

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第213回) 議事録

1. 日時 令和3年7月21日(水) 14:00~16:53
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
 - ・収量増加及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ(DP202216)(食品・飼料)
 - ・JPAo007株を利用して生産されたカルボキシペプチダーゼ
 - ・JPAo008株を利用して生産されたアミノペプチダーゼ
 - (2) その他
4. 出席者
(専門委員)
中島座長、安達専門委員、飯島専門委員、小関専門委員、小野専門委員、
児玉専門委員、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)
山本委員長、川西委員、脇委員、松永委員
(事務局)
鋤柄事務局長、中事務局次長、石岡評価第二課長、蛭田評価情報分析官、
松原課長補佐、奥藤評価専門官、山口係長、松井技術参与、松田技術参与
5. 配布資料
資料 食品健康影響評価に関する資料
 - ①収量増加及び除草剤グルホシネート体制トウモロコシ(DP202216)(食品)
 - ②収量増加及び除草剤グルホシネート体制トウモロコシ(DP202216)(飼料)
 - ③JPAo007株を利用して生産されたカルボキシペプチダーゼ
 - ④JPAo008株を利用して生産されたアミノペプチダーゼ

6. 議事内容

○中島座長 ただいまから第213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」に基づきまし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」に基づきまして、ウェブ会議システムを用いて行います。

本日、所用により、岡田専門委員、橘田専門委員、近藤専門委員、手島専門委員が御欠席です。

食品安全委員会の委員におかれましては、7月1日付で委員の改選が行われたと聞いておりますので、事務局のほうから御紹介いただければと思います。

○松原課長補佐 先般、食品安全委員会の委員の改選がございましたので、御報告いたします。

山本委員を除きました6名の委員については、6月末で3年間の任期を満了し、7月1日付で新たに浅野委員、脇委員、松永委員が任命され、川西委員、香西委員、吉田委員が再任されました。

また、委員長には山本委員、委員長代理には浅野委員、川西委員、脇委員が選出されました。

川西委員は本専門調査会の主担当となります。

本日、食品安全委員会からは4名の委員、山本委員長、川西委員、脇委員、松永委員が出席されております。

このたび、委員長に就任されました山本委員長でございます。

よろしく願いいたします。

○山本委員長 皆様、こんにちは。

7月1日付で前任の佐藤先生から委員長を引き継ぎましたというか、皆さんから選出されてきて、委員長に就任いたしました。

ここの専門調査会とは今までほとんどお付き合いがなかったのですが、私自身は微生物・ウイルスとかプリオンで担当してきました。

皆様方の活発な御議論をこれからも続けていただきますようお願いして、私の挨拶にしたいと思います。どうぞよろしく願いいたします。

○松原課長補佐 続きまして、川西委員でございます。

よろしく願いいたします。

○川西委員 川西でございます。

3年間この主担当をさせていただいて、また引き続き。ただ、最後のほう、少しお休みさせていただいたりして、大変御迷惑をおかけしました。これからそのようなことがないようにさせていただきますので、引き続きよろしく願いします。

○松原課長補佐 続きまして、脇委員でございます。

○脇委員 新委員の脇昌子と申します。よろしくお願いいたします。

私は代謝内分泌、循環器等を専門としていました内科医でございます。食品安全委員会では新開発食品専門調査会で委員を務めてまいりました。

今後よろしくお願いいたします。

○松原課長補佐 続きまして、松永委員でございます。

よろしくお願いいたします。

○松永委員 松永和紀と申します。

科学ジャーナリストをしております。非常勤でリスクコミュニケーションを担当いたします。

遺伝子組換え技術については、一般の方の誤解というのは大変激しいものがあります。専門調査会、ここでの審議をしっかりとお伝えしまして、双方向のコミュニケーションを活発化させて、一般の方の理解を深めていきたいと思っておりますので、どうぞよろしくお願いいたします。ありがとうございます。

○松原課長補佐 また、事務局の人事異動がございましたので、御報告いたします。

事務局長であった小川が異動しまして、7月1日付で後任として鋤柄が着任しております。

○鋤柄事務局長 事務局の鋤柄でございます。

先生方には、引き続きになりますが、よろしくお願いいたします。

○松原課長補佐 また、鋤柄の後任の事務局次長といたしまして、中が着任しております。よろしくお願いいたします。

○中事務局次長 皆さん、どうも初めまして。中と申します。

事務局の円滑な運営管理に邁進してまいりたいと思っております。どうぞよろしくお願いいたします。

○松原課長補佐 最後に、評価専門官といたしまして、奥藤が着任しております。

○奥藤評価専門官 7月1日付で評価専門官を拝命いたしました奥藤と申します。どうぞよろしくお願いいたします。

○松原課長補佐 なお、山本委員長はほかの業務のため、ここで退席いたします。ありがとうございました。

(山本委員長退室)

○中島座長 ありがとうございました。

それでは、本日の議題ですが、継続品目であります収量増加及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ(DP202216)、及び新規品目であるJPAo007株を利用して生産されたカルボキシペプチダーゼ、JPAo008株を利用して生産されたアミノペプチダーゼの安全性についての審議です。

お手元の資料を確認いたします。事務局のほうからお願いいたします。

○松原課長補佐 それでは、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及び机上配布資

料となっております。

また、本日は、JPAo007株を利用して生産されたカルボキシペプチダーゼ及びJPAo008株を利用して生産されたアミノペプチダーゼの申請者であるノボザイムズジャパン株式会社の方をお呼びしております。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。

以上でございます。

○中島座長 それでは、事務局のほうから「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御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い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 既に御提出いただいております確認書につきまして、その後、相違等ございませんでしょうか。ありがとうございます。

それでは、例によりまして、審議に入る前にウェブ会議における注意事項がありますので、事務局のほうから説明をお願いいたします。

○松原課長補佐 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お願いいたします。

2点目、発言の際は、こちらの赤い挙手のカードを提示してください。また、ウェブ会議画面の挙手ボタンを押してください。座長よりお呼びいたしますので、マイクをオンにしてお名前を発言していただいた上、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によりお知らせください。万が一、全く入室ができなくなった場合は、事務局までお電話をください。

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、事前にお配りさせていただきましたこちらの青い同意カードを挙げていただく、もしくは手で丸をつくるなど、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。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、継続品目であります収量増加及び除草剤グルホシネート体制トウモロコシについて審議を行いたいと思います。本品目は令和3年、今年2月の専門調査会において審議を行ったものです。

では、事務局から説明をお願いいたします。

○山口係長 それでは、御説明させていただきます。

本品目につきましては、今年2月の専門調査会で御審議いただいた際に、申請者に対し先生方から幾つか御質問や指摘をいただいたところですが、今般、その内容を踏まえまして申請資料の修正がなされておりますので、該当部分について御説明いたします。

それでは、ピンクのファイルを御用意ください。

回答書になりますけれども、まず3ページをお願いいたします。

指摘事項1としまして、*zmm28*遺伝子導入による収量増加の作用機作について、論文に基づき、*zmm28*遺伝子の役割、その作用メカニズムについて説明を追記することという内容でございます。

回答としては、論文の内容を記載しておりますが、DP202216では対照のトウモロコシと比較しまして、2葉期から7葉期の各生育ステージにおける草丈が有意に高くなっていること、葉の乾燥重量や葉の面積が増加していること、光合成速度（二酸化炭素交換速度、光合成電子伝達速度）が顕著に増加していること、光合成に関与する酵素活性について比較を行い、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ、リンゴ酸脱水素酵素及びピルビン酸リン酸ジキナーゼの酵素活性が統計学的に有意に増加していることを記載しております。

次の4ページに行きまして、こちらでは窒素吸収量や窒素同化量についても増加が見られたこと、さらに窒素代謝酵素である硝酸レダクターゼの活性についても顕著な増加が見られたことが記載されております。

これらの表現型についての作用機序の特徴づけに加えまして、ZMM28タンパク質の分子的な作用機序の評価を行っており、ZMM28タンパク質と相互作用する可能性のあるタンパク質として、MADSボックスSEPのメンバー及びAGのクレードに属するタンパク質が同定されました。これらのタンパク質はほかのタンパク質と相互作用し、四量体を形成することが知られており、また、これらのタンパク質は相互作用することによりDNA結合及び標的遺伝子の転写が促進されることから、網羅的な遺伝子発現解析及びMADSボックスタンパク質のDNA結合認識配列でありますCArG結合モチーフの同定により、DP202216におけるZMM28タンパク質の直接的な標的遺伝子を探索しております。RNAシーケンス解析によりまして、DP202216の葉において発現量の変化が見られた遺伝子を調査しましたところ、発現増加している遺伝子が192個、発現減少している遺伝子が64個同定されました。

次に、これらの転写産物について、遺伝子オントロジーのエンリッチメント解析の結果から、ZMM28タンパク質の標的として、光合成における集光経路、前駆体代謝物のエネ

ルギーの生成、炭水化物の代謝プロセスに関与する遺伝子が同定され、これらの結果はDP202216に観測された表現型と一致しており、光合成及び炭素同化に関連した遺伝子の発現が収量増加の潜在能力の強化に関与していることが示唆されたとしております。

続きまして、6ページをお願いいたします。

指摘事項2です。Southern by Sequenceについて、従来法との比較を行い、精度が十分である解析手法であることを説明することという内容でございます。

回答としましては、SbS分析は従来用いられてきましたサザンブロット法の解析と同等の結果が得られたということでございます。また、導入用プラスミドの外骨格領域の有無についても、SbS分析は従来用いられてきましたサザンブロット法の解析と同等の結果が得られ、どちらの手法においても外骨格領域の長さが異なる複数の系統で同じ外骨格領域の挿入が検出されました。

さらに、小さなDNA断片の検出感度について解析をした結果、SbS分析では35bp以上のDNA断片を検出し、サザンブロット法では40bp以上のDNA断片が検出され、SbS分析は従来用いられてきたサザンブロット法の解析と同等の結果が得られております。

このことから、DP202216の挿入遺伝子のコピー数及び完全性、並びに導入用プラスミドの外骨格領域の導入の有無を確認する分析手法として、SbS分析は従来用いられてきましたサザンブロット法を用いた解析と同等の結果が得られると考えられるということでございます。

また、DP202216にて実施しましたSbS分析では、6個体それぞれの組換え体における平均カバレッジ深度が1657から3408の範囲であったことから十分な信頼性を確保していると考えられるとしております。なお、カバレッジの値が35以下の場合は、分析のバックグラウンドとみなしております。

続きまして、指摘事項3でございます。8ページをお願いします。

指摘内容としましては、第2パラグラフに表6の結果も踏まえ、導入された遺伝子に由来するZMM28タンパク質の発現量と内在性のものとの比較について、DP202216と対照トウモロコシのおのおのにおけるZMM28タンパク質の定量方法及びその結果に基づいて説明することというものでございます。

回答としましては、DP202216に導入された*zmm28*遺伝子は、トウモロコシ由来の翻訳開始因子*gos2*遺伝子のプロモーターによって制御されており、このプロモーターにより中程度の構成的発現を誘導します。内在性ZMM28タンパク質と導入遺伝子から産生されるタンパク質は同一であり、ELISA法やウェスタンブロット分析で区別することはできないことから、DP202216と対照トウモロコシにおけるタンパク質量を比較することにより、導入遺伝子から産生されるZMM28タンパク質に起因するDP202216中の見かけ上の増加量を推定することができるということでございます。

測定した組織の中には、全てのサンプルが定量限界値未満を示したケースもあり、ZMM28タンパク質の増加量を倍数で示し比較することが困難であることから、代表例と

しましてタンパク質産生レベルの平均値の差が見かけ上最大であった絹糸抽出期の葉に関する記述を今回追記してきております。

続きまして指摘事項4、9ページをお願いいたします。

ZMM28タンパク質の物理化学的処理試験を省略可能な理由として、内在性のタンパク質と導入遺伝子に由来する産物が同一であることを記載している。このことを示す根拠はアミノ酸配列の一致のみしか示されていないため、トウモロコシDP202216と対照トウモロコシのウェスタンブロット分析の画像も添付資料に示し、分子量と電気泳動のパターンの一致を示すこと、及びその旨を要旨にも記載すること。加えて、発現量についての考察も併せて記載することというものでございます。

回答としては、ZMM28タンパク質の同等性及び発現量を示す追加情報として、ウェスタンブロット分析の結果を追加してきております。9葉期の葉におけるDP202216由来のZMM28タンパク質は、対照の非組換えトウモロコシと同じ分子量の位置で検出され、発現レベルはDP202216において非組換えトウモロコシよりも高かった。一方、完熟期の種子においては、DP202216のみでZMM28タンパク質の発現が認められ、対照の非組換えトウモロコシではZMM28タンパク質の発現は認められなかった。なお、完熟期の種子において、約45 kDaの位置に非特異的なバンドがDP202216及び対照の非組換えトウモロコシの両方で検出されたが、DP202216に特異的なバンドは検出されなかったということでございます。

続きまして、指摘事項5、11ページをお願いいたします。

サザンブロット分析に用いた*zmm28*プローブは内在性の遺伝子にもハイブリダイズすることから、要旨に各分析結果を考察し、詳細に説明することというものでございます。

回答としまして、*zmm28*遺伝子はトウモロコシゲノムに由来する遺伝子であるため、*zmm28*プローブは内在性遺伝子やトウモロコシゲノムにおける相同配列を持つほかの遺伝子とハイブリダイズする可能性があることから、DP202216と非組換えトウモロコシの全てのサンプルにおいて複数のハイブリダイゼーションが検出されることが予想されております。内在性の相同配列に由来するバンドは、申請資料の後半の36ページの表10にアスタリスク及び網かけで示しております。

Nco I で消化しましたゲノムDNAに*zmm28*プローブをハイブリダイゼーションした結果、DP202216の全5世代で約10,000 bpの位置に一貫したバンドが観察され、また、挿入遺伝子由来のバンドに加えまして、DP202216と非組換えトウモロコシでは複数の内在性の相同配列に由来するバンドが観察されました。これらのバンドはそれぞれの遺伝的背景の非組換えトウモロコシで見られたバンドと同じでありまして、トウモロコシゲノムの内在性配列にプローブがハイブリダイゼーションしたものと考えられます。

これらの結果により、DP202216の挿入DNAにおける*zmm28*遺伝子を含む5'側の配列が5世代にわたって安定して遺伝していることが確認されたということでございます。

続いて指摘事項6、13ページをお願いいたします。

今回行った遺伝子発現解析により、ZMM28タンパク質の標的として光合成における集光経路、前駆体代謝物とエネルギー生成、炭水化物の代謝プロセスに関する遺伝子が同定されており、これらの遺伝子発現がほかの代謝系に及ぼす影響について考察を含め要旨中で詳細に説明することという内容でございます。

回答としまして、ZMM28タンパク質の標的として同定された光合成における集光経路、前駆体代謝物とエネルギーの生成、炭水化物の代謝プロセスに関する遺伝子の発現が宿主の農業的特性に関わる代謝系に影響し意図しない変化が生じている可能性を考察するために、2017年に米国及びカナダの12か所のほ場で実施した農業的特性の調査結果を追加してきております。本調査では、草丈や穀粒数などの形態的特徴に加え、開花や成熟までの日数、花粉の生存率などを調査しており、この結果、DP202216の特性は、対照の非組換え系統や非組換え商業トウモロコシと同等であることが示されました。このことから、DP202216においてZMM28タンパク質の標的として同定された遺伝子の発現により、宿主の代謝経路にトウモロコシの種としての範囲を超えた変化が生じる可能性は低いと考えたということでございます。

続きまして、15ページをお願いいたします。

こちらは確認事項1とありまして、トウモロコシの全世界における生産高、利用法を記載することということで、点線の部分が今回追加されてきております。

続きまして、16ページですが、諸外国における状況としまして、米国とオーストラリア、ニュージーランドについて、申請／承認年月について、点線部を引く形で今回最新の情報に修正してきております。

回答書の説明は以上でございます。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項を順にいきたいと思えます。

指摘事項1、*zmm28*遺伝子導入による*zmm28*遺伝子の役割、作用メカニズムについて詳細な説明を追記していただきたいという御指摘でございます。

小関先生、児玉先生、山川先生の御指摘ですが、まず小関先生、いかがでしょうか。

○小関専門委員 私はもうこれでいいかなと思います。きちんと書いていただければ、論文を読まなくても一般にこの申請書を読んだ方にも分かるという形になっているので、私はこれでいいのではないかなと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。実は私もそんなふうに感じていました。

児玉先生、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 このぐらい書いていただければ十分かと思えます。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

山川先生、いかがでしょうか。

○山川専門委員 分かりやすく書いてあるので、これで結構だと思います。

以上です。

○中島座長 ほかの先生方、この点につきましてよろしいでしょうか。

よろしいようです。ありがとうございます。

では、次に、要旨の20ページにあったコピー数及び挿入近傍配列に関する事項で、**Southern by Sequence**という新しい手法について、従来法との比較を用いて、精度が十分である解析方法だということをきちんと説明していただきたいという実にごもったもな指摘でございました。

指摘は児玉先生だったと思いますが、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 ここに書いてありますように、検出の感度とかどのぐらいの長さまで検出できるかとか、一通りきちんと記述していただいていますので、従来法とか網羅的な次世代シーケンスと比べて特段何か漏らしているとかということはないと考えられるかと思えます。

通常、網羅的にシーケンスすると冗長度は大体70から150ぐらいで出てくるのですが、この場合は、要するにアニーリングしたものを濃縮した形でシーケンスしていますので、冗長度が濃縮している分だけ大きく出てくるというのが特徴で、その意味では高感度かなと思います。

バックグラウンドについて、要するに、シーケンスデータは出ているので、これは何ですかというのは別件で聞いたのですが、そうすると、答えは、環境微生物に由来すると。トウモロコシは野外で育てたものをサンプリングすると、どうしても微生物等のゲノムがコンタミしてきますので、それに由来するものがバックグラウンドとして出てくるのだというような回答を別件でいただいていますので、私はこの内容でよろしいかと思えます。ただ、冗長度とバックグラウンドについては、申請書本体のほうに少し記載を足していただきたいなと思っております。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

この部分だけですので、デプスだけでいうと1657から3408というすごい数字になっておりますので、その分だけ精度が確保できるということのようで、バックグラウンドについて私もちょっとだけ気になっていたのですが、トウモロコシではありがちということで、私もこれならよろしいかと思えます。

この際ですので、今後**Southern by Sequence**という方法でデータが提出されてきたときに、どの辺のポイントを確認しておけばということをご議論しておく、次から楽になるように思います。この場合は、デプスを見ておけば見かけ上になりますので、通常のゲノム全体のデプスに比べてまともに比べられる数値ではないのですが、どの辺をチェックすれば**Southern by Sequence**の精度としてはまあまあ確保されていると考えられるのでしょうか。

児玉先生、何か御存じだったら教えていただけるとありがたいです。

○児玉専門委員 私もこれをやったことはないのですが、確定したことは言えないのですが、方法論からして、ある特定の遺伝子配列を持っているものについて濃縮してシーケンシングするという形になっていきますので、その濃縮がちゃんとできていますよということを確認できることが大事かなと思います。ですので、この場合だと、バックグラウンドとターゲットの部分の比率、今回、35と片方1,000とか出てくるわけですが、それは極端な話、バックグラウンドが300で読んだのが500ですとなると、果たしてそれは実験としてうまくいっているのですかみたいな形で理解することができるのではないかなと思うので、その点辺りを確認して、そこのバックグラウンドとの差が十分大きければ、実験としてはきちんとできているのではないかなということ判断して構わないのではないかなと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

原理からいって、バックグラウンドと標的の差がきっちりついていて、標的の部分について十分な精度で見られていると評価できればいいかなとも思いますけれども、先生方、この点につきましてどなたか御意見はございますでしょうか。

では、まずこの指摘事項2の回答につきましてはこれでよろしいでしょうか。

ありがとうございます。

では、今後、Southern by Sequenceのデータが出てきたときには、濃縮具合とバックグラウンドとの差の辺りをチェックするというので、こういったデータも今後認めていく方向で審議していきたいと思います。よろしいでしょうか。

ありがとうございます。

それでは、指摘事項3でございます。遺伝子産物の組換え体内における発現部位等に関する事項で、導入された遺伝子に由来するZMM28タンパク質の発現量と内在性のものと比較について、この組換え体と対照トウモロコシのおのおのにおけるZMM28タンパク質の定量方法及びその結果に基づいて詳細に説明することということで、御指摘は手島先生なのですが、本日は欠席です。

事務局、手島先生から何かコメントは届いておりますか。

○山口係長 特にこの件について手島先生からコメントはいただいておりません。

○中島座長 ありがとうございます。

ということで、私も見させていただいたのですが、回答としては、割とシンプルに回答されておりますけれども、聞きたいことはおおむねこんなところかなと思いますので、私はこれくらいでいいのではないかなと思ったのですが、先生方、いかがでしょうか。よろしいですか。

ありがとうございます。

それでは、指摘事項4でございます。これも実は手島先生の御指摘でして、ZMM28タン

パク質について、通常、外来タンパク質について行われる物理化学的処理試験を行っておられないのですが、このZMM28タンパク質については内在性であるということで物理化学的試験を省略しております。その根拠について、アミノ酸配列の一部しか示されていないということで、組換え体と対照トウモロコシのウェスタンブロットの画像等も添付資料に示して、それで分子量、電気泳動のパターン等で組換え体のZMM28タンパク質は間違いなく同じものであるよということをきっちり保証してくださいという指摘でした。

事務局、手島先生からコメントは届いておりますか。

○山口係長 本件につきましては、先ほどと同様なのですが、特段手島先生からコメントはいただいております。

○中島座長 ありがとうございます。

本件につきまして、10ページにウェスタンの結果が添付されておりますが、きれいなデータでばっちりだと思います。

私はそう思ってここは納得したのですが、先生方、いかがでしょうか。よろしいでしょうか。

どうぞ。

○小関専門委員 あまりにもウェスタンがきれい過ぎて、これでうーんと思ったところが1つあって、これでいくと、非組換えトウモロコシというのは宿主のデントだと思うのです。これは完熟期、すなわち収穫期で、食用として取るときのもものはバンドが全く、要するに、ZMM28タンパク質に関してはないという状態で、これに対して、組換えの完熟期のものではこれだけ含まれているという状態で、これだけぱっと見ると、何があるかという、これまでヒトは、食品用のデントがあるとは思うのですけれども、グリッツとして、コーンスナック菓子とか何とかで食べてきたものというのはこの3番のレーンのもので、ZMM28タンパク質が全くない状態で、これに対して組換え体のものをグリッツにしたら2番のZMM28タンパク質がいっぱい含まれている状態で、これで見えてしまうようになるのです。

要旨の32ページを見ると、これはスイートコーンでもできていると書いてあるのですけれども、私もふっと見ていてあれっと思ったのですが、乳熟期と書いてあったので、スイートコーンの乳熟期といたら非常に柔らかい時期、私も今年もトウモロコシを育てたから分かるのですけれども、この時期はまだ食べないのです。むしろもっと後ろのほうにいったって、黄色くデンプンや何かができたところが多分食べる時期のはずで、だから、スイートコーンの乳熟期といたら割と若い時期の値なので、これと完熟期、デントのDP202216の値と比較して、スイートの食用として適する前の若いものの値のほうが高いですというロジックというのは、何だかごまかされているような書き方な気がしてしまって、ここはより正確に書いてもらったほうがいいと思うのです。

32ページの表9、これはDP202216に対して、比較対照として本来であれば非組換えの完熟期の値が出てくるはずですが。スイートの乳熟期でこれだけZMM28タンパク質が出てく

るというのはそうだと思うのですが、これはいわゆる食用になるぐらいまでもっと熟したときにも残っているのかもしれないし、あるいは分解されているのかもしれない。逆に言うと、DP202216の組換えのデントのときに、完熟期ではこの値だけれども、同じ乳熟期だったら値はどうなるのと疑問に思ってしまった、だから、逆にこのウェスタンを出されてうーんと思って、何だかごまかされているような気がして、ごく単純に考えれば、非組換え体の宿主デントのコーングリッツで作って食べてきたコーンスナック菓子には入っていなかったものを、DP202216のコーングリッツから作ったコーンスターチをヒトは初めて大量に食べることになると言われてしまったらどう答えるのですかと言いたくなってしまうのですけれども、その辺はどうでしょうか。

以上です。

○中島座長 32ページの表9、商用スイートコーンと今回の組換え体DP202216株について、そもそも収穫期が違うじゃないかということですよ。

○小関専門委員 そのとおりです。収穫期が違うというのは、要するに、スイートの乳熟期といったら多分まだ食用に適していない。私だったらまだまだだねと、収穫する前の雌しべの先がまだ緑色をしている状態、茶色くなっていない状態のものではないかなと思うのです。そうすると、これは比較対象として本当に正しいのかとすごく思ってしまったのです。

以上です。

○中島座長 とうか、そもそもこの表9で組換え体と非組換え体の比較対照を1個の表にして出すにしても、同じ時期に収穫していないもので意味があるのかという感じでよろしいですか。

○小関専門委員 そういう意味でいくと、このウェスタンの図を見てしまうともろそうですよね。ウェスタンの3で完熟期の非組換えと書いてあるのは、多分デントだと思うのです。宿主だと思うのです。これはないじゃないですか。

○中島座長 なので、31ページのウェスタンの絵だと、これはこれで両方とも完熟期で出ている、これはデータとしてはきっちり通常に受け入れられるものだと思います。それに対して、表9のほうはサンプルを取った時期が違うので、これをもって商用スイートコーンでもZMM28タンパク質は同じように摂取しているから問題ないというのは、そこはロジックをねじ曲げていないかということですよ。

○小関専門委員 そういうことです。

ウェスタンはすごくきれいなのです。ですから、これでいってしまったら、非組換えの完熟期はほぼゼロで、組換えのものはこれだけバンドが出てくるということで、それはそれでそういうものですよとはっきりデータとして出ているのだから書いてもらって、ただ、それでも問題ないですよと言ってもらわないとならない。しかも、これは一番問題になったのは、手島先生が出した物理化学的処理に対する感受性というところでそれをやっていないというのが、そのエクスキューズとしてもともと入っているからと言うのですけれど

ども、もともと入っている、スイートコーンで入っている、私たちは食べているというのであれば、食用適期のスイートコーンの値がどのぐらいで、DP202216のものが幾つでという深い議論をしてもらわないと、それはごまかしになるのではないですかということの意味しています。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

何でこの表9が乳熟期と完熟期になっているのかなって、前の31ページの下の方を見ますと、「食用に用いられる乳熟期の商用スイートコーン種で生産されたZMM28タンパク質は」と書いてあって、ということは、この全体の書きぶりからいうと、デントコーンは完全に完熟して身がかちかちになったもののことで、普通に我々が食べるようなまだ柔らかいトウモロコシの状態を彼らの感覚では乳熟期と言っているようにも読めるのですけれども、どうなのでしょうね。

飯島先生、お願いします。

○飯島専門委員 一般に缶詰で食べられるスイートコーンは、完熟にしない状態で缶詰にするのです。なので、缶詰としての食用を想定して乳熟期とここに書かれているのではないかなと私は思ったのです。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

なので、トウモロコシのどういう時期のことを乳熟期と言って、どういう時期のことを完熟期と言うのか、私もそこはちゃんと詳しくはないのですけれども、この文章を読む限りには飯島先生の御指摘のようにも読めます。

小関先生、この辺、トウモロコシってどうなのですか。

○小関専門委員 スイートを育てていると思うのですけれども、スイートは飯島先生のおっしゃるとおりでかちかちになるところまでは持っていけないで、それで収穫して缶詰に持っていくと思うのです。ただ、乳熟期と書かれると、雄しべのところは真っ茶色になる前の割と柔らかいような時期、だから、つぶすと乳のようにちゅーっと出るというぐらいの若い時期の感覚なのです。私、収穫をやっている、早く収穫して失敗するとそういう状態になってくることもあるので、だから、乳熟期というのが気にかかったので、これは食用に用いられるスイートコーンとも読めてしまったので、これは何なのだろうと疑問を持ったので、それだけ確認してもらったほうがいいと思うのです。要するに、食用として一般的に流通している、今、飯島先生がおっしゃられたようなスイートコーン缶詰の中に含まれるものがこれだと言ってくれるとはっきり明確ですよ。そこのところが何となくもやもやとしてしまったということです。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

この点なのですから、確かにスイートコーンとして人が食べるものとデントコーン

で家畜の餌にするものは成熟の度合いが違うのはそうなので、申請者が人が食べるスイートコーンの状態のことを乳熟期と言っているのかどうかという点こそが重要で、要するに、既にこれだけの量のZMM28タンパク質がスイートコーンとして人の食経験があるのかどうか確認するということが重要かと思えます。

なので、取りあえずこの乳熟期はこの本文で読めるとおりに、つまり、人はこれまでに彼らの言うところの乳熟期のレベルのZMM28タンパク質を摂取していたものとしてこの場では審議を行っておいて、彼らには別途、このスイートコーンの乳熟期というのは実際に缶詰に詰めて人が食べる状態の乳熟期のことであって、この表9にあるレベルの商用スイートコーンというのは実際に人が摂取していると推定される量なのかということの確認を取りたいと思いますが、それでよろしいでしょうか。

○小関専門委員 まさしくおっしゃられるとおりで、食用ってどのぐらい食べているということですね。食経験があるということが一番大事なので、そこを確認していただくというのが一番ポイントかと思えます。

以上です。

○中島座長 ほかの先生方、この件につきましてはただいまのような措置でよろしいでしょうか。後ほど確認を取るということで、その確認が取れるのを前提でこの後の審議を進めるということでよろしいでしょうか。

ありがとうございます。

それでは、事務局のほうからこの点について確認をお願いいたします。

今日の本調査会は、そのとおりの回答が返ってきた場合を前提に進めるということにしたいと思えます。ありがとうございます。

この件、ほかはよろしいでしょうか。よろしいですね。

それでは、最後の指摘事項6です。今回行った遺伝子発現解析でZMM28タンパク質の標的として光合成における集光経路、前駆体代謝物とエネルギーの生成、炭水化物の代謝プロセスに関する遺伝子が同定されていて、これらの遺伝子発現がほかの代謝系に及ぼす影響についての考察を含めて要旨の中で説明することという指摘です。

これは私と山川先生の指摘でございます。

栽培のデータをいろいろと付け加えていただきまして、見た感じあまり効いてような気も正直するので、本当にこういうメカニズムになっているのかと思うのですが、これについて詳しく分かりやすく説明してくれているとは思えます。

私は、効いている、効いていないはともかく、安全性を審査する上ではこのぐらいの説明をいただければよろしいかなと思ったのですけれども、山川先生、いかがでしょうか。

○山川専門委員 山川です。

このぐらい説明してあれば、やはりこれで十分だと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

この件につきまして、ほかの先生方、よろしいでしょうか。

では、このトウモロコシ全体につきまして何かございますでしょうか。

川西先生、どうぞ。

○川西委員 私、これを実際に審議したときに多分欠席させていただいていたと思いますので、教えていただきたいことがあるのですが、それでもよろしいですか。

○中島座長 どうぞ。

○川西委員 これは安全性評価ではないのかもしれないのですけれども、素朴な質問として、これは評価したものとして「収量増加及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ」という名前になっているのですけれども、収量増加のほうが、今回提出された要旨の4ページ目のデータだけを見ていると、確かにまとめのところで2014年で有意差は出ているけれども、1.5%程度収量の増加がある。有意差は出ているから、出ていないじゃないかと言うのはなかなか難しいところなのだけれども、これでこのもののプロダクトの名前に収量増加とうたうということ、これは安全性評価と違うのだというのは分かります。だけれども、トータルとして日本で収量増加とうたっていいのというのが、何となく素朴な疑問として思ったのです。その辺り、何か議論があったのかということと、こういうふうにと考えると、トウモロコシの場合はこのぐらいでも十分収量の増加と言えるんだよというようなことがあったりするならば教えていただきたいなと思いました。

ですから、今回の安全性評価とダイレクトに関係していないというのは分かっています。ただ、その辺を確認させ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。

私の記憶では、たしかそれは一度は議論になったような気がするのですが、結局のところ、我々は食って安全かどうかだけ見ればよくて、そこはいいんじゃないという結論だったように記憶しているのですが、先生方、よろしかったでしょうか。

万が一私の思い違いだった場合なのですが、それでも我々はこれを食って安全かどうかを確認するのが仕事であると割り切って考えたいと思うのですが、ここは厚生労働省ではなく食品安全委員会ですので、その手のことは付度しなくていいというお墨つきがあったはずと考えるので、たとえこれがこんな効き目の薄いものが収量増加ということで出回った場合に、そんなものを認めたのは食品安全委員会じゃないかと言われても、そこは突っぱねる覚悟でおるのですが、そういうことでよろしいでしょうか。

事務局的にもオーケーのようですので、この件についてはこれで突っ張り通したいと思うのですが、先生方、よろしいでしょうか。

○川西委員 分かりました。

私はここの主担当委員なので、何か質問が来たときに答えなくてはならないところで、個人的に言えば、私は日本としてはどうなのかなと思うのは正直な感想です。

以上です。

○中島座長　ということで、主担当としてよろしく願いいたします。

児玉先生、どうぞ。

○児玉専門委員　これはこの程度で収量増加と言えるのかということなのですが、メーカーに聞いたときがありまして、アメリカはそもそも1農家当たりの作付面積がすごく大きいので、このぐらいの収量増加でも農家さんにすると実質的なところに入るお金はかなり増えるというのが一つ。

あと、農業形式上、例えば30%収量増加になるというのは、30%という数字がいいのかどうか分かりませんが、あまりにも大きな収量増加というのは実は全然望まれていなくて、なぜかという、アメリカとかは全部機械で収穫していくので、今までの品種と比べてすごく大きな違いが農業形質に出てくると機械が対応できないらしいのです。だから、そこら辺の農業形質はそんなに変えないけれども、少し収量が増えるというのをメーカーは意図してつくっているという説明を聞いたことがあって、そこを大きく変えてしまうと、機械から何から全部変えていかなければいけないのだという話を聞いたことがあります。

補足になるかどうか分かりませんが、以上です。

○中島座長　ありがとうございました。勉強になりました。そういう事情もあつたりするのでですね。

川西先生、よろしいでしょうか。

○川西委員　私がそういう説明をするとまた怒られそうですが、それはそれとして、分からないわけではない説明だけれども、誰でも納得する説明ではないなという気はしましたけれども、その辺は確かに微妙な部分の収量増加であると思いますので、大体こういう議論をしたということにしておきたいと思います。ありがとうございます。

○中島座長　ありがとうございました。

誰のために開発しているかといえば、消費者のためというよりは生産者のためということを見ると、そんな事情があるのかなという気がします。

実は、先ほど私の不手際で指摘事項5について議論するのを飛ばしておりました。要旨の31ページ、組換え体が導入された遺伝子の安定性に関する事項で、サザンブロット分析に用いた *zmm28* プローブは内在性の遺伝子にもハイブリダイズするということから、要旨にも分析の結果を考察して詳細に説明してくださいという指摘でした。

これはたしか児玉先生の指摘で、児玉先生、失礼いたしました。これを議論するのを忘れていました。大体いいかと思うのですが、いかがでしょうか。

○児玉専門委員　前のがあまりにもシンプル過ぎたので、変わっていないでしょうぐらいのそっけない感じの書きぶりでしたので、内在性の遺伝子はこういうバンドでというのをちゃんと書いていただいていますので、これでよろしいかと思います。

以上です。

○中島座長　ありがとうございます。

この件につきまして、ほかの先生方、よろしいでしょうか。

では、改めまして、全体を通しまして、本案件について御意見等ございますでしょうか。

吉川先生、御意見ですか。

○吉川専門委員 これもあまり安全性に関わることではないのですが、申請者のほうに、申請書の8ページ、12ページ、35ページにある図なのですが、図のタイトルに切断地図と書いてあるのですが、実はこれは切断地図ではなくて、遺伝子構成とか、どちらかという遺伝子地図ということになっていますので、そこは修正していただきたいと思います。

○中島座長 制限酵素が重要なのではなくて遺伝子が重要なわけでもありますので、もっともな指摘だと思いますので、伝えたいと思います。

先生方、ほかによろしいでしょうか。

では、本案件につきましては、先ほどの乳熟期の件について問い合わせるということをも前提に考えたいと思います。特に安全上問題がないと判定してよろしいでしょうか。

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。事務局からお願いいたします。

○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がございます、2ページから本トウモロコシになります。

7ページをお願いいたします。

まずIとしまして、評価対象食品の概要でございます。収量増加及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP202216）は、*zmm28*遺伝子及び*pat*遺伝子を導入して作出されておりまして、ZMM28タンパク質及びPATタンパク質を発現することで、収量増加及びグルホシネートの除草作用に対する耐性を付与いたします。

続いて、II.食品健康影響評価でございます。

1の（1）としまして、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PH17AW系統でございます。

（2）DNA供与体の種名ですが、*zmm28*遺伝子の供与体は*Z.mays*でありまして、*pat*遺伝子の供与体は*Streptomyces viridochromogenes*でございます。

（3）挿入DNAの性質及び導入方法ですが、*zmm28*遺伝子は収量増加形質を付与するZMM28タンパク質をコードします。ZMM28タンパク質は宿主であるトウモロコシの内在性ZMM28タンパク質と同じアミノ酸配列でございます。*pat*遺伝子は除草剤グルホシネート耐性を付与するPAT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法を用いて宿主に導入されました。

2～6については記載のとおりでございます。

以上より、トウモロコシDP202216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おります。

9ページに行きまして、第2及び第3、4については記載のとおりでございます。

続いて、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ございます。

1の(1)は記載のとおりでございます。

(2) *Z.mays*は安全な食品としての長い利用の歴史を持ちます。*S.viridochromogenes*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おられません。

続いて、2の(1)クローニング等の項目でございます。*zmm28*遺伝子は、トウモロコシからクローニングし、その塩基配列は内在性の*zmm28*遺伝子の塩基配列と同一でございます。*pat*遺伝子は*S.viridochromogenes*の配列に基づき、トウモロコシ中における発現を高めるため、塩基配列の改変を行いました、アミノ酸配列に変化はございません。

(2)は記載のとおりです。

続いて、(3)挿入遺伝子の機能に関する事項です。①*zmm28*遺伝子がコードするZMM28タンパク質は、核に局在し、DNA結合配列も同定されているMADSボックス転写因子でございます。トウモロコシ由来の*zm-gos2*プロモーターを用いることで、ZMM28タンパク質を早期に発現・増加させ、その結果、初期栄養成長期にトウモロコシDP202216の成長が促進され、葉における光合成及び窒素代謝効率が向上することで収量が増加すると考えられております。実際に、トウモロコシDP202216におけるZMM28タンパク質の直接的な標的遺伝子を探索した結果、光合成及び炭素同化に関連した遺伝子の発現が認められ、トウモロコシDP202216の表現型と一致しておりました。

ZMM28タンパク質と既知の毒性タンパク質との相同性の有無ですが、相同性のある既知の毒性タンパク質は見出されなかったということでございます。

続いて、②*pat*遺伝子でございます。PATタンパク質はL-グルホシネートをアセチル化し、除草活性のないN-アセチル-L-グルホシネートに変える結果、トウモロコシDP202216は除草剤グルホシネートの影響を受けずに生育することが可能となります。

PATタンパク質と既知の毒性タンパク質との相同性の有無を確認した結果、既知の毒性タンパク質は見出されませんでした。

(4)から3、4及び5の(1)については記載のとおりでございます。

5の(2)でございますが、ORFについては第6の1の(2)に詳細に記載しております。

続いて、(3)、(4)、6については記載のとおりでございます。

少し飛びまして、第6.組換え体に関する事項です。

1の(1)ですけれども、トウモロコシDP202216のゲノムに挿入されたT-DNA領域のコピー数を確認するために、Southern by Sequence分析を行いました。その結果、カバレッジ値が1657から3408の範囲であったことから、信頼性に問題はございませんでした。T-DNA領域の配列と宿主ゲノムの接合部は2つ同定され、T-DNA領域が1コピー挿入されていることが確認され、また、導入用プラスミドPHP40099の外骨格領域由来の配列は挿入されていないことが確認されました。

トウモロコシDP202216のT-DNA領域の挿入領域について、PCR産物の塩基配列を解析

し、導入用プラスミドのT-DNA領域と比較した結果、右側及び左側領域においてそれぞれ22 bp及び12 bpの欠失が認められた以外、配列は同一であることが確認され、続いて、トウモロコシDP202216の挿入DNA近傍配列の5'近傍配列及び3'近傍配列について非組換えトウモロコシの塩基配列と比較した結果、トウモロコシDP202216の近傍配列と非組換えトウモロコシの塩基配列は一致しており、導入遺伝子の近傍配列が宿主ゲノム由来であることが確認されました。

また、トウモロコシゲノムにT-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'近傍配列及び3'末端近傍配列について、核酸データベース及びESTデータベースを用いてblastn検索並びにタンパク質データベースを用いたblastx検索を行いました。核酸データベースを用いた検索の結果、3'近傍配列において仮想的mRNAが検出されましたが、EST及びタンパク質データベース検索結果との一致はなく、したがって、両近傍領域にトウモロコシ内在性遺伝子が存在している可能性は低いと考えられました。

続いて、(2)はORFの項目でございます。トウモロコシDP202216のT-DNA領域と5'末端近傍配列及び3'末端近傍配列を含む領域において、意図しないORFが生じていないことを確認するために、6つの読み枠においてORF検索を行いました。その結果、終止コドンから終止コドンまでの連続する30アミノ酸以上のORFが141個見出されました。

既知のアレルゲンとの相同性の有無を確認するため、アレルゲンデータベースを用いて連続する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アミノ酸配列が一致する配列を検索しております。その結果、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ORFは検出されず、また、連続する8アミノ酸配列が既知のアレルゲンと一致するORFが2つ検出されまして、それらは*Aspergillus fumigatus*のAsp f 7及び*Gallus gallus*の推定アレルゲンと相同性を示しました。それぞれの連続した8アミノ酸配列には、開始コドンが上流に存在せず、PATタンパク質やZMM28タンパク質と読み枠が異なり、ブドウ及びソルガムにも同配列が含まれることが見出されました。また、ブドウ及びソルガムに含まれる既知のアレルゲンにこれらの配列は含まれておりません。したがって、アレルギー誘発性を有する可能性は低いと考えられております。

続いて、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にblastp検索を行った結果、既知の毒性タンパク質との相同性は認められませんでした。

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。トウモロコシDP202216の葉、花粉、根、地上部、全植物体及び趣旨について、ZMM28タンパク質及びPATタンパク質の発現量をELISA法を用いて分析しました。なお、内在性のタンパク質と導入遺伝子から産生されるタンパク質は同一であり、ELISA法で区別することはできないため、トウモロコシDP202216中のZMM28タンパク質の産生量は、内在性タンパク質と導入遺伝子から産生されるタンパク質の合算値となります。その比較対照としまして、対照トウモロ

コシにおけるZMM28タンパク質量を同法にて測定しました。結果としましては、表2及び3のとおりでございます。

3及び4の(1)、(2)は記載のとおりです。

続いて、(3)物理化学的処理に対する感受性事項です。食用に用いられるスイートコーン種で産生されるZMM28タンパク質のアミノ酸配列は、トウモロコシDP202216のアミノ酸配列と同一でございます。ウェスタンブロット分析を用いてトウモロコシDP202216由来のZMM28タンパク質及び対照の非組換えトウモロコシ由来のZMM28タンパク質を比較した結果、分子量は同一でございます。乳熟期のスイートコーン種種子中のZMM28タンパク質量を分析した結果、トウモロコシDP202216中に含まれるZMM28タンパク質量はその範囲内でございます。したがって、ZMM28タンパク質は食用して安全に利用された経験のあるトウモロコシに含まれており、トウモロコシDP202216で産生されるZMM28タンパク質がアレルギーを誘発する可能性は低いと考えられるとしております。

また、トウモロコシDP202216で産生されるPATタンパク質は、既に安全性審査の終了したトウモロコシで産生されるPATタンパク質のアミノ酸配列と同一であり、物理化学的処理に対する感受性を示す結果と同等であると考えられたとしております。

(4)は記載のとおりです。

これらのことから、ZMM28タンパク質及びPATタンパク質については、アレルギー誘発性を示唆するデータがないことを確認しております。

5については記載のとおりです。

続いて、6.代謝経路への影響ですが、トウモロコシDP202216における網羅的な遺伝子発現解析及び標的遺伝子解析の結果、ZMM28タンパク質の標的として、光合成及び炭素同化に関連する遺伝子が同定され、これらの遺伝子の発現が光合成や窒素代謝効率の向上及び初期の栄養成長を促し、収量増加に寄与すると考えられました。また、遺伝子導入により発現したZMM28タンパク質は、内在性のタンパク質が関与する既存の代謝経路に影響を与える可能性が考えられますが、新たな代謝経路が生じる可能性は低いと考えられた。DP202216の構成成分の分析の結果及び農業的特性の調査結果において、非組換え体と比較して相違は認められなかった。したがって、ZMM28タンパク質の発現がトウモロコシ内在性の代謝経路に与える影響は小さいと考えられるとしております。

PATタンパク質は除草剤グルホシネートの活性成分であるL-グルホシネートに対して高い基質特異性を有することから、宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられるとしております。

7.宿主との差異、次のページに行きまして、8~10については記載のとおりでございます。

第7ですが、第2から第6までにより安全性の知見が得られるとしております。

評価書案の説明は以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、評価書案につきまして、御意見、コメントを承りたいと思います。細かい字句等につきましては、後ほど事務局にお伝えいただければと思います。

どこかございますでしょうか。よろしいでしょうか。

ありがとうございます。

それでは、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。

実は、このトウモロコシは飼料としての安全性の申請も出ておりまして、事務局のほうから説明をお願いいたします。

○山口係長 続きまして、飼料のほうについて説明させていただきます。

透明なクリアファイル、遺伝子組換え飼料と書かれたほうを御用意ください。

まず1ページ目をお願いいたします。

品目名は先ほどと同様でございます。

②飼料の特徴でございますが、導入された遺伝子や発現するタンパク質については先ほどと同様でございます。

③飼料の使用法でございますが、DP202216の飼料としての使用法は変わらないとしております。

次に、2ページをお願いいたします。

2.遺伝子組換え飼料としての安全性でございます。こちらですが、「遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方」によりますと、ここに記載の①～③について考慮しまして、そのような可能性が想定される場合には当該飼料に由来する畜産物を摂取することにより、ヒトの健康に影響を及ぼす可能性がないかどうかについて評価することとされております。この①～③に示される可能性がないと考えられる場合は、食品健康影響評価は必要ございませんが、基本的にこの考え方の3の(1)の(a)及び(b)の場合を考慮した上で個別に判断することとなっております。

その下のパラグラフでございますが、結論としましては下3行になりますが、①のみならず、②及び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、安全性上の新たな問題は生じないと考えられる。

以上のことから、ここに記載の考え方の3の①～③の可能性は想定されず、当該飼料に由来する畜産物を摂取することにより、ヒトの健康に影響を及ぼす可能性がないと考えられるとしております。

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。

申請書につきまして御意見をいただきたいと思いますが、先生方、ございますでしょうか。

先ほど人間が食べてもオーケーと判定したこのトウモロコシですが、家畜に食べさせてもオーケーと判定してよろしいでしょうか。

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。

○山口係長 それでは、評価書案について御説明いたします。

23ページからが飼料の評価書案になりまして、26ページをお願いいたします。

I. 評価対象飼料の概要については、先ほどの食品と重複する部分がありますので割愛いたします。

II. 食品健康影響評価でございます。トウモロコシDP202216には、収量の増加及びグリホサート耐性の形質が付与されております。遺伝子組換え作物を飼料として用いた動物の飼養試験において、挿入された遺伝子または当該遺伝子によって産生されるタンパク質が畜産物に移行することはこれまで報告されておられません。

2. トウモロコシDP202216は、食品安全委員会において、食品としての安全性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しております。

1及び2を考慮したところ、トウモロコシDP202216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ない。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ないとしております。

評価書案の説明は以上でございます。

○中島座長 ありがとうございます。

ただいまの評価書案につきまして、御意見、コメント等ございますでしょうか。細かい字句等でありましたら、後ほど事務局までお伝えいただければと思いますが、よろしいでしょうか。

ありがとうございます。

それでは、食品安全委員会のほうに報告したいと思います。

では、次の案件、JPAo007株を利用して生産されたカルボキシペプチダーゼ、また、JPAo008株を利用して生産されたアミノペプチダーゼについて審議を行いたいと思いますが、事務局のほうからお願いいたします。

○松原課長補佐 まず申請書の説明に入ります前に、審議の進め方について1つ提案させていただきます。

本日審議をお願いするJPAo007株を利用して生産されたカルボキシペプチダーゼ及びJPAo008株を利用して生産されたアミノペプチダーゼにつきましては、宿主と組み込み方法等が同じでございます。そのため、並行して審議を行うことで、違いが分かりやすく、審査のポイントが明確になると思われまので、この2件につきましては続けて説明をし、まとめて御審議いただいておりますが、いかがでございましょうか。

○中島座長 申請書をお目通しいただきましてお気づきと思いますが、この2株につきましては、申請者は同じ、宿主は同じ、ベクターも同じ、組み込み法も同じ、コピー数も同

じ、また、組み込まれた遺伝子は麹菌自身の遺伝子ですので、その点についてはセルフで、マーカーとプロモーターが外来なのですが、そのプロモーターについても同じものを使っているということで、違うのはまさしく中身のカルボキシペプチダーゼとアミノペプチダーゼだけという状況です。まとめて審議したいと思うのですけれども、先生方、よろしいでしょうか。

それでは、続けて説明して、特に2番目のアミノペプチダーゼにつきましてはカルボキシペプチダーゼとの違いだけ簡潔に御説明いただければと思います。

では、よろしくお願ひいたします。

○松原課長補佐 それでは、説明させていただきます。

まず、JPAo007株を利用して生産されたカルボキシペプチダーゼから参ります。

資料を御準備ください。

2ページ目をお開きください。第1-1- (1) 、本品目はカルボキシペプチダーゼでございます。反応特異性のところに記載のとおり、タンパク質やペプチドのC末端から分解してアミノ酸を遊離する酵素となっております。用途といたしましては、第1-1- (3) のとおり、調味料やタンパク質加水分解物質の製造等に用いられるといったものでございます。

続きまして、3ページの第1-2- (1) 宿主のところでございます。先ほど座長からもありましたとおり、宿主は*A.oryzae*のIFO4177株でございます。

5ページ目にまいりまして、挿入DNAについてでございます。こちらは表1のとおりで、*cp1AO*遺伝子が今回挿入されるカルボキシペプチダーゼのコードしている遺伝子でございます。供与体は*A.oryzae* IFO4177株でございます、宿主由来のものでございます。

そのほか、選択マーカーとして*pryG*遺伝子、*LEU2*遺伝子を挿入しております。そのほか、プロモーター等につきましても表1のとおりであり、これらの供与体につきましては*A.oryzae* IFO4177株、*Saccharomyces cerevisiae*、*Aspergillus niger*等よく知られているものを由来としているものでございます。

続きまして6ページ、第1-2- (3) 組換えの方法でございます。

図1を御覧いただければと思います。青い矢印のところ、まずアミラーゼの遺伝子である*amyC*を欠失させております。また、オレンジの矢印のところ、DNAの挿入でございますが、●●●、そこに挿入遺伝子を含んだベクターを用いて挿入させております。また、そのときに、●●●といった形となっております。

続きまして、11ページをお願いいたします。

第1-6、*cp1AO*と既存の添加物のカルボキシペプチダーゼの違いでございます。表2のとおり、アミノ酸数は同じで、後ほど説明いたしますが、●●●といったものでございます。

また、組換え体と宿主につきましては表3のとおりとなっております。●●●以外につきましては*cp1AO*等が●●●、*amyC*は欠失しているとなっております。

続きまして12ページ、第2宿主についてでございます。*Aspergillus oryzae*につきましてはコウジカビでございます、IFO4177株は、表4に記載のとおり、今までいろいろな酵

素の宿主として利用されており、また、病原性を持たないと確認されているといったものでございます。

少しページが飛びまして、19ページをお願いいたします。

第4-2-（3）挿入遺伝子についてでございます。

この19ページにつきましては差し替えがございます。机上配布資料1を御覧いただければと思います。

こちらはアミノ酸の配列自体についての修正はありませんが、既存のカルボキシペプチダーゼとの違いを分かりやすくするための修正が入っております。●●●と申し上げたところですが、こちらの色付けされております●●●のアミノ酸が違っている箇所がございます。

続きまして、20ページ目をお願いいたします。

こちらの真ん中から下のところでございます。3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に対する知見でございます。この①につきましては人工胃腸液試験のところでございますが、先ほど申し上げたとおり、●●●といったところから、今回人工胃腸液試験は行っていないといったところでございます。

また、加熱処理に対する感受性につきましては②のとおりでございます。その結果につきましては、21ページの図7でございます。50℃辺りから失活を始め、70℃で完全に失活しているといったところでございます。

続きまして、21ページの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知見でございます。既存のアレルゲンの相同性につきましては、ネブラスカ大学のアレルゲンデータベースで検索をしたところ、①及び②を御覧いただければと思いますが、コムギ由来のカルボキシペプチダーゼがヒットしたといったところございました。

これについて調べたところ、22ページを御覧ください。コムギのアレルギーを持つ患者の血清との反応を調べたところ、1個のアレルゲンが見つかったといったものでございます。ただし、これについてのエピトープは特定されていないこと、連続する8アミノ酸がエピトープとしても登録されていないといったところであり、またこれをアレルゲン候補とする論文は、1つのみということから、アレルギー性を持つとは考えにくいと考察されているといったところでございます。

これにつきましても若干修正がございまして、机上配布資料3を御覧いただければと思います。

こちらの2ページ目になるのですけれども、コメント4を御覧ください。今回の申請品と既存のカルボキシペプチダーゼの●●●であったといったところから、既存のカルボキシペプチダーゼとコムギ由来のカルボキシペプチダーゼの相同性を踏まえた修正、こちらの黄色でマーカーをしているところがございますが、このように修正をすると申請者から連絡をいただいているといったところでございます。

そして、資料に戻りまして、27ページをお願いいたします。

第4-5-(2)でございます。ベクターのORFの検索でございます。発現ベクターにおいてORFは229個見つかっております。アレルゲンの検索については、8アミノ酸を連続して一致したものが1個見つかったといったところでございます。これにつきましては、先ほどと同じコムギ由来のカルボキシペプチダーゼが検出されたといったものでございます。

28ページに参りまして、毒性タンパクについてでございます。MvirDBデータベースを用いて検索をしたところ、こちらの表6のとおり2つ検出されております。一つは単独で毒性を示すものではないといったものでございまして、もう一つのほうも毒性を示したものではないといったところでございます。これらによりまして、発現ベクターにおいてアレルギー性及び有毒性を持つタンパク質をコードするORFはないと考察されております。

続きまして、30ページをお願いいたします。

組換え体に関する事項でございます。真ん中辺り、次世代シーケンスによるJPAo007株のゲノムの解析のところでございます。今回、次世代シーケンスを用いて挿入DNAが適切な場所に入ったかどうかということを確認しております。これによって、目的の場所のところに正しく入ったということを確認しております。

続きまして、31ページでございます。

挿入遺伝子のコピー数の推定のところでございます。今回、ddPCR (Droplet Digital PCR) 法を用いて、遺伝子のコピー数を確認しております。発現ベクター由来の*cp1AO*遺伝子につきましては、発現ベクター由来のものが●●●と推定されているといったところでございます。今回のddPCR法につきましては、その解析法の精度について申請者からコメントを入手しております。それにつきましては、たびたびすみませんが、机上配布資料3のコメント2を御覧ください。コピー数の推定に用いたddPCRは、RT-PCRと比べて同等以上の精度はあるのかについて、申請者からの回答では、RT-PCRと同等以上の精度を有している、コピー数の推定が可能であると考えているとコメント得ているところでございます。ddPCRは、相対定量を行うRT-PCRに対して絶対定量が可能であり、対照サンプルを用意できない試料においても使用できる等の利点がある。さらには、ノボザイムズ社ではddPCRが生産菌などの遺伝子コピー数を従来のRT-PCRと同等の精度で推定できるか検証・確認を行っておりますとコメントをいただいているといったところでございます。

要旨に戻りまして、続きまして33ページをお願いいたします。

第5-2-(2)組換え体で新たにORFができていないかといったところでございます。今回DNAを挿入した●●●と欠失させた*amyC*遺伝子座について、境界を挟む形で検索を行っております。その結果、●●●のORFが検出されました。それぞれにつきまして、アレルゲンと毒性タンパクの検索をしておりますが、その結果につきましては、33ページから34ページのとおり、いずれもヒットしたORFはないといったところでございます。

続きまして、36ページでございます。

第7-1、諸外国における認可、食用等に関する事項でございます。こちらにつきましては、米国でGRASの自己認証済みでございまして、2019年から販売されているといったところ

でございます。

また、たびたびすみません。机上配布資料3でございますが、こちらのコメント3でございます。そのほか申請中のものはないかといったところに対しては、デンマークで申請を行っているといったものでございます。これについては今審議中だといったところでございます。

続きまして、38ページ、第7-3を御覧いただければと思います。

こちらは表7のとおり、製造された酵素につきましては規格を満たしているといったところでございます。また、アフラトキシン等についても検出されていないといったことが確認されております。

続きまして、39ページ、第7-4、精製方法についてでございます。こちらは今回の要旨には直接書いていないのですが、社内文書14というところに定量がされており、その純度は●●●とされております。このとき、アミノ酸数から推定される分子量とバンドの位置がずれていたといったところで、申請者のほうにその辺りを確認しております。

それにつきましては、机上配布資料のコメント1を御覧いただければと思います。

糖鎖の修飾が入ったといったところで、申請者のほうとしては糖鎖修飾が入る可能性のある●●●と考えられますという回答をいただいているところでございます。

JPAo007株につきましては以上でございます。

続きまして、JPAo008株の説明に参ります。

2ページ、第1-1- (1) でございます。JPAo007株との違いにつきましては、アミノペプチダーゼであり、タンパク質やペプチドのN末端側から分解していくといったもので、用途はJPAo007株と同じとなっております。宿主につきましても同じでございます。

5ページ目をお願いいたします。

挿入DNAのところでございます。今回、アミノペプチダーゼをコードしている遺伝子の*apeAO*遺伝子とプロモーターに*na2/tpi*プロモーターが使われている以外はJPAo007株と同じです。

続きまして、18ページ目をお願いいたします。

既存のアミノペプチダーゼとの違いについて、●●●の相同性を示すとありますが、●●●でありましたといったところでございます。そのため、修正があります。机上配布資料2を御覧ください。

●●●と修正される予定でございます。

また、JPAo007株との違いというところでございます、25ページ目をお願いいたします。発現ベクターに対してのORFの検索でございます。アレルゲンとの相同性につきましては、25ページの②連続した8アミノ酸配列が完全に一致するアレルゲンの検索のところで1つヒットしております、コナヒョウダニ由来のものがあったということでございます。ただし、食物アレルゲンではないということと、吸入による呼吸器感作性のものといったところから、食物アレルギーである懸念は低いものと考えられているといったところ

でございます。

次の26ページでございますが、毒性タンパク質との相同性検索でございます。ORFが3つ見つかっており、相同性のある毒性タンパク質16個ございました。考察をしたところ、全てにおいて単独で毒性が報告されているタンパク質ではないと考えられているといったところでございます。したがって、発現ベクターからアレルギー誘発性または毒性タンパクをコードするORFは含まれていないと考えられています。

36ページをお願いいたします。

第7、諸外国における認可の状況でございます。米国における認可につきましてはJPAo007株と同じでございますが、それ以外について机上配布資料3のコメント3を御覧いただければと思います。一番下に書いておりますが、アミノペプチダーゼも同様にデンマークに申請しており、先週認可されたということで、デンマークにおいても認可されているといった状況でございます。

JPAo008株についてはJPAo007株との違いを中心に説明いたしましたが、説明については以上でございます。御審議のほど、よろしくをお願いいたします。

○中島座長 ありがとうございます。

この件はノボザイムズ社を呼んであるのですよね。なので、2件まとめて審議したところで、質問もございましたら、ノボザイムズ社を呼びましてまとめて審議したいと思えます。

似たような内容ですので、どこからでもあり得ますので、申請書そのものはそんなに大きくありませんので、御質問、コメント等ございましたらどこからでもよろしくお願いたします。

小野先生、お願いします。

○小野専門委員 今回、コピー数を検証するのにDroplet Digital PCRを用いているということなのですが、前々から僕はコピー数の問題というのはすごく気になっていて、こういう方法をやればいいのではないのかなといつも思っていたのですが、そういう意味で、非常にいい方法なのではないのかなとは思っています。

それで、これの中に、次世代シーケンスの結果よりもDigital PCRのほうがより正確に出るだろうというコメントがあったのですが、そのところが実際に比較をしたようなデータみたいなものがあるのかどうかというのを示してもらえたらいいのかなというところです。そうすると、その前に評価していったものに関しては次世代シーケンスで評価しているということなので、どちらがいいのかというのがより分かりやすくなればいいのかと考えていますという意見です。

○中島座長 それについては、後ほどノボザイムズ社の担当者に直接聞いていただけますか。どうこうと言うわけにもいきませんので、よろしいですか。お願いいたします。

○小野専門委員 分かりました。

○中島座長 008株のアミノペプチダーゼのほうは●●●ですが、007株のカルボキシペプ

チダーゼのほうは●●●ということで、どちらも人工胃腸液試験を実施していないのですけれども、これはもともとが麴菌がつくる酵素であるからということになっています。タンパク質の純度としては●●●になっているということですが、この点につきまして、この主張を受け入れていいものかどうか議論をしたいと思うのですけれども、どなたかございますか。

では、安達先生、この点はいかがでしょう。

○安達専門委員 安達でございます。

私は、これを受け入れた場合に、先ほどまで審議していたトウモロコシについての指摘事項を読んで、手島先生の指摘事項と今回の内容は果たしてどこが違うのだろうかと考えていたので、そこは逆に私も皆様の御意見を伺わせていただければと考えております。

以上でございます。

○中島座長 では、樋口先生、いかがですか。

○樋口専門委員 タンパク質として同等であると、例えばアミノ酸配列が全然変わらないので、出来上がったタンパク質が全く同じであるということであれば、それは実施しなくてもいいというのはあるかなと思うのですけれども、どうでしょう。

○中島座長 ありがとうございます。

飯島先生、いかがですか。

○飯島専門委員 私も理論的にはやらなくてもいいのではないかなと思うのですけれども、本当に大丈夫ですかと言われると断言はできません。消化液で一次構造で分解してとなると、多分同じように分解されるのではないかなとは思いますが、絶対にこれですとは言えません。すみません。

○中島座長 ありがとうございます。

私、麴菌を専門にしているのですけれども、先ほどのZMM28タンパク質を、非常に微量とはいえ、今までそれを目的として摂取とかそういう経験のないもので、今回の審議では摂取されているということが確認されているものですが、今回の麴菌の酵素というのは、昔から使われているものでして、今回出てきている酵素についても、こういうものがたくさん混ざったようなものとか、こういうものを日本人としてはかなり以前から摂取もしておりますので、また、麴菌自身の遺伝子をクローニングして使っているということ、加工食品、調味料等に使うという目的を考えて、これでMAXの推奨摂取量等の推定もございしますが、この辺から考えると、私は、本件に関しては●●●物理化学試験を要求する必要はないのではないかと考えて、いいかなという感じなのですけれども、吉川先生あたり、いかがですか。

○吉川専門委員 私も、●●●を同じ宿主に入れたということで、それについて調べる必要はないのかなと思います。ただ、cp1AOというのは、今回、●●●と書いてありますけれども、●●●すると結構な数のアミノ酸●●●があるような気がするのですけれども、この辺はどうなのか。ここがよく理解できなかったところです。

○中島座長 ●●●とあっても、実際は●●●だけという結果がありますので、●●●という数字にとられる必要はないかなと思います。

○吉川専門委員 これはセクションナンバーも書いていますので、それであれば、これと●●●であったと書かれるとより正確だと思います。

○中島座長 以上だからいいのかなと思いますけれども、この言い方は確かに誤解を招きますよね。

山川先生あたり、何かコメントはございませんか。

○山川専門委員 タンパク質が同じなら構わないと思うので、●●●というのは普通突然変異で起こるものであるもので、それが今まで何も起こっていないというのは別に心配することはな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。

川西先生、どうぞ。

○川西委員 重箱の隅をつつくようなことだということは私も重々承知で、ちょっと思うのは、これは糖鎖がちょっとだけどもついているみたいですよ。そうすると、その違いは安定性に影響している可能性があるから、既存のものちょっと違った結果が出ても不思議ではないような気が一つはします。

もう一つ、私、ちゃんと理解していないのだけれども、人工胃腸液とか加熱処理に対する感受性というのは、私たちが摂取量を考えるときに参考になるものだと思うのだけれども、要するに、比較する対象として安全性という観点ではいいのかもしれないのだけれども、分解がどのぐらいしやすいかとかという話のときには、既存のものデータはどこにあるのだろう。だから、これはどの程度分解しているということがどこかにあるのだろうかというのが素朴な疑問として、特に加熱処理のほうはどうなんだろうな。どちらにしても、その辺りをはしょってあまり書いていないので、今までこの調査会では個別のプロダクトでいろいろ聞いていると思うのだけれども、それでいいと言ってしまっているのかなというのは心の片隅で思っています。

以上です。

○中島座長 いかがでしょうか。これも個別の問題だとは思いますが、相手が麴菌の酵素ということであればそこはいいのかなという気もするし、正直、誰もやっていないという可能性もないわけではないよねと思います。

小野先生、どうぞ。

○小野専門委員 僕のほうで勘違いがあったら申し訳ないのですが、11ページのほうに既存のカルボキシペプチダーゼの比較というところがあるのですが、これは*cp1AO*と●●●のカルボキシペプチダーゼの比較と考えてよろしいのですか。

○中島座長 *cp1AO*というのは、当然既存とこれは●●●わけだから、●●●もので比較していると思うのですが。

○小野専門委員 いえ、そうなのだとすると、その●●●で至適pHとか温度とかが変わってきているという性質の違いがあるので、そういう意味で、先ほどの糖鎖による違いとかというのが実はいろいろ効いてきているのかなというようなことを思ってしまうのですけれどもというところです。

○中島座長 それは直接質問してみてもと思います。

○小野専門委員 了解です。

○中島座長 私個人としては、場所にもよるのです。例えばこれが基質認識部位とか活性部位に近いところとか、非常に保存性の高い領域だったら結構重要にもなるのだけれども、●●●で糖鎖とか関係ないところなのでということも考えると、このくらい違うものというのは麴菌をつくるものもおりますので、少なくともこの件に関してはあまり気にしないでいいのではないかなと私は思っています。

だけれども、この後申請者を呼びますので、直接この議論を吹っかけていただけますか。

○小野専門委員 分かりました。

○中島座長 川西先生、どうぞ。

○川西委員 人工胃腸液に対する感受性というのが、既存の配列のカルボキシペプチダーゼとアミノペプチダーゼはどの程度分解してくれるのですか。多分どこかで何か、今までで誰かがやっているかもしれないのだけれども。

○中島座長 本人に聞いていただけますか。

○川西委員 申請者に聞くと、彼らは多分考えてやっていると思うので。

○中島座長 それでは、話は元に戻りますけれども、物理化学試験をやらない件についてなのですが、安達先生、一回りしましたけれども、大体皆さんこういう意見なのですが、先生はいかがですか。

○安達専門委員 安達でございます。

私自身は、今回のカルボキシペプチダーゼが安全でないとは全然思っていないで、これまでの食経験を考えれば、恐らく安全であろうとは思いますが。要は、人工胃腸液に対する感受性の試験をやるかやらないかの判断をどうやって決めるのかというところで、私が一番納得いたしましたのは、先ほどの中島先生の御説明なのです。そこで、これまでの食経験が全然違うのだと、食経験の長さが非常に長くて、問題になったことがこれまでないというところが、やはり一番考えるべき重要な点なのかなと思いました。

この物理化学的感受性に関する試験をしなくていいだろうというところで皆様のコンセンサスが得られるのであれば、私はそれで問題ないのではないかと思います。

以上でございます。

○中島座長 ありがとうございます。

この件についてもまた最後にまとめて議論したいとは思いますが、大体皆さんの体制では、この件に関しては特に物理化学試験を要求する必要はないだろうということなのですが、これはよろしいでしょうか。よろしそうですね。どういうときに物理化学的

それでは、申請者を呼びたいと思います。準備ができるまで少しだけお待ちください。

(申請者入室)

○中島座長 お忙しいところ、長らく待機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。

○高橋氏 ノボザイムズジャパンの高橋と申します。よろしくお願いいたします。

○井上氏 同じくノボザイムズジャパンの井上と申します。よろしくお願いいたします。

○中島座長 本件、2件申請が出ておりますが、どちらも同じ宿主で同じような遺伝子を入れて同じようにやっておりますので、こちらも2件まとめて審議させていただいております。

どちらもアミノ酸の数から分子量というのは計算できるのだけれども、SDS-PAGEを見てみると分子量のバンドの大きさが違うということでコメントをいただきました。糖鎖付加部位が●●●ある。カルボキシペプチダーゼのほうは●●●でアミノペプチダーゼのほうは●●●。それで、分子量についてはよく分からないということなのですが、この数のアミノ酸の糖鎖付加でSDS-PAGEの分子量の違いはおおむねつじつまが合うものとお考えでしょうか。

○井上氏 合うものと考えております。

○高橋氏 さきにいただいた事前コメントに回答させていただいたところはあるのですが、それをもってどのぐらい分子量が増加するのか等というところはなかなか難しく、我々のほうではそういうようなデータを今のところ持ち合わせていないというところではあります。

ただ、この*Aspergillus oryzae*の生産菌では、このような長鎖がついて分子量が増加するというのが我々の今までの製品でも同じような形で見えてきていますので、今まであった製品と同じような増加ということで考えてはおります。

○中島座長 ありがとうございます。

麹菌、*Aspergillus oryzae*の糖鎖付加部位1個について糖が何個ぐらいつくかというのは文献的には調べられていないものなのではないでしょうか。

○高橋氏 それについては、研究開発のほうで持ち合わせてあるものもあるとは思いますが、それをもって分子量がどのぐらい増加するのとかという調べるのを今までできていないというところではあります。情報自体は文献等の検索である程度検索できるものと聞いております。

○中島座長 麹菌の糖鎖は割とそろっているのですが、糖鎖付加部位の数が分かれば大体推定できるものだと私は思っていたのですが、どういうソフトウェアを使ったのだからよく分かりませんが、糖鎖付加部位というのはアスパラギン結合糖鎖ですから、アスパラギンがあって1個空いて、次がセリンまたはセレオニンですよね。目視で探すと、アミノペプチダーゼのほうは少なくとも●●●あるのですが、これは本当ですか。

○井上氏 これは推定部位ですので、全ての場所が使われているという意味ではないと思

います。

○中島座長 そのソフトウェアというのは、確かに糖鎖付加が可能な部位について全て付加するわけではないというのでも知られておりますが、確実につかないのは、間に挟まるのがプロリンの場合ぐらいで、あとは大体つくというのが一般的かと思います。少なくとも私が目視で見つけたのは●●●で、どれもそういう条件には当てはまらないのだけれども、そのソフトウェアというのはそれでも糖鎖が付き得ると見分けられるほどすごいソフトウェアなのですか。

○高橋氏 これは外部のデンマーク工科大学が提供しているソフトウェアになっておりまして、スクリーニングしたサイトをスレッシュホールドを用いてある程度可能性があるものということで自動的に出してくれるものでして、本当につくのかつかないのかということまではソフトウェアで検証しているということではないとは思いますが。

○中島座長 ありがとうございます。

それでも何となく納得がいかないのが、本当にこれでいいのかどうか、違うソフトウェアで調べるくらいはしてみてくださいね。

○高橋氏 先ほどおっしゃっていた文献等の検索も含めて、ソフトウェアでも確認してみます。

○中島座長 よろしくお願ひいたします。

小野先生、コピー数、Droplet PCRの件について突っ込みをお願いいたします。

○小野専門委員 今回の件なのですけれども、Digital PCRでコピー数を定量しているということで、それは非常に分かりやすいのではないかと思いますのですが、その場合に次世代シーケンスの結果よりもDigital PCRのほうがより正確であるということなのですけれども、御社のほうでそのような比較をしたデータみたいなものをお持ちだったら教えてもらいたいなというところなのですが、いかがでしょうか。

○高橋氏 コピー数の推定に関与して次世代シーケンサーのデータをddPCRのほうが信頼性が高いと検討したというようなデータがあればということでしょうか。

○小野専門委員 そうです。

○高橋氏 事前コメントでいただいていたものはqPCRの同等性というところで考えておりまして、それはddPCRは同等であると検証しているのですけれども、以前いただいたコメントで、シーケンスの分析、いわゆる次世代シーケンサーを用いたコピー数の推定というのはやっていないのですかという御質問をいただいていたのですが、弊社の中では基本的に、コピー数が非常に大きいということで、今回も入っているところは●●●だと思っておりますけれども、そうしてしまうと、中の塩基配列がちゃんと合っているのかというのは確認が持たせませんで、特に今回用いているのがショートリードの次世代シーケンサーになりますので、入っていた座の全体像が見えないというところで、コピー数の推定には用いていないというところなんです。

○小野専門委員 ありがとうございます。

あと、添付の資料のほうで、実際にDigital PCRを行ったときのプライマーの位置とかというものがあつたと思うのですけれども、この資料で太字になっているところが、これは要はTaqManでやっているということなのですか。社内文書9というものだと思います。

○高橋氏 これのプライマーを用いてddPCRを使っていることとは思うのですけれども。

○小野専門委員 それで、この太字の部分というのは何に相当するということですか。

○高橋氏 これは、たしかプローブがそれがくつつくところということだと。

○小野専門委員 そうなのだとすると、TaqManによるqPCR法なのではないかなと思うのですけれども、TaqManにしては太字になっているところはすごく短いなという疑問がありまして、そこなのところがどういうことなのかというのを教えていただければということです。

○高橋氏 これは本社に確認させていただきます。

○小野専門委員 すみませんが、よろしくをお願いします。

○中島座長 あと、小野先生、既存との差についてもお願いいたします。

○小野専門委員 もう一点なのですけれども、11ページのほうで既存のカルボキシペプチダーゼとの比較というところがあるのですけれども、これというのは今回導入したカルボキシペプチダーゼというのは●●●ということなのですよ。

○井上氏 そうです。

○小野専門委員 ここで、至適温度とかの比較のところでは違いがあるのですけれども、それはその●●●に由来すると考えてよろしいのですか。

○高橋氏 この既存のカルボキシペプチダーゼの至適pH数、温度は、実は●●●の酵素そのものを指しているわけではなくて、既存のカルボキシペプチダーゼの範囲として記載させていただいているものですので、それで性質の中でこのぐらいの範囲ですというものを示して、実は必ずしもこのアミノ酸配列の差によってこの差異が生じているというわけではないです。

○中島座長 それはやはり甚だ分かりにくい御説明でして、やはりこういうふうの一つの指標として並べるのであれば、比較できるような状態で並べて表にさせていただかないと、こちらとしても評価が難しくなるなと思います。

小野先生、その辺ですよ。

○小野専門委員 そうですね。

○高橋氏 市場に出ている酵素に関して、弊社のものでない酵素というのがかなり多くて、その点でそういう情報を集めることがなかなか難しく、この性質については参考資料2のほうとか、そういうようなものも持ってきて、*oryzae*の範囲ということで書いてあるということです。

○中島座長 事情は分かりますが、要するに、これは文献のデータを適当に持ってきて並べるからこういうことになるのであって、両方の酵素を同じ条件で実験したらこんな差はつかないだろうと思うのです。なので、今回は必ずしもそれを要求しているわけではない

のですけれども、今後こういうデータを作成するときには気をつけていただけるとありがたいかなと思います。よろしいですか。

○高橋氏 重々承知いたしました。

○中島座長 川西先生。

○川西委員 ありがとうございます。

重箱の隅をつつくような質問になっているかもしれないのですけれども、御社のロジックとしては、人工胃腸液に関する感受性のところで、既存のアミノペプチダーゼと、これはアミノ酸配列も●●●同等だと。人工胃腸液での消化性試験は実施しなかったと。それから、加熱処理のデータは取っている。そういう意味でいくと、人工胃腸液に対する感受性というのは、調べれば分かることなのだろうと思うのですけれども、既存のアミノペプチダーゼというのは、通常の人工胃腸液の条件でいくと、両方非常に分解されやすいと考えていいのですか。その辺はプロダクトのプロファイルということを考えて、例えば摂取量を頭の中で考えたりするときの参考までに、既存のアミノペプチダーゼというのは人工胃腸液でやるとどうなのでしょう。

○井上氏 この消化性のデータというのは、遺伝子組換え生産菌由来の酵素の安全性評価、または新規食品用酵素の指定以外で求められることはほぼありません。現在市場で販売されているほかの非遺伝子組換え酵素の食品用酵素の多くもそんな状態だと思います。ノボザイムズで本酵素の消化性を評価したことはございません。

○高橋氏 ほとんどの食品用酵素、食品添加物公定書に今収載されている食品用酵素というのは、既存添加物ということで長い間食経験があつて安全とされてきたものでして、基本的に消化性試験で消化性を調べることができてはいないと考えております。特殊な例とかある事情を除いてなののですけれども、そういう点から、消化性のデータというものの自体が文献情報とかであまり出てこないのです。弊社の中でも非組換え生産菌で、かつ既存の酵素の場合は消化性のデータを取っていないというところにして、基本的には加工助剤で用いられて、ばく露量が小さいというところでそういうような条件にもなっているのかなと思いますが、今回の弊社の申請品目に関しましては、既存添加物のカルボキシペプチダーゼ、アミノペプチダーゼと同じように、ある程度長い食経験を得られているのではないかと考えまして、今回消化性データというのは提出していない、行っていないというところでございます。

○川西委員 ありがとうございます。

私自身はそう書いていただいたほうがもっとすっきりするところなのですが、これはロングディスカッションになってしまうかもしれないので、打ち切ります。分かりました。

○中島座長 先生方、ほかに申請者にぜひここで聞いておきたいことなどはございますでしょうか。松永さんとか、よろしいですか。

それでは、このくらいにしたいと思います。お疲れさまでした。

(申請者退室)

○中島座長 それでは、審議を再開したいと思います。

申請品については先ほどのとおりで、また、消化性試験については特にこういうところで求められる以外は、そんなものはめったにやるものではないのでというある意味思ったとおりの回答が返ってきたというところです。

先生方、2件まとめて、ほかに御質問、コメント等ございますでしょうか。

おととしからUSAとカナダでは承認になって販売もされているということもありまして、特に安全上の問題はないと考えるのですが、この件につきましては1件ずつ、まずはJPAo007株で生産されたカルボキシペプチダーゼについて安全性の問題はないと判定してよろしいでしょうか。御意思の表示を明確にお願いいたします。

ありがとうございます。

樋口先生もいいですか。ありがとうございます。

次に、JPO008株を利用して生産されたアミノペプチダーゼについて、これも安全性に特に問題はないと判定したいと思いますのですが、よろしいでしょうか。

ありがとうございます。同意いただけたようですので、2件とも安全性については特に問題ないと判定したいと思います。

それでは、評価書案の審議に入りたいと思います。事務局のほうからお願いいたします。

○松原課長補佐 それでは、評価書案の説明をいたします。

資料の③、27ページからカルボキシペプチダーゼの評価書案となっております。

最初の要旨の説明と同じく、2品目をまとめてさせていただきます。

では、参ります。32ページからが本文でございます。

I.評価対象添加物の概要。名称はJPAo007株を利用して生産されたカルボキシペプチダーゼでございます。用途、申請者、開発者等については記載のとおりでございます。

II.食品健康影響評価、第1.安全性評価において比較対象として用いる添加物及び宿主等の性質並びに遺伝子組換え添加物及び組換え体との相違についてでございます。こちら、

1. (1) から (4) までは記載のとおりとしております。

続きまして、33ページに参りまして、宿主及び導入DNAでございます。

(1) 宿主の種名(学名)、株名等及びその由来というところで、宿主は*A.oryzae* IFO4177株である。*A.oryzae* IFO4177株は清酒麹から分離された野生株であるとしております。

(2) 供与体の種名及び株名、または系統名等及び由来でございます。こちらについては記載のとおりです。

(3) 挿入DNAの性質及び導入方法につきましては、このとおり、*cp1AO*遺伝子はカルボキシペプチダーゼをコードする*pyrG*及び*LEU2*遺伝子はそれぞれオロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼ及び*S.cerevisiae*のロイシン合成酵素をコードし、選択マーカーに用いたとしております。

また、その下のカルボキシペプチダーゼの生産性を高めるために、*A.oryzae* IFO4177株のα-アミラーゼをコードする*amyC*遺伝子は欠失導入用ベクターを用いて相同組換えに

より欠失させました。セルフクローニングに該当しないため、オープンリーディングフレームの検索を行い、安全性を検討したとしております。

その後、3.宿主の添加物製造への利用経験等、4.、5.については記載のとおりとしております。

また、次のページに参りまして、(2)～(4)までについても記載のとおりとしております。

6.既存の添加物との相違点でございます。

(1) 遺伝子組換え添加物と従来の添加物につきましては、*cp1AO*と従来のカルボキシペプチダーゼとの相違点は至適温度及びpHが異なる点であるとしております。

(2) 組換え体と宿主につきましては、*JPAo007*株と宿主との相違点は*JPAo007*株は*cp1AO*遺伝子が複数コピー導入され、カルボキシペプチダーゼの高生産性を獲得している点、*pyrG*遺伝子及び*LEU2*遺伝子を導入している点、並びに*amyC*遺伝子を欠失している点であるとしております。

続きまして、第2.宿主に関する事項でございます。こちらにつきましては、1から5まで記載のとおりとしております。

第3.ベクターに関する事項についても記載のとおりとしております。

36ページに参りまして、第4.挿入DNA、遺伝子産物並びに発現ベクターの構築に関する事項についてでございます。

1ポツ、2ポツについては記載のとおりとしております。

次のページに行きまして、(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項につきまして、①のa、bは記載のとおり、また、cの物理化学的処理に対する感受性に関する知見につきましては、

(a) 人工胃液に対する感受性は*cp1AO*の人工胃腸中の消化性は、既存のカルボキシペプチダーゼと同等と考えられるため、実施していないとしております。同様に、(b) 人工腸液に対する感受性につきましても、既存のカルボキシペプチダーゼと同等と考えられるため、実施していないとしております。また、(c) の加熱処理に対する感受性は記載のとおりでございます。

d.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知見につきましては、284行目の最後のあたりからでございますが、コムギ由来のアレルゲンが検出された。詳細は第4-5-(2)に記載のとおりとしております。

そのほか、②*pyrG*遺伝子と③*LEU2*遺伝子については記載のとおりでございます。

3.挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカー遺伝子の発現に関わる領域に関する事項でございます。こちらは修正があるので読み上げます。

*cp1AO*遺伝子のプロモーターは、*A.niger* BO-1株の中性アミラーゼⅡをコードする*na2*遺伝子の*na2*プロモーター配列である。*pyrG*遺伝子のプロモーターは、チアミン合成酵素をコードする*thiA*遺伝子の改変プロモーター配列が用いられた。*LEU2*遺伝子のプロモーターは、自身の野生型プロモーター配列であるとしております。

それ以降、(2)、(3)については記載としております。

また、39ページに行きまして、5.構築された発現ベクターに関する事項ということでございます。(2)の後半ですが、346行目からの「一方」のところでございます。一方、連続する8アミノ酸配列が完全に一致する既知のアレルゲンとして、コムギ由来のアレルゲンが検出された。コムギ及びトウモロコシの食物アレルギーを引き起こす患者の血清と反応するアレルゲンとして報告があるが、エピトープ検索を実施したところ、登録されていなかった。

さらに、上記のORFと既知の毒性タンパク質との相同性の有無を調べる目的で、MvirDBデータベースを用いてE-value<0.02を指標として相同性検索を行った。その結果、2個のORFがデータベースのタンパク質と相同性を示したが、いずれも毒性を示すとは考え難いタンパク質であったとしております。

したがって、遺伝子導入用ベクターには、アレルギー誘発性及び毒性タンパク質をコードするORFが含まれる可能性は低いと考えられたとしております。

40ページに参りまして、6、7については記載のとおり、第5.組換え体に関する事項について、1ポツについては記載のとおりで、2.遺伝子導入に関する事項の(1)制限酵素による切断地図に関する事項でございます。こちらの後半、390行目、「さらに」からでございます。さらに、ドロップレットデジタルPCR法を用いてコピー数を解析した結果、複数コピーの*cp1AO*遺伝子が導入されたことを確認した。また、挿入領域近傍の塩基配列及び制限酵素による切断地図は明らかになっているとしております。

続きまして、(2)のオープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性については、この記載のとおりとしております。こちらについては、アレルゲンは検出されなかった。毒性のタンパク質と相同性を示したORFはなかったとしております。

41ページの第6については記載のとおりでございます。

第7.遺伝子組換え添加物に関する事項で、1.諸外国における認可、食用等に関する事項は、*cp1AO*製品は2019年から米国で販売され、GRASとして認証されているとしております。

それ以降、2、3、次のページの4、5に参りましても記載のとおりとしております。

JPAo007株については以上でございます。

続きまして、JPAo008株に参ります。JPAo008株は45ページからとなっております。

本文は50ページからであり、JPAo007株とほとんど同じで、I.評価対象添加物の概要については記載のとおり、II.食品健康影響評価の第1についても記載のとおりとしております。

51ページに参りまして、ここも記載のとおりというところでございます。

違いといたしましては、55ページでございます。280行目、d.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知見でございます。*apeAO*と既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を調べるため、アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った。その結

果、連続する80アミノ酸配列で35%以上の相同性を示す既知のアレルゲン及び連続する8アミノ酸配列が完全に一致するものはいずれも検出されなかったとしております。

それ以降についても記載のとおりでございます。

ベクターに関する事項といたしまして、57ページの329行目からの、5.構築された発現ベクターに関する事項の(2)のORFの検索のところでございます。こちらにつきまして、342行目の「次いで」のところからでございますが、次いで、上記のORFと既知のアレルゲンとの相動性の有無を調べる目的で、アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った。その結果、連続する80アミノ酸配列に対して35%の相同性を示すアレルゲンは検出されなかった。一方、連続するアミノ酸配列が完全に一致する既知のアレルゲンとして、コナヒョウダニ由来のアレルゲンが検出された。しかしながら、コナヒョウダニ由来のDerf 15.0101は吸引をばく露経路とする呼吸器感作性アレルゲンであり、食物アレルゲンとして登録はされていないこと、このORFと既知のアレルゲンとの間で認められた8アミノ酸の一致は1か所のみであるといったところから、食物アレルギー感作性の懸念は小さいと考えられたとしております。

さらに、上記のORFと既知の毒性タンパク質との相同性の有無を調べる目的で、データベースを用いて相同性検索を行った。その結果、3個のORFがデータベースのタンパク質と相同性を示したが、いずれも毒性を有すると考え難かったタンパク質であった。したがって、遺伝子導入用ベクターにはアレルギー誘発性並びに毒性をコードするORFが含まれている可能性は低いと考えられたとしております。

それ以降については、JPAo007株と同じとしておりますので、割愛させていただきたいと思っております。

説明は以上でございます。よろしくお願いたします。

○中島座長 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、コメント等承りたいと思っております。細かい字句等でしたら後ほど事務局に伝えていただければと思っております。ございますでしょうか。

どうぞ。

○川西委員 諸外国における認可、食用等に関する事項の書き方なのですが、例えばカルボキシペプチダーゼのほうは41ページになりますか。この製品は2019年から米国で販売され、GRASとして認証されているって、資料から読み解く限りはこの時系列なのだけれども、米国のシステムだと販売してしまってからGRASで認証されるという形で、これはいいのだろうか。確かに資料を読むとそういう資料になって提出されてきているのだけれども、私もGRASというシステムをきちんと認識していないので、分からないのですが、その辺りがきちんと書けていないと報告書として問題かもしれないので、確認していただければと思っております。

○中島座長 ありがとうございます。

最近、アメリカのGRASも少々不透明なところがあって、どこまで当てになるのかとち

よっと懸念しているのです。

小関先生、お待たせしました。すみません。

○小関専門委員 川西先生が先ほど議論が長くなるからおっしゃられたところなのですが、申請者のほうとしては、胃液、腸液のところ、これまでのペプチダーゼと同等であるから行わなかったと書いてあるのですけれども、これは申請者の文意からいったときに、元の*Aspergillus*から由来のカルボキシペプチダーゼと同等だったからという言い方だったと思うのです。

一方で、評価書の上で表に出てくる文章でいったときに、これはカルボキシペプチダーゼという表記をしたときに、カルボキシペプチダーゼの基原として、*Aspergillus*もあるし、イーストもあるし、さらにはコムギのふすまから取ったものもカルボキシペプチダーゼとして基原は公知されている格好になっているので、ここで何も限定をつけないで、評価書のほうでカルボキシペプチダーゼと同等であるから行わなかったと認めた形で出して大丈夫なのかどうか。これは今後そのほかのところにも大きくはね返る問題かと思うので、ここは確認していただきたいと思うのですけれども、いかがでしょうか。

○山口係長 事務局でございます。

先ほどの小関先生の既存のカルボキシペプチダーゼというところなのですが、評価書でいうと32ページでそれに対するお答えができるかなと思うのですが、II.食品健康影響評価の第1のところ、この安全性評価において比較対象として用いる添加物というところで、1の(1)で限定しております。カルボキシペプチダーゼ、基原は*Aspergillus oryzae*ということで、酵素ですといろいろ基原がたくさんあるものが存在するのですけれども、ここでは*Aspergillus oryzae*由来のカルボキシペプチダーゼを比較対照としてこの申請品目の位置づけです。

○小関専門委員 分かりました。要するに、この評価書のこの部分だけ切り抜いて話をされるとまずいかなと思っただけの話です。それでしたら結構です。ありがとうございます。

○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。

どうぞ。

○脇委員 委員の脇です。

先ほどの御議論から、既存のカルボキシペプチダーゼと、それから、今度の組換えの分との物理学的な比較というのが同時に同じ条件で比較したものではないと。既存の酵素のデータ、至適pHなどを比較されているということで、両方の酵素ともなのですが、評価書の34ページの至適温度及びpHが異なる点、152行目、あるいはアミノペプチダーゼですと52ページの152行目について、このように書いてよろしいのかどうか確認していただけたらと思います。比較対照の酵素としっかり同時に実験をしてのデータではないのではないかとということです。

以上です。

○中島座長 麴菌の酵素は割と至適pHとかの幅が広くて、同じ酵素で同じように実験をしても誤差範囲でなだらかなピークになるので、ちょっとどちらが上と、実験の仕様によって0.5とか1ぐらいは変わるものなのです。だから、それでも、それを文献にするときに報告するときにどこがピークであったと一応報告しないとイケないのだけれども、同じ人が後日やっても0.5ぐらいは来るということは私なら納得がいくところではあるのです。

だから、同一の条件でこの2つの酵素で●●●くらいでも、同一の条件で実験すれば同じ結果にはなつたろうにというのはそういう意味で、同じ酵素であっても別々の研究所で別々の人が別々の設備を使って実験したら、それはこれぐらい差がつくよねと思ったわけです。

なので、正確なところは、私は●●●でああいう差がつくとは全然思っていないくて、これはただ単にそのときの実験のたまたまの誤差範囲の違いであると思っています。少なくとも麴菌のこの手の酵素であつたらこれぐらいの差はついてもしようがないなと思うわけで、これがもっと至適pHとかが非常にクリアな酵素だったら0.5の違いも大きいものとかもあるのだけれども、この場合はそうではない。なので、私としては、せめて従来品と並べて表をつくるのだったら、同一の条件で従来品と並べて実験して、次からはその結果を並べたデータを出しなさいよねとくぎを刺したつもりなのです。

○脇委員 よく分かりました。

ですから、ここで違うと書いていいのか。

○中島座長 評価書案での書きぶりはまた別の問題なので、食品安全委員会としての評価がどのように外へ出ていくかの問題なので、それとこれとは別に議論すべきで、どうしようか。

○松原課長補佐 書き方については検討させていただければと思います。

○中島座長 ということで、それとこれとは別で検討したいと思いますので、事務局のほうで案を考えていただいて、私と脇先生のほうで確認して最終的な案にしたいと思います。

先生の御指摘はごもっともです。

○脇委員 ありがとうございます。

○中島座長 先生方、ほかによろしいでしょうか。

それでは、修正につきましては事務局のほうで修正して、私と脇先生のほうで確認して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粛々と進めていきたいと思いません。

議題1についてはこれで終わりたいと思います。

新任の先生方、脇先生、松永先生、お付き合いありがとうございました。何かございますか。松永先生、よかったらお一言。よろしいですか。

議題2、その他ですが、事務局から何かありますでしょうか。

○松原課長補佐 特にございませぬ。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、本日の議題についてはこれで終了です。

先生方、お疲れさまでした。