

食 品 安 全 委 員 会 遺 伝 子 組 換 え 食 品 等 専 門 調 査 会

第 1 0 2 回 会 合 議 事 録

1. 日時 平成24年3月14日（水） 14：00～17：01

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

- ・除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタGHB119系統（食品・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（食品）
- ・除草剤グルホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性トウモロコシDP-098140-6（食品・飼料）

（2）その他

4. 出席者

（専門委員）

澤田座長、宇理須専門委員、鎌田専門委員、橘田専門委員、児玉専門委員、
澁谷専門委員、中島専門委員、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、廣瀬委員、村田委員

（事務局）

栗本事務局長、本郷事務局次長、坂本評価課長、前田評価調整官、北村課長補佐、
三木係員

5. 配布資料

資料1 食品健康影響評価に関する資料

- ①除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタGHB119系統（食品）
- ②除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタGHB119系統（飼料）
- ③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（食品）

④除草剤グルホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性トウモロコシDP-098140-6（食品）

⑤除草剤グルホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性トウモロコシDP-098140-6（飼料）

資料 2 専門委員からのコメント

参考資料 1 食品健康影響評価に係る指摘事項

①除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタGHB119系統

②除草剤グルホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性トウモロコシDP-098140-6

参考資料 2 遺伝子組換え食品等評価書

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（食品）

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 102 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、手島専門委員、飯専門委員は御欠席とのことです。

本日の議題でありますけれども、継続審議品目であります除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ GHB119 系統、それから除草剤グルホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性トウモロコシ DP-098140-6、この他に過去に 1 回評価を行い、再評価の要請がありました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お願いしたいと思います。事務局からよろしく願います。

○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させていただきます。配布資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿、資料 1 としまして食品健康影響評価に関する資料、資料 2 としまして専門委員からのコメント、参考資料 1 として安全性評価に係る指摘事項、参考資料 2 として遺伝子組換え食品等評価書となっております。なお、これら以外の参考資料については、ファイルに綴じまして委員の皆様の机の上に置かせていただいております。本ファイルにつきましては、調査会終了後回収させていただきます、次回また配布します。不足等ございましたら事務局までお願いいたします。

○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、除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ GHB119 系統についてとなります。この品目は昨年の 3 月の調査会において審議を行いまして、指摘事項が出ていたものであります。指摘事項に対する回答が出てまいりましたので、事務局から御説明をお願いしたいと思います。

○三木係員 それでは、御説明始めさせていただきます。青いファイル、どれも青いファイルで恐縮ですが、除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ GHB119 系統の安全性評価、回答書と書かれているちょっと厚めのファイルを御用意くださいますようお願いいたします。こちらの中の回答書というところから御説明させていただきます。

本品目につきましては、座長から御説明いただいたとおり、平成 23 年 3 月 7 日の第 89 回遺伝子組換え食品等専門調査会において御審議いただき、指摘事項を出していたものです。その回答がまいりまして、指摘事項 1 から御説明させていただきます。

指摘事項 1 としては、本系統に挿入された遺伝子の機能に関する事項について、Cry2Ae タンパク質と他の Bt タンパク質の相違点、作用機作、特異性等について回答することという御指摘でした。

その回答といたしまして以下にありますけれども、Bt タンパク質のうち Cry1 に分類されるものはチョウ目に、Cry2Ae タンパク質が属する Cry2 に分類されるものはチョウ目とハエ目に、Cry3 に分類されるものはコウチュウ目に殺虫活性を示すということです。Cry1 と Cry2 はいずれもチョウ目害虫に対して殺虫活性を示すものの、これらのアミノ酸配列の相同性は 20%以下と低く、受容体の結合部位も共有しないことが知られているということです。また、Cry2 タンパク質のうち Cry2A タンパク質と Cry2Ab タンパク質は Cry2Ae タンパク質とそれぞれ 80%以上のアミノ酸配列の相同性を示すということで、オオタバコガ及びアメリカタバコガに対しては、Cry2Ae タンパク質と同じ受容体に結合することが確認されているという回答になっております。次のページには申請書についてもその旨を追記したということが書かれています。

3 ページ目にまいりまして指摘事項 2 となりますけれども、こちらにつきましては遺伝子導入に関する事項において、F1 世代以降で導入用プラスミドの外骨格領域が導入されていないことを確認することと御指摘をいただいております。

その回答といたしまして、導入用プラスミドの挿入 DNA 領域の外側のプラスミド配列が存在する可能性について、F1 世代の入手が困難であったため、F2 世代及び BCF4 世代を用いてサザンブロット分析により確認を行ったということです。それらの世代につきましては次のページの表となります。

3 ページに戻りまして、そのサザンブロット分析の結果、いずれにおいて、T-DNA 領域の配列を標的とするプローブとのハイブリタイズは認められず、F1 世代以降において導入用プラスミドの外骨格領域は導入されていないことが示されたという回答になっております。こちらも同様に、この旨を申請書の方にも修正されております。

具体的なサザンブロットの図につきましては、6 ページから 7 ページにかけて載せられております。

8 ページ目の指摘事項 3 にまいりまして、こちらにつきましては、前回の申請において遺伝子産物の発現を検討したサザンブロット分析の結果において確認されたバンドに関して、不十分な RNA 変性が原因で約 4,000 nt のバンドが検出されたとした根拠を回答することといただいております。

その回答といたしまして、確認されたこの約 4,000 nt のバンドは *cry2Ae* 遺伝子の転写における読み過ごしに由来するか、RNA 変性が不十分であることに由来する可能性が考えられたとなっております。

まず前者につきましては、3' 側境界領域に対する RNA プローブを用いて行ったノーザンブロット分析におきまして転写産物は認められなかったことから、遺伝子の転写における読み過ごしに由来するものではないと考えられたという回答となっております。

その下にまいりまして、一方 RNA は二次構造をとりやすいことが知られているため、ノーザンブロット分析において目的の RNA のバンドの他に複数のバンドが検出されることが報告されているということです。こちらを検討するために、ノーザンブロット分析で露出時間を長くした場合には、約 4,000 nt のバンドはほぼすべての組織サンプルにおいて検出されたものの、目的の *cry2Ae* 遺伝子の転写産物よりもシグナルは弱い傾向が認められたということです。仮にこれらがすべて別の遺伝子の転写産物である場合には、目的の遺伝子産物とは独立した発現量を示すということが考えられるということ、均一性の高い RNA 分子であることが考えられる陽性対照においても露出時間を長くした場合に本バンドが確認されているということから、GHB 系統の開花期の葉及び茎のサンプルにおいて認められた約 4,000 nt のバンドは不十分な変性によるものと判断したという説明になっております。そのときのノーザンブロット分析の結果は次の 10 ページの図 5 になっております。

11 ページにまいりまして指摘事項 4 になりますけれども、こちらにつきましては遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性の検討のために実施されたウェスタンブロットの結果について、加熱処理により *Cry2Ae* タンパク質で凝集が生じたとした回答が前回の申請にはなっております、その根拠を回答することということと、また、加熱処理による *Cry2Ae* タンパク質の免疫反応性の影響について、ELISA 法を用いて検討することという指摘を出させていただいております。

その回答といたしまして、2 パラ目になりますけれども、*Bacillus thuringiensis* で生産された *Cry2Ae* タンパク質溶液を各熱処理条件により処理し、遠心分離により凝集物を含むと考えられる沈殿部と上清に分離したということです。そのサンプルにつきましてウェスタンブロット分析を行った結果、沈殿部サンプルではいずれの処理条件においても *Cry2Ae* タンパク質のバンドは認められたということです。60 °C の処理サンプルにおいては定量的な考察ができなかったものの、75 °C の処理サンプルでは遠心分離を行って

ないサンプルに比べて上清のサンプルのバンドシグナルが弱かったため、凝集した Cry2Ae タンパク質が沈殿部に移行したと考えられたという回答となっております。

この結果といたしましては、13 ページの図 6 を見ていただくとわかると思いますけれども、例えば図 6 の上の方のもので例 7、こちらが 75 °C で処理したものの遠心分離未処理のものでして、こちらを遠心分離したときの上清とした場合には、レーン 6 になりますけれども、レーン 6 の方ではバンドが見られなかったということで、遠心分離により上清から沈殿部に凝集したタンパク質が移行したという説明になっております。

11 ページに戻らせていただきまして、こちらの下側になりますけれども、また加熱処理したタンパク質サンプルを用いまして ELISA 法により検討したということです。その結果 60 °C で 30 分及び 60 分処理した場合においては、それぞれ加熱処理していないタンパク質の 66.5% 及び 45.2% が検出され、それ以上の処理温度では検出限界未満となったということです。このことから、Cry2Ae タンパク質の免疫反応性は 60 °C、30 分以上の加熱処理により低下し、75 °C、30 分以上の加熱処理により失われることが考えるという回答となっております。こちらにつきましても、申請書の方にも修正がなされております。

次に、15 ページにまいりまして、指摘事項 5 となりますけれども、Cry2Ae タンパク質に対してウェスタンブロット分析を行った結果につきまして、Cry2Ae タンパク質に由来するバンド以外のバンドの由来は、二量体及び分解産物であると前回の申請書において判断されておりましたが、実際に植物体内で二量体及び分解物が存在するかどうかについて回答することと御指摘をいただいております。

その回答といたしまして、下にまいりまして、GHB119 系統の粗抽出物を用いてウェスタンブロット分析を行った結果、Cry2Ae タンパク質の濃度が低いため、解析することができなかったということです。しかし、GHB119 から精製した Cry2Ae タンパク質及び *Bacillus thuringiensis* 由来の二種の精製 Cry2Ae タンパク質を用いて、SDS-PAGE 及びウェスタンブロット分析を行った結果、GHB119 系統由来のタンパク質及び *Bacillus thuringiensis* 由来のタンパク質のバッチにおいて、二量体と考えられるバンドが確認されたということです。もう一方の *Bacillus thuringiensis* の由来のバッチにおいては、二量体は確認されなかったという結果となったということです。

従いまして、*Bacillus thuringiensis* から生成されたタンパク質でも、バッチによっては二量体が検出されることから、GHB119 系統において特異的に生じる事象ではなく、二量体が存在するかどうかについては決定できないけれども、GHB119 系統及び *Bacillus thuringiensis* から生成されたタンパク質はいずれも二量体と考えるタンパク質を含むことがあるという点においては同等であるということが示されたという回答となっております。

また、分解物の方につきましては、分解物と考えられるバンドについて、今回新たに提出されました図 6、図 7、次の 16 ページ、17 ページとなりますけれども、こちらにおき

ましては、以前確認されていた 15～20 kDa のバンドが確認されず、代わりに約 50 kDa のあたりにバンドが確認されたということです。前回は精製をされていたものを用いておりましたので、精製の過程において分解物が生じたものに由来するバンドと考えられるという旨の回答となっております。

この他、18 ページ以降にそれぞれ修正事項をいただいております、その修正がなされております。

また、その他の諸外国の申請状況等もリバイスがなされております。

御説明は以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項に対する回答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います。

まず、指摘事項 1 で、これは Cry2Ae タンパク質とその他の Bt タンパク質との相違点について回答してほしいということで、これは澁谷先生ですか。

○澁谷専門委員 この指摘事項は結局こういう Bt タンパクのシリーズで新しいものが出てくると、この今回の回答にも書いてありますけれども、そのカバーする昆虫が変わってくるわけですね。それは使う方ではいいのだけれども、同時に特質が変わるということは特異性が変わってターゲットが変わったときに、それは哺乳動物には影響しないということとを何かの格好で担保していただかないとちょっとまずいのだと思うのですね。そのところで、前回のとき、これは確か Cry2 のシリーズは初めてではないかというようなお話もあって、そういうこれまでに安全性評価が終わっているものと比べてどうなのか、あるいはこういう特異性が変わったときに哺乳動物についてはどうなのかということを記述してほしいのですけれども。ちょっと聞き方も問題だったのかもしれませんけれども、ちょっとその哺乳動物への毒性を判断する回答になっていないように思うのですね。その辺をどう考えるか、このままでいいのかというのはちょっと難しいかなというふうに感じますが。

もう一つ、これはちょっと Cry2 のシリーズがあったかどうか僕も確認しないで来てしまったのですけれども、新しいシリーズだとすると、ここにもあるように Cry1 と Cry2 は非常にタンパク的には違いますし、ターゲットも違っている。だから、そういうことであると本質的に新しいものだとかこれまで一応動物細胞の毒性ぐらいはやってもらっていたと思うのですね。だから、それに該当するかどうかも含めて判断しなければいけないのではないかと思います。

○澤田座長 ありがとうございます。

これは毒性試験のデータはあったのか。

○三木係員 すみません、確認はちょっとできておりませんが、恐らくないか。

○澁谷専門委員 確かなくて、これ一般的に Bt はみんな安全だみたいな書き方をしている引っかけたような気がするのですが。書類は。

○澤田座長 Cry1、2、3 はアミノ酸配列大分違うのですけれども、基本的な骨格は同じで、ただレセプターが違うかと。その場合に安全性が担保されるかどうかを気にした方がいいということかと思えますけれども。

○北村課長補佐 Cry2 シリーズですけれども、Cry2Ab2 というものがトウモロコシで評価済みになっています。

○澤田座長 それは厚労省時代でしたか。

○北村課長補佐 厚労省のときにワタでやってまして、食品安全委員会ではトウモロコシで。

○澤田座長 一応実績は 1 件あるということですね。そうすると余り言わなくても。

○澁谷専門委員 ええ、だからそのところ、2Ab が通っているとアミノ酸レベルで 86,87% と非常に近いというのは間違いないのですね。ただ、そうすると、その新しいけれども、かなり構造的に近いという場合にどこまで求めたらいいのかという、ここはちょっと。餌の試験か何かあるといいのですけれどもね。何もなかった場合に、似ている Cry2Ab とカバーする昆虫のスペクトラムも近いのですかね。

○澤田座長 Cry2 の次の Ae とありますけれども、それは Ab とホモロジーが非常に高いです。ですから、ほぼ似たようなものだというふうに考えて構わないのかなと。

○澁谷専門委員 このくらい近ければいいと考えるかどうかのこのところがちょっとあれですよね。

○澤田座長 追加で Cry2A、前は何でしたか、b でしたか。

○北村課長補佐 Cry2Ab2 です。

○澤田座長 Cry2Ab2、それが既に承認されているという事実と、それと非常に近い分子である。それだけ追加していただければと思いますけれども、それでよろしいでしょうか。

それでは、指摘事項 2 で、プラスミドの外骨格領域の導入、これがないことを言ってほしいということだと思いますけれども、これは鎌田先生の御指摘ですね。

○鎌田専門委員 こちら前回のとき頭のところとかここで言うと左側の方しか見てなくて、右側の方の本来の商業利用のものを一切見てなかったので要求して。一応データが出てきてデータ上は外骨格が入っていないことは確認されて、それはいいと思うのですが。こういうときにデータを 1 系統しかやらないのですね。過去だと一つのところで何系統かやって全部同じですと言っていたのだけれども。今回はなぜか知らないけれども、それぞれ代表のひとつしか、それが本当に代表になっているかどうかという保証はないのですが。でも、ランダムにあちこちから持ってきていて、調べた限りはないということなので、原則的には多分正しいだろうと思うので。これ以上また要求しますと膨大な量、時間がかかるような気もするので、基本的にはこれでいいかなと思います。

○澤田座長 それでは、基本的には了解ということで。

それでは、次の指摘事項 3 で、ノーザンブロット分析の結果、4,000 塩基のバンドが検

出された根拠ですが。これは児玉先生ですか。

○児玉専門委員 前回ここに 4,000 nt のバンドについては RNA 変性が不十分だということぐらいしか書いてなくて、その根拠が何も書いてなかったので求めたわけですが。今回は、実験は追加されていませんけれども、その根拠について記述がきちんと明記されたということで。読み過ごししか変性の不十分かということなのですからけれども、読み過ぎしの可能性はないということが明記されましたので、これでよろしいかというふうに思います。

○澤田座長 それでは、続きまして、指摘事項の 4 番、加熱処理試験の結果に対する考察と、それから ELISA の分析の結果についてですけれども。これは手島先生御欠席ですけれども。

○宇理須専門委員 この回答の結論は、温度によって凝集するということと、そして免疫反応性が ELISA で失われるということがポイントだと思うのですけれども。本当に免疫反応性が落ちているということを言っているかどうかというのはちょっと疑問を感じるのですね。それはどうしてかといいますと、60 °C のところ、図 6 ですよね、4 のところが未処理なのですからけれども、その隣の 3 が上清、その 2 番が沈殿物ですよね。ということはやはり 60 °C のところでも沈殿物があるということは凝集しているということだと思うのですね。それはいいとして、ELISA はきっと恐らく固相法でやっていると思うのですね。プレートにサンプルを固相して、そして ELISA を見ていると思うのですけれども、凝集物があるときには恐らく固相化されていないのではないかという心配があるのですね。

ですから、僕たちがもしもこれをやるとすると、固相がきちんとできているということを押さえるようなことをして、固相がきちんとできているならばこの ELISA の結果は信用おけるだろうということをするのですね。

つまり、凝集していると非特異的な結合ですから、凝集しているのとしてない可能性が多くて、ウォッシュの段階で剥がれてしまっていることが結構多いと思うのですね。そういったいろいろなことがあるので、固相がきちんとできているかどうかを押さえないと、この免疫反応性が低下しているということは言えないのではないかなというふうに思うのですけれども、いかがでしょうか。

○澤田座長 手島先生のコメントは。

○三木係員 資料 2 として専門委員からのコメントというものがございまして、こちらに手島先生からいただいたコメントをまとめさせていただいております。そのまま読み上げさせていただきます。

この指摘事項 4 の回答に関して、60 °C 以上の加熱により、遠心により一部タンパク質が沈殿部に移行することによって凝集が生じている可能性が示されていること。ELISA で 60 °C 以上の加熱で免疫反応性を調べた結果が示されていること。また、要旨も修正されていることから、指摘事項に対する回答は適切であると思われるというふうに思います。

○澤田座長 手島先生のコメントがありましたが、ELISA の固相にもしこれを使ってい

るのだったら結合しないですね、確かに。ですから、加熱処理で沈殿するところまでは正しくて、免疫反応性云々はあえて書かない方が。

○宇理須専門委員 書かないか、ちゃんときちんと固相化されているという根拠を示していただくことです。inhibition assay で検討する手もあります。溶ける範囲の薄い濃度で inhibition assay を行い、溶ける状況で差が出れば反応性が落ちているといえます。とにかく凝集するときは慎重な評価をしないと難しいということです。

サンプルを固相化させて反応性を見る場合には、凝集していない、溶解しているという条件でないと難しいのではないかと思います。そういう意味では座長がおっしゃったように、評価しない方がよいと思います。

○澤田座長 以前も沈殿の問題は何回か議論がありまして、沈殿していると ELISA の阻害も余り正確ではないので。

○宇理須専門委員 不正確です。今言ったようにかなり良い条件をつくって差が出ればものが言えます。

○澤田座長 データが出てくれば参考までに書いてもいいと思いますけれども、もし出ないのだったらもう沈殿しただけで十分ではないかという、そういう議論が以前にもありまして、その考え方でいってますので。だから、評価書の方で、「加熱でなくなった」というところだけ表現を変えたらいいのかなと思います。いかがでしょうか。

それでは、次の指摘事項の 5 番目で、これは植物の体内における Cry2Ae タンパク質の形態についてということで。これは児玉先生の御指摘ですね。

○児玉専門委員 前回添付資料を拝見したときに、植物から精製すると二量体に相当する分子量のところとかなり低いところに分解物のようなバンドが出てきたということで、それについて本当に二量体というのは分解物なのですかということを聞いたわけですがけれども。今回改めてどうも実験し直したところ、植物体から精製したものではそのようなバンドが出なかったということで。まず一つは再現性がなかったということと。それから、精製したタンパク質でも二量体に相当する分子量のところのものは条件によっては検出されるということです。一応この回答の内容で了解したいというふうに思います。

○澤田座長 ありがとうございます。

では、その他のマイナーな対応ですけれども、ここに関して何かありますでしょうか。

それでは、御指摘がないようでありますので、この回答につきましては特に安全性上の問題があるということではないようでありますので、引き続きまして評価書案の審議に入りたいと思います。事務局から御説明をお願いしたいと思います。

○三木係員 それでは、御説明させていただきます。お手元の資料 1 と書かれているものを御準備くださいますようお願いいたします。

1 ページの①と書かれているものが本品目の評価書となりまして、こちらを少しめくっていただき、5 ページに要約が書かれておりまして、6 ページのところから御説明させていただきます。21 行目なのでありますが、評価対象食品の概要といたしまして、名称、

性質、申請者、開発者をそれぞれ記載しております。

その下に概要といたしまして、除草剤グリホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ GHB119 系統は、*Streptomyces hygroscopicus* に由来する改変ビアラフォス耐性遺伝子及び *Bacillus thuringiensis ssp. dakota* に由来する *cry2Ae* 遺伝子を導入して作出されており、改変ホスフィノトリシンアセチル基転移酵素及び Cry2Ae タンパク質を発現することで、除草剤グリホシネート及び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いると記載させていただいております。

35 行目にまいりまして、食品健康影響評価となります。第 1 の安全性評価において比較対象として用いている宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項、1.宿主及び導入 DNA に関する事項としまして、(1)の宿主の種名及び由来、(2) DNA の供与体の種名及び由来、(3) 挿入 DNA の性質等についてそれぞれ記載させていただいております。

54 行目の 2.宿主の食経験に関する事項といたしまして、古くから食用に用いられていることを記載させていただいております。

その下の 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、次の 7 ページ目、(1) 主要栄養素等、(2) 毒性物質・栄養阻害物質等についてそれぞれ記載させていただいております。

72 行目の 4.となりますけれども、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) 調理及び加工方法のいずれにつきましても従来のワタと変わらないという旨の記載をさせていただいております。

その下の 5.比較対象といたしましては、宿主以外のものは対象としていないとさせていただいております。

その下の 6.安全性評価において検討が必要とされる相違点等に関する事項といたしまして、本系統は改変 *bar* 遺伝子及び改変 *cry2Ae* 遺伝子の導入によって改変 PAT タンパク質及び Cry2Ae タンパク質を発現することが宿主との相違点であるとさせていただいております。

これらのことから、安全性評価においては既存のワタとの比較が可能であると判断したとさせていただいております。

その 96 行目にまいりまして、第 2、組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項といたしまして記載させていただいております。

8 ページ目にまいりまして、第 3、宿主に関する事項といたしまして、1.の分類学上の位置付けからその下の 7.の近縁の植物種に関する事項までの各事項につきましても通常のワタ品目とほぼ同様の記載とさせていただいております。

129 行目にまいりまして、第 4、ベクターに関する事項、1.名称及び由来に関する事項としましては、ワタ GHB119 の作出に使用された導入用プラスミド pTEM12 の構築には

プラスミド pTYG50 が用いられたと記載させていただいております。

134 行目、2.性質に関する事項といたしまして、(1) DNA の塩基数及びその塩基配列、(2) 制限酵素による切断地図につきましてはそれぞれ明らかになっていると記載させていただいております。

9 ページ目にまいりまして、(3) 既知の有害塩基配列につきましては含まれていないということを記載しております。(4) 薬害耐性遺伝子につきましては、プラスミド pTYG50 には *aadA* 遺伝子及び *npt1* 遺伝子の断片が含まれているということを記載させていただいております。

その下の(5) 伝達性につきましては、伝達を可能とする塩基配列は含まれていないとさせていただいております。

その下にまいりまして、第 5、挿入 DNA、遺伝産物、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、1.挿入 DNA の供与体に関する事項としましては、(1) 名称、由来及び分類に関する事項を記載させていただいております。

(2) 安全性に関する事項といたしましては、改変 *bar* 遺伝子の供与体につきましても、ヒトに対して病原性を持つという報告はないということと、*cry2Ae* 遺伝子の供与体につきましても微生物農薬として長年にわたり利用されているということを記載させていただいております。

166 行目にまいりまして、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、(1) 挿入遺伝子のクローニングに関する事項ですけれども、改変 *bar* 遺伝子は植物体内での発現が最適となるように改変された遺伝子でありまして、この改変によりアミノ酸配列が一つ改変されている、*Cry2Ae* タンパク質につきましても植物体内での発現が最適になるように改変された遺伝子でありまして、この改変によってアミノ酸配列は改変されていないということを書かせていただいております。

挿入 DNA は 11 ページの表 1 にまとめさせていただいております。

9 ページに戻っていただきまして、178 行目、(2) 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といたしましては、それぞれ明らかになっているということを書かせていただいております。

10 ページにまいりまして、(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項といたしまして、改変 *bar* 遺伝子及び *cry2Ae* 遺伝子についてそれぞれ記載させていただいております。その後にはそれぞれのタンパク質につきまして既知の毒性タンパク質の構造相同性の有無を確認するために、タンパク質データベースを用いて検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は見いだされなかったということを記載させていただいております。

(4) にまいりまして、導入用プラスミドの外骨格領域には、抗生物質耐性マーカー遺伝子が含まれているということを書かせていただいております。

205 行目にまいりまして、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、(2) ターミネーター、次のページの(3)

その他の配列についてそれぞれ記載させていただいております。

227 行目にまいりまして、4.ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項について記載させていただいております。

その下の 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つきましてはそれぞれ明らかになっているとさせていただいております。

(2) といたしましては、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いうことを記載させていただいております。

(3) といたしましては、意図する挿入領域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 領域であるということを記載させていただいております。

(4) につきましては、導入用プラスミド内には目的外の遺伝子の混入はないとさせていただいております。

12 ページ目にまいりまして、256 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といたしまして、アグロバクテリウム法を用いて宿主に導入した後、グルホシネートを含む培地で選抜し、その後一般的なワタの育成プロセスに従ってワタ GHB119 が得られたという旨の記載をさせていただいております。

その下の第 6、組換え体に関する事項といたしまして、1.遺伝子導入に関する事項としましては、(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項ですけれども、ワタの GHB119 のゲノムに挿入された改変 *bar* 遺伝子発現カセット及び *cry2Ae* 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、それぞれ 1 コピーが挿入されていることが確認された。その下ですけれども、導入用プラスミドの外骨格領域が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た結果、挿入されていないことが確認されたということを記載させていただいております。

その下にまいりまして、挿入 DNA と導入用プラスミドの T-DNA 領域の塩基配列を比較した結果、挿入 DNA の右側境界配列 20 bp、及び左側境界配列 23 bp の欠失を除き一致していることが確認されたとさせていただいております。

13 ページにまいりまして、挿入 DNA の近傍配列が宿主ゲノムの由来であることを確認するために、両末端近傍配列の塩基配列を決定し、宿主ゲノムのものと比較した結果、挿入時に欠失した配列を除き一致していることが確認されたとさせていただいております。

その下にまいりまして、ゲノムに 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、挿入前のワタ GHB119 の塩基配列についてタンパク質データベースを用いて検索を行った結果、相同性を示す既知の塩基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 DNA の挿入によって宿主の既知の内在性遺伝子は損なわれていないことが考えられたと記載させていただいております。

291 行目にまいりまして、(2) オープンリーディングフレームの有無に関する事項といたしましては、挿入 DNA と末端近傍配列との接合部位について、意図しない ORF が

生じていないことを確認するために、ORF 検索を行った結果、3 アミノ酸以上の ORF が 11 個見いだされたということです。この ORF のうち 8 アミノ酸以上の 10 個の ORF と既知の毒性タンパク質との相同性の有無を確認するためにタンパク質データベースを用いて検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は見いだされなかったということとを記載させていただいております。

これらの 10 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アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った結果、連続する 80 以上のアミノ酸配列について 35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは見いだされなかったということです。

その下となりますが、抗原決定基の有無についてアレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った結果、連続する 8 アミノ酸配列が既知のアレルゲンと一致する配列は見いだされなかったということを書かせていただいております。

さらに、ORF からの発現の可能性を確認するために挿入 DNA と末端配列との接合部位につきましてノーザンブロット分析を行った結果、発現する可能性は低いと考えられたというふうに書かせていただいております。

314 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部位、発現時期及び発現量に関する事項といたしましては、ワタ GHB119 の各組織について改変 PAT タンパク質及び Cry2Ae タンパク質発現量を ELISA 法を用いて分析を行ったということで、その結果を表 2 のとおりとさせていただいております。

323 行目にまいりまして、3.遺伝子産物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といたしましては、ワタ GHB を用いましてタンパク質含量を ELISA 法を用いて分析を行った結果、検出限界値以下であったことから、これらの検出限界値を用いまして両タンパク質の摂取量をそれぞれ計算したところ、一日蛋白摂取量の有意な量を占めることはないと考えられるという旨の記載をさせていただいております。

337 行目にまいりまして、4.遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する事項といたしまして、(1) 挿入遺伝子の供与体、次のページの(2) 遺伝子産物につきましてそれぞれアレルギー誘発性の報告はないとさせていただいております。

346 行目にまいりまして(3) 遺伝子産物の物理化学処理に関する感受性に関する事項といたしましては、①の人工胃液に関する感受性といたしまして、改変 PAT タンパク質につきましては、人工胃液中での消化性について SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、SDS-PAGE 分析においては試験開始後 30 秒以内に消化されること、ウェスタンブロット分析においては試験開始後 2 分以内に消化されることが確認されたとさせていただいております。

その下の Cry2Ae タンパク質につきましては、SDS-PAGE 分析においては試験開始後 10 分以内に消化されること、ウェスタンブロット分析においては試験開始後 5 分以内に消化されることが確認されたと記載させていただいております。

361 行目の②人工腸液に関する感受性となりますけれども、こちらにつきましても改変

PAT タンパク質につきましては SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、いずれの分析法につきましても試験開始後 2 分以内に消化されることが確認されたとさせていただいております。

Cry2Ae タンパク質につきましては、人工腸液での消化性について同様に行った結果、いずれの分析法におきましても試験開始後にポリペプチド断片に分解され、それ以上消化が進まなかったことが確認されたと記載させていただいております。

③の加熱処理に関する感受性となりますけれども、こちらにつきましてはまず改変 PAT タンパク質となりますけれども、加熱による酵素活性の変化を測定した結果、35 °C を超えて 15 分間加熱することによって酵素活性が減少することが確認されたとさせていただいております。

一方で、Cry2Ae タンパク質につきましては、加熱により殺虫活性の変化を測定した結果、60 °C、240 分間の加熱において半数致死濃度が 6 倍に上昇することが確認されたとのことです。

また、こちらは先ほどの宇理須先生からの御指摘も踏まえまして、ELISA により分析を行った結果、75 °C、30 分間の加熱処理において凝集することが確認されたという旨のような記載にさせていただきたいと思っております。後ほど御指摘等いただければと思います。

その下の(4)になりまして、遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性に関する事項といたしまして、アレルゲンデータベースを用いまして相同性検索を行った結果、連続する 80 以上のアミノ酸配列について 35%以上の相同性を示す既知のアレルゲン等は見いだされなかったということ。また、抗原決定基につきまして相同性検索を行った結果、連続する 8 アミノ酸配列が既知のアレルゲン等に一致する配列は見いだされなかったという旨の記載をさせていただいております。

以上のことから、タンパク質につきましてはアレルギー誘発性を示唆するデータがないことを確認したとさせていただいております。

400 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いたしましては、3 世代のワタ GHB119 について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検出され、挿入遺伝子が世代間で安定していることが確認されたとさせていただいております。

406 行目にまいりまして、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は、改変 PAT タンパク質の反応は L-グルホシネートに特異的であることから、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられるという旨の記載をさせていただいております。Cry2Ae タンパク質については、酵素活性を持つという報告はなく、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられるとさせていただいております。

415 行目、宿主との差異に関する事項としましては、ワタ GHB119 及び非組換えワタの種子につきまして、主要構成成分、アミノ酸組成、脂肪酸組成、ミネラル類、ビタミン

E 及び有害生理活性物質の分析を行った結果、いずれの項目につきましても対照に用いた非組換えワタとの間で差異が確認されなかったか、差異が確認された場合であっても一般の商業ワタ品種の文献値の範囲内であったということを書かせていただいております。

453 行目になりまして、8.諸外国における許可等に関する事項といたしましては、ワタ GHB119 系統の単独での商品化の予定はなく、諸外国における申請は行われていないということ。その下に、本系統と他の系統の掛け合わせた品種の申請状況を記載させていただいております。

18 ページにまいりまして、9.栽培方法に関する事項、10.の種子の製法及び管理方法に関する事項といたしまして、従来のワタと同じであるということを書かせていただいております。

第 7 につきましては、第 2 から第 6 までによって安全性の知見が得られているということを書かせていただいております。

その下の食品健康影響評価の結果につきましては、本系統につきまし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させていただいております。

御説明は以上となります。

○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つきまして、御意見、コメントいただきたいと思えます。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、まず順番に、9 ページの 152 行、第 4 のところまでで何かコメント、御意見ありましたらお願いしたいと思います。

それでは、とりあえず次に、第 5 で 12 ページの 261 行までで何かありましたらお願いします。

○澁谷専門委員 196 行目のところですね、*cry2Ae* 遺伝子の機能に関する事項のところ、ここのところに先ほどのような安全性評価が終わっているものとどのぐらいの相同性があるって、それからカバーする昆虫のスペクトラムも近いというようなこと、そういうことから考えて同じような特異性を持つと考えられるというような、そういうことを入れていただけるといいと思います。そうしないとちょっと Bt 全部いいということになってしまうので。

○澤田座長 これはまた後で追加していただいて、また先生にチェックしていただくことにしたいと思います。

他に。

○鎌田専門委員 2 カ所あるのですが、一つは 164 行目、*B. thuringiensis* は微生物農薬として長年にわたり利用されているというのだけれども、単に利用されているだけでいいのか、安全にという言葉が本当は多分ないといけないのかなと思うので、微生物農薬と

して長年にわたり安全に利用されているという、「安全に」を入れた方がいいという点が一つ。

それから、203 行目の抗生物質耐性マーカー遺伝子の件なのですが、これまでの評価書を見ていると、これの後に、ベクターには含まれているが、宿主ゲノムには挿入されていないという旨があって、だからそれ以上評価する必要はないというニュアンスで書かれているので、含まれているで切らないで、他のを見たら、宿主ゲノムに挿入されていないことがサザンブロット分析により確認されているみたいな表現になっていたのも、その旨書いた方がいいと思います。

○澤田座長 ありがとうございます。これは追加した方がよろしいと思います。

他によろしいでしょうか。

それでは、その次のセクションから一応最後まででコメント、修正案ありましたらお願いしたいと思います。

○橘田専門委員 304 行目のところですが、連続する 80 以上のアミノ酸配列について 35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは見いだされなかったとありますけれども、こここのところの ORF、添付資料を確認しましたところ、最長のもので 40 アミノ酸になります。また資料中でも 80 以上のアミノ酸配列についてという旨は記述されておられませんので、ここについては削除された方がよろしいかと思います。

○澤田座長 40 にした方がいいということですか、ではなくて。

○橘田専門委員 その ORF の 10 あるうち 10 個それぞれについてフルで確認している旨書かれていたかと思いますので、こここのところで 80 以上というのは当たらないかなと思います。

○澤田座長 実際に直すときはどうしたらよいですか。

○橘田専門委員 こちらの要旨の 30 ページの下の方に、評価の基準が登録されている全タンパク質のアミノ酸配列 35%以上の一致並びに E-value を 0.1 以下と設定したと書いてあるので、そのとおりに記述してもよろしいかと思います。

○澤田座長 わかりましたか、今のご指摘。

○北村課長補佐 そうしましたら、「連続する 80 以上のアミノ酸配列について」を削除すればよろしいですか。

○澤田座長 いずれにしてもそこを直していただいて、後でまた確認していただきたいと思います。

他によろしいでしょうか。

○鎌田専門委員 さっきの 16 ページの ELISA のところを単に凝集することということでもいいのかどうかということ。あと、その記載が Cry1Ac になっていますので、書くのだったら Cry2Ae だと思うので、そこをちょっと修正していただくのがいいのかなというのと。

それから、その直前の言葉も正確なところどうすればいいのか。半数致死濃度が約 6

倍に上昇するというのは、確かに正しいと言えば正しいのだけれども、これってすごくわかりにくい表現で、何かもう少し工夫した表現の方がいいかなと思うのですが。

○澤田座長 まず致死濃度の方は、よく 50%かそういう言葉を使うことが多いような気がしますけれども。

それから、Cry1Ac はもちろん 2Ae に直していただいて。沈殿のところは確か前の例だと変性して、変性という言葉を入れて、それで沈殿が凝集したというふうに直したような気がするのですけれども。

○鎌田専門委員 先ほど、本文の方ではこちら辺を省いてしまっているのです、そうするとここに突然出てくるのは。そうか、あっちは ELISA だけ抜いたからか。でも、基本的には凝集したからどうだという議論はないわけですよ。安全とも危険とも何とも言っていないわけですよ。変性するということだけですよ。

○澤田座長 要は加熱で変性するということを言えば十分かなと。

○鎌田専門委員 極端だとそれもここの中で評価書の中ではいらないという気もするのですが。

○澤田座長 前例としては確か書いてあったので、ちょっとその前の例を調べて。

○北村課長補佐 ちょっと調べて御相談します、すみません。

○澤田座長 はい、そこはちょっとまた後で直していただきたいと思います。

ほかによろしいでしょうか。

○村田委員 17 ページの 8 で諸外国における認可、食用等に関する事項というのがありまして、このものが単独で商品化の予定はなく、諸外国における申請は行われていないということなのですから、これは何で日本に申請されてきたのでしょうか。

○北村課長補佐 掛け合わせを申請するためにその親として申請がされているということです。

○村田委員 そちらがあるから元の親でも申請しなければいけないということですね。わかりました。

○澤田座長 これは、要は掛け合わせに使いたいから。将来、単品のいろいろな掛け合わせをした時、一つだけで前以てやっておくと、後が楽だということなのですね。

○村田委員 ちなみに、外国で出す場合はそういうやり方ではないということでしょうか。外国で出していないということは外国の場合には日本みたいにそういうふうに申請、システムがなっていないということなわけですね。

○澤田座長 日本では掛け合わせの場合、若干簡略化していますけれども、外国はもっと簡略化している国が多いと。ただ、そうでない国もありますね。

○村田委員 わかりました。ありがとうございます。

○澤田座長 他によろしいでしょうか。

○北村課長補佐 すみません、先ほどの免疫反応性の加熱のところなのですから、植物ではなくて酵素の際に ELISA 法を用いて分析を行った結果、加熱処理により免疫反応

性は、定性的にはあるが大幅に低下することが確認されたという記載はあります。

○澤田座長 それはただあいまいにしか書けないのでそうしたのですけれども、本当に書けないときはもう表現を変えてしまった方がいいと。酵素の場合、まだ定量的に活性を測れたのでデータは出てきたのですね。

他によろしいでしょうか。

それでは、いただきました修正が何点かありましたので、事務局で修正案を出していただいて、私とその指摘をいただいた先生に確認していただきまして、食品安全委員会に御報告して、パブリックコメント等の手続きに入りたいと思います。

それでは、続きまして、飼料としての安全性について審議を行いたいと思います。事務局から御説明よろしくをお願いします。

○三木係員 同じく青色のファイルの本品目に関する遺伝子組換え飼料の安全性評価についてという青色のファイルを御準備くださいますようお願いいたします。

こちらの申請書の 2 ページにまいりまして御説明させていただきます。こちらにつきましては 1.にまず概要といたしまして、1) 品目名、2) 本系統の特徴といたしまして *Streptomyces hygroscopicus* 由来の改変ビアラフォス耐性遺伝子及び *Bacillus thuringiensis* ssp.dakota 由来のチョウ目害虫抵抗性遺伝子を導入して作出された旨が記載されております。その下に改変 *bar* 遺伝子と *cry2Ae* 遺伝子の機能について、食品の申請書と同様の記載がされております。

3 ページ目にまいりまして、3) 使用方法につきましては、飼料としての使用方法に関しては既存種との相違がない旨が記載されておりました、その下には具体的な使用法等が記載されております。

その下の 2.となりますけれども、飼料としての安全性につきましては、委員会の安全性の考え方の①から③の考え方が記載されておりました、4 ページにまいりまして、GHB119 系統は除草剤耐性及び害虫抵抗性の形質を付与されたものに分類される。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、卵等の畜産物等に移行することは報告されていないということが記載されております。この結果をもちまして、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の①から③の可能性はないと考察され、当該飼料に由来する畜産物を接種することにより、ヒトの健康に影響を及ぼす可能性はないと考えられると記載されております。

3.の諸外国における認可状況につきましては、先ほどの食品のものと同様の記載がされております。

御説明は以上となります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして御意見があったらいただきたいと思います。ちょっと短めですので、全体を通じまして何かありましたらお願いしたいと思います。

○澁谷専門委員 3 ページ目の上の方、先ほどと同じなのですけれども、*cry2Ae* の説明

の後ですね、「殺虫剤散布量を軽減することが可能となる」の後に先ほどと同じように、これまで認可されたものと非常に近くて、結果的に要するに哺乳動物の毒性は恐らくないみたいな、なんかそういうことをちょっと入れた方がいいと思います。これは同じような文言を入れていただければいいと思いますけれども。

○澤田座長 はい、それは同じように、右に倣えでよろしいですね。

他にいかがでしょうか。細かい字句等の修正につきましてはまた後で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、本件につきましては飼料としても特に安全性上の問題がないということでありますので、続きまして評価書案について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たいと思います。

○三木係員 それでは、資料 1 と書かれている評価書案の中の②、23 ページがこの品目の飼料の評価書案となります。

少しページをめくっていただきまして、25 ページに要約を記載させていただいております。26 ページから御説明をさせていただきます。

23 行目ですけれども、Ⅰ.評価対象飼料の概要ということで、名称、性質、申請者、開発者等につきましては先ほどの食品の評価書と同様の記載をさせていただいております。

37 行目にまいりまして、Ⅱ.の食品健康影響評価につきましては、1.ワタ GHB119 は、除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性の形質が付与されたものである。なお書きといたしまして、遺伝子組換え作物の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いないということを記載させていただいております。

2.といたしましては、食品の評価について記載させていただいております。

48 行目にまいりまして、この上記 1 及び 2 を考慮したところ、ワタ GHB119 に新たな有害物質が生成され、これらが肉、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由来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いうことを書かせていただいております。

その下にまいりまして、このことから、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、改めて種子植物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の安全上の問題は無いと判断したとさせていただいております。

その下にただし書きといたしまして、除草剤グリホシネート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ことに記載させていただいております。

御説明は以上となります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、評価書案について御意見、コメントをいただければと思います。細かい字句の修正等につきましてはまた後ほど事務局までお伝えいただければと思います。

26 ページ 1 枚だけでありますけれども、コメントありましたらお願いしたいと思います。

よろしいでしょうか。

それでは、特に修正がないということですので、このままで食品安全委員会に御報告したいと思います。

ありがとうございます。

それでは次にまいりまして、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 に関してであります。この品目は既に一回評価を終わっておりまして、一昨年の 1 月に厚生労働省に評価結果を通知したものでありますけれども、今回再評価の要請があったものでありまして、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、御説明いたします。ファイルは緑色のファイルになりまして、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の新たな知見というものになります。

まず、簡単に経緯を御説明いたします。参考資料 2 として前回の評価書をお配りしておりますので、こちらを御覧いただきたいと思います。3 ページに審議の経緯がございまして、2007 年 8 月に評価要請がございまして、2010 年 1 月に評価結果を返しております。

5 ページが要約になってございまして、このダイズに導入されました改変 *gat4601* 遺伝子が発現する改変 GAT4601 タンパク質は遊離アミノ酸などをアセチル化することが知られている N-アセチルトランスフェラーゼの一種でございまして、このダイズ中で 2 種のアセチルアミノ酸、N-アセチルアスパラギン酸と N-アセチルグルタミン酸が有意に増加をしております、そのことから調査会におきましてこれらのアミノ酸に関する安全性に関する指摘がございました。特にアセチルアスパラギン酸が蓄積するカナバン病という疾病の記載もあったところでございます。

そのため、この評価書の 20 ページになりますけれども、(3) でアミノ酸組成というところで有意な変化がありましたという記載とともに、安全性についても考察がされております、22 ページの第 7 になりますけれども、このダイズの亜急性毒性試験とともに N-アセチルアスパラギン酸に関して、急性毒性試験、亜急性毒性試験の結果が提出されていたところです。

このたび、厚生労働省から新たな知見があったということで再評価の依頼があったものでございますけれども、申請者からこれらのアセチルアミノ酸の毒性に関する知見の集積を目的に毒性試験を行いましたところ、N-アセチルアスパラギン酸のラットの急性毒性試験におきまして 5,000 mg の投与群で死亡例や毒性症状が見られたということ。その他、

遺伝毒性試験、90 日の反復投与試験、二世世代繁殖試験の結果が提出されたというところでございます。

それでは、ファイルの方に移っていただきたいと思いますけれども。めくっていただいたところから各毒性試験の結果の概要という記載がございます。まず、1 番としまして、アセチル L-アスパラギン酸について復帰突然変異試験、マウスの小核試験がありまして、(3) のところが急性経口毒性試験になってございます。2,000 mg につきましては既に提出されているものでございまして、次のページの参考文献によります Delaney の 2008 という文献は既に提出されております。

(4) の 28 日の反復投与毒性試験についてもこの文献は既に提出されております。

(5) で 90 日の反復経口毒性試験が行われておりまして、下の方でございますように、最高投与群におきまして唾液腺細胞における肥大が認められたということが記載されてございます。

次のページにまいりまして、二世世代繁殖毒性試験が行われてございます。

この動物試験につきましては (3) の急性毒性試験についてはデュポン社で行われておりまして、(4)、(5)、(6) については委託会社で行われているものでございます。

2 番の N-アセチル L-グルタミン酸になりますけれども、同様に復帰突然変異試験とマウスの小核試験、ラットの急性毒性試験、これは最高用量が 2,000 mg です、それと 28 日間の反復経口投与毒性試験が行われております。

その下に発表論文のリストがございまして、すべて論文として発表されてございます。この論文につきましては、次に審議をしていただきますトウモロコシのものと共通で同じものになります。

その次に添付資料というのがございまして、試験結果の要約がされてございます。それぞれの試験の要約がされておりまして、先ほどの概要のところにもございましたが、8 ページの 90 日の反復経口投与毒性試験で唾液腺細胞の肥大があるということと、10 ページからが二世世代繁殖試験になりますけれども、11 ページに記載がありますように、500 mg の投与群で唾液腺細胞の肥大が認められたという記載がございまして。

その他、19 ページに小核試験がございまして、2,000 mg で雄マウス全例に立毛が認められたという記載がされてございます。

青い仕切りのところが要旨になりまして、前回審議をいただいて了承されたときの要旨を添付してございます。

御説明は以上です。

○澤田座長 この取扱はまたもうちょっと後で議論していただくことにしまして、内容に関しまして一応コメント、御意見をいただきたいと思います。

ちょっと確認したいのですが、今回新たに出てきたのは遺伝毒性と亜慢性と生殖毒性ですか。

○北村課長補佐 既に提出されておりますのが、アスパラギン酸についての 2,000 mg/kg

体重の強制経口、急性毒性と、28 日間の反復投与試験です。それ以外は新たに提出されてございます。

○澤田座長 例えば 1 ページに表がありますね、要約の 1 ページ。それで、N-アセチル L-アスパラギン酸に関して 28 日と急性、このデータ自身は差し替えてはいなくて、前回のものをそのまま使っているということ。

○北村課長補佐 前回は、公表された論文だけを提出しております。なので、生データは提出されておられません。

○澤田座長 前回出た論文の生データが出てきたのですか、それと全く別の。

○北村課長補佐 同じものなのですから、その生データをもとにつくった論文しか提出されておられません。

○澤田座長 それで、急性毒性に関してはデュポンでやって、それ以外は受託でやったのですか。

○北村課長補佐 はい、アスパラギン酸につきまして、急性毒性はデュポンでやっていまして、28 日間、90 日間、二世帯は受託会社でやっています。

○澤田座長 これは和久井先生に一言いただかないといけないのですけれども、一応内容的な話でちょっと問題がいろいろあったら御指摘いただければと思うのですけれども。

○和久井専門委員 前回の申請のときに出てきたデータと今回の新しいデータがある意味混在している状態なのですが、論文として発表されているのが 2008 年というのが確か前回のものだと思います。それに対して新たな試験結果は 2010 年として論文として発表されているデータではないかと私は判断したのですが、それでよろしいのでしょうか。

○北村課長補佐 既に提出された論文は 2008 年のもので、今回出てきたのが 2010 年の論文です。

○和久井専門委員 はい。確かに 2008 年のときにその論文と、その要旨で評価をいたしました。そのときには raw データといいますか生データは開示されておられません、提出されておられませんでしたので見ていませんでした。今回はその新しいデータと 2008 年、前回は評価したときの生のデータと両方とも、かなりの量になりますけれども、提出していただきまして、それは全部見ました。

そうしまして、ちょっと問題があるというのが結論になってしまうのですけれども。この中にも OECD の毒性試験ガイドラインにのっとってという言葉が何回も出てまいります。確かにこの OECD の毒性試験ガイドラインにはいろいろなものがあるのですが、分野の違う先生方もおられると思いますので、申しわけないのですが、すこし発言させていただきます。

ガイドラインとして復帰突然変異試験というのと小核試験というものの、これらはガイドラインの 471 と 474 と呼ばれているものなのです。遺伝子に傷をつけるかどうかという変異原性の試験が 471。474 は特にその中でも骨髓系に影響を与えるかどうかという試験。赤血球をメイン標的とするのですけれども、染色体に傷をつけるかどうかという試験です。

それに対し、先ほどから出てきている急性毒性試験、28 日の反復経口投与試験、90 日の反復経口投与試験は、大きい範疇で分けますと、被験物質が生体にどういう影響を与えるのかということについて探索するための一般毒性試験であるとお考えください。

その中で、復帰突然変異試験と小核試験については、それほど大きい問題はないと思います。すべてこれらはガイドラインに準拠して、NAA と NAG の毒性試験は行われております。そういう意味では、ガイドライン上では何も問題はないととることもできます。

従いまして、これらが再提出でなく、新規のタンパクに対して毒性があるかどうかという安全性評価の毒性試験を行ったと考えた場合には、OECD のガイドライン 471、474、420、478、408、416、すべてそのガイドラインに準拠しておりますので、毒性試験として問題はないと言えます。

ところが、この再提出をしてきた理由が問題なのですね。それは、NAA、NAG が多量に含まれているダイズであるということで、これらが蓄積した場合に人間に影響を与えるのではないかと。その危険を安全性上問題がないということを明らかにしたいということで行った試験であるという前提で考えた場合には、不適当な毒性試験であると言わざるを得ないと私は思います。

それはなぜかと申しますと、動物実験の場合にはまず一番初め急性毒性実験を行います。この試験の目的の一つとして、毒性発現量の検討があります。それを見つけませんと、その後に行う 28 日間、90 日間の反復投与毒性試験でどのぐらいの量を投与して試験を行ったらいいかわかりません。

そのときに、投与量が多い場合には 2,000 mg/kg、ときとしてそれ以上、これはあくまでも試験をする方の考え方なのですが、安全性を考えて 5,000 mg/kg 投与というものを設定してもよいとガイドラインに記載されております。それに準拠して急性毒性試験を行ったと解釈できます。

ところが、このときに 5,000 mg/kg を投与した実験動物の 5 例中 4 例が死んでいるのですね。問題はこの要旨の各試験結果の概要の 4 ページを見ていただきたいのです。N-アセチル L-アスパラギン酸でラットを用いた急性毒性試験のところなのですが、その 2 パラ目の結果のところなのです。そこに、死んだのが 5 匹中 4 匹の雌なのですが、臨床的に、まず運動失調が出てきていると。あと、背弯姿勢と、通常余り使わない言葉です。で英語からの訳がおかしいのかもしれませんが、四肢脱臼。所見から、5,000 mg/kg 投与群では神経毒性が出ていると彼らは記載しているわけですね。

これに対し、2008 年のときには 2,000 mg/kg を最大投与用量として急性毒性試験の結果が提出されました。そのときには全く神経毒性は出ていないという結果だったのですが、この 4 ページを見ていただきますと、結果の 2 パラ目になりますが、2,000 mg/kg 投与した雌の 3 匹で耳がけいれんしていると。あと、異常行動を示したということが記載されています。ということは、わずかながらも神経的に何かの影響を 2,000 mg/kg 投与群で認められたことになります。さらに、今回 2,000 mg/kg 投与群と 5,000 mg/kg 投与群を

設定して試験をしてみたら、2,000 mg/kg 投与群で神経毒性を示す傾向が認められたと記載しています。

問題点は、神経毒性が出ているにもかかわらず、神経系について大脳、小脳、延髄等について組織学的な検討をしていない点にあります。しかし、これには理由があります。それは、急性毒性試験ガイドライン 420 ではそこまでの解剖は要求していないのです。ガイドライン 420 に準拠した結果としてやってないのですね。

ただ問題は、あくまでも NAA、NAG の神経毒性があるということを前提としてこれはやっているわけですから、本来であればやはり脳神経系のしっかりとした病理的な検索を行うべきだったのに、なぜしなかったのか、大きな疑問となります。

その次に 28 日間、90 日間の反復投与毒性試験結果が出てまいります。通常は、反復投与毒性試験を行う場合にはガイドラインでは複数の投与用量群を設定することになっております。すなわち、濃度の高いものから低いものまでを設定して実験動物に投与して影響を見る試験です。そのとき、最高用量には必ず毒性が出る用量を設定すべきであるとガイドラインには記載されております。ところが、最高用量として 1,000 mg/kg を最大用量として毒性試験を行って構いませんとガイドラインに記載されているのです。それに準じているのだと思います。そのために、この 28 日間の反復投与毒性試験は 1,000 mg/kg を最大投与用量としています。

結論として、むしろ、急性毒性試験で 1,000 mg/kg 投与では神経毒性は出ておりませんから、毒性が出ないのが当然だと思います。本来であれば、より高用量投与群を設定しなければこの NAA、NAG の毒性を評価するという意味では不足であると考えざるを得ないわけです。

さらに、反復投与毒性試験でも、神経系、を標的臓器として考えているにもかかわらず、先ほど言った神経系についての病理所見がほとんどないのです。消化管とか唾液腺とか話が出ましたけれども、本来カナバン病も含め神経毒性を懸念して実験計画を立て実施した毒性試験にもかかわらず、神経系についての探索がほとんどなされていない。ですから、結果としてよくわからないのです。

彼らは行動毒性の試験もやったと記載しています。確かに、FOB、モーターアクティビティの試験が行われています。しかし、このガイドライン 407 で実施するように求めている神経行動毒性試験は、あくまでも、かなり極端に神経系毒性変化が出ている実験動物については評価できますが、軽微な変化しか出ていないような実験動物について評価しにくい試験を行っているということが言えると思います。

いろいろあるのですが、どちらにしても安全性に問題があるかないかということについて OECD のガイドラインにのっとって評価したということについてはこの試験方法から考えれば、この試験が適切に実施されたとすれば、安全性には問題はないと言えるのですが、先ほど私が非常に難しいと言いましたのは、一つは、これは 2008 年のときに問題になりました、この 6 ページを御覧いただきたいのですけれども、これは確か 2008 年のときの

データだったと思うのです。さらに、9 ページを御覧いただきたいのですが、これは新しい試験結果だと思うのですけれども、所見を御覧になっていただきたいのですが。試験に使用した実験動物の多くは寄生虫に感染しているのですね、如何なる寄生虫が感染しているか不明の実験動物を使って行った毒性試験の結果を評価するのは、私はできないと思います。寄生虫がいる以上、血液検査をやりましても、好酸球の数値は上昇すると思いますし、アレルギー等の評価も違う結果が出てしまうと可能性があります。通常の GLP の基準で試験を行う場合には、SPF 動物として認められ寄生虫か否かを明らかにする必要があります。

さらに、2008 年の時点では raw データは出てこなかったのによくわからなかったのですが、2008 年の論文の実験結果も今回の 2010 年の論文の実験結果もかなり多く寄生虫に感染している実験動物を使って毒性試験を実施しています。

さらに、ガイドラインには規定はされてはおりませんが、神経系についての組織病理学的な検索がほとんどなされていない、むしろそこが一番の問題です。そこを実施しなければ NAA、NAG の神経毒性を評価するための適切な試験が行われたと判断することはできないというふうに結論させていただきます。

以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

ほかの先生、御意見いかがでしょうか。

一つ、新たにデータを出してきたがゆえに、その結果、前回のダイズの評価書からこの毒性試験を削除しなければいけないかどうかという問題もでてくるかと思われます。

それからもう一つは、前回、参考までに出てきたので一応データとしては追加したということで、急性毒性と亜急性毒性を追加したわけです。その意味から言うと、参考ながら、追加することがいけないということにはならない。ただそれに値するかどうかという話は別にあります。

それで、急性毒性の試験だと余り詳しいことは言えないと思いますけれども、28 日の毒性試験だと、概ね神経毒性はともかく、ある程度の毒性は評価できるという事情はあるかと思います。

本来これはカナバン病で神経毒性が問題になったので、それに関してデータが欲しいと、この点で前回は十分議論した覚えがあります。そういう意味で、今度いろいろ出てきたデータは余りさらに神経毒性に関しては大きなことは追加できないという事情はあるかと思います。

それから、生殖発生毒性試験が新たに出されていますが、これは一応、神経の病理組織も見ているのですね。これが取り上げるに値するかどうか。

○和久井専門委員 見ていることは見ているのですけれども、松果体とガッセルの神経節しか見てないのですよね。何でもっとグロスに大脳、小脳、延髄を見ないのか。

○澤田座長 前の議論を覚えていませんが、カナバン病で病理組織で絶対見るべき部位と

いうのはあるのですか。

○和久井専門委員 見るべき場所というのは、余りカナバン病のデータというのは。

○澤田座長 結局、N-アセチル L-アスパラギン酸が蓄積してしまうのがいけないのですね。

○和久井専門委員 はい。

○澤田座長 神経組織でそこまで大量に蓄積するのがいけないということで。そんなに濃度が高くならなかつたらまあいいではないかということも。

○和久井専門委員 少なくともアスパラギン酸等ですので、神経細胞に障害を与えて、神経細胞の変性を起こしているというのは初期段階として必ず出てくるであろうということは予想されますから、松果体だけ見ても何でそこだけ見たのかなということですよ。

○宇理須専門委員 もう一つの観点があるかなと僕はちょっと思ったのです。それはどういうことかといいますと、グルテン過敏症というのがありますよね。これ日本人は少ないのですけれども、欧米人に多いです。ですから、欧米ではグルテンに係るようなものを産生するような遺伝子を入れた場合にはきっとはねられると思うのです。相同性検索でもそういったところを検索していますよね。そういう観点でちょっと今カナバン病を調べてみたら、ユダヤ人の方にこのカナバン病を発症する遺伝子を持った方が多くて、保因者を見るとその遺伝子を持った、遺伝子を持っていれば必ず発病するわけではないのですけれども、遺伝子を持っている人が 1 対 50 ぐらいでそういう保因者がおられるそうです。ひょっとすると日本人は少ないのですけれども、そういった人たちにとってみると先ほどのグルテン過敏症と同じような観点でとらえるというような面があるのかなと、そういう印象を持ちました。

つまり、大量に入らなければいいではないかという観点ですね、それは一般的です。もう一つは、ある一部の人にとって問題が起きる可能性がある。そして、ある一部の人にとってはかなり頻度が高い遺伝子異常を持った人がいる。発症も 6,400 分の 1 ぐらいの確率でそういった、アシュケナージ・ユダヤ人と書いてありましたが、そういう人がどのぐらいおられるか知らないのですけれども、そういう人種の方には 6,400 分の 1 ぐらいでカナバン病が発症するそうなのですね。そして、先ほど言った遺伝子を保因している方が結構高くて、60 人に 1 人ぐらい持っておられるらしいのです。だから、そういう人たちにとってはかなり気をつけなければいけないような問題なのかなと。

二つの観点があると思ったのですけれども、そういうのをきちんと整理はまだされていないような気がするのですけれども。

病理的な特徴もちょっと書いてありまして、海綿状の何か異常が起こってくるような病理的な特色もあって、神経系の異常が起こってくるというふうに書いてありますね。だから、ひょっとするとこれはもっと乳児のマウスをやらないといけないことかもしれません。発病は当然乳幼児期に発症してくるわけですよ。ですから、そういうときの方が神経系に及ぼす影響は大きいわけです。そういう意味で一般的な動物実験も必要かもしれま

せんけれども、特に感受性の高いような世代というか年齢でやる必要があるのかもしれませんが。専門ではないのでよくわからないのですけれども、そういう印象を持ちました。

○澤田座長 だから、神経毒性に特化した情報ではない一般的な毒性のデータをここにわざわざ追加する必要があるかと、そういうことになりますね。

○和久井専門委員 そうですね。

○澤田座長 栄養学的な構成成分を調べて、アセチル化体が若干増えると、そういう知見があるわけですね。それで、その場合に神経の話は別にして、一般毒性的な影響はないということを追加で参考までにこれこれこういうデータがありますと、それを既に通った評価書に遡って載せる必要があるかということになるかと思えますけれども。

○鎌田専門委員 多分データが正しいかどうかは別として、情報があることは確かなのだけれども、前のときにもこれは議論され、結局最後の最後はこの組換え食品としての安全性は、結局見つかったとしても、その含量と摂取予想量の問題になるので、今回のトウモロコシで同じようなものが出ていますが、そこを見ても、どう考えてもここで言う病理上の何かの影響が予想されるような量にはとてもではないけれどもどうやってもいかなないので、余り変な情報が付け加わってしまうことの方がおかしくなってしまうまいだろうかと。ここで少なくとも食品としての安全性の議論をしている中での量から予想して極端に低い量でしかなかったもので、今回のもし影響あるとしてもその濃度は極端にこの本来の我々が議論している食品と比べると全く無視できるぐらいの濃度なので、余り新しいデータだからといって情報を極端なことを言うと、評価書を書き換えるぐらいまでのことかと言われると、そんなことは全くないので、そこは無視してもいいのではないかと私なんかは思うのですが。

○北村課長補佐 参考なのですけれども、今鎌田先生がおっしゃられた含有量のデータにつきましては、要旨の 93 ページに記載がございまして、3 パラ目になりますけれども、本ダイズに置き換えた場合、日本人の最大一日摂取量は、アセチルアスパラギン酸が 5.713 mg、グルタミン酸が 0.874 mg。体重当たり直すとアスパラギン酸が 0.095 mg/kg/日、グルタミン酸が 0.01 mg/kg/日という記載がございます。

○澤田座長 どうぞ。

○澁谷専門委員 どういうふうを考えていくのか難しいところがあると思えますけれども、ただ非常に大量に投与すると毒性を示す物質というのは結構たくさんあると思うのですよね。だから、これが非常に高濃度でやったときに毒性が出るということ自身はそれはちゃんとそれで受け止めてもいいのではないかと。その上でその摂取量とかを考えていったときにはこういう理由で問題がないと考えるとかいうふうにきちっとやっておいた方がいろいろなことを考えるといいのではないかという気もしますけれども。そうでないという毒性データというのはある意味ではきっとどこかで出ていく可能性もありますから、そのときにそういうことを考えないでやったというとまたまずいのではないかという気がします。

だから、逆に言うと、そういうふうを考えていくためにこのデータでいいのか、もう少し追加のものがあつた方がいいのか、ここは毒性学の話で僕らわからないのですけれども。何かやはりそういう非常に大過剰でやつたらば何か出るというのは実験の再現性があるなら、それはそれで受け止めた上で、現実の組換え体から入ってくるものがその 1 万分の 1 であるとかというようなことの中で考えた方がいいのかなという気もするのですけれども。

○澤田座長 難しいかなと思います。ほかにいかがでしょうか。

○和久井専門委員 一つよろしいでしょうか。先ほどの繰り返しになってしまうのですけれども、今回のデータは寄生虫がいるような動物を使っているわけですね。ですから、そのデータを認めるわけにはいかないと思うのです、僕は。

○澤田座長 これ寄生虫はパラサイトですか。

○廣瀬委員 ちょっといいですか、寄生虫は今までもたまにラットでも腸管の中にいることがあるのですよね。いくら GLP でやったとしても。いたからといってこれが特に壁の中に入り込むとかそういう状態ではないので、今までの経験からすると、寄生虫がいたからといって特にいろいろな検査値で異常が出たり、病理学的に異常が出たり、そういうことはなかったのですね。ですから、どうしてもこのデータが必要であるということであれば寄生虫がいてもある程度評価せざるを得ないのではないかなと思うのですよね。

寄生虫以外にも先ほど肝炎があるとかそういう御意見もありましたけれども、自然発生でも肝細胞の炎症というのはある程度ありますし。それから、神経系の病理所見を確かに見てないのですけれども、一応 28 日あるいは 90 日では FOB を行ったり、あるいは握力の検査等を行っておりますので。それで全く所見がないということですので、まず神経系に影響が出ているとは考えられないのですよね。ですから、これも一応大きな所見というか神経系に影響は恐らく出ていないのだろうなというようなインフォメーションを与えてくれると思うのですね。

ですから、そういう意味ではこういうデータがあつた方がいいのではないかなと私は思っていますけれども。

○澤田座長 この寄生虫というのは割とよく見つかる寄生虫なのですよね。

○廣瀬委員 最近はかなり減りましたが、昔はたくさんいましたね。最近非常に少なくなりましたが、たまにこういうのが起こることがあります。

○澤田座長 これは GLP の例えば査察が入った場合などは、これはある程度はオーケーになるのですか。

○廣瀬委員 それとは恐らく関係ないと思います。

○澤田座長 関係ない。

そうすると、他にいかがでしょうか。参考までに追加する意味はなきにしもあらずということらしいのですけれども。

○鎌田専門委員 先ほどからの議論で、本当にもしカナバン病のことも含めて考えようと

したときに、神経関係のことが全くちゃんとしたものになっていないとしたら、その議論は全くできないわけですよね。そういう状態で情報を追加するというのは、実は我々が意図することとは全く関係なくなってしまうという気がするのですが。もしそれが必要だとしたら、その神経系のことも含めたもう少し適切なデータを出してもらった上で参考資料とするかどうかの議論をしないと、もともとが余り満足すべきものでないというときに、そこを入れてしまったら逆におかしくならないですかね。

○廣瀬委員 一応この試験はすべて **FOB** だとかあるいは握力検査ですね、こういうものをやっておりますので、これはかなり神経系の異常をこれで見ることができますので、ある程度の試験はやってあると考えていいと思います。

○澁谷専門委員 そういう話であれば、若干問題あるにしても、そういう 28 日や 90 日、そういうものをトータルとして見るとある程度の高濃度でも異常がなかったという結論であるならば、今までのを補強するような形になるのではないのでしょうか。ちょっと穴があって余りこういうのは出さない方がいいというレベルであればやめておいた方がいいと思いますが。

○澤田座長 動物実験として問題があることはあるのですが、大きな情報として間違っていないということであれば追加してもいいのかなという気がしますけれども。

そうしましたら、一応追加するときの案はあるわけですね。では、ちょっとそれたたき台なのなのですが、出していただきましょうか。

○北村課長補佐 資料 1 の 27 ページからが本食品の評価書の案になっておりまして、毒性に関しましては 49 ページのところになります。既に評価書が出ておりますので、線を引いたのが追加をしたところとなっております。

先ほど御説明をしました参考資料 2 の 22 ページと照らし合わせていただければわかりやすいかと思います。当初はアスパラギン酸のみでしたので、まず項目分けをアスパラギン酸とグルタミン酸と分けておりまして、急性毒性の 1 番の (1) のところに 5,000 mg の情報を追加しております。648 行目から 5,000 mg/kg 体重投与群において死亡例及び運動失調等が認められたがというところを追記しております。652 行目の、参考文献は、2008 年は既出でございまして、2010 年の文献が新しいものです。

亜急性毒性試験につきましては、①は既に出ておりますので、②の 90 日間反復混餌投与試験ということで記載を追加しております。10 匹で N-アセチルアスパラギン酸を 100、250、500 mg/kg 体重/日の用量で投与した 90 日間反復混餌投与試験が行われた。その結果、全例とも試験終了まで生存し、臨床試験、剖検において、被験物質の投与に関連した異常は認められなかったという記載にしております。

50 ページにまいりまして、生殖発生毒性試験です。SD ラットを用いて N-アセチルアスパラギン酸を 100、250、500 mg/kg 体重/日の用量で投与した二世世代繁殖試験が行われた。その結果、いずれの世代においても被験物質の投与に関連した異常は認められなかった。

(4) が遺伝毒性試験で、①で復帰突然変異試験。②で小核試験の記載をしております。

683 行目に N-アセチルグルタミン酸について記載をしてございまして、(1) が急性毒性試験になります。こちらは最高 2,000 mg/kg 体重/日の用量のみですので、この用量で単回強制経口投与をし、投与後 14 日間、臨床症状の有無及び体重への影響について観察、測定し、14 日後に病理検査を実施した。その結果、全例とも試験終了まで生存し、被験物質の投与に関連した異常は認められなかった。

(2) で亜急性毒性試験、(3) 遺伝毒性試験で、①復帰突然変異試験、②の小核試験を追記してございます。

○澤田座長 もし入れるとしたらこういうことになるということでもありますけれども。

まず、遺伝毒性試験というのは、これは追加する必要性というのはあるのでしょうか。実際には食べている量と体内にある量というのは comparable というかそんなにオーダー変わらないのですよね。神経系に N-アセチルアスパラギン酸というのは若干量常にあるわけで。それこそそんなに大量にならないのであれば、余り意味がないのかなという気がしないではないのですけれども。

○北村課長補佐 今の座長の御質問の件なのですけれども、今の評価書の 47 ページの一番最後の方に記載してございますけれども、この 585 行目からで、ダイズをすべて組換えのダイズに置き換えた場合のアスパラギン酸の摂取の増加量について、脳内総アスパラギン酸量に対する割合を算出したという記載がありまして、その結果 48 ページの 587 行目にありますが、0.18~0.23%であったという記載がありまして、その次に、乳幼児の場合では 0.006~0.007%と算出されたという記載がございまして。

○澤田座長 他の先生方がいかがでしょうか。

○児玉専門委員 追加された文章をこのまま、これは結果がそのままきれいにというか脚色なしにそのまま載っているんで、これを見ると 5,000 mg/kg 影響出ますよねというふうに単純に読み取れてしまうわけですね。それに対してはどう判断するかという文章はないですね。それは結局判断していないということになるのではないかなというふうに一つ思ったのですけれども、どうでしょうか。

○澤田座長 急性毒性に関しては判断はしていない、でもほかの毒性に関しては陰性であったと。だから、問題は 5,000 mg/kg だけで。

○児玉専門委員 そこは要するに実際に食べる量から考えて問題ないと判断したと、判断したと書いてはいけないかもしれませんが、そういう文章がやはりもしもこれを載せるのであれば必要なのではないかな。

○長尾委員 5,000 mg/kg というのは、この数字まで毒性試験といってもちょっと厳しいのではないのでしょうか。つまり、ちゃんと吸収されて毒性を発現するとかそういうレベルからいくと大量だと思いますけれどもね。

○澤田座長 余りにも高すぎる量で、あえて書く必要があるかと。事実としてはやったわけなのですけれども。

○鎌田専門委員 これは食品安全委員会の全体のことに関わると思うのだけれども、今のよう極端なデータのことについて出てきたときに、これはだからこの部分を取り出して危険情報ととらえてやるのならば絶対にこれに対する判断をしなければいけないと思うのですよね。やはり摂取量が今回のダイズの場合には基本的にこれぐらいの量だから問題ないというふうに考えられるとかという話。そうではなくて、その部分ではなくて残りの部分について安全情報としてとらえるとすれば書いておくだけで何の議論も必要がないのですが、多分これどちらも含んでしまった格好になっているので、危険情報としてとらえるのならば、やはりさっき児玉先生おっしゃったとおり、どこかにこれに対する解釈を評価書の中にどこかに本当は書き込まないとおかしくなると思うのですね。

その一方で今長尾先生おっしゃったとおり、いや、こんな極端な数値の投与量のものでやって何か影響があったということをやりますと、多分ほかのものもいっぱいいろいろなものがありますが、極端に言うと、普通のアミノ酸ですらもちろんそういうケースはあり得て、それが一々出てくるたびに評価書は全部書き換えるのかという議論だと思うのですね。極めて高濃度のものを処理したら絶対にラットに影響が出るのは多分一般的だと思うので、その意味で余り危険情報だというふうにこれをとらえるのは本当はおかしいとは思いますが。

○澤田座長 どうぞ。

○小泉委員長 いわゆるこういったものを評価するときには、どの辺までにきたらどういう症状が出るのかという情報は私はやはり必要ではないでしょうか。これは逆に言えば、5,000 mg/kg 以上でないと何ら毒性症状が出ないのだという私は一つの証拠だと。それを見ますと、この 2,000 mg/kg 以下では症状がないことは、2,000 mg/kg を超えれば何らかの影響がある可能性はありますという情報だけであって、2,000 mg/kg から以下は症状がない、では安全なところは恐らく 2,000~5,000 mg/kg の間だろうという情報提供にすぎないと私は解釈して、説明しなくても毒性学者だったら大抵わかるのではないのでしょうか。

それと、実験するときは全く症状のないところで切ってしまうと、どの辺から何が起こるのかということがわからないので、私は事務局のこの文章は非常によくできていると私は思っております。

○澤田座長 わかりました。それでは、一応これを全部残しておく方向でいきたいと思えます。いかがですか。

○北村課長補佐 その判断のところなのですけれども、48 ページのアミノ酸組成のところの宿主の差異のところなのですけれども、最終的に 594 行目で、これらのことから N-アスパラギン酸及びアセチルグルタミン酸の有意な増加に対し、ヒトの健康を損なうおそれは現在のところ極めて低いと考えられたという結論になっていまして、その前段にこのダイズを投与したら動物試験が書かれてございますので、もし必要であればここに毒性試験を追加すれば判断も含まれるかと思いますが、いかがでしょうか。

○澤田座長 一応前段で安全性は問題がないと言って、第 7 で参考までにこういうこと

がありますと淡々と述べて、それでいいとしますか。

○坂本評価課長 よろしいでしょうか。すみません、急性経口毒性試験で先ほど和久井先生が 2,000 mg/kg 投与群の雌 3 例の耳の痙攣等を毒性所見としてとらえられているように御説明されていましたが、もしそうとるのであればそのこのところの扱いを考えないといけないかと思うのですが、先生、いかがでしょうか。

○澤田座長 申請者の判断としては投与による影響ではないと解釈していますから、ここでそれを無視して書くのであれば、何らかの確認が必要かと思うのですが。それはちょっと確認して、2,000 mg/kg 投与群で投与例雌 3 例に耳の痙攣が認められたとあるところですね。これは毒性と関係があるかどうか。もしあるのだったら評価書に反映させないといけないという。

○和久井専門委員 一つだけ確認なのですが、このアンダーラインを引いたところが新たに直したところですよ。49 ページの 650 行のところに、急性毒性で臨床検査というところにアンダーラインがないのは、これは 2008 年の試験のところでは臨床検査をやっていたということですね。今回見せていただいた 2010 年では臨床検査は載っていませんでした。

○北村課長補佐 確認をしますが、前回の評価書のをそのまま使っております。

○和久井専門委員 ちょっと確認していただきたいということです。

○北村課長補佐 すみません、確認をした上で必要あれば修正いたします。

○宇理須専門委員 もう一ついいですか。今もう一度この評価書を見せていただいているのですが、この 2,000 mg/kg とか 5,000 mg/kg が非常に過剰量だという話がありましたよね。実際に日本人が現在どれぐらいの量をとっていて、そしてこのサイズにすべて置き換えた場合にはどれぐらいの量になるかという、もう少し/kg で 1 日当たりの摂取量で書くとわかりやすいのではないかなと思いました。これ見ると何%増えるというような書き方がされていて、だから安全だというふうな文章になっています。例えば 48 ページの 587 行のところでも、0.006%増加すると書いてあるだけで、具体的に何 mg が何 mg になるみたいな、そうするとが恐らくこの 2,000 mg/kg なんかよりはるかに少ない量ですよ、その方がわかりやすいと思ったのですけれども、いかがでしょうか。これどこかに出てくるのでしょうか。

○澤田座長 それはちょっと確認が、後で。

○北村課長補佐 93 ページに記載がありまして、本品種に置き換えた場合は N-アセチルアスパラギン酸が 5.713 mg、グルタミン酸が 0.874 mg/日です、/kg/日に直しますと、アスパラギン酸が 0.095 mg/kg/日、グルタミン酸が 0.014 mg/kg/日になりますという説明があります。追記をするという方向でよろしいですか。

○澤田座長 どこかにその数字をわかるように追加しますか。

○北村課長補佐 はい。

○澤田座長 それでは、一応はこのまま残すという方向でいきたいと思います。それで、

細かな確認はまた後で一応委員の先生方にお知らせいただくということで。

○熊谷委員 細かいところで、先ほどの 48 ページの 595 行目に、「現在のところ」という文言があるのですけれども、それでこれは要旨にも出てくるので結構気になっているのですが。その「現在のところ」は何か重要な理由があってここに入っているのでしょうか。もし特段理由がなければ外していただいた方がいいのかなと。

○澤田座長 外していいと思うのですけれども。

○北村課長補佐 1 点確認なのですけれども、遺伝毒性については、どうしますか。

○澤田座長 あってはいけないということではないです。ガイドラインには遺伝毒性という言葉は載ってましたよね。必要に応じて、いろいろな毒性試験の名前が書いてあったのですけれども。

○北村課長補佐 変異原性に関する試験などです。

○澤田座長 では、あっても違和感はない。

それでは、大分時間がかかりましたけれども、一応事務局で用意していただいた案ではぼそのままいくと。細かいことはまた確認して修正していただきたいと思います。

それでは、あと 30 分ですけれども、続けます。

次は、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トウモロコシ DP-098140-6 です。この品目は平成 21 年 3 月の専門調査会において審議を行い、指摘事項が出されたものです。これも指摘事項に対する回答が来ておりまして、事務局から御説明をお願いしたいと思います。

○北村課長補佐 それでは、御説明いたします。青い大きなファイルをお願いいたします。

回答書というタグがございまして、それをめくっていただきまして、1 ページからが指摘事項 1 に対する回答となっております。

指摘事項の内容としましては、再分化個体以降を本申請の対象である商品化系統 DP-098140 としたとあるが、T0 世代以降を安全性評価を求める世代とした場合、安全性評価を行う上で必要な試験が適切な世代で実施されていない。ついては、安全性の評価を求める世代について以下に示す指摘を参考にして再検討を行い、要旨を修正することという指摘になってございます。

3 ページに系統樹がございしますが、この T0 以降を評価対象とした場合に試験が足りないという指摘になってございます。

この系統樹と図 1 を参照していただきたいのですけれども、回答としましては、T0 と BC0 世代については種子がなかったということから、青く印がつけてございます BC1、BC0S1×PH1CA 及び BC0S2 世代を用いて新たにサザンブロット分析を行って、挿入遺伝子のコピー数、完全性、ベクターの外骨格領域が挿入されていないことの確認を行っているということでございます。

これらについては外骨格全領域を網羅するプローブセットを用いて外骨格の有無を確認してございます。前回行っていたのは、5 領域だけしかカバーしていないものでございま

した。それについては 3 ページの表がございまして、表の右側の色つきのものが追加提出されているものになっております。

その結果としましては、いずれの世代におきましても完全長の T-DNA 領域が 1 コピー挿入された場合に想定されるバンドが検出され、T0S3 における分析が一致していたということと。外骨格が挿入されていないことが確認されたということです。

構成成分分析については、BC0S1×PH1CA 世代のサザンブロット分析の結果が BC1 及び BC0S2 世代の結果と一致していたということから、BC0S1×PH1CA 世代の構成成分の分析結果が商業品種ラインとして適用できると考えたという記載がございまして。

次のページにまいりまして、T0 世代についてはリアルタイム PCR で分析を行ったということと、T0S3 世代については外骨格の 5 領域をプローブとしてサザンブロット分析を行ったということで参考として提出しますということです。

その次の脂肪酸組成の影響につきましては、新たに BC1 世代を自殖して得た BC1S2 世代に優良品種 PH58 を掛け合わせた F1 ハイブリッド品種 BC1S2×PH581、これは 3 ページの図の左の一番下になります。これについて脂肪酸組成の影響について分析を行いまして、ヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸を含んだ脂肪酸の分析を行ってございまして。その結果、アラキジン酸とエイコセン酸は有意差がありましたけれども、文献の範囲内だったということで、ヘプタデカン酸は文献値の範囲内、ヘプタデセン酸については検出限界値未満だったという記載がございまして。

4 ページにまいりまして、これは指摘事項 1 の続きになりますけれども、サザンブロットの結果に示されている各バンドの由来について説明を行うことということで、5 ページの図 2 について説明がございまして。これは要旨 31 ページの図 10 と同じものになります。これは T0S3 世代を用いて分析を行ってございまして。これは形質転換に用いた PHWVZ 系統を自殖したものということで、この PHWVZ との比較を行っております。

7,400 bp のバンドは PHWVZ 系統でも検出されたということから、内在性のバンドであるという記載がございまして。

右の ZMHRA をプローブとして用いた場合についても、3 本のバンドが検出されておまして、7,400 と 8,600 以上の二つのバンドは内在性のバンドであったという説明になってございまして。

次の 6 ページに記載があるサザンブロット分析についても同様に説明がございまして。

まとめたものが 7 ページ、8 ページの表 1、表 2 にございまして。真ん中の検出されたバンドサイズのところで色がついているところが内在性由来のバンドであるという説明になってございまして。

9 ページにまいりまして、指摘事項 2 に対する回答になります。遊離アミノ酸組成の分析結果に N-アセチルアミノ酸が含まれていないかどうか確認することという指摘になってございまして。回答としましては、遊離アミノ酸分析結果には N-アセチルアミノ酸は含まれておりませんということでございまして。これは宿主の差異のところの構成成分分析

の欄でございます。この遊離アミノ酸については分析方法によりまして本遊離アミノ酸抽出過程で N-アセチルアミノ酸が脱アセチル化されていないということと。反応試薬が N-アセチルアミノ酸と反応することはないということです。また、予備試験において既知量の N-アセチルアミノ酸を反応試薬に加えて N-アセチルアミノ酸が検出されないことを確認しているということでございます。

その次、4 からは修正事項になりまして、文言、記載ミス等の修正になってございます。

10 ページにまいりまして、先ほどのダイズと同様に、アセチルアミノ酸についての毒性試験の結果が提出されてございます。本トウモロコシにつきましては、ダイズで増加しております N-アセチルアスパラギン酸、N-アセチルグルタミン酸に加えて、N-アセチルグリシンと N-アセチル L-トレオニンについて有意な増加が認められております。それで、アセチルアスパラギン酸とグルタミン酸についてはダイズと同じデータが提出されておりますけれども、グリシンとトレオニンについては新たにこちらの方に添付されているという状況になってございます。

13 ページがグリシンの結果になってございまして、細菌を用いました復帰突然変異試験、マウスの小核試験、ラットの急性毒性試験、2,000 mg/kg、強制経口投与ですけれども、それと 28 日間の反復経口投与毒性試験、最高用量が 1,000mg/kg になっております、が行われております。

次、14 ページにまいりまして、トレオニンの結果になります。これも同様に細菌を用いました復帰突然変異試験、マウスの小核試験、ラットの急性毒性試験、ラットの 28 日間の反復経口投与毒性試験が行われております。

15 ページがセリンになりますけれども、これは本トウモロコシについては増加はしておりませんが、試験を行ったということで参考にデータが添付されているものでございます。

16 ページにまいりまして、その他の修正事項ということで、17 ページ、18 ページ、19 ページ、20 ページ、21 ページに修正箇所の記載がございました。

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、指摘事項に対する回答につきまして、順番に項目ごとに先生方から御意見を賜りたいと思います。

まず、指摘事項 1 で、これは幾つか項目がありまして、まず、T0S3 世代の発現プラスミドの外骨格領域が宿主に導入されていないことを確認するという。これは小関先生の御指摘でしたけれども、鎌田先生、いかがでしょうか。

○鎌田専門委員 私は前回でなかったもので、今回のデータを見させていただきました。今の外骨格だけではなくて、多分今の回答書の別紙 1 とか 2 とかという、特に 1 のところが今のことに関わる部分だと思います。これは、見ていただくとわかるように、単に表があって、バンドがどれだということで、実際には別紙の方、添付資料としてあるものに具

体的なデータが出ております。添付資料 36 の中ごろに、例えば図 9、Fig.9 というようなのをちょっと見ていただければわかるのですが、これは外骨格ではなくて、入れた *als* という遺伝子のプロモーターをプローブにしてやったものです。

ただ、これ見ていただくとわかるように、バンドがはっきり見えない。はっきり言ってバンドが見えない。彼らが多分言いたいのは、一番上のところにうっすら出ているものが本来どうも外来遺伝子としてのバンドらしいのですが、本当は 4 番のレーンにはあってはいけないはずなのですが、でも何となく見える。そうすると、これ本当に外来遺伝子なのという疑問が出てきます。実は内在性の遺伝子も持っているので、他のバンドも出てきてしまうので。

それで、もっと厄介なのは、これ品種が途中で戻し交配しているときに品種を変えているのですね、いろいろな品種に変えていると、品種ごとに実はパターンが変わってしまうので、どうしたらいいのだろうと。要するにちゃんとした結論を出すためのデータとしては何となく不十分というか、要するにデータがクリアではないがために判断つきかねる部分が、そこだけではなくて実は多々ありまして。そこはどうしたらいいのだろうと。かといって、事情もわかります。*als* プロモータというのは非常に短いので、どうしてもサザンやるときにシグナルが弱くなってしまうという事情でこうなったというのもよくわかるのですが、でもやはり外来遺伝子かそうでないかをはっきりさせないとここでは議論が始まらないので、ちょっとそこら辺不十分なデータなので、私としてはいいとも言えないという、ちょっと判断つきかねる状況です。

あちこちにそういうのがあります。例えば今のだと、添付資料 36 の後ろの方に Fig.35 などというのがあるのですね。見ていただければと思うのですが。Fig.35 は逆にバックボーンを見ようということでバックボーンはないはずなのでサザンでやったときにバンドが出るはずはないのですが、多分緩く結合するのがあって、何か複雑なパターンがバツと出ていて、これで何となくレーンによって少しずつ濃い薄いがあって、位置もよくわからない状況で。これでバックボーンがないですと言われると判断つきかねるなというそういう状況でございます。

○澤田座長 今回の鎌田先生のお話は、外骨格とそれからほかのサザンの全部込みのお話ですよね。それから、商業品種云々の話も入っていて。安全性評価を求める世代としてはいいかがですか。データはともかく。

○鎌田専門委員 これだから、もともと一番上でやってくればいいのだけれども、うちは上でやらないで後ろの方のどこかの世代で特化してやっちゃっているんで、全体として認めてくださいと言われたときには情報としては足りないということからきていますので、この状態ですべての系統を全部認めてくれと言われると、やはりそれは現実苦しいかなと思います。

○北村課長補佐 どこからだったら認められるか御指示をいただけると助かるのですけれども。

○鎌田専門委員 多分今回のでもいいのです。かなり系統たくさんやったださっているものでそれはいいのですが。だから、それをやったデータが正しいデータかどうかを判断できない状況になってしまっているの、材料は今のいいので、きちっとしたデータで出していきたいというそういうお願いです。

○澤田座長 弱いバンドをどう解釈するか。なかなか厳しいところではあります。

これは結局もう一回プローブを設計し直さないとだめですか。

○鎌田専門委員 そうですね、プローブを設計するか、別なやり方としてはどうもそのバンドのところをきちっと切ってきて、配列かなんか見てくださればもちろんもう少しきちっとした答えが出ると思うのですが。

○澤田座長 それで内在性のものが出てるということを証明してもらうか、もっとプローブを再設計してきれいなデータを出してもらうか。どっちが早いですかね。

○鎌田専門委員 デュボンだったら配列出す方が早いかもしれないですが、それはでも本人たちのもちろんやり方次第だと思いますので。

○澤田座長 それは追加でやってもらうしかないですね。

そうしましたら、今一応指摘事項が幾つかあったのですけれども、みんなそれをまとめた回答ということで。

指摘事項 2 の回答の 9 ページに移りまして、アミノ酸組成の分析についてですけれども、これは澁谷先生の御指摘ですが。

○澁谷専門委員 これ前回のとき、要するに遊離アミノ酸、どのぐらいN-アセチル化されているかというのが、表が見にくかったのです。それで確認したら二つ表があって、片方はN-アセチルアミノ酸をそのまま定量していて、片方はここに書いてあるように、遊離アミノ酸でN-アセチル化されていないものだけが引っかかってくる。逆に言うと、N-アセチル化されているのはこの表からは抜けているということになったので、これでそういう意味では両方の比較がはっきりできるようになったというふうに思います。

いずれにしてもこれはN-アセチルアミノ酸、これダイズよりもさらに種類がふえていたので、それが健康影響評価の上でどうかという問題なので、今回全部のN-アセチルアミノ酸の投与実験の結果が出ていますので、それで評価ができるのではないかなというふうに思います。

○澤田座長 あとはマイナーな点になりますか。あと、N-アセチルアミノ酸の毒性試験についてというのがありますけれども、これは先ほどの問題と同じで、一応右に倣えでつけてもらうということ。

○北村課長補佐 セリンについては増加していないので特段書く必要はないという整理でよろしいでしょうか。

○澤田座長 新しい、前のダイズでなかったアミノ酸で、増えているものを。

○北村課長補佐 グリシンとトレオニンが新たに有意に増加しているというのですが、セリンについては増加していないのですけれども、試験はやりましたということになって

います。

○澤田座長 これは追加ということなのですから、これいかがでしょうか。新しい追加の分は変異原性試験と急性毒性と 28 日の毒性を追加する。

まだ追加で何かコメントは。

○橋田専門委員 今回追加されたことの中身そのものではなくて書きぶりのことだけなので大したことではないのですけれども、10 ページの 5 行目、許容値を超える有意な増加が認められたという記述があるのですが、要旨の方ではその許容値というのをきちんと注釈つきで書いています。しかし、これだけ単独で取り出して許容値と書いてしまうと誤解を招くおそれがあるので、ここのところにも要旨と同様の注釈をつけるなりした方がよろしいかと思います。

○澤田座長 これは注釈をつけるだけでいいですね。指摘事項 1 に関しましてかなり追加でデータを求めることになりますので、この件に関しましてはこれで終了ということになります。

○北村課長補佐 指摘事項 1 の回答について確認なのですから、脂肪酸組成の分析を BC1S2×PH581 で確認をしているというところなのですから、ここについてはいかがでしょうか。

○澤田座長 鎌田先生、いかがでしょうか。

○鎌田専門委員 その上で先ほどの今回あちこちのところをやっているのを、本当はこれがオーケーならば全体カバーされるので、多分今の疑問はなくなると思うのですが。

○澤田座長 それでは、先生方からいただいた御意見を確認事項等指摘事項案としてとりまとめまして、先生方に御確認いただいた上で厚生労働省を通じて申請者に対して指摘を出したいと思います。

それでは、本日は議題 1 につきましてはこれで終わりたいと思います。

議題 2 のその他でありますけれども、私の方から御報告があります。1 月の専門調査会で審議しましたトウモロコシ 3 系統の掛け合わせ品種スイートコーン、それから先月の専門調査会で御審議いただきましたリボフラビンにつきまして、申請書等の修正の指摘を出したところであります。これらの品目の取扱いにつきましては御担当の先生に御協力をいただきまして、座長預かりとなっていたところであります。いずれの品目に関しましては指摘に基づいて修正がなされたことが確認されましたので、評価書案を食品安全委員会に御報告いたしました。なお、現在はパブリックコメントの募集中であると聞いております。

私からの御報告は以上です。

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 ありがとうございます。

本日の議題につきましてはこれで終了いたしました。

以上をもちまして、第 102 回遺伝子組換え食品等専門調査会を閉会いたします。

今日も活発な御議論ありがとうございました。