

食品安全委員会

遺伝子組換え食品等専門調査会

第 71 回議事録

1. 日時 平成 21 年 6 月 19 日（金） 10:00 ～11:48

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

(1) 食品健康影響評価について意見を求められた遺伝子組換え食品等の安全性評価について

- ・高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1（食品・飼料）
- ・XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼ
- ・除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統（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、宇理須専門委員、鎌田専門委員、橘田専門委員、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、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、本間委員

(事務局)

栗本事務局長、大谷事務局次長、北條評価課長、鶴身課長補佐、松尾係長

5. 配布資料

資料 1 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）

資料 2 食品健康影響評価に関する資料

- ① XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼ
- ② 除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統（食品）
- ③ 除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統（飼料）

参考資料 安全性評価に係る指摘事項について

- ・ XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼ
- ・ 除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統（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 71 回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催いたします。本調査会は非公開で行います。

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

本日の議題は、継続審議品目であります高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1、XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼ、それから除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 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たいと思いますので、事務局からよろしく願いします。

○鶴身課長補佐 それでは、議事次第に基づきまして、配付資料の確認をさせていただきます。

配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿。

資料 1 として、専門委員からのコメント。

資料 2 として、食品健康影響評価に関する資料。

参考資料として、安全性評価に係る指摘事項となっております。

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。

本ファイルは、終了後回収をさせていただきます、次回にまた配付をさせていただきます。

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、先生方には本日、御審議いただく予定の品目について、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。

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」に基づいて座長に資料の内容の御確認をいただき、企業の知的財産を侵害するおそれがある箇所が含まれているということから、非公開で審議を行います。

また、審議は非公開になりますが、国民への説明責任や透明性の確保の観点から開催予定日を公開いたしまして、会議が非公開であることを明示しており、今後、情報提供として議事録を作成し、知的財産を侵害するおそれがある箇所を削除した上で公開をいたします。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て公開いたします。

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、高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1の食品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、継続の品目でありまして、前回の専門調査会で審議を行いましたが、時間の関係で継続となったものであります。

前回の調査会において、また、その後で先生方からいろいろと出されましたコメントにつきまして、事務局でとりまとめていただいておりますので、まず、事務局から御説明をお願いします。

○松尾係長 それでは、説明をさせていただきます。

説明の前に、申請者の方から追加資料の提出がございましたので、お手元にお配りをしております。資料は、クリアファイルに入ったものでして、内容といたしましては、申請書の訂正に関するものとなっております。

それでは、お配りしております資料1の専門委員からのコメント及び黄色の紙ファイルの高オレイン酸含有ダイズの申請書を用いまして、先生方からいただきましたコメントについて御説明をさせていただきます。

まず、指摘事項1ですが、これが3ページにございまして「(3)摂取量」に関わる部分でございます。

ここの2行目に半量程度という表現がございしますが、この部分の根拠が不明瞭ということから修正を行うこととさせていただきます。

続きまして、指摘事項2は、5ページにございまして、最終行です。「除草剤耐性のダイズとして農家に販売する予定はない」という文言を削除することとさせていただきます。

す。

続きまして、指摘事項 3 が 16 ページにございまして「① *gm-fad2-1* 遺伝子の機能」の項に本申請書の 54 ページ辺りに出てくるのですが、植物全体で発現する *FAD2-2* 遺伝子についての説明を記載するということとございます。

続きまして、指摘事項 4 が 21 ページにございまして、図 7 に DNA 断片の構築に使用した制限酵素及び制限酵素サイトを記載するということとございます。

続きまして、指摘事項 5 が次の 23 ページにございまして、(4) 発現ベクターが純化されていることの項となりますが、本申請品目が発現ベクターの外骨格領域が導入されていますので、この点について後ほど御議論をいただきたいと思えます。

続きまして、指摘事項 6 及び 7 になりますが、これが 25 ページにございます。まず、指摘事項 6 といたしまして、図 9 の一番右側の BC1F1 のラインでサザンブロット分析が行われていないという御指摘です。

もう一点が、同じく図 9 の T3 がホモであるという記載がありますが、これがホモである根拠を示すこととということとございます。

続きまして、指摘事項 7 が、同じく図 9 の F1 の下の部分に PHSB02 及びその右に自殖という記載がございますが、この記載が逆ではないかという御指摘でございます。

この指摘に関しましては、先ほど冒頭で御説明をさせていただきました追加資料の中で申請者側の間違いであるということと訂正書類が提出されていることから、この指摘については特に問題がないということとよいと思われます。

続きまして、指摘事項 8 が、次の 26 ページ以降に関わってくるものですが、26 ページ以降に掲載されておりますサザンブロット分析の結果につきまして、正確に理解するために必要な資料を添付することとということとございます。

続きまして、指摘事項 9 及び 10 が 28 ページにございます。

まず、指摘事項 9 でございますが、図 10 の中央のパネルにございます *gm-fad2-1* プロンプを用いた結果のレーン 2 及びレーン 3 に両端のパネルでは検出されています約 3 kb のバンドが出ていない理由を説明することが 1 点です。

もう一点が、同じく図 10 のプロモーター及びターミネーターのパネルのレーン 2 及び 3 の 3 kb のバンドにつきまして、出現している位置が異なる理由を説明することという指摘になっております。

もう一点、指摘事項 10 につきましては、左側のプロモーター及び中央の *gm-fad2-1* のパネルに 4 番と記載されているバンドがございますが、このバンドがターミネーターのパネ

ルには検出されていないことから、新たに5番目の挿入遺伝子が存在する可能性があると考えられることから、このことを否定する理由を説明することという指摘になっております。

続きまして、指摘事項11ですが、これは33ページにございまして、33ページの中央の *gm-hra* のパネルに、約4.6kbのバンドが出ております。

このバンドが、別の領域の *gm-hra* 遺伝子のバンドである可能性があると考えられることから、これを否定する理由を説明することという指摘になっております。

続きまして、指摘事項10が54ページにございまして、2 遺伝子産物の発現部位、発現時間、発現量に関する事項ですが、ここで内在性の *FAD2-1* 遺伝子の発現が抑制されていることを確認することという御指摘をいただいております。

続きまして、指摘事項13が65ページにございまして、65ページの3番、遺伝子産物の一日タンパク摂取量の部分ですが、以下、2つのパラグラフがございまして、この順序を逆にした方が言い回しがよいのではないかという御指摘をいただいております。

続きまして、指摘事項14ですが、これが77ページ、78ページに関わってくる部分でございまして。

77ページの5番の遺伝子の安定性に関する事項ですが、この安定性を確認するために、*NcoI* という制限酵素を使用しているのですが、ここでなぜコピー数の確認などに使用した *EcoRV* や *SpeI* などの制限酵素を使用しなかったのか、その理由を述べることという御指摘をいただいております。

続きまして、指摘事項15は82ページにございまして、サザンブロット分析のサンプルとして、レーン4、5、21、25、29にヌル分離個体を使用されております。

まず、1点目は、使用したサンプルはヌル分離個体である根拠を示すこと。もう一つの指摘といたしまして、そもそもヌル分離個体を使用した理由を説明することという指摘をいただいております。

続きまして、指摘事項16が84ページ、7番の宿主との差異に関する事項でございまして、除草剤散布をしたデータを要求すべきかという指摘をいただいております。

続きまして、指摘事項17ですが、これが85ページ、86ページに関わってくる部分でございまして。本申請品目に遺伝子を導入することによって、含有量が低下しているリノール酸及びリノレン酸がヒトの健康に与える影響について考察を行うことという指摘になっております。

最後、指摘の18番ですが、これが89ページに記載がございまして、89ページの下から

5行目、現在のダイズ油が置き換わる割合が多くとも半量程度という記載がございますが、これを全量として考察をし直すべきという御指摘をいただいております。

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。それでは、いただきましたコメントにつきまして、指摘事項として出してよいか、それぞれ順番に御意見をいただきたいと思えます。

まず、1番の指摘事項、3ページでありますけれども、この半量程度は適切に修正するというところでありますけれども、これは指摘として出してよろしいでしょうか。

○橋田専門委員 よろしいかと思えます。ただ、その前のところも気になりまして、オレイン酸を多く含むプレミアム油を搾油するダイズとして利用されると規定されているのですが、その利用に当たっては、実際利用者が決めるものかと思えますので、ここら辺の文章に関しても、若干検討していただいた方がよろしいかと思えます。

○澤田座長 プレミアム油という言葉がちょっと引っかかるということでしょうか。

○橋田専門委員 そうではなくて、そのために使われるというよりも利用目的を完全に開発企業の方が規定してしまっているというところが、少し気になります。それを目的としてつくってはいるんでしょうが・・・。また、これから後段の方でほかのものをつくることは想定していないということまで書いてあるのですが、それはあくまで会社が想定していることであって、実際の利用者がどのような利用をするかということまでは・・・。

○澤田座長 では、その点を考えて修文していただきたいと思えます。

○橋田専門委員 はい。

○澤田座長 ほかになければ、次の2番目ですけれども、5ページの販売する予定はないというもの、これはマーカーとしてのみ利用されるに修正すべきであるということで、これは問題ないかと思えます。

それでは、3番目の16ページでこれは *FAD2-2* が内在性の遺伝子としてあるわけでありましてけれども、その説明がきちんと書かれていないということで、これも説明していただいた方がよろしいかと思えます。ほかに何か追加で御意見があればと思えます。

○渡辺専門委員 私のコメントということなんですけれども、ほかのサザンとかが後で出てくるんですけれども、やはりプローブの厳密さというのも *FAD2-1* との区別ということを含めて、明確にコメントをした方がいいかと思えますので、遺伝子の構造の違い、共通性と書いてありますけれども、プローブとしての厳密性ということもコメントしてほしいと思えました。

○澤田座長 *FAD2-1* とどのくらい違っていて、例えばいろいろPCRをやったり、サザンを

やったりするときに出ないということを確認していただきたいと思います。

○渡辺専門委員 議論しないということで読めば読めるんですけども、軽くホモロジーがあるとかという、どこまでプローブとかPCRが厳密かわからなくなるような気がしますので。

○澤田座長 それでは、そのようにしていただきたいと思います。

それでは、4番目の21ページに行きまして、利用した制限酵素名及び制限酵素サイト名が抜けているということで、記述を追加してもらいたい。これは追加していただければよろしいかと思います。

5番目の23ページに移らせていただきます。目的外の遺伝子の混入がないように純化されていることということでありまして、これは結果としてあまり純化されていないということがわかってしまったという状況にある申請でありまして、この扱いをどうするかということと、この項目の表現がこれでいいかということをお意見いただきたいと思います。どうぞ。

○鎌田専門委員 実際の食品安全委員会としてのデータがどうのこうのではなくて、まさに言葉だけの問題なんですね。本来だと純化されていることと書いたら純化されていなければいけないはずなのに、結果として純化されていなかったというふうに書かれると、タイトルと不一致ですというだけのことなんです。

○澤田座長 書きぶりとしては、どういうふうにすればよろしいですか。純化したつもりでしたが、後で判明しましたと、そういうエクスキューズがあればよろしいということですか。

○鎌田専門委員 はい。

○澤田座長 それでは、一応書きぶりを、かなり注意深くきちんと書いていただくということにしたいと思います。

それでは、25ページ、6番目の申請対象とする世代の問題でありまして、これは、追加で適切な試験が必要であるというのが1点と、もう一つは、T3がホモ化されている根拠がほしいというのがもう一点ありますけれども、これは鎌田先生、お願いします。

○鎌田専門委員 いつものことなんです、要するに商品化する、あと構成成分分析をやっているのがBC1F5というラインでして、これがほかのラインと基本的に同じようなものであることを保障しておかないと、構成成分分析のデータそのものも使えなくなってしまうということもあって、きちんとデータを出して、同じであるということだけの保障はきちんとまず取ってくださいというのが最初の点です。

○澤田座長 この場合は、具体的には追加でどの辺をやればよろしいですか。

○鎌田専門委員 ある意味、どこでもいいんですが、BC1F1のこの流れのものが、例えばサザンプロット分析をしているT4とか、F1はやっていないので、F2の流れのものとかということと基本的に同じパターンになることを保障していただきたい。

○澤田座長 このBC1の系列のどこかでサザンをやって、それが既にやっただけあるものと同じであることを言ってほしいということですね。

○鎌田専門委員 そうです。

○澤田座長 それから、T3のホモの問題は、これは出していただくしか多分ないと思います。

○鎌田専門委員 出していただくしか、多分ないと思います。

○澤田座長 それでは、そのように指摘したいと思います。

○鶴身課長補佐 確認をさせていただきたいんですが、サザンの場合は、できるだけ上の方がいいという理解でよろしいですか。

○鎌田専門委員 上の方がいいに決まっていますので、種子がなくなっているかもしれないので、できるだけ上でということです。

○澤田座長 それでは、7番目の、この指摘は誤りを訂正したものが来ていまして、新しい方は、緑色で直ったところですね。これでよろしいですか。

○飯専門委員 はい。

○澤田座長 では、これは直っていますので、指摘する必要はないと思います。

それでは、8番目の26ページ以降のサザンプロットの解釈が極めてわかりづらいので、もう少しきちんと説明をするということと、記述に整合性が取れていないという点、それから制限酵素サイトの情報が載っていないことがあると、その辺の御指摘だったと思います。これは飯先生、お願いします。

○飯専門委員 申請者の解釈で正しいのかなという気はするんですけども、別の解釈が成り立たないという確信を持ちきれないもので、そこで図としての表現の仕方をもう少し工夫していただく方が、小関先生のいろいろなコメントも含めて検討しようと思ったときに間違いなく答えを出せるのではないかということです。先ほどの鎌田先生からのサザンの追加とかというものもありますので、それも含めて次の回答のときに配慮してくださいと、そういう意味でのお願いをしたいと思います。

○澤田座長 次の9番、10番もやり出すと、多分密接に絡んでくるかと思っています。

それで、小関先生から、今日は御欠席でありますけれども、9番と10番、やはり28ペ

ージの図の解釈でありまして、何か余分なバンドが出ておりますので、このバンドの説明をきちんとしてくださいということです。これは、小関先生から何か追加のコメントはありますか。

○鶴身課長補佐 特にございません。記載のとおりでございます。

○澤田座長 どうぞ。

○丹生谷専門委員 小関専門委員、御本人がいないのでちょっと確認できないんですけれども、この3行目に書いてある3 kbのバンドというのは、申請者によりますと、内在性遺伝子となっておりますから、これはプロモーターのトリプシンヒビター遺伝子の内在性のものも検出されたものであって、したがって *gm-fad2-1* をプローブとしたときに、検出されなくてもよいと私は判断しましたので、この点を確認いただきたいと思います。

○澤田座長 これは、次のときに確認したいと思います。

10番に関しまして、追加で何かありますか。一応、指摘事項として残したいと思います。

それでは、11番に移りまして、33ページ、これも小関先生のご指摘で、似たようなことです。

これも4.6 kbのバンドが見えているようでありますけれども、挿入遺伝子由来でないことを説明すべきとのことですね。

○鶴身課長補佐 そうですね。真ん中のパネルでレーン9のちょうど4.6 kbp ぐらいのところでバンドが見えますが、レーン8も薄く見えると言えば見える。レーン7、レーン6が見えるか、見えないかと、そういった観点もございまして、本当に新しい挿入領域はないかと、断片がないのかという点の確認をしてくださいという御指摘です。

○澤田座長 これは、一応、確認していただくということですね。

それでは、12番、54ページ、先ほどの *gm-fad2-1* と関係しますけれども、ジーンサイレンシングが起きたときに、内在性の *FAD2-1* の発現等がどうなっているかという御指摘です。

○手島専門委員 御指摘の内容で問題ないと思います。

○澤田座長 これは、*gm-fad2-1* 自身の説明を加えていただくと同時に、この発現がどうなっているか、一応追加していただく。

○手島専門委員 タンパクレベルでどうかということの確認をしていただきたいと思いません。

○澤田座長 わかりました。どうぞ。

○丹生谷専門委員 ちょっと言いにくいんですけれども、導入遺伝子の発現がどのようになっているかということ調べることは、勿論必要ですけれども、内在性遺伝子がどうな

っているかというのは、そこにそういう質問をする理由がやはりないからには、ちょっと安全性評価の基準からすると、内在性遺伝子のことについては、必ずしも調べる必要はないのではないかと考えているんですけれども、いかがでしょうか。

○澤田座長 *gm-fad2-1*の機能次第で、それが代謝系に重要であれば、やはりやった方がいいのかなという気がします。次回に出てくる説明に依存して、重要だったら見なければいけないということになるのかと思います。

○手島専門委員 この項目が遺伝子産物の評価の項目だということがありまして、そうすると、この *gm-fad2-1* 遺伝子を入れたことによって、ジーンサイレンシングによって内在性のタンパクが抑制されているという結果がございますので、その確認の意味で指摘していただければと思ったんです。

○丹生谷専門委員 いいと思います。勿論、研究者としては興味あるんですけれども、安全性の議論とは離れて、確かにおっしゃるように、サイレンシングの例というのはそんなに多くないので、この際、少し説明をいただいてもよろしいかと思います。では、先ほどの発言は取り消します。

○澤田座長 それでは、指摘として出していただく。一応、メッセージャーは出ているんですけれども、タンパクとして微量出ているかどうか。

それでは、13番、65ページ。これは、小関先生の御指摘で、パラグラフの順番を変えた方が論理的な言い回しになるかということなんです。

これ自身は問題ないと思うんですけれども、よろしいでしょうか。

続きまして、14番の77ページ。これは、安定性に関して使っているリストラクションエンザイムが、それ以外に前に使っていたものを使っていないという御指摘。

○飯専門委員 これは、先ほどの鎌田先生の6番目の指摘と、意味としては同じです。それとペアで考えていただいた方がいいかと思うんですけれども、結果を解釈しようとしたときに、*Nco*Iで切るとどういう断片が出てくるかという、ほとんどの断片が大きくて特定不能となっています。一方、断片が複数箇所に入っていて、少なくとも4か所に入っているという結果が出されています。小関先生の指摘からは、もう一箇所あるんじゃないかという危惧が出されています。それから更に、分離を見る限り、これらの4か所あるいは、もしかしたら5か所というのが、かなり近いところにリンクしていて、1ローカスと考えられるということがあります。そうしますと、図の中の特定不能な *Nco*I断片が隣の挿入断片の特定不能の *Nco*I断片と実はつながっているという可能性も否定できなくなりまして、*Nco*I断片の数から何箇所かと考えていくと、もっとたくさんの挿入があるという心配

も、データを見ていて出てきました。

そういう意味で、何でもこういう特定不能の断片ばかり出てくるような酵素を用いたのか、それよりは同じ材料を使って別の切り方をしているデータを前に出しているの、そちらの方がいいのではないかと思ったわけです。例えばフィルターとかがあるのなら、リハイブリでもしたらよろしいかなというのと、一方で T3 の方でも、ホモであることをしっかり見なければいけないと、データを要求していることもあるので、それも考慮した上で、検討していただけたらということです。

安定性そのものではパターンだけを比べれば変化していないということは言えると思うんですけども、鎌田先生や小関先生のコメントも考慮された上で検討していただければと思っております。

○澤田座長 願わくは、ほかのところで使っている制限酵素を追加した方がいいと。

○飯専門委員 というか、あまり特定不能断片ばかりにならないような形で出していた方がすっきりするかなと思います。

○澤田座長 それでは、15 番目の 82 ページ、これはヌルの分離個体の話でありまして、まず、使用した理由と、それからヌルであるという証明が一応ほしいということでありませう。

これは、説明とデータが要るということになります。これはよろしいでしょうか。

○鎌田専門委員 はい。

○澤田座長 次に 16 番の 84 ページになりますけれども、宿主との差異に関する事項で、これはマーカーとして使っているということなんですけれども、一応、除草剤耐性の性質がありますので、データとして除草剤を散布した場合の構成成分のデータが要るのではないのでしょうかという御指摘。

これは、複数の委員から御提案いただいたんですけども、これは議論して頂いた方がいいかと思えます。

○丹生谷専門委員 先ほどの指摘事項 2 番のところ、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部分を削除したということがございました。

申請者側もそういうふうに販売する予定はないと言っていることが本当だったら、その商品には除草剤耐性という表示が多分出ないと思われませう。

そういう状況で、これを育てる農家が除草剤を果たして使うかということ、多分ただではありませうから、お金がかかりますから、多分使わないのではないかと思えますので、そういう状況をもし考慮するならば、果たしてこの指摘が必要かどうかというのは、ちよっ

と考える必要があるのではないかと思います。

○澤田座長 必ずしも必要ではないという御意見だと思いますけれども、ほかの先生方の御意見はいかがでしょうか。飯先生、手島先生、橋田先生。

○飯専門委員 ちょっと判断しかねるけれども気になるということで、前回指摘したというのが正直なところでして、除草剤をかけるというようなことがないということが担保されるならいいかなという気もするんですが、それはここよりはレギュレーションの方の話かなと、想像ができないところなので、そこをどうするのかというのは、やはり気になるところです。

○澤田座長 1つ心配なのは、栄養改変型のものであるという点で、何か知らないで除草剤をいろいろかける可能性はあるということですね。

どうぞ。

○鶴身課長補佐 前回確認をしたらデータがないと御説明をしたんですが、その後、更に確認をしましたら、データがあるようですので、申し上げます。

○澤田座長 データは既にあるのでしたら、出していただくしかないかなと。

○飯専門委員 データがあるなら、やはり出していただくのが一番すっきりしますし、2番目の指摘に対しても整合性がきっちり取れてくるのかなと思います。

○澤田座長 橋田先生も何かございますか。

○橋田専門委員 今のとおりでよろしいかと思います。今回のもの自体では除草剤耐性ということで出さないとなっていますけれども、今後、それをどういう形で利用していくか、例えばスタックにすることもあるのかわかりませんので、一応、データがあるのでしたら出していただいた方がいいのかと思います。そうなりますと、残留量というものも出していただくことになるのでしょうか。

○澁谷専門委員 私もやはり出してもらった方がいいと思いますし、それは最近除草剤耐性のものというのは、基本的に参考データとしては出してもらっています。ですから、そういう並びからいってもやはり出してもらった方がいいと思います。

それで、どうも除草剤耐性としては出さないということをしつこく書いているところが、むしろ気になるなど、やはりそういうのを、どのぐらい本当に実用レベルに達しているかどうかは別としても、除草剤耐性の遺伝子が組み込まれているということで、将来的にどういう使い方をされるかはちょっとわからないところがあるので、そういうことを考えると、一応データを出していただいた方がいいのではないかと思います。

○澤田座長 今のお話は、残留も含めて出していただくということですか。

○澁谷専門委員 データがあるということは、農薬散布したときにどれだけのレベルが残留しているかということをやっているはずなので、それが出てくると思います。

○澤田座長 それでは、一応データを出していただくということにしたいと思います。

それでは、17番目、85ページ、86ページで、これは石見先生の御指摘なんですけれども、今日は御欠席です。

○鶴身課長補佐 オレイン酸は触れていますけれども、その反面、リノール酸、リノレン酸が減っていますので、その点に関してヒトの健康に与える影響というものを考察しなさいという御指摘でございます。

○澤田座長 これは、栄養学的には出していただいた方がいいということになるかと思えます。

そうしますと、18番目で89ページ、これは多くとも半量程度という前提でやっているのを、一応全量として考察した方がよろしいという、小関先生の方ですけれども、これは特にコメントはありませんでした。これは、一応指摘したいと思います。

それでは、一応、前回までにいただいた指摘事項に関して、一応、7番を除いては、ちょっと修正があるかと思えますけれども、指摘を出させていただきたいと思います。

これ以外に追加する必要があるという御意見がありましたら、この際、よろしく願います。

○橋田専門委員 言葉遣いだけなのですが、75ページにウェスタンプロットを行ったときの、結果を示している図がありますが、加熱処理をしたときに、当該タンパク質の免疫反応性が90%以上低下したとなっています。この後に加熱処理により構造変化を起し、凝集しやすい性質を有することが示唆されるようになっていて、タンパク質の免疫反応性そのものが低下したというよりも、凝集することによって、反応させたタンパク質が減ったと、申請者の方も承知していると思うんですけれども、もう少し書きぶりを変えていただいた方がいいのかなと思います。

○澤田座長 あまり詳しく書いていないですね。

○橋田専門委員 元の報告書を確認しますと、サンプルを加熱して遠心をしましたということはきちんと書いてあるので、そこが読めるようにしていただいた方がいいかと思えます。

○澤田座長 それでは、その旨、もう少し説明していただければよろしいかと思えます。

それでは、ありがとうございました。ただいま先生方からいただきました御意見、確認事項を指摘事項案としてまとめまして、先生方に御確認いただいた上で、厚生労働省を通

じて、申請者に指摘したいと思います。よろしいでしょうか。ありがとうございました。

それでは、2番目の XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼの審議に移らせていただきたいと思います。

本品目につきましても、継続でありまして、2月の第68回専門調査会で審議を行い、指摘事項を出したものであります。

今回、申請者から回答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。

したがって、本添加物が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確認をしていただきまして、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は、安全性評価を行うために評価基準に沿った資料を提出していただくということを申請者に指摘したいと思います。

それでは、事務局の方から御説明をお願いします。

○鶴身課長補佐 ブルーの XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼというものを御用意いただけますか。

めくっていただいて、回答となっております。本品は、もともと宿主を *Bacillus subtilis*、それから供与体は、ヘミセルラーゼ遺伝子とターミネーターが同じく *B. subtilis*、プロモーターが *Bacillus amyloliquefaciens* の α -アミラーゼのプロモーターが用いられているというものです。

指摘の1としまして、当該微生物と分類学上の同一の種に属する微生物の DNA のみである場合、いわゆるセルフには該当しないことから、改めて提出をすることという指摘をしております。

回答の3行目になりますが、自然界における *Bacillus* 属間での遺伝子交換について調査を行った結果、XAS 株と同等の遺伝子構造を持つ生細胞が自然界に存在し得ると考えられたとされております。

内容につきましては、黄色のタグをめくっていただいて、概要書の19ページになります。

「自然界における *Bacillus* 属間での遺伝子交換について」ということで記載がされております。

最初のボツで、遺伝学上の根拠といたしまして、(1) *subtilis* と *amyloliquefaciens* の 16SrRNA の塩基配列は、99%以上の高い相同性を有していること。

(2) といたしまして、*Bacillus* 属の 16S リボソーム RNA の塩基配列の完全配列、それ

から高度可変領域配列を用いた分類において、この2種類は非常に近い種類であることが報告されていること。

(3)といたしまして、*subtilis*は高い自然形質転換能を有していて、細胞外のDNAを取り込むことが広く知られているという報告があるということ。

それから、次のポツで、実験室での証明といたしまして、(4)になりますが、種間の形質転換実験で *amyloliquefaciens* から単離したDNAを使用して、*subtilis*の栄養要求性を相補する形質転換株が得られていること。

(5)で、同様の試験でプロトプラスト溶菌液を用いた場合にも高い頻度で形質転換株が得られ、大きな染色体断片が取り込まれていること。

(6)としまして、*subtilis*と *licheniformis*の別種の間で遺伝子交換が報告されており、*licheniformis*よりも *amyloliquefaciens*の方が *subtilis*に非常に近いということが報告されていること。

(7)といたしまして、土壌環境中において2種類の遺伝的形質の異なった *subtilis*を混合して培養したところ、79%が両親の表現形質を合わせ持っていることが示されていること。

それから、単独菌にDNAを与えて土壌中で培養すると高い頻度で形質転換株が得られていることが示されていること。

次のページに行きまして、諸外国の状況ですが、(8)として諸外国において、自然生理条件下で遺伝子交換が行われている生物リストにも含まれていること。

このような科学的知見から *subtilis*と *amyloliquefaciens*の間で、自然に遺伝子交換がなされていると考えられ、最後の行になりますけれども、XAS株と同等の遺伝子構造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。

最初のページに戻っていただきまして、修正事項といたしまして、1番、XAS株の作成に使用した菌体及び遺伝子に関して、添加物製造への利用経験、それから食経験について記述を行うこととされております。

概要書に戻っていただきまして、18ページになります。食経験についてということで記載されております。宿主、供与体が属する *subtilis*は発酵分野で安全に利用されてきた歴史を有しており、これを基原とするヘミセルラーゼは、既存添加物名簿及び天然物便覧に収載され、パン生地の改良やコーヒー抽出率の向上などの目的で食品製造の際に広く使用がされている。

次のパラになりますが、また、*amyloliquefaciens*も発酵分野で安全に利用されてきた

歴史を有しており、我が国においてもデンプン分解酵素やタンパク分解酵素として穀類や酒類などの食品一般に使用がされている。

次のパラは、XAS 株から生産されるヘミセルラーゼは、海外でも使用がされているというように記載になっております。

回答書に戻っていただいて、2 ページを御覧ください。

アミラーゼ遺伝子のプロモーターの塩基配列について、*Bacillus* 属における相同性に関する内容の記述を行うことということで、相同性について調査をした結果、高い相同性、90% 以上を有する配列は検索がされなかったということです。1 番として、100% の相同性が見られたのは、プロモーターそのものであった。

2 番といたしまして「BLASTn」を用いた検索の結果ですが、相同性が最も高かったのは *thuringiensis* で連続した 36 塩基中 30 塩基の一致の 83% である。90% 以上を示す高い相同性を有する配列は認められなかったとされております。

回答は、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。ただいまの回答書につきまして、これから御意見をいただきたいと思っております。

まず、順番に行きまして、指摘事項の 1、これはナチュラルオカレンスに該当するものとしていいかどうかという点でありますけれども、その根拠が、先ほど御説明いただきましたように、19 ページ、20 ページに書いてございます。幾つか根拠がありますけれども、一応、この説明でナチュラルとして認めてよろしいでしょうかということになるかと思っております。

これは、一応、昔の文科省のレベルでは、従来認めてきたという経緯がありまして、恐らく研究開発段階では、一般に認められていることになるかと思っておりますけれども、一応、食品安全上はどうするかということになるかと思っております。

どうぞ。

○丹生谷専門委員 今のお話で認められてきたというのは、一般論でしょうか。それとも *B. subtilis* と *B. amyloliquefaciens* の話ですか。

○澤田座長 はい。それは、10 年以上前に大谷先生が文科省の見解としまして、遺伝子交換をするリストというのをを出しております。その中に、この 2 種が一応明記してあります。

○丹生谷専門委員 それならば結構です。ただ、発言したついでに申し上げますと、19 ページに書かれてあることの中で、最も直接的に近い証明というのは (5) で、しかし、これはプロトプラストを使っているという意味では、それをナチュラルと言えるかどうかと

いうのは疑問で、それ以外は、（５）よりももっと間接的あるいは状況証拠的なので、自然界で本当に起こっているかどうかということを実証するのは、なかなか難しいかと思えますし、そういう過去の認めた事例をもって承認することでも私は構わないと思えますけれども、19 ページの中の証拠は、本当に直接的な証拠は 1 つもないということは気付いた点として申し上げます。

○澤田座長 五十君先生、同じような御意見かと思いますが。

○五十君専門委員 最初は、セルフにこだわって表記していたのが、ナチュラルで整理してきたということで、ではナチュラルで見ることになると思います。ここに示されている表現を見る限りにおいては、*Bacillus* に関しては、従前から遺伝子交換が一般的に認められているので、この程度の記載があれば十分ではないかと思えます。

○澤田座長 ありがとうございます。ほかにコメントがもしございましたら、どうぞ。

それでは、この XAS 株を利用して、生産されたヘミセルラーゼに関しましては、ナチュラルオカレンスとして一応承認するというにしたいと思えます。

それでは、修正事項に移りまして、修正事項の 1 で、これは食経験等に関する事で、これは小関先生からいただいたんでしょうか。

○鶴身課長補佐 小関先生の方からは、特に問題はありませんというコメントをいただいております。

○澤田座長 山崎先生は、よろしいですか。

○山崎専門委員 追加でよろしいでしょうか。

○澤田座長 どうぞ。

○山崎専門委員 この記述の中で、概要版の 18 ページの食経験の方の最初の方の記述なんですが、「既存添加物名簿及び天然物便覧に収載され」という部分なんですが、この既存添加物名簿という表記は、実は既存添加物名簿収載品目リストというのが正確です。次に、この資料 4 に出ているものは、平成 7 年当時の流通実態として業界から報告のあったものを厚生労働省がまとめたもので、その後、フォローしていません。ですから、現在、流通実態があるかどうかということは、資料 4 からだけだと判断できません。

それで、調べましたところ、2005 年と 2006 年の流通実態を業界団体が調べているデータがありました。それを確認した結果を御報告したいと思うんですが、その業界団体の流通実態調査によりますと、ヘミセルラーゼに関しては、*B. subtilis* と *B. licheniformis* を基原とするヘミセルラーゼ製品の流通実態は報告されていませんでした。

ただし、食品用酵素全般を見ますと、さまざまな酵素で *B. subtilis* と *B. amyloliquefac*

*iens*を基原として使われているという実績が実際にありました。そういう意味で、この概要書に書いてありますように、産業利用、食品用酵素の基原として *B. subtilis* と *B. amyloliquefaciens* が利用されているという産業利用の実態は、直近でもあると確認できたと思います。

以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。この18ページの「食経験について」という段落で、これはこれで修正の必要はありますか、このままでよろしいですか。

○山崎専門委員 特段修正の必要はないと思います。厳密に言うと、既存添加物名簿と書いてあるところは、既存添加物名簿収載品目リストとすべきなんですが、そこだけです、あまり大きな問題ではないと思います。

○澤田座長 ありがとうございます。どうぞ。

○澁谷専門委員 山崎先生の配信されたのもちょっと見たんですけども、今、おっしゃられたとおりでと思うんですが、そうすると、この文章は、*B. subtilis* のヘミセルラーゼが産業利用を広くされているという文章になっているんですね。そこは違っているわけですね。つまり、*B. subtilis* やこの菌自体の酵素は利用されているけれども、それはアミラーゼとか別の酵素であって、つまり、2つに分かれていて、*B. subtilis* 由来のいろんな酵素が食品で使われているということは事実だし、それからヘミセルラーゼが使われていることも事実ですけども、食品分野で使われているヘミセルラーゼは、ほとんど糸状菌由来だと思うんです。ですから、やはりそこはちゃんと厳密に、要するに *subtilis* の酵素がいろいろ使われているとか、それはいいんですけども、それからヘミセルラーゼが使われているということもいいんですけども、ここで書かれているように、*B. subtilis* のヘミセルラーゼが非常に広く産業利用されているという記述は、もう少し正確にした方がいいんじゃないですか。

○澤田座長 古いリストに載っていたということは、少なくともかつては使われていた。

○澁谷専門委員 使われていればいいんですけども。

○澤田座長 ですから、広くという言葉が使われると。

○澁谷専門委員 というのは、登録はしていたと思うんです。通常考えると、ヘミセルラーゼなんかは *Bacillus* なんかは使わないと思うんです。あまりよくないから。

○澤田座長 ここはちょっと調べて直していただいて、掲載されているだけなら、最低限とどめる必要があるかもしれないということですね。過去の実態を調べてということで、そのようにさせていただきたいと思います。

それでは、本件は一応対象添加物に該当しない。すなわちナチュラルということでありまして、引き続き評価書（案）の審議に入りたいと思います。

事務局から御説明をお願いします。

○鶴身課長補佐 お手元にお配りしております資料2と記載してあるものを御用意ください。こちらの4ページになります。「Ⅰ．評価対象添加物の概要」といたしまして、添加物はXAS株を利用して生産されたヘミセルラーゼ、用途はパン生地の改良、コーヒー抽出率の向上などとされております。

本添加物の概要については、記載のとおりでございます。

34行目にまいりまして、ヘミセルラーゼは食品添加物であり、既存添加物名簿に記載されている。

宿主の由来である *B. subtilis* 及び供与体である *B. subtilis* 及び *B. amyloliquefaciens* は、発酵分野で安全に利用されてきた微生物であり、また *B. subtilis* を基原とする食品添加物についても、豊富な食経験及び使用経験がある。

「Ⅱ．評価対象添加物に該当するか否かについて」、まず1番、構築に関してですが、宿主は *B. subtilis* 168株の突然変異株であるDB102株及び1-85株が用いられております。

挿入遺伝子は、*B. subtilis* 168株由来のヘミセルラーゼ遺伝子及びヘミセルラーゼ遺伝子のターミネーター並びに *B. amyloliquefaciens* 由来の α -アミラーゼ遺伝子のプロモーターである。

宿主であるDB102株と1-85株とを融合させた後に、プロテアーゼ遺伝子を相同組換えにより欠失させ、最終行に飛びまして、発現ベクターをこの株に導入して、生産菌株XAS株を得たとしております。

「2．評価対象添加物に該当するか否かについて」、先ほど御説明いたしました、(1)～(7)について記載をさせていただいております。

5ページの80行目、以上(1)～(7)に示される科学的知見から、*B. subtilis* 及び *B. amyloliquefaciens* の間では、自然に遺伝子交換がなされていると考えられ、XAS株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在しうると考えられることは妥当である。

「Ⅲ．食品健康影響評価結果」、XAS株を利用して生産されたヘミセルラーゼについては、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く、安全性評価は必要ないものと判断した。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。ただいまの評価書（案）に関しまして、御意見・コメントを賜りたいと思います。なお、細かい字句等の修正等につきましては、後ほど事務局までお伝えいただければと思います。

先ほどの産業利用の表現に関しましては、こちらの方は問題ない書きぶりになっていると思います。

特段の御意見がないようでしたら、一応御承認いただいたということで、ありがとうございました。

それでは、3つ目の除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統に移らせていただきたいと思います。これは、継続審議品目でありまして、1月の第67回専門調査会で審議を行い、指摘事項を出したものであります。一応その回答書が提出されておりますので、回答書に基づき、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。食品としての安全性に問題がない場合は、もし時間があれば飼料としての安全性についての審議を行い、安全性について問題が残る場合は指摘事項を出すこととなります。

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 グレーのファイルで「除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614 系統の安全性評価 回答書」を御用意ください。

1 ページ目、回答書が添付されております。指摘事項1として、安定性の試験についてですが、使用しているプローブが遺伝子発現カセット全体を網羅していないということで、全体を網羅しているプローブを用いてサザンを行うこと。少なくとも T7 世代及び BC2F3 を含む世代を試験することという御指摘でございます。

回答といたしましては、完全長の T-DNA 領域をプローブとしてサザンを行っております。その結果、予測されたサイズのバンドが確認され、安定性が確認されたということ。

それから、前回の説明に記載がされておりましたが、プロモーター領域のところをプローブとしておりましたけれども、その結果とも同一のバンドのパターンを示すということが記載されております。

その結果につきましては「要旨」というタグをめぐっていただきまして、67 ページ、全体を網羅したプローブを用いた場合も、このようなバンドが検出された。左側のページは、プロモーターの部分だけをプローブとして用いた場合という結果でございます。

回答書に戻っていただきまして、2 ページ、指摘事項2、要旨の23 ページを御覧いただきたいんですが、組換え体のコピー数の確認のところ、用いました制限酵素と予測断片、

確認断片ということで、2段、3段になっているところもありますけれども、それぞれ予測断片と確認断片が対応しているのかという御指摘でございます。

回答書の2ページに戻っていただきまして、回答といたしましては、T-DNA領域、右の表にございますけれども、いろいろなプローブを用いた検出結果から検出された断片と予測断片を対応させることができるということで、先ほどの表にございました予測断片と確認断片の数値は対応しているという回答です。

したがいまして、先ほどの要旨の23ページの注釈のところに、それぞれ対応しているという旨が追記されております。

回答書の4ページ、ORFについてです。接合部のORFで、前回の申請書では開始コドンで始まり、終始コドンで終結する領域として検索してございましたけれども、開始コドンには限定しないで、30個以上連続したアミノ酸配列という定義を用いてORFの検索をすることという御指摘をいただいております。

要旨の35ページ、(2)としてORFの確認について記載がされております。境界領域でORFの検索を終始コドンから終始コドンということで、3アミノ酸以上の長さということで定義をして検索がされております。その結果、5'境界領域において8個、3'境界領域において6個、計14個のORFが確認されたということでございます。

36ページの図に、その14個のORFの図が記載されております。まず1つは、図6.12にございますが、プローブ1、2、3、4とありますが、このプローブを用いてノーザンが行われております。その結果、メッセンジャーの発現は認められなかったという記載がされております。その結果、タンパクが生ずる可能性は低いと考えられるという記載がされております。

同じく36ページの上の方になりますけれども、このORFについて、BLASTPを用いて相同性検索が行われております。その結果、毒素タンパクとの相同性は認められなかった。更にアレルゲンとの相同性についても行われておりまして、80アミノ酸以上で35%の相同性、連続する8アミノ酸ということで、エピトープ検索も行われておりますけれども、いずれも相同性は認められなかったということで、仮にこれらのORFが新たなタンパクを発現したとしても、毒性やアレルギー性を示す可能性は低いと考えられるとされております。

回答書の方に戻っていただきまして、5ページになります。

指摘4といたしまして「種子の管理」について、従前は商品化する世代の記載はなかったわけですが、商品化する世代についても種子を保存することということで、同様に保存をいたしますということです。

修正事項の関係は、修正事項 1～4 と記載のとおり修正がされております。

6 ページのその他になりますけれども、指摘にはなかったんですが、近傍配列の確認のところで、以前は 5' 側が 738 ベース、3' 側が 200 ということで短いということもありまして、それを 1 kbp 以上に延ばしまして確認をしたので、改めて提出されております。

要旨の 33 ページを御覧ください。両側の近傍を 1,000 以上に延ばして確認をして、その結果が記載されております。

まず、図の下側になりますけれども、挿入前の配列にワタの遺伝子が存在する可能性についてということで、BLASTx の検索が行われております。その結果、5' 側の近傍で 2 種類の植物のゲノムに存在する機能不明の推定タンパクとの間に高い相同性が認められたということです。

34 ページの図 6.10 にありますが、5' 側の BLASTx の結果、ここにブドウ、シロイヌナズナの推定タンパクと相同性を示した配列が認められたということでございます。

もう一点は、FGENISH を用いまして、エクソンの予測がされております。そのエクソンも同じ位置に見つかっているということです。エクソンについては、以前の申請書にも記載がございましたけれども、同じ位置に見つかっている。

ORF の検索もされておまして、35 ページの図 6.11 になりますけれども、ORF-1、ORF-2 と 2 つの ORF が見つかっております。

さらに、もう一点といたしましては、TSSP を用いたプロモーター因子の予測もされておまして、その結果、その図にありますように、TATA-box や CAAT-box、プロモーター因子が P1、P2、P3、P4 と記載されておりますけれども、これらのプロモーター因子は確認されたということでございます。

先ほどの BLASTx の結果、エクソン、ORF-2 の 3 つは一致するということでございます。

一方、ORF-1 についてですが、挿入部位をまたぐ領域というところで認められたわけですが、この ORF-1 について BLASTx、FGENISH で検索をしたところ、相当する配列は検出されず、また関連するプロモーター因子も見つからなかったということでございます。

本文でいきますと、34 ページの 2 パラ目になりますけれども、ORF の挿入部をまたぐ領域の ORF-1 について、先ほどもございましたが、挿入領域の接合部でノーザンが行われておまして、転写産物は認められていないということで、タンパクの発現の可能性は低いであろうということが先ほどと同じ記載になっております。

更にこの ORF-1、ORF-2 の 2 つの ORF について、ドメインの検索が行われておりますけれども、いずれもドメインは認められていないということでございます。

また、成分分析の結果や農業形質の結果からも非組換え体と同等であるということが確認されているということから、挿入遺伝子の組込みにより、既知の機能を有するワタの内在性遺伝子は影響を受けた可能性は低いと考えられるとされております。

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。

それでは、回答書につきまして、順番に指摘事項ごとに御意見をいただきたいと思います。

まず、1番目の指摘事項であります。安定性試験のところではサザンブロットを行うことということで、これは鎌田先生いかがですか。

○鎌田専門委員 特に問題ないと思えます。

○澤田座長 あと、澁谷先生もコメントなさいましたが、特に問題はありませんでしょうか。

○澁谷専門委員 はい。

○澤田座長 それでは、これは回答を了承していただいたということで、次に指摘事項2のサザンブロット分析のいろいろな断片の関係を整理してほしいということでもあります。

丹生谷先生と小関先生から御指摘があったかと思えますけれども、丹生谷先生は何かございますか。

○丹生谷専門委員 対応していると明確に書いていますので、これでよろしいです。

○澤田座長 小関先生から何かコメントはございますか。

○鶴身課長補佐 問題ないというコメントでございます。

○澤田座長 それでは、一応この回答は御了承いただいたということで、次に指摘事項3のORFの再検索のところでもあります。これは小関先生の御指摘だったわけでありましてけれども、何かコメントをいただいていますでしょうか。

○鶴身課長補佐 こちらのORFについては、特に問題はないということでございます。

○澤田座長 ほかの先生は何か御意見ございますか。

それでは、指摘事項4で、種子の保存の問題で、鎌田先生からですけれども、これは問題ないですか。

○鎌田専門委員 全く問題ないです。

○澤田座長 それでは、修正事項はマイナーな修正事項でありまして、これは大体直していただいたので、問題はないかと思えます。

むしろ新しい問題は、その他で出てきたわけでありまして。上流側のシーケンスを延ば

したら、遺伝子が1つ見つかってしまったという話で、その説明がかなり追加されたということになります。

この点につきまして、新しく概要に追加されたところがかなりの量でありますけれども、御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○鎌田専門委員 読ませていただいたのですが、基本的には、一番わかりやすいところは35ページの図6.11だと思います。特に一番問題になっているのは、ORF-2の方が、本来壊したわけではないんだけど、何か発現が予測される。しかも、もっと嫌なことに、そこにTATA-boxとCAAT-boxがあって、入った遺伝子のエンハンサーを使って、この部分が新たに発現量が上がったりする可能性がある。このデータがなければよかったんですが、新たに出てきてしまったので、とりあえず発現量を調べろということではなくて、これがもし何か異様に発現したとしても、それ自身がアレルギー性、毒性がないこと程度は、ホモロジーで見ておいていただければ、後々の安全性の一応保証になるだろうと思いますので、そこだけは是非付け加えていただければと思います。

○澤田座長 ORFの毒性とアレルギー性の検索のデータは付いていませんか。

○鶴身課長補佐 今は付いていないです。

○澤田座長 では、それは追加していただければよろしいのではないかと思います。

○鎌田専門委員 はい。

○澤田座長 ほかにコメントはありますか。

それでは、追加のことは多分文章だけの問題かと思しますので、私と先生が一応確認すればよろしいかと思います。その前提で、一応この件は御了解いただいたということにさせていただきますと思います。

時間があまりございませんので、飼料よりも先に評価書(案)の審議に移らせていただきます。

それでは、評価書(案)を事務局から御説明していただきたいと思っております。

○鶴身課長補佐 お配りしております資料2の12ページになります。

「I. 評価対象食品の概要」ということで、除草剤グリホサート耐性ワタGHB614系統、性質は除草剤グリホサート耐性ということでございます。

除草剤グリホサート耐性ワタGHB614系統は、トウモロコシに由来する5-エノールピルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子(*epsps* 遺伝子)を改変いたしました遺伝子(*2m epsps*) 遺伝子を導入して作製されており、除草剤グリホサートを散布しても、その影響を受けずに生育できるとされています。

Ⅱの「第1. 安全性評価において比較対象として用いる宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項」です。

(1)、宿主はアオイ科、ワタ連、ワタ属の商業品種 Coker312 である。

(2)、*2mepsps* 遺伝子は、トウモロコシに由来する *epsps* 遺伝子を改変したものである。

(3)、挿入 DNA の性質ですが、2mEPSPS タンパク質を発現する。導入方法につきましては、アグロバクテリウム法により導入をされた。

2 番の宿主の食経験については、ワタについて記載をしております。

3 番の宿主由来の食品の構成成分については、記載のとおりとさせていただいております。

13 ページの 58 行目の (2)、毒性物質・栄養阻害物質についても記載のとおりとなっております。

4 番は利用方法とその相違点についてです。いずれも従来のワタと変わらないと記載をしております。

5 番は宿主以外のものは比較対象として使用していない。

6 番の検討が必要とされる相違点といたしましては、*2mepsps* 遺伝子発現カセットの導入により、2mEPSPS タンパク質を発現することが宿主との相違点である。

以上、既存のワタとの比較が可能であると判断された。

「第2. 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」についてです。

14 ページ、除草剤グリホサートを散布しても、その影響を受けずに生育することができるとされている。

「第3. 宿主に関する事項」につきましては、従来どおりワタについて記載をさせていただいております。

14 ページの最後は「第4. ベクターに関する事項」でございます。

15 ページの 1 番は名称ですが、プラスミド pTYG50 を用いております。

2 番は性質についてですが、全塩基数は 8,026bp ということで、切断地図、有害塩基配列を含まないこと等は明らかにされております。

(4) は薬剤耐性遺伝子に関する事項ですが、プラスミドにはストレプトマイシンやスペクチノマイシンに対して耐性を付与する *aadA* 遺伝子及びカナマイシンやネオマイシン等のアミノグリコシド系抗生物質に対して耐性を付与する *npt I* 遺伝子の断片が含まれておりますが、これらについては宿主ゲノムには挿入されていない。

(5) 伝達性に関する事項として、それらの因子は含まれていない。

「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の(1)は由来です。*2mepsps* 遺伝子の供与体はトウモロコシである。

(2)は、安全性に関する事項として、供与体であるトウモロコシは、病原性や毒素産生性に関する報告はなく、長期にわたり食品として安全に摂取がされている。

2番の(1)としまして挿入遺伝子のクローニングについてです。*2mepsps* 遺伝子は、*epsps* 遺伝子に部位特異的に突然変異を起こし、*epsps* 遺伝子がコードをするアミノ酸配列の102番目のトレオニンをイソロイシンに、106番目のプロリンをセリンに変化させたものということでございます。

(2)は塩基数や塩基配列、制限酵素による地図は明らかとなっている。

(3)は、挿入遺伝子の機能についてです。挿入遺伝子につきましては、2mEPSPSタンパクを発現して、EPSPS活性を阻害する除草剤グリホサートの存在下でも、EPSPS活性を示すことができる。その結果、耐性を有することになる。

2mEPSPSタンパク質と既知の毒性タンパク質との構造相同性についてblastpの検索を行ったところ、相同性を有する既知の毒性タンパク質は見出されなかった。

(4)は抗生物質耐性マーカーについてです。発現ベクターの外骨格領域には、抗生物質耐性マーカーとして2つの遺伝子、もしくは遺伝子断片が含まれていますが、ワタには挿入されていないことが確認されている。

3番の発現に関わる領域につきましては、記載のとおりとなっております、17ページに表としてとりまとめております。

17ページの4番、ベクターの組込方法についてですが、記載のとおり発現ベクターを複製した。

5番、発現ベクターに関する事項です。

(1)は塩基数、塩基配列等は記載のとおりでございます。

(2)はORFが含まれていないことということで、*2mepsps* 遺伝子、5'の境界領域、3'の境界領域の各相補的RNAをプローブとしてノーザンブロット分析を行った結果、目的以外のタンパク質を発現するORFは含まれていないことが確認された。

(3)は意図する挿入領域についてですが、発現ベクターのLBからRBまでのDNA領域と記載をしています。

(4)は純化に関することです。各要素はすべて純化をされており、目的外の遺伝子の混入はない。

18 ページの 6 番は宿主への導入方法です。発現ベクターをアグロバクテリウム法によって導入した後、ほ場での選抜を行い、ワタ GHB614 を得た。

「第 6. 組換え体に関する事項」です。

遺伝子導入に関する事項で、コピー数、挿入近傍配列に関する事項です。サザンブロット分析の結果、*2mepsps* 遺伝子発現カセットが完全な形で 1 コピー導入されていることが確認された。

また、挿入 DNA の全塩基配列を解析した結果、発現ベクターの T-DNA 領域の右側領域 21bp 及び左側領域 29bp を欠損していたが、遺伝子発現カセットは完全であるということが確認された。

発現ベクターの外骨格領域についてもサザンブロットの分析が行われておりますが、外骨格領域は導入されていないことが確認された。

259 行目の挿入 DNA の近傍配列を確認するために近傍配列の塩基配列を決定し、宿主における挿入部位と比較をしたところ、挿入時に欠損をした配列 (17bp) を除き、宿主ゲノムと一致していることが確認された。

遺伝子挿入によって、既知の機能を有するワタ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、挿入前の配列について ORF 検索を行ったところ、268 行目になりますけれども、5' 近傍及び挿入部位をまたぐ領域に ORF が各 1 個見出された。

2 個の ORF について blastx による相同性検索、遺伝子構造予測、プロモーター領域の予測、ドメイン検索を行ったところ、既知の機能を有するワタの内在性遺伝子が損なわれている可能性は低いと考えられた。

また、挿入部位をまたぐ領域の ORF からの発現の可能性を調べるために、19 ページでノーザンブロット分析を行った結果、メッセンジャーの発現は認められなかった。更に主要構成成分、農業形質についても、非組換えとの相違は見られなかった。

以上のことから、遺伝子挿入によって既知の機能を有するワタの内在性遺伝子は損なわれていないと考えられる。

(2) は ORF の有無についてです。接合部において意図しない ORF が生じていないことの確認をするため、6 つの読み枠において連続する 3 アミノ酸以上で終止コドンから終止コドンで終結する ORF について分析をした。その結果、14 個の ORF が検出された。

これらの ORF からの発現の可能性を調べるために、ノーザンブロット分析を行った。その結果、メッセンジャーの発現は認められなかったことから、これらの ORF からタンパク質が発現する可能性は低いと考えられた。

14 個の ORF がコードするアミノ酸配列について blastp による検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は見出されなかった。

また、アレルゲンとの相同性についても検索をした結果、相同性を示す既知のアレルゲンは見出されなかった。

20 ページの 2 番、遺伝子産物の発現部位については記載のとおりでございます。

3 番、遺伝子産物の一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否かについては、ワタは主に植物油として食用に供される。本組換えワタ GHB614 を用いて製造した油中での当該タンパク質含有量を、ELISA 法を用いて分析した結果、検出はされなかった。

次のパラでは、検出限界値まで含有をしていたと試算がされておりますけれども、その結果、334 行目、日本人 1 人が 1 日に摂取する平均タンパク質の $1.25 \times 10^{-6} \%$ であるとされております。

したがって、これらのタンパク質が一日蛋白摂取量の有意な量を占めないと判断される。

4 番は遺伝子産物のアレルギー誘発性についてです。

(1)、トウモロコシは一般的なアレルギー誘発性食品とは考えられていない。

(2)、2mEPSPS タンパク質に関してアレルギー誘発性の報告はない。

(3)、物理化学的処理に対する感受性についてです。

①は人工胃液です。SDS-PAGE 法より分析を行った結果、試験開始後 0.5 分以内に消化された。

②は人工腸液です。同様に試験開始後 0.5 分以内に消化されたということでございます。

21 ページは加熱処理です。*E. coli* で発現させたタンパクについて測定がされておりますけれども、60℃、10 分の加熱処理で完全に失活することの確認がされた。また、SDS-PAGE 法による分析の結果、90℃、30 分の過熱処理で部分的に分解がされることが確認された。

(4) は既知のアレルゲンとの構造相同性です。80 残基以上のアミノ酸について 35% 以上の相同性について検索を行ったところ、アレルギー性が報告されているタンパク質は認められなかった。

エピトープに関連して連続する 8 つのアミノ酸の相同性検索を行った結果、一致するものは見出されなかった。

上記の結果から、アレルギー誘発性を示唆するデータがないことを確認した。

5 番、安定性についてです。7 世代のゲノム DNA についてサザンブロット分析を行ったところ、各世代において共通のバンドが確認された。

6 番、代謝系への影響です。EPSPS に関していろいろと記載をしております。

395 行、EPSPS タンパク質は高い基質特異性を有していると考えられていること、シキミ酸の合成経路の律速には関与していないものと考えられおり、最終生産物の芳香族アミノ酸が過剰に生産されていないことが報告されているということから、408 行目、2mEPSPS タンパク質が宿主の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられる。

7 番は宿主との差異についてです。主要構成成分、アミノ酸、脂肪酸、ミネラル、ビタミン E につきまして、いずれも文献値の範囲内であった。

有害生理活性物質については、文献値の範囲内または文献値を下回っていたということでございます。

8 番、諸外国における許可状況です。米国においては 2008 年 9 月に FDA において承認を取っている。カナダにおいては、2008 年 3 月に承認を得ているということでございます。

9 番の栽培方法、10 番の種子の製法管理については、従来のワタと同様ということですが、

「第 7. 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いない場合に必要な事項」は、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いるが、申請者から 2mEPSPS タンパク質の急性毒性試験のデータが提出されたことから念のため確認をした。

OF1 系統のマウスに、*E. coli* で過剰発現をさせたタンパク質を 2,000mg/kg 体重の用量で強制経口投与がされております。

臨床的な観察、15 日後に剖検を行いまして、主要な器官・組織の肉眼的な観察が行われておりますが、その結果、被験物質の投与に起因する異常は認められなかったということでございます。

24 ページは「Ⅲ. 食品健康影響評価」ということで、除草剤グリホサート耐性ワタ GHB 614 系統については、遺伝子組換え食品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した。

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、資料 2 の 7 ページからでありますけれども、項目ごとに御意見、コメントをいただきたいと思っております。

まず少し飛びまして、12~13 ページ、第 1 と第 2、14 ページの少し上にかかりますけれども、この辺りに関しましてコメントがありましたらお願いしたいと思います。

なお、細かい字句等の修正等につきましては、後ほど事務局までお伝えいただければと思います。

第 1 と第 2 はいかがでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、第3、第4、第5までいきましょうか。少し長いですがけれども、18ページの上までコメント等がございましたらお願いします。

丹生谷専門委員、どうぞ。

○丹生谷専門委員 17ページの下の方の一番上のところの右側「*A. tumefaciens*」は「*A. thaliana*」の間違いですので、訂正をお願いします。

○澤田座長 これは修正をしてください。

○鶴身課長補佐 申し訳ございません。

○澤田座長 ほかによろしいですか。もし細かい点がございましたら、また後で御連絡いただければと思います。

それでは、第6の組換え体に入りまして、18、19、20、21、22ページまで、組換え体に関しましてコメントがありましたらお願いしたいと思います。

宇理須専門委員、どうぞ。

○宇理須専門委員 21ページの360、361のところですか。SDS-PAGEの熱処理で部分分解されたと書いてあります。要旨の方を見てもそのように書いてあるのですが、今更言っではいけないのかもしれませんが、図の6の20がSDS-PAGEのデータですが部分分解と言っていいかどうかという。この図だけで言っていいかどうかというのは問題があるのではないかと思います。

というのは、凝集していてもここへバンドは出てこないですし、部分分解であれば分解されたバンドが出ていた方が説得力はあると思うのですが、SDS-PAGEですとそういった分解されたような産物というのは、図の鮮明度が悪いせいもあるかもしれませんがはっきりしないので、特に1次構造に影響したと明確に書いてしまっているのかどうかというのは気になったのです。

○澤田座長 概要のページ数をもう一度お願いします。

○宇理須専門委員 概要ですと56ページ。

○澤田座長 これは遠心をした後の話。

○宇理須専門委員 遠心とかその辺のところは概要には書いていないのです。遠心をしたのかもしれませんが、分解されたとか、1次構造に影響したと明言してはいけないのではないかなと思ったのです。

○澤田座長 これは確認した方がよろしいかと思います。もし遠心して上澄だけ見ているのでしたら、分解されたという表現はおかしいと思いますので、ここだけは確認させていただきたいと思います。

手島先生、いかがですか。

○手島専門委員 多少の分子量の違い、下がったということで分解と言っていいかどうかというのは表現としてもよくわからない部分がありますので、もう一度確認していただければと思います。

○澤田座長 ほかにコメントはありますか。

先ほど御指摘いただいた新しく見つかった遺伝子の表現は、この段階ではまだ十分に反映していないですか。

○鶴身課長補佐 ORFが1個2個見つかったという記載はさせていただいておりますが、特に既知の内在性遺伝子が損なわれていないということだけを記載していますので、先ほど御指摘をいただいたホモロジー検索の結果は後ほど反映をさせていただきます。

○澤田座長 それだけ追加をさせていただきたいと思います。ほかによろしいでしょうか。

そうしましたら、あとは最後までコメントがございましたらお願いしたいと思います。

特段の御意見がございませんようですので、一応若干の確認と追加をさせていただきたいと思いますが、おおむねこの評価書でよろしいということで御了解いただけたものと思います。どうもありがとうございました。

あと残りが15分もありませんので、今日はここで一応切りがよろしいので、議題1については終わらせたいと思います。

議題2の「その他」は、事務局から何かございますでしょうか。

○鶴身課長補佐 特にございませぬ。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、本日の議題についてはこれで終了とさせていただきたいと思います。

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 先生方の日程を確認させていただきました結果、次回は7月10日の金曜日の午前中になりますけれども、一番御都合がよろしいかと思っておりますので、お忙しいところを申し訳ございませんが、よろしくお願いをいたします。

○澤田座長 それでは、次回は7月10日の午前ということになりますので、お忘れのないようをお願いしたいと思います。

それでは、以上をもちまして専門調査会を閉会させていただきます。

どうもありがとうございます。