

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

第129回会合議事録

1. 日時 平成26年7月18日（金） 14:00～17:06

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

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

- ・除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネDP-073496-4（食品・飼料）
- ・CPR株を利用して生産されたLーシトルリン
- ・AHD株を利用して生産されたLーヒドロキシプロリン

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、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、関野評価第一課長、山本評価第二課長、池田評価情報分析官、高崎
評価調整官、北村課長補佐、勝田係員、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除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネDP-073496-4（食品）
- ②除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネDP-073496-4（飼料）
- ③CPR株を利用して生産されたLーシトルリン
- ④AHD株を利用して生産されたLーヒドロキシプロリン

参考資料1

食品健康影響評価に係る指摘事項

- ・除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネDP-073496-4

参考資料2

専門委員からのコメント

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129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。

本日の議題であります。継続の品目である「除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ DP-073496-4（食品・飼料）」、新規の品目であります「CPR株を利用して生産されたL-シトルリン」、「AHD株を利用して生産されたL-ヒドロキシプロリン」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、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。

7月11日付で磯部評価第一課長の後任といたしまして、関野評価第一課長が着任しております。

○関野評価第一課長 関野と申します。先週11日付で着任いたしました。どうぞよろしくお願いします。

○北村課長補佐 また、7月15日付で前田上席評価調整官の後任といたしまして、高崎評価調整官が着任しております。

○高崎評価調整官 高崎と申します。どうぞよろしくお願ひいたします。

○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。

配布資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿。

資料といたしまして、食品健康影響評価に関する資料です。

参考資料1といたしまして、安全性評価に係る指摘事項。

参考資料2といたしまして、専門委員からのコメントでございます。

なお、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、委員の皆様の上の机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ます、次回また配布します。

不足等がございましたら、事務局までお知らせください。

○澤田座長 それでは、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。

以上です。

○澤田座長 既に御提出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、議題（１）の審議に入らせていただきたいと思います。

まず、除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネDP-073496-4についての審議を行いたいと思います。この品目は昨年11月の専門調査会におきまして審議を行い、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について、事務局から御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、申請者から提出されている回答書を御説明させていただきます。

お手元に、除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネDP-073496-4の灰色の回答書を願いたいします。

指摘事項は全部で8つ提出されております。

回答書の4ページをお願いします。

指摘事項1は、申請資料中に本申請品目の遺伝子である *gat4621* 遺伝子のほか、*gat* 遺伝子が複数出てくるので、それらの関連性とアミノ酸配列の相同性などの情報を整理する、といった内容です。

回答といたしまして、本申請資料に出てくる *gat* 遺伝子は、全部で5個であることを記載するとともに、同ページの表1に各 *gat* 遺伝子の関連性を、また、5ページの表2にGATタンパク質のアミノ酸配列の相同性を記載しております。

回答書の6ページをお願いします。

指摘事項2は、ベクターQC272のUBQ 10 PROの下流にあるUBQ 10 INTRONの配列が、導入DNA断片であるPHP28181Aに含まれているかを確認するとともに、必要に応じ記載を修正する、といった内容です。

回答として、再度、BLASTn検索を行ったところ、*UBQ10* プロモーターにUBQ 10 INTRONが含まれることを確認するとともに、5'非翻訳領域及び*UBQ10* プロモーター両側のリンカー配列もプロモーターに含めるべきと判断したことから、当該情報が記載している表をそのように修正したと記載してあります。

回答書の8ページをお願いします。

指摘事項3は、導入DNA断片がどの位置に挿入されているかを明確にするるとともに、接合部位をまたいで転写される可能性を考察すること。また、加えて、3'近傍領域に *tpt* 遺伝子配列があるかを含めて、挿入DNAの5'近傍領域と3'近傍領域の関係性を説明すること、といった内容です。

回答といたしまして、導入DNA断片は宿主となるセイヨウナタネのPG-*tpt* 遺伝子にある12個のエクソン領域のうち、4番目のエクソン領域の後に挿入されていること、また、3'近傍配列との相同性確認の結果から、以降の配列は欠失していることまではわかったもの

の、セイヨウナタネは全ゲノム配列が解読されていないため、挿入された箇所の特定には至らなかったと説明してあります。接合部位をまたいで転写される可能性については、ノーザンブロット分析の結果から考察するに、低いと記載しております。

次に、回答書の10ページをお願いします。

指摘事項4は、先ほどの指摘事項3とも関連する内容になるのですが、*tpt*遺伝子に関連し、発現量を測定している世代と種子収量等の測定を行っている世代が異なっているため、世代の違いを踏まえた上で安全性について再考する、といった内容です。

回答として、まず、発現量については、PG-*tpt*遺伝子の欠失による影響を最大限検討するために欠失箇所がホモとなる世代であるT2を用いたと記載してあります。検討の結果、PG-*tpt*遺伝子の発現量は、非組換えセイヨウナタネに比して7分の1程度しかなかったものの、*tpt*遺伝子の総量としては半分程度維持されていたこと、これに加えて、TPT活性の低下はほかの機構により補完されることが知られていることから、本欠失による意図せざる影響は生じていないだろうと考察してあります。

次に、欠失箇所がホモでも生育に影響がないため、当該箇所がヘテロとなるF1の商品化系統では、欠失による影響はより少ないだろうという予測のもと、念のためヘテロの世代としてF1でもショ糖含有量等の検討を行ったところ、結果として問題なかったと回答するとともに、その旨を要旨に記載しております。

回答書の24ページをお願いします。

指摘事項5は、GAT4621タンパク質の人工胃液の消化性において、約3kDaのバンドが試験開始後60分後まで見られていることから、当該バンドの由来とともに必要に応じて人工腸液での消化性の確認を行う、といった内容です。

回答といたしまして、当該バンドはGAT4621タンパク質由来である旨とともに、人工腸液処理においては開始30秒以内に消化されることを確認したと記載されてございます。なお、同ページのなお書き以降には、当該3kDaのペプチドについて、その詳細が参考までに記載されてございます。

回答書の27ページをお願いします。

指摘事項6は、加熱処理の項目について、以前の申請資料では記載が不十分なため再考を行う、といった内容です。

回答として、同様の特性を持ち、既に承認されているGAT4601タンパク質、これは同じ申請者の除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害耐性ダイズになるのですが、この記載を参考にバンドが薄くなった理由を詳細に記載してございます。具体的には、GAT4621タンパク質は、加熱処理によって変性・凝集し、遠心分離操作により沈殿したと考えられたと回答してございます。

回答書の28ページをお願いします。

指摘事項7は、結晶構造解析において、GAT4621タンパク質の基質特異性について再考を行うとともに、データに基づき基質反応性実験の結果を説明すること、説明に際して

は、植物内における*N*-アセチルアミノ酸の生成量についても記載すること、といった内容です。

回答として、GAT4621タンパク質とアミノ酸配列で99%相同性のあったGAT4618データを参考にGAT4621の反応性を広く再検討し、考察を再度行ったところ、同タンパク質の基質特異性が高いことが再確認されたと記載されてございます。この結果に即し、申請資料の記載も修正するとともに、*N*-アセチルアミノ酸の生成量についても追記してございます。

最後に回答書の33ページをお願いします。

指摘事項8は、*N*-アセチルアミノ酸の安全性について、過去の事例も参考に摂取量の推定とともに考察する、といった内容です。

回答として、当該植物の地上部における摂取量に関する正確なデータがなかったため、代替可能な項目のデータを用いて最も含有量が高かった*N*-アセチルアスパラギン酸の量を推定したところ、ラットを用いた混餌投与による90日間反復経口投与毒性試験におけるNOAELよりはるかに低かったため、当該植物体が摂取されたとしてもヒトの健康を害するおそれはないと考えられたと考察しております。ヒトの予想摂取量は0.51 mg/kgである一方、雄ラットのNOAELは451.6 mg/kg、一方、雌ラットでは490.8 mg/kgとなっており、ラットのNOAELの0.1%程度となっております。

36ページ以降に、その他の修正事項が記載されてございますが、文言等の細かな修正とともに、37ページに米国農務省による栽培承認及びオーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）による輸入承認を得たので、その旨を記載したと記載されてございます。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項に対する回答につきまして、項目ごとに先生方からの御意見をいただきたいと思えます。

指摘事項1で、これは複数の*gat*遺伝子が出てきまして、その関係とアミノ酸配列の違い等の情報を整理して対応関係を示すことということで、これは児玉先生と飯先生からコメントをいただいておりますけれども、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 相同性などが表2でまとめられていて、記載等もされておりますので、これでよろしいかと思えます。

○飯専門委員 私もこの点に関しては、これで結構だと思います。

○澤田座長 それでは、指摘事項2で、これはベクターのUBQ10のプロモーターの下流にあるイントロンの部分の問題で、これが含まれているかどうかを確認して、含まれている場合にはしかるべき箇所にその記載を追加することということで、これは飯先生、いかがでしょうか。

○飯専門委員 最初は構成要素に加えてもらうようなつもりでいたのですが、結果的には

必要な情報はプロモーターの項の中に入っているのですが、一応いいかなと考えています。

○澤田座長 それでは、指摘事項3で、これはTPTタンパクをコードするエクソンが幾つかありまして、途中までわかっているのですが、その後がどこに行ったかがよくわかりません。5'、3'の近傍領域の関係について御説明をすることということで、これは鎌田先生と小関先生にコメントをいただきましたけれども、小関先生、いかがでしょうか。

○小関専門委員 もうこの図であれば、はっきりと入って、結局後ろのほうが欠けてしまったのですね。これは仕方がないと思います。欠けたから問題かということ、そのところをちゃんと解析されて、意図しないようなことは起こらないだろうと解釈できますので、私はこれでよろしいかと思います。

○澤田座長 これはどこに入ったかは全くわかっていないですか。

○小関専門委員 どこに入っているというか、途中で入って結局飛んでしまっていますから、これはもう無理だと思います。

○澤田座長 現在のセイヨウナタネのゲノムの情報からすると、これ以上はもう無理だろうと。

○小関専門委員 9ページの下に書いてあるのですが、これは確かに非常にややこしいものなので、これ以上、解析をしろと言っても無理ですね。出てくるシーケンスもドラフトシーケンスくらいのレベルでしかないと思うので、このところでこれ以上を要求するのは、ある意味で科学的でないことを言うようなことになってしまうのではないかと思います。

○澤田座長 ほかの先生はいかがでしょう。

○飯専門委員 欠損に関して特にこだわるつもりもないし、従来育種、特に放射性育種などだと大きな欠損は幾らでも起こることがあるので構わないと思っているのですが、表現の仕方で、9ページの下から2つ目の段落の真ん中辺に、成分分析の結果、非意図的な影響が生じていないと考えられましたということに関しては、実は次の指摘と同じことになるのですが、F1を使った分析しかしていないので、その結果に基づいて、こういう結論はちょっと合意しかねるところがあるので、従来品種の範囲内であったというところで終わってしまって構わないのではないかと思いますので、どうでしょう。

○澤田座長 途中で文章を切るわけですね。

○飯専門委員 先ほど小関先生が言われたように、いろいろ調べたところでもう無理ではないかと思いますが、欠損そのものにこだわることは恐らく必要ないのかなという背景もあって、単に調べた結果の事実だけを述べてところで終わらせても特に問題は生じないかと私は思いました。

○澤田座長 それでよろしいでしょうか。

それでは、関連する指摘事項4で、ホモとヘテロの世代で測定を行っているのですが、直接比較できないという話です。

○飯専門委員 これも指摘の意味は、ヘテロで行った結果に基づいて問題が生じないとい

うロジックがおかしいということがあって、もうちょっと書き方を考えてくださいという意図だったので、このTPTに関しては一応そういうことを踏まえた記載に変わっていると思うので、よろしいかなと思います。

前の指摘と一緒に修正されたものがずっと続いて書かれているのですが、23ページ目の考察のところ、先ほど申しましたように、この最後の段落の下から3～4行目の「影響もない」というところは削除したほうがいいかなと思ったのですが、もし確認できたらと思ったところが1つ前の段落の真ん中辺の行になります。

「DP-073496-4の商品化系統として用いるF1世代において」と書いてあるのですが、これは種の配布はもうF1しか想定しなくていいのであれば、このままでいいかなと思っていますし、結果的に後の基質に関するところにもかかわらないわけではないので、その辺が確認できたらなと思います。種として配布される際、バッククロスなりをして、その地域に即した品種に戻した後、ホモ化したものが配布されるのか、あくまでF1雑種のようなもので配布されるのか。それが問題かどうかというよりは、その辺がわかっているほうがいいなど、この記述を見ていて思ったところがあるので、それは確認だけをしておいてもらえたらいいのかなと思いました。

○勝田係員 申請者のほうに確認した上で、また追って皆さんのほうにメール等で、その内容について御照会をしたいと思います。

○飯専門委員 本文のほうで行くと、16ページになります。交配過程の図の流れの一番下が全部F1になっていて、F1と言っても種をとるためには必ず掛け合わせをしないとF1はとれてこないで、F1の後代のホモの後は何を使うのかなと思った次第です。

○澤田座長 今までF1を念頭に置いているときは、スタック以外はありませんでしたか。これは多分初めてで、もしF1でしか出さないというのであれば、初めてのケースになりますか。

○小関専門委員 そこのところの限定をするのであれば、結局どのラインから認めるかというところの話に直結するかと思います。

○飯専門委員 個人的にはF1でも、それがホモ化されてもいいと思うのですが、考察のところの書きぶりを見たときに、この表現でそのまま読み取った解釈で本当にいいのかなというのが、この回答の文章を見て、思ったところ。書いた意図がここで使ったF1世代のさらに後代を使うというつもりで書いているのか、F1というものしか商品化されないというつもりで書いているのかが読み取れなかったものですから。

○勝田係員 そこも含めて確認をした上で、また皆さんにお知らせいたします。

○澤田座長 見逃していた点があったようですが、確認して、確認結果次第で直したほうがいいことが出てくる可能性がありますか。

○飯専門委員 局所的な言葉の修正だけで済む可能性も十分あるかなとは思っています。

○北村課長補佐 確認をいたしまして、修正の案をもらおうと思います。

○澤田座長 それでは、指摘事項5で、これは人工胃液の消化性のところで、その後の人

工腸液処理で消化できるかどうかという話で、手島先生からコメントをいただいております。

○手島専門委員　これが約3kDaのバンドがGAT4621由来のものであるという説明のところで、人工胃液の処理の後、この3kDaのバンドが人工腸液で30秒以内、かなり早い時間に消化されるという実験を追加していますので、この回答でよろしいかと思えます。

ただ、なお書き以下の段落の最後の結論がわかりにくいので、ここはあくまで推測の部分ですので、3kDa付近のバンドは実際には3kDaより小さいペプチドである可能性も考えられましたという表現にさせていただいたほうがよいかと思いました。

以上です。

○澤田座長　これは宇理須先生からもコメントをいただいているようで、お願いしたいと思えます。

○勝田係員　宇理須先生から事前にコメントをいただいておりますので、読み上げさせていただきます。皆さんのお手元の資料の一番最後に参考資料2として、お配りさせていただいています。

宇理須先生からのコメントでは、回答書の26ページの一番最後に「以上、GAT4621タンパク質は、人工胃液中で容易に消化されることが確認された」とあるが、人工胃液では約3kDaのペプチドが残ることから、容易に消化されるとは言えない。「人工胃液による処理では約3kDaのペプチドを残す。」と記載すべきである。ウエスタンブロット分析の結果からは、GAT4621タンパク質は、人工胃液処理によって免疫反応性は容易に消失するとは言える結果である。事実をそのままに記載すべきである、とコメントをいただいております。

○澤田座長　26ページの一番下の2行ですね。これは表現を書き直していただきたいと思いますが、具体的にどういうふうに直したらいいかを後で教えていただければと思います。

○手島専門委員　事実に基づいて書くということで、わかりました。

○澤田座長　それでは、指摘事項6で、加熱処理について、タンパク量は均一であること等を確認できず、免疫反応性が大幅に低下したと判断することができないため、再度考察することですが。これは橋田先生、いかがでしょうか。

○橋田専門委員　納得できる説明に修正されているので、これでよろしいかと思えます。

○澤田座長　よろしいでしょうか。

それでは、指摘事項7で、結晶構造解析でGAT4621タンパクがグリホサート以外の化合物を基質としないか再度考察を行うこと。基質反応性実験について、グリホサート以外の化合物と親和性が低いことを説明し、基質となるアミノ酸の植物内におけるN-アセチルアミノ酸の生成量、変動幅等を記載することについて。

まず、中島先生、お願いします。

○中島専門委員　結晶構造解析のところは削除されていて、代わりにGAT4618との評価の結果を含めて考察されていて、概ねこういうふうにしていただければと考えていたとおりでありまして、こちらに関する限りはオーケーだと思います。

○澤田座長 飯先生、いかがでしょうか。

○飯専門委員 最初、どのタンパクを使っているのか、またそれらの関係がよくわからなかったのですが、一番最初の指摘になったのですけれども、これについては、今回この形質転換体に入っているものがどのタンパク質かがわかって、記述に関しても概ねいいかなと思っ
てはいるところです。

2007年のSiehlの論文にかなり細かい酵素学的な解析が出ているのですが、そこで使っている材料と今回使われているのが同じだと見ていいのかが最初はわからなかったのですが、結果的には利用して問題ないということがわかったので、この論文の結果を活用して議論をしてもらえればいいと思っているのですが、ただ、その論文を見ますと、その中にグリホサートとほぼ同じくらいの基質となるような化合物が一覧表の中には入っていますが、今回回答されているところでは一切言及されていないところがあるので、できたら、それについてはそういう化合物があるのだということは記述してほしいなというのが1つ。また、その化合物が植物の中で見出されるようなたぐいの化合物であるのかどうかということも一応確認をしておきたいというのがあります。

前回のときに指摘事項の中にストレートに書いてはいないのですが、議事録をもし見ていただければ、気が付いてくれているのかなと思ったところは、同じように酵素の性質を調べている中では、植物の中には存在する化合物の幾つかがコンペティティブ・インヒビターとして働くということが記載されていまして、ホスホエノールピルビン酸とか、3-ホスホグリセリン酸とか、そういう類のもので、一次代謝にかかわるので、そんなに植物体内での変動は起らないとは思いますが、そういうのが一応基質ではないけれども、インヒビターとして働いているということはしっかり書かれているところがありますので、酵素学的な解析結果ということに基づいて、それを生体の中に持っていったときに実際にどういうことが起こり得るのか。逆に、特別なことが起こるということは考えなくていいのかということ、もう一言突っ込めるのではないかなという気がしているところです。

○澤田座長 前に出た品目で、書いかれていたものの中で抜けているところがありますか。

○飯専門委員 前のダイズのときの話ですか。さっき調べてもらったのですけれども、ダイズのときに基質となる化合物については、論文のテーブルの中にも入ってはいるのですが、それよりもずっと基質となる能力の高い化合物が別に存在しているということがわかったので、それについても一言どこかに、回答でもいいので、述べておいてもらったほうがいいかと思いました。

○松井技術参与 先ほど見たAMPAというのは、グリホサートの代謝物で毒性が全くないものであるということがOECDの文書に書かれていました。

○飯専門委員 安全性に関しての話なので、そういうことを記載してもらったほうがいいかなと思っています。

○澤田座長 では、追加の説明を加えていただいて、それは後で確認していただきたいと

思います。

それでは、指摘事項8にまいりまして、*N*-アセチルアミノ酸の安全性についてで、摂取量の推計を行った上で考察すること。考察に当たってはダイズの場合を参考にすることということで、これは小関先生と和久井先生からコメントをいただいております。

○小関専門委員 私のほうは、これで了解しました。

○澤田座長 和久井先生、いかがでしょうか。

○和久井専門委員 私のほうも了解いたしました。

○澤田座長 それでは、本件につきましては、追加の説明が必要などころがあるかと思えますけれども、特に安全上の問題があるということではないようでありますので、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。

○勝田係員 それでは、お手元に評価書（案）の冊子をお願いいたします。

5ページをお願いします。

要約の項目です。除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネDP-073496-4について、申請者提出の資料を用いて安全性評価を実施したと初めに記載しております。

本系統は、改変*N*-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子を導入して作出されており、この遺伝子が発現することで除草剤グリホサートを散布しても、その影響を受けずに生育できるとしてございます。

種子植物の安全性評価基準に基づき、挿入遺伝子の安全性等について確認した結果、非遺伝子組換えセイヨウナタネと比較して新たに安全性を損なうおそれのある要因は認められなかった、最後になりまして、したがって、本系統はヒトの健康を損なうおそれはないと判断したと記載しております。

6ページをお願いいたします。

「Ⅰ．評価対象食品の概要」についてです。こちらは記載のとおりとしております。改変*N*-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子(*gat4621*遺伝子)を導入して作出されており、*GAT4621*タンパク質が発現することで除草剤グリホサートを散布しても生育できると記載しています。

「Ⅱ．食品健康影響評価」についてでございます。

比較対象として用いる宿主等の性質について、1の(1)～(3)については記載のとおりです。

「(3)挿入DNAの性質及び導入方法」と書いてありますが、本遺伝子はパーティクルガン法を用いて導入していると記載しています。

「2. 宿主の食経験に関する事項」～「4. 宿主と組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項」につきましては、記載のとおりとしております。

5. の宿主以外のものを比較対象に追加して用いる場合とありますが、本系統は宿主と従来品種以外のものは比較対象としておりません。

6. 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、本系統は*gat4621*遺伝子の導入によってGAT4621タンパク質を発現すること。また、*N*-アセチルアスパラギン酸及び*N*-アセチルグルタミン酸の含有量が非組換え体に比して有意に増加していることが宿主との相違点でございます。

以上、1～6によって、既存のセイヨウナタネとの比較が可能であると判断しております。8ページをお願いいたします。

「第2. 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」であります。こちらにも導入された*gat4621*遺伝子によって発現するタンパク質に基づき、除草剤グリホサートに耐性を示すと記載してございます。

「第3. 宿主に関する事項」であります。こちらのほうは記載のとおりとさせていただきます。

「第4. ベクターに関する事項」のうち、「1. 名称及び由来に関する事項」であります。本組換え系統の作出に用いられた直鎖状DNA断片PHP28181Aの構築には、プラスミドpUC19が用いられたと記載してございます。

「2. 性質に関する事項」であります。こちらは塩基配列等は全て既知のものと記載してございます。

「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」になります。

「1. 挿入DNAの供与体に関する事項」であります。こちらにも*gat4621*遺伝子の供与体は、*B. licheniformis*のST401株、B6株及びDS3株であります。

「(2) 安全性に関する事項」であります。食品製造用酵素の生産に広く利用されてございます。

2. の挿入DNA又は遺伝子の性質に関する事項であります。10ページを開いていただきまして、「(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です。供与体であるST401株、B6株及びDS3株を選抜し、PCR法によりランダムに再構築することによって、除草剤グリホサートに対する*N*-アセチル化活性が高まるように作製がされてございます。

「(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」については、記載のとおりです。

「(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項」であります。2段落目に既知の毒性タンパク質との構造相同性の有無を確認したところ、相同性を示す既知の毒性タンパク質は見出されなかったと記載してございます。

「(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項」であります。抗生物質耐性遺伝子は含まれておりません。

「3. 挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現に関わる領域に関する事項」であります。

「(1) プロモーターに関する事項」であります。こちらにも*gat4621*遺伝子のプロモーターは、*UBQ10*遺伝子のプロモーター。

「(2) ターミネーターに関する事項」ですが、ターミネーターは、*pinII* ターミネーターを用いています。

11ページに「(3) その他」の項目がありますが、その他として、別の塩基配列は特に組み込まれていません。

「4. ベクターへの挿入DNAの組込方法に関する事項」ですが、導入用プラスミドPHP28181を作製し、制限酵素で処理することによって、直鎖状DNA断片PHP28181Aを作出してございます。

「5. 構築された発現ベクターに関する事項」でございます。

(1) につきましては、記載のとおりとしております。

(2) に、目的以外のORFが含まれていないことの項目であります。ORF検索を行ったところ、37個のORFが検出されました。しかし、いずれのORFも既知アレルゲン及び既知毒性タンパク質との相同性は認められませんでした。

(3) 意図する挿入領域が発現ベクター上で明らかであることの項目ですが、意図する挿入配列は直鎖状DNA断片PHP28181Aの全領域と記載してございます。

(4) 目的外の遺伝子が混入していないことに関する事項であります。こちらは記載のとおりとさせていただきます。

次に、12ページをお願いいたします。

「6. DNAの宿主への導入方法及び交配に関する事項」であります。パーティクルガン法によって宿主に導入した後、グリホサートを添加した培地で選抜し、得られた再生個体について、挿入遺伝子の確認を行った後、交配及び自殖を行うことによって本系統を作出してございます。

「第6. 組換え体に関する事項」になります。「1. 遺伝子導入に関する事項」の「(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項」ですが、*gat4621*遺伝子の発現カセットはサザンブロット分析の結果、1コピーであること。外骨格領域は挿入されていないこと、挿入されたDNAの塩基配列は全て決定していること、また、DNAの近傍配列は宿主ゲノム由来であること、そして、宿主の内在性遺伝子が損なわれていないかどうかを確認しております。

12ページの最後、279行目ではありますが、5'末端近傍配列にトリオースリン酸/リン酸輸送体 (TPT) タンパク質をコードする*tpt*遺伝子の配列との相同性が認められたと記載してございます。

13ページにまいりまして、挿入DNAとセイヨウナタネの内在性の部分でございまして、こちらは先の回答書のときに私から説明をさせていただいた内容と重複しますので、こちらについては割愛させていただきます。

13ページの最後、306行目に結論といたしまして、セイヨウナタネDP-073496-4及び非組換えセイヨウナタネの間において統計学的有意差は認められなかったと記載してございます。

14ページをお願いします。

「(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」であります。ORF検索を行ったところ、連続する30アミノ酸以上のORFが3個見いだされました。相同性を示す既知の毒性タンパク質やアレルゲンは特に見いだされませんでした。また、抗原決定基の有無を確認するために、アレルゲンのデータベースを用いて、相同性検索を行いました。一致する配列は確認されませんでした。

「2. 遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項」については、記載のとおりとしております。

「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」につきましては、342行目、日本人一人一日当たりの油脂類平均摂取量を全て菜種油に置き換えても、GAT4621タンパク質はその摂取量が0.002 mgとなり、一日タンパク摂取量の有意な量を占めることはないと考えられます。

15ページをお願いします。

「4. 遺伝子産物(タンパク質)のアレルギー誘発性に関する事項」であります。

(1)、(2)につきましては、記載のとおりです。

(3) 遺伝子産物(タンパク質)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。

「① 人工胃液に対する感受性」が記載されてございます。SDS-PAGE分析では30秒以内にGAT4621タンパク質の約17kDaのバンドは検出されなくなったものの、60分後までGAT4621タンパク質由来の約3kDaのバンドが認められたこと。ウェスタンブロット分析では、開始後30秒以内に約17kDa及び約3kDaのいずれのバンドも検出されなかったことを記載してございます。

次の段落に、約3kDaのバンドの消化性について、続きまして、人工腸液で処理をした内容について記載してございます。

「② 人工腸液に対する感受性」の部分でございます。SDS-PAGE分析においては2分以内に、ウェスタンブロット分析においては5分以内に消化された旨を記載してございます。

「③ 加熱処理に対する感受性」であります。GAT4621タンパク質の酵素活性は46～50℃の間で約50%に、53℃15分間の加熱処理で10%未満になることを確認したと記載しています。また、100℃、30分間の加熱処理後、ウェスタンブロット分析において、熱処理に対して不安定であることも確認されたと記載してございます。

16ページをお願いします。

既知のアレルゲンとの構造相同性についてであります。35%以上の相同性を示すような既知のアレルゲンは見いだされませんでした。また、抗原決定基の有無を確認するため、データベースを用いて検索を行いました。連続する8アミノ酸配列と一致する配列は見いだされませんでした。

以上から総合的に判断し、アレルギー誘発性を示唆するデータがないと結論づけております。

5. といたしまして、遺伝子の安定性に関する部分であります。4世代のサザンブロット分析を行ったところ、共通のバンドが検出され、挿入遺伝子が世代間で安定していることを確認してございます。

6. については、記載のとおりとなります。

「7. 宿主との差異に関する事項」であります。以下、(1)～(6)に記載のとおりで、*N*-アセチルアスパラギン酸等、4つの*N*-アセチルアミノ酸が有意に増加しました。うち、2つの*N*-アセチルアミノ酸については、変動の範囲を超えていましたが、ラットを用いた試験の結果から、仮にヒトが口にしても問題ない量であるということが記載されてございます。

8. 諸外国における認可における状況、9. 栽培方法及び10. 種子管理に関する事項については、記載のとおりです。

第7といたしまして、以上の第6までの結果から、安全性の知見が得られているとしておりまして、最後になります。安全性の評価結果としては、ヒトの健康を損なうおそれはないと結論づけております。

最後に、なお書きとして、*N*-アセチルアスパラギン酸、*N*-アセチルグルタミン酸、*N*-アセチルトレオニン及び*N*-アセチルセリンの含有量が有意に増加していたことから、本システムを用いた掛け合わせ品種の安全性評価の場合には、詳細な審議が必要と考えられると記載することを検討しております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

では、評価書(案)について、御意見、コメントをいただきたいと思っております。なお、細かい字句の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思っております。

2つに分けて、12ページの真ん中辺の255行までで御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

先ほどの修正が入る可能性があるところにつきましては、その時点で適宜直していきたいと思っております。

○児玉専門委員 439～442行目に後代交配種のときに詳細な審議が必要とされるというのは、19ページ目の最後のところにも書いてありますので、あえてここで書く必要はないのかなと感じましたけれども、どうでしょうか。

○澤田座長 これは以前、どういうふうに書いてありましたか。

○北村課長補佐 前にDPのダイズがあったのですが、その際には、今、御指摘いただいた17ページの439行目の箇所しか書いていませんでした。今回後ろに書くことにしたので、こちらは削除させていただいてもよろしいかと思っております。

○澤田座長 どちらかに書いてあればいいのですが、どちらがよろしいでしょうか。流れとしては、前のほうがわかりやすいことはわかりやすいですね。

○池田評価情報分析官 先般の組換えの取り扱いの変更の御議論をいただいたときに、今後わかりやすいように最後のまとめのところに書かせていただくということで整理をさせていただくことにしたので、それでお願いできればと思います。

○澤田座長 そうしますと、最後に書く、それとも両方に書きますか。

○北村課長補佐 両方書いたほうがいいのか、17ページのところを削除したほうがいいのか、どちらかでお願いします。

○児玉専門委員 わかりやすさを優先するというのであれば、両方あっても構わないと思います。

○澤田座長 今後のいろいろな手続を考えると、最後に書いてあったほうが気付きやすくていいという利点はあると思います。

○児玉専門委員 最後は必要だと思います。

○澤田座長 どちらでもよいかと思いますので、事務局のほうで検討して、どちらかにさせていただくことにしたいと思います。

ほかはよろしいでしょうか。

それでは、修正等を幾つかいただいておりますので、事務局で修正して、また先生方に御覧いただいて、私のほうでも確認して、食品安全委員会に御報告したいと思います。その後、パブリックコメント等の手続に入りたいと思います。

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

○勝田係員 それでは、申請者から提出されている申請書を説明させていただきます。お手元にこちらの透明なファイルのほうをよろしく願いいたします。

1ページをお願いします。

本飼料の概要についてですが、品目名は記載のとおりです。

「② 飼料の特徴」とありますが、本系統は除草剤グリホサート耐性を付与する *gat4621* 遺伝子が導入されております。*gat4621* 遺伝子はDNAシャッフリング法により得られたものとなります。

その次の段落になるのですが、*gat4621* 遺伝子に由来するタンパク質である *gat4621* タンパク質は、除草剤グリホサートのNH基をアセチル化し、EPSPS活性を阻害しないN-アセチルグリホサートに変えて、除草剤グリホサートに対する耐性を付与するものであります。

その次の段落に行きまして、N-アセチルアスパラギン酸及びN-アセチルグルタミン酸の分析値のみが対照の非組換えセイヨウナタネの分析値より統計学的に有意に増加しております。

次の2ページをお願いします。

なお書きの段落になるのですが、先ほど申し上げましたように、アミノ酸が一部、自社商業品種変動の範囲を超えていたものの、本地上部植物体は家畜の飼料として使用されないと記載してございます。

「③ 飼料の使用法」であります、本系統は飼料としての使用法は従来のセイヨウナタネと変わりなく、種子を搾油した後の油かすが用いられると記載してございます。

3ページをお願いします。

「2. 遺伝子組換え飼料としての安全性」の項目になります。遺伝子組換え飼料の安全性評価に当たっては、以下の①～③を評価することとなっております。

以下の①～③までの可能性が想定される場合には、当該飼料に由来する畜産物を摂取することにより、ヒトの健康に影響を及ぼす可能性がないかどうかについて評価するとしております。

次の段落になりますが、本系統は先程も申し上げましたように、GAT4621タンパク質が付与されることによってグリホサート耐性を持つものになるのですが、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畜産物中に移行するという事は、これまで報告されておられません。

したがって、上記の①のみならず、②、③の可能性も考えにくく、通常、安全性上の新たな問題は生じないと考えられると記載してございます。分析によってGAT4621タンパク質は宿主のアミノ酸組成に影響を及ぼさないことも確認してございます。

最後の段落になりますが、NAA及びNAGについては、毒性に関する知見の蓄積を目的に、最近を用いた復帰突然変異試験、マウスを用いた小核試験、ラットを用いた急性経口毒性試験及び混餌投与による28日間反復経口投与毒性試験を実施したところ、OECDの定めたガイドラインにおける急性経口毒性試験の最高用量である2,000 mg/kgでは毒性症状は認められず、ほかのいずれの試験においてもNAA及びNAGによると考えられる毒性の変化は認められなかったとあります。

以上のことから、当該飼料を摂取した家畜に由来する畜産物を摂取することにより、ヒトの健康に影響を及ぼすおそれはないと考えられました。

最後の「3. その他」になりますが、こちらでは残留に関する事項を検討してございます。

除草剤グリホサートをカナダとアメリカの使用基準に定められた最大薬量及び最大回数で散布した後に、成熟種子中の残留値を測定したところ、3回散布の場合でも2.5 mg/kgであり、我が国における食品としてのナタネ中の残留農薬基準値より低い値でありました。

また、除草剤とその代謝物3種の残留値の合計は3.9 mg/kg（グリホサート換算）ですが、やはりこちらも10 ppmを下回る数値となりました。

よって、5ページになりますが、DP-073496-4の種子に残留するグリホサートとその代謝物3種が全て油かす中に移行したと仮定した場合でも、この油かすを配合した飼料中における量は最大で約1.0 ppmと記載してございます。

以上を総合して、ヒトの健康に影響を及ぼすおそれはないと結論づけてございます。
説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして、先生方から御意見をいただきたいと思えます。一括でコメント、御意見がございましたら、お願いしたいと思えます。よろしいでしょうか。

それでは、ないようですので、特に問題がないということでありまして、続きまして、評価書（案）の審議に入りたいと思えます。事務局から御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、評価書（案）について御説明いたします。

評価書（案）の25ページをお願いいたします。

要約といたしまして、申請者提出の資料を用いて食品健康影響評価を実施いたしました。

本システムは、改変グリホサート*N*-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子を導入して作出されており、除草剤グリホサートを散布しても、その影響を受けずに生育できると記載してございます。

本システムでは、新たな有害物質が生成されることはないため、畜産物中に新たな有害物質が移行することは考えられない。また、遺伝子組換えに起因する成分が畜産物中で有害物質に変換・蓄積される可能性や家畜の代謝系に作用し、新たな有害物質が生成される可能性は考えられないと記載してございます。

以上から、「遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方」に基づき評価した結果、改めて安全性評価を行う必要はなく、安全上の問題はないと判断したと記載してございます。

26ページをお願いいたします。

「Ⅰ．評価対象飼料の概要」が記載されてございますが、こちらは先ほど御説明いたしました食品のものとほぼ同一のため、割愛させていただきます。

「Ⅱ．食品健康影響評価」になりますが、1といたしまして、これまでに挿入された遺伝子、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中に移行することは報告されていない。

2といたしまして、本システムは食品での審査において、こちらに通知日が入るのですけれども、通知日が入った上で、ヒトの健康を損なうおそれがないと判断していると記載してございます。

3に、*N*-アセチルアスパラギン酸及び*N*-アセチルグルタミン酸については、有意に増加しているものの、非組換えセイヨウナタネやほかの食品にも含まれていることから、これらの成分が家畜において有害物質に変換、蓄積されることはないと考えられると記載してございます。

以上の1~3を考慮したところ、畜産物中に新たな有害物質が移行することは考えられず、遺伝子組換えに起因する成分が畜産物中の有害物質に変換・蓄積される可能性がないと考えられました。

27ページをお願いいたします。

最後に、グリホサートの残留量について確認しておりますので、その旨を記載してございます。

セイヨウナタネDP-073496-4の種子におけるグリホサートの残留値は、0.062～2.5 ppm、また、除草剤グリホサート及びその代謝物3種の合計値でも残留量は0.85～3.9 ppmであったと記載してございます。

以上のことから、安全上の問題はないと判断してございます。

最後に、ただし書きいたしまして、除草剤グリホサートで処理され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される必要があると考えられると記載してございます。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、評価書（案）につきまして、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。なお、細かい字句の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思います。

コメント、御意見はいかがでしょうか。

○北村課長補佐 事務局からですが、申し訳ありません。記載の統一がされていないところがありまして、アセチルアミノ酸類の増加についての記載です。食品のほうで18ページを御確認いただきたいのですが、4種類のアミノ酸が有意に増加をしているのですが、種子中のアセチルアスパラギン酸とアセチルグルタミン酸については許容値の範囲を超えていたということと、地上部については4種類が有意に増加しているのですが、こちらは許容値の範囲が示されていないので、許容値の範囲を超えているという記載はしていないところ です。

掛け合わせについて、安全性評価が必要という19ページの524行目からの記載には、4種類のアミノ酸が有意に増加しているという旨を書いているのですが、一方、7ページの90～91行目では、アセチルアスパラギン酸とアセチルグルタミン酸の記載しかしておらず、今、説明をいたしました餌のほうの26ページの47行目においても、アセチルアスパラギン酸とアセチルグルタミン酸の記載しかしていないということで整合性がとれていないので、見直して修正をいたします。

○澤田座長 本質的には2つでいいはずですが、場所によって有意差が出ているものがあるのではなか。

○北村課長補佐 4種類で有意差はあるのですが、許容範囲を超えているのがアセチルアスパラギン酸とアセチルグルタミン酸です。それが種子についてですけれども、地上部については全て有意差がついていて、許容値の範囲を示していないので、その許容値の範囲を超えている、超えていないという議論ができないという状況です。

○澤田座長 それは検討して、適切な表現に直していただきたいと思います。

ほかはよろしいでしょうか。

それでは、ただいまの修正したものを私のほうで確認して、食品安全委員会に御報告したいと思います。ありがとうございました。

それでは、次に、CPR株を利用して生産されたL-シトルリンについての審議を行いたと思います。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、資料はピンクの紙ファイルになります。

4ページに概要がございます。まず、こちらの説明になりますが、このL-シトルリンにつきましては、食品衛生法上の区分で食品添加物ではなく、食品として扱うものになっております。そのため、この申請資料は、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」を使う初めてのケースになります。

「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」といいますのは、お配りしております緑のファイルの安全性評価基準の6番のタグがついているものになります。

こちらの安全性評価基準の構成といたしましては、第1章のところに総則がございます。7ページの第2章のところで、まずは微生物に関する組換え体に対しての安全性評価を行いまして、その次に14ページの第3章で、そのものの食品自体の安全性評価を行うという2段階の構成になってございます。

本食品は14ページのIで、生きた組換え体を含まない遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価に該当いたします。ちなみに、生きた組換え体を含む場合は、別途15ページのIIの要件に従って評価をするということになっております。

ピンクのファイルに戻っていただきまして、本食品の説明をいたします。

シトルリンにつきましては、食品としての扱いになりますので、添加物のように成分規格が国で定められておりません。そのため、申請者のほうで自主規格を設定しております。これらの項目につきましては、添加物のアミノ酸を参考にしてつくったということがございます。

5ページをお願いいたします。

用途になりますが、食品分野では錠剤、顆粒、飲料などに添加して栄養補助食品として用いられるということです。

6ページをお願いいたします。

こちらがまず微生物に関する安全性評価になります。宿主は大腸菌 *E. coli* のKY8227株でございます。供与体につきましては、表2に記載がございますが、*E. coli* のW3110株、またはKY8227株でございます。

(3) になりますけれども、操作をした遺伝子につきましては、大腸菌のゲノム上にある●●●や●●●に係るタンパク質を発現する遺伝子ということです。詳細は後ほど御説明いたします。

7ページをお願いいたします。

これらの遺伝子断片の組み込みについては、大腸菌●●●の●●●により行われてござ

います。また、ヘルパープラスミドの●●●が用いられてございます。

宿主の利用経験になりますが、40年近くにわたって食品等のアミノ酸の工業生産に利用されているということでございます。

有害生理活性物質、栄養阻害物質を産生するとの報告はないということです。

「1-4. 宿主と組換え体との食品への利用方法及びその相違」になりますが、(1)～(4)までの項目がありますが、以下につきましては、微生物とL-シトルリンの両方についての記載がされております。

まず、宿主からはシトルリンは製造できませんけれども、アミノ酸等の食品及び食品添加物を生産する菌として利用がされております。

製造方法になりますが、一番下のパラグラフで、培養の終了した発酵液から菌体副産物等を除去して、アミノ酸結晶を取得するということになります。

8ページをお願いいたします。

シトルリンの生産方法についても同様ということでございます。

用途及び使用形態になりますが、宿主の派生株について、アミノ酸を生産する手段として利用がされております。組換え体でない菌、●●●株でございますが、これを使ってつくったシトルリンは、日米において既に販売されているということでございます。

摂取量については、菌体自体は摂取がされません。シトルリンの一日推奨摂取量は800 mgということでございます。

調理及び加工方法のところには、このシトルリンの使用形態が書いてございまして、食品や飲料に用いる場合は粉末状、顆粒もしくは溶液として、単独または他の食品・食品添加物と混和する形で用いるということでございます。

相違点につきましては、シトルリンの生産性を高めるために遺伝子の欠失、挿入、改変等を行っているというのが宿主と異なりますけれども、それ以外は相違はないということです。

9ページをお願いいたします。

こちらは宿主の説明になります。先ほど説明しましたように、KY8227株は40年近くにわたりまして、食品用等のアミノ酸の生産に用いられております。

病原性、有害生理活性物質等の生産につきましては、BSL2以上にリストアップされてございまして、この派生株の1つでありますKY8270株はATCCでBSL1に分類されており、病原性遺伝子がないこと等からも有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は知られていないということです。

アレルギー誘発性についても、この菌株について、アレルギーを誘発するとの報告はないということです。

寄生性、定着性については、大腸菌はヒトまたは動物の常在菌であります。KY8227株についてはヒトや他の生物の健康に悪影響を及ぼすとの報告はないということです。

病原性の外来因子につきましては、純化されているので、外来因子による汚染はないと

判断したということです。

宿主の近縁株につきましては、この派生株についての記載がございます。

10ページをお願いいたします。

このKY2887株を宿主といたしました、WSH株を利用して生産されたもの、BDS株を利用して生産されたもの、こちらは食安委で今まで評価をしていただきましたGM添加物になりますけれども、こちらの宿主がKY8227株ということです。どちらも高度精製品として評価が終わっております。

ベクターにつきましては、相同組換えで目的のDNA断片を挿入、欠失等を行っておりますので、ベクターは使われてございません。相同組換えの際には、プラスミド●●●が使用されてございます。

11ページをお願いいたします。

性質につきましては、記載が省略されております。

12ページをお願いします。

「4. 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクター又は導入用ベクターの構築」になります。

供与体でございますけれども、宿主または*E. coli*のW3110株になります。

安全性については、記載のとおりです。

クローニング方法につきましては、●●●遺伝子の改変に用いた遺伝子断片については、KY8227株のゲノムDNAを鋳型にしまして、それ以外の断片はW3110株のゲノムDNAを鋳型にそれぞれPCR法で増幅をし、単離したということでございます。

塩基数、塩基配列につきましては、それぞれの遺伝子について、以下に記載がございます。

13ページをお願いいたします。

こちらに代謝のマップがありますが、これが挿入や欠失した遺伝子の機能のところになります。黄色の部分が今回操作をした遺伝子になりまして、×は欠失をすることにより、この機能を失わせるということになります。

真ん中のところ、●●●遺伝子は挿入してございまして、2コピーになって、この活性が高まっております。

13ページの(i)で、●●●遺伝子は、L-シトルリンの●●●を●●●する●●●の●●●でございます。これは一部欠失させております。

14ページをお願いいたします。

●●●遺伝子になりますが、●●●の●●●を●●●することで、その活性を●●●する●●●でございます。この遺伝子を欠失させることで、●●●の●●●が●●●されます。

(iii)になりますけれども、●●●遺伝子を欠失させまして、その位置に●●●遺伝子が挿入されております。●●●遺伝子については、L-シトルリンの●●●されます。

●●●遺伝子ですけれども、●●●でありまして、その機能を増強することで、こちら
も●●●の●●●が●●●されるということでございます。

宿主が持っている●●●遺伝子と挿入した遺伝子が2コピー存在をすることで、その発
現が増強されるということです。●●●遺伝子は、●●●が置換されておりまして、●●
●のアミノ酸が変わっているということになります。

15ページをお願いいたします。

●●●遺伝子になります。こちらは●●●でありまして、シトルリンの●●●の●●●
の一つになります。●●●は●●●を受けますが、こちらの遺伝子を改変することにより
まして、●●●による●●●を受けないことになります。●●●が置換されております。

4-3. にプロモーター、ターミネーター、その他の記載があります。

組込方法につきましては、相同組換えを用いまして、目的遺伝子を欠失、挿入をしてお
りますので、発現ベクターや導入用ベクターは使用しておりません。

次のページに、直鎖状DNAについて説明があります。

17ページに組込みユニットが10個記載されておりまして、●●●の●●●と、●●●の
●●●を用いて相同組換えを行っております。

16ページがその模式図になりますけれども、例えば組込みユニット1と2がセットで使わ
れまして、1は●●●と●●●配列の間に●●●と●●●が存在する断片ですが、これを
使って相同組換えが行われます。

18ページをお願いいたします。

その相同組換えの方法について、18ページで説明がされております。組み込みユニット
はそれぞれ2つずつがセットになっておりまして、一次組換えと二次組換えの2つのステッ
プで構成されております。

●●●では、目的とする遺伝子の改変部位に●●●によって●●●が●●●されます。
●●●では、●●●が生じまして、●●●が●●●されるということになります。

遺伝子操作の終了後、各遺伝子組込みユニットは、●●●ので、●●●除去されまして、
●●●と●●●により残存しないことを確認しております。ヘルパープラスミドを●●●
での●●●によって脱落をさせ、最終ステップで単コロニー分離で菌株を純化するという
ことでございます。

19ページに、作製のフローが示されております。

19ページの下からが、組換え体の説明になります。コピー数と挿入近傍配列につつまし
ては、塩基配列の解析により、確認がされてございます。

20ページをお願いいたします。

遺伝子操作は意図した部位で生じておりまして、意図しない重複や欠失はないことが確
認されてございます。図5にゲノムの構成の概略がございまして、欠失した遺伝子と挿入置
換された遺伝子が図示されております。

20ページの(2)のORFにつきましては、操作した遺伝子上流と下流の500 bpの塩基

配列を見ておりました、その結果、4個のORFが新たに見付かっております。そのORFにつきまして、データベースで検索をいたしましたところ、既知の有害タンパク質、有害遺伝子とのアミノ酸の相同性はなかったということでございます。

21ページをお願いいたします。

5-2. になります。この製品のL-シトルリン中には、タンパク質が含まれていないので、遺伝子産物の発現量の増減は製品の安全性に影響を与えないということです。

5-3. につきましては、タンパク質が含まれないことをドットブロット法により確認し、申請品中に検出されないことが確認されてございます。

22ページをお願いいたします。

抗生物質耐性マーカー遺伝子になります。この株の作製の過程で、●●●と●●●中の●●●を使っておりますが、最終的に除去されていることが確認されております。

アレルギー誘発性につきましては、タンパク質が含まれていないということと、L-シトルリンについて、これまでアレルギー誘発性は報告されていないということ、新たなORFにつきまして、アレルゲンとの相同性がなかったということが示されております。

5-6. の遺伝子の安定性になります。PCRの増幅パターンで確認をしております。また、シトルリンの生産性についても確認がされておりました、PCRのパターンに変化がないということと、シトルリンの蓄積の濃度は継代の影響を受けていないということでございます。

23ページをお願いいたします。

代謝経路への影響になります。菌の代謝へ及ぶ影響としては、L-シトルリン産生増強と副生物の減少のみに限定され、このシトルリンの濃度が菌体内外で高まった結果、二次的に有害物質の産生に影響するとの情報はないということです。

宿主との差異になりますが、遺伝子を改変したことによって、予期せぬ新たな代謝成分を生成させる可能性、あるいは非病原性及び有害生理活性物質の生産等に影響する可能性は考えにくいということです。

不活化につきましては、不活化は行っておりませんが、精密ろ過工程で生産菌はろ過されておまして、生産菌を含めた大腸菌が検出されないことが確認されております。

取り扱い、保管方法については、記載のとおりです。

24ページをお願いいたします。

こちらからが食品L-シトルリンに関する安全性評価の項目になります。まずは生きた組換え体が含まれていないことの確認につきましては、精密ろ過で生産菌は除去されているということでございますけれども、培地で増殖をしまして、インドール試験によって確認がされてございます。その結果、生きたCPR菌株は含まれていないものと判断したということです。

25ページをお願いいたします。

こちらが従来の食品についての説明になります。

まず、利用の経験等になりますけれども、錠剤、顆粒あるいは飲料などに添加した形態で、既に米国、日本国内で栄養補助食品として広く用いられているということでございます。

製造方法につきましては、図6にフローがございまして、左側のほうが従来品になります。培養工程、精製工程を経て、製造されます。

26ページをお願いいたします。

有害生理活性物質につきましては、これまでも認められていないということと、アレルギー誘発性を有するとの報告はないということになります。

3. が、L-シトルリンの説明になります。

製造方法につきましては、25ページの図6のフロー図の右側が該当いたします。従来品と本質的な違いはないということですが、●●●時に発酵液の●●●することにより、●●●しても、同等の品質の製品が取得できるということでございます。

生産菌については、●●●で除去がされます。

3-2. の栄養素になります。従来品と申請品との間で栄養学的な違いはないということになります。

3-3. で、従来品と本製品の不純物のプロファイルが比較されてございます。こちらは高度精製の添加物で用いられている方法になります。

27ページに自主規格の分析結果がございまして、含量につきましては、自主規格でございまして、98.5%以上という規格が設けられておりまして、申請品は99.9%と示されております。

28ページをお願いいたします。

アミノ酸分析になりまして、その結果、N-δ-アセチル-L-オルニチンが従来品よりも多く検出がされております。

28ページの下が、HPLC法-1になりまして、29ページの表8に結果がございまして、●●●分のところは同じくN-δ-アセチル-L-オルニチンでございまして、こちらも従来品より増加をしてございます。

N-δ-アセチル-L-オルニチンにつきましては、ヒトの血中に存在する生体内物質であるということと、ダイズ等豆類を始めとした食品中にも含まれているということでございます。安全性に問題となる情報は見あたらなかったということでございます。

安全性につきましては、添付資料9に詳細な検討がされてございまして、L-シトルリンを800 mgに含まれる量を見積もっておりますが、本L-シトルリンからに含まれる量は食事由来の摂取量を超えるものではないという計算がされているところでございます。

30ページに戻っていただきまして、HPLC法-2では、新規の不純物は検出されてございません。

31ページをお願いいたします。

3-4. からになります。製造工程において共存する他の微生物はないということです。諸

外国におきましては、このCPR株を利用して生産されたL-シトルリンは、2012年よりアメリカで製造が開始され、同国で食品用に販売されているということでございます。米国では生産菌を含まない精製されたアミノ酸の食品について、製造販売に対する認可は特に必要とされていないという記載がございます。

その他は、特記すべきことはないということでございます。

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、説明いただきました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、申請書の4～11ページ、食品としての概要と遺伝子組換え微生物に関する安全性評価までで御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○児玉専門委員 7ページの「1-4. 宿主と組換え体の食品への利用方法及びその相違」のところに「KY8227株の派生株は」というのが出てくるのですが、派生株についての詳しい説明がどこに載っているのかよくわからなかったのですが、もともとこの8227株は既に平成20年5月と平成24年3月に審査を経ていますので、それを前提にして、別に派生株云々を書く必要はないのではないかと。派生株の詳しい説明はどこに載っているのかなと思って、ざっとしか見ていないのですが、詳しく載っている雰囲気もないので、安全性評価は終わっている菌株ですというのを前提にして整理してもらったほうがすっきりしてよろしいのではないかと思います。

○澤田座長 10ページの上のほうにWSHとBDSの名前が出てきます。これが先ほどおっしゃった派生株そのものの意味かなと私は思いました。

○小関専門委員 私もそう思ったので、ここは事務局のほうで確認していただいて、そうであれば、10ページの上の段落のところをここに持ち込めば、それだけで済む話かと思えます。派生株と言われるから、あれという感じになりますね。

○澤田座長 ほかにはいかがでしょうか。

それでは、続きまして、12～23ページの遺伝子組換え微生物に関する安全性評価のところでコメント、御意見がありましたら、お願いしたいと思います。

これは遺伝子組換え食品（微生物）で初めてなわけでありませけれども、基本的には、食品添加物の基準が要求している内容とほとんど変わらないかなと思います。

○小関専門委員 1点だけよろしいですか。22ページで、種子植物の場合だと耐性マーカーが入っていないことをサザンで示せと言っています。微生物の場合に、これは恐らく間違いなく入っていないとは思いますが、ただ、耐性がないからということでもいいですよとするかどうかについてのスタンスをここで決めておかないと、今度、生きて微生物が出てきたときとか、先々のことを考えたときに、ここで意見集約をしておいたほうがよろしいかという気はします。

○澤田座長 いかがでしょうか。今回は特殊で食品の高度精製なので、そこまで厳しく言

わなくてもいいのかなという気はしますけれども、一般論としてはやったほうが多い場合が多い。

○小関専門委員 これは議事録として残って、高度精製であるということで、添加物と同じような考え方でいきたいと思いますというのであれば、これでいいですねということで、ここは終了するというのを議事録に残しておいて、これが全てに当てはめられることではないねということだけの確認がされればいいかと思います。

○澤田座長 それでよろしいのではないかと思います、いかがですか。

○児玉専門委員 今回の審査の立場としては、今のような考え方で行くのが私もいいと思うのですが、ただ、基準に照らし合わせると、例えば、挿入遺伝子の1つはアミノ酸の置換が生じているのがありますので、本来ならば置換が起こった上でのアレルギー性とか、そういうチェックも入らなければいけないということになりますし、基準に厳密に照らし合わせると、あちこちで不具合が生じている形になってはいますが、実際には高度精製品に極めて近いということですので、それを求めることに安全性上の意味があるかということになりますと、タンパク質が検出されていませんし、菌体も検出されていないということを見ると、食品安全性上の意味はほとんどないということになりますので、委員会としてコンセンサスがとれた上で、そういうような考え方で行くということにするしか今回はないのかなと考えます。

○澤田座長 どうぞ。

○中島専門委員 今回どのようなものが添加物になって、どのようなものが食品になっているかという点で、実際に同じように作っていて、同じように精製になっていても、作り方とはまた別の観点で食品と添加物に分かれているわけですから、このように事実上、精製品とみなせるようなものについては、細かいことを言わずにオーケーにするという前例ができれば、申請者のほうも申請をしやすくなると思われまますので、今回の先生方の御意見は私も賛成で、議事録には、そのように残して、タンパクが検出されていない、菌体も検出されていないのでという点を明記して、オーケーしたということにしたというのが後々もいいように私も思います。

○澤田座長 ほかの先生方、いかがでしょうか。よろしいでしょうか。

高度精製もいろいろあるので、ケース・バイ・ケース的に考える場合もあるかもしれません。このケースに限ってはかなり純度が高いので、このような場合、全てデータが必要ではない場合もありうるということにしたいと思います。

ほかはいかがでしょうか。

それでは、最後までで、遺伝子組換え食品（微生物）に関する安全性評価で、第二段階のところには当たりますが、御意見、コメントをいただきたいと思います。

○小関専門委員 1点だけよろしいでしょうか。これはマル秘の部分は除いて、要旨としては公開されますね。

○北村課長補佐 はい。

○小関専門委員 そうすると、26ページのところで、N-δ-アセチル-L-オルニチンの安全性に関する情報を添付資料9に示したという形だと見えなくなってしまうので、これは後ろに書いてあるダイズとか、そういうようなデータをここに入れておいてくれば、種子植物などのときにそういうふうに要旨の本文の中に入れておくと思うので、それは書き込みをしてもらったほうが親切かなと思います。

○澤田座長 今のお話はどこですか。

○小関専門委員 添付資料9のところで表がありますでしょう。ダイズにこのくらい含まれていますよとか。これをもとにして、従来の食事由来の量を超えることがないということまでを前に持ち出してもらったほうが親切ではないですかということです。

○澤田座長 それでは、添付資料9から必要なところを追加してください。

○小関専門委員 添付資料9の2ページの(2)の文章と表S9-1を入れてくれば、親切だろうなと思います。

○澤田座長 ほかはいかがでしょうか。

○飯専門委員 1つよろしいですか。27ページにある自主規格の表ですけれども、眺めていると一番下のほうで、乾燥減量とかは0.50%以下で申請品は0.02%とかと書いてあるのですが、その上のしばらくの間は、規格値が、例えば、塩化物0.02%以下というのと、そのまま申請品が0.02%以下となっていて、恐らくもうちょっと具体的な数値を持っているだろうと思うので、何か全体に整合性がとれていないなという印象を受けます。大きな問題ではないです。

○北村課長補佐 もしかしたら、そこまでしか測れないのかもしれないので、確認いたします。

○飯専門委員 もしそうであれば、検出限界とかが下に書いてあれば、それで理解できると思います。

○澤田座長 もし具体的に数字が出れば、直してください。

印象としまして、本文よりも添付資料のほうが大分多いようで、本文に移したほうがよい部分はないでしょうか。かなり企業秘密的な内容も多いのですが、添付資料は恐らく公開されないですね。

○勝田係員 今、申請者からのマスキング希望箇所が手元がないので、具体的なことは申し上げられないのですが、添付資料を見た限り、実験の生データとかが多いので、たしか余り公開してほしくないということを記載していたように記憶しております。

○澤田座長 内容的には、概要書になればいけないということではないのですが。

○小関専門委員 多分、前に移してもマスキングされるだけとか、●●●のところ●●●がかからなくしているところは絶対にマスクされる場所ですし、私がこれで見ただけの限りは、方法論的にこうですねというのはわかる。こうやりましたねと。そして、それはちゃんとコンファームしましたということきちんと記載しているので、これでがらがらぼんして、前に出してもらおうほどの必要があるのかなと思います。

○澤田座長 要は添付資料9だけです。

○小関専門委員 これは前に出したほうが親切ですし、食品の安全性の上で問題がないことをコンファームするデータですから、出してもらったほうがいいと思います。

○澤田座長 ほかはいかがでしょうか。

それでは、本件につきましては、特段の安全上の問題はないということですので、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 それでは、お配りしております資料の29ページをお願いいたします。

こちらはL-シトルリンの評価書（案）になります。食品の評価基準を使うのが初めてでございますので、資料につきまして、星印でメモ書きをつけ加えております。

34ページをお願いいたします。

「Ⅰ. 評価対象食品の概要」になります。

名称。用途としまして、栄養補助食品などに使用されると記載しております。

27行目からになりますが、本食品は、L-シトルリンの生産性を高めるために、*E. coli* KY8227株を宿主として、*E. coli* KY8227株及び*E. coli* W3110株由来のL-シトルリンの●●●、●●●である●●●及びL-シトルリンの●●●の欠失、●●●である●●●の●●●の●●●並びにL-シトルリンの●●●の●●●の●●●を行い作製されたCPR株を利用して生産されたL-シトルリンである。なお、L-シトルリンは非必須アミノ酸の一種である。

「Ⅱ. 食品健康影響評価」になります。

第1の1の（1）の宿主の種名等は、記載のとおりです。

（2）ですが、●●●遺伝子の供与体は*E. coli* KY8227株、●●●遺伝子、●●●遺伝子及び●●●遺伝子の供与体は*E. coli* W3110株である。

（3）になりますが、L-シトルリン●●●に●●●となる●●●遺伝子、●●●遺伝子及び●●●遺伝子を欠失させ、●●●遺伝子を●●●し、●●●である●●●を●●●する●●●遺伝子を●●●した。このシトルリンの場合、欠失した遺伝子があるのですが、今のところ、この挿入遺伝子のところに記載をしております。

DNA断片は、●●●を利用して導入した。

2の食経験等ですけれども、*E. coli* KY8227株及び派生株は、食品用等のアミノ酸の生産菌として数多くの利用経験があり、長期にわたり安全に使用されている。

構成成分等ですが、有害生理活性物質あるいは栄養阻害物質を生産するという報告はない。

「4 宿主と組換え体との食品への利用方法及びその相違に関する事項」になりますが、こちらは宿主と組換え体の比較なのかもしれないのですが、製造方法と貯蔵方法等について、宿主と組換え体の比較が困難でしたので、現状では製品のシトルリンについて、従来品と比較した記載をしております。（1）～（4）が、その記載になります。

5ですが、組換え体と宿主の相違点になります。CPR株と宿主の相違点は、●●●遺伝

子、●●●遺伝子及び●●●遺伝子の欠失、●●●遺伝子の改変及び●●●遺伝子の●●●
●●●により、L-シトルリンの●●●が高められている点である。

「第2 宿主に関する事項」で、分類学上の位置づけは記載のとおりです。

36ページをお願いします。

生理活性物質の生産に関する事項が2で、アレルギー誘発性についてが3になります。

4で寄生性及び定着性になりますが、ヒト及び動物の常在菌であるということと、発生株の1つであるKY8270株についてはBSL1に分類された安全な菌株であり、ヒトや他の生物の健康に悪影響を及ぼす報告はない。8227株も同様と考えられるとしています。

外来因子につきましては、KY8227株及びその派生株は、病原性の外来因子の存在を示唆する事実は認められていない。

6の病原性等になりますけれども、医薬用及び食品用等のアミノ酸の生産に用いられた経験があり、病原性及び有害生理物質の生産は知られていないとしています。

「第3 ベクターに関する事項」になります。

目的の遺伝子の欠失、挿入及び置換は、●●●により行われたため、ベクターを用いていないとしております。

下線が引いてありますのは、評価基準からの引用でございまして、相同組換えによって宿主、ゲノムにDNAが挿入された場合には、用いたDNAに関する情報を書くという記載があります。

「2 性質に関する事項」については、そのため、記載を省略しております。

37ページをお願いします。

第4になりまして、供与体に関する事項です。供与体はKY8227株とW3110株です。

安全性については、ヒトに対する病原性及び毒素産生性は知られていないとしています。

2になりますけれども、クローニングもしくは合成方法に関する事項になります。この三つの遺伝子については、KY8227株のゲノムDNAを、次の二つの遺伝子についてはW3110株のゲノムDNAを鋳型にしてPCR法に増幅した後、単離したとしています。

(2)ですけれども、挿入DNAの塩基数及び塩基配列は明らかになっているということと、欠失、置換した遺伝子について記載をしております。

(3)の機能につきましては、それぞれの遺伝子の機能と欠失の目的を記載しております。

157行目から、●●●遺伝子は、●●●の●●●をコードし、L-シトルリンの●●●を●●●させる。この遺伝子配列の一部を欠失させることで●●●を●●●するということと、一部欠失による有害性は知られていないという記載をしております。

次に、●●●遺伝子、38ページに行ってくださいまして、●●●遺伝子、●●●遺伝子、173行目から●●●遺伝子についての記載をしております。

3になりますけれども、(1)プロモーター、(2)ターミネーター、(3)その他の記載をしております。

4ですが、組込方法については、相同組換えによって目的遺伝子を欠失、置換及び挿入することにより、CPR株を得たとしています。

ベクターについては、用いられておりません。

39ページをお願いします。

導入方法に関する事項です。10種類の直鎖状DNA断片を電子パルス法にて宿主へ導入することにより行った。遺伝子の組み換え操作は、それぞれ2回の相同組換え操作が行われ、●●●は、●●●を選択マーカーとし、●●●は●●●により選択した。なお、目的遺伝子のゲノムへの組み込み位置をPCR法にて確認している。最終工程で、単一コロニーを分離し、純化を行っているとしています。

「第5 組換え体に関する事項」になります。

1の(1)で、CPR株の染色体における遺伝子改変部位及びその近傍領域の塩基配列を決定し、意図した部位に改変がなされ、意図しない重複及び欠失のないことが確認されているとしています。

ORFにつきましては、遺伝子改変部位の上流と下流の500 bpについてORF検索をした結果を書いてございまして、新たに4個見つかったということと、相同性検索の結果、相同性を示す毒性タンパク質は見出されなかったということと、アレルゲンとの相同性がなかったということに記載しております。

230行目から、発現量につきましては、40ページに行っていただきまして、タンパク質が含まれていないため、遺伝子産物の発現量は製品の安全性に影響を与えないということと、ドットプロット法により確認をしたところ、検出限界未満だったという記載をしております。

3につきましては、タンパク質が含まれていないとしています。

4ですけれども、●●●及び●●●は、最終的に除去されているとしています。

アレルギー誘発性につきましては、タンパク質が含まれていないこと、ORF検索でアレルゲンとの相同性がなかったことから、L-シトルリン製品中にアレルギー誘発性物質が含まれる可能性はないと考えるということと、従来のL-シトルリンにはアレルギー誘発性の報告はないとしております。

6になりますけれども、4回の継代により安定性調査をした結果、PCR産物のパターンに変化はなかったということと、シトルリンの生産性を確認したところ、濃度が安定していたということで、CPR株に挿入された遺伝子の構造、挿入箇所及び欠失は継代培養を経ても安定であることが確認されたとしています。

代謝経路への影響につきましては、改変した遺伝子はシトルリン産生に関与する遺伝子に限られており、予期せぬ代謝成分を変化させる可能性は低いということで、代謝物が有害物質の産生に影響するとの報告はないとしております。

宿主との差異については、41ページになりますけれども、非病原性及び有害生理活性物質の生産に関して影響を及ぼすとは考えられないと記載をしておりますけれども、評価基

準では「組換え体と宿主等を比較したデータにより、非病原性及び有害生理活性物質の生産に関して、有意な差があるかどうか明らかにされており」という記載があるところがございます。

不活化については、生産菌が除去されているため、不活化は行っていない。取り扱いについては、安全に取り扱われ、保存及び管理をされているとしています。

280行目からが、遺伝子組換え食品の安全性評価に関する事項になります。

1で、生きた組換え体が含まれないことの確認についてでございます。培養でインドル試験にて確認した結果、生きたCPR株が含まれないことが確認されたとしています。

第2の利用経験等ですが、L-シトルリンはL-アルギニン及びL-オルニチンとともに生体内でオルニチンサイクルを構成するアミノ酸である。L-アルギニン及びL-オルニチンと比較して、L-シトルリンは苦味が低い特性を有することから、食品分野で錠剤、顆粒及び飲料などの形態で栄養補助食品として用いられているとしています。

製造方法については記載のとおりでございます。晶析により結晶として精製され、L-シトルリン含量98.5%以上の最終精製品を得るとしている。生産菌は、ろ過工程で除去されるとしています。

42ページをお願いいたします。

有害生理活性物質については、3でございます。

第3で、製造方法になります。従来のシトルリンの製造方法と同様に、培養工程及び精製工程を経て製造されているということと、結晶として精製されているということと、生産菌は精密ろ過により除去されるとしています。

主要栄養素については、従来品と栄養学的な違いはないということです。

3 製造に由来する成分の安全性に関する事項になります。含有量等については、自主規格を設定しておりまして、各項目に適合しているということで、含量の規格が98.5%以上とされているとしています。

(2)のアミノ酸分析等になりますけれども、N- δ -アセチル-L-オルニチンが従来品の含有量を超えて検出されたということと、N- δ -アセチル-L-オルニチンはヒトの血中にも生体内存在する物質であり、豆類やきのこ類等の食品中に含まれており、十分な食経験があると考えられる。また、申請品からの摂取量よりも多くの量を通常の食品から摂取していると推定されているとしています。

以上の結果から、従来品と比較して既存の非有効成分が安全上問題と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と記載しています。

43ページをお願いします。

4で共存する微生物、5で諸外国における認可等ですが、2012年より米国で製造され、米国内で食品用に販売されているとしています。

第4では、第2章及び第3章 I 第2～第3までの事項により、安全性の知見が得られている

としております。

「Ⅲ. 食品健康影響評価」については、よろしければ、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断したとしてよろしいでしょうか。

以上です。

○澤田座長 どうもありがとうございました。

それでは、ただいまの評価書（案）について、意見、コメントをいただきたいと思います。なお、細かい字句の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思います。

少し長いので、前半と後半がありますので、まず第5の組換え体の209行の前までで御意見がありましたら、お願いしたいと思います。

51行で「欠失させた遺伝子の記載はどうか。」ということですか。

○児玉専門委員 もし欠失だけだったら、セルフになって、そもそも遺伝子組換えでもなくなってしまうので、私はここは挿入遺伝子で発現しているものの記述だけでよろしいのではないかという印象を持っているのですが、どうでしょうか。

○澤田座長 従来、欠失させたものも一応は書いています。

○児玉専門委員 記述はどこかにあってもいいとは思いますが。例えば、どこが欠失というのは載ってはいますから。ここは挿入遺伝子の性質及び導入方法なので、3番のところで欠失は書かなくていいのではないかという印象はあります。

○澤田座長 欠失させるという表現はいいのですね。

○児玉専門委員 いいのかどうかはわかりませんが、本当に入れて発現しているものだけですので、●●●遺伝子を導入した。あと、●●●を改変した。

○澤田座長 ほかに書く場所がなければ、一応、性質として欠失した遺伝子を挙げておくことは必要ではないかと思います。

○小関専門委員 これは評価書として、挿入遺伝子というのが頭に全てついてしまっています。今、言われたことだと、本文の中から全部デリションタイプのもは消えてしまっています。組換えで挿入して壊していますよということで、たしか添加物のときもそれですと入れてきているので、これは書かないとなるとすると、全て書かなくなってしまう。この中で入るところがないです。挿入はもっと広い意味でとっていただかないと、多分何が何だかわからない評価書になってしまうかなという気がします。

○児玉専門委員 そういうことであれば。

○澤田座長 ほかはいかがでしょうか。

64行目の星印はどういう意図ですか。

○北村課長補佐 第1のところは、宿主と組換え体という微生物の比較を書く項目になっています。ところが4の細かい項目を見ますと、製造方法、貯蔵方法等になっているため、シトルリンの記載をしているところです。

○澤田座長 要は、大腸菌は従来利用されていないという意味ですね。

- 北村課長補佐 ここは微生物の製造方法を書くという理解でしょうか。
- 澤田座長 大腸菌は利用されていないと書くだけでもいいのかなという気がしました。
- 北村課長補佐 では、宿主については、食品には利用されていないという記載だけでよろしいですか。
- 澤田座長 その書きぶりは、また後で検討したいと思います。
- 北村課長補佐 (1)～(4)まで共通なのですが。
- 澤田座長 大腸菌は非該当ですけれども、*Corynebacterium*は従来品にあるわけですね。参考までにそちらを書くという方法はあるのかなと思います。
- 北村課長補佐 従来品をつくる菌株ですね。
- 澤田座長 この書きぶりは、また後で検討したいと思います。
- 36ページ一番下の非該当の(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)ですけれども、この書きぶりは項目を残しておくのか、該当しないと一言で済ませてしまうのか、どちらかやり方があると思います。
- それ以外のほかはいかがでしょうか。初めてのケースですので、よくご覧いただいて、修正箇所がありましたら、メールでいただきたいと思います。
- 児玉専門委員 場所を外れているのですけれども、33ページの要約の13～16行にかけてですが、挿入遺伝子の安全性、挿入遺伝子から産生されるタンパク質の毒性及びアレルギー誘発性等々を書いてありますが、実は確認していないですので、今回は要約のところには何かしら、今回はこういう事情でこういう評価をしたみたいな文言が必要なのではないかというような気がします。
- 澤田座長 そうしましたら、確認していないところは外して、なお高度に精製されたものであるので何々はしなかったという書きぶりになりますが。
- 児玉専門委員 タンパク質が含まれていない高度に精製されたものであるので、という感じのものは要るかなと思います。
- 澤田座長 ただ、タンパクがないのでアレルギー誘発性はないとは言えるということはあるかもしれない。
- 児玉専門委員 従来、例えば、ダイズの場合は油を我々は主に食べるわけですが、タンパク質を全部確認していますので、それを考えると今回も本来はいろいろ検討しなければいけないということになるのだと私は理解をしていました。
- 澤田座長 そうですね。低いけれども、アレルギーが若干含まれる場合もこれからはあり得るわけなので。
- 小関専門委員 私は申請書を読んだ感じでいくと、アミノ酸配列的には確認していますね。ORFに対してデータベースに当てているということをもって確認しているということで、確認されていないのは何かというと消化性のことです。だけれども、それはタンパク質があるかないか、そこまでやるかどうかというところは確認していない。あと、導入後の塩基配列の解析はしているはずです。していると私はこのデータから読むことができました。

○児玉専門委員 それはしています。私の理解の間違いかもしれないですが、ORFは4つ見つけたと書いてありますが、それは接合部位の4つで、入れた遺伝子本体はやっていないと私は理解をしました。多分そうですね。

○北村課長補佐 遺伝子挿入によって新たにできたORFということです。

○児玉専門委員 だから、遺伝子本体はアミノ酸置換が生じていて、植物のほうの知見から言うと、やらなければいけないのですけれども、遺伝子本体はやっていないのだと私は理解をしています。

○澤田座長 欠失させた際に新たなタンパクができる可能性と、アミノ酸置換で新しいエピトープができる可能性について、アレルゲン性に関しては、本来は両方を見たほうがいいわけですね。部分的には見ているので、この書きぶりもまた宿題でよろしいでしょうか。

それでは、後半の部分で御意見、コメントがございましたら、お願いしたいと思います。

1つだけ、このインドール試験の感度の説明がなかったのですけれども、これは前の資料のほうの問題に戻ってしまうのですが、確認をしておいていただきたいと思います。どのくらい感度がいいか御存じですか。

○中島専門委員 私も詳しくないので、よくわかりませんが、このくらいかと思えます。彼らはこれ以上のデータを持っていないかも。

○澤田座長 生きた菌がどのくらいいたら検出できるか。

○中島専門委員 事実上、1個でもいれば検出できると思えます。

○澤田座長 では、それは確認だけをしておいていただければと思えます。

○児玉専門委員 244行目の先ほど出たORFのところですが、理解が正しければ、そういう遺伝子本体のアレルゲンのほうはチェックしていないので、ここはタンパク質がないので、もう「ない」で終わってしまった方がすっきりしていいのではないかと私は感じています。

○山添委員 高度精製は食品にルールがないからね。あれば、やりやすい。

○澤田座長 要は、新たに生じたORF云々を削除ということですね。

○児玉専門委員 そうですね。タンパク質成分は含まれていない及びL-シトルリン製品中にアレルギー誘発性物質が含まれる可能性はないので、ないと考えると、そのほうがよろしいかと思えます。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。

それでは、269～270行の星印ですけれども、書く内容としては、これでいいのかなと思えますが、もうちょっと詳しく書く必要があるかどうかだけかなと思えます。

ほかはいかがでしょうか。

○手島専門委員 302行目ですけれども、従来食品のL-シトルリン含量98.5%以上とあるのですが、ここにも「自主規格により」という言葉を入れて、98.5%以上とされたほうがわかりやすいかと思いました。

○澤田座長 それはL-シトルリン含量の前ですね。

○手島専門委員 はい。

○澤田座長 ほかによろしいですか。

それでは、少し微修正が何点かありましたけれども、それと書きぶりの点でまだ直したほうがいい点とか御意見をいただきたいと思いますので、事務局のほうで修正した後で、またメール等で御意見をいただいて、最終的に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に入りたいと思います。

それでは、時間が余りありませんけれども、次に、AHD株を利用して生産されたL-ヒドロキシプロリン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 すみません、その前によろしいでしょうか。申請者のほうから、今のシトルリンにつきまして、食品の高度精製品について検討してほしいという要望があるのですが、そちらについてはいかがでしょうか。

○澤田座長 先生方、いかがでしょうか。

○中島専門委員 先ほど申しましたけれども、食品の扱いか添加物の扱いかというのは、製造とは全然別のところで決まっていますので、たとえ食品に分類されるものであっても高度精製品と従来の基準でみなせるものであれば、従来と同じように高度精製と扱うという枠組みにしたほうが先々もすっきりすると思います。

○澤田座長 ほかに御意見はいかがでしょうか。

○児玉専門委員 私も今の御意見に賛同いたします。条件をつけて、タンパク質が入っていないとか、きれいに比較できる従来品。次のヒドロキシプロリンは比較する相手がいないという、これまた変わったタイプのものですが、ちゃんと従来品と比較できる素地があるとか、幾つか条件がついた上で、食品でもそういう高度精製品に相当するような区分はつくっておいたほうが私もよろしいのかなと思います。

○手島専門委員 私も高度精製の食品についても何か考え方というか、まとめたものをつくっておくほうが後々に審査がしやすいのかなと思いました。

○澤田座長 食品添加物の高度精製の考え方をつくったときに、いずれ食品でもつくる必要があるという意見はその当時からありましたけれども、実際に申請が出てこなかったので、延び延びになっていたという事情がありますので、高度精製の考え方を出す方向でどうすればいいか、これから考えていけたらと思っています。

○飯専門委員 1ついいでしょうか。ちょっと違うところとしては、添加物の場合は公定書があって、それと照合するところがあったかと思いますが、今回の場合は自主規格を使っているということで、その規格そのものの評価はどうするのかなど。もし別枠でやるとすれば、そこが押さえられていれば、構わないかなという気がします。

○澤田座長 そこら辺を含めて、これから議論をしていきたいと思います。食品の場合は添加物と違いまして、規格はないので、全て自主規格になる可能性はあると思います。また事務局のほうで考え方を整理して出していただいて、その後に考えを詰めていきたいと

考えております。

それでは、AHDを利用して生産されたL-ヒドロキシプロリンについての審議に移りたいと思います。説明をお願いします。

○北村課長補佐 それでは、緑の紙のファイルをお願いいたします。

2ページがヒドロキシプロリンの概要になります。こちらは既存添加物に該当するものでございまして、表1のように食品添加物公定書の規格が決まっているものでございます。

3ページをお願いいたします。

既存添加物名簿によりますと、基原・製法・本質については、ゼラチン等加水分解をして、分離して得られたものであるということです。L-ヒドロキシプロリンは生体内で翻訳後修飾によってタンパク質内のプロリン酸基がヒドロキシル化されて生じるアミノ酸でありまして、動物のコラーゲン中に10%程度含まれているため、日常的に摂食されているとされております。

用途になりますけれども、既存添加物としては、調味料、強化剤として利用されております。今回の新製品については、米国ではダイエタリーサプリメントに使用されているということです。

ちなみに御紹介をいたしますと、既存添加物につきましては、厚生労働省のほうの調査研究の結果で、必要なものについては安全性の検討をするということになっているところでございます。このL-ヒドロキシプロリンにつきましては、当時、安全性の検討におきまして、その基原・製法・本質を踏まえて、その安全性の検討を早急に行う必要はないものという分類にされているというところですよ。

4ページをお願いいたします。

AHD株作製の目的になりますが、L-ヒドロキシプロリンの製造を行うことを目的に、L-プロリン4位 *trans*水酸化酵素遺伝子を導入した生産菌AHD株を構築したということです。本申請品のL-ヒドロキシプロリンは、生産菌を培養した液に添加されたL-プロリンが、この菌株に導入をしたL-プロリン4位 *trans*水酸化酵素によって水酸化を受けることによって作られるものでございます。

AHDの作製方法になりますけれども、*E. coli* K-12株由来のW1485株から突然変異により得られた株に対しまして、●●●の形質を導入したものが宿主AHJ202株になります。

この菌株に *Dactylosporangium* sp.RH1株由来の変異型のL-プロリン4位 *trans*水酸化酵素遺伝子を搭載しました発現プラスミドpWFH1を導入して、生産菌が作製されております。

(2) 宿主菌：*E. coli* AHJ0202株について記載がされておりました、W1485株、K-12株の派生株についてはアミノ酸等の工業的な生産に用いられた菌株ということが記載されてございます。

(3) 発現プラスミドになりますが、大腸菌由来のpBR322株を用いて、L-プロリン4位 *trans*水酸化酵素遺伝子、●●●に関する●●●を導入した発現プラスミドが構築されて

おります。

(4) 挿入遺伝子及びプロモーターについては、変異型のL-プロリン4位 *trans*水酸化酵素遺伝子につきましては、野生株の●●●の●●●が置換をされてございます。RH1株、野生株のほうは東京都の土壌より分離、同定されたものというところでございます。

5ページをお願いいたします。

(5) 抗生物質耐性マーカー遺伝子になります。マーカー遺伝子といたしましては、アンピシリン耐性遺伝子が使用されてございます。このアンピシリン耐性遺伝子産物のβ-ラクタマーゼについて、これまで有害性は知られていないということです。宿主のトランスポゾンTn5には、カナマイシンとブレオマイシンとストレプトマイシンの3つの抗生物質耐性遺伝子が含まれております。

(6) の生産菌株につきましては、宿主にプラスミドpWFH1株を導入して得られたものになります。

5ページの下から6ページが、製造方法になります。図1にフローが示されてございまして、生産菌を培養しまして、培養後の培養液中にL-プロリンを添加して、生産菌株の酵素によって変換されたL-ヒドロキシプロリンが発酵液中に蓄積をするということになります。フローの真ん中辺の●●●の工程で、菌体が最終的に除去されます。抗生物質については、製造工程で使用されていないという記載がございまして。

7ページをお願いいたします。

こちらが申請品目と現行製品の同等性の確認になります。3-1の表2に添加物の公定書の規格の分析値がございまして、含量につきましては、規格値が98~102%となっております。申請品目はその範囲に入っております。

タンパク質の残存につきましては、ドットプロット法で確認がされております。

8ページの表3に結果がございまして、検出限界未満ということがございまして。

3-3に不純物のプロファイルがございまして、アミノ酸分析と2種類のモードのHPLC分析が行われております。

(1) アミノ酸不純物プロファイルになりまして、不純物としてのアミノ酸は検出されておられません。

(2) HPLC法-1による不純物のプロファイルになりまして、9ページの表5に結果がございまして、不純物は検出限界未満でございまして。

(3) HPLC法-2による不純物プロファイルになりまして、10ページの表6に結果がございまして、検出限界未満ということがございまして。

3-4. まとめがございまして、こちらの品目につきましては、日本国内で流通実績のある添加物のL-ヒドロキシプロリンを比較対照品として用意することができなかつたということですが、全ての不純物については検出限界未満であったということで、高度精製の条件が満たされるのではないかとということが記載されてございまして。

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、項目ごとに先生方から御意見をいただきたいと思います。

まず、申請書の6ページまでで御意見、コメントはいかがでしょうか。

それでは、続きまして、最後の10ページまでで御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○児玉専門委員 確認ですけれども、結局、日本国内では今、流通していないのですか。

○北村課長補佐 申請者は流通しているものを用意することができなかったということです。

○澤田座長 ヒドロキシプロリンは化粧品の方では使われているようですけれども、食品としては、私はよく存じ上げません。

3ページに書いてありますように、日本でもサプリメントで売りたいということですが、食品添加物でいいのかという懸念はあります。まず食品添加物での申請ということですので、日本でも同様の用途で用いられることが期待されるという文章は余り適切ではないのかなという気はします。

ほかはよろしいですか。5ページの耐性マーカーで、カナマイシン、ブレオマイシン、ストレプトマイシンの耐性遺伝子が安全性上の問題は報告されていないというのは、ちょっと語弊があるかなと思います。懸念があるから、いろいろ調べましょうと基準で書いてあるので、これは書きぶりを直していただいたほうがいいのかと思います。

○山添委員 私はわからないから教えてほしいのですけれども、L-ヒドロキシプロリンは生体に吸収されるのですか。

○澤田座長 これは吸収されるのでないでしょうか。

○山添委員 生体はプロリンの形になって、ペプチドとくっついてから後で切るわけですね。水酸化されるわけですね。

○澤田座長 腸管吸収という意味で。

○山添委員 体内に入ってしまうのかどうか。

○澤田座長 多分入るので米国で売られているのだと思いますが、アミノ酸のトランスポーターで吸収されるのではないかと思います。

○山添委員 吸収されないのなら安全性は余り心配しないでもいいのかなと思いました。

○和久井専門委員 吸収されるのではないですか。

○澤田座長 全く吸収されなかったら、多分サプリメントにはならないと思いますが、それは確認してください。

ほかにはよろしいですか。

では、評価書（案）の御説明をお願いします。

○北村課長補佐 それでは、資料の45ページの右肩に④と書いてございますのが、L-ヒドロキシプロリンの評価書（案）になります。

48ページをお願いいたします。

「Ⅰ. 評価対象添加物の概要」です。名称はAHD株を利用して生産されたL-ヒドロキシプロリン。用途は調味料、強化剤としております。申請者、開発者は記載のとおりです。

28行目からになります。本添加物は、L-ヒドロキシプロリンを生産するため、*E. coli* K12株由来の、すみません、ここは「●●●」と書いておりますが、●●●に●●●をしておりますので、AHJ202株と修正させていただきたいと思っております。宿主としてL-プロリン4位 *trans*水酸化酵素遺伝子を導入したAHD株を利用し、L-プロリンを水酸化することで生産されたL-ヒドロキシプロリンである。L-ヒドロキシプロリンは食品添加物としての使用が認められており、成分規格が食品添加物公定書に記載されている。

AHD株の宿主である *E. coli* AHJ202株は、有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は知られていない。

なお、AHD株は抗生物質耐性マーカー遺伝子として、アンピシリン耐性遺伝子及びカナマイシン耐性遺伝子を有するが、すみません、こちらも2つほど抜けておりまして、ブレオマイシン耐性遺伝子とストレプトマイシン耐性遺伝子が入っておりますので修正いたします。これらの有害性は知られていない。

今の食品健康影響評価になります。本添加物は製造工程において使用微生物及び副生成物が除去され、晶析により結晶として高度に精製されており、食品添加物公定書の含量規格を満たしている。

2で、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 (1 µg/g) 未満である。

(2) 食品添加物公定書の成分規格を満たしている。

(3) アミノ酸分析及びHPLC法による分析の結果、不純物は検出されなかった。

以上、(1)～(3)の結果から、非有効成分の含有量が安全上問題となる程度まで増加しておらず、かつ有害性が示唆される新しい有効成分を含有していないと考えられる。

以上、(1)及び(2)の結果から、本添加物については「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」の附則「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。

以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、評価書(案)について御意見、コメントを承りたいと思っております。細かい字句の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思います。

48ページの1枚だけですので、一括で御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○中島専門委員 36行目、カナマイシン耐性遺伝子で、ブレオマイシンとストレプトマイシンを加えると言っておりましたが、これは実はTn5はカナマイシンと同じような構造を

持っているアミノグリコシド系のブレオマイシンとかストレプトマイシンに共通して効きますので、「カナマイシン耐性遺伝子を有する」だけで十分かと思います。1個で3つ入っているわけではなくて、1粒で3度おいしいので、これでいいかと思います。

○北村課長補佐 わかりました。ありがとうございます。

○澤田座長 有害性の書きぶりは後で考えさせていただくということで、このトランスポゾンの中に遺伝子は2つですか。

○中島専門委員 トランスポゾンTn5の場合は、事実上乘っているのはカナマイシン耐性遺伝子ですから、これが少々広い基質特異性を持っているというだけの話です。

○澤田座長 そうすると本文も直す必要が。

○中島専門委員 私もさっき言えばよかったですけれども、同じ事情ですから。

○澤田座長 ほかにいかがでしょうか。よろしいですか。

それでは、微修正をいただきまして、事務局で修正して関連の先生に見ていただきまして、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に入りたいと思います。

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。私のほうから御報告があります。

○東條事務局次長 1点よろしいですか。時間が押し迫った中で申しわけありません。

戻って恐縮ですけれども、さっきのシトルリンの御議論の中で、安全性の評価の基準がぴったりしたのがない中で、評価書もしっかりぴたとなかなか書きにくい部分もあって、修正もまだしなければいけないような状況だと思います。やり方として、今、先生が言われたように、これで一応議論を終えて、委員会のほうに上げて、パブコメにかけてというやり方もありますが、その辺は時間的に業者とどういふふうに接触するかもあるのですけれども、例えば、安全性評価の基準について、これをモデルケースにしながら少し御議論をいただいて、その基準ができた後に一緒にこれを上げていくという手もあるかなと議論をお伺いして思っていたのですが、事務局の中でも十分議論をしていないので申しわけないのですが、そこら辺を御議論いただけたらと思います。

○澤田座長 考え方を考える場合には、公開で議論する必要がありますので、かなり時間が必要ではないかと思います。申請者のほうで待てるかどうか。

一方、考え方による簡略審査によるメリットもありますので、そこも考えていただければと思います。

○山本評価第二課長 担当で整理して、要は今の微生物の基準は御案内のように、微生物そのものを食べて利用するという形で組まれていて、微生物を使ってできたものである添加物の基準のほうは、製造されたものベースでできていて、しかし、今回のように微生物を使って食品をつくるケースもあるので、そこを交通整理させていただいて、また相談させていただきたいと思います。

○澤田座長 よろしいでしょうか。

それでは、議題（2）の「その他」で、5月の専門調査会で審議しました、除草剤アリ

ルオキシアルカノエート系グリホサート及びグリホシネート耐性ダイズ44406系統及び6月の専門調査会で審議しました、除草剤ジカンバ及びグリホシネート耐性ワタMON88701系統につきましては、申請書等の修正の指摘を出したところであります。

この品目の取り扱いにつきましては、御担当の先生に御協力をいただきまして、座長預かりとなっていたところであります。指摘に基づきまして修正されたことが確認されたので、評価書（案）を食品安全委員会に御報告いたしました。なお、現在はパブリックコメントの募集中であると聞いております。

私からの報告は以上であります。

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 一点御報告がございます。昨年の12月の調査会で御審議いただきました、セルフ・ナチュラルと植物の掛け合わせに関します厚生労働省の告示の改正ですが、6月27日付で改正されたということで先生方にメールでお知らせをしたところがございます。

それに伴いまして、こちらのファイルにとじてございます「組換え植物の掛け合わせの品種の取り扱いについて」のタグ7になりますが、こちらに該当する掛け合わせ品種につきましては、安全性審査が要らなくなるということになりましたので7月8日の食品安全委員会におきまして、廃止ということにさせていただきましたので、御報告させていただきます。

以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

本日の議題につきましては、これで終了いたしました。

以上をもちまして、第129回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。

今日も熱心な御討議をありがとうございました。