



2024年4月21日 食のリスクコミュニケーション・フォーラム2024

# 国立大学法人広島大学

## 低アレルギー鶏卵の作出と安全性評価について



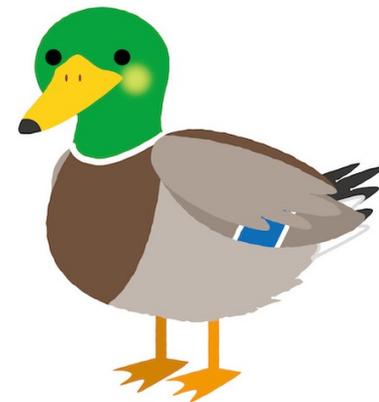
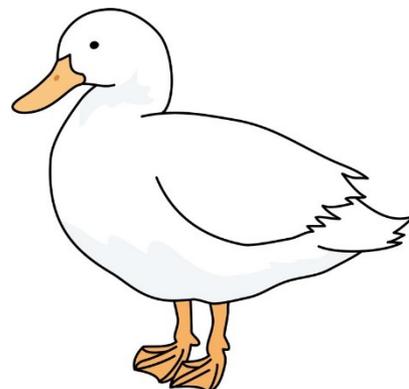
広島大学大学院統合生命科学研究科

教授 堀内 浩幸

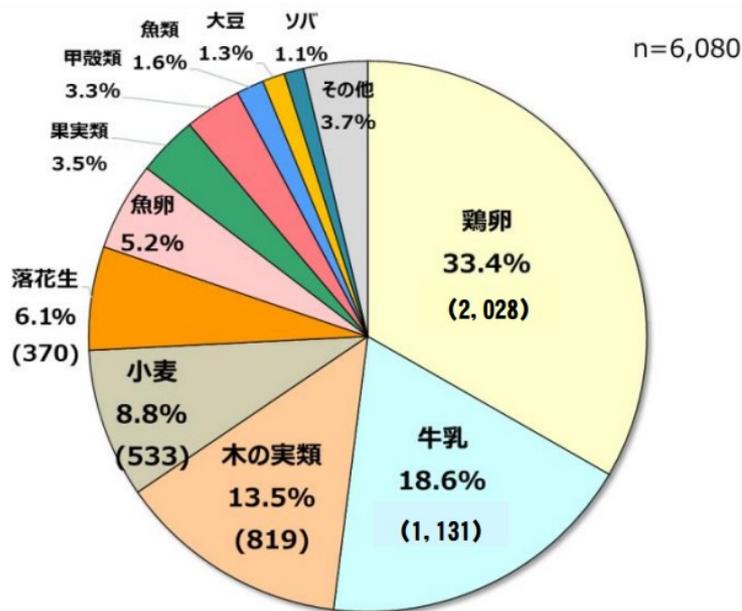
# バイオDX産学共創拠点(JST) 包括的な家禽のデジタル育種を実現する

## 目標達成のためのバックキャストिंग

- 具体的な実施例      ➡ 鶏卵アレルギー
- 動物愛護・福祉への対策
- 感染症対策



# 鶏卵は日本人の最多の 食物アレルギー原因物質



## 即時型食物アレルギーの原因物質

(出典) 令和3年度食物アレルギーに関連する  
食品表示に関する調査研究事業報告書 (消費者庁)

## こどもたちの食の安全

👉 乳幼児期の**アレルギー新規発症**の  
原因物質の事例として最多

## 思いがけない食品に入っている

👉 **誤食**の原因物質として年齢に  
関係なく上位

## 重篤な症状がでることも

👉 **ショック症状**の原因物質としても最多

# 鶏卵中のタンパク質

鶏卵中の約13%が  
タンパク質



卵白	%
オボアルブミン	54
コンアルブミン	13
オボムコイド	11
オボムチン	3
リゾチーム	3.5

卵黄	%
LDL	65
リポビテリン	16
リベチン	10
ホスビチン	4

# 加工食品中のアレルゲン

鶏卵中の約13%が  
タンパク質



卵白	%
----	---

オボムコイド	11
--------	----

卵黄	%
----	---

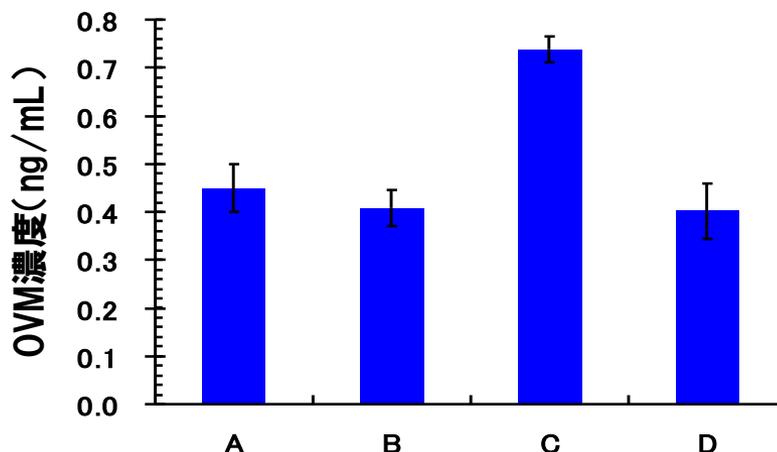
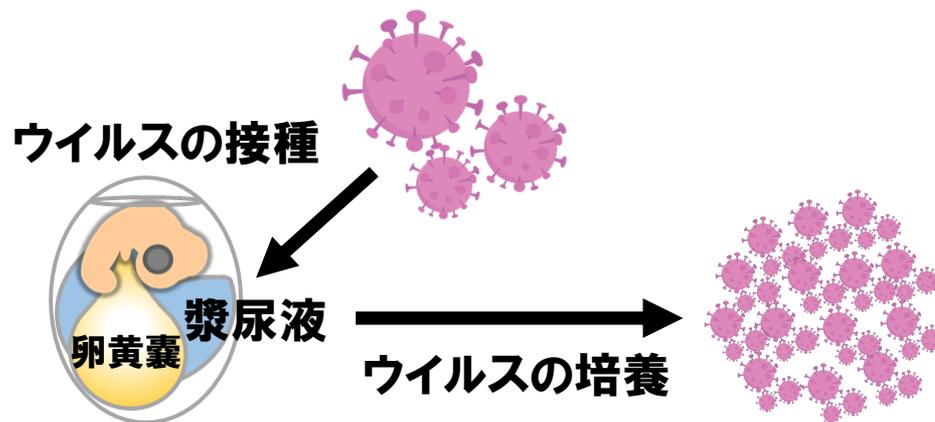
# 鶏卵で生産した ワクチンにOVMは混入する

## 発育鶏卵ワクチン

インフルエンザなどの一部のワクチンは**発育鶏卵を用いて生産**されている

鶏卵由来ワクチンには**微量のOVMが混入**

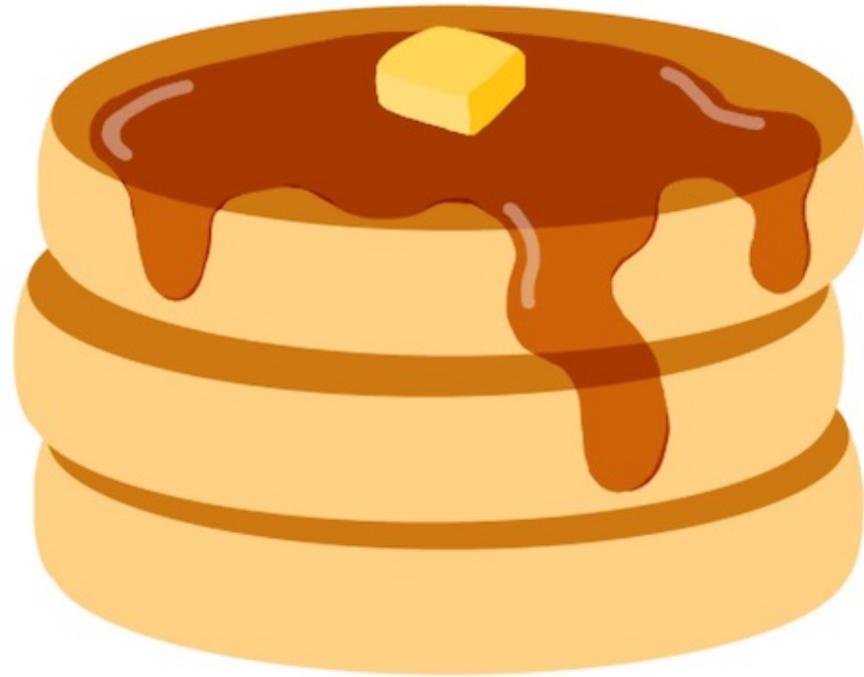
重度の卵アレルギー患者はワクチンを**接種できない**ことも



インフルエンザワクチン中のOVM濃度

# アレルギーのない卵の 加工食品をつくるには？

---



**OVMを含まない鶏卵があれば  
アレルギーのない加工食品ができる**

# 研究の概要

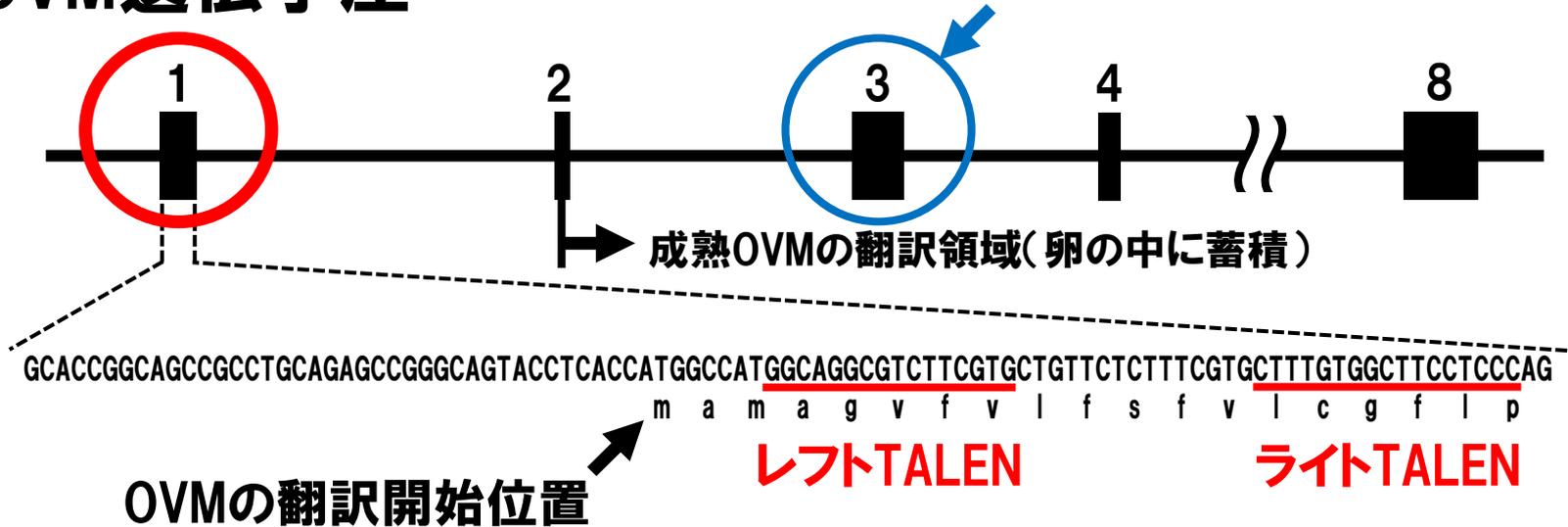
---

- ① 従来法とは異なる手法(Platinum TALEN)により  
OVMの遺伝子をノックアウトした
- ② ノックアウト鶏卵中にOVMとゲノム編集により  
生産されるかもしれない副産物はなかった
- ③ 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の影響はなかった

# 従来法との違い

OVM遺伝子座

従来法(CRISPR/Cas9)で編集



DNA結合性(特異性)が高いPlatinum TALENを使用

翻訳開始点から近いところで編集

# 品種化を念頭に**2系統**で作出

---

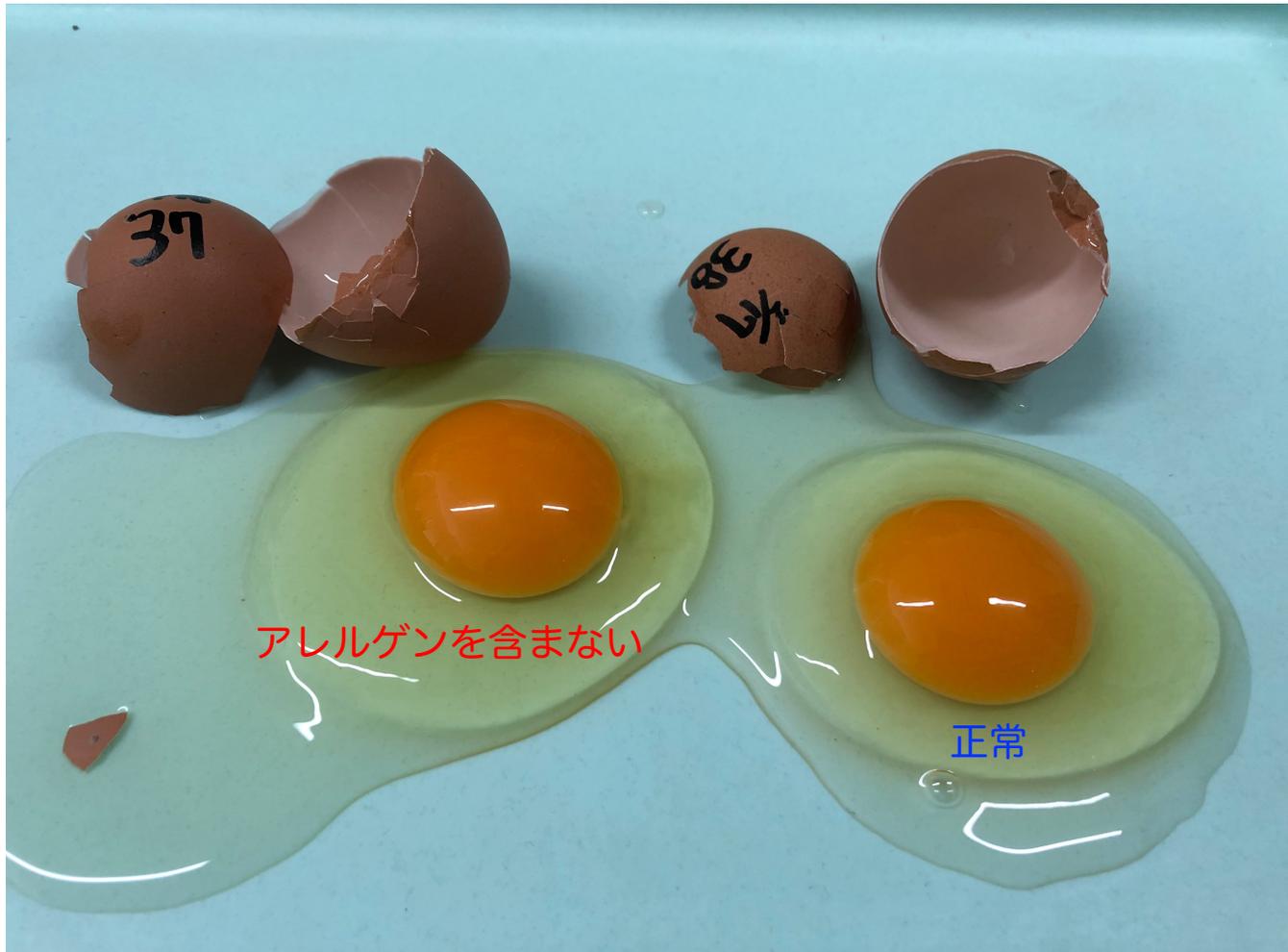
横斑プリマスロック種(BPR)



ロードアイランドレッド種(RIR)



# アレルギーノックアウト鶏卵



# ノックアウト鶏卵から OVMは検出されなかった



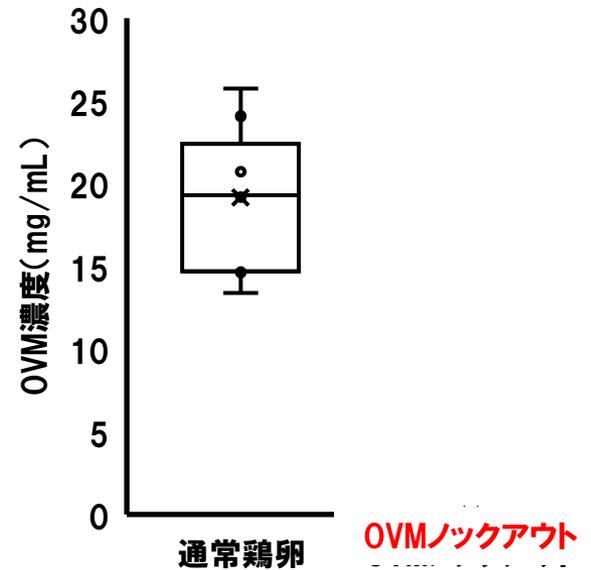
卵白をサンプリング



OVMを検出

精製OVM(陽性対照)  
通常鶏卵  
OVM  
ノックアウト

#1 #2 #3



イムプロット法(左)およびELISA法(右)  
により検出したOVM

OVMノックアウト鶏卵からOVMは完全に除去されていた

# ノックアウト鶏卵から 副産物も検出されなかった



卵白をサンプリング



変異型OVMを検出

## 変異型OVMとは

シグナル配列 24アミノ酸 ← | → 成熟OVM 186アミノ酸

通常ニワトリ MAMAGVFLFSFVLCGFLPDAVFGAEVDCSRFPNATDMEGKDVLVCNKDLRPICGTDGVTYTTNDCLLCAY...GKC  
 BPR MAMAGGSCFVASSQMLPLGLRWTAVGFPTLQTRKAKMYWFATRTSAPSVVPMESLTPTIACCVPTA 66アミノ酸  
 RIR MAMAGVFLFSVASSQMLPLGLRWTAVGFPTLQTRKAKMYWFATRTSAPSVVPMESLTPTIACCVPTA 68アミノ酸

赤字は通常のOVMと共通する配列

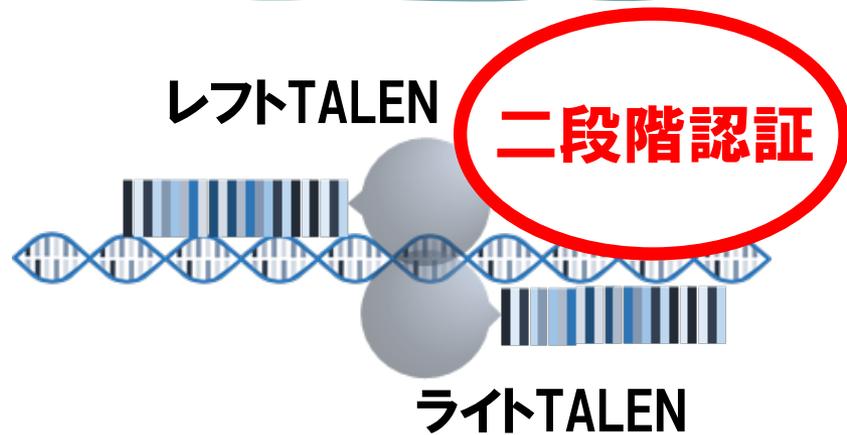
変異型OVM検出用抗体の作製配列



イムノプロット法により検出した変異型OVM

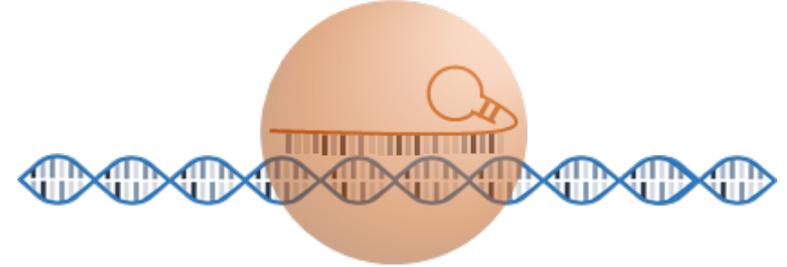
**シグナル配列内で編集することにより変異型OVMが  
翻訳されたとしても鶏卵に蓄積することはない**

# オフターゲット作用とは



- ①ゲノム編集ツールが配列を探索
- ②一致する配列と結合して切断

CRISPR/Cas9



- ②' 標的と似ている配列と結合して切断

**オフターゲット作用**

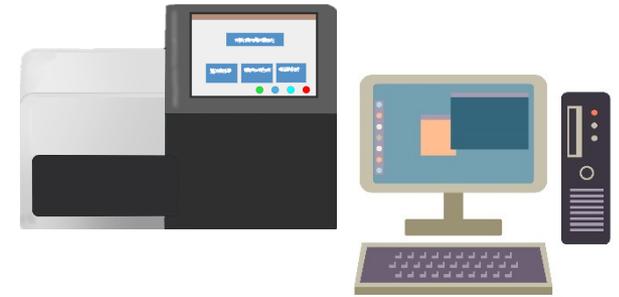
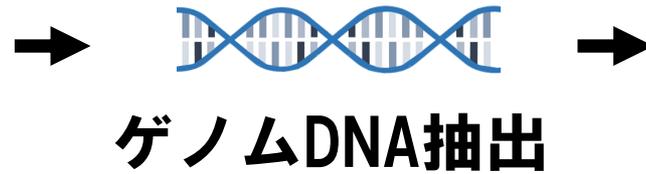
👉 予期せぬ変異

DNA結合性(特異性)が高いPlatinum TALENは  
**オフターゲットの問題は低い**

# ゲノム編集はノックアウトニワトリの 標的以外のゲノムに影響しなかった



採血



全ゲノム解析

通常ニワトリとゲノム編集ニワトリのゲノムに  
大きな差はなく、**個体差の範疇**であった

# まとめ

---

- 鶏卵の主要なアレルゲンであるOVMを  
翻訳開始点から近いところで編集
- ノックアウト鶏卵はOVMを全く含まない
- 通常ニワトリとノックアウトニワトリの  
ゲノムの差はOVM遺伝子座以外は  
個体差の範疇
- 加熱により, アレルギー患者のIgEは反応  
しない

# 今後の展望

---

**OVMノックアウト卵**を食品利用するために

- OVMがないことの**他の鶏卵成分**への影響
- 安全に利用できる**加工方法**
- 加工食品の評価(**臨床研究**)

誰でも**安心**して利用できる

👉 **食品**

👉 **ワクチン製造**