

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等

## 専門調査会第42回会合議事録

1. 日時 平成18年11月21日(火) 14:00～16:45

2. 場所 食品安全委員会中会議室

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

- ・高リシントウモロコシ LY038 系統
- ・チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ 6275 系統
- ・ジェランガム K3B646

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

早川座長、五十君専門委員、池上専門委員、今井田専門委員、  
小関専門委員、橘田専門委員、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、山崎専門委員、渡邊専門委員

(食品安全委員会委員)

長尾委員、野村委員、本間委員、見上委員

(事務局)

齊藤事務局長、日野事務局次長、國枝評価課長、  
中山評価調整官、吉富課長補佐、浦野係長

5. 配布資料

参考資料1 安全性評価に係る指摘事項について

- ・高リシントウモロコシ LY038 系統

・ジェランガム K3B646

## 参考資料 2 専門委員からのコメント

### 6. 議事内容

○早川座長 定刻になりましたので、ただいまから、第 42 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、非公開で行います。

本日は、所用によりまして、宇理須専門委員、室伏専門委員、及び山川専門委員は欠席でございます。

食品安全委員会の委員の先生方にも御出席いただいております。審議の状況によりましては、御発言いただくこともあるかと思っておりますので、御了承いただきますようお願いいたします。

また、10 月から専門委員になられました、橘田専門委員から、一言ごあいさつをいただきたいと思っております。よろしくをお願いいたします。

○橘田専門委員 よろしく申し上げます。食品総合研究所の橘田と申します。

事務局次長になられました日野前専門委員の後任ということで、この度このお役をお引き受けさせていただくことになりました。今日この場に来て、ひしひしとその重責というものを感じております。今後ともどうぞよろしくお願いいたします。

○早川座長 ありがとうございます。

それでは、本日の議題でございます。

議題 1 として、前回の調査会で審議時間の関係で審議できませんでした、高リシントウモロコシ LY038 系統。

9 月 22 日に厚生労働省から食品として、農林水産省から飼料として申請のありました、チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ 6275 系統及び継続審査品目であります、ジェランガム K3B646 について、安全性の審査を行いたいと思っております。

それでは、お手元の資料の確認をいたします。事務局からお願いいたします。

○中山評価調整官 それでは、議事次第に基づきまして、配付資料の確認をさせていただきます。

議事次第、座席表、専門委員の名簿がございます。

参考資料 1 としまして「安全性評価に係る指摘事項について」。こちらが、4 ページまでございます。

参考資料 2 としまして「専門委員からのコメント」。こちらが 2 ページ物でございます。

また、参考資料 1 及び 2 以外の参考資料は、ファイルにとじまして、先生方の机の上に置かせていただいております。このファイルにつきましては、調査会終了後、回収させていただきます、次回また配付させていただきます。乱丁、落丁等ございましたら、事務局までお申し付けください。

お手元の資料のほか、専門委員の先生方には、本日、御審議いただく予定の品目につきまして、申請者作成の審査資料等を事前に送付させていただいております。

なお、本日、審議を行う品目につきましては、食品安全委員会の公開に基づきまして、座長に資料内容の確認をいただき、企業の知的財産を侵害するおそれがある箇所が含まれているということで、非公開で審査を行います。

また、会議は非公開となりますが、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、会議が非公開であることを明示しており、今後の情報提供として議事録を作成し、企業の知的財産を侵害するおそれがある箇所などを削除した上で、速やかに公開する予定としております。

また、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ました評価書案を作成し、食品安全委員会へ報告して、公開することとしております。

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、高リシントウモロコシ LY038 系統の安全性に関する審査に入らせていただきたいと思います。

本品目につきましては、継続審査品目でありまして、調査会での指摘事項に対する回答書が提出されておりますので、回答書に基づき、安全性に関する評価を行いたいと思います。安全性について問題が残ります場合は、もう一度指摘事項を出します。

一方、安全性に問題がないとされました場合には、次回以降の調査会で評価書案の審査を行いたいと思います。

それでは、事務局、御説明をお願いいたします。

○浦野係長 それでは、申請者であります日本モンサントから提出されております回答書につきまして、御説明させていただきます。

お手元に I D ナンバー 126 「『高リシントウモロコシ LY038 系統』に関する遺伝子組換え食品の安全性評価 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会（平成 18 年 1 月 18 日）からの指摘事項に対する回答書」を御用意いただきたいと思います。

1 ページに回答書がございます。平成 18 年 10 月 2 日に提出されております。

まずは、指摘事項といたしまして、①でございます。今回の申請で承認してほしい世代、種苗会社に提供予定世代を明確にした上で、承認してほしい世代と種苗会社に提供予定の世代の同等性につき、説明をすることという指摘でございます。

これに対する回答といたしましては、承認をしていただきたい世代といたしましては、〇〇〇世代以降のすべての後代。種苗会社に提供する世代は、〇〇〇世代になるということでございます。

次に、挿入遺伝子の解析に用いた〇〇〇世代から派生した〇〇〇世代、成分分析に用いた世代、〇〇〇世代から派生した〇〇〇世代の同等性につきまして説明をしております。

まず、本組換えトウモロコシ LY038 系統の生産方法といたしましては、〇〇〇世代から選抜された 1 個体の植物に由来するということでございます。この〇〇〇世代につきましては、*cordapA* 遺伝子、*cre* 遺伝子及び *nptII* 遺伝子がヘテロで染色体に存在する〇〇〇世代を自殖することにより作出されているということでございます。

この〇〇〇世代の中から、遺伝分離により、*cre* 遺伝子と *nptII* 遺伝子は持たず、*cordapA* 遺伝子のみを持つものを PCR 法により選抜し、ここで選抜された *cordapA* 遺伝子のみを持つ複数の植物体の中の 1 個の後代が LY038 系統と名づけているということです。

次に、この〇〇〇世代を自殖させて、そこから〇〇〇、〇〇〇世代を作出しているということでございます。この〇〇〇世代から、今度は〇〇〇世代を自殖させることによって〇〇〇世代を作出し、この〇〇〇世代が種苗会社に提供されるということでございます。

実際の挿入遺伝子の同等性については、挿入遺伝子の解析に用いた〇〇〇世代、成分分析に用いた〇〇〇世代、承認してもらいたい世代の起点となる〇〇〇世代、そして種苗会社に提供する〇〇〇世代を含めた複数の世代における安定性につきまして、サザンブロットにより確認をしているということでございます。

以上のことから、この〇〇〇世代から〇〇〇世代へ分岐した各世代については、すべて 1 個の〇〇〇世代から派生しているということであります。〇〇〇世代と同じ植物由来であることから、〇〇〇世代から分岐した〇〇〇世代と〇〇〇世代は同一の挿入遺伝子を持つと判断されたということでございます。

また、ウエスタンブロット分析によりまして、そのタンパク質が〇〇〇世代から派生する後代において安定して発現していることも確認されております。

以上のことから、挿入遺伝子の解析に用いました〇〇〇世代と成分分析に用いた〇〇〇世代は、種苗会社に提供する〇〇〇世代を含めて、〇〇〇世代の後代と同等であると結論

しております。

②の指摘といたしましては、LY038(-) は *cordapA* 遺伝子を持たない世代であると記載されているけれども、試験の結果、複数のバンドが見られることから、それにわたってそのバンドについて確認し、回答すること。また、LY038(-) は育成図のどの世代の null 植物なのかを明らかにすること。

この指摘に対する回答といたしましては、LY038(-) で検出されたバンドは、トウモロコシ中に内在する DNA 配列が非特異的に検出されたものと考えております。

また、null 型 LY038(-) は、概要書 25 ページの図 7 の育成図において〇〇〇を自殖した際に得られた null 型トウモロコシということでございます。

結果といたしまして、LY038(-) のゲノム DNA から検出されたすべてのバンドは、商業栽培品種のいずれかからも同じサイズで検出されたということです。

以上のことから、LY038(-) から検出されたすべてのバンドは、トウモロコシ中の内在 DNA と結論されております。

続きまして、③といたしまして、Cre event における挿入遺伝子の挿入状態について、確認の上、回答されたいということでございます。

Cre event の挿入遺伝子を解析するために、〇〇〇代目である〇〇〇世代においてサザンブロットを行ったということでございます。

この結果といたしまして、Cre event のゲノム DNA 中には、*cre* 遺伝子発現カセットと *nptII* 遺伝子発現カセットからなる T-DNA 領域が 1 コピー、そして *nptII* コード領域と NOS3' からなる遺伝子断片が 1 コピー存在することが明らかとなりました。

また、Cre event の作出に用いられたベクターの T-DNA 以外の領域については Cre event の中に挿入されていないことが確認されております。

更に、Cre event のにおける T-DNA 領域 1 コピーと *nptII* コード領域と NOS3' から成る遺伝子断片 1 コピーは、いずれも〇〇〇以降の後代には存在しないことを複数世代のサザンブロット分析によって確認しております。

以下にこれらの詳細を記述しましたということですが、説明は省略させていただきます。

続きまして、10 ページ。指摘事項の④でございます。サザンブロットの 32 ページのレーン 7、8 で 1.7 kb のバンドが見当たらないので確認し、回答することということでございますが、今回はカラーでその印刷をすると、1.7 kb のバンドを確認することができましたので、今回、提出した要旨の 33 ページの図 11 において御確認をお願いしますとのことです。

⑤の指摘といたしましては「8,021 bp」の遺伝子断片が欠失していると記載されているけれども、この欠失した配列が既知の遺伝子を含んでいるかについて情報を出してくださいということでございます。

検索をした結果、LY038 系統において欠失した 8,021 bp の配列中に E-value が  $1 \times 10^{-30}$  以下の高い相同性を持つ配列は存在しなかった。

したがって、8,021 bp の配列には既知の遺伝子は含まれていないことと判断いたしました。

また、LY038 系統の挿入遺伝子の 5' 末端近傍配列 1,781 bp 及び 3' 末端近傍配列 667 bp 中にも、E-value が  $1 \times 10^{-30}$  以下の高い相同性を持つ配列は存在しませんでしたということです。

⑥といたしまして、抗 cDHDPS ポリクロナール抗体について、上流部にリーダー配列を含んでいるのか確認の上、回答されたい。

これに対しましては、抗体作成時に用いた抗原タンパク質は cDHDPS タンパク質の上流部のリーダー配列の 3 アミノ酸を含んでいるということでございます。

⑦の指摘でございます。これは、概要書の 63 ページで、予備的実験で遊離リシン及びサッカロピン等の 99% が胚芽中で発現することが確認されていると記載されているが、確認されたデータを提出し、また「発現」の表現は適切でないので修正されたいということでございますが、今回、追加資料 4 といたしまして提出されております。

これは、LY038 系統とは異なる別の組換えトウモロコシによって行った結果でございます。それが表 1 として下に掲載されております。

また、「発現」のことにつきましては、以下のとおり、御指摘の文章を「LY038 系統とは異なる別の組換えトウモロコシを用いた予備的な実験で、遊離リシン、サッカロピン、 $\alpha$ -アミノアジピン酸の 99% 以上が胚芽中に蓄積することが確認されていることから、LY038 系統においても、同等に胚芽中に蓄積すると予想された」というように修正をしております。

続きまして、⑧でございます。提出された概要書におきまして、*E. coli* で生産された cDHDPS タンパク質の生産方法について回答の上、概要書に記載されたいということでございます。

御指摘の、タンパク質の生産方法につきましては、その下線部に書いてあるとおりに詳細にタンパク質の生産方法を記載の上、概要書を修正をしております。

続きまして、⑨。リシンの代謝産物として生産されるサッカロピン及び  $\alpha$ -アミノアジ

ピン酸について（ア）（イ）（ウ）のことについて回答した上で、ヒトに対する安全性について総合的に考察をしてくださいということでございます。

この結果、まずリシンの代謝産物につきまして、サッカロピンと $\alpha$ -アミノアジピン酸を用いた単回によるマウス急性毒性試験を行って、サッカロピンが $\alpha$ -アミノアジピン酸が毒性を及ぼさないということを確認したということでございます。

まず、追加資料5と6で、サッカロピン及び $\alpha$ -アミノアジピン酸を用いたマウスの急性経口毒性試験を行っておりますけれども、サッカロピンと $\alpha$ -アミノアジピン酸の最大投与量であります2,000 mg/kgでも、マウスに有害な事象は認められなかったということでございます。

なお、この2,000 mg/kgのサッカロピン、 $\alpha$ -アミノアジピン酸は、トウモロコシLY038系統から1日に摂取されると予想される量のそれぞれ約24万倍及び約224万倍となるということでございます。

14ページに5と6ということで、その試験の概要が記載されております。

続きまして、追加資料7ということで、LY038系統の穀粒を用いたブロイラー飼育試験の結果が書かれております。この結果におきましても、安全性に影響を及ぼすものではないと結論しております。

（イ）といたしまして、サッカロピン、 $\alpha$ -アミノアジピン酸を含む他の植物の種類、含有量及び食経験につきまして、そこに載せております。アスパラガスから始まりまして、レタスまで記載されております。

16ページでございますが、それぞれの $\alpha$ -アミノアジピン酸、サッカロピンの分析値につきまして書かれております。

加工処理に伴う変化でございますけれども、通常、サッカロピンや $\alpha$ -アミノアジピン酸を含むことがわかっている野菜は、加熱してこれまでに食べている食経験があるということから、加工処理によってサッカロピンや $\alpha$ -アミノアジピン酸が変化したとしても、それがLY038系統の食品としての安全性に影響を及ぼすものではないと判断しております。

⑩の指摘でございます。そのトウモロコシの加工条件を204度、20分間に設定した理由につきましては、そこの下線部のとおり、標準的なトウモロコシの加工条件として、204度、20分間というのは、さまざまな加工処理段階で用いられる種々の温度条件を考慮に入れて設定したということでございます。

続きまして、指摘の⑪といたしましては、穀粒中のアミノ酸については、絶対量と遊離

アミノ酸量がわかるように表として提出をなささいということでございます。それにつきましては、20 ページ以降です。

まず、20 ページの一番下にリシンの含有量が載っております。

続きまして、23 ページの表 4 の「ロイシン」の下に遊離アミノ酸の絶対値の量が載っております。

24 ページ以下は、語句の修正されたいということですので、説明は省略させていただきます。

どうもありがとうございました。

○早川座長 どうもありがとうございました。

それでは、回答書の 1 番から検討してまいりたいと思います。

まず 1 ページの①の指摘事項。申請で承認してほしい世代と会社に提供予定世代を明確にして、その同等性を明確に説明し、回答することということでございます。これに対し、御意見ございますでしょうか。

たしか、小関先生辺りから御質問が出たと思います。

○小関専門委員 ここでお話されているのが、結局可能性として指摘したのが〇〇〇世代で、1 つ遺伝子が入っているのではなくて、2 つ異なった染色体に入っていて、〇〇〇にしたときに、違う親とかけているので、染色体上のものがそこでセグリゲーションが起きている可能性はないかという聞き方をしたんです。今回これで 1 本から来ているというのはたしかなんですけれども、そういう掛け合わせて染色体が〇〇〇と次の世代で違っているという可能性は、やはり否定はできていないと思うんです。

ただ、〇〇〇でサザンや何かをやっているんで、③の指摘の答えを見てみると、ほかは入っていないということはわかるので、私は、両方併せれば答えにはなると判断いたしました。

○早川座長 ①と③の答えを併せて考えるとよろしいということでございますが、ほかに何かございますでしょうか。

よろしければ、この回答を③と併せてではありますが、よろしいということにさせていただきますと思います。

次に、2 ページの②LY038(一)での複数のバンドの存在ですが、これについてはいかがでしょうか。

これはどなたの御質問かはちょっとわからないんですが、特にここは問題だと感じられた先生、いらっしゃいますでしょうか。この回答でよろしゅうございますか。



よろしければ、了承ということにさせていただきたいと思います。

先ほど小関先生からお言葉がございましたけれども、③について、更に追加的に何かございますでしょうか。よろしいでしょうか。

よろしければ、③も了承ということにさせていただきたいと思います。

10 ページにまいりまして、④でございます。これは、1.7 kb のバンドが見当たらないというのが、カラー印刷でやると見えるようになったということでございます。よろしゅうございますか。

よろしければ、次に 8,021 bp の遺伝子断片に関してでございます。これも小関先生だったかと思いますが、いかがでしょうか。

○小関専門委員 私は、この答えでいいと思います。

○早川座長 よろしゅうございますか。既知の遺伝子は含まれていないということでございます。

それでは、⑥にまいります。試験に用いているポリクロナール抗体についての御質問です。これは澤田先生でしたか。例えばそうだと、いかがでしょうか。

○澤田専門委員 ポリクローナルなので、含んでいけば問題ないかと思います。

○早川座長 よろしいですか。ほかに、どなたか先生方でこれに関して御意見ございますか。了承してよろしいでしょうか。

それでは、⑦でございます。遊離リシン、サッカロピン等が胚芽中で発現される。確認データを出してくださいということですが、これは小関先生でしたか。澁谷先生ですか。

○澁谷専門委員 これで結構だと思います。

○早川座長 よろしゅうございますか。

○澁谷専門委員 はい。

○早川座長 11 ページの後半 4、5 行目辺りから修正文が出されておりますが、この修正文でよろしいでしょうか。特に御意見のある先生方がいらっしゃらなければ、これで了承いたしたいと思います。

それでは、12 ページの⑧です。これも cDHDPS タンパク質の生産方法について回答されたしということですが、これについてはいかがでしょうか。澤田先生ですか。

○澤田専門委員 ちょっとよく覚えていません。

大腸菌でしか大量に得られないということですので、いたしかたないと思います。

○早川座長 ほかに、先生方でどなたか追加の御意見、コメントございますでしょうか。よろしいですか。

よろしければ、これも了承ということにさせていただきます。

それでは、⑨でございます。サッカロピン、 $\alpha$ -アミノアジピン酸について、3つほど情報提供を求めています。これにつきまして、どなたか、特にこれは問題だという御意見、コメントございましたらお願いいたします。よろしいですか。

どうぞ。

○今井田専門委員 13 ページですが、これらの物質の安全性を評価するのに、文献的な考察を行ったけれども、合致するものがなかったということで、マウスを用いた急性毒性試験を行っています。結論的に、最大の 2,000 mg/kg でも死亡例はなかったという結論で、それはいいのですが、マウスの急性毒性試験のデータだけを基に、2,000 mg はヒトに換算すると 24 万倍だとか 224 万倍だという記載があります。急性毒性試験の結果だけを基にして、それぐらい安全ですよということを言いたいと思うのですが、ここで具体的な数値まで出すのはどうかな、と思います。と言いますのは、急性毒性試験の単回投与毒性試験の結果だからです。ですので、例えば 90 日間反復投与毒性試験だとか、もう少し詳細な毒性評価ができる試験結果を基にしているわけではないので、ここで何万倍まで大丈夫ですよという表記を使うのはいかがなものかなと思います。

もちろん、安全性に関しては、2,000 mg/kg でも問題ないので大丈夫だと思いますけれどもね。

○早川座長 わかりました。

それでは、ここは書きぶりの問題として、約 24 万倍とか約 224 万倍というすさまじい数字が出ているわけですが、ここまで計算上の数値を具体的に挙げて一日摂取すると予想される量のそれぞれ何万倍ということではなくて、安全であることを事実関係から書いていただくような書きぶりにしていただきたいと思います。

○今井田専門委員 その方がいいと思います。

○早川座長 これは字句上のことで、回答に対する修正ではあるわけですが、そういう考え方ということで処理していただければと思います。

○今井田専門委員 ついでによろしいでしょうか。追加資料 5 の一番最初のページです。

まず、一番下から 3 段目のところで「○○○」という変な表記があります。これはタイプミスで字句の順番が混乱しているだけのことなんですけれども、それはおかしいですので、訂正していただきたい。

それから、表の 4 行上になりますが「投与用量 (○○○)」となっていますが、これは○○○だと思います。3 ページ後の表を見てもらえるとわかりますが「Dose Volume」

が〇〇〇になっています。

これは、次の追加資料6の方が液量は10 ml/kgとなっており、それとちょっと混乱していると思うので、訂正しておいていただきたいと思います。

以上です。

○早川座長 これは内部資料ということでもありますが、一応、資料は残すということから考えまして、今のところの訂正をしておいていただければと思います。

ほかにございますか。澁谷先生、どうぞ。

○澁谷専門委員 この部分は、一番最初に出てきたときに、安全性の直接の考察がなくて、代謝活性があつて、壊れていく酵素活性がこのぐらいあつて、計算すると壊れるとか何とかという議論だったんで、もめたところだと思うんです。

それからすると、動物試験もそうですし、食経験のあるものにたくさん入っているというデータは出てきていますから、最初からこういうふうに出してくれればもめなかったんじゃないかと思いますので、いいんじゃないかと思います。

○早川座長 ありがとうございます。

もっとうまくプレゼンしていただければ、ここまでやることはなかったということかもしれませぬ。

ほかにいかがでしょうか。よろしゅうございますか。

それでは、これにつきましても、多少の文章的な手直しは残りますが、内容的には了承していただいたと思います。

18ページの⑩であります、この加工条件についての御指摘が出ておりますが、これについてはいかがでしょうか。よろしゅうございますか。加工処理段階で用いるさまざまな温度状況を考慮に入れて設定したということでございます。

引き続きまして、⑪でございます。アミノ酸の絶対量と遊離アミノ酸量がわかるように、表として提出してくださいということで、説明と表が出ております。これについてはいかがでしょうか。

よろしゅうございますか。特に御意見がなければ、御了承いただいたということでございます。

指摘事項はここまででございます、24ページ以降にいろいろな文言等を修正されたしという修正事項が13項目ほどございます。これについて、回答の方でお気づきになった点がございましたら、御指摘いただければと思います。いかがでしょうか。

よろしゅうございますか。どうぞ。

○橋田専門委員 非常に瑣末なことなのですが、差し替え概要書の中の図1であるべきところのナンバリングが間違っていて図2となっています。

○早川座長 10ページですか。

○橋田専門委員 10ページです。プラスミド図のところですか。

○早川座長 「図2」を「図1」に書き換える。

あとはありますか。

○橋田専門委員 あとは70ページの図26です。66ページの記載のところにリシンの代謝産物の評価というところがあって、上流側のものを書いていないかに読み取れるんですけども、図26と66ページの記述を見比べますとね。

○早川座長 図26を66ページの本文中に。

○橋田専門委員 上流側の記載を図の方にね。

○早川座長 それはあるわけですね。

66ページのところに本文がありますね。

○橋田専門委員 70ページの図26に追加が必要です。66ページの【リシンの代謝産物の評価】の中で、リシン代謝経路だけでなく、合成経路の成分の分析も行ったとして、2,6-ジアミノピメリン酸やホモセリンが図中にあるとして言及されていますが、その記載は図中にありません。上流側が図26で抜けてしまっているようです。

○早川座長 図に上流が書いていないということですね。図26に2,6-ジアミノピメリン酸辺りから書くべしということですね。

○橋田専門委員 はい。

○早川座長 こういうことでございます。

ほかによろしゅうございますか。澁谷先生、どうぞ。

○澁谷専門委員 修正の追加でよろしいですか。

○早川座長 はい。

○澁谷専門委員 技術的なことというか、今の概要書のところの9ページ以降の幾つかなんですけれども「1. 名称及び由来に関する事項」とかその後ろのベクター構築のところも、分厚い資料の方は書いてあると思うんですけど、どういうベクターからどうやってつくったかという部分を書いていないんです。結果としてできたベクターをちぎってパーティクルガンで打ったというのは書いてあるんですけど、形質改変ベクターをどういうふうにつくったというのがわかりやすく書いてある、オリジンのプラスミドも書いていないので、その辺をほかのものなどにならって、簡潔にわかるようなグッズを付けてもらった方がい

いかなと思います。

○早川座長 それでは、そこはそういうふうにはベクターについて詳しく書いていただくようにお願いいたします。

ほかにいかがでしょうか。

○手島専門委員 表現のところなんですけれども、今回の修正事項⑩の答えの中で、人工胃液による分解性の方でタンパク染色のパターンというのが、73ページの図27に示していただいているんです。この辺り、タンパクに対してペプシンをどれぐらいのユニットを使ったかということが書かれていないので、図28との対比という意味で、その部分も記入していただけたらと思います。

○早川座長 事務局、わかりましたか。

○吉富課長補佐 申し訳ございません。もう一度お願いします。

○手島専門委員 図27のところ、人工胃液の方のタンパク染色のパターンの方も新たに図として出していただいているんですが、この表現の中に、1レーン辺りのタンパク量は書いてあるんですが、ペプシンの量が記述されていませんので、それも記述をするようにお願いいたします。

○早川座長 ということで、よろしくお願いします。ペプシンの量を図27に書いてくださいということです。

ほかにございますか。丹生谷先生、どうぞ。

○丹生谷専門委員 19ページの⑩の今のところなんですけれども、アミノ酸の絶対量と書いて、単位がppmと書いてあるんです。その次のページからずっと表が続いているのも、全部、ppmというのは、私は濃度ではないかと思っているんですけれども、どうしてこれを絶対量と言うのか。何かこういう分析の分野の約束事で、体積が一定のものとして濃度で表したら絶対量になるのか、私にはその辺わかりません。

それと関連して、11ページの表1です。先ほど発言しようかどうか迷って言いそびれましたけれども、表1の蓄積量の割合というところで、ppm同士を割り算して99%以上としているんですけれども、これももし濃度だとすれば、よく意味がわかりません。胚芽での濃度を表しているのか、あるいはトータルの抽出物を一定の体積にそろえた段階で濃度で表すのであれば、99%は正しいのかもしれませんが、もともと胚芽と胚乳では量が違うでしょうから、濃度同士を割り算しても、蓄積量の比率というのは私には理解できなかったところでもあります。

この辺、御確認いただければと思います。

○早川座長 それでは、今のところは確認をしていただいて、適正に書き直していただきたいと思います。

それから、最初おっしゃった絶対量を ppm で表す件。

○丹生谷専門委員 あれはアミノ酸です。

○早川座長 それは、どなたかそういう表し方があるかどうかわかりますか。ppm というのは、一般には存在量率ですね。

○丹生谷専門委員 絶対値は濃度ではないでしょう。

○早川座長 絶対値は濃度ではなくて、ppm は何かの中での存在量率（質量百万分率）。どうぞ。

○浦野係長 今、丹生谷専門委員からございます追加資料の 11 ページの表 1 の件です。

追加資料 4 より抜粋ということなんですけれども、一応、追加資料 4 の方を見ても、多分 ppm となっているので、今の時点ではわかりませんが、申請者としてはここをそのまま写してきたのかなと思います。

○丹生谷専門委員 それはそうだと思うんですがね。

○早川座長 胚芽をグラムに直してということでもないんですかね。

○丹生谷専門委員 よくわかりません。

○早川座長 池上先生、どうぞ。

○池上専門委員 先生がおかしいという箇所については私も同感です。

多分、胚乳と胚芽の 2 つのデータを足して、それを分母にして分子の方に胚芽の方の量として 100 分率にしてあるんだと思いますが、こういう計算はナンセンスですね。胚芽と胚乳にトータル幾ら入っているということがわかって、それを足して割り算して、パーセントに直すのでしたら意味があると思うんですけれども、胚芽も胚乳も絶対量というのはこれではわかりません。もともとの胚芽の重さ、胚乳の重さというのは違うはずですから、ppm 同士で計算するというのは、ちょっと意味がないように思います。

五十君先生との意見です。

○早川座長 このおかしいというのは、99.65 % という数値をこういう計算から出すのはおかしい。例えば胚芽での蓄積量を、グラム当たりか何か知りませんが、胚芽単位重量当たりの遊離リシンとしての存在量として表す場合は、ppm はありますね。

○池上専門委員 濃度はそれはそれでおかしくない。

○早川座長 それはそれでよろしいわけですね。

ですから、それぞれの蓄積量がそういう意味で表されているのであれば、それはそれで

よろしい。ただ、おっしゃっているのは、最後の割合が計算的におかしいという意味ですね。

○丹生谷専門委員 そうですね。

ちょっと確認をしていただければわかるかと思うんですけども、2つ可能性があって、もう一つは単にこれを分析するときにスタンダードと比べて濃度で書いてしまったということで、もしかしたら、これはきちんと掛け算にすれば本当の絶対量の可能性もあります。ただ、その辺は申請者側に聞いてみないとわかりません。

○日野事務局次長 座長よろしいですか。

○早川座長 どうぞ。

○日野事務局次長 英文を読む限り、種子を取ってきて、トリクロロ酢酸で全遊離アミノ酸を抽出して液クロにかけただけです。要は、種子中の全アミノ酸の相対的なパーセントは出ているけれども、絶対的な量を出していないということだと思います。絶対的な量を知りたいのであれば、要求すればすぐに出てくると思います。

○早川座長 そうすると、この ppm という表し方自体が正しくないということですか。

○日野事務局次長 私、今見つけられないんですけども、本文がどこに書いてあるのかでね。

○丹生谷専門委員 いずれにせよ、表4は少なくともタイトルが「絶対値」と書いているんですから、単位で ppm というのは書き直す方がいいかと思います。

○早川座長 そうですね。

幾つかあるんですが、まず表4ですね。これは絶対値という表題からすると ppm で表しているというのが、不適切であるということですね。

表1については ppm というそれぞれの表示が、実際に出してきた分析の経緯から考えて、まずこれでよろしいのか。

胚芽に蓄積している割合という形での表し方が、適切かどうかということです。

そこは確認していただいて、答えが返ってきた時点で、各先生方に御確認をいただくことにいたしましょうか。いずれにしましても、評価書については、次の調査会でやるわけなので、それまでにこの件をクリアーできていればと思います。

この件に関して確認すべきことは、大体私が申し上げたようなことでよろしいですか。澤田専門委員、どうぞ。

○澤田専門委員 今の表は改訂版に入れなければいけないのではないのでしょうか。

○早川座長 そうですね。

○澤田専門委員 入っていないように思います。

○早川座長 回答としてはあるということですが、これはもともと概要書の中で、遊離リシン及びサッカロピン等の99%が胚芽中で発現することが確認されている。これに関連して、もともとの根拠データはどうでしょうかということに対する問い合わせで、だから、根拠を聞いたかったということだとは思いますが、もともといいとか悪いとかという問いかけではない。いずれにしましても、正確を期するために、今の問いかけをしていただいて、クリアーな回答をいただくということと、それから、本文も当然この99%の胚芽中で発現する云々のところは、それに従って修正をしないとイケないんですが、更に概要に関連するデータとして、この表を入れるべきか、入れざるべきかという、そのところの問題だと思います。クリアーになれば、この表を入れていただければいいとは思いますが、事務局そんな扱いでよろしいですか。

○吉富課長補佐 わかりました。

○早川座長 ほかに何かございますでしょうか。

よろしければ、本件につきましては、先ほど来、表現あるいは内容の正確さについて、いろいろな御指摘がございましたが、安全性の評価という点に関する本質的な意味では、よろしいという御結論であったように思いますので、次回以降の調査会で評価書案の審査に入りたいと思います。

先ほど澁谷先生から4のベクターのところの指摘事項もございましたので、これはもともとの基準をよく読んでいないということですね。

○澁谷専門委員 どういうものからスタートして、どういうふうにつくったというのが簡潔にわかるようにしていただければいいだけだと思います。

○早川座長 今の点もきちんと書いていただければいい話でもありますので、案を出していただいて、各先生方に御確認をいただくというプロセスでやりたいと思います。

ほかに本件に関して、特に何かございますでしょうか。よろしいでしょうか。

よろしければ、次の議題に移りたいと思います。チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ6275系統の安全性に関する審査に入らせていただきたいと思っております。

本品目につきましては、食品と飼料の両方で食品健康影響の評価依頼がきておりますので、まずは食品としての安全性についての審査を行う。食品としての安全性が確認されましたら、飼料としての安全性を評価したいと思います。

本日は安全性を評価する上で、申請者から提出されております審査資料の確認、それか



ら、安全性を審査する上で追加資料の提出や必要な事項を中心に審議を行いたいと思います。

それでは、事務局から御説明をお願いいたします。

○浦野係長 それでは「チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ 6275 系統の食品としての安全性評価（要旨）」につきまして、申請者でございますダウ・ケミカルの方から提出されています資料に基づき、御説明をさせていただきます。

用意していただく資料といたしましては、ブルーの紙ファイル、表紙の上に「I D : 14 0」と書かれておりまして「ダウ・ケミカル日本株式会社 平成 18 年 9 月 20 日」とございます。

お手元の資料を 4 枚めくっていただきまして、1 ページ目でございますが、ここからが実際に書かれていることでございます。

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」でございます。

「（1）宿主の種名及び由来」ですが、宿主はトウモロコシでございます、Hi-II 系統のデント種ということでございます。

「（2）DNA 供与体の種名及び由来」ですが「改変 *cry1F* 遺伝子は、*Bacillus thuringiensis*(*B. t.*)var. *aizawai*PS811 株に由来する。改変 *bar* 遺伝子は、*Streptomyces hygroscopicus* (*S. hygroscopicus*) に由来する」ということでございます。

「（3）挿入 DNA の性質及び導入方法」といたしましては、アグロバクテリウム法により導入したということでございます。

「2 宿主の食経験に関する事項」といたしましては、トウモロコシ（デント種）は主に飼料用として栽培されているほか、コーンスターチの原料として利用されるほか、食用油やスナック菓子に利用されているということでございます。

3 の「（1）宿主の可食部分の主要栄養素等の種類及びその量の概要」につきましては、その表 1 に示しているとおりの成分が含まれているということでございます。

2 ページ目で「（2）宿主に含まれる毒性物質・栄養阻害物質等の種類及びその量の概要」ですけれども、デント種のトウモロコシには、ヒトの健康に悪影響を及ぼす毒性物質の産生は知られていない。栄養阻害物質といたしましては、フィチン酸、トリブシンインヒビターが知られているということでございます。

収穫時期や可食部位、摂取量、調理方法・加工方法につきましては従来のトウモロコシと変わらないということでございます。

「6 安全性評価において検討が必要とされる相違点に関する事項」といたしましては、改変 *cryIF* 遺伝子により発現する改変 Cry1F タンパク質及び改変 *bar* 遺伝子により発現する PAT タンパク質の産生を除いては、従来のトウモロコシと変わらないということでございます。

「第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」でございますが、改変 *cryIF* 遺伝子の導入により、トウモロコシ栽培に影響を及ぼすチョウ目害虫に対して抵抗を及ぼす。また、改変 *bar* 遺伝子の導入により、除草剤グルホシネートに耐性を及ぼすということでございます。

「第3 宿主に関する事項」でございますが、宿主の分類等につきましてはそこに書いてあるとおりでございます。

「2 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項」につきましては、そこに書いてありますとおり、植物学的起源に関しては、いろいろな説があるけれども、依然としてはっきりしないということでございます。

「3 有害生理活性物質の生産に関する事項」でございますが、有害生理活性物質の産出は知られていないということでございます。

「4 アレルギー誘発性に関する事項」でございますけれども、トウモロコシは、人に対してアレルギーを誘発する可能性が低い食物として知られており、アナフィラシキーの事例はまれであると報告されています。しかしながら、最近、トウモロコシのアレルゲンに関する研究では Pastorello は 9 kDa の「Lipid Transfer Protein(LTP)」がトウモロコシの主要アレルゲンであると示唆し、加熱処理後も IgE 結合能力を失わないという報告をしております。この LTP による感作は南ヨーロッパで認められている症状であり、バラ科果物、ブドウ、ヘーゼルナッツ等でも知られているということでございます。

また、Pasini はトウモロコシ粉の還元可溶性タンパク質画分から得られた 50 kDa のタンパク質が、トウモロコシのアレルゲンの候補であると報告しております。

「5 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」でございますが、トウモロコシに感染する可能性のある病原菌は存在するけれども、ヒトや動物に感染することは知られていないということでございます。

「6 安全な摂取に関する事項」でございますけれども、2005 年におきましてトウモロコシは全世界で約 7 億トン生産されており、その主な栽培国は米国、中国、ブラジルでございます。我が国は、約 1,670 万トンのトウモロコシを輸入しており、そのうち、大体、約 1,600 万トンが米国からの輸入であるということです。

また、輸入されたトウモロコシのうち、約 1,200 万トンが飼料として用いられ、その約 94%が米国から輸入されており、その残りの約 440 万トンが、食品の加工用に用いられるということです。

「7 近縁の植物種に関する事項」といたしましては、トウモロコシの近縁種としては、ブタモロコシとトリプサカム属であるけれども、これらが食用に供されることはなく、また、これらの野生種は我が国では存在しないということでございます。

「第4 ベクターに関する事項」です。

「1 名称及び由来に関する事項」については、そこに書いてあるとおりに、pSB1 という *radiobactor* 由来のベクターを使ったということです。

2の「(1) DNAの塩基数及びその塩基配列を示す事項」といたしましては、そこにあるとおりに、プラスミドのpSB1の塩基数は約36,897 bpで、クローニングベクターのpSB11の塩基数は6,329 bpであるということで、その次のページにそれぞれの制限酵素の図を示してあります。

「(2) 制限酵素による切断地図に関する事項」は、次のページにあるとおりです。

「(3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項」は、両ベクターとも既知の有害塩基配列は含んでいないということでございます。

「(4) ベクター中に、薬剤耐性遺伝子が含まれている場合は、その遺伝子の性質が明らかであること」ということですが、プラスミドのpSB1には、抗生物質耐性マーカーの *tet* 遺伝子、pSB11には、*spc* 遺伝子が含まれていますけれども、サザンブロットイングの分析により、これが宿主に導入されていないことが確認されております。

「(5) 伝達性に関する事項」ですが、両ベクターとも、これらの遺伝子は伝達を可能とする配列は含んでいないということです。

「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」です。

1の「(1) 名称、由来及び分類に関する事項」ですが、改変 *cryIF* 遺伝子は、*B. t. var. aizawai* に由来し、*B. t. var. aizawai* は広く土壌中に存在するグラム陽性菌である。また、改変 *bar* 遺伝子の供与体である *S. hygrosopicus* も同じく土壌中に広く存在するグラム陽性菌であるということです。

「(2) 安全性に関する事項」につきましては、改変 *cryIF* 遺伝子の供与体である *B. t. var. aizawai* は、土壌中に広く存在しているということで、*B. t.* 菌は $\delta$ -エンドトキシンとして広く知られている殺虫性タンパク質を生産するということです。

*S. hygrosopicus* も、グラム陽性菌であり、それがヒトや植物に対しての有害病原性は

知られていないということです。

「2 挿入 DNA 又は遺伝子及びその遺伝子産物の性質に関する事項」ですが、改変 *cry1F* 遺伝子は *B. t. var. aizawai* に由来する *cry1F* 遺伝子を基に、コアトキシンをコードする部分を、グアニン及びシトシンの含量を高めることにより、トウモロコシでの発現を高めるために最適化したということでございます。また、アミノ酸配列におきましては、604 番目のフェニルアラニンがロイシンに置換されているということです。

改変 *bar* 遺伝子につきましては、*S. hygroscopicus* 由来の *bar* 遺伝子を基に開始コドンを変更し、トウモロコシ内での発現を高めたということでございます。なお、PAT タンパク質のアミノ酸配列は改変されていないということです。

「(2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項」ですが、T-DNA の塩基数は 6,779 bp であり、そのうち改変 *cry1F* 遺伝子の塩基数は 1,818 bp、改変 *bar* 遺伝子の塩基数は 552 bp で、T-DNA の配列は添付資料 5 に示したということです。

「(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項」につきましては、表 2 のとおりでございます。改変 Cry1F タンパク質と PAT タンパク質が既知の毒性タンパク質との相同性はないということでございます。

改変 Cry1F タンパク質につきましては、データベースでアミノ酸配列を比較検討した結果、相同性がないことが確認されております。

PAT タンパク質についても、同様に、既知のタンパク質毒素と相同性がないことが確認されております。

「(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項」といたしましては、サザンブロット分析によりまして、*tet* 遺伝子と *spc* 遺伝子が、宿主には導入されていないことが確認されております。

「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」でございますが、改変 *cry1F* 遺伝子のプロモーターはトウモロコシ由来のユビキチン 1 プロモーターで、改変 *bar* 遺伝子のプロモーターはカリフラワーモザイクウイルス由来の CaMV35S プロモーターで、ターミネーターにつきましては改変 *cry1F* 遺伝子及び改変 *bar* 遺伝子とも、ジャガイモ由来のプロテアーゼインヒビター II のターミネーター配列が使われているということでございます。

その他といたしましては、改変 *bar* 遺伝子の転写効率をよくするために、CaMV35S のプロモーターの上流域にカリフラワーモザイクウイルス由来の CaMV35S エンハンサーが、また、PAT タンパク質の発現を高めるために、トウモロコシ由来のアルコール脱水素酵素イ

ントロン1を組み込んだということでございます。

「4 ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項」としましては、構築概要は、この表3と、次のページの図4のとおりでございます。

できました発現ベクターPHP12537の塩基数は49,698 bpで、塩基配列は添付資料6のとおりであるということでございます。

構築された発現ベクターには、改変 *Cry1F* タンパク質及び PAT タンパク質以外のタンパク質を発現するオープンリーディングフレームは含まれていないということでございます。

「(3) 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」につきましては「挿入領域は、発現ベクター上で明らかである(図5)」。

「(4) 導入しようとする発現ベクターは、目的外の遺伝子の混入がないように純化されていること」については「その性質が明らかになっており、純化されている」ということでございます。

宿主への導入方法につきましては、アグロバクテリウム法により導入したということでございます。

次の13ページが制限酵素の図、14ページがトウモロコシ6275系統の育成図となっております。

次の15ページ「第6 組換え体に関する事項」で「1 遺伝子導入に関する事項」でございます。

「(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項」ですけれども、導入された遺伝子のコピーを調べるために、トウモロコシから抽出したゲノムDNAを制限酵素で切断し、分離された断片に対し、それぞれの改変 *cry1F*、改変 *bar* 等のプローブを用いましてハイブリダイズさせ、サザンブロット分析を行ったということでございます。その結果が次のページから書かれております。

まず「①改変 *cry1F* 遺伝子」につきましては、改変 *cry1F* 遺伝子の3'プローブ及び改変 *cry1F* の5'プローブは、予想された長さの断片とハイブリダイズし、6275系統に挿入された改変 *cry1F* 遺伝子は1コピーであったということが言われております。

続きまして、改変 *cry1F* 遺伝子が発現された際のプロモーターのコピー数を調べた結果でございますけれども、その結果、Ubiのプロモーターは予想された長さの断片はハイブリダイズをせず、非組換えトウモロコシのPH09BゲノムDNAに由来する内在ユビキチン遺伝子とハイブリダイズしたということでございます。また、Ubiのイントロンプローブは予想された長さの断片とはハイブリダイズされず、塩基数が8,576 bpの断片と非組換えト

ウモロコシ PH09B ゲノム DNA に由来する内在ユビキチン遺伝子とハイブリダイズしたというところでございます。「このことから、UBI1ZM プロモーター全てとイントロンの一部が欠失していることが示唆された」ということでございます。

ターミネーターにつきましては、1 コピーされていることが確認されたというところでございます。

「②改変 *bar* 遺伝子」につきましては、1 コピー入っているということが確認されております。また、改変 *bar* 遺伝子の発現カセットを構成するプロモーター等につきましても、きちっと 6275 系統にコピーされているということが確認されております。

19 ページ以降が、それぞれのサザンプロットの成績が 22 ページまで続いております。

「③挿入遺伝子配列及び近傍配列」でございますけれども、まず、T-DNA 領域 5,154 bp、T-DNA 領域 5' 末端の近傍配列 521 bp 及び 3' 末端の近傍配列 2,059 bp を含む合計 7,734 bp の塩基配列を決定したというところでございます。

これにつきまして分析をしたところ、T-DNA 領域の 3' 末端では〇〇〇bp が欠失をしていることが明らかになったというところでございます。

「次に T-DNA 領域の 5' 末端では〇〇〇bp が欠失しており、サザンプロット分析で示唆された UBI1ZM プロモーターの全てとイントロンの一部が欠失していることが確認された」ということでございます。このように、トウモロコシ 6275 系統では UBI1ZM プロモーターが挿入されていないけれども、トウモロコシ 6275 系統においてタンパクが発現している。Salgueiro らは、トウモロコシのユビキチンイントロンがプロモーター活性を持つことを報告しており、ユビキチンイントロンに存在する TATA ボックス様の配列がプロモーター活性の可能性を示唆しております。この TATAA 配列は、UBI1ZM イントロン中の 3' 末端に存在するというところでございます。

また、トウモロコシ 6275 系統に挿入された T-DNA の 5' 末端及び 3' 末端の境界領域における配列では、プロモーターとなる配列やオープンリーディングフレームは存在しないことが確認されております。更に、挿入された T-DNA の 5' 末端隣接境界の更に上流にあるプロモーターが、スプライシングにより改変 *cry1F* 遺伝子に隣接し、改変 Cry1F タンパクが発現する可能性も考えられるけれども、上に記載したとおり UBI1ZM イントロンがプロモーターとして働いた可能性が高く、スプライシングによる改変 Cry1F タンパク質発現の可能性は低いと考察されております。

「このように、トウモロコシ 6275 系統において、UBI1ZM プロモーターが挿入されていないにもかかわらず、改変 Cry1F タンパク質が発現しているのは、UBI1ZM イントロンがプ

ロモーターとして働いている可能性が高い」というように考えられております。

また、T-DNA 領域にあります改変 *cry1F* 遺伝子、改変 *bar* 遺伝子等は完全な形で挿入されていることが確認されております。

「④抗生物質耐性マーカー遺伝子及び外骨格領域 DNA が宿主に挿入されていないことの確認」ですけれども、トウモロコシ 6275 系統には、これらの抗生物質耐性マーカー遺伝子及び外骨格領域 DNA は導入されていないことが確認されております。

「(2) 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」ですが、トウモロコシ 6275 系統に挿入された T-DNA5' 末端及び 3' 末端隣接境界領域に新たなオープンリーディングフレームは存在しないことが確認されました。

次の 2 ページが、分析値ということでございます。

27 ページで「2 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関する事項」ですが、改変 *Cry1F* タンパク質及び *PAT* タンパク質の発現量を E L I S A 法により分析しております。

まず、改変 *Cry1F* タンパク質は、各生育期間において調査をした結果、組織サンプルから検出され、平均発現量は老化期の葉の 0.71 ng/mg から糊熟期の葉の 44.8 ng/mg の範囲であり、成熟期の穀粒では 1.14 ng/mg でありました。

*PAT* タンパク質の平均発現量は、抽出期の花粉の 0.20 ng/mg から糊熟期の葉の 682 ng/mg であり、成熟期の穀粒では 23 ng/mg でありました。

下の表が、それぞれの時期におけるタンパク質の発現量でございます。

「3 遺伝子産物（タンパク質）が一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項」ですが、*Cry1F* タンパク質につきましてはすべてをトウモロコシへ置き換えた場合、1 日 1 人当たりの平均摂取量は改変 *Cry1F* タンパク質で 2.17  $\mu$ g、*PAT* タンパク質では 43.7  $\mu$ g となるということでございます。

また、これが日本人の 1 日 1 人当たりの平均タンパク質摂取量 77.7 g を基に、それぞれのタンパク質の摂取量を計算しますと、そこに書いてあるとおり、ごく微量となるということでございます。

続きまして「4 遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性に関する事項」で「(1) 挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見」ですが、改変 *cry1F* 遺伝子の供与体は *B. t. var. aizawai* であり、これらはアレルギー性を持つことは報告されておられません。

また、*PAT* 遺伝子の供与体は *S. hygroscopicus* であり、これについてもアレルギーを示すことは知られておられません。

「(2) 遺伝子産物 (タンパク質) についてそのアレルギー誘発性に関する知見」ですが、Cry1F タンパクは微生物農薬として長年にわたり安全に使用されており、ヒトに対しアレルギー誘発性を持つことは知られておりません。

また、PAT タンパク質についても、これまで多くの評価が行われており、アレルギー誘発性が知られていないこと、人工胃液中で 15 秒以内に消化されること等が報告されており、PAT タンパク質がヒトに対してアレルギーを誘発する可能性は低いと結論されております。

「(3) 遺伝子産物 (タンパク質) の物理化学的処理に対する感受性に関する事項」でございますが、改変 Cry1F タンパク質の物理化学的処理に対する感受性を調べるため、人工胃液及び人工腸液等による消化性試験、加熱処理を行ったということでございます。なお、PAT タンパク質については、これまでにヒトに対してアレルギーを誘発する可能性は極めて低いとしていることから、これらの試験は行わなかったということです。

①で、人工胃液に対する改変 Cry1F タンパク質の反応時間でございますけれども、改変 Cry1F タンパク質は、人工胃液 (S G F) 中では 15 秒以内に速やかに消化され、ウェスタンプロットにおいて免疫反応性ポリペプチドは検出されなかったということでございます。

「②人工腸液によるアルカリ処理及び酵素 (パンクレアチン) 処理」ですが、その結果、改変 Cry1F タンパク質は、S I F 中で 120 分間インキュベートしても消化されなかったということでございます。

「③加熱処理」でございますが、加熱処理によって改変 Cry1F タンパク質の分子量及び免疫反応性がどう変化するかについて、SDS-PAGE 法及び E L I S A 法により確認した結果、100 度で 5 分及び 15 分間加熱することにより、改変 Cry1F タンパク質の分子量に変化のないことが確認されました。

また、改変 Cry1F タンパク質の免疫反応性は、100 度で 15 分間加熱することにより大きく減少し、免疫反応性が失われたということでございます。

「(4) 遺伝子産物 (タンパク質) と既知のアレルゲンとの構造相同性に関する事項」でございますが、改変 Cry1F タンパク質の 8 つの連続したアミノ酸配列について検索したところ、既知のアレルゲンとの同一性は認められませんでしたということです。

また、80 アミノ酸をオーバーラップさせ、既知アレルゲンとの構造相同性を調べた結果、35% 以上の同一性は認められなかったということでございます。また、PAT タンパク質につきましても同様に同一性は認められなかったということでございます。

「5 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項」ですが、トウモロコシ 6275 系統に導入された改変 *cry1F* 遺伝子は、世代間及び同一世代内で安定していることが確認



され、改変 *bar* 遺伝子のプローブも予想された長さとの断片とハイブリダイズされ、世代間及び同一世代で安定していることを確認しております。

次のページが、その試験結果ということになります。

35 ページで「6 遺伝子産物（タンパク質）の代謝経路への影響に関する事項」ですけれども、改変 Cry1F タンパク質は、これまでの *B. t.* のタンパクと同様に酵素活性を持たないことから、代謝経路への影響を及ぼすことはない。また、PAT タンパク質は極めて高い基質特異性を有することから、代謝経路への影響を及ぼすものはないと考えております。

「7 宿主との差異に関する事項」ですが、そこにございますとおり「(1) 主要構成成分」「(2) 脂肪酸」「(3) アミノ酸」「(4) ミネラル類」「(5) ビタミン類」「(6) 栄養阻害物質」「(7) その他の成分の分析」ということをございます、各成分とも対照との有意差はなかったということが報告されております。

8 といたしまして、諸外国における認可状況は以下に書かれてとおりでございます。

以上でございます。

○早川座長 どうもありがとうございました。それでは、最初の方から随時検討してまいりたいと思います。

まず第2章の第1の1ページでございます。「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」で何かございますでしょうか。

○澤田専門委員 くだらないことなんですけれども、前のトウモロコシの起源の説明とこの起源の説明が微妙に違っているんですけれども、これはもうほうっておいてよろしいのでしょうか。信頼する文献が違っているから、書いている内容がちょっと違うんです。

○早川座長 科学的に問題があるかどうかということですが、そこはいかがですか。問題がなければ、これはほかの会社の資料を見るわけにもいかないですからね。

○澤田専門委員 従来ですとテオシントが有力であると、今まではずっと書いてあったんです。この会社だけ両者併記でどちらかわからないと書いてあります。どちらでもいい話と言えはいいのですが。

○早川座長 これはほかの資料との関係なので、なかなか統一させるというのも難しいですね。科学的に間違っていなければいいということにしますか。

○澤田専門委員 そういう説が本当にあるんですしたら構いません。ただ、こちらの方が日本語のトウモロコシという総説をそのまま引用していて、ほかの申請では外国の文献を引用しています。

○早川座長 ほかに先生方はいかがでしょうか。何か今の御指摘に対してございますか。

澁谷先生、何かございますか。

○澁谷専門委員 わかりません。ただ、安全性のこの評価としては、大きな問題にはならないと思います。

○早川座長 ということでございますので、これはこれとして行きたいと思います。

ほかに何かございますでしょうか。

よろしければ、第2の3ページからですが「組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」のところで何かございますでしょうか。よろしいですか。

同じページですが「第3 宿主に関する事項」はよろしゅうございますか。

5ページにまいりまして「第4 ベクターに関する事項」。小関先生、どうぞ。

○小関専門委員 つまらない話なんですけれども、4ページ目で、さっき読んでいるときに突っかかったところで「4 アレルギー誘発性に関する事項」のアナフィラキシーになっているところを直した方がいいと思います。

○早川座長 アナフィラキシーですね。「シ」を入れてくださいということでございます。

元に帰りまして、第4のところで何かございますでしょうか。よろしいですか。

よろしければ「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」。これは7～15ページ辺りまで書いてございますが、いかがでしょうか。

先生、どうぞ。

○五十君専門委員 表記の問題で、以前確認したので、できれば従っていただきたいと思っています。7ページの第5の1の(1)の一番最初の行に、*B. t. var. aizawai* という表現がしてありますが、まず種名を省略してピリオドにしないというのがこれまでの表記だと思いますので、属名ピリオドで種名はそのまま残していただきたいと思っています。var 以下につきましては立体で表現するという整理だったので、*aizawai* は立体にさせていただいて、その表記を文書全体で統一していただいた方が良いと思います。

○早川座長 今の点はそういうふうにしていただければと思います。ここは小関先生から何かコメントをいただいているように思いますが、小関先生からございませんか。

○小関専門委員 私はここはないです。

○早川座長 それでは、宇理須先生からコメントがあるということですので、御紹介をただけますでしょうか。

○浦野係長 それでは、参考資料2をお手元に御用意していただきたいと思っています。参考資料2で宇理須専門委員からのコメントです。

7ページの「(2) 安全性に関する事項」のところでございますが、改変 *cryIF* 遺伝子

の供与体である *B. t. var. aizawai* とあるが、改変 *cry1F* 遺伝子は *B. t. var. aizawai* からとられた *cry1F* 遺伝子を改変した遺伝子なわけであるから、直接 *B. t. var. aizawai* から取られた遺伝子とは言えないから、そこは正確な表現を必要とするということです。

また、改変 *bar* 遺伝子も同じことが言えるので、同様に正確な表現をしてほしいということでございます。

○早川座長 そうしますと、これは表現を考えていただければよろしいんですが、改変 *cry1F* 遺伝子の元である *cry1F* 遺伝子。

○澤田専門委員 改変を取ればいいと思います。

○早川座長 その下の②の *bar* 遺伝子も同じことですね。

14 ページの系統育成図ですか。商品化品種ラインと遺伝子を調べたラインが違っているのではないかということです。

○小関専門委員 そこに行ってよければ、これもさっきの高リシンと同じで、商品化品種と書かれているものと宿主の差異に関する事項を調べたものが〇〇〇と非組換えのトウモロコシをかけたものという形で来ていて、要するに商品化品種とちょっと違うところなんですけれども、そこをきちんと同等ですという説明をしていただくこと。

あとは遺伝子の方に関しては、実は解析したのは〇〇〇になっているんですけれども、その上の〇〇〇で安定性のところで調べて使っているんで、そこを引用すれば〇〇〇からずっと遺伝子は変わっていないということが言えるはずなので、その書きぶりできちんと説明してもらえば問題がないのではないかと思います。その部分です。

○早川座長 ありがとうございます。その他、ここの第5のところでございますか。

先生、どうぞ。

○澁谷専門委員 細かいことなんですけれども、12 ページの(2)というところに「原則として」云々と書いてあるんです。こういう言い方は、英語の訳の間違いではないかと思うんです。

要するに、目的以外のタンパクを組換え体内で発現するORFがないということで、これはこれでいいんですが「原則として」と言われると、たまには出てしまうみたいなのがあるので、これは要らないのではないかと。

○澤田専門委員 ガイドラインの文でそう書かれています。

○澁谷専門委員 これは「原則として」になっているんですか。では、しょうがないですね。

○早川座長 これはもともとのオープンリーディングフレームがもし仮に含まれていても、

その安全性が評価されればいいという意味でしたか。これはガイドラインにこう書いているとのことですのね。

ほかに何かありますか。よろしゅうございますか。

それでは「第6 組換え体に関する事項」ということで、15 ページ以降でございますが、まず小関先生からコメントをいただいているようですね。

○小関専門委員 結局これは今までにないケースだと思うんです。いわゆるプロモーターがちぎれてしまったけれども、働いているというケースです。

それは23 ページの第2段落の「次に」以下のところでちゃんと解説されているので、多分こうなっているんだろうと思うんですけども、ここの部分の書きぶりがうまくないところが幾つかあります。

結局ちゃんとやっているんです。領域をきちんと調べていて、塩基配列を調べているんですけども、例えば「次に」以下のところで8行目ぐらいのところに「また、トウモロコシ6275系統に挿入されたT-DNAの5'末端及び3'末端隣接境界領域における配列解析では、プロモーターとなり得る配列やオープンリーディングフレームは存在しないことが確認されている」というのは、彼らが塩基配列を調べることで確認したというふうに、日本語で「確認されている」というと、どこのデータがあるんだと言いたくなってしまうので、もうちょっとうまく表現してもらいたいです。そこが1つ、ちょっと引っかかりました。

あとは、ここに書いてある「挿入されたT-DNAの5'末端隣接隣接」となっているので、これもおかしいので直してもらわないといけないんですけども「隣接境界のさらに上流にあるプロモーターが、スプライシングにより改変 *cryIF* 遺伝子に隣接し」とつながって、「改変 *CryIF* タンパク質が発現する可能性も考えられる」と言われてしまうと、確かにそのとおりなんですけれども、これは可能性を考えられるのであれば、示せということができるはずなんです。

これはやろうとすれば、*mRNA* としてどうなっているのかは、5'側の塩基配列を調べれば出てくるんですけども、そこまでやる必要があるのかどうか。ノーザンの内容はここに出てきているんですね。発現量。

だから、むしろこの可能性は多分あまりないと思うので、上流域を彼らが見ている感じで行くと、この可能性について言及することはしないしてほしいんだと思います。そこが悩ましいところですよ。

○早川座長 どうぞ。

○丹生谷専門委員 私も今のと同じところなんですけれども、上流に近いところにプロモーターがあって、それから読まれている可能性を指摘して、その可能性が低いというのは、私もそう思いますけれども、この文章の表現自体はおかしいです。プロモーターがスプライシングで隣接ということはあり得ないです。DNA上は隣接はしません。そもそもプロモーターというのは、*mRNA*のところには存在しないので、非常にナンセンスなことしか書いてないです。

○早川座長 どうぞ。

○澤田専門委員 ちょっと読んでいてよくわからなかったので教えていただきたいんですけど、20ページのユビキチンのプロモーターのプローブとイントロンのプローブで変なバンドが出てきているのを、内在性の遺伝子だと言っているわけですけども、本当にそれで説明してよろしいんでしょうかというのが、私の疑問です。

○早川座長 今のはいかがですか。

○丹生谷専門委員 恐らくユビキチンのプロモーターのプローブのサイズマーカーの1.4のちょっと下にあるバンドのことかと思います。私もこれがプローブとハイブリしたバンドではないかと思ったのですが、レーン11で同じ位置に見えているものがあるので、恐らくこの申請者は、11番の非組換え型にも同じものがあるということから内在性としたのでしょう。なぜ12番にないのかというのはわかりませんがね。

○澤田専門委員 これが不思議に思ったのは、10と12でほとんどバンドがない。

○丹生谷専門委員 同じことは右側のイントロンにも、勿論これは領域が同じなので同じパターンになるんでしょうけれども、ありますね。

○澤田専門委員 ひょっとしてユビキチンの遺伝子とリコンビネーションしているんじゃないかという疑問がかすかにありましたので、そこを確かめていただいた方がよろしいのかと思います。

○早川座長 そうしますと、今、御指摘いただいた部分について、要するに先生方に理解ができるように説明を追加的に加えられるのであれば加えていただくということでいかがですか。もしここで何か、こういうことではないかというのがあれば、どうぞ。

○澁谷専門委員 同じところで、非常に不思議で、プロモーターがみんななくなってしまっても、結果として発現はしている。ここに書いてある説明もよくわからなくて、ユビキチンのイントロンと言ってみたり、プロモーターのイントロンと言ってみたり、混乱していますね。ユビキチンのイントロンだったら、その遺伝子の配列が上流のどこかになければいけませんね。だから、ちょっと説明がわかりにくい。でも、一番困るのは、これでは

ない、このプロモーターがないと思われている導入遺伝子のほかに、もう一個別なものが入っていると困ってしまうわけです。ただ、それだったらサザンプロットで出るはずだから、いいんでしょうけれども、何となく説明がこのままでは少しわかりにくいと思いました。それを説明していただければいいと思います。

○早川座長 今のことも含めて、もう少し明確にさせていただくということですね。

澤田先生、丹生谷先生、それでよろしゅうございますか。

○丹生谷専門委員 はい。

○早川座長 先ほどの 20 ページのところのデータ、あるいは今、澁谷先生おっしゃったプロモーターの問題で、一体何のことを言っているんですかということを確認させていただく。

先ほど小関先生がおっしゃった、書きぶりですね。それも今、問題点を指摘していただきましたので、それを念頭に置いて、もう一度申請者の方で整理していただくということで、小関先生、よろしいですか。

○小関専門委員 はい。

○早川座長 ほかに何かございますでしょうか。

宇理須先生の方からございますので、どうぞ。

○浦野係長 宇理須先生の方から、28 ページの 4 番のタンパク質のアレルギーのところですが、(1) の挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見というところでございますけれども、この書きぶりですと「改変 *cryIF* 遺伝子の供与体は *B. t. var. aizawai* であり、*B. t. var. aizawai* がヒトに対してアレルギー誘発性を持つことは知られていない。」と。*B. t. var. aizawai* にアレルギー誘発性がないので、改変 *cryIF* 遺伝子産物にもアレルギー誘発性がないと主張しているように聞こえることから、上述のごとく正確な表現をしてほしいと。

改変することによって、アレルギー誘発性に変化が生じる可能性があるということでございます。

また「改変 *bar* 遺伝子の供与体は *S. hygroscopicus* であり」という箇所も、同様な正確な表現が望まれるということでございます。

以上です。

○早川座長 まず、この改変何とかというのは、先ほどと同じように改変を取れば、一応記述としてはそのとおりであるということなので、それはそういうふう処理していただきたいと思えます。

あとアレルギー誘発性が知られていないのは、基のものであって、改変体については、別に、その根拠を正確にすればいいんですかね。もともとできたものについては、また別途いろんな検討をしておりますので、ここで無理やりそれを言うことはないわけですね。だから、ここは淡々と基のものが、そういうことはないんだということを言うような表現にしていけばいいということによろしいですか。

○手島専門委員 改変を取ればよろしいかと思います。

○早川座長 そういうふうに処理をさせていただきたいと思います。

ほかによろしいですか。先生、どうぞ。

○澁谷専門委員 後ろの方で、31 ページのところ、1 つは上の加熱処理の電気泳動の図なんですけれども、文章の方は改変しても Cry1F タンパクの分子量に変化がないことが云々と書いてあるんですけれども、電気泳動の 2 番というのが非加熱で、3 番、4 番が加熱しているんです。そうすると、この電気泳動だけだと加熱した 3 番、4 番の下の方に低分子のものができてしまっていて、加熱で変化してしまっていることになっている。

全体のタンパク量も合っているのかという感じもするので、その辺が少し文章と合っていないように思うのです。要するに、文章どおりだと、2 番、3 番、4 番の列は同じでなければいけないはずなんです。そういうふうになってないので、これはどういうことなのか説明をしてほしいと思います。

もう一つ、その下の表 9 のところ、免疫反応性の減少率の E L I S A のものなんですが、これもちょっと説明が不十分で、中の熱処理前の量と 4℃で処理したものの測定値の意味など、これもちょっとわかりにくい表のような気がします。

○手島専門委員 たしか宇理須先生のコメントにもあるんですけれども、恐らく私が思うには、E L I S A 法もサンドイッチ E L I S A 法でやって、Cry1F タンパク質の量を測定したんだと思うんですけれども、どういう測定法を用いたかということを、もうちょっと詳しく書かないとわからない部分がありますので、方法を詳しく記述していただきたいと思います。

○早川座長 方法をもう少し正確に書いていただいて、判断材料にしたいということが 1 つ。

もう一つは、それにしても実際の図、表、両方ありますけれども、例えば上の図の 3 番、4 番の現象に対する説明を加える必要はありますね。

それから、表 9 に対する説明もちょっと舌足らずではないかという御指摘ですので、ここは申請者の方によく説明していただくようお願いしたいと思います。

加熱で低分子化するということはあるんですか。

○手島専門委員 分解したのではないかと思うんですけれども、ただ、図 16 でもあるんですけれども、この Cry1F タンパクは、少し低分子ができやすい性質があるのかと思うんですけれども、そういった性質があるということであれば、それを書いていただいた方がいいと思います。

○早川座長 要するに、加熱によって低分子化しやすいのであれば、あるいは本当にそうであれば、そうしたものであるということを書いてくださいということです。

もともとの分子量に変化がないというのは、本来加熱で分子量に変化がないということを目指すのは、アグリゲーションした、そういうふうに巨大化したことはないということが、ここではメインテーマなんですか。

○手島専門委員 そうですね。

○早川座長 低分化してしまうのは、そうなったという現象だから、それはそれで淡々とそうであると説明していただければよろしいということですね。

○手島専門委員 それでよろしいと思います。

○早川座長 どうぞ。

○浦野係長 あと宇理須専門委員から、もう一つ、先ほど（１）の方しか読み上げなかったんですが、（２）の遺伝子産物（タンパク質）についてのアレルギー誘発性に関する知見のところでも、やはり改変 Cry1F タンパク質と Cry1F タンパク質が混同された表現であることから、アレルギー誘発性が知られていないのは Cry1F タンパク質であり、改変 Cry1F タンパク質ではないということがコメントとして出されておりますので、追加説明させていただきます。

○早川座長 どうぞ。

○澤田専門委員 今の話は、このタンパクが短いコア部分のみか長いものか、よく読むと書いてあるんですけれども、ときどきわかりにくいところがあります。

今までも、コアか長いのか、きちんと書いてない場合が多かったんですけれども、何かわかりやすく書いていただいた方がいいですね。

○早川座長 それでは、そういう方向でお願いいたします。今おっしゃっていたこと、事務局よろしいですか。

○浦野係長 はい。

○早川座長 ほかに第 6 の組換え体のところで、何かございますでしょうか。渡邊専門委員、どうぞ。



○渡邊専門委員 23 ページの議論に戻るようで申し訳ないんですが、先ほど丹生谷先生がおっしゃったように、スプライシングという言葉は、ここでは不適切だと私も思ったことなんですけれども、本題に戻って、先ほどのプロモーターというのが、結局入れたつもりのもではなくて、ほかからの働きであった。そのときに、こういうケースが過去にあったかどうか。今は転写開始点を解明しなくていいスタンスでよろしかったんでしょうか。

○早川座長 この場合は、明確にするために、やってもらった方がいいかもしれません。普通は入れたものというか、明確にアイデンティファイされたものがプロモーターであるというストーリーできていますね。ここは一種の想像というか、仮定ではあるわけですね。

そこら辺は、小関先生いかがですか。

○小関専門委員 まさしくそれは、先ほど私がここまで要求すべき問題なのかどうなのかと悩んだところなんです。要するに、5' レースをやればすぐわかる話なので、やってもいいかなとも思うんですけれどもね。そうすれば、絶対明確になるので、可能性はざっと配列をみると、多分どう考えても、相当遠くから、このかなり上流からではないと入ってこられないし、ボーダー配列を見た感じからいくと、イントロンの配列という感じでもないんですね。だから、その辺のことを見たときに、多分これは塩基配列的に見るとスプライシングされて、上から飛んできているのではないだろうと私は判断したんですけれども、ただ、それはあくまでも経験則だけなので、やってもらう方が確実に確実です。

○早川座長 澤田専門委員、どうぞ。

○澤田専門委員 イントロンの TATA ボックスの話は、ほかの文献では、推測だけなのか、データがあるんでしょうか。既にほかの人がそれがプロモーターになると指摘しているわけですね。

○小関専門委員 文献として、ありますね。

○澤田専門委員 この場合は、もしそうだったら、オルタナティブプロモーターとなりうるデータが出されていることになるかと思えますけれども、それが単なる推測だったら、ほかのことを考えることになります。

○早川座長 澁谷先生、いかがですか。

○澁谷専門委員 そこら辺がもうちょっと明確になった方がいいと思います。というのは、そこが明確になれば、導入遺伝子の上流で、別の形で制御されているかが明確になるので、そうすると、ほかのことを心配しなくていいんですけれども、そこが明確でないと、もしかして見落としで変なところにフルセットがあったら困るという、どうもそういうのがちょっと残ってしまうので、それはサザンから言えないと思いますけれども、だから、や

っていただけるんだったら、その方がいいと思います。

○早川座長 丹生谷先生、いかがですか。やった方が書きぶりを非常にすっきり書けるように、説明が明確になるとは思います。

○丹生谷専門委員 別に反対はいたしませんけれども、評価の基準ということで、挿入遺伝子の近傍配列を出せとか、あるいはほかに転写産物がないかとか、そういうことは書いてあるんですけども、転写開始点を決めるという事項は必須ではないですね。ただ、できるのであれば、示していただきたい。

○早川座長 今回の場合は、ちょっと特殊なケースになるので、一般論としてプロモーターのところをやりなさいということは、当てはまらないとは思いますが、今回に関しては、できたらやりませんかということで、それを前提にもう少しいろんな疑問に対して明確な、クリアーな記述、説明ができるということを先生方は期待されていると思いますので、そこは照会をしていただけますでしょうか。

○浦野係長 事務局から確認なんですけれども、そうすると、今、添付資料7の下線に示したところに近傍配列が出ているわけですが、その上の配列について、更に解析をして、その後、実際にスプライシングが起きていないことを明確にしてくださいというようなことでよろしいのでしょうか。

○早川座長 澤田専門委員、どうですか。

○澤田専門委員 ちょっとちがうように。

○早川座長 今、言われている仮定を私は誤解しているかもしれませんが、仮定としては、イントロンがプロモーターではないかと言っているわけですね。

○丹生谷専門委員 私の先ほどの議論の理解では、小関専門委員がおっしゃったように、5' レースすれば、*cDNA* の 5' 末端がわかるでしょう。つまり、今の添付資料というのは、あくまでも *DNA* のデータでありまして、*mRNA* のデータは一切ないのかなと思うので、そこを追加して、できれば *mRNA* を *cDNA* にした上での 5' 末端の決定です。それを要求するかしないかという議論と理解しております。

○早川座長 ということで、よろしいですか。五十君専門委員、どうぞ。

○五十君専門委員 先ほど澤田専門委員から、引用している論文が議論なのか、確定したことなのかという御質問がありましたが、一応配列としては確定しているとし、その中にある TATA ボックス相当のものが恐らく機能しているんだらうと申請者は考察しており、それなりに対処はしていると思います。それで、あえてまた 5' レースをやって、メッセージャーまで見ろということが妥当なのかどうかというところを確認したいと思います。

○早川座長 今の御議論の中では、どうしてもやってくださいということではないんですが、できませんかということをお聞きすることだと私は理解しました。

○五十君専門委員 先ほどのことで小関先生にお伺いしたいのですが、この議論は植物において、メッセンジャーレベルで、無理があるということなんですか。

○小関専門委員 そんなことはないと思います。

○早川座長 丹生谷専門委員、どうぞ。

○丹生谷専門委員 五十君専門委員のおっしゃったことをお聞きして、私も先ほどの意見のニュアンスを変えたいんですけれども、我々専門委員の興味本位であまり要求してはならないというのが1つあります。確かになぜプロモーターが欠損していて、転写されているのかというのは、科学的には興味は非常に強いんですけれども、安全性の評価とかを考えると、会社側でデータがあれば勿論見せてほしいですけれども、また追加実験を要求するほどのことかなという疑問は私も感じつつ、お返事しました。

以上です。

○早川座長 小関専門委員、どうぞ。

○小関専門委員 堂々めぐりになってしまうと思うんですけれども、最初に私が言いましたときに、結局、Plant Molecular Biology の手法の中に intron-mediated expression というのがあるんです。結局、イントロンによって、やはり動いている。プロモーターの代わりをしているというのは事実であるということが、実証として出されている。

あとは、確かにこの配列を見ると TATA ボックスがあって、その上流の方に CAAT ボックスのようなものも見えるし、幾つかのエンハンサーライクのスエレメントだと思われるものが、その上流 60 ベースぐらいの上に、縦が 80 ぐらいの間に見ているとあるんです。だから、多分そこが効いているのではないかな。

作成者としては、これは意図としてですけれども、*cry1F* を入れるときに *Nco*I サイトというので入れて、ここはクローニングサイトとなっているんです。普通、これはルールに反するので使いたくないんです。それでも入れた方が、入れにくいのでこのサイトを使って、それでイントロンを入れて発現量を上げてやればいだろうという発想の下につくって、入れてみたら、できちゃった。よしよしうまくいったと思って調べてみたら、削れていたというところで、本人たちも恐らく驚いているんだと思います。だから、これははっきり言って、すべて結果オーライの世界なんだと思います。

ですから、それでいったときに、そういう意味でいくと、可能性として確かに上流の方にあるのではないかな。例えばイントロンのもう一つ可能性のあるサイトとして、183 番目

ぐらいのところ、多分イントロンのドナーサイトにもなり得るかとも思ったんですけれども、その上、よく見ると、確かに TATA もそこにいるんですけれども、その上流というのは、A リッチな領域から出てきて、反対者は T リッチになるんですけれども、そうすると、これをどう考えも、プロモーターとかそういうふうにはなりにくいなと思って、だから、実証はないんだけど、既にデータが出されているということと、今までの私なりの経験でいったときに、ここの部分がプロモーターになっているというのは、うなずけるかなということで、そこまで要求する必要はないだろうということと言ったんです。だから、そこら辺のバランスなんです。

勿論そのデータがあって、5' レースをやってもらえれば確定はします。なくても、そういう議論をきちんとやってくれれば、それで話をつく可能性はあると思います。

○早川座長 澁谷先生、いかがですか。

○澁谷専門委員 丹生谷先生が言われるのはよくわかることで、だから、安全性の面から見たときに、ほかの可能性がほぼなくて、この形でも恐らく発現しているだろうという、そこら辺の考え方が成り立つのであれば、いいのかなと思います。だから、たまたまプロモーターを欠いていても、その代わりになるような配列があって、発現が誘導されているということがあり得て、また、そのほかに安全性上問題になるような、実はどこかに何か隠れていて、別のものがあったというおそれがないのであれば、それでいいのかなと思います。だから、あとは、もうちょっとその辺がわかるような説明を付け加えてもらえればいいのかなと思います。

○早川座長 日野事務局次長、どうぞ。

○日野事務局次長 よろしいですか。これだけ問題視されていますけれども、科学的にも問題ないんでしょうけれども、やはり申請者からどのように解釈しているのかをきちんと説明させて、それで彼らが不十分と思うのであれば、解析しろというようなコメントが一番よろしいのかなと思います。

○早川座長 それでは、やってくださいということではなくて、データがあれば出してください。ないのであれば、今、専門委員の先生方が御自身でいろんな解釈をされて、こうではないかという専門委員の立場から会社に成り代わって説明をさせていただいている状態ですので、メーカーの方に、これはこうだということを明確に説明するような、回答を出してくださいという形で照会事項としたいと思いますが、そういうことでよろしいですか。

(「はい」と声あり)

○早川座長 では、そういう扱いにさせていただきたいと思います。

それでは、第6のところ、ほかに何か追加的にございますでしょうか。

○日野事務局次長 実質的な安全性には関係ないんですけれども、発現と分析値のところ、単に6275と書いてあるんですけれども、1点は分析しているものが実は何種類かありました。ここに表記しているのは正しいんですけれども、原文を見ると、ハイブリッドとノースプレッドとスプレッド、あとインプレットとプロジェニターをやっていて、6275と単にここに書いてあると、どのことだかわからない。

もう一点は、PAT タンパク質。科学的には正しいんですけれども、ダウ・ケミカルの米国本社は、あえてBar タンパク質と言っているんです。前文で *pat* 遺伝子からつくられるPAT タンパク質をあえて区別するために、Bar expression エクスプレッションと言っているのに、日本側がそれをまたPATに戻すというのは、正しい行為なのかと思えてしまいます。

○早川座長 というような問題提起がなされたんですが、いかがですか。これは日本側がというのは、日本の申請者がそういうふう直してきているわけですね。

○吉富課長補佐 はい。

○早川座長 橘田専門委員、どうぞ。

○橘田専門委員 済みません。たしか日本側ではなくて、FDAで言い直しているところがあったかと思えます。

添付資料8の1枚目の裏の「In its submission, DAS refers」以下のところで、FDAではBARではなくてPATと言っていることを、日本側が受けているのだと思えます。

○日野事務局次長 同じタンパク質なので、つくられるものはわかっているんですけれども、ただ、厚い資料の18のイントロに、区別するために、真ん中辺に「PAT protein produced by the *pat* gene from *Streptomyces*」あえて言っているのに和訳するとき、元に戻すんだろうかと思っただけです。

○早川座長 それは申請だということで、そのまま受け止めていきましょう。ここで我々がまた何か別のことを言い始めるのもいかなもののでしょうか。それが科学的に理解できる、安全性評価上問題がないということであれば、このままの申請でやりたいと思います。

もう一つ、一言で6275と言っているけれども、中身はいろいろですということに関しては、どうでしょうか。

澁谷専門委員、どうぞ。

○澁谷専門委員 今のPATのところでお話をしたいんですが、この申請書というか、これだと、PAT タンパクについては、これまで安全性がいろんなところで確認されているから、

ここではやらないと書いていますね。これを一体どの時点で認めるのか。これまでも同じ導入遺伝子についても、繰り返し、同じようなものを一応は入れる格好の申請書が多かったように思うので、確かにそのとおりのなんだけれども、つまり、極端に言えば、1回安全性評価をした遺伝子のタンパクは、もうやらなくてもいいということにもなるので、これはどういうふうに整理したらいいのかなと思いました。

○早川座長 これから、もし合理的で簡潔な審査を目指すとするれば、例えば PAT に関して、一旦よろしいということが評価できていれば、むしろ、向こうが書いてきていけないというわけではないけれども、今のような表現でやってきたときに、我々としては、別にそれに関して疑義があるわけではないので、その方向でもよろしいのではないですか。そう思いますが、いかがですか。

○五十君専門委員 そうだとすると、例えば違う会社で遺伝子の名前が同一な場合は、少なくとも遺伝子配列が同じとか、そういう確認ができるようなデータを付けていただいた方が無難ではないかと思います。

○早川座長 同じものであるというのが、最初にあつてということですね。そういう前提で、あとは評価されているということで、我々としては見ていくというふうにさせていただきたいと思います。

澁谷先生、今の件に関しては、それでよろしいですか。

○澁谷専門委員 きちんとしておけばいいと思います。

○早川座長 先ほどの 6275 の問題は、どなたか専門委員の先生でおわかりになりますか。小関先生何かございますか。

○小関専門委員 ないです。

○早川座長 今のままの状態では不都合ということではないんですね。正確ではないということですか。

○日野事務局次長 原文をちゃんと見て、違いがあるというのをわかって、数字を見比べればわかります。

○早川座長 澤田専門委員、どうぞ。

○澤田専門委員 先ほどの2度目の場合の書きぶりなんですけれども、承認の履歴を書いていた方が修正する場合はいいのではないのでしょうか。28 ページの書きぶりだと、OECDで承認しているからとか、そういうのではなくて、日本の承認履歴がある。それと構造が全く同じであるということが必要です。

○早川座長 これは文献上わかっているわけですし、日本の状況も審査結果はオープンに

なっていますね。それを引用してくださいということです。

○吉富課長補佐 わかりました。

○早川座長 ほかになければ、次に進みます。

第7は今回は多分なかったのではないですかね。必要がないと判断、今井田先生よろしいですか。

○今井田専門委員 これでよろしいのではないのでしょうか。

○早川座長 ありがとうございます。

それでは、本件につきましては、いろいろと各専門委員から御意見、確認事項等が出されましたので、それを指摘事項案としてとりまとめて、もう一度、各先生方に御確認をいただいた上で、厚生労働省を通して、申請者に対して指摘したいと思います。それでよろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○早川座長 ありがとうございます。

それでは、残りは35分ぐらいですが、ジェランガム K3B646 の安全性に関する審査に入りたいと思います。

本品目につきましては、継続品目でありまして、調査会での指摘事項に対する回答が提出されておりますので、回答書に基づいて、安全性を評価する。問題が残る場合は、もう一度、指摘事項を出す。安全性に関して問題がないとされた場合には、次回以降の調査会で評価書案の審査を行いたいと思います。

それでは、事務局に御説明をいただきますけれども、まず内容から見て、回答3の方から説明をお願いしたいと思います。よろしくをお願いします。

○吉富課長補佐 それでは、紺色の表紙で三栄源エフ・エフ・アイから提出されております「『ジェランガム K3B646』の安全性評価に係る指摘事項に対する回答」をお手元に御用意ください。

指摘事項3につきましては、5ページになります。

指摘事項3の内容ですが、前回の回答書の6ページの下から7行目以降に、セルフクローニングまたはナチュラルオカレンスに該当すると記載しているが、既に提出済みの資料以外に、そのことを裏づける資料があれば、追加資料として提出することということでございます。

「回答」といたしましては、次のようになっております。これまでに、セルフクローニングまたはナチュラルオカレンスに該当することを裏づけるための資料ということでは、

PCR及びサザンブロットによるベクターを欠失していること及びベクター上における挿入遺伝子の断片サイズを確認しておるということで、該当のところについては、一番最後の方についております「改訂申請資料」の6ページに辺りに、関連の記載がされております。

今回、新たに裏づける資料として出すものとしたしましては、サザンブロットによるアリルスルファターゼ遺伝子及びβ-グルクロニダーゼ遺伝子の欠失がそれぞれ1か所のみで起こっていること及び欠失した塩基サイズの確認をしているということです。

更に、既存の産生株と組換え体の塩基配列を決定し比較することにより、欠失部位、近傍の配列が一致していることを確認したということでございます。

まず「1. サザンブロットによる、欠失が1箇所のみで起こっていること及び欠失した塩基サイズの確認」です。

「1-1. アリルスルファターゼ遺伝子の欠失」の下でございますが、*atsA*のプロープと適切な制限酵素を用いて、S60wtc等の3つの株については、S60wtcが宿主となっておりますが、次のGAS-1、GBAD-1の関連については、先ほどの「改訂申請資料」の3ページが参考になるかと思えます。これら3つの株と陰性対照株、陽性対照株について、サザンブロット分析を行っております。

その結果、S60wtc株とGAS-1株、GBAD-1株において、得られたバンドと*atsA*遺伝子近傍の塩基配列により推測される塩基数とがほぼ同等のサイズであったということで、したがって、中間株であるGAS-1株と最終株のGBAD-1株ともに、アリルスルファターゼ遺伝子の約1.69 kbを欠失していることが確認されたということです。

これらの結果から、アリルスルファターゼ遺伝子の欠失が染色体の正しい位置で1か所のみ起こっていると考えられるということです。

6ページには、一番上に図1として、アリルスルファターゼ遺伝子周辺の遺伝子地図と欠失の概略図が書かれておまして、図2といたしまして、サザンブロットの結果が掲載されております。

7ページは「1-2. β-グルクロニダーゼ遺伝子の欠失」についてです。*gusA*プロープと適切な制限酵素を用いて、同じようにサザンブロット分析を行っております。その結果として、S60wtc株、GAS-1株及びGBAD-1株で得られたバンドと*gusA*遺伝子近傍塩基配列により推測される塩基数が同等のサイズであったということです。

結果といたしまして、中間株のGAS-1株では*gusA*遺伝子の欠失は認められませんが、最終株のGBAD-1では欠失していることが確認されたということございまして、同様にし



て、グルクロニダーゼ遺伝子の欠失が染色体の正しい位置で1か所のみ起っていると考えられるということです。

概要につきましては、下の図3に掲載されているとおりでございます。

8ページは、サザンブロット分析の結果が掲載されております。

9ページは「2. 既存の産生株と組換え体の塩基配列の比較による、欠失部位近傍の配列が一致していることの確認」を行っております。これまで既にベクターに組み込まれた挿入遺伝子の塩基配列を確認しておりましたが、今回実際に組換え体であるGBAD-1の*atsA*及び*gusA*近傍の塩基配列を決定して、既存の株との塩基配列と比較することにより、欠失部位近傍の配列が一致していることの確認を行っております。

「2-1. アリルスルファターゼ遺伝子の欠失」でございますが、GBAD-1株の*atsA*欠失部位を含む周辺領域の塩基配列を決定した結果、*atsA*の終止コドンを含む24bpのみを残し、開始コドンを含む1,632bp欠失されているということで、サザンブロットで求められたサイズとほぼ一致しているということでございます。GBAD-1株と*atsA*近傍の対応する塩基配列の相違について、記載のとおり、まず*atsA*開始コドンから503bp及び終止コドンから708bp下流までの塩基配列が同一であること等についてが確認されているということでございます。また、PCR断片をライゲーションする際の必要な制限酵素を認識する6bpは挿入され、*atsA*の断片が残存しておりますが、開始コドンは欠失していることから、下流に終止コドンがあるということで、新たな遺伝子産物が産生される可能性はないということです。

ただ、確認を行っておりますが、*atsA*遺伝子上流に位置する制限酵素*SacI*認識部位の欠失については、追加資料2で行っている試験では確認できなかったことから、追加試験を行っております。

その下の以降の試験でのゲノム配列等の決定によりまして、GBAD-1株が*SacI*認識部位を欠失していること、及び増幅した601bpの塩基配列が宿主と同一であることを確認しております。

結論として、GBAD-1株の*atsA*欠失部位近傍の配列は、制限酵素認識部位以外、既存の産生株と一致しております。

「2-2.  $\beta$ -グルクロニダーゼ遺伝子の欠失」の確認を行っております。GBAD-1株の*gusA*欠失部位を含む塩基配列等を決定した結果、*gusA*の終止コドンのみを残し、開始コドンを含む1,860bpが欠失されており、サザンブロットの結果とほぼ一致しているということでございます。GBAD-1株と*gusA*近傍の対応する塩基配列の相違については、そちらに

記載されているとおり、制限酵素の認識部位の残存等について確認をしております。

10 ページは結果を掲載してございまして、GBAD-1 株の *gusA* 欠失部位近傍の配列は、制限酵素認識部位以外、既存の産生株と一致していたということです。

以上の結果により、GBAD-1 株はベクターDNA を含んでいないこと、*atsA*、*gusA* 遺伝子のみを欠失していること、目的遺伝子近傍の塩基配列が宿主と一致していることが証明されたとしてございまして、したがって、GBAD-1 株は宿主と分類学上同一の種に属する微生物であり、いわゆるセルフクローニング、またはナチュラルオカレンスに該当すると考えられるということでございます。

以下は、追加資料について一覧表になってございまして、添付資料が後ろに付けられております。

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、前回申請者の回答にセルフクローニングまたはナチュラルオカレンスに該当するという記載があったので、それに対して、提出資料済みの資料以外に、そういうことを更に裏づける資料があれば出してほしいということで問い合わせたわけですが、この回答も含めて、先生方の御意見を承りたいと思います。

どなたでも結構ですので、コメント、御意見をお願いいたします。澤田先生何かございますか。小関先生いかがですか。

○澤田専門委員 まずセルフ、ナチュラルの判断ができて、該当すれば問題は解決するんだと思いますけれども、私自身はこれはセルフ、ナチュラルに該当するものだろうと考えます。

○早川座長 小関先生いかがですか。

○小関専門委員 この会社は必ず XbaI サイトを 1 つ入れるという面白いところです。前も入れていたんですけども、そのときに相当長い議論をやって、そのぐらいの配列が入ったところで、安全性の上では問題がないというのが議論の結論だったと思うので、今回も全く同じ状態なので、そういう意味でいった場合には、前と同じようにセルフ、ナチュラルの範疇で考えていくのが妥当だろうと私は思います。

○早川座長 澁谷先生、いかがでございますか。

○澁谷専門委員 私はわかりません。

○早川座長 ほかに今の回答 3 のところを含めてございまして。まずセルフ、ナチュラルと考えるか、そうではないということになるのかということでございます。

○澤田専門委員 補足で申し上げますと、カルタヘナ法上では、完全に自己のある一部分が除かれたものをセルフというふうに明確に定義していないんです。むしろ、それをあまり想定していない状況にあるんですけれども、ただ、自分自身のコンポーネントで組み換えられているという意味では、セルフもしくはセルフに準ずると解釈して、私は構わないと思っていますし、もしそうでないとすると、ほかのもっと違うものがセルフで、セルフにずっと近いものがセルフではないというような、変な状況になってしまいます。要するにホモロガス・リコンビネーションですっぽり抜ける場合には、セルフ or ナチュラルか。どう定義していいかわかりませんが、該当するというふうにした方がいいのかなと思っています。

○早川座長 天然に起こり得るとのことだと思います。

○澤田専門委員 天然に起こり得るというふうにすると、またいろいろ問題が出てくるんですけれども。

○早川座長 小関専門委員、どうぞ。

○小関専門委員 前の話でいくと、このぐらいのものというのは、天然に起こり得る、起こり得ないという問題もさることながら、はっきり言って6ベース入っているわけです。だから、それを組換えだという判断をするのか、それとも食品の安全性も踏まえて、あとこういう6ベースぐらいの挿入が天然にまとめてばんと入ることがあり得るとすれば、その中で入るのではないかという議論を、もう一度、始めると始まっちゃうんですけれども、前はたしか6ベースぐらいであれば、天然に起こり得るだろうというのが結論だったように私は思います。

○早川座長 先生方ほかに何かございますか。丹生谷先生そういう結論でよろしいですか。

○丹生谷専門委員 私は特にありません。

○早川座長 山崎先生いかがですか。

○山崎専門委員 セルフ、ナチュラルに該当すると考えて私もいいと思います。

それから、もう少し拡大すれば、デリーションミュータントをつくったという場合は、基本的にはセルフ、ナチュラルな範囲に入ると考えていいのではないかと私は思います。

○早川座長 ほかの先生方はいかがですか。

よろしければ、この件に関しては、回答3をもってセルフ、ナチュラルとみなせるということで、その意味で安全性評価上、よろしいとさせていただきたいと思います。

回答1、2もございますが、入り口論で終わりましたという扱いにさせていただければと思います。よろしゅうございますか。

それでは、ただいま本件については、セルフ、ナチュラルの範疇に入るということで、安全性上問題がないということでもありますから、次回以降の調査会において、評価書案の審査に入りたいと思います。

議題（１）については、これで終わりでございますが、議題「（２）その他」は事務局の方で何かございますでしょうか。

○浦野係長 特にございません。

○早川座長 それでは、本日の議題はこれで終了ということでございます。

それでは、今後の予定等について事務局からお願いいたします。

○浦野係長 専門委員の先生方の日程を調整させていただいた結果、今回は12月18日14時からが、一番御都合がよろしいかと思っております。先生方におかれましては、お忙しいところ誠に恐縮ですが、日程の確保方をお願いできたらと思います。よろしくお願ひします。

○早川座長 次回の12月18日月曜日でございますが、継続審査品目で指摘に対する回答が出てきそうなものは何かございますか。

○浦野係長 5月ごろに1回目の審査をしていただいた、シンジェンタからのMIR604がそろそろ出てくる可能性があるかなと考えております。

○早川座長 それから、今、新規で手持ちのものは何かありますか。

○浦野係長 新規は今回シンが食品として条件付きでOKになりましたので、餌としても一緒に出てきておりますので、餌についてお願いしなければと考えております。

○早川座長 それでは、今、事務局がおっしゃられた継続品目と高リシントウモロコシの飼料としての安全性について、準備ができていれば審議を行いたいと思います。

それから、今日、安全性上問題がないと評価されたものについて、評価書の検討を行うことを予定しております。

全般を通じて結構でございますが、何か御意見、御質問等ありますでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、以上をもちまして、第42回「食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。熱心な御討議をいただき、ありがとうございました。