

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第158会合議事録

1. 日時 平成29年3月27日（月） 13:59～17:11

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

- ・ JPAo001株を利用して生産されたリパーゼ
- ・ 除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性トウモロコシMZHGOJG系統（食品・飼料）
- ・ カイマックスM（CHY-MAX M）

(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、手島専門委員、中島専門委員、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 JPAo001株を利用して生産されたリパーゼ
- ② 除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性トウモロコシMZHGOJG系統（食品）
- ③ 除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性トウモロコシMZHGOJG系統（飼料）
- ④ カイマックスM（CHY-MAX M）

### 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158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、〇〇〇が御欠席になっております。

本日の議題であります。継続の品目である「JPAo001株を利用して生産されたリパーゼ」及び新規審議品目である「除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性トウモロコシMZHGOJG系統（食品・飼料）」と「カイマックスM（CHY-MAX M）」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。

資料として「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いては、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。本ファイルについては、調査会終了後に回収させていただき、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シンジェンタジャパン株式会社及び株式会社野澤組カルチャーをお呼びしております。それぞれ新規品目であります「除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性トウモロコシMZHGOJG系統」及び「カイマックスM」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でした。

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「JPAo001株を利用して生産されたリパーゼ」について審議を行いたいと思います。

この品目は平成28年10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「JPAo001株を利用して生産されたリパーゼ」の水色の紙ファイルをよろしく  
お願いいたします。

指摘事項の詳細を説明する前に、指摘に係る全体像をまず御説明いたします。

前回の審議が昨年10月と比較的最近であるため、内容を覚えていらっしゃる先生もいるかと思いますが、本組換え添加物の物理化学的処理に対する感受性を検討する項目といたしまして、本品目では、安全性評価基準に従いまして、人工胃液及び腸液試験における消化性を確認しておりました。その結果、ともにウェスタンブロット分析の結果ではありますが、人工胃液では目的のタンパク質、HL1232というものですけれども、こちらは速やかに分解されるものの、HL1232よりも●●●、人工腸液でもHL1232より分子量の大きい物質が確認されるとともに、HL1232のバンドが経時的に濃くなるという現象が確認されており、こちらについての質問が出されておった品目でございます。

それでは、続いて指摘事項の御説明をいたします。

まず、回答書の1ページ目、指摘事項の1でございますが、人工胃液では●●●していましたが、●●●を行うことといった内容です。

回答としては、●●●結果であったということです。

次に回答書の2ページ、指摘事項の2は、人工腸液試験に関しまして、●●●が確認されたこと、さらに、●●●が確認されたため、●●●行うことといった内容です。

回答として、●●●であると申請者は考えておる旨が記載されております。

この現象に関する考察につきましては、回答書2ページの最後のパラグラフ、表に記載がされております。内容を要約いたしますと、●●●と考えている旨が記載されてございます。

4ページ目、指摘事項3は、これまでの指摘事項の回答を踏まえまして、●●●を考察することといった内容です。

回答としては、4ページから8ページにかけて記載がございまして、●●●であると考えられること、●●●と考えられることが記載されております。

このような前提のもと、●●●の安全性についてですが、●●●と考えられることから、安全性の問題はないと考えている旨が記載されてございます。その他の修正事項については、8ページ以降を御参照いただければ幸いです。

説明は以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

この指摘事項1、2、3は互いに連動してございまして、一括でやりたいと思います。これは私も指摘を出しましたけれども、〇〇〇、よろしいでしょうか。

〇〇〇 これは私だけではなくて、各先生方、皆さん指摘を出されていると思うのですが、指摘を出すときに言おうかなと思って言わなかったのですけれども、私も前にこういう現象を何回か見たことがあって、これは●●●と彼らは言っているのですけれども、SDS-PAGEをするときに、サンプルバッファーの中で加温しているのではないかと思うのです。

それを加温しないでやっごらんと言おうと思って言わなかったのですが、それでアグってしまって、何か変なことを起こして、上のほうに出てきたということがあったので、多分それと同じようなことではないかという感じはしているのです。

何か変なことを起こしている、特にSGFとか、そういうものが共存していると上のほうにばっとなって出てくるといふことがあるので、恐らく何かアグリゲーションを起こしたアーティファクトではないかと私は思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

●●●ということで、これ以上データを求めてもしようがないかなと思います。

一つ、動物実験が要るかどうかなのではございますけれども、アレルギー性が問題になる場合には動物実験をやる意味は余りないということで。量的な問題としては、SDSのほうで非常に少ないという事実がありますので、実際に使われているという経験もありますし、使う量もそんなに多くないということでもありますので、とりあえず説明のしにくいデータではあるけれども、私もよろしいかなと思います。

ただ、いろいろ考察を書き過ぎていまして、余り余計なことを書かないで、ばっさり切ってしまうでもいいのかなと思います。これは後でまた検討したいと思っておりますけれども、いかがでしょうか。ほかに御意見がもしありましたら、お願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

これは先行品がありましたね。NOVOZYM677というのですか。それとアミノ酸の配列がほとんど同じで、N端がほんのちょっと違うだけのものでもあります。もし、先行品で同じことをやったらまた同じことが起きる可能性があるかと思いました。

あと、非常にシステインが多いタンパクで、ヒドロホービクなアミノ酸もかなり多いので、いろいろ重合したりしやすい可能性はあるかなと考えられます。

それでは、特に御意見がなかったら、安全上の問題があるということではないので、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ページ目から19ページ目が本申請品目の評価書案となっております。お手元に御準備のほうをよろしくお願ひいたします。

まず、6ページ、I.といたしまして、本申請品目の概要でございますが、リパーゼの生産性を高めるため、*Thermomyces lanuginosus*のCBS 586.94株及び*Fusarium oxysporum* DSM2672株由来のリパーゼ遺伝子を融合させまして、当該融合遺伝子を宿主に導入することで、JPAo001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) といたしまして、用途及び使用形態についてですが、乳化剤の代替としてパンの製

造工程に利用されます。

7ページ、2の(1)といたしまして、宿主の種名等についてでございますが、宿主は清酒麴から分離された野生株の*Aspergillus oryzae* IFO4177株になります。

(2) DNA供与体の種名等ですが、リパーゼ遺伝子である*lipHL1232*遺伝子は、*Thermomyces lanuginosus* CBS 586.94株及び*Fusarium oxysporum* DSM2672株に由来します。また、マーカー遺伝子である*amdS*及び*URA3*遺伝子は、それぞれ*Aspergillus nidulans* Glasgow野生株及び*Saccharomyces cerevisiae* FL100株に由来いたします。

(3) 挿入DNAの性質等ですが、*lipHL1232*遺伝子はリパーゼであるHL1232をコードいたします。全ての挿入遺伝子は、プロトプラスト形質転換法により導入がされております。

このほか、宿主においては、リパーゼの生産性を高めるため、合計5つの遺伝子を欠失させております。また、シクロピアゾン酸やアフラトキシン産生能が欠失されております。

続いて3の宿主の食経験、4の宿主の構成成分及び5の遺伝子組換え添加物等の性質については、記載のとおりとなっております。

8ページ、6といたしまして、相違点でございますが、従来の添加物との相違点は、至適温度と反応特異性が異なり、生産菌と宿主との相違点については、*lipHL1232*遺伝子の導入によりリパーゼ産生性を獲得している点と、幾つかの遺伝子を欠失させている点であり、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、宿主に関する項目について、1については記載のとおりです。

2の病原性等についてでございますが、内容は次の9ページに記載がされております。*A. oryzae*は、バイオセーフティ1に相当すると考えられ、かつIFO4177株はシクロピアゾン酸等の産生性がないことから、ほかの菌と同様に適切な環境で扱われている限りにおいては問題ないと記載しております。

続いて、3の寄生性等及び4の外来因子による汚染等については、報告がない旨、記載をしております。

5の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*A. fumigatus*は日和見感染により肺炎の原因菌となること、*A. flavus*はアフラトキシンを産生する可能性がある旨を記載しております。

第3のベクターに関する事項については記載のとおりです。

10ページ、第4の挿入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、全ての供与体について、バイオセーフティレベル1に該当し、自然界に広く分布している、あるいは長年安全に使用されている等の実績を記載しております。

11ページ、2の(1)クローニングに関する事項でございますが、*lipHL1232*遺伝子は*T. lanuginosus* CBS 586.94株及び*F. oxysporum* DSM2672株に由来する*TLLv*遺伝子及び*FOL*遺伝子をクローニングいたしまして、両遺伝子を融合させることで作成をしております。

す。マーカー遺伝子に関しましては、供与体よりPCRによってクローニングしております。

(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。*lipHL1232*遺伝子については、1) 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報告はありません。

3) では遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性を確認する目的で試験を供試しております。

①として、人工胃液試験でございますが、本試験の結果、HL1232は開始後30秒以内に消化されることを確認しております。ただし、ウェスタンブロット分析では、HL1232よりも分子量が大きいバンドが検出されており、当該バンドはHL1232よりも分解性が低い結果が得られております。

②といたしまして、人工腸液試験でございますが、HL1232は人工胃液で確認されたようなHL1232よりも分子量が大きいバンドが検出されるとともに、HL1232のバンドが経時的に濃くなるといった傾向が確認されました。

この結果を考慮した考察でございますが、12ページの308行目から312行目のように記載をしております。具体的には、読み上げさせていただきますと、人工胃液及び腸液試験の結果、ともにHL1232よりも分子量が大きいバンドが確認されたものの、当該バンドに相当する物質の本製剤中での存在量は低いと考えられること、また、HL1232は人工胃液処理において速やかに分解されることを考慮すると、HL1232は摂取後速やかに分解され、アレルギー誘発性を惹起する可能性は低いと考えられたとしております。こちらについては、後ほど書きぶりについて御意見をいただけますと幸いです。

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、*lipHL1232*遺伝子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確認されなかった旨、記載をしております。

マーカー遺伝子である*amdS*遺伝子及び*URA3*遺伝子については、そのような報告がないことを記載しております。

13ページの続く3、4については記載のとおりです。

5といたしまして、発現ベクターに関する事項ですが、内容については、次の14ページになります。

(2) 目的外ORFの有無に関する項目をお願いいたします。ORF検索の結果、データベースに登録されているタンパク質とヒットするものがあったものの、いずれも毒性を有するという報告はないことから、本製剤中に毒性タンパク質が含まれる可能性は低いと考えられる旨を記載しております。

続く(3)及び(4)については記載のとおりです。

6のDNAの導入方法につきましては、プロトプラスト形質転換法により、導入用ベクターを導入しているとしております。

7の抗生物質耐性マーカーに関しては、遺伝子導入用ベクターには、生産菌には抗生物質

耐性マーカーが含まれていない旨を記載しています。

続いて、第5の組換え体に関する事項について、15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。本項目では、挿入部位に関しまして、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ったところ、合計が●●●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、1個のORFがクロゴケグモの神経毒タンパク質と相同性を示したものの、相同性を有する長さが短く、仮にタンパク質に翻訳されたとしても活性を有することはないと考えられる旨、記載をしております。

第6の製造原料に関する事項及び第7の1については記載のとおりです。

16ページ、2の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は検出されないことを記載しております。

3の非有効成分の安全性から5の常成分の変動については記載のとおりです。

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が提出されたことから、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。

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。

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きたいと思います。

先ほど事務局からお願いがありました12ページの308行目から312行目ですか。この書きぶりについて、何か御意見がありましたら、お願いしたいと思います。

私はこれでいいのかなと思ひまして、むしろ申請書のほうをこの書きぶりに合うようにすっきりさせたほうがいいのかなど。それで、若干文章を短くしていただければよろしいかと思ひます。

〇〇〇 それでは、申請書のほうはまたこちらの評価書の書きぶりですか、先生方に御意見をいただきながら、修正をさせていただければと思いますので、よろしく願いいたします。

〇〇〇 ほかのところで、ここでもよろしいですけれども、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、どうぞ。

〇〇〇 大きな問題では全然ないし、今さらというところもあるのですが、9ページの200

行目になるのですけれども、ここで*Aspergillus*には、ウイルス感染などの報告はないという書き方になっていて、最近のノボザイムのものを見ると、ずっとこの書き方になっているのですけれども、本当に言いたいことは、ヒトに対して病原性がないという前文が意識の中にはあって書いてあるのだろうと、そういうように私たちも解釈してきたと思うのですけれども、この後のカイマックスのほうの案ではそういう書き方になっていますし、種子植物も大体そういう書き方になっているので、こちらもそういう限定した書きぶりにしたほうがいいのかと感じたところです。ノボザイムの申請書の方もセットで一言入れたほうがいいのかと感じます。ウイルス感染が全然ないかといったら、もしかしたらあるかもしれないと言われかねない文章になってしまっているかなという意味です。

〇〇〇 これはほかの例を参考にして直していただければと思います。

〇〇〇 では、評価書とここに関連する申請書の記載も必要であれば修正するという理解でよろしいでしょうか。

〇〇〇 一番簡単なのは「ヒトに対して病原性を示すような外来性因子は知られていない」と。一言書き加えてもらえれば、それが一番はっきりするかなと思います。

〇〇〇 わかりました。

〇〇〇 ほかはいかがでしょうか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 16ページの464行目なののですけれども、細かいところなのですが、ここは組換え体の残存ですので、「HL1232の製剤中には染色体DNAが残存しない」ということで、「組換え」ではなくて「染色体」のほうがよろしいのかと思いました。

〇〇〇 では、今、いただいたコメントで「組換え」というところを「染色体」に修正させていただきます。

〇〇〇 ほかはよろしいですか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 300行目から306行目のあたりのところの表現なののですけれども、SDS-PAGEとウェスタンブロットをやって分解されないことが確認されたとあるのですが、SDS-PAGEを見ても一旦は薄くなっていますので「SDS-PAGE及びウェスタンブロット分析を行った結果」で2行飛ばして、「HL1232は試験開始後2時間までは分解したものの、それ以上の時間では経時的にバンドが濃くなる傾向が示された」でいいのではないかと。上で「分解されていない」と言いながら、また「分解したものの」というのもちょっと変ですし、その2行を飛ばしてそこに行ってしまうのではないかと思います。

〇〇〇 では、この部分は削除ということで、修正したいと思います。

〇〇〇 大分すっきりしたと思います。

ほかはよろしいですか。

どうぞ。

〇〇〇 1点確認なのですが、第8のところの485行目からは、先ほど御審議いただいた内

容からいきますと、参考事項ということになるのかなと思いますので、参考のときには参考ということがわかるような書き方をさせていただいているので、そのような形に直させていただきます。

〇〇〇 参考事項として、第8を書くということですね。よろしくお願いいたします。

もうよろしいですね。

それでは、微修正がありますけれども、私と事務局のほうで確認しまして、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。ありがとうございました。

続きまして「除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性トウモロコシMZHGOJG系統」のうち、まず食品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、申請書の説明に入ります前に、冒頭で御紹介いたしましたが、本日は申請者のシンジェンタ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、申請品目の御審議をいただいた後に申請者に対する質問事項等がありましたら、整理していただきたいと思います。

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「除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性トウモロコシMZHGOJG系統」の透明のプラスチックファイルをよろしくお願いいたします。こちら、透明のプラスチックファイルが2つありまして、紛らわしいのですけれども、分厚いほうが食品の申請資料になっておりますので、厚いほうをお手元に御準備いただければと思います。

まず、本品目について初めに補足をいたしますと、本品目の形質については、グリホサート及びグルホシネートに耐性を示すトウモロコシということで、形質的には目新しいものではありませんが、これまでの両耐性系統とは違いまして、耐性遺伝子が分子スタック、あるいはベクタースタックと呼びますが、そうしたものになっております。導入遺伝子についても、既に安全性評価を経たものを基本といたしまして、植物体内での発現が最適化するように一部改変を加えてはおりますが、基本的には既に評価済みのものと変わりはありません。その点を考慮した上、説明をお聞きいただけますと幸いです。

それでは、具体的な内容について御説明いたします。

まず、1ページ、第1の1の項目からですが、宿主については、非組換えトウモロコシであるデント種のNP2222を使用しております。

(2) DNA供与体について、本系統における導入遺伝子は *mepsps-02* 遺伝子及び *pat-09* 遺伝子でございます。前者はトウモロコシ、後者は *Streptomyces viridochromogenes* strain Tü494 に由来いたします。

(3) 挿入DNAの性質等については、*mepsps-02* 遺伝子が除草剤グリホサート耐性を、

*pat-09*遺伝子が除草剤グルホシネート耐性を発現します。なお、これらの遺伝子はアグロバクテリウム法により導入がされております。

続いて、3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でございますが、導入遺伝子によりmEPSPSタンパク質及びPAT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。

第2といたしまして、利用目的等の事項ですが、生産性の向上のために用いられると説明がされております。

同じく3ページ、第3の宿主に関する事項について、1から3については記載のとおりです。

4ページ、4といたしまして、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9 kDa及び50 kDa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。

5の項目について、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。

次に、5ページになりますが、第4はベクターの項目についてでございます。

1については記載のとおりです。

2の性質についてでございますが、7ページ、(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配列の性質は明らかであり、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-03*遺伝子が含まれております。

(5)伝達性については、伝達を可能とする配列は含まれていないとのことです。

第5の項目といたしまして、挿入DNA等に関する事項が記載されております。

1の(1)として投入DNAの供与体につきましては、*mepsps-02*遺伝子の供与体はトウモロコシ、*pat-09*遺伝子の供与体は*S. viridochromogenes* strain Tü494になります。

(2)安全性については、トウモロコシは世界中で広く食されていること、*S. viridochromogenes*は食経験はないものの、ヒトに対する病原菌ではないと考えられる旨が記載されてございます。

続く2の(1)には、挿入遺伝子のクローニング方法等について記載しております。*mepsps-02*遺伝子はmEPSPSタンパク質の102及び106アミノ酸が置換されておりますが、最終的なアミノ酸配列は既に評価済みのmEPSPSタンパク質のものと同じとなっております。

もう一方の*pat-09*遺伝子も同様に、塩基配列は若干変わっているものの、最終的なアミノ酸配列は評価済みのPATタンパク質と同じとなっております。

(2)切断地図に関する事項については記載のとおりです。

8ページになりますが、こちらの後半からは(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。

*mepsps-02*遺伝子が発現することによってもたらされるグリホサート耐性の形質については、これまで何度も御説明している内容となりますので、ここでの説明は省略いたします。

mEPSPSタンパク質と既知の毒性タンパク質の構造相同性に関しては、検索の結果、そのようなタンパク質は確認されなかったとのことです。

同じく10ページの後半には、今度は*pat-09*遺伝子についても触れられていますが、本遺伝子が発現することでもたらされるグルホシネート耐性についても、その作用機序に関しては説明を割愛させていただきます。

11ページ、PATタンパク質と既知のタンパク質の構造相同性に関しましては、検索の結果、幾つかヒットしたものがあったものの、それらを精査した結果、問題となるようなものはなかったということです。

12ページ、(4)抗生物質耐性マーカー遺伝子に関しては、導入用プラスミドには*aadA-03*遺伝子が含まれるものの、評価対象品目であるMZHG0JG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。

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、目的の遺伝子の転写活性を高めるため、エンハンサー等を利用している旨が記載されております。

4については、記載のとおりです。

5といたしまして、発現ベクターに関する事項となります。

(1)については記載のとおりで、15ページの(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、21ページの図5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、記載をさせていただきます。

続いて16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でございます。

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含むアグロバクテリウムを共存培養いたしまして得られた形質転換体を選抜します。選抜された細胞から植物体を再分化し、再分化後の個体について、目的遺伝子の有無を確認することで本系統を得ております。詳細については、17ページを御参照ください。

18ページ、第6といたしまして、組換え体に関する事項となっております。1の(1)コピー数等についての実験結果及び考察は18ページから46ページにかけて記載がございます。

内容を要約してお話しいたしますと、実験の結果、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いて右側境界領域に22bp、左側境界領域に21bpの欠損があったこと以外は、T-DNA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ることを確認しております。

また、DNAの挿入に伴い、内在性の遺伝子が破壊さ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考察がされております。

ページがかなり飛んでしまうのですけれども、46ページをお願いいたします。今、お開きいただきました46ページには、(2)といたしまして、ORFの有無について記載をさせていただきます。ORF検索の結果、合計149個のORFがあり、そのうち2つについては、既知のアレルゲンとの有意な相同性が確認されました。その2つのうち一つはブタクサ、もう一つはライグラスの花粉となります。前者のブタクサにつきましては、相同性を示した箇所が既知のプロモーターの下流に存在せず、発現する可能性は考えられないこと、後者のライグラスの花粉との相同性が見られた箇所については、読み枠の中に開始コドンがないことから、発現しないだろう等の考察がされております。

毒性タンパク質との相同性検索に関しましては、検索の結果、ヒットしたものはあったものの、さらにそ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、記載がされております。

50ページ、2といたしまして、遺伝子産物の発現部位、53ページに飛びますが、3といたしまして、一日タンパク摂取量が記載されておりますが、こちらについては、それぞれ記載のとおりとなっております

同じく53ページの中段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ですが、(1)及び(2)については記載のとおりです。

54ページ、(3)といたしまして、物理化学的処理に対する感受性でございますが、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。SDS-PAGE分析及びウェスタンブロット分析の結果、mEPSPSタンパク質は、開始1分後には完全長のバンドは分解されたものの、4~5 kDaのバンドにつきましては、試験終了の60分後まで確認がされました。

PATタンパク質につきましては、開始1分後には、完全長のバンドは分解されたものの、約3.5 kDaの微弱なバンドについては、試験終了の60分後まで確認がされました。

次に、②といたしまして、人工腸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、mEPSPSタンパク質は開始10分で分解されまして、PATタンパク質については、開始5分で分解される結果が示された旨、記載がされております。

最後に、66ページでは、③といたしまして、加熱処理について考察をしております。その結果、両タンパク質とも65℃以上の加熱条件で反応性が失われ、熱反応性が低いことが示されております。

67ページ、こちらに記載の(4)、68ページに続きまして、(5)及び5については記載のとおりです。

69ページ、6の代謝経路への影響でございますが、遺伝子産物であるmEPSPS及びPATタンパク質とも、代謝経路への影響がないことがこれまでの知見で明らかにされているの

で、ここでの説明は割愛させていただきます。

次に70ページ、7といたしまして、宿主との差異についてであります。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。結果については次の71ページ以降となりますが、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いか、あったとしても参考品種や文献値の変動の範囲内であり、このことから、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。

最後に85ページにページが飛びますけれども、8といたしまして、諸外国における認可状況、9の栽培方法、10の種子の管理方法等については記載のとおりで、以上から86ページ以降の結論となりますが、安全性は確認できた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、先生方からの御意見をいただきたいと思っております。

まず、申請書の7ページまで、第1、第2、第3、第4で、コメント、御意見がありましたらお願いしたいと思っております。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 安全性とは関係しないのですけれども、今回、過去にもう既に使われている遺伝子を改めてまた入れ直したという形になっているのですが、これは目的としては、この2つの遺伝子を1個のベクターで入れたパターンのもものが初めてというか、そのパターンのもものがつくりたかったのかということでのいいのですか。

〇〇〇 目的としては、申請者に伺ったところ、系統維持が楽だということで、あえて分子スタックをつくったと伺っています。分子スタックそのものは多分初めてではなくて、今までも幾つか見たことはあったのではないかと記憶はしております。

〇〇〇 シンジェンタとしては、この組み合わせの分子スタックは多分これが初めてということになるのですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 了解しました。

〇〇〇 きょう聞く必要もないですね。

〇〇〇 聞く必要はないです。

〇〇〇 ほか、いかがでしょうか。

それでは、第5、17ページまでコメント、御意見をお願いしたいと思っております。

17ページの系統図ですけれども、これは●●●世代以降ということですが、これでよろしいですか。

もし何かあれば、また後でお願いしたいと思っております。

それでは、第6の組換え体に関する事項で、少し長目ですけれども、50ページまで御意見、コメントをお願いしたいと思っております。

このORF13と48の議論が書いてあります。これはよろしいですか。

それでは、50ページから68ページの第6の組換え体に関する事項の残り、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、第6の68ページから85ページの最後まで、コメント、御意見がございましたらお願いします。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 安全性とは直接は関係しないのですが、例えば73ページの表14で、脚注のところに全て%乾燥重で示してあるという形になってはいますが、例えば一番上のMZHG0JGをずっと見ていくと、実は横全部1列を足して100%になるのかということにならないとか、100%を超えてしまうわけで、タンパク質から炭水化物まで足すと100%になって、ADF、NDFは多分別の概念とか、別の評価基準とか、そこでの計測で、何かと足して100になるようにきつしているのだと思うのです。そこがわからないとか、わかりにくい形になってはいますので、縦線を入れてもらえればいいのかと思うのですが、表がわかりやすくなるようにしていただきたいと。

同じことは表16もそうにして、表16はタンパク質から炭水化物まで足すと100になって、恐らくADF、NDF、TDF、デンプンを足すと100に近くなるのかなと思っていたのですが、そこがはっきりわかるようには書かれていないので、そこだけわかりやすくなるような形にさせていただけるといいかなと、お願いしたいなと思いました。

〇〇〇 それでは、今、御指摘をいただきましたように、表をわかりやすくする部分と、どこからどこを足すのが正しいのかというところは申請者に照会をいたしまして、回答は先生方にメールで御連絡させていただければと思います。

〇〇〇 これも聞かなくてもよろしいですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 最後まで一応行ってしまいましたけれども、特に申請者に質問したいことがもしありましたら、お願いします。

よろしいでしょうか。

それでは、質問なしということで、せっかく来ていただいたのですが、何かお伝えすることはありますか。議事はそのまま続けてよろしいのですか。

〇〇〇 〇〇〇のほうに、質問はありませんでしたのでとお伝えいただくので、議事はそのまま進めていただいて構いません。

〇〇〇 それでは、本件につきましては、特に安全上の問題が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。

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、評価書案について御説明をいたします。

評価書案を束ねた冊子の21ページ以降が、本申請品目のうち食品の評価書案となっておりますので、御準備のほう、よろしくお願ひいたします。

まず、26ページ、I.といたしまして、本申請品目の概要ですが、*mepsps-02*遺伝子及び*pat-09*遺伝子を導入いたしまして、その遺伝子が発現することで除草剤グリホサート及びグルホシネートに耐性を示す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)(2)については記載のとおりです。

(3)として挿入DNAの性質等についてですが、*mepsps-02*遺伝子が発現するmEPSPSタンパク質が除草剤グリホサート耐性を、*pat-09*遺伝子が発現するPATタンパク質が除草剤グルホシネート耐性をそれぞれ付与し、それらの遺伝子はアグロバクテリウム法により導入がされております。

続く2.から5.については記載のとおりです。

27ページ、6.相違点に関する事項でございますが、組換え由来の遺伝子の発現によりmEPSPSタンパク質及びPATタンパク質を発現することが宿主その相違点でありまして、以上の結果から、本系統においては既存のトウモロコシとの比較が可能であるとしております。

28ページ、第2.利用方法、第3.の1.及び2.については記載のとおりです。

3.有害生理活性物質についてでございますが、トウモロコシは、栄養阻害物質としてフィチン酸やラフィノースが含まれることが知られていること、4.アレルギー誘発性については、トウモロコシにはLTPと呼ばれる分子量9 kDa及び50 kDaのタンパク質があり、これらがアレルゲンとして作用する報告もあるが、一般的にはアレルギー誘発食品とは考えられていない旨記載をしております。

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、トウモロコシ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。

29ページ、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。

第5.挿入DNA等に関する事項をお願いいたします。

1.の(1)の由来等に関する事項ですが、*mepsps-02*遺伝子はトウモロコシに、*pat-09*遺伝子は*S. viridochromogenes strain Tü494*株にそれぞれ由来いたします。

(2)の安全性に関する事項ですが、*mepsps-02*遺伝子の供与体であるトウモロコシは、世界中で広く食されており、ヒトによる十分な食経験を有しております。

*pat-09*遺伝子の供与体につきましては、食経験はないものの、ヒトに対する病原菌ではないと考えられる旨、記載をしております。

30ページ、2.遺伝子産物等に関する事項ですが、(1)(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、*mepsps-02*遺伝子は、mEPSPSタンパク質を発現し、このタンパク質が除草剤グリホサート耐性をもたらします。当該タンパク質については、

既に別品目で評価済みのmEPSPSとアミノ酸配列が同一です。

もう一方の*pat-09*遺伝子については、PATタンパク質を発現し、このタンパク質が除草剤グルホシネート耐性をもたらします。なお、両タンパク質については、既知の毒性タンパク質の構造性を確認した結果、相同性のあるものは見つからなかったと記載をしております。

31ページ、続く(4)抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項については記載のとおりです。

同じく31ページの237行目以降になるのですけれども、第5.の3.といたしまして、遺伝子発現に関する事項が記載されております。

(1) (2)については記載のとおりです。

(3)その他についてですが、その他の配列についてですが、目的とする両遺伝子の発現カセットには、その発現を高めるためのエンハンサー配列が付与されております。

32ページに続く4.及び5.の(1)については、記載のとおりです。

274行目以降、5.の(2)として目的外ORFの項目をごらんください。目的外ORFについては含まれていないこと、続く(4)発現ベクターの純化については、目的外の遺伝子は含まれていないとのことです。

33ページ、6.導入方法についてですが、目的のカセットをアグロバクテリウム法による導入後、グルホシネート耐性をマーカーに用いて選抜をして、再生個体を得た後、分析結果に基づき、選抜した個体を一般的なトウモロコシの育種プロセスに従い、本系統を得たとしております。

34ページ、続いて第6.組換え体に関する事項となります。1.(1)については、サザンブロット法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。

また、トウモロコシゲノムの22 bpの欠失及び5'及び3'末端への4 bp及び39 bpの挿入を除き、近傍配列については、宿主ゲノムであった旨、記載をしております。

また、遺伝子の挿入による内在性遺伝子の破壊の有無ですが、検索の結果、その可能性は低いとしております。

35ページ、(2)といたしまして、ORFの有無と転写、発現の可能性については、ORFが合計149個見つかりまして、そのうち2つのORFについて、既知のアレルゲンとの相同性が確認されました。一つはブタクサのArt v 1前駆体のホモログとの一致でしたが、一致箇所が非構造的なタンパク質配列であるため、こちらについては、アレルゲンとなる可能性は低いと考察しております。

もう一つは、ライグラスの花粉のアレルゲンでございますが、こちらについてはアレルギー患者の血清を用いた解析の結果、isoform 9のIgE抗体との結合部位配列ではないことから、こちらについてもアレルゲンとなる可能性は低いと考察しております。

既知の毒性タンパク質に関しましては、検索の結果、一つのORFだけヒットしたものの、

考察の結果、毒性はないとの内容を記載しております。

36ページ、2.発現量に関する事項、37ページ、3.一日蛋白摂取量については記載のとおりです。

続いて385行目以降の4.遺伝子産物等のアレルギー誘発性の項目をお願いいたします。

(1) (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ございますが、①人工胃液については、両タンパク質とも1分以内に分解されるものの、PATタンパク質のSDS-PAGE分析では、目的のタンパク質より分子量の大きい約3.5 kDaのバンドが供試時間を通じて確認がされました。

次に②として人工腸液に関してですが、mEPSPSタンパク質はSDS-PAGE分析とウェスタブロット分析では反応時間が異なるものの、ともに消化される結果が得られ、PATタンパク質は5分以内に消化される結果が得られております。

38ページ、③加熱処理については、両タンパク質とも30分間で65℃以上の条件であれば、免疫反応性が失われることが確認されております。

次に(4)として、これらの遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性を確認したところ、一致するものはなかったと記載をしております。

5.遺伝子の安定性及び39ページ、6.代謝経路への影響については記載のとおりです。

7.宿主との差異についてでございますが、構成成分について、本系統と非組換え品種とを比較したところ、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、対照品種の変動の範囲内あるいはILSIデータベースの範囲内であったと記載をしております。

40ページ、8.諸外国における認可状況、9.栽培方法及び41ページの10.種子の管理方法等については記載のとおりです。

第7.といたしまして、以上第6.までの結果から、安全性は確認できている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たいと思っております。

まず、34ページの301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っております。

よろしいでしょうか。

続きまして、最後までで、コメント、御意見、ございましたらお願いしたいと思っております。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 37ページの396行目からの人工胃液に対する感受性のところですが、データを見ると、mEPSPSもSDS-PAGEでは4~5 kDaのバンドが出て、それは消えていないような状

態になっていますので、下のほうのPATタンパク質のほうには書かれているので、合わせるとするとPATタンパク質と同じ表現で、単純に「3.5 kDaの」のところが「4～5 kDaの」というような表現を上にも入れておいたほうがいいでしょうし、抜くのだったら両方抜いてしまってもいいのではないかと思っただけですけれども、入れるのだったら入れるし、入れないのだったら入れないとしておいたほうがいいのかとちょっと思いました。〇〇〇 御意見ありがとうございます。

並びをとって、入れたほうがいいのかと思いますので、入れる方向で調整を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 これはかつて議論があって、続けて胃液と腸液をやると消えるとか、何かそういう議論があったのではなかったでしたか。

〇〇〇 あったような気もしますし、もう前に使われているので、余りここでいちゃもんをつけてもね。

〇〇〇 以前に議論されたものですね。もうさんざん使われているものですから、そこまでの記載の追加は必要ないかと。

では、バンドの記載を一応入れておいてください。

ほかはよろしいでしょうか。

それでは、微修正がありましたけれども、事務局で修正をしていただきまして、私のほうでも確認しまして、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。ありがとうございます。

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書類について御説明いたします。お手元にまた同じタイトルとなりますが「除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性トウモロコシMZHG0JG系統」、こちら透明のプラスチックファイルとなりますが、御準備のほう、お願いします。こちらは厚さが薄いほうになります。

まず、こちらの1ページ目をお願いいたします。

本申請品目の概要ですが、1) の品目名は食品と同様となります。

2) 特徴については、トウモロコシに由来する *mepsps-02* 遺伝子及び *Streptomyces viridochromogenes strain Tü494* に由来する *pat-09* 遺伝子を導入することにより、除草剤グリホサート及びグルホシネートに対し耐性を示すことが本系統の特徴となります。

2ページ、3) 使用方法につきましては、従来のトウモロコシと変わりはないとのことです。

続いて、2.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基準の考え方に基づき3つの要件について考慮したところ、安全性上の新たな問題は生じない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してございます。

説明は以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

非常に短いのですが、一括で御意見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、特に安全上の問題が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います。

事務局から御説明をお願いします。

〇〇〇 続きまして、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47ページから50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ので、御準備をよろしくお願ひいたします。

まず50ページ、I.については先ほど御説明した食品内容と重複しておりますので、説明は割愛させていただきます。

II.についてでございますが、1.動物の飼養試験において、挿入された遺伝子または当該遺伝子によって産生されるタンパク質が畜産物に移行することはこれまで報告されていないこと、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。

短いのですが、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、評価書案について、御意見、コメントを賜りたいと思ひますけれども、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ひたいと思ひます。

また、短いので一括で御意見、コメントがございましたらお願いしたいと思います。特にいつもの同じパターンかと思ひます。

それでは、特にコメントはないようでありますので、食品安全委員会にこのままの形で御報告したいと思ひます。

続きまして、最後の「カイマックスM」についての審議を行いたいと思ひます。

事務局から御説明をお願いします。

〇〇〇 申請書の説明に入ります前に、こちら冒頭で御紹介いたひしましたが、本日、申請者の株式会社野澤組カルチャーをお呼びしております。

具体的な対応ですが、先ほど同様、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りましたら整理していただひたいと思ひます。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。

それでは、申請者から提出されております申請書を説明させていただきます。

水色のファイルをお願いします。*Aspergillus niger* var. *awamori*菌株を利用して生産されたラクダ由来キモシン、品名カイマックスMでございます。

資料は下に1ページと書いてあるページの準備をお願いします。

今回、先生方に審議をお願いしますカイマックスMですが、18カ月齢のラクダの第4胃から抽出された遺伝子を生産菌に組み込んで製造された添加物でございます。今回の製造メーカー、同じ製造メーカーなのですが、平成15年にもウシキモシン、仔牛由来のキモシンを申請しており、これは既に商品化されています。厚生労働省において安全性審査が終了しており、平成15年6月30日に官報掲載されています。

まず第1-1「(1) 名称、基原及び有効成分」ですが、今回のチーズの製造の酵素剤でありますレンネットは、厚生労働省の既存添加物リストに記載されており、名称はレンネット、品名はキモシン、別名はレンニンとなっております。

次のページをお願いします。②基原・製法・本質ですが、反すう動物の第4胃より水で抽出したもの、または酵母菌、糸状菌、担子菌もしくは細菌の培養液より抽出して得られたものでございます。

本質ですが、乳を特異的に凝固させること、また、基質特異性の高いタンパク質分解酵素であり、前者はレンネット、後者は微生物レンネットであります。今回、申請がありましたカイマックスMは、ラクダキモシン遺伝子を生産菌に組み込み生産したラクダキモシンであります。

「(2) 製造方法」こちらは3ページの図1をごらんください。製造方法ですが、チーズ製造の前日に乳酸菌スターターと呼ばれる *Lactococcus lactis*などを原料乳総量の1~2%を培養し、バルクスターターを培養します。翌日、原料乳を殺菌、冷却し、これを原料乳に加えて乳酸発酵させ、pHが6.3前後になった時点でレンネットを添加します。レンネットはこのpH付近から作用しやすくなるということ、また、pHの低下に伴い不溶性カルシウムが可溶性となり、乳中のカルシウムイオン量が多くなるため、カゼインミセル間のリン酸とカルシウムが結合し、原料乳は凝固しやすくなるとされています。

次に「(3) 用途及び使用形態」ですが、用途のほうはチーズ製造における原料乳の凝固に使用されます。レンネットこのものは液状のもの、または粉末状のものもありますが、使用時には液状として原料乳に添加されるため、粉末レンネットは原料乳に添加される前には、水に溶かすように使用することとなっています。

次のページ「(4) 摂取量」ですが、こちらはまず一人当たりチーズ消費量が世界で最も多いのはギリシャということで、このギリシャ人に対するキモシンの摂取量を換算しています。まず年間のチーズ摂取量が31.1 kgであり、一日当たりに換算しますと85.2 g程度摂取することになり、この85.2 gからキモシンの摂取量を換算したところ5.6 μg程度のキモシンを毎日摂取することになると換算しています。

一方、日本人の場合はチーズ摂取量が少ないということで、5ページをお願いします。5ページでは日本人の一日のチーズ摂取量を求めたところ約6.5 gで、これをキモシン摂取量

に換算したときには約0.4  $\mu\text{g}$ 程度摂取することとなり、ギリシャ人の5.6  $\mu\text{g}$ よりはるかに低いという値が得られています。

次に「第1-2 宿主及び導入DNA」です。

「(1) 宿主の種名(学名)、株名及び由来」ですが、宿主は*Aspergillus niger var. awamori* 108914株でございます。由来ですが、先ほどお伝えしました厚労省で既に安全性審査を得ていますウシキモシンの生産菌を用いて、まず挿入された全てのDNAを除去し、その株から自然発生突然変異でありますプロテアーゼ低生産性となった菌を単離し、今回のカイマックスMの宿主としております。

「(2) DNAの供与体の種名、株名及び系統名」でございます。まずラクダプロキモシン遺伝子のDNAの供与体はヒトコブラクダであります。このヒトコブラクダは18カ月齢のラクダを用いています。このラクダを屠殺し、第4の胃の上皮細胞からラクダプロキモシンのRNAを分離し、cDNAを合成します。このcDNAを鋳型として二本鎖DNAを合成しています。

次にマーカー遺伝子のウリジン産生遺伝子のDNA供与体は、アカパンカビとして知られます*Neurospora crassa*でございます。

次のページをお願いします。「(3) 挿入DNAの性質及び導入方法」です。挿入DNA配列ですが、ラクダのプロキモシン遺伝子配列と宿主自身由来のグルコアミラーゼ遺伝子、そして、そのプロモーターとターミネーター配列でございます。それプラス栄養要求性マーカーとして、アカパンカビであります*N. crassa*のウリジン産生遺伝子で構成されています。このラクダプロキモシンの生合成と分泌させるため、プロモーター及びグルコアミラーゼ遺伝子は組み込まれており、結果としてグルコアミラーゼとラクダプロキモシンは融合タンパク質として整合された後、製造工程の培養液中のpHを●●●に下げることにより、グルコアミラーゼとプロ配列は加水分解し、ラクダプロキモシンは活性ラクダキモシンとなります。

7ページ「第1-3 宿主の添加物製造への利用経験または食経験に関する資料」でございます。宿主は先ほど申しました*A. niger var. awamori* CBS 108914株は、グルコアミラーゼのような酵素の製造に長年使用されてきており、食品としては長年泡盛の製造に用いられている菌株をラクダプロキモシン産生用に改良した菌株であります。

「第1-4 宿主の構成成分に関する資料」です。宿主は発酵食品や食用酵素の生産菌として安全性が評価されており、また、これらの生産菌はGRASに登録されている菌株であること。また、本菌株は非病原性、非発毒性で安全性が高いことが知られているとしております。また、カイマックスMの生産株は、キモシン産生条件下ではマイコトキシンは検出限界以下であることが確認されています。

「第1-5 遺伝子組換え添加物の性質及び用途に等に関する資料」です。

「(1) 製品名及び有効成分」です。製品名はカイマックスM、有効成分ですが、ヒトコブラクダの18カ月齢を屠殺し、第4の胃の上皮細胞から分離したラクダキモシン遺伝子を

組み込んだ宿主からつくられたラクダキモシンでございます。

「(2) 製造方法」です。3ページの図1で御説明しましたように、本酵素はこの工程に沿って従い、pHを●●●以下にすることによりラクダプロキモシンのプロ配列部分が加水分解により外れ活性ラクダキモシンが産生されます。しかし、培養液中にはラクダプロキモシン、プロ配列及びグルコアミラーゼが存在していることから、必要でありますラクダキモシンのみをイオン交換樹脂に吸着させ、回収し、これを弱酸性の緩衝液に入れ、ラクダキモシンを溶出するとともに、ラクダキモシンのみが精製されます。

次のページをお願いします。最終的には液状または粉末状の製品として販売されることとなります。

「(3) 用途及び使用形態」は先ほど御説明しましたので割愛させていただきます。

「(4) 有効成分の性質及び従来の添加物のとの比較」でございます。こちらは9ページの表1をごらんいただきながら説明いたします。従来の添加物、仔牛レンネット中のキモシンと今回の申請品目カイマックスを比較したところ、アミノ酸配列、酵素機能については、まず構成アミノ酸の残基数は323残基と同じであること。アミノ酸配列の同一性は85%であります。しかし、凝乳酵素としての最も重要な特性であります $\kappa$ -カゼイン分子にある特定の結合、105番目のフェニルアラニンと106番目のメチオニン、この部分を特異的に切断する特異性につきましては、仔牛レンネットを100とした場合カイマックスは170%という値が得られています。一方、非特異的なタンパク質の分解の活性については、仔牛レンネットが100に対してカイマックスは25%という値が得られています。

10ページ「第1-6 安全性評価において検討が必要とされる遺伝子組換え添加物と従来の添加物及び組換え体と宿主等の相違点」でございます。従来の添加物とGM添加物の違いですが、従来の添加物は仔牛の第4の胃の抽出物の由来であるのに対して、カイマックスMはラクダの第4の胃の遺伝子に*A. niger*を利用してつくられたラクダキモシンであること。また、組換え体と宿主の違いですが、宿主にラクダキモシン遺伝子の発現カセットが挿入されている点が相違点でございます。

11ページ「第2 宿主に関する事項」です。

第2-1と第2-2につきましては、先ほど御説明した内容と重複しますので割愛させていただきます。

第2-3、第2-4も割愛させていただき、「第2-5 宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項」でございます。宿主の*A. niger*種の一部にはオクラトキシンAの産生が報告されていること。また、一部の菌株にはその産生を認めているという調査報告がありました。その後も*A. niger*種のマイコトキシン産生について調査が行われた結果、オクラトキシンAだけではなくフモニシンB2を産生する株があることが認められております。しかし、別の調査研究では、細菌の分子生物学的手法を用いた系統分類とカビ毒素産生について調べた結果、野生型と実用黒麹菌の遺伝子型は異なり、実用の黒麹菌ではカビ毒素を産生する株はないことを明らかにしています。

また、別の研究では黒麹菌はマイコトキシン産生能を有しない安全な菌となったと結論づけております。もう一方、また別の研究でも、分子生物学的系統解析により実用されている黒麹菌は遺伝子レベルからオクラトキシンA非産生性であることが認められています。

これらのことから、野生株に近い菌株を使用する場合は、有害物質の産生に留意する必要がありますが、実用黒麹菌については安全性に問題はなく、使用できると考えられる。また、黒麹菌として使用されている*A. niger*及びその近縁株には病原性の外来因子が存在することは知られていないと結論づけられています。

13ページ「第3 ベクターに関する事項」。

第3-1については、こちら記載のとおりでございます。

14ページ (1) (2) も記載のとおりで説明は省略させていただきます。

15ページ「(3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項」です。結果としましては、今回使用したプラスミド由来の塩基配列については問題とならず、有害塩基配列の存在も知られていないと考察されています。

「(4) 薬剤耐性に関する事項」です。今回使用されている発現プラスミドの中には、アンピシリン耐性遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子が含まれていますが、いずれも形質転換される前に細菌由来のDNA領域が除去されていることから、形質転換により宿主に薬剤耐性が付与されることはないと結論づけています。

「(5) 伝達性に関する事項」は記載とおりです。

(6) も記載とおりですので、説明は省略させていただきます。

16ページ「第4 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項」です。

「(1) 名称、由来及び分類に関する事項」は先ほど説明いたしましたので、割愛させていただきます。

「(2) 安全性に関する事項」です。まず挿入DNA供与体の病原性についてですが、ヒトコブラクダ及び*A. awamori*に病原性は知られていなく、*N. crassa*については日和見病原菌とされています。

毒素産生性については、挿入DNAいずれも毒素産生性に関与することは知られていないと結論づけております。

挿入DNAの供与体に関して安全な摂取の有無が明らかにされていることについてですが、ヒトコブラクダは中東及び西アフリカの一部において食用として、紀元前から家畜として利用されていること。*A. awamori*は第1の3及び4項で記載していますとおり、発酵食品分野や醸造分野で安全に利用されていること。*N. crassa*については摂取に関する事例は知られていないということになっています。

第4-2「(1) 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法に関する事項」です。18カ月齢のラクダを屠殺し、第4の胃の上皮細胞からmRNAを分離し、このmRNAを鋳型としてcDNAを合成しています。このcDNAを鋳型として特異的なプライマーを使って、PCR産物

でありますラクダキモシンの遺伝子配列が合成されています。

17ページ「(2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項」ですが、こちら記載のとおりでございます。

「(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項」です。この①の内容ですが、既に説明した部分と重複しますので今回、説明は省略させていただきます。

18ページ、②遺伝子産物の毒性やアレルギー誘発性等の有害作用に関する事項です。

(A) 遺伝子産物の酵素としての安全性についてです。今回新製品でありますカイマックスMは、全世界で2016年2月から2017年1月の1年間の間で●●●を販売し、290万トンのチーズが生産されていますが、これまでアレルギーの発症、毒素による中毒の発生の報告は全くない状況であること。また、実際にカイマックスMを含んだチーズを摂取した場合、ヒトの場合であればチーズタンパク質とともに胃中で基質特異性が低いペプシンによりポリペプチドに分解されながら腸管内を移動し、この腸管では基質特異性の低いトリプシンやキモトリプシンが作用しやすいpH（中性）に上昇し、これらのタンパク質分解酵素により分解され、最終的にはキモシンも腸管内で他のタンパク質と同様にアミノ酸に消化されるということが書かれています。このようにキモシンは基質特異性がもともと高いことから、ヒトの消化系で他のタンパク質を分解し、毒性やアレルギーを発症させるポリペプチドを生成することはないと考えられると考察されています。

(B) 遺伝子産物及び供与体のアレルギー誘発性に関する知見です。まずラクダを食べた場合のアレルギー誘発性ですが、中東及び西アフリカの一部では、ラクダは紀元前から食用として利用されており、古くから安全な食料源として食されてきた。また、最近ではアラブ首長国連邦ではラクダのミルクやラクダ食品の消費がふえています。アレルギーの誘発が問題となっている情報はないということ。チーズの製造では、精製されたラクダキモシンの使用例はなく、粗製されたラクダレンネットの使用においてアレルギー誘発性が問題になったことは知られていないと考察されています。

続きまして、遺伝子産物についてのアレルギー誘発性に関する知見です。こちらはアレルゲンオンラインデータベースを用いて2つの解析が実施されています。1つはアレルゲンに含まれる連続するアミノ酸残基の配列と完全に一致した場合と、2つ目は連続した80アミノ酸残基のスライディングウインドウ解析で35%以上の同一性を示した場合ということで、この2つの解析結果が19ページ下から記載されています。

まず解析1、完全に同一な連続する8アミノ酸残基の検索結果ですが、まずイノシンのpepsin Aに含まれる9つと、クモノスカビのaspartyl endopeptidase中に3つの一致する8アミノ酸残基が検出されております。pepsinはEUの規則により食品アレルギーとされていないこと、また、クモノスカビのaspartyl endopeptidaseは空気中に飛散している場合はアレルギー誘発性が報告されていますが、食品アレルギーとしては知られていないこと、また、クモノスカビは東南アジアの魚醤、テンペなどの発酵食品の製造に用いられており、*A. niger*と同様に製造に用いられる菌株は自然に淘汰され、最終的にはアレルギー誘発性

を有しなくなっていると考えられている。

この結果から、申請者のほうではラクダキモシンのアレルギー誘発性は示唆されなかったと考察されています。

解析2ですが、連続した80アミノ酸残基の同一性の検索の結果です。同一性が35%を超える配列を持つ6つのタンパク質が検索されています。その結果は21ページの表2にまとめられています。その中でラクダキモシンと最大の同一性が高かった65%のPepsin Aと、次に高かった58.8%のaspartyl endopeptidaseについては、先ほどの解析1の結果に考察していただきましたとおり、ラクダキモシンのアレルギー誘発性物質として知られていないと結論づけております。

残りの4つに関しましては、チャバネゴキブリのアレルゲンとして知られている *Bla g2* とその構造類似体であり、いずれもラクダキモシンとの同一性が35%をわずかに超える、最大で38%の同一性を持つ配列を有していたという結果が得られています。

一方、このラクダキモシンのアミノ酸配列と85%の同一性を示していたウシキモシンについても、同じようにこのチャバネゴキブリの上記のタンパク質と最大では36.3%の同一性を持つ配列を有しておりましたが、この製造メーカーにおいてもデータベースを解析し、その結果、最終的にはチーズの使用レベルからは、これまでキモシンに起因したアレルギー誘発性の報告は知られていないこと。また、日本ではこのレンネットは既存添加物に記載されており、使用量が少ないことから、ウシキモシンに構造が類似しているラクダキモシンについても、同様にアレルギーを誘発する可能性は低いと考察づけられております。

飛びまして26ページをお願いします。第4-5「(2) オープンリーディングフレームの有無並びにその転写と発現の可能性に関する事項」でございます。カイマックスM、今回の申請品目は、発現カセットの部分のみを菌株に導入していることから、導入したDNA発現カセットについてORF検索を実施しています。その結果、●●●個のORF検索がヒットしており、そのうちアレルギー誘発性を調べるため、第4-2-(3)と同様に完全に同一なる連続する8アミノ酸残基の検索と連続した80アミノ酸残基で、同一性35%の配列検索、2通りの方法で既知のアレルゲンの同一性を検索しております。

その結果、28ページに表5に示した解析の結果、6つのORFにおいてデータベース上のタンパク質と同一性を有する配列が検出されています。6つのうち4つについてはスエヒロタケのグルコアミラーゼと同一性を有する配列となっており、ほかのもう一つ、5つ目のORF109については *A. niger* の serine protease と同一性を有する配列が検出されていますが、これらの酵素に関してはアレルギーを誘発する報告はないということ、また、これらのORFの同一性を有する配列部分が *A. niger var. awamori* 由来のグルコアミラーゼ遺伝子配列上に位置していたこと。また、この菌株が食品産業において長年使用されていることから、アレルギー誘発性はないものと結論づけています。

そのほかORFについては、ORF136に関しましてはイノシシのPepsin A、また、クモノスカビのaspartyl endopeptidase、チャバネゴキブリの *Bla g2* とその構造類似体と同一性

を有する配列が検出されていますが、先に述べたように、結果としては食品アレルギーとされていないということから、アレルギーは誘発しないと結論づけられています。

最後に6つ目のORFにつきましては、*Blomia tropicalis*のBlo t 3アレルギーと同一性を有する配列が1つ検出されており、同一性が36.28%と低かったこと、また、既に安全性審査が終えられているウシカイマックスにおいても、ここで使われている発現プラスミドにおいても同じ領域でマーカーとして組み込まれており、現在までアレルギーに関する問題は生じていないことから、アレルギー誘発性がないものと考察されています。

28ページの(3)(4)については省略させていただきます。

29ページ第4「(6) DNAの宿主への導入方法に関する事項」でございますが、相同組換えにより発現カセットのゲノムへの組み込みが行われていることが記載されております。

少し飛びまして33ページの上から6行目「これらの結果から」になりますが、サザンブロットティングの結果、2コピー以上のカセットが組み込まれているものと考えられているという結果、また、形質転換のゲノムに発現カセット以外のプラスミド部分が組み込まれていないことを確認するために、サザンブロットティングを解析した結果、ゲノム中にはプラスミド由来の配列が組み込まれていないことが確認されています。

続きまして、下の第4-7の(1)と(2)については記載のとおりでございます。

34ページ「第5 組換え体に関する事項」です。

第5-1と第5-2については記載どおりでございますが、「(2) オープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項」でございます。今回のカイマックスMの産生は発現カセットの部分のみを菌株に導入していることから、発現ベクターの発現カセット以外の配列から生成されるORFの検出はないので、導入したDNAについてのみORF検索を行っています。その結果、検出されたORFはアレルギーデータベースで毒性のタンパク質のデータベースを解析した結果、アレルギー誘発性や毒性を有しないと考察されています。

35ページ「第6 組換え体以外の製造原料及び製造機財団法人に関する事項」です。

第6-1「添加物の製造原料又は製造器材として使用実績があること」ですが、本酵素の製造に用いた製造設備は、ISO22000と品質基準のISO9001:20000の認証を受けており、工場が設置されているドイツではドイツの政府担当部局より認可され、検査されているものであります。

また、培地の原料素材についてはいずれも食品のグレードであり、食品用酵素の生産には通常使用されているものでございます。

36ページですが、食品の酵素生産に一般的に用いられる器材であることから、それぞれ性能はフィンランド、デンマークの担当部局により容認されたものが使用されています。

第6-2はこちら記載のとおりで、説明は省略させていただきます。

37ページ「第7 遺伝子組み換え添加物に関する事項」で、第7-1「諸外国における認可と食用等に関する事項」ですが、カイマックスMは現在、米国で2007年にGRASに登録さ

れ、販売されていること。また、国の酵素承認制度を持っているデンマーク、フランスでは既に承認されていること。あとはカナダの保健省の健康保護部局からは食品として販売することが認可され、食品への利用がされています。

第7-2「組換え体の残存に関する事項」です。こちらはPCRを使って残存について解析をしております。その結果ですが、38ページをお願いします。結論としましては、カイマックスMの製品には組換え体の残存がないことが確認されています。

41ページ第7-4、第7-5は記載どおりですので、説明は省略させていただきます。

42ページ「第8 第2から第7までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要な事項」として、申請者からカイマックスMは安全な添加物であります。安全性をより確実に示すためということで毒物学的試験データが提出されています。

まず①カイマックスMの変異原性試験です。*Salmonella typhimurium*のヒスチジン依存性の独立栄養変異株を用いて細菌復帰突然変異について実験をしたところ、結論としましては、カイマックスMは細菌復帰突然変異誘発力を有することは全くないとされています。

②ヒトリンパ球を使用した*in vitro*による染色体異常試験でございます。こちらは43ページをお願いします。結論としましては、活性の有無にかかわらず、いかなる投与量においてもコントロールと比較して、染色体異常を含む核分裂中期の細胞の形状の割合は統計的に有意な水準の増加はなかったこと。また、核分裂中期の細胞におけるポリプロイドも試験実施中に統計的な有意な増加が観察されなかったことから、最終的には細胞遺伝学的な染色体異常の頻度を増加させる要因にはならないと結論づけられております。

③13週間のラットの経口投与試験の毒性試験です。次のページをお願いします。この試験の結果としましては、血液試験において4.84あるいは24.2 mg/kg/日投与群の雌で血清ナトリウムの濃度がわずかに高い結果が得られた以外は、ほかの試験項目全てにおいては何も異常が観察されなかったこと。先ほどの血清ナトリウムの結果については、毒物学的に重要視するものではないと判断されています。

この試験の結果としましては、ラットの13週間にわたる24.2mg/kg/日までのカイマックスMの経口投与は、何ら有害となる結果を生じることはなかったため、NOAELは24.2 mg/kg/日と設定されています。

申請書の説明は以上です。

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っております。第1、第2、第3で、1～15ページまででコメント、御意見をいただきたいと思っております。

〇〇〇 菌株についてこの説明が何カ所かにありまして、*A. niger* var. *awamori*菌株を利用してとありますが、実はこれが古くて、何カ所かあるけれども、11ページで説明いたしますと、下の近縁株のところ、日本では*A. niger*種は黒麹菌として古くからと系統的關係がわかりにくくなっているとかありますけれども、2013年に全て整理されまして、*A.*

*awamori*は今では*A. luchuensis*となっています。また、*A. niger*と*A. awamori*は別種であると提唱されていますので、*Aspergillus niger var. awamori*ではまずいので、これは*A. luchuensis*にさせていただかないと、これに関係するところ全て更新していただきたい。

また、菌株の安全性等々についてはこのとおりで大丈夫だと思うのですが、ここで使っている菌株がちゃんとそのとおりのものであるということを追跡して確認していただきたいと思います。

ついでながら、11ページの下から10行目、*A. luchuensis*、*A. awamori*、*A. kawachii*など黒麹菌は幾つもの種名がつくられとありますけれども、この中で*A. kawachii*は黒麹菌ではなく白麹菌なので、そこも忘れずに直していただきたいと思います。

以上です。

〇〇〇 時代とともに名前とか分類がどんどん変わってきますので、最新のものに直していただきたいと思います。

〇〇〇 確認させていただいてよろしいですか。表題にあります*Aspergillus niger var. awamori*を全て*Aspergillus luchuensis*までに。

〇〇〇 そうです。全て*A. luchuensis*に。

〇〇〇 var以降はなくてよろしいのですね。

〇〇〇 最初の表題の*Aspergillus niger var. awamori*というのは、*A. awamori*というのは*niger*の中の亜種であるということを示しているのです。ですけれども、2013年の改定で*niger*と*awamori*は同一菌株の亜種ではなく別種とされているのでvarは必要なくて、「*A. luchuensis*菌株を用いた」にしないとまずいです。

〇〇〇 わかりました。そうしますと宿主に書いてありますCBSのナンバーが。

〇〇〇 CBSのナンバーは多分そのままでもいい。通用しているかどうか、これも酒類総研とNITEで菌株の名称を整理されているので、追いかけるはずですから、それをちゃんと調べ直して平成29年でも通用するように確認して書き直していただきたい。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 ほかはよろしいですか。

〇〇〇 2ページの8行目、ウシキモシンとラクダキモシンのアミノ酸の85%の同一性があるということで資料1参照とあるのですが、後でアレルギー性にも関係してくるので、資料1の配列は本文の中に入れていただければと思うのですが。

〇〇〇 入れる場所は。

〇〇〇 入れる場所は資料1ということなので、2ページ目でもいいのではないかと思います。

〇〇〇 これは一番最初ですよ。だからむしろ細かいことは後のほうに。

〇〇〇 今までアミノ酸配列を入れていただいている場合は、今回の資料で言うと8ページ、9ページあたりになるのですが、第1-5-(4)として有効成分の性質及び従来添加物との比較というところで、9ページに表1で比較の表があるのですが、大体このあたり

に入れていただいているので、これまでの並びからもこの辺にあるのが見やすいかなと思うのですが、よろしいですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 では、そのあたりに配置するようにお伝えいたします。

〇〇〇 ほか、15ページまでで追加はよろしいでしょうか。どうぞ。

〇〇〇 4ページ目のところの上から3行目に「キモシンは、1 mgあたり460 IMCU」とあるのですが、全てのキモシンがこうなっているとはとても思えないのですけれども、このキモシンは一体何を指しているのか。従来型のカイマックスなのか、それとも天然型のキモシンなのかよくわからないので、少し内容を足していただければと思います。

〇〇〇 わかりました。

ほかはいかがでしょうか。

それでは、続きまして第4で33ページまでで御意見、コメントをお願いしたいと思えます。

〇〇〇 17ページあたりに挿入遺伝子はグルコアミラーゼとラクダのキモシンの遺伝子をつないだとあるのですが、どこをどういうふうにつないでいるのか、どこまで読んでも、参考資料の塩基配列を見ても全然わかりません。要するにシグナル配列だけをつないでいるのか、それから、グルコアミラーゼの全長に対してそのキャメルもつないでいるのか、その辺が全くわかりませんので、それがわかるように。

それから、これがpH●●●になるとこれが切断されているという、確かにそのとおりでありますけれども、でもこの概要書にはそれがなぜ切断するのかの原理、それから、その切断効率は何のくらいなのか。これは基本的には完璧に切断するのですが、それをちゃんと書いていただきたいし、また、切断された結果、それが余計なアミノ酸とつかずにちゃんとラクダのキモシンそのもののアミノ酸配列になるのかどうか、そういった点の確認を記載していただきたい。データを持っていると思いますので、その点がどこを読んでも全く書いていないというのはまずいと思います。

以上です。

〇〇〇 それは追加していただくということですか。

〇〇〇 本日、申請者が来られています、それは聞いたほうが。

〇〇〇 きょう聞きましようか。

〇〇〇 聞いたほうが良いと思います。聞けば多分データがありますのでと言うと思うので。

〇〇〇 ほか33ページまでで。

〇〇〇 18ページの15~20行目なのですからけれども、これは胃腸管の中で分解されるとは、アミノ酸になるという表現なのですが、データがないので、実際に人工胃液あるいは人工腸液で分解されたデータを出した上での考察とすべきだと思いました。

〇〇〇 これは後で多分、消化酵素のところでも要求するかどうかの議論にです。要求しな

ければこれを取ってしまうこともあり得るのですが。

〇〇〇 言い過ぎになるので、ここは取ってしまったほうが。

引き続きましてアレルギー誘発性に関するところなのですが、19ページ目に入りまして5行目の遺伝子産物についての誘発性に関する知見というところなのですが、ここから21ページの表2にかけて少し文章が余りクリアではないので、全体的にわたって変えていただきたい点があります。以下、順を追って

説明させていただきます。解析1のところですが、5行目と7行目で食品アレルギーとされていない。これは食物アレルゲンとはされていないということになります。

続いて解析1の6行目からになるのですが、*Rhizopus oryzae*の aspartyl endopeptidaseは、空气中に飛散している場合、アレルギー誘発性が報告されているということで、それに関する文献が参考文献13と思われるので、参考文献13は、この文章の直後に挿入してください。なお、8行め後半から11行目の文章は、添付のDVDの中の参考文献13には1ページ目の要旨しか書かれていなくて、読み取れなかったので、整備をお願いしたいと思います。

解析1の12～13行目ですが、”この解析の結果からラクダキモシンのアレルギー誘発性が示唆されなかった”という、根拠がよくわからないので、 unnecessary文章かと思えます。

もう一点解析1に関する説明の項目についてですが、1-4行目に、連続8アミノ酸残基が同一の配列がイノシシのPepsin Aから9つと、クモノスカビのendopeptidaseから3つ検出されたとあります。Pepsin Aはアレルゲンとしては報告されていませんので、抗原決定基になることは考慮しなくてよいのですが、クモノスカビのendopeptidaseはアレルゲンとして登録されているものですので、ここのタンパク質と8個の連続アミノ酸に同一性が見られたということは抗原決定基の可能性も考慮する必要がありますので、その連続アミノ酸の一致が見られたのがラクダキモシンのアミノ酸全配列の中でどの位置になるのかということと、食経験のあるウシキモシンでもラクダキモシンと同様endopeptidaseの8残基アミノ酸と配列が一致しているかを知ることが重要となります。従いまして、ラクダキモシンとウシキモシンのアミノ酸一次配列を比較した図の中にendopeptidaseとの8残基一致部位を、中に記入し考察を加えることが望まれます。

次に、解析2に関するコメントに移ります。20ページの1～2行目なのですが、”---endopeptidaseについては解析1で記述したとおり、両者はラクダキモシンのアレルギー誘発性物質として知られていない。”左記の文章の意味がよくわからないので、この文章は特になくてもいいのではないかと思います。

14～19行目の”また、日本においては、-----“の文章に関しても、意味がよくとれない部分がありますので、特に必要ではない文章ではないかと思います。

21ページ目の表2なのですが、ここには80アミノ酸残基で一致したタンパク質が6個書かれているわけですが、そのうちの1番と2番に関しては、残基の一致したペプチドが見られています。部分ペプチド一致の結果も表の1つの列として入れてもらえれば、ア

レルゲン性のバイオインフォマティク手法での解析結果を一つの表としてみられるため考察を行いやすいと思いました。

以上です。

〇〇〇 何点かありましたので、これをまとめて後で申請者にお聞きいただけますか。

33ページまで、ほかに。

〇〇〇 本日欠席されています〇〇〇から、この部分についてのコメントをいただいていますので、事務局から紹介させていただきます。

今回、既知アレルギーとの相同性が認められ、少量ではありますが、食品中にも残留する添加物であることを考えますと、遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性というものは確認しておいたほうが、安心と考えておりますとコメントをいただいております。

〇〇〇 人工胃液と人工腸液の実験を求めるかどうかということは、議論しておいたほうがよろしいですか。

〇〇〇 まず第一に、申請者の書きぶりがよくなくて、例えば20ページのところでラクダキモシン、ウシキモシンと書いてありながら、場所によってはキモシンなのです。先ほど〇〇〇が問題にされた18ページのところもキモシンなのです。これはウシキモシンなのかどうかを明確に。これはあれですね。〇〇〇がおっしゃられたところも要するにキモシンって何というところですね。これは明確に全部きちんと書かないと文章が通らない。何となく18ページのここはごまかしているという気がすごくします。ですから消化性の問題があるのではないかと言ったときに、よくわからないのが19ページの上のところなのです。2行目でラクダキモシンの使用例はなく、粗製ラクダレンネットの使用において問題になったことはないということは、つくったことはある。食べたのかな。

要するにウシの場合には食べているわけですから。ここで見るとアレルギー誘発性は問題になっていないといったときに2つあると思います。1点はラクダ由来のキモシンそのもののアレルギー性、もう一点は、先ほどこの申請者が非常にうたっていらっしゃるのですけれども、タンパク質は分解されないから非常に歩留まりがよくなるということは、これはチーズにアレルギー性はあるのですか。あるとしたら製法が違っているのです。普通のウシキモシンのチーズだと思って食べていた人が、ラクダキモシンのやつを食べてアレルギー性を誘発する可能性があるのです。表示の義務も発生してくるのではないかとということもあるので、これは評価書の最後の書きぶりのところでポイントになると思うので、ここの上の2行「使用例がなく」と言いながら、でも使用したと書いてあるところを明確にして、食べているのか食べていないのか。食べていなかったのだったらウシの場合はそれまで食べていましたね。組換えではないもの。ということもあるのだけれども、これは食べていないということが第1点。

では、これを使うことでできた製品のチーズのアレルギー性の問題は大丈夫なのでしょうね。要するに表示する必要があるのかも私は考えたほうがいいのではないかと思います。

以上です。

〇〇〇 表示の問題はさておきまして、また別の問題なので。天然のラクダのレンネットを使ってチーズをつくった例は極めて少ないのだと思うのです。ラクダのミルクとラクダのレンネットの組み合わせ。

〇〇〇 その辺でこの書き方が矛盾しているので、業者さんに聞いてはっきりさせてもらったほうがいいのではないですか。

〇〇〇 ただ、genetically modifiedのラクダのレンネットは海外では使用経験はある。それは恐らくラクダのミルクではなくてウシのミルクですね。

〇〇〇 となるとすると、先ほど言ったところの製造方法は変えるわけですね。

〇〇〇 ただ、日本人の場合にそれが適用できるかどうかはよくわからない。

海外での使用経験は少しあるのですね。それをもってアレルギー性の報告はないと認めていかどうかは議論したほうがいい。

〇〇〇 今のは要するに18ページの上段にあるGMの今回のラクダレンネットは、290万トンのチーズ生産に海外では既に使われているというところをどう評価するかということですね。

〇〇〇 そこは先生方の御意見を伺いたいところです。少なくとも $\mu\text{g}$ のオーダーではチーズの中には入っている量としては食べているわけですね。

もし食経験がないとすると、先ほどのデータはマストというか、必ず必要になってくると思うのですけれども、海外での食経験をどのぐらい評価してあげるかあげないかが我々が決めないといけない問題かなど。なかなか難しい問題ですが。

〇〇〇 事務局からなのですけれども、御参考になるかわからないのですが、今までも幾つか添加物は御審議いただいたものがあるのですけれども、その中で人工胃液、腸液試験をやらなくてよかったもの、やらなくてもいいですよとここでコンセンサスが得られたものとしては、直近のものだとほかの申請者になるのですけれども、ホスホリパーゼA2というものがありません。

その品目は、豚の膵臓でホスホリパーゼA2をつくるという遺伝子があるのですけれども、その遺伝子をクローニングしてきて菌につくらせるというもので、その際は豚は食経験があるよねという部分と、豚の膵臓でつくられる純粋なホスホリパーゼA2と、組換えによってつくられるホスホリパーゼA2の分子量が同じというのを分析して、かつ、ホスホリパーゼA2というのは初めの6アミノ酸の塩基配列が特異的な配列だということで、その初めの6アミノ酸を読んで、その2つが同一だよということをもって豚の膵臓でつくられるものと今回の組換えでつくられるものが一緒だとみなされたものについては、人工胃腸液試験をやらなかった例はあります。

ただ、今回の場合はラクダをそもそも食べたことがあるか。ラクダの食経験につながる部分ではあるのですけれども、その問題がまず1つありますのと、もう一つはラクダの胃からとれるキモシンと組換えの微生物を使ってつくらせたキモシンが本当に全く同一のも

のなのか。アミノ酸配列も含めて同一のものなのかという考察が全くされていないので、そこを考察して、両者が同一であれば前のホスホリパーゼの例にならえば胃液、腸液はしなくていいのかなという部分はあるのですけれども、その同一性が担保できないのであれば、人工胃腸液試験は日本で食経験がない部分ではあるので、やったほうがいいのかというのが事務局の整理かなと思っています。

〇〇〇 今の話に補足させていただきますと、ホスホリパーゼA2は一応、既存の添加物があったということです。その既にある食品添加物とアミノ酸配列が同じものだという議論があってそのように判断されたのだという理解でございますので、今回、ウシキモシンとは85%の同一性とはなっているのですけれども、そこはホスホリパーゼの場合とは違うところがあると思います。

〇〇〇 私の説明がよくなかったかもしれないのですが、私が今、説明した意図としては、海外で使っているもここは日本なので、日本で評価をしなければいけないので、海外で使っているから云々ではなくて、日本で使いたいのだったら同一性を示すのか、あるいは無理だしたら胃腸液試験をやっねと、どちらかというやってほしいという意図のほうで伝えています。

〇〇〇 ただ、先ほどの論理だと、アミノ酸のシーケンスが同じだったらよしとしなければいけないという。

〇〇〇 それは豚は食べていた。これは食べていないのです。だから私は食経験と言っていたのです。

〇〇〇 食経験と言ってもチーズの中に微量まじっているだけなので、本当の意味の大量に食べているとはわかりませんね。

〇〇〇 先ほど例示させていただいた件は、日本だと豚を食べているからというだけではなくて添加物としてホスホリパーゼがあって、それと比較して同じであったということがあります。この例では、添加物は安全性が確認されているものとなっているので、それとの比較ができたということが今回の案件とは違うというお話をさせていただきました。

〇〇〇 今回はウシキモシンと85%相同性はあるのですけれども、ラクダキモシンの場合は日本としては初めてということがあるので、人工胃液、腸液の実験はやっていただくという方向がよろしいのではないかと思います。

〇〇〇 海外でつくって売られていることがあるとしたら、コーデックスの基準によると既存の食経験のあるものと比較しているはずなので、あるいはなければきちんとデータを出しているはずなので、データを持っているはずで、一番最初につくったところは。でないにつくられて売られていないと思うのですが。

〇〇〇 今おっしゃっている点ですが、海外で一度認可されたときにどれだけ要求されているかという話で、今の日本に比べるとかなり甘かった可能性も。

〇〇〇 そういう問題ですね。

〇〇〇 〇〇〇のおっしゃった話に関連してなのですけれども、酵素については必ずしも

欧州のほうでは承認が必要なかった時期がありますので、欧州で今、使われているということと安全性評価をやっているかということは必ずしも同じではありません。そこは注意する必要があるかなと思います。

〇〇〇 海外で食べていると言ってもきちんとしたデータが取り切れていないこともありますので、一応、それをもって日本のガイドラインに適用するのは避けることにしたいと思います。

そうすると、アレルゲン性の試験でラクダキモシンを消化酵素で一応切ってもらデータだけでいいのですか。

〇〇〇 実験的にはそのデータで。あとは相同性検索のほうは考察を。

〇〇〇 それと先ほどいろいろ言われたのは、もう少しすっきりしていただくということですね。

そうしましたら34～44ページで第5、第6、第7、第8に関しまして御意見、コメントをいただければと思います。

〇〇〇 ちょっと前のところなのですけれども、33ページの上のところには2コピー以上のカセットが組み込まれていると書いてあるのですが、最近では、もう少し正確に、幾つぐらいかは見てもらってきていたかという気がするのです。根拠となっているのは恐らく31ページのパターンなのだと思いますが、少しこれだと小さいし、太いバンドの近くや後ろにほかのバンドがあってもよくわからないようなパターンなので、本当に1遺伝子座に入っているということに関しても、もう少しわかりやすいデータがあったほうが本来はいいのかなと感じたところなのですけれども、いかがですか。

〇〇〇 よろしいですか。私もそのところで〇〇〇にお聞きしたいのですが、30ページの図がありますね。これで見るといわゆる相同組換えで入っていくということで、別の会社でもあった形だと思えるのですけれども、これはローリングサイクルで入って行って、コピー数が断定できなかったという会社もあったのは事実だったと思うのです。これローリングサイクルで入っていくのでよろしいのですか。

〇〇〇 環状のプラスミドに入れていけばローリングサイクルで入っていて、何コピーかわからないというのがあるのだけれども、今回はたしか環状で入っているのですたっけ。環状ではないでしょう。なのでローリングサイクル同じところでこうではなくて、何か所かに入っている可能性も十分にあって、多分その中で形質転換体の中で生産量の多い株を選んでいるだろうから、何か所かに散って何コピーかあるという可能性が一番高いと思われるので、これをもってそのままタンデムコピーだとは思えないです。

〇〇〇 やはりそうなのですか。〇〇〇が疑問に思われたところは私もここは疑問に思ったので、では〇〇〇、業者さんが来たら指摘していただけますか。

〇〇〇 了解です。

〇〇〇 〇〇〇、いいですよ。

〇〇〇 ええ。この図だと10以上は入っていそうに想像したのですけれども、2以上とい

う書き方がどうかなというのと、複数箇所に入っていた例も過去あったと思うので、その辺についても、もう少しきれいなパターンが欲しいですし、制限酵素の切り方は別のものを最低でももう一種類はやるとかすれば、また状況は変わってくると思うのですけれども、そんな感じで専門家の立場から指摘していただければ。

〇〇〇 一応、最後まで今、行ったのですね。

〇〇〇 39ページのところで、第7-3の非有効成分のところにDNAの組換え体の残存がないというのは書かれているのですけれども、これは多分前の項目の最後にあるべきかなと思ったので、第7-3の出だしはクロマトグラフィーでタンパク質の話で始まっていますので、前の部分に持って行ってもらったほうがよろしいかなと思います。

それから、クロマトグラフィーで出されてはいるのですが、先ほどの同一性の確認というところと一緒にありますけれども、クロマトグラフィーも若干配置がずれていたりして比べにくいところもあるのですが、そのところをもう少し従来型のカイマックスとカイマックスMの同一性について、記述をもう少し足していただきたいというのが感じたところです。これをもってして切れた断片が入っていませんとか、同時に発現する選抜マーカは抜けていますとか、そういうことになるのだと思うのですけれども、そこら辺の記述もありませんので、クロマトグラフィーでもしそれを主張したいのであれば、その部分は少し足していただきたい。

〇〇〇 〇〇〇がおっしゃっている部分は、39ページの第1パラグラフのここの情報がまだ不十分ということでしょうか

〇〇〇 そうですね。あと、その下の3行は前のページに持って行ってもらいたい。

〇〇〇 わかりました。

〇〇〇 先ほど今回のラクダのキモシンに、胃液で分解の試験が要る可能性についてなのですが、通常のこういうラクダですが、分解酵素というのは胃と消化管のところでそれぞれ通常の場合はペプチドに膵液から出てくるもので加水分解されてアミノ酸になってしまうわけですね。ラクダの中では恐らくそのようになっています。それがヒトが食べた場合には、加水分解しなくてペプチドとして残るという可能性があるからやってもらうという論理だと思うのですけれども、実際にその可能性はどの程度と判断するのか。

通常、消化のペプチドというのはそれほど種間での差がなくて、基本的には加水分解についてはしてしまうわけです。配列は余り依存しないで、通常アミノ酸はいろいろな食べ物から消化をしてしまうので、その辺のところの理屈を、必要性を言う場合には、ある程度きちんと立てておいてから申請者に説明する必要があるのではないかと思います。

〇〇〇 根拠は85%のホモロジーだから、かなり違うなど。98とか95とかでない、ほぼ同じではないですね。タンパクとしては違うタンパクと考えたほうがいいのかと。

〇〇〇 そうなのなのですが、今お話をしているのはラクダのキモシンとウシとでは配列が違う。それは確かだと思うのですが、消化をする側の酵素はどちらであろうとも、恐らくラクダであろうとヒトであろうとウシであろうと基本的に同じタイプのものを持って

いて、それが消化をしているわけです。だから配列が多少違ったとしても、加水分解するのではないかということを申請者が言った場合に、それはそうはならないということを説明する必要が出てきてしまうのではないかということです。

〇〇〇 ヒトの場合、大人ではペプシンですが。大部分のタンパクは常識的には壊れる。ただ、壊れないで断片が残ることがたまにありまして、そういうことがないことを言ってほしいと〇〇〇はおっしゃるのではないかと思うのですけれども。

〇〇〇 酵素なので自己消化されると思うのですが、そんなすぐに消化されるということではないのではないかと思うのです。

〇〇〇 ただ、今回の場合にはチーズの中に残存しているキモシンではないですか。量的には食品から摂取する量は一日の最大量を考えてもそんなに少ない計算になって、 $\mu\text{g}$ オーダーでしたね。そうすると特に日本人は少ないと言っている、その中でそれであれば自己消化ないしは消化管にある酵素系の中で十分消化できると考えることも可能なので、そうではなくて残存する可能性はあって、その場合にはやはり確認の必要性があるというヒトのものということをおかかないと、反論された場合にはどう答えようかなと思ってしまうので、その辺もお考えいただきたい。

〇〇〇 一般の消化酵素というのは、何種類もの加水分解酵素が同時に一遍に働くものなので、消化酵素が真っ先に共食いでやられることはなくて、ある程度の抵抗性を持って、そのうちにやられますけれども、その前にほかの食料のタンパク質を分解するものなので、多少なりとはプロテアーゼに対する抵抗性を持ちます。なので種が違えば、ウシとラクダほど種が違えば、ほかの消化酵素にどのくらいやられるかというのはある程度差があるというのは十分にあり得ることなので、そういう論理で説明して、確認の必要があると言えよるしいかと思えます。

〇〇〇 そう言っていただくとありがたいと思います。

〇〇〇 事務局から1点確認をお願いしたいのですけれども、申請書の17ページですが、こちら評価基準では毒性タンパク質の相同性検索というのも行うことになっているのですが、今回の申請者からは、この検索結果については提出がありませんでしたので、こちらについては必要かどうか議論、御審議をお願いしたいと思っております。

〇〇〇 これは哺乳動物のタンパクなので、通常は毒性の相同検索をそこまでやる必要があるかと言われると、ないのかなという気がします。

〇〇〇 私もその点で思ったのですけれども、普通はやっていますね。それで第8がないではないですか。今回むしろ実際に第8をやっているのです、これはだから先ほどは参考だったのだけれども、これによってないと言ってしまっているのではないのでしょうか。だめでしょうか。

〇〇〇 では毒性タンパクの相同検索は必要ないとし、今回提出されています第8の毒性試験を参考とせず、安全性評価のデータの位置づけとするということですか。

〇〇〇 いえ、ですから第8でやっているから、本来というかいつもだったら相同性検索、

そちらのほうが圧倒的に楽だと思うのです。第8は要するに毒性試験というのはやらないものがほとんどだったではないですか。今回は逆のパターンであるということで、第8でそれは担保されていますという言い方、毒性についてはホモロジー検索をやらなくても、ここで担保されますという言い方が一番わかりやすいのではないかと私は感じました。

〇〇〇 タンパクの場合は、普通は食べさせる実験は必要ないのです。だからその線でむしろ押して、もしそれが無い場合に毒性のホモロジー検索が要るかどうか。

〇〇〇 そうすると、要するにネイティブのラクダのタンパク質と同一性が担保されれば要らないということになりますか。

〇〇〇 そうですね。普通、動物の細胞の中にごく普遍的に頻繁にあって、ハウスキーピング的なタンパク質がたくさんありますけれども、それを全部相同性の検索をやる必要があるかどうかということで、多分昆虫とかもう少し下等な生物で毒素をたくさん持っている場合には、毒素の相同性検索をやったほうがいいと思うのですけれども、普通の家畜でそこまでやらなくてもいいのかなという気がします、いかがでしょうか。

〇〇〇 今の先生の御意見、まさしくそうだと思うのですけれども、それだから今後もこれを1つのコンセンサスとして考えていくというふうにここで考えを皆さん、先生方の御意見をまとめられれば、私はそれでいいのではないかと思います。

〇〇〇 何か特に懸念がなければということで。

ほかはいかがでしょう。

〇〇〇 1つ聞きたいことがあるのですけれども、よろしいですか。34ページの第5の組換え体に関する事項の2(2)のオープンリーディングフレームの可能性に関する事項なのですが、ここで宿主のゲノムとの接合部についてはやっておらず、入り方が●●●野生型に回復するような形ですので、多分やってこなかったのかなとは思いますが、この点はいかがでしょう。

〇〇〇 今回の場合はバクテリアに入れていきますから、接合部はちゃんと見ないといけないと思います。接合部位にORFがないことを確認してあれば特にやる必要はないのですけれども、新たにORFができていたときは、その発現する可能性も議論していただく必要があります。

〇〇〇 そうしましたら接合部位もORF検索をやっていただくということでよろしいですか。

〇〇〇 今回全くやっていないわけですか。

〇〇〇 はい。追加的な情報といたしまして、論文にラクダのキモシンとウシキモシンをSDSで同時に流した図がありまして、アミノ酸残基数は同じなのですが、流れ方が少し違います。ラクダキモシンのほうが少し分子量が大きく出て、ブロードで、論文中には糖鎖化の違いがあって、ラクダキモシンがより糖鎖化されやすいのではないかと書いてありました。

〇〇〇 糖鎖があるのですか。それはウシもあるのですか。

〇〇〇 ウシについては単一のバンドできれいだったのですけれども、ラクダキモシンについてはブロードで高いほうにバンドが流れていまして、N-グルコシル化されているのではないかという文章があったので、一応、情報としてお伝えしたいと思います。

〇〇〇 それは組換えのほうでやるとシングルではなくなるということですね。天然ではなくて。

〇〇〇 はい。天然ではなくて組換え体です。

〇〇〇 糖鎖がつけば当然プロテアーゼ耐性が上がりますので、ウシよりも安定性が上がりますので、やはり胃液試験を見てもらわなければいけないと言い張るのに十分だと思います。

〇〇〇 やりとりするといろいろなことが出てきそうだったので確認しておきます。食経験がと言いますけれども、要するに食経験というのは広く一般に食用に供されるのが食経験で、ラクダは対象は砂漠に行くときに緊急のときは食べていますね。よく読みますけれども、映像でも見たことがありますし、本でも読みますけれども、なくなる1頭ずつ殺して食べていく。そういうものを食経験と言うかということになると思うので、そういう特殊な例しかないのではないかと思います。だから食経験がないかと言われたらあるのですけれども、それは広く一般に食されているのではないということを考えておかなければいけない。砂漠で水がないとラクダのおしっこを飲んだりして下痢をしたとか、いろいろ読んだことがあります。ああいうところのデータは余り当てにならないですね。

〇〇〇 いろいろ御意見をいただきましたけれども、ほかに事務局からまだ何かありますか。よろしいですか。

それでは、聞くべきことが幾つかあったのですけれども、すべて覚えていないかもしれませんが。

まずラクダとウシの相違点をもう少し明確にして、この場でもう少し聞いても、糖鎖のこととか聞いてみたいと思います。

それから、アレルギー性の相同検索のところではいろいろ書きぶりがわからないところがあるので、それは〇〇〇に直接いろいろ質問していただきたいと思います。

〇〇〇 わかりました。表2を中心にお話します。

〇〇〇 あとコピー数の問題が2個以上なのだけでも、もう少し具体的に何個ぐらいという数字が出たほうが良いということがあります。

〇〇〇 グルコアミラーゼとどうやってつながっているのか。融合タンパクとその分離の話。

〇〇〇 融合タンパクの説明が不十分である。

〇〇〇 17ページの記載の内容の部分と理解してよろしいでしょうか。

〇〇〇 あと麴菌の分類はいいですね。ちゃんと淡々とやってもらう。

そんなところでお聞きしたいと思いますので、それではここで入室していただいでよろしいでしょうか。今から5分ぐらい休憩にしたいと思います。

〇〇〇 ちょっと今いいですか。申請者を一応、きょう呼んでおりまして、この後、〇〇〇が説明した後に入室して質疑応答を行うのですけれども、申請者の野澤組というところは基本的に輸入商社でして、代理で申請をしているので恐らく聞いても答えられないと思うのですが、そこはあらかじめ念頭に置いて御質問いただければ。もし変なとんちんかんなことを言ったら、紙にして出しますと言って切っただいて構いません。

〇〇〇 何をもとに伝えればいいのかわかってもらわないと、何度もやることになるので。

(説明者入室)

〇〇〇 それでは、説明をしていただきたいと思いますけれども、まず説明者の方で自己紹介、会社前とお名前を一言ずつお願いしたいと思います。

〇〇〇 私は申請者の株式会社野澤組カルチャーの〇〇〇と申します。よろしく申し上げます。

〇〇〇 私は株式会社ホリ乳業の〇〇〇と申します。遺伝子組換えの分野を担当しております。よろしく申し上げます。

〇〇〇 私は野澤組の〇〇〇と申します。よろしくお願ひいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、質疑応答に入りたいと思います。恐らく全てお答えできない、お答えいただけないこともあるかと思いますが、具体的に口頭でお聞きしたほうが多分いいのかなということが何点かありましたので、順番にお聞きしていきたいと思います。

まずキモシンがラクダとウシと両方ございまして、アミノ酸配列がどのくらい違うかということが表にして本文に出していなかったもので、それは出していただきたいと思いますのですけれども、それ以外に糖鎖が、糖鎖というのはおわかりになりますか。糖鎖がくっついているかどうかという情報がわからなかったもので、それを説明していただきたいと思いますのですが、今ここでできないようでしたら持ち帰っていただいて構いません。

〇〇〇 糖鎖がついているかどうかについてはこの場ではわかりませんので、持ち帰って調べさせていただきたいと思います。

〇〇〇 多分、本文のほうにアミノ酸配列をウシとラクダで比較したものを追加していただいて。

〇〇〇 2ページに記載しておりますように、85%の同一性ということで表を添付している次第です。

〇〇〇 85%はわかっているのですけれども、配列です。どことどこが違うかということが資料にはあるのですが、それを本文に移して追加していただきたいです。

あと、アレルギー性の問題が、説明が非常にわかりにくいところがあるので、何点か修正していただきたい点があるのですけれども、具体的に専門の先生から御指摘いただきたいと思います。

〇〇〇 19ページに遺伝子産物についてのアレルギー誘発性に関する知見というものがあるのですが、ここで相同性の検索で完全に同一の連続するアミノ酸残基の検索が解析1になってしまっていて、解析2が連続した80アミノ酸残基の同一性の検索ということなのですが、解析1の結果が読み取りにくいので、例えば21ページの表2に、これはラクダとウシで連続した80アミノ酸残基が一致したタンパク質というものが6個挙げられているわけですが、この中で1番と2番はさらに8残基の一致したアミノ酸も見つかっています。その旨をこの表に、Pepsin Aが9つでendopeptidaseが3つ、8残基合致したのもありますということを書いて、その8残基というものが先ほどより追記をお願いしています、ラクダとウシキモシンのアミノ酸の一次配列の中でどこに位置するのか。そういったことを示していただけませんか。

〇〇〇 済みません、再度お伺いいたしますけれども、19ページの解析1に8残基のことを。

〇〇〇 書かれているのですが、このうちPepsin Aに9つ、endopeptidaseに3つ一致する8アミノ酸残基が検出されたとありまして、その旨をp21の表にも入れていただければと思います。また、endopeptidaseはアレルゲンとしても報告されていますので、そのendopeptidaseと一致した8個のアミノ酸残基というものがラクダのキモシンではどの位置に相当するかというものを、一次配列の図の中に入れていただければ。

〇〇〇 ラクダはウシキモシンにも8残基の全く同じものは認められません。

〇〇〇 いや、これは恐らく8残基が一致している部分というのはラクダとウシで共通な部分。

〇〇〇 ここを具体的に。

〇〇〇 そうしますとウシとラクダで共通の配列のところがendopeptidaseと一致している。そういう形で図の中に入れていただければ。

以上です。

〇〇〇 具体的にはもう一度紙で、誤解がないような形で書類を出したいと思いますので、それも御確認ください。

〇〇〇 済みません、よろしくお願ひします。

〇〇〇 あと、このタンパクを発現というかつくるときにN端側だと思うのですが、融合タンパクとしてまずつくりますね。その融合タンパクの形というかアミノ酸配列とか、情報がほとんど書いてありませんので、それを追加していただきたいというのがあります。

〇〇〇 融合タンパクの全配列ということですか。アミノ酸の。

〇〇〇 それから、後でpHを下げて切れますけれども、100%切れるのかとか、そこら辺のもう少し詳しい説明をいただきたいと思います。

〇〇〇 具体的には、黒麹菌のグルコアミラーゼとキャメルキモシンをつなげてつくっていますけれども、どの部分までがグルコアミラーゼで、どこからキモシンなのかの情報がない。資料7に塩基配列がありますが、塩基配列ではなくアミノ酸配列、しかもどこからどこまでかという情報がないと、これだけではわかりようがありません。

それから、pH●●●でこれが分離して活性型のキモシンになるという説明がありますが、なぜ分離するのか、その原理、効率、切断された後、余計なアミノ酸などが残らずにきちんとラクダのキモシンになっているかどうかの確認、このデータをいただきたいと考えております。よろしいですか。

〇〇〇 もう一点ありますけれども、バクテリアのゲノムに供与核酸といいますか、目的の遺伝子を導入しているわけですが、そのコピー数が2コピー以上と書いてありまして、もう少し具体的な何コピーぐらい入っているかという情報がありませんので、多分これは塩基配列を決めるのは非常に難しいと思いますので、それは非常に多いと無理かなと思うのですけれども、少なくとも大体のコピー数ぐらいはわかるのではないかと思います。そこら辺の情報をもう少し追加していただければと思います。

ほか追加で。

〇〇〇 お聞きしたいのですが、18ページの真ん中より少し上に「キモシンは元々」と書いてあるのですが、これはラクダキモシンなのかウシキモシンなのか、よくわからないのですが、これは消化性のことについて書かれているのですが、ラクダキモシンでは胃液、腸液の消化性はやられていないということによろしいのですか。

〇〇〇 済みません、ただキモシンと書いた部分は全部ウシキモシンと書くべきです。ここを修正いたしますか。

〇〇〇 そうですね。

〇〇〇 ウシとラクダと、厚生労働省さんの添加物の中に入っている言葉だけはキモシンという名前が残すということで、その辺は訂正させていただきます。

〇〇〇 もう一点よろしいですか。19ページの上から2行目のところがわからなかったのですが、「チーズの製造では精製されたラクダキモシンの使用例はなく、粗製ラクダレンネットの使用においてアレルギー誘発性が問題になった」という書きぶりなのですが、これというのは粗製のラクダのレンネットでチーズはつくられて売られて人は食べているということなのか。でもそれだったらラクダキモシンの使用例はなくということがよくわからなくて、ここだけにラクダレンネットの使用についての記載があるだけなので、食経験も含めて前のほうにきちんとこのようになっていますと記載していただけますか。

〇〇〇 ここで言いたかったことは、精製されたキモシンは全然こういう食品に使われたことはないのです。研究としてはやっぴらっしゃる方が、これも文献が出てきませんからほとんどいないと思います。

粗製のラクダレンネットというのは、塩水で第4胃からキモシンを抽出したものを使ってチーズをつくったりして、モンゴルとか西アフリカでは食べています。その辺のところを前段に持ってくる。

〇〇〇 そうですね。要はウシのキモシンのときにも、もともとはウシから取ったものでつくってましたね。それで組換えでつくりましたという食経験の流れだったと思いますけれども、ラクダの場合においてもそうであるのかどうかということを経験の上から記

載していただくと、すごくわかりやすくなると思います。

〇〇〇 大体お聞きしたいことは以上なのですけれども、ほかに追加で先生方から御意見は。

〇〇〇 文章でも差し上げますが、*A. niger* var. *awamori*とありますが、2013年に菌株の名称の整理が行われまして、*awamori*という名前は消滅しております。当時の*A. niger*と*A. awamori*は別種の菌株であることになっておりますので、現在の言い方*A. luchuensis*に訂正していただきたい。

それから、この中でCBS 108914株を使用したとありますが、それが現在でもその名前かどうか御確認いただきたいです。

〇〇〇 後者は確認してみます。

前段は変わった菌種名に変更いたします。どうもありがとうございます。全然私どもそういう文献を見なかったものですから。

〇〇〇 以上で終わりたいと思います。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。

ただいまの回答をいただきましたけれども、御意見、コメントで追加がありましたらお願いします。余り有意義な御説明はいただけませんでした。

〇〇〇 ウシと同じように使っていたのですね。モンゴルでも西アフリカでも使っていることがわかったということは、食経験があるのだから何と比べればいいかがわかるので、それはすごい成果だと思います。

〇〇〇 それでは、先生方からいただきました意見、確認事項を一応、指摘事項案として取りまとめまして、先生方に確認いただいた上で厚生労働省を通じて申請者に対して指摘を出したいと思います。

それでは、議題1については終わりたいと思います。

議題2のその他で事務局から何かありますでしょうか。

〇〇〇 特にございませぬ。

〇〇〇 ありがとうございます。

本日の議題はこれで終了ということで、第158回「遺伝子組み換え食品等専門調査会」を閉会いたします。