

## 令和4～5年度 食品健康影響評価技術研究 研究成果報告書（終了時）

研究課題名 (研究項目名)	細胞培養技術を用いて製造される食肉のリスク評価手法に関する研究 (課題番号：JPCAFSC20222208) (細胞培養技術を用いて製造される食品のリスク評価手法に関する研究)
主任研究者	研究者名：五十君 静信 所属機関：東京農業大学

## I 研究期間及び研究目的等

## 1 研究期間

令和4年度～令和5年度（2年間）

## 2 研究目的

最新の細胞培養技術を用いて製造される食品（いわゆる培養肉）の研究・開発が進められており、当該技術で製造される食品のリスク評価における基本的考え方を検討することは急務である。諸外国では当該食品の安全性確保のルール作りが検討され、国によっては製品の上市が開始され始めている。

本研究では、当該食品の安全性評価に関しこれまでの調査結果や諸外国で検討されているリスク評価項目に関するガイダンス等の情報を活用し、当該食品の特性を踏まえた危害要因（ハザード）を特定する。さらに実際に当該技術によりモデル培養肉を作成し、安全性評価に求められる項目に必要なデータ並びにその検査手法を検討・提供することにより、培養肉のリスク評価の「基本的考え方」の作成に資することを目的とする。

## 3 研究体制

研究項目名	個別課題名	研究担当者（所属機関）
細胞培養肉のリスク評価・安全性に関する情報収集と現状把握	1-① 細胞培養肉のリスク評価について規制当局が要求するデータの情報収集	五十君静信（東京農業大学）
	1-② 現地調査等による行政の考え方とスタートアップ企業の動向	
	1-③ シンガポール培養肉スタートアップ企業視察	野口智弘（東京農業大学）
細胞培養肉の製造とモデル培養肉提供、製造における課題検証	2-① 細胞培養肉の製造、企業からのモデル培養肉の提供	清水 達也（東京女子医科大学）
	2-② 細胞培養肉の製造方法と生産プロセスの課題検討	和田 昌憲（エイブル株式会社）
培養細胞と通常肉の比較による網羅的解析の実施	3-① 培養細胞のトランスクリプトーム解析	田村 倫子（東京農業大学）
	3-② 培養細胞のプロテオーム解析	五十君静信（東京農業大学）

	3-③ 培養細胞のメタボローム解析	解良 康太 (東京農業大学)
培養肉と通常肉の比較による検証と解析手法の検討	4-① アレルゲンデータベースの活用	佐野 夏樹 (東京情報大学)
	4-② 栄養成分の解析	石見 佳子 (東京農業大学)
研究総括	5 研究総括とリスク評価の「基本的考え方」の整理	五十君 静信 (東京農業大学)

#### 4 倫理面への配慮について

細胞培養において初代培養を行う場合は、細胞を採取する動物について動物愛護の精神に配慮して取り扱う

## II 研究内容及び成果等

はじめに

最新の細胞培養技術を用いて製造される食品（いわゆる培養肉）の研究・開発が進められており、当該技術で製造される食品のリスク評価における基本的考え方を検討することは急務である。ここで扱う培養肉とは細胞を培養することにより得られる食品あるいは食品成分である。培養肉の持つ可能性は、SDGsなどの観点から将来のたんぱく質源の一つとして国際的にも注目されている。諸外国では当該食品の安全性確保のルール作りが検討され、一部の国ではガイドラインとして公表している。2024年4月の段階で、シンガポール、米国、イスラエル、オーストラリア・ニュージーランドではすでに培養肉の食品としての安全性評価が終了し、上市することが可能となっている。米国では審査手続きの違いがあるため明示されているわけではないが、総じて、Novel Foodというカテゴリーの中で、安全性評価を行うことを求めており、企業は培養肉に関して安全性に関する情報を提供し食品としての上市に関し許可を取得することとなる。

本研究では、当該食品の安全性評価に関し、諸外国で検討され公開されているリスク評価項目に関するガイドライン等の情報を収集・整理した。シンガポール、オーストラリア・ニュージーランドは現地を訪問し、関係者と直接情報交換を行った。EUに関してはEFSAの専門家が来日した折にNovel foodの安全性に関する勉強会を開催し、直接情報交換を行った。イスラエルについては公開している情報がほとんどなく、申請企業とのweb会議により情報収集を試みた。また、研究班では“培養肉”の製造工程の課題、どのような“もの”が出来上がってくるのを検証するために、実際に鶏の培養肉を作成し、細胞を培養することにより製造される食品の危害要因（ハザード）について考察した。情報収集と実験による検証の結果などから当該食品の特性を踏まえた危害要因の特定を試み、わが国におけるリスク評価の「基本的考え方」の作成に資することを目的とした。

また、鶏卵胚細胞を出発点とする初代培養から8代までの継代を行い、鶏のモデル培養肉を作成し、継代中の細胞の変化などについて、遺伝子レベル、たんぱく質レベル、代謝物レベルで網羅的な解析手法を用いて細胞の状況を検証した。この検証では比較対象として従来の鶏肉を用いることの妥当性について評価した。また、細胞培養に用いる器具や機器についても検証を行った。これらの実証的な研究結果を踏まえて、文献調査等で得られた情報収集の結果を考慮し、細胞培養に用いる継代細胞や製造工程における課題の抽出を試みた。細胞培養により得られる“もの”の評価は培養肉の栄養成分の分析を行った。この分析には大量の培養肉を必要とすることから、研究班で作成したモデル培養肉の大量培養に加え、外部協力企業から培養肉の提供を受け、従来の食肉との比較による栄養成分の分析をおこなった。

令和4年度は、5か月と短期間であったことから、分担研究者ごとで担当する研究内容について情報収集を行った。それを基に培養肉の特性を踏まえ、原材料と生産プロセス、培養に用いる器具や機器、食品としての課題点を抽出し、危害要因となりうる可能性を推定し、細胞培養における網羅的解析の評価手法の確立を行った。収集した諸外国のリスク評価項目に関するガイダンス等の文献情報を活用し、細胞の遺伝的安定性、アレルギー性の評価、不純物やウイルス等の病原性物質の混入の可能性などについて検討した。加えて培養に用いる担体（足場）や培養に用いる細胞の栄養として供給する素材、使用可能な機器・機材等についても検討を進めた。令和5年度は、前年度の研究成果を受け、必要と思われるリスク評価項目の絞り込みと実際に細胞培養により作成された培養肉を用いた網羅的解析によるデータや栄養成分分析結果などから、わが国におけるリスク評価の「基本的考え方」の整理を行った。

本研究報告書は以下の5つの章の構成となっている。

## 第一章 細胞培養肉のリスク評価・安全性に関する情報収集と現状把握

- 1-① 細胞培養肉のリスク評価について規制当局が要求するデータの情報収集
- 1-② 現地調査等による行政の考え方と海外のスタートアップ企業の動向
- 1-③ シンガポール培養肉スタートアップ企業視察

## 第二章 細胞培養肉の製造とモデル培養肉提供、製造における課題検証

- 2-① 細胞培養肉の製造、企業からのモデル培養肉の提供
- 2-② 細胞培養肉の製造方法と生産プロセスの課題検討

## 第三章 培養細胞と通常肉の比較による網羅的解析の実施

- 3-① 培養細胞のトランスクリプトーム解析
- 3-② 培養細胞のプロテオーム解析
- 3-③ 培養細胞のメタボローム解析

## 第四章 培養肉と通常肉の比較による検証と解析手法の検討

- 4-① アレルゲンデータベースの活用
- 4-② 栄養成分の解析

## 第五章 研究総括

- 5 研究総括とリスク評価の「基本的考え方」の整理

## 第一章 細胞培養肉のリスク評価・安全性に関する情報収集と現状把握

### 個別課題 1-① 細胞培養肉のリスク評価について規制当局が要求するデータの情報収集

(研究担当者名：五十君静信)

#### 【方法】

海外の規制当局から公開されている細胞培養肉の安全性に関する文書を基に、培養肉の安全性にかかわる要求事項について整理し、比較検討を行った。検討した文書は、シンガポール食品庁 (SFA)、欧州食品安全機関 (EFSA)、英国食品基準庁 (FSA)、米国食品医薬品局 (FDA) および農務省食品安全検査局 (FSIS)、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ) である。また、細胞性食肉の安全性に関するFAO (国連食糧農業機関) /WHO (世界保健機関) 専門家協議の報告書 (FAO 2023年) についても検討した。

#### 主な参考文献リスト

##### 1. シンガポール食品庁 (SFA) :

①Requirements for the Safety Assessment of Novel Foods and Novel Food Ingredients Version Updated 20 July 2023 (<https://www.sfa.gov.sg/docs/default-source/food-information/requirements-for-the-safety-assessment-of-novel-foods-and-novel-food-ingredients.pdf>)

##### 2. 欧州食品安全機関 (EFSA) :

②Guidance on the preparation and presentation of an application for authorization of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283 (<https://www.efsa.europa.eu/en/efsa-journal/pub/4594>)

③Guidance on the preparation and submission of an application for authorization of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283 (Revision 1) (<https://www.efsa.europa.eu/en/efsa-journal/pub/6555>)

##### 3. 英国食品基準庁 (FSA) :

④Administrative guidance on the submission of applications for authorization of a novel food pursuant to Article 10 of Regulation (EU) 2015/2283 (<https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-6488>)

⑤Alternative Proteins for Human Consumption (FS900199/FS900200) March 2022 (<https://www.food.gov.uk/sites/default/files/media/document/Alternative%20Proteins%20for%20Human%20Consumption.pdf>)

⑥Hazard identification: Identification of hazards in cultured animal cells (2022)

⑦Hazard identification: Identification of hazards in meat products manufactured from cultured animal cells Ver 1.4, March 2023 (2023)

([https://www.food.gov.uk/sites/default/files/media/document/Cultured%20meat%20hazard%20identification%20final\\_0.pdf](https://www.food.gov.uk/sites/default/files/media/document/Cultured%20meat%20hazard%20identification%20final_0.pdf))

##### 4. 米国食品医薬品局 (FDA) :

⑧What the FDA Evaluated During the First Completed Pre-Market Consultation (<https://www.fda.gov/media/163026/download>)

⑨Cell-Cultivated Meat: An Overview September 19, 2023 (<https://crsreports.congress.gov/product/pdf/R/R47697/2#:~:text=U.S.%20Regulation%20of%20Cell%20Cultivated%20Meat&text=FDA%20is%20to%20ensure%20that,are%20safe%20and%20not%20adulterated.>)

⑩Memorandum March 17, 2023: Cell Culture Consultation (CCC) 000001, Cultured Gallus gallus cell material(<https://agricolae.eu/wp-content/uploads/2023/03/CellCultureConsultation-000001-ReviewMemo-03212023.pdf>)

⑪Memorandum November 14, 2023: Cell Culture Consultation (CCC) 000002, Cultured Gallus gallus cell material(<https://www.fda.gov/media/163261/download>)

⑫Premarket Notice for Integral Tissue Cultured Poultry Meat, 1 October 2021([https://www.fda.gov/media/163262/download?utm\\_medium=email&utm\\_source=govdelivery](https://www.fda.gov/media/163262/download?utm_medium=email&utm_source=govdelivery))

5. オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ) :

⑬VOW CULTURED QUAIL NOVEL FOOD DOSSIER FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZEALAND UPDATE ([https://www.foodstandards.gov.au/sites/default/files/2023-12/Application%20-%20Cultured%20Quail%20as%20a%20Novel%20Food.docx\\_0.pdf](https://www.foodstandards.gov.au/sites/default/files/2023-12/Application%20-%20Cultured%20Quail%20as%20a%20Novel%20Food.docx_0.pdf))

⑭Supporting document 1, Hazard and risk assessment - Application A1269, Cultured quail as a novel food ([https://consultations.foodstandards.gov.au/sas/a1269-cultured-quail-a-s-a-novel-food/user\\_uploads/sd1---hazard-and-risk-assessment-3.pdf](https://consultations.foodstandards.gov.au/sas/a1269-cultured-quail-a-s-a-novel-food/user_uploads/sd1---hazard-and-risk-assessment-3.pdf))

6. FAO/WHO :

⑮Food safety aspects of cell-based food(<https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cc4855en>)

## 【結果と考察】

収集した情報から、国や地域ごと確認を行ったが、培養肉の安全性にかかわる要求事項は共通するものが多かった。検討した国や地域では、培養肉を従来の食品として分類することはなく、食品として長期にわたり安全に用いられてきた経験（食経験）のない食品として対応しており、Novel foodとして、申請事業者に対し安全性に係るデータの提出を求め、行政当局が安全性の評価を実施していた。

基本的には、認可申請する企業に対し、各製造工程に関連する潜在的な食品としてのリスクの特定を含む、製造工程の概要に関する説明を求めている。企業は製造工程で使用される物質、安全性試験の詳細、食品のリスクを軽減するためにどのような計画をたてるかについての情報を提供する必要がある。これらのリスクに対する措置には、汚染などの外因性の危害要因（病原性微生物などの感染性因子、アレルギー誘発物質、有害化学物質）の制御と、細胞培養に用いる細胞の遺伝的安定性や潜在的に危害要因となる可能性のある残留物などの内在性の危害要因に関する情報が求められている。国や地域によっては、用いる細胞の遺伝的安定性の評価、毒性試験による評価結果などが求められている。

### ① シンガポール食品庁 (SFA)

シンガポールでは、以下のような食品の生産/製造、輸入、流通、販売は許可されていない。

- ・安全な使用歴がなく、SFAから上市前の規制承認を受けていない食品
- ・安全な使用歴がなく、SFAから市場規制の事前承認を得ていない1つ以上のNovel Food成分を含む食品

すなわち、Novel foodを安全使用の歴史がない食品および食品成分とみなしている。安全な使用履歴のある物質とは、少なくとも20年以上の期間、主要な国民が継続的に食生活の一部として摂取しており、人体への悪影響が報告されていないものであるとしている。Novel Foodには、天然に存在する

物質と化学的に同一であるが、技術の進歩により製造された化合物（いわゆる精密発酵による機能性成分の製造など）も含まれることが示されている。Novel FoodまたはNovel Food成分を含む食品の製造、輸入、流通、販売においては、当該製品の安全性評価を確実に実施する必要があるとしている。従って、培養肉に関しても、安全性の承認を受けたのち販売が可能となる。この安全性評価は、SFAが発出したNovel FoodおよびNovel Food成分の安全性評価に関する要求事項（①Requirements for the Safety Assessment of Novel Foods and Novel Food Ingredients, Version Updated 20 July 2023）に示された項目に従って行われる。

Novel FoodまたはNovel Food成分を含む食品をシンガポールで製造、輸入、流通、販売しようとする食品事業者は、Novel Foodをシンガポールで販売する前に、まずSFAに事前に承認を得る必要がある。食品事業者は、科学的に正当な理由がある場合を除き、要求事項に関する情報をSFAの審査のためのリスク評価の資料として提供する必要がある。Novel FoodおよびNovel Food成分の安全性評価に関する要求事項に対する情報に加え、細胞性食品（いわゆる培養肉）に特化すると思われる事項に関する情報を求めている。

申請者の責任において、利用可能なすべての内部のまたは公表された科学データ（有利なデータと不利なデータの両方）を提供することが求められる。提供する個々の項目については共通の項目が多いため、後述の各国や地域のリスク評価項目一覧を参考にさせていただきたい。ここでは各項目の解説については省略する。

細胞性食品に特化したものとしては、細胞性食品の培地に使用される生物由来成分等に関する情報が求められる。培地に使用される生物由来成分、健康に関するガイダンス基準の有無、化学物質については毒性について閾値の設定が可能か、用いる細胞は遺伝子組換え技術を用いているか、既存の食品と同等又は低用量で使用されてきた経験があるかなどの情報である。

リスク評価の資料作成のフォーマットについては、指定された書式はなく、海外の例えばFDA等のガイドラインの形式によっても評価を開始することができる。最終的にリスク評価を行い承認される際に、審査をスムーズに進めるため、開発企業は早い段階からSFAと連携し、製品や製造プロセスに関する情報を共有することが推奨されている。上述のNovel Foodのリスク評価のガイドラインは、短期間にしばしば更新されており、web上に公開されていることから、最も新しい版を確認する必要がある。2024年5月現在入手可能な最も新しい文書は、Version Updated 20 July 2023である。

## ② 欧州食品安全機関（European Food Safety Authority : EFSA）

動物等に由来する細胞性食品は、Novel foodに関する規則(EU)No2015/2283の範囲に含まれ、上市前の承認が必要である。EFSAは、2021年に（EU）No2015/2283第10条に基づくNovel Foodの申請に関する管理ガイダンスを改訂している。（③Guidance on the preparation and submission of an application for authorization of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283 (Revision 1)）

また、企業が申請にあたって参考とするEFSAテクニカルレポートも公開されている。（④Administrative guidance on the submission of applications for authorization of a novel food pursuant to Article 10 of Regulation (EU) 2015/2283）

テクニカルレポートに示された項目については以下の表にまとめた。

表 1-①-1. 欧州の細胞ベース食品を含む新規食品の申請にあたり技術的な部分で提供すべき情報

---

(1) アイデンティティ※ <sup>1</sup>	(2) 製造工程
- 国際命名法に従った生物学的起原	(3) 組成
- アイデンティティの検証	(4) 仕様
- 供給される臓器・組織・生体部分	(5) 使用歴
- 細胞供給研究・細胞系統保存機関	(6) 推奨用途・用量と推定摂取量
- 細胞の識別情報	(7) 吸収・分布・代謝・排泄（動態分析）
- 新規食品として使用する細胞又は組織	(8) 栄養情報
- 細胞の系統	(9) 毒性情報
	(10) アレルゲン性

---

※<sup>1</sup> 細胞ベース食品のアイデンティティとして提供すべき情報項目) については、EFSAのテクニカルレポート「Administrative guidance on the submission of applications for authorization of a novel food pursuant to Article 10 of Regulation (EU) 2015/2283」でチェックリストを示している。

2023年8月30日に開催したEFSA専門家との勉強会当時、EFSAには培養肉に関する申請はまだ行われていなかった。培養肉に関するリスク評価には、Novel foodの要求事項に加えて、テクニカルレポートに示された培養肉に特化した項目に関する情報提供が求められる。

### ③ 英国食品基準庁 (FSA)

英国食品基準庁 (Food Standards Agency : FSA) は、ケンブリッジ大学と契約し、2022年3月に、食用代替たんぱく質に関するレポート (⑤Alternative Proteins for Human Consumption(FS900199/FS900200)) を作成した。さらに、FSAは2022年11月に、⑥Hazard identification: Identification of hazards in cultured animal cellsを示した。その改訂版を、⑦Hazard identification: Identification of hazards in meat products manufactured from cultured animal cells Ver 1.4として2023年3月に公開し、動物由来培養細胞の危害要因分析を行っている。

2022年の食用代替たんぱく質に関するレポートでは、新しい食品のたんぱく質源のひとつとして細胞培養肉が取り上げられている。細胞培養肉の課題としては新興技術に対する消費者の受け入れ態勢について、地域差が大きく、意見が分かれているとして食品としての安全性への懸念である消費者の受容性をどのように解決していくかを課題としている。食品のリスクとしての考察も行われている。コンタミネーションについては製造プロセスが無菌状態で行われるため、理論的には病原体、アレルゲン、毒素のリスクはかなり低く、大腸菌、サルモネラ、その他の化学的・物理的危険要因など、従来の農業における汚染のリスクは培養に関しては排除される。しかし、細胞培養は医薬品レベルの条件以外ではまだ実現されておらず、工業化された生産工程に伴う潜在的な病原体汚染やアレルギー性に対する懸念はある。リスクは、細胞培養の開始、培養液の汚染、成長段階での汚染、廃棄物処理、生産後の製品の取り扱いで発生する可能性がある。培養肉は現在、安全性試験と認証を必要とするEU/UKのNovel Food規制に該当し、現時点では規制を巡る不確実性や、例えば肉、または牛肉と表示できるかどうか不明である。培養肉は、技術に対する不確実性、汚染のリスク、人間の健康に対する



まだ試験されていない影響を考えると、かなりの規制障壁に直面する可能性がある。と述べられている。

2023年3月の動物由来培養細胞の危害要因分析では、以下のように述べられている。動物細胞培養は、畜産に使用される世界の耕地を解放するなど、持続可能性を促進する利点があるため、特に食品産業へと拡大してきた。培養肉は、2024年には英国市場に参入すると予測される。報告書では、培養された動物細胞から製造された食肉製品に限定している。これらのハザードの大部分は、魚類など他の製品とも共通すると思われるが、近い将来、魚介類製品に関連するハザードを個別に評価する可能性がある。2022年時点で英国では、FSAは欧州食品基準庁（EFSA）のNovel Food規制の枠組みを反映しており、同規制の基準を満たすNovel Foodの認可を認めている。これには、遺伝子組換え生物に関する規則やその他の特定の法律の適用を受けない遺伝子組換え製品も含まれる。

このNovel foodは、EFSAの規則2015/2283/EUの第3条に基づき、動物、植物、微生物、菌類または藻類に由来する細胞培養または組織培養が該当する。特定されたハザードのうち、培養肉の摂取により暴露の増加が予想されるものについては、特定のリスクアセスメントを通じて検討される。この作業は、培養肉の生産に関連する潜在的なハザードを明らかにすることを目的としている。ハザードには、生産および組成に関する一般的なハザードが含まれる。例えば、使用される材料については、工程で使用される化学物質および生物学的材料が安全で、消費者に害を及ぼさないことや製品に懸念される微生物学的または化学的成分が含まれていないことなどである。しかし、バイオプロセスや最終製品の組成に特化した、より具体的なハザードの考慮も必要である。例えば、初代細胞が正しく分化し、食肉と同等かそれ以上の組成を持つ食肉関連細胞から製品が構成されるようにすることや、品質管理のための工程を設けることである。もうひとつは、最終製品に重要な栄養成分が欠落していないこと、あるいはそのような成分の生物学的利用能が制限されていないことを保証することである。足場や場合によっては培地成分など、細胞培養に使用される、食肉には通常含まれない成分が存在しないか、または摂取時に意図しない結果をもたらさないレベルで存在することを保証することが求められる。

培養動物細胞における危害要因分析に関する文書（⑦Hazard identification: Identification of hazards in meat products manufactured from cultured animal cells Ver 1.4, March 2023）で、その背景について以下のように述べている。2011年から2020年にかけて、この分野を調査・研究する約32社以上の新興企業が登場した。技術がさらに進歩するにつれ、ベンチャーキャピタルや、大手食品コングロマリットの注目を集め、培養肉のスタートアップ企業に投資し、200～1700万ドルの範囲で資金を提供するようになった。これは、開発・研究段階からスタートアップの企業化段階へのシフトを示している。そのため、この技術から生まれた製品がヒトの消費に安全であることを保証するために、適切な規制の枠組みが必要である。2022年11月現在までに、細胞培養鶏肉を承認しているのは、シンガポール食品庁（SFA）の1機関のみである。また、2019年には、米国農務省食品安全検査局（USDA-FSIS）と食品医薬品局（FDA）が、培養肉の規制で協力している。さらに、UPSIDE Foodsは、培養鶏肉製品のFDAの市販前安全審査を完了し、米国での商業化に一步近づいた。

危害要因分析で取り上げるべきものとしては、以下のように述べられている。特定されたハザードには、生産と組成に関する一般的なハザードが含まれる。例えば、使用される材料については、工程で使用される化学物質や生物学的材料が安全で、消費者に害を及ぼさないことや製品に懸念される微生物学的または化学的成分が含まれないことなどが挙げられる。しかし、バイオプロセスや最終製品の組成に特化した、より具体的なハザードの考慮も必要である。例えば、初代細胞が正しく分化し、食肉と同等かそれ以上の組成を持つ食肉関連細胞から製品が構成されるようにすることや品質管理のた

めの工程を設けることなどが挙げられる。また、最終製品に重要な栄養成分が欠落していないようにすることである。最後の例は、足場や場合によっては培地成分など、細胞培養に使用される基となる肉には通常含まれない成分が、摂取したときに意図しない結果をもたらさないレベルで存在しないか、存在することを保証することが求められる。

培養肉製造のプロセスについては、用いる細胞や培養環境についての考察が必要である。培養肉はヒトや動物が消費するために生産される細胞由来の肉様製品として定義されている。用いる細胞は、生体外環境にある動物に由来するもので、細胞培養プロセスを用いて増殖させる。培養肉は、骨格筋細胞（筋細胞）および／または線維芽細胞、脂肪細胞、間質細胞、血管細胞、神経細胞などの関連する細胞タイプについて説明する必要がある。基となる細胞は、動物から分離して得られるが、安定した細胞株が確立され、細胞バンクから取得することも可能である。培養肉の生成には、成体幹細胞、成体前駆細胞、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞、不死化細胞株など、さまざまな種類の細胞を使用することができる。成体幹細胞や前駆細胞は、分化が容易であり、自然の細胞種に最も類似していることから、現在最も多く使用されている。培養環境では、培養を開始するには、得られた細胞を、その増殖を維持するための生体外環境下に置く必要がある。

培養環境は通常、プラスチック製の培養フラスコやバイオリアクターなどの滅菌済み容器、生存に必要な栄養と増殖制御に必要な成長因子を供給して細胞の増殖をサポートする栄養成分を含む栄養培地、細胞を立体的に力学的に支持するための生体適合材料である足場、の3つの主要コンポーネントからなる。さらに、温度、圧力、粘度などの培養条件の制御も必要である。筋肉に関連するほとんどの細胞タイプはもともと接着性であり、足場がなければ死んでしまうため、足場は重要となる。足場を拡散可能とすることにより、細胞に培地を十分に供給できるようにすることが可能となる。培地は、生存に必要な栄養と、成長を制御するために必要な成長因子を細胞に供給するので重要である。生産段階での注意点としては、細胞は増殖、分化、成熟という3つの主要な成長段階を経る必要を考慮することである。増殖では、基となる細胞は細胞数を増やすために分化を妨げ、その細胞として残るように刺激される。分化では、基となる細胞から目的の細胞種への変換が開始される。成熟では、細胞が最終的な形に完全に発達することとなる。これらの段階は、細胞の成長段階と最終的な細胞タイプへの分化を指示するために、培養のパラメータを制御することで管理される。培養と成長段階をコントロールする方法は、例えば、サテライト細胞を未分化に保つには、多量の成長因子や血清を使用する。分化を引き起こすには、培養液を増殖培地から分化培地に変更し、成長因子や血清のレベルを極端に低下させる。あるいは、遺伝的に誘導可能なスイッチを持つ遺伝子工学的な細胞株を使用することもできる。ある化学物質を加えると細胞は増殖状態を維持し、別の化学物質を加え、最初の化学物質を取り除くと分化が誘導されるようにするなどである。そのほか、大規模の規模での生産、細胞採取、最終製品の配合、加工などの工程での課題についても述べられている。

危害要因としては、以下の項目が示されている。

#### **栄養面での危険性：**

主な潜在的危険要因の一つは、製品の栄養プロファイルが基となる食肉と異なる可能性があるため、これらの製品の栄養的影響である。バイオリアクターで生産された肉は、動物の体内で育った肉と直接同一ではない栄養学的なリスクの可能性もある。現在、インビボ（生体内）環境をインビトロ（人工環境）で完全に再現することは不可能である。細胞株から生産された肉と、動物で生産された肉との間には、違いが生じることになる。その結果、培養肉と従来の肉との間に栄養学的な差異が生じる可能性がある。以下は、文献で確認されたいくつかの考慮点である。

- ・肉に含まれるビタミン、ミネラル、その他の栄養関連成分の中には、培養肉に含まれないものがある可能性がある。例えば、ビタミンB12、クレアチン、カルノシン、ビタミンD3、鉄などは、筋肉細胞で作られるのではなく、体内の他の場所や食物から細胞に運ばれる。
- ・主要成分の欠乏に対する解決策として、培養にビタミンやミネラルを添加することが提案されている。しかし、これが最終製品に取り込まれ、従来の肉と生物学的機能が比較できるかどうかは、まだ評価されていない。
- ・食肉に関連する他の要素として、細胞自体では生成されないが、筋肉の発達/構成に重要なものがある、例えばミオグロビン、ヘモグロビン、血液、細胞外組織、リンパ、脂肪細胞などである。食肉に栄養的に貢献するこれらの成分は、最終製品に含まれない場合がある。
- ・動物の筋肉は非常に複雑で、6500種類以上のたんぱく質から構成され、異なる筋繊維タイプを含む様々なフラクションが存在する。生体外培養環境で細胞を培養することで、代替となる食肉のたんぱく質組成を完全に再現できるかどうかは、まだ十分に評価されていない。
- ・細胞は、培養時に栄養を供給する培地製剤で培養される。この栄養の配合は、細胞の最終的な組成に直接影響を与え、従来の食肉と組成が異なる可能性がある。
- ・細胞の成長を促すには、バイオリアクター内の環境と宿主動物内環境のシミュレーションを行い、刺激を与える必要がある。ホルモン、成長因子、サイトカイン、栄養、足場材料、バイオリアクター環境を使用したこの刺激は、宿主動物内の環境と同一ではないため、製品の最終組成に違いが生じる可能性がある。培養肉の製造では、宿主動物内で行われている巧妙で複雑なシグナルの伝達は、バイオリアクターの中で、均質な培養液に伝達物質を異なる濃度勾配で供給されるため、体内で見られる生化学的・物理的な制御の複雑さはない。
- ・分化は、新生筋繊維を完全に形成された繊維に変えるために必要である。このプロセスは、生体外培養環境では完全には再現されない可能性があり、たんぱく質の質は従来の食肉と一致しない可能性がある。
- ・バイオプロセスに必要な足場などが、余分な物質として残存する可能性がある。細胞はもともと固着性であり、足場上で増殖させる必要がある。この足場は、製品の最終的な構造の一部となる可能性がある。足場が肉に与える、あるいは奪うかもしれない追加の栄養について説明する必要がある。足場材は従来の食肉と同様の割合で存在しないこともあり、ある論文では、足場材が製品全体の25%を占める可能性があると述べられている。したがって、足場材は、従来の食肉に含まれる細胞外マトリックスよりも食肉の栄養に大きく寄与し、培養食肉の最終組成を変化させる可能性がある。足場に栄養不足や抗栄養因子があれば、それが消費者に伝わる可能性がある。ある著者は、培養肉足場の生成にはコラーゲンがよく使われるが、これはアミノ酸のグリシンを多く含んでおり、消費者に副作用をもたらす可能性があるとは指摘した。場合によっては、足場材は最終製品の一部を構成しないが、細胞は足場材から切り離される。この過程で、機械的、物理的、生物学的な分離などで、細胞やたんぱく質にダメージを与え、最終製品の品質を低下させる可能性がある。足場に使用されている化学成分は、最終製品に移行する可能性がある。例えば、キャストリング法ではカルシウムやナトリウムが使用されている、これが製品に移行し、これらの成分の存在感が増す可能性がある。現在、培養肉は従来の肉のような官能的で栄養価の高い特性を備えていない。そのため、培養肉には香料、着色料、ミオグロビン、ビタミン、ミネラルなどの添加物が加えられることがある。製品の最終的な栄養に与える影響については、検討が必要である。
- ・多価不飽和脂肪酸の量をコントロールするなどの設計により、培養肉がより健康的であると提唱

している、最終製品の配合の正確な仕様によっては、より健康的でない場合もあるのに、推進者は培養肉の約束された物語をめぐってリスクを生む可能性がある。このため、消費者は過剰な消費や、それほど健康的でないにもかかわらず消費したりすることになり、栄養面で悪影響を及ぼす可能性がある。

- ・ さらに、前述したように、添加できるものには感覚的な限界があるため、肉が特定の特性を持つように設計することには限界があり、飽和脂肪酸は多価不飽和脂肪酸に対して風味を増すことに関連するものである。

### 細胞の培養に使用する部品からの汚染：

培養肉の製造にはいくつかの段階があり、それぞれの段階で、培養を成功させるために、異なる化学物質、生物製剤、培地処方、添加物、サプリメントが使用される。最終製品に残る望ましくない成分は、許容される暴露レベルであるか、食品グレード/食品安全である必要があるため、各投入物の汚染リスクを評価する必要がある。以下は、文書に記載されているいくつかの考慮事項である。

- ・ 細胞培養では、さまざまな成分が使用/使用される可能性がある。これらの化合物は、細胞に吸収されるか、あるいは細胞壁と結合して最終製品に移行する可能性がある。これらの化合物がどのように生物濃縮され、最終製品に存在し、どのように除去され、あるいは許容される暴露レベルになるかを理解することが必要である。
- ・ 足場材は培養肉の製造に使用される。培養の条件下では、足場が破壊/破損し、分解され、残留物が残る可能性がある。最終製品を望ましくない断片で汚染する可能性があり、または説明する必要のある微量が残る（すなわち、足場はどのように分解されるか、これらの分解物は安全か、足場から剥離すると残留物が残るか、これらの除去/説明方法は何かなど）。
- ・ ペニシリン、ストレプトマイシン、ゲンタマイシンなどの抗生物質や殺菌剤は、感染を防ぐために細胞培養に一般的に使用されている。抗生物質・殺菌剤を使用しなくても培養は可能であるが、製造工程のある段階で培養物の感染を防ぐために使用される可能性がある。抗生物質や殺菌剤の残留にさらされるリスクについて理解する必要がある。細胞分離、増殖、分化のプロトコルの中には、ヒトに有毒な/非食用/危険な化学物質を使用するものがある。一例として、前脂肪細胞を脂肪細胞に分化させるために使用される化学物質、デキサメタゾン（ステロイド）、インドメタシン、毒性キサンチン、IBMX25、これらは食品に含まれることは許されない。
- ・ 培養は、培養液の汚染を防ぐため、無菌/無菌状態で行われる。プラスチック製フラスコ、ペット、滅菌包装、洗浄用スプレーボトル、単回使用バイオリアクターなど、多くのプラスチック部品が使用されている。プラスチックは、有毒な溶出物や細胞株への阻害化学物質を生成する可能性がある。最終製品に許容できない暴露レベルで有毒な溶出物や阻害性のある溶出物が存在するかどうかを把握する必要がある。バイオリアクターおよびすべての機器は、厳重に滅菌・洗浄される。例えば、水酸化ナトリウムや70%エタノール溶液のような化学薬品を使用し、加熱した蒸気で洗浄する。洗浄後の残留化学物質は、適切に管理されないと最終製品に移行する可能性がある。
- ・ 細胞培養の過程で、細胞は金属部品、すなわちバイオリアクター、パイプ、ポンプなどと接触することがある。重金属が最終製品に溶出する可能性を考慮する必要がある。
- ・ 動物や細菌に由来する生物学的成分は、培養物に病原因子が含まれる可能性がある。従来から細胞培養に添加されている血清（牛胎児血清など）は、ウイルスの移行による人獣共通感染症のリスクがある。動物由来のコラーゲンは、足場材料としてしばしば使用される。現在、ほとんどの

培養肉企業は、血清不使用の培地を使用し、非動物由来の足場部材に取り組んでいる。しかし、細菌培養に由来する成長因子や足場材料なども、細菌汚染のリスクをもたらす可能性がある。動物や細菌由来の成分から病気が移行するリスクを理解する必要がある。

- ・ 脱イオン水やろ過水の使用、CO<sub>2</sub>ろ過空気の不使用など、品質管理プロセスの欠如により、細胞培養に化学的汚染物質が存在する可能性はあるが、消費者にリスクをもたらすというよりは、培養液が腐敗するという結果になる可能性がある。安全性を証明するためには、HACCPや品質管理プロセスが必要である。培養に使用される細胞は代謝が活発であり、最終製品に悪影響を及ぼす代謝物やその他の成分を生成する可能性がある。細胞の代謝を理解し、不要な化合物の生成と除去を実証する必要がある。
- ・ 最終製品から除去する必要がある、培養物に意図的に添加される化学的／物理的／生物学的成分が存在する場合がある。例えば、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、ポリエチレングリコール、架橋デキストランなどの非生分解性・非可食性の足場材料や、剥離工程中に添加される酵素などが挙げられる。

#### ④ 米国食品医薬品局（FDA）

FDAでは、他の国や地域のようにあらかじめ示されたガイドラインに従ってリスク評価が行われているわけではない。培養肉については、企業とFDAが個別にコンサルテーションによって安全性に関する評価を行い、その検討された最終結果を公表する形をとっている。FDAの評価にあたっては、プレマーケット・コンサルテーション（cultured-animal-cells-flowchart-what-fda-evaluated-in-first-pre-market-consultation）としての必要な項目概要に関するガイド⑧What the FDA Evaluated During the First Completed Pre-Market Consultationを示している。ガイドでは、家畜、家禽、魚介類、その他の動物種から少数の生きた細胞を採取し、増殖させて食品を作るという複雑なプロセスは、大まかにいくつかのステップにまとめることができる。市販前コンサルティングにおいて、各生産ステップで検討した内容の一例として、細胞の採取、細胞株と細胞バンク、細胞バンクから大量培養、細胞の分化などのステージに分けて、どのような管理を行うかを示すよう求めている。実際にFDAが行った評価については、2つの事例が公開されており、その内容を確認することができる。細胞培養肉については、⑨Cell-Cultivated Meat: An Overview September 19, 2023に概要がある。

GOOD Meat社とのコンサルテーションの結果は、細胞培養コンサルテーション関連の情報については、CCC 000001シリーズとしてweb上に公開して、その評価結果をレビューしている。また、同様にアップサイド社の評価結果は、CCC 000002シリーズとして公開している。GOOD Meat社との細胞培養に関するコンサルテーションレビューの文書⑩Memorandum March 17, 2023: Cell Culture Consultation (CCC) 000001, Cultured Gallus gallus cell materialでは、その内容が確認できる。修正後の最終受理日は、2023年3月2日で、CCC 000001に提示されたデータと情報に基づき、検討した結果CCC 000001に定義された製造工程で得られた培養鶏細胞材料で構成された、または培養鶏細胞材料を含む食品は、他の方法で製造された食品と同様に安全であるというGOOD Meatの結論について、現時点では何の疑問も抱かないと結論している。

その概要は、以下のようである。FDAは、GOOD Meatが提出したCCC 000001の対象食品を評価した。検討において、この食品は、CCC 000001に記載されている製造方法によって製造された、繊維芽細胞の特徴を有する鶏の培養細胞からなる培養物である。この細胞株は、市販のニワトリ細胞株UMNSAH/DF1（ATCC CRL12203としてAmerican Type Culture Collectionに寄託されている）に由来するもので、中期のニワトリ受精卵から単離されたニワトリ線維芽細胞株である。単離された細胞は、線

維芽細胞マーカーを同定するために、分子生物学的手法を用いて表現型の特徴を明らかにした。細胞株は、低濃度のウシ血清濃度で増殖し選択培養することにより樹立された。細胞は、培養増殖期で総細胞数を増加させ培養される。細胞は遠心分離によって採取され、凍結保存の前に洗浄され、洗浄後の収穫物は、凍結保存される。微生物および有害重金属の仕様が記載されている。種の同一性は、種特異的なPCR検査を用いて、採取した材料で確認した。細胞株、製造工程（細胞バンクの設立を含む）、製造工程で使用される物質、採取された細胞材料の性質に関する情報を評価した。これらの情報には、開示された安全性評価書に記載されている情報だけでなく、非公開の補足情報に記載情報も含まれる。FDAは、CCC 000001に提示されたデータと情報に基づき、CCC 000001に定義された製造工程で得られた培養鶏細胞材料で構成された、または培養鶏細胞材料を含む食品は、他の方法で製造された食品と同様に安全であるというGOOD Meatの結論について、現時点では何の疑問も抱かないと結論している。

これらの概要をまとめたものが、以下の表である。

表 1-①-2. GOODMeat社の安全性に関する概要 (CCC 000001)

潜在的な同一性、品質、安全性の問題の概要

プロセス：作業工程	潜在的な問題	制御方法
細胞調達	細胞の同一性、供給源、試薬、環境からの汚染	無菌手順、文書化、遺伝子検査、サプライヤー管理、検査プログラム、培地のろ過、温度管理条件
細胞株の樹立	細胞の同一性、材料や環境からの汚染物質、培養への適切な適応	無菌手順、文書化、遺伝子配列決定、プロセスおよび環境モニタリング、サプライヤー管理、テストプログラム
マスターセルバンク (MCB) とマスターワーキングセルバンク (MWCB) の設定	細胞の同一性、材料や環境からの汚染物質、培地成分、培養への適切な適応	無菌手順、文書化、遺伝子配列決定、温度管理、プロセスおよび環境モニタリング、テストプログラム
懸濁培養による細胞増殖	細胞の同一性、材料、装置、環境からの汚染物質、輸送中の汚染、媒体成分	無菌手順、温度管理、文書化、遺伝子検査、工程・環境モニタリング、サプライヤー管理、検査プログラム
細胞材料の採取	材料または環境からの汚染物質、媒体成分	無菌手順、成分分析、管理された温度条件、文書化、テストプログラム、洗濯

UPSIDE Foodsの評価に関しては、2022年11月14日付けで、メモ (Memorandum) として示されている。副題は、細胞培養コンサルテーション①Memorandum November 14, 2023: Cell Culture Consultation (CCC) 000002, Cultured Gallus gallus cell materialである。こちらの文書の公開の方がCCC 000001シリーズよりも先であった。概要は、以下の通り。UPSIDEが提出したCCC 000002の対象となる食品について、FDAが評価を行った。本食品は、CCC 000002に記載の製造方法により製造される、鶏の筋細胞および線維芽細胞の特徴を有する細胞を培養してシート状にした、収穫時の細胞材料と定義される。細胞株はもともと成鶏または中期の受精卵から単離されたものである。分離された細胞株は、顕微鏡検査や免疫染色など、目的に応じて検証された標準的な方法を用いて表現型が特徴づけられている。細胞株は、分化能が実証された筋芽細胞や線維芽細胞を選択し、浮遊培養に適応させることで樹立される。不死化は、培養中の選択、またはニワトリのテロメラーゼ逆転写酵素 (TERT) を発

現するシスジーン (cisgene) を導入することにより達成される。この細胞は、まず浮遊培養で細胞数を増やし、その後、特定の培地因子と表面接触に支えられた筋肉細胞の性質を持つように誘導する接着分化期を経て培養される。細胞は、培養容器の表面から回収・洗浄したシート状のものを採取し、その後、温度管理された環境下で洗浄と水分調整を行う。洗浄後の収穫物は、鶏細胞のまとまった組織であり、従来の鶏肉製品と同様の組成と栄養特性であると記載されている。微生物および毒性重金属の仕様が記載されている。種の同一性と細胞の同一性は、酵素結合免疫吸着法 (ELISA) を用いて最終製品で確認された。細胞株、製造工程 (セルバンクの設立を含む)、製造工程で使用する物質、採取した細胞材料の特性について、安全性評価で得られる情報だけでなく、非公開の補足資料にある裏付けとなる情報を含めて評価を行った。FDAは、CCC 000002に示されたデータと情報に基づき、CCC 000002に定義された製造工程から生じる培養鶏細胞材料で構成された、またはそれを含む食品は、他の方法で製造された同等の食品と同様に安全であるというUPSIDEの結論に、現時点では何の疑問も抱かないと結論している。さらに、現時点では、CCC 000002に記載された製造工程により、食品に不純物を混入させるような物質や微生物が付着または含有されることが予想されることを示す情報は確認されていないとしている。その概要は以下の表に示す。

表 1-①-3. UPSIDE Foods社の安全性に関する概要 (CCC 000002)  
 FDA Memorandum: Cell Culture Consultation (CCC) 000002

アイデンティティ、品質、安全性に関する潜在的な問題の概要

プロセス：作業工程	潜在的な問題点	制御方法
細胞分離	細胞のアイデンティティ；供給元、抗生物質、無菌操作、文書化、滅菌、サブライヤー管理、検査方法	
細胞株の樹立	細胞のアイデンティティ、材料や環境からの汚染物質、培養への適切な適応、導入された遺伝物質と発現産物	無菌手順、文書化、遺伝子配列決定、食品安全性評価、作業工程と環境モニタリング、滅菌、サブライヤー管理、検査方法
マスターセルバンク (MCB) の設定	細胞のアイデンティティ、材料や環境からの汚染、適切な培養細胞の樹立	無菌手順、文書化プロセスと環境モニタリング、滅菌、サブライヤー管理、検査方法
増殖期	材料、機器、または環境からの汚染物質、培地成分	無菌手順、文書化、食品安全性評価、工程・環境モニタリング、滅菌、サブライヤー管理、検査方法
細胞分化段階	材料、機器、または環境からの汚染物質、培地成分	無菌手順、文書化、食品安全性評価、工程・環境モニタリング、滅菌、サブライヤー管理、検査方法
細胞の回収	材料、機器、または環境からの汚染物質、培地成分	成分分析、温度管理条件、食品安全性評価、仕様、殺菌、サブライヤー管理、検査方法、洗浄

UPSIDE Foods社からは、2021年10月1日付で、組織培養鶏肉に関する市販前通知 (⑫PRMARKET NOTICE FOR INTEGRAL TISSUE CULTURED POULTRY MEAT) という文書が公開されており、実際の培養肉に関するデータが公開されているので、どのようなデータ出しが行われたか大変参考になる。

⑤ オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ)

FSANZは新技術によって生産された食品を含む新しいタイプの食品を扱っているが、その食品基準コードは細胞ベースの肉に対する許可や要件を含んでいない。食品基準コードは、Novel foodを公衆

衛生と安全性への配慮の評価を必要とする非従来型食品と定義しており、非従来型食品とは以下のようものを指す。(a) オーストラリアまたはニュージーランドにおいてヒトが消費した履歴のない食品、(b) 食品から派生した物質で、その物質が食品の成分として以外にオーストラリアまたはニュージーランドにおいてヒトが消費した履歴のないもの、(c) その他の物質で、その物質またはその物質に由来する源がオーストラリアまたはニュージーランドで食品として消費した履歴がないものである。

FSANZは、細胞ベースの食肉は食品基準法の既存の対象となり、将来的には市場前の承認が必要になるとしていた。2023年12月にVow社のウズラの培養肉をNovel Foodとして許可しようとする文書を公開し、消費者レビューを開始した。A1269 - Cultured Quail as a Novel Food, Call for submissionsとして、web上にパブリックコメントを求めた。FSANZのハザードとリスクアセスメントでは、最初の3つの段階に焦点を当て、細胞株、新規生産工程（Vow社の現在の生産規模に限定し、培養ウズラ細胞の増殖と増殖に使用される関連投入物を含む）、採取時点の細胞（採取、包装、凍結を含む）に関連する潜在的なハザードを検討した。収穫された細胞は主原料であり、他の許可された食品原材料と混合され、最終的なミックス食品が製造される。最終的なミックスフードの調合に使用される追加原材料が、本規範の関連要件に適合していることを確認するのは、Vowの責任においてなされる。

使用する細胞は、もともとニホンウズラの胚から単離され、線維芽細胞株として不死化されたものである。不死化により、細胞は適切な培養条件下で無期限に増殖する。Vow社は、細胞の種を確認する証拠と、製造過程における細胞株の遺伝的安定性を提供した。不死化および培養プロセスから生じる遺伝的変異がいくつか確認されたが、培養細胞について予想されることと一致しており、それ自体、食品安全性に関する特別な懸念は生じない。Vow社は、ウズラ細胞の供給元農場が公的な監視体制下にあり、特定の鳥類病原性細菌、ウイルス、マイコプラズマの検査が陰性であったという証拠を提出した。リスク評価の内容については、⑬VOW CULTURED QUAIL NOVEL FOOD DOSSIER FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZEALAND UPDATE Application A1269、Novel Foodとしての養殖ウズラ補足資料1、ハザードとリスクアセスメント - ⑭Supporting document 1, Hazard and risk assessment - Application A1269 Cultured quail as a novel food)にまとめられている。

#### ⑥ FAO（国連食糧農業機関）／WHO（世界保健機関）専門家会議の報告書（FAO 2023年）

細胞培養食品の食品安全性の側面(⑮Food safety aspects of cell-based food)では、以下のように述べられている。細胞培養食品製造のユニークな展望を考慮すると、多くの国が細胞培養食品を市場で販売するために様々な規制要件を設けている可能性がある。中には市販前の認可プロセスを必要とする場合もあり、その場合、ヒト消費に対する安全性の評価と国内規制の遵守が必要となることが多い。2022年現在、一国のみで認可された製品の数は限られているが、細胞培養食品が他の場所で認可され、国境を越えて輸送され取引されるようになるのは時間の問題である。したがって、まず細胞由来食品が規制される可能性のある既存の枠組みを理解することが重要である。また、食品安全目的の具体的な規制を特定し、優良事例を認識・文書化することも重要である。文献情報の収集は、様々な国や管轄区域で細胞性食品に適用される、あるいは適用されると思われる規制の枠組みについて、時間的な制約のある最新状況を提供するために実施されたものである。文献による情報収集の結果は、管轄の食品安全当局が、効果的な国家食品管理システムのために、自国の規制枠組みの中で重要な要素を検討するための基礎となるものである。

国連食糧農業機関（FAO）の重要な役割の一つは、加盟国、特にこのような技術支援の必要性が表明されている国に対して、科学に基づく政策アドバイスを提供することである。本文書では、動物細胞



由来食品に関する様々な規制の枠組みの現状を概観し、食品安全が本書の中心的な関心分野であることを説明する。本文書で紹介した各国の事例や実例は、FAO が承認したわけではなく、単にそのような情報が入手可能であったということである。その他の国については、これらの情報は公開されていないか、英語で提示されていないため、この文書の範囲から除外している。ここで提供される情報は、2022年3月まで更新されたものである。

細胞培養食品の市場参入には様々なレベルの認可が必要であり、認可には細胞培養食品の食品安全性評価、計画・実施された品質管理の承認、製造工程の保証プロトコル、製品の承認された表示の使用などが含まれる場合がある。細胞培養食品に対する効果的な規制の枠組みのための必須要素は、多くの国でまだ検討課題となっている。

## 2. 現地調査：行政の考え方と海外のスタートアップ企業の動向

### 個別課題1-② 現地調査等による行政の考え方とスタートアップ企業の動向

(研究担当者名：五十君静信)

#### ① シンガポール食品庁 (SFA) 並びに企業現地調査

【日程】 2023年1月11日～1月13日

【出張先国】 シンガポール

【参加者】 農水省2名、厚労省1名、食品安全委員会1名、国立医薬品食品衛生研究所1名、東京農業大学1名

【訪問先】 シンガポール食品庁所属研究所、その他民間企業5社訪問 (Eat Jus t 社、Shiok Meats 社、Esco Aster社、Umami Meats社、ImpacFat社)

#### 【概要】

近年各国で開発が進んでいる細胞性食品（いわゆる培養肉）について、訪問時、世界で唯一販売承認を行ったシンガポール食品庁 (SFA) の所属機関である国立食品科学センター (National Centre for Food Science : NCFS) を訪問し、当該食品の安全性審査・管理の在り方について意見交換を行った。同センターは輸入食品を含む食品安全に係る検査全般およびリスク評価、疫学分析等の業務を担当し、新開発食品の評価も行っている。SFAは守秘義務があるため個別企業の審査内容には言及できないとしながらも、日本の視察団からの質問に快く回答し、安全性審査のガイドライン作成の背景や審査で評価している事項などを説明していただいた。

シンガポールにおいては、細胞性食品はNovel Foodの枠組みの中で安全性審査を実施している。細胞性食品の販売許可を受けたい各企業はSFAの求める安全性審査のための書類を提出し、SFAは各企業を個別に審査する。SFAが企業に求める安全性評価に関する提出書類はリストとしてホームページに公開される。SFAは、一般的に必要な情報についてはガイドラインとして公開しているが、使用するセルラインや培地などは企業ごとに異なるため、各企業に求める内容は異なる。毒性試験は細胞性食品そのものには求めないが、食経験のない培地成分等を用いた場合に求める場合がある。企業に対して提出を求める情報のディシジョンツリーを、示している (図1-②-1)。

SFAは、企業から提出された書類を基にリスク評価するため、専門家部会を招集し、同部会はリスク評価にかかわる科学的助言をSFAに提供する。細胞性食品を摂取することによるがん化のリスクについて、SFAは2020年4月に同専門部会に意見を求め、同部会では、“細胞の遺伝的安定性の確保は重要であるが、喫食前の調理と消化管内の消化の工程を考慮すれば、従来の食肉と比較してリスクの増加はない”と判断した。細胞性食品の製造にあたっては、製造企業のライセンス取得が必要である。その他、SFAと視察団の行った意見交換については省略する。

企業には資料提出前の事前相談受付、細胞性食品の市場参入を目指す企業向けに隔月でオンラインセミナーを開催している。SFAでは、細胞性食品に関する国際的なガイドラインや基準の策定にあたり、FAOと連携している。シンガポール発で、新開発食品規制のためのラウンドテーブルを2019年より開催中である。

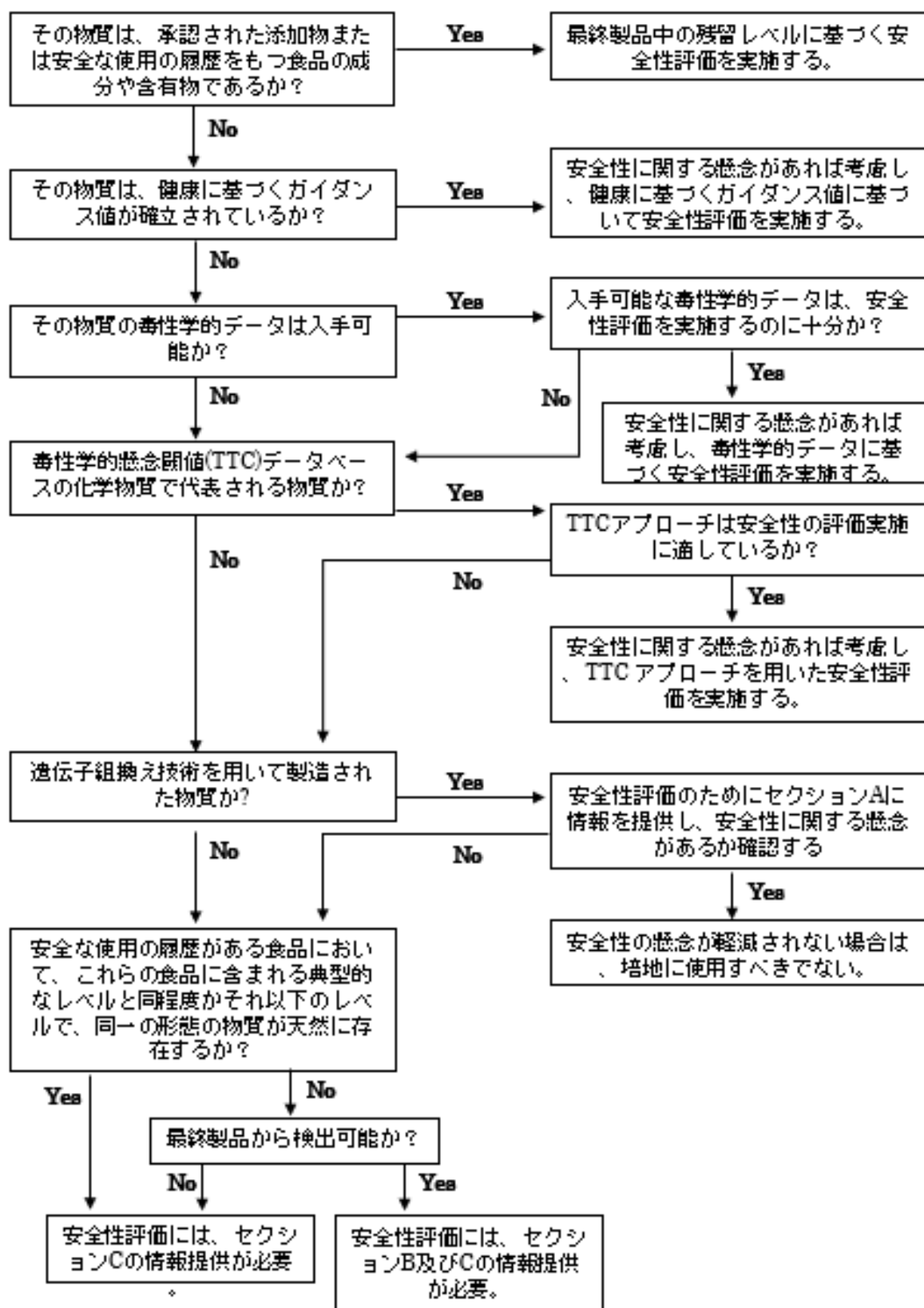


図 1-②-1. SFAの示すディシジョンツリー

## セクションA

- i. 受入株や宿主植物の学名を示す。
- ii. 宿主生物に導入された遺伝子情報を列挙した、遺伝子組換え過程の詳細な説明。遺伝子組換え生物に挿入されることを意図していないベクターおよび／またはドナー生物からのDNAの存在を明示すべきである。ドナー生物に存在する既知の毒素や抗栄養素をコードする遺伝子は、レシピエント株に導入すべきでない。
- iii. 組換えタンパク質の場合、組換えタンパク質の一次配列に関する情報。この情報は、信頼性のある分析手法により、天然由来のタンパク質と同等か、ほぼ同等であることが示されるべきである。タンパク質の精製タグやその他の短い配列改変が導入されている場合、企業はバイオインフォマティクス・アプローチを用いて、潜在的なアレルギー性や毒性の懸念に対処すべきである。
- iv. 遺伝子組換え植物由来の物質については、既知の毒性およびアレルギー性を含む、宿主植物の安全性の評価をする。
- v. 遺伝子組換え微生物由来の物質については、組換え宿主の安全性と病原性の評価。EFSA Qualified Presumption of Safety (EFSAの適格安全性推定リスト)の対象生物、または科学文献の他の信頼性のある情報源を参照すること。病原性関連遺伝子や、毒素産生のような潜在的に有害な代謝機能がないことを証明する必要がある。宿主から他の生物への抗生物質耐性遺伝子の水平移動の可能性に関する詳細が提供する。
- vi. 宿主生物が、ヒトに安全に使用された他の組換え物質の生産に使用されたことがあるかどうかの情報を示す。
- vii. 物質の化学的純度（存在する不純物に関する情報を含む）、物質が組換えタンパク質の場合は、タンパク質の純度も明記する。
- viii. 遺伝子組換え細胞および組換えDNAが当該物質から除去されているかどうかの情報が必要である。
- ix. 遺伝子組換えにより、上記以外の食品安全上の危害（例えば、既知のアレルゲン源から得られた導入遺伝子を使用することにより生じる可能性のあるアレルギー性の懸念）が生じる可能性があるかどうかの評価を示す。

## セクションB

- i. その物質を培地に添加する目的についての記述をする。
- ii. 培地に添加する物質の特性および規格データを示す。
- iii. 細胞養殖肉に含まれる物質のレベルと、従来生産された同等品に含まれる物質のレベルとの違いに関する情報を示す。
- iv. その物質が、安全な使用の歴史がある他の食品に自然に含まれているかどうか、またそのような食品に含まれる典型的なレベルに関する情報を示す。
- v. 物質またはその調製物に関連するその他の安全性に関する懸念（例：ウイルスまたはプリオンの潜在的な存在、物質または不純物に起因するアレルギー性のリスク、潜在的な毒性に関する懸念）を示す。

## セクションC

- i. 人体における物質の合成と作用様式を示す。

- ii. 食品中の物質のレベル及び/又は生物学的活性が、食品加工（例えば調理中の変性）によってどのような影響を受ける可能性があるかについての評価を示す。
- iii. 物質が吸収される場合、申請企業は利用可能な科学的情報に基づいて、吸収される予想レベルが安全性の懸念をもたらすかどうかを評価すべきである。
- iv. 可能であれば、当該物質を含む食品及び/又はその他の食事因子の摂取と当該物質の血中濃度との関連に関する情報（例：インスリン様成長因子1を含むことが知られている乳製品の消費量の増加が、その物質の血中濃度の上昇に関連するかどうか）を示す。
- v. (iv)で見つかった関連性すべてについて、そのメカニズムに関する情報を示す。

国立食品科学センター（NCFS）の施設見学では、当初SFA自身がタネ細胞やNovel Foodサンプルについて解析を行ったことがわかった。訪問当時は現物の検査は行っておらず、書類審査のみを実施していた。視察団より培養細胞の癌化についての考え方を質問したところ、細胞の遺伝的安定性は重要としながらも、専門家から得た知見を踏まえ、仮に癌化が起こったとしても摂食には問題がないという認識の説明がなされた。ガイドラインは技術の進歩に応じて随時改定するとし、将来的にはFAO/Co dexとともに国際的な標準を作成したい意向が示された。

続いて訪問当時、国際的に唯一細胞性食品（培養鶏肉）を販売しているEat Just社の細胞培養肉部門GOOD Meatを視察した。同社はアジアで最大となる細胞培養肉の製造工場を建設中で、訪問当日は培養タンクの搬入があった。完成すると年間20,000kgの製造が可能となる。同社からは製品や製造に関する概要の紹介があったが、詳細は近々FDAから開示される予定で、そちらを参照されたいとのことであった。そのほか、2022年11月にエジプトで開催されたCOP27で提供された最新製品の試食を行い、好評だった旨報告があった。現在は、課題であるコスト削減に注力しているとの説明があった。同社は先行優位性を維持して行きたい構えであるが、要請があれば日本での企業紹介なども可能とのコメントが得られた。

翌日には、培養エビ・カニを開発しているShiok Meats社を訪問し、商業向けのパイロット工場を視察した。甲殻類を対象としている企業はほかにはなく、優位性を持つが、細胞培養としては前例がないため、SFAに提出するデータの収集に追われている。まずは培養エビシューマイについて2024年の上市を目指している。同社では生食用製品は予定していない。

次いで、GOOD Meat社製品の受託製造を行っているEsco Aster社を訪問した。製薬分野での受託研究開発・製造から始め、現在は細胞性食品などNovel Foodの製造・開発の受託を行っている。2022年、オランダのモサミート社とも契約した（公開情報）。細胞培養について造詣が深く、安全性に関して貴重な意見交換ができた。米国と中国への進出を図っているが、日本にも事務所がある。このほか、二ホンウナギやメバチマグロなどの培養魚を開発し、日本への進出を図るUmami Meats社や、日本人研究者がシンガポールで起業した培養魚油脂メーカーImpacFat社を見学、研究開発の現場と状況、将来プランの紹介があった。日本で上市する際のプロセスを質問され、国内における細胞性食品の評価システムの早急な確立が望まれる。

この訪問で、シンガポールの細胞性食品は、ほぼすべて安定化されたセルライン（不死化細胞）を用いて製造されていることが明らかとなった。技術的に大量培養には不死化細胞の利用が適しているほか、SFAは質の安定した食品製造を求めており、そのためには安定化されたセルラインが望ましい。今後、異なる技術を用いた製品が登場することが予想され、その都度安全性の審査を慎重に行っていくものと思われる。

企業訪問では、日本への市場展開を検討している企業も多く、日本での上市プロセスについて情報提供を求められる場面もあった。関係各省が連携しながら細胞性食品に係る国内外の情報を収集し、規制に関する枠組みの検討を加速することが重要であると思われる。

## ② 欧州食品安全機関（EFSA）科学部門専門家との勉強会

【日程】 2023年8月30日 14:00～16:00

【勉強会】 学校法人東京農業大学食品安全研究センター(FSRC)／食品安全委員会“細胞性食品のリスク評価手法に関する研究”研究班共催：細胞性食品のリスク評価に関するワークショップ（EFSA）

【会場】 東京農業大学世田谷キャンパス 国際センター榎本ホール

【参加者】 細胞性食品関連企業、行政関係者、FSRC研究会、一般、学生等

### 【概要】

細胞性食品は、動物等の可食部の細胞を培養により増殖させ、食用のたんぱく質源として用いる新開発食品である。将来のたんぱく質源としてSDGsの観点と動物愛護等の観点から、民間ではその商業化に向けた検討が進められている。シンガポール、米国、イスラエル等では、既に食用として細胞性食品が認可されており、その他の国でも安全性の評価などの検討が進められている。今回は、欧州食品安全機関（EFSA）の研究者を招いて、ヨーロッパの細胞性食品の開発の現状並びにリスク評価に関する考え方を講演していただく。また日本側からは、農水省と食品安全委員会の“細胞培養技術を用いて製造される食肉のリスク評価手法に関する研究”班等により収集された情報を報告し、細胞性食品のリスク評価について考えるワークショップを企画した。

EFSAからは、2名の演者が講演した。日本側からは、農林水産省担当者からの各国の細胞性食品の承認状況とリスク評価項目の整理と食品安全委員会の研究班の研究概要に関する報告がなされた。

## ③ オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）並びに企業現地調査

【日程】 2023年10月17日～10月19日

【出張先国】 ニュージーランド（ウェリントン）/オーストラリア（シドニー）

【参加者】 食品安全委員会2名、東京農業大学1名

【訪問先】 オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）細胞培養肉リスク評価チーム（ウェリントン）

民間企業訪問（Vow社シドニー）、ジェトロ・シドニー訪問

### 【概要】

オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）は、オーストラリアとニュージーランドにおける食品成分、添加物、加工助剤の使用を規制するための基準を策定する機関である。FSANZの食品基準コードは、乳製品、肉、飲料の成分や、遺伝子組換えなどの新技術によって開発された食品も対象としている。FSANZの細胞培養肉検討ユニットはウェリントン、FSANZ本部はキャンベラ、オーストラリア連邦科学産業研究機構（CSIRO）はメルボルンにそれぞれ拠点があり、今回は、ウェリントンの細胞肉検討ユニットを訪問し情報収集・情報交換を行った。当日は、豪州・NZにおける細胞培養食品の規制にかかるプレゼンテーションが行われその概要が説明された。

Novel foods と Novel food ingredients は、Food Standards Code Legislation/ Food Standards Australia New Zealand (the Code)のStandards 1.1.1- Structure of the Code and general provisionsと 1.5.1-Novel Foodsで規制されており、Novel Food の販売リストFederal Register of Legislation - Australia New Zealand Food Standards Code - Schedule 25 - Permitted novel foo

ds (S25-2項の表) に掲載されない限り、市販は禁止されている。リストへの掲載のためにはFSANZへの申請が必須で、申請は、市販前安全性評価を含む法定評価の対象となる。承認された場合、その食品は別表に掲載され、指定された条件に適合している限り、製造者はその製品の販売を許可される。リスク管理を行っているのは各州の政府であり、FSANZは基準制定やリスク評価の実施を行っている。

FSANZとNovel Food諮問委員会 (Advisory Committee on Novel Foods:ACNF) との関係についての確認を行った。ACNFが行う予備的なハザードの特定、recommendationの作成に利用するガイドラインはどの程度FSANZのリスク評価で参照されるかについて確認した。

オーストラリアとニュージーランドの食品規制システムは、新しい技術によって生産された食品を含む、新しいタイプの食品に対応できる体制を整えている。現在のところ、食品基準法には細胞由来食肉に関する許可や要件はないが、FSANZの見解では、細胞由来食肉は食品基準法の既存基準の範囲内に収められ、市販前承認が必要となる。細胞由来食肉の成分によっては、関連する規制の制限を受けることになる。

シドニーでは、スタートアップ企業でウズラの細胞培養肉の許可申請を行っているVow社を訪問した。Vow社では、日本原産のウズラの食肉を培養する戦略をとっているがその理由を尋ねる質問に対し、既存の畜産物と競合するのではなく、補完しあうものという方針で選択したという考え方が示された。情報交換は、プライマリーカルチャーから種細胞株樹立までの工程、細胞株の安定性の評価法とその項目、細胞の変化に関する評価頻度、遺伝子組換え技術導入を行わないでウズラの細胞が持続的に増殖するにはどのような情報を記録しているか、ウズラ以外の細胞培養を検討しているかなどの項目について行った。(情報交換の内容については省略)

ウズラ細胞培養肉の安全性の判断に関しては、企業としてどのような判断基準を設定しているのか、FSANZの要求する安全性に関する項目についてどのような観点で回答したのか、アレルギー性に関する検討、細胞出荷前の検査項目、栄養成分の分析、網羅的な解析(トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームなど)の実施経験の有無について確認した。日本側からは、研究班の行っている細胞培養肉の情報収集の収集状況やモデル細胞培養肉に関する網羅的な解析の実施状況に関する情報提供を行った。Vow社が、FSANZ、シンガポールSFA、米国FDAに同時に許可申請を行っていることから、審査を受けるにあたって特に苦労した点や現行のリスク評価のプロセスで将来改善を求める点などについても情報交換を行った(内容は省略)。

ジェトロ・シドニーの訪問では、ジェトロ・シドニーでは、豪州・NZの細胞培養肉に関する動向と、農林水産省補助事業として行ったEUにおけるNovel Food規制(2018年12月発行)に関する報告書に関する情報収集を行った。

### 個別課題 1-③ シンガポール細胞培養肉スタートアップ企業視察（研究担当者名：野口智弘）

シンガポールは、世界に先駆け細胞培養肉に対する認可を出し、また多くのスタートアップ企業が新たな認可を目指し研究活動が盛んに行われている。2023年10月31日～11月2日に開催された細胞培養肉などをはじめとする最新のアグリテック博覧会である Agri-Food Tech Expo Asia (AFTEA) の視察に合わせ、細胞農業研究機構 (JACA) が主催した細胞培養肉を研究開発するスタートアップ企業の視察に同行し、シンガポールにおける細胞培養肉の最新情報の収集を行った。

シンガポールの食料自給率はカロリーベースで 10%を下回っており自給率の向上が課題となっている。このためシンガポール政府は、2019年に「30 by 30」活動を立ち上げ、2030年までに自給率を 30%にまで向上させる目標を掲げた。しかしながら、農地が国土の 0.9%ほどしかないシンガポールにとって他国のような農畜産業の振興を図ってもこの数値を上昇させることは不可能である。そのため、最新のアグリテックの推進に注力し、植物生産工場や細胞培養肉などといった、従来農業とは異なる分野に多額の資金援助を行っている。これらシンガポール政府の支援を受け、現在シンガポールにて注目されている細胞培養肉企業の視察の機会を得られたので、その概要を以下に報告する。なお、今回の視察を行った企業は表 1-③-1 の通りである。

表 1-③-1 視察企業一覧

社名	主な研究開発対象	設立年	日本企業連携先
Umami Bioworks	ウナギ	2020年	A社
Shiok Meats	甲殻類	2018年	B社
ImpacFat	魚脂肪	2021年	
Turtle Tree Labs	牛乳	2019年	

視察を行ったいずれの企業においても、研究ベースでの細胞培養技術の構築には一定の成果を得ており、今後は大量生産へのスケールアップとともに、コストを如何に低下させるかが大きな課題となっている。コスト高の要因は、①分化および増殖用培地の価格、②血清の使用が上げられるが、培地価格は 2022年に比べ 2023年では分化培地で 1/8、増殖培地で約 1/5 (ImpacFat 社資料) に低下しており今後もさらに低下が見込まれ、総培地価格は 2022年の約 1000ドル/Lであったものが 2025年には 1ドル/Lになると予想されている。また、血清の使用に関しては国内における研究成果でも示されているように、藻類への切り替えが進み、価格的小および動物愛護の観点からも今後の進展が期待されている。

さらに、通常、細胞培養時には抗生物質が用いられているが、実際に食品として摂取することが現実的になっている現時点では、抗生物質の不使用が求められる。この点も 1年前には大きな問題として取り上げられていたが、抗生物質を使用しないということも技術的にもクリアしつつある状況のようである。培養細胞においても一つの大きな懸念点が細胞のガン化の議論である。JETRO シンガポール事務所主催の討論会 “SWITCH of Agri/Food Tech -シンガポールの Agri/Food Tech 最前線” で登壇した ImpacFat 社の杉井重紀博士は、博士が研究対象として取り扱っている魚脂肪細胞は「RNA-seq の手法を使って網羅的に遺伝子変化を調べ、ガン化に関連する遺伝子群の上昇がないことを確認している。」と質問に回答していた。これらの技術がどこまで細胞培養肉を研究開発している企業・研究者に広がっているかは未知数であるが、1年程前に懸念していた項目が着実に解決へと向かっていることは確かであった。



一方で立体培養の技術情報は今回の視察において得ることはできず、実用化の方向性は足場たんぱく質およびプラントベースたんぱく質との混合による製品構築に向いていた。先述の ImpacFat 社は魚脂肪の培養研究を行っており、これまでに植物性の豚肉や魚肉に培養魚脂を加え製品の試食会などを実施していたが、今回の視察時には植物性豚肉を用いた餃子への培養魚脂を加えた試食会を実施し、参加者より好評を得ていた（図-③-1、2）。また、細胞培養による牛乳の取得を手掛ける Turtle Tree Labs 社は、牛乳中の有用成分を植物性乳に加えることで、牛乳の健康機能性を摂取することの技術開発に成功した。ターゲットとなった牛乳中の有効成分はラクトフェリンであり、今回報告者も試飲する機会を得たが、風味は牛乳からは遠いものの、乳飲料としては違和感のない風味を呈していた。

さらに、今回の視察先企業の取り組みではないが、細胞培養肉をハンバーグやステーキなどのように肉塊として用いるのではなく、肉の風味をプラントベース食品に加えるための風味付けエキスとして用いるといった従来とは異なる用途での検討も行われていると、参加者より寄せられた情報として紹介された。

AFTEA 会場内の各ブースを回るガイドツアーが主催者により実施され、日本より参加した細胞培養肉関連の技術者の方とともに参加した（図 1-③-3）。“Cultivation Meat Pavilion”が設置され各社の研究概要の紹介がされていたが、安全性やレギュレーション対応のような技術資料の提示はみられなかった。

以上のように、細胞培養肉の市販認可を受けている 2 社 “GOOD Meat”および“UPSIDE Foods”に続く企業が数多く存在し、ここ 1、2 年の技術の進歩は目覚ましく、日本への進出意欲もとても強いのであった。安全性を確実に担保しつつも、早急なレギュレーション構築の必要性があると感じられた。



図1-③-1培養魚脂入り植物性餃子  
※ImpacFat社杉井博士資料より



図1-③-2 魚培養脂肪  
※AFTEA、ImpacFat社出展ブースにて撮影

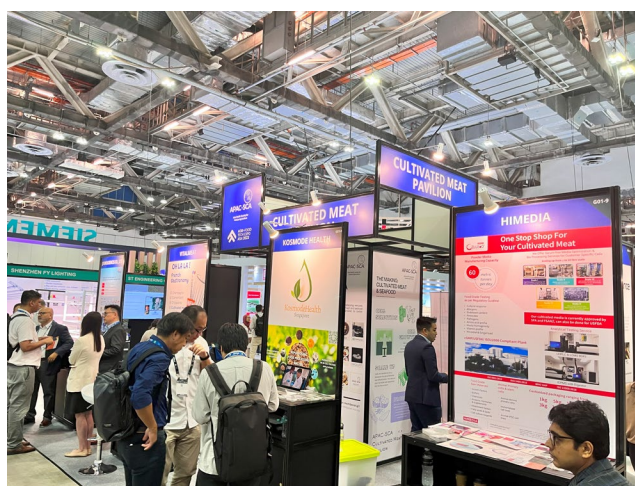


図1-③-3 AFTEA内“Cultivation Meat Pavilion”

## 第二章 細胞培養肉の製造とモデル提供、製造における課題検証

### 細胞培養肉の製造方法と生産プロセスの課題検討

個別課題 2-① 細胞培養肉の製造、企業からのモデル細胞培養肉の提供（清水達也）

#### ① 研究内容・方法

本個別課題では、細胞培養肉の原材料（細胞、培養液、足場材料）と生産プロセスの情報収集を行った。また、鶏胚から筋芽細胞、線維芽細胞を採取し、これを平面培養で増殖させ、回収した細胞をモデル肉として網羅的解析チームへ提供した。加えて、国内細胞培養肉開発企業に解析用のモデル肉の提供を依頼した。

#### ① 研究成果

[細胞培養肉の原材料、生産プロセスに関する調査]（図 2-①-1、図 2-①-2 参照）細胞培養肉の原材料としてはアミノ酸、糖、ビタミン、微量元素、塩類が含まれる基礎培地と血清、増殖因子、細胞、足場材料である。血清利用の課題は、動物福祉の観点、病原体感染リスク、ロット差、高コストなどが挙げられる。また、増殖因子は主にリコンビナントたんぱく質であるが、これらは現状高価であることが課題である。細胞は、家畜、魚から採取され、これを増殖させるが、増殖する過程で、培養環境や継代作業によるダメージなどの要因から遺伝子の変異やアレルギー成分の発現などが起こる可能性がある（図 2-①-3）。

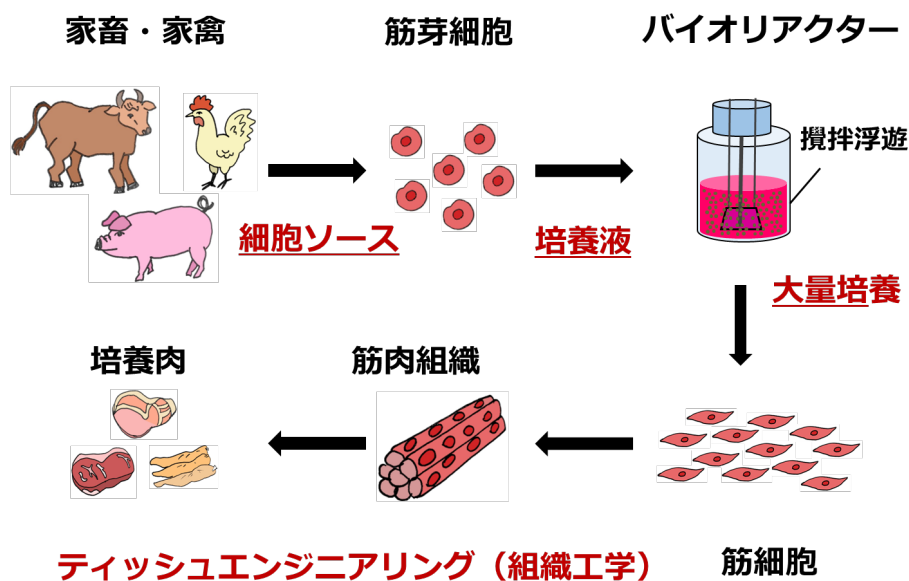
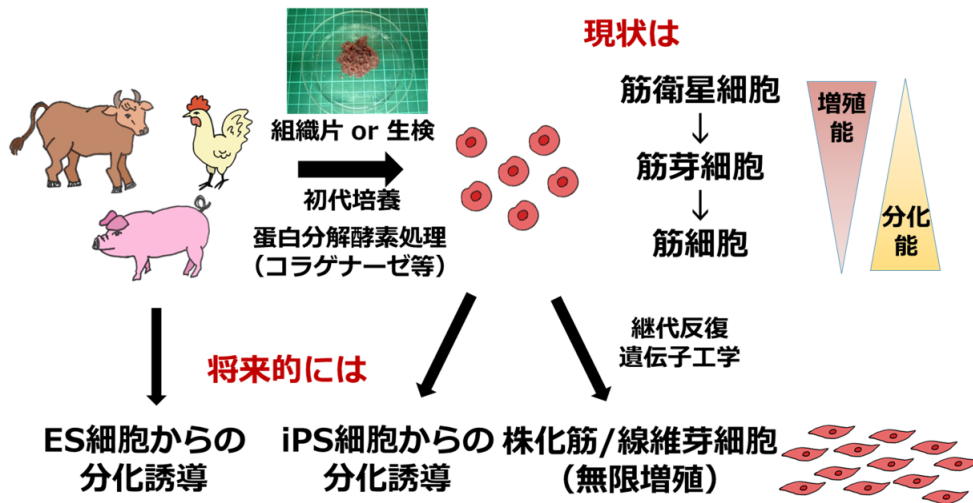


図2-①-1 培養肉生産プロセス



その他、筋組織には脂肪細胞・線維芽細胞・血管構成細胞が含まれる

図2-①-2 培養肉生産における細胞ソース



図2-①-3 培養肉生産における培養液の現状

足場材料は、動物由来のたんぱく質であるコラーゲンやフィブリン、また大豆由来のたんぱく質が用いられている。動物由来のたんぱく質は血清と同様の課題が挙げられる。大豆由来のたんぱく質は、日本においては大半を輸入に依存している点や、大豆の生産自体が環境への負荷になることが課題である(図2-①-4)。

## 市販されている培養肉



Eat Just社がシンガポールで販売した培養チキン(70%が細胞<sup>(1)</sup>)

大豆タンパクが  
"細胞の成長足場"ではなく  
"つなぎ"として用いられている

## 研究段階の培養肉(組織工学技術をベースにした作製法)

### 動物由来材料…コラーゲン、フィブリン、シルクフィブロイン

- ・細胞機能(増殖、分化)の維持、活用がしやすい
- ・材料が高価
- ・食品として扱われていない材料が多い

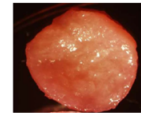


コラーゲン-フィブリンゲルベースの培養肉<sup>(2)</sup>

### 植物由来材料…大豆タンパク、アルギン酸(多糖類)

接着タンパクコーティング等の処理をすることで細胞の接着培養が可能になる

- ・動物由来に比べて材料が安価
- ・食品として扱われてきた材料が多い



大豆ベースの培養肉<sup>(3)</sup>

### 足場材料フリー…細胞シート、スフェロイド技術

- ・細胞同士が接着し、立体組織を作る
- ・細胞と培養液だけで培養肉を作ることができる
- ・硬さを出すためには組織化後、さらに培養が必要



スフェロイド技術で作られた培養肉<sup>(4)</sup>

(1) Nature Biotechnology, 39.3 (2021), 257-259. (2) npj Science of Food, 5.1 (2021), 6.4. (3) Nature Food 1.4 (2020): 210-220. (4) <https://www.diversefarm.com>.

図2-①-4 培養肉生産における足場材料

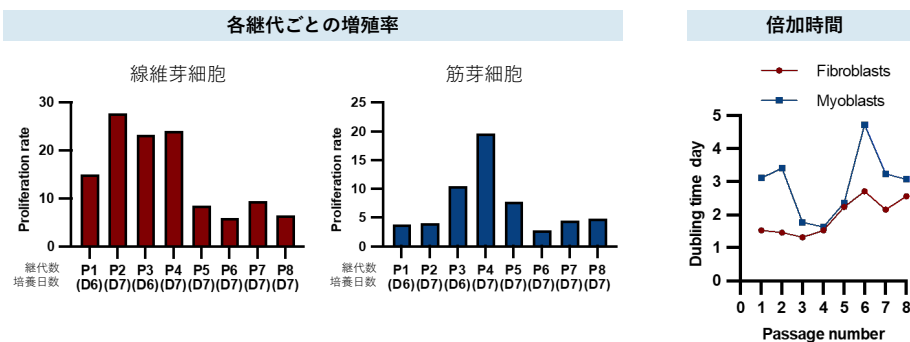


図2-①-5 増殖率と、各継代で得られた細胞の総重量

[モデル肉の提供]本個別課題では鶏胚由来の細胞をモデル肉として選定した。これは従来の鶏肉と比較できるという点と、胚由来のため増殖性が高く短期間で大量の細胞を回収できるメリットを有するためである。本研究では、鶏胚から筋芽細胞、線維芽細胞を採取し、可食培地である IMEM に FBS を 10%の割合で添加した培養液を使用し、15cm ディッシュで増殖させた。6 日、または 7 日間培養した後に、トリプシン処理によって細胞を剥離し、一部をモデル肉として凍結、一部を再播種した。この作業を繰り返して、継代ごとの細胞を解析チームへ提供した。継代ごとの増殖率は図 2-①-5 に示す。それぞれの細胞は 15cm ディッシュ 5 枚を使って継代培養され、1 回の継代ごとの回収細胞の重量は 200-700 mg であった(図 2-①-5)。また、栄養素解析のためにグラム単位での細胞が必要であったため、5 g の線維芽細胞を同様の方法で培養、回収し、解析チームへの提供を行った。また細胞培養肉ベンチャーであるインテグリカルチャー社およびダイバースファーム社と交渉し、培養した鳥類由来の細胞の提供が可能な体制を整えた。

今後の課題：

モデル肉の提供においては、平面培養で細胞増殖、回収を行っていたため、グラム単位での提供には労力を要した。今後は三次元攪拌浮遊培養法の導入や増殖効率の高い細胞の使用を検討し、生産性の高い提供体制を作る必要がある。

## 個別課題 2-② 細胞培養肉の製造方法と生産プロセスの課題検討（和田昌憲（協力研究者））

### ① 研究内容

- A) 品質評価指標の確立：モデル細胞をスケールアップ培養した際の性質の変化や、微生物汚染が発生した状態を想定した品質評価項目を決める。
- B) 品質評価指標の検証：本事業で検証したセンサーの有効性のデータをもとに、前項で決めた品質評価項目と関連することを検証する。

### ② 研究成果

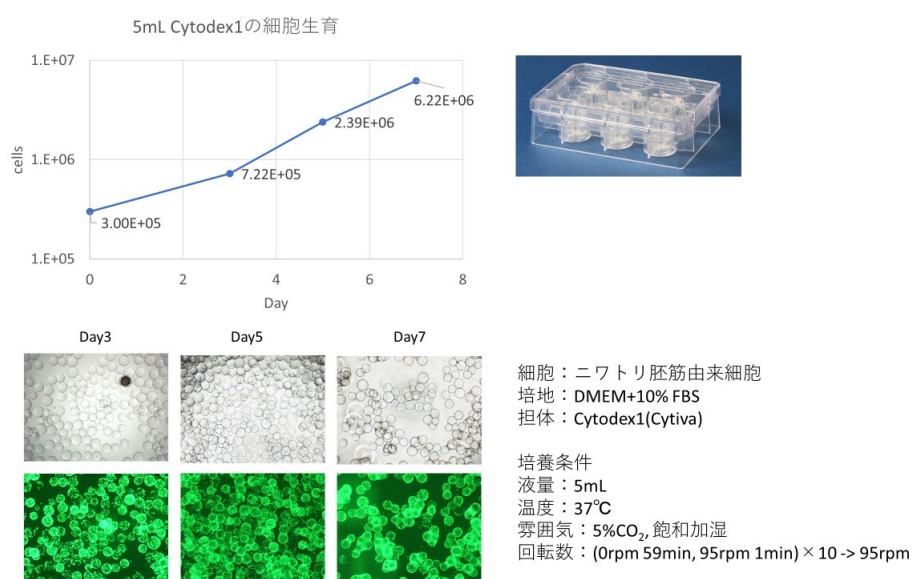
- A) 品質評価指標の確立：細胞培養肉生産のモデル細胞としてニワトリ胚から採取した筋組織由来の細胞群（以下、ニワトリ胚筋由来細胞：CEF）を用いた。細胞培養肉生産を想定した際に CEF の培養方法として、①培養皿を用いた接着培養、②培養槽を用いた凝集塊形成を伴う浮遊攪拌培養、③培養槽と接着性担体を用いた浮遊攪拌培養の3つが想定される。細胞培養肉の生産では、大量の細胞を必要とする観点から②あるいは③の方法が専ら用いられるが、本事業では細胞培養肉の大量生産方法として多くの報告例がある③の方法を採用した。細胞培養肉生産を目的とした細胞培養に用いる接着性担体（以下、担体）は、従来からバイオ医薬製造等で多くの採用実績がある市販の担体を応用した例や、培養細胞と一緒に食料として摂取することを想定した生物由来原料の担体を使用した例がある（Seah JSH, Singh S, Tan LP, Choudhury D. Crit Rev Biotechnol. 2022 Mar;42(2):311-323.）。本事業では、入手性の観点から市販の担体として Cytodex1 (Cytiva) を採用した。本事業において浮遊攪拌培養に用いる培養槽は、食品衛生法を参考にして適格性を確認した。食品衛生法における容器とは、食品を製造・加工する用途に供され、かつ食品に直接接触する機械や容器と定義（第1章第4条）されており、本事業においては培養に供する培養容器がこれに該当すると想定した。本事業で使用する培養槽（容器）の適格性は、食品衛生法で規定されている要求事項（器具・容器包装のポジティブリスト）を参考にした。センサーによる製造管理の方法については、管理対象を細胞数として、細胞数と相関がある溶存酸素濃度を直接の計測項目と想定した。細胞培養肉製造において細胞数は、高いリアルタイム性は求められる管理項目になると想定される。一方、上記3つの培養方法に共通して細胞数計測は侵襲的であり、かつリアルタイム性に欠けるという課題がある。細胞は例外なく生育に酸素を要求し、細胞の生育に伴って培地中の溶存酸素（以下、DO）が減少することから、DO 計測値が細胞数変化と関連することが考えられる。また、細胞種によって酸素消費速度は特徴的となり、例えば動物細胞と微生物とでは大きく異なることから、培養中の DO を常時計測することによって、目的細胞の生育と目的外細胞の混入を管理することが可能であると想定した。上記の想定のもとに以下の検証を行った。
- B) 品質評価指標の検証：
  - (ア) 製造に用いる機器・機材：培養に使用したエイブル製培養容器（図1）は、接液部（細胞への接触部）がポリカーボネートとポリエチレンを原料とする部材で構成されており、これらは食品衛生法のポジティブリスト（ポリオレフィン等衛生協議会・塩ビ食品衛生協議会・塩化ビニリデン衛生協議会発行）に記載されている。担体として用いた Cytodex1（以下、担体）は、食品添加物としても使用されているデキストランを主原料としている。
  - (イ) センサーによる製造管理：エイブル製培養容器（図1）を用いて、東京女子医科大学でニワトリより採取された CEF を担体に接着させて浮遊攪拌にて培養する方法を検討した。



液量： 5mL 30mL 100mL 500mL 1.5L 4L~10L

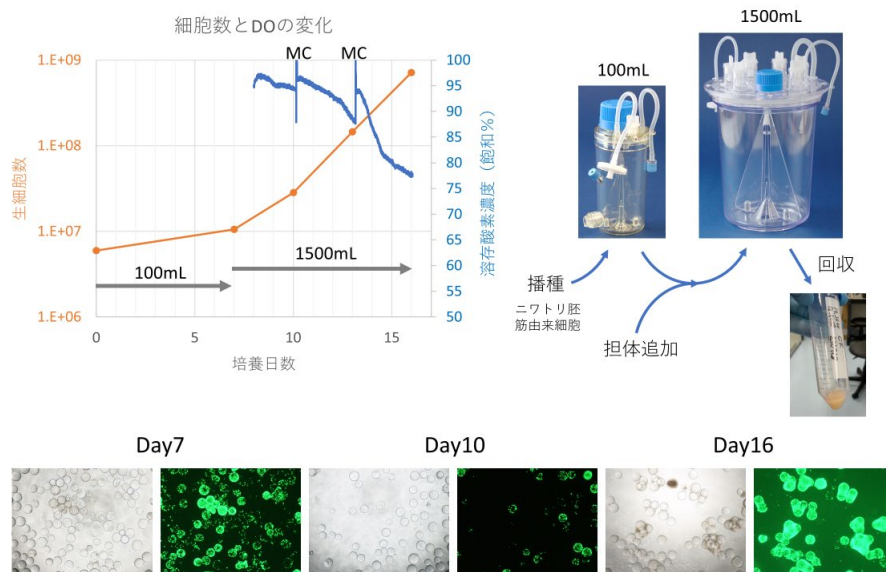
(図1)

液量5mLの培養槽では、担体への接着と増殖の各条件の最適化を行った。結果、攪拌の制御によって7日間で20倍程度の増殖が見られた(図2)。



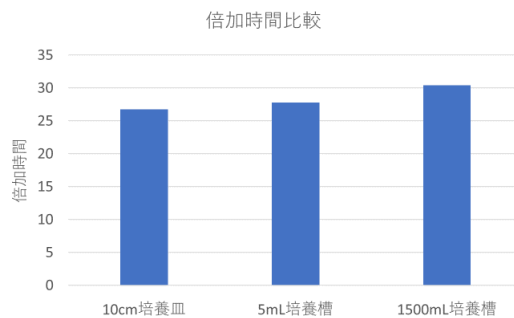
(図2)

次に5mL 培養槽で最適化した条件をもとに培養液量を1500mL まで拡大した。拡大培養の際には、担体からの細胞剥離の工程を経ずに新たに添加した担体へ細胞が増殖できることを確認した。また、1500mL 培養槽では DO センサーを用いて培養中の DO をリアルタイムで計測したところ、細胞増殖に伴って減少していくことが観察された(図3)。



(図3)

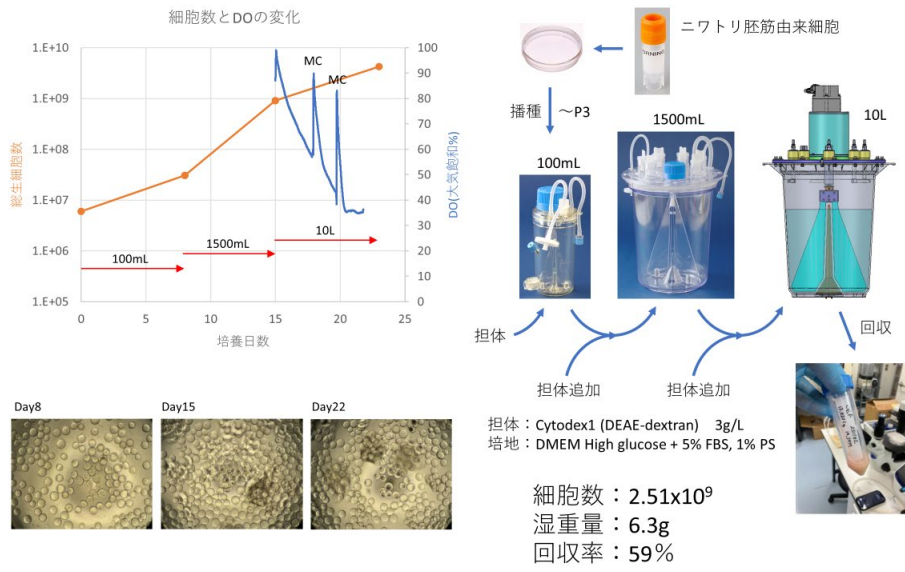
培養結果から算出した培養皿、5mL および1500mL 培養槽の倍加時間は26時間から30時間程度であり、培養方法にかかわらずほぼ一定の速度で増殖していることを確認した (図4)。



(図4)

1500mL 培養槽での条件検討結果をもとに液量を10L まで拡大して培養を行ったところ、最終的に6.3gのニワトリ由来細胞を得ることができた (図5)。1500mL 培養の対数増殖期におけるDOの実測値 (図3の13日目) から CEF の酸素消費速度は、 $4.93 \times 10^{-16} \text{gO}_2/\text{cell}/\text{hr}$  と見積もられた。この値をもとに10L 培養の対数増殖期 (図5の15日目) における酸素消費量から細胞数を見積ると  $1.81 \times 10^9$  細胞となり、15日目の細胞の実測値 ( $9.09 \times 10^9$  細胞) に対して約2倍の誤差となった。この結果から DO 計測から得られた酸素消費量から培養液中の細胞数をある程度予測できることが確認できた。また、酸素消費速度は生物種によって一義的に決まるものであるため、DO のモニタリングによってバクテリアのような大きく酸素消費速度が異なる生物種が混入した場合の管理基準となり得る。





(図 5)

### 第三章 細胞培養肉と通常肉の比較による網羅的解析の実施と考察

#### 1. トランスクリプトーム解析

##### 個別課題3-① 培養細胞のトランスクリプトーム解析 (田村倫子)

###### 【実験の概要】

トランスクリプトーム解析の視点から細胞培養肉に資する細胞と鶏モモ肉を比較し、得られた結果を解析し、安全性評価基準を考える際にどのような課題が挙げられるか検討した。

細胞培養肉生産を大きく2つの過程に分けると、前半は、資源となる畜肉の筋肉細胞を培養し樹立化する過程であり、後半は、樹立細胞を大量培養し細胞培養肉を得る過程といえる(図3-①-1)。トランスクリプトーム解析は前半の過程にフォーカスした。まず、資源となる畜肉の筋肉細胞として鶏胚のモモ組織を準備し、市販モモ肉と比較した。次に、樹立細胞を得るための継代培養の細胞として線維芽細胞と筋芽細胞を準備し、市販モモ肉と比較した。

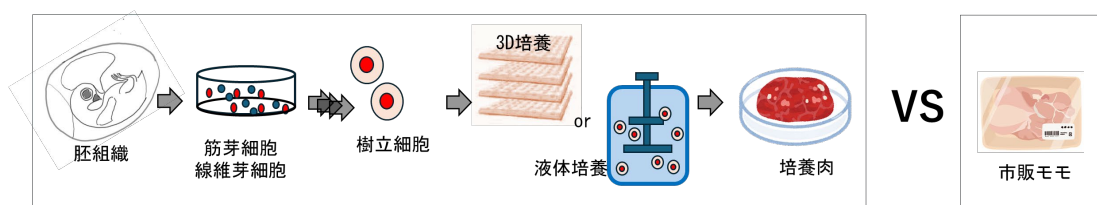


図3-①-1 実験概要のイラスト

###### 【方法】

###### 解析に用いた試料：

鶏胚モモとして、産卵10日後のモモを用いた。

鶏培養細胞として、個別課題2-①からサンプルを得た。継代3~5の線維芽細胞、筋芽細胞を用いた。

市販の鶏肉として、精肉店から山梨県産の孵化後40日のモモ(n=3)を購入し用いた。

全ての試料は液体窒素を用いて瞬間凍結し使用まで-80℃で保存した。

###### トランスクリプトーム解析：

組織から QIAGEN RNeasy Mini Kit および QIAGEN RNeasy Fibrous Tissue Kit を用いて全 RNA を抽出した。NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit でライブラリを作製し次世代シーケンサー-NextSeq1000 に供した。CLC Genomics Workbench (Ver. 23) で発現値(TPM 値)を求めた。発現量に差のある遺伝子を DAVID (Ver:v2023q4) 及び QUICKGO に供しエンリッチメント解析をした。RT-PCR は Thermal Cycler Dice Real Time System II (Ver:4.02) で PCR を行い、結果は検量線法を用い、 $\beta$ -actin の発現量を内部コントロールとして相対値を示した。

###### 【研究成果】

###### 抽出したRNAの分解度：

正確な評価のために分解度の低いRNAサンプルが必要であるが、文献検索からは、市販肉からRNA抽出を試みた報告は見つからなかった。一般に、細胞内に発現しているRNAは、ト殺後にRNA分解酵素が働くため分解される。そこで、RNA分解を防ぎたい場合、酵素を失活させるためサンプルは単離直後に

急速凍結される。今回、市販肉としてト殺後1度で冷蔵され3日経過したものを購入した。

RNA抽出の結果、非分解度を表すRIN値は、いずれも次世代シーケンサーに供する際の最低値“7.0”を上回った(表3-①-1)。このことから市販の肉からのRNA抽出も可能であること、安全性の評価の指標を考察するのに十分なサンプルが得られたことが示された。

部位	継代	RIN
繊維芽	3	9.7
	4	9.5
	5	9.7
筋芽	3	10.0
	4	9.5
	5	9.9
もも	鶏A	8.0
	鶏B	7.8
	鶏C	7.9

表3-①-1 抽出したRNAの非分解率

#### 鶏胚ももVS市販もも：

まず、細胞培養肉に資する胚ももと市販ももを比較し、胚もものリスクアナリシスを行った。市販肉は胚ももから生長し食資源(鶏もも肉)となり、細胞培養肉は胚ももから樹立細胞を得て、これを大量培養することで細胞培養肉を得るため、まずは胚ももの安全性をトランスクリプトーム解析で評価できるか、試みた。

胚ももと市販ももとで発現量に差のある遺伝子を選出した。遺伝子の発現量(TPM) > 100、発現量の差が5倍より大きい(以降FC > 5と表記)、差があるとした際の擬陽性(False Discovery Rate)は0.01未満(以降FDR < 0.01と表記)という条件で、25440遺伝子中、1410遺伝子に発現量の差が認められた。

#### ①25440遺伝子中1410遺伝子という数の妥当性—これまでの知見から—

トランスクリプトーム解析の文献、学会発表、報告書を総じて考えると多いと言え、数十から数百での解析が望ましいと考えられる。例えば11日目の鶏胚を用いた筋形成に関する論文では、4~347遺伝子を用いて解析を行っている(文献1)。今回報告者が得た予備実験データにおいては、継代(培養日数)の違いによる遺伝子発現の差異は263遺伝子であった。通常2点比較を行う場合、2点の差を説明する遺伝子数として数百であることが多い。

ところが、細胞培養肉生産の際の血清の制限と細胞分化について調べた論文(文献2)では、14,729遺伝子中2984遺伝子に着目し解析を行っている。細胞培養肉あるいは畜肉関連のトランスクリプトーム解析では数千遺伝子を差のある遺伝子数として文献に提示しており(例えば文献3は1553遺伝子)、今回の1410遺伝子においても解析できない数ではないが、やや強引な解析をすることになった。

#### ②GOエンリッチメント解析

差があると認められた遺伝子群の中に、どのような機能に関わる遺伝子が多く含まれているのかを調べる方法としてGOエンリッチメント解析を行った。鶏胚ももでは神経系や骨格の発達に関する遺伝子、市販ももでは、筋収縮や運動代謝に関する遺伝子が差のある遺伝子として抽出された(表3-①-2)。鶏胚ももと市販ももの差異は、組織の週齢の違いに濃縮された。鶏胚ももにのみ発現する遺伝子に

おいても安全性を疑う余地のある遺伝子は今回は見受けられなかった。このことから、トランスクリプトーム解析で細胞培養肉に資する資源の安全性を遺伝子レベルで分析できることが示された。

表3-①-2 鶏胚モモと市販モモのGOエンリッチメント解析

<p><b>Embryo only.....546 genes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>アミノ酸修飾</li> <li>DNA修復</li> <li>有分裂</li> <li>クロモソームへのタンパク質配置</li> <li>アクチンサイトスケルトン形成</li> <li>神経発達</li> </ul>	<p><b>Thigh only.....580 genes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>TCA サイクル</li> <li>タンパク質異化</li> <li>アクチンフィラメント重合</li> <li>筋組織発達</li> <li>ミトコンドリアの機能</li> </ul>
<p><b>Embryos &gt; Thigh..... 64 genes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>骨格システムの発達</li> <li>多細胞生物の構造の形成</li> <li>神経インパルスの伝達</li> </ul>	<p><b>Embryos &lt; Thigh..... 220 genes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>カルシウムイオン放出</li> <li>筋小胞体からカルシウムイオンの放出制御</li> <li>横紋筋の収縮の制御</li> <li>糖分解プロセス</li> </ul>

これを踏まえ、次に胚モモから単離した培養細胞の継代3~5回目の比較を行った。

線維芽・筋芽細胞 VS 市販モモ：

TPM>100、FC>5、FDR<0.01という条件で、25440遺伝子中、528遺伝子に発現量の差が認められた。そこでGOエンリッチメント解析を行った。本来GOエンリッチメント解析は528遺伝子群のなかに、どのような機能に関わる遺伝子が有意に多く含まれているかを分類する解析であるが、501分類されたため、遺伝子数と同様の数であったので分類にならなかった。そこでTPM値、FCの値、FDRの値などを変更し解析を試みた。以下の条件で解析が可能となった。

TPM>10、FC>5、FDR<0.01という条件で、25440遺伝子中、1437遺伝子に発現量の差が認められた。

①GOエンリッチメント解析

培養細胞では細胞接着や細胞分裂の制御などに関与する遺伝子が発現していた一方で、鶏モモでは筋肉の収縮や酸素運搬、ATP代謝などに関わる遺伝子が有意に発現していた(表3-①-3)。ただし、鶏モモよりも培養細胞で発現量が多かった遺伝子737個に関してはエンリッチメント解析ができなかった(どのような機能に関わる遺伝子が有意に737個の中に占めていたか差が無く示されなかった)ため、差異が大きな上位100遺伝子の傾向を示した。この理由として、1種類の細胞が多数存在する「単一機能の培養細胞」と、血管、脂肪細胞、神経等を含む「組織」を比較すると単一細胞に発現していない遺伝子の多くが有意な差として検出されたと考えられた。

表3-①-3 培養細胞と市販モモのGOエンリッチメント解析

<p><b>Fibroblasts only.....7(2) genes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・前立腺がん腫瘍形成に関わるマイクロセミのタンパク質β</li> <li>・プロラクチン放出ホルモン</li> </ul>	<p><b>Thigh only.....19 genes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・筋肉の収縮をCa<sup>2+</sup>で調節するタンパク質ホスホランパン</li> <li>・ヘモグロビン など</li> </ul>
<p><b>Fibroblasts &gt; Thigh..... 737 genes</b> (GO解析不可能のため上層100遺伝子の主な機能を表記)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・アドヘシン；細胞接着抑制</li> <li>・G1/s期の生の制御</li> <li>・グリア細胞</li> </ul>	<p><b>Thigh &gt; Fibroblasts.....674 genes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・骨格筋細胞分化調節</li> <li>・ミオチューブ細胞発達</li> <li>・アクチンフィラメントキャッピング重合抑制</li> <li>・ATP代謝 など</li> </ul>

見えてきた課題として、単一の細胞である細胞培養肉の安全性（例えば培地の吸収と代謝、アレルギー物質の増減といったリスク）に関わる遺伝子発現の差を、市販の畜肉と比較することで見いだすには、培養細胞を用いると難しいということである。組織の中の筋芽細胞・線維芽細胞は、血液の供給を受けホルモンなどの組織液の供給がある。細胞は三次元に接着し腱による支えも存在する。また、神経細胞や免疫細胞との相互作用があり、飼育中は光刺激や温度刺激もあったと考えられる。一方で培養細胞は平面培養であり血清（FBS）の添加と人工的な状態である(表3-①-4)。

表3-①-4 培養細胞と組織中の細胞の違い

要素	培養細胞	組織中の筋肉細胞
培地条件	IMEI+FBS(血清) (人工的)	血液・神経・免疫細胞・組織液 (ホルモン)
次元	平面培養 密接する細胞が三次元でない	隣接する細胞 や腱による支え
外的要因	pH,温度,暗所 (人工的)	光刺激・温度・気圧・季節

細胞培養肉の資源となる胚細胞と比較する方が妥当と考えられた。このことから、細胞培養肉の比較対象となる食品として、市販もも肉や細胞由来部位は適当とは言えないようであった(図3-①-2)。

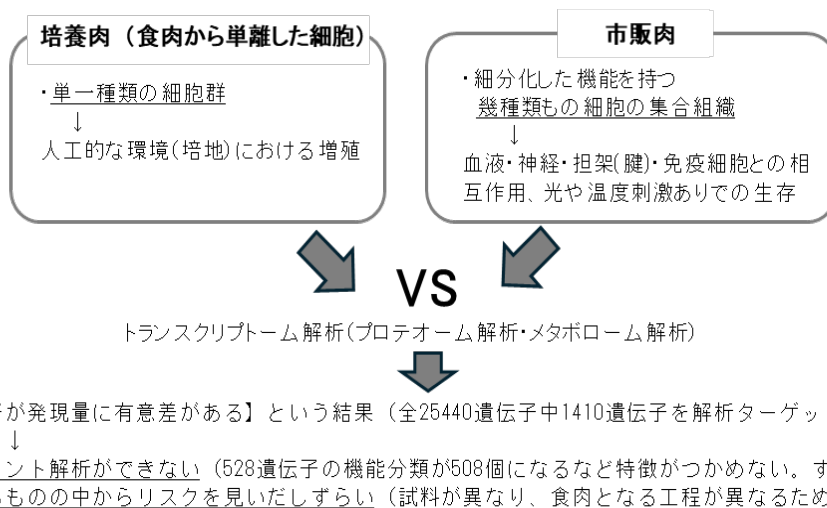


図3-①-2 培養肉と市販肉の違い、および比較することで起こること

また、今回成しえなかった解析と評価として、胚細胞から不死化した樹立細胞を得た際の細胞の安全性（ガン化の有無）や、樹立細胞の大量培養の際に細胞にかかったストレスと変動した代謝の安全性などがある。この場合不死化の過程や、大量培養前後・培養中といった経時的変化をモニタリングし、安全性に関わる因子の発現変化を評価すべきであると考えられた。

培養細胞のみに発現している遺伝子の1つに、前立腺がん腫瘍形成に関わる遺伝子MSMBが見受けられた。この遺伝子は発現量が増加するとガン化を抑制的に制御することが知られている(文献4, 5)。また、発現値では無く相対的な発現量をRT-PCRで明らかにしたが大きな差異は認められなかった(図3-①-3)。

	筋芽 継代3	筋芽 継代4	筋芽 継代5	繊維芽 継代3	繊維芽 継代4	繊維芽 継代5	もも A	もも B	もも C
発現値	12.5	12.0	7.4	24.3	14.4	6.4	0.0	0.0	0.0

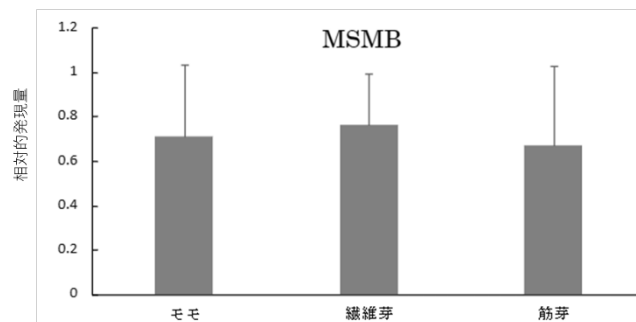






図3-①-3 MSMBの相対的発現量

#### アレルギーに関わる遺伝子の発現

アレルギーデータベース (<https://allergen.nih.gov/ADFS/database>) を用いてこれまでに既存の鶏に対するアレルギーをピックアップし、これに関わる遺伝子発現量を表3-①-5にまとめた。市販もも(青)に比較してこれより発現量が多いものは、50Sリボソームタンパク質をコードする遺伝子が増えられた。培養細胞はmRNAの転写が盛んであることから発現量が高かったと考えられた。

未同定のアレルゲン性を細胞培養肉が有するかにおいては、遺伝子の発現ではなく、ゲノム配列にアレルギー性を有すると示唆される配列があるかが重要である。今回のトランスクリプトーム解析ではなく、作製した細胞培養肉のゲノム解読による安全性の解析が必要である事が見えてきた。

表3-①-5 既存アレルギーに関わる遺伝子の発現量

Description	 Chicken Thigh	 Embryo Thigh	 Myoblast	 Fibroblast
Ovomucoid	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Ovalbumin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Ovotransferrin	711.3	226.7	133.7	302.7
Lysozyme C	10.0	3.3	3.0	2.0
Serum albumin	8.2	1.1	6.7	8.5
50S ribosomal protein 24L	8612	8482	10790	15434

文献1 : Transcriptome analysis of the inhibitory effect of cycloleucine on myogenesis, *Poult Sci.* 2022 101, 102219. doi: 10.1016/j.psj.2022.102219

文献2 : A serum-free media formulation for cultured meat production supports bovine satellite cell differentiation in the absence of serum starvation, *Nature Food*, 2022 3 p74-8

5, doi: 10.1038/s43016-021-00419-1

文献3 : Transdifferentiation of fibroblasts into muscle cells to constitute cultured meat with tunable intramuscular fat deposition, *bioRxiv*, 2023doi: 10.1101/2023.10.26.564179

文献4 : MSMB Variation and Prostate Cancer Risk: Clues Towards a Possible Fungal Etiology, 2014, 74(6): 569-578. doi:10.1002/pros.22778.

文献5 : Structural and molecular biology of PSP94: Its significance in prostate pathophysiology, *Front Biosci.* 2018 Jan 1;23(3):535-562

### 【考察及び今後の課題】

実験を行い安全性評価の提案に関して明らかとなったこと

- ・これまで知見が無かったが、市販の鶏肉から、分解の進んでいないRNAの抽出が可能であった。このことから、調理前の細胞培養肉の安全性の指標として市販の生肉が比較基準となりえることが分かった。とくに細胞培養肉の起源となる鶏胚細胞のリスクアナリシスが市販の生肉と可能であった。

- ・遺伝子配列はA, T, G, Cの4塩基から成るため抽出条件や発現量の差を見だしやすい。例えばたんぱく質や代謝産物においては、数千種類が存在した場合、抽出する際の条件が酸・アルカリ・温度・脂溶性・水溶性・分解条件・インヒビターの適正・分子量・解析ピークの足切りなど多数存在する。さらに、細胞培養肉が既存の物質以外の未知物質を含有した場合、その物質の抽出条件が適正でないと存在を明らかにできない場合がある。これに比較して、細胞培養肉の安全性を遺伝子レベルで考慮することは既知・未知物質をコードしていたとしても4塩基から成るため、解析しやすいことが分かった。

- ・遺伝子を用いた安全性の解析においては、比較する際の条件検討が必要であり、一定の条件を提示できないことが分かった。

- ・細胞培養肉は単一細胞の集合体である一方で、市販の鶏肉は血管・神経・脂肪細胞・筋線維などを含む複合組織であり市販肉とは異なるため、両者を遺伝子発現レベルで比較することは推奨されない。

- ・細胞培養肉の起源・identity・樹立化（不死化・ガン化）・アレルゲンに関する遺伝子の増減を検証可能と分かった。

### 今後の課題

- ・胚細胞から不死化した樹立細胞を得た際の細胞の安全性（ガン化の有無など）を遺伝子レベルで評価することが効率的と分かったが、現在まだ評価に至っていない
- ・樹立細胞の大量培養の際に細胞にかかったストレスや、培地の組成変動における細胞の代謝の安全性を遺伝子レベルで評価することが効率的と分かったが、現在まだ評価に至っていない
- ・アレルゲンとなりうる配列をこれまでの知見から推定することは可能であるが、遺伝子ではなくゲノム解析をする必要があるが、この実験をなし得ていない

## 2. プロテオーム解析

### 個別課題 3-② 培養細胞のプロテオーム解析（五十君静信）

#### 【実験の概要】

トランスクリプトーム解析を行った細胞を対象として、二次元電気泳動を用いたプロテオーム解析を行った。すなわち、鶏胚モモから酵素処理を行い 10%牛胎児血清・1%ペニシリン-ストレプトマイシン含有培地にて培養した継代 3~5 の線維芽細胞、筋芽細胞を用いた。市販の鶏肉として、精肉店から山梨県産の孵化後 40 日のモモ (n=3) を購入し用いた。全ての試料は液体窒素を用いて瞬間凍結し使用まで -80°C で保存した。

プロテオーム解析は、アナテック社に委託し、定法により二次元電気泳動を行い、得られた画像を用いて、市販の鶏肉との比較により評価した。

#### サンプルの調整方法

それぞれの検体は、以下の組成の抽出液を用いて、分析用の検体とした。

#### ① 抽出液の組成

尿素	0.42 g
チオ尿素	0.152 g
CHAPS	0.02 g
Dithiothreitol (DTT)	0.0154 g
Pharmalyte pH3~10	25.0 $\mu$ L
Mill-Q 水	メスアップ 1.000 mL

#### ② 細胞の処理

細胞の湿重量に対して 4 倍量の抽出液を加える。

氷冷下で、超音波破碎する。

遠心 (15,000rpm、20 分、4°C) し、上清を採取。

実験サンプルとして、2 次元電気泳動により解析。



③ 実験結果

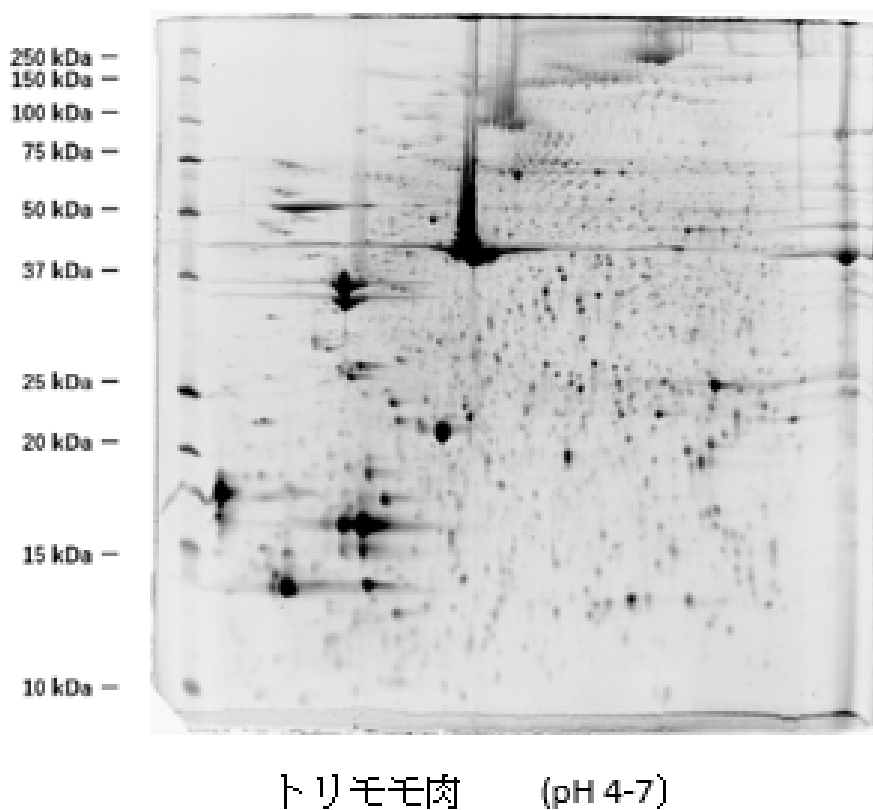
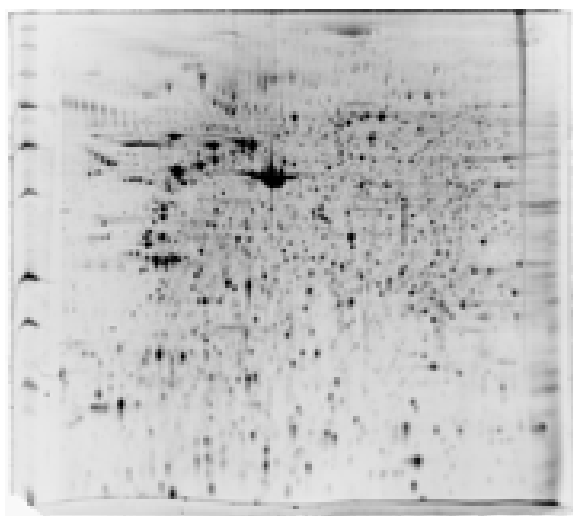


図3-②-1. 鶏もも肉の二次元電気泳動の結果

筋芽細胞 (P3D3M)



繊維芽細胞 (P3D3F)

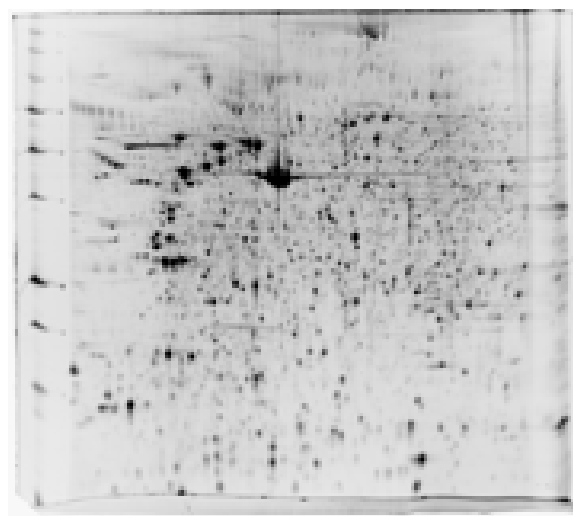


図3-②-2. 鶏胚から3代継代した筋芽細胞と繊維芽細胞 (条件は同じ)

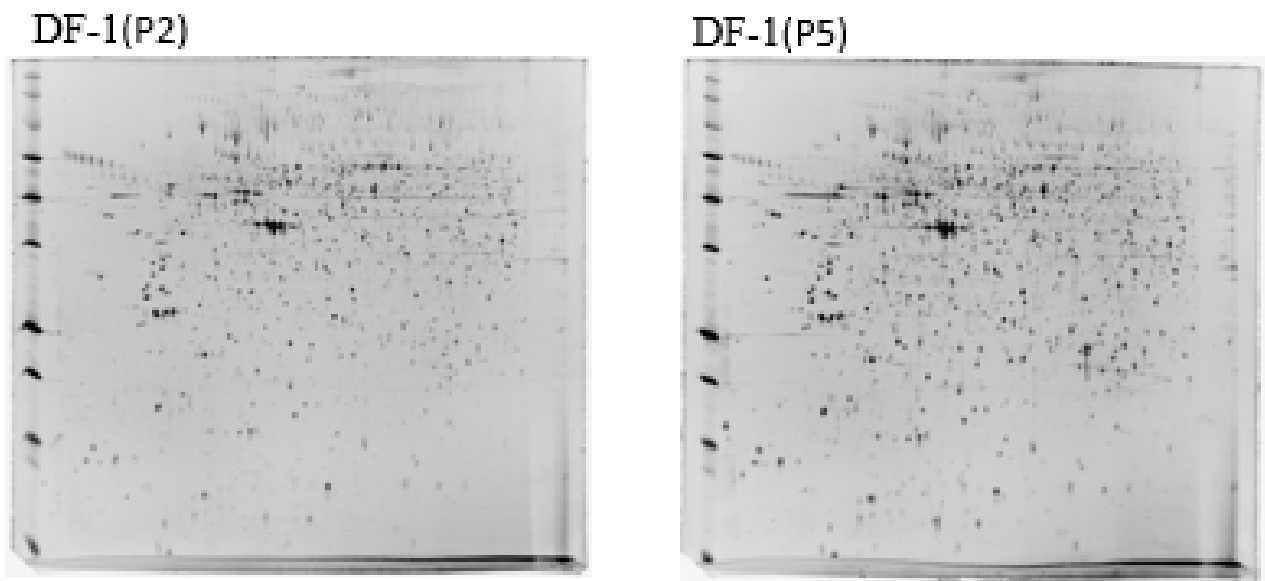


図3-②-3. ATCCより購入したDF-1細胞の2, 5代継代した細胞（条件は同じ）

#### 【考察及び今後の課題】

鶏ももの2次元電気泳動の結果（図3-②-1）と、鶏胚から初代培養ののち3代継代した筋芽細胞と線維芽細胞の結果（図3-②-2）並びに鶏繊維芽細胞の継代細胞としてATCCから購入したDF-1細胞の結果（図3-②-3）を比べると鶏モモに対し、継代細胞ではたんぱく質のプロファイリングが明らかに異なることが示された。それぞれの得られたドットの同一性などを検討することはあまり意味のないものと思われた。今回はこれ以上の解析は行わなかった。トランスクリプトームの評価結果同様、プロテオームの解析により培養細胞に関しては鶏肉を比較対象とみることはあまり有用ではない結果となった。

図3-②-2から、鶏胚由来の初代から3代継代した細胞の筋芽細胞と線維芽細胞はその2次元電気泳動の分析結果は非常に近いものであった。また、図3-②-3の結果から、DF-1細胞の2, 5代継代した細胞では、ほとんど差異が観察されなかった。おそらく、細かい分析を行えば差異が認められる可能性はある。細胞に関してプロテオームの解析を行うとすると、継代細胞の継代中に細胞に変化が起こるかどうかに着目した評価には有効と思われた。

たんぱく質に関する2次元電気泳動による網羅的解析では、従来の鶏肉や、細胞の起源となった胚細胞を比較対象とすることは、臓器と単独の細胞を比較することとなり、適切な比較にはならないと思われる。また、継代細胞同士の比較では、トランスクリプトーム解析で得られる情報ほどの細かい分析は難しいものと思われた。トランスクリプトームの解析を行えば、プロテオームの解析は省略してもよいのではないかと思われる。アレルゲンなど特定のたんぱく質にターゲットを絞った解析には有用となる可能性はある。

### 3. メタボローム解析

#### 個別課題 3-③ 培養細胞のメタボローム解析 (解良康太)

##### A) 細胞培養肉のリスク評価における成分分析技術の把握

食肉の成分分析技術として、一般に CE/MS、LC/MS、GC/MS、NMR が候補に挙げられる。細胞培養肉 (Cultured meat) の分析にも同様の分析技術が適用可能と考えられる。ただし、分析対象とする成分ごとに適切な前処理や機器を選定する必要があることから、リスク評価のためには対象成分の選定が必要と考えられる。2021 年に細胞培養肉の安全性評価についての Hadi ら報告によれば、細胞培養肉の安全性の項目として、培養に使用する動物血清におけるウイルス、プリオンの混入リスクについて言及している [1]。また、2022 年には、Gu らによって、培養工程においてバクテリアなどの繁殖を防ぐ目的で抗生物質などが使用される薬剤を対象とした LC/MS による分析方法が報告されている [2]。

##### B) 一般的な哺乳類培養細胞及び食肉からの親水性成分の抽出技術、質量分析技術に関して文献調査

本研究で用いる LC/MS についての前処理方法について、検討したところ、水/メタノール/クロロホルムを用いた二層分配法の上層 (水相) を回収する方法が一般的と考えられる。また、動物性の試料を分析する際の前処理方法として限外ろ過フィルターチューブを用いる手法も提唱されていた [3]。

##### C) 通常の食肉を用いた検討

本研究では、分析対象をトリ肉とした。はじめに、トリの部位による違いを検討するために、市販のトリ肉 (トランスクリプトーム、栄養分析と同様の試料) を使用し、以下の分析条件で分析した。

###### <試薬>

分析に用いた水 (超純水)、メタノール、アセトニトリルは富士フィルム和光純薬株式会社の LC/MS グレード、クロロホルムは同社の HPLC グレードのものを使用した。その他試薬は、同社の特級グレードのものを使用した。

###### <成分抽出>

トリ肉 (モモ、ササミ、ムネ) を精密天秤にて秤量し、水/メタノール/クロロホルムを用いた二層分配法にて成分抽出を行った。コンビニエバポ (株式会社バイオクロマト, 神奈川, 日本) を用いて乾固させた後、水で再溶解させた。その後、PTFE フィルター (SLLGH04NL, 0.2  $\mu$ m, Merck, Darmstadt, Germany) でろ過したものの分析サンプルとした。

###### <機器分析>

成分分析には Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF system (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA) を使用した。カラムは AQ-C18 HP (2.1 $\times$ 150 mm, 3  $\mu$ m, ジーエルサイエンス株式会社) を使用し、カラム温度は 40 $^{\circ}$  C に設定した。分析試料の注入量を 1  $\mu$ L とし、移動相 (A: 超純水 + 0.1%ギ酸, B: アセトニトリル+0.1%ギ酸) を流速 0.2 mL/min、グラジエント条件 (2%B, 0-3 min; 2-98%B, 3-30 min; 98%B, 30-35 min; 98-2%B, 35-40 min; 2%B, 40-45 min) で分析した。なお、分析は ESI-positive モードにて実施した。また、データ分析には MassHunter Qualitative Analysis B.06.00 (Agilent Technologies)、MSConvertGUI、PowerGet\_3.5.8、MetaboAnalyst5.0 を用いた。

###### <結果>

211 個のピークについてアライメントし、比較した結果、すべてに共通して検出されたピークが 184 個 (約 87%に相当) であった (図 3-③-1)。部位によって検出された成分量は異なるが、検討したトリ肉の部位については、それぞれで異なる分析条件を構築せずともアミノ酸などの主要な成分については検出、比較できることが示唆された。

#### D) 代謝物抽出、前処理方法の決定

リスク評価のためには、培養に用いた培地の分析、および細胞培養肉そのものを分析するための条件を設定する必要があった。そこで、清水先生から提供を受けた培地上清（培養開始時点：DOS、線維芽細胞のパッセージ3：P3S）について分析を行った。また、線維芽細胞のパッセージ1培養後7日目（P1D7）とパッセージ2培養後4日目（P2D4）の細胞について、前処理として限外ろ過フィルターの有無を検討した。

##### <培地上清の試料調製>

-80度で保管されていた試料を解凍し、50%アセトニトリルを用いて5倍希釈した。遠心分離（10,000 × rpm, 4°C, 5 min）後、上清をPTFEフィルター（SLLGH04NL, 0.2 μm, Merck, Darmstadt, Germany）でろ過したもの分析サンプルとした。

##### <線維芽細胞の試料調製>

-80度で保管されていた線維芽細胞（10<sup>7</sup> cells）に対して水/メタノール/クロロホルムを用いた二層分配法にて成分抽出を行った。コンビニエバポ（株式会社バイオクロマト、神奈川、日本）を用いて乾固させた後、水で再溶解させた。その後、限外ろ過フィルター（Ultrafree-MC-PLHCC, Human Metabolome Technologies, Inc., Tsuruoka, Japan）によってろ過したもの、PTFEフィルター（SLLGH04NL, 0.2 μm, Merck, Darmstadt, Germany）でろ過したもの、それぞれを分析サンプルとした。

##### <機器分析>

分析条件はC)の機器分析と同様の条件で行った。

##### <結果>

培地上清について、判別分析（OPLS-DA）を行ったところ、培養に伴って変動するピークが存在することが示唆された（図3-③-2）。なお、ブタの筋幹細胞の培養においてもパッセージによって培養上清の成分変動が報告されている[4]。今回の結果から、トリ由来培養細胞の培養環境を評価する上でも同様に、パッセージごとの違いを考慮する必要があることが示唆された。

線維芽細胞について、主成分分析（PCA）を行ったところ、パッセージ、限外ろ過フィルター処理の有無によってそれぞれのグループごとに分かれた（図3-③-3）。これらサンプルの違いが個体差以上であったことから、パッセージの違いに加え、前処理方法の違いによっても分析結果が大きく変動することが示唆された。今回の結果から、成分に基づいてリスク評価をする場合には、分析条件を任意とせず、一定の条件を提示する必要があることが示唆された。

#### E) トランスクリプトーム解析と同様な検体を対象とし解析を実施

由来の異なる細胞培養肉として、鶏由来繊維芽細胞株 DF-1 と清水先生がトリ胚モモから単離した細胞（トランスクリプトーム解析と同様の試料）を比較した。

##### <試料調製>

D)の繊維芽細胞と同様の方法で、限外ろ過フィルター（Ultrafree-MC-PLHCC, Human Metabolome Technologies, Inc., Tsuruoka, Japan）を使用して行った。

##### <機器分析>

分析条件はC)の機器分析と同様の条件で行った。

##### <結果>

PCAによって比較した結果、第一主成分の寄与率が80.3%で明確に、DF-1とトリ胚モモ由来細胞が分かれた（図3-③-1）。また、共通して検出されたピークも少なく、かなり大きな違いがあることが示唆

された。細胞（組織）の見た目に大きく異なっていたことから、細胞の状態が大きく異なっていたことが原因として考えられる。また、湿重量に基づいて標準化しているものの含水率などの違いにより結果に影響したことも考えられる。

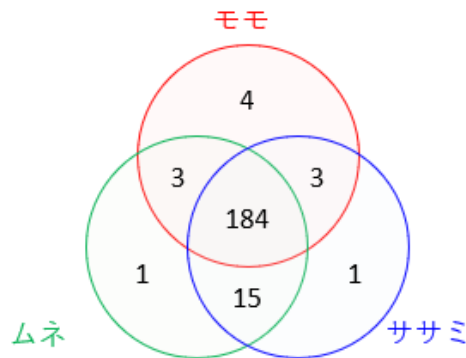


図3-③-1 トリ肉の部位別比較

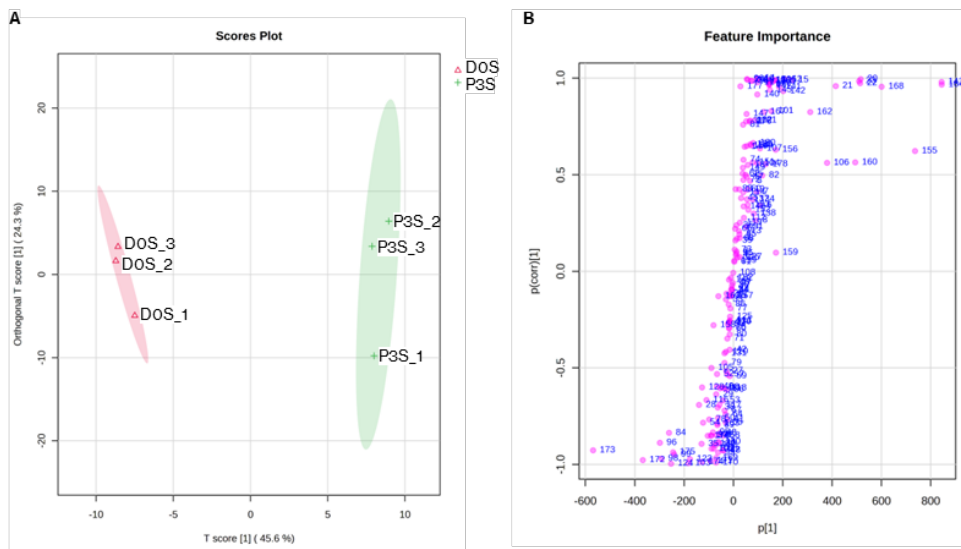


図3-③-2 線維芽細胞培養液上清の比較

A: 判別分析 (OPLS-DA) のスコアプロット

B: 判別分析 (OPLS-DA) のSプロット

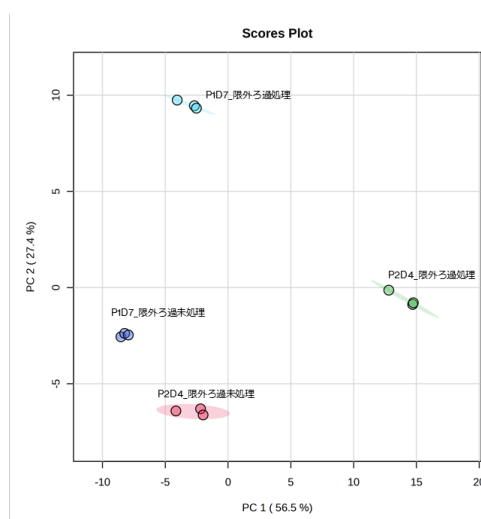


図3-③-3 線維芽細胞のパッセージ比較

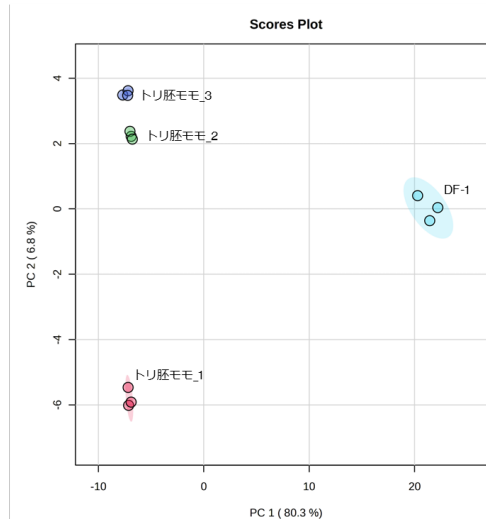


図3-③-4 異なる由来の線維芽細胞の比較

## 参考文献

1. Hadi, J. and G. Brightwell, *Safety of Alternative Proteins: Technological, Environmental and Regulatory Aspects of Cultured Meat, Plant-Based Meat, Insect Protein and Single-Cell Protein*. Foods, 2021. **10**(6).
2. Gu, S.-Y., et al., *Validated LC-MS/MS method for the simultaneous analysis of veterinary drugs in cultured meat media*. 2022.
3. 馬場, 健., et al., *メタボロミクス実践ガイド: サンプル調製からデータ解析まで、あなたに合った実験デザインと達人テクニック*. 実験医学. Vol. 別冊. 2021: 羊土社. 331, 2p.
4. Yeon Jung, D., et al., *Metabolomic changes in culture media with varying passage numbers of pig muscle stem cell culture for cultured meat production*. Food Res Int, 2024. **182**: p. 114138.

## 分担研究の成果、考察及び結論

細胞培養肉に関する成分分析の事例の中でも作製した細胞培養肉の品質（味や風味）についての分析ではなく、安全性についてのリスク評価の観点から分析をした例は少ない。今回の研究の中で、成分分析のための前処理方法、培養におけるパッセージ、細胞の由来や培養条件が異なるサンプルでは、成分が大きく変動することが示唆された。細胞培養肉の安全性を評価する方法として、市販の肉との比較は重要な項目であるが、細胞の状態が大きく異なり、成分の類似度から安全性評価を行うことは困難であることが分かった。そこで、成分面のリスク因子を原材料、組織化する前の未分化細胞、組織・成型後の製品段階の3段階に分けて危害要因としての可能性考察することが現実的であると考えた。本研究で成分分析をする過程を踏まえて、見えてきた課題として、以下の項目を挙げる。なお、これらについては、トリに限ったものではないと考えている。

1. 細胞培養に用いる培養液について、品質や含有可能な成分の整備を行う。例えば、培養液の原材料として、動物由来の血清を用いる場合はウイルス、プリオンの混入の可能性、植物由来の栄養素の場合は原材料の植物由来の生理活性物質、植物性アレルギー物質、遺伝子組換え作物等の情報も考慮し、含有の有無などを表示する必要性を考える。
2. 経済的な収支を念頭に、各生産者（企業など）が独自の知財によって、菌などのコンタミ防止のための抗生物質等や細胞増殖の促進のための薬品等を添加する可能性がある。今回の研究では、そのような培地中の成分がどの程度細胞培養肉に残存するのかというデータは不明である。また、対象物によっては濃縮等の処理が必要になる場合も多く、一般的な条件で検出できる成分には限りがあることを考慮する必要がある。
3. 細胞については、同じ動物種（本研究ではトリ）であっても製作者の違い（培養液、細胞のパッセージなど）により、成分の状態が大きく異なることが示唆された。従って、他社の培養細胞に関する既往の報告や成分評価データなどの文献情報のみで、安全性の評価を判断することは非常に困難であると考えた。
4. 分析方法の整備が必要である。分析方法の違いによって、同じサンプルを使用しても結果が異なるため、現時点における文献情報との比較による成分量の比較、類似性による安全性の担保は非常に困難であると考えた。今後、安全性の確認において、分析すべき対象項目を検討することが課題と考えた。

## 第四章 細胞培養肉と通常肉の比較による検証と解析手法の検討

個別課題 4 - ① : アレルゲンデータベースの活用 (佐野夏樹 (東京情報大))

### A) アレルゲンデータベースの比較

細胞培養肉のアレルゲン性を判定する上で、実用に足るアレルゲンデータベースを比較検討するために、比較検討の対象として、国立医薬品食品衛生研究所が公開しているデータベース Allergen Database for Food Safety (ADFS)、米国ネブラス大学リンカーン校の Allergen Online を①アレルゲン名からの検索②アミノ酸配列による検索③エピトープ配列による検索④FAO 基準によるアレルゲン予測⑤モチーフによるアレルゲン予測⑥複数の配列検索の一括処理⑦収録アレルゲン数⑧信頼性の観点から比較を行った。ADFS は①から⑥までの機能を有しているが、Allergen Online は、③⑤⑥の機能を持たないため、これらの評価基準では、ADFS が優れていると言える。収録アレルゲン数では、ADFS のアレルゲン数 (2403) が、若干、Allergen Online (2233) を上回っているのに対して、Allergen Online は研究者によるピアレビューを受けたアレルゲンのみ掲載しているため、信頼性は高いと言える。

データベース	アレルゲン名からの検索	配列検索 (NCBI Brast)	配列検索 (エピトープ)	アレルゲン予測 (FAO 基準)	アレルゲン予測 (モチーフ)	複数の配列検索処理	収録アレルゲン数	信頼性*
ADFS	○	○	○	○	○	○	2403	×
Allergen Online	○	○	×	○	×	×	2233	○

\*登録アレルゲン全てが国際的なアレルギーの専門家チームによるピアレビューを受けている

ADFS と Allergen Online の比較結果は、図を参照されたい。

### ③ 利用するアレルゲンデータベースのマニュアル作成

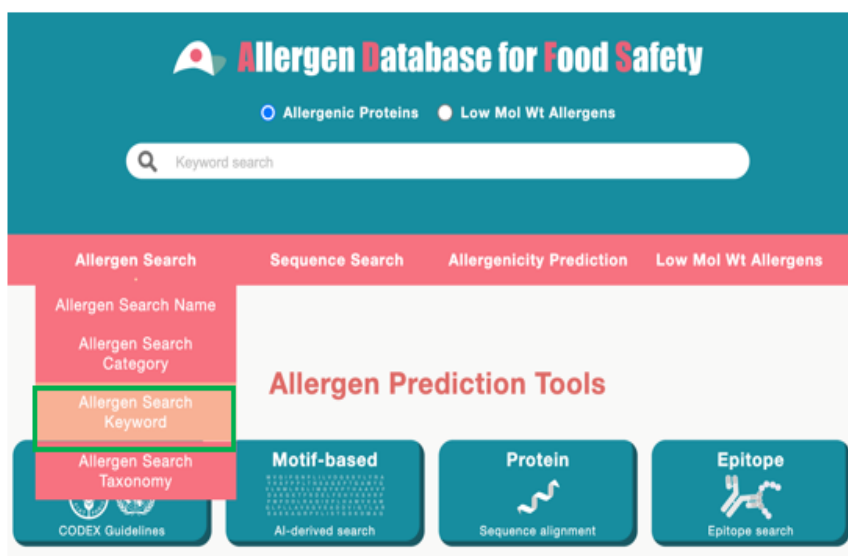
アレルゲンデータベースの比較検討の結果、実用性の高い ADFS に対して、日本語の利用マニュアルを作成し、利用しやすさの向上を図った。例として、既知のアレルゲン名からそれが含まれる食品を調べる場合を以下に示す。

### 既知のアレルゲン名からそれが含まれる食品を調べる場合

The screenshot shows the 'Allergen Search: Keyword Search' interface. At the top, there are navigation tabs: 'Allergen Search', 'Sequence Search', 'Allergenicity Prediction', and 'Low Mol Wt Allergens'. The main heading is 'Allergen Search: Keyword Search'. Below this, there is a 'Field' dropdown menu set to 'ALL Fields' and a 'Phrase' input field containing 'Gad c1'. There is a 'Use Wildcard' checkbox which is unchecked, with a 'Help' link next to it. Below the search area is an 'Options' section with a 'Category' list of checkboxes, including 'All', 'Aero Animal', 'Aero Insect', 'Aero Mite', 'Aero Plant', 'Aero Fungi', 'Food Animal', 'Food Fungi', 'Food Plant', 'Venom or Salivary', 'Others', 'Gluten', 'Protozoan', 'Contact', and 'Worm (parasite)'. There are also checkboxes for 'Epitope', 'Structure', and 'Sugar', all of which are currently unchecked. At the bottom, there is a 'Search' button (highlighted with a red box) and a 'Reset' button.

2. Phraseのテキストボックスに「Gad c1」と入力.
3. Searchをクリック

既知のアレルゲン名からそれが含まれる食品を調べる場合



1. メニューの「Allergen Search」から「Allergen Search Keyword」をクリック。

既知のアレルゲン名からそれが含まれる食品を調べる場合

**Allergen Search: Keyword Search**

Result : 6 Page 1 of 1 <<prev 1 next>>

Name	UniProt Acc	Taxonomic Name	Common Name	Category	Epitope	Structure	Sugar	Description
Gad c 1	P02622	Gadus morhua subsp. callarias	Baltic cod	Food Animal	C	-	Sugar	Parvalbumin beta ( Allergen Gad c 1)( Allergen M)( Allergen=Gad c 1)
Gad m 1.0101	Q90YL0	Gadus morhua	Atlantic cod	Food Animal	-	-	-	Cupin
Gad m 1.0102	A51873	Gadus morhua	Atlantic cod	Food Animal	-	-	-	ArgP/LysG family DNA-binding transcriptional regulator

4. Gad c1は,Gadus morhua (タイセイヨウダラ) に含まれるアレルゲンであり,その他のアイソフォームも表示される。

#### 成果・考察及び結論

鶏培養肉の遺伝子がコーディングしているたんぱく質に対して一括してアレルゲン検索を行うとすると上記のアレルゲンデータベース比較基準⑥は実用上、重要な基準だと考えられるが、実際の鶏培養肉に対するアレルゲン検索は、今後の課題である。



## 個別課題 4-② 栄養成分の解析（石見佳子）

### A) 細胞培養肉の栄養成分に関する文献調査（石見佳子）

協力研究者：竹林純、鈴木一平（医薬基盤・健康・栄養研究所）

Google Scholar を用い、これまでの細胞培養肉の栄養成分の分析に係る文献を調査した。その結果、細胞培養肉の栄養成分組成が従来肉と同じかどうかについては注目を集めているにもかかわらず、現時点では具体的な栄養組成を報告している文献等は見つからなかった。得られた文献情報を総合すると、下記の栄養成分組成が細胞培養肉と従来肉で同等であるかが特に着目されていると考えられた。文献調査から得られた成果を基に、以下に留意点を示す。

- ① たんぱく質：たんぱく質含有量とアミノ酸組成（アミノ酸スコア）  
足場材料（コラーゲンや多糖類等）の栄養成分組成が大きく影響し得る。
- ② 脂質：脂質の含有量と脂肪酸組成  
脂肪酸を添加する手段として脂肪細胞との共培養系を用いる場合は、多くの脂肪酸が合成されるが、一部の必須脂肪酸（リノール酸・ $\alpha$ -リノレン酸等）が含まれない可能性がある。
- ③ ミネラル類：鉄・亜鉛・セレン  
鉄は、存在形態（ヘム鉄か非ヘム鉄か）も重要である（吸収性が異なる）。  
亜鉛やセレンなどのミネラルは、基礎細胞培養培地（DMEM、RPMI1640 など）には含まれていないか、含まれているとしても非常に低濃度である。
- ④ ビタミン類：ビタミン B 群（特にビタミン B<sub>12</sub>）  
細胞培養肉が従来の肉の代替品と見なされる場合、ビタミン B<sub>12</sub> が含まれていることが不可欠。  
自発的なビタミン取り込み機構が伝統的な肉と同等の栄養価を達成するのに十分かどうかを判断するには、さらなる研究が必要。

### B) 細胞培養肉の栄養成分分析（石見佳子）協力研究者：竹林純、鈴木一平（医薬基盤・健康・栄養研究所）

- ① 対象とする栄養成分の決定：栄養成分は食品の栄養成分表示で義務表示となっている熱量、たんぱく質、脂質、炭水化物、ナトリウムとした。
- ② 細胞培養肉の栄養成分分析方法に係る検討  
細胞培養肉のビタミン B<sub>12</sub> と脂質の分析に供する試料の必要量に関する検討を行った。試料は鶏肉 3 種、培地、鶏胚筋肉由来細胞培養上清とした。分析方法は日本食品標準成分表 2020 年版（八訂）に準じた（1）。その結果、ビタミン B<sub>12</sub> は鶏肉には 4.9-7.9  $\mu$ g/g 検出されたが、培地と筋肉由来細胞培養上清には検出されなかった。重量法による脂質の分析では、鶏肉では 12.4-41.1mg/g であったが、試料がグラム単位で必要であり、細胞培養肉の分析方法としては適さないことが示唆された。そこで脂肪酸分析法による脂質定量法を検討したところ、100 mg 程度で分析可能であることが明らかとなった。
- ③ 栄養成分分析の方法の決定  
上記検討結果及び日本食品標準成分表 2020 年版（八訂）分析マニュアル（2）にある分析方法を参考に表 4-②-1 に示す方法を採用することとした。

表 4-②-1 栄養成分の分析方法

栄養成分	分析法
炭水化物	アンスロン硫酸法
水分	常圧加熱乾燥法
たんぱく質	燃焼法
ナトリウム	原子吸光法
鉄	ICP発光分析法
ビタミンB12	微生物定量法
アミノ酸 脂肪酸	アミノ酸自動分析法 ガスクロマトグラフィー

④ 細胞培養肉の栄養成分分析の結果

細胞培養肉 1 及び 2、各培養液、市販鶏モモ肉について、表 4-②-2 には湿重量当たり、表 4-②-3 には乾燥重量当たりの栄養成分の分析結果を示した。表には参考値として日本食品標準成分表（以下成分表）の値を示した。細胞培養肉 1 は鶏繊維芽細胞株 DF-1 を培養し遠心分離した細胞沈殿物、培地 1 は 10%FBS 添加 DMEM 培地、細胞培養肉 2 は清水分担研究者から提供された鶏胚より採取した筋芽細胞を培養し遠心分離した細胞沈殿物、培地 2 は 10%FBS を添加した IMEM 培地である。

細胞培養肉の湿重量当たりの栄養成分は、市販の鶏もも肉及び成分表の値と比較して、脂質の含有量が著しく低いこと、ビタミン B<sub>12</sub> は培養液の濃度に依存することが明らかとなった。鉄は肉から摂取する割合が高いことから今回分析対象としたが、細胞培養肉及びその培養液の鉄含有量は、<0.1 mg であり、鉄も培養液の含有量に依存することが判明した。細胞培養肉の乾燥重量当たりの脂質重量は、市販の鶏もも肉及び日本食品標準成分表（以下成分表）の値と比較して、約 1/2 であった。

表 4-②-2 湿重量当たりの細胞培養肉の栄養成分

湿重量当たり

		培養肉 1	培養肉 2	培地 1	培地 2	鶏もも肉	成分表 †
熱量	kcal/100 g	58	24	NA	NA	135	121
たんぱく質	g/100 g	11.8	4.7	NA	NA	19.2	19.0
脂質	g/100 g	1.2	0.6	NA	NA	6.5	5.0
炭水化物	g/100 g	<0.2	NA	NA	NA	<0.2	0
食塩相当量	g/100 g	0.7	0.9	NA	NA	0.2	0.2
ビタミンB12	µg/100g	37	0.10	55	<0.1	0.47	0.3
鉄	mg/100 g	<1.0	<1.0	<0.1	<0.03	<1.0	0.6
水分	g/100 g	85.7	94.2	NA	NA	74.5	76.1

†：食品番号：11224 食品群名/食品名：肉類/<鳥肉類>/にわとり/[若どり・主品目]/もも/皮なし/生

表 4-②-3 乾燥重量当たりの細胞培養肉の栄養成分

乾燥重量当たり

		培養肉 1	培養肉 2	鶏もも肉	成分表 †
たんぱく質	g/100 g	82.5	81.0	75.3	79.5
脂質	g/100 g	8.4	10.3	25.5	20.9
炭水化物	g/100 g	ND	ND	ND	0.0
食塩相当量	g/100 g	5.0	15.4	0.8	0.8
ビタミンB12	µg/100g	258.7	1.7	1.8	1.3
鉄	mg/100 g	ND	ND	ND	2.5

⑤ アミノ酸組成及び脂肪酸組成の比較

表 4-②-4 に細胞培養肉 1、細胞培養肉 2、鶏もも肉、食品成分表もも肉のアミノ酸組成を、表 4-②-5 に脂肪酸組成を示した。細胞培養肉のアミノ酸組成は、鶏もも肉および成分表のアミノ酸組成とほぼ同等であった。脂肪酸組成については、細胞培養肉では市販の鶏もも肉及び成分表と比較して、ステアリン酸及びエイコサトリエン酸、ドコサヘキサエン酸等の長鎖不飽和脂肪酸の割合が高く、リノール酸の割合が低い傾向が認められた。

表 4-②-4 細胞培養肉のたんぱく質のアミノ酸組成

アミノ酸組成

	培養肉 1	培養肉 2	鶏もも肉	成分表
アスパラギン酸	10%	10%	10%	10%
アラニン	7%	5%	6%	6%
アルギニン	8%	8%	7%	7%
イソロイシン	5%	5%	5%	5%
グリシン	5%	5%	5%	5%
グルタミン酸	16%	16%	17%	17%
スレオニン	5%	6%	5%	5%
セリン	5%	5%	4%	5%
チロシン	4%	5%	4%	4%
バリン	6%	6%	5%	5%
ヒスチジン	3%	3%	3%	4%
フェニルアラニン	5%	5%	4%	4%
プロリン	5%	5%	4%	4%
リジン	9%	8%	10%	9%
ロイシン	9%	9%	9%	8%

表 4-②-5 細胞培養肉の脂肪酸組成

脂肪酸組成	培養肉 1	培養肉 2	鶏もも肉	成分表
ミスチン酸	1%		1%	1%
ミストレイン酸			0%	0%
パルミチン酸	15%	18%	24%	24%
パルミトレイン酸	5%	4%	6%	6%
ヘプタデカン酸			0%	0%
ステアリン酸	18%	22%	7%	8%
オレイン酸	50%	35%	46%	44%
リノール酸	2%		12%	13%
α-リノレン酸			1%	0%
エイコセン酸			0%	1%
ジホモ-γ-リノレン酸 (8,11,14-エイコサトリエン酸)	1%	2%	0%	
アラキドン酸	3%	9%	1%	2%
7,10,13,16-ドコサテトラエン酸		4%	0%	0%
ドコサペンタエン酸	2%	4%	0%	0%
ドコサヘキサエン酸	3%	4%	0%	0%

#### 分担研究の成果、考察及び結論

本研究の結果から、細胞培養肉の栄養成分の特徴として、市販の鶏もも肉と比較して脂質の含有量が低いこと、たんぱく質のアミノ酸組成は鶏もも肉と同等であること、ビタミン B<sub>12</sub> 及びナトリウム、鉄等のビタミン・ミネラルの含有量は、培養液の濃度に依存することが挙げられる。脂質の含有量が市販の鶏もも肉及び成分表の値と比較して低いのは、細胞培養肉の基となる細胞は、繊維芽細胞あるいは筋芽細胞由来であるため、脂肪細胞はほぼ含まれていないことに由来すると考えられた。細胞培養肉の脂肪含有量が低いこと及び脂肪酸組成において長鎖不飽和脂肪酸の割合が高いことが、今回の実験により示された。今後、細胞培養肉を代替肉として普及させる際には、ビタミン、ミネラルの含有量を考慮した培養液の選択が必要であると考えられた。

#### 参考文献

1. 文部科学省 日本食品標準成分表 2020 年版（八訂） [https://www.mext.go.jp/a\\_menu/syokuhin-seibun/mext\\_01110.html](https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhin-seibun/mext_01110.html) （令和 6 年 4 月 15 日）
2. 日本食品標準成分表 2020 年版（八訂訂）分析マニュアル・解説 建帛社

## 第五章 研究総括

約1年半の期間に、研究班が取り組んだ細胞培養肉に関する研究を総括し、その研究成果を基に我国における細胞培養食品のリスク評価の「基本的考え方」の整理を行う。

### 1. 細胞培養肉のリスク評価・安全性に関する情報収集と現状把握

#### 1-① 細胞培養肉のリスク評価について規制当局が要求するデータの情報収集

細胞培養肉の安全性評価に関し、諸外国で検討され公開されているリスク評価項目に関するガイドライン等の情報を収集・整理した。海外の主な規制当局から公開されている細胞培養肉の安全性に関する文書を基に、培養肉の安全性にかかわる要求事項について、比較検討を行った。検討した文書は、シンガポール食品庁（SFA）、欧州食品安全機関（EFSA）、英国食品基準庁（FSA）、米国食品医薬品局（FDA）、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）である。また、細胞性食肉の安全性に関するFAO（国連食糧農業機関）／WHO（世界保健機関）専門家協議の報告書（FAO 2023年）についても検討した。これらの文書に記載してある内容から、推奨または、必要とされる情報について、細胞入手から、細胞培養、細胞培養肉までの製造段階ごとに表としてまとめた（表1～5）。

項目	求められる情報	記載のある文献
細胞の起源	国際命名法に従った生物学的起源（種、由来動物など）	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ
細胞の説明	幹細胞、採取された臓器、組織、生体部分、不死化の情報	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ
種の同一性検証	細胞株提供者から入手した場合	SFA, FSA, FDA, FSANZ, FAO
起源となる動物	細胞調達の動物の健康状態、食品としての安全性要件の適合	SFA, EFSA, FDA, FSANZ, FAO
プリオン汚染	牛由来の場合、プリオン汚染を回避している情報など	EFSA, FSA, FDA, FSANZ, FAO
細胞培養の培養液	使用成分・物質、抗生物質、血清、増殖因子などの安全性評価	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ, FAO

項目	求められる情報	記載のある文献
細胞の特徴	細胞特性（形態、細胞生存率、細胞安定性、細胞密度、たんぱく質収量などの情報）	EFSA, FDA
遺伝子組換え	遺伝子組換えの有無、有の場合は、組換えに関する情報と安全性評価結果	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ

細胞継代に用いる培地	使用物質のリストと安全性評価	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ, FAO
細胞株への微生物汚染	病原微生物の汚染評価（ウイルス、細菌、マイコプラズマの検査）	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ, FAO
種細胞の保管	投入物質の安全性評価（凍結保護剤、抗生物質など）	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ

表 3. 細胞増殖・分化と培養に関する情報

項目	求められる情報	記載のある文献
細胞培養と分化に用いる培養への添加物等	培地成分、足場、その他添加物の安全性に関する情報。動物由来成分に食品としての危害要因が含まれない文書。増殖因子等の安全性に関する文書。遺伝子組換えの場合安全性を示す文書	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ, FAO
細胞の汚染	微生物学的、化学的汚染の監視	SFA, EFSA, FSA, FDA, FAO
培養への化学的汚染物質	機器、洗浄剤などからの化学物質の測定	SFA, EFSA, FSA, FDA, FAO
遺伝学安定性	細胞の遺伝学的安定性	SFA, EFSA, FSA, FDA, FAO

表 4. 細胞培養後の細胞回収に関する情報

項目	求められる情報	記載のある文献
回収細胞の組成	栄養成分分析	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ, FAO
残留物分析	潜在的に有害な残留物の測定と安全性評価	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ, FAO
細胞の洗浄	細胞培養に用いた媒体等除去に関する情報	SFA, FDA (GOOD Meat), FSANZ
外来性感染性因子	ウイルス、細菌、酵母、カビの測定	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ, FAO
遺伝的安定性	遺伝的安定性評価、意図しない毒素やアレルギー誘発物質産生の評価	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ, FAO
腫瘍形成能	腫瘍形成能の評価	FDA (GOOD Meat, Upside)

化学物質汚染	培養装置、洗浄剤、原料などからの化学汚染物質の評価、重金属などの評価	SFA, EFSA, FSA, FDA, FAO
食物アレルギー誘発物質	食物アレルギー誘発物質の評価	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ, FAO
毒性試験	急性、亜急性、慢性毒性試験、遺伝毒性、発がん性、生殖毒性、発生毒性	SFA, EFSA, FSA, FSANZ (いずれも必要に応じて)

表5. 細胞培養食品として求められる情報

項目	求められる情報	記載のある文献
食事による推定摂取量と使用目的	最大使用レベル、潜在的な暴露量の推定	SFA, EFSA, FSANZ
安全使用の歴史	食品成分の安全性評価用としての使用履歴と安全な摂取に関する情報	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ, FAO
保存期間	保存可能期間の分析結果	EFSA, FSA, FDA(一部), FSANZ
食品安全プログラム	GMP, HACCP, HARPC, GCCP, などの食品安全プログラムの説明	SFA, EFSA, FSA, FDA, FSANZ

#### 1-② 現地調査等による行政の考え方と海外のスタートアップ企業の動向

シンガポール、オーストラリア・ニュージーランドは現地を訪問し、関係者と直接情報交換を行った。EUに関してはEFSAの専門家が来日した折に Novel food の安全性に関する勉強会を開催し、直接情報交換を行った。イスラエルについては公開している情報が皆無であり、申請企業との web 会議により情報収集を試みた（イスラエルで許可されたのはウシの細胞培養肉であり、他の許可済みの国は、いずれも鳥類の線維芽細胞であることから、我々の抱える安全性評価の課題としている項目を中心に情報交換を行った。企業からの情報で非公開であるため、今回はその内容については総括に加えていない）。

諸外国では当該食品の安全性確保のルール作りが検討され、2024年4月の段階で、シンガポール、米国、イスラエルではすでに細胞培養肉の食品としての安全性評価が終了し、食品として市場に流通させることが可能となっている。オーストラリア・ニュージーランドでは、リスク評価の最終段階にある。情報公開を行い一般からのコメントを収集しておりその結果により今後市場流通の許可に関する結論が出されるものと思われる。なお、オーストラリアの Vow 社は、ウズラの細胞培養肉について、FSANZ と共にシンガポール SFA 並びに米国 FDA にも許可申請を行っており、2024年4月には、シンガポールでの販売許可を取得している。

イスラエルについては、行政側のリスク評価に関する公開情報が入手できなかった。米国については安全性に関する評価方法が他の国とは異なっており、FDA の専門家と企業間で情報交換を行い従来の食品と同等レベルの安全性の担保を目安に評価したのち、検討した評価項目を公開する方式をとっ

ている。それ以外の国は、Novel food というカテゴリーの中で、食品としての安全性評価を行うことを求めており、申請企業は細胞培養肉に関して安全性に関する情報を提供し食品としての上市前に、申請・許可が必要である。

細胞培養肉のスタートアップ企業訪問では、シンガポールでは5社、オーストラリアでは1社、国内では3社について、直接情報交換を行ったが、いずれも国（行政側）が、細胞培養肉のリスク評価の方向性やマネジメントの体制を早急に確立してほしいと強く要望していた。すでに、細胞培養肉の許可を得ている企業については、安全性評価については行政側と情報交換、問題解決のための会議、必要なデータ提供を繰り返し行い、安全性に関する検討を進めたことが示された。

### 1-③ シンガポール細胞培養肉スタートアップ企業視察

2023年10月31日～11月2日に開催された細胞培養肉などをはじめとする最新のアグリテック博覧会である Agri-Food Tech Expo Asia (AFTEA)の視察に合わせ、一般社団法人細胞農業研究機構（JACA）が主催した細胞培養肉を研究開発するスタートアップ企業の視察に同行し、シンガポールにおける細胞培養肉の最新情報の収集を行った。シンガポールには、前回2023年1月に訪問して情報収集を行ったが、その後9か月後の現地の状況について再度調査を行った。初回の訪問で懸念していた課題について、かなりの改善が見られた。製造コスト、抗生物質の使用の問題、がん化に関して評価する方法の開発などの課題について、解決に向かった検討が着実に進められているようであった。

世界で初の細胞培養肉の食品としての許可を行ったシンガポールでは、リスク評価が終わり、市場に出ていた食品は、鶏の線維芽細胞を用いた製品であったが、この細胞は、安全性の懸念として挙げられていた“足場”や“血清”を用いることなくある程度の規模での生産ができる特徴があった。これらはそれ以外の細胞培養肉では今後の課題としてとらえられていたが、足場やプラントベースのたんぱく質を利用する検討が進められており、さらなるイノベーションが進められているようである。

## 2. 細胞培養肉の製造とモデル細胞培養肉提供、製造における課題検証

細胞培養肉のリスク評価の項目を決定する、あるいは危害要因となりうるものを推定するには、実際にモデルとなる細胞培養肉を作成する実験を行い、出来上がった“もの”がどのようなものであるかの検証を行うことは、必須であると考えた。残念ながら国際的にも細胞培養肉に関するこのようなデータはほとんど公開されていない。細胞培養肉のスタートアップ企業訪問では、各社で安全性に関する膨大なデータを蓄積していたが、残念ながらこのような貴重な実験データは公開されることなく当該企業のノウハウとなって秘蔵されている状況である。研究班では、細胞培養肉を実際に作成して初めてその工程上の課題や、製造にかかわる問題点が明らかとなると考えた。研究班で行っている国内外の情報収集や現地調査と並行して、国際的にみると細胞培養肉の安全性の検討が最も進んでいる鶏を選択し、実際に鶏のモデル細胞培養肉を作成することにした。製造工程上の課題の抽出、培養細胞に関しては、遺伝子レベル、たんぱく質レベル、代謝産物レベルで網羅的解析を行った。また出来上がった細胞培養肉については、アレルギーとしての評価方法の検討と市販鶏肉との比較に基づく細胞培養肉の栄養学的な解析による検証を実施した。これらの検討は、各国で公開されているガイドラインの情報収集によるまとめと共に議論することで、わが国の今後の安全性評価の方向性を決定する重要な実験結果を提供できるものと思われる。

### 2-① 細胞培養肉の製造、企業からのモデル細胞培養肉の提供

細胞培養肉の原材料としてはアミノ酸、糖、ビタミン、微量元素、塩類が含まれる基礎培地と血清、



増殖因子、細胞、足場材料である。血清利用の課題は、動物福祉の観点、病原体感染リスク、ロット差、高コストなどが挙げられる。また、増殖因子は主にリコンビナントたんぱく質であるが、これらは現状高価であることが課題である。細胞は、家畜、魚から採取され、これを増殖させるが、増殖する過程で、培養環境や継代作業によるダメージなどの要因から遺伝子の変異やアレルギー成分の発現などが起こる可能性がある。この研究課題では、元の動物から初代培養を行い、細胞培養の種細胞作製までを想定し、鶏胚のももの部分から得られた初代細胞を8代まで継代し、細胞の変化を記録した。細胞の状況を網羅的に調べるために凍結保存を行い、網羅的研究チームへ検体として提供した。また、製品としての細胞培養肉の栄養分析には、多量の細胞が必要であるため、分担研究者自らが行った大量培養品に加え、企業で作成した細胞培養肉の提供を受けた。

## 2-② 細胞培養肉の製造方法と生産プロセスの課題検討

継代細胞の培養には、各種の条件をコントロールしたリアクターが用いられる。細胞培養肉の効率的な製造にはリアクター内での大量培養が必要である。モデル細胞をスケールアップして培養した場合の培養細胞の性質の変化や想定される微生物汚染などにどのような対応が求められるかの課題解決に向けて、実証的な実験を行った。また、培養細胞の変化を確認することが可能であるとすれば、どのようなセンサー技術や検査が求められるか、培養に用いる機器の素材などについても検討した。実験結果からリアクター内に設置した DO 計測から得られた酸素消費量から培養液中の細胞数をある程度予測できることが確認できた。また、酸素消費速度は生物種によって一義的に決まるものであるため、DO のモニタリングを常時行うことによりバクテリアのような大きく酸素消費速度が異なる生物種が混入した場合の管理基準となり得ると期待される。

## 3. 培養細胞と通常肉の比較による網羅的解析の実施

細胞培養肉となる継代細胞は、どのような性質を持つかについて網羅的な解析を行うことにより、従来の鶏肉、鶏卵胚の初代培養に用いた組織などが、比較対象となりうるかについて検証した。

### 3-① 培養細胞のトランスクリプトーム解析

市販の鮮度の良い鶏肉から、分解の進んでいない RNA の抽出が可能であり、培養細胞からもトランスクリプトーム解析に用いることの可能な mRNA の抽出方法を設定することができた。トランスクリプトーム解析により転写レベルでの網羅的評価を行った。培養細胞では細胞接着や細胞分裂の制御などに関与する遺伝子が発現していた一方で、鶏モモでは筋肉の収縮や酸素運搬、ATP 代謝などに関わる遺伝子が有意に発現していた。

遺伝子配列は A, T, G, C の 4 塩基から成るため抽出条件や発現量の差を見だしやすい。例えばたんぱく質や代謝産物においては、数千種類が存在した場合、抽出する際の条件が酸・アルカリ・温度・脂溶性・水溶性・分解条件・インヒビターの適正・分子量・解析ピークの足切りなど多数存在する。さらに、細胞培養肉が未知物質を含有した場合、その物質の抽出条件が適正でないと存在を明らかにできない場合がある。一方、細胞培養肉の安全性をトランスクリプトームによる網羅的解析を用いて遺伝子レベルで考慮することは既知・未知物質をコードしていたとしても 4 種の塩基配列から成るデジタル解析が可能であるため、解析しやすいものと思われる。

細胞培養肉は単一細胞の集合体であるが、市販の鶏肉は血管・神経・脂肪細胞・筋線維などを含む複合組織であり市販肉とは異なるため、両者を遺伝子発現レベルで比較することは推奨されない。安全性に関しては今回の方法で、細胞培養肉の起源・同一性や安定性・樹立化（不死化・ガン化）・ア

レルゲンに關与する遺伝子の増減を検証することが可能と分かった。

今後の課題としては、胚細胞から不死化した樹立細胞を得た際の細胞の安全性（ガン化の有無など）を遺伝子レベルで評価することが可能であると分かったが、現在まだその評価に至っていない。樹立細胞の大量培養の際に細胞にかかったストレスや、培地の組成変動における細胞の代謝の安全性を遺伝子レベルで評価することが可能であると分かったが、現在まだその評価に至っていない。アレルゲンとなりうる配列をこれまでの知見から推定することは可能であるが、そのためにはゲノム解析をする必要がある。

### 3-② 培養細胞のプロテオーム解析

遺伝子レベルのトランスクリプトーム解析により、非常に多くの情報を得ることができた。これを受け、トランスクリプトーム解析に用いた検体について、定法による2次元電気泳動によるプロテオーム解析を行った。電気泳動像を示したが、この方法では通常肉と継代細胞との差異は明確にとらえることができたが、トランスクリプトームから得られた多くの情報については、更なる分析を必要とすることを示すこととなった。安全性評価にプロテオームによる網羅的解析は必ずしも必要ないと思われた。たんぱく質レベルでの評価が必要な場合は、網羅的解析というよりもターゲットを絞った解析が良いと思われる。トランスクリプトームによる網羅的解析結果から、安全性の懸念が認められた場合、例えばアレルゲンや、毒性物質などをたんぱく質レベルで確認する必要がある場合に、特異的な抗体や、高度の分析方法を用いて、標的たんぱく質を決めたうえで検証することが有用と思われた。

### 3-③ 培養細胞のメタボローム解析

細胞培養肉に関する成分分析の事例の中でも作製した細胞培養肉の品質（味や風味）についての分析ではなく、安全性についてのリスク評価の観点から分析をした例は少ない。今回の研究では、成分分析のための前処理方法、培養におけるパッセージ、細胞の由来や培養条件が異なるサンプルでは、成分が大きく変動することが示唆された。食肉の安全性を評価する方法として、市販の肉との比較は重要な項目であるが、細胞培養肉については、市販の肉と細胞培養肉では細胞の状態が大きく異なり、成分の類似度から安全性評価を行うことは困難であることが分かった。そこで、リスク管理の方法としては成分面のリスク因子を原材料、組織化する前の未分化細胞、組織・成型後の製品段階の3段階に分けて登録・管理する手法が現実的であると考えた。今回のメタボローム解析の検討により見えてきた課題については、個別課題の項を確認願いたい。

## 4. 細胞培養肉と通常肉の比較による検証と解析手法の検討

新規に開発された食品の安全性評価では、アレルゲンの情報と、どのような食品ができているかの指標として栄養成分の解析が重要である。こちらについても検討を行った。

### 4-① アレルゲンデータベースの活用

細胞培養肉のアレルゲン性を判定する上で、実用に足るアレルゲンデータベースを比較検討するために、比較検討の対象として、国立医薬品食品衛生研究所が公開しているデータベース Allergen Database for Food Safety (ADFS)、米国ネブラス大学カリンカーン校の Allergen Online を①アレルゲン名からの検索②アミノ酸配列による検索③エピトープ配列による検索④FAO 基準によるアレルゲン予測⑤モチーフによるアレルゲン予測⑥複数の配列検索の一括処理⑦収録アレルゲン数⑧信頼性の観点から比較を行った。ADFSは①から⑥までの機能を有しているが、Allergen Onlineは、③⑤⑥の

機能を持たないため、これらの評価基準では、ADFS が優れていると言える。

細胞培養肉のアレルゲンの評価を考慮して、アレルゲンデータベースの比較検討の結果、実用性の高いと思われる ADFS に対して、日本語の利用マニュアルを作成し、利用しやすさの向上を図った。

#### 4-② 栄養成分の解析

Google Scholar を用い、これまでの細胞培養肉の栄養成分の分析に係る文献を調査した。その結果、細胞培養肉の栄養成分組成が従来肉と同じかどうかについては注目を集めているにもかかわらず、現時点では具体的な栄養組成を報告している文献等は見つからなかった。リスク評価などで得られた情報を総合すると、個別課題で示したように、栄養成分組成が細胞培養肉と従来肉で同等と見なせるかというよりもどのような組成となっているかが着目されていると考えられた。文献調査から得られた成果、栄養成分の詳細な分析結果については個別課題報告を確認していただきたい。

細胞培養肉の栄養成分の特徴として、市販の鶏もも肉と比較して脂質の含有量が低いこと、たんぱく質のアミノ酸組成は鶏もも肉と同等であること、ビタミン B12 及びナトリウム、鉄等のビタミン・ミネラルの含有量は、培養液の濃度に依存することが挙げられる。脂質の含有量が市販の鶏もも肉及び成分表の値と比較して低いのは、細胞培養肉の基となる細胞は、繊維芽細胞あるいは筋芽細胞由来であるため、脂肪細胞はほぼ含まれていないことに由来すると考えられた。一方、細胞培養肉の脂肪含有量が低いこと及び脂肪酸組成において長鎖不飽和脂肪酸の割合が高いことは、消費者の健康維持・増進に貢献するものと考えられた。今後、細胞培養肉を食品として普及させる際には、ビタミン、ミネラルの含有量を考慮した培養液の選択が必要であると考えられた。

#### 5. 研究総括とリスク評価の「基本的考え方」の整理

細胞培養技術を用いて製造される食品（いわゆる培養肉）の研究・開発が国内外で進められており、当該技術で製造される食品のリスク評価における基本的考え方を検討することは急務である。諸外国では当該食品の安全性確保のルール作りが検討されており、国によっては細胞培養肉を評価したうえで製品の上市が開始され始めている。本研究では、当該食品の安全性評価に関し諸外国で検討されているリスク評価項目に関するガイダンス等の情報を収集し、細胞培養肉の安全性評価を実施している行政当局や生産を行っている企業を訪問し意見交換を行った。これらの情報収集を基に当該食品の特性を踏まえた危害要因（ハザード）の特定を検討した。さらに実際にモデル細胞培養肉を作成し、網羅的解析を行うことにより、細胞培養肉の安全性評価に求められる項目に必要なデータの絞り込み並びにその検査手法を提供するための知見を蓄積した。

情報収集や現地調査による意見交換により、海外では、細胞培養肉は Novel food として安全性の評価の対象とする必要がある食品という考え方が定着している。わが国においては、食品衛生法に Novel Food の定義はなく、そのマネージメントについて明確には示されていない。

今回は Novel Food 全体の安全性に関する考え方の提案までには至らなかったが、わが国も Novel Food に共通するリスク評価の考え方やリスク評価のガイドラインが求められる。そのためにも、海外と同様、食経験を基にして食品のリスクを整理し、Novel Food というカテゴリーに該当する“新食品”の整理が求められる。我国では細胞培養肉は、現在の新規食品の“新しい製法を使用した食品”の扱いとなると思われるが、海外の Novel Food とは考え方が異なると思われるので、国際整合性の観点からその整理を行うことが求められる。この整理を行ったうえで、基となる Novel Food のガイドラインを満たすとともに、細胞培養肉に特化した評価項目を補うことにより、リスク評価を行うのが良いと思われる。

今回の研究班の情報収集や現地調査、並びに細胞培養肉を実際に作成する実証実験の結果などから、細胞培養肉に対するリスク評価に必要と思われる項目を整理し、“培養肉のリスク評価に情報として求められる項目（案）”を以下に示した。

また、研究報告書には、それらの項目についてどのようなデータを提供したらよいかの参考となる検査手法についても示すことができたとと思う。これらはわが国の培養肉のリスク評価の「基本的考え方」の方向性を示すことに貢献することができると思う。

### 培養肉のリスク評価に情報として求められる項目（案）

項目案	
(1) 細胞のアイデンティティ	
	国際命名法に従った生物学的起源
	アイデンティティの検証
	供給される臓器・組織・生体部分
	細胞供給研究・細胞系統保存機関の情報
	細胞の識別情報
	新規食品として使用する細胞又は組織
	細胞の系統
(2) 製造工程	
	細胞分離（試薬、環境からの汚染物質等）
	細胞株の樹立（材料や環境からの汚染物質、培養への適切な適応、導入された遺伝子と発現産物等）
	マスターセルバンク（MCB）（材料や環境からの汚染、培養細胞の樹立等）
	増殖期（材料、機器、又は環境からの汚染、培地成分、成長促進剤等）
	細胞分化段階（材料（足場材等）、機器、又は環境からの汚染、培地成分、代謝産物等）
	細胞の回収（材料、機器、又は環境からの汚染、培地成分、代謝産物、無菌処理等）

項目案	
(3) 組成等	
	細胞培養純度等
(4) 遺伝的安定性・確保方法	
(5) 使用歴	
(6) 推奨用途・推定摂取量	
(7) 吸収・分布・代謝・排泄	
(8) 栄養情報（栄養成分、比較）	
(9) 毒性情報・アレルギー性	
(10) 危害要因分析・制御方法	

### Ⅲ 本研究を基にした論文等

1 本研究を基にした論文と掲載された雑誌名のリスト  
なし

2 本研究を基にした学会発表の実績

1) 田村倫子、樗澤怜、興石雄一、清水達也、五十君静信。培養肉生産に用いる資源と市販肉とのトランスクリプトーム解析。日本農芸化学会 2024 年度大会（創立 100 周年記念大会）2024. 3. 26

2) 樗澤怜，田中龍一郎，山中久美子，清水達也，五十君静信，田村倫子。培養肉の安全性評価の提案「トランスクリプトーム解析の視点から」。日本食品化学学会 第 30 回総会・学術大会 2024. 5. 23

3 特許権等の出願・申請等の状況  
なし

4 プログラムの著作物及びデータベースの著作物  
なし

5 その他（各種受賞、プレスリリース等）

生物資源ゲノム解析拠点ニュースレター No. 11 2023 年度 p 47

<http://www.nodai-genome.org/download/ngrcgabasenewsno11.pdf?1712038502>

#### IV 研究開始時に申告した達成目標及び研究全体の自己評価

##### 1 達成目標の自己評価

達成目標	評価結果	自己評価コメント
(1) 新規開発食品（細胞培養肉）のリスク評価・安全性に関する情報収集	5	諸外国のガイドライン等や現地調査などにより十分な情報収集ができた。
(2) 細胞培養肉の製造とモデル肉の提供と製造における危害要因の抽出	4	実際に細胞培養を行い、細胞培養時の課題と機器機材の危害要因の検討ができた。細胞のがん化については更なる検討が必要と思われた。
(3) モデル培養肉と通常肉の比較による検証と網羅的解析手法の提案	5	通常鶏肉と培養細胞との網羅的解析により、また培養肉の栄養学的データ、アレルゲンデータベースに関する情報を提供できた。

注) 評価結果欄は「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で自己採点。

##### 2 研究全体の自己評価

項目	評価結果	自己評価コメント
(1) 研究目標の達成度	4	短い期間ではあるが、効率的に情報収集に加え、培養細胞の網羅的知見を提供することができた。細胞のがん化については追加の検討が必要である
(2) 研究成果の有用性	5	培養肉の安全性評価の方向性を示すには十分な成果を上げることができた。
<p>総合コメント</p> <p>細胞培養肉に関する国内外の文献等による情報収集、現地調査による意見交換はこれまでこれほど広範に行われた例はなかった。これらの情報収集を基に当該食品の特性を踏まえた危害要因（ハザード）の特定を検討した。さらに実際にモデル培養肉を作成し、網羅的解析を行うことにより、培養肉の安全性評価に求められる項目に必要なデータの絞り込み並びにその検査手法を提供するための知見を蓄積した。これらの研究の成果は、今後のわが国の培養肉のリスク評価の「基本的考え方」の作成に資することができるものと思われる。</p>		

注) 評価結果欄は、「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で自己採点。

この報告書は、食品安全委員会の委託研究事業の成果について取りまとめたものです。

本報告書で述べられている見解及び結論は研究者個人のものであり、食品安全委員会としての見解を示すものではありません。全ての権利は、食品安全委員会に帰属します。

(別添1)

## 研究成果の概要 (和文)

細胞培養技術を用いて製造される食品（いわゆる培養肉）の研究・開発が国内外で進められており、当該技術で製造される食品のリスク評価における基本的考え方を検討することは急務である。諸外国では当該食品の安全性確保のルール作りが検討されており、国によっては培養肉を評価したうえで製品の上市が開始され始めている。本研究では、当該食品の安全性評価に関し諸外国で検討されているリスク評価に関するガイダンス等の情報を収集し、培養肉の安全性評価を実施している行政当局や生産を行っている企業を訪問し意見交換を行った。これらの収集した情報を基に当該食品の特性を踏まえた危害要因（ハザード）を検討した。さらに実際にモデル培養肉を作成し、網羅的解析を行うことにより、培養肉の安全性評価に求められる項目に必要なデータの絞り込みを行った。モデル培養肉の実験では、培養肉の安全性評価に必要な情報をどのような手法により示したらよいかに関する知見を蓄積した。これらはわが国の培養肉のリスク評価の「基本的考え方」の方向性を示すことに貢献することができると思われる。

(別添2)

研究成果の概要 (英文)

Title of research project	Research on methods for risk assessment of meat produced using cell culture technology
Research project number	JPCAFSC20222208
Research period	FY 2022 – 2023
Name of principal research investigator (PI)	Shizunobu Igimi

Abstract/Summary

In this study, we collected information on guidance on risk assessment items being considered in other countries regarding the safety assessment of cultured cell meat and visited administrative authorities and companies that are conducting safety assessments of cultured meat to exchange opinions. Based on the information collected, we examined the identification of hazardous factors (hazards) based on the characteristics of the food in question. Furthermore, by creating model cultured meat actually and conducting a comprehensive analysis, we were able to narrow down the data required for the items needed for the safety evaluation of cultured meat. In the experiments with model cultured meat, we accumulated knowledge on what methods should be used to present the information needed for the safety evaluation of cultured meat. We believe that this will contribute to the direction of the “basic approach” to the risk assessment of cultured meat in Japan.

This report provides outcome of the captioned research programme funded by Food Safety Commission Japan (FSCJ). This is not a formal publication of FSCJ and is neither for sale nor for use in conjunction with commercial purpose. All rights are reserved by FSCJ. The view expressed in this report does not imply any opinion on the part of FSCJ.

1. List of papers published on the basis of this research
2. List of presentations based on this research
3. The number and summary of patents and patent applications
4. Others (awards, press releases, software and database construction)