

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第 56 回 会 合 議 事 録

1. 日時 平成 20 年 1 月 21 日 (月) 14:00～16:20

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

- ・耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ 3272 系統 (食品)
- ・耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ 3272 系統 (飼料)

(2) 遺伝子組換え食品チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MON89034 系統について

(3) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、五十君専門委員、石見専門委員、宇理須専門委員、小関専門委員、鎌田専門委員、橘田専門委員、澁谷専門委員、手島専門委員、丹生谷専門委員、飯専門委員、山川専門委員、山崎専門委員、和久井専門委員、渡邊専門委員

(食品安全委員会委員)

見上委員長、小泉委員、長尾委員、畑江委員、廣瀬委員、本間委員

(事務局)

齊藤事務局長、日野事務局次長、北條評価課長、猿田評価調整官、鶴身課長補佐、浦野係長

5. 配布資料

資料 1 遺伝子組換え食品等評価書

チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MON89034 系統

- 資料 2 MON89034 系統に係る AFSSA の意見書  
資料 3 専門委員からのコメント

## 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 56 回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催いたします。本調査会は非公開で行います。

本日の議題であります、議題 1 は、新規審査品目であります耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ 3272 系統の食品と飼料についての安全性の審査。

議題 2 は、遺伝子組換え食品チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MON89034 系統についてであります。

それでは、まず、お手元の資料の確認をいたします。事務局より、お願いします。

○猿田評価調整官 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「遺伝子組換え食品等評価書 チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MON89034 系統」。

資料 2「MON89034 系統に係る AFSSA の意見書」。

資料 3「専門委員からのコメント」。

また、資料番号は振ってございませんけれども、水色の紙ファイルとなっております。

なお、これら以外の参考資料につきましては、紙のファイルにとじまして、先生のお机に置かせていただいております。

この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、次回にまた配付させていただきます。不足等がございましたら、事務局までお知らせください。

お手元の資料のほか、委員の皆様には、本日、御審査いただく予定の品目について、申請者作成の資料等を事前に送付させていただいております。

なお、本日の審査を行う品目につきましては、食品安全委員会の公開についてに基づきまして、座長に資料の内容を確認いただき、企業の知的財産を侵害するおそれのある箇所が含まれているということで非公開で審議を行います。

会議は非公開となりますが、国民への説明責任、それから透明性への確保の観点から開催の予定日時等は公開しまして、会議が非公開であることを明示しておりまして、今後の情報提供としまして、議事録を作成し、企業の知的財産を侵害するおそれのある箇所などを削除した後、速やかに公開させていただきます。

また、審議に用いた各種試験結果の概要、それから評価結果をまとめた評価書（案）を作成しまして、食品安全委員会へ報告して公開とさせていただきます。

事務局からは、以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。議題1としまして、耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ3272の審査から行う旨となっておりますが、今日は、まずは、議題2の遺伝子組換え食品チョウ目害虫抵抗性トウモロコシMON89034系統から御検討をいただきたいと思っております。

まず、この組換えトウモロコシに関する経緯等につきまして、事務局から御説明をお願いいたします。

○鶴身課長補佐 まず、概要の方から御説明をさせていただきます。

チョウ目害虫抵抗性トウモロコシMON89034系統というのは、昨年当調査会で御審議をいただき、安全上問題がないということで結論が得られているものです。

今般、フランスの食品衛生安全庁、AFSSAと呼んでいますが、そちらにおいて、ラットにおける90日試験の結果から、より慎重に確認をした方がいいという意見が公表されております。

当調査会における審議においても、同じラットの90日試験の結果について確認をいただいたところですが、本日は、フランス食品衛生安全庁の公表内容について御報告をさせていただくとともに、念のため、再度御確認をいただければと思っております。

それでは、過去の経緯から含めまして、御説明をさせていただきます。

まず、資料の1番を御覧ください。

昨年当調査会でとりまとめていただきました評価書になります。めくっていただき、2ページ目、要約のところを御説明させていただきます。

名称は、先ほども申し上げましたように、チョウ目害虫抵抗性トウモロコシMON89034系統。

性質としましては、チョウ目害虫に対して抵抗性を持っているというものでございます。

このものは、*Bacillus thuringiensis*に由来する *cry1Ab* 遺伝子、*cry1Ac* 遺伝子及び *cry1F* 遺伝子を基に作成された *cry1A.105* 遺伝子、それから同じ *B. t* 由来の改変 *cry2Ab2* 遺伝子を導入して作製されております。

左側の1ページ目でございますが、経緯といたしましては、昨年の2月に厚生労働省から意見の聴取がありまして、調査会で3月、7月に審議をいただきまして、パブリックコメントを経て、9月6日に最終的に厚生労働省へ通知をしたというものでございます。

16 ページ、問題となっておりますのが、ラットに対する 90 日間の混餌投与試験ですが、評価書においては、1 群雌雄 20 匹のラットに対して、Cry1A.105 タンパク、改変 Cry2Ab2 タンパクが同時に発現しているトウモロコシの粉末を、0、11%、33%の割合で混餌投与した試験でございます。

その結果、穀粒を給餌したことに起因する影響は認められないととりまとめられているものでございます。

続きまして、資料 2 を御覧ください。

こちらが、昨年 11 月付けになりますが、ホームページに載ったのは最近のようですが、MON89034 系統に係るフランスの食品衛生安全庁が意見をまとめたものになります。

これについては、もともと EU において 89034 系統が審議されていて、食品安全機関である EFSA で評価案をとりまとめて、各国にコメントを求めているという状況のようです。

それに対して、フランスがこのような意見をとりまとめたという状況だと聞いております。

ずっとフランス語になりますので、部分的に仮訳をさせていただいております。一番最後のページを御覧ください。

亜急性毒性試験に関連するところですが、下記事項を考慮して、1 つはコントロールと比べて、89034 摂取群の体重増加はなかった。ちょっと日本語の訳が変なんですけど、体重増加に有意な差はなかったというものでございます。

89034 の低用量投与、11%群の雌で血小板の有意な低下が見られた。観察された値は、背景データの範囲内であって、血液凝固の他のパラメーターに悪い影響はなく、この変化を招くような毒性は全くない。

それから、89034 系統の高用量群の雌で体重／甲状腺の重量比は有意に低下していた。しかし、体重自体や脳重量／甲状腺重量比に変化は見られなかった。いずれにしても、変化は小さいものであって、甲状腺の背景データの範囲内であって、組織学的に変化はない。

以上のことから、これらの変化は毒性学的な意味を持つものではないと言える。

そして、組織学的に 89034 の 33%投与群の雌で、腎臓病変を引き起こす徴候の所見が見られ、膀胱結石の 2 症例が特記されている。

データ全体が、89034 が有意な変化を生じさせるものではないが、特に血液学的検査項目や血清や尿の生化学的検査項目について、有意な変化がないことを示すものであれば、資料に記載の腎臓病変の疑義について検討して、更に膀胱結石の背景データと MON89034 の高用量群での雌の試験中に観察された罹患率、20 匹中 2 匹ですが、10%の差について補

足説明することが適当であると考慮して、下にある最終的な結論となっております。

AFSSA は、以下のように考察をするものである。MON89034 の遺伝子挿入の非コード領域で行われていないというあいまい性を払拭するためには、遺伝子導入の位置の両側の塩基配列をそれぞれ塩基数で 1,000bp ほど拡大することが望ましいと考える。

もう一つ、ラットの 90 日間の反復投与試験で所見のあった腎臓病変に関して、膀胱結石に関する背景データ、この検査機関で過去の試験で見られた背景データですが、0.49%と試験において観察された罹患率 10%との差異について補足説明を提出することが適切であるというふうにフランスの食品安全庁が意見を公表しております。

続いて、緑色の紙ファイルの方について御説明をさせていただきます。

過去に、昨年御審議いただいた際に提出のあった、90 日間の毒性試験についても、この青色の付箋から以降にとりまとめておりますが、申請者の方から、このフランスの意見書に対する考え方というものが提出されておりますので、御紹介させていただきます。

1 ページめくっていただいて、印刷の方がきれいではないんですが、第 1 段落の最後の方になりますが、この試験を行った病理学者、査読を行った病理学者並びにデータを検討した毒性学者においては、MON89034 系統の穀粒を経口摂取したことに起因するものではないと結論づけている。

MON89034 系統の 90 日試験の終了時において、2 匹の雌に膀胱結石が見られた。一匹は低濃度、11%で摂取しており、もう一匹は高濃度、33%で摂取している。

したがって、雌における膀胱結石の発症率は、低濃度群で 20 分の 1、高濃度群で 19 分の 1 である。

このほかに、高濃度群の雌 1 匹において、試験開始後、2 週間以内に結石が確認されている。このラットは、試験開始後 2 週間で死亡しており、剖検の所見に尿路閉塞が見られた。

この所見は、実験開始後、早期に観察されていることから、被験物質の投与に関連しないと考えられる。

病理検査の報告書によると、このラットの死因は不明であるが、MON89034 系統の穀粒を摂取したことに関連しない偶発的なものである可能性が高いと報告されている。

試験開始後、2 週間で死亡した、高濃度群の雌を含めると、全体的な膀胱結石の発症率は、高濃度群で 20 分の 2 となるということです。

少し混乱をするので、簡単に御説明しますと、結局、11%の低用量群と、33%の高用量群がありまして、結局、膀胱結石が見られたのは計 3 例です。

ここにもありますように、フランスが問題にしているのは、腎臓病変も一緒に見られた高用量群の33%の方の2例について確認をすべきではないかとフランスの方は公表しています。

33%の高用量群の2匹のうち1匹は14日で死亡しております。それにも膀胱結石が認められたということです。

残りの1匹については、13週終了後に確認して、そういう結石が認められたというものであります。

最後のパラになりますが、本試験を実施した研究機関、ウィル・リサーチ・ラボラトリーというところですが、過去に実施された試験の19～21週齢、同じSDラットになりますが、このラットにおける膀胱結石の発症率について、データが記載されています。

1999年から2004年までの間に行われた、43の試験において使用された810匹のコントロール群、これらのうち4匹で結石で確認されていて、全体としての発症率は810分の4、0.49%になるということです。

ただ、申請者といたしましては、これでは十分ではないだろうということもありまして、次のページに、更に背景データを拡大して調査をしております。

2行目の後半になりますが、背景データの動物の週齢の範囲を拡大して、7～21週齢として調査をした。そうしますと、1999年から2007年までに行われた191の試験における202の対照群、これらはすべて雌で、トータルとして2,187匹になりますが、全体的な膀胱結石の発症率は9例であった。2,187例中9例、0.4%であったということです。

この期間、8つの試験において認められた膀胱結石の発症例、以下の表になりますが、20分の1から6分の1の割合で、個々の試験を見ると、1例もしくは2例というふうな膀胱結石が認められている例があるということでございます。

したがって、過去の発症率から同等程度ではないかということを示しているということです。

下の表の1になりますが、御説明いたしますと、まず、ラットの週齢19～21週齢と書いていますが、これはSDラットで13週間、90日試験を行ったもので、計画的に解剖したものの結果です。15例中1例とか、2例中2例というふうに確認されている。

半分から下のところになりますが、7週～19週の方は、これは90日試験ではなくて、その他、ほかの試験も取り込みまして、範囲を拡大して調べたというもので、いろいろと試験の期間は含まれていますが、これらにおいても膀胱結石が確認されている。いずれも19～21とか、7～19とかというのは剖検を行った週であるということです。

最後のパラになりますが、高濃度の雌に見られた多くの腎症が膀胱結石または尿路閉塞を認めた2匹の雌動物にも確認された、このような腎症は尿路結石における炎症あるいはその結果起こる尿路閉塞を持つ動物によく観察されるものであって、この腎病変は自然発生であり、投与に関連しないというふうに申請者の方では考えているというものでございます。

参考に申し上げますと、フランスの意見書が公表されたのが11月で、モンサントの方に最終的にEUから指摘が12月にあったそうですが、これらに関する指摘事項は含まれていなかったということでございます。

今後も審査は続いておりますので、今後、更に追加の質問というものがあるかもしれないということでございます。

続いて、座長の指示もございまして、昨年9月まで本調査会の専門委員でいらっしゃいました、当時、実際に本食品に関して審議をいただいた毒性の担当の今井田先生からコメントをいただいておりますので、御紹介をしておきます。

資料3になります。

高用量群33%混餌の雌20匹中2例において腎臓の組織変化を伴う膀胱結石が確認されているが、以下の理由から被験物質の投与に由来すると考えられるような特段の問題は認められない。なお、今後、新たな情報データがあれば確認することが妥当である。

理由として、今回、確認されている腎臓の変化も尿路結石による変化と考えられ、膀胱結石形成と同一の機序に基づく変化と考えられる。

1. 上記の病変の発生頻度に対象群とで群間に統計学的な有意差はない。

2. この病変は試験実施機関での同一の動物種（SDラット）、同一の性（雌）、類似の週齢（19～21週齢）のヒストリカル・コントロールで、810例中4例（0.49%）に認められており、自然発生をする変化と考えられる。

3. 雌の最高投与群で計画と殺された動物で、膀胱結石、腎病変の認められた個体の尿のpHは8.5と、同群のほかの動物のデータ（pH5.5～7.0）と比べると、この1例のみ極端に高い値であり、これが動物個体での尿路結石形成と関連していると考えられる。なお、同群の他の動物では尿のpHに変化はなく、被験物質の投与が尿のpHに影響するとは考えにくい。

4. 最高用量群の腎重量にも群間の差はないということで、被験物質の投与に由来すると考えられるような特段の問題は認められないという御意見をいただいております。

説明は、以上です。

○澤田座長 どうもありがとうございました。ただいまの事務局の説明にございましたように、既に本調査会で審議をいたしまして、承認されたトウモロコシにつきまして、フランスの評価機関がより慎重に確認した方がよいのではないかという意見を出したということになります。この品目を親とするスタック 2 品種も含めてということになります。

ただいま御紹介いただきました今井田先生の御意見を踏まえまして、ほかに御意見等はいかがでしょうか。

それでは、毒性の専門でいらっしゃいます和久井先生、どうぞ。

○和久井専門委員 私もこのデータをもう一度見せていただきまして、毒性学的評価についての私見を述べさせていただきます。

総論といたしましては、33%の混餌群の雌で認められたデータを再検討したところ、あと、モンサントからのデータを検討いたしまして、結論といたしましては、病変の発生頻度、その他、毒性学的なパラメーターは対照群と比較して、各群間で統計的な有意差がないということから、本 90 日間のラットの混餌投与試験は、本系統には毒性は認められないというふうに判断いたします。

しかし、今井田先生と同様なんですけれども、追加実験等のデータが提出された場合には、再度審査する必要があると思います。

次に各論なんですけれども、高用量群の混餌投与群 20 匹中 2 例に認められた腎臓病変を伴う膀胱結石の形成なんでございますが、被験物質の投与に由来するとは考えにくいものと考えます。

根拠といたしましては、1 匹は実験開始から 14 日後にへい死後、剖検で認められたものであり、14 日間という短期間における病変が被験物質に起因して発現するということは、非常に考えにくいものであると思います。

次に 2 例目は、90 日間投与実験のエンドポイントで認められたものでございますけれども、実験の実施機関での SD ラットの同様週齢、先ほどの御説明のとおり、背景データから考えますと、本件もやはり自然発生による変化と考えました。

また、病変を示したラットなんですけれども、先ほど尿の pH のお話がございましたが、エンドポイントの状態のデータを見ますと、まず、体重に対しては、同群の他のラットと有意差は認められませんでした。

ところが、血中グルコース値、コントロール値、血中の好中球数は病変を示したラットのみ他のラットと比較して有意に高い値を示しております。

また、更に、先ほどの pH の 8.5 と、非常に高い値を 1 匹だけ示しているということから



考えますと、この1例のみ有意に異なる毒性学的なパラメーターを示しているということが考えられます。

よって、この動物個体に被験物質投与以前から尿路結石形成と関連する腎臓機能障害があった可能性は否定することはできない。可能性が想定されるということでもあります。

更に、説明にはなかったんでありますけれども、コントロール群、対照群のSDラットでも、自然発生頻度が非常に低いとされている腎芽細胞腫が20匹中2例に認められているというデータが載っております。

このことから考えますと、本実験に使用されたSDラットのコロニー自体にも問題があったということの可能性も否定できないというふうに考える次第であります。

以上です。

○澤田座長 どうもありがとうございました。ほかにコメント、御意見等ございませんでしょうか。

今井田先生、それから和久井先生ともに、この結石は自然発生的なものである可能性が非常に高いということで、毒性学的に投与飼料との関係を認めるのは難しいだろうというお考えかと思っておりますけれども。

ほかによろしいでしょうか。

それでは、ほかに御意見もないようでありますので、この品目につきましては、現時点においては、評価結果を変更する必要はなく、引き続き事務局で関連情報を収集するという事にさせていただきしたいと思います。ありがとうございました。

それでは、議題1に戻りまして、耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ3272系統の審査に移りたいと思います。

本品目につきましては、新規でありまして、食品と飼料の両方で食品健康影響の評価依頼が来ています。

まずは、食品としての安全性について審査を行い、食品としての安全性が確認された後に、飼料としての安全性を評価したいと思います。

本日は、安全性を評価する上で、申請者から提出されております、審査資料の確認及び安全性の審査上で追加要求すべき事項の検討を中心に行いたいと思います。

それでは、事務局から御説明をお願いいたします。

○浦野係長 それでは、申請者から出されております申請資料に基づき御説明をさせていただきます。

御用意いただく資料といたしましては「ID138 耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ

3272 系統の安全性評価に関する概説書」「平成 19 年 12 月 5 日シンジェンタシード株式会社」となっております。青いハードファイルの資料を御用意ください。

最初に目次が載っております。目次を 4～5 枚めくっていただきますと、1 ページが出てきます。そちらの方から御説明をさせていただきます。

まず、御説明の前に、このトウモロコシは、今までの害虫抵抗性とか除草剤耐性ではなくて、耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシということでございまして、従来はトウモロコシからアルコールをつくる際に  $\alpha$ -アミラーゼを添加していたわけですが、このトウモロコシを生産することによって、その工程で  $\alpha$ -アミラーゼを添加することなく、トウモロコシからデンプン等の反応が進むというものでございます。

では、項目に沿って御説明をさせていただきます。

まず、1 番の宿主及び導入 DNA に関することですが、こちらはいつもと同じ 3272 系統の宿主はデント種のトウモロコシであるということでございます。

続きまして、DNA 供与体の種名でございますが、当該トウモロコシの作出には、古細菌の *Thermococcales* 目の好熱菌株由来の 3 個の  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子に由来するキメラ的改変  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子と、大腸菌由来遺伝子の 2 つを供与したということでございます。

次の「(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法」でございますが、性質といたしましては、 $\alpha$ -アミラーゼといたしましては、液化の高温条件下で高い活性を示す耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼを産生するということでございます。

一方、*pmi* 遺伝子によって産生される PMI タンパク質は、遺伝子導入された形質転換体のマーカーとして用いられたということです。

導入方法といたしましては、アグロバクテリウム法を用いたということでございます。

「2 宿主の食経験に関する事項」といたしましては、申請書に記載のとおりでございます。

「3 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項」、(1) (2) とございまして、そちらにおきましても、そこに記載のとおりでございます。

「4 宿主と組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項」でございますが、3272 トウモロコシはエタノール製造を主目的として開発をされておりますが、デント種トウモロコシであることから、餌やコーン油等の食品分野で、広く使用されることも可能性があるということでございます。

収穫時期、貯蔵方法、可食部位、次の 3 ページに行きまして「(3) 摂取量」「(4)

調理及び加工方法」等はそこに記載のとおりでございます。

また、5番の比較対象としては、トウモロコシを比較対象としたということでございます。

「6 安全性評価において検討が必要とされる相違点に関する事項」といたしましては、*amy797E* 遺伝子の導入によって AMY797E  $\alpha$ -アミラーゼ、また、*pmi* 遺伝子の導入によって、PMI タンパク質を産生している点が、従来のトウモロコシと異なっているということでございます。

したがいまして、当該トウモロコシの安全性評価において検討が必要とされる相違点は、この2つの遺伝子によって新たに産生されるタンパク質に関する事項ということでございます。

続きまして「第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」でございますが、こちらは先ほど御説明したとおり、トウモロコシから液化工程、糖化工程を経て、グルコース、エタノールを生産する際の  $\alpha$ -アミラーゼを添加することなく生産させるために、約 100°C 近くで最大活性を示す  $\alpha$ -アミラーゼをトウモロコシから発現させるということでございます。

また、終わった後の「かす」につきましては、従来と同様に、飼料としての利用もされるということでございます。

5 ページ「第3 宿主に関する事項」でございますが、分類学上の位置づけ、遺伝的祖先、育種開発に関する経緯等々は、そこに記載のとおりでございます。

また、3番の有害生理活性物質の生産に関する事項についても、そこに記載のとおりでございます。

4番のアレルギーに関する事項ですが、トウモロコシに関するアレルギーについては、わずかであるけれども、最近になって、Lipid Transfer Protein と呼ばれる、膜輸送タンパクに分類されるタンパク質がトウモロコシの主なアレルゲンの一部として見出されているということでございます。

以上のことに基づくと、トウモロコシの食物アレルギーは、極めてまれな事例であり、人の健康に深刻な危険をもたらす可能性は極めて低いと考えられております。

病原性の外来遺伝子についても、そこに記載のとおりでございますが、結論といたしましては、一般的な植物病原菌の摂取によって、人の健康が害されることは、今まで報告されていないということでございます。

また、安全な摂取に関する事項につきましても、トウモロコシは古くから食されている

ということでございます。

「7 近縁の植物種に関する事項」、7 ページ目でございますが、そちらについても従来どおりそこに記載のとおりでございます。

8 ページ「第4 ベクターに関する事項」でございますが、ベクターの名称及び由来は、そこに書かれておりますとおり、発現ベクターの pNOV7013 の構築には、pNOV2114 を用いたということでございます。

「2 性質に関する事項」でございますが、こちらの pNOV2114 の塩基数は 5,760bp であり、制限酵素による切断図も、次のページの図 1 に明らかにされているということでございます。

(3) の既知の有害塩基配列については、有害塩基配列は含まれていないということでございます。

(4) の薬剤耐性遺伝子につきましては、構築ベクターの細菌中での選抜維持のため、*E. coli* Tn7 由来の *spec* 遺伝子が含まれているということでございます。

続きまして、伝達性に関する事項につきましては、そこに記載のとおり、VSlori、ColE1ori 等々が含まれているということでございます。

9 ページ目に、pNOV2114 のベクターの図が載っております。

「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」ですが、まず、*amy797E* 遺伝子でございますが、こちらは先ほども御説明したとおり、古細菌の *Thermococcales* 目の好熱菌株の 3 個の  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子に由来し、それぞれの配列断片を組換えて作出したキメラ的遺伝子であるということでございます。

まず、3 個の遺伝子のうち、BD5031 と BD5064 は浅い海洋熱水系の 95℃で pH7.0 の場所と 85℃で pH6.0 の場所から、それぞれ採取された *Thermococcus* の DNA ライブラリーから単離されたということです。

また、BD5063 は、深海太平洋の 90℃で pH は 6.5 の場所から単離された未同定の好熱菌の DNA ライブラリーから単離されたもので、その配列比較から *Thermococcales* 目に属する *Pyrococcus* 種か、または *Thermococcus* 種のどちらかと考えられております。

続きまして、*pmi* 遺伝子は、そこにありますとおり、*E. coli* K-12 株由来の遺伝子であるということでございます。

続きまして、安全性に関する事項でございますけれども、*amy797E* 遺伝子の供与体につきましては、食経験は知られていないものの、そのアミノ酸配列の相同検索によって、AM Y797E  $\alpha$ -アミラーゼと有意な構造相同性を持つ既知の毒素がないことが示されております。

す。

また、 $\alpha$ -アミラーゼは、多くの植物や動物に存在が認められている酵素であり、人の唾液にも $\alpha$ -アミラーゼは含まれているということでございます。

11 ページ、*amy797E* 遺伝子がコードする AMY797E  $\alpha$ -アミラーゼとアミノ酸配列において 93% の相同性を類似する  $\alpha$ -アミラーゼ BD5088 は、US FDA によって組換え酵素として安全性が確認されているということでございます。

*pmi* 遺伝子の方の供与体でございます *E. coli* K-12 株は、ヒト及び動物に対し病原性を持つことは知られていないということでございます。

「2 挿入 DNA 又は遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物の性質に関する事項」ですが、クローニングもしくは、合成方法に関する事項でございます。

*amy797E* 遺伝子につきましては、先ほども申し上げましたとおり、3 個の  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子に由来するキメラ的遺伝子であるということでございます。

まず、作成方法といたしましては、3 個の  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子をその図 2 にありますとおり、9 個の断片へと分割し、同じ番号の断片同士を集めたプールをつくった後、キメラ改変を行ったということでございます。

また、*amy797E* 遺伝子の塩基配列は、トウモロコシの発現に最適なコドンに置換をしていることと、小胞体への輸送及び蓄積を目的としてトウモロコシ由来の 19 個のアミノ酸からなる  $\gamma$ -ゼインシグナル配列と 6 個のアミノ酸配列からなる小胞体残留シグナル配列が付加されているということでございます。

次のページが、それぞれのアミノ酸配列の表でございます。

*pmi* 遺伝子の方は、そこにありますとおり、*E. coli* K-12 株からクローニングをされているということでございます。

塩基数及び塩基配列でございますけれども、*amy797E* 遺伝子の塩基数は 1,383bp であり、*pmi* 遺伝子の塩基数は 1,176bp であるということでございます。

挿入遺伝子の機能に関することでございますが、 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子は、その存在は広く認められており、ヒトの唾液中にも  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子は存在するということでございます。

今回の  $\alpha$ -アミラーゼ AMY797E を発現する 3272 トウモロコシ穀粒粉末は、従来トウモロコシ穀粒粉末に混合したサンプルを用いて、そちらに記載の高温条件下で、 $\alpha$ -アミラーゼ活性の最大活性を示すことが確認されているということでございます。

15 ページ、 $\alpha$ -アミラーゼと既知の毒性タンパク質との構造相同性ですけれども、460 個のアミノ酸からなる AMY797E  $\alpha$ -アミラーゼ配列について、以下のデータベース及び検索プログラムを用いて既知の毒性タンパク質との構造相同性を検索したということでございます。

その結果、919 件のタンパク質が得られたということでございます。その 919 件の内容は、次の 16 ページに記載のとおりでございます。

以上の結果から、AMY797E  $\alpha$ -アミラーゼと有意な構造相同性を持つ既知毒素はないことが確認されたということでございます。

PMI につきましても同様のことを行った結果、有意な既知毒素を持つことは認められなかったということでございます。

18 ページが、PMI タンパク質と既知の毒性に関することが載っております。

19 ページが、抗生物質耐性マーカーに関することを載せております。

19 ページの下段からが、プロモーター、ターミネーターに関することが載せられております。

20 ページが、ベクターの DNA の組込み方法に関する事項となっております。

21 ページが、構築された発現ベクターに関する事項でございます。構築された発現ベクターの pNOV7013 の全塩基数は 11,439bp であり、その概要は、そこに書いてある図 6 のとおりでございます。

挿入遺伝子領域といたしましては、6,130bp であり、その塩基配列は補遺 7 の Appendix 1 のとおりであるということでございます。

22 ページの表 2 にそれぞれのサイズと、それぞれの由来及び機能が示されております。

23 ページは、オープンリーディングフレームのことでございますが、目的以外のタンパク質を発現するオープンリーディングフレームは含まれていないということでございます。

導入しようとする発現ベクターには、目的以外の遺伝子が混入しないように、純化されているということでございます。

続きまして「6 DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項」といたしましては、アグロバクテリウム法が用いられ、マンノースを添加した培地で形質転換体を選抜して再生個体を得ているということでございます。

なお、商品化する世代といたしましては、23 ページの最後のパラグラフに書かれておりますとおり、●●●世代以降であるということでございます。

24 ページが、ブリーディングのマップということになっております。商品化する世代と

いたしましては、その表の②と書いてあるところが商品化をする世代ということでございます。

25 ページ「第 6 組換え体に関する事項」でございますが、まず、遺伝子導入に関する事項ですけれども、●●●と戻し交配した BC4F1 を用いまして、サザンブロット分析による解析を行ったということでございます。

プローブといたしましては、*amy797E*と *pmi* と GZein プロモーターZmUbiInt プロモーター、NOS ターミネーターを用いたということでございます。

1 パターン目といたしましては、T-DNA 領域の 1 か所を切断する 2 種類の制限酵素を用いた。

具体的には、以下のプローブと制限酵素の組み合わせで行ったということでございます。

2 パターン目の制限酵素処理といたしましては、T-DNA 領域の RB 領域と LB 領域に認識部位を持つ制限酵素を組み合わせで用いたということでございます。

この場合は、いずれも約 5.8kbp の特異的ハイブリダイゼーションバンドが 1 本検出されるということでございます。

試験の結果、それぞれの 1 本の特異的なハイブリダイゼーションのバンドが検出され、次の 2 パターン目では、5.8kbp の 1 本の特異的なハイブリダイゼーションのバンドが 3272 トウモロコシにおいて検出されたということでございます。

また、外骨格領域の有無についても、分析をした結果、3272 トウモロコシにおいて外骨格領域のバンドは検出されなかったということでございます。

以上の結果から、3272 トウモロコシのゲノムには、1 コピーの完全な *amy797E* 遺伝子発現カセットと *pmi* 遺伝子発現カセットが組み込まれており、外骨格領域は存在しないことが示されております。

27 ページの表 3 が、それぞれのプローブと制限酵素と予想されたバンドサイズ、検出されたバンドサイズということでございます。

28 ページ目から 33 ページ目はそれぞれのサザンブロットの結果ということでございます。

34 ページ目が、模式図ということになっております。

「②挿入遺伝子の塩基配列の決定」でございますけれども、3272 トウモロコシにおける挿入遺伝子の全塩基配列を●●●と戻し交配した BC4F1 世代を用い PCR で分析することによって、挿入遺伝子の塩基配列を決定したということでございます。

その結果、挿入遺伝子の全長は 6,100bp でありまして、T-DNA の右側境界の 23bp、左側

境界の 7 bp が欠損していることが確認されたということでございます。

また、36 ページの「③近傍配列の決定」ですけれども、近傍配列について決定し、近傍配列の機能性遺伝子が損なわれている可能性を検討したということでございます。

その結果、5' 末端近傍配列と有意な相同性を示す配列は検索されなかったけれども、3' 末端近傍配列には、幾つかのプロモーターを含むトウモロコシ転写調節エレメントと相同的な短い領域があることが示されたということでございます。

一般的にプロモーター機能に必要な重要な配列といたしましては、転写部位から -25bp の位置に 5' -TATAAA-3' 配列あるいは -80bp の位置に認められる GGCCAATCT 配列が存在するというところでございます。

トウモロコシの相同性を示した 3' 配列にも 3 個の TATA box が認められた。しかしながら、3' 末端近傍配列におけるそれぞれの領域の位置と、3' 末端近傍配列に他のプロモーター構成配列、いわゆる CCAAT box が存在しないことから、3' 末端近傍配列の 3 個の TATA box は機能を有するプロモーター配列ではないことを示唆しているということでございます。

したがって、3' 末端近傍配列とトウモロコシ調節エレメントの間で短い相同性が認められたけれども、プロモーター機能に必要な条件を満たすとは言えず、したがって、3' 末端近傍配列のプロモーター機能があることは考えられないということでございます。

一方、5' 末端及び 3' 末端近傍配列の接合部位において、意図しないオープンリーディングフレームが形成されているかどうかにつきまして、ソフトウェアを用いて検索した結果、機能を持つ新規のオープンリーディングフレームの存在は、いずれも検出されなかったということでございます。

続きまして「④近傍配列の確認」でございます。

そこにありますとおり、プライマー 1、プライマー 2、プライマー 3 を用いまして、近傍配列を検討した結果、3272 トウモロコシの両末端、同近傍配列はトウモロコシゲノム由来であることが確認されたということでございます。図 16 が、その試験結果となっております。

(2) のオープンリーディングフレームの有無及び転写及び発現の可能性ですけれども、前述の①～③の試験の結果等から見て、新規の意図しないオープンリーディングフレームは形成されないことが示唆されたということでございます。

「2 遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項」につきましては、40 ページの表のとおりでございます。AMY797E $\alpha$ -アミラーゼについて



は、ほぼ全量が穀粒において発現をしているということでございます。

次のページの表 5 は、それぞれの検出限界値と定量限界値でございます。

次の表 6 は、PMI タンパク質の発現部位及び発現時期ということでございます。

43 ページの表 7 が先ほどと同じ LOD と LOQ になっております。

続きまして 44 ページの一日タンパク摂取量の有意な量を占めるかどうかについてですが、こちらもいつもと同様にトウモロコシ加工品の摂取量を 0.5g とし、当該タンパクの発現量を基に計算をいたしますと、AMY797E $\alpha$  -アミラーゼで約 0.002%、PMI タンパク質でそこに記載のとおりということでございます。

遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する事項でございますが、挿入遺伝子の供与体に関する知見が明らかにされていることでございますけれども、*amy797E* 遺伝子の供与体は好熱菌であるけれども、供与体にアレルギー誘発性のあるタンパク質を生産することは知られていない。

また、*pmi* 遺伝子の供与体についても、細菌にアレルギー誘発性があることは知られていないということでございます。

また、遺伝子産物について、アレルギー誘発性に関する知見が明らかにされていること、でございますけれども、まず、遺伝子産物の物理化学処理に関する事項でございますけれども、AMY797E $\alpha$  -アミラーゼは、トウモロコシ 3272 のトウモロコシから直接抽出したタンパクを用いて、一方、PMI タンパク質は、*E. coli* 過剰発現系で産生・抽出したものをを用いて、以下の試験を行っております。

まず、人工胃液による酵素処理ですけれども、AMY797E につきましても、SDS-PAGE 分析とウェスタンブロット分析で評価をしておりますけれども、反応開始 5 分後にはペプチド断片のバンドも検出されなくなり、ウェスタンブロットでも 5 分後で AMY797E の示すバンドはなくなったということでございます。

次のページの図 18 がウエスタンの結果でございます。

続きまして、PMI タンパク質でございますが、こちらも SGF を用いた経時的な消化試験においても、反応開始後 10 分後には小さな断片に分解され、反応開始 60 分後にはその断片も検出されなかったということでございます。

続きまして、人工腸液による処理でございますが、AMY797E につきましても、反応開始後 60 分では分解をされなかったということでございます。

続きまして、PMI タンパク質については、0 分から経時的にバンドは薄くなっており、徐々に分解することが示されたということでございます。

53 ページが SDS-PAGE 分析の結果でございます。

次がウェスタンブロットの結果となっております。

続きまして「③加熱処理」でございますが、AMY797E  $\alpha$ -アミラーゼは、耐熱活性があるということがメインですので、本評価は行わなかったということでございます。

PMI タンパク質については、加熱したところ、95°Cで30分間の静置で完全に酵素活性がなくなっており、加熱処理に対して安定でないことが示されたということでございます。

続きまして、56 ページの遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性に関する事項でございますが、こちらもいつもと同様に、それぞれのデータベースを用いまして、1,414 件の重複しないアミノ酸が登録されております SBI Allergen Database Version4.0 を用いまして検索をしたということでございます。

検索方法といたしましては、80 個の連続アミノ酸配列からなるウィンドウを設定して、1 アミノ酸ずつずらしながら 35%以上の相同性があるか。それと、8 個の連続アミノ酸で一致するものがあるかどうかを検討したということでございます。

まず、AMY797E の方でございますが、こちらにつきましては、35%の相同性を示すアレルゲンは認められなかったということです。

一方、8 個の連続アミノ酸検索においては、ワモンゴキブリの Per a 3 既知アレルゲンで一致する配列が認められたということでございます。

しかしながら、Wu らは、Per a 3 の既知アレルゲン IgE 結合のエピトープを同定しており、そのエピトープと今回一致した部位は違うということが確認されたということでございます。

また、製パン業界で利用されている *Aspergillus oryzae* の  $\alpha$ -アミラーゼにつきましても、検討した結果、アミノ酸配列の同一性は低いということでございます。

配列同等性といたしましては、5 個以上の連続一致アミノ酸配列を有していないことが示されたということでございます。

したがって、AMY797E  $\alpha$ -アミラーゼのアレルギー誘発性の可能性は、一般にアレルギー誘発性の報告のない、他の食物タンパク質と同様に極めて低いと判断をしているということでございます。

その図 26 が今回の Per a 3 と一致した部分でございます。

下線部が引いてあるところが一致した部分で、下段の黒く塗ってある部分が IgE 結合エピトープを示しているということでございます。

図 27 が、*A. oryzae* の  $\alpha$ -アミラーゼと、今回の AMY797E  $\alpha$ -アミラーゼ間のアミノ酸配

列の整合性ということでございます。

PMI タンパク質ですが、こちらは前回のトウモロコシ MIR604 でも既に行っているんですけども、やはり同じように相同性検索では何もなかったということでございますけれども、エピトープ検索においては、カエルの一種、*Rana species* CH2001 の既知アレルゲンと 8 個の連続アミノ酸検索において相同性が認められたということでございます。

次のページ、アレルゲンのエピトープとしてカエル  $\alpha$ -パルブアルブミン感受性患者の血清 IgE によって認識されないことが示されたということです。

したがって、PMI タンパク質と *Rana species* CH2001 の  $\alpha$ -パルブアルブミンの間で認められた 8 個の連続アミノ酸配列に有意性はなく、PMI タンパク質のアレルギー誘発の可能性は低いと結論しております。

次の組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項でございますけれども、そこに記載のとおり、3272 トウモロコシの挿入遺伝子は、メンデルの法則に基づいて分離されていることが確認されております。

また、挿入遺伝子の安定性を見るため、3272 トウモロコシの複数の世代においてバンドは一致しているということから、3272 トウモロコシの挿入遺伝子が後代に安定して遺伝していることが示されているということでございます。

64 ページの 6 でございますが、遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項ですけれども、 $\alpha$ -アミラーゼは、デンプンからデキストリン、マルトース及びグルコースへの加水分解を触媒する酵素であるということでございます。

$\alpha$ -アミラーゼは、種子で特異的に生産されて、小胞体中に蓄積されるようになっている。

一方、種子中のデンプンは、非水溶性顆粒として異なる細胞内小器官であるアミロプラスト中で合成・貯蔵されることから、植物宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は極めて低いというように結論づけております。

以上のことから、3272 トウモロコシにおける当該タンパクの発現が宿主植物の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと結論しております。

PMI タンパク質につきましては、他の天然基質は知られていないということでございます。

「7 宿主との差異に関する事項」でございますが、供試試料の調整を 2003 年と 2004 年にそれぞれ分析を行っております。

分析項目といたしましては、次の 68 ページの方に、それぞれ穀粒と茎葉の分析項目が載

っております。

69 ページからが、それぞれの分析及び分析結果ということでございますが、有意差の見られた項目もありますが、すべて文献値の範囲内であったということでございます。

71～74 は、分析結果です。

76 ページが、ビタミン、アミノ酸及び脂肪酸の分析結果でございますが、こちらにも有意差が認められたものはあるけれども、いずれも一般の商業トウモロコシで報告されている文献値内の範囲であったということでございます。

次の 77～81 ページまでが分析結果となっております。

82 ページが、インヒビター物質の分析結果、こちらにも有意差があるものはあったけれども、文献値の範囲内であったということでございます。

83 ページが分析結果で、84 ページが諸外国における認可と栽培方法、種子の管理方法に関する事項でございますが、諸外国における認可といたしましては、2007 年 8 月に FDA の方で安全性が確認されているということでございます。

栽培方法及び種子の管理方法等につきましては、そこに記載のとおりでございます。

85 ページは、安全性の指標といたしまして、それぞれのタンパク質を用いた単回の急性経口投与試験が行われております。

その結果、臨床観察、体重、摂餌量を通して、両タンパクとも異常は認められなかったということでございます。

以上でございます。

○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、各項目ごとに、各先生からコメントをちょうだいしたいと思います。

まず、順番に、第 1 の安全性評価において比較対象として用いる宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項で、1 ページ目と 2 ページ目に関しまして、御意見を申し上げます。

どうぞ。

○五十君専門委員 1 ページの第 1、1 の（2）のところですが、DNA 供与体の種名は、はっきりと求められていたと思います。この場合は、細菌の目名で、その中のどれかに相当するかという表現になっておりまして、恐らくこの辺りは、分類的にまだきちんとした整備がされていない部分かと思えます。こういった場合に、どの程度の情報提供をしていただくかは重要です。種といえば、1 つのクラスターがとらえやすいんですけども、目レベルで、その中のどれかというのは非常にあいまいな表現だと思います。今後同様な例

もあると思いますので、種に相当する情報としてどの程度出していただいたらいいか確認しておいた方が良く思うのですが、いかがでしょうか。

○澤田座長 これは、たしか後の方に同定できていないようなことが書いてありまして、ここでは、これで致し方ないのかなと思われそうですけれども。

また後で、もう一度議論しますか。

○五十君専門委員 そうですね。実際に種がわかれば、その種がどういうものだから、どういった項目についてチェックが必要だという論法になっていくと思います。ところが、この場合はどの程度のチェックが必要であるかということをもっと後の方になると思うんですけども、述べていただきたいと思います。

○澤田座長 ほかに、どうぞ。

○小関専門委員 私もそこが気にかかったんですけども、好熱菌株の株は除いた方が正しいと思います。株になっているかどうかは、保証されていない。そこは、どういうふうにしてDNAが取られたのか、後の部分と重なるんですけども、菌としてとらえなくても、逆に遺伝子の方から、この菌由来だ、この目由来だという形で取っている可能性があるもので、そうであれば、この株は取った方が正しいと思います。

○澤田座長 株を取ればよろしいんですね。ほかにありますか。

それでは、次に「第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」で、申請書の3ページと4ページになりますけれども、御意見、コメントはありませんでしょうか。

それでは、次に「第3 宿主に関する事項」で、5ページから7ページに、3ページ分ですけれども、コメントがありましたら、お願いいたします。

○小関専門委員 日本語の言い回しがおかしいのではないかと思うのが「4 アレルギー誘発性に関する事項」のところの4行目のところで「一般的なヒトのわずか0.016%にしか影響しないと推測されている」というのは、これは「一般的に」ではないかと思います。

それと、その3行ぐらい下に「アレルギー患者に関する回顧的研究」というのはあるんですか。

○宇理須専門委員 回顧的研究は日本語訳が間違っています。英語はレトロスペクティブです。

○小関専門委員 では、日本語ではこれでよろしいんですね。ちょっと、ここが2つ気になりました。

○澤田座長 回顧的という言葉がたまに使われる場合もあります。

あと、先ほどの一般的な云々の日本語は、そこら辺は少しおかしいので直していただい

た方がいいかと思えます。

ほかにどうぞ。

○鎌田専門委員 1ページに戻ってしまうんですが、今回のこれがもし、食品として認められたときに、アルコールをつくりますね。そのアルコールというのは、組換え酵素なんかだと、組換え製品となりますね。今回の場合はどうなるでしょうか。その扱いがわからないんですが。

○澤田座長 この点は、多分いろいろこれから問題になると思われる点で、今、はやりの燃料、バイオエタノールですか。バイオ燃料絡みでこういう製品が出てきたと思いますけれども、エタノールがきれいになって、それが食品として使われる。その場合に、組換え食品に該当してしまうか。

○鎌田専門委員 というか、要するにその範疇までなんだということの中で審査がされるのかどうかだけの確認だったんです。

○澤田座長 ただいまの点に関しまして、事務局か厚生労働省の方で何か見解がありましたらお願いします。

○鶴身課長補佐 その辺りについては、まだ深い検討はされていないということのようですし、エタノールの中にもありましたように、エタノール以外のスターチなんかも、今後検討されることもあるとは聞いております。

○澤田座長 これは、多分、このトウモロコシを原料にいろいろ加工品をつくることがあるということで、その場合、組換えを原料にしていろいろ製品をつくった場合に、今後、管理上どういう扱いにしていくか、そういう御質問だと思いますけれども、この点は、これから行政の方でも検討していただくということです。

それでは、今、7ページまで御質問をいただいていると思いますけれども、追加で宿主までコメントはございますでしょうか。

それでは「第4 ベクターに関する事項」で、8ページと9ページに関しまして、コメントがございましたらお願いします。

よろしいですか。

そうしましたら、続きまして「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」で、これは、ちょっと長いんですが、10ページから24ページまで、ここまでコメント、御質問がありましたらお願いします。

どうぞ。

○橋田専門委員 この遺伝子ですけれども、キメラになっていて、既存のものとは、やは

り構造的に違うと思われるので、きちんとした安全性の確認をするべきだと思います。しかし、この中を見ましても、再構築したときの、どういう根拠をもって、何を目的としてこのようなキメラをつくったのかというのは、どこにも記述がないので、その辺の説明をしていただきたいと思います。

○澤田座長 それは、再構成をかなりいろいろしてしまして、多分いろいろモデリング的なこともやったのかなと想像はできますけれども。その理由は、恐らく活性と耐熱性を維持していい酵素をつくるということを目的にしたんだとは思いますが。

○橋田専門委員 その辺りをきちんとした説明をしていただければと思います。

○澤田座長 その辺りのことをもう少し詳しく書いていただきます。

ついでに、93%のホモロジーがある BD5088 のことが書いてありまして、これとどの部分が相同かというデータを探したんですけれども、見当たらなかったのも、もし、あれば追加で出していただけるとありがたいと思います。

たしか、11 ページの上の 5 行目に、 $\alpha$ -アミラーゼ BD5088 が GRAS に指定されているところ、よろしいですか。

○浦野係長 わかりました。

○澤田座長 それから、先ほど五十君先生から御質問がありました、古細菌の情報なんですけれども、これは追加でもう少し出していただいた方がよろしいですか。

○五十君専門委員 10 ページの記載を見ますと、ライブラリーから取ってきたと書いてあって、どれぐらいきちんとした分類学的な議論をされているかがよくわからないので、そのところをもう少しきちんと書いていただいた方がいいのではないかと思います。

○澤田座長 それは、10 ページの①の後段の 3 行目にライブラリー云々が書いてありますけれども、ここをもう少し詳しく書いていただくということになりますか。

どうぞ。

○小関専門委員 そこのところは、全く同じ質問をしているんですけれども、さっき株というのを取った方がいいのではないかと言ったのは、これはメタゲノムライブラリーみたいな格好のものから取っている可能性があると思います。それだから、食品の安全性はどうかという問題とは全然別の話なんですけれども、どういうソースから取っているのか、すなわち株、菌を持っていない可能性があるんです。ですから、そこはきちんと書いていただいて、どういうふうにとった菌群、増殖させるなら増殖させた株として、そうであれば、株という記述を残してもいいんですけれども、そうでなければ、後の方の部分についても株という言葉は削除して、得られた断片の相同性から、この目に属すると考えられる

と、五十君先生が質問されたのと全く同じところできちんと記載していただく方が大事か  
と思います。

○澤田座長 もし、メタゲノムで混ざったままの DNA、そういうものから取った場合には、  
最初の方の書きぶりは、もう少し詳しく、そういうふうに書いていただかないといけない  
ということになります。

○鎌田専門委員 今回の件は、多分ここの書きぶりを見ると、一応菌としては *Thermococcus*  
であろうという菌が取れていて、その例えばリボソームとかを見ているので、一応、分  
類的には、こいつらしいといった上で、その菌から取ってきた DNA をライブラリーとして  
見ている、その中の  $\alpha$ -アミラーゼと見ていると、多分これはそういうことだと思います。

今の小関先生のは、多分もっともっと別で、本当にダイレクトに DNA を取ってきて、本  
当にメタゲノムとしてやったときに、その中のある特定の遺伝子がもともと何に属して  
いたか、 $\alpha$ -アミラーゼを見ても、多分わからない。わかるはずはないので、ですから、  
もし、ここを出していただくとしたら、多分単離されたであろう株が、どういう理由でこ  
こに属するという事になったのかという根拠をきちんと出していただいた方が、話とし  
ては見えやすいだろうと思います。

○澤田座長 要は、ライブラリーのつくり方をきちんと書いて欲しいということ。

○鎌田専門委員 そうです。今のように一度菌としては多分管理しているんだろうと思  
うんです。

○小関専門委員 私も似たような実験をやっているんですけども、フォスミドみたいに  
でかいベクターにたたき込んで、それで機能遺伝子を見つけておいて、そばの遺伝子を見  
て、それで相同性を見て、それが何由来かという属を同定することが可能になって、それ  
でやっているんです。

ということは、もうメタゲノムですと、そういう形でライブラリーのつくり方によって  
菌を全く無視でやってしまうケースもあるので、ですから、そこのところをどういうふう  
にして取ったんですというふうにライブラリーのつくり方とスクリーニングの方法がわか  
れば、確定すると思います。

○澤田座長 それでは、ただいまお話がありましたように、作製方法をもう少しきちんと  
記述していただくということにさせていただきます。

それでは、ほかに 24 ページまでで、追加でコメント等はございませんでしょうか。

どうぞ。



○鎌田専門委員 これもまた 24 ページの図の 7 の話に戻るんですが、そもそもこの間も言ったとおり、今回の 3272 系統というのは、どこからを認定してほしいのかというのが、相変わらずよくわからない。

市販のものは、そこの②以降でしたか、それを認めてほしいということで、市販のものは、それだと言っているんですが、例えば④が付いている、構成成分のデータを取ったのが、例えばそのラインから外れたところをもってきて、食品としての安全性評価をしておいて、それで売るものを認めろというのもすごく変な話で、全体のデータを見たら、多分大元まで戻って、3272 系統だといってもいいとは思いますが、そうしないと、売ると違うものを見ておいて安全性評価をしていることになって、非常に不整合が生じるので、そこら辺だけは、きちんとさせておいた方がいいのではないかと思います。

○澤田座長 どうぞ。

○山崎専門委員 私も似たようなことを後で言おうかと思ったんですが、鎌田先生がおっしゃったように、組換えの植物と掛け合わせる相手方が●●●種類あって、その●●●種類を全部商業品種として認めてほしいと言っているように読めるんです。

一方、この概要書では、示されているデータの試料が掛け合わせの相手が何かというのはわからないような形で書かれています。後ろの資料編を見ると、一応、各データの試料が何と掛け合わせたかというのはわかるんですが、しかし、●●●つの系統全部についてデータを出しているわけではないようです。

そうした場合に、ホモの組換え植物と非組換え植物の掛け合わせというのは、原則自由にやっつけていいよと考えて評価していくのか。それとも、ある特定の掛け合わせで得られた組換え系統だけを評価してそれを安全と承認するのか。その基本的な考え方をはっきりさせておかないと、この評価は少し難しいと思ったんです。

○澤田座長 一度承認した組換えと、別の商業品種との組み合わせは、それは OK なんですね。

この場合は、安全性を評価したポイントと、実際に基になる、どこから承認していただきたいかというポイントが非常に複雑で、ちょっとわかりにくい。

もし、幾つも幾つも承認してほしいのであれば、それぞれの系列で、全部データを出さなければいけないということになりますので、むしろいろいろデータがあるので、もう少し元に戻ってポイントを指定できるのではないかという気がしないでもないです。

○五十君専門委員 指摘としましては、このフロー図のどのものに対して、どれだけの安全性のデータを出しているかというのを整理したものを出していただければ、もう少し提

案ができるのではないかと思います。

○澤田座長 二度手間になるといけませんので、結局、どの段階から承認してほしいのかということと、その基の株というんですか、段階に関して、どのような安全性評価をしたか、表等で追加で出していただく。それでよろしいでしょうか。

○鎌田専門委員 大変微妙な問題なんですけれども、例えば 24 ページの表でいくと、T1 を 3272 だと言うんだというならば、多分非常にすっきりしていて、ここから下がどんな交配しても全部 OK ということになると思います。

それで、それぞれの安全性データは、それぞれの後ろの方、いろんなどころにわたっているにしても、全部 T1 の後のことなので、食品としての安全性もすべて評価されているというふうになると思うんですが、その場合に、T1 に対して何のデータもないというのが、実はおかしな話で、例えばサザンのデータでもいいから、確かにバンドが同じであると、ですから、あとは全部安定になっていて変わっていないんだというのが一番いいと思います。そのデータがもしないときに、どうするのか。あちこちばらばらのラインがあるけれども、少なくともサザン等のデータを見る限りは、明らかに変化をしていないので、さかのぼっていいか、多分そういう議論だけではないかと思います。

○澤田座長 似たような議論は、前にも何遍かありまして、結局、総合的に見ると、安定性に問題ないだろうとされた例はあったかと。

もう少し前にさかのぼっても。問題がないのではないかとというような議論はあったように思いますけれども、この場合に、このデータだけで T1 は OK ですよと言えるかどうかです。そうじゃないと、T1 を並べてサザンをやっていたかかないといけない。そういうことですね。

この点に関しまして、小関先生、いかがでしょう。

○小関専門委員 おっしゃるとおりだと思います。T1 のデータはないと、ちょっと難しいかもしれません。

というのは、例えば T0 で T1 にもっていったときに、これでは 1 か所に入っているだけですけれども、実は、もともと 2 か所に入っていて、それがセグリゲートされたもののデータが下に来ているとすると、ちょっと話が違うのではないかなってなる可能性があると思います。

ですから、そういう意味で行くと、最初の基の部分をきちんとしておいてもらった方が確実だと思います。

ですから、サザンをやろうとすると、すごく大変だということであれば、例えばこれは挿

入領域や何かがわかっているのですが、それで PCR をかけてみるとか、でも最低限はやっていただきたいとは思いますが。ただ、そうしたときに、別なところに入っていると、見えない欠点があるんです。

○澤田座長 そうしますと、その辺を含めて、一応聞いていただいてということになりますでしょうか。T1 のデータが出せるかどうか。

○浦野係長 商品化する世代としては、その 23 ページの一番下のところに書いてあるのはわかった。商品化する世代は、こうだけれども、安全性の承認をしてもらいたい世代はどこかということ、まず一点ははっきりさせて、次にはそれに対するデータをくださいという指摘になるのかなと思うんですけども、よろしいでしょうか。

○澤田座長 手続的には、そういうふうになると思います。

それでは、ほかにコメントはございませんでしょうか。

それでは、次の「第 6 組換え体に関する事項」と一緒に第 7 の事項で、25 ページから 88 ページまでに対しましてコメントをお願いします。

どうぞ。

○橋田専門委員 66 ページの記述が少しおかしいところがあるので、訂正していただきたいと思えます。下から 3 パラ目、ラフィノースを含むショ糖分解酵素である  $\alpha$ -ガラクトシダーゼとあり、ラフィノースが基質になるという意味だと思うのですが、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼは、ショ糖分解酵素ではないと思うので、その辺を確認して修正していただきたいと思えます。

○澤田座長 ショ糖という言葉がおかしいのではないかとということですね。

○橋田専門委員 そうです。

○澤田座長 確認して修正くださいということですね。

○橋田専門委員 はい。

○澤田座長 どうぞ。

○鎌田専門委員 これは、また全然違う話で、36、37 ページ辺りのところで、近傍配列ということについて、いろんな記載があるんですが、一般的に言うと、1 つは、TATA と CCAAT box がないと、転写はされないんじゃないかという結論だけれども、最近では TATA レスの遺伝子もいっぱいあるので、これで断定してもらっては困ると私は思うんです。その上で、近傍配列について、例えばそこから転写が起こらないんだったら、起こらないということ、言うには、多分一般にこうだからということでは、多分言えないと思うので、やはり何らかのちゃんとした根拠がほしいということだと思います。

本来だったら、そこら辺の配列データもあってしかるべきかと思うんですが、周辺の配列データは、ここには出してきていないということもあるので。

○澤田座長 どうぞ。

○飯専門委員 関連して、同じところが気になったんですけれども、もともと安全性の評価のところ、意図しないオープンリーディングフレームがあるかどうかという中には、ノーザンブロッティング法あるいは RT-PCR 法を検討することということが書き込まれているので、その点に関しては、全く記載がない。

単に塩基配列だけからしているんですけれども、今、鎌田先生が言われたのと同じように思いまして、TATA とか CCAAT とかというのは、必ずしもすべてのプロモーターを示しているわけではないし、そこまで、今、アルゴリズムが進歩しているわけでもないということで、ダイレクトには、そこで転写が起きているかどうかを見るのが、恐らく一番簡便で確実な方法だと思うので、そういうデータが必要なのではないかと思います。

○澤田座長 要は、TATA box らしきものがあるのがいけないわけですね。

○飯専門委員 ですから、その記述だけで断定しようとする自身、やはりサイエンティフィックには無理があるということだと思います。やはり実験データとして本当はほしいということだと思います。

○澤田座長 多分ポイントは、インサートが入って、遺伝子の破壊、プロモーター領域の遺伝子が寸断された可能性がないかというのが、一番気になるかと思いますが、それを言うのに一番いい方法は、ありますか。

○飯専門委員 恐らく今だったら、ごく簡単だと思います。そこで基となる配列がわかっていますし、そこで DNA 上転写が起きているところなのかどうかを知ることは、比較的容易だと思います。

転写が起きたときに、初めて、そこでどういうオープンリーディングフレームが形成されるのかというのは、ダイレクトなデータとして予測できるので、コンピュータでオープンリーディングフレームがある可能性があるというよりも、転写された RNA の配列を見た方が非常にすっきりすると思います。技術的にはそんなに難しくなっていない時代になっております。

○澤田座長 TATA box の下流のシーケンスを。

○飯専門委員 というか、TATA box とか配列は、この議論はあまりあってもしょうがないと正直思って、これはあくまでプロモーターになり得るようなものが配列を見たときに考えられたかというだけであって、当たるかもしれないし、当たっていないかもしれないと

いうことで、それよりは、もっと上から転写が来ているかもしれないし、転写がそこで起きているかどうかということの方が、多分大事な話であって、そこから転写がプロモーターであるかどうかということは、実はさほど問題なことではないような気がします。

1つは、そこは挿入が入ったことによって、何らかの遺伝子が壊れたかどうか。でも記載を見る限り、ホモロジーはないようなので、たとえ遺伝子があったとしても、それは多分推論ができなかったんだと。そうしたら、次は転写が起きているかどうかということで、そこに何らかの別の遺伝子がある可能性、別の見方で想像ができてくると思うんです。

○澤田座長 まず、ORF が同定されないと、転写を見るのは難しいですね。

○鎌田専門委員 一番単純なのは RT-PCR で、ちょうど入れた、ジャスト周辺のところだけを増幅してみれば、転写が起きているかどうか一般的にはわかるので、どんなペプチドになるかわからないけれども、少なくとも転写物があるかどうかはわかるので、それだけでもかなり情報としてはいいと思うんです。

○澤田座長 では、それだけやればよろしいですか。要は、38 ページの一番上の図のインサートが入る前のところの周辺をプライマーにして。

○飯専門委員 結局 ORF と言っても、やはりどこでスプライシングが起きているかということは、やはり想像し切れないので、それよりは RNA としてのプロダクトの配列を見た方がより確実で、しっかりとした安心を与える結果が出せると思います。

○澤田座長 どうぞ。

○丹生谷専門委員 今、議論になっている点の確認求めることに対しては、特に反対する理由はありませんけれども、今までにそういう挿入した部分、近傍配列を明らかにすることということはやっておりましてし、その近傍のところには ORF があるかどうかを調べるということはやっていました。

しかし、更にそこから RT-PCR まで常に求めていたわけではないので、今、飯専門委員がおっしゃった RT-PCR というのは、評価基準に書いてあるのは、それは導入遺伝子で意図せぬタンパク質ができるかどうかを、その疑問を除外するために RT-PCR 云々と書いてあるわけで、近傍配列に関しては、そこまでは書いていないということは言えます。

○澤田座長 今回、ちょっと今までと違う点は、TATA box 云々の記述がかなり申請書に書いてあるがゆえに、こういう話になったのかと思います。

どうぞ。

○小関専門委員 結局、今までやってきたことを整理すると、ここで1つ書いていないことは、どういう方法で近傍配列をクローニングして決定したかということは、どこにも書

いていないんです。それは記載していただきたい。普通、それを書いていただいていた。

それで、その中に ORF があるかどうかということを確認してもらっていたと思います。それについて、ここは何も書いていないんです。それで、プロモーターがどうだこうだというから、一番大事なことを抜いておいて、こうなっているところ自身がおかしいので、そのところを解析をもう一度きちんとやって、その近傍配列に ORF は、50 アミノ酸以上の長さという、ちょっと長過ぎると思うので、30 ぐらいで続いたフレームがあるかどうかというのを、両方向で調べてもらって、それでありませんと。そうすると、恐らく近傍には遺伝子がありませんということで、そこに遺伝子はなかったということが言えるという形で、今まで、たしかそういうふうにしてきたと思うんですけども、ちょっとその部分が全然とんちんかんなことを書いていると私は思います。

○澤田座長 基本的なこととして、どのぐらいの長さの近傍配列を決定したかという情報が書いていないですね。

○小関専門委員 後ろにたしか 1 キロというのであったんですけども、それをどう解析してそこにどういう ORF があるか、ないかというのは全く書かれていなくて、ましてやそれをどうクローニングしたかも書かれていないので、今までは、そういう情報は全部明らかにされていたと思いますので、そこははっきりさせてほしいと思います。

○澤田座長 まず、ORF があるか、ないかをシーケンスで確かめた内容を、もう少し方法論を含めて詳しく書いていただく。

それで、ORF に関しましては、50 では長過ぎで、30 ぐらいにしろと通常は指摘されておりました。

それで、もし ORF が 1 キロ以内になれば、TATA box の問題はどうなりますか。やはり一応気にした方がいいですか。

○小関専門委員 今まで、そこは 1 キロぐらいを見ていれば、その近くに遺伝子があることは、それほど考えられないだろうということで、そこは何も触っていなかったと思います。言及していなかったと思います。

○澤田座長 では、その場合には PCR までやる必要はないと。

どうぞ。

○鎌田専門委員 昔こういう例があったと思うんですが、やはり非常に境界配列を超えてまで読み進むことの可能性があるようなバウンダリーになっていたことがあって、それについて転写物を調べたら、弱いながらもあったというようなケースがあって、そうすると、

ではどんなものができ上がって、それは本来の挿入遺伝子から来るペプチドの配列なのか、全然違う、フレームがシフトしたような変な格好になっているのかということが、逆に議論になって、そうすると、アレルギー毒性という問題がまたそこで出てきてしまう。

バウンダリーを超えて転写が起こるかどうか、多分一番大きな問題で、そこだけきちんと確認してくださいと、それだけだと思っんです。周りにどんな遺伝子があったって、基本的には関係ないだろう。そうではなくて、バウンダリーを超えて転写、翻訳されるのが一番危険性がある、そういうことだけだと思います。

○澤田座長 要は、配列をもう少しきちんと説明する。

どうぞ。

○宇理須専門委員 57 ページ、58 ページのところの「①AMY797E $\alpha$  -アミラーゼタンパク質」というところですけども、ワモンゴキブリと Per a 3 と 8 個のアミノ酸で一致したというデータがございますね。彼らはこれに対して、Wu という人の Per a 3 の IgE エピトープを同定したという論文を引いています。そのエピトープと 8 つのアミノ酸が一致しないから大丈夫だろうという結論を導き出しているんですけども、この Wu という人の論文を見てみますと、資料の厚い方の W のところの一番最後の論文を一度見ていただくといっんですけども、この Wu という人は、どうやってエピトープを決めたかと言いますと、オーバーラップ合成ペプチドで網羅的にやるのが一般的なんですけれども、彼らはそういうことをしていないんですね。Wu という人の論文の 990 ページのところ、彼らはフラグメントも大腸菌か何かでつくらせているんです。つまり、オーバーラップではなくて、一部オーバーラップもしているんですけども、オーバーラップしていないところもたくさんあります。

それで、8 つのアミノ酸、58 ページの方に載っているんですけども、これを数えてみますと、631~638 番目なんです。ですから、ここが大丈夫ですよということを言うためには、この 8 つを含む分画で検討されていなければ、IgE 結合能はないということは言えないわけですけども、彼らの検討したものが Figure の 4 に載っているんですけども、631~638 は運が悪いことに、ちょうど真ん中で切れているんです。

これを見ていただくとわかりますけれども、595~636 のところには、IgE エピトープがイムノプロットでも ELISA でもプラスですけども、636~685 というところは、イムノプロット、ELISA でもマイナスになっているんですけども、彼らが言っている 631~638 というのは、ちょうどここで切れているんです。

ですから、オーバーラップで網羅的にやってあれば問題ないでしょうけれども、残念な

がらこの Wu さんがやった方法では、ここの部分は大丈夫ですよということを証明しているわけではなくて、少なくとも彼らが検討したフラクションの中で IgE エピトープを検討して、このアミノ酸配列がエピトープとして大事ですよということを言っている論文でして、すべてのエピトープを検討したわけではないのです。

そういうことからすると、彼らが Wu さんの言う IgE エピトープとは一致していないから、この 8 つは大丈夫ですよという結論には結び付かないということになります。この Wu さんの論文を引いた証明というのは、論理的ではないことになります。ですから、この部分を削除した方がよいと思います。

もう一つは、PMI タンパクの方もカエルの 8 つで一致するとしています。これは前回も出てきたものですが、IgE 結合能を患者血清で見えています。一方、AMY797E の方は、この論文を根拠にして IgE 結合能を見えていません。

そういう意味で、ちょっと片手落ちの気がします。AMY797E という方も、もう少し検討してもいいんじゃないかと思いました。

というのは、ワモンゴキブリ特異的 IgE 抗体陽性血清は、カエル特異的 IgE 抗体陽性血清よりは入手しやすいと思います。少なくとも Wu さんの論文のところは論理的ではないので削除した方がいいんじゃないかと思いました。

○澤田座長 どうぞ。

○手島専門委員 今まで 8 残基のアミノ酸が一致した場合には、可能であれば、患者さんの血清との反応性というのを求めてきた経緯がありますので、今回も可能な限り血清との反応性というのを求めた方がよろしいのではないかと思います。

○澤田座長 8 残基一致している例はあまりないんですけれども、この場合には今まで患者さんの血清との反応性を見ていただいていた。それを理論的にエピトープではないというには根拠が少し足りないので、一応、ゴキブリアレルギーの患者さんの血清を使って、反応性はないことを一応見ていただくことになります。

それで、記述の方ですけれども、これは全く削除するか、ただし、欠陥がある旨を書くか、それはどちらにした方がよろしいですか。あまり書いてもインフォーマティブではないのか。

○宇理須専門委員 そうですね。もう一つ、ちょっとコピーなので見にくいのですが、Wu さんの論文の 988 ページのところなんですけれども、彼らは、イムノブロットで、M というレーンが 636~685 という 8 つのアミノ酸を最も含むフラクションですが、このフラクションは IgE 結合能はないと言っていますが、M のレーンにも私にはバンドが見えます。イ



ンヒビションがかからなかったということを根拠に、IgE 結合能はないとしているようです。ちょっと印刷が悪いので、はっきりわからないんですけども。

もう一つ、彼らは 12 ぐらいの患者血清でエピトープと言っています。10 人強では少ないのではないかと思います。主要なエピトープというのは、無限の患者さんを想定して、そして無限の患者さんの中の 5 割以上反応する IgE 結合能を持った部分を主要なエピトープと言います。

無限は不可能なので、可及的に多くの血清で行うことになりますが、30 とか、それに近い数でやらないと、説得力がないと思います。もう少し検討してほしいと思います。

そういう意味で、この論文だけで議論するのは、無理があるのではないかと思います。

○澤田座長 それでは、そういうことでよろしいですか。要するに追加でデータを出していただく。

どうぞ。

○石見専門委員 専門外なんですけれども、45 ページの PMI タンパク質のことなんですけれども、AMY797E $\alpha$  -アミラーゼの方は、実際に穀粒から抽出して、いろいろな性質を調べているんですけども、PMI タンパクの方は、それができないので、発現系からというふうに書いてあるんですけども、これはよろしいのでしょうか。本来ならば、実際につくらせて、それを調べるべきことではないかと思ったんですけども、今までの経緯は何かあるのでしょうか。

○澤田座長 どうぞ。

○手島専門委員 植物等から抽出してくるのが量的に難しいという場合には、大腸菌で発現させる系で、量的に取るということはやられてきたことで、ただし、植物で発現しているものと、大腸菌とかで発現しているものが、物理化学的にあるいは酵素学的にも同等の性質であるということの条件の下で、そういう大腸菌の発現させたものをいろんな試験に用いるということはやってきております。

○石見専門委員 ありがとうございます。

○宇理須専門委員 もう一つよろしいでしょうか。

○澤田座長 どうぞ。

○宇理須専門委員 48 ページの PMI タンパク質の人工胃液のデータなんですけれども、この図の 19 ですけども、これはどういうふうに見ていいのかが、ちょっとわからなかったのですけれども。

○橋田専門委員 ちょっと見てみたんですけども、私も非常に不信に思って確認したら、

どうも 0 分というよりも、人工胃液を入れてそこから直後にとったものをサンプルとしているようです。

ですから、厳密には 0 分ではなくて、反応が一瞬進んでしまったものを取ってサンプルとしているようです。本来だったら、差し替えていただいてもいいのかなと思うんですけども、内容的には何となくわかるかなと。

○宇理須専門委員 ただ、そのときに、これは一番濃いですね。

○手島専門委員 ペプシンのバンドが、ちょうど重なっていますね。

○橋田専門委員 ペプシンと重なっているんです。重なっているというか、分子量的に非常に近いところにあるんです。

○澤田座長 済みません。今のは図 19 ですね。その一番左端。

○手島専門委員 1 X と書いてあるところなんです。40 キロぐらいのところバンドが見えるんですけども、これはペプシンのバンドです。

○橋田専門委員 厳密に言うと、図の 23 も同じような実験系を組んでいて、0 分のところを反応を止めてからではなくて、消化液を入れてすぐにサンプルを取っているような状態なので、やはり厳密には説明とは一致しない図です。

○澤田座長 データ的には、よろしいんですか。

○手島専門委員 そうですね、0 分でも本当に入れて直後に分解するということを言っているので、内部的な資料としてはいいかと思うんです。厳密には 0 分と入れないんですけども。

○澤田座長 図の説明に明記した方がいい。

○手島専門委員 はい。たしか、消化酵素を入れた直後に分解するというのは、どこかに表現があったと思ったんですが。

48 ページの上から 2 行目でしょうか。PMI タンパク質は、反応開始直後から容易に分解され、標準よりも 1,000 倍低いペプシン濃度の SGF 中で、2 分間の反応で小さな断片に分解されたとあるんですけども、この反応開始直後から分解されていくことが、0 でも分解されているという表示で、図では見えてきているんだと思うんですが、もう少し説明してもらおうようにした方がよろしいですか。

○澤田座長 本文の方は、これで間違いではないんですね。要は 0 分の説明が 0 ではおかしいということに尽きるわけですね。

○手島専門委員 ちょっと図の方に説明を入れてもらったらいかがでしょうか。

○丹生谷専門委員 正直に実験をやったらこうなりますけれどもね。

○手島専門委員 そうなんです。4℃でやっても、本当に分解するときは分解してしまうんです。

○澤田座長 そこは確認していただいて、ちょっと書き直していただくということにしたいと思います。

○手島専門委員 別件でよろしいでしょうか。

○澤田座長 どうぞ。

○手島専門委員 45 ページの真ん中のパラグラフなんですけれども、この物理化学的試験に用いたタンパク質のことなんですけど、真ん中のパラグラフの2行目のところで、アミラーゼ標品中の AMY797E $\alpha$  -アミラーゼの純度は、重量比で約 42%と換算されたとあるんですけども、最初は、これは何か純度が低いなと思って、添付書類を読んでいたんですけども、トータルタンパクの中のアミラーゼとしては 91%あって、標品としているときのアミラーゼの含量が 42%ということですので、これは「純度は」とあるんですけど、トータルタンパクとしては、何%ぐらいの純度なのかということも中に入れていただきたいと思います。

それから、N-末端アミノ酸配列分析よりこの AMY797E $\alpha$  -アミラーゼは、 $\gamma$ -ゼインシグナル配列が付加したものとあるんですけど、これは $\gamma$ -ゼインシグナル配列が開裂したものが 60%で、(2)  $\gamma$ -ゼインシグナル配列が開裂して、更に1アミノ酸取れたものが 40%という表現になっているので、ここも訂正をしていただきたいと思います。

○澤田座長 2行目の重量比云々は、ちょっと確認していただいて、タンパクレベルでの重量比。

○手島専門委員 タンパクレベルの純度はどれぐらいかということも記述をしていただきたいと思います。

○澤田座長 それから、40%と 60%は入れ違えばいいということですか。

○手島専門委員 1番の $\gamma$ -ゼインシグナル配列が取れたものが 60%で。

○澤田座長 日本語の方を直さないといけない。

○手島専門委員 更に添付資料によりますと、 $\gamma$ -ゼインシグナル配列が取れて、更に1アミノ酸切れたものが 40%という表示がありましたので、見た目からすると、このタンパクは非常に均一に見えるんですけども、1アミノ酸を取れたのがあるという表現がありましたので、そこを直していただきたいと思います。

○澤田座長 そこは訂正していただくということですのでお願いします。

ちょっと時間が予定よりも超過しまして、ほかにコメントがないようでしたら、この辺

りで。

○小関専門委員 済みません、細かいところで、字句の訂正ですけれども、22ページのターミネーターのところの記載が「ポリアデニル化配列」と書いてあるんですけれども、ここはどちらかというところ、ポリアデニル化シグナルを含む配列という方が、後で概要書のところに張り付ける文章になると思うので、ですからポリアデニル化シグナルを含む配列というふうに、多分書き直してもらった方が、私はいと思います。

もう一つ、図の27のタイトルが、アミノ酸配列整合性となっているんですけれども、これはアライメントを日本語に直したつもりなんですけれども、これはアライメントというふうに直してください。伝えてください。整合性という日本語ではあまり使いませんのでね。

以上です。

○澤田座長 それは、御指摘のとおり直していただくということで、ほかにございますか。

どうぞ。

○石見専門委員 細かいことなんですけれども、68ページの影響成分の表に「総脂肪」と書いてありますが、そこは脂質の方が自然ではないかと思いました。

次の表ですが、70ページも「総脂肪」というふうに書いてあるんですけれども、ここも通常は脂質というふうな使い方をするので、直した方がいいかと思います。表は栄養素としては、全部「総脂肪」というふうに書いてあるので、そこも訂正した方が良いと思います。

それから、78ページですけれども、下の段のビタミンE、 $\beta$ -トコフェロール、 $\gamma$ 、 $\delta$ 、総と書いてあるんですけれども、恐らくビタミンEは、 $\alpha$ のことではないかと思われるんですが、実際、77ページの分析結果の方では、 $\alpha$ -トコフェロールと、 $\gamma$ -トコフェロールになっていますので、こちらの文献値の範囲の方も、恐らく $\alpha$ ではないかと思われるので、もし $\alpha$ であれば、 $\alpha$ と明記した方がいいのではないかと思います。

細かいことですが、以上です。

○澤田座長 今、御指摘のところは、一応、確認して直していただくことにしたいと思います。

○澁谷専門委員 アミラーゼを形質転換体に入れているということで、できればというのがありますが、1つは、ここでも言われているように、プロモーターやシグナル配列を使い分けて、デンプンと分けているので、多分代謝されていないとは思いますが、デンプンの含量だけ調べるのではなくて、もし、データがあれば、可溶性の糖のデータがあると、

そっちの方が鋭敏なはずなんです。

ですから、可溶性の糖、それからその中身のデータがあれば出してもらうと、よりそこが明確になると思うんです。それが1つ。

もう一つは、食品の方から見たときに、これこそ非常に耐熱性が高くて、私らもいじったことがあるんですが、オートクレーブでも死なないぐらい頑丈なんですけれども、特に基質があると。

ということは、つまり食品として考えると、我々は普通にクッキングして食べたら、生きているアミラーゼを食べることになるんです。

問題はないと思うんですけれども、一応、そういう活性がある酵素を食べるのだけれども、そう考えても問題がないという議論を簡単でいいから付けておいてもらった方がいいかなという気がします。

○澤田座長 わかりました。今の点は重要なポイントかと思いますので、耐熱性酵素を、今まで食経験があまりない耐熱性酵素を食べるということに関する安全性の考え方。それをちょっと説明していただくということ。

あと、デンプンがデンプンのまま貯留されているか、アミロースかアミノペクチンかわかりませんが。

○澁谷専門委員 ですから、デンプンのトータルで見ると、量が多いのでわかりにくいんですけれども、部分的にでも壊れれば、小糖類とかはできるはずですね。ですから、そういうものの方が鋭敏なはずなので、担保する意味では、もし、そのデータがあれば、よりいいだろうという感じがします。

○澤田座長 では、デンプン自身の定量値はあるわけですから、その分解物的なものの分析値があれば出してくれということですね。

○渡邊専門委員 ちょっと関連して同じことを思ったんですけれども、もう一つこの酵素が耐熱性をうたっているんですけれども、常温で働くかどうかというのが書いてあったか読めなくて、今、澁谷先生がおっしゃったところを常温で効くのであれば当然関わってくる、高温で初めて効くのであれば、考える必要はない。それはまずあり得ないと思いますけれども。

○澁谷専門委員 多分常温でも効いて、ピークが耐熱性の方にあったり、安定性が高いとか、そういうものです。常温でも当然働くはずだと思います。

○渡邊専門委員 ちょっと何かいただくといいかなと思いました。

○澤田座長 どうぞ。

○浦野係長 今回の議論ですけれども、酵素活性のことについては、今、先生方が見ている概要書の次の補遺の1のところのテストレポートの7分の6、6のところにある表があって、一応、温度ごとの酵素活性が載っております。

○澤田座長 どうぞ。

○鎌田専門委員 今回の澁谷先生の議論とも関わっているんですが、私は、今回これを見ていて非常に、日本でトウモロコシを食べるときにどうやって食べるかなと考えると、例えばスイーツではないからいいですが、例えばスイーツだと、普通は煮沸して反応を止めて、要するに酵素活性をなくすことで長持ちさせたり、いろいろ使ってきているのに、多分これは止まらないので、そういう使い方をすると、品質がどんどん変わってしまうということになりかねないので、食品としての品質保持という意味でも、かなり違う考え方をするか、そこら辺をきちんと議論しておかないと、実はこれが出回ったときに、すごく早く腐敗して、食中毒が出ましたなんて話にはなってほしくないと思いました。

○澤田座長 恐らく加工する前は、デンプンのアミラーゼのある場所と、デンプンが貯蔵している場所が違いますので、ですから、それほど劣化しないのかなと思うんですけれども、例えば熱をかけたりなんかして壊れると、その場でもう分解が始まる可能性が高いと思いますので、そういう意味では食品として、むしろあまり使われない。

ただ、ここに出てきた限りは、食品として混じって我々が食べても、安全性上は問題ないという点を評価してくれということになるのかと思います。

ほかにありませんでしょうか。

それでは、時間も大分経ちまして、ただいま各先生方からいただきました御意見、確認事項を指摘事項案としてとりまとめまして、御確認いただいた上で、厚生労働省を通じて申請者に対し指摘を出したいと思いますが、よろしいでしょうか。

それでは、議題1と2につきましては、終わりたいと思います。議題3のその他で事務局から何かありますか。

○鶴身課長補佐 特にございませぬ。

○澤田座長 ありがとうございます。では、本日の議題については、これで終了いたしました。

では、今後の予定等につきまして、事務局からお願いします。

○浦野係長 先生方の御日程を調整させていただいた結果、次回は2月18日月曜日の午後14時からが一番御都合がよろしいと思いますので、先生方におかれましては、日程の確保方、よろしく願いいたします。

○澤田座長 それでは、次回、2月18日月曜日ということで、よろしく申し上げます。

以上をもちまして、第56回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。熱心な御討議をありがとうございました。