

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第209回) 議事録

1. 日時 令和3年3月24日（水） 13:59～16:42
2. 場所 食品安全委員会中会議室（赤坂パークビル22階）
（Web会議システムを利用）
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
 - ・ pPDX株を利用して生産されたホスホリパーゼ
 - ・ コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP23211）（食品・飼料）
 - (2) その他
4. 出席者
（専門委員）
中島座長、小関専門委員、小野専門委員、橘田専門委員、児玉専門委員、近藤専門委員、手島専門委員、樋口専門委員、山川専門委員、吉川専門委員
（食品安全委員会）
佐藤委員長
（事務局）
鋤柄事務局次長、石岡評価第二課長、蛭田評価情報分析官、松原課長補佐、山口係長、松井技術参与
5. 配布資料
資料 食品健康影響評価に関する資料
 - ① pPDX株を利用して生産されたホスホリパーゼ
 - ② コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP23211）（食品）
 - ③ コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP23211）（飼料）

6. 議事内容

○中島座長 皆さん、おそろいようですので、ただいまから第209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。

また「テレビ会議又はWeb会議システムを利用した食品安全委員会等への出席について」に基づいて、ウェブ会議システムを利用して行います。

本日は、所用により、安達専門委員、飯島専門委員、岡田専門委員は御欠席です。

本日の議題ですが、いずれも新規品目でありまして、pPDX株を利用して生産されたホスホリパーゼ、コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシの安全性についての審議でございます。

それでは、お手元の資料を確認いたします。

事務局からお願いいたします。

○松原課長補佐 それでは、説明させていただきます。

議事次第に基づき、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、専門委員名簿、食品健康影響評価に関する資料と机上配付資料1と2でございます。

また、本日は、pPDX株を利用して生産されたホスホリパーゼの申請者であるナガセケムテックス株式会社、コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP23211）の申請者であるコルテバ・アグリサイエンス日本株式会社の方をそれぞれ呼びしております。申請品目の審議の際に、質疑応答に対応していただくことを予定しております。

以上です。

○中島座長 それでは、事務局から「食品安全委員会における調査審議方法等について」に基づきまして、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。

○松原課長補佐 本日の議事に関する専門委員の調査審議等への参加に関する事項について、御報告いたします。

本日の議事に関しまして、専門委員の先生方から頂きました確認書を確認したところ、平成15年10月2日委員会決定の2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。

以上でございます。

○中島座長 ありがとうございます。

既に御提出いただいております確認書につきまして、相違等はございませんでしょうか。よろしいですか。

審議に入る前に、ウェブ会議における注意事項があるそうですので、事務局から説明を

お願いいたします。

○松原課長補佐 説明させていただきます。

本日は、ウェブ会議形式で行いますので、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させていただきようをお願いいたします。

2点目、発言の際は赤い挙手カードの提示してください。またはウェブ会議画面の挙手ボタンを押してください。

座長より呼びいたしますので、マイクをオンにしてお名前を発言して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、通信環境に問題がある場合は、カメラをオフにすることや再入室をすることにより、改善する場合もございます。

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、チャット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には、事務局までお電話をお願いいたします。

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、事前に送らせていただきました青い同意カードを上げていただく、もしくは手で丸をつくるなどで意思が伝わるようお願いいたします。

以上がウェブ会議における注意事項となります。どうぞよろしくをお願いいたします。

以上でございます。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、初めに、新規品目でありますpPDX株を利用して生産されたホスホリパーゼについて、審議を行いたいと思います。お願いいたします。

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

口頭で御紹介いたしました、本日はナガセケムテックス株式会社の方をお呼びしておりますので、申請書の審議をいただいた後に、申請者に対する質問事項等があれば、整理していただきたいと思います。

その後、説明者にウェブ上で入室していただき、質疑応答を行います。

質疑応答終了後、説明者には退室していただき、審議を再開していただくこととしております。

それでは、緑色のファイルの御準備をお願いいたします。

2ページをお願いいたします。「1.本ホスホリパーゼの使用・開発目的」でございます。本ホスホリパーゼは、ホスホリパーゼDでございます、ホスファチジルコリンのコリンーリン酸エステルを加水分解し、ホスファチジン酸とコリンを生産する反応を触媒いたします。

一方、加水分解反応以外には、アルコール類や糖類などとホスファチジルコリンが共存していると、一定条件下で転移反応を触媒いたします。

「2.宿主」です。宿主は*Streptomyces violaceoruber*、1326株でございます。

「2.1非病原性」についてですが、植物、動物に対し、病原性、毒性は知られておらず、国立感染症研究所病原体等安全管理規程において、バイオセーフティーレベル1に該当いたします。

2.2は記載のとおりです。

次のページをお願いいたします。「2.3食経験について」ですが、*Streptomyces*属細菌が基原となる既存添加物については、既に豊富な食経験があり、極めて安全な微生物と一般的に認識され、広く利用されております。

その下のパラグラフに行きまして、当該宿主微生物に*S.violaceoruber*由来のホスホリパーゼA₂遺伝子と*S. cinnamoneus*由来のPLDプロモーター及びPLDターミネーターをそれぞれ導入して、得られた形質転換体*S.violaceoruber* AS-10は、組換えDNA技術応用添加物の安全性審査を経た結果、組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合に該当すると判断されております。

「3.プラスミドについて」の項目ですが、3.1、3.2、3.3は記載のとおりです。

「3.4薬剤耐性」の項目ですが、当該プラスミドには*S. azureus*由来のチオストレプトン耐性遺伝子が含まれており、その生産物であるチオストレプトン耐性タンパク質は、アミノ酸配列のみならず、三次元構造配列も明らかとなっており、球状構造を有しております。一般的に球状タンパク質は、水溶性のものが多く、通常、構造が不安定であることが知られておりまして、また、PeptideCutterによる解析の結果などから、チオストレプトン耐性タンパク質は、ヒトの消化管に存在する消化酵素群によって容易に消化されると考えられるということでございます。本耐性タンパク質のアレルギー性は報告されておられません。

3.5、3.6は記載のとおりでございます。

「4.発現プラスミドに関して」ですが、目的遺伝子及びその供与株は、表1に示したとおりでございます。*S.halstedii*、*S.cinnamoneus*は、病原性、毒素産生は報告されておらず、国立感染症研究所病原体等安全管理規程において、バイオセーフティーレベル1に該当いたします。

5ページをお願いいたします。下に行きまして、4.3ですが、ここでは4種のプロモーターを用いて、ホスホリパーゼDの活性を比較しており、その結果は、隣の6ページの表2に示したとおりでございます。

4.4です。本ホスホリパーゼD遺伝子は、*S.cinnamoneus* NBRC 12852株の染色体を鋳型とし、構造遺伝子をPCR法で増幅させて取得しております。これをpIJ702から●●●を除去し、そこにプロモーターとターミネーターを挿入して作製したプラスミドに挿入、さらに大腸菌由来遺伝子を除去して、発現プラスミドpPDXを得ております。

4.5、導入方法の項目です。pPDXプラスミドで宿主*S. violaceoruber* 1326株をプロトプ

ラスト法で形質転換しております。

5です。本ホスホリパーゼD遺伝子は、*S.cinnamoneus* NBRC 12852株の染色体を鋳型とし、構造遺伝子をPCR法で増幅させ取得しております。得られたPCR産物の遺伝子配列を*S.cinnamoneus* NBRC 12852株の本ホスホリパーゼD遺伝子と比較した結果、開始コドン以外は、遺伝子配列が全て一致していることを確認しております。

6については、記載のとおりです。

7の項目です。一般的に16S rRNAが高い相同性を持つ微生物は、分類学上近縁であるとされておりますが、*S.violaceoruber* NBRC 15146株、*S.halstedii* NBRC 12783株、*S.cinnamoneus* NBRC 12852株及び*S.azureus* ATCC 14921株の16S rRNAの塩基配列は、それぞれ高い相同性を示しております。

宿主の16S rRNAの配列は報告されておりませんが、同種の供与体である*S.violaceoruber* NBRC 15146株の16S rRNAと100%の相同性を示すと考えられるということでございます。

7.1ですが、論文の情報を根拠としまして、*Streptomyces*属の多くが自然界において菌と菌の接合による遺伝子交換を行う旨を記載しております。この遺伝子交換には、接合性プラスミドが関与したり、ほとんどの*Streptomyces*属の微生物に接合性プラスミドが存在いたします。

7.2です。*S.violaceoruber*由来の接合性プラスミドpIJ101及びその派生プラスミドpIJ211は、実験用寒天培地及び土壌環境中において、*Streptomyces*属間で転移するとの記載がございます。また、pIJ101より派生した非接合性であるpIJ702も接合性プラスミドの存在下で転移率は低いですが、多種の*Streptomyces*属細菌に転移され、このような転移は通常、自然に起こるということでございます。さらに染色体組換えもpIJ702の転移後に起こることが報告されているということです。

7.3です。近年、PCR技術の発展によって、*Streptomyces*属が自然界において遺伝子交換を行うという事実は、系統学からも説明できるとしております。詳細は割愛いたしますが、申請書に記載の遺伝子が分類学上近縁ではない*Streptomyces*属の菌株に存在することを示し、この事実は*Streptomyces*属間で広く遺伝子が交換されていることを示す証拠であると説明しております。

8ページの8でございます。British Genetic Manipulation Advisory Groupでは、*Streptomyces*属の近縁性から、*Streptomyces*属の間の遺伝子組換えは全てセルフクローニングと見るべきであると主張されております。

また、*S.violaceoruber* AS-10株由来のホスホリパーゼA2は、フランスにおいてセルフクローニングとして認められており、また、アメリカFDAでは、GRAS Notificationを受けております。

これらのことから、遺伝学上、実験的及び系統学上の証明により、自然界において*Streptomyces*属間で遺伝子交換が行われることが明らかであると考察され、さらに

S.cinnamoneus、*S.halstedii*、*S.violaceoruber*及び*S.azureus*の間では、自然に遺伝子の交換がなされていると考えられる科学的知見もあることから、ナチュラルオカレンスに該当すると考えられると結論づけております。

最後に、机上配付資料1について、簡単に御説明させていただきます。

2ページ目になりますが、先生方から質問1と質問2ということで、二つ御質問をいただきまして、これらについて申請者に伝えて、事前に回答をもらっております。

一つ目の質問は、*S.violaceoruber*と*S.halstedii*が遺伝子交換を行うのかどうかということについてです。

質問2は、用いたプラスミドpIJ702をスタートとして説明しているが、これは遺伝子操作をして作製しているから、ナチュラルオカレンスの場合、*Streptomyces*から単離された起源のプラスミドから記載したほうがよいのではないかという内容でございます。

回答は記載のとおりでございますので、割愛させていただきます。

申請資料の説明は以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして、専門委員の先生方から御意見をいただきたいと思います。

このようなケースが初めての先生もいらっしゃると思しますので、ナチュラルオカレンスのこれまでのものについて、少々説明したいと思います。

セルフクロニング、ナチュラルオカレンスですが、微生物の場合には、遺伝子交換がされますので、そのようなものがナチュラルオカレンスの対象となり得るわけなのですが、もともとは自然界に同等の遺伝子組成を有するものがある場合、これはナチュラルオカレンスとするということになっています。

実際の運用としては、微生物の種間で遺伝子の交換が確認されることをもって、ナチュラルオカレンスと認めてきたという経緯がございます。

今回の申請につきましては、ナチュラルオカレンスと認めていいかどうかという、まさしくその点のみのポイントと考えられます。

今回の宿主は、*S. violaceoruber*、この株は、昔は*S. lividans*といわれていまして、放線菌の間では非常に有名で、かなりあちこちで多用されていた株なのですが、*violaceoruber*と名前を変えてしまったので、分かりにくくなっておりますが、*lividans*です。

これについて、今回は遺伝子とプロモーター領域で*S. cinnamoneus*、*S. halstedii*、この2種の遺伝子を同定しております。

以前に*S. lividans*に対して、*cinnamoneus*由来の遺伝子、*cinnamoneus*を導入するという系につきましては、ナチュラルオカレンスとして本調査会で審議して認めている経緯がございます。

今回、新しく入ってきたのは、*S. halstedii*なので、これがよろしいかどうかというのがポイントになると思います。

当初の申請書では、*Streptomyces*同士の遺伝子交換は非常に近縁だから、全てセルフクローニングと見るべきと主張されているとか、そういう論文などが引かれておりまして、別にこれは反論もあるわけで、そのまま認めるわけにもいきませんので、これでは不十分であると指摘しまして、ポイントは*S. violaceoruber*の宿主に対してと、*St. halstedii*との遺伝子交換の例が確認されているのかどうか、この根拠を示すことを要求しました。

その結果としてきたのが机上配付資料でございまして、机上配付資料の『JOURNAL OF BACTERIOLOGY』の1991年、30年前の論文ですが『JOURNAL OF BACTERIOLOGY』の当時は、微生物学に関しては最高峰の雑誌でして、書いた人も非常に信頼を置ける人です。

その点はよろしいとして、1枚めくっていただきまして、リザルトのところですか。ここに四角で囲ってありまして、ここが彼らの主張する根拠になっております。

この中には、当時は*S. lividans*と言われておりました。これに対してSN22、*lividans*から*violaceoruber*に導入されています。また、派生プラスミドのpMT911の*violaceoruber*から*halstedii*に導入されて、ここが形成されているということがリザルトのところ記述されておりまして、この論文を見つけてきたわけですか。これで認めていいかどうかというのが、本日のポイントになります。

この中の四角で囲ってあるところ、condition Bでpocksはobserved、pocksが形成されていると書いてあって、遺伝子交換という言葉が使われているわけではありません。なので、本来は高度精製の場合とセルフナチュラルの場合は、申請者は初回でもお呼びはしないのですけれども、今回はその辺のところをきっちり議論したいと思ひまして、ウェブの向こうで待機していただいております。

下のpocksが観察されたとありますので、pocksというのは何を意味して、これでするといいのでしょうか。今回、使われている株が*S. halstedii*、*violaceoruber*が後から微生物の名前でしばしば変わりますけれども、これが変わることは多分ないと考えていいと思うのですが、その辺のところを議論したいと思ひます。

先生方、私から説明できる背景説明はこのくらいなのですけれども、御意見、御指摘等がありましたら、よろしくお願ひいたします。小野先生、どうぞ。

○小野専門委員 小野です。

ここにセルフクローニングの場合とあるのですけれども、今回だと16SのrRNAが95%以上ということなのですが、一般的にこれが何%だったらいいか、そういう目安はあるのでしょうか。

以上です。

○中島座長 微生物の場合は、これで決まるわけではなくて、これで一番近いとなった場合は、今度は95%だと微妙だと思ひますけれども、そうしたら、遺伝子の菌株の保存機関に連絡して、そこからタイプカルチャーを取り寄せます。これで遺伝子を比べるのですけれども、最後はDNA-DNAハイブリダイゼーションを行って、これで70%以上の相同が

一致していたら同種とする。そうやって微生物の株とか、種の同定を行っていくのがポイントですので、はっきり言って95%以上と言われたら、私だったら疑問です。

○小野専門委員 ありがとうございます。

○中島座長 なので、その辺は、せっかくですから、申請者をお呼びしようと思っ
ていますので、直接問いただしていただければと思います。この際ですので、セルフナチュ
ラルの全体の考え方についても議論したいと思いますので、御意見がありましたら、よろしく
お願いいたします。

近藤先生辺りはいかがですか。

○近藤専門委員 近藤です。

セルフクロニングの判断は、例えば今回のような一つの論文をもってよしとするのか
どうかというのは分からないということと、系統図を書かせてどうのこうのと言っていま
すけれども、ITSとか、ほかの領域での系統図の情報もあると、遺伝学上の近さがもうちょ
っと分かると思いました。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

吉川先生辺りはいかがですか。

○吉川専門委員 私も *Streptomyces* 属間での遺伝子の移行は当然起こるということなの
でしょうけれども、種の中のどの程度のところでそれを認められているのかというような、
恐らくデータとしてはこの論文しかないのでしょうか。広く認められると判断してよろし
いのか、あるいはここだとどうもそれらしいとしか読み取れないような感じがするのです
けれども、いかがでしょうか。

○中島座長 ありがとうございます。

昔は放線菌といったら、ほとんど全て *Streptomyces* で、放線菌イコール *Streptomyces* と
いう感じだったのですけれども、最近、少しずつ分類が進んできて、*Streptomyces* から派
生しているものもございしますが、依然として *Streptomyces* が圧倒的多数であることは今で
も変わらないという感じです。私も放線菌そのものが専門ではないので、申請者を呼んで
納得のいくお答えをいただけるかどうか、聞いてみたいと思っています。

山川先生、いかがですか。先生も植物が専門だと思います。

○山川専門委員 山川です。

微生物の研究室にいたのですけれども、こういうものは強引にやれば動くということが
あって、自然界で自然に動いているのだろうかと言われたら、別だという気はいたします。
ただ、自然界でもそういう機会があればなってしまうので、強引に言えば、できないこと
はないけれども、確率的にそんなにありますかという感じがいたします。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

児玉先生の意見をお聞きしたいと思います。

○児玉専門委員 以前にもセルフナチュラルは事例が幾つかあって、*Streptomyces*に関しても、1例だけではなくて、何例かをセルフナチュラルで判断した事例がありまして、そのときの根拠としては、論文ベースで根拠として提出されていたものを認めてきた経緯がございますので、*Streptomyces*で論文的に裏打ちのある組合せに関しては、セルフナチュラルは余分な配列がなければ、今までのことから考えると、認めざるを得ないことになりかと思っております。

○中島座長 ありがとうございます。

安全性がどうこうということとは違うと思いますし、この組合せなら私も大丈夫だろうと思っているのですが、小関先生、どうでしょうか。

○小関専門委員 先ほどから中島先生がおっしゃられるとおりに、*Streptomyces*の間だったら問題ないというケース・バイ・ケースのスタディーで、そういうことが起こり、しかも、論文としてピアレビューのかかった論文が出ています。その内容について、申請者の方にお聞きしたいということは、中島先生の御意見だと思うのですが、例えば九十何%とか、数字で切ることをやるとなると、その数字以上だったらどうするか、それ以下だったら別の数値を決めるということになるわけです。それをやったら分類学は要らないということになります。それを我々も否定するのですかということにもなってしまいます。

中島先生の御経験の上から、*Streptomyces*だったらこういうことがあるし、問題ないケースですとおっしゃられる御判断が私は一番正しいのではないかと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

大体こんなところだと思うのですが、先生方、どなたか御指摘等はございますでしょうか。どうぞ。

○小野専門委員 遺伝子交換ということについてなのですが、実は私自身の研究分野でもあるのですが、哺乳類の種間などにおいても、そういう遺伝子交換は起こっているだろうというゲノム解析からの結果が出ているので、そういう意味で、単に遺伝子交換が起こるからという線切りにしてしまうと、どんな動物種においても交換は起こり得ることになってしまうので、先ほど先生がおっしゃられたように、経験上これなら大丈夫だろうという判断は妥当なのではないかと思います。

具体的にいいますと、牛のレトロトランスポゾンライン1などですけれども、そう言ったものがすごく広い範囲の種類に保存されていることから、遺伝子の水平伝播があるだろうという論文は結構出ているので、それと同等に別の遺伝子に関しても、水平伝播の言われているものは多くありますという状況です。

以上です。

○中島座長 微生物の場合は少々事情が違って、混ぜさえすれば遺伝子が交換するとか、そういうレベルでないと、水平伝播は、昔、どこかで1回遺伝子の交換が起こったことを意味するのですが、その程度では同等と到底認められないわけで、その微生物を混ぜれば遺

伝子が交換する、そのくらいでないと、自然界に同等の遺伝子組成のものは存在するとは言えないだろうと、大体そのくらいの考え方で微生物を線引きしているということがあります。

今回、私が申請者に聞きたいと思っているのは、今回出てきた株がタイプカルチャーから絶対に名前が変わらないかどうか。微生物は割としばしば名称を変更されることがあって、それは一つの種の中に含まれるバリエーションが広過ぎるときに変わることがあり得ますので、そうすると、後から遺伝子交換が確認されていない種になってしまうと困りますので、そこを確認する点と、この論文の中にpocksと書いてあるので、これが遺伝子交換を意味すると考えていいのかどうか、その辺を聞きたいと考えております。

そういうところなのですけれども、そんな事情もあります。小野先生、いいですか。

○小野専門委員 了解です。

○中島座長 小関先生、お待たせしました。

○小関専門委員 今の小野先生の質問ですけれども、そのところは、私はトランスポゾン屋さんなのです。hATファミリーというトランスポズンをやっているのですけれども、それは植物と昆虫と哺乳類の間を行き交って見つかっているものです。安全性評価基準の策定の当時、セルフナチュラルの話をするときにもお話しした話だったのですが、過去に水平伝播したという話は含まないとしたストーリーがあります。セルフナチュラルとは違うという結論を出しました。

それは過去に起こっているかもしれないけれども、現在において遺伝子交換は何かというと、いわゆるDNAを先ほど座長がおっしゃられたように、振りかかったらそのまま入るという話なのですが、実は振りかかっても微生物は外にかなりDNaseをいっぱい持っているのです。ですから、そう簡単にはいかないわけで、そういう意味でいったときに、自然界で起こるといふ言い方は、現在に起こるという限定の上で行われていく。しかも、必要なく入っていくというパターンです。それを定義としないと、拡大解釈が物すごくなされてしまうリスクがあるのは、当時にした話です。

以上です。

○中島座長 こんな事情です。

小野先生、よろしいですか。

○小野専門委員 そういう意味で混ぜることによって、それで水平伝播するかどうかということなのですけれども、もちろん培養液中だったりとか、自然界ではDNaseがあつて、すぐに分解されてしまうだろうということなのですけれども、最近、いろんな生物の細胞から細胞外小胞という形で小さな顆粒が出てきていて、その中にレトロトランスポゾンだったり、DNAだったり、RNAが入っていて、そういうものはDNaseやRNaseから守られているということで、非常に安定性が高い。

エクソソームなどですけれども、そういう細胞外小胞によって遺伝子の水平伝播が起こることは、私自身の研究でもあるし、最近、ほかのグループからも出ているので、そうい

う意味で最先端の科学のことで考えると、今までの考え方とは少し違ったことも考えていかなければいけないのではないかと思います。

以上です。

○中島座長 どうぞ。

○小関専門委員 エクソソームの話というのは、微生物間でそれが起こるかという話と、それが常に自然界で起こるかという話のところの問題まで踏み込んで考えていかないと、私は難しいのではないかと思います。というのは、それが起こり得るとというのは、頻繁に自然界で起こり得るのがポイントです。まれに起こっているかもしれない、それは分からないですけども、そこまで言い始めると議論が止まらなくなってしまうのです。それがあるので、ここではあくまでも自然界と言っている意味はチャンスです。どのぐらいチャンスが起こるかということも含めてという話が当時からあったのです。Buddingして出ていって、フュージョンして入ることはあり得ると考えていましたけれども、それは自然界で起こり得ることの範疇として考えるべきであろうかというところがポイントだったと思います。

○中島座長 もう一つ申し上げますと、セルフナチュラルなり何なりで認める基準は、遺伝子を交換していればいいというわけではなくて、同じ遺伝子組成のものが天然に存在し得るかというのがポイントです。今回、*halstedii*のプロモーター領域と*cinnamoneus*のホスホリパーゼの遺伝子がたまたまくつつくようなものが自然界に存在し得るかということがポイントなのです。

そうである以上、それなりの頻度の縛りをかけたいと思います。だから、菌体を混ぜさえすれば移行するぐらいの頻度のあるものであれば、これと同等の遺伝子組成のものが天然で発生する可能性があるかもしれないけれども、過去に1度だけ発生した水平伝播のような超レアなケースのものだったら、同等の遺伝子組成をものは自然界にはないと言って申請をはねるぐらいのところで私は縛りをかける必要があると思います。少しでも遺伝子交換の可能性のあるものは全部認めるというのでは、我々の職務を果たせないと考えています。

その辺、私はそう考えているのですけれども、先生方は大体そのように考えてよいかどうか。それから、我々の職務としては、食べて安全かどうか。それをどう担保できるかどうかポイントなので、その辺のところを意思統一しておきたいと思うわけです。学問的にどういうというよりは違うところになります。

それから、微生物で遺伝子組換え体をつくれるのかは別問題で、菌によって事情が全く違います。外の環境に少しでもDNAがあると、すぐに取り込んで組換えてしまうようなものもあります。病原性菌というのは、大体そういうものが多くて、淋病のポピュレーションの一部の菌が常に溶けて、常にDNAを溶出して、それを常に取り込んでいて、その結果すごい早い速さで変異をして、それで宿主に免疫機構に対応しているものもあります。逆に乳酸菌みたいに外の遺伝子を絶対入れないという感じで、物すごく強いヌクレアーゼ活

性を持っているものもあって、微生物によって千差万別です。だから、個々で検討しないといけないということです。

そのために申請者にこの論文なり、根拠を示していただいて、我々が見させていただくという形になっておりますので、前回、少しでも見えたら認めるとか、それでは我々は職務を守れないと考えています。少々強引な論理だと思うのですが、これで先生方はいかがでしょうか。

いろんなどころの論理だと思うのですが、近藤先生辺りはいかがですか。

○近藤専門委員 近藤です。

中島先生と小関先生の考え方で特に問題ないと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

小野先生、そんな事情もありがとうございます。

○小野専門委員 大丈夫です。了解しました。

○中島座長 ほかの先生方、いかがでしょうか。

○樋口専門委員 今の議論を聞かせていただきまして、そのような判断でよろしいと思いました。

○中島座長 ありがとうございます。

吉川先生辺りはいかがですか。

○吉川専門委員 今のところはいろいろ考えさせられるところがあって、例えばよくゲノム編集などでも自然界に存在するものを別の品種でつくるという場合、これは自然界にそういう変異が存在しますから問題ないだろう。ただ、自然界に存在しないものをつくって、それが実際に自然界で見つかっていないもので、実際に起こるか、起こらないか分からないような変異体をつくることと似ていると思ひまして、どの程度の頻度で起こるかというのは非常に判断は難しいと思うのですが、中島先生の話だと、簡単には起こらないようなものは認めないとなると、どのように判断ができるのか疑問に思ったのです。

○中島座長 単純に菌を混ぜておいて、それで移行が起こるかどうかという実験で通常は判定されております。そうすると、通常は遺伝子交換の頻度は計算されるものなので、そこで10のマイナス8乗とか、9乗とか、そのくらいの数字だったらたまには起こると考えられますし、むちゃくちゃ起こる場合のマイナス6乗とか、たまに起こったとか、今回の実験で起こらなかったとか、報告されてしまうということもあると思います。今回のこの実験ではしっかり確認されていて、頻度等も出ておりますので、いいとは考えたいところです。ありがとうございます。

山川先生、いかがですか。

○山川専門委員 山川です。

先ほど私は強引にやればできてしまうということを行いましたけれども、無理にやると行ってしまうことがあるわけなのです。でも、それが自然界に残っていないというのは、

そこが行き過ぎた場合にいろんな組合せで生存できないようなことがあるかもしれないという可能性が大きいので、混ぜただけでできるかというようなレベルで収めておかないと、ナチュラルオカレンスと認めるのは、それ以上は組換えというつもりで安全性を審査しなければいけないのではないかという気がいたしました。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

何となく共通認識を持てたような気がしますので、この辺で申請者をお呼びして議論をしたいと思います。よろしいですか。

お願いします。

(ナガセケムテックス株式会社関係者入室)

○中東氏 お世話になります。ナガセケムテックスの中東と原園でございます。よろしくお願ひいたします。

○中島座長 お忙しいところ、ずっと待機をいただきまして、ありがとうございます。

自己紹介をお願いいたします。お名前と会社名だけで結構です。お二人映っておりますが、お二人でよろしいですか。

○中東氏 ナガセケムテックス株式会社の中東と申します。よろしくお願ひいたします。

○原園氏 ナガセケムテックス株式会社の原園と申します。よろしくお願ひいたします。

○中島座長 どうもありがとうございます。

今回、ナチュラルオカレンスということで申請されておりますので、この株をナチュラルオカレンスとして認めてよいかどうかというところがポイントになります。

こちらの質問につきまして、根拠となる論文等を送っていただきまして、ありがとうございます。

根拠の論文ですが、四角でわざわざ囲んでいただきましたので、分かりやすかったのですが、この中で遺伝子交換の証拠として、pocksが形成された、観察されたとあります。pocksとは何か、分かりやすく御説明をいただけますでしょうか。

○原園氏 pockというのは、放線菌で特有の現象でございます、プラスミドが入っていない菌株にプラスミドが入りますと、論文にも写真があったと思うのですが、丸いぽつぽつとしたものが形成されることが知られております。

機能としては、まだ不明なところが多いのですが、pockが形成されると、孢子形成能が失われると言われております。ですので、プラスミドを持っていない細胞にpockをつくる遺伝子を持ったプラスミドが入りますと、こういうpockの形成が見られることとなります。

○中島座長 pockの形成をもって遺伝子の交換があったと判断してよろしいということでしょうか。

○原園氏 そのとおりでございます。

○中島座長 ありがとうございます。

次は微生物、例えば今回の *violaceoruber* ですが、昔は *lividans* と言っていたりします。それから、昔は放線菌といったら全部 *Streptomyces* でしたけれども、今は少しずつ分類が進んでおまして、*Streptomyces* 属から違う独立した属等もできております。なので、今回の使われております *violaceoruber* の 1326、*halstedii*、*cinnamoneus*、今回、使っている株をそれぞれの種に同定したときの根拠と、それが将来的に間違いなくこの種とタイプカルチャーと全く同じとは言わなくても、ほぼ非常に近くて、将来的に別の種になる可能性は非常に低いといった根拠などがございましたら、説明していただきたいと思います。

○原園氏 いずれの菌株も 16S rRNA の配列を比較しておまして、今回の資料の 7 のところにそれぞれの株の相同性比較を示しております。

halstedii は NBRC のタイプカルチャー株ですし、*cinnamoneus* や *violaceoruber* の NBRC の株についても配列の比較をしておまして、非常に類似性が高いことを確認しておまして、こういった配列が変わることはないと理解しておまして。

○中島座長 rRNA の相同性は何%ですか。95%ですか。

○原園氏 それ以上です。

○中島座長 それは高いのですか。rRNA の塩基配列というのは、進化の遅い遺伝子なのだけれども、それで 95% の 5% 違うというのは、かなり違うと思えるのですが、それで本当に近縁と言えるのですか。

○原園氏 論文におきますと、96% 以上が同種というところだと思います。

○中島座長 同種の判定基準はそうではなくて、タイプカルチャーと DNA-DNA ハイブリダイゼーションで 70% 以上の相同性というのが、現在での通常の判定基準だと思いますが、この株はタイプカルチャーをクリアしておまして、*halstedii* はそもそもタイプカルチャーなので、いいと思うのですけれども、今回使っている株は、その基準をクリアしておましてでしょうか。

○原園氏 この本書ではないのですけれども、以前、弊社で同じような放線菌で生産されたグルカナーゼの申請書で DNA-DNA ハイブリダイゼーションの検討を行っておまして、そちらで *violaceoruber* と *cinnamoneus* なのですけれども、ハイブリダイゼーションを行って、70% 以上を確認しておまして。

○中島座長 酵素の遺伝子というのは、酵素は機能を持っているので、進化が遅いので、通常は染色体 DNA 全体で比較しないと認められないはずなのですけれども、そこは大丈夫ですか。

○原園氏 グルカナーゼの申請時は、菌株の染色体を使った DNA-DNA ハイブリダイゼーションで確認をしておまして。

○中島座長 ありがとうございます。本当に確認したかったのはそこです。

先生方、よろしいですか。山川先生、どうぞ。

○山川専門委員 山川です。

ナチュラルオカレンスのことではなくて、生産物のホスホリパーゼ D で聞きたいのです

が、この申請書には遺伝子レベルで全く同じであったと書いてあったのですが、生産されたタンパク質も全く同じだったのでしょうか。

○原園氏 SDS-PAGEというタンパク分析を行っておりますけれども、分子量、サイズで全く同じサイズとなっております。

○山川専門委員 基質特異性なども同じでしたか。

○原園氏 そうです。基質特異性、同等性評価も社内の製造で評価をしております、至適pHや至適温度も同等ということを確認しております。

○山川専門委員 多分交換に使うと思うのですが、リパーゼでエステルを切るだけではなくて、エステルの交換をする反応も利用すると思うのですが、それでも変わらないということですね。

○原園氏 自社でエステル交換能を使って、●●●ものを製造しているのですが、その際にも同様な試験をしております、●●●ということを確認しております。

○山川専門委員 ●●●ということですか。

○原園氏 はい。

○山川専門委員 その辺を聞いてみたかったのです。遺伝子のことしか書いていなかったもので、実際の製品はタンパク質だったので、それが変わっていないかというものを確認して見たかったのです。ありがとうございました。

以上です。

○中島座長 ちなみに、販売する製品の中のタンパク質の目的酵素の純度はどの程度でしょうか。

○原園氏 ●●●になります。

○中島座長 SDS-PAGEをやっておられるのなら、その中のタンパク質としての純度です。当然保存剤などを入れていると思います。

○原園氏 弊社の技術では、SDS-PAGE上では●●●の純度になっていると思います。

○中島座長 ありがとうございます。

先生方、ほかにございますでしょうか。よろしいですか。

ありがとうございました。

退室していただけますでしょうか。

○中東氏 退室させていただきます。

(ナガセケムテックス株式会社関係者退室)

○中島座長 それでは、議論を再開したいと思います。

私がセルフナチュラルと認められるのは、pocksのところとタグが間違いなくタイプカルチャーなり何なり、この種の株であることを確認したかったところで、先生方、御意見はございますでしょうか。

本申請については、セルフナチュラルということにより嬉しいと思うのですが、御賛同をいただけましたら、御意思の確認をしたいと思いますので、青いタグでお願いします。

(同意する委員あり)

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、評価書案の審議に入りたいと思います。よろしくお願いいたします。

○山口係長 それでは、評価書案について、御説明させていただきます。

評価書案を束ねた冊子の下にページを振ってありまして、2ページ目からがホスホリパーゼになります。

5ページをお願いいたします。一部下線を引いて修正した箇所があるのですが、そこらは事前に児玉先生から意見をいただいたものでして、それを反映させたものでございます。

5ページの「I. 評価対象添加物の概要」です。本添加物は、*Streptomyces violaceoruber* 1326株を宿主として、*Streptomyces cinnamoneus* NBRC 12852株由来のホスホリパーゼD遺伝子に*Streptomyces halstedii* NBRC 12783株由来のプロモーター、*Streptomyces cinnamoneus* NBRC 12852株由来のターミネーターを結合した挿入DNA並びに*Streptomyces azureus*由来のチオストレプトン耐性遺伝子を*S. violaceoruber*由来のプラスミドを挿入して得られた発現プラスミドを導入して作製されたpPDX株を利用して生産されたホスホリパーゼDでございます。

本添加物は、ホスファチジルコリンのコリンーリン酸エステルを加水分解する。アルコールや糖類とホスファチジルコリンとの共存下で転移反応を触媒する酵素でございます。

宿主である*S. violaceoruber*、ホスホリパーゼD遺伝子及びターミネーターの供与体である*S. cinnamoneus*、プロモーターの供与体である*S. halstedii*並びにチオストレプトン耐性遺伝子の供与体である*S. azureus*は、毒素産生性及び病原性は知られておらず、国立感染症研究所病原体等安全管理規程において、バイオセーフティーレベル1に該当します。

「II. 食品健康影響評価」でございます。

「1.pPDX株の作製について」です。宿主は*S. violaceoruber* 1326株でございます。

挿入DNAは、*S. cinnamoneus* NBRC 12852株由来のホスホリパーゼD遺伝子に、*S. halstedii* NBRC 12783株由来のプロモーター及び*S. cinnamoneus* NBRC 12852株由来のターミネーターを結合したものでございます。

発現プラスミドpPDXについては、記載のとおりでございます。

pPDX株は、発現プラスミドpPDXをプロトプラスト法を用いて宿主に導入しまして、形質転換することにより作製されました。

2番でございます。(1)ですが、pPDX株の作製に使用された*Streptomyces*属の間では、自然に遺伝子交換が行われると考えられる科学的知見がございます。

6ページをお願いいたします。(2) 16S rRNAが高い相同性を持つ微生物は、分類学上近縁であるとされておりまして、評価書に記載のそれぞれの株については、塩基配列はそれぞれ高い相同性を示しております。

S. violaceoruber 1326株由来の16S rRNAの配列は報告されておませんが、同種の株の

16S rRNA配列と全一致の相同性を示すと考えられます。

(3) です。*Streptomyces*属の多くの菌株には、接合性プラスミドが存在し、菌と菌の接合により遺伝子交換を行うことが報告されている。これらのことから、pPDX株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在すると考えられる。

以上のⅠ及びⅡから本ホスホリパーゼについては、記載の評価基準の第1章総則第3、対象となる添加物及び目的に規定する組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合に該当する微生物を利用して製造されたものという旨を記載しております。

評価書案の説明は以上です。

○中島座長 それでは、ただいまの評価書案につきまして、御意見、コメントを承りたいと思います。

いつも思うのだけれども、最後の自然界に存在するではなくて、存在し得るが本当は正しいのだろうといつも思います。でも、毎回それは規定でそのように書いてあるから、今回直すのは難しいのかもしれませんが。

どうぞ。

○松井技術参与 今回、引用をつけさせていただいたのですけれども、rRNAの相同性比較で資料7と資料8と参考文献の二つ、先ほどの1991年のものを足せばよろしいでしょうか。御確認をお願いします。

○中島座長 私はそれを足せばいいと思いますが、先生方、いかがでしょうか。

特に反対意見はなさそうですから、最後に送っていただいたあれが一番肝心なので、それは足してください。

樋口先生、どうぞ。

○樋口専門委員 先ほど申請者とのやり取りでお話がありましたような情報というのは、この評価書案に付け加えなくてよろしいでしょうか。95%だからといってどうかという議論もあって、それで過去に同じ会社でやられた情報などのコメントがあって、それでこれでよいだろうという議論になっていたと思いますので、これは評価書案に必要ないでしょうか。

○中島座長 議事録には残すのだけれども、評価書案にはどうなのでしょう。事務局、聞こえましたか。

○松井技術参与 「Ⅱ. 食品健康影響評価」の(1) (2) (3)で、先ほどの申請者の議論は一応網羅できていると思われるのですが、具体的に付け加えるべき事項がございましたら、先生から御提案をよろしくお願ひいたします。

○樋口専門委員 新たに何かを付け加えるのではなくて、この評価書案の文章の中に先ほどの議論が反映されているように読み取れなかったので、付け加えなくていいと思ったのです。

○中島座長 評価書案は、議論の前に案ができていますので、そのために議事録というものが残って、それで後から反映されるのだけれども、この評価書案には規定のポイントはチ

チェックしたから、それで安全と認めただけ簡略に書くのが慣例ではあるのですが、先生方、評価書案としても不足だろうと、そういうことであれば、具体的に何を足すかを議論して、評価書案を修正しようと思います。

○樋口専門委員 95%という数字が評価書案に出ていますので、数字が出てくると、それが根拠なのだと読めたものですから、先ほどの議論では、95%以上というだけでは不足という話だったと思うので、これでいいのか、整合性が取れているのかということなのです。

○中島座長 ごもったもな指摘です。

足すとしたら、その辺り、DNAハイブリダイゼーションの結果を含めてというところで、そこは今の議論のところで確認したので、付け加えるとしたらそれだと思うのですが、ポイントとしてはございますでしょうか。

それでは、今の点を付け加えて、あと、私と樋口先生でその確認をして評価書案を修正したいと思います。

樋口先生、それでいいですか。

○樋口専門委員 はい。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかにもございますでしょうか。

いただいた修正については、事務局で修正して、後ほど食品安全委員会に報告して、パブリックコメント等の手続をしたいと思います。ありがとうございます。

それでは、次にコウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシの食品と飼料がございしますが、食品の審議を始めたいと思います。

事務局から説明をお願いいたします。

○松原課長補佐 申請書の説明に入ります前に、審議の進め方について御説明いたします。

冒頭で御紹介いたしました、本日はコルテバ・アグリサイエンス日本株式会社の方をお呼びしておりますので、申請書の御審議をいただいた後に、申請書に対する質問事項等がございましたら、整理していただきたいと思います。

その後に説明者にウェブ上で入室していただき、質疑応答を行います。

質疑応答終了後、説明者には退室していただき、審議を再開していただくこととしております。

それでは、申請者から提出されている申請書を説明させていただきます。

要旨の1ページをお開き願います。第1の「1 宿主及び導入DNAに関する事項」でございます。今回、宿主はトウモロコシのデント種PHR03系統でございます。

(2) 組み込まれる遺伝子と供与体につきまして、今回、四つの遺伝子が組み込まれております。

一つ目、*DvSSJI*遺伝子断片でございます。こちらはトウモロコシハムシの細胞結合*SSJ*の遺伝子の断片でございます、*DvSSJI*遺伝子断片2つを両方向から配列したものを結合したのとなっております。

次の *ipd072Aa* 遺伝子につきましては、*Pseudomonas chlororaphis* にある IPD072 タンパクの遺伝子でございます。こちらは先ほどのハムシの中腸上皮細胞を破壊するというところで殺虫作用を示すタンパクでございます。

三つ目、*pat* 遺伝子でございます。グルホシネート抵抗性の遺伝子でございます、*Streptomyces* 属菌に由来するものでございます。

四つ目、*pmi* 遺伝子でございますが、こちらは栄養とすることができるようにするような機能があり、選択マーカーとして用いられているものでございます。

4ページをお開きください。「第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」でございます。先ほどの殺虫作用を有する二つの遺伝子でございますが、作用機作の異なる二つの遺伝子を組み込むということで、どちらかの耐性のある虫に対しても有効となるようにしているものでございます。

5ページ目をお願いいたします。併せて机上配付資料も御覧いただければと思います。申請者から「4 アレルギー誘発性に関する事項」について、修正が来ております。

修正内容といたしましては、トウモロコシ中に含まれるアレルギー誘発のものについて、9kDaと50kDaが記載されていたのですが、最新の知見に基づき、16kDa、26kDaと30kDaが追加されたというものでございます。

7ページをお願いいたします。ベクターに関する事項でございます。遺伝子導入方法として、今回、アグロバクテリウム法を用いております。

ベクターの構成は、8ページの図1のようになっております。このうちT-DNA領域は、矢印のとおり、右半分となっておりますが、実際にゲノムに挿入されるのは、そのうちの右下のところ、緑の矢印で提示されているところでございます。

この中に先ほどの四つの遺伝子が含まれております。挿入の仕方につきましては、後ほど説明いたします。

17ページをお願いいたします。遺伝子の機能、発現タンパクの性質、機能についてでございます。

DvSSJ1dsRNA についてでございます。標的昆虫が *DvSSJ1dsRNA* を取り込みますと、細胞内でRNAiが誘導され、*SSJ* 形成が阻害されます。18ページの図3と図4を御覧いただければと思いますが、中腸上皮細胞のSSJのタンパク形成が阻害され、図4のとおり破壊されることで、中腸の機能損失が起こり、殺虫作用を示すものでございます。

19ページをお願いいたします。*ipd072Aa* 遺伝子でございます。こちらはIPD072Aaタンパクが中腸上皮細胞の受容体に結合して細胞を破壊するというところで、殺虫作用を示すものでございます。このタンパクと似たようなものにCryタンパクがございますが、今回はCryタンパクとは異なる受容体に結合するというところで、20ページのとおり、別の作用機作によって生じる、そのため、Cryタンパクに対する抵抗性を持っている虫にも有効だと考えられているものでございます。

遺伝子産物の毒性については、下の②でございます。IPD072Aaタンパク、PATタンパ

ク、PMIタンパクにつきましては、データベースを用いて検索をしたところ、既知の毒性タンパクとの相同性はないことを確認しております。

21ページをお願いいたします。さらに殺虫作用を有する *DvSSJI*dsRNAとIPD072Aaタンパクにつきまして、標的昆虫特異性であるかどうかということについて、確認しております。

*DvSSJI*dsRNAにつきましては、標的のハムシの類縁種であるハムシ科の昆虫には殺虫作用がありますが、その他の昆虫には影響はなかったとしております。

真ん中に一方とありますが、ヒトに対する影響につきましては、*DvSSJI*遺伝子断片の21塩基で一致する転写産物がヒトにはないところ、また、dsRNAは、動物、植物を由来とする全ての食品に含まれるものですが、dsRNAで健康に影響が生じたといったことは認められていないこと、また、RNAは胃酸、消化酵素、血中のヌクレアーゼ等で分解されると考えられていること、ヒトの腸管上皮には、RNAを取り込む機能を有していないことから、ヒトへの影響はないと考えられております。

IPD072Aaタンパク質については、今回のトウモロコシハムシ以外のコウチュウ目、チョウ目については、影響がなかったことを確認しております。

DNAの入り方でございます。25ページをお願いいたします。今回の導入方法につきましては、図6の示すとおりでございまして、アグロバクテリウムのT-DNAのうち、T-DNAのFRT1からFRT87で挟まれた挿入DNA領域が、トウモロコシの染色体中にございますLP配列のFRT1とFRT87で相同組換えが誘起されて、組み換えられるものでございます。

ここの(C)のLP配列のところでございますが、これはもともとのトウモロコシに存在するものではなく、今回、中間系統の細胞をつくる時に導入されたものでございます。LP配列につきましては、この要旨の中では書かれていないのですが、添付された資料の中に3つのプラスミドを使って導入していることが説明されているところであり、今回、初めて専門調査会の審議で出てきているものでございます。

また、LP配列については、トウモロコシに内在する遺伝子がないところに導入していることから、トウモロコシ自身に失われた機能はないことを確認しているところでございます。

27ページをお願いいたします。導入された遺伝子のコピー数についてでございます。挿入遺伝子のコピー数につきましては、Southern by Sequencing分析により確認しております。冗長度は100以上となっております。

この結果、LP配列につきましては、一つ導入され、挿入DNA領域につきましても、LP配列の意図したところに入っていることを確認しております。また、LP配列以外のところには、挿入DNA領域は挿入されていないことも確認しております。

29ページでございます。(2)挿入DNA接合部近傍配列のORF検索を行っております。このとき、30アミノ酸以上でペプチドをコードするORFが289個確認されております。

そのうち、毒性タンパク質と相同性を持つORFは見つかっておりません。

また、アレルゲンにつきましては、連続する8アミノ酸以上で一致するペプチドが1個見つかったとされております。

それにつきましては、30ページでございます。これはトウモロコシ由来のエンドキチナーゼAに一致しているものですが、その上流にプロモーターが存在しないことから、転写される可能性は低いとしているところでございます。

31ページ、32ページでございます。こちらにつきましては、*DvSSJ1*dsRNA、IPD072Aaタンパク、PATタンパク、PMIタンパクについて、それぞれ表のとおり産生されていることが確認されております。

しかし、33ページの3でございますが、いずれも有意な量の産生ではないと考察されております。

また、*DvSSJ1*遺伝子断片については、開始コドンがないため、タンパク質を産生する可能性は低いと考察されているところでございます。

33ページの4番、遺伝子産物のアレルゲン性につきましては、申請者のほうで、病原性は認められていないと考察されているところでございます。

34ページにまいりまして、下のほうの①、人工胃液、腸液、加熱性の感受性に関する事項でございます。

IPD072Aaタンパクの人工胃液に関する試験につきましては、35ページ、36ページでございます。こちらではレーン4番、30秒ですが、そこで消失をしているところでございます。

人工腸液につきましては、37ページ、38ページでございます。9番目のレーンということで、20分で消失をしているところでございます。

39ページをお願いいたします。③加熱処理についてでございます。表7のとおり、こちらにつきましては、121度で免疫反応性がなくなっているところでございます。

40ページをお願いいたします。(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ございます。今回はCOMPAREデータベースを用いて検索したところ、PMIタンパクがアカガエルの α -パルブアルブミンと8アミノ酸で一致することが確認されました。

そのため(5) 遺伝子産物のIgE結合能の検討がされております。こちらではPMIと α -パルブアルブミン感受性患者の血性IgEとの結合試験をしたところ、交差反応は認められなかったため、アレルギー誘発性を示唆するものではないと考えられているところでございます。

46ページをお願いいたします。6番、遺伝子産物の代謝経路の影響に関する事項ということで、こちらは産生されるRNA、タンパク質ともに代謝系への影響はないと考えられております。

48ページから57ページまでは、トウモロコシの成分、従来のものとの比較でございますが、既存のトウモロコシの範囲から外れている成分は確認されていないところでござい

す。

59ページでございます。8番、諸外国における認可等でございます。DP23211系統につきましては、●●●でございます。最新の状況を申請者に確認したところ、●●●ということでございます。

今回のトウモロコシについては、以上でございます。よろしくお願いいたします。

○中島座長 簡略で分かりやすい説明、ありがとうございました。

今回まるっきり新しいものでして、幾つもポイントがあるかと存じますが、*ipd072Aa*遺伝子はとても新しいところで、今まではCry1、Cry2、Cry3があつて、Cry1とCry2がチョウ目害虫抵抗性、Cry3がコウチュウ目抵抗性、Cry14もこの前出てきました。この遺伝子だけではなくて、*DvSSJ1*のRNAと2本立てで害虫抵抗性を確保しているところです。いろいろございますが、御議論していただければと思います。

また、この類いについては、●●●ということです。

第1、第2、第3とありますが、第5、挿入DNA、発現ベクターの構築まで、26ページぐらいまででございますでしょうか。小野先生、どうぞ。

○小野専門委員 先ほども説明させていただいたのですけれども、最近、哺乳類だけではなくて、植物なり、バクテリアから細胞外小胞と言われるものがかなり多く分泌されていることが分かってきていまして、さらに植物においては、例えばグレープフルーツなどの果汁の中にすごく多くの細胞外小胞が含まれていて、その中に非常にファンクショナルなスモールRNAなどが多く入っていることが分かってきている。商業ベースですけれども、そういった植物由来の小胞は、遺伝子のベクターのような形で使えるのではないかという試みもされているぐらいなのです。なので、トウモロコシにおいてRNAiを用いているというのは、私としてはかなり驚きだったのですけれども、そのところを踏まえて考えると、トウモロコシの液中に*DvSSJ1*に対するRNAが濃縮されたものがたくさん詰まっているとも考えられるので、そういったところからの安全性はどうなのかということが、まず一つ気になった点なのですけれども、いかがでしょうか。

以上です。

○中島座長 植物の場合は遺伝子組換え体なので、これが何代も安全に使われることが必要なので、RNAiをやる場合には、RNAiを発現するような、メッセンジャーRNAがあるようなDNAを含んで導入して発現させるというのが、今でも主流です。なので、そういう例は幾つかあるのですが、その点につきまして、今日は申請者をお呼びしておりますので、先生から直接質問していただければと思いますが、よろしいですか。

○小野専門委員 了解です。

○中島座長 今回、*ipd072Aa*遺伝子で、Bt毒素と同じように中腸の受容体を結合して殺虫活性と思われるというところで、その辺はまだ確定していないところ等がございますので、この安全性についてどう考えたらいいか。この辺、専門の先生方の御意見をお聞きしたいです。児玉先生、どうぞ。

○児玉専門委員 *ipd072Aa*遺伝子ですけれども、19ページの上から3行目、4行目のところに、宿主の*Pseudomonas chlororaphis*は生物農薬として安全に使われており、ヒトへ病原性は認められていないというのが、*ipd072Aa*遺伝子の説明として書かれているのですが、これは餌のほうが先行したので、私のほうで確認させてもらいました。●●●。

さらに*ipd072Aa*遺伝子を同定した経緯を論文等で確認すると、スクリーニングをして、昆虫に対して活性のあるタンパク質をつくる微生物を同定したところ、*P. chlororaphis*だったということで、生物農薬として使われている菌から取ってきたわけではないのです。

●●●ということなので、その点もちょっと弱いということです。

*ipd072Aa*遺伝子、IPD072Aaタンパク質に関しては、今まで使われてきたとか、そういう食経験みたいなものは基本的にないと考えて、これに対しては対応しなければいけない状況だと考えられます。

過去、私がこの専門委員会に入った割と初期のころに、新規のCryタンパク質に関しては、*in vitro*の試験みたいなものを要求した事例があったかと思います。この間、シンポジウムなどに参加して、毒性学の先生の講演を聞いたのですが、遺伝子組換えの安全性を見るときに、*in vivo*の試験はほとんど意味がないけれども、ケース・バイ・ケースで*in vitro*の試験は意味のあるデータが取れることもあるということなので、どうしても安全性が担保できない場合には、*in vitro*の試験は積極的に考えたほうがいいみたいな講演がありました。

今回は結合サイトが中腸上皮なので、専門外なのでウェブで調べただけですけれども、ヒトの上皮細胞なども試験用に売られている状況なので、ヒトの腸管上皮細胞辺りを使って、増殖能か、結合能か、ちょっと分かりませんが、*in vitro*の試験を要求してもこのケースはいいのではないかと思っております。

●●●、この情報だけだと完全に安全だとは担保できないと思いましたので、皆さんでどういうデータを要求するかということをお議論いただけたらと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

これで今日オーケーとは思えなくて、やはり最大のポイントはここになるかと思うのですけれども、どのような試験を要求するのがいいのか。はっきり言って、そこを御議論するのが一番手っ取り早いというか、ストレートに核心に迫ることができると思うのですけれども、専門の先生方、橘田先生、いかがお考えですか。

○橘田専門委員 今の御説明を聞きまして、データが足りていないと感じましたので、幾つかデータを要求するほうがいいと思っております。

○中島座長 後ほど申請者をお呼びしまして、何が可能かとか、そういったことを議論したいと思いますので、議論に加わっていただけますか。私、その辺は全く詳しくないので、よろしく願いいたします。

樋口先生、いかがですか。御意見を聞きたいです。

○樋口専門委員 作用機作は多分こうだろうという、割と曖昧な記述ですので、作用機作、分子機序がある程度分かった上で、だからヒトには問題がないという論理でいっていただかないと、何となくという感じではまずいと思いますので、先ほどお話があったようなin vitroの試験などをされるのがよいのではないかと思います。

●●●と思うので、既にそういうことをやっているのだったら、そのデータを待ってから再度審議するのがよろしいのではないのでしょうか。

○中島座長 私もそうだろうと思います。後ほど申請者をお呼びしますので、データを持っているなら出してほしいというのは、要求しようとは思いますが、そのときに抜かりなく要求すべきデータなどを考えていただけるとありがたいと思います。

手島先生、御意見をお聞きしたいです。

○手島専門委員 19ページの記録に関しましては、ヒトへの影響はどうかというところを知るべきということで、先ほどのヒトの中腸上皮細胞を使った実験が可能であれば、そういう形で示してもらうのがよろしいかと思います。たしかこういった試験は、どのBtタンパクもやっていたかと思しますので、ヒトの細胞を使った実験系ができるとすれば、そこでやっていただくのがよろしいかと思います。既にデータをお持ちであれば、それを出していただくということだと思います。

それと、これに関しては、後のほうになるのですが、熱に対してかなり抵抗性があるようなデータが出てきています。95℃ではほとんど失活していないようなデータだと思いますので、それはELISAで調べていることなのですが、熱に対しての抵抗性を細胞などを使った実験系の中でできるのであれば、その点も調べていただければと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

この辺につきまして、何かございますか。

いずれにしろ、申請者をお呼びしますので、ここは議論したいと思います。そのときに思いつかれたら、お聞きいただければありがたく思います。

例えば三次元構造等が解かれているのであれば、Btタンパク質の構造を相関するとか、構造機能相関性とか、そういったことも議論したいと思うのですが、意味がない。いずれにしろ、後ほど申請者をお呼びしようと思いますので、その点、御議論いただければと思います。

近藤先生、何かありますか。

○近藤専門委員 近藤です。

今回の資料だけでは安全性が確認できないところもあるので、いろんな皆様からいただいているin vitroの試験というのは、一つの案だと思います。ヒトの初代培養の細胞も最近結構売られているので、そういうものが可能であったら、そういうところの結合試験、何らかの細胞毒性なども併せて、そういうデータを出していただければと思っています。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

いつでも思いついたことがあったら、御発言ください。小関先生、よろしくお願ひします。

○小関専門委員 組換え体について、今、お話いただいたところで、まず基本的なコンセプトをここで皆さんときちんとしておかなければいけないのではないかと思ひました。いわゆる食品としての安全性が認められていない、確認されていない遺伝子組換え体に、遺伝子を導入したものの安全性を評価することは、植物であれ、微生物であれ、それはいいのかということです。植物だけではなくて、微生物も含めて、最初に皆さんでコンセンサスを取らないと、話がひっくり返ってしまうのです。中間系統というのは、●●●もので、食品の安全性は認められていないものです。

厚生省時代に一番問題になったのは、遺伝子組換え体に遺伝子組換えをしたものの評価をしていかどうかという前提の議論がありました。後代交配種の場合には、お互いに二つ認められているものをかけ合わせて、二つ遺伝子が入ることなのですけれども、今回の場合には組換え体、しかも、安全性が認められていないものに入れるということは、微生物でも、たしかそういうものはなかったような気がしています。だから、中間系統の考え方を一度整理しないと、非常にややこしいと思ひます。中間系統がどうしてつくられたかという経緯が要ると思ひます。

要するにトウモロコシでも遺伝子を入れるときに、**criptic site** でないところ、**active site** のところに入ったものを最初に選ぶ。入った個体があれば、エリートの間系統に対して、今度入れたいものを入れ返すということをするれば、入る位置は必ず一緒です。しかも、**criptic site** に入らず、**active site** に入るから、選抜するのが非常に楽です。そういうことがあるので、これを一度認めると、ここに入れたものが後発品でいっぱい出てくるのです。ですから、ここでしっかりコンセンサスを取っておかないと、後で出てきたときに取り返しのつかないことになるので、そこは皆さんの御意見を聞きたいと思ひます。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

申請書の25ページを見ていただければと思ひますけれども、ここも次に議論したかったところなのですが、この株をつくるのに実は結構手の込んだことをしておりまして、中間系統を作出するのに●●●。●●●、LP配列が組み込まれていて、さらに目的のものを組み換えて使う。●●●、定義上それぞれが全て遺伝子組換え体です。つまりは小関先生がおっしゃるとおり、まず遺伝子組換え体をつくって、それに対してさらに突っ込んでやって、最終的に出てきたものについて議論してくれ、そういう感じになっています。これが分かりにくかったと思ひますけれども、はっきり言って、そこがしっかり書かれていない。

小関先生だから、25ページを読んで、その状況が分かって、問題点が把握できたのだと思ひますけれども、私が読んでみると、いろいろと手の込んだことをやっているくらい

だったのですが、一つには申請書の書き方が不親切で、そこが分かるように書いていない点が多いです。そこをちゃんと書いてくれて、初めて小関先生が御指摘してくださった点が問題になる。そういうことになっておりまして、はっきり言ってなっていない。

小関先生、こういう解釈でよろしいでしょうか。事務局と相談して、やっとそこが分かりました。その認識でよろしいですか。

○小関専門委員 はっきり言うと、申請者を読んで議論をする前に、今、言った未承認の組換え体に組換えを入れてできたものの安全性、途中は問わないということは、植物だけではなくて、微生物とか、これから動物でも出るかもしれません。それはそれでやっているのか。微生物のときは、最初に組換え体のものを野生型からつくって、オーケーが出て、それをさらに遺伝子組換えするという形のものがあったと思います。もちろん中間系統はあったと思うのですが、そここのところのコンセンサスを得てから申請者に当たらないと、大変なことになってしまうと私は非常にリスクに思ったのですが、いかがでしょうか。

○中島座長 この辺は、植物が専門の先生に御意見をお聞きしたいと思うのですが、児玉先生、お願いします。

○児玉専門委員 これは新しいタイプの組換えというか、よくやったなという感じの組換えなのですが、●●●、そこに優先的にLP配列を組み込んだ。LP配列に対して相同組換えで目的の遺伝子を入れているという、そういう手の込んだことをやっているのです。

申請書の14ページの挿入遺伝子の機能に関する事項というところで、表が出てくるわけですが、その表が既に欠損しているわけです。結局、LP配列の一部分がプロモーターとして残っていますので、それは最終系統の商品化することを目的としたものに残っていますので、この表自体が欠損していて、下にちらっと後述するようにプロモーターが残っていますみたいなことが書かれているのですが、それでは駄目でしょうという、まずそのことが申請書になっていないという話になってしまうのです。ジャガイモで二重形質転換したものを評価して、認可している例がたしかあるはずなので、二重形質転換を全部きれいに書いてもらえば、1回の申請で認めてもいいとは思いますが、全くきれいに書いていないので、それはとてもではないけれども、認められないということになるかと思えます。

特に●●●、最初の中間系統をつくったときに、●●●と言っているのですが、最終的に最後にできたものを一遍に確認すれば、それでいいでしょうという答えだったのです。それでいいでしょうにはならないだろうと思うのですが、中間系統は商品化しないので、中間系統として申請書をつくるというのは、メーカーとしては多分やりたくないのだと思います。ですので、中間系統と後から入れたもの、二重形質転換のステップを全部きれいに書いてもらって、それを我々が評価して、これならいいですという形で持っていくしか、恐らくないと思っております。

あと、これは申請者に聞いてみたのですが、昔からゲノム中の特定の場所に入れ

たいということで、私は最初よく分からなくて、そのメリットは隣接配列が明らかに分かっているから、毎回シークエンスが楽だということぐらいだと思っていたのですが、メーカーの人に聞いてみると、1か所にいろんな遺伝子を集めたいという言い方をされていました。それはそれで分かるのですけれども、小関先生、この場所に入れたものをつくっていったとして、これを後代交配してつくとつukれないですね。同じローカスにバッティングします。

○小関専門委員 申請者が言っている意味は間違っているというか、本社の人たちの考え方を完全に理解しないで言っているのではないかと思います。これははっきり言うと、**active site** を狙うはずです。要するにランダムに入ると、遺伝子が入ったけれども、発現が個体ごとにすごく違います。それを回避したい。すなわち 10 取ったうち、100 発現するものとほとんどないものとか、いろいろと出てきてしまうけれども、1 か所に確実に入るのであれば、選ぶものの数を 10 分の 1 以下に減らせるのです。そこのメリットはすごく大きいと言っていました。だから、この技術の場合には●●●わけです。

SDI システムのように GUS レポーター遺伝子が 1 か所に入ったものの中で、一番高いものを選んで、それが **active site** に入っていることを確認して、中間系統にして、ほかと入れ替えるというパターンでして、その特許がまだ生きていると思うので、ここでは使っていないのだろうと思うのですけれども、ここでこれができれば、先ほど言ったように、ほかの遺伝子を入れたものが後発品種でいっぱい、簡単に安定してつukれるというメリットがあります。遺伝子をここのサイトに入れ込むというよりも、安定な高発現のものをつukっていくのに有利なもので、ここのサイトに入ったものではなくて、●●●、LP配列が入ったものも当然いるわけで、そうすれば、後から後代交配をつukることも可能になるということが、この技術だと私は思っています。

以上です。

○児玉専門委員 その辺も含めて、技術的な背景は申請者にお聞きしたいと思っておりますけれども、いずれにしても、中間系統を●●●どういうふうにつukったかで、中間系統の表現型、表現型と言ってもコンポジションなどは要らないと思いますが、ある程度キャラクターライゼーションしたものをつけてもらわないと、先ほど言ったように入れたものを承認するみたいな、変なことになってしまうので、いずれにしても、そこらに辺はきちんと書いてもらわなければいけないと思います。

○小関専門委員 これをオーケーにすると、今度、違うものを入れて別の後発系統で出されたときに、既に今回のこれで認めたから、その部分はいいですねと言われて、さらって流されて終わるところがあるので、この例をきちんとやっておかないと、後で別の後発系統に出てきたときのこちらの審査が非常に困るということは、意識したほうがいいと思います。

以上です。

○中島座長 後発系統で出てくるにしても、その前の中間体をこちらできちんと議論して、

中間体についてはこの調査会でオーケーになっていなければ、彼らが後発系統で出してこようが、そんなものは一からだという話になるだけだと思います。中間をきっちり評価していくのがいいということですね。

○小関専門委員　そういうことです。ここできちんとやってもらって、後で後発系統で出てくるときにも、ここできちんとやったものです、次に出てきたものがパーティクルガンで違うところに入ったものを使っていますとなったら、それもまた中間系統として違うでしょうという議論をきちんとしていかないとまずいです。要するに後代交配品種をつくるとなったら、絶対にそれをやってくるから、そのところを明確化しないと大変なことになってしまうということです。

　　以上です。

○中島座長　山川先生、御見解はいかがでしょう。

○山川専門委員　山川です。

　　今、話が出ていると思いますが、安全性なので、元と比べてどうかということだから、中間のものがどうというよりは、仕方なく、最初のもので最後のものと比べるしかないと思います。ただ、間は1段階ずつきれいにやっておかないと、小関先生は交配後代のことを言っていましたけれども、それに限らず、これと同じものがごろごろ出てくると思うので、そのときに戸惑わないように、きちっと押さえていくことが大事だと思います。

　　最初この図を見たときに分からなくなって、考えたら、要するに中間体なのだということが分かったのですけれども、それを全部押さえておいて、ちゃんと記録に残しておいてやらないといけないと思います。きちっとやっていく。一遍に中間体を認めるとか、そういうことではなくて、もともとのものと最後のものとちゃんと比べる。でも、その間はしっかり押さえていくという態度を取るべきだと思います。

　　以上です。

○中島座長　ありがとうございます。

　　この点についての基本方針はこんな感じで、大体共通意見に達したと思います。

　　ほかにも幾つかございまして、もう一つ、PMIという遺伝子が入っておりまして、アレルギーを評価するときに、データベースの相同性とか、人工胃液、人工腸液、加熱性などで評価します。それでいかないときには、アレルギー、血清とのクロスチェックを要求しているのですが、そこまで行く例はあまりないのですけれども、今まで要求した唯一の例がPMIなのです。結合能を指摘して、このデータを要求しております。

　　この遺伝子が同じようにさらっと入っているのですが、これはこれでそのままよろしいか、一度はIgE結合テストをお願いして、そのデータも取れているということなので、オーケーにしているものなのかどうかというところ、専門の先生方の御意見をお聞きしたいと思います。手島先生、いいですか。

○手島専門委員　以前のPMIに関しては、血清試験を要求して、従来のエピトープと呼ばれているところとは違っていたというデータが出てきていたと思います。一度そういう形

でデータが出ているので、それを引用してもらおうということでもよろしいように思います。
○中島座長 評価済みなので、いいと思うのですが、レアケースというか、そこまで調べた例なので、御意見をお伺いしたかったということです。ありがとうございます。

橘田先生、いかがですか。

○橘田専門委員 橘田です。

こちらにつきましては、既に安全性審査の手続が済んだものにも入っておりますので、改めての確認は不要だと感じます。

○中島座長 ありがとうございます。

要旨の33ページにアレルギー誘発性の事項があるのですが、これは書き方の問題だと思います。ヒトへの病原性という言い方ではなくて、アレルギーとは病原なのだろうかということにもなるのだけれども、どうなのでしょう。そこは書き方を整理してもらうように要求すればいいのかどうか、御意見をお伺いしたいです。

手島先生、いいですか。

○手島専門委員 言葉の使い方ですけども、それを整理してもらえれば、いいと思います。病原性というよりもアレルギー性です。

○中島座長 ありがとうございます。

樋口先生、いかがですか。

○樋口専門委員 今のアレルギーのところについては、先生方の御意見のとおりで、私からは特段ありません。

話が戻ってしまって申し訳ないのですが、先ほどの中間系統の扱いということで、中間系統に対してきちんと名称がつけられていないように見えまして、中間体をつくって、それを使いましたという説明しかないように見受けられます。ですので、先ほど先生方がおっしゃっていた、今後この会社がこれを使っていろいろつくって、審査するというのを考えると、中間系統に対して今回の時点できちんと名称をつけていただいて、これについて十分にデータが添付されて、それを審議したと言えるようにしないと、後で何を審査したのか、ひもづけができなくなってしまうかと思っておりますので、最終的な商業系統だけではなくて、中間体にもちゃんと名称をつけていただくのがよいのではないかと思います。

○中島座長 その辺は、後で指摘していただければと思います。そもそも中間体をつくってとか、その辺がちゃんと書かれていないから、そこも分からないという、なっていない申請書だと思います。

27ページは、Southern by Sequencingで分析して調べています。キャプチャーでいくと次世代シーケンサーの組合せによる技術なのですが、外来遺伝子がどのように入っているかについて、以前は入っているもの全てについてプローブをつくって、Southern Hybridizationをやってもらって、サザンのデータが全て矛盾なく説明できるかどうかというところで評価しておりました。

そのうち次世代シーケンサーで調べるようになって、そのときに議論があって、今の

ところ、次世代シーケンサーのデータをサザンに変えるには、Depth75、継ぎ目のところの配列はきっちり確認すること、この2点が明らかになっています。この条件をクリアすればいいということになっています。

今回のSbSは新しい技術なので、要求水準等をここで議論しておかないと、後から次々と出てくると思うので、議論したいと思うのですが、そもそも次世代シーケンサーでDepth 75はどうやって決まったのか、事務局に調べていただきましたので、説明いただけますか。

○山口係長 簡単に経緯を御紹介いたしますと、2015年に●●●トウモロコシを審議したときが、初めてNGSが出たときなのですけれども、その当時は、NGSと同時にRNAiのことも議論されておりまして、どちらかといえば、議論の焦点はそちらに行ってしまいました、T-DNA領域についてマップにすることという指摘事項が出ました。

次の調査会で審議するときに、●●●投稿した論文を引用することで、その中で75以上であれば問題ないという論文を引用して、100以上を確保してきたというものでございます。

それに対して、当時の調査会では、申請者の説明に対して評価した結果、問題ありとか、異論はなかったもので、調査会としてはそれについて合意されたという形になりました。特に調査会として75ならいいですとか、問題ありませんという明確な発言はなかったところでございます。

○中島座長 そういえば、そんな感じで決まったように思いますが、SbSでどの程度やればいいのかということも、こちらでどうこうではなくて、申請者にこのぐらいのデータを集めて、このように解析しているの、信頼性としては十分であるということを示すような論文なり、何なりの資料を提出していただいて、それを我々で評価させていただこうと思っています。

まずは、申請者からデータを提出していただこうと思うのですけれども、先生方、アイデア等はございますでしょうか。児玉先生、今回はそんなふうにいこうかと思うのですけれども、いいですか。

○児玉専門委員 基本的にはその形でよろしいかと思えます。先行するDP202216でも同じようなテクニックが使われていて、今、メーカー側で準備されていると思えますので、出てきた資料を見て、皆さんでこれなら大丈夫でしょうか、漏れはないとか、一番心配なのは漏れがあるかどうかというところなので、漏れがないということが理解できれば、納得できれば、それでいいと思えます。

○中島座長 先々はこういうデータがいっぱい出てくると思えますので、我々の中で一応この基準をクリアしていればいいのか、内部基準を設けていきたいと思っております。

あと、今回の申請は突っ込みどころが満載だと思うのですが、取りあえず目についたものはこのぐらいなのですけれども、先生方からほかにもございますでしょうか。今日、全部を指摘するのが難しかったら、それはそれでよろしいので、あとは適当なところで申請者

をお呼びして、議論して、その上でと考えているのですけれども、お気づきの点はございますでしょうか。まだいろいろあるかと思えますけれども、申請者をお呼びして、申請者のやり取りに時間を費やすほうが良いように思えますので、そうしたいと思えます。

それでは、申請者を入れてください。

(コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社関係者入室)

○中島座長 お三方、そろっておられますね。お忙しいところ、長らくお待たせいたしました。申し訳ございませんでした。御参加ありがとうございます。

自己紹介をお願いいたします。お名前と会社名だけで結構です。

○松下氏 コルテバ・アグリサイエンスの松下と申します。よろしくをお願いいたします。

○高橋氏 同じく高橋です。よろしくお願ひします。

○田畑氏 同じく田畑です。よろしくお願ひいたします。

○中島座長 今回の申請は、組換え体の作製の時点で、少々手の込んだ手順を使っている、そして、IPD072Aaなど、初のケースとなる遺伝子を導入しているの、いろいろと議論したいと思えます。

IPD072Aaタンパク質は承認の例がないので、この作用機作、もっと重要なのはこの安全性について議論したいと思うのですが、受容体とか、そういったところ、中腸の受容体を結合した殺虫活性等はされているけれども、受容体等は明らかになっておられないのですか。

○松下氏 現時点はまだ調査中でして、同定には至っていない状況です。

○中島座長 どうやってこの安全性を確保するかということにして、この遺伝子は生物農薬とか、どこかに書いてありましたけれども、実際に食経験はあるのでしょうか。この遺伝子、このタンパク質そのものが生物農薬等々として使われていて、それが残留した形で食べられる、安全な食経験等はあるのでしょうか。

○松下氏 このタンパク質そのものを散布しているのではなくて、これまでに生物農薬として使われていたものは、このタンパク質が由来する *P. chlororaphis* というもので、*P. chlororaphis* 菌を含む生物農薬として使用されております。使用対象としては、穀物とか、野菜が含まれておりましたので、そういう意味では、*P. chlororaphis* としての食経験はあると思えます。

○中島座長 *P. chlororaphis* の菌は、生物農薬菌として単離されたものなのですか。

○松下氏 IPD072Aaタンパク質が単離された *Pseudomonas* の株と、実際に生物農薬で使われている *Pseudomonas* の株は同一ではありません。

○中島座長 そうすると、食経験があるものとして考えるわけにはいかないということになりますので、一から安全性評価をする必要があるのですが、それでよろしいですね。先ほども我々が議論をしているのですが、安全性のためにも、ヒトの腸管上皮細胞の結合とか、作用機作を明らかにする、受容体を明らかにする、生物動態を明らかにするような *in vitro* の試験が必要になりますが、そのような試験は可能ですか。

○松下氏 現時点でそのような試験が予定されているとは聞いておりません。

○中島座長 上皮細胞等はお金で購入することもできますので、それなりの設備と経験のある方ならできる実験です。そういうデータがないと、こちらとしても、このタンパクを実際にヒトが摂取して安全かどうかということは確認できないと考えているのですが、いかがでしょうか。

○松下氏 現在のところ、このタンパク質の特異性に関わるデータとしては、コウチュウ目とチョウ目の各昆虫に投与して、コウチュウ目にのみ作用するというのを記載しているところなのですが、それ以外の目の昆虫に対して、同様の投与試験を行って影響がないというデータは得ております。

また、哺乳類としては、マウスに対して単回投与毒性試験を行ってございまして、最大用量、高用量でも影響がないことを確認してございまして、その辺りの情報でもって議論ができればと考えております。

○中島座長 ポイントは、ヒトが食べて安全かどうかという点ですので、これだけをもって安全だと我々は確信できないと考えています。そういう試験を行うような設備等、または共同研究なりでそのようなデータを取ってくれるところはございますか。

○松下氏 今までそういった試験を提出したことがございませぬので、確認しないと分からないのですが、例えばマウスも同じ哺乳類ですので、そこで実際のヒトの摂取量と比べて、このマウスに高用量で投与しても影響がないということをもって、ヒトへの安全性も十分に議論できるのではないかと考えています。

○中島座長 後ほど我々で再度議論して、どのようなデータが必要か熟慮した上で、指摘事項として出させていただきますので、考慮いただければと思います。

立体構造、三次元構造とか、そういったデータは取られておりますか。

○松下氏 三次元構造であれば、恐らくデータがあろうかと思えます。

○中島座長 *Bacillus thuringiensis*のCry1、Cry2、Cry3、ああいったものとの構造機能相関性とか、そういったデータの解析などはしておられますか。

○松下氏 評価書中で引用してございまして、このタンパク質が単離された一番最初の2016年の論文で、データベースで既存のタンパク質との相同性を比較しているのですが、既存のタンパク質の相同性はBtタンパク質を含めてございませぬので、立体構造を解析した結果についても、Btタンパク質が何らかの相同性があったとは聞いておりませぬ。恐らく多少違うとは思えます。

○中島座長 この点につきまして、先生方、追加でお聞きすることはございませぬか。児玉先生、よろしいですか。

○児玉専門委員 御社ではなかったと思うのですが、昔、新規のBtタンパク質とか、新規のタンパク質の場合は、この委員会で*in vitro*の試験を要求したことがありまして、今回は胃液、腸液で、腸液のほうでやや安定なので、腸まで達してしまうと、割と安全な形でいてしまうようなデータになっていることと、作用機作は、虫の例を見ると、腸管上皮

細胞に結合して、そこで何らかの特性を示すことで虫が死ぬことになっていまして、その2点を考えると、先ほど座長からもありましたように、腸管上皮細胞というのは、入手しやすい状況になっていますので、新規のタンパク質であることを考えると、ヒト由来の腸管上皮細胞を使って、*in vitro*での結合テストとか、何らかの毒性試験みたいなものをしていただくことはできますでしょうか。

結合していなければ、それでいいと思うのですけれども、結合してしまうと、そこで考えなければいけないことになってきますが、結合していないということであれば、レセプターに相当するものはないという、サポートするデータになるかと思えますので、Btの場合はレセプターがないということをもって、我々は市民に向けて説明しているわけです。要するに哺乳類にはレセプターがありません。ですから、分解されて、タンパク質として吸収されるので、Btタンパク質は安全なのだという説明をしているわけです。

今回、レセプターに関する情報がないので、市民向けに安全かという説明するとすると、我々としては難しい状況なので、例えば*in vitro*の試験でヒトの腸管上皮細胞でつきませんでした、レセプターはないと考えられる一つの実験データがあるので、それとほかのものを組み合わせて考えると、安全だと考えましたという判断をしていますという説明が必要になるかと思っています。座長、それでよろしいですか。

○中島座長 大体そんなところですよ。

申請者の方々、よろしいでしょうか。反論等がございましたら、今のうちにお願ひします。

○松下氏 恐らく*in vitro*で試験をされたというのは、●●●Vip3Aタンパク質だったと思うのですけれども、当初のことを申し上げると、Btタンパク質の安全性が一番最初に確認されたときは、まだレセプターは同定されていなかったもので、レセプターの同定そのものが直接安全性評価に対して決定的かどうかということ、なくても頑張ればできるのではないかと思うのですが、逆に言うと、今、お出ししているデータに懸念があるということですよ、今、御指摘があったようなデータなり、新たな試験を追加しないと、今、手持ちでお出しできるデータは、ほかにはない状況です。

○中島座長 ありがとうございます。

33ページ、アレルギー評価の項目ですが、これは記述の問題なのだけれども、ヒトへの病原性と記述されておりまして、アレルギーは病原性とはまたちょっと違うので、書き方を整理していただければと思います。よろしいですか。

○松下氏 承知いたしました。

○中島座長 株をつくる時に結構手の込んだことをしておりまして、LP配列を導入して、これと入れ替えるとか、そういったことをやっています。何が言いたいかということ、今回申請されている株はファイナルで、1段階でできているわけではなくて、当然中間の株があって、それに対してさらに組換えを行う、そういう段階を踏んでいます。ですが、この申請書、特に概要のところはその辺の書き方が不完全でして、中間の中間株をつくった、そ

れはこのような組成で、こういう目的で、こうやってつくって、遺伝子の固定はこうで、このようである。これに対して次の段階の組換えを行って、このような株をつくったと書いていただかないと、そもそも何をやったのかがよく分からない。

実際、申請書、概要を読ませていただいて、非常に分かりにくかったのですが、この点については、概要は分厚くなってもよいので、きちんと書いていただきたいと思います。中間体について1段階ずつきっちり書いていただいて、それぞれについて安全性の評価ができるようにしてください。

そちらとしては、最終段階がオーケーになればよろしいのか、この株についてはそれでいいと思いますが、こういう作り方をしているところから考えますと、中間のこの株を使って別の遺伝子組換え等々を企画しているのではないかとも思うのですが、今回の最終だけでいきますと、中間は全く評価していないことになるので、次に出てきたときにも一から分厚いものをつくって、途中で不備があれば、またどうこうという、そういう話になります。最初は分厚くなってもいいので、それぞれの段階で何をやってどのような形になったか、きちんと記述していただきたいと思うのですが、それはお願いできますか。

○松下氏 今、御説明の途中にあった、中間段階を今後のイベントを作製するときに再利用するのではないかということなのですけれども、確かにそのような計画はあったのですが、組換え体を検出するときに、通常、ゲノム等の導入遺伝子の接合部分を検出していると思うのですが、このLP配列を再利用してしまうと、ゲノムとの接合部分が変わらなくなってしまいますので、検出上問題があるろうということで、当初のアイデアとしてはそういう考えもあったのですが、このLP配列を再利用して新しいものをつくることはないだろうと考えています。同じような方法でつくることがあったとしても、同じLP配列ではないと考えております。

記載の部分ですけれども、1段階目の形質転換が大分簡素になってしまっていて、その部分が分かりにくいというお話だったのですが、私どもの意図としては、1段階目があると記載が複雑になってしまうので、その部分の概要だけを要旨に記載させていただきました。とはいえ、詳細は提出すべきだと思いますので、添付資料という形でつけさせていただいたということなのですけれども、例えば模式図のような形で分かりやすく書いた、日本語の形質転換のサマリーのようなものを添付書としてつける形では駄目でしょうか。

○中島座長 この概要だけを読んだら、何を書いてあるのか分からないのが感想です。なので、1段階ごとに、これをやって、こういうものをつくって、こういう組成であることを確認した、次にこれをやって、こういうものをつくって、最終段階としてこれを使ってこういう形になった。それぞれの段階でどのような遺伝子組成になっていたのかを明らかにして、最終のものを証明するデータ、SbSのデータなり何なりは、最終のものだけでもいいけれども、途中の経過説明はきっちりしていただかないと、途中が分からないものはいいでしょう、見たかったら詳細な説明があるから、そちらを勝手に見なさないと言われると、それはどうなのかというのが、感想です。分かりましたか。

○松下氏 承知いたしました。

○中島座長 SbSで分析して、次世代シーケンサーの技術を融合させるというのは、最新の方法だと思います。ですけれども、解析方法としては新しい方法ですので、これがどの程度の信頼性を持つものなのか。ベースのところは次世代シーケンサーでどの程度のデータを取ったかとか、継ぎ目なり何なりのところはあると思うのですが、今回は100以上確保しているということです。

申し上げたいことは、SbSは新しい技術でありますので、今回取ったデータ、データの精度として、これが信頼できるものであるということを示す、その根拠になるような論文なり、そういう資料を用意することはできますでしょうか。

○松下氏 先日、御審議いただいた弊社の案件と同様の御指摘を受けまして、そちらと併せて対応させていただければと思います。

○中島座長 よろしくお願いたします。

100以上ということなので、信頼してよろしいと思うのですけれども、できれば査読のある論文なり何なりで、そういう精度でやっているの、信頼のおけるデータであることを示していただければと思います。

○松下氏 はい。

○中島座長 あと、先生方、せっかくのお忙しいところ来ていただいておりますので、御議論をいただければと思います。御指摘はございますでしょうか。小関先生、お願いします。

○小関専門委員 先ほどのお話のとくに、LP配列の入った中間の母本です。これは先ほど別の先生から御指摘されたのですけれども、私が代わりに言ってしまって、僭越で申し訳ないのですが、入った中間系統の名前を明確にさせていただきたいということなのです。

そういうのは、先ほどお話があったように、これを使ってほかの遺伝子をここに入れるようなことは、先ほどは検知の上でされないとおっしゃられたのですけれども、もう一つ別の考え方があって、検知よりもここの細工です。トウモロコシのゲノムは大きくて、入る場所によって、要するに遺伝子の発現が抑えられてしまいます。今、ここの中間系統にある名前かもしれません。

その名前の中間系統のLPのところは、cryptic にならない active site であるというメリットがあったとしたら、別の遺伝子をここに入れましょう、検知はボーダーのところではなくて、入っている領域と別の遺伝子を入れたのだったら、そこのど真ん中辺りからつくれば検知はできる。それで十分でしょうということがあれば、考え方によっては、今言ったメリットを取る可能性、すなわち active な site に入ったものを用いる。それというのは、組換え体をつくったときに選抜する個体数を下げられるメリットが商業的にも大きいです。先ほどのお話ですけれども、そういうことは、一切御社は考えないという宣言でよろしいのですか。

○松下氏 全く100%ないと私から申し上げることはできないのですけれども、現段階で

聞いていることとしては、先ほど申し上げた検出の問題があるので、今後はこれを再利用することはないと聞いております。

ただ、導入した部分自体は、弊社のこれまでの試験で内在の遺伝子が存在しないことが分かっているところなのです。

○小関専門委員 内在遺伝子に関係ないです。私が言っているのは、**active site** か、**cryptic site** かということは、トウモロコシの場合、非常に大きいのではないのですかということを知っているのです。そこはどうなのですか。

○松下氏 申し訳ございません。そちらについては、私の知見がございません。

○小関専門委員 そこは確認していただいたほうがいいかもしれません。遺伝子がどこに入ったか。潰していないという問題よりも、その部分のゲノムの中の位置効果です。その辺の情報を教えてください。

○松下氏 申し訳ございません。そちらについては、私の知見がございません。

○小関専門委員 そこは確認していただいたほうがいいかもしれません。遺伝子がどこに入ったか。潰していないという問題よりも、その部分のゲノムの中の位置効果です。その辺の情報を教えてください。

以上です。

○松下氏 1点確認なのですけれども、位置効果の確認というのは、具体的にはどのようなことを確認すればよろしいのでしょうか。

○小関専門委員 位置効果 (**position effect**) についてどう考えているのかということを知りたいです。

以上です。

○松下氏 承知いたしました。

○中島座長 いずれにしろ、一段階ずつ株の名前をつけて、分かりやすく整理していただければ、そうしたら、次から全く一から同じような手法を使って違う組換え体をつくるときにも、審査の方法とか、申請書の作り方等のパターンができて、次から非常にスムーズになりますので、お手数ですが、よろしく願いいたします。よろしいですか。

あと、**RNAi**について、小野先生からの御質問でしょうか。

○小野専門委員 **DvSSJI** 遺伝子の部分配列を用いた**RNAi**を用いているということなのですけれども、これらは哺乳類においては機能しないことを確認されているということですのでよろしいですか。

○松下氏 ヒトと動物の数種類のトランスクリプトームを対象に、**21塩基**で一致する配列はないことを確認しています。

○小野専門委員 それというのは、**21塩基**の**100%**マッチであって、ミスマッチを考慮する必要はないですか。

○松下氏 ヒトに対する影響については、ミスマッチ以外にそもそも小さい**RNA**がターゲットとする細胞に届くかどうかということも含めて議論させていただいて、結果として安

全性上は問題ないだろうということを、評価書中では議論させていただいております。

○小野専門委員 それで小さなRNAが細胞の届かないのではないかということなのですが、恐らく裸のRNAそのものだと届かないのかもしれないのですが、例えば細胞外小胞と言われるようなものに封入されている場合の検討などはされていますでしょうか。

○松下氏 弊社で試験的な検討はしておりません。申し訳ございません。

○小野専門委員 了解しました。

もしかすると、その辺も確認をお願いするかもしれないので、よろしく申し上げます。

○松下氏 承知いたしました。

○中島座長 先生方、ほかにございますか。児玉先生、どうぞ。

○児玉専門委員 今回、*DvSSJ1*の標的のRNAとIPD072Aaという殺虫タンパク質を使っているのですが、どちらも同じ中腸上皮細胞を一応標的にすることで、たしかデータはお持ちだと思うのですが、これがインディペンデントに作用するのか、同じ細胞を標的にするので、効果が増大しますとか、そのような知見はお持ちでしょうか。

○松下氏 ウェスタンコーンルートワームを対象に、それぞれ別個で与えた場合と一緒の与えた場合の濃度を変えて試験を行いまして、いわゆる相乗効果はないことを確認しております。

○児玉専門委員 それは添付資料か何かに入っていますか。

○松下氏 今回は添付しておりません。

○児玉専門委員 一応後代交配種のことを考えると、相互作用するかどうかというのは、タンパク同種が直接相互作用することも重要なのですが、同じ細胞を狙っている場合に効果が増大するとか、そういうことがあると困りますので、一応その点はどこかに短くていいので、記述を足していただければと思います。

以上です。

○松下氏 承知いたしました。

○中島座長 ほかの先生方はよろしいでしょうか。

それでは、お疲れさまでした。いろいろ申し上げましたけれども、御対応をお願いいたします。

○松下氏 ありがとうございます。失礼いたします。

○高橋氏 ありがとうございます。失礼いたします。

○田畑氏 失礼いたします。

(コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社関係者退室)

○中島座長 それでは、議論を再開したいと思います。

今回の指摘事項は全部指摘できたかどうか分からないところもあるのですが、1回で済まなくても仕方がない状況でもありますので、ぜひ付け加えておきたいことなどはございますでしょうか。

それでは、指摘事項につきましては、それぞれの先生方と私と事務局で確認、検討して、指摘事項は申請者に送りまして、厚生労働省を通じて申請するという事で進めていきたいと思っております。ありがとうございました。

議題（1）はこれで終わりでいいのでしょうか。

議題（2）その他ですが、事務局からございますでしょうか。

○松原課長補佐 特にございません。

○中島座長 ありがとうございました。

本日の議題については、これで終了でございます。

もっと早く終わるか期待されている先生方もいらっしゃるかもしれませんが、その分、いろいろ議論ができてよかったと思っております。

それでは、以上をもちまして、第209回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。お疲れさまでした。