

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

第103回会合議事録

1. 日時 平成24年4月25日（水） 13：59～16：45

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

- ・ GLU-No.5株を利用して生産されたL-グルタミン酸ナトリウム
- ・ 除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ MON87427系統（食品・飼料）
- ・ チョウ目害虫抵抗性ワタCOT67B系統（食品・飼料）
- ・ チョウ目害虫抵抗性ワタCOT102系統（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、手島専門委員、中島専門委員、飯専門委員、和久井専門委員

(食品安全委員会委員)

小泉委員長、長尾委員、廣瀬委員、野村委員

(事務局)

栗本事務局長、本郷事務局次長、高山評価情報分析官、坂本評価課長、
前田評価調整官、北村課長補佐、小倉係員

5. 配布資料

資料1 食品健康影響評価に関する資料

- ①GLU-No.5株を利用して生産されたL-グルタミン酸ナトリウム
- ②除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ MON87427系統（食品）

③除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ
MON87427系統（飼料）

④チョウ目害虫抵抗性ワタCOT67B系統（食品）

⑤チョウ目害虫抵抗性ワタCOT67B系統（飼料）

⑥チョウ目害虫抵抗性ワタCOT102系統（食品）

⑦チョウ目害虫抵抗性ワタCOT102系統（飼料）

資料 2 平成24年度食品安全委員会運営計画

参考資料 食品健康影響評価に係る指摘事項

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COT102系統（食品）

6. 議事内容

○澤田座長 それでは、1分ぐらい早いのですけれども、始めさせていただきます。ただいまから、第103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、所用により五十君専門委員が御欠席とのことです。

本日の議題でありますけれども、新規の審議品目、GLU-No.5株を利用して生産されたL-グルタミン酸ナトリウム、除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ MON87427 系統、これは食品と飼料です。それから、継続の審議品目であります、チョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B、これは食品と飼料、同じく COT102 系統、これも食品と飼料であります。以上の安全性についての審議となります。

議題に入ります前に、事務局より議事、資料等の御確認をお願いしたいと思います。よろしく申し上げます。

○北村課長補佐 配布資料を確認させていただく前に、事務局の人事異動がございましたので、御報告させていただきます。4月6日付けで評価情報分析官として高山が着任しております。

○高山評価情報分析官 高山でございます。どうぞよろしくお願いいたします。

○北村課長補佐 また、4月1日付けで三木の後任として小倉が着任しております。

○小倉係員 小倉です。よろしくお願いいたします。

○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させていただきます。配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿、資料 1 としまして食品健康影響評価に関する資料、資料 2 としまして平成 24 年度食品安全委員会運営計画、参考資料としまして安全性評価に係る指摘事項、またその他に 4 月 17 日付けの厚生労働省のプレスリリースをお配りしてございます。

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、次回また配付いたします。不足等ございましたら事務局までお知らせください。

○澤田座長 それでは、続きまして議題に入らせていただきます。まず、事務局から運営計画についての説明があるとお聞きしておりますけれども、説明をお願いします。

○坂本評価課長 それでは、お手元に資料 2 をお願いいたします。本年度最初の専門調査会でございますので、こちらに基づきまして本年度の食品安全委員会の運営計画につきまして、ポイントのみの御説明とさせていただきますが、御説明をさせていただきます。

資料 2 の 1 ページでございますが、第 1 といたしまして、平成 24 年度における委員会の運営の重点事項となっております。こちらの (2) の重点事項、これの①にございますように、食品健康影響評価を効率的に実施するため、専門調査会の連携の強化等が重点事項となっているということでございます。

おめくりいただきまして、2 ページをお願いいたします。(3) といたしまして食品健康影響評価に関する専門調査会の開催がございます。必要に応じて、以下に掲げる方策を活用し、専門調査会における食品健康影響評価を効率的に実施するということございまして、①では、特定の評価事案については、委員会や専門調査会の下に部会やワーキンググループを設置する、②では、既存の専門調査会での審議が困難な課題や複数の専門調査会に審議内容がまたがる課題につきましては、専門調査会に他の専門調査会の専門委員を招いて調査審議する、あるいは関係する専門調査会を合同で開催するということがございます。

(4) は、専門調査会の連携の確保といたしまして、案件に応じ、委員及び専門委員の間で連絡・調整等を行うための会議を開催するということでございます。

次の 3 ページには第 3 といたしまして、食品健康影響評価の実施という項目がございます。こちらの 1 では評価要請された案件の着実な実施ということで、(1) では平成 23 年度末までにリスク管理機関から食品健康影響評価を要請された案件につきましては、要請の内容等にかんがみ、評価基準の策定の必要がある場合、評価に必要な追加情報を求めた場合その他特段の事由がある場合を除き、早期に食品健康影響評価を終了できるよう、計画的な調査審議を行うということ。それから、専門調査会での調査審議に必要な追加資料を要求したもの等については、必要に応じ、リスク管理機関から資料の提出があるまで調査審議を中断するということがございます。

(2) は、いわゆる企業からの申請品目についてでございまして、要請事項の説明を受けた日から 1 年以内に結果を通知できるよう、計画的な調査審議を行うこととございます。2 では、評価ガイドライン等の策定につきまして、具体例として農薬の関係が記載されております。その下の 3 は、自ら評価の関係でございます。

資料の 5 ページでは、第 4 といたしまして、施策の実施状況の監視、その次には調査研究事業の推進、さらに 7 ページにはリスクコミュニケーションの促進、さらに、最後

から 2 ページ目には、第 7 として、緊急の事態への対処、情報の収集、整理及び活用、国際協調の推進という事項がございます。

かいつまんだ説明になりましたが、本件につきまして何か御不明な点等ございましたら事務局までお問い合わせいただければと思いますが、効率的に御審議が進みますよう事務局も今後とも努力をいたしますので、本年度もどうぞよろしく願いいたします。資料 2 の説明は以上でございます。

○澤田座長 どうもありがとうございました。

ただいま今年度の食品安全委員会の運営計画について御説明がありましたが、御質問等ございませんでしょうか。

よろしいでしょうか。

それでは、続きまして、事務局から食品安全委員会における調査審議方法等についてに基づき、必要となる専門委員の調査審議等への参加に関する事項についての報告があるようなのでお願いします。

○北村課長補佐 それでは、本日の議事に関します専門委員の調査審議等への参加に関する事項について御報告いたします。本日の議事に関しましては、平成 15 年 10 月 2 日委員会決定の 2・(1)に規定する調査審議等に参加しないこととなる事由に該当する専門委員はいらっしゃいません。

なお、本確認に関しましては、本年度からの取組でございますので、取扱い等につきましては、今後改めて御相談させていただきたいと思っておりますのでよろしくお願いいたします。以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。提出いただいた確認書について相違等ございませんでしょうか。

それでは、議題 1 の審議に移らせていただきたいと思います。まず、GLU-No.5 株を利用して生産された L-グルタミン酸ナトリウムに関してでありまして、これも事務局から御説明をお願いいたします。

○北村課長補佐 それでは、GLU-No.5 株を利用して生産された L-グルタミン酸ナトリウムについて御説明いたします。お手元に水色の薄い紙ファイルをお願いいたします。

資料本文というタグがございます、目次の次が 1 ページになっております。L-グルタミン酸ナトリウムの食品添加物の概要となっておりますので、こちらから御説明いたします。

1-1、グルタミン酸ナトリウムについてでございます。L-グルタミン酸ナトリウムは食品添加物公定書に記載されました指定添加物でございます。下記のような化学構造、分子式、分子量、含量等を有しまして、確認試験、純度試験により物理化学的性質を確認できるということです。

2 ページが用途になっておりまして、昆布のうま味成分であり調味料として広く使用されております。

3 ページにまいりまして、製造方法の概要となっております。No.5 株は、No.2 株をもとに改変してつくった No.4 株をさらに改変した菌株となっております。下にフロー図がございまして、No.19 株から GLU-No.2 株を作製しまして、それを基に GLU-No.4 株を作製しまして、更に GLU-No.5 株を作製したということになっております。3 ページは No.2 株の作製方法になってございまして、これは以前提出されたものと同じでございます。

4 ページの下のほうが No.4 株の作製方法になってございまして、これも No.4 株の資料で提出されたものと同じでございます。

5 ページからが No.4 株をもとにつくった No.5 株の作製方法になっております。親株は No.4 株でございます。

(2) がベクターでございまして、6 ページにまいりまして、●●●及び●●●を使用しているということですが、最終的にこれらのベクターは除去されてございます。

(3) の挿入遺伝子ですけれども、●●●遺伝子、●●●遺伝子●●●と●●●遺伝子を挿入してございます。●●●遺伝子は●●●を有する遺伝子ということで、●●●。

プロモーター、ターミネーター等につきましては、*C. glutamicum* 由来の DNA 及び合成 DNA の小断片からなるものでございます。

(5) の GLU-No.5 株になりますけれども、●●●遺伝子を導入して●●●しております。またさらに、●●●遺伝子を導入しまして●●●するとともに、●●●遺伝子に●●●を導入するというので No.5 株が構築されてございます。また、抗生物質耐性マーカーは有しません。

7 ページが No.2 株の構築についてということで、8 ページが No.4 株、9 ページが No.5 株の構築について概要が示されてございます。

10 ページにまいりまして、製造方法になります。図 2 にフロー図がございまして●●●発酵副生物と生産菌を系外に除去●●●精製晶析分離●●●晶析分離をすることで、高度に精製されたグルタミン酸ナトリウムを得られるということになってございます。

11 ページになりまして、申請品目と現行製品の品質の比較になっております。(1) が食品添加物公定書の比較分析結果になっております。

12 ページにまいりまして、不純物プロファイルの比較でございまして。三つの分析方法、アミノ酸自動分析、HPLC 法 2 モードによりまして不純物プロファイルの比較を実施してございます。1 が、アミノ酸自動分析計による分析になってございまして、その結果が表に示されてございますけれども、新規の不純物は発見されなかったということ、また検出された既存不純物の量は現行製品を下回っているということでございます。

(2) が、HPLC-1 法でございましてけれども、この方法は親水性の不純物を検出することを目的としてございます。

13 ページに結果の表がございまして、新規の不純物は検出されてございません。また、検出された既存の不純物の量は現行製品の最大不純物量を超えるものではないということ

です。

3 番が HPLC-2 法でございまして、疎水性の不純物を検出することを目的としてございます。結果については下に表がございまして、14 ページにまいりまして、新規の不純物は検出されてございません。また、検出された既存の不純物については、先ほどと同様に不純物の最大量を超えるものではないということです。

(3) で残存タンパク質でございまして、膜濃縮ブラッドフォード法により分析をしております。検出限界 1 ppm で、検出限界未満という結果になっております。

説明は以上でございます。よろしく申し上げます。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、ただいまの申請書につきまして項目ごとに先生方から御意見をいただきたいと思っております。まず、最初の 1 ページから 10 ページで食品添加物としての概要、それから製造方法の概要まで、これに関しまして御意見、コメントありましたらよろしく申し上げます。

○児玉専門委員 6 ページのところに GLU-No.5 株の作成方法が書いてあるのですが、今回●●●ということで行っているのですが、その詳細が添付資料 1 の 5 ページの (4) の菌株誘導過程についてと書いてあるのですが、添付資料のその場所を見ても、添付資料 1 のほうの 6 ページのところにその場所があるのですが、製造、遺伝子の導入方法は●●●によるもので、方法としては 9 ページと 8 ページの図を見てくださいというふうになっているのですが、それを見る●●●書いてありますので●●●になってないと思うのですが、そこがちょっと本文で書かれていることと図と合わないの、そこを説明してほしい。

○澤田座長 この方法の図には●●●がないようです。

○児玉専門委員 絵的には●●●になってないですね。●●●ちょっとこの絵では説明できないのではないかなと。

○澤田座長 それは追加で説明していただいたほうがよろしいかと思っておりますけれども。

ほかにコメントは。

○北村課長補佐 すみません、事務局です。そうしたら図を追加していただくという形。

○児玉専門委員 そうですね、●●●になるような図にしてほしい。

○北村課長補佐 わかりました。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

それでは、その続きの 11 ページから 14 ページにわたりまして、申請品目と現行製品の比較のところコメント、御意見、ありましたらお願いしたいと思います。

○澁谷専門委員 これ高度精製ですね。これのときは今までは一応最終製品に生菌の残存がないというのをちょっと入れてなかったでしたっけ、菌の確認、出てこないとか、菌体は入ってないとかいう。

○澤田座長 菌体はもうないのが当たり前のような。

○澁谷専門委員 当たり前なのですけれども、だから確認していただいてそれを一言入れていたような気もするのですが。

○澤田座長 タンパクレベルを一応見てますので。

○澁谷専門委員 でしたかね。何かコロニーが出ないとかやってませんでしたか。この方法だと多分入ってこないでしょうけれども。ちょっと確認をしていただいて、やってなくて通ってればいいのですけれども、

○澤田座長 入っては来ないとは思いますが。それで従来も、それは気にしなかったのが現状かなと思います。従来通りでよろしいでしょうか。

○澁谷専門委員 入ってなければ。

○澤田座長 ほかに。

それでは 1 点だけ。●●●ところだけ補足で説明いただきたいと思いますが、それ以外は問題がないようでありますので、それは後で追加で資料をいただいて、児玉先生と私で確認していきたいと思えます。

それでは、本件につきましては、特に安全性の問題が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のほうに移りたいと思えます。事務局から御説明をお願いします。

○北村課長補佐 資料 1 の 1 ページで右上に①と書いてございます、GLU-No.5 株を利用して生産された L-グルタミン酸ナトリウムのところをお願いいたします。

4 ページをごらんいただきたいのですけれども、1 番としまして、評価対象添加物の概要の記載をしております。名称、用途、申請者、開発者につきましては記載のとおりです。31 行目からですが、本添加物は、L-グルタミン酸の生産性を高めるため *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 株由来の突然変異株を宿主として、L-グルタミン酸の生合成に関与する遺伝子の導入、L-グルタミン酸の生合成に関与する遺伝子のプロモーターの改変、L-グルタミン酸前駆体の代謝に関する遺伝子に欠失変異の導入及びグルタミン酸の生合成に関与する遺伝子の欠失変異の導入を行った GLU-No.5 株を利用して生産された L-グルタミン酸ナトリウムである。L-グルタミン酸ナトリウムは食品添加物として指定され、成分規格が食品添加物公定書に記載されている。なお、GLU-No.5 株は、平成 23 年に食品健康影響評価を終了した GLU-No.4 株を基に作成されたものである。

40 行目ですが、宿主である *C. glutamicum* は、国立感染症研究所病原体等安全管理規程におけるバイオセーフティーレベル 1 に分類されている。また、GLU-No.5 株は抗生物質耐性マーカーを有さないとしております。

44 行目から食品健康影響評価になっておりまして、1 番に使用微生物及び発酵副生成物が除去されていること、晶析により結晶として高度に生成されていること、食品添加物公定書の含量規格を満たしていることを記載しております。

49 行目から 2 番ですが、本添加物の非有効成分については、最終製品において、(1) タンパク質は検出限界未満である。食品添加物公定書の成分規格を満たしている。3 番、

分析の結果、従来品に存在しない不純物は検出されず、従来品に存在する不純物の実測値は従来品の含有量の実測値の最大値を上回っていなかった。以上 1 から 3 の結果から、従来品と比較して既存の非有効成分の含有量が安全上問題になる程度に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。

3、以上、1 及び 2 の結果から本添加物については、安全性評価基準の附則「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」に基づき、安全性が確認されたと判断した。

したがって、本添加物については本則による評価は必要ないと判断したとしております。
○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、評価書案につきまして、御意見、コメントござい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ければと思います。

○鎌田専門委員 35 行目、L-グルタミン酸の生合成に関与する遺伝子の欠失変異の導入、一応それもあるのですが、多分 No.4 株つくるときに代謝のほう●●●を欠失入れて効率上げているので、多分生合成の話は前に、生合成遺伝子入れる話があって、ここにまた多分代謝ではなくて生合成の欠失と書かれると、読むほうとしては何か生合成を高めてまた低めるといふふうにも見えるので、代謝のほうをきちっと書いておいたほうが意味があると思うので。L-グルタミン酸の生合成に関与するではなくて、代謝に関与する遺伝子の欠失変異の導入を行ったというほうが話としてはきっちりわかりやすくなるかなと思うので、確認してください。

○澤田座長 おっしゃるとおりかと思しますので、確認をしてください。

ほかによろしいでしょうか。

それでは、先ほどいただきました申請書への追加の情報以外につきましては問題ないということで、この評価書案自身も一点だけ直して問題ないということでもあります。それでは、先ほどの説明の追加や修正のあとで確認して、食品安全委員会に報告して、パブリックコメント等の手続きに入りたいと思います。

それでは次に、除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ MON87427 系統に移りたいと思います。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、お手元に緑色のファイルをお願いいたします。除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ MON87427 系統の資料となっております。

少しめくっていただきまして、下にページの 1 とあるところをお願いいたします。まず、32 行目ぐらいですが、宿主及び導入 DNA に関する事項の記載がございます。宿主の種名につきましては、2 ページにまいりまして、宿主はデント種のトウモロコシでございます。

(2) で DNA の供与体でございますけれども、改変 *cp4 epsps* 遺伝子は *Agrobacterium* sp. CP4 株に由来いたします。

(3) ですけれども、5 エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素、これは改変 CP4 EPSPS タンパク質でございますけれども、を発現することによりまして除草剤グリホサートに対する耐性が付与されております。本系統は、導入用プラスミドをアグロバクテリウム法によって宿主に導入することにより作出されてございます。

2 番の宿主の食経験に関する事項につきましては記載のとおりとなっております。

3 ページで、3 番、宿主由来の食品の構成成分等に関する事項になりますけれども、(1) 可食成分の主要栄養素等の種類及びその概要につきましては、4 ページ、5 ページの表 1 のとおりになります。

6 ページにまいりまして、毒性物質、栄養阻害物質等に関しましても先ほどの 5 ページの表 1 に記載されてございます。

4 番の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になりますけれども、(1) 収穫時期と貯蔵方法、(2) の摂取部位、(3) の摂取量、(4) の調理及び加工方法につきましては、従来のトウモロコシと相違はございません。

6 ページの一番下の行ですが、5 番ですけれども、宿主以外のものは比較対象としてございません。

7 ページにまいりまして、6 の安全性評価において検討が必要とされる相違点につきましては、本系統では改変 CP4 EPSPS タンパク質が組織特異的に発現しまして、花粉の形成に重要な雄性生殖組織は除草剤グリホサートに対する耐性を有しておりません。このことから、ハイブリッド種子を効率的に生産することが可能となるということです。この点を除けば、既存種との間に相違は認められないということでございます。

以上より、比較対象となります既存の宿主があるということで、次項以降では基準に基づいて各項目について記載されてございます。

8 ページにまいりまして、第 2 の組換え体の利用方法等に関する事項になります。本系統はプロモーターとイントロンの組合せ、*e35S* と *hsp70* ですが、を利用することによりまして、栄養組織及び雌性生殖組織におきまして改変 CP4 EPSPS タンパク質が発現してございます。その組織には除草剤グリホサートに対する耐性が付与されております。しかしながら、このプロモーターとイントロンの組合せで後に花粉粒となります花粉小胞子及び花粉へ養分を供給するタペート細胞の 2 つの雄性生殖組織におきまして、改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現させないか、させても微量であるということで、この雄性配偶体の発生に重要な雄性生殖組織におきましてグリホサート耐性を有しないということになります。

9 ページに図 1 がございまして、その効率的なハイブリッド種子の採取方法ということで記載がございまして、グリホサートを散布することによりまして花粉が不稔になりますので自家受粉ができなくなりまして、別の雄親との交配ができるということで、ハ

イブリット種子が効率的にできるということになります。

10 ページにまいりまして、第 3 の宿主に関する事項でございます。分類学上の位置付け、遺伝的先祖及び育種開発の経緯、有害生理活性物質の生産に関する事項が記載されてございます。有害生理活性物質の生産につきましては、栄養阻害物質としてフィチン酸、ラフィノースが挙げられてございます。

4 番のアレルギー誘発性でございますが、アレルギーの報告例は少なく、これまで数件が報告されているということです。11 ページにまいりまして、最近になりまして LTP がトウモロコシの主なアレルゲンであると示唆する報告があると記載されてございます。

5 番の病原性の外来因子に汚染されていないことに関する事項でございますけれども、病害に関します病原体の記載がございましてけれども、これら病原菌のヒトへの病原性は知られていないということでございます。

6 番の安全な摂取に関する事項につきましては、デント種の主な利用は飼料ですが、食品分野においても幅広く使用されているということです。

12 ページにまいりまして、15 行目の近縁の植物種に関する事項ですが、近縁種としまして *Tripsacum* 属と *Zea* 属に分類されるテオシントがあるということですが、トウモロコシと自然交雑可能なのはテオシントのみであるということです。しかし、これまでにテオシント及び *Tripsacum* 属に関して安全性に懸念があるとの報告はないということです。

13 ページにまいりまして、ベクターに関する事項になります。ベクターB は導入プラスミドの中間プラスミドであるということで、ベクターB の構成要素の由来及び機能は 15 ページに記載のとおりです。

性質でございますけれども、ベクターB の塩基数、構成要素、塩基配列につきましては明らかになっております。切断地図が 14 ページの図 2 に示されております。既知の有害なタンパク質を産生する塩基配列は含まれておりません。薬剤耐性遺伝子につきましては、 β -ラクタマーゼをコードし、アンピシリン耐性を付与する *blaTEM* 遺伝子が含まれておりまして、選択マーカーとして用いられております。伝達性につきましてはないということです。

14 ページがベクターB の制限酵素地図、15 ページがベクターB の構成要素等になります。16 ページがその続きです。

17 ページが第 5 になりまして、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になります。1 番が挿入 DNA の供与体に関する事項になりまして、改変 *cp4 epsps* 遺伝子は *Agrobacterium* sp. CP4 株に由来いたします。この株は土壤中に一般的に存在する微生物類の一つでありまして、ヒトや家畜に対する病原性を示す報告はございません。

2 番の事項でございますけれども、(1) 挿入遺伝子のクローニングもしくは合成方法に関する事項ですけれども、改変 *cp4 epsps* 遺伝子は *Agrobacterium* sp. CP4 株のコスミドライブラリーからクローニングされたものでございます。この遺伝子は植物中での発

現を最適化するために塩基配列の改変が加えられております。この系統に導入されました改変 *cp4 epsps* 遺伝子から発現します改変 CP4 EPSPS タンパク質につきましては、野生株のアミノ酸配列と比較しまして、N 末端配列から 2 番目のセリンがロイシンに改変されてございます。

こちらに記載はないのですが、この改変 CP4 EPSPS タンパク質につきましては、以前審議をしていただきましたグリホサート耐性ダイズ MON89788 系統等で発現するものと同じものでございます。

(2) にまいりまして、導入用プラスミドの T-DNA 領域の長さは明らかになってございます。

18 ページにまいりまして、全塩基配列も明らかになっておりまして、制限酵素切断部位につきましては 24 ページの図 4 に示されてございます。

(3) の挿入遺伝子の機能に関する事項でございますけれども、改変 *cp4 epsps* 遺伝子は改変 CP4 EPSPS タンパク質をコードしております。この改変 CP4 EPSPS タンパク質は除草剤グリホサートに対する親和性は低くなっておりまして、除草剤グリホサート存在下におきましても、このタンパク質が除草剤グリホサートと結合しないことから芳香族アミノ酸を生産し続けることはできるということです。

2 パラ目にまいりまして、本系統には *e35S* プロモーターと *hsp70* イントロンの組合せが導入されておりまして、*e35S* プロモーターはトウモロコシの花粉粒となります花粉小胞子及び花粉へ養分を供給するタペート細胞などの雄性生殖組織での発現活性がわずかですが、栄養組織及び雌性組織での発現活性は高いということです。

また、*hsp70* イントロンは目的遺伝子の発現箇所での発現活性を高めるということです。

このプロモーターとイントロンの組合せによりまして、雄性生殖組織では改変 CP4 EPSPS タンパク質が発現しないか、発現しても微量であるというのに対しまして、栄養組織、雌性生殖組織では改変 CP4 EPSPS タンパク質が発現しております。そのため、雄性生殖組織ではグリホサートに耐性はありませんけれども、葉、茎、根の組織、穀粒などにおきましてはグリホサートに対する耐性があるということです。そのため、雄穂形成の直前、雄穂形成期に除草剤グリホサートを散布することによりまして、この系統が雄性不稔となるということでございます。

19 ページですが、このタンパク質の既知の毒素との相同性を調べるために、TOX_2010 データベースを用いまして相同性の検索を行っております。その結果、既知の毒性及びその他ヒトに有害なタンパク質と構造的に類似性のある配列は共有していなかったということでございます。

3 が、この前駆タンパク質の推定アミノ酸配列になっております。

20 ページにまいりまして、抗生物質耐性マーカー遺伝子でございますけれども、この導入用プラスミドにはトランスポゾン Tn7 由来の *aadA* 遺伝子が T-DNA 領域に存在してございます。しかしながら、本系統中にはこの遺伝子が導入されていないことがサ

ザンプロット分析で確認されてございます。

3 番の挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現に関する事項でございますけれども、導入プラスミドの DNA の由来及び機能につきましては、25 ページの表 3 にすべて記載がされてございます。

プロモーターに関する事項ですけれども、*e35S* プロモーターはカリフラワーモザイクウイルスのプロモーターを基に作成されましたプロモーターでございます、花粉での活性がわずかであるということです。このプロモーターは *CaMV35S* プロモーターの活性を高める機能を有するドメインをタンデムで二つ有しているということで、転写活性が高められております。

花粉及びタペト細胞での活性が低いということが確認されておりました、また *hsp70* イントロンについてはこのプロモーターの発現様式を変化させることなく栄養組織及び雄性組織における改変 *CP4 EPSPS* タンパク質の発現を高めております。ターミネーターにつきましては、ノパリン合成酵素遺伝子の 3' 末端非翻訳領域でございます。

(3) のその他の項目でございますけれども、*hsp70* イントロンと *CTP2* 標的配列を含んでおります。*CTP2* 標的配列はシロイヌナズナの *EPSPS* をコードする *ShkG* 遺伝子に由来するものでございます。

4 番のベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項になりますけれども、導入プラスミドはベクターA から F で構成されます合成ベクターでございます。まず、*e35S* プロモーターを含みますベクターB をベクターA、これは *hsp70*、*CTP2*、改変 *cp4 epsps* を含みますが、こちらに挿入しましてベクターE を構築してございます。また、別途改変 *cp4 epsps* を含むベクターD を、*CTP2* を含むベクターC に挿入しましてベクターF を構築しております。その後、ベクターE をベクターF と結合させることによりまして、導入プラスミドが構築されてございます。この導入用プラスミドに入っております改変 *cp4 epsps*、*CTP2* はベクターF から由来しているものでございます。

発現ベクターに関する事項になりますけれども、(1) ですが、導入用プラスミドの塩基数、塩基配列、22 ページにまいりまして切断地図については明らかになってございます。

22 ページの (2) のオープンリーディングフレームですけれども、プラスミド、この本系統に導入されました領域に既知のアレルゲン、毒性タンパク質及びその他関連する生理活性のあるタンパク質と相同性を持つ目的以外のオープンリーディングフレームが存在しないことが確認されてございます。

意図する領域でございますが、左側境界領域から時計回りに右側境界領域まででございます。

純化につきましては、抗生物質耐性マーカーによる選抜、塩基配列の解析によりまして、目的外の遺伝子の混入が無いことを確認しております。

6 番の宿主への導入方法でございますけれども、まず従来トウモロコシ品種にアグロバ

クテリウム法によりまして導入用プラスミドを導入してございまして、グリホサートにより選抜をして、選抜された細胞から植物体を再分化させまして、目的とする表現型を示す個体を選抜してございまして、得られました再分化個体について戻し交配を繰り返しまして、またさらに自殖を行いましてホモ個体を作成して、ホモ個体の中から形態特性及び導入遺伝子の解析の結果に基づきまして、最終的な商品化系統を選抜してございまして、

27 ページの図 5 にそのフローが載ってございまして、

また、育成図については 28 ページに記載がございまして、今回食品としての安全性評価を依頼する世代は、28 ページ図 6 の点線から下の部分になってございまして、LH198BC3F4 世代及び LH198BC3F4 世代から派生するすべての後代交配種であるとされてございまして、

24 ページが導入プラスミドのプラスミドマップ、25 ページが構成要素の由来及び機能とになってございまして、

29 ページにまいりまして、組換え体に関する事項でございまして、表 4 は解析に用いた世代の一覧になってございまして、

30 ページにまいりまして、遺伝子挿入に関する事項になります。(1) のところでコピー数及び挿入近傍配列に関する事項の概要が記載されてございまして、サザンブロット分析によりまして挿入箇所、コピー数、外骨格配列の有無を確認してございまして、また挿入遺伝子近傍配列の塩基配列の解析が行われてございまして、さらに、導入用プラスミド、非組換えトウモロコシとの塩基配列の比較が行われございまして、トウモロコシの内在性の既知の遺伝子を破壊しているかどうかを確認されてございまして、

31 ページの表 5 に解析結果の要約が載ってございまして、

32 ページが解析に用いましたプローブの図と位置になってございまして、

33 ページが遺伝子の地図及び塩基配列の模式図、制限酵素、切断部位の模式図になってございまして、

34 ページが、サザンブロット分析におきまして予想されるバンドサイズの一覧表になってございまして、制限酵素 2 種類 *Nco* I、*Nsi* I を用いて分析を行ってございまして、

35 ページからが詳細になってございまして、まず挿入箇所及びコピー数の確認になってございまして、

37 ページがプローブ 1 と 4 を用いたサザンブロット分析になってございまして、38 ページにその結果が記載されてございまして、

39 ページが、プローブ 2 を用いた解析になりまして、図 10 にその結果が記載されてございまして、

41 ページがプローブ 3 になりまして、42 ページの図 1 でサザンブロットの結果が載ってございまして、

43 ページは外骨格領域の有無でございまして、プローブ 5、6、7 を用いてましてサザンブロット分析が行われてございまして、

結果が 44 ページにありますけれども、外骨格領域が存在しないことが確認されています。

45 ページが、挿入遺伝子及び近傍配列の構成及び塩基配列の確認になってございまして、挿入遺伝子は導入用プラスミドの 191 番目の塩基から、3,871 番目の塩基までの 3,681 bp であることが確認されています。

46 ページが PCR 分析の図と予想される各増幅産物のサイズが示されています。

47 ページになりまして、近傍配列がトウモロコシゲノムであることの証明になりまして、PCR 分析及び塩基配列解析を行いまして、本系統の導入遺伝子の挿入部位を対照の非組換えトウモロコシの配列と比較しまして解析を行ってございます。その結果、本系統の導入遺伝子の挿入部位におきまして、トウモロコシゲノム内在性配列に 140 bp の欠損があったということ、また 5' 及び 3' 末端とトウモロコシゲノム内在性配列の間にそれぞれ 41 bp と 24 bp の付加配列が確認されたということです。これを除きまして一致したということということでございます。

48 ページが PCR 分析の図になります。

49 ページが内在性遺伝子に対する影響になりまして、形質転換時に挿入遺伝子の 5' 末端に付加されました配列の上流 962 bp、欠損しましたトウモロコシ内在配列の 140 bp、及び 3' 末端近傍配列に付加されました配列の下流 1,068 bp の合計 2,170 bp をクエリー配列としまして、BLASTn、BLASTx 検索を行ってございます。データベースは EST_2011、NT_2011 で相同性検索を行っておりまして、BLASTx 検索は 6 フレームでアミノ酸に翻訳をしまして、NR_2011 に登録されている既知のタンパク質とアミノ酸配列との相同性検索を行ってございます。

3 パラ目はその結果になりまして、EST_2011 を用いて行いました BLASTn 検索の結果、*E*-score が 1×10^{-6} 以下の配列が 395 個確認されています。そのうち、95%以上の相同性を示す配列が 38 個あったということですが、長さが短いということでクエリー配列と部分的に一致したと考えたということです。

さらに、この 38 個の配列は本系統の挿入遺伝子挿入部位及び欠損したトウモロコシの内在配列とは相同性は示さなかったということです。

25 行目になりますが、NT_2011 を用いて行った BLASTn 検索の結果、*E*-score が 1×10^{-6} 未満の配列が 149 個確認されたということです。95%以上の相同性を示す配列が 8 個あったということで、これも先ほどと同様に長さが短いということと、導入部位と欠損部位との相同性はなかったという説明がされています。

50 ページにまいりまして、NR_2011 を用いて行った BLASTx 検索の結果、*E* スコアが 1×10^{-8} 以下である機能及び名称が不明なタンパク質の配列が一つ確認されたということです。このたんぱく質のアミノ酸配列を検討しました結果、クエリー配列と比較しまして、2 個のアミノ酸が欠失しているということが認められてございます。この配列と推定タンパク質が相同を示す部分は、一つの停止コドンによって分断されていることが明らか

になっておりまして、この配列は機能的なタンパク質のアミノ酸配列あるいはそのアミノ酸の配列の一部ではないと考えられるという説明がされてございます。

50 ページの 32 行目あたりの (2) のオープンリーディングフレームに関する事項になりますけれども、挿入遺伝子と 5´ 及び 3´ 末端近傍配列の両境界領域におきまして、既知のアレルゲン、毒素または生理活性のあるタンパク質との相同性のある新規 ORF が形成されていないか確認するために、導入遺伝子 3,681 bp とその 5´ 末端境界配列 1,003 bp、付加されました 41 bp を含みます、及び 3´ 末端境界配列 1,092 bp、付加された 24 bp を含みます、の合計 5,776 bp の配列におきまして、ストップコドンからストップコドンまでの配列を 6 フレームについて検索しまして、その配列の中からトウモロコシ内在性配列から本系統の導入遺伝子または両末端付加配列にかけて存在し、かつ 8 アミノ酸以上の配列を検索してございます。その結果、ORF が 14 個確認されたということでございます。

また、抗原決定基を示す可能性のある配列が含まれているかどうかを確認するため、8 個の連続アミノ酸による相同性検索も行っております。その結果、15 行目になりますけれども、既知のアレルゲン、毒素及び生理活性のあるタンパク質との構造相同性は認められなかった。また、連続する 8 アミノ酸との相同性検索でも既知のアレルゲンとの相同性は認められなかったということでございます。

一番下のパラグラフにつきましては、導入遺伝子の部分について確認した結果になってございます。

52 ページにまいりまして、発現部位、発現時期、発現量に関する事項になります。本系統におけます改変 CP4 EPSPS タンパク質の発現量を ELISA 分析によりまして測定されてございます。53 ページの表 7 にその結果が記載されてございます。

19 行目になりますけれども、花粉における本タンパク質の発現量は検出限界値未満であるか、定量限界値をわずかに超える程度の非常に低い発現量であったということになります。表 7 の花粉のところをご覧くださいいただければと思います。

54 ページにまいりまして、3 番の一日タンパク質摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項になりますけれども、日本人一人一日当たりのトウモロコシ加工品の摂取量 0.5 g をすべて本系統から摂取したと仮定しますと、本タンパク質の摂取量は 1.8 μ g となりまして、この値は日本人の一人一日当たりのタンパク質摂取量の 2.6×10^{-6} % ということになりまして、このタンパク質が一日タンパク質摂取量の有意な量を占めるとは考えられないということでございます。

4 番からアレルギー誘発性に関する事項になってございます。*Agrobacterium* sp. CP4 のアレルギー誘発性の報告はございません。また、CP4 EPSPS タンパク質がアレルギー誘発性を持つという報告はこれまでもございません。

(3) から物理化学的処理に関する感受性に関する事項の記載がございまして。

55 ページにまいりまして、以下の①、②、人工胃液と腸液の試験になりますけれども、

これは以前のグリホサート耐性ダイズ MON89788 で提出されたものと同じということになります。

④が人工胃液による処理になりますけれども、**SDS-PAGE** の分析の結果、15 秒以内に 98%が消化されるということです。ウェスタンブロット分析の結果につきましても同様で、15 秒以内に 95%以上が消化されるということが確認されてございます。

56 ページが **SDS-PAGE** の図、57 ページがウェスタンブロットの図になっております。

58 ページから腸液による処理になりまして、試験開始後 100 分以降に改変 CP4 EPSPS タンパク質が検出されることはございませんでした。

59 ページがウェスタンブロット分析の結果になっております。

60 ページは加熱処理になりまして、これは今回実地されたものでございます。**ELISA** 分析の結果、75℃、15 分間で検出限界以下になっております。75℃、30 分間でも検出限界以下になっておりまして、加熱処理によって検出限界以下になることが確認されてございまして、改変 CP4 EPSPS タンパク質は加熱処理により免疫反応性を失うことが確認されたという記載になってございます。

61 ページが結果の表になってございます。

62 ページが、アレルゲンとの構造相同性の事項になります。本タンパク質と既知のアレルゲンとの相同性を確認するために相同性検索を行ってございまして、80 アミノ酸、35%以上の相同性を基準としました **FASTA** 型のアルゴリズムによって別途検索を行ってございます。データベースは **AD_2010** を用いております。その結果、80 アミノ酸、35%以上の相同性を有しているものはないことが確認されてございます。また、抗原決定基につきましては連続する 8 アミノ酸の一致は認められなかったということでございます。

62 ページが挿入された遺伝子の安定性に関する事項で、5 世代につきましてサザンブロット分析が行われてございます。

図 18 にその結果が示されてございます。

65 ページにまいりまして、改変 CP4 EPSPS タンパク質発現の世代間の安定性になっております。葉、**LH198BC3F3** 世代から収穫された葉と、**LH198BC3F4**、**BC3F6**、**BC3F7** 及び **F1** 世代と対照のものから収穫されました穀粒についてウェスタンブロット分析を行っております。5 世代について改変 CP4 EPSPS タンパク質の発現が認められたということでございます。

66 ページがその図になってございまして、レーン 4 は葉の結果になっておりまして、葉では発現量が高いということから、濃いバンドになっているという説明がございまして、

67 ページが遺伝様式についてになります。28 ページの図 6 の C と書いてありますところが後代分離比の分析に供した世代になります。この三つの世代につきましてグリホサートを散布しまして、CP4 EPSPS タンパク質の有無を調べたということになっておりまして、結果が図 10 に示されておりますとおりでございまして、実測値と期待値の間で統計

学的な有意差は認められなかったということでございます。

このことから、この発現カセットは本系統のゲノムの 1 カ所に存在し、かつメンデルの法則に従って後代に遺伝していると考えられたということになってございます。

68 ページが代謝経路の影響に関する事項でございます。EPSPS は植物、微生物に特有の芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素の一つでございます。EPSPS につきましては、この経路の律速酵素ではないことが示唆されておりまして、EPSPS 活性が増大してもこの経路の最終産物であります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ございます。

また、EPAPS はホスホエノールピルビン酸とシキミ酸-3-リン酸塩から EPSP と無機リン酸とを生じる化学反応を反応する酵素でございまして、この基質と特異的に反応することが知られてございます。

以上のことから、このタンパク質の発現によりまして植物の代謝経路に何らかの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になってございます。

69 ページが宿主との差異になりまして、構成成分の比較をしてございます。本系統につきましては、2 葉期から 4 葉期にかけてグリホサートの処理を行ったものだというところでございます。

70 ページが分析を行った項目になります。地上部で 9 項目、穀粒で 53 項目でございます。

71 ページがその結果になりまして、地上部では有意差はなかったということです。穀粒につきましては、有意差があったものもございませうけれども、いずれも同じ圃場で栽培されました従来の商業品種の分析値から計算されました許容区間内におさまっていたということです。

有害生理活性物質につきましても、ラフィノースでは有意差がありませんでした。フィチン酸では有意差がありましたけれども、許容区間内におさまっていたということです。二次代謝産物につきましては有意差がなかったという結果になってございます。

71 ページから結論が記載されてございます。

73 ページが成分分析の結果になりまして、85 ページまで分析結果が表で示されてございます。

86 ページになりまして、諸外国における許可、食用等に関する事項になっております。米国、カナダ、オーストラリア、ニュージーランドにおいて申請がなされております。

9 番の栽培方法に関する事項では、除草剤グリホサートを使用できることを除きまして、栽培方法は従来のトウモロコシと同じでございます。

種子の製法及び管理方法につきましても、従来のトウモロコシと同様であります。

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、ただいまの申請書につきまして、項目ごとに先生方から御意見、コメントを

いただきたいと思います。まず、1 ページから 16 ページで、第 1 から第 4、ベクターに関する事項まで、この範囲に関しまして御意見、コメントありましたらお願いしたいと思います。

○中島専門委員 少々細かいことなのですが、13 ページの 23 行目あたりから、ベクター B の構築に用いられたすべての中間プラスミド、非病原性の *Escherichia coli* 及び *Rhizobium radiobacter* に由来するものでありと書いてあるのですが、15 ページのこのベクター B の各構成要素を見てみると、P-*e35S*、これはカリフラワーモザイクウイルス由来ですし、それから I-*hsp70*、こいつは *Z. mays* 由来なので、大腸菌と *Rhizobium* 由来という記述とは矛盾しますので、矛盾しないように書き直していただきたいなということですね。

○澤田座長 具体的には、骨格が。

○中島専門委員 このベクター B の構築に用いられたというベクター B 全体のというふうに読めてしまいます。このベクター B の骨格にというのであれば問題ありません。これ自体が変というわけではないので、ちょっと書き直していただければ。

○澤田座長 詳しく由来を書くか、骨格にさせていただくか、どちらか。

○中島専門委員 そういうふうにしていただくかということです。

○澤田座長 わかりました。

ほかに。

○鎌田専門委員 これは細かいところではなくて、今回はこの系統できているけれども、例えば 9 ページの図を見ると、もともとはこれ食品として流通するときには全部スタックとして種子が流通するという形に説明としてはなっていて、日本でやるときにはこれを承認した上で多分スタックとして別途出てこない限りちゃんとした形になっていないと思うのですが。これ今回、多分これ初めてのケースだと思うのですが、こういうものは。今回だからあくまで個別としてやって、スタックが出てくるのを待つということによろしいでしょうか。

○澤田座長 これが承認された場合は、これとの掛け合わせになるわけですか、実際に出てくるものは。

○鎌田専門委員 多分、生産用に市販する種子自身をつくる場所なので。

○澤田座長 そうですか。

○鎌田専門委員 流通するものは全部何しろスタックしか出てこないの、あと多分これとなのか、またほかのものとのスタックになっていくのかは全然わからないのですが。これ自身が多分食品として流通することは多分あり得ないという形のものとして我々認識して、そこだけを審査すればいいということによろしいでしょうか。

○澤田座長 いずれ掛け合わせでいろいろ出てくるということを念頭に置いてやればよろしいと思うのですけれども。昔もありましたね、雄性不稔。MS 何とか。

よろしいですか。

○北村課長補佐 8 ページにも説明があるのですがけれども、この品種はハイブリッド種子生産の場の雌親として利用するという説明になっております。

○鎌田専門委員 その上で、実はここではなくてずっと後ろのほうに出てきて、栄養成分等を分析するというのが後で出てくるわけですが、それのときにどういう処理をしているかという、これ雄性不稔を誘起する状況では成分分析していないのですね。それは売る種子、食品として流通するものは多分種子の生産期にはもうこれは散布しないからであるという説明になると思うのですが。そういう理解でよろしいということでしょうか。

○北村課長補佐 鎌田先生がおっしゃるとおりで、雄性不稔にするには 8 葉期～13 葉期にグリホサートをかけるという説明なのですが、69 ページの構成成分の分析では、2 葉期～4 葉期にかけたそうです。

○澤田座長 実際にはこれは出てこないのですがけれども、形式的には。組換え体がまた出てきたときは、そのときはまた成分分析をやる場合もあるということになるかと思えます。

ほかによろしいでしょうか。

○飯専門委員 私も今鎌田先生が指摘されたところは、今回の評価とはちょっと別かなと思っていたのですが、関係するのでちょっとお伺いしたいと思います。私も次から次に今度これとの掛け合わせ品種が審査対象としていろいろなパターンで出てくるのかなとは想定していますが、一方で、これは F1 の種子をとるための目的ではあっても、万が一食品のほうにコンタミしてしまった時のことを一応考えて、単独で評価をしておく必要があるという意図もあったかなと、ちょっと勝手な想像ですけれども。出すとすると、除草剤をかけるタイミングはこれでいいのかどうかというのは一応そういう意味での確認になるのかと。あと、今度はハイブリッドになったときにはどういう処理をして成分分析するのか。今回とは違うかなと思ったので別に指摘対象だとは考えてなかったです。ただ将来的にどうなるのかなということでは少し気にはなったところはありますね。

○澤田座長 ちょっと複雑なので、まだイメージがわからないのですが、これに農薬をかけない場合は普通に種子ができるのですね。

○飯専門委員 と思います。

○澤田座長 農薬を適当な時期にかけたときは種子できないのですか。

○鎌田専門委員 これ自身。

○澤田座長 ええ。

○鎌田専門委員 ただ、ほかから花粉が飛んできたものは。

○澤田座長 そうですね。そうすると、そういういろいろな状況を想定して、さらにデータを出してもらった必要があるかということなのだと思いますが、いかがでしょうか。

○飯専門委員 ちょっとその辺簡単に判断しかねるところがあって、どうしたらいいのかなというところでもあるのですが、頻度はめちゃくちゃ低いので、そんなに気にするレベルではないと思うのですが。

○鎌田専門委員 これ除草剤の認可とも多分かわっていて、収穫の何日前までしか使ってはいけないとかということにも多分かわっていることなので。ちょっとこの事例どのぐらい制限されているかわからないのですが。ひょっとするとそちらのほうで、花粉ができる時期にかけたものがひょっとするとだめなのかもしれないですし。

○澤田座長 グリホサートの農薬のかけ方というのはよくわからないのですけれども。それは調べていただいたほうがいいのかもかもしれません。

○澤田座長 それでは、この植物体自身が実際に食される可能性は余りないので、余り詳しく成分に関する要求を今回はしなくてもいいのではと思うのですけれども、それでよろしいでしょうか。

それでは、ほかによろしいでしょうか。

そうしましたら、続きまして第 5、申請書の 17 ページから 28 ページにかけましてコメント、御意見お願いしたいと思います。

○児玉専門委員 どこに入れるかはちょっと僕もよくわからないのですけれども、この改変 *cp4 epsps* は過去に使われている遺伝子ですので、例えば 18 ページ目の挿入遺伝子の機能に関する事項のところに入れるのがいいのかがちょっとわかりませんが、例えば 16 行目の後くらいに、過去の認可済の事例を入れておいたほうが親切というか、わかりやすいというか、読み手にとってはいいのではないかなと思います。例えば 55 ページのところには人工胃液、腸液のときには過去に認可済のものと同じであると書いてありますので、そういったのに準じたような記載をこの遺伝子の機能のところに入れておいたら、場所がここでいいかどうかちょっとわからないのですけれども、入れておいてもらったほうがいいなかというふうにはちょっと思います。

○澤田座長 それは適切などここにその情報を入れたほうがよろしいと思います。

○北村課長補佐 同じような指摘を別な案件でもされておりまして、その際には 17 ページの挿入遺伝子のクローニングのところに入れたらいいのではないかという話になっていたかと思しますので、確認の上そろえて記載をするようにしたいと思います。

○澤田座長 それでは、後でまた確認をして。

ほかよろしければ、続きまして、第 6 の組換え体に関する事項で、申請書の 29 から 54 ページの真ん中あたりまで、コメント、御意見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、続きまして、54 ページの後半から 87 ページ、最後にかけてコメント、御指摘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、この申請書につきまして、本件ですけれども、特段の安全性上の問題がないということですので、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ます。

○北村課長補佐 資料 1 の 7 ページが本食品の評価書の案になります。

めくっていただきまして、12 ページをお願いいたします。まず、評価対象食品の概要になりますけれども、名称、性質、申請者、開発者の記載をしてございます。

31 行目からで、除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ MON87427 系統は、*Agrobacterium* sp. CP4 株に由来する改変 *cp4 epsps* 遺伝子を導入して作出されており、改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現することで除草剤グリホサートの影響を受けずに成育できるとされている。本系統に導入された *e35S* プロモーターと *hsp70* イントロンの組合せは、改変 CP4 EPSPS タンパク質を組織特異的に発現させ、特定の雄性生殖組織では発現が抑えられている。そのため、雄性生殖組織は除草剤グリホサートに耐性を持たず、除草剤グリホサート散布条件下で雄性不稔の形質を有するとされている。

41 行目からが食品健康影響評価になります。第 1 の 1、宿主及び導入 DNA に関する事項。1、宿主の種名及び由来、(2) で DNA 供与体の種名及び由来、(3) で導入 DNA の性質及び導入方法を記載してございます。

2 番の宿主の食経験に関する事項につきましては記載のとおりです。

3 番、宿主由来の食品の構成成分等に関する事項になりまして、(1) に可食部分の主要栄養素等、(2) に毒性物質・栄養阻害物質の種類及びその概要を記載してございます。

4 番、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になりますけれども、収穫時期、貯蔵方法、(2) の摂取部位、(3) の摂取量、(4) の調理及び加工方法については、従来のトウモロコシ（デント種）と変わらないという記載にしております。

5 番で、93 行目、宿主以外のものは比較対象とはしてございません。

6 番で、安全性評価において検討が必要とされる相違点につきましては、本トウモロコシは改変 *cp4 epsps* 遺伝子の導入によって改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現することが宿主との相違点でございます。

以上、1 から 6 によりまして、本トウモロコシの安全性評価においては既存のトウモロコシとの比較は可能であると判断したという記載にしております。

102 行目から第 2 になりまして、本トウモロコシは導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子が改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現することによって、除草剤グリホサートの影響を受けずに成育できるとされている。また、導入された *e35S* プロモーターと *hsp70* イントロンの組合せは、特定の雄性生殖組織において改変 CP4 EPSPS タンパク質の発現を抑え、除草剤グリホサート散布条件下で雄性不稔となるとされているとしております。

第 3 が、宿主に関する事項になりまして、1 番、分類学上の位置づけ、2 番、遺伝的先祖、3 番の有害生理活性物質の生産、4 番アレルギー誘発性、5 番の病原性の外来因子、6 番の安全な摂取に関する事項、7 番の近縁の植物種に関する事項については従来のものと同様の記載をしてございます。

140 行目で、第 4 のベクターに関する事項です。1 番、名称及び由来に関する事項で、

本トウモロコシの作出に使用した導入用プラスミドの構築にはベクターBが用いられた。

2、性質に関する事項になりますけれども、(1)で、ベクターBの塩基数及び塩基配列は明らかになっている。(2)、ベクターBの制限酵素による切断地図は明らかになっている。(3)、ベクターBの塩基配列は明らかになっており、既知の有害塩基配列は含まれていない。(4)、ベクターBにはアンピシリンに対して耐性を有する *blaTEM* 遺伝子が含まれている。(5)、ベクターBには伝達を可能とする塩基配列は含まれていないとしております。

165行目から第5になりまして、挿入DNA、遺伝子産物並びに発現ベクターの構築に関する事項です。挿入DNAの供与体に関する事項になりますけれども、改変 *cp4 epsps* 遺伝子の供与体は *Agrobacterium* sp. CP4株であります。安全性に関する事項でございますけれども、供与体のCP4株はヒトに対して病原性を示すことは知られておりません。

2番で、挿入DNAまたは遺伝子及びその遺伝子産物の性質に関する事項になりますけれども、(1)で挿入遺伝子のクローニングまたは合成方法に関する事項です。改変 *cp4 epsps* 遺伝子は植物中の発現が最適となるように *Agrobacterium* sp. CP4株由来の *cp4 epsps* 遺伝子の塩基配列を改変することによって構築された遺伝子である。クローニングの過程でこの遺伝子がコードするアミノ酸配列と比較して2番目のセリンがロイシンに改変されております。

(2)ですが、塩基数及び塩基配列と制限酵素に関する切断地図に関する事項になりまして、これらは明らかになっております。

(3)挿入遺伝子の機能に関する事項でございますけれども、この遺伝子がコードする改変CP4 EPSPSタンパク質は、CP4 EPSPSタンパク質の改変タンパク質であります。CP4 EPSPSタンパク質はEPSPS活性を阻害する除草剤グリホサートの存在下でもEPSPS活性を示すことができる。

なお、本トウモロコシに導入された *e35S*プロモーターと *hsp70*イントロンの組合せによって特定の雄性生殖組織において改変CP4 EPSPSタンパク質の発現が抑えられております。このタンパク質と既知のタンパク質の構造相同性の有無を確認するため、毒性タンパク質データベースを用いてFASTA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しております。

抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項になりますけれども、導入用プラスミドにはエリスロマイシン、ストレプトマイシン及びスペクチノマイシン耐性を有する *aadA* 遺伝子を有しますが、本トウモロコシには導入され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しております。

3番の、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になりまして、プロモーターに関する事項では、*e35S*プロモーターの記載をしてしております。ターミネーターにつきましては、*Rhizobium radiobacter*のノパリン合成酵素遺伝子の3'非翻訳領域という記載をしてしております。

その他ですが、*hsp70* イントロンの挿入と改変 CP4 EPSPS タンパク質を細胞質から葉緑体へ移動させるために、*Arabidopsis thaliana* の 5-エノールピルビルシキミ酸合成酵素をコードする *ShkG* 遺伝子に由来する葉緑体輸送ペプチドをコードする *CTP2* 標的配列が挿入されているという記載をしております。

ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項になりますけれども、改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットの構成 DNA 及び *hsp70* イントロン配列を含むプラスミドにベクター B に含まれる *e35S* プロモーター配列を挿入後、改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *CTP2* 標的配列等を除去し、ベクター F 由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *CTP2* 標的配列を除去し、ベクター F 由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *CTP2* 標的配列を挿入することによって導入プラスミド PV-ZMAP1043 が作製されたとしております。

5 番が、構築された発現ベクターに関する事項になりまして、導入プラスミドの塩基数、塩基配列、制限酵素による切断地図が明らかになっております。

(2) のオープンリーディングフレームでございますけれども、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おりません。

(3) ですが、意図する領域につきましては、左側境界領域から右側境界領域までの T-DNA 領域としております。

(4) ですが、純化に関しましては、抗生物質耐性マーカーによる選抜及び塩基配列の解析を通じて純化されているという記載をしております。

表 1 に導入プラスミド PV-ZMAP1034 の T-DNA 領域の構成 DNA の由来及び機能を記載しております。

18 ページにまいりまして、6 番の宿主への導入方法につきましては、アグロバクテリウム法によって改変 *cp4 epsps* 遺伝子カセットを宿主ゲノムに挿入した後、グリホサートを添加した培地で選抜して再生個体が得られた。次に、優良トウモロコシ自殖系統との戻し交配及び自殖を行い、自殖により得られた個体について、定量 PCR 分析によってホモ接合体を選抜した後、一般的なトウモロコシの育成プロセスに従って、既存の品種との戻し交配及び自殖を行い、トウモロコシ MON872427 が得られたとしております。

第 6 が組換え体に関する事項になりまして、遺伝子導入に関する事項です。(1) がコピー数及び挿入近傍配列に関する事項になりまして、1 パラ目でサザンブロット分析の結果、改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットが 1 コピー挿入されたことが確認されたという記載をしております。

2 パラ目が外骨格領域が導入されていないことが確認されたということ。

3 パラ目が塩基配列の決定と、導入プラスミドの T-DNA 領域との比較によりまして、LB 領域の 190 bp の欠損、RB 領域の 321 bp の欠損を除いて塩基配列が一致することを記載しております。

次のパラが近傍配列が宿主ゲノム由来であることの確認になりますけれども、このトウモロコシの塩基配列に基づいて 5' 末端近傍配列及び 3' 末端近傍配列に対しまして挿入

DNA を挟むようにプライマーを設計して、PCR 分析を行っております。その結果、宿主である非組換えトウモロコシのみに特異的な PCR 産物が増幅されたこと。また、この PCR 産物の塩基配列を決定して、本トウモロコシの 5′ 末端近傍配列及び 3′ 末端近傍配列の塩基配列と比較した結果、DNA の挿入に伴う 140 bp の欠損、5′ 末端近傍配列の DNA の断片の挿入及び 3′ 末端近傍配列の DNA 断片の挿入を除き、挿入遺伝子の近傍配列と宿主ゲノムの塩基配列は一致したということから、挿入 DNA の近傍配列は宿主ゲノム由来であることが確認されたという記載をしております。

また、289 行目からになりますけれども、本ゲノムに 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、5′ 末端近傍配列、欠損した 140 bp 及び 3′ 末端の近傍配列について EST データベース、核酸配列データベース、アミノ酸配列データベースを用いまして、blastn 及び blastx 検索を行った結果、blastn 検索によって幾つかのトウモロコシ由来の配列と同一性が認められたが、これらの配列と欠失した 140 bp を含む DNA 挿入領域との同一性は示されなかった。また、blastx 検索において同一性を示すトウモロコシ由来のタンパク質は見いだされなかった。したがって、DNA の挿入によって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記載にしております。

図 1 が模式図になります。

(2) がオープンリーディングフレームに関する事項になりまして、挿入 DNA 領域と 5′ 末端、3′ 末端近傍の接合部において意図しない ORF が生じていないことを確認するために、六つの読み枠において ORF 検索を行った。その結果、停止コドンから停止コドンまでの連続する 8 アミノ酸以上の ORF が 14 個見いだされたこと。これと、既知の毒性タンパク質やアレルゲンタンパク質との同一性を確認するため、データベースを用いて FASTA 検索を行った結果、同一性を示すものは見いだされなかった。

さらに、抗原決定基の有無を確認するために、AD_2010 を用いて相同検索を行った結果、連続する 8 アミノ酸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記載にしております。

318 行目からの 2 番になりますけれども、発現部位、発現時期、発現量になります。結果について表 2 に記載をしております。

3 番のタンパク質が 1 日摂取量の有意な量を占めるか否かにつきましては、日本人一人のトウモロコシの摂取量を 0.5 g としまして、これをこのトウモロコシに置き換えてこのタンパク質の摂取量を計算したところ、1.8 μ g になり、一人当たりのタンパク質摂取量の 2.6×10^{-8} となりまして、有意な量を占めることはないと判断されたという記載にしております。

4 番のアレルギー誘発性に関しましては、供与体のアレルギー誘発性の報告はないこと、この改変 CP4 EPSPS タンパク質に関しても報告がないこと。

(3) になりまして、物理化学的処理に対する感受性になりますけれども、人工胃液に

つきましては SDS-PAGE とウェスタンブロット分析を行った結果、SDS-PAGE においては 15 秒以内に消化されることが確認されまして、ウェスタンブロット分析においても 15 秒以内に消化されることが確認されてございます。

②の人工腸液につきましては、試験開始後 10 分以内に 50%以上が消化され、100 分で完全に消化されたという記載にしてございます。

③の加熱処理のところでございますが、すみません、1 点修正をさせていただきます。申請書では 75℃の 15 分でも免疫反応性が失われることが確認されてございますので、363 行目の 75℃、30 分のところを 15 分間に修正したいと思います。

(4) の既知のアレルゲンとの構造相同性に関する事項になりますけれども、AD_2010 を用いて相同性検索を行いました結果、連続する 80 アミノ酸の配列について 35%以上の相同性を有する既知のアレルゲンは見いだされなかった。また、抗原決定基につきましても同じ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 アミノ酸配列に既知のアレルゲンと一致する配列は見い出されなかったとしております。

376 行目から、以上から、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いう記載しております。

379 行目からが遺伝子の安定性に関する事項になりまして、5 世代のトウモロコシ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確認されたということに記載しております。

また、タンパク質の発現の安定性を確認するために、5 世代のトウモロコシの葉、穀粒についてウェスタンブロット分析を行った結果、いずれの世代でも発現することが確認されたという記載をしております。

また、分離様式についても、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たという記載をしております。

392 行目からは 6 番の代謝経路の影響になりまして、こちらの記載は以前の改変 CP4 EPSPS タンパク質の記載と同様にしております。

401 行目の 7 番になりますけれども、宿主との差異に関する事項になりまして、407 行目が主要構成成分です。結果としましては、統計学的有意差が認められないか、認められた場合であっても一般の商業トウモロコシ品種（デント種）の分析結果に基づく許容区間の範囲内であったという記載しております。

(2) が脂肪酸組成で、これも同様です。

(3) アミノ酸組成については有意差はなかったという記載にしておりまして、ミネラル類についても有意差があったか、有意差があった場合でも許容区間の範囲であった。

ビタミン類については有意差が認められなかった。

二次代謝産物についてはフルフラールは定量限界以下でございましたが、そのほかは統計学的有意差は認められなかったという記載しております。

7 番の有害生理活性物質については有意差が認められないか有意差が認められた場合で

あっても一般の商業品種の許容区間の範囲内であったという記載にしております。

450 行目からが、諸外国における許可、食用等に関する事項になっておりまして、まず米国での申請、24 ページにまいりましてカナダでの申請、457 行目からオーストラリア、ニュージーランドにおける申請について記載をしております。

461 行目からが栽培方法になりまして、成育期に除草剤グリホサートを使用できることを除いて従来のトウモロコシと同じであるとしております。

10 番が、種子の製法及び管理方法になりまして、従来のトウモロコシと同じである。

469 行目からが、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ですが、第 2 から第 6 までにより、安全性の知見が得られているという記載にしております。

最後のⅢ番の食品健康影響評価のところですが、最後点々としておりますが、これまでの記載と同様に評価した結果、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断したということですのでよろしいでしょうか。

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けれども。大体二つに分けまして、まずこの 18 ページの第 6 の前まで、12 ページから 18 ページの真ん中あたりにかけてまして、この部分で御意見、コメントございましたらお願いしたいと思います。

○鎌田専門委員 例えば 11 ページの要約のところが一番わかりやすいのですが、要約のところの 10 行目に、今回のでいうと特定の雄性生殖組織では発現が抑えられているという表現がされていて、抑えられるというのはもともと発現をするのが前提であえて抑えるという表現になるので、ここはもともとプロモーターの特性上発現しないほうなので、特定の雄性生殖組織で発現が見られないか、極めて弱いとかという表現のほうが適切かなと思います。本文中にも二、三カ所同じところがあるので。

○澤田座長 それはここだけではなくてほかのところも同様ですね。

○鎌田専門委員 ほかも。

○澤田座長 ほか、よろしいでしょうか。

○鎌田専門委員 もう 1 カ所だけいいですか。17 ページのところ、228 と 229 行目のところは、実際この記述正しいのだけれども、単純に読むと改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *CTP2* 標的配列を除去し、改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *CTP2* 標的配列を挿入すると、全く同じものを入れたように読めるので、実際には本当にこれに近いことをやっているのですが、読みにくいので、最初のほうの改変 CP4 何とかを除去しまでをとってしまったほうが読むほうは読みやすい。間違っていないと思いますので。

○澤田座長 そこはとっていただくか、例えば最終的にか言葉をちょっと入れますか。言葉は入れなくてもいいですか。

○鎌田専門委員 なくてもよいと思います。

○澤田座長 それは一応とっていただくように検討してください。

ほかは。

○児玉専門委員 今のところは僕も非常に気になっていて、なんだかとったり入れたり、最終的に入れた改変 *cp4 epsps* はどれなのという感じになってしまうので。ただ、228行目のところの除去しをとってしまうと、その前に *cp4 epsps* をベクターBに挿入後と書いてあるので、二つ入ったようにも見えてしまうので、そこをちょっと二つは入っていないと思うので、ちょっと工夫があるかなと思うのですけれども。

○鎌田専門委員 そうしたら、後ろのほうの今挿入となっているのを標的配列と入れ替えることによってぐらいにしておく、多分。

○澤田座長 それは名案だと思いますね。標的配列に置き換えるとか置換するとかそういう表現に。

ほか、よろしいでしょうか。

それでは、後半の 18 ページの中ごろから最後にかけて、コメントございましたらお願いしたいと思います。

また後で細かい点、お気づきになったことがもしありましたら、後ほど事務局までお伝えいただきたいと思いますけれども。

○鎌田専門委員 私もよく覚えていないのだけれども、農薬を使うときに、農薬の管理の話というのはどうするのですか。

○北村課長補佐 飼料の方で農薬を使用した餌の管理についてはリスク管理機関において配慮するよというような記載をするようにしています。

○鎌田専門委員 それから、もう 1 点。これはしばらく前からスタックの評価が親委員会のほうで原則やるようになって、ここでは特に留意しなければいけないものについては多分ここで指摘をするという話になっていたと思うのですが、今回ののが、将来どんな取り扱いになるかわからないのですが、それを指摘すべきかどうかというのはちょっと決めておいたほうがいいのか。ちょっと特殊なケースでもあるので。安全性上懸念があるというよりも、どういうふうに使われているのかよくわからないというのは若干気になるころなのですが。

○澤田座長 今おっしゃっているのは農薬をまく時期の情報を入れるかどうかですか。

○鎌田専門委員 農薬をまく時期。

○澤田座長 先生、いかがですか。

○飯専門委員 私もこのスタックをどういうプロセスで評価するのかということは今考えておく必要がある問題かという思いがあって、先程発言したのですけれども。農薬の扱いとしてあるいは今までの掛け合わせと同じだからもういいですよというタイプで扱ってしまっているのか、少なくとも今回の申請の内容から出てくる種子は基本的には農薬がかかっていないものはずだけれども、次からは農薬が残っている可能性のある種子ができて、

それは栽培に回るのが基本だけれども、そういうものが、そうではないところに間違えていってしまうことも考えた上で、スタックとしての評価が多分必要になるのかなとは思っているのですけれども。その辺を考えて、今度はスタックの評価のプロセスをどう扱うかということになるのかなと思ひまして。

パターン化してしまっただ後はいいのかもしれないですけれども、最初はどんな申請書を見てオーケーするかという点があるので、一度こちらでやったほうがいいのかなという気はしているのですけれども。

○澤田座長 何か時期を明記すると、その制約がかかって、それ以外は撒いてはいけないという規定になりますか。ただ情報として書く場合と、二つ書きぶりがあるかと思うのですけれども。もし書くとしたら利用方法のところですかね。

○鎌田専門委員 多分今回例えば食品としての成分等を分析するのが花粉ができる時期に散布したときのデータは全く見ていないということなので、もし懸念があるとしたらそこだけですよね。特にアミノ酸代謝とかというところからももちろんきているものなので、そこに影響があるようなものの場合にはもちろん何らかの最低限のチェックは必要だろうと思うので、そこだけがわかれば。そこをどういうふうに書き込むかというのが難しいのだけれども。そうでない場合には多分ほとんど同じ除草剤に対する耐性を持たせたものがここに書いてあるものはそれだけなので基本的には問題ないだろうと思うのですが。

○澤田座長 ほかの先生、いかがでしょうか。

○中島専門委員 今回の審査のときには雄性不稔が発現する条件でグリホサートの効果を見ていないわけですね。これは原理的には不可能だから、今回これはこれでいいとしても、これでスタックの申請の場合は農薬をまく時期を指定するにしても、雄性不稔が発現する条件でというそういう感じで何か指定を入れておいて、その条件で成分比較を要するような条項を入れておきたいと私も思います。

○澤田座長 具体的にどこにどういうふうに入れるのがよろしいでしょうか。もし今決められないのであれば、また後でも。

○鎌田専門委員 よろしいですか。多分これスタックの扱いはこの評価書の中に書くということよりも、食品安全委員会のほうでスタックが上がってきたときにどう考えるかの問題だと思うので、評価書に書かないで、事務局なり、要するに食品安全委員会のほうでこの系統についての特例事項でスタックに対する取扱いという形で残しておいていただければ処理はできるかなと思うのですが。

○澤田座長 そうしますと、議事録が残りますので、それで覚えていただいと。

○鎌田専門委員 そういうスタックの場合のリストをつくっていただいと。

○澤田座長 よろしいですか。

○中島専門委員 いいと思うのですけれども、それは今までのこのスタックの申請と同じものではなくて、こういうことにするよと申請者のほうに伝える必要というのは、義務はともかく、伝えるようにするほうが親切というものかとも思います。

○坂本評価課長 よろしいでしょうか。今の御議論で、例えば雄性不稔の場合とかいうことをはっきり言うべきであれば、やはり評価書にそういう評価をしたというふうに書いておいたほうがよいと思うのですが、それがやりすぎということで書けないということなのでしょうか。ちょっとそこがまだ、すみません、頭が整理できていないので質問なのですが。

○鎌田専門委員 今のような議論をしだすと、要するに今回は花粉ができる、雄性不稔を誘起するような条件での安全性は見えていないことになってしまうので、実は評価書が書けなくなってしまうのですね。スタックで使うということを前提で、最終的に食品のところでは今のような使い方をしないという前提で議論してきたので、そこをきちっとやろうとすると、では雄性不稔を誘起するような時期ではほかの花粉がついた状態の穀粒についての成分を見てくださいというようなことをどうしてもやらざるを得なくなってしまうので。

○前田調整官 今こちらの掛け合わせについての考え方、昨年 7 月に御議論いただいて決めたものが、この参考資料のタグの 7 番のところに「遺伝子組換え植物の掛け合わせ品種の取扱いについて」というので、昨年 7 月 21 日の食品安全委員会決定がございます。こちらについては先生方に御議論いただいた結果、この 1 番の考え方における安全性の確認を必要とするものに該当しない掛け合わせであること、それから、2 番目については、親品種の安全性審査で当該品種を用いた掛け合わせ品種の安全性評価に当たり詳細な審議が必要とされたものでないこと、そして 1 及び 2 のほか、新規性の高い内容を含まないこと、この三つすべてに該当する場合には親委員会で御議論をいただいた上で答申をするということと。それにもかかわらず委員会が必要と認めた場合には遺伝子組換え食品等専門調査会で調査審議することとなったものでございます。

私今お話聞いていたところでございますと、例えば 2 のところが該当するというふうに考えられまして、この評価書を作成される場合に、「今回の評価に当たっては雄性不稔が発現する条件での審査を行ったものではないので、今後掛け合わせ品種の審議に当たっては詳細な検討が必要である」ということを食品健康影響評価の中に書きこんでいただけると、きちんと評価書としても残るのではないかなと思ったところでございますが。提案でございます。

○澤田座長 最も厳密な書きぶりになると思います。

○鎌田専門委員 そうすると、もしそういう議論だとすると、これ単品で、さっきの飯先生のお話ではないのですが、これ間違って流通するとこれは評価していないので違反になるのですかね。

○北村課長補佐 本品種の評価が終了すれば、このものが混じってもいいということになります。

○鎌田専門委員 ただ、先ほどの書きぶり、要するにこれは雄性不稔を発現するようなときは安全性評価ができていないのだというような表現になってしまうと、そういう種子は評価がないので流通させてはいけないとなるので、その記載の仕方の問題だと思う

のですが。

○坂本評価課長 そこは、雄性不稔があるので掛け合わせの場合には注意が必要とかいうような表現で、要は状況が変わるから注意が必要ということだけ書くということではダメなのではないでしょうか。

○澤田座長 そうしましたら、何らかのただし書きは書いて、その文言はちょっと要検討ということ。

ほかに。

○橋田専門委員 もしかしたらちょっと逆行してしまうのかもしれないのですけれども、この評価書を見ていて、掛け合わせのときの親にすることを一応想定しているという文言がどこにもないですね。利用法などに関しても、掛け合わせの親にすることを想定している旨評価書のどこかに入っていると、これ単体としての評価も行ったけれども、基本的には掛け合わせの親として扱うことを想定してやっているのだから、掛け合わせたときには成分なども含めてきちんと評価する必要があるということにはならないですかね。

○澤田座長 情報提供的に書くことは構わないと思うのですけれども。

今の御意見も含めて、ちょっと追加でもうちょっと文言を加えることを検討したいと思います。これはメールで皆様に確認していただくことにしたいと思います。

ほかによろしいでしょうか。

それでは、ちょっと書きぶりの点で一つ宿題がありましたので、これはそれを委員の先生方に確認していただいた後で、その修正の後で食品安全委員会に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。

それからあと、細かい微修正、記載整理的な修正がありましたので、それもあわせて修正していきたいと思います。

それでは、一応飼料のほうにいかないといけないということになりますので、飼料の安全性について審議を行いたいと思います。事務局からの御説明をお願いします。

○北村課長補佐 それでは、飼料についてですが、薄いプラスチックのファイルをご覧くださいと思います。

2枚ほどめくっていただきまして、ページ1のところになります。品名、本系統の特徴、(2)までは食品と同様になります。使用方法につきましては、飼料としての使用方法や利用目的は従来のトウモロコシと変わりはないという記載になっております。

2ページの2番のところで、組換え飼料としての安全性に関する事項になりますけれども、まず食品安全委員会の遺伝子組換え飼料及び添加物の安全性評価の考え方の説明がございます、2ページの下までです。

3ページになりまして、この系統には改変 CP4 EPSPS タンパク質の産生性が付与されているということで、除草剤グリホサートに対する耐性を有するということから、除草剤耐性を付与したものに分類されるということと、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ことは報告さ

れていない。したがって、①、②、③の可能性は考えにくく、当該飼料を摂取した家畜に由来する畜産物には通常安全上の新たな問題は生じないと考えられるとされております。

以上のことから、この安全性評価の考え方の 3 の①から③の可能性は想定されず、当該飼料に由来する畜産物を摂取することにより人の健康に影響を及ぼす可能性がないと考えられるという記載になってございます。

○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、短いので全体に関しましてコメント、御意見ありましたらお願いしたいと思います。

これも先ほどの問題と同じように、飼料として出てくることはまずないのですけれども、これはもし出てきたらということを考えてのことになるかと思いますが。

これはよろしいでしょうか。書きぶりをちょっと。

○鎌田専門委員 さっきと同じ発現のところが抑えられているというところだけは直していただければ。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。

それでは続きまして、評価書案のほうの審議に入りたいと思います。事務局のほうからお願いします。

○北村課長補佐 資料 1 の 27 ページからが本飼料の評価書の案になってございます。

30 ページをお願いいたします。評価対象飼料の概要になりますけれども、こちらの記載につきましては、先ほどの食品と同様になってございますので、先ほど御指摘いただいたように、発現が抑えられているというところは修正をさせていただきたいと思います。

42 行目からの食品健康影響評価のところになりますけれども、食品について評価が終わりましたらこの○のところに日付と番号を記入させていただきます。食品について食品上の安全性評価を終了しており、ヒトの健康を損なうおそれがないと判断しているという記載をしております。

48 行目からですが、本トウモロコシには除草剤グリホサートに対する耐性の形質が付与されている。除草剤耐性の遺伝子組換え作物を飼料として用いた動物の飼養試験において、導入された遺伝子また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していますが、前回御指摘がありまして、49 行目の除草剤耐性のところは削除することになっておりますので、削除いたします。

上記 1、2 を考慮したところ、トウモロコシ MON87427 に新たな有害物質が生成され、これが肉、乳、卵等の畜産物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。

58 行目にまいりまして、この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、点々になってはいますが、ないと判

断したという記載にさせていただきたいと思います。

先ほど鎌田先生から御指摘がありましたので、ただし書きでこの除草剤グリホサート処理を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ほかのものと同様の記載を追記したいと思います。

以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

ただいまの評価書案につきましてコメント、追加のコメントありますでしょうか。

それでは、提案していただいた修正を加えまして、まず食品のほうの宿題が解決すると同時ですね、その後食品安全委員会のほうに御報告したいと思います。

それでは、次のチョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B 系統の審議に移りたいと思います。

この品目は昨年 5 月の専門調査会におきまして審議を行い指摘事項を出したものであります。指摘事項に対する回答書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、お手元に黄色のファイルをお願いいたします。チョウ目害虫抵抗性ワタ COT67B 系統に対する回答書（食品）となっております。

最初に指摘事項といたしまして、前回の指摘に対する回答に関しまして、マウスを用いた急性毒性試験において対照群 10 匹中 9 匹の肝臓に病変が認められたということから、本試験は不適切であり、この結果を用いて評価を行うことはできない。については、本試験に使用されたマウスの飼育条件等について確認し、本試験で認められた病変の原因について説明すること。これらを踏まえて、今後の申請品目における動物を用いた毒性試験の改善策を示すことという指摘になってございます。

実は前回 23 年 5 月の調査会の審議におきまして、この急性毒性試験は評価に用いないということでした承をいただいていたところですが、動物試験について今後の改善策については回答を求めるといふことにされていたものでございます。

回答といたしましては、試験機関、マウスの飼育管理、マウスの系統、病変の評価方法の 4 点について調査を行いましたという回答になってございます。

まず、試験機関につきましては、本試験機関は 1948 年に設立されて、その後に合併等が行われ、シンジェンタ社に引き継がれたということで、60 年間にわたって自社試験のみならず農薬会社、化学品会社からの受託試験を多く実施した試験機関であるという説明があります。

2 ページ目で、病理のグループは獣医の資格がある人がやっていたこと。また、この試験機関では数多くの試験研究等も行われておりまして、発表された出版物について、添付資料 1 にリストが添付されてございます。

この試験についても適切な技能を持った研究員によって行われたという説明がされております。

また、この試験機関は GLP 適合の承認が得られていたということで、この試験についても GLP に準拠して行われておりますという説明がされてございます。

本試験の組織病理学試験におきましても、病理学を研究してきた研究員が作成しましたという説明がされております。

3 ページにまいりまして、マウスの飼育管理について説明がございまして、こちらに記載されているような条件を設定して管理しておりますということで、逸脱したことはなかったということです。餌についても購入時に報告書が添付されてございまして、試験の結果に影響を与えるような不純物の混入はなかったということを説明しております。また、マウスの一般状態についても、毎日 2 回観察が行われてございまして異常はなかったということ、またウイルス等についてのモニタリングも定期的に実地してございまして、清浄状態の監視も行われていたということで、この病変の原因はマウスの飼育管理に起因するものではないという説明です。

また、3 ページのマウスの系統につきまして説明がありまして、背景データの収集を行ってございまして、添付資料の 4 に背景データの資料がございまして。この試験に用いました APf-CD-1 というものは、実験用マウスの供給機関から購入した CD-1 マウスをこの試験機関で継代した CD-1 マウスだということです。添付資料 4 にございまして、APf-CD-1 で認められました炎症細胞の浸潤については、他の研究機関で行われた試験の対照群でも同様に認められたということです。

なお、この試験機関については 2008 年で閉鎖されてございまして、現在ではこの系統のマウスを用いた試験は行われていないということです。

また、病変の評価方法につきましては、一般的に認められた病変ごとに重症度を 4 段階あるいは 5 段階で分類する方法が用いられているということで、米国の受託研究機関で用いられている基準について、4 ページの下から 5 ページまで説明がございまして。

今回の試験機関では 4 段階に分類して評価してございまして、一般的な評価基準に沿った評価基準であって、基準に沿った評価が行われたという説明になっております。

以上のように、この対照群で認められた病変の原因については調査をした結果、その原因となる特定の要因は認められなかったということ。また、本試験で認められた炎症細胞の浸潤は急性経口毒性試験に用いられる週齢の CD-1 マウスである程度の割合で認められる病変であることが示されたという説明になっております。

6 ページのほうにまいりまして、3 パラ目になりますけれども、今回このような指摘になった原因としまして、本試験の報告書において対照群の肝臓に高頻度で認められた病変についての説明や、病変が認められたものの被験物質による肝臓への影響評価判定を行う上で問題ないと判断した根拠を示していなかったということでしたので、今後は提出する動物を用いた毒性試験におきましては、組織病理学的試験で病変が認められたが、評価上問題ない、また毒性影響でないとは判断した場合にはその根拠についてより詳細に記述するように努めますという改善策が示されてございまして。

2 番はその他のところですが、諸外国における許可状況のリバイスについて記載がございまして。

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、ただいまの回答ですけれども、これにつきまして先生方からの御意見をいただきたいと思えます。この毒性試験に関します指摘事項は和久井先生から出していただいたものでありますけれども、御意見いかがでしょうか。

○和久井専門委員

結果から申し上げますと、病理ピア・レビュー実施報告書は正当な評価を行い、安全性は担保されていると考えます。ただ、シンジェンタの試験機関 CTL の報告書の記載と、病理ピア・レビュー実施報告書の結果の相違点について申請者が承認しているのか否かについての明確な記載が無い事は問題と考えます。

あともう 1 点ですが、3 ページにシンジェンタの試験機関 CTL では微生物のモニタリングを実施していると記載していますが、モニタリング結果が一つも記載されていないのですよね。モニタリングしたときはウイルス、バクテリア、寄生虫等の感染の無いことを明記すべきですが、それが載っていないのは疑問に思えます。今回の評価としては問題ないと思えますが、今後、同様の申請時にはこれらの点に十分留意して頂きたいと考えます。

○澤田座長 ほかの先生方、追加で、よろしいでしょうか。

これたしか GLP 云々、飯先生、何か御意見いただきましたか。

○飯専門委員 多分この GLP ではないと書いてあった部分ですけれども、恐らくこの顕微鏡観察の部分だけについてそういう記載で書かれていたのだと思うので、この飼育しているほうは一応この説明でいいのかなと、納得したつもりですけれども。

○澤田座長 ありがとうございます。この施設自身がもうなくなっていて、これから何か求めても出てこない可能性が非常に高いかと思われれます。とりあえずこの COT67B に関しては、改善策が示されても対象がないわけなので、しかたがないかなということになるかと思えますけれども、それでよろしいでしょうか。

それでは、67B に関してはこれでよろしいということで。次の 102 系統ですか。

○北村課長補佐 評価書案について少し修正がありますので、そこだけ御説明をさせていただきます。

67B、次の 102 も同じなのですが、前回の調査会におきまして評価書案まで審議いただきまして、御了承はいただいていたところです。その後少し修正等を行いましたので、その部分だけ御説明をいたします。

31 ページからが 67B、食品のほうの評価書の案になります。細かいところですが、まず 39 ページの 177 行目のところで、長年にわたり「安全に」という文言を追記をさせていただきます。これは前回の調査会で御指摘をいただいた部分になります。あと、40 ページのところですが、204 行目の後に動物試験について記載をしてございましたが、この件については動物試験は採用しないということになっておりますので、削除させていただきます。

また、42 ページの表 17 について、Act2 の後ろにプロモーター、NOS の後ろにターミ

ネーター等の記載を追記してございます。

47 ページになりまして、諸外国における認可状況について、米国農務省で 2011 年 9 月に承認されたということを追加してございます。

48 ページになりまして、第 7 ですけれども、以前の評価書案では動物試験の結果を記載してございましたけれども、削除しております。

説明は以上です。

今回提出されました資料について、概説書の中にまだ動物試験の記載が残っておりますので、こちらを削除するということと、ピア・レビューの結果についても評価書では動物試験は採用しないということになっておりますので、特段必要ないかと思っておりますので、これは削除した形で最終版としたいと思っております。

○澤田座長 ありがとうございます。

ただいまの評価書案の修正に関しまして、御意見ございましたらお願いしたいと思っておりますけれども。

よろしいでしょうか。

それでは、ただいまいただきました修正案に従いまして直していただいて、食品安全委員会に報告してパブリックコメントの手続きに入りたいと思っております。

さらにもう 1 個、飼料のほうの評価書もちょっと修正がありますか。

○北村課長補佐 飼料のほうも同様に御審議いただいて御了承はいただいているのですが、1 点だけ、先ほどのトウモロコシと同様に修正がございまして、54 ページの 39 行目のなおのところですが、ここに害虫抵抗性という文言が入ってございましたが、前回の調査会におきまして一般的なことを書いたほうが良いということになりましたので、害虫抵抗性という文言を削除しております。

以上です。

○澤田座長 これも問題ないと思っております。よろしいでしょうか。

それでは、この直した後のものを食品安全委員会に提出する、報告するというところでいきたいと思っております。

それでは、次は COT102 のほうに移りたいと思っております。これも昨年 9 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を出したものであります。指摘事項に対する回答書につき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、紫色の紙ファイルをお願いいたします。チョウ目害虫抵抗性ワタ COT102 系統の指摘事項の回答書になってございます。

指摘事項といたしましては、APH4 タンパク質を用いた急性毒性試験において、雄の投与群（5 匹中 4 匹）で肝臓に異常が認められているが、回答書では投与に起因した毒性影響は観察されなかったと考察しており、矛盾が生じている。ついては、投与に起因した毒性影響が観察されなかったと判断した根拠を回答することとなってございます。

回答といたしましては、まず申請者からの見解の説明がありまして、またピア・レビュー

一を行った結果、見解について記載されております。

まず、申請者からの見解になりますけれども、雄の投与群で認められた病変は壊死を伴わない炎症細胞の浸潤で肝細胞自体への影響はないということ。2番としましては、肝毒性物質で認められるびまん性の病変とは異なっていて限局性であるということ。軽微だったということです。

この試験結果の補遺 17 におきましては、認められた病変名は **Mononuclear cell infiltration** もしくは **Hepatitis** として記載されていますけれども、その試験をやった当時はこの文言についても妥当だということであったということですのでございますけれども、近年の用語の標準化の流れを受けまして、近年の報告書におきましては **Inflammatory cell necrosis** として記載されている炎症細胞に浸潤に相当するということだそうです。認められた炎症細胞が単核細胞のみであった場合には、**mononuclear cell infiltration** に単核細胞以外の炎症細胞も認められた場合には **Hepatitis** に当時は分類をしておりましたという説明になっております。

また、先ほどの 67B と同様に、背景データについて示されております。これは 67B に添付されておりました資料と同じものになります。説明としましては、添付資料 1 の下のパラグラフになりますけれども、本試験で認められた炎症細胞の浸潤は急性経口毒性試験に用いられた週齢の CD-1 マウスである程度の割合において認められる病変であり、投与に起因した影響によるものではないと考えたということです。

また、本試験では体重増加、摂餌量、肝臓重量、肝臓の肉眼的病理所見も検討していますが、これら調査項目においても投与に起因した影響は認められなかったということから、申請者においてはこれらは投与に起因した影響ではないと判断したという説明がされてございます。

3 ページが、ピア・レビューを実施した第三者機関の見解になっております。

添付資料 2 にピア・レビューの実地報告書が添付されてございまして、この結果については試験機関の結論、またこの申請者の説明と同様であるということです。

1) としましては、この試験で認められた病変については、日本バイオアッセイ研究センターにおいて **Inflammatory cell nest** と分類される炎症性変化であったということ。2番としましては、マウスの多くの系統で認められる病変であることが確認されたということ。3番で、肝細胞の広範な壊死、脂肪変性、うっ血、出血等の投与に起因する影響と考えられる変化は認められなかったということから、投与に起因する肝臓への毒性影響はないと判断したという結果になってございます。

添付資料 3 につきましては先ほど御説明をしました 67B の回答書が添付されてございまして、マウスの飼育管理等についての説明になってございます。

次のページが組織の写真になっております。

5 ページからがそのほかの修正事項の対応になってございまして、人工胃液の消化試験において検出された 3 kDa のバンドの由来についての修正事項と、7 ページのところは誤

記の修正になっております。

そのほか、8 ページ、9 ページのところで修正事項が記載されております。

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、先生方からの御意見をいただきたいと思っておりますけれども、これも和久井先生の御指摘で。

○和久井専門委員 先ほどのと全く同じでありまして、病理ピア・レビュー実施報告書で問題ないと思えます。シンジェンタの試験機関 CTL が今現存しないということですので、病理所見を書き直せないことは理解しますが、肝炎 Hepatitis という言葉が残ってしまう事は問題です。今後、申請者に同様の問題が起きないように指摘することと。あと、できるだけ汚染されていない実験動物を用いて試験は行うように、要請したいと思えます。

○澤田座長 ありがとうございます。一応回答自身に関しましてはこれでよろしいということ。

ほかにございますでしょうか。

それでは、本件につきましても一応クリアさせていただいたということで。先ほどと同様に評価書案のほうも一応前回審議しておりますけれども、若干修正があるということですか。事務局から御説明をお願いします。

○北村課長補佐 資料 1 の 55 ページからがチョウ目害虫抵抗性ワタ COT102 系統の評価書の案になります。修正の事項だけ御説明をさせていただきたいと思えます。

細かいところは先ほどの 67B と同様になってございまして、まず 65 ページの 227 行目のまえに、APH4 タンパク質の発現量、消化性に関する記載がされておりましたが、これは後の項目で出てくることですので、こちらからは削除してございます。

66 ページの表 1 のプロモーター等の記載については先ほどと同様に追記をしてございます。

70 ページになりまして、前回の調査会で御指摘をいただきまして、mVip3A タンパク質と APH4 タンパク質について同じ文章で記載をしていたということと、APH4 タンパク質については mVip3A に比べまして少し加熱処理に対しても安定だということがわかるようにしたほうが良いという御指摘がありましたので、mVip3A タンパク質については 65℃、30 分の加熱で免疫反応性が 3 分の 1 程度にまで減少するということを追記してございます。APH4 タンパク質については 95℃、30 分までの加熱では変化はないという記載を追記してございます。

あと、71 ページの 443 行目のところで、これは極めて低いと断定していたのですが、申請書と合わせて、考えられるという語尾に修正してございます。

72 ページにまいりまして、8 番の諸外国における許可についても更新がございましたので、修正しております。481 行目で、米国で 2005 年 7 月に承認されたということと、EPA の記載を追記してございます。カナダに関する記載も追記してございます。

修正箇所は以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

先ほどちょっと確認を忘れましたけれども、修正事項で人工胃液の話があったのですけれども、これは問題ないですね。

○手島専門委員 特に問題ないと思います。

○澤田座長 ほかにコメントよろしいでしょうか。

そうしましたら、特段の修正がないということでありますので、この形で食品安全委員会に報告して、パブリックコメント等の手続きに入りたいと思います。

次に、また飼料のほうもちょっと修正があるそうで、御説明をお願いします。

○北村課長補佐 飼料のほうも同様で、前回御了解はいただいておりますが、102の修正と同様ですが、80ページ、一番後ろのページの38行目のところに、これも害虫抵抗性という文言が入っていたところを削除してございます。

修正箇所はそれのみでございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

先ほどと同様ということで、特に御異論なければこのままで食品安全委員会に報告させていただきますと思います。

それでは、議題1につい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、事務局から何かありますでしょうか。

○北村課長補佐 1点御報告がございまして。厚生労働省のプレスリリースを机上配布しておりますが、それをご覧いただきたいと思っております。4月17日に厚生労働省からプレスリリースされたものでございまして、食品衛生法に基づく安全性審査を経ていなかった遺伝子組換え微生物を利用した添加物についての対応（第5報）というものでございます。

今般、食品衛生法第11条に基づく安全性審査の手続きに定める安全性審査を経ていなかった遺伝子組換え微生物を利用した添加物「L-フェニルアラニン」が確認されたことから、その対応についてお知らせしますというプレスリリースになってございます。

概要でございまして、協和発酵バイオ社が製造、販売をしているL-フェニルアラニンについて安全性審査を経ていない旨、製造者から報告があったということだそうです。当該品はニュートラスイートカンパニー社が製造しました原料、粗精製品を精製したものでございまして、協和発酵バイオ社が国内で精製したものと中国の工場で製造してそれを輸入したものの2種類があるということです。協和発酵バイオ社は、本年3月6日に自主判断で既に販売を中止しているということだそうです。

裏を見ていただきたいのですが、この添加物につきましては(1)の安全性の○の2番目にございまして、日本薬局方に基づく成分規格に適合しているということと、個別の食品添加物の成分規格を満たしているということです。

(2)の今後の対応等に記載がございまして、食品安全委員会での安全性評価に必要な資料が整い次第、速やかに諮問することとされてございますので、資料が整い

まして諮問がされた際には本調査会において審議いただくことになるかと思しますので、その際にはよろしく願いいたします。

以上です。

○澤田座長 ありがとうございました。

本日の議題に関しましてはこれで終了となります。

以上をもちまして、第 103 回遺伝子組換え食品等専門調査会を閉会いたします。

きょうも活発な御議論、ありがとうございました。