

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第97回会合議事録

1. 日時 平成23年10月30日（金） 14：38～16：33

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

・低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズMON87705系統

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、宇理須専門委員、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

(専門参考人)

石見専門参考人（独立行政法人国立健康・栄養研究所）

(食品安全委員会委員)

小泉委員長、長尾委員、廣瀬委員、村田委員

(事務局)

栗本事務局長、中島事務局次長、坂本評価課長、前田評価調整官、北村課長補佐、三木係員、種池技術参与

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

①低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズMON87705系統（食品）

②低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズMON87705系統（飼料）

6. 議事内容

〇〇〇 皆様お揃いのおようですので、ちょっと早いですけれども始めたいと思います。

それでは、97回の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、所用により〇〇〇、〇〇〇が御欠席であります。また、専門参考人といたしまして、〇〇〇に、皆様も御存じかと思えますけれども、御出席いただいております。

本日の議題であります、新規の審議品目である低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズ MON87705 系統についての審議となります。

それでは、お手元の資料の確認をいたします。事務局からお願いします。

〇〇〇 それでは、議事次第に基づきまして配布資料の確認をさせていただきます。

配布資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿、資料といたしまして、食品健康影響評価に関する資料となっております。これら以外の緑のファイルですけれども、ファイルに綴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、次回また配布いたします。不足等がございましたら事務局までお知らせください。

〇〇〇 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。

低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズ MON87705 系統について、まず事務局から御説明をお願いします。

〇〇〇 それでは、お手元に紫色のファイルを御用意お願いいたします。

少しめくっていただきまして、目次の次の1ページのところをお願いいたします。本系統は、種子の脂肪酸組成が改変されたものとなっております。一番下の方にまいりまして、宿主及び導入DNAに関する事項になります。宿主は、2ページになりますが、ダイズの商業品種 A3525 でございます。

DNA 供与体の種名は、*FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATB1-A* 遺伝子断片はダイズに由来いたします。改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、*Agrobacterium sp.* CP4 株に由来します。

(3) の導入 DNA の性質及び導入方法でございますけれども、アグロバクテリウム法により導入されてございます。これらの遺伝子断片により RNAi によりまして、内在性の *FAD2* 遺伝子と *FATB* 遺伝子の発現がそれぞれ抑制されます。改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現することによりまして、除草剤グリホサートに対する耐性を付与します。

2番の宿主の食経験ですが、こちらに記載のとおり、長い食経験がございます。

3ページにまいりまして、宿主由来の食品の構成成分等に関する事項になります。次の4ページ、5ページに表がございますけれども、主要栄養素等、あと6ページの毒性物質、栄養阻害物質等については表のとおりになってございます。

6ページにまいりまして、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になります。収穫時期、貯蔵方法、摂取部位、摂取量については宿主と相違はございません。

7 ページのところで、摂取量についてはダイズ油の一日摂取量は 16.2 g/日と推定されるということでございます。

(4) の調理及び加工方法も相違はございません。

5 番になりまして、脂肪酸組成の比較の際には、宿主の他にオレイン酸を多く含みます他の植物油、カノーラ油、オリーブ油を比較対象としてございます。

6 番、安全性評価において検討が必要とされる相違点でございますけれども、本系統は低飽和脂肪酸、高単価不飽和脂肪酸（オレイン酸）、低多価不飽和脂肪酸（リノール酸）のダイズとして作出されてございます。

8 ページにまいりまして、このように種子におけます脂肪酸組成が改変されてございます。さらに、除草剤グリホサートに耐性を付与するという点について宿主と違いますが、それ以外に相違は認められないということになってございます。

9 ページになりまして、第 2、組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項でございます。本系統は、ダイズ種子中の脂肪酸組成を改変することによりまして、ダイズ油の食品利用における汎用性を高めたということでございます。

3 段落目の真ん中辺にまいりまして、本系統はオレイン酸含量が多いカノーラ油やオリーブ油と同様の不飽和脂肪酸組成を持ちまして、かつ従来のダイズ油と比較して半分以下の飽和脂肪酸含量になるように作出されてございます。この系統からとられましたダイズ油は酸化安定性が向上いたしまして、水素添加の必要性を抑えることができるということ、また飽和脂肪酸、特にパルミチン酸の含量が低くなってございまして、飽和脂肪酸は血中 LDL コレステロールの増加に関与しているということから、この含量が低くなるということで、WHO が推奨をしています総エネルギー量の 10%以下に抑えるためにも役立つということが記載されてございます。

飛んで 11 ページにまいりまして、第 3、宿主に関する事項です。分類学上の位置付けにつきましては、記載のとおりダイズでございまして、商業品種の A3525 です。

2 番、遺伝的先祖及び育種開発の経緯に関する事項は、記載のとおりです。

3 番になりまして、ダイズに含まれる栄養阻害物質としましてトリプシンインヒビター、レクチン及びフィチン酸が知られてございます。

12 ページにまいりまして、アレルギー誘発性に関する事項については、記載のとおりです。

5 番、病原性の外来因子に汚染されていないことに関する事項ですが、記載の病原体のヒトに対する病原性を示す報告は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が、13 ページにまいりまして、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を、加工または調理段階における適正な加熱処理により不活化することができるということです。

7 番の近縁の植物種ですが、近縁種としてツルマメが知られてございます。これには、ダイズに含まれます有害生理活性物質が含まれていることが知られているということでご

ざいます。

14 ページ、第 4、ベクターに関する事項になります。ベクターB が導入プラスミドの中間プラスミドでございます。その構成要素、由来、機能は表 2、16 ページ、17 ページに示されたとおりでございます。このベクターB の DNA の塩基数、塩基配列は明らかになってございます。

(2) で、ベクターB の制限酵素切断部位は図 1、隣のページ、15 ページのとおりでございます。

(3) ですが、ベクターB は、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ございません。

(4) 薬剤耐性遺伝子に関しましては、*aadA* 遺伝子が含まれておりまして、選択マーカーとして利用されてございます。

(5) 伝達性については、ないということでございます。

16 ページ、17 ページがベクターB の各構成要素の由来及び機能になってございます。

18 ページにまいりまして、第 5、挿入 DNA、遺伝子産物並びに発現ベクターの構築に関する事項になります。

挿入 DNA の供与体につきましては、(1) *FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATB1-A* 遺伝子断片は、ダイズの内在性遺伝子でございます。改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、*Agrobacterium* sp. CP4 株に由来します。

(2) 安全性に関しては、記載のとおりでございます。

2 番にまいりまして、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若しくは合成方法に関する事項でございますが、この遺伝子断片は、ダイズゲノムの *FAD2-1A* 遺伝子及び *FATB1-A* 遺伝子の塩基配列に基づきましてクローニングされてございます。これらの遺伝子断片を結合して構築がされてございます。これを 2 本つくりまして、導入用のプラスミドの構築に用いられてございます。改変 *cp4 epsps* 遺伝子は *Agrobacterium* sp. CP4 株のコスミドライブラリーからクローニングをしまして、植物中での発現を最適とするために塩基配列の改変を加えてございます。クローニングの過程で 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。

20 ページにまいりまして、(2) 塩基数、塩基配列と制限酵素による切断地図でございます。導入用プラスミドは T-DNA I 領域、これには改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットとこの遺伝子断片が含まれます。T-DNA II 領域にはこの遺伝子断片が含まれまして、この 2 つの T-DNA 領域から成ってございます。塩基配列、制限酵素、切断部位については明らかになってございまして、28 ページに示されております。

(3) の挿入遺伝子の機能に関する事項になります。まず、*FAD2-1A*・*FATB1-A* 遺伝子発現抑制カセットの機能でございます。本系統には T-DNA I 領域及び T-DNA II 領域

の 2 つの *FAD2-1A*・*FATB1-A* 遺伝子の断片が隣接しまして、かつ逆方向反復の状態を導入されてございます。これが *FAD2-1A*・*FATB1-A* 遺伝子発現抑制カセットとして機能するというところでございます。

次の 21 ページの図 2 に、ダイズにおけます脂肪酸の合成経路が示されてございます。*FATB* 遺伝子はアシル-ACP チオエステラーゼをコードいたします。この酵素によりまして、飽和脂肪酸が ACP から切り離されまして、それ以上、炭素鎖が伸長しなくなります。*FAD2* 遺伝子は  $\Delta$ -12 デサチュラーゼをコードしておりまして、小胞体においてオレイン酸をリノール酸に不飽和化するというところでございます。本系統は、この遺伝子発現抑制カセットによりまして RNAi によりまして、ダイズの内在性遺伝子であります *FAD2* 遺伝子と *FATB* 遺伝子の発現がそれぞれ抑制されます。*FATB* 遺伝子の発現が抑制されることによりまして、飽和脂肪酸が ACP から切り離せなくなりまして、炭素鎖伸長反応が継続します。オレイン酸の生成が促進されるというところでございます。また、さらに *FAD2* 遺伝子の発現が抑制されることによりまして、オレイン酸からリノール酸への不飽和化が抑制されまして、オレイン酸含量が高まるというところでございます。

21 ページの表 3 に、意図された脂肪酸含量の変化という表がございましてけれども、従来品種のダイズ油と比べまして、飽和脂肪酸でありますパルミチン酸、ステアリン酸が減っておりまして、オレイン酸が増加して、さらにリノール酸が減少しているということが確認されてございます。

22 ページにまいりまして、改変 *cp4 epsps* 遺伝子の機能でございまして。改変 *cp4 epsps* 遺伝子は選択マーカーとして用いられてございます。除草剤グリホサートはラウンドアップの有効成分でございまして、シキミ酸経路中の酵素の一つであります EPSPS と特異的に結合しまして、その活性を阻害するというものでございましてけれども、改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現します組換え植物では、その働きによりましてグリホサート存在下でも EPSPS 活性阻害を受けないため、シキミ酸経路が正常に機能しまして、生育することができるというところでございます。

3 パラ目にまいりまして、改変 CP4 EPSPS タンパク質が既知の毒性タンパク質と機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうかを調べるために、データベースを用いまして相同性の検索を行ってございます。その結果、既知の毒性タンパク質及びその他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を共有していなかったというところでございます。

23 ページに改変 CP4 EPSPS タンパク質の推定アミノ酸配列が示されてございます。

24 ページにまいりまして、抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項でございまして、導入用プラスミドには *aadA* 遺伝子が T-DNA 領域の外側に存在してございます。しかし、本系統中にはこの遺伝子が導入されていないことをサザンブロット分析によって確認されてございます。

3 番、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して。

(1) プロモーター、(2) ターミネーター、(3) その他については記載のとおりになってございます。

25 ページの 4、ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項でございます。導入用プラスミドは、改変 *cp4 epsps* 遺伝子コーディング配列等を含みます中間プラスミドであるベクターB 等から構成されております合成プラスミドでございます。この導入用プラスミドは、2 つの *FAD2-1A*・*FATB1-A* 遺伝子断片がアグロバクテリウム法による形質転換の際にプロモーターや転写調節因子と適切に隣接する一つの遺伝子発現抑制カセットになるように設計されてございます。

25 ページの一番下の構築された発現ベクターに関する事項で、26 ページにまいりまして、塩基数、塩基配列、制限酵素、切断部位については明らかになってございます。

(2) で、導入された領域に、既知のアレルゲン、毒性タンパク質及びその他生理活性のあるタンパク質と相同性を持ちます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ございます。

(3)、T-DNA I 及び T-DNA II の右側領域から反時計回りに左側領域までが発現ベクター上での意図する領域でございます。

純化については、記載のとおりです。

6 番、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けれども、アグロバクテリウム法を用いまして導入用プラスミドを従来商業ダイズ品種 A3525 の分裂組織に導入されてございます。

選抜方法につきましては、32 ページ、図 5 のフローのとおりになってございまして、育成図はその次のページ、33 ページの図 6 に示されてございます。今回、食品としての安全性評価を依頼する範囲としましては、33 ページ、図 6 の●●●から派生するすべての後代交配種ということで、点線で囲まれている部分になるということでございます。

28 ページがプラスミドマップで、29、30、31 ページにプラスミドの構成要素、由来及び機能が記載されてございます。

34 ページにまいりまして、第 6、組換え体に関する事項でございます。遺伝子導入に関する事項としまして、(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。表 5 にこの解析に供しました世代について示されてございます。

35 ページにまいりまして、本系統に導入されました遺伝子の挿入箇所数、コピー数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を行ってございます。また、導入遺伝子及び近傍領域の塩基配列の解析も行ってございます。

その詳細が次からになりまして、36 ページの表 6 に結果の要約が示されてございます。

36 ページ、37 ページが導入プラスミドの制限酵素地図及び導入遺伝子の分析に用いましたプローブの説明になっております。

39 ページの図の 9 に、本系統の導入遺伝子の地図、近傍配列の模式図及び制限酵素切断地図、模式図が書いかれておりまして、この図の一番下の方に制限酵素切断部位と生成

されます断片のサイズが示されてございます。

40 ページになりまして、まず 1) ですが、挿入箇所及びコピー数及び意図しない遺伝子断片の有無の確認ということで、1 箇所に 1 コピーの T-DNA I 領域及び T-DNA II 領域が隣接して組み込まれていることが確認されたということでございます。

詳細が 41 ページ、42 ページに記載されてございまして、43 ページのサザンブロット分析はプローブ 1、4 及び 6 のものになっております。

44 ページがプローブ 2 及び 5 の説明になっておりまして、図の 11 にプローブ 2 及び 5 の分析結果が示されてございます。

46 ページがプローブ 3 になりまして、図 12 にサザンブロット分析の結果が示されてございます。

48 ページにまいりまして、外骨格領域の分析になります。本系統のゲノム DNA 中には導入用プラスミド由来の外骨格領域は導入されていないことが確認されてございます。

詳しい説明は以下のとおりになりまして、50 ページの図の 3 にプローブ 7 及び 9 を用いたサザンブロット分析、図の 14 にプローブ 8 及び 10 を用いましたサザンブロット分析が示されてございます。

52 ページにまいりまして、導入遺伝子及びその近傍配列の構成及び塩基配列の確認となります。

53 ページの図 15 のように、導入用プラスミドの T-DNA I 領域及び T-DNA II 領域がゲノム中の 1 カ所に隣接をしております、T-DNA I 中のこの遺伝子断片と T-DNA II 中の遺伝子断片が逆方向反復の形で導入されていることが確認されてございます。また、T-DNA II に由来します *FATB1-A* 遺伝子断片の 3'末端に 30 bp の欠損が認められまして、T-DNA I 由来の *FATB1-A* 遺伝子断片と T-DNA II 由来の *FATB1-A* 遺伝子断片との間に RB 由来の 20 bp 及び LB 由来の 38 bp が導入されていることが確認されてございます。

54 ページにまいりまして、導入遺伝子の近傍配列がダイズゲノム由来であることの証明となります。

55 ページの図の 16 に本系統の導入遺伝子部位の PCR 分析と模式図が書かれていますけれども、この図のプライマー A 及びプライマー B を用いまして、本系統と非組換えダイズにつきまして PCR 分析を行ってございます。

また、非組換えダイズから増幅されました PCR 産物と本系統の近傍配列から増幅されました PCR 産物の塩基配列を比較しました結果、本系統の挿入遺伝子挿入部位の 5'末端に 36 bp の欠損及び 2,374 bp の挿入があることが確認されてございます。この 2,374 bp の挿入配列の塩基配列につきましては、本系統の導入遺伝子挿入部位の 3'末端近傍の塩基配列と比較しまして、1 塩基を除いて同一であることが確認されてございます。この 2,374 bp の挿入は、導入遺伝子が非組換えダイズのゲノムに導入された際に 3'末端近傍にありますダイズゲノム由来の配列が 5'末端近傍配列に挿入されたことにより生じた可能性が高いと考えられたということでございます。また、3'末端近傍配列につきましては、

ダイズゲノムにリアレンジメントは生じていないことが確認されてございます。

56 ページにまいりまして、内在性オープンリーディングフレームに関する影響でございます。ダイズ内在性の既知の遺伝子が破壊されていないことを確認するために、導入遺伝子の5'末端側に付加されました2,374 bpの配列の上流895 bp、欠損しました内在性配列36 bp及び導入遺伝子の下流2,704 bpの合計3,635 bpに関しましてblastn、blastxの解析を行ってございます。

その3つ後のパラグラフにまいりまして、blastn 検索を行いました結果、E-score、 $1 \times 10^{-6}$ 以下の配列がこのデータベースから5個、GenBank 非重複核酸データベースから371個、確認されてございますが、95%以上の相同性を示す配列は認めなかったということでございます。また、blastx 検索の結果、E-score が $1 \times 10^{-8}$ 以下の配列が7,103個確認されてございます。それらの配列を詳細に検討いたしましたところ、本システムの導入遺伝子挿入部位におきまして、レトロトランスポゾンの逆転写酵素由来の配列が存在することが明らかとなっております。

57 ページにまいりまして、しかし、検索に用いられた配列はこの逆転写酵素と比べますと、相同性を示している部分にフレームシフト変異、多くの塩基配列の欠失及び停止コドンなどを有しております、タンパク質をコードできるとは考えられず、既知の遺伝子としての機能は既に失っていると考えられたということになってございます。したがって、この結果より、導入遺伝子挿入部位においてダイズ内在性の既知の遺伝子が破壊されているとは考えられないとのことです。

59 ページにまいりまして、ORFの有無及びその転写及び発現の可能性に関する事項でございます。本システムの導入遺伝子、5'末端境界配列及び3'末端境界配列につきまして、6フレームでストップコドンを検索しまして、導入遺伝子から開始または導入遺伝子で終結するORFを検索してございます。データベースを用いました検索の結果、既知のアレルゲン、毒性タンパク質及びその他生理活性のあるタンパク質の構造相同性は認められてございません。また、連続する8つのアミノ酸との相同性検索の結果におきましても一致が認められなかったということでございます。

さらに、5'末端に付加されました2,374 bpの配列についても評価を行ってございまして、この挿入配列から開始またはこの挿入配列で終結をしますORFを6つのフレームにおいて検索してございます。その結果、この挿入配列とダイズゲノムの境界領域にまたがる塩基配列から検索されましたORFと、既知のアレルゲン、毒性タンパク質及びその他生理活性のあるタンパク質との間に構造相同性は認められてございません。さらに、連続する8つのアミノ酸との一致も認められなかったということでございます。

60 ページにまいりまして、さらに本システムの導入遺伝子におきまして6つのフレームにおいて既知のアレルゲン、毒性及びその他生理活性のあるタンパク質との相同性を調べてございます。まず、AD\_2009 データベースによりましては、既知のアレルゲンと相同性を持たないことが確認されてございまして、8つの連続するアミノ酸との相同性もないと

ということが確認されてございます。TOX\_2009 データベースにおきましては、既知の毒性タンパク質と相同性を持たないことが確認されてございます。

次の PRT\_2009 データベースにおきましては、すべてのフレームで E-score が  $1 \times 10^{-5}$  以下の配列が複数確認されてございます。まず、フレーム 1 では、この E-score 以下の配列が 81 個確認されてございます。それは 2 つに分類することができまして、Figwort Mosaic Virus の ORF、もう一つはダイズのアシル-ACP チオエステラーゼと相同性を示すものであるということでございます。

フレーム 2、4、6 では E-score が  $1 \times 10^{-5}$  以下の配列がそれぞれ 698、80 及び 91 個確認されてございます。しかし、これらのフレームには停止コドンが多く、複数に分断されていることから、相同性の認められた配列の間に構造相同性がないことが示されたということでございます。

フレーム 3 におきましては、E-score が  $1 \times 10^{-5}$  以下の配列が 5,316 個確認されておりますが、いずれも同一の 455 アミノ酸の重複で、CP4 EPSPS タンパク質と 100%の相同性を示したということです。

フレーム 5 におきましては、100 アミノ酸の重複で、アシル-ACP チオエステラーゼまたはその推定アミノ酸配列との 82%の相同性を示したということになってございます。

申請者としましては、以上のことから、この導入遺伝子の 6 つのフレームにおきまして既知のアレルゲン、毒性タンパク質及びその他生理活性のあるタンパク質の相同性は見られなかったという結論にしてございます。

62 ページにまいりまして、遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項でございます。本系統のこれら遺伝子の mRNA レベルを調べてございます。この内在性の *FAD2-1A* 遺伝子、*FATB1-A* 遺伝子の mRNA 量が抑制されていることを確認するために、本系統の未熟種子から単離しました mRNA につきましてノーザンブロット分析を行ってございます。その結果、本系統におきまして *FAD2-1A* 遺伝子及び *FATB1-A* 遺伝子の RNA 量が抑制されていることが確認されてございます。そのノーザンブロット分析につきましては、図の 17、64 ページですが、と 66 ページの図の 19 に示されております。

図の 17 のパネル B になりますけれども、パネル A でハイブリダイズしました *FAD2-1* プローブを除去した後に、本来ハイブリダイズしないはずのレーン 9 でバンドが認められてございます。それにつきましては、65 ページの図 8 に *FAD2-1A* プローブを除去した後のパネルということを示されてございますが、*FAD2-1A* プローブが強固にハイブリダイズして完全に除去され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。

63 ページにまいりまして、5 行目になります。これらの結果からジーンサイレンシングが誘導され、mRNA は分解されていることが推測されるということで、本系統で発現します *FAD2-1A*・*FATB1-A* 遺伝子発現抑制カセットがタンパク質に翻訳されていることは考えにくいということで、タンパク質の発現量測定は行ってはございません。

67 ページにまいりまして、改変 CP4 EPSPS タンパク質の発現レベルでございます。結果につきましては、68 ページの表 7 に示されているとおりになってございます。

69 ページにまいりまして、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す。ダイズ加工品及び味噌・醤油の摂取量すべてを本系統から摂取したとすると、CP4 EPSPS タンパク質の摂取量は 8.5 mg と予想されます。この値は日本人の一日一人当たりのタンパク質摂取量の 0.012% になるということで、このタンパク質が一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でございます。

4 番の遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する事項になってございますが、CP4 EPSPS タンパク質につきまして、挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見、遺伝子産物についてのアレルギー誘発性に関する知見については、記載のとおり報告はないということでございます。

(3) になりまして、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になります。70 ページにまいりまして、本試験では *E. coli* で大量発現させました改変 CP4 EPSPS タンパク質を用いてございます。

① になりますが、人工胃液につきましては、SDS-PAGE 法の結果、このタンパク質の 98% 以上が 15 秒以内に消化されることが確認されてございます。図の 20 になります。また、ウェスタンブロット分析でも 95% 以上が 15 秒以内に消化されることが確認されてございます。これは 72 ページの図 21 になります。

73 ページにまいりまして、②の人工腸液です。ウェスタンブロット分析により評価をしました結果、試験開始後 32 分後には試験開始直後と比較しましてシグナルが減少していることが確認されてございます。これは図 22、74 ページになります。また、試験開始後 100 分以降に改変 CP4 EPSPS タンパク質が検出されることはなかったということでございます。

75 ページにまいりまして、加熱処理です。ELISA 法によって評価してございまして、75℃、95℃で検出限界以下になったということでございます。76 ページの表 8 にその結果が示されてございます。

77 ページにまいりまして、(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。アレルゲンデータベースを用いまして相同性検索を行った結果、80 アミノ酸以上で 35% 以上の相同性を有していないことが確認されてございます。また、8 つの連続するアミノ酸による相同性検索を行った結果、8 つの連続するアミノ酸配列と一致する配列は検出されてございません。

(5) になりまして、IgE 結合能については検討は行ってございません。

78 ページにまいりまして、導入遺伝子の安定性に関する事項でございます。本系統の 4 世代につきましてゲノム DNA を用いましてサザンブロット分析を行ってございます。79 ページの図 23 になります。その結果、すべての供試世代の DNA におきまして共通のバンドが検出されてございます。これらより、1 コピーの T-DNA I 及び T-DNA II 領域は

複数世代にわたって安定して遺伝することが確認されたということでございます。

80 ページにまいりまして、CP4 EPSPS タンパク質発現の安定性になります。これらも 4 世代の収穫種子についてウェスタンブロット分析を行ってございまして、すべての世代の種子におきまして改変 CP4 EPSPS タンパク質の発現が確認されてございます。

81 ページの図 24 になります。

82 ページが分離比になります。導入遺伝子の分離様式及び安定性を確認してございませぬ。結果が表 9 になりますけれども、導入遺伝子に存在しまして、かつダイズゲノム中に存在しない遺伝子としまして *H6* ターミネーターを分離様式の調査の指標として選択してございませぬ。用いた世代につきましては、33 ページの図 6 の●●●になります。これの F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub>、F<sub>4</sub>、F<sub>5</sub> 世代を用いて導入遺伝子の分離様式が調べられてございませぬ。F<sub>3</sub>、F<sub>4</sub>、F<sub>5</sub> 世代につきましては、1 つ前の世代で *H6* ターミネーターをヘミで有する個体のみを移植することにより作出されてございませぬ。

その結果になりますけれども、F<sub>3</sub> 世代におきましては、実測値と予測値との間に統計学的有意差が認められてございませぬが、この原因としましては、供試しました 91 検体の個体のうち、10 個体について解析することができなかつたということで、供試個体数の減少が考えられたということです。しかしながら、F<sub>2</sub>、F<sub>4</sub>、F<sub>5</sub> におきましてはカイ二乗検定によりませぬ統計学的有意差は認めなかつたということで、本系統の導入遺伝子が染色体上の単一遺伝子座に存在し、かつメンデルの法則に従って後代に遺伝することと考えられたということでございます。

84 ページにまいりまして、代謝経路への影響に関する事項になります。本系統では、これら遺伝子断片によりませぬ RNAi により、ダイズの内在性遺伝子であります *FAD2* 遺伝子と *FATB* 遺伝子の発現がそれぞれ抑制されます。*FATB* 遺伝子の発現が抑制されることによりまして、飽和脂肪酸が ACP から切り離されなくなるため、炭素鎖伸長反応が継続しまして、飽和脂肪酸が減少して、オレイン酸の生成が促進されます。また、*FAD2* 遺伝子の発現が抑制されることによりまして、オレイン酸からリノール酸への不飽和化が抑制され、オレイン酸の含量が高まるということでございます。

EPSPS につきましては、シキミ酸経路を触媒する酵素の一つでございますけれども、この EPSPS は本経路における律速酵素ではないということで、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物であります芳香族アミノ酸の濃度が高まることと考へられてございませぬ。また、この基質になります PEP と S3P の基質と特異的に反応することが知られてございませぬ。

最後のパラグラフになりますけれども、以上のことから、植物 EPSPS タンパク質と機能的に同一である改変 CP4 EPSPS タンパク質の発現によりまして、植物の代謝経路に何らかの影響を及ぼす可能性は極めて低いと考へられるということでございます。

85 ページにまいりまして、宿主との差異に関する事項でございます。(1) が組成成分の比較になります。構成成分の同等性を確認するため、2007~2008 年にチリの 5 カ所

の圃場において栽培しました本系統と非組換えダイズの地上部、種子を分析に供してご  
います。

また、次のパラグラフにいりますが、無機質とビタミン B 群につきましては、2009 年  
に米国の 7 カ所において栽培したものを供試してごいます。

86 ページが分析の項目になります。その表の注釈にありますけれども、18 項目につ  
いては実測値の半分以上が定量限界以下だったため、統計分析から除外したというこ  
でごいます。

87 ページですが、地上部におきましては、灰分について有意差が認められてごいま  
す。しかしながら、この分析値は商業品種の分析値の許容区間に収まっていたというこ  
です。

種子におけます脂肪酸含量でごいますけれども、統計解析が可能でありました 9 種  
類の脂肪酸のうち 7 種類について有意差が認められてごいます。有意差が認められま  
したのは、次のパラグラフになりますけれども、パルチミン酸、ステアリン酸、オレイン  
酸、リノール酸でございまして、その他にリノレン酸とアラキジン酸、エイコセン酸に有  
意差が認められた項目でございます。

まず、パルチミン酸につきましては、従来の商業品種の許容区間と ILSI のデータベー  
スの範囲を外れております。ステアリン酸につきましては、商業品種の許容区間を外れて  
いましたが、ILSI データベースの範囲には収まってごいます。また、オレイン酸とリ  
ノール酸につきましてもデータベースの範囲及び許容区間の範囲を外れております。

最後のパラグラフになりますけれども、リノレン酸とアラキジン酸、エイコセン酸につ  
きましては、リノレン酸は対象品種と比べまして有意に低かったということですが、  
*FAD2* 遺伝子の抑制により減少するリノール酸から生成されることから、その含量の減少  
は予想されたものであったということです。リノレン酸含量は許容区間内に収まってご  
います。

88 ページにまいりまして、アラキジン酸については対象品種と比べまして有意に低い  
ということですが、商業品種の許容区間の範囲内です。エイコセン酸については、対象に  
比べて有意に高く、許容区間の上限を外れていますが、ILSI のデータベースの範囲内  
であったということです。

脂肪酸以外の栄養素につきましては、マグネシウムとカリウムについて有意差が認めら  
れてごいますけれども、商業ダイズの品種の分析値から計算された許容範囲内に収まっ  
てごいます。その他、栄養阻害物質及びその他有害生理活性物質につきましては、すべ  
ての項目において統計学的有意差は認められなかったということでごいます。その結果  
が 89 ページから 98 ページまで、表 13 として示されてごいます。

99 ページにまいりまして、脂肪酸の安全性評価及び栄養学的評価ということでごいま  
す。(1) 本系統において改変されました脂肪酸の安全性についてです。

まず、2 つ目のパラにまいりまして、パルミチン酸含量は宿主 A3525 と比較しまして

有意に減少して、かつ商業品種の範囲、データベースの範囲を下回ってございます。これらの飽和脂肪酸が LDL の増加に関係するという報告がございまして、食事に関連する慢性疾患の予防のために、これらの飽和脂肪酸の摂取量を総エネルギーの 10%以下に抑えることが推奨されてございます。

オレイン酸につきましては、そのページの図の 25 に脂肪酸組成が示されてございますけれども、菜種油やオリーブオイルはオレイン酸の含量が高く、本系統と同様の脂肪酸組成を示すということから、高オレイン酸含量の植物油は安全に使用されてきた歴史を持つと言えるということでございます。

したがいまして、パルミチン酸、オレイン酸の差異が安全性に影響を与えるものではないと考えたということでございます。

100 ページにまいりまして、リノール酸含量の減少が栄養に与える影響の評価ということでございます。まず、リノール酸はヒトにとって必須脂肪酸であるということから、リノール酸含量の低下がヒトに与える影響を考察してございます。我が国の n-6 系脂肪酸の目安量というのは、国民健康栄養調査のデータをもとにしまして、摂取量の 50 パーセント値ということで設定されております。食事摂取基準によりますと、両性別全年齢の n-6 系脂肪酸摂取量の 50 パーセント値は、一日一人当たり 8.7 g という報告から、リノール酸については、8.5 g という計算になるということでございます。

101 ページにまいりまして、ダイズを原材料とします食品、ダイズ加工品及びダイズ油から摂取されるリノール酸の割合は、食品全体から摂取されるリノール酸の 38%ということで試算がされております。これらから、仮に我が国における食品として利用されるすべてのダイズ加工品及びダイズ油が本系統ダイズ由来の加工品及び油に置きかえた場合では、5.82 g がリノール酸の一日当たりの摂取量になると考えられます。この 5.82 g は、先ほどの 8.5 g と比べますと減少しておりますが、現在の日本人の脂質摂取量の範囲に収まっているということ、また、健康な日本人には n-6 系脂肪酸の欠乏が原因と考えられます皮膚炎等の報告はないということ、また、FAO/WHO により報告されておりますリノール酸の欠乏症を予防するのに必要な摂取量、これは摂取エネルギーの 2%ということとされてございまして、日本人の一日一人当たりの両性別全年齢の平均摂取エネルギーを 1,898 kcal/person/day として計算した場合、4.13 g になるということで、これを上回っているという説明になってございます。

したがいまして、仮に我が国において食品として利用されるすべてのダイズ油を本系統に置きかえた場合においても、リノール酸摂取量の減少による健康への影響を生じるとは考えにくいという考察がされてございます。

103 ページにまいりまして、諸外国における認可、食用等に関する事項になりますが、FDA では安全性の審査が終了してございまして、また FSANZ と Health Canada においては食品としての安全性が認可されてございます。

9 番の栽培方法、104 ページにまいりまして、10 番の種子の製法及び管理方法に関す

る事項は、記載のとおりになってございます。

説明は以上です。よろしくお願ひいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして、項目ごとに先生方からの御意見を賜りたいと思います。

まず、第 1、第 2、第 3、第 4 でベクターに関する事項まで、申請書の 1 ページから 17 ページまでに関しましてコメント、御意見ありましたら、お願ひしたいと思います。

〇〇〇 15 ページのベクターの図なんですけど、この図の 5 時から 6 時あたりのところに *Tsf-1* という遺伝子を書いてあるんですけど、一方で次の表を見ると *EF-1α* になっていて。本文を見ると、大体 *EF-1α* なんですけど、このことに気がついて他の図も見たと、後ろの方に出てくる図だと *Tsf* になっていたり *EF-1α* になっていたりバラバラなので、全体を通じて修正した方がいいかと思います。本文は *EF-1α* にしているので、恐らくそちらに統一されるのがいいのではないかと思います。

〇〇〇 それはかなりいろいろと直さないといけないということですね。

〇〇〇 ええ。数箇所、図で。

〇〇〇 では、*EF-1α* と *Tsf-1* ですか、それを統一していただくということで。

他にいかがでしょうか。

それでは、続きまして第 5、挿入 DNA 遺伝子産物、発現ベクターの構築のところ、18 ページから 33 ページまで、この部分に関しまして御意見、コメントがありましたら、お願ひしたいと思います。

〇〇〇 本質的なことでも何でもなくて、今回、珍しく記載がおかしいところ、マイナーな修正が必要なところはいっぱいあるので後でお渡ししますが、その中では、一応言っておかなきゃいけないのが、例えば 20 ページの 2 つの遺伝子抑制カセットという言葉があって、これは報告書にも後で出てくるとは思いますが、何が抑制なのかわからないので、本来、発現カセットというのがあるので、発現抑制カセットで、「発現」を全部のところにも入れておいていただかないと、多分言葉がわかりにくくなっているというのがまず 1 点目です。これは何か所もあるので、全部一括して直していただければと思います。

それから、21 ページの図 2 のタイトルが「ダイズの脂肪酸生合成経路」まではいいんですが、その図の一番右の組成表は、これは明らかに一般のダイズの組成ではなくてこの系統の組成なので、その図 2 のタイトルの「生合成経路」の後ろに、「生合成経路と MON87705 系統における脂肪酸組成」というふうに多分直していただかないと、図がひとり歩きしたときに困るということがあると思います。それから、多分このこととも関わって、これは多分表示義務があるタイプですよね。だから、表示義務のときにこういうものが多分全部出てくると思うので、そのためにもこれはきちっと書かれた方がいいかと思います。

それから、後ろの方について、33 ページのこの図 6 の真ん中のところに「*H6* 3'UTR を持たないダイズ品種と交配」とわざわざ書いてあるということが、私はすごく読んだだ

けで誤解したんですが、一般的なダイズ品種はこの *H6* 3'UTR を持つかのような表現なんです、これ。特殊に持たない品種があって交配したように読めるんですが、中を読んでもそんなことは全然なくて、本来ダイズは持っていない遺伝子なので、この書き方をされると非常にわかりにくくなるので、ちょっと表現を変えていただいた方がよくて、外来遺伝子にしかない遺伝子という意味で使っているの、ちょっと書き方を変えていただいた方がいいと思います。なぜかという、サザンのデータが次に出てきますが、サザンのデータのときに、これよくよく見ていて、*H6* 3'UTR の内在性はないのかと思って私はさんざん探したんですが、ないのでよくよく見てみたら、実は内在性ではなかったという事態がありましたので、ここはちょっと書き方を変えていただいた方がいいかなと思います。

以上です。

〇〇〇 それは直していただくということでよろしいですか。

ほかに。

〇〇〇 20 ページ目のところに *FAD2* の遺伝子の説明があるんですけども、この遺伝子は  $\Delta$ -12 とは書いてありますが、基本的には  $\Delta$ -n にプラス 3 のところに二重結合を入れるデサチュラーゼというタイプのものであるということを書いた論文を見つけましたので、ここの表記はちょっとどうするかというのはあるんですけども、基本的には、例えば  $\Delta$ -9 のところに入っているものが前駆体であれば  $\Delta$ -12 に入れるし、 $\Delta$ -10 のところに入っているものがあれば  $\Delta$ -13 のところに入れるという活性を示すということがわかっているようですので、それはそれで書いてもらって、一般的には  $\Delta$ -12 で通じるとは思いますので、 $\Delta$ -12 としてオレイン酸からリノール酸に不飽和化するということの表記にさせていただきたいと思います。

〇〇〇 追加で情報を入れればよろしいですね。

〇〇〇 そうですね。両方をここに入れていただきたい。

あと、もう一つよろしいですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 その隣のページの 21 ページ目の図 2 のところに、〇〇〇がおっしゃったタイトルの下のところの説明ですけども、*FAD2* 遺伝子及び *FATB* の mRNA の転写が抑制されるというふうに書いてありますが、これは RNAi なので転写は抑制されませんので、mRNA が分解されて発現が抑制されるとかですね。これは、実はこのグループは論文をちゃんと投稿して、今年発表になっていまして、ちゃんと転写は変わりませんということ調べています。転写は抑制されませんので、そこを修正していただきたいと思います。

〇〇〇 それ以外はよろしいですか。

〇〇〇 今、〇〇〇がおっしゃったところですが、〇〇〇のお話とかぶるんですけども、21 ページの図 2 で、これはこの形質転換体でメインに変わっているところだけを引き出して、一方、図のタイトルは脂肪酸生合成経路という、もっと非常に広いタイトルに

なっているんですね。それで、前回のときに〇〇〇から説明を受けましたが、実際にはオレイン酸だけではなくて他にも変わるものがあるということも考えると、ここの 20 ページの説明のところには、ここの 2 つの遺伝子が実際に働き得ることが何をもちあわせるのかということ、文献上得られている知見をもう少し記載してもらって、それから生合成経路もこの周りの脂肪酸も少し入るような感じで正確にさせていただく方がいいのではないかと感じます。ここは、多分、最後の脂肪酸組成の変化のところの議論とかかわってくるかと思いますが、そこの兼ね合いの上でしっかりとした図にしておいた方がいいかなというふうに感じます。

〇〇〇 図 2 に出てくるのは主なものしか書いてないのですが、これ以外に変化する可能性があるものを、この図に追加した方がいいですか、本文で。

〇〇〇 どうなのでしょうね。最後の方で恐らくまた議論になるのかなという気はしているんですけども、付随して ILSI のデータベースとかの範囲には入っているよとは言いながらも、明らかに統計的には変化している脂肪酸も出てきているので、そういうのが生合成系のどこに位置づけられているのかということがわかった方がいいかなとは思いますが、すけれども。

〇〇〇 そうでしたら、一応、総合的に考えて、追加する必要がある代謝の成分は追加してもらおうということですね。

〇〇〇 そうですね。

〇〇〇 もう一つ、その図 2 に関して修正を入れるとするのであれば、これは種子中での動きですので。葉とかでは全然違いますので。ダイズ生合成経路って大きくどーんと書かれるとちょっと困っちゃうなという感じですので、ダイズ種子中というふうに限定できるような形の方が望ましいと思います。

〇〇〇 それは図 2 のタイトルで限定的に書くだけでよろしいですか。茎と葉は一応可食部分ではないので、そこまで詳しく書く必要はないですね。

〇〇〇 そうすると、例の青い未熟種子を食べるとというような話が例によって出てくるといことになりますけれども。

〇〇〇 エダマメの話がありますね。

〇〇〇 そうですね。

〇〇〇 未熟種子ぐらいまでは考えて書いていただいた方がいい。

〇〇〇 微妙で難しいところではございますけれども。プラスチドが葉緑体に分化すると、ここの経路が大分変わってきてしまうので。あんまりそれって、多分この領域としては触れたくないというか、そこまで広げたくはないというふうには思っているとは思いますが、すけれども。

〇〇〇 変な話だけれども、未熟の種子中では、緑だけれども多分葉緑体としてはほとんど機能してないですよ。色がついているだけで、いわゆる葉緑体ではないので。だから、

そこを細かく突っ込みだすと、どこからどこまでという話になってしまうだけで、余りそこまではやる必要はないんじゃないかと思います。

〇〇〇 わかりました。

それでは、それ以外、コメント、御意見ありませんでしょうか。どうぞ。

〇〇〇 細かいところなんですけれども、19 ページなんですけれども、3 行目のところで、ここで用いている CP4 EPSPS タンパク質というのは、106 ページにもありますが、既にダイズ等で用いられている CP4 EPSPS と同じものだということをこの段階でも入れておいた方がいいんじゃないかというふうに思います。ラウンドアップ・レディの作物なんかについて用いられている CP4 EPSPS と同じであることが示されればよいと思います。

〇〇〇 今まで散々用いられているものと同じものであるということですね。

他によろしいでしょうか。

そうしましたら、今 33 ページまでいきましたので、それから第 6 の組換え体に関する事項で、一応、遺伝子産物の一日摂取量まで、69 ページの前半のところまで、34 ページから 69 ページの前半あたりに関しまして御意見ありましたら、お願いしたいと思います。

〇〇〇 1 つだけよろしいでしょうか。45 ページの図 11 が多分一番いいと思うんですが、一応今までこちら辺のサザンのデータを出すときに、プローブを余り混ぜないで、それぞれのパーツごとのプローブでデータを出してきていたのでわかりやすかったんですが、今回幾つか混ぜてハイブリダイズさせてしまったので、何が起こったかということ、外来遺伝子は多分ここでシグナル全部見えているので問題ないんですが、内在性遺伝子の中で 1 つだけどう考えても見えていないのがあります。39 ページの図の中にある、真ん中ぐらい、プローブ 4 のところに入っている P-7S $\alpha$  という、本来これはダイズの内在性の遺伝子のプロモーターなので、内在性遺伝子のシグナルが、出なきゃいけないんですが、全体どう考えてもそれに該当するシグナルがないんですね。他のプローブと全部マッチングさせてみても、どうしても見つからなくて。外来遺伝子の検出だから、いいっていいばいいのかもしれないけれども、でも、他のものは内在性遺伝子の余計なシグナルが出ていますということとちゃんと説明がうまく合っているんですが、この 7S $\alpha$  のプロモーターだけが内在性がひっかかってこないの、それだけは一度、先方に聞いて、どのバンドが該当するものなのかを明確に示していただきたいと。これをやっておかないと、実はこちら辺のプローブがうまく機能していない可能性があるんですね。そこら辺の確認という意味でも今のところをきちっとしておいていただければと思います。

以上です。

〇〇〇 それは確認をしていただければよろしいですか。

ほかによろしいでしょうか。69 ページの前半までです。

〇〇〇 62 ページから 63 ページにかけての発現に関するところなんですけれども、一番最後の 63 ページのところになりますけれども、最後のところの書き方がちょっとひっかかるところがあります。この導入したカセットからタンパク質に翻訳されているとは考え

にくいと書かれているんですけども、その記載そのものは同意するんですけども、根拠にされている点で、実際にはこのトランスジーン転写を恐らく厳密には見ていないかなと思うので、それを見ておかない限りは、本当にはどのぐらいのメッセンジャー的な RNA が存在しているかわからないということもあるので、このことが問題であるというよりは書き方の問題なんですけれども、ちょっと変えてもらった方がいいかなと思います。

〇〇〇 表現をどういうふうに変えればいいですか。

〇〇〇 ここでは、もともとの *FAD* などの遺伝子の転写量が減っているということは確認していて、それはそれでいいんですけども、それを見ていながら、最後のところで急にトランスジーンからペプチドになると思うんですけども、そのペプチドの発現がないという話にすりかわっているようなところがありまして。実際に発現がないかどうかというよりも、別のところで調べているように、そこからたとえ断片化されたものが出てきたとしても、それ自身に対してはアレルゲン性がないとか毒性とホモロジーがないとか、もともと発現しているタンパク質の一部と同じであるとかという、そういう意味で安全性の方はクリアされていると思うので、もうちょっと RNA を分析したデータがあればいいんですけども、もしないのであれば、どう表現しますかね、ちょっと考えてもらえたらなと思うんですけども。

〇〇〇 ちょっと教えていただきたいんですけども、これはアンチセンスが発現する。

〇〇〇 ここでは多分、恐らくは構造的にはヘアピンのものが作られて、二重鎖のところがダイサーで切られてサイレンシングの経路に入っていくということで。ただ、そのヘアピンが本当にすぐにできるかどうかというのは、実際はケース・バイ・ケースのところがあるはずで、案外調べてみると、フルサイズの転写産物が見えることもあるし、分解の際の中間産物が結構たくさん蓄積している場合もあるので、それをやらずに、たとえやってもゼロであることは証明しがたいのであんまり結論的なことは言わない方がいいのではないかと、その1点なんです。

〇〇〇 そうしましたら、それは検討の上適切に直していただきたいと思います。

〇〇〇 考えていることを否定するつもりはないので。

〇〇〇 他によろしいでしょうか。

よろしいですか。それでは、最後で、69 ページの前半から最後まで、第 6 のアレルギ一誘発性以降、第 7 にかけて御意見、コメントありましたら、お願いしたいと思います。

〇〇〇 これは 84 ページ目のところに相当するのかがちょっとよくわからないといえばわからないんですけども、今回、*FAD2* の方は、ヘアピンをつくる時のステムのところをターゲット領域とよく言いますけれども、ターゲット領域にイントロンの配列を使っています、この内容に関する論文は、そのイントロンの配列を使ったところがユニークだというふうにしてある論文が出ていますんですけども、エクソンの部分を使ってないんです。これが本当にそのままヘアピンができて、siRNA ができて RNAi が成

立したという形になりますと、いわゆるイントロンを狙い撃ちして抑制するという形になりますので、その特異性というのは実は担保されない。現時点では、この申請書ではちょっとわからないということになりますので。

ただ、それはタンパク質が代謝経路に影響を及ぼしているわけではないので、ここの部分に入れるのが相当かどうかちょっとわからないんですけども、コーディング領域を使っている場合はさほど心配しなくていいのかなと思うんですが、イントロンのところを使っているので、少なくとも今現時点でわかっているダイズのゲノム情報に基づいて、他の遺伝子に関しては影響を及ぼすことはないと思われるというような感じのデータになると思うんですが。イントロンの配列ってそんなに相同性が高くはないので。ただ、一言やったりそういうことを調べていただいて議論をしていただいた方がいいのではないかなというふうにちょっと思うんですけども。

〇〇〇 確認ですけれども、書いてある遺伝子以外の遺伝子も抑制する可能性という意味ですか。

〇〇〇 インترون配列使ってますので、似たようなイントロン配列を持っている遺伝子がもし仮に他にあったとすると、抑制してしまう、理論上はですね、ということになりますので、ダイズは大分ゲノム情報もわかっているかと思えますので、ちょっとそこら辺、バイオインフォマティクスの的にちょっと解析していただいて、少し議論していただいた方がいいのではないかなというふうにちょっと思います。

〇〇〇 それは、相同性検索やって、候補が出ないことを言えばいいんでしょうか。

〇〇〇 そうですね。ぴったり似たような、本当に 90%とか 95%ぐらいでびしっと合うようなイントロンがあると、それを抑制してしまう可能性が非常に高くなってしまいますので、そういうのは見つからなかったという形になるのが一番望ましいんじゃないかなと。

〇〇〇 他によろしいでしょうか。どうぞ。

〇〇〇 ちゃんと確認し切れてないかもしれないんですが、81 ページの図を見てまして、供試したサンプル量というのが  $\mu\text{l}$  だったり  $\text{ng}$  だったりしているんで、これちょっと説明をするか統一するかしていただきたいなと思ったのが 1 つ。

それから、これは記載の問題なんですけど、87 ページの一番最初の段落のところ、構成成分の全体的な組成についての記載なんですけれども、これを見ていると、種子における脂質の総量も恐らく有意差が出ていると思うので、ここの位置に一言書いといてもらうべきかなと思いました。

〇〇〇 よろしいですか。

〇〇〇 脂質の組成のところに入ってもよろしいでしょうか。

〇〇〇 どうぞ。

〇〇〇 87 ページですけれども、MON87705 系統の種子における脂肪酸含量ということなんですけど、飽和脂肪酸の含量を下げ、オレイン酸の含量を上げて、その結果、リノール酸の含量が減少したということで、それぞれ対象の系統と有意差も出ていますし、また、

パルミチン酸、オレイン酸、リノール酸については ILSI の分析値の許容区間を外れているということで、そういう目的でつくっているのが当然といえば当然なのでしょうけれども。

1 つ、これらの考察が 99 ページに記載されているんですね。まず初めに、飽和脂肪酸の含量が減っているということで、これについて 2 パラ目のところで、食事に関連する慢性疾患の予防のために、それらの飽和脂肪酸の摂取量を総エネルギー量の 10%以下に抑えることが推奨されているという。これで、だからよいというような書きぶりになっているんですけども、「日本人の食事摂取基準（2010 年版）」においては、飽和脂肪酸は生活習慣病予防のための指標ということで目標量が定められているんですね。飽和脂肪酸については、成人で総エネルギー摂取量の 4.5%以上 7%未満ということで、下限と上限が決まっています。ですから、これは低いだけではないということではなくて、下限も決まっていますので、この後にリノール酸の摂取量について試算をしていますけれども、同じように減ることによって健康影響がないかというところを試算していただければと思います。

それから、オレイン酸については、以前にオレイン酸高含量のものが許可されてまして、それとそんなに量的には変わらないということと、オリーブ油とほとんど同じ組成ということなので、オレイン酸についてはよいとは思っているんですが、この同じところで 99 ページ目の 2 パラ目の下の方で、WHO のデータを引いて図の 25 でオレイン酸の組成を説明しているんですけども、日本の「日本食品標準成分表 2010」というのがありますので、これについても引用していただいて、日本で評価されているものの引用文献ということで引いていただきたいと思います。

それから、3 つ目なんですけれども、その次のページからリノール酸の含量の減少が栄養に与える影響の評価ということで、2 ページにわたってそれぞれ試算がされています。以前に同じようにリノール酸の含量が減ってしまう食品の評価があったんですけども、そのときも「日本人の食事摂取基準」を考慮して考察してくださいというふうにお願いしたんですけども、今回はかなり「日本人の食事摂取基準」について盛り込んでいただいて、試算がされています。ダイズ加工食品、ダイズ油からのリノール酸の摂取の割合というのは、食品全体から摂取されるリノール酸の 38%ということが 101 ページの上から 6 行目に書いてあります。

これについて、ダイズ油あるいはダイズ加工品でこの MON87705 系統に置きかえられたときに、日本人の一日当たりのリノール酸の摂取目安量は 8.5 g なんですけれども、置きかえられた場合は 5.82 g になるというふうに記載がされていて、これは「日本人の食事摂取基準」の成人のリノール酸の目安量 8.5 g を下回っているわけですね。ただ、5.82 g というのは摂取量の範囲内、これは 1.93~21.86 g と書いてあるんですけども、これは 1 パーセントタイルから 99 パーセントタイルでものすごく広い範囲なんですけれども、この間に入っているとの記載があります。ただ、この範囲内で健康な人の場合は摂取の不

足あるいは欠乏はないということで、この範囲内に入っていればよいということと、それから WHO/FAO のリノール酸の欠乏症を予防するのに必要な摂取量、これは摂取エネルギーの 2% ということで 4.13 g という値を出しています。4.13 g よりも先ほどの試算、5.82 g で上回っているのですよというような理論になっていて、ここの 2 ページにわたる文章を読めば、栄養学的には恐らく大きな問題ではないのではないかというふうに判断されますが、いかんせん宿主との差が大きいので、このあたりをどう評価したらいいのかというところがちょっと難しいところであると考えております。

以上です。

〇〇〇 ここに書いてある理屈自身は OK ですか。

〇〇〇 リノール酸については、食事摂取基準で目標量の上限值は決まっているんですけども、下限値が決められてないんですね。ですから、そこが決まってない以上、その下限を設定することができない。

〇〇〇 最初に日本人の下限値が 4.5% と確かおっしゃいましたね。

〇〇〇 最初のは飽和脂肪酸の話です。

〇〇〇 ああ、飽和脂肪酸ですね。

〇〇〇 はい。飽和脂肪酸は 4.5~7.0% E なので、それは飽和脂肪酸については下限のところを考察してくださいということです。

〇〇〇 リノール酸の下限値というのは、公的な値は何かあるんでしょうか。

〇〇〇 「日本人の食事摂取基準」では定められてないんですけども、ここに記載があるように、FAO/WHO により報告されているリノール酸の欠乏を予防するのに必要な摂取量ということで、摂取エネルギーの 2% というのが報告があるということと、ただ、これは健常人ではなくて、完全静脈栄養の患者さんが生き延びるのに必要な最低のリノール酸の量ということで、必ずしも健常人のための値ではないんですね。

〇〇〇 そうしますと、これでいいのかどうか、説明を追加していただいた方がよろしいですか。

〇〇〇 多分、これ以上のデータはなかなか文献的にも難しいと思います。リノール酸の冠動脈疾病予防効果についても、一致したデータが得られていません。

〇〇〇 もうこれ以上は出てこない。

〇〇〇 ないのかなというふうに思っていますけれども。もちろん、飽和脂肪酸の方は出していただいて、こちらのリノール酸の方は、先生方、いかがでしょうか。

〇〇〇 他の先生で何か御意見は。

〇〇〇 一言いいですか。ここら辺って、多分アメリカがものすごくうるさくいろんなことをやっていると思うので、もしアメリカで、だからリノール酸とかをどうするかというのが何かの基準値が出ているんならば、それをここにちゃんと引用していただくぐらいのことしかないのかもしれないですね。

〇〇〇 あとは、やっぱり 50 パーセントタイル値で計算しているのです、正規分布するに

してもばらつきがどのぐらい、多分その下の方の摂取量の人には足りないかもしれないんですね。そういう議論も必要なのかなとも思うんですけども。

〇〇〇 ちょっと論点がずれてしまうかもしれないんですが、前にステアリドン酸でしたか、そのときの申請書を読んでいて、こういう代謝を改変したときにどう考えていったらいいのかということに関して、先生方の御意見を伺いたいなと思っていただけかかわるんですが、オレイン酸のこういう新しい素材のダイズが出てきて、油に利用されたときに、ここに書かれている根拠、例えばダイズ油が 53%、カノーラが 19%とか書いてあるんですが、それ自身どこまで根拠になるのかなというところがちょっとひっかかるんです。今このような使われ方をしているのが、こういう変わった素材が出てきてもずっと同じような割合で使われるのであれば、このパーセントで計算されていいんですが、そこが変わっていく可能性が出てこないともいえず、少し幅を広げた計算も本当はやっといてもらった方が、そういう分野の専門ではないものの目からするとありがたいなというふうに読んでいて思えたんですね。そこで、この辺、栄養的なところからいってどのぐらいの幅を考えておいた方がいいのか。

それから、ここでは 1 種類の形質転換した系統だけですべて解析されているんですけども、最初の方で、いろんな商業品種に入れていきますってかなりはっきり明言していて、そうすると、そこで使われる掛け合わせの相手方の性質によっては、今はこういう範囲でおさまっているけれども、その幅がどちら側かにずれるものも出てきおかしくないだろうなど。その辺少し危険率を広めるような計算というのも一方で必要なのかなと感じたんですけども、これらの点について先生方の御意見を伺いたいなと思ったのですが。

〇〇〇 他の先生方はいかがでしょうか。

他の組換え品種で全部似たような組成になってしまうと、リノール酸の摂取量が足りなくなってしまうという問題が将来出てくるかということでしょうか。いかがですか。

〇〇〇 今、先生がおっしゃったように、摂取量の油の種類によって幅が出てくる可能性があるということと、それから摂取する側も 50 パーセントマイルで今やっているの、そこにも幅があるということで、もう少し幅を入れた考察をしてほしいということと言えるかと思えますけれども。

これにそのまま当てはまるかどうかわからないんですけども、栄養素の必要量を求めるときに推定平均必要量というのを求めて、それは 50%の人の必要量を満たす量なんですけれども、そこから推奨量、すなわち 98%近くの人が満たされる量というのを出すときに、栄養素によって違うんですけども、変動係数というのがあって、10%だったら  $\pm 10$  なので 1.2 を掛けたとか、20%だったら  $\pm 20$  なので 1.4 を掛けるということで、今のところ一番大きい変動係数が 1.4 なんですよね。だから、そういうことも考慮して、この 4.13g をもうちょっと幅を持って考えていただくという、そのような考え方もできなくはないんですけども、その考え方をここに当てはめていいのかどうかはちょっとわからない。

〇〇〇 組換えの後代種に関しては、こういう栄養改変型のものは自由にしていいということではなくて、また出てくるわけですね。だから、そういう意味ではそこでチェックは可能になる。

〇〇〇 従来から既にある品種でも、のぼらつきは実際にはすごくあると思います。

〇〇〇 組換えと組換え以外はフリーですね。

〇〇〇 ええ。今ある品種の幅が実際には非常に幅広であるわけですね。ですので、そのどのあたりの品種を使うかによっては、ずれることは想定されるので。

〇〇〇 結局、もうちょっと安全側に立って考察なり評価をやってくださいと、そういうことでよろしいですか。

〇〇〇 今の考察として、それはそれで全くいいと思うんですが、前に一番最初に高オレイン酸ダイズが出てきたときに、議論の一つは、オレイン酸が増えたときにリノール酸が減るとかっていう問題じゃなくて、これはつくり方の問題で、本来だったら例えばミューテーションが起こる。で、発現量が減る。結果として同じものができる。安全性の判断のときにそういう側面もあったんですね、もともと。だから、比較対象が当時は油というものを使わないでダイズだったんだけど、ダイズの中でもミュータントがもしあるとしたら同じことが起こり得るので、ダイズと比較できますねという議論を実は一番最初のときにしていて、そうすると、だから高オレイン酸で低リノール酸だから安全性どうこうという以前の問題として、そういうことがまず先にありきだと。その上で、だから油の組成をいろいろ変えていったときの油の平均的な摂り方に対してどうかっていうのは、多分この組換えの問題というよりも、油は本来どうとるべきかという、もっともって栄養学的な側面が先にありきで。そうしないと、要するにこればかりを使ったらだめよという言い方があり得るのかと。いや、それは他のものからリノール酸をとればいいんでしょうという話ではないかと思うんですね、栄養学的に言えば。だから、多分、考察はしていただくのはすごく大事で、いいんですが、出てきた考察として、じゃあ FAO が言っている量よりも下がったときにだめなのかという結論を出すところで今の判断を求められるわけですね、今度はね。だから、そこは考え方がちょっと違う部分があるのかなというふうには思うんですけども。

〇〇〇 他の先生方は御意見ありますか。

一応、これは栄養改変型なので、表示の問題が絡んできて、そこで選択の自由が残されているという点はあるかなと思いますけれども。

〇〇〇 今までの議論はわかるのですが、10 ページのところに、実際に既に商品化されている従来育種法により開発された低リノレン酸産生ダイズの掛け合わせも予定されていると書いてありますが、この場合は従来育種でやっているから、当然規制の対象にはならないと思うんですね、さらに掛け合わせたときに。こういうときの表示というのがどのような形になっていくかというのがよくわからないですね。あくまで掛け合わせで、こちらの MON87705、これに係るところのみの表示になっていくということかと思うのです

が、そうであるとする、実際の表示とちょっと乖離してしまうところがあるのかと思わざるを得ないのですが。

〇〇〇 表示の問題はこの専門調査会ではないのですけれども、そこまで考えて我々は安全性評価をやった方がいいという話がありますね。一応、表示が出るということは、消費者の皆様になんらかの情報は発信できるということですから、何らかの栄養学的な変化があるということは認識してもらえるのですが。量的に 2 倍になっているかもしれないとか、そういうことまではわからないわけですね、将来の組換えがいろいろと起こってしまうと。

〇〇〇 ただ、少なくともこういう形での掛け合わせを予定しているのですしたら、そこで予見される成分の変化というものも加味した上で、先ほどの議論にありましたような評価をしていただいた方がいいのかと思います。

〇〇〇 おっしゃるとおりです。

他によろしいでしょうか。

〇〇〇 86 ページ目のところに、下記 18 項目については定量できなかったのを外しましたというふうに書いてある中に、恐らく基質特異性から考えると変動するであろうと大きく予想されるものがリストアップされてまして、分析法が進歩していますので、その進歩した分析法を使えば、ここら辺はきちんと定量できて、差が出てきてしまうものも含まれている可能性が非常に高いところを、さてどうしたものかなど。

とりあえず、基質特異性をある程度示した論文はありましたので、それに基づいて、少なくともこういう脂肪酸に関してはどうかという議論はしていただきたい。もう一回きちんとはかるかどうかというのはちょっとあるんですけども、その基質特異性から鑑みてこういう脂肪酸は変動した場合にどうかということは議論は少なくともしていただきたいというふうには思います。ここでいくと、17:1 とかは絶対増えていますので。あと、分析法がよければ 19:1 も出てくるはずですので、そういったものですね。全くここで定量できなかったからポイというわけではちょっと困るかなというふうに思います。

〇〇〇 それは指摘としてはどうしましょう。少なくとも 17:1 と。定量限界の値があって、その値以下の場合に、あんまりセーフティーの点から意味がないのであれば、そこ以上求めなくてもいいのかと思いますが。それで、定量限界の値自身がリーズナブルで、いいかどうかの判断もできますので、それも込みで書いていただきましょうか。それからあと、代謝が変化する可能性があるものに関して、考察を追加していただくと。

他によろしいでしょうか。

あと、脂肪酸以外で変化する可能性のある候補物質はこの系ではないとしてよろしいですね。

あと、アレルギーの点は問題ありますか。

〇〇〇 アレルギーの問題を考えると、いわゆる主要なアレルゲンなどがこういった非特異的な影響という中で変動するかという、可能性はあるかどうかということなんですけ

れども、本当は主要なアレルゲンについては non-GM と GM で比較しておいてもらうというのがよいと思うんですが、今までそういうことをやってきてないと思うんですね。そういうタンパク質の変動があるかもしれないということを示唆するようなデータでもないので、そこまでは言えないのかなという感じはします。

〇〇〇 わかりました。他に御意見よろしいでしょうか。

それでは、大分御意見ちょうだいいたしましたので、先生方からいただきました意見、それから確認事項を指摘事項案として取りまとめて、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えます。

それでは、一応、飼料の方にはいけませんし、これで議題 1 については終わりたいと思えます。

議題 2 のその他でありますけれども、事務局から何かございますでしょうか。

〇〇〇 特にございません。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、以上をもちまして、第 97 回遺伝子組換え食品等専門調査会を閉会いたします。

ありがとうございました。