

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第172回) 議事録

1. 日時 平成30年3月28日(水) 13:59~17:07

2. 場所 食品安全委員会中会議室(赤坂パークビル22階)

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

- ・ JPBL002株を利用して生産されたプルラナーゼ
- ・ 除草剤グリホサート及び4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性ワタGHB811

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

中島座長、小関専門委員、橘田専門委員、児玉専門委員、近藤専門委員、鈴木専門委員、柘植専門委員、手島専門委員、山川専門委員、吉川専門委員

(専門参考人)

澤田専門参考人

(食品安全委員会)

佐藤委員長、山添委員

(事務局)

小平事務局次長、吉岡評価第二課長、池田評価情報分析官、内海課長補佐、森山評価専門官、山口係長、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

- ①JPBL002株を利用して生産されたプルラナーゼ
- ②除草剤グリホサート及び4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性ワタGHB811(食品)
- ③除草剤グリホサート及び4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性ワタGHB811(飼料)

6. 議事内容

○中島座長 皆さんおそろいようですので、ただいまから第172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、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。

本日は、所用により岡田専門委員、樋口専門委員は御欠席です。

また、専門参考人として独立行政法人医薬品医療機器総合機構の澤田純一先生に御出席いただいております。

本日の議題ですが、新規品目であるJPBL002株を利用して生産されたプルラナーゼ及び除草剤グリホサート及び4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性ワタGHB811の安全性についての審議です。

まずお手元の資料を確認いたします。事務局からお願いいたします。

○内海課長補佐 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、食品健康影響評価に関する資料、最後に机上配布資料として「ワタGHB811の申請範囲について」「自殖・交配による目的外DNA断片の遺伝分離と検出確率」「遺伝子組換え植物の安全性評価における系統の考え方について」となっております。なお、これら以外の参考資料につきましては、ファイルにとじまして委員の皆様の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、回収をさせていただき、次回また配付いたします。

不足等ございましたら事務局までお知らせください。

また、本日は、新規品目でありますプルラナーゼ、除草剤耐性ワタの申請者でありますノボザイムズジャパン株式会社、バイエルクロップサイエンス株式会社の方をお呼びしてまいります。申請品目の審議の際、質疑応答に対応していただく予定にしております。

○中島座長 ありがとうございます。

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報告をお願いいたします。

○内海課長補佐 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ましたところ、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。

○中島座長 ありがとうございます。

既に御提出いただいております確認書について、相違等はございませんでしょうか。よろしいようです。

それでは、新規品目であるJPBL002株を利用して生産されたプルラナーゼについて審議

を行いたいと思います。事務局から説明をお願いいたします。

○森山評価専門官 申請書の説明に入ります前に、審議の進め方について御説明いたします。

冒頭で御紹介がありましたが、本日は申請者のノボザイムズジャパン株式会社の方をお呼びしておりますので、申請書を御審議いただいた後に、申請者に対する質問事項等あれば整理していただきたいと思います。その後に説明者に入室していただき、質疑応答を行います。質疑応答終了後、説明者には退室していただき、審議を再開していただくことにしております。

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。ピンクの紙ファイルをお開きください。

1ページ、今回の商品はJPBL002株を利用して生産されたプルラナーゼということなのですが、第1-1として「従来の添加物の性質及び用途等に関する資料」ですが、比較対象としている従来の添加物は、2002年2月に当時、厚労省で安全性審査の手続きを経て承認されたSP962というGMのプルラナーゼになっております。

「第1-1- (1) 名称、基原及び有効成分」のところですが、名称はプルラナーゼ (SP962)、反応特異性としまして、アミロペクチンやプルランなどの α -1,6-D-グルコシド結合をエンド型で加水分解するとなっております。

「(2) 製造方法」ですが、概略は次のページの図1に示されておりますが、培養液を数段階の工程を経て製剤化され、生産菌は0.2 μ mの除菌、ろ過により分離、除去されるとされております。

「(3) 用途及び使用形態」ですが、これも2ページ目の図2に概略が示されておりますが、これはデンプン糖製造に用いられるもので、3つの工程のうち真ん中の糖化工程においてグルコアミラーゼとともに使用されます。SP962が液化工程で生成したデキストリン中の α -1,6結合を分解することにより、グルコアミラーゼが分解することができる α -1,4結合を有するデキストリンが相対的に増え、グルコアミラーゼの反応が加速し、結果としてグルコースの収量を向上させることができるというものとなっております。

3ページ「(4) 摂取量」については、ここに記載のあるとおりです。

4ページ、「第1-2 宿主及び導入DNA」ですが、(1) 使用した宿主菌は*B. licheniformis* Ca63株であり、自然界から分離された菌株となっております。

「(2) DNA供与体の種名、株名」などについてですが、表1に記載がありますが、挿入DNAは *Pul256* 遺伝子で、供与体は *B. acidopullulyticus* NCIMB 11639 株と *B. deramificans* LMGP 13056株となっております。

それ以外については、ここに記載のあるとおりです。

「(3) 挿入DNAの性質及び導入方法」になりますが、6ページ目の図3に概略の記載がされておりますが、まず宿主のCa63株染色体の●●●遺伝子座に*Pul256*遺伝子発現カセットをそれぞれ挿入しております。その際、DNA置換が起こり、●●●遺伝子が欠失され

ております。この●●●遺伝子座においては、非コード領域にDNAが挿入されたため、遺伝子の欠失は起こらなかったとされております。

また、●●●遺伝子座におけるDNA置換の結果、中間株作製段階における一連の遺伝子組換え操作により生じていた●●●遺伝子座の一部欠失は野生型の状態に戻り、代わって、当該操作により隣接する●●●遺伝子座に生じたDNA置換により、●●●の遺伝子の一部が欠失して機能を失ったとなっております。

遺伝子機能を欠損させるために行ったこととして、●●●遺伝子を欠失導入用のベクターを用いて欠失させております。

7ページ、表2として最終的に挿入されるDNAの性質が記載されております。挿入DNAの*Pul256*については、申請添加物の有効成分であるJPUL256をコードするものとなっております。このJPUL256は、比較対象である従来品のSP962のN末端側●●●アミノ酸残基を、*B. acidopullulyticus*由来のプルラナーゼであるPulCのN末端側●●●アミノ酸残基と置換したタンパク質となっております。それ以外については記載のとおりです。

表3として生産菌構築過程に脱落するDNAとしてマーカー遺伝子等について、8ページに欠失遺伝子について、●●●遺伝子についての性質が記載されてございます。説明は省略させていただきます。

続きまして9ページ以降になりますが、9ページとしてDNAの挿入方法及び欠失方法として、次のページの図5に概略が書かれております。繰り返しになりますが、まず①としてマーカー遺伝子発現カセットの挿入となります。相同組換えによりCa63株の染色体にマーカー遺伝子の発現カセットを挿入します。マーカー遺伝子は●●●遺伝子座で異なるものを用いており、表5としてそれぞれ使っているマーカー遺伝子の性質が記載されております。なお、インテグラーゼによる部位特異的組換えを利用するため、マーカー遺伝子発現カセットとともに●●●配列が挿入されております。

②として*Pul256*遺伝子発現カセットを挿入するため、遺伝子導入用ベクターpJPV006を構築し、Ca63株に導入しております。導入後、ベクター上の*int*遺伝子からインテグラーゼが菌体内で発現し、③としてベクター上の●●●配列と●●●配列が結合する。④としまして、結果、この配列の間でベクターが染色体に挿入され始めます。⑤としまして、その後、同配列である2つのmRNA安定化配列間でループアウトが起こり、⑥としましてループアウトによるマーカー遺伝子、*int*遺伝子、●●●配列は染色体より脱落し、*Pul256*遺伝子発現カセットが形成されたとなっております。

12ページ、(2) DNAの欠失方法として先ほどの*Pul256*遺伝子発現カセットを●●●遺伝子座に挿入する際、●●●遺伝子が欠失しております。また、欠失導入用ベクターを用いた相同組換えにより●●●遺伝子が欠失されておりますが、これらはセルフクロニングに該当するとされております。

13ページ、第1-3と第1-4、宿主に関する資料については記載のとおりです。

14ページ、第1-5、「遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料」としまして、

(1) 製品名はJPUL256、基原は*B. acidopullulyticus* NCIMB11639株及び*B. deramificans* LMGP 13056株となっております。

製造方法は、従来の添加物と同様で除菌ろ過により生産菌は分離除去されるとされております。

「(3) 用途及び使用形態」についても、従来と使用方法は変わりませんが、JPUL256は既存のSP962より、後ほど述べられますが、高い比活性が示されております。よって従来の添加物より少ない添加量でデキストリン等の分解を行うことができ、デンプン糖製造工程の効率化が期待できるとなっております。

(4) としまして「有効成分の性質及び従来の添加物との比較」ですが、同じ反応特異性を持つが、JPUL256は既存のSP962より約24%高い比活性を示すことが次の第1-6- (1) で記載がされております。

15ページ、第1-6- (1) として「組換え添加物と従来の添加物の相違点」になりますが、比較が表7に記載がされております。性質のところに記載がありますが、今回のJPUL256は既存のSP962よりも約24%高い比活性を示すものとして、次のページの図7に比較をしている図が記載されております。また、JPUL256はSP962のC末端側●●●残基に●●●アミノ酸に変異を導入し、N末端側に*B. acidopullulyticus* NCIMB11639株由来のプルラーゼ (PulC) の●●●アミノ酸残基を導入することによって得られており、両者のアミノ酸配列は●●●高い相同性を示すことが次の16ページ、17ページにまたぎますが、図8で記載がされております。

17ページの第1-6- (2) として「組換え体と宿主の相違点」ですが、表8に相違点が記載されております。記載にあるように挿入DNAであるPul256遺伝子は、●●●遺伝子座に1コピーずつ入っているのが、●●●挿入されていることがわかります。

18ページ、「第2 宿主に関する事項」としまして、第2-1、宿主菌株は*B. licheniformis* Ca63株となっております。

第2-2としまして、この*B. licheniformis*は自然界に広く分布し、長年安全な食経験がある上、病原性及び有害生理活性物質が生産されることは知られておりません。また、バイオセーフティーレベル1に分類されております。

第2-3、第2-4については記載のとおりです。

第2-5として近縁株についてですが、近縁種が2種類ありますが、*B. licheniformis*と同様、非病原性かつ非毒素産生性とみなされており、毒性物質を産生することが知られている*B. cereus*とは明確に区別されているとされております。

20ページ、「第3 ベクターに関する事項」になりますが、第3-1、使用した導入用ベクターの構築には、*Staphylococcus aureus*由来のプラスミドであるpE194が用いられております。

「第3-2 性質に関する事項」(1)～(3)については記載のとおりです。

(4) としまして、pE194はエリスロマイシン耐性遺伝子を持つことが記載されております。

す。

(5) (6) については記載のとおりになっております。

22ページ、「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」についてですが、「(1) 名称、由来及び分類に関する事項」としまして、表9に挿入DNAの供与体がそれぞれ記載されてございます。

23ページ、「(2) 供与体の安全性に関する事項」として、それぞれの菌に関しての記載がされておりますが、それぞれ記載にあるようにいずれもリスク群は1に分類されるものであったり、長年、酵素の生産菌の構築する際に使用されているものとして記載がされております。

25ページ、「第4-2 挿入DNA又は遺伝子及びその遺伝子産物の性質に関する事項」ですが、(1) として「クローニング若しくは合成方法に関する事項」ですが、この *Pul256* 遺伝子について、*B. deramificans* LMGP 13056株のゲノムDNAを鋳型として用い、PCRによりSP962のC末端側●●●アミノ酸をコードする *sp962* 遺伝子を得ました。また、SP962のC末端側●●●アミノ酸配列のうち●●●で置換が起こるようPCRを用いた位置特異的変異導入法で遺伝子の塩基を置換し、これを *sp962v* 遺伝子としています。一方、*B. acidopullulyticus*の株のゲノムDNAを鋳型として用い、PCRによりPulCタンパク質のN末端側●●●アミノ酸をコードする *pulCv* 遺伝子を得ております。この2つの遺伝子の配列をもとに全合成されており、この *Pul256* 遺伝子はSP962v ●●●残基のN末端側に *pulCv* の●●●残基が融合されたハイブリッドタンパク質であるJPUL256をコードするものとなっております。

(2) は記載のとおりです。

(3) としまして、「挿入遺伝子の機能に関する事項」ですが、機能としては既に述べているように、 α -1,6-D-グルコシド結合をエンド型で加水分解するものとなっております。

26ページ、JPUL256の安全性についてですが、*Pul256* 遺伝子の供与体である *B. deramificans* 及び *B. acidopullulyticus* のアレルギー誘発性の可能性を調べるため、文献検索を行ったところ、ヒットするものは得られませんでした。

2) としまして遺伝子産物であるJPUL256を有効成分とする酵素製剤について、アレルギー誘発性を示唆する報告は認められておりません。また、改変する前のプルラナーゼであるSP962もしくはPulCを有効成分とする酵素製剤についても、同様に報告は見つかっておりません。

3) としまして物理化学的処理に対する感受性についてですが、①人工胃液に対する感受性は次のページに図11として示されていますが、SDS-PAGE及びウェスタンブロット分析を行った結果、人工胃液処理開始後2分以内に完全に消化されることが示されております。

②人工腸液に対する感受性ですが、図12として28ページに記載がありますが、これもSDS-PAGE及びウェスタンブロット分析を行った結果、人工腸液処理開始後4時間以内に

完全に消化されることが示されております。

28ページ、4) としまして遺伝子産物とアレルゲンとの構造相同性に関する知見ですが、産物であるJPUL256のアレルギー誘発性の可能性を調べるため、既知のアレルゲンとの相同性検索を2つの手法で行いました。80アミノ酸残基で35%以上一致するアレルゲンの検索及び連続した8アミノ酸配列が完全に一致するアレルゲンの検索、ともに一致する既知のアレルゲンは検出されておられません。

29ページ、第4-3ですが、「挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカー遺伝子の発現に関わる領域に関する事項」としまして、(1) プロモーター、(2) ターミネーター、(3) その他として*cryIIIA* mRNA安定化配列などの記載がされておりますが、詳細については省きます。

第4-4、「ベクターへの挿入DNA組み込み方法に関する事項」ですが、これも記載にあるように、このプロセスを経て挿入DNAをpE194プラスミドに組み込み、遺伝子導入用ベクターとしてpJPV006を作製しております。

第4-5-(1) については、31ページの記載にあるとおりになっております。

32ページ、第4-5-(2) としまして、「目的以外のタンパク質を組換え体内で発現するオープンリーディングフレームが含まれないこと」として、ここに記載がされておりますが、相同組換えにより宿主に挿入される領域は明らかであり、JPBL002株の各遺伝子とのシーケンス解析により確認されていることから、pJPV006の全配列を対象としたORF解析は行われておりません。

それ以外については、後ほど第5-2-(2) で述べさせていただきます。

第4-5-(3) (4) については、記載にあるとおりです。

33ページ、「第4-6 DNAの宿主への導入方法に関する事項」となりますが、これも繰り返しにはなりますが、初めに●●●遺伝子座にマーカー遺伝子発現カセットを挿入し、次に*Pul256*遺伝子発現カセットを持つ遺伝子導入用ベクターpJPV006を菌体内に導入し、JPUL256の産生量が高い形質転換体を選択したところ、意図したとおり●●●遺伝子座に*Pul256*遺伝子発現カセットが挿入されたと記載がされております。

それぞれの遺伝子座について以下に説明がされておりますが、例えば●●●遺伝子座においてはマーカーとして●●●が挿入されており、●●●指標に形質転換体を選択しております。

次に34ページ②ですが、導入用ベクターを菌体内に導入しインテグラーゼが発現します。③として●●●遺伝子発現カセット内のループアウトが起こり、結果、得られた形質転換体は●●●を示したとなっております。

ほかの●●●遺伝子座についてもマーカーが違うというところでありますので、詳細な説明は省かせていただきます。

36ページ、「第4-7 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項」ですが、遺伝子導入用ベクターpJPV006にはエリスロマイシン耐性遺伝子を持ちますが、宿主の染色体

には導入されていないことをゲノムシーケンス解析により確認がされております。

42ページ、「第5 組換え体に関する事項」としまして、第5-1、宿主との差異に関しては記載のとおりです。

第5-2- (1) としまして、*Pul256*遺伝子発現カセットが1コピーずつ挿入され、JPBL002株に抗生物質耐性遺伝子を含むT-DNA領域外配列が存在しないことをゲノムシーケンス解析により確認しております。

それぞれの遺伝子座の構成要素が次の表11から表15まで記載がされております。詳細の説明は省かせていただきます。

47ページ、第5-2- (2) としまして、「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」ですが、生産菌に挿入されるDNAは、ここに記載のある●●●遺伝子座に挿入された領域である遺伝子座において、ORF検索を行った結果、それぞれ●●●とかあるのですが、合わせると合計615個のORFが検出されております。それぞれに対しまして1) としまして既知のアレルゲンとの相同性検索を行ったところ、①としまして80アミノ酸残基で35%以上一致するアレルゲンの検索を行ったところ、●●●においてアレルゲンが1種検出されたとされております。ただ、精査をしたところ、この1種に関しては宿主ゲノム側の配列であり、かつ、挿入遺伝子との境界部分を含まないことが示されたことにより、この1つについては分析対象外としております。それ以外の●●●においては、構造相同性を示すものの検出はされております。

48ページ、②としまして連続した8アミノ酸配列が完全に一致するアレルゲンの検索ですが、同様に検索を行ったところ●●●においてアレルゲンが1種検出されております。これについても精査をしたところ、先ほどと同様の理由にはなりますが、宿主ゲノム側の配列であり、挿入遺伝子との境界部分を含まないことが示されたことから分析対象外としております。また、それ以外の●●●では、一致する構造相同性は検出されております。

2) としまして、既知の毒性タンパク質との相同性検索を●●●遺伝子座でそれぞれ行ったところ、各遺伝子座において●●●されておりますが、●●●としております。結果としましては、導入によって新たに生じたORFが発現したとしても、本酵素製剤中にアレルギー誘発性または毒性を有するタンパク質が含まれる可能性は低いと考えられると示されております。

続きまして第6、50ページになりますが、「第6-1 添加物の製造原料又は製造器材としての使用実績があること」として、食品用酵素の製造に長い間使用されていることが記載されております。

51ページ、第7-1としまして、アメリカではこの商品はGRASとして安全性が確認されております。

第7-2としまして、「組換え体の残存に関する事項」ですが、解析の結果は次のページの図24にあります。製品中に組換え体DNAが残存しないことをドットブロット分析により確認されております。

52ページ、53ページになりますが、第7-3から第7-5については記載のとおりとさせていただきます。

結果としまして、まとめですが、55ページになりますが、以上のことから本申請品目は安全であると考えられる旨、記載がされております。

説明は以上になります。

○中島座長 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この御意見をいただきたいと思います。少々長いので、まずは1ページから21ページ、ベクターに関する事項までのところでございますでしょうか。

○児玉専門委員 安全性とは直接関係しないのですけれども、1ページ目の反応特異性の表現なのですが、ほかにも出てくるのですけれども、当該酵素が関与する α -1,6-結合は少なくともマルトース以上の長さを持つと書いてあるのですが、マルトースは α -1,4なので「二糖以上の長さを持つ」でいいのではないかと思うのですが。

○中島座長 もっともだと思うのですが、ここはそのように直していただくように、私も二糖でよろしいかと思しますので、ここは直すようにお伝えいただければ。

○児玉専門委員 何箇所か出てきますので。

○中島座長 確かに何箇所かありますね。

それでは1つだけ、やはり要旨の1ページ、まずここでは比較対象が説明されておるのですが、この比較対象というのも *B. deramificans*由来のプルラナーゼを *B. subtilis*で生産させておるので、これも組換えです。評価基準の上では比較対象は非組換えでなければならぬと、そういうことは求めておりませんで、比較対象に審査済みの組換えを使っている前例もありますので、私は問題ないと思うのですけれども、その点はよろしいでしょうか。その点はよろしいということで確認させていただきます。

それでは、第4、申請書では22ページから41ページまでの挿入DNA、遺伝子産物、発現ベクターの構築、この辺についてございますでしょうか。今回、割と手の込んだことをしております、もとのプルラナーゼについてN末端●●●ということで、そこはちゃんとそのようになっておまして、製品のほうが●●●となっております。それで比活性は24%上昇というもので、これを染色体の●●●に導入しておまして、そのたびにマーカーが違いますので、手の込んだことをしておるようになりますが、私もその辺を見させていただきましたけれども、私は特に問題ないかなと思ったのですが、先生方からこの点についてございますでしょうか。

○吉川専門委員 1つ、今のところですけども、SP962のC末端とPulCというのをN末端で合わせている。その中で●●●アミノ酸置換を行っている。これはどちらがどういう効果があるのかここではよくわからなかったのですが、あまりあれですか。

○中島座長 実はその効果は、どちらのおかげで24%上がっているのか、これは私も少々興味があるところで安全性とは直接関係ないと思うのですが、せっかく申請者が見え

ておりますので、この点については御質問いただければと思います。

○吉川専門委員 同じ25ページでハイブリッドタンパク質という表現がありますけれども、これは用語の問題ですが、どちらかというキメラタンパク質のほうがいいのではないかと。どうですか。ハイブリッドタンパク質という言い方を使うのですか。

○中島座長 どうでしょうかね。この場合は2種類のタンパク質、ちょうどぴったり継いでいるのでキメラというほうが近いと思いますが、ハイブリッドという言葉が今まであったかどうかということなのですが、どうでしょう。

○澤田専門参考人 融合という言葉をつまみにしています。

○中島座長 そうだったように思いますので、キメラもたしかあまり使ってこなかったと思いますので、言葉の問題なのですが、ここは融合にさせていただくほうが今までと整合性がとれるように思います。事務局はいかがですか。

○内海課長補佐 今、確認中なのですが、過去に評価書の中でハイブリッド遺伝子という形で使っています。タンパク質を表現する場合に、今おっしゃられたように融合タンパク質という表現のほうが適切ということであれば、そのように記載を改めます。

○中島座長 この辺は感覚の問題なのですが、先生方がいかがでしょうか。私はその3つのうちでは融合にしてもらうのがいいように思うのですが、よろしいですね。では、融合ということをお願いいたします。

○吉川専門委員 あと、これも直接関係ないかもしれませんが、22ページ、23ページにそれぞれ分類がFamily、Genus、Speciesと書いていますが、どうしてFamilyのところだけイタリックにしていないのか。これは意味がないですね。Familyもイタリックにしないとけないですね。18ページにもあります。

○中島座長 一般にFamilyから上はイタリックにしなかったように思うのです。たしか分類学上のルールだったと思うのですけれども、イタリックにするのは属名よりも、Genusよりも下であったと思います。

○山川専門委員 正確に言うと属名と種名までで、品種名なんかはイタリックにしません。

○中島座長 ですよ。そういうことですので、ここはこれでよろしいかと思います。

○吉川専門委員 私は植物ベースの分類をやっていますので、その場合、割とFamilyもイタリックで文献には使うというのがあります。でも結構です。

○中島座長 第5～8、申請書の42ページから最後まででございますでしょうか。またお気づきの点がありましたらさかのぼっても結構ですので、御意見をお願いいたします。

○児玉専門委員 24ページのところに遺伝子供与体の話、DNA子供与体の記述があるのですが、*B. deramificans*は厚生省時代に1回審査が通っているということなので、そちらは問題ないのかなと思うのですが、*B. acidopullulyticus*はブルラナーゼの供与体としてはよく出てくるようではあるのですが、ざっと調べたところ正式な種としてはなかなか出てこない。菌株の供与機関のホームページをたどっても直接は出てこないのです。どうも特許株みたいで情報がとりにくい菌のようでして、それはそれで構わないのですが、

*Bacillus*属の病原性を持つような菌との近さというのが直接書かれていないので、系統樹的にちゃんと違うグレードにいますよとか、そういう記述というか情報は教えていただきたいと思います。

○中島座長 私も実はこの菌の名前は余り聞いたことがありませんで、気になったところなのですが、まずは申請者に質問してみるということで、それで後ほど情報を寄せていただいたのでもいいのですが、そういうことでよろしいですか。ありがとうございます。

○小関専門委員 1点よろしいでしょうか。私の見間違いか勘違いかなとずっと思っていたのですが、ドットプロットのときに500 ngのリファレンスを入れて、そんなに強く光っていないというのは何か書き間違えたのかな。

○児玉専門委員 それは前回もあって、同じだと思います。要するに1グラムのサンプルに入れてDNAを抽出してカラムで精製してエタ沈しているの、結局10%しか残っていない。

○小関専門委員 やはりそれと同じですよ。わかりました。

○中島座長 そうだろうと私も思いました。

○手島専門委員 安全性とは直接関係しないのですが、28ページで4) ①、FARRPのデータベースでアレルゲンとの相同性検索をしているところで、このデータベースは80アミノ酸残基以上で35%以上一致するアレルゲンの検索ということですので、ここでは80アミノ酸残基以上という言葉を入れていただきたいと思います。

同じことが47ページなのですが、これはオープンリーディングフレームと既知アレルゲンとの相同性検索ところでも、下から18行目でございます。①で80アミノ酸残基以上ということで入れていただきたいと思います。

48ページ、ORFで1つ、①の検索でAsp O 21の相同性が見つかって、今度18ページの②で連続した8アミノ酸残基のアレルゲン検索とあるのですが、これは社内文書14を見ると、こちらの検索ではひっかからなかったとなっておりますので、確認をして訂正をしていただければと思います。

以上です。

○中島座長 これの規定はたしか80アミノ酸以上について35%以上でしたっけ。

○手島専門委員 データベースによって80アミノ酸をスライドさせているというのもあるのですが、こちらのデータベースでは80アミノ酸以上で調べていますので。

○中島座長 サーチの仕方には多少あって、こちらでは80アミノ酸以上でのサーチのはずだから、そういうことですか。

○手島専門委員 はい。それは社内文書に出ています。

○中島座長 ということであれば、一応、確認して訂正を求めてください。

○児玉専門委員 1つよろしいでしょうか。42ページ目の抗生物質耐性遺伝子を含むT-DNA、目的外領域が存在しないことはゲノムシーケンス解析に確認していると書いてあって、社内文書13とって開けて見てみたのですが、全然問題はないのですが、次

世代シーケンスのこれぐらいやっていますよという基準があったほうがいいのかと思ひまして、例えばシングルコピーの遺伝子は冗長度で幾つぐらいで読んだ場合のシーケンスにおいて確認されなかったとか、要するに信頼度の問題を少しここに記述として載せておいたほうがよろしいかなと思ひた次第です。

○中島座長 実私もそこは思ひまして、現時点の技術で言う次世代シーケンサーの場合はある程度の冗長度と、端がちゃんと出てきているという確認はないと不安で、彼らもそのデータはとっているはずなので、その辺については書き加えていただくということを要求してください。彼らにとっても別に追加実験が必要ということではないはずですので、以後、同じようなケースの場合も要旨のほうに冗長度など、ゲノムシーケンスを行った場合にはゲノムシーケンスの信頼性に関する情報を書き加えるように言っただけでとありがたいと思ひます。

以後そういうふう書いてあれば、我々も一目で安心できますので、そのようにお願いできればと思ひます。

○森山評価専門官 今回は社内文書の修正と申請書の修正をするということでしょうか。

○中島座長 社内文書はそれはそれでいいので、申請書のほうにそこだけ、多分2行ぐらいつけ加わるかなという感じだと思ひるので、それで十分です。

○森山評価専門官 わかりました。

○中島座長 このくらいでよろしいでしょうか。

それでは、質問事項ですが、たしか2点ほど。1つはキメラというかハイブリッドというか融合ですけれども、融合タンパク質をつくって比活性を上げているわけですが、これはキメラに作ったことによって上がっているのか、それとも●●●置換がありますが、これによっているものなのか、この点を安全性に直接関係するわけではありませんが、そこをお聞きしたいということ。もう一つ、ここで出てくる24ページ、供与体の *B. acidopullulyticus* の株についての安全性情報についてお尋ねしたいということだと思ひます。

それ以外にも申請者の方をお呼びしますので、直接聞いていただければと思ひます。では、お呼びいただけますか。申請者の方の用意が整うまで、若干休憩となります。

(休 憩)

○中島座長 お待たせいたしました。本日はお忙しいところありがとうございます。

それでは、説明者の方、自己紹介をお願いいたします。会社名とお名前だけで結構です。

○橋田説明者 ノボザイムズジャパンの橋田でございます。

○村戸説明者 ノボザイムズジャパンの村戸でございます。

○高橋説明者 同じく高橋と申します。よろしくお願ひします。

○中島座長 ありがとうございます。それでは、質疑応答に入りたいと思ひます。

まず、この融合タンパク質SP962のN末端の●●●アミノ酸を削ってPulCの●●●アミノ酸を足して、さらにC末端側の●●●アミノ酸に変異を入れているようですが、これ従来品よりも24%高い比活性が達成されたということなのですが、N末端のドメインの置換のほうが物を言っているのか、それともC末端の●●●アミノ酸の置換のほうが効いているのか、その辺もし差し支えなければ教えていただけるとありがたいのですが。

○橋田説明者 これは実際にやった人間でないとわかりかねますので、確認させていただきたいと思います。

○中島座長 ありがとうございます。仕方ないですね。

もう一つ、これで用いている *B. acidopullulyticus* の株はあまりメジャーな株ではありませんで、*Bacillus* 属は非常に幅が広くて、中には病原性があるようなものとか、そのようなものも知られていれば、人畜無害なものも知られておまして、この株がどの辺に位置づけておるのかとか、この株の安全性についてももう少し情報をいただけるとありがたいのですが。

○橋田説明者 これは1980年ごろに弊社で土からアイソレートしたものでして、当時のマニュアルに基づきまして *Bacillus* であることはまずわかりました。その後、そのころは生化学的な特徴で既存のものと比較をするのですけれども、そのときには少なくとも *licheniformis* とか *subtilis* とは違う生化学的性質を示したということで、特許的な目的で、結構その当時はそういうことはよくあったのですが、自分たちでスピーシスをつくって新種であるということをしました。

この菌は実はこの後、non-GMのプルラナーゼの生産菌として30年ぐらい、2010年ぐらいまでは製品があったのですけれども、そのころに生産をストップしてしまった、あるいはGMに切りかわっているのですけれども、30年ぐらい安全に用いられたという実績がございましたのと、1980年代にももちろんプルラナーゼの毒性試験もやったのですが、生産菌自身がパソジェニックかどうかという試験も行っておりまして、それはレポートといひますかアーティクルがございますので、ネズミに投与しても特に問題がないことが示されたアーティクルがございますので、それは後から提出させていただきたいと思います。

○中島座長 ありがとうございます。

この株は最近になって例えばゲノム解析してクレード分けしているとか、そのような手間までは踏んでおらない。

○橋田説明者 今、申し上げたように生産菌としても使っておりませんので、あえて例えば16SのRNAとか、そういう試験は全く行っていないということになっております。

○中島座長 ありがとうございます。よろしいですね。年代から考えてそんなところだろうと思いますので、それで特に安全性どうこうという問題ではなからうかと思ひます。

先生方、ほかにありますでしょうか。では、お忙しいところありがとうございました。これで終わります。

○橋田説明者 どうもありがとうございました。

(説明者退室)

○中島座長 それでは、審議に戻りたいと思います。ただいまの説明を踏まえた上で御意見、コメント等ありましたらお願いいたします。特に安全上の問題はないように思いますが、これでよろしいでしょうか。ありがとうございます。

それでは、本件につきましては特に安全上、問題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。説明をお願いいたします。

○森山評価専門官 それでは、評価書案の説明に入ります。

評価書案の束になっている紙の6ページ目をお願いします。「Ⅰ. 評価対象添加物の概要」としまして、品目はJPBL002株を利用して生産されたプルラナーゼ。用途はデンプン糖製造時の糖化効率の向上としております。

本添加物は、*B. licheniformis* Ca63株を宿主とし、*B. acidopullulyticus* NCIMB 11639株由来のプルラナーゼ遺伝子の一部領域及び*B. deramificans* LMGP 13056株由来の変異型プルラナーゼ遺伝子の一部領域の、今ここハイブリッド遺伝子と書いていますが、融合遺伝子に修正をいたします。融合遺伝子を導入して作製したJPBL002株を利用して生産されたプルラナーゼである。また、本添加物はアミノペクチンやプルランなどの α -1,6-D-グルコシド結合をエンド型で加水分解する酵素であり、デンプン糖製造時において糖化効率の向上を目的として使用されます。

「Ⅱ. 食品健康影響評価」としまして、第1の「1. 従来の添加物の性質及び用途等に関する資料」ですが、(1) 名称はプルラナーゼ (SP962)、基原は*B. deramificans* LMGP 13056株となっております。

「(2) 製造方法」SP962は培養工程、ろ過等の製剤化工程を経て製造されます。生産菌は2回の除菌ろ過により分離除去されます。

「(3) 用途及び使用形態」ですが、SP962はデンプン糖製造の糖化工程においてグルコアミラーゼとともに使用されます。デンプン糖の液化後に生成したデキストリンの α -1,6-D-グルコシド結合をSP962が分解することにより、グルコアミラーゼが分解する α -1,4-D-グルコシド結合を有するデキストリンが相対的に増加し、糖化効率を向上させることを目的として使用されると記載をしております。

「(4) 摂取量」については記載のとおりとなっております。

7ページ「2. 宿主及び導入DNA」ですが、(1) 宿主は*B. licheniformis* Ca63株で、自然界から分離された菌株となっております。

(2) DNA供与体の種名ですが、プルラナーゼ (*Pul256*) 遺伝子の供与体は、*B. acidopullulyticus* NCIMB 11639株及び*B. deramificans* LMGP 13056株となっております。

(3) 挿入DNAの性質及び導入方法ですが、*Pul256*遺伝子はSP962のC末端側の一部アミノ酸に置換を生じるよう変異導入し、N末端側一部領域を*B. acidopullulyticus*由来のプルラナーゼ (*PulC*) のN末端側一部領域に置換したプルラナーゼ (JPUL256) をコードす

る。*Pul256*遺伝子発現カセットをインテグラーゼにより宿主ゲノムの複数の遺伝子座に導入した。その際、*Pul256*遺伝子発現カセットが挿入された遺伝子座のうち、一部の遺伝子座において遺伝子欠失が確認された。なお、生産菌の作製に当たり、*aprL*遺伝子を含む複数種類の遺伝子を、欠失導入用ベクターを用いた相同組換えにより欠失させたと記載しております。

「3. 宿主の添加物製造への利用経験又は食経験に関する資料」「4. 宿主の構成成分等に関する資料」については、記載のとおりとなっております。

「5. 遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料」ですが、製品名はJPUL256と記載しております。

8ページ「(2) 製造方法」は、従来の添加物と同様に培養工程、ろ過等の製剤化工程を経て製造されております。生産菌は、2回の除菌ろ過により分離除去されます。

「(3) 用途及び使用形態」ですが、デンプン糖製造の糖化工程において、グルコアミラーゼとともに使用することでグルコースの収量を向上させると記載しております。

「(4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較ですが、JPUL256は従来のSP962と同じくアミノペクチンやプルラン等の α -1,6-D-グルコシド結合をエンド型で加水分解します。JPUL256はSP962と比較して高い比活性（酵素タンパク質単位重量当たりの酵素活性）を示すと記載しております。

6. (1) としまして遺伝子組換え添加物と従来の添加物の相違点ですが、構造遺伝子の基原及びアミノ酸配列が異なることにより、JPUL256はSP962と比べ高いプルラナーゼ比活性を示す点であると記載をしております。

(2) 組換え体と宿主の相違点ですが、JPBL002株には*Pul256*遺伝子が複数コピー導入され、JPUL256生産性を獲得している点及びJPUL256の生産性を高めるため、*aprL*遺伝子を含む複数種類の遺伝子が欠失している点であると記載をしております。

以上の1~6から、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、以降の事項について評価を行っております。

第2としまして、「宿主に関する事項」

1. 宿主は*B. licheniformis* Ca63株である。
2. 病原性及び有害生理活性物質については、そういう報告はなく、バイオセーフティレベル1に相当すると記載しております。
3. 寄生性及び定着性に関する事項、4. 外来因子に汚染されていないことに関する事項、5. 近縁株については記載のとおりです。

9ページ「第3. ベクターに関する事項」ですが、1.としまして遺伝子導入用ベクターpJPV006の作製には、*Staphylococcus aureus*由来のプラスミドpE194が用いられた。

2. 性質に関する事項についてですが、これに関しては記載のとおりとなっております。「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」ですが、1. 挿入DNAの供与体に関しまして、供与体は*B. acidopullulyticus* NCIMB 11639株及び*B.*

deramificans LMGP 13056株となっております。

10ページ、(2)としまして安全性に関する事項は、ともにバイオセーフティーレベル1に相当すると記載しております。

2. 挿入DNA又は遺伝子及びその遺伝子産物の性質に関する事項ですが、(1)としまして *Pul256*遺伝子は *SP962v*遺伝子の5'側に *pulCv*遺伝子を連結させた融合遺伝子である。*sp962v*遺伝子は、*B. deramificans* LMGP 13056株のゲノムからPCRにより得られた *SP962*のC末端側約600アミノ酸をコードする塩基配列について、十数アミノ酸に置換が生じるよう位置特異的に変異導入して得られた。*pulCv*遺伝子は *PulC*のN末端側約200アミノ酸をコードし、*B. acidopullulyticus* NCIMB 11639株のゲノムからPCRにより得られたと記載をしております。

(2)については記載のとおりとなっております。

「(3)挿入遺伝子の機能に関する事項」ですが、①としまして挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見としまして、アレルギー誘発性の可能性を調べるため文献検索を行った結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかったと記載をしております。

②遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する知見ですが、*JPUL256*を有効成分とする酵素製剤についてアレルギー誘発性を示唆する報告はない。なお、*SP962*及び *PulC*を有効成分とする酵素製剤についても同様にアレルギー誘発性を示唆する報告はない。また、*B. acidopullulyticus*及び *B. deramificans*のプルラナーゼのアレルギー誘発性の可能性を調べるため、文献検索を行った結果、アレルギー誘発性に関する報告はなかったと記載しております。

③感受性に関する知見ですが、11ページになりますが、aとしまして人工胃液に対する感受性は、*SDS-PAGE*分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、両試験において試験開始後2分以内に分解されることが示されております。

b. 人工腸液に対する感受性ですが、同様に *SDS-PAGE*とウェスタンブロット分析を行った結果、4時間以内に分解されることが示されております。

④としまして、*JPUL256*と既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を確認するため、アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った結果、連続する80アミノ酸以上で35%以上の相同性を示す既知のアレルゲン及び連続する8アミノ酸配列が一致する既知のアレルゲンは検出されておられません。

3. 挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカー遺伝子の発現にかかわる領域に関する事項ですが、それぞれプロモーター、ターミネーターその他については、こちらの記載にあるとおりとなっております。

12ページに移りますが、4 としまして「ベクターへの挿入DNAの組み込み方法に関する事項」ですが、プラスミド *pE194*にインテグラーゼをコードする *int*遺伝子、*aprH RBS*配列、*cry3A* mRNA安定化配列、インテグラーゼ認識配列及び *Pul256*遺伝子断片等を挿入し、遺伝子導入用ベクター *pJPV006*を作製したと記載しております。

「5. 構築された発現ベクターに関する事項」ですが、(1)～(4)については記載のとおりです。

「6. DNAの宿主への導入方法に関する事項」ですが、あらかじめ宿主ゲノムの各標的遺伝子座にマーカー遺伝子発現カセット（P3プロモーター、*cry3A* mRNA安定化配列、インテグラーゼ認識配列を含む。）を相同組換えにより導入し、各マーカーにより形質転換体を選択した。

続いて、遺伝子導入用ベクターpJPV006を導入し、ベクター上の*int*遺伝子が発現するインテグラーゼの作用により、ベクター上のインテグラーゼ認識配列とゲノム上の同配列の間でDNA挿入が起こり、ベクターの全配列が宿主ゲノムに挿入された。形質転換体はエリスロマイシン耐性により選択した。その後、マーカー遺伝子発現カセット内の*cry3A* mRNA安定化配列と*Pul256*遺伝子発現カセット内の同配列の間でループアウトが起こり、マーカー遺伝子や*int*遺伝子、インテグラーゼ認識配列は宿主ゲノムから脱落した。なお、マーカー遺伝子発現カセット内のP3プロモーター及び*cry3A* mRNA安定化配列は、そのまま宿主ゲノム上に残り、*Pul256*遺伝子発現カセットの一部として機能すると記載しております。

「7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項」ですが、ベクターpJPV006はエリスロマイシン耐性遺伝子を持つが、宿主のゲノムには導入されていません。また、1か所の遺伝子座にマーカー遺伝子としてカナマイシン耐性遺伝子が導入されていますが、相同組換えに脱落しており、抗生物質耐性マーカー遺伝子が存在しないことを標的遺伝子座のシーケンス解析により確認をしております。

「第5. 組換え体に関する事項」として、「1. 宿主との差異に関する事項」、「2. 遺伝子導入に関する事項」は、記載のとおりとしております。

「(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」ですが、挿入DNAと宿主ゲノムの接合部位に生じるORFの有無を調べるため、ORF検索を行った結果、6つの読み枠において終止コドンから終止コドンで終結する連続する30アミノ酸以上のORFが合計615個検出された。これらのORFと既知のアレルゲンとの相同性の有無の確認をするため、アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った結果、連続する80アミノ酸残基以上で35%以上及び連続する8アミノ酸配列が完全に一致する既知のアレルゲンは検出されなかった。さらにこれらのORFと既知の毒性タンパク質の相同性の有無を確認するため、データベースを用いて検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は認められなかったと記載しております。

14ページ、第6の1、2については記載のとおりです。

第7、1としまして諸外国における認可ですが、JPUL256はアメリカで2016年にGRASとして認証がされております。

2. 組換え体の残存に関する事項ですが、ドットプロット分析によりJPUL256製剤中には組換えDNAが残存しないことが確認された。

3～5については、記載のとおりとなっております。

第8としまして、第2から第7までの事項により、安全性の知見は得られていると記載しております。

評価書案の説明は以上となります。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、先生方から評価書案について御意見をいただきたいと思えます。

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えますが、よろしいでしょうか。

それでは、先ほど修正箇所等々もございまして、確認いたしまして食品安全委員会に報告し、パブリックコメント等の手続に入りたいと思えます。ありがとうございます。

それでは、本日2件目に行きたいと思えます。除草剤グリホサート及び4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性ワタGHB811について、食品と飼料と両方出ておりますが、まず食品についての審議を行いたいと思えます。新規品目です。

では事務局から説明をお願いいたします。

○山口係長 申請書の説明に入ります前に、審議の進め方について御説明いたします。

冒頭で御紹介いたしましたが、本日は申請者のバイエルクロップサイエンス株式会社をお呼びしておりますので、申請書の御審議をいただいた後に、申請者に対する質問事項等があれば整理していただきたいと思えます。その後に説明者に入室していただき、質疑応答を行います。質疑応答終了後、説明者には退室していただき、審議を再開していただくこととしております。

それでは、申請者から提出されております申請資料について御説明いたします。

お手元に緑色のファイルをお願いいたします。2つございまして、1つが食品のほうなのですが、最後に要旨と書かれているほうでございます。

それでは、御説明いたします。まず1ページ目、第1-1の項目でございます。

(1) 宿主でございますが、アオイ科ワタ属ワタであります商業品種Coker312を使用しております。

(2) DNA供与体についてですが、本系統には2つの遺伝子を導入してございまして、1つ目はトウモロコシ由来の2mepsps遺伝子、そして2つ目として*Pseudomonas fluorescens*由来のhppdPFW336-1Pa遺伝子でございます。

(3) 挿入DNAの性質等についてでございますが、2mepsps遺伝子産物であります改変5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素は、除草剤グリホサート耐性を付与し、また、hppdPFW336-1Pa遺伝子産物であります改変4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼは、HPPD阻害型除草剤耐性を付与します。なお、これらの遺伝子はアグロバクテリウム法により導入されております。

なお、2mepsps遺伝子は、過去に食品としての安全性が確認されましたグリホサート耐性ワタGHB614系統に導入された遺伝子と同一でございまして、また、hppdPFW336-1Pa

遺伝子は、食品として過去に安全性が確認されました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系統に導入された遺伝子とコドンと比較し、発現が最適化されるように改変されておりますが、タンパク質のアミノ酸配列は同一でございます。

2ページ目の2から3ページ目の5までにつきましては、記載のとおりでございます。

3ページ目の6といたしまして、検討が必要とされる相違点でございますが、導入遺伝子2mEPSPSタンパク質及びHPPD W336タンパク質が産生される点を除き、従来ワタと相違はないため、本系統は比較対象となり得る既存の品種があるとしております。

第2といたしまして利用目的及び利用方法に関する事項ですが、2mEPSPSタンパク質により除草剤グリホサート耐性が、HPPD W336タンパク質によりHPPD阻害型除草剤耐性が付与され、それぞれの除草剤を散布しても影響を受けずに生育することができ、効率的な雑草防除が可能となります。HPPD阻害型除草剤は発芽前、グリホサートは発芽後に使用されるため、互いに補完的に雑草を管理することができるとしております。

5ページ、第3、宿主に関する事項でございますが、1及び2については記載のとおりでございます。

3といたしまして、有害生理活性物質ですが、ゴッシポール及びシクロプロペン類が含まれております。

4のアレルギー誘発性についてですが、ワタが原因となる食物アレルギーが生じたという報告はございません。

5の項目といたしまして、ワタの病気として知られているものがございまして、それらの病原菌が人に感染するということは知られておりません。

6及び7につきましては、記載のとおりでございます。

続きまして7ページに移りまして第4、ベクターの項目について御説明いたします。

1については、記載のとおりでございます。

2の性質ですが、(3)では導入用プラスミドの外骨格領域の遺伝子配列の性質は明らかであり、既知の有害塩基配列は含んでいないという旨を記載しております。

(4)ベクター中の薬剤耐性遺伝子の有無についての項目ですが、導入用プラスミドの外骨格領域にはアミノグリコシド系の抗生物質を有しており、選抜マーカーとして用いられております。

なお、この*aadA*遺伝子はT-DNA領域外に存在しており、GHB811のゲノム中には存在しないことがサザンブロット分析により確認されております。

(5)伝達性については、伝達を可能とする配列は含まれていないということです。

第5といたしまして8ページ目から、挿入DNA等に関する記載がございます。

1(1)ですが、挿入DNAの供与体につきましては、先ほどの繰り返しの説明になりますが、トウモロコシ由来の2*mepsps*遺伝子、そして2つ目として*P. fluorescens* A32株由来の*hppdPFW336-1Pa*遺伝子でございます。

(2)安全性については、2*mepsps*遺伝子の供与体であるトウモロコシは長期にわたる

食経験があり、米国食品医薬品庁が定めるアレルゲン表示対象品目や消費者庁が定めるアレルゲン表示義務及び奨励対象品目には挙げられておりません。

*hppdPFW336-1Pa*遺伝子の供与体であります*P. fluorescens*は自然界に広く存在し、魚類や無脊椎動物に感染します。しかしながら、その至適生育温度は25～30℃であり、これより高い体温であるヒトでは十分な生育ができないため、日和見病原体を超えるほどの病原性は持たないとされており、実際に米国におきましても農業現場で安全に使用されており、米国環境保護庁は*P. fluorescens*を有効成分として含有する生物農薬をヒトの健康に悪影響を及ぼすものではないと評価をしております。

2 (1) 挿入遺伝子のクローニング方法等については、*2mepsps*遺伝子はトウモロコシからクローニングされた*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、そして106番目のアミノ酸を置換する変異が導入されております。

*hppdPFW336-1Pa*遺伝子は、*P. fluorescens*からクローニングされました*hppd*遺伝子がコードするHPPDタンパクのC末端にあります336番目のアミノ酸を置換する変異が導入されております。

9ページに移りまして、(2)については記載のとおりでございます。

(3) 挿入遺伝子の機能でございますが、まずAとしまして*2mepsps*遺伝子の機能ですが、EPSPSタンパク質は、芳香族アミノ酸の生合成経路でありますシキミ酸経路を触媒する酵素の1つであり、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-リン酸とリン酸を生ずる反応を触媒します。除草剤耐性グリホサートはEPSPSタンパク質を阻害してシキミ酸経路をとめ、その結果、芳香族アミノ酸が合成できなくなり植物は枯死します。今回はEPSPSタンパク質に変異を2か所導入することで、グリホサートとの結合親和性を低下させ、2mEPSPSタンパク質がグリホサートにより活性阻害を受けず、植物はグリホサートの存在下でも生育が可能となります。また、同遺伝子がコードするタンパク質と既知の毒性タンパク質との構造相同性に関しましては、タンパク質のデータベースによる検索の結果、既知の毒性タンパク質の相同性は認められませんでした。

Cとしまして*hppdPFW336-1Pa*遺伝子の機能でございますが、HPPDタンパク質はチロシン代謝経路において4-ヒドロキシフェニルピルビン酸からホモゲンチジン酸を生じる反応を触媒します。ホモゲンチジン酸はフマル酸やアセト酢酸への代謝のほか、トコトリエノール等の合成にも利用され、光合成電子伝達系や抗酸化反応に必須な化合物でございます。HPPD阻害型除草剤の1つであります除草剤イソキサフルトールは、植物体内で速やかにジケトニトリル構造物へと代謝され、4-ヒドロキシフェニルピルビン酸と競合してHPPDタンパク質の活性部位に結合することにより、その活性を阻害します。その結果、ホモゲンチジン酸の生産ができなくなり枯死するというものでございます。今回はHPPDタンパク質のアミノ酸配列の1か所に変異を導入し、ジケトニトリル構造物への結合親和性を低下させ、HPPD W336タンパク質がジケトニトリル構造物による活性阻害を受けず、HPPD阻害型除草剤の存在下でも生育が可能となります。

12ページに移りまして、この遺伝子がコードします既知の毒性タンパク質の構造相同性に関しましては、タンパク質のデータベースによる検索の結果、既知の毒性タンパク質との相同性は認められないということでした。

下に移りまして(4)抗生物質耐性マーカー遺伝子に関してですが、導入用プラスミドにはアミノグリコシド系抗生物質耐性を付与する*aadA*遺伝子が含まれるものの、今回の評価対象品目でありますGHB811には含まれていないことを確認しているということになります。

続いて3でございますが、(1)プロモーター、(2)ターミネーター、(3)その他の配列については記載のとおりでございます。

13ページに移りまして、4についても記載のとおりでございます。

5でございますが、17ページ(2)になります。こちらではORFの解析の結果、目的外のタンパク質を発現するORFは含まれていないと考えられること。(3)意図する挿入領域については、右側境界領域から左側境界領域までのT-DNA領域であること。(4)として導入用プラスミドは純化されており、目的外遺伝子の有無については含まれていないことをシーケンス解析により解析している旨、記載をしております。

6といたしましてDNA宿主への導入方法及び交配についてでございます。導入方法はアグロバクテリウム法となっております。宿主でありますCoker312の胚軸とヘルパープラスミド、導入プラスミドを含むアグロバクテリウムをMS培地で共存培養し、さらに抗生物質及びグリホサートを含むMS培地に移植し、体細胞胚形性能を持つカルスを培養し、植物体を再生させております。このうちHPPD阻害型除草剤に抵抗性のある個体を選抜し、それ以降の育種に用いております。

19ページ、第6、組換え体に関する事項でございます。1(1)から始まりまして、コピー数等について実験結果が45ページにかけて記載されております。こちらの内容を要約いたしますと、まずコピー数についてですが、サザンブロット分析の結果、供試した世代において1コピーであったこと。そして導入遺伝子の挿入部位及び近傍配列についてシーケンス解析を行った結果、挿入位置において13 bpの欠失が確認された以外は導入用プラスミドのT-DNA領域及び宿主品種の挿入位置に隣接する配列と同一であったこと。

飛びまして38ページ目、T-DNA領域以外に挿入された領域はないこと。それから、44ページでは、近傍配列は宿主由来であることを確認しております。また、DNAの挿入に伴い内在性の遺伝子の影響について検討しましたところ、相同性検索の結果、そのような可能性は低いと考察されております。

46ページ(2)でございますが、ORFの有無について記載をしております。ORFを終止コドンに挟まれたものとして検索しました結果、両近傍配列の境界部及び挿入遺伝子中に30アミノ酸以上の長さを持つものとして126個ございました。既知のアレルゲンとの相同性については、80アミノ酸以上のORFについて登録されているアレルゲンのアミノ酸配列と、少なくとも35%以上相同性が認められるものを検索しました結果、そのようなものは

認められませんでした。また、連続する8アミノ酸の読み枠をスライドさせてエピトープ検索を行いました結果、データベースに登録されている全タンパク質と8アミノ酸配列が一致するものを検索した結果、そのようなものはございませんでした。同様に今度は毒性タンパク質との相同性検索について検索を行っておりますが、いずれのORFも既知の毒性タンパク質と類似性を示さない結果となり、したがって、遺伝子の導入により意図しないORFが形成されても、それによってアレルギー及び毒性を示す可能性は低いと考察しております。

47ページの2としまして遺伝子産物の発現部位、発現量等については表6.3にまとめられているとおりでございます。

48ページ、3でございますが、一日タンパク質摂取量については、いずれのタンパク質も綿実油において検出されない結果となりました。

49ページ、4としましてアレルギー誘発性に関する事項ですが、(1) (2)については記載のとおりでございます。

(3) といたしまして、物理化学的処理に対する感受性でございますが、人工胃腸液、加熱処理に関する分析を行っております。まず今回の試験に用いたタンパク質でございますが、*E. coli*で生産したタンパク質を用いております。*E. coli*由来とワタGHB811由来で発現させたタンパク質については、構造的、機能的に同等であったとしております。

50ページからが具体的な結果でございますが、まず2mEPSPSタンパク質の人工胃液処理についてでございますが、SDS-PAGE及びウェスタンブロット分析の結果、人工胃液中では30秒以内にほとんど分解された旨、記載されております。人工腸液は53ページからになりますが、こちらはSDS-PAGE及びウェスタンブロット分析の結果、人工腸液中で速やかに分解されるという結果となりました。

56ページからが加熱処理になります。30分間の処理では75℃以上で免疫反応性が検出限界以下となりました。また、酵素活性が57ページになりますが、60℃までは増加が認められましたが、それ以上では急激に減少し、75℃では完全に失活しております。

58ページからがHPPD W336タンパク質でございます。まず人工胃液処理についてですが、SDS-PAGE及びウェスタンブロット分析の結果、人工胃液中で30秒以内にほとんど速やかに分解されるということが確認された旨、記載しております。人工腸液は61ページになります。こちらですが、SDS-PAGE及びウェスタンブロット分析の結果、人工腸液中では速やかに分解されるということが確認されております。

64ページに移りまして、こちらが加熱処理の結果ですが、30分間の処理では75℃以上で免疫反応性が検出限界以下となりました。

65ページに移りまして、こちらが酵素活性ですが、25℃までは増加が認められましたが、それ以上では低下する結果となっております。

(4) 既知のアレルゲンとの構造相同性について検索を行っております。その結果ですが、2mEPSPSタンパク質、HPPD W336タンパク質、いずれにおきましても連続する80

アミノ酸残基以上で35%一致する配列あるいは連続する8アミノ酸が100%一致する配列は認められず、したがって、アレルギー誘発性は低いと判断したとしております。

続きまして67ページ、5の遺伝子の安定性に関する事項ですが、葉から抽出しましたゲノムDNAを制限酵素で切断し、T-DNA領域をプローブとしてサザンブロット分析を行っております。その結果ですが、導入された遺伝子は世代間において安定して伝達されるということを確認しております。

73ページ、6として代謝経路への影響でございますが、遺伝子産物であります2mEPSPSタンパク質、HPPD W336タンパク質の今回のGHB811の代謝経路への影響を与える可能性について検討を行っております。

まず2mEPSPSタンパク質ですが、EPSPSタンパク質とホスホエノールピルビン酸に対するミカエリス定数が同程度でありました。また、シキミ酸-3-リン酸に対するミカエリス定数は、2mEPSPSタンパク質の親和性のほうがわずかに低い結果となりました。ホスホエノールピルビンに対するグリホサートの50%阻害濃度は、2mEPSPSタンパク質がEPSPSタンパク質に比べて約190倍高い結果となっております。さらにグリホサートのEPSPSタンパク質に対する阻害活性は、2mEPSPSタンパク質に対するその2,000倍高い結果となりました。

以上のように、同じ基質特異性を保持しながらグリホサートに対する高い耐性が誘導されたとしております。また、産生された2mEPSPSタンパク質が既存のEPSPSタンパク質に加算され、EPSPSタンパク質活性が増大することへの影響については、最終生産物であります芳香族アミノ酸に関して、宿主品種との有意差が認められなかったということでございます。

以上のことから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しております。

続きまして、HPPD W336タンパク質ですが、チロシン含量がGHB811と宿主品種との間に統計学的有意差が見られなかったということから、チロシンが前駆体となるほかの代謝経路への影響はないと考えており、また、ホモゲンチジン酸の含量もGHB811と宿主品種との間で統計学的有意差はございませんでした。

基質特異性についてですが、ミカエリス定数がHPPDタンパク質とHPPD W336タンパク質で同等であること、また、植物体内における4-ヒドロキシフェニルピルビン酸以外の基質の可能性について試験を行ったところ、他のものが基質になる可能性は低いという結果になりました。以上のことからHPPD W336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しております。

以上まとめまして、宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考察しております。

77ページは宿主との差異でございますが、構成成分の差異を見るために主要構成成分等について分析を行っております。結果は78ページ以降に記載されておりますが、分析を行った全ての成分について統計学的有意差はないか、あったとしても商業品種の許容区間内

であり、このことから本系統の構成成分は対象の組換え型あるいは従来の方と同等であるとしております。

なお、1点、申請者から数値の誤りがあったということで連絡がありました。81ページなのですけれども、左から3つ目のJと書かれたところではGHB811無処理区(J)と書かれたところの下2つ、ナトリウムと亜鉛の値に誤りがあったということでした。ナトリウムのほうが正しくは 37.3 ± 29.8 、亜鉛が 33.7 ± 5.8 でございます。なお、もとのデータというのが添付資料27になるのですけれども、こちらには正しい値が記載されております。

90ページに飛びまして、8の諸外国における認可の状況、9の栽培方法、10の種子の管理方法、91ページ第7については記載のとおりでございます。

92ページ以降は結論となりますが、食品としての使用に関しまして、GHB811は既存の方と同様であると結論づけられております。

申請要旨の説明は以上でございますが、続きまして机上配布資料1と2を補足として説明させていただきます。

机上配布資料1と2と申請要旨の18ページの育成図が書かれたところについての補足説明なのですけれども、机上配布資料1でございますが、こちらは本品目の申請者でありますバイエルクロップサイエンス社が作成した資料でございます。

裏面にその内容が書かれているのですけれども、今回、申請者が●●●以降を申請対象とすることについての考え方を示したものになります。2パラグラフ目からの説明になりますけれども、まず●●●を用いましてT-DNA領域外の配列の有無を調査しており、また、同様に●●●でコピー数を調査しております。それぞれ目的外DNA断片が含まれない確率を●●●計算しますと、少なくとも1個体から目的外DNA断片が検出される可能性というのが●●●となりますが、実際に両試験に供試した●●●全てで検出されない結果となりました。これによりまして●●●においても目的外DNA断片のゲノム領域への意図しない挿入が考えにくいということから、●●●においても目的外DNA断片の挿入されている可能性は同様に無視できると考察しており、申請範囲を今回のようにすることは妥当であると考えているということでございます。

続いて机上配布資料2なのですけれども、こちらは事務局で作成した資料でございます。こちらは自殖・交配による目的外DNA断片の遺伝分離と検出確率を示した図になりますが、T0で目的外DNA断片がヘテロで挿入されていたと仮定した場合、T1世代では目的外DNA断片を含むものと含まないものが3対1で分離し、T1には4分の3の個体で、目的外のDNA断片が含まれるということになります。同じように計算しますとT2では確率として8分の5となります。一方、非組換え体との交配をした場合、こちらの図のF1では確率として2分の1、BCF1では4分の1と、非組換え体との交配を経るごとに目的外DNA断片を含む個体の検出がだんだん難しくなってくるということになります。例えば信頼度99.9%以上でT0世代で目的外DNA断片が含まれる可能性を否定するには、目的外DNA断片を含む個体の存在比率が2分の1の場合は少なくとも10個体、4分の1の場合は少なくとも23個体、分析に

供する必要があるということになります。

机上配布資料の説明については以上でございます。

○中島座長 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。

今回の、導入されている遺伝子については過去に2mepspsについては安全性審査が行われておりますし、hppdPFW336-1Paは、産物そのものはダイズで審査済みでして、今回のものはワタにコドンユースージを合わせているといった形のものであります。

今回、毎回毎回この植物についてはこの問題になる自殖・交配による目的外DNA断片の遺伝分離と申請範囲の妥当性について整理するというのもできればここでやっておいて、毎回毎回の問題についてこの辺で少々整理して片をつけたいと同時に考えております。植物の専門家以外の方にはなかなか理解しづらいところもあるかと思えますが、ここで一緒にと思っております。

まず申請書につきまして御意見いただきたいと思えます。少々長いので1～7ページ、ベクターに関する事項のところまでで何かございますでしょうか。

第5、挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項で申請書8～18ページまで、この18ページのところに問題のGHB811の育種過程という系統樹がついております。

●●●以降が申請範囲となっておりますが、イベントの確認のための分析が行われているのは●●●ということですので。挿入DNAのコピー数、つまり挿入DNA領域の断片化配列の有無等の確認には●●●、挿入DNAの領域外の配列の確認に●●●、分析に供している。その数の妥当性については先ほどの机上配布資料で御説明があったとおりです。これで●●●ということなのですが、この分析をもって●●●における目的外DNAの挿入可能性を否定できる。この程度やってもらえれば目的外DNAはないと考えてよろしいかどうか。この辺についての御判断をここでお願いしたいと思います。よろしく願いいたします。

せっかくですからここで議論をしたいと思えますが、机上配布資料3を説明していただいてよろしいですか。

○内海課長補佐 机上配布の一番最後につけております資料を、事務局のほうで用意をさせていただきますので御説明をいたします。

先ほど座長からもございましたけれども、これまでこの申請範囲とする世代と、実際にイベントの確認に分析を行っている世代の関係で、過去に議論いただき、必要に応じて指摘や、追加試験等を求めているケースもございますので、ここで一旦、この問題といえますか、考え方について整理できればということで紙を作らせていただいております。

まず「1. 経緯」ですけれども、読み上げますと、種子植物の安全性評価基準におきましては、宿主に導入されたDNAの構造、コピー数及びその近傍配列を明らかにするとともに、遺伝子導入によって宿主の遺伝子配列に変化が生じる可能性がないことを可能な限り明らかにすることを求めています。裏面の参考1にその評価基準の該当部分を抜粋してあり

ます。

(2) ですけれども、その一環としまして、宿主への遺伝子導入に用いたベクター上の挿入DNA領域の断片化配列や挿入DNA領域外、つまりベクターのバックボーンの配列等、こういった目的外のDNA断片が宿主に挿入されていないことの確認を求めています。

(3) ですが、他方で組換え体の作製におきましては、宿主及び挿入遺伝子が仮に同一であったとしても、遺伝子導入の際に宿主における挿入位置等が異なる様々な組換え体、以下、各々を「系統」というふうに記載してございますが、こういった様々な組換え体、系統が生じる可能性があることから、遺伝子組換え植物の安全性評価は系統毎に実施してきております。これがいわゆるイベント主義と申しますか、イベント毎に評価をするという考え方になっておまして、評価基準上は「イベント」ではなくて「系統」という言葉を用いているので、この紙の上ではそのように記載をしております。

続いて(4)ですけれども、これまでの審議の中で申請者が安全性評価を受けようとしている系統、以下、「申請系統」と言いますが、その起点となる世代、必ずしも組換え当代を指すものではありませんが、その申請系統の起点となる世代の後代の世代における分析結果をもって、上記の(1)及び(2)を推定している事例が散見されてございます。

「2. 基本的な考え方(案)」ですが、まず(1)としまして遺伝子組換え植物の安全性評価は、上記の(1)及び(2)により明らかにされた事象が同一である組換え体を1つの系統として系統毎に実施をする。いわゆるイベント主義の考え方を再度ここで記載をしております。

(2)ですけれども、上記の(1)及び(2)の確認は、申請系統の起点となる世代又はその上流の世代における分析結果によることを原則とするとしております。参考として裏面になりますが、単純な育成図と分析を行うべき世代を図示してしております。点線で囲んでおりますのが申請者が安全性評価を求める範囲、いわゆる申請系統の範囲ですけれども、この中で申請系統の起点となる世代は太字で囲んでおりますT2世代となります。こうした場合に、イベントの確認に必要な分析を行うべき世代というのは★で示してありますT2より上の世代、T2もしくはT1あるいはT0、組換え当代ということになります。

この図の上ではT1でホモ接合体を選抜してしておりますので、T1以降は基本的に遺伝的に均一となるかと思えます。しかしながら、表紙に戻っていただいて(2)のなお書き部分ですが、分析に供した世代が遺伝的に均一であることが確認されていない場合、先ほど御説明したT1のようにホモ接合体を選抜していないような場合にあっては、分析に供した個体そのものを後代の育種に用いるものとする。つまり、遺伝的に均一でない場合に、分析してせっかく確認したにもかかわらず、他の個体を育種に用いたのでは、その分析の結果が反映されないということになりますので、ここで1つ縛りを設けてございます。

(3)ですけれども、上記の(2)の原則によらないで後代世代における分析結果による場合にあっては、宿主の倍数性及び自殖又は交配による分離比を考慮の上、上記の(1)及び(2)を十分な信頼度をもって推定するために必要な数の個体が分析に供されている

か否かを勘案して、その妥当性を判断することとする、としております。この考え方について御了承いただけるようであれば、今回の申請品目に関しては(3)に従って●●●での分析結果をもって●●●における目的外DNA断片挿入可能性などを含めたイベントの確認がなされていると御判断いただけるかどうか御議論いただければと思っております。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

ということで、申請書の18ページの図5.3の育成図と、机上配布資料の一番下にある参考2を比べて見ていただけるとわかりやすいかと思いますが、机上配布資料の参考2である場合、点線の四角の中でこれを申請系統とするのであれば、★のT0、T1、T2で調べられているのであれば、これは問題ない。何らかの理由でこれが調べられないということであればT3もしくはF1が後代ということになるわけですが、この後代についてある程度統計的に信頼できる数を見ておけば、これでよしとしよう。これが基本的な考え方の(3)の案でございまして、(2)のところまでで、つまりは★で調べられていれば文句はないのですけれども、そうでない場合のある意味の救済措置とも言えるケースかと思えます。

これを踏まえて図5.3を見ていただきますと、そうすると商業品種でこうなっているわけなので、これで●●●でなければならなかったわけですが、そういうわけではないので、この場合、●●●といった数字が入っているところが挿入DNAのコピー数、これの調査をした個体ということになります。

ということですので、この場合は(3)のつまりは後代のもので統計的に数を見てというケースに該当いたします。今回の数から言うと●●●オーケーということなので、今後、何回かこういうケースで問題になっておりますので、ここで我々の考え方を整理しておいて、このくらいであればオーケーであるという、多分こういうケースは全てはねるというのは現実的ではないと思われまますので、共通認識を持って、今後どういう方針で、どういう基準を満たせばオーケーと考えるのか。ここは整理しておきたいと思えます。なので申請書の審議とはちょっと離れるところもあるかと思えますが、ここでぜひ議論しておきたいと思えますので、御意見いただければと思えます。

小関先生、いかがですか。

○小関専門委員 今のお話で、机上配布資料3の図の形であれば非常にクリアにまとめられているので、私はこれでいいかと思うのです。

ところが、今回の申請については「ちょっとこの図のお話の外の点があるのでは？」と思うところがあるので、これは後で分けてお話したほうがいいですので、そうでないと議論がぐしゃぐしゃになります。

○中島座長 分けた考えたほうがいと先生がそうおっしゃるのであれば、では分けて考えることにいたしましょう。それでは、この統一見解については先送りにしまして、18ページの申請書、本申請がこれでよろしいかどうかという点を先に議論したいと思えます。

○小関専門委員 それでいきますと、こんなことをするのだろうかというのが1つわから

ないのですけれども、ワタの遺伝子組換えを実際に私は自分自身でやったことがないからわからないのですが、アグロバクテリウムをかけてリーフディスクなり何なりでシュートが培地上で出てきますね。1シュートが1組換え体ですよ。それをとって土におろして、できたものを掛け合わせる。要するに1個体でやるのだらうなと思っていたのです。そうしたときに、あれと思ったのは、18ページの図でいくと●●●なのだけれども、この図でいったら●●●のということでは何かおかしくないかと、実際の実験場でいったら「あれ？」とすごく思ってしまったのですが、私の考え方はどこかおかしいですか。

○内海課長補佐 きょう申請者が来ておりますので、実際の手法についてはご質問いただければよいと思うのですが、先ほど御紹介した机上配布資料1、バイエルから出てきている説明資料の一番最後のパラグラフに、●●●ということに記載がありまして、●●●とあります。

○小関専門委員 やはりこれで正しいのですね。そうすると●●●というのがすごいびっくりしてしまうのです。

○内海課長補佐 そこは御質問をいただければいいかなと思います。

○児玉専門委員 ワタは結構でかくなるので、葉っぱもたくさんとれますし、例えば500土におろして、それでシングルコピーを探して、シングルコピーだと思ったものはそうしたという、そういう流れでシングルコピーで残したものが多分10系統とか20系統あって、そこから選んでというふうにやっているのだと思います。

○児玉専門委員 ワタだからできるのです。

○小関専門委員 そうですね。それは間違いなくそうですね。

○中島座長 ということですから、やはり●●●というのは●●●で、そこから全部やっているということなのでしょうね。こういうケースなので、それを踏まえて今回、ここにそう書いてありますので、本当にそうかどうかは質問できると思いますけれども、説明が書いてありますので、それを踏まえてこの申請で通していかどうか議論していただきたいのですが、山川先生、何か御意見ございますか。

○山川専門委員 児玉先生がおっしゃったとおりのことだと思います。大きくやった中からとっていったから、それをここに図示したのだと思うのです。

○中島座長 これについては●●●、サザンとシークエンスとやって確認しておるのですが、説明についている確率の計算からいってもこれでよろしいかなと思えるのですが、この点についてはいかがでしょうか。

○児玉専門委員 一応●●●やって、確率上もかなり高い値で推定できるということになっておりまして、実験手法も確認しましたが、ワタは結構ゲノムサイズが小さいみたいで3 pgのサザンできてしまうので、多分それもあって先ほどのような手法がとれるのだらうな。あと、ワタも私、実物を見せてもらったことが、別の会社ですけれども、あって、そのイメージでしゃべっているというのがあるのですが、非常にでっかい葉っぱがとれますので、割と植物もでっかくとれますので、そういうことを考えると手法上も問

題ないかなと思いますので、今回は大丈夫ではないかと思います。

○中島座長 ありがとうございます。

先生、どうぞ。

○山川専門委員 聞いてみて、本当にそうやってとったというのだったら大丈夫だと思います。というのは、それは確認したほうがいいと思うのです。とりやすいけれども、最初にいっぱいってしまいますから、こちらとこちらをやっているというのではなくてというのを確認さえすればいいかなと思います。

○中島座長 そこは確認しましょう。

ほかにいかがですか。

それでは、申請書16～46ページ、組換え体に関する事項のところでは何かございましたら。

○児玉専門委員 少しさかのぼるのですけれども、10ページの遺伝子の機能のところを除草剤耐性になる理由が書かれているのですが、これはFG72系統で既に同じようなケースで申請も許可されているので、それになればいいと思うのですが、一応、DKNが植物体内でたしか私の記憶では分解された、CO₂か何かになったという記憶があるのですけれども、その簡単な記述をここに載せていただければなと思います。記憶がいまいち定かでないのですが。

○中島座長 たしかこれ2年くらい前でしたよね。私も分解だったように思うのですけれども、この点は別に質問をして、その場で答えてもらうというわけではなくて、確認して、この農薬に対する耐性機構について記述を加えていただくということでよろしくいたします。そこは記述を加えていただければ結構なので。

それでは、47～66ページまで、アレルギー誘発性に関する事項のところまででございましたらお願いいたします。手島先生、よろしいですか。

○手島専門委員 これらは以前に評価されているものでアレルギー誘発性に問題はないと思われま。ただ、50ページの最初のところから書かれている文章の3行目のところ、以前に審査された内容と同様である（56ページを除く）とあるのですけれども、これは以前に審査された内容であっても図表も含めて、通常普通に出してもらっていますでしょうか。省略することができる部分があるかなと思ったのですが、形式だけの問題なのですか。

○中島座長 電気泳動の絵などはちゃんとしていて、結果については以前の申請のときと同じと言っているのだと思うのですが、以前と同じ使い回しなのかな。

○手島専門委員 つけてもらったほうがよろしいですか。

○中島座長 そこはわかりますか。

○内海課長補佐 これは大腸菌で作らせているものなので、以前と同じデータが出てきているものだと思うのですが、別の品目の申請資料になりますので、そこは省略しないで記載は求めていると理解しております。

○手島専門委員 わかりました。

○中島座長 ほかにございますか。

では申請書の最後、91ページまで全部含めてございましたらお願いいたします。

申請者への質問事項ですが、先ほどの1点、●●●ということをお聞きしたいと思うのですが、これは植物の専門家の先生から聞いていただけますか。

○小関専門委員 児玉先生のおっしゃるとおりで、トウモロコシとかそういうものが頭に最初に来ていたので、なるほどワタだから。多分そういうお答えをいただけると思うので、とりあえず確認の上で聞いてみましょう。

○中島座長 その質問はお願いいたします。

○内海課長補佐 その関連でもあるのですが、せっかく申請者が来ているので、過去この申請範囲と分析の問題で一番多く指摘を受けているのがバイエル社になりますので、今後こういった形でデータをとるのか、そのあたりの会社の考え方なども聞いていただければありがたいかなと思います。

○中島座長 わかりました。

○小関専門委員 その上で、植物種子によって違うんだということはきちんと理解してもらような質問の仕方をするようにします。よろしいでしょうか。

○内海課長補佐 はい。

○中島座長 ほかによろしいですか。それでは、説明者に入室していただこうと思います。準備が整うまで休憩にいたします。

(休 憩)

○中島座長 お忙しいところお越しいただきまして、ありがとうございます。

では、説明者の方々、自己紹介をお願いします。会社名とお名前だけで結構です。

○井上説明者 本日はお時間をいただきまして、ありがとうございます。バイエルクロップサイエンス社の井上と申します。よろしくお願いいたします。

○赤城説明者 バイエルクロップ社の赤城文と申します。よろしく申し上げます。

○原説明者 同じくバイエルクロップ社の原潤子と申します。よろしく申し上げます。

○中島座長 では早速、この株の育種の過程と申請範囲についてお尋ねしたいことがございます。

○小関専門委員 まずこの申請品目、ワタということの特徴が1つあるのではないか。先ほど私もわからなくてトウモロコシとかそういうイメージで言っていて、ああそうかとほかの専門委員の先生から教わって、こうではないかなと思ったのは何かというと、いわゆる一般的に私自身も組換え体を育てて、いろいろな植物種、そうしますと、普通に考えると例えば最初にリーフディスクなりをやったときに100とか1,000出てきたものを1イベントずつですから1シュートずつとって行って、選択培地にまいて土におろしてということをやって、ほかの会社さんのお話を聞くと、例えば出てきた●●●の中からいいものだけを選んで行って、最終的に●●●というお話を聞いたこともあって、今回のお話のときに

そうかと思ったのは何かというと、本当に●●●のところで●●●されているわけです。完全に。要するに出てきた当代で、ワタですから植物体がでかくなって、その中で、こういうふうにやられたのではないかなという想像なのですけれども、これで正しいかどうか教えていただきたいのですが、その中で要するに●●●でよろしいのでしょうか。

○井上説明者 御質問ありがとうございます。

その点に関しまして、まず簡単に説明をさせていただきたいと思います。

この場合、胚軸を使いましてまずエンブリオジェニックカルスを誘導しております。エンブリオジェニックカルスから体細胞胚の形成を経まして植物体の再生をいたしておりますので、各得られる個体というものは全て単細胞由来となっております。したがって、全て再生した個体の中におきましてはキメラがあるというわけではなくて、単一単細胞由来のものであるということをごまかしておきたいと思っております。

引き続きまして、再生した●●●に関しましては、ワタの植物体の特性からいたしますと確かに花が大きくなりますので、●●●が非常に容易となっております。したがって、今、御質問をいただきましたように、ある花につきましては容易に行えますので自殖も簡単に、また、ほかの品種との交雑・交配も簡単にできるということになっております。この場合●●●を●●●作製いたしておりますので、その●●●の中で●●●という形で、●●●をし、●●●をしております。その結果、この育成図を作製しております。

○小関専門委員 エンブリオジェニックカルスということで私どももやっているとわかるのですけれども、要するに胚形成させて●●●ずつ上がってきたものを●●●拾っていったということで、これは問題ないですね。それからおろしてやったというケースである。ですからそこが確認できれば、本件に関しては私はこれでワタの特性でいいなと思うのですけれども、例えば別のトウモロコシとかでそうなるとすると、またやり方が違いますよね。そうなったときに要するに●●●をつくらずに結構多くの場合にはすぐバッククロスをかける。安定化したものをもっていくというふうになっていくと、要するに系統樹的にこれがいいか悪いかという話は、今回のケースとはまた違う。植物特異的であるということの考えを持ってよろしいかどうか。ここもお聞きしたいです。

○井上説明者 その点につきましては、おっしゃるとおり植物ごとに特性は異なるものだと我々も考えております。

○中島座長 今回の●●●は単細胞から、シングルセルから由来しているということであるならば、できればそれを示す資料を一緒につけて申請していただけると、我々もうちょっと安心してこの審査ができたかなという気もしないでもないのですが、今回の件では●●●をやっております、そうすると申請系統の起点となる世代で調査をいただくと、一般にはそれが普通なので、そうすると●●●でそれをやらなければならないということで、今回はそうではないのでこのような議論になっているわけです。

バイエル社さんでは、これに限らずこのような育種の仕方と申請の仕方、先々こういう方針で、こんな感じで申請書がまた出てくるのでしょうか。

○井上説明者 弊社の育種の考え方としましては、おっしゃるように●●●で本来であれば調査できれば一番いいのかと思うのですけれども、実際に●●●実情としてあります。

○中島座長 正直にお答えいただきまして、ありがとうございました。ということなのですね。●●●にして、そこから掛け合わせるとか、それだと●●●を見ていただければ済むのですけれども、そうともいえない事情もあるということなのですね。その場合、なるべく単細胞由来であることが確認できているのであれば、その資料も含めてとか、そのように申請していただけるともう少しスムーズに進むのかなと我々は考えますが、事情は了解いたしました。

ほかにございますか。

○小関専門委員 今のところのポイントをよく覚えておいていただきたいのですけれども、要は何かというワタという今回のことで、今、言ったことで自殖しやすいこともあるのですが、トウモロコシとなった場合には最初の段階で戻さないと、掛けないと種がとれてこないとかいろいろな問題が発生してきます。そうすると●●●がとれなくなってしまう。要するに掛けたバッククロス世代以降とか、そういう認識でお考えいただくことでよろしいでしょうか。今のワタの御説明に対して、ほかの御社でなされているものにおいても種によって違う、植物によって違うというのはおっしゃられたとおりで、そこは十分考慮していただかないとならないだろうと思うのですけれども、それでよろしいですか。

○井上説明者 おっしゃっていただきました指摘事項を社内でもきちんと共有して、植物ごとにおいてというところも考慮した上で今後、育種、系統の作製等の議論をしていきたいと思っております。

○中島座長 ほかによろしいですか。お忙しいところありがとうございました。これで終わります。

(説明者退室)

○中島座長 それでは、審議に戻りたいと思います。

ただいまの回答も踏まえた上で、この御意見、コメント等ございましたらお願いいたします。この紙については少なくともオーケーということで、それから、系統については別に考えるということですので、これについては安全性についての問題はないということですので、先に評価書の審議からお願いします。

○山口係長 引き続きまして、評価書案について御説明いたします。

評価書案を束ねました冊子の17ページからが食品の評価書案となっておりますので、こちらを御準備をお願いします。

まず22ページをお願いいたします。I といまして本申請品目の概要ですが、*2mepsps*遺伝子、*hppdPFW336-1Pa*遺伝子を導入いたしまして、その遺伝子が発現することで除草剤グリホサート及び4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤に耐性を示す旨、記載をしております。

II以降につきましては、食品健康影響評価に係る個別の項目を記載しております。

まず第1の1 (1) (2) については、記載のとおりでございます。

(3) 挿入DNAの性質等についてですが、*2mepsps*遺伝子が発現する2mEPSPSタンパク質は除草剤グリホサート耐性を付与し、また、*hppdPfw336-1Pa*遺伝子が発現するHPPD W336タンパク質は、4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性を付与します。これらの遺伝子はアグロバクテリウム法により導入されております。

続く62行目からの2~5につきましては、記載のとおりでございます。

続いて96行目、相違点に関する事項でございますが、組換え由来の遺伝子の発現により2mEPSPSタンパク質、HPPD W336タンパク質を発現することが宿主との相違点であります。

以上から、既存のワタとの比較が可能であるとしております。

第2の利用方法、次のページに移りまして第3の1及び2については記載のとおりでございます。

3の有害生理活性物質ですが、ワタにはゴシポールやシクロプロペン類が含まれております。

4のアレルギー誘発性については、ワタは主要なアレルギー誘発性食品とは考えられていない旨、記載をしております。

5の病原性の外来因子に汚染されていないことについてですが、ワタには各種病害が知られておりますが、これらがヒトに対して病原性を示すことは知られていないと記載しております。

6及び7については記載のとおりです。

7のところの下線が引いておりまして、これ以降にも複数、下線が引いているところがあるのですが、ここは事前に児玉先生から修正の御指摘をいただいた部分を反映させたものになっております。

第4、ベクターに関する事項でございます。

25ページに移りまして、こちらは記載のとおりでございます。

第5、168行目からですが、こちらが挿入DNA等に関する事項ですが、1 (1) 由来等ですが、*2mepsps*遺伝子はトウモロコシに、*hppdPfw336-1Pa*遺伝子は*P. fluorescens* A32株にそれぞれ由来いたします。

(2) 安全性に関する事項ですが、*2mepsps*遺伝子の供与体であるトウモロコシは、長期にわたって安全に摂取されてきており、また、*hppdPfw336-1Pa*遺伝子の供与体である*P. fluorescens*は自然界に広く存在し、ヒトへは日和見感染を超えるほどの病原性は持っていないとしております。また、米国においては生物農薬の有効成分として安全に使用されております。

26ページ、2の遺伝子産物に関する事項ですが、(1) (2) は記載のとおりでございます。

(3) 挿入遺伝子の機能ですが、①としまして*2mepsps*遺伝子がコードするタンパク質

は、芳香族アミノ酸の生合成経路でありますシキミ酸経路を触媒する酵素の1つであり、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-リン酸とリン酸を生ずる反応を触媒します。

EPSPSタンパク質の2つのアミノ酸を置換させた2mEPSPSタンパク質は、グリホサート耐性に対する結合親和性を低下させまして、結果としてグリホサート存在下でもその活性を示すことができます。また、既知の毒性タンパク質との構造相同性を確認するために、相同性検索を行いましたところ、既知の毒性タンパク質は見いだされない結果となりました。

②としまして *hppdPFW336-1Pa* 遺伝子ですが、チロシン代謝経路におきまして4-ヒドロキシフェニルピルビン酸からホモゲンチジン酸を生じる反応を触媒する酵素の1つでございます。HPPD阻害型除草剤の1つでありますイソキサフルトールは、植物体内でジケトニトリル構造物へと代謝されまして、HPPDタンパク質の活性部位に結合して、その活性を阻害します。その結果、植物体内でホモゲンチジン酸の生産ができなくなり、カルテノイドの合成阻害、光合成の不安定化等を伴った白化症状を示し、植物は枯死いたします。

HPPD W336タンパク質は、HPPDタンパク質の1つのアミノ酸を置換することにより、ジケトニトリル構造物との結合親和性を低下させ、その結果、HPPD阻害型除草剤を散布したとしても生育が可能となっております。なお、既知の毒性タンパク質の構造相同性を確認するために相同性検索を行いました結果、既知の毒性タンパク質は見いだされない結果となりました。

続きまして(4)抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項ですが、こちらは記載のとおりでございます。

続いて3、挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現にかかわる領域に関する事項でございますが、(1)のプロモーター、(2)ターミネーター、(3)その他につきましては、いずれも記載のとおりでございます。

28ページ、4及び5(1)につきましては記載のとおりです。

(2)でございますが、こちらの項目では目的外のタンパク質を発現するORFは含まれていないこと。続いて(3)では挿入領域は右側境界領域から左側境界領域までのT-DNA領域であること。(4)発現ベクターの純化について目的外の遺伝子は含まれていない旨、記載をしております。

続いて292行目から6、導入方法ですが、アグロバクテリウム法による形質転換後、グリホサートを含む培地で選抜。さらにHPPD阻害型除草剤に抵抗性を示す個体を選抜し、自殖及び既存品種との戻し交配も行い、本系統を得たとしております。

続いて第6、組換え体に関する事項でございます。こちらは30ページからでございますが、1(1)につきましては、サザンブロット分析により目的の遺伝子は1コピー挿入されたことが確認されております。挿入DNAの塩基配列及び近傍配列につきましては、シーケンス解析を行いました結果、挿入位置に13 bpの欠失が確認されておりますが、導入用

プラスミドのT-DNA領域及び宿主ゲノムの挿入近傍配列と一致しているという結果となっております。また、導入用プラスミドの外骨格領域については含まれていないことを確認しております。

続きまして、遺伝子の挿入による内在性遺伝子が損なわれていないかどうかというのを確認するために、5'末端の近傍配列、3'末端の近傍配列、そして欠失した13 bpを含む領域において検索を行いました結果、3つの既知の配列との相同性が確認されましたが、近傍配列にはまたがっておらず、既知のタンパク質との相同性は確認されませんでした。したがって、宿主の内在性遺伝子が影響を受けた可能性は低い旨を記載しております。

323行目(2)としまして挿入DNA領域及び両近傍配列の接合部において、意図しないORFが生じていないことを確認するために、6つの読み枠においてORF検索を行いました結果、終止コドンから終止コドンまでの連続する30アミノ酸以上のORFが合計126個見つかっております。データベースを用いまして既知のアレルゲン及び既知の毒性タンパク質との相同性検索を行いました結果、相同性を示す結果は得られなかった旨を記載しております。

31ページ340行目から2、発現部位、発現量等に関する事項。続く3、の一日タンパク摂取量については記載のとおりでございます。

4、遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する事項でございますが、(1)と(2)は記載のとおりでございます。

370行目から物理化学的処理に対する感受性でございますが、①としまして人工胃液については2mEPSPSタンパク、HPPD W336タンパクともにSDS-PAGE及びウェスタンブロット分析の結果、試験開始後30秒以内に消化されることが確認されております。

②として人工腸液ですが、2mEPSPSタンパク質、HPPD W336タンパク質ともにSDS-PAGE及びウェスタンブロット分析の結果、試験開始直後、速やかに消化されるという結果が得られております。

③加熱処理についてでございますが、aとしまして2mEPSPSタンパク質は30分間処理しましたところ75℃以上で免疫反応性が検出限界以下となっております。酵素活性については60℃以上で急激に減少し、75℃で失活する結果となりました。

bとしましてHPPD W336タンパク質ですが、75℃以上で免疫反応性が定量限界以下となっております。酵素活性については45℃で20分後に活性が50%以下に低下し、60℃及び95℃では2.5分以内に失活する結果となりました。

408行目から(4)として遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性については、確認したところ一致するものはなかったとしております。

5、遺伝子の安定性については、記載のとおりでございます。

6、代謝経路への影響についてでございますが、2mEPSPSタンパク質は、高い基質特異性を示し、また、2mEPSPSタンパク質の産生により本経路の最終産物であります芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられていることから、2mEPSPSタンパク質の

作用機作は独立しており、植物の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられております。

HPPD W336タンパク質でございますが、ホモゲンチジン酸の上流に位置するチロシン及びフェニルアラニンの含量は、非組換えワタとの間に統計学的有意差はなく、組換え体においてチロシン含量等の上昇は認められなかったことから、チロシン生合成に関連するアミノ酸含量や関連する代謝経路に影響はないとしております。

また、ホモゲンチジン酸の含量について測定した結果、非組換えワタとの間で統計学的有意差は認められなかったことから、HPPD W336タンパク質の過剰発現でも差は生じないと示されております。これらのことからHPPD W336タンパク質がホモゲンチジン酸の下流の代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いとしております。

また、基質特異性についても検討しました結果、4-ヒドロキシフェニルピルビン酸以外に基質となるものはないと考察しており、以上のことからHPPD W336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しております。

7、宿主との差異でございますが、構成成分について本系統と非組換えとの比較をいたしましたところ、両者には統計学的有意差が認められないか、認められたとしても商業品種の範囲内であったと記載しております。

35ページの下に移りまして8の諸外国における認可の状況、36ページに移りまして9の栽培方法、10の種子の管理方法等については、記載のとおりでございます。

第7といたしまして、第2から第6までの事項により安全性の知見が得られると記載しております。

評価書案の説明は以上でございます。

○中島座長 ただいまの評価書案につきまして、御意見、コメントを承りたいと思います。細かい字句等の修正につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただければ幸いです。よろしいでしょうか。

○内海課長補佐 1点だけ、事務局から補足の御説明よろしいでしょうか。

評価書案の33ページ、412行でアレルゲンデータベースとしてfの注釈がございまして、ページの下段にComprehensive Protein Allergen Resource、COMPAREというものの記載がございます。これはILSIが新たに構築をしているアレルゲンのデータベースになりまして、今回、御審議いただく品目で初出となりますので、一応、簡単に内容を説明させていただきます。申請要旨の66ページに注釈で概要の記載がございます。

最初のバージョンが2015年5月から2016年5月にNCBIに登録されアノテーションされている配列をもとに候補を洗い出して、それらをアレルギーの専門家がレビューをして、IgEによる免疫学的検定等をもとに、そのデータベースに追加する配列を決定しているというものになっております。以降はNCBIに追加された配列に基づいて年1回データベースを更新し、またそれとは独立して新たな論文等をもとに候補となるタンパク質を追加する。2016年のアレルゲンオンラインのデータベースに含まれている全配列を含んでいるとい

うものになっております。

恐らく今後、ILSIの会員企業がアレルゲン性の検討を行うに当たって、このCOMPAREを使った検証が行われてくるものと思われますので、一応、補足として御説明をいたしました。差し支えないかどうか、手島先生、御意見をいただければ。

○手島専門委員 これはアレルゲンオンラインのデータベースとの併用というか、アレルゲンオンラインがCOMPAREに変わっていくという考えになりますでしょうか。両方ともデータベースとしては存在するという形ですか。わかりました。

○中島座長 ただ、今後はCOMPAREというものでアレルゲンを調べたからという申請書が増えてくるということですね。それでよろしいですね。では、これで問題ないということ。

それでは、食品安全委員会に報告して、パブリックコメントの手続に入りたいと思います。

これ実は飼料がついておりまして、こちらを先にやりたいと思いますので、急ぎお願いいたします。

○山口係長 続きまして、申請資料について御説明します。

お手元にMMEと記載された緑のファイルの準備をお願いいたします。

まず1ページ目でございますが、1) 品目名につきましては食品と同様でございます。

2) 本系統の特徴でございますが、ワタの商業品種Coker312を宿主としましてトウモロコシ由来の2mepsps遺伝子、そして*P. fluorescens* A32株由来のhppdPfw336-1Pa遺伝子を導入することにより作製されております。それぞれの遺伝子の機能につきましては、先ほどの食品のときと重複するため割愛させていただきます。

2ページ、3) 使用方法につきましては、従来のワタと変わりはないということでございます。

続いて2は安全性についてでございますが、遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価基準の考え方にに基づき、3つの要件について考慮しましたところ、安全性上の新たな問題は生じないと考えられた旨、記載をしております。

3ページの真ん中から3、除草剤の残留についてでございますが、除草剤グリホサート及びHPPD阻害型除草剤が直接散布されるために、グリホサート並びにHPPD阻害型除草剤の1つでありますイソキサフルトールが散布された際には、イソキサフルトール及びその主要代謝産物でありますジケトニトリル構造物が残留する可能性がございます。除草剤グリホサートを散布した際の最大残留量は、綿実で2.6 ppmでございますが、これは食品のMRL40 ppmを下回る結果となりました。申請書は10 ppmと記載されておりますが、現在は40と設定されております。

なお、我が国におきまして飼料としてのMRLは設定されておられません。また、イソキサフルトールを散布した際のイソキサフルトール及びジケトニトリル構造物の最大残留量は、定量限界であります食品の一律基準の0.01 ppmを下回る結果となりました。なお、こちら

も同様に我が国におきまして飼料としてのMRLは設定されておられません。

4、諸外国における認可の状況については、記載のとおりでございます。

説明は以上でございます。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして、食品でオーケーになっておりますし、また、除草剤の残留性についても検討されておるといことなのですが、御質問でございますでしょうか。多分よろしいのではないかと思うのですが、よろしいですね。ありがとうございます。本件については、安全上、特に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。評価書案をお願いします。

○山口係長 評価書案について御説明いたします。評価書案を束ねた紙の41ページ目からが飼料の評価書案となっておりますので、こちらを御準備お願いいたします。

まず44ページ目からでございますが、Iの概要につきましては、先ほど食品の際に御説明した内容と重複しておますので、こちらは割愛させていただきます。

IIについてでございますが、1、動物の飼養試験において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に移行することは、これまで報告されていないこと。

2としまして、先ほどの内容であります。食品としての評価を終了しております。

また、61行目からこちらが下線部として先生方に事前にお送りしたのから追加した部分になるのですが、ワタGHB811では栽培期間中に除草剤グリホサート及びHPPD阻害型除草剤の散布が可能となることから、グリホサート、イソキサフルトール、DKNの残存量について確認しております。グリホサートは我が国における食品綿実中の基準値を下回っており、また、イソキサフルトール及びDKNは綿実中で定量限界値未満であり、食品綿実中の残留基準値を下回っております。なお、いずれの除草剤につきましても、飼料用ワタとしての残留基準値は設定されておられません。

以上から、改めて「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」に準じて安全性評価を行う必要はなく、また、当該飼料を摂取した家畜に由来する畜産物について、安全性上の問題はないと判断したという旨を記載しております。

評価書案の説明は以上になります。

○中島座長 それでは、ただいまの評価書案につきまして御意見、コメントを承りたいと思います。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願いいたします。よろしいでしょうか。

それでは、ただいまの件につきまして食品安全委員会に報告したいと思っております。

時間が迫っていて申しわけございませんが、先ほどの机上配布資料を探し出してください。先ほどの申請者からの説明でも、申請系統よりも後代で確認するところといった事項はこれからも出てくるということであったようでございますので、この机上配布資料3にあります遺伝子組換え植物の安全性評価における系統の考え方について、議論をしておきた

いと思います。

基本的な考え方の下にある「2. 基本的な考え方（案）」でよろしいですね。この説明につきましては先ほどと重複いたしますので、まずこの案について（1）は組換え体を1つの系統として系統ごとに実施する。これはいわゆるイベント主義というもので、（2）この確認については、申請系統の起点となる世代又はその上流の世代における分析結果によることを原則とする。これが先ほどの参考資料2で★で言っている場合です。これで片がつけばいいのですが、そうとも言えない場合がこれからも生じ得るということで（3）になりまして、（2）によらず後代世代における分析結果による場合にあっては、宿主の倍数性及び自殖又は交配による分離比を考慮の上、1の（1）及び（2）を十分な信頼度をもって推定するために必要な数の個体が分析に供されているか否かを勘案して、その妥当性を判断することとする。今回の件は、概ねその考え方を準用しておると思うのですが、大体こういった考え方で今後もいくということで、それしかないとも思うのですけれども、これでよろしいでしょうか。

ここで何%ぐらいの確率を確保すればいいとか、そういう具体的な数字を挙げる必要があるかどうかについて、一応、議論しておきたいのですが、私はここで数字を挙げてしまうと、それがひとり歩きすると思いますので、「十分信頼するに足る」でこのままにしておくのがいいように思います。それでもしどうしてもまた質問等、事務局等にあった場合には、今までの例でも99.9%は少なくともないと先生方は納得しないくらいにお答えいただくのがいいかなと思うのですが、いかがでしょうか。

では、案の文面についてはコメント等ございますでしょうか。

○山川専門委員 3のところは、十分な信頼度をもって推定するために必要な数の個体が分析に供されているか。これでいいと思います。この書き方のほうが。

○中島座長 よろしいようなので、それでは、これで。

系統の考え方について御了承いただきましたので、今後もこのような件が出てきた場合には、この原則に従って評価を行っていきたいと思います。

この考え方については申請者にきちんと理解していただかないと、また混乱が生じると思いますので、当専門調査会の決定事項として公表したほうがよいように思うのですが、先生方よろしいでしょうか。異存ないようなので、ではこれは公表するという事で手続を進めていただければと思います。

○内海課長補佐 ありがとうございます。では本日の御議論を踏まえまして、机上配布資料3を専門調査会決定の案という形に体裁を整えまして、次回の専門調査会で改めて御審議をいただきたいと思います。

○中島座長 そこは最初に公開でかな。

○内海課長補佐 以前、御審議いただいた「掛け合わせの評価の考え方」と同じような形で、公開審議の時間を持てればと思っております。

○中島座長 ありがとうございます。しかるべく手続を進めていただければと思います。

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、その他ですが、事務局から何かございますでしょうか。

○内海課長補佐 特にはございません。

○中島座長 ありがとうございます。

では、本日の議題についてはこれで終了いたしました。

以上をもちまして第172回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。