

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

第148回会合議事録

1. 日時 平成28年5月16日（月） 14:00～16:22

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

(1) 食品健康影響評価について意見を求められた遺伝子組換え食品等の安全性評価について

- ・チョウ目害虫抵抗性ダイズMON87751系統（食品・飼料）
- ・MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、岡田専門委員、小関専門委員、橘田専門委員、児玉専門委員、
近藤専門委員、手島専門委員、中島専門委員、飯専門委員、山川専門委員、
和久井専門委員

(食品安全委員会)

山添委員

(事務局)

東條事務局次長、鋤柄評価第二課長、池田評価情報分析官、井上課長補佐、勝田係員、
松井技術参与

5. 配布資料

資料1 平成28年度食品安全委員会運営計画

資料2 食品健康影響評価に関する資料

- ①チョウ目害虫抵抗性ダイズMON87751系統（食品）
- ②チョウ目害虫抵抗性ダイズMON87751系統（飼料）
- ③MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ

資料3 「食品安全委員会における調査審議方法等について（平成15年10月2日食品安全委員会決定）」に係る確認書について

参考資料 安全性評価に係る指摘事項

MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ

6. 議事内容

○澤田座長 それでは、定刻になりましたので、ただいまから第148回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催いたします。

本調査会は議事次第にありますように、「食品安全委員会の公開について」に基づいて非公開で行います。

本日は所用により、柘植専門委員、樋口専門委員は御欠席とのことです。

本日の議題であります、新規の品目である「チョウ目害虫抵抗性ダイズMON87751系統」、継続審議品目である「MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ」の安全性についての審議となります。

それでは、お手元の資料の御確認をお願いします。事務局からお願いします。

○井上課長補佐 では、資料の確認を行います前に、4月1日付で専門委員の一部改選が行われましたので、御紹介させていただきます。引き続き審議に加わっていただきます、岡田由美子専門委員でございますがもう少ししましたら、来られるかと思います。

次に、事務局の人事異動がございましたので、御報告させていただきます。4月1日付で北村のかわりに私、井上が着任しました。今後ともどうぞよろしくお願いいたします。

それでは、議事次第に基づき、配付資料の確認をさせていただきます。

配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿。

資料1として「平成28年度食品安全委員会運営計画」。

資料2として「食品健康影響評価に関する資料」。

資料3として「『食品安全委員会における調査審議方法等について（平成15年10月2日食品安全委員会決定）』に係る確認書について」。

参考資料として、安全性評価に係る指摘事項となっております。

なお、これら以外の参考資料についてはファイルに綴じまして、専門委員の皆様の机の上に置かせていただいております。本ファイルにつきましては、調査会終了後、回収させていただきます、次回また配付します。不足等がございましたら、事務局までお知らせください。ないでしょうか。

では、本日は新規の審議品目の申請企業である日本モンサント株式会社をお呼びしております。新規品目でありますダイズMON87751系統の審議の際に、質疑応答に対応していただくことを予定しております。

以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

続きまして、事務局から、今年度の運営計画についての御説明があると伺っております。御説明のほうをお願いします。

○池田評価情報分析官 それでは、お手元の資料1を御用意いただけますでしょうか。これに基づきまして、今年度の運営計画について御説明をさせていただきます。変更のあったところを中心に説明させていただきたいと思います。2枚ほどおめくりいただきました裏側が、内容の最初のページになっております。

「第1 平成28年度における委員会の運営の重点事項」ということで、27年度と同様に5つの柱を立ててございます。このうち、「①食品健康影響評価の着実な実施」という項目では、28年4月から新たにワーキンググループを立ち上げまして、海外の評価機関の動向等も踏まえまして、新たな評価方法等の検討を開始することなどを踏まえまして、追記をしております。

「②リスクコミュニケーションの戦略的な実施」では、昨年5月に企画等専門調査会でリスクコミュニケーションのあり方についての報告書を取りまとめたことを踏まえて修正をしております。

さらに「④海外への情報発信及び関係機関との連携強化」という項目では、海外政府機関と国際協力の進展があったことを踏まえまして、27年度以前に協力文書を締結しました機関と定期的な会合等を行うとともに、新たな協力文書の締結について協議を行うという旨を追記しております。

2ページ目の下から「第2 委員会の運営全般」ということで、次のページに行っていたと「(3) 食品健康影響評価に関する専門調査会の開催」でございます。昨年10月1日から薬剤耐性菌に関するワーキンググループなど、それまで専門調査会の下に設置しておりました各種ワーキンググループを委員会の直下に設置するということといたしまして、専門調査会と同等の位置づけとしたことを受けまして、修正をしております。

その下に「第3 食品健康影響評価の実施」とありますが、この項目の4ページ目をごらんいただきますと、「2 評価ガイドライン等の策定」という項目がございます。ここで、先ほど5つの柱の1つ目で御説明させていただきました、新たなワーキンググループの立ち上げというのがございましたけれども、その立ち上げによる新たな評価方法等の検討のこと、遺伝毒性発がん物質の評価に関するガイドライン作成の検討を開始するといったことを踏まえて追記をしております。

その下の3の「(2)『自ら評価』の実施」でございますが、「自ら評価」案件につきましては、リスク管理機関からの要請に基づき行う案件と異なりまして、選定の時点で評価に必要な科学的知見が十分に蓄積されていない場合もございますので、調査審議に入るまでに時間を要するものもございます。

この点も踏まえまして、今年度の計画では、「自ら評価」案件のうち、28年度中に専門調査会で調査審議を行う見込みのあるものに絞って記載する形にしております。特に27年度にアレルギー物質を含む食品について「自ら評価」を行うことを決定しまして、研究調査事業等で国内外の科学的知見を収集整理しまして、評価方法も含めた総合的な検討を開始することとしております。

6ページに行ってくださいまして、「第6 リスクコミュニケーションの促進」という項目がございます。昨年5月に企画等専門調査会で取りまとめました報告書の内容も踏まえまして、昨年5月に開始しました委員会のオフィシャルブログの取り組みが7ページの「(4) ブログ」、それから、「(6) 意見交換会」につきましては、特に次世代を担う若い世代に対する波及効果などの観点から、学校関係者を重点対象として実施するという旨の追記をしているところでございます。

その前は特に修正はございませんので、10ページ目に「第9 国際協調の推進」という項目がございます。27年度は佐藤委員長が共同議長を務められました10月のEFSAの第2回科学会議を初めとしまして、さまざまな国際会議等に参加をいたしました。平成28年度の計画案でも現時点で想定されている国際会議等の予定をごらんのように記載をしているところでございます。

「(3) 海外の食品安全機関等との連携強化」の項目では、海外政府機関等の国際協力の進捗に合わせて追記をしているところでございますので、御参照ください。

説明は以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

ただいまの御説明につきまして、何か御質問等はございますでしょうか。よろしいですか。

それでは、次に事務局のほうから「食品安全委員会における調査審議方法等について」に基づき必要となる専門委員の調査審議等への参加に関する事項について御報告をお願いします。

○井上課長補佐 では、本日の議事に関する専門委員の調査審議等への参加に関する事項について御報告いたします。

本日の議事に関しましては、専門委員の先生方からいただいた確認書を確認したところ、平成15年10月2日委員会決定の2の(1)に規定する調査審議等に参加しないこととなる事由に該当する専門委員はいらっしゃいませんでした。岡田専門委員から御提出いただいた確認書は資料3のさせていただきますいております。

以上です。

○澤田座長 既に御提出いただいております確認書につきまして、その後、相違等はございませんでしょうか。

それでは、議題1の審議に入らせていただきたいと思います。

まず「チョウ目害虫抵抗性ダイズMON87751系統」についての審議を行いたいと思います。事務局のほうから御説明をお願いします。

○井上課長補佐 では、申請書の説明に入ります前に、冒頭で御紹介いたしましたが、本日は申請者の日本モンサント株式会社をお呼びしております。具体的な対応ですが、前回と同様、申請品目を御審議いただいた後に、申請者に対する質疑事項等があれば、整理していただきたいと思います。その後、説明者に入室していただき、質疑応答を行います。

質疑応答終了後、説明者には退室していただき、審議を再開していただくこととしております。

○勝田係員 それでは、申請者から提出されている申請資料について御説明をいたします。お手元に「チョウ目害虫抵抗性ダイズMON87751系統」の灰色の紙ファイルをよろしくお願いいたします。

本品目について、初めに補足をいたしますと、本品は2007年及び2014年に答申を行ったチョウ目害虫抵抗性トウモロコシMON89034の際に導入いたしましたカセットを今回の目的作物での発現が最適化するように改変した上、組み込んだダイズとなっております。

1ページ、第1の1の項目からですが、(1)の宿主については、非組換えダイズであるA3555を使用しております。

2ページ、(2) DNA供与体について、をお願いします。本系統における導入遺伝子は *cry1A.105* 遺伝子及び改変 *cry2Ab2* 遺伝子となります。前者については *cry1Ab* 遺伝子、*cry1Ac* 遺伝子及び *cry1Fa1* 遺伝子の3つの遺伝子からなっておりますが、これらも含め、DNAの供与体は全て *Bacillus thuringiensis* となっております。

(3) 挿入DNAの性質等につきましては、*cry1A.105* 遺伝子及び改変 *cry2Ab2* 遺伝子の産物ともチョウ目害虫に対し殺虫効果を示し、当該遺伝子はアグロバクテリウム法により導入がされております。

4ページの5までは、記載のとおりとなっております。

6といたしまして、検討が必要とされる相違点になりますが、導入遺伝子によりまして、チョウ目害虫に対する抵抗性が付与されたこと以外は従来のダイズと相違がないため、本系統は比較対象となり得る既存の品種がある、としております。

5ページ、第2といたしまして、利用目的等の事項ですが、チョウ目害虫に抵抗性をもたらす2つのタンパク質を発現する本系統を栽培することによりまして、害虫が抵抗性を獲得するのを遅らせることができ、より長い期間、本系統を使用できる、としております。

6ページ、「第3 宿主に関する事項」につきまして、1～3については記載のとおりとなっております。

7ページ、「4 アレルギー誘発性に関する事項」ですが、ダイズは食物アレルゲンとして知られておりまして、グリシニン等が該当する旨が記載されております。

5の項目について、ダイズに感染する可能性のある細菌等がヒト等に感染することは知られておりません。

6及び7の項目については、記載のとおりです。

9ページ、「第4 ベクターに関する事項」についてですが、1については記載のとおりです。

なお、第4の1及び後ほど出てきます26ページの第5の4のベクターに関する記載については、先の第134回「遺伝子組換え食品等専門調査会」の際に御議論をいただき、簡素な標記でも構わないとされたことをふまえて、このような記載となっております。こちらにつ

いて、もう少しこのような記載に修正したほうが良いといった御意見があれば、後ほどいただけますと幸いです。

「2 性質に関する事項」について、(3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項ですが、使用するプラスミド中に含まれる全ての遺伝子配列の性質は明らかで、既知の有害塩基配列は含んでいない、とのことです。

(4) ベクター中の薬剤耐性遺伝子の有無について、導入用プラスミドの外側骨格領域には、ネオマイシン及びカナマイシン耐性を付与する *npt II* 遺伝子が、その他、*E.coli* とアグロバクテリウムにスペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する *aadA* 遺伝子がそれぞれ含まれております。

(5) 伝達性につきましては、伝達を可能とする配列は含まれていないとのことです。

15ページ、第5では、挿入DNA等に関する事項が記載されております。

1の(1)といたしまして、挿入DNAの供与体についてですが、2つの遺伝子とも *B. thuringiensis* に由来しております。

(2) 安全性につきましては、*B. thuringiensis* がヒト等に有害性を示す報告はされておられません。

2の(1)には、挿入遺伝子のクローニング方法等について記載をしております。*cry1A.105* 遺伝子につきましては、*cry1Ab* 遺伝子、*cry1Ac* 遺伝子及び *cry1Fa1* 遺伝子の3つの遺伝子をもとに作製されております。

こちらについては19ページも併せてご覧いただければと思いますが、*cry1A.105* 遺伝子を構成いたします4つのドメインのうち、ドメインI及びドメインIIは *cry1Ab* 遺伝子及び *cry1Ac* 遺伝子に、ドメインIIIは *cry1Fa1* 遺伝子に、C末端ドメインは *cry1Ac* 遺伝子にそれぞれ由来しております。

改変 *cry2Ab2* 遺伝子については、先のとおり、*B. thuringiensis* に由来しております。なお、両遺伝子ともダイズ植物体での発現が高まるようにコドンは最適化されております。

16ページに一度戻っていただきまして、(2) 切断地図に関する事項、及び(3) 挿入遺伝子の機能については記載のとおりとなっております。

(3) では、相同性検索の結果についても触れられておりますが、既知の毒性タンパク質に相当するものはなかったとのことです。

(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子につきましては、導入用プラスミド等には *npt II* 遺伝子などが含まれるものの、本系統には含まれないことを確認している、とのことです。

24ページ、3についての項目ですが、挿入遺伝子の発現に係るプロモーター及びターミネーターは(1)及び(2)に記載のとおりで、25ページの(3)その他の配列につきましては、各遺伝子発現カセットに対し、タンパク質を葉緑体へ輸送するターゲティング領域が含まれている旨、記載がされております。

26ページの4については記載のとおりとなっておりますが、こちらは先ほど御説明いたしましたように、今回より記載が若干簡素化されておりますので、その点を考慮の上、コ

メント等があれば、後ほどいただけますと幸いです。

次に5といたしまして、発現ベクターに関する事項になります。

(1) については記載のとおりで、(2) 目的外ORFの有無については含まれていない、(3) 意図する挿入領域についてはT-DNA領域のI及びII、(4) 目的外遺伝子の有無については含まれていない旨、それぞれ記載されてございます。

27ページ、6といたしましては、DNAの宿主への導入方法及び交配についての項目が記載されております。導入方法は先のとおり、アグロバクテリウム法となっております。ダイズの頂端分裂組織と導入用プラスミドを共置培養し、得られた形質転換体を選抜いたします。選抜された細胞から植物体を再分化し、再分化後の個体について、目的遺伝子の有無を確認することで本系統を得ております。詳細については28ページ、29ページを併せて御参照ください。

続いて30ページ、「第6 組換え体に関する事項」になります。

1の(1) コピー数等についての実験結果及び考察は、31～40ページにかけて記載がございました。概要を御説明いたしますと、実験の結果、コピー数は供試した世代において1コピーであったこと。また、導入遺伝子の3'末端側に1塩基の挿入及び5'末端に7塩基の欠失があったこと。さらに、導入遺伝子の挿入領域上流に16塩基の欠失が確認されたことを除き、配列は導入用プラスミドのT-DNA領域と同一であったこと。T-DNA領域以外に挿入された領域はなかったこと。近傍配列は宿主由来であること記載がされております。

なお、DNAの挿入に伴いまして、内在性遺伝子が壊れていないかを解析により確認しましたところ、検索の結果、そのような可能性はないと考察がされております。

次にページが飛びますが、40ページをお願いいたします。こちらの26行目以降になりますが、(2) としてORFの有無について記載しております。ORF検索の結果、合計12個のORFがありましたが、これらはアレルゲン及び毒性タンパク質である可能性は低い旨が記載されております。

42ページ、2といたしまして遺伝子産物の発現部位等、45ページの3といたしまして一日タンパク摂取量が記載されておりますが、こちらについては記載のとおりとなっております。

45ページの15行目、4といたしまして、アレルギー誘発性に関する事項ですが、(1) 及び(2) については記載のとおりです。

(3) 物理化学的処理に対する感受性についてですが、まず、人工胃液処理についての項目をお願いいたします。SDS-PAGE分析及びウエスタンブロット分析の結果、人工胃液中で両タンパク質は30秒以内に消化されることを確認しております。

54ページ、こちらには人工腸液についての結果が記載されてございます。人工腸液についてはウエスタンブロット分析の結果、両タンパク質とも5分以内に消化されているものの、コアタンパク質につきましては、24時間後も確認された旨が記載されております。

最後に58ページといたしまして、こちらには加熱処理についての考察がされております。

こちらについてはELISA分析の結果、Cry1A.105タンパク質は75℃以上で、改変Cry2Ab2タンパク質は55℃以上の加熱条件でそれぞれ免疫反応性を失う、とのことでした。

61ページにいきまして、続く(4)及び(5)については記載のとおりとなっております。

62ページ、5については記載のとおり、挿入遺伝子は世代間及び同一世代内で安定していることが確認されております。

67ページ、6といたしまして、代謝経路への影響ですが、これまでの知見をふまえると、影響を与える可能性は低い、と考察をしております。

68ページ、こちらには7といたしまして、宿主との差異についてが記載されております。構成成分の差異を見るため、主要構成成分等について分析を行っております。結果については69ページ以降になりますが、本系統と比較対照としたダイズの間では、幾つかの構成成分について統計学的有意差が見られたものの、それらは全てILSIデータベースの範囲内であったことから、本系統の構成成分は従来のダイズと同等であるとしております。

最後に86ページになりますが、こちらに記載のある諸外国における認可状況、栽培方法及び10の種子の管理方法等については記載のとおりとなっております、以上から87ページ以降の結論になりますが、安全性は確認できたと結論づけられております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして、先生方からの御意見をいただきたいと思います。まず、第1～第4のベクターに関する事項、14ページまでで御意見、コメントがございましたら、お願いしたいと思います。

○児玉専門委員 5ページのところで、これは後で確認だけ、今わかれば今でもいいのですけれども、13行目の「殺虫スペクトラムがある程度重複している」というのがどの程度重複しているのかが具体的にわかれば、確認させていただきたいと思います。

○勝田係員 すぐ答えが出なさそうなので、確認をしたら、また先生に御紹介をさせていただければと思います。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

○橘田専門委員 単なる記載ミスだと思うのですけれども、14ページに各構成要素の由来等を記したところの一番最後の注の番号が幾つか入れかわってしまっているものがあるので、訂正をお願いできればと思います。

○勝田係員 確認した上、適切に修正させていただきます。どうもありがとうございます。

○澤田座長 ほかはよろしいですか。ベクターの書き方が簡略されていて、これでいいかという話がありました。

○勝田係員 先ほど御説明したのですけれども、第134回の本調査会で一部簡素化してもいいのではないかといい御意見もいただきましたことから、今回の品目からこのように簡素化した形になっておるのですが、情報としてはこれで十分か、もう少し記載すべき内容があれば、初めての例でもありますので、御意見をいただけますと幸いです。

○澤田座長 従来、構築の経過が出ていたものを簡略化したという理解でよろしいですか。

○勝田係員 これまでは導入用プラスミドベクターの最終的な形ができるまで、こういった形の組み込みをしているかという、その系統樹みたいなものをつけていただいております。今回、簡略した内容は、構築の過程については、最終的に導入される部分だけでもいいのではないかとといった御意見もありまして、このような簡素の記載になっております。

○澤田座長 発現ベクターと導入用ベクター説明が重複しているところがあるようですね。26ページの20行は導入用プラスミドのことで、ベクターに関する事項のところにも導入用プラスミドのことを先に書いてしまっているという構成になっていますね。

○勝田係員 そうです。

○澤田座長 本来、ベクターは空のベクターのことをベクターと言いますので、これでも情報としてはわかるのですが、導入用ベクターを第4のベクターに関する事項に書くのがいいのか、後のほうに回してしまったほうがいいのではというところは御意見をいただいてもいいのかなと思います。

○児玉専門委員 もし形式は従来のものを崩さずに、なおかつ簡略化を目指すということであれば、例えば9ページ、10ページあたりに書かれるのは、10ページの図1みたいなものは図示した上で、外骨格領域についてだけ、第4のところで説明していただいて、T-DNAの部分については後半の26ページのところにもう一度同じプラスミドの図を出していただいて、今度はT-DNAの挿入領域について説明していただくとすると、一応、形上は従来のままに近い形になるのかなという気はいたしますけれども、それがいいのかどうかというのは、また別の話ではないかと思います。

○澤田座長 いかがでしょうか。従来ですと、ベクターのところに構築過程がかなり詳しく書いてあって、もう一回、発現ベクターのところで詳しく書いてあったというようなことで、できたらベクターのほうをもっと簡略化してしまって、後のほうでまとめて発現ベクターのことを書いてもらったほうがすっきりするかなと思いますが。書く場所の問題になりますけれども、これは後でまた事務局と、どう直したらいいか検討させていただきたいと思います。

ほかにいかがでしょうか。

それでは、29ページの「第5 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項」のところで御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○小関専門委員 ここは全部、いわゆる葉緑体移行シグナルをつけているのですが、例えば21ページの14行目にアミノ酸が切断されていることが確認されたと書いてあるけれども、データではないと思うので、この記載はこれで正しいのかなと。これは定量などを行っているときに根や葉のあちこちで定量しているけれども、全部ELISAなのですね。切れているという保証があるのかどうかというのが気にかかったところがあります。

○澤田座長 これは詳細なデータとしては他にあるのですか。

○松井技術参与 一応、いただいています。

○小関専門委員 切れているという保証といったものは。

○澤田座長 アミノ酸配列でN末端の分析をしているかどうかということですね。

○小関専門委員 そこまで酷なことは言いませんけれども、要はELISAで見ているから、切れていようが切れていまいが見えないのです。ウエスタンの結果があれば、多少ずれますから、葉、茎、根で。

○児玉専門委員 多分1回は読んでいると思いますが、今日聞いてみればいいと思います。

○澤田座長 では、今日はそれだけの確認で。

○小関専門委員 それだけの確認で、「確認された」という書き方が前に出てきているので、妙な感じがしてしまったのです。こういう模式図しかないのに何が確認されたのかなと、これだけを読んでしまうとそうってしまうという、そこだけです。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

○児玉専門委員 今回入れた遺伝子は前回、既に2例ほど例がある遺伝子なので、特別大きな問題はないかと思いますが、今、小関先生がおっしゃったように、N末端のところのプロセッシングが少し変わっているということで、多分変わった状態のタンパク質について18ページと21ページで、BTタンパク質としての特異性について確認しているという別添資料2と4があるのですが、この別添資料2と4を一応見たのですけれども、2つサンプルが書かれていまして、それで差はないというデータになっているのですが、実はそのサンプルの番号とこちらのCryのタンパク質の対応がどう読んでもわからなくて、多分これはこれなのだろうと推定はできるのですけれども、きちんと書かれていないので、一応確認をしていただければと思います。

○松井技術参与 それはこちらでも確認しなければならない事項として、申請者に確認しております。ロット番号で記載されていまして、新しいこのダイズのタンパク質は後に出てくる*E.coli*で生成されたタンパクと同じロット番号だったのですが、トウモロコシのほうのロット番号が、これは本当にトウモロコシのタンパク質であるかどうかを確認できないと参照しましたら、新しく生成して、これはトウモロコシのタンパクであるということを返事でいただいています。別添資料がCryのトウモロコシタンパクとかCryのダイズタンパクときちんと書いていなかったのも、そのような混乱を招いてしまったと思われます。

○澤田座長 今の答えでよろしいですか。また後で確認しますか。

○児玉専門委員 来ていただいたときに確認させていただければと思います。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

それでは、続きまして、第6の組換え体に関する事項で、41ページまででコメント、御意見がありましたら、お願いしたいと思います。

それでは、61ページまで、第6の組換え体に関する事項のところまで御意見、コメントをお願いしたいと思います。よろしいですか。

それでは、86ページの最後までで、さかのぼって前でも構いませんので、コメント、御意見がありましたら、お願いしたいと思います。

○児玉専門委員 非常に細かい話で申しわけないのですが、64ページのウエスタン
の図があるのですが、下に各レーンの説明があるのですが、11番の分子量マー
カーが上には何も出てきていないのは、要するに光る分子量マーカーを使っていなくて、とい
うことなのでしょうねと思うのですが、上に何も無いのに下に11番の分子量マー
カーがあるので、実験上のそういう問題かなとは思いますが、一応教えていただければと思いま
す。

○澤田座長 それも確認してください。

ほかによろしいでしょうか。そうしますと、何点か聞いたほうがいいことがあるかと。
マイナーな確認のところで、トウモロコシとダイズで切れるところが違う問題と特異性の
問題、N末端の問題とか、そこら辺についてお聞きしたいと思います。もう一件あったの
は何でしたか。書く場所の問題以外にもう一点どこか。

○児玉専門委員 重複の問題。

○澤田座長 重複の問題ですね。それでは、そこもお聞きしたいと思います。

説明する方に入室していただくことにしたいと思いますけれども、5分ほど休憩させて
いただきたいと思います。

○勝田係員 申請者をお呼びしますので、しばらくお待ちください。

○井上課長補佐 では、済みません。岡田先生、4月1日付で専門委員の改選が行われたと
いうことで、御挨拶のほうをよろしいでしょうか。

○岡田専門委員 国立衛研の岡田でございます。引き続きどうぞよろしくお願いいたしますま
す。

○井上課長補佐 ありがとうございます。

(休 憩)

○澤田座長 それでは、再開したいと思います。

まず、説明者の方は自己紹介を簡単をお願いしたいと思います。

○説明者 日本モンサント株式会社の中井と申します。本日はよろしくお願いいたします。

○説明者 同じく、日本モンサント株式会社の後藤秀俊と言います。よろしくお願いいたします
します。

○説明者 同じく、日本モンサント株式会社の谷村と申します。よろしくお願いいたしますま
す。

○澤田座長 それでは、ただいま先生方から御意見をいただきまして、何点かわからない
ことがあるということで、出てきたページの順番で御質問したいと思います。

まず、5ページの殺虫スペクトラムがある程度重複しているというところの記載に関し
まして、ある程度というのは曖昧に書いてあるので、どのくらい違うのか、ほとんど同じ
なのか、そこら辺の情報がもしあれば、この場でできたら御説明ください。

○説明者 5ページの6～10行目までに記載させていただいております主要なチョウ目害虫、こちらに対してはある程度、殺虫活性を示すということは確認しております。今回提出させていただいているデータに限ってというところでは、9行目の末尾から10行目の頭にありますコーンイヤークワーム、こちらに関しての殺虫活性、EC50のデータを出させていただいております、別添資料2と別添資料4になりますが、高い殺虫活性を示すということを今回の申請内容では示させていただいております。

細かな、ほかの種類に関してはどの程度かというところに関しては、改めて情報を確認の上、またお知らせさせていただければと考えております。

○澤田座長 実際の問題になる害虫に対しては、網羅しているという理解でよろしいですか。

○説明者 そうですね。栽培のレベルで問題となるようなものに関しては、網羅をしております。

○澤田座長 それでよろしいですか。

○児玉専門委員 要はCry1A.105は、この害虫は余り殺せないのだけれども、その害虫をCry2Ab2が殺すみたいなものなのか、程度の差はほとんど微妙な差で大体どれも殺すのだけれども、そういう意味で重複しているという意味なのか、そこだけ確認をさせていただきたかったので、安全上は問題ではないので、後日でも情報をいただければ、ありがたいです。

○澤田座長 それでは、次の問題で、これはダイズとトウモロコシでプロセッシングを受けまして、切れる場所がちょっと違っているということがあります。実際にN末端を確認しているデータがあるのかというのと、切れた後に特異性に変化がないという実際のデータをどのくらいとっているのか、追加で御説明をいただければと思います。

○説明者 それぞれのアミノ酸の配列につきましては、Cry2Ab2タンパク質については別添資料12のほうでN末端のアミノ酸配列を読んだデータを出させていただいております。その結果、配列を特定しているという形になります。N末端の配列が変わることによって殺虫活性が変わるかにつきましては、先ほども申し上げた別添資料4のところでも以前に、別のN末端の配列が若干異なるものと殺虫活性を比べておりまして、変わらない活性を示しているということを出させていただいております。

○澤田座長 その活性を見るときに使いましたタンパクは、そのN末端がそろっているものを使って確認したということよろしいですか。

○説明者 そうです。

○澤田座長 ほかに先生方、追加でよろしいですか。

○小関専門委員 書きぶりのところで引っかけってしまったのが、21ページの14行目で「確認された」と書いて、図を指し示しているのが模式図です。要するにデータを持った確認ではない格好になってしまうので、そこで引っかけってしまったのです。

もう一点が、これは発現量を後ろのほうで、葉や茎や根で見ているのですけれども、こ

れはELISAで見えていらっしゃるのですが、食べるころは上ですからあれですけども、根などにおいてもきれいにプロセッシングされているのかどうかを教えてくださいなと思ったところです。

○説明者 今回のMON87751系統に関しましては、組織ごとにその配列が変わるということはありませんで、同じアミノ酸配列のものが発現しております。

○小関専門委員 プロセッシングされていることも確認されているわけですね。

○説明者 確認しております。

○小関専門委員 わかりました。ありがとうございます。

○澤田座長 ほかに追加でよろしいですか。

○児玉専門委員 別添資料4と2です。確認だけなのですが、別添資料2はCry1A.105で、別添資料2のほうを見ると2つ、ロット番号の10000776と11349124というのが出てきて、その2つの間で比較されていて差はない、特異性とかは大丈夫ですよというデータですけども、その2つのロットがどのタンパク質に相当するのかがどう読んでもわからなくて、想像はできたのですけれども、一応確認のため、どちらのタンパク質がどちらを示しているのかを教えてくださいませんか。

○説明者 まず、別添資料2のほうのタイトルのところで番号がありますので、そちらで説明させていただきますと、レポートタイトルのところの1000776と言いますのが既に承認をいただいておりますチョウ目害虫抵抗性トウモロコシMON89034系統というもので発現しているCry1A.105タンパク質で、その次にあります11349124と言いますのが今回の87751系統のものになります。

○児玉専門委員 念のために確認ですけども、その87751のほうは89034プラス3アミノ酸をふやした形のものであるという理解でいいのでしょうか。

○説明者 Cry1A.105のほうに関しては4アミノ酸で、もう一つのCry2Ab2のほうがトータルで18長い状態になっております。

○児玉専門委員 CryAb2のほうも今の感じで、番号と対応させていただきたいです。

○説明者 では、別添資料4の同じくタイトルのところで言いますと、11346423というロットナンバーのものが89034のトウモロコシのものになります。11351673というロット番号のものが今回の87751系統のものになります。

○児玉専門委員 ありがとうございます。

○澤田座長 ほかにこの際、御質問がありましたら、お願いしたいと思います。大体答えていただけたかと思っておりますけれども、追加で何かよろしいでしょうか。

○児玉専門委員 申請書の64ページで非常に細かくて申しわけないのですけれども、レーン11の分子量マーカーは上に行くとなんもないのですが、これは。

○説明者 レーン11に関しては、SDS-PAGEのほうで使っていたマーカーで、膜に移したときには見えなくなっているということです。

○澤田座長 ほかはよろしいですか。

それでは、どうもありがとうございました。

(説明者退室)

○澤田座長 それでは、審議に戻りたいと思います。ただいま御回答をいただきまして、その上で御意見、コメント等がありましたら、お願いしたいと思います。よろしいですか。

それでは、本件につきましては、幾つか御質問等がありましたけれども、特に安全上の問題があるというわけではありませんので、続きまして、評価書（案）の審議に入りたいと思います。評価書（案）の説明をお願いします。

○勝田係員 すみません、1点だけ事務局から確認させていただきたいのですけれども、今回のこのダイズ系統についても、従来、サザンブロット分析を行っていた部分については次世代シーケンス技術を用いた分析で代用しております。

その次世代シーケンス技術を用いた例としては、今回は2例目になっていまして、1例目が前回のRNAiを使ったトウモロコシだったのですけれども、今回もそのRNAiトウモロコシの際に、このくらいのデータセットが必要だと言われたのを参考にして申請者のほうでデータセットをつくって今回添付しているわけですが、今後どの程度のデータセットが必要かということでもし御意見があれば、伺えればと思います。今回と同じくらいのデータが必要だという御意見があれば、あらかじめそのように申し伝えようと思いますし、例えばGC含量のグラフですとか、冗長度のグラフはもう要らないということであれば、それはそれで伝えていきたいと思うのですが、もし何か御意見があれば、お伺いできれば幸いです。

○澤田座長 いかがでしょうか。

○近藤専門委員 NGSのデータは今回、冗長度を75とか読んでいても、やはり読めないところがあると思うのですけれども、そこをどうしているのかというのが私はずっと気になっていて、全ゲノムシーケンスでも最初のショートリードのIlluminaの解析で読み落としたところはもうなくなっているのかなというも気になっているのですが、そこを追加で何か入れられればいいなと思うのですけれども、どうでしょうか。

○勝田係員 逆に、どういったデータがあればよろしいですか。

○近藤専門委員 例えば今回も前回のものもそうですけれども、Illuminaだからショートリードですよね。そうすると、苦手としているリードは配列のゲノムのところは読まない領域が必ず出てくると思うので、そこを例えば、別の解析手法である長期を読むような手法のデータとあわせて、全ゲノムのシーケンスは必ず読んでいますよという、何かそこが要るのではないかな。そこが欠いていると、読まなかったところは何もなかったという証明がないので、この辺はどう考えるか御意見をいただけたらと思います。

○澤田座長 いかがでしょうか。今まではサザンでやっていたところを。

○勝田係員 コピー数の確認ですとか、外骨格領域の有無の確認でサザンを使っていた部

分を次世代シーケンスの技術で代替したいということでデータセットを前回から変えてきているというような形になっています。

これは添付されているCDに入っている社内文書をご覧いただければと思うのですが、実際に今回の配列について、どれくらい読めているかという冗長度に関するこういったグラフがありまして、手元に私の分しかないので恐縮ですが、これを見ると挿入したT-DNA領域のところに限って言えば、冗長度がゼロのところ、つまり読めていないところではなくて、一番読めていなくても45くらいの冗長度では読めているということなので、それをもって、今、近藤先生がおっしゃられたような、読めていない部分のおそれがあるということであれば、もちろん別途資料は要求するべきかと思いますが、その辺も含めて何か御意見があれば。

○近藤専門委員 例えば、別添の外骨格の断片が次世代で読んでいないところに入っていたときは、わからないということになるのではないかと思います。全然読まないところがあるのですけれども、そこに外骨格が入っていたら、今回のデータだけだと何か不足するのではないかと思います。

○澤田座長 外骨格がないことは別途やっているのですか、PCRで。それはないのですか。

○松井技術参与 それはないです。

○児玉専門委員 多分、近藤先生が御心配なされているのは、GC含量がすごく高いところはセントロメアとか、そういうところは非常に読みにくいところがあって、そういうところに落ちてしまった場合に、断片が入ってしまった場合に、そこが読めていないののではないかと御心配ではないかと推察するのですけれども、そういう理解でよろしいですか。

○近藤専門委員 それもありますし、自分たちでも次世代シーケンスをやっているのは、繰り返し配列でない、こんなところはもう読めないというのが自分たちでやっていると結構あるので、そこを心配しているのです。繰り返し配列とかセンチロメアとかが読めないのは一般的に言われていることですが、普通の配列で何でもここを読まないのかというのが自分たちでやっているとあるので、そういうところを100%、ゲノムから得られたデータをもとにありますよという段階でないと、それ以下の解析は成り立たないような気もしなくはないということが心配です。

○飯専門委員 資料をプリントしなかったので記憶は定かではないのですが、ベクターそのものもNGSにかけてはいませんでしたか。読みにくい配列がベクターの中にあるかどうかの確認は別途していた気はします。その上でNGSをかけて、ジャンクションが見つからなければ、どこであろうが未知の挿入がある可能性は否定できるかなというのが一応ロジックかなと。

1つだけ気になったのは、もしT-DNAから挿入される配列の中にリピートの配列があると、そのリピートで挟まれた部分はコピー数が上がっていても、この方法だと冗長度を見ない限りはわからないだろうと思います。冗長度は別途資料を見ると一様と考えていいか

なというデータであったし、構造を見る限り、そういうリピートもなさそうなコンストラクトであるので、1ローカス、1コピーで、今回に関してはいいかなとは思えたのですが、この記載だと冗長さの説明なしで1コピー、1ローカスとなっていて、本当だったら冗長さも調べましたよという一文が入っているほうが要旨としては安心できる書きぶりにはなるかなという感じはしたのですが、今回に関しては、結論としてはこれでも大丈夫かなと私は思えたのですけれども。

○児玉専門委員 今、飯先生がおっしゃられた点は結構重要なポイントかもしれない、次世代シーケンスはこれから普及していくと思いますし、ほかの申請書でもだんだん取り入れられていく可能性が高いので、そこで判定する基準としては、冗長度は外せないポイントになりますので、従来の申請書には書かないポイントでしたけれども、読みにくい場所であっても最低このくらいの冗長度は確保してあって、そういう見落としのようなことは普通に考えれば、理論上はないというような一文はあったほうが、これからの申請書にとってはよろしいかなという気がいたします。

○松井技術参与 申請書の34ページに各世代の平均冗長度は一応書いてあるのですが、この記載に関して、最低冗長度を平均値と共に書けばよろしいでしょうか。

○児玉専門委員 ここだと平均の冗長さしかないのでは、一番低いところでもこのくらいはありましたというような、下の部分を示しておいてもらえると安心できるかなという気はします。

○澤田座長 この冗長度が75以上と書いてあるのは、信頼できないのですか。

○近藤専門委員 多分それは平均なので、冗長度は200とか300とかいう領域もあるし、物すごく低いところがあるということもあるので、最低、例えば30くらいの冗長さで読んでいますよということがあると、かなり信頼性は高いかなということになると思います。

○澤田座長 それでは、冗長度の最低は書いてもらうという線でよろしいでしょうか。

○飯専門委員 書くのであれば、一応、全体が1コピーだと言えそうな結果ですよということを書いてもらったほうがよいかと。つまり、読みにくそうなところでもちゃんと読めていますということと、内部の重複もありませんということが示せていますということが表記されていればいいのかなという気がします。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。書きぶりを検討するということで、安全上の問題ではないということで、評価書（案）の審議に入りたいと思います。御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、評価書（案）の方を説明させていただきます。評価書（案）を束ねた冊子の1ページ以降が本申請品目のうち、食品の評価書（案）となっておりますので、お手元に御準備をよろしくお願いいたします。

まず、6ページをお願いいたします。「I. 評価対象品目の概要」ですが、*cry1A.105*遺伝子及び改変*cry2Ab2*遺伝子を導入し、その遺伝子が発現することでチョウ目害虫に抵抗性を示すと記載しております。また、一時的に選択マーカーを用いておりますが、最終的

に本系統には含まれていない旨も記載しております。

Ⅱ．以降には、食品健康影響評価に係る個別の項目を記載しております。第1の（1）、（2）については記載のとおりです。

（3）といたしまして、挿入DNAの性質等ですが、*cry1A.105*遺伝子及び改変*cry2Ab2*遺伝子がコードするCry1A.105タンパク質及び改変Cry2Ab2タンパク質がチョウ目害虫に対する抵抗性を付与し、これらの遺伝子がアグロバクテリウム法により導入がされております。

続く、2～5の項目は記載のとおりです。

7ページ、6といたしまして、相違点に関する事項ですが、組換え体由来の遺伝子の発現により、Cry1A.105タンパク質及び改変Cry2Ab2タンパク質を発現することが宿主との相違点であり、以上の結果から、本系統においては既存のダイズと比較が可能であるとしております。

8ページの第2の利用方法、第3の1及び2については記載のとおりです。

第3の3といたしまして、有害生理活性物質についてですが、ダイズ種子にはトリプシンインヒビターやフィチン酸等が含まれているとのことです。

4、アレルギー誘発性についてですが、ダイズはアレルギー誘発性が知られている食物の一つであり、例としてグリシンやトリプシンインヒビターなどが挙げられます。

5、病原性の外来因子に汚染されていないことに関してですが、ダイズには各種病害が知られているものの、これらがヒトに対して病原性を示すことは知られていないとしております。

6及び7の項目については記載のとおりです。

9ページ、「第4．ベクターに関する事項」についても記載のとおりとなっております。

第5、挿入DNA等に関する事項をお願いします。

1の（1）名称等に関する事項ですが、*cry1A.105* 遺伝子は*cry1Ab* 遺伝子、*cry1Ac*遺伝子及び*cry1Fa1*遺伝子に由来しますが、これら3つの遺伝子は全て*B. thuringiensis* に由来し、改変*cry2Ab2*遺伝子は*B. thuringiensis*に由来する同遺伝子を改変したものとなっております。

（2）の安全性に関する事項ですが、*B. thuringiensis*についてはヒト等への病原性に関する事項は報告されておりません。

2．遺伝子産物等に関する事項ですが、10ページにあります（1）及び（2）については記載のとおりです。

（3）挿入遺伝子の機能については、*cry1A.105*遺伝子及び改変*cry2Ab2*遺伝子が発現するタンパク質はBtタンパク質をそれぞれコードいたしますが、当該遺伝子は冒頭御説明しました、過去に評価されたトウモロコシに導入されたカセットと同一であり、トウモロコシと今回御審議いただいているダイズでは、プロセッシングの過程が一部異なるために発現を最適化するための配列が異なりますが、産生されるタンパク質自体は基本的に同一と

なっております。一部、N末端にアミノ酸が付加されておりますが、この影響についても検討をしており、Bt活性そのものには影響がない旨、記載をしております。また、両遺伝子により産生されるタンパク質については、データベース検索を行っており、既知の毒性タンパク質との相同性がないことを確認しております。

11ページ、「(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項」については記載のとおりです。

第5の3. 遺伝子発現に関する事項が記載されております。(1) 及び (2) については記載のとおりです。

12ページ、(3) その他の配列についてですが、目的とする両遺伝子の発現カセットには、それぞれタンパク質を葉緑体に輸送する遺伝子が付加されております。

4及び5の(1) については記載のとおりです。

5の(2) といたしまして、目的外ORFの有無ですが、こちらについては含まれていないこと。

13ページ、(4) 発現ベクターの純化につきましては、目的外の遺伝子は含まれていないとのことです。

14ページ、6. 導入方法についてですが、目的のカセットをアグロバクテリウム法により導入後、スペクチノマイシンを含む培地で選抜して再生個体を得、分析結果に基づき選抜をした個体を自殖及び商業品種と交配することによって本系統を得たと記載しております。

「第6. 組換え体に関する事項」になります。

1の(1) については、その内容が15ページになりますが、次世代シーケンス技術及びバイオインフォマティクスにより、目的の遺伝子はそれぞれ1コピー挿入されているとともに、導入用プラスミドの外骨格及びT-DNAⅡ領域は含まれていないことを確認しております。また、3'末端の1塩基の挿入及び5'末端の7塩基の欠失を除きまして、挿入DNAと導入用プラスミドのT-DNAの1領域の塩基配列が一致することも確認しております。

近傍配列の由来につきましては、DNAの挿入に伴う上流領域、16塩基が欠失された以外は宿主ゲノム由来であった旨を記載しております。また、遺伝子の挿入による内在性遺伝子の破壊の有無についてですが、検索の結果、その可能性は低いとしております。

(2) ORFの有無と転写発現の可能性につきましては、ORFは12個見つかったものの、相同性を示す既知の毒性タンパク質及びアレルゲンは見つからなかったと記載しております。

16ページの2、発現量に関する事項、3、一日タンパク摂取量については記載のとおりです。

17ページ、4. 遺伝子産物等のアレルギー誘発性についてですが、(1) 及び (2) については記載のとおりです。

(3) 物理的・化学処理に対する感受性についてですが、①人工胃液につきましては、両

タンパク質もSDS-PAGE分析及びウエスタンブロット分析の結果、いずれも30秒以内に消化されたことを確認したと記載しております。

②人工腸液に関しましては、ウエスタンブロット分析の結果、両タンパク質とも5分以内に消化されているものの、コアタンパク質につきましては、24時間後も確認された旨を記載しております。

18ページ、③加熱処理についてですが、ELISA分析の結果、Cry1A.105タンパク質が75℃以上、15分及び30分間の加熱処理条件で、改変Cry2Ab2タンパク質が55℃以上、15分及び30分の加熱処理条件で活性が失われることを確認しております。

(4) として、これらの遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性を確認したところ、一致するものはなかったと記載をしております。

19ページ、5. 遺伝子の安定性及び6. 代謝経路への影響については記載のとおりとなっております。

7. 宿主との差異についてでございますが、構成成分について本系統と非組換え品種を比較したところ、両者には統計学的有意差が認められないか、認められたとしても全てILSIデータベースの範囲内であったと記載しております。

20ページに行きまして、8. 諸外国における認可状況、9. 栽培方法及び21ページの10. 種子の管理方法については記載のとおりです。

第7といたしまして、以上、第6までの結果から安全性は確認できていると結論づけております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

ただいまの評価書（案）について御意見、コメントを承りたいと思いますが、細かい字句の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思います。第4のベクターに関する事項、9ページの198行までのところで御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

先ほどベクターのことに關して申し上げたことに倣うと、ここは外骨格領域に關してだけ書くほうがいいのかと思います。導入用プラスミドPV-GMIR13196に關しては必要があれば、後ろのほうにもう一回追加で書いていただいて構わないと思います。

それでは、第5のところで、14ページの348行目まででコメント、御意見はありますでしょうか。

ないようですので、最後の21ページの最後までで御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

先ほどのシーケンスのところは、こちらのほうは特に余り直さなくてもよろしいでしょうか。

○飯専門委員 シーケンスと違いますが、430行目あたりからの書き方です。433行目の途中あたりから完全長のCry1A.105タンパクが30秒以内に消化されたが、その後、

60kDaは2分後に見えていて、という書き方があって、その次にウエスタンブロット分析では30秒以内に消化されたと。この辺の書き方だけを読むと何か矛盾したことが書いてあるようにも受けとめられてしまうので、ウエスタンブロット分析では、あくまで完全長が消化されたとするか、検出限界以下になったとするかでないと。申請書のデータを見ていれば、意味はわかるのですけれども、その辺の書き方を少し誤解を招かないようにしたほうがいいかなと感じました。

○勝田係員 今いただいた御意見をもとに、読み手に齟齬がないように修正してみたいと思います。どうもありがとうございます。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

それでは、微修正をいただいておりますけれども、事務局と先生方と私のほうで確認して、適宜修正いたしまして、食品安全委員会に御報告しまして、パブリックコメント等の手続に入りたいと思います。ありがとうございました。

それでは、続きまして、飼料としての安全性の審議に移りたいと思います。事務局から御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、申請者から提出されている申請資料について御説明いたします。お手元にチョウ目害虫抵抗性ダイズMON87751系統の透明のプラスチックファイルをお手元によりしくお願いいたします。

まず、こちらの1ページ目をお願いします。初めに本申請品目の概要ですが、「1) 品目名」については食品と同様となっております。

「2) 本系統の特徴」といたしましては、*B. thuringiensis*に由来する*cry1A.105*遺伝子及び改変*cry2Ab2*遺伝子を導入することにより、チョウ目害虫に対し、抵抗性を示すことが本系統の特徴となります。

「3) 本系統の使用方法」につきましては、従来のダイズと変わりがないということです。

2ページ、2. 安全性についてでございますが、遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方にに基づき、3つの要件について考慮いたしましたところ、安全性上、新たな問題は生じないと考えられたとあり、以上から、当該飼料に由来する畜産物を摂取することにより、ヒトの健康に影響を及ぼす可能性はないと記載してございます。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

短いので一括で、先生方からの御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。よろしいですか。

それでは、特に安全上の問題はないということですので、評価書（案）の審議に移りたいと思います。事務局から御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、評価書（案）について御説明をいたします。評価書（案）を束ねた冊子の今度は25ページ以降が本申請品目のうち、飼料の評価書（案）となっております。

28ページ、I につきましては、先ほど御説明した食品の内容と重複しておりますので、

再度の御説明は割愛させていただきます。

Ⅱについてですが、1といたしまして、先ほどの内容になりますが、食品としての評価を終了していること。

2といたしまして、遺伝子組換え作物を飼料として用いた動物の飼養試験において挿入された遺伝子等が畜産物に移行することは知られていないことから、改めて遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準に準じて評価を行う必要はなく、当該飼料を摂取した家畜に由来する畜産物について安全性上の問題はないと判断したとしております。

簡単ですが、説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

ただいまの評価書（案）につきまして、御意見、コメントをいただきたいと思います。細かい字句等の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思います。コメント、御意見がございましたら、お願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

それでは、よろしいということで、食品安全委員会にこの形で御報告したいと思います。ありがとうございました。

それでは、次に「MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ」についての審議を行いたいと思います。

この品目は平成25年7月の専門調査会において審議を行い、指摘事項が出されていたものであります。事務局から御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、申請者から提出されている資料について御説明をいたします。お手元に「MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ」の水色の紙ファイルをお願いいたします。

本件に関しましては継続の品目となっておりますが、先日、予め先生方に御連絡をいたしましたとおり、前回の審議から約3年過ぎております。この間に専門委員の改選が2回ありまして、本品目について全く触れていない先生が多いこと。また、前回御承認いただいた部分も含めて、要旨の内容が大幅に変更されておりまして、前回の審議で御了解の得られた箇所についても多数修正が加えられていることといった理由から、新規品目と同様に再度、要旨から御説明をさせていただければと思います。

なお、前回の審議で先生方より御指摘いただきました指摘事項につきましては、お手元の資料の一番最後に参考資料として付けさせていただいております。全部で12個の指摘事項が出されておるのですが、このうち、記載の整備に関する内容につきましてはおおよそ修正されておりますので、その前提のもと、再度、修正版要旨のほうを御説明させていただきます。また、既にお気づきかと思いますが、修正版要旨のうち、下線を引いてある箇所が前回の要旨から内容を変更している部分ですので、あらかじめ御承知おきいただければと思います。

それでは、改めまして御説明いたします。修正版要旨の7ページをお願いいたします。

1-1といたしまして、従来添加物の性質に関する内容です。従来の同一添加物としては *Pseudomonas stutzeri*由来のものが 있습니다。

8ページ、(3)といたしまして、その用途になりますが、本剤はデンプンを非還元側からグルコースを4分子ごとに切断する働きがありまして、パンの製造などに利用されているということです。その他の概要については11ページの(4)までを御参照いただければと思います。

11ページ、1-2といたしまして、本申請品目における宿主等の情報になります。(1)宿主等の由来につきましては、*Bacillus licheniformis* BRA7株でありまして、*B. licheniformis*は自然界では土壌のほか、豆類等にも存在しているものとなります。

(2) DNA供与体等の由来につきましては、*P. stutzeri* IAM1504株であり、本株は現在の理研バイオリソースセンター微生物材料開発室より申請者が入手したものとのことです。

12ページ、(3) 挿入DNAの性質等ですが、従来のエキソマルトテトラオヒドロラーゼに耐熱性を持たせるために触媒サイトに属さない16アミノ酸残基を置換しており、これにプロモーター等を組み合わせたものを相同組換えにより宿主染色体に導入をしております。続く、1-3及び1-4については記載のとおりです。

13ページ、こちらの1-5には、当該GM添加物の性質等が記載されております。

(1) 有効成分等はエキソマルトテトラオヒドロラーゼでありまして、以降はこれをSAS3と記載しております。

(2) 製造方法は、8ページの図1に記載のとおりで、生産菌は●●●のろ過により、生産物である酵素から除去されているとのことです。

(3) 用途等につきましては、従来の使用形態と同一であるとのことです。

(4) 有効成分等の比較については、耐熱性を有する以外は触媒サイトは同一のため、有効成分も同一であると考えられると記載がされております。

15ページ、1-6といたしまして、従来品との比較についてでございます。

(1) 従来添加物との相違点としては、耐熱性を有すること。

16ページ、(2) 宿主との相違点としては、組換えたことによりSAS産生能を有することと、 α -アミラーゼ産生能等、幾つかの遺伝子を欠失させていることであると説明がされております。

なお、15ページにあります図3に関しましては、前回の審議の際、●●●ではなく、どれだけ残るべきかを見るべきで、この方法は余りよろしくないといった議論もあったのですが、この図に関しては前回よりサンプル数がふえた以外の変更はされております。

続いて「第2 宿主に関する事項」が記載されております。

1～4までは記載のとおりです。

5といたしまして、有害生理活性物質の生産についてですが、宿主菌の近縁種は毒性物質を産生するものの、当該菌はこれらとは区別されており、問題ないと記載されております。

17ページ、「第3 ベクターに関する事項」ですが、本申請品目を作製するに当たっては、合計●●●種類のベクターを利用しており、その名称や性質等については21ページ目までの1及び2の（1）、（2）となっております。以降、導入用ベクターについてお話しします。

同じく、21ページになりますが、（3）既知の有害塩基配列については含まれておりません。

22ページ、（4）薬剤耐性につきましては、クロラムフェニコール耐性領域やネオマイシン耐性領域が含まれてはいますが、それらは全て有害性の報告がないものであると記載がされております。

（5）及び（6）は記載のとおりです。

22ページになりますが、こちらの末尾以降に第4といたしまして、挿入DNA等に関する事項が記載されております。

23ページ、1の（2）安全性に関してですが、●●●の供与体は●●●であり、その安全性については●●●。*sas3* 遺伝子の供与体は*P. stutzeri* IAM1504株であり、こちらについても、その安全性については懸念がない旨が記載されております。

第4の2の（1）といたしまして、挿入遺伝子の合成方法ですが、i）といたしまして、欠失遺伝子につきましては記載のとおりとなっております。

ii）といたしまして、*sas3*遺伝子につきましては24ページに記載がありますが、供与体から持ってきた同遺伝子にPCRを利用して変異を導入することで得られております。

26ページ、（2）塩基数等については記載のとおりです。

（3）挿入遺伝子の機能については、導入遺伝子により産生されるエキソマルトテトラオヒドロラーゼが従来品と酵素としての働きは同一で、より高い温度帯、ここでは具体的に60℃以上を挙げておりますが、こちらでの安定性が改良されるとありますが、パンの焼成過程においては最終的に失活する旨が記載されております。

次にページが飛びまして、32ページ、本品目では耐熱性を付与するために従来品に比して16個のアミノ酸残基が置換されておりますが、その詳細は同ページの表3のとおりとなっております。なお、改変を加えたアミノ酸残基の位置につきまして、前回の申請書類中では、その置換された場所が触媒領域であると説明がされておりましたが、申請者のほうで再度確認をしたところ、触媒領域ではなかった旨、説明が変更されております。

34ページの下段以降では、SAS3のアレルギー誘発性について検討しております。本項目の検討に当たりましては、通常、データベース検索のほか、物理化学的処理に対する検討、具体的に申しますと、人工胃液及び人工腸液での消化性と加熱処理試験の3つを要求しているところです。前回はこのうち、人工胃液でのデータしかなく、残りのデータを指摘事項として求めたところですが、申請者からの回答書及び修正版要旨においては追加の試験等はなく、現在、本剤は他国で安全に使用されており、アレルギーを疑う事例はないため、追加の試験は不要であると申請者のほうで判断しており、指摘事項への対応をして

いない状況となっております。

出されているデータにつきましては、前回と同様、人工胃液試験のみであり、詳細は36ページとなっておりますが、反応後すぐに分解される旨の結果のみが再掲されております。これまでの申請者側の説明も踏まえまして、追加試験の要否等については後ほど御意見をいただけますと幸いに存じます。

このほか、37ページ中段では、既知のアレルゲン及び有害タンパク質の構造相同性を確認しておりますが、いずれも問題がなかったとの内容が記載されております。

38ページ、第4-3といたしまして、遺伝子発現に関する事項が記載されております。

(1)、(2)については記載のとおりです。

39ページ、(3)として、その他の配列についてですが、目的遺伝子である*sas3*遺伝子の発現のため、*Bacillus licheniformis*に由来いたしますLATのシグナル配列を連結させておりますが、本配列はプロセッシングにより除去されるということです。

続く、4及び40ページの5- (1)については記載のとおりです。

43ページ、(2)といたしまして、目的外ORFの有無についてでございますが、欠失用ベクター、*sas3*遺伝子導入用ベクターのいずれも申請者としては問題がないと考えている旨が記載されております。

44ページ、5- (3) 及び (4) については記載のとおりです。

46ページ、4-6といたしまして、DNAの宿主への導入方法についてになります。こちらについては、プロトプラスト形質転換法により遺伝子導入用ベクターを導入しております。詳細な手順につきましては、46及び47ページの図14を御参照ください。

47ページの末尾、4-7といたしまして、抗生物質耐性マーカーの安全性についてですが、その内容は48ページになりますが、宿主を改変する過程でのループアウトにより最終的な生産菌には抗生物質耐性マーカーは存在しない旨、記載がされております。

48ページ中段以降をお願いいたします。「第5 組換え体に関する事項」ですが、1の宿主との差異及び50ページの2- (1) については記載のとおりです。

52ページの(2)についてですが、欠失を導入した4つの遺伝子座及びその近傍配列について、stop to stopで30アミノ酸の条件でORF検索を行いましたところ、表8に示すような各遺伝子座においてORFが検出されました。検出されましたそれぞれのORFに関しまして、アレルゲン及び有害タンパク質の相同性を精査したところ、確認された相同性の領域やその機能等から鑑みて、いずれも問題となるようなORFではなく、安全性に関する懸念はないと考察がされております。考察の内容については、このような内容で問題ないか、こちらも御意見をいただけますと幸いです。

55ページ、こちらに記載のある「第6 組換え体以外の製造原料及び製造機材に関する事項」ですが、本添加物の製造原料等は全て長年安全に使用された実績があると記載されております。

「第7 遺伝子組換え添加物に関する事項」ですが、本品は56ページの1にあるように、

既に諸外国で販売実績があること。2にあるように、製品中には組換え体DNAが残存していないことを確認しております。

58ページへと続く3～5については記載のとおりです。

続く、第8といたしましては、以上、第7までの結果から安全性は確認できたと申請者のほうでは考えておりますが、ラットでの90日間経口投与毒性試験、細菌復帰突然変異試験及び哺乳類染色体異常試験を実施しているため、そのデータを添付しております。

結果といたしましては、62ページ以降になりますが、いずれの結果も当該物質の安全性に懸念を示すものではなかった旨が記載されております。

長くなりましたが、説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、修正版の要旨につきまして、先生方から御意見をいただきたいと思います。まず、申請書の22ページで「第3 ベクターに関する事項」までで御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

先ほど事務局から説明がありましたけれども、15ページの●●●の図3ですが、これは前にこれではなくて、ちゃんと●●●ではないようにグラフを書き直せというコメントが出ていたわけですが、それが直っていないということで、これはいかがでしょうか。

○中島専門委員 ●●●は、データとしてはこれで耐熱性が向上しているのがわかることはわかるのですが、このデータをとる限りには活性がちゃんと時間で落ちているというデータは当然とれているはずだし、こちら側が要求したことではありますから、要求どおりにこのデータを書き直してくださいとお願いするのが筋かと考えます。

○澤田座長 途中で完全に落ちきらないところもあるようです。前回書き直すように指摘してあり、このままでよしとすることも、また難しいかと思います。書き直してもらったほうがいいのかと思います。

○中島専門委員 多分、実験をやり直さなくて済むはずです。

○澤田座長 元データがもうないのかもしれないですけども、もしやり直すのだったら、比較品1個だけでも十分なわけです。それほど難しい実験ではないような気がします。

ほかはいかがでしょう。

○飯専門委員 12ページの挿入DNAの性質に関する記載のところですか。最初の段落のところで、この欠失型というほうは基質結合領域が欠失しているということになっているのですけれども、3つ目の段落の結論は「基質特異性は変わっていないと考えられる」となっています。途中の文章を読んでも最初はぴんと来なかったのですが、変異が3つの特徴的な領域には属さないというところで、3つの特徴的な領域の中には基質結合領域が入っていないということがすぐに理解できなくて。そうすると何かちょっと舌足らずな文章の組み方になっているのではないかと思いますので、この結論に至らせるためにはもう少し説明が必要ではないかと思います。

○澤田座長 これはどこかにアミノ酸の図がありましたね。

○飯専門委員 想像するには、従来品との比較でしか根拠は求められない気がしたのですが。

○澤田座長 32ページの表3の●●●という説明ですね。

○飯専門委員 上の第2段落の説明がそういうことで、あくまでこの●●●は触媒反応に必要な部分でしかない。その●●●というのと、ドメインの3つとの関係が、初めに読んだときにはよくわからなくて、基質結合に関してはほとんど説明がされていないかなと思います。

○井上課長補佐 すみません、そこの部分につきましては、事務局のほうで申請者のほうにも確認をした上で文案をつくらせていただいて、先生方に後ほど確認して頂くという形をとらせていただいてもよろしいでしょうか。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

○児玉専門委員 細かいところですけども、11ページの下から8行目のところに「これらの菌は体温で増殖可能であり」とありますが、体温は何の体温かがよくわからないので、37℃とかいう数字のほうがよろしいかと思います。

○井上課長補佐 では、その部分につきましても確認をした上で文案を作成し、先生方に送らせて頂きます。

○澤田座長 ほかはよろしいですか。

続きまして、今度は48ページのところまでで、「第4 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項」で御意見がございましたら、お願いしたいと思います。

○児玉専門委員 26ページ目の上から5行目に*sas3* の断片をつくったところの話があるのですが、●●●で消化し、これを*sas3* 遺伝子導入用断片としたと書いてあるのですが、このまま読むと、何となくこのまま生産宿主菌に入れたと読めてしまうのですけれども、実際には、これはこの後、ベクターに入れていきますので、●●●ベクターへの*sas3* 遺伝子導入用断片としたと正確に書いていただけるとよろしいかと思います。

○勝田係員 齟齬がないように修正させていただきます。どうもありがとうございます。

○澤田座長 ほかに何か追加でございますか。私の方からで、48ページまでだとアレルギーのところの人工腸液のデータがないのが問題点ですね。胃液では36ページにすぐに壊れるというデータがあるのですけれども、それプラスアルファで人工腸液のデータを出してもらったほうがよいかどうかということがあります。

○手島専門委員 この酵素自身は耐熱性を上げた酵素だということで、アレルギー誘発性についての考察を加えてほしいというような要望を出していたのですが、それに対して新たなデータが加わっていないということです。また、人工胃液のデータもこの前のデータと同じで、36ページの図12ですと●●●のデータが示されていますけれども、0分のところで少し、もとのタンパクが減弱しているということもありますし、人工胃液のデータ自身も少し整備したようなデータにしていきたいというところがあります。あとは澤田

先生がおっしゃったように、人工腸液に関しても、タンパク質の物理化学的性質を知るために、新たにデータとして加えていただく方がよいと思います。

もう一つは、通常、アレルギー性の物理化学的試験の項目で行っている試験には、加熱性試験があります。加熱試験自身でアレルギー性は十分わからないのではないかというコメントもありますが、一般に食物アレルギーは加熱に抵抗性を持つものが多いという原理に基づいたものです。本申請タンパク質は、既承認のタンパク質より耐熱性を上げたということが記されていますので、90℃、10分間の加熱で酵素活性が消失されるような条件の中で、果たして抗体との反応性はどうかというところはデータとして知りたいというところではあります。

あとは37ページの表現ですけれども、3行目ですが、これは人工胃液で分解をしたときに3kDa以上の大きさを有するペプチドが残存しないとあるのですが、IgE 結合エпитープとして機能する3kDaの大きさを有するペプチドということですが、これ自身がIgE 結合タンパクではないということ言っていると思いますので、ここは正確な「3kDa以上の大きさを有するペプチドは」ということだけでよろしいかと思います。

○澤田座長 どうぞ。

○小関専門委員 これは評価基準を見てしまうと、8ページのところに書いてしまったのですね。人工胃液による酸及び酵素処理、人工腸液によるアルカリ及び酵素処理と書き切っています。「等」がないのです。ほかは物理的な「等」ということで逃げられるのですけれども、もしもここで人工腸液をいいですよと言ったら、これは評価基準自身をどう扱っていくかという問題にまで発生してしまうので、安全性の上では問題はないかとは思いますが、そのところですごく大きな齟齬が出てしまうので、これはそんなに大変な実験ではないからやってくださいと。今まで全部やってきましたよね。そうでないと不公平になってしまう。しかも、評価基準に書いてあるとおり、基準を満たさないで申請書を出すとは何事だと言え、それで終わってしまうはずだと思います。

○澤田座長 要求して出てこなかったものは、もう一度出してくださいと言うしかないのかなと思います。

○小関専門委員 動かしようがない。ここに明記されてしまっているのです、もしもここでパスしていいですよと言ったら、評価基準に穴が開いたものになってしまいます。

○澤田座長 添加物の評価基準では、アレルギー性に関しては抗生物質耐性マーカーを除けば、必須とは書いていないですね。ただ、アミノ酸置換を伴う場合のように、懸念がある場合はやらないといけない。

○小関専門委員 ここでは明記してしまっているのです、そのところの読み方をどうしていくかという問題も含んできます。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。

○児玉専門委員 ちょっとだけ戻ってしまうのですけれども、22ページの宿主依存性に関する事項のところで、●●●と導入用ベクターの各種ベクターの●●●の件、*catH* カセ

ット領域の話が載せてあるのですが、実は●●●、●●●理由がよくわからないと言いますか、特にsas3遺伝子導入ベクターのほうは*Staphylococcus aureus*と*E.coli*と書いてありますが、多分これは●●●でもふえるし、●●●でもふえるし、ということなので、わざわざ変える意味がよくわからないので、統一性を持たせて記載をしていただきたいと思います。

○勝田係員 わかりました。

○澤田座長 それは統一して書いていただきます。ほかはよろしいでしょうか。

それでは、63ページまで、「第5 組換え体に関する事項」から「第8 安全性評価に関する結論」で最後までです。コメント、御意見がありましたら、お願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

○和久井専門委員 参考までなので、書きぶりですけれども、言葉の使い方で気になるところがあります。1つが、62ページの3段落「以上より」から「本試験では無影響量 (NOEL) は79mg総タンパク質/kg体重/dayと判断された」となっているのですけれども、要はこれは●●●ですので、「本試験では」、「であった」にしていきたいと思います。もし仮にこれはドーズが5個くらいに振ってあって、そのうちの3番目あたりがそうであったのだったら、判断という言葉を使ってもいいのですけれども、誤解を招くかなという、それほど大した問題ではないのですが。

その次に、同じページの一番下です。「変異原性を有しないもの（陰性）」で、この「（陰性）」は要りません。

63ページの一番最後の「S9mix」の3行目の「陽性対照は予想された染色体異常誘発反応を示した」は、これは陽性対照は陽性を示したということですから、「陽性反応は予想された」は要りません。

あとは全体として、これは10年前の試験なものですから、今のガイドラインで使われていない言葉が幾つも出てきてしまうのですが、これはあえて今現在のガイドラインで使われている言葉に直すほど、むしろ直さないほうが正確と言えは正確なのかなと思います。

非常に細か過ぎる点かもしれませんが、以上です。

○澤田座長 御指摘をいただいたところは直していただきたいと思います。

ほかはよろしいでしょうか。前回の指摘に関して、もう一回やり直してくれという点が大きいかなと思いますけれども、ほかに、出した指摘への回答で、これではということはないでしょうか。よろしいですか。

それでは、大分御意見をいただきましたので、いただきましたコメント、意見、確認事項を指摘事項（案）としてまとめまして、先生方に追加確認をいただいた上で厚生労働省を通じて、申請者に対して指摘を出したいと思います。

それでは、議題1については、これで終わらせたいと思います。

議題2の「その他」でありますけれども、事務局から何かございますでしょうか。

○井上課長補佐 事務局からは特にございません。

○澤田座長　ありがとうございました。

それでは、本日の議題についてはこれで終了ということで、以上をもちまして、148回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたしたいと思います。今日もありがとうございました。