS システムの改修

Web データベースのセキュリティ上に生じた弱点が利用された場合、データが不正に読み取られるほか、改ざんなどによって利用者が深刻な被害を受ける可能性がある。ADFS では、管理システムの脆弱性に関する対応を公開以降適時に実施しているが、前回の大幅な改修から時間経過によって不具合が発生している可能性が心配された。そこで、ADFS のシステムの安定性や、セキュリティの向上そして、将来的な拡張性や保守性を考慮し、全面的なシステムの改修を実施した。手順として、オペレーティングシステム (OS) バージョンアップに伴い、フレームワークの改修し、関連ツールのアップデートの後、公開する際の環境において動作確認を実施した。最後に、本改修によって新たに導入された脆弱性が存在しないかを確認するため、外部からの攻撃を想定したペネトレーションテストを実施した。

LC-MS/MS を活用した新たな網羅的なアレルゲン性評価システムの開発

分析対象として、食物アレルギー表示における特定原材料への移行が検討されているカシューナッツを選定した。アレルゲンの抽出バッファー (I: デオキシコール酸ナトリウム、ラウロイルサルコシン酸ナトリウム、炭酸水素トリエチルアンモニウムを含む溶液、II: ELISA 用検体抽出液) に食品中のカシューナッツ含有量が 10 µg/g となるよう一次標準粉末を添加し、アレルゲンタンパク質を抽出した。次に、遠心分離およびろ過により不溶物を除去し、上清を採取した。I で得られた上清は、ヨードアセトアミド溶液および炭酸水素トリエチルアンモニウムを添加し遊離チオール基の還元アルキル化反応を行い、遠心エバポレーターで濃縮した。得られた抽出タンパク質はトリプシンあるいはキモトリプシンにより酵素消化し、ペプチドに分解した。安定同位体標識した内部標準ペプチドは後述の固相抽出前 (I) あるいは酵素消化前 (II) に添加した。消化後のペプチド混合物は、固

相抽出カートリッジ(I: C18 カラム、II:陽イオン交換系カラムおよび陰イオン交換系カラム)で精製した。I については、加えて陰イオン交換レジンによる固相抽出を実施した。得られた固相抽出液は、ロータリーエバポレータ等の濃縮装置により乾固し、分析用再溶解液(0.1%ギ酸—アセトニトリル水溶液)で溶解後、分析用検体とした。分析用の液体クロマトグラフィー(LC)分離条件を表 1 に示す。LC により分離されたペプチドは、質量分析計(MS/MS)に導入され表 2 の条件で解析した。なお、カシューナッツ特異的なペプチド(Ana o 2、Ana o 3 由来)を多重反応モニタリング(MRM)モードで選択的に検出し、同位体標識ペプチドを内部標準として用い分析条件を確定した。

AI を活用した新規高精度アレルギー性予測手法の性能検証

自然言語処理技術を応用してタンパク質配列からアレルギー性を予測するモデルを構築し、複数の代表的な深層学習モデルによる予測性能を比較・評価した。特に、タンパク質配列を文字列として扱い、それを言語モデルで処理する手法のアレルギー性評価における有効性を明らかにすることを目的として検証を実施した。

今年度は、以下の 4 つのタンパク質自然言語モデルを用い、タンパク質配列からアレルギー性を予測した。

- ・ ProtGPT2: GPT アーキテクチャに基づくタンパク質生成モデル
- ・ ProLLaMA : 軽量化された LLM (Large Language Model)ベースのタンパク質モデル
- ・ ProtBERT:トランスフォーマーに基づく事前学習済みモデル(BERT)
- ・ LSTM:配列処理に特化した再帰型ニューラルネットワーク

各モデルには、同一のタンパク質配列データセットを用い、機能ラベル(アレルギー性に関する二値データ)を教師信号として付与した。データは種目によってカテゴリーごとに分割し、1 カテゴリー

リーをテスト・検証用、残りのカテゴリーを訓練用として Leave-Category-Out Cross-Validation を実施した。予測性能の評価指標は、ROC (Receiver Operatorating Characteristic) 曲線の AUC (Area Under Curve)、PR-AUC、F1 スコア、accuracy(正解率)、precision 等を使用した。

モデルのトークナイゼーション、ハイパーパラメータ調整、および学習率等は統一された設定下で行い、モデル間での公平な比較を担保した。

C. 研究結果

1. ADFS エピトープ情報の追加

令和 5 年 6 月から令和 6 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 23 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 10 報を選択し、ピアレビューを行った。その結果、4 報の論文から 4 種のアレルギーについて、総数 14 のエピトープ情報を新たに追加した。(表 3)

上記のアレルギーおよびエピトープ情報更新作業により、最終的に、ADFS のアレルギーおよびイソアレルギーのアミノ酸配列情報は 2,447、エピトープ既知のアレルギー数は 315、構造既知のアレルギー数は 210、糖鎖付加アレルギー数は 127 となった。

2. ADFS システムの改修

ADFS のセキュリティ脆弱性への対応、および長期的なデータベースの運用におけるサポート体制を考慮し、ソフトウェアの推奨バージョンへの更新等に伴う改修作業を実施した。

OS は、インプレースアップグレードではなく、新規インストールにて環境を構築した。これにより、現行のバージョンより長期的なサポートが提供されるため、安定したシステム運用が見込まれる。加えて、関連ツールやパッケージのアップグレードによって、フレームワークとしての性能が向上し、クエリ処理が最適化され解析精度が向上した。ま

た、動作検証により既存ワークフローに影響がないことを確認した。最後に、改修作業によって新たに生じた脆弱性を調査するため、ペネトレーションテストを実施し、情報セキュリティの更なる強化を図った。

3. LC-MS/MS を活用した新たな網羅的アレルギー性評価システムの開発

LC-MS/MS を用いた新たなアレルギー性分析評価法を開発するため、実施可能なカシューナッツの分析法に関する標的配列を整理した。いずれの分析法においても、標的ペプチド配列はアレルギータンパクである Ana o 2 (レグミン様タンパク質)あるいは Ana o 3 (2S アルブミン)配列に由来していた。トリプシンあるいはキモトリプシンによる酵素消化により生成されたペプチドの 9 種類を分析対象とした。

これらの 9 種の標的配列のうち ADFS データベース情報に基づきエピトープ配列が含まれるものを相同性検索したところ、標的ペプチドの一つが Ana o 2 で報告されているエピトープ配列 HSLDRTPRKFHLGNPK の C 末端側7アミノ酸と一致すること。さらに他の標的ペプチドは Ana o 2 で報告されているエピトープ配列 VFQQQQQHOSRGRNL の N 末端側11アミノ酸と一致することが明らかとなった。そこで、各分析法に基づき、カシューナッツ一次標準粉末が 10 µg/g 相当となるように添加したアレルギー抽出液から、分析試料を調製し、LC-MS/MS による測定を実施した。なお、各標的ペプチドの測定条件については、事前に合成ペプチドを用いて最適化を実施した。測定結果を図 1 に示す。それぞれのペプチドの検出感度は、安定同位体標識ペプチドのカラム保持時間を参照して確認を行い、カシューナッツに含まれるアレルギータンパクとしては国内のアレルギー表示の基準値に準ずる感度で判定が実施できるものと示唆された。このことから、エピトープ配列を標的ペプチドとする LC-MS/MS を用いた新たなアレルギー性分析評価法の開発

はフィジビリティが高いと考えられる。

そこで、より高感度でかつ特異的な標的ペプチドを選定するため、対象ペプチドの範囲をさらに広げた検討に取り組んだ。検討対象として、カシューナッツのアレルゲンタンパクである Ana o 1 (ビシリン様タンパク質)を追加し、Ana o 2 や Ana o 3 についても新たな標的候補を検討した。その結果、それぞれ 9、12、3 種のペプチドを検証候補として追加し、そのうち 8 ペプチドが ADFS のエピトープ情報と相同性を有する配列であることが分かった。特に Ana o 3 由来の標的候補配列は、同アレルギーのエピトープとして報告されている QRQFEEQQR の内部配列であったため、分子量が小さいペプチドではあるが、バイオテクノロジー技術を用いて開発された食品に対するアレルギー性評価の対象として期待が持たれる。

4. AI を活用した新規高精度アレルギー性予測手法の性能検証

先行研究である機械学習を活用したアレルギー性予測手法 allerStat の開発時に整理した学習データセットを用い、自然言語モデルのアレルギー性予測における性能比較を行った。各モデルの最終的な評価指標のスコアを表 4 に示す。protBERT は、最も高い F1 スコア(0.611)を示し、次いで protGPT2 がほぼ同等の性能(0.606)を示し、proLLaMA と LSTM は少し低い性能(0.561、0.559)であったが、依然として実用に耐える性能を保っていた。また、機械学習モデルを活用した allerStat のスコアは 0.517 であったことから、自然言語処理技術の応用によるアレルギー性予測性能の向上が認められた。他の評価指標である Accuracy、Precision、ROC-AUC、PR-AUC についてもおおよそ同等の結果が得られている。

D. 考察

本研究では、令和 5 年 6 月から令和 6 年 5 月までの 1 年間に報告された 4 種のアレルギーに

について、総数 14 のエピトープ情報を ADFS に追加した。ADFS は食品安全委員会 遺伝子組換え食品等専門調査会の遺伝子組換え食品の食品健康影響評価に関する技術的文書においてアレルギー性の予測に用いる解析手法の一つとして、脚注に収載されている。このため、国内外や国際機関等から公表されたアレルギーに関する情報を今後も継続的に収集し、当該データベースに反映させることは、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評価において重要であると考えられ、引き続きデータベースの充実化に努める必要がある。

また、ADFS システムの脆弱性を放置すると、不正アクセスやデータ漏洩のリスクが高まり、公開停止といった深刻な状況を招く可能性がある。そこで今年度は、ADFS で使用しているアプリケーション等の脆弱性への対応を目的とし、システム改修を実施した。本作業により適切なセキュリティ対策が講じられ、利用者に対する社会的責務が果たされたと考えられる。脆弱性への対応は、信頼性の確保とコンプライアンス遵守が可能となることから、公開データベースとして継続していくためには今後も定期的な見直しが必要と考えられる。

アレルギーを検査する方法のうち、LC-MS/MS を用いたアレルギー測定法は、以下のような利点が挙げられる。まず、特定のタンパク質やペプチドを高感度かつ高精度で検出できるため、微量なアレルギーの存在が正確に確認できる。次に、抗体を用いる ELISA 法と異なり、交差反応のリスクが低く、類似タンパク質との識別が可能である。また、糖鎖等で修飾されたアレルギーも検出することができる。さらに、複数のアレルギーを同時に測定できるマルチプレックス解析が可能で、効率的かつ包括的な分析が行える。これらのことから、LC-MS/MS はアレルギー測定において、信頼性・再現性・網羅性の面で優れた分析手法として期待されている。本事業で開発する網羅的アレル

ゲン性評価システムは、アレルギーとしての抗原性獲得に重要な IgE エピトープを標的の基準として検出する分析法であり、今年度の解析結果により、我が国での食物アレルギー表示制度における閾値に準ずる感度において、判定を実施できることが確認できた。このため、新たなバイオテクノロジーを用いて得られた食品を想定し、さらに適用範囲を広げた標的ペプチドを選定することにより、より包括的で高分解能の評価システムが構築できるものと考えられる。

本事業と関連する令和 5 年度までの先行研究班では、アレルギーおよび非アレルギータンパク質から機械学習により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(アレルギー性予測手法:allerStat)を開発した。一方、最近では医療分野での深層学習の活用や規制の取り組みが多く認められており、食品分野やリスク評価分野においても深層学習の活用が今後進んでいくものと考えられる。そこで本研究班では、自然言語処理技術を応用することでアレルギー性予測システムの性能の向上を試み、規制用途での実用化の可能性を探った。本検討の結果において、ProtBERT が最も高い性能を示したことは、周囲の文脈を同時に考慮する Masked Language Modeling を採用した自然言語処理が、事前学習によってタンパク質配列中のアレルギーパターンやモチーフをうまく捉えることができることを示唆している。特に、長距離依存関係の処理に優れた BERT 構造が、アレルギー性予測において有利に働いたと考えられる。一方、ProtGPT2 は、主に生成タスク向けに最適化されているため、分類タスクにおいては若干性能が劣る結果となったと考えられた。ただし、タンパク質の新機能探索や生成応用には今後も有望であると考えられる。また、ProLLaMA は性能面では BERT や GPT2 より劣っていたが、コンシューマー GPU でも QLoRA の活用により効率よくファインチューニングできるため、推論時間やメモリ効率

の面で有利であり、エッジ用途への展開が期待される。LSTM については、入力長が長くなると勾配消失や文脈保持の限界があり、タンパク質配列のような長大な系列データに対しては不利であったことが予想された。今後は、BERT をベースとした更なるファインチューニングや、他の事前学習済みバイオインフォマティクスモデル (ESM など) との比較検討も行うことで、より高精度なタンパク質機能予測システムの開発が期待される。また今回検討した BERT 以外のモデルにおいても、状況に応じた利点があるため、目的や環境等に応じてモデルを選定する柔軟性が求められると考えられた。

E. 結論

本研究では、令和 5 年 6 月から令和 6 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 10 報のピアレビューを行い、4 種のアレルゲンについて、総数 14 のエピトープ情報を ADFS に追加した。さらに、データベースへの不正なアクセス等を回避するため、システムを大幅に改修し、ADFRS の運用環境を最新の技術スタックに近づけた。脆弱性に対応したデータベースとして公開することにより、利用者の信頼性確保とコンプライアンスを遵守した運用に繋がると考えられる。

また、バイオテクノロジー技術を用いて開発された食品のアレルゲン性の評価において、より高い精度での判定を可能にすることを目的として、LC-MS/MS を活用した新たな網羅的アレルゲン性評価システムの開発と AI を活用した新規高精度アレルゲン性予測手法の性能検証を実施し、最先端の技術導入により高性能のアレルゲン性予測ツールが開発可能であることを示した。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

Tamehiro N: ML/AL Based Allergenicity Prediction of Novel Food. 14th Global Summit on Regulatory Science (2024 年 9 月 19 日、米国)

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

該当なし

実用新案登録

該当なし

その他

爲廣紀正:レギュラトリーサイエンス教材ポイントシリーズ. PHARM TECH JAPAN. 2024, 40.

表1 高速液体クロマトグラフ (LC) 測定条件

	条件
ポンプ	Nexera X3
移動相 A	0.2%(v/v)酢酸水溶液
移動相 B	0.2%(v/v)酢酸含有アセトニトリル
流速	0.3 mL/min
カラム	C-18
カラムオーブン	50°C

表2 質量分析計 (MS) 測定条件

	条件
分析計	LCMS-8060NX
インターフェイス電圧	1.0 kV
インターフェイス温度	250°C
DL 温度	150°C
ヒートブロック温度	200°C
コンバージョンダイノード電圧	10.0 kV

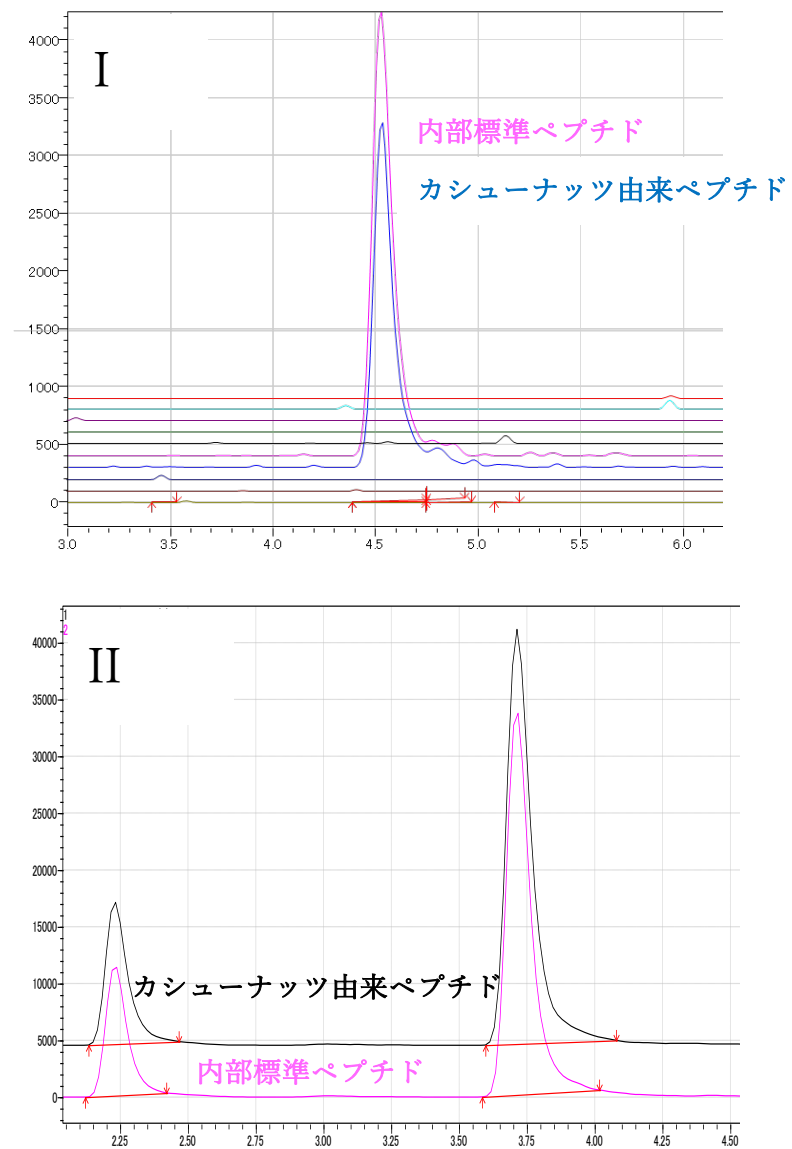
表3 新たに登録されたエピトープ情報

	Name	start	end	Sequence	Method	CTYPE	Reference	UniProt acc.No
001	Der f 40	79	106	VLIKNEQKVHSFSGASEPKLREAIQQYS	Western Blot/Dot blot/ELISA /Cell based assay	L	PMID 37577028	A0A922I5V1
002	Bet v 1.0101				ELISA/Cell based assay	C	PMID 37701941	P15494
003	Ara h 2.0201	56	71	DEDSYGRDPYSPSQDP	ELISA/Peptide array/Dot blot	L	PMID 37706599	Q6PSU2-1
004	Scy p 1	28	43	EGLHELHVKYNAEHVQ	ELISA/Dot blot	L	PMID 37931089	A0A5J6X3F8
	Scy p 1	151	165	GEGRKRNQISVGSQS	ELISA/Dot blot	L	PMID 37931089	A0A5J6X3F8
	Scy p 1	187	205	APSGLEGPCFLKKLPNGHL	ELISA/Dot blot	L	PMID 37931089	A0A5J6X3F8
	Scy p 1	257	273	EGQTHKENQFTIDTRDA	ELISA/Dot blot	L	PMID 37931089	A0A5J6X3F8
	Scy p 1	321	335	NHVPGSPFTVKVTGE	ELISA/Dot blot	L	PMID 37931089	A0A5J6X3F8
	Scy p 1	615	632	PFRLRIGKDEADPAAVSV	ELISA/Dot blot	L	PMID 37931089	A0A5J6X3F8
	Scy p 1	646	660	TDFIVDTCNAGAGTL	ELISA/Dot blot	L	PMID 37931089	A0A5J6X3F8
	Scy p 1	726	741	ESSSVVVEVTEKTKSG	ELISA/Dot blot	L	PMID 37931089	A0A5J6X3F8
	Scy p 1	743	761	KGHHGTIIPKFHSDANKVT	ELISA/Dot blot	L	PMID 37931089	A0A5J6X3F8
	Scy p 1	817	828	SYKVKERGNHIL	ELISA/Dot blot	L	PMID 37931089	A0A5J6X3F8
	Scy p 1			E216, T270, Y699, V704	ELISA/Dot blot	C	PMID 37931089	A0A5J6X3F8

表4 AIを活用したアレルギー性予測システムの性能評価

Model	accuracy	precision	F1	ROC_AUC	PR_AUC
AllerSTAT			0.517	0.873	
LSTM	0.898	0.578	0.559	0.928	0.667
ProtBERT	0.901	0.577	0.611	0.949	0.734
ProtGPT2	0.894	0.569	0.606	0.946	0.729
ProLLaMA	0.882	0.553	0.561	0.898	0.660

図1 カシューナッツ由来酵素消化ペプチドの LC-MS/MS による分析結果



食品衛生基準科学研究費補助金(食品安全科学研究事業)
「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推進のための研究」
令和6年度 分担研究報告書

メタボロームインフォマティクスによる代謝物評価手法の構築

研究分担者 早川英介 九州工業大学 情報工学研究院 生命化学情報工学研究系 准教授

研究要旨

本研究では、ゲノム編集食品などの新たに作成された食品の安全性評価において懸念される予期せぬ成分変化を包括的に評価するため、メタボロミクスデータ解析技術を活用した食品中の代謝物の網羅的な解析システムを開発した。具体的には、既存の生物学的な代謝物・代謝経路情報基盤を拡張し、多様な食品分析に対応可能な代謝経路に関する体系的に整理したデータベースを構築した。また、化学分析の質量スペクトルデータの類似性に基づいたネットワーク解析により、未知の食品成分の構造やリスクを予測可能なシステムの検討を行った。これにより、一般的なモデル生物だけでなく、様々な食品や植物の成分情報を効率的に収集・解析できる独自の分析基盤を確立した。

A. 研究目的

ゲノム編集食品の安全性評価において、意図しない代謝変動が安全性に影響を与える可能性が指摘されている。一般に食品の成分分析では質量分析によるターゲット分析手法が広く用いられているが、想定外の代謝物変動を包括的に評価することができない。そこで本研究ではノンターゲットで食品中の代謝物の変化を明らかにするデータ解析技術の開発を行った。特に食品特有の代謝経路を評価可能な解析基盤の構築と、質量スペクトルデータに基づく未知代謝物の構造推定・代謝経路予測システムの開発に焦点を当てた。

B. 研究方法

本研究では代謝経路の解析基盤の開発と未知化合物解析システムの構築を進めた。代謝経路解析基盤では WikiPathways をベースシステムとして採用し、Neo4j グラフデータベースを用いて代謝物・酵素・遺伝子などの多様な情報を統合した。また、CoconutDB や KNApSACk などの外部

データベースと連携し、食品特有の代謝経路情報を拡充した。さらに、大規模言語モデル (LLM) を活用して非モデル植物・食品の代謝経路情報を体系的に収集する手法を検討した(図 1)。

未知化合物解析システムでは、すでに独自で開発した質量スペクトル類似度に基づくネットワーク解析システム(未知化合物と化合物標準品のスペクトル類似度に基づいたネットワーク)の拡張を行った(図 2)。特に、コミュニティ抽出に基づいた Maximum Common Substructure (MCS) や化合物クラス情報など、未知化合物の構造解析の手がかりとなる情報を集計・可視化する方法の検討を行った。また、スペクトルネットワーク上の化合物標準品の情報から構造化されていない食品安全性に関する情報を抽出し解析に活用する手法を検討および部分的な実装を行った。

これら代謝経路および未知化合物解析手法に関しては、食品等の実試料の分析データによる検証が好ましい。その検証のための体系的な分析試料の取得・管理・調整のための環境構築も行なった。

C. 研究結果

本年度の研究により、食品分析に特化した代謝パスウェイ解析の基盤となる化合物情報および代謝経路情報の収集・統合のための基礎システムを構築した。このシステムでは化合物 ID、酵素遺伝子 ID、Taxonomy ID による相互参照を実装し、関係性を表現するスキーマを設計することで、ChEBI、Uniprot などの生物学的データベースとの連携も可能とした。また、収集・連携させたデータはグラフ構造としてグラフデータベース Neo4j を用いた知識グラフデータベースを構築することで、汎用性が高く、将来的に API 利用なども可能になる体制を整えた。さらに、既存の構造化された情報ソース以外から非モデル植物・食品の代謝経路情報を効率的に収集するためのフレームワークとして LLM を使用した情報の補完の検討やハルシネーションの影響を考慮した複数の LLM によるクロスバリデーションシステムの検討・初期実装も行った。LLM 由来の情報の解析システムへの組み込みに関しては今後も継続的に検討を行う。

加えて、未知化合物構造解析システムについては、スペクトル類似度ネットワークに基づき、コミュニティの中から MCS および Classyfire の化合物クラス (superclass、class、subclass) の情報を複数の未知化合物に関して組織的に統計処理および可視化の機能を実装して、バッチでの構造推定の基本機能を実装した。このシステムにより、解析者は試料中の未知化合物の構造解析に資する情報を迅速・容易に取得することが可能となる。

スペクトルネットワーク内の化合物標準品に関して、食品安全性に関する情報の抽出・活用のために、メタデータから Wikipedia 情報を取得・情報処理するフローを構築した。具体的には化合物標準品の該当情報ソースを API 経由で Wikipedia から取得し、記事中から健康被害に関連し得る情報を自然言語処理で抽出するフロー

の検討と実装を行った。記事から情報エンティティおよびリレーションを triple として組織的に生成することで知識グラフのソースとなるデータセットを構築できる。この食品安全に関する化合物知識グラフと前述のスペクトル類似度ネットワークとの連携のワークフローの開発は来年度に実施する予定である。

D. 考察

開発したシステムは、食品分析における代謝物の網羅的解析を可能にする独自性の高いプラットフォームである。WikiPathways のオープンなパスウェイ情報を基盤とし、代表的な天然物データベースを統合したデータベースの基礎は構築したものの、今後は構造化されたデータベースに含まれていない代謝物および経路情報を継続的に拡充していく体制を構築することが望ましい。また、今回検討した LLM による情報の補完は組織的に情報の拡充に活用できることが考えられる一方、その精度検証方法の確立が課題として残されており、他のアプローチ・ソースとのハイブリッドな利用が今後の課題として挙げられる。

未知化合物解析システムについては、スペクトル類似度ネットワークに基づいて、構造解析に資する情報の整理と網羅的な取得を可能にした。複数のスペクトルを用いたバリデーションにより構造推定の有効性を確認できた一方で、より大規模なデータによる精度の定量的な検証が今後必要となる。また、スペクトル類似度ネットワークと化合物の食品安全性に関する知識グラフの連携は豊富な情報の活用が期待できる一方で、情報の整理および解釈において、特に専門知識を持たないユーザーを想定した場合、可視化法を検討する必要がある。

E. 結論

本研究では、食品の安全性評価に必要な代

謝物の網羅的解析を可能にする独自のプラットフォームを開発した。代謝経路情報の体系的な収集・統合システムと、スペクトル類似度に基づく未知化合物の構造推定システムの基本機能を実装し、その有効性を確認した。今後は、予測結果の信頼性評価やユーザーインターフェースの改善を進め、食品安全性評価への実用化を目指す。

F. 研究発表

1. 論文発表

早川 英介. 質量分析インフォマティクスによる未知化合物の解析技術(小特集 分析化学とインフォマティクス). 化学工学誌, 2025, 89, 85-89.

2. 学会発表

早川 英介. 質量スペクトルネットワークによる未知化合物の迅速・網羅解析、日本食品衛生学会 第 120 回学術講演会、愛知県春日井市、2024 年 11 月 7-8 日.

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

該当なし

実用新案登録

該当なし

その他

該当なし

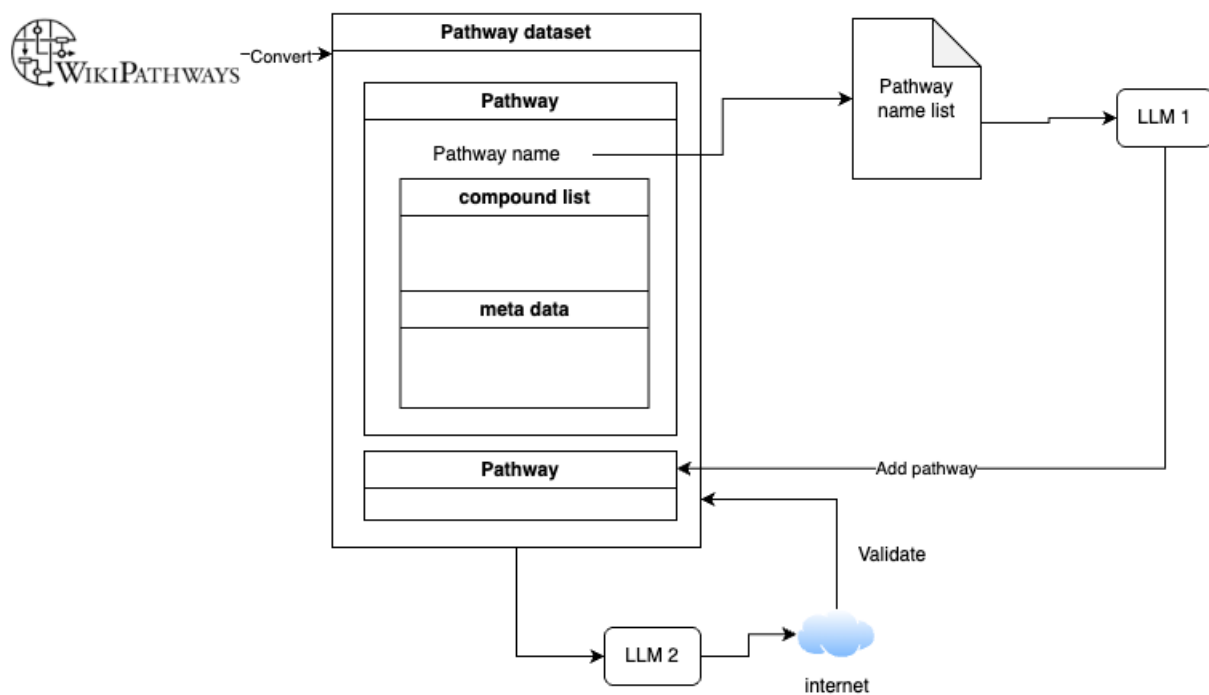


図1 代謝情報統合システム

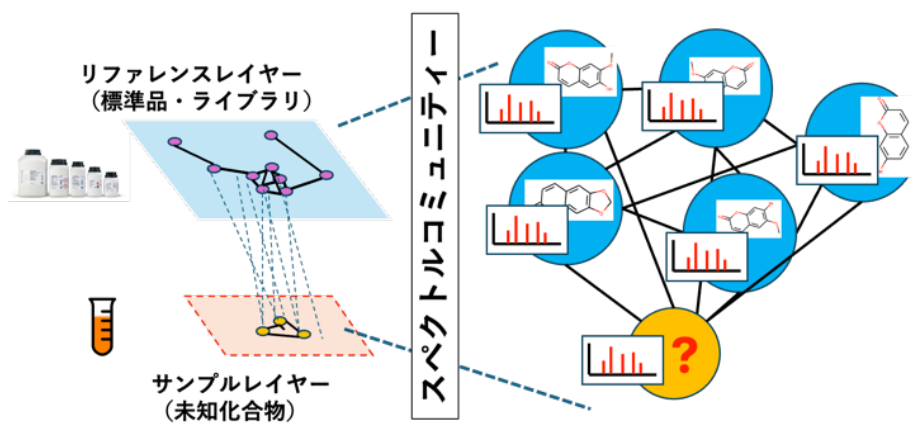


図2 スペクトルネットワークによる解析

食品衛生基準科学研究費補助金(食品安全科学研究事業)
「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推進のための研究」
令和6年度 分担研究報告書

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 公立大学法人 大阪公立大学 教授

研究要旨

本研究では「ゲノム編集食品」、「細胞性食品(主として“精密発酵”と“細胞培養食品”)」を「新たなバイオテクノロジーを用いて得られた食品」として位置づけ、以下の4つの項目について研究をおこなった。1)国内外におけるゲノム編集食品の開発状況や社会受容の調査。2)ゲノム編集動物の開発とアニマルウェルフェアに関する調査、3)精密発酵の概要(定義や具体例、研究開発動向、規制等)、4)細胞培養食品に関するリスクコミュニケーション用コンテンツのための資料収集と整理。1)については米国を中心にゲノム編集食品の社会実装が進んでいるのに加え英国で小麦等のゲノム編集による品種改良が進み野外試験栽培も行われていることが伺えた。中国でも研究開発が盛んである。EUは規制について各国の合意が充分では無く、目立った研究開発の進展は伺えなかった。2)ゲノム編集動物は家畜を対象に複数の形質が付与されているが、我が国のマダイ、トラフグ、ヒラメ以外の実用化例は無く、アニマルウェルフェアの観点からは反対運動はあるが現時点では意識調査は十分で無いと思われた。3)精密発酵の定義は多岐に渡っており産物も多様で、法規制も国により異なることから、対象物のある程度絞ったリスクコミュニケーションが必要と考えられた。4)培養肉とよばれる細胞性食品は、比較的イメージはしやすく分かり易いコンテンツを作成するための準備を行うことができた。

A. 研究目的

本研究で新たなバイオテクノロジーを用いて得られた食品として位置づけたもののうち「ゲノム編集食品」は社会実装されているが上市されているものは GABA 高蓄積トマト、可食部増量マダイ、高成長トラフグ、高成長ヒラメの4品目に限られている。また、2024年の消費者庁の調査では国民の9割以上がゲノム編集食品を知らないと答えており、ある意味リスクコミュニケーション以前の問題とも言える。従って、ゲノム編集食品に関する情報提供とリスクコミュニケーションがその円滑な社会実装に求められる。従って、国内外のゲノム編集食品の研究開発並びに社会受容の状況を調査することを目的とした。また、ゲノム編集食品は規制の仕組み(事前相談、届出)があるものの、

ゲノム編集動物の評価項目にアニマルウェルフェアの観点を入れる必要があるかどうかについては検討の余地がある。従って、ゲノム編集動物の開発例および国内外での議論を調査することとした。「細胞性食品(主として“精密発酵”と“細胞培養食品(いわゆる培養肉)”)」は概念が必ずしも明確ではなく社会実装のルール作りも進んでいるとは言えない。そこで、細胞性食品については、その定義、具体例、研究開発動向、主に海外の規制について調査した。細胞培養食品は精密発酵よりはイメージしやすく国内で社会実装を求める声も多く、規制の議論も産業界では高まっている。従って、その社会実装を見据えたリスクコミュニケーション用の資料を作成すること目的に調査と整理を行った。

B. 研究方法

国内外のゲノム編集食品の研究開発並びに社会容の状況

2024 年 6 月～2025 年 3 月にかけて、Google 等による定期的な(原則 2 週間に 1 度)WEB 調査によりゲノム編集食品の研究開発、社会受容等と関連のあるニュースをピックアップして整理した。

ゲノム編集動物におけるアニマルウェルフェアに関する調査

2024 年 6 月～2025 年 2 月に Google Scholar および PubMed を用いてゲノム編集動物に関する英語論文を収集しエクセルによりデータベース化した。そのうち技術的論文と社会的論文をピックアップして内容を精査した。さらに 2024 年 11 月～12 月に、Google Scholar、Perplexity、Bing を用いて、「ゲノム編集あるいは genome editing」および「アニマルウェルフェアあるいは animal welfare」というキーワードで論文および各種 WEB サイトを検索した。必要に応じて ChatGPT、Copilot、Sider による要約の後、英語論文に関しては、DeepL により翻訳しエクセルによりデータベース化した。尚、明らかな反対団体によるものや、一個人の主観を綴ったブログ等は取り上げていない。

精密発酵の概要のまとめ

「精密発酵」の定義、用いられている技術、関連する国内外の業界団体の動向、海外における規制や実態、国内外の具体的な製品の研究開発状況等を各種 WEB サイトや FOOVO(フードテックニュースの専門メディア)のレポートなどを用いて調査した。尚、調査は三菱ケミカルリサーチに委託した。

細胞培養食品に関するリスコミ資料の収集と整理

細胞培養食品に関する各種書籍、WEB サイト(細胞農業研究機構、細胞農業協会等)から情

報を収集し整理するとともに写真、画像を含むオンライン公開用のサイトを整備した。

C. 研究結果

1. 国内外のゲノム編集食品の研究開発並びに社会受容の状況

国内外の事例を 58 ピックアップしてエクセルによりデータベース化した(表 1)。総説や原著論文は膨大な数になることから含めず、研究開発状況、規制の整備、産業界の動向、一部反対運動についてもピックアップした。

研究開発動向としては米国では Cibus 社がゲノム編集イネやナタネの試験栽培を行い、Pairwise 社が種なしブラックベリーの開発を進めている。またスタートアップである Pairwise 社は大手コルテバ社と業務提携している。英国では複数の形質を持つゲノム編集コムギの野外試験栽培が行われた。それに伴い、規制の道筋もつつある一方で、EU 諸国の規制の枠組みはまだ確定していない。アジアに目を向ければ中国でゲノム編集作物の研究開発が進められているのに加え、フィリピンやタイでも積極的な姿勢が見られる。

国内では魚類のゲノム編集をてがけるリージョナルフィッシュ社やゲノム編集作物の開発に力を入れるグランドグリーン社への資金提供や連携が進んでいる。また、プラチナバイオ社とキューピーによるアレルギー低減タマゴの社会実装も進んでいるように見える。大学発スタートアップ以外の大手企業による動きは明らかではない。また開発企業や販売企業への反対運動も見られる。ゲノム編集食品への反対のための国会内での院内集会も行われている。社会受容については日本では 9 割以上が知らないといった調査結果が報告されているのに対し中国では 8 割以上がゲノム編集作物に対して好意的、英国でも 3 分の 2 が肯定的とされる。

2. ゲノム編集動物におけるアニマルウェルフェアに関する調査

2024 年 6 月～2025 年 2 月では 2017 年以降の論文から 347 報のゲノム編集動物に関する英語論文を収集しデータベース化した。そのうち技術的論文 43 報(表2)、社会的論文 13 報(表3)を整理した。並行して、2024 年 11 月～12 月に、71 のコンテンツをデータベース化した(表4)。尚、WEB サイトについては、明らかな反対団体によるものや、一個人の主観を綴ったブログ等は取り上げていない。

ゲノム編集動物の対象は基本的に牛、羊、豚、ニワトリなどの家畜と魚である。付与されている形質で多いのは耐病性と成長促進、食品としての品質向上である。牛では耐暑性形質の付与も見られる。ニワトリでは孵化前の雌雄判別が可能となっている。また、低アレルギー卵を産むニワトリも作られている。アニマルウェルフェアを目的とするものは限定的である。ゲノム編集動物の有名な例に無角牛がある。通常は牛同士が傷つけないために角切が行われているが、牛に痛みを伴う。その回避のために角の無い牛がゲノム編集で開発されているが賛否の意見がある。動物の苦痛を和らげるという観点は賛成であるが、不自然な遺伝子操作であるため反対と言うことである。日本ではミオスタチン破壊による可食部増量マダいの上市が行われているが、野生型と比べ泳ぎ方が劣るため動物虐待に当たるといった議論もある。動物愛護団体は基本的に反対のスタンスである。

3. 精密発酵の概要のまとめ

精密発酵の定義は国内外のシンクタンク、業界団体、規制当局、国際機関等に微妙に異なっていた。大まかにはアルコール発酵やヨーグルト生産等の伝統的な発酵の手法を利用するものの、組換え微生物を使うことが多い。また、生産するのは伝統的な発酵でも作られる色素や酵素もあるが、成長因子や特定のタンパク質など作るケースもある。各国でそれぞれ業界団体があり、精密

発酵の定義を作り規制当局等のステークホルダーとの情報共有、リスクコミュニケーションに努めている。日本ではバイオインダストリー協会および細胞農業研究機構、細胞農業協会がそうした役割を担っている。国際機関としては FAO や UNEP も取扱いに関わっている。精密発酵の産物は様々であるが、乳のタンパク質生産の取組が多い。即ち、ホエイタンパク質の成分である β -グロブリンとカゼインである。こうしたタンパク質を用いて人工乳製品(アイスクリームやチーズ等)が既に実用化されている。上記の標記(人工乳製品)は一般的には認められた呼称ではないことに注意が必要である。有名な企業として Perfect Day(米国)や Remilk(イスラエル)が挙げられる。規制は国によって異なっており、今後のハーモナイゼーションが求められる。

4. 細胞培養食品に関するリスク資料の収集と整理

「細胞性食品ガイド 2025—培養肉のいまと未来—(仮称)」と称したリスク資料を作成するために情報を整理した。細胞性食品という表記は消費者には分かり難いと考えられたため、培養肉を併記して、資料では培養肉として記載を進めた。「前書き」、「作り方」、「おいしさ、食べやすさ」、「流通・価格・市場」、「海外の状況」、「日本のこれから」という章立てとし、文章を作成した。WEB ベースで閲覧可能とする予定であり、令和 7 年度の早い段階で画像データを加え、一般公開を行う。

D. 考察

ゲノム編集農作物の実用化に関しては国内ではサナテックライフサイエンス社の GABA 高蓄積トマトに留まっているが、グランドグリーン社が資金提供を受けるなど研究開発を進めていると考えられる。リージョナルフィッシュ社もやはり資金提供を受けている。米国では辛味成分を抑えたカラシナが実用化されているのに続き複数の品

目が実用化に近い。英国ではコムギを中心に試験栽培が行われ、規制の枠組みも決まりつつある。EU では研究開発、規制整備が停滞気味である。アジアでは中国、東南アジア等がゲノム編集農作物の研究開発に積極的である。ゲノム編集食品に対する国内での認知度は低く(9割以上が知らない)現状説明を含めたリスクコミュニケーションが求められる。

ゲノム編集動物の実用化例は世界的に見て我が国の可食部増量マダイ、高成長トラフグ、高成長ヒラメに限られているが、家畜を対象として複数の形質を付与する試みが行われている。アニマルウェルフェアとの関連に関する論文は非常に少ないものの動物愛護団体からは反発する意見が多く、その対応は今度の課題である。

精密発酵に関しては定義が多様であることからリスクコミュニケーションはかなり複雑になることが予想される。例えば、精密発酵の代表例である人工乳製品などに限ったリスクコミュニケーションから行うのが現実的と考えられる。しかし、規制の枠組みが無い状況でのリスクコミュニケーションには限界がある。

精密発酵と比べると細胞培養食品は比較的概念が定まっているが、細胞性食品は広い意味では精密発酵も含むこと、消費者にはなじみが少ないことなど用語の問題は大きい。精密発酵も同様に規制の枠組みが決まっていなことからリスクコミュニケーションに工夫が必要である。

E. 結論

ゲノム編集農作物に関しては国内外の研究開発動向を引き続き注視しながら、リスクコミュニケーションに必要な情報収集が求められる。その上で、現状のリスクコミュニケーション資料のアップデートも求められる。国民理解が進んでいないことを考えれば分かり易い情報提供サイトの構築も求められる。ゲノム編集動物の規制におけるアニマルウェルフェアの観点も特に海外の研究およ

びそれに対する消費者の態度などを引き続き調査する必要がある。精密発酵についてはリスクコミュニケーションの対象を人工乳製品に限定してリスクコミュニケーションコンテンツの作成を行うことも一つの選択肢である。細胞培養食品については令和 7 年度にはリスクコミュニケーションのための WEB コンテンツを提供し、国民理解増進を図る。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shineha R., Takeda K.F., Yamaguchi Y. & Koizumi N. A comparative analysis of attitudes towards genome-edited food among Japanese public and scientific community. **PLoS ONE**, 2024, 19, e0300107.
- 2) Yamamoto R., Higuchi S., Iwata, Y., Takeda, S., Koizumi, N. & Mishiba K-I. High β -carotene accumulation in transgenic eggplant fruits grown under artificial light. **Plant Biotechnology**, 2024, 41, 77-81

2. 学会発表

- 1) Koizumi N. Perception gap of genome edited foods in Japan. Global Plant Stress Research Center International Symposium. 韓国 ソウル市、2024 年 9 月 24 日

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

該当なし

実用新案登録

該当なし

その他

該当なし

表1 ゲノム編集食品の研究開発、社会受容等と関連のあるニュース

	年月日	タイトル	国	URL
1	2024年6月4日	ペアワイズ社、革新的なCRISPR技術で初の種なしブラックベリーを開発	米国	https://www.pairwise.com/news/pairwise-develops-first-seedless-blackberry
2	2024年6月7日	CRISPRで風味改良された“ゲノム編集サラダ”、今秋一般向け展開も	米国	https://wired.jp/article/gene-edited-salad-greens-fall-pairwise-bayer-crispr-gmo/
3	2024年6月19日	スシロー親会社社長、魚のゲノム編集「広げていくべき」導入は未定	日本	https://news.goo.ne.jp/article/asahi/business/ASS6M24RJS6MPLFA00BM.html#google_vignette
4	2024年6月21日	ゲノム編集について知れば知るほど、安全なものとして受け入れるようになるという研究結果	米国	https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2024.1340398/full
5	2024年6月21日	ゲノム編集技術を用いた農作物の種苗開発を行うグランドグリーン株式会社への出資について	日本	https://prtimes.jp/main/html/rd/p/000000034.000111802.html
6	2024年6月27日	次世代ゲノムデザインツールとしての利用が期待	日本	https://www.rcast.u-tokyo.ac.jp/ja/news/release/20240627.html
7	2024年6月28日	グランドグリーンへのヒューリックの出資	日本	https://prtimes.jp/main/html/rd/p/000000019.000046371.html
8	2024年7月1日	ニワトリの性別をタマゴの段階で判別。～オスひよこの殺処分問題の解決につながるか？	日本	https://www.setsurotech.com/official/9563/
9	2024年7月3日	精度と標的柔軟性を高めた一塩基置換(ゲノム編集)に成功	日本	https://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/topics_20240703-1.html
10	2024年7月3日	フィリピンでゲノム編集バナナの生産、流通が認可	フィリピン	https://www.freshfruitportal.com/news/2024/07/03/new-non-browning-bananas-in-the-philippines/
11	2024年7月	ゲノム編集小麦の野外試験の結果は！ アクリルアミドが45%低下	英国	https://www. Rothamsted.ac.uk/news/results-are-gene-edited-wheat-field-trial-delivers
12	2024年7月11日	株式会社スーパーワームと熊本大学が、ゲノム編集技術を用いた新品種開発に向けた共同研究契約を締結	日本	https://prtimes.jp/main/html/rd/p/000000003.000121307.html
13	2024年7月12日	海藻類でのゲノム編集による遺伝子導入に世界で初めて成功	日本	https://www.hokudai.ac.jp/news/2024/07/post-1538.html
14	2024年7月25日	遺伝子重複を誘導するゲノム編集技術を開発～複製フォークの操作によりゲノム構造の大規模変化が可能に～	日本	https://www.jst.go.jp/pr/announce/20240725/index.html
15	2024年8月1日	世界初の動物ゲノム編集食品「22世紀タイ」を通して、食と生き物のしくみが学べる児童書ノンフィクションが発刊	日本	https://prtimes.jp/main/html/rd/p/000000543.000002535.html
16	2024年8月1日	ゲノム編集でバラを始め様々な農作物のトゲを無くすことに成功したという話題	日本	https://www.cshl.edu/every-rose-has-its-thorns-or-does-it/
17	2024年8月6日	米Cibus社がイネのスタックゲノム編集除草剤耐性形質の初めての圃場試験で良好な結果を	米国	https://investor.cibus.com/news-releases/news-release-details/cibus-achieves-positive-initial-field-trial-results-stacked-gene
18	2024年8月14日	スイスにおけるゲノム編集作物の未来: GMO禁止20年後の挑戦	スイス	https://www.youtube.com/watch?v=j6K-OZ_FvDA
19	2024年8月19日	研究者はゲノム編集穀物の農場への導入に向けて大きく前進	英国	Researchers make significant progress toward bringing gene-edited cereal crops to farms - Food and Drink Technology
20	2024年8月27日	New definition for GM foods in ANZ: Officials propose only those containing novel DNA be considered genetically modified	FSANZ	https://www.foodnavigator-asia.com/Article/2024/08/27/new-definition-for-gm-foods-in-anz-proposal-for-only-those-with-novel-dna-to-be-called-genetically-modified
21	2024年9月5日	三重県の南伊勢町と「リージョナルフィッシュ」が「水産物の種苗開発に関する連携協定」を締結	日本	https://www.isenp.co.jp/2024/09/05/115919/
22	2024年9月10日	Cibus社は、Pod Shatter Reduction（早熟種子散布）低減形質を有する冬蒔きナタネの英国初のほ場試験を完了	米国	https://menafn.com/1108656620/Cibus-Completes-First-Field-Trials-In-UK-For-Pod-Shatter-Reduction-In-Winter-Oilseed-Rape
23	2024年9月17日	コルテバ社とペアワイズ社、ゲノム編集の加速による農業における気候変動への対応推進で提携	米国	https://www.corteva.com/resources/media-center/corteva-pairwise-join-forces-to-accelerate-gene-editing-advance-climate-resilience-in-agriculture.html
24	2024年9月17日	スタンフォード大によるCRISPR教育を安価で身近なものにするキットの開発	米国	https://news.stanford.edu/stories/2024/09/making-crispr-education-affordable-and-accessible
25	2024年9月19日	キュービーへの低アレルギー卵の開発中止を求めるハガキの送付	日本	https://nishoren.net/new-information/20204
26	2024年9月23日	DNAフリーで遺伝子型に依存しない大豆のCRISPR/Cas9 システム	日本	https://academic.oup.com/plphys/advance-article/doi/10.1093/plphys/kiae491/7764170?login=fa
27	2024年9月25日	ノーベル賞受賞者2人が欧州におけるCRISPR特許の取り消しを希望	EU	https://www.technologyreview.com/2024/09/25/1104475/nobel-prize-winners-cancel-crispr-patents-europe/
28	2024年10月1日	遺伝子改変作物、イングランドの農場で初めて栽培へ	英国	https://news.agropages.com/News/NewsDetail---51613.htm
29	2024年10月16日	高小型塊茎数ジャガイモがゲノム編集食品として届出	日本	https://www.caa.go.jp/policies/policy/standards_evaluation/bio/genome_edited_food/list

	年月日	タイトル	国	URL
30	2024年10月23日	日持ちの良いトマトと貯蔵タンパク質を改変したオオムギの文部科学省への情報提供	日本	https://www.mext.go.jp/a_menu/lifescience/bioethics/mext_02730.html
31	2024年10月23日	ゲノム編集技術応用食品の表示等について更なる検討を求める意見書 兵庫県議会	日本	https://web.pref.hyogo.lg.jp/gikai/teireikai/r06/r6_368/ikensho/ikensho_41.html
32	2024年10月29日	大規模な代謝改変により異種天然物の生産能力を大幅に増強した麹菌を開発	日本	https://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/topics_20241029-1.html
33	2024年10月30日	中国の消費者はゲノム編集食品に対してポジティブである	中国	https://www.isaaa.org/kc/cropbiotechupdate/ged/article/default.asp?ID=21058
34	2024年11月1日	AIを活用した植物のプロモーター領域のゲノム編集に関するプラットフォーム技術（Promoter AI™）の基本特許が日本で成立	日本	https://prtimes.jp/main/html/rd/p/000000016.000090699.html
35	2024年11月5日	Cibus社、除草剤耐性（HT2）形質が新規除草剤に対する耐性を示すことを確認	米国	https://www.bakersfield.com/ap/news/cibus-confirms-its-herbicide-tolerance-ht2-trait-shows-increased-tolerance-to-a-novel/article_25c67347-330b-5b13-9a26-4a69443212c7.html
36	2024年11月13日	収穫量を減らすことなく糖度をトマトの糖度を上げることに成功	中国	https://www.theguardian.com/science/2024/nov/13/tomatoes-gene-editing-sweeter-fruit
37	2024年11月14日	ERC（European Research Council）によって予算を付けられた研究者はCRISPR/Casによるゲノム編集の研究を迅速に進めている	EU	https://erc.europa.eu/news-events/news/report-erc-funded-researchers-lead-rapid-use-crisprcas-gene-editing
38	2024年11月21日	フィリピンでのGM作物およびGE作物に関する啓発キャンペーン	フィリピン	https://www.manilatimes.net/2024/11/21/campus-press/up-launches-educ-campaign-on-genetic-modification/2008266
39	2024年12月3日	消費者庁の調査ではゲノム編集食品を「知らない」消費者は9割以上	日本	https://www.asahi.com/articles/DA3S16097863.html
40	2024年12月6日	「表示して！ゲノム編集食品 地方から国に声を届けよう～」	日本	http://www.labometjp.org/EventItem/1731591640078staff01
41	2024年12月11日	A technical approach to global plant genome editing regulation	世界	https://www.nature.com/articles/s41587-024-02489-5
42	2024年12月17日	ゲノム編集植物に関するFDAの新たなガイダンスが簡素化した対応を可能に	米国	https://www.foodnavigator-usa.com/Article/2024/12/17/fdas-guidance-introduces-pre-market-process-for-genome-edited-plants/
43	2024年12月21日	AIとCRISPRの組み合わせが世界を変える——特集「THE WORLD IN 2025」	米国	https://www.wired.com/story/combining-ai-and-crispr-will-be-transformational/
44	2024年12月26日	リージョナルフィッシュ、シリーズCで約40億円の資金調達を実施	日本	https://prtimes.jp/main/html/rd/p/000000031.000060432.html
45	2024年12月30日	ゲノム編集豚肉がそのうち市場に出る？	米国	https://mynbc15.com/news/offbeat/gene-edited-pork-soon-eat-would-you-pigs-genetically-modified-genetic-editing-science-study-research-scientist-meat-food-store-shelves-united-states-farm-farmers-livestock-disease-resistant
46	2024年12月31日	China approves more GM crops to boost yields, ensure food security	中国	https://www.reuters.com/markets/commodities/china-approves-more-gm-crops-boost-yields-ensure-food-security-2024-12-31/
47	2025年1月3日	タイ、農業分野のリーダーシップ強化に向けてゲノム編集を進める	タイ	https://thainews.prd.go.th/nbtworld/news/view/806751/?bid=1
48	2025年1月22日	次世代シーケンサーを用いた外来DNA検出法(k-mer法)解析ツール"GenEditScan"を公開	日本	https://www.naro.go.jp/publicity_report/press/laboratory/naac/167351.html
49	2025年1月22日	ゲノム編集でアレルゲンを欠損したニワトリの卵 通常とほぼ同等の特性を確認	日本	https://univ-journal.jp/251209/
50	2025年2月7日	ゲノム編集食品は安全なのか？【2/21】日消連、ゲノム編集養殖魚で院内集会	日本	https://wellness-news.co.jp/posts/250207-6-2/
51	2025年2月10日	アフリカでもバナナの病気に対してゲノム編集技術が有効	アフリカ	https://genedititeracyproject.org/2025/02/10/how-crispr-could-revolutionize-banana-farming-and-sustainable-agriculture-in-africa/
52	2025年2月12日	Scientists Develop Gene Editing Method to Reduce Corn Plant Height	中国	https://www.isaaa.org/kc/cropbiotechupdate/article/default.asp?ID=21206
53	2025年2月14日	中国、バイオテクノロジーイニシアティブでゲノム編集ツール、新品種開発へ	中国	https://www.reuters.com/world/china/chinas-agriculture-ministry-issues-guidelines-promote-biotech-cultivation-2025-02-14/
54	2025年2月20日	ゲノム編集食品に対する消費者の受容：知識、信頼、情報の役割	米国	https://ruralradio.com/kbear/news/consumer-acceptance-of-gene-edited-food-the-role-of-knowledge-trust-and-information/
55	2025年2月28日	英国がゲノム編集作物への道を明らかに	英国	https://www.feednavigator.com/Article/2025/02/28/uk-policy-makers-advance-gene-editing-regulation-for-crops/
56	2025年3月7日	ゲノム編集による褐変化しにくいバナナはフードロスを減らすことにつながる（研究者の弁）	英国	https://www.theguardian.com/science/2025/mar/07/gene-edited-non-browning-banana-cut-food-waste-tropic-norwich
57	2025年3月14日	EU諸国、作物に対する新しいゲノム編集のルールに関する合意へ	EU	https://www.euractiv.com/section/agriculture-food/news/eu-countries-back-compromise-on-new-gene-editing-rules-for-crops/
58	2025年3月28日	フロリダ大の新しい研究は、柑橘類のゲノム編集に対する消費者の反応を探ることになる	米国	https://www.freshfruitportal.com/news/2025/03/28/new-study-will-explore-consumer-response-to-genetic-editing/

表2 ゲノム編集動物に関する技術的論文

目的	No	タイトル	発表年	対象動物	目的遺伝子	国	ゲノム編集技術	主な成果	課題
技術の確立	1	Cytosine Base Editor (hA3A-BE3-NG)-Mediated Multiple Gene Editing for Pyramid Breeding in Pigs (豚のピラミッド育種のためのシトシン塩基編集ツール(hA3A-BE3-NG)を用いた複数遺伝子編集)	2020	ブタ	CD163 MSTN APN MC4R	中国	hA3A-BE3-NG	・hA3A-BE3-NGの有効性 ・複数遺伝子の同時編集に成功	・オフターゲット効果の存在 ・生体内での応用研究不足
	2	Generation of mutant pigs by lipofection-mediated genome editing in embryos (リポフェクション媒介型ゲノム編集による変異豚の生成)	2021	ブタ	MSTN	日本	CRISPR/Cas9	・リポフェクションを用いた簡便かつ低コストな CRISPR/Cas9 遺伝子編集の成功 ・オフターゲット効果なし	・モザイク変異の発生 ・編集効率の向上
	3	The genomes of precision edited cloned calves show no evidence for off-target events or increased de novo mutagenesis (精密に遺伝子編集されたクローン牛のゲノムにおいて、オフターゲット変異や新規変異 (de novo 変異) の増加は確認されなかった)	2021	ウシ	PMEL	ニュージーランド	CRISPR/Cas9	・オフターゲット効果なし ・新規変異 (de novo mutation) の増加なし	・細胞培養やクローン作成プロセスによる変異の影響 ・他の生殖技術との比較における新規変異率
	4	Generation of double knockout cattle via CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein (RNP) electroporation (CRISPR-Cas9 リボヌクレオプロテイン (RNP) エレクトロポレーションによるダブルノックアウト牛の生成)	2023	ウシ	MSTN PRNP BLG	韓国	CRISPR/Cas9	・エレクトロポレーションによる効率的な遺伝子編集 ・ダブルノックアウト牛の生成成功 ・健康に問題がないこと、オフターゲットがないことの確認 ・非 GMO としての可能性	・モザイク変異の発生リスク ・PRNP 変異の効率の低さ
	5	Versatile generation of precise gene edits in bovines using SEGCPN (SEGCPN を用いたウシにおける多用途で正確な遺伝子編集の生成)	2023	ウシ	MSTN SRY CSN1	中国	CRISPR/Cas9、TALEN	・精密な遺伝子編集の実現 ・不要配列の自己除去成功	・SCNT (体細胞核移植) への依存 ・オフターゲット効果の低減
	6	Multiplexed genome engineering for porcine fetal fibroblasts with gRNA-tRNA arrays based on CRISPR/Cas9 (CRISPR/Cas9 に基づく gRNA-tRNA アレイを用いた豚胎児線維芽細胞の多重ゲノム編集)	2023	ブタ	IGFBP3 MSTN MC4R SOCS2	中国	GTR-CRISPR	・GTR-CRISPR の有効性の実証 ・複数遺伝子の同時編集の成功	・各遺伝子の編集効率のばらつき ・複数遺伝子編集の副作用の可能性 ・生体内での応用研究不足
成長促進	7	Efficient Generation of Myostatin Mutations in Pigs Using the CRISPR/Cas9 System (CRISPR/Cas9 システムを使用したブタでの効率的なミオスタチン変異の作製)	2015	ブタ	MSTN	中国	CRISPR/Cas9	・筋肉量の増加を確認 ・高い編集効率 ・オフターゲット効果が最小限	・HDR (相同組換え修復) の効率が低い ・モザイク変異の存在
	8	Isozygous and selectable marker-free MSTN knockout cloned pigs generated by the combined use of CRISPR/Cas9 and Cre/LoxP (CRISPR/Cas9 と Cre/LoxP を組み合わせて作製された同型接合かつ選択マーカー遺伝子を含まない MSTN ノックアウトクローン豚)	2016	ブタ	MSTN	中国	CRISPR/Cas9	・CRISPR/Cas9 による高効率な MSTN ノックアウト ・Cre/LoxP システムによる選択マーカー遺伝子 (SMG) の効率的削除 ・筋肉量の増加と脂肪量の減少	・SCNT (体細胞核移植) の低効率
	9	Targeted disruption of sp7 and myostatin with CRISPR-Cas9 results in severe bone defects and more muscular cells in common carp (CRISPR-Cas9 を用いた sp7 およびミオスタチンの標的破壊は、コイにおいて深刻な骨欠損と筋肉細胞の増加を引き起こす)	2016	魚	MSTN sp7	中国	CRISPR/Cas9、TALEN	・高効率な変異誘発 ・筋肉繊維が肥大 ・多遺伝子同時編集の実証 ・骨の欠損 (特に頭蓋骨と背骨に欠損)	・表現型のばらつき ・sp7a 変異による骨形成障害
	10	Generation of Myostatin Gene-Edited Channel Catfish (Ictalurus punctatus) via Zygote Injection of CRISPR/Cas9 System (CRISPR/Cas9 システムを用いた受精卵注入によるミオスタチン遺伝子編集チャネルキャットフィッシュ (Ictalurus punctatus) の生成)	2017	魚	MSTN	アメリカ	CRISPR/Cas9	・筋肉成長と体重の増加 ・遺伝子変異 (複数の挿入・欠失) の具体的な確認	・商業的応用に向けたさらなる研究の必要性
	11	Editing porcine IGF2 regulatory element improved meat production in Chinese Bama pigs (中国のバマ豚における IGF2 遺伝子調節領域の編集により肉生産量が向上)	2018	ブタ	IGF2	中国	CRISPR/Cas9	・IGF2 遺伝子のイントロン 3-3072 領域編集による成長促進 ・筋肉繊維の肥大による筋肉量の増加 ・非コード領域編集の有効性	・長期的影響の評価不足
	12	Generation of myostatin-knockout chickens mediated by D10A-Cas9 nickase (D10A-Cas9 ニッカゼを介したミオスタチンノックアウト鶏の作製)	2020	ニワトリ	MSTN	中国	CRISPR/Cas9	・胸筋および脚筋の重量の増加 ・脂肪沈着量が減少 ・D10A-Cas9 ニッカゼの実用性	・筋肉成長の性差と部位差 ・鶏におけるゲノム編集の技術的困難さ
	13	Effective MSTN Gene Knockout by AdV-Delivered CRISPR/Cas9 in Postnatal Chick Leg Muscle (アデノウイルス (AdV) を用いた CRISPR/Cas9 による MSTN 遺伝子ノックアウトの効果: 孵化後ヒヨコ脚筋における研究)	2020	ニワトリ	MSTN	中国	CRISPR/Cas9	・AdV を用いた MSTN 遺伝子ノックアウトの成功 ・重要なシグナル経路と遺伝子の特定	・対照群の設計の不十分さ ・長期的影響の評価不足
	14	Myostatin regulates fatty acid desaturation and fat deposition through MEF2C/miR222/SCD5 cascade in pigs (ミオスタチンは、MEF2C/miR222/SCD5 カスケードを介して豚における脂肪酸の不飽和化と脂肪蓄積を調節する)	2020	ブタ	MSTN	中国	CRISPR/Cas9	・MSTN (ミオスタチン) の脂肪代謝における役割の解明 ・脂肪蓄積の減少 ・脂肪酸の不飽和化の減少	・遺伝子編集の効率と精度の課題 ・筋肉量と筋内脂肪含量のトレードオフ
	15	Integrated Microbiome and Metabolome Analysis Reveals a Positive Change in the Intestinal Environment of Myostatin Edited Large White Pigs (統合的な微生物叢およびメタボローム解析により、ミオスタチン編集大型白豚の腸内環境における肯定的な変化が明らかになる)	2021	ブタ	MSTN	中国	-	・MSTN 変異型での腸内微生物叢の変化 ・代謝物構成の変化 ・微生物と代謝物の相関	・腸内微生物叢の変化と観察された代謝の改善との因果関係の特定

目的	No	タイトル	発表年	対象動物	目的遺伝子	国	ゲノム編集技術	主な成果	課題
成長促進	16	Viscera Characteristics of MSTN-Edited Heterozygous Pigs(MSTN 編集ヘテロ接合豚の内臓特性)	2022	ブタ	MSTN	中国	CRISPR/Cas9	・筋肉量増加の利点と内臓特性の正常性 ・MSTN+/-豚の健康リスクの低さ	・繁殖能力などに影響があるかなどの調査の必要性
	17	Long-term, multidomain analyses to identify the breed and allelic effects in MSTN-edited pigs to overcome lameness and sustainably improve nutritional meat production(長期的かつ多領域の分析により、MSTN 編集された豚における品種および対立遺伝子の影響を特定し、跛行を克服して持続可能性を実現する)	2022	ブタ	MSTN	中国	CRISPR/Cas9	・後肢虚弱性の克服 ・肉質と栄養価の向上 (多価不飽和脂肪酸・タンパク質含有量が高く、脂肪含有量が低い) ・赤身肉率の向上 ・飼料効率(FCR)の維持	・遺伝的背景の影響に関するさらなる研究の必要性
	18	Growth Traits and Sperm Proteomics Analyses of Myostatin Gene-Edited Chinese Yellow Cattle(ミオスタチン遺伝子編集を施した中国黄牛の成長特性と精子プロテオミクス解析)	2022	ウシ	MSTN	中国	CRISPR/Cas9	・体重増加 ・精子運動性の向上 ・正常な繁殖能力	・冷凍精子の品質低下 ・代謝への影響の確認
	19	Myostatin Mutation Enhances Bovine Myogenic Differentiation through PI3K/AKT/mTOR Signalling via Removing DNA Methylation of RACK1(ミオスタチン変異は、RACK1 の DNA メチル化を除去することで PI3K/AKT/mTOR シグナル伝達を介し、牛の筋分化を促進する)	2022	ウシ	MSTN	中国	-	・MSTN の欠失による DNA 脱メチル化酵素が活性化 ・RACK1 遺伝子の役割の特定 ・MSTN 欠失による筋分化促進に PI3K/AKT/mTOR 経路が重要	・他のシグナル経路の可能性 ・エビジェネティクスのメカニズムの詳細
	20	Effects of Myostatin b Knockout on Offspring Body Length and Skeleton in Yellow Catfish (Pelteobagrus fulvidraco)(ミオスタチン b ノックアウトが黄鰻魚(Pelteobagrus fulvidraco)の子孫の体長と骨格に与える影響)	2023	魚	MSTN	中国	TALEN	・mstnb ノックアウトによる体長短縮 ・骨格構造の変化 ・成長性能の低下 ・mstnb 遺伝子の役割の解明	・遺伝子機能の研究が不十分である場合における予期しない影響が生じる可能性
	21	Alterations in the fillet quality of myostatin-knockout red sea bream Pagrus major: Preliminary insights into nutritional, compositional, and textural properties(ミオスタチン欠損型マダイのフィレ品質の変化:栄養、組成、およびテクスチャー特性に関する予備的知見)	2024	魚	MSTN	日本	CRISPR/Cas9	・MSTN 変異マダイのフィレ品質の向上(保水力・柔らかさ・栄養成分) ・筋繊維の肥大化 ・経済的・実用的意義	・脂質代謝における MSTN の役割の解明不足
疫病耐性	22	TALE nickase-mediated SP110 knockin endows cattle with increased resistance to tuberculosis (TALE ニッカーゼを介した SP110 ノックインがウシに結核耐性を向上)	2015	ウシ	SP110	中国	TALEN	・結核耐性の向上 ・壊死性病変が抑制され、アポトーシスが優勢になる ・SP110 遺伝子のマクロファージ特異的発現と遺伝性	・SP110 の他の細胞や全身的な影響の検証
	23	Precision engineering for PRRSV resistance in pigs: Macrophages from genome edited pigs lacking CD163 SRCR5 domain are fully resistant to both PRRSV genotypes while maintaining biological function(PRRS ウイルス耐性のための精密工学:CD163 SRCR5 ドメインを欠損したゲノム編集ブタ由来のマクロファージは、PRRS ウイルスの両方の遺伝子型に完全に耐性を示し、生物学的機能を維持)	2017	ブタ	CD163	イギリス	CRISPR/Cas9	・PRRSV 完全耐性 ・健康状態の維持	・SRCR5 ドメインの削除の他の影響の検証
	24	Pigs Lacking the Scavenger Receptor Cysteine-Rich Domain 5 of CD163 Are Resistant to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus 1 Infection(CD163 のスカベンジャーレセプターシステインリッチドメイン 5 を欠損した豚は豚繁殖・呼吸器症候群ウイルス 1 型感染に耐性を持つ)	2018	ブタ	CD163	イギリス	CRISPR/Cas9	・PRRSV 完全耐性 ・CD163 の他の機能の保持	・サイトカインに関するさらなる研究が必要
	25	Highly Efficient Generation of Pigs Harboring a Partial Deletion of the CD163 SRCR5 Domain, Which Are Fully Resistant to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus 2 Infection (CD163 SRCR5 ドメインの部分欠失を持ち、豚繁殖・呼吸器症候群ウイルス 2 型感染に完全に耐性を持つ豚の高効率な作製)	2019	ブタ	CD163	中国	CRISPR/Cas9	・PRRSV 完全耐性 ・CD163 の生理学的機能の維持 ・免疫応答の正常性	・他の感染症に対する応答や、成長、繁殖、その他の表現型の特徴の評価
	26	Generation of Pigs Resistant to Highly Pathogenic-Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus through Gene Editing of CD163(CD163 の遺伝子編集による高病原性豚繁殖・呼吸器症候群ウイルス(HP-PRRSV)耐性豚の作出)	2019	ブタ	CD163	中国	CRISPR/Cas9	・PRRSV 耐性の向上 ・CD163 の生理学的機能の維持	・一部の編集豚で耐性効果が弱い ・PRRSV 以外の病原体への影響が未検証
	27	CD163 and pAPN double-knockout pigs are resistant to PRRSV and TGEV and exhibit decreased susceptibility to PDCoV while maintaining normal production performance(CD163 および pAPN ダブルノックアウトブタは PRRSV および TGEV に耐性を持ち、PDCoV への感受性が低下する一方で正常な生産性を維持)	2020	ブタ	CD163 pAPN	中国	CRISPR/Cas9	・PRRSV および TGEV に対する完全耐性 ・PDCoV に対する感受性の低下 ・生産性能への影響なし	・大規模な生産性試験の実施 ・PDCoV に対するさらなる耐性メカニズムの解明
	28	Acquiring Resistance Against a Retroviral Infection via CRISPR/Cas9 Targeted Genome Editing in a Commercial Chicken Line(CRISPR/Cas9 を用いた商業用ニワトリ系統におけるレトロウイルス感染耐性の獲得)	2020	ニワトリ	NHE1	ドイツ	CRISPR/Cas9	・ALV-J 完全耐性 ・ゲノム編集による健康・成長への影響がない ・CRISPR/Cas9 の高精度な編集効率	・CB 系統での研究の限界
	29	HMEJ-based safe-harbor genome editing enables efficient generation of cattle with increased resistance to tuberculosis(HMEJ ベースのセーフハーバーゲノム編集により、結核抵抗性が向上したウシの効率的な生成が可能に)	2021	ウシ	NRAMP1	中国	CRISPR/Cas9	・HMEJ 法の高効率性 ・bROSA26 遺伝子座の GSH(ゲノムの安全なハーバー)としての有用性 ・結核抵抗性の向上	・HMEJ 経路のメカニズム解明 ・大規模なオフターゲット解析の必要性 ・効率向上のさらなる検討
	30	Generation of a Commercial-Scale Founder Population of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Resistant Pigs Using CRISPR-Cas(CRISPR-Cas を使用して作製された豚繁殖・呼吸器症候群ウイルス耐性豚の商業規模創始集団の生成)	2024	ブタ	CD163	アメリカ	CRISPR/Cas9	・PRRSV 完全耐性 ・健康および生産性の維持 ・商業規模での成功 ・E1 世代および E2 世代でのオフターゲット効果排除	・モザイク動物の発生 ・編集効率の向上

目的	No	タイトル	発表年	対象動物	目的遺伝子	国	ゲノム編集技術	主な成果	課題
疫病耐性	31	Pigs lacking the SRCR5 domain of CD163 protein demonstrate heritable resistance to the PRRS virus and no changes in animal performance from birth to maturity (CD163 タンパク質の SRCR5 ドメインを欠くブタは、PRRS ウイルスに対する遺伝性の耐性を示し、生まれてから成熟するまで動物のパフォーマンスに変化がない)	2024	ブタ	CD163	アメリカ	CRISPR/Cas9	・PRRSV 完全耐性 ・成長、繁殖、肉質、成分へのゲノム編集による影響がない	・PRRSV 以外の病原体への影響が未検証
	32	Rapid adaptive evolution of avian leukosis virus subgroup J in response to biotechnologically induced host resistance (生物工学的に誘導された宿主耐性に対する鳥類白血病ウイルスサブグループ J の迅速な適応進化)	2024	ニワトリ	NHE1	チェコ	CRISPR/Cas9	・ΔW38 変異による耐性をウイルスが克服 ・ウイルスの適応進化の迅速性 ・広範な受容体改変の有効性	・単一アミノ酸改変の限界 ・ウイルスの適応進化のリスク
	33	Genetically modified pigs lacking CD163 PSTII-domain-coding exon 13 are completely resistant to PRRSV infection (遺伝子改変により CD163 PSTII ドメインをコードするエクソン 13 を欠損したブタは PRRSV 感染に完全耐性を持つ)	2024	ブタ	CD163	アメリカ	CRISPR/Cas9	・PRRSV 完全耐性 ・CD163 の生理機能の維持	・PRRSV 以外の病原体への影響 ・商業的利用に向けた追加評価の必要性 ・長期的影響の不明確さ
	34	Genetically modified pigs with CD163 point mutation are resistant to HP-PRRSV infection (CD163 点変異を持つ遺伝子改変豚は高病原性 PRRS ウイルス感染に耐性を持つ)	2024	ブタ	CD163	中国	CRISPR/Cas9	・PRRSV 抵抗性の向上 ・CD163 の生理機能の維持	・他の PRRSV 株への有効性 ・長期的影響の評価
食品品質向上	35	Site-Specific Fat-1 Knock-In Enables Significant Decrease of n-6PUFAs/n-3PUFAs Ratio in Pigs (サイト特異的な Fat-1 ノックインにより、豚の n-6PUFAs/n-3PUFAs 比を大幅に低減)	2018	ブタ	Fat-1	中国	CRISPR/Cas9	・n-6PUFAs/n-3PUFAs 比の大幅な改善 ・Fat-1 遺伝子の安定発現 ・次世代への遺伝子伝達 ・バイオセーフティの向上	・長期的な安全性と健康効果の未検証
	36	Production of hypoallergenic milk from DNA-free beta-lactoglobulin (BLG) gene knockout cow using zinc-finger nucleases mRNA (ジンクフィンガーヌクレアーゼ mRNA を使用した DNA フリーの β-ラクトグロブリン (BLG) 遺伝子ノックアウト牛を用いた低アレルギー性牛乳の生産)	2018	ウシ	BLG	中国	ZFN	・BLG 遺伝子の完全ノックアウト ・低アレルギー性の獲得 ・オフターゲット効果なし	・BLG 以外のアレルギーの影響
	37	Cattle with a precise, zygote-mediated deletion safely eliminate the major milk allergen beta-lactoglobulin (正確な接合子段階での欠失により主要な牛乳アレルギーである β-ラクトグロブリンを安全に除去した牛)	2018	ウシ	BLG	ニュージーランド	TALEN	・BLG フリー牛乳の生成 ・オフターゲット効果なし ・乳成分の変化	・短縮型 BLG タンパク質の残存 ・乳成分の変化への対応
	38	Production and characterization of eggs from hens with ovomucoid gene mutation (オボムコイド遺伝子変異を持つ鶏からの卵の生産と特性評価)	2021	ニワトリ	OVM	日本	CRISPR/Cas9	・オボムコイド (OVM) の発現をほぼ完全に除去 ・卵の正常な生産性と孵化能力 ・オフターゲット効果なし	・卵白の物理的特性的変化 ・短縮型 OVM 変異体の存在
環境耐性	39	Production of light-coloured, low heat-absorbing Holstein Friesian cattle by precise embryo-mediated genome editing (胚を介した正確なゲノム編集による、淡色で低熱吸収のホルスタイン種牛の作出)	2023	ウシ	PMEL	ニュージーランド	TALEN	・淡色被毛 (灰色と白色) 牛の作出に成功 ・熱吸収の低減 ・ゲノム編集の効率性	・モザイク型、意図しない変異の発生 ・編集済み胚の妊娠成功率の低さ
	40	Consequences of gene editing of PRLR on thermotolerance, growth, and male reproduction in cattle (PRLR の遺伝子編集が牛の熱耐性、成長、および雄の繁殖能力に与える影響)	2024	ウシ	PRLR	アメリカ	CRISPR/Cas9	・熱耐性の向上 ・成長促進 ・繁殖能力への影響なし	・ジャージー種のデータ不足
動物福祉	41	Comparison of gene editing versus conventional breeding to introgress the POLLED allele into the US dairy cattle population (POLLED 遺伝子を米国酪農牛の集団に導入するための遺伝子編集と従来の育種の比較)	2019	ウシ	POLLED	アメリカ	-	・ゲノム編集の有効性、育種の迅速化 ・経済的利点の維持	・遺伝的多様性の維持
	42	CRISPR/Cas9-editing of KISS1 to generate pigs with hypogonadotropic hypogonadism as a castration free trait (去勢不要な特性として低性腺刺激ホルモン性性腺機能低下症を持つ豚を作出するための KISS1 の CRISPR/Cas9 編集)	2023	ブタ	KISS1	アメリカ	CRISPR/Cas9	・KISS1 遺伝子編集による性成熟の抑制 ・体重や成長への影響なし	・モザイク型の発生 ・部分的な KISS1 破壊による性成熟の進行 ・KISS1 KO 豚の繁殖能力の回復方法が未解決
	43	Simulation of dual-purpose chicken breeding programs implementing gene editing (遺伝子編集を実装した二重目的鶏の育種プログラムのシミュレーション)	2024	ニワトリ	-	ドイツ	-	・ゲノム編集による遺伝的進歩の加速 ・編集数が少ない場合の健康形質への影響 ・遺伝的多様性の維持 ・レイヤー鶏とブロイラー鶏の交配を基盤としたシナリオの有効性	・編集数が多い場合の健康への悪影響

表3 ゲノム編集動物に関する社会的論文

No	タイトル	発表年	対象動物	目的遺伝子	国	主な成果	課題
1	Economic considerations of breeding for polled dairy cows versus dehorning in the United States(アメリカにおける無角乳牛の繁殖と除角の経済的考察)	2017	ウシ	POLLED	アメリカ	・除角のコスト評価 ・無角遺伝子の導入コスト評価	・無角遺伝子の遺伝的優位性の低さ ・ゲノム編集技術の初期導入コスト ・ゲノム編集技術の規制と受容性
2	Predicting Public Attitudes Toward Gene Editing of Germlines: The Impact of Moral and Hereditary Concern in Human and Animal Applications(生殖細胞系の遺伝子編集に対する一般的な態度の予測: 人間および動物応用における倫理的および遺伝的懸念の影響)	2019	-	-	オーストラリア	・応用分野による支持の違い (食用動物への遺伝子編集は、支持が低い) ・個人属性による態度の違い ・倫理的懸念と遺伝的懸念の独立性 ・政策・教育への示唆	・倫理的・遺伝的懸念の克服 ・応用分野間の支持のギャップ ・一般市民の理解不足
3	Public attitudes towards genetically modified polled cattle(遺伝子改変された無角牛に対する世論の態度)	2019	ウシ	POLLED	アメリカ	・公衆の態度に関する肯定的な傾向 ・社会的望ましさバイアスの最小化 ・リスクと利益の認識は負の相関 ・ゲノム編集技術の認知度の低さ	・技術に対する懸念の存在 ・認知度向上の必要性
4	Public attitudes toward genetic modification in dairy cattle(乳牛における遺伝子改変に対する一般市民の態度)	2019	ウシ	-	カナダ	・疫病耐性の改変が無角化より肯定的 ・動物福祉を目的とした場合の支持が最も高い ・知識が多い参加者は肯定的な態度を示す傾向がある	・「不自然さ」や「倫理的懸念」への対応 ・目的が明示されない場合の否定的態度
5	Is gene editing an acceptable alternative to castration in pigs?(遺伝子編集は豚の去勢に対する受け入れ可能な代替手段となり得るか?)	2019	ブタ	KISSR	ブラジル	・リスク認識が高いほど受容性が低下 ・利益認識が高いほど受容性が向上 ・農業環境で育った参加者は、より懐疑的で受容性が低い ・多くの参加者がゲノム編集に関する情報不足を実感 ・「動物福祉を向上させるなら」という条件付きでの支持	・倫理的懸念の存在 ・未知のリスク ・情報の透明性の不足
6	Public Perceptions Regarding Genomic Technologies Applied to Breeding Farm Animals: A Qualitative Study(家畜の繁殖に適用されるゲノム技術に関する一般市民の認識: 質的研究)	2021	-	-	イギリス	・動物福祉や環境持続性を向上させる目的の技術は、肯定的に評価 ・商業的利益や生産性向上を主目的とした技術は否定的に捉えられる傾向 ・遺伝子組換えと比べ、ゲノム編集技術は比較的「自然に近い」と見なされ、受け入れられやすい ・倫理的懸念が受容性に大きく影響	・規制の整備と信頼構築 ・技術のリスクに対する懸念 ・技術の使用が商業的利益の場合への不信感
7	Public perceptions of potential adaptations for mitigating heat stress on Australian dairy farms(オーストラリアの酪農場における熱ストレス緩和策に対する公衆の認識)	2022	ウシ	-	オーストラリア	・ゲノム編集技術を用いたシステムへの評価は低い ・倫理的懸念の存在 ・ゲノム編集技術を用いて生産された牛乳に対する購入意欲は低い	・公衆の倫理的懸念への対応 ・技術に対する信頼の確立 ・公衆の価値観とのギャップ
8	Right on the money? U.S. dairy farmers' varied understanding of consumer preferences and attitudes towards animal health, welfare and biotechnology(正確に理解しているのか? アメリカの酪農家による消費者の嗜好と動物の健康、福祉、バイオテクノロジーに対する態度の多様な理解)	2023	ウシ	-	アメリカ	・消費者のゲノム編集使用商品の購買意欲に対する認識のズレ ・痛みを伴わない除角に関する認識の一致	・遺伝子編集技術に対する消費者態度の誤解 ・消費者購買意欲と投票行動の違いへの対応不足 ・調査データの言語や文脈の違いによる誤解の可能性がある
9	Public attitudes toward the use of technology to create new types of animals and animal products(技術を使用して新しい種類の動物や動物製品を作り出すことに対する一般市民の態度)	2023	-	-	カナダ	・動物福祉の観点が支持を左右 ・倫理的懸念の重要性 ・トレードオフ思考の存在	・技術に対する拒否感 ・一般市民の意識と技術開発のギャップ
10	Enhancing Animals is "Still Genetics": Perspectives of Genome Scientists and Policymakers on Animal and Human Enhancement(動物の強化は「依然として遺伝学」: ゲノム科学者と政策立案者による動物および人間の強化に関する視点)	2024	-	-	アメリカ	・動物のゲノム編集は「依然として遺伝学」として認識 ・動物ゲノム編集の環境への貢献	・動物福祉の向上が目的とされる一方で、その改善が主に人間の利益中心に議論 ・倫理的配慮の欠如 ・環境への影響に関する不確実性 ・社会的議論の不足
11	Gene editing in animals: What does the public want to know and what information do stakeholder organizations provide?(動物における遺伝子編集: 一般市民が知りたいことと、利害関係者が提供する情報)	2024	-	-	カナダ	・一般市民の関心と質問の傾向 ・一般市民の関心と FAQ ページとのギャップ ・一般市民はリスクと倫理的懸念に関心	・FAQ ページの情報不足 ・市民との対話不足 ・倫理的・社会的懸念への対応不足
12	Attitudes of western Canadian dairy farmers toward technology(西カナダの酪農家の技術に対する態度)	2024	-	-	カナダ	・ゲノム編集技術は議論が少ない段階 ・一部の農家は受け入れの可能性を示唆	・未知のリスクと倫理的な問題 ・消費者信頼の確保
13	Risk-appropriate regulations for gene-editing technologies(ゲノム編集技術におけるリスク適切な規制)	2024	-	-	イギリス	・ゲノム編集技術の可能性 ・科学的根拠に基づく「リスク適切な規制」の必要性	・過度に慎重な規制の影響 ・商業化までのコストと時間が技術革新の妨げ ・技術革新の遅れによるリスク

表4 「アニマルウェルフェアとゲノム編集」に関する記事・論文

No	タイトル	分類	掲載日	URL
1	動物のゲノム編集、日本はアニマルウェルフェアの評価なし	言説	2022/3/24	https://www.hopeforanimals.org/animal-welfare/genome-editing-cruelty/
2	ゲノム編集という次なる暴力	言説	2024/6/28	https://arcj.org/issues/animal-welfare/genome-editing/
3	ゲノム編集技術の動物応用をめぐる社会的課題	論文	2020/3/1	https://www.jstage.jst.go.jp/article/jfsr/26/4/26_283/_pdf
4	キュービーがゲノム編集卵の臨床試験～質問状を送付	言説	2024/8/23	https://gmo-iranai.org/?p=4781
5	【令和5年度第1回研修会】ゲノム編集技術の現状と今後について	言説	2023/9/12	https://jlta.jp/archives/2178
6	アニマルライツチャンネル vol53[動物のゲノム編集]	言説	2024/5/24	https://arcj.org/issues/animal-welfare/ar-channel-53/
7	5月のオンライン学習会「畜産の現状とアニマルウェルフェア」	言説	2024/7/22	https://v3.okseed.jp/news/4532
8	アニマルウェルフェアや人権に配慮した食品の購入意向に関する国際比較	論文	2023/7/11	https://www.murc.jp/wp-content/uploads/2023/07/seiken_230711_01.pdf
9	Review: Towards an integrated concept of animal welfare	論文	2023/8/4	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751731123001349
10	規範的な食の倫理の再検討	論文	2022/3/1	https://www.senshu-u.ac.jp/~off1009/PDF/nenpo/nenpo56/nenpo56_itai.pdf
11	Animal Welfare in the European Union	論文	2017/1/1	https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/STUD/2017/583114/IPOL_STU(2017)583114_EN.pdf
12	日本の食料自給率はなぜ低いままなのか	論文	2024/8/1	https://doi.org/10.60233/ijsci.59.8_40
13	食用および飼料用のための昆虫の生産と利用に関する研究動向と今後の課題	論文	2023/1/1	https://doi.org/10.2508/chikusan.94.1
14	スマート飼養衛生管理システム創出による畜産物の安定供給	論文	2022/1/1	https://ajass.jp/Sympo/2021/6manabe.pdf
15	ニワトリフリーの鶏卵生産の可能性	論文	2022/7/20	https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010942229
16	食農政策転換と先端技術への期待：社会技術レジームの視点から	論文	2022/12/25	https://www.jstage.jst.go.jp/article/nokei/94/2/94_120/_article-charlja/
17	ゲノム編集技術の動物応用をめぐる社会的課題	論文	2020/3/1	https://www.jstage.jst.go.jp/article/jfsr/26/4/26_283/_pdf-charlja
18	ゲノム編集技術応用食品とそのガバナンスに対する消費者意識 一日米独の比較ー	論文	2022/1/1	https://doi.org/10.5874/jfsr.21_00034
19	4つの共生論ー共生を「ともいき」「シンバイオーシス」「エコシステム」「インクルージョン」の4つの視点から整理する	論文	2023/1/1	https://doi.org/10.50829/miraikyoso.10.0_75
20	Genome editing in livestock: Are we ready for a revolution in animal breeding industry?	論文	2017/11/1	https://link.springer.com/article/10.1007/s11248-017-0049-7
21	AnimalWelfare Science: Why and for Whom?	論文	2023/6/1	https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10252133/
22	Basics of genome editing technology and its application in livestock species	論文	2017/8/16	https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/rda.13012
23	Common marmoset as a new model animal for neuroscience research and genome editing technology	論文	2014/1/5	https://doi.org/10.1111/dgd.12109
24	Genome Editing of Pigs for Agriculture and Biomedicine	論文	2018/9/4	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30233645/
25	Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines	論文	2016/5/6	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27153274/
26	Animal welfare: Methods to improve policy and practice	論文	2023/7/6	https://www.science.org/doi/10.1126/science.adf0121
27	Farm animal welfare: Beyond "natural" behavior	論文	2023/1/26	https://www.science.org/doi/10.1126/science.adf5437
28	The EU must stick to its animal-welfare commitments	論文	2023/10/17	https://www.nature.com/articles/d41586-023-03231-y
29	卵の中のひなの性別を、ふ化前に目の色で「目利き」する手法を開発	その他	2024/7/1	https://www.agrnews.co.jp/news/prtimes/242593
30	イスラエル企業、採卵鶏の雌だけが孵化する方法を開発	言説	2022/2/15	https://www.hopeforanimals.org/eggs/only-females-hatch/
31	記者会見：宮津市におけるゲノム編集魚養殖とその拡張計画について	言説	2023/1/30	https://v3.okseed.jp/news/4404
32	独で雄ヒヨコの殺処分禁止へ アニマル・ウェルフェアの最新事情	言説	2021/2/14	https://www.ethicalfood.online/2021/02/141006.html
33	卵内雌雄鑑別法への助成、5億円にアップ	言説	2024/1/11	https://arcj.org/issues/farm-animals/layer-chicken/chick-culling-subsidy/
34	株式会社リジョナルフィッシュ よくいただく質問（FAQ）抜粋「食品としての安全性などについて」	その他	HP	https://regional.fish/faq/
35	ゲノム編集技術で有用たんばく質を大量に含む卵を産む鶏を開発 産総研と農研機構	その他	2018/7/25	https://keimei.ne.jp/article/%e3%82%b2%e3%83%8e%e3%83%a0%e7%b7%a8%e9%9b%86%e6%8a%80%e8%a1%93%e3%81%a7%e6%9c%89%e7%94%a8%e3%81%9f%e3%82%93%e3%81%b1%e3%81%8f%e8%b3%aa%e3%82%92%e5%a4%a7%e9%87%8f%e3%81%ab%e5%90%ab%e3%82%80%e5%8d%b5.html
36	環境省がゲノム編集に関する方針決定～倫理観の欠如した研究者の動画もアップしました	言説	2018/8/31	https://animals-peace.net/experiments/env-genomeediting.html
37	持続可能な畜産業を支えるために畜産学に求められるもの	論文	2020/1/1	https://www.jstage.jst.go.jp/article/chikusan/91/3/91_296/_pdf
38	独自のゲノム編集技術でゲノム編集ニワトリ個体の作出に成功 セツロテック	その他	2023/1/11	https://www.jacom.or.jp/saibai/news/2023/01/230111-63952.php
39	「遺伝子組み換え食品いらない！キャンペーン」アニマルウェルフェアからゲノム編集考える	言説	2022/3/14	https://www.nouminren.ne.jp/old/shinbun/202203/2022031410.htm

No	タイトル	分類	掲載日	URL
40	【寄稿】ゲノム編集魚の養殖問題に関する記者会見報告＝松尾由美(コープ自然派事業連合遺伝子操作問題担当)	言説	2023/4/5	https://table-shizenha.jp/?p=7624
41	【質問状】新宿店におけるゲノム編集トラフグ商品販売に関する公開質問状(2023 年 8 月 3 日)	言説	2023/8/3	https://nishoren.net/new-information/open_letter/18915
42	東京農工大学 農学部 畜産学研究室 新村グループ(システム行動生物学研究グループ)	その他	HP	https://tsuyoshishimmura.wixsite.com/website-1/research
43	Potential of promotion of alleles by genome editing to improve quantitative traits in livestock breeding programs	論文	2015/7/2	https://gsejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12711-015-0135-3
44	Single Cas9 nickase induced generation of NRAMP1 knockin cattle with reduced off-target effects	論文	2017/2/1	https://link.springer.com/article/10.1186/s13059-016-1144-4?utm_source=getftr&utm_medium=getftr&utm_campaign=getftr_pilot
45	Recent Advances in the Application of CRISPR/Cas9 Gene Editing System in Poultry Species	論文	2021/2/19	https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2021.627714/full#ref121
46	CRISPR in livestock: From editing to printing	論文	2020/7/1	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X20300765?via%3Dihub
47	Genome editing in large animals: current status and future prospects	論文	2019/5/3	https://academic.oup.com/nsr/article/6/3/402/5304991?login=true
48	Potential of Genome Editing to Improve Aquaculture Breeding and Production	論文	2019/9/9	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016895251930126X
49	CRISPR/Cas12a mediated knock-in of the Polled Celtic variant to produce a polled genotype in dairy cattle	論文	2020/8/11	https://www.nature.com/articles/s41598-020-70531-y
50	Genomic and phenotypic analyses of six offspring of a genome-edited hornless bull	論文	2019/10/7	https://www.nature.com/articles/s41587-019-0266-0
51	The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows	論文	2023/1/1	https://www.cambridge.org/core/journals/animal-welfare/article/impact-of-genetic-selection-for-increased-milk-yield-on-the-welfare-of-dairy-cows/8205D0F1FF6B9092F168A49B78EC5CD8
52	The myostatin gene: an overview of mechanisms of action and its relevance to livestock animals	論文	2018/8/20	https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/age.12696
53	CRISPR/Cas9-mediated MSTN disruption accelerates the growth of Chinese Bama pigs	論文	2020/7/17	https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/rda.13775
54	The CRISPR/Cas9 induces large genomic fragment deletions of MSTN and phenotypic changes in sheep	論文	2020/4/4	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095311919628534?pes=vor
55	The SLICK hair locus derived from Senepol cattle confers thermotolerance to intensively managed lactating Holstein cows	論文	2014/9/9	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030214004573
56	Prospects for gene introgression or gene editing as a strategy for reduction of the impact of heat stress on production and reproduction in cattle	論文	2020/9/15	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X20302946?via%3Dihub
57	Improvement of Disease Resistance in Livestock: Application of Immunogenomics and CRISPR/Cas9 Technology	論文	2020/11/28	https://www.mdpi.com/2076-2615/10/12/2236
58	TALE nickase-mediated SP110 knockin endows cattle with increased resistance to tuberculosis	論文	2014/11/11	https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1421587112
59	Highly efficient modification of beta-lactoglobulin (BLG) gene via zinc-finger nucleases in cattle	論文	2011/9/13	https://www.nature.com/articles/cr2011153
60	Production of hypoallergenic milk from DNA-free beta-lactoglobulin (BLG) gene knockout cow using zinc-finger nucleases mRNA	論文	2018/10/18	https://www.nature.com/articles/s41598-018-32024-x
61	Pigs Lacking the Scavenger Receptor Cysteine-Rich Domain 5 of CD163 Are Resistant to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus 1 Infection	論文	2018/7/31	https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.00415-18
62	Gene-edited pigs are protected from porcine reproductive and respiratory syndrome virus	論文	2016/1/1	https://www.nature.com/articles/nbt.3434
63	Reconstitution of UCP1 using CRISPR/Cas9 in the white adipose tissue of pigs decreases fat deposition and improves thermogenic capacity	論文	2017/5/12	https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1707853114
64	Alterations in the fillet quality of myostatin-knockout red sea bream Pagrus major: Preliminary insights into nutritional, compositional, and textural properties	論文	2024/6/15	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844024082732
65	Production of a breed of red sea bream Pagrus major with an increase of skeletal muscle mass and reduced body length by genome editing with CRISPR/Cas9	論文	2018/10/1	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848617324705
66	Growth rate, body composition and feed digestibility/conversion of growth-enhanced transgenic Atlantic salmon (Salmo salar)	論文	2000/8/1	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004484860003318#preview-section-references
67	CRISPR/Cas9-mediated myostatin disruption enhances muscle mass in the olive flounder Paralichthys olivaceus	論文	2019/10/15	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848619309287
68	Public attitudes toward genetic modification in dairy cattle	論文	2019/12/2	https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0225372
69	Exploring Factors Affecting the Acceptance of Genetically Edited Food Among Youth in Japan	論文	2020/4/23	https://www.mdpi.com/1660-4601/17/8/2935
70	Genome Engineering in Livestock: Recent Advances and Regulatory Framework	論文	2022/12/22	https://acspublisher.com/journals/index.php/aru/article/view/3427
71	Do U.S. consumers value genetically modified farmed salmon?	論文	2023/4/1	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0950329323000356

研究成果の刊行に関する一覧表
(令和6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
田口千恵, 柴田識人, 近藤一成	ゲノム編集食品安全性確保の取り組み周知と現在の安全性確認手法に関する調査研究	食品衛生学雑誌	65	89-94	2024
柴田識人	ゲノム編集技術応用食品の事前相談・届出制度	PHARM TECH JAPAN	40	91-94	2024
Nozomi Fukuda, Keisuke Soga, Chie Taguchi, Jumpei Narushima, Kozue Sakata, Reiko Kato, Satoko Yoshida, Norihito Shibata, Kazunari Kondo	Cell cycle arrest combined with CDK1 inhibition suppresses genome-wide mutations by activating alternative DNA repair genes during genome editing	J. Biol. Chem	300	107695	2024
早川英介	質量分析インフォマティクスによる未知化合物の解析技術	化学工学誌	89	85-89	2025
Ryuma Shineha, Kohei F. Takeda, Yube Yamaguchi, Nozomu Koizumi.	A comparative analysis of attitudes towards genome-edited food among Japanese public and scientific community.	PLoS ONE	19	E0300107	2024
Ryohei Yamamoto, Seigo Higuchi, Yuji Iwata, Satomi Takeda, Nozomu Koizumi, Kei-ichiro Mishiba	High β -carotene accumulation in transgenic eggplant fruits grown under artificial light	Plant Biotechnology	41	77-81	2024

消費者庁長官 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 本間 正充

次の職員の令和6年度食品衛生基準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 食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）
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推進のための研究
3. 研究者名 （所属部署・職名） 生化学部・部長
- （氏名・フリガナ） 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 有 無	左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
		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）	☐ ☒	☐		☐
	☐ ☐	☐		☐
	☐ ☐	☐		☐
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： ）	☐ ☒	☐		☐

（※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）未審査に場合は、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. 消費者庁の行う食品安全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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☐ 無 ☒ （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。

消費者庁長官 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 本間 正充

次の職員の令和6年度食品衛生基準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 食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）

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推進のための研究

3. 研究者名 （所属部署・職名） 生化学部・室長

（氏名・フリガナ） 曾我 慶介・ソガ ケイスケ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
		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）	☐ ☒	☐		☐
	☐ ☐	☐		☐
	☐ ☐	☐		☐
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： ）	☐ ☒	☐		☐

（※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）未審査に場合は、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. 消費者庁の行う食品安全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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☐ 無 ☒ （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。

消費者庁長官 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 本間 正充

次の職員の令和6年度食品衛生基準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 食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）

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推進のための研究

3. 研究者名 （所属部署・職名） 生化学部 ・ 室長

（氏名・フリガナ） 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）	☐	☒	☐		☐
	☐	☐	☐		☐
	☐	☐	☐		☐
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：）	☐	☒	☐		☐

（※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）未審査に場合は、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. 消費者庁の行う食品安全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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☐ 無 ☒ （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。

消費者庁長官 殿

機関名 国立大学法人九州工業大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 三谷 康範

次の職員の令和6年度食品衛生基準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 食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）
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推進のための研究
3. 研究者名 （所属部署・職名） 情報工学研究院 生命化学情報工学研究系 准教授
（氏名・フリガナ） 早川英介 ハヤカワエイスケ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
		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）	☐ ☒	☐		☐
	☐ ☐	☐		☐
	☐ ☐	☐		☐
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： ）	☐ ☐	☐		☐

（※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）未審査に場合は、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. 消費者庁の行う食品安全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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☐ 無 ☒ （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。

消費者庁長官 殿

機関名 公立大学法人大阪

所属研究機関長 職 名 理事長

氏 名 福島 伸一

次の職員の令和 6 年度食品衛生基準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 食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）
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推進のための研究
3. 研究者名 （所属部署・職名） 農学研究科・教授
- （氏名・フリガナ） 小泉 望・コイズミ ノゾム

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）	☐	☒	☐		☐
	☐	☐	☐		☐
	☐	☐	☐		☐
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：）	☐	☐	☐		☐

（※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）未審査に場合は、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. 消費者庁の行う食品安全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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☐ 無 ☒ （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。