

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第162回) 議事録

1. 日時 平成29年7月26日(水) 9:29～11:54

2. 場所 食品安全委員会中会議室(赤坂パークビル22階)

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

- ・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)
- ・CPR株を利用して生産されたL-シトルリン

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、小関専門委員、児玉専門委員、近藤専門委員

柘植専門委員、手島専門委員、中島専門委員、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)

小平事務局次長、吉田評価第一課長、吉岡評価第二課長

池田評価情報分析官、井上課長補佐、内海評価専門官

山口係長、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)
- ②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)
- ③CPR株を利用して生産されたL-シトルリン

6. 議事内容

○澤田座長 それでは、定刻になりましたので、ただいまから第162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、所用により岡田専門委員、橘田専門委員は御欠席とのことです。

本日の議題であります。継続の品目であります「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）」、新規の品目であります「CPR株を利用して生産されたL-シトルリン」の安全性についての審議です。

それでは、お手元の資料の確認をいたします。事務局からお願いします。

○井上課長補佐 資料の確認を行います前に、事務局の人事異動がございましたので、御報告させていただきます。

まず、7月10日付、東條次長の後任として、小平次長が着任しております。

○小平事務局次長 おはようございます。よろしく申し上げます。

○井上課長補佐 また、同日付で、鋤柄評価第二課長の後任として、吉岡評価第二課長が着任しております。

○吉岡評価第二課長 よろしくお願ひいたします。

○井上課長補佐 また、7月11日付で、関野評価第一課長の後任として、吉田評価第一課長が着任しております。

○吉田評価第一課長 よろしくお願ひいたします。

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

配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿。

資料として、食品健康影響評価に関する資料。

机上配布資料として、高度精製添加物の安全性評価の考え方、L-シトルリンに関する厚生労働省からの諮問文、そして、L-シトルリンの申請書となっております。

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。

○澤田座長 それでは、事務局から「食品安全委員会における調査審議方法等について」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。

○井上課長補佐 本日の議事に関する専門委員の調査審議等への参加に関する事項について御報告いたします。

本日の議事に関しましては、専門委員の先生方からいただ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。

○澤田座長 既に御提出を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

ございませんでしょうか。

(「はい」と声あり)

○澤田座長 それでは、まず継続の品目であります「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」のうち、食品について審議を行いたいと思います。本品目は平成29年1月の専門調査会において審議を行い、指摘事項を出したものです。事務局から御説明をお願いします。

○山口係長 それでは、申請者から提出されております回答書について御説明いたします。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系統食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会からの指摘事項に対する回答書等」と記載されております紙ファイルをお手元をお願いいたします。

本申請品目の指摘事項は3つ出されております。まず、灰色のインデックスで「回答書」と書かれております1ページをお願いいたします。指摘事項1としまして(1)「挿入遺伝子の機能に関する事項」において、トウモロコシの内在性の*HD-Zip II*遺伝子はどのような挙動を示すのか説明すること。

また、(2)「内在性*HD-Zip II*遺伝子配列のプロモーター領域に、ネガティブ・フィードバックが作用しうる配列があるか」。さらに、その遺伝子が制御する形質について追記するといった内容でございます。

回答としまして、ATHB17Δ113タンパク質が、*HD-Zip II*遺伝子の発現量に与える影響の大きさを調べる目的で、18種の遺伝子について発現量の変化を確認しております。解析の結果、全ての*HD-Zip II*遺伝子に有意な発現の変化は認められず、したがって、このことはネガティブ・フィードバック機構によって遺伝子の発現が抑えられるという仮説を支持するとしております。これらのことは、3~4ページの表5・6として追記されております。

次に、(2)についてでございますが、*HD-Zip II*遺伝子プロモーター領域に、*HD-Zip II*タンパク質が結合するコンセンサス配列が存在するか否かについては、こちらも3ページ及び4ページの表5及び6の一番右の列にその有無を記載しております。

続きまして、*HD-Zip II*遺伝子の機能に関する知見としまして、こちらは2ページをお願いいたします。シロイヌナズナでは、4つの生理学上の機能の報告がなされておりますが、今回のMON87403系統、または組換えトウモロコシ系統では、避陰反応、光合成、乾燥ストレス耐性及び塩ストレス耐性については、対照のトウモロコシとして大きな変化がないことが確認されております。また、生殖生長の制御については、絹糸抽出期における雌穂重の増大と一致するとしております。

続きまして、回答書の8ページをお願いいたします。指摘事項2でございますが、T-DNAのプロモーター領域で冗長度が下がっている箇所の原因を考察すること。また、本NGS解析において、Illumina以外の原理で解析している結果があれば追記することといった内容でございます。

回答として、T-DNAのプロモーター領域のGC含量を確認した結果、該当する領域のGC

含量が比較的高かったことが、冗長度を低下させた原因であると考察しております。

また、本NGS解析において、Illumina以外の原理で解析している結果はない旨も記載しております。

最後に、回答書の9ページをお願いいたします。指摘事項3は、代謝経路への影響についてでございますが、(1)として、発現レベルの違いが認められた9つの遺伝子について、その詳細を追記する。さらに(2)として、9つの遺伝子について、毒性タンパク質及びアレルギーのデータベースとのホモロジー検索を行い、結果を追記するといった内容でございます。

まず(1)についてでございますが、9種の遺伝子のうち5種については、機能に関する文献情報が得られたため、それについては回答書の13ページに表7というものがございます。これの一番右の列に「推定された機能」としてまとめられております。

続きまして、(2)についてでございますが、アレルギーデータベースを用いた相同検索の結果、連続する8アミノ酸との相同性検索において、1つの遺伝子がデータベースに登録されている配列と相同性を示しましたが、組換え系統で発現が減少している遺伝子であることから、アレルギー性を高めるものではないと判断しております。

さらに、毒性タンパク質との相同性検索では、2つの遺伝子が登録されているタンパク質と相同性を示す結果となりました。そのうち、1つの遺伝子については、組換え系統で発現が減少していることから、毒性を高めるものではないと判断しております。

一方、もう一つの遺伝子については、組換え系統で発現が増加しておりますが、相同性を示したアジア綿由来のタンパク質と、毒性タンパク質である地中海クロゲグモとの部分的相同性を示す領域が、非毒性タンパク質にも広く見られることなどを理由として、毒性タンパク質をコードするとは考えにくいと判断しております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、指摘事項に対する回答書につきまして、先生方の御意見をいただきたいと思っております。

まず、順番に行きまして、指摘事項の1で、トウモロコシの*HD-Zip II*遺伝子が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いった内容に関しまして「(1) ATHB17Δ113タンパク質の発現により、トウモロコシ内在性の全ての種類の*HD-Zip II*遺伝子がどのような挙動を示すのか、持ち合わせている情報を追記し、考察を行うこと」ということで、これは児玉先生と飯先生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。

○児玉専門委員 転写因子ということで、フィードバックもかかるということですので、その可能性のある転写因子について調べていただきたいということで出しましたけれども、一応調べていただいて、大きく変動するものはないという回答でしたので、これでよろしいかと思っております。

○澤田座長 飯先生、いかがでしょうか。

○飯専門委員 私もこれで結構だと思います。

○澤田座長 その(2)で、今度はプロモーター領域に作用する配列があるかどうかという情報なのですが、これも児玉先生と飯先生、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 そのフィードバックとも関係するのですが、実際に結合するサイトがあるかどうかを確認してくださいということで、サイトはあるのですが、非常に穏やかな作用のせいか、結果としては大きな変動をもたらさないということですので、これでよろしいかと思います。

○澤田座長 飯先生、よろしいですか。

○飯専門委員 一応、できる限りで情報収集をしてくださっていますので、これでよろしいかと思います。

○澤田座長 それでは、次の指摘事項の2で、これは要旨の37ページの冗長度に関する問題で、プロモーターの領域で冗長度が22まで下がっていて、ちょっと低いのではないかと、この原因等を説明してくださいということなのですが、これも児玉先生、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 冗長で100ぐらい読んでいるところで22とかなり下がったので、一応、その原因をお聞きしたわけですが、GC含量が高いところに急に上がっているということですので、あと22と、一応読んで冗長度がありますので、この結果でよろしいかと思えます。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、次の指摘事項の3で、これは発現レベルの違いが認められた遺伝子が9個あったという内容がありまして、まず最初は「9個の遺伝子の詳細を要旨に追記すること」。これも同時にやったほうがよろしいですね。それから「9個の遺伝子について、毒性タンパク質及びアレルゲンのデータベースとのホモロジー検索を行い、その結果を追記すること」。これも児玉先生と小関先生が御指摘いただいております。

○児玉専門委員 9個動いているということで、一応、今後のかけ合わせとか、そういったことの懸念も考える上で、その9個についてきちんと情報を載せたほうがよろしいだろうということで出した指摘ですが、回答は十分されているかと思えます。また、毒性タンパク質との相同性が一部出ていますが、アンキリンリピートの部分です。アンキリンリピートは非常に広範囲のタンパク質に認められるドメインですので、この回答で私としてはよろしいかと思っております。

○澤田座長 小関先生、何か追加でよろしいでしょうか。

○小関専門委員 私もこれでよろしいと思えます。

○澤田座長 では、どうもありがとうございました。

特に大きな指摘がないということで、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すので、続きまして、評価書案の審議に入りたいと思えます。

事務局から御説明をお願いします。

○山口係長 それでは、評価書案について御説明いたします。

「食品健康影響評価に関する資料」として、評価書案を束ねておりますが、その1ページからが今回の本申請品目の食品の評価書案になります。

まず、6ページをお願いいたします。「I.」としまして、本申請品目の概要ですが、シロイヌナズナ由来の*ATHB17*遺伝子を導入し、当該遺伝子がスプライシングを経て、*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。まず、第1の(1)(2)については記載のとおりです。

(3)としまして、挿入DNAの性質等についてですが、*ATHB17*遺伝子が転写後にスプライシングを受けることで発現する*ATHB17Δ113*タンパク質が絹糸抽出期における雌穂のバイオマス含量を高めるとされ、当該遺伝子は、アグロバクテリウム法により導入されております。次に続きます「2.」～「5.」については、記載のとおりでございます。

続いて、7ページでございます。「6.」の相違点に関する項目ですが、挿入遺伝子の発現により、*ATHB17Δ113*タンパク質を発現することが宿主との相違点であり、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は可能であるとしております。

「第2.」の利用方法及び次のページに行きまして、「第3.」の「1.」及び「2.」につきましては記載のとおりです。

「3.」の有害生理活性物質についてですが、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.」のアレルギー誘発性についてですが、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りますが、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を記載しております。

「5.」の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.」につきましては記載のとおりでございます。

続いて、9ページをお願いします。「第4. ベクターに関する事項」については、記載のとおりでございます。

「第5.」の挿入DNA等に関する事項をお願いいたします。

「1.」の(1)由来等に関する事項ですが、*ATHB17*遺伝子はシロイヌナズナに由来します。

「(2)安全性に関する事項」でございますが、シロイヌナズナはヒトによる摂食の報告はないものの、近縁種については摂食経験があり、また、シロイヌナズナ自身にアレルギー誘発性や毒性を持つという報告はない旨を記載しております。

続いて、10ページでございます。遺伝子産物等に関する事項でございますが、(1)及び(2)については記載のとおりです。

(3)の挿入遺伝子の機能についてでございます。シロイヌナズナ由来の*ATHB17*遺伝子を導入することで発現するタンパク質により、バイオマスの含量が増大するというものでございます。この導入した*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、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が、トウモロコシにおきましても、*HD-Zip II*遺伝子は転写リプレッサーであることが報告されております。

この*HD-Zip II*タンパク質の機能ですが、シロイヌナズナの遺伝子は、生殖生長における子実の発達に関与しているとの報告があり、また、トウモロコシの*HD-Zip II*遺伝子は、生殖生長組織において発現が高いとの報告がございます。

本トウモロコシにおいては、単子葉植物に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います。

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変化は生じておらず、そこから考察しますと、*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考えられる旨を記載しております。

また、トウモロコシ内在性の*HD-Zip II*遺伝子の発現量にも、対照のトウモロコシと比較して変化が認められなかったとしております。

この理由としましては、*HD-Zip II*タンパク質によるネガティブ・フィードバック機構が働き、結果として*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くなっていると考察しております。

285行目からでございますけれども、対照トウモロコシと比較しまして、*ATHB17*遺伝子発現カセットを有するトウモロコシ2種類の系統に共通して有意な変化が認められた9種の遺伝子について、機能の推定を行った旨を記載しております。これら9種の遺伝子がコードするタンパク質について、既知のアレルゲン及び毒性タンパク質との相同性検索を行っており、当該タンパク質については、連続する8アミノ酸との相同性検索において、相同性を示す配列がありましたが、発現が減少していることから、アレルギー誘発性を高めるものではない旨を記載しております。

また、既知の毒性タンパク質との相同性検索では、9種のうち2種に相同性が認められましたが、1種については発現が減少していたこと、残りの1種については、発現するタンパク質と毒性タンパク質との間に構造的類似性のある配列を有していない等の理由から、毒性を有していないと考えられる旨を記載しております。

「(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、記載のとおりでござ

います。

12ページの322行目からでございますが、第5の「3. 」としまして、遺伝子の発現に関する事項を記載しております。(1) (2) については記載のとおりでございます。

「(3) その他」の配列についてでございますが、*ATHB17*遺伝子発現カセットには、その発現を高めるための遺伝子配列が付与されております。

「4. 」の「挿入DNAの組込方法」及び「5. 」の「発現ベクターに関する事項」の(1)については、記載のとおりでございます。

350行目以降、「5. 」の(2)としまして、目的外ORF(オープンリーディングフレーム)の有無についてでございますが、目的外のORFについては含まれていないこと。

さらに(4)で、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記載しております。

14ページの「6. 」の導入方法でございます。目的のカセットをアグロバクテリウム法により導入後、グリホサート耐性をマーカーに用いて選抜した再生個体を得て、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成プロセスに従い、本系統を得たと記載しております。

続いて「第6. 組換え体に関する事項」でございます。

「1. 」の(1)についてですが、次世代シーケンス技術及びバイオインフォマティクスにより、目的の遺伝子は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側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、挿入DNAの近傍配列の由来を確認したところ、宿主ゲノムに149 bpの欠失があったことを除き、近傍配列については宿主ゲノム由来であった旨を記載しております。

また、遺伝子の挿入による内在性遺伝子の欠損の有無ですが、データベースを用いた検索の結果、その可能性は低いとしております。

続いて、16ページの(2)のORFの有無と転写発現の可能性についてでございますが、5'及び3'末端近傍配列の接合部において、ORFが10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について、問題となる結果は見つからなかった旨を記載しております。

続く17ページの「2. 」の発現量に関する事項、「3. 」の「一日蛋白摂取量」については記載のとおりでございます。

続いて、18ページの「4. 遺伝子産物(タンパク質)のアレルギー誘発性に関する事項」についてでございますが、(1)及び(2)については記載のとおりでございます。

(3)の物理化学的処理に対する感受性でございますが、①の人工胃液については、SDS-PAGE分析では2分、ウエスタンブロット分析では0.5分以内に消化されることを確認したと記載しております。

②の人工腸液に関しては、ウエスタンブロット分析の結果、5分以内に消化されることを確認した旨を記載しております。

③の加熱処理については、ELISA分析の結果、95度で15分あるいは30分の両条件においても、免疫反応性の減少はわずかであり、加熱処理に対しては安定と考えられる旨を記載しております。

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旨を記載しております。

続いて、19ページの「5.」の遺伝子の安定性については、記載のとおりでございます。

「6.」の代謝経路への影響についてでございますが、発現するATHB17Δ113タンパク質は、トウモロコシ内在性のHD-Zip II タンパク質に影響を与える可能性が考えられました。が、RNAシーケンスによる発現比較解析の結果、トウモロコシ内在性遺伝子について発現量の変化が認められた9種のうち、5種については機能が推定されましたが、代謝経路への影響を示唆するものではございませんでした。また、構成成分の分析結果についても、非組換え体と比較しまして、統計学的有意差は認められなかったことから、その影響は小さいと考えられる旨を記載しております。

「7. 宿主との差異に関する事項」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かったと記載しております。

20ページの下にあります、「8.」の諸外国における認可の状況、続く「9. 栽培方法」、「10.」の趣旨の管理方法等については、記載のとおりでございます。

第7として、以上の第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。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、評価書案について御意見、コメントをいただきたいと思いますが、細かい字句の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思います。一応、14ページの378行の第5のところまでで、何かコメント、御意見がありましたらお願いしたいと思います。どうぞ。

○樋口専門委員 字句でもないのですが、用語でお伺いしたいのですけれども、11ページの290行のところで「仮想タンパク質等」と書いてあるのですが、これは恐らくハイポセティカルプロテインの訳かなと思うのですが、一般に「仮想」と訳されるのでしょうか。意味からして、日本語の仮想には多分、合わないと思うのですけれども、もし通例このように「仮想」と訳すことになっているというのであれば、それは仕方ないかと思いますが。

○井上課長補佐 その部分につきましては、事務局のほうで直訳という形で今回は表記しました。もしほかに適切な用語などがありましたら。

○樋口専門委員 これは意味としては、塩基配列からアミノ酸に翻訳すると、多分、こういうタンパク質ができてくるのだけれども、それが生物中で本当にそのようなアミノ酸配列のペプチドタンパク質として存在しているかどうかは、誰も確かめていないという意味だと思うのです。存在し得るかもしれないので、「仮想」ではなくて「推定タンパク質」

というのが日本的には一番合うのではないかと思います。

○井上課長補佐 では、そのように修正したいと思います。

○澤田座長 または「タンパク質と推定される」でもいいですね。

○樋口専門委員 そうですね。

○井上課長補佐 わかりました。ありがとうございます。

○澤田座長 ほかは。どうぞ。

○飯専門委員 同じページの255行目、一番上の文章なのですが、ここはトウモロコシのメッセンジャーRNA解析結果について書かれていると思いますが、メッセンジャーRNAができるのはスプライシングが起こった後なので、この文章は変えたほうが良いと思います。これだと、シロイヌナズナのメッセンジャーRNAの配列の中には存在しているかもしれませんが、トウモロコシのほうでは抜けた後になるのです。

○井上課長補佐 今、飯先生がおっしゃられている箇所については、一度、事務局で修正したいと思います。またそれでもって御相談させてください。

○飯専門委員 改めて読むと、申請書のほうも正確さを欠いているかと思えます。厳密さについての、細かいところなので後でコメントをしようと思えます。

○井上課長補佐 では、申請書とそれに伴う評価書の該当する部分につきましては、事務局のほうで再度確認しまして、御相談をさせていただきます。

○澤田座長 これは、RNAのコード領域ですか。何と直したらいいですか。

○飯専門委員 単子葉植物特有のスプライシングを受けた結果としてメッセンジャーRNAではこうなっているという表現にしておけばいいと思います。このままだと、抜け落ちた後に、それがメッセンジャーRNAには残っているような文章になってしまっているということです。

○澤田座長 それでは後で御確認ください。

ほかはよろしいでしょうか。

それでは、後半の部分でコメント、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、記載整理的な御指摘がありましたけれども、いただいた修正につきましては、事務局のほうで修正して、先生に確認していただきまして、その後で食品安全委員会に報告しまして、パブリックコメント等の手続に入りたいと思えます。ありがとうございます。

引き続きまして、飼料のほうに移りたいと思えます。事務局から御説明をお願いします。

○山口係長 それでは、申請者から提出されております申請資料について御説明いたします。

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』に関する遺伝子組換え飼料について」と記載されておりますファイルをお願いいたします。

まず、1ページをお願いいたします。本申請品目の概要ですが、「1) 品目名」は食品と

同様でございます。

「2) 本系統の特徴」についてでございますが、シロイヌナズナ由来の*ATHB17*遺伝子を導入することで、トウモロコシの植物体内で*ATHB17Δ113*タンパク質が発現し、その結果、絹糸抽出期における高雌穂バイオマス含量が増大することが、本系統の特徴となります。

続きまして、2ページの「3) 本系統の使用方法」については、従来のトウモロコシと変わりはないとのことでございます。

「2. 」の飼料としての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に基づき、3つの要件について考慮しましたところ、「安全性上の新たな問題は生じないと考えられる」とあり、以上のことから、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」と記載してございます。

なお、3ページ目の中ほどには、今回の導入遺伝子により影響を受けるのは、トウモロコシ内在性の*HD-Zip II*タンパク質が関与する遺伝子群であり、当該タンパク質の発現に伴って、新たな代謝系が生じることは考えがたい旨、申請者のほうでは考察を行っております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、申請者につきまして、先生方から御意見をいただきたいと思いますが、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。よろしいですか。

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。

○山口係長 それでは、評価書案について御説明いたします。

評価書案を束ねた冊子の25ページ目以降が、本申請品目のうち、飼料の評価書案になります。

28ページをお願いいたします。「I. 」につきましては、先ほど御説明した食品の内容と重複しておりますので、割愛させていただきます。

「II. 」についてでございますが、「1. 」としまして「動物の飼養試験において、挿入された遺伝子又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』（平成16年1月29日食品安全委員会決定）に準じて評価を行う必要はなく、当該飼料を摂取した家畜に由来する畜産物について、安全性上の問題はないと判断した」としております。

説明は以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

ただいまの評価書案について、御意見、コメントをいただきたいと思いますが、細かい字句の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思ます。これも短いので、一括でコメント、御意見がありましたらお願いしたいと思ます。よろしいですか。

特に修正がないようですので、これで食品安全委員会に御報告したいと思ます。ありがとうございました。

それでは、新規の品目であります「CPR株を利用して生産されたL-シトルリン」についての審議を行いたいと思ます。これが本日の重要案件でありまして、事務局から御説明をお願いします。

○内海評価専門官 申請書の御説明に入ります前に、本品目の経緯について御説明をさせていただきます。

お手元の束ねた資料の一番最後につけております机上配付資料を御参照願います。現在、「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」のものについては、この机上配付資料の1ページ目にあります、高度精製添加物の附則の①と②の要件、すなわち、製品の精製度と非有効成分の含有量等を確認することでその安全性を確認し、本則であります「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」による評価は必要ないものと判断しております。この評価結果を受けまして、厚生労働省では、当該添加物については、「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査の手続」に定めます、組換えDNA技術を応用した食品には該当しないものとみなしております。

今回、申請のありましたL-シトルリンについては、食品添加物ではなく食品として利用されるものです。過去、平成26年7月の第129回の当専門調査会におきまして、遺伝子組換え食品として御審議をいただいております。その際に、申請者から本品目につきましては、先ほど御説明した添加物に準じた高度精製品としての取り扱いを検討してほしいとの要望がございまして、当時、調査会での審議は継続となっております。その後、厚生労働省から、申請者の都合により、一旦当委員会への評価依頼は取り下げられております。

今般、厚生労働省から再度評価依頼がなされまして、資料の2にその概要が記載してございます。厚生労働省からの説明によりますと、「4. 備考」のところの1ポツ、2ポツになります、本品目が、

- ・ 製造過程で最終的に遺伝子組換え微生物（組換え体）が除去されていること及び非タンパク質性の食品（アミノ酸の一種）であること
- ・ 比較対象とした現行流通品と同様に、食品添加物公定書規格に準じた自主規格により管理され、添加物として指定されているアミノ酸類と同等若しくはそれ以上の高度な精製度であること

これらを根拠としまして、先ほど御説明しました、高度精製添加物に準じた取り扱いが可能ではないかということで、改めて評価を求められております。

なお、厚生労働省としましては、当委員会において、本品目が比較対象とした現行流通品と同等の安全性が確認され、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」による評価は必要ないと判断された場合は、高度精製添加物と同様に、組換えDNA技術を応用した食品には該当しないものと見なす予定であるとしています。

以上が本品目の経緯でございます。

それから、冒頭で紹介しておりますけれども、本日、申請者であります協和醗酵バイオ株式会社をお呼びしております。まず、申請書の御説明の後、御審議をいただき、申請者に対する質問事項等がございましたら、一旦整理をしていただきたいと思います。その後、説明者に入室をいただき、質疑応答を行います。

質疑応答終了後ですけれども、説明者には退出していただいて、審議を再開していただくこととしております。

続きまして、申請者から提出されている申請書の説明をさせていただきます。

お手元の「CPR株を利用して生産されたL-シトルリン」と題されましたピンク色の資料の概要部分、4ページから御説明をさせていただきます。

まず「I L-シトルリンの食品としての概要」ですが、本品はここに書いてございます「一般に食品として飲食に供されるものであって添加物として使用されるもの」、いわゆる一般飲食物添加物に該当するものです。

申請者は、表1にお示ししております、食品添加物公定書規格でアミノ酸等に定められている規格を参考にした自主規格を設定しております、本品についてもこれらに適合するよう管理しているとのことです。

5ページ目「2 L-シトルリンの用途」ですけれども、食品分野では錠剤、顆粒、飲料などに添加して栄養補助食品として用いられているとのことです。

6ページ目からが、遺伝子組換え食品に関する資料になります。この申請資料が「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」の項目に従って記載をされておりますことを補足しておきます。

まず、「1-1. 宿主及び導入DNA」ですけれども、この生産菌のCPR株の宿主は大腸菌KY8227株でございます。

DNAの供与体等ですけれども、宿主のゲノム上の4カ所で5種類の遺伝子を改変することで、これらはL-シトルリンの生合成や代謝に係るタンパク質の発現する遺伝子ですけれども、これによりL-シトルリンの生産性を高めているものでございます。

表2の中に、実際に操作した遺伝子、その供与体、それから具体的な操作の内容が記載されておりますが、詳しくは7ページの右上からになります。

まず、L-シトルリンの合成を抑制する●●●をコードする●●●遺伝子、それから、副生アミノ酸の産生を増加させる●●●をコードする●●●遺伝子を部分欠失し、また、L-シトルリンを分解する●●●をコードする●●●遺伝子を全欠失しております。

また、副生アミノ酸の生成を抑制する●●●をコードする●●●遺伝子を、先ほど御紹

介した●●●遺伝子の欠失部分に挿入することで、既存の●●●遺伝子に加えて、さらに1コピーふやすことを行っております。

それから、L-シトルリン生成にかかわる●●●をコードする●●●遺伝子のアミノ酸を置換することで、●●●ように改変しております。

これらの宿主ゲノムへの組み込みは、 λ -red相同組換え系により行っておりまして、その際に相同組換えを促進するタンパク質をコードする遺伝子を含みますプラスミドpKD46を用いております。

「1-2. 宿主の食品製造への利用経験」ですけれども、このKY8227株は食品用途等、アミノ酸の工業生産に長く使用されている菌株とされています。さらに、この派生株として、過去に当調査会において、高度精製添加物としての評価を受けておりますWSH株を利用したL-セリン、BDS株を利用したL-セリン、ECP株を利用したL-プロリン等々が挙げられております。

「1-3. 宿主の構成成分等」ですけれども、有害生理活性物質あるいは栄養阻害物質を産生する等の報告はないとされております。

「1-4. 宿主と組換え体との食品への利用方法及びその相違」は、こちらに記載のとおりでございます。

ページをめくっていただきまして、(3)の宿主の摂取量ですけれども、CPR株を用いて製造されたL-シトルリン中には、菌体由来の成分は含まれていないため、摂取されないとされております。

「1-5. 安全性評価において検討が必要とされる組換え体と宿主の相違点」ですけれども、CPR株はL-シトルリンの生産を高めるため、L-シトルリンの生合成や代謝に関与する遺伝子の欠失及び改変を行っている以外に宿主との相違点はないとされております。

続きまして、9ページの「2. 宿主」の説明ですけれども、「2-2. 病原性及び有害生理活性物質等の生産」の項です。この大腸菌KY8227株は、バイオセーフティーレベル2以上にリストされていないこと、文部科学省告示に定められております「大腸菌の腸管、尿路等における病原性を有する株」には該当しないこと、それから、このKY8227株の派生株の一つであります、KY8270株は、ATCCにおいてバイオセーフティーレベル1に分類された安全な菌株であることが示されております。

さらに補足ですけれども、机上配付資料の一番最後、この申請資料の9ページの差しかえに当たるものですが、先ほど御紹介した2-2の項の一番最後のなお書きのところですが、「KY8227株の全ゲノム配列は、安全である菌株として公開されている *E. coli* W株 (ATCC9637株) のそれと99.995%以上一致している」という情報が追加ございました。事前にお配りした資料には反映されておりましたので、ここで補足をさせていただきます。

これらの知見から、この宿主KY8227株については「有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は知られていない」としております。

続く「2-3. アレルギー誘発性」についても報告はございません。

「2-4. 寄生性及び定着性」ですけれども、先ほど御説明しましたとおり、ATCCにおいてバイオセーフティーレベル1に分類された安全な菌株でありまして「ヒトや他の生物の健康に悪影響を及ぼすとの報告はない」としております。

「2-5. 病原性の外来因子による汚染」ですけれども、このKY8227株は高度に純化されておりまして、外来因子による汚染はないと判断されております。

「2-6. 宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産」に関してですけれども、病原性及び有害生理活性物質の生産などの問題は生じていないとされております。

続いて、10ページの「3. ベクター」でございます。先ほど御紹介をしたとおり、宿主ゲノムへの遺伝子の導入は、 λ -red相同組換え系によって行われております。その際に、ヘルパープラスミドとしてpKD46を用いておりますが、最終的には37°Cの培養において、複製されずに脱落しているということで、ここでは詳細な性質の記載等は省略されております。

続きまして、12ページの「4. 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクター又は導入用ベクターの構築」になります。

「4-1. 挿入DNAの供与体」でございますけれども、●●●遺伝子の供与体は宿主と同じKY8227株でございます。

●●●、●●●及び●●●の遺伝子の供与体は大腸菌W3110株でございます。これは厚生労働省のGILSP自動化リストの「『大腸菌K12株及びその系統株』に該当する安全性の高い株」とされております。

「4-2. 挿入DNA又は遺伝子及びその遺伝子産物の性質」についてでございます。

●●●遺伝子の改変に用いた遺伝子断片は、KY8227株のゲノムDNAを鋳型に、また、●●●、●●●及び●●●遺伝子の改変に用いた遺伝子断片は、W3110株のゲノムDNAを鋳型に、それぞれPCR法で増幅した後に単離しております。

「(2) 塩基数及び塩基配列」につきましては記載のとおりでございます。

続いて、13ページに移っていただきまして、「(3) 挿入遺伝子の機能」についてでございます。図2に「L-シトルリンの生合成及び代謝の概略」のマップが示されておりました。黄色で網かけをされた5つのタンパク質をコードする遺伝子が今回の改変の対象となっております。それぞれの遺伝子の機能については、先ほど御説明したとおりですけれども、具体的な改変の内容につきましては、13ページの下の部分から御説明をさせていただきます。

まず、●●●をコードします●●●遺伝子ですけれども、ページをおめくりいただいて、結果的に1塩基置換を生じておりますけれども、アミノ酸配列としては同一であるとされております。

それから、●●●遺伝子は●●●をコードする遺伝子ですけれども、こちらに関しましては、1塩基置換が生じておりますが、アミノ酸配列には変化はなく、酵素機能も失われ

ているため、本質的な影響はないとされております。

(iii) ですが、●●●をコードする●●●遺伝子ですが、こちらは塩基配列を全て欠失させております。それから、ここの部分に挿入されております●●●をコードする●●●遺伝子ですが、中ほどですが、●●●、結果的に●●●のアミノ酸置換が生じております。ただし、これらはいずれも保存性の高くないアミノ酸残基であることから、酵素活性には重要ではないと考えられえとしております。

15ページですが、●●●をコードする●●●遺伝子に関しましては、1塩基置換が生じて、その結果として●●●となっております。1アミノ酸の置換を生じておりますけれども、当該酵素としての基本的な機能は同一であるとしております。

続きまして「4-3. 挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカー遺伝子の発現に関わる領域」ですが、(1) プロモーター」「(2) ターミネーター」に関しましては、もともと挿入した●●●遺伝子に関しては、宿主の●●●遺伝子のプロモーター及びターミネーターによって制御され、それぞれの領域に変化は生じていないとしております。

「4-4. ベクターへの挿入DNAの組込方法」に関してですが、先ほど御紹介しました相同組換えを行うに当たりまして、直鎖状のDNA断片を10種類作成しております。具体的には次のページになりますけれども、図3と17ページの表3に記載がございます。この説明が18ページの「4-4. DNAの宿主への導入方法」のところがございますけれども、ざっと申し上げますと、5種類の遺伝子断片を導入するに当たり、まず一次組換えにより、大腸菌由来のクロラムフェニコール耐性遺伝子と、枯草菌由来のレバンスクラゼ遺伝子を連結した配列を導入しまして、二次組換えにより、これらの選択マーカーのカセットを除去する方法をとっております。

最終的には、37°Cで培養することによって、ヘルパープラスミドのpKD46を除去しまして、最終ステップで単一コロニーを分離して菌株を純化しております。

続きまして、19ページの下段「5. 組換え体」の項になります。「(1) コピー数及び挿入近傍配列」についてですが、CPR株に導入されました遺伝子の塩基配列、構造及びコピー数は、操作した遺伝子とその近傍領域の塩基配列を解析することにより確認がされております。その結果として、めくっていただきまして「意図しない重複や欠失はなかった」と判断されております。

20ページ下段の「(2) オープンリーディングフレーム (ORF) の有無ならびにその転写及び発現の可能性」ですが、CPR株の作成で操作した遺伝子の近傍の上流ならびに下流500 bpの塩基配列を宿主KY8227株中の相同の配列部分と比較しております。その結果、●●●遺伝子欠失の近傍に1つ、●●●遺伝子欠失の近傍に1つ、●●●遺伝子の近傍に2つ、新たなORFが同定されております。ただし、いずれも既知の有害タンパク質、有害遺伝子とのアミノ酸配列との相同性を示す検索結果は得られなかったとされております。

続きまして、21ページですが、5-3. 遺伝子産物が一日タンパク質摂取量の有

意な量を占めるか否か」についてです。CPR株を利用して生産されたL-シトルリン中にタンパク質が含まれないことを、ドットプロット法により分析しております。その結果ですけれども、非有効成分であるタンパク質はいずれも1 ppm未満ということで、検出されないことが確認されております。

めくっていただきまして、22ページの「5-4. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性」ですけれども、CPR株の作製過程で使用した抗生物質耐性マーカー遺伝子、クロラムフェニコール耐性遺伝子及びpKD46プラスミドのアンピシリン耐性遺伝子が、最終的には除去されていることは、これらの抗生物質による感受性により確認がされております。

「5-5. 遺伝子産物のアレルギー誘発性」に関してですけれども、L-シトルリン中にはタンパク質成分が含まれていないということで「アレルギー誘発性は報告されていない」とされております。

「5-6. 組換え体に導入された遺伝子の安定性」ということで、CPR株を4回継代培養した後の遺伝子の安定性をPCR産物の増幅パターンで確認しております。また、L-シトルリンの生産性を指標にした遺伝子発現量の継代培養による影響もあわせて確認がされております。

その結果ですけれども、1) のところですが「4回の継代培養の過程でPCR産物のパターンにも変化は生じていなかった」こと。「2) 培地中に蓄積されたL-シトルリンの濃度は継代の影響を受けていなかった」ということで「CPR株に導入された遺伝子の構造と導入部位、導入された形質は、継代培養を重ねても変化せず安定である」と判断されております。

23ページの「5-7. 遺伝子産物の代謝経路への影響」です。

CPR株では●●●遺伝子、●●●遺伝子及び●●●遺伝子を欠失しております。さらに、「挿入した●●●遺伝子や置換された●●●遺伝子、それらをコードするタンパク質は、宿主KY8227株が持つ●●●遺伝子や●●●遺伝子がコードするタンパク質と基本的な機能は変わらない。したがって、菌の代謝へ直接的に及ぶ影響の範囲としては、L-シトルリン産生増強と副生物の減少のみに限定される。」とされております。

「5-8. 宿主との差異」ですけれども、CPR株と宿主KY8227株との差異は「L-シトルリンの生合成や代謝に係る酵素タンパク質の活性を消失及び増強するよう、遺伝子を改変したことである。」とされています。

「5-9. 組換え体の不活化」ですけれども、生産菌の不活化は行われておりませんが、精密ろ過工程で生産菌は除去されておまして、生産菌を含めた大腸菌が検出されていないことを、後に御説明します試験によって、ロット毎に確認がされております。

ページをおめぐりいただいて、24ページからが「Ⅲ. 遺伝子組換え食品（微生物）に関する安全性評価」となっておりまして、これも評価基準の項目に従った記載となっております。若干、違和感のある部分はあるかもしれませんが、この項目に従って御説明をさせていただきます。

まず「1. 生きた組換え体を含まない遺伝子組換え食品（微生物）として扱う根拠」ということで、「1-1. 最終製品に生きた組換え体が含まれないことの確認に関する事項」です。先ほど御紹介しましたとおり、L-シトルリンの製造工程におきまして「精密ろ過」で生菌体は除去されております。ここで、念のためですけれども、大腸菌の増殖に適したTSB培地（Trypticase Soy Broth培地）にCPR株を利用して生産されたL-シトルリンを接種しまして、インドール試験によって、生菌体が含まれないことを確認しております。

続きまして、25ページですけれども、「2. 遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価において、比較対象となる従来の食品（従来食品）」ということで、「2-1. 従来食品の利用の歴史または産業上の製造経験」ですけれども、L-シトルリンは生体内でオルニチンサイクルを構成し、L-アルギニンやL-オルニチンと比較して、苦味が低い特性を有するアミノ酸です。錠剤、顆粒、あるいは飲料などに添加した形態で、既に米国、日本国内で栄養補助食品として広く用いられております。

この従来のL-シトルリンの製造方法ですけれども、*Corynebacterium glutamicum* KY9002株由来の突然変異株を用いて、右の図6にお示ししておりますようなフローに従って製造されております。

【精製工程】ですけれども、L-シトルリンを含む発酵液を●●●工程により精製を行って、L-シトルリンの粗精製品を取得します。さらに、●●●などの工程を経まして、最終的には晶析後、結晶を分離することで、高純度のL-シトルリン結晶を取得し、冒頭に御紹介しました、自主規格であります98.5%以上の最終精製品を得るとされております。

続きまして、26ページですけれども、「2-3. 従来食品中の有害生理活性物質」ですが、冒頭に御紹介しました、食品添加物公定書規格に準じた自主規格により管理が行われておりまして「有害生理活性物質は認められていない。またアレルギー誘発性を有するとの報告もない」としております。

「3. 遺伝子組換え食品（微生物）」が、今回の申請品目であります「CPR株を利用して生産されたL-シトルリン」の説明になりますが、「3-1. 製造方法」ですけれども、基本的に、先ほど御説明した従来の培養法で得られるL-シトルリンと、製造方法に本質的な違いはないとしております。

1点だけ異なるのが「申請品では、レジン処理時に発酵液の●●●することにより●●●、●●●しても、従来品と同等品質の製品が取得できる」ということで、若干フローが異なる部分があります。

最終的には、生産菌は●●●を用いた精密ろ過で除去され、かつ冒頭に御紹介した、食品添加物公定書規格に準じた自主規格により、従来品と同一の管理がされております。

「3-3. 製造に由来する成分の安全性」ですけれども、先ほど御紹介しました自主規格項目の分析のほか、アミノ酸アナライザー、それから親水性、疎水性のHPLC法2モードの3種類の分析によって不純物の確認が行われております。

実際のチャートは、添付資料の8に記載がございますので、適宜、そちらも御参照いた

だきながら御説明をさせていただきたいと思います。

まず、ページをおめくりいただきまして、29ページが「(ii) アミノ酸アナライザーによる比較」でございます。添付資料8の2～10ページに、クロマトが示されております。

従来品との比較ですけれども、*N*- δ -アセチル-L-オルニチンが従来品でも検出されておりますが、申請品のほうが若干高い量を検出されております。この点の考察につきましては、後ほど御説明を申し上げます。

それから、「(iii) HPLC法-1による比較」ですけれども、こちらは添付資料8の11～19ページにクロマトが示されております。こちらと同じく、保持時間●●●あたりに、先ほど御紹介した*N*- δ -アセチル-L-オルニチンのピークが出ておりまして、従来品よりも申請品のほうがやや高い値が検出されております。

3つ目の疎水性のHPLC法-2ですけれども、こちらは添付資料の20～27ページにクロマトがございますが、従来品、申請品ともに検出限界未満ということで、不純物は検出されておられません。

先ほど御紹介した、*N*- δ -アセチル-L-オルニチンに関する考察が、概要書の26ページの下段に記載されてございます。この*N*- δ -アセチル-L-オルニチンですけれども、右手の表6にございますとおり、大豆、納豆、インゲンマメ、ヒラタケ、ブナシメジ等の食品中に含まれる成分でございます。これらの食品を通じて、日本人が1日に摂取する量が平均で2.07mgと見積もられておりまして、今回の申請品を摂取することによる*N*- δ -アセチル-L-オルニチンの量は、これらを十分下回るということで、安全性に問題はない含量であると考察しております。

以上が、不純物に関する考察でございます。続きまして、概要書の32ページ、最後の部分ですけれども、「3-5. 諸外国における認可、食用等」の実績ですが、2012年よりCPR株を利用して生産されたL-シトルリンは、米国で製造を開始しておりまして、同国内で食品用に販売されております。

以上が、申請書の御説明になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

とりあえず、出てきました申請書の内容に関しまして質問をいただいて、書きぶりとかその後の話はまたじっくりと議論させていただきたいと思います。

まず、書いてある順番に従いまして、先生方から御意見をいただきたいと思います。これは前に一度やっているはずなのですけれども、やり直しということでもありますから、最初からやりたいと思います。

まず、申請書の6～11ページで、宿主の性質と組換え体との相違のところまででコメント、御意見はありますでしょうか。よろしいですか。

それでは、12～19ページの「4. 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクター又は導入用ベクターの構築」というところで御質問等がございましたら、お願いしたいと思います。よろしいですか。

続きまして、組換え体のところで、19～23ページまでで御質問、コメントをお願いしたいと思います。どうぞ。

○中島専門委員 23ページの「5-9. 組換え体の不活化」のところでは「精密ろ過工程●●●」と書いてありまして、実はその後の26ページの「3-1. 製造方法」のところでは「生産菌は、●●●を用いた精密ろ過で除去される」と書いてありまして、そこはどちらなのでしょうかとということです。

○澤田座長 これは後で御質問に答えていただきます。

○中島専門委員 質問させていただければと思いますので。

○内海評価専門官 事務局の確認不足でした。申請者に確認させていただきたいと思います。

○中島専門委員 聞けばわかるでしょう。

○澤田座長 先生は。

○児玉専門委員 私も同じです。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。今は23ページまでです。

続きまして、24ページから最後の32ページで御質問、コメントをお願いしたいと思います。どうぞ。

○児玉専門委員 非常にマイナーなあれですけども、29ページの表8とか、31ページの表10の「不純物保持時間」というところに時間が入っていないので、時間を入れておいていただきたいと思います。

○澤田座長 リテンションタイムですか。

○内海評価専門官 承知いたしました。

○澤田座長 ほかはよろしいですか。

1つ、私が気になったのは、従来品と申請品の製法の図6で改良しているところがあるのですが、●●●に変わっていますが、この詳細がよくわからなかったのですけれども、●●●はどこかに書いてありましたか。

○内海評価専門官 資料にはございませんので、申請者に確認をしたいと思います。

○樋口専門委員 一応、26ページに何か書いてありますね。26ページの「3-1. 製造方法」のところを見ると、●●●ということは言っていないで、●●●とも読めるのですが。

○澤田座長 一応、従来法の●●●を改良しただけということですね。

○樋口専門委員 というふうに読めます。

○澤田座長 いずれにしても、●●●の内容はどちらも書いていないので、聞いてみますけれども、ほかはいかがでしょうか。

○手島専門委員 一点だけ。細かいところなのですが、22ページの「5-5. 遺伝子産物のアレルギー誘発性」のところ、ADFSを用いて相同性検索をしたということで、5-5の参考文献4にADFSの文献が入っていないようですので、ここに入れていただきたいと思いました。

○井上課長補佐 では、今、手島先生から御指摘いただきましたこのADFSの文献については、取り寄せるようにいたします。ありがとうございました。

○澤田座長 文献が添付していないのですか。

○手島専門委員 はい。

○澤田座長 わかりました。

○井上課長補佐 申請書のほうにはございませんので、取り寄せるようにいたします。

○澤田座長 ほかはいかがでしょうか。

一応、来ていただいているので。

○井上課長補佐 はい。待機しております。

○澤田座長 まず、先に質問に答えていただいて、議論はその後にしたほうが多分、いいと思いますが。

○井上課長補佐 できればそのように進めていただくとありがたいので、よろしく願いします。

○澤田座長 では、質問に関しましては3点ほど。先ほどの●●●の話と、●●●の話と。それからもう一つ、リテンションタイムの話はいいですか。

○児玉専門委員 はい。質問ではないので。

○澤田座長 では、それだけです。非常に簡単ですけれども、それを一応、質問事項としたいと思います。

ほかに質問したいことはございますでしょうか。よろしいですか。

それでは、説明者に入室していただきたいと思えますけれども、準備等の関係がありますので、5分間休憩にしたいと思います。あの時計で57分くらいをめぐに。

(休 憩)

(説明者入室)

○澤田座長 それでは、また再開したいと思います。

まず、説明者の方から自己紹介をお願いしたいと思います。

○説明者(森下) 協和醗酵バイオから参りました森下と申します。

私は、食品安全委員会さんに申請全般をさせていただいております。

○説明者(永野) 協和醗酵バイオから参りました、永野と申します。

申請品の開発全般を担当しております。本日はよろしく願いいたします。

○澤田座長 今日は、余り大きな質問はありませんで、技術的な問題で2点ほどお伺いしたいことがあります。もし、今回、その場で回答できない場合は、持ち帰っていただいて、後日、回答していただいても構いません。

質疑応答に入りたいと思えますけれども、まず21ページと23ページの精密ろ過工程の●●●の話なのですけれども、23ページが●●●で、26ページが●●●と書いてありまして、

これは整合性がとれていないのではないかという御質問があったのですが、この点はいかがでしょうか。

〇〇〇 私のほうから回答させていただきます。

大変申しわけございませんでした。●●●が正しいです。今、会社にも確認しまして、一応●●●で菌が除けているはずであることを確認しております。

〇澤田座長 ありがとうございます。

では、それはそれでよろしいかと思えます。

2番目は、25ページの従来品と申請品の製造工程の違いがありまして、申請品は●●●ということで、●●●と理解しているのですがけれども、●●●の具体的な内容がわかりませんので、これがどういう●●●なのかを教えてくださいたいのが一つです。

〇説明者（森下） これも私のほうから回答させていただきます。

これから申し上げる箇所は、●●●、これは機密情報としてお願いしたいと思います。

●●●ということです。

〇澤田座長 ●●●。

〇説明者（森下） ●●●。

〇澤田座長 ●●●というのは●●●なのかとか、そういう具体的なイメージが。

〇説明者（森下） ●●●は現時点では確認しないとわからないですね。

〇澤田座長 恐らく●●●ですね。

〇説明者（永野） そうだと思います。

〇澤田座長 ●●●、どちらか一方はわかりますか。

〇説明者（森下） 現時点ではわかりません。

〇澤田座長 ●●●と理解していたのですが。

〇説明者（森下） ●●●ということだと思います。

〇澤田座長 そういうノウハウなのですね。

〇説明者（森下） ●●●というのは、それなりのノウハウだということです。必要であれば、機密情報として開示することはできるかもしれませんが。

〇澤田座長 ●●●、そういう性質だけは教えていただいたほうがいいかもしれません。

〇説明者（森下） わかりました。それは持ち帰りということで。

〇澤田座長 それで、ついでながら、限外ろ過を精密ろ過に変えているのですがけれども、この限外ろ過は多分、タンパクを除くのが目的ですね。それを省略しても問題はないという理解でよろしいですか。

〇説明者（森下） そうです。

〇澤田座長 ほかに先生方、追加で御質問がもしございましたらお願いします。

〇山添委員 製造工程ではなくて、最後のほうで摂取量のところの記載があって「1日推奨摂取量800 mg」と記載をされていらっしゃるのですが、一応、この参考文献のところでも血管内皮のことが記述されていて、その辺のところを考えていらっしゃるのだと思うの

ですが、通常のこういう血管内皮以外の作用を考えた場合、投与方法は経口摂取ではなくて、試験的には、例えば、静注した場合には、アルギニンを入れた場合に成長ホルモンとか、インシュリンの分泌が刺激される。そこは検査目的で使うので通常はあり得ないことなのですけれども、そういう作用も一応はあることはあるのですが、この経口摂取ではそういうことに対して影響がないことは確認をされているのでしょうか。

○説明者(森下) お手元に出しています安全性はほぼ網羅しているつもりでございます。そういった中に、経口摂取で行った後に、今、おっしゃったような、内分泌系を検査しているかという、そういったデータは多分、持っていないかと思います。実際、アルギニンやオルニチンなどだと、内分泌系に影響するという論文が出ています。シトルリンは、アルギニンを経口摂取すると、血中にアルギニンは若干上昇させますけれども、オルニチンは上昇させないことがわかっていまして、そういう意味では内分泌に与える影響は、アルギニンの範囲内だろう、アルギニン以下であろうと考えてもよいと思いますので、今のところ我々は、シトルリンが経口摂取されたときの内分泌に与える影響を問題視はしていないということでございます。

○山添委員 おっしゃるように、腎機能にはそれほど出ていかないだろうと思います。ただ、先ほど申し上げたように、ほかの視床下部とか脾臓とかその辺のところにデータが出ていなければそれでいいので、一応、論文、報文がなければいけない結構ですので、その御確認をいただければいいと思います。

○説明者(森下) 一応、日常的にシトルリンに関しては機能性のデータと安全性のデータは網羅的にサーベイする仕組みの中で我々はやっていますので、そういう意味では全て入っているデータはないと理解しております。

○山添委員 ここは遺伝子組換えの場合なので、本来は遺伝子組換えのことを議論するのですけれども、添加物でなくて、今回は普通の食品ということになるので、最終のステップになってしまうため、一応、お伺いしましたということです。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

それでは、どうもありがとうございました。

○説明者(永野) ありがとうございます。

(説明者退室)

○澤田座長 それでは、審議に戻りたいと思います。

今の回答を踏まえた上で追加のコメント等ありましたら、先ほどの質問だけに関しましてお願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

それでは、この評価の仕方、厚労省から出てきた簡略的な評価をしていかどうかという、そこら辺をこれから議論したいと思いますので、忌憚のない御意見を順不同といいますか、お願いしたいと思います。

まずは規格の話についてなのですけれども、この自主規格というものを出示して、

この規格でよろしいかどうかという点で何か御意見がありましたらお願いしたいと思いません。

○山添委員 今、こそこそとしゃべったのは、要は添加物みたいに公定の規格がないので、他社が追加で同じようなものを申請してきた場合に、毎回、自主規格と称するものとの比較を見なければいけないのか、それを今後どうするのか。その辺のところは先生方の御意見を伺ったほうがいいのかなと思っています。

○澤田座長 多分、物ごとに規格は違いますし、レベルが違うと思いますので、毎回見ないといけないのではないかと予想できますが。

○山添委員 理屈から言いますとそうですね。

○小関専門委員 よろしいでしょうか。

○澤田座長 どうぞ。

○小関専門委員 今、先生のおっしゃる点が私が一番気になったところでして、今回はたまたま製造会社が出てきて、ある輸入業者が外国で生産されたものに関して、それは申請者は製造していませんから、自主規格を持っていない状態である。だからだめですというのは不公平だと思うので、自主規格に縛られるとアンフェアだと私は思うのです。そうすると、これは非常にきれいなものであるというのと、もう一点が、そのところでアミノ酸という縛りはなくて、ここで書かれている「食品（微生物）」というもので高度精製品なら除外しますと言われたら、油は高度に精製されていますよねというところまではね返ってきますし、非常に難しい問題が発生するので、何にフォーカスを置くか。要するに、これは結晶ができてすごくきれいになって、しかも大量に摂取するものではないでしょうという、ある意味、前提というか縛りを持ったところでやっていかないと、いろいろなところに問題が出てきてしまう気はしているのです。

○澤田座長 どうぞ。

○山添委員 小関先生に質問なのですけれども、今、先生がおっしゃったところからしたときに、油と言って高純度だと言っても、組成からいうと混合物ですね。それで、アミノ酸は基本的には単一物質ですね。

○小関専門委員 先生のおっしゃるとおりです。そこで「アミノ酸等」というつけ方をしていますよね。要するに「高度精製」という言葉でいくと、例えば、微生物が生産する多糖類もあるのですよね。それは今、高度精製の枠の中では評価してなくて、添加物の評価だったはずなのです。ですから、そういうものを踏まえて、枠組みをきちんと考えていかなければいけない。要するに「アミノ酸等」と書いてあるなら「低分子性の」という枠をはめていることだと思うのです。

そうなったときに、次に想定されるのは、砂糖などはそのときどうするかという話なのです。油はまだ簡単なのですけれども、砂糖は低分子できれいだとなったときにどうなるのだろうかというところも考えていかないと将来的にまずいのではないかと。だから、この枠組みを決めるときは慎重にしないと、後で自分たちの足を踏むのではないかと。要するに、

非常に自分たちが苦しむのではないか、評価できなくなってしまうのではないかと懸念しているところで私も悩んでいます。

○山添委員 ありがとうございます。

○澤田座長 少なくとも、似たような添加物で経験がないものは見ないとか、そういうくくりみたいなものは要る気がするのですけれども。例えば、違うものであるけれども、アミノ酸はオーケーだがそれ以外は当面見ないとか。

○小関専門委員 コエンザイムQ10は。それが「等」なのです。

○澤田座長 とにかく、ポリマーみたいなものとか、技術的に評価できないものは除いておかないと、後々困りますか。単一の化合物に限るとするかという問題です。

あと、海外の問題はまた非常に難しい問題で、一応、国内の輸入業者が責任を持ってやらなければいけないわけです。

○小関専門委員 ですから、フェアに考えるということになるとすると、例えば、市場で売られている非常にきれいなものを、輸入会社さんが10なり20なり集めて、●●●みたいところに依頼して、純度はこれで、今回、輸入して申請したい、高度に精製された組換えの食品は、同じように依頼分析したらこうでしたというデータが出されたときに、それは要するに、データの上では問題ないということをやはり考えていかなければならないのではないかと思います。

○澤田座長 その場合は、例えば、HPLCだけでいいかという話ですか。

○小関専門委員 それを問い始めると、今回のものもHPLCだけでいいかとはね返ってきてしまうのですが。

○澤田座長 今までは、添加物の場合は公定規格も考慮してやってきたわけですね。だから、それよりもかなり緩めてしまうのはなかなか難しい気はします。海外で売っている場合には海外なりの規格が多分あるはずで、それを流用できるかどうか。

どうぞ。

○中島専門委員 でも、海外は結構、不純物が多かったものが平気で出回っていたりするから、それはうちの国ではオーケーなのだからといって持ち込まれても困りますので、そこは日本国内の流通品に合わせてもらわないと困るくらいの縛りはかけたいところだと思います。

○手島専門委員 添加物の規格がない場合には、今回のような自主規格に相当するような規格をつけて出してもらい形が必要になるのではないかと思います。

○澤田座長 今回は、アミノ酸の規格が別途ありまして、それを参考にして同じようなものを作っているのです。だから、非常にやりやすいといえばやりやすいケースで、今後、お手本にするような規格がない場合は、作る側もなかなか苦勞する可能性はあります。今回に関しては非常にきれいなもので、余り問題はないと思われるわけですが、今後のことを考えて、いろいろな評価の仕方、流れのスキームを一応考えておいたほうがいいと思います。

それで、次に、評価書の書き方なのですけれども、今の書き方は一応、フル評価の順番に従って書いています。実質的にフル評価をやっているようなことが書いてあるため詳しく書き過ぎなところがあるという印象はありまして、評価書の書き方を高度精製添加物の書き方にプラスアルファで書いたほうが良いように個人的には感じたのですけれども、そこら辺はいかがでしょうか。

○池田評価情報分析官 御議論いただく前に、一応、今回、御用意している評価書案の形に、まとめている背景を御説明しておいたほうが良いかと思います。

今回、組換え微生物を使った食品としては初めてのものです。また、申請者の方からは、添加物の高度精製の見方をしてほしいという要望もあります。とはいえ、最初から添加物の高度精製のような形で簡略化した評価だけでよいのかという議論もあるかと思います。そのため、最初のものでもありますので、評価としてはフルに近い評価も行った上で、そこも特に問題はないことを確認し、加えて高度精製的な見方をしたときも、問題ないことが評価できるかを確認するというやり方がよいのではないかという考えでまとめています。2段階目や3段階目に、評価の実績を積み重ねた後に本当に高度精製のものだけで評価が可能と判断できるときは、また違った形を考えるとと思うのです。

前半が今回はフル評価に倣った形になっています。具体的に言うと、今日の資料の34ページから内容が始まっていて、このⅡ-1としているところはフル評価でないに記載されない項目になっているのですけれども、その項目が、280行ぐらいまでは続いていて、ここまでで、これらの項目に問題がないことを確認した形になっています。その後、高度精製の添加物の場合に書かれている項目が記載されていて、最後に43ページの356行目からの評価結果がつけられている形になっています。

○澤田座長 私のほうが先走って意見を述べましたけれども、この後、評価書をもう一度見なければいけないわけですね。その後にもう一度、御意見をいただいたほうが良いと思います。

では、先に評価書の説明をしていただきましょうか。きょうは12時で時間が区切られているそうなので、今日中に結論を絶対に出す必要はなく、継続でも構わないということです。

○池田評価情報分析官 評価書の説明なのですけれども、いつもの御審議のような形で、今、中身を御説明する形にさせていただいたほうがよろしいでしょうか。

○澤田座長 中身のあらましで結構です。時間も余りありませんので。

○内海評価専門官 では、資料の34ページから、事務局のほうでつくらせていただきました評価書案のイメージといたしますか、流れについて御説明申し上げます。

まず、「Ⅰ. 評価対象食品の概要」ということで、これは従前どおりの記載でございます。

Ⅱ以下が「食品健康影響評価」ですけれども、まず「Ⅱ-1. 遺伝子組換え微生物（組換え体）に関する安全性評価」ということで、ここでは「遺伝子組換え食品（微生物）の安

全性評価基準」の項目に従って、組換え体に関する事項を記載しております。

この流れでいきまして、41ページですけれども、先ほども池田分析官のほうから御説明を申し上げましたが、ここまです組換え体について、特段安全性を懸念される事項がないことを確認します。

続いて「Ⅱ-2. 遺伝子組換え微生物（組換え体）を利用して製造された食品の安全性評価」ということで、まずは組換え食品（微生物）の評価基準に沿いますと、生きた組換え体を含む場合、含まない場合が項目としてございますので、ここで生きた組換え体を含まない場合を選択しまして、まず、生きた組換え体を含まない根拠の説明をします。

続きまして、第2ですけれども、289行目からですが、ここで比較対象とする従来の食品を説明しております。ここの記載は、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」の構成に倣って記載しております。

42ページですけれども、323行目の「以上」のところですが、緑色の参考資料のファイルのタグの6が「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」になります。ここの5ページの中段ほどからなのですけれども、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価の原則と基本的な考え方」がありまして、読み上げますと、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価では、先ず組換え体である微生物を対象とした安全性評価を行い、次いで最終製品である食品について安全性評価を行う。遺伝子組換え食品（微生物）は、その性質、用途、製法等の点において、極めて多岐に亘っているものである。組換え体が食品の製造過程で最終的に除去されることも多い。このため、遺伝子組換え（微生物）に関しては、生きた組換え体の残存の有無に応じた安全性評価を行うことが合理的と考えられる。また、組換え体及び宿主に由来する成分の種類や含量の相違の有無が明らかにされ、安全性上の問題がないことが示される必要がある。」という考え方が示されておりますので、この考え方に照らしまして、今回のものの性質を考慮して、最終産物の安全性評価を行うことが妥当であるという中間的な判断を行います。

ただし、先ほど御議論いただいているとおり、今回のものが添加物のような公定規格で管理をされているものではありませんので、やはり一定の規格で管理される現行流通品を特定した上で、それとの比較により評価を行うことが必要になろうかと思えます。

評価書の43ページになりますけれども、ここで「最終産物に関する事項」ということで、ここの記載はこれまで行ってきております高度精製添加物の評価書の構成に倣っております。

ここで「比較対象とした現行流通品よりも既存の非有効成分が安全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有していないと考えられる」という評価を行いまして、最終的に356行目からの「Ⅲ. 食品健康影響評価結果」ですけれども、読み上げますと、「CPR株を利用して生産されたL-シトルリン」については、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」（平成20年6月26日食品安全委員会決定）に基づき、その製造過程で最終的に遺伝子組換え微生物（組換え体）が除去され

ていること、及び非タンパク質性の食品であることに鑑みて、比較対象として特定された現行流通品と比較することにより最終産物の安全性評価を行うことが妥当であると判断した。よって「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」（平成16年3月25日食品安全委員会決定）の附則「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方」（平成17年4月28日食品安全委員会決定）に準じて評価した結果、現行と同等の使用形態により使用等されている場合に限り、比較対象とした現行流通品と同等の安全性が核にされたと判断するとともに、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」による評価は必要ないと判断した。」

この一番最後のくだりが、厚生労働省が組換えDNA技術を応用した食品に該当しないものと見なす判断根拠になります。

ただ、最後の「ただし」の部分ですけれども、今回の評価というのがあくまで遺伝子組換え食品の評価、すなわち、現行流通品に比して、食品健康影響が増加しないことを確認したものということで、付言としまして、この本食品に関するリスク管理措置を講じる際には、事業者に対して、設定された製品規格をちゃんと遵守することに加えて、消費者に対して摂取上の注意事項の提供であるとか、あるいは健康被害事例の収集をさせるなどの指導を徹底することが必要であることをつけ加えております。

評価書案の概要については以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

この書きぶりはまた修正があるかもしれませんが、ロジックとして、フルで一旦やって、その後にフルでなく評価してもいいという書きぶりについては、先ほど申し上げたとおりです。最終的に厚労省が言ってきた方法でできますという結論はいいと思うのですけれども、その論理的な構成を考えたほうがいいような気がします。

あと15分ぐらいしかありませんけれども、まだ継続でもう一回やりますね。

○井上課長補佐 必要であれば。

○澤田座長 それは協和醗酵バイオに指摘等を出すのではなくて、調査会の中での議論を詰めるという意味で継続ということですよ。

○井上課長補佐 わかりました。そのようにお願いします。

○澤田座長 この際、とりあえず発言したほうがいいことがありましたら。

○飯専門委員 ちょっと先ほどの議論に戻ってしまうのですけれども、理解し切れなかったところがあるので。これからのことを考えた上での話の中で、油などを小関先生は言われましたけれども、今、使っている高度精製は、規格がある添加物を対象にしていて、今日机上配付の、平成17年にここで決めているものを見ると、一応「①～②の要件を全て満たす場合」といって、なおかつ①に「例えば」と書かれているところに当てはまらないものは、当面は全て排除しても全然問題ない気がしたのですけれども、そうすると、ここに書かれているのは純品だけですよね。「など」という言葉も後ろについていないので、こ

ここにないものまで今から考えるのはきついのではないかと少し思っています。そのときに、ここに挙げられている指定添加物は限られてくると思うのですが、それらの純度は、列挙したときにそれでもなおかつ問題になる化合物があるのかどうか、実はお尋ねしたかったところです。この指定添加物というのが、ここに書かれている類いのものは極めて純度が高いものだけになっているのかという意味です。

○澤田座長 この①は「アミノ酸、ヌクレオチド、ビタミン、単糖類」しか取り扱わないと言っているわけですね。

○飯専門委員 「例えば」とはなっていますけれども、今回のようなケースでは、この「例えば」を超えるようなものを初めから想定するのはきついのではないかと思ったという意味です。

○澤田座長 食品もこの枠は一応、動かさないということですか。

○飯専門委員 今回のようなケースは、この中のアミノ酸に対応するものとして取り上げたというのであれば、ここに例として挙げているものにおいてまずは検討を始める。

○澤田座長 ただ、食品の場合は、指定添加物のように告示はされていないのですけれども、これを参考にこういったものに限るといいます。

○飯専門委員 とうか、最終的にはこれの考え方を準用する形で評価をしていくのであれば、ここで取り上げる化合物の範囲が外枠になるのかなと思ったのですが、この解釈でいいのかどうかをお尋ねしたかったのです。

○澤田座長 ありがとうございます。

今、気がついたのですが、公定書云々というのは考え方には書いていないのですね。だから、自主規格が不十分でも、この添加物のほうを準用するだけの十分な根拠があれば、評価できる可能性も残されているということですね。

どうぞ。

○池田評価情報分析官 事務局の理解では、今までは、公定書の成分規格と比較するという項目が、比較的重要な項目としてあって、それをやっていないものはなかった気がするのですが。

○澤田座長 実際にはないのですが、多分、重要なのは、その下の3行もありますね。製造方法の概要とか用途、性質とか、そこら辺の情報も一応、添加物の場合は加味してやらなければいけないということで、食品の場合もちろんこれは考えないといけないことになりますね。

ほかに何か御意見がございましたら、お願いしたいと思います。先生、いかがですか。

○児玉専門委員 歯どめがなくなるのは皆さんが一番危惧されているところなので、今、飯先生がおっしゃったように、とりあえず高度精製品の考え方を準用する形で当面は動き出すしか手段はないのかなと思いますので、範囲もアミノ酸、ヌクレオチド、ビタミン、単糖類に準じるもので、それとある程度比較できそうなものということとするしかないのかなと思います。

例えば、シトルリンとかこういうものが出てきて認可された場合には、後発品のシトルリンは先発先行品を比較対象にすることになるでしょうから、そうそうそんなにひどいことにはならないとは期待していますが。

○澤田座長 大体の大きなところとして、今回の品目に関しては、厚労省の考え方を適用して、簡略で済ます形式をとることで可としてよろしいかということで、それにもし異論がなければ、そういう方向でいきまして、あとはやり方、方法論をもうちょっと詰めていくことにしたいと思いますけれども、いかがでしょうか。

そうしましたら、もう時間がありませんけれども、協和醗酵バイオへの指摘は、指摘ではないようなものなので、一応、後で書類を出していただければよろしいですか。

○井上課長補佐 では、資料を確認しまして、後ほど先生方にメールか何かで御確認いただくということで進めさせていただきます。

○澤田座長 あと、ほかに何か御意見、気づいた点等ありましたら、メールで構いませんので、いただければと思います。

次回というか、これの続きはいつごろ予定していますか。

○井上課長補佐 では、きょうは先生方からいただきましたコメントを一旦、事務局のほうで整理させていただきますして、また案件の予定については後日、連絡という形をとらせていただきたいと思います。

○澤田座長 それでは、議題1は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。

○井上課長補佐 特にございませぬ。

○澤田座長 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162回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会します。

今日もありがとうございます。