

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第 67 回 会 合 議 事 録

1. 日時 平成 21 年 1 月 27 日（火） 13:59～16:53

2. 場所 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

- ・除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズDP-356043-5（飼料）
- ・除草剤グリホサート耐性ワタGHB614 系統（食品・飼料）
- ・耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ3272 系統（食品・飼料）

(2) 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、山崎専門委員、渡辺専門委員

(食品安全委員)

見上委員長、廣瀬委員、本間委員

(事務局)

栗本事務局長、大谷事務局次長、北條評価課長、猿田評価調整官、鶴身課長補佐、松尾係長

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

- ①除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズDP-356043-5（飼料）

- ②除草剤グリホサート耐性ワタGHB614 系統（食品）
- ③除草剤グリホサート耐性ワタGHB614 系統（飼料）
- ④耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ3272 系統（食品）
- ⑤耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ3272 系統（飼料）

参考資料 安全性評価に係る指摘事項について

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

## 6. 議事内容

○澤田座長 ちょっと早目ですけれども、ただいまから「第 67 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。

本日は所用によりまして、山川専門委員、和久井専門委員は御欠席とのことです。

本日の議題は、継続審査品目であります「除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ DP-356043-5（飼料）」。

それから、新規審査品目であります「除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統」、これは食品と飼料です。

継続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」、これは食品と飼料の安全性の審査となります。

それでは、お手元の資料の御確認をいたします。事務局からお願いします。

○猿田評価調整官 資料の確認をさせていただく前に、先日事務局幹部の人事異動がございましたので、御紹介させていただきます。

1月5日付けで事務局次長が日野から大谷に代わりましたので御紹介いたします。

○大谷事務局次長 大谷でございます。よろしく願いいたします。

○猿田評価調整官 それでは、議事次第に基づきまして、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、

資料としまして「食品健康影響評価に関する資料」。

それから、参考資料といたしまして「安全性評価に係る指摘事項について」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、ファイルにとじまして、先生方の机の上に載せていただいております。これら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、次回また御用意させていただきます。

不足等ございましたら、事務局までお知らせください。

お手元の資料のほかに、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御確認いただき、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、非公開での審査を行います。

会議は非公開となつてございますけれども、国民への説明責任、それから透明性の確保の観点から、開催予定日時等は公開いたしまして、会議が非公開であることを明示してございまして、今後、情報提供として議事録を作成し、企業の知的財産を侵害する恐れのある箇所などを削除した上で速やかに公開させていただきます。

また、審議に用いた各種の試験結果概要、それから、評価結果をまとめた評価書（案）というものを作成いたしまして、食品安全委員会の方へ報告して公開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 それでは「除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ DP-356043-5」これは飼料でありますけれども、この審査に入らせていただきたいと思えます。

食品につきましては、昨年12月の第65回の専門調査会におきまして、回答書、評価書（案）について御審議いただいたものであります。

資料に移る前にあらかじめ御報告させていただきますが、食品につきましては審議の結果、ダイズの中に有意に増加したN-アセチルアスパラギン酸につきまして、脳内濃度の確認、カナバン病の原因に関する回答書の記載、その他評価書の記載につきまして、御担当の先生と私で確認することとなっております。

確認いたしました結果、安全性の上で問題がないことが確認できましたので、一部評価書を修正の上、食品安全委員会へ報告いたしました。

以上、御報告させていただきます。なお、現在パブリック・コメントの募集中とのことです。

本日は飼料としての安全性を確認し、安全性に問題が残る場合は指摘をいたしまして、安全性に問題が残らない場合は評価書（案）の審査に移りたいと思えます。

それでは、事務局から御説明をお願いいたします。

○鶴身課長補佐

申請者の資料に基づきまして御説明をさせていただきたいと思ひます。

お手元にブルーのファイルの「遺伝子組換え飼料『除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ DP-356043-5』の安全性評価について」、日付は平成 20 年 1 月 21 日となっておりますけれども、こちらを御用意いただきたいと思ひます。

2 ページ「1. 本飼料の概要」ということで、「①品目名」は「除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ DP-356043-5」。

「②飼料の特徴」といたしましては、本組換えダイズについては除草剤グリホサート耐性を付与するための *gat4601* 遺伝子及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性を付与するための *gm-hra* 遺伝子が導入されているというものです。*gat4601* 遺伝子につきましては、GAT 4601 タンパク質をコードし、そのパラグラフの最後の方になりますけれども、除草剤グリホサートをアセチル化して、EPSPS 活性を阻害しない N-アセチルグリホサートに変えることで耐性を付与する。

次のパラグラフにまいりまして、*gm-hra* 遺伝子については、GM-HRA タンパク質をコードして、除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤の影響を受けず、本剤の存在下でも ALS 活性を示すことで耐性を付与するものとなっております。

次のパラグラフにまいりまして、主要構成成分、それから脂肪酸、アミノ酸等の分析を行った結果、ヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸、それから N-アセチルアスパラギン酸、N-アセチルグルタミン酸を除き、非組換えダイズの分析値と同等か文献値の範囲内であった。

有意差が認められたヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸、N-アセチルアスパラギン酸、N-アセチルグルタミン酸についてダイズの油かす、飼料としての主なものですが、ダイズの油かすにおける含有量を分析したところ、記載のとおり微量であったというものでございます。次のページにまいりまして、以上、従来のダイズとの間の相違につきましては、新たに産生されている GAT4606 タンパク質及び GM-HRA タンパク質により、除草剤に対する耐性が付与されたこと。それからヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸、N-アセチルアスパラギン酸、N-アセチルグルタミン酸が有意に増加をしていたということである。

③飼料としての使用方法ですが、これは従来と変わらない。

「2. 遺伝子組換え飼料としての安全性」ですが、記載の遺伝子組換え飼料の安全性評価の考え方、当調査会で作成いただいております考え方に基づき、記載の①②③に従い検討がされております。

下から 2 つ目のパラグラフになりますけれども、本組換えダイズ中には GAT4601 タンパ

ク質それから GM-HRA タンパク質が新たに産生されている。一般的に挿入遺伝子及びタンパク質が肉、乳、卵等の畜産物中に移行することは報告されておらず、本挿入遺伝子それから GAT4601 タンパク質及び GM-HRA タンパク質についても、肉、乳、卵等の畜産物中に移行する可能性は考え難い。

上述のように、ヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸、N-アセチルアスパラギン酸及びN-アセチルグルタミン酸が非組換え体に比べて増加していたが、いずれの成分も本組換えダイズ中に新たに産生された成分ではなく、従来から牛肉、豚肉、鶏肉、卵、牛乳等に含まれており、ヒトは種々の食品を介して、これらのものを摂取していることが確認されている。

これらのことから①及び②の可能性は考え難い。

また、本組換えダイズを用いてブロイラーの飼養試験、それからラットの90日試験を行った結果、特に毒性的な影響は認められなかったことから、③の可能性も低いと考えられたとされております。

以上のことから本組換えダイズを用いた遺伝子組換え飼料を摂取した家畜に由来する畜産物について、安全上の問題は生じないと考えられた。

「3. その他」としまして、グリホサートそれからアセト乳酸合成酵素阻害剤を実際に散布して、農薬の残留値について基準値を超えないかどうかについて検討がされております。

いずれも登録使用基準の最大使用回数及び最大薬量で散布をしてダイズ穀粒中のグリホサートとそれらの代謝物について測定がされております。

次のページにまいりまして、グリホサートの残留試験の結果ですが、穀粒中のグリホサート及び代謝物の残留値の合計は、最大で6.2ppmであった。

また、登録使用基準の最大薬量の5倍量を散布した場合でも、穀粒で3.4ppm、ダイズ油かすで2.4ppmであった。

我が国における食品用のダイズですけれども、その残留基準値は20ppmであって、それらを下回っている。

それから、アセト乳酸合成酵素阻害剤は、クロリムロンエチルを散布しておりますけれども、いずれも検出限界未満であったということでございます。

③結論といたしまして、グリホサートを登録使用基準の最大回数、最大薬量で使用した場合、我が国の基準値を超えないことが確認された。

6ページの中ごろになりますけれども、グリホサートの代謝物N-アセチルグリホサー

トの安全性については、2008年3月に米国EPAにおいて、毒性学的にグリホサートと同等であるというようなメモランダムが出されているということです。

一方、アセト乳酸合成酵素阻害剤であるクロリムロンエチルを登録使用基準の最大回数、最大薬量で散布した場合も検出限界値未満であった。

以上のことから、農薬残留に関連する安全性上の問題はないと考えられたとされております。

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。

それではただいまの審査資料につきまして、先生方からの御意見、コメントをお願いしたいと思います。御意見がありましたらどうぞよろしく願いいたします。

特にございませんでしょうか。

○澁谷専門委員 1点確認しておきたいのは、4ページの2番目のところ「新たに産生されたタンパク質及び上記4つの成分も含め、安全性が評価されており」というのは、食品の成果を下敷きにしてこういうことになっているということではないのでしょうか。

というのは、これが書いてある申請書と書いていないのがあって、食品が終わらないうちはこういうふうに書きにくいと思うんです。これは食品の安全性評価が終わったのを受けた申請書ということではないんですか。

○澤田座長 そういう解釈でよろしいと思います。

○鶴身課長補佐 はい。いいです。

○澁谷専門委員 今日、やるかやらないかわかりませんが、アミラーゼなどこういうふうになっておりませんし、そこら辺の申請者のロジックのつくり方の問題で、出すタイミングとのあれでなっていると思うんです。ちょっとそのところを整理していただければと思います。

○鶴身課長補佐 一番最初に提出されたときと、実はこれは訂正がかかっておりまして、再送させていただいていると思うんですが、その時点でこういうふうになって、基本的には食品が終わっているという前提で書かれているということです。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。

それでは、ほかに特段の御意見はないようですので、引き続き評価書（案）の方の審査を行いたいと思います。

事務局から御説明をお願いいたします。

○鶴身課長補佐 お手元にお配りしております資料に基づきまして御説明をさせていただきます。

きたいと思います。1枚めくっていただきまして、①が本組換えダイズの飼料としての評価書（案）となっております。ページでいきますと4ページをおあけください。

「I. 評価対象飼料の概要」ということで、名称、性質、申請者、開発者は記載のとおりとなっております。

「除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ DP-356043-5」については、除草剤グリホサートに耐性を有する改変 GAT4601 タンパクを発現する改変 *gat4601* 遺伝子、それからアセト乳酸合成酵素阻害剤に対し耐性を有する改変 GM-HRA タンパク質を発現する改変 *gm-hra* 遺伝子が導入されたダイズである。

一般にダイズの飼料としての利用は、ダイズ油かすであり、本組換えダイズもその利用方法は同様である。

相違点といたしましては、改変 GAT4601 タンパク質及び改変 GM-HRA タンパク質の発現によって、除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素を阻害する除草剤を散布しても、その影響を受けない点及び種子中にN-アセチルアスパラギン酸、N-アセチルグルタミン酸、ヘプタデカン酸並びにヘプタデセン酸の含有量が有意に増加している点である。

食品健康影響評価として、(a) 本組換えダイズについては、除草剤の形質を付与したものである。なお、除草剤耐性の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、挿入された遺伝子又は当該遺伝子によって産生されるタンパク質が畜産物に移行することはこれまで報告されていない。

(b) といたしまして、本組換えダイズについては、食品安全委員会において、食品の安全性評価基準に基づき評価を終了している。この点につきましては、食品の安全性評価が、最終的に終了された時点で記載をさせていただきたいと思っております。

このため、GAT4601 タンパク質、改変 GM-HRA タンパク質、N-アセチルアスパラギン酸、N-アセチルグルタミン酸、ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の安全性は既に評価が終了している。

(c) といたしまして、非組換えダイズと比較して有意に増加した4成分ですが、これらについては、いずれも本組換えダイズに新たに産生された成分ではなく、非組換えダイズや他の食品にも含まれていることから、これらの成分が家畜において有害物質に変換、蓄積されることはないと考えられた。

5ページ、なお、本組換えダイズを用いたブロイラーの飼養試験、ラットの90日間反復混餌投与試験において、投与に由来する有害な影響は認められていない。

上記(a)～(c)を考慮したところ、本組換えダイズに新たな有害物質が生成され、

これが肉、乳、卵等の畜産物中に移行することは考えられず、また、畜産物中で有害物質に変換・蓄積される可能性や遺伝子組換えに起因する成分が家畜の代謝系に作用し、新たな有害物質が生成されることは考えられない。

なお、除草剤グリホサート、それからアセト乳酸合成酵素阻害剤、これはクロリムロンエチルですが、その残留量について確認をしたということで以下に記載をさせていただいております。

いずれも食品としての基準値未満であったということでございます。

89行目にまいりまして、以上のことから、除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズについては、飼料としての安全性評価の考え方にに基づき評価をした結果、改めて食品健康影響評価の必要はなく、当該飼料を家畜が摂取することに係る畜産物の安全性上の問題はないものと判断される。

ただし、除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤で処理した飼料の管理については、我が国のリスク管理機関において十分に配慮する必要があると考えられるというふうに記載をさせていただいております。

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、ただいまの評価書（案）でありますけれども、御意見・コメントを賜りたいと思います。なお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ければと思います。

それでは、御意見・コメントがございましたら、よろしく申し上げます。

順番に4ページまでで何かありますか。

よろしいでしょうか。それでは、5ページですけれども、御意見・コメントがありましたらどうぞ。

○鎌田専門委員 一番最後の3行というのが、なぜこの場合だけ付いているのかというのがよくわからないんですが、何か理由があって付けられたのでしょうか。

○鶴身課長補佐 これの場合だけではなく、従来から付いております。

○鎌田専門委員 後で出てくる他のには、この行が何もない。

○澁谷専門委員 除草剤耐性のものを議論したときに、除草剤耐性になると除草剤を使うではないですか。それが入って来てしまう恐れがあるということでこういうのをやっています。ただ、除草剤そのものまで全部ここで管理するかというところちょっと微妙なので、注意喚起をすればいいであろうという議論の経緯だったと思います。



○鎌田専門委員 わかりました。

○澤田座長 よろしいでしょうか。ほかに何かございませんか。

それでは、この評価書（案）を御了解いただいたということで細かい字句等の修正がございましたら、また事務局までお願いしたいと思います。

それでは、次に、除草剤耐性ワタに移りたいと思います。

「除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統の安全性評価」でありますけれども、食品と飼料の両方の依頼が来ておりますけれども、まずは食品としての安全性について審査を行いまして、安全性について問題がある場合には指摘事項を出します。

食品としての安全性に問題がない場合には、飼料としての安全性についての審査に移りたいと思います。また安全性について問題が残る場合には指摘事項を出すことにしたいと思います。飼料としての安全性に問題がない場合には、食品、飼料の評価書案の審査に移りたいと思います。

それでは、事務局から御説明をお願いいたします。

○鶴身課長補佐 グレーのファイルで右肩に ID163 と書かれたものを御用意いただければと思います。「除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統の安全性評価」ということで、平成 21 年 1 月 8 日提出となっているものです。

ページ番号は、目次の次になりますけれども、1 ページから始まっておりますが、第 1 として比較対象として用いる宿主等の性質、それから組換え体との相違に関する事項ということでございます。

中段から下の 1. 宿主及び導入 DNA に関する事項ですが、(1) 宿主の種名ですが、宿主は、アオイ科、ワタ連、ワタ属に属するワタの商業品種 Coker312 である。

(2) として、DNA の供与体の種名及び由来ですが、GHB614 系統には改変 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子、*2mepsps* 遺伝子とされておりますが、これが導入されております。

本遺伝子はトウモロコシに由来する *epsps* 遺伝子の、翻訳領域 2 ヶ所に部位特異的突然変異を起こしたものである。

なお、本遺伝子は、除草剤グリホサート耐性トウモロコシ GA21 系統というものが過去にございますが、平成 15 年に食品としての審査が終了しておりますが、これに導入されている *mEPSPS* 遺伝子と同一の遺伝子である。

(3) といたしまして「挿入 DNA の性質及び導入方法」ですが、*2mepsps* 遺伝子は除草剤グリホサートに対する耐性を付与するタンパク質 2mEPSPS タンパク質をコードする。

*2mepsps* 遺伝子はアグロバクテリウム法でワタゲノムに導入されております。

「2. 宿主の食経験に関する事項」であります。ワタは古くから綿実油として用いられて来た経験がある。

このパラグラフの後半になりますけれども、綿実の殻に含まれるヘミセルロースは、キシロースやキシリトールの原料として利用されていて、綿実のリンター、地毛はセルロースの原料として、食品や医薬品などにも使用がされているということでございます。

「3. 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項」ですが、宿主の可食部分の主要栄養成分ですが、記載のとおりとなっております。

3 ページ「(2) 宿主に含まれる毒性物質・栄養阻害物質等の種類及びその量の概要」についてですが、ワタはゴシポールやシクロプロペン脂肪酸を産生することが知られている。

次のパラグラフの中段ぐらいになります。有害性が知られている遊離ゴシポールは全綿実中に約 0.68%程度含まれている。また、搾油工程や、精製工程などで無害な結合型となり、脱ガム、脱酸、脱色の各工程で除去がされる。

次のパラグラフにまいりまして、綿実油や、搾油粕に 1%程度まで含まれるシクロプロペン脂肪酸についても、製油工程を経た後では、著しく減少するという報告があるということでございます。

「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、「(1) 収穫時期(成熟程度)と貯蔵方法」、「(2) 摂取(可食)部位」、「(3) 摂取量」については、従来のワタと相違はないということです。

「(4) 調理及び加工方法」についても、従来のものと相違はない。

(5) で宿主以外のものを比較対象としては用いていないということです。

6. 安全性評価において検討が必要とされる相違点ですが、GHB614 系統は、*2mepsps* 遺伝子産物である 2mEPSPS タンパク質の発現により、除草剤グリホサートへの耐性が付与される。この点を除いては従来品と相違はなく、食品としての利用方法にも相違はないということでございます。

「第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」ですが、最後のパラグラフになります。GHB614 系統は、除草剤グリホサートを散布しても影響を受けずに生育することができる。これによって複数種類の除草剤の散布の必要性が減り、環境負荷を低減することができるとなっております。

6 ページ「第3 宿主に関する事項」です。

「1. 分類学上の位置付け等」ですが、宿主は、アオイ科、ワタ連、ワタ属に属するワタの商業品種ということでございます。

2. 遺伝的祖先等につきまして、栽培ワタの起源については、完全には明らかにはされていないが、新・旧大陸の各地で別々に作物化されたものと考えられている。ワタ属は46種類から成り、そのうち4種類が現在でも一般に栽培されているということでございます。

「3. 有害生理活性物質の生産に関する事項」でございますが、ワタは、ゴシポールやシクロプロペン脂肪酸を生産することが知られている。

7 ページ「4. アレルギー誘発性に関する事項」ですが、ワタが原因となる明確な食物アレルギーが生じたという報告はないということでございます。

「5. 病原性外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項」ですが、（1）宿主に感染する病原体としては、以下に記載のものが知られている。

（2）病原体のヒトに対する病原性の有無ですが、（1）に示した病原体が、ヒトに対して病原性を持つという報告はない。

「6. 安全な摂取に関する事項」ですが、ワタは古くから綿実油などとして用いられてきた経験がある。

「7. 近縁の植物種に関する事項」ですが、ワタ連にはゴシポール腺があり、有害物質ゴシポールが含まれているということでございます。

8 ページ「第4. ベクターに関する事項」ですが、「1. 名称及び由来」です。

GHB614の作出には、プラスミド pGSC1700 由来の pTYG50 を用いたということで、以下にベクターの地図が記載がされております。

9 ページには、構成要素等の表が記載をされております。

10 ページ「2. 性質に関する事項」ですが、（1）DNAの塩基配列等ですが、プラスミド pTYG50 の塩基配列は8026bpであり、各構成要素のサイズは先ほどの表のとおりということでございます。

（2）制限酵素による切断地図ですが、先ほどの図のとおりということでございます。

（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、すべての遺伝子はその特性が明らかとなっており、既知の有害な塩基配列を含まないというものです。

（4）薬剤耐性遺伝子に関することですが、プラスミド pTYG50 については、ストレプトマイシン及びスペクチノマイシンに耐性を付与する選択マーカー遺伝子、*aadA* 遺伝子を有している。

後半の方になりますけれども、また完全な遺伝子ではないが、カナマイシンやネオマイ

シンなどのアミノグリコシド系抗生物質に対して耐性を付与する *nptI* 遺伝子の断片を有している。

なお、これらの遺伝子は、T-DNA 領域の外部に存在しており、ワタには導入されていないことが確認されている。

(5) 伝達性に関する事項ですが、本プラスミドには、伝達性因子が含まれていないということでございます。

「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、「1. 挿入 DNA の供与体に関する事項」についてです。

(1) 名称、由来及び分類ですが、導入された *2mepsps* 遺伝子は、トウモロコシから単離された *epsps* 遺伝子の翻訳領域に、部位特異的に点突然変異を2ヶ所生じさせて作製された。

(2) 安全性に関する事項ですが、トウモロコシは、病原性や毒素産生性に関する報告はなく、長期にわたり食料や飼料として安全に摂取されている。また、この 2mEPSPS タンパク質は、トウモロコシの EPSPS タンパク質、ほかの食用作物に含まれる EPSPS タンパク質とも高い相同性を有している。これらの野生型の EPSPS タンパク質は、食料や飼料に含まれる成分としてヒトや動物に安全に摂取されてきた歴史がある。更にアレルギー性若しくは毒性に関与していることを示す報告はない。

なお、本遺伝子は、トウモロコシ GA21 に導入されている *mEPSPS* 遺伝子と同一の遺伝子である。

「2. 挿入 DNA 又は遺伝子及びその遺伝子産物の性質に関する事項」ですが、「(1) 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法に関する事項」ということですが、*2mepsps* 遺伝子は、*epsps* 遺伝子の翻訳領域の2ヶ所に部位特異的突然変異を起こして作製された。本遺伝子がコードする 2mEPSPS タンパク質のアミノ酸配列は、野生型の EPSPS タンパク質のアミノ酸の102番目のトレオニンがイソロイシンに、また、106番目のプロリンがセリンにそれぞれ変化をしているということでございます。

次のページにまいりまして、「(2) 挿入遺伝子の塩基数、配列、切断地図に関する事項」ですが、挿入 DNA の構成要素は、表のとおりでございます。

「(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項」ですが、除草剤グリホサートは植物において芳香族アミノ酸の生合成に関わるシキミ酸経路の6番目の反応に関与し、EPSPS タンパク質を特異的に阻害する。その結果、植物は芳香族アミノ酸や二次代謝物の合成が遮断され枯死に至る。

GHB614 系統に導入された *2mepsps* 遺伝子産物である 2mEPSPS タンパク質は、EPSPS タンパク質のアミノ酸が 2 個置換している。そのためグリホサートによる阻害作用に対して感受性を示さない。

一方で、シキミ酸経路における EPSPS タンパク質の持つ機能を保持しているということで、これによりグリホサートによる除草作用の影響を受けずに成育ができるというものでございます。

また、2mEPSPS タンパク質の既知毒素との構造的相同性に関して、BLASTP アルゴリズムを用いて、種々のデータベースに登録されているタンパク質の相同性検索が行われております。

その結果、種々の EPSPS タンパク質、それから他の芳香族アミノ酸合成酵素タンパク質などと相同性が認められておりますが、これらに関連する毒性は報告されておらず、既知の毒素タンパク質と相同性は認められていないということでございます。

15 ページ（4）抗生物質耐性マーカーに関することです。

発現ベクター pTEM2 はストレプトマイシン、スペクチノマイシンに耐性を付与する選択マーカー遺伝子 *aadA* 遺伝子を有している。

また、アミノグリコシド系抗生物質に対して耐性を付与する *nptI* 遺伝子の断片を有している。なお、これらの配列が、ワタに挿入されていないことは、サザンブロット分析において確認されている。

「3. 挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現に関わる領域に関する事項」です。

「（1）プロモーターに関する事項」ですが、*A. thaliana* のヒストン H4 遺伝子に由来するプロモーターが用いられております。

「（2）ターミネーターに関する事項」ですが、同じく *A. thaliana* 由来のヒストン H4 遺伝子の 3' 非翻訳領域の配列が用いられております。

（3）その他の発現制御に係る配列ですが、高い発現が導かれるようにするために、*A. thaliana* 由来のヒストン H3.3 遺伝子の第 II 遺伝子の第一イントロン *intron1 h3At* をプロモーターの下流に結合させている。

また、2mEPSPS タンパク質が色素体に移行できるようにするために、TPotp C を *2mepsps* 遺伝子上流に結合させているというところでございます。

16 ページ、「4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項」ですが、ポリアデニル化シグナルを持つプラスミド pRPA-RD-12 に *2mepsps* 遺伝子、それから TPotp C 等の順で組込み操作を行い、*2mepsps* 遺伝子発現カセットを有する中間ベクターを構築した。

これを制限酵素で処理し、*2mepsps* 遺伝子発現カセット含む断片を単離しまして、最終的に pTYG50 に挿入をして、発現ベクター pTEM2 を得たということでございます。略図が右側の図 5.4 に示されております。

18 ページ「5. 構築された発現ベクターに関する事項」ですが、塩基数、それから切断地図等は、記載のとおりとなっております。塩基数は、11953bp、制限酵素の切断地図は、図 5.5 のとおりということでございます。

次のページに、それらの構成要素が記載をされております。

20 ページ、(2) として、最終的に宿主に導入されると考えられる発現ベクター内の配列に、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が含まれていないことについてですが、組換え体 GHB614 において、*2mepsps* 遺伝子、植物ゲノムとのそれぞれの 5' 境界領域及び 3' 境界領域の各相補的 RNA をプローブとしてノーザンブロット分析が行われております。

その結果、目的遺伝子以外の mRNA のバンドは検出されなかったということで、構築された T-DNA 領域には、2mEPSPS タンパク質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考えられるとされております。

(3) 意図する挿入領域に関することですが、発現ベクター pTEM2 における T-DNA 領域の反復配列に挟まれた領域である。

(4) 目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていることですが、領域内の遺伝子要素はすべて純化されており、目的外の遺伝子の混入はない。

「6. DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項」ですが、導入はアグロバクテリウム法を用いて行ったということです。

そのパラグラフの中ごろになります。導入後グリホサートを含む再生培地を用いてグリホサート耐性株を選抜した。更に温室において、グリホサート耐性の試験を行い、また圃場において選抜を繰り返して GHB614 株を選抜したというものでございます。

なお、本申請の対象は、組換え当代 T0 世代においてグリホサート耐性を示した個体及びその後代であるということでございます。

22 ページ「第 6 組換え体に関する事項」です。

「1. 遺伝子導入に関する事項」ですが、「(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項」です。

まずコピー数についてですが、GHB614 系統から単離をしました DNA を、9 種の制限酵素で切断をして、完全長 T-DNA のプローブを用いて、サザンブロット分析が行われておりま

す。

その結果、確認されたバンドのサイズは予想されたバンドのサイズと一致しており、完全長の 1 コピーの *2mepsps* 遺伝子発現カセットが挿入されていることが確認されたということです。

また、シーケンス解析の結果、挿入された配列は、pTEM2 の RB が 29bp になりますけれども、それと、LB が 21bp になりますけれども、これが消失をしていたが、遺伝子発現カセットは完全に一致することが確認されたというものでございます。

25 ページにまいりまして、T-DNA 領域外の配列の有無です。

GHB614 において、発現ベクター pTEM2 の T-DNA 領域外側の DNA が導入されているか否かをサザンブロット分析によって確認がされております。

用いられましたのは 2 種類の制限酵素と、中段から以降に記載の 6 個のプロンプを用いて行われております。

26 ページの中段以降、これらの結果から GHB614 系統には、T-DNA 領域の外側のベクター由来配列が導入されていないということが確認されております。

少し飛びまして 33 ページになります。

「近傍配列の解析」です。

シーケンス解析によって挿入遺伝子の 5' 側近傍それから、3' 側近傍と宿主のワタにおける挿入部位の配列の比較がされております。

その結果、挿入箇所の 17bp の欠失を除き、近傍配列は宿主のワタゲノムと一致しているということが確認されております。

また、挿入 DNA 領域の近傍配列にワタ内在性遺伝子が存在する可能性について、BLASTn を用いて相同性検索が行われております。

その結果、既知のワタの遺伝子、それから、mRNA、cDNA、EST と相同性を示す配列は確認されなかったということでございます。

(2) オープンリーディングフレームの有無についてですが、遺伝子導入により、新たなオープンリーディングフレームがつくられた可能性について、挿入 DNA と近傍配列の境界領域に関して、以下の解析が行われております。

34 ページにまいりまして最初のパラグラフですが、オープンリーディングフレームの定義といたしましては、8 アミノ酸以上の長さで、開始コドンから終止コドンまでとし、6 つの読み枠で確認が行われております。その結果 5' 側の境界領域で 2 つのオープンリーディングフレームが確認されております。

次のパラグラフにまいりまして、また、FGENESHにより、エクソン、イントロン、polyAシグナルの予測がされております。その結果5'側近傍において、エクソンをコードする配列が検出されて、1つの遺伝子の存在が予測されております。しかし、このエクソンは挿入前配列においてもその存在が確認されているということになります。

右の図のオープンリーディングフレームが2つと、予測されたエクソンということになります。

左側のページの真ん中になりますが、GHB614系統、それから非組換え体の各組織について5'側近傍の境界領域それから3'側の境界領域のそれぞれのセンス、アンチセンス方向をプローブとして、ノーザンブロットの分析が行われております。右の図のプローブ1、2、3、4というところがそうですが、その結果、いずれの組織においても、mRNAの発現は認められなかったということで、この2つのオープンリーディングフレームから、タンパク質が生じる可能性、また予測されたエクソンが遺伝子である可能性はいずれも低いと考えられるということでございます。

さらに2つのオープンリーディングフレームについてアミノ酸配列に基づき、既知のアレルゲンや、毒素タンパク質との相同性検索も行われております。

下の方になりますけれども、その結果既知のアレルゲン、毒素タンパク質との相同性はいずれも認められなかった。またエピトープ検索においても、一致する配列は認められなかったということで、仮にこれらのオープンリーディングフレームにより、新たなタンパクが発現したとしても、毒性、アレルギー性を示す可能性は低いと考えられるとされております。

36ページにまいりまして、遺伝子産物の発現についてですが、GHB614系統における導入遺伝子の発現を調べるために、ノーザンブロットの分析が行われております。

下の表6.4がその結果となっております。

少し飛びまして40ページになります。こちらの方は組換え体の組織及び収穫物において、2mEPSPSタンパク質の発現量について、定量のELISA分析が行われております。

次のパラグラフになりますけれども、ELISAの分析では、植物体内の内在性のEPSPSタンパクも検出してしまうということで、非組換えワタについて、吸光度測定を行って、その値を検出限界値に設定したということでございます。

その結果につきましては、44ページになります。表6.8になりますが、これが各組織における2mEPSPSタンパク質の量となります。

右側の表6.9が未加工農産物ということで、穀実と有毛種子等について、それぞれ分析



がされております。

46 ページになりまして、油とか加工したものについても 2mEPSPS タンパク質の測定がされております。

47 ページの「3. 遺伝子産物（タンパク質）が一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項」ですが、ワタは日本において主に植物油脂、綿実油として摂取がされている。ELISA における分析では、精製・脱色・脱臭綿実油、先ほどの左の表になりますけれども、それにおいて、2mEPSPS タンパク質は検出されておられません。仮に 2mEPSPS タンパク質が検出限界値以下で存在したとしても、日本人一日一人当たりの油脂の平均摂取量から、2mEPSPS タンパク質の一日一人当たりの摂取量は、多くても、 $0.87 \mu\text{g}$  となる。これは日本人一日一人当たりの平均タンパク質の摂取量の、 $1.25 \times 10^{-6}\%$  であるということでございます。

4. アレルギー誘発性に関する事項です。

(1) 挿入遺伝子の供与体ですが、トウモロコシは一般的にアレルギー誘発性食品とは考えられていない。

(2) 遺伝子産物のアレルギー誘発性についてですが、2mEPSPS タンパク質についてアレルギーを誘発するという報告はなされていない。

(3) 物理化学的処理に対する感受性ですが、大腸菌由来の 2mEPSPS タンパク質において試験が行われております。これらの同一性について以下に確認がされております。

a といたしまして、N-末端アミノ酸配列の決定。48 ページにまいりまして、SDS-PAGE による分析。それからウェスタンブロットによる分析。LC/MS 分析。糖タンパク質染色分析。49 ページにまいりまして、酵素活性の確認等々から、大腸菌由来の 2mEPSPS タンパク質と本組換え体由来の 2mEPSPS タンパク質の同一性が確認をされております。

① といたしまして、人工胃液における処理です。

大腸菌由来の 2mEPSPS タンパク質を人工胃液で反応させ、SDS-PAGE の分析が行われております。一番下のところになりますが、分析の結果、0.5 分以上反応させた試料において、2mEPSPS タンパク質は検出されず、人工胃液中で速やかに分解されることが確認されております。

51 ページにまいりまして、人工腸液ですが、大腸菌由来の 2mEPSPS タンパク質を人工腸液で反応させ、ウェスタンブロットによる分析が行われております。中段よりちょっと下ですが、ウェスタンブロットの結果、0.5 分以上反応させた試料において、バンドは検出されなかったというものでございます。

53 ページ③加熱処理ですが、a といたしまして、酵素活性に対する温度の影響の確認がされております。大腸菌で生産した 2mEPSPS タンパク質を用いて酵素活性を 20℃から 75℃の間の温度で測定されております。

その結果、酵素活性は 20℃から 60℃までほぼ直線的に増加が認められ、60℃以上では急激に減少し 75℃で完全に失活するというものでございます。

そのページの下の方 b として熱安定性について確認がされております。

大腸菌由来の 2mEPSPS タンパク質を 45℃又は 60℃の温度条件下において処理した後、酵素活性について測定がされております。

54 ページの中段くらいになりますけれども、その結果、2mEPSPS タンパク質の 60℃で 10 分後には完全に失活したというものでございます。

55 ページ、c. 熱処理による一次配列への影響ということで、SDS-PAGE によって分析がされております。2mEPSPS タンパク質を 60℃～90℃で 10 分～60 分間処理し、測定がされております。このパラグラフの一番最後の方になりますけれども、その結果、2mEPSPS タンパク質は、90℃30 分の処理で部分的に分解され、60 分の処理では顕著に分解されるということが確認されております。

これらの結果から、物理化学的処理に対する感受性が高いということが示されたということでございます。

57 ページにまいりまして、(4) 既知アレルゲンとの構造相同性についてです。

2mEPSPS タンパク質のアミノ酸配列に関してホモロジー検索が行われております。

①包括的相同性評価といたしまして、BLASTP のアルゴリズムを用いて、連続するアミノ酸を 80 残基以上で 35%以上一致するというので、以下のデータベースを用いて行われております。

その結果は種々の 2mEPSPS タンパク質及びその他の芳香族アミノ酸合成酵素に関するタンパク質の相同性が認められたが、アレルギー性が報告されているタンパク質との相同性は認められなかったというものでございます。

②としまして抗原決定基との相同性ということで、エピトープの検索が行われております。

58 ページにまいりまして、検索の結果、連続する 8 アミノ酸配列と既知のアレルゲンとの配列の一致は認められなかったというものでございます。

次のパラグラフにまいりまして、多くのアレルゲンがグリコシル化によってアレルギー誘発性を与えている可能性があるということで、2mEPSPS タンパク質がグリコシル化され

アレルギー誘発性を付与される可能性について検討されております。

糖タンパク質染色分析において、2mEPSPS タンパク質は染色されなかったことから、グリコシル化を受けていないと考えられた。

もう一つは、コンピュータ解析によって、*N*-グリコシル化部位が2か所存在する可能性が確認されたけれども、今回の部位特異的突然変異に起因する箇所ではないということ、それから、核ゲノム由来の色素体のタンパク質が、グリコシル化されていないことが一般に広く知られており、2mEPSPS タンパク質は色素体タンパク質の一種であるということから、このタンパク質は特に色素体に移行するように設計されていることから、グリコシル化される可能性は低いと考えられるとされております。

したがって、グリコシル化によってアレルギー誘発性を付与されることもないと考えられる。

以上の結果から、2mEPSPS タンパク質のアレルギー誘発性に関する安全性は確認されたと判断されたとされております。

59 ページにまいりまして、5. 安定性に関する事項でございます。2つ目のパラグラフになりますけれども、導入遺伝子の安定性についてサザンブロット分析が行われております。先ほども評価して欲しい世代として、T0以降という記載がございましたが、T0世代は1個体しか存在せず、十分な試料を確保することが困難なため、本試験には、T3、T4、T5、T6及びBC2F2/FM966品種の各世代が用いられております。

その結果すべての世代において、予測されたサイズの断片が確認され、導入遺伝子の安定性が確認されたということでございます。

65 ページにまいりまして、6. 代謝経路への影響でございます。

2つ目のパラグラフになりますけれども、2mEPSPS タンパク質における①として、PEPそれからS3PにおけるKm値、②として、PEPに対するグリホサートの50%反応阻害濃度、③として、PEPに対するグリホサートの阻害定数を求めております。

66 ページにそれらの結果がまとめられております。

PEP及びS3Pに対するKm値が2mEPSPS タンパク質とEPSPS タンパク質でほぼ同等であったということから、同じ基質特異性を有していながら、グリホサートに対する高い耐性が誘導されたと考えられた。なお、EPSPS タンパク質は、シキミ酸とも反応することが知られているが、EPSPS タンパク質とシキミ酸の反応性は低く、EPSPS タンパク質が高い基質特異性を有している。

また、2mEPSPS タンパク質の産生により、既存のEPSPS タンパク質に加算をして、活性

が増大することが考えられる。しかし、シキミ酸合成経路において、最終段階の合成反応に関与する EPSPS タンパク質は、中間代謝産物や最終生成物により負の制御を受けている可能性が低く、本経路の律速には関与していないものと考えられる。

また、通常の 40 倍の EPSPS タンパク質を生成する植物培養細胞においても、最終生成物の芳香族アミノ酸が過剰に生成されていないという報告がある。更に、GHB614 系統と非組換えワタとの間で最終生成物である芳香族アミノ酸の量に関して同等性が確認されている。

これらのことから、2mEPSPS タンパク質はグリホサートに対する高い耐性が付与されており、更に従来の EPSPS タンパク質と同等の極めて高い基質特異性を有していると考えられる。

また、2mEPSPS タンパク質の産生により EPSPS 活性が増加してもシキミ酸合成経路の律速酵素でないことから、最終生成物である芳香族化合物の生成量に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。したがって、この遺伝子産物が宿主の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられるとされております。

68 ページにまいりまして「7. 宿主との差異に関する事項」でございます。

米国において 2005 年に 9 の試験地、それから 2006 年に 8 試験地、合計 17 の圃場において試験がなされております。

各圃場では組換え体を 6 区、非組換え体を 3 区として、組換え体のうち半分の 3 区はグリホサートの処理をしております。

下のパラグラフになりますけれども、結果の統計学的解析ですが、EFSA が推奨する統計手法を参考にして要因としてグリホサートの処理の有無、それから試験地及び栽培年次を含め、それぞれの交互作用に関して分散分析による評価が行われております。更に処理の交互作用が認められなかった場合のみ有効であるとして、試験地ごとに T-検定による統計処理が行われ、試験地全体で有意差が過半数を占めるかどうかで同等性の有無が判断されております。

69 ページにまいりまして、一般成分ですが、有毛種子における一般成分の比較がされております。下の表の各項目について、評価を行った結果、過半数の試験地で有意差が認められず、同等性があると評価されたということです。

また、調査した各項目の分析値の平均は、いずれも文献値の範囲内であったということでございます。

70 ページのアミノ酸組成についてですが、こちらもいずれも同等性ありと評価がされております。

また、それぞれの分析値の平均は、いずれも文献値の範囲内であったとされております。

下の方にまいりまして脂肪酸の組成でございますが、生重量当たりの相対的な脂肪酸量の比較が行われております。

ステアリン酸、パルミトオレイン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸において、過半数の試験地で有意差が認められ、同等性なしと評価をされております。

71 ページに行きまして、ドコサペンタン酸に関して文献値はなかったが、その他の項目、有意差が認められた項目を含めて、分析値の平均は、いずれも文献値の範囲内であったとされております。

72 ページ、無機塩類それからビタミンEに関してですが、主要無機塩類、各トコフェロールについて比較がされております。

$\beta$ 、 $\delta$  トコフェロールに関しては、定量限界値以下であったため評価を行っていない。その他の項目については、同等性ありと評価をされております。すべての項目の分析値の平均は、文献値の範囲内であったとされております。

73 ページ、有害物質の産生性でございますが、ゴシポール、シクロプロペン脂肪酸の含有量の比較がされております。

ゴシポールに関しては、過半数の試験地で有意差が認められなかったことから、いずれの項目も同等性ありと評価されております。

なお、それぞれの分析値の平均は、文献値の範囲内であった。

次のパラグラフに行きまして、一方シクロプロペン脂肪酸の各項目については、過半数の試験地で有意差が認められ、同等性なしと評価されておりますが、いずれもグリホサート処理の有無にかかわらず、非組換え体より低い値を示したことから、特に問題のある相違ではないと考えられております。

参考として最後のパラグラフになりますが、精製綿実油における有害物質の含有量について比較がされております。

その結果ゴシポールは精製後にはほとんど除去されているということではありますが、シクロプロペン脂肪酸については、減少は見られなかったが、いずれも文献値の範囲内であったということでございます。

75 ページにまいりまして、8. 諸外国における認可状況ですが、米国においては、2008年9月、FDAでの承認が得られております。USDAの方には申請中であるということです。

カナダでは、2008年3月に承認が得られた。それ以外の国については申請中であるということでございます。

9. 栽培方法については、従来のものと相違はない。

10. 種子の製法及び管理方法に関しても、相違はないということでございます。

77 ページにまいりまして、安全性の知見が得られていない場合に必要事項ですが、念のため 2mEPSPS タンパク質の急性毒性試験が行われております。

大腸菌で生産された 2mEPSPS タンパク質をマウスに強制経口投与して行っておりますが、OF1 系統のマウス 5 匹に 2000mg/kg 体重の量で投与がされております。

その結果 15 日間の観察期間を通じて、投与群において病的な特徴や死亡例は認められず、投与に起因する体重の変動も認められなかったということでございます。

説明は以上でございます。

○澤田座長 どうもありがとうございました。それでは資料に基づきまして、項目ごとに先生方からの御意見をいただきたいと思っております。

まず 1～4 ページ、「第 1 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」でありますけれども、4 ページまでに関しまして、何か御意見ありますでしょうか。

よろしいですか。

それでは、5 ページ「第 2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」はいかがででしょうか。

ないようですので、6 ページ～7 ページ「第 3 宿主に関する事項」でありますけれども、これは何か御意見よろしいですか。

それでは、8 ページ～10 ページ「第 4 ベクターに関する事項」に関しまして、何かありましたらどうぞ。

それでは、11 ページ～21 ページ少し長いのですが、「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、ありましたら、よろしくお願いたします。

○山崎専門委員 11 ページの真ん中辺りに、GA21 系統に導入されている *mEPSPS* 遺伝子と同一の遺伝子であると書かれているんですが、その遺伝子というのが翻訳領域だけを示すのか、あるいは非翻訳領域も含めてもう少し広い遺伝子を意味するのかがあいまいなんです。それによって評価が完全に終わっている遺伝子とみなすのか。部分的には評価をしないといけなのかが違ってきます。ここはもうちょっと詳しく書いていただくか、あるいは評価書（案）の中を書くかした方がいいかなと思います。

○澤田座長 ちょっと後ろの方になりますけれども、19 ページの 2mEPSPS のベクター上での位置の 1927～3264、これが同じという意味ですね。

○鶴身課長補佐 はい。そのように聞いております。カセット全体としては、それはわかりません。

○澤田座長 TPotp C ですか。その後もヒストンのターミネーターは多分違うんですね。ですから、遺伝子の翻訳領域だけ全く同じ。

○澁谷専門委員 関連してよろしいでしょうか。この後になると思うんですけども、この遺伝子がつくるタンパク質の安全評価などに係ると思うんですが、さきほどすごく詳しい説明をいただいたんですが、たしか以前の調査会で安全性評価が終わっている遺伝子の場合には、一応資料は出してもらうけれども評価は終わっているというのを付記してもらって、それであればその部分に関しては特段の新しい問題があるときは別だけれども、簡略にして、イベントの特異的なところを議論しようということだったと思うんですが、それでよろしいんですね。

○澤田座長 原則はそれでよろしいと思います。前後の配列が違いますので、そこは一応見ていただかないといけないかと。

ほかにどうぞ。

○鎌田専門委員 1つだけよろしいですか。例によってラインの番号の付け方があやふやになっております。一応 T0 からやりたいということで、細かいサザンブロットは、左側の列の BC2F4 しかやっていないくて、それ以外のところに関係するもので右側の方で、T1～T6 までだったかな、安定性試験で見えらっしゃるんですけども、実はこれというのは部分的にしか見ていないくて、全体を見ていないという状況でやっちらかっているので、同じという保証はどこにもないので、これで T0 かなと言われると、それはちょっとおかしいと思うんです。

○鶴身課長補佐 左側の BC2F4 以外にも、左側の下から 2 目というんでしょうか、BC2F2 も安定性の確認はされています。1) が付いているところが安定性をしているところですね。

○鎌田専門委員 安定性を見るのには、全体を見ていないくて、部分的なプローブだけで見ているので、だから同じかどうかという保証はどこにもされていないので、ある領域は確かにずっと維持されているけれども、それ以外のところは何もかかっていないので、同じという保証はないので、今のままでいったら商品化されていないところだけが確認されているという変な形になっていますので、そこはきちっとされた方がいいと思います。

○澁谷専門委員 鎌田先生が言われた点は私も気になったところで、後ろの方で分析したのをさかのぼって、一番大本までカバーしようというのは、言われたように原理的には問

題があります。なぜこういう全部取りたいんですかね。あとできいてくるのだと、逆に言えば慎重に見ないといけないということになる。

○澤田座長 これはいつも問題になるところだと思うんですけども、申請者によると、T0がないので、その代わりに T3 でやったんですけどもいかがでしょうかという、そういう論理かと思います。

○鎌田専門委員 ただ、T3 でやるときに、全体をプローブできちっと見ていてくれれば、多分何の問題もなかったんですが、部分的なプローブだけで一部だけを見ていて、それと同じでしょうという論理を使ったので、それは話が違うのではないか。どうせやるならば、右側のラインと多分商品化されているラインとを更に全体をプローブとしたサザンプロットをやって、ここを出している BC2F4 と同じパターンになることを確認していただければそれで一応保証されたというふうになるんだと思います。

○澤田座長 要はサザンプロットのプローブを増やしてやってもらえばいいということですね。

○鎌田専門委員 商品化と、安定性を調べたラインもきちっと見ていただきたいということです。

○澤田座長 具体的には、どの辺ですか。

○鎌田専門委員 どこでもいいので右側の例でいくと例えば T7 でいいでしょう。今調べているのは BC2F4 と真ん中のラインで、それは商品化されていないラインなので、商品化されている BC2F3 とか、どこかでサザンプロットのパターンは全く同じだという証明をしていただきたい。だから、あと 2 つデータを出していただきたいということです。

○澤田座長 その場合には T0 に戻っていいということですか。

○鎌田専門委員 それならば、T0 に戻ってもらって、全部のパターンが同じならば、予測としては同じと考えられる。

○澤田座長 事務局の方はよろしいでしょうか。

○鶴身課長補佐 わかりました。

○澤田座長 今、21 ページまでいったところでありましてけれども、そこまででほかによろしいでしょうか。

また長いですが、「第 6 組換え体に関する事項」で 22 ページ～76 ページまでやりたいと思います。コメント・御意見をお願いいたします。

○小関専門委員 1 つよろしいでしょうか。前回のときにちょっと問題になったんですが、34 ページのところ、オープンリーディングフレームの定義ということで、開始コドンで



始まり、終止コドンで終わるということなのですが、これは別に開始コドンで始まるということがオープンリーディングフレームという定義ではないので、開始コドンがなくても、30 アミノ酸につながっているところがないかどうかの確認をしていただきたい。一応再確認をしていただきたい。安全性の上では、発現していないということをノーザンブロットでちゃんと押さえているので問題はないんですけれども、一応その確認だけは、さして大変ではないのでしていただきたいと思います。

○澤田座長 数が大分増える可能性がありますね。

○小関専門委員 そんなには増えないと思います。

○澤田座長 前に問題になりました ATG から終止コドンは一応やめて、アミノ酸に翻訳できるところは、一応 30 以上続いているところは見てくれということです。

ほかによろしいでしょうか。

○宇理須専門委員 47 ページの 4. の (1) のトウモロコシのアレルゲン性の表現ですけれども、LTP が示唆されているが、それは臨床的関連は明らかではないと書いてありますけれども、この論文を見ると、論文は 82 ページにある 37 番の Pastorello という人の論文なんですけれども、このタイトルを見ておわかりのように「food-induced allergic reactions」に関与するものだというふうにタイトルに書いてあるんです。今回実際には読んでこなかったのですけれども、前に読んだ記憶があるんですけれども、これがトウモロコシの主なアレルゲンで云々ということが、臨床的にもこれが関係しているのではないかということが書いてあると思うんです。

そういう意味で、語句の問題だけですが「臨床的関連は明らかではなく」という文言は除いた方がいいのではないかと思います。

もう一つ、その次も「一般的なアレルギー誘発性食品とは考えられていない」と書いてありますけれども、確かに主要なアレルゲン物質ではないとは思いますが、一般的なという表現が適しているかどうかというのはちょっと引っかけますので、そこももう少し主要なアレルギー誘発性物質とは考えられないとか、もう少し弱い表現にさせていただいた方が適当ではないかなと思います。

その 2 点、お願いいたします。

○澤田座長 それは「臨床的関連は明らかではなく」を削除。それから「一般的な」を「主要な」に直すくらいで、ちょっと表現を変えるということですか。

○宇理須専門委員 そう大きな変更ではありませんけれども、表現を少し変えていただけたら、よりベターかと思います。

○澤田座長 ほかにありませんか。

○丹生谷専門委員 更に細かいことなんですけれども、24 ページ、図 6.2 のレーン 4 の *Pvu*I というのは、*Pvu*II の誤りです。

それから、その図に関係しまして 23 ページに、表 6.1 でまとめられてあるんですけれども、例えば一番最初の *Eco*R V、この予想断片に相当するものが確認断片というのは、例えば左の 891bp 以上のものが 4850、この並びで対応しているのか。そうではないのかもしれませんが、そこが不思議だったのです。よく見てみますと、小さいものから先に書いているのかなと思ったんですが、例えば 4 つ目の *Ase*I ですか、小さいものから先に書いてはいないんです。6300 が先に書いてあるから、これはこの結果だけ、つまり、プローブが完全長を使って解析したサザンブロットの結果だけでは、どっちがどっちという対応がつかないと思います。もし何かほかのデータからこれを決めているのであれば、ちょっとどこかにその旨があってもよろしいかなと思います。それがどうしても必要だということではありませんけれども、ちょっと気が付いたので申し上げました。

○澤田座長 よく見ると対応しているところは対応しているんですね。

○丹生谷専門委員 明らかに対応しているところは、勿論、対応させて書いています。

○澤田座長 ただ、予測断片が～以上という場合には、どちらがどちらか本当はわからない。

○丹生谷専門委員 わからなくてもいいと思うんですが、ですから、聞き流していただければと思います。

○小関専門委員 書き方の問題で、並べて書くとあれなんで、前にありませんでしたか、2 つ出てくるとすると、長さ的には、カンマ～という格好で、そういうふうに並べて書いたものを見たようなことがあります。

あと、標識の仕方にもよるんですけれども、プローブとアニーリングしている長さが長いほど濃くなると思うんです。そのことも考えているのかと思って見ていると、必ずしもそうでもない。

○澤田座長 表の書き方をもうちょっと正確にしてください。

○鶴身課長補佐 何か理由があるならそれもまた含め確認します。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。

○石見専門委員 71 ページに脂肪酸の組成が書いてあるんですけれども、リノレン酸のところ、リノレン酸は  $\alpha$  と  $\gamma$  とありますので、どちらかなのか、あるいは合計なののかということが知りたいのが 1 つ。

あと、脂肪酸の組成が違うということで非組換え体との間に有意差が出ているんですけども、実際に綿実油として使うときに、実際に食品として供されるときには、180℃とか200℃くらいまで加熱して供されると思うんです。恐らく変わりはないと思うんですけども、酸化の度合いとか、劣化の度合い。高温になったときに差がないのかどうか。そこまでやる必要があるかどうか私もちょっとわからないんですけども、そういうような試験も必要である可能性があるというふうに考えたんですが、そこまでやる必要があるかどうか、御判断いただきたいと思います。

○澤田座長 たしか初期のころに、製品でも組成を見たことがあったような記憶があるんですけども、その際には問題がなかったような記憶がありますが、いかがですか。

○丹生谷専門委員 今のと関連するんですけども、この表の%の値というのは、表の一番上のところに書いていますように「生重量%」と書いてありますね。

つまり、水とかも入った状態を100として、今のお話で加熱してというお話を聞いたときに、もともとの水分を含んだ状態の重さを分母にすることの意味が不思議に思ったんです。しかも、有意性がありそうだとするところは、1%以下の値ですから、そこまで正確に議論できるかなというのはちょっと不思議に思いました。

○澤田座長 73ページに言い訳のようなことが書いてありまして「綿実油の抽出、精製過程において多量の試料必要とし、統計上比較できるだけの試料数を準備できなかった」云々と書いてあります。有害なものとして問題になるゴシポールとシクロプロペン脂肪酸ですか、それはやってあるわけですね。

○澁谷専門委員 こういうものの成分を比較すると、どうしても対照区との間で有意差が出ることは、いろんな育成過程などで、出ることはこれまでもありました。結局こういう成分に関しては、綿実なら綿実、ワタならワタの文献値の範囲内に収まっていれば、安全性上は特に問題がないということできていると思います。

○澤田座長 私の記憶では、食品安全委員会になってからは、このような記載でよかったような覚えがあります。ただ厚生労働省時代の本当の初期は、もうちょっと丁寧に、データを確か要求したような覚えがあります。

この点はほかの先生方いかがでしょうか。油にしたときの成分まで必要かどうかということですね。

○澁谷専門委員 加熱したときには当然いろんなことが起こるわけですけども、そこまで言うと、例えばここの文献値にあるように、ワタの場合ものすごく広がりますね。加熱したときの影響は品種ごとに当然みんな違ってくるわけで、そういう非常に広い範囲が実

際にある中で、これだけが特に安全性上問題がある可能性があるとはちょっと根拠がないように思うんです。

○澤田座長　そういう御意見のようですねけれども、よろしいでしょうか。

そうしますと、ワタに関しては、実際の生の資料のデータでよろしいということできたいと思います。

それでは、ほかに 76 ページまででありますか。

○鎌田専門委員　さっきのことに関わって、76 ページの、種子の保存をどうするかというのはいつも問題なんですけど、結局、さっきのでいくと、サザンプロットをちゃんとやっていない方のラインの種子しかなくて、商品化されているラインの種子が全然取れていないわけです。保存されていないわけです。製品化されているものの方をどうして残さないのか、ちょっと不思議で。是非、製品化されている方のラインをきちんと残していただいた方が、後でさかのぼれると思いますので、その旨をお伝え願えればと思います。

○澤田座長　それは指摘していただくということにします。

ほかによろしいでしょうか。

それでは、最後の 77 ページ、急性毒性に関するところでございます。

ほかにも御意見ございませんでしょうか。

今の御意見を伺いますと、一応サザンプロットのデータをもう一度出していただいた方がいいということですので、あとは割とマイナーな修正で済むかと思えますけれども、一応次回に出していただくということになろうかと思えます。

それでは、今いただいた指摘事項を取りまとめまして、先生方に確認いただきまして、厚生労働省を通じまして、申請者に指摘したいと思えます。よろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○澤田座長　それでは、飼料の方は後回しということになりますので、ワタの方は次回に回したいと思えます。

それでは、次に「耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ 3272 系統(食品)」の審査に移らせていただきたいと思います。

この品目につきましては、継続の品目でありまして、平成 20 年 1 月の第 56 回の遺伝子組換え食品等専門調査会で審査を行い、指摘事項が出たものであります。

指摘事項に対します回答書が提出されておりまして、回答書に基づきまして、食品としての安全性を確認し、安全性について、なお問題がある場合には、もう一度指摘事項を出すということになります。

食品としての安全性に問題がない場合には、飼料としての安全性の審査に移りたいと思います。

その場合、安全性について問題が残る場合には指摘事項を出しまして、安全性に問題がない場合には、食品と飼料の評価書（案）の審査を行いたいと思います。

それでは事務局から説明をお願いいたします。

○鶴身課長補佐　ピンク色の資料の ID138 と書かれてあります「耐熱性  $\alpha$  - アミラーゼ産生トウモロコシ 3272 系統に関する回答書（食品）」というものを御覧ください。

めくっていただいて、回答書の方が添付されておりますので、御説明をさせていただきたいと思います。

本品につきましては、耐熱性  $\alpha$  - アミラーゼを産生するトウモロコシということですが、指摘事項の 1 番としては挿入遺伝子である *amy797E* 遺伝子のもとになった 3 個の遺伝子について、DNA ライブラリーの作製方法、それから分類のスクリーニング方法について詳しく記載をすることという指摘をしております。

回答といたしましては、過去 10 年間の好熱性の古細菌からの  $\alpha$  - アミラーゼの抽出や、その特性に関する幾つかの報告によると、これらの  $\alpha$  - アミラーゼについては、いずれも、*Thermococcus* 属と *Pyrococcus* 属の 2 つに由来する。以下のように分類がされているということでございます。

次のページにまいりまして、それぞれの分類について説明がありますが、2 ページ目からの中段からになります。が、*amy797E* 遺伝子の構築に用いた 3 個の  $\alpha$  - アミラーゼ遺伝子において、BD5031 遺伝子と BD5064 遺伝子は、純粋培養した *Thermococcus* 属に分類がされる種から構築された DNA ライブラリーに由来する。

もう一つの、BD5063 の遺伝子の単離には、メタゲノミクスを用いたということでございます。

次のパラグラフで、BD5031 については、純粋培養した *Thermococcus* 属の種から構築した DNA ライブラリーにより単離がされた。

この種については、16SrRNA の配列から、系統発生分析が行われているということです。

もう一つ、BD5064 についても、同じ純粋培養したものから単離された。

BD5063 については、3 ページの上になりますけれども、90°C pH6.5 の深海太平洋から採取したサンプルの集積培養物の DNA から構築した DNA ライブラリーから単離された。もとのサンプルには、*Thermococcales* 目を含むさまざまな好熱菌が含まれているが、既知の遺伝子とのアミノ酸の配列の相同性から BD5063 遺伝子は *Pyrococcus* 属、もしくは *Ther*

*mococcus* 属に分類される種に由来すると判断をしているということでございます。

これに従いまして、概要書の修正がされております。

5 ページ目にまいりまして、指摘事項の 2 番になります。

*amy797E* 遺伝子がコードする  $\alpha$ -アミラーゼと、 $\alpha$ -アミラーゼ BD5088、この 5088 というのは全く別物で、米国で GRAS 認定が既にされている耐熱性の  $\alpha$ -アミラーゼですが、それらはアミノ酸配列において、93%の相同性を示すとされているが、配列の比較のデータを示すことということで、以下のとおり示されております。

6 ページにまいりまして、*amy797E* 遺伝子の合成方法について 3 つの遺伝子の断片領域をつなぎ合わせて構築している。つなぎ合わせる際の判断基準や構築の方法等について指摘をしております。

2 つ目のパラグラフになりますけれども、3 個の  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子から、それぞれ 150bp 長の 9 つの領域断片を調製し、等量の断片プールを組み合わせることでライゲーションをすることで再構築の  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子を作成した。

次のパラグラフになりますが、再構築  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子ライブラリーのそれぞれのクローンについて、トウモロコシを原料としたデンプン液化工程を想定した条件で、活性の検定をし、スクリーニングを行った。その結果、実用性の高い  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子として、*amy797E* 遺伝子が選抜されたということでございます。

7 ページにまいりまして指摘の 4 になります。

安全性を確認して欲しい世代を回答し、必要なデータを示すことということで、下にそれぞれの系統がありますが、安全性を確認して欲しい世代は、T1 世代以降である。

8 ページにまいりまして、T1 世代では詳細なサザンプロットの分析を行っていないということで、それ以降の 4 つの F1 世代以降、合計 10 個の世代についてサザンプロット分析を、前回提出している。

これらの結果から、それらの 10 個の世代では、1 コピーが導入されており、3272 系統由来であるということが確認されている。

今回は新たな補足データとして、T1 世代で行われたサザンプロットの結果が提出されております。挿入遺伝子の完全性、それから発現ベクターの外骨格領域が存在していないことを確認するために、開発初期に行われたものであるということです。

完全性確認のためには、以下の制限酵素とプローブが用いられております。

外骨格領域の確認には、以下の制限酵素とプローブが用いられております。

9 ページにその結果が記載されておりますが、最初のポツですが、T-DNA 領域の 4 種類

の構成 DNA のプローブを用いた場合で想定されるサイズと一致する特異的ハイブリダイゼーションバンドが T1 世代において各 1 本検出された。

よって、T1 世代には *amy797E* 遺伝子と *pml* 遺伝子を含む T-DNA 領域のみが挿入遺伝子として存在していたと考えられる。

ちなみに 2 つ目のポツになりますけれども、外骨格領域は存在していない。

仮に T1 世代における挿入遺伝子が複数コピーであった場合、T1 世代由来の 4 つの F1 世代以降の後代における挿入遺伝子が、いずれも同一の 1 コピーになるとは考えにくいことから、T1 世代における挿入遺伝子は 4 つの F1 世代以降と同一の 1 コピーであったと判断できると考えますということでございます。

次のパラグラフになりますけれども、T1 世代のサンプルは既に存在しないということから、分析を行うことはできなかった。

後半になりますけれども、T1 世代とそこから発生した F1 世代以降の挿入遺伝子は、発現ベクターに由来する T-DNA のみを含む 3272 トウモロコシであることを示していると考えられるということでございます。

以下にそれぞれ概要書の修正が記載されております。

13 ページ、指摘の 5 番になります。

近傍配列の決定で、①から③までありますが、まず①の指摘ですが、5´、3´の近傍配列について、CCAATbox が存在しないということから、3 個の TATAbox が機能を有するプロモーターではないと一般論を引用しているが、TATA less のものも知られているので、プロモーターでない判断した根拠云々について回答することと指摘をしていますが、指摘のとおり、TATAbox のみをプロモーターと判断することは難しいと考えた。したがって、新たに遺伝子導入による影響についての分析をし直したということでございます。

下のパラグラフになりますが、まず既知の機能遺伝子が損なわれている可能性を検討するために、両側近傍 1,000bp、それから隣接する T-DNA 領域 90bp になりますけれども、計 1090 になりますが、NCBI に対して blastx による検索を行った。Evalue は 10 以下としてその結果、3´側で 5 つのタンパクが見いだされた。最も相同性の高かった Evalue は 0.067 であったが、それらの中にトウモロコシの既知のタンパク質の配列は見いだされなかったことから、トウモロコシの既知の遺伝子が損なわれていないということが示唆された。

なお、この 5 つのタンパク質の中に、既知のアレルゲンや毒性タンパク質が見いだされていないということが記載されています。

14 ページ以降は近傍配列の決定のそれぞれの具体的な方法について記載がされてお

ます。

18 ページにまいりまして、2 つ目の指摘ですが、①の結果を踏まえて、30 アミノ酸以上の ORF が存在しないかどうかの確認をすることというふうに指摘をしております。

回答といたしましては、導入遺伝子と両側近傍の接合部で意図しない ORF が形成されているかどうか分析した。

定義としては、30 以上の連続するアミノ酸として終止コドンから終止コドンとして、センス方向、アンチセンス方向でそれぞれ 3 フレームについて検索を行った。

その結果、以下に示す 7 個の ORF が検出されたということでございます。

19 ページの③に行きまして、挿入近傍配列で転写が起きているかを確認し、安全性の観点から考察をすることという指摘ですが、上記②の ORF 検索によって検出された 7 個の ORF について、アミノ酸配列に基づき安全性を検討した。

(1) として既知のタンパク質との相同性検索ですが、7 個の ORF がコードするアミノ酸について、NCBI のデータベースに対して、blastp によるタンパクの相同性検索が行われています。

その結果 2 つのタンパクが見いだされ、最も相同性が高かった Evalue は 2.3 であったが、この 2 つのタンパクは、既知のアレルゲンや毒性タンパク質ではなかった。

(2) として、アレルゲンとの相同性検索が行われております。7 個の ORF がコードするアミノ酸について、アレルゲンのデータベースに対して、80 個以上の連続アミノ酸配列を有する 1 個の ORF に対しては 35% の相同性、すべての ORF については、8 個の連続アミノ酸で一致するエピトープについて検索をしていますが、その結果アレルゲンやエピトープは見いだされなかった。

なお、①の回答にも記載していますが、両側近傍と T-DNA 領域の接合部について blastx による相同性検索の結果、5 つのタンパク質が見いだされておりますけれども、既知のアレルゲンや毒性タンパクは見いだされなかったということで、20 ページで、以上のことから、遺伝子導入によりアレルゲンや毒性タンパク質が発現している可能性は極めて低いと考えられるとしております。

21 ページにまいりまして、アレルゲンの関係で AMY797E  $\alpha$  -アミラーゼタンパク質と、相同性が認められた Per a 3 既知アレルゲンの IgE 結合エピトープの同定について、Wu らの論文を引用している。当該論文の試験方法では、Per a 3 の 631-638 番目の間のアミノ酸配列が分断されているので、この論文には有意性がないので削除することという指摘をしております。



回答といたしましては、申請者は、外部のアレルギー研究の専門家らに、Wuらの論文内容の検証、並びに $\alpha$ -アミラーゼの血清学的試験の必要性に関する科学的評価を依頼したということでございます。

依頼をした専門家は以下の方々です。

その結果補遺の27にまとめられておりますが、22ページにまいりまして、2003年のWuらの論文のIgE結合能の評価については、AMY797E $\alpha$ -アミラーゼと配列が一致したPer a 3.01の631-638番目がIgE結合エピトープである可能性は極めて低いと評価がなされているということです。

具体的には、真ん中のパラグラフになりますが、論文そのものは、補遺27の一番最後に付いていますが、アミノ酸配列の長さで同等にして、結合能を評価する必要があります。その場合、下線部のところになりますが、Per a 3.01に対する結合の阻害というのは、完全長タンパク質の阻害を100%とした場合、別のところのエピトープですが、595番-636番の断片では、40%に減少されることになる。

このような調整を、既に確認がされている4つの断片すべてに適用し、阻害率を合計すると先ほどの表にあるような過大評価にはならず、完全長のタンパク質に対する全IgE結合とほぼ合致することになる。

もう一点としましては、SDS-PAGEを用いて、595番目から636番目の断片のバンドが1本明確に見られている。

もう一方では、606番目から636番目の断片では、検出可能なバンドは認められていない。結局この636番目から685番目の断片に相当するレーンでも、バンドは認められていない。

分断はされてはいるけれども、結局ここには6つのアミノ酸が含まれているということで、4つの断片に対するIgE結合能の総合計がタンパク質の完全長に対する合計と合致していると思われることから、ほかに結合がないと示唆されるということで、606番目から636番目の断片、それから、636番目から685番目の断片に対する結合は検出されなかった。ちょうどここで切れているわけですがけれども、そこで結合が検出されなかったことを考え合わせると、対象とする8つのアミノ酸との結合についてはエビデンスに欠けていると考えられるということです。

23ページの真ん中のパラグラフの辺りは、既に確認されている4つのエピトープについて、患者さんの血清を用いて結合性を見たところ、用いた患者さんによっていろいろ結合にばらつきがあるということが記載をされております。

最終的に、下から2つ目の下線部になりますが、Wuらが採用したアプローチは、決定的な裏付けではないけれども、631番から638番目のペプチドの配列がワモンゴキブリに対するアレルギーのIgE結合標的のエピトープではないということが示されている。

繰り返しになりますが、結論としては、IgE結合能を直接示すデータは得られていないけれども、かなり徹底した評価が行われていて、631番目から638番目のアミノ酸領域をエピトープとするにはエビデンス不足であり、エピトープとは考えにくいというふうに記載がされております。

25ページの7番目で、先ほどのエピトープについて、ワモンゴキブリのPer a 3で既知のアレルゲンで一致する配列が認められていることから、IgEの結合能について試験をすることという指摘をしております。

回答といたしましては、本評価を依頼した専門家は以下の4つの理由から、AMY797E $\alpha$ ーアミラーゼについて、ゴキブリアレルギー患者のリスクが高まる可能性は極めて低いと結論づけていて、これらに加えて血清試験の実施及び結果の解釈が困難であることから、IgE結合能についての試験は行っていないとしております。

その理由といたしましては、①として8個のアミノ酸配列の一致のみでは、アレルゲンとは考えにくいということで、科学文献から得られた最新のエビデンスでは8個のアミノ酸配列がアレルゲン又はアレルゲンと推定されるものと一致するタンパク質であっても、80個のアミノ酸から成る断片で35%を超える同一性が認められなければ、IgE交差反応や、共通のアレルギー誘発性は予測されないとされている。

②としましては、Per a 3.01がマイナーなアレルゲンであるらしいこと。

また、Per a 3.01がアレルギー患者にアレルギー性疾患を誘発する主因になっていると結論づけたり、ワモンゴキブリのタンパク質に特異的なIgEの有意な部分が、Per a 3.01に対して特異性を示すと結論づけたりすることができないということを示している。

③といたしましては、先ほどの指摘の回答にありましたように、エピトープである可能性は極めて低い。

次のページにまいりまして、④として3272 トウモロコシ由来の食品を食べても、日本のゴキブリアレルギー患者のリスクが高まる可能性は少ないということで、その次のパラグラフにあります。日本でも少なくともそういう患者の方が存在をしているけれども、日本でのワモンゴキブリに対する感作の率に関する情報はごくわずかである。

次の下線部になりますが、交差反応が疑われることの類似性はいずれのゴキブリアレルゲンとの間にも認められないことから、ゴキブリアレルギー患者のリスクは特段高

いものではないと考えられるとされております。

⑤として、血清試験を行って、正確な結果を得ることは困難ということで、Per a 3.01 アレルギーが確認されている個人から採取され、特徴づけがなされた調整済みの血清は入手困難であること。IgE 結合に関しては閾値についての明確な定義が確立されていないことから、結果の解釈は困難であって、また擬陽性や擬陰性の可能性もあるので、その有効性をいかに確認するかが問題となる。

これらのことから、本評価を依頼した専門家は、IgE 交差反応を起こす可能性を示すエビデンスがないこと、ゴキブリアレルギー患者が 3272 トウモロコシからつくられた食品に対してアレルギー反応を起こすリスクが高いことを示唆する情報がないこと、血清学的試験を行う上での問題・障害が存在することから、血清学試験を行う必要があるとは考えていないとしており、申請者においてもアレルゲンである可能性は極めて低いと結論し、試験を行っていないということでございます。

27 ページの指摘の 8 番になりますけれども、可溶性の炭水化物の分析を行い、その結果を回答することということで、2006 年と 2007 年にそれぞれ 1 か所の米国の圃場で収穫した穀粒を用いて可溶性の炭水化物のフルクトース、グルコース、スクロース、マルトースの分析が行われています。

その結果、フルクトース、スクロース、マルトースについては、いずれの年においても有意差は認められなかった。グルコースについては、2006 年の分析で有意差が認められたが、2007 年の分析では差異が認められず、一貫した整合性が認められなかった。

したがって、可溶性の炭水化物については、非組換えトウモロコシと同程度であろうと考えられるとされております。

28 ページにまいりまして、指摘の 9 になります。

発現タンパクを用いた単回投与の急性毒性試験において、投与した量の設定根拠を回答することとしておりますが、急性毒性試験における投与量として  $\alpha$ -アミラーゼの投与量が 1,511mg/kg、正味投与量として 635mg/kg としていましたが、実際には誤りで、投与量としては 3,600mg/kg、正味投与量として 1,511mg/kg であった。

また、投与量の設定根拠は以下のとおりで、米国もしくは OECD のガイドラインに沿って設定しているということでございます。

30 ページにまいりまして、指摘の 10 番になります。

本組換えトウモロコシの利用目的及び利用方法がエタノール製造を主目的としてつくられているわけですが、今後はコーン油などの食品に利用される可能性があると考えられている。

したがって、耐熱性の $\alpha$ -アミラーゼの活性を保持した状態で食品として流通加工されることについて、食品に与える影響について回答することとしております。

「1. 流通方法」ですが、31 ページにまいりまして、申請者は利用方法はエタノール製造に限定をすとした。

製造されたエタノールは主に燃料用として利用される予定であるが、飲料や食品添加物としても利用される可能性がある。

そこで栽培用種子は収穫物を指定したエタノール工場のみに出荷をするという契約に同意した生産者だけに提供するというようにしたそうです。

「2. 調理・加工方法」については、3272 トウモロコシを利用したエタノール製造方法は、従来の微生物培養物から抽出した耐熱性の $\alpha$ -アミラーゼの添加が不要となるという点を除けば、従来のトウモロコシからつくったエタノールと同様である。

なお、最終産物であるエタノールにはタンパク質は存在していない。

したがって、3272 トウモロコシから製造するエタノールに関する調理・加工方法は従来のものとは変わらない。

一方、3272 トウモロコシは穀粒の状態では耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼは作用しないということで、加水と加熱を伴うような調理・加工方法では、穀粒中のデンプンがデキストリンに加水分解される可能性がある。

次のパラグラフで、しかし、3272 トウモロコシの耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼは常温では活性化しないということから、通常食品が流通・保管されるような常温の状態においては、耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼによる影響は生じないと考えられるとされております。

3番として食品に与える影響及び食品を摂取した場合の問題点ですが、耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼはデンプンからデキストリンへの加水分解を触媒する。

次のページで、従来、食品加工において、 $\alpha$ -アミラーゼは広く利用されていて、いろいろな食品を通じて多様な $\alpha$ -アミラーゼを摂取している。仮のこの耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼが食品の調理・加工工程で作用した場合、デキストリンが生成されることになる。

後段の下線部分になりますが、つまり、3272 トウモロコシの耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼによって食品中にデキストリンが生成されても、従来の食品に含まれるデンプンと同様にグルコースにまで消化されて、吸収されることに変わらない。

これらのことから、3272 トウモロコシを食品として利用されても、生成されるデキストリンによってヒトの健康上、栄養上の問題が新たに生じることはないと考えられるとされております。

33 ページ、34 ページは修正箇所になっております。

以上でございます。

○澤田座長 どうもありがとうございました。

それでは、ただいまの回答書につきまして、指摘事項ごとに御意見をいただきたいと思  
います。

まず1番目のDNAライブラリーの作成方法等、この好熱性の古細菌からの $\alpha$ -アミラー  
ゼのデータを得た過程であります。これは回答書の1ページ~5ページの上に相当いた  
しますが、これについて、コメントをお願いしたいと思います。

これは五十君先生と小関先生と鎌田先生からコメントをいただいたようになっていま  
すが、いかがでしょうか。

○小関専門委員 メタゲノムからつくっているということで、それはそれで了解したんで  
すけれども、この書きぶりとして、要するに何が入っているかわからない生物のサンプル  
という書き方をしたくないので、ただ単にサンプルという書き方をしているんですけれ  
ども、これは結局深海水ですよね。それを取ってきてその他に含まれる生物を集積培養し  
て正確に書いてもらった方がいいと思うんです。ただ単にサンプルというと、海水を取  
ったのか、その温度にある空気を取ったのかわからないですから、きちんとそこは対応して  
書いてもらうべきだと思います。気が付いたのはそういうところです。

○澤田座長 概説書の方でいうとどこに、当たりますか。

○小関専門委員 二重下線で引かれていると思いますけれども、3ページの下から2行目  
のところに、「また、BD5063は深海太平洋の90℃でpH6.5の場所から採取したサンプル」  
と書いてあるんですけれども、何を採取してサンプリングしたのかをきちんと明確に書い  
て欲しい。要するに海水を採ってきて、そこに含まれる生物を集積培養したと書くべきだ  
と思うんです。

○澤田座長 それは直していただくことでよろしいですか。

○鶴身課長補佐 はい。

○澤田座長 五十君先生、追加で何かありますか。

○五十君専門委員 基本的には、型がはっきりしなかったものですから、どういうふう  
に取ってきたかを整理していただいたので、前のに比べると非常によく状況はわかりまし  
た。ですから、ここの表現につきましては、今、小関専門委員の方から御指摘のあったところ  
を直す程度で理解できるのではないかと思います。

○澤田座長 鎌田先生はよろしいでしょうか。

○鎌田専門委員 私も基本的にいいんですが、多分これは、今回はそれでもまだ混ぜた形で使っているからいいけれども、メタゲノムで取った DNA をそのままタンパクとして使ったときに、さて、どう書けるんだろうかと逆に今後の問題として、安全性は全然確保されていない未知の生物から取ったというしかなくなるので、今回はその意味では中間的だということになるんですが、基本的には混ぜたものだとわかっているんで、今回はいいと思います。

○澤田座長 それでは大筋よろしかろうということで、2番目の、この遺伝子がコードする  $\alpha$ -アミラーゼと  $\alpha$ -アミラーゼ BD5088 のアミノ酸配列を比較できるデータを示すこと。これは私が出してくれるように言ったもので、これは GRAS の承認が下りております 5088 とどのくらい違うのか情報を出せということです。予想以上に違うなということでもあります。これはデータを出してもらったので、よろしいかと思えます。

3番目の、*amy797E* 遺伝子の構築方法等について詳細に回答すること。回答書の6ページと7ページになりますけれども、これは小関先生から御指摘いただいたものでしょうか。

○小関専門委員 私だと思います。どう組み合わせたか全く書いてなかったんで、きちんと書いてもらえれば問題はありません。

○澤田座長 これはよろしいですね。

では、7ページの4番目で、これは例によって安全性確認を求める世代ということでありまして、これは鎌田先生が中心に、小関先生と山崎先生がコメントされたかと思えます。

○鎌田専門委員 今回のはきっちりやられているので大丈夫です。

○澤田座長 最終的には、T1 世代以降ということですか。

○鎌田専門委員 申請書よりもっと広がった格好になっております。

○澤田座長 この点でほかに何か追加のコメントがありますか。13ページまで大分長い文章ですけれども、よろしいですか。

では5番目で、概要書の36ページの近傍配列の決定で、これは幾つかコメントがありまして、まず①で TATAbox は機能を有するプロモーターではないと一般論を引用しているが、TATAless プロモーターの存在も知られていることから、プロモーターでないと判断した根拠及び具体的な近傍配列決定方法と決定した配列を回答することということですが、これは小関先生ですか。

○小関専門委員 最初の概要書には、どうやって決めたかという方法論が全く記載されていなかったんで、好ましくなかったということと、TATAがないからプロモーターでないと記載は正しくないんで、そこは削除して欲しいというところと言ったところなので、

これでいいと思います。

○澤田座長 それでは、よろしいですね。

18 ページ、②で近傍配列の接合部で新しい ORF ができるかどうか、可能性を回答してくださいということで、これは小関先生ですか。

○小関専門委員 ②と次の③がセットになっているようなもので、②で ORF を一応 30 アミノ酸以上ということを出していただいて、出たものがあつたらそれについて③で回答されているような形できちんとアレルギー性を調べてくださっているのので、これで私は問題ないと思います。

○澤田座長 今のものは③も含めて OK ということですか。

○小関専門委員 そうです。

○澤田座長 飯先生、いかがですか。

○飯専門委員 ここ何回かで整理されてきているところですので、この回答でよろしいかと思ひます。

○澤田座長 では 5 番に関しまして、追加で何かコメントありますか。

そうしますと 6 番で、これは今日の一番の問題になるかと思うんですけども、アミラーゼと Per a 3 既知アレルギーの IgE 結合エピトープの問題でありまして、これは回答書の 21 ページ～24 ページ。それに関連して、7 番が、IgE 結合能の試験を行ってくださいということでありまして、これが 25 ページ～27 ページだと思います。これは関連がありますので、順番に行きたいと思ひますけれども、まず 6 番から、宇理須先生いかがでしょうか。

○宇理須専門委員 まずこの回答の仕方が今までなかったと思うんです。外部の専門家と言われる人に意見書を求めて、しかもその意見書にはその人のサインがしてあるわけですから、この申請書のために使われるということはその方は知っているはずなんです。そういった外部の意見をどう扱うかというのが 1 つあるかと思ひます。

つまり、例えば、Wu の論文をこの人たちは引用しているわけです。こちらが、Wu の論文を引用しろと言ったわけではなくて、向こうが Wu の論文を引用して、それなりにパブリッシュしたピアレビューのある論文を出してきた。そういうのはそれなりに扱いが我々としてはわかるわけですけども、こういった外部の専門家に企業が依頼して、依頼を受けた人はこの申請書に提出されるということを知ってサインして出しているわけなんですけれども、こういったものをどう扱うかというのは議論が要るのではないかと思ひました。

とにかく、この意見書も含めてこれは企業の回答なんだと。そういうふうに解釈をする

ならば、特段の扱いをせずに見てもいいのかなというふうにも思いました。

そういった意見書に関する問題点がこの委員会として何かあるということであれば、そこを議論していただかなければいけないと思いましたが、それをまずは置いておいて、少し意見を述べさせていただきたいと思います。

6番の Wu の論文に関して、これは先ほど言いましたように企業の方が利用した論文なんです。それに対して、それは十分な根拠にならないから、こちらとしてはそれを引用した回答というのはまずいのではないかという意見を出したわけですが、結論を言いますと、引き下げるといふことはしないといふふうに言ってきたという点です。そういう点、こちらの意見に対して違う回答が来たということが1つあります。

もう一度、Wu の論文を引用して、問題となっております8つのアミノ酸、631番～638番というアミノ酸について、いろいろ議論をしているんですけども、Wu の論文にかなり問題があると彼らも言いながら、それを基にして意見を述べているというのも非常に違和感を覚えました。

例えば、4つのエピトープがあると言っているわけです。その4つのエピトープに対する結合能を足し算するとトータルに一致する。だから4つ以外にはないといふふうに言っているわけなんですけれども、足し算する前に、この論文はウェルにコーティングする際の mol 数でしょうか、そういうものが一致されていないので、まずその mol 数を合わせるように、意見書を書いた人は変換しているんです。変換した数値を足すと、100%に近づくので4つ以外にはないという論理なんです。その方法に対して私は非常に抵抗感を持ちました。

それはどうしてかといいますと、こういった方法というのはかなり誤差があるわけなんです。例えば我々阻害率を見る場合も、10倍以上差がないと有意とは見ないというくらいの誤差があるんです。そういった意味でも足し算して単純に、100に近いからほかにはないよといふのはちょっと乱暴ではないかというふうに思いました。

そしてこの Wu の論文は、4つはあると言っているんですけども、4つ以外にはないと、この Wu は彼の論文では言っていないんです。

それをこの申請者である企業の方が、論文をもう一度見直して、申請者の方がいろいろな手を加えて解釈をして4つ以外にはないのではないかとやっているわけです。Wu の論文を読んでいただくとわかりますが、オーバーラップ・ペプチドを使った網羅的な解析をしているわけではなくて、幾つかの断片をリコンビナントで作って、そこにあるないということをやっているわけなんです。そして運が悪いことに、8つのアミノ酸配列は、途中



で切れていて、6つと2つに切れているものを評価しています。Wuの論文では8つに関しては、評価はされていません。こちらがその8つのアミノ酸配列にIgE結合能があると言っているわけではありません。評価されていないから、この論文を引用することをやめてくださいと言っているわけなんです。

そういう意味で、十分な回答にはなっていないと思いました。前にもいろいろと書いてあります。例えば、WuらがみているIgE結合が、ノンスペシフィックではないかとか、使っている抗体の信頼性がどうかいろいろ書いてあります。それも十分な根拠にはなりえません。もう一つは申請者がこのWuの論文をもってして、何かを言おうとしているわけです。自分たちが引用した論文に関して、欠点があるというのは、少しお角違いではないかと思いました。

7番にも関係をしませけれども、ここはもう一度この委員会で確認をしなければいけないと思うんですけれども、アレルギー性のシーケンスの評価ですけれども、80個以上のアミノ酸配列で35%以上というのが1つクライテリアとしてあるわけです。

もう一つ、今回問題になった連続する8個以上のアミノ酸配列が一致するかどうかという2つのクライテリアがあるわけなんですけれども、今までこの委員会ではその2つを使ってきたというふうに私は理解をしています。

ただ、これまでも8個ではなくて、6ではないか7ではないかという数の問題があったわけですけれども、確かに6と7に関しては大きな議論があって、8に関しては、今のところは大きな議論はなかったのではないかと理解をして、これをこの委員会でも使ってきたわけなんですけれども、もしも申請者が言う25ページの「科学文献から得られた最新のエビデンスでは、8個のアミノ酸配列がアレルギーまたはアレルギーと推定されるものと一致するタンパク質であっても、80個のアミノ酸からなる断片で35%を超える同一性が認められない場合は、IgE交差反応や共通のアレルギー誘発性は予測されないことが示されている」を認めてしまいますと、我々の評価の方法というものをもう一度見直さなければいけないのではないかということになるわけなんです。

そういう意味で、ここはかなり重大なことかなというふうに思いました。

そして、彼らが言う「科学文献から得られた最新のエビデンスでは」というものが、何を指すのかというのはちょっとよくわからなかったんですけれども、幾つか引用文献を見せていただきましたけれども、その中では6と7は問題にはしている論文や、6と7では問題があるから、もう少しいい方法を出そうという論文はあるんですけれども、少なくとも8個に関して問題があるからやめましょうというそこまでの強い論文というのではないと

思います。Goodman という報告書の意見書を提出した人が書いた最近の『Nature』に載っている総説がありますが、8個では問題があるとしているのは、その総説ではないかと思えます。もう一つ最新のエビデンスというのが、やはり Goodman が書いた「アン・パブリッシュト・アーティクル」のようです。これはアン・パブリッシュトですので引用してはいけないと思います。『Nature』の論文も総説なんです。オリジナルな論文ではないわけです。

そういった意味で、8個という議論にはなっているんですけども、まだそれを引き上げて、意味のないものだとするところまでにはいっていないのではないかと思います。先ほど言った科学文献から云々という意見も認められないのではないかと私は思いました。

そういう意味で、ここは委員会としての立場というものはっきり出さなければいけないのではないかと。もしもそういう8個というのを委員会として評価するクライテリアに入るんだということになると、彼らの言う論理は壊れてくるのではないかと思います。

もう一つ思ったのは、最初の申請書では彼らは8個という条件を使っているわけです。また、19ページの近傍云々というところでも、彼らは2つの条件を評価して、それを認められていないので大丈夫だというふうに言っているわけなんです。彼らはちゃんと使っているわけです。報告書を書いた人が部分ごとに違うのかもしれませんが、ちょっとおかしいなというふうに思いました。

そういう意味で、IgE の患者さんの血清を使った評価を要求するかしらないかは別として、私としてはなかなか認め難いような報告書ではないかと思いました。

以上です。

○澤田座長 どうもありがとうございました。手島先生、いかがですか。

○手島専門委員 私も6番のコメントに関する631~638番目のアミノ酸の部分が、エピトープではないということの説明なんですけど、Wu らの論文は、4つのエピトープがあるということを行っている、それは言ってもいいのかと思うんですけど、ただ、この4つのエピトープのインヒビション試験から合算して、それが100%、それはインヒビション試験そのものが定量性がないので、それだけと言い切るのはちょっと無理がある。だから、Wu らの報告の中で、4つのエピトープが同定されていますけれども、今回の8残基のアミノ酸は、そこには入らないという程度の表記であれば、それはそれでいいのかなと思いました。

7番の答えが議論になるところだと思うんですけども、今まで6残基、7残基の場合は、エピトープでなければ血清試験までは求めないと言ってきた経緯があると思えます。

8個の場合は、基本的に血清試験を求めるという形で言ってきたんですけど、それを言った

ときに、今回は特に 26 ページの 5 番の答えになりますか、血清の入手が不可能であると書いてあるんですが、この同じグループは PMI に関して 8 残基一致があったので、血清を持っているグループに頼んで試験をしてもらったというのがあります。

実際、ゴキブリの患者さんがいるので、何とかして入手可能なのではないかと思うんですが、そこででき得る限りこの血清試験を入手する努力をしていただきたいということです。

それから、IgE の血清試験、結合試験の閾値が明確な定義が確立されていないというふうなコメントがあるんですが、それは今までも血清試験を行ってきたので、それなりの方法論はできていると思います。

私としては、でき得る限り血清試験というのはやっていただきたいと思いました。

○宇理須専門委員 もう一つ追加してもよろしいですか。

○澤田座長 どうぞ。

○宇理須専門委員 7 番目に対する回答といたしまして、Per a 3.01 というのが、マイナーアレルゲンだと書いてありますね。Wu はメジャーだと言っているんですね。つまり先ほども言いましたように、自分たちが Wu の論文を引用しながら、Wu の論文にはかなり問題があると言っているんです。ですから、マイナーアレルゲンと考えられると書いているのは、申請者の考えなんです。それが 1 つです。

それから、26 ページの④ですけれども、「日本のゴキブリアレルギー患者さんのリスクが高まる可能性は極めて低い」ということが書いてありますけれども、感作率に関する情報はわずかであって、そして、Tomita らが、感作は限られたもの、つまり患者さんの数は少ないということがここに書いてありますけれども、実際、喘息の患者さん 127 人で、同じゴキブリの種類ですけれども、抗原を提供しているメーカーが 2 社あるんですけれども、その 2 つの種類のゴキブリで調べているんですけれども、127 人の喘息患者さんのうちの、一方は 13 人、一方は 15 人が感作成立していると言っているんです。つまり喘息の患者さんの約 1 割ぐらいの人はゴキブリに対して感作されているというデータが出ているんです。この 1 割という数字をもって、少ないと言えないのではないかと思ったんです。もう一つは、少ないから患者さんのリスクが高まる、高まらないということを議論はできないのではないかと思います。

私たちの印象としては、ゴキブリアレルギーの患者さんというのは、少なくはない。見つけるのが難しい患者さんではないし、そういう意味では血清の入手も、私が頼まれたら提供しますと言えるぐらい、それほど難しくないのではないかと。

ただ、ゴキブリの種類で抗原性に随分差があるようです。アメリカゴキブリに対するアレルギーでないのだめなようですけれども、前にもカエルが云々というのがありましたね、あれに比べたら、患者血清の入手ははるかに難しくないのではないかと思います。

○澤田座長 まず、ほかの先生方、追加で御意見ありますでしょうか。ちょうど8個の真ん中で、6と2に分かれてしまったものでインヒビションをやって出ないから、8個のペプチドでもが出ないだろうとは、ちょっと言えないと。

○宇理須専門委員 Wuは、その部分（8個のアミノ酸からなる配列）に関して何のコメントもしてないんですね。この引用した申請者が、WuのデータからIgE結合能はないだろうと言っているんです。

○澤田座長 申請者はWuさんに接触したのでしょうか。

この申請が1年ぐらい時間が経ってしまっていて、何のために時間がかかったのかということがよく理解できませんので。サザンのためですか。

○鶴身課長補佐 1番は、この理由を考えていたようです。

○澤田座長 一応は、8個のエピトープの問題の懸念がありまして、それを完全には現時点では否定できない。残ったままであるので、7番の指摘が必要であろうと思います。

IgEの結合能を、患者さんの血清を集めて調べる努力をしてくださいと。患者血清がない場合はどうしましょうか。手に入らないことはあり得ないということですか。

○宇理須専門委員 アメリカだと患者血清が市販で入手できるという話がございますね。ですから、ゴキブリアレルギーに関する論文が一番出ているのがアメリカなんです。そして、ニューヨークだとか、むしろゴキブリのアレルギーは経済的なアレルギーだと、つまり、あまりお金持ちじゃない、そういったところに多いアレルギーだと、ニューヨークのハーレムのような、ああいうところで多いとされています。ソシオエコノミカルな病気だという論文が出ているんですね。そういう意味で、アメリカであれば十分に入手できると思います。

そうなれば、私は買ったことがないので知りませんが、購入もできると思いますけれども、ちょっとそこは確証はありません。ともかくゴキブリのアレルギーの患者さんというのはそれほど珍しくないと認識しております。

○澤田座長 そうしますと、一応7番の指摘は、そのまま残って解決されてないということになります。6番は、完璧に削除しろと書いてあったんですけども、参考文献程度に残すことは可能なんですけど、これを根拠にしてはいけないわけですね。

○宇理須専門委員 是非7番のところに対する回答、科学文献から云々というところ、こ

れを認めてしまいますと、今やっている審査の方法を変えないといけないのではないかと  
いう議論が必要になると思います。この辺、FDA だとか EFSA だとかはどうしているかとい  
うことも、ちょっと気にはなります。日本だけ 8 個に固執していると、確かに問題になる  
かもしれません。

○澤田座長 FDA のアレルギーの審査は、あまり情報が上がってきませんけれども、手島  
先生、御存じですか。

○手島専門委員 私もよく存じ上げないんですけれども、もうアメリカでは認可されてい  
るんですね。

○鶴身課長補佐 はい。FDA とオーストラリア・ニュージーランドは終了しています。

○手島専門委員 そうすると、そこは議論してないんですかね。EFSA の方のガイドライン  
を読みますと、かなりアレルギー性試験のところは、私たちの評価書に近い形で、コーデ  
ックスの 2003 に近い形でガイドラインを書かれているんですが、ただ、8 個の議論をどこ  
までしているかというのは、EFSA の情報は全くつかんでいません。

○宇理須専門委員 その Goodman が『Nature』に書いているんですけれども、彼はコーデ  
ックスの 2003 を引用して、その 2003 でも 8 個が否定されているような書きぶりの文章に  
なっているんです。ですから、『Nature』の文章もそれでいいのかということが気になり  
ます。CODEX2003 では 8 個の条件は否定されておらず、ちゃんと 8 個というのが残ってい  
るというふうに理解していたんですけれどもね。

○澤田座長 私の記憶では、それは脚注ですか。

○宇理須専門委員 脚注ではなくて本文にもですね。

○手島専門委員 サイエнтиフィックにリーズナブルな長さで評価するという書き方で、  
6 とか 7 残基は偽陽性が多いという書き方でした。

○猿田評価調整官 この食品安全委員会の審査は、本当はガイドラインにきちんと書かな  
ければいけないんでしょうけれども、先ほど手島先生が言われたように、日本では 8 アミ  
ノ酸残基でやっているということで、ほかのものと差別化してはいけないというのが 1 つ  
あると思います。

8 アミノ酸残基でもって、もし引っかけた場合については、従前よりも血清でもって  
確認をいただいているということがあって、しかもそれはカエルのようなものではなくて、  
先ほど宇理須先生からあったように、入手可能なものですし、議事録には、先ほど宇理須  
先生から「頼まれれば私のところでできる」というようなレベルのものということをこの  
専門調査会で認識した上で、7 については、まずは本日の専門調査会では相当のデータを

求めるということがよろしいのかなと思います。

それから、6については、先ほど Wu らの論文については、4 あるということは承知したけれども、ほかにないということが書いてないということ先ほど宇理須先生から言っていたので、そのことを踏まえると、7 の追加指摘をもって6 のことも指摘とするか、異論があるようであれば、更に6 について何かコメントがあるようだったら、それを示唆する理由を付加しようということをつけるかどうかというような、いずれにせよ7 による指摘事項で、この専門調査会は6、7 合わせて指摘を出すということで、いかがでしょうか。

○澤田座長 指摘としては、結局はそうなるでしょう。

○猿田評価調整官 先ほどの6、7 の問題については、私の認識についても、特に結論というのは出ていないというか、今後6 でやらなければとか7 でやらなければというところは、先生方御認識のとおり、一定の結論は得ていないので、まずは食品安全委員会で一応8 について、こういう結果が出たら、次の段階は血清を求めるというのが、ある程度ガイドライン的なものになっていると認識しておりますので、まずはそれを求めて、先方のシンジェンタから回答が来た時点で、それがのめるかのめないか検討した上で次の段階に行くというふうにはいかがでしょうか。

○澤田座長 わかりました。指摘の7 は、そのまま再度回答していただくということにしたいと思います。

それでは、次の指摘の8 で、回答書の27 ページ、これはトウモロコシの可溶性の炭水化物の分析云々という指摘で、これは澁谷先生がコメントを出されたのでしょうか。

○澁谷専門委員 この後ろにも関係しますけれども、アミラーゼが組み込まれているということで、いろんな保存とか加工とかの途中で、それがデンプン粒と一緒に壊れる可能性があるから、そういうことが起こっていれば、当然可溶性の糖の変化が見られるだろうと、そういうことをチェックしろということだったので、やったけれども差はありませんでしたということなので、これはこれでいいのかなと思います。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、指摘の9、28～30 ページで、これは急性毒性試験の投与量の設定根拠ですが、和久井先生からコメントがありますか。

○鶴身課長補佐 はい。御確認いただきまして、問題ないという御回答をいただいております。

○澤田座長 そうしましたら、最後の指摘の10、この $\alpha$ -アミラーゼが入ったままのトウ

モロコシが流通した場合に、どういうことが起きるかということでありまして、これは 30～32 ページです。鎌田先生の御指摘ですけれども、他の先生方も興味のあるところかと思えます。

○鎌田専門委員 まず、最初の点なんですけど、1つは、多分概説書を改訂されてきた修正版などを見ているけど、実は 31 ページの真ん中のところに、でも、やはりクッキングでは変わりますと書いてあって、でも調理法は変わらないというのが概説書の中に書かれていて、それは自分たちで矛盾していることを言っているということから始まって、これはデキストリンにしかならないとっておきながら、でもアミラーゼはデキストリンよりも更に分解させる酵素活性も持っていると本文に書かれていますし、その意味で自分たちで言っていることが非常にしつちやかめつちかかになっているので、基本的に健康被害がないんだということを書いていただく方がよくて、そういうふうな形ができていないので、何しろ変わらないということをおうとしているので、それはかなり矛盾していると思えます。

○澤田座長 このアルカリクッキングというのは、ちょっとよく理解できなかったんですけども、これはもともとアルカリ性でクッキングするということですね。この酵素は pH ディペンデンシーは今回のものはないんですね。

どうぞ。

○橋田専門委員 今回の議論からは少し離れているのですが、この回答中に真意がよくわからないところがあります。エタノールだけに特化して利用するということが書かれていますが、そういうことになってくると食品としての安全性をどこに置くかということと、あとこれが食品中にも検知された場合に、どういう扱いとするかということをはっきりさせなければならなくなると思えます。そういう扱いはないと思えますが、食品としては未承認という形にするのか、その辺がよくわからないので、必ずしも安全性ということとは違いかもかもしれませんが、このところの整理は一応しておいた方がよろしいかと思えます。

○澤田座長 重要な点だと思います。本来、エタノール生産がメインの目的でありますけれども、将来食品に回す可能性もなきにしもあらず、それからアルコールですから蒸留酒とかお酒に使われる可能性はありますから、食品に回ってくる可能性は十分にありえます。

そういう意味で、食品として使う場合も想定して、食品としての安全性もきちんと見る必要があるからやっているんだというふうに考えた方がよろしいと思えます。

要は、メインの用途は動物の飼料の場合でも、食品に混ざってくる可能性がある場合は、一応食品としても安全性をみる訳です。そのスタンスと同じように考えた方がいいのかなと思えます。

どうぞ。

○澁谷専門委員 今回の点ですけれども、例えば申請者が出している概説書でも、そういう目的で開発されたけれども、今後商業栽培が進めば、飼料や食品用としても利用される可能性があると自分で言っているんですね。そこからすると、今の10番の回答は、いつもそうなんですけれども、エタノールにしか使わないということを前の方に言って、でも、使っても大丈夫だと。こんな変なことは書かない方がいいと思います。すっきり食品としてアミラーゼが入っていても問題がない。アミラーゼが働いてもできるものはデキストリンと、せいぜいグルコースだと、そういうふうにシンプルに書けばいいわけで、何か論理が非常に変なつくりになっていると思います。

○澤田座長 回答書を書き直してもらってもしょうがないところもありまして、概説書にどういうふうに反映すべきかということが1つあります、概説書レベルで変えた方がいいというところはありますか。

どうぞ。

○小関専門委員 これは概説書レベルで確実に加工方法は変わるわけですから、これで、いわゆるトルティーヤなどをつくろうとしたらできないということを言っているわけですから、したがって、これは加工方法が変わるものである。それでも食品としては安全性に問題が生じるものではないというふうにきちんと明記するということが大事ではないかと思います。ただ単にそれだけでいいはずだと思います。

○澤田座長 それは、例えば概説書の調理法及び加工法のところに、もう少しきちんと書いてもらえばいいということですね。

10番に関しまして、まだコメントがありますか。

○鎌田専門委員 今のように加工方法が変わったりして、食品をメジャーと意識の中で考え出すと、いろんな加工とか使い方があるわけですね。例えばスイートコーンであればコーンスープにしたときに、一体どうなるのかという話になっていってしまうので、コーンスープにしても、これだと $\alpha$ -アミラーゼが活着しているから、どんどん反応は進む。普通だと失活するから成分は変わらないと考えられるのに、それをコーンスープの形で市場に出しているものはどうなるんだろうという話になっていってしまうので、そこら辺は加工方法が変わってしまって、その後の結果も変わり得るので、そこまで考察していただかないと本当はまずいのではないかと思います。

○澤田座長 恐らくちょっと変性して、売れなくなるものには使われないでしょうね。

○鎌田専門委員 そうでしょうね。



○澤田座長 メリットがある場合には、これが食品の材料に使われる可能性はあり得ると思います。ただ、デント種です。

○鎌田専門委員 今はですね。

○澤田座長 今はデント種なので、搾りかすが飼料として使われるかと。デント種の大部分はデンプンを採るために使うという話で、不溶性のデンプンを採りたい場合には、ちょっと問題がありますけれども、更にデンプンから糖化まで進めたい場合にはメリットがあるのかなど。だから、使われる可能性があると思います。

どうぞ。

○石見専門委員 ここの31ページのところに、「利用方法をエタノール製造に限定することとしました。製造されたエタノールは主に燃料用として利用される予定ですが、飲料や食品添加物」、だから、エタノール製造に限定することになっているので、このところはエタノールとして考えてよろしいんではないかと思います。更にスープとか、そういうものにいくんでしょうか。

○澤田座長 そこは、概要書が矛盾してしまして、将来は使う可能性があるという前提で書いていて、当面はエタノールに限定する。種子を売る場合にはそうしたいんですけども、将来はわかりませんという書きぶりです。

○石見専門委員 そこのところが矛盾しているので、しっかり一致させていただければいいかと思います。

○澁谷専門委員 ただ、こういう申請でOKを出してしまって、エタノール以外にも使われたら、そのときは新たに評価するんですかというのと、そうはならないんですね。だからこそ、ほかの食品などの広い用途も考えた上での評価をしておかないといけない。

○橋田専門委員 加えて、勿論用途限定で、ある程度前もって考えて承認ということもあるのかもしれませんが、当然、一旦承認されたものについては混入があっても、それについては特に問わないということになっていますので、最終的に使用されると予想されるものについては、どんなものであってもある程度カバーできるような形にしておく必要があると思います。

○猿田評価調整官 この議論は幾らやってもしょうがないですね。農薬のように、用途を限定した申請ではないので、この辺の書きぶりは無視していただいて、スターリンクのように花粉が飛んで混じるということを前提に考えていただくことが大事だと思います。

○澤田座長 今の考え方でよろしいかと思います。

ほかによろしいでしょうか。時間もちょうどいい具合になってしましまして、アレルギー

一関係の問題がまだ解決しておりませんので、もう一度血清を使った試験の関係で出し直していただくことになろうかと思えます。

したがいまして、飼料は今日はやりませんで、次回以降になるかと思えます。

それでは、ただいまいただきました指摘事項等を取りまとめまして、厚生労働省を通じて指摘をしたいと思えます。

今日は、先ほど申しましたように時間がもうなくなりまして、議題1については終わりたいと思えます。

議題2の「その他」でありますけれども、私から1つ報告がありまして、昨年8月の専門調査会で審議いたしました、ILE-No.1株を利用して生産されたL-イソロイシンについて、これは資料に記載されている遺伝子の向き、生産菌を死滅させる工程、副生成物のL-アロイソロイシンの安全性について指摘を出したところでありまして、その回答の取扱いにつきましましては、担当の先生に御協力いただきまして、座長預かりとなっております。

確認したところ、すべての指摘事項につきまして、適切な回答をいただくことができましたので、回答内容に基づきまして評価書(案)を一部修正し、食品安全委員会に御報告いたしましたので、報告させていただきます。なお、現在この件もパブリック・コメントの募集中です。

私からの報告は以上でありまして、そのほかに事務局からありますでしょうか。

○鶴身課長補佐 特にございません。

○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。今後の予定につきまして、事務局からお願いします。

○鶴身課長補佐 次回の予定ですが、先生方の日程を調整させていただきましたところ、2月17日火曜日の午前中が一番御都合がよろしいかと思えますので、お忙しいところですが、よろしく願いいたします。

○澤田座長 それでは、次回は2月17日、よろしく願いします。

以上をもちまして、第67回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を終わらせていただきます。