

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

第 65 回 会 合 議 事 録

1. 日時 平成 20 年 12 月 3 日（水） 10:00～11:41

2. 場所 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
除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズDP-356043-5
(食品・飼料)

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、五十君専門委員、石見専門委員、小関専門委員、
鎌田専門委員、澁谷専門委員、手島専門委員、丹生谷専門委員、
飯専門委員、山川専門委員、和久井専門委員、渡邊専門委員

(食品安全委員)

見上委員長、小泉委員、長尾委員

(事務局)

栗本事務局長、日野事務局次長、北條評価課長、
猿田評価調整官、鶴身課長補佐、松尾係長

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

- ① 除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズDP-356043-5(食品)
② 除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズDP-356043-5(飼料)

参考資料 安全性評価に係る指摘事項について

除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ DP-356043-5（食品）

6. 議事内容

○澤田座長 それでは、定刻になりましたので、ただいまから第 65 回「食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催いたします。本専門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、橘田専門委員、山崎専門委員は御欠席とのことです。

本日の議題であります、継続審査品目であります、除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ DP-356043-5 について、食品と飼料の安全性の審査となります。

それでは、お手元の資料の確認をいたしたいと思っておりますので、事務局からよろしく願います。

○猿田評価調整官 資料の確認をさせていただきます。

配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿。

資料としましては「食品健康影響評価に関する資料」。

参考資料としまして「安全性評価に係る指摘事項について」となっております。

なお、これら以外の参考資料につきましては、ファイルにとじまして机の上に置かせていただいております。これらのファイルにつきましては、専門調査会終了後回収させていただきます、次回また御用意させていただきます。

不足の資料等がございましたら、事務局までお知らせください。

お手元の資料のほかに、委員の皆様には本日御審査いただく予定の品目につきまして、申請者作成の資料などを事前に送付させていただいております。

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、座長に資料内容を御確認いただき、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、非公開で審議を行います。

会議は非公開となりますが、国民への説明責任、それから、透明性の確保の観点から、開催予定日などは公開し、会議が非公開であることを明示してございまして、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のある箇所などを削除した上で、速やかに公開させていただきます。

また、審議に用いました各種試験結果の概要、それから、評価の結果をまとめた評価書

(案)を作成し、食品安全委員会へ報告し、公開させていただきます。

事務局からは以上でございます。

○澤田座長 よろしいでしょうか。

それでは、早速、議題1の審査に移らせていただきたいと思います。除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ DP-356043-5、食品と飼料がありますけれども、これについてであります。

本品目につきましては、継続審査品目でありまして、指摘事項に対する回答書が提出されております。回答書に基づきまして、食品としての安全性を確認し、安全性について問題が残る場合はもう一度指摘事項を出すこととなります。安全性に問題がない場合には、評価書(案)の審議に移りたいと思います。

その後、飼料としての安全性を確認し、安全性に問題が残る場合は指摘事項を出すこととなります。安全性に問題が残らない場合には、飼料の評価書(案)の審査に移りたいと思います。

それでは、事務局から御説明をよろしく申し上げます。

○鶴身課長補佐 御用意いただきます資料としては、このブルーの厚いファイルになります。これの最初のところに「回答書」というタグがございますので、その回答書に基づいて御説明をさせていただきます。

めくっていただいて、2ページからそれぞれ指摘事項ごとに回答が提出されておりますので、御説明させていただきます。

まず、2ページ目で指摘事項1ですが、前回の回答書で、旧概要書に添付されている資料、引用文献については改めて添付をすることということで今回の回答書には添付されております。

指摘事項2にまいりまして、前回の回答書の中で2種類のタンパク質の相互作用で、それぞれの作用が独立していて、両タンパク質が相互に作用することはないという点について、具体的な実験結果や論文をもって総合的に判断した場合には適切な表現にすることという指摘をしております。

回答といたしましては、記載のとおり、総合的に判断を行いましたということで「1酵素反応」といたしまして、GAT4601タンパク質の作用機作について記載されております。除草剤グリホサートをN-アセチル化して、除草剤の耐性を付与するというものでございます。

4ページにまいりまして、GM-HRAタンパク質の作用機作について説明がされております。

アセト乳酸合成酵素阻害剤の存在下でも、ALS 反応を触媒することができるということで、このように両タンパク質は異なる基質を利用しており、それぞれの酵素反応やそれによって生じる化合物も異なるということでございます。

5 ページの下の方にまいりまして「2 構成成分分析」です。

6 ページにまいりまして、構成成分の分析の結果、2 種類のアセチルアミノ酸、それから、2 種類の脂肪酸を除いて、非組換えダイズと同等であるということが確認されており、特に両タンパク質はアミノ酸の代謝に関連して反応を触媒するというので、アミノ酸や遊離アミノ酸の含有量は同程度であったことから、両タンパク質による相互作用が生ずる可能性は低いと考えられるとされています。

その次のパラグラフにまいりまして、*N*-アセチルアスパラギン酸及び *N*-アセチルグルタミン酸の増加量は、GAT4601 タンパク質に起因するものであること。

その次に、ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の含有量の変化が GM-HRA タンパク質の導入によるものと考えられる。それぞれの機作については、後の指摘事項について回答がされております。

「3 農業形質」としては、対照に用いた非組換えダイズと同程度であることが確認されております。

「4 総合考察」といたしまして、これらのことから、両タンパク質による相互作用が生ずる可能性は低いと総合的に判断をしたとされております。

7 ページから、概要書の修正事項になっております。

8 ページにまいりまして、指摘事項 3、*gat4601* 遺伝子において触媒活性が認められた D-2-amino-3-phosphonopropionate について、植物体内で存在するものかどうかという指摘でございます。

回答といたしましては、この物質については基質特異性を調べるために、今回、グリホサートの類似化合物として化学合成したものであるということで、植物体内に存在するかどうかについては、データベース、それから、文献等を検索したところ、見つからなかったということです。これらのことから、植物体には存在しないと考えられるという回答となっております。

9 ページにまいりまして、指摘事項 4 になります。除草剤散布を行った本組換えダイズの含有成分の分析という指摘でございます。

回答といたしましては、添付資料の 1～3 に提出されておりますが、概要といたしまして以下に記載されております。

2005年に米国、それから、カナダの圃場において、登録された使用基準の最大使用回数及び最大薬量を使用して、試験をしております。グリホサート、それから、2種類のアセト乳酸合成酵素阻害剤を用いております。

10ページにまいりまして「1 主要構成成分の分析」です。タンパク質等の主要構成成分の分析の結果、非組換えダイズとの間で統計学的な有意差は認められておりません。

11ページにまいりまして「2 脂肪酸組成の分析」です。一部の脂肪酸に非組換えダイズとの間で統計学的有意差が認められておりますが、ヘプタデカン酸、それから、ヘプタデセン酸以外のものについては、いずれも文献値の範囲内であったということでございます。

下線部のところになります。非散布、それから、散布におけるヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸の含有量は同程度であったということでございます。

14ページにまいりまして「3 アミノ酸組成の分析」を行っております。アミノ酸の分析の結果、非組換えダイズとの間で統計学的有意差は認められていないということでございます。

16ページにまいりまして、一番上のパラグラフになります。N-アセチルアスパラギン酸、N-アセチルグルタミン酸の分析の結果、除草剤散布を行わなかった場合と同様に、統計学的に有意に増加しているということが確認されております。

また、次のパラグラフになります。除草剤非散布と除草剤散布におけるN-アセチルアスパラギン酸、N-アセチルグルタミン酸の含有量は同程度であったということでございます。

表の下にまいりまして、遊離アミノ酸についても分析がされております。一部の項目で統計学的有意差が認められておりますが、オルニチンを除いては許容値の範囲内であったということでございます。オルニチンについては、その含有量が全体の0.1%程度と低く、許容値の範囲を求めることができなかったということもあって、擬陽性の検出を少なくしたFDRという手法を用いて解析をしたところ、統計学的有意差は認められていないという結果になっております。

19ページにまいりまして「4 ミネラル類の分析」です。こちらについては、非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められておりません。

20ページにまいりまして「5 ビタミン類の分析」ですが、一部の項目で有意差が認められておりますが、許容値あるいは文献値の範囲内であったということでございます。

22ページにまいりまして「6 栄養阻害物質等の分析」です。こちらにも一部の項目で非

組換えダイズと比べると統計学的有意差が認められておりますけれども、いずれも許容値または文献値の範囲内であったということでございます。

24 ページから、概要書の修正事項について記載がされております。

26 ページにまいりまして、指摘事項 5 になります。ヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸の含有量の増加について、奇数炭素鎖脂肪酸等の先天性代謝異常症患者に対して問題がないかどうか、注意喚起表示の必要がないかどうかについて考察をすることという指摘を出しております。

回答といたしまして、有機酸の先天性代謝異常症として、プロピオン酸血症、それから、メチルマロン酸血症等が知られている。これらの患者に対する影響について、以下に考察をしたということでございます。

3 パラグラフ目になりますが、我が国では、1 社のみがこれらの患者向けの特殊ミルクを製造しており、問い合わせたところ、脂質の組成成分については、分析したデータがないという回答でした。

ただ、最後のパラグラフの下から 4 行目ぐらいになりますが、いずれも使用原材料として、大豆油は使用されていないということ。それから、下から 2 行目になりますけれども、これらの特殊ミルクのみでは栄養分が十分でないことから、別の食品、母乳や一般の調整乳を併用しているということが言われているそうです。

27 ページにまいりまして、それを受けて、母乳に含まれるこれらの脂肪酸含有量との比較がなされております。

表 11 にございますように、母乳に含まれるヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸の含有量と比較をしたところ、これを超えるものではなかったということでございます。また、繰り返しになりますが、特殊ミルクには、大豆油は使用されていないということです。

これらのことから、増加が認められた奇数鎖脂肪酸について、有機酸の先天性代謝異常症患者に対して安全上の問題が生じる可能性は低いと考えられるということでございます。

28 ページにまいりまして、指摘事項 6 になります。分岐アミノ酸経路について「大腸菌由来変異型アセト乳酸合成酵素とダイズ DP-356043-5 中で生産される GM-HRA タンパク質について、同種の構造変異が起こっていることから α -ケト酪酸に対する基質親和性が類似している」としている点について、文献調査や、具体的な酵素活性の分析データ等を踏まえた、科学的根拠に立脚した考察をすることという指摘をしております。

回答といたしまして、最初のパラグラフから 3 つ目のパラグラフにかけまして、奇数鎖、それから、偶数鎖脂肪酸の合成経路について記載がされております。

これらについては、32 ページに「図 3 偶数鎖及び奇数鎖脂肪酸の生合成経路」ということでそれぞれ記載がされております。

28 ページに戻っていただいて、最後の行から 29 ページにかけてになりますけれども、大腸菌由来のアセト乳酸合成酵素 II (ALSII) の触媒活性に関する研究において、464 番目のトリプトファンをロイシンに置換することによって、ピルビン酸と比較をして、 α -ケト酪酸の基質親和性が 50 分の 1 に減少していることが知られている。同じように、GM-HRA タンパク質においても相当する箇所がロイシンに置換されているということでございます。

2 パラグラフ目、3 パラグラフ目にまいります。近年のさまざまな報告によりますと、もう一つの大腸菌由来のアセト乳酸合成酵素 I (ALSI) では、ALSII の 464 番目に相当するトリプトファンがグルタミンになっている。それに伴って、 α -ケト酪酸に対する基質親和性が低いことが示されている。また、ALSII の 464 番目のトリプトファンをロイシンを含む 5 種類のアミノ酸に置換したところ、触媒活性にはあまり影響がないが、 α -ケト酪酸に対する親和性はいずれも低下したという報告もあるということでございます。

最後のパラグラフについては、トウモロコシでも ALS のアミノ酸を置換することにより、基質への親和性の変化が認められるということが参考に記載されております。このトウモロコシについては、審査の方はまだ行っておりません。

30 ページにまいりまして、結論といたしまして、これらの酵素反応や反応活性部位の解析等の知見から、GM-HRA タンパク質における 560 番目のトリプトファンのロイシンへの置換によって、 α -ケト酪酸に対する基質親和性が低下する可能性が示唆されている。そのため、一つの可能性として、 α -ケト酪酸濃度がピルビン酸濃度に比べて相対的に上昇して、それに続く奇数鎖脂肪酸の合成量が増加したものではないかと考えられるということでございます。

以下に概要書の修正事項が記載されております。

続いて、34 ページにまいりまして、指摘事項 7 になります。Canavan 病等 *N*-アセチルアスパラギン酸の蓄積によって引き起こされる病気について、再度、文献検索を行い、NAA の毒性、それから、患者に対する安全性や乳幼児への影響について回答することという指摘をしております。

回答といたしましては、2 パラグラフ目にありますが、文献検索を行ったところ、NAA に毒性があるという報告はなかった。また、ラットにおける急性毒性試験や 28 日間の反復経口投与毒性試験においても、毒性の症状は認められていないということが記されてお

ます。

それから、カナバン病について「1 カナバン病は、アスパルトアシラーゼが働かないことにより発病する遺伝的代謝疾患です」ということをございます。

カナバン病は、脳で発現するアスパルトアシラーゼ遺伝子の欠損、または本発現酵素の活性低下により発病するという遺伝的代謝疾患であるということをございます。

最後のパラグラフに行きまして、アスパルトアシラーゼは、NAAを遊離L-アスパラギン酸と遊離酢酸に代謝する反応を触媒する。カナバン病患者はNAAを代謝することができず、したがって、脳内のNAA濃度が、健常者より高いことが報告されている。これらのことから、NAAの濃度の上昇が、カナバン病の症状の直接の原因となっているか、または影響を与えているという仮説がありますが、しかしながら、NAAが直接の病因となっていることを示した報告は見当たらなかったということをございます。

「2 カナバン病の症状は、NAAを代謝できないことに起因すると考えられます（酢酸欠乏仮説）」。アスパルトアシラーゼによってNAAが代謝されて生じる遊離酢酸は、脂肪酸の生合成経路における初発化合物である。この脂肪酸は、発達段階における中枢神経系の軸索髄鞘形成に必須であることから、この軸索髄鞘形成異常がカナバン病の諸症状の原因であるという仮説が提唱されており、それ以外の多くの論文においても本仮説が支持されているということをございます。

36 ページにまいりまして、下線部のところになりますが、カナバン病の原因は、NAAにより直接引き起こされるのではなく、アスパルトアシラーゼ遺伝子が機能しないことにより起因するものと考えられるということをございます。

「3 DP-356043-5に由来するNAAの摂取量の増加が、脳内で生合成される総NAA量に及ぼす影響」ということで考察がされております。

(1) として、まずヒトの脳内総NAA量について計算がされております。

37 ページの(2)になりまして、食品からのNAA摂取量について計算がされております。

(3) として、ダイズをすべて本組換えダイズに置き換えた場合の増加量について試算がされております。

これらの3つの点から、38 ページの結論のところになりますけれども、摂取するダイズをすべて本組換えダイズに置き換えて、すべてが脳に到達すると仮定した場合でも、NAAの増加量は、成人で脳内総NAA量の0.1~0.2%、大豆調整乳を摂取する乳幼児の場合では0.006~0.007%と微量であることから、脳内の総NAA量に影響を与えるものではないと考えられるとされております。

4として、カナバン病患者や乳幼児の健康に与える影響について考察されておりますが、カナバン病は、NAAにより直接引き起こされるものではないこと。それから、先ほどのダイズ食品がすべて本組換えダイズに置き換わった場合、増加量は微量であると考えられることから、カナバン病患者の健康に影響を与える懸念はないと考えられるということでございます。

その次のパラグラフで、大豆調整乳を摂取する乳幼児についても、その増加量は微量であることから、乳幼児の健康に影響を与える懸念はないと考えられるとされております。

最後に「5 結論」として、繰り返しになりますが、カナバン病は、アスパルトアシラーゼ遺伝子の欠損により発病する、まれな遺伝的代謝疾患で、そのパラグラフの最後になりますが、NAAの摂取量の増加が、カナバン病の原因となるおそれはないと考えられるとされております。

また、ダイズが本組換えダイズにすべて置き換わったと仮定した場合でも、脳内総NAA量と比較をして、低いものである。また、NAAそのものに毒性があるという報告はないこと。

これらのことから総合的に考察をして、NAAの増加量が、カナバン病患者、それから、乳幼児を含めたヒトの健康を害するおそれはないと考えられております。

また、参考に、米国において、FDA、USDAにおいても、カナバン病患者に対して安全性上の懸念を与えるものではないというような評価がなされているということでございます。

それから、40ページになりまして、指摘事項8になります。前回の回答書で、それぞれの食品中のNAA、NAGの含有量について記載がありましたが、実際に本組換えダイズを用いて作成したものかどうか。また、濃縮された製品の場合、最大摂取量とその際の健康影響についてどうなるのか、考察をすることという指摘をしております。

前回の回答書の中で、表に記載されたダイズの中で、その表12にございますように、豆腐、豆乳、おから、精製した油であるRBD油については、それぞれ、本組換えダイズを用いて、実際に作製をして、測定をしたものです。

また、豆腐や豆乳に含まれるそれぞれのNAA、NAGの量について見ますと、濃縮は認められなかったということでございます。

41ページにまいりまして、市販のしょうゆについてNAA、NAGの量の分析がされております。市販のしょうゆに含まれる、これらの量と、それから、非組換えダイズに含まれるNAA、NAGの含有量の比較をしていますが、その結果、しょうゆの醸造過程で濃縮される可能性は小さいと考えられております。

2 パラグラフ目になりますが、本組換えダイズの種子中のアミノ酸組成に差はないこと、またラットにおける 90 日試験の結果から、有害な影響は認められなかったこと、また、最後から 2 つ目のパラグラフになりますが、NAA、NAG はこれまでもいろんな食品で日本人は摂取をしていることから、総合的に考察をして、NAA、NAG の増加量について、ヒトの健康を損なうようなおそれはないと考えられるとされております。

42 ページにまいりまして、指摘事項 9、ラットにおける 90 日試験です。前回の回答書にありましたが、飼料中の NAA、NAG の量について、実際に測定したものであるかどうかを回答することが 1 つと、対照群で腎臓結石や肝臓に炎症が見られていることから、この試験が適正なものかどうかについて回答することという指摘をしております。

回答といたしましては、資料中の NAA、NAG の量については、前回提出された報告書には記載がなく、別の報告書であったことから、今回、改めて提出されております。

具体的には、そこに記載している表 13 のとおりの結果であったということでございます。

43 ページにまいりまして、ラットの 90 日試験が適切に実施されたと考える根拠についてです。

「(1) 腎臓結石について」です。まず、実際に試験がされたのがハスケル研究所というところで行われておりますが、米国において GLP の認定等を受けた検査機関であるということ。

真ん中のところの下線部になりますが、ハスケル研究所におけるヒストリカルデータにおいても、対照群で腎臓結石が認められていること。

それから、まれにはありますけれども、この SD ラットを用いた系統で若齢ラットに腎臓結石の報告もあることが記載されております。

「(2) 肝臓における症状について」ですが、本組換えダイズを用いた 90 日試験において見られた肝臓の所見は、4 段階の評価で軽度なものであったこと。

44 ページにまいりまして、変化と肝臓重量及び機能との間に関連は認められなかったこと。

ヒストリカルデータにおいても、対照群で観察がされていること。

それから、20 週齢の SD ラットで、本試験で認められたものと同様の所見が文献として報告されているということが記載されております。

「(3) 結論」として、①でハスケル研究所は認定を受けた研究所であって、②で腎臓結石、③で肝臓の所見としてはヒストリカルデータ、それから、一般の文献でも報告され

ているものであること。

45 ページにまいりまして、本組換えダイズの 90 日試験は「Food and Chemical Toxicology (Impact Factor 2.4.)」という文献に掲載されているということで、本試験は適切に実施されたと判断したということでございます。

46 ページにまいりまして、指摘事項 10 になります。世代ごとの試験について、T4 世代以降の商品について本組換えダイズとしたことについて、きちんとわかる言い回しに修正することということで、回答のとおり、修正がされております。

47 ページにまいりまして、指摘事項 11 として、ORF の検索についてです。前回、当初の指摘事項で 20~30 アミノ酸を解析するよう指摘をしておりましたが、今回、改めて 20 アミノ酸を基準として、再度、ORF の検索がなされております。5' 及び 3' 末端の近傍配列を含む挿入遺伝子の境界について、20 アミノ酸以上から成る ORF の検索がされております。

その結果、新たな ORF が生じていないことが確認されております。

48 ページにまいりまして、指摘事項 12 です。本組換えダイズにおいて、遺伝子の導入において意図しない ORF や既存の遺伝子が破壊されていないかどうかについて、きちんと精査をして回答することという指摘をしております。

「(1) 近傍配列がダイズゲノム由来であることの確認」です。前回の回答では、ダイズゲノムと一致しないという記載がありましたが、今回、新たに公開されたデータベースを用いて再度検索した結果、近傍配列は、ダイズデータベースの塩基配列と一致したことから、両近傍配列が大豆ゲノム由来であることが確認されましたということでございます。

「(2) 遺伝子破壊の可能性がないかどうかについて」。blastn、blastx、DP-356043-5 の構成成分及び農業形質について評価がされております。

「1) blastn 検索の結果」です。その下から 49 ページにかけて、3 つのデータセットを用いて blastn の検索が行われております。

49 ページの表のすぐ前のパラグラフからになりますが、blastn の検索の結果、データセット①と③を用いた結果では、5' 及び 3' の近傍と高い相同性を持つ配列が検索された。これがダイズゲノムであるということです。また、mRNA 候補、それから、コーディング領域候補と相同性を示す配列は検索されなかったということでございます。

50 ページにまいりまして、データセット②を用いた場合の blastn の結果でございます。その結果、5' 近傍配列に 2 個のダイズ EST 配列が見つかっております。

2 パラグラフ目になりますが、2 個の EST 配列の全長について、タンパク質をコードす

る可能性があるかどうかについて ORF の検索をしております。その結果、それぞれ、2 個、6 個の ORF が検索されております。これら 8 個の ORF について、blastp の検索をしております。blastp の検索の結果、この 8 個のうち、1 個の ORF でイネ由来の 16 個の配列と相同性が認められたということでございます。16 個のうち、13 個はイネの仮想タンパク質、3 個はイネのレトロトランスポゾンであったということで、いずれもダイズ由来のタンパク質をコードするものではなかったということです。また、これ以外の 7 個の ORF では、相同性を示す配列は見つかっておりません。

下から 2 つ目のパラグラフになりますが、ダイズのモデル植物として利用されているミヤコグサやエンドウ等の植物でも、これらの EST 配列の検索をしておりますけれども、相同性のある配列は検索されております。

なお、最後のパラグラフになりますが、下流方向に転写される EST の一部、51 ページの図でいきますと、上側の図の EST の AW760218.1 ですが、下流方向に転写される EST の一部と相同性が認められたということから、挿入遺伝子の境界領域について ORF が形成され、意図しないタンパク質が産生されていないかどうかについて考察がされております。先ほどの境界領域の ORF の検索の結果で述べたように、新たな ORF が見つかっていないことが確認されております。

52 ページにまいりまして「2) blastx 検索の結果」です。5' 及び 3' の近傍について、blastx による検索が行われておりまして、相同性のある配列は検索されております。

「3) DP-356043-5 の構成成分の分析及び農業形質評価」として、非組換えダイズとの間に相違は認められなかった。

「4) 総合考察」としては、blastn の検索、blastx の検索、それから、DP-356043-5 の構成成分の分析及び農業形質の評価の結果、本挿入遺伝子がダイズ中の機能を有するタンパク質をコードする遺伝子中に挿入された可能性は低いものと考察がされております。

しばらく概要書の修正が続きまして、57 ページになりまして、指摘事項 13 になります。タンパク質の加熱処理に関する内容で、再度、議事録を精査の上、きちんとした回答をすることという指摘をしております。

以下が回答ですが、加熱による GAT4601 タンパク質及び GM-HRA タンパク質の高次構造の変化について、ウェスタンブロット法による試験と酵素活性試験を基に考察したということでございます。

今回、上清に加えて、沈殿中のタンパク質を再溶解して、再度ウェスタンブロットの分析を行っております。

その結果、そのページの下の方の下線部になりますが、58 ページの図 6 にありますように、GAT4601 タンパク質においては、上清で免疫反応性は認められず、沈殿物再溶解画分においても免疫反応性が認められた。それから、GM-HRA タンパク質においては、上清で約 50% の免疫反応性が認められ、沈殿の再溶解画分では残りの 50% の反応性が認められたということでございます。

このような結果から、70℃15 分の加熱によって変性・凝集し、遠心分離により沈殿したものであるということが考えられるということでございます。

59 ページとして「2. 酵素活性試験」について記載されております。両タンパクが加熱によって酵素活性を失うかどうか調べられております。

60 ページの図 7 にありますように、GAT4601 タンパク質の酵素活性については、56℃15 分の加熱で完全に失活した。GM-HRA タンパク質の酵素活性については、50℃15 分で完全に失活したということから、両タンパク質とも 60℃15 分の加熱によって完全に失活する。これらのことから、加熱によってタンパク質の高次構造が変化したことが示唆されたということでございます。

61 ページに「3 結論」といたしまして、以上、酵素活性の測定から、60℃15 分の加熱によって酵素活性が失われたことから、両タンパク質が加熱によって高次構造が変化するということが考えられる。また、ウェスタンブロットの結果からも、加熱後、高次構造が変化を起し凝集しやすい性質を有することが示唆されたことから、両タンパク質は加熱によって抗体との反応性が低下することが示唆されたということでございます。

当初、概要書に記載されておりました加熱温度の根拠については、これらの酵素活性で評価した温度で失活していることから、70℃15 分の加熱条件を設定したものであるという記載がされております。

62 ページにまいりまして、指摘事項 14 ですが、動物実験で用いられております S9mix について、試験実施機関で作製したものか、購入したものかを回答することということでございますが、購入した S9 を用いて、試験の際に S9mix を調製したということでございます。

63 ページで、指摘事項 15 ですが、既に自然界に存在するアセト乳酸合成酵素阻害剤のダイズについて、そのダイズと、本組換えダイズとの含有成分の比較をするという指摘をしております。

既にアセト乳酸合成酵素阻害剤に耐性を示すダイズとしては、突然変異によって品種改良されたスルホニルウレア耐性ダイズというものがある。ただ、中ほどの下線部にありま

すが、この種子におけるヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸の含有量を分析したところ、本組換えダイズで認められたような増加は認められなかったということでございます。

64 ページには、それ以外の修正箇所について記載がされております。

回答書については、以上でございます。

○澤田座長 どうもありがとうございました。それでは、ただいまの回答につきまして、指摘事項ごとに順番に御意見をいただきたいと思っております。

まず、指摘事項 1 でありますけれども、これは提出したということによろしいかと思っております。

続きまして、指摘事項 2 で、これは 2 種類のタンパク質の相互作用について、具体的な実験結果や論文をもって説明してくださいということでもありますけれども、これは飯先生のコメントですけれども、いかがでしょうか。

○飯専門委員 この相互作用に関しては、使っている基質が、たどっていくと代謝経路でも近いところにあるという意味で指摘したところでもあったのですが、その点でもとの書き方では少し問題かと思っていたんですが、回答書では修正されていますし、結論的には相互に影響することはないだろうと推測されますので、よろしいかと思っております。

○澤田座長 ありがとうございます。

ほかに御指摘がなければ、これはよろしいということで、続きまして、指摘事項 3 で、*gat4601* 遺伝子において触媒活性が認められました D-2-amino-3-phosphonopropionate について植物の中で存在するかということでもありますけれども、これも飯先生ですね。

○飯専門委員 これも問題ないと思っております。

○澤田座長 これもよろしいかと思っております。

それでは、指摘事項 4 で、除草剤散布の場合の含有成分について、宿主との差異を追加してくださいということで、これは鎌田先生と橘田先生からコメントが出てきたかと思っております。

まず、鎌田先生、いかがでしょうか。

○鎌田専門委員 これで十分、使ったデータということですので、大丈夫です。

○澤田座長 橘田先生は今日御欠席ですけれども、何かいただいておりますか。

○鶴身課長補佐 確認をいただいております。特に問題はないでしょうという回答のコメントをいただいております。

○澤田座長 それでは、大分膨大な資料をいただきまして、ページをめくらないといけないのでけれども、指摘事項 5 で、26 ページに移ります。これは脂肪酸のヘプタデカン酸

とヘプタデセン酸の増加について安全性に問題がないかということでありますけれども、これはまず代謝異常症の関係で、山崎先生から御指摘をいただいているんですけれども、これは山崎先生の方から何かいただいていますか。

○鶴身課長補佐 コメントをいただいております、指摘に対して適切な回答をしていると判断しました。このダイズを使用した商品に、ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の含有量の増加を注意喚起する表示の必要はないと考えます。回答案は了承しますというコメントをいただいております。

○澤田座長 ほかの先生方から特に御意見がなければ、これも御了解いただいたということで。

それでは、指摘事項6で、これは酵素の立体構造解析や酵素学的解析等に関する文献調査や具体的な酵素活性の分析データ等を踏まえた考察をしていただきたいということであります。これも飯先生ですか。

○飯専門委員 この指摘事項というものは、実は、先ほどの指摘事項2と結構密接に関わっているところがあるんですが、今回、かなり丁寧にロジカルな考察をしてもらっているので、一つの可能性としてはこれでよろしいかとは思いますが。

ただ、指摘事項2にも関わるんですけれども、あくまでこれは可能性の一つとしてとらえておかないとならなくて、絶対こうだということは言えないと考えておくべきだと思います。ですから、このダイズのイベントに関してはこういう性質が出ています、と。それ自身の安全性については、1つ前の指摘事項でも調べられているように、変化そのものが安全性には影響がないという判断をされていることの方がより大事であって、どのような理由で変化したかということの理屈をこのイベントに関して証明しろといっても、多分、今の手持ちのデータからは無理かと思えます。あくまで、一つの考え方としてこういうことがありえますという意味で表現してもらえる限りにおいては、よろしいかと考えております。

○澤田座長 ありがとうございます。

ほかに、追加の御意見はございませんでしょうか。

それでは、後の評価書のときにもう一回御確認いただければと思います。

次は、指摘事項7のカナバン病等に関する御指摘で、これは石見先生と和久井先生からコメントをいただいたかと思えます。

まず、石見先生、いかがでしょうか。

○石見専門委員 カナバン病につきましては、NAAが直接の原因ではなくて、酵素異常な

どによる発症が起こるということです、メカニズムについてはわかりましたので、直接、このカナバン病、また、遺伝病であるということです、ダイズの中の NAA の増加がカナバン病の発症原因になることは考えられないので、その点についてはいいと思います。

それから、乳幼児に関して試算がされているんですけども、脳内の NAA のレベルはかなり高くて、それに対して、この遺伝子改変のダイズを摂取したときの脳内の増加割合が 0.006~0.007% ということで非常に低いということです、濃度からすると恐らく影響はないと考えられます。

ただ、微量だからといって、それでは、安全なのかというところはまた少し違う問題だと思うんですけども、現在のところ、この微量であるというところで問題ないと判断するしか手段がないかなと思います。

あとは、90 日の慢性毒性の試験で、脳の機能に関する、あるいは標本などがあつたか、私は覚えていないんですけども、あと、NAA の亜急性毒性とか急性毒性もやっているみたいなので、そこで脳機能あるいは脳組織に関するデータがあつたか、御確認いただきたいと思うんです。

○澤田座長 どうもありがとうございました。

追加で、まず和久井先生の方から御意見をいただければと思います。

○和久井専門委員 NAA に関しては、回答いただきました状態では、摂取予想量からすれば影響は低いであろうということは理解できます。

ただ、少しだけ、脳内の量がかかなり高い数字が表記されているんですけども、私自身、勉強不足な点があるんでしょうけれども、脳内で NAA というのは、生合成されると書いてあるんですけども、生合成されるんですか。今回、問題になっている点は、要は摂取したものが脳内に流入するといいますか、行く量がどうなのかということで議論が進んできて、その量は少ないということの回答はあるわけですね。

ところが、実際に、この場合ですと脳をホモジネートして、その中から換算した量が 2 g と非常に多量なんですけれども、ここには表題で「3 DP-356043-5 に由来する NAA の摂取量の増加が、脳内で生合成される総 NAA 量に及ぼす影響」と「生合成」という言葉が書いてあるんですけども、少しその辺がストレートに来ないというところだけが少し気になるところです。

○澤田座長 どうもありがとうございました。

脳内で生合成されるかどうかというのは、今すぐには確認できないですね。

○鶴身課長補佐 はい。済みません、それは確認できませんし、また、その後の回答から見ても、生合成に関しては書いていないので、タイトルを変えていただいたらいいのではないかと思います。

○澤田座長 これは後で確認して、まず生合成されるかどうかを確認して、摂取したものが脳にたまりやすいのかどうか。その濃度も確認したいと思います。

ただ、安全性から見ますと問題ないということではよろしいでしょうか。

どうぞ。

○澁谷専門委員 このところは、全体で見ますと、今の、例えば脳にある量の推定量が正しければ問題がないといえるかと思えます。ただ、これは多過ぎるんです。脳にグラム単位でこれがたまっていることになってしまっているんで、その根拠が本当に正しいかどうか、もう一度、確認しておく必要がある。非常に異常だと思うんです。こういう変わったアミノ酸が脳にグラムオーダーでたまっているというのは本当なのかというのは、やはり見ていて非常に気になったんです。そこが崩れると、投与量が非常に少ないから問題ないという論理が崩れてしまうんです。ですから、そこはやはり確認していただきたいと思えます。

もう一つは、前の方の生化学的に安全だと言っている説明のところが、私は素人なんですけど、どうもよくわかりにくくて、言っていることは、このアスパルトアシラーゼが欠損するとカナバン病になる。これがどうもコンセンサスらしいんです。ところが、この酵素というものは、要するに NAA を脱アセチルして、ですから、NAA をアスパラギン酸に変えるという作用と、できた酢酸ができる。この2つなんです。

問題は、この酵素が欠損したら病気になるというのは、NAA がたまるから問題なのか、酢酸が供給されないから問題かというのが、どうも、これを見ると、論文としては両方の意見があると思うんです。ところが、その両方ある中で、ここの説明は、酢酸が供給されないという方が正しいんだと言い切っているわけです。この辺の状況がよくわからない。そこまで言っているのかどうか。

ですから、どうも、そこで見るとおかしいのは、ここのところにも書いている実験で、アスパルトアシラーゼ欠損のラットか何かに、この酵素を外から導入している。そういう実験があって、そうすると、NAA は減りますし、部分的に症状が改善される。ただ、全部は改善されないと言っているんです。それを基にして、だから NAA ではないと言っているんです。これは明らかにおかしくて、NAA が減少していれば、それに対応して酢酸が供給されているはずなんです。ですから、酢酸供給が問題だったら、やはり改善されなければ

いけない。ですから、少なくとも、この実験を基に NAA が問題ではないという論理にはならないはずなんです。

要するに、NAA が問題ではないんだからいいんだという論理が成り立つかどうか、少し疑問なんです。ですから、後ろの方の、供給量が非常にけた外れに少ないから問題ではないというのであれば、それを根拠にというのはわかるんです。ただ、前の方が無理をして、今の段階で決着がついていると言えるのか。そういう書き方は、そのところが決着がついていけばいいんですけども、そうでなければ少し、何でもかんでもすべての面でシロだという言い方はよくないのではないかという気がします。

○澤田座長 ほかに御意見はいかがでしょうか。

これは書きぶりで行きますと、かなり断定的に結論を書いているので、恐らく文献的にはもう少しよくわかっているのではないかと思いますので、そこはよく確認して。

○澁谷専門委員 そうですね。ですから、少なくとも両方の考え方はあり得るわけで、本当に学問的に決着がついていけばいいんですけども、まだ両方ある中で、片方だけと言い切ってしまうと、要するに食品安全委員会が、その中の片側だけを正しいと判断したことになってしまうので、ですから、場合によっては両論があって、決着がついていないのなら、それでいいんだらうと思うんです。それでも、実際にこれから起因する NAA の量が、もともとの存在量を考えれば無視できるという、それでも、安全性の面はそれでいいんだらうと思うんです。

○澤田座長 まず、量的な問題は確認しないといけないんですけども、大体、 $8 \sim 10 \mu\text{mol/g}$ というふうに書いてありますけれども。

○澁谷専門委員 それが正しければいいんですけども、そうすると、ウェットベースだと 0.1% ぐらいがこれを占めることになるんです。ですから、本当にそんなにあるのか、非常に不思議な感じがするんです。

○澤田座長 これはキログラムの間違いではある可能性はありませんか。

○澁谷専門委員 でも、これを基に計算して、脳 1 つにグラムオーダーであると言っているんです。それは非常に想像しにくいといいますか、本当でしたら非常に特異なものなんだという気がするんです。

○澤田座長 これはよく再確認して、一応、関係の先生方に御確認いただいて、問題がなければよし。問題があるようでしたら、もう一度ということにすればいいかと思います。

ほかに、御意見はいかがでしょうか。

それでは、指摘事項 8 で、これはダイズの加工品に関しまして、それを測定して、実際

に濃縮されていないかというのが主な疑問点だったかと思いますが、小関先生と宇理須先生からコメントがありまして、小関先生、いかがでしょうか。

○小関専門委員 少しわかりにくい記載だったので、確認をしたというのが豆腐、豆乳、おからの話であって、あと、しょうゆの場合には濃縮されないかというふうに問うたんですけれども、少しわかりにくい書きぶりではありますけれども、とりあえず、濃縮されないということなので、それであればいいかなと思います。

○澤田座長 宇理須先生は御欠席ですけれども、特段のコメントはございませんでしょうか。

○鶴身課長補佐 いただいておりませんでした。

○澤田座長 それでは、これは一応、よろしいかと思えます。

指摘事項9で、ラットの90日の試験につきまして、飼料中のN-アセチルアスパラギン酸等の含有量の記載箇所とか、対照群で見られました腎臓結石や肝臓における炎症等についてコメントがございまして、和久井先生、いかがでしょうか。

○和久井専門委員 論文も見させていただきましたのですが、GLPに準拠した研究所だからといって、そこのデータがいつも正しいというわけにはいかないと思うんですけれども、対照群の方でも急性から慢性の肝臓障害、肝炎を起こしているという状態で結論を導いて、ですから、この状態ですと対照群、コントロール群で肝炎を起こしていますから、仮にこの試験といいますか、食物を与えた方で異常が起きているかどうかという判断は実はできないわけです。でも、押し通してしまっているところはしょうがないのかなというところはあります。

何でここまで固執しているのかはよくわかりませんが、今、文献の方はあれだったんですが、食べさせた場合の含有量といいますか、混餌投与、餌にまぜて食べさせていると思うんですけれども、その量や何かがやや不適切などころもあるのかなというところで、少し難しいところで、はっきり言えば、このデータからでは、肝臓及び腎臓に関しては、腎臓はまだいいとして、肝臓については評価できないということには変わりはありません。

といって、もう一度、試験をやれというほどの変化は出ておりませんので、不本意ではありますが、この辺でしょうがないのかなという気はいたします。

○澤田座長 この90日の試験の目的は、N-アセチルアスパラギン酸に毒性があるかどうかを知りたいということですね。

○和久井専門委員 はい。

○澤田座長 結論的には、若干問題はあるものの、大きな毒性学的に指摘されるような問題点は見つからないということ。

○和久井専門委員 はい。

○澤田座長 それで、もう一回やれというまでのことはないでしょうということによろしいでしょうか。

○和久井専門委員 そうですね。

○澤田座長 腎臓結石は、モンサントでしたか、ほかでもときどきあって、前にも問題になりましたね。

○和久井専門委員 そうですね、どうしても飼料に実際に混餌させる含有量が高いんですね。ですから、高いパーセントで入れてしまうので、通常の一般毒性試験的なところでの評価と少しそれを組み込むことに、やや問題があるのかというところがあります。

通常の飼料を食べさせたものと、今回の、試験的な飼料を食べさせたものを比較というのは、かなり細かくやっていたかかないと、栄養学的な意味合いのバックグラウンドとしての動物に与える影響というのは、単に栄養素の表を仮につくったとしても、それが生体にどういうふうな影響を与えてくるかというのは、これはイコールで簡単に出てくるものではありません。かなりこれは難しい点で、今、先生からも御指摘があったように、結構普通出てこないような、稀な疾患が出てきてしまう例は確かに多いのはしょうがないのか、今後の課題にすべきなのかと思います。

○澤田座長 どうもありがとうございました。

それでは、次の指摘事項の 10 で、これは T4 世代以降の商品について、DP-356043-5 としたという言い回しに直すべきであるということで、鎌田先生、これはよろしいでしょうか。

○鎌田専門委員 はい。

○澤田座長 これは直したということによろしいかと思います。

続きまして、指摘事項の 11、それから 12 少し関連しておりますので、同時にお聞きしたいと思いますけれども、ORF の検索で 80 個はもう少し少なくしろということと、それに関連して、近傍解析をやる必要性と、それから、その回答を求めたということでありましてけれども、これは小関先生、鎌田先生、飯先生からコメントをいただきまして、まず、小関先生いかがでしょうか。

○小関専門委員 11 に関しては了解しました。12 に関してですけれども、データセットの 1、3 はなくて 2 にヒットしたと、これは EST なわけですから、結局、遠回しな言い方を

しているんですけれども、52ページの農業形質のところ、ダイズの機能を有するタンパク質をコードする遺伝子中に挿入された可能性は低い、タンパク質をコードしないところに挿入されている。要するに EST ですから、mRNA として転写されている領域に入っているというのは、紛れもない事実だと思います。

では、問題は何かということなんですけれども、鎌田先生は、前からすごくおっしゃられていたことだと思うんですけれども、いわゆる挿入領域とかその近傍で、ORF がないのか。読み枠がずれたときに、意図しないタンパク質、毒性あるいはアレルギー性のあるタンパク質はできないのかということ、よく調べ入れるべきであるということが正しくこれだと思うんですけれども、今回これで調べて、長い ORF はそう出てこないだろうということ、考えられると思うんですけれども、恐らく、今までにも、近傍領域について調べるようにいつてきている話であるんですけれども、昔は遺伝子というのはタンパク質をコードしているものしか出てこないはずだとか、ORF を持っているはずだということだけでも、昨今はそうではない、RNA がいっぱい転写されているんだということがわかってきているので、今までのものにおいても、新たな知見として実は EST が整備されてくると、そういうところに入っているというようなものもあるのかもしれないけれども、それが転写されたとしても、この部分で安全性に問題が起こるようなタンパク質は、ORF はないんだということが担保されているのであれば、安全性の上では、ヒトの健康を害することはないだろうと私は判断していくべきではないかと思いました。ですから、これはこれで私は一応納得しました。

○澤田座長 ありがとうございます。鎌田先生、追加でいかがでしょうか。

○鎌田専門委員 追加ではないんですが、基本的には小関先生の考え方でいいだろうということで、最後に、どこまでこういう場合にデータを出してもらうか、ですから境界を挟んで新たなものができていないかどうかということが、そうなると大事なってくるので、そこら辺がきちんとデータとして出されていれば、もしコーティングの中に入っていたとしても、今のようなことから、多分、安全性は評価されているんだろうと考えております。

○澤田座長 続きまして、飯先生。

○飯専門委員 特に、付け加えることはございません。

○澤田座長 一応、回答書を読んでいただきまして、結果としては、今回は問題ないだろうと。

これからも、多分ケース・バイ・ケース的に、いろいろと検討しなければいけないのかなという気はしないでもないですけれどもね。

あと、今回、80個を大体20個にさせていただいたということですが、今後、大体この辺りの数字を使ってほしいということになるかと思えますけれども、それでよろしいでしょうか。

それでは、指摘事項の13で、57ページになりますけれども、これは、加熱処理の問題でありまして、2つ指摘がありました。加熱処理で沈殿するときどういうふうになっているか少しわかりにくいという話と、加熱温度の点であります。

これは、宇理須先生、手島先生、橋田先生からコメントをいただいておりますけれども、手島先生、いかがでしょうか。

○手島専門委員 前回の中では、加熱した後の上清中にタンパクは検出されないというデータしか示されていなかったんですが、今回、その沈殿について、溶かして電気泳動かけて、確認したところ、沈殿しやすい性質であるということを示しているということ、それから、酵素活性が、60℃15分の条件で、ほぼ失活するというデータを出しているということで、このタンパクが、熱に対して安定でないということが示されていると思えます。

願わくば、ELISAを使って、ポリクローナル抗体との反応性がどうなるかということ調べてデータを出していただければと思ったんですが、その実験系が難しいということですので、熱に対して、安定性が悪いということのデータに関してはこれで了解させていただきたいと思えます。

2番目の方の温度の条件ですが、75℃15分を用いた理由ですが、これは、60℃15分の条件で、酵素活性が失活するというデータが出されていますので、70℃15分の加熱条件を用いたということで了解いたしました。

○澤田座長 あとは、70～75℃が、訂正が1つありましたね。ダイズの場合は100℃。

○鶴身課長補佐 前回、回答書で豆乳が70℃前後で、つくられているんじゃないかということで用いたという経緯もあるということも記載されていたんですが、その製造工程の前段階で100℃の加熱がされていたということで、その部分については訂正をしたいということでございます。

○澤田座長 あと、御欠席の宇理須先生から、あと橋田先生から何かコメントはございますか。

○鶴身課長補佐 橋田先生からはGAT4601タンパク及びGM-HRAタンパクは熱処理に対して、安定的でないことが示されたということは了解をしたというコメントをいただいております。

宇理須先生からは特にいただいております。

○澤田座長 それでは、13番は了解いただいたということで、次に14番のS9mixに関しまして、これは和久井先生からいただいたコメントですけれども、これは書いてあるとおりでよろしいですか。

○和久井専門委員 はい。

○澤田座長 それでは、最後の15番で、これは、自然界に存在する阻害剤に耐性のダイズがあるはずなので、その含有成分等についてデータがあれば比較してくださいということで、これは鎌田先生からコメントいただきました。

○鎌田専門委員 最終的には、変異の位置が違ったので結果が全然違うというのがわかったということだと思います。

○澤田座長 それでは、一とおり終わります、一部確認を要するところがありますけれども、特に、今のところは安全性上問題がないということですので、あと、確認だけは、事務局と座長、それから関連の委員の先生でしていただきたいと思います。

それでは、引き続きまして、評価書案の審査を行いたいと思います。事務局から少し急いで御説明をお願いします。

○鶴身課長補佐 本日、お配りいたしました食品健康影響評価に関する資料というものを御覧ください。

①の食品の方になりますけれども、めくっていただいて、6ページ目からになります。御説明をさせていただきます。

Iとして、評価対象食品の概要として名称、性質等は記載のとおりでございます。

II、食品健康影響評価として宿主との相違点、1番の1、宿主については、マメ科のダイズであること。

(2)の供与体については、改変があった *gat4601* 遺伝子は、*Bacillus licheniformis* の株に由来するものであること、改変 *gm-hra* 遺伝子については、ダイズ由来のアセト乳酸合成酵素遺伝子に由来するものであるということでございます。

性質については、それぞれの除草剤に耐性を有するもの、それから導入方法については、パーティクルガンにより導入したものでございます。

2番、食経験、それから次のページの7ページにまいりまして、構成成分等はこれまでのダイズと同じ記載にしております。

4番、食品としての利用方法等については、従来のもので変わらない。

5番、宿主以外のものを比較対象にしている件ですが、8ページにまいりまして、宿主以外のものは比較対象とはしていない。

6 番、相違点といたしまして、改変があった 4601 タンパク及び改変 GM-HRA タンパクが発現をすること。

それから、種子中に *N*-アセチルアスパラギン酸、*N*-アセチルグルタミン酸、ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の含有量が有意に増加することが宿主との相違点であるというふうにしております。

これらのことから、既存のダイズと比較が可能であると判断された。

第 2、組換え体の利用ですが、いずれも除草剤の影響を受けずに成長することができる点。

第 3、宿主に関することですが、第 1、分類学上の位置づけ、2、遺伝的先祖、3、有害生理活性物質については従来のダイズと同じような記載にさせていただいております。

4 のアレルギー誘発性、5、病原性の外来因子に汚染されていないこと。それから、安全な摂取に関する事項についても、従来のダイズと同じ記載にしております。

10 ページ、近縁の植物種についても同様でございます。

第 4 のベクターに関する事項ですが、本組換えダイズの作出に用いた直鎖状の DNA 断片、PHP20163A は、プラスミド pSP72 を基に構築がされております。

2 番、性質に関する事項で、塩基数及び塩基配列は明らかとなっていて、(2) 切断地図、これについても明らかとされております。

(3) 有害塩基配列を含まないことで、それらは含まれておりません。

(4) 薬剤耐性遺伝子については、プラスミド pSP72 については、アンピシリン耐性マーカー遺伝子が含まれておりますが、宿主に導入した直鎖状断片については含まれておりません。

伝達性に関する事項については、伝達を可能とする塩基配列は含まれておりません。

第 5、挿入 DNA、遺伝子産物等に関する事項ですが、1、挿入 DNA の供与体でございますが、(1)、先ほどもありましたように、改変 *gat4601* 遺伝子は、*Bacillus licheniformis* の St401、B6、DS3 の株に由来する *N*-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子を基に作成されたものである。

改変 *gm-hra* 遺伝子は、大豆のアセト乳酸合成酵素遺伝子を改変したものということでございます。

(2) といたしまして、これらについては、11 ページの上になりますが、 α -アミラーゼ等、食品製造の生産過程、それから、ダイズについても、古くから食用に供されているということでございます。

2番、挿入 DNA または遺伝子またはその産物の性質ですが、(1) クローニングに関してです。改変 *gat4601* 遺伝子についてですが、グリホサートに対する N-アセチル活性を持つ、*Bacillus licheniformis* の 3 つの株を選抜して、それぞれのゲノム DNA から N-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子をクローニングした。

このクローニングをした 3 つの遺伝子を制限酵素で処理をして、PCR 法によって、ランダムに再構築をすることによってグリホサートに対する N-アセチル化活性が高まるように作成をしたものというところでございます。

それから、アセト乳酸合成酵素遺伝子については、ダイズに由来するものであって、既に商業化されている遺伝子を参考に、アミノ酸配列を 2 か所置換させるような改変をしたということでございます。

(2) 塩基配列、切断地図等は明らかにされております。

(3) 機能に関する点については、まず、改変 GAT4601 タンパクは、グリホサートの機能を損なわせるということでグリホサートに耐性を有すること。

それから、改変 GAT4601 タンパクは毒性タンパクとの構造相当性がないことを確認するために、NCBI のデータベースを用いて、blastp を行っていますが、既知の毒性タンパクとの相同性は見つかっておりません。

改変 *gm-hra* 遺伝子についてですが、次のページにまいりまして、アセト乳酸合成酵素を阻害する除草剤の存在下でも活性を示して、分岐アミノ酸が合成されるということでございます。この改変 GM-HRA タンパクも同様に既知の毒性タンパクとの相同性について検索をしておりますが、見い出されたものはなかったということでございます。

(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関することですが、発現ベクターを構築する過程で作成したプラスミド PHP20163 には、ハイグロマイシン耐性マーカーが含まれていますが、最終的に宿主に導入した直鎖状の断片には含まれておりません。

3番、挿入遺伝子、耐性遺伝子の発現に関わる領域に関する事項ですが、(1) プロモーター、(2) ターミネーター、(3) その他としては、記載のとおりとなっております。後ほど表で出てまいりますので、御確認をいただきたいと思います。

4番、ベクターの挿入 DNA の組込方法ですが、次のページにまいりまして、プラスミド pSP72 に、改変 *gm-hra* 遺伝子カセットを挿入して、ついで改変 *gat4601* 遺伝子の発現カセットを挿入して、プラスミド PHP20163 を構成し、制限酵素で処理することによって直鎖状の DNA 断片を得たということでございます。

構築された発現ベクターに関しては、(1) 塩基数及び塩基配列、切断地図が明らかと

なっております。

(2) ORF に関しては、含まれていないということが確認されている。

(3) 導入方法に関しては、パーティクルガン法により作出をしたものであります。

(4) 純化されていることについては、直鎖状断片については、アガロースゲル電気泳動によって単離、純化されているということでございます。

その下に表として、挿入 DNA のそれぞれの構成について記載をしております。

6 番、導入方法等については、パーティクルガン法を用いて導入して、アセト乳酸合成酵素阻害剤を含む培地で選抜をして再生個体を得たということでございます。

第 6、組換え体に関する事項ですが、遺伝子導入に関する事項として(1) コピー数それから近傍配列に関する事項です。

サザンブロット分析によって、1 コピーの直鎖状断片が完全な形で導入されていることが確認されております。

なお、343 行目ですが、プラスミドの外骨格領域が挿入されていないことについてもサザンブロットで確認をされております。

また、347 行目になりますが、組換え体の挿入領域の塩基配列について確認をしたところ、直鎖状断片と完全に一致することが確認されております。

最後の行からになりますが、挿入遺伝子の近傍配列がダイズゲノム由来であることの確認ですが、次のページにまいりまして、PCR による確認、358 行ぐらいになりますが、blastn による確認、最後の方の 370 行目になりますが、blastx による確認。これらによって、近傍配列がダイズゲノム由来であるということが確認されております。

(2) ORF の確認でございます。次のページにまいりまして、近傍配列との接合部において、意図しない ORF が生じていないことが確認されております。

2 番、発現部位、時期、量については記載のとおりでございます。

3 番、遺伝子産物が 1 日タンパク摂取量の有意な量を占めるかどうかですが、日本人の 1 人が 1 日当たりに摂取するダイズをすべて本組換えダイズに置き換えて計算をしたところ、1 人 1 日当たりのタンパク摂取量に占める割合については、 2×10^{-5} 及び 7.7×10^{-5} パーセントになるということでございます。

4 番、アレルギー誘発性に関する事項です。

(1) 供与体の誘発性については、GAT4601 の方については、アレルギー誘発性の報告はない。

一方、GM-HRA の方については、ダイズですので、一般によく知られているということで

ございます。

(2) 遺伝子産物に関することですが、これまで、*N*-アセチルトランスフェラーゼが誘発性を持つという知見は報告されていない。また、アセト乳酸合成酵素が、アレルギー誘発性を持つという知見は、報告がされておられません。

(3) 物理化学的処理に対する感受性ですが、①人工胃液に対する感受性として、両タンパクとも SDS-PAGE、それから、ウェスタンにおいて 30 秒以内に消化されております。

②人工腸液ですが、431 行目ぐらいになります。GAT4601 タンパクは、SDS-PAGE で 2 分、それから、ウェスタンにおいて 5 分、もう一方の GM-HRA タンパクは、SDS において 30 秒、ウェスタンで 2 分以内に消化がされた。

③加熱処理に対する感受性といったしましては、GAT4601 タンパクは、56°C 15 分、それから GM-HRA タンパクは、50°C 15 分の加熱処理で失活することが確認されています。

また、70°C 15 分の加熱処理のウェスタンにおいても不安定であることが確認されているということでございます。

(4) 遺伝子産物と既知アレルゲンとの相同性について、80 残基以上のアミノ酸について 35% 以上の相同性は見られておりません。それから、連続する 8 つのアミノ酸についても見られておりません。

これらのことから、総合的にアレルギー誘発性を示唆するデータがないということを確認したとしております。

18 ページ、安定性については、3 世代のゲノムについてサザンによる分析の結果、共通のバンドが確認された。

6 番、代謝経路への影響ですが、改変 GAT4601 については、構造解析の結果、低分子化合物が基質になる可能性があり、基質反応実験を行ったところ、グリホサートに対して、高い基質特異性を有しているということが確認されたということでございます。

476 行目のところになります。遊離アミノ酸を含むアミノ酸含有量は、統計学的に有意な差は認められていないということ。

479 行目のところになります。N-アセチルアスパラギン酸、それから N-アセチルグルタミン酸が有意に増加をしているということについては、改変 GAT4601 タンパクは遊離のアスパラギン酸及びグルタミン酸に作用したものと考えられるというふうに記載をしております。

これらのことから、宿主の持つアミノ酸の合成経路に影響は及ぼさないと考えられるとしております。

GM-HRA の方ですが、アセト乳酸合成酵素を阻害する除草剤耐性を有するという点で、次のページ、それぞれのフィードバック制御を受けているという点が一般に知られている。

499 行目、アミノ酸含量、それから遊離アミノ酸の含量が有意に変化をしていないということから、仮に改変 GM-HRA タンパクによって、アセト乳酸合成酵素の触媒活性が高まったとしても、フィードバック制御が働いていると推定ができる。

これらのことから、アミノ酸合成経路に影響を及ぼさないと考えられるとしております。

また、ヘプタデカン酸とヘプタデセン酸の含有量の増加について記載をしております。

これは、導入されたアセト乳酸合成酵素の変異によって、 α -ケト酪酸に対する基質親和性が低下して、奇数鎖脂肪酸の合成の基となる α -ケト酪酸が蓄積をして、合成量が増加したものと推察がされているとしております。

両タンパクの相互作用について、酵素反応や代謝系の特性、構成成分、農業形質から相互作用が生じる可能性が低いと考えられたとしております。

516 行目に「なお」といたしまして、NAA、NAG、それからヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸の含有量が有意に増加しているということから、今後、かけ合わせ品種の安全性評価の場合には、詳細な審査が必要と考えられるという点を追記しております。

7 番、宿主との差異ですが、(2) の脂肪酸の組成のところ、ヘプタデセン酸とヘプタデカン酸の影響について、有意な差が見られたことから健康影響について考察を記載しております。

次のページ、最初のパラとしては、いろんな食品に含まれていて、日常的に摂取をしていること。

それから、544 行目のパラでは、ダイズをすべて本組換え体に置き換えた場合の増加量について記載をしております。

これらのことから、2 つの脂肪酸の有意な増加でヒトの健康を害するような影響は生じる恐れはないと考えられると記載をしております。

もう一方のアミノ酸の関係で、*N*-アセチルアスパラギン酸、*N*-アセチルグルタミン酸が有意に増加していることから、それらの安全性について考察をしております。

559 行目ぐらいのところになります。本組換えダイズのアミノ酸全体に占める遊離アミノ酸の割合は約 0.5% であって、非組換えと比較しても大きな差はないこと。

562 行目のところになります。これらは新たに産生されたものではなく、ほかの食品からも摂取をしていること。

566 行目になります。NAA が蓄積をする疾病としてカナバン病が知られているけれども、

先天性の代謝異常によって引き起こされる疾病であると考えられていること。

それから、ダイズの摂取量がすべて脳に移送されたとして、本組換えダイズを置き換えた場合の全体の脳内の総 NAA の量に対する割合を算出したところ、0.18～0.23%、それから乳幼児の場合では 0.006～0.007%。

575 行目からは、SD ラットにおける 90 日試験の結果を記載しております。

次のページ、579 行目から、これらのことから、2 種類のアセチルアミノ酸について、ヒトの健康を害するような影響を生ずる恐れはないと考えられると記載をしております。

そのほかの物質については、特に有意差は認められないか、もしくは許容値、文献値の範囲内であったという記載をしております。

8、諸外国における認可状況、それから、9、栽培方法、10、種子の生産に関しては、記載のとおりでございます。

第 7、22 ページになりますが、安全性の確認のために、本組換えダイズの亜急性毒性試験の確認ということで、ダイズの 90 日試験の結果を記載しております。

また、申請者から、N-アセチルアスパラギン酸についてデータが提出されたことから、急性毒性、それから亜急性毒性の結果を記載しております。

Ⅲとして、食品健康影響評価として、安全性評価基準に基づいて評価した結果、健康を損なうおそれはないものと判断したというふうに記載をさせていただいております。

以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。時間があまりないわけですがけれども、細かい字句等の修正等につきましては、事務局までお伝えいただきまして、直したいと思えます。

大きなポイントは、ここで御意見を賜っておく必要もあると思えますので、コメントが、もし、大きなことでありましたらお願いしたいと思えます。

まず、とりあえず、19 ページの 6 番まででコメントがありましたらお願いできますでしょうか。

どうぞ。

○飯専門委員 18 ページから 19 ページの代謝経路の話なんですけれども、特に、19 ページの 504 行目と 511 行目の文の最後のところが、それぞれ及ぼさないと考えられるというのと増加したものと推測しているという、表現の仕方がどうするのが適切かと、ちょっと悩ましいところがあります。初めの方の及ぼさないと考えられるというのは、結果的に変化が非常に小さいということであるだけであって、及ぼしているかどうかは、厳密にはわからない。

それから、次の増加したものというのも、あくまでも可能性の一つなんですけれども、実際に、ほかの可能性もあるのですが、その証拠もないし否定もできないということですので、その表現だけ、委員会側から出すものとして工夫した方がいいかと思っ

ていますが、ちょっと、その辺については、なかなかいいアイデアが出てこなかったもので。
○澤田座長 最終的には、もう一回、メール等で御意見をいただきたいと思っ

ていますが、例えば 504 行目でしたら、大きな影響を及ぼさないとか、そういう言い方はあるかと思っ

ています。
○飯専門委員 これよりは弱めた方がいいかと思っ

ています。
○澤田座長 それで、最終的に確認していただければと思っ

ています。
○小関専門委員 そのこのところの最後ですけれども、516～518 行目ということで、結局掛け合わせの考え方のところを見ていただくとわかるんですけれども、緑色のファイルの 2 番です。3つのカテゴリーになっているんですけれども、今までの害虫抵抗性、除草剤抵抗性、ウイルス抵抗性、*pat*を入れたものも含めてですけれども、結局、代謝系には影響がないということできていたんですけれども、確かに合成系に対しては、大きな影響はないというようなことではあるんですけれども、代謝産物、プールとして見たときには、*N*-アセチルグルタミン酸等々が有意に増加している。すなわち代謝が影響を受けているということであって、カテゴリーとしては①ではいけない、どうしても考慮しないということは確認しておいた方が、今までのものはそういうものはなかった。これは、そういう意味では、1ではないということは確認しておいた方がよろしいかなと思っ

ています。
○澤田座長 ありがとうございます。516 行から 518 行は、今までの評価書にない表現でありまして、これは明らかに従来の 1 ではない。ただ 2 と言い切れるぐらい、それほど強くもないので 1 ぐらいかなということで、この 3 行は今回あえて新しく追加されていますので、この点は御確認しておいていただきたいと思っ

ています。
ほかに、よろしいですか。

どうぞ。

○澁谷専門委員 細かい点になるんですが、487 行目のところから、以上のことから云々というフレーズがあります。ただ、アミノ酸合成に影響を及ぼさないと書いてあるんですけれども、その前のところで、*N*-アセチルアスパラギン酸のことをいろいろ書いているので、以上のことからというのは、その前のアミノ酸組成等をやったら変化がなかったとい

うふうに後ろに付けた方がいいと思います。

ですから、478行目の後にこれを持ってきてしまって、アミノ酸組成合成系には影響はないけれども、特異的な問題として起きていることは後ろに持ってきて、ですから「以上のことから」という3行を前の方に持ってきたらいいのではないかということです。

○澤田座長 もし、その訂正で差し支えがあるようだったら、もう一度御相談するという事で、それでは、19ページから最後までですけれども、この辺りで大きな点で何かございましたらお願いいたします。

今回、今までの評価書と違うところは、22ページの617行～624行が、一応、今までは安全性確認のために必要ないけれども、なお書きで書いてあったんですけれども、一応、このデータを安全性評価の参考にしたということでありますので、こういう書きぶりになっております。

○澁谷専門委員 先ほどと議論が続くんですけれども、567行と568行のところは、後ほどデータ、回答なんかを見てからかもしれませんけれども、N-アセチルアスパラギン酸によって引き起こされるのではないと断言しているんですが、それでいいのかどうかということと、その後ろの先天性代謝異常、これはちょっとおかしいですね。つまりN-アセチルアスパラギン酸がたまること自体が先天性代謝異常なんであって、ここは何も言っていないのと等しいので、N-アセチルアスパラギン酸によって引き起こされるのではないというのであれば、そこでやめておくか、酢酸の供給不足と考えられていると、そこまで踏み込むのか、いずれにしても少し考える必要があるような気がします。

○澤田座長 これは後で御確認いただければと思います。そのあとのパーセンテージも確認して、数字を修正する必要があるれば、修正しなければいけないと思います。

ほかにありませんでしょうか。どうぞ。

○石見専門委員 580行目のところ、さっきの飯先生のコメントと同じなんですけれども、ヒトの健康を害するような影響を生ずるおそれはないと考えられると断定しているので、できたら影響を生ずる可能性は、現在のところ、影響を生じる可能性は低いと考えられたぐらいの表現がいいかなと思いました。

○澤田座長 それも、検討させていただきたいと思います。

ほかにございませんでしょうか。

それでは、今、いただいたコメント等は、事務局と関係の先生方と座長の方で一応検討いたしまして、大きな問題がありましたら、また、御連絡するという事にさせていただきたいと思います。

あと、細かい字句等の訂正が多々あるかと思しますので、それはメール等で御連絡いただければと思います。

それでは、議題1は一応終わります、その他で事務局から何かありますか。

○鶴身課長補佐 特にございません。

○澤田座長 どうもありがとうございました。それでは、本日の、この会議に関しましては、これで終了させていただきます。

今後の予定等について事務局からお願いします。

○鶴身課長補佐 1月の日程だけちょっと御確認をさせていただきます。調整の結果1月27日火曜日の午後が、一番御都合がよろしいかと思しますので、よろしくお願いたします。

○澤田座長 それでは、次回は1月27日ということで、以上をもちまして、65回を終わらせていただきます。

引き続きまして、第66回を開催いたしますので、よろしくお願いいたします。