

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## (第242回) 議事録

1. 日時 令和5年11月17日(金) 9:55～11:39

2. 場所 食品安全委員会中会議室(赤坂パークビル22階)  
(Web会議システムを併用)

### 3. 議事

(1) 遺伝子組換え食品等に係る食品健康影響評価について

・コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシMON95275(食品・飼料)

(2) その他

### 4. 出席者

(専門委員)

児玉座長、伊藤専門委員、岡田専門委員、小野竜一専門委員、佐々木専門委員、  
柴田専門委員、手島専門委員

(専門参考人)

山川専門参考人

(食品安全委員会)

川西委員、脇委員

(事務局)

中事務局長、及川事務局次長、前間評価第二課長、今井評価情報分析官、  
奥藤課長補佐、山口係長、今村技術参与、田地技術参与

### 5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

①コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシMON95275系統(食品)

②コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシMON95275系統(飼料)

### 6. 議事内容

〇〇〇 それでは、定刻よりも少し早いですけれども、皆様おそろいですので、ただいまから第242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。

本日は、所用により〇〇〇は御欠席です。

また、専門参考人として、〇〇〇に御出席いただいております。

また、本日はウェブ会議システムを併用して行います。

今回は、10月の専門委員改選後、初めての個別品目の審議となります。そこで、専門委員の皆様の専門分野を共有するために、簡単に専門分野を含めて自己紹介をいただければと思います。

それでは、名簿の順番でお呼びいたしますので、自己紹介のほど、よろしくお願いいたします。

〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 御紹介ありがとうございます。〇〇〇でございます。

私、長年、微生物生理学という分野と、現在はバイオエンジニアリング系統をやっております。主に微生物での私の知識をこの調査会で生かせればと思っております。どうかよろしくお願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

次に、〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 〇〇〇でございます。よろしくお願いいたします。

日頃の専門といたしましては、食中毒菌や食品の製造工程管理に関わる仕事をしております。どうぞよろしくお願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

続いて、〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

専門といたしましては、遺伝子組換え動物の作出や毒性に関する仕事をしております。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

名簿順では次は私になりますので、私、〇〇〇と申します。〇〇〇に所属しております。

専門はRNAサイレンシングとか、そういった植物の遺伝子発現制御が専門ですが、最近いろいろやっていますけれども、一応それを専門としております。どうぞよろしくお願いいたします。

続きまして、〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 〇〇〇と申します。よろしくお願いいたします。

専門としましては、植物の代謝の研究をしております。その中で遺伝子組換えやゲノム編集等の技術を使っているということになります。どうぞよろしくお願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

続きまして、〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 御紹介ありがとうございます。〇〇〇と申します。どうぞよろしくお願いいたします。

ます。

専門としましては、遺伝子組換え食品の検査法の開発ですとか、ゲノム編集食品の安全性評価に関わるような研究をしております。どうぞよろしくお願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

続きまして、〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 御紹介ありがとうございます。〇〇〇でございます。

食物アレルギーを専門としております。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

また、今日御欠席の3名の方については、次回御出席いただけましたら一言いただきたいと思っております。

それでは、議事に戻ります。

本日の議題は、新規品目である「コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシMON95275系統（食品・飼料）」の安全性についての審議です。

それでは、事務局から資料の確認をお願いいたします。

〇〇〇 事務局から資料を確認いたします。

配付資料は、議事次第、専門委員名簿、食品健康影響評価に関する資料、そして、机上配布資料として1から3を準備してございます。

資料の不足等はございませんでしょうか。不足等がございましたら、事務局まで御連絡ください。

また、本日は、コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシMON95275系統の申請者である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おります。申請品目の審議の際に、質疑応答に対応していただく予定としております。

以上です。

〇〇〇 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。

〇〇〇 事務局におきまして専門委員の皆様にご提出いただきました確認書を確認したところ、平成15年10月2日付け委員会決定の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でした。

〇〇〇 本日はウェブで会議に参加される専門委員もいらっしゃいますので、審議に入る前に、ウェブ会議における注意事項等について事務局から説明をお願いします。

〇〇〇 ウェブ会議形式の注意事項をお伝えいたします。

1点目、発言者の音質向上のため、発言しないときはマイクをオフにしてください。

2点目、発言の際は、赤い挙手カードを提示していただくか、ウェブ会議画面の挙手ボタンを押してください。座長よりお呼びしますので、マイクをオンにして、お名前を発言いただいた上で御発言をお願いいたします。座長より指名がない場合は、直接マイクから呼

びかけてください。発言の最後には「以上です」と御発言いただき、マイクをオフにしてください。

3点目、音声接続不良時や通信環境に問題がある場合は、カメラをオフにしたり、再入室することにより改善する場合があります。マイクが使えない場合は、ウェブ会議システムのメッセージ機能によりお知らせください。万が一、全く入室できなくなった場合は、事務局までお電話ください。

4点目、議事中、意思確認をお願いすることがございますが、青い同意カードを挙げていただくか、手で丸をつくるなど、意思表示をお願いいたします。

以上がウェブ会議における注意事項となります。よろしくをお願いいたします。

〇〇〇 それでは、新規品目であるコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシMON95275系統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。

〇〇〇 ありがとうございます。

お手元にコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシMON95275系統のピンク色の紙ファイルを御準備ください。

まず、今回の審議品目の概要ですが、本品目は、*Brevibacillus laterosporus*由来のMpp75Aa1.1タンパク質と*Bacillus thuringiensis*由来のVpb4Da2タンパク質、そして、ウエスタンコーンルートワームの*DvSnf7*遺伝子と一致するように設計された逆方向反復配列から形成される二本鎖RNA、これらが生産されることで、コウチュウ目害虫抵抗性を獲得したトウモロコシになっております。この逆方向反復配列の構成及び*DvSnf7*遺伝子の部分配列のDNA配列、並びに殺虫活性を付与する二本鎖RNAである*DvSnf7* dsRNAの塩基配列につきましては、2016年6月に安全性審査を終了したトウモロコシMON87411系統において発現する遺伝子の部分配列及びdsRNAの塩基配列と同一のものでございます。

それでは、詳細について御説明をさせていただきます。

申請資料の2ページ目を御覧ください。

1の(1) 宿主はトウモロコシのデント種LH244系統です。

(2) DNA供与体です。本品目には2つの遺伝子と1つの塩基配列を導入しております。まず、*mpp75Aa1.1* 遺伝子と *vpb4Da2* 遺伝子の供与体が *Bre.laterosporus* と *Bac.thuringiensis*でございます。*DvSnf7*遺伝子の部分配列は、トウモロコシの標的害虫であるウエスタンコーンルートワームのコード配列の一部と一致するように設計された配列になります。

(3) 挿入DNAの性質ですが、挿入DNA等の発現によって生産されるタンパク質及び二本鎖RNAはいずれもコウチュウ目昆虫に対する殺虫活性を発揮するものです。導入方法はアグロバクテリウム法でございます。

28行目の2から4ページの10行目の5までは記載のとおりでございます。

4ページを御覧ください。

15行目から6、安全性評価において検討が必要とされる相違点は、導入された遺伝子及び塩基配列並びにその遺伝子産物に関する事項で、そのほかにつきましては従来のトウモロコシと相違はないことから、MON95275系統の食品健康影響評価においては、比較対象となる既存の宿主があると判断してございます。

8ページ目を御覧ください。

4、ベクターに関する事項です。

21行目から(3)の既知の有害塩基配列を含まないことについてでございます。使用する導入プラスミドの外骨格領域の全塩基配列、構成要素、その由来及び機能は明らかになっており、既知の有害なタンパク質を生産する塩基配列は含んでいないとしてございます。

(4)ベクター中の薬剤耐性遺伝子について、ベクターにはスペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性遺伝子である*aadA*遺伝子が含まれ、これを*E.coli*及びアグリバクテリウムの中での選択マーカーとして用いたとございます。

9ページ目の(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記載になってございます。

10ページ目からが第5、挿入DNA等に関する事項です。

1の(1)挿入DNAの供与体については、先ほど説明した第1の1(2)のとおりでございます。

(2)安全性についてですが、*Bre.laterosporus*と*Bac.thuringiensis*は、ヒトへの病原性やアレルゲン性は知られておりません。また、*DvSnf7*遺伝子の部分配列は、ウエスタンコーンルートワームの遺伝子と一致するように設計されていますが、ウエスタンコーンルートワームがヒトに対して直接的な健康被害等の影響を及ぼしたとの報告はございません。

11ページ目を御覧ください。

9行目から挿入遺伝子のクローニング方法等です。

まず、11行目からの*mpp75Aa1.1*遺伝子は*Bre.laterosporus*に由来する野生型*mpp75Aa1.1*遺伝子の配列に由来します。野生型Mpp75Aa1.1タンパク質の前駆体はそのN末端に23アミノ酸のシグナルペプチドを有していますが、当該シグナルペプチドをコードするDNA配列は*mpp75Aa1.1*遺伝子では取り除かれております。さらに、当該遺伝子の発現におけるタンパク質への翻訳を確実にするため、5'末端に開始コドンであるメチオニンをコードする塩基が付加されております。

次に、23行目からの*vpb4Da2*遺伝子の塩基配列は、野性型*vpb4Da2*遺伝子の配列に由来します。野性型はシグナルペプチドをコードする塩基配列を有しておらず、Vpb4Da2タンパク質はN-及びO-結合型糖鎖によって修飾されております。

続いて、29行目からです。*DvSnf7.1*抑制カセットに存在する*DvSnf7*遺伝子の部分配列は、ウエスタンコーンルートワームから抽出されたRNAを逆転写して、PCR法で増幅して得られております。また、この抑制カセットの転写レベルを高めるために、55塩基からな

るリーダー配列が用いられております。このリーダー配列につきましては、2016年6月に安全性審査を終了したMON87411系統とは異なる配列となっております。

13ページを御覧ください。

13行目からが(3)挿入遺伝子の機能についてです。

14ページ目の24行目から遺伝子産物の機能を御覧ください。

まず、新たに発現する2つのタンパク質は、いずれも細菌由来の殺虫タンパク質です。

17ページを御覧ください。

両タンパク質の作用機序ですが、7行目の後半から記載がありますように、感受性昆虫の体内に取り込まれた両タンパク質は、昆虫消化管の生理条件下において、消化管の特異的なタンパク質分解酵素により部分的に分解されることで、コアタンパク質へと変換され、昆虫の中腸上皮細胞膜上の特異的受容体へ結合し、細胞膜に小孔を形成することで中腸組織に損傷を与え、殺虫活性を示すものでございます。

25行目からの殺虫スペクトラムを御覧ください。

両タンパク質の殺虫スペクトラムを調べるために、*E.coli*で発現させた当該タンパク質を混餌投与する生物検定を、28行目から記載されております8つの目に分類されている計20種の指標生物に対して実施しております。その結果、Mpp75Aa1.1タンパク質に対しては、コウチュウ目、チョウ目、ハチ目の幼虫、アミメカゲロウ目が、Vpb4Da2タンパク質に対してはコウチュウ目、ハエ目の昆虫が感受性を示したという結果になっております。

続きまして、21ページ目からDvSnf7 dsRNAの記載になります。

このDvSnf7.1抑制カセットにおいてDvSnf7遺伝子の部分配列が転写されますと、dsRNAが形成されます。この逆方向反復配列の構成及びDvSnf7遺伝子の部分配列のDNA配列は、食品健康影響評価の終了しているMON87411系統に導入されたものの部分配列と同一です。

一方で、クローニング方法のところで説明いたしましたとおり、MON95275系統では、害虫抵抗性の効果の向上を目指して、DvSnf7.1抑制カセットの転写レベルを高めるために、MON87411系統とは異なる55塩基から成るリーダー配列が用いられております。

16行目からの記載ですけれども、DvSnf7 dsRNAにより生じるRNAiの作用機序は、摂食されるとウエスタンコーンルートワームのRNAi機構に認識され、内在性のDvSnf7遺伝子から発現するmRNAを分解し、オートファジーに関わるDvSnf7タンパク質の発現を抑制することで、細胞の恒常性を妨げることにより、殺虫活性を示すというものでございます。

24行目からの記載になりますが、経口摂取されたdsRNAがRNAiを誘導するには、連続した21塩基以上の配列の相同性が必要となってくるということで、最も近縁でございますコウチュウ目ハムシ科ハムシ亜科の昆虫であっても、21塩基長で一致する配列というのは存在しないことから、コウチュウ目昆虫種の中でもハムシ科ヒゲナガハムシ亜科に属する昆虫にのみ殺虫活性を発揮するとしてございます。

22ページ目の7行目からの毒性タンパク質との構造相同性の記載でございます。

Mpp75Aa1.1タンパク質が既知の毒性タンパク質と機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうかを調査するためにデータベース検索を行った結果、*E*-scoreが $1 \times 10^{-5}$ 以下の相同性を示す配列としてQ02307が検出されています。Mpp75Aa1.1とQ02307はいずれも同じファミリーに属するタンパク質で、構造的な相同性が認められたものの、23ページの23行目最後からの記載にあるように、Q02307が哺乳類に毒性を示すために必要な受容体結合ドメインにおいて、Mpp75Aa1.1タンパク質の受容体結合ドメインとの同一性が欠如しているということから、このタンパク質が哺乳類に対して毒性を持つことは考えにくいとしてございます。

続きまして、26ページ目からVpb4Da2タンパク質についてでございます。このタンパク質についてもデータベース検索を行っておりまして、その結果、*E*-scoreが $1 \times 10^{-5}$ 以下の相同性を示す配列としてP13423が検出されましたが、2つ目のパラグラフに記載されておりますとおり、P13423はそれ自身で毒性を発揮することがない感染防御抗原でありまして、ヒトや動物に対して安全に使用されているものでございます。

また、27ページの5行目からの記載になりますけれども、P13423の受容体結合ドメインの大部分において、Vpb4Da2タンパク質と相同性が認められず、Vpb4Da2タンパク質が哺乳類に対して毒性を持つことは考えにくいとしてございます。

続きまして、29ページ目を御覧ください。

(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子についてです。本システムの導入用プラスミドには、こちらに記載のとおり、抗生物質耐性を付与する*aadA*遺伝子が、*E. coli*及びアグロバクテリウム中での選択マーカーとして外骨格領域に存在していますが、本系統中に当該遺伝子が含まれていないということをNGSで確認してございます。

続きまして、少し飛びます。38ページ目を御覧ください。

6のDNAの宿主への導入方法及び交配についてでございます。導入用プラスミドを用いて、アグロバクテリウム法により形質転換後、グリホサート耐性をマーカーとして用いて選抜を行い、形質転換再生個体を得た後、自殖により得た個体について、T-DNA領域をホモで有し、ベクター由来の領域を持たない個体をPCR法及びサザンブロット分析を用いて選抜してございます。

選抜した個体について、Creリコンビナーゼ発現カセットを持つ組換えトウモロコシ系統と交配し、Cre/lox法によりT-DNA領域から選抜マーカーカセット及びloxP配列の1つが除去され、自殖によりCreリコンビナーゼ発現カセットを持たない個体を選抜しており、それがMON95275ということになってございます。

このCre/lox法による選抜カセットの除去につきましては、こちらも既に審査が終了しておりますチョウ目害虫抵抗性トウモロコシMON95379系統でも利用されている方法でございます。

続きまして、41ページ目を御覧ください。

第6、組換え体に関する事項でございます。

1の(1)を御覧ください。MON95275のゲノムに挿入されたT-DNA領域のコピー数、導入用プラスミド由来の非意図的な配列の有無及び挿入近傍配列を確認するため、シーケンス解析及びPCR分析を行うとともに、導入遺伝子部位の塩基配列をトウモロコシゲノムデータベースと照合して、内在性の既知の遺伝子を破壊していないかを確認してございます。

45ページを御覧ください。

まず、MON95275のシーケンス解析で得られた塩基配列の冗長さの平均値は253であり、非組換えトウモロコシでは235でございました。得られたリードの全てを導入用プラスミドの塩基配列と照合した結果、MON95275では2つの接合領域が特定され、導入遺伝子が1か所に1コピー挿入されたことが示されました。また、導入遺伝子の全ての塩基配列が検出されていることも確認されております。

46ページの記載になりますが、この解析からMON95275に導入プラスミド由来の非意図的な配列が挿入されていないことも確認されたという結論になってございます。

また、Creリコンビナーゼ発現カセットを持つ組換えトウモロコシ系統の導入用プラスミドの配列と照合した結果、MON95275には導入用プラスミドに由来する配列は存在しないと考えられました。さらに、MON95275の挿入領域について、PCR産物の塩基配列を解析し、導入用プラスミドのT-DNA領域と比較した結果、両者が同一であるということが確認されてございます。

続きまして、51ページを御覧ください。

MON95275への挿入DNAの近傍配列が宿主ゲノム由来であることを確認するため、挿入DNA近傍配列の5'及び3'末端近傍配列に特異的なプライマーを作成し、被組換えトウモロコシを用いてPCR分析及び塩基配列の解析を行った後、これをMON95275の近傍配列と比較した結果、MON95275の導入遺伝子挿入部位において、トウモロコシゲノム内在性配列に746bpの欠失及び3'末端とトウモロコシゲノム配列との間に6bpの付加が認められましたが、そのほかの近傍配列の塩基については対照の非組換えトウモロコシと一致しており、導入遺伝子の近傍配列が宿主ゲノム由来であるということが確認されております。

53ページを御覧ください。

MON95275の導入遺伝子挿入部位において宿主の内在性の既知の遺伝子が損なわれていないことを確認するために、MON95275系統の導入遺伝子挿入部位がゲノム配列のどの位置に存在しているかをバイオインフォマティクス解析により調べております。この解析では、MON95275系統の導入遺伝子の5'及び3'末端近傍配列をクエリー配列として、FASTA型アルゴリズムによりトウモロコシのゲノムデータベースに対して相同性検索を行っており、その結果、MON95275系統の導入遺伝子はゲノムの3番染色体に座乗しており、導入遺伝子挿入部位においてトウモロコシ内在性の遺伝子は認められませんでした。したがって、導入遺伝子の挿入によりトウモロコシ内在性の既知の遺伝子が破壊されているということは考えられなかったとしてございます。

続きまして、55ページを御覧ください。

20行目から(2) ORFの有無についてでございます。MON95275の挿入DNA領域と5'及び3'末端近傍配列との接合部位において、意図しないORFが生じていないことを確認するため、6つの読み枠においてORF検索を行った結果、終止コドンから終止コドンまでの連続する8アミノ酸以上の接合部をまたぐORFが10個確認されました。

56ページになりますが、確認された10個のORFと既知のアレルゲン及び毒性タンパク質との相同性の有無を確認するため、アレルゲンデータベース及び毒性タンパク質データベースを用いて、*E*-scoreが $1 \times 10^{-5}$ 未満を指標として相同性検索を行った結果、連続する80アミノ酸において35%を超える相同性及び8アミノ酸の相同性を示す既知の毒性タンパク質及びアレルゲンは検出されませんでした。

21行目からの記載ですが、MON95275の挿入DNA領域において6つの読み枠から産生される目的以外の新規タンパク質の既知のアレルゲン及び毒性タンパク質並びに生理活性のあるタンパク質との相同性の有無を確認するため、同じ条件で相同性検索を行った結果、57ページ目からの記載になりますけれども、相同性を示す配列が検出されましたが、これらのアライメントはいずれも多数のストップコドンで分断されており、いずれもタンパク質として翻訳され、アレルゲン性及び毒性を有する可能性は低いと考えられました。

また、連続する80アミノ酸において、35%を超えるアミノ酸の相同性を示す配列は検出されておられません。

連続する8アミノ酸との相同性については一致が確認されましたが、一致したものはセリンやロイシンの繰り返し配列により生じたバイアスであり、アレルゲンに関わる構造相同性を反映したものであるとは考えにくいとさせていただきます。

続きまして、59ページ目を御覧ください。

2の遺伝子産物の発現部位、発現時期、発現量についてでございます。MON95275の葉、根、花粉、地上部及び穀粒について、目的タンパク質の発現量をELISA法で分析を行った結果が60ページの表7、表8のとおり、また、*DvSnf7.1*抑制カセットの転写産物であるRNAの発現量をQuantiGeneアッセイにより分析した結果が表9のとおりになってございます。

続きまして、64ページ目を御覧ください。

(3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性です。

少し申請書が前後してしまうのですが、タンパク質ごとに説明をさせていただいたほうが分かりやすいかと思っておりますので、タンパク質ごとに説明をさせていただきます。

まず、Mpp75Aa1.1タンパク質についてでございます。こちらは、*E.coli*から調整したタンパク質を用いて各種の感受性を確認してございます。

まず、65ページを御覧ください。

人工胃液試験です。19行目からの記載ですが、SDS-PAGE分析及びウエスタンブロット分析を行った結果、67ページの図16のAのとおり、SDS分析においては、完全長のタンパク質は試験開始後0.5分であるレーン5では消失しておりますが、3.5~6kDaの位置にフラグメントが確認され、試験開始2分後であるレーン6でもそのフラグメントは確認されてご

ざいます。

68ページの図17のAを御覧ください。こちらはウエスタンブロット分析の結果になっております。完全長のタンパク質は試験開始後0.5分であるレーン5で消失し、3.5～6kDaのフラグメントも検出されておられません。

続きまして、71ページ目を御覧ください。

こちらが人工腸液試験に関する事項です。ウエスタンブロット分析の結果は、72ページ目の図20のAになります。完全長のタンパク質は、試験開始15分であるレーン6で検出限界以下まで消化されますが、完全長のタンパク質とは異なる複数のフラグメントが試験開始5分後のレーン5から現れ、試験開始24時間後のレーン12でも消失しませんでした。申請者は、これはほかのCryタンパク質にも典型的に見られる特徴であると記載してございます。

続きまして、74ページを御覧ください。

加熱処理に対する感受性についてです。感受性について確認するために、機能活性の生物検定及びSDS-PAGE分析を行っております。

12行目からの記載になりますが、生物検定の結果、76ページの表10のとおり15分の処理の場合には75℃以上で、表11のとおり30分間の処理の場合には55℃以上で失活するということが示されてございます。

また、74ページに戻っていただきまして、21行目からの記載になりますけれども、SDS-PAGE分析の結果が77ページの図22のとおりになっておりまして、95℃で完全長のタンパク質の分子量に相当するバンドの強度が低下し、75℃15分間の処理で低分子量のフラグメントが増加したという結果になってございます。

続きまして、Vpb4Da2タンパク質について御説明させていただきます。申請書は66ページにお戻りください。

こちらも*E.coli*から調整したタンパク質を用いて、各種の感受性を確認してございます。

まず、人工胃液中における消化性について確認するため、SDS-PAGE分析及びウエスタンブロット分析を行った結果、69ページの図18のAのとおり、SDS-PAGEにおきましては完全長のタンパク質は試験開始後0.5分であるレーン5では消失しておりますが、こちらにも2.5～6kDaの位置にフラグメントが確認され、反応開始5分後であるレーン7でもそのフラグメントは確認されてございます。

また、ウエスタンブロット分析の結果が70ページの図19のAのとおりでございまして、完全長のタンパク質は試験開始後0.5分であるレーン6で消失していることが確認できたとしてございます。

続きまして、71ページ目を御覧ください。

こちらは人工腸液試験に関する事項です。

ウエスタンブロット分析の結果は73ページの図21のAになります。完全長のタンパク質は、試験開始後5分であるレーン6で検出限界以下まで消化されますが、約60kDaより小さい複数のフラグメントが試験開始5分後のレーン6から表れ、試験開始1時間後のレーン9で

も消失しませんでした。申請者は、これもほかのCryタンパク質にも典型的に見られる特徴であるという説明をしております。

続きまして、75ページを御覧ください。

加熱処理に対する感受性についてです。感受性について確認するために、機能活性の生物検定及びSDS-PAGE分析を行っております。

11行目からの記載になりますが、生物検定の結果、78ページ目の表12、表13のとおり、55℃以上15分以上の処理で失活するということが示されたとしてございます。

また、75ページ目の18行目からの記載になりますが、SDS-PAGE分析では、結果が79ページの図23に示されておりまして、75℃で完全長のタンパク質の分子量に相当するバンドの強度が低下し、55℃15分間の処理で低分子のフラグメントが増加したとしてございます。

続きまして、80ページ目を御覧ください。

(4) 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ですが、両タンパク質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に、データベースを用いて相同性検索を行った結果、*E*-scoreが $1 \times 10^{-5}$ 未満を示す既知のアレルゲン、連続する80アミノ酸配列について、35%以上の相同性を有する既知のアレルゲン及び連続する8アミノ酸配列が既知のアレルゲンと一致する配列といったものは見いだされませんでした。

30行目からが5、導入された遺伝子の安定性についての記載になります。本系統の5世代分の穀粒から抽出したゲノムDNAを用いてNGS解析を行った結果、5世代全てについて導入遺伝子に起因する2つの接合領域のみが検出されたことから、複数世代にわたって安定して遺伝しているとしてございます。

また、81ページの6行目からですが、両タンパク質の発現の安定性を確認するために、5世代のMON95275並びに対象の非組換えトウモロコシから採取した穀粒について、ウエスタンブロットを行った結果、5世代ではいずれの世代でも両タンパク質が発現しているということが確認されたとしてございます。

また、82ページの4行目からの記載になりますが、*DvSnf7.1*抑制カセットの転写産物である完全長のRNA及びsiRNAの発現を確認するため、MON95275系統の5世代の非組換えトウモロコシから採取した葉についてノーザンブロット分析を行った結果、完全長の転写産物を示すバンドとその分解物であると思われるバンドが全ての世代において観測されたことから、転写産物であるRNAが安定して後代で発現していることが示されたとしてございます。

87ページ目を御覧ください。

6、代謝経路への影響でございます。両タンパク質が何らかの酵素活性を持つという報告がないことから、新しい代謝経路及び代謝産物を作るということは考えにくく、両タンパク質が宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性はないと考えられるとしております。さらに、構成成分分析の結果からも、これらのタンパク質が代謝経路に影響していないということ

が確認されたとしてございます。

9行目からの記載ですが、dsRNAはトウモロコシの内在性遺伝子に由来するものではないため、宿主であるトウモロコシの遺伝子の発現を抑制することはないと考えられるとしております。また、dsRNAは食品健康影響評価の終了したMON87411系統におけるdsRNAの塩基配列と同じ配列であること、dsRNAは構造的にリボソームで翻訳が阻害されるため、dsRNAが新たなタンパク質を発現する可能性は極めて低いことから、生産されるdsRNAが宿主の代謝経路を変化させることがないと考えられるとしてございます。

続きまして、88ページの7、宿主との差異を御覧ください。

組換え体と宿主品種を2019年に米国の5ほ場で栽培し、穀粒と地上部で構成成分について比較をしてございます。89ページの表14に、比較した構成成分のうち、統計解析を行った項目がまとめられてございます。

90ページ目を御覧ください。

比較の結果、穀粒における栄養素の含有量については、リノール酸等の7項目で統計学的に有意性が認められましたが、平均値は全てILSIデータベースのデント種の範囲内に収まっていたということでございます。

また、11行目からの穀粒の栄養阻害物質の含有量、穀粒の二次代謝産物含有量、地上部の栄養素含有量につきましては、統計学的有意差は認められませんでした。

ここから結果が続きますので、少し飛んでいただきまして、105ページを御覧ください。

8、諸外国における認可の状況でございます。こちらにつきましては、記載のデータが古かったので、最新の状況を申請者に確認してございます。

まず、EFSAにつきましては、2022年4月に申請を行っているということで変更はございません。

次のカナダ保健省及びその下のカナダ食品検査庁につきましては、2023年1月に食品・飼料及び輸入のための安全性審査並びに環境・飼料の安全性審査の申請を行ったということになってございます。

続きまして、FDAでは2023年6月に食品・飼料として安全性審査が終了し、一番下のFSANZでも2023年10月に食品としての安全性認可を受けたという修正が入ってございます。

9の栽培方法、10の種子の製法保及び管理方法等は記載のとおりでございます。

申請書の説明は以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、審議に入りたいと思います。

今回初めて実際の審議に参加される委員もいらっしゃいますので、少し丁寧にやりたいと思っておりますけれども、まず第1から第4、ベクターに関する事項まで、ページでいくと9ページまでで何か御質問、御意見、コメント等がありましたらお願いいたします。

ないようですので、それでは、後から戻っても構いませんので、先に進みたいと思いま

す。

それでは、次は第5の挿入DNA、遺伝子産物、ベクターの構築、ページで言うと40ページまでのところでコメント等がありましたらお願いいたします。

私のほうから、17ページに殺虫スペクトラムの表が出てきて、特異性について書かれているのですけれども、ここでLC<sub>50</sub>はよく聞いてよく分かるのですが、EC<sub>50</sub>というのが出てくるのですけれども、半数影響濃度というものです。これは実際にどういう評価をやっているのか分かりにくかったので、もし事務局で分からないのであれば、申請者に聞くようにしたいと思っておりますけれども。

〇〇〇 ありがとうございます。

事務局でも詳細を確認しておりませんでしたので、申請者に確認するのがよいかと思います。

〇〇〇 では、これは後で申請者に確認したいと思えます。

そのほかにございますでしょうか。

今回は2つ新しいインセクティサイドとかペスティサイドが導入されていまして、今までCryタンパク質とかBtタンパク質として一括りと言っていたタンパク質についてなのですけれども、新しい分類法がパブリッシュされたということで、それに基づいた形の申請としては初めてではないかなと思っております。私のほうから事務局にお願いしまして、すぐにどうこうということではないのですけれども、皆様と御議論しておきたいなと思ったことがありましたので、今日の机上配布資料1をお手元に御用意いただければと。画面でも共有されているかと思っておりますけれども、その図1です。

従来、この調査会で出てきたものとしては、Cryタンパク質とVipタンパク質というのが出てきてはいるのですけれども、それまでは殺虫スペクトラムとか、あと、バクテリアがどの時期にBtタンパク質みたいなものを分泌するかみたいなクライテリアで分けられていたようなのですが、さすがにそれで追いつかなくなったということで、構造に基づいて分類分けをしましょうという形で提案されたようで、今、画面に出ています図1のような分類分けが提案されて、今回はそれに基づいて申請されてきています。例えばMpp75Aa1.1は旧称はCry75Aa1.1、Vpb4Da2は旧称はVip4Da2ということで、旧称でいくとCryとかVipだったので、名前が少し新しい分類に基づいて変わったということです。

以前、別の申請者のほうで、新しいBtタンパクとかが出てきたときには、この後交配してスタッキングすることがありますので、タンパク質の間の相互作用というのを考えないといけないのではないかということで、ほかの承認済みのBtタンパク質との相互性はないのですかみたいな質問をよくして、代表的なものについては調べて報告していただいているのですけれども、私、今回この図を改めてよく見て、なるほどと思ったのは、結構構造にバリエーションがあって、それぞれのペスティサイドとかインセクティサイド、何と言ったらいいかよく分からないのですが、それぞれのタンパク質がオリゴマーを作ることが多くて、そのオリゴマーの作る部分のドメインも結構分かってきているということで、

タンパク質の相互作用を見るときは、オリゴマーとかの形成を考えると、同じクライテリアに入ってきたものをスタッキングするような場合は調べておいたほうがいいかなど。オリゴマーを形成する可能性があるかなと思っているのですけれども、違うクライテリアに入るものについてはその可能性はかなり低いのではないかと思った次第です。

ただ、それに基づいて早急に方針を変えるというわけではないのですけれども、皆さんに考えていただいて、もし何か御意見がありましたら、この場でなくても後で事務局にお寄せいただいてもいいのですが、考えておいていただければと思っています。

もし今何か御発言したいという方がおられたら、挙手等をお願いいたします。

〇〇〇とかどうですか。

〇〇〇 どんどん新しい種類とかも出てきているのですけれども、結局この先問題になってくるのかなと思っているのは、既に使われているもの同士の組合せだったり、そういうものが出てきたときに、どちらも安全性は確認されているからこういう組合せでも大丈夫だよねというような進め方がされていくのかなというところなのですけれども、そういったところを我々はどういうふうに考えておけばいいのかというのが必要なかなと思います。

以上です。

〇〇〇 今回の殺虫スペクトラムを御覧いただいても分かるように、基本的に殺虫スペクトラムが違うインセクティサイドについては、多分ほとんどの場合で受容体が決まっていないので、受容体が恐らく違うと想定されるのですけれども、その意味では、受容体の重なり具合とかでの相互作用というのはあまり考えなくてもいいかなとは思っているのですが、オリゴマー形成等は、場合によっては相乗効果とか相殺効果とか、そういうことが出てくるのかなとは考えてもいいかなと私自身は思った次第です。

取りあえず申請者のほうには毎度聞いているので、これまでに使われているような代表的なBtタンパク質との相互作用については質問事項としてお聞きしておこうかなとは思っています。

そのほかに、40ページまでのところでコメント等がありましたら挙手をお願いいたします。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 今のところが出ているところなので、そうすると、これは今後申請するときは、このクライテリアで名前をつけて申請してもらおうという形にするということでしょうか。指針というか技術的文書等に書き込んでいくことになるのかなと思うのですけれども、いかがでしょうか。

以上です。

〇〇〇 基本的には最新の知見に基づいて申請してもらおうということになっていますので、今後申請される方については、旧称で来るのではなくて、できれば新しい分類に基づいて申請していただくようにしていただきたいというのと、過去のものには名前が変わっているものがあるのかないのかというのも含めて事務局で調べていただいて、調べられればです

けれども、もし一覧表みたいなものが作れるようであればお願いしたいなと思っております。

〇〇〇 ありがとうございます。

では、事務局で過去の申請内容を確認して、一覧表にできるかどうかやってみたく思います。

〇〇〇 そのほかに。

どうぞ。

〇〇〇 26ページ、27ページの部分なのですが、Vpb4Da2タンパク質に対して既知毒性タンパク質との相同性検索を行い、P13423というものが見つかったとあります。しかし、P13423はヒトに対しては無毒であると書かれています。かつ、ドメイン毎の相同性比較を行ったところ、このP13423は4つのドメインのうち、ドメインI~IIIはVpb4Da2と相同性が高いものの、ドメインIVに関してはVpb4Da2と相同性が認められなかったと書かれています。以上より、Vpb4Da2は哺乳類に対して安全だと書かれています。このロジックがよく分からなかったのが御審議いただければと思った次第です。

以上です。

〇〇〇 それについては、申請者をお呼びしますので、直接申請者のほうにお聞きいただければと思います。

ほかにありませんか。

今回、殺虫スペクトラムの表は出ているのですが、哺乳類に対しての値等はないのですが、これでよろしいかどうかということについていかがでしょうか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 データを持っているのだっただけなら見せていただきたいところなのですが、既に以前に認められていますというものに対して言うのはと思ったところなのですが。

〇〇〇 私も多分そういう意見は出るだろうなと思って、昨日復習しまして、検索をかけてみたら、実はこの両タンパク質はどちらも安全性について論文が出版されていまして、それはこのファイルのほうでは引用していないのですが、その論文が出ていたので、今日、机上配布資料2と3にそれをつけさせていただきました。

これは申請者から出ている資料ではないので、昨日考えながらどうしたものかなと思っただけなのですが、それを見ると、一応動物試験のほうでどちらも急性毒性試験はされていて、安全性に問題はないと。マウスかラットか忘れましたが、それで行われているというような記述がされています。

こちらについて、バイエルの申請者のほうに、こういう論文が出ているのだけれども、これを取り込むような形で申請書を少し手直ししていただければどうかというのは今日聞いてみたいとは思っています。

そのような論文が出ているということをご前提としてですけれども、どうでしょうか。〇〇〇とか〇〇〇とか〇〇〇、動物の安全性上のリスクがあるかどうかということについて

て、何か追加で試験が必要とか、もしコメントをいただければ。どうでしょうか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 私もこの辺りに詳しいわけではないのですが、私のほうとしては、炭疽菌とのプロテクティブアンティゲンと相同性が高いVpb4Da2よりも、むしろウエルシュ菌のトキシンと相同性が高いMpp75のほうが、相同性もかなり高いですし、ちょっと気になったのですが、結合ドメインの部分がないからいいだろうという結論になっているのですが、かなり強い神経毒でもあるので、もし可能だったら培養細胞との結合試験とかがあるといいなと思ったところがありました。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

ほかの先生方、どうでしょうか。

〇〇〇とか、どうでしょうか。大丈夫ですか。

では、〇〇〇からも御意見がありましたように、説明は少し分かりにくいところがあるということなので。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 〇〇〇からのお話もあったのですが、27ページの哺乳類に対する毒性を持たないということが、培養細胞等とかのデータがあれば示してもらえればと思いました。

〇〇〇 分かりました。では、その点は申請者のほうに少し確認したいと思います。

それでは、次は第6、組換え体に関する事項で、第4の遺伝子のアレルギー誘発性のところまでで、ページでいくと62ページまでになりますけれども、そちらについてコメント等がありましたらお願いいたします。

今回、40ページの育成図のところですが、最初に導入プラスミドを入れた後、グリホサート耐性のところをCre/loxで抜いているという作業をしております。ほかの形質転換体と交配をかけた後、Cre/loxのリコンビナーゼを持っているローカスを抜いたものを申請しているという形になっております。

保菌数とかベクター由来の配列のチェックがF<sub>4</sub>で行われているのですが、1個体に選抜したのはF<sub>3</sub>で、その1個体で調べているわけではなくて、F<sub>4</sub>で調べているようなので、分離のところとかは大丈夫かなという感じが若干あるので、申請者はこういうことに慣れているはずなのですが、一応そこは確認しておきたいと思います。F<sub>3</sub>で確認してもらえれば何も問題はなかったのですが、F<sub>4</sub>で確認しているようなので、そこは確認したいと思います。

そのほか、お気づきの点はありませんでしょうか。

どうぞ。

〇〇〇 54ページのところなのですが、この系統の導入遺伝子部位の模式図が書かれていると思います。確かにこの結果からすると、遺伝子のエクソンを破壊しているわけではないということはこの図から分かるわけなのですが、ただ、かなり近傍の遺伝

子も存在するのかなと思います。こういった近くにある遺伝子が一体何をしているのかよく分からないのですけれども、こうした近傍にある遺伝子の発現への影響等は見なくてもいいのかなというのが気になりました。これまでの遺伝子組換え食品の審議においてもこういったことはあったと思うのですが、こういった整理をされてきたのか私は分からなかったもので、御教示いただければ幸いです。

以上です。

〇〇〇 これまで近傍遺伝子については、直接削れているとか、何か断片が直接入り込んだとかということがあった場合は、もしくはプロモーター領域とかターミネーター領域に入り込んでいるという場合は、一応発現を確認するというのを求めてきたのですけれども、少し距離が離れていますという場合はいいでしょうという形でやってきています。ゲノム編集のほうで欠失が結構認められてきているので、なかなか欠失したからすぐどうこうという形にはしにくい形にはなっています。大体申請者にこの点をつっ込むと、農業形質上は何も問題ありませんと返ってくるケースが多くて、何か影響があったとしても農業形質上は全く問題ありませんという形で来ますので、削れているないしは直接プロモーターとかそういうところに入り込んでいるという場合は確認しますけれども、そういう形でやってきました。

57ページのORFの検索のところですが、若干検索日が古いかなと思ったのですが、よろしいですか。ぎりぎり2年ちょいを超えているのですけれども、これは事務局で止まっていたからとかということはあるのですか。ここのところ、ガイドラインの改訂とかでなかなか審議が追いつかなかったというところもあるかもしれないのですけれども。

〇〇〇 ありがとうございます。

事務局のほうでも確認は事前に行っているのですが、この案件がいつだったかという正確な日にちは今はわかりませんが、少なくとも2023年9月時点の資料としては提出してもらっていますので、その時点での内容ということで見えています。

〇〇〇 どうしましょう。もう一度やっていただきますか。一応この委員会では2年程度をめぐりにということにしてありますので。

〇〇〇 データベースもアップデートされているのではないかと。そこところを確認してから、アップデートされているようだったら新しいのでということ。

〇〇〇 了解しました。

〇〇〇 それは申請者のほうに聞けばよろしいですか。申請者も分かるかどうかもあるけれども。

〇〇〇 調べれば分かると思う。

〇〇〇 では、データベースがアップデートされているかどうかで考えるということ。

それでは、次は第6のその2で、アレルギーから構成成分の最後までということになりますので、そこについてコメントがありましたらお願いします。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 1点よろしいでしょうか。

74ページになるのですけれども、**Mpp75Aa1.1**タンパク質の加熱試験のところなのですが、25行目以降なのですが、タンパク質の凝集が75℃、95℃で見られているということで、その凝集体が高温になると下がってくるとあるのですけれども、この試験では欄外にありますけれども、当該試験は加熱処理したサンプルについて遠心分離の調査を行わずに供試したとありまして、その凝集体が77ページの図の中で、**SDS-PAGE**の中のどこで見られるのか。凝集体をどのように見るのかというのが分からなくて、ただ、高温になって、95℃で分解が進んでいるということは分かりますので、変性が起きているということで、特に問題にはならないと思うのですけれども、凝集体をどうやって観察しているのかということだけ教えてもらえればと思いました。

〇〇〇 この点、私も凝集体はどこにあるのだろうなと思ったので、もしかすると元の写真は見えているのかもしれないのですけれども、申請者に確認してみましょう。

そのほかにありますでしょうか。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 今のところに入ってよろしければ、74ページの加熱試験のところなのですが、15行目には55℃の試験で活性の低下が認められると書いてあるのですが、下の17行目では75℃と95℃では用量反応関係が観測されずという表現になっていて、言葉を使い分けているのですけれども、いずれもEC<sub>50</sub>が算出できなかったということの理由が違う表現で書かれているので、これはどういう違いなのかというのが資料を見てもよく分からなかったのですが、ここを確認させていただきたいと思いました。

〇〇〇 分かりました。それは〇〇〇のほうから申請者に聞いていただくようお願いできますでしょうか。

それでは、そのようにお願いします。

今回、**RNAi**のコンストラクトが使われていて、リーダー配列がくっついているのですけれども、ステムの逆位反復配列で使っている配列自体は前回のと一緒で、前回のと違うのはリーダー配列ということなのですけれども、転写効率を上げるという形で入れているようですが、実際に転写効率が上がっているのかというのはお聞きしておきたいと思っています。

86ページに写真が出ていますけれども、この写真だと逆位反復配列から出てきた転写産物は0.2キロから1キロぐらいのところに分布しているのですけれども、これだと普通はsiRNAと言わなくて、論文的に言うと**Long double-stranded RNA**という形になるのですけれども、昆虫の場合はこのぐらいの長さのものを発現していないとうまく効かないという論文が結構ありまして、siRNAはsiRNAでできているのですけれども、長めの二本鎖コードが少し残っていないと、どうも昆虫では効きが悪いよと。食べたときにうまく効いてくれないことがあるようなので、この長さのものが出ているのは構わないのですが、実際に発現量が増えているかどうかというのは念のため確認しておきたいと思います。

そのほか、全体を通してお気づきの点はありますでしょうか。

それでは、これから申請者のほうに入っていていただいて、幾つか挙がってきた質問を実際に聞いてみたいと思いますので、申請者をお呼びしたいと思います。

5分ほど休憩ということにさせていただきます。11時10分からということをお願いいたします。

(休 憩)

〇〇〇 それでは、説明者の方、会社名と名前が結構ですので、自己紹介をお願いします。

〇〇〇 バイエルクロップサイエンスの〇〇〇と申します。本日はどうぞよろしく願いいたします。

〇〇〇 同じくバイエルクロップサイエンスの〇〇〇でございます。本日はよろしく願いいたします。

〇〇〇 バイエルクロップサイエンスの〇〇〇でございます。よろしく願いいたします。

〇〇〇 同じくバイエルクロップサイエンスの〇〇〇です。本日はよろしく願いいたします。

〇〇〇 それでは、これから質疑応答に入りたいと思います。

最初に、申請資料の17ページの殺虫スペクトラムのところを見ていただきたいのですが、そこにはLC<sub>50</sub>というのがよく出てくるのですが、EC<sub>50</sub>というのが出てきまして、ちょっとなじみがないので、このEC<sub>50</sub>は何が影響してこの半数影響濃度というのを決めているのか、御説明いただけたらありがたいです。

〇谷村氏 ありがとうございます。

御説明いたします。

今回の殺虫スペクトラムを確認するための生物検定試験でございますが、当該タンパク質を餌に混餌して対象となる供試された昆虫目の昆虫種に食べさせて、その影響を見ます。

その影響を見るのが2つございまして、この影響が強く出た場合には、この昆虫、幼虫なのですが、死にます。ですので、まず1つ目として、供試した昆虫の半数が死ぬ量というのを濃度依存的に確認しまして、その半数の供試昆虫種が死ぬ濃度というのがLC<sub>50</sub>になります。

もう一つ評価の項目がございまして、仮にこのタンパク質の影響があまり強くなかった場合に、死にはしないものの、体重が減るといような効果が見られます。顕著に体重が減った個体数というのをカウントしまして、それが供試した昆虫数の個体数の半分になるようなもの、こちらも濃度依存的に影響を確認しまして、その半数が影響を受ける、体重が減るといような濃度というのを算出します。

強く効果が出る場合は死ぬ、あまり効果が出ない場合は死なないけれども体重が落ちるといことになるのですが、いずれにおいても、体重が減ったら、それは効果がある、活

性があると評価しております。

以上になります。

〇〇〇 分かりました。

次は、〇〇〇から例のホモロジーのところをお願いします。

〇〇〇 〇〇〇から質問させていただきます。

26ページ、27ページ目のところです。こちらでVpb4Da2タンパク質の哺乳類に対する毒性を考える上で、ホモロジータンパク質、既知の毒性タンパク質の評価をしたときに、P13423というものが挙げられているかと思います。こちらが哺乳類に対しては安全性が確認されているということで、基本的にはこのVpb4Da2も安全だという書き方をされているかと思います。さらに、P13423に関してはドメインI~IIIがVpb4Da2と似ていると書かれているかと思います。ただ一方で、P13423のドメインIVに関してはVpb4Da2と相同性があまりないという書き方をされているので、Vpb4Da2が安全だということの説明としてはややロジカルではないのかなと感じました。この辺りの説明をいただければと思った次第でございます。

以上です。

〇〇〇 Vpb4Da2とヒットしたタンパク質P13423とのより詳細な確認ということで受容体結合ドメインを確認しているのですけれども、その部分で、全体の配列のうち、アミノ酸は2つしか一致がなかったというところで、今回、哺乳類に毒性を示すとは考えにくいと記載してはいるのですけれども、御質問いただいたのは、この内容だと部分的にしか答えられていないという御趣旨でしょうか。すみません。

〇〇〇 Vpb4Da2はP13423と相同性があるタンパク質だが、P13423には毒性がないという説明をした上で、しかしながらP13423のドメインIVに関してはVpb4Da2と似ていないのだと言っているのです。そうすると、Vpb4Da2がP13423のドメインIVに相当する部分に関して安全なのかどうかというのはこれではよく分からないなと思いましたので、質問させていただきました。

〇〇〇 今回の安全性評価なのですけれども、過去の安全性評価に沿って、まずは第1段階としてTOXのデータベースで一致した場合にはより詳細な確認が必要ということで、前述のMpp75と同じように評価をしております。ですので、おっしゃるとおり、まずP13423そのものが毒性を単独で持っているものではないというところで問題ないという結論もできるのですが、TOXのデータベースに登録されているタンパク質とヒットした以上、お作法的なところでもあるのですが、仮にこれが危ないタンパク質だったと仮定したときにやはり重要なのは、結合ドメインにおいて相同性が見られたら危ないですということで、より追加的にコンサバティブに評価をしているという形になります。

〇〇〇 そうすると、ドメインIVに関して受容体結合能がないから安全だと言いたいということですか。

〇〇〇 その部分が、仮にP13423が毒性タンパク質だという場合を仮定したとしても、受

容体結合ドメインにおいて今回のVpbのタンパク質とは相同性がありませんので、その仮の場合でも安全性に問題はありませぬという考察になります。

〇〇〇 恐らくその考察をするのであれば、Vpb4Da2のドメインIVに当たる部分に関してどんな機能があるのかということを示されないことには、多分説明としては正しくないのではないのかなというの思う次第でございます。

〇〇〇 このドメインIVは、先生が先ほどおっしゃられたかもしれませんが、ドメインVIと2つのドメインで、ドメインVもですね。Vpb4Da2タンパク質は6つのドメインから成っております、そのうちのドメインIV、V、VIというのが受容体結合ドメインになります。一方で、ドメインIとIIIがオリゴマー化ドメインで、ドメインIIが小孔形成ドメインという形で、基本的にはIIIドメイン型のいわゆるCryタンパク質と同じように受容体結合ドメイン、オリゴマー化ドメイン、小孔形成ドメインと分かれてはいるのですが、大型のタンパク質で6つのドメインから成っているというところがございまして、おっしゃったとおり、今回確認している部分は、28ページの図5において赤色でマークしているところが受容体結合ドメインの配列に該当する。この部分においてアミノ酸の一致がないということまでを確認しております。

〇〇〇 ここの説明のところ、ドメイン単位で説明するというのは以前のケースから始まって、今回、しかもCryタンパク質の分類も変わりましたという形で申請されていて、その資料とかも拝見したのですけれども、今後こういう高次構造に基づいたようなディスカッションというのをしていかななくてはいけないのかなと考えておりますが、今回のものは申請書本体のところはアミノ酸配列ぐらいしか載ってなくて、しかも、高次構造が折り畳まれて、例えば受容体結合ドメインになっていきますみたいなケースだと、アミノ酸配列上で結構飛び飛びになるのです。なので、そこら辺の関係が分かりにくくて、できればもう少しリボンモデルなりをつけていただいて、こういう折り畳みでアミノ酸配列のこの部分に相当しますよみたいなものも含めて、それで相同性がこうなのでこういう考察をするという形で、安全性にそれがつながるのですという形の表現として記載していただくと、より分かりやすくなるかなと思いますので、少し表現というか記載をより丁寧にしていただけたらありがたいと思います。

〇〇〇 大変失礼いたしました。そのようにさせていただきます。ありがとうございます。

〇〇〇 それで、今回殺虫スペクトラムのところ表を出していただいているのですけれども、哺乳類に関してのデータがないのですが、昨日調べたら論文が出版されているのが分かりまして、PLOS ONEに2本論文が出ていまして、それぞれの今回の新しいインセクティサイドの安全性評価の論文が載ってまして、それを今回机上配布資料でこちらの委員の先生方に配っております。そこにはマウスとかラットの急性毒性試験等の結果も載っているのです、最新の知見を盛り込むということで、その論文を引用する形で少し議論を付け足していただくというのは、申請者としては可能でしょうか。

〇〇〇 御指摘くださりましてありがとうございます。

おっしゃるとおり、2022年にマウスの急性毒性試験の論文が論文化されておまして、Mpp75Aa1.1タンパク質とVpb4Da2タンパク質も両方それぞれ記載しまして、マウスに一定量のタンパク質を投与して14日後まで観察し、悪影響がなかったと記載されておりますので、この内容を記載させていただきたいと考えております。

特に記載場所等の御指定がございましたら、指定の項目に記載させていただくのですが、ございますでしょうか。

〇〇〇 場所は今、頭がすぐ回らないので、後ほど事務局を通じて御連絡するようにいたします。

〇〇〇 分かりました。ありがとうございます。

〇〇〇 それから、委員の方から質問があったのですけれども、これは例えばヒトの培養細胞を使ったような腸管細胞への結合試験みたいなものはされていますかということなのですが、その点についてはどうでしょうか。

〇〇〇 まず事実としまして、これまでそういった試験はしておりません。

事前指摘事項への回答においても御説明させていただいてはいるのですが、今回の件、ドメインを区切った形でより丁寧に発現タンパク質の毒性を確認したこと、そして、今回の発現タンパク質の核酸供与体である *Bre.laterosporus* 及び Bt 菌、これらについて十分な食経験があること、発現タンパク質が人工消化液、ペプシン、パンクレアチンにおいて消化されること、また、加熱処理においても感受性を持つこと、これらのことをエビデンスの重みづけ、Weight of evidence として考えますと、十分な安全性を評価できるような状態にあるということから、細胞毒性試験はこれまでのところ、実施してはおりません。

以上になります。

〇〇〇 分かりました。

次は57ページのところですけれども、ORF検索のデータベースとの検索が2021年の2月になっているのですが、このCOMPAREとか、このバージョンは今のバージョンと一緒にですか。それともちょっとバージョンが古くなってしまっているか、分かりますか。

〇〇〇 このバージョンですが、これまでのケースですと大体1月、2月ぐらいに更新されることが多いと認識しておりますので、恐らくADの2022になっている可能性が高いと考えております。バージョンアップしていると考えております。

〇〇〇 では、すみませんが、もしバージョンアップされているようであれば、新しいバージョンのデータベースにもう一度当てていただくことは可能でしょうか。

〇〇〇 ぜひ検討させていただきます。

〇〇〇 次に、74ページの消化性試験のところですが、〇〇〇、お聞きいただけましたらと思うのですが。

〇〇〇 27行目なのですが、75℃、95℃でタンパク質の凝集が観察されてあるのですけれども、77ページの図で凝集体がどこにあるのかちょっと分かりづらいので、そこを教えてくださいたいと思うのですが。

〇〇〇 おっしゃるとおり、確かに低分子量のフラグメント自体は視覚的に非常に見やすいのですが、凝集体が観測されているというところが、例えば凝集して高分子量のほうに出ているというものではバンドを見る限りございませんので、オーバーステートメントの可能性がございますので、こちらのほうで確認させていただきまして、もしそういった場合には、この文言自体を削除させていただくという形で。

〇〇〇 ゲルの中に入らない、ゲルのトップに残っている部分かとは思いますが、確認をお願いいたします。

〇〇〇 恐らく可能性としてございますのが、レーン番号のすぐ下に薄ら黒いものが、特に30分の図22のBのほうの6、7、8レーンあたり、75℃、95℃のところちょっと黒いバンドが上のロードした部分に出てきているので、それをもって凝集と表現させていただいているのですが、専門家の手島先生の御見解としては、これでは凝集というのは言い過ぎになりますでしょうか。

〇〇〇 ちょっとクリアではないのと、そういう意味で、8番にも見えていたりするのですが、もう一度確認をお願いいたします。

〇〇〇 おっしゃるとおりですね。分かりました。確認させていただきます。

〇〇〇 その上のほうに見えるものはゲルに入らなかったようなタンパク質かもしれないので、確認していただいて、表現等を修正するようであれば修正するようお願いいたします。

〇〇〇 そういたします。ありがとうございます。

〇〇〇 74ページについては〇〇〇からも質問があるということなので、〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 お願いいたします。

今の74ページの15行目のところには、55℃での試験が行われて、30分の処理で活性の低下が認められたため、EC<sub>50</sub>が算出されなかったと記載されていまして、その2行の17行目のところには、75℃及び95℃で用量反応関係が観測されないためにEC<sub>50</sub>が算出できなかったと表現を変えていらっしゃるのですが、こちらは活性の低下が認められたからではなくて、このように記載されているのでしょうか。お教えいただけますでしょうか。お願いいたします。

〇〇〇 この部分は、こちらのほうで持ち帰って確認させていただいてよろしいでしょうか。恐らくこの結果を見る限り、そもそも機能活性自体は見られていないぐらい少なくとも低い値ではあると思うのですが、恐らくその上で用量関係のところですね。ここの部分が観測されていないという部分にフォーカスしたと考えてはいるのですが、その書き分けの理由について、今、手元に確認できるものがございませんので、こちらは持ち帰って検討させていただきたいと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 それでは、用意している質問としては最後になるのですが、86ページのsiRNAといいますか、Double-stranded RNAの検出のところですが、今回逆位反復

配列の前にリーダー配列をくっつけていますけれども、前回の同じコンストラクトを入れたときに比べて、MON87411に比べて、実際に転写量が増えているということは確認されているのですか。

〇〇〇 その部分ですが、確実に安定して転写量が増えているというところまでは言えない状況でございます、1つお示しできるのが、前回のMON87411系統で発現したRNAと今回のものを、今回の場合ですとコウチュウ目害虫への抵抗を付与したいということで、根における発現というところを比べてみますと、こちらが $10^{-3}\mu\text{g/g}$ 組織で穀粒で発現するのですが、単純に整数の数字で取ってみますと、たしか前回のものが3.15ぐらいで、今回のものが5.0ぐらいだったと思いますので、単純にこのデータだけで比較しますと、量としては1.5倍ぐらいの差があります。ただ、前回のものは確実に同じ生育段階ではなくて、3葉期から4葉期のものに対して、今回は2葉期、4葉期という形で、完全に生育段階が一致しているわけではないというところも、サンプリングのタイミングも含めまして、これがどの状況でも安定的に発現するというわけではないのですが、状況としまして少し上がっているというようなところは見られております。

〇〇〇 分かりました。

質問するのを忘れていたのですけれども、40ページの育成図ですが、今回1回コンストラクトを入れて、その後、*cp4 epsps*のところをCre/loxで抜いているという作業をしているのですけれども、恐らくコピー数とか導入された様式などはF<sub>4</sub>でシーケンスされているようですが、本文を読むと、1個体に選抜したのはF<sub>3</sub>と書いてあると思うのですけれども、F<sub>4</sub>で調べると1個体ではなくなってしまうので、自家受粉にしても見えないローカスのものがヘミで入っていたりすると、分離したりするかなみたいな可能性が出てきてしまうのではないかと思いますので、その点どうですか。

〇〇〇 今回の作出方法なのですが、Cre系統と交配してF<sub>1</sub>を作り、それを自殖してF<sub>2</sub>を作出して、Cre由来のリコンビナーゼがない個体を選抜し、これを自殖してF<sub>3</sub>へ進め、そこで1個体のものを次に引き継ぐのですが、F<sub>3</sub>の時点で、導入遺伝子がホモで存在しているのを確認した上で次に進めておりますので、F<sub>4</sub>及びその後代というのは基本的にモレキュラーといえますか、導入遺伝子に関しては均一であると考えております。

〇〇〇 導入遺伝子のホモというのをどう確認しているかによるのですけれども、今回セクションマーカーが抜けていってしまっているのが、多分デジタルPCRか何かでやっているのではないかなと想像しますが、ちぎれた断片みたいなものがそこに入ってきてしまうと、そちらのほうをうまく検出できているかどうかというのがちょっと不安かなと。通常、バイエルさんは1個体でそこでシーケンスされるので、後代は問題ないよねとよく評価しているのですけれども、今回は1個体選んだ後の後代でやっているのです、若干不安が残るというか、大丈夫かなというところはあるので、シーケンスは全部でやっているのは5個体やっているようなので、確率論からいくと結構低くなっているのですけれども、そこら辺、今すぐどうこうというのは分からないかもしれないので、少し持ち帰っていただい

て、検討していただけると、大丈夫ですよと言っただけならば、これそれでいいのですが。

〇〇〇 分かりました。F<sub>3</sub>を1個体選んでいくように進めた上で、ホモであることを確認したところが断片みたいなものが入っていたりということがないような形で確認していますというところを確実にお示しといたしますか、お伝えできるようなもの、それに付随するエビデンスという形でお示しするという形によろしいでしょうか。

〇〇〇 そうです。

〇〇〇 分かりました。そういたします。

〇〇〇 事務局、今回はどうなっていたか分かりましたか。

〇〇〇 すみません。前回どうなっていたかというのは今時点で調べられていないです。

〇〇〇 そうですか。

前回、同じ感じでCre/loxを使っている系統がございまして、そのときにどう確認したかをこちらで確認し切れていないので、その点については後ほど指摘事項という形でもし必要があれば指摘しますけれども、Cre/loxのコンストラクトとかは今回載っていないので、どういったものを使ったのかが申請書上は分かりにくい形になっているので、こちらで確認して、そこは後ほど指摘事項なりで出したいと思っております。

〇〇〇 分かりました。ありがとうございます。

Cre/loxのコンストラクトについては基本的に過去と同じものを使っておりまして、今と使い回しといたしますか、同じような形でCre系統を使っておりますので、基本的に同じような形になりますので、過去の承認済みの案件との整合性も含めて、弊社のほうでも確認させていただきます。

〇〇〇 そのほか、委員の先生方、何か追加でコメント等がありますでしょうか。

よろしいですね。

それでは、審議のほうは以上となります。御苦労さまでした。御退室をお願いいたします。

(申請者退室)

〇〇〇 それでは、審議に戻りたいと思います。

今回、少し表現等も検討して変えるとか、そういう点が幾つかありましたので、それを待ちたいと思いますけれども、ほかに付随して何かさらに追加してコメントしたいこと等がありましたら、今お願いします。

それでは、今回専門委員の先生方から提出されました意見や確認事項等がありましたので、それを指摘事項案として取りまとめまして、各専門委員に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指摘したいと思います。

それでは、これで食品のほうは継続審査ということになりますので、飼料のほうはなしということで、以上で審議を終了したいと思います。

もし追加で何かコメントがありましたら、事務局のほうに後ほどお寄せください。

それでは、これで終わりでいいですか。

〇〇〇 大丈夫です。

〇〇〇 それでは、今回の第242回の調査会については、これにて終了とさせていただきます。

以上をもちまして、第242回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。ありがとうございました。