

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第 81 回会合議事録

1. 日時 平成 22 年 4 月 19 日（月） 14:00～16:10

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 系統とチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ Bt11 系統とコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ MIR604 系統と除草剤グリホサート耐性トウモロコシ GA21 系統からなる組合せのすべての掛け合わせ品種（既に安全性評価が終了した 4 品種を除く。）
- ・チョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B 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、海老澤専門委員、小関専門委員、鎌田専門委員、橘田専門委員、児玉専門委員、中島専門委員、飯専門委員、山崎専門委員、和久井専門委員

(委員)

小泉委員長、長尾委員、廣瀬委員、見上委員

(事務局)

栗本事務局長、大谷事務局次長、北條評価課長、前田評価調整官、北村課長補佐、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耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ 3272 系統とチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ Bt11 系統とコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ MIR604 系統と除草剤グリホサート耐性トウモロコシ GA21 系統か

らなる組合せのすべての掛け合わせ品種（既に安全性評価が終了した4品種を除く。）

②チョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B 系統（食品）

③チョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B 系統（飼料）

## 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81回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催いたします。

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

本日は所用によりまして、澁谷専門委員、手島専門委員が御欠席とのことです。

本日の議題であります、新規の品目でありますトウモロコシ4品種の掛け合わせ品種、チョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B 系統、これは食品と飼料の両方があります。

以上の安全性についての審議を行いたいと思います。

それでは、お手元の資料の確認をお願いしたいと思います。事務局からお願いします。

○松尾係長 まず配付資料を確認させていただく前に、先日、事務局の人事異動がございましたので、紹介させていただきます。4月1日付けで課長補佐が鶴見から北村に代わりましたので、紹介させていただきます。

○北村課長補佐 北村でございます。よろしくお願いたします。

○松尾係長 それでは、議事次第に基づきまして、配付資料を確認させていただきます。配付資料といたしまして、議事次第、座席表、専門委員名簿、

資料といたしまして「食品健康影響評価に関する資料」、

更に追加資料といたしまして「専門委員からのコメント」を配付させていただいております。

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、委員の皆様の机の上に置かせていただいております。本ファイルにつきましては、調査会終了後に回収させていただきます、次回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。

○澤田座長 ありがとうございます。それでは、議題1の審議に入りたいと思います。まず新規の品目でありますトウモロコシ3272、Bt11、MIR604、GA21からなる組み合わせのすべての掛け合わせの品種ということでありまして、事務局からの御説明をお願いいたします。

○松尾係長 それでは、説明させていただきます。お手元に水色の紙ファイルの表紙にID196と記載してあります資料の御用意をお願いいたします。

1ページから順に追って説明させていただきます。耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ産生トウモロコシ3272系統とチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホシネート耐性トウモロコシBt11系

統とコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ MIR604 系統と除草剤グリホサート耐性トウモロコシ GA21 系統からなる組合せのすべての掛け合わせ品種を今回御審議していただきます。

2 ページ、表 1 に本掛け合わせ品種に用いました親系統をまとめております。一番左側から 3273 が耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ産生性、Bt11 がチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性、MIR604 がコウチュウ目害虫抵抗性、最後に GA21 が除草剤グリホサート耐性となっております。

3 ページ、図 1 に本掛け合わせ品種の育成例が記載されています。

4 ページ、一番上からですが、本掛け合わせ品種は F1 ハイブリッドとして商品化されることから、収穫される種子には遺伝的分離により本掛け合わせ品種の 4 つの親系統から得られるさまざまな品種が含まれますということで、それぞれの掛け合わせ品種が表 2 にまとめて記載されております。

一番上の 4 つが本掛け合わせ品種の親系統です。その下の 6 つが 2 つの掛け合わせ。更にその下の 4 つが 3 系統の掛け合わせ、最後にすべての掛け合わせです。それぞれの品種につきまして、一番右側に安全性評価を行ったものにつきましては、評価が終了した日が記載されています。

5 ページ、「1. 掛け合わせ品種において、組換え DNA 操作により新たに獲得されたそれぞれの性質が変化していないこと」ですが、まず 3272 中で発現する AMY797E  $\alpha$ -アミラーゼは種子で特異的に産生し、小胞体中で蓄積されます。その一方、デンプンは、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考えられるということです。

Bt11 中で発現する Cry1Ab タンパク質、MIR604 中で発現する mCry3A タンパク質は、いずれも *Bacillus thuringiensis* に由来する殺虫性タンパクです。これらのタンパク質につきましては、殺虫の機能以外を有するという報告がありません。したがって、これらのタンパク質につきましては、植物代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられるということです。

更に下から 4 行目辺りになりますが、チョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す殺虫タンパク質とコウチュウ目昆虫に対して殺虫活性を示す殺虫タンパク質は、異なる pH 条件で殺虫活性を発揮するため、タンパク質同士が相互に作用する可能性は低いと考えられるということです。

一番下の段落にまいりまして、Bt11 中で発現する PAT タンパク質は、植物、微生物及び動物細胞に一般的に存在するアセチルトランスフェラーゼ酵素群の一つでありまして、除草剤グリホシネートの活性成分である L-グルホシネートに対して、極めて高い基質特異性を有しております。したがって、PAT タンパク質が植物代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられるということです。

6 ページ、GA21 中で発現する mEPSPS タンパク質と機能的に同一である EPSPS タンパク

質は、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路を触媒する酵素の一つです。

EPSPS はシキミ酸合成経路の律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大したとしても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられております。

また、EPSPS は PEP 及び S3P と特異的に反応することが知られております。したがって、mEPSPS タンパク質は植物代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられるということです。

PMI は、遺伝子が導入された形質転換体の選抜マーカーとして用いられたということです。PMI はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸の可逆的な相互変換を特異的に触媒する酵素タンパクでありまして、ほかの天然基質の存在は知られていないということです。

以上のことから、それぞれの親系統の発現タンパク質が相互作用を示し、植物代謝経路に新たな影響を及ぼす可能性は低いと考えられます。

次に、新たに獲得された性質が変化していないことを確認するために、生物検定が行われております。なお、この生物検定の試験に用いました本掛け合わせ品種は記載されております遺伝子背景を持つトウモロコシでありまして、その親系統及び非組換え体につきましても同様に同じ遺伝子背景を持つトウモロコシを使用しているということです。

7 ページ、耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼの産生性についてです。本掛け合わせ品種及び 3272 における AMY797E  $\alpha$ -アミラーゼの発現量を ELISA 法を用いて調査が行われております。その結果が表 3 に示されておきまして、本掛け合わせ品種と 3272 の間で有意差が見られなかったということです。

8 ページ、チョウ目害虫を用いた生物検定です。本掛け合わせ品種 Bt11 及び非組換え体を用いて、対象害虫であるヨーロッパアンコーンボラーの被害程度の調査が行われております。第 1 世代試験におきましては、ヨーロッパアンコーンボラーの幼虫を 6～8 葉期に接種いたしまして、14 日後に葉の被害程度を目視で観察したということです。

また、第 2 世代試験におきましては、同じくヨーロッパアンコーンボラーの幼虫を開花期に接種し、約 45 日後に植物体当たりの穂軸食入痕長、雌穂被害長及び茎における侵入痕長の調査が行われております。調査の結果、本掛け合わせ品種と Bt11 の間で被害程度に有意差が見られなかったということです。

9 ページ、コウチュウ目害虫を用いた生物検定です。本掛け合わせ品種、MIR604 及び非組換え体を栽培いたしまして、対象害虫であるウエスタンコーンルートワームによる根の被害程度の調査を行いました。ミネソタ州の圃場では、ウエスタンコーンルートワームの卵を 2～3 葉期に接種を行いました。絹糸抽出期に根の被害程度を目視で観察を行いました。

また、イリノイ州の圃場では、同じくウエスタンコーンルートワームの卵が土壌中に存在する圃場で、圃場にトウモロコシが 2～3 葉期の時点で卵が孵化するようにトウモロコシを栽培いたしまして、絹糸抽出期に根の被害程度を目視で観察が行われております。

調査の結果、本掛け合わせ品種と MIR604 との間で食害程度に有意差は見られなかったということです。なお、MIR604 と非組換え体との間におきまして、ミネソタ州の圃場で行った試験では有意差が見られませんでした。この原因といたしましては、MIR604 の根の食害程度にばらつきが生じたため、標準偏差が大きくなったためと考えられるということです。

したがって、本掛け合わせ品種のコウチュウ目害虫に対する抵抗性は、掛け合わせるにより変化していないことが確認されたということです。

10 ページ、除草剤グルホシネートを用いた生物検定です。本掛け合わせ品種 Bt11 及び非組換え体を栽培いたしまして、2 葉期に除草剤を散布し、散布後 12 日目に薬害程度を目視で観察が行われております。除草剤散布量といたしましては、通常の散布量及び 4 倍の散布量、8 倍の散布量について調査が行われております。

調査の結果、本掛け合わせ品種と Bt11 との間で除草剤による薬害程度に有意差は見られなかったということです。

11 ページ、除草剤グリホサートを用いた生物検定です。本掛け合わせ品種、GA21 及び非組換え体を栽培いたしまして、2 葉期に除草剤を散布し、散布後 19 日目に薬害程度を目視で観察が行われております。除草剤の散布量につきまして、先ほど説明しましたグルホシネートと同じ、通常の散布量と 4 倍の散布量と 8 倍の散布量で生物検定が行われております。

調査の結果、本掛け合わせ品種と GA21 との間で除草剤による薬害程度に有意差は見られなかったということです。

表 7 の下の段落に行ってくださいまして、以上のことから、導入した遺伝子によって新たに獲得されたそれぞれの性質は、本掛け合わせ品種において変化していないと結論されたということです。

12 ページ、3272、Bt11、MIR604、GA21 は、いずれもデントコーンと呼ばれる分類上同一種でございまして、亜種間の掛け合わせではないということです。

3272、Bt11、MIR604、GA21 及びこれらの掛け合わせ品種におきまして、摂取量、使用部位、加工法等の利用目的並びに利用方法に変更はないということです。

以上のことから、本掛け合わせ品種につきましては、食品としての安全性に問題はないと考えられるということになっております。

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。今までも何件か出てまいりましたように、①同士の掛け合わせでありまして、すべての組み合わせのうち、最も多い組み合わせのものでデータをとり申請書が提出されております。

ただいまの申請書につきまして、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。申請資料の 1～6 ページで、申請品種の概要と獲得されたそれぞれの性質が変化していないところまでコメント、御意見がありましたらお願いしたいと思います。

それでは、ないようですので、続きまして、7～12ページまでで、生物検定と最後の亜種間での掛け合わせでないこと、摂取量、使用部位、加工法の変更はないことというところまでコメント、御意見をお願いしたいと思います。御意見はいかがでしょうか。

1つだけ書き方として気になるのは、用途に関しては3272が入っていますので、これをどう取り扱えばいいのかという点。要は、エタノールをつくるために3272は開発されたという点です。3272と比べると用途に変更がない。それ以外の組換え体に関しては、それぞれ用途は変更がないということになっております。そういうことがありますけれども、加工法等の利用目的並びに利用方法に変更はないという表現で御了解いただけますでしょうか。

それでは、この申請書に関しましては、特に安全上の問題はないということでありますので、引き続きまして、評価書（案）の審議に入りたいと思います。事務局の方から御説明をお願いします。

○松尾係長 それでは、評価書（案）を説明させていただきます。お手元にお配りしております食品健康影響評価に関する資料の1ページからが本掛け合わせ品種の評価書（案）になっておりまして、説明は4ページからさせていただきます。

4ページの「I. 評価対象食品の概要」ということで、名称、性質、申請者、開発者を記載させていただいております。

46行目以降になりますが、評価対象食品の具体的な掛け合わせ品種を記載させていただいております。

68行目辺りからになりますが、商品化される品種は、トウモロコシ3272、トウモロコシBt11、トウモロコシMIR604、トウモロコシGA21を親系統とし、これらを従来からの手法で掛け合わせて得られたもので、4系統に付与された形質をすべて併せ持つ品種であるということです。

76行目ですが、遺伝的分離によりまして、本品種から収穫される種子には、4系統すべての掛け合わせ品種のほか、3系統の掛け合わせ品種、2系統の掛け合わせ品種の合計11品種から収穫される種子と同じものが含まれることとなります。これら11品種のうち4品種につきましては、既に評価が行われておりまして、改めて安全性の確認を必要とするものではないと判断がされております。

87行目辺りですが、したがって、11品種のうち安全性評価が終了した4品種を除く7品種の安全性評価を同時に行う必要があるということでございます。なお、掛け合わせる前の親系統につきましては、それぞれ安全性の評価は終了しておりまして、いずれもヒトの健康を損なうおそれはないと判断されているということでございます。

「II. 食品健康影響評価」です。

「1. 挿入された遺伝子による宿主の代謝系への影響はなく、害虫抵抗性、除草剤耐性などの形質が付与されている品種同士の掛け合わせである」からです。

「(1) 耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ」ですが、トウモロコシ3272で産生される耐熱性 $\alpha$ -ア

ミラーゼは、種子中で特異的に産生され、小胞体に蓄積されます。一方、種子中のデンプンにつきましては、アミロプラストにおいて合成、蓄積されます。したがって、種子中のデンプンが耐熱性 AMY797E  $\alpha$ -アミラーゼによって分解される可能性は低いことから、植物の代謝経路に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられます。

「(2) Bt タンパク質」ですが、トウモロコシ Bt11 で産生される Cry1Ab タンパク質及びトウモロコシ MIR604 で産生される改変 Cry3A タンパク質は、いずれも殺虫性タンパクであり、これらのタンパク質は殺虫以外の機能を有することは知られておりません。したがって、これらのタンパク質が植物の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられます。

「(3) PAT タンパク質」ですが、トウモロコシ Bt11 で産生される PAT タンパク質は特異的にグルホシネートのアセチル化する酵素です。したがって、植物の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられます。

6 ページ、「(4) 改変 EPSPS タンパク質」ですが、トウモロコシ GA21 で産生される改変 EPSPS タンパク質は、シキミ酸合成酵素の律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大しても芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられています。また、EPSPS タンパク質は PEP と S3P と特異的に反応することが知られております。したがって、植物の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられます。

「(5) PMI タンパク質」ですが、トウモロコシ MIR604 で産生される PMI タンパク質は、マンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸を可逆的に相互変換するタンパク質であり、その反応は特異的であり、ほかの天然基質知られていないということです。

以上のことから、いずれの形質もその作用機作は独立しており、評価対象食品である掛け合わせ品種において、互いに影響し合わないと考えられるということです。

「2. 亜種レベル以上の交配ではない」につきましては、掛け合わせた品種は亜種レベル以上の交配ではないということです。

「3. 摂取量・食用部位・加工法等に変更はない」につきましては、従来品種と比較して、摂取量、食用としての使用部位、加工法等の利用目的並びに利用方法に変更はないということです。

141 行目ですが、以上、1～3 の結果から、本掛け合わせ品種につきましては、掛け合わせについての安全性評価の考え方に基づき評価をした結果、改めて安全性の確認を必要とするものではないと判断したと記載させていただいております。

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、ただいまの評価書(案)に関しまして、御意見、コメントをいただきたいと思っております。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っております。

まず 4～5 ページの半分の「I. 評価対象食品の概要」のところでは何かありましたらお願いしたいと思います。よろしいですか。

それでは、後半の5ページの「Ⅱ．食品健康影響評価」と最後のところまで、御意見がございましたらお願いしたいと思います。

○中島専門委員 細かいところで恐縮ですが、6ページの116行目と125行目がどちらも(4)になっておりまして、125行目は(5)です。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。それでは、コメントもないようでありますので、ただいいただいた(4)を(5)に直すことだけ修正するというので、食品安全委員会の方に御報告したいと思います。どうもありがとうございました。

それでは、続きまして、次の新規の品目であります、チョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B 系統についてであります。事務局の方から御説明をお願いします。

○松尾係長 それでは、説明させていただきます。黄色の紙ファイルのID165という記載がされております「チョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B 系統の安全性評価に関する概説書」をお手元に御用意をお願いします。

1 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」から順に説明させていただきます。

第1の1の(1)、本品種の宿主はアオイ科ワタ属のワタの Coker312 を用いております。

(2)、本品種に導入された改変 *cry1Ab* 遺伝子の供与体は *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1 株に由来しております。

なお、この改変 *cry1Ab* 遺伝子 (*mcry1Ab* 遺伝子) 以外に選抜マーカー遺伝子といたしまして、*E. coli* のプラスミド由来のハイグロマイシン B リン酸基転移酵素遺伝子 (*aph4* 遺伝子) が導入されております。しかしながら、本品種のワタの作成過程におきまして、本遺伝子が挿入されていない個体を選抜しているため、本品種のワタにつきましては *aph4* 遺伝子は存在していないということです。

「(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法」ですが、*mcry1Ab* 遺伝子によって発現する mCry1Ab タンパク質は、特定のチョウ目害虫に対して殺虫活性を持つとされています。なお、本タンパク質は C 末端側領域に 26 個の連続アミノ酸配列、いわゆるガイザーモチーフと呼ばれているものが挿入されておりまして、この点を除き野生型 Cry1Ab タンパク質とアミノ酸配列は一致しているということです。

また、*aph4* 遺伝子によって発現するハイグロマイシン B リン酸基転移酵素は、ハイグロマイシンとその類縁アミノグリコシドをリン酸化して不活化する酵素タンパク質でありまして、形質転換細胞の選抜マーカーとして用いられたということです。

*mcry1Ab* 遺伝子発現カセットを組み込んだ導入用ベクター pNOV4641 及び *aph4* 遺伝子の発現カセットを組み込んだ導入用ベクター pNOV1914 をアグロバクテリウム法によって導入したということです。

「2 宿主の食経験に関する事項」ですが、宿主であるワタは綿実油やリンターなどが食用として用いられているということです。

「3 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項」ですが、(1)の主要栄養素等、(2)

の毒性物質及び栄養阻害物質につきましては、記載のとおりです。

3 ページ、「4 食品としての利用方法」に関してですが、「(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」、「(4) 調理及び加工方法」につきましては、従来のワタと相違はないということです。

5 の比較対象ですが、宿主であるワタのみを比較対象としたということです。

6 ですが、COT67B ワタと宿主との相違は *mcry1Ab* 遺伝子の導入によりまして、mCry1Ab タンパク質を発現している点であるということです。

4 ページの第2にまいります。米国のワタ栽培におきまして、特にチョウ目害虫による被害が甚大であるという事情があることから、この品種が開発されたということです。

「第3 宿主に関する事項」の1ですが、COT67B ワタの宿主はアオイ科ワタ属のワタの Coker312 であるということです。

「2 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項」については、記載のとおりとなっております。

5 ページ「3 有害生理活性物質の生産に関する事項」です。ワタの有害生理活性物質といたしまして、テルペノイド物質であるゴシポール、ステルクリン酸、マルバリン酸、ジヒドロステルクリン酸等が知られているということです。

「4 アレルギー誘発性に関する事項」ですが、ワタで食品に利用されるのは綿実油やリンターを加工して得られたセルロースであり、いずれもタンパク質は含まないため、アレルギーが含まれるとは考えられていないということです。

6 ページ、「5 病原性の外来因子(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、ワタには細菌や糸状菌及びウイルスによる各種病害が発生しておりますが、これらの病原菌がヒトに対して病原性を持つことは知られていないということです。

6 ですが、ワタの種子から搾油した綿実油は食用に利用されているということです。

「7 近縁の植物種に関する事項」ですが、ワタ属植物種には2倍体種と4倍体種があり、およそ50種が存在しているということです。

最終行、これらの品種については栽培時と同様にゴシポールとCPFAを産生していると考えられるということでございます。

7 ページ「第4 ベクターに関する事項」。

1 といたしまして、*mcry1Ab* 遺伝子を含む導入用ベクターpNOV4641の構築には、ベクターpNOV4641を用いたということです。また、*aph4* 遺伝子を含む導入用ベクターpNOV1911の構築には、ベクターpNOV2122を用いたということです。

2の「(1) DNAの塩基数及びその塩基配列を示す事項」につきましては、両ベクターとも明らかになっております。

「(2) 制限酵素による切断地図」につきましても、それぞれ明らかになっています。

(3) につきましては、両ベクターとも構成DNA及び塩基配列は明らかになっており、既知の有害配列は含まれていないということでございます。

(4)にまいりまして、薬剤耐性遺伝子に関する事項ですが、ベクターpNOV2114には、*spec* 遺伝子が含まれているということです。

ベクターpNOV2122には、*npt3* 遺伝子が含まれているということです。

8 ページ、なお、これらの遺伝子につきましては、いずれも本品種には存在していないことがサザンブロット分析によって確認されているということです。

(5) ですが、2つのベクターにはそれぞれ伝達を可能とする塩基配列は含まれていないということです。

9 ページ、第5の(1)の①にまいります。*mcry1Ab* 遺伝子は、*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 株に由来しているということです。

②ですが、*aph4* 遺伝子は *E. coli* のプラスミドからクローニングされているということです。

10 ページの「(2) 安全性に関する事項」の①ですが、*mcry1Ab* 遺伝子の供与体である *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 株が属する *B. thuringiensis* はヒトの食経験はないが、微生物農薬の基材として長期に利用されており、ヒトや動物に対する病原性は報告されていないということでございます。

②ですが、*aph4* 遺伝子の供与体である *E. coli* は、自然界やヒトの消化器官に広く存在していることが知られており、これまでヒトは食物を通じて間接的に摂取しているということでございます。

2の(1)のクローニングに関する事項にまいります。

① *mcry1Ab* 遺伝子は *cry1Ab* 遺伝子の塩基配列に基づきコードするアミノ酸配列を変えずに GC 含量を高め、宿主植物での発現に最適となる塩基配列に変更し、微生物での生産効率を高めるためにガイザーモチーフと呼ばれる配列をコードする塩基配列を付加したという遺伝子でございます。

ガイザーモチーフとは、26個の連続したアミノ酸からなる配列で、野生型の *Cry1Ab* タンパク質には存在しないが、野生型の *Cry1Aa* タンパク質や *Cry1Ac* タンパク質などの *Cry1* タンパク質では C 末端側に共通して認められている配列でございます。このガイザーモチーフを付加することによりまして、*Cry1Ab* タンパク質を微生物農薬生産時の培養において、ほかの *Cry1* タンパク質と同じ温度条件で効率よく回収することが可能となるということでございます。

② *aph4* 遺伝子は、*E. coli* のプラスミドからクローニングされたということでございます。

11 ページ、(2) ですが、*mcry1Ab* 遺伝子及び *aph4* 遺伝子の塩基数及び塩基配列は共に明らかにされております。

「(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項」、① *mcry1Ab* 遺伝子につきましては、先ほど御説明いたしましたとおり、ガイザーモチーフが付加されている点を除くと、野生型の *Cry1Ab* タンパク質のアミノ酸配列と同じであるということでございます。

*Cry1Ab* タンパク質は特定の昆虫種に対して殺虫活性を示すことが知られておりまして、

Cry1Ab タンパク質を摂取すると、特定の大きさの活性ポリペプチドを生じ、中腸上皮細胞の特異的受容体に結合してイオンチャンネルを形成し、消化器官が損傷を受けて摂食障害を起こし、死に至ることが知られているということです。

12 ページの図 3 に、本品種に導入された遺伝子と野生型の遺伝子及び既に承認がされています Bt11 というトウモロコシに導入されている遺伝子が比較されております。

続きまして、図 4 では Cry1 タンパクに存在いたしますガイザーモチーフと呼ばれるアミノ酸配列が記載されています。

15 ページ、②の既知の毒性タンパク質の構造相同性に関する内容です。Cry1Ab タンパクと既知の毒性タンパク質との構造相同性につきまして、評価が行われております。記載されていますデータベースを用いまして、blastp を用いまして検索が行われております。その結果ですが、相同性が認められたものが 441 件ございまして、その内訳は記載のとおりです。

なお、このうち 436 件の Cry タンパク質のうち 4 件につきましては、いわゆるパラスポリンに分類されているタンパク質です。また、7 件につきましては、パラスポリンやがん細胞に対し細胞死活性を持つタンパク質と相同性を持つ推定タンパク質であったということです。なお、パラスポリンにつきましては、ほかのヒト細胞系統に対しては毒性を持たないか、または低いことが示されているということです。

以上の結果から、既知の毒性タンパク質が存在する可能性は極めて低いと考えられたということです。

③ *aph4* 遺伝子の機能に関する事項です。APH4 タンパク質はハイグロマイシン B をリン酸化することによって不活化しますが、再分化個体の自殖後代である T1 世代におきまして、*mcry1Ab* 遺伝子のみが挿入されている個体を選抜したため、T1 世代以降の C0T67B ワタには *aph4* 遺伝子は存在していないということです。

「(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項」ですが、導入用ベクター pNOV4641 には抗生物質耐性マーカー遺伝子が組み込まれていますが、本品種にはこの遺伝子が存在していないことが確認されているということです。

17 ページ、同じく導入用ベクター pNOV1914 にも抗生物質耐性マーカー遺伝子が組み込まれていますが、本品種にはこの遺伝子が存在していないことが確認されているということです。

3 の (1) プロモーター、(2) ターミネーターにつきましては、それぞれ記載のものが使用されております。

(3) ですが、そのほか、挿入遺伝子の発現制御に関わる配列につきましては、記載のとおり組み込まれていないということです。

「4 ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項」ですが、18 ページにそれぞれ記載されているとおりの手順で作成されたということです。

「5 構築された発現ベクターに関する事項」にまいります。

(1) ですが、*mcry1Ab* 遺伝子を含む導入用ベクター pNOV4641 及び *aph4* 遺伝子を含む導入用ベクター pNOV1914 の塩基数及び塩基配列及び制限酵素による切断地図はいずれも明らかになっているということです。

19 ページに導入用ベクターの切断地図が記載されておりまして、20 ページにはその導入用ベクターの内容が記載されております。

21 ページには *aph4* 遺伝子を含む導入用ベクターに関する図が載っておりまして、表 2 にはその内容について記載されております。

23 ページ、(2) ですが、導入用ベクター pNOV4641 及び pNOV1914 の塩基配列はいずれも明らかになっておりまして、T-DNA 領域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は含まれていないということです。

(3) ですが、導入用ベクター上における意図する挿入領域は、導入用ベクター中の T-DNA 領域であるということです。

(4) ですが、導入用ベクターはいずれも純化されているということです。

6 ですが、DNA の導入方法及び交配に関する事項、導入用ベクターの宿主への導入方法はアグロバクテリウム法が用いられているということです。具体的には導入用ベクターを導入したアグロバクテリウムをワタに接種しまして、培養を行い、その後、ハイグロマイシンを添加した細胞培養培地で形質転換細胞を選抜して、再分化個体を得たということです。

なお、形質転換の際に *mcry1Ab* 遺伝子発現カセット及び *aph4* 遺伝子発現カセットは、それぞれ宿主のゲノムに独立して挿入されております。そのため、以下の方法を用いて *mcry1Ab* 遺伝子カセットのみを持つ個体を選抜されております。

ハイグロマイシンで選抜した T0 個体に対しまして、PCR 分析を行い、*mcry1Ab* 遺伝子と *aph4* 遺伝子の両方が存在する個体を選抜されております。続きまして、この T0 個体の自殖により得られた個体それぞれにつきまして、定量 PCR を行い、*mcry1Ab* 遺伝子がホモ接合体でありながら、*aph4* 遺伝子が存在しない 10 個の個体を選抜されております。

この 10 個の個体のうち 3 個体につきましては、商品化の育成や各種安全性試験のために用いられております。また、残りの 7 個体につきましては、T1 世代におけるサザンブロット分析のサンプルとして用いたということです。安全性確認を求める世代といたしましては、●●● 世代以降ということになっております。

25 ページ、本品種の育成図が記載されておりまして、●●● 以降が安全性評価を求める世代となっております。

26 ページの第 6 にまいります。(1) 本品種ワタの BC3F1 世代を用いまして、サザンブロット分析を行い、挿入遺伝子のコピー数、完全性及び導入用ベクター pNOV4641 の外骨格領域の存在の有無、並びに *aph4* 遺伝子を含む導入用ベクター pNOV1914 由来の遺伝子の有無が確認されております。

27 ページ。一番最後の段落になりますが、分析を行いました結果、本品種のゲノムには

1 コピーの完全な *mcryIAb* 遺伝子発現カセットが組み込まれており、導入用ベクター pNOV4641 の外骨格領域及び *aph4* 遺伝子を含む導入用ベクター pNOV1914 由来の領域は存在しないことが確認されたということです。

以下、29 ページ以降にサザンブロット分析の結果が記載されております。

37 ページ、②では、本品種における挿入遺伝子の全塩基配列が決定されております。その結果、本品種における挿入遺伝子の全長は記載のとおりでして、導入用ベクター

pNOV4641 の T-DNA 領域と比較すると左側領域の 25bp とそれに続く T-DNA の 13bp 及び右側領域の 24bp が欠損していたということです。一方、*mcryIAb* 遺伝子発現カセットは完全でありまして、その塩基配列は導入用ベクターと一致することが示されたということです。

③では、本品種の挿入遺伝子の近傍配列の塩基配列が決定されまして、その塩基配列と本品種の宿主との配列を比較した結果、遺伝子の挿入に伴いまして、50bp の欠損と 1 bp の挿入が見られたということです。

挿入遺伝子の組込みによって、ワタの既知の遺伝子が損なわれていないかどうかにつきまして、検討されております。両近傍配列及び隣接する T-DNA 領域の配列におきまして、blastx 検索を行いました結果、ワタの既知のタンパク質の配列は見いだされなかったということです。このことからワタの既知の遺伝子は損なわれていないことが示唆されたという内容になっております。

ORF に関する事項です。近傍配列及び隣接する T-DNA 領域におきまして、意図しない ORF が形成されているかどうかについて分析されております。ORF は 30 以上の連続するアミノ酸を持ち、終止コドンから終止コドンまでの領域と定義し、挿入遺伝子と両近傍配列の接合部に対して、センス方向、アンチセンス方向のそれぞれ読み枠をずらした 3 フレームについて ORF 検索が行われております。その結果、3 個の ORF が検索されたということです。

これらの ORF は既知のタンパク質と相同性を持つかどうかにつきまして、blastp による検索を行いましたところ、2 つの ORF につきましては相同性があるタンパク質が見い出されましたが、既知のアレルゲンや毒性タンパクではなかったということです。残りの 1 つにつきましては、相同性が認められたタンパク質が見い出されなかったということです。

また、アレルゲン検索といたしまして、8 個の連続アミノ酸で一致するエピートープがあるかどうかについて検討が行われております。80 個以上のアミノ酸をコードする 1 つの ORF につきましては、35% 以上の相同性を示す既知のアレルゲンがあるかどうかについて検索が行われておりまして、その結果、エピートープ及びアレルゲンとの相同性は見い出されなかったということです。

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判断したということです。

遺伝子産物の発現部位、発現時期等に関する事項です。ELISA 法を用いまして、mCry1Ab タンパク質の発現量について分析が行われておりまして、その結果が次のページの表 4 に

記載されております。

1日タンパク摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項です。ヒトが最も多く摂取するワタは綿実油であります。精製した綿実油中のタンパク質含有量は検出限界以下であることが示されています。したがって、mCry1Ab タンパク質はほとんどヒトに摂取されることはなく、その摂取量は無視できるレベルにあると考えられるということです。

アレルギーに関する事項です。(1) *mcry1Ab* 遺伝子の供与体は *B. thuringiensis* であり、細菌にアレルギー誘発性があるとは考えられていないということでございます。

40 ページ、(2) ですが、mCry1Ab タンパク質に関しましては、アレルギー誘発性の報告はないということです。

(3) ですが、物理化学的処理に関する感受性に関する事項です。①といたしまして、人工胃液による試験が行われております。*E. coli* 過剰発現系由来の mCry1Ab タンパク質を用いまして、人工胃液中での消化性を SDS-PAGE 及びウエスタンブロットを用いまして評価が行われております。

その結果、両分析方法におきまして、反応開始後 1 分後に完全長の mCry1Ab タンパク質は検出されなくなっております。また、反応開始 10 分後まで検出されていた約 60kDa のポリペプチド断片のバンドも反応開始後 30 分後には検出されなくなったということです。

なお、SDS-PAGE 分析におきましては、3 kDa 程度のバンドが検出されておきまして、このバンドについては反応開始後 60 分後も検出されているということです。

41～42 ページに分析の結果が記載されております。

43 ページ、人工腸液を用いた試験に関する内容です。*E. coli* 過剰発現系由来のタンパク質を用いまして、人工腸液中での消化性を SDS-PAGE 及びウエスタンブロットで評価が行われております。その結果、両方の分析におきまして、完全長の mCry1Ab タンパク質は反応開始後 5 分で検出されなくなり、約 58kDa と約 55kDa のポリペプチド断片が生じたということでございます。これらの断片につきましては 48 時間後でも検出されたということでございます。

また、ウエスタンブロットにおきましては、反応開始後 5 分で約 40kDa と約 36kDa の断片を、また 3～48 時間の間に約 36kDa と約 32kDa のポリペプチド断片を生じることが確認されたということです。

なお、*B. thuringiensis* が産生する Cry1 タンパク質は、特定の大きさのコアタンパク質に消化されるが、その後は安定的であることが既に知られているということでございます。

以上のことから、mCry1Ab タンパク質はほかの Cry1 タンパク質と同様に、ポリペプチド断片に分解されるが、その後は消化が進まないことが確認されたということです。

以下、44～45 ページに分析の結果が記載されております。

46 ページ、③加熱処理に関する試験が行われております。*E. coli* 過剰発現系由来のタンパク質を用いまして ELISA 分析を行い、加熱処理による感受性について評価が行われております。その結果、95℃で 30 分間静置した場合には、免疫反応性が検出されなかったとい

うことです。

(4) 既知のアレルゲンとの構造相同性に関する事項です。遺伝子産物の既知アレルゲンとの構造相同性評価が行われております。80個の連続アミノ酸における35%以上の相同性及び47ページにまいりまして、エピトープ検索として、8個の連続するアミノ酸で一致するものがあるかどうかについて検討が行われております。

その結果、有意なアミノ酸配列を持つ相同性を有する既知アレルゲンや8つの連続アミノ酸が一致する既知アレルゲンは認められなかったということです。

(5) ですが、IgE結合能の検討については行わなかったということです。

「5 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項」です。まずは記載の世代におきまして、挿入遺伝子の分離様式をPCR分析によって検定が行われております。その結果、メンデルの分離法則に基づいて遺伝することが示されたということです。

48ページ、また、サザンブロット分析を用いまして、挿入遺伝子の安定性について確認が行われております。

49ページ、さらに *aph4* 遺伝子を含む導入用ベクターpNOV1914由来の遺伝子が存在しないことを確認するためにサザンブロット分析が行われておりまして、挿入遺伝子は安定して遺伝していることが確認されたということです。また、選抜マーカーとして利用した *aph4* 遺伝子を含む導入用ベクター由来の遺伝子は存在しないことが確認されたということです。

以下、50ページ以降に安定性に関する試験の分析結果が記載されております。

56ページ、mCry1Abタンパク質は酵素活性を有するとは考えられておらず、宿主の代謝系と独立して機能していることから、植物の代謝経路に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられたということです。

「7 宿主との差異に関する事項」です。本品種と従来ワタとの差異を評価するために、主要構成成分、ミネラル組成、ビタミン類、アミノ酸組成、脂肪酸組成及び有害生理活性物質の分析が行われております。

57ページでは、具体的な分析項目が記載されております。

58ページ、分析の結果ですが、まずは主要構成成分及びミネラル成分の分析結果になります。主要構成成分分析の分析結果につきましては、有意差が認められなかったということです。ミネラル成分につきましては、カルシウムでは有意差が認められたものの文献値の範囲内であったということです。

61ページではビタミン類、アミノ酸、脂肪酸組成の分析結果に関して記載されております。まずビタミン類としてビタミンEについて分析を行いました結果、統計的有意差が認められたが、文献値の範囲内であったということです。また、アミノ酸組成の分析結果につきましては、統計学的有意差は認められなかった。脂肪酸組成についてはパルミチン酸やステアリン酸やオレイン酸については有意差が認められましたが、いずれも文献値の範囲内であったということです。

65 ページ、有害生理活性物質の分析結果です。ジヒドロステルクリン酸につきましては、有意差が認められましたが、文献値の範囲内であったということです。

67 ページ、「④成分分析結果のまとめ」といたしまして、本品種の構成成分は対象の非組換えワタ、あるいは従来ワタと同程度であることが示されたということです。

「8 諸外国における認可、食用等に関する事項」ですが、FDAにおきまして問題がないことが確認されているということです。

9 の栽培方法につきましては、従来ワタと相違がないということです。

10 ですが、種子の製法及び管理方法については、従来ワタと相違がないということです。

68 ページ、第7ですが、mCry1Ab タンパク質のマウスを用いた急性毒性試験の結果が提出されております。E. coli 過剰発現系によって産生・純化したタンパク質をCD-1 系のマウスに投与して、各種の試験が行われております。その結果、投与に起因した毒性影響は見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 ありがとうございます。それでは、申請書につきまして、初めから項目ごとに御意見をいただきたいと思っております。

まず「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の相違に関する事項」と「第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」で、1～4 ページにかけまして、御意見がありましたらお願いしたいと思っております。よろしいでしょうか。

それでは、次の「第3 宿主に関する事項」「第4 ベクターに関する事項」で申請書の4～9 ページにかけまして、御意見、コメントをお願いしたいと思っております。

○中島専門委員 8 ページに出てくる pNOV2114 と 2122 については間違いなく遺伝子を持ち込むタイプですからベクターでいいですけれども、この全般にかかるのですが、もっと後の方で目的の遺伝子を入れる 19 ページの pNOV4641 と pNOV1914 はベクターではなくて目的のものを入れるから、プラスミドという方が普通かなと私は思ったのですが、いかがでしょうか。

○澤田座長 これはプラスミドですね。プラスミドにした方がいいという話がありましたが、ガイドラインでそうなってしまっていて、それで問題が生じているという話になっていたような。

○松尾係長 ガイドライン上はベクターと記載しておりますので、評価基準に基づいて、こういうふうに記載をさせていただいています。

○澤田座長 前から同様の御指摘がありまして、直したいと思っているのですけれども。ガイドラインの項目を書いて、その項目に対する回答を書いているということで、昔からこういう書きぶりにはなっています。ただ、タイトルはベクターでもいいですけれども、内容的にはプラスミドの方が正しいと思っておりますので、説明の方は直しても構わないと思

ます。

ちなみに食品の方のガイドラインは、やはりベクターにしていたか。プラスミドに直していなかったですか。

○松尾係長 そうです。ベクターのままです。

○澤田座長 ほかによろしいですか。どうぞ。

○児玉専門委員 今、中島先生が御指摘されたところとほぼ同じですけれども、8～9ページにかけて書かれているベクターpNOV2114と2122と、17～18ページのベクターへの挿入DNAの組込方法に関する事項で実際に使ったのはpNOV4641とpNOV1914となっていますけれども、その説明を見ると、前に紹介されている2114を更にさかのぼって、スタートのベクターが別にあるような形に記載されていまして、ここの最初のベクターはどういうベクターを本当は書くべきなのかわからなかったもので、そこら辺は指針というか、こういうベクターを普通はここに書くのだというのがあれば、教えていただきたいです。

○澤田座長 今まで統一して書いていたわけではなく、使ったベクターが非常に複雑で、さかのぼって、その由来がきちんとわかっているときは出してくるときもありましたし、企業秘密でぼやかしている場合もありましたし、情報として要らないというわけでもないので、出てきたときには書いていただいているのが現状かと思います。

9ページまででほかによろしいでしょうか。このワタは4倍体だということで、後でまた御質問があるかもしれませんが、それだけは覚えておいていただいた方がいいかと思います。

それでは、「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」ということで、9～25ページにわたりまして御意見がございましたら、よろしくお願ひしたいと思います。

○中島専門委員 11～12ページにガイザーモチーフを導入したという記述があります。これはもともとAとAcにはあってAbにはないものをここに突っ込んでいるのですけれども、Cry1AbのC末端の結構長い領域のうち、ここのポイントにガイザーモチーフを入れたということが、本来ガイザーモチーフを持っているCry1Acと同じようなところに入れているのかという情報を示していただかないと、この天然のものに近い形で入れているのか。ガイザーモチーフが入っている周辺の塩基配列の情報等を示していただかないと、これを入れたことで何か起こる心配をしなくてはいけないのか、あまり心配しなくてよさそうなのかを評価するのは難しくなるように思います。

○澤田座長 この点は補遺の方にも情報はないですか。

○松尾係長 ほかの遺伝子については、情報がないです。

○澤田座長 並べて書いていないですか。

○松尾係長 そこは確認します。

○澤田座長 そうしましたら、Cry1Aa1とかほかにありますね。それと並べて近傍の塩基配列を出して頂きます。タンパクのレベルは、これはネイティブですね。

ほかによろしいでしょうか。どうぞ。

○飯専門委員 全体を通してのことなのですけれども、数か月前に別のワタの申請があったときに回答をお願いしたことに、*aph4* 遺伝子の由来の記述に関することがありまして、そのときには大腸菌由来と書かれていたもので、本当にそうですかということを探ねています。ここでは大腸菌のプラスミドからということになっていますが、以前指摘した際には論文の根拠を示した上で回答をお願いしているわけで、それが、ここで1つの答えのような形だけでぽっと出されてきていまして、これでいいとするのか悩ましいところがあるので、できましたら、ほかの指摘もあるようなので、前のワタかこの案件か先に審査に係る方でしっかりとした考え方を出示していただいた方がいい気がします。

引っかかっている、ほかの先生方の御意見を伺いたいと思っているところは、結局この遺伝子の由来がブロードホストレンジのプラスミドというところであって、そのためどの細菌由来かということとはあまり関係ないのではないかと。それをどういう記載にするべきなのかということです。

この案件で言えば、途中で抜けて最終的には入っていないわけに関係ないものですが、前の案件ではハイグロマイシン耐性の遺伝子が残っているということもあって、実際の安全性の評価では、その産物そのものがどうかということをしっかり見ればいいだけのはずですので、単純に由来に関する記載をどうするかだけの話になるので、申請者がどういう調査をして、どういう判断でこうしているのかを述べてもらった上で、ほかの先生の御意見も伺った方がいいかなと思っています次第です。

○澤田座長 ハイグロマイシンに関しては、前例のことを忘れてしまったのですけれども、トランスポゾンの問題でしたか。

○飯専門委員 今、その時の資料を持ってきていないので私もうろ覚えのところがあるのですが、申請のときにたしか大腸菌由来の遺伝子という書かれ方がされていまして、大腸菌はもともとハイグロマイシン耐性遺伝子は持っていないでしょうと思ったところが最初に引っかかった理由で、それでちゃんと調べてくださいと。

実際にたどっていきますと、トランスポゾンではなくて、多剤耐性プラスミド、ブロードホストレンジのプラスミドであって、それは当然のことながら非常に多くの菌の間を行ったり来たりするわけで、それを大腸菌に移して解析が進められたといういきさつがあるものですから、ある意味、大腸菌と書いても最終的に細かい解析をしているのは大腸菌に移した後だから正しいと言えば正しい。

ただ、供与体がこれだから安全ですという言い方をしているのかなと。それよりは正直にプラスミド由来と書いておくだけでもいいような気が個人的にはしているものですから、その辺の考え方を含めて判断した方がいいのではないかとというのが前のときに思っていたことです。

○澤田座長 五十君先生、どうぞ。

○五十君専門委員 由来について書いていただくのは、その遺伝子自体の問題も勿論あり

ますけれども、供給元が何かということによって、それを持ち出してきたときに、その元の宿主の持っている健康障害の可能性のある遺伝子群がある程度限定され、安全性評価が効率的にできるだろうという考え方があったと思います。

先生の御指摘の多剤耐性みたいなものは、本来の宿主がわからなくなっているものがかなり多くなってきています。ある程度の目安として、供給元情報を柔軟に捉えてゆけば、遺伝子自体の良否を判断していけばよろしいのではないかと思います。

○澤田座長 結論的には、これこれというプラスミドに由来すると書かれた方がいいということですか。

○五十君専門委員 由来宿主がはっきりするものについては、やはり書いていただいた方がいいと思います。バクテリアの耐性遺伝子などはかなり広域に存在してしまっているので、由来のプラスミドまでわかれば、そこまで書いていただければいいのかなど。はっきりと広い宿主域のプラスミドだという表記があっても悪くはないのではないかと思います。

○澤田座長 そういうことでよろしいですか。

○飯専門委員 私も考え方としては同じでして、今回の議論を見て頂ければ申請者も回答しやすいのではないかと思います。恐らく企業側としては、安全性に関する事項で、その由来のところを大腸菌と書けば安全に見えるという気持ちが働いているのかと感じます。ブロードホストレンジであってもプラスミドもこの場合はたどっていけば確定できる。

ただ、そのプラスミド自身がどこから来たかという菌を確定し切ることにはできないけれども、可能性として書かれている中にはクレブシエラとか、そういうのが出てくるんです。そこら辺だと病原性のあるものも含まれた仲間からとってきているということになってしまって、気になっているのかなど。それだったら、そのプラスミドをはっきり明記することで、あとは遺伝子産物そのものだけが大事だと割り切ってしまう、私は構わないのではないかなという気がしています。

○澤田座長 事務局の方はよろしいですか。要はプラスミドの由来がわかる名前を出していただきたいということ。

○飯専門委員 無理に大腸菌と言わなくてもいいのではないかと。

○澤田座長 それでは、ほかにございませんか。どうぞ。

○鎌田専門委員 今のことで一言だけ言っておくと、実際に植物の中に出てくるものでハイグロマイシン・レジスタンスを使っているのは、大元がたしかクラスⅡの病原微生物由来です。それがあまり出てきてしまって、ひとり歩きをすると、病原微生物という名前が出てきてしまうと、何となく変な感じを受ける。そのもの自身は確かにいろいろなものに使われていて、安全性が確認されているのだけれども、たまたま入っていた大元が病原微生物だったということから何となく変な感じを受けるので、今のような形でよろしいかと、そのこと自身は思います。

もう一件、これは全然違うのですが、10ページのガイザーモチーフの件で、これはどういう記述にさせていただくのがいいのかは非常に難しいです。後で評価書の方で出てきたの

で気が付いたのですが、そもそも何でガイザーモチーフを入れたのかがそこに書いてあるのですが、評価書を見てわかるとおり、これはこのワタの中では何の意味もないです。単に微生物農薬として使うときに必要なものなので、何でこんなものを入れたままで植物に入れたのかというような、多分評価書を見るとそういうふうに思います。このところにもそのことが何も書いていなくて、さて、どう処理するか。評価書を見たときに、消費者の方がどう見るかということにかかっているのですが。

○澤田座長 それは1つの問題点であることは確かです。これはかなり古い開発のもので、その当時に考えがあって入れたと思うのですがけれども、結局入れたまま残って、それが今、有効活用されていないものとして残っているということかと私は理解しましたがけれども、安全性上は恐らく問題はない。ですから、今度この評価書の方を直すときに、いろいろコメントをいただいて、直していきたいと。

○鎌田専門委員 両方を統一しておかないとおかしくなるというのが一番気になりました。

○澤田座長 そのガイザーモチーフを入れた経緯をもうちょっと説明してもらえますか。

○松尾係長 ガイザーモチーフを入れた経緯ですけれども、本遺伝子は微生物農薬のために開発した遺伝子として、導入した目的はガイザーモチーフを入れることによりまして、タンパク質発現の至適温度をあげることのようにです。

ガイザーモチーフが入っている他の Cry1 タンパク質は、大体 30℃くらいなのだそうです。Cry1Ab タンパク質は大体 25℃ということですが。

Cry1 タンパクを発現させると、このガイザーモチーフが入っていない Cry1Ab タンパク質はほかのタンパク質と比べて発現量は低くなってしまおうということで、このガイザーモチーフを入れることによって、ほかの遺伝子と同じ条件でタンパク質が多く発現させられるという目的で開発されたということですが。

○澤田座長 植物の中では、温度は関係ないということですね。それ以上の説明は、企業の方からはもう出てこないわけですか。

○松尾係長 そうですね。ちなみにこの遺伝子を入れた微生物農薬は商品化されていないということで、この遺伝子のパテントはとっているとのことですが。今のところはそれくらいの情報しかいただけていません。

○澤田座長 それ以上の情報は出てこないという前提で評価書案を直していただければと。ほかに御意見はございますか。

25 ページまでで、それ以外に多分問題になるところは、ちょうど最後の 25 ページのどこを起点にして評価していただきたいかという、いつもの話でありまして、これはいかがでしょうか。一応 T0 を自殖して T1 にして、自殖を繰り返している系列とほかのバックグラウンドを入れた系列に分かれておりまして、その根本の T1 を認めていただきたいというのが申請者の言っているところでもあります。

○鎌田専門委員 今回の申請はすごくわかりにくくて、書いてあることを見たら T1 の世代で 10 個体とって、そのうちの 3 個体を下にあるものの系列にするために交配をしています。

残りの7個体について、このT1についてサザンデータをきっちり出しています。ところがそれは交配に使っていないものです。下の方ではどうしているかということ、下の適当なところで、よくよく読むと、別な形でサザンをしていて、一応パターンが同じなので基と同じでしょうという奇妙な論理を使うのでわかりにくいのですが、それが理解されると全体としてはいつもと同じパターンになってくるので、いいだろうというふうになりますが、それが文章を細かく読まないとわからない説明になっていますので、そこら辺をもう少し明確に書いていただければいいと思います。

○澤田座長 この自殖の過程はワンジェネレーションではないですか。

○鎌田専門委員 T1の次がF1は多分そのままワンジェネレーションです。その次にもう一回バッククロスですけれども、これもワンジェネレーションです。BC2もワンジェネレーションで、ここに書いてあるのは全部、数字が1つ増えるごとにワンジェネレーションに回っていくという形だと思います。

○澤田座長 そうしますと4倍体ですので、4つあるうちの1だけに入ると。

○鎌田専門委員 サザンのパターンは全くそういうふうになっていますので、そういうことだと思います。

○澤田座長 では、ずっと2つは入っていないということですね。

○鎌田専門委員 入っていないです。

○澤田座長 ホモと書いてあったので、要するにホモというのは2つ入っているという意味ですか。

○鎌田専門委員 その辺は何とも言えないですね。

○澤田座長 24ページの1行目です。ホモ接合体でありながら、*aph4* 遺伝子が存在しない10個体。これはもうちょっと説明していただくようにしてください。

ほかによろしいでしょうか。どうぞ。

○飯専門委員 先ほどのT1でOKとするかどうかということですが、これは3つの個体から後代をとっていると書かれていて、ここの図9はそのうち2つについては示されていますが、もう一つにほかの遺伝子が残っている可能性は否定されていましてでしょうか。

○鎌田専門委員 この概要書にはないですが、補遺の方にサザンデータできちんと全部出しています。

○澤田座長 25ページまで、ほかによろしいでしょうか。

それでは「第6 組換え体に関する事項」と「第7 第2から第6までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要な事項」ということで、26ページから最後までになります。御意見がありましたらお願いしたいと思います。

アレルギーのところを手島先生からコメントをいただいておりますけれども、御説明ください。

○松尾係長 解説書の40ページに人工胃液による試験が記載されておまして、この内容について、手島先生からコメントをいただいております。お手元に「専門委員からのコメ

ント」という資料を御用意させていただきましたので、この内容について紹介させていただきたいと思います。

この人工胃液による試験の結果、SDS-PAGEの試験におきまして、41ページの結果を見ていただきたいのですが、3 kDaのバンドが出ておきまして、これが60分間の消化でもバンドが消えていないということをごさしまして、これに関して手島先生からコメントをいただいておりますので、読み上げさせていただきたいと思います。

下から8行目から最終行までの段落の3 kDaのバンドに関する記述について、まず、下から8行目の記述で『mCry1Abタンパク質由来のポリペプチド断片であると考えられる3 kDa程度のバンドが検出された』とありますが、補遺11の中には、そのような表現はなく、3 kDaのバンドは、ポリクローナル抗体を用いたウェスタンブロットでは染まらないとしか記述されていません。さらに、補遺11には、解説書のp42に掲載されている大腸菌で発現させたmCry1Abタンパク質の人工胃液による分解性試験に加えて、ワタの葉からアフィニティ抽出で精製したmCry1Abタンパク質のSGFによる分解をウェスタンブロットで調べていますが、抗体で染まる3 kDaのタンパクは検出されていません。従いまして、3 kDaが、mCry1Abタンパク質由来のポリペプチド断片であるとする根拠は、補遺11にも示されていないので、ここの記述は、正確ではないと思われます。この3 kDaのバンドが、60分でもCBB染色で検出されるということは、これmCry1Ab由来であれば、気にかかるどころではありますが、このバンドの位置のペプチドを質量分析計で解析すれば、それ程難しくなく同定できると思います。補遺11のp8に、大腸菌で発現させたmCry1Abの純度が、77.3%程度となっているので、Cry1Ab由来のペプチドでない可能性が高いと思います。mCry1AbのSGFによる分解が、その断片も含めて早くおきているのかどうかを正確に理解するためには、この3 kDaバンドの質量分析のデータは可能であれば出してもらった方がよいと思います」ということをごさします。

次に、解説書p40の下から4行目から3行目にかけての記述で、「mCry1Abタンパク質は人工胃液中で速やかに60kDaと3 kDa程度のポリペプチド断片に分解し、」という表現も、正確でないので、訂正が必要と思われます。

以上をまとめますと、

①下から8行目から最終行までの段落の3 kDaのバンドに関する記述について訂正が必要であること

②SGFの分解性試験として、補遺11のFigure3の植物由来のmCry1Abの分解性試験のデータも加えて議論すること

③可能であれば、3 kDaのバンドの質量分析による同定結果を追加することとなります。

3 kDaのバンドが、mCry1Abタンパク質由来でなければ、intactの130kDaのタンパク質、分解断片である60kDaのタンパク質は、SGFにより比較的早く分解しているので、SGFによるmCry1Abタンパク質全体としてタンパクの分解は早いと結論づけてよいと思います。」という指摘をいただいております。

(2)として、解説書の69ページの最終行について、修正すべき旨の御指摘をいただいております。

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。今、御説明いただきましたように、ポイントはこの大腸菌でつくったタンパクの純度がきれいではないので、不純物由来の3 kDaであるということ否定するデータが今ないということで、そのためにこのままの状態だとこの文章ではいけないので、修正が要るといことになるかと思ひます。

それが手島先生のまとめの①で、②は従来、植物を原材料にして電気泳動をしたものがあつたら、むしろそちらを出していただいた方がいいということで、②のデータはこの文章にできたら追加していただいた方がいいのかなと思ひます。それで議論は議論として追加していただくと。

あと3 kDaのバンドの質量分析でありますけれども、これはできたら調べてもらうにこしたことはないのですが、可能かどうかという点もありますので、いかがでしょうか。海老澤先生の御意見はいかがでしょう。

○海老澤専門委員 これを読ませていただいたのですけれども、そこまで要求すべきなのかなとは感じました。

○澤田座長 書くのはなかなか難しいと思ひますけれども、この3 kDaが不純物だったら問題はないわけでありまして、3 kDaがCry1Ab由来であつた場合に、どのくらい問題になるかということが2点目。

従来、2 kDaとか3 kDaでちょっと残るようなケースはなきにしもあらずで、これを見ますと、SDS上は10分、30分くらいまでずっと残っています。3 kDaだと一応ウエスタンでは引かからない。これはウサギのポリクロかわかりませんが、ポリクロでは抗原性は出ないという点からして、この3 kDaの残り具合をどういふふうに判断するかということだと思ひますけれども。

○橋田専門委員 今、ポリクロでは反応性がないと御指摘があつたのですが、そもそもCB B染色のもの比べて載せている量はかなり違ふということもあり、3 kDa付近でマーカールはかなり残っているのですが、メンブレンに転写する段階でかなり抜けてしまった可能性もあるんで、必ずしも反応性がないと結論づけてしまうの如何かなと思ひます。勿論3 kDaについて同定することができれば、それに超したことはないと思ひますが、反応性に関しては必ずしもポリクロで反応するかどうかということは、今これだけのデータではわからないと思ひます。

○澤田座長 結論としては、コメントは3 kDaのバンドの同定を試みて下さいということになりますけれども。

○小関専門委員 ここで見ていたときに、結局問題なのは要するに免疫反応するかかどうかですね。人工胃液と人工腸液はウエスタンで見えて、加熱はELISAで見えています。こういう出し方をされると、ひよつとすると人工胃液と腸液をやつたときに、ELISAで見たら

全然減らない。要するに短いのは 3 kDa はかなり長い間残っているということではないかと思えてしまったりします。ですから、何か変だなと思えてしまう。

○橋田専門委員 追加でよろしいでしょうか。今、加熱処理のお話があったのですけれども、この加熱処理のときに使った緩衝液の pH が若干高めかと思われま。勿論、溶けないとか溶けるとかそういうこともあるのかもしれませんが、可能な限り、その加熱処理のときでしたら、それ以外のファクターは排除するような方向でやっていただきたいと思しますので、もしこの緩衝液でなければならぬのだとしたら、説明をいただけたらと思します。

○澤田座長 pH9.5 は常識よりも高いということはありませんね。これは説明を求めて、pH は中性で溶けないからやったのだとか、何か説得力のある説明がなかったら pH7 でやれということになりますか。

○小関専門委員 9.5 といったらトリスの範囲外、範囲ぎりぎりです。

○澤田座長 ほかにありますか。

○小関専門委員 もう一点いいですか。記載の上での問題だと思しますがけれども、今、胃液の話が出ましたが、腸液のところでも、43 ページの文章と写真を実際に見ると、48 時間に 36 と 32 が出てくるということですね。でも、一番下の「以上の結果から」には 58 と 55 に分解され、その後には消化は進まないと書いてありますが、36 と 32 は何なのかということは全く飛ばされてしまっているの、ここはきちんと修正するなり何なりしておいていただきたいと思します。

○澤田座長 図 20 の 36 と 32 の薄いバンドですね。

○小関専門委員 ですから、58 と 55 についてはちゃんと分解されてと言っているけれども、36 と 32 もウエスタンで抗体に引っかかるわけですから、それも分解されていないのだと、本来だったらちゃんと書かなければいけないものだと思うので、そこはきちんと対応していただきたいとお伝えください。

○澤田座長 それは追加で記載していただければよろしいですか。

○小関専門委員 はい。

○澤田座長 ほかに御意見はいかがでしょうか。

○和久井専門委員 1 つよろしいでしょうか。68 ページの急性毒性の事項ですけれども、用量設定の根拠を一文入れていただければと思します。

○澤田座長 68 ページの急性毒性のところですね。その根拠を入れていただくと。ほかによろしいですか。

それでは、いただきました指摘事項を確認していただきまして、厚生労働省を通じて申請者に対して指摘したいと思します。指摘事項がかなりありましたので、飼料の方は今日には行けないということでもありますので、議題 1 につきましては、これで終わりたいと思します。

議題 2 の「その他」でありますけれども、私の方から報告が 1 つあります。3 月の専門

調査会で審議いたしました、トウモロコシ4品種の掛け合わせ品種についてでありますけれども、生物検定に使用した系統の遺伝的背景を回答してほしいという指摘を出しまして、その取扱いにつきまして、担当の先生に御協力をいただき、座長預かりとなっていたところであります。指摘に基づいて回答されたことを確認いたしましたので、評価結果を食品安全委員会に御報告いたしました。なお、本件につきましては、食品安全委員会での審議を経て、評価結果が厚生労働大臣に通知されたと聞いております。私からの御報告は以上であります。

そのほかに事務局から何かありますでしょうか。

○松尾係長 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、これで終了したいと思います。

それでは、今後の予定等について、事務局からお願いします。

○松尾係長 次回の日程を調整させていただきました結果、5月26日水曜日の午後が一番御都合がよろしいかと思えます。委員の皆様におかれましては、お忙しいところを恐縮ですが、日程の確保をよろしく願いいたします。

○澤田座長 ありがとうございます。それでは、次回5月26日ということでよろしくをお願いします。

以上をもちまして、第81回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会させていただきます。本日も活発な御議論をありがとうございました。