



令和5年4月26日

**鶏卵の主要なアレルギー原因物質（アレルゲン）を
ゲノム編集（Platinum TALEN）により除去し、その安全性を確認****論文掲載****【本研究成果のポイント】**

- Platinum TALEN（pTALEN）（※1）を用いたゲノム編集（※2）により、鶏卵の主要なアレルゲン（※3）であるオボムコイド（OVM）の遺伝子をニワトリでノックアウト（※4）しました。
- ゲノム編集したニワトリが産生する鶏卵中の OVM およびゲノム編集により生産されることが予想された副産物は、生産されないことを証明しました。
- ゲノム編集食品で懸念されるニワトリへの別の遺伝子の挿入や他の遺伝子へ影響は、全くありませんでした。
- 今後は、ゲノム編集による鶏卵成分に対する影響や試作品（加工食品）にした場合の評価（物性や官能）や安全性を実施していく予定です。

【概要】

広島大学大学院統合生命科学研究科の江崎僚特任助教、堀内浩幸教授、キューピー株式会社研究開発本部技術ソリューション研究所機能素材研究部チームリーダーの児玉大介らの研究チームは、ゲノム編集により OVM 遺伝子をノックアウトしたニワトリを作製し、そのニワトリが生産する卵には OVM が無いこと、またゲノム編集により予想される変異タンパク質の生産が無いことを確認しました。

鶏卵の主要なアレルゲンである OVM は、熱や消化酵素に対して非常に安定でかつ水溶性であるため、生化学的にアレルゲン性をなくしたり、除去することが困難でした。近年のゲノム編集技術の進歩により、OVM を生産しない鶏卵を作ることは可能となりましたが、OVM ノックアウト鶏卵を食品として利用するためには、食品としての安全性を評価することが重要です。

本研究では、広島大学で開発したゲノム編集技術のひとつである pTALEN を用いて OVM 遺伝子をノックアウトしたニワトリを作製しました。次に OVM ノックアウトニワトリが生産する鶏卵中には OVM が無いこと、またゲノム編集により予想される変異タンパク質の生産が無いことを確認しました。さらに pTALEN のオフターゲット作用（※5）（意図せぬ変異導入）を含む標的以外のニワトリゲノムへの影響について検討しました。その結果、OVM ノックアウトニワトリが産んだ卵には、OVM は存在せず、また外形的な異常は認められませんでした。また、ゲノム編集の変異導入により生産が予想される副産物も含まれていないことがわかりました。さらに、全ゲノム解析（※6）によるオフターゲット作用の解析では、pTALEN による明確な変異導入は他の遺伝子領域で確認されませんでした。これらの結果は、本研究で作製した OVM ノックアウト鶏卵の食品としての安全性を示すとともに、この鶏卵が、食品やワクチン製造におけるアレルギー問題の解決に貢献できることを示しました。

なお、本研究成果は 2023 年 3 月 12 日に Elsevier 社が発刊する専門誌「Food and Chemical Toxicology」に電子版として公開されるとともに、2023 年 5 月号に掲載されます。

< 発表論文 >

論文タイトル

Transcription activator-like effector nuclease-mediated deletion safely eliminates the major egg allergen ovomucoid in chickens

著者

Ryo Ezaki^{a,*}, Tetsushi Sakuma^{a,b}, Daisuke Kodama^c, Ryou Sasahara^c, Taichi Shiraogawa^c, Kennosuke Ichikawa^b, Mei Matsuzaki^a, Akihiro Handa^d, Takashi Yamamoto^{a,b}, Hiroyuki Horiuchi^{a,b}

a: 広島大学 大学院統合生命科学研究科 b: 広島大学 ゲノム編集イノベーションセンター c: キューピー株式会社研究開発本部 d: 東京電機大学 理工学部

掲載誌

Food and Chemical Toxicology

DOI 番号

<https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.113703>

【背景】

鶏卵アレルギーは、小児の即時型食物アレルギーの中で最も多く、そのアレルギーの中で最も優勢なアレルギー蛋白質は OVM です。鶏卵のアレルギー性は、プロテアーゼ処理や加熱処理などにより低減できますが、これらの処理では卵白の特性（ゲル化や起泡）を維持したまま、OVM のみを完全に除去することはできませんでした。一方、OVM 以外のアレルギーは、熱や消化酵素を用いた加工処理によって不活性化させ、アレルギー性を排除することができます。すなわち加工しても OVM だけが鶏卵にアレルギー性を維持したまま残るため、OVM を含まない鶏卵を生産できれば、アレルギー性が極めて低い鶏卵由来加工食品を生産できると考えられます。近年、ゲノム編集技術を用いた遺伝子ノックアウトにより、鶏卵から OVM を除去できることが報告されてきましたが、ゲノム編集により生じる可能性がある副産物やゲノム編集ツールの標的以外のゲノムへの影響は十分に解析されていませんでした。

【研究成果の内容】

本研究では、pTALEN を用いてニワトリ OVM 遺伝子を標的としたゲノム編集を行い、OVM ノックアウトニワトリを 2 系統で作製しました（図 1）。また、ゲノム編集ニワトリの安全性を評価するために、タンパク質レベルで OVM および副産物の有無を試験したところ、ノックアウト鶏卵からは OVM も副産物も検出されませんでした（図 2）。さらに、ノックアウトニワトリの全ゲノム解析を行ったところ、pTALEN による他の遺伝子の挿入や他の遺伝子領域へ変異導入は確認されませんでした。

【今後の展開】

卵アレルギーは、OVM 以外にもアレルギーを起こす患者がいるため、今回作製した卵を食品として利用するためには、加工食品での免疫学および臨床的研究が必要です。今後は、OVM がいないことで鶏卵成分にどのような影響がでるのか、どのような鶏卵の加工形態であれば、安心して食することができるのかといった実証試験段階に入ります。また鶏卵を用いたワクチンなどの医薬品製造分野にも OVM を含まない鶏卵の提供が可能になるものと思われます。

【参考資料】

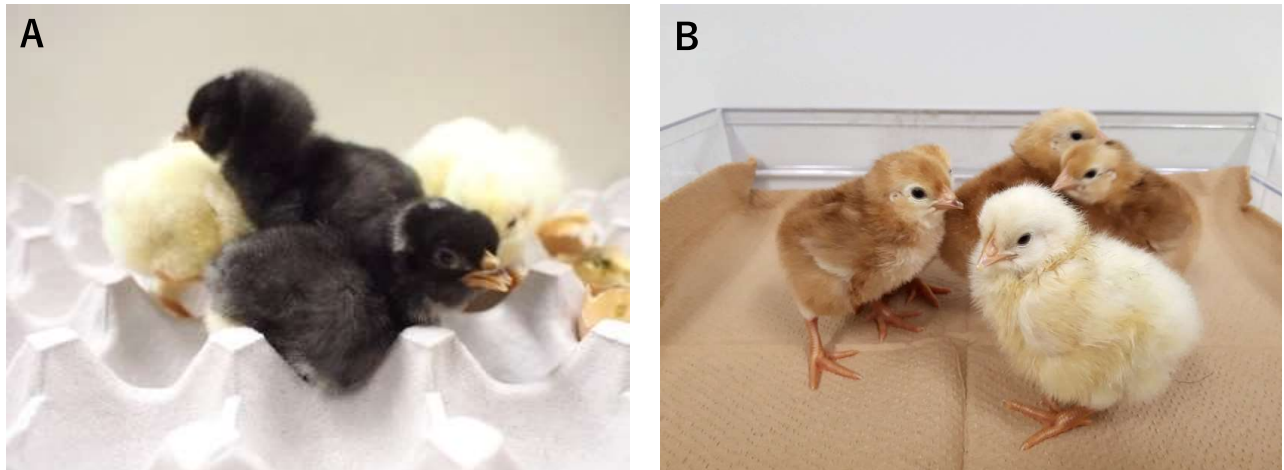


図 1. 誕生した OVM ノックアウト雛

(A) 黄斑プリマスロック種、(B) ロードアイランドレッド種、黒色または茶色の雛が OVM ノックアウト。

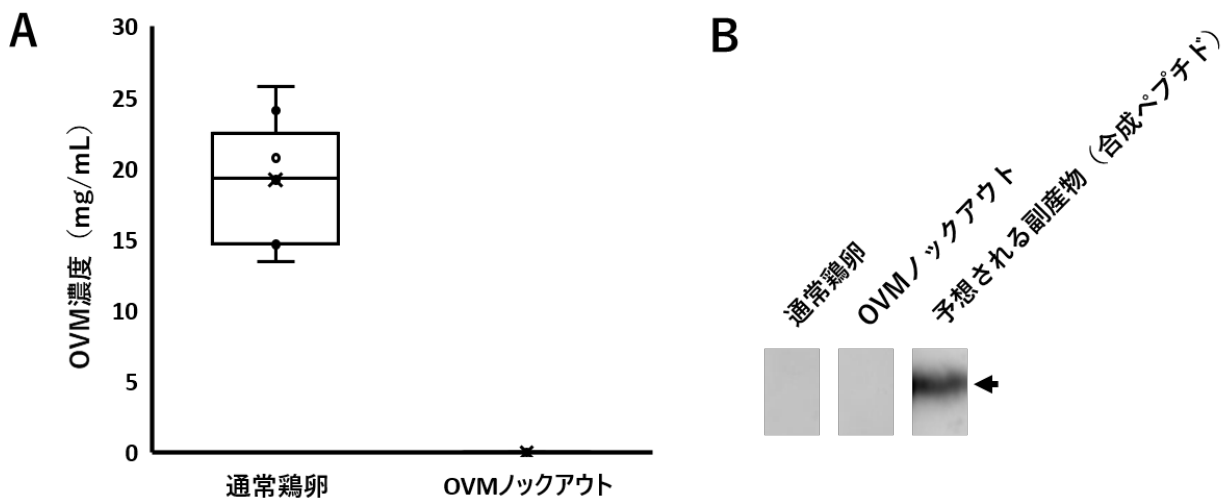


図 2. ノックアウト卵白におけるタンパク質レベルの解析

(A) ELISA 法による OVM の検出、(B) イムノブロット法による副産物の検出。(※7)

【用語解説】

(※1) Platinum TALEN (pTALEN)

広島大学にて独自開発された高活性型の TALEN (transcription activator-like effector nuclease)。TALEN は、植物病原細菌であるキサントモナスから発見された DNA 結合タンパク質を利用した人工ヌクレアーゼである。

(※2) ゲノム編集

ゲノム DNA に二本鎖切断を誘導し、その修復過程に標的遺伝子の DNA 配列を改変する技術。欠失や挿入を誘導する単純な改変においては、自然発生する突然変異と変わらない。ゲノムとは生物のもつ全 DNA 塩基配列情報のこと。

(※3) アレルゲン

アレルギー反応の原因となる物質。

(※4) 遺伝子ノックアウト

生物がもともと持っている遺伝子コードを変更し、遺伝子を破壊する技術。

(※5) オフターゲット作用

ゲノム編集ツールが標的とは異なる部位へ変異導入してしまう作用。

(※6) 全ゲノム解析

次世代塩基配列解析技術により、個体の全ゲノムDNA配列情報を決定する解析手法。

(※7) ELISA法 イムノブロット法

抗体と抗原の特異的な相互作用を利用し、タンパク質の検出や定量を行う手法。

【お問い合わせ先】

<研究に関すること>

広島大学大学院統合生命科学研究科

特任助教 江崎 僚

教授 堀内 浩幸

Tel : 082-424-7970 FAX : 082-424-7970

E-mail : 江崎 rezaki@hiroshima-u.ac.jp

堀内 hhor110@hiroshima-u.ac.jp

<広報に関すること>

広島大学 広報室

Tel : 082-424-3749

E-mail : koho@office.hiroshima-u.ac.jp

発信枚数 : A4版 4枚 (本票含む)