

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

第122回会合議事録

1. 日時 平成25年12月12日（木） 15：40～17：50

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

- ・除草剤ジカンバ及びグルホシネート耐性ワタMON88701系統（食品・飼料）
- ・除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグルホシネート耐性ダイズ68416系統（食品・飼料）

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、小関専門委員、鎌田専門委員、橋田専門委員、児玉専門委員、
近藤専門委員、中島専門委員、飯専門委員、和久井専門委員、宇理須専門委員

(食品安全委員会委員)

佐藤委員、山添委員

(専門参考人)

岡田専門参考人（国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部主任研究官）

(事務局)

山本評価第二課長、池田評価情報分析官、北村課長補佐、小倉係員、松井技術参与

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

- ①除草剤ジカンバ及びグルホシネート耐性ワタMON88701系統（食品）
- ②除草剤ジカンバ及びグルホシネート耐性ワタMON88701系統（飼料）
- ③除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグルホシネート耐性ダイズ68416系統（食品）
- ⑤除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグルホシネート耐性ダイズ68416系統（飼料）

参考資料 食品健康影響評価に係る指摘事項

「除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグルホシネート耐性ダイズ
68416系統」

6. 議事内容

○澤田座長 それでは、皆様おそろいのこととありますので、ただ今から第 122 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、専門参考人として国立医薬品食品衛生研究所の岡田先生に御出席いただいております。所用により手島専門委員は御欠席であります。

本日の議題であります、新規の品目で、除草剤ジカンバ及びグルホシネート耐性ワタ MON88701 系統、食品と飼料、継続の品目であります除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグルホシネート耐性ダイズ 68416 系統、これも食品と飼料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いたしたいと思っております。事務局からお願いします。

○北村課長補佐 それでは、議事次第に基づきまして配付資料の確認をさせていただきます。

配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿、資料として食品健康影響評価に関する資料、参考資料として、安全性評価に関する指摘事項となっております。これら以外の参考資料につきましては、ファイルにとじまして委員の皆様の机の上に置かせていただいております。本ファイルについては、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、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、御報告をお願いします。

○北村課長補佐 本日の議事に関す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御報告いたします。

本日の議事に関しましては、専門委員の先生方からいただいた確認書を確認したところ、平成 15 年 10 月 2 日委員会決定の 2 の (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。

以上でございます。

○澤田座長 御提出いただきました確認書について、その後、相違等ございませんでしょうか。

それでは、議題 1 の審議に入らせていただきたいと思います。

まず、除草剤ジカンバ及びグルホシネート耐性ワタ MON88701 系統についての審議を

行いたいと思います。

事務局から御説明をお願いします。

○小倉係員 それでは、お手元に紫色の紙ファイルをお願いいたします。除草剤ジカンバ及びグルホシネート耐性ワタ MON88701 系統でございます。

ページをめくっていただきまして、1 ページ目からお願いいたします。第 1、安全性評価において比較対象として用いる宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項でございますけれども、30 行目にまいりまして 1 番、宿主及び導入 DNA に関する事項、宿主は、アオイ科ワタ属に属する従来品種 Coker130 であると記載されております。

DNA 供与体でございますけれども、2 ページ目にまいりまして、改変 *dmo* 遺伝子及び *bar* 遺伝子が、それぞれ *Stenotrophomonas maltophilia* DI-6 株及び *Streptomyces hygroscopicus* に由来します。

(3) 番、挿入 DNA の性質及び導入方法でございますけれども、まず改変 *dmo* 遺伝子につきましては、こちらがコードするジカンバモノオキシゲナーゼを発現することにより、除草剤ジカンバに対する耐性が付与されているとのことです。DMO は除草剤ジカンバを脱メチル化することにより不活性化する酵素でございます。*bar* 遺伝子につきましては、ホスフィノトリシン *N*-アセチルトランスフェラーゼタンパク質を発現することにより、除草剤グルホシネートに対する耐性が付与されております。PAT タンパク質は、除草剤グルホシネートをアセチル化することにより不活性化する酵素でございます。こちらの 2 つの遺伝子は、導入用プラスミドをアグロバクテリウム法により宿主へ導入することにより作出されております。

2 番、宿主の食経験に関する事項でございますけれども、ワタは油及びリンターが食料として利用されるとのことです。リンターはソーセイジ類のケーシングやアイスクリーム及び、サラダドレッシングの増粘剤として用いられるということでございます。なお、リンターは 99%以上がセルロースということでございます。

3 番にまいりまして宿主由来の食品の構成成分に関する事項、また、3 ページ目の 4 番にまいりまして、食品としての利用方法及びその相違に関する事項については、記載のとおりでございます。22 行目にまいりますけれども、日本においてワタは主に綿実油として摂取され、従来ワタとの間に相違はないということでございます。

4 ページ目にまいりまして 5 番の比較対象でございますけれども、宿主以外のものは比較対象としていないとのことです。

6 番の安全性評価において検討が必要とされる相違点に関する事項でございますけれども、改変 *dmo* 遺伝子及び *bar* 遺伝子の導入により、除草剤ジカンバ及び除草剤グルホシネートに対する耐性が付与されている点が、相違点であるとのことです。

5 ページ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でございますが、本系統は除草剤ジカンバと除草剤グルホシネートが散布可能になるということでございます。

6 ページにまいりまして第 3、宿主に関する事項でございます。1 番、分類学上の位置づけにつきましては、宿主は従来品種の Coker130 であると記載されております。

2 番、遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項でございますけれども、記載のとおりでございます。

7 ページ、3 番、有害生理活性物質の生産に関する事項でございますけれども、有害生理活性物質としてゴシポール及びシクロプロペノイド脂肪酸を含むことが知られていますけれども、加工により著しく量が減少するため、高度に精製された製品である油、リンターのみが食用に適しているとのことでございます。

4 番、アレルギー誘発性に関する事項でございます。綿実油にはアレルギー反応は報告されていないということが記載されております。

5 番、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、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きましては、記載のとおりとなっております。

9 ページにまいりまして第 4、ベクターに関する事項でございます。本系統の作出に用いられた導入用プラスミドの中間プラスミドは、ベクターB と記載されておまして、10 ページに図が、11 ページからが構成要素の説明となっております。このベクターB には、スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する *aadA* 遺伝子が含まれておまして、選択マーカーとして利用されております。

また、ベクターB 及びその構築に用いられた中間プラスミドには、伝達を可能とする配列を含んでいないということが記載されております。なお、11 ページの下から 3 行目と 2 行目に、*CTP2* 遺伝子と改変 *dmo* 遺伝子が含まれておりますけれども、こちらは導入用プラスミドに残る配列ではないとのことでございます。

14 ページにまいりまして第 5、挿入 DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項でございます。1 番、挿入 DNA の供与体に関する事項の (2) 番の安全性についてでございますけれども、改変 *dmo* 遺伝子の由来の *S. maltophilia* は、グラム陰性細菌でありまして一般的に水辺や土壌、植物から検出されているとのことです。また、さまざまな食品や飼料においても見られるということが記載されております。*S. maltophilia* の中には、入院患者の一過性微生物叢から検出されている株もあるとの報告がございますけれども、DI-6 株が患者から検出されたという報告はないとのことです。また、健康なヒトへの影響に害はなく、アレルゲンであるとする報告はないとのことです。以上のことからこの供与体は、病原性にかかわるような宿主ではないと考えられたということが記載されております。

14 ページの下からが *bar* 遺伝子の供与体につきまして記載されておまして、15 ページにまいりますけれども、環境中に普遍的に存在すること、ヒトへの暴露が多いにもかかわらず安全性やアレルギー性に関する問題が知られていないこと、また、多数の除草剤グルホシネート耐性作物の規制審査の際に、安全性及びアレルギー性に問題はないと結論さ

れていることから、この供与体は病原性にかかわるような宿主ではないと考えられたと記載されております。

2 番、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でございますけれども、1 番にクローニングについて記載されてございます。改変 *dmo* 遺伝子は *S. maltophilia* DI-6 株からクローニングされておりまして、導入用プラスミドを構築する過程で導入されております。28 ページになってしまうのですが、こちらにはコドン最適化している旨が記載されております。15 ページに戻っていただきまして、MON88701 系統へ導入された改変 *dmo* 遺伝子のアミノ酸配列は、野生型と比較して N 末端から 2 番目にロイシンが挿入されている点が相違点であるということです。

31 行目から *bar* 遺伝子について記載されてございまして、こちらにも *S. hygroscopicus* からクローニングされております。15 ページの一番下の行から PAT タンパク質のアミノ酸配列について記載されておりますが、こちらは野生型と同じ配列であるとのことでございます。

16 ページの挿入遺伝子の機能に関する事項になります。まず改変 *dmo* 遺伝子の機能でございますけれども、こちらは MON88701 系統に導入された DMO タンパク質は、葉緑体において活性化するというもので、改変 *dmo* 遺伝子のコード配列は葉緑体輸送ペプチドのコード配列に結合しており、N 末端側にシロイヌナズナの *epsps* 遺伝子由来の葉緑体輸送ペプチドのコード配列に由来するアミノ酸が付加された、改変 MON88701 DMO 前駆タンパク質が産生されるとのことでございます。

葉緑体輸送ペプチドは、前駆タンパク質の葉緑体への輸送効率を高めているということで、こちらは葉緑体へ輸送された後、正確に切り離されるということが記載されております。しかし、切り離されても幾つかペプチドが残った状態のものが存在する例もあるということで、本系統で発現する改変 MON88701 DMO タンパク質も、N 末端側に本来であれば切り離されるはずの 9 個のアミノ酸が付加されたタンパク質が発現していることが、確認されたとのことでございます。なお、DMO 前駆タンパク質が正確にプロセッシングされないことは、*dmo* 遺伝子を有するほかの除草剤ジカンバ耐性作物でも確認されていると記載されております。

N 末端側に残った 9 個のアミノ酸配列及び、N 末端側から 2 番目のロイシンの挿入が、野生型と異なる点でございますけれども、こちらは DMO の触媒部位と立体構造的に離れているため、タンパク質の構造、活性または基質特異性に影響はないと考えられたと記載されております。

17 ページの 25 行目からまいります。DMO タンパク質は、ジカンバから除草活性のない DCSA とホルムアルデヒドを生成する脱メチル化反応を、触媒する酵素であることが記載されておりまして、DCSA は、除草剤ジカンバがワタ、ダイズ、家畜体内や土壌で代謝されて生じる代謝産物として知られているとのことでございます。DCSA の大半は植物体内でさらに代謝されていきます。

18 ページにまいります。これまでに JMPR においてジカンバ及びそのほかの代謝産物の毒性学的評価が行われ、これらの代謝産物はジカンバと同等もしくはそれ以下の毒性であり、JMPR によって考慮された使用でのジカンバ残留物の摂取により、ヒトの健康に問題が起こるとは考えにくいと記載されております。ホルムアルデヒドは植物において日常的に産生される物質とのこととございます。よって DMO タンパク質と除草剤ジカンバの反応により産生される DCSA と、ホルムアルデヒドのいずれも、食品としての安全性のリスクを高めるものではないと記載されております。図 3 では DMO タンパク質の脱メチル化反応について記載されております。

19 ページからは DMO タンパク質の結晶構造の解析結果について記載されております。DMO タンパク質、MON88701 系統が除草剤ジカンバに対して耐性を持つためには、DMO タンパク質が三量体を形成することが必要であり、MON88701 系統において三量体が形成されていることが考えられたと記載されております。20 ページの図 4 に DMO タンパク質の結晶構造が記載されております。

21 ページにまいりまして改変 MON88701 DMO タンパク質が、既知の毒素タンパク質と相同性があるかどうかを検索した結果が記載されてございます。 E -score が 1×10^{-5} 以下の相同性を示す配列の検索を行ったところ、相同性を示す配列は存在せず、既知の毒素タンパク質及び、その他のヒトに有害なタンパク質と立体構造的に類似性のある配列はなかったと記載されております。

22 ページにまいりまして、図 5 に前駆タンパク質の推定アミノ酸配列が記載されてございます。22 行目からは *bar* 遺伝子の機能について記載されてございます。

23 ページにまいりますけれども、MON88701 系統で発現する PAT タンパク質は *bar* 遺伝子にコードされ、アセチルトランスフェラーゼに分類される酵素でグルホシネートをアセチル化し、除草活性をなくすということとございます。PAT タンパク質が既知の毒素タンパク質と相同性があるかどうかを検索したところ、 E -score が 1×10^{-5} 以下の相同性を示す配列は存在せず、既知の毒素タンパク質及びその他の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のこととございます。

24 ページにまいりまして、図 6 に PAT タンパク質の推定アミノ酸配列が記載されてございます。

(4) 番、抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項でございますけれども、導入用プラスミドには、スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する *aadA* 遺伝子が、T-DNA 領域外に選抜マーカーとして存在していますが、MON88701 系統中に導入されていないことは、サザンブロット分析で確認されているとのこととございます。

(3) 番、挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現にかかわる領域に関する事項でございますけれども、28 ページからの表 2 に導入用プラスミド中に存在する全ての DNA の由来及び機能が示されてございます。ベクターへの挿入 DNA の組み込み方法に関する事項につきましては、25 ページから 26 ページに記載されているとおりでございます。27 ペ

ーに導入用プラスミドのプラスミドマップが図示されてございまして、意図する発現領域は T-DNA 領域とのこととでございます。

31 ページをお願いいたします。6 番、DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項でございますけれども、MON88701 系統はアグロバクテリウム法により作出されたとのこととでございます。

32 ページに MON88701 系統の選抜方法、33 ページに MON88701 系統の育成図が記載されてございます。安全性評価を依頼するのは R3 及び R3 世代から派生する全ての後代交配種とのこととでございます。

34 ページにまいりまして第 6、組換え体に関する事項になります。35 ページ、遺伝子導入に関する事項でございますけれども、コピー数及び挿入近傍配列に関して記載されてございます。サザンブロット分析の結果でございますけれども、16 行目からになります。導入用プラスミドの T-DNA は、本系統中のゲノムの 1 カ所に 1 コピー導入されていることが確認されたと、あと外骨格領域が存在しないことも確認されたとのこととでございます。

塩基配列解析を行った結果でございますけれども、MON88701 系統中の導入遺伝子と、導入用プラスミドの T-DNA の各構成要素の塩基配列が同一であることが確認され、導入遺伝子の挿入部位においてワタゲノム内在性配列に、123 bp の欠損が認められたということが記載されております。欠損は認められましたけれども、近傍配列の分析から、導入遺伝子の挿入によりワタ内在性の既知の遺伝子のタンパク質のコード領域が、破壊されていないと考えられたと記載されてございます。

36 ページからが分析の詳細となります。37 ページは導入用プラスミドの制限酵素地図及び導入遺伝子の分析に用いたプローブでございます。

38 ページにまいりまして、図 11 として MON88701 系統の導入遺伝子地図及び近傍配列の模式図及び、制限酵素切断部位の模式図でございます。表 5 はサザンブロット分析において予想されたバンドサイズの一覧表でございます。

40 ページからは導入遺伝子の挿入箇所及びコピー数について記載されてございます。

41 ページからはサザンブロット分析の結果でございます。

45 ページにプローブ 3 の結果について記載がございましてけれども、ブロット図は 46 ページになりますけれども、ワタ内在性配列に由来するバンドが検出されたものの、本系統特異的ではないと記載されてございます。

47 ページにまいりまして外骨格領域の有無について記載されてございます。結果が 48 ページの図になりますけれども、サザンブロット分析の結果、外骨格配列は存在しないと結論されたと記載されてございます。

49 ページにまいりまして、導入遺伝子及びその近傍配列の構成及び塩基配列の確認でございますけれども、T-DNA の全長及び 5'、3'末端の近傍配列をカバーするようにプライマーセットを設計し、塩基配列の解析を行った結果、導入遺伝子の構成が導入用プラス

ミドと同一であることが確認されたとのこととでございます。また、MON88701 系統の導入遺伝子は、導入用プラスミドの 341 番目の塩基から 4,445 番目の塩基までの 4,105 bp であることが確認されたとのこととでございます。

50 ページが結果でございます。

51 ページにまいりまして、近傍配列がワタゲノム由来であることの証明でございますけれども、MON88701 系統及び対照の非組換えワタのゲノム DNA について、導入遺伝子の近傍配列に特異的なプライマーを用いて分析を行った結果、T-DNA の挿入部位においてワタゲノム内在性配列に 123 bp の欠損が認められたとのこととでございます。

52 ページがその結果でございます。

53 ページにまいりまして、内在性の既知の遺伝子に対する影響について検討されてございます。その結果でございますけれども、挿入遺伝子の部位の上流、あと欠損したワタ内在性配列及び挿入部位の下流を、クエリー配列として BLASTn 及び BLASTx 検索を行ってございます。その結果、BLASTn 検索の結果でございますけれども、*E*-score が 1×10^{-6} 以下の配列が幾つか確認されましたが、クエリー配列と 95%以上の相同性を示す配列は確認されなかったとのこととでございます。

22 行目にまいりまして BLASTx 検索の結果でございますけれども、*E*-score が 1×10^{-8} 以下である配列が確認されましたが、そのうち最も相同性が高かったのは、ナス属に属する植物由来の推定タンパク質であり、詳細に検討したところ、クエリー配列中の該当箇所にはストップコドンが存在していたため、この領域にはタンパク質がコードされているとは考えられず、導入箇所の近傍に転写及び翻訳される配列の存在を示唆するものは確認されなかったとのことです。以上のことから、ワタ内在性の既知の遺伝子が破壊されていることはない結論したとなっております。

54 ページの 19 行目、(2) オープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項でございます。本系統の導入遺伝子と近傍配列の両境界領域において、既知のアレルゲン、毒素タンパク質、または生理活性のあるタンパク質と相同性のある新規 ORF が形成されていないことを確認するために、オープンリーディングフレームを検索した結果、9 個確認されてございます。

この 9 つの ORF につきまして相同性検索を行った結果が 55 ページになります。まず 4 行目でございますけれども、データベース中の配列と *E*-score が 1×10^{-5} 以下の相同性を示す配列を検索したところ、検出されなかったということとございました。また、連続する 80 アミノ酸以上で 35%のアミノ酸相同性を示す配列や、連続する 8 つのアミノ酸との相同性を示す配列も検出されなかったとのこととでございます。

さらに導入遺伝子において目的外の新規タンパク質が産生され、それらが既知のアレルゲン、毒素タンパク質及び生理活性のあるタンパク質と、構造相同性を有するかどうかを評価しております。その結果でございますけれども、相同性のある配列は見られなかったとのこととでございます。

2 番、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でございますけれども、改変 MON88701 DMO タンパク質及び PAT タンパク質の発現量を、ELISA により測定しております。その結果でございますけれども、57 ページとあと 58 ページに記載されております。こちらは除草剤グルホシネート処理、除草剤ジカンバ処理を行っております。

59 ページにまいりまして、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でございますけれども、ワタから生産される主要食品は油及び微量のリンターである、RBD オイルには検出限界値未満のタンパク質しか含まれておらず、また、リンターは高度に加工されているため 99%以上がセルロースであるということで、無視できる量のタンパク質しか含まれていない加工品であるため、これらのタンパク質が 1 日のタンパク質摂取量の有意な量を占めるとは考えにくいと記載されてございます。

4 番、遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する事項でございますけれども、挿入遺伝子の供与体についてアレルギー誘発性の報告はないとのことです。また、DMO タンパク質及び PAT タンパク質がアレルギー誘発性を持つとの報告は、これまでのところないとのことでございます。

(3) 番、遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する事項でございますけれども、*E. coli* で改変 MON88701 DMO タンパク質と PAT タンパク質を発現させ精製して、MON88701 系統中で発現するタンパクとの同等性を確認後、試験に供試した結果が記載されてございます。

60 ページの 10 行目からが、まず改変 MON88701 DMO タンパク質の人工胃液の試験でございます。SDS-PAGE とウエスタンブロット分析により評価してございます。その結果は 62 ページと 63 ページに記載されておりますけれども、MON88701 DMO タンパク質が凝集、分解していたものの、それも含め速やかに消化されることが示されたとのことでございます。

64 ページは人工腸液によるアルカリ処理及び酵素処理について記載されてございます。こちらは 65 ページにあるとおりウエスタンブロット分析により評価されております。その結果でございますけれども、改変 MON88701 DMO タンパク質は、5 分以内に検出限界値未満まで消化されることが確認されたとのことです。反応開始後 5 分において約 12 kDa の薄いバンドが観察されておりますけれども、反応開始 55 分には確認されなかった。以上のことから、人工腸液で速やかに消化されることが示されたと記載されております。

66 ページは加熱処理について記載されてございます。67 ページに結果がございましてけれども、ELISA により分析をした結果、加熱処理により免疫反応性を失うことが示されたと記載されております。

68 ページからは PAT タンパク質について記載されております。まず人工腸液でございますが、こちらは SDS-PAGE とウエスタンブロット分析により評価してございます。その結果、69 ページと 70 ページが結果になりますけれども、人工胃液中で速やかに消化され

ることが示されたと記載されております。

71 ページにまいりまして人工腸液について記載されてございます。ウエスタンブロット分析により評価されておりますが、結果が 72 ページにございまして、人工腸液中で 5 分以内に検出限界値未満まで消化されることが確認されたと記載されております。

73 ページにまいりまして加熱処理試験でございまして。こちらは結果が 74 ページにございまして、加熱処理により免疫反応性を失うことが示されたと記載されております。

75 ページにまいりまして。4 番、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でございまして、アミノ酸配列の相同性を確認するため相同性検索を行った結果、既知のアレルゲン、グリアジン及びグルテニンと、構造的及び免疫学的に関連のある配列相同性を有していないと判断されたと記載されてございます。

5 番、IgE 結合能の検討でございまして、アレルゲンとなる可能性を示すデータはないことが確認されたため、検討は行われなかったと記載されてございます。

76 ページにまいりまして遺伝子の安定性に関する事項でございまして。導入遺伝子の複数世代にわたる安定性を確認するため、5 世代を用いてサザンブロット分析が行われております。77 ページがその結果でございまして、MON88701 系統中には 1 コピーの T-DNA 領域が導入遺伝子として導入されており、複数世代にわたり安定して遺伝していると考えられたと記載されてございます。

78 ページは発現タンパク質の世代間の安定性について記載されてございます。同じく 5 世代の本系統ダイズを用いてウエスタンブロット分析をした結果でございまして、79 ページに改変 MON88701 DMO タンパク質、81 ページに PAT タンパク質について記載されてございますが、どちらも同じ位置に泳動するタンパク質が、全ての世代において確認されたとのことです。なお、MON88701 DMO タンパク質についてでございまして、79 ページになりますけれども、レーン 4 において分子量サイズから二量体と考えられるバンドが見えています。

82 ページにまいりまして。MON88701 系統における導入遺伝子の遺伝様式について統計解析が行われております。その結果でございまして、3 世代で確認した結果、MON88701 系統中の T-DNA は、ワタゲノムの 1 カ所に存在し、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記載されております。

84 ページからは遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項について記載されてございます。こちらはまず MON88701 DMO タンパク質についてでございまして、DMO タンパク質によるジカンバ代謝に関する結晶構造解析の結果から、ジカンバのフェニル環と化学基が、触媒作用に重要な役割を果たしていることが記載されてございます。

そこで構造的にジカンバに類似した化合物のみが DMO タンパク質の基質になり得ると考えられたということで、まずワタに含まれるクロロ基を含むフェニル環を持つ化合物について調査をしましたが、そういった特徴を持つ化合物は特定されなかったとのことで、

次に、カルボキシル基とメトキシ基を含むフェニル環を有する化合物を調査した結果、4種、85 ページの図のうちのバニリン酸、シリング酸、フェルラ酸、シナピン酸が特定されたとのことです。以前、ジカンバ耐性ダイズを評価いただいておりますが、そちらにあったアニス酸も含んで試験を行っております。

85 ページからが評価の結果でございますけれども、改変 MON88701 DMO タンパク質が代謝する可能性を評価するため *in vitro* 試験を行っております。その結果でございますが、ジカンバは DMO タンパク質により代謝されたのに対し、供試されたほかのいずれの化合物も代謝されなかったと記載されてございます。したがって 86 ページになりますけれども、MON88701 系統に導入された改変 *dmo* 遺伝子発現カセットから発現する改変 MON88701 DMO タンパク質は、植物の代謝経路へ影響することはないと考えられたと記載されてございます。

86 ページ、PAT タンパク質について記載されてございます。PAT タンパク質はグルホシネートに高い特異性を有することが知られており、MON88701 系統の代謝経路に影響はないと考えられると記載されてございまして、24 行目からになりますけれども、数多くの除草剤グルホシネート耐性作物が評価されてきたが、ヒトの健康に対する悪影響があるとの報告はないと記載されてございます。

7 番、宿主との差異に関する事項でございますけれども、構成成分について比較がされてございます。MON88701 系統に関しては、除草剤グルホシネート処理及び除草剤ジカンバ処理を行っております。

88 ページが分析項目でございますけれども、定量限界値未満であったものを除いた 52 項目の構成成分について統計処理が行われております。その結果が 89 ページからになりますけれども、栄養素につきましては、47 項目のうち 28 項目については統計学的有意差が認められなかったとのことでございます。有意差が認められてもメチオニン以外は、同じ圃場で栽培された従来商業品種の分析値から計算された許容区間内であったということ、メチオニンについては、平均値が ILSI のデータベースの範囲内におさまっていたということが記載されてございます。

有害生理活性物質についても統計解析が行われてございまして、その結果でございますが、5 項目のうち 2 項目については統計学的有意差が認められなかったとのことでございます。統計学的有意差が認められたジヒドロステルクリン酸、遊離ゴシポール及び総ゴシポールにつきましては、いずれも同じ圃場で栽培された従来商業品種の分析値から計算された許容区間内におさまっていたとのことでございます。以上のことから結論といたしまして、一部の項目に統計学的有意差が認められたものの、商業ワタ品種の変動の範囲内であったと記載されてございます。

99 ページにまいりまして 8 番、諸外国における認可、食用等に関する事項、9 番、栽培方法に関する事項、10 番、種子の製法及び管理方法に関する事項について記載されてございます。

説明は以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして、項目ごとに先生方からの御意見をいただきたいと思えます。

まず、申請書の第 1、第 2、第 3 にかけて、ページで 8 ページまででコメント、御意見ございましたらお願いしたいと思います。

綿実油のアレルギーは報告されていないとありましたけれども、これはよろしいのですか。

○宇理須専門委員 僕の知る限りではないと思えます。油ですし。

○澤田座長 それでは、続きまして、第 4 と第 5 で 33 ページまででいかがでしょうか。

○鎌田専門委員 中にいろいろなことが書いてあるのですが、例えば 10 ページのベクターの説明図の中に、説明の 3 行目に導入用プラスミドに存在する改変 *dmo* 遺伝子、それからベクター B の改変 *dmo* 遺伝子という書き方をされていて、塩基配列も異なるとわざわざ書いていて、何で同じ名前をつける必要があるのかというのが、一番初めに引っかかり始めまして、それで実は後ろのほうを見ていくと、一番典型的なのは 17 ページなのですが、17 ページの図 2 に、ここで使っているいろいろな DMO タンパク質というのがあります、本当のところどれのことを言っているのかよくわからない。よくよく中身を見ますと、例えば図 2 でいくと上から 3 番目のやつが基質特異性試験に使ったもの、でも、これはここで言っている改変 MON88701 DMO タンパク質ではない。それから結晶構造解析は実は一番下側を使っています、そういう目で見たときに本文中にそこら辺の区別がほとんどない。

19 ページの一番最後の行は、またこれも変な話で、単量体及び三量体をまとめて同じ改変何とかタンパク質とするという、何か全体を読むとどれを正確に指しているのかが全くわからないので、このままだとデータの正しさというのがよくわからなくなるので、これは最低限、配列が違うのだったら違うで全部別の名前をつけるなりして区別して、例えばアレルギー性試験のときにはどれを使ったとかというのを明確にしていきたいというのが、一番単純なお願いです。

それにかかわって例えば 15 ページの真ん中ぐらいのところから「改変 *dmo* 遺伝子は」とか言って、2 つの中で違っているとわざわざ書いてあって、表の中にわざわざ改変していると書いてあるのに、ここにはそのことは何にも書いていなくて、アミノ酸配列は変えていないけれども、塩基配列は変えたとかということが、表中には先ほどありましたが、それもきちっとここに本当は書いておいてくれないといけないのですが、それが無いというので、どこと言いつと切りがないのですが、全体を通してなので延々とこういうことが続いているので、もう一回中身をよく見ていただいて、今のように少なくとも図 2 で示した 4 種類のどれに相当するのかわかるのは、きちっと示していただきたいというのがお願いです。

とりあえず以上です。

○澤田座長 説明を追加していただきたいと思います。

ほかは。

○児玉専門委員 今、鎌田先生がおっしゃったことと非常に強く関連するのですが、16 ページで読んでいくと、改変 DMO タンパク質を植物から精製して調べると、9 アミノ酸、トランジットシグナルペプチドの部分が残っていると、それは質量分析系の解析から多分 N 末端が、しかも修飾されているというデータになっているのですけれども、これがメインなのか、それが切れたタンパク質がメインなのかがわからないのです。それがどこかに書いてあるかなと思って一生懸命見たのですが、僕の目にはわからなかったのです。

それから大腸菌で発現させたタンパク質と比較したりもしているのですが、大腸菌で発現させたのは改変 DMO タンパク質と書いてあるのですが、9 アミノ酸がくっついたタンパク質を大腸菌で発現させたのか、それともそれがちゃんといわゆる野生型に近い形のを発現させたのかもはっきり書いていなくて、どっちをやったのかなというのがやっぱりわからない。

データをずっと見ていくと分子量的に 1 kDa ぐらい違うので、多分大腸菌で発現させたやつは 9 アミノ酸はくっついていないのだけれども、植物でとってきたタンパク質の分子量は 1 kDa ぐらい多いので、9 個ぐらいアミノ酸がくっついているのかなという想像はしたりはしたのですが、そこら辺をきちっと書いていただきたいと思います。

○和久井専門委員 私も全く同意見で、読んでいて途中からわからなくなっちゃうのです。どこを変えたらいいのかなと思ったのですが、確かに 17 ページのこの図が、ある意味では一番大事というかわかりやすいのですが、これがばらばらに書かれちゃって統一がとれていないものですから、読んでいてわからなくなっちゃうのです。ですからもう一度書き直していただけないかなと思います。

○澤田座長 図 2 の名前をそのまま全部書けと言ってもいいわけですか。

○鎌田専門委員 多分、図 2 の中でも、ここで改変 MON と 9 アミノ酸がくっついたやつというふうになっているのだけれども、先ほど児玉先生がちょっとおっしゃったように、じゃ、大腸菌でつくらせたものはどこまでがどうなっているのかというのが、きっと多分これとは違うのがあるのです。その意味ではこの図には全部が実は出ていないということなので、ちょっとそこら辺も含めて全体、いろいろな試験に使っているタンパク質そのものなのでこれだけは全部、ここで使っているもの全てについて、きちっと表にでもして並べて違いを書いておいてほしいということです。

○小倉係員 この申請書の中では、いろいろな DMO タンパク質が改変されていたり、シグナル配列がついていたりということがあったので、確認をしたのですが、改めて申請書に明記していただくようお願いをします。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

今は 33 ページまで行きましたけれども。

○児玉専門委員 18 ページ目のホルムアルデヒドのところの 11 行目、12 行目、13 行目ぐらいですか、ホルムアルデヒドの記載のところ「713 mg/kg に達する植物もある」というふうに書いて、だから安全だというふうに書いてあるのですけれども、この植物が食経験があるかどうかとは必ずしもリンクしていない、この文章からではわからないので、食経験がない毒を持っている植物からとってきたホルムアルデヒドが 713 mg/kg だったら、それは意味がない議論になってしまいますので、そこら辺を整理して記載を変えてもらえればと。

○澤田座長 この組換え植物では実際にホルマリン定量のデータがあるのですか。

○児玉専門委員 これに関してはないですね。

○澤田座長 ないのですか。普通はアルデヒドが酵素反応でできてもすぐ変化してしまいますが。

○児玉専門委員 多分相当不安定、安定には余りないと思います。

○澤田座長 これは実際にはかかる必要はないですよ。あえてそこまでは必要……

○児玉専門委員 強いて言うと、多分モル比からいうと DCSA と同じモル比が出てくると思われるので、そこから推定してこのぐらい仮にできたとしても、それが安全かどうかという議論だけしていただければそれで十分じゃないかと。

○澤田座長 理論的な説明をきちんとやっていただくと。

ほかはよろしいでしょうか。

33 ページの系統の育成図はいかがですか。点線で囲った部分を対象にしたいと書いてあるのですけれども、F1 に行ったほうも対象にするのじゃないですか。

○鎌田専門委員 多分これは分析していることから考えると、右側のほうも点線で囲ってくれないと、多分意味のないデータになっていくので。

○小倉係員 右側の系統は、構成成分分析とかをしているわけではなくて、後代分離比の分析に供試したところから出てきた世代でございます。ワタは通常 F1 で使用されるものでしょうか。

○鎌田専門委員 多分ホモで使うのでしょうか、これは本当はもともとおかしくて、例えば分離後代とかとも言いながら安定性とか言いながら、そこの試験をやっているところは全部要するにこの系統じゃないと言い出すと、じゃ、何のために試験をしているのかと、そこまで言うのならば、要するに認定してほしい系統の中だけで全てのデータを出してくださいとしか、本来言いようがなくなってしまうので、少なくとも g なんていう項目とかは、そこのデータが使えないと安定性とかは出てこないの基本的には入れてほしいと、少なくとも R3 以下だったら、点線で囲って書いてあるとおりに解釈すれば囲って構わないはずなので。

○小関専門委員 1 点そこで囲えないというのは、DP0949 というのは組換え体なのです。それとかけているのでしょうか。要するにこれはそのところの 33 ページの 15 行目の括

弧のところを見ると、これはいわゆる非組換えの F1 をつくってるのでは……ダブルのやつとかけているから複雑になっていますよね。何をやっているのかと言いたくなる。だからこれを囲われると自然に要するにスタックを認めることになる。それで、これは何を变なことをやっているのだろうと僕もずっと思っていたのです。

○澤田座長 分離比はマストなのでしょうか。

○鎌田専門委員 マストではないです。

○澤田座長 これは参考でも、この点線で囲った部分はオーケーということでもよろしいですか。

○鎌田専門委員 ちゃんとスタックでない形でデータがあるのならば、ぜひそちらをつけてほしいと。

○小倉係員 確認します。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

そうしましたら続きまして、第 6 の組換え体に関する事項で、34 から 59 ページの前半で組換え体に関する事項の 1、2、3 までで、コメント、御意見をお願いしたいと思えます。

○鎌田専門委員 これも書き方だけの問題なのですが、37 ページの上のプラスミドマップがあって、これは実は同じようなのが 27 ページにもあるのですが、ちょっと変えてほしいのは、いわゆる機能単位としての遺伝子の名前と多分制限酵素が、同じ記載の仕方をされていて、本来制限酵素は多分違う記載をしていただくとすごくわかりやすく、プローブにする場合とかもどこからどこまでというのがわかるのだけれども、記号の書き方を全部同じにしちゃったので、例えば 37 ページの左上のほうに「*Bcl*I」というのは制限酵素名で 8,594 番目という意味で、遺伝子の名称とかではないのです。でも、ちょっと先に行くと「*aadA*」と、これは遺伝子の名称なのです。要するに意味が全然違うものを同じ記号でやられるから全くわからなくなってしまうので、それはほかのところもそういう図がいっぱいあるので、これはやっぱり見てわかるようにぜひしてほしいというのだけは、どうせ直さなきゃいけないことがいっぱいあるので、一緒に直してくださいと言っておいてください。

○澤田座長 申請者は今までこういう書きぶりだったのですか。

○鎌田専門委員 ちゃんとしていたのに今回初めてです。

○澤田座長 今回初めてなのですか。

○鎌田専門委員 こんなひどいのは。

○小関専門委員 図の上でも結構いいかげんで、図 11 のところで見ると、「*Ssp*I」の上のほうのサイトと下のサイトが全然位置がずれているとか、もうちょっとよく見てくださいという。位置がずれているからこれはおかしくないかと、3.4 キロってうそじゃないかと。

○小倉係員 すみません。こちら提出された今回のワタは、以前ダイズのであったジカン

バ耐性ダイズとほぼ同じようなトーンの書きぶりで、申請書が作成されているのですけれども、やはり図を確認したところ、遺伝子名は太字、制限酵素のところは細字というような書き分けがされていました。

○鎌田専門委員 仕分けはしていないで、微妙に。

○澤田座長 制限酵素が太字なのですか。

○小倉係員 はい。制限酵素が細字で書かれていました。

○鎌田専門委員 今回は逆にただけで。

○澤田座長 それでは、ほかはいかがでしょうか。今のはわかりやすく直してもらおうということで。

それでは、次に行きまして、組換え体の残りの 59 ページの後半から 86 ページの前半までで、御意見ありましたらお願いしたいと思います。

○児玉専門委員 よろしいですか。

86 ページまででしたっけ。61 ページのところなのですが、ただ表現の仕方だけ変えていただければいいのですが、61 ページの上から 3 行目のところに、2 行目からいくと、「この濃度では消化前の改変 MON88701 DMO タンパク質は凝集及び分解されることが確認された」というのは、多分正しくは「タンパク質は凝集した産物及び部分分解産物が含まれることが確認された」ということだと思えるのですけれども、消化前なのに分解されるとはどういうことですかということなのでも、要するに用意してあるタンパク質の中に凝集した産物と部分分解した産物が含まれていたということを言いたいのだと思うので「凝集した産物と部分分解産物が含まれることが確認された」という言い方のほうが正しいと思います。

その下の 5 行目とか 16 行目とか 17 行目ぐらいにも似たような表現が出てくるので、そこら辺は統一して直していただければと思います。

○澤田座長 毎回言っているような話で、熱処理のところでは、タンパク濃度が減っていて、ELISA の値も減っているところで免疫反応性が失われたのか変性しただけなのかよくわからないのですけれども。前に何か表現を変えるという似たような話がありましたけれども。

○小倉係員 前回同じような御意見をいただきまして、その際は申請者に確認をして、タンパクが減っているが処理の前に遠心をしたかといったことをお聞きしたのですけれども、そういった処理は特段行っていないと聞いています。今回についても、同じようにそういった処理は特段行われていないようなので、やはりタンパクが減って抗体のパーセンテージも落ちるといった状況と思います。

○宇理須専門委員 サンドイッチ ELISA でやっている場合には、いいのではないかと思います。熱凝集ではなくて酵素処理のところでも、意味がわかりにくいことが書いてあります。電気泳動するときの処理で、凝集と還元処理で SS が切れて壊れますよね。そういうことを単に言っているだけなのかなと思ったのですが。余り必要のない表現ではないか

なと思いました。

○澤田座長 先ほどの凝集と分解というのは、何か処理をする前にそれをやるという話ではなくて……

○宇理須専門委員 そうなのです。「消化前の改変タンパク質は凝集及び分解されることが確認された」と書いてありますよね。この箇所の意味がわからなかったのですけれども。単に電気泳動をかける前の処理によってこういうことが起こっているということを言っているだけのことであれば、論文では余り書かないですよ。もしも凝集している場合には、ウェルから入るところにバンドが出ますよね。そういうことを言っているのかなとも思いました。

○澤田座長 私がもう一点、変だなと思うのは、加熱してタンパク濃度が減ってしまうのはどうしてだろうという点です。表 8 なのですけれども。

○宇理須専門委員 これは ELISA で検出されるタンパク質が減るのは反応性が低下するのか、凝集するために下に落ちるために結合しなかっただけなのかもしれません。しかし、これはサンドイッチ ELISA でやっていますので、方法論としてはよしとしてよいのではないかと思います。

○澤田座長 サンドイッチ ELISA で減るのはいいのですね。

○宇理須専門委員 サンドイッチ ELISA であればいいのではないかと思うのですけれども。

○澤田座長 いいのですけれども、平均濃度というのはタンパクをはかっているのではないかと思って、タンパク濃度自身も減ってしまう。

○宇理須専門委員 本当は重量かもしれませんがね、そういう意味ですか。それはタンパク質濃度で表現しているのではないかと思いますけれども。

ウエスタブロットとタンパク質染色をしているゲルのデータです。「凝集と分解されることが確認された」と書いてありますが、どういう意味なのか、問い合わせてもいいのではないかなと思います。

○澤田座長 事務局の方で、今のお話は理解していただけましたか。

○宇理須専門委員 消化前に起こっているのですよね、凝集と分解が。これは何を意味しているかちょっとわからなかったのですけれども。

○北村課長補佐 宇理須先生のおっしゃっているのは、61 ページのところの消化前の凝集、分解の話ですか。

○宇理須専門委員 そうです。

○北村課長補佐 澤田先生が言われているのは加熱処理の……

○宇理須専門委員 加熱処理、これは別個に考えなければいけませんよね。

○北村課長補佐 澤田先生は 67 ページのところ、加熱してタンパクの濃度が減っているのが免疫反応性なのかということですか。

○澤田座長 そのタンパクの定量なのですけれども……

○松井技術参与 これは、ELISA でやっています。

○宇理須専門委員 ともかくゲルのデータと消化酵素に対する安定性と加熱処理は全く違う実験をやっていますから別個に考えていただいて、そして ELISA のほうはサンドイッチ ELISA でやっていますので、僕はこれはよいのでは思いました。ゲルの先ほど児玉先生の指摘があったほうは、いつもの書き方とは随分違うということで、疑問に思いました。特別にこの現象がここで起こっているわけではなくて、普通に電気泳動をやるときに起きることを単に言っているだけではないかと思いました。

○澤田座長 私の方の疑問については、了解しました。理解しました。

○宇理須専門委員 そこをどうしてわざわざこんなことを書くのか確認したほうがいいかなとは思いますが。

○澤田座長 表 8 と 9 の左右は同じことを言っているだけなのです。パーセントであらわしているだけなのです。

○北村課長補佐 平均濃度としているところですね。

○松井技術参与 この場合は、免疫反応性が失われたという表現でもよろしいということでもよろしいですか。

○宇理須専門委員 それで大丈夫です。ゲルのほうのこの表現ですね。「消化酵素の処理の前に凝集と分解」と書いてあります。これは今まで余り書かないことですよ。それがどうしてわざわざ書いたか確認していただいてもいいとは思いますが。

○北村課長補佐 そこは確認します。

○鎌田専門委員 もう一つよろしいですか。

一番最初に言ったタンパクの名称のことともかかわっていて、ここら辺までくると非常にややこしいのですが、例えば 59 ページの下のほうに「物理化学処理に対する感受性」といって「MON88701 系統に導入した改変 DMO 遺伝子」という言葉と、下のほうに「大腸菌で発現させた改変何かタンパク質」というふうになっていて、これが違いがあるかどうか分からないところでいろんな試験にここで使っているのも、もし違ったら同じだという保証がどこかにないと、本当はこういう試験の結果を素直に受けられなくなってしまおうというふうに思うのです。同じようなことがあっちこっちに実はあって、78 ページのところにも、葉っぱの組織における改変 DMO タンパク質の存在と書きながら、大腸菌で産生させたものとの比較によって確認したとか。そもそも葉っぱで発現しているものと、これ実際に 9 アミノ酸が残っていたというのは、実は種を使っているのですよね。葉っぱと種が同じかというのも実は確認されていないのですよね。だから、基本的に同じ性質を持っているということに基づいて安全性のことがここで議論がされているのだけれども、実は配列が違ったら違う可能性もあるので、もし同じだと考えるのだったら、なぜそう考えるのかというのはその都度書いていただかないと、相手が違う、何を比較しているかによって違うので、きちっとそこら辺は先ほどの一番最初に言ったこととあわせて、こういう安全性評価のところの 1 件 1 件の評価するところへきちっと書いていただ

きたい、そういうお願いです。

○松井技術参与 別添の 3 に植物から抽出したタンパク質と *E. coli* で産生させたタンパク質の同等性の試験の結果がありまして、TOF MS でアミノ酸を決定しているのと、先ほど児玉先生がおっしゃったように SDS-PAGE をやって、若干 1 kDa ぐらい MW が違うとか、そういうデータはあるのですけれども。

○鎌田専門委員 でも、だからといって、免疫反応性が同じかということでは全然なくて、酵素反応性がそれもよくわからないようだ。そこまでは結局同等だとはっていないので、ここでは別なものを比較しながら、同等を前提として全て議論しているのです、そこは何となく論理的におかしくなっていくので、それぞれの試験項目で同等であることの何かの根拠が欲しいという、そういうことです。

○小関専門委員 よろしいですか。

結局整理整頓が全くついていなくて、16 ページのところできっき言ったところで、30 行目にでかでかと「改変 MON88701 DMO タンパク質」と定義している、これは 9 アミノ酸についてですよ。それを 349 個と言っているのですが、それはファーストにないのですけれども、どうやって大腸菌でつくらせたのでしょうか、バリンから始まっているので。だから、そもそもとんでもない記載ミスがいっぱいあって、これ全部整理しないと無理だと思います。大腸菌で発現した、要するに多分ですけれども、彼らが言いたい「改変」というやつは「L」が入っているから改変だということだと思ふのです。多分大腸菌で発現したやつは、この 9 アミノ酸を除いてあるのではないかなと僕は思うのですけれども、除いていないのだとしたら、9 アミノ酸の前にメチオニンがいていいはず。そこら辺をちゃんとしてくれないと、手の打ちようがありません。評価できません。でしょう。

○松井技術参与 *E. coli* で発現したタンパクは 9 アミノ酸がついていまして、ワイルドタイプの DMO タンパクと同じで、N 端に his タグがついていると思います。

○小関専門委員 ですから、その辺が追加情報と言われても、ここに書いていなくて読んでいる側は死に物狂いになって、これは何なのだと頭を悩ませて、無駄な時間を使わせないでくれと怒っておいてください。

○北村課長補佐 整理するように伝えます、すみません。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

○小関専門委員 一点、だから先ほど先生がおっしゃったところで、例のスタックと掛け合わせたときのデータを、これは要らないから消せと言うかどうかですね。要するに、これは確かに追加情報としてはメンデルアンに沿っているから、1 カ所に入っているということは言えると思うのですけれども、これ裏を返して考えると、多分この後、スタックを出すために掛けたやつを、既に掛けてホモにしていたやつを利用してやってみたという、実はそちら用のデータに自分たちが握っていたやつを、ちょうどいいからといって流しているのではないかなと僕は思うのですけれども、それ、要らないのではないですかね。かえってスタックを認めるような嫌な感じになってしまうので。

○澤田座長 右半分ですね。

先に進んでよろしいでしょうか。

○飯専門委員 よろしいですか、一つ。

ちょっとついで的なところもあるのですけれども、53 ページの 25 行目あたりからの記載なのですけれども、25 行目の右の端のところ「しかし、詳細に検討したところ、クエリー配列中の該当箇所にはストップコドンが存在していたため」というところで、大体「詳細に検討して」というのが要らない挿入かなという気はするのですけれども、次の「タンパク質がコードされているとは考えられない」というのがちょっと引っかかって、せめて「機能するタンパク質」という修飾はあったほうがいいかなと。それから「このことから」と結語があるのですけれども、ここまで書かれていることで「転写や翻訳される配列の存在を示唆するものは確認されなかった」というのはちょっと言い過ぎな気がするので、この 1 文は削除したほうがいいのかと思うのですけれども。

○澤田座長 書きぶりが書き過ぎだという。

○飯専門委員 ある意味、ホモロジーがあるということは転写は起こっている可能性を示唆しようと思えばできるので、あくまで配列にストップコドンがあるということだけをもって転写や翻訳される可能性を否定するというのは、ちょっと言い方としてはきついのではないかと。最終的にここで言いたいことは、内在性の既知の遺伝子が破壊されているとは考えられないということが言いたいことだと思うので、必ずしも必要はないかと思ったのですけれども。

○澤田座長 ちょっと勘違いしていたかもしれないです。クエリー配列にストップコドンがあるからといってという意味ですね。

○飯専門委員 ある部分にホモロジーのある配列がナス科のところとの間で見つかって、だけど、その部分を見てみたら、投げたほうのワタのほうの配列の中にストップコドンが入っていたと。見ているのはそれだけだと思います。

○澤田座長 クエリーの近傍配列では、オープンリーディングフレームとは関係なしに使っているため、ストップコドンがでてくるということですか。

○小倉係員 ここでは、ORF 検索をした後ではなくて、5'末端側の上流の 1,126 bp と 3'末端側の下流の 1,138 bp をクエリー配列にして行っています。

○澤田座長 要するに結論は論理的におかしいということですね。

○飯専門委員 似ている配列が見つかったという事実があって、一方で、そのアミノ酸配列の中にはストップコドンがあるのは確かなのですけれども、それだけの事実から、そこは転写も翻訳もしている可能性はないというのはちょっと無理があるのではないかと。何か機能するものがそこにあるとは思えないという言い方でとどめておいたらどうかということなのですけれども。

○澤田座長 表現を変えていただきます。

それでは、次の 86 ページの後半から 100 ページ、最後まででコメント、御意見ありま

したらお願いしたいと思います。

○児玉専門委員 ちょっとよろしいですか。

ページ数がちょっとずれてしまうのですけれども、こういう言い方をするのかどうかお聞きしたいのですけれども、83 ページの分離比の表があるのですけれども、表 13 で左から「陽性・ホモ個体」、「陽性・ヘミ個体」、「陰性・ホモ個体」と出てくるのですけれども、これヌルセグメントだと思えるのですけれども、「陰性・ホモ」という言い方はするのかなと思ったのですけれども、どうですか、するのですか。ホモ、ヘミというのは多分 T-DNA に対して、導入遺伝子に対して使う言葉かなと思っていたので、「陰性・ホモ」という言い方がちょっとあるのかなと思ったのですけれども、あるのだったらそれで構わないのですが。

鎌田先生、どうですか。

○鎌田専門委員 それが正確な言葉かどうか知らないけれども、少なくとも「陰性・ホモ」と書かないで、要するにこれだと単に「陰性個体」だけのほうがいいのかもしいですね、「ホモ」と書くよりは。

○児玉専門委員 ですよ。余りちょっと見ない表現かなと思うので。

○澤田座長 「陽性・ヘミ」と「陽性・ホモ」はいいですね。

○児玉専門委員 それはいいです。

○澤田座長 では「陰性・ホモ」は「陰性」だけにして。

ほかはよろしいでしょうか。

○飯専門委員 ちょっと質問なのですけれども、今のところ、このデータは組換え体を使ってやっているデータになるので、これ自身を削除するという話でいいのですか、さっきの議論は。

○小関専門委員 ではないかなと僕は思っているのですが。

○飯専門委員 そうすると、遺伝様式というのは一応エッセンシャルで今まで多分みてきた内容だと思うので、野生型で差しかえろという指摘という話になったと解釈していればいい。

○小関専門委員 それ、エッセンシャルでしたっけ。

○飯専門委員 参考資料 1 の……

○小関専門委員 安定性は求めるけれども、分離比は特には全ては出てきていないはずだと思いましたけれども。多分、ここでこれが必須だといったら、かなりのものが再評価になってしまう。むしろこれは要求してこなかった内容だと思います。

○飯専門委員 削除で。

○鎌田専門委員 過去のことを言うとあれなのですが、基本的には単一の遺伝子として入っていると、今のように分離比がきれいになるのですが、実は過去には 2 遺伝子が入っていた場合があって、そうすると、1 遺伝子でなければだめなのといわれると、それは認められなくなってしまうので、2 遺伝子だったらもっと複雑な遺伝様式をしているので、

そういう遺伝様式をしているからこそ 1 コピーであることが逆に推測されるので、補助的にデータを使っていると。ただ今回みたいに、最近では挿入遺伝子の位置だとかを全部きっちり見ているので、1 遺伝子であることはある意味きっちりわかっているんで、安定性さえ確認されていれば、ある意味いいのではないかと思うのですが。

○澤田座長 確かにメンデルの法則に従うというのは毎回は出ていないです。だから、マストではない。

○小倉係員 では、こちらの導入遺伝子の様式のこのメンデルの法則に従ったという結論のこの部分は削除ということによろしいですか。

すみません、確認をしたのですが、一応こちらでも安全性評価の範囲の対象外になるのですけれども、R1 は従来品種を、遺伝子組換えでない品種を使ったデータを持っているということなのですが、そちらもあわせて遺伝様式ごと削除によろしいですか。

○鎌田専門委員 それは先ほど言ったとおり、もしスタックでない形できちっとそれを持っているのであれば、それを入れていただければ今までと同じ書き方になるので、ここのデータも変わるけれども、それはそれで参考資料として非常に意味があることだと思います。

○小倉係員 確認をしまして、調査会で求めるものがありましたら載せた形で、ない場合は削除ということで対応させていただきます。

○澤田座長 一応最後までいきましたけれども、まとめて。

○鎌田専門委員 まとめてではなくて、細かいところはどうでもいいと言えどもいいのですが、今回すごく書き方がおかしいなといつも思っていて、例えば 14 ページの *S. maltophilia* というのはこれ、挿入遺伝子のもとになっている微生物なのですが、35 ページから 36 行目を見ていただくとすぐわかりますが「この供与体は病原性にかかわるような宿主ではない」と、「宿主」ではないですよ、これ明らかに。これ宿主として使ってもらっては困るのです、絶対に。あくまで供与体であって、意味はないのだけれども、こういう書き方をしているところがあっちこちにありまして、もう一回、だから文章をきちっと精査して、要するに変な形で捉えられるような書きぶりは全てきちんと直していただきたいというのがお願いです。

○澤田座長 追加で何か。よろしいでしょうか。

それでは、かなり御意見をいただきまして、もう一回これは見直さないといけないということですので、先生方からいただいた意見、確認事項、指摘事項（案）として取りまとめまして、先生方に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えます。

それで、まだ時間が。どうしましょうか。ダイズは一応 2 回目です。

それでは、次のダイズで除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグルホシネート耐性ダイズ 68416 系統についての審議を行いたいと思えます。

この品目は、ことし 6 月の専門調査会において審議を行い、指摘事項が出されていたものであります。指摘事項に対する回答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、回答書の青い紙ファイルをお願いします。2 ページ目から回答になってございます。

まず、指摘事項の 1、2 については語句の修正になるのですが、まず 1 ですが、プラスミド pDAB2407 に含まれる *trfA* の機能等の説明を追加することということで指摘が出されてございまして、この *trfA* は「広域宿主プラスミド RK2 に由来する配列で、プラスミドの複製に必要な複製開始タンパクをコードする」と説明がされてございます。

2 番になりまして、薬剤耐性遺伝子の件になりますけれども、*specR* 遺伝子は T-DNA 領域の外側に位置するため本系統には導入されていないと記載されているが、本系統中に導入されていないことを確認した旨に修正することという指摘になっておりまして、2 ページ目の下のところ、修正後ということで、下線の部分で修正がなされてございます。

次に、3 ページにまいりまして、挿入遺伝子の機能のところ、この系統に使用できる除草剤について、光学異性体の有無に関する説明を追記することという指摘になってございます。このものにつきましては、除草活性を持つものが光学異性体のないものと光学異性体のある R 体のみということで、S 体については除草剤としては働きません。この改変 AAD-12 タンパク質は光学異性体のないものと、S 体に特異的であるので、除草剤として働くもののうち、このタンパク質が活性を示すのは、光学異性体を持たない除草剤のみでございます。したがって、光学異性体のあるアリルオキシアルカノエート系除草剤に対して耐性はないということになりまして、このタンパク質は活性を示す除草剤のうち、ダイズへの登録がされているものはないのですけれども、2,4-D について米国で申請中だという説明になってございます。下のところが要旨の修正になります。

次、4 ページをお願いいたします。2,4-D とその代謝物の 2,4-DCP についての説明のところになりますけれども、この組換え体内における 2,4-D の代謝経路、代謝産物の残留量及び安全性に関する説明を追記してくださいという指摘になってございます。本系統におけます除草剤 2,4-D の代謝試験の結果、種子から 2,4-D と 2,4-DCP、2,4-DCP のグルコース複合体が検出されております。これら以外には、大部分は多成分の極性混合物でありまして、これらは最終的に植物体内の構成成分として同化されるものと考えています。一部に不溶性の放射性物質として脂質分画中に検出されたものがありますけれども、これらはトリグリセリド脂肪酸などの植物性油脂と脂質であるということから、植物体に同化されるものという説明がございまして。

したがって、本系統の 2,4-D の代謝経路は「2,4-D→2,4-DCP→2,4-DCP のグルコース複合体」というふうに考えてございます。

残留試験によりまして、2,4-D については全てのサンプルで検出限界値未満であったのに対しまして、2,4-DCP の最大平均残留量は 0.047 ppm だったということでございます。2,4-D と 2,4-DCP の毒性の説明がされてございまして、急性経口毒性におけます半数致死量では 2,4-D と 2,4-DCP では同等だということが考えられるということです。反復投与試験におけます NOAEL では、2,4-D が 15 mg/kg/day に対しまして、2,4-DCP が 400

mg/kg/day ということで、2,4-DCP の NOAEL は 2,4-D よりも高く、2,4-DCP の毒性は 2,4-D の毒性を上回らないということで、国際的にも 2,4-DCP は 2,4-D の残留基準値には含まれておらず、規制対象となっていないという説明になってございます。これを踏まえまして要旨が修正されてございます。

次、5 番にまいります。内在性遺伝子の破壊の有無につきまして、ペルオキシダーゼ様遺伝子の破壊の有無について、このペルオキシダーゼ遺伝子のエクソンやイントロンの情報を含めた詳細情報をつけ加えて考察してくださいという指摘になってございます。

5'の近傍配列の Region1 におきまして BLASTx の検索を行ったところ、ペルオキシダーゼ様遺伝子が検出されました。これについて詳細な配列について検討するために BLASTn 検索を行ったところ、ペルオキシダーゼスーパーファミリーに属します全長が 1274 bp のダイズ由来の cDNA クローンが検出されたということでございます。その Region1 の配列の構造解析を行ったところ、次の 6 ページの参考の図 1 に位置関係が示されていますけれども、この遺伝子の停止コドンが Region1 の 2,181 番目、この転写の終結地点が 2,410 というようになっておりまして、停止コドンから遺伝子の転写終結距離までが 230 bp、ペルオキシダーゼ様遺伝子の終結地点から挿入遺伝子の開始地点までの距離が 322 bp ということで、挿入遺伝子によってペルオキシダーゼ様遺伝子が破壊されている可能性はないと考えたという説明になってございます。

次、7 ページの指摘の 6 をお願いいたします。こちらにつきましては、挿入遺伝子のコピー数と外骨格領域の確認について、プローブが全ての領域を網羅していないということから、全てを網羅するプローブを設計してサザンブロット分析を行って確認をしてくださいという指摘になってございます。

9 ページの図の 6 が最初に分析をしましたプローブの図になってございます。

10 ページをごらんいただきますと、こちらの T-DNA Border 補足のプローブのところ印がございましてけれども、プローブの BB-2、Border B、プローブの A、B、C、D というのが追加のプローブとして設計されて分析が行われてございます。

その結果等が 12 ページ、13 ページ等にございまして、結果として外骨格領域が分離されていないことと、コピー数が 1 コピーだったということが確認されてございます。

20 ページをお願いいたします。指摘の 7 になりますけれども、代謝経路への影響に関する事項になります。

(1) のところは、先ほど御紹介しました指摘の 4 と同様の 2,4-D の代謝経路に関する事項ですので、同様の記載が追記されております。

(2) につきましては、基質特異性の件でございましてけれども、*in vitro* では反応が遅くてもケイヒ酸が基質となり得ることということから、このダイズにつきまして、シキミ酸経路に関連するフェニルプロパノイド類の分析を行い、変動がないか確認をして、植物への代謝経路への影響を考察することという指摘になってございます。

21 ページの参考の図 2 にフェニルプロパノイド類及びイソフラボン類の生合成の一部

経路の図がございました。申請者としてしましては、この図のケイヒ酸を基質とする場合、フェニルプロパノイド類だけでなく、左側のイソフラボン類の分析（ダイゼイン、ゲニステイン、グリシテイン）これらの値も変動すると考えるということなのですけれども、この分析値は有意差がないか、有意差があったとしても文献、一般商業品種の分析値の範囲だったということで、イソフラボンについては従来ダイズと同等だという説明がされてございます。そのため、ケイヒ酸を基質とする可能性は低いと考えるということから、フェニルプロパノイド類を含む植物の代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いという考察になっておりまして、実際にはイソフラボン類ではなくフェニルプロパノイド類、図の 2 の右側のほうの分析が行われておりません。

次、22 ページをお願いいたします。カナダ等のダイズの主要生産国において、ダイズに使用可能なアリルオキシアルカノエート系除草剤について報告することという指摘になってございます。

回答ですけれども、ダイズの主要生産国におきまして、ダイズに登録のあるアリルオキシアルカノエート系除草剤はございません。カナダでは使用が許可されたということで、先ほど説明がありましたが、米国では申請中ということでございます。

22 ページのその他の修正事項は記載のとおりになってございます。

説明は以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項に対する回答につきまして、項目の順番に御意見をいただきたいと思っております。

まず、指摘事項の 1 で、これは *trfA* の機能の説明を追加することで、児玉先生ですか。

○児玉専門委員 この記載でよろしいかと思っております。

○澤田座長 それでは、指摘事項の 2 で *specR* 遺伝子の記載について、これも児玉先生。

○児玉専門委員 これでよろしいと思っております。

○澤田座長 それでは、指摘事項の 3 で、除草剤の光学異性体の有無に関する説明を追加してほしいということで、これは橘田先生ですね。

○橘田専門委員 記載事項については、これでいいかと思っております。また、現在農薬として使用できるのは 2,4-D のみですが、当該タンパク質が活性を示す除草剤も添付資料 5 にまとめてあるので問題ありません。

○小倉係員 以前、こちらの品目が提出されたとき、対象の農薬は 2,4-D のみということで、別の指摘事項でほかに農薬がないかといったことが同時に指摘されていたのですけれども、今回提出された回答書においても 2,4-D のみということなので、農薬の範囲に変更はないので、今回添付資料とはしていないというところでございます。

○北村課長補佐 代謝の活性がある化合物はあるのですけれども、農薬として使えるものは 2,4-D しかないという説明です。

○北村課長補佐 わかりました。確認いたします。

○澤田座長 指摘事項の4で、2,4-Dの代謝経路、代謝産物の残留量と安全性についてということで、これは何人かの先生から御指摘いただいておりますけれども、鎌田先生、いかがでしょうか。

○鎌田専門委員 ここにある記載で、毒性等が全部わかりましたので、これで私はよろしいかと思えます。

○澤田座長 あと、飯先生は。

○飯専門委員 指摘に対してはこれで私もいいかなと思えます。ちょっと余計かもしれないのですが、ここでDCPですか、が結構な量で残存しているという結果が出てこういうことになったと思うんですけども、きょうの前半の話とこれは一緒に来たもので。これまでこのタイプは①×①にカテゴライズされていたと思うのですが、例えば今後こういう新しいものを代謝するような酵素が上がってきたときに、掛け合わせを想定するとすると、そのものが例えばDCPを基質にするのかどうかということなども、私たちは常に頭の片隅において審査をしていくということになるわけですね。

○澤田座長 NOAELで比較すると10倍以上差があるのですよね。だから、……

○飯専門委員 基質特異性をいつも気にはするのですが、内在性の化合物については基質となる可能性があるかないかということを知りたいけれども、掛け合わせしたときに初めてふえてくるかもしれないようなものは、今まではある意味想定していなくて、掛け合わせのときに初めて考えるというスタンスだったのかなと思うのですが、これからはそういうわけにはいなくなってしまうことを厚労からは要求されたという。

○小関専門委員 それは、これからはではなくて、これまでもやってきたというふうと考えていかないと自己破綻してしまいます。

○飯専門委員 これまでは掛け合わせがきていたから。

○小関専門委員 だから要するに、シングル・シングルで考えていって、既に認めてきたものを必ず我々は覚えていて、新しいものが出たときに、過去のものに掛けたらどうなるかということをイメージしながらというか、思い浮かべながらやっていくしかないですね。

○飯専門委員 当然そういうつもりで今までもやってきたのは確かなのですが、ただ現実には一応掛け合わせは来ていたということはあるけれども、これからは来ないので、より見落としがないようにやるしかないという、そういうことですね。

○澤田座長 そこまで考えて審査をしなければいけないということ。

和久井先生も何か。

○和久井専門委員 ちょっと書きぶりが暫定基準値0.05 ppmと設定されている、これは暫定、要するに基準値の話で残量の話ですよね。そこにきて3行目から「なお」から急に毒性の話が始まって、まずこの相互性が何でここに来ているのかがちょっとわからなくなっているのと、その次に急性経口毒性で半数致死量——俗に言うLD50ですけれども

——が 2,4-D と 2,4-DCP で値が違いますよね、これ。DCP のほうが多いですよ。なのに、その後ろに「同等である」と書いてあるのが私にはちょっとよくわからないのですけれども。

あと、反復毒性試験の NOAEL もかなりちょっと違う、ちょっとというか、かなり差があるなという、もう少し近くてもいいのではないかなと、LD50 から見てみると、思います。

あと、もう一つが最後、生殖毒性試験の結果においても高く、それは DCP のほうが毒性が弱いからというふうに考えればそうなのですから、余りにも書き方がちょっと乱暴だなというふうにも考えました。

どちらにしても「同等である」というのは、ちょっと理解できません。必要ないと言えれば必要ないのです、はっきり言うと。別に LD50 が……

○澤田座長 何でしたっけ。この社内報告書を見ると、何かちゃんと比べられない数字をただ表にしたような感じなのですね。

○和久井専門委員 わからないのですよね、あれも。

○澤田座長 だから、急性毒性のデータはなくてもいいぐらいの……

○和久井専門委員 そうなのです。ですから、急性毒性のをわざわざ無理やり出してきて、その答えが「同等である」と、数字が全然違うのに、なぜ、どういう意味で同等なのかなとずっと考えていたのですけれども、よくわからないのです。

○澤田座長 多分、反復毒性のデータは同時にやっていたのではなかったでしたっけ。同時ではないのか。

○北村課長補佐 それぞれ 2,4-D と 2,4-DCP は違う文献から引用しています。

○澤田座長 違う文献なのですか。

○北村課長補佐 社内報告書にまとめて表記しています。

○澤田座長 だから、どのデータをとればいいのか本当はよくわからないということになってしまう。

○小倉係員 こちらの表現を申請者と相談した結果、2,4-D よりも 2,4-DCP のほうが毒性が低いことを記載する目的でここに書いていただいたというものです。それで、一応数字としては、この 3 つの半数致死量や反復投与、あと生殖毒性試験の結果があったので書いたのですけれども、2,4-D が確かに記載の方法が通常ではない方法ですので、もっと文献ごとに細かく書こうかと思ったのですけれども、申しわけありません、ちょっと詳しく書くことが難しい状況にあったようで、この書き方になってしまいましたので、ここは表現の仕方を御相談させていただければと思います。そもそも毒性の比較のところは削除で、2,4-D よりも 2,4-DCP のほうが毒性が低いという旨をそのまま書いてしまってもよろしいものでしょうか。

○澤田座長 それって DCP と 2,4-D に関して、ほかにも情報があるのではないかなという気がするのです。国際的に 2,4-DCP の残留基準値に含めないという根拠がどこかにあ

るはずなのですよ。

○山添委員　うち、2,4-D の評価やったのではないですか。2,4-D はやらなかったっけ。やったような記憶がある。

○北村課長補佐　もう少し根拠となるようなデータをもって説明してくださいということでもよろしいですか。

○澤田座長　だから、国際的に規制対象にならなかった理由をちゃんと説明してくれたほうが。

私のほうは、それ以上はありませんけれども、指摘事項の 5 で、これは遺伝子破壊の有無についてで、これは児玉先生。

○児玉専門委員　この形できれいに解析していただいているので、よろしいかと思うのですが。

○澤田座長　次に、指摘事項の 6 で外骨格領域が含まれていないことを確認するためにプローブを網羅するというので、これは鎌田先生。

○鎌田専門委員　これで結構です。きちっとやっています。

○澤田座長　飯先生もよろしいですか。

○飯専門委員　はい。

○澤田座長　それでは、指摘事項の 7 で、これは 2 つありまして、まず、指摘事項 4 と同様に代謝経路と動態について説明すると。それから、その次に、シキミ酸経路に関連するフェニルプロパノイド類の分析を行い変動がないか確認して、植物体の代謝経路への影響を考察するというので、児玉先生、いかがでしょうか。

○児玉専門委員　代謝産物の動態に関しては、これでよろしいかと思いますが、そこに先ほどの毒性の話を入れるかどうかはまたちょっと違う話かなとは思いますが、ただ、結構、放射性がほかのところについてしまうのも、ちょっとうんとは思ってはならないのですけれども、説明としてはこれでよろしいかとは思いますが。

○澤田座長　それでは、指摘事項の 8 で、これはカナダのダイズに使用可能な除草剤について報告するというので、これは鎌田先生ですか。

○鎌田専門委員　カナダというよりもいろんなところという、先ほど一応使えそうなのは 2,4-D しかないということなので、先ほどの橋田先生の御質問とかかわって、近い将来認定されそうな新しいものがあつたら、それこそその代謝物のことも見ておかないと、今後①と絶対に言うためには、まさにそういうことが出てくるということがあつて一応質問したけれども、当面 2,4-D しかなさそうだとということなので、これで回答としてはよろしいかと思えます。

○澤田座長　それで、あと修正事項が 3 点ありましたけれども、これは何か追加でありますでしょうか。よろしいでしょうか。

○北村課長補佐　すみません、指摘の 7 の (2) はこれでよろしいでしょうか。

○澤田座長　7 の (2) も。7 の (2) は澁谷先生ですが。

○児玉専門委員 代理で 7 の (2) ですけれども、一応代謝経路でゲニステインのところ
で経路の流れを示して説明されていますので、完全ではありませんが、とりあえず安全上
はこれで問題ないかというふうに考えます。

○澤田座長 ありがとうございます。

ほかはよろしいでしょうか。

ちょっと宿題が出ておりますけれども、一応安全上の問題はないということによろしい
かと思えますけれども、評価書の審議はもう時間がありませんがやりますか。

○北村課長補佐 先生方の御都合にあわせませす。

御指摘の回答とあわせて、次回させていただければと思います。

○澤田座長 それでは、次回ということで。

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 特にございません。

○澤田座長 ありがとうございます。

本日の議題については、これで終了いたしました。

以上をもちまして、第 122 回遺伝子組換え食品等専門調査会を閉会いたします。

きょうも大変ありがとうございました。