

① 品目・品種名及び概要（利用方法、利用目的）

概要：ティラピアは、世界で 2 番目に養殖されている養殖魚で、国内では「イズミダイ」として流通していた。現在、国内では温泉地等において少量養殖されている程度だが、養殖魚としての生産性が高いことに加えて、養殖魚の主なたん白源である魚粉が少ない餌で養殖が可能など、今後の飼料需給や持続可能性を考えると養殖魚として優れた形質を有している。今回はこれらの特徴をさらに活かすため、ゲノム編集技術を用いて、ナイルティラピア（英名：Nile tilapia, 学名：*Oreochromis niloticus*）において、ミオスタチン遺伝子の機能欠損（13 塩基欠失）個体を得た。その結果、当該ティラピアは、可食部割合が改善された。今回届出する品種（以下「届出の対象集団」（雑種第 1 代（F₁）及び雑種第 2 代（F₂）という。）の作出には、一般的に養殖生産されている種（以下「従来品種」という）を利用した。

利用方法及び利用目的：ゲノム編集技術を活用して作出した届出の対象集団（雑種第 1 代（F₁）及び雑種第 2 代（F₂））の後代から生産された稚魚を養殖施設で飼養し、従来のティラピアと同様に、食用魚及び飼料用として出荷する。

自社又は委託事業者の加工施設において、鮮魚を可食部位とアラ等の不可食部位を分けるために加工し、不可食部位については、事業者へ委託して搬出する。不可食部位は、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（飼料安全法）の関連規定に即して、製造基準に適合していることについての農林水産大臣の確認を受けた魚粉製造事業者へ搬入し、これを原料として魚粉及び魚油が製造され、飼料原料等として利用される。

② 利用したゲノム編集技術及び遺伝子改変の概要

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って、Cas9 タンパク質及び骨格筋の肥大を抑制するミオスタチン遺伝子の配列のエキソン 1 の 20 塩基を特異的に標的としたガイド RNA（以下「gRNA」という。）の複合体（リボヌクレオタンパク質）を移入し、ティラピアのミオスタチン遺伝子のエキソン 1 に 13 塩基の欠失を持つ系統を選抜した。

雑種第1代 (F₁)、雑種第2代 (F₂) では、食品及び飼料としての安全性及び養殖魚としての能力の両面から調査及び選抜を行った。

なお、雑種第1代 (F₁) において、同一の13塩基欠失を持つヘテロ接合体を、雑種第2代 (F₂) において、同一の13塩基欠失を持つホモ接合体を選抜した。可食部増量の表現型については、ホモ接合体では顕在化し、ヘテロ接合体では顕在化しなかった。また、当該変異及び形質は遺伝的に安定であると考察される。

③ ゲノム編集技術による DNA の変化が畜産物を通じた人の健康又は家畜等の健康に悪影響を及ぼす既知の毒性物質の増加を生じないことの確認

■ 確認済み □ 未確認

オフターゲット変異については、ソフトウェア解析 (Cas-OFFinder 及び CCTop) を利用して、2塩基までのミスマッチ (indel を含む) を含む配列を候補配列として検索した結果、8箇所の配列が候補配列として示されたが、いずれも2塩基のミスマッチが確認された。雑種第1代 (F₁) の全ての個体において、ヘテロ二本鎖移動度解析及び塩基配列解析を実施したところ、いずれの解析においてもオフターゲット変異がないことが確認された。

そのため、既知の毒性物質が生成される可能性がある配列は標的遺伝子のみである。標的遺伝子の変異について、アメリカ国立生物工学情報センター (NCBI) の Open Reading Frame Finder を使用して解析した結果、当該変異により新規に発生する可能性がある2つの ORF が候補として検索された。候補について、アミノ酸残基の変化を確認し、UniProt BLAST を利用して、既知の毒性たん白質の配列との相同性について評価を行った結果、毒性たん白質との相同性が確認されなかった。したがって、届出の対象集団 (雑種第1代 (F₁) 及び雑種第2代 (F₂)) において、既知の毒性物質の増加を生じないと考えられる。

④ 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の有無

□ 代謝系に影響を及ぼす改変を行った。 ■ 代謝系に影響はない。

標的とした遺伝子は、骨格筋で発現する骨格筋肥大抑制因子のミオスタチン遺伝子である。ミオスタチンは、TGF- β スーパーファミリーに属するマイオカインの一種である。届出の対象集団は (雑種第2代 (F₂))、当該遺伝子の機能欠損

(13 塩基の欠失) によって骨格筋肥大が抑制されず、骨格筋肥大に伴う可食部が増量するとともに、飼料要求率が改善される。したがって、特定の成分を増加・低減させるような代謝系に影響を及ぼす改変ではない。

また、ティラピアを含めた他の生物での食品及び飼料用途において、ミオスタチンの発現量の増加・低減がヒトへの健康影響が起きたとの報告はない。なお、届出の対象集団（雑種第2代（F₂））の一般組成分析の結果、飼料として影響を及ぼし得る差異は認められなかった。