

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第134回会合議事録

1. 日時 平成27年1月22日（木） 14:00～16:10

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

- ・アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）
- ・NZYM-SO株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼ

(2) その他

### 4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、宇理須専門委員、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、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 食品健康影響評価に関する資料

①アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）  
（食品）

②アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）  
（飼料）

③NZYM-SO株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼ

参考資料 食品健康影響評価に係る指摘事項

・アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）

## 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134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、継続審議品目であるアクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモSPS-00E12-8及び新規の品目でありますNZYM-SO株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼ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えます。事務局からお願いします。

○北村課長補佐 本日は、所用によりまして岡田専門委員が欠席となっております。

また、所用によりまして評価第二課長の山本も欠席させていただいております。

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「食品健康影響評価に関する資料」。

資料2「遺伝子組換え食品等専門調査会への申請企業関係者の参加について（案）」。

参考資料として、安全性評価に係る資料となっております。

そのほか机上配付で「遺伝子組換え食品等評価書 *Bacillus subtilis* MDT121株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼ」をお配りしております。

また、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、委員の皆様の方の机の上に置かせていただいております。本ファイルについては調査会終了後、回収させていただき、また次回配付いたします。

不足等ございましたら事務局までお願いいたします。

○澤田座長 それでは、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（1）に規定する「調査審議等に参加しないこととなる事由」に該当する専門委員はいらっしゃいません。

以上でございます。

○澤田座長 御提出いただ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。

まずアクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）についての審議を行いたいと思えます。

この品目は、昨年3月の専門調査会におきまして審議を行いまして、指摘事項が出されていたものでございます。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いたします。

○勝田係員 それでは、申請者から提出されている回答書について御説明いたします。

お手元にアクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）の白色の紙ファイルをよろしくをお願いいたします。指摘事項は全部で10個出されています。

まず回答書の1ページ目をお願いいたします。

指摘事項1は、本系統におけるジーンサイレンシング及び挿入DNAについて、次の（1）～（4）の説明を追加するといった指摘となっております。

（1）は、ジーンサイレンシングの機構の全体像がわかるように概要を記載するといった指摘です。回答といたしまして、第1の1宿主及び挿入DNAに関する事項及び第5の2挿入DNAまたは遺伝子及びその遺伝子産物の性質に関する事項に本回答書1～3ページの記載の説明を追加するとともに、前回は申請資料中で用いていた4ページに記載の図1をよりわかりやすく表記を修正したとのことです。

具体的な記載については、1から4ページ目を御参照いただければと思います。

続いて（2）は5ページ目になりますが、本系統に導入されている遺伝子の機能を正確に記載するとともに、プロモーターについてはその機能の情報を追記することといった指摘です。回答といたしまして、それぞれが元来有する機能とともに、本系統中における各々の遺伝子が持つ役割についても追記して、説明文を修正しております。

具体的な記載については、5から7ページ目を御参照ください。

次に（3）の回答は8ページに記載されております。指摘は、本形質の導入遺伝子カセットに用いられている2つのスパーサー配列について説明を追記することといった内容です。回答として、申請企業はジャガイモのゲノムライブラリーを有しており、このうちスパーサー1は非構造領域の一部、スパーサー2はポリユビキチン遺伝子イントロン領域の一部であり、この旨を当該箇所の記載に追記したとのことです。

最後の（4）は、本系統において用いた遺伝子の詳細とともに、ターミネーターフリーのジーンサイレンシングの概要を説明することといった内容です。回答として、用いている遺伝子断片について詳細を追記するとともに、今回用いているカセットの内容についてより詳細な説明を加えております。具体的な記載については、こちらも10から12ページ目を御参照いただければと思います。

次に、回答書の13ページをお願いいたします。指摘事項2は、宿主であるRusset Burbankが不稔であるとする根拠について文献を引用することといった御指摘です。回答といたしまして、アメリカジャガイモ協会のサイトにおいて、この旨が記載されている箇所を本ページに記載しております。

続いて14ページをお願いいたします。指摘事項3は、宿主のアレルギー誘発性に関する事項において、パタチンに関する記載を修正することといった内容です。回答として、最

終段落の内容は、当該項目に関係する内容ではないとの判断から、当該記載を削除したとのことです。

15ページ、指摘事項4は、サザンブロット分析において用いたプローブが挿入遺伝子領域及び外骨格領域の全てを網羅していないため、プローブを再設計して分析を行い、再度考察をすることといった内容です。

回答といたしまして、挿入遺伝子領域については前回提出の申請資料中でカバーされていなかったLB、RB及びスペーサー領域について、計4つのプローブを設計し、再度サザンブロット分析を行っております。なお、追加された4つのプローブでも引き続き全ての領域についてはカバーしていませんが、この理由については本ページの最後に記載されております。

要点を御説明いたしますと、今回は内在性の遺伝子を利用しているため、制限酵素サイトをまたいだプローブを利用するとバンドパターンが複雑になり過ぎるために実施しなかった、とのことです。なお、追加プローブにより得られた結果をもって導入遺伝子は完全長で1コピー挿入されていると19ページで考察しております。

当該箇所の申請者の回答についてですが、17ページの上から4行目の下線が引いてある文章について、この場で幾つか修正させていただきます。

まず括弧内の記載として、EcoRI処理とありますが、正しくはEcoRVとなります。また、確認されたバンドは2.2及び1.9とありますが、正しくは2.3及び2.2の間違いです。そして図20は41ページと記載がありますが、正しくは44ページとなります。

このほか、ほかの回答箇所でもミスが散見されますので、調査会後に改めて修正させたいと思います。申し訳ございません。

続きまして、外骨格遺伝子については20ページに記載があります。こちらについては、新たにプローブを2つ追加し、再度分析を行っております。なお、文章中に記載はありませんが、こちらについても追加したプローブを合わせても外骨格領域は全てカバーされておられません。具体的には4ベースと2ベースのギャップがあります。しかし、追加したプローブにより得られた結果をもって、外骨格領域が挿入された可能性は低いと申請者は考察をしております。

23ページ、指摘事項5は、目的外ORFの有無に関する項目について、検出されたアボカドのclass1 endochitinaseに関する情報を正確かつ詳細に記載することといった内容です。回答として、引用文献を適切なものに差しかえて記載を修正するとともに、class1 endochitinaseのエピトープについて検索を行っております。

申請者によると、ホモロジーの見つかった8アミノ酸残基の領域はシグナルペプチド領域に含まれているため、本領域がエピトープとなる可能性は低いと考察しております。

25ページ、指摘事項6は、本システムの形質転換法について選抜方法に係る情報を追加し、形質転換体がキメラである可能性を否定する根拠を示すことといった内容です。回答といたしまして文献を追加するとともに、①形質転換効率、②カテコール試験、③定量PCRの

3つの試験結果を引用し、当該形質転換体がキメラである可能性を否定しております。

なお、根拠等は25から28ページに記載がありますが、要旨本体への追記がされていないことから、申請者に対して別途追記するよう指示をしたいと思います。

次に29ページをお願いいたします。指摘事項7は、遺伝子の挿入による宿主の染色体の欠失について、安全性に関する影響を考察するといった内容です。回答といたしまして、MSUゲノムデータベースを用いて挿入領域について調べたところ、欠失領域には機能のある遺伝子が同定されていなかったこと、また、当該形質転換体は圃場試験において健全に生育していること等から、ジャガイモの生育に悪影響が出るものではないと考察しております。

32ページ、指摘事項8は、本系統において生成が予想される全てのsiRNAについて意図せざるジーンサイレンシングが生じていないか、ジャガイモの塩基配列と相同性検索を行うといった内容です。回答として、off target geneが幾つか確認され、うち2つはRNAiに用いる効果的な長さとするものがありましたとのこと。しかし、その2つのうち1つは機能不明の仮想遺伝子であること、もう一つは、葉や根の形成に関するtetraspanin遺伝子のうち10番目のものであり、詳細には機能は解明されていないものの、当該個体の生育が正常であり、構成成分の比較においても特異な結果が出ていないことから、生育に及ぼす影響は低いと考察しております。

34ページ、指摘事項9は相同性検索について、検索の過程等を含めたデータを提出することといった内容です。回答として、その内容を本資料とともに同封したCDの中にコピーしていると回答しております。

最後に35ページ目をお願いいたします。指摘事項10は、*Ppo5*遺伝子の供与体である*Solanum verrucosum*について分類学に関する記載を追記するとともに、本申請資料中の本供与体に係る記載を矛盾のないように統一することといった内容です。

回答といたしまして、供与体についてOECD及びジャガイモ辞典を引用し記載を修正するとともに、申請書類中の記載について、このような記載とした理由を述べた上で修正しない旨を回答しております。

そのほかの修正事項については、回答書の37ページ以降を御参照いただければと思います。

長くなりましたが、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関しまして、項目ごとに御意見をいただきたいと思っております。

まず指摘事項1の(1)で、ジーンサイレンシングの機構について全体像がわかるように、また、その概要を記載することということで、これは児玉先生からのコメントでしょうか。

○児玉専門委員 この修正内容で大分わかりやすくなったかと思っておりますので、私はこれで

よろしいかと思えます。

○澤田座長 ほかの先生方よろしいでしょうか。

それでは、(2)の要旨2ページにある各遺伝子の機能を正確に記載して、プロモーターについては特異性を含めた機能について記載してほしいということで、これは小関先生と飯先生ですが。

○小関専門委員 詳しく書かれているので、これでよろしいかと私は思います。

○飯専門委員 私のほうも特に問題ありません。

○澤田座長 それでは、(3)はスパーサーの供与体、由来ですか。その配列に関する情報を追記してほしいというコメントで、児玉先生いかがでしょうか。

○児玉専門委員 ゲノムライブラリーから適切なものを選んだということですので、これでよろしいかと思えます。

○澤田座長 それでは、(4)でこの系統の作成において用いました遺伝子断片の情報の詳細を記載するとともに、これらが意図するジーンサイレンシングの作用を説明することということで、これは児玉先生と飯先生、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 十分詳しく、場所もきれいに書かれておりますので、これでよろしいかと思えます。

○飯専門委員 私も問題ないと思えます。

○澤田座長 それでは、指摘事項2に移りたいと思えます。これはジャガイモの **Russet Burbank** と言うのでしょうか。この品種が不稔である根拠を示すことということで、これは飯先生からのコメントです。

○飯専門委員 以前、多分同じホームページからとは思うのですが、見はしたのですが、学術的な意味でしっかりとデータをとっているものがあれば、文献なりを出してもらえると性質が明確になるかなと思ったのですが、これしかないということなのかもしれません。

1つ引っかけたのは一番最後の指摘事項なのですが、35ページになるのですが、これは小関先生の指摘事項なのですが、真ん中辺、修正箇所の四角の1つ前の文章なのですが、「一般に不稔植物は交配できないとは言えませんので、特に矛盾はないものと考えております」と言われると、それではこの植物は交配できないのかできるのかということが、そこまで答えとしては欲しいという気はしました。

○澤田座長 これはどうしたらよろしいでしょうか。

○飯専門委員 多分、一般的にはジャガイモは普通は種をつけないと思うので、そういう意味では不稔なのですが、この植物は交雑には一切使われていませんということがわかれば、今後も使わないだろうという意味で安心できるというのが1つありますし、交雑できるのであれば逆にキメラの問題とかが全部そこで解消できてしまうので、交雑してもらえるとありがたいなということがあったりと、いろいろな意味で裏での含みもあって事実がどうなのかということを確認してほしい、そういうこともあってここでの指摘に

なったものですから、あくまでこのジャガイモも性質がどんなものかということをお教えしてほしい。

○澤田座長 この説明としては引っかかるところがある。

○飯専門委員 不稔であるということとは別に、指摘の意図としては交雑できないものかどうかという気持ちで質問しているものですから、その辺をはっきりさせてほしいなということですね。

○澤田座長 小関先生いかがでしょうか。

○小関専門委員 まさしく飯先生のおっしゃるとおりで、私も要するに母本になれるかということですね。そこが利用できないと言い切ってくればいいのですけれども、恐らく過去においても親として使われたことがないし、それは不可能であるということは十分証拠があると言ってくれるといいですね。

○澤田座長 これは要旨には反映されないですか。

○飯専門委員 要旨を読んだだけだと、普通は交配できないのかなと読むと思うので、そのとおりであればそのままでもいいかなと思うのですけれども、指摘事項の回答を見ると、必ずしもそういう趣旨で書いているわけではないとも思えるので、はっきりさせてほしい。

○澤田座長 それは一応、念を押して伝えるだけでよろしいですか。

○小関専門委員 1点いいですか。だから書きぶりとして不稔であるという記載よりも、**Russet Burbank**は栄養繁殖でのみ個体数が増殖されて、いわゆる繁殖、生殖による後代は作られていないというようなことを言ってもらえれば、栄養生殖だけですよということがちゃんと書かれれば、要旨の中にはそれではっきりするのではないですかね。

○飯専門委員 そうですね。それで誤解は生じないと思います。

○澤田座長 要旨の20ページは直っていないということなので、直さなければいけないということですね。

○北村課長補佐 回答書についています要旨の13ページの一番下のパラグラフの2行目のところに本品種は不稔であると書かれていまして、ここは修正がされていないので、今の御指摘の趣旨を踏まえて修正するようにすればよろしいですか。

○澤田座長 それでよろしいと思います。

それでは、指摘事項3になりまして、アレルギー誘発性に関する事項でパタチンに関する記載を修正することということで、これは宇理須先生と手島先生からのコメントです。

○宇理須専門委員 ここに一般的な話だけではなくて、この産物の考察までしてあったので、そこは余分だという指摘なのです。消されているのでこれでいいと思います。

○手島専門委員 私もここは宿主のアレルギー誘発性に関する事項なので、この訂正でよろしいかと思えます。

○澤田座長 それでは、指摘事項4でサザンロットで用いたプローブが挿入遺伝子領域及び外骨格領域の全てを網羅していないので、プローブを増やして分析を再度行うということなので、これは児玉先生と飯先生からの御指摘ですけれども。

○児玉専門委員 新たに追加されたプローブのパターンは、これでよろしいかなと思いますが、全部は網羅しきれていないという回答、さて困ったなど。ギャップ部分は制限酵素に相当する部分だということで、言わんとしていることは理解できるのですが、これを認めていいのかどうかというところは皆様の議論によるかなと思います。

○澤田座長 飯先生はいかがでしょう。

○飯専門委員 私も全く同感で、数ベースはいいのですが、ちょっと長いものの中にはあるのです。だからその辺、彼らの主張のとおり、そういう部分だけがちょろんと入るような事例は見つかっていないというのは事実だと思いますけれども、今まで一応全部やっておきましょうねというところでしたから、その理屈を許すかどうかは議論が必要かなと思ったところです。

○澤田座長 16ページの図2の縦の長い線、ここの部分がギャップなわけですね。それで100~200 bpぐらい空いてしまっているということで、今、7ベースぐらいだったらまだいいかなと私も思うのですが、今後ともどのように対処すべきかという点でも御意見をいただきたいと思います。

○児玉専門委員 これは非常に皆さんも意見を言うのは難しいのではないかと思いますけれども、今までの議論からすると、リンカーとかそういう今までのどこまでがやるべきかやらないべきかというときに、サザンで検出できるかできないかというので線引きを今までしてきたような気もするのですが、そうすると100 bp以上というのはサザンで引っかかるので、今までの基準からいくと難しいのかなということは感じますが、技術的な点から言うと、前後きちんとプローブで挟み込んでパターンをとっていることを考えると、その間だけ飛ぶというのは実質上はほとんど可能性としてはかなり低いのかなとも理解できるのですが、そこら辺どうですかね。

○飯専門委員 EcoRV以外は切っていなかったですか。

○松井技術参与 新たに添付してきたものはEcoRVですが、以前提出されたものではEcoRIとScaIなどでやられています。

○北村課長補佐 添付されています要旨の43ページが一番わかりやすいと思うのですが、表8というものがありまして、EcoRV、HindIII、EcoRI、ScaIで切って見ております。

○澤田座長 予備的にここを挟むプローブを使ったら、何か技術的に難しかったということではなくて、理論的に最初から除いたということなのですか。

○北村課長補佐 確認できていません。

○澤田座長 EcoRIだけで断片の長さを見て、このプローブを使ってその間が見られない可能性が非常に低いと言えればまだいいのかなと思うのですが、それはいかがでしょう。

○小関専門委員 よろしいでしょうか。結局、示してほしいものは何かというと、断片がほかの領域に入っていないかだけですね。彼らが考えたのはEcoRVで切ったときに、ちょ

うどそのスペース、空けているところはそこにサイトがあるからバンドがわっと出てきてしまうから、わからないんだという言い方をしているのですけれども、それはいわゆるマップをとってくださいという意味だったらおっしゃるとおりなのですが、こちらから問いかけていることは断片が入っていないこと、ほかのところに入っていないことを確認してくださいということであれば、例えばNdeIをここで、回答書の18、19ページの図のところを使って、これは中にサイトがないということですから大きいほうに出てきているわけですが、これで要するにこのスペースのところの領域をDNAをプローブとしてハイブリダイゼーションして出てこない。例えばこれでいくと配列を全部確認していないのでわからないのですけれども、BamHIとかここにないですね、見た感じだと。だから制限酵素を幾つか使って中で切らない、EcoRVみたいないっぱいサイトがあるものを使わないで、それ幾つかの制限酵素でばらばらと切って、ここの中のところでやったときに、例えば910～1,130の領域と5,140～5,360の領域のところをプローブにしてやったケースと、AGP2、AGP3のプローブで調べたものとのプロファイルが同じであれば、ここの中の部分が飛んで別のところに入っていることは否定される。これでいいのではないか。求めているところはそういうことでしたよね。多分。マップをとってくださいということではなくて、断片がほかにいないことを示してくださいということだったので、ですから少し難しいことをやろうと考え過ぎてしまっているのではないか。そうするとそんなに、確かにそういうものでこの中にサイトがあれば、またぼろぼろのサザンになってわかりにくくなるかもしれないのですけれども、幾つか制限酵素をチョイスすれば、チョイスしたシートでやれば、そこは確認できると思うのです。そこまでやってもらうのかなという気はしないでもないのですけれども、ロジカルな今までの我々のスタンスでいくと、求めているところはそこであるということではないのですか。

○澤田座長 いかがですか。

○飯専門委員 恐らくネガティブデータになるから、何となく言いにくいけれども、ただ、技術的にそれほど難しいことを要求するわけではなく、100とか200の範囲がどこかほかに見えないということだけを確認してくださいという意味では合成プローブを使うとか、その部分の短いプローブを使えばそんな複雑なバンドになるとも思えないので、ここで使われたハイブリのフィルターが残っていればハイブリすればすぐできることです。彼らには技術力はすごくあると思うのです。全体のデータを見て、彼らにとって難しいことではない。そういう意味ではすっきりするのは結果はネガティブだけれども、やってくださいというのが一番です。今までの流れから言えばすっきりすると言えばすっきりする。でも答えが大体読めてしまっているから何となくというところは残るのですが、どうなのでしょう。

○小関専門委員 要するに結局、結果がネガティブなものがレギュラトリーサイエンスとしては大事な話なので、レギュラトリーサイエンスとして安全性評価、レギュラトリーサイエンスのスタンスに立った上での安全性評価の上でいくと、入っていませんでした、あ

りませんでしたということは言っていたきたいというのは、評価の上でのこれまでのスタンスではなかったのでしょうか。

○澤田座長 それでは、ギャップを埋めていただくことにしたいと思いますけれども、この8つのギャップには7bpと13bpと微妙なところがありますけれども。

○飯専門委員 ゲノムサイズから見て、ユニーク配列になるぐらいの長さ以下はしようがないのではないかという気はしているのです。

○澤田座長 指摘としては、少なくとも100以上のところは見てくださいということでもよろしいですか。

○飯専門委員 とうか、ユニーク配列でできるのはジャガイモの場合よくわかりませんが、やはりsiRNAのターゲットの話と同じぐらいになるのかなと。だからそれ以上長くなればゲノムの中に1カ所という、そんなにたくさんはマルチコピーの遺伝子でない限りはないと、確率的には言える。それ以上の長さになったら残さないでほしいというのが趣旨になるのかなという気がするのです。

○澤田座長 結論としては7と13は見なくていいですか。

○飯専門委員 私はその長さまでだったらいいかなと。ここから移って入ったかどうかよくわからないですね。

○澤田座長 よろしいですか。

○北村課長補佐 指摘の文言は御相談させていただきます。よろしくお願いたします。

○澤田座長 それでは、指摘事項5で目的外ORFの有無に関する事項において、対象となるアレルギーの文献を適切に引用することと、検索に用いたデータベースを示して、当該アレルギーのエピトープが含まれるかどうか確認してくださいということで、これは宇理須先生と手島先生の御指摘ですけれども、いかがでしょうか。

○宇理須専門委員 これもシグナルペプチド領域なので影響しないという論旨だと理解しましたが、それならいいのかなと思いましたが、手島先生どうですか。

○手島専門委員 私もそう思います。エピトープにはなっていない領域だということです。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項6で、これは形質転換法と選抜方法の情報を追加して、キメラである可能性を否定できる根拠を示してくださいということで、これは飯先生の御意見ですが、いかがですか。

○飯専門委員 指摘は否定してございますが、正直なところ、それはかなり困難かなという気持ちもあり、意図としては、否定してくればいろいろな懸念が一気に払拭するので、そういうデータを出していただけたらよいなことだったのです。

28ページの1行目、彼らの結論は本組換え体がキメラである可能性は低いということで、一方、自分たちでも別のイベントではキメラが得られているということで、キメラが生じる可能性はあるという方法を採用していることだけは確かだということは1つ確認できた。

次は、これがキメラであるかどうかということが問題になるのですけれども、私が気に

したのは、もしキメラであったときに、その比率によっては成分分析のデータなんかはキメラでないもとの野生型のもので希釈されてしまう数字になるのではないかということで、その辺は事実として押さえておいたほうがいいのではないかという気持ちだったのですが、小関先生から前回の審査のときに、キメラの相手方がもし形質転換体であった場合にどうするのかというような指摘があって、その懸念も払拭しようとするとかなりきっちりとした分析をしておいてもらわないといけないなど、その後ずっと感じているところです。

今回のデータを見て、数値のテーブルが提出されているのですが、これを見る限りは分析に使ったサンプルにおいては、トランスジーンの部分に関してはほぼ均一と見ていいかなという、最後に統計処理の数値が欲しいなどは思うのですけれども、そういうきれいなデータなのではないかという感じがあるのですが、一つわからなかった点があります。10個のジャガイモからサンプリングしているのですが、多分、書いていないと思うのですけれども、その10個のイモが初代から見たときに、どういう系譜のどこに位置づけられている10個なのかというのがよくわからないのです。例えば、ある世代の1つの植物についていた10個だったら余り意味がない分析の仕方になるのではないか。初代からイモをどんどん増やしていっていると思うので、それがかなり離れた、初めのところから見て植物体として離れたところ由来の10個のイモをサンプリングしてきて、全然変わっていませんよと言われるのと、1つの植物体についた10個のイモを見て変わっていませんよと言うのでは解釈の仕方が変わってきかねないので、そこらあたりが英語のほうを見てもよくわからなかったのです。つまり、分析に供したサンプルの由来が明確に記されていないと評価し切れないなということが1つあります。

結局のところ、キメラになる可能性があり得るのだとすれば、ここで調べている実験結果がその可能性を確率的にどのぐらいのレベルで否定することができるのかということが押さえられていないと、評価のしようがなくなってくるような気がするので、そうするとどうやってサンプリングしたかというのが非常に大事な点になってくるのではないか。そこも含めてこのデータがそれを示せるデータなのか、逆に懸念していることがどういうものかということを理解してもらった上で、どういう実験を組んで可能性がほとんどないと言い切る、リスクは考えなくていいぐらいに低いんだと言い切るかということになるのでしょうか。そうするしかないのかなと思っているところなのですけれども、その辺ちょっと小関先生からも御意見を伺いたいなと思ったところです。

○小関専門委員 キメラでは恐らくないと私も思うのです。このデータで。ただ、飯先生おっしゃるとおりで、このサンプリングはどこから行われたかということが非常に重要なポイントになると思うのです。

結局これは栄養繁殖でどっと増やしていきます。キメラだと栄養繁殖、種イモ生産をさせているうちに絶対に枝変わりでもとに戻ってしまうとか、そういうものが出てきてしまうはずなので、種イモ製造者の申請者にとっても非常にそこは気をつかうはずなのです。

だからどのぐらいの数をやったかという社内データを持っているはずだと思うのです。それで品質は同じであるというような。そうでないとわっと増やして種イモとして売ったときに、農家さんから変なものが出てきてしまったのだけれどもというクレームが飛んでくるはずで、その品質管理はきちんとしているので、そこを踏まえた形で話をしてもらえれば、数の上からもこれまで栄養繁殖させてきていた数の上からも、枝変わりが生じていないということから、キメラである可能性は何万分の1の確率であるということも言えるのではないかと思うのですけれども、その辺、多分データは持っているはずだと私はそういう意味では思っているのですが。

○飯専門委員　ここで指摘している指摘の仕方は、遺伝子導入された細胞とそうでない細胞の間のキメラという、私はそれしか最初想定していなかったものですから、そういう意味では多分どちらかにばらつきが、世代を経て数が多くなれば、その中にはばらついてくるものが見えてきて、それが全体として均一だったら大体問題ないだろう。

ただ、性質から結局わからない点というのは、別のローカスに入って同じような機能をしている遺伝子を持っている間とのキメラの場合はお手上げになりかねない。ただ、恐らくサザンの結果から見るとその可能性はほとんどないと思うのですけれども、その辺が大丈夫ですよというロジックが何らかの形で言ってもらえるのが一番ありがたいとは思っているところなのです。そちらの部分で前回コメントされたのは小関さんだったものですから、それを想定せずに私はキメラの指摘をしたものだったから。

○澤田座長　それはデータを出していただいたほうがいいですか。

○飯専門委員　このサンプルが、最初の当代があって順番に次代があって、そして何世代目かの1植物体なのか。ずっとたくさんに増えていきますよね。そういう中での、この辺とこの辺を使ってというG0から見たときに遠い関係にある10サンプルなのか、それがよくわからなくて。もしこの10サンプルが1つの植物体についてのイモだったら、その植物体は絶対に大丈夫だというデータだと思います。しかし、何世代か前の植物体の別のイモについてまで保証できるものにはなっていないのではないかと。

○澤田座長　それでは、使った世代みたいなものですか。ジャガイモの場合どういうふうに定義すればいいのかよくわからないのですけれども、由来をきちんと書いていただいて。

○飯専門委員　その上で、あとはちゃんと確率計算的なことをやって、キメラ性を否定するためのサンプル数に関しても大丈夫ですよという説明に。今話を理解してもらえれば、このサンプリングで大丈夫なのか、逆にこのサンプリングでは不十分だったのかということも、あちらもわかるのではないかと。こちらはどのようなサンプリングをしたかがわからないので、いいか悪いかの判断ができないところが残ってしまう。

○澤田座長　本来だったら違う世代で例えば10個ぐらいやってみんな同じだったと言ってもらえるのが本当は一番いいのかと。

○飯専門委員　認めてもらいたいのがG0からスタートしていますから、G0から分岐しているものを選んでもらわないと、G0が大丈夫ですよというロジックにはしにくくなってし

もうような気もしているのです。その分析がみんなこういう結果だったら多分問題ないかなという気はするのです。

○澤田座長 それは具体的にどういう説明が一番いいか、後で御相談して。

○飯専門委員 そうですね。どういう形でシンプロットに伝わっているかはわからないのですが、ここでの議論をかなり踏まえて実験目的が書いてあるので、それは議事録をふまえてなのか、最初から承知の上であったのかはよくわかりませんが、問題がどこに生じてくるかは十分理解していると思います。

○澤田座長 35ページあたりに世代の図が出ていますね。これと結びつけた情報をいただいたほうがいいということによろしいですか。

○飯専門委員 これは1つの流れではあるのですが、実際には1年目になるとすごくたくさん数のイモができて、2年目もそれぞれからまたたくさんイモができて、ですのでそういう中のどの辺に位置づけられるものを選んで分析をやっているのかというのがさかのぼったところに対して大丈夫、ここまでは同じような性質と考えていいですよと言えるかどうかになってくるかなと思うので、それを考慮した上での分析をしておいてもらえばいいのかなと思うのです。

○澤田座長 小関先生がおっしゃったように、大事なポイントなので、やっていると思いますので、情報は出てくるはずですよ。

キメラのことはそれでよろしいでしょうか。

○飯専門委員 一応それで大丈夫かなと思うのです。

○橋田専門委員 追加でよろしいですか。細かいところなのですが、先ほどこちらのデータが要旨のほうに反映されていないので、それを反映させるようにするとおっしゃっていたので、1点記述が気になったのですが。ここではキメラか否かというところを問題にしているのですが、Cq値の解析の最後のところで1コピーの挿入遺伝子がある場合に近い値を示してありますと書いてある箇所があり、多分、最終的な結果としては1コピーであることは間違いのないのではないかとデータ自体からは読めるのですが、そもそもターゲットが異なるものを比較しています。このときにCq値の違いが2だから、これは4倍だと言い切るのはいき過ぎではないかと考えます。また、もしそれが本当に2だったら、このソフトウェアの校正がうまくいっているのかもしれないかもしれませんが、実際のデータを見るとむしろ2よりも3に近い値で、英語のほうではほとんど2に近い値が出たと書いてあるものの、日本語では2~3の差があったと書きかえてあったりして、求めていないところなので、コピー数に関する言及というのは要らないのではないかなと思うのですが、どうなのでしょう。

そもそもターゲットが違って増幅効率がどれくらい違うかということもわからないものに対して、Cqが2~3違うということを根拠にしているかと思うのですが、データがそれをきっちりサポートしているわけでもないところが見られるので、むしろここは削除してしまってもキメラ云々に関しては全く問題ないのではないのでしょうか。近藤先生とか

どうですか。

○澤田座長 ほかの先生方いかがですか。

○近藤専門委員 私は別にあってもいいような気もしますが、ただ、このキメラかどうかというところにはいかないかもしいのですが、1コピーということを行うにはPCR効率が同じかどうかというのは触れていないのでわかりませんが、このデータから1コピーであると言われても別におかしくはないかなと思います。

○橋田専門委員 計算すると3ぐらいなのです。

○近藤専門委員 ほとんど3なのですけれどもね。

○橋田専門委員 2だったらいいかなと思ったのですけれども。

○近藤専門委員 理想は2で、PCR効率が完全に同じだという前提があれば。キメラかどうかという指摘事項という観点で言えば、削除してもいいかなと思います。

○澤田座長 これは要旨には反映されないですか。

○橋田専門委員 今のところ反映されていないので気にはしていなかったのですけれども、ただ、反映させるとおっしゃっていたので、どういう形で反映させるかというところが気になりました。このコピー数云々に関して入れないのだったら全く構わないかとは思いますが、入れるとしたらもう少しそれなりの根拠を示して頂いた方がよろしいかと思えます。

○澤田座長 そうですね。どこまで反映させるかという問題があります。キメラのことを要旨に反映させるという話がありますけれども、これはそのまま平行移動もするかどうか。

○勝田係員 済みません、私の説明が不足していたことが原因かと思えます。申し訳ございません。一応28ページに修正箇所という形で、このように修正しますと申請者のほうは書いてあるのですけれども、どのような方法を用いてこういう結果が得られたから問題ないということを書いてほしいなという、私はそういう意図で、そういった意味でここだとかこういう方法が考案されているとしか書いていなくて、具体的にどういう方法で検証したのかという記載が全くなかったので、どういう方法を使って検証しましたというところを書かせようという意図で、先ほどのようなことを申し上げた次第です。

○澤田座長 それでは、この2と3の表現は出てこない可能性があるということで、よろしいでしょうか。

それでは、指摘事項7で遺伝子の挿入の際に生じた欠失部分につきまして、その領域と機能が失われる可能性がある遺伝子に関する安全性への影響を考察することということで、これは小関先生と飯先生からの御指摘です。

○小関専門委員 私はこの回答でよろしいかと思えます。

○飯専門委員 私も特にありません。

○澤田座長 30ページの下の方の図のことは、これはないほうがいいという話がありましたが。

○北村課長補佐 回答書の30ページの③のところ、近傍で同定されている遺伝子をコードしている領域の例ということで仮想の例が書かれておりますが、これを書くことで誤解を招くおそれがあるので、削除してよろしいかと思っております。

○澤田座長 飯先生はいかがでしょう。

○飯専門委員 私もなくて、全然問題ないと思います。

○澤田座長 それでは、指摘事項8で、サイレンシングで生成が予想されるsiRNAについて、相同性検索を行って意図しないジーンサイレンシングが生じていないか等を考察することということで、これは児玉先生からのコメントですけれども、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 私が言おうとしているのは、その文章のところにありますが、ジャガイモのゲノムの塩基配列と比較してほしいというリクエストをしたのですが、今回、比較したのはtranscriptのデータベースを使っています、これがまたTGS (transcriptional gene silencing) を引き起こすほうのコンストラクトと相同性があった転写産物があるという結果の回答になっております。

どのぐらいの長さから実際にオフターゲットの形として抑制される可能性があるかという議論で100ベースから、70ベースぐらいからより短いのは効かないというのは私の論文に書いてありまして、それから多分考えて64ベースと163ベースをオフターゲットの候補として挙げているという内容になっていて、オフターゲットを163と64はなり得るかなという感じはしますが、どちらも機能的には食品の安全上は問題ないという回答で、これはこれでよろしいかなと思うのですけれども、transcriptional gene silencingを引き起こすほうのコンストラクトはプロモーター領域を使っていますので、プロモーター領域で非常に似たものがあれば、そちらも抑制されるでしょうという意図に関しての回答はされていません。

ここに来るまでずっと悩んでいたのですけれども、いろいろサイレンシングの過去の経験から言うと、内在性の遺伝子のプロモーターの抑制は余り効かない。一般的にです。この申請書でもパターンを見るとそんなに効いていないわけではないということもあって、これ以上求めるのも余り意味がないかなということも悩んでいたのですが、サザンをやり直すということであれば時間的には十分あるのかなと思っていて、当初の予定どおり求めてもいいのかなと今ちょっと思っているところでもあります。

その場合なのですけれども、やり方としてはこのやり方が非常にきれいなやり方をしています、全く非の打ちどころのないやり方をしているので、このやり方でゲノム対象でやってもらうのが一番いいのですが、それがしんどいということであれば、プロモーター領域は一般的には非常に効きが悪いので、全体にわたって90%以上のホモロジーがあるようなプロモーターがほかにゲノム上にあるかどうかぐらいの検索でも構わないかなと考えております。ですから時間的にサザンをやり直すのであれば、ついでにやっていたければよろしいかなと考えています。

以上です。

○澤田座長 これはホールゲノムでやったら出過ぎになる可能性があります。

○児玉専門委員 それも考えて、例えば21塩基びたつとはまるものが多分ホールゲノムでやると結構出てくると思うのですけれども、それに意味があるかどうかというと、ほとん

ど意味がないと思います。ある程度の長さできちんと合わないという意味が出てこないのではないかと考えていますので、それでやり方は先方次第なのですけれども、一番簡単なやり方はコンストラクトに使った長さをそのままホールゲノムに対してブラストをかけて、90%ぐらいの相同性を示すようなゲノム領域があるかどうかという検索の仕方、TGSのほうは十分なのではないかと私自身は思っております。

○澤田座長 先生いかがでしょうか。よろしいでしょうか。

○小関専門委員 そんなに難しいことではないので、やれば1日で終わってしまうと思うのです。1日かからない。だから私もやるとしたら児玉先生の方法でやると思っていますので、それを伝えて、これで当ててみてというのが一番いいと思います。

○澤田座長 では、それをやっていただくことにしたいと思います。

それでは、指摘事項9で相同性検索の詳細な結果に関するデータを提出することということで、これは飯先生。

○飯専門委員 開いて見てみましたが、これでいいかと思えます。

○澤田座長 それでは、指摘事項10で *Ppo5* 遺伝子の供用体 *Solanum verrucosum* の分類学上の情報を追記するとともに、申請書類中の内容が矛盾しないように説明することということで、これは小関先生のコメントですけれども。

○小関専門委員 ここに書かれているとおりで私は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、あと細かい修正事項が出てきておりますけれども、この点に関しまして何か追加でコメントいかがでしょうか。よろしいでしょうか。

ほかに御意見よろしいですか。それでは、再度確認する必要がある指摘事項がありましたので、御意見、コメント、指摘事項案として取りまとめまして、また御確認いただいた上で厚生労働省を通じて申請者に対して請求をしたいと思えます。

それでは、次はNZYM-SO株  $\alpha$ -アミラーゼに移りたいと思えます。事務局から御説明をお願いします。

○北村課長補佐 それでは、NZYM-SO株を利用して生産された  $\alpha$ -アミラーゼと名前がついていますグレーの紙ファイルをお願いいたします。

こちらの添加物の概要になりますけれども、3枚ほどめくったところに「はじめに」で概要の説明がございます。こちらの  $\alpha$ -アミラーゼですが、挿入遺伝子の由来が *Geobacillus stearothermophilus* となっております、宿主が *Bacillus subtilis* がございます。机上配付をさせていただきました *Bacillus subtilis* MDT121株を利用して生産された  $\alpha$ -アミラーゼというものがございますけれども、2014年11月に評価が終わったものになります、こちらのものと挿入遺伝子の由来、宿主は同じものがございます。

比較対象とする従来の添加物は、こちらのMDT121株で用いたものと同じになっておりますので、主にこのMDT121株を利用して生産された  $\alpha$ -アミラーゼと違う部分について御説明をしたいと思っております。

まず1ページ目に比較対象の添加物がございますけれども、こちらTS-25というものでございます。

2ページに製造工程、使用形態がございますが、 $\alpha$ -アミラーゼ、このTS-25につきましてはパンの老化を防ぐことができまして、小麦粉等に添加をすることによってございます。

3ページ目に摂取量がございますけれども、この最大の摂取量が4ページに計算がされてございまして、結果としましては最大の摂取量0.0059 mg TOS/日/kg体重ということによってございます。

4ページの第1-2宿主及び導入DNAになりますけれども、本添加物の宿主は*B. subtilis* A 164 $\Delta$ 5株でございます。この $\Delta$ 5株につきましては図2に示されておりますようにA 164株の遺伝子を欠失させてできたものになってございます。

5ページ、DNAの供与体につきましては*G. stearothermophilus* C599株でございます。この野生株由来の*amyM*遺伝子に変異を導入しまして、アミノ酸が3つ変わったアミラーゼができてございます。

第1-2-(3)になりますけれども、挿入DNAは*amyM447*遺伝子になりまして、 $\alpha$ -アミラーゼ、ここではNM447と呼んでおりますが、これをコードしてございます。

6ページ、この組換え添加物の性質等がこちらに書かれてございます。第1-5-(3)になりますけれども、このNM447は加工助材として製パンの工程ですとかデンプン等の製造に用いられるほか、ケーキ類の製造にも使用されるということによってございます。

従来品との比較については7ページの表1にもございますように、TS-25と比較をして耐熱性が向上しているということによってございます。

前回評価いただきましたMDT121株については、耐熱性とスクロース耐性が向上してございまして、TS-25と比較してアミノ酸が4個変わっております。それと比較をすると今回のものはアミノ酸が3つ変わってございまして、●●●については同じところに変異が入っておりますが、●●●はこのMDT121株の変異とは違うところでございます。

7ページの下の方から耐熱性について比較をした試験の結果が示されてございます。

8ページに結果がございまして、●●●℃での耐熱性が従来品と比べて上がっているという結果が示されてございます。

9ページから宿主に関する事項が記載されてございます。

11ページ、ベクターに関する事項になりますが、pDG268も以前評価いただいた $\alpha$ -アミラーゼと同じものを使っております。

12ページ、薬剤耐性に関する事項ですが、アンピシリン耐性遺伝子とクロラムフェニコール耐性遺伝子が、こちらのベクターには含まれてございます。

14ページ、導入DNAの供与体に関する事項になりますけれども、第4-2-(1)に記載してございまして、3個のアミノ酸の変異、置換があるということによってございます。

15ページ、こちらの $\alpha$ -アミラーゼは従来品と比較をしまして耐熱性は向上しているということによってございますので、アレルギー誘発性に関して検討がなされてございます。

1) に挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する事項、そして2) としましてアレルギー誘発性に関する知見が記載されています。

16ページにまいりまして、物理化学的処理に関する知見ということで、①として人工胃液の処理で確認がされてございます。人工胃液では30秒以内に消化がされることが確認されております。②が人工腸液になりまして、360分の処理でも消化されないということです。

17ページの③に加熱処理に関する感受性が示されております。90℃の条件で加熱を行っておりまして、図8にグラフがございまして、赤い線のほうが基質ありとなっておりまして、青い線が基質なしということでございます。

基質がない条件では15分、基質がある条件では30分の加熱処理で免疫反応性が失われてございます。

18ページ、遺伝子産物と既存のアレルゲンとの構造相同性に関する知見ということでございます。相同性の検索が行われておりまして、80アミノ酸残基で35%以上のアレルギーの検索が行われてございます。その結果、TAKAアミラーゼと一致したということです。連続する8アミノ酸の配列が完全に一致するものはなかったということです。TAKAアミラーゼの知見とこの添加物とTAKAアミラーゼの相同性について、以下のように検討がされてございます。

NM447とTAKAアミラーゼの相同性の領域について検討がされてございます。アミノ酸の配列比較をしてございまして、80アミノ酸残基で35%以上一致する範囲が2つあったということでございます。その1つ目の範囲の中には、このアミノ酸の変異の部分は入っていないということで、従来品と変わらないということです。

19ページのポツになりますけれども、2つ目の領域にはNM447のアミノ酸の変異の部分が含まれていますが、この変異によってTAKAアミラーゼとの相同性が従来品と比較をして高まるかどうかということについて確認がされてございます。

その結果、TAKAアミラーゼの相同性は従来品と比べて変わらないということで、このアミノ酸の変異がアレルギー誘発性には影響していないということが示されてございます。

その下、プロモーター等に関する事項になりますけれども、プロモーターにつきましては以前に評価したMDT121株と同じものが使われてございます。

ターミネーターにつきましては、野生株由来の*amyM*遺伝子のターミネーターが使われてございます。そのほか*cryIII*AmRNA安定化配列、20ページにまいりまして、*amyM*遺伝子のSD配列が使われてございます。

そのほか組み込み方法、発現ベクターに関する事項が記載されてございます。

22ページ、発現ベクターのORF検索がされてございます。ORFにつきましては終止コドンと終止コドンに挟まれた30アミノ酸以上の領域と定義をして検索を行ったところ、96個検出されております。こちらについて既知アレルゲンとの相同性検索、毒性タンパクとの相同性検索を行っております。

アレルギーにつきましては、先ほどもありましたようにTAKAアミラーゼとの相同性が認められてございます。8連続アミノ酸については一致するものはなかったということです。

23ページ、毒性タンパクとの相同性になりますけれども、NM447のアミノ酸配列を含みますORFは、109個のタンパク質について相同性が認められてございます。その109個は全て*cat*遺伝子又はその相同遺伝子であったということでございます。このORFにつきましては*cat*遺伝子の●●●部分であるということでございます。

②になりまして、NM447\_39というORFと相同性を示す11個のタンパク質について、以下のとおり検討がされてございます。

24ページ、相同性を示しました5つのタンパク質それぞれについて毒性タンパク質であるかどうか、また、活性に必要な領域はないかどうかということについて検討がされてございます。

25ページは結論になりますけれども、このタンパク質それ自体は毒性がないということでございます。

以上のことから、ORFにつきましては、このORFからタンパク質が発現したとしても、アレルギー誘発性及び毒性タンパク質が含まれる可能性は低いということで、結論がされてございます。

26ページ、宿主への導入方法になってございます。28ページの図10が概要になってございますけれども、プルナーゼの発現カセットを宿主の株に導入しまして、そのカセットを*amyM447*遺伝子発現カセットと置きかえてございます。その後に*cat*遺伝子を欠失させております。

29ページ、抗生物質耐性マーカー遺伝子についてでございますけれども、アンピシリン耐性遺伝子とクロラムフェニコール耐性遺伝子、カナマイシン耐性遺伝子を導入用ベクターには持っておりますけれども、アンピシリン耐性とクロラムフェニコール遺伝子については導入過程で脱落して、宿主の染色体へは導入されません。また、クロラムフェニコール耐性の*cat*遺伝子については、最終段階で欠失されるということでございます。

30ページ、こちら組換え体に関する事項になってございます。第5-2-(1)に説明がございまして、その挿入部分の塩基配列につきましては、シーケンス解析をすることによって確認がされてございます。

32ページ、第6で組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項となっておりまして、第6-1、製造原料または製造器材としての使用経験があることということで、これらについては長い間、安全に使用されてきた実績があるという説明がございまして。

第6-2につきましても、長い使用経験がありまして、安全性に問題があるとは考えにくいという説明がございまして。

33ページになりまして、諸外国における許可、食品等に関する事項になります。このNM447はOptiCake® 50 BGの名前で2009年にヨーロッパで販売が開始されてございます。

オーストラリア、米国でも使用が認められてございます。

第7-2に生産菌の残存についての事項がございます。社内規格として生産菌が検出されないとしているということでございます。以下のように組換え体のDNAが残っていないことをドットプロットで確認してございます。こちらは最終製品のOptiCake®という製品を使っております。

その結果、34ページになりますけれども、組換え体の染色体DNAが残存しないことが確認されたということでございます。

第7-3に、製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項ということで、35ページの表6に分析値とFCC、JECFAの比較がされてございます。

第7-4で製造方法及びその効果に関する事項がございます。

36ページになりまして、含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動に関する事項ということで、生産物の構成・成分の変動の範囲は、従来酵素剤の変動の範囲内でありまして、含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動はないと考えられるという記載がございます。

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の御意見をいただきたいと思っております。

まず、申請書の13ページまでで第1、第2、第3にわたりましてコメント、御意見ございましたらお願いしたいと思っております。

○小関専門委員 コメントよろしいですか。申請者は前のときも4ページの図2にありますように遺伝子欠失という、ここに書いてあるものがどうやってやったのかというのが、既に前の今日配られた評価書の菌と同じで、そこでも多分書いてあると思うのですが、私たちはデータを持っているから、見せていただけるからわかるのですが、ほかの人たちが見るような機会があったときに、この書き方だと誤解を生じるので、今後でいいですから、この記載は簡略化しないで書いておいてくださいというふうに申請者をお願いしておいてもらったほうがいいのかなと思っております。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。どうぞ。

○中島専門委員 少々読みにくいところがありまして、これはもとの非組換えのTS-25が*amyM*遺伝子にコードされていて、それに変異を3つ入れて耐熱性にしたものが*amyM447*なのですが、それはずっと後まで読まないとわからなくて、*amyM*遺伝子にもとのTS-25がコードされていること、少なくとも7ページの表、できればもっと早くきちんと書いておいていただかないと、非常に読みにくいです。

○澤田座長 それはどこかに書いていただかないと。

○中島専門委員 早いところ、どこかに書いていただければ、それで結構です。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。

それでは、14～29ページの第4、挿入DNA、遺伝子産物、発現ベクターのところでは

ント、御意見ありましたらお願いしたいと思います。

○手島専門委員 18ページから19ページにかけて、NM447とTAKAアミラーゼの相動性領域における相同性についてというものが書かれているのですけれども、TS-25とNM447が3カ所のアミノ酸の変異があって、そのTS-25とNM447とTAKAアミラーゼ、3つの比較をしているところがあるのですけれども、19ページの第4-3の上のところNM447のアミノ酸の変異導入はTAKAアミラーゼとTS-25との相同性に影響しないという趣旨が書かれているのですが、これはデータ自身は社内文書11というものの中に書いているのですけれども、それを見るとわかるのですが、データも評価書の中に示していただければと思いました。

文章的には先ほど申しました19ページの第4-3の上の文章がちょっとわかりにくいので、したがって、NM447へのアミノ酸変異導入はTAKAアミラーゼとTS-25との間でみられた相同性に影響しないことが示されたという表現にさせていただければと思いました。

○北村課長補佐 ありがとうございます。

申請資料で数点間違いがございまして、18ページの下から7行目の括弧内の社内文書というところは、おそらく不要でございます。

19ページの9行目に相同性の数字が示されているのですけれども、社内資料と一致していないので確認の上、正しい数字に直させていただきたいと思います。申し訳ございません。

○澤田座長 社内文書11の内容を一部、ここに挿入しないといけないわけですね。

○手島専門委員 そうですね。そうしないとわかりにくい。

○澤田座長 ほかはいかがでしょうか。

それでは、30ページから最後まででコメント、御意見ございましたらお願いしたいと思います。

○児玉専門委員 1点確認したいのですけれども、36ページの第7-5なのですが、生産される生産物の構成・成分の変動の範囲は、従来の酵素剤の変動の範囲内であると書いてあるのですが、これは宿主は実は比較対象のTS-25の宿主とはもとの*Bacillus*が違う株のように思えるのですけれども、だとするとそれと比較すれば厳密に言えば株が違うので若干違はずなのですが、MDT121株で同じ書きぶりをしているのであれば、特にいいです。このままでいいのですけれども、ちょっとMDT121株のこの部分でどういうふうに書いていたかなと確認していただければと思います。

○北村課長補佐 同じ書きぶりになっております。

○児玉専門委員 では、そのままでいいと思います。

○澤田座長 厳密に考え出すと、この書きぶりは余り適切でない場合がありますということですね。

○児玉専門委員 そうですね。宿主、*Bacillus*の株が違うので、変異も違うのです。なのでそれを考えると、厳密に言えば成分は一緒ということはないなということになるのです

が、MDT121株は評価が終了してしまっているのですが、そちらのほうがそういう書きぶりであれば、ここで変更するのもよろしくないなど。

○北村課長補佐 今後、新しいもののときに検討していただくようにします。

○澤田座長 範囲内であるとしてしまうと問題があるかもしれませんので、「と考えられる」ぐらいにせめて直しておいたほうがいいかもしれません。

○児玉先生 そうですね。そのほうがいいかもしれません。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

それでは、本件は特に安全上の問題はないということでありますので、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。

○北村課長補佐 それでは、配付しました資料1の29ページからが本 $\alpha$ -アミラーゼの評価書案になってございます。

こちらも基本的にはMDT121株を参考にしております。

34ページのIに評価対象添加物の概要を記載してございます。品目はNZYM-SO株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼでございます。

用途はグルコース重合体の $\alpha$ -1,4結合の加水分解を触媒し、主にマルトースを生成させる酵素である。パンの老化防止及びハイマルトースシロップ等のデンプン糖の製造に使用されるとしております。申請者、開発者は記載のとおりでございます。

本添加物は、 $\alpha$ -アミラーゼの品質を高めるために *Bacillus subtilis* A164  $\Delta$  5株を宿主として *Geobacillus stearothermophilus* C599株由来の改変 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子 (*amyM447* 遺伝子) を導入して作製したNZYM-SO株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼであるとしております。

「II. 食品健康影響評価」になります。第1のところでは従来の添加物の性質及び用途等に関する事項を記載してあります。

35ページ、宿主及び導入DNAについて宿主の種名(学名)、株名等及び由来になります。宿主につきましてはATCCから入手した *B. subtilis* ATCC6051a株からアミラーゼ遺伝子、アルカリプロテアーゼ遺伝子、中性プロテアーゼ遺伝子、シグマF遺伝子及びサーファクチンC遺伝子を欠失させた株であると記載をしてございます。

(2) がDNA供与体の種名等。

(3) が挿入DNAの性質及び導入方法になります。*amyM447* 遺伝子は *G. stearothermophilus* C599株由来の *amyM* 遺伝子に塩基変異を導入し、アミノ酸残基が3個置換した $\alpha$ -アミラーゼを発現する。遺伝子導入用ベクターに組み込まれた後、二重交差相同組換えにより宿主の染色体に挿入されたとしております。

3の宿主の利用経験、食経験。4の宿主の構成成分等に関する事項は記載のとおりになります。

5で遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料となります。

(1) の製品名及び有効成分、(2) の製造方法、(3) の用途及び使用形態は記載のとおりです。

36ページ(4) の有効成分の性質及び従来の添加物との比較については、従来の添加物と同じ反応を触媒する酵素であるが、耐熱性が向上しているとしております。

6の(1) になります。従来の添加物との比較になりますけれども、相違点はアミノ酸残基が3個置換され、従来の添加物と比較して耐熱性が向上している点であるとしております。

組換え体と宿主については *amyM447* 遺伝子が導入され、 $\alpha$ -アミラーゼ産生性を獲得している点であるとしております。

117行目で、以上1~6より本添加物及び本添加物の生産菌の比較対象となり得る従来の添加物及び宿主があると判断し、第2以下の各事項について評価を行ったとしております。

「第2 宿主に関する事項」は記載のとおりになります。

37ページの「第3 ベクターに関する事項」につきましても、記載のとおりになります。

「第4 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(1) で *amyM447* 遺伝子の供与体は *G. stearothermophilus* C599株であるということで、(2) 安全性に関する事項、38ページを見ていただきまして、2の挿入DNAまたは遺伝子及びその遺伝子産物の性質に関する事項。(1) クローニングもしくは合成方法に関する事項につきましては、C599株の  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子の塩基配列に基づき、成熟型タンパク質をコードする領域をクローニングした後、耐熱性を高めるため塩基変異を導入し、人工合成した遺伝子である。従来の  $\alpha$ -アミラーゼと比較して3個のアミノ酸が置換されているとしております。

(2) は記載のとおりです。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項になりますけれども、203行目からNM447は従来の  $\alpha$ -アミラーゼと同様の反応を触媒する酵素であるが、アミノ酸配列が改変され耐熱性が向上していることから、アレルギー誘発性について「遺伝子組換え食品(微生物)の安全性評価基準」の第2章第5の5に準じて検討されたとしております。

1) からが詳細になりまして、214行目の3) からが物理化学的処理に関する知見になります。

①で人工胃液に対する感受性で、SDS-PAGE分析、ウェスタンブロット分析を行った結果、試験開始後30秒以内に消化されることが確認されたとしております。

②が人工腸液に対する感受性になりまして、39ページ、試験開始後360分後においても消化されないことが確認されたとしております。

③加熱処理に関する事項になりますけれども、加熱による免疫反応性の変化をELISA法を用いて分析した結果、pH7.0、90℃の加熱処理により、基質非存在下では15分間、基質存在下では30分間で免疫反応性が消失することが確認されたとしております。

4) で遺伝子産物と既存のアレルゲンとの構造相同性に関する知見になります。データ

ベース検索の結果を記載してございまして、連続する80アミノ酸配列について35%以上の相同性を示したアレルゲンが1個見出された。*Aspergillus oryzae*由来のTAKAアミラーゼであり、TAKAアミラーゼとNM447のアミノ酸配列を比較した結果、NM447に導入された3個のアミノ酸配列は、これらの相同性には影響していなかったとしております。

8連続アミノ酸配列が既知のアレルゲンと一致する配列はみられなかったとしております。

以上のことから、総合的に判断し、NM447にはアレルギー誘発性を示唆するデータがないことを確認したとしております。

3になりまして、(1) プロモーター、(2) ターミネーター、(3) その他挿入遺伝子の発現抑制にかかわる事項については、記載のとおりでございます。

40ページ、ベクターへの挿入DNAの組込方法に関する事項になります。プラスミド pDG268にpUB110に由来するカナマイシンに耐性遺伝子を組み込み、*amyE5'*及び*amyE3'*配列の間にプロモーター配列等を挿入することによって、遺伝子導入用ベクターpNBT24 *amyM447*が作成されたとしております。

発現ベクターに関する事項になりますけれども、(1) については塩基数、塩基配列及び制限酵素による切断地図は明らかになっているとしております。

(2) ORFに関する事項になりますけれども、導入用ベクターの*amyE*遺伝子5'末端領域及び*amyE*遺伝子3'末端領域に挟まれた領域のみが宿主の*amyE*遺伝子座に挿入される。最終的に宿主に導入される*amyM447*遺伝子発現カセット、*amyE5'*及び*amyE3'*を含む断片について、6つの読み枠においてORF検索を行った。その結果、96個見出されたことを記載してございます。

データベースによる相同性検索の結果、80アミノ酸で35%以上の相同性については、TAKAアミラーゼ以外は見出されなかったとしております。

毒素タンパク質の相同性につきましては、MvirDBデータベースを用いて検索を行った結果、5個のタンパク質が検出されましたけれども、いずれもそれ自体毒性を有するものではないと考えられたとしております。

(3) の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については、記載のとおりでございます。

41ページ、304行目の6につきましては、相同組換えにより*amyM447*遺伝子を*B. subtilis* A164Δ5株に挿入し、クロラムフェニコール耐性及びα-アミラーゼと活性により選抜した。さらにクロラムフェニコール耐性遺伝子を欠失させ、*B. subtilis* NZYM-SO株を得たとしております。

抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項になりますけれども、遺伝子導入ベクターにはアンピシリン耐性遺伝子及びカナマイシン耐性遺伝子が存在するが、宿主の染色体には導入されない。また、クロラムフェニコール耐性遺伝子は宿主に挿入された後、部分欠失させるため、生産菌はクロラムフェニコール耐性を示さないとしております。

「第5 組換え体に関する事項」になります。324行目のORFにつきましては、第4-5-(2)のとおりであるとしております。

「第6 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項」ということで、1は添加物の製造原料または製造器材としての使用実績があること。2で安全性について知見が得られていること。

42ページ、第7の諸外国における許可、食用等に関する事項については、2009年から欧州において販売されている、そのほかオーストラリア及び米国においても食品添加物として認められており、製パン・製菓用及びデンプン糖製造用酵素として使用されているとしております。

2ですが、ドットプロット分析により最終製品であるNM447を有効成分とする酵素製剤には、組換えDNAが残存していないことが確認されたとしております。

3、4、5については記載のとおりでございます。

第8については、第2から第7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. 食品健康影響評価結果」になりますけれども、NZYM-SO株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼについては、「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」に基づき評価した結果、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断したとしております。

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ければと思います。

とりあえず34～41ページの真ん中辺の313行までで御意見、コメントがございましたらお願いしたいと思います。

○手島専門委員 先ほど申し上げたところになるわけですが、39ページの234行目からになるのですが、相同性があったのが*Aspergillus oryzae*由来のTAKAアミラーゼであり、TAKAアミラーゼとその後アミノ酸未置換のTS-25と、NM447のアミノ酸配列を比較した結果というものが正確かと思えます。その後、NM447に導入された3個のアミノ酸置換は、TS-25とTAKAアミラーゼとの相同性を高めるという影響はしていなかったという書き方になるかと思えます。

○澤田座長 TS-25に関する記載の追加ですね。

ほかはいかがでしょうか。

それでは、41ページから最後まででさかのぼっても結構ですので、全体にわたりましてコメント、御意見ございましたらお願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

それでは、1点だけ微修正がありますので、事務局で修正して先生に御確認いただいて、

私のほうでも確認いたしますけれども、その後、食品安全委員会に報告しまして、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けれども、私から御報告があります。

10月の専門調査会で審議いたしましたステアリドン酸産生ダイズMON87769系統及び除草剤グリホサート耐性ダイズMON89788系統を掛け合わせた品種につきましては、申請書等の修正の指摘が出されていたところでもあります。この品目の取り扱いについては御担当の先生に御協力をいただくということで座長預かりとなっていたところではありますが、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いたしました。現在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 1点ございます。

お配りしました資料2をお願いいたします。「遺伝子組換え食品等専門調査会への申請企業関係者の参加について（案）」というものになります。

調査会への申請企業の出席についてですけれども、先月の調査会の最後のほうに対応案を事務局で検討するというところにさせていただいたところがございます。こちらについて簡単に御説明したいと思います。

「1. 経緯及び趣旨」ということで記載してございますけれども、農薬専門調査会、動物用医薬品専門調査会、そのほか肥料・飼料等専門調査会におきましては既にこのような取り組みを行っております。他の調査会の対応を参考にしまして、申請企業関係者を調査会に招致することを考えております。

(1) に書いてありますように、遺伝子組換え食品等専門調査会では、申請企業から提出された資料を用いまして評価を行っております、専門調査会の審議におきまして確認事項等が生じた場合には、リスク管理機関を通じて申請者に確認をしまして、再度調査会で審議を行っているところがございます。

今後、申請企業を調査会に呼ぶことによりまして、少しでも評価の効率化を図ることができればと考えてございます。

「2. 対応」になりますけれども、(1) で専門調査会は審議を行う品目の申請企業の担当者を専門調査会に招致することができるとしております。

(2) 説明者の招致は座長の要請に基づきまして1週間前としておりますけれども、事務局から説明者に出席要請を行う。説明者が出席を希望しない場合は、出席要請をとりやめるということと、事務的な手続になりますけれども、説明者の旅費等の諸経費は説明者の負担とするということを書いてございます。

(3) 説明者は専門調査会におきまして、先生方からの質問に対する回答のみを行うことができるということと、質問以外の説明、発言等があった場合には、座長は説明等を打

ち切ることができるということを書いてございます。

実際の調査会での流れといたしましては、まず、これまでどおり申請品目の御審議をいただきまして、申請者に確認する事項をまとめていただいた後に、説明者にこの場に入っていただきまして、質問をしていただくということで考えております。

(4) になりますけれども、質疑を終了した後は、座長の指示に従いまして直ちに退席していただくことを考えております。

本調査会では公開ということあまり考えられませんが、公開で行われている会合の場合には、傍聴席に移動して傍聴することができるとしてございます。

(5) ですが、説明者の発言は企業秘密の部分は除きまして、議事録として残すことにしてございます。

裏のページをお願いいたします。(6) ここに記載したこと以外につきましては、疑義が生じた場合は、この専門調査会に諮って決定するというようにしております。

「3. その他」ですけれども、運用開始後、その妥当性及び食品安全委員会の中立性・公正性と整合性等については、随時見直すこととするということで記載をしてございます。

この調査会におけます申請企業関係者の参加につきましては、次回以降の調査会から対応する方向で考えてございます。

説明は以上です。

○澤田座長 事務局から遺伝子組換え食品等専門調査会への申請企業関係者等の参加についての説明をいただきましたけれども、今までの御説明で御意見、コメント等ありましたらお願いしたいと思います。

○小関専門委員 1点よろしいでしょうか。今おっしゃられた方法でいきますと、まず最初に今までどおりにやって、質問事項をまとめて、それで説明者に入っていただくということになるとすると、同じことを2回やることになって、議論が長くなりますね。だから時間がかかってしまうと思うので、最初から入ってもらっていて、それでこちらもしないと質問事項を忘れていってしまいますので、そうでないと長引きます。同じことを2回言うことになるでしょう。

○北村課長補佐 他の調査会では議論の場には説明者の方は入っていただくが質疑にのみ答えていただくということでやっているの、そのようにできないかとは考えているのですけれども。

○小関専門委員 時間は倍になりますね。

○北村課長補佐 はい。こちらの全ての議論について説明者に聞くわけではないので、申請者に質問すべき事項のみ聞いていただきたいというところではあるのですが。

○小関専門委員 ここでやっている議論というのは、結局は最終的には議事録として出てくる形のものであるので、別に説明者も含めた一般の人々にするものではない。もちろん議事録訂正が入りますけれども、そう考えれば最初からいってもらうだけはいってもらってもいいのかなど。しかもこれはあれですね。結構かなり細かい話というか、先ほど飯先

生がされたような、こちらの意図はこういうことだというところが結構通らなかつたりとかするので、説明者にもそれを聞いていれば、こういう意図なのねということですから、その効率アップはできるようなには思うのですけれども、これは私の個人的なあれで、事務局サイドの御意見があると思います。

○東條事務局次長 おっしゃることはよくわかるので、いろいろ今ほかの調査会でもやってみながら、今年度施行してみても、来年度に向けてどういうふうにやっつけていこうかやっつけているところもあるので、この調査会でもそういう形で曲がりなりにも企業を呼ぶということをやってみて、今、言われたような改善点をまた出して改善していくということかなと思ってまして、一足飛びになかなかそこにはいかないのではじれたいところがありますけれども、そういうことで御理解いただけないでしょうか。

○小関専門委員 わかりました。要するに大きな第一歩の前進ですから、第二歩目をどうするか考えていくという御判断であれば、私はそれでよろしいかと思えます。

○東條事務局次長 それから、細かい話で北村さんに教えていただきたいのですが、今、説明した内容の2(2)のところに「開催の1週間前に通知をする」と書いてありますね。これはほかの調査会もみんな同じですか。

○北村課長補佐 「1週間前までに」です。すみません。

○東條事務局次長 あと、ただし、説明者が出席を希望しない場合って、これもほかの調査会もこんな感じなのですか。

○北村課長補佐 同じです。説明者が希望しない場合には、無理やり強制するものではないという意図です。

○小関専門委員 確認なのですけれども、その場で回答できないことは結構言っていましたね。私たち。ですから回答はその場でできないものは、回答を保留して次回この審査のときにお答えしますを許す。これでよろしいのですか。

○北村課長補佐 答えられない場合が出てくる場合がありますので、これまでどおり指摘として確認をするということを考えています。

○小関専門委員 ですよ。そうすると1回目はこれでいけると思うのですが、2回目のときにどういう形にするのか。議論としては。最初にこれだけ指摘事項があって、保留された指摘事項、回答について申請者の説明者に最初に説明してもらって、説明が終わったらまた退室していただいて、でもまた質問が出たら入ってもらってという、その辺はそういうふうにする。要するに1回目はわかるのです。2回目のときにどうするかということもお考え置きください。今、急にということではないのですけれども、結構うまくやらないと余計に混乱してしまうような気がします。

○東條事務局次長 先生が今、言われたのは、同じ案件について企業の方を2回呼ぶということですね。ほかの調査会はまだそこまで進んでいまして、まだ1回呼んで宿題を出して文章で回答をもらうという、そういうところまでしかいっていないので、追々先生が言われたようなことも出てくるかと思うので、そこは業者の希望も聞きながら検討してい

けたらと思います。

○小関専門委員 すなわち保留された回答は文章で次回来るという形ですか。

○東條事務局次長 そうです。

○小関専門委員 わかりました。

○飯専門委員 すでに動いているということなので質問なのですが、説明者としてはどういう立場の人たちが来るのですか。

○北村課長補佐 基本的には企業の担当者に来てもらうということです。企業の中でいろいろな担当があると思いますので、そこは回答できる人に来ていただく。

○飯専門委員 場合によっては何人も並ぶ。

○北村課長補佐 はい。人数については特段指示をしていないと聞いております。

○飯専門委員 ここだと特にGMの植物の場合、ほとんどは外国メーカーの製品なので、指摘の意図が伝わっていないとしばしば感じる問題は、結局のところ間に入っている翻訳者の問題だと思うのです。その辺で、誰が来るのかということで意味があるのかどうかが変わってくるような気がしたもので。

○池田評価情報分析官 ただ、当面は企業のほうに選んでいただいてということにはなると思います。

○澤田座長 ほかの先生方はよろしいでしょうか。とりあえずやってみて、いろいろ改良していく方向で進めていくのかなと思いますので、それでは、具体的な事務手続につきましては、よろしく願いいたします。

以上をもちまして第134回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。今日も熱心な御討論ありがとうございました。