

令和3年9月17日  
(令和3年9月28日：一部改変)  
厚生労働省医薬・生活衛生局  
食品基準審査課

## 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日大臣官房生活衛生・食品安全審議官決定）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、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】

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

- ①従来品種のかけ合わせによって得られた受精卵に対して、マイクロインジェクション法により、Cas9 メッセンジャーRNA (mRNA) 及びマダイミオスタチン遺伝子を標的としたガイド RNA (gRNA) を移入した。
- ②マダイミオスタチン遺伝子の一部に欠失を持つ個体を選抜し、その個体を用いて後代の同一欠失の集団を得た。具体的には、雑種第1代（〇〇〇個体）及び雑種第2代（〇〇〇個体）において、標的配列が同一の欠失（塩基数、位置）であることを塩基配列解析によって確認した。

#### (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）及び雑種第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。
- ③雑種第2代（〇〇〇個体）のうち E189 x E90 の後代であるホモ接合体（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

### ①オフターゲット候補の探索及び確認

- ・Cas-Offinder を用いて、2塩基までのミスマッチ（in/del 含む）を含む配列を候補配列として検索。
- ・全ての候補配列（10箇所）について、雑種第1代（〇〇〇個体）及び雑種第2代（〇〇〇個体）において、塩基配列解析によってオフターゲット変異がないことを確認した。
- ・全ての候補配列（10箇所）について、従来品種マダイ全ゲノムデータベース（非公開情報）に全ゲノム配列をマッピングし、該当配列にオフターゲット変異がないことを確認した。

### ②オープンリーディングフレーム（ORF）解析によるアレルゲン性の確認

- ・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して、標的配列の変異により新規に発生の可能性がある ORF を抽出したところ、新規に発生の可能性がある ORF が2つ検索された。
- ・上記2つの ORF 及び該当遺伝子の変異について、複数のアレルゲンデータベースにおいて検索したところ該当するアレルゲンは存在しなかった。

## （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

- ・代謝系に影響を及ぼす改変ではない。

## 2. 確認結果

### （1）確認結果の概要（事前相談資料の分割）

本事前相談の資料については、以下の2つの資料に分けた上で確認することが妥当と判断した。

- ① 雑種第1代である E189×E90 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 雑種第1代である E361×E90 由来の雑種第2代（〇〇〇個体）及び従来品種×雑種第1代である B224 由来の雑種第2代（〇〇〇個体）については、上記①の届出該当と判断した雑種第2代（〇〇〇個体）の分と事前相談資料を分けた上で、さらに必要な検査を実施し、その結果の提出、確認をもって届出に該当するか判断することとした。

### （2）確認結果の詳細（別添参照）

#### ① E189×E90 系統の〇〇〇個体（→届出可）

- E189×E90 系統の雑種第2代〇〇〇個体について、標的遺伝子の変異の内容（塩基数、位置）が全く同一であることから、この集団を届出集団とすること

に問題はないと判断した。

- 外来遺伝子及びその一部の残存がないことの確認については、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、PCR法を用いて、確認が行われた。また、届出集団のホモ接合体（〇〇〇個体）において、全ゲノム配列解析を用いて、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については、オフターゲット候補及び標的配列において実施された。オフターゲット候補として検索された全ての候補配列（10箇所）について、雑種第1代の〇〇〇個体及び雑種第2代の〇〇〇個体において塩基配列解析により、オフターゲット変異がないと判断した。加えて、全ての候補配列（10箇所）について、従来品種マダイ全ゲノムデータベース（非公開情報）に全ゲノム配列をマッピングし、該当配列にオフターゲット変異がないことを確認した。また、標的配列の変異により新規に発生の可能性があるORFを抽出したところ、新規に発生の可能性のあるORFが2つ検索され、当該遺伝子の変異に加えて、それらについて複数のアレルゲンデータベースにおいて検索したところ該当するアレルゲンがないと判断した。これらの結果から、新たなアレルゲンの産生や既知の毒性物質の増加は生じてないと判断した。
- ② E361×E90系統の〇〇〇個体及び従来品種×B224系統の〇〇〇個体（一部追加資料要求中）
  - E361×E90系統及び従来品種×B224の雑種第2代において選抜されたそれぞれ〇〇〇及び〇〇〇個体（計〇〇〇個体）について、標的遺伝子の変異の内容（塩基数、位置）が全く同一であることから、この集団を届出集団とすることに問題はないと判断した。
  - 外来遺伝子及びその一部の残存がないことの確認については、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。なお、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を行った結果に係る資料を要求中である。
  - 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ついては、オフターゲット候補及び標的配列において実施された。オフターゲット候補として検索された全ての候補配列（10箇所）について、全ゲノム配列データからオフターゲット変異がないと判断した。また、全ての候補配列（10箇所）について、雑種第1代の〇〇〇個体及び雑種第2代の〇〇〇個体において塩基配列解析により、オフターゲット変異がないと判断した。また、標的配列の変異により新規

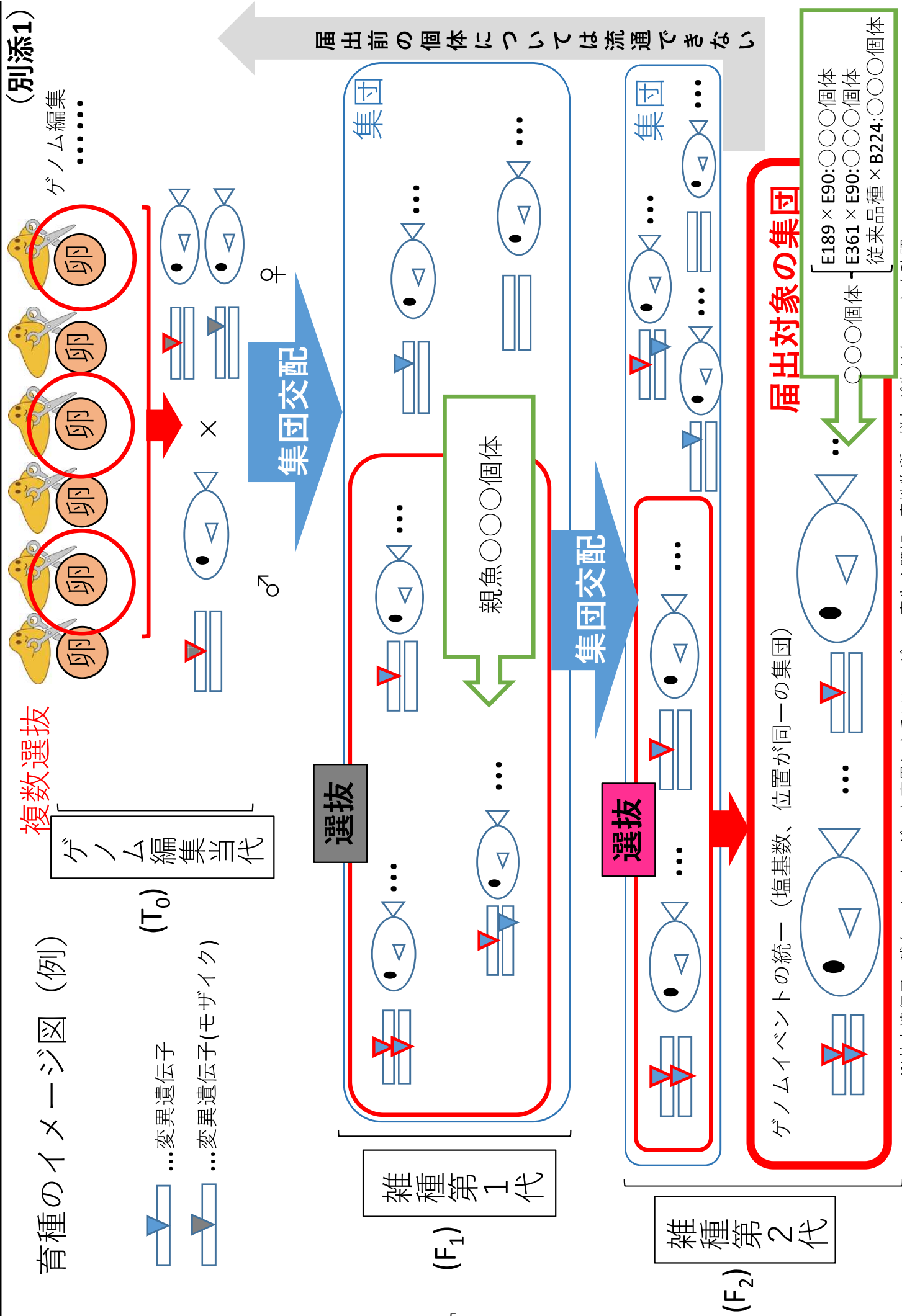
に発生の可能性がある ORF を抽出したところ、新規に発生の可能性のある ORF が 2 つ検索され、当該遺伝子の変異に加えて、それらについて複数のアレルゲンデータベースにおいて検索したところ該当するアレルゲンがないと判断した。これらの結果から、新たなアレルゲンの産生や既知の毒性物質の増加は生じてないと判断した。

※「〇〇〇」：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箇所については「〇〇〇」とした。

(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<br>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<br>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<br>（公開）    |
| 令和 3 年<br>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<br>（公開）    |
| 令和 3 年<br>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<br>（公開）    |
| 令和 3 年<br>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<br>（公開）    |
| 令和 3 年<br>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<br>まとめ（公開） |
| 令和 3 年<br>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<br>9 月 17 日 | 事前相談資料の分割<br>① E189-E90 系統<br>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<br>9 月 17 日 | 結果を事前相談者に連絡（① E189-E90 系統）                                |                              |
| 令和 3 年<br>9 月 17 日 | 届出受理（① E189-E90 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）。



※外来遺伝子の残存、オフターゲット変異によるアレ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を確認

注）「○○○」：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箇所については「○○○」とした

## 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<br>(Whole Genome Sequencing) |                |
| 雑種第1代              | 雑種第1代の〇〇〇〇個体           | 実施済         | -                                       | 実施済            |
| 雑種第2代<br>(届出予定の集団) | E189xE90 の後代〇〇〇〇個体     | 実施済         | 実施済(〇〇〇〇個体)                             | 実施済(〇〇〇〇個体)    |
|                    | E361xE90 の後代〇〇〇〇個体     | 実施済         | 実施中(〇〇〇〇個体)                             | 実施済            |
|                    | 従来品種xB224 の後代<br>〇〇〇個体 | 実施済         | 実施中(〇〇〇〇個体)                             | 実施済(〇〇〇〇個体)    |

→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（非公開）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

注)「〇〇〇」：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箇所については「〇〇〇〇」とした。