

食品安全委員会 遺伝子組換え食品等専門調査会 第6回会合議事録

1. 日時 平成16年2月6日(金) 15:30 ~ 17:30

2. 場所 食品安全委員会大会議室(プルデンシャルタワー7階)

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の安全性評価

・ワタ281系統、ワタ3006系統

・LLCotton25

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

早川座長、池上専門委員、今井田専門委員、宇理須専門委員、小関専門委員、
澤田専門委員、澁谷専門委員、手島専門委員、丹生谷専門委員、山川専門委員、
山崎専門委員、渡邊専門委員

(食品安全委員会委員)

寺尾委員長代理、小泉委員、見上委員、坂本委員、本間委員

(事務局)

一色事務局次長、村上評価課長、宮寄評価調整官、三木課長補佐、岡本係長

5. 配布資料

(3) 資料1 : 食品健康影響評価に関する資料

- ・「ワタ281系統」、「ワタ3006系統」に係る食品健康影響評価
- ・「LLCotton25」に係る食品健康影響評価

早川座長 それでは、引き続きまして、第6回の遺伝子組換え食品等専門調査会を開催いたしたいと思っております。出席委員につきましては、先ほどと同じでございます。

なお、オブザーバーとして御出席いただいている食品安全委員会委員のうち、寺田委員長が所用で御退席されました。

先日、1月29日の第30回食品安全委員会では、本調査会委員の先生方に御議論、御検討いただきました、遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準が決定されたところでもあります。これまでに、厚生労働省から諮問を受けた品目のうち、本評価基準の対象となるものは3品目あるということでございます。今回の調査会では、この種子植物3品目について審査を実施する予定にしております。本日は、非公開で行うということでございます。本日の議論は、1時間半程度を予定しておりますので、午後5時ごろには終えたいと考えております。よろしく御協力をお願いいたしたいと思っております。

それでは、まずお手元の資料の確認を、事務局の方からお願いいたします。

宮崎評価調整官 それでは、御確認させていただきます。お手元に第6回の議事次第、右上に非公開と枠でくくったものが1枚。

先生方の名簿。

第6回の座席表が1枚でそれぞれ入っているかと思っております。

資料1といたしまして、今、座長からお話がありました3品目についての概要につきまして、座長からの御指示に基づいて審議を円滑に進めるためにということで、事務局の方で簡単にとりまとめたものを準備させていただいております。

お手元の資料のほかに、委員の皆様には本日審査を行う予定の3品目につきまして、申請企業が作成した資料を事前に送付させていただいております。

また、先ほどの第5回で用いました、参考資料1、審査基準案も必要に応じて参照していただければと思っております。

本日審査を行う品目につきましては、食品安全委員会の公開についてに基づきまして、事前に座長の資料の内容を御確認いただきまして、企業の知的財産を侵害する恐れがある箇所が含まれているということで、非公開で審査を行うこととなったところでございます。

また、この会議は非公開となりますけれども、国民への説明責任や透明性の確保の観点から、開催予定日時等は公開しております。併せて会議が非公開であることも明示しております。

今後の情報提供といたしまして、議事次第のところの真ん中のところに があって、それから①、②、③とありますが、こういう手続を取ることが必要ではないかということで

書かせていただいておりますが、1点目といたしまして、議事録につきましては、企業の知的財産を侵害する恐れがある箇所などを削除したものを速やかに公開していきたいというところでございます。

2点目が、審議に用いました各種試験結果概要、及び評価結果をまとめた評価書案というのを作成することとして、この評価書案につきましては、この専門調査会でとりまとめた後、食品安全委員会へ報告しまして、その時点でこの評価書案は公開になるということでございます。

3点目といたしまして、原則として企業が作成した資料概要につきましては、企業の知的財産を侵害する恐れがある箇所などを除いて、許可等と同時にこれも公開するというところで、食品安全委員会の方も御了解いただいているところでございます。

以上でございます。

早川座長 ありがとうございます。何か御質問等ございますでしょうか。よろしゅうございますでしょうか。

それでは、早速審議に入りたいと思います。

最初の品目であります。評価基準の大きなパーツごと、第1、第2、第3、第4、第5、第6、第7というふうに評価基準に分けられているところです。これごとに事務局の方から概要を御説明いただいて、審査を進めることにいたしたいと思います。

まずは「ワタ281系統」からでよろしいでしょうか。

小関専門委員 ちょっとよろしいですか。ワタ281系統と3006系統は、2つの品種を同時に出されているので、ちょっとわかりにくいと思うので、最初にLLCotton25の方が1つの品種なので、そちらの方からやった方がよろしいんじゃないかと思います。

早川座長 ほかの先生方よろしゅうございますか。それでは、順番が前後いたしますけれども「LLCotton25」から事務局の方で御説明をお願いいたします。

三木課長補佐 それでは、資料1に基づきまして、御説明をさせていただきます。あとお手元に事前に送らせていただきました、資料の概要、机の上には参考資料ということで分厚いファイルが乗っているかと思いますが、そこは適宜ごらんをいただければと思います。

資料1の16ページからになります。「LLCotton25」に係る食品健康影響評価」ということで、資料をつくってございます。これはパラグラフごとにと言いますか、先ほど座長からお話ありましたように、第1、第2という区切りでもって御説明をさせていただきます。

まず、ワタの LLCotton25 でございますけれども、グルホシネートの除草剤耐性ということでございます、*bar* 遺伝子を入れてございます。*bar* 遺伝子を入れることによって、PAT タンパク質ができるというものでございまして、これで除草剤のグルホシネートの影響を受けずに生育ができるというものでございます。基本的にワタは食用の場合は食用油、綿実油に加工されるというものでございます。

16 ページの真ん中、左端に行数が振っておりますので、22 行目からでございますが、まず「第 1 安全性評価において比較対象として用いる宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項」について説明をさせていただきます。概要版のページ数は、1 ページから 5 ページに当たります。

まず宿主については、ワタの *Gossypium* 属に属する植物であるということでございます。組換えに用いている品種は、Coker312 というものでございまして、これが用いられているというものでございます。

「DNA 供与体の種名」は、*bar* 遺伝子の供与体でございます。31 行目に書いてございますが、*Streptomyces hygroscopicus* ATCC21705 株から分離されたということでございます。

3 番目が「導入 DNA の性質及び導入方法」ということでございますが、これは *bar* 遺伝子は、PAT タンパク質が発現されるというものでございまして、この性質といたしましては、この 37 行目から書いてございますように、グルホシネートをアセチル化して、N - アセチルグルホシネートとして、このグルタミン合成酵素の阻害作用を不活性化するというものでございます。これで、グルホシネートの除草作用に対する耐性を付与するというものでございます。

この *bar* 遺伝子については、アグロバクテリウムを用いたバイナリーベクター法でワタゲノム中に導入されているということでございます。

次の 17 ページにいきますと、2 番目として「宿主の食経験に関する事項」ということで、食用油、綿実油として利用されてきたということが記載をされてございます。

3 番目「宿主由来の食品の構成成分等に関する事項」ということで、この宿主の可食部分の主要栄養素等の種類ということで、綿実油についての栄養組成がこのように報告されているということでございます。

(2) として、13 行目からでございますけれども、毒性物質・栄養阻害物質等については、基本的にワタはゴシポールとシクロプロペン脂肪酸等の有害成分を生産するということが知られているということでございます。基本的にこれらの有害成分は、ゴシポールについては、精製過程で除去されているということございまして、シクロプロペン脂肪酸

については、精製過程での水素添加や加熱加工時の脱臭の際に不活化、または除去されるというものでございます。

20行目からになりますが、「4 宿主の組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項」ということでございまして、収穫時期、貯蔵方法については、ここに書いてございますが、通常のワタと相違はないということでございます。摂取部位、摂取量についても、ここに書いてございますけれども、基本的に非組換えのワタとの相違はないというものでございます。調理加工方法も同じでございます。

5番目は、宿主以外のものを比較対象に追加している場合ということでございますので、ここは該当はしておりません。

6番目としまして、安全性評価において検討が必要とされる相違点ということでございますが、この概要の中は該当しないという記述がございまして、ここは基本的に LLCotton 25 については、*bar* 遺伝子の挿入により PAT タンパク質が産生されているということが、宿主との相違点ということでございます。

この1~6の事項によって、LLCotton25の安全性評価においては、既存のワタとの比較が可能であるということになるかと思えます。

第1の説明は以上でございます。

早川座長 ありがとうございます。それでは、先ほどパーツごとということをお願いいたしましたけれども、第1から順次御意見等ございましたらお願いしたいと思います。

第1はよろしゅうございますか。宿主等の性質及び組換えとの相違。

よろしければ、次に第2の組換え体の使用目的及び使用方法に関する事項、お願いいたします。

三木課長補佐 18ページになりますけれども、第2として2行目に書いてございますが、利用目的、利用方法でございます。概要としては、6ページから9ページに書かれています。基本的に *bar* 遺伝子が挿入されており、PAT タンパク質が産生をされてございますが、グルホシネート除草剤の阻害を不活化するというものでございます。こういう利用目的で使われるということが書かれています。

第2は以上でございます。

早川座長 第2について、いかがでしょうか。よろしいですか。

それでは、第3、お願いいたします。

三木課長補佐 第3は、同じく18ページの8行目からですが、*bar* 遺伝子の挿入により PAT タンパク質が産生をされてございますが、グルホシネート除草剤の阻害を不活化するというものでございます。こういう利用目的で使われるということが書かれています。

て用いられている、Coker312 というものについて記載がされているということでございます。

1 番目の分類学上の位置付けは、ここに書かれているとおりでございます、12 行目にこの Coker312 と D&PL-15 の交配から開発されて、継代選抜されているということが書かれてございます。

17 行目にまいりまして「遺伝的祖先並びに育種開発の経緯」ということでございますが、これはワタについてはいろいろ品種、在来種がございます、こういったものが交雑をしていく中で、栽培用のワタが開発されてきたという歴史が、概要の中にも記載をされてございます。

20 行目でございますが「有害生理活性物質の生産」ということで、先ほどお話ししたような、ゴシポールとシクロプロペン脂肪酸が基本的に挙げられてございます。

ゴシポールについては、ここに書いてございますように、*Gossypium* 属の植物に通常認められるテルペン類であり、食欲減退、体重減少等の問題を引き起こすということでございます。ゴシポールは、種子全体に遊離した形か、粉末に加工する過程においてリシンかまたはその他の成分に結合した形で存在し、精製された綿実油には存在しないということが書かれてございます。

シクロプロペン脂肪酸については、ワタに通常存在する脂肪酸であるということと、これらの脂肪酸は精製時の水素添加や脱臭時の加熱により不活化、または除去されるということでございます。

アレルギー誘発性については、35 行目に書いてございますが、明確なそういった報告はないということでございます。

次に「病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項」とございますが、基本的にワタの病気はいろいろありますけれども、ヒトに対して病原性を持つという報告はないということでございます。

19 ページにまいりまして「6 安全な摂取に関する事項」ということで、先ほどの有害活性物質であるゴシポール等については、綿実油に加工されることにより問題なく摂取ができるようになるということでございます。

7 番目として「近縁の植物種に関する事項」でございますが、ここもゴシポールのごとく書いてありますが、この近縁の *Gossypieae* 亜科にはゴシポールが含まれているということでございまして、この亜科の中には 8 つの属がございます、この 1 つが *Gossypium* 属ということでもあります。ですから、近縁の植物種においてもゴシポールがあるということ

でございます。

第3は以上でございます。

早川座長 それでは、第3の宿主に関しまして、どなたか御意見。先生、どうぞ。

澁谷専門委員 今のところでも概要のところでもちょっとわからなかったのが、ゴシポールがリシンかまたは他の成分に結合した形で存在するというんですが、リシンって言うてしまうと、それこそ今、問題になっている、あの猛毒性の植物タンパク質リシンになってしまうんですね。それはあり得ないと思うんです。かといって、アミノ酸のリジンかというの、何かよくわからないんですね。原文の方よくわからないので、これは毒性物質の部分なので、やはりちゃんと確認しておいた方がいいと思います。

早川座長 その点は、事務局の方で御確認をいただくということにさせていただきたいと思います。

ほかに、第3のところでは何か。とりあえずよろしゅうございますか。

それでは、第4のベクターということで、よろしく願いいたします。

三木課長補佐 同じく19ページの「第4 ベクターに関する事項」ということで、11行目からでございます。概要は、15ページと16ページということで、このベクターのプラスミドの制限酵素切断地図が載っている部分でございます。

まず「名称及び由来に関する事項」ということで、この作製するためのベクターというのは、ここに書いてございますが、プラスミド pGSV1 というものでございます。これはプラスミド pGSC1700 を基に作製されているということでございまして、プラスミドの pBR322 とか、こういったものに由来する複製起点を有し、また *Agrobacterium tumefaciens* における複製を可能にするために、*Pseudomonas* のプラスミドの pVS1 由来の複製起点も含んでいるということで、こういった *Pseudomonas* とか *Agrobacterium* 由来のものが入っているということが、記載をされているということでございます。

性質については、概要で言いますと16ページに書かれてございますが、塩基数とかがいろいろ書いてございますが、まず塩基数が8,033bp でございました。制限酵素切断地図は、概要の15ページの図4.1というのに書かれてございまして、この中で pVS1 というプラスミドですので、この切断地図が示されているということでございます。

この中の pVS1 というところのプラスミドの中に、除草剤のグルホシネート耐性を有する *bar* 遺伝子が含まれているということでございまして、Sm/Sp と書いてあるのがございますが、ストレプトマイシンとスペクチノマイシンに耐性を付与する、選択マーカー遺伝子が入っているということでございます。

伝達性等については、植物の場合はこういったものは植物体内では、プラスミドが伝達性を持たないということが示されてございます。

説明は以上でございます。

早川座長 ベクターのところにつきまして、どなたか今の時点で何かございましたらお願いいたします。

小関委員、よろしいですか。

それでは、挿入 DNA、遺伝子産物、発現ベクターの構築というところで、お願いいたします。

三木課長補佐 それでは、資料 1 の 19 ページの第 5 のところを御説明します。概要の部分は、17 ページから 25 ページまでになります。ここのところは、まず挿入 DNA の供与体ということで、*bar* 遺伝子が *Streptomyces hygroscopicus* ATCC21705 株から由来しているということが書かれてございます。この菌の病原性等の問題は報告をされていないということでございます。

20 ページにまいりまして「2 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法」ということで、ここのところは Murakami らが 1986 年に報告をしているというようなことが書かれてございます。

「3 挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現に関わる領域に関する事項」ということで、まずプロモーターに関する事項として、*bar* 遺伝子を発現させるためのプロモーターは、カリフラワーモザイクウイルスの 35S プロモーターが使われているということでございます。

ターミネーターは同じく、カリフラワーモザイクウイルスから得られた 3' nos のターミネーターを用いてございます。

その他、特に発現制御に関わるエンハンサーは導入をされていないということでございます。

次にベクターへの挿入 DNA の組込方法でございますが、組込方法は概要の方を見ていただいた方がわかりいいかと思いますが、概要の 19 ページの表 5.1 が組換えワタに挿入された DNA ということで、この部分が T-DNA として導入されているということでございます。

4 番のベクターへの挿入 DNA の組込方法でございますが、このプラスミドの pGSV71 の構築に関することが書かれてございます。

5 番目が、構築された発現ベクターに関する事項でございますが、このプラスミドの pGSV71 を用いて、この LLCotton25 が作製されているということございまして、概要の 22

ページに構築された発現ベクターの制限酵素切断地図が書かれてございます。塩基数が、9,555bp というふうになっておりまして、23 ページに表 5.2 というのがございますが、プラスミド pGSV71 中の DNA 要素の位置とかサイズとか機能とかというのが、ここに示されてございます。基本的に *bar* 遺伝子を除いて、オープンリーディングフレームは存在していないということでございます。

入る部分というのは、概要の 22 ページのプラスミドの切断地図のライトボーダーからレフトボーダーに挟まれた DNA の部分、これがアグロバクテリウム法によって導入をされるということになってございます。

発現ベクターについては、各要素は純化をされておりますので、目的外、基本的には *bar* 遺伝子以外の目的外の遺伝子の混入はないということでございます。

次に 6 番目としまして、DNA の宿主への導入方法、交配に関する事項ということでございます。バイナリーベクターである pGSV71 で、このアグロバクテリウムを用いた形質転換法により挿入されているということでございます。このところは、形質転換後の組織の立ち上げであるとか、その交配、選抜等について記載がされてございます。

第 5 は、以上でございます。

早川座長 ただいまの第 5 につきまして、何かコメント、御意見ございますでしょうか。どうぞ。

澁谷専門委員 実は 4 のところなのかもしれませんが、ちょっと見直していたら、今度の基準、考え方では、ベクターについてここでも議論があって、全塩基配列を明らかにするということになりましたね。それで、こののあれによると全塩基配列をやると。それから、公開データベースに出ている場合には、登録番号を明らかにすることがあって、そういう場合こういう基準になったときに、申請書の書き方としてどうやってそこを担保していくのか、それがちょっとよく見えないんですが。

早川座長 その点、いかがでしょうか。

三木課長補佐 概要の 22 ページに、塩基数及び塩基配列となっていて、基本的に塩基数は示されているんですけども、ちょっと事務局でも塩基配列を探してみたんですけども、見つかりませんでしたので、そこは確認したいと思います。

澁谷専門委員 通常そこまで見ることはないわけですが、何かあったときにチェックできるような担保が必要じゃないかという気がするので、そのルールをどうするかを検討していただいた方がいいんじゃないでしょうか。

早川座長 一応基準にはそう書かれてあるということですので、何らかの形で全塩基配

列を入手しておいていただくということかと思いますが、よろしいでしょうか。

村上評価課長 必要があると委員の先生方が御判断されたときに、すぐにいつでも出せるようにしておくということで対応したいと思います。

早川座長 よろしく願いいたします。

ほかにございませんでしょうか。

それでは「第6 組換え体に関する事項」について、よろしく願いいたします。

三木課長補佐 第6は、資料1の21ページからになりますけれども、概要で言いますと26ページから82ページまで、かなり大部になります。

まず、1番目の「遺伝子導入に関する事項」でございしますが、「コピー数及び挿入近傍配列に関する事項」でございしますが、LLCotton25については、サザンプロット分析を行った結果、*bar* 遺伝子のカセットの完全な1コピーが含まれているということが示唆をされたということでございます。

この辺が概要の26ページから、サザンプロットのデータがずっと27ページにかけてあるというものでございます。

その結果、オープンリーディングフレームについては、LLCotton25に導入されたDNAの一部について、欠失とか挿入とか置換が確認をされたが、*bar* 遺伝子の外であって問題はないという旨が記載をされてございます。

同じく21ページの2番目の14行目からになりますが、「遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量」については、この精種子においてはリバリティー除草法、これは除草剤を散布した場合ということでございますけれども、生重量当たり108~136 μg で、通常の除草法で散布された場合には84~128 μg 、このような量が種子中に発現をしているということが書かれてございます。

3番目のタンパク質が1日摂取量の有為な量を占めるか否かということでございますけれども、これは基本的に油に加工されますので、油中にはタンパク質が入ってこないということでございます。ここは仮の計算をしておりますが、仮の計算で最大量油の中に入っていると仮定をしたとしても、1日当たり118 μg という量になるということでございます。

4番目、25行目から、アレルギー誘発性でございますが、まず*bar* 遺伝子の供与体である *Streptomyces hygroscopicus* については、アレルギーやグルテン過敏性腸炎を誘発するという報告はないということでございます。

2つ目としましては、PAT タンパク質についても、アレルギーを誘発したという報告はないということでございます。

次の3番目の物理化学的処理に対する感受性ということですが、これは人工胃液に対しては、組換え大腸菌によって産生させたPATタンパク質を人工胃液中で処理をしたところ、30秒以内に消化されるということですが、それが概要の47ページの図6.10でわかるということですが。

次の人工腸液においては、大体0.5～60分間処理をしたところ、これは5分以内に消化されるということ、概要の49ページの図6.11というところで、ウェスタンブロットで確認がされているということですが。

更に加熱処理についても一応やっていますが、概要の50ページにPATタンパク質について、10度～45度ぐらいまで加熱した場合の、どのぐらい活性が低下するかということが見られております。資料1には書いていませんが、そういうことですが。

(4)としましては、タンパク質のアレルゲンとの構造相同性ということですがけれども、次の22ページを見ていただきまして、既知アレルゲンとの構造相同性が示されています。既知のアレルゲンと*bar*遺伝子の産物について、相同性検索をしたところ、そういったものは検証されなかったということがございます。

基本的に8個単位で、連続する8個のアミノ酸との構造相同性もなかったということですが、この結果アレルギー誘発性は認められないということ書かれています。

引き続き5番として、組換え体に導入された遺伝子の安定性ということで、後代種を用いているいろいろなサザンブロット分析による安定性の確認というのがなされています。基本的には、概要の55ページからT4世代とかT5世代とかずっとやられておまして、この結果安定的に発現するということが、ゲノムレベルで安定性が確認をされたということですが。

続きまして、6番目のタンパク質の代謝経路への影響ですが、PATタンパク質でございまして、基本的にはワタの代謝経路に影響を与えることはないというふうな考察がなされています。

宿主との差異については、概要の63ページからずっといろんな分析がされておりますが、基本的には非組換えのワタと同等であるというふうな、これは文献値も含めまして、文献値と実際の実測値を比較したところ、問題ないと言いますが、基本的には同等であったということが記載をされています。

資料1の23ページにまいりますと、7行目から8番目の諸外国における認可等の状況ですが、これはアメリカでは2002年2月に米国農務省に無規制栽培の申請を行って

いるということでございます。2002年8月には、FDAに食品及び飼料としての安全性ということで申請を出しているということでございます。

日本においては、環境安全性の観点で申請がされているというものでございます。

9番目の「栽培方法に関する事項」については、グルホシネートに耐性であるということ以外、栽培方法に相違はないということでございます。

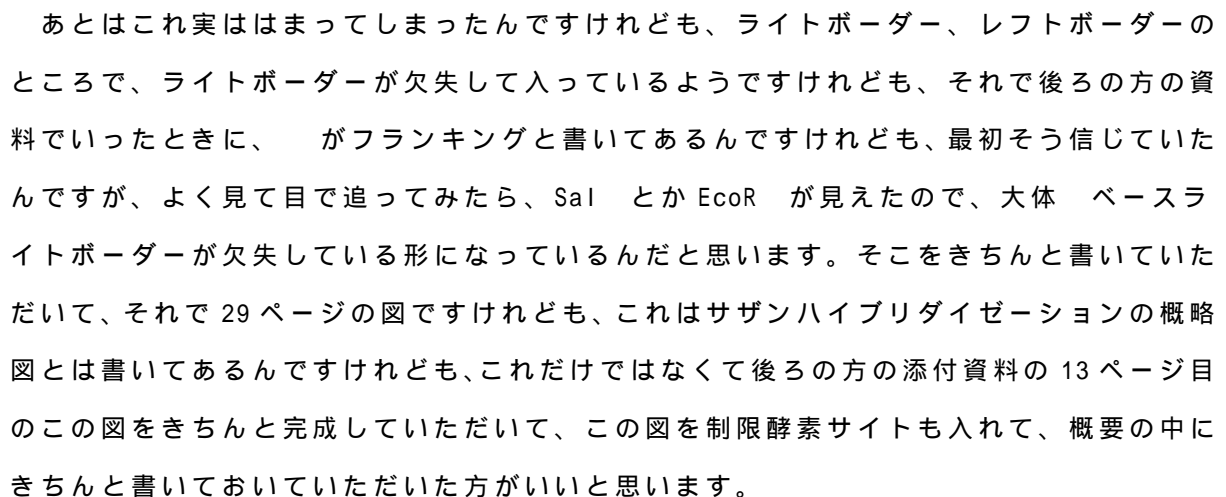
10番目の「種子の製法及び管理方法に関する事項」ということで、これもこの報告書の中に記載がされてございます。

以上でございます。

早川座長 ありがとうございます。第6の組換え体に関することにつきまして、何か御意見、コメント等ございましたらお願いいたします。

どうぞ。

小関専門委員 27ページの図6.1の2のレーンで表わされているものですが、これは本来だったら1.6 kbpと0.58kbpの2本のバンドが見えるはずなんですけれども、どうやっても見えないので、これはより正確に見える図にさせていただきたいというのがあります。これは切れ残ってしまっているので、上の方にバンドがぼんと出てしまっていますけれども、これをちゃんと切ったものを見せていただきたいということです。

あとはこれ実ははまってしまったんですけれども、ライトボーダー、レフトボーダーのところ、ライトボーダーが欠失して入っているようですけれども、それで後ろの方の資料でいったときに、がフランキングと書いてあるんですけれども、最初そう信じていたんですが、よく見て目で追ってみたら、SalIとかEcoRが見えたので、大体ベースライトボーダーが欠失している形になっているんだと思います。そこをきちんと書いていただいて、それで29ページの図ですけれども、これはサザンハイブリダイゼーションの概略図とは書いてあるんですけれども、これだけではなくて後ろの方の添付資料の13ページ目のこの図をきちんと完成していただいて、この図を制限酵素サイトも入れて、概要の中にきちんと書いておいていただいた方がいいと思います。

そうしないと、サザンを突き離すのに、すごい苦労させられまして、わからなかったです。それが第1点です。

もう一つが、これフランキングシーケンスを決定しているんですけれども、そのシーケンスのところ、オープンリーディングフレームがあるかないかということについては、一切書かれてないので、それを確認して提出していただきたいという、以上の2点です。

早川座長 ありがとうございます。ほかにいかがですか。どうぞ。

宇理須専門委員 今、三木さんが読まれたこちらの方というのは、これが提出されるんですか。というのは、この中に加熱処理のサマリーが載ってなかったと思うんですけれども。

三木課長補佐 後で書き足しておきます。

宇理須専門委員 というのは、このタンパクというのは、活性そのものは熱で失活するんですけれども、構造は分解されないんです。そういったようなことを正確に記述していただきたいと思いました。

もう一つ、51ページの上から3行目のところに、加熱処理をすると2量体が出てくるんじゃないかという趣旨のことが書いてあるわけですが、こういった加熱処理で、多分これは変性してアグっているんだと思うんですけれども、そういう場合でもこういう2量体とか、そういう表現がいいのか、私ちょっと専門じゃないのでわかりにくいですが、そういう表現はいかがなんでしょうか。

早川座長 分子量から見てということなんでしょうか。

宇理須専門委員 そうです。倍になっているので、近いので2量体と、そういうアグっているような場合でも2量体と言っていいのかどうかという、言葉使いの問題なんですけれども。

早川座長 凝集体というのが正しいかもしれませんが。2量体というのは本来は違った意味かもしれませんがね。分子量はそうであっても。2量体というのは、正しくはモノマーとモノマーが2量体になっていると。

宇理須専門委員 構造的にこういうふうに。

早川座長 ちょっと言葉使いを検討していただくということで。

ほかにどなたか、いかがでしょうか。どうぞ。

渡邊専門委員 最後の方、8で、諸外国における認可、ちょっと細かいんですけれども、2002年8月にFDAに出されて審議中であると。もう大分時間が経っているので知りたいという気がいたします。

三木課長補佐 はい、確認をしておきます。

早川座長 丹生谷専門委員。

丹生谷専門委員 21ページの第6の1の(1)のところで、近傍配列に関する事項と書いてあって、先ほど小関委員の方からサザンブロット分析の説明があって、その後ろの方にデータも載っていて配列が書いてあったんですけれども、配列のデータがあるんでしたら、文章として配列を決定した文章がどこにもないんじゃないかと思ったんですけれども、

私は最初ないのかと思ったんですけども、実は後ろの方にあったんです。明確に書いておいた方がよろしいかと思えます。

早川座長 明確に書いておいた方がよろしいという御指摘でございます。

ほかにいかがでしょうか。

どうぞ。

澁谷専門委員 実は大変細かいことでミスだと思うんですけども、概要の方の 65 ページに、宿主と比較した表 6.8 というのがあります。この表 6.8 で脂質や何かが親品種と有意差ありになっているんですが、これを見ると 1.34 ± 0.83 と 1.33 ± 0.89 と、これは全然有意じゃないですね。だから、これは何を書いてあるのかよくわからないので、ちゃんと正確なものを出してほしいと思えます。

早川座長 そこはちょっと確認してください。誤植かもしれません。

宇理須専門委員 こういう有意差を表現するときには、危険率を数字で表わした方がいいと思えます。

澁谷専門委員 データの信憑性の問題ですね。

早川座長 ほかにいかがですか。それでは、よろしいでしょうか。

第 7、実質上はないんですが、一言御説明ございますか。

三木課長補佐 不要というふうに判断をされております。

早川座長 ありがとうございます。これに関しまして、いかがでしょうか。とりあえずよろしゅうございますか。

それでは、今、駆け足で LLCotton25 について御検討いただきましたけれども、その中でもとりあえず幾つか、御意見、あるいは御指摘がございましたので、確実に直せるものは直すし、それから確認整理しなければいけないものは確認整理していただくよう、事務局の方でお願いいたします。

これは、一度委員の先生方にこういうことで、例えばこのようなコメント等をつくりましたということメールでお知らせして、正確なコメントの内容については、再度御確認いただいた方がいいかと思えます。それでよろしいでしょうか。ただ、今回は最後の確認事項では必ずしもないと思えます。さらに精査するという作業も残っておりますので、一応今の段階でこういうことをコメント、問題にしているという意味でございますが、よろしゅうございますでしょうか。

続きまして、ワタ 281 系統ですが、ワタ 3006 系統と重なる部分も多いようですので、併せて審査をいたしたいと思えます。

それでは、先ほどの要領でパーツごとに、大変ですがよろしく願いいたします。

三木課長補佐 それでは、事務局の方から、ワタ 281 系統と 3006 系統について御説明をいたします。概要版、お手元にあるかと思いますが、2 ページほどめくっていただきますと、総合目次というのがございまして、そこに第 1 何ページとか、第 2 何ページとかというのが書かれてございます。これは 2 系統ございまして、いずれも害虫抵抗性と、除草剤耐性ということで、*pat* 遺伝子が入っているものでございます。

まず、概要を御説明いたしますと、ワタの 281 系統は *cry1F* という遺伝子が入っておりまして、これは害虫抵抗性のタンパク質を発現するというものでございます。除草剤耐性の *pat* 遺伝子というのも入っておりますけれども、目的としてはこの系統を選抜するとき除草剤を使って選抜するというので入れているというものでございます。

ワタ 3006 系統は、*cry1Ac* という遺伝子が入っておりまして、これも Cry1Ac タンパク質という Bt タンパク質ができて、害虫抵抗性を示すものでございます。

この系統の中にも *pat* 遺伝子が入っておりまして、選抜の際にグルホシネートを用いて選抜をしているものでございます。

これを申請してきている企業の意図としましては、基本的にはこの両系統のかけ合わせのものを販売していきたいということが趣旨としてあるようでございます。基本的には、ベクターが違っておりまして、各ベクターに入っている *cry1F* 遺伝子か、もしくは *cry1Ac* 遺伝子というのが入っていて、それをおのおのワタの中に入れていまして。ただ、宿主等については、同じものに入れてございますので、その辺の書きぶり是一緒のところもございまして、違う部分は別途分けて書いているというふうな概要のつくりになってございます。

まず第 1 ということで、この比較対象として用いられるかどうかというところでございますが、ここの部分は基本的には分かれておりませんで、一緒のような形で書かれてございます。概要書のページ数からすると、17 ページから 22 ページが概要のページ数になっております。

宿主及び導入 DNA に関する事項ということで、これはまたワタでございまして、*hirsutum* 種のワタということで、早生種の PSC355 系統というのが母本として用いられているものでございます。

DNA 供与体につきましては、*Bacillus thuringiensis*、*Streptomyces*、*Agrobacterium* とか、こういったものに由来するということでございます。

導入 DNA の性質と導入方法でございましてけれども、この *cry1F* と *cry1Ac* と *pat* という

この3種類の遺伝子を各ワタに入れているものでございまして、*pat* はそれぞれに入っているというものでございます。いずれもそのアグロバクテリウム法により入れているということでございます。

宿主の食経験は、これは先ほどと同じでございまして、ワタでございまして、綿実油として最終的には食されるということでございます。

構成成分としましては、資料1の2ページになりますけれども、可食部の主要栄養素等の種類とか量とかというのは、ここに書かれているとおりでございまして、非組換えワタとの組成等については同等であるということでございます。

先ほど同様に、毒性物質であるゴシポールとかも含まれておりまして、そういった組成についても同等であったということでございます。

4番目でございましてけれども、宿主と組換え体との食品としての利用方法、及び相違方法ということでございますが、これも先ほどと同じようにほとんど非組換えワタと同等ということでございまして、違う点についてはこのCry1Fタンパク質とPATタンパク質、ワタの3006系統については、Cry1Acタンパク質とPATタンパク質が発現されているという点が、それで害虫に抵抗性を持つという点が、非組換えワタとの相違点ということになってございまして、基本的には従来のワタ、非組換えのワタとの比較でもって安全性の評価が可能であるというふうにされてございます。

以上でございます。

早川座長 ありがとうございます。それでは、今の第1のところ、現時点で何かコメントございますでしょうか。

小関専門委員 18ページと24ページのところで、18ページの一番下、通常でき上がった油にはタンパク質は含まれない。あるいは、安全な摂取の一番最後のところ、でき上がった油には通常タンパク質は認められないということは、ある場合によっては認められるということでもいいのかどうか、ちょっと確認していただきたいと思います。

早川座長 18ページの一番下ですね。

小関専門委員 24ページの6.の一番最後です。入る場合があるということなんですかと、普通はないと思うんですけども。

早川座長 通常という言葉の使い方、そこの背景について御確認をいただきたいということですね。

ほかにございますでしょうか。それでは、よろしく願いいたします。

池上専門委員 概要版で見た場所がどこにあったかが確認できないんですけども、概

要版の中に PAT タンパク質が昆虫の場合と哺乳類では違うんだという説明があるんですけども、その説明の例にネズミとかウサギのことが具体的に書いてあっても、ヒトでも同様というように書かれているんですけども、やはりここではヒトの安全性を主に考えるわけですから、ヒトでの何かきちっとした確認のあるデータがあるんでしたら、そちらを先に書いていただいた方がいいのではないかと思います。ちょっと場所がページを記録してこなかったのだからわからないんですが。

早川座長 概要の 41 ページの一番下の方ですか。

それでは、また後でその部分について先生の方から、確認していただいて。

池上専門委員 いかがでしょうか。ヒトでもデータがあるように書かれているんだしたら、やはりそっちを優先的に書いていただいた方が、適切ではないかというふうに思いました。

澁谷専門委員 41 ページの概要版の一番下の方にある、Cry タンパク質のレセプターが、ネズミやウサギなどにあるという話じゃないでしょうか。

池上専門委員 そうです。このところにある部分です。

早川座長 そこでよろしいですか、こちらの透明の表紙の方の、該当場所は 41 ページでよろしいですか。

池上専門委員 はい。

宇理須専門委員 レセプターがないということ、ヒトでも証明されているんですか。

澤田専門委員 Cry タンパク質には種類がいろいろありますね。全部が証明されているわけではないので、それであいまいに書いてあるのかもしれないですけども、この Cry1F タンパク質に関して、ヒトでやっているかどうかというのはわかりません。ほかのものは報告が随分出てると思います。この点は、ちょっと調べてもらわないとわかりません。

早川座長 要するに、Cry タンパク質の受容体がヒトで見つからないのであれば、それを書いてくださいということでございますね。

池上専門委員 そうです。書き方から見るとそういうふうに読み取れるんですけども、ウサギやラットの例ではなくて、そちらを書いてもらえないかということです。

早川座長 そういう知見がなければそれは書けないので、ということでもよろしいですか。

池上専門委員 はい。

早川座長 では、そこはちょっと御確認をいただくということで、よろしく願いいたします。

ほかによろしいですか。

では、次のパーツをお願いいたします。

三木課長補佐 資料1の2ページの35行目からになりますけれども、第2として「組換え体の利用目的及び利用方法」でございますが、これはワタ281系統、3006系統ともに、害虫を防除する目的で使われるということでございます。

以上でございます。

早川座長 今のところはこれでよろしいですか。

どうぞ。

澁谷専門委員 この2ページの書き方なんですけれども、ワタに被害を及ぼす害虫を防除するために、2種類のタンパク質を発現するように開発されたものであると。それは違いないんですが、結局組み合わせの素材として開発したということですね。今、審査しているもの自体は。つまり、これだと何かこの系統に2種類のCry1タンパク質を同時に発現したものを審査しているような感じに、この要約は見えるんじゃないでしょうか。だから、もう少しそこを正確に表現していただいた方がいいんじゃないですか。

早川座長 最終的にはかけ合わせを目指しているということではあるんですが、よろしいでしょうか。そういうふうに書けばよろしいですかね。ほかにございませんでしょうか。

それでは、次に「第3：宿主に関する事項」をお願いいたします。

三木課長補佐 3ページになりますけれども、「宿主に関する事項」ということでございます。これはいずれも同じ宿主でございますので、両方同じことが同じところに書いてございます。宿主はワタ、両方の系統とも *Gossypium hirsutum* 種ワタでございます。

「遺伝的先祖並びに育種開発の経緯」でございますが、先ほど御説明したような、ワタについては、いろいろな種類があったということで、その中から栽培種が育てられてきたというようなことでございます。

ここにも書いてございますが、基本的にワタの育種については繊維の品質向上ということを主眼に置いて、いろいろ継代が行われてきておりまして、こういった中にゴシポールとシクロプロペノイド脂肪酸を含んでいることになっているということでございます。

こういったこれらの毒性物質について、生産の低下であるとか、消失をさせるというふうな育種がされてこなかったのは、繊維の品質向上ということについては影響がなかったからということが書かれてございます。

3番目の「有害生理活性物質の生産に関する事項」ということでございますが、ゴシポールとシクロプロペノイド脂肪酸を含んでいるということが記述をされております。

綿実油に最終的に食品になりますので、その精製過程でゴシポールは除去されると。シクロプロペノイド脂肪酸も、先ほどのワタで御説明したような、脱臭の過程で加熱をされるわけですので、そういった過程の中で失活、減少していくということになります。

4番目のアレルギー誘発性については、ワタでは知られていないということになります。

5番目の病原性についても、ワタに感染する病原性がヒトに影響するということとは知られていないということになっていきます。

安全な摂取に関する事項の部分は、基本的には精製過程を踏んで綿実油というのをつくられるということで、ゴシポール等の毒性が排除されているということになります。

近縁の植物種については、こういう書き方をしておりますけれども、近縁種にも同じゴシポールとかは入っておりますので、それ以外のものは知られていないということになります。

以上でございます。

早川座長 ありがとうございます。それでは、宿主につきまして、何かございますでしょうか。

どうぞ。

澁谷専門委員 概要の24ページの、さっきと同じゴシポールのところなんですけど、この文書がちょっと理解ができないんですが、有害生理活性物質の生産のところですけども、ここではゴシポールは後ろの方でも、哺乳類にいろいろ害を及ぼす可能性があると言っておいて、ところがこのワタ以下の2行目のところになると、家畜はこれらの物質により影響を受けないと断言しているんです。何かこれ論旨がよくわからない。動物に影響がある有害物質として取り上げながら、家畜は影響を受けないというのはどういうことなのか、このままでは何だかよくわからないような気がしますけど、ちょっと確認していただけますか。

早川座長 よろしく願いいたします。

ほかにいかがでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、第4のベクターのところをお願いいたします。

三木課長補佐 それでは、4番目の「ベクターに関する事項」ということで、概要は26ページから40ページになります。資料1は、4ページ目からになります。ここからがワタの281系統と3006系統が分かれていくところになります。

まず、281 系統の方から御説明いたしますと、使われているベクターは、プラスミドベクター-pAGM281 というものでございまして、これはアグロバクテリウム法を用いた形質転換法でワタのゲノム中に入れていたということでございます。

cry1F 遺伝子を、プラスミドベクター上に乗せているわけですが、これは合成をされたものでございまして、その辺、概要の 29 ページにプラスミドベクターの作製過程、30 ページに 281 系統に挿入される遺伝子の詳細が書かれてございます。

精製に関する事項につきましては、このベクター-pAGM281 の大きさは、1 万 4,950bp ということでございまして、このうち挿入される T-DNA の領域部分は 8,034bp ということでございます。

構成は、具体的には概要の 31 ページに切断酵素のマップが載っております。

既知の有害塩基配列を含まないことについては、この T-DNA の挿入部分は、この *cry1F* の遺伝子と、あと *pat* 遺伝子の部分を含んでいるのみであるので、それ以外の配列は含んでいないということが書いてございます。

次にベクター中の薬剤耐性遺伝子が含まれている場合は、ということですが、エリスロマイシン耐性遺伝子というのが、プラスミド中には入っておりますが、T-DNA の外郭領域でございますので、挿入はされていないということでございます。

伝達性については、この伝達ベクターとしてのアグロバクテリウムの安全性は確立されているというふうな記載がございます。

続いて、ワタ 3006 系統になりますが、概要のページ数で言うと 34 ページからになります。これは先ほどと違うプラスミドの pMYC3006 というのが用いられているということでございます。この構築の過程が概要の 36 ページに書かれてございます。アグロバクテリウム法を用いてこれもワタのゲノム中に入れられているということでございます。

この大きさは、1 万 5,337bp ということで、この挿入 DNA の領域は 8,421bp ということでございます。

概要の 37 ページに挿入遺伝子の *cry1Ac* と *pat* が発現される遺伝子でございますけれども、これの詳細が書かれてございます。

38 ページに切断酵素のマップがございまして。

既知の有害塩基配列につきましても、*cry1Ac* と *PAT* 遺伝子以外のものは、発現されるようなものは含まれていないということでございます。

薬剤耐性遺伝子についても、エリスロマイシン耐性遺伝子がプラスミド中にはございまして、T-DNA 外ということで、最終的なワタ中には含まれていないということです。

伝達性は同じような記載がございます。

以上でございます。

早川座長 ありがとうございます。それでは、第4、ベクターについて、何か今お気づきになったことがございましたらどうぞ。

小関専門委員 このベクターの項は、実はできたものを記入するのではなくて、PT1955のバックボーンの部分について記載するものであって、今回つくられている281系統のプラスミドと3006系統のプラスミドの部分についての話というのは、第5の挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築のところで書いてもらわないと、それでこれすごくわからなかったんです。ですから、大幅に書き直していただくように、まだそのほかにも大幅に書き直してくださいと。細かいところですけども、27ページの上から6行目のところに、エリスロマイシンで「淘汰」と書いてあるんですけども、これは「選抜」の誤字ということです。

それと、30ページの表3と37ページの表4で見ればわかるんですけども、これに入れてあるのはともに *cry1F* と *cry1Ac* 遺伝子だけではなく、それに正確に言うと *cry1c* と *cry1Ab* 遺伝子を付けたキメラになっているんですね。これについて、ここにちょっと書いてあるだけなんですけれども、ですから要するに天然にないものになっていますので、それについてのアレルゲン性とか、毒性について一切、たしか後ろの方でもやってないはずですね。サーベイを一切やってなので、これは必ずやってしかるべき箇所に書くことを求めてください。以上です。

早川座長 よろしいですか。今のことは。大きくは2点ありましたけれども、書きぶりが発現ベクターではなくてという話と。

どうぞ。

澁谷専門委員 今の小関委員が言われたように、キメラとかつくった場合の表記の仕方というか、これは括弧内のシンプロ (synthetic products; 合成物) と、これがそれを意味するんですか。そうしないと *cry1A* とか *cry1F* 遺伝子とか、要するにあるものとどういうふうに区別するかというか、キメラでかなり大幅に変わっていても、*cry1A* 遺伝子だと言われてしまうと、そうするとちょっと困ると思うので、その辺の表記というか名前の付け方なんかもどういうふうにするんですかね。

小関専門委員 だから、誤解が生じないように、必ずシンプロを付けるということ、全文書について言った方がいいと思います。

もう一つ、関係ないというか、細かいことなんですけれども、37ページのところで、こ

れは 3,481 と書いてあるんですけども、3 で割ると割り切れないんです。ですから、この数字は間違っています。96 ページに 1,151 アミノ酸となっているので、それとも合いませんので、ここは間違っているのを訂正するようにさせてください。

早川座長 どうぞ。

山川専門委員 今の、そうすると小関委員が言ったように、この項も *cry1Ac* 遺伝子ではなくて、*cry1Ac* 遺伝子(シンプロ)と全部そう書かなければならなくなりますね。今までベクターの中の、例えば機能を持たない断片の中に入っていたのは、そのまま許していたんですけども、どこまでがいいかというのがまたきっと問題になると思います。その辺は、今まではないと思うんですけども、今のは明らかにキメラですから、それは書かなければいけないと思います。それもいずれははっきりしなければいけないという感じがします。

早川座長 現実に対応しなければいけないことと、正確に書かなければいけない部分と、今後の課題として 2 つありますけれども。ほかにいかがでしょうか。よろしいですか。

それでは、第 5 のところ、お願いいたします。

三木課長補佐 5 ページになります。「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」というところでございます。先ほど、小関委員の方から、第 4 に書いてあることは、実は第 5 だというお話ですので、この辺は書き直し等も含めて確認をしたいと思っております。

概要は 41 ページから 52 ページが第 5 ということで書いてある部分でございます。ここもまた、281 系統と 3006 系統ということで分けて書かれてございます。挿入 DNA については、ワタの 281 系統でございますが、*cry1F*、*pat* 遺伝子等が入れられてございまして、これらの供与体についての記載がございます。

続きまして、6 ページの 2 番、21 行目になります。挿入 DNA または遺伝子及びその遺伝子産物の性質ということでございますが、挿入遺伝子のクローニング、合成方法というのは、これは先ほど説明をさせていただいた図ですけども、281 系統については、29 ページの図 3 が挿入遺伝子のクローニング法、合成方法ということになります。挿入遺伝子の合成方法は、30 ページの表 3 の *cry1F* (シンプロ)ということの中の詳細の部分に書かれております。

先ほど小関委員が言われた、*cry1c* と *cry1Ab* を *cry1F* 遺伝子をコアにしてくっ付けているというような形になってございます。

塩基数については、プラスミドベクターの塩基数は 8,034bp ということでございます。

機能については、これは先ほどお話ししておりますような害虫抵抗性、PAT については選抜マーカーとして用いられているということで、除草剤での選抜を行っているというものでございます。

抗生物質耐性マーカー遺伝子は、エリスロマイシン耐性遺伝子が使われておりますけれども、植物導入時には外れているということでございます。

3 番目は、6 ページの 34 行目からになりますけれども、挿入遺伝子と薬剤耐性遺伝子の発現に関わる領域ということで、プロモーターについて、*cry1F* 遺伝子の場合は、ちょっと読み上げるのが難しいので、ここに書かれているようなプロモーターを使われているということでございます。

同じく *pat* 遺伝子については、7 ページの 1 行目、2 行目というところで、ユビキチンプロモーターということが書いてございます。

ターミネーターもそれぞれ記載がございます。

4 番目のベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項ということでございますが、pAG M281 というベクターは、T-DNA のバイナリーベクターであるということでございまして、植物ゲノムに挿入される *cry1F* とか *pat* の遺伝子が含まれているということでございます。

ベクターの組込方法については、先ほどお示したところに記載がございます。

次に「構築された発現ベクターに関する事項」でございしますが、塩基数とか切断酵素による切断地図というのも書かれておりまして、先ほどお示したところ、概要の 31 ページに書かれてございます。これは先ほどお話ししたと大分重複しますので、簡単に御説明をさせていただきたいと思っております。

宿主に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域が発現ベクター上で明らかであることということでございますが、アグロバクテリウムによって形質転換をされてございまして、*cry1F* とか *pat* の遺伝子の領域については明らかとなっているということでございます。

いずれも純化もなされているということで、その他の有害な塩基配列については含まれていないということでございます。

資料 1 の 8 ページになりますと、5 行目から 6 番目の「DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項」は、アグロバクテリウム法によって形質転換をされたということで、この後植物体となる部分についての記載がされているということでございます。

続いて、ワタの 3006 系統でございしますが、これも先ほどと同じような形になっておりま

して、まず挿入 DNA の供与体でございますが、この 8 ページの 21 行目からの (1) として「名称、由来及び分類に関する事項」については、*cry1Ac* 遺伝子と *pat* 遺伝子についての記述がされてございます。先ほどお話しありましたような *cry1Ac* 遺伝子は、*cry1Ac* のコアトキシンの遺伝子に *cry1Ca3* と *cry1Ab1* の遺伝子の一部の配列が加えられて合成されているというものでございます。

PAT タンパク質につきましては、*Streptomyces* から由来した *pat* 遺伝子を基に合成をしているということでございます。

安全性については、Bt タンパク質、PAT タンパク質とも確認をされているということでございます。

9 ページに、挿入 DNA と遺伝子及びその遺伝子産物の性質でございますが、これも先ほどお示した発現ベクターの切断地図であるとかというところが、概要の 36、37、38、39 というところにずっと書かれてございます。

9 ページの 32 行目から、挿入遺伝子等の発現に関わる領域ということで、プロモーター、ターミネーターがそれぞれ示されているということございまして、10 ページにまいりますと、ベクターへの挿入 DNA の組込方法、ここも同じようなアグロバクテリウムを使った形質転換法ということで、ベクターへの挿入 DNA の組込方法については、ここの概要の 36 ページに書かれてございます。その次の構築された発現ベクターについては、37、38 ページに書かれてございまして、このベクターの pMYC3006 の塩基配列であるとか、オープンリーディングフレーム、その目的以外の配列がないかどうかということがここに示されているということでございます。

更に、10 ページの一番下の行から、宿主への導入方法は、アグロバクテリウム法で入れているということでございます。先ほどと大分重複してございますけれども、以上でございます。

早川座長 ありがとうございます。この第 5 のところにつきまして、いかがでしょうか。よろしいでしょうか。

特に今のところはないようでございますので、次は「第 6：組換え体」、お願いいたします。

三木課長補佐 資料 1 の 11 ページの「組換え体」のところでございます。概要は、53 ページから 144 ページになります。これはばらばらと書かれておりますが、また報告書となるような形式については、御相談をさせていただければと思います。

まず、遺伝子導入に関する事項でございますが、ワタの 281 系統には 1 つの完全な *cry1*

F の遺伝子カセットと、*pat* 遺伝子のカセットが含まれているということでございます。ただ、PAT につきましては *pat* 遺伝子の断片が存在していることが確認されているということでございます。

挿入近傍配列は、ここには書いておりませんが、これも明らかにされております。

オープンリーディングフレームの有無等につきましては、基本的にはカセット自体はそれぞれ1つの完全な挿入であることが確認されているということと。あと *pat* 遺伝子の断片については、そういうことが存在しているということと、これから転写されて発現されるタンパク質が認められないということも、この概要の中には書かれてございます。

3006 系統については、同じような *cry1Ac* と *pat* 遺伝子のカセットがそれぞれ一つずつ完全なものが入っているということでございます。

オープンリーディングフレームの有無につきましては、それ以外のものは含まれていないということが示されているということでございます。

遺伝子産物の発現部位、発現量等については、281 系統についてはここに書いてございますが、綿実での発現量は 3.30ng/mg と。PAT タンパク質は、綿実で 0.42ng/mg であったということでございます。

3006 系統では、12 ページの上にありますけれども、それぞれ Cry1F タンパク質が 0.62ng/mg。PAT タンパク質 が 0.056ng/mg 未満ということで、いずれも 1mg 中にこの量が含まれているということでございます。

遺伝子産物が、1日タンパク量の有意な量を占めるかということでございますけれども、基本的にはこれは油になるということで、ほとんどタンパク質については含まれていないということでございます。

アレルギー誘発性でございますが、まず挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性については、*cry1F* と *cry1Ac* の遺伝子は、それぞれ *Bacillus thuringiensis sbsp. aizawai* と *kurstaki* に由来するというので、基本的には報告をされていないということでございます。こういったタンパク質についても、Cry1F、Cry1Ac、PAT タンパク質についても、アレルギー誘発性に関しての報告はないということでございます。

物理化学的処理に対する感受性については、それぞれ人工胃液と人工腸液、加熱ということがなされてございます。基本的に、人工胃液につきましては、Cry1F タンパク質では、人工胃液中で速やかに1分以内に分解することが明らかとなっているということでございます。

13 ページにまいりまして、Cry1Ac タンパク質についても、速やかに分解するというこ

でございます。

人工腸液につきましては、これは Bt タンパク質ですので、コアタンパクについてはなかなか分解をしないということが示されております。

加熱処理につきましては、Cry1F と Cry1Ac タンパク質ともに 75 度の 30 分でタンパク質がまだ存在するものの、活性についてはなくなることが示されているということでございます。

既知アレルゲンとの構造相同性ということで、13 ページの 25 行目から書いてございますけれども、基本的に Cry1F タンパク質、Cry1Ac タンパク質、PAT タンパク質、いずれも有意な相同性配列については見つからなかったということでございます。

ワタの 281 系統の中に存在していた、*pat* 遺伝子の断片につきましては、ここについてもとりあえずやってみたところ、アレルギー誘発性すら確認をされなかったということでございます。

1~4 までのことで、アレルギー誘発性については問題ないということで結論がされてございます。

13 ページの 36 行目から、遺伝子の安定性ということでいろいろ確認をされておりました、ワタの 281 系統及び 3006 系統、いずれも安定的に存在しているということが確認をされてございます。

14 ページにまいりまして、遺伝子産物（タンパク質）の代謝経路への影響ということでございますが、ここについてはいずれも Cry1Ac と Cry1F タンパク質については、害虫抵抗性ということでございますし、PAT タンパク質についても基質特異性が高いということで、問題はないということが書かれてございます。

宿主との差異、23 行目からになりますけれども、これはワタ 281 系統、3006 系統とも、いろいろな成分等についての検査が行われておりました、非組換え体のワタとの比較において、ほぼ同等ということが示されてございます。

次に、諸外国での認可等におきましては、平成 15 年 3 月 13 日に FDA に食品及び飼料の安全性の申請を行っているということでございます。

栽培方法につきましては、基本的には非組換えの母本ワタと同一であるということでございまして、唯一違うのが、タバコバットワームとか、ピンクボールワームとかという害虫に抵抗があるということで、そういった農薬の使用量を少なくできるということだそうでございます。

最後の 10 番の種子の製法及び管理方法でございますが、適切に母本と同じく管理されて

いるということが示されてございます。

以上でございます。

早川座長 ありがとうございます。それでは、組換え体のところにつきまして、現時点で何か御指摘、御意見等ございましたらお願いいたします。

澤田専門委員 一つだけ、小関先生からことづかっておりまして、時間がないのでお帰りになりましたけれども、是非議事録に残しておいてほしいということで、代読していただきたいという依頼がありましたので、お願いします。

三木課長補佐 よろしいでしょうか。まず、56ページの表6で、*cry1F*のプローブを使ったときに、*Xho*の切断で4,249と2,434のバンドが出るとされておりますけれども、これは挿入前のT-DNA内での状態の話であって、ワタに組み込まれたときではこうはならないのではないかということでございます。

57ページのサザンプロット分析の図で出ている、*Xho*のレーンの2本のバンドは、この表のバンドには相当しないのではないかということでございます。

同様に、*cry1F*のプローブについて、32ページの図で*Pst*をまたぐようになっており、1,776bpとか、1,908bp以上のバンドが出るはずであると。更に、*cry1F*のプローブを使ったときに、*Hind*の切断で、57ページのサザンプロット分析の図で出ている2本のバンドが説明できないのではないかということで、56ページの表6の*pat*のプローブを使ったときに、*BamH*の切断で、32ページのとおりであれば、2本のバンドが出るはずではないかということで、あと61ページの*ubi*のプローブを使ったときに、*EcoR*で3本のバンドが見えているところであるけれども、3コピー目が存在するのではないかということ。

こういったことを踏まえて、制限酵素サイトとプローブの位置が明記をされた遺伝子のマッピングの提出が必要ではないかということでございます。

今のがワタの281系統でございます。

続いて、ワタの3006系統については、39ページに示された*cry1Ac*のプローブを使うと、74ページの表8において示される*Bgl*の切断で、1,945bpのバンドはハイブリダイズしないはずではないかと。しかし、75ページの図22において、*Bgl*の切断で2本のバンドが出ているので、これについての説明が必要ではないかと。

あと、79ページの図26の*Bgl*は*Bgl*の間違いではないかということでございます。

以上のことを踏まえて、57ページと58ページのサザンプロット分析の図について、プローブが全く違うというのにもかかわらず、バンドのパターンが同じということはおかしいのではないかとというような御指摘でございます。

早川座長 ありがとうございます。ほかに、どうぞ。

手島専門委員 アレルギー性のところですが、まず 91 ページですけれども、第 4(1) の 3 行目になるんですが、*cry1F* 遺伝子と *cry1Ac* 遺伝子は、先ほどキメラという話がございます、ここではそれぞれの遺伝子は、それぞれ *Bacillus thuringiensis sbsp. aizawai* と *kurstaki* に由来するとあるんですが、これはメジャーの部分がこれらに由来するということかと思うんですが、ちょっと表現が正確ではないと思います。

それから、人工胃液を用いた、98 ページになるんですけれども、これは人工胃液の分解性の実験をしているところなんですけど、添付書類を読めば詳しい実験条件とか書いてあるんですけれども、ここの概要の中にはペプシンの濃度であるとか、タンパクの濃度とか書かれていません。99 ページの図を見ましても、Cry1F というタンパク質はもともと薄くて、SGF 中のペプシン濃度は非常に濃くなっています、こういうタンパクの濃度とペプシンの濃度、この辺りを概要の中にも入れておかれるべきかと思います。

それから、103 ページの SIF (人工腸液) を用いた方の実験のデータを示したところなんですけれども、この注釈のところの 1 行目に “ ---cry1F と人工胃液 --- ” と書かれていますが、これは腸液の間違いです。

それで、このレーンの 2 と 3 で、SIF という人工腸液だけを入れた場合でも、その 3 の方で 4 時間でも SIF 中のタンパク質バンドが消えて見えますが、非常にバンドが薄いので、もっとクリアーなバンドを示すべきだと思います。

同様に 104 ページにも、注釈で人工胃液となっておりますが、これも人工腸液の間違いです。

あと 104 ページですが、レーンの 4 に Cry1Ac タンパク質だけを入れたパターンがあるんですが、これは非常にいろんなバンドがあるんですが、なぜこういうバンドが多いかという説明が必要だと思います。

それと、111 ページなんでございますが、相同性検索をした結果が書かれているんですが、この概要版の中にどういう方法を使って相同性がなかったことが詳しく書かれていません。添付資料の方には書かれているんですが、その旨概要の方にも書くべきであると思います。

以上でございます。

早川座長 ありがとうございます。ほかに、どうぞ。

山川専門委員 今、先生の言われた Cry1Ac タンパク質というのは、98 ページで見ると、例えば *Pseudomonas fluorescens* 由来の Cry1Ac タンパク質に何を加えというふうに、Cry

1A タンパク質もともとのでやっていますけれども、実際我々が食することになるのは合成遺伝子から産生されたタンパク質ですね。

手島専門委員 これは、概要の最初の方を見ていますと、ここで言う Cry1F タンパク質のシンプロまたは、Cry1Ac タンパク質のシンプロを、*Pseudomonas fluorescens* M R 872 によって生産してあります。92 ページにございますね。植物に導入したのと同等のタンパクをこの M R 872 に導入して、タンパク質を発現させて、人工胃液の実験に用いたと思われる。

山川専門委員 今みたいな間違いをなくすためにも、ちゃんと書いておかないといけませんね。

手島専門委員 合成であるということを入れておかないと、ちょっと誤解が生じますね。

早川座長 ほかにございますか。どうぞ。

宇理須専門委員 今の手島委員のとも関係するんですけども、99 ページ、電気泳動の写真が載っておるんですけども、この Cry1F タンパク質のバンドが非常に薄いんですね。そしてそれが消化で消えたということを表示しようとしているわけなんですけれども、やはりもう少しクリアーな写真を載せていただきたいと思います。恐らくこれはタンパク量が非常に少なく、酵素量が非常に多いわけなんです。ですから、やはりその辺、手島先生おっしゃったように、タンパク量と酵素との比率がどれぐらいかとか、あるいは写真ももう少しクリアーな写真を載せていただきたいと思ったんですけども、いかがでしょうか。

もう一点ですけども、相同性検索の方が、8 個のアミノ酸の方は載っているわけですけども、もう一つ全体の相同性がどうかという検討が、多分やってあるんです。44 ページに書いてあることがそれじゃないかと思うんです。NCBI のウェブサイトの云々で、Genpept というデータベースを使ったということが書いてありますけれども、普通、今までだところの部分というのが遺伝子産物と既知のアレルゲンの相同性検索というところに記載されているんじゃないかと思うんですけども、そういう意味で記載する場所をこちらの相同検索の方にこの部分を移していただいた方がわかりやすいんじゃないかというふうに思ったんですけどもいかがでしょうか。

手島専門委員 44 ページの部分は、ある意味では一つアレルゲン性だけではなくて、従来の毒性タンパクなどに相同するものがないかという意味でも書かれているのかとも思うんですが、ここに記載すると同時にアレルゲン性のところにもやはり期待値というか、E バリューということで、全体を相同性を見た結果を出したとすれば、やはり入れておかれ

た方がいいと思います。

澁谷専門委員 結局、議論がそのところに集中するんですが、やはり Cry1Ac とか Cry1F タンパク質というのを使い分けている可能性があって、それは非常にまずいです。つまり、ここで本当に使ったキメラを Cry1Ac タンパク質と言ったり、文献にあると言っているものは、オリジナルじゃないかと思うんです。そうすると、これは比べられないはずなんです。だから、それはすごくすり替えになってしまうので、それは用語を統一した上で、ここにあるものについて議論しないと全然議論にならないと。その差がすごくあると思うんです。だから、ここでも例えばアレルゲン性も結局のところここでは何も示してなくて、文献でそういうサーベイをやったら出てこないと。だけど、その文献というのはもしかするとオリジナルの Cry1Ac タンパク質じゃないかと。そうするとこれ全然議論にならないので、やはりちゃんとやるべきだと思うんです。そういう問題もあります。

それから、非常に気になっているんですけれども、例えばこの概要の 100 ページ、99 ページと 100 ページは同じような実験をやっているんですけれども、100 ページの Cry1Ac タンパク質が、これどなたかわかったら教えていただきたいんですが、100 ページのレーンの 4 と 5、もともとの Cry1Ac タンパク質ですね。バンドが 3 本出ていますけれども、これはどういうことなのか。つまり心配しているのは、こういうのって糖タンパクがよく起こるんですね。糖鎖が 1 本、2 本少ないとか、そうすると話は全然違ってくるはずなんです。それが関連して、生化学的に同一だと言っているんですが、Cry1 タンパク質の仲間というのは、要するにポテンシャルなグリコレーションサイトがあるのかないのか、要するに生化学的に同一と本当に言えるのかどうかもちょうと、それならそれで確認しておきたいという気がするんです。

すごく気になっているのは、これはさらっと書いてあるんですが、実はバクテリアで発現したものと植物では発現しているのが、アミノ酸が 4 か所違っているんです。さらっと書いていますけれども、アミノ酸 4 か所違っているものを、全く同等と考えていいかどうかというのは、相当慎重に考えないといけないはずですね。場合によっては大幅に立体構造が変わったりするから。だから、これはアミノ酸 4 か所変わっているのをどう評価するかということと。

それから、このバンドが複数出ていることと。糖タンパクの可能性はあるのかないのか、それは別のファクターなのかもしれませんけれども、その辺ここの cry1 のプロダクトの安全性の議論のところ、非常に混乱もしているし、疑問点も随分残るような気がします。だから、そこをもうちょっと詳細に検討しないといけないのではないかという気がするん

ですが。

早川座長 関連して何かございますか。どうぞ。

渡邊専門委員 関連して思ったんですけれども、やはりキメラの Cry1 タンパク質をつくった場合に、もともと Cry1 タンパク質というのは特異性があって、昆虫の腸の上のレセプターにバインドする、人にはバインドしないから安全だという議論だったと思うんですけれども、天然にないものができているので、本当に今回つくったものが従来言われている昆虫の腸の上のレセプターだけに作用しているかどうか、そこを担保してほしい。もしかすると、新たにつくったものが人の腸の上にあるものに作用しないも限らない。そこは読めないわけですので、何が実証するか、言っていただきたいという気がします。

宇理須専門委員 1つ教えてほしいんですけれども、レセプターの違いで結合するしないという、それで安全の担保を取っているとしていますね。この昆虫のレセプターに類似したものというのは、哺乳動物は持っているんですか、それとも全然持っていないんですか。持ってなければかなり安全性高いですけれども、持っているとする先生のおっしゃったような、ちょっと構造が変わるとひっついてしまうということが起こりますね。そういうことはわかっているんですか。

村上評価課長 そのことも含めて、申請者に考察させて、その結果の報告を受けて、再度御議論していただけたらいかがでしょうか。

早川座長 そういうことで、よろしく願いいたします。

ほかにございますでしょうか。それでは、第7ですが、これは今日は特にありませんが、全体を見てまたこれはひょっとしたら議論しなければいけないと思います。

ということで、いろいろこの2つに関しましては、御意見、あるいは御指摘がございましたので、事務局の方で確認整理をよろしく願いいたします。

予定した時間も過ぎておりますので、本日の議事はそろそろ終了したいと思いますが、事務局から何かございますでしょうか。

三木課長補佐 特にございませんけれども、各委員の方からいろいろと御指摘がございましたので、ちょっとまとめさせていただいて再度これでいいかどうか。ちょっと細かいところを落としている可能性もありますので、確認をさせていただきたいと思います。

早川座長 よろしく願いいたします。事務局の方で、今日の御指摘、各委員からございました点は、よろしく御確認、あるいは整理していただくと。各委員の先生方も、それに関して御協力をいただくというふうにしていただきたいと思います。

次回は、報告書案が作成できるように、形を整えていながらパーツごとに精査してい

きたいと考えておりますので、よろしく願いいたします。次回で終わるかどうかは、これはまた別の話でございますが、もう少し詳しくやっていきたいということでございます。

次回の2月27日の調査会では、遺伝子組換え飼料、飼料添加物の安全性評価の考え方、今日少し御議論をいただきましたけれども、それを再度詰めるということが1つでございます。

それから、本日御審査いただいた品目について非公開で審査を行うという予定にしておりますので、またよろしく御協力のほどお願いいたします。

本日はどうもありがとうございました。