

ゲノム編集技術応用食品（マダイ）の事前相談に係る確認結果

「ゲノム編集技術応用食品及び添加物の食品衛生上の取扱要領」（令和元年 9 月 19 日付け生食発 0919 第 3 号）に基づき、令和 2 年 7 月 22 日付けでリージョナルフィッシュ株式会社より事前相談のあったマダイについて、令和 3 年 9 月 17 日に薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会新開発食品調査部会遺伝子組換え食品等調査会（以下「調査会」という。）の委員及び参考人の意見を聴き、E189-E90 系統について届出に該当するものとし、残りの系統（E361-E90 系統、従来品種-B224 系統）については、追加試験を求めていたところ。この度、「外来遺伝子及びその一部の残存がないことの確認に関する情報」について、追加データの提出があったことから、調査会の委員及び参考人の意見を聴き、以下の内容について確認した。

1. 提出資料の確認

(1) 開発した食品の品目・品種名及び概要（利用方法及び利用目的）

【可食部増量マダイ（E361-E90 系統、従来品種-B224 系統）】

ゲノム編集技術を用いて、骨格筋における骨格筋肥大抑制因子のミオスタチンの遺伝子の一部を改変することで、骨格筋の肥大が抑制されず、マダイの可食部が増量する。

(2) 利用したゲノム編集技術の方法及び改変の内容

前回調査会（令和 3 年 9 月 17 日実施）にて確認済みのため省略。

(3) 外来遺伝子及びその一部の残存がないことの確認に関する情報

①ゲノム編集当代において RNA（mRNA 及び gRNA）のみの移入である。

②雑種第 1 代（〇〇〇個体）、E361×E90 由来の雑種第 2 代（〇〇〇個体）及び従来品種×B224 由来の雑種第 2 代（〇〇〇個体）において、マダイゲノム上に RNA（Cas9 mRNA 及び gRNA）に相当する配列が組み込まれていないことを PCR 法によって確認した。

③E361×E90 由来の雑種第 2 代のうちホモ接合体〇〇〇個体及び従来品種×B224 由来の雑種第 2 代のヘテロ接合体〇〇〇個体において、マダイゲノム上に RNA（Cas9 mRNA 及び gRNA）に相当する配列が組み込まれていないことを全ゲノム配列解析（Whole Genome Sequencing）（BWA MEM(ver. 0.7.17)と k-mer 法を用いて解析）（以下「全ゲノム配列解析」という。）によって確認した。

(4) 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

前回調査会（令和 3 年 9 月 17 日実施）にて確認済みのため省略。

- (5) 特定の成分を増加・低減させるため代謝系に影響を及ぼす改変を行ったものについては、標的とする代謝系に関連する主要成分（栄養成分に限る。）の変化に関する情報

前回調査会（令和3年9月17日実施）にて確認済みのため省略。

2. 確認結果

- (1) 確認結果の概要

E361×E90由来の雑種第2代（〇〇〇個体）及び従来品種×B224由来の雑種第2代（〇〇〇個体）については、PCR法及び全ゲノム配列解析により外来遺伝子及びその一部の残存がないことが確認されたことから届出に該当するものと判断した。

- (2) 確認結果の詳細（別添参照）

○届出集団の選定

前回調査会（令和3年9月17日実施）にて確認済みのため省略。

○ 外来遺伝子及びその一部の残存がないことの確認

PCR法を用いて届出集団の親世代である雑種第1代の〇〇〇個体及び届出集団である雑種第2代の〇〇〇個体において確認が行われた。加えて、全ゲノム配列解析を用いて、それぞれの系統の雑種第2代の各〇〇〇個体において確認が行われた。これらにより、外来遺伝子及びその一部の残存がないことの確認が適切に行われていると判断した。

○ 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

前回調査会（令和3年9月17日実施）にて確認済みのため省略。

(表) 確認結果の概要

確認事項	詳細
品種	マダイ (英名: Red sea bream、学名: <i>Pagrus major</i>) (近畿大学育種系統)
ゲノム編集ツール	CRISPR/Cas9
遺伝子導入方法	マイクロインジェクション法
遺伝子ターゲット領域	骨格筋肥大抑制因子のミオスタチン遺伝子
変更の内容	エキソン1に14塩基欠失による機能欠失
外来遺伝子有無確認方法	PCR法、 <u>全ゲノム配列解析</u>
オフターゲット候補探索に使用したツール	Cas-OFFinder
オフターゲット候補探索結果	検索条件: bulge size:2、2塩基ミスマッチ 検索性数: 10箇所
オフターゲット候補の確認	・全候補配列について、 <u>全ゲノム配列解析</u> ・エキソン上にある候補配列等については併せて <u>塩基配列解析</u> を実施 →オフターゲット変異のないことを確認
オープンリーディングフレーム (ORF) 解析	標的遺伝子の変異について、アメリカ国立生物工学 情報センター (NCBI) の検索プログラムを利用
アレルゲンの確認	新規に発生の可能性がある ORF として <u>2つ</u> 候補が 検索 ・候補について、国立医薬品食品衛生研究所及びネ ブラスカ大学リンカーン校のデータベースを利用 ・「80アミノ酸で35%より高い相同性を示したもの」 及び「連続する8アミノ酸の一致」についてアレル ゲン解析 →該当するアレルゲンがないことを確認

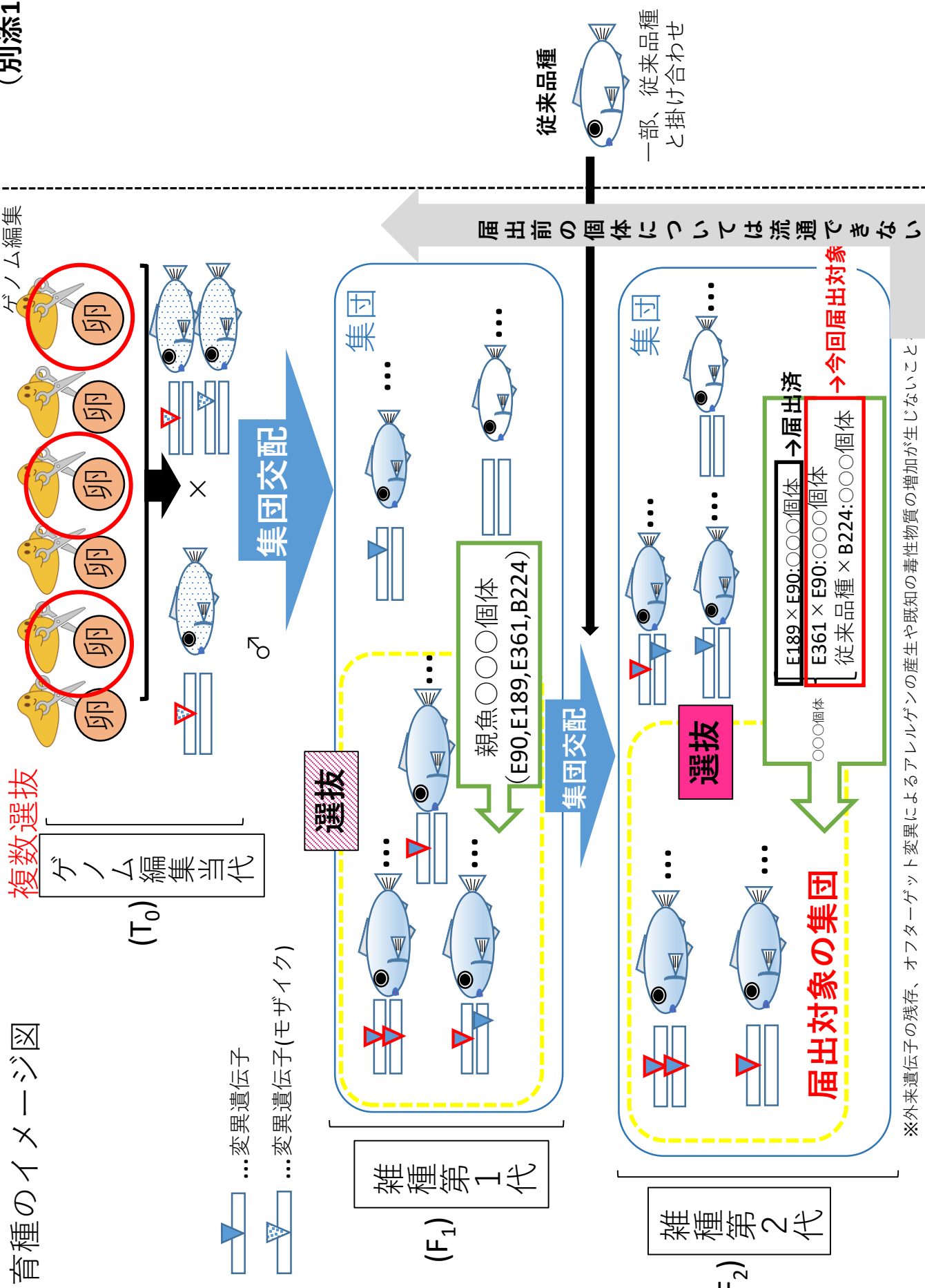
(参考) 事前相談資料の確認事項の主な経緯

日付	事項	備考
令和2年 7月22日	事前相談資料を受理	
	事前相談資料の内容について、専門家の意見を聴き、指摘事項の発出及び事前相談者からの回答を確認	
令和3年 2月10日	遺伝子組換え食品等調査会（第1回）	魚類一般論について （公開）
令和3年 3月8日	遺伝子組換え食品等調査会（第2回）	魚類一般論について （公開）
令和3年 3月17日	遺伝子組換え食品等調査会（第3回）	魚類一般論について （公開）
令和3年 5月27日	遺伝子組換え食品等調査会（第4回）	魚類一般論について （公開）
令和3年 6月25日	遺伝子組換え食品等調査会（第5回）	魚類一般論について まとめ（公開）
令和3年 9月17日	遺伝子組換え食品等調査会	非公開（注1）
令和3年 9月17日	事前相談資料の分割 ① E189-E90 系統 ② E361-E90 系統及び従来品種-B224 系統	②については追加データ要求中
令和3年 9月17日	結果を事前相談者に連絡（① E189-E90 系統）	
令和3年 9月17日	届出受理（① E189-E90 系統）	
令和4年 3月5日	② E361-E90 系統及び従来品種-B224 系統について、追加データ受理）	
令和4年 11月22日 ～30日	遺伝子組換え食品等調査会	持ち回り開催 （電子メール等）
令和4年 12月2日	結果を事前相談者に連絡（② E361-E90 系統及び従来品種-B224 系統）	
令和4年 12月5日	届出受理（② E361-E90 系統及び従来品種-B224 系統）	

（注1）開発企業の知的財産等が開示され特定のものに不当な利益若しくは不利益をもたらすおそれがあるため（ただし議事概要については公開とする）。

育種のイメージ図

(別添1)



※外来遺伝子の残存、オフターゲット変異によるアレルゲンの産生や既知の毒性物質の増加が生じないこと

各世代の確認方法と実施個体の内訳

世代	個体の説明	外来遺伝子の有無の確認		オフターゲット変異の確認*1
		PCR 法	全ゲノム配列解析*2 (Whole Genome Sequencing)	
雑種第1代	雑種第1代の〇〇〇〇個体 (E90,E189,E361,B224)	実施済	-	実施済
雑種第2代 (届出予定の集団)	E189xE90 の後代〇〇〇個体	実施済	実施済(〇〇〇個体)	実施済(〇〇〇個体)
	E361xE90 の後代〇〇〇個体	実施済	今回実施(〇〇〇個体)	実施済
	従来品種xB224 の後代 〇〇〇個体	実施済	今回実施(〇〇〇個体)	実施済(〇〇〇個体)

→届出済

→届出可

*1 Cas-0FFinder を用いてオフターゲット候補配列を検索し、該当した配列についてマダイ全ゲノムデータベースにおける確認及び塩基配列解析によって確認

*2 BWA MEM(ver. 0. 7. 17) と k-mer 法を用いて解析を実施