

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第219回) 議事録

1. 日時 令和3年11月19日(金) 14:20~17:34

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

- ・ Raα3114株を利用して生産されたプロテアーゼ
- ・ 長鎖多価不飽和脂肪酸含有及びイミダゾリノン系除草剤耐性セイヨウナタネ LBFLFK(食品・飼料)

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

中島座長、岡田専門委員、小関専門委員、小野道之専門委員、小野竜一専門委員、近藤専門委員、藤原専門委員、山川専門委員

(専門参考人)

児玉専門参考人、手島専門参考人

(食品安全委員会)

川西委員、脇委員

(事務局)

鋤柄事務局長、中事務局次長、石岡評価第二課長、井上評価情報分析官、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 Raα3114株を利用して生産されたプロテアーゼ
- ② 長鎖多価不飽和脂肪酸含有及びイミダゾリノン系除草剤耐性セイヨウナタネ LBFLFK(食品・飼料)

6. 議事内容

○中島座長 本来、定刻は14時40分なのですが、なるべく早く始めて早く終わらせるほうがよろしいかと思しますので、ただいまから第219回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催したいと思います。

本調査会議は、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。

本日、所用により安達専門委員、樋口専門委員は御欠席です。

また、専門参考人として、千葉大学大学院園芸学研究院の児玉浩明教授及び岡山理科大学獣医学部の手島玲子教授に御出席いただいております。

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、Web会議システムを利用して行います。

本日の議題ですが、継続品目である「Rac3114株を利用して生産されたプロテアーゼ」及び「長鎖多価不飽和脂肪酸含有及びイミダゾリノン系除草剤耐性セイヨウナタネLBFLFK（食品・飼料）」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。事務局から説明をお願いいたします。

○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付資料1-1、1-2、2となっております。

また、本日は、「Rac3114株を利用して生産されたプロテアーゼ」の申請者であるピュラトスジャパン株式会社の方、「長鎖多価不飽和脂肪酸含有及びイミダゾリノン系除草剤耐性セイヨウナタネLBFLFK（食品・飼料）」の申請者でございますBASF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、質疑応答等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」に基づいて、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 審議に入ります前に、Web会議における注意事項が例によってございますので、事務局よりこの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Web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、発言の際は赤い挙手のカードを提示してください。またはWeb会議画面の挙手ボタンを押してください。

座長より呼びいたしますので、マイクをオンにしてお名前を発言いただいた上で御発言をお願いいたします。

座長より指名がない場合は直接マイクから呼びかけてください。

発言の最後には「以上です」と御発言いただき、マイクをオフにしてください。

3点目、音声接続不良時、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がございます。

マイクが使えない場合はWeb会議システムのメッセージ機能によりお知らせください。

万が一、全く入室できなくなった場合は、事務局までお電話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。事前にお送りさせていただきました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Web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、継続品目であります「**Rac3114株**を利用して生産されたプロテアーゼ」について審議を行いたいと思います。

本品目は、令和2年10月の専門調査会において審議を行ったものです。

それでは、事務局から説明をお願いいたします。

○奥藤評価専門官 御説明させていただきます。

本品目は、昨年10月の専門調査会で御審議いただいた際に、申請者に対して専門委員の皆様から幾つかの御質問や御指摘をいただいております。今般、その内容を踏まえて、申請者から回答書の提出があり、申請資料の修正がなされていますので、該当部分を御説明いたします。お手元に黄色いプラスチックファイルを御準備ください。

ファイルには、初めに回答書とそれに続けて修正版の申請要旨が入っております。まず、本申請の添加物について、簡単に御説明させていただきますので、後ろ側の要旨の5ページ目を御覧ください。宿主は *Bacillus subtilis* Marburg168株です。

要旨の6ページ目を御覧ください。この宿主に熱水泉から単離された *Thermus aquaticus* YT1株由来の耐熱性アルカリプロテアーゼ遺伝子を導入して作出した **Rac3114株**を利用して生産されたプロテアーゼでございます。プロテアーゼは小麦グルテンを分解し、パン生地の品質向上を目的として使用されるものでございます。

前回の調査会で、指摘事項を7つ出してございます。指摘事項に沿って資料を御説明させていただきますと思います。

回答書の1ページ目を御覧ください。指摘事項1になります。

当該酵素は、製造工程中で生産培養の後に●●●を行っております。この●●●工程の目的を記載するようにとの指摘に対して、●●●であるとの回答がありました。

続いて、前回の要旨で、「濃縮酵素溶液に他の菌のコンタミネーションが見られなかった」と記載がされておりました、この「他の菌」とは具体的に何かを確認しております。

回答といたしまして、一般生菌、大腸菌、サルモネラ、黄色ブドウ球菌、亜硫酸塩還元性クロストリジウムであるという回答が来てございます。

この2点につきましては、要旨を修正しております。

次に回答書の3ページ目を御覧ください。指摘事項2でございます。

遺伝子組換え添加物と従来の添加物の相違点の事項でございます。

申請者はAqualysin1の比較対象としてアミノ酸配列や立体構造の類似点を理由にOryzinを用いていましたが、その根拠を示すようにとの指摘をしてございます。

回答として、表の青色の項目の上から3つ目の「類似性について」という中の上から5つ目に「アミノ酸配列の同一性」というところがございますが、ここに記載がありますとおり、Aqualysin1とOryzinのアミノ酸配列の同一性が39.47%であること、また、3ページ目の下から2行目からの記載になりますが、立体構造については、2つのタンパク質の立体構造差異を定量化するために用いるRMSD値が1.04 (Å) と十分に小さいことから、類似性が高いという回答をしております。

次に回答書の6ページ目を御覧ください。指摘事項3になります。

前回の要旨では、*B. subtilis*についてウイルス感染などの報告はされていないという記載をしておりましたが、*B. subtilis*自体は複数のウイルスに感染している事例が知られていることから、*B. subtilis*がヒトに対して病原性を示すウイルス等に汚染されているとの報告はないという修正をしてございます。

続きまして、回答書の7ページ目を御覧ください。指摘事項4でございます。

まず1つ目ですが、前回の申請資料では、遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する知見として、分析ツールであるPeptide cutterを用いたシミュレーションを行った結果を記載していましたが、シミュレーションは、経時変化を伴った試験ではなく、タンパク質分解性を評価したことにならないため、人工胃腸液処理試験を実施するようにとの指摘をしてございます。

この指摘を受け、申請者は人工胃腸液処理試験を行い、ウェスタンブロット法で分析し、Aqualysin1は人工胃液で1.5分以内に消化され、人工腸液では90分処理した場合でも消化されなかったと考察をしてございます。

回答書の8ページ目を御覧ください。こちらに人工胃腸液処理試験のSDS-PAGEとウェスタンブロットの結果が載っています。

人工胃液処理試験について、●●●。

Bがウェスタンブロットの結果になります。レーン2のAqualysin1のコントロールでは、SDS-PAGEで観測されたバンドに相当する位置にバンドが観測されています。また、レーン3の中和したコントロールも28kDaより若干大きめのところになりますが、SDS-PAGEでは観測されなかったバンドが観測されており、これをもってAqualysin1の存在が確認されたとしております。バンドの位置が28kDaよりも大きい位置に確認されたのは、pHの影響を受けて変性度が異なることが原因だとしております。また、レーン3の100~150kDaの位置にもバンドが検出されていますが、これはAqualysin1抗体と抗原抗体反応を示すバンドであるとしております。このバンドは、大きさからpHの影響を受けて変性度合いが異なることで多量体を形成しているものであると推察してしております。これらのバンドがレーン5の消化試験1.5分以降には消失していることから、Aqualysin1は人工胃液により1.5分以内に消化されたと考察をしております。また、レーン3~レーン5でペプシンのバンドが検出されていないのは、ペプシンとAqualysin1が何かしらの相互作用を起こしているからだという考察になっております。

次に人工腸液試験についてですが、●●●。

これらの先ほど私から御説明させていただきました考察については、要旨には記載されておりませんでしたので、事前に申請者へ連絡をして、本日、机上配付資料1-2の14ページと記載のあるページでございますとおり、考察を追記する再修正を行っております。

また、16ページにあるとおり、Peptide cutterによるシミュレーションに関しては、記載を削除してございます。

回答書に戻ります。9ページ目からが2つ目の指摘であるパンの焼成条件における本酵素の失活の有無等の情報を得るために、熱に対する感受性試験を行い考察することという指摘に対する回答になっております。

パンは通常、100度で10~20分ほど焼成されることから、Aqualysin1を100度で加熱処理した際の酵素残存活性を測定しております。結果は9ページ目の図19のとおり、100度で加熱処理した場合、5分で97.5%、15分でほぼ全ての酵素活性が失われました。また、加熱処理に対する感受性をウェスタンブロットで確認しており、●●●、100度15分加熱処理で抗原抗体反応を失うとしております。

さらに、実際に推奨最大添加量よりも多い量を添加してパンを焼成した場合でも、中側の白い部分になりますが、焼成したパンのクラム部分から酵素の残存活性は認められなかったとしております。

続いて3つ目ですが、前回の要旨では、●●●遺伝子には変異がなかったとされていましたが、データの添付がなかったため、シークエンスにより変異の有無を確認し、添付資料として提出するように求めています。その回答が10ページ目の中段から記載されております。シークエンスの生データはなく、シークエンスを行って変異がなかったことを確認したレポートを添付資料18として提出してきております。

続きまして、回答書の12ページ目を御覧ください。指摘事項5になります。

●●●遺伝子がコードするプロテアーゼと相同性を示した呼吸器系アレルギー及び皮膚系アレルギーの安全性についての考察を求めています。

回答ですが、まず、アレルギーデータベースが更新されたことに伴い、前回28アレルギーと報告していたものが、呼吸器系アレルギーが1つ増えて29アレルギーとなっております。また、考察は、Aqualysin1と類似性が高いSubtilisinのアレルギー情報を参照して行っております。呼吸器系アレルギーについては、Subtilisinのアレルギー情報では、形状を粉じんにならないよう顆粒化することで、アレルギー反応のリスクを抑えることができるようになっており、今回のAqualysin1も食品原料を担体として顆粒状にしていること、また、研究、商品開発段階や製品を使用している顧客からもアレルギー反応の報告がないことから、他の酵素と同様の取扱いができるとしております。

また、皮膚系アレルギーにつきましては、陽性を示す報告はあるものの、HERA (2007) のレポートでは、皮膚感作性物質とはみなせないと述べられていることや、研究、商品開発段階や製品を使用している顧客からもアレルギー反応の報告がないことから、他の酵素と同等の扱いができるとしております。

続きまして、回答書の16ページ目を御覧ください。指摘事項6になります。前回の申請書では、ORFの検索を開始コドンに対する塩基配列としておりましたが、stop to stopとして検索し直すことを求めています。

また、ORFの記載を適切な位置に移動することと、3つの遺伝子座におけるORFの位置を示した図を要旨中に追記することを求めています。

ORFをstop to stopで再検索した結果、33個のORFが認められ、2つの既知の呼吸器系アレルギーと相同性を示しました。呼吸器系アレルギーにつきましては、Aqualysin1を用いた製品は顆粒化されており、開発、製造段階及び顧客による使用実績の中でアレルギー反応が報告されていないことから、他の酵素と同等の取扱いができるとしております。

また、ORFに関する記載は第5-2- (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関する事項に移行し、別添資料11に記載してあった詳細な内容についても修正する形で要旨に記載をしております。

続きまして、回答書の22ページ目を御覧ください。指摘事項7でございます。

今回の製品の販売実績及び使用中における安全性に関する報告の有無について記載を求めています。

回答として、2017年以降のアメリカ、メキシコ、オランダ、カナダ、フランスにおける使用実績を報告してきております。また、前回申請書では記載しておりましたカナダでの承認状況が別株での承認状況であったということで、カナダの記載を削除するとともに、メキシコにおける承認実績があったことが判明したことを受けて、その内容を追記してございます。その記載が23ページになります。

なお、2017年以降の各国における使用実績を踏まえて、Aqualysin1を含む酵素製剤にお

ける安全性に懸念が示された報告はないとしてございます。

最後になりますが、回答書の24ページ目を御覧ください。前回の要旨で、酵素調製物中の生菌数におけるプレートの生菌数の結果を、10CFU/ml未満と記載しておりましたが、増菌培養を行ったものは定性試験であり定量的結果を示すことは適切ではないとして、酵素調製物1ml中陰性という記載に修正しております。

説明は以上になります。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、申請資料の修正箇所につきまして御意見をいただきたいと思いますが、まだ経験の浅い先生方もいらっしゃいますので、本調査会の基本システムを少々御説明いたします。

この案件は投稿論文の査読と同じでして、1回目の審議のときに指摘事項を全部出せるだけ出しておく。2回目以降はこの指摘事項について、基本的にはこの指摘をされた先生のほうからこれでよいかどうかの確認を取るという方向でやっております。その上で、各先生方の御意見を伺って、同意を得るという形になっております。また、原則として1回目に申請者をお呼びしまして、内容について不明な点があれば質疑をして、審議の迅速化を図るということをしてございます。本日、両方とも2回目の審議なのですが、どちらも少々事情がございまして、両方とも申請者を呼んでおります。若干の訳ありとお考えいただければと思います。

それでは、指摘事項1についてです。要旨の7ページ、製造方法で、加熱処理工程の目的について記載することということと、その他の菌のコンタミネーションについてです。これは私と川西先生の指摘で、加熱処理の目的について生菌の不活化、自己プロセッシングなどが書かれてございます。

一般的に、好熱菌の酵素を、今回の *Bacillus* のような中温菌で発現させて、生成の工程で最初に熱処理することの主な目的は、一般的にはこれをやりますと中温菌、*Bacillus* 由来のタンパク質がみんな熱変性して沈みますので、目的の酵素は一発で生成できる。その辺の答えを期待したのです。そうではありませんでしたが、とにもかくにも自己プロセッシング等々の回答はいただいておりますので、そういうことならばそれで私はいいかなと思います。

他の菌のコンタミネーションについてはたしか川西先生だったと思いますが、これについての回答はこれで御納得されますでしょうか。

○川西委員 はい。一応、これで具体的に言っていただければ結構です。

○中島座長 ありがとうございます。

この指摘事項につきまして、ほかの先生方、申請者の回答についてこれでよろしいでしょうか。

(首肯する委員あり)

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項2でございます。遺伝子組換え添加物と従来の添加物の相違点で、Aqualysin1の比較対象としてアスペルギルス *Aspergillus oryzae*由来のOryzinを示している、その妥当性として、アミノ酸配列や立体構造の類似点を挙げているが、その根拠を示すこととあります。

データを示していただいて、アミノ酸配列はあまり似ていないような気もするのですが、この御指摘はたしか児玉先生だったと思いますが、いかがでしょうか。

○児玉専門参考人 これはセリンプロテアーゼなので、触媒部位のアミノ酸はきっちり決まっています、セリンプロテアーゼの中では触媒部位のアミノ酸の空間配置がきっちり保たれるというのが特徴としてよく知られているのです。本当はそこを少し触れてほしかったのですが、これはこれでかなり詳しく書いていただいているので、そこには触れていませんが、私自身はいただいた資料を基にアミノ酸配列をチェックしまして、空間配置がちゃんと保たれているだろうと確認できたので、これはこれでよろ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。

これはSubfamilyのS8Aとかそういうところも共通しておりますので、アミノ酸配列に比べて肝心なところはそこそこ似ていて、私もいいのかなと思います。

この指摘事項につきまして、先生方、御意見等はございますでしょうか。

それでは、指摘事項2につきましてはこれでよろしいですね。

(首肯する委員あり)

○中島座長 ありがとうございます。

指摘事項3、宿主がウイルスに汚染されていないことを示す事項についてでございます。

それなりの修正がなされていると思うのですが、この御指摘は吉川先生ですね。吉川先生はいらっしゃいませんが、修正もなされていますし、この宿主に使っている株も有名でして、この株はウイルスに汚染されていなくて広く使われていることを私も確認しておりますので、この点はよろしいかと思います。

先生方、指摘事項3について御意見等はございますでしょうか。よろしいでしょうか。

(首肯する委員あり)

○中島座長 指摘事項4でございます。

アレルギー性について確認を行うために、人工胃液、人工腸液、それから加熱試験等を課しております、これについて当初の申請ではPeptide cutterでコンピューターのシミュレーションでの報告でしたので、ちゃんと実験をするようにと指摘いたしました。その結果が返ってきております。

8ページのSDS-PAGEとウェスタンブロット、特にSDS-PAGEに出てきたレーン2のバンドと、ウェスタンブロットのレーン2とレーン3、4が思い切りずれておまして、それについてアルカリでさらしたとかなんとかいろいろと書いてありますけれども、この点につ

いて御意見をいただければと思います。

指摘事項は、1つは人工胃液処理試験を実施すること。それから、パンの焼成条件における本酵素の失活の有無などで、熱に対する感受性試験を行って考察すること。これについても100度熱処理についての残存活性という形でデータをいただいております。最後に、●●●遺伝子には変異がないとしているがデータの添付がないので、シーケンスにより変異の有無を確認し、添付資料として提出すること。これは添付資料がついています。

御指摘は手島先生、児玉先生、小関先生になっております。

まず、手島先生、よろしく申し上げます。

○手島専門参考人 Peptide cutterのデータでは経時変化まで追えていないので、人工胃液、人工腸液を使った実験をしてほしいということ投げたので、それに対して実験してもらったということはいいと思うのですが、図17、図18は大分悩ましくて、どのように考えればいいかと思うのです。

レーン2と3の違いが、レーン2に炭酸ナトリウムを入れることによってAqualysin1の原子量が上がっているというところがあるのですけれども、そういうことが普通に起きるのかどうかというのはどうしても理解しにくいのです。ただ、現実にそういうことだろうということで理解したのです。

レーン5、レーン6、1.5分のところで人工胃液のほうではバンドが見えなくなるということですので、早く消化されるというところは納得できるかと思うのですが、レーン2と3でこういうことが起きるといことと、レーン6以降でもう一回ペプシンのバンドが復活してくるといのもなかなか難しい理解だと思うのです。ただ、単純に早く分解されたということでは、人工胃液では早く分解しているということは言えるかと思えます。

人工腸液のほうも、レーン4からまたバンドが復活してくるといことがなかなか難しいところなのですが、人工腸液では分解されにくいといことが出てきているのかと思えますけれども、多分普通のタンパクではないので、こういう現象が起きるといことはこのセリンプロテアーゼの特徴かとは思うのですけれども、その辺りが本当に起きるのかどうかといことはもう少し確認してみたい、聞いてみたいとい気はいたします。

○中島座長 ありがとうございます。

私は実は、はっきり言ってこんなことは起こるのかと思ひまして、たとえ炭酸で処理していても、SDS-PAGEにかけるところで、SDSで変性させるし、中に入れるわけなので、正直、そんなことはあるのかと私は思ひますので、この点については申請者をお呼びして質問したいと思ひのですけれども、先生、よろしいですか。納得したわけではないですよ。

○手島専門参考人 なぜ起きるかやはり分からないですね。

○中島座長 そうではないかなとい気がしたもので、口を挟ませていただきました。

後のほうもついでにお聞きしておきたいと思ひのですが、熱処理の試験の結果はいかがですか。

○手島専門参考人 活性が5分で落ちるということですよ。それで活性が落ちるということですので、100度という中では不安定ということなので、よろしいかと思いました。

○中島座長 ありがとうございます。

●●●の変異については資料が提出されております。これはよろしいでしょうか。

○手島専門参考人 よろしいかと思いました。

○中島座長 ありがとうございます。

児玉先生、御見解をお願いいたします。

○児玉専門参考人 今、手島先生がおっしゃったことに加えることはほとんどないですけれども、アルカリ性プロテアーゼなので、強酸性に持って行って中和するという処理で多少変性するのかなと。善意に考えればそう考えたのですけれども、ただ、ウェスタンブロットで人工胃液のほうは5番以降、バンドが出てこないですし、分解しているということについて、それをこちらから特に強く否定するということにはならないのかなとは考えております。

皆さんが疑問に思う点は非常にごもっともだと思いますので、少し聞いてみたらいいかなと思いました。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

熱感受性試験等々につきまして、後段のほうはいかがですか。

○児玉専門参考人 後段のほうは、こちらのデータで特に問題はないかと思います。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、小関先生、いかがでしょうか。

○小関専門委員 本当に各先生方がおっしゃっているとおりなのですが、たしか前にこの方たちがいらっしゃったときに聞いたと思うのですが、**SDS-PAGE**のときに必ず**BPB**を混ぜているから、それが黄色くなったのを確認してくださいねと言ったのですけれども、それが分かっているのか、やったのかな、見たのかなという点がすごくあるのです。

まず、図17のほうで言ったときに、**SDS-PAGE**の第2レーンでは**26kDa**ぐらいのところにバンドが出て、炭酸ナトリウムを入れたら消えたということで、そこから先がない。けれども、ウェスタンブロットで見ると**25kDa**と**37kDa**の間、レーン3、4の全然違うところで抗体が引っかかっているのだけれども、上のところでも引っかかっているのだけれども、何なのだろうというところです。これは私も解釈のしようがないなと思うし、あとは先ほど手島先生がおっしゃったように、**SDS-PAGE**のレーン7、8、9のところでもバンドが出てくるし、これは何だろうと。

図18でいくと、レーン2に**SDS-PAGE**のところでもバンドが見えていないように思うし、ウェスタンブロットを見てもレーン2のところははっきりしたバンドが見えなくて、後になって第4レーン以降でバンドが見えてくるというように、全然解釈のしようがなく、分からないです。

以上です。

○中島座長 取りあえず申請者をお呼びしますので、基本はあまり納得がっていないということでもよろしいですか。

○小関専門委員 それしかないです。すみません。

○中島座長 ありがとうございます。

この点につきましては判断を一時保留して、申請者をお呼びして質疑の上で、また判断していきたいと思います。

それでは、指摘事項5でございます。要旨の13ページで、挿入遺伝子の機能に関する事項、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、呼吸器系アレルゲンとか皮膚系アレルゲンについて生産される酵素がパンなどの製造に使用されて、従業員が暴露するおそれがあることから、それぞれの安全性について考察すること。アライメントデータなどもちゃんと含めることという指摘でございます。

指摘は手島先生です。それなりに回答はいただいているように思うのですが、先生、これでいかがでしょうか。

○手島専門参考人 詳しく書かれていますので、これでよろしいかと思えます。

○中島座長 ありがとうございます。

この指摘は小関先生もだったと思いますが、先生、この解答でいかがでしょうか。

○小関専門委員 私もこれで結構だと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかの先生方、この指摘に対する申請者の回答で何かございますでしょうか。

では、指摘事項5はこれでよろしいでしょうか。

(首肯する委員あり)

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項6、要旨の18～19ページです。

これはオープンリーディングフレームの検索について、**stop to stop**で、つまり開始コドンから終止コドンではなくて、終止コドンから終止コドンとして検索を行うようにと定められてもおりますので、それでやり直してちょうだいということです。あとは細かい書換えの問題でございます。

指摘は私と小関先生です。

私としては、ちゃんとやり直していただいて、それなりに分かりやすく記載もしていただいておりますので、これでいいかなと思いました。

小関先生、いかがでしょうか。

○小関専門委員 私もこれで結構です。

以上です。

○中島座長 指摘事項6について、ほかの先生方、いかがでしょうか。よろしいでしょう

か。

(首肯する委員あり)

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項7でございます。諸外国における認可、食用等に関する事項で、販売実績、使用中における安全性に関する報告の有無について記載すること。

これは川西先生と私が指摘させていただいております。

諸外国の販売実績のデータ、もう既に結構売れている。それから、特に事故等はそんなにはないという報告をいただいております。私はいいかなと思いました。

川西先生、いかがでしょうか。これでよろしいでしょうか。

○川西委員 私はぱっと見たときに書き方で誤解をしてしまって、ううんと思ったのですが、もう一回よく読みなおしたらこれでいいです。

○中島座長 ありがとうございます。

諸外国の販売実績等のデータをいただいております。先生方、指摘事項7につきまして御意見等はございますでしょうか。よろしいでしょうか。

(首肯する委員あり)

○中島座長 では、この点もオーケーということですよ。

それでは修正事項、組換え体の残存に関する事項で、酵素調製物中に生菌数におけるプレート上の結果をCFUで示しているのだけれども、定性試験で定量的な結果を示すのは適切ではないということです。これは書きぶりの問題でして、直してくださいということで、これは橋田先生なのですが、こちらで確認いたしました。よろしいかと思えます。

全般を通じまして、御指摘、御質問等はございますでしょうか。

特になければ申請者を呼んで、謎のSDS-PAGEについて少々追及したいと思います。

それでは、申請者を呼んでいただけますでしょうか。

(申請者入室)

○中島座長 本日は、お忙しいところお越しいただきまして、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。

○土屋氏 私は、ピュラトスジャパンの土屋と申します。よろしくお願ひします。

○篠崎氏 ピュラトスジャパンの篠崎と申します。よろしくお願ひします。

○中島座長 どうにか聞こえるくらいなので、もう少しそちらのマイクに顔を近づけて、大きい声で言っていただけると助かります。よろしいでしょうか。

私の声は聞こえておりますでしょうか。

○土屋氏 よく聞こえております。

○中島座長 質問は、指摘事項4の物理化学試験のSDS-PAGEとウェスタンブロットに関することに集中しております。

SDS-PAGEでは、レーン2がAqualysin1で28kDaのバンドがはっきり見えていて、レーン3と4はほとんど見えない。それから、レーン7、8、9で消化性試験10分、20分、60分の

ところで●●●kDaのバンドが復活しております。何でこうなるのか、実は我々は理解ができなくて困っておったところです。

それから、これに対応するウェスタンブロットで、レーン2のところはSDS-PAGEのレーン2の28kDaときれいに一致しております。レーン3がなぜかバンドの分子が上がっておりまして、●●●kDaまでは行かないけれども、●●●kDaくらいの大きさに2割くらい増えておる。さらに●●●kDa程度のところにバンドが見えております。

このようなことは、どのようにして起こるものなのか。回答書の御意見をいただきましたけれども少々納得し難いので、口頭でもう少し説明を加えていただけるとありがたいです。

○土屋氏 分かりました。

こちらは、パワーポイントを共有させてもらうことは大丈夫でしょうか。

○中島座長 それはできないので、それでしたら例えば資料をカメラに向けるとかでやっていただければと思います。そちらから送っていただいた資料は、皆こちらにございますので、SDS-PAGEとウェスタンブロットのデータは手元にあります。これとは違う資料を提示したいということでしょうか。

○土屋氏 内容的には同じなのですけれども、Webでの会議だったので、説明用にパワーポイントチャートを見せてよければ。

○中島座長 それには対応できないので、紙芝居のような形でカメラに向けていただけると。今、見えていますね。どうぞよろしくお願いします。

○土屋氏 まず、結論から言いますと、ウェスタンブロットで消化性試験を行って、1.5分のところで、今まで0分のところで見えていたバンドが消失していることが見えていますので、結論としては、Aqualysin1は1.5分で消化されたと考えられるということを述べております。

次にSDS-PAGEに関してなのですが、まず、ここがコントロールの部分になりまして、Aqualysin1のものが見えていたのが、炭酸ナトリウムを入れることによって、バンドが見えなくなっています。ただ、我々としてはAqualysin1が消失したわけではないのではないかと考えております。

それと同時に、今おっしゃったように不可解な現象として、●●●kDaの上の部分ももとのペプシンのバンドなのですけれども、0分と1.5分のところでも見られなくなっております。これはAqualysin1との何かしらの相互作用が起きているのではないかと考えています。

どうしてかといいますと、この後、4分以降のところでも再びペプシンのバンドが見られ始めるということで、ここでは消えていなかったのではないのかと。最初に見えていなかった部分とウェスタンブロットの消化試験の結果が割と合致しているのです、Aqualysin1が消化されて相互作用がなくなったため、SDS-PAGEのバンドも復活したのではないかと考えています。

そのことより、結論としては、SDS-PAGEの結果とAqualysin1が1.5分で消化されたことと符合しているのではないかという結果の解釈をしています。

ここまでが結果の解釈の部分ではあるのですけれども、では、どうしてこれが起きているのか、本当にこのようなことが起きるのかということが、正直私どもも分からない部分です。あくまで現象として起きているものは何かということで、例えばウェスタンブロットであれば、Aqualysin1だけのものですと恐らく28kDa辺りのところにバンドが見えるのがなぜか。違いは炭酸ナトリウムを足したか、足していないかだけなのですけれども、違ってくる。恐らく関係してくるものは、溶液の中の濃度です。何かしらの物質が入っている濃度の影響あるいはpHの変化、あるいはその両方が考えられるのですけれども、恐らくpHの影響ではないのかと考えられるのではないかというところまでしか分かっておりません。本当にこのようにバンドが大きくなるのか、本当にこのように集合体を作るのかというところをサポートするようなデータは今のところ取れていないということになっております。

同様に、何かしらAqualysin1とペプシンの相互作用が起こっているのではないかという話を申し上げたのですけれども、これについても、どうしてこのようなことが起きるのかということをサポートできるようなデータが今のところないという形になっております。
○中島座長 ありがとうございます。

まず、このウェスタンブロットに用いた抗体はどのように調整しておるのでしょうか。モノクローナルでしょうか。ポリクローナルでしょうか。

○土屋氏 これはポリクローナル抗体です。ウサギを使いまして作ったポリクローナル抗体になります。

○中島座長 モノクローナル抗体ですと特定の認識部位しか認識しませんので、その認識部位が何らかの形で薄くされれば、その間ウェスタンブロットが反応しなくなるということは絶対にはないわけではないのですけれども、ポリクローナルということですので、そういう可能性はあまりないですね。

次に、レーン2とレーン3の違いは炭酸ナトリウムを入れているかいないかということなのですが、SDS-PAGEですので、SDS-PAGEのゲルにかけるときに、ローディングバッファに入れて、そいつを煮沸して、さらにSDSで変性させて、電気泳動していると思うのですけれども、炭酸ナトリウムの影響というのはそこまで及ぶものなのでしょうか。

○土屋氏 実際そのようになっているとしか正直申し上げることができなくて、1回目の審議を去年の10月に行っていたのですけれども、そこから結果を出すのに時間がかかってしまったのですが、最初、結果の解釈というか、すごく変な結果しか出てこなかったため、何回実験を繰り返してもうまく実験ができないということで、返答がかなり遅れてしまったといういきさつがございます。

弊社の中でもいろいろやってみたのですけれども、恐らくこれはこのような現象が起きていると捉えて、やはりウェスタンブロットで消化されているのではないかと考えると

というのが、今考えられる中で一番合理的な考え方ではないかということで、これがどうしてこのように起こっているかというところは分からないままなのですけれども、再提出させていただいたという形になっております。

○中島座長 それではお聞きするのですが、このSDSと同じパターンは何回でも再現するのでしょうか。

○土屋氏 はい、何回やっても再現します。

○中島座長 何回やってもこのようにレーン2だけ出て、レーン7、8、9のところできなり復活して、ウェスタンブロットのレーン2と3の位置もこのように毎回きっちりずれるということでしょうか。

○土屋氏 そうですね。実際に再現性自体をやったのは数回ですけれども、ここの部分に関しては少なくとも3回以上はやっているはずですので、基本的には再現性が得られる結果になっております。

○中島座長 今回提出していただいたのと同じ条件で行ったSDS-PAGEとウェスタンブロットのパターンは、今お示しいただくことは可能でしょうか。

○土屋氏 まるきり同じ条件ではないのですけれども、少しずつ条件を変えたりして、同じようなことを見たりとかしているのです、その結果であれば。

○中島座長 要はこの現象が本当に何回も起きて、基本的に再現性のある現象であるかということをごちからとしても確認したいなと思うわけなのです。それは可能なのでしょうか。

○土屋氏 今すぐというとは少し時間がかかってしまうのですけれども、本日であればお出しすることはできます。

○中島座長 Aqualysin1というのは今回の申請だけでも、人工胃液、人工腸液試験のペプシンというのはいろいろな試験に一般的に使われるものです。このペプシンがほかのタンパク質との相互作用によってSDS-PAGEで見えなくなるという現象は、今までどこかで報告はあるのでしょうか。

○土屋氏 前回にも申し上げたのですけれども、正直、ほかの海外での申請のときに消化性の試験は求められていなくて、弊社のほうからピュラトスグループとして遺伝子組換えで申請するのは今回が初めてということで、この消化性試験自体も今回が初めてになりますので、ほかの例でペプシンでどうこうといった実験をしたことがないので、そこら辺は知見がございません。

○中島座長 消化性試験とかは、実は外注することも可能だったりするのですけれども、それは検討されなかったのですね。

○土屋氏 すみません、外注を受けていただけるところを知らなかったのです、もし教えていただければ、そちらでやることは当然可能です。もう一度試験をすることということも含めて可能ではあります。

○中島座長 ありがとうございます。

先生方、質問等がありますか。せっかく一番苦労した申請者に来ていただいております

ので、ここでできる限り根掘り葉掘り聞いておいたほうがよろしいかと思しますので、ぜひお願いいたします。

○手島専門参考人 1点、今回のタンパクと性質の近いSubtilisinとかでもこのようなことが起きるといふ報告はございませんでしょうか。

○土屋氏 すみません、繰り返しになるのですけれども、ここら辺の消化性試験やSDS-PAGE自体をやったことがないので、どのようになるのかが分からないというのが正直なところです。

ただ、Subtilisinとかと少し違うのは、基本的にはこれが高温帯で活性が最も高くなるというところがありますので、そこはSubtilisinの結果がそのまま使えるかどうかというところも含めて、まだ分かりません。

○手島専門参考人 分かりました。

○中島座長 児玉先生はいかがですか。

○児玉専門参考人 頂いた回答書のサンプルの配置を見て薄々察してはいて、Aqualysin1のところは炭酸ナトリウムを入れた例をわざわざつくっていたので、相当苦労して、恐らく何で消えるのだらうということをやって、そして最終的に見せいただいたサンプルの配置で出てきたのだらうなどは想像しているのですが、何度かやった結果なのだらうなということは、私自身はかなり推測できていた状態でおりましたので、分からないと言われればそうなのかなというように私自身は思っております。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

小関先生、いかがですか。

○小関専門委員 まさしくそうかなと思うのですけれども、実は児玉先生の今の御意見に対して、もう一個コントロールがあるのではないかと思ったのは、コントロールはペプシン単独、Aqualysin1単独、Aqualysin1プラス炭酸ナトリウム、もう一つ、ただ単にペプシンとAqualysin1と炭酸ナトリウムを混ぜた段階、これは0分に当たるということなのですか。

○土屋氏 そうですね。0分に関しては、先にどちらか2つを足しておいて、後からペプシンあるいはAqualysin1を足したものという形になります。すみません、今、手元に資料がないのですけれども。

○小関専門委員 このようになってしまって、ウェスタンブロットで見る限りは上にバンドが出てしまうということですね。

○土屋氏 そうですね。出てしまうということです。

○小関専門委員 もう一個、このところが分からないのが、ウェスタンブロットのレーン2で●●●kDaぐらいのところにバンドが見えて、それが3、4レーンのところで●●●kDaぐらいに上がっていますね。●●●kDa弱のところにあるではないですか。いわゆるウェスタンブロットでの染まり方、発色の仕方を見ると、それとSDS-PAGEのCBBの第2

レーンでこれだけ見えているように、3、4レーンで全く見えなくなるというのはどう思いますか。

○土屋氏 そこが本当に分からないところで、ペプシンもここでまるきり見えていないのもすごく不可解です。申し訳ないです。

○小関専門委員 SDS-PAGEを銀染したことはありますか。CBBは染まりにくくなる時があるので、私は見えないときには銀染をやるのです。

○土屋氏 銀染に関しても1回お願いしてやってもらっているはずなのですがけれども、そこでもうまく出てきていなかったのではないかと思います。銀染の結果について、もう一回確認いたします。

○小関専門委員 というのは、どうやっても物理的、量的にウェスタンブロットの第2レーンと第3レーンは、抗体のかかり方としてこのように見えてくるわけではないですか。すなわち、その構造を取ったとしても、抗体自身はくっつくことが可能である。しかも、光り方が同じである。けれども、CBBでは染まらない。銀染で染まらないとなると、どこに行ってしまったのだろうという感じがすごくするのです。

○土屋氏 なので、ここに関してはすごく不可解なこともあって、なかなか返答できなかったというのが正直なところですよ。

○小関専門委員 銀染の結果を教えてくださいれば、それで光らないというのは。

○土屋氏 もう一回確認してみます。

○小関専門委員 ありがとうございます。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかの先生方、山川先生あたり、こういうパターンはどのようにお考えになりますか。

○山川専門委員 私は最初何か混ざっていたのが、微量混ざったのがウェスタンブロットで引っかかかっていて、SDS-PAGEのほうでは違うものが見えたのかなと思ったのですが、そういう可能性はありませんか。

○土屋氏 混ざったというのは、コンタミみたいな。

○山川専門委員 ウェスタンブロットでよく見えるものと、SDS-PAGEのほうではいわゆるタンパク量でもっといっぱいあるということになるのですが、そういう可能性はないですか。

○土屋氏 今のところ、基本的にはピュアなAqualysin1を使っていますし、それプラス、例えばSDS-PAGEのほうでもペプシンのバンドが見えなくなってしまうとかいうところもすごく不思議なことが起きているとしか申し上げることができない感じです。

○山川専門委員 このままだと説得力がないので、何とかしなければいけない気がするのです。

○土屋氏 そうですね。

逆に私のほうからお聞きしたかったのが、弊社としても今、本当に出せるものというか、事実をそのまま報告させていただいている形で、弊社の中でもディスカッションになって

いたのが、例えば1.5分で消化されるということが認められなかったと。実際に腸の消化のほうですと、最終的に消化されたということをサポートできるような結果が得られていないということが見られていますので、例えばこの試験においては消化されたということが認められなかった場合、安全性として問題があるのかどうかというところの審議は可能なのか、どうなのかというところは弊社の中で話していたところです。

そのために、加熱試験とかをやりまして、失活されるというようなことはやっているような感じですので、SDS-PAGEとウェスタンブロットの結果ですと非常に議論になるのだからということでは予想していたのですが、もし最悪、これが消化性試験では消化できたと判断できないということになった場合にどうなるのかということも弊社の中ではディスカッションとして上がっていたポイントになります。

○山川専門委員 先ほど小関先生も言及されていましたが、レーン2とレーン3はもともと量は同じなのですね。

○土屋氏 そうですね。

○山川専門委員 これだけバンドの出方が違うというのが、やはりどうも気になるのです。構造が変わったか、よほどのことがないとこんなことにならないのではないかと。この辺は、何が起こってそうなっているのかが分からないと、消化していますというのはいいかもしれないのだけれども、何が起こっていますかということになると困ったなという感じです。

何度やってもそうなるのでしょうかからそうなのだと思うのですが、ほかの人がやってもそうなるのでしょうか。気がついていない条件が何か入ってしまっているということはないのでしょうかという気はいたします。

中島先生から、どこかに委託してやってもらったらどうでしょうかということで、やってもらうと違うデータが出る可能性があるのではないかと思います、どうでしょうか。それは可能ですか。

○土屋氏 弊社のほうでは委託できるということが分からないので、こういうところに委託すればできますよということを教えていただければ、そちらで試験をしていただく依頼をすることは可能です。

○山川専門委員 実験操作上の何かがあったのではないかとすることを排除しないと、こういうものですよということも言いにくいかなと思いました。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

みんなほぼ同じような印象を得ていると思いますので、議論は尽きたように思うのですが、せっかく申請者が見えていますので、御意見はございますでしょうか。

どうぞ。

○藤原専門委員 基本的なことなのですが、ウェスタンブロットの部分をごどのように実施したかをお伺いしたいです。というのは、お示ししていただいたものが全てバンドが非常に弱いように見受けられまして、もっと長く露光したらほかのものが出てきそうだと

などということもございますし、メンブレンに転写する時点で何か起こっている可能性もあるのかなと考えたのです。

簡単に、このようなデータをどのように得られて、こういう薄いものをお示しいただいていることになっているのでしょうか。

○土屋氏 基本的には通常のSDS-PAGEのものでやっておりますので、Laemmliバッファーに4.4%。

○藤原専門委員 検出は化学発光で、長く露光すればシグナルが強くなるような検出方法ですね。

○土屋氏 今、こちらのPDFを御覧になることはできますでしょうか。基本的には、実験手法はこちらに書いてあるとおりにやっておりますので、特別に不思議なことはやっていない形になるかと思います。

○藤原専門委員 ウェスタンブロットの一言になっている部分にもしかしたら何か問題があるのかなと考えました。

○中島座長 よろしいですか。

○藤原専門委員 私のほうは大丈夫です。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかに先生方、ございますか。

どうぞ。

○小野（竜）専門委員 レーン3でバンドが見えなくなるということなのですからけれども、見えなくなっているところに関して、複合体みたいに作って、ゲルに入ってきていないという可能性はないでしょうか。

○土屋氏 そうですね。ここでも確かに高いところで、非常に大きなところで何か引っかかっている可能性もあるのかもしれません。

○小野（竜）専門委員 多量体を取るものとかでは、ゲルに入り切らないというのはよくあることなので、そういう場合はアプライをするwellのところに固まって強いシグナルが残っていたりとかするのですけれども、SDS-PAGEのほうは、これはwellの部分は含まれているのですか。

○土屋氏 wellの部分の写真もあります。ただ、そこにすごく濃いものが残っていることはなかったと思います。

○小野（竜）専門委員 そこまでは確認されているということなのですね。

それと、先ほどの質問と重なるのですが、恐らくウェスタンブロットの化学発光の検出のところなのですが、時間をよりかけるとか、エンハンスをかけることによって、もっと濃くできるはずで、濃くすると多少のメンブレンのむらだったりとかが見えてくるぐらいできると思うので、そういったところでほかにバンドがないのかを見せてもらうと、いろいろ分かるのかなと思います。

○土屋氏 分かりました。ありがとうございます。

○中島座長 先生方、ほかによろしいですか。

○小関専門委員 もっと細かいことをいいですか。

SDS-PAGEのレーン2と3でいったときに、レーン2ですとAqualysin1のところで大体●●●kDaのところに1つバンドが見えますね。それが炭酸ナトリウムを入れると消えているのです。その後、消化試験になるとまた復活してくるのです。今おっしゃったような複合してしまうとかというような問題がここにあるのかもしれない。

あと、先ほど御指摘があったとおりで、中に入っていないのではないかと私も思っていたのです。プロトコルを見たときに、単にSDS-PAGEをしましたと言うのですけれども、サンプルバッファーを入れたときにそこでメルカプトにしているのか、それともDTTにしているのか。あとは、何度で何分処理したかによって出方が変わることを私は随分経験したのですけれども、その辺は大丈夫ですか。いろいろ試してみましたか。

○土屋氏 温度設定の条件とかは、あまり振っていないと思います。

弊社のほうでやったのは、これをもっと変性させてSDS-PAGEにかけたらどうかなどということはやっているのです。物すごく変性をかけてやるとSDS-PAGEに出てきたりするのですけれども、そうすると今度ウェスタンブロットで拾えなくなったりとかということが出てきますので、今、ウェスタンブロットと対応できる条件として、こういう形でお出ししていることになります。

○小関専門委員 前処理をいろいろやられているということであれば、例えば一旦TCAで落としてアルカリで溶き直すとか、いろいろやり方はありますね。

○土屋氏 トリクロロ酢酸で変性させてかけてやると、SDS-PAGEのバンドとしても出てくるのです。

○小関専門委員 やはり出てきますよね。

○土屋氏 ただ、そうすると、今度ウェスタンブロットのほうでは何も出てこないというような形になっています。

○小関専門委員 それは出ないのですか。

○土屋氏 出てこないのです、それでどうしようかということで、今、これがベストな形です。

○小関専門委員 それは少しおかしいと思います。アミノ酸配列がずたずたに切れてしまいましたということであれば分かるけれども、SDS-PAGEの上でバンドとして見えて、抗体の反応性がなくなるというのは、どういうことなのでしょう。

○土屋氏 申し訳ないのですけれども、そこら辺は本当に変なことが起きているとしか言えないというのが現状で、それでここら辺のデータは苦勞しているという感じです。

○小関専門委員 今、変なこととおっしゃいましたね。すごく実験をされたことは分かるのです。外部に委託されることはすごく大事だと思うのです。

○土屋氏 教えていただければ。

○小関専門委員 今やられているものは、ここでのAqualysin1のタンパクしかなくて、い

いわゆるネガティブコントロールというか、ほかのタンパク質でやったら、うちのテクニックであればこうなのですとっていただくと、そうですね、仕方がないですねとみんなが納得すると思いませんか。

○土屋氏 分かりました。そのようなものがあるのかということ。

○小関専門委員 コントロールとして納得させる上では大きいような気がするのですけれども、どうでしょうか。

○土屋氏 繰り返しになるのですけれども、弊社では消化性試験自体をやるのは今回が初めてだということがありまして、消化性試験ということにおいてであればほかのものでやったことはないのですが、ただ、ウェスタンブロットとかでほかの実験の目的でこういうことをやったことがありますよということでしたら、本社のほうに確認して、どういったものが出せるのかということは検討することができると思います。

○小関専門委員 そうですね。同じ条件でやったときということと、あと、私は自分自身の経験ですごく気になったのは、結構痛い目に遭ったタンパク質があるので、そのときにも温度を振ったのです。サンプルバッファーを入れて37度～50度ぐらいにしたりとか、80度ぐらいで10分ボイリングするとか、何通りか振って電気泳動してみても見え方が全く違ったものがあるので、それはやろうと思えばそんなに大変ではなかったですよ。そこをやってみられると、割とすぐに結果が分かるのではないかと思うのですけれども、いかがでしょうか。

○土屋氏 取りあえず、まずここを完全にクリアにしていかなければ前に進まないということであれば、外部試験に出させていただくのが公平性とかという意味では一番いいのかなと個人的には思っていますので、委託先さえ教えていただければ、そちらで試験をすることは全然可能だと思います。ただ、先ほども申し上げましたけれども、例えばこれが分からないままで、ここが本当にクリアにならないと安全性とかの審査ができないかどうかというところは考えていただけると助かります。

○小関専門委員 1点だけ、スターリンクのときには消化性がないということで世界中でお手上げになってしまったというケースがあります。それは組換えをやった人であれば皆さんよく御存じだと思うので、消化性試験というのは甘く見ないほうがいいと私は思っています。

○土屋氏 甘く見るという話をしているのではなくて、ここで消化されなかったらやはり安全とは認められないということであれば外部試験とかでやっていくしかないとは理解していますので、最終的な結論としてやらなければ前に進まないということであれば、外部試験をお願いするような感じにしていこうと考えています。

○中島座長 小関先生、よろしいですか。

ほかの先生方、よろしいでしょうか。

お疲れさまでした。

外部試験については、御自分で調べていただければと思います。必要であれば、御検討

いただければと思います。

○土屋氏 調べ方が甘かったのかもしれないのですけれども、当然そういうことをやってくれるかどうかというところを調べてみたのですが、なかなか分からなかったということもあって、最終的に我々の中でやっていこうということになった経緯があります。ここですよというようにすると差し障りがあるのかもしれないので、こういうところが幾つかありますよという中から弊社が選ぶみたいな感じとかは可能でしょうか。

○中島座長 ごめんなさい。そういうことを教えてあげるわけにもいかないのです。自分で調べてくださいとしか言いようがないです。そこは公平性のためだということで、申し訳ないのだけれども御理解いただければと思います。

○土屋氏 分かりました。

○中島座長 ほかによろしいでしょうか。

では、本当にお疲れさまでした。御退室ください。

○土屋氏 今後どのようにするのか。例えばやはり外部試験をしなければいけないのか、それとも探せないようであれば、弊社の中で別の試験結果でこういうものをやりましたというところを見せるのかというのは、何かしらフィードバックはいただける感じでしょうか。

○中島座長 フィードバックはさせていただこうと思います。外部試験をするなり、それとも、先ほども幾つか示唆があったと思いますけれども、銀染色などのより鋭敏な染色試験を行うのと、似たような条件で何度も実験を繰り返して、このような結果が毎回得られているとか、再現性が確認できるようなデータなどがあればということになるのではないかと思います。

御退室いただいてから、我々のほうで協議させていただくことになります。

○土屋氏 分かりました。よろしく願いいたします。

ありがとうございます。

では、ミーティングルームから抜けさせていただきます。今日はどうもありがとうございました。

失礼いたします。

(申請者退室)

○中島座長 申請者の退室が確認できましたので、議論を再開したいと思います。

ポイントはこの点だけですね。判断としては2択で、一応ウェスタンブロットで見ると消えたのをそのバンドがなくなってもいるようにも見えるので、これをもって確認できたとするか、何ぼ何でも矛盾が多過ぎて、これでオーケーになったという実績が残るのはやはりまずいようにも思いますので、このデータの再現性、外部委託、自社での少々違う条件もしくはより鋭敏な染色方法などで、これを重ねていただいて、この実験結果がいかに不思議であっても、それが毎回再現されるものであって、その上で、これをもってこの安全性を我々が評価できるかどうかと考えると2択かなと思うのですけれども、ほかに選択

肢はございますでしょうか。

川西先生、どうぞ。

○川西委員 あまり長い議論はしたくないのですけれども、私はとにかく経験がさほどないので、もし委員の先生方で説明できるならば説明していただきたいのです。

今まではかの申請をされている会社も、胃腸液中での分解試験は海外では要求されていないと。その基本的な考え方で、では我々の評価では必要だと言っている理由の説明はできますか。

いかがでしょうか。

○中島座長 この試験が本当に必要なのかというのは、以前から何回か指摘がございました。けれども、この試験はそれなりに意義もあって、分解しやすいものと残りやすいものでアレルゲンとしての評価が違ってきますので、必要性についても議論されている。なので、なくていいかどうかというのは、要求するというのが規定にございますので、そこから先に議論しないとということだったと思うのです。

○川西委員 コメントさせていただくと、今の添加物のガイダンスは書いてあるところが変なのです。間違ったところにこの記載があると思いますから、そこは改定したほうがいいと思っています。耐性マーカー遺伝子のところに添加物のものが入り込んでしまっています。だから、そこは改定したほうがいいと思っています。

私自身は、ここがやっている評価は欧米だと遺伝毒性試験と反復投与毒性試験をほとんど常にやってもらうようなことになっているけれども、我々が物のほうでそういうところを徹底的までは行っていないのだけれどもやってもらうという姿勢は正しいと思っていますので、分解するよというところは、摂取量は本当に少ない。アレルゲン性の問題ももちろんありますけれども、入らないのだということを一応データとして示してもらうという意味で重要だと、個人的にはそういう解釈で思っています。

○中島座長 ありがとうございます。

私はアレルギーは全然分からないというか素人なので、アレルギーの専門の先生方でワーキンググループみたいなものをつくって、これの必要性について議論を始めるとか、そういうところからいかないと。本当にこれが必要なのかとか、これが省略でき得るのほどのような場合かということ、何が何でも必要なのか、省略でき得る場合があるのかとか、そういったところの議論を始めていただきたいと私も思います。そのメンバーに私は役に立ちませんので、アレルギーの専門の先生方で議論を始めていただけるといいかなと私も思います。

ここのは、これぐらいしかやりようがないと思うのですが、川西先生、よろしいですか。

○川西委員 いずれにしても、少し整理が必要だなというのは聞かせていただいて思っていますので、よろしくをお願いします。

○中島座長 ありがとうございます。

この点に関して、手島先生、一言御見解をいただきたいです。

○手島専門参考人 シミュレーションというのがどこまで正確かというところになってくるかと思うのですけれども、今までは、特に人工胃液のほうの分解性は重視していたという状況があります。その試験に代わる方法があれば変えていくということは可能だとは思いますが、いろいろな形での状況は見ていかなければいけないかと思います。

○中島座長 ありがとうございます。

今すぐ妙案というわけにもいかないですね。

できれば岡田先生からも御見解をいただけるとありがたいです。

○岡田専門委員 すみません。私自身もアレルギーが専門ではないので、まだきちんとしたお答えができないのですけれども、今後の方向性は座長がおっしゃったようにアレルギーを専門とされる先生方で議論していただくのが一番いいのではないかと思います。

今回のものに限って言うと、消化性だけではない分からない部分がたくさんあるので、座長が先ほどおっしゃった後者のほうで検討していただいて、データを見ないと判断ができないのではないかと考えております。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

先生方、御意見はございますでしょうか。

では、そろそろ判定を下したいと思います。

ここまでのデータで、販売のデータなどから安全性は確認できるとお考えの先生、挙手をお願いできますか。

(賛成者挙手)

○中島座長 実は全員オーケーでないとは進まないというルールなので、ここで確定かなという気もするのですけれども、それでは、彼らが一生懸命努力しているのは分かるのだけれども、**SDS-PAGE**とウェスタンブロットの結果にあまりにも矛盾が大き過ぎるので、外注なり、再現性のデータを取っていただくなり、もう少し鋭敏な方法で見えていただくなり、これの裏づけになるデータをいただく必要があるとお考えの先生方はいらっしゃいますか。御意思の表示をお願いいたします。

(同意全員)

○中島座長 ありがとうございます。

委員の先生全員の同意をいただけたようですので、今回**SDS-PAGE**との結果に矛盾をはらみ過ぎていて、これだけでは安全性は確認できなかったと判定したいと思います。ありがとうございます。

それでは、ただいまの意見を確認事項と指摘事項案として取りまとめて、確認いただいた上で、厚生労働省を通じて申請者に指摘を返したいと思います。ありがとうございました。

それではもう一件、「長鎖多価不飽和脂肪酸含有及びイミダズリノン系除草剤耐性セイ

ヨウナタネLBFLFK（食品・飼料）」の審議でございます。食品と飼料の両方がございますが、食品のほうをいきたいと思えます。

本品目は、令和2年11月の専門調査会において審議を行ったものです。投稿論文の審査ならば最初の1回目で全部指摘を出すというルールではあるのですが、この件は1回目で全部指摘を出し切れなかったため、ここでさらに追加があり得るということが最初から分かっております。なので、もちろん指摘事項があって、その回答も来てはいるのですけれども、2回目ではあっても、実質的には1回目の後半という側面もございます。これもあって、1回目のときの原則に基づいて申請者もお呼びしておるといふ事情でございます。

では、事務局のほう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。

回答書のファイルの前半部分が回答書です。黄色の紙を挟んでおまして、後半が要旨になっております。まず、後半の要旨の部分で簡単に本品目の概要について御説明させていただきます。

後半部分の要旨の1ページ目をお願いいたします。前回と重複する部分もございますが、改めて御説明させていただきます。

宿主はセイヨウナタネのカノーラ品種Kumilyでございます。

(2) DNA供与体の種名ですが、複数の遺伝子を挿入しておまして、a) からi) まで、合計で11の遺伝子を入れております。

2ページの下、(3) 挿入DNAの性質でございますが、本組換えナタネには7種類のデサチュラーゼと3種類のエロンガーゼ遺伝子を挿入しております。

その下、3~4行ほどになりますけれども、また、アセトヒドロキシ酸合成酵素であるAHAS(*Ah*)タンパク質も挿入しております。

続いて、4ページをお願いいたします。(3) 摂取量でございますが、本組換えナタネの油は、魚をあまり摂取しない人々がEPA及びDHAを摂取するために使用されるため、摂取量は、従来のセイヨウナタネと異なる。

(4) 調理及び加工方法ですが、加工方法は、従来のセイヨウナタネと相違はなく、搾油した油が使用される。LBFLFKの油は、従来のセイヨウナタネとは異なり、火を使用する調理には使用されない。

5といたしまして、宿主以外のものを比較対象に用いる場合がございますが、EPA及びDHAを含有することが知られている魚油、藻類油及び油脂生産糸状菌油を比較対象とした。さらに、食経験のある食品に含まれる油脂と比較するために様々な動物性油脂を比較対象としたということでございます。

それでは、回答書のほうにお戻りください。指摘事項1から順に御説明させていただきます。

まず、指摘事項1、本系統に導入されているAHAS(*Ah*)遺伝子は、野生型のアミノ酸配列の2つのアミノ酸を置換するよう塩基配列の改変を行っていることから、改変AHAS(*Ah*)

遺伝子と表記し、遺伝子産物も改変AHAS(*At*)タンパク質と表記することというものでございます。

回答内容としましては、アミノ酸置換の改変を行った遺伝子に新たな名称を与えている場合には改変をつけなくていいというこれまでの慣例に従い、改変をつけず、*csr1-2*遺伝子が産生するタンパク質を置換した遺伝子名をAHAS(*At*)遺伝子、また、それが産生するタンパク質をAHAS(*At*)タンパク質と名づけて使用しているということでございました。

続いて、2ページの指摘事項2と指摘事項5の②、③でございます。LBFLFKから得られる油の想定される用途を示し、用途ごとにそれぞれのからの摂取量を算出すること。

②申請食品以外からもEPA及びDHAを摂取されていることから、現在の摂取量も踏まえて合計推定摂取量を算出すること。

③EPA及びDHAを指標として添加量などを定めた場合は、 ω -3系脂肪酸の総摂取量が想定よりも大きくなることから、DHA、EPA以外の ω -3系脂肪酸が増えているが安全性に与える影響について考察することというものでございます。

回答はその下になりますけれども、LBFLFK精製油は、養殖魚へ与える飼料として使用することを第一のビジネス目的としており、養殖時に本精製油を魚油の代替として飼料に混ぜ、与える予定ということでございます。

一方で、本精製油を最終的にどのような形態で食品として販売するかは現在のところ決まっておらず、商品として直接消費者に販売される可能性は低く、食品メーカーがEPA及びDHAを添加する目的でドレッシングなどに加える。また、サプリメントとしての使用が想定されるということでございます。

続いて、3ページをお願いいたします。2行目からでございますが、人がEPA及びDHAを含む ω -3長鎖多価不飽和脂肪酸を摂取することは、病気のリスクを減らし、健康増進効果をうたうことを食品メーカーに認めています。現在のところ健康維持のための一般的な摂取量は分かっておりません。WHOなどの世界各国の機関は、一般にEPA及びDHAを合わせて250~500mg摂取することを推奨しております。米国FDAは、EPA及びDHAを含む ω -3長鎖多価不飽和脂肪酸にGRAS認証を与え、1日当たりの摂取量の上限を3gと定め、EUは1日当たり5gと摂取上限を定めております。

ページの中ほどになりますが、米国およびEUにおいては1日の摂取上限が定められている一方で、我が国においては摂取の上限は定められておりません。

続いて、隣の4ページをお願いいたします。図1の下になりますが、「日本人の食事摂取基準」において、 ω -3長鎖多価不飽和脂肪酸及び ω -6長鎖多価不飽和脂肪酸は、必要量を算定するために有用な研究が十分でないため、現在の日本人の摂取量の中央値に基づいて、摂取不足の回避を目的として目安量が設定されております。具体的には、 ω -3長鎖多価不飽和脂肪酸は0.7~2.2g、 ω -6長鎖多価不飽和脂肪酸は4~13gと設定されました。また、EPA及びDHAについての摂取量の基準は設定されておきませんが、日本人の平均的な摂取量が調査され、EPAは0.3~0.39g、DHAは0.51~0.66gということでございます。

4ページが一番下のパラグラフをお願いいたします。日本人が1日に摂取している植物性油脂8.8g/person/dayを全て本精製油から摂取したと仮定した場合、日本人が通常摂取している各脂肪酸にそれらを合計した場合のEPA、DHA、 ω -3、 ω -6の各脂肪酸の最大摂取量を算出しております。

結果は、6ページの表1を御覧ください。一番左のA列が植物性油脂をLBFLFK精製油から摂取した場合の最大摂取量、B列が日本人が魚などから摂取している平均の1日摂取量、C列が合算値でございます。これに5ページの下のパラグラフになりますが、サプリメント（例：DHAアルガルオイル、380mg/g）を摂取したとしますと、1日当たりのEPA及びDHA摂取量が最大で1.826gとなります。これが6ページの右から2つ目の列にあります。FAOが定めた参考1日摂取量を超えるものではないとしております。

続きまして、少し飛びまして11ページをお願いいたします。指摘事項3でございます。

論文検索のデータベースであるWeb of scienceの検索日が2016年であるため、最新のデータベースを用いて再度、検索すること。また、タンパク質データベース及びアレルゲンデータベースについても同様の対応を行うことというものでございます。

回答としては、Web of scienceと同等のデータベースであるScopusを使用しております。2016年から2021年までの供与体に関する文献検索を行った結果、11の文献が検索されましたが、いずれも安全性の懸念を示すものではなかったということでございます。

隣の12ページでございますが、既知のアレルゲン及び毒性タンパク質との相同性検索の結果、新たに検索されたアレルゲン及び毒性タンパク質はなかったということでございます。

また、LBFLFKの挿入DNA配列及びその両近傍配列の接合部において、意図せず形成された既知のアレルゲン及び毒性タンパク質との相同性検索においても、新たに検出されたアレルゲン及び毒性タンパク質はなかったということでございます。

続きまして、20ページをお願いいたします。指摘事項4でございます。遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する事項において、D5E(Ot)タンパク質及びその分解物が、60分間処理後にも検出されたことについて、D5E(Ot)タンパク質のプロテアーゼ切断部位は人工胃液中のペプシンが到達し難い膜に組み込まれていると考えられると考察しているが、エビデンスを示すことというものです。

回答としましては、LBFLFKに導入したデサチュラーゼ及びエロンガーゼは膜貫通ドメインを有する膜タンパク質で、小胞体の膜に局在していると考えられるとしております。物理化学的処理に対する感受性試験に用いる十分量の各タンパク質を得ることは困難であったため、本試験には未熟種子の膜タンパク質画分を用いております。

エロンガーゼであるD5E(Ot)タンパク質は人工腸液により速やかに分解されましたが、人工胃液では60分処理後も僅かに残存しております。本試験に用いた人工腸液には脂肪酸分解酵素であるリパーゼが含まれているため、人工腸液処理においては、リパーゼが脂質で構成される生体膜を分解し、それによって人工腸液の酵素がD5E(Ot)タンパク質に対し

てアクセスしやすくなったと考えられます。しかしながら、人工胃液のほうにはリパーゼが含まれていないため、酵素反応が進みにくいと考えられるとしております。

LBFLFKに導入したデサチュラーゼ及びエロンガーゼのアミノ酸配列を元に膜貫通ドメインを検索したところ、デサチュラーゼの膜貫通ドメインは2～6個に対しまして、エロンガーゼは7個ということでした。導入したエロンガーゼは、デサチュラーゼより膜貫通ドメインを多く持つため、デサチュラーゼより溶液にさらされる非膜貫通部位が短いという特徴を持っております。これらを総合的に考えて、LBFLFKに導入したエロンガーゼはデサチュラーゼよりも分解に時間を要したと推察したということですのでございます。

続いて、24ページをお願いいたします。指摘事項5の①でございます。LBFLFKにおいては、DHA及びEPA以外にも多種の脂肪酸が生産され、かつその含有量も異なっていることを踏まえ、従来の食品と比べて同等であると言えるか慎重な検討が必要である。なお、指摘事項2と関連し、油脂の用途も十分に考慮しなければならない。については、DHAとEPA以外の脂肪酸について摂取の安全性についてのデータ及び文献を検索することというものです。

回答ですが、LBFLFKにおいて賛成される脂肪酸の安全性に関し、主成分分析に用いた食品中の各脂肪酸の相対量を比較することで評価しております。LBFLFK以外では、食経験のある食品として、同じページの表2にあるとおり、油、魚油、魚類、乳製品、卵、食肉等のデータを掲載しており、この具体的な値についてはこの後の38～50ページにかけて表としてまとめられております。

結論は25ページを御覧ください。1行目からありますが、ほとんどの脂肪酸の含有量はこれまでに食経験のある食品の範囲内ということでしたが、C18:2n-6、C18:2n-9、C18:3n-6、C20:2n-9、C20:4n-3、C22:4n-3については、LBFLFK精製油に含まれる脂肪酸含有量がこれまでに食経験のある食品の最大値を超える結果となりました。これらの脂肪酸については、文献で報告されている総脂肪酸に対する割合についても調査を行いました。いずれもこれまでに食経験のある魚介類に含まれている脂肪酸で、含有量も文献値の範囲であったということですのでございます。

27ページでございますが、オレイン酸以降は挿入遺伝子由来による下流領域に属する脂肪酸に対する考察となっております。また、ここからはD)の調査結果も追加しております。シス型の脂肪酸についてはこちらに記載のとおりでございますが、27ページの下からは、ほかにトランス型についても考察をしてきております。

28ページをお願いいたします。ページの中ほどでございますが、乳製品や牛肉の脂肪には、通常、総脂肪酸の約3～6%のトランス脂肪酸が含まれているということです。

一番下のパラグラフですが、「米国人のための食事ガイドライン」では、トランス脂肪酸の摂取量をカロリーの1%未満に制限するよう消費者に勧告しており、トランス脂肪酸の摂取量を可能な限り低く抑えるよう勧告しております。同様に、WHOやEFSAについてもここに記載のとおりでございます。

次の指摘事項ですが、51ページをお願いいたします。指摘事項5の④です。脂肪酸C18:2n-9はナタネ油の在来種と比べても10倍多く、しかも、魚油に比べても10倍多いことから、安全性に与える影響について考察すること。また、その他の ω -9系脂肪酸及び ω -6系脂肪酸も生産されているので併せて考察することというものでございます。

新たに導入された遺伝子によって産生される酵素が触媒して作られる ω -9長鎖多価不飽和脂肪酸は、ステアリン酸からの連続した反応で、オレイン酸、C18:2n-9、C20:2n-9及びミード酸の順に生成されます。LBFLFK精製油は、総脂肪酸量の1.4%のC18:2n-9、0.36%のC20:2n-9、0.048%のミード酸も含有しております。

結論は次のページになりますが、新たに導入された遺伝子によって産生される酵素が触媒して作られる ω -9長鎖多価不飽和脂肪酸は、過去に食経験がある食品に含まれており、したがって、これらの脂肪酸をLBFLFK精製油より摂取しても、量的にこれまで摂取してきた範囲内であり、安全に摂取することができると考えられるとしております。

続いて53ページをお願いいたします。指摘事項5の⑤P115図6.30PCAは有効な解析法と考えられ、様々な脂肪酸を含む食経験のある油などの食品を含めた再解析を行うのは可能であるかどうか検討することというものです。

回答ですが、主成分分析の目的はLBFLFK精製油に類似した脂肪酸組成を持つ食品を探すことで、植物は、本来リノール酸より下流の脂肪酸を含有せず、LBFLFK精製油と類似しないことは明白なため、分析の際には、長鎖脂肪酸を含有する動物性の職員を分析対象としていたということでございます。

PCAに用いた各食品の脂肪酸含有量は、申請者が同条件で測定を行ったものということです。

論文で報告されている植物の値は、全ての脂肪酸を網羅しておらず、申請者の分析結果と併せて主成分分析を再度行うことは難しいと考えたということでございます。よって、植物油を新たに含めた主成分分析は行わず、文献値を用いて植物油の脂肪酸との比較を行い、こちらは表9にまとめているとおりでございます。ごま油、ダイズ油、ヒマワリ油は、LBFLFK精製油を含むナタネ油よりも多くの ω -6長鎖多価不飽和脂肪酸を含んでいました。一方で、アマニ油、エゴマ油は、本精製油を含むナタネ油より ω -3長鎖多価不飽和脂肪酸が多く含まれており、植物種によっても含まれる脂肪酸が大きく異なりました。

続いて、57ページをお願いいたします。指摘事項5の⑥ですが、こちらは各脂肪酸の構造を示してきております。

続いて、62ページをお願いいたします。その他の修正ということですが、要旨の42ページに該当しますけれども、内在性遺伝子の影響について記載を追記しております。T-DNA挿入箇所の宿主品種Kumilyゲノムにおいて、セイヨウナタネの内在性遺伝子が存在する可能性を検討するため、insert1及びinsert2の両端の近傍配列をクエリーとし、BLASTN及びBLASTアルゴリズムを用いて、既知のタンパク質との相同性検索を行った。その結果、T-DNA領域の組み込みにより、セイヨウナタネの内在性遺伝子は影響を受けていないこと

を確認したということでございます。

回答書の説明は以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、申請資料の修正箇所につきまして、先生方からまず御意見をいただきたいと思えます。

指摘事項1は*AHAS(A)*遺伝子、野生型のアミノ酸配列を2つのアミノ酸と置換するような塩基配列の改変を行っているので、区別がつくように表記してくださいという表記上の御指摘だったと思えます。これは指摘は児玉先生でした。それなりの訂正はされていると思えますが、いかがでしょうか。

○児玉専門参考人 このような表記で結構だと思えます。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

私も対応はしていただいているかなと思うのですけれども、先生方、この件はいかがでしょうか。指摘事項1はよろしいでしょうか。

(首肯する委員あり)

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項2、要旨の4ページ、摂取量、調理方法及び加工方法、この株から得られる油の想定される用途を示し用途ごとにそれぞれから摂取量を算出することということで、これの指摘は私と山川先生だったと思えます。

それなりに想定されることが書いてあるのですが、将来の用途についてはまだ確定していないということのようです。それから、お魚に与える餌としての用途が考えられていて、その魚由来で実際のところどれだけの油を取るようになるのか。実は先のことではあるのだけれども、本当はそこまで推定しないといけないのかなという印象を私は持っているのです。なので、この回答としては、これはこれでいいのだけれども、摂取量というところは、飼料で使うということも想定しておりますし、食品を通して飼料を通らないということはないので、その辺の考慮も本当は必要なので、飼料のほうの申請書を見させていただいても、この餌を食わせたときに、このお魚の油の組成はどのくらい変わるとか、そういった数字のデータはないのです。私は実はその辺のところをさらにお尋ねしないといけないのかなと思っているのです。

山川先生、いかがでしょうか。

○山川専門委員 用途としては、将来、サプリメントとしての使用を想定されると書いてある。サプリメントの場合、すぐに計算できるからいいのですけれども、今、中島先生がおっしゃった飼料を経由してヒトにどのくらい行くかというのは、計算で想定でできるからやってもらったらいかなと思ったのですが、ここには書いていないですね。

○中島座長 そうですね。

○山川専門委員 そこまでやったのならば、どのくらい取り込まれるかとやっていくとは

つきりしていいと思うのです。というのは、魚を経由した場合、よく食べる人はこのぐらいになりますと、多分極端なことはないと思うのですけれども、やっておいたほうがいいかと思えます。例えば極端に食べる人とあまり食べない人で随分違いますけれども、やったほうがいいと思えます。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

今回は指摘に対する回答ではございますけれども、今回は新しい指摘を出していいというルールでもありますので、後で質問もしてみたいと思えますが、これは要求したほうが安全性を確保する上で必要な情報だと思えます。

先生方、この点につきましてほかに御意見はございますでしょうか。

では、ここは彼らにもうひと踏ん張り頑張って、推定摂取量を推定していただけるようにと伝えたいと思えます。

指摘事項3、安全性に関する事項で、論文検索のデータベースであるWeb of scienceの検索が2016年なので、最新のデータベースを使って調べてくださいという御指摘です。これは私と小野先生でした。

Web of scienceの契約期限が切れてしまったから、Scopusとかというので調べてきて、それでデータベースの検索をやっております。

私はScopusというものを知らなかったのですが、検索はちゃんとしていただいているのでいいかなと思うのだけれども、ScopusがWeb of scienceと同格と言っているのだけれども、どなたか知っているありがたいのですが、小野先生、御存じですか。

○小野（竜）専門委員 すみません。これに関しては僕も使用したことがないので分からないのですけれども、いただいた文書を見る限りでは同格なのではないかとは思いました。

○中島座長 ありがとうございます。

手島先生、知らないですか。

○手島専門参考人 すみません。私も存じ上げないです。

○中島座長 安達先生にコンサルをかけたのでしたか。安達先生も知らないのですね。

疑うわけではないのだけれども、Scopusというものがどのくらいのデータベースをカバーしているのかということは確認しておきたいかなとは思えます。

得られた結果と、そこで引っかけかかってきた文献に関するサーチの仕方とか、そんなものは調べてくれているかなと私も思ったのですが、小野先生もその点はよろしいですね。

○小野（竜）専門委員 はい。そこは大丈夫です。

○中島座長 とにかくにもScopusがそれなりのデータベースだったとしたら、彼らの回答は納得いくものでしょうか。ほかの先生方、いかがでしょうか。

異議ありという方はいらっしゃらないですか。

では、Scopusがどれほどのものか何となく確認できればいいということで、彼らの回答はこれでよろしいですね。

(首肯する委員あり)

○中島座長 ありがとうございます。

指摘事項4、遺伝子産物の物理化学的処理に関する感受性に関する事項です。今回のものは、何しろ遺伝子を11個入れております。そのうちの1つは除草剤耐性ですけれども、残りの10個のうち7つがデサチュラーゼ、二重結合を作る酵素で、3つがエロンガーゼ、延ばすものです。全体として60キロの大きいプラスミドを作って一発で入れていまして、その中で2つのデサチュラーゼについてはなぜか2コピー入っていますので、13個の遺伝子をまとめてぼんと入れている形になっています。

それぞれについて、実に丹念に人工胃液、人工腸液の試験を実施していただいております。その回答を1つずつチェックすると、よくやっているなと思うのですが、D5E(Ot)のタンパク質及びその分解物については、60分間処理後にも検出されたことについて、このタンパク質のプロテアーゼ切断部位は人工胃液中のペプシンが到達し難い膜に組み込まれていると考察している。つまり、このタンパク質がプロテアーゼでなかなか分解されなかったのは、膜タンパク質で膜に組み込まれているせいだと言っているのだけれども、それは本当なのか。そのエビデンスを示してくださいという御指摘で、橘田先生の御指摘だったので。

それに対する回答は、20ページにあります。一応根拠は示していただいております。根拠を示してくれたし、こういうこともあろうかなと思うので、私はいいかなと思ったのですが、先生方、いかがですか。先生方から御意見をいただければと思いますが、いかがでしょうか。

手島先生、ぜひお願いします。

○手島専門参考人 エロンガーゼだけ時間がかかるというのは、膜に組み込まれているからというのは文献も示されているので、これでよろしいのかなと思います。大腸菌とか酵母でタンパク質が十分得られなくて、結局は生体から取ってきたタンパクを使ったということで、膜に組み込まれているというのは仕方がないかと思っておりますので、エロンガーゼに関して時間がかかるというのは仕方がないかと思いました。

○中島座長 ありがとうございます。

こういうデータでも安全性についてはそんなに問題ないだろうと判定していいということでもよろしいでしょうか。

この点につきまして、ほかの先生方から御意見等はございますでしょうか。

では、こういうこともあろうかということで、指摘事項4はこれでオーケーということでもよろしいでしょうか。

(首肯する委員あり)

○中島座長 指摘事項5でございます。

このナタネにつきましては、DHA及びEPA以外にも多種の脂肪酸が生成され、かつ、その含有量も異なっていることを踏まえて、従来の食品と比べて同等であると言えるか、慎

重な検討が必要である。なお、指摘事項2と関連し、油脂の用途も十分に考慮しなければならないということで、まず、DHA、EPA以外にもいろいろと途中経過の脂肪酸ができておりますので、それぞれについて、摂取の安全性についてのデータ及びこの文献を検索すること。

それから、6つほどありますので、2番目は魚油と同じ割合で各食品に添加して使用する、あるいは総摂取量は1人当たり1日3gを超えないようにするとあるが、新製品以外からもEPA及びDHAは摂取されていることから、現在の摂取を踏まえて、上乘せということで算出していただきたい。毒性がある場合や摂取量が多くなる場合など、必要に応じて各種脂肪酸について検討することをお願いしております。

先ほどの説明にもありましたとおり、USAの基準が3gでEUは5g、日本では上限の基準がなかったりするので。なので、彼らは3gと言っているので、本当にいろいろなケースを想定しても3gを超えないということを確認してくださいということです。

3番目の指摘は、EPA及びDHAを指標として添加量などを定めた場合、 ω -3系脂肪酸の総摂取量が想定よりも大きくなることから、DHA、EPA以外に ω -3系脂肪酸が増えているが、安全性について与える影響を考察すること。脂肪酸のメチル基側から数えて3番目のところに二重結合があるものを ω -3と言うのだったと思いますけれども、要するに、 ω -3が想定として増えているので、 ω -3総体としての影響について考察していただきたいということ。

4番目、脂肪酸C18:2n-9は、ナタネ油の在来種と比べて10倍多くて、要するに途中経過でできるものです。しかも魚油に比べても10倍多い。この油については従来のものについて増えているのが気になるので、この安全性に与える影響について考察すること。その他の ω -9系脂肪酸、 ω -6系の脂肪酸も生産されているので、併せて考察すること。

5番目、115ページでPCAは有効な解析法と考えられますが、様々な脂肪酸を含む食経験のある油等の食品を含めた再解析を行うことは可能かどうか検討すること。この指摘事項6は、各種の脂肪酸について添付資料として名称とともに構造を示す概念図を整理した上で、要旨にも簡潔に記載することなどです。

これを指摘したのは私、それから飯島先生、橘田先生、児玉先生、近藤先生です。

まず先に6番目の各種脂肪酸について、名称とともに構造を示す概念図はそれぞれの構造式はしっかり記載しておりますので、私はこれでいいかなと思うのですが、片づくものから片づけていきたいと思えます。脂肪酸の構造式の名称などについての資料は、先生方、よろしいでしょうか。

それでは、1つずつ。目的のDHAとEPA以外の脂肪酸について、摂取の安全性についてのデータ及び文献を検索することということで、かなり分厚い回答書で一つ一つについてかなり丁寧に回答がいただけていると私は思います。この点について、先生方の御意見をいただきたいのです。児玉先生と近藤先生なのですが、児玉先生がこの指摘だったかどうかまでは覚えていないのですけれども、児玉先生、いかがでしょうか。

○児玉専門参考人 食経験と文献については非常に丁寧に調べられていると思いますので、私はこれでよろしいかと思います。

○中島座長 ありがとうございます。

近藤先生。

○近藤専門委員 かなり詳しく調べていただいているので、これはこれでいいかと思いません。

○中島座長 ありがとうございます。

種々脂肪酸の安全性について、文献検索とその考察についてはこれでいいと私も思うのですけれども、よろしいでしょうか。この点につきまして、御意見はありますでしょうか。

ありがとうございます。それでは、魚油と同じ割合で各食品に添加するもので、3gを超えないようにということなのですが、これは先ほどの指摘事項2と関連しまして、飼料として与える魚が、これを餌にしたときにどれだけ脂肪酸が増えるのか。また、その魚を通じて増える分について、これを考察してくださいと先ほどのところで合意いただいたと思うのですが、この点については関連しますので、随分いろいろと考察していただいているのですけれども、そこはまだ抜けていると思いますので、ここは要求する必要があるかと思えます。

ほかの先生方、この辺についていかがでしょうか。

これも近藤先生、いかがですか。

○近藤専門委員 追加では特にコメントはありません。

○中島座長 どれも油に関連することですので、これに関連することをお一人ずつ聞いてみたいと思います。

小野先生、いかがですか。いろいろと考察して下さっていて、我々の要求には結構一生懸命答えてくれているようにも思うのですけれども、付け加えることはいかがでしょうか。

○小野（竜）専門委員 特にはございません。

○中島座長 植物のほうの小野道之先生。

○小野（道）専門委員 よろしくお願ひします。

たくさん書いてあって、それぞれ一つ一つ読むのも大変なぐらいなのですが、使用の目的に合ったことは全部書いてあると感じました。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

岡田先生はいかがですか。

○岡田専門委員 先ほど座長がおっしゃった魚に与えた後の人に行くところが補足されれば、私のほうもよろしいと思います。

○中島座長 ありがとうございます。

山川先生、先ほどのことに付け加えることとかはございますでしょうか。

○山川専門委員 特にないと思います。個々について非常によく書かれているので、あとは総合的に人間が魚を通じて取ったときなどにどうなるかがあればいいと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

小関先生、いかがですか。

○小関専門委員 先ほどから手を挙げているのですけれども、駄目でした。

まずはここで皆さんで確認しておいたほうがいいと思うのです。今回のものは、あくまでも人が直接摂取するというデータが出ているし、これまでのこの委員会でもそれでやっていたわけですから。餌として与えられた魚を食べることについて、今まで飼料に関してはほぼ簡単に通ったのですけれども、そこの中で要は何かというと、一番のポイントは生物濃縮をされるときに、ここで微量でしかないとか、あるいは毒性が少ないといったものが蓄積されていないかどうか。アメリカの方などに比べれば、特に日本人は魚の生物濃縮には非常に敏感ですから、かなり慎重にやらないと、後で大変な問題を引き起こす可能性があるのではないかと思うのです。

私が思うのは、どちらかというとも魚のことは飼料のほうできちんとやって、今回はヒトが直接摂取したということですね。すみ分けしたほうが、そうでないと飼料の安全性評価が要らないではないかということになってしまいうような気がするのです。そのすみ分けをどうするか、そこを皆さんがどうお考えかを聞きたいところだったので。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

飼料のほうには、これを食わせたお魚がどれだけ油の組成が変わるかとか、そういうデータはついておりませんので、実際にどこで審査したらいいのかなと私も困惑しているのですけれども、どこかで見ないといけないのは確かかなということで、事務局的にはこの辺のルールとかすみ分けとかがどうなっているのかは分かりますか。

○山口係長 今まであまり生物濃縮という考えも含めて飼料、餌のほうを評価したことがないので、調査会としてもこうするみたいに決まった考え方は今のところないのかなと思っております。

○中島座長 私も聞いたことないです。けれども、食品のほうを取ってしまいますと、ほぼ自動的に飼料のほうも取って、ヒトが直接食べるのはいいけれども、魚の餌にするのはちょっと待てとか、それはなかなか通らないし、そもそも最初から主な用途が魚の飼料にすると書いてありますので、どこかで議論をしないといけないと思うので、この辺について申請者を呼んでみますので聞いてみたいと思うのです。小関先生もそこを聞いていただけますか。

○小関専門委員 書きぶりは、魚の餌だから大丈夫的に書かれていると、日本人にとっては非常にそこが昔大変なことがあったことを身に染みている。非常にまずいなという気はしているので、たしか飼料のところでは蓄積するものということも評価するということは

一応書いてあるので、そちらで評価するというほうが、筋論の上では間違いがないと思うのです。

というのは、どのぐらい食べるか、蓄積するかということについて、水銀だって私たちは普通の食品から食べているわけです。排せつされていく。けれども、魚を食べたときの問題というようなことで分けられているところがあると思うので、生物濃縮されて蓄積されるということに関しては、食品のところでやるにはどうかなという気が、一般の方が見られたら、整合性が取れていないと思われてしまうような気がするのですけれども、いかがでしょうか。

○中島座長 難しいところで、飼料のほうは魚なり肉なりを通してヒトに毒性物質が伝わるとか、そういう可能性を見ろという話なのだけれども、はっきり言って今回は有効成分そのものなので、これをどう考えるか。

しかも、食品のほうの評価では、推定摂取量を示せということは要求しております、魚の飼料のほうと思いきり連動していることが悩ましいところだと思いますので、どちらで推定したらいいのかと思うのです。取りあえずここで聞くだけは聞いておかないといけないかなと。筋合いは、確かに飼料は飼料で別に考える。先生のおっしゃるとおりだと思うのだけれども、ここで聞いておかないと、そのまますると抜けて認可されて、すごい組成の油の魚を日本人が食わされるということになると、我々は責任を取り切れなくなります。

○小関専門委員 今、座長は健康成分の話でおっしゃったのですけれども、健康成分だけではなくて、先ほど言ったように例えばトランスのものがないか、とは思っているのです。けれども、そういうところで言ってみれば生理活性を持ったような油も魚が蓄積しません。そういうことまで踏み込まないと、日本人にとってはむしろそっちが危ないのです。要するに、一般の方々にとっては非常に気になることだと思うので、そこを理解してもらわないと、要するに健康成分だけのそれをいっぱい食べたからという問題ではないということをお私はずごく言いたい。だから、これは飼料のところに持ち込まないと無理でしょうと言っているのですけれども、いかがですか。

○中島座長 アメリカもカナダもまだ食品としては通っていないです。申請はして、栽培はオーケーになっているけれども、安全性審査は完了していないのではないかな。

○山口係長 FDAのほうはまだ申請中なのですからけれども、カナダのほうは食品の審査は終わったと聞いております。

○中島座長 カナダのほうはもう食べてオーケーになっているのですか。

○山口係長 カナダは食品もオーケーだと聞いています。

○中島座長 ありがとうございます。そういう状況のようです。

でも、せっかくですから呼んで、その辺をはっきりさせたいと思います。

川西先生、どうぞ。

○川西委員 もともと指針的には必ずしも飼料に入ったタンパク質がどうのこうのという、

飼料を摂取した動物を通じてヒトに与える影響に関して評価すべしと指針には書いてあって、今回の申請品は、挿入された遺伝子もしくは当該遺伝子によって産生されるタンパク質が肉、乳、卵等の畜産物中に移行するということは報告されていないという記述はあるのだけでも、結局、脂肪酸等のほうの考察は抜けているので、私は小関先生がおっしゃるのように、今まであまりそういう例はないにしても、魚が食べて、それがヒトに対する影響に一番コンサーンがあるのならば、飼料のほうできちんと考察していただくべきことかなと。ただ、今日聞くということは賛成です。

以上です。

○中島座長 ただ、どちらで審査するかというのは、申請者の問題ではなくて、こちらが決めて、どっちで出すと言わないといけないことなので、それは今、こちらで方針を決めないともまずいと思うのですけれども、どうしたらいいのでしょうか。

つまり、飼料のほうで、これを食べさせた魚で油の成分がどのように変わっているのかという資料をつけると要求することはできると思います。けれども、それを通じて、この魚を今、日本人が年間どのくらい食っているから、これが全部置き換わった場合に、この油をどのくらい取るようになって、そうやって推定摂取量を推定した上で、今度は食べて安全かどうか安全を審査するわけなので、リンクしているので、そこが難しいところです。なので、推定摂取量のデータがないと今度は食品としても安全性が評価できないということになりますので、こちらを後回しにして、先に飼料のほうの安全性を審査する。それはそれで、やり方としてはありかと思うのだけれども、それはまたどうなのかなと思います。

飼料のほうでというのが筋は筋なのですけれども、そうすると、食品のほうを後回しにして、飼料として先に審査するということにもなります。要するに、調査会の進め方としてどうしたものかなということにもなるのですけれども、御意見はいただけますでしょうか。要するに、実際問題としてどうしようかなという話なのです。

事務的には、どっちが筋が通りますか。

山川先生、お願いします。

○山川専門委員 タイトルを見ると、今、これは食品として申請されているのですよね。飼料ではないですね。

○中島座長 はい、食品としてです。

○山川専門委員 だから、そういう筋から言ったら食品として審査するべきだと思うのですが、ただし、その中で食品として取った場合にどのようになりますか。それから、魚を取ったときにはどのようになりますか。資料を出してくださいということ是可以すると思うのです。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

今、事務局と何となく議論しているのは、普通は食品と飼料の両方で出てきているときには、食品としての審査を先にして、食品としての審査が終わるまでは飼料のほうは見な

いというようにやってきたのだけれども、今回は食品のほう微量であっても、今日は飼料のほうの審査も行って、そこで必要な、つまりこれを食わせたときのお魚の油の組成がどうなっているのかというデータをつけてちょうだいねとお願いして、そうすると、今回通さないとした場合なのだけれども、これを踏まえた推定摂取量も食品の資料にも入れておいてくださいねと、両方リンクした形で審議を進めるしかないのかなと思うのですけれども、小関先生、こんな感じでよろしいでしょうか。

○小関専門委員 私は川西先生のおっしゃるとおりだと思うので、今ここで聞いて、あるいは両方同時にやってくださいというようなことのほうがいいような気はするというのですけれども、食品安全委員会の立場としては、恐らく人が直接油、ドレッシング、前々から私は肝油で食べた場合はどうなのかと彼らには言っていたのですけれども、そういう摂取での話と、生物濃縮、要するにDHAとか健康なものだけではなくて、有害生理活性物質も生物濃縮されるということを踏まえると、それはまた別に食品安全委員会はきちんと見えています、ということで、だからそこはスタンスはしっかりしてやっていますよということを明確にしておいたほうが、私はいいような気がすごくします。

以上です。

○中島座長 そうですね。ありがとうございます。

全体としてはこのように進めていきたいと思うのですけれども、先生方、よろしいでしょうか。

まだ御意見を伺っていない先生もいらっしゃいますけれども、油についての意見は、近藤先生、御意見等はございますか。

○近藤専門委員 そのような進め方でいいかと思えます。

○中島座長 藤原先生、いかがですか。

○藤原専門委員 賛同します。そのような進め方でいいと思えます。

○中島座長 ありがとうございます。

こういうときにいつも頼りにする児玉先生、いかがですか。筋合いの問題なので難しいところもあるのですけれども。

○児玉専門参考人 一応この審査の骨格としては、食品としては今の形で審査する。MME、Meat、Milk、Eggは、それを食べた動物の畜産物を食べて私たちは大丈夫ですかというのがこの委員会での審査ということになっていまして、そこは割と切り分けたほうが僕はいいと思っています。基本的に農水省の餌のほうは通ってしまっていますので、元気に育つので問題ないではないかと。

それから、考え方としては、非常に過剰にあげるとかいう心配をされているかもしれませんが、魚粉の代替として、魚粉以外のタンパク源を開発するというのが世界の潮流になっていまして、そうすると、魚の中に入っているDHA、EPAという必須脂肪酸に近いものが取れなくなってしまう。だから、DHA、EPAを補填しようというのが基本的な考え方です。ですので、すごく過剰にあげるとかいう考え方をされるかもしれませんが

ども、基本的には魚粉の代替で、本来魚粉としてあげていて含まれている量の足りなかった部分を補うという考え方なので、そこら辺がベースにあるということを御理解いただくと、確かに魚体に与える影響は議論されていないので、ここでは必要なのです。でも、それはMMEの中でやるべきです。

僕が1つ心配しているのは、これは開発段階なので、果たしてどこまで魚にあげているのかというところを結構心配してしまして、あげていませんよという話が出てくると、あげないと通じませんよというのは果たして言えるのかと。それは私は非常に心配しているところです。

以上です。

○中島座長 まだお魚にあげていない可能性もあるのですね。

分かりました。ありがとうございます。

それでは、これ以外の点、この組換え体としての安全性とかこの辺について、先ほどさらっと流れてもいったのですけれども、御意見いただければと思います。

植物の先生方、組換え体、大きな60キロのプラスミドで一気にぼんと入って行って、これの安定性とか、これについてのデータ、それから、有害生理活性物質などのデータについても、後の130ページ、140ページ、150ページのところに膨大な表がございます。

この辺、組換え体としての安全性とか安定性などについて御意見、御指摘等はございませんでしょうか。

申請書の植物に対する組換え体の形、安全性、40ページ、41ページ、42ページ、43ページの辺にそのデータがございます。それから、次世代のデータが見つけれなかったのだけれども。ありましたね。大変失礼いたしました。これも以前は組換えに導入した全ての領域について、これをプローブにしたサザンハイブリダイゼーションのデータを要求していたのですけれども、最近は大変だということで、次世代シーケンサーを使っての解析を代替として認めるようになっております。

その次世代シーケンサーのデータとして、その基準なのですが、depthが75以上、つまり75倍以上のシーケンスを見ていることと、継ぎ目のシーケンスが明らかになっていることの2点が基本的に基準になっております。

見させていただいた限り、その辺はクリアしているように思うのですけれども、小野道之先生、植物についていかがでしょうか。

○小野（道）専門委員 数字で見る限りは160と書いてあるので、そういう意味ではかなり多めですね。実際に次世代シーケンサーを用いた解析が多くなってきていますので、問題はなからうと思います。実際、コピー数とか安定性ということが実行上は問題になるのかもしれないのですが、その辺りがちゃんとしていないものであるようには見受けられませんでした。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

組換え体から少なくとも7代追跡するという点もございまして、クリアしているようにも思うのですけれども、藤原先生、いかがですか。

○藤原専門委員 資料を拝見した限りでは、問題がないと判断しております。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

たしか前回の議論で最後に行き着かなかったところの一つが組換え体に関する議論のところだったと思いますので、この辺はこれから新しくものを言いつけてもオーケーという感じなのですけれども、何か御意見等はございますでしょうか。

それでは、甚だ異例ではございますが、これはこれにしておいて、今度は長鎖多価不飽和脂肪酸含有及びイミダゾリノン系除草剤耐性セイヨウナタネLBFLFKの飼料についての審議も始めておきたいと思えます。

それでは、事務局のほうから説明をお願いいたします。

○山口係長 それでは、「遺伝子組換え飼料」と書かれた薄いファイルのほうを御準備ください。

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、長鎖多価不飽和脂肪酸含有及びイミダゾリノン系除草剤耐性セイヨウナタネでございます。

2) 本系統の特徴でございますが、こちらは先ほどの食品と同様のものがございます。7つのデサチュラーゼ遺伝子、3つのエロンガーゼ遺伝子、そしてアセトヒドロキシ酸合成酵素遺伝子の計11が導入されております。

2ページ目から4ページ目にかけては、先ほどの食品と同様に、それぞれの遺伝子の機能について説明されております。

続いて5ページに行きまして、3) 本系統の使用法でございます。第2パラグラフになりますが、一般に魚の養殖時に飼料に魚油を混ぜて魚に与えているが、チリ及びカナダ等において、サーモン等の養殖時に魚油の代替としてLBFLFK油を飼料に混ぜ、与える予定である。また、搾油後の油が飼料としての利用目的や利用方法に関しては従来のセイヨウナタネとの相違はないとしております。

続いて、その下の2. 遺伝子組換え飼料としての安全性でございますが、こちらに記載の安全性評価の考え方の「3. 安全性評価の方法」では、遺伝子組換え飼料の安全性評価を行うに当たっては、当該飼料中に含まれる有害成分が、家畜への給餌を介して、肉、乳、卵等の畜産物中に移行したり、飼料中の成分が家畜の体内で代謝され有害物質に変換・蓄積される可能性について、以下の3点を評価することが合理的であるとされております。それがこの申請資料に書かれております3つの可能性というものでございます。

一般的に挿入される遺伝子もしくは当該遺伝子によって産生されるタンパク質が肉、乳、卵等の畜産物中に移行するということは報告されておられません。

続いて5ページ一番下からでございますが、デサチュラーゼ及びエロンガーゼは脂肪酸合成経路においてのみ働くことが知られており、産生されるEPA及びDHAを含む新規の

脂肪酸は脂肪酸合成経路のネットワークを通して包括的に産生される。また、これら脂肪酸は魚油に含まれるものであり、これまでに家畜等への安全な使用経験もある。したがって、デサチュラーゼ及びエロンガーゼによって新たに有害物質が産生されることは考えにくく、①のみならず②、③の可能性も考えにくいということから、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としております。

その下のAHAS(A₁)タンパク質については、記載のとおりでございます。

以上のことから、3の①～③の可能性はないと考えられ、当該飼料に由来する畜産物を摂食することによる人の健康に及ぼす影響はないと考えられると記載しております。

続いて3. セイヨウナタネにおける残留でございます。

LBFLFKには、イミダゾリノン系除草剤が直接散布されるため、残留する可能性がある。我が国において、飼料安全法に基づくセイヨウナタネにおけるイミダゾリノン系除草剤の残留基準値は設定されていない。一方、食品衛生法に基づくイミダゾリノン系除草剤の一つであるイマザモックスの残留基準値はナタネにおいて0.05ppmに設定されている。2016年に米国で栽培されたLBFLFKに、最大使用量で散布された場合でも、種子中のイマザモックス及びその3つの代謝物の残留量は定量限界値(0.01ppm)未満であったとしております。

4. 諸外国における認可状況は、記載のとおりでございます。

申請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、飼料について特に御指摘等はございますでしょうか。

もう5時を過ぎておりますので、申請者をお呼びして、魚に移行する可能性などについて質疑してみたいと思います。よろしいでしょうか。

では、申請者をお呼びしてください。

小関先生、ありがとうございます。Scopusは、結構使っているところは使っているんですね。

(申請者入室)

○中島座長 お忙しいところ、長々と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。

○井上氏 BASFジャパンの井上と申します。本日はどうぞよろしくをお願いいたします。

○赤城氏 同じくBASFジャパンの赤城と申します。よろしくをお願いいたします。

○稲津氏 BASFジャパンの稲津と申します。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。

こちらの指摘につきまして、いろいろな資料をそろえて、丁寧に御回答をありがとうございます。

このナタネは、主な使用用途として魚の餌にもするというので、飼料としての申請も

出ております。

飼料としてこれを使うことそのものはさほど問題ないようにも感じているのですけれども、お魚にこの飼料を与えたときに、魚の脂肪酸組成がどの程度変化し得るかとか、そういったデータはある程度お持ちでしょうか。

○赤城氏 魚に与える試験は行っていますけれども、脂肪酸組成の変化まで見ているかどうかは分からないのですが、魚油の代替として使用できるということは確認しております。

○中島座長 こちらが何を考えているかという、大々的に使われるようになって、それで飼育した魚が食卓に上るようになりますと、油の組成が多少なりとも変わった魚が食卓に上ることになると思いますので、その場合、多価不飽和脂肪酸の推定摂取量に影響を与え得るのではないかと懸念しておるわけです。なので、この可能性について検討されたのかとか、だからこの飼料を与えたときの魚の脂肪酸組成等に影響を与える可能性はとお尋ねしたのはそういう理由なのですからけれども、この辺は何か情報をお持ちでしょうか。

○赤城氏 先ほどお伝えしましたように、魚に与える給餌試験は行っておりまして、記憶が確かであればEPAやDHAの量を測定して、同程度であったということは確認しておりますけれども、今回、回答書に含めましたような全ての脂肪酸を測定したという結果はそのレポートにはなかったようには思っています。

○中島座長 ありがとうございます。

児玉先生、お願いします。

○児玉専門参考人 申請書のほうを拝見すると、種子油のほうの解析はかなり詳しくされているのですけれども、葉の脂肪酸組成とかは測定されていますでしょうか。

○赤城氏 そうですね。葉っぱにおいても脂肪酸組成は測定しております。そもそも植物の葉における脂肪酸量はとても低量でして、測定は今、お示ししている全ての脂肪酸を測定したのですけれども、測定可能だったものは10個ぐらいだったと思うのです。組換え体と非組換え体の間に量的な差は認められませんでした。

○児玉専門参考人 遺伝子発現のレベルがほぼゼロだったようなので、変わっていないのかなとは想像していたのですけれども、その点は一応確認しておいたほうがいいかなと思ひまして、質問させていただきました。

それと、次世代シーケンサーのDNAの調整法なのですからけれども、6gの趣旨からDNAを調整していると書いてあったのですが、この6gというのは、種を取ったときの植物体の個体数というのは分かっていますか。

○赤城氏 レポートのほうには、実際に6gがどれぐらいの種子数かというのは記載がありますが、何千という単位だったとは記憶しておりますが、具体的な数字は今、分からないのです。

○児玉専門参考人 最近は皆さん上手になって、あまり問題にならないのですけれども、ちゃんとしたシングルイベントですよということを証明するのに、よくトウモロコシだと

1個体に由来するもので全ての子供ができていますと言っていたりして、それで1イベントですねという話になるのです。6gのほうが、例えば1本の植物体に由来するのか、10本に由来するのか、要するにシングルイベントですよということがそこでちゃんと分かる形になっていれば、それで問題ないと思うのですが、一応そこは確認しておくべきかなと思いついて、多分大丈夫だとは思っているのですけれども、もう少し詳しい情報が分かるようでしたら、教えていただきたいなど。今すぐでなくていいのですが、そう思いました。

以上です。

○赤城氏 今、確認したところ、種子数は1,500~2,000粒であることは確認できました。育種のほうは、●●●、その後、育成を進めたとは聞いております。

○児玉専門参考人 後ほどでいいので、文書で回答していただければと思います。

○赤城氏 承知いたしました。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかにいかがでしょうか。

このセイヨウナタネはいろいろな海洋生物なりなんなりからDNA遺伝子をかき集めてきて、入れておきまして、1つのステップで2つ以上の遺伝子が関与しているというか、2つ以上の遺伝子を入れていて、どちらの遺伝子が主に効いているのか分からないケースもあるのかなと思うのですけれども、例えば5n-3~6n-3、最後の二重結合を入れる過程とか、3つぐらいの過程でダブっているように見えます。こういう過程では、必ずしも必須ではないとも思うのですけれども、どちらの遺伝子が主に働いているのかとか、そういったことはある程度調べられておるのでしょうか。

○赤城氏 これまで実際にどの組合せが一番油量が増えるのかということを目的に、実際に組換え体を作って調べてきましたので、どちらのほうが寄与しているということはフォーカスしていなかったと思うので、両方あったから油量が増えたという観点でこれまで育種を行ってきております。

○中島座長 この組換え体は11種類の遺伝子を入れているのですが、そのうち2つの遺伝子については2コピーして、2個入れてというものがあったと思います。これは発現量等々の理由が何かあったのでしょうか。

○赤城氏 物理的に、実際にこの組換え体をいろいろと作っていった結果、この組合せが最適であったと聞いております。目的であるEPA、DHAを最大限に産生することができたということです。

○中島座長 商業的に作るものなので、結果オーライで作るのは当然ありかとは思いますが、これだけの遺伝子を入れていると、相互の遺伝子間の発現制御に関する情報とか、フィードバック阻害とまでは言いませんけれども、そのようなことはある程度情報等が、全体の代謝に与える影響の可能性がございますので、そういったことで分かっていることがございましたら、教えていただけるとありがたいのです。

○赤城氏 回答書ではなくて要旨のほうの24ページに、全体の脂肪酸合成経路の図をお示

しているかと思えます。黒字で書いてある酵素が主に働いている箇所となっておりまして、灰色でお示ししているものが、ほかの箇所でも多少働いていることが分かっているということをお示ししております。

遺伝子間におきましては、これまでも相互作用があるといった報告はないために、特に実際の実験等を行っておりません。

○中島座長 もともと違う生物の中に入っていた遺伝子が同じナタネの中で幾つも同居しているので、何らかの干渉等が起こる可能性。起こってもファイナル、必要なものができていれば目的は達するのかなと思うのですが、それが全体の代謝に影響を与える可能性は、そんなに心配なくていいのかどうかというところが少々気になったのでお聞きしているのですけれども、その辺はいかがでしょうか。

○赤城氏 ここにお示ししております脂肪酸合成酵素は、脂肪酸合成経路にのみ働くことが知られておりまして、具体的に今回の組換え体におきまして、非組換え体と比べて脂肪酸の総量としては変化がなくて、脂肪酸の比率が変わったというのが本組換え体になっております。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかに先生方、せっかく申請者に来ていただいておりますので、御質問等はございますでしょうか。

どうぞ。

○小関専門委員 ちょっとお伺いしたいのですけれども、今回食品で出されたものと、飼料として出されたものがあるわけですが、食品の場合には、例えばここでドレッシングをかけるとか、ヒトがこれを直接摂取するという形ですね。

○赤城氏 そうですね。熱を加えることはできないので。

○小関専門委員 一方で、魚の餌にされるということで、いわゆるDHAの高蓄積、生物濃縮をさせる的などところがあります。

これを魚に与えたときに、日本人は魚に蓄積した有害物質による被害で昔大変なことがあって、非常にセンシティブな国民性だと思うのです。それは忘れてはいけないで、ですから、飼料も読んだのですけれども、飼料の安全性のところ、組換えに由来する成分、別にタンパク質ではないのです。例えばこれがDHAと思われている有効成分が蓄積することもある。けれども、いわゆる有害生理活性物質、有害な脂肪酸が蓄積する、生物濃縮される。魚は生きている。けれども、人は健康被害を受けたというケースがあるので、例えばほかの国で申請が認められているかもしれないのですが、そのときには魚で申請を認められたのか、これを食べた魚でもいいですねということになるのかということもあるかもしれません。

けれども、日本の場合ですとそこはないがしろにできない話ではないかと思うのです。

先ほどDHAも魚に蓄積するということがされたのですけれども、魚は元気に泳いでいるけれども、その他の成分をためているという懸念はないか。そのデータがないと、日本

では非常にまずいようなことになるのではないかと思うのですけれども、その辺はいかがでしょうか。

○赤城氏 具体的に、種子における有害生理活性物質は要旨の158ページにお示ししておりますけれども、本組換え体は商業品種の範囲内で有害生理活性物質を含んでいますということにはなっています。これが実際に現在の漁業におきまして、ナタネ油等を魚に油分として与えるという事は行っているのです、有害生理活性物質が同等であるのであれば、現在、漁業に使われているということであれば問題ないのかなと思っております。

○小関専門委員 正確にこの安全性評価ガイドラインを読んでもらえば分かるのですけれども、遺伝子組換え体由来の新たな有害物質と書いてあります。すなわち、既存のナタネ油を餌にするとか、生成したDHAあるいは魚から取った魚油を魚に与えるとか、違う遺伝子組換えによって起因した有害物質、すなわち、今回ほかにもいろいろな脂肪酸ができていますね。それが人には食品として、直接摂取であれば健康被害はないけれども、魚が生物濃縮して、DHAと一緒に人がそれを食べてしまうという懸念はないということを示していただきたいと思うのですけれども、その辺はいかがですか。

○赤城氏 生物濃縮された場合というのは、これまで海外からは特に情報を受け取っていないので、検討させていただきたいと思います。

○小関専門委員 ぜひ、日本の魚食、特に九州のほうの方々はその非常にセンシティブなのは間違いありませんから、ぜひそこは抑えておいていただきたいと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかに先生方、ございますでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、ありがとうございます。御退室いただければと思います。

○赤城氏 ありがとうございます。失礼いたします。

○稲津氏 ありがとうございます。

○井上氏 ありがとうございます。失礼いたします。

(申請者退室)

○中島座長 それでは、退室が確認できたようですので、判定をしたいと思っております。

小関先生の御指摘は、日本ではそれなりに重みのある点でもございまして、この点について何らかの懸念を払拭するようなデータをいただいたほうがいいと私は思うのですけれども、ただ、これで直ちに危険かという、そんなことはないようにも思います。なので、考え方は難しいところもあるかと思うのです。けれども、今日のところの結論は出さないとはいけませんので、主に魚を通じて濃縮される可能性についての点を明らかにするデータをいただく必要があるとお考えの方、要するに、今日このまま通すわけにはいかないという結論で御賛同いただけますでしょうかというところなのです。

(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、今日のところはこのデータをいただくと。

飼料のほうも審議が始まっておりますので、飼料そのものについては、普通に飼料として与える点については問題ないように思いますが、結局のところ、それを食わせた魚の油も遺伝子組換えの結果として起こる範囲、小関先生の御指摘のとおりですので、飼料として想定される全ての魚とまでは言わないまでも、何らかの飼料として使った結果に関するデータを必要と考えるべきなのかというところなのです。私はむしろこの辺のデータもいただいておかないと、最終結論を出せないのではないかと。彼らにとっては少々辛い結論のようにも思うのですが、私はそのように思うのですけれども、この点について先生方、御意見はございますでしょうか。

川西先生、何か言いたそうな顔をしています。

○川西委員 先生がおっしゃった趣旨で、私個人的には賛成です。

ありがとうございます。

○中島座長 先生方、そのように結論したいと思うのですけれども、御賛同いただけますでしょうか。

(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、食品についてと飼料について、それぞれ与えられた魚を通じてヒトが摂取する可能性のある油についての資料が安全性の確認には必要であると結論したいと思います。ありがとうございます。

それでは、ただいまの御意見を確認して、指摘事項案として取りまとめまして、御確認の上、厚生労働省、農林水産省を通じて申請者に返したいと思います。

議題(1)についてはこれで終わりたいと思います。

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す。

本日の議題はこれで終了いたします。

以上を持ちまして、第219回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。

皆様、遅くまでお疲れさまでした。