

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

第91回会合議事録

1. 日時 平成23年5月30日（月） 14：00～15：18

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

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

- ・チョウ目害虫抵抗性ワタCOT67B系統（食品・飼料）
- ・LYS-No.1F株を利用して生産された塩酸L-リジン

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、鎌田座長代理、海老澤専門委員、小関専門委員、橘田専門委員、
児玉専門委員、手島専門委員、中島専門委員、飯専門委員、山崎専門委員、
和久井専門委員

(食品安全委員会委員)

小泉委員長、熊谷委員、長尾委員

(事務局)

栗本事務局長、坂本評価課長、前田評価調査官、北村課長補佐、三木係員、
種池技術参与

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

- ①チョウ目害虫抵抗性ワタCOT67B系統（食品）
- ②チョウ目害虫抵抗性ワタCOT67B系統（飼料）
- ③LYS-No.1F株を利用して生産された塩酸L-リジン

参考資料 安全評価に係る指摘事項

- ①チョウ目害虫抵抗性ワタCOT67B系統
- ②LYS-No.1F株を利用して生産された塩酸L-リジン

6. 議事内容

○澤田座長 それでは、定刻になりましたので、ただ今から第 91 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、五十君専門委員、石見専門委員、澁谷専門委員が御欠席とのことです。

本日の議題であります、継続審議品目のチョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B 系統、これは食品と飼料、それから LYS-No.1F 株を利用して生産された塩酸 L-リジンについての審議となります。

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

○北村課長補佐 それでは、議事次第に基づきまして配布資料の確認をお願いいたします。配布資料は、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、参考資料としまして安全性評価に係る指摘事項となっております。なお、これら以外の参考資料につきましては、ファイルにとじまして委員の皆様の方の机の上に置かせていただいております。本ファイルにつきましては調査会終了後、回収させていただきます、次回にまた配布いたします。不足等がございましたら、事務局までお知らせください。

○澤田座長 それでは、議題 1 の審議に入らせていただきたいと思います。

まず、ワタ COT67B の審議を行いたいと思います。この品目は昨年 11 月の専門調査会におきまして審議を行いまして、指摘事項が出ているものであります。指摘事項に対する回答について事務局から御説明をお願いします。

○三木係員 それでは、お手元に黄色い紙ファイルを御用意くださいますようお願いいたします。1 ページ開いていただきまして、こちらは前回に審議いただいた際に二点の指摘事項をいただいております。

まず、1 点目になりますけれども、1 ページ目になります。SDS-PAGE の分析において検出された 3 kDa 及び 4 kDa のバンドが mCry1Ab タンパク質であると推測される結果が示されていたことから、これらのバンドに対応するタンパク質断片の人工腸液に対する消化性について調査を行い、アレルギー性について考察をすることになっておりました。

こちらの回答といたしまして下段になりますけれども、今回、人工胃液と人工腸液で各種処理したサンプルを調製し、SDS-PAGE 分析を行っております。その結果、3 ページにいかせていただきますけれども、人工胃液中で 2 分間反応させたものでは、3 kDa 及び 4 kDa のバンドが検出されました。こちらが左側の図 1 の 5 レーン目になります。続いて、人工腸液中で反応させた場合、30 秒後にはこれらのバンドは検出されなくなりました。これが同じく左側の図の中のレーン 8 となります。したがって、mCry1Ab タンパク質は消化に対して安定でないことが確認されましたという回答でございます。

また、本試験に加えまして、1、*mery1Ab* 遺伝子の供与体にアレルギー誘発性があると

は考えられないこと、2点目として mCry1Ab タンパク質に関してアレルギー誘発性の報告はないこと、3点目として mCry1Ab タンパク質は加熱に対して安定でないこと、4点目といたしまして、アレルゲンタンパク質との間に有意な相同性配列がないこと、これらを総合的に考察した結果、mCry1Ab タンパク質がアレルゲンとして、ヒトの健康を損なうおそれはないと考えられたという考察になっております。

4ページから6ページまでが、これらの回答に伴う概説書の修正となっております。

続きまして7ページ目をご覧ください。2点目につきまして、こちらは以前の調査会で指摘を頂いていたもので、上からの2段目の点線で囲まれたところになりますけれども、mCry1Ab タンパク質のマウスを用いた急性毒性試験について対照群の肝臓において病変が認められていることから、被験物質による肝臓への影響評価判定を行うことは困難であり、適切な試験結果を示し、修正するということでした。こちらに対する回答が前回の調査会において提出されておりましたが、裏づけとなっているデータ及び説明が不正確及び不明瞭な箇所が見受けられることから精査を行い、適切に修正することと再度指摘をいただいております。

こちらを受けた回答については、前回の変更点といたしまして、1点目、前回、使われていた顕微鏡写真について同じ倍率と記載されていた写真が実質的には異なる倍率となっていたため、今回、同じ倍率のものに修正されております。2点目といたしまして、所見の検出につきましては記載が適当でなかったため、回答から削除されております。3点目といたしまして、前回に提出した回答において、肝細胞の2個程度という大きさのものが記載されておりましたが、こちらが適切な指標ではなかったために修正されております。こちらにつきましては今回の回答書中にはございませんけれども、添付資料1の中の表記が修正されております。4点目といたしましては、急性毒性試験という記載を経口急性毒性試験と修正されております。

具体的に修正した回答について御説明させていただきます。8ページをめくっていただいで中段辺りになりますけれども、経口急性毒性試験においては肝臓の4つの部位において切片を作製し、ヘマトキシリン及びエオシン染色した結果を顕微鏡下で観察し、病変については、minimal、slight、moderate、markedの4段階に分類して評価が行われております。

その結果、一番下にいっていただいて、1点目、対照群のマウスの肝臓に認められた病変は、minimalに分類される軽微なものであったということです。2点目といたしましては、これらの病変は壊死を伴わないものであり、肝細胞自体への影響は認められませんでした。3点目といたしまして、これらの病変は散らばって存在する限局性のものであり、既知の毒性物質の投与によって認められる大きなびまん性のものとは異なっていたということです。

以上のことから、対照群において肝臓に炎症細胞の浸潤が認められましたけれども、今回、観察された程度のものであれば、実際に mCry1Ab タンパク質による影響があった場

合、検出が可能であると考えられ、本結果をもって肝臓への健康影響評価を行うことが適切であると考えられるということです。また、mCry1Ab タンパク質投与群のマウスの肝臓に認められた病変につきましても対照群と同程度であることから、mCry1Ab タンパク質の投与に起因した毒性影響ではないと考えられるという記載になっております。

次のページからが、その顕微鏡写真になります。

御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、指摘事項に対する回答につきまして、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、指摘事項 1、人工腸液による消化性試験の考察につきまして、これは手島先生の御指摘です。

○手島専門委員 これに関しましては、mCry1Ab を人工胃液で消化した際に、60 分まで試料の 4,000 あるいは 3,000 の分子量のものが見えるということでありまして、これが mCry1Ab タンパクに由来するということを推測する結果が出されたということで、これが消化性試験に対して安定であるかどうかということをもさらに調べるために、続いて人工腸液で処理をして、これが消化されるかどうかということ調べてくださいという意図で指摘をしたものですが、補遺 19 に新たに実験が加えられて、その概要が先ほど説明のありました 2 ページ目の図 1 にあるということで、人工胃液では分解されずに残っていた 4 kDa、3 kDa というタンパクが人工腸液でさらに処理をすると、30 秒後には検出されなくなっているということが示されています。そういうことからトータルで考えて、消化性については消化されやすいタンパクであるというふうなことが言えると思いますので、この回答でよろしいかと思っております。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項 2 ですが、これは急性毒性試験につきまして和久井先生のほうから御指摘があったところかと思っております。

○和久井専門委員 私が質問いたしましたのは、mCry1Ab を強制的に投与した群とコントロール群、その間に差があるのかどうかということをはっきりしてくださいということだったので、それに対する回答は、コントロール群でも病変が出てしまっているのは通常、普通でも出るのだという回答なのですね。ということは、通常でも病変が出ているものをコントロールとして使って、この mCry1Ab を食べさせ動物への影響を評価することは、適切であると回答書には書いてあるのですが、私はこの試験結果は評価はできないと思っております。

幾つかの問題点はあるのですが、一つは病変を minimal、moderate、この前は marked ですか、というふうに分けています、この基準があまりよくわからないという点です。具体的などころとしては、minimal では病変が認められた割合が 10%以下と書いてありますが、マウスですので、強毒性が出た場合にも病変の比率、エリアで考えた場合、10%以下の中に全部包括されてしまいます。従って、このクライテリアがまずよくわか

らない。できれば、定量的な評価をしていただきたい。この場合のコントロールの正常だとされているものと今回の評価すべきものと結論が同じ、両方とも病変があるということになっておりますので、それだとちょっとこれでよしとしているのかという問題が、僕は十分にあるのではないかなと思うのですね。

さらに概説書を見せていただきますと概説書の 69 ページですが、mCry1Ab タンパク質の 6 行目ですか、血液検査、血液生化学検査で、それも異常は見られなかったと書いてあるのですが、実際に肝臓に何らかの障害があれば、必ず ALT、AST などのレベルが動いてしかるべきなのですが、その辺のデータはなかったような気がするのです。そうすると、少なくとも生化学的な検査は不十分であるというふうに考えます。

さらに、この記載に使っているマウスなのですね、この問題は。CD-1 の系統のマウスを使っていると書いてあります。確かに CD-1 マウスというのは、実験動物学的にはクローズドコロニー系に入って、こういう毒性評価の試験には適しているとは思いますが、ところが、実際にこの会社が使っているのは、この CD-1 というのは非常にいろいろコロニーによって名前が幾つも実際にはあります。よく使われているのは ICR なんて呼ばれているマウスが、CD-1 の同じ系統なのですけれども、コロニーによってみんなそれぞれ違ってくるのですね。今回の申請に当たって使われているのは APf-CD-1 という、この会社がきっと自分のところで系統を維持しているマウスなのではないかなと思うのですけれども、そのマウスは正常でも 90%の個体で肝臓に、非常にマイナーかもしれませんが、異常が出てくるマウスをなぜ使うのかと。

実際に、なぜ、コントロールとして病変があるようなものを使っているのかなというところは非常に疑問に思うところで、今後、同様の動物を使ったデータを出されてもちょっと困るというのがあります。

あと、今回は 1,830 mg/kg の単回の投与試験になります。普通、急性毒性試験の場合ですとドーズを振ってやるわけなのですが、それもやっていないですので、やはり、使う動物はかなり厳選していただかないと、評価する場合に非常に困るところが私の感想といいますか、意見です。非常に困っております。

○澤田座長 ありがとうございます。

まず、マウスの毒性試験ですけれども、本来はなくてもいいという事情はありますけれども、出てきているので、見なければいけないということです。もう一回、やり直させる必要があるかどうかですが。

○和久井専門委員 ですから、これがもし医薬品、農薬等の委員会でしたら、このデータだったらはっきり言って NG なのです。ただ、本委員会では、このデータでもいいのだという先生方のお考えであれば、僕は何も申し上げる必要はないのです。しかし、この会社は結構、この系統のマウスを使っている試験結果が今後も出てきそうな感じがあるのですね。そのときに本当にいいのかなというところがありますし、彼らは同程度だと言っていますけれども、本当に同程度かどうかわからないのです。

○澤田座長 では、他の先生方の御意見を頂戴したいと思います。いかがでしょうか。これは確か、コントロールと投与群で逆転して、コントロール群のほうが出ているわけですね。

○和久井専門委員 そうなのです。

○澤田座長 この場合、そうでしたか。

○和久井専門委員 ええ。どちらにしてもコントロールでたしか5匹中5匹、あと、5匹中4匹というすごい数字が出ているのですね。

○澤田座長 わかりました。その次の申請で逆転していたのですね。

○和久井専門委員 そうですね。

○澤田座長 今回はそれほど偏っていないくて、全体的に肝臓の病理の所見がちょっとマイナーなものが出ていると。

○和久井専門委員 普通、コントロールは全部、NAということが一般的なものですから、それをそのまま通していいものかどうかというのが非常に悩めるところなのですが。このような場合には、マウスがもともと何か別の影響等を受けていて、それが原因で出たということが疑われます。

○澤田座長 いかがでしょうか、ほかの先生方。

○山崎専門委員 先生、いいですか。和久井先生の方からご覧になって、このような動物実験のデータが今回の評価対象品目に必須であれば再実験になると思いますし、このデータが全くなくても評価ができるのであれば、この評価書の中では和久井先生がおっしゃったように、この評価は使用に耐えないというふうに明確に書いて、それで評価対象のデータとしては使わないという姿勢を専門調査会として示せばよい。

○澤田座長 一つ案をいただきましたけれども、他の先生方、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 あまり専門外なのであれですけども、先ほど血液のデータに本来ならば反映されるだろうというお話でしたので、一応、出てしまったものに目をつぶるというのもちょうと何かなところはあるので、もしその血液のデータがコントロールと比較して実質的にほとんど差はないということであれば、このデータは今回なかったことにしてもらおう。ただし、そこでもやっぱり差が出てくるようであれば、そこをどう考えるかというのはちょっと問題ですけども、一応、そこを確認してから削除するのであれば、削除するという方向のほうがいいかなというふうにはちょっと思ったのですけれども。

○澤田座長 肝毒性の血液検査ですか、血液の生化学的検査は不十分でしょうか。

○和久井専門委員 どうだったのでしょうか。私も実は、再確認をしていないのですね。

あまり細かくはやっていないですね。ただ、これをやったところでもともと何らかの感染を受けた動物であれば、これらのマウスは正常ではないですね。

○澤田座長 このデータ自身にいろいろ問題がありますので、この動物実験のデータを一応削除するということがいかがでしょうか。それがなくても問題はないし、このCry1の系統は幾つも出ていまして、安全性は問題ないだろうということでもありますので、それで

よろしいでしょうか。

○北村課長補佐 確認なのですが、山崎先生がおっしゃったように評価できないと書くのではなくて、すべて削除というところでしょうか。

○小関専門委員 一つよろしいですか。評価できないというような書き方とか、要するに評価しなかったというのだったら、では、何で和久井先生をここにお呼びしているのだということにイコールになるわけですよ。そのプロがノーと言っている限りは、その御意見をやっぱりどこかに反映していかないと、シンジェンタは結局、動物実験が下手なのということですよ。こんな甘いのだったら、もう次は通さないというところはきちんと言わないと、また、同じことをやってくると思います。これは動物実験としては不適であるというコメントは、きちんと返したほうがいいと思います。

これだったら SPF でやったらどうだとか言いたくなってしまうですね、私だったら。そこはこれでいいというふうにしたとしたら、次もまたこれで出てきますよ。要するに汚い動物舎で扱えば、どんな動物だって病気になってきますから。マウスは非常に厳しいですからね。ちゃんとハンドリングをする人たちが資格を持っているのか、人間がどういう宿舎でやっているのか、きちんと回答するように、それはさせたほうがいいと思いますね。日本だって規準がちゃんとありますよね。その資格を持っている人でなければ扱えないわけですから、そういう人たちがちゃんとやっているのかどうか、ちょっとよく調べてください。そうでないとすると、こんなものを幾らやったら、そのデータは一切信用できないと、きつく言ったほうがいいと思います。特に動物実験は向こうのほうが進んでいますものね。

○澤田座長 普通は、外部に委託で専門業者に出すことが多いのですが、シンジェンタは自前でやっているのですか。

○小関専門委員 だから、本当にちゃんとした動物実験舎で本当にまじめにやっているのかどうか、そこさえ疑わしいということですよ、結局。だから、本格的な施設をつくったら、自前で持ったらすごく大変ですから、だから、むしろ外注するわけですよ、僕らなんか結構、そういうことはありますから。だから、その辺を 10 年、20 年以上前の古い考え方で物事をやっているようにしか思えないのですけれども。

○澤田座長 いずれにしても伝達事項としては厳しく言って、以後、同じようなことがないようにということです。

○小関専門委員 どういうマウスを使ったかというのは、どういうマウス舎でどういう基準でどういふところで育てたかぐらいの情報は、回答するように出させてもいいと思いますよ。それぐらい厳しくやらないと。そうでなければ、今後、全く同じものが出てくるし、それを和久井先生に読んでいただければ、何を考えているのと言いたくなる。よっぽどのアマチュアか、誰かがたまに餌をがらがらとやっているだけで、動物実験としては成り立っていないシステムでやっている可能性があるんで、そこは明確に回答せよというふうにさせたほうがいいと思います。

○飯専門委員 今、ちょっと見たら英語のところに GLP にのっとなってやっていないと書いてあるのですね。

○小関専門委員 なら、そんなデータは出すなですよ。

○飯専門委員 そうなのです。添付資料 1 の 3 ページ目のところなのですけれども。

○小関専門委員 それだったら、結局、簡単ですよ。のっとなっていないのだったら、こんなものはデータとして受け付けないとはっきり言う。それだけです。

○飯専門委員 ここですべて GLP というのは、動物ではない部分に関しては、必ずしも GLP を要求していなかったのかなと思っていたのですが。

○澤田座長 一応、第 2 から第 6 までの事項により、安全性の知見が十分でない場合は GLP でないとだめですね。ただ、今回は、non-GLP でもいけないというわけではないですけれども、毒性試験は GLP でやるのが当たり前のことですから、やってもらわないとデータとしては受け付けられない場合もあるのでは。あと、作用機作的な薬理学的実験とか、そういうものは non-GLP でもアクセプタブルなことは多いと思いますけれども。ちょっと時間がかかりましたけれども、一応、シンジェンタのほうには、今、いろいろ御意見をいただいた点を厳しく伝えていただくということで。ただ、今回に限りましては、この non-GLP のデータはなしで、一応、了承していただくことにしたいと思います。それでは、どうもありがとうございました。

それでは、一応、動物実験のほうはちょっと問題があったわけですが、安全性の上で特に問題があるという御指摘ではありませんので、続きまして評価書案の審議に入りたいと思います。事務局から御説明をお願いします。

○三木係員 では、評価書案の説明に入らせていただきます。右上に①とある評価書案を御準備ください。

1 ページ目が本品目の目次になっております。

5 ページ目から御説明させていただきます。一番上の I、評価対象食品の概要といたしまして、ここには名称、性質、申請者、開発者が記載されております。チョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B 系統につきましては、*Bacillus thuringiensis* ssp. *Kurstaki* HD-1 株に由来する改変 *cry1Ab* 遺伝子を導入して作出されており、改変 *Cry1Ab* タンパク質を発現することで、チョウ目害虫による影響を受けずに生育できるとされております。なお、ワタ COT67B の作出過程において選択マーカーとして利用するために、プラスミド pKC203 に由来するハイグロマイシン B リン酸基転移酵素遺伝子が導入されておりましたが、交配による遺伝的分離を利用して、本遺伝子を持たない個体が選抜されておりますという記載になっております。

II 番目の食品健康影響評価に入ります。

39 行目の第 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といたしましては、1、宿主及び導入 DNA に関する事項となっております。具体的には (1) 宿主の種名及び由来、(2) DNA 供与体の種名及び由来、

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法について記載しております。

59 行目にまいりまして、2 の宿主の食経験等に関する事項について記載しております。

次の 6 ページ目にまいりまして、3、宿主由来の食品の構成成分等に関する事項といたしまして、(1) 主要栄養素、(2) 毒性物質及び栄養阻害物質をそれぞれ記載しております。

78 行目にまいりまして、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といたしまして、(1) 収穫時期と貯蔵方法、(2) 摂取部位、(3) 摂取量、(4) 調理及び加工方法についてそれぞれ記載しており、いずれにつきましても従来のワタと変わらないとなっております。

5 の比較対象といたしましては、宿主以外のものは比較対象としていないということです。

95 行目にまいりまして、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、本品目につきましては *mcry1Ab* 遺伝子の導入によって、mCry1Ab タンパク質を発現することが宿主との相違点であるとしております。

一番下の第 2、組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項を記載しております。

次、107 行目ですけれども、第 3 の宿主に関する事項といたしまして、1、分類学上の位置づけ、2、遺伝的先祖、3、有害生理活性物質の生産、4、アレルギー誘発性、5、病原性の外来因子に汚染されていないこと、6、安全な摂取に関すること、7、近縁の植物種に関することをそれぞれ記載しております。

138 行目にまいりまして、第 4 のベクターに関する事項についてです。1 について名称及び由来に関する事項を記載しておりまして、2 については性質に関する事項となっております。具体的には (1) DNA の塩基数及びその塩基配列について、(2) 制限酵素による切断地図に関する事項について、(3) 既知の有害塩基配列を含まないことについて、(4) 薬剤耐性遺伝子に関する事項について、(5) 伝達性に関する事項について、それぞれ記載しております。

168 行目にまいりまして、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といたしましては、1. が挿入 DNA の供与体に関する事項となっております。具体的には、(1) 名称、由来及び分類に関する事項、(2) 安全性に関する事項をそれぞれ記載しております。

2. として、180 行目、挿入 DNA または遺伝子及びその遺伝子産物に関する事項といたしまして、(1) 挿入遺伝子のクローニングについて記載しております。ページをめくっていただいて (2) にまいりますけれども、挿入 DNA の塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項を記載しております。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項といたしましては、2 つの遺伝子について記載されておまして、まず、193 行目になりますけれども、*mcry1Ab* 遺伝子となっております。この遺伝子がコードする mCry1Ab タンパク質は殺虫性タンパク質でありまして、

Bacillus thuringiensis が産生する殺虫性タンパク質として知られている野生型の Cry タンパク質は、特定のチョウ目昆虫に摂取されると活性ポリペプチドを生じ、昆虫の中腸に作用して殺虫活性を示すことが報告されております。201 行目にまいりまして、mCry1Ab タンパク質と既知の毒性タンパク質との構造相同性の有無につきまして、データベースによる検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は見出されませんでした。原案ですと、ここに毒性試験のことが書かれておりますが、ここが削除ということになります。

208 行目からですけれども、*aph4* 遺伝子となっております。この遺伝子がコードする APH4 タンパク質は、ワタ COT67B の形質転換体の選択マーカーとして用いられております。APH4 タンパク質は、ハイグロマイシン B をリン酸化し、不活化することから、ハイグロマイシン B を培地に添加することによって、形質転換体の選抜が可能となります。なお、交配による遺伝的分離を利用して *aph4* 遺伝子を持たない個体を選抜したため、ワタ COT67B には *aph4* 遺伝子は含まれておりません。

(4)にまいりましては、抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項として、それぞれ記載しております。

10 ページにまいりまして、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といたしまして、(1) プロモーターに関する事項、(2) ターミネーターに関する事項、(3) その他の配列に関する事項をそれぞれ記載しております。

243 行目の 4、ベクターへの挿入 DNA の組み込み方法に関する事項について、それぞれ記載しております。

249 行目にまいりまして、5、構築された発現ベクターに関する事項といたしまして、(1) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項を記載しております。254 行目にまいりまして、(2) につきましては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しております。261 行目にまいりまして、(3) 意図する挿入領域に関する事項が記入されております。次のページにまいりまして、意図する挿入領域につきましては、導入用プラスミドの左側境界配列から右側境界配列までの T-DNA 領域であります。この領域を、アグロバクテリウム法を用いて宿主に導入したとあります。267 行目ですけれども、(4)、導入用プラスミドはプラスミド選抜及び増殖を通じて純化されているという記載にしております。

この下の表 1 及び表 2 はワタ COT67B に挿入された DNA の構成となっております。

12 ページにいていただいて 275 行目になりますけれども、6、DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項を記載しております。

284 行目にまいりまして、第 6、遺伝子組換え体に関する事項となっております。1、遺伝子導入に関する事項といたしまして、(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項といたしまして、ワタ COT67B のゲノムに挿入された *mcry1Ab* 遺伝子発現カセットのコピー数を確認するために、サザンブロット分析を行った結果、*mcry1Ab* 遺伝子発現カ

セットが1コピー挿入されていることが確認されております。

290 行目にまいりまして、導入用プラスミド pNOV4641 の外骨格領域及び導入用プラスミド pNOV1914 由来の配列がワタ COT67B のゲノムに挿入されていないことを確認するためにサザンブロット分析を行っており、その結果、挿入されていないことが確認されております。

続きまして、挿入 DNA の塩基配列を決定し、T-DNA 領域の塩基配列と比較した結果、左側境界配列及びそれに続く T-DNA 領域並びに右側境界配列の欠損を除き、一致していることが確認されております。

298 行目にまいりまして、挿入 DNA の近傍配列が宿主のゲノム由来であることを確認するために、5'末端近傍配列及び 3'末端近傍配列の塩基配列について宿主ゲノムの塩基配列と比較しております。その結果、DNA 挿入に伴う欠損及び挿入を除き、宿主ゲノムの塩基配列と一致していることが確認されております。

303 行目にまいりまして、DNA を挿入することによって宿主の内在性遺伝子が損なわれていないことを確認するために、データベースによる検索を行った結果、DNA の挿入による宿主の既知の内在性遺伝子は損なわれていないと考えられたということです。

13 ページにまいりまして、(2) オープンリーディングフレームに関する事項といたしまして、挿入 DNA と 5'末端近傍配列及び 3'末端近傍配列との接合部位について、意図しない ORF が生じないことを確認するために ORF 検索を行いました。その結果、30 アミノ酸以上の ORF が 3 個見出されております。

322 行目にまいりまして、3 個の ORF と既知の毒性タンパク質及びアレルゲンとの相同性の有無を確認するために、NCBI のデータベース検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質及びアレルゲンは見出されませんでした。

326 行目にまいりまして、アレルゲン検索といたしまして 3 個の ORF のうち、80 アミノ酸以上の長さを持つ 1 個の ORF と既知のアレルゲンとの相同性の有無を確認するために相同性検索を行った結果、相同性を示すアレルゲンは見出されませんでした。さらに、3 個の ORF について、抗原決定基の有無を確認するために相同性検索を行った結果、連続する 8 アミノ酸と一致する配列は見出されませんでした。

333 行目にまいりまして、2、遺伝子産物の組換え体内における発現に関する事項です。ワタ COT67B における mCry1Ab タンパク質の発現量を、ELISA 法を用いて分析を行っております。その結果は表 3 のとおりとなっております。

次の 14 ページにまいりまして、3. 遺伝子産物が一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となります。349 行目にまいりまして、mCry1Ab タンパク質はほとんど摂取されることなく、その摂取量は無視できるレベルであるとされております。

4. 遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する事項につきましては、(1) 挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性、(2) 遺伝子産物のアレルギー誘発性、(3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する事項となっております。

363 行目の①の人工胃液に対する感受性といたしましては、SDS-PAGE 分析の結果、試験開始後 1 分以内に約 60 kDa 及び約 3 kDa のポリペプチド断片に分解され、約 60 kDa のポリペプチド断片は 30 分以内に消化されたが、約 3 kDa のポリペプチド断片は、60 分後においても消化されないことが確認されました。また、ウェスタンブロット分析においては、試験開始後 1 分以内に約 60 kDa のポリペプチド断片に分解され、30 分以内に消化されることが確認されております。なお、その際に SDS-PAGE 分析において検出された約 3kDa のポリペプチド断片は検出されませんでした。374 行目にまいりまして、SDS-PAGE 分析において検出されたポリペプチド断片の消化性について確認を行うため、人工胃液で 2 分間処理後、人工腸液で処理した結果、ポリペプチド断片は人工腸液処理後、30 秒以内に消化されることが確認されております。

次のページにまいりまして 379 行目、②人工腸液に対する感受性といたしまして、SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、試験開始後 5 分以内に複数のポリペプチド断片に分解され、それ以上の消化が進まないことが確認されております。

次の③加熱処理に対する感受性といたしまして、ELISA 法を用いて分析を行った結果、95℃、30 分間の加熱で免疫反応性が失われることが確認されております。

389 行目にまいりまして、(4) 遺伝子産物と既知アレルゲンとの構造相同性に関する事項といたしまして、連続する 80 以上のアミノ酸配列につきまして、35%以上の相同性を示す既知のアレルゲン等は見出されませんでした。また、抗原決定基の有無を確認するために相同性検索を行った結果、連続する 8 アミノ酸と一致する配列は見出されませんでしたという結果になっております。

これらのことを総合的に判断いたしまして、mCry1Ab タンパク質については、アレルギー誘発性を示唆するデータがないということが確認されております。

402 行目にまいりまして、5. 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項となります。ワタ COT67B に挿入された遺伝子の分離様式を確認するために、挿入遺伝子の分離比の期待値と実測値を比較いたしました。その結果、メンデルの分離の法則に基づいて後代に遺伝していることが示されております。また、挿入された遺伝子の後代における安定性を確認するためにサザンブロット分析を行った結果、各世代において共通のバンドが確認されております。

411 行目、6. 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項といたしまして、mCry1Ab タンパク質は酵素活性を持つとは考えられておらず、宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられるとなっております。

416 行目、7. 宿主との差異に関する事項といたしまして、16 ページにまいりませけれども、米国の圃場で栽培された COT67B と非組換えワタ種子の主要構成成分、ミネラル、ビタミン E、アミノ酸組成、脂肪酸組成及び有害生理活性物質の分析を行い、統計学的有意差について検討を行った結果、いずれの結果につきましても、対照に用いた非組換えワタとの間に統計学的有意は認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっ

ても、一般の商業ワタ品種の分析結果に基づく文献値の範囲内であったというふうになっております。

447 行目にまいりまして、8. 諸外国における認可、食用等に関する事項が記載されております。

17 ページにまいりまして、9. 栽培方法に関する事項、10. 種子の製法及び管理方法に関する事項をそれぞれ記載しております。

第7 といたしまして、ここに原案では動物実験の記載がございますけれども、削除させていただきます。

472 行目、Ⅲ.食品健康影響評価結果につきましては、チョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B について「遺伝子組換え食品の安全性評価基準」に基づき評価した結果、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断したという記載にしております。

以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、評価書案につきまして、御意見、コメントをいただきたいと思います。なお、細かい字句の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただければと思います。

それでは、評価書案の最初の8 ページの真ん中辺の第4 までで何かコメントがありましたらお願いしたいと思います。

それでは、ちょっと長い第5 に関しまして何か、よろしいでしょうか。

それでは、第6 で組換え体に関する事項、それでは、第7、先ほどの削除ということになりましたけれども、最後まで。

評価書案のほうはよろしいでしょうか。それでは、一応、評価書案は御了解いただいたということで、ありがとうございます。

それでは、一応、食品のほうは終わったということでもありますので、引き続きまして飼料のほうの安全性について審議を行いたいと思います。事務局のほうから御説明をお願いします。

○三木係員 それでは、次に透明のクリアファイルを御用意くださいますようお願いいたします。

こちらが、先ほどのワタの飼料のものになりますけれども、1 ページをめくっていただいて1 が概要となっております。1) 品目名が記載されておまして、2) 本飼料の特徴として、本品目と宿主であるワタの相違点といたしましては、*mcry1Ab* 遺伝子にコードされている *mCry1Ab* タンパク質が発現していることとありまして、この点を除きますと COT67B ワタと宿主であるワタとの間には相違はないと考えられるという記載になっております。3) の本飼料の使用法でございますけれども、飼料としての使用方法や利用目的は、従来のワタとの相違はないということです。

2 番目の遺伝子組換え飼料としての安全性につきましては、①から③のとおり、安全性

の評価の考え方につきまして、いつもと同じ記載となっております。その次のパラグラフですけれども、COT67B ワタは mCry1Ab タンパク質が産生されることにより、チョウ目害虫抵抗性を付与されているものでして、①から③の可能性は考えにくいということになっております。また、一般的に挿入された遺伝子もしくは当該遺伝子によって産生されるタンパク質が肉、乳、卵等の畜産物中に移行するという報告はなく、当該遺伝子によって産生されるタンパク質を摂取した家畜由来の農産物について安全性上、問題はないと考えられるという記載になっております。

これらのことから、当該飼料に由来する畜産物を摂取することによるヒトへの健康に及ぼす影響はないと考えられるという結論になっております。

以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、申請書、これは全体につきまして、先生方から御意見をいただきたいと思えます。

○児玉専門委員 1 ページ目の本飼料の特徴の最初に、「COT67B 系統と宿主であるワタの相違点は」の次に *mcry1Ab* の由来がないので、*Bacillus thuringiensis* ssp. *Kurstaki* HD-1 株に由来する *cry1Ab* 遺伝子にコードされるというふうに入れていただいたほうが良いと思えます。

○澤田座長 では、そのように直したいと思えます。

他に先生方から御意見はございませんでしょうか。よろしいですか。

それでは、特段の御意見がないということでありますので、続きまして評価書案の審議に入りたいと思えます。事務局のほうからお願いします。

○三木係員 それでは、評価書案の御説明にまいります。②と右上に記載されている評価書案になります。

3 ページ目からまいりますけれども、I. 評価対象飼料の概要となっております。ここには名称、性質、申請者及び開発者を記載しております。チョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B 系統は、*Bacillus thuringiensis* ssp. *Kurstaki* HD-1 株に由来する改変 *cry1Ab* 遺伝子を導入することによって作出されており、改変 Cry1Ab タンパク質を発現することで、チョウ目害虫による影響を受けずに生育できるとされております。なお、ワタ COT67B の作出過程におきましては、選択マーカーとして利用されているため、プラスミドに由来するハイグロマイシン B リン酸基転移酵素遺伝子が導入されておりましたが、交配による遺伝的分離を利用して本遺伝子を持たない個体が選抜されております。

37 行目の II の食品健康影響評価にまいります。

1. につきまして、ワタ COT67B は、チョウ目害虫抵抗性の形質を付与されたものであります。なお、害虫抵抗性の遺伝子組換え作物を飼料として用いた動物の飼養実験において、導入された遺伝子もしく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おられません。

2. つきまして、こちらは食品の評価結果が終了したときに記載させていただきます。

47 行目にまいりまして、上記 1. 及び 2. を考慮したところ、ワタ COT67B 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としております。

以上のことから、ワタ COT67B につきましては、「遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方」に基づき評価した結果、改めて「遺伝子組換え食品の安全性評価基準」に準じて安全性評価を行う必要はなく、当該飼料を摂取した家畜に由来する畜産物について安全上の問題はないと判断したという記載にしております。

以上です。

○澤田座長 それでは、ただいまの評価書案に関しまして、御意見、コメント等がありましたらお願いしたいと思います。なお、細かい字句の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思います。

この 3 ページですけれども、コメント、御意見はよろしいでしょうか。

それでは、御了解いただいたということで、食品安全委員会に報告をいたしたいと思えます。ありがとうございました。

それでは、3 番目の議題であります塩酸 L-リジンの審議を行いたいと思えます。この品目は昨年 12 月の専門調査会で審議を行いまして、指摘事項が出されたものであります。指摘事項に対する回答について事務局から御説明をお願いします。

○北村課長補佐 それでは、緑色のファイルで、LYS-No.1F 株を利用して生産された塩酸 L-リジンの安全性評価に係る回答書のほうの御用意をお願いします。

まず、表紙をめくっていただきまして、そちらから回答になります。指摘事項と修正事項が 1 項目ずつございます。

指摘事項でございますが、非有効成分につきまして、従来品との比較データを提出することという指摘になっております。データは、高度精製の添加物の評価を行う際に提出していただいているデータと同様のものを提出することということでございます。回答といたしましては、別添資料のほうに比較データが提出されてございます。

一枚めくっていただきまして、比較データというタグがついているところからが、提出された不純物のプロファイルの比較結果になってございます。1 ページ目でございますが、アミノ酸自動分析計による比較となっております。定量限界以上の不純物は検出されなかったということです。2 ページ目になります。HPLC-1 法で親水性の不純物の検出を行ってございます。結果は新規不純物は検出されず、既存不純物は現行の振れ幅の範囲内であったということです。3 ページが HPLC-2 法による比較でございます。親水性から疎水性の不純物全般を検出することを目的としてございます。結果につきましては新規不純物は検出されない、既存不純物は現行製品の振れ幅の範囲内であったということでございます。4 ページ目からがクロマトグラムになってございます。

指摘については以上です。

一番最初に戻っていただきまして、修正事項でございますけれども、申請資料全般について、宿主、導入遺伝子の供与体が明確になるように整理をしてくださいという修正の指摘になってございます。以前の申請書では、従来の添加物の生産菌であるプラスミド菌株が宿主であるかのような記載になっていたところから修正の指摘がございまして、宿主を *E. coli* MLFN29 株ということで整理をしてございます。また、導入遺伝子につきましては、*E. coli* K-12 株由来の遺伝子とそれ以外の *Corynebacterium* 由来の遺伝子とを区別して記載しております。

具体的には、本文修正という緑色のタグがございまして、その例えば 10 ページのところですが、まず外来遺伝子は *Corynebacterium glutamicum* 2256 株に由来すると記載があり、その後に K-12 株に由来する遺伝子を列記してございます。また、さらにプロモーターにつきましては、こちらの修正された本文の 11 ページの真ん中辺の赤字にございませうように、●●●ということ追記してございます。

本文の赤字のところは今回、修正をしたところになってございます。

説明は以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、ただいまの指摘事項の説明に関しまして、審議を行いたいと思います。

まず、非有効成分に関する従来品の比較ということで、クロマトグラムがたくさん出てまいりましたけれども、従来品との比較に関しまして、これは鎌田先生、山崎先生、澁谷先生からコメントをいただいておりますけれども。

○鎌田専門委員 これで問題ないと思います。

○澤田座長 よろしいでしょうか。

それで、修正事項で宿主や導入遺伝子供与体等の記載をより明確に書き直してくださいということでありますけれども、この点はいかがでしょうか。

○鎌田専門委員 これもきちんと、いつもこれぐらいやっていたらと、大変わかりやすくていいと思います。

○澤田座長 それでは、ほかの先生方から御意見、コメントがもしありましたらお願いしたいと思いますけれども、よろしいでしょうか。

それでは、このアミノ酸に関しましては、安全上の問題はないということですから、引き続きまして評価書案の審議に入りたいと思います。事務局のほうから御説明をお願いします。

○北村課長補佐 それでは、配布いたしました資料の遺伝子組換え食品等評価書、右上に③と書いてございます塩酸 L-リジンの御用意をお願いいたします。3 ページ目から御説明をいたします。本飼料添加物につきましては、食品添加物の高度精製の評価書の書き方で評価書の記載をしてございます。

まず、第 I、評価対象飼料添加物の概要でございますが、名称、用途、申請者、開発者

は記載のとおりです。本飼料添加物は L-リジンの生産性を高めるため、*Escherichia coli* K-12 株由来の MLFN29 株を宿主としまして、L-リジン生合成に関与する遺伝子を導入した LYS-No.1F 株を利用して発酵生産された L-リジンです。塩酸 L-リジンは、飼料添加物としての使用が認められており、成分規格が飼料添加物成分規格収載書に収載されてございます。宿主の *E. coli* MLFN29 株は、これまでも飼料添加物生産に利用されているということ、K-12 株は有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は認められていないということです。また、LYS-No.1F 株は抗生物質耐性マーカー遺伝子を有しません。

II 番の食品健康影響評価でございますけれども、本飼料添加物は製造工程において使用微生物及び発酵副生成物が除去され、晶析により結晶として高度に精製されています。また、飼料添加物成分規格収載書の成分規格を満たしております。

2 番ですが、非有効成分につきましては、最終製品において (1) 飼料添加物の成分規格を満たしている、(2) アミノ酸分析及び HPLC 法による分析の結果、従来品に存在しない不純物は検出されず、また、従来品に存在する不純物については、従来品の含量の振れ幅の範囲内であった。したがって、従来品と比較をして既存の非有効成分の含有量が安全上問題となるまで増加しておらず、かつ有害性が示唆される新たな非有効成分を含有していないと考えられる。

以上のことから、本塩酸 L-リジンにつきましては、「遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方」に基づきまして、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」に準じまして、その附則「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方」を適用して評価をいたしました結果、当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物の安全上の問題はないものと判断したと記載しております。

以上です。

○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ついて、御意見、コメントを賜りたいと存じます。細かい字句の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思います。

それでは、コメントはいかがでしょうか。問題は書きぶりの問題だと思いますが、このような書き方でよろしいかどうかということで、御意見をいただければと思います。

よろしいでしょうか。小関先生、よろしいですか。

○小関専門委員 附則って書くべきなのですかね。附則って下手に書いてしまうと、法律屋さんに見られたときに、クレームをつけられるようなことはありませんか。あくまでもこれは考え方だから規則ではないと思うので、ここだけがちょっとひっかかったところです。

○澤田座長 この附則という表現はどこかで使ったような覚えがあります。

○北村課長補佐 すみません、お手元に緑色の参考資料というのをお配りしてございます

が、その緑色のタグの安全性評価基準の 5 番のタグが、高度精製の考え方となってございまして、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」の附則となっています。

○小関専門委員 わかりました。附則と書いてありますね。

○澤田座長 附則でした。

○小関専門委員 このときから附則としていたのだ。わかりました。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。

それでは、特に御意見がほかにないようでありますので、この評価書に関しましても、一応、御了解いただいたということで、ありがとうございました。

それでは、一応、議題 1 については終わりたいと思います。

そのほかに事務局から何かございますでしょうか。

○北村課長補佐 特にございません。

○澤田座長 それでは、以上をもちまして、第 91 回遺伝子組換え食品等専門調査会を閉会いたします。どうもありがとうございました。