

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第 77 回 会 合 議 事 録

1. 日時 平成 21 年 12 月 14 日 (月) 14:00～15:54

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

- ・ チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ Bt11 系統と  
 チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MIR162 系統とコウチュウ目害虫抵抗性トウ  
 モロコシ MIR604 系統と除草剤グリホサート耐性トウモロコシ GA21 系統から  
 なる組合せのすべての掛け合わせ品種 (既に安全性評価が終了した 4 品種を  
 除く。)
- ・ チョウ目害虫抵抗性ワタ COT102 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、海老澤専門委員、小関専門委員、鎌田専門委員、  
橘田専門委員、児玉専門委員、澁谷専門委員、手島専門委員、中島専門委員、  
山崎専門委員、和久井専門委員

(委員)

長尾委員、村田委員

(事務局)

栗本事務局長、北條評価課長、前田評価調整官、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 チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ Bt11 系統と  
 チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MIR162 系統とコウチュウ目害虫抵抗性トウモ  
 ロコシ MIR604 系統と除草剤グリホサート耐性トウモロコシ GA21 系統からなる組  
 合せのすべての掛け合わせ品種 (既に安全性評価が終了した 4 品種を除く。)

②チョウ目害虫抵抗性ワタ COT102 系統（食品）

③チョウ目害虫抵抗性ワタ COT102 系統（飼料）

資料2 専門委員からのコメント

・チョウ目害虫抵抗性ワタ COT102 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77回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催いたします。

本調査会は議事次第にありますように「食品安全委員会の公開について」に基づいて、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、飯専門委員が御欠席とのことです。また、小関先生が15分ほど遅れてこられるということです。

それでは、本日の議題であります。新規審議品目であります4品種の掛け合わせ品種とチョウ目害虫抵抗性ワタ COT102 系統（食品・飼料）の安全性についての審議を行いたいと思います。

それでは、お手元の資料の確認を事務局からお願いします。

○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」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。本ファイルにつきましては、終了後に回収させていただき、次回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、事務局までお願いいたします。

○澤田座長 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。

まず新規審議品目であります Bt11、MIR162、MIR604、GA21 からなる組み合わせのすべての掛け合わせ品種です。ただし、既に安全性評価が終了した4品目を除くということでありまして、これについてであります。

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 お手元にクリアファイルの ID185 と書かれました4種類の掛け合わせについて用意いただければと思います。

1 ページ、チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ Bt11、チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MIR162、コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ MIR604、除草剤グリホサート耐性トウモロコシ GA21 を掛け合わせた品種でございます。この4つの親系統のトウモロコシを従来の伝統的交配育種法によって交配させたものということで、作出されるものは4つの形質をそれぞれヘテロで持つハイブリットであるということでございます。

2 ページがそれぞれの系統と有する導入遺伝子になっております。Bt11 は *cry1Ab* 遺伝子でチョウ目害虫抵抗性、*pat* 遺伝子で除草剤グルホシネートに耐性を有する。

2 列目が MIR162 で、改変 *vip3A* 遺伝子でチョウ目害虫抵抗性を有しています。これは先だって 11 月にシングルで安全性評価が終了したものになります。また、選抜マーカーとして *pmi* 遺伝子を有しております。

右側にまいりまして、MIR604 については、改変 *cry3A* 遺伝子、コウチュウ目害虫の抵抗性。選抜マーカーとして *pmi* 遺伝子。

右端にまいりまして、GA21 ということで改変 *epsps* 遺伝子、除草剤グリホサート耐性を有しております。

3 ページが交配育種の例になっております。

4 ページ、本掛け合わせ品種はハイブリットとして商品化されることから、収穫される種子には遺伝的分離によって 4 つの親系統から得られる様々な掛け合わせの品種が含まれる。したがって、本申請の範囲には既に安全性の審査を経た 4 つの品種を除くほかのすべての掛け合わせ品種が含まれるということでございます。

下の表にそれぞれの組み合わせが列記されております。上 4 つはシングルですが、これらを含めて全部で 15 種類がつくられる。ヌルも入れると 16 種類になりますけれども、遺伝子を持っているものとして 15 種類になる。シングルが 4 つありますので、掛け合わせとしては 11 種類となって、評価が終わっているものが 4 種ありますので、残り 7 種類ということになります。

5 ページ、本品種は「遺伝子組換え植物の掛け合わせについての安全性評価の考え方」の①の宿主の代謝系には影響がなく、害虫抵抗性、除草剤耐性等の形質が付与されるもの同士の掛け合わせに相当すると考えられるということから、以下の項目を満たしているかどうかを検討したということでございます。

1 として、新たに獲得された性質が変化をしていないことについてです。Bt11 で発現をする Cry1Ab タンパク質、MIR162 で発現する mVip3A タンパク質、MIR604 で発現する mCry3A タンパク質はいずれも *Bacillus thuringiensis* に由来する殺虫タンパクである。これまでのところ、これらの殺虫タンパクは他の機能を有するという報告はないことから、これらのタンパクが酵素活性を持つとは考えられず、植物の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられるとされております。

なお、Cry1Ab と mVip3A はいずれもチョウ目害虫抵抗性ですが、害虫のスペクトラムが違うこと。MIR162 で発現する mVip3A タンパクはコウチュウ目に殺虫活性を示します。チョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す殺虫タンパクとコウチュウ目に殺虫活性を示すタンパクでは、異なる pH 条件で殺虫活性を発揮するということから、相互に作用する可能性は低いと考えられるとされております。

Bt11 で発現をする PAT のタンパクは L-グルホシネートに対して極めて高い基質特異性を有している。光学異性体である D-グルホシネートをも基質としないということが報告を

されていますので、その基質特異性の高さから PAT タンパクが植物代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられるとされております。

更に GA21 で発現する mEPSPS タンパクについては、EPSPS タンパクがシキミ酸合成経路の律速酵素ではないこと、特異的に反応することが知られていることから、植物の代謝系に影響を及ぼすということはないと考えられる。

これらのことから、それぞれの親系統に由来するタンパクが相互作用を示し、植物の代謝系に新たな影響を及ぼす可能性は低いと考えられるとされております。実際に相互作用がないことを以下の生物検定で確認したということです。

1つがチョウ目害虫を用いた生物検定です。Cry1Ab タンパクの対象害虫であるヨーロッパアンコーンボラーを用いて行われております。

米国のトウモロコシ栽培ではヨーロッパアンコーンボラーが2世代続けて発生して、第1世代は生育期、第2世代は成熟期に食害を与えるということから、生育期と成熟期において食害の程度を調査したということでございます。

第1世代の試験としては、ミネソタ州、イリノイ州で各10植物体、3反復で試験して、6～8葉期に1齢幼虫を接種しております。14日後に葉の食害程度を1～9の9段階で評価したということです。

第2世代の試験では、同じ地域でトウモロコシの開花期に接種し、約45日後に雌穂の食害長、茎における食入痕長を調査したということでございます。

結果が右の表に示されておりますけれども、有意差が認められている点が1か所ありまして、下から2つ目のイリノイ州の第2世代雌穂食害長というところで、本掛け合わせ品種と Bt11 の間に有意差が認められております。しかし、同じイリノイの第1世代の試験では有意差が認められていないこと、半分から上側にありますミネソタの雌穂食害、葉の食害においても有意差が認められていないということから、一貫した整合性が認められなかったということで、殺虫活性は親系統を掛け合わせるにより変化していないということが確認されたということでございます。

8ページ、改変 mVip3A タンパクの対象害虫であるブラックカットワームについての生物検定が行われております。ミネソタ、アイオワで10植物体、8反復で1～2葉期に4齢幼虫を接種し、17～19日後に葉の食害程度を9段階で評価したというものでございます。いずれも統計学的な有意差は認められなかったということで、形質は変化をしていないということが確認されたということです。

9ページ、コウチュウ目害虫を用いた生物検定です。各6植物体、3反復でミネソタ州の圃場で2～3葉期にウェスタンコーンルートワームを接種しております。その後、絹糸抽出期に根の食害程度を観察したということでございます。

一方、イリノイの圃場では、ウェスタンコーンルートワームがちょうど2～3葉期の時点で孵化するように土壌中にそれらの卵が含まれている圃場を選抜して、そこで試験したということでございます。その結果、統計学的な有意差は認められなかったということで、

形質の変化はないであろうということでございます。

10 ページ、グルホシネートを用いた検定です。各 10 個体、3 反復で 2 葉期にグルホシネートを散布して、15 日後に薬害の程度を比較しております。散布量は通常の散布量、4 倍量、8 倍量を散布しております。結果が表 6 にありますけれども、いずれも有意な差は認められなかったということでございます。

下にまいりまして、グリホサートを用いた生物検定です。同様に 2 葉期にグリホサートを散布して 23 日後に薬害の程度を確認した。散布量も先ほどと同じように通常量、4 倍量、8 倍量を散布したということで、結果が右の上の表にありますけれども、いずれも有意差は認められなかったということでございます。

11 ページの真ん中、以上のことから、新たに獲得されたそれぞれの性質は、本掛け合わせ品種において変化していないと結論された。なお、選抜マーカーとして入っています P MI については大腸菌のマンノースリン酸イソメラーゼで選抜マーカーとして用いられているものであり、特異的に触媒する酵素タンパクであり、他の天然基質の存在は知られていないということから、それぞれの親系統で発現するタンパク質間で相互作用がないと考えられたということでございます。

次のパラにありますように既に 4 品種について、3 品種の掛け合わせ、計 4 品種になりますけれども、それについては既に食品として安全性審査が終了しており、相互作用がないことが確認されているということでございます。

12 ページ、2 番で、いずれもデントコーンの掛け合わせで、亜種間の掛け合わせではない。

3 番として、摂取量、使用部位、加工方法等には変化がない。

これらのことから、食品としての安全性に問題はないと考えられるとされております。

以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。少し前に同様の例がありまして、4 つの組み合わせがあったわけでありまして、今回も①同士の 4 種類の組み合わせでありまして、すべての組み合わせのうち、最も多い組み合わせのもので申請書のデータが提出されております。

それでは、御説明いただきました申請書でありますけれども、項目ごとに御意見をいただきたいと思っております。

まず資料の 1～9 ページで「1. 掛け合わせた品種において、組換え DNA 操作により新たに獲得されたそれぞれの性質が変化していないこと」。これでいろいろな害虫を用いた生物検定のデータが出ております。ここままで御意見、コメントがありましたらお願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

続きまして、10～12 ページで、グルホシネートとグリホサートを用いた生物検定と亜種間での掛け合わせでないこと。摂取量、使用部位、加工方法等の変更がないことに関してコメント、御意見がありましたらお願いしたいと思います。

○児玉専門委員 11 ページ目にマンノースリン酸イソメラーゼの説明があるんですけども、ほかの導入遺伝子の説明は5～6 ページにかけてずっと書いてあって、マンノースリン酸イソメラーゼだけがここにあるので、この文章はむしろ6 ページ辺りに持っていった方が場所的にはいいのではないかと思います。

○澤田座長 先生の御指摘のとおりに直した方がいいかと思います。生物検定の前に移す。

○児玉専門委員 ほかの遺伝子はそこの前に説明があるので、そこにあった方がいいのではないかと思います。

○澤田座長 それでは、移動だけすればよろしいですね。

○鶴身課長補佐 この項のタイトルが、新たに獲得した形質が変化をしていないことという話なので、PMI をここに持ってくると PMI の形質が変化をしていないことのデータが必要なのかなという点も心配になります。従来 PMI はマーカーですので、あまりそういった点にまでは、形質の変化については記載されていなかったという経緯もあります。

○澤田座長 いかがでしょうか。もしここに残す場合には、何かタイトルみたいなものを入れればよろしいですか。

○児玉専門委員 ここにぽんとあるのが浮いているというか、ほかは全部ずっと来ているので。

○鶴身課長補佐 タイトルの方も若干工夫してもらおう形で。

○澤田座長 何か段落を分けて、PMI に関するタイトルを追加していただければと思います。ほかによろしいでしょうか。

それでは、本件につきましては、特段の安全性上の問題はないということですので、引き続きまして、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たいと思います。

○鶴身課長補佐 本日お配りしております資料 1 を御覧ください。4 ページからになります。

「I. 評価対象食品の概要」で名称は4つの系統からなる組み合わせのすべての掛け合わせ品種、既に安全性評価が終了した4種類は除くということで、性質といたしましてはチョウ目害虫、コウチュウ目害虫の抵抗性、除草剤のグリホシネートとグリホサートの耐性ということでございます。

45 行目から具体的な掛け合わせ品種を列記しております。7 種類になります。

66 行目から概要について少し記載しております。商品化される品種は記載の4つの系統を親系統として、これらを従来からの手法で掛け合わせて得られたもので、4 系統に付与された形質をすべて合わせ持つ品種である。

遺伝的分離によって本品種から収穫される種子には、合計 11 品種から収穫される種子と同じものが含まれることとなる。これら 11 品種のうち、計 4 品種については既に評価が終了しており、新たに残留性の確認を必要とするものではないと判断している。

したがって、11 品種のうち安全性評価が終了した 4 品種を除く 7 品種の安全性評価を同

時に行う必要がある。なお、掛け合わせる前の親系統であるそれぞれについては、安全性評価は終了しており、いずれもヒトの健康を損なうおそれはないと判断されている。

「Ⅱ．食品健康影響評価」として、挿入された遺伝子による代謝系への影響はなく、害虫抵抗性、除草剤耐性等の形質が付与されている品種同士の掛け合わせであることについてです。

「（１）Btタンパク質について」。Bt11に導入されたCry1Abタンパク、MIR162の改変Vip3Aタンパク、MIR604の改変Cry3Aタンパクは、いずれも*Bacillus thuringiensis*に由来する殺虫性タンパクである。Btタンパクについては殺虫以外の機能を有することは知られていない。したがって、酵素活性を持つことはないと考えられることから、植物の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられる。

「（２）PATタンパク質について」。６ページ。PATタンパクは特異的にグルホシネートをアセチル化する酵素であり、高い基質特異性を有している。したがって、PATタンパクの作用機作は独立しており、植物の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられる。

「（３）改変EPSPSタンパク質について」。シキミ酸合成経路の律速酵素ではなく、また特異的に反応することが知られていることから、こちらについても作用機作は独立しており、植物の代謝系に影響を及ぼすことはない。

「（４）PMIタンパク質について」。マンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸を可逆的に相互変換する酵素タンパクで、その反応は特異的であり、他の天然基質は知られていない。

以上のことから、いずれの形質もその作用機作は独立をしており、掛け合わせ品種においても互いに影響し合わないと考えられる。

「２．亜種レベル以上の交配ではない」。

「３．摂取量・食用部位・加工法等に変更はない」。

以上１～３の結果から、掛け合わせについての安全性評価の考え方にに基づき評価した結果、改めて安全性の確認を必要とするものではないと判断したということでございます。

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、ただいまの評価書（案）につきまして、御意見、コメントをいただければと思います。なお、細かい字句等の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただければと思います。御意見がありましたらよろしくお願ひします。

○澤田座長 よろしいでしょうか。

それでは、この評価書（案）につきましては、御了承いただいたということにさせていただきます。ありがとうございます。

それでは、続きまして、次の新規の審議品目であります、チョウ目害虫抵抗性ワタCOT102系統（食品）の審議に入りたいと思います。

審議に入ります前に、提出資料として利用されたものの中に海老澤専門委員が関係され

ているものが含まれております。1つは日本における食品由来アレルギー患者の状況を報告されたレポート。もう一つは、既知のアレルゲンとの構造相同性に関する事項で、用いたデータベースはネブラスカ大学のデータベースで、FARRPになりますが、こちらのデータベースに登録する際のピアレビューワーになられておりますことを御報告いたします。

私といたしましては、データベースのピアレビューワーであり、データベースの作成に直接関わっていらっしゃるものではありませんで、また臨床の現場等でアレルギーに知見の深い海老澤先生の御意見を伺うことは必要かつ重要であると考えております。したがって、この調査会で海老澤先生に参加していただいて、御発言していただくことにしたいと思っておりますが、よろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○澤田座長 特にこの FARRP のデータベースでありますけれども、今後ともいろいろな企業が利用する可能性が高いということでありまして、今後提出される資料に関する審議につきましても、海老澤先生に参加、発言していただくということにしたいと思っておりますけれども、いかがでしょうか。

○手島専門委員 この FARRP のアレルゲンデータベースはレビューを受けたものが登録されておまして、信頼性の高いデータベースの一つとして認識しております。また EFSA でも参照できるアレルゲンデータベースの一つとして挙げられておまして、公共性の高いデータベースの一つであると言えるということを紹介させていただきたいと思っております。

○澤田座長 ほかの先生方から特に御意見はありますでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、御承諾をいただいたようでありますので、審議に入らせていただきます。事務局の方から御説明をお願いします。

○鶴身課長補佐 お手元に紫色のファイルの ID162 と書かれました「チョウ目害虫抵抗性ワタ COT102 系統の安全性評価に関する概説書」を御用意ください。

1 ページ、第 1 といたしまして、比較対象としている宿主等との相違に関する事項です。

(1) 宿主の種名ですが、チョウ目害虫抵抗性ワタ COT102 系統の宿主は、アオイ科ワタ属のワタの Coker312 である。

(2) DNA の供与体ですが、*Bacillus thuringensis* AB88 株の *vip3Aa1* 遺伝子に由来する改変型の *vip3Aa* 遺伝子、以下 *mvip3A* と記載されておりますが、これと大腸菌 K-12 株のハイグロマイシン B リン酸基転移酵素 *aph4* と以下略してありますが、これらの 2 つを供与されております。片方の *mvip3A* は先ほどのスタックにもありましたけれども、トウモロコシにも導入されていて、安全性評価が終了しているものです。今回はワタに入れたということになります。

(3) 挿入 DNA の性質です。*mvip3A* 遺伝子は *B. thuringensis* AB88 株の遺伝子の塩基配列に基づいて、植物での発現に適するように人工合成した改変遺伝子ということで、チョウ目害虫に対して殺虫活性を示す mVip3A タンパクをコードしております。

もう一方の *aph4* 遺伝子についてですが、ハイグロマイシン B リン酸基転移酵素ですが、

ハイグロマイシンとその類縁のアミノグルコシド系抗生物質をリン酸化して不活化する酵素タンパクで、選抜マーカーとして用いられております。導入はアグロバクテリウム法によって導入されております。

宿主の食経験ですが、ワタはその種子から搾油した綿実油やリンターを加工して得られたセルロースが食用として利用されているということです。

2 ページ。宿主の構成成分等です。記載のとおり主要な栄養成分、(2) は毒性成分について記載されております。

4 番の利用方法ですが、収穫時期や貯蔵方法、摂取部位、摂取量、調理及び加工方法については、従来ワタと相違はありません。

5 番として、比較対象は宿主であるワタのみを利用しております。

6 番は、検討が必要とされる相違点です。mVip3A タンパク、APH4 タンパクを発現している点が相違点である。

第2として、利用目的、利用方法です。チョウ目害虫に対して抵抗性を示すことがこの品種の目的ということでございます。

第3は、宿主に関する事項です。宿主は先ほども申しあげましたように、ワタ属のワタで商業品種 Coker312 である。

遺伝的先祖については、記載のとおりとなっております。

3 番、有害生理活性物質については、ワタの有害生理活性物質としてゴシポール、CPF A と書いてありますが、シクロプロペノイド脂肪酸であるステルクリン酸、マルバリン酸、ジヒドロステルクリン酸が知られているということでございます。

5 ページ、アレルギー誘発性に関する事項です。食品に利用されるのは綿実油やセルロースである。いずれもタンパクを含まないために、これらにアレルゲンが含まれるとは考えられていない。実際にコーデックスや日本の厚生労働省においてもアレルゲンを表示する義務を推奨するリストにワタを挙げていないということでございます。ここに先ほどの海老澤先生のものが引用されております。

次のパラにまいりまして、ワタのアレルギー誘発性については 1939 年以降、綿実粉がそのまま食品に利用された場合に 3 件ほど報告がある。しかし、綿実粉として食品に利用するのは極めてまれな事例であって、ワタの種子に含まれるアレルゲンが一般に問題になるとは考えにくいとされております。

5 番、ワタには細菌や糸状菌、ウイルスによる各種病害が報告されておりますが、それらがヒトに対して病原性を持つことは知られていないということでございます。

6 番、安全な摂取に関する事項です。先ほどございましたゴシポールや CPFA については綿実油の搾油や精製工程で著しく減少するということが報告されており、精製後の綿実油を食用油として一般に用いても安全とみなされているということでございます。

6 ページ、近縁の植物種ですが、ワタ属には約 50 種が存在するとありますが、栽培種が 4 種類ほどあり、これらと同様にゴシポールや CPFA を産生していると考えられるとされ

ております。

7 ページ、第 4 はベクターです。発現ベクターの構築には pVictor 由来のベクター pHiN K078 を用いたとされております。

(2) 塩基数、塩基配列、制限酵素による切断地図等が明らかにされております。

(3) 有害塩基配列を含まないことですが、配列が明らかにされており、それらについては含まれていない。

(4) 薬剤耐性遺伝子についてですが、T 領域の外骨格に *E.coli*Tn7 由来の *spec* 遺伝子が含まれております。これによって産生されるスペクチノマイシンアデリルトランスフェラーゼによって、エリスロマイシンやストレプトマイシン、スペクチノマイシンの耐性が付与されているということでございます。なお、作出された COT102 にはこれらの薬剤遺伝子は含まれていないということがサザンブロットにより確認がされております。

(5) 伝達を可能とする塩基配列は含まれておりません。

8 ページ、制限酵素の地図となっております。

9 ページ、第 5、挿入遺伝子や発現ベクター等についてです。

1 番、挿入 DNA の供与体です。

①として、*mvip3A* 遺伝子です。*B. thuringensis* AB88 株の *vip3Aa1* 遺伝子由来で、植物での発現を高めるために人工合成をした遺伝子である。

②として、*aph4* 遺伝子です。抗生物質耐性マーカーとして *E.coli* K-12 株からクローニングしたハイグロマイシン B リン酸基転移酵素遺伝子が導入されている。

(2) 安全性について。① *mvip3A* 遺伝子は、*B. thuringensis* AB88 株が属する *B.t.* に対するヒトの食経験というものはないが、微生物農薬の基材として長期に利用されており、ヒトや動物に対する病原性は報告されていない。

② *aph4* 遺伝子です。供与体である *E.coli* K-12 株における病害は報告されておらず、毒性を持つ遺伝子は見出されていない。更にヒトや動物の腸内でコロニーを形成しないということから、ヒトや動物に対して病原性を持たないと考えられるとされております。

2 番、遺伝子産物の性質です。(1) クローニングについてです。

10 ページ、① *mvip3A* 遺伝子は *B. thuringensis* AB88 株から得られた *vip3Aa1* 遺伝子に由来し、GC 含量を高めた人工合成した遺伝子である。当初データベースに登録された Vip3Aa1 タンパクの配列は 284 番目のアミノ酸がリジンではなくグルタミンとなっている。そのため、それを基にして人工合成した今回の遺伝子は 284 番目のアミノ酸がリジンではなくてグルタミンとなっていたということで、このタンパクを Vip3Aa19 タンパクとして登録したということでございます。

この Vip3Aa19 タンパク、*vip3Aa19* 遺伝子をそれぞれ mVip3A タンパク、*mvip3A* 遺伝子としております。

② *aph4* 遺伝子です。*E.coli* K-12 からクローニングされたものである。

11 ページ、(2) 塩基数、塩基配列、制限酵素、部位はそれぞれ明らかとなっております。

す。

(3) 遺伝子の機能です。

① *mvip3A* 遺伝子は、殺虫活性タンパクである。殺虫活性タンパクとしてよく知られている *Cry* タンパクについては芽胞形成期に産生される細胞内に存在する結晶タンパクであるのに対し、*Vip3A* タンパクについては芽胞形成期及び栄養成長期に産生され、細胞外に分泌される可溶性のタンパクということでございます。*Vip3A* タンパクが標的チョウ目昆虫の幼虫に摂取されて消化されると特定の大きさのコアタンパクを生じ、このタンパクは腸管上皮細胞の特異的受容体に結合し、イオンチャンネルが形成され、消化器官が損傷を受け殺虫活性を発揮するというところでございます。

このように作用機作は *Cry* タンパクと類似はしていますが、*Cry1Ab* タンパクとは結合する受容体が異なるということから、殺虫活性スペクトラムも異なるということでございます。

② 既知の毒性タンパクとの構造相同性です。その次のパラのデータベース、プログラムを用いて検索されております。検索に当たって *E value* の上下値を  $8 \times 10^{-4}$  に設定したということでございます。

その結果、相同性が認められたものが 60 件確認されており、それぞれが下に記載されております。いずれも *B. thuringensis* 由来の殺虫活性タンパクであり、それ以外には有意な構造相同性を持つ既知の毒性タンパクは認められなかったということでございます。

③ *aph4* 遺伝子の機能です。2 つ目のパラになりますけれども、ハイグロマイシン B をリン酸化することによって不活化するというところでございます。

④ 既知の毒性タンパクとの相同性です。記載のデータベース、プログラムを用いて検索がされております。右側のページにまいりまして、*E value* の上下値を 0.37 に設定して検索を行ったところ、相同性が認められたものは 108 件見つかったということで、以下にそれぞれについて記載がされておりますが、毒性タンパクと定義されるものとの相同性はなかったということで、*APH4* タンパクは有意な構造相同性を持つ既知の毒性タンパクが存在する可能性は極めて低いことが示されたということでございます。

(4) 抗生物質耐性マーカーについてでございます。*aph4* 遺伝子が組み込まれておりますので、摂取を通じた腸内細菌への水平移行の可能性、ヒトで利用される抗生物質が効かなくなる可能性について検討したということでございます。

2 パラからです。植物ゲノムに組み込まれた抗生物質耐性マーカー遺伝子が食品として摂取され、ヒトの腸内細菌に移行して抗生物質耐性を獲得するというまでには以下のような大きな障壁がある。

- ① 植物中やヒトの消化器官におけるヌクレアーゼによる分解を受けないこと。
- ② 機能を有する遺伝子サイズが保持されていること。
- ③ 他の摂取食物 DNA の腸内細菌への取組みと競合しなければならない。
- ④ 腸内細菌は形質転換能力を有し、取り込まれた遺伝子は細菌の制限酵素で切断されず、

発現可能な状態で組み込まれる必要がある。

実際に植物から完全な遺伝子が細菌に移行したという報告もないことから、水平移行が起こる可能性は極めて低いと結論されている。これは FAO/WHO でまとめられたレポートが引用されております。

EFSA においても *aph4* 遺伝子に関しては、その利用を規制あるいは制限する必要はないとしている。オーストラリア政府においても、この COT102 に導入された *aph4* 遺伝子の水平移行に関して、上記の判断に加えて、これらのハイグロマイシン抵抗性を付与する他の遺伝子を有する細菌は、既にヒトの消化器官を含め、自然環境に広く存在しているということから、仮に水平移行が生じたとしても何らかのリスクが生じる可能性は考えにくいと結論されているということでございます。

一方、APH4 タンパクの基質特異性ですが、ハイグロマイシン B 以外には、構造的な類似の抗生物質であるハイグロマイシン B2、デストマイシン A、デストマイシン B を不活化する。これらの中でヒトの医薬品として利用されているものはない。

また、COT102 における APH4 タンパクの種子における発現量は定量限界以下であり、食品として利用される油にはタンパクは含まれない。更に APH4 は消化に対して安定的ではないということが示されている。これらのことから、COT102 ワタからヒトの腸内細菌への *aph4* 遺伝子の水平移行並びに人で利用される抗生物質の APH4 タンパクによる不活化の懸念については、ヒトの健康に影響を及ぼすことはないと考えられるとされております。

3 番、発現に関わる領域についてです。

(1) プロモーターです。シロイヌナズナのアクチン 2 遺伝子由来のイントロンを含むプロモーターが使用されております。

*aph4* にはシロイヌナズナのユビキチン.3 遺伝子由来のプロモーターが利用されております。

ターミネーターについてはどちらのカセットも *R. radiobacter* 由来のターミネーターが用いられております。

4 番、ベクターへの挿入 DNA の組み込みです。

(1) pVictorHiNK に含まれる *pmi* 遺伝子と M13 複製起点を削除して、pHiNK078 を作成する。

(2) T-DNA 領域に *mvip3A* 遺伝子発現カセットを挿入する。

(3) *aph4* 遺伝子発現カセットを導入して、発現ベクター pCOT1 を作成したということでございます。

構築されたベクターについては、全塩基数は 11,801bp、塩基配列、制限酵素による切断地図はそれぞれ記載されております。

17 ページは制限酵素の切断地図で、18 ページの表は構成 DNA のサイズ、由来及び機能が記載されております。

19 ページ、(2) T-DNA 領域内には目的以外のタンパクを発現する ORF は含まれてお

りません。

(3) 意図する挿入領域としては T-DNA 領域であるということでございます。

(4) 純化については、抗生物質マーカーによる細菌の選抜及び増殖を通じてなされている。

6 番、宿主への導入方法です。アグロバクテリウム法を用いて導入し、ハイグロマイシンを用いた培地で選抜し、再分化個体を得ております。その後、PCR 分析を行って遺伝子の確認をした後、戻し交配あるいは自殖を行い、本品種を得ております。

なお、一番下のパラになります。商品化を予定しているのは●●●、●●●世代以降であるということ、安全性を確認する世代はこれらの世代ということでございます。

21 ページ、組換え体についてです。コピー数の確認として BC4F1 世代について確認しております。そのページの下 3 分の 1 くらいから、それぞれのプローブ、制限酵素の組み合わせを用いて行っております。

22 ページの 3 パラ目「また」ですが、完全性を確認するために制限酵素の組み合わせを用いて確認しております。いずれも想定されたバンドが検出されたということでございます。

外骨格領域の有無について、外骨格をプローブとしてサザンブロットを行っておりますけれども、検出されなかったということで、これらの結果から、1 コピーの完全な遺伝子発現カセットが組み込まれており、外骨格領域は存在しないということが確認されたということでございます。

23 ページ、それぞれのプローブと制限酵素の表になります。

24 ページ、それぞれサザンの結果が掲載されております。

30 ページ、それぞれプローブと制限酵素の模式図が記載されております。

31 ページ、挿入遺伝子の塩基配列についてです。COT102 の挿入遺伝子の全塩基配列を決定して、発現ベクターの T 領域と比較しております。

その結果、T-DNA の右側のライトボーダーの 24bp、レフトボーダーの 19bp の欠損が確認されたが、導入されている 2 つの遺伝子発現カセットを構成する要素は完全であって、T 領域のものと一致することが確認されたということでございます。

③近傍配列の決定です。COT102 の近傍配列の塩基配列を決定して、非組換え体と比較しております。その結果、遺伝子の挿入に伴いワタゲノム 82bp の欠損が見られた、また、5' の近傍配列はワタゲノムと一致していた。

ただ、3' 側の近傍については挿入遺伝子との隣接部位に非組換えワタのゲノム配列とは一致しない 690bp の配列が認められたということです。この 690bp について、まずベクターの T 領域、外骨格領域と同一性検索をしましたが、同一性は認められなかった。

次に公的に利用できるワタのゲノムデータベースを用いて検索したところ、ワタゲノムと高い同一性が認められたということです。高いといっても 89% になりますけれども、同一性が認められたということです。

組み込みによって既知の遺伝子が損なわれている可能性を検討するために、近傍領域、隣接する T 領域において NCBI のデータベースを用いて blastx による検索が行われております。E value を 10 として設定したところ、5´側で 3 個、3´側で 740 個のタンパクが見出された。ただ、その中にワタの既知のタンパクの配列は見出されなかった。また、5´側で認められたもののうち、最も低い E value は 4.8、3´側で最も低いものでも 0.01 であったということでございます。

なお、農業形質や構成成分も同程度であることから、ワタの既知の遺伝子が損なわれている可能性は低いと考えられたということでございます。

32 ページ、ORF についてです。ORF を 30 以上の連続するアミノ酸として終止コドンから終止コドンまでと定義して、挿入遺伝子と近傍配列の接合部について検索しております。その結果、合計 5 個の ORF が認められたということです。この ORF について NCBI のデータベースを用いて blastp による検索が行われておりますが、1 つの ORF と相同なタンパク質が見いだされましたけれども、既知のアレルゲンや毒性タンパクではなかったということでございます。

また、アレルゲン検索として、FARRP のデータベースを用いて 8 個の連続アミノ酸について検索したところ、これらのエピトープは見出されなかった。なお、80 個以上の連続アミノ酸を有する ORF はなかったことから、80 個以上の検索はしていないということでございます。

更に、近傍 1,000、隣接する T 領域 90 について、既知のタンパクとの相同性検索について blastx の検索をしておりますけれども、先ほどと同じになりますが、5´で 3 個、3´で 740 個出ていますが、これらは既知のアレルゲンや毒性タンパクと相同性はなかったということです。

以上のことから、遺伝子の導入によりアレルゲンや毒性タンパクが発現している可能性は極めて低いと判断したということでございます。

2 番、発現部位ですが、米国の 3 か所の圃場で T3 世代を用いて ELISA によって発現量の確認をしております。

34 ページ、それぞれの表になりますけれども、各組織、各発育ステージで mVip3A タンパクの発現が確認されております。

35 ページ、APH4 の結果になります。いずれも定量限界以下であったということです。

36 ページ、ただ、花粉でそれぞれ認められているということでございます。

3 番、1 日タンパク摂取量の有意な量を占めるか否かです。ヒトが最も多く摂取するワタ産物は綿実油で、一般に食用油に検出可能なタンパクが含まれることはなく、精製した綿実中のタンパク含有量は検出限界以下であることが示されている。APH4 については、種子中でも定量限界以下であったと。したがって、これらがヒトに摂取されることはほとんどなく、その摂取量は無視できるレベルの量であると考えられるとされております。

4 番、アレルギー誘発性についてです。供与体である *B. thuringensis* AB88、*E.coli* K-1

2はいずれもアレルギー誘発性があるとは考えられていないということです。

遺伝子産物についていずれもアレルギー誘発性の報告はありません。

37 ページ、(3) 物理化学的処理についてです。*E. coli* で発現をさせたものとの同等性について、APH4 タンパクについては種子中の発現量が少なかったことから、同等性の評価を行うことはできなかつたとされております。

①人工胃液における処理です。Vip3A タンパクの方ですが、SDS-PAGE、ウエスタンで試験が行われております。いずれの方法においても反応開始1分でバンドは検出されなくなったということでございます。

APH4 につきましては、SDS-PAGE、ウエスタンで行われております。SDS-PAGE ではペプシン等のバンドが重複してしまつて、APH4 タンパク自体のバンドの確認が困難であつたということでございます。しかし、明らかにバンドが薄くなつてゐることは確認できたということでございます。

この結果が40 ページにあります。レーン6が0分で、レーン7が1分、2分、5分、10分となりますが、38kDaの辺りはだんだん薄くなつていっておりますが、その一方、3kDaの付近に分解物と思えるバンドが表れて、だんだん薄くなつていつてゐるというような状況です。

41 ページ、ウエスタンブロットについては、反応開始1分後にバンドは検出されなくなつたということでございます。

42 ページ、②人工腸液です。mVip タンパクについて SDS-PAGE、ウエステンの試験の結果、反応開始後5分で完全長のものは検出されなくなつた。一方、62kDaのポリペプチド断片に速やかに分解され、この62kDaも55kDaの分解を生じながら徐々に分解していき、24時間でほぼ検出されなくなつたということでございます。したがつて、人工腸液では消化が進まないということが確認された。

APH4 につきましては、同じく SDS-PAGE、ウエスタンで行われておりますけれども、開始後5分でいずれの断片も検出されなくなつたということでございます。

47 ページ、加熱処理についてです。mVip ですが ELISA 分析が行われております。それぞれ4~170℃の各段階で30分静置し、ELISA 分析が行われております。その結果、150℃、170℃で免疫反応活性が検出されなくなつたということでございます。

APH4 については120℃30分で30%まで低下、170℃では免疫反応活性は検出されなくなつたということでございます。

48 ページ、から3分の1から、既知のアレルゲンとの相同性で、FARRP のデータベースを用いて検索されております。まず80個の連続アミノ酸からなる35%以上の相同性、8つの連続するアミノ酸について検索されております。

49 ページ、mVip の方については、いずれも認められなかつた。APH4 についても、いずれも認められなかつたということから、既知のアレルゲンとの構造相同性はないことが示されたということでございます。

50 ページ、5 番、安定性については、F1、BC1F1、BC4F1 の世代において、まず挿入遺伝子の分離様式を PCR によって検定しております。その結果が下に記載されておりますけれども、いずれもメンデルの法則に基づいて分離していることが確認されたということでございます。

51 ページ、サザンブロットによる分析が行われております。その結果が 52 ページの表にございます。いずれも想定したバンドが検出されたということで、異なる世代においても安定して遺伝していることが確認されたということでございます。

56 ページ、代謝経路への影響です。mVip3A タンパクは酵素活性を有するとは考えられておらず、宿主の代謝系と独立して機能していることから、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられた。

APH4 タンパクについては基質特異性が高く、ハイグロマイシン B、ハイグロマイシン B 2 のほか、構造が類似しているデストマイシン A、デストマイシン B をリン酸化する。一方、ネオマイシンやストレプトマイシン、ゲンタマイシン云々と記載がありますがけれども、これらを含めたアミノシクリトールあるいはアミノグリコシド系抗生物質はリン酸化しないということが示されている。更に植物体内においては基質となり得る物質が存在することは知られていないということから、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は極めて低いであろう。

7 番、宿主との差異になります。2001 年、2002 年に栽培したものについて試験しております。

58 ページがそれぞれの検査項目になっております。有意差が認められた項目はございますけれども、いずれも一般のワタ品種で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。ゴシポールやシクロプロペノイド脂肪酸についても、統計学的な有意差は認められなかったということでございます。

65 ページ、8 番、諸外国です。FDA で 2005 年 7 月に安全性について確認が終了しております。オーストラリア、ニュージーランドについても 2005 年 2 月に終了しております。栽培方法については、チョウ目害虫に対する殺虫剤の使用が軽減できる点を除いて従来のものと相違はない。

10 番として、種子の製法や管理については従来のものと同じであ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 どうもありがとうございました。前にトウモロコシで審査が終了いたしました mVip ですありますがけれども、これを今回はワタに導入したものであります。

それでは、申請書につきまして、項目ごとに先生方から御意見を賜りたいと思います。まず申請書の 1～3 ページ、第 1 と第 2 のところで御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

続きまして、4～8 ページにわたりまして、第 3 の宿主、第 4 のベクターに関する事項

でコメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○五十君専門委員 表現のことで、一番最初は1ページに出てくるんですけども、菌名の表記です。たしか一度菌名表記を整理し、イタリックで統一したと思います。1ページの第1の(2)に *Bacillus* と書いてあって、以下 *B.t.* と記すと名前も略した表記になっています。確かに記すと書けば間違いではないですけども、一般的な表現ではないので、できるだけ名前の方は書いていただきたい。たしか整理以降についてはそのような表記にしていたと思いますので、直していただきたいと思います。

○澤田座長 この *t.* を *thurinigensis* と書いた方がいいということですね。

○五十君専門委員 そのように書いた方が一般的な表記になると思います。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。それでは、第5で挿入 DNA 遺伝子産物、発現ベクターの構築に関する事項で、これは9~20ページにわたりますけれども、ここでコメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○鶴身課長補佐 本日お休みの飯先生から事前にコメントをいただいておりますので、御紹介をさせていただければと思います。

お配りしております資料2の一番上になります。ハイグロマイシン耐性遺伝子の由来が *E. coli* K-12 であると書いてあるということで、普通の大腸菌は感受性と考えられるので、由来について再度調査をして、その結果を踏まえて修正をなささいというコメントをいただいております。

○澤田座長 ヨーロッパの方で EFSA がこの遺伝子に対する安全性を評価してしまして、そこで大腸菌からクローニングしたことが書かれていて、そこまでは確からしいです。ただ、その前があまり定かでないので、これは一応精査していただいて、その前も含めて調べていただいて、表現をきちんと直していただければと思いますけれども、よろしいでしょうか。

ほかにございませんか。

○五十君専門委員 15ページになるとと思いますが、*aph4* 遺伝子に関するブロックがありますけれども、このところは耐性マーカーを新たに入れるということで、大変重要な箇所になります。ここで表現していることが本当に正しいかどうかは少し検討する必要があると思います。

特に今、指摘しました「*aph4* 遺伝子によって発現する」の更に上のブロックに、遺伝子の移行に関する部分を書いてありますが、ここに表現してある内容は、移行に関して移らないという主旨となっておりますが、必ずしもコンセンサスが得られていないと思われるので、この部分の論理立てをもう少し整理していただきたいと思います。

○澤田座長 この①~④に関しましては、FAO/WHOのものにこういうことが実際に書いているんですか。

○鶴身課長補佐 それを引用しています。

○澤田座長 ちょっと古いですね。

○鶴身課長補佐 2000年のものです。

○澤田座長 最近の知見で、行く場合もあるということを五十君先生はおっしゃりたいと思うんですけども、そこら辺をどういうふうに直せば。

○五十君専門委員 移行に関しては、多分2000年ころの文章ですとこのような表現をしているかと思いますが、その後の議論では、むしろ移行しないというよりも耐性マーカールに関しては選択圧がかかると選択されることが問題で、必ずしも移行しないとは言いきれないという考え方になっていると思います。移行は非常に低いという表現はいいと思いますけれども、最終結論として移行がほとんどないというのを根拠にはしないようになっていると思います。

治療に影響を与えないとか、腸内フローラにもうその遺伝子が普通に存在し、新たに当該耐性遺伝子が入ったことによって変化が生じないとか、そういったところを根拠に、カナマイシン耐性などは議論されたかと思いますが。移行はしないということは控えめにさせていただいて、そういった論理立てで議論していただきたいと思います。

○澤田座長 ありがとうございます。そういう論旨で、少し表現を弱めた方がよろしいということになりますでしょうか。実際に直す際にまた五十君先生に見ていただいて、直していただければと思います。

○澁谷専門委員 今のと関連するんですが、これまでに抗生物質耐性遺伝子でこちらで通っていたのはカナマイシンが通っていたんですか。

○鶴身課長補佐 はい。

○澁谷専門委員 そのときの論理とも整合性などを見ながら、場合によってはその後に明らかになったことを加えていただければいいですね。

○澤田座長 日本では2つ目になりますか。まだほかにもありますか。

○小関専門委員 ハイグロはたしか最初ですよ。

○澤田座長 ハイグロに関してはこれが最初の例で、抗生物質としては2つ目ですか。

○澤田座長 海外で承認があるわけですね。海外で何かデータを出しているかどうか。

○小関専門委員 それは調べてもらえれば、その方がいいです。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。たしか20ページまで行きましたか。よろしいですか。

21ページ以降から最後まで、ちょっと長いですがけれども、第6の組換え体に関する事項でコメント、御意見がありましたら、お願いしたいと思います。

○澁谷専門委員 37ページです。APH4のハイグロマイシン耐性のタンパク質の安全性のところですが、同等性は量が少なくて評価できなかったということが上の方に書いてありますが、これはAPH4タンパク質が糖タンパク、糖鎖付加部位があるかどうかを明らかにしておいていただいた方がいいと思います。もともと大腸菌由来ですがけれども、植物で発現させているので、糖鎖付加部位があると安定性等々で問題になるかもしれないの

で、そこを調べておいていただきたいと思います。

○澤田座長 ちょっとニュアンスが違いますけれども、今の点は飯先生からもコメントがありました。

○鶴身課長補佐 資料2の2番になります。花粉で検出されているので、ウエスタンぐらいのサイズくらいはできるのではないか。どこまでできて、どこまでできないかは具体的にというようなコメントをいただいております。

○澤田座長 今のお話で、もしできたら大腸菌と植物体のもので分子量を見た方がいいと。

○澁谷専門委員 ポテンシャルな糖鎖付加部位である、アスパラギン-X-セリンの配列などがあると、大腸菌では糖鎖は付きませんが、高等動植物ではそこにアスパラギン結合糖鎖が付く可能性があって、糖鎖が付くとプロテアーゼ耐性などは大幅に変わってくるため、こういう大腸菌発現でやったものが意味をなさなくなるおそれがあります。そこを確認していただきたいと思います。

○澤田座長 それでは、ほかに御意見はございませんか。どうぞ。

○児玉専門委員 関連して、ちょうど今のところで「COT102 ワタでの APH4 タンパク質の発現量は」云々とあって、その同じパラグラフの下から2行目に「なお、APH4 タンパク質の N 末端にはタンパク質純化のために」と書いてあって、この2番目に出てくる APH4 は大腸菌でつくらせた APH4 で、植物体内でつくられているものではないのだと思います。その区別が付かないので、区別が付くように工夫をしてもらいたいと思います。

○澤田座長 書きぶりを誤解がないように書いていただくということにいたします。

ほかによろしいでしょうか。どうぞ。

○鎌田専門委員 31 ページ 690bp というのは、我々としてはどちらにするんだろうというのは悩ましいところで、難しいですね。食品安全上は問題があると思わないだけけれども、外来遺伝子として、範疇の中に入れておくのか、それとも内在のものとして記載するのかというのは若干微妙なところだと思います。

○澤田座長 今までの短めのもはよかったですけれども、これだけ長くなった例は初めてですね。ゲノムに組み込まれた場合の書きぶりの統一された例はあまりないので、これからどうするかを決めておいた方がよろしいかと思います。小関先生。

○小関専門委員 これはたしか 90% くらい相同性はあります。ですから、そういう意味でいった場合に、恐らくリアレンジメントが起こっていると思います。そうすると将来的に全ゲノムが決まったときに、どこから巻き込んできたかが明らかになるのではなかろうかと推定されるので、現状でいったときに将来的なそういうことを考えると、例えばこれを使ってサザンをやれと言うと、サザンをやれば必ず非組換えの方で出てくると思います。それをやらせてもいいんですけれども、それをやらせることが生産的かどうかという問題があるので、今の 89% という相同性のことを考えると、それが外来のもので 89% に行くというのは非常に考えにくいということから、内在性のものがリアレンジメントしたと判断してよろしいのではないかと私は思うのですけれども、どうですか。

○鎌田専門委員 私もワタのゲノムが来たんだらうと思うのだけれども、それは安全性を考える上で、例えば外来遺伝子と一部が更に複雑にリアレンジメントされたようなケースが前にあって、そうなったときにもととの宿主由来だから何もしないというのは、逆に話がおかしくなってしまうので、内在性だったけれども、リアレンジメントを起こしたという結果として、安全性はその部分についても見ているというふうに組み方としておかないと、リアレンジメントだから無視という言い方は多分できないと思います。

○小関専門委員 だとすると、ここの部分の ORF を調べて、毒性とアレルギー性についてサーベイして、ないと言っていることを根拠にして OK だというスタンスが私も一番正しいと思います。

○澤田座長 データは出ていますね。

○鎌田専門委員 出ているので、我々はそこまで見て、安全性上は問題ないと言ったと。

○澤田座長 そうしますと、評価書の書き方として、表にも入れないといけないですね。

○鎌田専門委員 そういうことになると思います。絶対にこうだとは言えなかった以上。

○澤田座長 意図した部分以外に非意図的などころも明記するとした方がいいということですね。

○小関専門委員 ただし、安全性は問題なかったと。

○澤田座長 ほかに御意見はありますか。

○鶴身課長補佐 今回の点は、32 ページの下から 3 パラで、両近傍 1,000 と内側の T 領域で X をやっています。ORF はやらないで、いきなり blastx をやって、既知のアレルゲンとか毒性はなかったということが確認されているので、内容的にはここのデータで構わないということでもよろしいですか。

○小関専門委員 その部分で、相同検索を行ったところというのが 31 ページのパラですね。32 ページの方に ORF がコードするものについて検索を行ったという形で、そちらの方を担保するという考え方です。

○鶴身課長補佐 では、後ろのデータをむしろ前の方の話としてということですか。

○小関専門委員 そうです。

○澤田座長 手島先生、どうぞ。

○手島専門委員 40 ページです。APH4 の人工胃液での消化性の実験の中で、1～10 分間の 3 kDa のものが見えているんですが、これについては文章の上では説明がないということがありまして、この 3 kDa が何ものか、APH4 タンパク由来のものかということの説明が必要ではないかと思いました。

48 ページになりますが、APH4 タンパク質が加熱に対しては比較的抵抗性があるというか、120℃になって免疫反応活性が落ちるということがありまして、熱に対しては比較的強いというイメージを受けるんですが、APH4 タンパク質はほかのアレルゲンとの相同性はないということで、最終的な 49 ページの最後の結論では、(1)～(4)までの評価結果から、両タンパク質がヒトの健康を損なうおそれがないと判断されたという結論になって

いますが、APH4 タンパク質については熱安定性が悪いとか、少しそういった説明も入れた上で、総合的に判断してヒトの健康を損なうおそれはないと判断されたという説明にされた方がいいのではないかと思います。

○澤田座長 論理的に熱安定性がそんなに弱くないことを加味して、書きぶりを変えていただくということによろしいですか。

○手島専門委員 はい。

○澤田座長 先ほどの40ページの方は、説明だけでよろしいですか。それとも、これは3 kDaがAPH4由来であることを証明しろというと、また大変になりますけれども。これだとアミノ酸のシーケンス。

○手島専門委員 そうです。

○小関専門委員 1点いいですか。私もこれはデータを見ていて、あれと思ったのは、これはポリクロでやっていますね。だから下が引っかかっていると思いませんか。結局これはモノクロではなくてポリクロでやっているの、分解だったら3 kDaのものが引っかかってもいいはずですよ。

○手島専門委員 認識位置によって、そのフラグメントを認識できないケースもあると思うんですけども、そういう意味ではこのフラグメントにポリクロで認識できる抗原決定基がなく、抗体が結合しなかったのかと思いました。

○小関専門委員 私はまた別のを考えて、ウエスタンをやるときに、今は電気泳動でウエスタンをやります。セミドライで。3 kDaくらいから突き抜けたのではないかと考えていたんです。ですから、ここについての説明をしっかりともらうということで、要するに手島先生の考え方と、私がこうではないかと思った部分はいろいろあると思いますけれども、とりあえずくっ付いていいはずですね。

○中島専門委員 これはその前のページのmVip3Aの実験でも、こちらは写真が薄いからですけども、やはりこの3 kDaのバンドが出ているんです。これを考えると恐らく一番考えやすいのは一部ペプシンの自己分解ではないかと思われるんですが、どちらにもこの3 kDaのバンドは出ているので、これの説明を求めないのはまずいように思います。

多分ペプシンだけでほかの基質を入れないで実験して、この3 kDaが出てくるというデータか、何か要求する必要があると思います。

○澤田座長 そうしましたら、この3 kDaのペプチドの由来をきちんと説明していただいて、もし必要だったらそれなりのデータが要りますという話になるかと思います。

五十君先生、どうぞ。

○五十君専門委員 先ほどの31ページの確認をしようと思ったのですけれども、よろしいですか。先ほどの話では近傍配列で変なものが出てきた場合は、その配列についてきちんと評価をしましょうということですね。この場合はアレルギー性と毒性に関してデータベース上で検索して、ないからよろしいということで今後行けばいいということですね。それを確認してください。

○小関専門委員 ゲノムの配列に確実にきれいに入っていればいいかという話ではなくて、入っていたとしても、そこで新しいものが生まれる可能性があるので、今まで全部やっていたね。ゲノムの配列であったとしても、今回のようにゲノムの配列でないリアレンジメントが入ったとしても、扱いは同じであるという考え方でやっていくということだと思います。

○五十君専門委員 もう一度確認したいのは、挿入遺伝子の近傍だから、きちんとしておきましょうという考え方でよろしいわけですね。ほかのリアレンジメントまでは現実的に検討できないと思うので、近傍で疑問点が生じた場合にはやっていただくということですね。わかりました。

○澤田座長 あと石見専門委員からのコメントがありましたけれども。

○鶴身課長補佐 今の点をもう一回、何度も済みません。近傍のシークエンスを必ずしも求めていないですが、これからは求めると。PCR でやって、それだけで終わっていたり、シークエンス配列まで全部を求めていないケースも中にはあるんですが。

○小関専門委員 挿入配列は、今まではほとんど出してきているはずだと思います。

○鶴身課長補佐 その横のフランキングの方が挿入前とリアレンジで変わっているかどうかというのは。

○小関専門委員 このところは全部やっているはずだと思います。

○鶴身課長補佐 わかりました。

○澤田座長 石見先生のコメントは。

○鶴身課長補佐 はい、資料2の方です。構成成分のところでは宿主との差異ですが、1つは脂質という言葉を経脂質にするということ。栄養成分のところではビタミンEの分析値がないので、それらを追加する。 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ の分析値があれば追加することというコメントをいただいております。

○澤田座長 ビタミンEは少なくともトータルトコフェロールは出していただいた方がよろしいかと思えます。

ほかにコメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○児玉専門委員 非常に細かいところですがけれども、消化性の試験の一連の図13、14、15と続きますが、レーンの説明のところでは、例えば38ページの図13だとレーンの6～12を見るとmVip3Aタンパク質、反応開始後とあるので、ここは正確にはSGF+mVip3Aタンパク質と書かないと、反応も何もただのタンパク質ということになってしまいます。それはずっと後ろまでそうなっているので、一連をそうしていただければ。

○澤田座長 それは直していただければと思います。ほかによろしいでしょうか。

それでは、大分御意見をいただきまして、提出されました御意見、確認事項を指摘事項案としてとりまとめて、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対して指摘したいと思います。

それでは、指摘事項が出ておりまして、ある程度実験的なデータや新たな要求もあ

すので、飼料の方には移らないということで、ちょっと早いんですけども、議題1はこれで終わりにしたいと思います。

議題2の「その他」でありますけれども、何かありますでしょうか。

○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。では、本日の議題についてはこれで終了といたします。

それでは、今後の予定について、事務局からお願いしたいと思います。

○鶴身課長補佐 日程を確認させていただいたところ、次回は1月18日月曜日の午後が一番御都合がよろしいかと思っておりますので、よろしく願いいたします。

○澤田座長 それでは、次は1月18日の午後ということでよろしくお願い致します。

以上をもちまして、第77回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。

長い間、活発な御議論をありがとうございました。それでは、皆様方、よいお年をお迎えください。