

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第157回会合議事録

1. 日時 平成29年2月17日（金） 13:59～17:18

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

・ アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）

（食品・飼料）

・ NZYM-BE株を利用して生産されたグルコアミラーゼ

(2) その他

### 4. 出席者

（専門委員）

澤田座長、岡田専門委員、小関専門委員、橘田専門委員、児玉専門委員、手島専門委員、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

（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 アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）（食品）

② アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）（飼料）

③ NZYM-BE株を利用して生産されたグルコアミラーゼ

### 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157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、〇〇〇が御欠席とのことです。

本日の議題であります、継続審議品目であります「アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）」、これは食品と飼料、新規の品目であります「NZYM-BE 株を利用して生産されたグルコアミラーゼ」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いたしたいと思います。

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、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。

資料として「食品健康影響評価に関する資料」。

机上配布資料として「専門委員からのコメント」となっております。

なお、これら以外の参考資料についてはファイルにとじまして、委員の皆様の上に置かせていただいております。本ファイルにつきましては、調査会終了後に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、本日は新規審議品目の申請企業であるノボザイムズジャパン株式会社をお呼びしております。新規品目であります「NZYM-BE株を利用して生産されたグルコアミラーゼ」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。

〇〇〇 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。

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、まず「アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）」のうち、食品についての審議を行いたいと思います。

この品目は平成28年2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「アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）」の緑色のファイルが多分2つあると思うのですけれども、そのうち、表紙に「回答」と書いてある方をよろしくお願いいたします。

本申請品目の指摘事項は、全部で3つ出されております。

回答書の1ページをお願いいたします。指摘事項の1は、本システムを作成する際に用いた形質転換法の特徴や実際の条件とともに、形質転換当代の選抜方法について詳細に説明することといった内容です。

回答として、本システムを作成する際に用いたマーカーフリー形質転換法について、de VettenとRichardの論文の内容を引用し、それぞれの手法の特徴を述べた上、スクリーニングの方法等について、6ページまでにかけて詳細に説明をしております。

また、当該ジャガイモの植物体の維持及び増殖方法に関しましては、7ページ及び8ページに記載があるように、通常のジャガイモと同じように、維持系統であるSPS-00E12-8の植物体から、シュートを切り出しまして、それを増殖し、得られた個体から、さらにシュートを切り出しといった方法を繰り返すことで、SPS-00E12-8の個体を増やしているとのことです。

なお、これまでの回答書における説明では、事実誤認を与えるような表現も散見されたということでしたので、こちらについても併せて修正をしているということですので。

次に、回答書の9ページをお願いいたします。

こちらに記載があります指摘事項の2は、これまでに提出されている分析結果が基本植物のどこに該当するか、基本植物のどこに由来するかを明確にするとともに、その結果に基づきまして、当該ジャガイモのゲノムレベルでの均質性を考察することといった内容です。

回答として、まず、先ほどの指摘事項の1に対する回答にも関係いたしますが、実験に供した個体は、全て維持系統であるSPS-00E12-8に由来すること。そのため、これまでに説明していたG0個体の#1～#6という分類を改めるとともに、それぞれの実験をどの個体のどの組織で行ったかということをも明確化しております。

具体的には、回答書の11ページの表1と図6になりますが、コピー数等の試験は、図6の概念図で言うところのG0において、その他、遺伝子の発現や安定性等はG0からG3の個体を用いているということですので。その結果、SPS-00E12-8はシングルインサートであり、それ以外の挿入は確認されなかったこと、さらに、この内容を補完するためにシーケンスキャプチャー法及びNGS解析、ddPCR法を行ったところ、先日の結果を支持するような内容であったということですので。

これらの結果から考えると、本システムがキメラである可能性は低いと考えている旨、13ページには記載がされております。

最後に、回答書の14ページをお願いいたします。指摘事項の3は指摘事項の1及び2の回

答やカテコール試験等の結果を踏まえまして、本系統におけるキメラ体の可能性について考察することといった内容です。

回答として、先ほどまでの説明から、本系統においては、全ての組織層がシングルインサートであり、外骨格領域が含まれないこと、また、挿入領域に関して、キメラである可能性はないことが示されたと考えている旨が記載されております。

これら以外の修正箇所については、回答書の17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、先生方からの御意見をいただきたいと思えます。

まず、指摘事項の1で、これは選抜方法とか、いろいろな選択した条件等を詳細に書いてほしいということで、〇〇〇と〇〇〇から御指摘いただいておりますけれども、いかがでしょうか。

〇〇〇 今回、3ページのところに図をつけてくださったのですけれども、やっところらが危惧していたところを理解していますという表明のような形で、まずは全体の説明が始まっているので、ほっとしているところです。指摘の理屈がわかった上で回答してくださっているのですけれども、植え継ぎの反復回数だとかを考えれば、植え継ぎするたびに均質化されていくと思えますので、一応大丈夫だと納得していいレベルなのかなと思えます。

あと、シークエンスの解析が追加され、今までとは別の見方で1ローカスへの挿入だという結果にも、後ろのほうになりますけれども、なっていますので、これで今までいろいろ繰り返してデータとか説明がおかしいとか言ってきた点については、解消してもらえているかなと思っているところです。

〇〇〇 〇〇〇、いかがですか。

〇〇〇 〇〇〇のおっしゃるとおりで、こちらの意図がようやくわかってくださった。それで的確な答えだろうと思えます。これでよろしいかと思えます。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、指摘事項の2で、これも指摘事項1と同じようなものですがけれども、分析結果がそれぞれどの個体から来ているのかとか、そういうことをきちんと書いてくれということと、それから、その結果に基づいて、当該ジャガイモの均質性を考察してくださいということで、これも〇〇〇と〇〇〇、まず、〇〇〇、よろしいですか。

〇〇〇 これについても、一応、これで説明はよいと思えます。特に基本植物でしたか、その言葉が混乱を招くもとだったと思うのですけれども、その辺の説明もわかりやすく修正されていますし、サザンのサンプルに関しても関係がわかりましたので、これで結構かと思えます。

〇〇〇 〇〇〇は追加で何かありますか。

〇〇〇 ありません。

〇〇〇 よろしいですか。

それでは、最後の指摘事項3で、指摘事項1、2の結果、それから、カテコールの試験の結果等を踏まえて、キメラの可能性について考察してくださいということで、これも〇〇〇と〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 これも、なかなかあちらに意図が伝わらなかったもので、同じようなことを繰り返し違う形で指摘していたということであったのですけれども、回答全体を通して、これで結構かなと私のほうは思います。

〇〇〇 〇〇〇はいかがでしょうか。

〇〇〇 まさしくおっしゃるとおりで、1、2、3、全部同じといえば同じなので、私はこれでよろしいと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

追加で、一応コメントと言えるかどうかかわからないのですけれども、〇〇〇からちょっとだけ御意見をいただいております。

〇〇〇 お手元に「机上配布資料」と右上に書かれたA4の1枚の紙を御準備いただきたいのですけれども、今回の品目に関して、本日御欠席されている〇〇〇より一言コメントをいただいております。

安全性に関する内容ではないのですがという前置きがあった上でのコメントなのですが、簡単に読み上げさせていただきますと、この系統においてもNGSが分析に使われています。細かいことですが、キャプチャーしてのシークエンスなので、37X が低いカバレッジとは思わないけれども、そこでmate pairを使った理由がわかりません。

また、3.7kbのmate pairライブラリーを作成されているのであれば、用いたゲノムのクオリティーがそれ以上の大きさが主の断片化されていないゲノムDNAを用いていますという泳動図があってもいいのではないかと考えております。

ユビキチンプロモーター、ターミネーターのところの確認で、mate pairのデータでは弱いように思っております。通常のPCR、シークエンスはやっていないでしょうか。また、サザン等のほかのデータがあればいいのでしょうか、ddPCRの生成ドロップレットは幾つなのでしょうかという、幾つか内容を知りたいというようなコメントはいただいております。

〇〇〇 この点は、後で先生に確認していただければよろしいと思いますけれども、〇〇〇、何かこれに対してコメントはありますか。

〇〇〇 ないです。

〇〇〇 よろしいですか。

特に安全性上大きな問題があるということではないと思います。それから、ほかのデータの補完という意味合いはかなり大きいので、特に要らないということまではないのかなと思いますけれども、これは〇〇〇に、申請者のほうから回答していただくことにしたいと思います。

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すので、評価書案の審議に入りたいと思います。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 今回、これまでにいろいろとクレームを出してきたこともあって、全体を見直してみたのですが、安全性上の問題という意味ではないのですけれども、一点、あれと思った点があります。二、三回前ですか、デュポンのときに、統計解析でFDRを用いることについて確認することになりましたが、このアクリルアミド低減ジャガイモでも、アミノ酸の分析の部分では同じ方法で修正P値をテーブルに出しているのですね。デュポンの場合は、P値と修正P値が併記されていたのですけれども、こちらは修正値しか出ていないということもありまして。問題が生じるような値のずれではないということは、一応は目を通して確認したつもりなのですが、できましたら、デュポンのほうに見解を問いただしたのと同じように、この手法でいいと考えている根拠は何なのかということ、統計学的な意味で一回企業に確認をしていただくほうが、次からの資料提出のときに問題にならなくていいのかなという気がちょっとしたところなのです。

〇〇〇 前は、FDRだけではなくて、修正前のものも出していただいていたのですね。

〇〇〇 あのとときには両方出ていましたが、今回は、テーブルを見ると、修正値しか見つからないのです。そうすると、それだけを根拠にするというのは実際どうなのかなと。ある成分についてはP値が出ていて、ある成分分析、例えばアミノ酸の分析は修正P値が使っていて、何で使い分けているのだろうということもありますので、ちょっとその辺、本当にこの方法でいいという根拠を持っているのかということ、できたら修正前のP値も併記するような提出の仕方をしてもらったほうがいいのかなと思っています。

〇〇〇 これは、ただ、表の一つデータを加えるだけです。

〇〇〇 表の数は多いですけども、実際にはそういうことで。

〇〇〇 1段追加してもらって、両方、修正前のP値と修正後のP値と両方併記してもらえばよろしいでしょうか。

〇〇〇 そのほうがすっきりするかなという気はします。ずれていたとしてもアミノ酸だし、ほんのちょっとのずれなので、いろいろなものを食べていることを考えればそう問題になる話ではないし、大きく違うのは、恐らくアスパラギンの量が減っているということ、それは好ましい方向の変化だと思いますから、無理に修正P値を使わなければいけないという気はしないのです。

〇〇〇 ほかに大きな問題があったので、細かいところまで目がいっていなかったようで。データだけ追加してもらおうということでもよろしいでしょうか。

前の例だと、修正したFDRを用いたほうがベターであるという理由を説明してくださいと伝えた後、まだ回答が来ていない状況ですね。モンサントでしたか。

〇〇〇 デュポンです。

〇〇〇 たしかデュポンでした。モンサントは前回やはり、FDRを使っているのですけれど

ども、それはいわゆるアレイのときに使っていて、それで見つからないので、条件を緩めてさらに検討しましたという、それは真つ当な使い方のような気がするのです。でも、デュポンのほうは、テーブルを見た場合、ずれているのではないのというようなものを、修正P値のほうでずれがありませんよというロジックにしているから、こちらはひっかかってしまったというところですよ。

ただ、P値でずれていて、その値が別の意味での問題を生じているかどうかという、要するに、次の検討に入るときにトゥルーネガティブを起こさないようにしておきたいというのが評価上の方向性だと思うので、フォールスポジティブを幾ら落とすことがあってもトゥルーネガティブは増やしてほしくない、そういう意味で確認をお願いしたのですけれども、まだ回答は来ていないのですね。

〇〇〇 デュポンのほうはまだ回答が来ておりませんので、この会議が終わったらまた照会をしてみようと思います。

〇〇〇 結論が、説明が十分に来るまでは2つ併記でいいのではないですか。個人的考には、FDRをやる必要は必ずしもないと思っているのですけれども。

〇〇〇 私も自分で調べた限りにおいては、使わないほうがいいかなという気がしているのですが、その考えが間違っていますよということをちゃんと説明してくれるならばというところですよ。

〇〇〇 それは追加の方向で一応言っていて、ほかの安全上の問題は、修正しても生じないと思いますので、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いたします。

〇〇〇 それでは、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1ページ目以降が、本申請品目のうちの食品の評価書になっておりますので、準備をお願いいたします。

まず、7ページをお願いします。

I.といたしまして、本申請品目の概要ですが、ジャガイモ及びジャガイモ近縁野生種由来のDNA断片を導入することにより、ジーンサイレンシングを誘導し、アクリルアミドの産生量と打撲による黒斑形成が低減されると記載をしております。

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.の(1)及び(2)については記載のとおりです。(3)として、挿入DNAの性質等については、4種類の遺伝子断片及び2種類のプロモーターのいずれもアグロバクテリウム法により導入がされております。

8ページ、2.から5.の内容については記載のとおりです。

9ページ、6.相違点に関する項目ですが、導入した遺伝子カセットにより、ジーンサイレンシングが誘導され、アクリルアミドのもととなるアスパラギン及び還元糖の含有量が抑えられることで、高温加熱工程で生じるアクリルアミドが低減するとともに、打撲による黒斑形成が低減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、

既存のジャガイモとの比較が可能であるとしております。

第2.の利用方法、第3.の1.及び2.については記載のとおりです。

10ページ、第3.の3.といたしまして、有害生理活性物質についてでございますが、ジャガイモの塊茎には、チャコニン等のグリコアルカロイド類が含まれていると記載をしております。

4.アレルギー誘発性については、ジャガイモのアレルゲンとして、パタチン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しないことに関しては、ジャガイモ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.については記載のとおりです。

続いて、第4.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。

次に11ページの210行目以降を御参照いただきたいのですが、第5.挿入DNA等に関する事項になります。

1.の(1)の名称、由来等に関する事項ですが、導入した遺伝子カセットに用いた遺伝子断片のうち、ポリフェノール酸化酵素-5遺伝子3‘非翻訳領域断片はジャガイモ近縁野生種に、そのほかの遺伝子断片は全てジャガイモに由来をしております。

(2)安全性に関する事項ですが、ジャガイモは食用として、近縁野生種は育種用として、それぞれ、これまで古くから利用がされております。

12ページ、2.といたしまして、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については、18ページにカセットの模式図がありますので、こちらを御参照いただきながら御説明させていただければと思います。

今回の挿入DNAは2つのカセットより構成がされておまして、まず第1カセットといたしましては、図1の向かって左側になりますが、*fAsn1*及び*tPpo5*を、スペーサー1を挟んでそれぞれ逆位に反復して配置いたしまして、第2カセットは、図1の向かって右側になりますが、*pR1*及び*pPhL*を、スペーサー2を挟んでそれぞれ逆位に反復して配置し、両者を結合することでカセットが構成されております。両カセットとも、ターミネーターがないことが大きな特徴となっております。

また12ページを開いていただきたいのですけれども、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ですが、*fAsn1*の導入により、アスパラギン合成酵素-1遺伝子の発現が抑制されて、遊離アスパラギンの含量が減少し、*pR1*及び*pPhL*の導入により還元糖の生成が抑えられます。これらは、アクリルアミドのもととなる物質ですが、これらの絶対量が抑えられることで、結果として、高温加熱加工時に生成されるアクリルアミドの量が低減されると記載しております。

また、*tPpo5*の導入により、フェノール類の酸化反応を触媒する遺伝子の発現が抑制されるため、打撲黒斑の感受性が低減する旨を記載しております。

(4) また3.及び4.については記載のとおりです。

13ページの292行目をお願いいたします。

こちらには、5.の(2)といたしまして、目的外ORFの項目を記載しております。目的外ORFの有無についてでございますが、20アミノ酸残基以上のORFについて、構造相同性の有無を確認しましたところ、2つのORFがアボカドのclass1 endochitinaseの8連続アミノ酸残基と一致をいたしました。しかし、アレルギーに関するドメインはここには含まれておらず、また、当該アミノ酸残基はclass1 endochitinaseのシグナルペプチド領域に含まれるため、アレルゲンである可能性は低いと考察した旨を記載しております。

なお、毒性タンパク質の相同性については、確認されなかった旨、最後に記載をしております。

(4) 発現ベクターの純化については、外骨格領域に選択マーカーである*nptIII*遺伝子があるものの、選抜と増殖の過程で純化がされているとしております。

15ページ、6.導入方法についてでございますが、こちらについては、今回の回答書の内容を踏まえまして、内容により、記載を項目立てしております。

まず(1)といたしまして、マーカーフリー形質転換法になりますが、当該方法は外骨格領域を含まず、単一の挿入DNAを持つ植物体の作出に有用であること。

次のページに続きまして、(2)といたしまして、申請されているジャガイモの作出方法になりますが、導入用ベクターをアグロバクテリウム法により導入後、PCR分析やサザンブロット分析等によって選抜をしたこと。

最後に(3)として、今回の申請品目であるSPS-00E12-8の維持及び評価試料についてですが、本系統は組織培養により維持され、全て起源は単一である旨を記載しております。

第6.組換え体に関する事項になります。

1.の(1)については、サザンブロット分析により、目的の遺伝子はそれぞれ1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。

境界領域の塩基配列につきましては、LBに17塩基の形質が、RBに92塩基の欠失があった旨を記載しております。

また、挿入DNAの近傍配列が宿主ゲノム由来であることを確認するため、データベース検索を行いましたところ、DNA挿入領域において736塩基が欠失されておりましたが、このことによる宿主の既知の内在性遺伝子の破壊はないと考えられる旨、記載をしております。

このほか、次のページになりますが、381行目以降にはSPS-00E12-8の全ての組織において挿入DNAが単一であるかをddPCR法及びカテコール試験によって確認したところ、想定どおりの結果であった旨も記載しております。

(2) ORFの有無と転写、発現の可能性については、stop to stopの20アミノ酸残基以上の条件で検索を行ったところ、ORFが全部で12個見つかったものの、相同性を示す既知

の毒性タンパク質及びアレルゲンは見つからなかったと記載をしております。

18ページ、2.発現量に関する事項、3.一日タンパク摂取量については記載のとおりです。

続いて、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、本来の評価書においては、当該箇所人工胃腸液試験の結果や加熱試験の結果などを記載するのですが、本品目については、導入している遺伝子断片によりタンパク質が産生される可能性は低いと、評価を行っていない旨記載をしております。

続く5.遺伝子の安定性及び19ページの6.代謝経路への影響については、記載のとおりです。

20ページ、7.といたしまして、宿主との差異については、構成成分について、本系統と非組換え品種等を比較したところ、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をしております。

8.から10.の項目については記載のとおりで、以上の結果から、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。

最後にⅢ.として、食品健康影響評価結果としては、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。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、ただいまの評価書案について、御意見、コメントを賜りたいと思います。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、全体を通しまして、御意見、コメントがありましたら、お願いしたいと思います。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 16ページから17ページにかけて、先ほど来問題になっていたゲノムの均質性について考察をしていると思うのですが、シングルコピーであるということと、外骨格が入っていないということは言われているのですが、キメラではないということの中には、シングルコピーであってもゲノム上の挿入位置が全て同じであるというのが、キメラではなくて均一であるということを示すのに必要だと思いますので、恐らくデータから、サザンも、例えばどこをとってもサザンのパターンは全部全く同じであるとか、当然均質性を担保するようなデータは得られていると思いますので、単にシングルコピーで外骨格が入っていないということ言うだけではなくて、ゲノム上の挿入位置も、例えば挿入配列の近傍配列は全く同じであったとかですね。そういうことを断っていただかないと均質性を担保したことにならないのではないかと気がしたのですが、いかがでしょうか。

〇〇〇 ほかの先生、いかがでしょうか。

評価書に説明を加えないといけないということですね。

〇〇〇 そうですね。そんなに長々と説明は多分要らないと思うのですが、実験データの引用しているところの部分で、サザンがこうだったから均一だとか、シークエンスの結果がこうだったから同じ位置に挿入されているとか、そういうことを一言確認していただくだけでいいのではないかという気がいたしますが。

〇〇〇 確認した上で、少し記載を追加ですね。

〇〇〇 そうですね。

〇〇〇 それでは、今、いただいた御指摘を踏まえまして、この16ページの349行目以降のところの説明を追加させていただければと思います。また追加したら御確認いただければと思いますので、その際はよろしくお願いいたします。

〇〇〇 ほかはよろしいでしょうか。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 20ページの506行目になるのですが、ここに「1個体が文献値の範囲外であったが」とあるのですが、こういうものは今まで書いていなかったような気もするのですが、多分、たくさん調べると1個体ぐらいいずれているケースが過去にもあるのではないかとか思ったので。

〇〇〇 今の御指摘は、平均で値を見ればいいという意味ですか。

〇〇〇 そうです。今までは平均で、たとえ有意差に違いがあっても範囲内であったみたいな表現だったかなと思うのですが、その平均を出すときの1つの分析個体が範囲外であることは、恐らく過去にたくさん例はあろうかと思えます。

〇〇〇 「1個体が文献値の範囲外であったが」というところだけ要らないとおっしゃりたいと、それでよろしいですか。

〇〇〇 私は要らないのかなと思ったのですが、

〇〇〇 事実関係を確認しまして、おっしゃるように、確かに平均で比べているのに1個体のデータだけを特出しする必然性は余りないとは思いますが、そこは確認した上で、正しく修正させていただければと思います。どうもありがとうございます。

〇〇〇 ほかはよろしいでしょうか。

〇〇〇 今のこの表現は、要旨の83ページの下から3行目の「33個体中1個体」というものを特出ししました。

〇〇〇 要らないのですね。

ほかになれば、若干微修正があるのと、将来的にちょっと変える可能性はありますけれども、いただいた必要、またはいただいた修正につきましては、事務局で修正して、意見をいただいた先生と私のほうで確認して、その後で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、続きまして、飼料のほうの安全性についての審議に入りたいと思います。

まず、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いたします。

お手元にアクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモの、今度は透明のプラスチックファイルをよろしく願いいたします。

まず1ページ目、本申請品目の概要についてでございますが、①品目名は食品と同一となっております。②特徴につきましてはジャガイモ及びジャガイモ近縁野生種由来のDNA断片を導入することによりジーンサイレンシングを誘発いたしまして、アクリルアミドの産生量と打撲による黒斑形成が低減されることがその特徴となっております。

4ページ、③といたしまして、使用方法についてでございますが、従来のジャガイモと変わらないという記載があります。

5ページの2.として、安全性についてでございますが、「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」に基づきまして、3つの要件に照らして考察いたしましたところ、本系統は導入されている遺伝子がジャガイモあるいはジャガイモ近縁野生種のみでありまして、それらの由来及び性質は明らかであること、また、導入遺伝子により、新たなタンパク質が産生されることはないこと、さらに、構成成分分析の結果、遊離アスパラギン減少、遊離グルタミンの増加に加え、冷温貯蔵時の還元糖の含量に統計学的有意差が認められたものの、これらは全て従来品種または文献値の範囲内であったことなどの理由から、本組換えジャガイモは従来のジャガイモと変わりなく、安全性上の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食することにより、ヒトの健康に影響を及ぼす可能性はないと記載がされております。

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、まず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。短いので、全体を通して、いかがでしょうか。

こちらのP値は修正していないP値なのですか。

〇〇〇 修正P値ですね。例えば7ページ一番上にアスパラギンがありますけれども、これは普通のP値だったら有意差ありだと思っております。

〇〇〇 AP値というのは、そういう意味なのですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 「Adjusted P Value」と書いてありますね。こちら追加で1行ふやしたほうが。

ほか、御意見いかがでしょうか。よろしいですか。

では、特に安全上の問題があるということではないようでありますので、評価書案の審議に入りたいと思っております。

事務局から御説明をお願いします。

〇〇〇 続きまして、それでは、こちらのジャガイモの飼料の評価書のほうを御説明させていただきます。評価書案を束ねた冊子の今度は25ページから30ページが、本申請品目のうち、飼料の評価書案となっております。

まず、29ページ、I.については、先ほど御説明した食品の内容と重複しておりますので、

再度の説明は割愛をさせていただければと思います。

Ⅱ.については、まず、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.として、先ほどの内容となりますが、食品としての評価を終了していることの、以上2点から、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がなく、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。

説明は以上になります。

〇〇〇 これも短いので、一括でコメントをいただきたいと思います。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、コメントありましたら、お願いしたいと思います。

特段の御意見はないようで、大体このままの形で、食品安全委員会に御報告したいと思っております。

特に直す必要はないですね。P値が直っても、こちらの文面は同じですね。

〇〇〇 変わらないです。

〇〇〇 ありがとうございます。

続きまして「NZYM-BE株を利用して生産されたグルコアミラーゼ」について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 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、本日申請者のノボザイムズジャパン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、申請品目を御審議いただいた後に、申請者に対する質問事項等があれば、整理していただきたいと思っております。その後、説明者に入室していただき、質疑応答を行います。質疑応答終了後、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いたします。

お手元に「NZYM-BE株を利用して生産されたグルコアミラーゼ」の橙色の紙ファイルをよろしく願いいたします。

1ページ目、まず第1-1といたしまして、従来添加物の性質等に関する内容です。従来の同一添加物といたしましては、*Aspergillus niger* BO-95株を基原とするものがあります。

(2) 製造方法ですが、数段階の培養工程を経て製剤化され、生産菌は除菌ろ過により取り除かれるとのことでした。

(3) として、その用途ですが、デンプン等を製造する際の糖化の工程で使用されるということです。こちらについては2ページの図2についてもあわせて御参照いただければと思います。

続いて、3ページ、第1-2といたしまして、本申請品目における宿主等の情報になっております。

(1) 宿主等の由来ですが、宿主は*Aspergillus niger* BO-1株となります。

(2) DNA供与体等の由来ですが、4ページの表1に記載がありますが、*Rasamsonia emersonii*、*Aspergillus nidulans* Glasgow野生株、*Aspergillus oryzae* IFO4177株、*Saccharomyces cerevisiae*及び宿主と同じ*Aspergillus niger* BO-1株など、さまざまな菌に由来をしております。

(3) 挿入DNAの性質等ですが、生産菌であるNZYM-BE株の作成に当たりまして、DNAの挿入とともに、DNAの欠失が生じておりますが、それぞれが有する性質につきましては、4ページ、5ページの表2及び表3に記載のとおりとなっております。なお、DNAの挿入につきまして、本品目ではプロトプラスト法を用いております。

ここで一点、申請書の修正になるのですが、4ページの表2をご覧いただきたいのですが、こちらの表2に記載の上から2つ目の*asaA*遺伝子について、申請者に確認しましたところ、こちらの遺伝子に糖化効率を向上させる働きがあると書いてあるのですが、事実関係を確認したところ、糖化効率を向上させる働きはないということでしたので、本項目の2文目「AMG-Tを」以降の文を削除していただければと思います。よろしく願いいたします。

6ページ、第1-3及び1-4については、記載のとおりです。

7ページの第1-5には、当該GM添加物の性質等が記載されております。

(1) 有効成分等はグルコアミラーゼになりまして、以降はこれをAMG-Tと記載しております。

(2) 製造方法の詳細は、2ページの図1に記載のとおりで、生産菌は二度の除菌ろ過により生産物である酵素から除去されているとのことです。

(3) 用途等につきましては、従来のグルコアミラーゼに比して2.5倍以上の高い活性を持つため、このことがデンプン等製造の効率化に資するとのことです。

(4) 有効成分等の比較については、先のとおり、グルコアミラーゼとしての性質は同一で、その活性がより高いということが違いとなっております。

続いて、8ページ、第1-6といたしまして、従来品との比較についてでございますが、まず(1)として、従来添加物の比較については、活性が高いことに加えまして、アミノ酸残基が異なる点となっております。

9ページ、(2)として、今度は宿主との相違点でございますが、AMG-Tを発現させるため、*amgT*遺伝子を導入したことに加え、マーカー遺伝子も導入し、幾つかの遺伝子を欠失させている点が違いとなります。

10ページ、第2の項目として、宿主に関する事項が記載されております。

2-1については、記載のとおりです。

11ページになりますが、2-2として、病原性等に関する事項については、宿主である*Aspergillus niger* BO-1株は、ほかの糸状菌と比べて病原性等で問題となる菌種ではなく、バイオセーフティレベル1に該当すると考えられる旨が記載されております。

なお、*Aspergillus niger* には、オクラトキシン産生性に関する報告がありますが、BO-1株にはその産生能がないことが調べられている旨、記載がされております。

12ページ、今度はアレルギー性に関してでございますが、*Aspergillus niger* に起因するとされる事例が幾つか報告されてはいますが、本菌のこれまでの国内における使用事例等から勘案すると、適切な環境で扱われている限り、アレルギーを誘発する可能性は低い旨、考察をしております。

続く2-3及び2-4については、記載のとおりです。

13ページ、続いて、2-5といたしまして、近縁株の有害生理活性物質の生産についてでございますが、宿主の近縁種は、有害生理活性物質であるオクラトキシンの産生能を有すると記載されております。

14ページ、第3のベクターに関する事項ですが、3-1及び3-2- (1) 、3-2- (2) については記載のとおりです。

3-2- (3) として、既知の有害塩基配列については含まれていないこと、15ページの3-2- (4) 薬剤耐性についてはアンピシリン耐性遺伝子が存在することが記載されております。

続く3-2- (5) 及び3-2- (6) については、記載のとおりです。

続いて、16ページをお願いいたします。

第4として、挿入DNA等に関する項目になります。

17ページの4-1- (2) として、まず安全性に関してでございますが、グルコアミラーゼ産生遺伝子の供与体である、*Rasamsonia emersonii* に関する食経験は特に知られていないものの、同義である *Talaromyces emersonii* は、β-グルカナーゼ等の生産菌として安全に用いられた実績があるとしております。このほか、*Aspergillus niger* は、先述のように特に問題となるような菌種ではないこと、*Aspergillus oryzae* は自然界に広く存在し、日本においては発酵食品等としての食経験があること。

次のページになりますが、*Aspergillus nidulans* につきましては、食経験は特に知られていないものの、本株由来の *amdS* 遺伝子はマーカー遺伝子でありまして、これまでに安全に使われてきた実績があること、*Saccharomyces cerevisiae* につきましては、パン酵母などとして、長年にわたり安全に使用されている実績がある旨がそれぞれ記載されております。

続いて、4-2- (1) といたしまして、挿入遺伝子の合成方法についてでございますが、全ての遺伝子は、それぞれの供与体から、PCR法によりクローニングがされております。

4-2- (2) については記載のとおりです。

4-2- (3) 挿入遺伝子の機能については、内容が20ページになりますが、ここではまず、*amgT* 遺伝子についての検討を行っております。

1) 供与体のアレルギー誘発性については、これまでにほかの食品用酵素の生産菌として安全に使用された実績があることに加え、バイオセーフティレベル1に該当する旨記載がされております。

2) 遺伝子産物のアレルギー誘発性については、そういった報告はない旨が記載されております。

21ページ、今度は3) といたしまして、遺伝子産物の物理化学的処理に関する項目をお願いいたします。

まず①といたしまして、人工胃液処理についてでございますが、こちらについては、30秒以内に分解されることを確認しております。

続く②として、人工腸液処理についてでございますが、こちらについては、処理後6時間でも消化されない旨、記載がされております。

なお、本申請品目につきましては、耐熱性を伴うアミノ酸の改変を行っていないことから、加熱処理試験については実施しておりません。

22ページ、4) として、遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性に関してですが、検索の結果、Sch c1が相同性を示す既知のアレルゲンとしてヒットしたとのことです。

23ページ以降では、当該アレルゲンについての考察を行っております。まずこのSch c1というものは、スエヒロタケというキノコ由来のグルコアミラーゼということです。これまでのところ、当該グルコアミラーゼがアレルゲンとされる論文は1本のみでありまして、エピトープ配列の解析には至っていないこと、報告されている例におきましても、このスエヒロタケを食用としていた事実はなかったこと、データベースでは、食物アレルギーとしての登録がされていないことから、Sch c1がアレルゲンではないと考えることが妥当であるとの考察がされております。

また、このSch c1と従来の添加物であるAMG及び今回の申請添加物であるAMG-Tとの間の構造相同性について検討を行ったところ、ほぼ同じような相同性を示しているものの、AMG-Tは、本製剤の精製工程において除去されることに加えまして、万が一除去されなくても、人工胃液の試験の結果から、胃液によって直ちに分解されること等から、総合的に判断すると、AMG-Tがアレルゲンとなる可能性は極めて低いと申請者が考えている旨が記載されております。

26ページ、続きまして、残りの挿入遺伝子である*asaA*遺伝子、*amdS*遺伝子、*pyrG*遺伝子及び*URA3*遺伝子についてでございますが、それぞれについて、これまでの実績からアレルギー誘発性等の報告はなく、問題ないと考えている旨が記載されております。

なお、こちらに出てくる*asaA*遺伝子につきましては、冒頭でも御説明いたしましたように、グルコアミラーゼによる糖化の効率を向上させる働きはないということでしたので、こちらもそのように修正させていただければと思っております。

続きまして、第4-3には、遺伝子発現に関する事項が記載されております。

(1) プロモーター、(2) ターミネーター及び(3) その他の配列については、記載のとおりです。

29ページ、第4-4及び4-5- (1) については記載のとおりです。

32ページ、次に、第4-5- (2) として、目的外ORFの有無でございますが、stop to stop

で30アミノ酸以上の条件で、導入用プラスミドについて検索を行った結果、合計で426個のORFが検出されたものの、これらは既知のアレルゲンと比較して問題となる結果はなかったと記載しております。

2) として、毒性タンパク質との比較ですが、その相同性について検討に資する結果が2つ得られておりますが、そのいずれについても単独で毒性を持つ報告がない等の理由から、問題ないと説明がされております。

35ページの4-5- (3) 及び4-5- (4) については、記載のとおりです。

同じく35ページ、4-6として、DNAの宿主への導入方法についてですが、導入用プラスミドをプロトプラスチ形質転換法により導入しております。なお、本品目においては、目的の遺伝子カセットがタンデムに多コピー導入がされております。

36ページに続きまして、4-7といたしまして、抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性ですが、導入用ベクターには耐性遺伝子が入っているものの、生産菌であるNZYM-BE株には含まれていないとのことです。

37ページ、第5、組換え体に関する事項ですが、5-1の宿主との差異に関しては記載のとおりです。

5-2の遺伝子導入に関してですが、遺伝子発現カセット及び導入用プラスミドとも、宿主に多コピー導入されていること、タンデムに複数コピー導入されている配列については、現在のシーケンス技術では解読することが難しいため、正確なコピー数や導入配列の確定ができなかったこと、挿入箇所は、ともに機能未知の遺伝子の間であることがそれぞれ記載されております。

39ページ、こちらには、第5-2- (2) といたしまして、遺伝子導入におけるORFの有無についてでございますが、検索の結果、合計で188個のORFが確認されたものの、既知のアレルゲンとの相同性はなく、既知の毒性タンパク質に関しては、データベースにヒットしたものの、内容を精査したところ、問題となるような結果ではなかった旨が記載されております。

45ページ、第6といたしまして、製造原料等に関する事項についてでございますが、AMG-T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。

47ページ、第7、遺伝子組換え食品添加物に関する事項ですが、本品は7-1にあるように、既に諸外国で販売実績があること、7-2にあるように、製品中に組換え体DNAが残存していないことを確認しております。

次のページに記載の7-3から7-5については、記載のとおりです。

51ページ、こちらには先ほどの第5の項目でも御説明したとおり、本品目においては、導入用プラスミド等が複数入っておりますが、このために、目的遺伝子のコピー数及び導入部分全体のゲノム配列が確認できないような状況となっております。そのため、申請者のほうでは、これらの結果をもって、本申請グルコアミラーゼの安全性が確認し切れないと判断したため、第8の項目において毒性試験を実施しております。

具体的には、遺伝毒性試験として微生物を用いた復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験を、反復投与毒性試験として、13週間反復投与毒性試験を実施しております。

結果といたしましては、いずれの試験においても問題となるような所見がなかったこと、NOAELは最高用量である1.47g TOS/kg 体重/日であるとともに、この値をもとに算出した安全マージンは54,400と、基準である100を大きく超える値であったことから、問題ないとの考察が記載されております。

なお、申請書の記載に基づいて、ただいま第8の項目を御説明いたしました。この第8の項目がなくとも、安全性上の問題がないと言い切れるのであれば、こちらの第8の記載は参考としての扱いでも問題ないかと考えておりますが、この点について、後ほど御意見をいただければと思っています。

以上の結果をもって、56ページの結論となりますが、本品目については、安全であると申請者が考えている旨、記載がされております。

長くなりましたが、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、御意見をいただきたいと思いますが、少し長いので、まず、第1、第2、第3、ベクターに関する事項まで、申請書の15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。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 10ページの真ん中辺になるかと思うのですがけれども、多分ここで始めてAMG-Eというものが出てくるのかなと思います。それで、最初に読んだとき、AMGとAMG-Eの関係がよくわからなくて、厚労時代のところまでさかのぼって資料を見て初めてわかってきたのですがけれども、その辺の関係は説明を加えていただくほうがいいかなと思いました。

それで、8ページの表5を見ると、AMGというのが、このBO-95株となっているのですがけれども、そうすると、今、出回っているのは皆、この組換え微生物由来のAMGになる書き方かなと。そうすると、AMG-Eのことがこの表では書かれているのか。

また、11ページの一番てっぺんのところには、BO-1とその系統株というのと、AMG-Eと2つ並んでいて、何かこの辺を見てどれがどれなのか混乱してしまうところがあるので、わかりやすい表現にさせていただけたらと感じたところです。

〇〇〇 1ページ目にまずAMGが出てきますね。

〇〇〇 最初は、これはただのAMGかと思ったのですが。

〇〇〇 従来 of 添加物で。

〇〇〇 結局大量生産している。

〇〇〇 ずっと通してこれがAMGだということなのですか。それが定かではない。

〇〇〇 多分、私の解釈が間違っていなければ、●●●だと。だから、できているタンパクは多分同じだと思うのです。

〇〇〇 例えば8ページのAMGは組換えのAMGということですか。

〇〇〇 そうなってしまいますのですね。だから、それで整合性が最初に読んだときによくわからなくなって。

〇〇〇 そこは確認して、書きぶりも説明を入れるとか、何か工夫していただいたほうがいいかもしれませんね。

〇〇〇 そうですね。今、御指摘をいただいたように、確かに混乱を招く表現であることは間違いないので、きょう、申請者が来ていますので、もし質疑応答がほかにもあれば聞いていただくのとともに、ただ、これはこれでわかりづらいので、その結果いかにかわらず、申請書のほうは修正させるように指示したいと思います。

〇〇〇 ほか、よろしいでしょうか。

続きまして、第4のところ、16ページから36ページにかけて、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。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 35ページの一番下のところ、この形質転換体の選び方なのですが、*amdS*というのは、これはアセトアミドの資化性遺伝子なので、これが働くときというのは、アセトアミドを唯一窒素源にした培地でこの遺伝子があると、これが発現してこの株が生えるということなので、アセトアミド「非存在下」での生育ではなくて、「存在下」でないとおつじつまが合わないと思うのですが、いかがでしょうか。

〇〇〇 それは確認していただきます。

ほかはいかがでしょうか。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 24ページなのですが、下から3行目のところなのですが「また仮にアレルギー誘発性を有するとしても、AMG-Tの消化耐性」というか、AMG-Tは易消化性ということによって言っていると思うので、易消化性及び使用状況の観点からというようなことのほうがわかりやすいのかなと思いました。

〇〇〇 わかりました。では、そのように修正いたします。

〇〇〇 これは聞くまでもないですね。

ほかはよろしいでしょうか。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 26ページの*asaA*遺伝子なのですが、評価書を見ると、最終製剤の分析においてはもう検出されずと書かれていまして、49ページの純度を見ても、ほとんど*asaA*遺伝子のタンパク質が入る余地がない形になっていますので、一言、グルコアミラーゼとともに長年用いられてきたとここに書いてありますけれども、結局最終製剤には入っていないよとここに入れてもらったほうが、すっきりしてよろしいかなと思います。

〇〇〇 これもただ追記でよろしいですね。

ほかはよろしいでしょうか。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 34ページのNuclear antigen-3Bの表現なのですけれども、そのパラグラフの下から3行目のところに「宿主免疫系を回避するためのガン抑制因子」と書いていまして、これは単純にそのまま置くと、免疫系を回避するのでがん抑制因子というのは、理論上破綻していますので、もとのものを読むと、欠損すると免疫系を回避できるということなので、要するに、あると免疫系にトラップされるということなので、適切に修正していただければと思います。

〇〇〇 では、そこは原著論文、資料等を確認しまして、修正いたします。

〇〇〇 ほか、よろしいでしょうか。

そうしましたら、37ページから最後までで、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。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 49ページのタンパク質の純度について述べているところで、ほぼ100%であると、●●●をレファレンスとして言っています。その●●●を見ますと、●●●には、●●●と思われま。21ページの●●●あります、●●●あります、と記載しています。●●●であろうと、そして、●●●ということで、それをもって100%と考察しているのですけれども、私の目で見ると、●●●ですね。まずそこが一点です。

それから、●●●なのですが、●●●説明されています。余りにも●●●なので、本当にそこから来たものなのかどうなのか、いま一つ判然としないなという印象を持っております。ただ、実際のところ、消化性試験を見ても、●●●も含めて、ほぼ消えていると思うので、安全性上の問題はないのかとは思いますが、ちょっと100%と言い切っているところが、いま一つ納得できないですね。

〇〇〇 それは、申請者に聞いてみたいと思います。

〇〇〇 追加で言えば、人工腸液の実験においても、●●●というところですか。

〇〇〇 〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 今のお話が出ている49ページの分析結果なのですけれども、それに使っている試験バッチとして、PPYの2つが出てきて、参考としての第8で、その遺伝子毒性試験と安全性試験、動物のをやっているのですが、余り中までは追及したくないのですけれども、気になるのは、●●●なのです。特に動物実験のほうは●●●にやっているのです。ということは、●●●にこの会社は既にこの試験バッチを持っていたということで、これはその当時の、本当にこれは素朴な疑問なのですけれども、同じバッチ名がついていますから、今のほかのものと同じものだとは思いますが、何でこんなに●●●のかどうかはわからないのですけれども、インターバルがあいているのか疑問に思いました。

〇〇〇 これは海外で申請したときが、先ほど2006年でしたか。その当時のデータをそのまま多分、使っているのではないのでしょうか。多分、聞いても同じ答えが返ってくるかと。

これは海外でどれぐらいの申請があったのか、どこかに書いてありましたか。

〇〇〇 今、お手元の47ページのほうに、第7-1として、諸外国における認可状況が書いてありまして、まず、AMG-T、この製剤は2004年に販売が開始されたと、一例として、フランスやアメリカで使われているということは書いてあります。

〇〇〇 2004年というのはもっと前になってしまいますね。だから、どこかの国でまず使ってしまったって、その後の別の国で要求されて出したとか、そういう経緯があるかもしれません。

〇〇〇 そんな感じですね。

〇〇〇 最後までで、ほかに何かございますか。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 38ページ定量PCRのところですが、解析方法のところに「●●●」と書いてあるのですけれども、これはもとの資料を読んでも、●●●ですので、表記が間違っていると思いますので、修正をしていただきたいと思います。

〇〇〇 では、確認した上、修正します。

〇〇〇 これは質問しなくていいですか。

〇〇〇 いいのではないですか。

〇〇〇 わかりました。

ほか、よろしいでしょうか。

そうしましたら、先ほど事務局から議論をお願いしたいというところで、第8の安全性試験の取り扱いなのですけれども、これは従来ですと、このぐらいですと、参考までにとしていましたか。前にもタンデムにたくさん入ったときに、少し懸念は残るけれども、参考までにしたのか、必要としたのか、どちらでしたか。

〇〇〇 直近ですと、●●●を審議したときにも、同じくタンデムで入っていて、コピー数が確定できなくて、動物試験をやったというものがあまして、その際に私が皆様に質問をした際には、コピー数が確定できないからといって、動物試験はマストではないと。ただ、出されたのだったら見ましようという扱いで、当時はほぼ参考のような扱いになっていたかと思います。

〇〇〇 そうしますと、今回も同じような扱いでよろしいかと思えますけれども、特に御異論がなければ、よろしいでしょうか。

ありがとうございました。

それでは、説明者が来ていらっしゃるなので、質問をしないといけないのですけれども、先ほどのAMGの話と、あとは何がありましたか。

〇〇〇 純度の話です。

〇〇〇 純度ですね。

特に、事務的に直せばいい以外で質問しなければいけないのは、純度100%というのはいかなものかということと、AMGの基原の説明以外に特にやったほうがいいのかというものはありますでしょうか。なければ、その2点を質問したいと思います。

それでは、説明者をお呼びしていただけますか。

〇〇〇 〇〇〇、一つだけ質問してもいいですか。

12ページのところの有害生理活性物質のところではフモニシンと書いてあるのですけれども、フモニシンはAもBもCもあって、何を見ているかというのだけ聞いてもいいですか。

〇〇〇 どうぞ。

(説明者入室)

〇〇〇 それでは、開催したいと思います。

まず、説明者の方に自己紹介をお願いします。会社名とお名前だけで結構です。

〇〇〇 ノボザイムズジャパンの〇〇〇と申します。よろしくお願ひいたします。

〇〇〇 それでは、質疑応答に入りたいと思います。

2点ほど御質問がありまして、まず第1に、AMGの名称につきまして、何かいろいろなAMGの種類がありまして、その基原と、GMでつくったか、ネイティブであるとか、そこら辺の説明がちょっとわかりにくいところがありましたので、確認したいということなのですけれども、先生、追加をお願いします。

〇〇〇 申請書の10ページのところにAMG-Eということが出てくるのです。それで、11ページのテーブルの上のほうを見ると、BO-95株で発現させた、これは一応、組換え評価になっているAMG-E。

一方、一つ前のところで、AMGというのが表5にも出てきますけれども、そこではBO-95株となっていて、11ページのテーブルの一番上のところが、BO-95株は20年以上、上の40年以上というのはBO-1株とか。そうすると、表5と表7と整合性がどうもはっきりしない。

それで、そもそもここでAMGとAMG-Eは、タンパク質として同じものがつくられているということでもまずよろしいのかということの一つ確認しておきたかったのです。そのAMG-Eというものが、どういうものなのかというのが、もう少し資料なり説明なり加えておいていただけたら、全体をずっと読んでいったときのAMGという言葉に対する混乱が避けられるかなと思って、確認をしたいということなのです。

〇〇〇 詳細に関しましては、社内の適切な資料等を当たりまして、再度、書面にて御回答させていただきたいのですけれども、恐らく表5に載せているAMGは、基本的にこの章に書く比較対象の由来上、非組換えのものであることとなりますので、そこと、遺伝子が同じでも産生能を増強すれば日本では組換え体ということになりますので、恐らくその辺が全て表現し切れていないのが表7になっていて、誤解のもとになっているかと推測しますので、再度持ち帰りまして、明確にした上で、より御理解いただきやすい表現で御回答させていただきたいと思います。

〇〇〇 本来、AMG-Eというのは、正しくは、組換えでつくったものですか。官報に出したというのは、組換えに関する官報という意味なのですね。

〇〇〇 そういうことだと思います。

〇〇〇 実際に今、出回っているものは、どちらになるのですか。

〇〇〇 今の御質問は、表5に記載のあるAMGと表7に記載のあるAMG-Eで、どちらが今、より市場にあるかという御質問でしょうか。

〇〇〇 単純に。多分、物は同じなのだろうと思うのですがけれども、生産菌として、AMGとここで書かれているものが出回っているのか、AMG-Eと書かれているものが出回っているのか。それが同じものである、タンパク質は多分、恐らく同じものであるということが読んでいてすぐにわからなかったのです。

〇〇〇 申しわけありません。

〇〇〇 その辺がわかるように補足を、もう十何年前かの申請時にさかのぼった説明を少し書いてほしかったなというのがあります。

〇〇〇 かしこまりました。

〇〇〇 あとは、今はAMG-E側が出回っているのかというのは、単純な質問です。

〇〇〇 私はちょっと存じ上げないので、社内で弊社営業のほうに確認いたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

もう一点は、純度の問題なのですけれども、社内文書の17のところと、ペプシンの消化のパターンなどがありまして、100%という表現に関して妥当かどうかという御質問一つあります。

先生、追加でよろしいですか。

〇〇〇 純度100%ということなので、●●●を拝見させていただきました。こちらにあります●●●なののですけれども、多分、●●●と思いますが、この図を見ますと、●●●と。それに対して、●●●が私の目では確認できないのですね。これは●●●ということを確認して頂きたいと思います。

●●●という説明になっています。その●●●が書いてありますが、それはどの程度の確からしさでそういうように説明されているのでしょうか。

●●●と思うのですが、●●●の結果を見ると、●●●どうか、何とも判断しかねますので、御確認いただければと思います。

〇〇〇 これは今、答えられますか。それとも持ち帰ったほうがよろしいですか。今、類推で一応のお答えをいただいて構いませんが。

〇〇〇 まず●●●ですね。これに関して、●●●という御指摘なののですけれども、これに関しましては、持ち帰って文書にて御回答させていただきたいと思います。

次に、●●●になるのですけれども、これに関しましては、グルコアミラーゼで一般的に見られる現象でして、要旨の9ページの図6をごらんいただきたいのです。ここで、先ほどからも話題になりましたAMGとAMG-T、本申請の酵素ですね。これのアミノ酸のアラインメントを示した図になるのですけれども、●●●ということが一般的に知られております。

ですから、大体のアミノ酸の●●●と分子量を比較しますと、この●●●とは考えてはいるのです。●●●という御指摘に関しては、この場では明快なお答えはできないのですが、例えば●●●。ですから、繰り返しになりますけれども、最終的には書面にて、社内文書を再度精査した上で御回答させていただきたいと思います。よろしいでしょうか。

〇〇〇 今のお答えでよろしいですか。●●●というのが、今の類推ですね。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 逆に言うと、●●●ということなのかどうか。

〇〇〇 そこまでは申し上げられないのですが。

〇〇〇 逆ですか。

〇〇〇 そこはちょっとわかりません。

〇〇〇 この点で、ほかによろしいですか。

そうしますと、●●●に関するお答え次第では、100%の数字が100ではない可能性も残っているということですね。

〇〇〇 そうなると思います。

〇〇〇 それはまた後で修正する可能性がありますか。

〇〇〇 そうですね。御説明差し上げた上で、修正させていただく可能性はあります。

〇〇〇 ほかのAMGでも●●●が出る傾向が見られるのですか。それとも、このエンザイムに特異的に見られるのか。

〇〇〇 それは確認させていただかないとわかりません。済みません。

〇〇〇 〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 そうすると、100%でないかもしれないとなると、*asaA*遺伝子のタンパク質が入ってくるのか入ってこないのかというのが気になってくるので、その点も含めて確認していただければと思います。

〇〇〇 かしこまりました。

〇〇〇 よろしいですか。

そうしましたら、先生の質問で、フモニシンの話ですね。

〇〇〇 フモニシンのところの記載のところ、資料を見せていただくと、フモニシンのB2をはかっていらっしゃるのですね。

〇〇〇 そうです。

〇〇〇 それで、毒性が強いのはB1なのですが、なぜこのB2をはかって代表にしているのか。ここで使われている菌では、もうB1などは出ないのか、その辺のところはいかがでしょうか。

〇〇〇 B2だけ計測している理由は、持ち帰って確認をさせていただきます。確かに御指摘のとおり、データ添付したものとしては、B2の値しか掲載しておりませんので、そのようにしている経緯等、改めて確認させていただきます。

〇〇〇 では、後ほどお答えをいただくということで、よろしいですか。

ほかに追加の御質問、よろしいでしょうか。  
では、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。ただいまの説明者からの回答を踏まえた上で、追加の御意見、コメント等がありましたら、お願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

本件につきましては、若干御質問はありましたけれども、安全上の問題は特になくというように思っております。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、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31ページから50ページが、本申請品目の評価書案となっております。

まず、36ページ、I.として、本申請品目の概要ですが、グルコアミラーゼの生産性を高めるため、*Rasamsonia emersonii* CBS759.71株由来のグルコアミラーゼ遺伝子を、宿主である*Aspergillus niger* BO-1株に導入いたしまして、NZYM-BE株を作成しております。

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.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ございますが、デンプンからデンプン糖を製造する際の加工助剤として、糖化の工程で用いられるということです。

37ページ、2.の(1)として、宿主の種名等ですが、宿主は自然界から分離された菌株である*Aspergillus niger* BO-1株となっております。

(2)DNA供与体の種名等ですが、グルコアミラーゼ遺伝子である*amgT*遺伝子は*Rasamsonia emersonii* CBS759.71株に、*asaA*遺伝子、*amdS*遺伝子、*pyrG*遺伝子及び*URA3*遺伝子は、それぞれ*Aspergillus niger* BO-1株、*nidulans* Glasgow野生株、*oryzae* IFO4177株及び*Saccharomyces cerevisiae* FL100株に由来いたします。

(3)挿入DNAの性質等ですが、*amgT*遺伝子は、AMG-Tをコードいたしますが、これは野生型とアミノ酸配列が同一のものとなっております。*amdS*遺伝子及び*pyrG*遺伝子になつては、選択マーカーとして用いられております。

宿主に対しては、遺伝子カセット及び導入用ベクターが導入されておりますが、これらはプロトプラスト法により行われている旨、記載をしております。

なお、生産菌の作成に当たっては、幾つかの遺伝子を欠失させておりますけれども、この操作はセルフクローニングに該当する旨もあわせて記載をしております。

続いて、122行目以降になりますが、3.の食経験、4.宿主の構成成分及び5.組換え添加物等の性質については、記載のとおりです。

38ページになりまして、6.として、相違点についてでございますが、従来添加物との相違点は遺伝子の供与体が異なること、それに伴いアミノ酸配列が異なること、さらに、活性が従来品より2.5倍以上高いこととなっております。

宿主との相違点は、*amgT*遺伝子が複数コピー導入され、グルコアミラーゼの高産生性を獲得している点、及び、その生産性を高めるため、幾つかの遺伝子を欠失させたことが相違点で、以上から、本品目と比較可能な既存の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いて、1.については記載のとおりです。

次の39ページ、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に相当し、オクラトキシン及びフモニシンを産生しない旨、記載をしております。3.及び4.については記載のとおりです。

5.宿主の有害生理活性物質の生産に関しては、*Aspergillus niger*の近縁種である*Aspergillus carbonarius*については、オクラトキシン産生能を有することが知られている旨、記載をしております。

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。

40ページ、240行目以降の第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。

248行目以降、(2)安全性についてですが、目的遺伝子の供与体である*Rasamsonia emersonii*は、β-グルカナーゼ等の生産菌として使用された実績があり、プーアル茶の発酵パイル中に存在すること、その他、*Aspergillus niger*、*oryzae*、*nidulans*及び*Saccharomyces cerevisiae*とも、これまで安全に使用された実績がある旨を記載しております。あわせて、これら5つの菌は、全てバイオセーフティレベル1に該当する旨も記載しております。

41ページ、2.(1)クローニングに関する事項についてでございますが、挿入遺伝子は全てそれぞれの供与体よりPCRによって得られた旨、記載をしております。

(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になりますが、まず、*amgT*遺伝子につきましては、1)及び2)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可能性が低いと考えられております。

3)では、人工胃液試験の結果、開始後0.5分以内に分解されること、人工腸液試験では、開始後6時間を経過しても分解されないことを記載しております。

42ページの303行目以降になりますが、4)では、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触れておりますが、こちらについては検索の結果、*Schizophyllum commune*由来のグルコアミラーゼであるSch c1と35%以上の一致、かつ、連続する80アミノ酸の一致が確認されました。しかし、Sch c1と高い構造相同性を持つAMGは国内外で既に安全に使用されている実績があること、AMG-Tは人工胃液中で速やかに分解されることを考慮すると、総合的に考えて、アレルギー誘発の可能性はないと考察した旨を記載しております。

このほかの遺伝子に関しては、記載のとおり、これまでに安全に使用された実績等により問題ないと記載をしております。

43ページ、続く3.と4.については、記載のとおりです。

44ページ、379行目以降の5.発現ベクターに関する事項ですが、384行目以降の(2)目的外ORFの項目をお願いいたします。遺伝子導入用ベクターについてstop to stopで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426個のORFが確認されました。

これらについて、データベース検索を行ったところ、相同性を示す既知のアレルゲンはなかったこと、毒性タンパク質については数個確認されたものの、いずれのタンパク質もそれ単独では毒性を示す可能性が低いと考えられる旨、考察をしております。

(3)及び(4)については、記載のとおりです。

45ページ、6.DNAの導入方法については、プロトプラスト形質転換法を用いていること、導入された遺伝子は多コピーで、かつ、タンデムであることを記載しております。

7.抗生物質耐性マーカー遺伝子に関しましては、生産菌には含まれていない旨、記載をしております。

続きまして、434行目以降、第5.組換え体に関する事項について、2.(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。

記載内容は、具体的には46ページになりますが、ストップ・ツー・ストップの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188個のORFが確認されたものの、これらについてデータベース検索を行いました結果、相同性を示す既知のアレルゲンはなかったこと、毒性タンパク質については、相同性を示す結果が出たものの、いずれについても単独では毒性を示す可能性が低いと考えられる旨、記載をしております。

第6.製造原料等に関する事項、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いては、ドットプロット分析の結果、組換え体DNAは検出されないことを確認しております。

47ページに続く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。

47ページの第8.といたしましては、毒性試験の結果を記載しております。こちらは先ほど御議論いただきましたように、参考として扱わせていただきますが、変異原性試験として、復帰突然変異試験及び*in vitro*染色体異常試験、13週間強制経口投与毒性試験をそれぞれ実施しております。結果として、全ての試験において、被験物質に起因した異常は確認されず、本試験におけるNOAELは1.47g TOS/kg 体重/日としております。

最後に、48ページになりますが、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。

○○○ ありがとうございます。

ちょっと長いのですが、一括でコメント、御意見、いただきたいと思っております。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ました。

いと思います。

それでは、コメント、御意見ありましたら、お願いしたいと思います。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 さっきと同じところに対応するのですが、45ページの419行目、*amdS*を選抜マーカー遺伝子とした場合、これはアセトアミド「非存在下」ではなくて「存在下」と申請書が直ってくるはずですので、それを確認して、こちらも「存在下」に直していただければと思います。

〇〇〇 では、そのように確認次第、修正いたします。

〇〇〇 ほか、よろしいでしょうか。

細かいところ、もしございましたら、また後でいただければと思います。

それでは、先ほど微修正が入る可能性があるということでもありますけれども、いただいた修正につきましては、事務局で修正して、私と先生のほうで確認していただきまして、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。

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」でありますけれども、事務局からありますでしょうか。

〇〇〇 一点だけございます。

皆さんに御確認したいのですが、年度末が近づいているということもありまして、4月以降に所属が変更になる先生がもしいらっしゃいましたら、それを公表できる段階になってからで構いませんので、事務局まで御一報いただければと思っておりますので、よろしく願いいたします。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

では、本日の議題はこれで終了ということで、以上をもちまして、第157回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。