

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

第143回会合議事録

1. 日時 平成27年11月18日（水） 14:00～15:58

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

- ・除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72系統（食品・飼料）
- ・THR-No.2株を利用して生産されたL-トレオニン
- ・ASP595-1株を利用して生産されたフィターゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、小関専門委員、橘田専門委員、児玉専門委員、近藤専門委員、
柘植専門委員、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)

山添委員

(事務局)

東條事務局次長、鋤柄評価第二課長、池田評価情報分析官、北村課長補佐、勝田係員、
松井技術参与

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

- ①除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72系統（食品）
- ②除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72系統（飼料）
- ③THR-No.2株を利用して生産されたL-トレオニン
- ④ASP595-1株を利用して生産されたフィターゼ

参考資料 安全性評価に係る指摘事項

除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72系統

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143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、岡田専門委員、樋口専門委員及び山川専門委員が御欠席とのことです。

本日の議題であります。継続の品目であります「除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72系統（食品・飼料）」、新規の品目であります「THR-No.2株を利用して生産されたL-トレオニン」、「ASP595-1株を利用して生産されたフィターゼ」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したいと思いますので、事務局からお願いします。

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

配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿。

資料といたしまして、「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等について」となっております。

そのほかに机上配布資料がございます。

なお、これら以外の参考資料につきましてはファイルにとじまして、委員の皆様の上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、事務局のほうから「食品安全委員会における調査審議方法等について」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い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。

以上でございます。

○澤田座長 既に御提出いただいております確認書につきまして、その後、相違等はありませんでしょうか。

それでは、議題1の審議に入らせていただきたいと思います。まず、「除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72系統」についての審議を行いたいと思います。この品目は昨年4月の専門調査会において審議を行い、指摘事項が出されていたもの

です。事務局から御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、申請者から提出されている回答書について御説明いたします。お手元に除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72系統の紺色の紙ファイルをよろしくお願ひいたします。

指摘事項は全部で8つ提出されております。

回答書の1ページ目をお願いいたします。指摘事項1は、*hppdPfw336*遺伝子がコードするタンパク質につきまして、336番目のアミノ酸を置換した理由について説明をすること、といった内容です。

回答といたしまして、HPPDタンパク質はC-末端に変異を導入しても、その酵素活性が維持されるとともに、336番目のアミノ酸の変異、具体的にはグリシンからトリプトファンへの変異になりますが、それを導入した場合に最も高い耐性が得られることを確認したためこのような変異を導入している、とのことです。

次に回答書の3ページ目をお願いいたします。続く指摘事項2は、*hppdPfw336*遺伝子につきまして、以下(1)～(5)の内容について回答すること、といった内容です。

(1)につきましては、植物体内におけるイソキサフルトールの代謝の過程を説明することといった内容で、回答といたしまして、イソキサゾール環の開環による一段階の反応であると説明がされております。

4ページをお願いいたします。(2)といたしまして、イソキサフルトールの代謝物であるDKNの毒性学的評価を追記すること、といった内容です。回答といたしまして、DKNにつきましては、暴露評価対象物質にされていないという食品安全委員会での答申を引用しております。

同ページの(3)といたしまして、今度は代謝されないイソキサフルトールのHPPDに対する影響につきましては、当委員会の農薬の評価書を引用いたしまして、植物体内運命試験の結果、影響はない旨を回答しております。

5ページになりますが、(4)といたしまして、本系統における代謝産物及び今後使用が想定されるHPPD阻害型除草剤の代謝産物の安全性について説明をすることといった内容です。

回答といたしまして、本系統における代謝産物はDKNであり、この安全性については先述のとおりとなっております。ほかのHPPD阻害型除草剤につきましては、今のところ使用予定はない、と回答がされております。

次のページに行きまして、(5)になります。こちらは文献等をもとにHPPD W366タンパク質の機能について追記を行うこと、といった内容です。回答といたしまして、当該タンパク質は野生型のHPPDタンパク質に比べ結合部位が小さいため、4-HPPしか結合できず、DKNが結合できないためイソキサフルトールの影響を受けない、と説明がされております。

回答書の10ページをお願いいたします。指摘事項3は、本系統の育成過程に関しまして、

T2系統で目的外配列が挿入されていないこと、及びF1以降の世代系列で目的とするタンパク質が発現しているかを確認すること、といった内容です。回答といたしまして、前者についてはサザンブロット分析により、後者においてはELISA法により、それぞれ確認した旨が記載されております。

続いて、ページが飛びますが、24ページをお願いいたします。指摘事項4は、サザンブロット分析におけるSac I 酵素処理の結果に生じる断片の長さについて説明を行うことといった内容です。回答といたしまして、断片サイズにつきましては使用しているソフトウェアの関係上、一定以上の断片以上は統一表記となっておりますが、それらの大きさは実際には異なることを確認していると回答がされております。

続いて、25ページをお願いいたします。指摘事項5は、内在性遺伝子に対する影響を解析した際に確認された推定遺伝子につきまして、pseudo遺伝子が否かの考察を含めて説明を追加すること、といった内容です。回答といたしまして、当該推定遺伝子の発現をRT-PCRにより確認したところ、本系統及び比較対照の非組換え系統とも同一の結果であったことから、本系統で生じた形質転換はこの遺伝子に影響を与えていない、と考察をしております。

27ページをお願いいたします。指摘事項6は、ORF検索の結果につきまして、確認が行いやすいように資料を整えるとともに、毒性タンパク質と一致したORFについては考察を記載すること、といった内容です。回答として、資料については再度整理をするとともに、毒性タンパク質と一致したORFにつきましては3段階にわたる検証を行ったところ、既知の毒性タンパク質の相同性はない、と考察されております。

32ページをお願いいたします。指摘事項7は、HPPD W336タンパク質につきまして、加熱に由来する高次構造の変化と抗体との結合性について考察をすること、といった内容です。回答として、加熱処理後の免疫反応性をELISA法により分析したところ、当該タンパク質は加熱処理に対して不安定であり、その高次構造が変化して抗体との結合性が低下するという結果であった、と記載がされております。

最後に34ページをお願いいたします。指摘事項8は、遺伝子産物の代謝経路への影響に関する御指摘です。まず(1)といたしまして、HPPDタンパク質によって生成されるホモゲンチジン酸につきまして、代謝経路への影響を考察すること、といった内容です。回答といたしまして、本申請系統においてはトコフェロールの含量は微増の傾向があるものの、実測値は測定値の範囲内であることから、代謝経路に影響を与える可能性は低い、と考察をしております。

次に36ページに行きまして、(2)といたしまして、HPPD W336タンパク質の基質が4-HPP以外に存在しないことを以下の①、②及び、先に回答した指摘事項2の(5)をもとに考察することといった内容です。回答といたしまして、4-HPP以外の基質も用いて検証を行ったところ、4-HPPとの競合がなく、かつ酵素量を4-HPPの10倍、反応時間を2倍とした条件のもとでさえ、4-HPPに比して非常に低い値であったことから、通常の条件下で

は4-HPP以外の物質については基質になり得ない旨を考察しております。

その他の修正事項につきましては、42ページを御参照いただければと思います。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、回答書につきまして、先生方から御意見をいただきたいと思ひます。

指摘事項1で、このW336遺伝子がコードするタンパク質ですけれども、336番目のアミノ酸を置換した理由につきまして、これは飯先生ですけれども、いかがでしょうか。

○飯専門委員 一応記載していただいているので、これでいいかと思ひます。

○澤田座長 それでは、続きまして、同じW336遺伝子ですけれども、(1)にイソキサフルトールの代謝の過程をもうちょっと詳しく説明することということで、これは私が出した照会ですけれども、これは代謝が酵素ではなくて自然に化学的に変化するというので、この説明でよろしいかと思ひます。

次に、DKNの毒性学的評価を追記すること。これは小関先生、いかがでしょうか。

○小関専門委員 ほかのところでちゃんと見ていらっしゃるので、全然問題ありません。

○澤田座長 (3)はイソキサフルトール自身のHPPDに対する影響を追記すること。これも私ですけれども、これはイソキサフルトールがすぐに代謝されてしまつて、原薬としてはほとんど残らないという理由もありますので、一応これでよろしいかなと思ひます。

(4)、この代謝産物及び今後使用が想定されるHPPD阻害型除草剤に関する代謝産物の安全性について記載すること。これは飯先生、いかがでしょうか。

○飯専門委員 この申請書の範囲内であれば、これで結構かなと思ひますが、このコメントを出したときの頭にはメソトリオンが一応あったということがあつて、この組換え体とメソトリオンとの関係について何かメーカーサイドから情報があれば、それは知っておいたほうがいいかなという意味です。

○勝田係員 今、飯先生から御指摘いただいた部分ですけれども、ほかに使う予定のあるHPPD阻害型除草剤がないのかという件につきまして、追加で申請者のほうに確認をしました。その結果、FG72を販売するときには、イソキサフルトールにしか耐性を示さない、というようなパッケージングで販売を行うので、メソトリオンなど他の農薬が本サイズに使用されることはない、という回答を得ております。

○澤田座長 もう一個の農薬ですか。通常は使われたいらしいのですけれども、それでよろしいでしょうか。

○飯専門委員 次の話と若干絡みがあつて、メソトリオンにも耐性であると次の構造的な話はすっきりするなという気もしていたので、この申請自身に関しては一応オーケーだと思つてはいるのですけれども、(5)のほうの話になるのですが、この記述でメソトリオンとイソキサフルトールと2つ並べて考えたときでも、今の回答で、この記載は通用するのかということを一言確認だけをしておいていただくほうがいいかなという気はしました。

○澤田座長 その点は確認して必要があれば、追記したほうがよろしいですか。

○飯専門委員 ちょっと文章を変える必要が出てくる可能性があるもので。資料を見てもメソトリオンを直接相手にした記述が見つからなかったのです。ポケットが小さくなるからとかいう書き方はされているけれども、メソトリオンも結構大きいと言えば大きいと思うので、一般論的にその言い方だけで片方は阻害されず、片方は感受性があるみたいな場合は、この記述をもう一度見直してもらえればなという気はします。そんなに大きな問題ではないと思います。

○澤田座長 それでは、それは後で確認していただくということで、その次の(5)もタンパクの酵素の機能ですけれども、飯先生、いかがでしょうか。

○飯専門委員 今のメソトリオンの問題さえなければ、この記載で一応オーケーかなと思います。

○澤田座長 それでは、指摘事項3で、これはT2系統で目的外の配列の挿入の有無について確認してほしい、また、F1以降の世代系列で目的タンパクの発現について確認していただきたいということで、これは児玉先生と飯先生からコメントをいただいております。

○飯専門委員 前段のほうですけれども、本来的には入らないやり方で行ってはいりますが、念のためということでお願いして、解析をしていただけたので、いいかなと思います。

○澤田座長 よろしいですか。

○児玉専門委員 後代での発現も確認して、安定に発現しているようですので、これでよろしいかと思います。

○澤田座長 それでは、指摘事項4で、サザンブロットで*Sac I* 酵素処理の断片で14kb以上という由来の説明をしていただきたいということで、これも児玉先生、よろしいですか。

○児玉専門委員 本来は違う長さで出るはずのところ、表では14kb以上という形で書かれていたので一応確認をお願いしたわけですけれども、ソフトウェア上はそうになってしまうのだという説明と、実際の長さは違うということですので、これでよろしいかと思います。

○澤田座長 それでは、指摘事項5で、内在性遺伝子に対する影響を解析したときに確認された推定遺伝子で、これがpseudo遺伝子かどうかの考察を含めて説明を追記してくださいということで、これも児玉先生、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 RT-PCRをしていただきまして、多少発現にばらつきはありますが、無事にきちんと発現しておりますので、この説明でよろしいかと思います。

○澤田座長 それでは、指摘事項6でORF検索のところ、資料を整えるという点と、毒性タンパク質と一致したORFに対する考察をもう少し追記するという点で、これも児玉先生ですね。

○児玉専門委員 前回の資料はデータがそのまま出ただけで、読むのが非常に難しかったのですけれども、今回は整理していただいたので非常に大変読みやすくて評価の仕方も理解できましたので、この結果でよろしいかと思います。

○澤田座長 それでは、指摘事項7で、加熱処理試験でELISA法で分析を追加して高次構造の変化を見てくださいますということで、これは手島先生、いかがでしょうか。

○手島専門委員 サンドイッチELISAでHPPDタンパク質を加熱した後の抗体の反応性の変化を調べてもらっていますので、これでよろしいかと思うのですが、表現上のところで幾つか気になりましたので、その部分を改正していただきたいと思います。

表6.10なのですが、これは温度をかけていくことによってタンパク濃度がどれくらい変化するかを調べているのですが、濃度はngでなくmgで単位が違っているかと思えます。検出限界が3.75ng/mlということです。

あとは結果のところですが、温度をかけることによって抗体との反応性が下がるということで、32ページの下から5行目から33ページの1行目まではこれでよろしいかと思えます。その後の5行書いてあるところは「なお、分析方法により異なる結果が得られたが」ということで、これは違いが「SDSによる変性条件下では、沈殿又は凝集したタンパク質を可溶化して電気泳動をしているためバンドが検出されているが、ELISAではこれらの沈殿又は凝集したタンパク質はキャプチャー抗体に補足することができない」と書いてあるのですが、実際にタンパクの電気泳動図を見ましても、それほどタンパク質の凝集ができてゲルのトップに残っている様子は見られません。もとの要旨の71ページに泳動図が示されています。

この71ページの図は、SDSの電気泳動をした後、ウェスタンブロットで調べている結果が示されていますが、例えばレーン8などで75℃で30分加熱をした後でも、ゲルのトップにバンドが見られませんが、非加熱タンパクでも見られたもとのバンドの減少が見られるということもありませんので、HPPDタンパク質は、それほど熱によって凝集はしないのではないかと思います。熱により凝集しやすいというデータが特には示されていないので、33ページの上から2～6行目の文章は要らないのではないかと思います。33ページの1行目までの文章でよろしいのではないかと思います。

○澤田座長 削除でよろしいと思いますが、32ページも同文がありますので、こちらもどったほうがいいですか。

○手島専門委員 そうですね。なお以下の文章は要らないのではないかと思います。

○澤田座長 この5行をとっても問題はないと思いますので、削除していただければと思います。

それでは、次に指摘事項8で、代謝経路への影響です。まず(1)にホモゲンチジン酸について代謝経路の影響を考察することということで、これは児玉先生、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 念のため、ホモゲンチジン酸をは量ったほうがよいのではないかとということで今回測定していただいております。文献調査等でフマル酸等の影響についても考察されておりまして、内容的にはこれでよろしいかと思えます。

ただ、40ページにある記載のところですが、HPPDタンパク質が律速段階になるとかならないとかが少し、例えば上から3行目のHPPDタンパク質は律速段階ではないとな

っておいて、その7～8行下になると、ホモゲンチジン酸の量が律速段階であると、ぱっと読むと矛盾しているように見える文章になっていますので、ここは整理が必要で、4-HPPの供給も律速になって、そこの2つのステップがともに律速になっているようですので、少し齟齬がないように、ここの部分の記載は整理したほうがよろしいかと思えます。そこは安全性とは直接は関係しないので、内容的にはこれでよろしいかと思えます。

○澤田座長 では、齟齬のあるところだけを後で整合性をとるように直していただければと思います。

それでは、次の(2)は、このタンパク質の基質が4-HPP以外に存在しないことについて考察するというので、これは①と②がありますけれども、これは両方とも飯先生、いかがでしょうか。

○飯専門委員 これも先ほどの農薬との結合との関係と絡んでいる中身なのですけれども、新たに可能性の考えられる化合物について調査した上で実際の試験もしてもらっていますし、結論としても4-HPPに対する特異性が高いということで、これでよいかと思います。強いて言うなら、資料のほうには書かれているのですが、基質となるにはどういう構造的な要求性があるのかということもある程度わかっているのでは、それも書き込んでよかったですかとは思ったところですが、一応この回答で要旨のほうはオーケーかと思えます。

○澤田座長 回答はよろしいですか。

それでは、本件につきましては、若干確認する点がありますけれども、特に安全上の問題があるということではないので、引き続きまして、評価書案の審議に入りたいと思えます。事務局から御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、評価書案について御説明いたします。評価書案を束ねた冊子の1～25ページが本申請品目の評価書案になりますので、御準備の方よろしく願いいたします。

6ページをお願いします。Iといたしまして、本申請品目の概要についてですが、トウモロコシ由来の2mepsps遺伝子及び*Pseudomonas fluorescens*に由来するhppdPFW336遺伝子を導入することで、それぞれ除草剤グリホサート及び除草剤イソキサフルトールに耐性を有するダイズであると記載しております。

II以降には、食品健康影響評価に係る個別の項目を記載しております。

第1の(1)及び(2)については記載のとおりです。

(3)挿入DNAの性質等についてですが、両遺伝子ともパーティクルボンバードメント法により導入がされております。

2～5については記載のとおりです。

7ページに行きまして、6といたしまして、相違点に関する事項です。導入した遺伝子により2mEPSPSタンパク質及びHPPD W336タンパク質が発現することが宿主との相違点であり、以上の内容から、本系統においては既存のダイズとの比較が可能であるとしてお

ります。

8ページに行きまして、第2の利用方法及び第3の1、2については記載のとおりです。

続く、3といたしまして、有害生理活性物質についてですが、ダイズ種子には、トリブシンインヒビターやレクチンなどが含まれると記載しております。

4、アレルギー誘発性については、ダイズのアレルゲンとして β -コングリシニンの α -サブユニット等がある旨を記載しております。

5、病原性の外来因子に汚染されていないことに関してですが、ダイズには、各種病害が知られているものの、これらがヒトに対して病原性を示すことは知られていないとしております。

6及び7の項目については記載のとおりです。

9ページ、第4のベクターに関する事項についても記載のとおりとなっております。

同じく9ページになりますが、第5、挿入DNA等に関する事項をお願いします。1の(1)については先ほどのIの部分で説明したとおりですので、割愛させていただきます。

(2)の安全性に関する事項についてですが、*2mepsps*遺伝子の供与体であるトウモロコシは、長期に渡り食経験がある。*hppdPFW336*遺伝子の供与体である*Pseudomonas*につきましては、自然界に広く存在し、ヒトへの病原性は持たないため、それぞれ安全性に問題がない旨を記載しております。

2、遺伝子産物等に関する事項について、(1)挿入遺伝子のクローニング等に関する事項ですが、*2mepsps*遺伝子はトウモロコシからクローニングされた*epsps*遺伝子の102及び106番目のアミノ酸を置換することで、*hppdPFW336*遺伝子は*Pseudomonas*からクローニングされた*hppd*遺伝子について、HPPD阻害型除草剤への耐性が最も高まるよう336番目のアミノ酸を置換することでそれぞれ得られております。

10ページ、続く(2)については記載のとおりです。

(3)挿入遺伝子の機能については、*2mepsps*遺伝子においては当該遺伝子がコードする2mEPSPSタンパク質によりグリホサートの存在下でもEPSPS活性を示すことと説明がされております。なお、当該タンパク質と既知の毒性タンパク質との間に相同性は見出されておられません。

*hppdPFW336*遺伝子については、当該遺伝子がコードするHPPD W336タンパク質がイソキサフルトールの代謝産物であるDKNによる阻害を受けず、イソキサフルトールの存在下でも生育ができることと記載しております。なお、当該タンパク質については、既知の毒性タンパク質の間に相同性を持つ幾つかのタンパク質があり、その内容について、あわせて記載をしております。

(4)、3、4については記載のとおりです。

12ページに行きまして、5の(2)といたしまして、目的外ORFの有無についてですが、こちらについては存在しない旨を記載しております。

(4)発現ベクターの純化につきましては、挿入DNAに含まれる全ての要素は純化され

ていると記載しております。

続いて13ページの6といたしまして、導入方法についてであります。目的の遺伝子領域をパーティクルボンバードメント法により導入後、DKNを含む培地で選抜して再生個体を得た後、さらにグリホサートで選抜を行い、目的の個体を得た、としております。

14ページに行きまして、第6、組換え体に関する事項をお願いします。

1の(1)につきましては、サザンブロット分析により目的の挿入DNA領域は2コピー挿入されているとともに、導入用プラスミドの外骨格領域は含まれていないことを確認しております。

また、3´側と宿主との間に24bpの挿入が、挿入領域外の3´下流側に158bpのプロモーター断片の挿入が確認されたこと、併せて、330行目になりますが、DNAの挿入による25bpの欠失と転座による2bpの欠失があった旨も記載しております。DNAの挿入による内在性遺伝子の破壊の有無ですが、確認の結果、可能性が低い旨も記載しております。

15ページの(2) ORFの有無と転写の発現の可能性につきましては、ORFが350個見つかったものの毒性タンパク質については一致するアミノ酸配列が短い、あるいは相同性が低い問題とならず、既知のアレルゲンについては一致する配列がなかったことから、いずれも問題ない旨、記載をしております。

2の発現量に関する事項及び3の一日摂取タンパク量については、記載のとおりとなっております。

16ページをお願いします。4、遺伝子産物等のアレルギー誘発性についてでございますが、(1)及び(2)については記載のとおりです。

(3) 物理化学的処理に対する感受性についてですが、①人工胃液につきましては両タンパク質ともSDS-PAGE分析及びウェスタンブロット分析の結果、いずれも30秒以内に消化されたことを確認したと記載しております。

②人工腸液に関しましても、同じく両タンパク質ともSDS-PAGE分析及びウェスタンブロット分析の結果、いずれも反応開始後、直ちに消化されたことを確認したと記載しております。

③加熱処理について、2mEPSPSタンパク質については、60℃10分の条件で失活することを確認しております。

HPPD W336タンパク質につきましては、分析の結果、熱処理に対して安定ではなく、酵素活性も60℃以上の温度条件では2.5分以内に失活することを記載しております。

(4) 及び18ページの5については記載のとおりです。

続いて、6の代謝経路への影響になります。2mEPSPSについては記載のとおりとなっております。HPPD W336タンパク質につきましては、先ほど御説明いたしました回答書の内容を盛り込んでおります。具体的には、本タンパク質の発現により植物体内での含量は変わり得るであろう物質のホモゲンチジン酸に注目し、この物質を中心とする代謝経路内の物質について、含量の増減について確認しておりますが、結果としては影響を生じる

おそれはないとしております。基質特異性についても調べておりますが、こちらについても4-HPP以外基質になり得ないとの内容を記載し、以上から当該タンパク質が代謝経路に影響を及ぼすことがない旨を記載しております。

7、宿主との差異につきましては、構成成分について、本系統と非組換え品種を比較したところ、両者には統計学的有意差が認められないか、認められたとしても従来品種の分析結果に基づく値及び文献値の範囲内であったと記載しております。

20ページに行きまして、続く、8～10の項目については記載のとおりです。

以上の結果から、21ページになりますが、第7といたしまして、安全性の知見は得られているとしております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、評価書案について御意見、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ければと思います。

それでは、14ページの300行までで御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○北村課長補佐 事務局から1点修正がございます。10ページの205行目になります。*hppdPFW336*遺伝子の機能の説明のところ、205行目に「*hppdPFW336*遺伝子がコードするHPPDタンパク質」となっておりますが、こちらのパラグラフは一般的なHPPDタンパク質についての記載なので削除していただきまして、11ページの217行目に「*hppdPFW336*遺伝子がコードする」と入れていただきたいと思います。申し訳ございません。

○澤田座長 それは直していただくことで、ほかはよろしいでしょうか。

それでは、14ページから最後までで御意見、コメントがございましたら、お願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

それでは、先ほどの修正と確認をいたしまして、事務局で修正、先生方と私のほうでも確認した後、食品安全委員会に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。ありがとうございます。

それでは、続きまして、飼料としての安全性について審議を行いたいと思います。事務局のほうから御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、申請者から提出されている申請資料について御説明いたします。お手元に「除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72」で、食品と同じ色のファイルで恐縮ですが、こちらのMMEと書いてある紺色の紙ファイルをよろしくお願いいたします。

2ページ、本申請品目の概要についてですが、1) 品目名については食品と同一です。

2) 特徴につきましては、トウモロコシに由来する*2mepsps*遺伝子により除草剤グリホサート耐性を示すこと、及び*Pseudomonas fluorescens*に由来する*hppdPFW336*遺伝子に

より除草剤イソキサフルトール耐性を示すことの2点になります。

3ページに行きまして、3) 使用法についてですが、従来のダイズと変わらないと記載があります。

続く、2といたしまして、安全性についてです。遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方に基きまして、3つの要件に照らして考察を行いましたところ、本系統は除草剤グリホサート及びイソキサフルトールに耐性を示すことを除き、従来のダイズと変わりなく安全性上、新たな問題は生じないものと考えられたとあり、以上から当該飼料に由来する畜産物を摂取することにより、ヒトの健康に影響を及ぼす可能性はないと記載されてございます。

4ページの末尾以降になりますが、こちらには3といたしまして、除草剤イソキサフルトールが残留したダイズ飼料を給餌された家畜に由来する畜産物へのヒトへの健康影響について記載をされております。詳細につきましては7ページまで記載がありますが、概要といたしましては最大量の残留を見積もったとしても、その家畜からMRLを超える畜産物が生産されることはないとしております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、ただいまの申請書につきまして、これは短いので全体を通して御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

それでは、特に御意見がないようですので、本件につきましては安全上の問題がないということで、続きまして、評価書案の審議に入りたいと思います。事務局のほうから御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、続いて評価書案について御説明をいたします。評価書案を束ねた冊子の27～31ページが本申請品目のうち、飼料の評価書案になっております。

30ページをお願いします。Ⅰにつきましては先ほど御説明いたしました食品の内容と重複しておりますので、ここでの再度の説明は割愛させていただきます。

Ⅱについてですが、1といたしまして、遺伝子組換え作物を飼料として用いた動物の飼養試験において、挿入された遺伝子等が畜産物に移行することは知られていないこと。

2といたしまして、先ほどの内容になりますが、食品としての評価を終了していること。

以上、2点及び除草剤イソキサフルトールが残留したダイズ飼料を給餌された家畜に由来する畜産物のヒトへの健康影響につきましては懸念がないことから、改めて遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準に準じて評価を行う必要はなく、当該飼料を摂取した家畜に由来する畜産物について安全性上の問題はないと判断したとしております。

最後にただし書きといたしまして、除草剤グリホサート及びイソキサフルトールで処理された飼料の管理につきましては、リスク管理機関において適切に行われるべき旨を記載しております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、評価書案について、全体を通しまして御意見、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。

それでは、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。よろしいでしょうか。特に御意見がないということですので、この形で食品安全委員会に御報告したいと思います。

それでは、次に「THR-No.2株を利用して生産されたL-トレオニン」についての審議に移りたいと思います。事務局から御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、申請者から提出されている申請書について御説明をいたします。お手元に「THR-No.2株を利用して生産されたL-トレオニン」の緑色の紙ファイルをお願いいたします。

初めに、本申請品目につきまして補足をいたしますと、本品は2010年6月に本調査会で御審議いただいた上、食品安全委員会で答申を行った「THR-No.1株を利用して生産されたL-トレオニン」の際に利用いたしましたTHR- No.1株にさらなる改変を加えたNo.2株を作製いたしまして、それにより生産されたL-トレオニンとなります。No.1株の際は食品添加物としての申請でありましたが、今回は飼料添加物としての申請になっております。その点も御留意いただければと思います。

それでは、申請資料について御説明いたします。申請資料の1ページをお願いいたします。1といたしまして、本申請品目であるL-トレオニンの飼料添加物としての概要ですが、本品は成分規格等収載書に収載された飼料添加物に該当し、その概要は1～2ページの表に記載のとおりです。用途につきましては、飼料の有効成分の補給を目的として使用されております。

3ページをお願いいたします。2といたしまして、製造方法の概要が記載されております。

2-1、本生産菌の作製の目的でございますが、L-トレオニン生産能力を高めるため、既に本調査会で御確認いただいた実績のあるTHR- No.1株に対しまして変異を加えて、No.2株を作製しております。

4ページ以降には、今回のNo.2株及びその作製のもととなったNo.1株につきまして、その作製方法が記載されております。

2-2-1といたしまして、もととなったNo.1株の作製方法についてですが、バイオセーフティレベル1に属し、GILSPが適用できる微生物である*E.coli* K-12株の突然変異株である●●●株を宿主といたしまして、そこに5ページの(4)にありますような●●●及び*E.coli* K-12株に由来するさまざまな遺伝子をmini-Muベクターあるいは相同組換えにより導入しております。作製されたNo.1株については抗生物質耐性マーカーを有しておりません。

9ページにいきまして、今度はNo.2株の作製方法についてです。先のNo.1株に対しまして、*E.coli* K-12株に由来するさまざまな遺伝子を同じくmini-Muベクターあるいは相同組

換えにより導入しております。作製されたNo.2株につきましても同様に抗生物質耐性マーカーを有しておりません。

13ページをお願いいたします。2-3といたしまして、本品の製造方法が記載されてございます。本品はNo.2株の発酵培養により得られたL-トレオニン発酵液を殺菌、●●●等により結晶を得た後、乾燥・包装されることで製造されると説明がされております。

14ページをお願いいたします。最後に本申請品目と現行品目、ここでの現行品目というのは平成24年に農林水産省によりセルフクロニングと判断された●●●由来のL-トレオニンになりますが、こちらを比較対象とした比較がなされております。

3-1といたしまして、成分規格の分析結果では現行品と同等である結果が得られております。

3-2といたしまして、不純物プロファイルとしてアミノ酸自動分析及び親水性、疎水性、HPLC法分析の計3つの分析を用いております。結果といたしまして、(1)アミノ酸分析及び(3)疎水性HPLC法につきましては、いずれの結果も現行製品と同等であることを示唆する結果であったと記載されております。

一方、(2)の親水性HPLC法につきましては、内容が16ページになりますが、こちらについては申請品目と現行品目との3ロットずつの比較において差が生じているような結果となっております。

当該項目につきまして説明いたします前に、まずお詫びをさせていただきたいのですが、先日御連絡いたしましたように、申請品目と差が生じている部分、具体的には保持時間13.5分についてでございますが、前回の分析値は誤りであったとのことで申請者から資料の差し替えがありました。先生方には確認の手間をかけてしまい、大変申しわけございませんでした。差し替え後の内容につきましては、机上配布資料が皆様のお手元にあるかと思っておりますけれども、机上配布資料の1ページ目が差し替えた内容になりますので、こちらも御参照いただければと思います。

机上配布資料の1ページ目の赤字が修正箇所となっておりますが、正確には、現行品目では3ロットとも保持時間13.5分の物質については3ロットとも全て検出限界未満である一方、申請品目においては定量限界以上の数値が検出されております。その意味で初めの検討段階においては現行品目にはない新規不純物が検出されているのですが、追加の検討といたしまして、国内で流通している同品目について5ロットを追加して当該物質の有無を分析いたしましたところ、国内流通品については全てこの物質が含まれており、かつ、そのパーセンテージは申請品目のそれと同等以上の値であったことから、申請者の方では新規の不純物ではないと考えている旨が記載されております。

以上の結果から18ページの3-3のまとめになりますが、本申請品目については「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」で規定しております表記2つの要件を満たしていると結論づけられております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、ただいまの申請書につきまして、先生方から御意見をいただきたいと思えます。短いので、これも一括で御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

○児玉専門委員 内容の問題ではなくて記載上の問題なのですけれども、飼料添加物としての申請ですので、申請書の一番最後のところでいつも出てくる3項目、有害物質の精製が移行する可能性、蓄積する可能性、産生する可能性に照らし合わせて、安全性上の問題はないと締めてもらったほうがよろしいのかなと思った次第です。

○澤田座長 高度精製を準用した場合は、こういう書きぶりなのですね。

○勝田係員 高度精製の飼料添加物としては、品目としては3品目になりまして、過去の2品目についても、このような形で書かれています。

○澤田座長 飼料添加物なのですけれども、普通の添加物の高度精製を準用してやるという考え方で書く場合は、この形式にしているということになります。

ほかはいかがでしょうか。訂正が後から出てきて、ちょっと困りますけれども、このHPLCのパターンを見ると、●●●ですね。●●●かはよくわかりませんが、飼料添加物ということもありますので、不純物は微量あっても動物の体内で代謝されてしまうという事情がありますから、それほど添加物ほど厳しくする必要はないという事情はあるかと思えます。それから、タンパクのほうは飼料添加物の場合は求めていないということになります。いかがでしょうか。

それでは、本件については特に安全上は問題ないということですので、評価書案の審議に入りたいと思えます。事務局から御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、評価書案について御説明いたします。評価書案を束ねた冊子の33～37ページが本申請品目の評価書案になっております。

36ページをお願いいたします。Iといたしまして、本申請品目の概要についてでございます。L-トレオニンの生産性を高めるため、*E.coli* K-12株由来の突然変異株にL-トレオニンの生合成に関する遺伝子の導入等を行い作製されたTHR- No.2株を用いまして生産されたL-トレオニンであると記載しております。宿主であるK-12株につきましては、毒素産生性及び病原性がなく、GILSPが適用できる宿主であるとともに、本生産菌株は抗生物質耐性マーカーを有していない旨を記載しております。

IIには、食品健康影響評価に係る事項を記載しております。

1といたしまして、本申請品目は高度に精製されていること。

2といたしまして、最終製品において飼料添加物の成分規格を満たすとともに、分析の結果、従来品に存在しない不純物が検出されたものの当該物質は国内流通品にも含まれており、それらより含量は少なかったことから、既存の非有効成分の含有量が安全性上、問題となる程度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んでいないことから、高度精製の考え方を準用いたしまして評価をいたしました結果、安全性

上の問題はないと結論づけております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、評価書案について御意見、コメントをいただきたいと思いますが、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が、これも短いので一括で御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思いますが、よろしいでしょうか。

それでは、特に御意見がないようでありますので、こ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。ありがとうございます。

それでは、続きまして、「ASP595-1株を利用して生産されたフィターゼについての審議に移りたいと思います。事務局から御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、申請者から提出されている申請書について御説明いたします。お手元に「ASP595-1株を利用して生産されたフィターゼ」のピンク色の紙ファイルをお願いいたします。

本品目についてですが、比較対象が非常に多く、内容が複雑であるため、初めに概要を御説明させていただければと思います。

申請品目であるフィターゼにつきましては、フィチン酸の加水分解箇所の違いにより3-フィターゼと6-フィターゼに分類されますが、本申請品目はそのうち6-フィターゼに分類されます。申請品目である *PhyzymeXP* につきましては、分裂酵母である *Schizosaccharomyces pombe* ATCC38399株を宿主とし、そこに *E.coli* B株に由来する6-フィターゼを生産する遺伝子である *appA* 遺伝子を塩基配列の改変を行うことなく●●●組み込んだものになっております。

従来品目との比較におきましては、申請資料1ページの表1-1に記載の3-フィターゼを含む3つのフィターゼとともに、海外で使用実態のある *E.coli* 由来のものを対象品として引用しております。具体的には *E.coli* 由来のフィターゼは従来品である3つのフィターゼと立体構造が類似していること。 *E.coli* 由来のフィターゼは、そのアミノ酸配列が申請品目と●●●%マッチしていること。よって申請品目も従来品であるフィターゼと立体構造が類似していると想定されるとともに、その機能も維持されているであろうといった三段論法によりまして、安全性等を論じているような品目となっております。

続きまして、詳細について御説明をいたします。申請資料の1ページをお願いいたします。第1の1といたしまして、従来添加物の性質等に関する内容です。従来添加物といたしましては、表1に記載のフィターゼ（その1）、フィターゼ（その2の（1））及びフィターゼ（その2の（2））の3つが挙げられます。このうち、（その2の（1））が6-フィターゼになっておりまして、残りの2つは3-フィターゼとなっております。

参考といたしまして、適宜 *E.coli* ●●●株由来のものも引用しており、以上の概要が続く（4）までに記載がされております。

3ページをお願いいたします。第1の2といたしまして、本申請品目における宿主等の情報になります。(1)宿主等の由来ですが、宿主は先のとおり、分裂酵母*Schizosaccharomyces pombe* ATCC38399株になっております。

(2) DNA供与体等の由来につきましては、*E.coli* B株となっております。

(3) 挿入DNAの性質等ですが、*E.coli* B株由来の*appA*遺伝子が6-フィターゼを生成する遺伝子であり、これを塩基配列の改変を行うことなく●●●を導入しております。また、これらは宿主の●●●に組み込まれております。

第1の3及び第1の4については記載のとおりです。

第1の5には、当該GM添加物の性質等が記載されております。

(1) 有効成分等は6-フィターゼになります。

(2) 製造方法については、製造用原体にさまざま添加することで②にあるような液体、あるいは③にあるような粉末の形にしているということです。

(3) 用途につきましては、従来のフィターゼと同様、鶏及び豚用の飼料に添加されるということです。

(4) 有効成分等の比較については、9ページまでに図表等で項目ごとにまとめられております。幾つかのポイントについて御説明をいたします。5ページの(b)構造についてになりますが、順番が前後してしまうのですが、7ページの表1-4をごらんください。こちらの表にまとめられていますように、申請品目のフィターゼは従来のフィターゼに比してアミノ酸の相同性は13%程度しかないものの、●●●株由来のものとは●●●%の相同性があります。

5ページに戻っていただきまして、今度は●●●株とその他、従来品との構造についてですが、両者はアミノ酸の配列こそ、ほとんど違っているものの、その立体構造については類似しており、ともにヒスチジン酸性フィターゼに分類されます。

6ページに行きまして、今度は申請品目と●●●株由来のフィターゼについてですが、図1-1にありますように、両者のアミノ酸配列はほぼ一致しておりまして、●●●になりますが、●●●は一致していることから、両者の立体構造及び機能も同一である、としております。以上のことから、本申請品目と従来品のフィターゼの立体構造及び機能は同一であると考察しております。

次に7ページに行きまして、(c) 生化学的性質についてでございます。表1-5にあるように、至適pH及び至適温度とも従来のフィターゼとほぼ同様であることを確認した旨、記載がされております。

10ページには、第1の6といたしまして、従来品との比較が記載されております。申請者によると相違点はアミノ酸配列のみで、それ以外は従来のフィターゼと同等であると考えている旨が記載されております。

続きまして、同ページの第2の項目といたしまして、宿主に関する事項が記載されております。

1～4までは記載のとおりです。

5といたしまして、有害生理活性物質の生産についてですが、酵母属の中にはヒト等への病原体となるものがあるものの、宿主に用いた菌株はこれらと明確に区別されており、問題がない旨、記載されております。

第3、ベクターに関する事項になります。

1及び2の(1)と(2)については記載のとおりです。

13ページの(3)といたしまして、既知の有害塩基配列については含まれていないこと。

(4) 薬剤耐性については、アンピシリン耐性及びネオマイシン耐性遺伝子がそれぞれ含まれることが記載されております。

続く(5)及び(6)については記載のとおりです。

14ページ、第4といたしまして、挿入DNA等に関する事項です。

1の(2)安全性に関してですが、*E.coli* B株は病原性及び有害物質の産生がないため、安全性に問題がない旨が記載されております。

第4の2の(1)といたしまして、挿入遺伝子の合成方法等ですが、挿入遺伝子はPCR法により増幅し、制限酵素処理及びライゲーションによりベクターに組み込んでおります。

(2)については記載のとおりです。

15ページに行きまして、(3)といたしまして、挿入遺伝子の機能については先の第1の5の(4)に記載のとおり、とされております。なお、食品添加物の申請資料におきましては、当該項目で人工胃液、腸液での消化性試験及び熱安定性を見ておりますが、本申請品目は飼料添加物とのことです。熱安定性についてのみ見ております。その結果が図4-2となっております。申請者によれば、5分間の加熱処理の温度が60℃以上であれば、酵素活性が失活する、とのことです。

第4の3には、遺伝子発現に関する事項が記載されております。

(1)、(2)及び(3)については記載のとおりです。

4及び20ページまでに記載のある5の(1)については、記載のとおりです。

21ページをお願いいたします。5の(2)といたしまして、目的外オープンリーディングフレームの有無についてですが、こちらについては含まれていないとのことです。

5の(3)と(4)についても記載のとおりです。

6、DNAの宿主への導入方法についてですが、宿主菌の標的遺伝子に対して直鎖化したプラスミドを二重交差相同組換え法により組み込み、●●●要求性の有無を目印に選抜を繰り返して、生産菌であるASP595-1株を作製しております。

23ページの7になりますが、生産菌には抗生物質耐性マーカー遺伝子が含まれていないことをPCR法により確認したと記載がされております。

25ページをお願いいたします。第5といたしまして、組換え体に関する事項ですが、1の(1)といたしまして、組換えにより新たに獲得された形質はフィターゼ合成能のみとのことです。なお、生産菌への目的遺伝子断片の挿入位置を確認しましたところ、●●●と

のことですが、こちらについては28ページまでに記載がされておりますので、そちらを御参照いただければ幸いです。

29ページになりますが、こちらのページでは、発現カセットのコピー数を確認しております。結果といたしましては、●●●、これは●●●、と考察しております。

31ページに行きまして、(2)～(4)につきましては記載のとおりです。

続いて、2の遺伝子導入に関しましては、(1)として、制限酵素による切断地図が明らかになっていること、及び32ページになりますが、(2)としてORFの有無について、stop to stopの30アミノ酸以上の条件で検索を行ったところ、ORFは26個見つかったものの、いずれも精査したところ、既知のアレルゲン及び毒性タンパク質との相同性はなかった、とのことです。

続いて、32ページになりますが、第6、製造原料等に関する事項です。Phyzyme XPの製造原料等は全て長年安全に使用された実績がある、と記載されております。

34ページをお願いいたします。第7といたしまして、組換え添加物に関する事項ですが、本品は1にありますように、既に諸外国で販売実績があること。2にありますように、製品中に組換え体DNAが残存しないことを確認しております。

3～5につきましては記載のとおりで、36ページになりますが、最後の第8といたしまして、以上、第7までの結果から、安全性が確認できているものの、参考として経口LD₅₀、*in vitro*及び*in vivo*の遺伝毒性試験、飼養試験の結果をそれぞれ記載しており、いずれも安全性上、問題となる結果はなかったとの記載がされております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして、先生方から御意見をいただきたいと思っております。まず最初に、この申請は飼料添加物ということで、とりあえず通常の添加物の形式に沿った形で申請を出してもらっております。ただ、飼料添加物ですので、この形式でいいのかどうかは後でまた議論をしていただくことを念頭にいろいろ御指摘をいただければと思います。

申請書の14ページのベクターに関する事項のところまでコメント、御意見がありましたら、お願いしたいと思います。

それでは、次の第4と第5で、申請書の32ページまででコメント、御意見をお願いしたいと思います。

○橘田専門委員 安全性に係るところではないのですが、30ページのところに夾雑物質の確認ということでSDS-PAGEと、他の酵素活性を調べた結果があるということなのですが、こここのところの記載で「フィターゼ活性に対して非常に低い活性しか測定されなかった」と記載があります。こちらの添付資料13を見ますと、●●●というのが見えます。

実際にSDS-PAGEの結果からも●●●が示唆される記述にはなっているのですが、非常に低い活性しか測定されなかったというわけでもないのですが、こここのところはもう少し詳し

く記載をしてもよいのかなと思いました。

○澤田座長 これは「非常に低い」という表現を直していただければよろしいですか。

○橋田専門委員 そうですね。それから、●●●という記述がありますので、その辺のことも記載してもいいのかなと思います。

○澤田座長 その記載は適切に直していただきたいと思います。

○小関専門委員 今後のこともあると思うのと、せっかくやってくださったのだから残しておいてもいいのではないかという考え方もあるかと思うのですが、32ページでアレルギーのデータベースと比較しているのですが、飼料添加物の酵素なので、確かに評価基準のところではアレルギー性を調べなさいという項目は入っているのですが、これはヒトが食する場合のアレルギーということを前提にしている話なので、飼料の場合については、毒性についての記載はしていただくとしても、毒性タンパク質の相同性はなかった。その後、なお、飼料添加物であるのでヒトへのアレルギー性については調べなかったというか、問題にしなかったというか、何かいい言い方があると思うのですが、それはそういうふうにしておいていただくとしたほうが。

○澤田座長 飼料ですので、削除でもいいのかなと思います。

○小関専門委員 削除でもいいと思います。逆にこれを残してしまうと、これはある意味で前例になってしまうので、次の人たちもこれをやらなければいけないかなと思ってしまいかと思います。

○澤田座長 これが消化されずに残ることはまずないですから、削除でいいのではないのでしょうか。

○小関専門委員 削除でいいですよ。

○澤田座長 ほかはいかがでしょうか。

それでは、36ページの最後までで御意見、コメントがございましたら、お願いしたいと思います。

○飯専門委員 1ついいですか。さっきコメントをし忘れたのですが、30ページの図5-6の説明なのですが、最後のところに「●●●」と書かれているのですが、9ページのパターンと比べると恐らく●●●だと思います。その辺は記載の問題ですが、確認をしてもらえたらと思います。

○澤田座長 ●●●はあるわけですか。

○飯専門委員 ●●●すると、●●●というのが9ページの図のパターンなので、恐らく●●●ではないかだと思います。●●●が違うということかなと思います。

○澤田座長 それは後で確認いただきたいと思います。

○手島専門委員 同じ30ページの図5-6ですが、5番のロットとかですと、●●●が見えるのですが、このあたりは純度が何%くらいになるかというのを示していただければと思います。

○澤田座長 これは同じものですか。●●●ですか。

- 手島専門委員 ですかね。●●●なのか。
- 澤田座長 これは●●●ではない。
- 手島専門委員 ●●●ではないですかね。●●●ですかね。
- 澤田座長 ●●●ではないですけれども、微妙に違うものもあるかなと私は思ったのですが、違いますか。
- 手島専門委員 ただ、純度が何%という表示がどこにもない。それは全てに関してですが、純度がどれくらいかを入れていただければ。
- 澤田座長 その説明はありますか。
- 勝田係員 資料の13のほうには、全てのサンプルについては純度は●●●%以上であるとの記載はされてございます。
- 澤田座長 それほど、きれいではないということですか。
- 松井技術参与 資料13に、5番目のサンプルについて●●●が見られると思うが、これは●●●という考察が文章にあります。
- 澤田座長 そうすると、●●●はあるけれども、それを考えると、SDS-PAGE上では、かなりきれいなものになるということですか。あと、33ページで回収工程がいろいろ書いてありまして、ウルトラフィルトレーションをやっているみたいなのですが、これで低分子の化合物はかなり除かれている可能性が高いと考えていいのでしょうか。
- 勝田係員 事務局のほうで確認させていただければと思いますので、また後ほど御回答をさせていただければと思います。
- 澤田座長 ほかにいかがでしょうか。
- 橘田専門委員 2ページの表1-2は飼料及び飼料添加物の成分規格に関する省令の別表2の8の(139)をまとめたものと書いてありますが、省令改正前の内容で記載されているようなので、現行のものに修正して下さい。
- 澤田座長 それでは、ほかによろしいですか。
- 飯専門委員 さっきアレルギーの話があって、私も畜産物に対しては必要ないと思うのですが、ここでは要らないかもしれないのですが、教えてほしいのですが、実際に家畜を飼っている方たちは暴露されるわけですね。その部分はどこがチェックするのですか。家畜そのものに対する飼料としての評価が行われるのはわかるのですが、それでここは畜産物の評価をする。でも、農家の方に対しての危険性はどこかが評価するのですか。
- 澤田座長 一応、農水省の所管ですね。
- 小関専門委員 宇理須先生がよくおっしゃっていたのは、パン屋のアレルギーは α -アミラーゼを吸い込むことで起こるアレルギーだとおっしゃられました。では、食品添加物の α -アミラーゼを吸い込むことによるアレルギーをどう所轄するのかとか、似たようなものですよ。農家さんがこれを手に触れたり、吸ったときのアレルギー性について、どう所管するか、あるいは規制するのかということについて、そもそもその議論はあるのかどう

か、そもそもの議論から確認していただかないと、個別議論をしてしまうとおかしいようなことになってしまうような気がします。

○澤田座長 恐らく非常に強いアレルゲンで問題があった場合には、農薬レベルで考えるのが普通なのではないかと思えます。わかりませんが。

○飯専門委員 この対象ではないなとは思いますが、もうやらなくていいですよとなったときに、それでいいかなと思ったところなのです。だからと言って、ここでやりなさいという筋でもないなと、そういう意味です。

○澤田座長 この場合は食品の問題ですから。ほかはよろしいでしょうか。

それでは、冒頭でお話ししたのですけれども、これは飼料に対する添加物で、なおかつタンパクであるということで考え方がありまして、先ほどおっしゃった、あれにのっとってやると、もうちょっと簡略化できる可能性が高いと思われまして、今回はこれで一応オーケーだと思のですが、今後は似たようなものが出てきたときに、どういう考え方でいけばいいかを御意見いただければと思います。「遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方」はこの何番目でしたか。

○北村課長補佐 「考え方」がファイルのタグの4についております。2番の基本的な考え方のところ、一般的に飼料に係る食品健康影響評価に関しては、当該飼料中に含まれる有害物質が、家畜への給餌を介して、肉、乳、卵等の畜産物中に移行したり、飼料中の成分が家畜の体内で代謝され、有害物質に蓄積される可能性等を考慮し、安全性を評価するというようになっております。

3番の安全性評価の方法のところ①、②、③とございまして、①は、組換え体由来の新たな有害物質が生成され、これが肉、乳、卵等の畜産物に移行する可能性。②としましては、組換えに由来する成分が畜産物中で有害物質に変換、蓄積される可能性。次のページにまいりまして、③で、組換えに起因する成分が家畜の代謝系に作用し、新たな有害成分を産生する可能性となっております。これがあるかどうかを考慮し、想定される場合には評価をするということになっておりますので、この①、②、③が否定できるかどうかという御判断が必要になるかと思っております。

○澤田座長 考え方として、これに大体従って評価するのが一応筋かなと思うのですけれども、その場合は今回のような記載の並べ方でなく、評価書をどういうふうに本来は書くべきか。今回は添加物で、なおかつタンパクというのは初めてのケースでありまして、これからのことを考えて、どういうふうに書いていけばいいのか。時間がありますから、御意見をいただければと思います。

○児玉専門委員 こちらの申請書は、基本的に農水省に申請されたもののさらに一部抜粋版という形になっていて、非常に詳しい形になっておりますけれども、食品の側からすれば、ここまで詳しい資料は必要ではないのかなと。特にこの考え方に基づいて考えれば、必要ではないのかなと私は思った次第でして、比較対象とベクターといいますか、どういうものを入れたかという内容と、あとは純度くらいでいいのかなと。バイオインフォマテ

イクスで毒性タンパク質との比較ぐらいいは入れてもらったほうがいいと思いますけれども、そのくらいでよろしいのではないかなと思って、あとはその考え方に基づいて議論をしていただければ、それで十分評価はできるのかなとは思いました。

○澤田座長 恐らくタンパクは消化されてしまい、移行する可能性はないから、②、③はほとんど問題がなくて、①の組換え体由来の低分子の安全上の問題があるかもしれないという懸念があるだけかなと思っていて、既に使用経験が非常にたくさんある宿主だったら、それ以上は評価しなくてもいい場合もあるかと思えます。

ただ、今回の場合は*Schizosaccharomyces pombe*で余り食品で食べた経験がないものでありまして、それが問題となる可能性があるかと思いました。ただ、海外の使用経験でもう10年以上、この製品に関しては安全上の問題がないということでもありますので、添加物としての使用経験はあると考えれば、このケースではクリアできるかもしれないと思っています。

これからバリエーションがいろいろ出てくると思っていて、一概にばつさりと簡略化していいと今すぐには言えないのかなと思います。とりあえず次に出てきたときのことを考えて、簡略化できるという方向だけは確認しておきたいのと、今回の評価書の書き方をどういうふうに書けばいいのかというのだけは、ここで決めておいたほうがいいのかなと思います。

それもありまして、それを念頭に評価書案に移りたいのですが、これを読んでいただきまして、どういうふうに書いたらいいかを考えてください。では、お願いします。

○勝田係員 それでは、まず評価書案について御説明させていただければと思います。評価書案を束ねた冊子の39～53ページが本申請品目の評価書案となっておりますので、御準備のほうをよろしく願いいたします。

44ページをお願いいたします。I といまして、本申請品目の概要についてでございます。分裂酵母である*Schizosaccharomyces pombe* ATCC38399株を宿主とし、そこに*E.coli* B株由来の*appA*遺伝子を導入いたしまして、ASP595-1株を作製し、それにより生産されたフィターゼになります。

II以降には、食品健康影響評価に係る個別の項目を記載しております。

第1の1の(1)、(2)及び(4)については記載のとおりです。

(3)用途及び使用形態についてですが、家畜飼料の栄養成分等に利用されております。

45ページ、2の(1)宿主の種名等についてでございますが、宿主は*Schizosaccharomyces pombe* ATCC38399株になります。

(2)DNA供与体の種名等ですが、*appA*遺伝子は*E.coli* B株に由来しております。

(3)挿入DNAの性質等ですが、*appA*遺伝子は6-フィターゼを発現し、この遺伝子カセットは酢酸リチウム法により宿主の染色体に挿入されております。

3、宿主の食経験、4、宿主の構成成分及び5、組換え添加物の性質については記載のとおりです。

46ページにいきまして、6といたしまして、相違点に関してでございます。

(1) 従来の添加物との相違点はアミノ酸配列の相同性のみ。

(2) 宿主との相違点はフィターゼ産生能を獲得するとともに、●●●要求性がなくなっていることの2点になっております。

第2、宿主に関する事項でございますが、1については記載のとおりです。

2、病原性等については、宿主には有害生理活性物質を生産するとの報告はない旨を記載しております。3、4についても記載のとおりです。

47ページにいきまして、5といたしまして、宿主の有害生理活性物質の生産に関しては、宿主菌が属する *Schizosaccharomyces* は病原体酵母属に属していない旨を記載しております。

第3、ベクターに関する事項は記載のとおりです。

48ページをお願いします。第4、挿入DNA等に関する事項ですが、1の(1)については記載のとおりです。

(2) 安全性については、*E.coli* B株は有害物質を生産するとの報告がない旨、記載しております。

2の(1) クローニングに関する事項について、フィターゼ遺伝子である *appA* 遺伝子はPCR法により単離・増幅しており、野生型 *appA* 遺伝子を改変していないことを明記しております。

(2) については記載のとおりです。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項ですが、*appA* 遺伝子が発現するフィターゼはフィチン酸を分解して無機リンを遊離させる酵素になっております。加熱処理による感受性につきましては、60℃以上5分間の加熱処理により酵素活性が消失すると記載しております。続く、3、4については記載のとおりです。

49ページをお願いします。5、発現ベクターに関する事項ですが、(2) 目的外ORFの有無については含まれていないと記載しております。(3)、(4)については記載のとおりです。

6、DNAの導入方法につきましては、導入用ベクター上の目的の部位を宿主に対し酢酸リチウム法で導入し、選択培地にて目的の形質を有する個体を選抜し、生産菌を得たと記載しております。

50ページにいきまして、7といたしまして、抗生物質耐性マーカーに関してですが、生産菌であるASP595-1株には含まれていない旨を記載しております。

第5、組換え体に関する事項について、1及び2の(1)については記載のとおりです。

(2) といたしまして、ORFの有無に関してですが、挿入DNA及びその接合部に対し stop to stop の30アミノ酸以上の条件で検索を行ったところ、合計26個のORFが検出されました。これについて既知のアレルゲンとの相同性を確認したところ、相同性は見られなかったものの、既知の毒性タンパク質の相同性は6個確認されております。しかし、その

全てについて精査したところ、毒性の懸念を示唆するものではなかったと記載しております。

51ページに行きまして、第6、製造原料等に関する事項及び第7の1に記載は記載のとおりです。

第7の2、組換え体の残存につきましては、ドットプロット分析の結果、組換え体DNAは検出されていないことを記載しております。

続く、3、非有効成分の安全性から、5、常成分の変動については記載のとおりです。

52ページになりまして、第8といたしましては、以上、第7までの結果から、安全性の知見は得られているとしているものの、申請資料の内容に合わせ、参考までにラットを用いた毒性試験等の結果を記載しております。

最後にⅢといたしまして、食品健康影響評価の結果としては、ヒトの健康を損なうおそれはないと結論づけております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

確かにボリュームが長いことは間違いないかと思えますけれども、先ほどの飼料の場合の例が前に書いてありますね。

○北村課長補佐 27ページです。

○澤田座長 27ページの②のところですね。ボリュームとしてはこのくらいの書きぶりでもいいのかなという感覚は持っていますけれども、もう少し組換え体自身の情報は詳しく書いていただくのと、精製度に関しては何か情報があったほうがいいのかと思います。あとは宿主の食経験みたいなものですね。そういう新しい様式で書いたほうがいいのか、それとも今回はこのままでいって、次回からにしましょうか。どちらでも構わないと思えますけれども、先生方の御意見に従いたいと思えますが、いかがでしょうか。

○小関専門委員 座長のおっしゃるとおりだと思うのですが、30ページとか、あとは36ページの飼料添加物のところでも、組換え体の内容については概要のところ、要するに全部記載されている格好だと思います。今のものと、44ページで概要がある意味、短いのです。ですから、澤田先生がおっしゃられたような基原とか、どういうふうなものからクロニングをして、何に入れたというようなことの実実はあらずじとして、その概要の中に押し込んでしまうというのは一つの手ではないかと思えます。

影響評価として、澤田先生がおっしゃられたように、これまで食経験があるというようなことの評価がされた。タンパク質であるところからの評価はされたというような並べ方で整理しないと、結局、44ページ以降の第1からの部分を削れないというか、短くするのは非常にややこしくなるので、やるのだったら、あらずじ編として一気に概要の中に押し込んでしまう。評価の部分は30ページで、本当にこれは評価だけです。こういうことを見ましたというところを言っているわけですし、36ページにしても、こういう根拠から評価しましたという書きぶりですね。そういう整理にするとコンパクトになって、評価

書を読んだ人もわかりやすいのではないかと思いますのですけれども、いかがでしょうか。

○澤田座長 1つ言い忘れたのですけれども、農水のほうで規格があるのと、食品安全委員会のほうでも安全性評価をやるわけですね。

○北村課長補佐 飼料添加物としての評価依頼が来ているので、そちらの評価も行われる予定です。

○澤田座長 その点も追加して書いていただければいいのかなと。それで、もし直すとしても、ちょっと時間が必要なので、直したものをメールでまたお送りして、必要に応じて修正していただくということにしたいと思いますが、よろしいでしょうか。

それでは、その修正をした後で食品安全委員会に報告して、パブリックコメント等の手続に移りたいと思います。

それでは、議題（1）についてはこれで終わりたいと思います。

議題（2）の「その他」ですが、事務局から何かありますでしょうか。

○北村課長補佐 特にございません。

○澤田座長 ありがとうございます。本日の議題についてはこれで終了ということで。

○北村課長補佐 必要があれば、次回の調査会でもう一度、評価書を見ていただければと思います。申請資料の整備は必要でしょうか。

○澤田座長 資料はもう出していただいたのをもう一回書き直していただくのは大変なので、それは言われたところだけ修正していただいたほうがいいのではないのでしょうか。

○北村課長補佐 飼料添加物の考え方の①、②、③に該当しないかどうかという議論はつけ加えていただいたほうがいいですか。

○澤田座長 最後にその流れは書いていただいて、追加していただければいいかと思います。

○北村課長補佐 ありがとうございます。

○澤田座長 よろしいですか。どうもありがとうございました。