

## Consumer acceptance toward foods derived from genome editing in Vietnam

グエン, ティ, ハオ

<https://hdl.handle.net/2324/4784701>

---

出版情報 : Kyushu University, 2021, 博士 (農学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (2)

Name: NGUYEN THI HAO

Title: Consumer acceptance toward foods derived from genome editing in Vietnam  
(ベトナムにおけるゲノム編集応用食品に対する消費者受容)

Category: Kou

### Thesis Summary

Genome editing (GE) represented by CRISPR/Cas9 technology is currently known as the simplest, fastest, most flexible, and accurate method. Using transgene-free tools, the final GE products are indistinguishable from those produced via classical plant breeding methods. These advantages, GE foods are expected widely public acceptance. This study aims to analyze consumer acceptance toward GE foods in comparison to GM foods through measuring consumer implicit and explicit attitudes toward and estimating willingness to pay (WTP) for quality improved GE foods and GM foods under different information treatment.

This study applied a systematic literature review method to review trends in application CRISPR/Cas9 and studies in consumers fields and regulatory to analyze the main opportunities and challenges for the application GE technologies in foods. The empirical survey is conducted in Hanoi, Vietnam with 407 participants during February 2021 to collect consumer attitudes and valuation toward GE foods in comparison to GM foods. We use 8 semantic differential 7-point scales to measure explicit attitudes, while the implicit association test (IAT) has been employed to capture consumers' implicit attitudes toward GE and GM foods. The determinants and estimated WTP a price premium for GE rice compared to GM and conventional rice are defined by using the Double-bounded Contingent Valuation Method. To understand the effect of information, we assigned consumers into short or long information groups.

We found the trends in the application of CRISPR/Cas9 to major is differentiated from GM technologies in terms of consumer-targeted traits. GE crops have not been only targeted in input traits, but also strengthened production ability in harsh environmental conditions, improving product quality and enhancement nutrition. Consumer-targeted traits coupled with transgene-free crops expected to create a more balanced risk-benefit perception and given

momentum to GE foods production. These findings would reflect the expectations of GE products widely public accepted through benefit traits targeted to consumers' preference.

The results of explicit measures show that consumers hold positive attitudes toward both GE foods significantly higher than GM foods. However, in the implicit evaluation showed an insignificant difference between attitudes toward GE and GM foods. Besides the correlation between GE and GM foods has been found, especially under the context of short information, and providing long information help to decrease this correlation.

This study was conducted to evaluate consumer acceptance and valuation of quality-improved consumer-targeted GE products. Hypothetical traits here are rice variety with fragrance and softness is better improved through both GE and GM technologies compare to the traditional variety of rice. Findings exposed that consumers valued highly quality-improved products through GE technologies that directly target consumer preferences significantly than GM rice of equivalent quality, and consumers willing to pay a premium for GE products compare to conventional foods have lower quality. In addition, attitudes toward GE/GM foods and the preference for rice fragrance are both important determinants in estimating WTP for GE and GM rice models. Further, the age of respondents and access to information have a significant influence on WTP for GE rice.

In conclusion, this study provides a more comprehensive inside into consumers' acceptance of GE foods through exploring the implicit and explicit attitudes and valuation of quality – improved GE food products. GE products are attractive to consumers not only by transgenes free tools but also by the diversification in producing traits that directly target consumers' in achieving public support to integrate GE products into society. The important role of providing consumers is revealed, we suggest to GE developers and marketers that increasing public knowledge discriminate GE and GM technologies, and conduct risks and benefits communication strategies being a critical measure to increase public acceptance. Our results suggest that the potential for social acceptance is optimistic and significantly more than that of GM products if GE developers skillfully exploit the advantages of GE products.

Name : Shen Cunkuan

Title : Control of viability and biofilm formation of foodborne pathogens by amino acids and peptides

(アミノ酸およびペプチドによる食中毒細菌の生存とバイオフィーム形成の制御)

Category : Kou

## Thesis Summary

Illness resulting from the consumption of foods contaminated with pathogens continues to be a public health concern. The prevalence of antibiotic resistance leading to low efficacy of available antibiotics also creates a demand for developing alternative antimicrobial agents. In this thesis, the potential of naturally occurring compounds including L-amino acid, antimicrobial peptides and  $\epsilon$ -polylysine has been explored to control foodborne pathogens as well as their biofilm formation.

The effects of various mixture of amino acids, and of specific amino acid deficiency in the medium on *Salmonella* Typhimurium biofilm formation was firstly investigated. Basically, addition of L-amino acid mixture enhanced the biofilm formation, and deprivation of certain single amino acid from the broth including L-Ala, L-Pro and L-Trp was found to greatly increased biofilm mass. The bacterial adhesion to hydrocarbons (BATH) test revealed that the absence of L-Ala, L-Pro and L-Trp significantly increased the cell surface hydrophobicity of *Salmonella* cells. Cultivation of the bacterium in (-) L-Ala, (-) L-Pro broth up regulated the expression of chemotaxis related genes, which were presumed to be a cause of strong biofilm formation.

Secondly, antimicrobial peptides were purified and identified from egg white hydrolysates using multi-step chromatography and mass spectrometry. The amino acid sequences of peptides with promising antibiofilm activity were further engineered using bioinformatics tools, four candidates with higher net charge, hydrophobicity and helicity were designed and synthesized on the basis of the amino acid sequences of peptides derived from egg white hydrolysates. The bioactivity assay indicated that two peptides, P1R3 (KSWKKHVVS GFFLR) and P1C (KSWKKHVVS GFFLRLWVHKK), exhibited potent activity against *S. Typhimurium* but negligible toxicity to Vero cells. Fluorescent microscopy analyses revealed that P1R3 and P1C caused depolarization and increase in permeability of membrane, suggesting damages in membrane integrity. Moreover, P1R3 could interact with genomic DNA, which might also play a role in killing bacteria.

Thirdly, effects of  $\epsilon$ -polylysine inhibiting biofilm formation of *S. Typhimurium* were investigated on transcription of the bacterium. The DNA microarray analysis indicated that treatment of *S. Typhimurium* with  $\epsilon$ -polylysine down-regulated the expression of genes involved in curli amyloid fibers production, cellulose formation, quorum sensing, and flagella-associated motility, while up-regulated those regulating the synthesis of colanic acid. Overall, these studies not only provided several candidates to control bacterial biofilm infections but also motivated the further development of novel antimicrobial agents.



Name : PHAN NGUYEN TRANG

Title : Study on antibiotic resistance and biocontrol of foodborne pathogens derived from *Pangasianodon hypophthalmus*  
(*Pangasianodon hypophthalmus* 由来食中毒細菌の抗生物質耐性と制御に関する研究)

Category : Kou

### Thesis Summary

*Pangasius hypophthalmus*, a freshwater fish found in the Mekong Delta of Vietnam (Sauvage, 1878), plays an economically important role in aquaculture in Vietnam. However, not much is known about bacterial contamination of the fish products during the processing. Moreover, the effectiveness of a novel and effective disinfectant that can eliminate biofilm from these bacteria is lacking. Therefore, the thesis attempts to address these gaps in terms of evaluating the actual microbiological situation, and the effect of slightly acidic hypochlorous water (SAHW) to control biofilm consisted of single and dual species. The result indicated that the microbiological assessment was the same at levels 1–2 in the 2 companies, indicating a poor to moderate food safety performance of these companies. Additionally, the similarity in the microbial safety profiles of the 2 companies revealed the necessity of validating the efficiency of food safety-management systems to improve the safety of the fish product. *Listeria monocytogenes* was detected in 15.6% (45 out of 288 samples) of fish and processing environment samples. Serotypes 1/2b and 4b were dominant in the isolates, and internalin genes (*inlA*, *inlC*, and *inlJ*) were found in all the isolates. Susceptibility tests for 21 antimicrobials showed that most of the isolates were resistant to cefoxitin, oxacillin, and fosfomycin; some strains were resistant to four antimicrobials. Genotyping of *L. monocytogenes* by random amplification of polymorphic DNA (RAPD) revealed diversity to some extent of the *L. monocytogenes* isolates. The *L. monocytogenes* contamination of fish products appeared to be originated from the wash water, rather than the raw materials. The potential virulent and epidemiologically important serogroups from these strains cause worrisome. Furthermore, *L. monocytogenes* single-species biofilm formation increased with increasing temperatures and times, significantly higher levels at 30 °C as compared at 16 °C and 10 °C. The sequential treatment of lysozyme and SAHW showed additional microbiocidal effects on the removal of biofilms, which could not only disturb the exopolysaccharides structures of biofilms but also significantly decreased *L. monocytogenes* viable cells in biofilm (7.5 log CFU/mL reductions). Moreover, high efficacy of SAHW in comparison to sodium hypochlorite in removing *L. monocytogenes* and *E. coli* dual-species biofilms was observed on the surfaces of polystyrene plate and the stainless-steel coupon. More than 99 % decrease in viable counts of biofilm cells were observed after 10 min treatment at 25 °C. In conclusion, from the viewpoint of this thesis, the microbial contaminants could initially be spread from the processing environment and wash water in *Pangasius* processing plants. How to control the good performance of food safety management

systems is considered a crucial strategy to assure the safety of final products. Besides, the application of SAHW can be an alternative disinfectant to control biofilm in the processing environment.

氏 名 : 馬場 映

論文題名 : マウス胚性腫瘍細胞 P19 の神経細胞分化過程における Prdm 遺伝子の機能に関する研究

区 分 : 甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

個体発生における細胞分化過程では、遺伝子の発現制御が重要な役割を果たしている。特に細胞分化の方向を決める過程では、遺伝子の発現を制御する仕組みの1つとしてエピジェネティック制御が機能している。エピジェネティック制御の分子機構として、DNA のメチル化やヒストンの化学修飾、例えば、リン酸化やアセチル化、メチル化、ユビキチン化、SUMO 化および ADP リボシル化などが知られている。本論文で注目した Prdm 遺伝子はタンパク質へのメチル基転移活性を有する PR ドメインと DNA やタンパク質に特異的な結合活性を持つ Zinc Finger ドメインを有しており、エピジェネティック制御に関与する因子であると推定されている。Prdm 遺伝子はヒトで 16 種、マウスやアフリカツメガエルで 15 種が同定されているが、それらの機能は未解明のものが多く、本論文では、細胞分化過程における Prdm 遺伝子の機能解明を目的とした。特に神経細胞分化過程における機能を解析するために、マウス胚性腫瘍細胞 P19(P19 細胞)を用いた。P19 細胞は神経細胞や筋細胞への分化能をもつ幹細胞で、レチノイン酸処理によって神経細胞分化が誘導され、神経細胞分化過程の研究に用いられている。

まず、P19 細胞の神経細胞分化過程を詳細に解析するため、網羅的な遺伝子発現解析を行った。その結果、レチノイン酸によって神経細胞分化が誘導された細胞では、興奮性および抑制性ニューロンなど様々なニューロン特異的な遺伝子が発現誘導されること、さらに、アストロサイトやオリゴデンドロサイトなどのグリア細胞特異的な遺伝子も発現すること、また、これらの細胞分化において機能することが示されている転写制御因子も発現することが明らかとなった。ニューロンとグリア細胞は共に神経幹細胞から分化する細胞であり、P19 細胞は多様な神経細胞の幹細胞として機能し、レチノイン酸による分化誘導系は神経細胞分化過程のモデル系になりうることが判明した。また、Prdm 遺伝子群の発現を解析した結果、Prdm6、Prdm8、Prdm12、および Prdm13 が P19 細胞の神経細胞分化過程で発現していることが明らかとなり、これらの Prdm 遺伝子が神経細胞分化過程で機能していることを示唆された。

次に、神経細胞分化過程における Prdm12 遺伝子の機能解明のため、Prdm12 を欠損させた細胞 (Prdm12-KO 細胞) を作製し、解析を行った。Prdm12-KO 細胞では、定量的な遺伝子発現解析からニューロン特異的な遺伝子 *Tubb3* の発現の減少、また、チューブリンに対する抗体染色では神経突起の異常が認められたことから、Prdm12 がニューロンの分化過程に機能することが示唆された。また、網羅的な遺伝子発現解析から Prdm12-KO 細胞において抑制性ニューロン特異的な遺伝子の発現の減少が確認され、Prdm12 が抑制性ニューロンの分化を制御することが示唆された。抑制性ニューロン分化過程で機能することが報告されている転写因子 *Dbx1* や *Nkx6-1* の発現が Prdm12 の過剰発現によって誘導されたことから、Prdm12 が *Dbx1* や *Nkx6-1* 遺伝子の発現を制御することによって抑制性ニューロンの分化を制御することが明らかとなった。また、Prdm12-KO 細胞において神経幹細胞やアストロサイト、オリゴデンドロサイトに特異的な遺伝子の発現が減少してお



り、Prdm12 がニューロン以外の神経細胞の分化過程にも機能することも示唆された。

続いて、Prdm13 を欠損させた細胞(Prdm13-KO 細胞)を用いて、P19 細胞の神経細胞分化過程における Prdm13 の機能解析を行った。その結果、Prdm13-KO 細胞において、Tubb3 の発現が減少すること、さらに、興奮性や抑制性のニューロンに特異的な遺伝子の発現も減少することが明らかになった。また、形態観察から、神経突起を形成した細胞がほとんど観察されず、Prdm13 が大部分のニューロン分化過程に関与することが示唆された。一方で、アストロサイトやオリゴデンドロサイトなどのグリア細胞に特異的な遺伝子の発現は増加することから、Prdm13 がグリア細胞の分化を抑制していることが判明した。神経細胞分化過程の初期では、神経幹細胞からニューロンが分化し、グリア細胞の分化は抑制されているが、後期になるとニューロンの分化は抑制され、グリア細胞の分化が誘導される。Prdm13 は、神経発生過程の初期においてはニューロンの分化過程、後期にはグリア細胞の分化過程に機能していることが示唆された。また、Prdm13-KO において、損傷したニューロンで発現する Csf1 やアポトーシスに関連する遺伝子の発現が増加することから、Prdm13 が神経細胞分化過程でニューロンの生存や保護に関与することも示唆された。

以上から、本論文では P19 細胞の神経細胞分化過程において、Prdm12 および Prdm13 がニューロンやグリア細胞の分化重要な機能を持つことを明らかにした。本論文の成果は、エピジェネティック制御による細胞分化の機構解明に新たな知見を提供するものであり、さらに、生物の発生や再生医療の分野に貢献することが期待される。

氏 名 : 和田 晃

論文題名 : 周術期における末梢静脈栄養輸液によるアミノ酸投与の有用性に関する基礎的研究

区 分 : 甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

静脈栄養輸液は、経口摂取が不能または不十分な患者への栄養療法に用いられている。静脈栄養法は、その投与経路から末梢静脈栄養法 (peripheral parenteral nutrition : PPN) と中心静脈栄養法 (total parenteral nutrition : TPN) に大別される。静脈栄養の施行期間が 2 週間以上の場合は TPN、2 週間以内の場合は PPN の適応とされている。本邦における手術後短期間の輸液栄養管理として、糖・アミノ酸・電解質液から成る PPN 製剤が汎用されているが、輸液剤の明確な選択基準が存在しないことから、糖・電解質から成りアミノ酸が配合されていない維持液が投与されているケースも散見される。また、本邦における高齢化に伴い手術を要する患者も高齢化しており、65 歳以上の高齢者は、手術患者の約 40%以上に達する。そのため、周術期高齢患者に頻発する低栄養状態及び筋量及び筋力の低下 (術後サルコペニア) の改善や予防は喫緊の課題となっている。本研究は、周術期高齢者のこれらの症状に対する PPN 輸液によるアミノ酸投与の有用性検証を目的に、2 種のラットモデル動物について栄養学及び分子生物学的指標による評価を行った。

まず、低タンパク質栄養モデルラットを用いた検討では、背部皮膚切創術後 5 日間の静脈内持続投与による輸液管理において、輸液アミノ酸投与群では非投与群に比し、栄養指標、骨格筋重量の改善及び背部切創部の創傷治癒促進が確認された。輸液アミノ酸投与群の皮膚切創部では、I 型コラーゲン (*Colla1*) の遺伝子発現が上昇しており、コラーゲン産生促進を介した創傷治癒の促進が示唆された。

次に、開腹腸管擦過術後 5 日間の後肢懸垂により作製した術後サルコペニアモデルラットを用いた検討では、輸液アミノ酸投与及び運動との併用効果について評価した。まず栄養指標ならびに後肢筋力について、輸液アミノ酸投与群では非投与群に比較し、いずれも有意な改善が観察された。さらに輸液アミノ酸投与と運動の併用群では、骨格筋重量及び筋線維束断面積が増加しており、術後サルコペニア症状の軽減が顕著であった。また、アミノ酸非投与群の腓腹筋では、筋萎縮関連遺伝子である *MuRF1* 及び *Atrogin-1* の発現上昇と、筋線維タイプの指標であるミオシン重鎖アイソフォームの遺伝子 *Myh1* 及び *Myh4* の発現亢進が観察され、術後サルコペニアによる筋萎縮誘導と筋線維の速筋化が分子マーカーレベルで確認された。一方、輸液アミノ酸投与群及び輸液アミノ酸投与と運動の併用群では、*MuRF1* 及び *Atrogin-1*、ならびに *Myh1* 及び *Myh4* の術後サルコペニアによる発現亢進が抑制されており、これらの遺伝子の発現正常化による筋萎縮や速筋化の抑制を介した筋力や筋重量の改善が示唆された。

以上の結果より、手術後短期間の PPN 輸液によるアミノ酸投与は、栄養指標の改善だけでなく、低タンパク質栄養状態における創傷治癒促進ならびに筋力低下及び筋量低下の抑制といった術後サルコペニア症状の改善にも有用であることが示され、輸液栄養管理によるアミノ酸投与が、周術期、特に術後の高齢患者の回復に寄与する可能性が示された。

