

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第106回会合議事録

1. 日時 平成24年7月25日（水） 9：58～12：22

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

- ・PHE1213株を利用した生産されたL-フェニルアラニン
- ・アミロペクチンジャガイモAM04-1020系統

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、五十君専門委員、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、澁谷専門委員、手島専門委員、中島専門委員、飯専門委員、  
和久井専門委員

(食品安全委員会委員)

熊谷委員長、佐藤委員、山添委員、三森委員、村田委員

(事務局)

栗本事務局長、本郷事務局次長、坂本評価課長、前田評価調整官、北村課長補佐、  
小倉係員、松井技術参与

5. 配布資料

資料1 食品健康影響評価に関する資料

- ①PHE1213株を利用した生産されたL-フェニルアラニン
- ②アミロペクチンジャガイモAM04-1020系統（食品）
- ③アミロペクチンジャガイモAM04-1020系統（飼料）

参考資料 安全性評価に係る指摘事項

PHE1213株を利用して生産されたL-フェニルアラニン

## 6. 議事内容

○澤田座長 少し早めですが、ただいまから第 106 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。

本日の議題であります、継続審議品目である PHE1213 株を利用して生産された L-フェニルアラニン、それから新規の品目でありますアミロペクチンジャガイモ AM04-1020 系統、以上 2 つの安全性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事務局からお願いします。

○北村課長補佐 資料の確認をさせていただく前に、7 月 1 日付で食品安全委員会の委員の改選がございましたので、その御報告をさせていただきます。

まず、委員長といたしまして熊谷進委員が選任されておりますので、御紹介いたします。

○熊谷委員 熊谷です。よろしくお願いいたします。

○北村課長補佐 佐藤洋委員でございます。

○佐藤委員 佐藤でございます。どうぞよろしくお願いいたします。

○北村課長補佐 山添康委員でございます。

○山添委員 山添でございます。よろしくどうぞお願いします。

○北村課長補佐 三森国敏委員でございます。

○三森委員 三森でございます。よろしくお願いいたします。

○北村課長補佐 再任されました村田容常委員でございます。

○村田委員 村田でございます。よろしくお願いいたします。

○北村課長補佐 このほか、本日は御欠席ですが、上安平冽子委員、石井克枝委員が就任されています。

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 1 としまして食品健康影響評価に関する資料、参考資料といたしまして安全性評価に係る指摘事項、その他、机上配布としまして L-αチロシンの食経験に関する追加情報がございます。

なお、これら以外の参考資料につきましては、ファイルに綴じまして委員の皆さんの机の上に置かせていただいております。本ファイルについては、調査会終了後、回収させていただきます、次回また配布いたします。

不足等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、事務局から「食品安全委員会における調査審議方法について」に基づき必要となる専門委員の調査審議等への参加に関する事項について、御報告をお願いします。

○北村課長補佐 本日の議事に関する専門委員の調査審議等への参加に関する事項につきまして、御報告いたします。

本日の議事に関しましては、専門委員の先生方からいただきました確認書を確認いたしましたところ、平成 15 年 10 月 2 日委員会決定の 2 の (1) に規定する「調査審議等に参加しないこととなる事由」に該当する専門委員はいらっしゃいませんでした。

○澤田座長 既に提出いただいている確認書について、相違等ございませんでしょうか。それでは早速、議題 1 に入らせていただきます。

まず、PHE1213 株を利用して生産された L-フェニルアラニンについての審議に入ります。

この品目は、今年 5 月の専門調査会において審議を行いまして、指摘事項が出されたものであります。

指摘事項に対する回答について、事務局から御説明をお願いします。

○北村課長補佐 御説明いたします。

お手元のフェニルアラニンのファイルをお願いいたします。

1 ページからが回答になります。

まず指摘事項 1 でございますが、相同組換えにより最終的に宿主ゲノムに残存する配列に関する情報について、資料に記載することという指摘になってございます。回答が 1 ページの下に書いてございまして、最終的に L-フェニルアラニン生産菌 PHE1213 株染色体上には大腸菌由来の変異型遺伝子●●●及び大腸菌由来の変異型プロモーター●●●が残存するというところでございます。配列については、添付資料にありますように●●●の●●●塩基で、塩基配列は下の図 1 に書かれている通りでございます。

相同組換えに用いるプラスミドでは、この前に制限酵素●●●認識配列が、後ろに制限酵素●●●認識配列がありますが、これらの制限酵素認識配列は大腸菌染色体 DNA に存在する配列を利用しているということでございます。

2 ページでございます。

これについて概説書、添付資料の修正をしたという記載がございます。

次に、指摘事項 2 ですが、●●●製品、●●●製品の HPLC-2 法による分析において、従来品には存在しない不純物のピークが検出されていることから、この成分を同定して、安全性について説明してくださいという指摘になってございます。

詳しい説明は、その後の資料になりますが、不純物につきましては、L- $\sigma$ チロシンと同定されてございます。

3 ページからが詳しい説明になります。

これは補足資料 3 として後ろのほうに添付されているものでございますが、HPLC 法-2 によって不純物が検出され、LC-MS によって分子量を決定してございます。一番下のパラグラフになりますが、MS 分析の結果、本不純物の分子量は 181 でしたが、L-チロシンからは 182 のほかに●●●が検出されることから、これと類似した構造を持つことが推定されてございます。この不純物についてはヒドロキシ基が L-フェニルアラニンの *p*-の位以外の位置に入った構造異性体と推定されてございます。

これにつきましては、4 ページの図 2、図 3 に構造等が記載されてございます。

5 ページに参ります。LC-MS により構造の解析がされてございます。

チロシンの構造異性体としまして *m*-チロシン及び *o*-チロシンが考えられたため、L-フェニルアラニン製品と試薬 DL-*o*-チロシンまたは DL-*m*-チロシンを混合して、LC-MS にかけて分析が行われております。その結果、DL-*o*-チロシンとこの不純物の保持時間が一致し、DL-*m*-チロシンとは一致しなかったことから、この不純物については D-*o*-チロシンまたは L-*o*-チロシンであると推定されてございます。

図 4 にその結果が示されてございます。

6 ページに、立体配置の決定がされております。

光学異性体分離用カラムを用いて *o*-チロシンの立体配置を決定してございます。その結果、L-*o*-チロシンと同じ保持時間で検出されたということでございます。

7 ページ、最後に、LC-MS を用いて L-フェニルアラニン製品、これは●●●品及び●●●品でございますが、それと本不純物の分取物を分析して、L-*o*-チロシンと比較されてございます。LC 分析において L-フェニルアラニン製品の不純物とこの不純物と L-*o*-チロシンの保持時間が同じであることが確認されてございます。すべてで同じフラグメントパターンが得られたという結果になってございます。

8 ページ以降は、L-*o*-チロシンの安全性について説明されてございます。

まず、情報調査におきましては、L-*o*-チロシンが毒性を示すとの情報は得られてございません。

L-*o*-チロシンは L-チロシンの構造異性体でございまして、金属触媒やヒドロキシラジカル等の存在下で L-フェニルアラニンの芳香環の *o*-位に水酸基が導入されているものでございます。これはヒトの血漿中に含まれていることや、生体内での酸化反応に関わることから、加齢とともに皮膚コラーゲン中の L-*o*-チロシンの含量が増加するという報告もあります。また、食品  $\gamma$  線照射の際にタンパク質中の L-フェニルアラニンが酸化され L-*o*-チロシンが生じることが知られておりますが、未照射の一般食品にも L-*o*-チロシンが含まれているとの情報があるということです。

食経験の説明になりますが、9 ページの表 1 に示されておりますように、鶏肉、豚肉、牛肉、マグロ、エビ、イチゴ等の食品にも含まれているという報告がございまして。

9 ページの 2) 一般食品と食品添加物 L-フェニルアラニン含有スポーツドリンク、それに由来する L-*o*-チロシンの摂取量が比較されてございます。各食品素材中の L-*o*-チロシン含量と食品素材の 1 日摂取量から食事由来する L-*o*-チロシンの 1 日摂取量の見積もりがされております。その結果が 10 ページの表 2 になります。

この見積もりにつきましては、国内に流通した各食材が国民に均一に行き渡ったとして算出されておまして、この結果によりまして、65  $\mu\text{g}$ /日/人となってございます。

フェニルアラニンにつきましては、特別な商品にしか使われておりませんので、申請者による特定のスポーツドリンクに使われているという情報から、このスポーツドリンクに

換算して比較されております。ただ、1パラ目の最後に「L-フェニルアラニンを 150 mg 含む市販スポーツドリンク (L- $\sigma$ -チロシン含量 1.5  $\mu$ g/●●● ml)」という記載がありますが、150 mg の L-フェニルアラニンを含む●●● ml のスポーツドリンクは存在しておらず、1本が●●●ミリのものが正しいということですので、ここは修正させていただきます。

先ほどの文献調査の結果でございますが、溶媒抽出すると高めに測定されている可能性があることから、豚肉、牛肉も鶏肉と同じ量のチロシンを含むと仮定して、さらに計算がされておりますが、その結果、市販スポーツドリンク●●●本分に相当する量であったという計算もされております。

また、加工食品中にも含まれているという情報があるということでございます。

結論ですが、L- $\sigma$ -チロシンはフェニルアラニンの酸化によって生じるヒト生体内物質であり、有害性を示唆する情報は検索されなかった。L- $\sigma$ -チロシンは広くタンパク質の豊富な食品素材を中心として肉類、マグロ、エビ、イチゴ等にも含有されておまして、食生活の中で多くの食経験があると考えられたということでございます。

また、スポーツドリンクに換算すると、食事由来の L- $\sigma$ -チロシンの 1 日摂取量は●●●●本に相当するということが説明されてございます。

机上に「L- $\sigma$ -チロシンの食経験に関する追加情報」という資料を配布させていただいておりますが、先ほど御説明しましたように、抽出溶媒をすると  $\sigma$ -チロシンの含有量が高く見積られる可能性があることから、申請者において任意のサンプルを入手して分析を行った結果がこの資料になります。

結論としましては、150 mg を含む市販のスポーツドリンク●●●●本分に相当するという結果になっておりますので、参考までに御紹介いたします。

指摘 2 への回答は以上になります。

11 ページに参りまして、指摘 3 でございますが、L-フェニルアラニンの製造方法の粗精製工程について、pH、ろ過の条件を記載することと、デカンテーションについて適切な記載に修正することという指摘になってございます。

記載されておりますように、殺菌時の pH は●●●、ろ過には●●●を使用していること、デカンテーションについては菌体を凝集・沈降させて上清と分離する方法との解説を加え、上清を回収し、菌体を除去するという説明が加わってございます。

下が申請書内の修正前、修正後の記載でございます。

12 ページに参りまして、その他の修正事項になります。

添付資料 2、補足 1、補足 2 の不純物の分析において「標準品」のクロマトが添付されていたのですが、その標準品に関する情報を追加してくださいという指摘になってございます。

こちらで用いました標準品につきましては当該製品ですが、関東化学社製の L-フェニルアラニンと赤外吸収スペクトルのパターン的一致を確認したものであるという説明でござ

ざいます。

13 ページに参りまして、その標準品として用いたものについては食品添加物の規格にも適合しているという説明がされてございます。

その他、もう一点プラスミドの記載の修正がございます。

次のタグになりますが、その他の修正事項が幾つかございまして、それに関する報告が添付されてございます。

○澤田座長 指摘事項に対する回答について、項目ごとに先生方から御意見をいただきたいと思ひます。

まず、指摘事項 1 はゲノムに組み込まれて残っている配列に関する情報ですが、これは児玉先生でしたか。

○児玉専門委員 この部分が残るのは前の説明書からもわかってはいたのですが、添付されている図 1 の黒字のところの由来がわからなかったので、その点を聞きたくて質問しました。その点については結局回答されていないのですが、一応アミノ酸になるかどうかと、簡単なブラスト検索ぐらいはやってみたところ、特段危険性のあるような配列とか、危険性の考えられるようなアミノ酸にはならないようですので、配列もそんなに長くないし、危険性には特段つながらないと判断していいのではないかと考えています。

○澤田座長 いただいた回答でよろしいですか。

○児玉専門委員 まあ、よしとしていいのではないかとと思ひます。

○澤田座長 それでは指摘事項 2、これが一番問題になった点で、従来品にない不純物のピークがあるので、これを同定して安全性を確認しろという指摘でした。これはいろいろな先生方から御指摘いただいたのですが、まず澁谷先生。

○澁谷専門委員 同定してほしいということで、非常にきちっとやっけていただいていると思ひます。光学異性までやっけてるので、疑いなく同定できていると思ひます。

○澤田座長 他の先生方は、いかがでしょうか。同定は間違いないかなと思ひますが、安全性に関して、スポーツドリンク何本分という話がありました。

他にコメントよろしいでしょうか。

それでは、指摘事項 3 に移ります。

殺菌のための pH 及びろ過に関する条件等の記載、それからデカンテーションをどうやっけてるのかということで、五十君先生と澁谷先生でしたか。

○五十君専門委員 生菌が残る可能性があるという点を一番重要なポイントとして質問させていただいたのですが、はっきりとフィルターのポアサイズまで書いていただいて、この工程なら除かれるだろうと予測できるので、問題ないと理解しました。

○澁谷専門委員 私も結構だと思ひます。

○澤田座長 他に記載事項が何件かございしましたが、全般的によろしいでしょうか。何か追加がありましたら願ひします。

それでは、本件につきましては特に安全上の問題はないということでありまますので、引

き続き評価書案の審議に入ります。

事務局から説明をお願いします。

○北村課長補佐 それでは、資料 1 をお願いいたします。

1 ページからが、PHE1213 株を利用して生産されたフェニルアラニンの評価書案になります。

4 ページから御説明いたします。

まず、評価対象添加物の概要になります。

名称、用途、申請者、開発者につきましては、記載のとおりでございます。

30 行目からですが、本添加物は L-フェニルアラニンの生産性を高めるため、*Escherichia coli* ATCC13281 株由来の変異株である PHE3140 株を宿主として、L-フェニルアラニンの生合成に関与する遺伝子の変異導入及び L-フェニルアラニンの生合成に関与する遺伝子のプロモーターの変異導入を行った PHE1213 株を利用した生産された L-フェニルアラニンである。L-フェニルアラニンは、食品添加物として指定され、成分規格が食品添加物公定書に記載されている。PHE1213 株の宿主が由来する ATCC13281 株は、ATCC におけるバイオセーフティレベル 1 に分類されており、毒性や病原性についての報告はない。

また、PHE1213 株は抗生物質耐性マーカー遺伝子を有さない。

40 行目からが、食品健康影響評価になります。

1. といたしまして、本添加物は、製造工程において使用微生物及び発酵副生成物が除去され、晶析により結晶として高度に精製されており、食品添加物公定書の含量規格を満たしている。

45 行目から、2. 本添加物の非有効成分については、最終製品において、(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) アミノ酸分析及び HPLC 法による分析の結果、従来品に存在しない不純物である L- $\sigma$ -チロシン (約 0.001%) が検出された。(4) L- $\sigma$ -チロシンは、L-フェニルアラニンの酸化によって生じるヒト生体内物質であり、肉類、魚介類等に含まれているとの報告があることから、十分な食経験があると考えられる。また、申請品からの摂取量は、通常の商品からの一日推定摂取量を上回るものではないという記載にしております。

55 行目からですが (1) から (4) 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。

59 行目から、3. 以上、1 及び 2 の結果から、本添加物については、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」の附則「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」に基づき、安全性が確認したと判断した。したがって、本添加物については、本則による評価は必要ないと判断したという記載にしております。

○澤田座長 ただいまの評価書案に関しまして、コメントをいただきたいと思います。

なお、細かい字句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きたいと思います。

短いので、全体を一括でお願いします。よろしいでしょうか。

○山添委員 私、これは今日が初めてなのでよくわかっていないかもしれませんが、4 ページの 48 行目に「従来品に存在しない不純物」と書かれているのですが、先ほどからお伺いしていると●●●と●●●からも、実はピークが小さいものが出ているのですよね。ですから、従来は検出されていなかったかもしれないが、従来品にあったと考えてもいいのかなという気もしたのですが、その辺はいかがでしょうか。

○澤田座長 問題は、非組換えで出ているか出ていないかですね。

○北村課長補佐 ●●●と●●●のものについては、今回の組換えのものでございます。今回のものについては 3 つの工場で精製しております、組換えのものなので、従来品には存在しない不純物が新しく検出されたということです。

○澤田座長 たしか非組換えでは出ていなかったのですね。それで、従来品というのは非組換えという意味です。

○山添委員 わかりました。

○澤田座長 他によろしいでしょうか。

それでは、このままの形で食品安全委員会に御報告しまして、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、次に移ります。

今度はアミロペクチンジャガイモ AM04-1020 系統についてです。

事務局から御説明をお願いします。

○北村課長補佐 ピンクのファイルになりますが、アミロペクチンジャガイモ AM04-1020 系統のファイルをお手元をお願いいたします。

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

このジャガイモは、塊茎中のアミロース合成を抑制して、それに伴いアミロペクチン含有量が増加するというものでございます。

8 ページに参りまして、宿主及び導入 DNA に関する事項になります。

宿主は、ナス科ナス属に属するジャガイモのヨーロッパにおけるデンプン加工用品種 **Kuras** でございます。

DNA 供与体についてでございますが、デンプン顆粒結合型デンプン合成酵素遺伝子（以下、*gbss* 遺伝子とする）の DNA 供与体は、ジャガイモでございます。

改変アセトヒドロキシ酸合成酵素遺伝子（以下、*csr1-2* 遺伝子とする）の DNA 供与体は、シロイヌナズナでございます。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法です。

本系統には *gbss* 遺伝子の一部領域をセンス鎖及びアンチセンス鎖として、互いに逆方向となるように配置した逆方向反復配列構造を有する配列が導入されています。通常のジャガイモにおきましては *gbss* 遺伝子がコードするデンプン顆粒結合型デンプン合成酵素、GBSS タンパク質によって、ADP グルコースからアミロースが合成されます。本系統では、この RNAi *gbss* 450 によりジャガイモの *gbss* 遺伝子の転写産物である mRNA を分解し、GBSS タンパク質の発現を抑制することになります。

また、選抜マーカーとして導入された *csr1-2* 遺伝子は、アセトヒドロキシ酸合成酵素とも (ALS) をコードしておりまして、その遺伝子産物である AHAS タンパク質のアミノ酸に一部置換がございました。

これらの遺伝子を含む導入用プラスミドが、アグロバクテリウム法により宿主のゲノムに導入されています。

宿主の食経験がございます。

原産地はアンデス高原地帯でございまして、コロンブスの新大陸発見以降、世界各地に伝わりました。日本では、江戸時代には日本各地において作物として栽培されるようになったということがございます。

9 ページでございます。

3 番の少し上にジャガイモデンプンの輸入量についての記載がございます。輸入量は約 1 万トンで、オランダ、デンマーク、ドイツからの輸入量が大部分を占めているという情報がございます。

3 番、宿主由来の食品の構成成分等に関する事項になります。

(1) ジャガイモの可食部分の栄養成分等の構成成分分析表が 10 ページ、11 ページにございます。

宿主に含まれる毒性物質・栄養阻害物質等でございますが、毒性物質としましてはグリコアルカロイドが知られておりまして、チャニン、ソラニン等があげられます。栄養阻害物質としましてはプロテアーゼインヒビターが知られておりまして、トリプシンやキモトリプシン等のプロテアーゼ活性を阻害する数種類のプロテアーゼインヒビターが含まれているということがございます。

この量につきましても 10 ページの表 1 に記載されてございます。

12 ページ、宿主と組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項です。収穫時期、貯蔵方法、摂取（可食）部位、摂取量、調理及び加工方法につきましては、デンプン加工用ジャガイモと相違ございません。

5 番ですが、宿主以外のものは比較対象とはしてございません。

6 番、安全性評価において検討が必要とされる相違点につきましては、*gbss*-RNAi カセットの導入によりジャガイモ塊茎中のアミロース合成が抑制され、それに伴ってアミロペクチンの含有量が増加いたします。

また、*csr1-2* 遺伝子カセットにより改変 AHAS タンパク質が発現しまして、イミダゾ

リノン系除草剤に耐性を示すこととなります。

以上によりまして、比較対象となり得る宿主が存在すると判断されてございます。

14 ページに参りまして、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。

本系統につきましては、EU 加盟国において商業栽培を予定しておりまして、日本にはデンプンの形態で輸入される予定になっているということでございます。

ジャガイモについては品種によって生食用、デンプン加工用、ポテトチップス等の加工食品用等、さまざまな用途に用いられます。

従来のジャガイモデンプンには、分子構造及び物理化学的性質の異なるアミロペクチン及びアミロースの 2 種類のデンプンが含まれております。アミロースについては不安定で老化しやすくアミロペクチンの機能を阻害しますが、この 2 種のデンプンの分離・精製には複雑な処理を必要とするためコストがかかります。本系統は、アミロペクチン含量を高めたデンプンになりますので、複雑な処理工程を簡素化することが可能になるということでございます。

15 ページに参りまして、第 3、宿主に関する事項です。

宿主は、ジャガイモのデンプン加工用品種 **Kuras** です。

2 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項ですが、2 パラ目で、現在、世界各地において栽培されているのは 4 倍体のものがございます。その起源種についてはアンデス高原において分化して、7,000 年前から栽培されているということでございます。

3 有害生理活性物質の生産に関する事項でございます。

先ほどもございましたように、グリコアロカロイド及びプロテアーゼインヒビター等の有害生理活性物質を含んでおります。

4 アレルギー誘発性でございますが、ジャガイモにはパタチン及びパタチンファミリー、プロフィリン様タンパク質、ダイズトリプシンインヒビターファミリーの 3 グループ、計 11 種のアレルゲンを含むことが知られております。

5 番でございますが、ジャガイモには多数の病害が発生することが知られておりまして、細菌、糸状菌、ウイルスのジャガイモへの感染が確認されてございますが、ジャガイモに感染するいずれの病害もヒトの病原体となることは知られておりません。

6 安全な摂取に関する事項でございますが、ジャガイモは古来より食経験がございます。プロテアーゼインヒビター等の栄養阻害物質を含みますが、加工または調理段階において適切な加熱処理を行うことにより不活性化することができるということでございます。

7 近縁の植物種に関する事項でございますが、近縁の野生種としましてズルカマラ及びイヌホオズキが知られており、これにはジャガイモと同様な有害生理活性物質が含まれていると考えられます。ジャガイモと近縁の野生種との自然交配の可能性は極めて低いが、交雑したとしても自然条件下で生存する種子は得られないことが報告されております。

17 ページは、第 4、ベクターに関する事項になります。

導入用プラスミドはプラスミド pPZP200 を基本骨格として作成されてございます。

その性質に関する事項になりますが、このプラスミドの塩基配列は明らかとなっております。

制限酵素による切断地図についても、明らかになってございます。

既知の有害な塩基配列は含まれておりません。

薬剤耐性遺伝子に関する事項ですが、ストレプトマイシン及びスペクチノマイシン耐性を付与するアデニル酸転移酵素遺伝子 *aadA* 遺伝子が含まれております。これは選抜マーカーとして用いられてございます。

伝達性を可能とする塩基配列は、含まれておりません。

17 ページの図 1 にマップが記載されております。

18 ページに参りまして、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。

1 番の (1) *gbss* 遺伝子の DNA 供与体は、ジャガイモです。

*csr1-2* 遺伝子の DNA 供与体は、シロイヌナズナでございます。

(2) 安全性に関する事項です。

ジャガイモは古くから食用に供されております。

*csr1-2* 遺伝子の DNA 供与体でありますシロイヌナズナについては、ヒトに対する病原性及び毒素産生性を示す報告はございません。

2 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す。

まず、*gbss*-RNAi カセットの構築方法になります。

ジャガイモの *gbss* 遺伝子から RNAi*gbss*450 及び *gbss* スペーサーがつけられております。このスペーサーの両端に RNAi*gbss*450 をそれぞれセンス鎖、アンチセンス鎖として付加し、それをプロモーター、ターミネーターの間に挿入し、*gbss*-RNAi カセットが作成されております。

次に、*csr1-2* 遺伝子カセットの構築方法です。

シロイヌナズナからクローニングされた *csr1-2* 遺伝子は、アミノ酸の一部が改変された改変 AHAS タンパク質を発現する遺伝子でありまして、この遺伝子にプロモーター、ターミネーターを付加した合成物質が *csr1-2* カセットとなります。

19 ページ、塩基数、塩基配列、制限酵素に関する切断地図に関する事項です。

挿入 DNA 領域の塩基数、塩基配列、切断酵素地図は明らかになってございまして、切断地図については 25 ページの図 4 に示されているとおりです。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項です。

20 ページの図 2 に作用機構の図がありますが、*gbss* 遺伝子は GBSS タンパク質をコードするもので、このタンパク質はアミロプラスト内でデンプン生合成の ADP グルコースからアミロースを合成する経路を触媒いたします。一方、20 ページの図 2 の下の図になりますが、本系統では *gbss*-RNAi カセット中の RNAi*gbss*450 の転写産物により、標的

であるジャガイモの *gbss* 遺伝子の転写産物であります mRNA が分解されるということで、GBSS タンパク質の発現が抑制されます。その結果、ジャガイモ塊茎中のアミロースの合成が抑制されまして、それに伴ってアミロペクチンの含有量が増加するというものがございます。

*csr1-2* 遺伝子の機能につきましては、選抜マーカーとして利用されているものがございますが、改変 AHAS タンパク質をコードいたします。AHAS タンパク質は植物、微生物に含まれる生存に必須の酵素でありまして、基質特異性が高く、分岐アミノ酸合成の第 1 段階を触媒いたします。イミダゾリノン系除草剤は、AHAS タンパク質の酵素機能を阻害しまして、イミダゾリノン系除草剤が散布されると分岐鎖アミノ酸が欠乏して植物が生育できなくなります。一方、改変 AHAS タンパク質を発現する植物では、この除草剤による影響を受けることがなく、正常に生育できます。

(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項です。

導入用プラスミドには *aadA* 遺伝子が含まれておりますが、ジャガイモに導入した挿入 DNA 領域には含まれておりません。

21 ページに参りまして、3 挿入遺伝子等の発現に関わる領域に関する事項です。

(1) プロモーターでございますが、*gbss*-RNAi カセットのプロモーターは、ジャガイモの *gbss* プロモーターです。

*csr1-2* 遺伝子のカセットのプロモーターは、アグロバクテリウム由来の *nos* プロモーターになります。ターミネーターについては、いずれもアグロバクテリウム由来の *nos* ターミネーターになります。

その他、挿入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列は、含まれておりません。

4、ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項ですが、記載のとおりになります。

23 ページの図 3 に図がございまして、●●●RB と LB 位置が入れかわっております。

24 ページに参りまして、発現ベクターに関する事項になります。

導入用プラスミドの塩基数、切断地図、塩基配列は明らかになってございまして、切断地図については 25 ページの図 4 に記載のとおりです。

また、オープンリーディングフレームにつきましては、改変 AHAS タンパク質以外のタンパク質を発現するオープンリーディングフレームは含まれておりません。

意図する挿入領域は、導入用プラスミドの RB から LB までの挿入 DNA 領域になります。

純化については、すべて純化されており、目的外の遺伝子の混入はございません。

25 ページが図 4 になります。

26 ページは、表 2、導入用プラスミドの構成要素の由来及び機能になります。

27 ページに参りまして、導入方法及び交配に関する事項です。

導入方法につきましては、アグロバクテリウム法を用いております。

選抜及び増殖方法については、イミダゾリノン系除草剤選抜及び PCR 分析により、

*gbss*-RNAi カセットを 1 コピー含む葉切片由来の植物体を 1 個体選抜しておりました、その植物体から微小塊茎を作出し、アミロース含有量を測定してございます。アミロペクチンの含有量が増加したことを確認し、AM04-1020 系統としてございます。この塊茎から増殖し、安全性評価等に供試しております。この系統は栄養繁殖によって増殖するので、すべて形質転換体当代でございます。

28 ページの図 5 が導入及び選抜方法のフロー図になります。

29 ページが第 6 組換え体に関する事項になります。

1 遺伝子導入に関する事項の (1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項です。

コピー数を確認するためにサザンブロット分析が行われております。対照品種は宿主であります *Kuras* になります。サザンブロット分析のプローブの位置、推定及び観察されたバンドサイズ等については、31 ページの表 3 にそれぞれ記載されてございます。また、30 ページには制限酵素切断部位等の図が示されてございます。

先ほども申しましたように、栄養繁殖によって増殖するためすべて形質転換体当代になりまして、その当代を第 1 世代、それから栄養繁殖した植物体を栄養繁殖第 2 世代、同様に、第 2 世代から栄養繁殖した植物体を第 3 世代と呼んでおります。

コピー数につきましては、32 ページの図 7、33 ページの図 8、34 ページの図 9 に示されておりますように、それぞれ *gbss* プローブと *nos* プローブ、*csr1-2* プローブを用いて分析が行われております。

その結果、*gbss*-RNAi カセット及び *csr1-2* 遺伝子カセットを含む挿入 DNA 領域が 1 コピー組み込まれていることが確認されております。栄養繁殖の第 2・第 3 世代においても同様であることが確認されてございます。

35 ページに参りまして、外骨格領域の不在についても確認されております。

36 ページの図 10、37 ページの図 11 にサザンブロット分析の結果が示されてございまして、結果としまして、外骨格領域は挿入されていないことが確認されてございます。

38 ページ、挿入 DNA の構造解析になります。

挿入された挿入 DNA 領域のシーケンス解析が行われておりました、導入プラスミド pAP4 の挿入 DNA 領域の塩基配列と比較した結果、RB の 5'末端側 105 bp と、*csr1-2* カセットに含まれる *nos* ターミネーターの 3'末端側 38 bp 及び LB の 215 bp を含む 288 bp が挿入されていませんでした。それ以外の配列につきましては一致しまして、挿入されました DNA 領域の長さは 5,212 bp であったということでございます。

次が、近傍配列の解析になります。

挿入 DNA 領域 5,212 bp と 5'末端近傍配列 1,112 bp 及び 3'末端の近傍配列 2,444 bp についてシーケンス解析が行われております。

まず、近傍配列がジャガイモゲノムであることを確認するために、5'末端の 1,076 bp 及び 3'末端の 1,090 bp の BLASTN 及び BLASTX 検索が行われております。

ジャガイモにつきましては基本の染色体数が 12 本でありまして、2 倍体から 6 倍体の

ものが自然状態で存在しますが、現在、世界で一般的に栽培されているジャガイモについては4倍体だということであります。4倍体のジャガイモについてはゲノムシーケンスが困難ですので、国際プロジェクトによって2倍体のジャガイモ *S.tuberosum* RH89-039-16 と *S.tuberosum* group Phureja DM1-3 516R44 を利用してゲノムシーケンス解析が行われ、2009年にこのデータが発表されております。このデータを Genbank、EMBL、DDBJ、PDB 所有のデータベースに加え、相同性の検索を行っております。

その結果、BLASTN 検索におきまして5'末端、3'末端の近傍配列は既知のジャガイモゲノムと相同性を示しております、近傍配列はジャガイモゲノム由来であると考えられます。また、5'末端の一部はジャガイモ由来の4つの EST 配列の一部と高い相同性を示しております、すべて同じ転写産物由来でございました。これらの EST 配列の機能は同定されておられません。

3'末端の近傍配列におきましてもジャガイモ由来の4つの EST 配列の一部と高い相同性を示しております、このうち2つについては同じ転写産物由来でございました。これらの機能も同定されておられません。

BLASTX 検索においては、相同性を示します既知のジャガイモ由来のタンパク質は見い出されておられません。

39 ページは、EST 相同性検索の結果になります。

40 ページに参りまして、オープンリーディングフレームについてでございます。

挿入 DNA 配列及び近傍配列におきます2つの終止コドン間に存在する ORF の検索が行われております。

挿入 DNA 配列と5'末端、3'末端それぞれの1,000 bp について、6つの読み枠において終止コドン間に存在する連続する30アミノ酸以上の推定 ORF の検索を行ったところ、125個の ORF が検出されてございます。この ORF について、既知のタンパク質のアミノ酸配列との相同性検索が行われた結果、既知の毒性タンパク質との相同性は示されておられません。

アレルゲンにつきましては、既知のアレルゲンとの相同性検索を行っております。データベースを用いて80アミノ酸35%以上の相同性を基準とした FASTA 型アルゴリズムによる相同性検索が行われております。これにより、データベースに登録されているアレルゲンと、80アミノ酸35%以上の相同性を有していないことが明らかとなっております。

抗原決定基につきましては、8つの連続のアミノ酸との相同性の検索を行っております、既知のアレルゲンとの相同性を示す8つのアミノ酸の配列は含まれておられません。

2 遺伝子産物の発現量等に関する事項です。

gbss-RNAi カセット由来の転写産物につきましては、標的 mRNA が分解されるという知見から、41 ページに参りまして、転写産物がタンパク質に翻訳される可能性は低いと考えられることと、ORF 検索の結果から、既知の毒性タンパク質あるいはアレルゲンとの相同性はなかったという説明がされてございます。

改変 AHAS タンパク質の発現量については、各組織で分析が行われております。これはジャガイモ由来の AHAS タンパク質と区別ができないので、総 AHAS タンパク質量として測定されてございます。

試料につきましては、3カ国の3カ所のほ場で栽培したものでございまして、本系統は5個体、対照品種 Kuras については1個体のタンパク質量が測定されてございます。

その結果が43ページ、44ページになりますが、本系統における AHAS タンパク質量は、極めて低いか定量限界未満という結果になっておりまして、対照品種との間で明確な差はなかったという結果になってございます。

45ページ、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す。

こちらは改変 AHAS タンパク質のみになりますが、平成21年度の国民健康・栄養調査の報告によりますと、ジャガイモの摂取量については1日当たり26.5gとなります。改変 AHAS タンパク質が4.5 ng/g FW を含んでいると仮定しますと、この改変 AHAS タンパク質の摂取量は最大約119 ng/日となります。日本人の1日当たりのタンパク摂取量を67.8 g/日としますと、改変 AHAS タンパク質の摂取量については約 $1.8 \times 10^{-7}$ %に相当するということで、改変 AHAS タンパク質が日本人1人が1日に摂取するタンパク質量に対して有意な量を占めるとは考えにくいという結果になってございます。

4番は、アレルギー誘発性に関する事項になります。

ジャガイモにつきましては、生のジャガイモは即時型過敏反応を引き起こす熱に弱い多数のタンパク質を含んでいることが報告されております。例えばアレルギー性疾患を持つ子供は、パタチンに対してアレルギー反応を示すという知見がございまして、プロフィリンは花粉由来の交差反応を引き起こします。また、ダイズトリプシンインヒビターファミリーに属するジャガイモのタンパク質に対して、IgE抗体の産生が誘導されることが報告されてございます。

*csr1-2* 遺伝子については、アレルギー発生の報告はないということでございます。

(2) ですが、改変 AHAS タンパク質は、AHAS タンパク質の改変型であり、これまでに AHAS タンパク質がアレルギー誘発性を持つという報告はございません。

(3) 物理化学的処理に関する感受性に関する事項ですが、①は人工胃液による処理でございます。

47ページに図15がございまして、ペプシンを含むSGF中において速やかに分解されまして、反応後0.5分後以降には検出されないことが確認されてございます。

48ページ、②は人工腸液による処理になります。

こちらは49ページの図16になりますが、パンクレアチンを含むSIF中において速やかに分解されまして、0.5分後以降、検出されないことが確認されてございます。

50ページに参りまして、③加熱処理に対する事項になります。

結果としましては、100°Cで処理した場合、60分処理後も検出されているという結果になってございます。

51 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す。

既知のアレルゲンとの構造相同性につきましては、改変 AHAS タンパク質と既知のアレルゲンとの構造相同性の確認するために相同性検索が行われております。検索方法については、FARRP アレルゲンデータベースを用いて 80 アミノ酸 35%以上の相同性を基準とした FASTA 型アルゴリズムによります。その結果、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、抗原決定基につきましても確認されてございまして、既知のアレルゲンと相同性を示す連続する 8つのアミノ酸配列は含まれていないことが確認されてございます。

5 番は、遺伝子の安定性に関する事項でございます。

これは、先ほどから申しておりますように栄養繁殖によって増殖することから、すべて形質転換体当代であるため、複数世代における遺伝子の安定性については調査できません。そのため、栄養繁殖を繰り返した場合の安定性をサザンブロット分析により確認してございます。

先ほど御説明しました 40 ページに示されておりますとおり、栄養繁殖の 2 世代にわたり、総 AHAS タンパク質量は極めて低いか LOQ 未満であり、宿主との間に明確な差異は確認されておられません。

6 番は、代謝経路への影響に関する事項になります。

*gbss*-RNAi カセットにつきましては、ジャガイモの *gbss* 遺伝子の転写産物であります mRNA が分解され、GBSS タンパク質の発現が抑制されます。そのため代謝経路に影響を与える *gbss*-RNAi カセット由来の新規の遺伝子産物は産生していないと考えられるという結論になってございまして、確認はされておられません。

改変 AHAS タンパク質につきましては、52 ページになりますが、あらゆる植物、微生物に含まれます生存に必須の酵素で、基質特異性が高く、分岐鎖アミノ酸生合成の第 1 段階を触媒します。AHAS タンパク質は、2 分子のピルビン酸を縮合させアセト乳酸を生合成する経路及び 1 分子のピルビン酸を 1 分子の 2-ケト酪酸と縮合させて 2-アセト-2-ヒドロキシ酪酸を生成する経路で機能しております。

この系統では、改変 AHAS タンパク質を発現することにより、形質転換の際にイミダゾリノン系除草剤に耐性を示すことから、本除草剤による選抜が可能になるということで、選抜マーカーとして利用されております。

7 宿主との差異に関する事項です。

2007 年にスウェーデン、ドイツ、チェコの 3 カ国の野外の試験場において生産された塊茎を分析しております。また、すべて同じ試験場において生食用・加工食品用ジャガイモ 3 品目及びデンプン加工用ジャガイモ 2 品種の慣行品種 5 品種も試験に供試しております。54、55 ページの表 7 で「慣行品種」と書かれているものがこれになります。

分析につきましては、54 ページ、55 ページに項目が記載されておりますが、合計 51 品目について分析されております。

51 項目中 36 品目においては、対照品種 Kuras との間に有意差が認められておりません。残りの 15 品目については有意差がありましたが、平均値が慣行品種 5 品種の分析値の範囲であったということでございます。

また、ジャガイモの塊茎中のアミロース含量の分析が行われておりまして、対照品種の平均値が 18.9%であったのに対して本系統の平均値が 0.7%ということで、アミロース含量の減少が確認されてございます。

57 ページに参りまして、諸外国における認可、食用等に関する事項は記載のとおりです。

栽培方法、種子の製法及び管理方法に関する事項についても記載のとおりであります。

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

○澤田座長 申請書につきまして、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。

まず第 1 から第 4、17 ページのベクターに関する事項まで御意見、コメントございましたらお願いします。

○手島専門委員 今回のアミロペクチンジャガイモは、工業用のデンプンをとるためにアミロペクチンを増加させるのだと思います。そうすると、12 ページの 4 番、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の (3) 摂取量ですが、今回のジャガイモに関しては食することは余り意図していないのかと思いますが、この最後が他のジャガイモと同様であるということによろしいのかどうか。

あるいは調理及び加工方法でも、このジャガイモは工業用に使うといったところが主なのか、そのあたりがちょっと読めないのですが、この表現方法でよいのかどうか若干疑問があります。

あとは 14 ページの最後のところで「アミロペクチン含有量を高めたデンプンは、複雑な処理工程を簡素化することが可能となり、」ということですが、工業用に用いる製品についての処理工程が簡素になるということかと思しますので、その部分、つけ加えていただいたほうがわかりやすいかと思えます。

○澤田座長 3 つ御指摘をいただきました。

まず、12 ページの摂取量ですか。ここに書いてあるジャガイモの摂取量は、ジャガイモ全体ですね。ちょっとわかりにくいのですが、厳密に 2 つに分けて書くのもまた難しいので、恐らくトータルの摂取量は、ジャガイモとしては変わらないだろう。そのうちデンプンとしてとるジャガイモの割合も、そんなには変わらないのではないかと、そういう書きぶりであればいいのかなと思うのですが。

○澁谷専門委員 たしかに、12 ページと 14 ページが余り対応しないなみたいな感じはあるのですが、前からありますが、申請者が加工用に使われると言っても、やはり食べられてしまう可能性は常にあって、特にこれはアミロースを抑えているので、お米で言うとミ

ルキークイーンみたいなものなのですよ。だから、場合によってはそういう使い方をされることは否定できないので、直接食べることも前提とした評価をしていくべきなのではないかと思います。

○澤田座長 加工用と銘打っていますが、食べる可能性もある。それはいいのですが、摂取量の書きぶりとしては……。

摂取量のところは、まだよろしいですか。間違った書きぶりではないですよ。

それから調理及び加工方法のところ、今までこういう場合はどのように書いていましたか。一応は特殊な用途に使われるが、場合によっては別の用途に使われる可能性もある場合。特に明示はしていなかったような。

要は、他のジャガイモと同じように食べられる可能性があることは念頭に置いて安全性を評価しますが、この書きぶりとしてはこれで……、もし何かいい直し方があれば、後で御連絡いただければと思います。

それから、14 ページの最後の行ですね。これは、要するにデンプン加工の工程においてという意味ですね。

○手島専門委員 特に工業用、例えば紙をつくるとかそういったときにその過程をかなり簡素化できるというふうに……

○澤田座長 何か言葉を足せばよろしいですか。加工……

○北村課長補佐 もう少しわかりやすいように表現を修正していただくように。

○澤田座長 後でまた修正をお願いします。

他はよろしいでしょうか。

○佐藤委員 12 ページの摂取量の最後の書き方について、これは修文されると思いますが、最後のところに「AM04-1020 系統においても、デンプン加工用ジャガイモと相違はない」と書いてあるのはどういう意味なのですか。何に相違がないのか。ここは摂取量について書いてあるのだと思いますが。

○澤田座長 私が思うには、加工用の割合としてはそう言わないと。全体に占める加工用デンプンがありまして……、だからちょっと、何か言葉はおかしいのですが。

○佐藤委員 何が相違がないのかよくわからない。

○澤田座長 非常におかしいということであれば削除しても。特にこれはなくてもいいのですね。

○佐藤委員 12 ページの 4 の (1) から (4) まで全部最後がそういう締めになっていて、他の部分は何かわかるような気がするのですが、(3) の摂取量に関しては「相違はない」というのがどういう意味なのか読み取れないように私は思います。

○澤田座長 従来、摂取量は余り意味がなくて、使用方法は従来品と相違がない、そういうことが言いたいだけだと思うのですね。

ですから、(3) だけは削除していただいて構わないと思います。(4) のほうは残しておいてもいいのかな。

○佐藤委員 ええ、これはわかるのですが。

○澤田座長 よろしいですか。4 という項目が相違に関する事項なので、何か書かないといけないのだろうと思って書いてあると思うのですが。

○北村課長補佐 摂取量としては従来のジャガイモと変わらないという意味ではないでしょうか。

○橋田専門委員 私の理解が不足なのかと思いますので、間違っていたら御指摘いただきたいのですが、そもそも用途を分けての承認はしていないと理解しているので、工業目的であっても、混入したときにそれが食べられても問題ないと理解しているので、仮にこのジャガイモが普通の食用としてのところに入ってきて同じように利用されるという意味で、こういう記載がされているのかと理解していたのですが、そうではないのでしょうか。

○澤田座長 従来からちょっと違和感がありましたが、こういう記載でずっと通っていきまして、今回は特に、加工用と加工用ではないものがあるので余計違和感が出てきた。だから、この組換えジャガイモを導入したことで摂取量自身が大きく変わるという意味ではない、そういうふうに従来使ってきたと思うのですね。

○鎌田専門委員 この全体の規則をつくるときに、そもそも我々が、例えば同じジャガイモでも組み換えたことで何に注意しなければいけないかというのが実はここに書いてあることであって、新しい組換え品種を導入したから摂取量がすごく、例えば 10 倍増えた、それは要注意の項目である。それから同じように、加工法が劇的に変わったときには食品としての成分が変わる可能性があるので、このようにほとんど同じであることをここに記載しておいていただかないと次のステップに入れないので、こう書いてある。ほとんど変わらないと書くことが極めて重要であると私は思っている、加工用であるとかいうよりも、結局、この場合にはジャガイモ総体として圧倒的に増える等でない限りはいいでしょう、それが保証される書き方にさえなっていればどう書いてあってもいいでしょうと思っているのですが。

○澤田座長 これは、これからも直したほうがいいと思います。

だから、AM04-1020 系統が導入されてもジャガイモの摂取量には変化がない、そういうことがわかる書きぶりに変えたいと思います。

○佐藤委員 それならわかりやすいですね。

○澤田座長 これはまた皆さんに確認していただきたいと思います。

他によろしいでしょうか。

○鎌田専門委員 これも書きぶりの問題なのですが、8 ページの (3) の真ん中あたり、「二本鎖 RNA として転写され」と言われると、転写そのものが二本鎖 RNA でされることはあり得ないので、転写されてから二本鎖になるのだったら、まだそういう説明のほうがいい。ましてや「その標的であるジャガイモの *gbss* 遺伝子の転写産物である mRNA を分解し」というと二本鎖 RNA が分解すると読めてしまうし、これは本来書き方が違って、できるだけそういうサイエンスとしての書き方の間違いはないようにしてほしい。

これはここだけではなくて後ろのほうにも、多分何か所もあるので、それは通していただきたいと思います。

○澤田座長 まず一本鎖 RNA ができて、それが相補的に二本鎖になって、それがあといろいろ複雑な過程で目的とする RNA の分解が起きるということで、そこら辺はきちんと直していただくことにします。

他はよろしいでしょうか。

○五十君専門委員 12 ページの 5、宿主以外のものを比較対象に追加して用いる場合という項目で、「宿主以外のものは比較対象としていない」と言い切っているのですが、実際見ていくと、54、55 ページあたりの表が宿主との成分比較をしていて、その後に現行品種のデータを示しているようです。この辺の議論で、宿主との差が、特にグリコアルカロイドやトリプシンあたりに出てきていて、何らかの形で議論をしなくてはいけないと考え表をつくっていると思われます。宿主以外のものを比較対象としていないということでもいいのかどうか、もう一度確認しておいていただきたいと思います。

○澤田座長 従来は……、同じですね。

○鎌田専門委員 これも「宿主」と書くからいけないので、本当は「宿主植物」なのです。植物全体、同じジャガイモ全部を比較対象とするということなので、「宿主以外」ではなくて「宿主植物以外」と理解すれば一番いいかと思います。

○五十君専門委員 恐らく表現の問題で、はっきりと「以外は対象としない」と書かれてしまうとちょっと厳しいかなと思います。このあたりも検討していただければと思います。

○澤田座長 従来はこの書きぶりです。これからは「宿主植物以外」にしますか。ケース・バイ・ケースになるかもしれませんが。

他はよろしいでしょうか。

それでは、続きまして 18 ページから 28 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に関してコメント、御意見ありましたらお願いします。

○中島専門委員 20 ページにグルコースからアミロースとアミロペクチンになる系がかいてあります。この  $\alpha$ -1,4-グルカンからアミロペクチンになるところは幾つもデンプン合成酵素が関与していると思われますが、その辺の情報をもう少し詳しくいただきたいです。

理由は、これは RNAi によって GBSS の発現を止めているわけですが、相同な配列があれば関連の遺伝子も発現に影響を受ける可能性が大ですので、この RNAi の標的が GBSS だけなのかという点を明らかにしていただきたい。

また、もし他の遺伝子にも影響があるのであれば、その影響についても記述いただきたいです。

○澤田座長 私も図 2 がちょっと簡単過ぎるかなと。

まずは  $\alpha$ -1,4-グルカンからアミロペクチンに行くときに、ブランチングエンザイムみたいなものが要るわけですね。

○中島専門委員 必ず幾つもあるはずです。

○澤田座長 説明を増やしていただくのと、関連の酵素の遺伝子に RNAi が関係しているかという話ですが、それは関連だけでよろしいですか。それとも、全体でまだあるかもしれないということですか。

○澁谷専門委員 私もちよっと気になっていたのですが、RNAi はどうしても、ある程度ホモロジーがあると強弱があってもみんな消えてしまうのですよね。だから、普通論文等では他のものに影響していないということを求められるはずで、だから使ったシーケンス、これはちょっと長いみたいですが、シーケンスでデータベースや何かやってもらって、やはり特異性がどのぐらい保証できるかというのは出していただかないと。意外なところの代謝系等が影響していると、やはりまずいと思うのですね。

○澤田座長 今のお話で、ジャガイモは 4 倍体でゲノムの情報は 2 倍体でとってあるということで、だから、2 倍体の情報を相手にして相同性があるものを見つけるぐらいでよろしいですか。

○澁谷専門委員 はい。

○澤田座長 他によろしいでしょうか。

○鎌田専門委員 前回もこういう話があって、RNAi やるから似た配列がゲノム中にあつたら抑えるしれない、それを全部調べろという話になっていくと、これは変な話ですが、では関係ない遺伝子が突然変異で抑制されてもだめなのねという話につながっていくことであって、結局、ターゲットのところがきちっと目的どおりにいっていることは確認する必要がある。似ている配列があるからどうのこうのというよりは、やはり目的どおりに栄養成分が変わっているといったことが大事なのであって、要するに、関係ないところで突然変異と同じことが起こることまで安全性の審査の対象だと言い出すと、多分、審査のあり方が全部ひっくり返ってしまうので、余りそこに意図的には入らないほうがいいのではないかと私自身は思うのですが。

一般的には栄養成分等全部調べていますから、本当に健康上、考えなければいけないことが、予期せぬことが起こったとしたら、そこに出てくるはずなので、余り……。要するに似ている配列がある、本当に RNAi として抑えたかもしれないことを、多分、似ている配列があるといったら「では、データとして抑えていないか出せ」と必ずなるはずですから、そこら辺、余り突っ込み過ぎないほうがいいのではないかと。全く同じ配列が明らかにあることがわかれば別ですが。——と思うのですが。

○澁谷専門委員 難しいのは、そうなのですね。どこにスレッシュホールドを置くかとかいろいろ問題があるのはそのとおりですし、重大な問題があれば成分でもチェックできるはずだというのはあるのですが、一方で、非常に近いものがあるかないとか、そこぐらいはやはり押さえておいたほうが、やはり意図しない影響も審査するというのが基本だと思いますので。

要するに、チェックしなければいけないような、非常に近いものがあるかないとか、

あるところまではやった上で、多分必要がないといったことであればいいと思うのですが、目的としたものだけを見るというふうにしてしまうと、全体のスタンスとしてもちょっとおかしいのではないかと思います。

○澤田座長 ちょっと御意見が分かれているようですが。

○村田委員 RNAi の場合にはそのままではなくて、またチョン切れますよね。そうすると、今の場合には大体どれぐらいの大きさをイメージして、申請者としては幾つぐらいのところであればいいという感じになるのでしょうか。全部であればきっと合わないと思うのですが、短くしてやったらどこでも合ってしまう気がします。

○鎌田専門委員 RNAi はどれぐらいの長さまで可能かというのは昔かなりデータが出ていて、一番短いのは十数塩基まで。でも、十数塩基までやると、ちょうどフィットするものがたくさん出てくることになるから、ある長さをつくろうとするというふうには使われています。しかも、途中で 1 塩基に相違がある場合でも効くかどうかは配列によっても違うので、必ずしも 100% マッチでなくてもいいケースもあるので、そこら辺はもちろんグレーのところがいっぱいあるということだと思いのですね。

○澤田座長 今回は長い RNA で、どこが切れるかもよくわかっていないわけですね。だから一応、長いもので、少なくともかなり相同性が高いものがないことだけを言ってもらえばいいのかなという気がするのですが。

○鎌田専門委員 ただ、最初に議論したとおり、ジャガイモは基本的に全部 4 倍体で、ゲノム情報は 2 倍体しかなくて、しかもそれが現在の 4 倍体とどれぐらいマッチしているか、多分そのコンパレティブなデータはないので、どこまでデータを要求するかと言われたときにはなかなか難しいところかなと。しかも、本当にフルシーケンス上で問題があるかないかということなのか、今の 4 倍体だともっとゲノムは変わっているから一と言い出すと、もっと配列量がなければできないという話になってしまうという気がします。

さっきの澁谷先生の話とも競合させると、やはり GBSS として 2 コピーあるということであるならば、もちろんそれへのフィットネスは考える必要があるだろうとは思いますが。

○児玉専門委員 現時点でやれる範囲のことは一応チェックしましょうという立場でもあると思いますので、今回ステムの部分で用いた部分、400 ぐらいあったような気がしますが、そこで一応、通常の方からすると 90% ぐらいの相同性があれば抑える可能性があるということになっていますので、400 ベースぐらいの長さにわたって 90% ぐらいの相同性があるものが他にないかぐらい、現時点でわかっているものとして出すぐらいは、ブラストをかければ出てくるので、そんな大変ではないので。

実際には、ステムの部分から均一に siRNA ができてくるわけではなくて、非常に極端に、偏ってできてくるケースが多いので、それを考え出すともうシーケンスするしかなくなってしまう。そこまで求める意味はないとは思いますが、400 ベースぐらい、用いている領域にわたって 90% 以上のホモロジーがある遺伝子は、多分ほとんどないと

と思いますが、それだけを調べてもらって報告してもらうぐらいでいいのではないかと思います。

○中島専門委員 ゲノム全体としては、それで十分かと思います。だが、デンプンの生合成に関連する遺伝子でジャガイモにあると知られているものについては、もう少し詳しく調べていただきたいと思います。それについては 400 ではなくて、21 か 25 塩基でほぼドンピシャの配列があるかどうか、このくらいは精査していただきたいと思います。

○澤田座長 関連のほうですね。せいぜい対象の遺伝子 10 個ぐらいですかね。それで 2 倍体のデータで、ちょっと違うかもしれない……。

○中島専門委員 現状で、知られているものでいいと思います。

○五十君専門委員 もう一つだけいいですか。

今の考え方なのですが、今後、RNAi が結構出てきた場合に、かなり複雑な動きをすることがあるので、基本的な考え方としては「どこまで」と示せないで、「どれを検討してください」という要求の仕方は非常に難しいと思います。今回の場合は、何を調べるべきだということをはっきりとしてその根拠として何を持ってくるかを整理しておいたほうがいいと思っています。55 ページに今回の宿主と組換え体の成分の比較表があって、その中で安全性の面から、有害物質の量の変化に我々は非常に着目しているわけですが、それに相当するものとして 55 ページのグリコアルカロイドとかトリプシンインヒビター等があるわけですが、その値が宿主と明らかに有意差がついてきてしまっている。品種全体として見れば、恐らくレンジに入るといえる話にはなるかと思いますが、この辺のところ今回のはっきりしない部分に関連しているかどうかの検討に有用になるような情報を出しておいていただければいいと思いました。もちろんわからないという可能性もあるのですが、検討としては、特定の系に影響を与えるようなものが影響している、そしてこういった有意差が出ているといった議論はしていただきたいと思います。

○澤田座長 この品目に関しては、むしろ有害物質が減っている方向なのです。だからやったほうがいいという理屈は余りないと思うのですが。

○五十君専門委員 理由がわかれば解釈がすっきりすることなのですが。

○飯専門委員 今、先生方のお話を聞いていて、結論的には中島先生が言われたように、少なくとも二本鎖にした部分で 20 から 25 塩基ドンピシャは添付資料としてリストアップしてもらって、どういうものがヒットしているのかというリストの中から、例えばアルカロイド合成系を抑えるような遺伝子があればそこでつじつまが合う。少なくともそういうデータを 1 度とってもらうのがいいのかなという気がしました。

RNAi の場合、どこまで突っ込むかはケース・バイ・ケースのような気はするのですが、オフターゲット・エフェクトというのは、やはり一般的に気にはするところですから、一応検討だけはしてもらったほうがいいかなという感じを受けました。

○澤田座長 そうしましたら今回は一応データを出していただいて、それを見て、将来的にどうするかは検討したほうがいいのかなという気がします。

○鎌田専門委員 RNAi の話と今の、後ろのアルカロイド等の話がごっちゃになってしまっていて、よくないと思うのです。なぜかという、これは後で宿主ゲノムのどこに入っただうなっているかという議論が出てきますが、今回何の情報もないのです。ですから、例えばある部分で非常に大きなデリージョンが起こっている可能性ももちろんあって、そういう部分がある中で今のようなことをやってしまうと、本当に RNAi によることなのかどうかすらわからない。だが何か数字だけが、毒性物質のほうが変わっているという議論になるので、本当はそこを区別しないと、RNAi の影響だけを取り出してしまうとおかしくなってしまふと私は思っている、RNAi のシークエンスのホモロジーのデータを出す必要はないと言っているわけではありませんが、もし出したもらったときに、そこから何が言えるのかを意識しないと、多分要求する意味がなくなるので、そこを他の部分も含めて、我々はデータとして何が欲しいのかを意識した要求の仕方をしたほうがいいと思います。

○澤田座長 基本的には、相同性検索をして安全性に懸念があるようなものが引っかかってこない、それさえ言っていたらいいのではないかと思います。

○児玉専門委員 一応抑制系の形質転換体ですので、抑制の特異性を一応出してほしい、それが目的ですよね。その抑制の特異性ということを見ると、21 まで絞るのは私自身は反対で、相当な数がリストアップされるケースもなくはないと思うのですよね。それが本当に抑制されているかという、実は一個一個調べていく必要が出てきてしまふ、それは不毛ではないかと私自身は思っています。というのは、均一にできるわけでもないですし、非常に偏ってできるケースが多い。そうすると siRNA のシークエンスを要求するのという話にもなってきた、余り安全性とは関係ないところで深みにはまってしまうのは嫌だなと思っています。

ですので、やはり特異性ということ考えると、ステムで用いた部分で、90%ぐらいで抑制される可能性があるとするればこの遺伝子ですよというものを出してもらうぐらいでいいのではないかと私は思っています。

○澤田座長 他によろしいでしょうか。

○飯専門委員 28 ページの、今回、対象が当代だということですが、今後これは決して交配育種には使われないことが担保されているのかどうか、ちょっと不安になったのですが。

今、審査するものは当代ということになりますね。そうすると、普通ですと後代を見ていって、それに対して非組換え体との掛け合わせはこれ以降は OK だというような考え方があったのですが、今回の場合は、非組換え体との掛け合わせも対象にして審査する必要があるのか、当代だけの審査になるのかということがよくわからなくて。

○澤田座長 これはジャガイモの種イモで順番にとっていくのですか。

○鎌田専門委員 ジャガイモも、もちろん交配育種は現実に行われていますので、ないとは言えないが、昔、厚生省の時代にやっていたジャガイモでも別に、だから非組換えと交

配してはいけないとは、もちろんしていない。あくまで普通のジャガイモと同じように、スタックでない限りは新たな審査はなしということで承認するので、それ以上の何者でもないとは思いますが。

○飯専門委員 そうすると、今、ここで見ているものは恐らくヘテロなもので、遺伝子が叩かれているケースがあったとしても、ヘテロであればもう一方の遺伝子によって相補されているから、成分等には影響が見えてこないだろう。でも、交配されて、もしその後代をとってホモになったときのことまでは、今のデータでは担保できないなと思ったものでお伺いしたのですが。

○鎌田専門委員 一番最初にも言ったように、ジャガイモはもともと 4 倍体であるということから始まっていて、普通の交配育種で 4 ローカス全部がホモにするような系というのは現実的には余り考えられないし、多分そうすると目的の形式が変わってしまうので、その意味での交配は、多分しなくなるのではないかと思います。そこまで言い出すと、ホモにしなければいけないのかということも含めて、もちろん今までもそういう議論は余りしていないということもありますので。

○澤田座長 今のお話に関係しまして、この承認の条件は、どのレベルの種イモを対象にすると考えればいいですか。

○飯専門委員 それが私の質問そのものなのですが。

○澤田座長 ジャガイモができますね。その一部をまた植えて増やして、それが彼らが言っている 1 代、2 代、3 代なのですが、それは永久に使っていいよということで、どの代のものも使ってもいい、それが条件ですね。

○鎌田専門委員 もちろん、ジャガイモですから、これから下手をすると 100 年使うかもしれない。それはずっと種イモとして維持されていて、それはもちろん全部 OK で、しかも、さっき言ったようにそれ以上に交配することももちろんあり得るので、交配した新しい品種も種イモとしてまた延々と増やすということが続きますが、それももちろん今回の承認の中に含まれているというのがこれまでの解釈だと思いますが。

○澤田座長 そうすると、先生がおっしゃったように最初の段階がかなりヘテロで、通常の後代交配種は性質が大分変わってくる可能性があるということですか。組換え同士ではなくて普通の場合の掛け合わせで。

○鎌田専門委員 ええ。でも、それは多分どんな場合でも同じで、要するに、すべての場合ホモで審査するのかというと、今までのケースでもそういうことではやっていないはずで、目的とした形質があらわれているものをもって、一応審査対象としていると理解しているのですが。

○澤田座長 多分ワンコピー、シングルコピー入っていて、とにかくそれがずっと残っていればいい、そういうことですね。

○鎌田専門委員 はい。

○飯専門委員 考え方がそれでいいというのであれば、どこを突つかどうかの話になっ

てくるかと思えます。ちょっと過去のを全部思い浮かべられないのですが、こういう栄養繁殖性のもは少なくとも私は初めてだったもので、過去、ジャガイモは大分昔に 1 回あったので、どういう考え方でやったのかも同時に伺いたかったわけです。

ただ、多くの場合ダイズとかトウモロコシがほとんどで、その場合は一旦はホモ化されたものにまた掛け合わせて、その下で分析しているといった感じだったものですから、自動的にそのような危惧が除かれてきていたという感じもあったものですから。

導入された遺伝子に関しては別に問題ないと思いますが、結局、後で問題になるかもしれないとは思いますが、どういう入り方をしているのかのほうが、かえってちゃんと見ておかなければいけない点になるような気もしています。

○澤田座長 今の点で、他に御意見よろしいでしょうか。

要は後代の、これから交配する可能性も考えて安全性を評価するというスタンスで、これからいくことになると思えます。

そうしましたら 29 ページからの第 6、組換え体に関する事項で、45 ページの前半、3、遺伝子産物の一日摂取量までで御意見ををお願いします。

○鎌田専門委員 先ほど言ったことになるのですが、一番わかりやすいのは多分 39 ページだと思います。1 コピーだったとしてその左側、右側、3'、5'がどうなっているか、一応ここに絵がありますが、同じゲノムの上にぴたっと乗っているように見えていますが左側と右側が同じ染色体なのかどうかすらわからないし、本来、つながっているとすれば左側と右側で PCR をかければ増えるはずですが、そこはデータがないのでわからない。となると、デリベーションが起こっているのかどうかすらデータがないということなので、この情報はもう少しちゃんとしてくれないと、デリベーションが起こっているなら起こっているいいのできちとした形で、ある染色体のある位置にある状態に入ったことを明確にデータで示していただきたい。その状況によって、安全性に懸念がある場合には新しい情報を出していただきたい、そういうことだと思います。

○澤田座長 近傍配列は、一応は相同性のある部分が見つかったわけですね。

○鎌田専門委員 見つかってはいますが、それ自身が同じゲノムにつながって存在しているかどうかという情報すらないので。

○澤田座長 見つかった近傍配列がどの染色体に……

○鎌田専門委員 もともとどこでどうなっているかという情報もない。

○澤田座長 そうですね。それがないと、どういう構造で入っているかよくわからない。

他に、よろしいでしょうか。

○澁谷専門委員 このところですが、5'側も 3'側もそれぞれ同一の転写産物由来の EST が出ているということですね。機能はジャガイモの、わからないということになっているのですが、念のため安全性上、問題になるような遺伝子かどうかを他の、離れてしまいましたが、*Arabidopsis* とかそういうところのものを検索を掛けてもらって、それで問題がなければそれでいいと思えますし、そういう不確定性は残りますが、他のデータ

ベースも一応見てもらったかどうかと思います。

○澤田座長 この EST というのが本当に発現しているかどうか、よくわからないのですが、遺伝子の真ん中に入っている可能性が残っていますね。

○澁谷専門委員 そうかもしれませんね。

○澤田座長 そこはもうちょっと精査していただいたほうがいいかと思います。

他によろしいでしょうか。

○児玉専門委員 33 ページのサザンの図で、Nco1 で切断したときに 2 本バンドが出てくるのですが、(B) の図でプローブとの関係から言うと 2 本バンドが出てくるはずがなくなってしまうので●●●2 本バンドが出てくるという説明になりますので、(B) の図をほんのちょっと、上のサザンの図と合うように変えていただければと思います。簡単な話ですが。

○澤田座長 それはちょっと線を延ばすか、ずらすかですね。

○児玉専門委員 分岐して、ポンと置けばいいのですが。

○澤田座長 他はよろしいでしょうか。

RNAi の目的遺伝子の発現量の抑制というのはデータが何もなくて、どこにも書いていないのですが、どこで指摘すればいいですかね。

○北村課長補佐 他のものでは、40 ページの遺伝子産物の発現部位、発現時期のところに書いてあったかと思います。

○澤田座長 転写産物ですね。

○児玉専門委員 ノーザン、出てこないのですが、実はこれは似たような論文がもうパブリッシュされていて、その論文だと減らないのですよ。多分、だから出したくないのだ私は想像しているのですが。ただ、その論文でも劇的にきちんとアミロースは減っていて、アミロペクチンは増えるのですがノーザンで減っていない。因果関係ないのですよ。siRNA の量との関係もはっきりしない形になっていまして、多分、似たようなデータが出ているので出したくないのではないかと私は想像しています。

とはいえ、それはこちらとしてはちゃんと要求して、多分、転写後に切れるのではなくて、もしかすると翻訳抑制かもしれませんが、何らかの形の説明はしていただくという形で出していただくしかないと思っています。多分出したくない理由はそこにあるのではないかと想像しています。

○澤田座長 一応 RNA のレベルで減っているかというデータと、タンパクも入れますかね。

○手島専門委員 どうなっているか一緒に出してもらうことが必要かと思います。

○澤田座長 酵素が減っていればいいわけですね、RNA に余り多く変化がなくても。その酵素が目的の酵素だったら問題はない。

○児玉専門委員 酵素レベルで求めるかどうかはよくわかりませんが、表現系としてはきちんと出ているので……

- 澤田座長 多分アレルギーの関係があるので、タンパクが出ていなければ。
- 児玉専門委員 でも、タンパクは増やしたわけではないので、私は求める理由は余りないのではないかと思うのですね。
- 澤田座長 この場合、内在性のタンパクもある。
- 児玉専門委員 内在性のタンパク質を減らして表現系が出てきますので。
- 澤田座長 内在性のタンパクは減っている……
- 児玉専門委員 ……はずだと思います。
- 澤田座長 ……ということを行わなければいけない。
- 児玉専門委員 ただ、それは表現系からわかると言えばわかる話だと思われるし、それは安全性上から言うと、増やしたならばその量を見ましようというのはわかりますが、減らした場合にその量を見てくれという言い方は、何か求める根拠としては薄いなどは思います。
- 澤田座長 ただ、今回は割と本質的なことですので、データとして求めることは、無理ではないですね。
- 澁谷専門委員 やはりそれは必要だと思うのですね。もしリンクしていないと、全然違う理由で結果として減っているだけになってしまって、そうするとここで言っている、こういう RNAi をやったからこうしたという理屈が全く崩壊してしまう。そうすると、安全性上も全然違う観点の話になってしまうと思うのですね。だから、やはりそこは重要な気がします。
- 澤田座長 そうしましたら、一応 RNA とタンパクレベルの変化のデータを出してくださいということにして。
- 先ほど 45 ページまでと言いましたが、46 ページのところまででいかがでしょうか。
- 宇理須専門委員 4 遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性に関する事項を読んでいくと、「*gbss* 遺伝子」云々で「アレルギー性疾患を持つ小児は、パタチンに対してアレルギー反応を示すという知見がある」と書いてありますが、これをそのまま理解すると、アレルギー性疾患を持つすべての小児がパタチンに対してアレルギー反応を示すことになってしまいますよね。そんなことはないわけで、要はパタチンに対してアレルギー反応を示す小児が報告されているという、単なる日本語への訳し方の問題だと思いますが、しかし正確に表現しておいたほうがいいのではないかと思うのが 1 つ。
- それから、その次に「プロフィリンは、花粉由来の交差反応を引き起こす」と書いてありますが、これはなかなか理解しにくい表現だと思うのですね。恐らくこれも英語を日本語に訳すときに十分理解せずに訳しているのではないかと思います。要は、花粉でできた特異的 IgE 抗体がプロフィリンにも反応する。そういう花粉とプロフィリンとの交差反応性があるよということを行っているわけで、そういう理解しやすい日本語に直していただいた方がいいのではないかと思います。
- 澤田座長 それは直していただきたいと思います。

他によろしいでしょうか。

それでは、47 ページから最後までで御意見、コメントをお願いします。

○中島専門委員 52 ページ、構成成分ですが、今回のこのジャガイモはデンプン顆粒結合型のデンプン合成酵素のほうを抑えてあるわけですから、多分デンプン顆粒の大きさ等に影響を与えていて、普通に考えればデンプン顆粒は小さくなっていった可溶性は大きくなっているからジャガイモが柔らかくなって保存性が悪くなっている等の可能性が考えられるので、デンプン顆粒とジャガイモの保存性なり、そういった点についての情報をいただきたいと思います。

○澤田座長 デンプン顆粒のほうは、形状という意味ですか。

○中島専門委員 形状でよろしいかと思えます。

○澤田座長 それはアミロースとアミロペクチンの割合という意味ではなくて。

○中島専門委員 アミロースとアミロペクチンの割合ではなくて、もうちょっと大きな大きさとかそういったものです。

○澤田座長 他に、よろしいでしょうか。

○澁谷専門委員 1 つはすごく単純なのですが、50 ページの図 17 に「加熱処理による酵素活性の経時的变化」とありますが、これは酵素活性測っていないと思うのですね。ザイモグラムではなくこれはタンパクの変性を見ているだけのはずなので、ここは訂正してほしい。

それから、57 ページです。

これは除草剤耐性が入っていますが、栽培にはイミダゾリノン系除草剤を使わないと書いてあるのですね。これ、使うか使わないかによって除草剤の残留みたいなことを考えるか必要があるかないか違ってきてしまうのですが、使わないという根拠をもう少し説明してもらえると納得できると思うので、もう少しその情報が、例えばジャガイモではこういう系統のものは使っていないとか、何か追加の情報をもらえるといいかなと思います。

○澤田座長 鎌田先生、前に似たような話がありましたね。実際には除草剤が効かないのだという話。

○鎌田専門委員 多分これはうんと小さいときは非常によく効くが、大きくなると余り効かなくなるような除草剤は結構たくさんありますので、多分これもそういう意味で、除草剤として使うことはもちろん想定されていないだろうと思います。

○澤田座長 前に議論がありまして、選択マーカースとしては使えるが実際の除草剤耐性としてはほとんど意味がないと鎌田先生がおっしゃったような気がします。

○澁谷専門委員 その辺をちょっと。

○澤田座長 他に。

○鎌田専門委員 これは私にもよくわからないというか、皆さんの御意見を聞きたいのは、今回は改変 AHAS タンパク質について一応胃液、腸液処理での分解を見てはいるが、全体を見ると、この抗体で見ると、ほとんどすべてジャガイモのものをしているだけで、

実は挿入遺伝子産物としての改変 AHAS タンパク質の消化性等は現実には何も見られていないと私には見える。だが、抗体がないことを前提とするとどうするかということになるのですが、今までのやり方だと、大腸菌か何かで発現させたタンパクで同じものであることを確認した上で、そのタンパクを使って消化性を見るというのが従来のやり方だと思います。そこはどこまで要求すべきかという話だと思いますが、発現量はもともと少ないのだからいいやといえどももちろんそうだが、でも、そういう議論になってしまうと、やはりちょっとおかしいのですよね。今までのものと比べると。やはりこれは、挿入遺伝子産物としてのタンパク質の性質だけは情報としてきちっと拾えという意味だと思うので、そこは今のようなやり方がよろしいかと思います。

○澤田座長 今回は同じジャガイモですね、由来が。

○手島専門委員 変異が……

○澤田座長 あ、シロイヌナズナですか。

○手島専門委員 あとは変異が入っています。

前に1 回同じ酵素で出てきたと思いますが、そのときは……。今回に関して言えば、ジャガイモとシロイヌナズナの酵素のアミノ酸配列がかなり似ていて、分別できないということですね。それを分別できる抗体ができるのだったら、本来はやらないといけないという話ですね。

○鎌田専門委員 今、座長がおっしゃったように、本来区別したものであれば、量が少なくてもジャガイモのものでやるならデータを出してくださいということになるのですが、たまたまそれができないとしたら、代替として、挿入遺伝子産物の安全性を議論するにはやはり大腸菌か何かでつくらせて、挿入遺伝子産物そのものであることを確認したものを消化性試験すればデータとしては揃うので、それが本来かなと思ったのですが。

○澤田座長 本来は、そうですね。

○手島専門委員 そうですね。ただ、これは初めてではない酵素ではあるのですが、前回どのようにやっていたかということで、同じような形でやるべきだと思います。

○澤田座長 たしか前回は、会社が違っていますか。

○鎌田専門委員 同じです。

○北村課長補佐 先日御審議いただいた CV127 ですが、大腸菌で発現させたものについても確認しています。前回のものとは全く同じものではなくて、さらにもう一カ所変異が入っているものになります。

○澤田座長 使っているものは微妙に……。同じではないわけですね。でも、前のデータを参考までに出してもらえばいいですかね。ペプシンの基質特異性というのはそんなに高くないので、余り関係ないはずなのですが。

○手島専門委員 大腸菌の発現がそれほど難しくなければ、やはり大腸菌で発現してもらって分解性試験をやってもらうのが一番いいかと思います。

○澤田座長 新しくですか。

- 手島専門委員 はい。
- 澤田座長 要は、やり直せということですね。
- 手島専門委員 要求するということで、もしどうしても難しいということであれば、また御検討いただく。
- 澤田座長 他はよろしいでしょうか。
- 村田委員 先ほど話が出ていましたが、ソラニン等を分析されていますよね。これはホールで分析していて、加工用という話なのでそれで問題ないとは思いますが、もし生食用だったら、こういうものは外側と内側を分けて測る必要はないのですか。加工用の場合には、実際には関係ないのでしょうか。
- 澤田座長 構成成分のところは何ページでしたっけ。
- 村田委員 55 ページ、表 7 の上のところにグリコアルカロイドの量が書いてあって、有意差はないので別に問題はないのですが。
- 鎌田専門委員 私の記憶では、前にやったときは区別しないで、ホールでパッと分析した気がします。もし分けてやるとなると栽培条件等、光が当たるとか当たらないによってもすごく影響するので、もし部位ごとにある程度区別してということなら、もう少しいろいろな条件でいろいろなデータを出してもらわないと、多分まともなデータにならないと思います。
- 村田委員 常識的には、余り変わらないと思っていけばいいということですか。
- 鎌田専門委員 はい。
- 飯専門委員 今の 55 ページの表ですが、ここにはチャコニン、ソラニン、総グリコアルカロイドと 3 つありますが、チャコニンとソラニンの単なる和が総量になっているようで数値としてはちょっと不自然かなということと、この 2 つで総グリコアルカロイドと言っているのだからということ。最初は「チャコニン、ソラニン等」という書き方からスタートされていると思うので、ほとんどがこの 2 つであろうとは思いますが、その辺、表記と数値の出し方を検討していただいたほうがいいかと思います。
- 澤田座長 これは他のものを考慮していないのですね。
- 飯専門委員 少なくともこの数字を単に足している。
- 澤田座長 2 つを足したものをトータルと称している。
- 飯専門委員 それは本当に総グリコアルカロイドなのですかというのが 1 つの質問です。
- 澤田座長 本当は「総」という言葉を使ってはいけない。
- 飯専門委員 それと、足し算するのに標準偏差まで足し算していいのですかということ。
- 村田委員 私、詳しく見ていませんが、チャコニンとかソラニンそのものが幾つも成分ありますよね。だから、これ自体がもうサブトータルみたいになっていて、それでトータルと書いてあるのではないのでしょうかね。
- 飯専門委員 私もそうかなとは思いますが、このままだと曖昧だなという気がしたも

のですから。

○澤田座長 グリコアルカロイドというのはもう少し種類がたくさんあると思うので、量的な問題を含めて書きぶりを再検討していただくことにしたいと思います。

他はよろしいでしょうか。

○児玉専門委員 51 ページの組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項で、片方は RNAi で片方が検出限界前後をうろちょろしていてよくわからないという結果で、結果として安定なのかどうかよくわからない形になっていますので、解決策というか、改変 AHAS は発現量が低いので、これはもうこれで仕方ないと思いますが、少なくともアミロースが減っているのは何代にもわたっていますよというデータぐらいはここに載せておいてもらえば、「そうですね」という形で一応納得できると思いますので、そのぐらいのデータはここに載せていただきたいと思います。

○澤田座長 3 世代ぐらいまでやっていましたっけ。それはアミロペクチンではなくて、アミロースの含量ですね。たしか 20%ぐらいが 0.7%に減ったという数字がどこかに出ていましたが、それが安定であるかどうかということ。

他、よろしいでしょうか。

○鎌田専門委員 これもどうでもいいことかもしれませんが、49 ページの人工腸液の消化性試験のデータで、これ (B) と (D) は抗体で見ているはずですが、何か知らない、多分下の人工腸液の構成タンパク全部ものすごく染まっていて、これは本当に特異抗体なのかと私、かなり気になるのですが、こんな抗体使っていてよろしいのですかね。

○手島専門委員 私もそこは気になりまして、非特異的バンドが余りに多いので、1 度吸収実験をするなり何なり、もうちょっとクリアなバンドにさせていただかないと正確に人工腸液で消化されたかは見えないかなという感じもありますので、工夫していただきたいと思います。

○澤田座長 これはポリクロですね。免疫源がよくなかったのかかもしれませんが、抗体をつくり直したほうがいいのではないかと。ちょっと使う抗体に関して工夫が必要か、つくり直したほうがいいのではないかとということになるかと思います。

他、よろしいでしょうか。

それでは、先生方から大分たくさんの御意見をちょうだいいたしましたので、いただいた意見、確認すべき事項を指摘事項案として取りまとめまして、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出したいと思います。

資料までは当然いかないということですので、議題 1 についてはこれで終わりたいと思います。

議題 2、その他であります、私のほうから 1 つ御報告があります。

4 月の専門調査会で審議しました除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ MON87427 系統であります、申請書等の修正の指摘を出したところでありました。この品目の取扱いにつきましては、担当の先生方に御協力いただき、

座長預かりとなっていたところであります。指摘に基づきまして修正されたことが確認されましたので、評価書案を食品安全委員会に御報告いたしました。

なお、現在はパブリックコメントの募集中であると聞いております。

私からの御報告は、以上であります。

その他、事務局から何かございますでしょうか。

○北村課長補佐 特にございませぬ。

○澤田座長 それでは、本日の議題はこれで終了いたします。

以上をもちまして第 106 回遺伝子組換え食品等専門調査会を閉会いたします。

本日もどうもありがとうございました。