

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第250回) 議事録

1. 日時 令和6年5月30日(木) 14:56~16:09

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

・チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(DAS1131)(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、小野竜一専門委員、佐々木専門委員、柴田専門委員、
爲廣専門委員、手島専門委員、樋口専門委員、藤原専門委員、百瀬専門委員

(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、岩瀬評価専門職、山口係長、今村技術参与、坂本技術参与

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

①チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(DAS1131)(食品)

②チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(DAS1131)(飼料)

6. 議事内容

〇〇〇 引き続き、それでは、第250回のほうに入りたいと思います。定刻になりましたので、ただいまから第250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、Web会議システムを併用して行います。

先月は、4月に専門委員の改選が行われた後の初めての会議で、初めての個別品目の審議だったことから、新任の先生方から御挨拶をいただいております。先月御欠席だった〇〇〇にも、専門分野を含め、自己紹介をいただきたいと思います。

それでは、〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 〇〇〇と申します。

前任の〇〇〇の後任として、4月から専門委員を務めさせていただくことになりました。

専門は微生物学的な面からの食品衛生で、食品の微生物規格ですとか食品の製造工程での微生物制御といった観点から食品の安全性確保に関わる業務に携わっております。

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。

本日の議題は、継続品目である「チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ（DAS1131）（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 まず、事務局から資料の確認を行います前に、5月1日付けで新たな技術参与として〇〇〇が着任いたしましたので、御紹介をさせていただきます。

〇〇〇 5月1日付けで事務局技術参与として着任いたしました、〇〇〇と申します。今後よろしくお願いいたします。

〇〇〇 それでは、配付資料を確認いたします。

〇〇〇 この調査会の担当委員の〇〇〇です。

余計なことを一言。〇〇〇、今、御挨拶で〇〇〇の後任とおっしゃいましたけれども、そういう前提で委員に入っているわけではなくて、御相談するときは、専門領域としてある方が抜けるとその人の分野が強そうな人を選んでいるのですけれども、ぜひ全般を見ていただいて、ただし、この調査会の中で微生物・ウイルスに関して専門的な知識を持っているという意味では、そこはしっかり見ていただいて、あとは全般を見ていただいて意見をいただくのはウェルカムですので、よろしくお願いいたします。

〇〇〇 それでは、事務局から配付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となります。

資料の不足等はありませんでしょうか。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、「チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ（DAS1131）」の申請者であるコルテバ・アグリサイエンス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 ありがとうございます。

事務局におい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、Web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、Web会議における注意事項について事務局から説明をお願いいたします。

〇〇〇 Web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いただくか、Web会議画面の挙手ボタンを押してください。座長より呼びかけますので、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、Web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、意思表示をお願いします。

以上がWeb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、継続品目である「チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(DAS1131)(食品)」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 お手元に透明なクリアファイルの「チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシDAS1131の食品としての安全性評価(要旨)」と記載された資料を御準備ください。

当該品目は、令和5年7月に開催された第238回の当専門委員会で一度御審議いただき、指摘事項をいただいたものでございます。

まず、申請品目の概要を説明いたします。

資料の1ページ目を御覧ください。

当該品目は、トウモロコシのデント種B104系統を宿主として、2つの遺伝子をアグロバクテリウム法により導入しています。一つはチョウ目害虫抵抗性を付与する改変Cry1Da2

タンパク質を発現する *Bacillus thuringiensis*由来の改変 *cry1Da2*遺伝子で、2つ目が除草剤グリホサート耐性を付与する DGT-28 EPSPSタンパク質を発現する *Streptomyces sviveus*由来の *dgt-28 epsps*遺伝子です。

10ページ目を御覧ください。

2の(1)の記載ですが、改変 *cry1Da2*遺伝子は *cry1Da2*遺伝子に由来するコアタンパク質コード領域とC末端側の改変 *cry1Ab*遺伝子の小断片から構成されており、トウモロコシでの発現を最適化するために塩基配列が改変されています。

また、*dgt-28 epsps*遺伝子は *S.sviveus*由来のEPSPSをコードする遺伝子に *Brassica napus*及び *Brassica rapa*由来のキメラ葉緑体輸送ペプチドをコードする配列が連結されており、こちらもトウモロコシでの発現を最適化するために塩基配列が改変されているものでございます。

14ページを御覧ください。

上から8行目からの記載になりますが、改変 *Cry1Da2*タンパク質は感受性のあるチョウ目昆虫に摂食されると腸管内のプロテアーゼにより一部が消化され、殺虫活性のあるプロテアーゼ抵抗性コアタンパク質となります。このコアタンパク質は昆虫の中腸上皮細胞膜上の特定の受容体と結合し、細胞膜に細孔を形成して細胞溶解を引き起こし、中腸組織を損傷させることにより殺虫活性を発揮するものでございます。

また、指摘事項にもつながる箇所なのですが、次のパラグラフ、図3の上のパラグラフになりますが、こちらに改変 *Cry1Da2*タンパク質は代表的な *Cry*タンパク質が結合する受容体とは異なる受容体に結合することが示唆されているという記載がございませう。

16ページに進んでいただきまして、②の上のパラグラフの記載です。組換え体で生成される DGT-28 EPSPSタンパク質は、ホスホエノールピルビン酸と3-ホスホシキミ酸から5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸へ特異的な変換を触媒します。また、DGT-28 EPSPSタンパク質はグリホサートに対して非感受性であり、グリホサートによる競合阻害を受けずにシキミ酸合成が機能することから、グリホサートの存在下でも本組換えトウモロコシが生育できるようになるものでございます。

続きまして、お手元に「安全性評価に係る指摘事項等に対する回答書」というクリアファイル、左端が白いもので留められているものでございますが、こちらを御準備ください。

めくっていただきまして、3ページと書かれているページを御覧ください。

前回の審議におきまして、先ほど御説明いたしました申請要旨の14ページの改変 *cry1Da2*遺伝子がコードする改変 *Cry1Da2*タンパク質は代表的な *Cry*タンパク質が結合する受容体とは異なる受容体に結合することが示唆されているとの記載につきまして、安全上の懸念があることから、以下の3点を指摘事項として出しております。

まず1点目ですけれども、(1) *Cry*タンパク質または *Cry*タンパク質を発現する遺伝子組換え作物の摂取が、鳥類、両生類、爬虫類及び哺乳類に対して悪影響を及ぼさないことを文献検索等の情報を基に説明することという指摘でございます。

こちらに対する回答が4ページにございます。申請要旨に文献情報を追記してございます。内容は一番下の点線部分ですが、これまでCryタンパク質が特異的に結合する受容体は昆虫及び線虫以外からは同定されておらず、実際にCryタンパク質またはCryタンパク質を産生する遺伝子組換え作物の摂取が、鳥類、両生類、爬虫類及び哺乳類に対して悪影響を及ぼしたことはないという記載になってございます。

次に指摘事項の2つ目ですが、(2)といたしまして、本剤の標的昆虫への特異性については、近縁の昆虫類だけではなく、鳥類や哺乳類などでの生物検定試験の結果等の情報も踏まえて考察することという指摘でございます。

回答が5ページに記載されてございます。添付資料4でキジ目に対する急性毒性試験の結果が含まれており、改変Cry1Da2タンパク質が同生物種に対して影響がなかったことから、申請要旨の14ページの一番下のパラグラフの記載にキジ目を追記して、改変Cry1Da2タンパク質の殺虫スペクトラムについて、チョウ目、コウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目、トビムシ目及びキジ目の6目17種の生物種に対する生物検定により評価した。と記載するとともに、15ページの表5にもキジ目を追加しています。

次に3つ目の指摘事項でございます。(3)といたしまして、データを保有している代表的なCryタンパク質とCry1Da2タンパク質について、複数種の無脊椎動物の感受性を比較し、まとめることという指摘でございます。

回答が回答書の7ページ目から記載されてございます。まず、申請者が所有いたします系統において産生されるCry1タンパク質について、無脊椎動物を対象とした生物検定のデータを確認したところ、いずれのCry1タンパク質も改変Cry1Da2タンパク質と同様にチョウ目昆虫以外の生物種に対して殺虫活性を示さなかったということでございます。

また、これらのCry1タンパク質のチョウ目昆虫に対する殺虫スペクトラムを8ページの表にまとめてございます。この表では、それぞれのCry1タンパク質の生物検定に用いたタンパク質濃度等の評価条件が異なるため、供試したチョウ目昆虫に対する殺虫活性の有無を定性的に示したものになってございます。殺虫スペクトラムを比較すると、改変Cry1Fタンパク質は供試したチョウ目昆虫全てに殺虫活性を示しますが、改変Cry1Acタンパク質は上から3つ目と7つ目、今回の改変Cry1Da2タンパク質は下の3つに殺虫活性を示さなかったという結果でございました。

指摘事項への回答は以上となりますが、回答書の9ページ目に申請者からの修正項目がございました。

申請要旨の14ページの遺伝子の機能並びに発現タンパク質の性質及び機能の項目のところでございますが、改変cry1Da2遺伝子の説明の箇所で、Cryタンパク質は遺伝子組換え作物において長期にわたり使用されているため、防除対象の害虫がCryタンパク質に対して耐性を獲得することが課題となっている。一方で、本申請品目が産生する改変Cryタンパク質は代表的なCryタンパク質と異なる受容体に結合すると考えられるため、既に商業栽培されているトウモロコシで産生される代表的なCryタンパク質に対して耐性を獲得し

たチョウ目害虫についても、本申請品目は抵抗性を有することが期待されているということで、その旨の追記がなされてございます。

説明は以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

ただいまの説明に対しまして、皆様からのコメント等をいただきたいと思えます。

まず指摘事項のほう、今、14ページの挿入遺伝子の機能に関する事項のところ(1)、(2)、(3)という形で指摘事項が出ておりますけれども、発出されたのが、〇〇〇が指摘事項の(1)と(3)、それから、(2)が〇〇〇、〇〇〇、〇〇〇ということで、〇〇〇は今日御参加いただけていないのですが、これらの回答につきまして、皆様からのコメント等をいただきたいと思えます。

まず文献情報ですけれども、こちらについては、回答書にもありますが、OECDの2007年のものが引用されております。それ以降、特段変更はないということで、Cryタンパク質については、受容体は昆虫及び線虫以外からは報告例がないという形になっております。これについてはこのとおりにかなと私のほうでは考えております。

(2)の標的昆虫への特異性については、少し範囲を広げて考察してくださいということで〇〇〇が指摘されていますけれども、〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 確かにウズラでの結果も示されているので、これで特段問題はないと思うのですが、その1個前の(1)のところ当たるのだと思えますけれども、Cryタンパクはほかの鳥類、両生類、爬虫類、哺乳類に対して悪影響を及ぼしたことはないということなのですが、確かにCry1タンパクはそうなのだと思うのですが、最近どんどんCryタンパクが増えてきていて、その中にはパラスポリンというファミリーのものもあるのですが、それも一応はCryの派生タンパクということだと思えますが、それらは哺乳類のがん細胞に影響を及ぼすというようなこともありますので、一概にそのままCryタンパクだから大丈夫ですということは言えないのではないのかなと思えます。でも、今回のものに関してはCry1ということなので、問題はないと思えます。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

Cryタンパク質と総称して言っておりますけれども、最近分類も結構変わってきておりまして、かつ従来は*Bacillus thuringiensis*が作ったものという形で、それは*Bacillus thuringiensis*が生物農薬で使われていたからというバックグラウンドがありまして、それを遺伝子組換えで植物が作るようにしたというのが経緯でございまして、最近では*Bacillus thuringiensis*以外の微生物から取ってきたタンパク質も使われるようになってきていまして、そういった点を踏まえて、注意してリスク評価をしていかななくてはならないということは考えております。

Cry1については代表的なCryタンパク質でありまして、ホモロジーから考えてもCryタンパク質の中に入る1群のタンパク質の一つでありますので、今回のこの回答で特段危惧

されるようなことはないかなとは考えております。

ただ、今後、新しいタンパク質については、今、〇〇〇がおっしゃったように少し留意しながら評価をしていかななくてははいけないかなと考えております。

(3) の感受性についてのところの表ですけれども、見ていただくと分かりますが、殺虫スペクトラムが微妙に違ってくるということで、殺虫スペクトラムが違うということは違う受容体にくっつくと考えても恐らく問題はないのだろうとは考えておりますけれども、今回の違う受容体にくっつくということについては、競合試験みたいなことをやって確認をしているという経緯になってございます。従来からくっつく、くっつくと言われている割に、受容体がつかまった例はいまだに報告例がほとんどないのですけれども、そういった状況にございます。

この点も含め、全体を通して皆様から御意見、御質問がありましたらよろしくお願いたします。

それから、EPSPSですけれども、こちらは従来はアグロバクテリウムから取られたものが使われていたということになるのですが、恐らく開発者のほうの方針でアグロバクテリウム以外の微生物から今回は単離されてきて使われております。単離した経緯を聞くと、グリホサートが効くものと効かないものとの差が出てくるアミノ酸が同定されているようで、そのアミノ酸の置換というか変異が生じているものを探して使い始めているという経緯だそうです。ですので、今後、恐らく新しいEPSPSが登場する可能性は結構あるかなと考えております。グリホサートが特許切れを起こしていますので、その意味でも新しいEPSPSをどんどん探して使おうみたいな形になってくる可能性はあるかなと考えております。

以上です。よろしいでしょうか。

御意見、御質問等がないようでしたら、今回のこのDAS1131の食品については、特に安全性上の問題がないということで御同意いただけますでしょうか。いただける場合はジェスチャーでお願いいたします。

(専門委員同意)

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、本件については、安全性上の問題はないということで同意いただきましたので、引き続き評価書案の審議に入りたいと思います。

事務局から説明をお願いいたします。

〇〇〇 それでは、評価書案について説明いたします。

右上に「資料」と書かれた評価書を束ねた冊子がございますので、お手元に御準備ください。

1枚めくっていただきまして、1ページ目からが本品の評価書案になります。

まず、7ページ目を御覧ください。

「I. 評価対象食品の概要」でございます。

78行目からチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシDAS1131は、*Bacillus thuringiensis*に由来する改変*cry1Da2*遺伝子及び*Streptomyces sviveus*に由来する*dgt-28 epsps*遺伝子を導入して作出されており、改変Cry1Da2タンパク質を発現することでチョウ目害虫抵抗性が、DGT-28 EPSPSタンパク質を発現することで除草剤グリホサート耐性が付与されます。

続きまして、86行目から「Ⅱ. 食品健康影響評価」でございます。

第1の1の(1) 宿主は、イネ科トウモロコシ属に属するトウモロコシのデント種B104系統でございます。

(2) DNA供与体の由来は、先ほどの概要でも御説明いたしましたとおりの記載でございます。

(3) 挿入DNAの性質及び導入方法でございます。改変*cry1Da2*遺伝子はチョウ目害虫抵抗性を付与する改変Cry1Da2タンパク質をコードし、*dgt-28 epsps*遺伝子は除草剤グリホサート耐性を付与するDGT-28 EPSPSタンパク質をコードします。これらの遺伝子はアグロバクテリウムを用いて宿主に導入されております。

2から5については記載のとおりでございます。

9ページを御覧ください。

142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に関する事項でございます。DAS1131は、改変*cry1Da2*遺伝子及び*dgt-28 epsps*遺伝子を導入して作出されており、改変Cry1Da2タンパク質及びDGT-28 EPSPSタンパク質を産生することが宿主との相違点でございます。

147行目からの記載になりますが、DAS1131の安全性評価においては、既存のトウモロコシとの比較が可能であると判断してございます。

第2、第3、10ページの第4については記載のとおりでございます。

10ページ216行目から第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す。

1の(1) は記載のとおりでございます。

11ページの222行目、(2) 安全性に関する事項です。*B.thuringiensis*は土壌に存在するグラム陽性細菌であり、米国で生物農薬として使用されています。*S.sviveus*は土壌中に広く存在し、ヒトに対する病原性は報告されていません。

続きまして、2.挿入DNAまたは遺伝子及びその遺伝子産物の性質に関する事項です。

(1) クローニング等の項目でございます。導入された遺伝子は、それぞれの供与体のゲノムDNAまたはcDNAからPCR法によってクローニングされています。

改変*cry1Da2*遺伝子は、*cry1Da2*遺伝子に由来するコアタンパク質コード領域とC末端側の改変*cry1Ab*遺伝子の小断片から構成されており、トウモロコシでの発現を最適化するために塩基配列を改変してございます。

*dgt-28 epsps*遺伝子は、*S.sviveus*従来のEPSPSをコードする遺伝子に*Brassica napus*及

び*Brassica rapa*由来のキメラ葉緑体輸送ペプチドをコードする配列が連結されており、トウモロコシでの発現を最適化するために塩基配列を改変しております。

(2) は記載のとおりでございます。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項です。

まず、247行目から改変*cry1Da2*遺伝子です。この遺伝子は改変*Cry1Da2*タンパク質をコードします。このタンパク質は*B.thuringiensis*由来の*Cry*タンパク質から構成されるキメラタンパク質であり、*Cry1Da2*タンパク質に由来するコアタンパク質領域とC末端側の改変*Cry1Ab*タンパク質の小断片から構成されており、ヤガ科及びタテハチョウ科に属するチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示します。改変*Cry1Da2*タンパク質は、感受性のあるチョウ目昆虫に摂食されると腸管内のプロテアーゼにより一部が消化され、殺虫活性のあるプロテアーゼ抵抗性コアタンパク質となります。コアタンパク質は昆虫の中腸上皮細胞膜上の特定の受容体と結合し、細胞膜に細孔を形成して細胞溶解を引き起こし、中腸組織を損傷させることにより殺虫活性を発揮すると考えられています。これまで*Cry*タンパク質または*Cry*タンパク質を産生する遺伝子組換え植物の摂取が鳥類、両生類、爬虫類及び哺乳類に対して悪影響を及ぼしたことはありません。

「なお、」以降の記載になりますけれども、専門委員の皆様にも事前に郵送させていただいております資料の中に追加添付資料3という資料がございます。本日タブレットの中にも入れてございますが、この追加添付資料3の内容を確認したところ、12ページの263行目から記載しておりました*Cry*タンパク質で直接確認しているデータというものではございませんでした。今、赤字で消しておりますけれども、263行目から代表的な*Cry*タンパク質として括弧書きで4種類書いているのですけれども、ここに書かれたもので直接確認しているデータではないということが分かりましたので、今回記載を「改変*Cry1Da2*タンパク質を用いた結合試験の結果から、改変*Cry1Da2*タンパク質は別種の*Cry*タンパク質が結合する受容体とは異なる受容体に結合することが示唆されている」とする修正案を事務局から提示させていただいております。

続けて御説明をさせていただきます。

また、266行目からの段落の記載ですけれども、これまで評価書では昆虫に対する殺虫活性を確認しておりましたので、例えば「〇〇タンパク質の殺虫活性について」と記載をしていたのですが、今回は、先ほどの指摘事項の回答等で御説明したとおり、キジ目についても確認をしておりますので、評価書の項目にもキジ目の記載を追加してございます。ですので、殺虫活性と書くのが適切ではないということで、改変*Cry1Da2*タンパク質の生存率に与える影響について、チョウ目、コウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目、トビムシ目及びキジ目の6目17種の生物種に対する生物検定により評価した結果、特定のチョウ目昆虫のみが感受性を示すことが確認されたという記載に修正させていただいております。

続きまして、272行目からが*dgt-28 epsps*遺伝子の記載になります。279行目からですが、

EPSPSタンパク質は、植物及び微生物において芳香族アミノ酸の生合成経路に関わる酵素であり、その可逆的競合阻害剤である除草剤グリホサートを散布された植物は、結果としてタンパク質合成が妨げられるために枯死します。DAS1131にて産生されるDGT-28 EPSPSタンパク質は、ホスホエノールピルビン酸とホスホシキミ酸から5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸への特異的な変換を触媒します。また、トウモロコシが有する内在性EPSPSタンパク質とは異なり、DGT-28 EPSPSタンパク質は、除草剤グリホサートに対して非感受性であり、除草剤グリホサートによる競合阻害を受けずにシキミ酸合成が機能するため、DAS1131は除草剤グリホサートの存在下でも生育することができるという記載になっております。

②発現タンパク質と既知の毒性タンパク質との構造相同性でございます。両タンパク質と既知の毒性タンパク質の相同性を検討するため、毒性タンパク質データベースを用いて、*E-value*の閾値を 10^{-4} に設定して検索を行った結果、いずれのタンパク質についても既知の毒性タンパク質との間に相同性は認められませんでした。

13ページの299行目から(4)抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項です。導入用プラスミドの外骨格領域にはスペクチノマイシン耐性遺伝子が含まれていますが、外骨格領域はDAS1131中に導入されません。

303行目からの3、4、5については記載のとおりでございます。

15ページに行っていただきまして、347行目から6.DNAの宿主への導入方法です。非組換えトウモロコシの未成熟胚にプラスミドを含むアグロバクテリウムを接種し、培養した後、除草剤グリホサート及びアグロバクテリウム除去用の抗生物質カルベニシリンを添加した培地で胚を培養することにより、DNAが導入された宿主を選抜しております。T₀世代と既存品種を交配してT₁世代を得た後、自殖及び既存品種との交配でDAS1131が得られております。

続きまして、16ページの356行目から第6.組換え体に関する事項です。

1の(1)コピー数及び挿入近傍配列です。T₁世代の葉から抽出したDNAを断片化し、導入用プラスミド由来の配列を含む断片について、次世代シーケンサーを用いてSbS分析を行った結果、T-DNA領域の5'及び3'末端のそれぞれとDAS1131ゲノムとの接合部位が特定されました。この分析では、平均カバレッジ深度は2449から4318までであり、信頼性に問題がなかったことから、DAS1131ゲノム中に意図したT-DNA領域が1コピー導入されていることが確認されました。

DAS1131のT₃世代のゲノムを用いて、ゲノムDNAに挿入されたDNA全体及びその近傍配列をSanger法により決定した結果、右側及び左側境界領域にそれぞれ27塩基及び390塩基の欠失及び改変 *cry1Da2* 遺伝子上流のプロモーター内で1塩基の置換が認められましたが、他の塩基配列は全てT-DNA領域と一致しており、各遺伝子発現カセットの各構成要素に欠損は認められませんでした。

373行目、挿入DNA領域の5'側近傍配列1289塩基及び3'側近傍配列1433塩基を決定して

おり、これらの近傍配列について、トウモロコシのゲノムDNA配列データベース及びblastnを用いて照合した結果、1番染色体の配列と100%一致しました。このことから、挿入DNAの近傍配列はトウモロコシ1番染色体由来であると考えられました。

また、トウモロコシDAS1131のゲノムにDNAを挿入することにより宿主の内在性遺伝子が損なわれていないことを確認するために、5'末端近傍配列及び3'末端近傍配列について、データベースを用いてblastn及びblastx検索を行った結果、DNAの挿入によって既知の内在性遺伝子は損なわれていないと考えられました。

続きまして、17ページの389行目から(2) ORFの項目でございます。DAS1131の挿入DNA領域と5'及び3'末端近傍配列と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ORFが723個検出されました。

これらのORFと既知の毒性タンパク質との相同性の有無を確認するため、毒性タンパク質データベースを用いてE-valueを 1×10^{-4} を指標として検索を行った結果、既知の毒性タンパク質と相同性は認められませんでした。

また、既知のアレルゲンとの相同性については、アレルゲンデータベースを用いて、E-valueの閾値を100として連続する80アミノ酸以上の配列に対して35%以上の相同性を有する配列及び連続する8アミノ酸以上の配列が一致する配列を検索した結果、6つのORFで80アミノ酸以上について35%を超えて一致する配列としてここに記載しております2つが検出されましたが、いずれのアライメントも有意な相同性ではなく、エピトープとの一致が見られなかったことから擬陽性であると考えられました。

こちらにつきましては、この「有意な」という記載が何をもって有意なことなのかというところで御指摘をいただきまして、「いずれのアライメントもフレームが異なっていたり逆方向であったりして生物学的に意味のある相同性ではなく、エピトープとの一致がみられなかったことから」という記載に修正をさせていただいております。

409行目からの記載ですけれども、以上のことから、DAS1131の挿入遺伝子領域及び近傍配列との接合領域において、潜在的に発現する可能性のあるペプチドが毒性またはアレルギー性を示す可能性は低いと考えられたとしております。

続きまして、一番下からの記載ですけれども2の遺伝子産物の発現部位、発現時期、発現量に関する事項です。内容は18ページから記載されてございます。

415行目からを御覧ください。DAS1131の根、葉、花粉、地上部及び子実について、改変Cry1Da2タンパク質及びDGT-28 EPSPSタンパク質の発現量をELISA法で分析した結果は、表2のとおりでございます。

3及び19ページの4の(1)、(2)は記載のとおりでございます。

447行目から(3)物理化学的処理に対する感受性に関する事項です。

まず①改変Cry1Da2タンパク質についてです。

a.人工胃液に対する感受性です。DAS1131で生産される改変Cry1Da2タンパク質と生

学的に同等と考えられる *Pseudomonas fluorescens* で生産した改変Cry1Da2タンパク質を用いて人工胃液中における消化性について確認するため、SDS-PAGE (CBB染色) 分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、SDS-PAGE分析においては、完全長である改変Cry1Da2タンパク質の約68kDaのバンドは試験開始30秒後には消失しましたが、5kDa以下の複数のバンドが試験開始60分後まで認められました。また、ウェスタンブロット分析では、試験開始30秒後まで改変Cry1Da2タンパク質の約68kDaよりわずかに小さいバンドが認められましたが、試験開始1分以内に消失することが確認されました。また、約15kDaのバンドは試験開始5分以内に消失しました。

5kDa以下の複数のバンドについて評価するため、人工胃液で1分間処理した後、引き続き人工腸液で処理した結果、5kDa以下の複数のバンドは、いずれも人工腸液処理開始30秒以内に消失しました。

466行目からb.人工腸液に対する感受性でございます。こちらも *P.fluorescens* で生産された改変Cry1Da2タンパク質を用いて人工腸液中における消化性について確認しておりまして、SDS-PAGE分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、分子量約168kDaの改変Cry1Da2タンパク質は反応開始30秒以内に焼失したものの、68kDaよりわずかに小さいバンド及び約20kDa以上の複数のバンドは60分後でも検出されたとしてございます。

20ページの474行目からc.加熱処理に対する感受性です。 *P.fluorescens* で生産した改変Cry1Da2タンパク質の加熱処理に対する感受性について確認するため、純水を用いて調整した改変Cry1Da2タンパク質溶液を各温度帯で約30分から35分間加熱した後、チョウ目昆虫である *Spodoptera frugiperda* に混餌投与し致死率を測定いたしました。その結果、改変Cry1Da2タンパク質を25℃及び50℃で処理した場合、非加熱対照と比較し有意な殺虫活性の低下は観察されませんでした。75℃以上の加熱処理を加えた場合、殺虫活性は検出されませんでした。このことから、改変Cry1Da2タンパク質は加熱処理により殺虫活性が低下することが確認されましたとしてございます。

続きまして、485行目から②DGT-28 EPSPSタンパク質の項目でございます。

a.人工胃液に対する感受性です。DAS1131で生産されるDGT-28 EPSPSタンパク質と生化学的に同等と考えられる *E.coli* で生産したDGT-28 EPSPSタンパク質を用いて人工胃液中における消化性について確認するため、SDS-PAGE分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、SDS分析においては完全長のDGT-28 EPSPSタンパク質の約45kDaのバンドは試験開始30秒後には消失しましたが、5kDa以下の複数のバンドが試験開始60分後まで認められました。また、ウェスタンブロット分析では、試験開始30秒後にはいずれのバンドも検出されませんでした。

5kDa以下の複数のバンドについて評価するため、人工胃液で2分間処理した後、引き続き人工腸液で処理した結果、5kDa以下の複数のバンドは、いずれも人工腸液処理開始30秒以内に消失しました。

501行目からb.人工腸液に対する感受性です。 *E.coli* で生産したDGT-28 EPSPSタンパク

質を用いて人工腸液中における消化性について確認するために、SDS分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、分子量が約45kDaのDGP-28 EPSPSタンパク質は反応開始30秒後以内に消失しました。

507行目からc.加熱処理に対する感受性です。*E.coli*で生産したDGT-28 EPSPSタンパク質の加熱処理に対する感受性について確認するため、純水を用いて調整したDGT-28 EPSPSタンパク質溶液を各温度帯で約30分から35分間加熱した後、酵素活性を測定した結果、DGT-28 EPSPSタンパク質を25℃で処理した場合、非加熱対象と同等の酵素活性を示しましたが、37℃の加熱処理を加えた場合、その酵素活性は33.4%まで低下し、50℃以上の加熱処理で酵素活性は検出されませんでした。このことから、DGT-28 EPSPSタンパク質は、加熱処理により酵素活性が低下することが確認されましたとしております。

続きまして、517行目から(4) 遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性に関する事項です。520行目からの記載になりますが、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、COMPAREデータベースを用いて相同検索を行った結果、両タンパク質に既知のアレルゲンとの相同性は認められませんでした。

534行目からの記載ですが、(1) から(5) 及び前項の3から総合的に判断し、改変Cry1Da2タンパク質及びDGT-28 EPSPSタンパク質については、アレルギー誘発性の可能性は低いことを確認したとしてございます。

続きまして、538行目から5.組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項です。5世代のDAS1131の葉から抽出されたゲノムDNAを用いてサザンブロット分析を行っています。プローブとして*cry1Da2*及び*dgt-28 epsps*遺伝子の配列を用いております。その結果、各世代において想定された共通のバンドが検出され、挿入遺伝子が世代間で安定していることが確認されたという記載にしてございます。

続きまして、545行目から6.代謝経路への影響です。Cryタンパク質が酵素活性を有することを示す報告はないことから、改変Cry1Da2タンパク質が宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性も低いと考えられるとしております。DGT-28 EPSPSタンパク質がコードするEPSPSタンパク質は、ホスホエノールピルビン酸及びシキミ酸-3-リン酸と特異的に反応する酵素であり、通常40倍のEPSPSタンパク質を生成する植物培養細胞においても、最終生成物の芳香族アミノ酸が過剰に生成されていないことが報告されています。

DGT-28 EPSPSタンパク質は、除草剤グリホサートに非感受性である以外は、構造的にも機能的にもほかのEPSPSタンパク質と類似しており、同一の作用機作を持つことから、DGT-28 EPSPSタンパク質の導入により宿主の代謝系が変化することはないと考えられるとしております。

以上のことから、これらのタンパク質が宿主の代謝経路に意図しない影響を及ぼす可能性は低いと考えられたとしてございます。

7の宿主との差異は記載のとおりでございます。

23ページの604行目から8の諸外国における認可、食用等に関する事項の記載になります

が、こちら情報も更新されていたという報告を受けましたので、直前ではありましたが、修正をさせていただいております。

まず、米国においては、FDAにより食品・飼料としての利用について2023年12月に承認されております。また、EFSAに対して、食品・飼料としての利用についての安全性審査を申請中でございます。

9、10については記載のとおりでございます。

23ページの第7として、第2から第6までにより安全性の知見が得られているとしております。

評価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、評価書案について御意見、コメントを賜りたいと思います。なお、細かい字句等の修正については、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思います。

それでは、何かコメント等がありましたらよろしく願いいたします。

今回、標的、Cry1がくつつくタンパク質のところの表現が直前の配付資料からさらに変わっておりまして、別種という言い方になっておりますけれども、この点も含め、何かコメントがありましたらお願いします。細かく言うと、乗せていたタンパク質と実際に使ったタンパク質は微妙にアミノ酸配列がやや違うらしいのですけれども、全く同じではないということで、事務局のほうで修正したという経緯になっているようです。

特に御意見等はございませんでしょうか。

〇〇〇、よろしく願いします。

〇〇〇 今おっしゃっていた別種のCryタンパク質の受容体とは異なる受容体ということで、やはりここは日本語として別種のもものが結合する受容体とは異なる状態というのが頭にすっと入ってこないということと、別種というぼやかした言い方がちょっとうさんくさく見えてしまうので、なぜ別種というぼやかした言い方にせざるを得ないのでしょうか。

〇〇〇 ありがとうございます。事務局でございます。

前回の第1回目の審議の際には、申請資料に基づいて、今回、削除した263行目に書かれておりますCry1Abタンパク質、Cry2Abタンパク質、Vip3Aaタンパク質及びCry1Fタンパク質で試験をしたものだと事務局も思って評価書を作っていたのですが、実際に追加で出された添付資料3で確認したところ、実際の試験結果は、例えばCry1Abタンパク質はCry1A.88というもので検査をしていたり、そういったことがございましたので、これは何で違うのですかということで申請者にも確認をいたしました。

そうしたところ、こちらの別添の資料の中にも説明が書いてあるのですがけれども、ここに代表的なCryタンパク質と以前書いていたCry1Abタンパク質と受容体は同じで、実際に試験ができたものは、細かいところと言うと別のCryタンパク質だが、Cry1ということでは同じだということで、詳しく状況を聞いたところ、今回Cry1Abの代わりに使っていたCry1A.88とCry2Abの代わりに使っていたCry2A.127というのは、このCry1Ab及び

Cry2Abタンパク質をDNAシャッフリング法で変換したものでしたというような回答が来ておりました。

事務局としては、申請書のとおりに代表的なCryタンパク質でやったというのはこの状況からまず書けないだろうと判断をいたしました。全て今回実際にやったもので並べて併記して書くかどうかというところを少し悩んだのですけれども、直前の修正でしたので、この内容が企業の機密事項に当たる内容なのかどうかといったところも確認ができなかったということもありまして、別種のCryタンパク質ということであれば書けるのではないかなということに記載をした案でございます。

ただ、どうしてもこうでなければいけないということではございませんので、よい御意見があれば御意見をいただいて、事務局でも修正案を考えていきたいと思っております。実際にやったものをここに列記すべきということであれば、一度その内容が機密情報に当たらないかどうかということだけは申請者に確認をさせていただいて、〇〇〇と相談して修正させていただくといったことで対応していければと考えてございます。

〇〇〇 分かりました。

このタンパク質は人工胃液、人工腸液の試験も後から出てきていて、速やかに分解されているので、私は安全上何か問題があるとは全然思わないのですけれども、ただ、この評価書案として一番最初、かなり冒頭のほうに出てくるものの中でこういう曖昧な言い方があって、また、先ほど〇〇〇がおっしゃっていたようにどんどん改変したタンパク質が出てきたときに、どこまでを従来の知見が蓄積しているものと同等と考えるかというのは結構微妙なところがあって、そういう中で「別種の」という言い方はどうなのという感じがしてしまうのですよね。ですので、実際にこれまで知見がたまっているCry1とほとんど同等とみなせるようなものを使って試験をしたのだということを引きちんと担保していただくほうがよろしいのではないかと思います。よろしくお願いたします。

〇〇〇 Cry1AbとかCry2AbとかVip3Aaとかありますけれども、これは分類の仕方が、最近私も勉強したのですけれども、Cry1で大まかなホモロジーがあって、Cry2はCry2で大まかなホモロジーがあって、VipはVip3で大まかなホモロジーであって、その次のラージAとなるとホモロジーがさらに厳しくなっていくという分類になっているようでして、今回用いたものはDNAシャッフリングで少しアミノ酸配列が変わっているということなので、多分1か所か2か所だと思うので、Cry1はCry1だと思うのですよね。ですから、調べた代表的なCry1、Cry2、Vip3という最初の大分類のところで止めておけば問題はないのではないかと私は思うのですけれども、その書き方であれば少し濁した感じはしないなどは読み取れるかなと思うのですが、どうですか。

〇〇〇 〇〇〇のおっしゃるのはもっともだと思うのですが、これはだんだんこれから広がっていくと考えられる最初のものなので、何かとこれが基準になってしまう可能性はあります。〇〇〇がおっしゃったような書き方のほうが今後のためにいいのではないかと思います。

以上です。

〇〇〇 了解いたしました。

それでは、事務局で、ここにつきましては、検査を実施したCry1、Cry2、Vip3タンパク質が結合する受容体とは異なる受容体に結合することが示唆されているという形で修正をさせていただきたいと思います。ありがとうございます。

〇〇〇 〇〇〇、コメントがありましたら。

〇〇〇 今の〇〇〇の御提案で適当だと思いますので、よろしく願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

そのほかに御意見等がありますでしょうか。

どうぞ。

〇〇〇 先ほど事務局から説明があつたのですけれども、406行目のところで、元の表現が「有意な相同性がなかった」ということになると、根拠が明確ではなかったということでこの表現にしてもらっていますので、実際に参照15の資料を拝見しましたけれども、この表現で問題ないと思いました。

〇〇〇 ありがとうございます。

そのほか、御意見、コメント等がありましたらよろしく願いします。

それでは、多少修正が入るかと思えますけれども、その修正につきましては事務局のほうで修正していただいて、あと、私のほうで確認して、一任していただきまして、食品安全委員会に報告したいと。その後、パブリックコメント等の手続に入りたいと思います。お気づきの点がありましたら、また後ほど事務局にお寄せください。

それでは、これでDAS1131の食品のほうの審議については終わりということにさせていただきます。

では、次は引き続き飼料として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、こちらも透明なプラスチックファイルで、表題のところに「遺伝子組換え飼料 チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ」と書かれたものを御準備ください。

1ページ目を御覧ください。

品目名と本系統の特徴は食品と同じでございます。

③の使用方法は従来の特長と同じでございます。

2ページ目の2の遺伝子組換え飼料としての安全性でございます。遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性の考え方の3により、①から③に当たるかどうかを考慮して判断してございます。

下から2つ目のパラグラフになりますけれども、一般的に挿入された遺伝子もしくは当該遺伝子によって産生されるタンパク質が肉、乳、卵等の畜産物中に移行することは報告

されておらず、本系統に付与された形質は害虫抵抗性及び除草剤耐性であることから、①、②、③の可能性も考えにくく、当該飼料を摂取した家畜に由来する畜産物には、通常、安全上の新たな問題は生じないと考えられるということで、これらの飼料を摂取した家畜に由来する畜産物を摂取することがヒトの健康に影響を及ぼす可能性はないと考えられるという御説明になってございます。

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、飼料のほうについて、今の申請書につきまして各先生方からの御意見をいただきたいと思っております。何かお気づきの点がありましたらよろしく申し上げます。

こちらは従来のもものと大きく内容等について変更を加えたものではないということですので、よろしいかと思っておりますが、特に問題、指摘はないということでもよろしいでしょうか。安全上リスクがないということで同意いただけるようであれば、ジェスチャーでお願いいたします。

(専門委員同意)

〇〇〇 よろしいですか。ありがとうございます。

それでは、飼料については特段安全上の問題がないということでもありますので、引き続き評価書の審議に入りたいと思っております。

事務局から説明をお願いします。

〇〇〇 ありがとうございます。

右肩に「資料」と記載されました食品健康影響評価に関する資料をお手元に御準備ください。

29ページ目からが本品の評価書案になります。

進んでいただいて、33ページ目を御覧ください。

「Ⅰ. 評価対象飼料の概要」につきましては記載のとおりでございます。

82行目からの「Ⅱ. 食品健康影響評価」につきまして、1及び2につきましては記載のとおりでございます。

1及び2を考慮したところ、トウモロコシDAS1131に新たな有害物質が生成されることはないため、肉、乳、卵等の畜産物中に新たな有害物質が移行することは考えられません。また、遺伝子組換えに起因する成分が畜産物中で有害物質に変換・蓄積される可能性や、家畜の代謝系に作用し、新たな有害物質が生成される可能性は考えられません。

以上のことから、改めて遺伝子組換え食品の安全性評価を行う必要はなく、当該飼料を摂取した家畜に由来する畜産物については、人の健康を損なうおそれはないとしたいと考えてございます。

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、ただいまの評価書案について御意見、コメントを賜りたいと思っております。なお、

細かい字句等の修正については、後ほど修正箇所を事務局までお伝えください。

ございますでしょうか。よろしいですか。

それでは、この修正案で皆様の御同意がいただけるということでよろしいでしょうか。ジェスチャーでお願いいたします。

(専門委員同意)

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、こちらの評価書案のほうで修正が特段ありませんので、その内容をもって食品安全委員会のほうに報告したいと思います。お気づきの点がありましたら、後ほどお寄せいただけたらと思います。

それでは、議題（1）についてはこれで終了とさせていただきたいと思います。

議題（2）のその他ですけれども、事務局から何かございますでしょうか。

〇〇〇 特にございません。

〇〇〇 ありがとうございます。

本日の議題についてはこれで終了いたします。

以上をもちまして、第250回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。

皆様、御協力ありがとうございました。適宜御退室ください。ありがとうございました。