

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第186回) 議事録

1. 日時 平成31年4月26日(金) 15:01~17:24

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

・SKG株を利用して生産されたL-セリン

・除草剤グルホシネート耐性及び雄性不稔セイヨウナタネMS11(食品・飼料)

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

中島座長、飯島専門委員、岡田専門委員、小関専門委員、橘田専門委員、
児玉専門委員、柘植専門委員、手島専門委員、樋口専門委員、山川専門委員

(食品安全委員会)

佐藤委員長、川西委員

(事務局)

小平事務局次長、箆島評価第二課長、池田評価情報分析官、飯塚課長補佐、
森山評価専門官、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

①SKG株を利用して生産されたL-セリン

②除草剤グルホシネート耐性及び雄性不稔セイヨウナタネMS11(食品)

③除草剤グルホシネート耐性及び雄性不稔セイヨウナタネMS11(飼料)

6. 議事内容

○中島座長 それでは、皆さん、おそろいですので、始めたいと思います。ただいまから、第186回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催します。

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、

非公開で行います。

本日、所用により、近藤専門委員、吉川専門委員が御欠席です。

本日の議題ですが、新規品目であるSKG株を利用して生産されたL-セリン、除草剤グルホシネート耐性及び雄性不稔セイヨウナタネMS11の安全性についての審議です。

お手元の資料を確認いたします。事務局からお願いいたします。

○飯塚課長補佐 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、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、委員の皆様の上の机の上に置かせていただいております。本ファイルについては、調査会終了後、回収させていただきます。次回、また配付いたします。

不足等ございましたら、事務局までお知らせください。

また、本日は、新規品目でありますSKG株を利用して生産されたL-セリンの申請者である協和発酵バイオ株式会社、除草剤グルホシネート耐性及び雄性不稔セイヨウナタネMS11の申請者であるBASFジャパン株式会社の方をお呼びしております。申請品目の審議の際に、質疑応答に対応していただくことを予定しております。

○中島座長 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、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。

○飯塚課長補佐 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日委員会決定の2（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。

○中島座長 既に御提出いただいております確認書について、相違等はございませんでしょうか。ありがとうございます。

それでは、新規品目であるSKG株を利用して生産されたL-セリンについて、審議を行いたいと思います。事務局から説明をお願いいたします。

○飯塚課長補佐 申請書の説明に入ります前に、審議の進め方について、御説明いたします。

冒頭で御紹介いたしましたが、本日は、申請者の協和発酵バイオ株式会社の方をお呼びしておりますので、申請書の御審議をいただいた後に、申請者に対する質問事項があれば、整理していただきたいと思います。その後に、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いる申請書を説明させていただきます。

水色のファイルを御用意ください。

3ページをお願いいたします。L-セリンの食品添加物としての概要でございます。L-セリンは、食品添加物公定書に記載された既存添加物に該当いたしまして、その概要につきましては、表1にまとめてございます。

4ページです。L-セリンの用途ですけれども、食品用途に好ましい甘みとうまみを利用して、飲料などの調味料に利用されているというものでございます。

5ページ、作製の方法ですけれども、L-セリン生産菌SKG株は、*Escherichia coli*KY8227株から作製されております。KY8227株から、まずは平成20年5月に安全性評価が終了しておりますWSH株を作製いたしまして、WSH株をもとにして、平成24年3月に安全性評価が終了しておりますBDS株を作製いたします。BDS株をもとにしまして、L-セリン●●●とともに、L-セリン●●●することにより、炭素の流れをL-セリンの生産に有効な方向に導き、SKG株を造成したということでございます。

(2)でございます。*E.coli*KY8227株の全ゲノム配列は、既に公開されている*E.coli*W株のそれと塩基配列レベルで99.995%以上一致しております、実質的に同等であると考えられるとしております。

*E.coli*W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りまして、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ものでございます。

6ページをお願いします。(3)ですが、各遺伝子の挿入、欠失、置換が行われておりまして、*E.coli*染色体への各種DNA断片の組み込みのために、 λ -red相同組み換え系を利用したものでございます。 λ -red相同組み換え系には、染色体へのDNA断片の組み込みを補助するプラスミドpKD46及び組換えのマーカースとして、*E.coli*由来トランスポゾンTn9由来の*cat*遺伝子と、*Bacillus subtilis*由来の遺伝子、*sacB*遺伝子を使用したものでございます。

(4) BDS株からのSKG株の作製におきましては、2個の遺伝子を欠失させ、3個の遺伝子を変異型に置換し、2個の遺伝子を挿入したものです。また、1個のプロモーターを置換し、2個のプロモーターを挿入したものでございます。

欠失遺伝子ですけれども、欠失された●●●遺伝子、●●●遺伝子の有害性等は知られておらず、また、機能欠損による有害性も知られていないというものでございます。

(4)-2ですが、置換遺伝子です。こちらは3つございまして、●●●遺伝子、●●●遺伝子、●●●遺伝子がコードするタンパク質の●●●機能は、●●●、有害性も知られていないものでございます。

7ページ、(4)-3ですが、挿入遺伝子は2つでございます。●●●遺伝子と●●●遺伝子で、●●●でありまして、有害性も知られていないものでございます。

(4)-4ですが、挿入プロモーターで、●●●と●●●及び●●●に有害性は知られておらず、挿入された配列に有害な遺伝子も含まれていないものでございます。

13ページをお願いいたします。(6) 染色体へのDNA断片の組み込みを補助するプラス

ミドpKD46をBDS株に導入しまして、ユニット1からユニット16を順次BDS株の染色体へ導入し、最後に、pKD46を除去して、L-セリン生成菌SKG株を得たとしております。抗生物質耐性マーカー及び異種の前核、または真核生物に由来する配列は、有していないものでございます。

14ページ、L-セリンの製造方法です。培養工程と精製工程、濾過工程などを経まして、充填・包装されるものでございます。

15ページですけれども、申請品目と現行製品の同等性の確認です。申請品目の品質は、添加物公定書の規格を十分に満たすものでございます。

16ページをお願いします。タンパク質残存試験結果ですけれども、非有効成分であるタンパク質の残存をドットブロット法で分析しております。非有効成分であるタンパク質は、L-セリン中に検出されないことを確認したというものでございます。

17ページ、不純物プロファイル比較結果ですが、アミノ酸アナライザー法の分析が行われておりまして、申請製品及び現行製品のいずれにも、検出限界を超えるピークは認められなかったとしております。

18ページをお願いします。不純物HPLC-1法において検出された10種類のピークがございまして、リテンションタイム19分、23分、25分、36分の4種類が、現行製品3ロットに検出されないピークであったというものです。これらのうち、RT23、36の2種類につきましては、現行製品過去ロット中にも確認された不純物であったのに対して、残りの2種類のRT19及び25については、現行製品中に検出されていないものでございます。

添付資料2の78ページをお願いいたします。こちらのHPLC法-1のデータがございまして、●●●、一応ここが示すところです。

79ページは、●●●がございまして。

80ページは、●●●というものでございます。

本文に戻っていただきまして、18ページをお願いいたします。申請品目SKG株は、安全性実績のある宿主に対して、L-セリンの生成・代謝に関連する遺伝子のみを操作することにより、作製されておりまして、さらにアミノ酸発酵工業で採用される通常の工程により、製造されたとしております。したがって、SKG株由来L-セリンの最終製品中に残留する不純物が、安全性の懸念を生じさせるような情報は、現時点で見当たらないとしております。

医薬国際基準（ICH）では、安全性確認を要する不純物レベルに閾値が設けられておりまして、RT19と25は、いずれもその閾値よりも低いレベルであるとしております。

19ページの（3）ですが、HPLC法-2の結果がございまして、20ページの一番上になりますが、ブランクピーク以外は、認められなかったという結果になっております。

（4）ですが、光学異性体測定法で、L-セリンの光学異性体であるD-セリンの検出を目的としておりますけれども、申請品目で検出されるD-セリンの分析値は、現行製品の分析値の範囲内であったというものでございます。

説明は以上でございまして。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして、専門委員の先生方から、御意見をいただきたいと思えます。

私が思うに、本品目のこの株は、もとのKY8227株から2008年にWSH株というセリンの生産菌株ができて、これは安全性がオーケーになっていて、また、何か所か改良して、さらに生産性を上げて、BDS株が2012年にオーケーになっていて、それからさらに改良して、今回のSKG株が申請されてきている、そういうものでございます。

この申請書は、一目でそれがわからないという、甚だわかりにくい構成になっていて、せめてそういうものは、流れのフローチャートで最初の株、最初の申請株、次の申請株、今回のものが、一目でわかるように申請してほしいと思ったのですが、多分先生方もそこを読んで、苦勞をされたと思います。だからだめというわけではないのだけれども、申請者に座長のコメントをお伝えいただければ、ありがたいです。

それでは、先生方から、御意見をいただきたいのですけれども、3ページから14ページ、製造方法までについて、御意見はございますでしょうか。

どうぞ。

○児玉専門委員 きょう、申請者が来られるということなので、申請者にお聞きしたいと思えますけれども、7ページ一番上の1の●●●遺伝子とあるのですけれども、●●●と書かれているのですが、これとセリンの合成とどうかかわるのかがよくわからなかったもので、もしわかるようであれば、教えていただきたいと思えます。

○中島座長 こういうものは、お呼びして、直接聞くのが一番だと思いますので、そうしたいと思えます。

先生方、ほかにもございますでしょうか。

申請書は余り長いものではありませんので、最後までございましたら、お願いします。

本申請書につきましては、先ほど事務局からもございましたけれども、HPLCのピークのところが審議のポイントにもなっております。78ページの実際のところのピークといっても、こんな感じのあるのだから、ないのだから、これまで自主判断できるための基準等については、既存のものを超える不純物のピークが出ていないこと、もしくは出ている場合も、それが同定できて、安全なもの確認できる場合はオーケーと、一応そういうルールになっておったのですが、検出機器の感度が上がってきますと、こういうピークが出てくる。もしくは株が変わると、多少なりとも代謝の経路は変わりますので、今まで出ていなかったピークがちょっとあらわれる、もしくは少し大きくなるとか、そういったケースがあります。

これはどれでも面積の数字を見てみますと、●●●、そのぐらいのレベルにおさまっているもので、こういうものについては、厚生労働省で随分そことやりとりしていたようで、随分書類が積んであるようにも聞いております。それだとらちが明かないので、これがそもそも安全な宿主を使ってつくっている、代謝系を利用してつくっているものであるとい

うことがポイントでして、もしもこれが化学合成でつくっているのであれば、極微量であっても、これが発がん性なりを有する可能性は排除できないと思うのですが、安全性が確認された宿主を使って、その代謝系を利用して作っていることを加味して考えると、このような超極微量の検出ができるか、できないかくらいのは、いいのではないかと思います。

私としては、これがそんなに危ないのかと思っているのですけれども、この点について、先生方の御判断をいただければと思います。よろしく願いいたします。

どうぞ。

○川西委員 確認したいこととしては、18ページの下から3行目から4行目にかけて、同じプロトコルを用いて、別の装置で分析を行ったところ、再現することができなかったことという中身は、何が再現できなくて、同じプロトコルが何なのかはよくわからないので、そこは確認をしてみたいと思います。

○中島座長 お呼びしますので、お聞きになっていただければと思います。

恐らくは、多分同じ機械で、同じ試薬で、同じプロトコルでやってみたけれども、ピークが出るときと出ないときがあったとか、そんなような説明になろうかと思いますが、お呼びしますので、直接お聞きになってください。

○川西委員 はい。

○中島座長 せっかく18ページになっておりますので、ここに医薬の国際基準で、医薬品と食品とは同じものではありませんので、その基準が直接使えるかどうかは、別の議論になろうかと思いますが、そもそも医薬品は、効くことが前提になっているので、無制限の食品が同じ基準でいいのか、むしろ食品のほうが厳しくあるべきではないかという議論は、これもあろうかと思いますが、医薬品で0.05%より小さいものは、オーケーということになっているのは、考え方の1つの基準にはなり得ると思いますが、いずれにしても、このレベルの不純物がたとえ同定できていないものであっても、危険性があるとは、私には思えないのですが、先生方、この辺の御意見をいただければと思います。

橋田先生、いかがでしょうか。

○橋田専門委員 かなり微量ですし、もともとのところも、従来、使われてきた宿主を使っているところから、それほど問題にするものではないと思っております。

○中島座長 ありがとうございます。

岡田先生、いかがですか。

○岡田専門委員 薬品と化学物質について、知識が余りないので、きちんとお答えするのは難しいのですけれども、ほぼとれているような、いないようなというレベルとお見受けするのですが、いかがでしょうか。

○中島座長 ありがとうございます。

どうぞ。

○川西委員 ICHのガイダンスの数字は、ある種もともと求めたロジックは食品にも共通

すると言えば、共通するロジックで、求めてはいるのです。1つだけうるさく言えば、医薬品の議論は、この後、発がん性不純物の議論について、発がん性不純物の場合は、難しい議論が必要なので、発がん性不純物ではないことを言ってほしいと思うけれども、私はこれで発がん性不純物ができてしまう可能性は極めて小さいし、このぐらいは実質的に安全というレベルとしてもいいレベルと思っています。

○中島座長 ありがとうございます。

手島先生はいかがですか。

○手島専門委員 このレベルということでは、非常に微小なレベルですし、検出限界ぎりぎりぐらいのところで、もともと安全なものを用いているということで、このレベルはよろしいのではないかと思います。

○中島座長 ありがとうございます。

樋口先生はいかがでしょう。

○樋口専門委員 宿主のこれまでの実績から考えて、新たな代謝系をつけ加えたといったら、それはまた別ですけれども、既存の代謝系のフローを変えただけなので、突然全く予期せぬ物質ができるとは、考えがたいと思います。

○中島座長 ありがとうございます。

柘植先生、柘植先生はいかがですか。

○柘植専門委員 異論はありません。

○中島座長 小関先生、どうぞ。

○小関専門委員 これは厚生省時代に似たような話をしたことは、うろ覚えで覚えているのですけれども、結局、医薬品としてどのぐらいきれいかということを取り入れようという議論は、たしか随分昔にあったのですけれども、そのところで、それは簡単にはいかないといったことがあって、それは何かというと、食品だから、一生ずっと食べ続けるという問題が出てくるので、だから、あのときに薬とは違うという話になったのを思い出したのです。

そのところで出たときに、薬とは違ってずっと食べるけれども、似たような話があって、食経験があるものということをしごく言っています。それは何かというと、毒のものも一緒に同じようにして、一生食べているということにもつながって、健康に与える影響は変わらないという考え方に立ちませんかということ思い出したのです。

そういう意味でいくと、今、機械がよくなって、検出できるようになったのは事実なのですけれども、食経験上は、菌由来のものを既にずっと食べてきたし、既存の食品で食べてきた不純物と検知できなかったものは、検知できるようになっているけれども、食品としてずっと食べてきた食経験があるもので、それが健康に影響を与えるようなものというレベルに、毒性物質として上がっているものではないという、要するに構造が決まらないものについても、食べてしまってきているものですということしていくと、十分問題はないと考えていくのがいいのではないかと思います。

○中島座長 ありがとうございます。

少なくとも本件に関しては、問題なかろうという点は一致されているように思えますので、今後の議論もごございますので、例えば0.05%ルールでも、食品と医薬品は別物ですので、そのままというわけにもいかないと思いますが、0.05%ルールを目安としてもいいのは、どういうケースであるのかということ、ある程度共通認識を持ちたいと思うのですが、まず安全な宿主をもってつくられている点と、食経験がある点、これを押さえていけば、今までの皆さんの御意見を聞いていると、食経験と安全な宿主であることが確認される、この2点があれば、0.05%内、そういう検出限界以下のこういうレベルであれば、本件には、0.01か0.02ぐらいの数字に見えるのですけれども、よさそうだとということで、皆さんの今のところの御意見では、そういうふうに思えるのですが、これについて、できればもう少し議論して、共通認識を詰めておきたいと思うのですが、先生、どうぞ。

○川西委員 ICHの話は正確ではないのです。原薬の不純物の多分1日2グラム以下の時のもので、0.05%以下であれば、報告する必要がない。それぞれの構造決定の閾値、その上に毒性確認の閾値があって、2グラム以上、医薬品の場合は投与ですけれども、0.03%という数字が一応ガイダンス上はなっているのです。その点も含めて、0.05ということと、実際にピークは、0.01だと確認できれば、私はそれでいいと思っています。

○中島座長 どうぞ。

○小関専門委員 今の先生のお話しで思い出しました。1日どれぐらい食べるかという話で、添加物だし、食べるとしたら、下手をすると、薬のほうがすごく摂取量は多いです。添加物でそんなに食べないという議論もたしかしたのを思い出しました。

○中島座長 実は薬も長期間、毎日10年ぐらい飲む方もいらっしゃいますので、それを想定されてもいるので、少なくとも添加物であるならば、そんなに違わないように思いますので、2グラム以下なら0.03%、そういうレベルで、食経験があって、安全な宿主であれば、大体いいのではないかと私も思うのですが、よろしいでしょうか。

どうぞ。

○山川専門委員 安全なというところが、それこそ発がん性物質とか、そういう報告がないというような表現も加えておくと、何をもって安全かということですか。

○中島座長 宿主の安全性について、要するに病原性が知られていない程度ではなくてということでしょうか。

○山川専門委員 それで、そういう報告がないと言えれば、そのままオーケーで、それがあつたら、直ちにだめなわけではなくて、あつた場合、ちゃんとそれについて検討すればいいでしょうということですか。

○中島座長 それでは、宿主についての安全性、しかも、その宿主が発がん性物質等々をつくるような報告がないという点を確認すること、食経験を確認すること、これをもって、高度精製であれば、0.03でしたか。

○川西委員 本当にその数字がいいかどうかはともかくとして、今回、0.01といってくれ

れば、別だと思えます。

○中島座長 0.01なのかどうかは、この数字を見てみないと思うのですが、一番大きいものは、0.01を超えているようにも思うのです。

どうぞ。

○飯塚課長補佐 食経験というのは、宿主ですか。

○中島座長 食経験というのは、その宿主を使って、我々の審査が通ったものをつくっているという意味です。

○池田評価情報分析官 ということは、従来、添加物製造に使われてきた経験があるとして大丈夫ですか。

○中島座長 そういうことで、つまりはその宿主を使って、高度精製品で、一度は我々の議論を通過した宿主、もしくはそこからのデリバティブであるという意味です。

どうぞ。

○児玉専門委員 これはたしか届け出だったのか、高度精製で宿主の改変をして、また高度精製というのが繰り返されたので、それを簡略化しましょうということで、現行品に比べて不純物が増えなければいいですという形の制度ができて、その制度がなかなかうまく回らない。というのは、機械がどんどん進歩してくるので、見えてきてしまうというところで、こういう議論がされているのだらうと思うのです。

宿主の安全性などがあるのですけれども、製造方法が基本的には大きく変わっていないということも、例えば全く違う培地を使い始めましたというと、培地の中に入っている成分が紛れ込む可能性もなくはないので、基本的な製造方法を微妙に変えるのはあり得ると思うのですけれども、基本的な流れで、培地などの流れは余り変わっていませんということがあれば、それはよろしいのではないかと思います。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、たとえ未同定であっても、微量の不純物を問題としない基準としては、まず我々の審査を一度は通っている、食経験のある宿主を使っていること、それから、食経験のあること、以前に比べて精製方法、調整方法に大きな違いがないこと、以上の点をもってすれば、こうやって届け出でオーケーのルールをきちんと回していただきたいというのが、我々の本音なのですけれども、そういったことで共通認識にしていくということによろしいでしょうか。

ほかに御質問はございますか。申請者をお呼びしようと思うのですが、その場で思いついたことがあったら、よろしいと思えます。

呼んでいただけますか。

内容としては、●●●の意義について、児玉先生から、直接お願いします。

18ページのプロトコルについては、川西先生から、直接お聞きいただければと思います。

(説明者入室)

○中島座長 お忙しいところ、ありがとうございます。

それでは、説明者の方、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。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） 協和発酵バイオから参りました、渉外部という部署におります、森下と申します。よろしくお願いします。

○協和発酵バイオ株式会社（小松氏） 同じく小松と申します。よろしくお願いします。

○中島座長 それでは、質疑に入ります。

申請書の7ページについて、児玉先生から、お願いします。

○児玉専門委員 7ページの一番上のところにある●●●遺伝子ですけれども、これはセリンをつくるための菌株改良だと思っておりますが、ここの部分は、●●●と書いてあって、これとセリンの生産とどうかかわるのかがわからなかったものですから、もしわかるようであれば、教えていただきたいと思っております。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） お答えします。

先生の疑問はごもっともだろうと思っております。実はそこを機密情報として扱いたいので、こういう不明瞭な書き方をさせていただいたという事情があります。ぜひとも私のこれからの発言を遺伝子の名前とその機能だけではなくて、できれば基本となる考え方に関して、議事録をマスキングでお願いしたいのですけれども、よろしいでしょうか。

○児玉専門委員 事務局、それはどうでしょうか。

○山口係長 そのように対応させていただきます。

○中島座長 御心配なく。我々は守秘義務がかかっています。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） ●●●。

○中島座長 よろしいですか。

○児玉専門委員 はい。

○中島座長 ありがとうございます。勉強になりました。

それでは、18ページ、HPLCのプロトコルについて、先生、お願いします。

○川西委員 18ページの高速液クロでの不純物プロファイルの記述のところ、18ページの下3行目から4行目にかけて、これらRT19と25について、同じプロトコルを用いて別の装置で分析を行ったところ、再現することができなかったという、これは実際にはどうということなのか、再現することができなかったというのは、何が再現できなかったのか、そのあたりを教えてください。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） このセリンの開発の過程で、社内のいろいろな事情がございまして、弊社は、2つの工場がございまして。この春、片方の工場を閉鎖するに当たって、こちらのラボからこちらのラボに分析を移さなければいけないということをやっています。2つのラボで同じロットの分析をしています。片方のラボで分析したときのチャートと、新しいラボで分析したチャートで、ピークの数必ずしも一致しないのです。

○川西委員 それはピークの同定が同じようにできないという意味ですか。それとも、ピークの割合が結構ばらつくということか、あるいはピークが検出できないとか、具体的にそのあたりはどうなのでしょう。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） 別の新しいラボでやった場合、ピークの数が減りました。そのときに、何分と何分があるということなのですが、もとのラボの見かけ上、同じピークがあったときに、それは本当に同じ不純物なのですかということを、厳密な意味で比較するのは難しいと思うのです。

○川西委員 いずれにしても、クロマト上の閾値、0.05%よりは、以下だったということですね。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） そうです。

○川西委員 それから、もう一つ、ICHのQ3Aガイダンスは、1日当たり2グラム以上摂取したときは、0.03%以上です。薬ですから、投与を0.05%という選り分けがされていますけれども、セリンの場合、2グラムということはどうですか。ICHを当てはめることが妥当かどうかはともかくとして、それを当てはめるところのロジックとしてどうですか。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） ICHのガイドラインの2グラム以上の原薬で0.03ですか。

○川西委員 2グラム以上は0.03だと思います。以下は0.05%、それがピークの確認の閾値、それ以下は報告しなくていいことになっています。その数字です。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） そうですか。今、手元にありません。

○川西委員 わかりました。

そのクライテリアでいって、0.03になると、ちょっと事態は変わりますか。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） この分析計が0.05までしか計量できないという系でやっております。

○川西委員 ぎりぎりというところですね。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） はい。それはうちの医薬の管理上でも、0.03でやっておりませんので、本当に0.03でしょうか。

○川西委員 そうです。見ますか。

これに入っているファイルが間違っていたら、あれですけれども、ロジックの上ですから、医薬品とセリンの場合を同じに考える必要があるかどうかとか、いろいろ付加的な要素があるのだけれども、こちらが判断するとき、それだったらいいと言えたほうがいいと思って、聞いているわけなのです。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） それが仮に医薬のレベルが0.05だったとしたときに、こういう考えでいかがでしょうかという体裁で書かせていただいております。

○川西委員 わかりました。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかの先生方、どうぞ。

○児玉専門委員 念のための確認なのですが、お話しがあった2つのラボで分析したときに、数値が合わないというお話だったと思うのですが、機種とか、カラムなどは、全部同一の機種、同一のカラムということによろしいのでしょうか。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） カラムは同一で、機種は異なっております。

○児玉専門委員 機種は違うのですか。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） はい。

○児玉専門委員 そうすると、基本的に感度などは一緒ですか。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） そうですね。プロトコルは一緒にしておりますので、それ以外は一緒です。

もう一つ、補足的にコメントさせていただいてもよろしいでしょうか。同じラボを統合する前のもとのラボで、数カ月の間隔を置いて、同じロットを分析したデータもございまして、そのときもピークの数が減っております。分析者が同じかどうかということの確認はとれていないのですけれども、同じ装置、同じプロトコルを使って分析しております。

弊社の医薬としてのセリンの製造管理においては、問題ないレベルでのピークの変化ですので、社内上の管理は問題ないということになっております。考えられるのは、操作上の振れ、カラムの劣化等が影響している可能性があると考えております。

○中島座長 ありがとうございます。検出限界ぎりぎりの話ですからね。

先生方、ほかにございますか。どうぞ。

○池田評価情報分析官 先ほどの摂取量の話で、一応用途のところには、調味料用途ということで書かれているのですけれども、どの程度の使用量になるかということについては、何かお持ちですか。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） 手元には、セリンが調味料として使用される具体例の情報を持っておりませんが、実際には、ほとんど調味料としてのマーケットはないのではないかと考えています。ほとんど健康機能性の成分として用いられています。

○池田評価情報分析官 そうしましたら、逆にそういう成分だとすると、比較的量ははっきりしていると思うのですけれども、どの程度のものですか。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） 手元に正確な数字がないのですけれども、何グラムも摂取するようなものではないと思います。

○池田評価情報分析官 何ミリグラムということですか。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） はい。

○池田評価情報分析官 済みません。ありがとうございました。

○中島座長 その辺のデータについては、後ほどでいいので、わかる範囲で御提出いただけるとありがたいと思います。

あと、KY8227株は元株で、2008年にWSH株を開発して、それでセリン生産で審査として、2012年にBDS株で審査を通して、今回、SKG株という流れは、これを読んで一発でわからなくて、フローチャートで、この3つの株で、この遺伝子を入れて、こうとわかりやすく書いていただけるとありがたかったと思います。

先生方、ほかにございますか。

ありがとうございます。お疲れさまでした。

○協和発酵バイオ株式会社（森下氏） ありがとうございます。

（説明者退室）

○中島座長 審議に戻ろうと思います。

特にはございますでしょうか。

どうぞ。

○樋口専門委員 今の最後のところで、実際に何に使われて、どれぐらい摂取するのかということで、調味料としては、ほとんど使われていないというけれども、4ページのセリンの用途としては、調味料しか書いていなくて、摂取量がどのぐらいだと判断する材料になるのだとしたら、実際の現時点での主たる用途をちゃんと書いたほうがいいのではないかと思いますので、多分大昔にセリンを使い始めたときの文章そのままなのです。

○中島座長 多分今では飲料にも添加していると思いますので、飲料に添加するのは、これも調味料ということで、添加物で調味料というかどうかは別のけれども、割と甘いので、調味の目的で入れているものがあるはずなのですが、わかる範囲で資料を後ほど提出していただけるということなので、それでいいと思います。

○樋口専門委員 私も飲料のボトルなどにセリンが入っているのは見かけるので、そうだと思うのですがけれども、ただ、今は調味料ではなくて、健康ということをやっていたので、そこは実際に主な用途としてはどうなのでしょう。

○中島座長 どうなのでしょうね。

どうぞ。

○川西委員 ネットで調べたら、某社の快眠サポート用の機能性表示食品に、1本当たり3グラムのL-セリン、それ以外にも幾つかビタミンなどが入っているもので、ただ、1本当たり3グラムも入っているのはどうなのでしょう。

○中島座長 あれは割と甘いので、結構量を入れるのだと思います。

○川西委員 こういうことを考えると、悩ましくなってしまいます。

○中島座長 よろしいでしょうか。

そうではあっても、こういう品目について、添加物としての安全性については、問題ないようにも思うのですが、先生方、よろしいでしょうか。ありがとうございます。

それでは、評価書案の審議に入りたいと思います。お願いします。

○飯塚課長補佐 それでは、評価書案の説明をいたします。

資料①を御用意ください。

4ページになります。評価対象添加物の概要ですが、SKG株を利用して生産されたL-セリン、用途は調味料、申請者は協和発酵バイオ株式会社です。

本添加物は、*Escherichia coli*KY8227株を宿主として、平成24年に安全性評価を終了したBDS株に、L-セリンの生合成に関与する遺伝子の導入及び変異導入、プロモーター配列の挿入並びにL-セリンの代謝に関与する遺伝子の欠失を行って作製したSKG株を用いて生産されたL-セリンである。

L-セリンは、食品添加物としての使用が認められており、成分規格が食品添加物公定書に記載されております。

SKG株の宿主に由来する株は、ATCCにおいて、バイオセーフティーレベル1に分類されており、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。

なお、SKG株は、抗生物質耐性マーカー遺伝子を有しないと記載しております。

食品健康影響評価ですが、本添加物は、製造工程において、使用微生物及び副生成物が除去され、晶析により、結晶として高度に精製されており、食品添加物公定書の含有規格を満たしている。

2番ですが、本添加物の非有効成分について、最終製品において、タンパク質は検出限界（1μg/g）未満である。食品添加物公定書規格の成分規格を満たしている。

アミノ酸分析、HPLC法及び光学異性体測定法による分析の結果、HPLC法において、分析における比較対照として用いた現行製品（3ロット）及び現行製品の過去ロット中には、検出されない2つの不純物ピークが観察された。しかしながら、機器を変えて行った分析では、観察されず、これらは定量限界未満であることから、安全性に懸念をもたらす量ではないと考えられた。

以上、(1) から (3) の結果から、従来品と比較して、既存の非有効成分の含有量が安全上、問題となる程度に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。

3番、以上、1及び2の結果から、本添加物については「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」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」に基づき、安全性が確認されたと判断した。

したがって、本添加物については「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」による評価は必要ないと判断した。

以上でございます。

○池田評価情報分析官 1点、よろしいですか。先ほど御議論がありました点、つまり食品添加物の製造経験のある安全な宿主を使っているとか、製造の流れが既存のものともあまり変わらないというようなども評価の際に考慮していることがわかるようにした方がよいでしょうか。

○中島座長 今、それを私から申し上げようと思ったのですが、その情報をここに入れるか、それとも、なお書きで入れるか、別に添付するか、そういった方法で厚生労働省にこちらの議論の結果を伝えるようにしていただきたいのですが、やり方としては、この評価書になお書きの形で入れるのがよろしいのでしょうか。

事務局的には、いかがなのでしょう。

○池田評価情報分析官 今回、その条件も加わって、判断がされているということだと思うので、できればそれがわかるように、評価書の中のどこかに入っていたほうが良いと思

っております。なお書きということでもよろしければ、そのようにします。

○中島座長 それでよろしいですね。

その辺は、後で確認させていただこうかと思いますが、宿主の安全性で我々の審査の経緯があることと、製造工程、未同定であっても、レベルとしては、先ほどの国際医薬品のこのレベルに準じて考えるくらいの言い方でいいと思うのですけれども、直接そのままストレートに適用するかどうかはともかく、その基準を参考にして考えるということでは、大体意見は一致していたと思いますので、そのくらいの情報を書き加えていただければと思います。

案については、後ほど我々に見せていただけますでしょうか。それを踏まえた上で、この評価書についてはいいと思います。

それ以外の部分について、評価書案に先生方の御意見はございますでしょうか。よろしいですか。

それでは、食品安全委員会に報告して、パブリックコメントの手続に入りたいと思います。それから、なお書きというか、プラスの部分については、我々で見させていただければと思います。ありがとうございました。

それでは、ちょうどあと1時間ですので、頑張って、除草剤グルホシネート耐性及び雄性不稔セイヨウナタネMS11の審議に入りたいと思います。

事務局から、早速、お願いします。

○山口係長 それでは、説明させていただきます。

本日は、申請者のBASFジャパン株式会社の方をお呼びしておりますので、先ほどと同様に、申請書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れば、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。

それでは、除草剤グルホシネート耐性及び雄性不稔セイヨウナタネMS11の安全性評価（食品）と記載されております、黄色の紙ファイルの御用意をお願いいたします。

1ページをお願いいたします。第1の1でございます。（1）宿主ですが、アブラナ科、アブラナ属に属するセイヨウナタネの商業品種N90-740でございます。

（2）DNAの供与体ですが、MS11には、放線菌の*Streptomyces hygroscopicus*由来の*bar*遺伝子を改変した改変*bar*遺伝子、そして、土壌細菌*Bacillus amyloliquefaciens*由来の*barnase*遺伝子を改変した改変*barnase*遺伝子及び*barstar*遺伝子が導入されております。

（3）挿入DNAの性質等ですが、改変*bar*遺伝子産物でありますホスフィノスリシン・アセチル基転移酵素、申請書では、以降を改変PATタンパク質と記載しております。こちらは、除草剤グルホシネート耐性を付与します。

また、改変*barnase*遺伝子は、薬特異のプロモーターPta29の支配下で、薬のタペート細胞において、リボヌクレアーゼであるBARNASEタンパク質を発現し、薬形成時にタペー

ト細胞において、RNAを分解することにより、花粉形成を阻害し、雄性不稔形質を付与いたします。

*barstar*遺伝子でございますが、こちらはBARNASEタンパク質の細胞内阻害物質であるBARSTARタンパク質をコードしまして、MS11においては、稔性回復の目的ではなく、アグロバクテリウム法による形質転換効率を上げるために導入されております。

2番でございます。宿主の食経験でございます。セイヨウナタネの種子には、ヒトやその他の動物にとって有害物質であるエルシン酸や、グルコシノレートを含むため、食用や飼料としては不向きであると考えられていました。しかし、カナダにおける品種改良により、低エルシン酸かつ低グルコシノレートのカノーラ品種が育成されたことから、現在では、これが広く利用されております。

なお、MS11の宿主でありますN90-740も、カノーラ品種でございます。

3から5については、記載のとおりでございます。

3ページの下をお願いいたします。6、検討が必要とされる相違点でございますが、MS11には、改変*bar*遺伝子産物であります改変PATタンパク質により、除草剤グルホシネート耐性が付与されている点、改変*barnase*遺伝子産物である改変BARNASEタンパク質により、雄性不稔形質が付与されている点を除きましては、MS11は、従来のセイヨウナタネとの相違はなく、食品としての利用方法にも相違はございません。

また、アグロバクテリウム法による形質転換効率を上げるために、*barstar*遺伝子が組み込まれておりますが、この遺伝子産物のBARSTARタンパク質は、MS11中では、従来のセイヨウナタネとの間に相違をもたらすような形質は、発現していないと考えられております。

以上から、MS11の安全性評価においては、比較対象となり得るのは、既存のセイヨウナタネであると判断したとしております。

5ページをお願いいたします。第2といたしまして、利用目的及び利用方法に関する事項です。MS11は、改変PATタンパク質により、除草剤グルホシネートを散布されても、その影響を受けずに生育することができ、農作物への付着を避けるための措置を講ずることなく、除草剤グルホシネートを散布することができることから、効率的な雑草防除が可能になります。

また、雄性不稔形質を持つMS11では、*barstar*遺伝子を有する稔性回復性遺伝子組み換えセイヨウナタネを花粉親として交配させることにより、確実にF1種子を得ることができ、そのF1個体では、稔性回復性遺伝子組み換えセイヨウナタネ由来のBARSTARタンパク質が発現することで、改変BARNASEタンパク質の作用を抑制して、稔性を回復させるため、自家受粉で高収量の種子生産が可能となります。

なお、食品としての利用目的や利用方法に関しては、従来のセイヨウナタネとの相違はございません。

6ページに移りまして、第3、宿主に関する事項ですが、1及び2については、記載のとおり

りです。

3といたしまして、有害生理活性物質ですが、セイヨウナタネの有害生理活性物質としては、エルシン酸、グルコシノレート、フィチン酸、シナピン、タンニンが知られております。

7ページをお願いします。4、アレルギー誘発性についてですが、ヒトが摂取するセイヨウナタネ由来の食品は、カノーラ品質の菜種油のみであり、カノーラ油がアレルギー誘発性を持つという報告はございません。

5から7については、記載のとおりです。

8ページ、第4、ベクターに関する事項です。2の(4)でございますが、ベクター中の薬剤耐性遺伝子の有無ですが、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*遺伝子が存在しており、導入プラスミド構築の際の選抜マーカーとして用いられております。

この*aadA*遺伝子は、T-DNA領域外に存在しており、MS11のゲノム中に挿入されていないことが、サザンブロット分析により、確認されております。

(5) 伝達性についてですが、記載のとおりです。

9ページをお願いいたします。第5、挿入DNA、発現ベクター等の項目でございます。1の(1)挿入DNAの供与体でございますが、*bar*遺伝子は放線菌 *Streptomyces hygroscopicus* から単離されております。

また、*barnase*遺伝子及び*barstar*遺伝子ですが、土壌細菌の *Bacillus amyloliquefaciens* から単離されております。

(2) 安全性です。 *S. hygroscopicus* ですが、幅広く知られた放線菌で、土壌及び水中などの存在しており、これまでにヒトは、根菜やその他の野菜を生食する際に、直接食している経験がございます。また、ヒト及び家畜等に対する病原体としては、知られておりません。

改変 *barnase* 遺伝子及び *barstar* 遺伝子の供与体、 *B. amyloliquefaciens* ですが、こちらはよく知られた土壌細菌で、自然環境下で広く存在しております。食品としては、納豆を初めとした発酵食品に利用され、ヒト、家畜等に対する病原体としては、知られておりません。

2の(1)クローニング方法等でございます。 *bar* 遺伝子は、 *S. hygroscopicus* からクローニングされたPATタンパク質をコードする遺伝子でございますが、改変 *bar* 遺伝子は、野生型 *bar* 遺伝子のコドンをもとに植物における発現に適すように、最適化して、人工的に合成しております。N-末端のメチオニンに続くセリンは、アスパラギン酸に置換されているということです。

barnase 遺伝子は、 *B. amyloliquefaciens* からクローニングされたBARNASEタンパク質をコードする遺伝子で、改変 *barnase* 遺伝子は、野生型 *barnase* 遺伝子のコドンをもとに植物における発現に適すように、最適化して、人工的に合成しております。N-末端のメチオニンに

続くアラニンとグルタミンは、それぞれバリンとプロリンに置換されております。

*barstar*遺伝子ですが、*B. amyloliquefaciens*からクローニングされたBARSTARタンパク質をコードする遺伝子です。

10ページに行きまして、(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ございます。①改変*bar*遺伝子の機能ですが、植物は、窒素代謝の過程で、アンモニアを生成します。生成されたアンモニアの無毒化には、グルタミン合成酵素が中心的役割を果たしておりますが、除草剤グルホシネートを散布すると、グルタミン合成酵素が阻害されて、アンモニアが無毒化されず、蓄積し、作物は枯死します。

改変*bar*遺伝子産物である改変PATタンパク質は、グルホシネートをアセチル化して、*N*-アセチルグルホシネートとし、グルホシネートのグルタミン合成酵素に対する阻害作用を不活化することで、アンモニアは蓄積されず、除草剤グルホシネートを散布しても、植物は成育することができるとされております。

なお、この改変PATタンパク質の既知の毒性タンパク質の構造相同性については、検索の結果、相同性は認められなかったということです。

③改変*barnase*遺伝子の機能ですが、*barnase*遺伝子産物であるBARNASEタンパク質は、RNAを内部から分解するエンドリボヌクレアーゼでございます。

花粉形成は、葯内で起こる高度に制御されたプロセスであり、葯組織の1つであるタペート細胞は、花粉形成時及びその後の花粉発育のために、栄養供給を行う重要な役割を果たしております。

この改変*barnase*遺伝子ですが、葯特異的プロモーターPta29の支配下で、タペート細胞において、一本鎖RNA分子を加水分解する、リボヌクレアーゼである改変BARNASEタンパク質を発現し、それによりタペート細胞内のRNAが分解され、細胞が破壊され、花粉形成を阻害するとされております。

なお、この改変BARNASEタンパク質について、構造相同性についての検索をした結果、相同性は認められなかったということです。

最後に、⑤*barstar*遺伝子でございます。*barstar*遺伝子産物であるBARSTARタンパク質は、BARNASEタンパク質の阻害物質で、1対1で特異的に非共有結合し、BARNASEタンパク質のリボヌクレアーゼ活性を阻害します。MS11においては、形質転換による挿入部位の位置効果などにより、形質転換体において、改変BARNASEタンパク質が約組織以外の細胞で非意図的に発現して、細胞内のRNAを加水分解する可能性を想定し、このような場合に、その活性を抑えるために、*barstar*遺伝子がT-DNAに組み込まれ、この結果として、形質転換体が効率よく得られております。

なお、BARSTARタンパク質の既知の毒性タンパク質との相同性ですが、そのようなものは認められなかったということです。

12ページに行きまして、(4)については、記載のとおりでございます。

3の(1)プロモーターに関する事項ですが、改変*bar*遺伝子のプロモーターには、シロイヌナズナ由来のRubisco小サブユニット遺伝子のPssuAtプロモーターを用いております。

改変*barnase*遺伝子のプロモーターには、たばこに由来する葯特異的遺伝子TA29のプロモーターPta29を用いており、葯のタペート細胞において、特異的に遺伝子を発現させます。

*barstar*遺伝子のプロモーターには、アグロバクテリウムに由来するノパリン合成酵素のプロモーター領域であるPnosプロモーターを用いており、これは非常に低いプロモーター活性を示します。

(2) (3) (4) から5の(1)については、記載のとおりでございます。

少し飛びまして、16ページをお願いいたします。(2)でございますが、導入用プラスミドの塩基配列は、全て明らかにされており、MS11に挿入されたDNAのORF解析を行った結果、検出されたORFにアレルゲンや毒性タンパク質等の目的以外のタンパク質を発現するORFは、含まれていないと考えられるということでございます。このことは、後ほど第6でも御説明いたします。

(3) 意図する挿入領域ですが、導入用プラスミドのRBからLBまでのT-DNA領域です。

(4) 抗生物質マーカーによる選抜及び純化が行われ、塩基配列に目的外の遺伝子が混入していないことは、シーケンス解析により、確認されております。

6、DNAの宿主への導入方法及び交配に関する事項です。宿主品種N90-740の種子を発芽用培地で発芽させた後、実生から胚軸部分を切除し、MS培地で培養して得た胚発生カルスを、導入用プラスミドを保持する*R. radiobacter* C58C1^{Rif}株の培養液に暴露し、共存培養により、形質転換を行っております。形質転換されたカルスは、グルホシネートアンモニウムを含む培地で選別を行い、グルホシネート耐性カルスから再生した植物体を、MS11 (T0世代) としております。形質転換体であるT0組み換え当代は、不稔であることから、宿主品種N90-740との交配により、形質転換体を維持しております。

なお、本申請の対象については、次の17ページの図5.2にありますが、このうちT2世代及びその後代ということでございます。

18ページからは、第6でございます。組み換え体に関する事項です。1の(1) コピー数でございますが、まずコピー数については、30ページまで、その結果ですとか、考察が記載されております。

18ページの説明をいたしますと、導入されたDNAの構造とコピー数を明らかにするために、サザンブロット分析を行っております。

その結果ですが、複数の制限酵素とプローブの組み合わせ並びに検出されたバンドの数から、T-DNA領域が1コピー挿入されていることが確認されております。

また、MS11に挿入されたDNAの塩基配列及び近傍配列について、シーケンス解析を行った結果、MS11に挿入されたDNAの塩基配列は、導入用プラスミド上のT-DNA領域と完全に一致することが確認されたということです。

少し飛びまして、31ページをお願いいたします。T-DNA領域外プラスミド配列の有無の確認ということですが、MS11において、導入用プラスミドのT-DNA領域外のプラスミド配列が存在する可能性について、サザンブロット分析を行っております。

MS11及び宿主の葉から抽出したゲノムDNAを制限酵素で切断し、プラスミドT-DNA領域配列を網羅するように設計したプローブを用いて、ハイブリダイズした結果、T-DNA領域をプローブとする場合に予測されるバンドパターンを示す一方、T-DNA領域外配列を標的とするプローブとのハイブリダイズは、認められなかったということです。

また、MS11において、T-DNA領域外に位置する*barstar*遺伝子が存在する可能性については、*barstar*遺伝子配列を標的とするプローブとのハイブリダイズの結果、T-DNA領域内に位置する*barstar*遺伝子のハイブリダイズは認められましたが、T-DNA領域外に位置する*barstar*遺伝子とのハイブリダイズは、認められなかったということです。

以上から、MS11にT-DNA領域外プラスミド配列は、挿入されていないことが確認されたとしております。

少し飛びまして、43ページをお願いいたします。43ページからは、近傍配列の解析を行っております。シーケンス解析によりまして、MS11における挿入DNAの5'側の近傍配列及び3'側の近傍配列と、宿主における挿入部位の配列を比較した結果、挿入箇所の40 bpの欠失を除き、5'側近傍配列、3'側近傍配列は、宿主と一致することが確認されております。

宿主にT-DNAの配列が挿入されることによる内在性遺伝子への検討を行っております。5'近傍配列、40 bpの欠失部位、そして、3'側近傍配列を含む2,471 bpについて、データベースに対する相同性検索を行いました。

その結果ですが、既知のヌクレオチドEST及びタンパク質の配列との相同性が確認されたということですが、いずれの配列も5'近傍配列、3'近傍配列にはまたがっておらず、これらの配列は、T-DNA配列の挿入により、中断されていないことが示されたとしております。よって、挿入DNAの導入により、内在性遺伝子が影響を受けた可能性は低いと考えられるとしております。

45ページをお願いいたします。(2) ORFの有無についてでございますが、MS11の挿入DNA配列及び両近傍配列の接合部に対して、ORFの検索を行っております。

検索の結果、30アミノ酸以上の長さのものは、107個検出されておまして、連続する80アミノ酸の読み枠をスライドさせた包括的相同性検索を行った結果、データベースに登録されている既知のアレルゲンと一致する配列は、認められなかったということです。

さらに連続する8アミノ酸の読み枠をスライドさせて、エピトープ検索を行った結果、こちらも一致する配列は、認められなかったということです。

既知の毒性たんぱく質との相同性検索ですが、いずれのORFについても、既知の相同性は、認められなかったということです。

以上から、MS11において、遺伝子導入により、意図しないORFが形成されるとしても、

それによって、アレルゲンや毒性タンパク質が発現する可能性は、極めて低いと考えられるとしております。

46ページ、遺伝子産物の発現部位、発現時期、発現量等に関する事項ですが、各組織における発現量は、表6.4にまとめられているとおりでございます。

47ページに移りまして、MS11における改変*barnase*遺伝子の発現について、ノーザンブロット分析を行った結果、蓄を含めた全ての組織において、改変*barnase*遺伝子産物は、検出されなかったということでございます。

3については、記載のとおりでございます。

45ページの4でございますが、(1) (2)については、記載のとおりです。

(3)からは、物理化学的処理の試験を行っております。人工胃腸液ですとか、加熱処理について、それぞれの3つのタンパク質について、分析の結果が記載されております。

49ページからですが、改変PATタンパク質の人工胃液の結果です。SDS-PAGEの分析の結果ですが、反応開始0.5分でバンドは消失したということでございます。

ウェスタンブロットの結果ですが、反応開始0.5分でわずかに認められたが、その後の全ての処理時間において、バンドは消失したとしており、以上の結果から、申請書によれば、改変PATタンパク質は、人工胃液中で0.5分以内にそのほとんどが分解されることが確認されたとしております。

51ページのウェスタンを見る限りは、ほとんどと書かれているのですが、レーン5の0.5分のところには残っていて、レーン6では、完全に消失しているように読めると思います。

人工腸液ですが、こちらのSDS-PAGEの分析の結果は、反応直後にバンドは焼失したということです。

ウェスタンブロットにおいても、0.5分でこちらもバンドが見えなくなったということでございます。

以上から、改変PATタンパク質は、人工腸液中では、0.5分以内にそのほとんどが分解されることが確認されたとしております。

55ページをお願いいたします。最後に、加熱処理でございますが、表6.5では、タンパク質の加熱処理に対する感受性ということで、表6.6では、酵素活性に対する影響を見ております。

これらの結果から、55度以上の熱に不安定で、失活することが示されたとしております。

56ページからは、改変BARNASEタンパク質です。人工胃液でございますが、こちらはSDS-PAGE、ウェスタンブロットの結果で、反応開始0.5分以内にそのほとんどが分解されるということが確認されております。

人工腸液が59ページからです。SDS-PAGE、ウェスタンの分析のいずれにおいても、バンドは消失せず、したがって、人工腸液中では、ゆっくりと消化され、60分の処理においても、完全に分解されないとしております。

62ページをお願いいたします。ここからが加熱処理です。Aが熱処理による影響という

ことで、相対濃度を調べております。37℃までは一定ですが、55℃から下がっております。

表6.8では、酵素活性ですが、こちらは55℃以上から酵素活性が下がるという結果になっており、これらのことから、55℃以上の熱に不安定で、酵素活性も低下していくと記載しております。

63ページ、こちらはBARSTARタンパク質でございます。まず人工胃液の結果ですが、SDS-PAGE、ウェスタンの結果、反応開始0.5分以内にほとんどが分解されることが確認されたとしております。

66ページからは、人工腸液です。SDS-PAGEでは、全ての処理時間でバンドが確認されたとしております。

ウェスタンブロットの分析ですが、反応開始30分後までは、時間の経過とともにバンドが薄くなっております。

申請者の結論としては、66ページの下2行になりますが、10分の処理においては、90%以上消化されることが示されたとしております。

69ページをお願いいたします。加熱処理でございますが、まず表6.9では、BARSTARタンパク質の相対濃度を示してありまして、55℃までは一定ですが、75℃以上から減少しております。

表6.10では、酵素活性を調べてありまして、こちらは加熱処理後のBARSTARタンパク質に対して、改変BARNASEタンパク質を滴定し、残ったBARNASEタンパク質の酵素活性を測定することで、BARSTARタンパク質の活性のIC₅₀を算出してあります。

結果ですが、55℃までは一定でしたが、75℃以上でIC₅₀が上昇しております。95℃では、改変BARNASEタンパク質の阻害物質としての活性が失われることが示唆されたとしており、これらのことから、75℃以上の熱に不安定で、酵素活性が低下していることが確認されたとしております。

70ページをお願いいたします。既知のアレルゲンとの構造相同性です。

3つのタンパク質について、まずアレルゲンデータベースを用いた相同性検索を行っております。連続する80アミノ酸以上で35%以上一致する配列、そして、連続する8アミノ酸が100%一致する配列は認められず、したがって、アレルギー誘発性を示す可能性は低いと記載しております。

71ページをお願いいたします。遺伝子の安定性に関する事項です。MS11の5世代を用いまして、葉から抽出したゲノムDNAを制限酵素で切断し、T-DNA領域をプローブとして、サザンブロット分析を行った結果、全ての世代において、予測されたサイズの断片が確認され、MS11に導入された遺伝子は、世代間において、安定して伝達されることが確認されております。

少し飛びまして、75ページをお願いいたします。6、代謝経路への影響でございます。まず改変PATタンパク質ですが、PATタンパク質は、L-グルホシネートをアセチル化することで、植物に対して毒性のないN-アセチル-L-グルホシネートへと代謝する酵素でございます。

ます。

PATタンパク質は、L-アミノ酸で分類されるグルホシネートに高い親和性を示すものの、特に構造が類似しているグルタミン酸にも、親和性はほとんどないということです。

また、過剰の各種アミノ酸の存在下においても、PATタンパク質によるL-グルホシネートへのアセチル基転移反応が阻害されることはなく、PATタンパク質は、生体内に存在するL-アミノ酸を基質として、アセチル基転移を行うことはないと考えられるということです。

これらのことから、改変PATタンパク質は、非常に高い基質特異性を有し、L-グルホシネート以外にMS11中で基質となる物質は考えられず、セイヨウナタネが持っている本来の代謝経路に影響を与える可能性は、極めて低いと考えられるということです。

改変BARNASEタンパク質ですが、MS11において、改変*barnase*遺伝子は、薬特異的プロモーターPta29の支配下にあり、その発現は、タペート細胞内でのみ確認されており、ほかの組織で発現し、RNAを分解することは考えがたいということです。

なお、改変BARNASEタンパク質の発現量は、全ての組織において、検出限界以下というものでした。よって、改変BARNASEタンパク質は、宿主の持つほかの代謝経路へ影響を及ぼす可能性は低いと考えられるとしております。

最後に、BARSTARタンパク質ですが、こちらはBARNASEタンパク質と1対1で、非特異的に非共有結合をいたします。植物中のリボヌクレアーゼに対するBARSTARタンパク質の阻害作用は報告されておらず、ヒト、または動物のリボヌクレアーゼとは結合しないことも報告されております。

MS11においては、*barstar*遺伝子を制御するPnosプロモーターの誘導は弱いため、BARSTARタンパク質の発現は微量であり、MS11の稔性を回復する程度ではないことが、表現型で確認されております。

これらのことより、BARSTARタンパク質は、宿主の持つ代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられるとしております。

76ページ、宿主との差異でございますが、構成成分との差異を見るために分析を行っております。結果は85ページまで続きますが、分析した項目は、77ページにあるとおりです。

各項目の分析の結果は、78ページ、79ページにまとめられておりますが、本申請品目と比較対照とした菜種との間では、統計学的有意差はないか、有意差が認められたとしても、商業品種の許容区間内であったことから、従来品種の変動の範囲内であるとしております。

少し飛びまして、86ページをお願いいたします。諸外国における認可の状況ですが、米国においては、FDAへ食品及び飼料としての安全性確認審査の申請を行い、2017年10月に承認を得ております。

カナダにおいては、カナダ保健省に対しまして、食品としての安全性審査の申請、食品検査庁に対して、飼料と環境の安全性審査の申請を行い、2018年1月に承認を得ております。

FSANZに対しては、食品に係る安全性審査の申請を行い、2017年12月に承認を得ております。

9、栽培方法については、記載のとおりです。

10、種子の管理方法ですが、10の2行目にある「自殖あるいは」というところなのですが、恐らくここは雄性不稔であるために、自殖できないことから、ここは間違いだと事務局のほうで考えておりました、その部分が必要であれば、申請者に削除するように伝えたいと考えております。

87ページ、第7については、記載のとおりでございます。

要旨の説明は、以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして、先生方から御意見をいただきたいと思っております。

8ページ、ベクターに関する事項まででございます。

どうぞ。

○樋口専門委員 5ページの2段落目の下から2行目あたりなのですが、MS11というのは、これそのものは当然不稔なので、商品化する予定はなくて、何かとかけ合わせてできたF1を商品化する予定であるとなっていますが、その相方の稔性回復性遺伝子組み換えセイヨウナタネ、こちらはここで既に申請済みの具体的な何かものがあるのか、それとも、それはこれからなのか、ちょっと気になったのです。

○中島座長 どうぞ。

○山口係長 確実なことはわからないのですが、2ページをごらんください。8行目からの「なお」からで始まるところで、これまで安全性審査を経たものが書かれているのですが、この文章の一番最後に、除草剤グルホシネート耐性及び稔性回復性セイヨウナタネRF3というのがあるので、もしかしたら、申請者としては、これとの交配を考えて、商品化していると考えられます。

○樋口専門委員 今、おっしゃったものは、既にここに通っているのでしょうか。

○山口係長 2001年に審査済みのものようです。

○樋口専門委員 わかりました。

○松井技術参与 ちなみに、ここに書いてありますMS8も、RF3と同じで2001年に厚労省の審査を通過しています。

○中島座長 よろしいですか。

○樋口専門委員 はい。

○中島座長 これは2ページのところにもあるのですが、*barstar*遺伝子か、*BARNASE*の雄性不稔の回復の目的ではなくて、ただ単に形質転換効率の向上のためと書いてあって、本当にそうなのか、もしかすると、思惑と違ったけれども、こういうふうに書いただけなのか。実際にこれで効率が向上するとか、そういう根拠の論文はないみたいなのですが、だからといって、挿入遺伝子の安全性からするデータはそろっているのです

が、これ自体に問題はないでしょうか。

小関先生、いかにお考えになりますか。

○小関専門委員 正直に言って、懐かしいと思うのです。MS11は、最初に議題で見た瞬間に、すぐMS8とRF3は、昔にやったことを思い出して、今ごろになってまだやっているのだということが、正直な気持ちなのです。何かしらあったのかもしれないのですけれども、そこまでは私もわからないのです。

○中島座長 安全性についてだけ見れば、今回はいいということなので、その点がよろしければね。

○小関専門委員 結局、片親ずつ見て、片親ずつでオーケーであればいいですというルールを踏んでいるので、ですから、既に認められているRF3に11をかけたものは、11がオーケーであれば、RF3はオーケーなので、後代したF1も大丈夫ですという考え方でいく形になると思います。

○中島座長 よろしいですか。

どうぞ。

○樋口専門委員 そうしますと、実際につくったF1を商品にするときには、改めてここに出てくるということなのでしょうか。

○小関専門委員 それは出てきません。今のお話ししたところのポイントになるのですけれども、後代品種は、親と親がよければ、かけたものは、安全性の上では問題がないということが大前提なのです。

○樋口専門委員 なるほど。

ただ、遺伝子組換え作物としては、ほかのところに出るわけですね。遺伝子組換え作物同士を掛け合わせてできたF1は、遺伝子組換えですか。

○小関専門委員 食品の安全性のルールの上で、掛け合わせたF1が申請物であるかという見方とは違う、食品としての見方でいっていますので、そのところを混乱されると、非常にややこしいことになってしまいます。

○樋口専門委員 それはもう言う必要は全くないということなのですね。F1が遺伝子組換えですということを言わずに売っていいということですか。

○小関専門委員 それはここに来る前の厚生労働省時代に、既にそういうものを随分やった経験があって、こちらに来て、後代交配品種に出る考え方という格好でまとめられてきたのが、これまでの経緯です。

○樋口専門委員 なるほど。わかりました。

○池田評価情報分析官 今の御説明のとおりなのですから、掛け合わせたものもGM扱いではありません。

○樋口専門委員 それはそうですね。GMではないというわけではないですね。

○池田評価情報分析官 はい。

○小関専門委員 違いますね。

○樋口専門委員 私が気にしたのは、ここでやる必要がなくても、どこかではそれが売りに出される時には、GMとして届け出がどこかにされるということですか。

○小関専門委員 そうです。

○池田評価情報分析官 届け出自体は、厚生労働省が受けると思います。

○樋口専門委員 わかりました。

○中島座長 改めて安全性審査はしないというだけで、植物の場合、そういうルールが出ないと多分回らないと思うので、そういうことになったのだと思うのです。

○樋口専門委員 理解しました。

○中島座長 ほかに発現ベクターを含めまして、17ページまでを含めまして、ございましたら、お願いいたします。どうぞ。

○樋口専門委員 17ページの育成図とその前の16ページの最後のところに関連する記述なのですけれども、16ページの最後のところにある「得られた後代は実質的に自殖と同等であるため」というのが、非常にわかりにくい表現だと思って、もちろん葯ができないわけで、そこに無理やり何かの花粉をかけてということを行っているのはわかるのですけれども、育成図でN90-740をかけたり、Ebonyをかけたり、2種類のフローがあって、一体これは何を自殖させたことと同等だと言いたいのかというのが読み取れない文章になって、もちろん安全性には全く関係がないところだと思うのですけれども、どこを申請対象としているところを主張している大事なところなので、ここはちゃんと何を言っているのかがわかるような書き方にしてほしいと思ったのです。

○小関専門委員 先生のおっしゃるとおりで、厚生省時代から、フローの図でどこからしたらいいかということは、いつもすごく問題になってきて、はっきり言うと、先ほど事務局で述べられているときにおっしゃられたとおりで、種子の保存方法のところ「自殖」と書いてあって、これは間違いだということだったのですが、とんでもない考え違いというか、書き方が間違っているので、ここは訂正してもらうことが正しいと思います。

○中島座長 私も自殖に非常に違和感があって、これについては、申請者に申し入れて、適切な表現に直すように、はっきり伝えていただきたいと思うのです。

○飯塚課長補佐 文章を読みますと、一連のことがわかると思うのですが、要は「宿主品種N90-740との交配により形質転換体を維持した」となっていて「得られた後代は」なので、一応Tの縦の線のことを言っていると思うのですが、具体的にT1とか、T2などを入れれば、わかりやすくなるのかもしれませんが。

○樋口専門委員 そうすると、Ebonyのほうは何なのだということにもなると思うのですけれども、Ebonyとのかけ合わせは、文章中に出てこないのです。

○飯塚課長補佐 そうですね。

○樋口専門委員 でも、ここに出しているということは、申請の範囲内にEbonyと交配させて、Ebonyとバッククロスしたものも、申請の範囲内に入れたいから、ここに書いているのですか。

○飯塚課長補佐 一番最後の「その後代である」でまとめられてしまっているだけだと思うのです。

○松井技術参与 事務局が事前に実質的に自殖と同等というのが意味不明なので、質問しているのですが、その答えを一応読み上げますが、事務局としては、よくわからなかったというのが事実です。

MS11は、不稔であり、自殖によるT系統の維持はできないため、遺伝的形質が遺伝子導入をしていないMS11と同一である宿主N90-740系統を用いて、形質転換体を維持しています。そのため、このような表現にしましたという答えです。

○中島座長 今の説明で、何をやったかはわかるのだけれども、だからといって、その前の文章の自殖のところ、その記述が正しいとは思えないので、その説明で通るように、文章を書き直すようお願いいただければと思います。

○小関専門委員 先生のおっしゃるとおりです。先ほどのゲノム編集のところに出てきたような、似たような話があったのですけれども、考え違いをしている人達は結構いまして、例えば私がやっている植物ですと、Aゲノム、Bゲノム、Cゲノムのプールがあって、それが同じ元品種なのですけれども、A、Bで持っているものがB、Cで持っているもの、A、Cで持っているものが1品種でずっと自殖されているという言い方をするので。

そうしたときに、例えば組換えで出てきた当代とは何かというと、実はA、Bゲノムで持っているもので、1個体から出てきます。そうしたときに、Cは入ってこないという形になるということで、すなわち、ここでバッククロスをかけるということは何かというと、A、B、Cに戻しているということ、もう一度、勉強してくださいと言うしか手がないと思います。

○中島座長 申請者にできるだけニュアンスが伝わるようにお伝えいただければと思います。

今日の時間設定では、できればこの件が片づくといいと思うのです。45ページ、組み換え体に関する事項まで含めてございましたら、お願いします。

46ページから70ページまで、アレルギーに関することがございまして、先ほどの事務局からの説明の中でもいろいろございましたが、人工胃液、人工腸液で、何分で溶けたかの申請者の記述が少々甘いように思いました、30秒ではなくて、2分だろうという箇所が、何か所か散見されるように思います。

手島先生、この点はいかがですか。

○手島専門委員 私は正確に覚えていないのですけれども、初めてこの遺伝子を植物に導入したのではなくて、既にこれはほかの植物に入っているものです。その場合には、あえて同じデータを出さなくてもいいと思います。

○中島座長 でも、出てきている以上は、我々としても評価しないといけないと思います。これがなかったら、それはオーケーできるかということ、それはちょっと違う気がします。

○手島専門委員 はい。

○中島座長 例えば59ページの図6.9で、確かにレーン5にもバンド痕が見えているように思えますので、30秒で消えていると本文では言っているけれども、これは2分ではないかと思うのですが、そういう箇所は、何か所かあって、私の申し上げる申請者は少々甘いのではないかというのは、この点なのですけれども、その点については、手島先生、いかがですか。

○手島専門委員 確かにそうです。51ページのウェスタンで見ると、残っているところがあるので、それは正確に書いていただいたほうがいいと思います。

○中島座長 これはこれで、少なくとも評価書では、これを反映した書き方にして、それとも、この場合、評価書にもそうではなくて、何分だろうと指摘して、書き直しを要求するのですか。

○山口係長 申請者にその部分を直してもらって、その上で評価書をそれにあわせて、作成したいと思います。

○中島座長 そうすると、51ページ、54ページのものも、たしかレーン4までで、5でも見えていると思いますし、その点、何か所かあります。どうぞ。

○小関専門委員 済みません。私どもの責任かもしれないのです。厚生労働省時代にもう使ったデータなのか、それとも、カビが生えているデータかもしれないのです。そのときに、ひょっとして、時間のことをコピーしているのかもしれないし、データは写真があれだったので、古くなって使えなかったのもう一回、データを取り直して、そうしたら、記述だけは昔のままだったのかもしれないけれども、とりあえずこれにあったように、過去のことは忘れて書いてくださいと言うのが正しいと思います。

○中島座長 そういうふうに対応したいと思いますので、私のほうでは言いますけれども、事務局でもここで何分で消えているのはおかしいと思うこと、何か所かあったと思いますので、そこを指摘して、書き直してもらいます。それで、どことどこを指摘したのか、教えていただいて、私も一応チェックしておりますので、それで対応したいと思います。

先生方、それでよろしいですか。余りつつかないようにと思うのです。どうぞ。

○橋田専門委員 念のためですけれども、51ページに関しては、30秒でわずかに認められたがという記述があると思うので、ここについては、そのままよろしいと思います。

○中島座長 ありがとうございます。

そういうところもあわせて、精査します。この場でいちいち全部やるかというところ、そこは後ほどということで、お預けいただけますか。

○橋田専門委員 はい。

○中島座長 最後の86ページまで含めてございましたら、お願いしたいと思います。

どうぞ。

○飯島専門委員 ちょっと気になっていたのですけれども、グルホシネートをアセチル化したそのアセチル化体というのは、この植物というのか、これに残っているのですか。

○中島座長 何ページですか。

○飯島専門委員 75ページ、または、ちょっと前に戻って申しわけないのですけれども、10ページのほうがいいのかもしいのですが、(3)の①の第2段落で「改変 *bar* 遺伝子産物である改変PATタンパク質は、グルホシネートをアセチル化して *N*-アセチルグルホシネートとし、グルホシネートのグルタミン合成酵素に対する阻害作用を不活化する」と書いてあるのですけれども、この *N*-アセチル体が蓄積していると思われるのですが、それは天然にはない物質が蓄積されると考えられて、それはいいのかというのは、疑問に思ったのです。

○中島座長 改変PATタンパク質を導入された遺伝子組換え作物は、これが初めてではなくて、何十件もあって、最初に改変PATが来たときに、その点については、細かい点も審議して、通っています。

○飯島専門委員 あるのですね。この物質は大丈夫なのですね。

○中島座長 この遺伝子は同じものを入れてありますし、分解のデータなどは、昔のものを使い回しだろうと言っているのも、そういう点がございます。

○飯島専門委員 わかりました。

○中島座長 なので、よろしいかと思えます。

○飯島専門委員 大丈夫だと思います。済みません。

○中島座長 ほかにございますでしょうか。

MS11については、申請としては最初なのですが、入れている遺伝子等々については、実はおなじみということもございまして、特に問題はないようにも思うのですが、先生方、いかがでしょうか。よろしいでしょうか。ありがとうございます。

よろしいということなので、評価書の審議に入りたいと思います。よろしく願います。

○山口係長 それでは、評価書案について、御説明させていただきます。

評価書案を束ねた紙の12ページをお願いいたします。

I といたしまして、本申請品目の概要でございますが、*Streptomyces hygroscopicus*に由来する改変ホスフィノスリシン・アセチル基転移酵素遺伝子を導入して作出されており、改変PATタンパク質を発現することで、除草剤グルホシネートを散布しても、その影響を受けずに生育できるとされております。

また、*Bacillus amyloliquefaciens*由来の *barnase* 遺伝子は、改変BARNASEたんぱく質をコードし、薬特異的プロモーターPta29の支配下で、薬のタペート細胞においてリボヌクレアーゼである改変BARNASEタンパク質を発現し、その結果、薬形成時にタペート細胞においてRNAを分解することにより、花粉形成を阻害し、雄性不稔形質を付与します。

また、*barstar* 遺伝子は、BARSTARタンパク質をコードし、アグロバクテリウム法による形質転換効率向上の目的で導入しております。

II の食品健康影響評価です。

1の(1)ですが、宿主は、アブラナ科アブラナ属に属する、商業品種N90-740でござい

ます。

(2) については、記載のとおりです。

(3) 挿入DNAの性質等でございますが、改変*bar*遺伝子は、除草剤グルホシネート耐性を付与する改変PATタンパク質をコードします。

改変*barnase*遺伝子は、改変BARNASEタンパク質をコードし、薬特異的プロモーターPta29の支配下で、薬のタペート細胞において、リボヌクレアーゼである改変BARNASEタンパク質を発現し、その結果、薬形成時にタペート細胞においてRNAを分解することにより、花粉形成を阻害し、雄性不稔形質を付与します。

*barstar*遺伝子は、BARSTARタンパク質をコードし、形質転換効率を向上させております。

続いて、2から5については、記載のとおりでございます。

6、相違点でございますが、MS11は、改変*bar*遺伝子の導入によって、改変PATタンパク質を発現すること、改変*barnase*遺伝子及び*barstar*遺伝子の導入により、改変BARNASEタンパク質及びBARSTARタンパク質を発現することが、宿主との相違点でございます。

第2、利用目的等でございますが、改変PATタンパク質を発現することによって、除草剤グルホシネートを散布しても、その影響を受けずに生育することができ、また、改変BARNASEタンパク質を発現することによって、雄性不稔形質を有し、*barstar*遺伝子を有する稔性回復性遺伝子組み換えセイヨウナタネとの交配により、確実にF1種子を得ることができるということでございます。

第3に移りまして、1については、記載のとおりです。

2、育種開発の経緯でございますが、申請書と違いまして「エルシン酸」という言葉を評価書では全部「エルカ酸」ということで、統一しております。従来のセイヨウナタネには、ヒトやその他の動物に有害なエルカ酸とグルコシノレートが含まれるため、これらの含量の低い品種の育種が行われました。カナダにおける品種改良により、低エルカ酸及び低グルコシノレートのセイヨウナタネである、カノーラ品種が開発されております。

3でございますが、記載のとおりです。

4、アレルギー誘発性ですが、カノーラ油がアレルギー誘発性を持つという報告はございません。

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、セイヨウナタネには、糸状菌による各種病害が知られておりますが、これらがヒトに対して病原性を示すということは、知られておりません。

6、7、第4については、記載のとおりです。

16ページをお願いいたします。第5、挿入DNA等の事項ですが、1の(1)については、記載のとおりです。

(2) 安全性に関する事項ですが、改変*bar*遺伝子の供与体である*S. hygrosopicus*は、

土壌及び水中等に存在している放線菌であり、ヒトは根菜及びその他の野菜を生食する際に食している経験があります。

改変 *barnase* 遺伝子、*barstar* 遺伝子の供与体である *B. amyloliquefaciens* は、広く存在している土壌細菌で、発酵食品に利用されております。

2、遺伝子産物に関する事項等ですが (1) です。*bar* 遺伝子は、放線菌、*S. hygroscopicus* から単離され、改変 *bar* 遺伝子はコドンが植物における発現に適するように最適化して、人工的に合成されております。

改変 *barnase* 遺伝子及び *barstar* 遺伝子は、土壌細菌 *B. amyloliquefaciens* から単離され、改変 *barnase* 遺伝子は、野生型の遺伝子のコドンが植物における発現に適するように最適化して、人工合成されております。

17ページに行きまして (2) については、記載のとおりです。

(3) 挿入遺伝子の機能ですが、①改変 *bar* 遺伝子です。改変 *bar* 遺伝子がコードする改変 PAT タンパク質によって、除草剤グルホシネートを N-アセチルグルホシネートに変化させ、グルホシネートのグルタミン合成酵素に対する阻害作用を不活性化し、その結果、通常、グルホシネートの散布によりグルタミン合成酵素に対する阻害作用が働き、植物内で生成したアンモニアが蓄積して生育不可となります。セイヨウナタネ MS11 においては、アンモニアは蓄積されず、除草剤グルホシネートの影響を受けずに生育することが可能になるとされております。

既知の毒性タンパク質との相同性の検索ですが、そういったものは見出されなかったということです。

②改変 *barnase* 遺伝子ですが、コードする改変 BARNASE タンパク質は、リボヌクレアーゼの1つであり、薬特異的プロモーター Pta29 の制御下、タペート細胞において一本鎖 RNA を加水分解し、その結果、タペート細胞が破壊され、花粉形成を阻害します。

こちらも既知の毒性タンパク質との相同性検索ですが、そういったものは見出されなかった旨、記載をしております。

③ *barstar* 遺伝子ですが、*barstar* 遺伝子がコードする BARSTAR タンパク質は、BARNASE タンパク質と1対1で特異的に非共有結合し、BARNASE タンパク質のリボヌクレアーゼ活性を阻害します。

MS11 では、T-DNA 領域に組み込まれた *barstar* 遺伝子により、改変 BARNASE タンパク質の薬組織以外の細胞での非意図的発現を抑制し、その結果、アグロバクテリウム法による形質転換効率が向上しております。

既知の毒性タンパク質との相同性検索ですが、そういったものは見出されなかった旨、記載をしております。

18ページをお願いいたします。(4) については、記載のとおりでございます。

3、挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現に関する領域、4、5の(1)までは、記載のとおりでございます。

19ページをお願いいたします。(2)でございますが、こちらは第6で記載しております。

(3) 挿入領域ですが、こちらはRBからLBまでである。

(4) ですが、発現ベクターは、抗生物質耐性マーカーにより選抜及び純化されており、目的外の遺伝子は含まれていないことをシーケンス解析により確認している旨、記載しております。

6、導入方法でございます。導入用プラスミド及びヘルパーTiプラスミドを用いて、アグロバクテリウム法による形質転換後、グルホシネートアンモニウムを含む培地で選抜を行い、グルホシネート耐性カルスより再生個体を得ております。得られた再生個体は不稔であるため、宿主品種及び商業品種との交配を行うことによって、セイヨウナタネMS11が得られております。

20ページ、第6をお願いいたします。1の(1)でございますが、MS11のゲノムに挿入されたT-DNAのコピー数を確認するため、サザンブロット分析を行った結果、1コピー挿入されていることが確認されております。

また、MS11に挿入されたT-DNAの塩基配列及び近傍配列について、シーケンス解析を行った結果、挿入されたT-DNAの塩基配列は、導入用プラスミドのT-DNA領域と一致することが確認されております。

続いて、MS11のゲノム中に導入用プラスミドの外骨格領域が挿入されていないことを確認するため、サザンブロット分析を行った結果、挿入されていないということが確認されております。

また、*barstar*遺伝子の配列をプローブとしたサザンブロット分析の結果、T-DNA領域内の*barstar*遺伝子とのハイブリダイズは認められましたが、T-DNA領域外に存在する*barstar*遺伝子とのハイブリダイズは認められないということでした。

MS11に挿入されたT-DNAの5'末端近傍配列及び3'末端近傍配列の塩基配列と宿主セイヨウナタネとの塩基配列をシーケンス解析により比較した結果、ゲノムの40 bpの欠失を除いて一致することが確認されております。

宿主の内在性遺伝子については、5'末端近傍配列、40 bpの欠失領域、3'末端近傍配列について、データベースを用いて検索を行った結果、既知のヌクレオチド、EST及びタンパク質の配列との相同性が確認されましたが、いずれの配列もT-DNAの挿入により中断されていないことが示されております。したがって、T-DNAの挿入によって、セイヨウナタネの内在性遺伝子が影響を受けた可能性は低いと考えられたとしております。

(2) といたしまして、MS11の挿入DNA領域と5'末端近傍配列及び3'末端近傍配列との接合部において、意図しないORFが生じていないことを確認するために、ORFの検索を行った結果、107個見出される結果となりました。

既知のアレルゲンとの相同性の有無の確認を行ったところ、連続する80アミノ酸以上の配列について、35%以上の相同性を示す配列、連続する8アミノ酸配列と一致する既知のアレルゲンは検出されませんでした。

また、毒性タンパク質との相同性検索を行った結果、そういったものも検出されておられません。

2、組み換え体における発現部位、発現時期、発現量等に関する事項でございますが、こちらは記載のとおりでございます。

3、4の(1)(2)についても、記載のとおりです。

446行目からですが、物理化学的処理についてでございます。改変PATタンパク質ですが、①人工胃液は、SDS-PAGE及びウェスタンブロット分析を行った結果、SDS-PAGEでは30秒以内に、ウェスタンブロットでは2分以内に消化されることが確認されたとしております。

②人工腸液ですが、SDS-PAGE、ウェスタンブロットの結果、どちらもともに30秒以内に消化されることが確認されたとしております。

③加熱処理ですが、55℃以上の加熱処理では、改変PATタンパク質は検出されず、さらに酵素活性は、55℃30分間の加熱処理で活性が消失することが確認されております。

以上の結果から、改変PATタンパク質は、55℃以上の熱に対して不安定であるとしております。

改変BARNASEタンパク質です。①人工胃液ですが、SDS-PAGE及びウェスタンブロット分析の結果、ともに試験開始後30秒以内に消化されることが確認されたとしております。

②人工胃液でございますが、こちらもSDS-PAGEとウェスタンブロットの分析を行っておりまして、SDS-PAGEでは、試験開始後60分まで継続して改変BARNASEタンパク質のバンドが観察されております。

ウェスタンブロット分析の結果でございますが、こちらについても、試験開始後60分まで改変BARNASEタンパク質に由来するバンドが、二量体と考えられるバンドも含めて観察されたということです。

③加熱処理でございますが、55℃以上の加熱で改変BARNASEタンパク質の相対濃度は減少し、また、酵素活性についても、55度℃以上で活性が減少しております。

以上の結果から、改変BARNASEタンパク質は、55度以上の熱に対して、不安定であるとしております。

最後にBARSTARタンパク質です。①人工胃液です。SDS-PAGE、ウェスタンブロット分析の結果でございますが、SDS-PAGEでは試験開始後30秒以内に、ウェスタンブロット分析では、試験開始直後に多量体のバンドが確認されましたが、30秒以内に消化されることが確認されたとしております。

②人工腸液でございますが、SDS-PAGEでは、試験開始後60分まで、継続してBARSTARタンパク質のバンドが観察されております。

ウェスタンブロットの結果ですが、試験開始後30分以内に消化されることが確認されております。

③加熱処理は、75℃及び95℃、それぞれ30分の加熱処理で、BARSTARタンパク質の相

対濃度がそれぞれ減少しておりまして、加熱処理したBARSTARタンパク質にBARNASEタンパク質を滴定し、残ったBARNASEタンパク質の酵素活性を測定することで、BARSTARたんぱく質のIC₅₀を算出しております。その結果ですが、75°C 30分では、IC₅₀が1.66に上昇しまして、95°CではBARSTARタンパク質の阻害活性が消失されることが確認されました。

以上の結果から、BARSTARタンパク質については、75°C以上の熱に対して、不安定であるとしております。

(4) 遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性でございますが、連続する80アミノ酸以上の配列に対して、35%以上の相同性を示す配列、連続する8アミノ酸配列と一致するものは、検出されなかった旨、記載をしております。

5、遺伝子の安定性については、記載のとおりです。

6、代謝経路についてでございます。改変PATタンパク質についてですが、PATタンパク質は、L-グルホシネートをアセチル化することによって、植物に対して毒性のない物質へと代謝させる酵素であり、その反応はL-グルホシネートに特異的で、MS11中で基質となる物質は考えられないことから、代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられるとしております。

改変BARNASEタンパク質ですが、こちらはリボヌクレアーゼ活性を有し、薬特異的プロモーターの制御により、タペート細胞でのみ発現するため、ほかの組織でRNAを分解することは考えがたい。したがって、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられるとしております。

最後にBARSTARタンパク質ですが、BARNASEタンパク質と1対1で特異的に非共有結合するため、その複合体の安定性は高く、植物中のリボヌクレアーゼを阻害するとの報告はございません。

MS11においては、*barstar*遺伝子を制御するPnosプロモーターの誘導は弱いため、その発現は微量であり、稔性を回復する程度ではないということを経験的に確認しております。したがって、こちらも宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられるとしております。

7、宿主との差異に関する事項です。米国及びカナダの圃場で栽培されたMS11と非組み換えセイヨウナタネの種子について、主要構成成分等の分析を行っております。

結果でございますが、統計学的有意差は、非組み換えセイヨウナタネとMS11のグルホシネートの無処理区、処理区について検討が行われました。各構成成分については、比較したところ、統計学的有意差が認められないか、認められたとしても、その平均値は、商業品種の許容区間内であった旨を記載しております。

8、諸外国における認可の状況ですが、米国においては、FDAに対して、食品及び飼料としての安全性審査が行われ、2017年10月に承認されております。

カナダにおいては、カナダ保健省に対して、食品としての安全性審査、食品検査庁に対

して、飼料としての安全性審査の申請が行われ、2018年1月に承認されております。

FSANZに対してでございますが、28ページです。食品としての安全性審査が行われ、2017年12月に承認されております。

9及び10、第7については、記載のとおりでございます。

評価書案の説明は、以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

安全上問題ないということで、ここまで来ましたけれども、先ほどの自殖についての記述、人工胃液、人工腸液については、記述の訂正、整合性については、こちらで確認した上で、最終的なものにしたしたいと思います。その点をお含みおきいただいた上で、何かございますでしょうか。

どうぞ。

○児玉専門委員 特に問題はないかと思うのですけれども、これがパブコメにかかって、一般の方が読んだ場合、どう思うかというところで、22ページです。ここに限らないのですけれども、409行目にMS11の種子におけるというものが出てきて、そのページのちょっと下に行くと、雄性不稔が回復するみたいなことが書かれていて、この種子はどうやってとったのか。353行目とか、354行目に、交配を行うことで、種がとれるということが書かれてはいるのですけれども、そこを書いたほうがいいのか、このままでもいいのか、ちょっとだけ議論いただければと思います。

○中島座長 このままで、よく読めば、通じるとは思うのですけれども、書いていただいたほうがいいのかと思います。児玉先生と相談して、文を考えて、そこは少しだけ修正していただけますか。確かによく見ればわかるのですけれども、一読ではわかりません。

○児玉専門委員 いきなり種子が出てきます。

○中島座長 よろしいですか。

○山口係長 それでは、児玉先生と相談をして、修正させていただきます。

○中島座長 ほかにございますでしょうか。どうぞ。

○橋田専門委員 先ほど座長がおっしゃられたように、消化時間などのところで、緩いところがある。もしかしたら、その見直しで、直ってしまうところかもしれないのですけれども、23ページのPATタンパク質の人工胃液に対する感受性のところで、SDS-PAGEでは30秒以内、ウェスタンブロットでは2分以内、そこまでの記述はいいのですけれども、消化されることが確認されたというのは、単に感度の違いなので、SDS-PAGEではそこで消化されているわけではないと思います。従いまして、このところでは、バンドが消失したため、速やかに消化されることが確認されたとか、もうちょっとだけ、記述を工夫していただけるとありがたいと思います。

○中島座長 もっともな御指摘だと思いますので、お願いできますか。

○山口係長 はい。

○中島座長 言おうとしていることは、伝わるとは思います。これは公開される文章です。

ので、おっしゃるとおりだと思います。後で私と関係の先生方で確認した上で、最終案としたいと思いますが、それでよろしいでしょうか。

ほかにございますでしょうか。ありがとうございます。

時間は過ぎているのですが、あと飼料が残っていますので、これを積み残すと非常に面倒なので、あと10分ほどいただいて、何とかここまで片づけたいと思います。済みません。

それでは、説明をお願いします。

○山口係長 食品に続いて、飼料について、御説明させていただきます。

遺伝子組み換え飼料の資料の準備をお願いいたします。

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) 品目名については、食品と同様でございます。

2) 本系統の特徴ですが、こちらも同様に、3つの改変*bar*遺伝子、改変*barnase*遺伝子、*barstar*遺伝子を挿入しておりまして、それぞれの機能について、先ほどの食品と同様に記載されております。

3) 本系統の使用法でございますが、こちらは、飼料としての利用目的や利用方法に関して、従来のセイヨウナタネとの相違はないということです。

セイヨウナタネは、搾油後の油かすが、家畜、家禽及び養魚の高タンパク質飼料として利用されております。

2、遺伝子組み換え飼料としての安全性でございますが「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、要旨に記載されております、①から③の3つの要件について考慮したところ、当該飼料に由来する畜産物を摂食することによる、ヒトの健康に及ぼす影響はないと考えられるとしております。

3ページの下に行きまして、グルホシネートの残留について記載されております。飼料安全法に基づくセイヨウナタネにおける除草剤グルホシネートの残留基準値は設定されておらず、一方、食品衛生法では5 ppmに設定されております。栽培したセイヨウナタネにグルホシネートを散布した際の残留量は、0.033 ppm以下であったということで、MS11を飼料として利用したとしても、当該飼料を摂取した家畜等に由来する畜産物が、これを食するヒトの健康に影響を及ぼすおそれはないと考えられるとしております。

4、諸外国における認可の状況というのは、先ほどの食品と同様ですので、割愛させていただきます。

申請書の説明は、以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

食品でオーケーになっていながら、飼料でだめというのは、なかなか考えづらいとは思いますが、先生方、御意見等はございますでしょうか。

飼料として、問題ないと考えますが、先生方、よろしいでしょうか。ありがとうございます。

安全性は問題ないということなので、これもたしか評価書案がありますね。どうぞ。

○山口係長 それでは、評価書案を御説明させていただきます。

飼料の評価書案は、東ねた冊子の33ページ以降です。

36ページをお願いいたします。Ⅰ、評価対象飼料の概要でございますが、こちらは、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、食品健康影響評価についてでございます。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。

2は先ほどの内容になりますが、食品としての評価を終了しております。

これら1及び2から、セイヨウナタネMS11では、新たな有害物質が生成されることはないため、肉、乳、卵等の畜産物中に新たな有害物質が移行することは考えられない。また、遺伝子組み換えに起因する成分が畜産物中で有害物質に変換・蓄積される可能性や、家畜の代謝系への作用によって、新たな有害物質が生成される可能性も考えられないと記載しております。

以上から、遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準に準じて、安全性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。

評価書案の説明は、以上でございます。

○中島座長 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、御指摘等はございますでしょうか。よろしいでしょうか。ありがとうございます。

それでは、よろしいということで、食品安全委員会に報告したいと思います。

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）その他ですが、事務局から何かございますでしょうか。

○飯塚課長補佐 特にございません。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、本日の議題については、これで終了でございます。

以上をもちまして、第186回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。時間を大幅に超過して、申しわけございませんでした。