

食品安全委員会遺伝子組換え食品専門調査会

第 78 回 会 合 議 事 録

1. 日時 平成 22 年 1 月 18 日 (月) 14:00～16:59

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

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

- ・ 除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統と除草剤グルホシネート耐性ワタ LLCotton25 系統を掛け合わせた品種
- ・ *Aspergillus oryzae* MT2181 株を利用して生産されたキシラナーゼ
- ・ 除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ DP-356043-5 (食品)
- ・ 高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1 (食品・飼料)

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、五十君専門委員、石見専門委員、小関専門委員、鎌田専門委員、橘田専門委員、児玉専門委員、澁谷専門委員、中島専門委員、飯専門委員、山崎専門委員、和久井専門委員

(委員)

小泉委員長、見上委員、長尾委員、廣瀬委員、畑江委員

(事務局)

栗本事務局長、大谷事務局次長、北條評価課長、前田評価調整官、鶴身課長補佐、松尾係長

5. 配布資料

資料 1 食品健康影響評価に関する資料

- ① 除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統と除草剤グルホシネート耐性ワタ LLCotton25 系統を掛け合わせた品種
- ② *Aspergillus oryzae* MT2181 株を利用して生産されたキシラナーゼ

③除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ DP-356043-5
(食品)

④高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1 (食品)

⑤高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1 (飼料)

資料2 専門委員からのコメント

- ・ *Aspergillus oryzae* MT2181 株を利用して生産されたキシラナーゼ
- ・ 高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1 (食品)

資料3 食品健康影響評価に係る資料の提出について

(平成22年1月8日付け厚生労働省発食安0108第1号)

参考資料 安全性評価に係る指摘事項について

- ・ 高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1 (食品)

6. 議事内容

〇〇〇 それでは、定刻になりましたので、ただいまから、第78回遺伝子組換え食品等専門調査会を開催したいと思います。

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。本日は所用によりまして、〇〇〇、〇〇〇は御欠席とのことです。

本日の議題であります、新規の品目であります除草剤耐性ワタ2品種の掛け合わせ品種、キシラナーゼ、昨年安全性評価の終了した品目であります除草剤耐性ダイズ(食品)、継続の審議品目であります高オレイン酸含有ダイズ(食品・飼料)の安全性についての審議となります。

それでは、お手元の資料の確認をお願いしたいと思います。事務局からよろしく申し上げます。

〇〇〇 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として「食品健康影響評価に関する資料」、

資料2として「専門委員からのコメント」、

資料3として、厚生労働省から提出のありました「食品健康影響評価に係る資料の提出について」、

参考資料として「安全性評価に係る指摘事項について」となっております。

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、机の上に置かせていただいております。本ファイルにつきましては終了後に回収させていただきます、次回また配付させていただきます。

不足等がございましたら、事務局までお願いいたします。

〇〇〇 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。まず最初は新規の品目でありますワタ GHB614 と LLCotton25 を掛け合わせた品種についてであります。

それでは、事務局から御説明をお願いいたします。

〇〇〇 それでは、説明をさせていただきます。薄い緑色の紙ファイルで「除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 と除草剤グルホシネート耐性ワタ LLCotton25 系統を掛け合わせた品種の食品安全性評価」という資料をお手元にご用意をお願いします。

それでは、1 ページから順を追って説明させていただきます。

「1. 申請品種の概要」では本掛け合わせ品種の親系統について説明がされております。

除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統は、トウモロコシ由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子に部分的に突然変異を生じさせた *2mepsps* 遺伝子を導入して作製されております。

なお、本品種の安全性につきましては、既に確認されているということでございます。

除草剤グルホシネート耐性ワタ LLCotton25 系統は、一番最後の行辺りからですが、グラム陽性放線菌の *bar* 遺伝子を導入して作出されているということでございます。

2 ページ、なお、本品種につきましても食品安全性の評価が終了しているということでございます。

3 ページの図 1 「本掛け合わせ系統の育成経過」に育成方法が記載されております。

4 ページで、掛け合わせの安全性評価の考え方に基つきまして、本掛け合わせ品種について検討がされております。

①、②、③と記載がありまして、その下辺りから説明をさせていただきますと、本掛け合わせ品種の親系統であります GHB614 が有する 2mEPSPS タンパク質は EPSPS タンパク質と同様に高い基質特異性を有しております。また、EPSPS タンパク質はシキミ酸経路の律速酵素ではないことから、2mEPSPS タンパク質の産生により EPSPS 活性が従来よりも増大しても本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の生成量に影響を及ぼす可能性は低いと考えられております。

以上のことから、2mEPSPS タンパク質は宿主の代謝系に影響を及ぼすことがないと考えられるということでございます。

続きまして、もう一つの親系統であります LLCotton25 系統が有する PAT タンパク質は、グルホシネートに対し高い基質特異性を有しており、またグルホシネートと構造が類似している各種アミノ酸にアセチル基を転移しないこと、また各種アミノ酸が過剰に存在していてもグルホシネートへのアセチル基転移反応が阻害されないことが確認されております。したがって、PAT タンパク質が宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられるということでございます。

以上のことから、本掛け合わせ品種の親系統につきましては、いずれも①に分類されるということでございます。

5 ページ a) ですが、本掛け合わせ品種におきましては、親系統は共にワタでありまして、亜種以上の交配ではないということでございます。

b) にまいりまして、本掛け合わせ品種は摂取量、食用部位、加工方法等に変更はなく、

従来のワタや親品種との相違はないということでございます。

安全性評価基準の考え方に関しましては、内容としては以上になりますが、更に生物検定がされておまして、その結果が添付されております。

本掛け合わせ品種と親系統である GHB614 系統、LLCotton25 系統の間で標準使用量、標準使用量の 8 倍、16 倍及び 32 倍の濃度の各対象除草剤に対する散布 7 日後及び 14 日後の薬害程度について比較がされております。

その結果が 6 ページの表 1 に記載がされております。表 1 の結果によりますと、まず除草剤グリホサートに関してですが、本掛け合わせ品種と GHB614 系統に除草剤グリホサートを散布した場合、散布 7 日後、14 日後ともに両系統間に差異又は統計学的有意差は認められておりません。

一方、除草剤グルホシネートを散布した場合につきましては、本掛け合わせ品種及び LLCotton25 系統両系統ともいずれの濃度でも薬害程度は散布 7 日後と 14 日後で変化は認められておりません。

ただし、8 倍におきましては、統計学的有意差が認められておりますが、ほかの 1 倍、16 倍、32 倍につきましては差異が認められておらず、8 倍で認められた差が 2mEPSPS タンパク質と改変 PAT タンパク質との相互作用によるものとは考えがたいということでございます。

以上のことから、本掛け合わせ系統におきまして、これらのタンパク質が相互作用を示さないということが考えられたということでございます。

資料の説明は以上でございます。

〇〇〇 どうもありがとうございました。それでは、提出されました申請書に基づきまして、各項目ごとに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 1～3 ページに関しまして、御意見、コメントがございましたら、お願いしたいと思っております。よろしいでしょうか。

〇〇〇 続きまして、4～6 ページにかけまして、コメントがございましたら、どうぞ。よろしいでしょうか。

それでは、本件に関しましては、特段の安全性上の問題はないということでありまして、引き続きまして、評価書（案）の審議に移りたいと思っております。

それでは、事務局の方から御説明をお願いします。

〇〇〇 それでは評価書（案）の説明をさせていただきます。お手元に「資料 1 食品健康影響評価に関する資料」を御用意いただけますでしょうか。2 枚めくっていただいて、4 ページから説明をさせていただきますと思っております。

4 ページの 23 行目「I. 評価対象食品の概要」ということで、名称、性質、申請者、開発者は記載のとおりでございます。

30 行目。本食品は、除草剤耐性の形質が付与された 2 つの系統を従来からの手法で掛け合わせたものであります。本品種の親系統 2 系統につきましては、それぞれ安全性の評価

が終了しており、いずれもヒトの健康を損なうおそれはないと判断しております。

38 行目、II. 食品健康影響評価の 41 行目辺りからですが、親系統であるワタ GHB614 に導入された改変 *epsps* 遺伝子により産生される改変タンパク質の作用機作につきましては独立しております、植物の代謝経路に影響を及ぼすことがないと考えられております。

48 行目辺りからですが、もう一つの親系統でありますワタ LLCotton25 に導入されました *bar* 遺伝子により産生される PAT タンパク質につきましても、その作用機作は独立しております、植物の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられるということでございます。

52 行目に行きまして、以上のことから、いずれの形質もその作用機作は独立しており、本掛け合わせ品種におきまして、互いに影響し合わないと考えられるという記載にさせていただきます。

56 行目の 2 ですが、本掛け合わせ品種は、亜種レベル以上の交配ではない。

59 行目の 3 ですが、掛け合わせた品種におきまして、摂取量、食用としての使用部位、加工法等の利用目的及び利用方法に変更はないと記載させていただきます。

5 ページ、以上の結果から、本掛け合わせ品種につきましては「遺伝子組換え植物の掛け合わせについての安全性評価の考え方」に基づき評価をした結果、改めての安全性の確認を必要とするものではないと判断したという記載にさせていただきます。

説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。それでは、ただいまの評価書（案）につきまして、御意見、コメントがございましたら、お願いしたいと思います。細かい字句等の修正等もしございましたら、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。御意見、コメントをよろしく申し上げます。

それでは、特段の御意見はないようでありますので、本件につきましては御承認いただいたものとさせていただきます。

続きまして、新規の品目でありますキシラナーゼに移りたいと思います。事務局から御説明をお願いします。

〇〇〇 引き続きまして、キシラナーゼについて説明をさせていただきます。お手元に青い紙ファイルの「*Aspergillus oryzae* MT2181 株を利用して生産されたキシラナーゼ」という資料を御用意いただきたいと思っております。

表紙をめくっていただきまして、袋の中に資料が入っておりますので、その資料の 6 ページから説明をさせていただきます。

6 ページ、第 1 として、比較対象の相違に関する項でございます。

1 の (1) ですが、比較対象となる従来 of 添加物の名称はビスコザイムです。有効成分はキシラナーゼ、基原は *Aspergillus aculeatus* DSM 2344 です。有効成分の性質ですが、キシランの β -1,4 結合をエンド型で加水分解を行う酵素であるということでございます。

「(2) 製造方法」につきましては、7 ページの図 1 に製造方法が記載されております。

培養を行いまして、微生物濾過を行って、製剤化を行う。更に微生物濾過を行うという工程になっております。

「(3) 用途及び使用形態」でございます。ビスコザイムにつきましては、主にデンプンの加工に利用されておまして、具体的には一番最後のパラの上から2行目辺りを見ていただきたいと思いますが、デンプン加工に使用します原料である穀類におきまして、デンプンを覆っている細胞壁を溶解し、そのデンプンを露出させるために使用されているということでございまして、使用量につきましては、おおむね小麦1トン当たり約1kgということでございます。

8ページ「(4) 摂取量」でございます。2つ目のパラの1行目辺りからですが、ILSIが提唱いたします Budget method を用いて見積もりました加工食品と飲料の合計摂取量をビスコザイムの最大使用量で処理したと仮定した場合の摂取量を見積もった結果、7.88 mg/kg 体重/日と算出されたということでございます。

一番最後のパラを見ていただきまして、また、国民健康・栄養調査報告における日本人1人1日当たりの穀類を含む植物性食品の摂取量を同じくビスコザイムの最大摂取量で処理したと仮定した場合の摂取量を計算いたしました結果、2.5 mg/kg 体重/日となるということでございます。

9ページから、今回申請のあった添加物に関する記述になります。

「2. 宿主及び導入DNA」、(1) 宿主は *A. oryzae* IFO 4177 株を用いております。

(2) DNA 供与体の種名、(3) 挿入DNAの性質及び導入方法につきましては、以下の表1、10ページの表2に記載されております。

表1ですが、上からキシラナーゼのプロモーター、リーダー配列、キシラナーゼ遺伝子、ターミネーターの順で記載されております。プロモーターにつきましては *Aspergillus niger*、キシラナーゼ遺伝子の供与体は *A. aculeatus*、ターミネーターは *A. niger* となっております。

続きまして、アセトアミダーゼ遺伝子、オロチジン-5'-リン酸デカルボキシラーゼ遺伝子2種類 (*URA3* 遺伝子、*pyrG* 遺伝子) です。この3つにつきましては、選択マーカーとして使用されておまして、供与体は、アセトアミダーゼ遺伝子は *Aspergillus nidulans*、オロチジン-5'-リン酸デカルボキシラーゼ遺伝子は、*Saccharomyces cerevisiae*、及び *A. oryzae* となっております。

10ページ。TAKA アミラーゼ遺伝子、アルカリプロテアーゼ遺伝子、メタロプロテアーゼ遺伝子ですが、これら3つにつきましては、いずれも宿主菌から欠失させている遺伝子でございますが、欠失導入の際にそれぞれの遺伝子の一部が導入されるということになりますので記載がされております。これらの遺伝子につきましては、いずれも *A. oryzae* です。

なお、各挿入DNAの性質につきましては、この表に記載されておりませんので、後ほど別の項で出てまいりますので、説明をさせていただきます。

11ページ。宿主の利用経験に関する事項です。*A. oryzae* はさまざまな食品用酵素の生

産菌として利用されており、この菌により生産される酵素は長年使用されているということでございます。

更にみそ、日本酒などの発酵食品には、*A. oryzae* 自体が含まれている場合があります。こういったものを通じて食経験があると考えられているということでございます。

4 の構成成分等です。*A. oryzae* は有害生理活性物質、栄養阻害物質を生産することは知られておりません。なお、*Aspergillus* 属の酵素はパン職人の喘息発作の原因物質として知られておりますが、*A. oryzae* の酵素につきましては関連性がないと考えられているということでございます。

5、遺伝子組換え添加物の性質に関する事項です。

(1) といたしまして、製品名は SP578、有効成分はキシラナーゼ、有効成分の性質につきましては先ほどと同じキシランを切断分解する反応を触媒する酵素であるということでございます。

12 ページ「(2) 製造方法」ですが、図 2 に記載されているとおりでございます。ろ過工程に若干の違いがございますが、安全性評価を行う上で従来添加物と異なる部分はないと考えられております。

「(3) 用途及び使用形態」ですが、従来 of 添加物と同じということでございます。

13 ページ、(4) 有効成分の性質に関してですが、従来 of 添加物につきましては、*A. aculeatus* を基原とする天然の酵素剤であるため、 β -グルカナーゼ活性などの酵素活性も確認されておりますが、それに比べて SP578 につきましては、キシラナーゼを主成分とする酵素剤であり、ビスコザイムに比べて高いキシラナーゼ活性を有しているということです。表 3 に従来 of 添加物等の活性の比較がされております。

14 ページ、6 の相違点につきまして、まず(1) 添加物の相違点です。SP578 につきましては、*A. aculeatus* のキシラナーゼ遺伝子が組み込まれた *A. oryzae* によって産生されるキシラナーゼであるため、従来品と比べてキシラナーゼは高くなっておりますが、当該キシラナーゼは従来 of 添加物と同様のものであると考えられるということでございます。

「(2) 組換え体と宿主の相違点」です。*TAKA* 遺伝子、*alp* 遺伝子、*NPI* 遺伝子が欠失されている点、更にシクロピアゾン酸やコウジ酸が産生できなくなっている点、*A. aculeatus* 由来のキシラナーゼ遺伝子が導入され、発現している点が異なっているということでございます。

15 ページ「第 2 宿主に関する事項」の分類学上の位置づけです。宿主は *A. oryzae* IF0 4177 株でございます。

病原性に関する事項ですが、一般的に非病原微生物の範疇に入る菌として知られておりまして、食品中に通常存在する微生物であるということです。また、病原性や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。

3、*A. oryzae* は腸管内に寄生したり定着することは知られていません。

4、病原性に関する事項ですが、ウイルス感染等の報告例はこれまでに認められており

ません。

5、近縁種に関する事項ですが、近縁種のうち有害生理活性物質を産生することが知られているのは、*A. flavus*のアフラトキシンのみであるということでございます。

16 ページ「第3 ベクターに関する事項」、まず中ほどの「1. 名称及び由来に関する事項」でございます。本生産菌を作製するに当たりまして、キシラナーゼ遺伝子の導入及び、先ほどの説明で触れさせていただきました3種類の遺伝子の欠失をさせるための欠失用遺伝子断片というのを作製するために、pUC19、pSKp-、pUC118の3つのベクターが使用されております。いずれも*E. coli*由来ということでございます。

「2. 性質に関する事項」です。

17 ページ「(1) DNAの塩基数及びその塩基配列に関する事項」、3種類のプラスミドにつきまして、塩基数及び塩基配列は明らかになっているということです。

(2) 制限酵素による切断地図につきましても、明らかになっておりまして、17~18ページに切断地図が記載されております。

19 ページ「(3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項」、3つのプラスミドがNIHガイドラインのリスクグレード1に分類されているということでございます。また、由来であります*E. coli* K-12やf1(-)ファージがヒトに有害な物質の生産に係る塩基配列を保有することも知られていないということから、有害配列は含まれていないということになっております。

「(4) 薬剤耐性に関する事項」、3つのプラスミドにつきましては、いずれも*E. coli*由来のβ-ラクタマーゼ遺伝子を保有しておりますが、最終的に宿主菌に導入される段階でこのβ-ラクタマーゼ遺伝子は除去されているということでございます。

「(5) 伝達性に関する事項」、いずれも可動性遺伝子を含まないため、他の生物に伝達される危険性はないと判断されるということです。

「(6) 宿主依存性に関する事項」、2行目辺りからですが、これらのプラスミドは複製されることが可能な生物種として*E. coli*が知られております。また、ほかには腸内細菌の*Klebsiella*でも複製されるということが考えられるということでございます。

20 ページの第4にまいります。

「1. 挿入DNAの供与体に関する事項」、「(1) 名称、由来及び分類に関する事項」ですが、キシラナーゼ遺伝子のターミネーター及びプロモーターの供与体は*A. niger*である。続きまして、シグナル配列であるTPI及びアセトアミダーゼ遺伝子の供与体が*A. nidulans*です。続きまして、キシラナーゼ遺伝子が*A. aculeatus*で、その下に行きまして、これも選択マーカー遺伝子として使用されるURA3の供与体が記載されております。

21 ページにまいります、最後に欠損遺伝子の一部として導入されるTAKA、*alp*、*NPI*の供与体は、いずれも*A. oryzae*であるということでございます。

「(2) 安全性に関する事項」、いずれの供与体につきましても、食品用酵素生産菌の作製において長年の使用実績があり、安全であることが知られているということござい

ます。

「2. 挿入 DNA 又は遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む）及びその遺伝子産物の性質に関する事項」、(1) ですが、まずクローニングに関する事項ということで、21 ページにはキシラナーゼのクローニング方法が書かれております。宿主 *A. aculeatus* の遺伝子ライブラリーを作成いたしまして、キシラナーゼ活性を指標として最終的に断片を選別したということでございます。

22 ページにまいりまして、以下、プロモーター、リーダー配列、ターミネーター、その後、マーカー遺伝子 2 種類につきまして、それぞれクローニングの方法が記載されております。

(2) 欠損ベクターということで、遺伝子を欠失させるために使用したベクターに関する挿入遺伝子のクローニング方法につきましても、22 ページの一番下から *pyrG* 遺伝子、

23 ページにまいりまして、*TAKA* 遺伝子、*alp* 遺伝子、*NPI* 遺伝子につきまして、それぞれクローニング方法が記載されております。

24 ページ「(3) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項」、表 5 に記載されておりますとおり、塩基数、制限酵素につきましては、明らかになっております。塩基配列につきましても明らかになっているということでございます。

26 ページ「(4) 挿入遺伝子の機能に関する事項」、まず一番上のキシラナーゼに関してですが、これは先ほど御説明をいたしましたとおり、キシランの β -1,4 結合を分子内で加水分解するキシラナーゼを発現させる遺伝子であるということでございます。本キシラナーゼにつきましては、既知アレルゲンや既知毒性タンパク質との有意な相同性がないことが確認されております。

マーカー遺伝子であります *URA3* 遺伝子ですが、これはピリミジン合成に必要なオロチジン-5'-リン酸デカルボキシラーゼを発現させる遺伝子でありまして、本遺伝子は発現ベクターを選択的に取得するために使用されております。本遺伝子が発現する ORF につきましても、既知のアレルゲンや毒性タンパク質との有意な相同性は認められておりません。

amdS 遺伝子ですが、これはアセトアミドを分解するためのアセトアミダーゼを発現する遺伝子ということでございます。本遺伝子を使用することによりまして、目的の菌株を選択的に取得するために使用されております。本 ORF につきましても同じく既知アレルゲンや既知毒性タンパク質との相同性はないことが確認されております。

欠損ベクターに関する遺伝子ということで、まず *pyrG* 遺伝子です。これも *URA3* 遺伝子と同じくオロチジン-5'-リン酸デカルボキシラーゼを発現する遺伝子であるということでございます。本遺伝子につきましては、遺伝子を欠失させた株を選択するためのマーカーとして使用されております。本遺伝子が発現するタンパク質の有害性は知られていないとのことです。

以下、26~27 ページにかけまして、欠失させる遺伝子に関する機能が記載されております。いずれもタンパク質分解酵素であるということでございます。

28 ページ。3 の「(1) プロモーターに関する事項」、「(2) ターミネーターに関する事項」、「(3) 挿入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列を組み込んだ場合には、その由来、性質等が明らかなこと」は記載のとおりです。(3) につきましては、関連する塩基配列は組み込まれていないということでございます。

29 ページ「4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項」の「(1) 発現ベクターの挿入遺伝子の組込方法」ですが、30 ページ以降に記載されておりますとおり、まずプラスミド pUC19 を基本骨格といたしまして、キシラナーゼ遺伝子及び選択マーカーとして使用しました *URA3* 遺伝子、*amdS* 遺伝子を導入することによって構築されております。

以下、30 ページから具体的な構築方法が 32 ページまで記載されております。

32 ページでは、発現ベクターにつきまして、塩基配列を調べて、明らかにされていると記載されております。

33 ページ。ここでは 3 つの遺伝子を欠失させるために作成いたしました DNA 断片の作成方法が記載されております。

一番最初に 33 ページですが、これはまず一番最初に *pyrG* 遺伝子を欠失導入させるための断片に関する作成方法が図 8 に記載されております。

34 ページでは、*TAKA* 遺伝子を欠失させるための DNA 断片の作成方法です。

35 ページでは、*a1p* 遺伝子を欠失させるための断片の作成方法です。

36 ページでは、*NPI* 遺伝子を欠失させるための断片の作成方法が記載されております。

37 ページ「5. 構築された発現ベクター等に関する事項」、(1) 発現ベクターに関してですが、発現ベクターの塩基数、塩基配列、制限酵素による切断地図につきましては、いずれも明らかになっております。具体的な内容が 37 ページの図 12 と表 6 に記載されております。

38 ページ以降ですが、ここからは遺伝子の欠失に使用いたしました遺伝子断片に関しての説明がされておまして、これらにつきましても、いずれの塩基数、塩基配列、制限酵素による切断地図はいずれも明らかになっております。

38 ページが *pyrG* 遺伝子の欠失です。

39 ページが *TAKA* アミラーゼ遺伝子、

40 ページがアルカリプロテアーゼ遺伝子、

41 ページがメタロプロテアーゼ遺伝子に関して記述されております。

42 ページは、先ほど説明いたしました欠失させるための遺伝子断片の中に、マーカーとして *pyrG* 遺伝子が導入されておまして、この遺伝子に関して記載されております。いずれも大きさは違うんですが、コーディング領域が入っているということから、特に問題はないとの記述がされております。

43 ページの (2) ORF に関する事項です。

まずは発現ベクターの ORF 検索ですが、発現ベクター全体につきまして、ORF を終始コドンに挟まれた長さ 10 アミノ酸以上の領域と定義し、6 通りの読み枠につきまして検索を

行いました結果、364 個の ORF が検索されております。これらの ORF につきまして、まず既知アレルゲンとの相同性について検索を行っております。8 連続アミノ酸及び 80 アミノ酸で 35% 以上一致するアレルゲンにつきましては、検出されなかったということでございます。

既知の毒性タンパク質につきましても相同性検索が行われております。その結果、表 12 に示すように 2 つの ORF が検索されております。43 ページの下から 4 行目辺りですが、1 つ目の ORF につきましては、菌体外分泌毒素の制御に関する ORF ということでありまして、これ自体が毒素ではなく、毒素分泌の活性化因子でもないということから、問題がないという記述になっております。

44 ページ。もう一つの ORF につきましては、*Mycoplasma pneumoniae* 由来の ADP-ribosyltransferase と相同性が認められておりますが、相同性の割合が 26.7% と低いということから問題はないという記述がされております。

45 ページでは、遺伝子の欠失に使用いたしました断片につきまして、ORF 検索が行われておりまして、各遺伝子断片中の接合部を含む ORF につきまして、ORF を終始コドンに挟まれた長さ 10 アミノ酸以上による領域と定義いたしまして、6 通りの読み枠について検索を行っております。その結果、表 13 に記載されているように、それぞれの断片につきまして、4 個、11 個、11 個、16 個の ORF が見つかっております。

続きまして、これらの ORF につきまして、8 連続アミノ酸で 100% 一致するアレルゲン及び 80 アミノ酸 35% 以上一致する既知アレルゲンにつきまして検索を行った結果、3 つの ORF が見付き、5 種類の既知アレルゲンと相同性が認められているということでございます。

46 ページ以降から、それぞれの ORF につきまして検討されております。46 ページを例に説明をさせていただきます。

46 ページの一番下の図を御覧になっていただきたいと思います。図に ORF の記載がありまして、その上にその ORF と相同性が認められたアレルゲンの配列が記載されております。それでこの相同領域という記載がされておりますが、この間でいわゆる ORF と既知アレルゲンとの相同性が認められたということでございます。

この図及び上の塩基配列から見まして、いわゆる遺伝子との接合部をまたいで相同性領域を持つことはないことから、その新たな既知アレルゲンとの相同性の ORF は生じないのではないかという結論になっております。

以下、47～48 ページにつきましても同じような結論がされております。

49 ページの一番上にまいりまして、既知の毒性タンパク質とも相同性検索が行われておりまして、既知の毒性タンパク質につきましては相同性があるものが認められなかったということでございます。

(3) 意図する挿入領域ですが、意図する挿入領域は発現ベクターの全長ということでございます。

(4) 目的外遺伝子の混入に関しましては、発現ベクター及び遺伝子欠失用の遺伝子断片共に、目的外の遺伝子は含まれていないということでございます。

50 ページ「6. 挿入遺伝子の宿主菌株への導入方法に関する事項」です。図 21 に概略図が示されております。上から行きますと、まず一番最初に *pyrG* 遺伝子を欠失させまして、*TAKA* アミラーゼ遺伝子を欠失、その後アルカリプロテアーゼ遺伝子、メタロプロテアーゼ遺伝子を欠失、更にシクロピアゾン酸とコウジ酸遺伝子を突然変異によって欠失させ、最後にキシラナーゼ遺伝子を導入したということになっております。

以下、51～55 ページまでが具体的に構築方法が記載されております。

55 ページの 7 の抗生物質耐性マーカーに関する事項ですが、発現ベクターの構築に際しまして、プラスミド pUC19 にはアンピシリン耐性遺伝子が含まれておりましたが、最終的に宿主に導入する段階では除去されているということでございます。

遺伝子欠損に用いました遺伝子断片に使用したプラスミドにつきましても、同じくアンピシリン耐性遺伝子が使われておりますが、同じく最終的に宿主菌に導入する段階では除去されているということでございます。

56 ページ「第 5 組換え体に関する事項」、1 として宿主との差異に関してです。宿主との差異につきましましては、*TAKA* アミラーゼ遺伝子、アルカリプロテアーゼ遺伝子、メタロプロテアーゼ遺伝子が欠失されている点、シクロピアゾン酸やコウジ酸が産生できなくなっている点、更にキシラナーゼ遺伝子が導入されて発現している点が異なっているということでございます。

「2. 遺伝子導入に関する事項」、(1) 制御酵素による切断地図ですが、本生産菌につきましましては、発現ベクター pMT2155 及び *pyrG* 遺伝子、*TAKA* アミラーゼ、アルカリプロテアーゼ、メタロプロテアーゼの断片が導入されておりますが、これらの DNA に関しては、すべて制限酵素地図は明らかになっているということでございます。

その下ですが、この生産菌に発現ベクター全体が導入されていることの確認がされておりました。 *Bam*H1、*Eco*RI で処理した組換え体のゲノム DNA につきまして、pMT2155 をキシラナーゼ遺伝子全長配列をプローブ DNA としてサザンブロット解析が実施されております。

その結果が 58 ページの図 27 に記載されておりました。その結果、発現ベクターの全長に相当するバンドであります約 7,500bp のバンドが最も強く認められているということから、全長配列が導入されているのではないかという判断になっております。更にバンドはほかのバンドと比べて濃いということから、1 つではなくて複数の発現ベクターが導入されているのではないかということが 57 ページの図 26 を使って説明されているということでございます。

59 ページ (2) ORF に関する事項です。発現ベクター及び欠失用の遺伝子断片のレベルで ORF が確認されておりました。その結果、認められていないということでございます。

60 ページの「第 6 組換え体以外の製造原料で製造器材に関する事項」。

1 といまして、SP578 の製剤に使用される発酵設備、及びそのほかの設備につつま

しては、従来の添加物と同じものを使用しているということでございます。

また、原材料につきましては、いずれも食品グレードのものが使用されていると。また、食品衛生法及び食品化学物質コーデックスの基準が存在するものにつきましては、これに適合するものを使用しているということでございます。

2に行ってくださいまして、製品原料は繰り返しになってしまいますが、製品原料はいずれも食品グレードのものが使用されている。食品衛生法や食品化学物質コーデックスの基準が存在するものにつきましては、これに適合しているものを使用しているということでございます。更に製造器材についても使用の実績があり、問題のないものを使っているということです。

61 ページの第7は、諸外国における認可状況です。記載のとおりオーストラリア、デンマーク、フランス、米国、ロシアで承認がされ、使用されているということです。

62 ページ「2. 組換え体の残存に関する事項」の1行目ですが、製造工程におきまして、複数回微生物分離除去の工程があることから、当該品につきましては生産菌の残存はないと考えられるということでございます。更に確認のため、生産菌の混入の確認試験が行われておりまして、その結果、生産菌は検出されていないということです。

3といたしましては、製造工程に由来する非有効成分としては、発酵過程に生産される非有効成分及び生産菌の代謝生産物と考えられますが、いずれも安全性に問題があることは知られていないということです。

62 ページの精製方法ですが、62 ページの一番下から 63 ページにまいりまして、精製方法が記載されております。

64 ページの品質管理のところを御覧いただきたいと思います。記載のとおり、最終製品ができるまでの製造及び精製工程が明らかになっておりまして、また原材料も一般に安全性が確認されているものを用いているため、有害物質が混入する可能性はなく、安全上問題は見られていないということです。また、JECFA やコーデックスにおける純度規格に適合しているということも確認しているということでございます。

64 ページの一番下、5に行ってくださいまして、本製品につきましては、JECFA の酵素剤規格に適合しており、有害性はないと考えられるということでございます。

65 ページの第8、68 ページに記載されておりますとおり、変異原性試験、染色体異常試験、小核試験、13 週間経口毒性試験に関するデータが提出されております。

66 ページ、まずは変異原性試験が実施されておりまして、一番下ですが、PPJ6867 は S-9mix の有無にかかわらず、変異原性を示さないことが確認されているということでございます。

67 ページ、染色体異常試験についての結果が記載されておりまして、下から3～4行目辺りからです。その結果、S-9mix の有無にかかわらず、キシラナーゼによる染色体異常の計測値に有意な差は認められなかったということでございます。

68 ページ、ここでは小核試験に関する内容が記載されております。最後の行、PPJ6867

は小核を誘発しなかったことが結論されているということです。

69 ページ。13 週間反復毒性試験が行われております。これは下から 12 行目辺りの「し
かしながら」から御覧になっていただきたいと思います。

10.0 mg/kg 体重/日で投与した雌のグループにおきまして脾臓の重量はコントロールと
比較して有意に増加している。また、脾臓に髄外造血の増加が観測されておりますが、こ
の結果についてはラットの系統、週令における観察所見によるものと考えられるというこ
とから、以上より、キシラナーゼの投与による影響はないとの結論に至ったということ
でございます。

説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。それでは、申請書につきまして、項目ごとに各先生方
からの御意見を賜りたいと思います。

まず申請書の 6～19 ページの第 1～3 に関しましてコメントがございましたら、お願い
したいと思います。

〇〇〇 9 ページの宿主についてですけれども、この IF04177 という株の分離元が何かを
明らかにしていただく必要があるかと思えます。これが実際にこの醸造で使われている株
であれば問題はないんですけれども、*A. oryzae* というのは自然界に幾らでもおりますの
で、これは NITE に問い合わせればいいはずで、たしか 4177 はどこかの蔵から取れたもの
だったと思いますけれども、それはやはり彼らに確認していただく必要があるかと考えま
す。

〇〇〇 それは確認していただきたいと思います。ほかにもございますか。

〇〇〇 5 ページの「はじめに」の頭のところにキシランを分解すると書いてあって、こ
の反応によって小麦等穀類の食物繊維を分解してデンプンやグルテンを生成させると書い
てあるんですが、酵素反応としてはこんなことが起こるわけがないので、これは単に外側
の外壁を溶かしてデンプンを出させるだけなので、この書き方はいかにも酵素学的には間
違っているのでは、ここだけはきちんとしておいていただければと思います。

〇〇〇 これは後の方で正確に書いてありましたから、それと同じように直していただ
ければと思います。ほかによろしいでしょうか。

〇〇〇 16 ページの「第 3 ベクターに関する事項」の記述についてです。「2. 性質に
関する事項」の記載が IPTG を使う理由とか必ずしも正しい説明になっていないので、この
項目全体について調べ直し、修正していただく必要があるかと思えます。

17 ページの 4 行目の真ん中辺に、両者とも起源は *E. coli* のコリシン E1 とありますが、
プラスミドという言葉は付けていただいた方がいいかと思えます。

〇〇〇 これはプラスミドの ColE1 ですか。

〇〇〇 ColE1 プラスミドで、これだとタンパク質の名前になってしまいます。

〇〇〇 どうぞ。

〇〇〇 1 つは 11 ページです。これはむしろ教えていただきたいんですが、「4. 宿主の

構成成分等に関する資料」で、アレルギーとの関連を書いていますね。ここで19種類の酵素を個別にやって反応がなかったということと、だからパン喘息との関連性はないと言っているのかどうか。ここの理屈がよくわからない。つまり宿主 *A. oryzae* 全体だといろいろなタンパク質などがあるわけで、一個一個の酵素19個をやったからという話とパン喘息とは関係ないというのが、こういう結論でいいのか。ここのところは専門の先生に教えていただければと思います。

もう一つは13ページです。いろいろな酵素のことが書いてありますが、不正確なこともありますし、確認をしていただきたいのは表のところ、エンドグルカナーゼや β -グルカナーゼはビスコザイムとの間で何千倍とか活性が違うんですね。これは *Aspergillus* の間で種が変わって、キシラナーゼは勿論過剰発現させているんですけども、そうでない酵素がものすごく違っているので、本当にこれでいいのかを一応確認しておいていただきたいです。一番下のプロテアーゼがないというのは、これはノックアウトか何かしていたのでわかるんですが、本当かなという感じがするので、確認していただきたいということ。

それから、エンドグルカナーゼはCMCでやっているの、多分セルラーゼ活性だと思います。 β -グルカナーゼ活性と書いてあるのは、 β -グルカンを基質とありますが、セルロースも β -グルカンですから。オリジナルは書いてあるのかもしれないですけども、ここのエンドグルカナーゼ活性とか β -グルカナーゼは何を言っているのか。この辺をもう少し正確に記述してほしいと思います。

もう一つ、14ページで遺伝子組換え添加物と従来の添加物の相違点です。SP578は新しいキシラナーゼ遺伝子が組み込まれた *A. oryzae* によって生産されるキシラナーゼ酵素剤であるため、当該キシラナーゼはビスコザイムのものと同等である云々となっていますけれども、相違点の大きなところはバックグラウンドの菌が違っているので、これは添加物で見るとタンパク質などはみんな入ってくる酵素製剤ですね。そうすると生産菌が違っているので、2つの違いの非常に大きなところとして、そういうバックグラウンドの菌による違いがあるはずなので、そういうことを書いておかないといけないのではないかと思います。以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。3点ほどコメントをいただきまして、まずアレルギーの話ですけども、今日はアレルギーの先生がお二人とも御欠席なので、後で確認させていただきますと思います。

〇〇〇 〇〇〇からコメントをいただいております。お手元の資料2を御用意していただけますでしょうか。「1. 審査資料のp11の4」がその部分に当たりまして、読み上げさせていただきますと、*A. oryzae* のアレルギー性の報告の記載に関しましては、ここではいわゆる参考文献5のみを挙げまして、パン喘息との関連性はないと考えるとの結論としているのですが、この結論につきましては断定的過ぎと思われるということでございます。*A. oryzae* のアレルギー性に関しましては、記載させていただいているような報告がございまして、これらの論文等も引用した上で経口摂取によるパン喘息との関連性は極めて低

いと考えるというような表現が適切だと思いますというようなコメントをいただいております。

〇〇〇 まず職業的なアレルギーは経口ではないですね。要するに肺から。それは1つ確認していただきたい。それから、後の方でアレルゲンとして、この *A. oryzae* のアレルゲンが2種類くらい明記して出てきますので、アレルゲンが全くないということではないので、この2つの論文がありますので、より正確に書くようにしていただきたいと思います。

あとは表3の説明で、これは宿主が全く違うので、それはきちんと追加で説明をしていただくことにしたいと思います。それが3点目。

2点目は、酵素活性ですね。

〇〇〇 酵素活性が2つの菌で違うのが本当かどうかを念のために、計算間違いとかないかどうかを確認してほしい。エンドグルカナーゼという言葉と β -グルカナーゼが何を対象にしているか。そこら辺をもう少し明確にしてほしい。あとはその裏のところですね。製剤の組換えと組換えでないものの添加物の違いというところ。ここのところに菌のバックグラウンドの違いが全く触れられていなくて、それは議論で大きなところだと思います。

〇〇〇 それでは、そこら辺をきちんとしていただくということで。余談になりますけれども、感染症研究所の病原体等安全管理規定というのは、今、改訂されていて、たしか平成20年版が出ていると思います。要は感染症法ができて、それに応じて改訂されているはずですが。元来は感染研の管理規定をここに入れる必要があるかどうかも疑問のあるところではありますが、書いてあることは間違いのないと思います。

15ページの5の病原性に関しまして、*fumigatus* が日和見感染でよく肺炎の原因菌になるという有名な話がありますので、これは書いておいた方がいいのかなと思います。

19ページまででほかによろしいでしょうか。それでは、20~55ページで「第4 挿入DNA、遺伝子産物、発現ベクターの構築に関する事項」の部分でコメントがございましたら、お願いします。読んでいきますと大変かと思いますが。

1つだけ読んでいて気になるのは、発現ベクターと欠損ベクターという表現に違和感があります。まずベクターは空のベクターですので、中に入っている場合はプラスミドにした方がいいということと、欠損ベクターは欠損導入用ベクターとか適切に直した方がいいかと思いますが。発現ベクターも本来このガイドラインにこういう書きぶりがありますので、それはそれで直せないところもあるんですが、もし直せる場合には遺伝子導入ベクターとか適切に。要は2種類のベクターがありまして、欠損用のベクターと導入用のベクターを使い分けて記載されているということだと思います。

ほかによろしいでしょうか。どうぞ。

〇〇〇 1点確認していただきたいんですけども、pMT2155は環状のいわゆるプラスミドとしてつくられていますね。50ページのところで導入のときに一番下の矢印のところですが、線状にしているんですけども、プラスミドを切らないで入れたのか、それとも何か制限酵素で切って入れたのか。それは確認していただけますか。pMT2155は環状ですね。

プラスミドは導入するときに環状のまま入れているのか、それとも何か制限酵素で切って線状にして入れているのかを確認してほしい。

〇〇〇 この記載はそこのカセットだけになっていますけれども、最終的に染色体上に導入されたのは発現ベクター全体が導入されています。その前の切ったかどうかということですか。

〇〇〇 切って入れているのか、それともプラスミドの環状のまま入れているのか。これは実は後になって響いてくる場所なので、ここは確認してください。タンデムに入っているので、多分環状だとは思いますが、そうだとすると挿入の際にどこから切れてタンデムに入っているかというのは、場合によっては不確定になるので、そこが明確になっていないと評価はできないということになります。

〇〇〇 かなり複雑なのですが、ほかに御意見はいかがでしょうか。

〇〇〇 45 ページの上から 8 行目に連結点を司る塩基を特定しと書いてあるんですけども、相同組換えで入れているんだと思いますが、実験上で連結というのを決めているのか。それとも相同組換えだから、ここからここというふうに塩基配列上から決めてしまっているのか。どちらかというのがはっきり書いていないので、どちらか知りたいなと思いました。

〇〇〇 恐らく塩基配列は決定していないと思います。

〇〇〇 最終的に相同組換えの塩基配列だけで組み変わったろうと言っています。最終的な組換え体で配列は確認していません。

先ほどの〇〇〇の御質問の話は、環状で入れていまして、切っていないです。それを前提にコメントをいただければと思います。

〇〇〇 どうぞ。

〇〇〇 *A. oryzae* の場合は、普通にプラスミドで放り込んだ場合に、相同で入ると非相同でどこか適当に入る組み合わせは大体半々か、非相同の方が多いくらいなので、当然のように相同組換えで入っているという記述は通用しないと考えます。相同で入っているというのであれば、これが相同で入っていることを確認したデータがなければ、相同という言葉を使うべきではないと指摘する必要があると考えます。

〇〇〇 その点についてよろしいですか。今やっているところのコメントの部分は、要するに何をどう構築するかということで、入れる以前の話なので、実は次の第 6 のところで言おうかと思っていたところです。

〇〇〇 ほかに何かございますか。

〇〇〇 〇〇〇からコメントをいただいております、口頭で紹介させていただきたいと思います。

先ほど説明させていただいた内容ですが、45 ページの欠損ベクター中で相同性が認められた ORF との既知アレルゲンとの相同性検索に関しての内容です。本申請書では 80 アミノ酸 35%、かつ連続する 8 アミノ酸となっておりまして、通常は 80 アミノ酸 35%または連

続する 8 アミノ酸で検討する必要がありますので、それぞれの条件で検索を行った結果について具体的に検討していただきまして、どの部分と同一性があったかなどの追加資料を提出してくださいというコメントをいただいております。

それに併せて、これに関するコメントをもう一ついただいております。そのコメントは資料 2 に御用意をしております。「2. 審査資料の 45-49 ページ」を御覧になっていただきたいと思います。読み上げさせていただきますと「欠損ベクターの宿主への導入によって新たに形成される ORF と既知アレルゲンとの同一性がみられたことの解釈についてですが、これは、相同組換えでも欠失されなかった部位との同一性がみられた結果で、連結点をまたいで相同領域を持つことがないので、新たな既知アレルゲン同一性の ORF は生じないと考えられるとする申請者の解釈で、問題ないと思います」というコメントをいただいております。

〇〇〇 ただいまの〇〇〇からのコメントもありましたように、アレルゲン性のところで追加でコメントはいかがでしょうか。先ほどの問題だと、要は相同組換えを前提にした場合には問題ないということかと思っております。あと先ほどの and、or の話は、or で両方ともやらなければいけないということです。

それと 47 ページの図 19-2 で、*A. fumigatus* が *famigatus* になっていますので、これは直しておいていただければと思います。48 ページもそうです。ほかに 55 ページまででコメントの追加がありましたら、よろしく申し上げます。

続きまして、56~69 ページ、最後までになります。この部分に関しまして、御意見、コメントがありましたら、よろしく申し上げます。

〇〇〇 先ほどのところでお話ししたんですけれども、結局この申請書自身が必要条件、要するに方法論だけで書いてあって、それでできた組換え体についての情報が、どういふふうにくわわったかという情報が全くないので、十分条件が満たされていないのが何ともしようがないところだと思います。

先ほど環状で入るかどうかと聞いた部分はなぜかという、この pMT2155 が複数入っているというんですけれども、どのような形で入っているのか。数コピー入っているというんですけれども、図 26 はあくまでも模式図ですので、これが模式図ではなくて、ちゃんとどう入っているかというのは、今クローニングしてシーケンスをするくらいだったら非常に簡単にできる時代なので、きちんとクローニングして、どういう領域に入っているのかも含めて、しかも本当に 1 か所入っているのかも含めて、それを明らかにしてもらいたい。

しかも、そこでシーケンスを読むことによって、きちんと導入時に変異がかかっていないのかも確認していただきたい。変異がかかっているのが見つかった場合においては、例えば新たにアミノ酸配列が変わったりすることによって、アレルゲン性のものとホモロジーが出てくる可能性がありますので、そういうことも含めて確認を十分条件として出していただきたいということがあります。

- 〇〇〇 食品添加物の場合は、組換え体の作成方法はここに書いていましたか。
- 〇〇〇 組換え体の作成の方法が、結局は第4までですね。
- 〇〇〇 第4は遺伝子導入の方法ですね。
- 〇〇〇 そうですね。それで得られたものについて、第5で出てきた組換え体についてどうでしょうかとやる。これは微生物も添加物もみんな同じスタイルだと思います。ですから、ここでどのように導入された生き物なのか、どういうイベントが起こったのかをきちんと明確化させるということだと思います。
- 〇〇〇 それでは、そこら辺の情報を追加していただくことになるかと思います。時間がかかりそうですね。
- 〇〇〇 あとは先ほどの〇〇〇のコメントもそれと並びで、きちんと設計図どおりのもの、相同組換えが起こっているということの証明ですね。そんなのをやれば簡単だと思います。そのほかのところは入っていないということも確認していただきたいというのが、先ほどの〇〇〇のコメントだったと思います。代弁してしまいまして、済みません。それを並べて、どういうイベントが起こったのかを明確化することを求めていただきたいと思います。そうすると確かに時間がかかるとは思いますけれども、しょうがないと思います。
- 〇〇〇 〇〇〇、追加で何かございますか。
- 〇〇〇 今ので全部尽きています。おっしゃるとおりです。
- 〇〇〇 それでは、ほかに69ページまででコメントがありましたら、お願いします。
- 〇〇〇 もう一点ですけれども、これは事務局も困ったのではないかと思うのですが、第6まで行って、きちんと安全性試験結果をやっているわけですけれども、そこで終わってしまっているわけですね。だから何なんだと。最後はまとめが普通は入ります。だから安全と考えられると言ってくれないと。
- これは評価書を書く上においても、この部分は非常に困ってしまうと思うので、ほかのものは今まで全部書いてあるはずなので、きちんとそこを尻切れトンボにならずに、コンクルージョンを出していただきたい。そのコンクルージョンに対して我々はどう考えるかというのが評価だと思いますので、お願いします。
- 〇〇〇 結論の出し方が1つ問題になるかと思うんですけれども、後の毒性試験の絡みで、毒性試験は参考だけでいいのか、毒性試験までやって結論を出すのか。そこら辺はいかがでしょうか。
- 〇〇〇 今までのスタイルはどうだったかというのと、たしか一番最後に書いていませんでしたか。添加物だけではなくて植物も。
- 〇〇〇 植物などは一番最後です。
- 〇〇〇 ですから、それと揃える方がわかりやすいのではないのでしょうか。
- 〇〇〇 今回に関しまして、毒性試験は参考でよろしいですか。それとも一応組換え体と非組換え体の相違は明らかになっていまして、安全性上問題はないだろうと。食品添加物としてはかなり性質が違うという点で。

〇〇〇 これまでの植物とかそういうのは組換え体の安全性評価です。添加物の場合はそうではなくて、組換え体を用いて作った添加物の安全性評価ですね。そうすると、作るのに使った組換え体の評価は勿論必要なんだけど、最終的に添加物ベースで既存のものと比較してどうだという議論に持っていかないといけないのではないのでしょうか。そうすると既存のもの比べて何が違って、何が付け加わって、そこに安全性の問題があるかないかというふうにしていかないと、結論が出せないのではないかと思うんです。そこがそういう議論がほとんどない。

〇〇〇 そこは追加で説明していただいて、我々が納得できるだけの説明があれば。

〇〇〇 結局どう考えるかですけれども、最初の方でもそれで申し上げたんですが、今まで市販で使っていたものと比べると何が違うかという、1つは使っている菌が違うから、一緒に共存してくるタンパクがそういう意味では全然違うというわけです。

これは最初にもありましたけれども、これが発酵食品に使われている菌株かどうかというのは、そこに効いてくると思うんです。食経験があればバックグラウンドに普通は問題がないと考えていいんだろうということになるし、そうでないとすると、宿主から来る膨大な共存物がどうなんだという話になってしまうと、恐らく非常に検討そのものが難しくなってしまうと思います。

そのところに新たに入ってくるほかの遺伝子導入したもののタンパク質があって、その部分が今の場合にはホモロジーなどでデータベースのそういう検索で大丈夫だという議論をしているわけですが、添加物の場合にはそれでいいのかどうかというのも一応判断しておかないといけない。微量だということで、食品そのものほどは厳密でないということがコンセンサスであれば、それで通ると思いますが、その辺のところをクリアーにしておかないと結論になかなかならないのではないのでしょうか。

〇〇〇 いずれにしても追加の情報をいただいて、その後にもう一度議論をした方がいいのかなと思います。

〇〇〇 ほかにいかがですか。

〇〇〇 私も添加物でどう扱うのかが気になっています。今回のケースは添加物ではあっても、組換え体として扱う要素がかなり大きいのではないかという気がしますので、移し込んできた遺伝子に関しては、組換え体の中での配列は確認しておくべきではないかと思っています。途中のプロセスで、結構ミュータジェネシスも加えているので、最初にプラスミド、つまり構築ベクターとして用意した配列が最終的なイベントとして使うところまで、そのままの形で残っているという保証もないので、少なくともセルフナチュラルに該当しないような遺伝子に関しては最終的なところでシーケンスを確認した上で、それに基づいてホモロジー検索をしてアレルゲンのデータベースに当てる作業が必要ではないかという気がしています。

〇〇〇 ほかによろしいですか。どうぞ。

〇〇〇 教えていただきたいのですが、先ほど動物試験については参考とするかどうか

かという検討をしなければいけないということだったかと思います。多分実際によく見てみると問題はないのかもしれませんが、69 ページにある経口毒性試験のところでは有意に増加しているという表現があります。ここでは、系統とかによる観察所見ではないかという表現になっているのですが、もしそれを言うなら、もう少しきっちり言うし、もしこの差が本当に意味のあるものだったら、この動物試験の扱いをどうするかということをきちんと議論しなければいけないのではないかと思うのですが、その辺はどういうふうに扱うんでしょうか。

〇〇〇 ガイドライン上は、動物試験がなくて安全性が担保された場合には特に要らないことにはなっておりますけれども、出てきてしまって矛盾が出た場合、それはそれなりにきちんと説明がないと、そのままでは通らないと思います。いかがでしょうか。

〇〇〇 毒性試験のことなんですけれども、言おうか言うまいか悩んでいたんですが、69 ページの「しかしながら」のところでは、

まず「脾臓の重量がコントロールと比較して有意に増加しており、顕微鏡観察の結果」となっておりますが、この間にオリジナルを見ますと臨床病理のデータが入っております。赤血球及び白血球が有意に減少しているんです。ですから、貧血を起こしているんです。

ところが困ったことに最終的に、以上より、本試験でその用量において毒性影響はないというふうに言い切っております。ですので、ある意味では先ほど申し上げたように、顕微鏡観察の前に臨床病理学的なデータを省いているんです。本来ここは明らかに記載すべきところだと私は思います。そうすると、結論自体が安全とはストレートには言い切れないというところは出てきてしまいます。

では、どうするかということなんですけれども、その辺を少し明らかにしていただいて、実際にこの結果が生理的な変動範囲であるかどうかという情報を明らかにしていただければよろしいのではないかと思います。

〇〇〇 結論としては、この添加物が原因で起きたとは考えにくいということが言えればよろしいかと思うんですけれども、もし言えないんだったら、それはそれで非常に問題があるということですので、そこは説明はきちんとしていただかないといけないかと思います。

ほかによろしいでしょうか。

〇〇〇 この申請書全体として、見逃しているのかと思ったくらいなんですけれども、結局、単離した元の遺伝子の供与体で作られている酵素のキシラナーゼと、最終的に組換えで作らせたキシラナーゼがほぼ同等のものであるという証明がほとんどないように思うんですが、それは必要ですね。

〇〇〇 それはシーケンスしていただくしかないわけですね。

〇〇〇 少なくとも分子量くらいは出てくるのかなと思って、ずっと読んでいたんですけれども。

〇〇〇 〇〇〇のコメントがありましたので、シーケンスをしていただかざるを得ないかと思えます。

〇〇〇 今のはシーケンスで解決するんだと思うんですけども、〇〇〇がさっき指摘していたように、組換えが宿主を変えてしまっているので、比較対象となるものとの比較が充分ではないという状況になっていると思えます。

62 ページの「3. 製剤化に由来する非有効成分の安全性に関する事項」がありますが、これは、製剤化していく過程でほかのものが入ってきたりするかどうかを見るので、元の比較対象となるものに対して、ほかのものがどれだけ入っているかというようなデータを出してもらうことになると思えます。けれども、この辺りがほとんど検討されていないので、すっかりしていないのではないかと思います。そのところのデータを出すか、またはそれは絶対に無理だということになると、それに代わるような方法で何らかのデータを付けていただかないと厳しいのではないかと思います。

〇〇〇 これは先ほど *A. oryzae* の由来の問題とも絡んできまして、食経験が豊富にあるんだったら、それとの比較は何とかなるだろうと思えます。そういう理論的にきちんと説明できればいいし、だめな場合は成分的な話も追加しないといけないということよろしいですね。

〇〇〇 今の食経験のところではできないとなると、ほとんど不可能になってしまうと思えます。これは製造方法を見ればわかりますけれども、言ってみれば除菌しているだけなんです。ほとんどすべてのものが入ってきてしまっているんで、その一個一個はほとんど不可能だと思えます。添加物の評価としては逆立ちしているんですけども、考え方としてバックグラウンドが安全であれば、導入遺伝子のことだけを考えればいいんです。そう考えられれば楽なんですけれども、今はそこも含めて情報が提供されていないと思えます。

〇〇〇 やはり由来の問題に尽きるかなと思えます。

〇〇〇 自分でやればよかったんですね。

〇〇〇 どうぞ。

〇〇〇 多分この元の菌の由来で安全性が取れると思うので、そちらにしてもらった方がいいのではないかと思います。そうすると、どこが違うかですけども、キシラナーゼについてはこの話でよくて、3つ違うものがあるって、*URA3* は食経験のある菌由来だから、これも問題はない。

あともう一つ、*amdS* は、*A. nidulans* というのは食経験はありませんので、普通そういうものに使わないものですから、これに由来しているものなので、この *amdS* のタンパク質が例えばものすごく微量で問題ないか、これが問題にならないという何らかの説明を要求する必要があるかと思えます。そうしたら増えているもの3つとバックグラウンドがそろってから、これで話としては説明が付くのではないかと思います。

〇〇〇 *amdS* は前にかつて出た可能性がありますけれども、それを参考にできるかと思えます。

〇〇〇 今に関連するんですけれども、かなりページはさかのぼりますが、14ページの「(2) 組換え体と宿主の相違点」という文章の中にシクロピアゾン酸やコウジ酸を代謝産物として産生できなくなったということが書いてあります。できなくなっているだけならいいんですけれども、その代謝系でほかのものが逆に増えていないか、増えているものの毒性に関しては問題がないとかいうことに関しては、逆に62ページの方に関わってくる内容なのではないかと思います。これは植物の方のスタンスでの言い方ですけれども、ほとんどそちらに近いようなケースのようにも思えるものですから。

そういう意味で先ほど〇〇〇がおっしゃったアレルゲンについても、本当にコウジを使っているものにアレルゲンがあるのであれば、それについての最終産物の中でそれがどうなっているかということの検討だけは申請者側でしておいてほしいなと思います。それを見た上で、どう判断するのかということになるので、今の情報ではなかなか答えにくいという気がしています。

〇〇〇 ほかにいかがですか。

〇〇〇 今の点、コウジ菌の場合はこういうものは1つくらいつぶしても、別にだからどうということはほとんど心配しなくても大丈夫だろうと思います。ちなみにシクロピアゾン酸はカルシウム ATPase の阻害活性があって、イヌか何かで消化障害が出ることもあるんですけれども、マイコトキシンの一種と言われていますが、別にコウジ菌のものは人畜には基本的に無害ですので、一応気にしてつぶしてみたというところだと思います。

コウジ酸はチロシナーゼ阻害剤があり、美白効果があって、わざわざ化粧品に入れてるので、せっかくだからつぶさない方がいいのと思うんですけれども、一時期発がん性が疑われた時期があったので、念のためつぶしたんだろうと思います。つぶして悪いことはないと思います。メタロチオネインもつぶしていて、それがあると多分キレーターですから、ミネラルの吸収性が悪くなるとか、そういう話もあることはあって、だからつぶしたんだと思いますけれども、別にどうということはないだろうと思います。

アミラーゼをつぶしたのは多分一番メジャーな分泌タンパク質をつぶしておいて、生産性を高くするためだろうと思います。普通にやることです。

アルカリ性プロテアーゼをつぶしたのは、外来であるキシラナーゼの歩留まりを上げるためだろうと思いますし、NPIは何のためにやっているのかわかりませんが、いろいろと複雑なことをやっていますけれども、私は細かく全部チェックいたしましたが、どれも理にかなっていて、わざわざこういう手順でこんなふうにする必要があるのかなとは思いますが、特に変なことではないと思います。

〇〇〇 今おっしゃっていただいたことを一応書いた方がよろしいですね。問題ないという意味で。

〇〇〇 私が気にしたのは、つぶしたのではなくて、つぶした結果として代謝系に変化が起こり、予期せぬ代謝産物ができてしまうというようなことでして、その可能性を否定してくれれば良いという指摘です。

〇〇〇 大分御意見をいただきましたけれども、よろしいでしょうか。

〇〇〇 つぶした遺伝子に関してですが、遺伝子をつぶしたことによって酵素活性が発現しないということは、生産菌株をセレクトする段階で活性を図っているの、そこは大丈夫と思うんですが、タンパク質としても発現していないかどうかはどこにもデータがないんです。

つまり酵素タンパクとしては発現していないんだけど、酵素の遺伝子の途中に無関係な配列を入れて、それで酵素活性をつぶしているの、挿入された配列によって新たなタンパク質が発現していないかどうか。アレルゲン性に関してはそれは問題ないだろうということがわかっているんですが、タンパク質そのものが大量に存在することによって有害性を示すことはないとは言い切れないと思います。

そういう意味で、例えばウェスタンブロッティングでタンパクの発現量を見てみるとか、何か組換え体のキャラクタリゼーションに関する追加のデータが必要なのではないかと思うんです。

〇〇〇 今おっしゃったのは、*pyrG*に関してですか。*TAKA*と *NPI*は一応欠損型にされていまして、もし発現するとすると、途中で切れていますので、5'側の断片。

〇〇〇 切れているというか、それぞれの酵素の真ん中に *pyrG* の遺伝子を挿入する形で遺伝子をつぶしていると私は解釈したんです。

〇〇〇 一応プロモーターとかいろいろ入っていますから、途中で切れている場合が多いので、例えば18ページ一番下で、点線になっていますね。そこから以降はORFがなくなっていると私は解釈したんですけれども。

〇〇〇 例えば34ページで申し上げると、右の列の上から2つ目ですが、右下で *TAKA* の *Sma1* と *Bcl1* で一応真ん中を切って、そこに *pyrG* をまた入れている。ただ単に入れたわけではなくて、もともとのコーディングのところは、どれくらいかはありますけれども、落としてはいるんです。本当にタンパクが発現しているかどうかは、確かに御指摘のとおり確認はできていないんですが、そのホモロジー検索をやっているという点で、仮に発現したとしても安全性上どうかということだと思いますが、いかがでしょうか。

〇〇〇 ORFの検索をしたときに、その *pyrG* の上流部分も連結して、どのくらい伸びているかという、その情報がきちんと書いていないと言え書いていない。

〇〇〇 追加でよろしいですか。そのつぶした遺伝子の構築状態は51~54ページに模式図で書かれているんですが、*pyrG* の遺伝子が順方向に挿入されている場合もあるし、逆方向に挿入されている場合もある。そういう状態ですと、〇〇〇がおっしゃったように、ORFをきちんと見て、それで問題になるようなタンパク質が発現する可能性はないということをはきちんと言ってあげればいいんですが、それが書かれていないように思ったので、未知のタンパク質が発現している可能性を否定できないかなと思ったということです。

〇〇〇 情報としてORFのところにもうちょっと明確に書いていただいた方が、連結部分の話ですね。あと *pyrG* を相同組換えで一応入れたつもりになっていましたが、後でつぶし

ていまして、それは何らかの変化が起きているはずなんですけれども、これは一応これ以上追求しないということによろしいのでしょうか。そこをやり出すと全ゲノムをシークエンスしろというのに等しくなるかなという気がします。

〇〇〇 どうぞ。

〇〇〇 今、〇〇〇の解説を聞いてわかったところが多いんですけども、全体として結構複雑な分離操作をやっていますね。だから、流れ図を書いてほしいです。最初はどういう目的でこれをロックアウトして、その後に生産用のこれを入れて、それでどうなったという流れをどこかで書いてもらわないと、理解に苦勞します。

〇〇〇 それでは、御意見が出尽くしたと思いますけれども、委員の先生方から大分御意見をいただきましたので。

〇〇〇 済みません。最後にもう一点よろしいですか。62 ページですけども、「2. 組換え体の残存に関する事項」が今まではドットプロットを要求していたんです。これは言ってみれば生菌検査をしているだけです。評価基準のところにもドットプロット等を使って、入っていないことを示せというふうに言っているので、それをやってもらうというふうにしてもらった方がいいと思います。評価基準のところを書いてあるんです。

〇〇〇 残存菌の問題ですけども、生菌のデータがある場合はそれでよろしいのではなかったでしたか。

〇〇〇 そこは私も失念しているところなので、確認していただきたいと思います。

〇〇〇 よろしいですか。それでは、いろいろいただいた御意見で、確認事項を指摘事項（案）としてとりまとめて、皆様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をしたいと思います。御意見をありがとうございました。

それでは、まだ1時間ほどありますけれども、次に移らせていただきたいと思います。次は、除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ DP-356043-5（食品）についてであります。これは昨年、安全性評価の終了した品目であります。若干訂正等があったようでありまして、経緯を含めまして、事務局から御説明をお願いしたいと思います。

〇〇〇 では、経緯を含めまして、御説明をさせていただきます。本日お配りしておりますお手元の資料3をまず御用意いただければと思います。

1枚めくっていただきますと、1月8日付けで厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに報告いただいているものです。先週の食品安全委員会で厚生労働省から説明がありました。具体的にはその本文に書いてありますとおり、以下の品目について食品健康影響評価を依頼した際に出した資料に誤りがありましたので、その旨を報告しますという点でございます。

記にありますように3品目ありまして、1つ目が除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズというもので、昨年2月に安全性評価が終了いたしまして、厚生労働省に通知したものです。

2つ目の同トウモロコシ、3つ目が高オレイン酸ダイズになりますが、下の2つはいずれもまだ審議中という品目になっております。

1枚めくっていただきますと、申請者から厚生労働省あての資料が付いております。誤りを確認しましたので、再発防止対策も併せて報告させていただくというものでございます。

「2. 原因」にもありますように、文献を複数多数引用しているということもあり、引用文献を特定できるようにしていなかった。本社において誤記を見つけることができなかった。また、日本においても同様の理由により誤記を見つけることができなかったということで、最終版の再確認ができておりませんでしたというものです。

「3. 再発防止策」としては、本社における複数人での確認であるとか、日本においても複数回重ねて確認を行う。

(2)として、できるだけ引用文献は限定するとともに、個々の文献値に対して引用文献を特定できるように付けます。

(3)として、日本においても複数の担当者が確認いたしますということで、申請者からの説明が付いております。

それ以降に別紙1～3と正誤表が添付されております。

厚生労働省といたしましても、先週の食品安全委員会で説明がありましたが、このような事態が再発しないように申請資料を一層厳しく確認し、信頼性の向上に努めるとともに、業界団体に対しても注意喚起の文書を発出したという報告がございました。また、委員長からは、本件に関して、専門調査会の審議を踏まえてということにもなりますが、申請評価要請に係る資料データについては、委員会における評価の根幹となるもので非常に重要なものである。したがって、厚生労働省においても今後とも十分にチェックするとともに、申請者に対しても厳しく指導をするようお話しされたところでございます。

それでは、具体的に誤記の内容について御説明させていただきます。お手元の分厚いファイルです。除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ、右肩に151と書かれたファイルを御用意ください。

別添1に正誤表が付いております。別添2にまいりまして、要旨がそれぞれ修正されたものが添付されておりますので、個々に御説明させていただきたいと思っております。

別添2の2ページです。修正箇所が下線部が入っておりますので、それが修正箇所になります。下の表1のところは修正箇所になりますけれども、これは宿主ダイズそのもの、非組換え体の構成成分ということで、下線の箇所が修正になっております。これはもともともう一件文献を引用してしまして、最大値と最小値が適正にとられていなかったという点が1つ。それらを適正に修正するとともに、入手のものが2005年になっていましたが、2006年にバージョンアップしたものとなっております。したがって、間違えたところを直すとともに、よりいいものに改善したということでございます。

3ページですが、表2になります。トリプシンインヒビターやレクチンについては乾物

重というところが修正になっております。もともとタンパク質となっておりました。イソフラボン類については、もともとは最初のゲニスチン、ダイジン、グリシチンのみが記載されておりました。その数値も先ほどと同じ理由で間違った数値が書かれておりましたが、それらについては正しいものに訂正したと。あとは厚生労働省からの指導にもなりますが、なぜグルコシドゲニステイン等だけを書いているのかという点もありまして、文献に記載されているそれぞれ細かいものを全部並べたということになります。

フィチン酸の記載ですが、これは適切な最大値が取られていなかったということで、修正がされております。

17 ページの 2 つ目のパラになります。一般的に相同性検索の比較では経験的に *E*-value に閾値はこれこれの数値が用いられているという一般論の記載をしていますが、これも文献値の記載のミスで、もともと 0.0001 と記載しておりましたが、0.001 が文献値であったということでございます。

80 ページの右の端の列「文献値の範囲」の下線が引いておりますところが修正になっております。いずれも先ほどの理由で誤記であったもの、もしくはアップデートされたものが記載されております。

中身として、特に脂質のところでは組換え体と非組換え体で有意差が出ています。しかし、同時に栽培した非組換え体からつくった許容範囲、右から 2 列目のものになりますけれども、その範囲であったということで、最終的にその結果に影響するものではないだろうというものでございます。

81 ページの右端の「文献値の範囲」がそれぞれ修正になっております。右肩の注釈の 4 番というところは、それぞれ文献の由来を明確にするために、今回、よりよくするために新しく付けたというものでございます。

中身といたしましては、上から 4 つ目のミリスチン酸に有意差が出ておりますけれども、いずれも許容範囲であったと。それから 4 個下がったパルミチン酸にも有意差が出ていますが、許容範囲の中であったと。

そこから 2 つ下のヘプタデカン酸、もう一個下のヘプタデセン酸、これはもともと有意差が出てまして、恐らく代謝系を触っているのではないかという御審議をいただいたもので、差についてはあらかじめ確認されておまして、それぞれの安全性については確認されているものです。

2 つ下がりますと、オレイン酸についても有意差が認められており、リノール酸、リノレン酸についても認められておりますが、許容値の範囲内であったというものでございます。

82 ページの右端の列で誤記が見つかっておりますが、このページの表の項目では有意差は確認されておられません。

84 ページの上から 4 行目の 4.2g とありますが、これは国民栄養調査の結果を引用するのに間違いがあったということで、もともと 4.3g と書いてあったものが 4.2 に修正されて

おります。それに伴いまして、そこから更に3行下の9.3 mg、5.2 mg、更にはその下の0.017%というもの。全体で言うと3パラ目になりますが、同じく0.017%というものが修正になっております。

87ページの右端で、それぞれ誤記があったものが下線部付きで修正されております。評価の中身としましては、下から4つ目のアルギニンで有意差が出ておりますけれども、許容値の範囲内。アラニンについても同じような結果となっております。

88ページのセリンのところが修正されておりますけれども、有意差は認められていないというものです。

97ページのミネラルの値になります。上から3つ目の鉄のところでは文献値が修正されておりますけれども、もともと有意差は見つかっておりません。

98ページのビタミンです。α-トコフェロールでもともと文献値を記載しておりましたけれども、これは総トコフェロールの値を間違えてここに書いておまして、α-トコフェロールのものはなかったということで、NRと記載されております。測定値については有意差が認められておりますけれども、許容値の範囲内であったというものでございます。

100ページの右側の列でそれぞれ修正されております。有意差があった項目を見ますと、上から5行目になりますが、ダイジン、マロニルダイジンで有意差がありますけれども、許容値の範囲内であったと。

そこから3つ下がりますと、グリシチン、マロニルグリシチンで有意差が認められておりますけれども、許容値の範囲内であったというものでございます。

101ページのフィチン酸のところが修正されておりますけれども、もともと有意差は認められておりません。

105ページの結論になります。下から2つ目、先ほどのものを引用しておりますので、0.017%というところが修正になっております。

オレンジ色のタグで別添3を御覧ください。このときには除草剤散布を行ったときの構成成分の比較のデータも添付していただいております。

2ページが主要構成成分ですが、文献値ですので先ほどと基本的に同じような修正ですが、右側の文献値が修正されておりますけれども、これらについては有意差が認められておりません。

4ページ、文献値が修正されております。上から4つ目のミリスチン酸で有意差がありますけれども、許容値の範囲内であったと。そこから4個下がりますと、パルミチン酸でも有意差が認められておりますが、許容値の範囲内であったと。ヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸はもともと有意差が見られているというものです。

5ページ、それぞれ修正されております。リノール酸、リノレン酸について有意差が認められておりますけれども、許容値の範囲内。

6ページ、修正されておりますけれども、分析値では有意差が出ておりません。

7ページ、こちらも有意差は認められておりません。

12 ページ、一部、鉄のところは文献値が修正されておりますけれども、有意差は出ておりません。

13 ページ、先ほどと同じ α -トコフェロールのところは修正されておりますけれども、許容値の範囲内であったというものです。

15 ページ、マロニルダイジンやグリシチン、マロニルグリシチンで有意差が出ておりますけれども、いずれも許容値の範囲内であった。

16 ページ、フィチン酸が修正されておりますけれども、もともと有意差が認められていない項目であったというものでございます。

修正点は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。一度終了した品目で申請書に誤記があったというものでありますが、ただいま御説明いただきましたように、評価結果自身に影響するところは特に見られないようであります。申請書の該当箇所につきまして、ページごとに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2ページ、3ページ、17ページに関しまして、何か問題がございましたら、お願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

80～82ページの修正に関しまして、コメントがありましたら、よろしく申し上げます。一般的に文献値の範囲が広がったものがほとんどかと思っております。

87～88ページでいかがでしょうか。97～98ページの表22、23、最後の100～101ページ、あと別添3は全く同じ内容が繰り返されているわけでありまして、ほかにさかのぼって全ページで何かありましたら、お願いしたいと思います。よろしいですか。

では、本件につきましては、特に評価が変わるというような安全性上の問題がないということですので、評価書（案）の訂正の方に移りたいと思っております。御説明を事務局から。

〇〇〇 本日お配りの資料1を御覧いただきたいと思っております。25ページからになりますが、御説明を28ページからさせていただきたいと思っております。

28ページ、経緯のところといたしまして、追加させていただいております。

修正箇所を御説明させていただきますが、32ページ、宿主の成分ということで、構成成分、(2)の栄養阻害物質等の数値、単位等を修正させていただいております。

11行目になりますけれども、引用文献が1つ削除になっています。

33ページ、先ほどの引用文献が削除になった関係で、参照文献が全部1個ずつずれておりますので、修正が入っております。

34ページの17行目からになります。先ほどと同じ栄養阻害物質を修正させていただいております。

その他、34～35ページは引用文献の番号ずれになっています。

36～37ページの修正も引用文献の番号がずれております。

38ページも同じです。

40～41 ページもそれぞれ引用文献の番号がずれています。

42～43 ページも同じところです。

45 ページの 24 行目が先ほどございましたけれども、0.18 が 0.17 に修正されております。

46 ページ、少し時間もありませんでしたので、こちらの方で申請書の確認をいたしまして、8 番の外国における承認状況をアップデートさせていただいております。その他は番号ずれになっております。

48 ページ。6 番の引用文献が削除になっております。

説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。それでは、評価書の修正案でありますけれども、特に御意見がありましたら、お願いしたいと思います。

〇〇〇 確認させていただきたいんですけども、これは評価書の修正なのか、それとも再評価なのかというところの定義がどうなるのでしょうか。

〇〇〇 定義と言われますとあれですが、厚生労働省からは諮問という形ではなくて、前回の訂正の報告という形で来ておりますので、修正になるのでしょうか。昨年 2 月のものはなしということになります。

〇〇〇 そうしますと、この評価書の日付けはさかのぼるということですか。

〇〇〇 さかのぼらないです。

〇〇〇 今回初めて評価が行われたというふうに考えるんですか。

〇〇〇 先ほどの審議の経緯のところは丸々残りますので、こういう形で評価が行われたということになります。

〇〇〇 見たところは修正になりますね。

〇〇〇 わかりました。

〇〇〇 委員会としては、この修正で安全性上は問題ないということかと思っておりますけれども、どうぞ。

〇〇〇 34 ページのイソフラボンの記載についてですけれども、量的にはグルコシドだけではなくて、マロニル体が非常に多いですね。このグルコシド体だけ書く理由が今回の修正の件とは違うんですけども、量的にはほかのものの方がたくさん入っていると思いますが、全体を書かなかった理由を教えてくださいと思います。

〇〇〇 もともと昨年の評価書ベースで修正をしたので、ダイジン、ダイゼイン、ゲニスチンだけしか書いていなかったのも、必要最小限の修正だけをしたということです。申請者が今回マロニル体も全部書いてきましたけれども、それに合わせて書いた方がよければ、ここに書くというのもあると思います。

〇〇〇 前回はマロニル体、アセチル体はなかったわけで、今回このように追加されたことに伴って、ここは量的な問題もあるので、全体を書き直した方がいいかと思っております。

〇〇〇 先ほどのデータだと、あと幾つ増えますか。

〇〇〇 全部で 12 種類なので、9 つ増えることになると思います。ほかのものが量的に少

ないなら問題はないと思うんですけれども。

〇〇〇 9つがほぼ同じ重みで並ぶということですか。もし量的に代表的なものがあれば減らしてもいいかなと思うんですけれども、書き始めて減らせないのだったら、9個並べないといけないと思います。

〇〇〇 どこに出ていますか。

〇〇〇 申請書の別添2の3ページです。先生がおっしゃるとおり、マロニルが一番多いです。

〇〇〇 アセチル体はほとんどないので、アセチル体については3種類のイソフラボンで検出されなかったということをもとめて書いていいかと思います。

〇〇〇 そうしましたら、何を載せたらいいかという話は事務局と先生と私の方で決めればよろしいかと思います。後でまた御報告なりすればいいですね。

〇〇〇 全体でこのイソフラボンの種類のところは13となっているので、全体的に評価書(案)について、12に直した方がいいと思います。例えば46ページの28行目「イソフラボン類(13種類)」となっているんですけれども、全体的にこの文章が出てくるので。

〇〇〇 前半は一般の宿主に関する話で、後ろは具体的に詳細に成分を見ていて、100ページの一番下のクメストロールというものも併せて13をやったということです。

〇〇〇 わかりました。クメストロールの点は見逃していました。

〇〇〇 今のは13でよろしいですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 それでは、ほかによろしいでしょうか。後で申請書の細かい点は直ささせていただきたいと思いますが、それ以外で特にコメントをいただいておりますので、御了解いただいたということにさせていただきたいと思います。

まだ続きがありまして、高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1(食品)であります。これは昨年9月の調査会において審議を行い、指摘事項をいただいております、その回答につきましては座長預かりとなっておりますが、今回申請書に誤記があったということがありましたので、再度一緒に調査会で審議を行うことといたしました。

それでは、指摘事項に対する回答と誤記の件につきましては、事務局から御説明をお願いしたいと思います。

〇〇〇 お手元に青いファイルの「高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1の安全性評価に係る指摘事項について」を御用意いただければと思います。

最初の紙をめくっていただきますと、まず指摘に対する回答から記載されておりますので、こちらから御説明させていただきたいと思います。

指摘の1になりますけれども、随分前のことになりまして、中身があれなんです、T3世代をどのように選んだかという話がありまして、申請者によりまして、もともとT3世代はホモ化したものを選んできたので、サザンの試験についてはそれを考慮してほしいということが背景にありまして、T3世代がホモ化しているという説明を以前にしていたんです

が、その説明について、本当にどのように T3 世代を選んだのかということを確認したいというご指摘でした。

記載されておりますとおり、T2 世代のものについて脂肪酸分析、サザンブロット分析を行い、これらすべての個体において分離が起こらず、ホモ化されていることが確認されており、かつ明瞭なサザンブロットの結果が得られた T2 世代の次世代の 1 種子（1 個体）を T3 世代としましたということで、これらを基に回答書が修正されております。

3 ページ以降は修正事項になります。1 つは言葉の問題ですが「そのため」を削除するというのがあります。

修正事項 2 は加熱処理に対する安定性のところになりますが、アセト乳酸合成酵素遺伝子を改変した GM-HRA というものが入っておりますが、このタンパクの加熱処理に対する安定性についてウェスタンブロットが行われていたわけですが、「上清及び沈殿物再溶解画分で免疫反応性が認められた」とあるけれども、修正後の要旨には「免疫反応性は、非加熱対照に比べ 90% 以上低下した」と記載があって、矛盾しているので修正することという指摘をいただいております。

4 ページの修正後のところにありますように、3 行目から「熱処理後の上清の免疫反応性は、非加熱対照に比べて 90% 以上低下した。一方、得られた沈殿物を界面活性剤と還元剤を含む緩衝液で再溶解し、ウェスタンブロット分析を行った結果、上清及び沈殿物再溶解画分のいずれにおいても免疫反応性が認められた。したがって、70℃、15 分間の加熱後、GM-HRA タンパクの免疫反応性に変化はないことが確認された」と修正されております。

5 ページの修正事項 3、除草剤を散布した場合のデータを要旨に反映させることということで、以下に記載のとおり反映されております。

修正事項 4、n-6 系脂肪酸の 1 日当たりの摂取目安量は、性年齢別に設定されている。また、 α -リノレン酸の摂取目標量についても、性年齢別に記載されているので、適切に修正することということで、6 ページに記載がありますように、性別、年齢別に記載されております。

7 ページは α -リノレンについて、同様に修正されております。

修正事項 5。gm-fad2-1 遺伝子について。発現の項の記載については gm-fad2-1 遺伝子転写産物と修正されております。

それ以降は今般の誤記に基づく修正になっておりますので、修正版の要旨を御説明させていただきますと思います。

黄色いタグの修正版要旨の 2 ページになります。先ほどと少し違うんですが、ダイズ種子中の成分ということで、こちらの方は数値が合っていて、引用文献が変わっているということになります。

3 ページ、先ほどと同様に修正されております。

7 ページ、下から 2 つ目のパラですが、ダイズの米国での生産量に引用間違いがあり、8,800 万トンと前に書いていましたが、8,350 万トンの誤りでしたというところです。

98 ページは ILSI の文献をアップデートしたということです。

99 ページも同じです。

102 ページ、上から 4 行目の点のところだけに下線が引いてありますが、ここにはもともと「文献データはなく」と書かれていたのを削除になっています。文献データはありませんということです。

103 ページ、数字が修正になっておりますのは、下から 3 つ目のアラキジン酸ですが、数字自体は有意差が出ておりますけれども、許容値の範囲内であるというものでございます。

104 ページ、修正のところですが、一番上のエイコサジエン酸はもともと文献値がないと言っていたものが記載されたものです。この数字自体も組換え体と非組換え体では有意差が出ているんですが、先ほどの 102 ページに戻っていただきますと、本文中に記載がありまして、エイコサジエン酸は検出限界未満の値が多いため、許容値も設定できなかったと。したがって、別の統計方法、FDR を考慮した統計処理を行ったところ、有意差は認められなかったというような記載になっております。この辺の記載は以前のままのものです。

106 ページにまいりまして、それぞれ文献値の範囲のところ、引用文献の注釈がそれぞれ修正になっています。

オレンジ色のタグの修正版要旨別紙 5 が除草剤散布を行った場合の成分の比較がされております。修正箇所は同じところで、特に組換え体と非組換え体で許容値や文献値を外れるというようなことは認められておりません。

説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。それでは、指摘事項に関する回答と誤記につきまして、順番に先生方からの御意見をいただきたいと思っております。

まず回答書で指摘事項の 1 でありますけれども、これは〇〇〇ですがいかがでしょうか。

〇〇〇 特に問題なく、これでよくわかっていいと思っております。

〇〇〇 修正事項の「そのため」を削除する。これも事務的な削除ですね。修正事項 2 で免疫反応性の記載内容でありますけれども、これは〇〇〇の御指摘でありましたが、代わりに〇〇〇から。

〇〇〇 代わりに御確認をいただきまして、本日お配りしております資料 2 の一番最後のページになります。これとはまた別の試験になりますけれども、加熱によって酵素活性の失活も別の試験では認められています。したがって、加熱による高次構造の変化が示唆されるということで、ウェスタンのポリクローナル抗体との反応性はタンパクの一次構造のみを見るということになるので、もう少し若干表現を変えた方がいいという御指摘をいただいております。

具体的には GM-HRA タンパクの免疫反応性となっているところを GM-HRA タンパクの一次構造の免疫反応性と、一次構造を足してくださいというような御指摘をいただいております。

〇〇〇 これは回答案のみを直すということで、評価書の方は反映されないということですので、特に問題はないかと思えます。

それでは、修正事項3の除草剤の散布の構成成分で、〇〇〇。

〇〇〇 これで結構かと思えます。

〇〇〇 どうぞ。

〇〇〇 書き方の問題ですけれども、内容的には間違いではないかと思えますが、比較が除草剤を散布したときのことを言うときに、除草剤を散布しないものとの比較ではなくて、非組換え体との比較で数値が出てくるので、わかりにくいとの印象を持ちました。いきなり75%程度に増加しとか、リノール酸含有量が5%低下しとありますが、そもそもオレイン酸含有率を高めるために作っているものなので、75%程度増加しているという前提があつての話になりますので、この辺の書き方というのはNon-GMを比較対象として書いた方がいいのか。あるいは除草剤を散布しないときの組換え体を比較対象として、除草剤を散布したものであるということで書いた方がいいのか。その辺を御検討いただければと思います。

〇〇〇 具体的にはどのように直せばよろしいでしょうか。

〇〇〇 例えば数値は見えていませんけれども、除草剤散布したものは非散布のものとは比べて有意差がなかった。すなわちNon-GMと比べて75%程度の増加が見られたとか、そういうふうな書き方にした方がわかりやすいのかなと思えますけれども、いかがでしょうか。

〇〇〇 わかりました。ほかにございますか。

それでは、修正事項4で摂取目安量と摂取目標量ですか。回答書の5ページの下半分から始まる部分であります。これは〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 6ページのところですけれども、 α -リノレン酸の摂取目安量のところで、n-6系脂肪酸の摂取目安量はという文章で始まっていて、リノレン酸のことが書いてあるんです。

その次にまた α -リノレン酸の摂取量で続いているんですけれども、この前に同様にn-3系脂肪酸の摂取目安量はn-3系脂肪酸摂取量の50%タイルという文章が必要なのではないかと思います。これだとn-6系が2つあるような書き方ですけれども、 α -リノレン酸はn-3系ということなので、その前に文章が1つ必要かなと思えます。

次の②の方は摂取目標量なので、これはこれでいいと思えます。文章を1つ入れていただければいいかと思えます。

〇〇〇 ①の方のn-6系の文書の前に一文を入れればよろしいですか。

〇〇〇 また α -リノレン酸摂取量の「また」の後に、同様にn-3系脂肪酸のという文章を入れていただければいいかと思えます。

〇〇〇 それは追加でよろしいですね。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 それでは、修正事項5で、要旨の項目名で回答書の7ページ、これは〇〇〇。

〇〇〇 大丈夫です。

〇〇〇 あとは誤記の問題で、もしありましたら一括でお願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

それでは、一部修正を加えるという以外は、特にコメントはいただいておりませんので、引き続きまして、評価書（案）の審議に入りたいと思います。

では、事務局の方から御説明をお願いします。

〇〇〇 お手元にお配りしております資料 1 の 58 ページからになります。前回の調査会で評価書についても御審議をいただいておりますので、修正点のみとさせていただきたいと思います。

59 ページの 71 行目は、引用文献が 1 つ削除になっています。

59 ページのトリプシンインヒビターやイソフラボンの関係は、先ほどの件も踏まえて、また再度修正させていただければと思います。

60 ページの 5 になります。比較対象に用いたもの話として、以前は比較対象として宿主以外を用いていないとさせていただいておりましたが、御指摘がありまして、高オレイン酸のものとして、例えばサフラワー油やオリーブ油やひまわり油などを含有量の比較として用いておりましたので、本組換えダイズは *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセットの導入により、種子中のオレイン酸含有量が増加していることから、主要な脂肪酸組成については、オレイン酸を多く含有する油を比較対象とした。これ以外については、宿主を比較対象としたと修正させていただいております。

61 ページの記載事項、含有量については先ほどのイソフラボンと合わせたいと思います。

63 ページの 228 行目は事務的な修正で、表の番号を追加しております。

65 ページの 325 行目からになりますけれども、ORF の関係の項になります。そこに発現をしていないと翻訳される可能性は低いということを記載しておりましたけれども、これは後段の 71 ページの方に移しておりますので、削除しております。

引用文献のずれでほとんど修正しておりますけれども、71 ページの 534 行目は遺伝子転写産物としております。

その下として、先ほどの内容も含めて修正しております。少し見えにくいので読み上げさせていただきますが、米国で栽培されたダイズ DP-305423-1 の葉及び種子における

gm-fad2-1 遺伝子の mRNA の発現量をノーザンブロット法により測定した結果、微弱なバンドが認められたが、一般にジーンサイレンシングでは、mRNA は分解されることが報告されていることから、*gm-fad2-1* 遺伝子がタンパク質に翻訳される可能性は低いと考えられたとさせていただいております。

546、647 は表 2 のタイトルを追記しております。

557 行目は - 4 乗%と記載しておりますけれども、単に - 6 乗とさせていただいております。

76 ページ。諸外国における承認状況をアップデートしております。

712 行目につきましては、最近は全部を記載しておりませんで、安全性の知見が得られ

ているということだけにしております。

77 ページは引用文献の 8 が削除になっております。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。それでは、修正に係る部分で、前回コメントをいただいておりますが、一応は見ていただいているはずでありますけれども、今回また何かありましたら、コメントをお願いしたいと思います。先ほどの〇〇〇のものは共通で直させていただきます。よろしいでしょうか。

それでは、先ほどの細かい修正につきましては、事務局と〇〇〇と私の方で確認して、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います。

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

〇〇〇 お手元に黄色いファイル、高オレイン酸ダイズの餌の資料を御用意いただければと思います。

飼料の特徴といたしましては、先ほども本体については御審議いただいているところで、省略させていただきますが、*gm-fad2-1* 遺伝子の導入によってオレイン酸の含有量が高まっている。マーカーとして除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤の耐性を付与するために *gm-hra* 遺伝子が導入されているというものでございます。

飼料の使用方法ですが、本組換え体はオレイン酸を多く含むということから、プレミアムダイズとして搾油用に利用されるものだと。搾油後の油かすが一般ダイズと同様に餌として使用される。

2、飼料としての安全性については、ガイドラインについては①～③の要件について考慮することとされている。

下から2つ目のパラになりますけれども、本組換え体には *gm-fad2-1* 遺伝子、*gm-hra* 遺伝子が導入されており、GM-HRA タンパクが産生されている。一般的に挿入された遺伝子もしくはそれによって産生されるタンパクが肉や乳や卵などの畜産物中に移行するということは報告されておらず、本挿入遺伝子及び GM-HRA タンパクについてもその可能性は考えがたい。

上述のように、意図したオレイン酸の増加以外にヘプタデカン酸やヘプタデセン酸が非組換え体に比べて増加が認められた。これらの脂肪酸については、牛肉、豚肉、鶏肉、卵、牛乳にもともと含まれていて、これまでにこれら脂肪酸が畜産物中で有害物質に変換蓄積されるという報告や家畜の代謝系に作用して、新たな有害物質を産生するという報告はない。

したがって、上述の②や③の可能性は考えがたいということから、上記①～③の可能性は低いと考えられ、本組換え体を用いた飼料を摂取した家畜に由来する畜産物について、安全上の問題は生じないと考えられるとされております。

説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。では、申請書につきまして、委員の方々から御意見をいただきたいと思っております。非常に短いので、全般を通しまして御意見がありましたら、お願いしたいと思っております。

〇〇〇 1 ページの3番目のパラグラフの終わりの方に、この「細胞を選抜するためのマーカーとして利用され、DP-305426-1 を除草剤耐性のダイズとして農家に販売する予定はない」というのは食品の方で、そこを修正することという指摘事項があって、農家に販売する予定はないというのを削って、マーカーとしてのみ利用されると修正になっていますけれども、こちらもやはり同じように修正した方がいいように思います。

〇〇〇 これは思い出しましたけれども、直していただければと思います。ほかによろしいでしょうか。

それでは、今の修正だけして、それ以外は御了解いただいたということにさせていただきます。ありがとうございます。

〇〇〇 申請書は終わりましたので、それでは、評価書の説明をお願いします。

〇〇〇 資料1の84ページになります。「I. 評価対象飼料の概要」ということで、高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1。性質といたしましては、オレイン酸含有量の増加ということでございます。

27行目からになりますが、先ほどと同様の記載としております。ダイズ由来の脂肪酸不飽和化酵素(ω -6 デサチュラーゼ)をコードする遺伝子(*FAD2-1* 遺伝子)の一部の領域からなる *gm-fad2-1* 遺伝子を導入している。この遺伝子によりジーンサイレンシングが誘導され、内在性の *FAD2-1* 遺伝子がコードする酵素の発現が抑制される。その結果、オレイン酸からリノール酸への生合成が阻害され、種子中でオレイン酸の含有量が高まる。なお、マーカーとして改変アセト乳酸合成酵素遺伝子が導入されている。従来のダイズとの違いは *gm-fad2-1* 遺伝子の導入によって、種子中のオレイン酸含有量が高まり、リノール酸が減少していること。*gm-hra* 遺伝子の導入によって GM-HRA タンパクが発現をすること、並びに種子中のヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸の含有量が有意に増加している点ということでございます。

「II. 食品健康影響評価」といたしましては、1. 遺伝子組換え食品(種子植物)の安全性評価基準に基づき、食品としての評価を終了しており、ヒトの健康を損なうおそれがないと判断されている。このためオレイン酸等の脂肪酸の増減及び GM-HRA タンパクの安全性は既に評価されている。

2. マーカーとして導入されておりますアセト乳酸合成酵素阻害剤に対する耐性ですが、除草剤耐性の遺伝子組換え作物を飼料として用いた試験において挿入された遺伝子や産生されるタンパクが畜産物に移行することは報告されていない。

3. 有意に増加したオレイン酸、ヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸については、いずれも本組換え体で新たに産生された成分ではなく、非組換えダイズや他の食品にも含まれていることから、これらの成分が家畜において有害物質に変換蓄積されることはないと考え

られる。

これらの上記1～3を考慮したところ、本ダイズに新たな有害物質が生成され、これが肉、乳、卵等の畜産物中に移行することは考えられず、また畜産物中で有害物質に変換、蓄積される可能性や遺伝子組換えに起因する成分が家畜の代謝系に作用し、新たな有害物質が産生することは考えられない。

以上のことから、高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1 については、飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方に基づき評価した結果、改めて食品健康影響評価は必要なく、当該飼料を家畜が摂取することに係る畜産物の安全上の問題はないと判断したと記載させていただいております。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。それでは、ただいまの評価書（案）に関しまして、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。細かい字句等の修正にお気づきになりましたら、後ほど事務局の方に御連絡をいただければと思います。よろしいでしょうか。

それでは、御了解いただいたということで、議題1はこれで終わらせていただきたいと思います。

議題2の「その他」でありますけれども、事務局の方から何かありますか。

〇〇〇 特にございません。

〇〇〇 ありがとうございます。それでは、本日の議題はこれで終了でありますけれども、今後の予定につきまして、お願いしたいと思います。

〇〇〇 先生方の日程を調整させていただきました結果、次回は2月8日月曜日の午後が一番御都合がよろしいかと思っておりますので、お忙しいところ恐れ入りますが、よろしく願いいたします。

〇〇〇 それでは、次回2月8日の午後ということでよろしく申し上げます。

以上をもちまして、第78回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。

今日も長い間、ありがとうございました。