

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第156回会合議事録

1. 日時 平成29年1月25日（水） 14:00～16:06

2. 場所 食品安全委員会大会議室

### 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

- ・ TRP-No.2株を利用して生産されたL-トリプトファン
- ・ MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ
- ・ 絹糸抽出期における高雌穂バイオマストウモロコシMON87403系統（食品・飼料）

(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、柘植専門委員、  
中島専門委員、樋口専門委員、飯専門委員、山川専門委員、和久井専門委員

(食品安全委員会)

佐藤委員長、山添委員、山本委員

(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、井上課長補佐、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 TRP-No.2株を利用して生産されたL-トリプトファン
- ② MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ
- ③ 絹糸抽出期における高雌穂バイオマストウモロコシMON87403系統（食品）
- ④ 絹糸抽出期における高雌穂バイオマストウモロコシMON87403系統（飼料）

### 6. 議事内容

〇〇〇 それでは、定刻になりましたので、ただいまから第156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、〇〇〇、〇〇〇、〇〇〇は御欠席とのことです。

本日の議題であります。継続審議品目である「MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ」及び新規の品目であります「TRP-No.2株を利用して生産されたL-トリプトファン」、「絹糸抽出期における高雌穂バイオマストウモロコシMON87403系統（食品・飼料）」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いたしたいと思えます。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。

資料としましては「食品健康影響評価に関する資料」となっております。

なお、これら以外の参考資料につきましてはファイルにとじまして、委員の皆様の机の上に置かせていただいております。本ファイルは調査会終了後に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。

また、本日は新規品目であります申請企業である日本モンサント株式会社をお呼びしております。新規品目であります「絹糸抽出期における高雌穂バイオマストウモロコシMON87403系統（食品・飼料）」の審議の際に質疑応答に対応していただくことを予定しております。

事務局から御報告が1点あります。ことしの1月7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。新たに委員に就任されました〇〇〇でございます。

〇〇〇 ただいま御紹介をいただきました〇〇〇でございます。

〇〇〇が御退任ということで、その後を引き継ぐ形で委員になることになりました。食品安全委員会発足当初からプリオン専門調査会のほうにずっと属しておりましたけれども、熊谷委員の後ということで、微生物・ウイルス、かび毒・自然毒等の調査会の担当ということになります。きょうは遺伝子組換えを勉強させていただきたいと思えますので、よろしく願いいたします。

〇〇〇 それでは、続きまして、事務局から「食品安全委員会における調査審議方法等について」に基づき必要となります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。

〇〇〇 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い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。

〇〇〇 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、相違等はございませんでしょうか。

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。「TRP-No.2株を利用して生産されたL-トリプトファン」についての審議を行いたいと思います。事務局から御説明をお願いします。

〇〇〇 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をいたします。お手元に「TRP-No.2株を利用して生産されたL-トリプトファン」の橙色の紙ファイルをよろしくお願ひいたします。

初めに補足をいたしますと、本品目は2013年7月に本調査会で御審議をいただきました上、答申を行ったTRP-No.1株を利用して生産されたL-トリプトファンの際に用いましたTRP-No.1株に更なる改変を加えたNo.2株を作製いたしまして、それにより生産されたL-トリプトファンとなっております。また、No.1株の際は食品添加物としての申請でしたが、今回は飼料添加物のみの申請となっております。

それでは、申請資料について御説明をいたします。

1ページをお願いいたします。1.として、本申請品目であるL-トリプトファンの飼料添加物としての概要」ですが、本品は成分規格及び評価基準等収載書に収載された飼料添加物に該当いたしまして、その概要は1及び2ページの表に記載のとおりです。用途については、飼料の有効成分の補給を目的として使用されているということです。

3ページ、こちらには2としてL-トリプトファンの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すが、L-トリプトファンの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TRP-No.1株に対して、変異を加えまして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、もととなりましたNo.1株の作製方法についてです。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)の表1にあるような *E. coli* K-12株、●●●株及び●●●株から単離されました●●●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って導入をしております。作製されましたNo.1株につきましては、抗生物質耐性マーカーを有しておりません。

次に9ページに行きまして、今度はNo.2株の作製方法についてですが、先のNo.1株に対しまして、●●●、*E. coli* K-12株及び●●●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をしております。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。

14ページ、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-トリプトファン発酵液を●●●により結晶を得た後、乾

燥・包装することで製造されると説明がされております。

15ページ、最後に本申請品目と現行品目、ここで言う現行品目とは平成24年に農林水産省よりセルフクロニングとして判断がされた●●●株由来のトリプトファンであります。そちらとの比較がなされております。

3-1の表6といたしまして、飼料添加物成分規格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。

16ページの3-2では、不純物プロファイルといたしまして、アミノ酸自動分析計及び親水性・疎水性HPLC法の計3つの分析を用いております。

結果についてでございますが、(1)アミノ酸分析に関しましては、定量限界以上の不純物が検出されなかったものの、(2)親水性HPLC法及び(3)疎水性HPLC法につきましては、現行製品よりも不純物が多いことを示すピークが散見されました。これらのピークについては現行製品のロット数をふやして追加の検討を行いましたところ、そのいずれにしても現行製品の含量より低く、これらの結果を総称すると申請品目は現行品目と同等であると考えられる旨、申請者のほうでは考察をしております。

なお、親水性HPLC法は具体的には18ページの表8になりますが、こちらのリテンションタイム39.9の物質につきまして、今、御確認いただいている表8にありますように、申請品目と現行品目では10倍以上の差が出ている物質がございますが、こちらについて申請者のほうでは同ページの最後のパラグラフにありますように、家畜への給餌量を算出し、安全性に関する考察をしておりますが、問題となるものではない旨の考察をしております。

以上の結果から、21ページの3-3のまとめの項目になりますが、本申請品目は「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標記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。

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、先生方からの御意見をいただきたいと思っております。申請書の1と2で1～14ページにわたりまして、御意見、コメントがありましたらお願いしたいと思っております。

それでは、続きまして、15ページから最後の21ページまでで、申請品目と現行製品の品質の比較のところから先生方から御意見があれば、いただきたいと思っております。どうぞ。

〇〇〇 1つ気になった点があるのですが、先ほども説明があった18ページの表8ですが、この39.9というところのピークが一番多いところかと思っておりますが、これを見ますと、国内流通品のaというのが31.28という値になっていまして、幾ら何でもこれはおかしいのではないかと。この数値というのはトリプトファンのw/w%と書いてあるのですが、これも本当に正しいのかというのが気になるのですが、w/w%でこんな値が出たら、規格を満たしていないということになってしまうのではないかと。それは申請品目に

対しても同じで、不純物のパーセントを全部足していくと規格を満たさないw/w %の値になってしまいます。ここは●●●をとっているのだと思うのですけれども、間違いではないかというのが1つあります。

それで、この値が飛びぬけて変だと思ったので、このプロファイルのほうを眺めてみますと、国内流通品というのが17ページですかね。そこにチャートがあるのですけれども、●●●ということも気になったので、その辺に関してはほかの先生方からも御意見をいただけたらと思った次第です。いずれにしても、w/wのパーセントというところと、31.28という値に関しては確認をしていただいたほうがいいのかと思ったところです。

○○○ 2.87は許されるわけですか。

○○○ w/w %というのが恐らく。

○○○ 規格上、添加物ですから、食品添加物よりは飼料添加物のほうが緩いかと思うのですけれども、トリプトファン比で2.87というのは別に問題ないですか。これは農水のほうは通ったわけですね。

○○○ もう通っているのですでしたか。修正はしたのですよね。議論としては同じところを実は私が質問しまして、ほぼ同じような内容の質問をさせていただいたのですけれども、結局、含量としては、含量としてはかるときの測定法で行けば、15ページの表6に相当するように成分規格を満たしているという値が出てくるのですけれども、●●●。●●●してしまうと、こういう数字になってしまうということなので、それ自体は●●●のではありませんという形にはなっていますけれども、国内流通品のaだけが非常に飛びぬけて含量が高いので、これ1点をもってして、これ以下だから安全だという議論はやや問題だろうということ。そのピーク自体は検出されていて、●●●、それは確認いたしました。

あとはその1点だけ高いものを指して安全だというのは議論的に問題なので、18ページの表8にある下のところに摂取量を勘案して、摂取量がそんなに大きくないということもあわせて、総合的に判断して大丈夫でしょうということで農水のほうは判断させていただいたという流れになっております。

○○○ それでよろしいでしょうか。

○○○ 多分、問題が生じるのは畜産物ではなくて、飼料のほうだと思うので、農水の審査のほうがよりかかわってくるのかなと思ってはいたのですけれども、それにしてもこのw/w %というのが、この●●●で出せるものなのかというのは気にはなります。見ているのは●●●だと思うので。あとは1ページ目の含量の規格を見ると3時間乾燥した後となっていますから、揮発性の成分はここで抜けるのかとか、いろいろと想像せざるを得ない。

いずれにしても、国内流通品のaは本当にこのような値になるのか。●●●ですけれども、これが比較対照になっているのかということです。これを外しても大丈夫でしょうという話に持っていけるのだったら、それはそれでいいかと私も思っているのですが、そのときに気になるもう一つの点は、評価書案の書き方かなと。そこがクリアできれば、別

に安全性上の問題が何だかんだという、先ほどここに出ているのだと頭が抜けてしまっているので、●●●ですけれども、そこは確認されているということであれば、同じ化合物だということを、若干の不安はあるけれども、一応そういう判断に基づけば、これでいいのかなと、そういうところではあります。

○○○ ●●●というのがわかるような図をつくっていただいて、それを私のほうでは確認しております。

○○○ そうすると、同じものであるということ。

○○○ その点は、●●●ということは大丈夫です。

○○○ これは、物は同定はされていないのですね。

○○○ されていないです。

○○○ 重量から見ると、アブソバンスがかなり高いものだという事ですか。重量的には規格はパスしているという点ですが、申請者に一応念を押して確認する必要はありますか。よろしいですか。

○○○ ちゃんと答えが返ってくるのだったら一応は。こういう値が出てくると、いろいろなことを想像してしまうのですよね。しっかりしたものを入手したのかとか、賞味期限が切れているような、そういうのが近づいているようなものを使ってはかたりしていませんよね、みたいな意味では、ちゃんとしたものを使っていましたという確認はとっていただいたほうがいいのかなと。本当に31.28というのが、これはオーダーが間違っていないかという気持ちもしたくらいなので、そこは数値的に大丈夫かということは確認していただければと。●●●だという気がします。

○○○ 古いものを使ったとか、そういう事情は。

○○○ そこまでは私もわかりませんが、国内流通品はこのa、b、c、dは●●●ということらしいです。

○○○ とりあえずは、よろしいかなということ。それでは、最後まででもう一度、追加で御意見がありましたらお願いしたいと思います。

○○○ 1点よろしいですか。○○○は●●●。

○○○ ●●●。

○○○ ●●●と見えているということですね。わかりました。

○○○ よろしいですか。

○○○ もう一つ、ついでみたいなものですが、次の(3)のところに関して、この記述だと国内流通品でも比較しているとあるのですが、国内流通品のチャートがついていないので、つけてもらっておいたほうがいいかなと思います。

○○○ これはチャートがついていなかったですか。

○○○ 確認の上、またメール等で紹介させていただければと思います。

○○○ 後でチェックしていただくということで。

○○○ 数値的には大丈夫だと思います。

〇〇〇 ほかになければ、ありがとうございました。

少し議論がありましたけれども、安全上の問題は特にないだろうということで、評価書案の審議に入りたいと思います。事務局から御説明をお願いします。

〇〇〇 それでは、続きまして、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をお手元に御準備いただきたいのですが、こちらの1~5ページが本申請品目の評価書案となっております。

4ページ、I. といたしまして、本申請品目の概要ですが、L-トリプトファ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-トリプトファンの生合成に関与する遺伝子の導入等を行い作製されたTRP-No.2株を用いて作製したL-トリプトファンであると記載しております。宿主であるK-12株は、毒素産生性及び病原性がなくて、GILSPが適用できる宿主であるとともに、本製品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、こちらは先ほど〇〇〇から御指摘いただいた部分を反映させる必要があるかと思いますが、現状の記載といたしましては、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、それらより含量が少なかったことから、既存の非有効成分の含量が安全性上、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して評価を行った結果、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。

〇〇〇 ありがとうございました。

それでは、ただいまの案について御意見、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きたいと思います。

短いので全体を通しまして、コメントをいただければと思います。先ほどの点をどう反映するかというのは書きぶりが問題になるかと思いますが、何かいい案がもしこの場に出るようでしたら、お願いできますでしょうか。

一応、事務局で直していただいたものを見てもらうことにしましょうか。

〇〇〇 一応、御参考までなのですが、昔、食品添加物ではあるのですが、同じように不純物が増えていたというものについて、その物質を同定いたしまして、それがほかの食品にも含まれており、例えば、高度精製食品添加物を通したからと言って、その摂取量が大幅に増えるものではないというような考察は、食品添加物のときにはしていた事例はあるのですが、今回は飼料添加物であって、基本的にはヒトが直接食べるものではないという前提がありますので、そこも含めて、また書きぶりは検討させていただけれ

ばと思います。

〇〇〇 それでは、事務局で案を作成していただきまして、メール等でお返しして確認するというにしたいと思います。ありがとうございました。

それでは、次に移りまして、「MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ」について審議を行いたいと思います。この品目はちょっと古くなりまして、平成28年5月の専門調査会において審議が行われまして、指摘事項が出されたものがあります。事務局から御説明をお願いします。

〇〇〇 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をいたします。お手元に「MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ」の緑色の紙ファイルになると思いますが、こちらのほうをよろしく願いいたします。

本申請品目については指摘事項が出されておりまして、全部で4つの指摘事項が出されております。

回答書の2ページ目をお願いいたします。指摘事項の1. は、本酵素の基質結合領域の欠失が基質特異性に影響を与えないという結論に至るまでの根拠等を整理し、その内容をもとに記載を修正することといった内容です。

回答といたしまして、まず、これまでの回答で説明していた「基質特異性が変わっていない」という表現を本酵素特異的な化学反応（触媒反応）が変わっていないと修正をした上で、申請のあった酵素のアミノ酸の改変は基質結合部位の欠失と触媒サイトには属していない旨を改めて説明をしております。具体的には、本申請酵素では大きく分けて2つの改変を加えております。

1つ目が、天然型のエキソマルトテトラオヒドロラーゼと同じ欠失でありまして、C末端が削られているもの。もう一つが、耐熱性の向上を目的とした欠失、の2点になっております。前者につきましては、天然型と同じものであり、欠失が全くない野生型と欠失のある天然型では、触媒反応に差がないことがこれまでにわかっております。後者については、エキソマルトテトラオヒドロラーゼにつきましては、全アミノ酸配列とともに触媒サイトのほうが既にわかっておりまして、本申請のものはその領域外の改変であることがわかっております。さらに、これらの内容を補完する意味で実際に実験系を組みまして、触媒反応について確認を行ったところ、想定どおり、触媒反応には差がなかったことが確認されたとのことです。これらの理由から、申請者のほうでは本改変による触媒反応の変化はないと考えており、その旨を根拠とともに回答や要旨のほうに記載をしております。

次に回答書の7ページをお願いいたします。指摘事項の2点目は、従来添加物との相違点のうち、熱の安定性につきまして、縦軸を半減期ではなく、酵素活性としたグラフとした上で、改めてその比較を行うことといった内容です。

回答といたしまして、再度実験を行いまして、グラフを再度作成の上、本酵素は熱安定性が向上している旨をこのグラフをもとに説明をしております。

続いて、回答書の8ページをお願いいたします。指摘事項の3点目は、生産菌を作製する

過程で使用した各種ベクターの複製開始点に関する記載についての内容です。いただいた御指摘を踏まえ、申請者のほうで再度内容を確認した結果、前回までの回答では誤解を招くような表記となっていたため、事実関係に基づき、複製開始点の記載を統一、修正をしております。詳細については10ページ及び11ページを御参照ください。

最後に回答書の12ページをお願いいたします。指摘事項の4つ目は、これまでの申請書及び回答書における説明では、本GM酵素のアレルギー誘発性に関して安全性上の懸念が払拭されないため、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」に基づきまして、人工胃液及び腸液での消化性試験及び加熱処理試験を行い、考察を記載することといった内容です。

回答といたしまして、御指摘に基づきまして実験を行いましたところ、人工腸液では分解されないものの、人工胃液及び胃液、腸液の連続試験では分解されること。また、加熱処理試験においても供試した条件では免疫反応性が消失したことから、本酵素の使用形態等も鑑みるとアレルギー誘発性に関する懸念は考えられない旨の考察がされております。

その他の修正事項については28ページ以降を御参照ください。

説明は以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、指摘事項に対する回答につきまして、先生方から御意見、コメントをいただきたいと思っております。指摘事項の1. で回答書の6ページまでで、基質特異性が影響を与えないということに関しまして、もうちょっと理論的にきちんと書き直してくださいということでありましたけれども、これは〇〇〇から御指摘されたのではないかと思います。いかがでしょうか。

〇〇〇 この回答の内容だけを読めば、一応はロジカルになったとは思いますが、1つ、基質特異性という言葉が触媒反応の特異性に置きかえられていて、基質特異性は一体どこに行ってしまったのかというところが、何か回答としてはもう一つ足りないかなという気がどうしても感じるところがあります。もともと最初の申請書のころから基質特異性については指摘があったかと思うのですが、ここでもう一段落くらい、基質特異性が変化していないということが説明として加えてもらえたらいいというのが正直なところではあります。

それでちょっと調べたのですが、この申請書では、構造を解析した論文が1つ引用されているのですが、その後に基質とこのタンパク質の複合体であるとか、プロダクトとタンパク質の複合体であるとか、活性部位の変異との複合体であるとかの構造解析の結果が報告されていまして、そういう知見に基づいて、ここで導入したアミノ酸というのがタンパク質のどの辺に位置するのかということを確認すれば、基質が結合するクレフトのようなところに影響を及ぼす可能性は極めて低いという結論を導けるのではないかと。自分で正確に確認をしたわけではないですが、報告されている知見に基づけば、そういう段落を一つつくることは可能かなという感じがしますので、回答を追記していた

だけたらいいかなと思っております。

〇〇〇 それは説明を追加すればよろしいですか。

〇〇〇 検討をした結果、新しい基質をくわえ込む可能性が出てきましたと言ったら、全部ひっくり返ってしまいますけれども、そうはならないとの予想の上で、指摘に対する回答として、しっかりとしたものをつくり得るだろうという思いで述べています。

〇〇〇 それは直して、後で見ていただくということで。

〇〇〇 確認ができれば、それで大丈夫だろうと、一応そういうふうに踏んではいるところ です。

〇〇〇 それでは、指摘事項の2. で、これは熱安定性の表現の仕方が半減期でやっていたのを普通のグラフに直してくださいということで、これは〇〇〇の御指摘です。

〇〇〇 こういうふうを書いてもらえると、わかりやすくてよろしいかと思ひます。

〇〇〇 ほかに追加でよろしいでしょうか。

それでは、指摘事項の3. で、各種ベクターの複製開始点に関する記載を事実関係に基づきまして、もう一度書き直してくださいということで、これは〇〇〇の御指摘です。

〇〇〇 適切に修正されているかと思ひますので、これでよろしいかと思ひます。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、次の指摘事項の4. で、これが実際に実験が必要だった部分だと思ひます。アレルギー誘発性に関して、人工胃液、腸液、消化性試験、加熱処理試験を行って、さらに結果をもって考察を記載することということで、きょうは〇〇〇がいらっしやっていないのですけれども、特に御意見はないということで、〇〇〇はよろしいでしょうか。

〇〇〇 私はこれでいいと思ひます。

〇〇〇 私もこれで一応データはそろっていますので、よろしいかなと思ひました。

それでは、本件につきましては、後で記載整備を行うこと以外には、特に安全上の問題は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ひます。事務局から御説明をお願いします。

〇〇〇 それでは、引き続きまして、評価書案のほうについて御説明をいたします。評価書案を束ねた冊子の今度は7~23ページまでが本申請品目の評価書案となっております。

13ページをお願いいたします。初めにI. といたしまして、本申請品目の概要ですが、エキソマルトテトラオヒドロラーゼの熱安定性を高めるため、*Pseudomonas stutzeri* IAM1504株由来の改変エキソマルトテトラオヒドロラーゼ遺伝子、以降、*sas3*遺伝子と呼びますが、こちらを宿主である *Bacillus licheniformis* BRA7株に導入いたしまして、MDT06-228株を作製しております。

II. 以降には、食品健康影響評価に係る個別の内容を記載しております。

第1. の1. の(1)、(2)、(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ございますが、こちらの酵素はパンの品質保持やマルトテトラオースを含む糖質の製造に用いられるということを記載しております。

14ページ、「2. 宿主及び導入DNA」の項目の(1) 宿主の種名等についてでございますが、宿主は自然界から分離された *B. licheniformis* になります。

(2) DNA供与体の種名ですが、*sas3*遺伝子は先ほども御説明したように、*P. stutzeri* IAM1504株に由来いたします。

(3) 挿入DNAの性質等ですが、*sas3*遺伝子は、SAS3タンパク質をコードしますが、こちらは天然の欠失型エキソマルトテトラオヒドロラーゼと同様にC末端領域が欠失しております。加えて熱安定性の向上のため、16アミノ酸残基が置換されております。生産菌作製の過程におきまして、 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子等、幾つかの遺伝子が欠失されております。

続いて、3. 食経験、4. 宿主の構成成分及び5. 遺伝子組換え添加物等の性質については記載のとおりです。

15ページに行きまして、6. 従来添加物及び組換え体と宿主等の相違点についてでございます。従来添加物との相違点はアミノ酸残基が置換され、熱安定性が向上していること。生産菌と宿主との相違点につきましては、SAS3産生能を獲得する一方、 $\alpha$ -アミラーゼ産生能等、幾つかの遺伝子を欠失している点でありまして、以上から本品目と比較可能な既存添加物があると記載をしております。

「第2. 宿主に関する事項」につきまして、1. に関しては記載のとおりです。

16ページに行きまして、2. 病原性等につきましては、宿主はバイオセーフティレベル1に相当すること。3. 寄生性及び4. 外来因子による汚染等につきましては、報告がない旨を記載しております。

5. 宿主の有害生理活性物質の生産に関しては、近縁種である *Bacillus cereus* 及び *Bacillus anthracis* は、哺乳動物の病原体として知られているものの、*Bacillus licheniformis* とは明確に区別されている旨を記載しております。

211行目からの「第3. ベクターに関する事項」については記載のとおりです。

17ページの246行目以降の第4. 挿入DNA等に関する事項ですが、1. の(1) 挿入DNAの名称、由来及び分類については記載のとおりです。

(2) 安全性につきましては、両供与体ともバイオセーフティレベル1に該当し、健康なヒトへの感染性等はない旨を記載しております。

2. の(1) クローニングに関する事項ですが、*sas3*遺伝子は供与体のエキソマルトテトラオヒドロラーゼ遺伝子をクローニングした後に、C末端の欠失型及び耐熱性の付与を目的とした塩基置換を導入することで、人工合成されております。

(2) 制限酵素による切断地図等については記載のとおりです。

18ページの「(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項」になります。*sas3*遺伝子につきましては、1)、2) に記載のように、挿入遺伝子の供与体及び遺伝子産物について、アレルギー誘発性の報告はございません。

3) では、人工胃液試験の結果、開始後1分以内に消化されること。胃液腸液の連続試験でも30秒以内に消化されること。人工腸液試験の結果では、開始後360分後も消化されな

いことを記載しております。

③といたしまして、加熱処理に関する感受性につきましては、90℃10分間の加熱条件で免疫反応性が失われることを確認した旨、記載をしております。

19ページに行きまして、4) といたしまして、遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性についてですが、こちらは2ページ後の第5. の2. の(2)の項目で記載しているため、説明は後ほど行わせていただければと思います。

19ページの3. 及び4. について記載のとおりです。

5. 発現ベクターに関する事項ですが、(2) 目的外ORFの有無に係る事項をお願いいたします。内容については20ページになりますが、有害性が示唆されるORFは検出されなかった旨、記載をしております。

続く(3) 及び(4) についても記載のとおりです。

6. DNAの導入方法につきましては、プロトプラスト法を用いて欠失導入用ベクターを宿主に導入して、幾つかの遺伝子を欠失させた後、導入用ベクターを導入して選抜を行い、目的の遺伝子発現カセットを増幅させることで本生産菌株を作製しております。

7. 抗生物質耐性マーカーにつきましては、生産菌には新たな抗生物質耐性マーカーは導入さ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、21ページの2. の(2) 遺伝子導入によるORFの有無の項目をお願いいたします。後ほど御説明をいたしますとお伝えをしていた項目です。

本項目では、導入遺伝子座及び欠失遺伝子座に関して、stop to stopの30アミノ酸以上の条件で検索を行いましたところ、合計で64個のORFが確認されました。これらについてアレルゲンデータベースを用いまして、既知のアレルゲンとの相同性検索を行ったところ、欠失遺伝子座にゴキブリのアルギニンキナーゼとセリンプロテアーゼに相同性を示す結果が得られましたが、前者につきましては宿主ゲノム遺伝子配列に対応し、後者については欠失により本来の機能を有さないと考えられたことから、いずれも問題となるものではないと記載をしております。

既知の毒性タンパク質とも相同性の有無を確認しましたところ、相同性が見られたものの、安全性上の問題はあると考えられなかった旨、記載をしております。

第6. 製造原料等に関する事項及び22ページに行きまして、第7. の1. について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、PCR分析の結果、組換え体DNAは検出されないことを確認したと記載しております。

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。

458行目以降になりますが、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ものの申請者から毒性試験の結果の提出があったことから、参考として、その内容を記載しております。

「(1) 90日間ラット経口毒性試験」及び「(2) 遺伝毒性試験」とも問題となるような結果は確認されなかった旨、記載をしております。

これまでの申請書ですとか回答書においては、実験データが足りなかったことがあります。こちらの第8. にあるような動物試験をつけていたという背景もあるのですけれども、今回は指摘事項を踏まえまして、例えば、アレルギー性試験とかを全てやり直してきて、申請者が主張するように、第7. までの結果から安全性のデータは得られているものと事務局では考えておりますが、ここの第8. の項目について、あえて記載すべきかどうかについては後ほど御意見をいただけますと幸いです。

最後に23ページの480行目になりますが、「III. 食品健康影響評価結果」としましては、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。

〇〇〇 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きたいと思います。

ちょっと長いので、17ページの244行目までで御意見、コメントがございましたらお願いしたいと思います。よろしいですか。

それでは、続きまして、最後までで御意見、コメントがございましたらお願いします。

〇〇〇 299行目ですけれども、「試験開始後1分以内にSAS3はほぼ消化されたが、2～5kDaのバンドが認められた」でもいいかなとは思いますが、消化されたのにあるというのも不思議な感じかなという気もします。特に絶対に直せというわけではないのですけれども、「SAS3は分解され、2～5kDaのバンドが認められた」のほうがスッキリしてよろしいかなという気がした次第です。

〇〇〇 これは〇〇〇から意見はないですね。

〇〇〇 特に意見はいただいておりません。

〇〇〇 これは一応、食品ではなくて添加物なのですけれども、量的に食べる量はかなり少ないので、食品の場合のように5kDaくらいのを問題とする必要があるかどうかですが。

〇〇〇 これは残ったけれども、さらに腸液の消化で消えるということで確かめられているので、〇〇〇の御指摘は、ただ単に文章上の問題だということですね。

〇〇〇 はい。302行目に消化されてバンドがあって、そのバンドの消化性について、さらに消化の話が出てくるので、ちょっとあれかなと思ったぐらいです。

〇〇〇 では、「たが」を直すということで、そのままで行ければと思います。

〇〇〇 では、そのように修正いたします。

〇〇〇 ほかはよろしいでしょうか。先ほどおっしゃられた第8. の参考のところ。毒性試験のデータと遺伝毒性試験のデータは一応ついてきたので、見たわけですが、

これはそのまま残しておいていいかどうかということなのでしょうか。

今まではどうしていましたか。データの信頼性に問題がある場合には、特にあえて入れない場合もあったのですけれども、特にただ確認しただけの場合はつけていましたか。それとも、もう要らなければ、あえてつけなかったですか。

〇〇〇 一応、今までは見たものについては参考という形では載せている例がほとんどだったと思います。

〇〇〇 では、一応、参考で残しておきましょうか。

全体を通しまして、何か追加で御意見がありましたらお願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

それでは、評価書案でおおむね問題ないということですので、記載整備をした後で一応確認しまして、食品安全委員会に御報告して、パブリックコメント等の手続に入りたいと思います。ありがとうございました。

それでは、引き続きまして、次の「絹糸抽出期における高雌穂バイオマストウモロコシMON87403系統」についての審議を行いたいと思います。事務局から御説明をお願いします。

〇〇〇 では、申請書の説明に入ります前に、冒頭で御紹介いたしました。本日は申請者の日本モンサント株式会社をお呼びしております。具体的な対応ですが、前回と同様、申請品目の御審議をいただいた後、申請者に対する質問事項等がありましたら、整理をしていただきたいと思います。その後、説明者には入室していただき、質疑応答を行います。質疑応答終了後には、説明者には退室していただき、審議を再開していただくこととしております。

〇〇〇 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をいたします。お手元に「絹糸抽出期における高雌穂バイオマストウモロコシMON87403系統」のピンク色の紙ファイルをよろしくお願いたします。

1ページをお願いいたします。第1の1の項目からですが、(1)の宿主につきましては、非組換えトウモロコシであるデント種のLH244を使用しております。

2ページの(2)DNA供与体について、本系統における導入遺伝子は*ATHB17*遺伝子でありまして、こちらはシロイヌナズナに由来をしております。

(3)挿入DNAの性質等につきましては、導入された*ATHB17*遺伝子がスプライシングを受けることで、N末端の113個のアミノ酸が欠失した*ATHB17Δ113*タンパク質を発現することで、絹糸抽出期における雌穂のバイオマスが増大するといったものになっております。当該遺伝子はアグロバクテリウム法によって導入がされております。

4ページの5までは記載のとおりとなっております。

6といたしまして、検討が必要とされる相違点についてでございます。導入遺伝子により、*ATHB17Δ113*タンパク質が産生される以外は従来のトウモロコシと相違はないため、本系統は比較対照となり得る既存の品種があるとしております。

5ページ、第2といたしまして、利用目的等の項目についてでございますが、生産性の向上のために用いられるという説明がされております。

6ページ、第3の宿主に関する事項になります。1～3については記載のとおりとなっております。

「4 アレルギー誘発性に関する事項」ですが、トウモロコシに含まれる9kDa及び50kDaのタンパク質がアレルゲンである可能性が示唆されておりますが、一般的にはトウモロコシはアレルギー誘発食品ではない旨が記載されております。

7ページ、5の項目につきまして、トウモロコシに感染する可能性のある病原菌等がヒト等に感染することは知られておりません。

6及び7の項目については記載のとおりです。

8ページ、「第4 ベクターの項目」についてでございますが、1については記載のとおりです。

2について、その性質についてでございますが、(3)といたしまして、既知の有害塩基配列を含まないことの項目ですが、使用するプラスミド中に含まれる全ての遺伝子の性質は明らかで、既知の有害塩基配列は含んでいないとのことです。

(4) ベクター中の薬剤耐性遺伝子の有無について、導入用プラスミドの外側骨格領域にはスペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する*aadA*遺伝子が含まれております。

(5) 伝達性につきましては、伝達を可能とする配列は含まれていないとのことです。

10ページをお願いいたします。本ページの第5では、挿入DNA等に関する事項が記載されております。

1の(1)といたしまして、挿入DNAの供与体につきましては、シロイヌナズナとなります。

(2) 安全性につきましては、当該植物のものは食経験がないものの、シロイヌナズナが属するアブラナ科作物は広く一般に食されておりました、このような近縁植物のヒト等の食経験は当該植物が安全であることを裏づけるものであると申請者のほうでは考察をしております。

2の(1)には、挿入遺伝子のクローニング方法について記載をしております。

*ATHB17*遺伝子は、シロイヌナズナからクローニングされておりました、その塩基配列はシロイヌナズナのものと同じということです。

(2) 切断地図に関する事項については記載のとおりです。

申請書の11～21ページにかけましては、(3)といたしまして、挿入遺伝子の機能について記載がされております。記載の内容の概要ですが、シロイヌナズナ由来の*ATHB17*遺伝子を導入することにより、結果として発現するタンパク質により、バイオマス含量が増大するというものです。導入した*ATHB17*遺伝子により発現するタンパク質は、ホメオドメイン-ロイシンジッパーファミリーのうち、クラスIIに属する転写因子でありまして、

シロイヌナズナにおいては、当該タンパク質は転写リプレッサーとして標的遺伝子の発現を抑制することが知られております。

本トウモロコシにおいては、単子葉類特異的なスプライシングを受けることにより、N末端の113アミノ酸が欠失したタンパク質が発現いたしますが、このことによりDNA結合能を有するホモ及びヘテロ二量体を形成するものの、転写リプレッサーの機能は持たないことが示されております。しかし、RNAシーケンス解析により遺伝子発現を比較したところ、このことに由来する特異的な変化は生じておらず、そこから考察するとATHB17Δ113タンパク質の発現が内在性遺伝子の発現に与える影響は小さいと申請者が考えている旨が、簡単ではございますが、記載されております。

21ページをお願いいたします。(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関しましては、導入用プラスミドには*aadA*遺伝子が含まれるものの評価対象品目である87403系統には含まれていないことを確認しているとのことです。

22ページ、3の項目ですが、挿入遺伝子の発現に係るプロモーター及びターミネーターは(1)及び(2)に記載のとおりで、(3) その他の配列につきましては、目的遺伝子の発現を活性化させるため、小麦のリーダー配列などを利用している旨、記載がされております。

4については記載のとおりです。

次に5といたしまして、発現ベクターに関する事項をお願いいたします。(1) については記載のとおりとなりますが、(2) 目的外ORFの有無については含まれていないこと。

(3) 意図する発現領域については24ページの図6にあるT-DNA領域、(4) 目的外遺伝子の有無については含まれていない旨を記載してございます。

28ページ、6といたしまして、DNAの宿主への導入方法及び交配についての項目となっております。導入方法はさきのとおり、アグロバクテリウム法となっております。トウモロコシの未成熟胚と導入用プラスミドを共置培養いたしまして、得られた形質転換体を選抜いたします。選抜された細胞から細胞体を細分化し、再分化後の個体について目的の遺伝子の有無を確認することで本系統を得ております。詳細につきましては29及び30ページを御参照いただければと思います。

31ページ、「第6 組換え体に関する事項」になります。

32ページの1の(1) コピー数等についての実験結果及び考察につきましては、32～42ページに記載がございます。実験の結果でございますが、コピー数は供試した世代において1コピーであったこと。導入遺伝子の挿入部位におけるトウモロコシゲノムの内在性配列に149bpの欠失があったことを除いては、その配列は導入用プラスミドのT-DNA領域と同一であったこと。T-DNA以外に挿入された領域はないこと。近傍配列は宿主由来であったことが記載されております。また、DNAの挿入に伴い、内在性遺伝子が壊れていないかを解析により確認しましたところ、検索の結果、そのような可能性はないという考察がされております。

ページが飛びますが、次に42ページをお願いいたします。42ページの33行目以降になります。こちらには(2)といたしまして、ORFの有無について記載がされております。ORF検索の結果、合計10個のORFが確認されましたが、これらがアレルゲン及び毒性タンパク質である可能性は低い旨が記載されております。

44ページの2といたしまして、遺伝子産物の発現部位、45ページの3といたしまして、一日蛋白摂取量が記載されてございますが、こちらについては記載のとおりとなっております。

45ページの14行目以降をお願いいたします。4といたしまして、アレルギー誘発性に関する事項が記載されてございます。(1)、(2)については記載のとおりです。

(3)といたしまして、物理化学的処理に対する感受性についてでございますが、46ページをお願いいたします。①として、人工胃液処理についてでございます。SDS-PAGE分析及びウェスタンブロット分析の結果、人工胃液中では当該タンパク質は30秒以内に消化されることを確認しております。

49ページになりますが、こちらには人工腸液の結果が記載されております。人工腸液処理についてでございますが、こちらはウェスタンブロット分析の結果、当該タンパク質は5分以内に検出限界未満まで分解されるとの結果が得られております。

最後に51ページには、加熱処理試験についての考察が記載されております。加熱処理に関しまして、ELISA分析の結果、当該タンパク質は15分及び30分間のいずれの加熱においても免疫反応性が余り低下せず、熱処理後もその構造を保持していると考えられる旨が記載されております。

53ページに行きまして、(4)については記載のとおりです。

「(5) 遺伝子産物(タンパク質)のIgE結合能の検討」についてでございますが、本系統で発現するATHB17Δ113タンパク質は加熱処理については安定ではあるものの、人工胃腸液で速やかに分解されること。可食部である本系統の穀粒中における発現量が検出限界未満であること。既知のアレルゲンとの構造的及び免疫学的に関連する配列相同性を有していないことから、本項目については検討を行わなかった旨が記載されております。

54ページ、「5 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項」については記載のとおりです。記載のように挿入遺伝子は世代間及び同一世代間内で安定していることが確認されております。

58ページ、6といたしまして、代謝経路への影響ですが、遺伝子産物であるATHB17Δ113タンパク質による影響を受けるのは、トウモロコシ内在性のHD-ZipIIタンパク質が関与する既存の代謝経路と想定がされましたが、RNAシーケンスによる網羅的な遺伝子発現解析の結果及び次の構成成分分析の結果から考えて、代謝系への影響はないと考えられる旨が考察されております。

59ページ、7といたしまして、宿主との差異についてでございます。構成成分の差異を見るため、主要構成成分等について分析を行っております。結果につきましては、翌60ペ

ージ以降になりますが、本系統と比較対照としたトウモロコシの間では分析を行った全ての成分について有意差はなく、本系統の構成成分は従来のトウモロコシと同等であるとしております。

ページが飛びますが、76ページをお願いいたします。こちらには2)といたしまして、トウモロコシのアレルゲンと考えられるLTPの含量についても比較を行っておりますが、こちらについても統計学的な有意差は認められなかったということです。

76ページになりますが、8、諸外国における認可状況、9、栽培方法、10、種子の管理方法等については記載のとおりで、以上から77ページ以降の結論になりますが、安全性は確認できたと考えている旨が結論づけられております。

説明は以上になります。

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、先生方から御意見をいただきたいと思っております。申請書の9ページの「第4 ベクターに関する事項」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。よろしいですか。

それでは、少し長めになりますけれども、10~30ページまでで挿入DNA遺伝子産物発現ベクターの構築に関する事項。この30ページまでで御意見、コメントをお願いしたいと思います。

〇〇〇 19ページの中段くらいに「トウモロコシの*HD-ZipII*遺伝子もシロイヌナズナと同様にネガティブ・フィードバック機構を持つと仮定すると」とあるのですが、実際にトウモロコシの配列はある程度は見られていると思いますので、仮定ではなくて実際にどうだったのかなというのが、もしメーカー側のほうで情報を持っているようであれば、少し教えていただきたいと思っております。

この申請資料にはないのですが、添付されている論文のほうにはデータが記載されているのですが、この関連するトウモロコシの*HD-ZipII*のホモログについて、この後これがスタックの親になったときのカテゴリーの分け方にもよるかと思うのですが、その*HD-ZipII*がどのくらい動くかというのは非常に重要なポイントかなとも考えています。その内在性の*HD-ZipII*は数が幾つか、結構な数があるのですが、実際にこの導入遺伝子が導入された系統でどのくらい、余り動いていないのではないかとと思うのですが、その点はどういうデータを持っているかどうかを少し確認させていただければと思います。

〇〇〇 これは後でモンサントの方に直接聞いてみたいと思っております。

ほかはいかがでしょうか。19ページの2行目と後のほうでも出てきますけれども、実際にRNAが動いた数が9種類とありますが、これは実際の名前はどこかに書いてありますか。

〇〇〇 添付資料には書いてあるみたいですが。申請者に確認しましたところ、後ほど来た際にも聞いていただければわかると思うのですが、9種類全部について遺伝子名がわかっているわけではなくて、アンノウンなものがほとんどだという回答は、電話では得ております。

〇〇〇 それで結果として、重量がふえるメカニズムはよくわかっていないということですか。

〇〇〇 そうですね。本系統についても狙って113アミノ酸を欠失したのではなくて、結果として、こういったものができて、量ってみたら重量がたまたまふえていたというような品目ですので、余り機序は詳しくはわかっていないということは聞いております。

〇〇〇 これは実際に余り変化がないみたいですが、これは商業的に本当に有用なのかなというのが素人的にはよくわからなかったもので、これは後で聞いてみます。

30ページまででいかがでしょうか。30ページの例のいつもの系統図ですけれども、これはいつも議論になるところなのですが、よろしいでしょうか。もし後でまたありましたら、お願いしたいと思います。

それでは、「第6 組換え体に関する事項」で、31～43ページまでで御意見、コメントがありましたらお願いしたいと思います。よろしいですか。

〇〇〇 後で申請者のほうに聞いてもいいかと思うのですが、37ページの次世代シーケンスの冗長さのところですが、多分プロモーターのところは冗長性が結構へこんでいまして、一番低いところで22の冗長さがあるので、データとしては信頼性がちゃんとあると思うのですが、冗長さの下がりところが結構顕著に見えているところをメーカーとしてはどう考えているか。なぜそこはそんなに冗長性が低いのかというのは、もしメーカーのほうである程度、情報を持っているようであれば、少し聞いてみたいと思います。

〇〇〇 これはまた後でお聞きしたいと思います。

それでは、「第6 組換え体に関する事項」の残りで、最後の76ページまでで御意見がありましたらお願いしたいと思います。

〇〇〇 このトウモロコシについて、農水省の別の委員会で多分同じものだと思うのですが、見たときに、一次代謝産物の一部に有意な変化があって、その変化の幅が一般的にいろいろなこういう穀物で見られる変動の範囲内なので問題ないだろうというような話があったのです。ちょっとうろ覚えなのですが、もしかしたら分析した部位だとか、分析をした世代とかが違うとかいうこともあるのかもしませんが、多分同じイベントだと思うのですが、多少、代謝産物に有意差があったという話がたしかあった気がするのです、聞いてみたいと思います。

〇〇〇 ここには出てきていないですか。

〇〇〇 この表では全部、有意差なしとなっているのですが、アミノ酸だったか何だったかがうろ覚えなのですが、一部の成分に若干有意差があるというデータをほかの委員会で見たものですから、それは何か別のものなのかなと思って、不確かな情報で申しわけありません。

〇〇〇 後で確認します。ほかはよろしいでしょうか。

〇〇〇 58ページの代謝経路への影響に関する事項のところですが、先ほど座長がお話し

やった動く遺伝子が9個あるということで、論文のほうには9個が載っているのですけれども、確かにアンノウンのものも入ってはいるのですが、この後の親のことを考えると、植物の代謝経路に影響するかどうかというのは1つのポイントになるかと思しますので、私としては、こここのところにその表を記載していただいて、特に植物の代謝経路に大きく影響を与えるものがリストアップされていることは現時点ではないみたいな、そういうような記載があったほうが、現在の知見では植物の代謝経路にさほど大きな影響を与えませんということがわかるかと思しますので、そうしていただいたほうがよろしいのかなと思いました。

〇〇〇 場所としては、この場所でよろしいですか。

〇〇〇 場所としては、私はここがいいかなと思ってはいたのですがけれども、もし別の場所がよければ、そちらでも構いません。

〇〇〇 代謝の影響ですから、ここがいいのかなと思います。できたら、それは私も追加してもらったほうがいいのかと思います。ただ、全部アンノウンだと思われませんか。

〇〇〇 全部ではないです。5つが一応、アノテーションされていて、4つがアンノウンスかね。Heat shockと何かのモチーフを持っているものと、モチーフとかドメインを持っているものが2つ、あとはGlycerophosphodiester phosphodiesterase activityとかcalmodulin-binding family proteinとか、そういった感じのもののようなのです。

〇〇〇 〇〇〇が説明された内容は、要旨の後ろについています添付の文献の15ページに表がありまして、2系統で共通して発現の変化の見られた遺伝子がリストされています。

〇〇〇 これをもし出してもらう場合は、安全上問題がないということをディスカッションしてもらわないといけないですか。

〇〇〇 アノテーションされた遺伝子については一言添えてもらう形になるかと思します。

〇〇〇 どうぞ。

〇〇〇 要は何かって言ったら、安全上の話というふうに絞って考えると、結局このタンパク質が上がることによって代謝系がぶれるかどうかということに関しては、今のところは宿主とそんなに変わらないでしょうということで、恐らく後代にもスタックのときにどうなのかなというのは確かに〇〇〇のおっしゃるとおりだと思いますけれども、安全上、この転写産物由来のタンパク質ということで考えたときに、この9つが毒性とアレルギー性はないよということを書いてくれば、すごく楽ですよ。そのデータをお持ちかなというふうに私は思いました。ですから、PLOS ONEの論文は論文でいいのだけれども、安全性というところから行くと、そこのところはどう見られたのかなというのが私は気になりました。

〇〇〇 今の点に関して言うと、遺伝子情報はあるわけなので、Hypothetical proteinでも、面倒かもしれませんが、データベースに当てていただいて、一応そういうものに引っかかりませんよということを書いていただくと、カテゴリ1でいいのかということに大分すっきり落ち着けるかなという気はいたします。

〇〇〇 それは重要なポイントだと思いますので、やっていただいたほうが良いと思います。ほかはよろしいでしょうか。

それでは、質問事項ですけれども、今の遺伝子の表をつけて、どのような性質で安全性上は問題がないかというのをつけていただくということと、先生のは内在性のものにどれくらい影響するかということですか。

〇〇〇 ダイマー、コンプレックスをつくる相手、*HD-ZipII*のホモログですけれども、転写レベルでいいと思うのですが、その内在性の遺伝子がどのくらい動くのかという情報を持っているようであれば、それをちょっと。余り動くようであると将来的に問題かなとは思いますが、そんなに動きませんということであれば、非常に差は小さいだろうと推定できますので、その点が1つと、トウモロコシはある程度、遺伝子配列を読まれていますので、内在性の*HD-ZipII*の上流のところのプロモーター領域にネガティブ・フィードバックの機構がかかるような配列があるのかなのか。19ページでは仮定となっているので、仮定でなくて、ある程度は推定してほしいなど。情報をお持ちでしょうから、できれば、そうしていただければというふうに。

〇〇〇 それは先生から質問をいただければと思います。ほかは何かありましたか。あとはP値が低いのがあったかもしれないというお話ですよね。それと、あとはその重量がふえて、これは興味本位の質問です。そんなところでしょうか。

それでは、説明者に入室していただくことにいたしたいと思いますので、ここで5分くらい休憩をとりたいと思います。

(説明者入室)

〇〇〇 それでは、続けたいと思います。まず、説明者の方のほうから自己紹介をお願いいたします。会社名とお名前だけで結構です。

〇〇〇 日本モンサント株式会社の〇〇〇と申します。本日はよろしく願いいたします。

〇〇〇 同じく、日本モンサント株式会社の〇〇〇と申します。よろしく願いいたします。

〇〇〇 日本モンサント株式会社の〇〇〇と申します。よろしく願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、質疑応答に入りたいと思います。何点か御質問があったのですが、まず簡単なことからいきたいと思います。トウモロコシの収量がふえるというお話がありまして、これは実際に見ると余り印象的にはふえていないのですが、これは商業的には十分意味のある量なのでしょうか。そこら辺を教えていただければと思います。

〇〇〇 雌穂重として今回、約15%ふえておりますが、それが最終的な収量になったときに、これが最終的に環境の影響等も収量にかかわってきますので、それが1%、2%くらい上がるという形になってくると思うのですが、そのわずかな差でも農家の方がそれで生産

をされるときに非常に大きなインパクトがあるということを伺っておりますので、経済的な面で効果は大きいと考えております。

〇〇〇 ついでですので、バイオマスという名前は、どうしてこういう名前がついているのか、素人なので教えていただけますか。

〇〇〇 雌穂のバイオマスを高めることで、狙っているのは高収量のところを狙っております。ただ、高収量をデータとしてお示ししようと思しますと、先ほども御説明しましたように、その収量というものには遺伝的な影響以外にも栽培環境というのが大きくかかわってきてまして、最終的な収量に環境要因によるばらつきが生じてしまうということになります。ですので、その収量の向上を明確に示すためには、かなり大規模な試験をして、複数年、複数箇所で確認しないと見えないというところがあります。そういった中で収穫時期ではなくて、その生育段階がより前のところで、雌穂重という形で生殖成長初期の雌穂重を見ることで、環境要因の影響をより抑えて、遺伝的な影響をより明確に見ることができるといところで、今回導入した遺伝子の影響がより見える部分といところで、絹糸抽出期における雌穂重の増大を評価しております。

〇〇〇 シークエンスをやったところで、冗長度が真ん中辺で、プロモーター領域でしょうか、かなり減っていますけれども、その理由とか何か説明をお持ちでしたらお願いしたいと思います。

〇〇〇 済みません、その点に関しては現状で確かにおっしゃるとおり、T-DNAの領域の中に冗長度が20くらいに落ちているところがあるのですけれども、その理由が例えば、GC含量の影響であるのかといところについては未確認の状態ですので、本社に問い合わせ確認をさせていただきたいと思います。

〇〇〇 それは後でまた追加で情報を提供していただければと思います。

それから、構成成分ですけれども、一次代謝物に関して、別の委員会で、P値に有意差が出た成分があったとの御指摘があったのですけれども、この点はいかがでしょうか。

〇〇〇 今回、食品安全性のために提出させていただいている構成成分のデータと、農作物分科会のほうで提出させていただいているデータそのものは違うものを見ておまして、今回提出させていただいているのは収穫期の穀粒のデータでして、農作物分科会のほうは絹糸抽出期の雌穂、生育ステージの違う段階での雌穂で見た結果というものになります。

そこで代謝産物を見たところ、幾つかの項目で有意差は認められたのですが、一貫して、こういった変化が起こっているというような結論につながるような変化は見られないといところで、何かしらアミノ酸の変化はデータとしては上がってきたのですが、特定の代謝系が変わっているという結論は導けなかったという経緯がございます。

〇〇〇 それはむしろ雌穂で起きるほうが、意味があるということではないですか。

〇〇〇 そういった目的で、何か特定のものが変わっているかどうかといところで探索するための試験を行ったのですけれども、どの構成成分が変わっているか、代謝経路が変わっているかといところまでの特定には至らなかったということです。

〇〇〇 それでは、より重要な問題に移りたいと思います。要するに転写因子ということで、いろいろなタンパクのレベルを変える可能性があるというのが一番の懸念になるかと思うのですが、網羅的なRNAを見た論文が出ており、9種類くらいのもものがリストアップされています。我々の意見は、それらを明示的に資料に載せていただいて、わからないまでもアノテーション的な情報をつけて、その安全性を議論していただきたいということです。今現在わかっていることで何か言えるようなことはありますでしょうか。それとも、後で出していただいても結構です。

〇〇〇 その件に関して、添付しております文献に沿って補足の説明をさせていただきたいと思うのですが、よろしいでしょうか。添付文献というタブが該当する文献になりまして、15ページに横向きの表でTable 5、Table 6という形で発現量に変化していた転写産物9種をお示ししておりますので、それぞれについて御説明させていただきたいと思っております。

この9種について、それぞれTable 5とTable 6の右側の欄に「Annotation」というところがありまして、これが機能に関する情報ということで、この部分を参考にしております。このうち、Table 5の中で「Hypothetical protein」と書かれているものにつきましては、データベース上で機能が未知ということで、この情報から何か特定の代謝経路に影響するかどうかということが推測する情報がないという状況になっております。それ以外のものについて御説明いたします。

まず一番上の「Annotation」が「Heat shock 22 kDa protein」というものですが、こちらはシャペロンでありまして、スモール・ヒートショック・プロテインでシャペロンですので、酵素ではないということで、これについては直接的に代謝に関与しているものではないと考えております。

その下の「Hypothetical protein containing RRM motif」というものについてですが、これはRNAに結合して転写後の発現調節にかかわっていると推測されますので、こちらについても何か特定の代謝系への関与を示すような情報ではないと考えております。

そこから2つ下に行きまして、「BAG domain containing protein」というものですが、この「BAG domain」はシャペロンタンパク質に結合しまして、成長とストレス応答に関与すると言われております。ただ、これについても特定の代謝に関与しているということを示す情報ではないと考えております。

下側のTable 6に2つ、転写産物が書かれております。その上のほうですね。

「Glycerophosphodiester phosphodiesterase」は酵素でして、グリセリン脂質の代謝に関与していると、このアノテーション情報からは考えられます。このタンパク質のうち、幾つかが細胞形成にかかわっているということが言われております。

その下の「calmodulin-binding family protein」ですが、これはカルモジュリンによって制御されまして、多くの生態的なプロセスに関与していると言われておりますが、このタンパク質が代謝系に影響を与えるものであるかどうかということについては、明

らかになっていないということになります。

以上がRNAシーケンス解析で認められた9つの転写産物についてのアノテーション情報ということになります。この9つの転写産物の情報ですが、もともとはRNAシーケンス解析でカットオフがFDAP値0.05未満というところで切って、発現量に変化している転写産物を特定するということを試みたのですが、それでは全く何も出てこないということで、基準を緩めまして、Raw-p値が<0.0001というところで、何か変化しているものが見えてくるまで基準を緩めることで、やっとこの9つが出てきたという経緯がございます。

こうしたデータにつきまして、弊社のほうでも専門家の先生に御相談したことがありまして、〇〇〇が転写因子の*HD-ZipIII*を研究されておりまして、その先生にこういったデータについてはどう考察すればいいかを伺ったのですが、その先生によりますと、転写因子を改変して、その結果、内在性の遺伝子の発現を変える場合には、形態なども変わってきて、その結果、3桁くらいの数の転写産物に変化してくるという中で、今回カットオフ値を緩めて9つしか見られないという時点で、かなりノイズを拾っている可能性もあるということと、そうやって出てきた転写産物から何かを結論するというのは難しいかもしれませんという御指摘をいただいております。

長くなりましたが、以上になります。

〇〇〇 この実際のシロイヌナズナの中で動く遺伝子は、かなりわかっているわけではないのですか。その情報は余りないですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 かなりアンノウンなところが多いですね、最終的な説明としては、いろいろな構成成分が動いていないというところで安全性を担保できるのかとは思われますが。できましたら、もうちょっとホモロジー検索等をやっていただいて、類推でも構いませんが、何か機能がわかるとよろしいかなと思います。それはもうやっていて、もう難しいとわかっているわけですか。

〇〇〇 そうですね。それを行うための方法がRNAシーケンス解析ということで行ってはいたのですが、なかなか検出可能なレベルでの発現量の変化をもって影響する部分を推定するというのが難しいという現状になります。

〇〇〇 ほかの先生から御意見はいかがでしょうか。

〇〇〇 とりあえず基準を緩めて何とか拾い出したという状態かと思しますので、食品としての安全性を考える上では、代謝経路に影響するかどうかということが最大のポイントであるのと、毒性タンパク質とかアレルギー性タンパク質が転写因子によってふえてくるようなことがないかということがポイントになるかと思えます。特にこのふえているほうの遺伝子について、この後、これのかけ合わせの親になるかと思しますので、そのときにカテゴリ1に入るのか入らないのかというのは1つのポイントになるかと思しますので、ここら辺の上がっているものについてはデータベースに当てて、トキシックプロテインとかアレルギー性のプロテインとか、そういうものには引っかかりませんよというのを

見せていただけると、こちら側としては少し安心できるかなと思っております。

〇〇〇 わかりました。そうしましたら、今回特定された9種類のものの中のうち、上がっているものについて、バイオマティックス解析で毒性あるいは有害物質にかかわるようなものがないことを確認させていただきたいと思います。

〇〇〇 今お話を聞いていて、関連して、お伺いしたくなったのですが、今回RNAで検索をかけていますが、もう少しストレートにターゲットを探すような試みはされているのですか。例えば、ChIPをやってみるとか、そういうような意味です。

〇〇〇 そういった解析については、データはとっておりません。

〇〇〇 もう一つ、間接的に内在性の*HD-ZipII*との相互作用の結果として、何か表現系が出てきてしまうと思うのですが、その内在性の*HD-ZipII*に関して、ターゲットがわかっているようなものはどのくらいあるのか。形態に影響するだろうというのは想像できるのですが、そういう知られているターゲットの中に代謝に影響しそうなものが含まれているかどうかという文献的な情報でいいのですが、そういうことが調査されたか。お話を聞いていて、確認はしておいたほうがいいかなと少し思ったのです。

〇〇〇 *HD-ZipII*自体がまだなかなか情報がない部分もありまして、どういった遺伝子上流に*HD-ZipII*が結合するコンセンサス配列があるかというところもわかっていないところがあります。特にトウモロコシについてはわかっていない部分が多いのですが、シロイヌナズナではターゲットの遺伝子ではないのですが、例えば、光合成の特性が変わるとか、あるいは塩ストレス耐性が上がるといった文献はあります。ただ、繰り返しになりますが、どういった経路に効いているか、あるいは遺伝子に効いているかというところについては情報が無い状態です。

〇〇〇 あと、先生の質問を追加でお願いします。

〇〇〇 申請書の19ページのところです。中段のところに「トウモロコシの*HD-ZipII*遺伝子もシロイヌナズナと同様にネガティブ・フィードバック機構を持つと仮定すると」とあるのですが、シーケンス情報がある程度お持ちだと思いますので、実際にそのトウモロコシの*HD-ZipII*のホモログ遺伝子、数は結構あるみたいですが、その上流のところに実際にコンセンサス配列といますか、そういうものがあるかないかという情報はどのようなのでしょうか。

〇〇〇 これについては正確な数はまだ確認できていないのですが、少なくとも複数のものがコンセンサス配列を持つと聞いておりますので、本社のほうに問い合わせまして、18個のホモログのうち幾つがコンセンサス配列を上流に持つのかというところを確認させていただければと考えております。

〇〇〇 特にZmhdz18がキーになるような気がするのですが、その遺伝子については、できれば特に念入りに教えていただければいいかなと思います。

〇〇〇 確認させていただきます。

〇〇〇 これはネガティブ・フィードバックがかかるので、大規模なトランスクリプター

ムの変化が起きないのだろうというディスカッションで、それが本当だとすると、そうかなという、ある程度の説得力は出てくるのですけれども、そのときのキーとしては、やはりトウモロコシの *HD-ZipII* の遺伝子の18個の転写量がこの形質転換体で余り変わっていませんよというデータをきっとお持ちなのではないかと思うのですが、それはこの論文に載っていますか。

例えば、この論文の13ページのBの図とかCの図がそれに当たるのかなと思って読んでいたのですけれども、これの説明がよくわからなくて、図の説明を見るとピンクとブルーの2系統の何かデータが出ているのですが、このピンクとブルーはNH6214とNN6306の系統であると書いてあるのですが、これは形質転換体なのか、そもそも品種なのかもよくわからなくてですね。

〇〇〇 これは形質転換体ではないです。

〇〇〇 そうすると、形質転換体でこれらの遺伝子がどのように動いているかというデータは、これに載っていないですか。

〇〇〇 ないですが、今回つけておりますRNAシーケンス解析の中でもデータはっておりますので、お示しすることはできると考えております。

〇〇〇 ヘテロダイマーというか、ホモダイマーというか、ダイマリゼーションを起こすときに相手方の量が余り変わらないというのは、トランスクリプトームが大きく変わらない一つの理由というか説明になるかと思しますので、その転写量のところを見せていただくと、変わっていないだろうと想定はしているのですけれども、代謝に対して余り大きな影響を与えないという意味での一つの傍証になるかなと思います。

〇〇〇 そちらのほうのデータも御用意させていただきたいと思います。ありがとうございます。

〇〇〇 質問は大体済んだと思うのですけれども、それ以外に追加で何か御質問がありましたら、お願いしたいと思います。

〇〇〇 先ほどのお話で冗長さの問題なののですけれども、これはイルミナテクノロジーでやられたと思うのですが、別の原理が違うものがありますよね。それで解析された結果をお持ちであれば、そのときに冗長度がどうなったかのデータがあれば、あるいはそういう情報があれば、お教えいただければ、ありがたいのですけれども、本社のほうに聞いていただけますか。

〇〇〇 確認いたします。

〇〇〇 ほかによろしいでしょうか。どうぞ。

〇〇〇 RNAの解析結果に関してですけれども、このタンパク自身が穀粒の中ではほとんど検出できないということで、RNAのほうはまだ未熟種子の段階だとちゃんと発現していて、それで多分恐らくタンパクも発現していて、成熟すると消えてなくなるという解釈でいいのか、実験的にそういうデータを持っているのか、一応確認だけできたらと思ったのです。

〇〇〇 実験的に確認しているわけではございませんが、いつも恒常的に発現するプロモーターを使って、今回のケース以外にもBTタンパク質や除草剤の耐性のタンパク質等を発現させた場合に、やはり穀粒で発現数が低くなっていくというところがございます。そういった中で、今回のATHB17Δ113タンパク質はそういったケースより2オーダーくらい全体的に発現量が低くなっておりまして、そういった中で穀粒ではさらに発現量が低くなることで検出限界未満という形でデータが得られているという状況にはなっておりますが、恒常的に発現するプロモーターを使っておりますので、発現はしていると考えております。

〇〇〇 追加で、ほかはよろしいですか。

それでは、質問内容は以上でありますので、説明者の方、どうもありがとうございました。

(説明者退室)

〇〇〇 それでは、審議に戻りたいと思います。ただいまの説明者の方の回答を踏まえた上で、追加で御意見、コメント等がございましたらお願いしたいと思います。

まだ説明を追加してもらう必要がある点が多いかと思っておりますので、もう一度、説明をいただいたほうがよろしいかと思っております。幾つか先生方からいただきました御意見、確認事項を指摘事項案としてまとめまして、先生方に確認を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っております。

それでは、もう一度ということで、飼料には行かないということです。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。

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、本日の議題についてはこれで終了ということで、以上をもちまして、第156回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会させていただきます。きょうもありがとうございました。