

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第 70 回会合議事録

1. 日時 平成 21 年 5 月 19 日（火） 14:00～17:38

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

- ・ pCHI 株を利用して生産されたキチナーゼ
- ・ 高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1（食品・飼料）
- ・ パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統

(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、宇理須専門委員、鎌田専門委員、橘田専門委員、手島専門委員、丹生谷専門委員、飯専門委員、山川専門委員、山崎専門委員、渡辺専門委員

(食品安全委員会委員)

見上委員長、小泉委員、長尾委員、廣瀬委員

(事務局)

栗本事務局長、大谷事務局次長、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 1 食品健康影響評価に関する資料

- ① pCHI 株を利用して生産されたキチナーゼ
- ② パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統

資料 2 専門委員からのコメント

高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1（食品）

参考資料 安全性評価に係る指摘事項について

パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ55-1系統

## 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 70 回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催させていただきます。

本日の調査会は非公開で行います。

本日は所用によりまして、小関専門委員、澁谷専門委員、和久井専門委員が御欠席とのことです。

山川先生は少し遅れて来られるとのことです。

本日の議題は、新規審議品目であります pCHI 株を利用して生産されたキチナーゼ及び高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1、継続審議品目でありますパパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統の安全性の審議となります。

それでは、お手元の資料の確認をいたします。事務局からお願いします。

○猿田評価調整官 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。

配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿。

資料 1 としまして「食品健康影響評価に関する資料」。

資料 2 としまして「専門委員からのコメント」。

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、先生方のお手元の机の上に置かせていただいております。本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、次回また配付いたします。

不足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、専門委員の皆様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、非公開で審議をさせていただきます。審議は非公開でございますが、国民への説明責任、透明性の確保の観点から、開催予定日、日時等は公開し、今回は会議が非公開であることを明示しております。今後の情報提供としまして、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の結果の概要、評価結果をまとめた評価書（案）を作成しまし

て、食品安全委員会に報告して、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 ありがとうございます。

それでは、議題（１）の審議に入らせていただきたいと思います。本日はキチナーゼ、高オレイン酸ダイズ、パパイヤの順になっておりますが、キチナーゼ、パパイヤ、高オレイン酸ダイズの順に審議を行いたいと思います。

それでは、まず pCHI 株を利用して生産されたキチナーゼの審議に入らせていただきたいと思います。この品目につきましては、新規でありまして、申請者から申請書が提出されておりますが、当該添加物は遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準の第 3 の対象添加物に該当しない、いわゆるナチュラルオカレンスに該当すると考えられるとされております。

したがいまして、申請書に沿いまして、安全性評価基準の対象添加物に該当するか否かについて御確認をいただきまして、対象添加物に該当しない場合は評価書（案）の審議を行いたいと思います。対象添加物に該当する場合には、安全性評価を行うため、評価基準に沿った資料を更に提出いただくことを申請者に指摘したいと思います。

それでは、事務局から御説明をお願いします。

○鶴身課長補佐 それでは、申請書に基づきまして、御説明をさせていただきたいと思います。お手元の「pCHI 株を利用して生産されたキチナーゼ」という緑のファイルを御用意願います。

めくっていただきまして、申請者は長瀬産業というところになります。

2 枚めくっていただきまして、2 ページです。

「1. 本キチナーゼの使用・開発目的」から御説明をさせていただきます。既存添加物であるキチナーゼは、カニ殻やエビ殻から調製されたキチンまたはキチンオリゴ糖の加水分解に使用され、その主生成物は N-アセチルグルコサミンである。

現在、N-アセチルグルコサミンの製造に用いられる酵素は、キチンオリゴ糖に対する分解活性は有しているものの、より高分子で水に不溶性のキチンに対する分解活性は有していない。そのため、従来は一旦濃塩酸で処理をすることによってキチンをキチンオリゴ糖にまで分解をして、中和した後に酵素を作用させる必要がある。高分子のキチンに対して加水分解活性を有する本キチナーゼを用いると、製造工程での塩酸処理を弱めることができ、更に従来法ではその塩酸処理によって N-アセチル基が脱落するために、収量が低下をしていたということで、これらの改善が期待されるものでございます。

次のパラにございますが、以下に pNAG 株、これは昨年いわゆるナチュラルオカレンスとして既に評価をいただいておりますが、pNAG 株のキチナーゼとのキチン分解に関する特徴の違いが模式

図で示されております。

次のパラでは、目的の遺伝子の供与体として *Streptomyces violaceoruber* 15146 株を選定した理由として、他の菌株由来のキチナーゼ遺伝子との生産性の比較をして選定をしたということが記載されております。

3 ページにまいりまして、また、宿主でございます *S. violaceoruber* 1326 株には、pCHI 株がキチナーゼを生産する条件においてキチナーゼ活性は認められていないということでございます。

「2. 宿主」ですが、*S. violaceoruber* 1326 株。昨年いわゆるナチュラルとして評価をいただいた pNAG 株と同じ宿主になります。

「2.1 非病原性」。当該宿主は、植物、動物に対して病原性、毒性は知られておらず、国立感染症研の病原体等安全管理規定において、バイオセーフティーレベル 1 に該当するとされております。

「2.2 その他の有害生理活性物質」ですが、この宿主は有害生理活性物質の生産は知られていない。また、抗菌活性物質を生産しないことが確認されているということです。

「2.3 食経験について」になりますが、*Streptomyces* 属細菌が基原となる既存添加物については、既に豊富な食経験がある。よって、安全な微生物と一般に認識されており、広く利用がされているということでございます。

次のパラになりますけれども、*S. violaceoruber* はホスホリパーゼ A<sub>2</sub>、既に評価を行っていただいておりますけれども、PLA<sub>2</sub> というものとしても使用がされているということでございます。

4 ページにまいりまして「3. ベクター（プラスミド）について」です。

「3.1 名称」は、pIJ702。

「3.2 由来」は、*S. violaceoruber* ATCC 35287 ということで、以前の pNAG と同じものとなっております。

「3.3 塩基配列、非有害性に関して」「3.4 薬剤耐性」「3.5 伝達性」「3.6 宿主依存性」は、記載のとおりとなっております。

「4. 発現プラスミドに関して」ですが、「4.1 挿入遺伝子の供与体」です。目的の遺伝子、その供与株が下の表に記されております。

表の 1 行目ですが、プロモーターが *S. cinamoneus* TH-2。これがメタロエンドペプチダーゼ遺伝子のプロモーター領域。

それから、目的の遺伝子としまして、*S. violaceoruber* NBRC 15146 株のキチナーゼの遺伝子。

ターミネーターは、*S. cinamoneus* NBRC 12852 株のホスホリパーゼ D 遺伝子のターミネーター領域を使用しているということでございます。

以前、ナチュラルとして御評価いただいた pNAG は、これらのほかに *S. avermitilis* を使用して

いましたが、今回は *S. cinnamoneus* と *S. violaceoruber* のみとなっております。

5 ページにまいりまして「4.1.1 挿入遺伝子供与体の安全性について」ですが、*S. violaceoruber*、*S. cinnamoneus* は、病原性、毒素産生は報告されておらず、また国立感染研の規定においても、バイオセーフティレベル 1 に該当するというごさいます。

「4.1.2 挿入遺伝子供与体の安全な摂取経験について」ですが、*Streptomyces* 属が基原となる既存添加物に豊富な食経験があり、極めて安全な微生物と一般に認識されており、広く利用されているというごさいます。

「4.2 発現プラスミドの性質」ですが、発現プラスミド pCHI は pIJ702-EX-PLA2 を用いて作製されており、ベクター及び挿入遺伝子はすべて *Streptomyces* 属由来のものであるというごさいます。pIJ702 のプラスミドは、平成 16 年に評価をいただいておりますホスホリパーゼ PLA2 の発現プラスミドというごさいます。

6 ページにまいりまして「4.3 メタロエンドペプチダーゼプロモーター (ssmp-pro) の使用について」です。

「4.3.1 メタロエンドペプチダーゼプロモーター (ssmp-pro) の使用理由」ですが、ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> の生産に用いたプラスミドには、もともと PLD プロモーターというものを有しておりましたが、生産性を比較した結果、こちらのプロモーターの方が生産性が高かったというごさいます、用いることにしたというごさいます。

「4.3.2 メタロエンドペプチダーゼプロモーター (ssmp-pro) 挿入プラスミドの構築」として、プロモーター遺伝子は、*S. cinnamoneus* TH-2 株の染色体を鋳型として PCR で増幅させて取得をして、制限酵素で処理をすることにより得た。

なお、プロモーター配列の 3' 末端にキチナーゼ遺伝子を挿入するための ●●● サイトが挿入されております。

「4.4 発現プラスミド (pCHI) の構築」ですが、本キチナーゼ遺伝子は、*S. violaceoruber* NBRC 15146 の染色体を鋳型として、PCR で増幅して取得し、これを先ほどのプラスミドに挿入して、大腸菌由来遺伝子を除去して、pCHI プラスミドを得たというごさいます。

なお、本キチナーゼ遺伝子を挿入するための ●●● サイトを挿入しておりますけれども、この部分はキチナーゼ構造遺伝子の外側にあるために、生産されるキチナーゼタンパク質自体に変化はないとされております。

「4.5 発現プラスミドの宿主への導入方法」ですが、pCHI プラスミドを宿主にプロトプラスト法で形質転換をして、生産株 pCHI を得た。

5 は生産菌株 pCHI のキチナーゼと遺伝子の配列と、もともとの供与体における配列の比較をし

たところ、すべて一致していることが確認されております。

7 ページにまいりまして「6. 本件製品の製造について」ですが、本製品キチナーゼは食品添加物製造業の許可企業である会社で製造がされる。製造工程、製造に用いられる原料、器材は、すべて食品衛生法に準じた添加物製造に合致したものであるということでございます。

「7. *Streptomyces* 属に属する微生物が自然界において遺伝子交換を行う事について」ということで、7 の記載は以前の pNAG と同じ説明がされております。一般的に 16SrRNA が高い相同性を持つ微生物は分類学上近縁であるとされており、プロモーターの供与株、キチナーゼ遺伝子の供与株、ターミネーターの供与株、宿主についても 16SrRNA は、高い相同性を示しているということでございます。

「7.1 *Streptomyces* 属間で遺伝子交換が行われることに対する遺伝学上の根拠」ですが、参考文献 8 にございますが、*Streptomyces* 属の多くが自然界において、菌と菌との接合による遺伝子交換を行うことが記載されている。

7.2 としまして実験室での証明ですが、*S. violaceoruber*、旧名を *S. lividans* の由来の接合プラスミド pIJ101 及びその派生プラスミドである pIJ211 は、実験用の寒天培地及び土壌環境中において、*Streptomyces* 属間で転移をすることが報告されております。また、pIJ101 より派生した非接合性である pIJ702 も接合プラスミドの存在下で、多種の *Streptomyces* 属細菌に転移をされる。更に染色体組換えも起こるとということが報告されています。

*Streptomyces* 属の *S. violaceoruber* 及び *S. lividans* の土壌中の一定の条件下で生活環を追跡した報告によりますと、プラスミド転移、ファージ感染及び細菌の接合がある段階で行われていることが報告されているということです。

「7.3 自然界において、*Streptomyces* 属間で遺伝子交換が行われる根拠」といたしまして、16SrRNA の情報を基に得られた系統樹と、芳香族ポリケタイド生合成に関わる遺伝子情報を基に得られた系統樹を比較しておりますが、相同性の高い芳香族ポリケタイド生合成に関わる遺伝子が分類学上近縁ではない *Streptomyces* 属の菌株に存在することを示しています。これは *Streptomyces* 属の間で広く遺伝子の交換が行われていることを示す根拠である。

また、調べられた菌株の中で、*S. cinnamoneus*、*S. violaceoruber* は菌糸の色素に関する同等の遺伝子を持っており、これらの中で遺伝子交換がされている証拠であるとされております。

これらのことから、申請者の方では、自然界において *Streptomyces* 属間で遺伝子交換が行われることが明らかであると考察されるとされておまして、本品の生産株 pCHI と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在し得ると考えられるとされております。

資料 5 に発現プラスミドの全塩基配列が添付されておりますが、以前 pNAG のときにも指摘があ

ったところではありますが、構築されたものの全塩基配列を解析して記載しているということでございます。

御説明は以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

ただいまの御説明にもありましたように、以前にいわゆるナチュラルとして評価が終了しております pNAG 株を利用して生産されたキチナーゼは、宿主が *S. violaceoruber* で、挿入 DNA が *S. cinnamoneus* と *S. avermitilis* でありましたけれども、今回のものは宿主が *S. violaceoruber*、挿入 DNA が同じく *S. violaceoruber*、プロモーター部分が *S. cinnamoneus* ということでありまして、

それでは、申請書につきまして、各項目ごとに先生方からの御意見をいただきたいと思っております。

順番にいきまして、まず 1 ページは飛ばしまして、2 ページから 4 ページにかけて「1. キチナーゼの使用・開発目的」「2. 宿主」に関する記述がございますけれども、この範囲で何かコメントがございましたら、よろしく申し上げます。どうぞ。

○橋田専門委員 「3.4 薬剤耐性」のところですが、チオストレプトン耐性遺伝子が含まれており、その耐性タンパク質が容易に消化されるということが書いてありますが、一応その文献等があった方がよろしいのではないかと思います。いかがでしょうか。

○澤田座長 これは文献があれば追加していただく。ない場合は、データが必要になりますか。

○橋田専門委員 容易に消化されると言っているということは、それなりの根拠があって書いていますので、それなりのデータがあると思います。

○澤田座長 もし根拠がなかったら、今回に限りましては、記述自身の必要がないということですね。多分、文献はあると思います。

○橋田専門委員 あると思うので、できればお願いします。

○澤田座長 追加させていただきます。

ほかにコメントはございますでしょうか。

それでは、次に 4 ページから、ベクター、発現プラスミド、本生産株の産生するキチナーゼ遺伝子と遺伝子供与体のキチナーゼの同一性について、製品の製造についてでありますけれども、7 ページまでに関しまして、コメント、御意見等がございましたら、お願いします。よろしいでしょうか。

それでは、最後の 7、8 で、これが一番重要なところかと思われましても、自然界において遺伝子交換を行うことについて、諸外国の情報についてであります。7 ページから 8 ページにわたりますので、コメント、御意見がございましたら、お願いします。これは前回提出していただいて、ナチュラルオカレンスに認定した内容とほぼ同じかと思っております。もし追加でコメントがあれば、お

願います。

○澤田座長 コメント等がないようでありますので、先ほどの文献だけ追加していただくということで、ナチュラルと認定してよろしいという御判断をいただいたと思います。

どうぞ。

○五十君専門委員 全体で1つ確認しておきたいのは、ナチュラルオカレンスという話は問題ないと思うんですが、今回、遺伝子供給源は同じ菌種の違う株から遺伝子を持ってきているんですが、どのようにして菌種を同定したかということの記載が充分でないものですから、どういう同定の仕方をして、この菌種としているかという部分の記載を示していただいた方がよろしいのではないかと思います。

といいますのは、菌種の同定を誤っていると、全部の考え方を確認できないということになるかと思いますが、それぞれの株の同定をどのように行ったかという部分を確認させていただきたいと思います。

○澤田座長 *S. cinnamoneus* は一応書いてあります。4ページの下の段に16SrRNAの配列でということです。

○五十君専門委員 16SのDNAの配列で何%というだけでは、実は菌種の同定には分類学的には有効ではないわけですし、何をもってこの菌種としたかという根拠をきちっと記載していただかないと、菌種としての同定には不十分になると思います。

○澤田座長 そうしますと、16SrRNAが一応100%同一であったということだけでは不十分であるので、追加の同定の情報をいただきたいということでもよろしいですか。

あと、*S. violaceoruber*の方ですけれども、そちらは特に問題ないでしょうか。

○五十君専門委員 こちらについても、最終的にはどの数字をもってその菌種としたかという根拠をはっきりしていただければと思います。

○澤田座長 要は、NBRCの株がオーソライズされたものであればいいということですね。

○五十君専門委員 そうすれば、大丈夫だと思います。

○澤田座長 TH-2はオーソライズされていないと思いますので、これ以外の*S. cinnamoneus*であると断定した根拠を追加してくださいということでよろしいですね。

○五十君専門委員 はい。

○澤田座長 それはもう一度出していただく必要がありますでしょうか。

○五十君専門委員 内容さえ確認できれば、特に問題ないと思います。

○澤田座長 それでは、五十君先生と私の方で確認をさせていただきまして、もしそれでよろしければ、そのままナチュラルということにします。もし確認できないようでしたら、もう一度この

場で議論していただくことにしたいと思います。

それでは、一応ナチュラルの認定で間違いのないと思いますけれども、その前提で評価書（案）の審議に移りたいと思います。それでは、事務局から御説明をお願いします。

○鶴身課長補佐 お手元に配付しております資料1「食品健康影響評価に関する資料」を御用意ください。こちらの4ページからになります。

「I. 評価対象添加物の概要」ということで「添加物」としては、pCHI株を利用して生産されたキチナーゼ。

「用途」としては、キチンの加水分解。

「申請者」「開発者」は記載のとおりとなっております。

本添加物は、キチンの加水分解を触媒するキチナーゼの生産性を高めるために *S. violaceoruber* 1326株を宿主として、*S. violaceoruber* NBRC 15146株由来のキチナーゼ構造遺伝子 (*chi* 遺伝子) に *S. cinnamoneus* TH-2株由来のメタロエンドペプチダーゼ遺伝子のプロモーター領域及び *S. cinnamoneus* NBRC 12852株由来のホスホリパーゼD遺伝子のターミネーター領域を結合した遺伝子を導入して作製された pCHI株により生産されたキチナーゼである。

キチナーゼは、カニ殻やエビ殻から調製されたキチンまたはキチンオリゴ糖の加水分解に使用されている既存添加物である。

宿主である *S. violaceoruber* 及び挿入遺伝子の供与体である *S. violaceoruber* 及び *S. cinnamoneus* は、植物、動物に対する病原性、毒性は知られておらず、国立感染症研究所病原体等安全管理規定において、バイオセーフティレベル1に相当する。また、*S. violaceoruber* による有害生理活性物質の生産は知られておらず、抗菌活性物質を生産しないことも確認されている。

宿主、供与体が属する *Streptomyces* 属を基原とする食品添加物については、既に豊富な食経験または使用経験がある。

「II. 食品健康影響評価」としまして「1. 生産株 pCHI株の構築について」ということですが、宿主は *S. violaceoruber* 1326株である。

挿入遺伝子は、記載のとおり、先ほどの御説明のとおりとなっております。

50行目から、発現プラスミド pCHI は、*S. violaceoruber* ATTC35287由来のプラスミド pIJ702を基に作製されたものであり、塩基数、塩基配列、制限酵素による切断地図は明らかとなっている。

上記で得られた発現プラスミド pCHI を用いて、宿主 *S. violaceoruber* 1326株をプロトプラスト法で形質転換し、生産株 pCHI株を得た。

「2. 評価対象添加物に該当するか否かについて」ですが、以下に(1)～(7)まで記載をしております、基本的に pNAG と同じ記載となっております。

(1) では、16SrRNA の相同性について記載しております。

(2) では、接合性プラスミドにおいて、遺伝子交換が行われることについて。

(3) では、派生プラスミドでの遺伝子交換について。

(4) では、土壌中の生活環での菌の接合が生じていることの確認について。

(5) では、滅菌土壌において、水銀耐性遺伝子をエンコードするものが確認されていること。

(6) では、土壌より分離された *Streptomyces* 属について、16SrRNA の系統樹を確認すると、芳香族ポリケチドの生合成に関わる遺伝子が分類学上近縁でないものについても確認がされていること。

(7) では、ストレプトマイシンの生合成に関わる遺伝子クラスターを構成する全遺伝子を持っていること等々を記載しております。

いずれも以前の pNAG と同じ記載となっております。

85 行目にまいりまして、以上 (1) ~ (7) に示される科学的知見から、*S. violaceoruber* 及び *S. cinnamoneus* の間では、自然に遺伝子交換がなされていると考えられ、pCHI 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在し得ると考えることは妥当である。

以上 1 及び 2 の結果から、pCHI 株を利用して生産されたキチナーゼについては、遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準の第 1 章総則第 3 対象となる添加物及び目的のうち、組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合に該当することから、本基準の対象ではないと判断したと記載しております。

以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、ただいま御説明いただきました評価書(案)につきまして、御意見、コメント等を賜りたいと思います。なお、細かい字句等の修正につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただければと思います。

それでは、項目ごとにまいりまして、まず「要約」に関しましては、御意見ありますでしょうか。

ないようでしたら、4 ページの「I. 評価対象添加物の概要」はいかがでしょうか。

それでは「II. 食品健康影響評価」ということで、4 ページから 5 ページにわたりまして、修正等の必要があるところがございますたら、お願いしたいと思います。

○澤田座長 それでは、特段の御意見がないようでありますので、評価書(案)につきましては、一応これでよろしいという御了解をいただいたものと思います。どうもありがとうございました。

あと、五十君先生のコメントに関しましては、メール等で結果の御報告をさせていただければと思います。

それでは、続きまして、パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統の審議に移らせていただきしたいと思います。本品目につきましては、継続の品目でありまして、昨年3月の専門調査会で審議を行い、指摘事項が出されたものであります。指摘事項に対する回答書が提出されておりますので、回答書に基づきまして安全性を確認し、安全性についてなお問題が残る場合はもう一度指摘事項を出す。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。それでは、事務局から御説明をお願いいたします。

○鶴身課長補佐 右肩に ID: 131 と書いてありますが、パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統の昨年3月17日の調査会に対する回答書ということで、下に5月11日の日付が入っているものです。

めくっていただいて「回答書」というタグがございます。回答書のところを2枚めくっていただきますと、5月11日付けで回答が提出されております。

まず指摘事項1からですが、回答書のサザンブロットについてということですが、これは全般にわたる話となります。予測された何 kb のバンドが検出された云々と正確な断片長の記載がある。電気泳動の結果から正確な測定はできないので、英文を参考に要旨を修正することという御指摘でございます。

記載のとおり、英文等を参考に修正がされております。

概要書の下から3分の1ぐらいのところになります。特に下線部のところですが、予想されたサイズのバンドが検出されたが、このバンド以外にもサイズの大きい薄いバンドと約7 kb のバンドが検出されたと英文を参考に修正がされております。

2 ページでも同様の箇所が同様に修正されております。

3 ページにまいりまして、指摘事項2ですが、回答書の10 ページとなっております。これは目的の挿入領域というところになりますけれども、この部分消化により予想よりも大きなサイズのバンドが検出されたとしておりますが、部分消化により生じた切断部位が図の方では赤く示されております。ここに切断部位、*Bgl*II が存在すると回答書になっておりましたけれども、その根拠について明確に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、部分消化の部位の位置は、検出された *Bgl*II、*Stu* I 断片のサイズに基づいて推定された。この位置は *Bgl*II のみの消化による断片サイズとも計算が合っていた。その後、広範囲にわたる近傍配列のシーケンス解析の結果、*Bgl*II の部位があったと予想された位置に *Bgl* II 様の部位が確認されているということでございます。

次のパラにまいりましてけれども、「また」として、SunUp の全ゲノムは既に解読がされておまして、挿入遺伝子及び断片以外は導入されていないことが確認されている。したがって、予想より

も大きなサイズのバンドは部分消化によるものであり、新たな断片ではないという結論をしたというところでございます。

指摘事項の3になりますけれども、以前の回答書でこれまでに55-1系統パパイヤを摂取したことに起因するアレルギー症状の報告はありませんと明確に回答していたところですが、一般的なアレルギー症状の発生は否定できないと考えられることから、適切に修正をすることという指摘でございませう。

これを受けまして、以下のように修正がされております。下線部のところですが、55-1系統のパパイヤの商業栽培が開始されて以来、アレルギー症状の発生が増加したという報告はないため、55-1系統パパイヤのアレルギー性はnon-GMパパイヤと同程度であると考えられると修文されております。

4ページにまいりまして、指摘事項の4になります。以前の回答書において、パパイヤのタンパクをSDS-PAGEで分析したのになっておりますけれども、タンパクのバンドの比較が行われているが、比較は視覚で行われていることから、デンストメトリー等の測定機器を用いた結果があれば提出することとしておりました。

測定機器を用いて行ったものではないという回答でございませう。

指摘事項の5ですが、回答書の表8はパパイヤのタンパク量の比較になります。一般に多群比較ではt-検定は使用せず、多重比較検定を使用することから、実施した統計解析について回答して、修正することという指摘でございませう。

回答といたしましては、統計解析については資料に記載がされている多重比較検定、回答書に記載がされているt-検定の両方を行ってまいりました。御指摘のとおり、多重比較検定が一般的に用いられるとのことから、以下のとおり、多重比較検定の結果を修正したということとございませう。

下に表8として、多重比較検定の結果が記載されております。

5ページの方は、パパイン量の多重比較検定の結果が記載されております。

指摘事項の6になりますけれども、パパインの含有量が有意に低かった根拠、また逆にパパインの含有量が有意に高かった根拠として、ウイルス感染によるものと考察がされてまいりましたけれども、ウイルス感染によりパパインの含有量にどのような違いがあるのかについて示し、修正をすることと指摘をしております。

回答としては、先ほどの指摘の5の回答のあるとおり、多重比較検定を行ったところ、5ページの上の表10にありますとおり、55-1のSunUpとnon-GMのSunsetの間で有意差が認められましたが、前回の統計解析とは異なってRainbowとnon-GMの間では有意差が認められておりませう。

次のパラにまいりまして、ウイルス感染によるパパイン含有量への直接的な影響は明らかではありませんけれども、55-1のSunUpとnon-GMのSunsetの間で認められた有意差は、ウイルス感染を含む複数の要因により生じた生理学的な違いによるものであると考えられる。

例えばSunsetはSunUpよりも完熟するまでに長い時間を要していた。また、Sunsetの深刻なウイルス感染によって、試験に供試できたSunsetの果実はSunUpに比べて34%軽いものであった。一方、未熟果実はより均一であったということで、未熟果実の場合にはパパイン量に統計学的な差は認められなかったということでございます。

よって、ウイルス感染によるパパイン含有量への直接的な影響は明らかではありませんが、少なくともKapoho地域のほ場から採取されたSunsetの果実に関して、何らかの生理学的影響を及ぼしていたと考えられるということでございます。

これらの考察に基づきまして、概要書が同様に修正されております。

6ページの下側、指摘事項の7になりますけれども、タンパクの発現量についてです。GUSタンパクについて、以前はMUG分析法により測定がされておりました。これは正確なタンパクの発現量が測定されていないことから、正確なタンパクの発現量について回答することと指摘をしております。

7ページにまいりまして、ELISA法によるGUSタンパクの発現量のデータが分析されております。

2パラ目になりますけれども、R7世代、R8世代のRainbowにおけるGUSタンパクの発現量は、それぞれ平均159.39ng/g、64.74ng/gであった。55-1パパイヤにおけるGUSタンパクの発現は、非常に変動が大きかったということでございます。

「また」からのパラになりますけれども、この結果に基づきまして、概要書、1日当たりのタンパク摂取量の割合について修正がされております。

7ページが一番下になりますけれども、日本人の成人1日当たりのタンパク質摂取量に対するGUSタンパクの割合は $7.1 \times 10^{-4}\%$ であったと修正がされております。

8ページにまいりまして、成分表の関係ですが、五訂の食品標準成分表にはビタミンC以外にビタミン、ミネラルの成分が記載されていることから、それらを掲載することということで、下のおりビタミンA、無機物の成分値が追加されております。

9ページにまいりまして、指摘事項の9になります。木で熟した果実と保管中に成熟した果実を比較して、有害成分や栄養成分の値の変化について回答することと指摘をしております。

回答といたしましては、木で熟した果実と保管中に熟した果実の構成成分、パパイン量、BITC量の測定が行われております。なお、55-1パパイヤとnon-GMの比較で考察が行われております。

次のパラになりますけれども、今回の試験には 55-1 パパイヤである Rainbow と non-GM として Sunrise と Kapoho を掛け合わせた品種が試験に供されております。

下線部の 2 行目ぐらいになりますけれども、成熟段階あるいは熟し方が異なる果実がそれぞれ用いられ、1 つ目は Color break、着色が始まった時期に収穫をした果実。2 つ目は、木で熟した果実。3 つ目は Color break の時期に収穫をして、20 度で保管された状態で追熟をした果実が用いられております。それぞれ 32 個のパパイヤを 4 サンプルに分けて分析が行われております。

下の「構成成分」のところになりますけれども、合計 38 項目の構成成分について比較が行われています。GM と non-GM で有意差が認められたものは 3 項目、ビタミン A、タンパク、カルシウムであった。

下線部のところになりますけれども、55-1 パパイヤにおいて木で熟したものの、追熟させたものを比較したところ、ビタミン A は木で熟した方が高く、カルシウム量の有意差はなかったものの木で熟した果実の方が低い傾向があったということでございます。ただ、その下にございますが、non-GM も同様の傾向が見られるということでございます。

10 ページにまいりまして、ビタミン A 量ですが、2 行目から GM と non-GM の間でビタミン A とカルシウムの量に有意差が認められましたが、これらの値はこれまでに報告されている文献値の範囲内であったということでございます。

また、タンパク質量について有意差が認められたのは、Color break の時期だけであり、その後、統計学的な有意差は認められていないということで、これらの成分の違いは形質転換や遺伝子導入の影響ではないと考えられるということでございます。また、ほとんどのアミノ酸の量は検出限界以下であったため、検出することができなかったということです。

これらのことから、55-1 パパイヤにおいて Color break 時期の果実、木で熟した果実、室温で追熟させた果実で認められた栄養成分の変化の傾向や差異は、non-GM で認められた差異と同様であったということでございます。

次は「パパイン」ですが、組換えの Rainbow、非組換えのものにおけるパパイン量については、木で熟した場合でそれぞれ 58.1  $\mu$  g/g、non-GM の方が 54.3  $\mu$  g/g、室温で追熟をさせた場合には、GM が 58.6  $\mu$  g/g、non-GM が 55.5  $\mu$  g/g ということです。

また、Color break の時期の果実は品種に関係なく、完熟した果実よりも比較的多くパパインを含んでいたということでございます。

それから 3 行ほど後になりますけれども、Color break 時期において non-GM と比べて高いパパイン量が GM で認められておりますが、この値はこれまでに non-GM の品種において報告されているパパイン量よりも低か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けれども、木で熟した果実、室温で追熟させた果実において Rainbow と non-GM との間で有意差は認められていない。また、木で熟した果実と室温で追熟させた果実の間では、パパイン量に有意な差は認められていないということでございます。

11 ページにまいりまして「BITC」ですが、55-1 系統のパパイヤと non-GM の間に大きな差は認められなかった。また、木で熟した果実と Color break、追熟させた果実で BITC の量の変化は有意なものではなかったということでございます。

12 ページにそれぞれのデータが掲載されております。

16 ページにまいりまして、指摘事項の 10 になります。*nptII* の断片が挿入されておりますけれども、内在性遺伝子の機能に影響を与えていないかどうかを検討して、回答することという指摘をしております。

それらの回答が以下のとおりされております。かぎ括弧のところをかいつまんで御説明をさせていただきますと、*nptII* 遺伝子の断片の近傍の配列について、NCBI Blastn プログラムを用いて相同性検索が行われております。その結果、左右の近傍配列においてパパイヤの葉緑体遺伝子と相同性が認められております。6 行目ぐらいのところになりますけれども、左側近傍で *ndhG*、右側の近傍で *atpB* 及び *atpE* というパパイヤの葉緑体の遺伝子が見つっております。なお、パパイヤの全ゲノム解析の結果、パパイヤの葉緑体ゲノムには挿入遺伝子は導入されていないということが確認されております。

更に *nptII* 断片、その近傍で想定された ORF について、既知タンパクとの相同性検索が行われておりますけれども、先ほどと同じ遺伝子が確認されております。

これらの葉緑体由来の遺伝子が高頻度で植物核ゲノムに存在するということが知られておりますが、以下の理由から、これらの近傍で見つかった葉緑体由来の DNA 配列が核ゲノムにおいて転写あるいは発現しているとは考えられず、よって機能しているとは考えられないと記載されております。

その根拠として、核ゲノムに存在する葉緑体由来の DNA 断片は *nupts* として知られており、今日の葉緑体と植物核ゲノムが形成された DNA 移入の過程で残ったものだと考えられていること。また、*nupts* を構成する DNA 配列やサイズ、位置、その数が種間や同種であっても異なっており、更に植物体の中でも体細胞間で異なることが報告されており、これらは核ゲノムで機能していないと考えられております。

また、時の経過とともに *nupts* が失われていくことが知られているということでございます。

17 ページにまいりまして、*nupts* は複数コピーある葉緑体ゲノムに由来をしており、葉緑体ゲノムによってコードされている遺伝子は、核ゲノムにはない原核生物様の転写・翻訳システムにより

発現している。

したがって、*nupts* が核ゲノムにおいて転写あるいは発現しているとは考えられず、これらの遺伝子は機能していないと考えられる。

また、更に成分分析や生育特性において非組換えとの間で生物学的に意味のある差異は認められていないということからも、重要な機能を持つ内在のパパイヤ遺伝子を破壊している可能性は極めて低いと結論されたとしております。

指摘事項の 11 になりますけれども、要旨について全般的に見直しを行い、全般的に書き直しをしてくださいという指摘をしております。後ほど御説明をさせていただきます。

18 ページにまいりまして、修正事項の 2 点については、記載のとおり修正がされております。

それから、緑のタグで「概要書改訂版」というものが引き続きあると思いますので、先ほどの指摘事項の 11 に沿いまして、主な修正点を御説明させていただきます。

まず 1 ページ、第 I になりますけれども、一番下「(2) DNA 供与体の種名（必要に応じて亜種名、品種名、系統名）及び由来」です。

2 ページにまいりまして「(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法」について、*PRSV CP* 遺伝子のほかに、マーカーとして用いられております *uidA* 遺伝子、*npt II* 遺伝子についてそれぞれ記載をしております。

7 ページにまいりまして「第 2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」です。

一番最後のパラについて追記がされておりますけれども、1998 年に 55-1 パパイヤの栽培がハワイで始まって以降、栽培面積は増加をしていること。

8 ページにまいりまして、これに伴い当然生産量も増加しており、最初のパラの下から 3 行目ぐらいになりますけれども、1999 年から 2008 年までの生産量は約 10 万 5,000 トン程度になろう。このうち約 9 割が生食用として消費されていたと考えられると書かれております。

11 ページになります。「第 3 宿主に関する事項」の「6 安全な摂取に関する事項」として、パパイヤは熱帯地域において食品として長い間親しまれており、我が国においても安全に摂取されてきた歴史がある。

12 ページにまいりまして、パパイヤのうち 90% 以上は生食として消費される。一方、未熟なものは野菜やサラダなどに利用されるほか、パパインを食肉軟化剤や消化薬として食品工業や薬学分野にも使用されている。沖縄を中心とした国内栽培に加え、2007 年には我が国で約 4,000 トン輸入されているということが追記されております。

13 ページ「第 4 ベクターに関する事項」になります。

15 ページにまいりまして、ベクターの地図が追加されております。半分から右側のところぐらい

になりますけれども、パパイヤに導入されている *uidA* 遺伝子、*nptII*、*tetA* などがこれらに含まれております。

16 ページにまいりまして「第5 挿入 DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項」ですが「1 挿入 DNA の供与体に関する事項」です。先ほどもありましたように、*PRSV CP* 遺伝子、*nptII* 遺伝子、*uidA* 遺伝子の由来について、それぞれ記載がされております。

「(2) 安全性に関する事項」で追記がされております。最初から読み上げますと、パパイヤの多くは *PRSV* に自然感染をしており、病徴が余り現われていない個体については食用に供されてきた。下線部になりますけれども、またウイルスの干渉作用を利用したクロスプロテクション法では、ウイルスの感染の前に弱毒化したウイルスを人工感染させている。これまでにこの方法により、弱毒化した *PRSV* を感染されたパパイヤが市場で販売されているが、これらのパパイヤによる健康被害は報告されていない。また、これまでに *PRSV* がヒトや家畜等に対して病原性を示すような報告はないということでございます。

2 の (1) のクローニングですが、*PRSV CP* 遺伝子のクローニングについて記載がされております。下線部のところですが、キュウリモザイクウイルス (*CMV*) ですが、キュウリモザイクウイルスの *CP* タンパクを発現するプラスミドベクターをもともと利用しておりますが、このキュウリモザイクウイルスの *CP* 遺伝子を今回の *PRSV CP* 遺伝子に置き換えることで、これらに必要な転写・翻訳に必要な要素を加えたということでございます。

17 ページの最初のパラの最後の方になりますけれども、これらのプラスミドに組み込まれた *PRSV CP* 遺伝子の発現カセットを *HindIII* で切り出したものを挿入遺伝子として利用したということでございます。

同じ 17 ページの (3) で挿入遺伝子の機能についてです。下線部のところ、*nptII* 遺伝子、*uidA* 遺伝子の機能がそれぞれ追加になっております。

一番最後のパラになりますけれども、挿入遺伝子領域が *PRSV CP* 遺伝子や *uidA*、*nptII* が含まれていますが、それらの挿入遺伝子の領域、*nptII* 遺伝子の断片、*tetA* の断片について ORF 検索した後に *blastp* を用いて既知の毒素との構造相同性が行われております。その結果、既知毒素の間に構造相同性は認められなかったとされております。

19 ページの「4 ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項」ですが、先ほどのプラスミドベクターには、既に *nptII* 遺伝子発現カセット、*uidA* 遺伝子発現カセットが組み込まれており、このベクターに先ほどのキュウリモザイクのベクターから *Hind III* で切り出した *PRSV CP* 遺伝子のカセットを組み込み、*pGA482GG/cpPRV-4* として命名をしたということでございます。

「(2) 目的外のオープンリーディングフレームの有無」については、含まれていないというこ

とが確認されております。

26 ページにまいりまして「第6 組換え体に関する事項」です。ここはかなり大幅に整理して並べ替えて修正がされております。

(1) のコピー数のところで、サザンブロット分析、塩基配列の解析、近傍における PCR の分析の結果、記載の3つの挿入領域が確認されたということです。1つは *bla* 遺伝子断片、*oriColE I*、*uidA* 遺伝子発現カセット、*PRSV CP* 遺伝子発現カセット、*npt II* 遺伝子発現カセット、*oriV* 断片から構成される領域。それから、290bp の *npt II* 遺伝子の断片。それから、220bp の *tetA* 遺伝子に発現ベクターの外骨格配列が挟まれた形で構成される *tetA* の断片が含まれていることが確認されております。

記載のように、それぞれ挿入遺伝子の解析、外骨格等を取りまとめております。

39 ページにまいりまして、*npt II* の断片のところ、先ほどの指摘にもございましたように A-5 として内在性遺伝子への影響ということで、先ほどの回答のとおり修正がされております。

45 ページにまいりまして、A-9 になりますけれども、挿入遺伝子の挿入によって内在遺伝子への影響の文章が更新されております。パパイヤの全ゲノム配列が解析されておまして、近傍で見つかっておりました遺伝子がパパイヤの葉緑体に由来するということが確認されておりますので、記載のとおり、更新がされております。いずれもパパイヤの葉緑体ゲノムの遺伝子であったということでございます。

46 ページにまいりまして、先ほどの回答の *npt II* と同様に、これらの葉緑体由来の配列が核ゲノムにおいて転写あるいは発現しているとは考えられないという記載になっております。

58 ページになります。B-3 で *tetA* の断片の挿入による内在性遺伝子への影響ということについても更新がされております。こちらも先ほどと同じように、パパイヤの葉緑体由来の遺伝子が確認されておりますけれども、同様に修正がされております。

これら以降については、先ほどの回答書のとおり修正がされております。

御説明は以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、回答書につきまして、指摘事項ごとに御意見を賜りたいと思います。

まず、指摘事項1として回答書の1ページから2ページで、サザンブロットの結果に関するところでありますけれども、これは丹生谷先生の御指摘のところでは。

○丹生谷専門委員 表現の修正がなされていて、前に疑問に感じたところは修正されているので、これで結構です。

○澤田座長 それでは、指摘事項の2に移りまして、回答書の3ページの上の部分でありますけれ

ども、予想よりも大きなサイズのバンドが検出された根拠に関しまして、これも丹生谷先生の御指摘でした。

○丹生谷専門委員 制限酵素をシーケンス上できちんと調べたということですから、それで結構です。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項3です。同じく3ページの下部分でありますけれども、アレルギーに関する回答書の記述を適切に直していただきたいという御指摘で、これは宇理須先生からでした。

○宇理須専門委員 この表現でいいと思います。

○澤田座長 それでは、指摘事項4、回答書の4ページの一番上でありますけれども、デンシトメトリー等の測定機器を用いたかどうかという照会でありました。これは手島先生の御指摘ですけれども、いかがでしょうか。

○手島専門委員 これはデンシトメトリーの結果があれば提出ということで、強制したものではありませんでしたので、回答を許容したいと思います。

○澤田座長 それでは、指摘事項5です。これは統計解析の問題でありまして、Student's tではまずいのではないかという御指摘で、これは山崎先生、和久井先生、石見先生から御指摘をいただいたようでありますけれども、まず順番に山崎先生いかがでしょうか。

○山崎専門委員 この統計解析でしたら、問題ないと思います。

○澤田座長 和久井先生は今日まだいらしていませんね。

○鶴身課長補佐 本日は急遽お休みとの御連絡をいただいておりますが、事前に御確認いただいたときには、特にコメントはないということでございます。

○澤田座長 石見先生、御意見ございましたら、よろしく申し上げます。

○石見専門委員 特に問題ないと思います。

○澤田座長 よろしいでしょうか。

それでは、5ページの真ん中辺りから始まる指摘事項6でありますけれども、ウイルスの感染によりパピインの含有量が違うかどうかという点で、これは鎌田先生から御指摘をいただいております。

○鎌田専門委員 いずれにしても、こういう回答しかないと思います。いろんな要因で変わるしかないと思いますので、よろしいかと思ひます。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項7のGUSタンパクの定量的の話で、これも鎌田先生ですね。

○鎌田専門委員 これもこれでよろしいかと思ひます。

○澤田座長 それでは、8 ページの上半分の部分で、ビタミン C 以外のビタミンとミネラルの成分値を掲載するよとということ、石見先生の御指摘だったと思います。

○石見専門委員 指摘したとおり記載がされておりますので、これで了承いたします。

○澤田座長 それでは、9 ページに移らせていただきまして、指摘事項 9 で、木で熟した果実、保管中に成熟した果実に関する成分の違いがあるかどうかという御指摘で、鎌田先生からの御指摘です。

○鎌田専門委員 これはいろんなことが書かれているんですが、基本的には既知の品種の範囲内で最終的には収まったという結論ですので、それでよろしいかと思ひます。

○澤田座長 ありがとうございます。

これはほかの先生方もよろしいでしょうか。

それでは、少し飛びまして、16 ページ、17 ページの指摘事項 10 で、*npt II* 遺伝子由来断片の挿入によって内在性遺伝子への影響等に関する御指摘で、これは澁谷先生の御指摘でありますけれども、今日、澁谷先生はお休みですね。

○鶴身課長補佐 お休みですので、澁谷先生からコメントをいただいております。核ゲノムに存在する葉緑体由来の遺伝子が機能していないというのは一般的な理解である。それであれば、この回答でよいと思うけれども、より専門に近い先生の御意見を伺ってほしいというコメントをいただいております。

また、本日お休みの小関先生にも御確認をいただいております、これでよいと思ひますというコメントをいただいております。

○澤田座長 それでは、ほかの先生方で何か追加でコメントはございますでしょうか。よろしいでしょうか。

○鎌田専門委員 特にないです。

○澤田座長 それでは、最後のコメントで、要旨を全般的に見直して書き直すよとということ、これは小関先生からの御指摘でした。

○鶴身課長補佐 先ほどと同じように、これでよいというコメントをいただいております。

○澤田座長 それでは、ほかに何か追加でコメント等ございますでしょうか。

ないよとありますので、特に安全上の問題がないよとということ、御了解いただいたものと思ひます。

それでは、引き続きまして、評価書（案）の審議に移りたいと思ひます。事務局から御説明をお願いできますでしょうか。

○鶴身課長補佐 別途お配りしております資料 1 の 7 ページからになります。

本文はしばらくめくっていただいて、12 ページからになりますので、12 ページをごらんください。

「I. 評価対象食品の概要」といたしまして、「名称」はパパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統。

「性質」といたしまして、パパイヤリングスポットウイルス抵抗性でございます。

「申請者」「開発者」については、記載のとおりでございます。

パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統は、弱毒化したパパイヤリングスポットウイルス HA5-1 株に由来する *PRSV CP* 遺伝子を導入して作製されており、*PRSV* の感染による影響を受けずに生育できるとされている。なお、選択マーカーとして *E.coli* に由来するカナマイシン耐性遺伝子、 $\beta$ -グルクロニダーゼ遺伝子が導入されている。

「II. 食品健康影響評価」として、第1は宿主との相違に関する事項です。

「1. 宿主及び導入 DNA に関する事項」ですが、宿主はスミレ目、パパイヤ科に属するパパイヤの栽培品種 *Sunset*。

(2) として DNA の供与体ですが、*PRSV CP* 遺伝子の供与体は弱毒化した *PRSV HA5-1* 株であり、*npt II* 遺伝子、*uidA* 遺伝子の供与体は *E.coli* である。

(3) 挿入遺伝子の性質ですが、*PRSV CP* 遺伝子は転写後遺伝子サイレンシングの働きにより、パパイヤに *PRSV* 抵抗性を付与する。選択マーカー遺伝子である *npt II* 遺伝子は、ネオマイシンフオスフォトランスフェラーゼを発現し、カナマイシン等の抗生物質に対する耐性を付与し、*uidA* 遺伝子は酵素  $\beta$ -グルクロニダーゼを発現し、インドール誘導体と  $\beta$ -グルクロン酸の配糖体を加水分解し、色素を生成する。

これらの挿入 DNA を含む発現ベクター pGA482GG/cpPRV-4 をパーティクルガン法により宿主に導入した。

「2. 宿主の食経験に関する事項」ですが、パパイヤは中南米を原産とする熱帯果樹であり、1500 年代にフィリピンやインドへ運ばれ、その後、熱帯アジア、アフリカ、南太平洋地域に普及したとされている。ちょっと文章が長いので、ここは「いる」で切りたいと思います。

現在、中南米、東南アジアなどの多くの熱帯及び亜熱帯地域で栽培をされており、重要な商業作物とされ、長期にわたって食品として摂取されている。我が国においても、沖縄県を中心に商業栽培されている。

3 は宿主の構成成分に関することですが、(1) 主要栄養成分です。果実の主要構成成分は、記載のとおりでございます。

(2) 宿主に含まれる毒性物質・栄養阻害物質等ですが、パパイヤにはベンジルイソチオシアン

酸塩（BITC）、パパイン、カルパインが含まれております。ただ、カルパインは葉に存在をし、果実からは検出されていないということでございます。

4は食品としての利用方法ですが、収穫時期、摂取部位、摂取量、調理及び加工方法は、従来のパパイヤと変わらないということです。

5といたしまして、宿主以外のものは比較対象とはしていません。

6は相違点についてですが、パパイヤ 55-1 は、*PRSV CP* 遺伝子発現カセット、*npt II* 遺伝子発現カセット及び *uidA* 遺伝子発現カセットの導入により、*PRSV CP* mRNA、*NPT II* タンパク、*GUS* タンパクを発現することが相違点である。

以上のことから、パパイヤの安全性評価においては、既存のパパイヤとの比較が可能であると判断された。

14 ページにまいりまして、第 2 の組換え体の利用方法ですが、*PRSV* の感染による影響を受けずに生育することが可能であるとされている。

「第 3. 宿主に関する事項」です。

1 の分類学上の位置づけは、記載のとおりとなっております。

2 の遺伝的先祖についても、記載のとおりとなっております。

3 の有害生理活性物質についてですが、先ほどもありましたように、パパイヤには BITC、パパイン及びカルパインが含まれている。

それぞれの物質について、以下に記載をしております。

「4. アレルギー誘発性に関する事項」ですが、パパイヤの果肉及びその果汁によってアレルギーが発症すると報告されている。

15 ページにまいりまして、このアレルギーはパパイン等のシステインタンパク質分解酵素によって引き起こされるとされている。

「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」ですが、パパイヤには *PRSV* 等の各種病害が知られておりますが、それらがヒトや動物に感染することは知られていない。

「6. 安全な摂取に関する事項」ですが、先ほども記載をしておりましたが、同様の記載をしております。長期にわたり食品として摂取がされており、我が国においても商業栽培がされています。

154 行目になりますけれども、成熟パパイヤは主に生食用として利用がされ、また未熟なパパイヤの乳液から抽出したパパインは、食肉軟化剤や消化薬としても利用がされている。

パパイヤは 2007 年で約 700 万トンが全世界で生産されておりますが、我が国でも 2004 年度には約 4,000 トンが輸入されております。

7は近縁種についてですが、同じ属の近縁種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」になります。

1ですが、パパイヤ 55-1の作出に用いた発現ベクターは、プラスミド pGA482GG を用いて作製された。

「2. 性質に関する事項」です。

(1) 塩基数は 17.5kb であり、塩基配列は明らかとなっている。

(2) 切断地図は明らかとされている。

(3) 有害な塩基配列は含まれていないと記載をしております。

16 ページにまいりまして、薬剤耐性遺伝子に関することですが、このプラスミドにはもともと *npt II* 遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子 (*tetA* 遺伝子)、ゲンタマイシン耐性遺伝子 (*aacC3* 遺伝子) が含まれている。

これらの遺伝子の宿主ゲノムへの挿入を確認するために、サザンブロット、ノーザンブロットの試験が行われておりますけれども、*tetA* 遺伝子断片が挿入されていたことが確認をされておりますが、発現はしていない。*aacC3* 遺伝子は、挿入されていないことが確認されております。

それから、伝達性を可能とする塩基配列は含まれていないということでございます。

「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」です。

「1. 挿入 DNA の供与体に関する事項」です。

*PRSV CP* 遺伝子の由来は *Potyvirus* 科 *Potyvirus* 属に属するパパイヤリングスポットウイルスの HA5-1 株である。また、*npt II* 遺伝子、*uidA* 遺伝子の由来は *E.coli* である。

「(2) 安全性に関する事項」ですが、*PRSV* は多くのパパイヤに自然感染をしており、これまでも病徴が余り現われていない個体は食用に供されており、また、強毒の *PRSV* の感染を防ぐために弱毒化した *PRSV* を人工感染させたパパイヤなどが販売されている。これまでにこれらのパパイヤによる健康被害は報告されておらず、また *PRSV* がヒトに対して病原性等を示す報告はない。

*npt II*、*uidA* 遺伝子の供与体である *E.coli* はヒトの腸管内に存在する一般的な細菌である。

2は、挿入 DNA、遺伝子産物の性質に関することですが (1) クローニングについてです。

*PRSV CP* 遺伝子は、*PRSV* の強毒株である *PRSV HA* 株を亜硝酸処理し、弱毒化した *PRSV HA5-1* 株よりクローニングした。

*npt II* 遺伝子、*uidA* 遺伝子については、いずれも *E.coli* に由来をして、プラスミド pGA482GG に含まれているということでございます。

17 ページにまいりまして、(2) 塩基数、塩基配列等については、明らかとされております。

(3) 挿入遺伝子の機能についてです。

*PRSV CP* 遺伝子については、感染した *PRSV* の *PRSV CP* 遺伝子の相互作用により、双方の *PRSV CP* 遺伝子の発現が抑制されるという現象、転写後遺伝子サイレンシングが起きる。その結果、*PRSV* に抵抗性を有することとなる。

*npt II* 遺伝子に関しては、*npt II* 遺伝子がコードする NPT II タンパク質は、カナマイシンやネオマイシン等の抗生物質のリン酸化を触媒する酵素ということで、選択マーカーとして使用がされています。

*uidA* 遺伝子については、コードする GUS タンパク質は、インドール誘導体と  $\beta$ -グルクロン酸の配糖体を加水分解し、青色色素を生成することから、選択マーカーとして使用がされています。

*PRSV* タンパク質、NPT II タンパク質、GUS タンパク質が既知の毒性タンパクとの間に構造相同性がないことを確認するため、ORF 検索を行い、blastp を用いてアミノ酸相同性検索が行われておりますが、その結果、相同性を有する既知の毒性タンパクは見出されなかった。

(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子についてですが、パパイヤ 55-1 には *npt II* 遺伝子が挿入されています。これが発現する NPT II タンパク質は哺乳動物の胃で消化をされること、酵素活性に不可欠な補助因子であるアデノシン-3-リン酸 (APT) は酸性下では不安定なこと、ATP の濃度は NPT II タンパクの酵素活性に必要とされる濃度より低いこと、またマウスを用いた急性毒性試験の結果、有害な影響は認められていないことから、安全性に問題はないことが示されている。

3 は発現に関わる領域に関する事項です。

(1) プロモーターについてです。*PRSV CP* 遺伝子発現カセット、*uidA* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、CaMV 由来の 35S プロモーターであり、*npt II* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、*Agrobacterium tumefaciens* Ti プラスミド由来のノパリン合成酵素遺伝子のプロモーター領域である。

(2) ターミネーターについてですが、*PRSV CP* のカセットのターミネーターは、CaMV 由来の 35S ターミネーター。*npt II* カセット、*uidA* カセットのターミネーターは *A. tumefaciens* Ti プラスミド由来のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター領域である。

「(3) その他」といたしまして、発現制御に関わる塩基配列は組み込まれておりません。

「4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項」ですが、発現ベクターは *npt II* 遺伝子発現カセット、*uidA* 遺伝子発現カセットを含むプラスミドに *PRSV CP* 遺伝子発現カセットを挿入して構築されています。

「5. 構築された発現ベクターに関する事項」です。

(1) 塩基数、塩基配列については、明らかとなっている。

(2) 目的以外のオープンリーディングフレームは含まれていない。

(3) 意図する挿入領域は、発現ベクターの *nptII* カセットの *nos* プロモーターから *uidA* 遺伝子の *nos* ターミネーターまでの領域で、*nptII* のカセットと *PRSV CP* 遺伝子のカセット、*uidA* 遺伝子のカセットが含まれる。

(4) 目的外の遺伝子の混入がないことといたしましては、意図する領域内には目的外の遺伝子の混入はない。

19 ページにまいりまして、パパイヤ 55-1 への挿入 DNA の表を記載しております。

6、宿主への導入方法ですが、発現ベクターをパーティクルガン法により宿主に導入した後に、カナマイシン添加培地で選択培養して、GUS 活性を指標に選抜した個体を植物体に分化させております。得られた個体について、挿入遺伝子、タンパク質の発現を確認し、PRSV HA 株の摂取試験により、抵抗性の個体を選抜しております。選抜個体の自殖を重ね、また、その後の交配によりパパイヤ 55-1 を得たということがございます。

「第 6. 組換え体に関する事項」です。

「1. 遺伝子挿入に関する事項」です。

(1) コピー数、挿入の近傍配列に関する事項です。パパイヤ 55-1 のゲノムに挿入されたそれぞれの遺伝子発現カセットのコピー数、完全性並びに発現ベクターの外骨格配列が挿入されているかを明らかにするため、サザンブロット分析、塩基配列の解析及び PCR 分析が行われた。その結果、次の 3 つの DNA 領域が 1 コピーずつ宿主ゲノムに挿入されていることが確認をされた。

1 つは *bla* 遺伝子断片、*oriColE1*、*uidA* 遺伝子発現カセット、*PRSV CP* 遺伝子発現カセット、*nptII* 遺伝子発現カセット及び *oriV* 断片から構成される領域。これを挿入領域 A としております。

2 つ目が *nptII* 遺伝子断片の領域。これを挿入領域 B としております。

3 つ目が *tetA* 遺伝子断片及び発現ベクターの外骨格より構成される領域。これを挿入領域 C としております。

「① 挿入領域 A」といたしまして、目的の挿入領域、これは 3 つのカセットのことですが、これに加えて発現ベクターにおいて隣接をする *bla* 遺伝子断片、*oriColE1*、*oriV* の断片が挿入されていることが確認された。

挿入領域 A の全塩基配列を解析した結果、*PRSV CP* 遺伝子発現カセットを含む領域で塩基の変異が認められておりますけれども、*PRSV CP* 遺伝子のコード領域中では変異は起こっておらず、*PRSV CP* タンパクの発現に影響を及ぼすものではないということが確認されております。また、*nptII* 遺伝子発現カセット、*uidA* 遺伝子発現カセットは、それぞれ完全な形で挿入されていた。

近傍配列がパパイヤゲノム由来であることを確認するために、パパイヤ 55-1 の配列に基づいて、5´近傍、挿入領域 A、3´近傍にプライマーを設計して PCR 分析を行っております。その結果、

近傍配列のプライマー対を用いた PCR では、パパイヤ 55-1、非組換えパパイヤの両方で同じ大きさの PCR 産物が増幅されております。一方、近傍配列及び挿入領域 A のプライマーを用いた PCR では、パパイヤ 55-1 系統のみに特異的な PCR 産物が増幅された。これらのことから、挿入領域 A の近傍配列はパパイヤゲノム由来であると考えられた。

341 行目にまいりまして、挿入領域 A の挿入によって、既知の内在性の遺伝子が損なわれていないことを確認するために、5´近傍及び3´近傍について *blastn* 検索を行った。その結果、パパイヤの葉緑体ゲノムに由来する遺伝子と高い相同性を示した。しかし、核ゲノムに存在する葉緑体ゲノムの遺伝子は、今日の葉緑体と植物核ゲノムが形成された DNA 移入の過程で残ったものと考えられていること、それから、葉緑体ゲノムの遺伝子は、葉緑体に特有の転写・翻訳システムにより発現するため、葉緑体のみで機能すること、挿入領域 A は、葉緑体ゲノムには挿入されていないこと、パパイヤの成分分析や生育特性において、非組換えパパイヤとの間で生物学的に意味のある差異は認められていないことから、相同性が認められた遺伝子は機能を有している可能性は低いと考えられた。これらのことから、挿入領域 A の挿入により、機能を有する既知の内在性の遺伝子を破壊している可能性は低いと考えられた。

「② 挿入領域 B」についてですが、*nptII* 遺伝子の断片 290bp が挿入されていることが確認された。

近傍配列がパパイヤゲノム由来であることを確認するため、5´近傍挿入領域、B 及び3´近傍にプライマーを設計して、PCR 分析を行った。その結果、先ほどと同様に挿入領域 B の近傍配列は、パパイヤゲノム由来であると考えられた。

366 行目になりますが、挿入領域 B の挿入によって既知の内在性遺伝子が損なわれていないことを確認するため、5´近傍、3´近傍について *blastn* 検索を行った。その結果、パパイヤ葉緑体ゲノムに由来する遺伝子と高い相同性を示した。しかし、核ゲノムで相同性が認められたこれらの葉緑体ゲノムの遺伝子は、前述の①のとおり、機能を有している可能性は低いと考えられた。これらのことから、挿入領域 B の挿入により、機能を有する既知の内在性の遺伝子を破壊している可能性は低いと考えられた。

「③ 挿入領域 C」ですが、*tetA* 遺伝子の断片 222bp が発現ベクターの外骨格配列に挟まれた形で挿入されていることが確認された。

*tetA* 遺伝子断片が発現しているかをノーザンブロット分析により確認した結果、この断片は発現していないことが確認された。

近傍配列がそれぞれパパイヤゲノム由来であることを確認するため、先ほどと同様に PCR 分析を行った結果、近傍配列はパパイヤゲノム由来であると考えられた。

下から2つ目の行になりますけれども、挿入領域 C の挿入により、既知の内在性の遺伝子が損なわれていないことを確認するため、5´近傍及び3´近傍について blastn 検索を行ったところ、パパイヤの葉緑体ゲノムに由来する遺伝子と高い相同性を示した。前述の①のとおり、機能を有している可能性は低いと考えられた。これらのことから、機能を有する既知の内在性の遺伝子を破壊している可能性は低いと考えられたとしております。

423 行目にまいりまして、(2) ORF の有無についてです。挿入領域 A と 5´近傍及び 3´近傍との接合部、挿入領域 B と 5´近傍、3´近傍との接合部、挿入領域 C と 5´近傍及び 3´近傍との接合部において、意図しない ORF が生じていないことを確認するため6つの読み枠について ORF を分析した結果、相同性を示す既知の毒性タンパク及びアレルゲンは見出されなかったとしております。

23 ページにまいりまして、2 の遺伝子産物の発現部位等についてですが、PRSV CP タンパク、NPTII タンパク、GUS タンパクの発現量を ELISA 法により測定しております。

その結果、PRSV CP タンパクの発現量は Rainbow で約 6.3  $\mu$ g/g、SunUp 品種では検出されなかった。なお、PRSV に感染した非組換えパパイヤでは 48.5  $\mu$ g/g であったとしております。

NPTII タンパク、GUS タンパクの発現量は、記載のとおりでございます。

3 の遺伝子産物が 1 日タンパク摂取量の有意な量を占めるか否かについてですが、日本人 1 人が 1 日に摂取するパパイヤの摂取量を 1 個と仮定して、すべてをパパイヤ 55-1 として計算すると、日本人 1 人が 1 日に摂取するタンパク質量に占める割合というものは、 $5 \times 10^{-3}\%$ 、 $5.74 \times 10^{-5}\%$  及び  $7.1 \times 10^{-4}\%$  となる。

4 のアレルギーの誘発性です。

(1) 供与体のアレルギー誘発性として、PRSV や *E.coli* について、ヒトに対するアレルギーの誘発性の報告はない。

(2) 遺伝子産物のアレルギーの誘発性ですが、3つのタンパクがアレルギー誘発を持つという知見は報告されていない。

なお、PRSV CP タンパクはパパイヤともに食されていると考えられており、これまでこれらのパパイヤによる健康被害は報告されていない。

(3) 物理化学的処理に関する事項です。

①人工胃液です。PRSV CP タンパクについては、*E.coli* で発現させた PRSV CP タンパクを人工胃液中で処理し、SDS-PAGE、ウェスタンブロット法により分析を行った。その結果、いずれの方法においても、試験開始後 5 秒以内に消化された。

NPTII タンパクについては、反応開始後 10 秒以内に消化された。また、酵素活性については、

2分後に消失することが報告されている。

GUS タンパクについては、15秒以内に消化されることが報告されている。

②人工腸液ですが、PRSV CP タンパクについては、ウェスタンブロットにより分析が行われておりますけれども、10分以降から分解産物が認められ、15分後には当該タンパクの50%以上が分解されている。

NPT II タンパクに関しては、反応開始後2分から5分後に50%が消化され、酵素活性は15分後に消失することが報告されています。

GUS タンパクについては、*uidA* 遺伝子は、これまで我が国で安全性が確認された遺伝子組換え作物においても挿入されており、人工腸液中で免疫反応性は240分後にほぼ検出されなくなり、その活性の約90%が消失するとされている。

③加熱処理に関する感受性として、PRSV CP タンパクはウェスタンブロットの分析により、100℃で120分の加熱により大部分の免疫反応性は失われ、206度20分の加熱で失活することが確認された。

GUS タンパクについては、55℃で約2時間、60℃で約15分の加熱により活性が半減することが報告されている。

(4) 既知アレルゲンとの構造相同性ですが、PRSV CP タンパクについては、既知アレルゲンとの相同性を確認するため、アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った。その結果、80アミノ酸残基以上の35%以上の相同性、連続する8アミノ酸の相同性について、相同性を有するアミノ酸配列は見出されなかった。

NPT II タンパク、GUS タンパクについても、同様に相同性検索の結果、相同性を有するアミノ酸配列は見出されなかった。

上記(1)～(4)、前項3から総合的に判断をし、PRSV CP タンパク質、NPT II タンパク及びGUS タンパク質については、アレルギー誘発性を示唆するデータはないことを確認した。

5は遺伝子の安定性についてですが、4世代のゲノムDNAについてサザンブロット分析を行った。その結果、各世代において共通のバンドが確認された。

また、核タンパクが安定して発現していることを確認するため、ELISA法及び呈色反応による分析を行った結果、複数世代にわたって安定して発現していることが確認された。

6は代謝経路への影響ですが、PRSV CP タンパクはウイルスの核酸を包み込み、保護するための構造タンパク質である。これまでにPRSV CP タンパク質が何らかの酵素活性を有することは報告されていないことから、PRSV CP タンパクが宿主の代謝経路へ影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

NPTⅡタンパク質については、アミノグリコシド系抗生物質のアミノ酸糖分子の水酸基をリン酸化する反応を触媒する酵素である。

552 行目ぐらいになりますけれども、NPTⅡタンパク質は高い基質特異性を持つことが示唆されている。これまでパパイヤにはアミノグリコシド系抗生物質に構造的に類似した化合物が含まれているという報告がないことから、宿主の代謝系へ影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

GUS タンパク質は、β-グルクロニドを加水分解する酵素である。植物におけるβ-グルクロニドの生理活性は明らかではないが、グルクロニドは水に易溶性の二次代謝物として液胞やアポプラストへ移送され、一次代謝から取り除かれることが知られている。このことから、宿主の代謝経路へ影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

7は宿主との差異についてです。

(1) 主要構成成分については、統計学的な有意差は認められなかった。

(2) アミノ酸組成として、遊離アミノ酸 18 種類の分析の結果、有意差は認められなかった。

(3) 無機物について、非組換えとの間に差は認められなかった。

(4) ビタミンについてですが、ビタミン A の分析を行ったところ、果肉が赤色種か黄色種かという栽培種の影響と果実の熟し方の程度による影響が見られたものの、これまでに報告されている文献値の範囲内であった。

27 ページにまいりまして、またビタミン C の分析を行ったところ、同じ遺伝子型の果実でも含量に個体差が大きく、統計学的有意差は認められなかった。

(5) BITC についてですが、統計学的有意差は認められなかった。

(6) カルパインについては、いずれも検出限界以下であった。

(7) パパインについては、一部の組換え品種と非組換え品種との間で統計学的有意差が認められたものの、すべての非組換えパパイヤの品種における測定値の範囲内であった。

8は諸外国における認可の状況ですが、米国においては 96 年に USDA より無規制裁培の許可を受け、97 年に FDA より食品としての安全性許可を受けている。

カナダでは、2003 年にカナダ保健省より食品としての安全性許可を受けている。

9の栽培方法については、従来のパパイヤと同じである。

10の種子の製法、管理方法は、従来のパパイヤ品種と同じである。

第7として、第2から第6までの事項により安全性の知見は得られており、次に示されている試験は必要ないと判断される。

28 ページにまいりまして「Ⅲ. 食品健康影響評価結果」ですが、パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統については、遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準に基づ

き評価をした結果、ヒトの健康を損なうおそれはないものと判断された。

以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、評価書（案）につきまして、順番に御意見、コメントをお伺いしていきたいと思えます。なお、細かい字句等の修正につきましては、後ほど事務局に修正箇所等をお伝えいただければと思えます。

かなり長いわけでありませけれども、資料1の12ページから始まりまして「II. 食品健康影響評価」で第1、第2、第3、15ページの中ほど辺りまででコメント等がありましたら、お願いしたいと思えます。どうぞ。

○丹生谷専門委員 細かいことになるのかもしれませんが、12ページの53行目の発現ベクターの名前「pGA482」の後ろに「GG」が抜けております。以上です。

○澤田座長 何行目ですか。

○丹生谷専門委員 53行目です。

○澤田座長 これは追加していただくということで、ほかにもございますか。細かいところでお気づきになりましたら、後でお願いしたいと思えます。

それでは、15ページの第4のベクター、第5の挿入DNAに関係するところでありませけれども、19ページの第6の手前までで御意見がありましたら、お願いしたいと思えます。よろしいでしょうか。

それでは、19ページの下第6から、少し長いわけでありませけれども、27ページの第7、ほとんど最後までになります、ここで御意見がございましたら、お願いしたいと思えます。どうぞ。

○鎌田専門委員 23ページの450行目、1日タンパク摂取量の有意な量を占めるか否かという事項の数値だけが出ているんですが、これは数値が出ているだけで結論がない文章なので「 $7.1 \times 10^{-4}\%$ となり、1日タンパク摂取量の有意な量は占めない」とか何か答えがないとおかしいと思えます。

○澤田座長 これはほかの例とか、たしかいろいろと書きぶりがあったかと思えます。

○鶴身課長補佐 最近の例では、特に記載をしてはいなかったんですが、もし記載をした方がよいということであれば記載いたします。

○澤田座長 一応有意な量を占めるか否かに関する事項でありますので、占めないと書いてあればよろしいんですね。

○鎌田専門委員 そうだと思えます。

○鶴身課長補佐 そうしましたら「占めるとは考えられなかった」とか、そんな記載にさせていた

だきます。

○鎌田専門委員 もう一点 26 ページの 560 行目「二次代謝物として液胞やアポプラストへ移送され、一次代謝から取り除かれる」というのは、もともと二次代謝なので一次代謝から取り除かれることでもないし、アポプラストへ移送というのもね。何だろうね。

○澤田座長 「されることが知られている」とかね。

○鎌田専門委員 そうですね。「移送されることが知られている」でいいのかもしれないです。

○澤田座長 ほかにございますか。

最後はほとんどありませんので、28 ページまでまとめてありましたら、お願いしたいと思います。どうぞ。

○鎌田専門委員 24 ページの加熱処理のところですか。前から気になっていたんですが「206℃、20 分間の加熱で失活することが確認された」というのは、何なんですか。先ほど回答書の方も見たんですけども、回答書にも書いてありました。もともと 206 度、20 分間の加熱というのは何を言いたいのか。何を考えているんだろうか。非常にわからない言葉だし、そもそも要るのか。

○澤田座長 手島先生、どうぞ。

○手島専門委員 この加熱処理に関する項目というのは、評価基準では加熱条件はヒトが経口摂取する際に処理される場合と同等の条件で行うとありまして、パパイヤの場合は 90%は生食ということですので、トウモロコシやダイズの場合のような加熱処理という項目は、生食の場合は要らないのではないかと思います。

○澤田座長 そうですね。生食ですので、普通は常温で何もしないで食べるわけですから、情報として資料の中にいろいろとあることはいいと思いますけれども、設定する温度と時間等がどうしてこうなったのかとかいろいろと出てきますので、評価書（案）の中ではない方がかえってすっきりするかと思います。

生食は厚労省時代にトマトの例がありましたが、それは取り下げになりまして、パパイヤが生食の初めての例になるかと思います。ですから、今後、生食の場合には、この項目は評価書（案）の中にはなくてもいい。資料としては付けていただく。そういうことで、特段の御意見がなければ、そうさせていただきたいと思います。

それ以外に御意見はございますでしょうか。

ございませんようですので、一応評価書（案）として御了解いただいたこととさせていただきます。先ほど申しましたように、細かい字句等の修正がまだあるかもしれませんので、後ほど事務局にお伝えいただければと思います。

どうもありがとうございました。

それでは、続きまして、3番目でありますけれども、高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1 は食品と飼料の両方がございますが、まずは食品としての安全性について審議を行いまして、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についての審議を行いたいと思います。

本日は安全性を評価する上で、申請者の方から提出されております申請書の確認及び安全性の審議におきまして、追加要求するべき事項の検討を中心に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します。

○松尾係長 それでは、申請者から提出されております、右肩に「158」と記載されております高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1 の食品としての安全性評価という資料について御説明をさせていただきます。説明をさせていただきます。

5枚ほどめくっていただきまして、1ページから御説明をさせていただきます。

第1の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が「1 宿主及び導入DNAに関する事項」です。

(1) 宿主ですが、高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1 の宿主は、ダイズ品種のうちの Jack というものを用いております。

(2) DNA の供与体に関してですが、本品種に導入されております2つの遺伝子の供与体は、ともにダイズということでございます。

「(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法」ですが、まず *gm-fad2-1* 遺伝子につきましてですが、ダイズ由来の内在性 *FAD2-1* 遺伝子は、オレイン酸からリノール酸への生合成を触媒する $\omega$ -6 デサチュラーゼをコードしております。今回導入されております *gm-fad2-1* 遺伝子は、ダイズ内在性 *FAD2-1* 遺伝子の記載されております一部の領域からなる DNA 断片でありまして、本遺伝子を導入することによりまして、ジーンサイレンシングが誘導され、結果として $\omega$ -6 デサチュラーゼの産生が抑制され、オレイン酸含有量が高まるとされております。なお、本遺伝子の導入は、パーティクルガン法によって行われています。

続きまして、*gm-hra* 遺伝子にまいりますが、この遺伝子は以前に評価が行われている遺伝子でございます。この遺伝子はダイズ内在性のアセト乳酸合成酵素遺伝子を改変したものでございまして、GM-HRA タンパク質を産生いたします。

除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤は、植物中の分枝アミノ酸の生合成に関与する内在性アセト乳酸合成酵素タンパク質の活性を阻害し、その結果、植物を枯死させることができます。一方、GM-HRA タンパク質は除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤の影響を受けず、分枝アミノ酸を合成するため、本除草剤に対する耐性を付与させることができます。なお、本形質は、遺伝子が導入された細胞を選抜するためのマーカーとして利用されたものでございます。

なお、本遺伝子の導入につきましても、同様にパーティクルガン法によって行われております。

2の食経験に関する事項ですが、ダイズは古くから食品として利用されておるといふこととごさいます。

3の宿主由来の食品の構成成分につきましても、(1)として主要栄養素等に関する内容です。ダイズの可食部分であります種子中の主要構成成分の種類及び含有量は、以下の表1に記載されているとおりとごさいます。

(2)で宿主に含まれている毒性物質・栄養阻害物質に関してですが、ダイズには毒性物質の産生性は知られておりませんが、栄養阻害物質としてトリプシンインヒビター、レクチン、フィチン酸、スタキオースやラフィノース等のオリゴ糖及びイソフラボン類が含まれていることが知られておりまして、これらの含有量は3ページの表2に記載されております。

「4 宿主と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」ですが、(1)として収穫時期及び貯蔵方法に関しましては、従来のダイズと同様とごさいます。

(2)といたしまして、摂取部位につきましても、従来のダイズと同じ摂取部位が種子であるといふこととごさいます。

「(3) 摂取量」でごさいますが、本品種は主として油を搾油するダイズとして利用されるといふこととごさいまして、申請者によりまして、従来のダイズ油の多くとも半量程度が本品種由来の油に置き換わる可能性があると考えているといふこととごさいます。

「(4) 調理及び加工方法」は、従来のダイズと同様であるといふこととごさいます。

4ページにまいりまして、5の宿主以外のものを比較対象として追加して用いる場合に関してですが、オレイン酸などの主要脂肪酸組成につきましても、既存の高オレイン酸含有植物油を比較対象としております。なお、それ以外の項目につきましても、宿主であるダイズと比較がされております。

6は相違点に関する事項ですが、本品種は *gm-fad2-1* 遺伝子の導入により、宿主であるダイズに比べ種子中のオレイン酸含有量は高まり、リノール酸含有量は低下してしております。また *gm-hra* 遺伝子の導入によりまして、アセト乳酸合成酵素阻害剤耐性を付与するための GM-HRA タンパク質が産生されております。これらの2点が相違点といふこととごさいます。

5ページの「第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」にまいります。

本品種は、種子中のオレイン酸含有率を高めることを目的として作出されているものとごさいまして、この特徴は次のように活用されるといふこととごさいます。

①として、オレイン酸を摂取することによって、ヒトの血中 LDS コレステロール、いわゆる悪玉コレステロールを低下させることができる。

②として、本品種由来の油は、多価不飽和脂肪酸含有量が著しく減少しているため、熱安定性が高まるという点。

③として、熱安定性が高まることによりまして、水素添加の必要性が低くなるという点。  
このような特徴があるということでございます。

続きまして、一番最後のパラにまいりまして、なお、本品種には除草剤耐性が付与されておりますが、本形質は遺伝子導入された細胞を選抜するためのマーカーとしてのみ利用されることから、本品種を除草剤耐性のダイズとして農家に販売する予定はないということでございます。

6 ページにまいりまして「第3 宿主に関する事項」でございます。

1 の分類上の位置づけですが、本品種に用いた宿主はダイズの品種である Jack というものでございます。

2 ですが、遺伝的先祖並びに育種開発の経緯につきましては、記載のとおりでございます。

3 の有害生理活性物質につきましては、ダイズには有害生理活性物質として、トリプシンインヒビター、レクチン、フィチン酸、スタキオースやラフィノース等のオリゴ糖及びイソフラボン類が含まれているということございまして、これらの含有量は3 ページに記載がされております。

以下、それぞれの物質に関する説明が7 ページの上段部分まで記載されております。

「4 アレルギー誘発性に関する事項」ですが、ダイズはアレルギー誘発性を有するアレルゲンとして知られております。

5 の病原性に関する事項ですが、ダイズには各種病害が知られておりますが、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」ですが、ダイズは古くから食品として利用されているということでございます。

8 ページの「7 近縁の植物種に関する事項」ですが、ダイズの近縁種として、ツルマメが知られておりますが、食用としての利用はされていないということでございます。

10 ページ「第4 ベクターに関する事項」でございます。

「1 名称及び由来に関する事項」ですが、本品種の作出には、直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A を用いております。これらの直鎖状 DNA 断片は、プラスミド PHP19340 及び PHP17752 由来でございますが、これらのプラスミドにつきましては、プラスミド pSP72 を基本骨格として作製されております。

2 の性質に関する事項ですが、(1) 塩基数及び塩基配列に関する事項です。プラスミド pSP72 の塩基数及び塩基配列は、記載のとおり明らかになっております。

(2) 制限酵素による切断地図でございますが、これにつきましても、11 ページに示されている

とおり、明らかになっております。

(3) 既知の有害塩基配列につきましてですが、プラスミド pSP72 には既知の有害塩基配列は含まれていないということでございます。

(4) 薬剤耐性遺伝子に関する事項ですが、pSP72 にはアンピシリン耐性マーカである *amp* 遺伝子が含まれておりますが、本品種の作出に用いました直鎖状 DNA 断片には *amp* 遺伝子発現カセット領域は含まれていないということでございます。

「(5) 伝達性に関する事項」ですが、pSP72 には伝達を可能にする配列は含まれていないということでございます。

12 ページにまいりまして「第5 挿入 DNA、遺伝子産物並びに発現ベクターの構築に関する事項」でございます。

「1 挿入 DNA の供与体に関する事項」です。

「(1) 名称、由来及び分類に関する事項」ですが、① *gm-fad2-1* 遺伝子の供与体はダイズということでございます。

②といたしまして、*gm-hra* 遺伝子の供与体もダイズでございます。

「(2) 安全性に関する事項」ですが、両遺伝子の供与体であるダイズにつきましては、古くから食品として利用されております。

「2 挿入 DNA 又は遺伝子（抗生物質耐性マーカ遺伝子を含む）及びその遺伝子産物の性質に関する事項」でございます。

(1) 挿入遺伝子のクローニングに関する事項です。

「① *gm-fad2-1* 遺伝子」ですが、本遺伝子はダイズの内在性の *FAD2-1* 遺伝子の記載されている一部分からなる DNA 断片でありまして、この断片を制限酵素により切り出したものでございます。

「② *gm-hra* 遺伝子」ですが、*gm-hra* 遺伝子は *gm-als* 遺伝子を除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤の影響を受けないように改変した遺伝子でございますが、本遺伝子はアセト乳酸合成酵素の変異による除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤耐性のナタネ、トウモロコシ等が見つかっておりまして、これらの変異アセト乳酸合成酵素タンパク質を参考にいたしまして、*gm-als* 遺伝子に部位特異的変異を加えたものというものでございます。

13 ページにまいりまして「(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」でございます。

*gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット及び *gm-hra* 遺伝子発現カセットの塩基数は、記載のとおり明らかになっております。また、*gm-fad2-1* 及び *gm-hra* 遺伝子の塩基数につきましても、記載のとおり

りでございます。

これらの塩基配列につきましては、別紙1に記載されているとおり、明らかになっております。

また、制限酵素による切断地図につきましては、それぞれ13ページの図3及び14ページの図4に示されており、同様に明らかになっております。

14ページ「(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項」にまいります。*gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット及び *gm-hra* 遺伝子発現カセットの構成要素、サイズ、由来及び機能につきましては、15ページの表3に示されております。

16ページにまいりまして「① *gm-fad2-1* 遺伝子の機能」についてでございます。*gm-fad2-1* 遺伝子は、ダイズ種子中にオレイン酸からリノール酸への生合成を触媒する $\omega$ -6デサチュラーゼをコードするダイズ内在性 *FAD2-1* 遺伝子の一部からなる領域でございます。本遺伝子は、ジーンサイレンシングを誘導することができまして、結果として、 $\omega$ -6デサチュラーゼの発現を抑制し、その結果、オレイン酸含有量が増加し、リノール酸含有量が低下するというところでございます。

② *gm-hra* 遺伝子の機能に関する事項ですが、*gm-hra* 遺伝子は *gm-als* 遺伝子を改変したもので、アセト乳酸合成酵素阻害剤の影響を受けない GM-HRA タンパク質前駆体をコードしております。GM-HRA タンパク質前駆体は葉緑体移行配列を有してございまして、葉緑体移行配列は葉緑体への移行後に切断除去され、その結果、GM-HRA タンパク質となるというところでございます。

17ページにまいりまして、除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤は、植物中の分枝アミノ酸の生合成を触媒する内在性アセト乳酸合成酵素の活性を阻害します。その結果として、植物を枯死させることができます。

一方、GM-HRA タンパク質は、除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤の影響を受けないため、本除草剤に対する耐性を付与することができます。

なお、本形質は遺伝子が導入された細胞を選抜するためのマーカーとしてのみ使用され、本品種を除草剤耐性のダイズとして農家に販売する予定はないというところでございます。

18ページにまいりまして、③として *gm-fad2-1* 遺伝子由来アミノ酸配列と既知毒性タンパク質との構造相同性に関する事項でございます。

本遺伝子から mRNA が発現していないかどうかをノーザンブロット分析により確認がされております。その結果として、微弱なバンドが認められております。一般に、転写後ジーンサイレンシングでは、mRNA が dsRNA を経て分解されることが報告されていますことから、本遺伝子由来の mRNA につきましても、同様に分解され、翻訳される可能性は低いと考えられたというところでございます。

また、*gm-fad2-1* 遺伝子配列中の ORF 検索を行った結果、4 個の ORF が検出されておりますが、

これらのアミノ酸配列と既知毒性タンパク質との間に構造相同性は認められていないということ  
でございます。

「④ GM-HRA タンパク質の既知毒性タンパク質との構造相同性」でございます。このことにつ  
きまして、NCBI のタンパク質データベースを用い、blastp によりまして相同性検索を行った結  
果、相同性が認められたアミノ酸配列が 2,000 個であったということでございます。このうち 922  
個は、細菌、古細菌及び真核生物種由来のアセト乳酸合成酵素またはアセトヒドロキシ酸合成酵素  
でありました。残りの 1,078 個につきましては、チアミンピロリン酸結合ドメインの配列を保有し  
ているタンパク質であったということでございます。なお、これらのうち、毒性タンパク質との相  
同性を有するものは認められ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事項」ですが、プラスミド PHP19340 及び PHP17752  
の構築過程におきまして、プラスミド pSP72 由来の *amp* 遺伝子を削除し、また抗生物質ハイグロ  
マイシン耐性マーカーである *hyg* 遺伝子が追加されておりますが、*hyg* 遺伝子は、直鎖状 DNA 断  
片には含まれていないということでございます。

また、*hyg* 遺伝子につきましては、サザンブロット分析によりまして、導入されていないことが  
確認されております。

19 ページにまいりまして「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。

「(1) プロモーターに関する事項」ですが、*gm-fad2-1* 遺伝子発現カセットには、ダイズ由来  
の KT i 3 プロモーターが用いられております。

一方、*gm-hra* 遺伝子発現カセットには、ダイズ由来の SAMS プロモーターが用いられておりま  
す。

「(2) ターミネーターに関する事項」ですが、*gm-fad2-1* 遺伝子発現カセットには、ダイズ由  
来の KT i 3 ターミネーターが用いられております。

*gm-hra* 遺伝子には、ダイズ由来の *als* ターミネーターが用いられております。

(3) その他、発現制御に関わる塩基配列に関してですが、*gm-hra* 遺伝子発現カセットには、  
発現を高める働きを持つダイズ由来の SAMS 遺伝子の 5' 非翻訳領域のイントロンが用いられて  
おります。

「4 ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項」でございます。

①といたしまして、PHP19340 の構築に関してです。プラスミド pSP72 に *hyg* 遺伝子発現カセ  
ットを挿入後、*amp* 遺伝子を削除し、これに KT i 3 プロモーター及び KT i 3 ターミネーターが挿入  
されております。更に *gm-fad2-1* 遺伝子を挿入することにより、プラスミド PHP19340 が構築さ

れております。このプラスミドを制限酵素により処理し、直鎖状 DNA 断片 PHP19340A が得られたということでございます。

続きまして、PHP17752A の構築についてでございます。SAMS プロモーター及び SAMS イントロンを有するプラスミドに *gm-hra* 遺伝子及び *als* ターミネーターを含む断片を挿入します。続きまして、挿入したプラスミドから SAMS プロモーター、SAMS イントロン、*gm-hra* 遺伝子、*als* ターミネーター領域を切り出し、更に FRT 領域を有するプラスミドに挿入いたしました。

続きまして、そのプラスミドから FRT1、SAMS プロモーター、SAMS イントロン、*gm-hra* 遺伝子、*als* ターミネーター、FRT1、FRT6 を切り出したものを更に別のプラスミドに挿入いたしまして、プラスミド PHP17752 が構築されております。このプラスミドを制限酵素により処理することにより、直鎖状 DNA 断片 PHP17752A が得られたということでございます。

これら直鎖状 DNA 断片の構築につきましては、21 ページの図 7 に詳細に記載されております。22 ページの「5 構築された発現ベクターに関する事項」にまいります。

「(1) 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」でございます。直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び直鎖状 DNA 断片 PHP17752A の塩基数は、それぞれ記載のとおりでございます。

これら直鎖状 DNA 断片の塩基配列につきましては、本資料の別紙 1 に示されております。また、これら直鎖状 DNA 断片の制限酵素切断地図は、13 ページの図 3 及び 14 ページの図 4 に示されており、明らかになっております。

(2) ORF に関する事項ですが、これら直鎖状 DNA 断片につきまして、記載の条件で ORF 検索が行われております。この結果、PHP19340A の配列中に 4 個の ORF が検出されております。なお、PHP17752A につきましては、検出されておられません。

次のパラにまいりまして、次に検出された ORF につきまして、既知毒性タンパク質及び既知アレルギーとの構造相溶性の有無について検討を行いました。NCBI タンパク質データベースを用い、blastp 検索を行った結果、ORF の 1 つである 120 アミノ酸残基からなる ORF の配列につきまして、相溶性を持つタンパク質が 527 個検出されております。なお、これらの検出されたタンパク質につきましては、すべて脂肪酸デサチュラーゼでございまして、既知の毒性タンパク質やアレルギーとの相溶性は認められなかったということでございます。

続きまして、次のパラにまいりまして、更にアレルギーデータベースを用いまして、既知アレルギーとの構造相溶性の有無について検討がなされております。検索条件は 8 個の連続アミノ酸及び 80 個以上からなるアミノ酸残基につきましては、35%以上の構造相溶性につきまして検討がなされております。その結果、検出された 4 個の ORF と既知のアレルギーとの間に構造相溶性は認め

られなかったということでございます。

23 ページにまいりまして、(3) 意図する挿入領域に関する事項でございます。意図する挿入領域は、直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A の全領域でございます。

(4) 発現ベクターが純化されていることに関する事項ですが、直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A につきましては、以下のような方法で純化されたということでございます。まずはプラスミド PHP19340 及び PHP17752 を 2 種類の制限酵素により処理し、その後、アガロースゲル電気泳動により分離し、抽出されたということでございます。

次のパラグラフにまいりまして、なお、第 6.1 に出てくる内容になりますが、本品種につきましては、小断片化された外骨格領域の DNA 断片 495bp が導入されていることが確認されております。

「6 DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項」ですが、直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A を 4 対 1 の割合で混合し、パーティクルガン法により宿主に導入されております。

次のパラグラフにまいりまして、DNA の宿主への導入から選抜までの過程を 24 ページの図 8 に示しております。なお、本申請の対象につきましては、25 ページに系統図が出てきますが、この系統図でいきます T3 世代以降を本申請の対象である商品化系統 DP-305423-1 にしたいということでございます。

26 ページにまいりまして「第 6 組換え体に関する事項」でございます。

「1 遺伝子導入に関する事項」。

「(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項」でございます。

「① 挿入遺伝子のコピー数と完全性の確認」につきましてですが、本品種のゲノムに導入されました *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット及び *gm-hra* 遺伝子発現カセットのコピー数及び完全性をサザンブロット分析により解析が行われております。

「a) *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット」の「コピー数」に関してですが、サザンブロット分析の結果が 27 ページの表 4 及び 28 ページの図 10 に示されております。

*gm-fad2-1* 遺伝子発現カセットの挿入が 1 コピーであった場合、KTi3 プロモーターまたは *gm-fad2-1* の各プローブでは各 1 本のバンドが、また KTi3 ターミネーターのプローブでは 2 本のバンドが検出されることが想定されます。また、ダイズ内在性のバンドも検出されるということがあります。

27 ページにまいりまして、分析の結果、表 4 及び図 10 に示すとおり、いずれのプローブにつきましても、内在性バンドに加えて、複数のバンドが検出されておることから、複数コピーの *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセットが挿入されていることが示されたということでございます。

29 ページにまいりまして「完全性」に関して、検討がされております。

サザンブロットの結果を 30 ページの表 5 及び 31 ページの図 11 に示しております。

一番最後のパラグラフにまいりまして、表 5 に示すとおり、いずれのプロープにおきまして、内在性バンドに加えて 6 本から 8 本のバンドが検出されています。また、これらのバンドのうち、いずれのプロープにおきまして、強くハイブリダイズする約 2,800bp のバンドは、上記で想定されたほぼ完全長の *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセットに相当するバンドであると考えられたということでございます。このことから、本ゲノムには完全長の *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット及び複数の *gm-fad2-1* 遺伝子発見カセットの断片が挿入されたことが示されたということでございます。

32 ページの「b) *gm-hra* 遺伝子発現カセット」にまいりたいと思います。

まずは「コピー数」につきましてですが、サザンブロット分析の結果は 32 ページの表 6 及び 33 ページの表 12 に示されてとおりでございます。

表 6 に示しますとおり、いずれのプロープにつきましても、内在性バンドに加えて、1 コピーの *gm-hra* 遺伝子発現カセットが挿入されたことが示されております。

34 ページの「完全性」にまいりたいと思います。ここでもサザンブロット分析の結果が 34 ページの表 7 及び 35 ページの図 13 に示されております。

表 7 に示されておるとおり、内在性バンドに加えて、完全長の *gm-hra* 遺伝子発現カセットが挿入された場合に相当するバンドが検出されておることから、ゲノムには完全長の *gm-hra* 遺伝子発現カセットが挿入されたことが示されております。

36 ページ「c) *gm-fad2-1* 遺伝子及び *gm-hra* 遺伝子発現カセット断片の解析」にまいります。

本品種には各 1 コピーの完全長の *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット及び *gm-hra* 遺伝子発現カセット以外に複数コピーの *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット断片が導入されていることが示されました。

そこで、挿入領域をクローニングし、塩基配列を決定した結果、遺伝子が 4 つの領域に挿入されたことが示されておるとおり、各挿入領域の構成は以下のとおりとなっております。

挿入領域 1 として、完全長の *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセットが 1 コピー。完全長 *gm-hra* 遺伝子発現カセットが 1 コピー及び PHP19340A 断片が 3 コピーからなる領域。

挿入領域 2 につきましては、PHP19340A 断片 1 コピーから構成されております。

挿入領域 3 につきましては、PHP19340A 断片 1 コピー及びプラスミドの外骨格 DNA 断片 1 コピーから構成されております。

挿入領域 4 につきましては、逆方向に挿入された各 1 コピーの PHP19340A の断片から構成されております。

37 ページ、38 ページにそれぞれの挿入領域に関する模式図が示されております。

なお、38 ページの図 17 のタイトルの上のパラグラフの 2 行目及び 3 行目に「*gm-hra* 遺伝子」

と記載されておりますが、これは「*gm-fad2-1* 遺伝子」の間違いでございますので、修正をよろしくお願いいたします。

39 ページにまいりまして「② 抗生物質耐性マーカー遺伝子及び外骨格領域 DNA が宿主に導入されていないことの確認」につきましては、サザンブロットによって確認がされております。

1 つパラグラフを飛ばしまして、その結果 backbone プロブを用いた場合にだけバンドが 1 本検出されておりますが、*hyg* 及び *plasmid ori* 領域は導入されていないことが確認されております。なお、この領域につきましては、挿入領域 3 にのみ挿入されているということでございます。

44 ページにまいりまして「③ 挿入遺伝子の近傍配列の分析」にまいります。

「近傍配列がダイズゲノムであることの確認」についてです。挿入領域 1～4 の 5´ 及び 3´ 末端近傍配列がダイズゲノムであることを確認するために、各近傍配列に対応するプライマー対を用いて PCR 分析が行われております。

その結果、4 つの挿入領域の近傍配列がダイズゲノムであるということが確認されております。

更に 4 つの挿入領域 5´ 及び 3´ 末端近傍配列の塩基配列がデータベースに登録されたダイズゲノム由来の遺伝子配列と一致したことから、これらの近傍配列がダイズゲノムであるということが確認されたということでございます。

47 ページにまいりまして「ダイズ内在性遺伝子破壊の有無」に関する事項ですが、導入遺伝子が機能を有するダイズ内在性遺伝子に挿入されたかどうかを確認するため、各挿入領域の 5´ 及び 3´ 末端近傍領域の *blastn* 検索、*blastx* 検索、構成成分分析及び農業形質評価を用いて総合的に考察を行いました。

「1) *blastn* 検索及び *blastx* 検索」につきましては、以下のデータセットを用いて行われております。

「1-1) 挿入領域 1 の近傍配列解析」の「5´ 末端近傍配列」につきましてはですが、*blastn* 検索の結果、ゲノム断片である Scaffold247 と 99% の相同性が示されたということでもあります。

また、EST 配列の一部と相同性が認められたということでございます。そこで、認められた EST 配列全長につきましては、*blastn* 検索を行った結果、Scaffold130 が検出されたということでございます。しかしながら、本 EST 配列全長と Scaffold247 との相同性は低かったことから、本 EST は Scaffold247 とは別のダイズゲノム領域由来であると考えられたということでございます。

*blastx* 検索の結果、5´ 末端近傍配列と相同性を示すタンパク質配列は検出されなかったということでございます。

「3´ 末端近傍配列」につきましてはですが、*blastn* 検索の結果、ゲノム断片 Scaffold1023 及び Scaffold106 の一部と相同性が示されたということでございます。

また、4つの EST 配列と相同性が認められたということでございます。そこで、これら相同性が認められた EST 配列全長につきまして、blastn 検索を行った結果、ゲノム断片 Scaffold212、26、13 及び 38 が検出されました。しかしながら、これら EST 配列全長と Scaffold1023 及び 106 との相同性は認められないか、相同性が低かったことから、これら EST 配列は Scaffold1023 及び 106 とは別のダイズゲノム由来であると考えられたということでございます。

続きまして、blastx 検索の結果、3' 末端近傍配列と相同性を示すタンパク質配列は検出されなかったということでございます。

「1-2) 挿入領域 2 の近傍配列解析」の「5' 末端近傍配列」ですが、blastn 検索の結果、ゲノム断片 Scaffold28 の一部と相同性が示されたということでございます。

また、推定 mRNA 配列が 3 つ及び EST 配列が 7 つ相同性が認められたということでございます。そこで、これら相同性が認められました推定 mRNA 及び EST 配列全長につきまして、blastn 検索を行った結果、それぞれの推定 mRNA 配列全長と高い相同性を持つゲノム断片 Scaffold37、18 及び 17 が検出されました。また、EST 配列全長と高い相同性を持つゲノム断片 Scaffold20、19、7 及び 79 が検出されております。しかしながら、いずれの推定 mRNA 及び EST 配列全長も Scaffold28 との相同性は低かったことから、これら推定 mRNA 及び EST は Scaffold28 とは別のダイズゲノム領域由来であると考えられたということでございます。

続きまして、blastx 検索の結果、41 個のダイズゲノム断片及びエンドウマメ等由来の断片が 50 個検出されております。なお、これら検出された断片につきましては、植物ゲノムに一般に見られるレトロトランスポゾン因子由来の繰り返し配列の多い領域で、この領域に機能を有する遺伝子が存在する可能性は低いと考えられたということでございます。

「3' 末端近傍配列」にまいりまして、本配列には 72bp の AT の繰り返し配列が認められておりまして、そこでこの繰り返し配列と相同性を持つ断片の検出を防ぐために、繰り返し配列を除いた配列につきまして blastn 検索を行った結果、ゲノム断片 Scaffold28 の一部と相同性が示されていたということでございます。

続きまして、blastx 検索の結果、3' 末端近傍領域と相同性を示すタンパク質配列は検出されておられません。

50 ページにまいりまして「1-3) 挿入領域 3 の近傍配列」にまいります。

「5' 末端近傍配列」につきましてですが、blastn 検索の結果、ゲノム断片 Scaffold106 の一部と相同性が示されたということでございます。

また、推定 mRNA 配列との相同性が認められております。そこで、本推定 mRNA 配列全長につきまして、blastn 検索を行った結果、相同性を持つゲノム断片 Scaffold64 が検出されております。

しかしながら、本推定 mRNA 配列全長と Scaffold106 との相同性は認められていないということでございます。このことから、本推定 mRNA は Scaffold106 とは別のダイズゲノム領域由来であると考えられたということでございます。

続きまして、blastx 検索の結果、相同性を示す 50 個のダイズゲノム由来の断片が検出されております。なお、これららにつきましては、レトロトランスポゾン因子由来の繰り返し配列の多い領域か、または仮想タンパクの一部であることから、この領域に機能を有する遺伝子が存在する可能性は低いと考えられたということでございます。

「3'末端近傍配列」でずか、blastn 検索の結果、ゲノム断片である Scaffold106 の一部と相同性が示されております。また、3つの推定 mRNA 配列及び2つの EST 配列との相同性が認められております。そこで、これら推定 mRNA 及び EST 配列全長につきまして、blastn 検索を行いました結果、高い相同性を持つゲノム断片 Scaffold36、100 及び 49 が検出されております。しかしながら、これら推定 mRNA 及び EST 配列全長と Scaffold106 との相同性は認められませんでした。このことから、これら推定 mRNA 及び EST は Scaffold106 とは別のダイズゲノム領域由来であると考えられたということでもあります。

続きまして、blastx 検索の結果、3'末端近傍配列と相同性を示すタンパク質配列は検出されなかったということでございます。

51 ページにまいりまして「1-4) 挿入領域 4 の近傍配列」についてです。

「5'末端近傍配列」ですが、blastn 検索の結果、ゲノム断片 Scaffold247 の一部と相同性が示されたということでございます。

また、blastx 検索の結果、5'末端近傍配列と相同性を示すタンパク質配列は検出されておられません。

「3'末端近傍配列」ですが、blastn 検索の結果、ゲノム断片 Scaffold106 の一部と相同性が示されているということでございます。

また、推定 mRNA 配列及び EST 配列との相同性が認められております。そこで、推定 mRNA 及び EST 配列全長につきまして、blastn 検索を行った結果、高い相同性を持つゲノム断片 Scaffold21 が検出されておりますが、本推定 mRNA 及び EST 配列全長と Scaffold106 との相同性が低かったことから、本推定 mRNA 及び EST は Scaffold106 とは別のダイズゲノム領域由来であると考えられたということでございます。

続きまして、blastx 検索の結果、3'末端近傍配列と相同性を示すタンパク質は検出されなかったということでございます。

52 ページにまいりまして「2) DP-305423-1 の構成成分の分析及び農業形質の評価」に関して

ですが、本品種の構成成分の分析及び農業形質評価の結果、*gm-fad2-1* 遺伝子及び *gm-hra* 遺伝子によって付与された特性を除き、いずれも非組換えダイズとの間に相違は認められなかったということになっております。

「3) 総合考察」ですが、以上の結果を総合的に考察いたしまして、本品種中に挿入された4つの領域は、ダイズ中の機能を有する内在性遺伝子に挿入された可能性は低いと考えたということでございます。

53 ページにまいりまして、(2) ORF の有無に関する事項でございます。

挿入領域と 5´ 及び 3´ 近傍配列の境界及び挿入領域内の遺伝子発現カセット断片の境界を介し、意図しない ORF が形成されたかどうかを6つの読み枠で検索が行われております。その結果、挿入領域1～4におきまして、それぞれ24、7、11及び11個のORFが検索されております。

次のパラにまいりまして、これら検出されたORFにつきまして、既知の毒性タンパク質または既知のアレルゲンとの構造相同性の有無について検討を行いました。初めにNCBIのタンパク質データベースを用い、blastp検索を行いました結果、10個のORFの配列と相同性を持つタンパク質が検出されております。しかしながら、これら検出されたタンパク質につきましては、いずれの配列も既知の毒性タンパク質や既知のアレルゲンとの相同性は認められなかったということでございます。

続きまして、アレルゲンデータベースを用いまして、既知のアレルゲンとの構造相同性の有無について検討を行いました。検索には8個の連続アミノ酸で一致する配列及び80個以上のアミノ酸残基からなるORFにつきましては、35%以上の相同性があるかについて検索が行われております。その結果、検出されたORFと既知アレルゲンとの間に構造相同性は認められていないということでございます。

54 ページにまいりまして「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」でございます。

「(1) *gm-fad2-1* 遺伝子」につきましてですが、*gm-fad2-1* 遺伝子の導入によりまして、ダイズ内在性 *FAD2-1* 遺伝子及び *gm-fad2-1* 遺伝子の発現が意図したとおり抑制されていることを確認するため、ノーザンブロット分析が行われております。

次のパラグラフにまいりまして、なお、本分析では、植物全体で発現するダイズ内在性 *FAD2-2* 遺伝子の発現抑制の有無を確認するための分析も行われております。

次のパラグラフにまいりまして、まずは「種子の分析結果」についてですが、ダイズ内在性 *FAD2-1* 遺伝子につきましては、*gm-fad2-1* プローブ及び *FAD2-1* 3'UTR プローブのいずれにおきまして、非組換えダイズのバンドに比べ、微弱のバンドしか検出されておられません。また、*gm-fad2-1* 遺伝

子につきましても、同様に微弱なバンドしか検出されておられません。したがって、ダイズ内在性 *FAD2-1* 遺伝子及び *gm-fad2-1* 遺伝子の発現が意図したような抑制がされていることが確認されたということでございます。

次のパラにまいりまして、ダイズ内在性 *FAD2-2* 遺伝子につきましては、*FAD2-2* 3'UTR プローブを用いた分析におきまして、非組換えダイズの場合と同様に相当するサイズにバンドが検出されております。したがって、ダイズ内在性 *FAD2-2* 遺伝子の発現は、導入遺伝子によって抑制されていないことが確認されたということでございます。

55 ページにまいりまして「葉の分析結果」にまいります。

ダイズ内在性 *FAD2-1* 遺伝子につきましては、*FAD2-1* 遺伝子及び *gm-fad2-1* 遺伝子につきましては、葉で発現していないことが確認されております。

次のパラグラフにまいりまして、ダイズ内在性 *FAD2-2* 遺伝子につきましては、ダイズ内在性 *FAD2-2* 遺伝子の発現は、導入遺伝子によって抑制されていないことが確認されております。

飛びまして、65 ページにまいりまして「(2) GM-HRA タンパク質」についてですが、ELISA 法を用いまして測定が行われておりまして、その結果は表 15 に記載されております。

その結果、すべての部位で GM-HRA タンパク質の発現が認められているということでございます。

「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」についてですが、ダイズ及びダイズ加工品を本品種に置き換えた場合の GM-HRA タンパク質の 1 日 1 人当たりの予想摂取量を算出した結果、GM-HRA タンパク質の 1 日最大摂取量は約 161  $\mu$ g となりまして、本摂取量は 1 日タンパク質の摂取量 70.8g に占める割合は  $2.3 \times 10^{-4}$ % と微量であったということでございます。

66 ページにまいりまして、4 の遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する事項ですが、GM-HRA タンパク質のアレルギー誘発性がないかどうかについて検討がなされております。

(1) の挿入遺伝子の供与体に関してですが、本遺伝子の供与体はダイズでありまして、ダイズにつきましては、ヒトに対するアレルギー誘発性を有することが知られておりますが、原因タンパク質に関する研究が数多く行われております。

(2) 遺伝子産物に関する事項ですが、GM-HRA タンパクにつきましては、アレルギー誘発性の報告はされておられません。

(3) 遺伝子産物の物理化学的処理に関する事項でございます。

「① 人工胃液中の消化性」に関してです。

67 ページにまいりまして、SDS-PAGE 分析の結果、試験開始 30 秒後には約 65kDa のバンドは

検出されず、20分後には3 kDa 付近のバンドも検出されなくなったということでございます。また、ウェスタンブロット分析の結果、試験開始 30 秒後にはいずれのバンドについても検出がされなかったということでございます。

71 ページ「② 人工腸液中の消化性」に関してですが、SDS-PAGE 分析の結果、試験開始後 30 秒後には GM-HRA タンパク及び分解ペプチドのいずれにつきましても、バンドは検出されなかったということでございます。

また、ウェスタンブロット分析の結果、2分後にはバンドは検出されなかったということでございます。

75 ページの「③ 加熱に対する安定性」につきまして、ウェスタンブロット及び酵素活性試験の結果に基づいて考察がされております。

「ウェスタンブロット分析」の結果、70度で15分間加熱した後、ポリクローナル抗体を用いたウェスタンブロット分析を行った結果、免疫反応性は90%以上低下したということでございます。

76 ページにまいりまして「酵素活性試験」の結果ですが、36～60℃で15分間加熱後、酵素活性の測定がされております。その結果、40～45℃の加熱で酵素活性が約50%低下し、また50℃15分では完全に失活したということでございます。

一番下の(4) 遺伝子産物と既知アレルゲンとの構造相同性に関してですが、記載のデータベースを用いまして、構造相同性の有無が検討されております。

77 ページにまいりまして、その結果、8個の連続アミノ酸残基で一致する配列は検出されておられません。また、80個以上のアミノ酸残基で35%以上の相同性を有する配列も検出されていません。このことから、GM-HRA タンパク質と既知アレルゲンとの間に構造相同性がないことが示されたということでございます。

以上(1)～(4)の情報に基づき検討した結果、GM-HRA タンパク質はアレルギー誘発性を有する可能性は、一般の食物に含まれるアレルギー誘発性の知られていないほかのタンパク質と同等であると判断したということでございます。

(5) の IgE 結合能につきましては、検討を行わ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」でございます。

本事項の検討に当たりまして、本申請対象は T3 世代以降であります。T3 世代につきましては、種子サンプル数が少ないため、サザンブロット分析には T3 世代を自殖した T4 及び T5 世代が用いられております。また、T3 世代につきましては、ホモ化されておまして、T3 世代を自殖した T4 及び T5 世代の遺伝的背景は、T3 世代と同一であるということでございます。

次のパラにまいりまして、サザンブロットの分析の結果が 78 ページの表 16 に示されております。

次のパラにまいりまして、*gm-fad2-1*プローブを用いた場合、ダイズ内在性遺伝子由来のバンドに加え、6本のバンドが検出され、いずれの世代においてもバンドパターンが一致していたということでございます。

*gm-hra*プローブを用いた場合につきましては、F2世代の1個体を除きまして、バンドパターンが一致していたということでございます。

83 ページにまいりまして、6の遺伝子産物の代謝経路の影響に関する事項です。

「(1) *gm-fad2-1* 遺伝子」につきましてですが、2つ目のパラグラフにまいりまして、*gm-fad2-1* 遺伝子はジーンサイレンシングを誘導し、 $\omega-6$  デサチュラーゼの発現を抑制することを目的に導入がされております。そのため、リノール酸の生合成が抑制され、その結果、オレイン酸含有量が高まるということでございます。

「(2) GM-HRA タンパク質」ですが、除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤によって阻害される内在性アセト乳酸合成酵素のかわりに、ロイシン、バリン及びイソロイシンの分枝アミノ酸合成経路で作用するということでございます。分枝アミノ酸合成経路のフィードバック制御がされていることが知られています。したがって、内在性アセト乳酸合成酵素及び GM-HRA タンパク質が同時に分枝アミノ酸合成経路で作用された場合におきましても、フィードバック制御が働き、分枝アミノ酸含有量が増加することはないと考えられるということでございます。

次のパラにまいりまして、本品種のバリン、ロイシン及びイソロイシンの含有量は、非組換えダイズと同程度であったということでございます。このような事実から、GM-HRA タンパク質の産生が宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられたということでございます。

次のパラにまいりまして、本品種におきまして、ヘプタデカン酸とヘプタデセン酸の含有量は、非組換えダイズと比較して有意に増加しておりますが、GM-HRA タンパク質がダイズ内在性アセト乳酸合成酵素のアミノ酸を変異させたものであるため、基質の1つである $\alpha$ -ケト酪酸に対する基質親和性が低下し、ヘプタデカン酸等の奇数鎖脂肪酸の合成の基となる $\alpha$ -ケト酪酸が蓄積した結果、それら奇数鎖脂肪酸の合成量が増加したことによるものと推察されたということでございます。

84 ページにまいりまして「7 宿主との差異に関する事項」でございます。

「(1) 主要構成成分」についてですが、脂質及び灰分につきましては、統計的有意差が認められておりますが、いずれも非組換えダイズの分析結果に基づく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。

85 ページにまいりまして「(2) 脂肪酸組成」です。

「主要脂肪酸」についてですが、オレイン酸含有率は非組換えダイズの約 20%に対し、75%に

増加し、リノール酸含有率が 50%から 4%程度に低下しております。また、パルミチン酸、ステアリン酸の統計学的有意な低下及び前駆体であるリノール酸の低下に伴うリノレン酸の統計学的有意な低下が認められておりますが、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。

86 ページにまいりまして、本品種のオレイン酸含有率はオリーブ油等の高オレイン酸含有油と同等であるということでございます。

87 ページ「その他の脂肪酸」についてですが、8種類の脂肪酸につきまして、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、ヘプタデセン酸、エイコサジエン酸以外につきましては、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。また、エイコサジエン酸につきましては、文献データはなく、検出限界未満の値が多いため許容値が設定できないため、FDR という統計手法を用いまして統計処理を行った結果、統計学的有意差は認められなかったということでございます。

89 ページにまいりまして、有意に増加をしておりますヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の増加がヒトの健康に影響を及ぼさないかについて考察が行われております。

ヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸につきましては、種々の食品に含まれており、日本人は牛肉、豚肉、牛乳等から多くのヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸を摂取しております。

次のパラグラフの中ほどにまいりまして、ダイズ油の約 50%が本品種を用いて製造した油に置き換わった場合、ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の 1 日摂取量の増加は、それぞれ 0.02%、0.36% となるということでございます。

90 ページにまいりまして、以上、ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸は、日本人の食生活にとって新規性はなく、増加量もわずかであることから、ヒトの健康を害するおそれはないと考えられたということでございます。

92 ページ「(3) アミノ酸組成」ですが、トレオニンとグルタミン酸につきまして、統計的有意差が認められておりますが、いずれの値につきましても、許容値及び文献値の範囲内であったということでございます。

93 ページ「(4) ミネラル類」につきましてですが、カルシウム及びマグネシウムについて、統計学的有意差が認められておりますが、いずれの値につきましても、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。

94 ページ「(5) ビタミン類」につきましては、ビタミン B<sub>1</sub> 及びγ-トコフェロールにつきまして、統計学的有意差が認められておりますが、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。

95 ページ「(6) 栄養阻害物質等」につきましてですが、96 ページ、97 ページに示されておりますとおり、栄養阻害物質及び2次代謝物の6種類につきまして、統計学的有意差は認められておりますが、いずれにつきましても、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。

98 ページにまいりまして「8 諸外国における認可、食用等に関する事項」ですが、以下に示された国で申請及び承認が行われておるということでございます。

「9 栽培方法に関する事項」ですが、従来のダイズと同様ということでございます。

「10 種子の製法及び管理方法に関する事項」につきましても、従来のダイズと同様ということでございます。

99 ページ第7につきましては、第2から第6までの事項により安全性の知見が得られており、下記に記された試験は必要ないと判断されるということでございます。

説明は以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

時間が過ぎておりますけれども、一応先生方からコメントをいただいた方がよろしいかと思いますので、時間がかかっておりますけれども、よろしくをお願いします。

項目ごとにまいりたいと思っておりますけれども、まず1ページから4ページの第1に関しまして、コメントがありましたら、お願いします。よろしいでしょうか。どうぞ。

○橋田専門委員 3ページのところですが、プレミアム油として利用されるであろうことから、置換される割合が多くとも半量と書いてありますが、それは消費量全体として見たときには、そういうことも想定できるのかもしれませんが、個人レベルで考えたときにこの50%を上限と考えるというのは、必ずしも妥当ではないような気がいたします。その辺りはいかがでしょうか。

○鶴身課長補佐 後ほど摂取量のところで半量で計算もしていて、小関先生からもそれは直すようにコメントをいただいておりますので、併せて申請者の方に指摘をしたいと思います。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。

それでは、5ページの第2から、ついでに第3の9ページまでのコメントをお願いしたいと思います。どうぞ。

○鎌田専門委員 5ページの一番最後の「なお」のパラグラフのところで、何箇所か後にも出てくるんですが、除草剤耐性ダイズとして農家に販売する予定はないと書いてあるんですが、これはこの人たちの望みであって、使うかどうかは全くわからないことです。それについて、後ろの方にもそういう記載があるので、安全性評価上これを書かれたからといって免除するわけではないと思うので、余りこの書き方はされない方がいいのではないかと思います。

○澤田座長 「マーカースとして利用され」まではいいんですね。

○鎌田専門委員 いいんです。

○澤田座長 ただ、その後は書いてあろうがなかろうが、安全性評価には影響しないので、無駄なことは書かない方がいいということですね。

○鎌田専門委員 はい。

○澤田座長 どうぞ。

○橋田専門委員 それに加えて確認させていただきたいのですが、こちらのタイトルが高オレイン酸含有ダイズとなっております、アセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズという文言が入っていないのですが、その辺りの扱いというのはどのようになるのでしょうか。教えていただければと思います。

○澤田座長 一応タイトルは企業の望むタイトルにすることが多いと思ひまして、なおかつ、これまでもメーカーにこういう除草剤耐性を使った例があるんですけれども、それは明記していないこともあったような気がしますので、タイトル自身は問題ないと考えます。

どうぞ。

○飯専門委員 今は、除草剤耐性という形質は使わないつもりであるといっていますけれども、いつ考えが変わるかわからないので橋田先生と同じ気持ちを持つのですが、ただ、将来この改変遺伝子を持つダイズとのスタックなどをやっていきたいといった場合には、ここで入れている遺伝子がどう働いているかということがその時には出てくる可能性がありますけれど、それはそのときに改めて考えればいいというスタンスで見ればいいのかという辺りについて、確認をしておいていただけたらと思います。

○澤田座長 安全性評価上は当然きちんと考えるべきことかと思ひます。

○飯専門委員 そういう意味で、この後も足りていないところがあれば指摘すればよいということですね。

○澤田座長 タイトルの問題ではなくて、本文の問題ですか。

○飯専門委員 本文です。

○澤田座長 本文には明記することになります。

○飯専門委員 除草剤をかけたときの試験であるとか、そういう部分の不足になってくるかと思ひます。

○澤田座長 それは微妙なところで、皆さんの御意見をお伺いしないといけないと思ひます。一応除草剤耐性と銘打って販売しないんですけれども、それを知って除草剤をまく可能性は否定はできない。その場合に、そのデータを従来どおり要求するかどうか。そういう御質問でよろしいんですね。

○飯専門委員 1つのケースとしてはそうですし、一方では、この企業が今度はここで利用したのと同じ遺伝子を除草剤耐性ダイズとしても使うわけです。

○澤田座長 掛け合わせの場合ですね。

○飯専門委員 そうです。掛け合わせのときに、相手方の性質に対して、今こちらも同じような性質でありうる。でも、その部分が不明のまま出てきてしまう可能性もあるので、今検討をやっておくか、将来やるかみたいな話にもなるかと思いました。掛け合わせ品種だけをそのときにやればいいのかといっても、掛け合わせ前のもともとのデータがあるから、掛け合わせの後のデータを比較するというプロセスになるでしょうから。

○猿田評価調整官 よろしいですか。全部見た後で、もう一回議論するとよろしいのではないのでしょうか。

○澤田座長 今の質問はよろしいんですか。そういうニュアンスの質問ですか。

○飯専門委員 はい。

○澤田座長 わかりました。

最初の問題の農薬絡みのデータが必要かということは、やっておかなければいけない話だと思います。

どうぞ。

○山崎専門委員 農薬に関しては、日本は残留農薬の規制がありますから、それに通らなければ輸入はできないので、データがあろうがなかろうが私は関係ないと思います。

○鶴身課長補佐 今、飯先生から御指摘いただいたことは、前回の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のときのように、農薬をまいたときに中身の構成成分がどう変わるかという意味で、残留農薬という趣旨ではないですね。

○山崎専門委員 わかりました。

○飯専門委員 前のときに同じようなデータが出てきていたことがあるので。

○鶴身課長補佐 そうですね。ただ、前回のトウモロコシもそうですけれども、結果的にそれによって違いはなかったという結果があります。

今回のものは一応マーカーとして使っており、除草剤耐性だという表示はしないと言っています。

○澤田座長 ほかの先生方で御意見はいかがでしょうか。かなり難しい点はあるかと思っています。

○手島専門委員 スタックとして考えるということであれば、この段階では農薬をかけたときの影響といったものを調べておいた方がいいのではないかと思います。

○澤田座長 御意見ありますか。

○鶴身課長補佐 済みません。スタックは別途除草剤の耐性とかけ合わせて、前回のダイズとかけ

合わせて売るといことです。だから、今ここで持っているものを、直接、除草剤耐性として機能させようとは思ってはいないという説明です。

○澤田座長 どうぞ。

○橋田専門委員 スタック云々は別にして、もしかしたら、成分に対する影響ということで農薬をかける、かけないというデータの提出を求める必要も追々生じてくるのではないのでしょうか。また、申請者が言うようにこれは高オレイン酸含有ダイズであり、除草剤耐性でないとして売ったとしても、除草剤をかけることを妨げることはできないと思います。従って、そういう意味でも、データがまた前回のようにあるのではないかと思いますので、出していただいた方がよろしいかと思いません。

○鶴身課長補佐 それは一応確認しまして、ないということです。

○澤田座長 今日は時間が余りありませんので、どうしましょうか。

○鶴身課長補佐 とりあえずほかのところの御指摘もいただいて、後で指摘事項の確認をいただくときに、また追加なり修正をいただければと思います。

○澤田座長 それでは、そういうふうにさせていただきたいと思います。

それでは、先にいってもよろしいでしょうか。第4、第5までいきましょうか。10 ページから25 ページで、ちょっと長いんですけども、この辺りに関してコメントがありましたら、お願いします。どうぞ。

○渡辺専門委員 安全性と直接は関係ないんですけども、導入した遺伝子の配列、FAD2の話なんですけど、後の話で FAD2-1 と 2-2 があることがわかるんです。細かいんですけども、2-1 と 2-2 の関係を、例えば 16 ページに「① *gm-fad2-1* 遺伝子の機能」と書いてあるところがあるんですけども、簡単に書いておいてほしい。2-1 を抑えて、2-2 はどうなのかということがわかっていると思うんですけど、その辺は参考までに情報がほしいという感想を持ちました。

○澤田座長 それは 16 ページの①ですか。

○渡辺専門委員 そうです。その辺にあればいいのではないかと思います。下に図もありますし、これは FAD2 を代表させて 1 つの酵素のように書いていますが、実は 2 つある。そこを教えてほしいと思います。

○澤田座長 それは追加していただくことにします。

ほかにございますか。どうぞ。

○鎌田専門委員 いろんなところがあるんですけど、1 つはマイナーなことで、19 ページの 17752A を構築するときの最後の段階の切り出しは、どうやって切り出したかということがきちっと書かれていない。

21 ページの図でいくと、左側の上から 2 番目の辺り、どういうふうに切り出して、どういうふうに入れたのが最後にきちっと書かれていないところがあります。

それから、同じように今度は右側の方の 17752A のところも、最後のところは「Ase I 処理」と書いてあるんですが、その上のところの構築はどうやって切り出して、どうやってつくったのか。同じ制限酵素で切ったようにも見えるし、よくわからないんです。本文中も詳しく見たんですが、そのところだけ書いてないんです。そこら辺は細かいことだけれども、ちゃんと書いていただきたいというのが 1 つです。

それから、23 ページです。そもそもこれはこの専門調査会として要求している項目のタイトルと中身の問題なんですけど、例えば (4) は「純化されていることに関する事項」で、結論からいうと純化されていなかったということです。ということは、それはそもそもおしいのではないかと。純化されているものを想定してやっているのに、純化されていなかったという結論を書かれると、この時点でどうするだろうか。今回の申請はこういう項目が非常に多くて、本来そうあってはいけないものが実はという話ばかりになってきます。

○鶴身課長補佐 済みません。そうしましたら、時間の関係もございまして、とりあえず各先生方から御指摘事項を幾つかいただいております、持ち越しということにさせていただこうと思います。現時点でそれぞれ先生方が気づかれた点をお話いただければと思います。

○鎌田専門委員 すごく大きなことだけを言うと、25 ページのどこからを認めるかという話で、これは幾らやっても切りがないんですが、今回のものを見ると、T4 と T5、F2 を調べた。でも、T3 から認めてほしいとあって、一番右側のバッククロスの列は何にも調べていない状況で、それで全部を OK してくれというのは、前回からの話でおかしいということが 1 つです。

それから、安定性も含めて調べるのに、ここでいうと T3 はちゃんと純化されている。ホモ化されているので、あとは多分同じでいだろうという論調なんですけど、ホモ化されているというデータはどこにもありません。それよりも、後ろの方の安定性の中で、抜けているものとかいろんなものがあります。

サザンのデータを見ていると、4 つの断片とここでは書いてあるんですが、細かいところを見ると 5 つありそうだというデータになっていまして、そうすると、記載していることとデータが合っていない部分が非常にたくさんありまして、もう一回、自分たちが商品化したいもののアイデンティファイをきちっとやってくれないと、調べたものがこれでいいかどうかは実はよくわからない。

それと同じことが、先ほど成分分析等いろんな話が出てきましたが、あのときに使ったのが右側の列でいろいろつくってきたもので、入れた遺伝子がないはずのものと書いているんです。分離してきた中で、彼らが多分ないだろうというものを実は比較検討に使っているんですが、それは抜け

ているという保証がデータからどこにもとれていないんです。そもそもコントロールのとり方がおかしいということになってしまうので、これは使っている材料全体をもう一回明らかにしていただきたい。本当にコントロールして使っているかどうかも含めて、もう一回明らかにしていただかないと、全体の議論に入れたいと思っていますので、そこだけはまず聞いてみてください。

○澤田座長 あと、小関先生からも大分コメントが出ていまして、そこら辺をもう一回見直してくださいということが必要かと思います。

あと、それ以外の重要なポイントで、コメントをこの場でしておきたいことがございましたら、お願いします。どうぞ。

○五十君専門委員 これは全体の問題なんですけれども、新たに遺伝子組換えとして導入しているものと違って、どちらかというと、ナチュラルオカレンスに近いところでいろんな現象が起こってしまっています。これを指摘するとしたら、このデータは申請者が用意したデータなんですけど、我々として、こういった場合にどこまでを要求するかの方針を決めてから指摘をしないとといけないと思うんですが、いかがでしょうか。

○澤田座長 ナチュラルオカレンスに関しましては、種子植物の場合は関係ない話なので、それは指摘に反映することではないと思うんですけれども、それ以外の指摘の仕方というのは、むしろ、栄養改変の問題を考えた場合の指摘の仕方だということによろしいですか。

○五十君専門委員 恐らく自然界で起こっているようなことも混ぜ混ぜでデータを出してきて、解析していると思うので、收拾のつかない部分がデータとして出ていると思うので、その部分を外していかないと、きちっとしたことが言えないような気がします。

○澤田座長 またあとの指摘事項で正確に書いていただけるとありがたいと思います。

ほかにありますでしょうか。

コピー数や断片の数などが非常に多くて、多分、数の計算が合わないとかいろいろあると思いますので、そこはもう一度きちんと書き直していただくということは、皆様お思いかと思います。

ほかに何かございますか。どうぞ。

○手島専門委員 54 ページなんですけれども、遺伝子産物の組換え体内における発現部位という項目で、今回の *gm-fad2-1* 遺伝子というのは、ジーンサイレンシングという意味で入れているので、従来だとタンパクがここにくるのに、ここは mRNA の発現ということで見えています。それで、この評価項目に RNA が発現されていないということを入れているんですが、その際にタンパクの発現が起きていないかどうかということのデータも、ここの中には含めた方がよろしいのではないかと思います。

○澤田座長 一応ジーンサイレンシングで mRNA のレベルが下がって、タンパクのレベルも下が

っているはずなんですけれども、微量にタンパクも出ている可能性はなきにしもあらずということ  
で、それはきちんと明確にさせていただいた方がいいということですね。

○手島専門委員 そうですね。

○澤田座長 ほかの例で代を重ねると、微量のタンパクが出てくるというケースもあり得ますが。

○鶴身課長補佐 内在性の FAD2-1 のタンパクということですか。

○手島専門委員 そうです。

○鶴身課長補佐 内在性が減っているということですか。それを確認すればいいんですね。

○手島専門委員 はい。

○澤田座長 内在性は2種類ありますね。両方とも減る可能性があるんですか。

○手島専門委員 内在性の遺伝子の一部を DNA として導入することによって、最終的には内在性  
遺伝子由来タンパクの発現を抑えているということです。なので、調べるとすれば、内在性のタン  
パクの発現が抑えられているかどうかということの確認になると思います。

○鶴身課長補佐 そうしましたら、今までいただきましたものをとりまとめて、次回の調査会のた  
めの資料として、事前に御確認をいただきたいと思います。追加があれば、またおっしゃって  
いただきたいと思います。もし仮に事前に聞いておけというものがあれば、また言うだけであれば、  
事前に確認をしておきます。

○澤田座長 それでは、大分コメントをいただきましたので、もう一回やる必要があると思います。  
とりあえずいただいた御意見と追加でメール等でいただいた御意見を指摘事項案としてとりまと  
めて、厚生労働省を通じて指摘したいと思いますけれども、それでよろしいですか。

その前にもう一度やりますか。

○鶴身課長補佐 もう一回、調査会で御審議いただきます。持ち越しということにさせていただけれ  
ばと思います。

○澤田座長 持ち越しにさせていただきます。

それでは、議題（1）については終わりたいと思います。

議題「（2）その他」ですが、1つ報告がありまして、2月の専門調査会で審議いたしました GGI  
株を利用して生産されたL-グルタミンについてでありまして、生産菌株に抗生物質耐性マーカー  
遺伝子を有していないことを示す資料を提出すること及び概要書の修正について指摘を出したと  
ころであります。その取扱いにつきましては、担当の先生に御協力いただきまして、座長預かりと  
なっておりました。

確認した結果、すべての指摘事項について適切な回答が得られましたので、パブリック・コメン  
トを実施し、既に食品安全委員会の審議を経て、評価書を厚生労働大臣あてに通知しております。

私からの報告は以上です。

ほかに事務局からございますでしょうか。

○鶴身課長補佐 特にございません。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、本日の会議はこれで終了させていただきます。

なお、今後の予定につきまして、事務局からお願いいたします。

○鶴身課長補佐 御確認させていただいたところ、今回は6月19日金曜日の午前中が一番都合がよろしいかと思っておりますので、日程の確保をお願いしたいと思います。

なお、御案内のとおり、6月から食品安全委員会が移転をしますので、今回は場所も変わりますので、詳細についてはまた御連絡をいたします。TBSの近くになりますので、6月19日の午前であることと、場所が違うということを御留意いただきたいと思います。

○澤田座長 それでは、閉会とさせていただきます。今日も長い間ありがとうございました。