

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

第126回会合議事録

1. 日時 平成26年4月24日（木） 14:00～17:22

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

・低リグニンアルファルファKK179系統（食品・飼料）

・除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72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、岡田専門委員、小関専門委員、橘田専門委員、
児玉専門委員、近藤専門委員、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)

佐藤委員、山添委員

(事務局)

東條事務局次長、山本評価第二課長、池田評価情報分析官、北村課長補佐、
勝田係員、松井技術参与

5. 配布資料

資料1 平成26年度食品安全委員会運営計画

資料2 食品健康影響評価に関する資料

①低リグニンアルファルファKK179系統（食品）

②低リグニンアルファルファKK179系統（飼料）

③除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72系統（食品）

④除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72系統（飼料）

資料3 「食品安全委員会における調査審議方法等について（平成15年10月2日
食品安全委員会決定）」に係る確認書について

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126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」に基づいて非公開で行います。

本日の議題であります、新規の品目でありまして、低リグニンアルファルファKK179系統（食品・飼料）、除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72系統（食品・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います。事務局からお願いします。

○北村課長補佐 資料の確認を行います前に、新たに審議に加わっていただくこととなりました専門委員を御紹介いたします。

4月1日付で専門委員に任命されました岡田由美子専門委員でございます。

○岡田専門委員 国立衛研の岡田でございます。よろしくお願いいたします。

○北村課長補佐 ありがとうございます。

次に、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1日付で本郷次長の後任として、東條次長が着任してございます。

○東條事務局次長 東條です。よろしくお願いいたします。

○北村課長補佐 また、係員の小倉の後任として、勝田が着任してございます。

○勝田係員 勝田と申します。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1「平成26年度食品安全委員会運営計画」。

資料2「食品健康影響評価に関する資料」。

資料3『「食品安全委員会における調査審議方法等について（平成15年10月2日食品安全委員会決定）」に係る確認書について』でございます。

これら以外の参考資料につい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。不足等がございましたら、事務局までお願いいたします。

○澤田座長 大変残念なことでありましたが、座長代理をお願いしておりました鎌田先生がお亡くなりになりました。したがって、座長代理の指名が必要となっております。

食品安全委員会運営規程第2条第5項に、「座長に事故があるときは当該専門調査会に属する専門委員のうちから座長があらかじめ指名する者がその職務を代理する」とありますので、座長代理の指名をいたしたいと思います。

私のほうから座長代理といたしまして、小関専門委員にお願いしたいと思いますが、いかがでしょうか。

○小関専門委員 それでは、御指名ということなので、前任の鎌田先生は非常に知識豊かでいらっしゃる、昔から組換えのことを当初からやられていて、私ではちょっと力不足のところもあるかと思えますけれども、何とぞよろしくお願いします。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、次に事務局のほうから、今年度の運営計画についての御説明があると伺っておりますので、説明をお願いします。

○池田評価情報分析官 それでは、今年度初めの専門調査会となりますので、資料1に基づきまして、運営計画を御説明いたします。

1ページに審議の経緯がございます。企画等専門調査会で御審議をいただきまして、この3月24日に食品安全委員会に報告をされたものになってございます。

2ページが中身でございます。第1としまして、重点事項が記載されております。事業運営計画といたしましては、(1)にありますように、新たな10年に向けてということで、前年度7月に10周年を迎えましたので、今後の新たな10年に向けて業務改善を進めていくということを記載しております。

「(2) 重点事項」ということで、①～④までございます。こちらに記載されております4本柱については変わっておりませんが、②のリスクコミュニケーションにつきましては10年たったということもございまして、改めてリスクアナリシスの考え方におけるリスクコミュニケーションとは何かという基本を整理しつつ、リスク評価者としてのコミュニケーションの意義、手法、改善方法を改めて検討し、戦略的に進めていきたいということで記載をしております。

3ページ「第3 食品健康影響評価の実施」がございまして、こちらを御覧いただきますと、1の(1)といたしまして、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、今後も計画的・効率的な調査審議を行っていくということが記載されております。

特に、企業からの申請に基づく要請につきましては(2)にございまして、標準処理期間内に評価結果を通知できるように計画的に進めていくということでございます。

4ページ「2 評価ガイドライン等の策定」という項目がございまして、平成26年度におきましては、ベンチマークドーズ法の適用方法について検討を行うということで、こういった新しい手法についても今後検討を進めていくということにしております。

5ページ「第4 食品健康影響評価の結果に基づく施策の実施状況の監視」という項目でございまして。

1にございまして、この4月を目途に書面による調査を実施いたしまして、その結果を踏まえて進捗が悪いものについてはきめ細かくフォローをしていくということとしております。必要に応じまして、委員会の報告を求めるといった対応も取りまして、実施を促して

いきたいと考えております。

「第5 食品の安全性の確保に関する調査・研究事業の推進」でございます。

1の(1)にございますように、平成22年に概ね5年の間に何を推進していくかというロードマップとして「食品の安全性の確保のための調査・研究の推進の方向性について」というものを作成しておりますけれども、その次の5年に向けて、26年度の春先から見直しを行い、新しいロードマップをつくる作業を進めていきたいと考えております。

7ページ「第6 リスクコミュニケーションの促進」という項目がございます。

「1 リスクコミュニケーションのあり方に関する検討」という項目につきましては追記をしているものでございまして、冒頭に10年たちましたということで申し上げておりましたが、改めて基本論を抑えつつ、効果的にリスクコミュニケーションを実施していきたいという取り組みについて書かれております。

2といたしまして、情報の発信という項目がございます。(4)を御覧いただきますと、より利便性の高いホームページの実現に向けて検討を進めていきたいということが1パラのほうに書かれております。

下から2パラ目のところに、さらにということで記載をしておりますが、活動状況等について、Facebookを活用した機動的な情報の配信を行うということに記載しておりますが、こちらのFacebookにつきましては、既に2月4日から立ち上げをしているところでございます。

8ページ「3 『食の安全』に関する科学的な知識の普及啓発」ということで記載をさせていただきます。

(1)のほうに連続講座の実施というのが書かれております。こちらは平成25年度から連続講座ということで取り組みを開始しておりますけれども、平成26年度はこれを計画中に明記をするとともに、講義内容をインターネットで配信していくといったこととか、DVDを活用して配布していくといったことで、多くの消費者の方が活用可能な形で提供していきたいということでございます。

「4 関係機関・団体との連携体制の構築」でございます。

少し先の9ページに(4)という項目がございます。この学術団体との連携につきましては追記をしておるものでございますが、関係する学会におけるブース展示、ワークショップの開催等を通じまして、リスクアナリシスの考え方の普及を図っていきたいということでございます。

次の「第7 緊急の事態への対処」でございます。

3のところがございますように、実際の緊急時を想定した実践的な訓練をこれまでと同様、引き続き行っていきたいということでございます。

10ページに「第9 国際協調の推進」というものがございます。

(3)をごらんいただきますと、海外の食品安全機関等との連携強化ということがございますが、従来からEFSA、FSANZといった機関と定期会合を開催してきたところでござ

いますけれども、これらの機関に今後、職員を派遣していくといったことも模索しております。それにつきまして、職員の派遣等の人材交流という記載をしておりますのと、国際共同評価への参画等につきましては、農薬の部分で参画をしていきたいということでございます。

「(4) 海外の情報発信」というところをごらんいただきますと、平成25年度末から創刊しております英文ジャーナルについて記載しております。今後これを年4回程度発行して情報発信をしていきたいと考えております。

以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

ただいまの御説明につきまして、質問等はございますでしょうか。

それでは、次に、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に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、岡田委員から御提出いただいた確認書は資料3とさせていただきます。

以上でございます。

○澤田座長 既に御提出していただいております確認書につきまして、その後、相違等はございませんでしょうか。

それでは、続きまして、議題1の審議に入らせていただきたいと思います。

まず、低リグニンアルファルファKK179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。

○北村課長補佐 それでは、お手元にこちらの黄色いファイルをお願いいたします。

1ページ、下のほうから「1 宿主及び導入DNAに関する事項」がございます。宿主はマメ科の非組換えアルファルファR2336系統でございます。

2ページ、供与体の種名でございますが、*CCOMT*遺伝子断片は、アルファルファに由来します。*npt II*遺伝子は*E.coli*のトランスポゾンTn5に由来します。

挿入DNAの性質等ですが、本系統は*CCOMT*遺伝子発現抑制カセットのdsRNAによりアルファルファ内在性のリグニン生合成経路の主要な酵素であるカフェオイルCoA 3-O-メチルトランスフェラーゼ(*CCOMT*タンパク質)の発現を抑制することにより、地上部におけるリグニン含量が低下しているということです。*npt II*遺伝子については選択マーカーとして使用されております。

この系統は導入プラスミドをアグロバクテリウム法により宿主に導入することにより作

出されてございます。

次に「2 宿主の食経験に関する事項」になります。主要な用途ではございませんが、アルファルファは食料、栄養補助食品及び薬草療法としてヒトに利用されてきた歴史があるということでございます。

アルファルファの全生産量に対する食用利用の割合は小さいということです。

2ページの下のほうになりますけれども、アルファルファの食品としての用途ではスプラウトがございまして、スプラウト用の種子と飼料用種子は別々に生産・販売がされるということで、申請者と種子購入者と契約をすることによりまして、本系統のスプラウト生産及びアルファルファ由来の食品への使用は禁止されているということでございます。ですので、本系統については、スプラウトをはじめ、アルファルファ由来の食品の生産での使用は意図していないということでございます。

3ページの下の方の「3 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項」になります。

(1) 主要栄養素等は記載のとおりです。

4ページ、毒性物質、栄養阻害物質につきましては、カナバニン、サポニンについて記載がされてございます。

4ですが、宿主と組換え体との利用方法及び相違に関する事項になります。

(1) 収穫時期、(2) 摂取部位、(3) 摂取量、(4) 調理及び加工方法については、従来のアルファルファと変わらないということです。

5で、宿主以外のもは比較対象としてございません。

6の相違点でございまして、*CCOMT*遺伝子断片によるRNAiにより、ジーンサイレンシングが誘導され、内在性の*CCOMT*遺伝子の発現が抑制されることにより地上部におけるリグニン含量が減少するというものです。それ以外の相違はないということです。

6ページ「第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」になります。

申請者は、アルファルファの飼料としての品質を落とすことなく収穫期間を拡大することができるという目的で、本系統を作出してございます。リグニンは反芻動物の飼料の消化率に対して負の影響を及ぼすということでございます。

6ページの下の方に丸ポツが3つございます。

高品質な飼料生産を目的とする場合におきましては、同じ時期に収穫する従来のアルファルファと比較して、リグニンの含量が少なく、品質が同等以上となる可能性が高いということです。

2つ目のポツで、高収量を目的とする場合については、収穫を遅らせることにより、品質を大幅に損なうことなく、高い収量を確保することができるということでございます。この系統は数日遅れて収穫した場合でもリグニンの蓄積が少ないことから、従来のアルファルファを数日早めに収穫した場合と同等の品質が得られるということでございます。

7ページの3つ目のポツになりますけれども、予期しない収穫の遅れによる品質劣化の軽減もできるということでございます。

8ページ「第3 宿主に関する事項」になります。宿主はマメ科のアルファルファR2336系統です。

「2 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項」になります。アルファルファは多年生のマメ科の種で、相互に交雑可能な同じ核型を有する複数の亜種により構成されるということです。

現代のアルファルファ栽培種で特に温帯に適応している種は、2つの亜種に由来する遺伝資源を含んでいるということです。

なお、アルファルファは野生種である *M.sativa* が栽培化されたものであり、遺伝的祖先となる別種は存在しないということと、育種過程において有害生理活性物質を低下させてきたとの報告はないということです。

9ページ、「3 有害生理活性物質の生産に関する事項」になります。サポニン、縮合タンニン、フィトエストロゲンといった有害生理活性物質を含みます。サポニンにつきましては、毒性を示す可能性があるのはザンハ酸及びメジカゲン酸であると考えられているということです。また、泡立ち特性によって反芻胃の鼓張をもたらすということでございます。

縮合タンニンは飼料に含まれるタンパク質に結合能を持つことが知られているということです。

フィトエストロゲンについては、マメ科植物を給餌した家畜の生殖機能に悪影響を及ぼすことが知られているということです。

最後のパラのカナバニンになりますけれども、アルファルファをはじめ、多くのマメ科植物の種子とスプラウトに貯蔵される二次代謝産物でありまして、カナバニンはL-カナバニンの形態で存在をしまして、植物体内で捕食や病原菌に対する防御物質として産生されるL-アルギニンの構造類似体であるということと、紅斑性狼瘡を誘発する可能性があると考えられるということが記載されてございます。

10ページ、なお、通常アルファルファの食品としての摂取量において、これらの有害生理活性物質がヒトに対して負の影響を及ぼすとの報告はないということでございます。

アレルギーについては、ヒトのアルファルファに関するアレルギー反応の報告例はないということです。

病原性のウイルス等については記載があるとおりでございますが、これらの病原菌はヒトや家畜等への病原性を持つという報告はないということでございます。

「6 安全な摂取に関する事項」でございます。先ほど述べましたように、アルファルファは主要な用途ではないが、食料として用いられますけれども、ヒトによる消費量はごく少量だということでございます。

11ページの「7 近縁の植物種に関する事項」でございます。こちらは記載のとおりで3種ありますけれども、我が国は自生をしておらず、有害生理活性物質の産生性に関する報告はないということでございます。

12ページ「第4 ベクターに関する事項」になります。ベクターFについては、導入用プラスミドの中間プラスミドということです。

「2 性質に関する事項」です。

(1) 塩基数、塩基配列、(2) 制限酵素による切断地図、(3) 有害塩基配列を含まないことに関する事項が記載されてございます。

(4) 薬剤耐性遺伝子につきましては、*aadA*遺伝子と*nptII*遺伝子が含まれてございます。

(5) 伝達性は、ないということです。

14ページが、ベクターFの制限酵素地図になっておりまして、15~16ページが各構成要素の由来及び機能になってございます。

17ページ、第5になります。

「1 挿入DNAの供与体に関する事項」でございます。

(1) *CCOMT*遺伝子断片は、アルファルファに由来します。*nptII*遺伝子は*E.coli*のトランスポゾンTn5に由来します。

安全性に関する事項は、アルファルファには長い使用経験があるということでございます。

22行目の2番になります。

「(1) 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法に関する事項」です。*CCOMT*遺伝子はアルファルファに由来しまして、プラスミドベクターへクローニングされてございます。*CCOMT*逆方向反復配列はこのベクターからPCRにより増幅されてございます。構築とクローニングを容易にする目的で、制限酵素切断部位をPCRプライマーに導入をしております。

(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」になります。

18ページの資料2と図5に示されてございます。

「(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項」になります。*CCOMT*遺伝子の断片の機能になりますけれども、まずリグニンについては主に3種のリグニン・サブユニット、グアヤシル (G) リグニン、シリギル (S) リグニン及び*p*-ヒドロキシフェニル (H) リグニンからなるということでございます。

各リグニン・サブユニットの相対比率は植物の種類や組織のタイプにより異なりまして、アルファルファではGリグニンとSリグニンの合計の全サブユニットに占める割合が最大で95%になるということでございます。

リグニンの生成経路が19ページの図2に示されてございます。*CCOMT*タンパク質と*COMT*タンパク質というのがリグニンの生成に必要だということです。この2つのO-メチルトランスフェラーゼについては、フェニルプロパノイド、フラボノイド及びアルカロイドなどの二次代謝産物の酸素原子をメチル化する酵素でございます。

*CCOMT*タンパク質、右の図2の左の列の真ん中辺にございますけれども、このタンパク

質はリグニンの生成経路で、カフェオイルCoAをメチル化して、フェルロイルCoAを産生します。

右側のSリグニンに行くほうにございますCOMTタンパク質は、カフェオイルアルデヒドをメチル化しまして、コニフェリルアルデヒドを、5-ヒドロキシフェリルアルデヒドをメチル化してシナピルアルデヒドをそれぞれ産生するというところでございます。

CCOMTタンパク質とCOMTタンパク質がございますけれども、この2つのうち、CCOMTタンパク質がGリグニンの産生を低下する目的で抑制する主要酵素として特定されているということでございます。

20ページ、21ページに本系統のリグニンの生合成経路が記載されてございます。この系統の遺伝子発現カセットは、他のリグニン・サブユニットと酸化結合して複合リグニン分子を形成するGリグニンの含量を減少させるものでございます。内在性のCCOMT遺伝子断片の逆方向反復配列を持つ転写物が産生されるようにデザインしましたCCOMT遺伝子発現抑制カセットを導入しまして、その転写産物が二本鎖RNAとなります。これがRNA干渉、RNAiを介しまして内在性のCCOMT遺伝子の発現を抑制する働きをします。このCCOMT転写物が分解をされまして、標的であるCCOMT遺伝子の発現が抑制されるということでございます。

なお、このカセットはインゲンマメのフェニルアラニンアンモニアーゼ遺伝子由来のプロモーターにより制御されてございまして、成熟植物内のリグニン沈積部位において特異的に発現をするということでございます。

下のパラグラフにまいりますけれども、この遺伝子発現カセットを導入しまして、リグニン・サブユニットの割合の変化はSリグニンとGリグニンの比、SG比の変化として特定することができまして、S:Gリグニン比の上昇はアルファルファにおけるCCOMTタンパク質の発現が抑制されたことにより見られる特性であるということでございます。この系統ではGリグニンの減少によりまして、総リグニン含量が減少するというところでございます。

22ページからリグニン・サブユニットの変化について説明がされてございます。先ほどの機構の確認をするために、総リグニン含量等の確認の試験が行われてございます。

22ページの下の方のGリグニンが総HGSリグニンに占める割合の変化というところに結果がございまして、サブユニットの分析の結果、Gリグニン含量で対照の非組換えアルファルファの間に統計学的有意差が認められてございます。

表2が含量になってございます。Gリグニンの含量については有意に減少しているということです。表2の一番下の列になりますけれども、S:G比が上昇しているということでございます。

25ページが総HGSリグニンに占める割合になってございまして、Gリグニンの割合が減少して、Sリグニンの割合が上昇して、Hリグニンの割合が上昇しているという結果になってございます。

26ページが地上部におけます総リグニン含量の変化になってございます。総リグニン含

量、こちらは酸性デタージェントリグニンになりますけれども、の測定をしてございます。

結果が27ページの表4になります。対照の非組換えと比較をしまして、有意に低下しているという結果になってございます。

28ページに*npt II* 遺伝子の機能について記載がございまして、NPT II タンパク質はマーカーとして使用されてございまして、アミノグリコシド系抗生物質でありますネオマイシン、カナマイシンなどをATPによりリン酸化をして不活化をします。安全性につきましては、EFSAにおいて作物中の*npt II* 遺伝子がヒト及び家畜等の健康に影響を及ぼす可能性は極めて低いとしているということでございまして、図4に推定アミノ酸配列が記載されてございます。

「(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項」で、*npt II* 遺伝子について、28ページに記載がございまして、29ページに*aadA* 遺伝子について記載がございまして、2つの遺伝子とも本系統中には導入されてございません。それについてはサザンブロット分析で確認がされてございます。

29ページの3になります。プロモーター、ターミネーター、30ページにまいりまして、その他について記載がございまして。

30ページの4になります。ベクターへの組込方法に関する事項になります。導入用プラスミドについては中間プラスミドでありますベクターB～F及びSegment A1から構成される合成ベクターでございまして、導入プラスミドの構築方法が以下に示されてございます。

30ページの5になります。発現ベクターに関する事項で、(1) 塩基数、塩基配列、制限酵素に関する切断地図については記載のとおりでございまして。

31ページの(2) オープンリーディングフレームについては、目的外のオープンリーディングフレームは存在しないことが確認されてございます。

発現ベクター上での意図する領域については、T-DNA I と T-DNA II 共に右側から反時計回りに左側領域までであるということでございまして。

純化について記載がございまして。

32ページの図5が導入用プラスミドのマップになってございます。

33ページ、34ページ、35ページの表5が導入プラスミドの構成要素の由来及び機能でございまして。

36ページ「6 DNAの宿主への導入方法及び交配に関する事項」になります。アグロバクテリウム法により作出されてございます。以下に詳細がございまして。

8行目、R2336系統は均一な遺伝子型を保持する育種母本群の1系統でございまして、高収量・秋季休眠性の優良品種系統から選抜されたものであるということでございまして。

38ページのフロー図にKK179の選抜方法が記載されてございます。アグロバクテリウムにプラスミドを導入しまして、R2336系統の形質転換を行いT0を選抜しまして、T0とMs208をかけ合わせるによりF1を作出してございまして。F1からT-DNA I 領域を有し、T-DNA II を持たない個体を1個体選抜しまして、遺伝子の解析とほ場における後代の評価

によりまして、KK179系統を商品化系統として選抜したということでございます。

36ページの23行目、アルファルファは4倍体で、8つの染色体を4セット持っているということです。ほとんどのアルファルファは自家不和合性でございます、近交弱勢及び雑種強勢を示すということでございます。商業品種の種子はハチを花粉媒介昆虫として、必要とする形質を持つ複数の親系統を自然交配することにより作られ、この方法によって作出された系統は合成品種ということで、合成品種は複数の遺伝的優良系統の多交雑により作出しているため、不均一な集団であるということです。合成品種内の個体は異なる遺伝子型を持ち、多様な表現形質を示して、栽培種は一般的に遺伝的に固定されていないということでございます。

32行目からがKK179系統の作出方法になります。

39ページの図7に育成図がございます。形質転換しましたT0を雄性不稔の優良系統であるMs208系統と交配させてF1を得まして、F1から選抜をしたのがP0になります。FD4、これが従来品種の個体群になりまして、その10個体からなる従来品種個体群がFD4でございます。それをP0にかけまして、MBC1ができます。導入遺伝子を有することをPCRで確認をしたMBC1世代の20個体から得られました花粉を用いて、FD4従来品種と交配することによりまして、MBC2世代が作出されます。MBC2世代についてPCRで確認をしました24個体から得られた花粉を用いまして、FD4の従来品種個体群と交配されることによりまして、MBC3世代を作出してございます。そのMBC2世代の80個体と多交雑されることによりまして、Syn1世代が作出されたということでございます。

今回、安全性評価の対象はP0及びP0世代から派生する全ての後代交配種ということでございます。

対照品種につきましては、非組換えアルファルファのR2336系統とMs208系統をかけ合わせるによりF1を作りまして、その中から1個体のC0世代を選抜して、本系統のSyn1世代と同様の育成方法により作出をしたC0-Syn1世代を使ったということでございます。

40ページ、組換え体に関する事項になりまして、解析に供試した世代が表6にございます。

41ページの「1 遺伝子導入に関する事項」になります。

「(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項」でございます。サザンブロット分析の結果、導入プラスミドのT-DNA I 領域がゲノムの1カ所に1コピー導入されていることが確認されてございます。

T-DNA II 領域と外側骨格配列は存在しないことが確認されてございます。

塩基配列解析の結果、導入プラスミドのT-DNA I 各構成要素の塩基配列が同一であることと、本系統の導入遺伝子が同一であることが確認されてございます。導入部位におきまして、アルファルファゲノムの内在性配列の102 bpの欠損が認められてございます。BLASTn、BLASTxによる近傍配列の分析から、内在性の既知の遺伝子が破壊されていないと考えられたということでございます。

以下、詳細になりますが、42ページに要約がございまして、43ページにプローブの説明がございまして、43ページのプラスミドのマップでa、b、cと点々がございましてけれども、こちらの部分はほかのプローブで検出できるため、プローブに使っていないという説明でございまして。

44ページが模式図になってございまして、45ページがバンドサイズの一覧になってございまして。

46ページの(1)で総入箇所とコピー数の説明がございまして、48~54ページまでが導入遺伝子のサザンプロット分析になってございまして。

55ページがT-DNA II配列の有無について確認がされてございまして、56ページがサザンプロット分析になってございまして。

57ページが外側骨格配列の有無になってございまして、58ページにサザンプロット分析がありまして、59ページも外側骨格の確認になってございまして。

61ページ、導入遺伝子の近傍配列の構成と塩基配列の確認の説明がございまして。

63ページ、近傍配列がアルファファゲノム由来であることの証明の説明になってございまして。その結果、14行目、PCR産物について比較をいたしました結果、5'末端側近傍配列については1カ所のヘテロ変異があったということと、19行目、3'末端側近傍配列については1カ所にヘテロ変異があったということです。

25行目になりますが、102 bpの欠失が認められてございまして。

64ページがPCRの図になってございまして、65ページが内在性の既知の遺伝子に関する影響になります。本システムの挿入部位において内在性の既知の遺伝子が破壊されていないことを確認するために、5'末端側上流1,047 bp、欠損した102 bp、3'末端の下流の1,256 bpをクエリー配列としまして、BLASTnとBLASTx検索が行われてございまして。

その結果、EST_2012を用いて行ったBLASTnの結果、クエリー配列と95%以上の相同性を示す配列が1個見つかってございまして。こちらは74 bpからなる不完全菌による病害が発生したタルウマゴヤシのmRNA配列でありました。この相同性を示した範囲については、挿入部位の3'末端の約1.1kbの下流であったということと、相同性を示した範囲が約3%であったということと、3'末端側の74 bpであったということから、挿入部位において内在性の既知の遺伝子が存在することを示唆するものではないと判断されたという記載がございまして。

また、NT_2012を用いましたBLASTn検索の結果、*E*-scoreが 1×10^{-6} 以下の配列が899個ありまして、クエリー配列と95%以上の相同性を示す配列は1個あったということとございまして。

66ページ、こちらにつきましては、タルウマゴヤシのBACクローン配列が相同性を示してございまして、この相同性を示したのはクエリー配列の導入遺伝子挿入部位の5'末端側の約629 bp上流であったということとございまして。相同性を示した範囲はクエリー配列の約2%であったということと、先ほどと同様に内在性の遺伝子が存在することを示唆する

ものではないと判断されたということでございます。

また、NR_2012を用いましてBLASTx検索の結果でございますけれども、*E*-scoreが 1×10^{-8} 以下の配列が876個ありまして、これらにつきましては多くは停止コドン、またはフレームシフト変異を有していたということと、876個のうち11個の配列は停止コドンを有していなかったけれども、大きなギャップを持つ配列の短い断片でありまして、コットンウッド、イネ、トウモロコシの予想タンパク質または機能未知タンパク質であったということでございます。

以上の結果から、遺伝子の挿入部位においてアルファルファ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いうことでございます。

68ページ、ORFについてでございます。導入遺伝子の2,582 bpと5'末端の1,047 bpと3'末端の1,256 bpについて、ORF検索を行ってございまして、その結果、10個のORFが確認されたということでございます。

それらについてデータベースで検索を行いました結果、既知のアレルゲンと毒素、生理活性のあるタンパク質との構造相同性は認められてございません。8つの連続するアミノ酸につきましても相同性を示す配列は検出されなかったということでございます。

28行目、導入遺伝子の部分におきましても、相同性検索を行いました結果、既知のアレルゲンと毒素、生理活性のあるタンパク質との相同性はみられなかったということでございます。

69ページの2番になります。遺伝子産物の発現部位、発現時期、発現量に関する事項でございます。本系統のSyn1世代の地上部と根から単離をしましたRNAについてノーザンブロット分析が行われてございます。

22行目からが地上部におけます*CCOMT*遺伝子のRNAレベルになりまして、非組換えアルファルファと比較をしまして、RNA量が抑制されていることが確認されてございます。

71ページに図がございまして、Bのほうが図19の下の説明にございまして、*CCOMT*プローブ除去後にアクチンプローブとハイブリダイズされた結果を示すということで、コントロールとしています。

72ページ、根の部分のRNAレベルになりまして、73ページの図20に結果がございまして。地上部ではバンド強度が大きく減少してございまして、*CCOMT*遺伝子のRNA量が抑制されていることが確認されたということでございます。

74ページ「3 遺伝子産物の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」については、タンパク質が生産されないため、タンパク質摂取量の評価から除外したということでございます。

4番の遺伝子産物のアレルギー誘発性に関しても同様でございます。

(1) になります。アルファルファに対するアレルギー反応の報告例はないということでございます。

(2)、(3)、(4)、(5) については省略されてございます。

75ページの5番の安定性に関する事項になります。本系統の4世代、P0、MBC1、MBC2、Syn1の葉から抽出されましたゲノムについてサザンブロット分析が行われてございます。

結果につきましては、77ページにサザンブロット分析の結果が示されてございまして、76ページに記載がございましたように、1コピーのT-DNA I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いうことでございます。

78ページ、遺伝様式についてになります。分離比のカイ二乗検定による統計解析が行われてございます。結果が表9に示されてございますけれども、MBC2とMBC3につきましては、1対1の分離比について確認がされてございまして、実測値と期待値で有意差がなかったということでございます。先ほど御説明しましたけれども、MBC2とMBC3については39ページの育成図に示されているものでございます。下のほうのSyn1については、分離比が3対1で実測値と期待値の間にカイ二乗検定による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。

80ページ、6番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。*CCOMT*遺伝子発現抑制カセットによるRNAiによりジーンサイレンシングが誘導されまして、地上部及び根において*CCOMT*遺伝子のRNAが減少することが確認されてございます。この*CCOMT*遺伝子のRNAが減少することによりまして、*CCOMT*タンパク質の酵素活性が低下をしまして、グリグニンの含量が減少します。そのグリグニンの減少によりまして、総グリグニン含量が減少するということでございます。

その次に、構成成分の比較がございまして。

81ページの表10に、地上部の構成成分のうち統計処理を行った項目が記載されてございます。

82ページ、地上部の栄養素につきましては、灰分で有意差が認められましたけれども、従来商業品種の分析値から計算されました許容区間内に収まっていたということでございます。

二次代謝産物等につきましては、90ページの表12に記載がございまして、フェルラ酸とカナバニンにつきましては有意差がありましたが、カナバニンは低下、フェルラ酸は増加してございまして、商業品種の分析値から計算されました許容区間内に収まっております。

85ページに酸性デタージェントリグニンの結果がございまして、酸性デタージェントリグニンについては減少はしていますが、統計学的な有意差は認められてございませぬ。一方、最初に説明をいたしました26ページの総グリグニンの変化ということで、27ページの表4については有意差がついているという結果になってございまして、分析機関が異なるということでございます。

92ページまでが結果の表になってございまして、93ページが「8 諸外国における認可、食用等に関する事項」になります。こちらは記載のとおりでございまして、カナダ、米国で審査が終了してございます。

栽培方法、種子の管理方法に関する事項については、記載されているとおりでございます。

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4のベクターに関する事項までで、16ページまでですけれども、御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○橘田専門委員 4ページの「(2) 宿主に含まれる毒性物質・栄養阻害物質等の種類及びその量の概要」についてです。そのところでKK179系統と対照の非組換え体の比較がされているのですが、ここに書き込む必要はあるのでしょうか。後ろのほうできちんと言及されていれば、それでよろしいのかなと思うのですけれども。

○澤田座長 ここは宿主だけのところですから、後ろに書いてあれば、あえて書く必要はないかと思えます。

○橘田専門委員 同じページですが、33行目以降のところ、アルファルファスプラウトの摂取量について単位がよくわかりません。摂取量が44.6 gとなっていますが、1日当たりなのか年間なのか、どういう単位なのかがわからないので、ここについても記していただければと思います。

○澤田座長 多分年間のような気がしますが、確認していただきたいと思えます。

○橘田専門委員 年のようにも見えるのですが、栄養補助食品のときには摂取量は13.2 gとありまして、10ページあたりでは、いわゆる健康食品みたいなものとしての摂取ですかね。消費量は1回当たり8~20 gの範囲となっていますので、その辺を鑑みても1日なのか年間なのか判然としないので、ご確認よろしくをお願いします。

○澤田座長 1回に食べる量としては、このぐらいかもしれませんね。頻度とか、そこら辺を考慮しないといけないのかもしれませんが。いずれにしても単位は一応きちんと書いていただきたいと思えます。

ほかにいかがでしょうか。

○児玉専門委員 今回のアルファルファですけれども、基本的に食品用として用いるのを想定していないというふうに設定しているようですが、一体我々は何を審査すればいいのかがよくわからなくて、要するにスプラウトとして食べるのを前提にして我々は審査するのか。何を我々は審査すればいいのかというところをまず明らかにしてほしいと思えます。

○澤田座長 今までの例ですと食べる頻度は少ないけれども、一応食べる可能性があるということで、スプラウトを食べるのを前提にして安全性の審査をするというのがスタンスだと思います。

○児玉専門委員 後ろのほうになってしまうのですけれども、そうすると構成成分とは合わないということになりますか。

○澤田座長 スプラウトに関してはやっていないということですね。

○小関専門委員 まず御質問のあれですけれども、結局、飼料として売ったものが間違えて食品に交じるというスターリンク事件があって以来、人が食べるものであればやるというのが前提になっています。ですから、モンサントさんは絶対に売りません、使いませんと言うけれども、間違えて混入してくるリスクがあるので、やらざるを得ない。

あと、スプラウトとしての評価で、逆にそれだけでいいのかということもあって、というのは健康食品のときに、あのタブレットはスプラウトでつくるんですかね。緑色をしているから、多分あれは大きくしてから緑葉でつぶしていると思うんです。スプラウトだと本当にモヤシ状態で、ちょこっと緑色なぐらいなので、恐らく。それを言い始めると、どこまで構成成分をチェックするべきかという、そこまで行ってしまうような気がするんです。

○児玉専門委員 過去にアルファルファの申請があったようで、大分昔のようですねけれども、その段階のときには一応スプラウトのところは検討しているように見える。ウェブからダウンロードして評価書を見てみたんですけれども、スプラウトのところは検討しているような表現だったんですけれども、そこら辺はどうですか。

○澤田座長 かなり前ですね。食品安全委員会ができて間もなくぐらい。それでやはり同じようなことが議論になったような覚えがあります。スプラウトに関してどこまでやればいいのかというのは、よく覚えていません。昔の評価書でスプラウトをさかのぼって見ていただいて、それと同じようなことをやる必要があるかと思います。

○小関専門委員 整合性を取るという意味で言ったら、過去の評価のときのポイントはやってもらおうということではないですかね。それを見ないとわからないです。

○北村課長補佐 再度確認しますけれども、過去にラウンドアップレディーアルファルファというのがあるのですが、サポニン、カナバニン、ザーニック酸についてはスプラウトも確認をしているようです。ほかの構成成分につきましては、アルファルファの茎と葉と書かれています。

○澤田座長 幼い芽みたいなものと成長した葉と茎と、どれくらい成分が違うかはちょっとよくわかりませんが、それほど違わないという仮定でやったのかもしれませんが。

○北村課長補佐 確認します。

○澤田座長 ほかはいかがでしょうか。

それでは、続きまして、第5の17～39ページにかけまして、御意見、コメントがございましたら、お願いしたいと思います。

○小関専門委員 1点よろしいですか。確認させていただきたいのですが、要するに子がよければ親もいいのかという議論を昔に随分やったと思うのですが、これはわかるんです。結局は近交弱勢するから、どうやってもバッククロスをほかとかけていかないと種子が取れてこないというので、それでMBC1、MBC2という格好でFD4とかけていって、それでやっていったものなんですけれども、結局あれですね。構成成分を調べたのはSyn1

の段階というか、そこまで行かないと多分構成成分を調べるほどの量が植物体として取れない。だから、これはP0をやりなさいと言ったって、それは不可能ですということはよくわかるのですが、こここのところのスタンスとして、ここで行ったときに導入遺伝子の解析についてはP0で全部抑えられているので、バッククロスの影響はないと考えて、P0もいいというスタンスで行くのか。それとも、やはり全てのデータがそろっているSyn1だけにするのかというのは確認したいと思います。

○澤田座長 ほかの先生方はいかがでしょうか。

○児玉専門委員 今の小関先生のお話は、結局その安全性評価の対象としてP0を入れるか入れないかということですよ。

○小関専門委員 これで行くと、全てのデータがある意味そろっているのはSyn1、全てという構成成分を調べたのはSyn1で、でも、Syn1は導入遺伝子については解析はP0でやっているということですから、そこはずれているんです。そこをどう考えるのかということだと思います。

Syn1は得られているデータであるから、安全性評価をするものは、ここではSyn1のみだと言うのか。それとも、さかのぼってP0もいいとするのかというところの決断だと思います。

○澤田座長 その前にちょっと教えていただきたいのですけれども、Syn1はF2みたいなものですか。

○小関専門委員 要するにどんだんクロスして違う血を入れていくじゃないですか。種を増やしますね。ある程度、種が増えれば、そこで要するにどんだん雑駁になっていくわけですか。だから、FD4と2回かけて、それでMBC2になったときに得られた種をその中で交配させているということですね。要するにMBC2でそこそこ雑駁性が出たので、近交弱勢がSyn1には出ないぐらいになった。通常に言うところのMBC2の自家交配がSyn1であるという考えでいいのではないですか。

○児玉専門委員 飼料のほうで、ここの説明を受けたのですけれども、結局ほかの血を入れないと種ができないのでFD4と2回かけ合わせをして、MBC2世代をつくって、その種をポットにずらっと並べまして、そうすると、その種の中に遺伝的に多分不均一なポピュレーションができていますので、そのポットを並べたところにハチを放して自由に交配させる。そうやってできた種がSyn1だという説明でした。ですので、イメージ的にはMBC2の自家交配のイメージで我々は審査をしても構わないとは思いますが。

○澤田座長 私の疑問は、遺伝的に目的遺伝子がない個体もあるのかどうか。

○小関専門委員 分離比を出しているじゃないですか。バッククロスの格好なので1対1で、Syn1はMBC2の中の集団で。

○澤田座長 MBC2からチェックして目的遺伝子があるものだけ選んで、それをハチで交配させたと。それでよろしいですか。

○児玉専門委員 基本的にはそうです。ヌルセグレガントは抜いて、ホモかヘテロかとい

うことで、これはバッククロスを重ねているので、基本的にはヘテロです。ヘテロのものを自家交配させたみたいイメージなので、Syn1のところは3対1に分離するような種の組成になるということみたいです。実際に売るのは、こういう形のポピュレーションなものを売るそうでした、実際に売るときには遺伝子が入っているものと入っていないものと混ぜた状態で売るとのことだそうです。

○澤田座長 遺伝的な背景は。

○小関専門委員 遺伝的背景を雑駁にする、すなわち変えない限りは、近交弱勢が出てしまうので、わざわざ血を入れて混ぜていくということをして得られているものです。

○澤田座長 構成成分としては実際によるSyn1が一番適している。

○飯専門委員 もう一回説明していただきたいところがあるのですが、私がここに加わった最初のころに、例えば39ページの図で、ここから後代はいいですよという場合に、成分分析をある段階でやっていたときに、そこからさかのぼった世代を認めるかということを知りたいと思うのですが、恐らくこのケースではP0のレベルでの遺伝子の構成はしっかり見ておいてもらわないといけないだろうと。

ただ、このアルファルファではない今までの場合は、構成成分の分析は自殖の後代である場合もあれば、1回別の品種とのかけ合わせの後代であったりというようなこともあって、それはそれで結果としては認めてきてはいると思うんです。そうするとSyn1の世代もある意味、多殖の相手は結構種類は多いけれども、アナロジ的に考えれば、今までのF1以降のF4だとかF5だとかを認めてきたのに相当するかという気はします。

あと、80ページの21～22行目あたりになるかと思いますが、添付資料の英文までは確認していないのですが、この書き方は、温室で組換え体を育てたうちで導入遺伝子のないものは除き、残りのものを集めて構成成分にかけているのかなと解釈したんです。

ですので、今回のこの件に関して言うと、遺伝的なバックグラウンドは厳密に言えば、P0とSyn1は大分違う可能性が高いのですが、P0の段階でサザンをきちんとやって一応確認したものの後代であって、その後代で構成成分等を確認したので、P0までさかのぼって認めるということにしても今回はよろしいのではないかとはいえます。

○澤田座長 大体そのような方向で私もよろしいかと思うのですが、1つだけ確認したいのは、対照の作り方で目的遺伝子がネガティブなものを選んだのか、そうではないのかというのは、どこを読めばわかりますか。

○北村課長補佐 37ページの16行目から記載がありまして、非組換えのR2336とMs208を掛け合わせてF1をつくって、その中から1個体を選びます。以下は本システムの作り方と同じですという説明です。

○澤田座長 わかりました。最初からNON-GMで作ったということですね。

○飯専門委員 私も今の記述以上のことはわからないのですが、本当に途中にMBC1みたいなを挟んで、同じ回数、ステップを踏んだかどうかはちょっとわからなかったのですが、全体構成としては同じようなものを使っていると解釈したのですが。

○澤田座長 ほかに御意見はいかがでしょうか。一応、P0以降を対象にしてよろしいという
ことで、もし異論がなければ、そういうふうにしたいと思います。

39ページまででほかに御意見、コメントはございますでしょうか。

○中島専門委員 Sリグニンが増えているか、増えていないかはなかなか微妙で、20ペー
ジの26行目では増加していないとはっきり言っているのですが、24ページの表に確かに有
意差はないのですが、これはなかなか微妙な数字でして、これくらいだったら、これで増
加していないと言い切られると少々難な気がしまして、表現の上では、有意には増加して
いないとか、そのくらいの表現にさせていただかないと、こういうふうに全く変化してい
ないような書き方はいずれ違う値が出てくる可能性があるかと思えます。

○澤田座長 そこは正確に書いていただくということで、後のほうでもまた出てきますね。

ほかはよろしいでしょうか。そうしましたら、次に40~69ページの前半で、遺伝子導入
に関する事項でありますけれども、ここに関しまして、御意見、コメントがありましたら、
お願いしたいと思います。

よろしいですか。それでは、もしありましたら、また後でお願いしたいと思えますけれ
ども、80ページの前半で組換え体に関する事項の6までですか。そこまででコメント、御
意見をお願いしたいと思えます。

○児玉専門委員 75ページの複数世代における導入遺伝子の安定性のところですが、通常
のタンパク質を発現するようなコンストラクトの場合、導入遺伝子の場合、タンパク質
がちゃんと発現しているのを複数世代いで確認することになっているのですけれども、今
回は抑制系なので遺伝子が入っていますというのは確認しているのですが、抑制が安定し
ているかどうかは世代間では見ていないということになっているのですが、その点を要求
するかどうかということを確認したいと思えます。

○澤田座長 RNAiに関しては前に出ていましたね。ほかの例が。そのときに要求してい
ましたか。

○児玉専門委員 ちょっと覚えていません。

○澤田座長 たしかタンパクか何かのレベルを見ていたような気がします。もし確認する
としますと、RNAのレベルですか。

○松井技術参与 オレイン酸ダイズでRNAiを使っているのですけれども、後代、目的遺
伝子の安定性に関しては抑制系では見ていなくて、マーカーとしてEPSPSが入っているの
で、そのタンパク質を4世代で見えています。複数世代で抑制系ノーザンでも見ていないと
いうことです。

○児玉専門委員 今回1つあるのは、ノーザンを見ているところはSyn1世代だったかと思
うのですが、いわゆる一番最後の世代でノーザンを見ているので、安定していますよとい
うことを担保できるかなとも、今、思っただけなんです。そういうことであれば、それで
担保したということで、確認しなくてもいいということもあるかなと思いました。

○澤田座長 そうしましたら、それはクリアできるということになりますね。

ほかはよろしいでしょうか。

○飯専門委員 今回のRNAiの話で刺激されたのですけれども、児玉先生は以前オフターゲットのことに言及したほうがいいのではないかとコメントをされていたので、整合性は取っておいたほうがいいのかなと思ったのですけれども、どうなのでしょう。

○児玉専門委員 オフターゲットの件は、前回のジャガイモのときは初めてプロモーターのメチル化をターゲットにしたサイレンシングが出てきたので、プロモーターだとシスエレメントとか非常に小さい配列でも同じ配列であれば効いてしまったりするであろうということもあって考えたのですが、今回はコーディング領域だけです。

恐らくこれでバイオインフォマティクスしてもらって、20ベースとか一致する遺伝子をリストアップしてもらったとして、仮に発現が抑制されたとしても、出てくる個体は恐らくアグロノミククトレートは変わっていません。有害成分等は変わっていないので、食品の影響評価としての影響を与えるようなことにはなりませんという答えが返ってくるのが読めるので、コーディング領域に関しては、一応似た遺伝子があらかじめわかっている場合は除いて、特に評価を求める必要は、今はないのではないかと考えています。ただ、これは皆さんの同意が取れるかどうかは、ちょっとわかりません。

○澤田座長 CCOMTと類似性が高い遺伝子がもしあると、それは効いてしまう可能性があるということですね。そうすると理論的にはともかく、一応見ておいていただいたほうがいいのでしょうか。

○児玉専門委員 アルファルファはゲノムを読まれていませんよね。読まれているんですか。一応、CCOMTでBLASTを私はかけてみたのですけれども、アルファルファのほうで特に高いのは出てきませんでした。O-メチルトランスフェラーゼはカフェインなどだと非常によく似た遺伝子が次々と出てきて代謝していくのですが、このリグニン代謝系の場合、近くに出てくるO-メチルトランスフェラーゼとは大分配列も違うようですので、リグニン代謝系では特異的に抑制しているかなと判断できるかなと思いました。

あと、特に似た遺伝子がBLASTでは直接的には出てこなかったもので、オフターゲットの話は今回は私の中ではよろしいかなという感じで今日臨んできた次第です。

○澤田座長 ただ、その説明は書いておいていただいたほうがいいわけですね。

○児玉専門委員 説明はしていただいてもいいかもしれないです。データをきちんと出しなさいと。BLASTくらいは簡単にできると思いますので。

○澤田座長 実際のデータは要らないのですけれども、BLASTをやったら出てこなかったとか、そこら辺の説明を追加していただいき、それで問題はないだろうということを書いていただいたほうがいいかなと思います。

○児玉専門委員 20塩基と切ってしまうとかなり面倒くさいBLASTをしないといけないので、今回の標的遺伝子とよく似た遺伝子がありますかというぐらいの質問に対しては、おそらく似た遺伝子はないみたいなので、一応そこを確認して、どこかに記述として入れていただければ、オフターゲットに関しては今回はよろしいかと思います。

○松井技術参与 今回の遺伝子に関してはネイチャーですとかプラントフィジオロジーですとか、論文の蓄積があるようなので、その辺からも配列の情報が得られると思うので、聞いてみます。

○澤田座長 確認ですけれども、アルファルファの全ゲノムがあるかないかがかなり重要かなと思っています。

○小関専門委員 マメ科で一番にメディカゴが完成するか、それとも日本のミヤコグサが完成するか、闘っていました。

○児玉専門委員 メディカゴはやっていました。

○小関専門委員 だから、やっていますよ。結局、日本のほうが遅かったのではなかったっけ。

○飯専門委員 タルウマゴヤシはやっていると思います。そういう意味で、メディカゴとしての一種のリファレンスにはなるかとは思っています。

○澤田座長 それでは、一応その記述は追加していただくことにしたいと思います。

今の範囲でほかにコメントはいかがでしょうか。

それでは、80ページの後半から最後までで、種子の製法までですけれども、コメント、御意見がありましたら、お願いしたいと思います。

○児玉専門委員 先ほどの質問の続きです。前回スプラウトで網羅的な構成成分はやっていないにしても、カナバニンとかサポニンはやっているということであれば、最低限そこは今回も押さえていただいたほうがよろしいのではないかと。

○澤田座長 それは追加していただくということによろしいですか。

○飯専門委員 1つよろしいですか。さかのぼるのですけれども、9ページの生理活性物質のところに縮合タンニンが一応取り上げられているのですが、80ページからのところには一言も出てこないの、何らかの言及はしておいていただいたほうがいいかなという気がするんです。

○澤田座長 確かに81ページには載っていない。

○飯専門委員 今の評価書（案）のほうにも一応、縮合タンニンは記載されていることもあるので。ただ、他の牧草と比較してということが、食品の評価で余り意味がないかなということもあるのですが。有害生理物質として列挙する以上は成分分析のところでも分析するか、分析の必要性があるか、または別の化合物によって、その辺のことを評価したのか、ということは述べていただけたらと思った次第です。

○澤田座長 これは恐らくやっていないわけですね。やらなかった理由を言ってもらえないといけないかと。フィトエストロゲンのほうは除外したと明記してあるのですけれども、これは実際にはかって、LOD以下だったと。

○飯専門委員 そう思います。

○澤田座長 ほかはいかがでしょうか。

この表からはリグニンの量が余り変化していないのですが、それは取った時期がちょっとずれているという説明でしたのでしょうか。

○北村課長補佐 申請者に確認したところ、分析した検査機関が違うからということと、ばらつきがともありますので、必ずしも有意差が出るわけではないという説明がありました。

○澤田座長 多分遅めに取れば、差が出てくるのかなと理解はできるのですけれども、リグニンというのは余り変化したら、今度は植物の成長に影響は出るものですね。

○小関専門委員 シビアです。

○澤田座長 だから、逆に低下させ過ぎるといけない。

○小関専門委員 これはPALプロモーターを使っていて、要するに導管がありますね。あそこが要するにリグニンでビニール管になっているわけです。だから、水が上がってくるわけですが、そのビニール管がなくなってしまうたら死にますから、この遺伝子の発現がなくなったら、もう絶対に陸上植物としては生きていけなくなります。

○澤田座長 それでは、ほかはいかがでしょうか。よろしいですか。

それでは、何点か確認すべきことと御意見をいただきましたので、指摘事項案として取りまとめて、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います。

それでは、続きまして、次に除草剤グリホサート及イソキサフルトール耐性ダイズFG72系統についての審議を行いたいと思います。

事務局のほうから御説明をお願いします。

○北村課長補佐 それでは、お手元の青い紙ファイルの食品のほうをお願いいたします。

本文が1ページからになります。第1の1で、宿主はマメ科のダイズの商業品種Jackでございます。

供与体でございますけれども、*2mepsps*遺伝子はトウモロコシが由来、*hppdPFW336*遺伝子は*Pseudomonas fluorescens*由来でございます。

「(3) 挿入DNAの性質及び導入方法」になります。*2mEPSPS*タンパク質は除草剤グリホサート耐性でございます。*HPPDW336*タンパク質は除草剤イソキサフルトールに対する活性阻害を受けないため、イソキサフルトール耐性になります。これらのDNAの導入には、パーティクルボンバードメント法が用いられてございます。

2ページに記載がございませけれども、この*2mepsps*遺伝子はグリホサート耐性ワタGHB614に導入されたものと同じものでございます。

2. 宿主の食経験については、記載のとおりでございます。

3. 宿主由来の食品の構成成分等については、(1) で栄養素等、(2) で毒性物質、栄養阻害物質について記載がございませ。

4. 組換え宿主と組換え体の利用方法、相違に関する事項でございます。

(1) の収穫時期、3ページの(2)の可食部位、(3)の摂取量、(4)の調理及び加

工方法については、従来のダイズと同じでございます。

5. 宿主以外のものは比較対象としてはございません。

6. 相違点につきましては、グリホサート耐性が付与されていることと、除草剤のイソキサフルトール耐性が付与されていることが相違点でございます。

4ページ、利用目的及び利用方法に関する事項でございます。除草剤のグリホサートと除草剤のイソキサフルトールを散布することができまして、効率的な雑草防除が可能になるということでございます。

グリホサートは非選択性の除草剤の活性成分でございます。イソキサフルトールは選択性除草剤で、イネ科の雑草及び広葉雑草に殺草活性を有するということでございます。グリホサートの抵抗性を獲得したとされます雑草に対しても殺草活性を示すという説明がございます。

5ページ「第3 宿主に関する事項」でございます。

分類学上の位置づけ等、2. の遺伝的先祖、育種開発の経緯に関する事項は記載のとおりでございます。

「3. 有害生理活性物質の生産に関する事項」です。トリプシンインヒビター、レクチン、イソフラボン類、オリゴ糖のラフィノース、スタキオースについての説明がございます。続きまして、6ページにフィチン酸の説明がございます。

4. アレルギー誘発性につきましては、ダイズはアレルギー誘発性の知られている主要食物の1つでありまして、貯蔵タンパク質であるβ-コングリシニンのα-サブユニットや細胞小器官であるダイズオイルボディに関連する糖タンパク質、また、ビシリン様糖タンパク質が知られているという記載がございます。

5. 病原性の外来因子に関する事項でございます。記載のございます病原菌やウイルスについて、人に感染するという報告はないということでございます。

「6. 安全な摂取に関する事項」になります。トリプシンインヒビターとレクチンはダイズ製品の加工過程で行われる加熱調理により、その大半が不活化するということがございます。イソフラボン類はダイズを過剰に摂取しなければ有害ではないと考えられるということでございます。

7. 近縁の植物種につきましては、ツルマメについて記載がされてございます。

7ページ「第4 ベクターに関する事項」になります。

「1. 名称及び由来に関する事項」で、図4.1のとおり、pMCS5というプラスミドが使われてございます。これはpUC19由来でございます。

表4.1に構成要素等が記載されてございます。

8ページ「2. 性質に関する事項」でございます。

(4)の薬剤耐性遺伝子につきましては、アンピシリン耐性を付与します*bla*遺伝子を有してございます。こちらはマーカーとして使用されてございます。目的とする挿入DNA領域の外部に存在をしております。本システムのゲノム中には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ございます。

伝達性はないということでございます。

9ページ、第5になります。

「1. 挿入DNAの供与体に関する事項」です。

(1) については、*2mepsps*遺伝子はトウモロコシから単離をされまして、*hppdPFW336*遺伝子は*P.fluorescens* A32株より単離された*hppd*遺伝子に由来をします。

(2) 安全性につきましては、トウモロコシについては、長期にわたり食料等として安全に摂取されてきた歴史があるということでございます。一方の*P.fluorescens* につきましては、水中、土壌、植物の根圏に存在するのみならず、肉、野菜の腐敗物から単離される等、自然界に広く存在しまして、ウマ、ニワトリ、ウミガメ、多くの魚類及び無脊椎動物に感染をするということでございますけれども、日和見病原体を越えるほどの病原性を持たないということでございます。EPAでは、これを有効成分として含有する生物農薬について、ヒトの健康に悪影響を及ぼさないと評価をしているということでございます。

2. にまいりまして「(1) 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法に関する事項」になります。*2mepsps*遺伝子はトウモロコシからクローニングをされました*epsps*遺伝子がコードするEPSPSタンパク質の102番目のアミノ酸、トレオニンをイソロイシン、106番目のアミノ酸のプロリンをセリンにそれぞれ置換がされてございます。先ほど申しましたように、ワタGHB614に導入されたものと同じ遺伝子でございます。

*hppdPFW336*遺伝子につきましては、*P.fluorescens*からクローニングをされました*hppd*遺伝子がコードしますHPPDタンパク質の336番目のアミノ酸のグリシンをトリプトファンに置換がされてございます。

10ページ、本システムに導入されましたのは、導入プラスミドpSF10を制限酵素で処理した切断断片の1つでございます。

11ページの「(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項」でございます。*2mepsps*遺伝子はホスホエノールピルビン酸とシキミ酸-3-リン酸から5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸を生成する可逆反応を触媒する酵素でございます。突然変異を2カ所入れましたことでグリホサートに対する結合親和性が低下しています。そのため、グリホサートの存在下でも植物が生育できるということがございます。

毒素タンパク質等の相同性についても検索がされてございまして、既知の毒素タンパク質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。

12ページ、*hppdPFW336*遺伝子についてでございます。このHPPDタンパク質は、13ページの図5.2にありますように、微生物、植物及び哺乳動物のチロシン代謝経路上の酵素の1つになります。4-ヒドロキシフェニルピルビン酸と1分子の酸素から、ホモゲンチジン酸(HGA)を生じる不可逆反応を触媒いたします。

HPPDタンパク質は4-HPPと1分子の酸素を結合しまして、酵素-基質複合体中間体を形成しますけれども、除草剤イソキサフルトールの植物体内代謝物でありますジケトニトリ

ル体につきましては、図5.1に示してございますけれども、これがDKNというものですが、4-HPPと競合しまして、HPPDタンパク質の活性部位に結合して、HPPDタンパク質の活性を阻害します。その結果、植物でホモゲンチジン酸の生産ができなくなるということでございます。ホモゲンチジン酸はプラストキノン及びトコフェロールの前駆体で、この化合物は光合成における電子伝達や植物体内の抗酸化システムにおいて重要だということでございます。

一方、このHPPD W336タンパク質につきましては、HPPDタンパク質のアミノ酸配列の1つを変異させてございまして、DKNへの結合親和性が低下してございます。その結果、DKNによる活性阻害を受けずに、正常な代謝が行われまして、イソキサフルトール存在下でも生育が可能になるということでございます。

12ページの一番下のパラグラフになります。ダイズの内在性のHPPDタンパク質とHPPD W336タンパク質の相同性に関しましては、相同性は低く、24%の配列のみ同一だったということでございます。

また、その大きさでございますけれども、HPPDタンパク質の長さは443アミノ酸ですが、HPPD W336については358アミノ酸だということでございます。

14ページ、HPPD W336タンパク質のアミノ酸配列につきましては、データベースを用いまして、相同性検索が行われてございます。E-Valueを0.1に設定しておりまして、その結果、複数種由来のHPPDタンパク質ファミリーに分類されるタンパク質のアミノ酸配列の相同性が認められてございます。これらのタンパク質のファミリーのうち、ヒトへの感染力を持つ病原性細菌 *Vibrio vulnificus* 由来のVLLYタンパク質との間に54%の相同性、また、*Legionella pneumophila* 菌由来のLLYタンパク質との間に49~50%の相同性が認められたということでございます。

これらのタンパク質はデータベース上ではHPPDタンパク質及び溶血素として注釈されているものの、両タンパク質がこれらの細菌の溶血活性の直接的な原因とは結論されていないということでございます。

次のパラグラフにまいりまして、HGAは自主的に酸化重合することでフリーラジカルを有します血漿可溶性メラニン的一种を産生しまして、このメラニン (PSM) が *V. vulnificus* や *L. pneumophila* の溶血活性に関与しているという報告があります。また、LLYタンパク質はHPPDタンパク質活性を有しておりまして、HGAを産生するという報告がされてございます。

これらによりまして、VLLYタンパク質、LLYタンパク質自体が溶血素として働くのではなく、両タンパク質により過剰に産生されたHGAの一部がPSMになることで、これらの菌が溶血活性を示したことが考えられるということでございます。これらは、VLLYタンパク質とLLYタンパク質が溶血素として直接的な関係がないということを支持しているという説明がございまして。

PSMの産生はアルカプトン尿症でも認められますけれども、通常はホモゲンチジン酸

化酵素の働きによりHGAは蓄積することなく代謝されるために問題にならないというところでございます。また、HGAはプラストキノン及びトコフェロール合成に利用されるため、植物体内に蓄積されることはないというところでございます。

(4) 抗生物質耐性マーカーにつきましては、アンピシリン耐性を付与する*bla*遺伝子を有しますけれども、この*bla*遺伝子が含まれた断片は形質転換には使用されてございませんで、本系統に挿入されていないことはサザンブロット分析により確認されてございます。

15ページ、3. です。プロモーター、ターミネーター、その他、遺伝子発現制御にかかわる配列について説明がございまして。

(3) その他の要素でございまして、*2mepsps*遺伝子には植物組織で高い発現が導かれるようにするために、シロイヌナズナ由来のヒストンH3.Ⅲ第Ⅱ遺伝子の第一イントロンが使われてございまして。

*hppdPFW336*遺伝子には、タバコetchウイルスのリーダー配列が連結されておりまして、プロモーターの発現レベルを高めているというところでございまして。

また、成熟のタンパク質が色素体に移行できるようにするために、*2mepsps*遺伝子上流にはTPotp Cを、*hppdPFW336*遺伝子にはTPotp Yを連結させたというところでございまして。

16ページ、組込方法につきましては以下のとおりになってございまして、中間プラスミドpCH93に遺伝子発現カセットが入ってございまして、pMCS5に挿入しまして、pSF10が作成されてございまして。

17ページ、発現ベクターに関する事項になります。pSF10が記載されてございまして、導入された部分は下の図5.4の挿入DNA領域に示されたところでございまして。

18ページ、ORFにつきましては、目的以外のタンパク質を発現するORFは含まれていないと考えるということで、詳細は第6に記載がされてございまして。意図する挿入部位につきましては、プラスミドのpSF10の先ほどの17ページの挿入DNA領域でございまして。

(4) の発現ベクターの純化につきましては、塩基配列由来が明らかになってございまして、目的以外の遺伝子が混入していないことを確認しているというところでございまして。

「6. 宿主への導入方法及び交配に関する事項」でございまして。宿主への導入は、パーティクルボンバートメント法により行われてございまして。交配に関する事項になりますけれども、記載のとおりで、19ページに育成図がございまして。

20ページ「第6 組換え体に関する事項」になります。

1の(1)のコピー数になります。結果としまして、2コピーの挿入DNA領域が反復して挿入されていることが確認されてございまして。また、挿入DNA領域のほかに、3'histonAtプローブとPh4a748プローブとハイブリダイズする配列が確認されたというところでございまして。

20ページの下パラグラフになります。シーケンス解析を行いました結果、2コピーの挿入DNA領域は順位で反復し、両コピーとも連続する*2mepsps*遺伝子発現カセットと*hppdPFW336*遺伝子発現カセットをほぼ完全に保持してございまして、この反復するコピーの

挿入DNAの5'側では宿主ゲノムの間に2つの3'histonAtの断片が逆位で反復して存在しておりまして、3'下流では24 bpのフィラーDNAが存在しまして、領域外の3'下流では158 bpのPh4a748プロモーターの断片が確認されたということでございます。

図6.1に挿入DNAのコピー数の確認に使ったプローブと予想断片がございます。

22～24ページまでがサザンブロットの確認の結果になっておりまして、25～27ページまでサザンブロットの図が続いてございます。

28ページ、領域外プラスミド配列の部分になります。この系統の作出に当たりまして、プラスミドpSF10は制限酵素で処理をしまして、処理後、挿入DNAを含む断片を生成しまして、形質転換に使用しているということから、挿入DNA領域外配列がFG72に導入された可能性は低いということでございますが、念のためにサザンブロット分析で確認がされてございます。以下、36ページまでサザンブロット分析の結果等が示されてございます。

37ページ、近傍配列の解析になります。

39ページに概略の図がございます。シーケンス解析の結果、宿主ゲノムのcで示される転座配列領域が挿入点4-5に転座をしてございます。さらに158 bpからなるプロモーターの断片が転座領域cの3'末端側に挿入されていたということでございます。このことによりまして、新たに合計して9つの境界領域ができております。

宿主挿入DNA領域と宿主ゲノムの近傍配列に介しまして、本系統の境界部1の5'近傍配列1,156 bpを解析しました結果、宿主ゲノムにおけます挿入点1の5'近傍配列、dは一致をしてございます。FG72のゲノムとdの部分は一致をしてございます。そのほかに一致をしない24 bpのフィラー配列があったということです。さらにFG72の境界部6の3'側の1,123 bpにおきまして、こちらはFGのジャンクション6の外側になります。これが宿主ゲノムの挿入点3の3'側と一致をしてございます。

38ページに説明がありますけれども、境界部7につきましては、境界部7の5'末端側の1,180 bpが宿主ゲノムの挿入点4の5'側の領域と一致し、FG72系統の境界部7の3'側は挿入点1の3'近傍配列とcの5'側と一致をしてございます。

そのほか、境界部8の5'側の近傍の1,148 bpが挿入点2の5'近傍配列と一致し、境界部9では3'近傍配列の1,128 bpが挿入点5の3'近傍配列と一致してございます。宿主ゲノムの挿入点2と3に挟まれた25 bpと挿入点4と5に挟まれた2 bpがFG72では欠失をしていたということでございます。

その下のパラグラフになりますけれども、挿入点1と挿入点2-3、挿入点4-5のそれぞれの周辺配列につきまして、既存のタンパク質の相同性の検索を行ってございます。その結果、宿主ゲノムc、これは転座をした部分になりますけれども、におきまして、推定のシステインプロテアーゼ遺伝子の5'末端配列との一部の相同性が認められてございます。

こちらにつきましては、この推定遺伝子は宿主とFG系統のいずれにおいても挿入点や境界部にまたがっておらず、挿入点1や境界部7より離れているということでございます。

その説明が40ページの図6.10に示されているとおりでございまして、挿入部位が真ん中

にございまして、見つかった配列がコーディングシーケンスということで右側の下のほうにあります。挿入部位と離れているという説明になってございまして、ポリAシグナルの位置もこちらのほうに記載がございまして。

以上のことから、内在性遺伝子が影響を受けている可能性は低いという結論になってございまして。

40ページ、ORFについてでございまして。ORFの検索を行っておりまして、終止コドンに挟まれた3アミノ酸以上の長さを持つ領域と定義をいたしましたところ、近傍配列との境界部に46個検出がされてございまして。さらに終止コドンに挟まれ8アミノ酸以上の長さを持つORFについては、挿入遺伝子配列中に818個検出されてございまして。このうち8アミノ酸以上の配列を持ちます864個のアミノ酸配列と既知のアレルゲンとの相同性の検索をデータベースを利用して行っております。

下が結果になりまして、データベースに登録されているアミノ酸と相同性を示す299個のORFが見つかるございまして。この幾つかのORFはいろいろな生物の毒性タンパク質と一致をいたしましたけれども、アミノ酸の配列が短いことと相同性が低いということ、E-valueが高いということから、この検出されたアミノ酸配列が生物学的に意味があるとは言えないと結論づけたということございまして。

41ページ、アレルゲンとの相同性につきましては、長さが80アミノ酸未満のORFについては、アミノ酸と35%以上の相同性があったものを検索し、80アミノ酸以上のORFについては登録されているアレルゲンのアミノ酸配列の少なくとも80アミノ酸が一致したものを検索をしたということございまして。

その結果、17個のORFが35%以上の相同性があったということございましてけれども、いずれも8~16アミノ酸からなる短いORFで、E-valueが0.18~95と高く、生物学的に意味があるものとは言えないと結論づけたということございまして。

連続の8アミノ酸につきましては、相同性はなかったということございまして。

2. の遺伝子産物の発現部位、発現時期、発現量につきましては、ELISA法を用いて確認がされてございまして。その結果につきましては、42ページに表がございまして、葉と茎と根についてEPSPSタンパク質とHPPD W336タンパク質の含量が示されてございまして。

42ページの真ん中、表の下になります。こちらが未加工種子におけますタンパク質の発現量になってございまして。結果が表6.5に示されてございまして、除草剤を散布したものと散布していないものそれぞれ分析されてございまして。

43ページの「3. 遺伝子産物（タンパク質）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」になってございまして。タンパク質の量は除草剤処理区のものを使用してございまして。その結果、一日摂取蛋白質量の占める割合が2mEPSPSタンパク質では約 1.1×10^{-2} %、HPPD W336タンパク質では 7×10^{-5} %と計算されてございまして。

4のアレルギー誘発性に関する事項になります。

(1) の供与体につきましては、トウモロコシはアレルギー源としての報告が幾つかあ

りますが、一般的にはアレルギー性食品として認識されていないとの説明がございました。

44ページ、*P.fluorescens*につきましては、アレルギーを誘発するという報告はないということでございます。

(2) につきましては、遺伝子産物についてはアレルギーを誘発する報告はないということでございます。

(3) が物理化学的処理に関する事項になりまして、こちらの試験については大腸菌で生産したタンパク質が用いられており、同一性については確認がされてございます。最初に2mEPSPSタンパク質についてでございますけれども、人工胃液では45ページ図6.11がございまして、30秒以内に分解されるということでございます。

46ページがウエスタンブロット分析の図になります。

47ページ、人工腸液になりまして、48～49ページにSDSとウエスタンブロット分析の図があります。30秒以上では検出がされておらず、人工腸液中で速やかに分解されるということでございます。

50ページ、加熱処理になります。60℃、75℃、90℃でそれぞれ10、30、60分間処理がされてございます。90℃で60分間処理ではシグナルが減少してございます。2mEPSPSタンパク質は加熱処理で凝集が生じる可能性が示唆されまして、処理後の抗体との結合性は残存しているということでございます。

51～52ページがSDS、ウエスタンブロットの図になってございます。

53ページ、酵素活性に対する温度の影響になります。図6.17にグラフがございまして、●のほうは2mEPSPSタンパク質、▲がEPSPSタンパク質になってございます。酵素活性は20～60℃までは増加をして、60℃以上では減少しております。

54ページ、熱安定性になりまして、45℃または60℃で時間経過で見てございます。図6.18に示されてございますように、いずれの温度条件下でもEPSPSタンパク質が2mEPSPSタンパク質よりも早く失活をしましたが、2mEPSPSタンパク質も60℃で10分後には完全に失活したということでございます。

55ページがHPPD W336タンパク質になります。最初のパラグラフにございますように、このFG72が抽出・精製したHPPD W336タンパク質においても非特異的なバンドが認められなかったということで、この抗体がHPPD W336タンパク質に特異的に結合する抗体だという説明がございました。

人工胃液につきましては、30秒以内で速やかに分解することが確認されてございます。

56～57ページにSDS、ウエスタンブロットの図がございまして。

58ページ、人工腸液になります。反応開始直後でバンドが見られなくなっております。

59～60ページに図がございまして。

61ページが加熱処理になりまして、40℃、75℃、90℃で、10、30、60分間処理をしてございますけれども、いずれの処理温度、処理時間でもシグナル強度に変化はなかったということで、90℃、60分までの処理では安定だということでございます。

62～63ページに図がございます。

64ページが酵素活性に対する温度の影響になります。25℃までは反応温度の上昇に伴い、酵素活性が上がりますけれども、以下は徐々に低下をするということがございます。

65ページ、熱安定性になります。45℃の20分間で、その酵素活性は50%以下に減少してございます。60℃、95℃では2.5分間処理した後にタンパク質が失活をしてございます。

66ページ、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。

2mEPSPSタンパク質についてでございます。包括的相同性評価では、既知のアレルゲンとの相同性はなかったということと、エピトープ検索についても8アミノ酸との一致はなかったということがございます。

HPPD W336タンパク質についても同様でございます。

68ページ、安定性に関する事項でございます。安定性についてはT2、T7、T9、F4の4世代について行われてございます。サザンブロット分析を行いまして、予測されたサイズの断片がFG系統に導入されまして、世代間において安定して伝達されることが確認されたということがございます。

69ページに断片のサイズ、70～71ページにサザンブロットの図がございます。

72ページ、6が代謝経路への影響に関する事項になります。最初のパラグラフでは、それぞれのタンパク質の性質について説明がされてございます。

2mEPSPSタンパク質については、ワタGHB614でも評価されてございますが、73ページの3つ目のパラにまとめがございましたように、2mEPSPSタンパク質はグリホサートに対する高い耐性が付与されており、さらに既存のEPSPSタンパク質と同様の極めて高い基質特異性を有していると考えられるということです。また、2mEPSPSタンパク質の産生により、EPSPSタンパク質活性が従来よりも増大しても、シキミ酸合成経路の律速酵素ではないことから、本経路の最終生成物である芳香族化合物の生産量に影響を及ぼす可能性は低いということで、2mepsps遺伝子産物が宿主の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられるということがございます。

次に、HPPD W336タンパク質でございます。HPPDタンパク質の基質には4-HPPのほかにフェニルピルビン酸 (PP)、3,4-ジヒドロキシフェニルピルビン酸、 α -ケトイソカプロン酸及び2-オキソ-5-チアヘキサン酸が報告されてございます。これらのうち、*P.fluorescens*由来のHPPDタンパク質では4-HPPに対する K_m 値は0.03mMであるのに対しまして、PPに対しては0.52mMということがございます。

さらに4-hPPに対する酵素活性は、PPに対する酵素活性に対して約1,500倍ということございまして、植物体内におきまして、*P.fluorescens*由来のHPPDタンパク質がPPを通常の基質で利用することは考えられにくいということがございます。なお、*P.fluorescens*由来のタンパク質がさきに挙げたものを基質として利用するという報告はないということでございます。

一方、4-HPPに対します特異的活性を、シロイヌナズナ由来HPPDタンパク質、

*P.fluorescens*由来の野生型HPPDタンパク質とHPPD W336タンパク質との比較が行われてございます。シロイヌナズナ由来のものについては、活性が $0.34 \mu\text{mol HPP}/\text{min}\cdot\text{mg}$ であるのに対しまして、野生型のHPPDタンパク質が 0.43 、本系統に導入されましたHPPD W336タンパク質の活性が $0.41 \mu\text{mol HPP}/\text{min}\cdot\text{m}$ ということで、ほぼ同等でございました。

74ページ、次のパラグラフです。イソキサフルトールの植物体内代謝産物（DKN）が4-HPPの競合阻害剤となることから、DKNに対する結合定数値を野生型のタンパク質と本タンパク質で比較をしてございます。前者が 1.3×10^4 、後者が 4.4×10^2 でありまして、野生型タンパク質のDKNに対する結合定数値はHPPD W336タンパク質と比べまして、29.5倍高かったということでございます。

以上のように、4-HPPに対する特異的活性は野生型と本タンパク質とほぼ同等であったということから、基質特異性が高いことは保持しながら、それ以外の部位の変異でDKNに対して特異的に高い耐性が導入されたということが説明されてございます。

産生されたHPPD W336タンパク質が既存のHPPDタンパク質に加算されまして、HPPDタンパク質活性が増大するという影響が考えられるということです。しかしながら、HPPDタンパク質単独の過剰発現ではチロシン異化経路における下流の代謝産物でありますプラストキノンの量とトコフェロールの量は増加しない、または著しい増加はないという報告があるということでございます。

さらにHPPDタンパク質の基質であります4-HPPは植物でチロシンにより合成されますけれども、チロシン自身の生合成はチロシン自身によりフィードバック阻害により調節されているということでございます。4-HPPの生成はこの制御下にあるということ、実際に本系統と宿主のアミノ酸含量を比較してございまして、統計学的有意差はなかったということでございます。

トコフェロールの含量につきましても比較がされてございまして、 α -トコフェロールと総トコフェロールについては増加の傾向が見られまして、有意差があったということです。しかしながら、文献の範囲内であったということでございます。

以上のことから、HPPD W336タンパク質はイソキサフルトールに対する高い耐性が付与されておりまして、既存のHPPDタンパク質と同様の基質特異性を有しますけれども、4-HPP以外に植物体内における基質となるものはないと考えられるということです。また、HPPD W336タンパク質の産生によりまして、HPPDタンパク質活性が増大をしても、単独ではチロシン異化経路の代謝量に影響を及ぼさず、アミノ酸組成及びトコフェロールの生産量への影響は低いと考えられるということでございます。したがって、このタンパク質が宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられるということでございます。

75ページから「宿主との差異に関する事項」になります。それぞれグリホサートとイソキサフルトールの散布を行った処理区も加えられてございます。

結果が76ページ以降になりまして、統計学的有意差が認められたものもありますけれども、一般成分につきましても、文献値の範囲内でございます。

78ページ、無機塩類とビタミンでありますけれども、ナトリウムにつきましては、一部のサンプルに定量限界値未満のものがあつたため、平均値の算出は行っておりませんが、サンプルによりまして文献値の範囲を超えるものがありました、その量は少なく、量はわずかだつたという説明があります。

79ページの表6.9の下から2番目がナトリウムになっておりまして、文献値が最大0.02ですが、FG72のほうでは0.04という数字が出てございます。

80ページにビタミン組成がございまして、こちらはビタミンAとトコフェロールについて、結果が示されてございます。トコフェロール類については上昇の傾向はございますけれども、文献値の範囲内であつたということでございます。

81ページ、有害生理活性物質につきましては、82ページと83ページに結果が示されてございます。83ページのイソフラボンのうち、ゲニステインについては、一部のサンプルで定量限界未満のものがあつたため、平均値の算出は行わなかつたということですが、その量は少なく、また、各処理区で検出された測定値の最大値はいずれも文献値の範囲内であつたということでございます。

84ページ、アミノ酸組成で、こちらは有意差がついてございません。

86ページ、脂肪酸組成になりますけれども、87ページの真ん中辺のC24:0のリグノセリン酸につきましては、除草剤処理区との間に有意差がございまして、文献値の値が単一の値ですが、それを超えてはいますが、その差はわずかであつたという説明がございします。

88ページ「8. 諸外国における許可、食用等に関する事項」になります。

「9. 栽培方法に関する事項」、「10. 種子の製法及び管理方法に関する事項」については、記載のとおりになります。

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、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ひます。

まず、申請書の8ページの「第4 ベクターに関する事項」までで御意見、コメントがございましたら、お願いしたいと思います。

○小関専門委員 確認して、どこかに書いておいてもらえればと思うんですけども、結局、DKNができるわけですね。これが動物にとっての毒性はどのくらいのものか。要するに実際にイソキサフルトールの状態でまいたとしても植物体内で代謝されるので、そこは12ページかどこかにきちんと記載しておいてもらえばいいと思ひます。

○澤田座長 たしか農薬の安全性でイソキサフルトールの評価がかつて行われているはずで、そこで代謝物の毒性は評価されていなかったかもしれません。

○北村課長補佐 イソキサフルトールは評価されていまして、代謝物については急性毒性試験と遺伝毒性試験が行われております。

○澤田座長 では、データがかなりあるはずなので、どこかに追加していただきます。ほかはよろしいでしょうか。

それでは、申請書の第5、19ページまででコメント、御意見がございましたら、お願いしたいと思います。

○小関専門委員 ここそうなんですけれども、近傍配列をやったのが商業品種とかけた●●●なんです。自殖、自殖で行くので、自殖したものでも近傍配列は変わりませんと。サザンで見ると限りでは変わらないのは確かなのでいいと思うのですが、何か一言聞いて確認しておいてもらえれば、これは全体をオーケーにできるというふうにしておいたほうがいいように思います。

○澤田座長 いつも鎌田先生が領域外が●●●のほうでないはずではないかというお話をしていたような気がするのですけれども。

○児玉専門委員 ●●●の系列のところは領域外を確認していないのですけれども、今回はパーティクルガンで特定の部分だけを入れているので、今回はいいかなと私は判断しました。

○澤田座長 小関先生、いかがですか。

○小関専門委員 19ページの●●●のあれが●●●でやっているから、これでいいのかなと私も思います。

○児玉専門委員 ただ、1つ気になるのは、●●●系列のほうでは実際にタンパク質が発現していることは確認していません。あと、ずっと後ろのほうになってしまいますけれども、世代間でのタンパク質の発現も確認していませんので、もし可能であれば、ELISAかウエスタンブロットかで、●●●系列のところも含めて確認していただいたほうがいいかなとは思いました。

○澤田座長 もし近傍配列が縦の方向でやってあれば、横に流れても本来いいわけですね。

○飯専門委員 領域外の話は鎌田先生がいつも指摘されていたところの話ですけれども、たしか何の例だったかはよく覚えていないのですが、断片を純化したけれども、それ以外の部分が入ってしまったようなケースがあって、純化したという記載ができないのではないかなというようなことがかつてあったような気がしたんです。どれだったか確認はしていないのですが、何となくそんな記憶があったので、そういう意味では●●●でバックボーンに当たるベクターのボンバードメントで使ってフラグメント以外の部分が本当にないということは確認しておいてもらうのが一番すっきりするのではないかなというふうには感じています。

○澤田座長 ●●●、●●●か●●●。

○飯専門委員 今は●●●でバックボーンの部分のサザンをやっていると思います。万が一ですけれども、多分そういうこともないとは思いますが、●●●のところどこか別の染色体に断片が入っていて、それが自殖の過程で抜けて、●●●では見つからないという可能性は、今の分析では否定できないのかなと思います。

○澤田座長 ●●●で領域外がなければ、ほとんど問題がないということでしょうか。

○飯専門委員 そうしたら全部オーケーで何も問題はなくなると思います。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

○飯専門委員 もう一つよろしいでしょうか。どこに書くべきなのかは何とも言えないところもあるのですけれども、12ページのHPPDに関する記載のところ、ここではイソキサフルトールについてだけ書かれているのですが、去年の夏ごろですか。やはりHPPDの耐性の評価をやったときのことを考えると、ここではこの除草剤について使いたいというのはわかるのですけれども、このタンパク質はこの遺伝子あるいは遺伝子産物がもうちょっと広く、どのようなものに対して影響を受けているのかということ少し記載をしてもらっておいたほうがいいのかなど。それは最後の基質特異性のところで何を求めるかということとも関係しているのですが。

○澤田座長 これは代謝系への影響のところで書くべきか、ここで書くべきか。

○飯専門委員 そこで書くか、最初に紹介のところで触れておいてもらうか。もう一つ確認したかったのは、今回はこの除草剤との組み合わせしか想定していないのでしょうか。

○澤田座長 そこはわからないところで、前にメソトリオンという農薬がありまして、それに対する特異性というんですか。実際にそれに対する耐性があるかどうか。

○飯専門委員 それは確実に、最後のほうの特異性のところでは尋ねたいと思ったところなのですが、全体の導入に当たるジェネラルなこともここで書いておいてもらうほうがいいかどうか。

○澤田座長 前に議論がありましたように、これから使われる農薬の可能性として、今、実際に考えられるのは2つ。

○飯専門委員 恐らくHPPDをターゲットとするものは、もっとあるのではないかと思います。

○澤田座長 実際に海外で認可されているのは2つらしいです。それをまいた食品が輸入される可能性がある。今後、それ以外に開発される可能性はあるのですけれども、それはどこまでやればいいかわからないところがありまして、たしか前回も同じような指摘を出して、そこら辺の情報を追加してくれということを出しています。

○飯専門委員 前回はたしか2社の共願だったかと思うのですが、そのうちの1社はバイエルだったと思うので、前回の指摘と同じことは今回も基本的にはやってほしいというところはあるんです。

○澤田座長 それは前回と同じような指摘を出していただくということで、ほかはよろしいでしょうか。

あと、わからないところは、ジケトニトリルができる過程が余り詳しく書いていないので、もうちょっと説明を追加していただきたいと思っています。それから、このHPPDに対して本体の代謝されないものは影響が全くないのかどうか、明確に記載されておりませんので、そこも書いていただいたほうがいいのかと思います。

前回問題になったのは、ホモゲンチジックアシッドの毒性の問題ですけれども、今回それは何か追加で指摘する必要はありますか。

○児玉専門委員 前は結局、この後これを後代交配種の件を考えるとカテゴリー1に入れるのか入れないのかという判断をしなければいけないと思うので、その判断をする上でホモゲンチジン酸とかアセトアセテートとかフマレートとか、代謝系の末端のほうにいるものとホモゲンチジン酸の量的な変動は生じるのですか、生じないのですかという質問は前回出してあります。

こちらの申請書にはホモゲンチジン酸はほとんど代謝されて蓄積しないということが文献上書いてありますので、それはそれでいいのかなとは思いますが、アセトアセテートとかフマレートとか、そういった代謝産物に関しては量的にはかかっていないので、カテゴリー1に入れられるのか、入れられないのかという判断をする上では、そういうデータは文献等でもいいので、出していただければと思います。

○澤田座長 それは情報として追加で出していただくということにしたいと思います。ほかに19ページまででよろしいでしょうか。

それでは、「第6 組換え体に関する事項」で「1. 遺伝子導入に関する事項」でコメント、御意見はございませんでしょうか。41ページの前半までです。

○児玉専門委員 多分メーカーに聞かないとわからないと思うのですが、教えてほしいということで表6.1のとても大変な表があるのですが、Sac1の3'側断片で、確認断片で14 kb以上、3'側転座境界領域でやはり14 kb以上と出てくるのですが、この14 kb以上という断片は違うのか、同じなのかというのが読み切れなかったもので、それを教えてほしいなと。多分メーカーに聞かないとわからないと思います。

○澤田座長 申請者に聞いたほうが早いですね。

ほかに41ページの前半までで追加で御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

図6.9にありますように、かなり複雑なりコンビネーションが何遍か起きていると思われる。ただ、前にありましたように非常に大きな断片がなくなっているというようなことではないように思われます。

○児玉専門委員 40ページの図6.10に推定遺伝子の概略図がありまして、CDSOと評価したものがあつたのですが、これはシステインプロテアーゼの5'側断片と似ているものがここにありましたとあつて、その割にすぐ後ろにポリAと来るので、これはいわゆる、ちゃんとした遺伝子として考えているのか。それともシュードジーンみたいなものとして考えているのか判断できなかったもので、少し確認していただければと思います。

○澤田座長 それは確認していただきたいと思います。これは反転しているんですね。cの部分にそのまま移って、そのまま平行移動していれば問題ない。

○児玉専門委員 またがってなければ、問題ないと思います。

○澤田座長 わかりました。ほかはいかがでしょうか。よろしいですか。

それでは、時間も大分迫ってまいりましたので、最後まで通しまして、御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○橋田専門委員 50ページの加熱処理のところですけども、このところはどういうデータを出すべきかというところで申請者の方も苦慮されているのかなと思うのですが、実際に温度域もここでいいのかどうかという議論も出てくるのかもしれませんが、SDS-PAGEの結果から処理後のタンパク質と抗体との結合性は残存していると結論してしまうのは、ちょっと違和感を覚えます。そもそもかなりSDSを入れて変性させた状態でこの実験は組んでいるわけですけども、例えばELISAでやったときに同じような結果が得られるかどうかということも特に明示されていないので、この結果から、加熱処理したタンパク質と抗体との結合性が残存していると結論づけ、このまま書いてしまってよいのかどうかというところが疑問に思われます。

○手島専門委員 確かに熱処理のところはいつも、ここで何を求めるかが難しいところですけども、2mEPSPSのほうは以前に1回審議している部分になりますので、ここは加熱処理で凝集を生じる可能性が示唆されたというところでたしか前も終わっていたかと思ったのですが、そうすると凝集ができるとなるとELISAがどこまで正確に出るかというのもあって、ここで止まっていたかと思っていたんです。

もう一つの61ページのHPPDのほうが新しい酵素ですので、同じようなことでウェスタンブロットでは最後の結論が抗体との反応性に熱の処理の影響は認められず、熱処理で安定であると確認されたと書いてあるのですが、これはウェスタンブロットでは反応性に温度影響がなかったということだと思いののですが、この場合は特にタンパクが凝集するということがなければ、熱処理の影響を見るとすれば、抗体との反応性がどうなるか、本来のタンパクと抗体との反応を見ることができれば、こちらのほうはELISAが可能であれば、やってもらえればいいのではないかと思います。

その後、酵素活性は熱で落ちると書いてありますので、ウェスタンブロットの結果と矛盾する形になりますので、HPPDに関してはELISAでの検討をお願いできればと思いました。

○澤田座長 いつも熱処理は問題になるのですが、そこまでやる必要があるかどうか。多分、変性しても抗体の反応性が変わらない場合もあるので。

○手島専門委員 アレルギー性の項目なので、熱をかけた段階で抗体との反応性が落ちれば、抗原性が低くなるという意味で加熱処理という項目を設けていると言え、設けているかと思いますが、そこは必ずしも確かにELISAまで求めていないというところはあると思います。

○澤田座長 たしか凝集して明らかに意味がない、ウェスタンで見ると余り意味がない場合には、ELISAの阻害を見ていただいたことがあったように思います。実際にソリュブルな段階で反応性が落ちている場合はいいのですけれども、今までELISAの阻害で全て見てもらっていましたか。

○手島専門委員 サンドイッチELISAで活性が落ちる、抗体との反応性が落ちるかというのをやれば、やってほしいというような要望は出していたと思います。

○澤田座長 一応、HPPDは初めてなので、ELISAの阻害を見たほうがよいということですか。

○手島専門委員 サンドイッチELISAで活性を見るか、抗体との結合性を見るか。ELISAでの抗体との結合性ということでしょうか。

○宇理須専門委員 これは安定だと言っているわけですから、不安定だという場合には確かに本当にそれをきちんと証明していただかなければいけないと思うのですが、不安定だから安全だというわけですね。この場合は安定だと言っているもので、むしろそれを認めてもいいのではないかと私は思いました。そして、幸いにして酵素処理に対しては人工腸液、人工胃液で壊れていますね。そういうことから物理学的な問題に関してはクリアしていると思ったんです。

○手島専門委員 この抗体との反応性をウェスタンで見ている限りは、あくまで一次構造というか、それが熱に対して変わっていないということで、立体構造を見ていることにはならないと思うので、タンパクとしての性質を見るという意味ではELISAなりで見てもらったほうが、結合性が熱に対してどうなるかというような意味で、より立体構造が見える系のほうがいいのかとは思いました。

○山添委員 私も宇理須先生と同じで、消化酵素で切れてしまえば、結局いいような気がするのですが、今回の新しいほうの担保はそちらでいいと思うのですが、EPSPS側のほうで凝集をするといった場合、むしろ例えば食品の中でそういうものが凝集することがあるかどうかは知りませんが、凝集したとしても、それが消化酵素で切れればいいわけですね。そこのところさえ、はっきりしていればいいような気もするのですが、それではいけないのかを手島先生に聞きたいと思います。

○手島専門委員 熱に安定性ということは、アレルゲンは熱に対して比較的強いものが多いということがありまして、消化酵素に対して抵抗性があるということプラス、熱に対しても強いというのがありまして、それで熱に対して強いということが1つのアレルゲンになりやすさを表しているかなというような意味で、加熱処理ということをしたしか挙げていると思います。確かに後で消化されるからということでもいいのですが、1つのアレルゲン性としての可能性という意味で、熱に対して強いかを調べるということだと、それ自身が熱に対して立体構造が変わるのかどうか。立体構造が変化しないかを調べるというのが1つの目的かなと思ってはいるんです。

○澤田座長 今、消化性は問題なくクリアできていて、エンザイムの活性では不安定性があることはわかっている。その情報プラス、免疫原性に関する高次構造の変化があるかどうかまで求めるかどうかというのがポイントかと思います。

全体的に今までどの程度までやっていたかを調べていただいて、それに準じてやっていたほうがいいのかと思っています。

○手島専門委員 そうですね。

○宇理須専門委員 もう一つは、例えばこれで引っかかった場合に、次のステップに進んでもらうかどうかの判定をするかどうか重要だと思います。例えばこの次のステップだと患者さんの血清でのチェックを求めるようなことになると思うのですが、そういう意味で物理学的な性状などに関しては、あいまいではあるのですが、総合的な判断というので今までもやっていたのではないかと思うんです。そういう意味で、次のステップに進むかどうかの判断基準がそろっておれば、それでよしとしてもいいのかなとも思っています。

○手島専門委員 確かに人工腸液、人工胃液の中での反応性が非常にいいというか、酵素に対しての感受性が高いという意味で行くと、そこの上での消化がされやすいという条件をクリアしているというのはあります。総合的な判断からすれば、確かにその部分は物理学的な安定性はクリアしているかと思えます。

ただ、あとは確かにここの規定の中では、加熱した後の抗体との反応性を調べることという言い方をされていませんか。そこでウェスタンブロットを申請者は行っている。そういうところもありますので、1つの段階のクリアはしていると思うのですが、今までの事例と合わせた形で。

○橋田専門委員 追加でよろしいですか。今までの事例に合わせてということで進めていただければと思うのですが、以前、ダイズの場合は炒ったりすることもあるので、より高い熱をかけるとか、かけないとかという議論もあったのかなと思いますし、実際に先ほど先生のおっしゃられたように、加熱して高次構造がより強固になってしまって、消化に対する安定性が増してしまうということもないわけではないので、従前のものに準じた形で進めていただければと思います。

○澤田座長 一般論としまして、熱で変性した場合は消化されやすいということにはなっているかと思えます。凝集してしまって消化されにくいというよりは、むしろ消化されやすくなる。

○橋田専門委員 手島先生、ピーナツのアレルゲンは加熱処理で多量体化して、むしろ分子構造が強固になってアレルゲン性が増すというデータもありますね。

○宇理須専門委員 例外でピーナツがありますね。クリもそうだったかもしれません。例外があることは確かにあります。

○手島専門委員 一般には確かにオボアルブミンとか熱で凝集するほうが消化されやすいという傾向にはあるのですが、

○澤田座長 よろしいでしょうか。ほかはいかがでしょうか。

○飯専門委員 先ほどの話に戻るのでありますが、基質特異性のところで、基本的には前回指摘した内容は指摘しておいたほうがいいかなということはあるのですが、細かい点では73ページのHPPDの記載の最初の大きな段落の最後のあたりに、記載の仕方として、これらのものを「基質として利用する」といった報告はこれまでにない」という書き方をされ

ていて、誰も調べていなければ報告がないのはある意味当たり前であって、調べたけれども、基質にはならなかったという事実があるのか、誰も調べていないのかで意味は大分変わってくるかと思うんです。

数行前のところに1つ、PPに対する話で引用している論文が1977年のもので、これは一応見たのですが結構古いのです。バクテリアとしては同じですけども、ストレインとしては今回用いているものと同じかどうかはよくわからないというか、違う可能性があると思いました。そうするとタンパク質として同一かと言う点で疑問が生じますし、今回、生化学的に精製したものを使って実験していますので、ここで用いているものを使って結果を出して解釈してほしいなというのがあります。

ほとんど本文中には議論されていないのですが、この*Pseudomonas*のHPPDに関しては十数年前に立体構造の報告もあって、参考資料のほうではそれは引用しているのですがけれども、本文のほうでは引用されていないのです。その立体構造に基づいて農薬とのバインディングがどうなっているのかということシミュレーションしたり、議論したりしているという論文があります。そこに阻害の仕方とか書かれていますので、そういう知見をベースにして、どういう反応が起こっているのかを明確にしておいてほしいなと思います。

評価の上で一番知りたいのは、4-HPP以外に基質としてしまうような物質があるのかどうかということで、この点が一番大きなポイントだと思うんです。それが4-HPP以外には想定されないという結論がしっかりと出せるのであれば、出してほしいと思いますし、そこを今まで以上にやっておかないと、かけ合わせの問題とかが入ってくることを考えると、ここで想定していないような基質というものがあり得るのかどうかという点についてはしっかりと検討しておいてほしいというところがあります。

具体的には、ここで取り上げている市販の除草剤、もう一つは前回使っていましたメソトリオンは登場していないですし、それとの反応性はどうかというのものもあるし、ほかにも市販はされていないけれども、このタンパク質を標的とするものは結構ありますから、基質となり得るのかどうか。単に結合するだけなのか、結合しないのかということも含めた記載、事実をベースにした上での検討はしておいてほしいということです。

もう一つ、これはここよりは一番最初の遺伝子の記載のほうなのかもしれませんが、突然変異を与えていますが、たまたま与えたというよりは構造をベースにして変えて見ているということがあるので、なぜにこのアミノ酸を変えて、その中でこういう変え方をしたのがよかったんだということもいろいろなことを検討する上では大事な情報かと思えますので、添付資料のほうにはあるのですけれども、本文中にも記載しておいてもらったほうがいいかなというところです。

○澤田座長 そのあたりは前回の指摘と同じですか。

○飯専門委員 趣旨は前回と同じです。

○澤田座長 ほかはいかがでしょうか。

○児玉専門委員 40ページの下から4行目に「いくつかのORFは、様々な生物による毒性

タンパク質と一致したが」とあるのですが、これはもとの資料を見ても299個がずらっと並んでいるだけで非常にわかりにくかったので、少し整理していただいて、我々が一応確認できるような形にしてほしいのと、ここももう少し詳しく、一致したのに関係ないよという一言で終わらせるのは確認したことにならないかと思しますので、もうちょっと詳しく記載していただきたいと思います。

44ページの(3)のところですが、通常は同一性の確認で糖鎖とかグリコシル化も確認しているケースが多いかと思うのですが、今回は確認していないように読み取れますので、確認しなくてもいいのかどうかというところを確認していただきたいと思います。

○澤田座長 大腸菌と実際のもんですね。今まではそれほど詳しく要求していなかったと思います。

○児玉専門委員 一言確認して、同じでしたというのが多かったと思うのですが、必ずしも必須事項でないのであれば、要らないかもしれません。

○澤田座長 これはサイトゾルで発現するタンパクですか。糖鎖はつかない可能性が高いですか。

○児玉専門委員 葉緑体には行きます。

○飯専門委員 私も同じことを昔言ったら、それはエッセンシャルにはしていないということだったんですけども、今回は気になるので、電気泳動の泳動度とたくさんマスをかけてペプチドの断片配列を見ている限りにおいては、恐らくついていないかなと見えはしたのですが、一言述べてもらうことは、そういうデータをベースにできるかなとは思いました。

○松井技術参与 添付資料に、HPPDW339 タンパク質には糖鎖修飾の可能性のあるサイトはないという文章がありました。

○児玉専門委員 潜在的なサイトがないということであれば、その旨のことは書いていただければ、それで済むかと思えます。

○澤田座長 では、それは書いていただくということで、ほかはいかがでしょうか。

それでは、何点か御指摘いただきましたので、御意見、確認事項を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。

それでは、議題1についてはこれで終わりたいと思えます。

議題2のその他でありますけれども、私のほうから御報告がありまして、2月の専門調査会で審議いたしました、*Bacillus subtilis* BPN01株を利用して生産されたプロテアーゼ、pSSA株を利用して生産されたペプチダーゼ、pXPO株を利用して生産されたペプチダーゼにつきましては、申請書等の修正の指摘を出したところでありました。

この品目の取り扱いについては担当の先生に御協力いただき、座長預かりとなっていたところでありました。指摘に基づき修正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したところです。現在はパブリックコメントの募集が終了したと

ころと聞いております。

私のほうからの報告は以上です。

ほかに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。

それでは、本日の議題についてはこれで終了ということで。

以上をもちまして、第126回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。

きょうも熱心に御討論をありがとうございました。