

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会 第82回会合議事録

1. 日時 平成22年6月23日(水) 14:00～17:06

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

- ・ HIS-No.1株を利用して生産されたL-ヒスチジン
- ・ GLU-No.3株を利用して生産されたL-グルタミン酸ナトリウム
- ・ 乾燥耐性トウモロコシ MON87460 系統 (食品・飼料)
- ・ チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87701 系統 (食品・飼料)

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、石見専門委員、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、手島専門委員、中島専門委員、飯専門委員、  
和久井専門委員

(委員)

小泉委員長、見上委員、長尾委員、野村委員、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、北村課長補佐、松尾係長、  
伊藤技術参与

5. 配布資料

資料1 食品健康影響評価に関する資料

- ① HIS-No.1株を利用して生産されたL-ヒスチジン

② GLU-No.3 株を利用して生産された L-グルタミン酸ナトリウム

③ 乾燥耐性トウモロコシ MON87460 系統（食品）

④ 乾燥耐性トウモロコシ MON87460 系統（飼料）

⑤ チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87710 系統（食品）

⑥ チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87710 系統（飼料）

#### 資料 2 専門委員からのコメント

- ・ HIS-No.1 株を利用して生産された L-ヒスチジン
- ・ GLU-No.3 株を利用して生産された L-グルタミン酸ナトリウム
- ・ 乾燥耐性トウモロコシ MON87460 系統（食品）

#### 参考資料 安全性評価に係る指摘事項

- ・ 乾燥耐性トウモロコシ MON87460 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 82 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」に基づきまして、非公開で行います。

本日は、所用によりまして、五十君専門委員、澁谷専門委員、山崎専門委員が御欠席とのことです。

本日の議題であります、新規の審議品目であります HIS-No.1 株を利用して生産された L-ヒスチジン、GLU-No.3 株を利用して生産された L-グルタミン酸ナトリウム、チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87701 系統、更に継続品目であります乾燥耐性トウモロコシ MON87460 系統の安全性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。

○松尾係長 それでは、議事次第に基づきまして、配付資料を確認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 といたしまして「食品健康影響評価に関する資料」。

資料 2 といたしまして「専門委員からのコメント」。

参考資料といたしまして「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、委員の皆様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。

不足等ございましたら、事務局までお知らせください。

○澤田座長 それでは、議題1の審議に入らせていただきます。

まずは、ヒスチジンです。事務局から御説明をお願いします。

○松尾係長 それでは、HIS-No.1株を利用して生産されたL-ヒスチジンにつきまして説明させていただきます。お手元のピンク色の紙ファイルに基づきまして、説明させていただきます。

資料の1ページ「1. L-ヒスチジンの食品添加物としての概要」から順を追って説明させていただきます。

まず、L-ヒスチジンの食品添加物としての概要といたしまして、L-ヒスチジンは既存添加物に該当するものであり、下記に記載しているような化学構造、分子式、分子量、含量、性状等を有するという事です。

2ページ「1-2 L-ヒスチジンの用途」ですが、主に栄養補給を目的とするスポーツ栄養食品、飲料及び調味料等に用いられているという事です。

3ページ「2. L-ヒスチジンの製造方法の概要」です。

まず、2-1といたしまして、本添加物の生産菌であるHIS-No.1株の作製方法です。

(1) 宿主菌は、*Escherichia coli* K-12株由来の突然変異株が使用されています。

(2) ベクターは、mini-Muというベクターを用いております。

(3) 挿入遺伝子は、すべて *E. coli* K-12株を由来とする遺伝子であり、いずれもヒスチジンの生合成に関与する遺伝子です。

これらの遺伝子の導入目的は、いずれもL-ヒスチジンへの生成効率をより高めるために導入されたという事です。

4ページ、(4) プロモーター、ターミネーター、リンカー、アダプター、クローニングサイト等につきましては、*E. coli* K-12株由来のDNA、*E. coli*を宿主とするバクテリオファージλ、fd、*E. coli*由来のトランスポゾンであるTn5などとなっております、これらの配列につきましては、いずれも有害な影響を及ぼす可能性が低いか、または生理活性を有さない配列であると考えられています。

(5) L-ヒスチジン生産菌株は、先ほど説明させていただいた遺伝子をmini-Muベクターに搭載した遺伝子組込みユニットを宿主染色体に組込むことによりまして、本生産菌株であるHIS-No.1株を得たという事です。

5ページ、図1といたしまして、HIS-No.1株の構築方法についての概略が記載されて

おります。

6 ページでは、L-ヒスチジンの製造方法に関する説明が記載されております。

下の図 2 に製造工程の図が記載されております。

発酵により得られました L-ヒスチジン発酵液から生産菌を系外に除去し、更に粗製工程において副生物を系外に除去します。その後、晶析、分離を行うことで、高純度の L-ヒスチジン精製結晶を取得するという工程になっております。

7 ページ以降は、申請品目と現行製品の同等性の確認がされております。

(1) といたしまして、食品添加物公定書規格分析結果が記載されております。それぞれ申請品目、現行製品についての分析結果が下の表 1 に記載されておまして、表 1 のとおり、申請品目の品質は現行製品と同等と考えられるということです。

8 ページ、(2) といたしまして、不純物プロファイル比較結果が記載されております。

最初に、アミノ酸自動分析計による比較が行われておまして、その結果が下の表に記載されております。申請品目、現行製品、いずれのものにつきましても検出されなかったということです。

2 番目に、HPLC-1 法による比較ということで、ここでは主に親水性の不純物を検出することを目的として分析が行われております。

その結果が、9 ページの上の表に記載されております。

申請品目につきましては、新規不純物は検出されておりません。また、検出された不純物含有量につきましては、現行製品の振れ幅の範囲であったということです。

3 番目に、HPLC-2 法により比較されております。ここでは疎水性の不純物を検出することを目的として分析されておまして、その結果が下の表に記載されております。申請品目、現行製品、いずれも不純物は検出されなかったということです。

10 ページ、(3) といたしまして、L-ヒスチジン製品の残存タンパク質の量が測定されております。

ドットプロット蛍光法という方法を用いて、残存タンパク質の量を測定した結果が下の表に記載されておまして、申請品目では検出されなかったということです。

最後の段落にいていただきまして、以上の結果から、申請品目につきましては「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方」の要件①、②を満たすと考えられるということです。

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。

山崎先生のコメントは、特にこの件に関してはないということですか。

○松尾係長 山崎先生からコメントをいただいております、そのコメントを資料2「専門委員からのコメント」に記載させていただいております。

1ページになりますが、次に御審議いただくグルタミン酸ナトリウムとも関連する内容なのですが、L-ヒスチジンにつきましては、最終産物の品質規格の観点からは、理化学分析で検出できる範囲内においては安全上の問題はないと考えますというコメントをいただいております。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、項目ごとに先生方からの御意見をいただきたいと思います。

まず、食品添加物としての概要と、製造方法の概要で1～6ページにかけまして、コメント、御意見がございましたらお願いしたいと思います。

これは従来何件か出たものとほぼ同じ構成で、あまり大きな問題はないように思われますけれども、よろしいでしょうか。

それでは、7～10ページにかけまして、今度は申請品目と現行製品の同等性の確認で、不純物の解析を行ったデータが出ておりますけれども、この点に関しましてはいかがでしょうか。

鎌田専門委員、どうぞ。

○鎌田専門委員 意味があることではないですが、例えば HPLC-2 法によるデータで9ページのところに「不純物を検出せず」と申請品目と現行品目の両方があるのですが、データを見ると、現行製品の中には不純物らしいピークが2つあります。だから、これだと現行製品も何もないと読めるのですが、チャートを見る限りは●●●と●●●のところにかのピークがあるので、現行製品まで「不純物を検出せず」と書かれると、ちょっと違うのかなとは思っています。

今回の申請品目には何もないので、それ自身はいいですけれども。

○澤田座長 これは恐らく検出限界以下であるということを言いたい。ほんのわずか出ているだけですけれども、検出限界に達していないということかと予想はできますね。

○鎌田専門委員 ただ、上の方では「定量限界未満」と「検出せず」をあえて分けて書いているので、書き方の問題ですね。

○澤田座長 それは書き方の問題ですので、確認して、もし必要があれば直していただくことにしたいと思います。

○松尾係長 今回の鎌田先生の御指摘の件ですけれども、ピークとしては検出されているのですが、検出限界を下回っているということで、あえてこの表現は記載していないということに聞いております。

○鎌田専門委員 それを言いますと、上の方はどうするのという話になってしまうのです。それだったら、そろえないと話が合わないでしょうということなのです。

○澤田座長 ですから「定量限界未満」とか、そういうふう書き直してもらえればいいということですね。

○松尾係長 わかりました。

○澤田座長 それでは、本件につきましては、特に安全性上の問題があるということではありませんので、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ます。

○松尾係長 引き続きまして、評価書（案）の説明をさせていただきます。お手元に資料 1 「食品健康影響評価に関する資料」の御用意願います。

1 ページからが本品目の評価書になっておりまして、4 ページの内容について説明をさせていただきます。

「Ⅰ．評価対象添加物の概要」について記載させていただいております。

名称、用途、申請者、開発者につきましては、記載のとおりです。

28 行目からですが、本添加物は、L-ヒスチジンの生成効率を高めるため、*E. coli* K-12 株由来の突然変異株を宿主として、L-ヒスチジン生合成に関与する遺伝子を導入した HIS-No.1 株を用いて発酵生産された L-ヒスチジンであるということなのです。

33 行目、HIS-No.1 株の宿主及び導入遺伝子の供与体である *E. coli* K-12 株は、有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は知られておらず、OECD におきまして、優良工業製造規範が適用される宿主微生物として認定されているということなのです。

38 行目「Ⅱ．食品健康影響評価」です。

1．本添加物は、高度に精製されており、食品添加物公定書規格の含量規格を満たしている。

2．本添加物の非有効成分につきましては、

(1) タンパク質は検出限界未満である。

(2) 食品添加物公定書の成分規格を満たしている。

(3) 従来品に存在しない不純物は検出されず、また、従来品に存在する不純物は、従来品の含有量の振れ幅の範囲内であった。

以上、(1)～(3)の結果から、従来品と比較して、既存の非有効成分の含有量が安全上問題となる程度にまで有意に増加しておらず、かつ、有害性が示唆される新たな非有効成分を含有していないと考えられる。

3. 以上、1及び2の結果から、本添加物については、高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方にに基づき、安全性が確認されたと判断した。

したがって、本添加物につきましては、本則による評価は必要ないと判断したという内容にさせていただきます。

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。ただいまの評価書(案)につきまして、御意見、コメントがございましたらお願いしたいと思います。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。

よろしいでしょうか。

それでは、特段の御意見がありませんので、御了承いただいたものとさせていただきます。

先ほどの書きぶりの点だけ確認をいたしまして、食品安全委員会に御報告して、パブリックコメント等の手続に入りたいと思います。

それでは、次の議題でありますグルタミン酸ナトリウムについてであります。事務局から御説明をお願いします。

○松尾係長 引き続きまして、GLU-No.3株を利用して生産されたL-グルタミン酸ナトリウムにつきまして説明させていただきます。お手元の水色のファイルを御用意いただきまして、このファイルの内容につきまして説明させていただきます。

1 ページ「1. L-グルタミン酸ナトリウムの食品添加物としての概要」から説明させていただきます。

L-グルタミン酸ナトリウムは、食品添加物公定書に記載された指定添加物に該当いたします。その概要につきましては、下記に記載されている表の中にまとめられております。

2 ページ、L-グルタミン酸ナトリウムの用途ですが、昆布のうま味成分であり、調味料として広く使用されているということです。

3 ページ、L-グルタミン酸ナトリウムの製造方法の概要について説明されております。まず、2-1といたしまして、生産菌株GLU-No.3株の作製方法です。

(1) 本生産菌の宿主菌は、*Pantoea ananatis* No.359株由来の変異株ということです。

この *P. ananatis* No.359株は、*E. coli*の近縁種で、かつ●●●が●●●、●●●の●

●●でも生育が良好な菌株で、グラム陰性、腸内細菌群に属する植物常在菌であるということです。

(2) ①病原性に関する文献調査が行われています。

文献調査を行った結果、ここに添付資料1として記載されている1件の報告が発見されましたが、この内容につきましては、日和見感染の報告でありまして、人に対する病原性を示唆する文献情報はないと判断したということです。

②病原性、毒素生産性試験に関する内容です。

*P. ananatis* No.359株の病原性及び毒素生産性試験を行った結果、本株は *E. coli* K-12株と同程度の安全性を有するとの結論を得たということです。

③腸管定着性試験が行われています。

*E. coli* K-12株を対象といたしまして、腸管定着性試験を行った結果、腸管定着性はないとの結論が得られたということです。

4 ページ、(3) 産業利用の実績ということで、①、②、③につきまして記載されております。

①米国におきましては、本菌株を用いてL-グルタミン酸が製造販売されている実績があるということが記載されております。

②本生産菌株の同種の株を使いまして、ここに記載されております病気の治療薬が製造され、またそれが販売されているということです。

③本菌に非常に近縁な種である菌が、微生物農薬としての産業利用の実績があるという内容が記載されております。

(4) 本生産菌の遺伝子組込みには、mini-Mu というベクターを用いているということです。

(5) 本生産菌株に導入された遺伝子は、すべて *E. coli* K-12 株を由来とする遺伝子ということで、これらの遺伝子はいずれもL-グルタミン酸の生成効率をより高めることを目的として挿入されているということです。

5 ページ、(6) プロモーター、ターミネーター、リンカー、アダプター、クローニングサイト等です。

これらにつきましては、*E. coli* 由来の DNA、バクテリオファージ、リンカー等の合成 DNA の小断片であり、これらの配列はいずれも有害な影響を及ぼす可能性が低いか、または生理活性を有さない配列であると考えられるということです。

また、本生産菌の内在性の遺伝子の一部につきましては、そのプロモーター領域及び SD

配列を改変することによって発現量を調節しているということです。

(7) GLU-No.3 株、上記遺伝子等を導入して、GLU-No.3 株を得たということです。

6 ページには、GLU-No.3 株の構築に関する概略が説明されております。

7 ページには、L-グルタミン酸ナトリウムの製造方法に関して説明されております。

図 2 に L-グルタミン酸ナトリウムの製造工程が記載されております。

発酵により得られました L-グルタミン酸発酵スラリーを●●●が行われます。その後、発酵副生物と生産菌を系外に除去し、●●●、晶析、分離をすることによりまして、高純度の L-グルタミン酸ナトリウム結晶が取得されるということです。

9 ページ以降は、申請品目と現行製品の実質同等性の確認がされております。

まず、(1) 食品添加物公定書規格分析結果が記載されております。

表 1 に結果が記載されており、申請品目の品質につきましては、現行製品と同等と考えるということです。

10 ページ、(2) 不純物プロファイルの比較結果が記載されております。

i) では、アミノ酸自動分析計による比較がされており、その結果が下の表に記載されております。申請品目、現行製品、いずれも不純物は検出されなかったということです。

ii) では、HPLC 法により比較されております。ここでは親水性の不純物を検出することを目的として分析がされており、その結果が 11 ページに記載されています。

申請品目中には、新規不純物は検出されなかったということです。また、検出された不純物量につきましては、現行製品の振れ幅の範囲内であったということです。

iii) では、HPLC-2 法により比較されております。疎水性の不純物を検出することを目的として分析されています。

その結果が 11 ページの下の表に記載されております。12 ページにまいりまして、新規品目中には、新規不純物が検出されておりません。また、検出された不純物量は現行品の振れ幅の範囲内であったということです。

以上の結果から、新規不純物及び増加不純物が検出されないため、申請品目の品質は現行製品と同等であることが確認されたということです。

(3) では、L-グルタミン酸ナトリウムの残存タンパク質が分析されています。

ここでは膜濃縮ブラッドフォード法という方法で測定されており、その結果、申請品目では検出されなかったということです。

以上の結果から、申請品目につきましては「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性

評価の考え方」の要件①、②を満たすと考えられるということです。

説明は以上でございます。

あと、この品目に関しましては、山崎先生と五十君先生にコメントをいただいております。

山崎先生のコメントにつきましては、先ほどのヒスチジンで説明をさせていただいた内容と同じになっています。また、1ページの山崎先生からのコメントの2つ目の段落のところからですが、「アミノ酸2件の評価作業におきまして最も検討すべきと思う事項は、グルタミン酸ナトリウムの生産菌株の宿主菌株自体の安全性がどこまで確認されているかだと考えます」というコメントをいただいております。

続きまして、五十君先生からもコメントをいただいております。2ページに記載させていただいております。特に御指摘の件につきましては、今回使いました宿主菌に関するコメントをいただいております。まず、1点目といたしましては、申請書の3ページの2-1の(1)宿主菌に関する事項です。

用語の修正ということで「腸内細菌群」を「腸内細菌科」に修正することと、また、今回使いました宿主菌につきましては、植物への病原性に関する論文が発表されていることから、この点に関する記述を申請書に記載することの御指摘をいただいております。

2点目といたしましては、同じ3ページの(2)宿主菌の安全性の②でございます。

まず、1点目といたしまして、これも用語の修正ということで「毒素産生性」という表現に修正することの指摘をいただいております。

2点目といたしまして、本申請書に記載されています添付資料2に係る安全性試験に関する御指摘です。いろいろ毒素産生性に関する試験方法がある中で、この方法を選択した理由を回答することという指摘をいただいております。

3点目といたしまして、添付資料2の5ページを開けていただきたいと思います。

中ほどに VET-RPLA 法という試験方法が記載されているのですが、今回用いました陽性対照である O157 をこの方法で分析するのは適切でないと考えられるので、ここに記載されている内容につきまして、内容の間違いがないか確認してくださいという御指摘になっております。

また申請書の3ページに戻っていただきまして、一番下の③腸管定着性試験に関する内容のところです。

ここで試験の詳細が添付資料3に記載されておまして、この試験にはマウスを用いて腸管定着性試験が評価されているわけですが、この実験系を採用した理由を回答すること

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。項目ごとに先生方からの御意見をいただきたいと思えます。

まず、食品添加物としての概要と製造方法の概要まで、1～8ページにわたりまして、コメント、御意見がありましたらお願いします。山崎先生と五十君先生からコメントをいただいておりますけれども、同様なコメントでも構いませんので、よろしくをお願いします。追加のコメントはよろしいでしょうか。どうぞ。

○鎌田専門委員 追加というよりも、4ページのところには、*P. ananatis* ではなくて、*P. agglomerans* が微生物農薬としては登録されているとなっていて、どれぐらい似ているのかわからないし、これをもって安全みたいな表現をするのは、あまり適切ではないと思うので、本当はこれはなくてもいいのではないかと思います。

○澤田座長 これは近縁の度合いの情報がないと、ここに載せるのが適切かどうかはわからないですね。バクテリアの専門の人にお聞きしないと、意味があるかどうかよくわからないです。

○鎌田専門委員 病原微生物がたまたまよく似ていても、病原性を持っているものと持っていないものですごく近い仲間がありますから、単に分類的に近いから安全だという議論ではないという気もします。

○澤田座長 生物農薬ですが、この農薬の用途が書いていませんので、要するに昆虫なのか、ほかのバクテリアに対するものなのか、よくわからない点がありますね。

○鎌田専門委員 ただ、五十君先生が付けられてきた *J. Bacteriol.* の論文を見ると、オニオンでの病原微生物として報告されているということは、普通はこれが生物農薬として使われたらノーですね。だから、別な種なので問題ないと解釈するとしたら、あまり当てにはならないということかなという気もします。

○澤田座長 それでは、これを載せる意味がなければ削除していただくことにしたいと思います。

ほかによろしいでしょうか。どうぞ。

○児玉専門委員 自然界から単離してきた菌を使って、こういう生産を行うときの申請の場合、単離した菌がこの菌であると同定した根拠は、私たちには全然見えてこないのですが、そこは信用するということでもいいのでしょうか。

○澤田座長 大腸菌以外の場合は、よく同定の根拠のデータを出していただくことはあつ

たと思います。この場合に、そこまで要るかどうかですが。

○児玉専門委員 名前がこれだと言っているようなものなので、何らかの同定はしているはずですね。ただ、それが全然見えてこないの、どうしたものかなということです。

先ほど、非常に近いあまりよくない菌という可能性も、本当はないのかというところですね。

○澤田座長 かつて似たような例があったかもしれませんが、そのときは同定の方法のやり方が一応決まっています、それにのっとって栄養要求性などいろいろありますけれども、大体決めていました。最終的には、DNAか何かのホモロジーで見るというデータがあれば出していただいた方がいいのかなということです。

ほかの先生方、この件に関しまして、いかがでしょうか。少なくとも、米国で使用実績があると書かれておりますから、国内では実績がないが、海外では●●●されていて、一応販売の実績はあるらしい。ですから、多分食品添加物としての安全性の点からは、ほとんど問題はないのかなと思います。ただ、菌に関して、一応同定の根拠なりを出していただいた方がよろしいということであれば、出していただきたいと思います。

○児玉専門委員 先ほどの鎌田先生のお話は、我々は調べようがないわけですね。ですから、出していただけるものであれば、出していただいた方が、こういう同定を含むようなものに関してはいいのではないかなというのがコメントです。

○澤田座長 わかりました。ほかによろしいでしょうか。どうぞ。

○鎌田専門委員 これは菌そのものではなくて、先ほどのものもそうですが、これは外来遺伝子として組込んだものがきちんと書かれている。前のものもそうですが、途中で見てみると、やはり●●●でめちゃくちゃ、あちこち抜いています。そちらは何も書いていなくて、途中で組換えの操作を入れながら、●●●で抜いているので、そこは何も書かないで、入れたことだけ書くというのも、何となく不整合なのかなと思っています。高度精製なので、途中がどうあっても関係ないと言え、勿論そうなのかもしれないけれども、安全性上の懸念というよりも、どこまでこの申請書の中に書いていただくのが本当はいいのかということをお気にかけています。

添付資料を見ても、詳しくは書いていないです。●●●をして、欠失を起こさせたという言葉はあるけれども、どうやったのかはどこにも書いていないという状況です。

○澤田座長 一応、●●●をやった順番とか、おおよそのことはわかるわけですね。

○鎌田専門委員 はい。ただ、具体的にどうやったかが書いていないということです。

○澤田座長 初期に詳しく書いてもらった例があったような覚えがあります。それ以降、

類似の方法なので、こういう形で何回か通ってきたものと思われます。

○鎌田専門委員 それだったらそれでいいのかもしれないが、例えば添付資料6の6ページ目に、●●●を使って抜いていくときに、一番下の行のところに、抜いた結果、●●●の配列が残存すると書いてあります。こういうことを欠失の中でも起こしているのかどうかすら、わからないのですが、単純に欠失なのかどうかもよくわからない。

○飯専門委員 正確に覚えていないけれども、多分●●●のは●●●のシステムを使っていて、それで残ったものが、逆に大腸菌に入るときの配列として残っているのではないかと思うのですが、ちょっと間違っているかもしれません。

ただ、詳しく書いていないというのは、最近ずっと気にはなっています。想像はできるのですが、特に今回初めての菌だということもあって、前にも指摘したんですが、せめてポイントになるリファレンスをしっかり付けてもらうだけでも大分違うのではないかと思いますし、こちらは手がかりがないですね。

それから、この菌は特許を取っていれば、どこかに寄託されているはずですし、それがあれば特許の番号とか、それだけでもいろんなサーチができます。一切参考文献が付いてなくて、手がかりがこの添付資料だけというところも、こういう問題が生じる原因かなと思います。方法についても、だれだれの方法によっているというような文献を1つ付けておいてもらうだけで大分違ってくるのではないかと思います。そういう形で作っておいてもらえると、ありがたいですね。

○澤田座長 具体的に、指示としてはどうすればよろしいですか。

○飯専門委員 まず、文献を。

○澤田座長 詳しくわかるような文献が必要であると。それから、●●●の後の周辺の情報もきちんと書いてくれと。それプラス $\alpha$ で何か必要なことはありますか。よろしいでしょうか。ほかにコメントはよろしいですか。

続きまして、9～12ページの同等性の確認に関しまして、御意見がありましたらお願いします。

○鎌田専門委員 これは先ほどと同じで、アミノ酸分析のところが逆に現行製品の中には、●●●と●●●か何かが明らかにピークとして見えていて、現行製品の方で「不純物検出せず」なのでね。

○澤田座長 これをよく読むと、定量限界が0.0029%で、それ以下は定量限界未満で、「検出せず」は0.001%以下と書いているようにも見受けられますけれどもね。だから、ピークがあるけれども、検出せずというよりは「検出限界以下」と書いた方がよろしいのでし

ようかね。

○鎌田専門委員 それはさっきのあれだと思います。2つとも統一して、直していただいた方がいいと思います。

○澤田座長 それでは、先ほどの五十君先生からのコメントにもいただいておりますように、まず言葉を直すところは、これでよろしいかと思えます。植物への病原性に関しては、哺乳類に対する病原性は多分ないと思えますけれども、植物に対する病原性はある旨を追加していただく。

あと、毒素産生性に関しましては、たしか1種類だけでしたか。易熱性のエンテロトキシンしか調べていないということでもありますけれども、これだけで毒素産生性についての結論が出せるか疑問ですというコメントについてですが、一応、マウスの腹腔内投与試験を別途やっているということで、急性的な毒性は示さないことは出ていますので、大きな意味で毒素の産生性が低いということは言えるのかなと思えます。

それから、デンカ生研のキットに関しましては、これが易熱性のエンテロトキシンを測定するキットでありますので、要請対象に O157 を使って、これで本当にいいのかという確認をしてくれということで、これは確認していただきたいと思えます。

大腸菌の O157 に易熱性のエンテロトキシンがあるかどうかというのはよくわからないので、もしキットの名前が間違っているのか、どちらかというのを確認していただきたいと思えます。

腸管定着性試験でありますけれども、これは一応マウスでしかやっておりませんので、勿論、ヒトへ外挿できるという話ではないと思えます。恐らく、山崎先生の懸念のように、あまり使った経験がない菌でありますので、できることはやろうという企業の姿勢で、データがあるので出てきたのではないかと思えます。

一応、先ほど御指摘いただきましたように、バクテリアの種の同定の問題がありますので、念のために同定のデータを出していただくということにしたいと思えます。データが大分出てくる可能性がありますので、データが出て、もう一度見た方がいいと考えます。

この点に関しまして、ほかにコメントはありますでしょうか。

それでは、いただきましたコメントを確認事項、指摘事項としてとりまとめまして、先生方に御確認いただいた後で、厚労省を通じて、申請者に対して指摘を出したいと思えます。よろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○澤田座長 それでは、続きまして、継続品目であります乾燥耐性トウモロコシ

MON87460 系統であります。これは昨年の 11 月に審議を行い、指摘事項を出したもので、その回答が提出されてまいりました。指摘事項に対する回答書について、事務局から御説明をお願いします。

○松尾係長 それでは、乾燥耐性トウモロコシ MON87460 系統に関しまして、指摘事項に対する回答書が提出されておりますので、その内容について御説明させていただきます。お手元の黄色の紙ファイルを御用意いただきまして、1 ページから順を追って説明させていただきます。

1 ページ。指摘事項 1 といたしまして、改変 CSPB は、非特異的に RNA に結合することから、特定の遺伝子の転写または発現が増強されていないかについて回答し、要旨を修正することという指摘でございます。

それに対する回答としましては、乾燥ストレス条件下における MON87460 系統中では、内在性遺伝子の翻訳が非特異的に正常化され、非組換えトウモロコシと比較して翻訳が一時的に変動することが予測されております。

しかしながら、植物における内在性遺伝子の一時的な転写及び翻訳の変動は、最終産物である穀粒の構成成分に生物学的に意味のある変化を生じさせない限り、食品としての安全性に影響を及ぼすことはないと考えておりますということです。

2 ページ、MON87460 系統の構成成分の分析につきましては、OECD のコンセンサス・ドキュメントに基づき行われておりまして、MON87460 系統の構成成分は、種子中の炭水化物以外の成分の約 95% を分析しているということです。これら分析項目に付け加えまして、ストレス応答に関わることが知られている物質及び浸透圧保護物質についても分析が行われており、その結果、MON87460 系統と対象の非組換えトウモロコシとの同等性は確認されているということです。

MON87460 系統におきましては、特定の遺伝子の転写または発現が増強され、構成成分に食品としての安全性に影響を及ぼすような差異は生じていないと結論したということです。

その一方で、転写や翻訳の網羅的解析の結果は、個体間差、環境影響、日長または生育段階により大きく変動するため、現時点では食品の安全性評価には適さないと考えたと申請者は申しております。

遺伝子やタンパク質の多くは、いまだ機能は解明されておらず、そのことが網羅的解析の結果を正確に理解することを難しくしているという報告があります。

また、植物のトランスクリプトームは、生育状況により著しく変化することから、トラ

ンスクリプトームの比較により、遺伝子を導入したことによる影響を特定するのは困難であるという回答になっております。

3 ページ、以上のことから、導入遺伝子が食品の安全性に与える非意図的な影響を評価するには、構成成分の分析が最も包括的で、信頼性の高い方法であると考えたという回答になっております。

4 ページは、指摘事項 2 といたしまして、トウモロコシのアレルゲンとして報告されている LTP の含有量につきまして、乾燥ストレスによって宿主との差が生じていないか確認の上、回答することになっております。

それに関する回答は、5 ページに記載されております。

最初の段落では、LTP に関する説明が記載されております。

次の段落では、MON87460 系統中の LTP の含有量は、相同性検索の結果及び病原菌に対する感受性の観察結果から対照の非組換えトウモロコシと比較して高まっていないと考えているということです。

MON87460 系統の導入遺伝子及び導入遺伝子と近傍配列の境界領域におきまして、トウモロコシの LTP と相同性のある配列は確認されていないということです。また、T-DNA の導入によりまして、LTP を含むトウモロコシ内在性の既知の遺伝子は破壊されておらず、内在性遺伝子は発現を変化させている可能性は低いことが確認されている。

幾つかの LTP におきましては、抗菌及び抗細菌の作用が報告されておりまして、特に *Fusarium* 属及び *Puccinia* 属のうち数種類につきましては、LTP に影響を受けやすいということが報告されています。このことから、MON87460 系統におきまして、LTP の含有量に有意な差異が生じた場合、*Fusarium* 属及び *Puccinia* 属に対する感受性が変化すると考えられます。しかし、ほ場試験におきまして、通常的水分条件下及び乾燥ストレス条件下で栽培された MON87460 系統の対照の非組換えトウモロコシとの間で、*Fusarium* 属及び *Puccinia* 属に対する感受性が変化したことを示唆するような結果は認められなかったということです。

6 ページ、以上のことから、改変 *cspB* 遺伝子の導入によって、通常的水分条件下においても乾燥ストレス条件下においても、LTP の含有量は変化していないと判断しましたという回答になっております。

7 ページは、指摘事項 3 といたしまして、特定の乾燥条件において、構成成分、栄養阻害物質、ストレス応答物質等が宿主と差異がないとしているが、自然界ではさまざまな条件が想定されるので、異なる条件においても成分等の差異がないかについて回答すること

という指摘でございます。

その指摘に対する回答ですが、8ページの中ほどの太字になっている部分以降になります。既に提出させていただいております、チリのほ場における通常水分条件及び乾燥ストレス条件下での構成成分分析に加えまして、今回新たに本品種の栽培を想定している米国の5つの州の6か所のほ場におきまして、栽培しました本品種の構成成分の分析結果が新たに提出されております。

この構成成分の分析に用いました MON87460 系統につきましては、いずれの地域におきましても、慣行の方法で栽培したということでございます。

栽培を行いました6か所のほ場のうち、記載されています2か所のほ場につきましては、灌漑を行っておりますが、他の4か所におきましては、降雨のみで灌漑は行っていないということです。

今回栽培を行った地域の気候に準じたトウモロコシ栽培に必要な水分量は50～60cmとされておりますが、これらの地域におきまして、乾燥ストレスがより深刻な地域の降水量は約30～50cmとされておまして、これらの情報を考慮いたしますと、6か所のうち、イリノイ、カンザス、ネブラスカのほ場につきましては、水分量は十分だったのに対し、アイオワの2か所及びイリノイのほ場につきましては、水分量は低度から中低度の乾燥ストレス条件だったと考えられるということです。

これら条件下において栽培した MON87460 系統の構成成分の分析の結果、主要栄養物、栄養阻害物、二次代謝物の幾つかの項目におきまして、統計学的有意差が認められておりますが、その平均値につきましては、従来のトウモロコシ品種の分析値から計算された許容区間に収まっていたということです。

以上のことから、MON87460 系統の構成成分は、MON87460 系統が栽培されると考えられる地域の環境条件の変動の範囲でも対照の非組換えトウモロコシと同等であると結論されたということです。

以下、10ページから要旨の修正が記載されておまして、13ページ以降にそれぞれの分析結果が記載されております。

22～23ページに、統計学的有意差が認められた項目がまとめて記載されています。

24ページは、指摘事項4といたしまして、低温、高温及び塩ストレスに対する耐性を獲得していないとしているが、感受性を獲得していないかということも回答すること。また、本試験を行うに当たりまして、どの世代を用いた解析なのかについて併せて回答することという指摘になっております。

この指摘に対する回答といたしまして、生育初期における低温、高温及び塩ストレス耐性、温室試験が行われており、その結果、幾つかの項目で統計学的有意差が認められたということです。しかし、異なるストレス条件、またはストレス処理の経過に応じて、有意差に一貫した傾向は認められなかったということです。したがって、生育初期の MON87460 系統は低温、高温、塩ストレス耐性に加え、感受性も獲得していないと結論したということです。

また、ほ場におきまして、高温または塩ストレス耐性試験が行われており、塩ストレス耐性試験では4段階のストレス処理条件を設定し、高温ストレス耐性では、形態特性 18 項目、塩ストレス耐性試験では形態特性 17 項目について調査が行われております。その結果、乾燥ストレス条件下と異なり、MON87460 系統は高温及び塩ストレス条件下におきまして収量の減少を抑制することは認められなかったということです。

また、収量以外の項目において、幾つかの統計学的有意差が認められておりますが、異なるストレス条件下、またはストレス処理の経過に応じて、有意差に一貫した傾向は認められなかったということです。したがって、ほ場における試験におきましても、MON87460 系統は高温及び塩ストレスに対して耐性に加え、感受性も獲得していないと結論したという回答になっております。

以下、25 ページ以降に要旨の修正が記載されております。

26 ページに、表 4 といたしまして、各試験にどの世代を用いたかについて、まとめたものが記載されております。

27 ページに育成図がありまして、ここに今回の試験に用いた世代が記載されています。

28 ページは、指摘事項 5 といたしまして、改変 CSPB の急性毒性試験における用量設定の根拠を回答することという指摘です。

それに対する回答といたしましては、日本人 1 日 1 人当たりの「トウモロコシ・加工品」の摂取量をすべて MON87460 系統に置き換えて計算した場合の改変 CSPB の摂取量は  $0.00037 \mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日となるということです。このことから、今回の改変 CSPB の投与量  $4.7 \text{ mg}/\text{kg}$  は、日本人が一日に MON87460 系統から摂取することが予測される改変 CSPB 量の約  $1.3 \times 10^7$  に当たると推定されたということです。

したがって、本急性毒性試験の投与量である  $4.7 \text{ mg}/\text{kg}$  は安全性を保證する上で十分であると判断したという回答になっております。

29 ページは、指摘事項 6 といたしまして、本品種におきましては、花粉における改変 CSPB の発現量がほかの部位と比較して多くなっており、この多くなっている理由が、改

変 CSPB のどのような作用によるものと考えられるのかについて記載することという指摘になっております。

それに対する回答といたしましては、タンパク質の定常状態はプロモーター活性、転写後制御、翻訳効率及びタンパク質分解または安定性などさまざまな要因によって調節されることが知られておりまして、そのため、MON87460 系統中の改変 CSPB の発現量が組織により異なるのは、発現がさまざまな要因に影響を受けているためであると考えられるということです。

なお、MON87460 系統と同様の事例が除草剤グリホサート耐性及びコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ MON88017 系統でも認められているということです。

MON87460 系統中の改変 *cspB* 遺伝子と同様、イネ・アクチン・プロモーターにより制御されておりまして、MON88017 系統中の改変 CP4 EPSPS タンパク質の発現量は、花粉で約 220  $\mu$  g/g FW であるのに対し、茎葉で 16  $\mu$  g/g FW、穀粒で 5.1  $\mu$  g/g FW であるということです。

30 ページは、指摘事項 7 といたしまして、構成成分分析において、アブシジン酸に有意差が認められていることから、アブシジン酸のヒトに対する影響について回答することという指摘になっております。

それに対する回答といたしまして、アブシジン酸は植物ホルモンの一種でありまして、種子成熟や葉の老化など、植物の様々な機能を制御することが知られているということです。また、乾燥、高温、低温などの環境ストレス条件下におきましても蓄積することが知られており、トウモロコシの葉において、低温ストレス条件下でのアブシジン酸量は約 6 倍に増加するとの報告がされています。しかし、アブシジン酸はすべての植物種に存在し、ヒトはこれまでもアブシジン酸を様々な植物から摂取してきているということです。

また、アブシジン酸は植物成長抑制剤として使用されており、EPA におきましては、アブシジン酸を残留基準適用除外リストに追加しているということです。この評価の際に、アブシジン酸は急性毒性、遺伝毒性、亜急性毒性及び発達毒性の問題はないと結論が出ており、食品中にも遍在しているが、健康障害は報告されていないということです。

31 ページ以降は、修正事項になっております。

この中で 32 ページの修正事項 2. について、説明させていただきます。

修正事項 2 といたしまして、納豆菌も *Bacillus subtilis* であるとしているが、納豆菌に本遺伝子が含まれているかどうかを確認した上で、適切に修正することという修正事項になります。

今回、市販の納豆菌中に改変 CSPB が含まれているか否かを ELISA 法、ウェスタンブロット法及び N 末端配列分析を行いまして、確認をしたということです。

その結果、調査した納豆菌中すべてに CSPB が含まれていることが確認されたということです。この事実に基づきまして、33 ページのように要旨が修正されているということです。

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。ただいま説明いただきました回答につきまして、項目ごとに御意見をいただきたいと思えます。

まず、回答書の指摘事項 1. 改変 CSPB が特定の遺伝子に作用していないかどうか回答すること。いわゆる網羅的解析が必要かどうかという点も含めてのことですけれども、これに関しましては、たしか澁谷先生からコメントをいただいています。

○松尾係長 この指摘事項 1. につきまして、澁谷先生からコメントをいただいております。資料 2 の 1 ページの下の部分に記載させていただいております。

コメントを読ませていただきますと、現時点ではトランスクリプトームの変化と安全性を結びつけて議論するのは困難な面が多いと思えますので、構成成分分析で問題がなければ安全性評価の観点からは問題なしとしてよいかと思えますというコメントをいただいております。

○澤田座長 ほかの先生方から、御意見はいかがでしょうか。これは何人かの先生からコメントをいただいております。鎌田先生、児玉先生、澁谷先生、飯先生。順番に鎌田先生からお願いします。

○鎌田専門委員 この回答自身がこれでいいと言われると、澁谷先生も書いていらっしゃるんですが、納得できない部分もいっぱいあって、かといって何をやったらいいかというの、また難しいところだという気がします。

一番気に入らないのは、回答書の 2 ページの一番下のところに、普通の品種間差と比べても品種間差の方が大きい場合もあって、今までの組換えはというけれども、多分そのうちまた出てくると思いますが、転写のキーのマスター遺伝子をいじくったら、勿論べらぼうに変わると思うので、そういうものも含めて組換えだから、ある範囲の中でしか起こらないという論説自身はおかしい。それは納得できないところであります。

そうすると、成分分析でいいと言われると、成分分析は勿論全部を見ているわけではなくて、一般的な成分しか見ていないので、それをもって安全かどうかという議論もなかなかしにくい。

これが前回のときにもたしかそうだったと思いますが、例えば現在の作物にはないけれども、野生種が毒物を持っているような場合には、必ず試験をなささいということと同じことで、必ずしも一般的な栄養成分で何かが引っかかかっていないとしても、特定の毒性成分等が野生種や近縁種で知られているときには、調べるのは当たり前であると私などは思います。しかし、ここの書き方自身はそうになっていないので、その意味では納得できない。かといって、トウモロコシでそういうものが知られているかということ、そうでもない。だからこれを調べると一般的には言えないところもあるのも事実だと思います。

○澤田座長 児玉先生、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 鎌田先生のおっしゃるとおりですけれども、多分、この組換え体の審議の仕方によっては、この後、続々と出てくるだろうと思われる新品種のモデルになってしまうかもしれないので、ある意味相当よく考えて対応しておかないと、後々困ったことになる可能性もなきにしもあらずという危機感是非常に強く抱いています。かといってどうしたらいいのかと言われると、鎌田先生のおっしゃるとおりで、すぐにこうしろ、ああしろとはなかなか出てこないところが悩ましいところかなという感じです。

○澤田座長 飯先生、いかがでしょうか。

○飯専門委員 ここで書かれている総論的な話としては、受け入れることができないというのが結論で、これをこのまま残したくない。

ここで引用しているものを見てみると、一番新しいものが 2008 年の論文のレビューなのですが、その著者が申請企業の人が書いているもので、要するに自分たちが出している見解をそのまま利用して、ここで主張しているだけにすぎない。だから、客観的なことも考えると、理屈づけとしては、このままでは受け入れたくないなというのがまず 1 つあります。

では、どうするかという話になるのですけれども、その時々でどこまでできるかということにも関わっているのかなという気もします。今だとトランスクリプトームをするか、メタボロームをするかといういろいろできることがありますし、結構大量のデータが出てくる時代になって、それらの解析手段も日進月歩で進んでいるという状況があるので、そういうことを踏まえた上で、このイベントに関してはもうここが限界ですというロジックで持っていてくれないと、何か一般論でばらつきがあるはずだから、こういうのを調べてもだめではないかという書き方では、回答としてはどうかなという気持ちがあります。

ただ、あとは何をしたらいいかというのも、あちらもこちらも似たようなところがあるとは思っているので、現在のテクニックを使った限界ということを主張するなら、それはそれで

しっかりと主張するような書き方であってほしいかなと思います。

先ほど児玉先生が言われたとおり、次ということを考えると、やはり私たちも考えないといけないのかなという気はしています。

○澤田座長 小関先生、何かありますでしょうか。よろしいでしょうか。

○小関専門委員 皆さんのおっしゃるとおりです。

○澤田座長 鎌田先生がおっしゃいましたように、上流にある転写を変えると、全部動いてしまうような場合があるので、そのときはやはりきちんと見ていただかないといけないのかなと思います。

今回の場合は、後で出てきますように、ストレス耐性が乾燥だけに限られているようで、かなり限定的なものであるという点からすると、そこまで要求しなくてもいいのかなという感じはしないではないです。

要は一般論で、これこれだからやらなくていいという理論は、ちょっとこの委員会としては納得できないということになるかと思います。一応、議事録には残るわけですがけれども、コメントとして何か指摘をした方がいいかどうか。例えば一例を出せということをしてますと、トウモロコシの場合、発現解析が今どのぐらい可能なのか、私もわからないのですが、要するにヒトのジーンチップみたいな系が網羅的にどのぐらいできるかということですが、それはいかがでしょうか。

○鎌田専門委員 多分トウモロコシでも、もう既に一般的な網羅的な解析は勿論できるのところまではきているので、出すことは出せるけれども、データを出すとその結果の解釈になってしまいます。結局、振れ幅の問題に必ずなって、振れ幅のデータがおそらくとれていないので、意味がある変化かどうかという結論が出なくなるということが一番困ったことです。

○澤田座長 あと、統計の多重性の問題も多分大きな問題になってきて、補正をしないとイケないと思います。それでかなり厳密にやって、どのぐらい残るのか、残らないのかということを出すと、かなり膨大なデータを出していただかないとイケなくなるのかなと思います。

○鎌田専門委員 多分、現時点で例えばコーデックスもまだこういうトランスクリプトーム解析で何かを認めようというところまではきていないので、その意味では、コーデックスと共通の考え方でいくと、まだ解析法はそこまで発達していないので、あまりそこを要求しても、意味はないかもしれないですね。

○澤田座長 手島先生、何かございますか。

○手島専門委員 トウモロコシの場合ではないのですけれども、今、第三世代の安全性研究ということで、厚生労働科研費の方では、西島班の方でジャガイモを使った環境ストレス耐性のモデルでの実験をしています。その中で幾つか代謝産物の中ではストレスに反応して、変動するような代謝産物というのが見つかっているんですが、そういった部分を参考にして、このストレス反応に関わる部分の辺りの項目を増やすことが可能かということをご指摘することはできるかと思うのですが、この点、小関先生、いかがでしょうか。

○小関専門委員 ここでは一般論として、確かに回答は意味がないと来ていますけれども、実際にオミックスのことをやってみると、確かに葉とか茎ですと発現しているものも多くて、非常に大変ですが、穀粒、いわゆる可食部に限れば、さすがに食べるころなので、発現している遺伝子なども少ないですし、また蓄積しているものも少ないです。ジャガイモの場合ではメタボローム解析をやったところが、いわゆるストレス耐性を与えているものなので、常にストレスがかかった状態になっているとエチレンが発生します。そのエチレンが合成されるときにシアンができてくる。植物にとってもシアンは毒性があるので、毒性のあるシアンをシアノアラニンにして、毒性を自身が回避している。組換え体の方においてのみ、シアノアラニンの含量が高いということがはっきりしました。ですから、一概にメタボローム、トランスクリプトームなり、そういうものが意味はないという言い方というのは、非常に好ましくない。メタボロームをやって初めてわかったこともあるわけです。

これは指摘としては、ジャガイモの場合には間違いなく非常に強くストレスがかかっている状態でシアノアラニン量が増えてしまっている。ですから、シアン化合物ですね。それが乾燥耐性トウモロコシの場合でも、普通は乾燥がかかって、死んでしまうような状態でも生き残るぐらい、ストレスにさらされても生き残ってくるのがこのトウモロコシだと思うので、そうなるとする、シアノアラニンとかシアン化合物の合成量も高まっているのではないかというのは、言ってみればオミックスをやることによって得られた新たな科学的知見です。

そういう意味では、時代的にだんだんやっていけば、今後いろんなことが新たになってくるというのが事実だと思います。これは後のところでも出ていますが、アブシジン酸の量が変わっています。それは何かというと、彼らはアブシジン酸もストレスにかかるとちゃんと書いているわけですから、エチレンもストレスがかかっているわけですから、関わるホルモンなわけですね。そのホルモンを合成するときマイプロダクトとしてシアン化合物ができるということが、新たな知見としてはっきりしたので、これは追加の指摘にな

りますけれども、ここではっきり調べておいていただかないといけないという状況はあるように思います。

○澤田座長 ただいまのお話は、追加資料を用意していただいたところですか。

○小関専門委員 ですから、2点あるわけです。

1点目は、ここに書かれてある内容では、皆さんは納得しないわけです。納得しないというのは、一般論でやられても、科学の進歩は日進月歩であるから、ここでやった時点ではオミックスでやってもだめだという書き方にしてほしいし、ただ、今後のオミックスの進展によって、新たな科学的知見が出てくる可能性があるということは認識して、それをきちんと書き込んでおいていただかないと困るだろうと。

2点目は、追加として、新たな科学的知見の1つとして今年出た報告書の中に、ストレス耐性の植物にそういうシアン化合物が増えるという事例が出ているので、それをきちんと調べていただきたい。この2点です。

○澤田座長 それでは、回答書の書き方の論理を変えていただくということが1点。それから、念のためのシアン化合物のデータを出していただきたいというのが2点目。

この点に関しまして、ほかの先生方がいかがでしょうか。鎌田先生、どうぞ。

○鎌田専門委員 今の小関先生の指摘はそれでいいと思うのだけれども、多分、シアノアラニン定量したときに、また振れ幅という問題が必ず出てきて、何をもって安全とかという議論になっていくので、データを出してもらうことは意味があると思います。

○澤田座長 一応、シアン化合物の毒性的な安全性のデータが多分あると思いますので、それで安全であるということを書いていただくと。

○鎌田専門委員 書いていただかないと、多分データが出たからいいというものでは、勿論ないだろうと思います。

○小関専門委員 まさしくそのとおりで、要するに、別にトウモロコシだけではなくて、ほかのものからも摂取しているはずなのです。要するにその幅の中でこれを食べたとしても、一日最大摂取量がどのぐらいだと、健康に影響を与えないのかということですね。そういうことを押さえてほしいというのが、正確に言えば、そういうことです。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。

鎌田専門委員、どうぞ。

○鎌田専門委員○○○ 多分この議論はこれからのことにずっと影響していくことだと思います。なので、我々の1つのコンセンサスとしてとられるかなと思うのは、今のよう新しい知見が出てきた中でのことをきちんと各種解析していただくというコンセンサスが

ないと、例えばこういうものが出たのだから、逆に現時点で何が出るかわからないけれども、多分メタボローム解析が必要ですよという言い方になると、それは逆になってしまう。

まだメタボローム解析の技術がそこまでいっているとはとても思えないので、今回の議論はあくまでもメタボロームというものはあるけれども、それをやれと言っているわけではなく、あくまで新知見が出て、ストレスがかかったときにこういうシアン化合物ができるということがわかってきたので、今回は審査途中ではあったけれども、そのことを新たにデータとして要求すると。その安全性について議論をしてくださいという、多分そういうコンセンサスでいかないと、これからもこういうことは、逆にメタボロームをやっていくと、また新しいものが出るかもしれないし、その時点でまたそれを要求していかないと、話は収まらないのかなと思います。

○澤田座長 今、鎌田先生がまとめていただきましたようなコンセンサスでよろしいでしょうか。

ほかの先生方からはいかがでしょうか。橋田先生、どうぞ。

○橋田専門委員 確認させていただきたいのですが、新しい知見が出てきたときに、またそれについてデータをいただくとか、それは非常に納得できることだと考えます。しかし、例えば新たな手法ができたときに、さかのぼって、既に承認されているものについても、そういうものを行うということを要求することも含めてのコンセンサスなのか、あるいはもう承認されてしまっていて、既にある程度の使用実績があったら安全ということで、そこは問わないのか。その辺も含めて御確認いただければと思います。お願いします。

○澤田座長 ある程度、使用実績があれば、さかのぼっては必要ないかなと思います。ただ、直近の場合は、懸念が本当にある場合は、一応調べていただいた方がいいケースもあり得るかなと思います。よろしいでしょうか。

それでは、次の指摘事項に移らせていただきます。指摘事項2. で、今度はアレルゲンのLTPの含有量の問題です。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 結論から申し上げますと、質問していることに対しては、実際に測定していただいていないということですので、回答していただいていないと答えざるを得ないかと思います。恐らく、変動しないでしょうという答えですが、ダイレクトな答えではないと思います。

○澤田座長 LTPの定量は、技術的に難しいのでしょうか。

○手島専門委員 実際、キットがあるということではないですけれども、抗体とかがありましたらば、それでの測定はそれほど難しくないとはいえます。

○澤田座長 この LTP 自身には、タンパクとしては簡単にとれるのですか。

○手島専門委員 量的にはそんなに少なくないので、10～20%ぐらいはあると思います。

○澤田座長 あと、理論的に遺伝子が挿入された場所の近辺にないという理論は、成立するかどうか。

○手島専門委員 その辺りは、私もちょっと。

○澤田座長 あと、LTP のプロモーター領域のこの転写因子は関係しないという理屈もあり得るかと思います。

○手島専門委員 それは推論にすぎないのではないかと思います。

○鎌田専門委員 これを言い出すと、また先ほどのことに関わってきて、結局非常に大きく転写を変えたときに、入った位置の問題ではなく、増減するという前提の下でこの議論をしているので、入った位置のことをここで言われても、多分意味がないことで、やはり全体として、大きく転写を変えるという前提の中で、特にこういうアレルゲンとして既知のものがあるのならば、それについては調べていただくという逆のコンセンサスを今度はとっておかないと、これをダイズでやったらダイズだともっとたくさんありますから、それを入った位置と関係ないんだから、調べなくてもいいということには、逆にならなくなってしまわないだろうか。こういう転写を大きく変えるような操作をしたときには、先ほどの話ではないけれども、既知の毒物、既知のアレルゲン等については、基本的には調べていただくということをおある程度ここで決めておけば、こういう変な議論にはならなくなると思います。

○澤田座長 その場合、タンパクとして定量できる場合と、ウエスタンでしか見られない場合などいろいろありますね。だから、技術的には大体。

○手島専門委員 技術的に可能な範囲の中でよろしいかと思います。

○澤田座長 特にどこまでやれということではないけれども、量的に異常に変化していないことは確かめてくれるということですね。

それでは、指摘事項 3. で、さまざまなストレス条件で、構成成分や栄養阻害物質等に差異がないか回答してくださいということですが、これは飯先生ですね。

○飯専門委員 結構たくさん分量のある回答なのですけれども、ここで答えというか、疑念としてあったのは、前に提出されていた解析の条件というのは限られていて、その結果に基づいて、実際に外での栽培をしたときに起こる、解析していなかった諸条件に外挿しても、結論として問題ないことが導かれるような回答がほしかったというのがあります。

実際は、アメリカでの栽培結果で成分分析をしたということが出ているのですけれども、

もともと持っていたデータが追加されて出てきたということのようです。これを見ていてよくわからなかったところがありまして、このトウモロコシというのは収量の減少を抑える性質であるというものなのですが、ここでの栽培のときに、それぞれの栽培で収量はどのような結果になっているのかという点が見ていてよくわからなかったのもので、それも回答の中に加えていただきたいというのが1つあります。

例えば9ページの上の段落のところには、6か所のうち3か所は中低度のストレスで、残りの3か所は水の量としては充分であったという書き方がしてあるのですが、では、それぞれのところで収量はどのくらいだったのか。成分分析の結果が同等であったという結論だけはよいとしても、収量がどうであったのかによって、その読み方というのが変わってくるということもあるので、それを書き加えた上で回答してほしいというのが1つです。

あと、もう一つ関連していることで、次の指摘事項とも多少関連しているところで、比較の対象で何をとっているかというのが、結果を解釈するときに結構気になるところです。特に今までとちょっとタイプが違うものですから。改訂の要旨の26ページに当たりますけれども、上から1、2行目ぐらいのところ、対照のトウモロコシはNull型のトウモロコシと書いてあって、これは途中で分離してきたものだ。それはそれで、そこまでだけなら結構ですが、実際に解析しているものをみると、それに対して別の品種を掛け合わせたF1になっているものがほとんどの解析対象になっているんです。対照もNullと掛け合わせたF1なのかがわかりません。

それから、今回、新たに加わったデータで使っている対照というのが、その名前が前と違っていたりするので、添付資料の方の説明を見ると、見落としているのかもしれないけれども、ぱっと目に付いたところは「similar」という形でしか説明していない。その辺でどういうものが対照として用いられたのか。対照として用いたものが、結果、最終的には同等であると結論づけているのですが、結論に至るものとして妥当なのであるということの説明を付けて書き込んでほしい。そういう意味で追加記載をしてほしいと思います。

○澤田座長 1つは収量の問題と、もう一つは、選択された対照の妥当性をきちんと書いてほしいということですね。

続きまして、指摘事項4.で、ほかのストレス耐性、感受性は獲得していないかどうかということで、これも飯先生ですね。

○飯専門委員 これについては、今の対照の問題を除いては受け入れます。

○澤田座長 これも対照の問題ということですね。

それでは、指摘事項5.で、これは急性毒性試験の用量の問題であります。和久井先生、

中島先生、鎌田先生からコメントをいただきましたけれども、まず、和久井先生、いかがでしょうか。

○和久井専門委員 この指摘に対する回答ですが、別紙資料 17 に実際のデータが載っているのですが、そこでは 4.7 mg/kg を用いたとしております。その根拠も資料 17 に書いてあります。しかし、今回回答していただいた根拠と違う根拠が書いてあります。

具体的に申し上げますと、回答書の 29 ページの上から 4 行目に、CSPB 量を日本人摂取量の  $1.3 \times 10^7$  に推定したということ根拠とあげていますが、先ほど申し上げた資料 17 では、ヒューマンのエクスポージャーに対して 3～4 のオーダーのマグニチュードであることを算定根拠として、4.7 mg/kg という用量を設定したと記載してあります。ですので、ここに矛盾が生じています。この辺をもう少しきれいに説明をしていただきたいと思います。

○澤田座長 別添資料 17 の説明と、日本人に関する説明で整合性がとれていないので、説明をいただくと。必要に応じて、適切に追加なり、訂正していただくということにしたいと思います。よろしいでしょうか。

ほかの先生方、指摘事項 5. でしたか。中島先生、鎌田先生、ほかに何かございますか。

○鎌田専門委員 追加することではないですが、少なくとも今回の論旨は全く意味をなしていないくて、何かこの数字でやった。この数字はヒトが摂取量の  $1.3 \times 10^7$  に当たると。では、設定量が 100 倍だったら同じ書き方をするのですねということになってしまうので、質問に対する回答にはなっていないと思います。

○澤田座長 中島先生、よろしいでしょうか。

○中島専門委員 こういう指摘をした本意は、もともとの納豆菌で発現しているタンパク質の量を調べてもらって、それで今まで日本人が普通に摂取してきた量と、ここに含まれている量を比較していただいて、それで今まで日本人が十分に摂取してきた量であるならばよいであろうと。そういう意図でありますので、そのための納豆菌のデータというのは調べていただいているので、問題は書き方ですけども、今まで納豆菌なり、何なりで日本人がこれ以上の量を十分に摂取しているのだという論旨で書いていただければ、私は納得がいくと思いますが、少なくとも 10 の 7 乗倍、10 万倍調べたからいいのだと言われると私は考えます。

○澤田座長 中島先生の追加で、後で出てきました納豆菌の話も考慮して、もうちょっと書き直していただいた方がいいということですのでよろしいでしょうか。

○中島専門委員 はい。

○澤田座長 それでは、指摘事項6. で、花粉で発現量が多くなっている理由に関する指摘事項です。これは飯先生ですね。

○飯専門委員 これで許すかなというところですよ。花粉はたくさん食べることはないだろうということですね。

○澤田座長 これはもうよろしいということですね。

次に、指摘事項7. で、アブシジン酸のヒトに対する影響についてということで、石見先生、いかがでしょうか。

○石見専門委員 一応、1つ、EPAの2010年というのを引いて、健康障害は報告されていないとしておりますということですが、ここの論文を私は見ていないのでわからないのですが、もう少し原著論文等を当たっていただきたいなということがあります。

あとは量的なことが書いていないので、アブシジン酸をさまざまな植物から摂取しておりますということは書いてあるのですが、量的なことが、どのぐらい摂取していて、この組換えのトウモロコシを摂取したときにどのぐらい増えるのかということがもしわかれば、もう少し詳しく知りたいというところがあります。

先ほどシアン化合物のことがありましたので、やはりストレスがかかったときに、こういうアブシジン酸が増えたり、またそういう他の化合物も上がってくるということなので、やはりシアン化合物についても調べていただきたいと思っております。

○澤田座長 アブシジン酸に関しましては、要はEPAを引用しているだけで、具体的に定量的なリスク評価の内容がきちんと書かれていないということで、もうちょっと説明を追加していただくということよろしいでしょうか。要するに、毒性的な実際のデータ、元のデータを引用してということですね。

○石見専門委員 そうです。

○澤田座長 鎌田専門委員、どうぞ。

○鎌田専門委員 元データがあるかどうかわからないのですが、生長抑制剤なので、普通は農薬のときにいろんな試験をするのと同じように、多分試験成績として出ている。多分こういうものは論文ではないと思います。普通、あまり論文としては書かないと思うので、EPAに出しているのも、多分そういう意味でのデータが出ているのだろうと思います。

○澤田座長 では、EPAが引用している論文を再度調査していただいてということですね。

○石見専門委員 そうです。

○澤田座長 かなりたくさん御指摘をいただきまして、ほかにそれ以外の細かい修正事項

等もありましたけれども、コメントはありますでしょうか。児玉先生、どうぞ。

○児玉専門委員 回答書の 27 ページに育成図がありますけれども、最初に●●●とありまして、●●●と交配をかけて、●●●となっているんですが、こういう書き方というのはちょっと違うような気がします。これは間違っていないですか。

○澤田座長 これは鎌田先生か小関先生、いかがでしょうか。

○鎌田専門委員 これは間違っているというよりも、単に記号の付け方の問題だけなので、あくまでも●●●で、組換え体当代に対して●●●を非組換えを交配したときの第 1 世代を●●●と記載すると決めたというだけのことなのでね。

○児玉専門委員 自分たちで決めたということですね。

○鎌田専門委員 そういうことだけでいいと思います。

○澤田座長 ほかに御意見、コメントはよろしいでしょうか。よろしいですか。

それでは、ただいま先生方からいただきました御意見、確認事項等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を出したいと思います。

それでは、次の議題に移りたいと思います。

次は新規で、チョウ目害虫抵抗性 MON87701 系統についてであります。事務局から御説明をお願いしたいと思います。

○北村課長補佐 それでは、チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87701 系統について御説明いたします。

本品種は、改変 *cry1Ac* 遺伝子を導入することによって発現されます改変 *Cry1Ac* タンパク質によりまして、チョウ目害虫に抵抗性を持つダイズでございます。また、選抜マーカーとしまして、改変 *cp4 epsps* 遺伝子を導入しておりますけれども、本遺伝子を持たない個体を選抜しております、改変 *cp4 epsps* 遺伝子は本品種には含まれていないということでございます。

グレーのファイルを御用意いただきたいのですが、まず、2 ページを御覧ください。

第 1 安全性評価において比較対象として用いる宿主の性質及び組換え体との相違に関する事項でございます。

「1 宿主及び導入 DNA に関する事項」でございます。

(1) 宿主は、ダイズの商業品種 A5547 でございます。

(2) DNA 供与体の種名は、導入された改変 *cry1Ac* 遺伝子は *B.\_thuringiensis*

*ssp.kurstaki*由来でございます。また、選抜マーカーとして使用されました改変 *cp4 epsps* 遺伝子は *Agrobacterium sp.\_CP4* 株由来でございます。

3 ページ「(3) 導入 DNA の性質及び導入方法」でございます。

本系統中に導入されました改変 *cry1Ac* 遺伝子はチョウ目害虫抵抗性を付与します改変 *Cry1Ac* タンパク質を発現いたします。改変 *cp4 epsps* 遺伝子は選抜マーカーとして使用されております。導入用プラスミドをアグロバクテリウム法によりまして宿主へ導入しております。

「2 宿主の食経験に関する事項」は、記載のとおりとなっております。

4 ページ「3 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項」でございます。

5～6 ページの表 1 のとおり、主要栄養素等の種類及びその量の概要が記載されております。

7 ページ「(2) 宿主に含まれる毒性物質・栄養阻害物質等の種類及びその量の概要」は、記載のとおりとなっております。

「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」でございます。

収穫時期、貯蔵方法、摂取部位、摂取量、調理及び加工方法に関しまして、宿主との相違はございません。

8 ページ、5 ですけれども、宿主以外のものは比較対象としておりません。

「6 安全性評価において検討が必要とされる相違点に関する事項」でございます。

改変 *Cry1Ac* タンパク質の発現によりチョウ目害虫に対する抵抗性が付与されている。これ以外に相違はございません。

9 ページ、以上によりまして、比較対象となり得る既存の宿主等があるということで判断されております。

10 ページ「第 2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」でございます。

本品種はチョウ目害虫の被害を低減するとともに、チョウ目害虫防除に使用されている殺虫剤の削減を図る目的で作出されております。

11 ページ「第 3 宿主に関する事項」でございます。

宿主のダイズは、マメ科 *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属します。

「2 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項」

「3 有害生理活性物質の生産に関する事項」

「4 アレルギー誘発性に関する事項」

「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」

「6 安全な摂取に関する事項」

「7 近縁の植物種に関する事項」につきましては、記載のとおりになっておりまして、従来のサイズと同様でございます。

14 ページ「第4 ベクターに関する事項」でございます。

ベクターEは導入用プラスミドの中間プラスミドでございます。

塩基数、塩基配列、制限酵素による切断地図は明らかにされています。

(3) 既知の有害なタンパク質を産生する塩基配列は含まれていません。

(4) ベクターEの構築に用いられました中間プラスミドには、*amp* 遺伝子、*aadA* 遺伝子が選択マーカーとして使用されています。

(5) 伝達性に関しましては、伝達を可能とする配列を含まないため、伝達性はございません。

16 ページは、ベクターEのプラスミドマップとなっております。

17 ページ、表2にベクターEの構成要素の由来及び機能が記載されています。

18 ページは続きとなっております。

19 ページ「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」でございます。

改変 *cry1Ac* 遺伝子の供与体である *B.\_thuringiensis ssp.\_kurstaki* は、殺虫活性を示す微生物由来製剤の製造用に商業的に利用されてきています。

また、改変 *cp4 epsps* 遺伝子の供与体である *Agrobacterium sp.\_CP4* 株は、人や家畜に対する病原性等を示す報告はございません。

「2 挿入 DNA 又は遺伝子及びその遺伝子産物の性質に関する事項」でございます。

(1) 挿入遺伝子のクローニングもしくは合成方法に関する事項でございます。

改変 *Cry1Ac* タンパク質は、既に食品としての安全性確認がなされておりますワタで発現する *Cry1Ac* タンパク質と 100% の相同性を持ちますけれども、N 末端側に *CTP1* タンパク質由来の 4 アミノ酸が結合しています。

また、改変 *cry1Ac* 遺伝子は *cry1Ab* 遺伝子の最初の 1,398 塩基と *cry1Ac* 遺伝子の塩基を結合されることにより構築されています。改変 *Cry1Ac* タンパク質は野生型の *Cry1Ac* タンパク質と比較しまして 7 つのアミノ酸が改変されています。

20 ページ、選抜マーカーとして使用されました改変 CP4 EPSPS タンパク質のアミノ酸

配列につきましては、既に食品としての安全性確認がなされておりますサイズで発現する  
改変 CP4 EPSPS タンパク質と同様でございます。

改変 *cp4 epsps* 遺伝子は植物中での発現を最適化するために塩基配列に改変を加えたも  
ので、N末端配列から2番目のセリンがロイシンに改変されています。

また、遺伝的分離によりまして、改変 *cp4 epsps* 遺伝子を持たない個体を選抜しており  
まして、このことはサザンブロット法により確認されています。

(2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図は明らかにされています。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項でございます。

まず、改変 *cry1Ac* 遺伝子の機能でございます。改変 **Cry1Ac** タンパク質の発現によりま  
して、特定のチョウ目昆虫に対する抵抗性を有してございます。また、**Bt** タンパク質は標  
的とするチョウ目昆虫の中腸上皮上の特異的受容体に結合することによりまして、中腸上  
皮細胞膜に陽イオン選択性小孔を形成し、その結果として昆虫の消化プロセスを阻害して、  
殺虫活性を示すことが報告されています。

23 ページの表 3 に、目別に見た **Cry1Ac** タンパク質の殺虫活性が要約されています。

22 ページ、2 段落目にまいりまして、既知の毒性タンパク質との相同性につきましては、  
既知の毒性タンパク質からなります毒素データベースを用いまして、相同性の検索を行っ  
た結果、改変 **Cry1Ac** タンパク質は既知の毒性及びその他のヒトに有害なタンパク質との  
間に構造的に類似性のある配列は共有しなかったということでございます。

改変 *cp4 epsps* 遺伝子の機能ですけれども、除草剤グリホサート存在下におきましても、  
**CP4 EPSPS** タンパク質が除草剤グリホサートと結合しないことから、芳香族アミノ酸を  
生産し続けることができると報告されています。

24 ページの表 4 は、種々のチョウ目昆虫の **Cry1Ac** タンパク質に対します感受性が示さ  
れています。

25 ページの図 2 は、本系統中に存在します **CTP1** 及び改変 **Cry1Ac** タンパク質の推定ア  
ミノ酸配列でございます。

26 ページの図 3 は、改変 **CP4 EPSPS** タンパク質の推定アミノ酸の配列でございます。

27 ページ「(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項」でございます。

導入用プラスミドの **T-DNA** 領域の外側に *aadA* 遺伝子が導入されています。先ほども  
申しましたが、*aadA* 遺伝子は本品種には導入されていません。

「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」は、記載のとおりでございます。

「(2) ターミネーターに関する事項」につきましても、記載のとおりでございます。

「(3) その他の挿入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列に関する事項」でございます。

改変 *cry1Ac* 遺伝子発現カセット及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット中にリーダー配列がございます。

また、CTP1 標的配列、CTP2 標的配列がございます。

「4 ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項」でございます。

導入用プラスミドは中間プラスミドであるベクターA~F から構成されます合成ベクターでございます。改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び改変 *cry1Ac* 遺伝子を含むベクターから導入用プラスミドが構築されてございます。

「5 構築された発現ベクターに関する事項」でございます。

(1) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図につきましては、明らかとなっております。

「(2) 目的外のオープンリーディングフレームの有無」でございます。

T-DNAI 領域に既知のアレルゲン及び毒性タンパク質と相同性を持つ目的外のオープンリーディングフレームは存在しないことが確認されています。

「(3) 発現ベクター上での意図する領域」でございます。

T-DNAI 及び T-DNAII の右側境界領域から時計まわりに左側境界領域まででございます。

「(4) 純化」につきましては、抗生物質耐性マーカーによります選抜や塩基配列解析によりまして、目的外の遺伝子の混入はないことを確認しています。

「6 DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項」でございます。

アグロバクテリウム法を用いまして導入用プラスミドが導入されています。また、グリホサートを含みまず選択培地に入れまして形質転換されていない細胞が除去されて、再分化されています。

その再分化個体を自殖させることによりまして、R1 世代を作製しまして、T-DNAII を持たずに1コピーの T-DNAI を有する個体を選抜したということです。

その概要、選抜方法につきましては、35 ページに記載がございます。

30 ページ、その育成図につきましては、36 ページに記載がございます。

今回、食品としての安全性評価を依頼するのは、36 ページの育成図を見ていただきたいのですが、R5 世代以降ということでございます。

32~34 ページには、導入プラスミド中の各構成要素の由来及び機能の記載があります。

37 ページ「第 6 組換え体に関する事項」でございます。表 6 に各系統の解析に使用した世代の一覧がございます。

38 ページ「1 遺伝子導入に関する事項」でございます。

「(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項」でございます。導入されました遺伝子の挿入箇所数、コピー数、導入遺伝子発現カセットの完全性及び外側骨格領域の有無を確認するために、サザンブロット分析が行われています。また、実際の構造を決定するということから、塩基配列解析も行われています。

その結果、R5 世代のゲノム中には 1 コピーの改変 *cry1Ac* 遺伝子発現カセットが導入されていることが確認されています。また、導入プラスミド由来の外側骨格領域及び T-DNAII 領域を含む新たな遺伝子は検出されていません。更に塩基配列解析を行いました結果、導入遺伝子と導入用プラスミド由来の T-DNA の塩基配列が同一であることが確認されています。遺伝子発現カセット内の遺伝子の構成は、導入用プラスミドと同一であることも確認されています。

導入遺伝子の導入部位の解析から、導入箇所に 32bp の欠損及び 14bp の挿入が認められることが明らかになっています。しかしながら、近傍配列の BLASTn 及び BLASTx 解析の結果から、既知の内在性の遺伝子が破壊された可能性は低いと結論されてございます。

39 ページにプラスミドマップと挿入遺伝子の分析に用いたプローブの説明がございます。

40 ページが先ほど説明をいたしました遺伝子解析の要約になっています。

41 ページは、遺伝子地図及び近傍配列の模式図及び制限酵素切断模式図でございます。下の方に、制限酵素の切断部位、生成される断片のサイズを示しています。

42 ページからが、先ほど説明した部分の詳細な説明になっています。コピー数及び非意図的な遺伝子断片の有無の確認ということでございまして、44 ページにサザンブロット分析の結果が添付されてございます。

46 ページも同様でございます。

47～48 ページも同様でございます。

49 ページ「2) 外側骨格領域の分析」になっておりまして、50、51 ページにサザンブロットの結果がございます。

52 ページ「3) T-DNAII の分析」になっておりまして、53 ページに、同様にサザンブロットの結果が添付されています。

54 ページ「4) 導入遺伝子及びその近傍領域の構成及び塩基配列の確認」で、PCR 分

析及び塩基配列解析で確認されています。

55 ページに PCR 分析の結果が添付されています。

56 ページ「5) MON87701 系統中の導入遺伝子の近傍配列が非組換えダイズゲノム由来であることの証明」でございます。2 段落目に先ほど御説明いたしましたように、32bp の欠損及び 14bp の挿入があるということが記載されています。

57 ページが PCR の図になっています。

58 ページ「6) 内在性オープンリーディングフレーム (ORF) に関する影響」でございます。5' 末端近傍配列の 1,440bp 及び 3' 近傍配列の 1,496bp に対しまして、BLASTn 及び BLASTx 解析を行っています。

3 段落目にまいりまして、BLASTn 検索の結果、E-score が  $1 \times 10^{-6}$  以下のダイズ由来の配列が 1 つ確認されています。相同性は 95% 以下ということと、複数の停止コドンが含まれているということは確認されてございまして、導入遺伝子挿入部位に既知の内在性 ORF が含まれていることを反映しているとは考えにくいということが記載されています。また、BLASTx 検索の結果、E-score が  $1 \times 10^{-8}$  以下の配列は認められなかったということでございます。

59 ページに BLASTn 検索の結果を示した模式図が添付されています。

60 ページの上の方は、遺伝子導入に関する事項、コピー数及び近傍配列に関する事項の結論となっています。

60 ページの真ん中辺「(2) オープンリーディングフレーム (ORF) の有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項」となっています。導入遺伝子と近傍配列の両境界領域におきまして ORF を検索しています。8 アミノ酸以上の ORF が 5' 末端側境界配列に 5 個、3' 末端境界配列から 5 個、合計 10 個確認されています。

データベースにより既知のアレルゲン、毒素及び有害な生理活性のあるタンパク質とのアミノ酸相同性検索及び 8 つの連続するアミノ酸の相同性検索を行っています。その結果、相同性を示す配列は検出されなかったということです。

61 ページの 3 段落目にまいりまして、5' 末端に起きました 14bp の挿入配列につきまして、この境界領域におけます新規 ORF 形成の可能性について確認を行っています。その結果、8 アミノ酸以上の ORF が 2 個確認されています。データベースによる相同性検索の結果、相同性を示す配列は検出されなかったということが記載されています。

62 ページ。T-DNAI におきまして、目的以外の新規タンパク質が産生する可能性を想定しまして、同様にデータベースによる相同性の検索を行いました。その結果、相同性を示

すものは検出されなかったということが記載されています。

62 ページ「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」でございませう。R<sub>8</sub> 世代における改変 Cry1Ac タンパク質の発現量が ELISA 法により測定されています。米国の 5 か所の試験ほ場から採取された葉、種子、根、地上部及び花粉/葯を供しています。

その結果が 63 ページの表 8 に示されています。葉におけます改変 Cry1Ac タンパク質発現量が最も多く、平均で 220~340 μg/gDW というところでございませう。

64 ページ「3 遺伝子産物が一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項」でございませう。日本人 1 人が 1 日に摂取する「ダイズ・加工品」及び「味噌・醤油」をすべて本系統で摂取したと仮定しまして計算をしましてところ、改変 Cry1Ac タンパク質の摂取量は日本人 1 日 1 人当たりのタンパク質摂取量の 0.0005% というところでございまして、改変 Cry1Ac タンパク質が 1 日のタンパク質摂取量の有意な量を占めるとは考えにくいということとございませう。

65 ページ「4 遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する事項」となっています。供与体である *B.\_thuringiensis* 及び遺伝子産物につきましては、アレルギー誘発性を持つという知見は、これまでのところは報告されていないということとございませう。

「(3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する事項」でございませう。本試験におきましては、*E.\_coli* で大量発現させましたタンパク質を用いまして、消化試験を行っています。本品種で発現します改変 Cry1Ac タンパク質との同等性に関しましては、確認がされています。

「①人工胃液による酸処理及び酵素（ペプシン）処理」でございませう。SDS-PAGE 法の結果から、30 秒以内に検出限界以下となったということが記載されています。

68 ページに図が示されています。試験開始 0.5~20 分後におきまして、約 4 kDa のタンパク質断片が見られましたけれども、試験開始 30 分及び 60 分後では、更に小さい約 3.5kDa 断片に分解されたということとございませう。

また、ウエスタンブロット法の試験結果から、人工胃液中で 30 秒以内に完全長の改変 Cry1Ac タンパク質が検出限界以下に消化されたということが明らかになっています。69 ページの図に結果が示されています。

SDS-PAGE 法において観察されました約 4 kDa の断片ですけれども、N 末端シーケンシングにより調査しました結果、改変 Cry1Ac タンパク質の配列と一致する 2 つの配列が同定されたということから、改変 Cry1Ac タンパク質に由来するということを示していま

すということが記載されています。

66 ページの 4 段落目にまいりまして、人工胃液中で生成されました一時的に安定な断片について、さらなる評価を行うため、改変 Cry1Ac タンパク質を人工胃液中で 2 分間消化しました後に、人工腸液中で消化を行った試験を行っております。

その結果、人工胃液中では消化 2 分時点で完全長の改変 Cry1Ac タンパク質は検出されませんでしたけれども、約 4 kDa の断片が検出されています。人工腸液処理後 0.5 分の時点で約 4 kDa の断片は検出されなかったという結果になっております。これは 71 ページの図 21 に示されております。

67 ページ。人工腸液処理後 0.5 分及び 2 分の時点におきまして、約 14kDa 及び 4 kDa の断片が検出されております。71 ページの図 21 になります。これらの断片はペプシンもしくはパンクレアチンに含まれる消化酵素の自己分解物である可能性が考えられたという記載がございます。

68～71 ページがその結果になっています。

72 ページ「②人工腸液によるアルカリ処理及び酵素（パンクレアチン）処理」でございます。ウエスタンブロット分析の結果、完全長の改変 Cry1Ac タンパク質は人工腸液中で試験開始から 5 分以内に検出限界以下となっています。73 ページの図 22 でございます。コアタンパク質約 55kDa に変換されまして、人工腸液による処理時間を通じて安定だったということでございます。

74 ページ「③加熱処理」でございます。加熱処理感受性を評価するため、ウエスタンブロット法により試験が行われています。条件は 190℃、15 分間という加熱処理条件でございます。その結果、加熱処理後の抽出物中に存在する改変 Cry1Ac タンパク質は検出限界以下、すなわち 0.2 ppm 以下であったということが記載されています。

75 ページがその結果になっています。

77 ページ「(4) 遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性に関する事項」でございます。改変 Cry1Ac タンパク質と既知のアレルゲンとのアミノ酸配列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解析を行っております。80 以上のアミノ酸に關しまして、35%以上の相同性を有する配列がなかったということ。また、8 つの連続するアミノ酸相同性を持つ配列は検出されなかったということでございます。

78 ページ「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。複数世代における遺伝子の安定性を確認するために、5 世代から得られましたゲノム DNA を用いまして、サザンブロット分析を行っております。

79 ページの図 25 に示されてございますけれども、いずれの世代も予想されたサイズのバンドが検出されたということから、複数世代にわたりまして、安定して遺伝されていると考えられたということでございます。

「2) MON87701 系統中における改変 Cry1Ac タンパク質の発現の複数世代にわたる安定性」でございます。タンパク質の発現の安定性を確認するために5世代から採取されました葉のサンプルにつきまして、ウエスタンブロット分析を行っています。

80 ページの図 26 に結果が示されています。改変 Cry1Ac タンパク質は、葉のサンプルすべての5世代中に存在していたということでございます。

81 ページ「3) MON87701 系統中への遺伝子挿入の遺伝的形質」でございます。挿入遺伝子の分離様式及び安定性を確認するために、複数世代における挿入遺伝子の後代分離について、実測値と期待値との比較を行っております。結果につきましては、82 ページの表 9、表 10 に示されております。統計学的有意差が認められなかったということから、メンデルの法則に従って、後代に遺伝していると考えたということでございます。

83 ページ「6 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項」でございます。改変 Cry1Ac タンパク質が酵素活性を持つとの報告はございません。そのため、新しい代謝経路あるいは代謝産物をつくることは考えにくいという記載がございます。

「7 宿主との差異に関する事項」でございます。種子及び地上部の組成成分の分析を行っています。2007年に米国の5か所のほ場におきまして、栽培されましたダイズの地上部及び種子を分析に供試しております。結果は85～91ページまでの表11に示されています。

84 ページ。種子におきまして、統計学的有意差が認められた項目もありましたけれども、いずれも商業ダイズ品種の分析値から計算された許容区間内に収まっていたということでございます。

92 ページ「8 諸外国における認可、食用等に関する事項」でございます。米国、カナダ、オーストラリア、ニュージーランドにおきまして、安全性審査の申請中ということでございます。

「9 栽培方法に関する事項」でございます。チョウ目害虫に対して、従来よりも効果的な防除法を提供する以外は、従来のダイズの栽培方法における差はないということです。

「10 種子の製法及び管理方法に関する事項」につきましては、従来のダイズ品種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 ありがとうございます。それでは、申請書の各項目ごとに御意見をいただきたいと思います。

まず申請書の1～18ページの辺りで、第1、第2、第3、第4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。

○橋田専門委員 本質ではないのですが、成分の帰属に対して、かなりばらばらな表現が見られるので、そのところをきちんと書いていただきたいと思います。具体的には、例えば7ページで「イソフラボン、スタキオース、ラフィノース及びフィチン酸といった栄養阻害物質が含まれている」と書かれて、全部が栄養阻害物質という一くくりになっています。

これについては、もしかしたら私の認識不足かもしれませんが、フィチン酸などについては栄養阻害物質と認識はしていますが、その他のものは必ずしも栄養阻害物質ではないと思いますし、ほかのところでも有害生理活性物質と考えられるものを栄養阻害物質としてあるように見受けられますので、整理していただけたらと思います。

○澤田座長 栄養阻害物質の「等」があったりなかったりというところもありますけれども、そこら辺はきちんと使い分けてくださいということですか。

○橋田専門委員 「等」だけではなくて、13ページの「トリプシンインヒビターやレクチンのような既知の栄養阻害物質」と書かれて、この辺はむしろ有害生理活性物質という表現の方がふさわしいのかなというところも見受けられますので、御確認いただければと思います。

○澤田座長 13ページの1行目の栄養阻害物質ですが、トリプシンインヒビターは栄養阻害物質と言いませんか。要するに栄養吸収をしないようにするので。

○橋田専門委員 ただ、レクチンは。

○澤田座長 レクチンも腸管の細胞にくっついて吸収を阻害する場合もあるかと。

○橋田専門委員 どちらに分類した方がいいのでしょうか。あちこちに違うように書かれているので。

○石見専門委員 今までは栄養阻害物質として、レクチン、トリプシンインヒビター、イソフラボン、フィチン酸等が挙げられていたと思いますけれども、ラフィノースとスタキオースはオリゴ糖なので、栄養阻害物質に入れていいかどうかは疑問です。

○澤田座長 それは後でまとめて、きちんと整理した方がいいかと思います。18ページまででほかにコメントがありましたら、お願いします。

○飯専門委員 2ページの20行目から3行分のところで「Chloroplast transit peptide 1

(CTP1) タンパク質」と書いてありますが、このタンパク質が余計であって、書くのであれば 33 ページの表 5 の中に TS-CTP1 が真ん中辺に書いてあるのですが、それだとルビスコの遺伝子に由来する輸送ペプチドをコードする配列と自ら書いてありますので、それを使っていただいた方がいいかと思います。

ほかにも同じように CTP1 タンパク質という書き方をしているところがあるので、全体を通して修正してもらえたらと思います。

○澤田座長 CTP1 はタンパクではないというね。ほかによろしいでしょうか。

それでは、次にまいりまして、19~36 ページまでで「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」でコメントや御意見がありましたら、お願いしたいと思います。

○橋田専門委員 27 ページに「改変 *cry1Ac* 遺伝子発現カセット及び *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット中のリーダー配列」云々という記述があるのですが、このリーダー配列 *ShkG* 由来のものが *cry1Ac* の発現カセットに見当たりませんので、確認いただければと思います。マップのところでも構成要素のところを見ても、ないかと思います。

○北村課長補佐 33 ページを御覧いただきたいのですが、この 3 つ目のカラムに P7-*RbcS4* というのがございまして、そこにリーダーという記載がございまして。

○澤田座長 CTP1 のことですか。

○北村課長補佐 違います。

○小関専門委員 ですから、これは書いてあることが食い違っています。今、御指摘のあった 28 ページのところには、*A. thaliana* の EPSPS をコードしている *ShkG* にリーダー配列が由来すると書いてありながら、そちらのテーブルの方には、ルビスコの方のリーダー配列ということでしょう。ここは確認してもらった方がいいと思います。記載がコピーペーストをしたときに間違っただけではないかと思います。

○澤田座長 わかりました。*ShkG* と *RbcS* のどちらが正しいかということによろしいですね。ほかにどうぞ。

○中島専門委員 改変 *Cry1Ac* とありますけれども、改変と言えば改変なのでしょうけれども、全部で 1,178 アミノ酸のうち前半分の 466、3 分の 1 が *Cry1Ab* なので、普通に考えれば、これは融合タンパク質とも思われます。だからと言って、これを全部融合に書き換えろというわけではないのですけれども、なぜこういうことをやったのかと。

現にこの 3 分の 1 は *Cry1Ab* タンパク質に由来しているわけですから、それに関する情報も載せていただかないとちょっと。現にそれに由来してアミノ酸が 6 つも違うわけですから。

から、納得がいかないと思います。95%以上一致していれば Ac と書いていいというルールがあるようなので、これはこれで書き換えろとまでは私も思いません。

○澤田座長 ほかの改変 Cry タンパクを参考にして、改変をしたと。

○中島専門委員 普通に改変と言ったら、一個ずつ何かの理由があってアミノ酸を変えていくのですが、この場合は完全に継ぎ足しているのです、普通で言えばフュージョンタンパク質と言えるようなものだと思います。この中では改変という表現で間違っているとまでは申しませんが、これだけ3分の1が Cry1Ab の領域ですから、Cry1Ab の情報も載せていただくのと、もしそういう情報があるのであれば、なぜこのような融合タンパク質をつくったのかという経緯等についての説明をいただきたいと思います。

○澤田座長 説明を追加していただくと。

○小関専門委員 今のところでいくと、すごく変な書き方をしているなと思ったのですが、2ページの12行目からで、野生型のものと全く同一だと書いてあります。しかもインガードに入れたものと同じだと言っているのです、これは正しいのかというのが。そこら辺との整合性をとってほしいということもあります。

○澤田座長 これはたしか、かなり古いものと全く同じものを使っている可能性があります。それ以来、改変になっている可能性があるかと思えます。

○鎌田専門委員 過去の理由は忘れてしまったのですが、今のわかりにくい書き方というのは、もともと Ac と Ab がほとんど同じであって、一部つなぎ変えたのだけれども、結果として、それでも7つしか違わないという書き方になっています。難しいですね。過去の同じことをもう一回持ってくるのかという説明としてね。

○澤田座長 いずれにしても、結果はいいとして、その経緯と理由はもうちょっと説明してもらいたいと思います。

○中島専門委員 過去のはワタですから、油を搾るだけで食べませんけれども、今度のはダイズで食べますので、改めてこの経緯等の説明を要求してもいいかと思えます。

○澤田座長 おっしゃるとおりだと思います。ほかに36ページまではよろしいでしょうか。

それでは、次に37～93ページまでで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 81ページの遺伝的形質をやるときに、36ページを見ていただくとわかるのですが、今回、承認してほしいのが R5 からだということになっていて、サザンのデータ等は全部 R5 から始まってとっているのですが、ここら辺の分離比データはなぜか上

でとっています。これもすごく変な話で、下でとればいいのに、承認してほしいものより前のものでデータをとっておいて、これに適用してくださいという論理立てになっているので、1コピーでリレーしているだけのことで、分離比だからいいと言えればいいのだけれども、何となくしっくりこないという気がします。

だからと言って、問題があるというわけでは勿論ないですが、R5のデータとF2、F3のデータだけでもいいような気はします。

○澤田座長 これは説明いただくだけでよろしいですか。

○鎌田専門委員 いいと思います。

○澤田座長 ほかにありましたら、お願いします。

○児玉専門委員 68ページの消化の実験のところ、表現が理解できないので、だれか教えてほしいです。図18の説明で「改変Cry1Acタンパク質を含むレーンでは、事前に消化したタンパク質濃度に基づき、0.8 ngを被験試料とした」という、この「事前に消化したタンパク質濃度に基づき」というのは、どういうことですか。よく理解できなかったの、教えてほしいです。

○澤田座長 これは恐らくプレリミナリーという意味ですね。予備実験。

○児玉専門委員 事前に消化したというのは、タンパク質を分解したという意味かなと思ったのです。

○澤田座長 1回消化してダブルでやった実験は、その後に出てきます。

○児玉専門委員 予備実験で消化実験をやって、これくらいの濃度だときれいに見えるよということですか。

○澤田座長 紛らわしいので、ここはきちんと直していただいた方がいいですね。

手島先生、アレルギーのところはいかがでしょう。

○手島専門委員 分解性のところで、胃液の分解で4 kDaが少し残ることが出ているのですが、胃液でも消化性が少し残る4 kDaについての解析は70ページにされていて、この安定な断片はCry1AbあるいはCry1Acの一部でしょうということがあります。この解釈をどうすべきかと思ったのですが、その後は更にその人工胃液で消化した後、71ページで、人工腸液で消化をすると、この4 kDaは早い時間に消化されていくという結果がありますので、その4 kDaに対しては今回はよろしいかと思います。

もう一点、気になりましたのは、74ページの加熱処理のところ、これはダイズでは従来から190℃55分という加熱処理をとっていたケースがあるとは聞いています。最近はおうちょっとマイルドな条件で100℃5分程度で、ELISAなりで抗体の反応性が落ちるか

ということを調べていまして、この加熱条件は 190℃ 15 分でタンパクそのものが分解してしまうような条件で、それでウエスタンでタンパクが見えなくなりましたと言っているのですが、この加熱条件が厳しいかと思えます。以前こういう形で認可しているとする、この方法でもとは思いますが、願わくば、もうちょっとマイルドな条件での加熱の実験が欲しいかと思いました。

○澤田座長 さっきの 4 kDa は今回は結構ですということで、加熱の 190℃ 15 分は、ほかのダイズの例でいかがですか。

○松尾係長 日本では豆腐を調理することがありますので、その豆腐の調理温度を参考にして温度設定をして、加熱処理試験をやってくださいみたいな指摘を以前したことがあります。

○澤田座長 そういう前例があるのだったら、もう一回 100℃でも見ていただいた方がいいですか。

○手島専門委員 はい。

○澤田座長 それでは、100℃前後のデータも一応見てくださいということにしたいと思います。ダイズは枝豆で食べる可能性はありますね。そうするとボイルになるかな。組換えを枝豆にする可能性は低いかとは思いますが。

93 ページまででほかはよろしいでしょうか。Cry1Ac は大昔に出たものですがけれども、たしかダイズは今回初めてなので、その点だけは注意して見ていただいた方がよろしいかと思えます。

○石見専門委員 栄養素のところですがけれども、ビタミン B 群についても比較していただければと思います。ビタミンのところはビタミン E だけなので、ダイズはビタミン B 群が多く含まれていますので、その辺りは以前も比較していると思いますから、データがあれば出していただきたいと思えます。あと、恐らく変わりはないと思えますけれども、ミネラルのデータが付いていないので、ミネラルも出していただければと思います。

○澤田座長 ビタミンの追加分とミネラルの追加分を出してくださいと。やっていない可能性はありますか。そうすると実験が大変になります。

○石見専門委員 ミネラルは恐らく変わりがないのでいいですがけれども、ビタミン B はやっていただければと思います。

○澤田座長 では、そこは追加で可能な限り出していただくということにします。ほかによろしいでしょうか。

それでは、何点か御意見をいただきましたので、資料をもう一回整理して見直したいと

思います。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とりまとめまして、先生方に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。

それでは、今日は時間がちょうどで、これで議題（１）の審議の方は終わりたいと思います。

議題「（２）その他」でありますけれども、私の方から１つだけ報告があります。３月の専門調査会で審議いたしました L-トレオニンでありますけれども、宿主の変異について回答することと指摘を出しまして、その取扱いについては御担当の先生に御協力をいただきまして、座長預かりとなっていたところです。

指摘に基づき回答されたことを確認いたしましたので、評価結果を食品安全委員会に報告いたしました。本件はパブリックコメントの募集、食品安全委員会での審議を経て、評価結果が厚生労働大臣に通知されたと聞いております。私からの報告は以上です。

そのほかに事務局から追加でございますでしょうか。

○松尾係長 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、これで終了ということにさせていただきます。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。

○松尾係長 次回の専門調査会の日程ですが、調整をさせていただきました結果、次回は 7 月 23 日金曜日の午後に実施させていただきたいと思いますので、日程の確保の方をよろしく願いいたします。

○澤田座長 それでは、次回は 7 月 23 日ということでよろしく申し上げます。

以上をもちまして、「遺伝子組換え食品等専門調査会（第 82 回）」を終わらせていただきます。今日もありがとうございました。