

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第204回) 議事録

1. 日時 令和2年10月26日(月) 14:00~17:08

2. 場所 食品安全委員会中会議室及び小会議室(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

- ・除草剤グリホサート誘発性雄性不稔並びに除草剤ジカンバ、グルホシネート、アリオキシアルカノエート系及びグリホサート耐性トウモロコシMON87429系統(食品・飼料)
- ・Ra α 3114株を利用して生産されたプロテアーゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

中島座長、安達専門委員、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、山川専門委員、吉川専門委員

(食品安全委員会)

佐藤委員長、川西委員

(事務局)

鋤柄事務局次長、石岡評価第二課長、蛭田評価情報分析官、松原課長補佐、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除草剤グリホサート誘発性雄性不稔並びに除草剤ジカンバ、グルホシネート、アリオキシアルカノエート系及びグリホサート耐性トウモロコシMON87429系統(食品)
- ②除草剤グリホサート誘発性雄性不稔並びに除草剤ジカンバ、グルホシネート、アリオキシアルカノエート系及びグリホサート耐性トウモロコシMON87429系統(飼料)

③Ra α 3114株を利用して生産されたプロテアーゼ

6. 議事内容

〇〇〇 ただいまから第204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」に基づいて、非公開で行います。

本日、所用により、〇〇〇、〇〇〇は御欠席です。

本日の議題ですが、新規品目である除草剤グリホサート誘発性雄性不稔並びに除草剤ジカンバ、グルホシネート、アシルオキシアルカノエート系及びグリホサート耐性トウモロコシMON87429系統、Ra α 3114株を利用して生産されたプロテアーゼの安全性についての審議です。

その前に、事務局のほうから今般のコロナ対策について御説明したいということですので、よろしくをお願いします。

〇〇〇 それでは、事務局より対面会議開催に際しての新型コロナウイルスに対する取組について御説明させていただきます。

対面会議開催に際しては、感染症の防止策を事務局としてしっかりと講じていく所存でございます。

取組を一部紹介させていただきますと、現在使用している会議室及び使用器具は事前に消毒させていただいております。

皆様には、会議室に入室する際に検温及び手指の消毒をお願いしましたが、事務局スタッフも同様に検温及び手指の消毒を行っております。

皆様に事前にメールで送付いたしました留意事項、具体的には過去2週間海外へ行った者、濃厚接触者、具合の悪い者に該当するスタッフはおりません。

会議室を十分換気するとともに、皆様には1メートル以上の間隔を空けて着席いただいております。

また、新型コロナウイルス感染症予防のため、事務局から参加者の皆様にお願いがございます。

会議中ですが、マスクの着用をお願いいたします。

また、一度会議室を出た場合におきましては、入室前に再度手指の消毒に御協力をお願いいたします。

最後に、ないことを祈っておりますが、調査会終了後2週間以内に新型コロナウイルスに感染した、または濃厚接触者になった場合は、速やかに事務局まで連絡を頂戴できれば幸いです。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

いろいろやらないといけないことが多いようで、いつの間にか私が座るところが変わっ

ているようですが、これは別にそれとはあまり関係ないようで、これまでウェブで行われていた場合も、通信不良で座長が行方不明になるとまずいということで私だけは来ておったのですが、こちらに座るようにと言われてました。ということで、こちらから座長をやらせていただきます。

それでは、お手元の資料の確認をいたします。事務局のほうからお願いいたします。

〇〇〇 それでは、議事次第に基づき、配付資料の確認をいたします。

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」及び机上配布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、皆様の机の上に置かせていただいております。本ファイルにつきましては、調査会終了後回収し、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、本日は新規審議品目であります、除草剤グリホサート誘発性雄性不稔並びに除草剤ジカンバ、グルホシネート、アリルオキシアルカノエート系及びグリホサート耐性トウモロコシMON87429系統についてはバイエルクロップサイエンス株式会社、Ra α 3114株を利用して生産されたプロテアーゼについてはピュラトスジャパン株式会社の方をお呼びしております。品目の審議の際に質疑応答に対応していただく予定でございます。

以上でございます。

〇〇〇 それでは、事務局のほうから「食品安全委員会における調査審議方法等について」に基づいて、専門委員の調査審議等への参加に関する事項について報告をお願いいたします。

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頂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でした。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

既に御提出いただいております確認書について、相違等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、新規品目であるトウモロコシMON87429系統のうち、食品について審議を行いたいと思います。

では、事務局のほうから説明をお願いいたします。

〇〇〇 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、本日は申請者であるバイエルクロップサイエンス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

問事項等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、1品目、トウモロコシのほうについて御説明いたします。

緑色の紙ファイルを御準備願います。

まず、2ページをお願いいたします。

第1の項目、1の(1)としまして、宿主はイネ科トウモロコシ属のトウモロコシのデント種LH244系統でございます。

続いて、(2)でございますが、MON87429系統に導入された改変*dmo*遺伝子、*pat*遺伝子、*ft_t*遺伝子、改変*cp4 epsps*遺伝子は、それぞれ細菌の一種である *Stenotrophomonas maltophilia* DI-6株、*Streptomyces viridochromogenes*、*Sphingobium hericidovorans*、*Rhizobium radiobacter* CP4株に由来いたします。

続いて、(3)です。MON87429系統は、改変*dmo*遺伝子がコードする改変MON87429 DMOタンパク質を発現することにより、除草剤ジカンバに対する耐性が付与されます。また、*pat*遺伝子がコードするPATタンパク質を発現することにより、除草剤グルホシネートに対する耐性が付与され、*ft_t*遺伝子がコードするFT_Tタンパク質を発現することにより、アシルオキシアルカノエート系除草剤に対する耐性が付与され、さらに、改変*cp4 epsps*遺伝子がコードする改変CP4 EPSPSタンパク質を発現することにより、除草剤グリホサート耐性が付与されております。

MON87429系統は、導入用プラスミドをアグロバクテリウム法により宿主へ導入することにより作出されました。

続きまして、2食経験、3構成成分、その後4、5、6とありますが、こちらについては記載のとおりでございます。

これらのことから、MON87429系統と比較対象になり得る既存の宿主等があると判断しております。

続きまして、5ページをお願いいたします。

第2の項目です。MON87429系統には改変CP4 EPSPSタンパク質により除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性が付与されており、トウモロコシを含む単子葉植物では花粉における低い活性が報告されている *35S*プロモーターと雄性組織特異的に発現する内在性siRNAの標的配列により、MON87429系統の改変CP4 EPSPSタンパク質は花粉では発現しないか、発現してもその量はわずかでございます。

除草剤グリホサートを散布することにより、稔性を有する花粉の形成が阻害されるということですので、この除草剤グリホサート耐性能を利用することにより、MON87429系統からハイブリッド種子を効率的に生産することが可能となるということでございます。

続いて、第3、第4については記載のとおりでございます。

少し飛びまして、12ページをお願いいたします。

第5の項目になります。

1の(1)は記載のとおりです。

「(2)安全性に関する事項」で4つの供与体について記載されておりますが、環境中や土壌中に偏在する細菌で、いずれもヒトや家畜等に対する病原性等を示す報告はございません。

続きまして、隣のページ、2の(1)挿入遺伝子のクローニングもしくは合成方法ですが、改変 *dmo* 遺伝子配列、それから *pat* 遺伝子配列は野生型の配列を基に合成されました。*ft_t* 遺伝子配列は野生型の RdpA タンパク質の酵素反応速度と除草剤 2,4-D に対する基質親和性を改良するために、複数の改変 *Rdpa* 遺伝子が合成され、クローニングされ、最終的にその中から選抜されております。

続いて、改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、*R. radiobacter* CP4 株のコスミドライブラリーからクローニングし、植物中での発現を最適化するため、塩基配列に改変を加えております。

(2)は記載のとおりです。

その下、(3)挿入遺伝子の機能についてでございます。

改変 *dmo* 遺伝子のコード配列は、葉緑体輸送ペプチドの一種である APG6 のコード配列と結合されており、これにより、N 末端側に APG6 由来の 68 個のアミノ酸が付加された DMO 前駆タンパク質が産生されます。この前駆タンパク質は APG6 が付加されていることにより葉緑体に運ばれます。一般的に、輸送ペプチドは前駆タンパク質を目的の葉緑体へ輸送した後、正確に切り離されますが、一部の輸送ペプチドが残った状態のタンパク質が葉緑体に存在いたします。

MON87429 系統から産生される改変 MON87429 DMO タンパク質は、ジカンバを脱メチル化する酵素でありまして、ジカンバはこの酵素の働きで脱メチル化されると除草活性のない 3,6-ジクロロサリチル酸とホルムアルデヒドとなり、この働きにより、改変 MON87429 DMO タンパク質は植物にジカンバ耐性を付与いたします。

続きまして、グルホシネートですが、17 ページをお願いいたします。

グルホシネートは、ホスフィノスリシンの D 体及び L 体のラセミ混合物でありまして、グルホシネートの L-ホスフィノスリシンがグルタミン合成酵素と結合することにより除草活性を発揮いたします。L-ホスフィノスリシンがグルタミン合成酵素と結合することにより、グルタミン合成酵素が不活性化され、植物体内でアンモニアが蓄積することにより植物は枯死いたします。

MON87429 系統で発現する PAT タンパク質は、アセチルトランスフェラーゼに分類される酵素でありまして、グルホシネートの L-ホスフィノスリシンの遊離アミン基をアセチル化し、除草活性のない *N*-アセチルグルホシネートを生成いたします。

続いて、*ft_t* 遺伝子の機能です。キザロホップエチルは、散布後、植物体内ですばやく除草活性を持つキザロホップに代謝されます。キザロホップが脂肪酸生合成の初期段階の酵素を阻害して、分裂組織を破壊することにより植物体を枯死されるものと考えられてお

ります。一方、2,4-Dはオーキシシン作用により植物の分裂組織を非常に活性化させ、茎葉の捻転等を生じさせると考えられております。

FT_Tタンパク質は α -ケトグルタル酸存在下でキザロホップに酸素を導入する反応を触媒することにより、除草活性のないキザロホップフェノールとピルビン酸に変換します。また、FT_Tタンパク質は、 α -ケトグルタル酸存在下において、2,4-Dに酸素を導入する反応を触媒することにより、2,4-Dを除草活性のない2,4-ジクロロフェノールとグリオキシル酸に変換いたします。

これまで、EFSAにおいてはキザロホップエチル及びその代謝物の毒性学的評価が行われ、これらの代謝物の毒性はキザロホップエチルの毒性を超えないことが示されております。同様に、EPAにおいては2,4-D及びその代謝物の毒性学的評価が行われ、2,4-DCPは2,4-Dより毒性が低いことが示されております。

なお、MON87429系統で発現するFT_Tタンパク質は、安全性審査を経た旨が公表されたアシルオキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ40278系統が発現するAAD-1タンパク質と同じ除草剤を代謝し、同一の代謝物を産生いたします。これらキザロホップエチル及び2,4-Dの代謝物については、40278系統の安全性評価において安全性に懸念がないことが確認されております。

最後に、22ページに行きまして、*cp4 epsps*遺伝子の機能についてです。除草剤グリホサートは非選択的な除草剤であるラウンドアップの有効成分で、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中の酵素の一つである5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素と特異的に結合して、その活性を阻害します。その結果、グリホサートを散布した植物はEPSPSタンパク質の活性が阻害され、タンパク質合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり、枯死いたします。

一方で、改変CP4 EPSPSタンパク質を発現する組換え植物は、その働きによりグリホサート存在下でも活性阻害を受けないため、シキミ酸経路が正常に機能して生育することができます。

MON87429系統は、改変CP4 EPSPSタンパク質の組織特異的な発現様式により、除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性を持ちますが、この発現様式を可能にしているのは改変*cp4 epsps*遺伝子発現カセットに存在するカリフラワーモザイクウイルス*35S*プロモーター及び雄性組織特異的低分子干渉RNAの標的配列でありまして、MON87429系統中の改変CP4 EPSPSタンパク質は、花粉においては発現しないか、発現しても微量であるのに対しまして、栄養組織及び雌性組織においては十分な量を発現しております。

MON87429系統では、導入した改変*cp4 epsps*遺伝子の3'末端非翻訳領域に201塩基長の*mts-siRNA*の標的配列を付加することで、内在性の*mts-siRNA*によるRNAi機構を利用しまして、雄穂で転写される改変*cp4 epsps*遺伝子のmRNAを組織特異的に分解しております。

続きまして、少し飛びまして28ページをお願いいたします。

(4)抗生物質耐性マーカー遺伝子、その後、「3 挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現に関わる領域に関する事項」、それから、4、5の(1)までは記載のとおりなので、説明は割愛させていただきます。

続きまして、32ページをお願いいたします。

目的外のORFの有無について検索をしておりますが、12行目からをお願いいたします。データベースの相同性検索の結果、連続する80アミノ酸以上の配列に関して、35%以上のアミノ酸相同性を示す配列の検索及び抗原決定基となり得る最小の単位である連続する8アミノ酸との相同性検索を行っております。その結果、連続する80アミノ酸以上の配列に関しまして35%以上のアミノ酸相同性を示す配列は検出されなかった一方で、連続する8アミノ酸がアレルゲンと一致するかどうかを調べた結果、ブタクサのアレルゲンArt v 1の複数の8アミノ酸配列と一致することが明らかになりました。

この9アミノ酸配列は、T-DNA領域の構成要素の一つであるmts-siRNAの標的配列の逆相補鎖に相当する領域に位置していることや、ペプチドの端から3アミノ酸上流とそのすぐの下流にストップコドンがありまして、それら2つのストップコドンの間にスタートコドンがないということを考えて、このペプチドが翻訳されて植物中で発現する可能性は考えにくい。仮に発現したとしても、この配列はグリシンに偏っていることから、Art v 1の保存された構造や機能に関わるとは考えられない。

さらに、この9アミノ酸のグリシンリッチ配列は食経験のあるほうれん草、ピーナッツ、バナナ、ナツメヤシのような野菜や果実を含むあらゆる生物界の多くの非アレルゲンタンパク質にも偏在いたします。また、この9アミノ酸と相同性を示したタンパク質は発現することもアレルゲンであることも示されていない仮想タンパク質であることから、仮に発現したとしてもエピトープになる可能性は考えにくいとしております。

続きまして、(3)、(4)、6については記載のとおりでございます。

少し飛びまして、42ページをお願いいたします。

こちらから第6の項目です。

まず1の「(1)コピー数及び挿入近傍配列に関する事項」です。NGSの解析の結果、MON87429系統の導入用プラスミドのT-DNA領域は、核ゲノム中の1か所に1コピー導入されていることが確認されました。

その後、少し下、19行目に行きまして、導入遺伝子領域のPCR及び塩基配列解析を行った結果、導入遺伝子及びその近傍配列が決定され、MON87429系統中の導入遺伝子と導入用プラスミドのT-DNA領域の各構成要素の塩基配列が同一であることも確認された。また、MON87429 系統の導入遺伝子挿入部位において、トウモロコシゲノムに54bpの欠失が認められました。加えまして、MON87429系統の導入遺伝子の5'末端とトウモロコシゲノムの配列の間に29bpの付加、3'末端とトウモロコシゲノムの配列の間に31bpの付加が認められました。しかし、BLASTn及びBLASTx検索による近傍配列の分析から、導入遺伝子の挿入によりトウモロコシ内在性の既知の遺伝子が破壊されているとは考えにくいというこ

とが示されております。

これらの詳細については、以降から54ページまで続きますが、細かい説明については割愛させていただきます。

続いて、54ページの下半分からですが、(2)ORFの有無等に関する事項です。

MON87429系統の導入遺伝子と5'末端及び3'末端近傍配列の両境界領域において6フレーム全てについてORF検索をした結果、5'末端側近傍配列の境界領域において7個、3'末端側近傍配列の境界領域において7個、合計14個のORFが確認されました。データベースによる相同性検索の結果、E-scoreは 10^{-5} 以下で相同性を示す配列は検出されず、また、連続する80アミノ酸以上の配列に関して、35%以上のアミノ酸相同性を示す配列は検出されませんでした。さらに、連続する8アミノ酸との相同性を示す配列も検出されませんでした。

これらのことから、既知のアレルゲン、毒性タンパク質及び有害な生理活性タンパク質との構造相同性は認められず、仮にMON87429系統の導入遺伝子の両末端近傍配列にまたがる塩基配列に由来する領域が翻訳されたとしても、それらがヒトに影響のある既知のアレルゲン、毒性タンパク質及び有害な生理活性タンパク質との相同性を有するとは考えにくいということでございます。

さらに、MON87429系統中の導入遺伝子において、6つのフレームから目的以外の新規タンパク質が産生され、それらが既知のアレルゲン、毒性タンパク質、有害な生理活性タンパク質と構造相同性を有するかどうか評価するため、相同性を調べております。

まず、AD_2018データベースによる既知のアレルゲンとの相同性検索の結果、E-scoreが 10^{-5} 以下で相同性を示す配列は検出されませんでした。また、連続する80アミノ酸以上の配列に関して35%以上のアミノ酸相同性を示す配列も検出されませんでした。一方で、連続する8アミノ酸がアレルゲンと一致するかを調べた結果、ブタクサのアレルゲンArt v 1の複数の8アミノ酸配列と一致することが明らかとなっております。これらの一致する配列はいずれもクエリー配列の245から253番目の9アミノ酸において認められ、これらについては既に前の第5の項目で考察されているとおりでございます。

続いて、TOX_2018データベースによる相同性検索の結果、 10^{-5} 以下であるアミノ酸配列が19個確認されました。相同性が認められた領域はPATタンパク質のコード領域に当たり、全ての配列は細菌のGNATトキシノーアンチトキシシステム中のトキシ部分の配列ということでございます。この結果は、PATタンパク質と既知の毒性タンパク質との相同性を考察した第5の2の(3)と同様でありまして、第5の2の(3)ではPATタンパク質は既知の毒性タンパク質と構造的に類似性のある配列を有していないと考えられたと結論しております。

続いて、PRT_2018データベースによる相同性検索の結果、MON87429系統中の導入遺伝子の6つのフレームにおいて、有害な生理活性タンパク質との相同性は認められませんでした。

2組換え体内における発現部位、発現時期、発現量に関する事項については、続いて58、

59ページの表にまとめられているとおりでございます。

その後ですが、60ページ以降です。

3及び4の(1)、(2)については記載のとおりでございます。

隣の61ページの(3)物理化学的処理に対する感受性ですけれども、PATタンパク質及び改変CP4 EPSPSタンパク質については、これまでに安全性審査を経た旨が公表された除草剤グルホシネート耐性作物及びグリホサート耐性作物において物理化学的処理に対する感受性を示すことが確認されており、今回のものは既に安全性審査を経たPATタンパク質及び改変CP4 EPSPSタンパク質の物理化学的処理に対する感受性と同等であると考えられたということから、実施はしておりません。

DMOタンパク質に関しては、既に安全性審査を経た旨が公表された3系統の除草剤ジカンバ耐性作物において、物理化学的処理に対する感受性を示すことが確認されております。N末端における輸送ペプチド由来のアミノ酸配列の違いはDMOタンパク質の物理化学的処理に対する感受性に大きく影響することはないと考えられることから、改変MON87429 DMOタンパク質の物理化学的処理に対する感受性は既に安全性審査を経た改変MON87419 DMOタンパク質及び改変MON88701 DMOタンパク質の物理化学的処理に対する感受性と同等であると考えられ、試験の実施はしておりません。

続いて、64ページをお願いいたします。

FT_Tタンパク質についてですが、SDS-PAGEの結果、完全長のFT_Tタンパク質は0.5分以内に検出限界値以下まで消化されることが確認されました。しかし、4kDaのフラグメントが0.5分後から60分後にわたって確認されております。

ウエスタンブロット分析の結果では、完全長のFT_Tタンパク質は0.5分以内に検出限界以下まで消化され、SDS-PAGEの結果で確認された4kDaのフラグメントはウエスタンブロット分析で用いられた抗体では確認されませんでした。

さらに、人工胃液処理中に観察された約4kDaの断片について評価を行うため、FT_Tタンパク質に対して人工胃液処理を2分間行った後に人工腸液処理を行い、SDS-PAGE及びウエスタンブロット分析を行いました。SDS-PAGEの結果から、4kDaの断片は人工腸液処理から0.5分以内に消化されることが確認されました。

続いて、少し飛びまして68ページをお願いいたします。

人工腸液試験です。ウエスタンブロット分析の結果、FT_Tタンパク質は5分以内に検出限界以下まで消化されることが確認されました。

70ページに行きまして、加熱処理です。75℃及び95℃では定量限界値未満であったということでございます。

続いて、(4)、(5)については記載のとおりです。

73ページをお願いいたします。

組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項です。MON87429系統中の導入遺伝子の複数世代にわたる安定性を確認するために、5世代から抽出したゲノムDNAを用いて

NGS解析を行った結果、供試した5世代全てにおいて導入遺伝子に起因する2つの接合領域のみが検出され、MON87429系統中の導入遺伝子が複数世代にわたり安定して遺伝していることが示されました。

また、MON87429系統における発現タンパク質の世代間の安定性については、複数世代にわたる改変MON87429 DMOタンパク質、PATタンパク質、FT_Tタンパク質及び改変CP4 EPSPSタンパク質の発現の安定性を確認するため、ウエスタンブロット分析を行った結果、いずれも安定して後代で発現しているということが示されました。

その後、少し飛びまして、79ページをお願いいたします。

遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項でございます。

改変MON87429 DMOタンパク質、PATタンパク質、FT_Tタンパク質、改変CP4 EPSPSタンパク質については記載のとおりでございます、宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられるとしております。

続いて、82ページの下をお願いいたします。

【*mts-siRNA*の標的配列の相同性を有するトウモロコシ内在性遺伝子のmRNA量への影響について】でございます。改変*cp4 epsps*遺伝子から転写されるmRNAが*mts-siRNA*の標的配列を有することが、トウモロコシ内在性遺伝子のmRNA量に影響を及ぼしていないかということ調べるために、*mts-siRNA*の標的配列と相同性を有するトウモロコシ内在性のmRNA量を測定しました。

まず、*mts-siRNA*の標的配列と相同性を示すトウモロコシ内在性遺伝子を同定するために、*mts-siRNA*の標的配列をクエリーとしたBLAST検索を行い、その結果、7つの推定遺伝子が相同性を示しましたが、いずれの遺伝子も膜タンパク質をコードしていると考えられ、また、セリン取り込み輸送体と相同性が見られました。これらの輸送体は、セリン由来の2つの脂質、スフィンゴ脂質及びホスファチジルセリンの合成を促進すると考えられております。

これら7つの推定遺伝子は*mts-siRNA*の標的配列の選定に用いられたEU974548遺伝子だけでなく、相互に高い相同性を示すため、同じ遺伝子のクラスターであると考えられます。

次に、これら7つの遺伝子の雄穂におけるmRNA量を2種類の定量RT-PCRにより測定しましたが、これらの推定遺伝子のmRNA量は非常に低く、また、互いに高い相同性を示すため、7つの推定遺伝子のmRNAを個別に検出することはできなかったため、複数の遺伝子のmRNA量を同時に測定しました。

その結果、*mts-siRNA*の標的配列と相同性を有する7つの内在性の推定遺伝子のmRNA量に関して、MON87429系統と対照の非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められませんでした。

これらのことから、改変*cp4 epsps*遺伝子のmRNAが*mts-siRNA*の標的配列を有することにより、宿主の代謝経路を変化させることはないと考えられるとしております。

続きまして、「7 宿主との差異に関する事項」でございます。

こちらは85ページに記載されております各項目について分析を行い、MON87429系統と対照の非組換えトウモロコシについて有意差検定を行っております。

結論でございますが、MON87429系統及び対照の非組換えトウモロコシの穀粒及び地上部の構成成分を分析した結果、穀粒の栄養素の項目に統計学的有意差が認められるものがありました。MON87429系統の平均値はいずれもILSIデータベースのデント種の範囲に収まっておりまして、これまで安全に摂取されております従来のトウモロコシの変動の範囲内であったということでございます。

以上のことから、MON87429系統の穀粒及び地上部の構成成分は従来のトウモロコシ品種と同等であることが示されたとしております。

その後、101ページをお願いいたします。

「8 諸外国における認可、食用等に関する事項」ですが、カナダ、米国、EU、FSANZでそれぞれ申請中でございます。

9、10については記載のとおりです。

申請書の説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、この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。

まず第1から第4、申請書の11ページまででございましたらお願いしたいと思っております。

この辺のベクターや宿主はいいとしまして、今回遺伝子が4つ入っていて、いかにもいろいろ入っているように見えますけれども、ジカンバ耐性の*dmo*、グルホシネート耐性の*pat*、グリホサート耐性の*cp4 epsps*は以前に同じような遺伝子を審査済みでして、今回目新しいのはアリルオキシアルカノエート系の*ft_t*遺伝子だけになっております。これについてはたしか7~8年前に*aad-1*という遺伝子で同じようにアリルオキシアルカノエート系の除草剤の耐性について審議したことがございますけれども、これはかなり改変を加えているということでございます。

それから、もう一つ目新しいものはといいますと*cp4 epsps*遺伝子の下流の付加された配列を標的とするsiRNAが雄性組織だけで発現するというので、花粉でだけ*cp4 epsps*遺伝子が発現しない。つまり、花粉だけがこの農薬に対して感受性を示すので、その結果として雄性不稔であると。そこが目新しい点となります。

それでは、挿入DNA、遺伝子産物及び発現ベクターに関すること、41ページまでに関しましてございましたらお願いしたいと思っております。

気がついたところからどこでも結構ですので、申請書、最後101ページまででお気づきになった点がございましたら御質問をお願いできればと思っております。

私のほうから、キザロホップエチルの代謝産物で、キザロホップからキザロホップフェノールにまで分解しまして、そこから後がどうなっているのかと。それ以降の代謝産物について安全性を見ているのかという点について質問いたしまして、その回答が返ってきて

おります。キザロホップからキザロホップフェノールに分解されるわけですが、キザロホップは植物体の代謝経路によってさらに代謝されて、微量成分に分解されることは確認されておる。これはデンプンやペクチンやリグニン、セルロースの化合物の一部になっていることが確認できたけれども、微量であるため、特定の代謝物として同定することはできなかったとあります。

また、この試験で¹⁴Cで標識したキザロホップエチルを散布して、その代謝物を分析した結果、どの組織でもキザロホップエチル、キザロホップ、その分解化合物のキザロホップフェノールを含めて、1kg当たり0.01mgを超える代謝産物は検出できなかったと報告ができています。

また、キザロホップエチルはマイナー代謝産物として確認されているけれども、いずれのサンプルからもキザロホップフェノールは検出されていないということで、中間代謝産物というか、キザロホップフェノール以降の代謝産物については確認しておると。

同じように、2012年にAAD-1タンパク質というものでキザロホップフェノールの代謝について一度議論しておりますが、また何でAAD-1の安全性が確認されておるのに新しくFT_Tタンパク質で申請したのか、そこは説明はありませんでしたけれども、代謝経路についてはその時点で検討しておるとい回答が返ってきております。

質問した私としてはその辺の回答でいいかなと実は結構納得したのですが、先生方、今の点、キザロホップフェノール以降の代謝産物につきまして、どなたか御意見はございますでしょうか。

〇〇〇あたり、この辺はいいですか。

〇〇〇 今の御説明で特に問題はないかと思えます。

〇〇〇 ありがとうございます。

この辺の専門というと、あとは〇〇〇もそうかな。いかがですか。

〇〇〇 今御説明いただいたことで私自身は納得いたしましたので、大丈夫だと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

では、先生方、どこでもお気づきになった点がございましたら、御指摘をよろしく願います。

どうぞ。

〇〇〇 最初のほうなのですけれども、8ページの「第3 宿主に関する事項」の「4 アレルギー誘発性に関する事項」で、トウモロコシ中に含まれるアレルゲンについて、9kDaのLipid Transfer Proteinと50kDaの可溶性のタンパク質が挙げられているのですけれども、現在はトウモロコシのアレルゲンであるということが報告されているタンパク質が幾つか増えていると思えますので、データをアップデートしていただいたほうがよいのではないかなと思えます。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

ここでは9kDaと50kDaの2つと言っているけれども、今はもっとあるのね。

〇〇〇 もっとというか、あと2~3個は増えているかと思しますので、その辺はアップデートしていただいたほうがよろしいかと思します。

〇〇〇 ありがとうございます。

この人工胃液試験ですが、まず1つは、今回は新規であるFT_Tタンパク質のみ実施して、残りの3つは既に評価済みであるとして実施はしていませんが、それはそれでオーケーとするかという点、先生方の御意見を伺っておきたいと思しますが、この点についてはいかがでしょうか。

〇〇〇あたり、この点はいかがですか。

〇〇〇 最初に拝見したときにあれっと思ったのですけれども、以前出ていて同じ結果なら毎回出さなくてもいいのかも私は思ったのですが、いかがでしょうか。

〇〇〇 実は私も、今回の初出のものだけきっちり見ておいていただければ、後は審査済みでこれでいいのではないかなと思うのですけれども、事務局、たしかそういう前例はいっぱいありますよね。と思しますので、先生方、この点はほかによろしいでしょうか。

では、その点はよろしいですね。

このタンパクについては、人工胃液でやるとどうしても4kDaのフラグメントが残る。人工腸液ですと5分で分解するというので、一度人工胃液で分解させて4kDaのフラグメント、残ったものについて連続して人工腸液で実験をしております、それをやると0.5分で分解すると。そこは確認しておるようです。

このFT_Tは新規ですので慎重に検討しておきたいと思しますのですけれども、まずは物理化学試験の結果についてはいかがでしょうか。

この辺も〇〇〇あたりが御専門かなと思うのですが、いかがですか。

〇〇〇 人工胃液から人工腸液と連続してやって、きちんと消化されることが確認されていますし、また、人工腸液のみでもきちんと消化されるということで。

〇〇〇 ありがとうございます。

実は、私もそこまでやっていけばいいかなとは思っていたのですけれども、〇〇〇あたりもよろしいですか。

〇〇〇 基本的にはよろしいと思うのですけれども、1点だけあれっと思いましたが、いいのかもしれないのですが、67ページの図21のAとBで、AがSDS-PAGEでBがウエスタンですので、通常同じものというか、並行して流して同じようなものであってほしい気がするのですけれども、Bのほうでは別のマーカースを使っているみたいで、ほかの図ではみんな同じようなので、何でわざわざ違うものを使っているのかなと思ったのです。内容的には特に変だとは思わなかったのですけれども、ここの部分だけちょっと気になりました。

〇〇〇 67ページの。

〇〇〇 67ページのほうで、AとBの写真で異なる分子量マーカースを使っているのです、同じような範囲のものではあるのですけれども、サイズがちょっと違いますよね。

〇〇〇 普通に考えると、SDS-PAGEだったらマーカのタンパク質が反応するからバンドで見えるけれども、ウエスタンだとマーカのタンパク質のバンドは出てこないの、そこは目安というか、先にSDS-PAGEをやったときに出てきたバンドの位置をただ単にペンでプロットしたものがこうなのかなと思うのですが、当人を呼びますので、直接御質問していただけますか。私が勝手に答えても仕方がないと思いますので、よろしく願いいたします。

あともう一つは、この遺伝子を導入したところ、1か所だけT-DNAが入っている点。それから、素直に入っているのではなくて、入ったところで欠失が見られる。その点については、フレームの解析からアレルゲンの可能性の解析までそれなりにディスカッションはしてあると思うのですが、このくらいで十分と考えるか、これだけの導入部の遺伝子の乱れに対してこれでいいのかといったところ、今度は植物が御専門の先生方の御見解をお聞きしたいと思うのですが、私は、植物に導入するときこのような乱れなどはまああることで、それに対する考察としてはやることはやっているような印象を受けるのですが、〇〇〇、この辺はいかがですか。

〇〇〇 こういうことは今までもあって、乱れた形で入ったにしてもきちんとそれを読んで評価されているので、今までもそういうものはありましたので、これもここまでやっていけばいいと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇あたり、いかがですか。

〇〇〇 これはわざわざ調べたままで使っているのだから、多分これがよかったのだと思うので、こうやってちゃんと調べているからいいと思います。最初、なぜわざわざこれを使ったのか考えたのですが、多分これがよかったのだろうなと思いました。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、いかがですか。

〇〇〇 この欠失・付加については割とよく起こることで、この申請書を読んだ限り、それに対する解析は十分なされているなという印象を私は受けます。

〇〇〇 ありがとうございます。

あとは、この辺がもしかして議論の対象になるかなと思ったのが、siRNAを使って花粉にだけグリホサートが効くようにして、その結果として雄性不稔を誘導しているという点について、これもmts-siRNAの標的配列と相同性がほかにはないとかといったことを一通り調べていると思いますので、私はこれくらい調べてくれればいいのかという印象ではあるのですが、この辺も植物の専門の先生方に、これは〇〇〇、いかがですか。

〇〇〇 その点については、事前に幾つか疑問に思ったことは質問させていただいて、一通り回答はいただいているのですが、質問の内容は、1つは花粉か花粉母細胞かな。あと、タペータムとかというところで発現するsiRNAをまず同定しているのですが、まず、これがそもそもsiRNAなのか。短鎖RNAではsiRNAとmiRNAと大別すると2種類

あるのですけれども、内在性のゲノムからそのまま短い短鎖RNAができてくる場合はmiRNAであることのほうが一般的かと思うのですが、mtsという雄性の組織で特異的に発現するのにsiRNAという名前がわざわざつけてありますので、その理由をまず聞いたところ、mts-siRNAを同定するためにSmall RNAのライブラリーをつくって全部シーケンスをして、そこからmiRNAの配列を全部抜いているということで、残ったものをsiRNAとして名前をつけたという回答で、それならそれでよろしいでしょうと思った次第です。

それから、mts-siRNAのもともとできてくる遺伝子は、元の論文を読むと同定されていないように読めたので、その点について確認したところ、同定はされていないということで、どこからsiRNAができてくるかということはよく分からないけれども、雄性の組織でできてくるものではあるということで、こういうものは同定するのは結構難しいのではないかなとは思いました。

それから、この手の標的配列としては割と長いものを使っていて、そこにmts-siRNAがぺたっとくっついて標的配列を分解するというところで雄性不稔になるような仕組みをつくっているのですけれども、その標的配列となる配列は200ベースだったか300ベースだったか、ちょっと長めの配列を使っているのですが、サイレンシングの分野でよくあるのは、そういう配列を使って遺伝子の発現を抑制すると、その配列にくっついた断片からさらにsiRNAができてくる、二次siRNAというものができてくるのですけれども、それについては、元の論文を読むと二次siRNAはできてこないということを確認しているということで、それも分かりましたということです。

ですので、使った配列や特異性、その名前、それから、懸念されるような二次siRNAみたいな問題は一通り検討されているのかなと考えました。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

同じ回答を私のところにも送っていただいておりますので、見させていただきまされたけれども、同じような印象を受けました。

〇〇〇、今くらいの説明でいかがですか。

〇〇〇 十分だと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

ほかに、この系統につきましてはまだほかの委員会でも申請中で、審査を終了したものはございませんので、我々がいち早く承認しなければいけないということは全然ないのですけれども、この際、ぜひ御指摘、御意見等お願いできればと思います。

どうぞ。

〇〇〇 67ページの図21のウエスタンブロットの結果、SDS-PAGEの結果でもいいのですけれども、これは胃液にさらしてから腸液に入れているのでこういうことになるのかなともちょっと思ったのですが、分子量が37キロ弱、36kDaぐらいのところバンドが見えるような気がするのですけれども、これはマーカークずれしているのですね。では、いいので

すね。失礼しました。こちらの勘違いです。

〇〇〇 マーカーはこの数字のところからずれていますので、私もあれっと思って見てみたのだけれども。

ほかの先生方、ございますでしょうか。

どうぞ。

〇〇〇 私の考え違いかなとか思いつつ、あれなのですけれども、67ページのウエスタンのところなのですけれども、結局、4キロのものが部分的な断片ということで、Bのほうで、ウエスタンでいったときに4キロのものはみ出してしまっているということではないのかな。

〇〇〇 これだと4キロは見えていないよねということだよ。

〇〇〇 私もずっと頭をひねっていたのですけれども。

〇〇〇 67ページのここについては〇〇〇もひっかかっているところがあるみたいですし、当人をお呼びして質問してみたいと実は思うのですけれども、そのときにお聞きになっていただけますか。

それから、私のほうから、以前AADがあったのに、今度同じようなFT_Tにした事情がもしよければという点と、それから、*ft_t*と、今回幾つも遺伝子を入れていて、特にジカンバ耐性のモノオキシゲナーゼ、こういうものと同時に入れていて、代謝活性等がクロスする、何か影響を及ぼすような可能性について検討したかどうかといった点、質問をしてみたいと思います。

あと、先生方、担当者をお呼びしたときにその場で思いつかれた質問でも結構ですので、質問をしていただければと思います。

ほかにぜひこれを聞きたいといったこと、何かございますでしょうか。

では、その場でお気づきになった質問でも結構ですので、当人を呼びたいと思います。よろしくお願ひします。

準備ができるまで少しだけ休憩にいたします。

(休 憩)

〇〇〇 お忙しいところ、また、この新型コロナの状況下で対面の会議に御出席いただきましてありがとうございます。

自己紹介をお願いいたします。お名前と会社名だけで結構です。

〇〇〇 バイエルクロップサイエンスの〇〇〇と申します。本日はどうぞよろしくお願ひいたします。

〇〇〇 同じくバイエルクロップサイエンスの〇〇〇と申します。本日はよろしくお願ひいたします。

〇〇〇 今回、遺伝子を幾つも入れている株を作成されておられまして、今回のFT_Tタン

パク質、キザロホップ耐性、これはたしか結構前、2012年にやっているのかな。AAD-1タンパク質として同じ活性のあるものを審議した覚えがございまして、そのときにオーケーになっている。それと活性としては全く同じものだと思うのですが、安全性に直接関係のある話ではありませんが、なぜAAD-1を捨てて今度こちらの開発をされたのか、差し支えなければお聞かせいただけると。

〇〇〇 要旨の19ページを御覧いただいてもよろしいでしょうか。

26行目から野生型のRdpAタンパク質をなぜ改変したのかという説明がございまして、そのときにオーケーになっている。それと活性としては全く同じものだと思うのですが、安全性に直接関係のある話ではありませんが、なぜAAD-1を捨てて今度こちらの開発をされたのか、差し支えなければお聞かせいただけると。

他社さんのものとは直接比較をしていないので、●●●ということでも開発されております。

〇〇〇 ありがとうございます。そういった事情があったのですね。

これはキザロホップから分解してキザロホップフェノール、それ以降の代謝産物についての検討、お返事を寄せていただきました。ありがとうございます。

この株は4種類遺伝子が発現して、あと、ジカンバ耐性とか複数の基質に対する修飾活性のある遺伝子が発現しておるのですが、その相互作用、クロスの可能性とかといったことについて検討はされておられますでしょうか。

〇〇〇 今回、グリホサート耐性、グルホシネート耐性、ジカンバ耐性、アシルオキシアルカノエート系除草剤耐性という機能が別なものを4つ入れているのですが、全て独立して動くものを対象に入れていますので、相互作用とかというのは影響がないと考えております。

〇〇〇 それぞれの遺伝子とか酵素タンパク質の基質特異性の限界とかといったものも一度は調査されておられますでしょうか。

〇〇〇 それぞれ基質特異性を確認いたしまして、それぞれの基質が別なことも確認しております。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、67ページ、このFT_Tタンパク質、審議のポイントになるのですが、人工胃液だと残ってしまうということで、さらに人工腸液の試験をしている。

これは〇〇〇、〇〇〇、どちらから直接お願いします。

〇〇〇 では、失礼いたします。

65ページから67ページの辺りで伺いたいのですが、65ページの図19のAがSDS-PAGEで、同じものをウエスタンにかけたのが66ページの図20のAだと思うのですが、MagicMarkというのは多分ウエスタンでも染まるマーカーなのだと思うのですが、図19の4キロ前後のところに部分的な断片ができていて、そのために、67ページの図21のペプシンで消化した後にパンクレアチンで消化したという実験をされていると思うのですが、そちらのBについても、SDS-PAGEで使っているマーカーとウエスタンで使っているマーカーで違いがあって、部分的な断片、4キロのところはウエスタンでは見えなくなっ

ているように見受けられます。その部分が肝なところなのではないかと思うのですけれども、ここはウエスタンで見られるようにできないものでしょうか。

〇〇〇 まず、65ページの図19に関してなのですが、おっしゃったとおり、パネルAでSDS-PAGEでやったものをBでウエスタンブロットで流している状態になります。この部分的な断片なのなのですが、過去のものにもあったのですが、部分的な断片には抗体が反応しなくて出ない場合があります。それでこのときでも写っていない状態かと思えます。これを写すようにできるのかどうかは本社で確認してから御回答させていただきたいと思えます。

〇〇〇 ウエステンのほうを見る限りではオーバーランしてしまっていて、4キロのところはもともと入っていないのではというふうに見えてしまうので。

〇〇〇 65ページではなくて、67ページのほうだとオーバーランに見えてしまう。

〇〇〇 両方とも、ウエステンのほうだとマーカーの一番下のプロットが20だったり10だったり4キロのところは切れてしまっているのではないかなというふうに見えますので、そこがどうなのかを確認できたらと思えます。

〇〇〇 65ページの図19ですと4kDaのところまで見えるはずなのですが、64ページの23行目にありますように、こちらで使われた抗体では確認されなかったということなので、67ページのほうでも同じ抗体を使っていると思えますので、オーバーランしたかどうかは確認するのですが、同じ抗体でしたらやはり写らないというような状態になると思えます。

〇〇〇 分かりました。

〇〇〇 ありがとうございます。

ほかの先生方、ございますでしょうか。

〇〇〇 事前に問合せをさせていただいたことを、確認させていただきたいということで質問させていただきます。

41ページの図13の育成図で、次世代シーケンスを行ったのは、 R_3 のジェネレーションでシーケンスを行っておりまして、その前は●●●という形で来ておりまして、 R_3 で実際のシーケンスをやったときに外骨格が入っていないということを確認したということなのですが、それは分離とかを考えて、ほかに外骨格が紛れ込んだような種子がこの R_3 世代に入っていないということを担保できるかどうかということについて、事前に伺ってはいるのですが、もう一度この場で回答いただければと思えます。

〇〇〇 事前にいただいたコメントの回答に沿って回答させていただきます。

こちら、 R_3 の世代のほうで次世代シーケンス解析をしているのですが、この R_3 世代に至るまで、 R_0 から R_3 の世代におけるまでの各世代におきましては、それぞれ1個体ずつ選抜して次世代を育成しております。 R_1 と R_2 の世代におきましては、全ての個体を対象に遺伝子配列の解析を行っておりまして、目的の遺伝子をホモで持つこと、外側の骨格領域を持たないことを確認して、確認された個体のみ次世代の種子を採取しておりますの

で、R₃世代等を含め、それ以降の●●●につきましても外側骨格領域がないことを確認しております。

〇〇〇 ありがとうございます。そういう回答であれば何も問題はないと思いますので、それで納得させていただきました。

それから、これも事前に伺った内容ではありますけれども、32ページの27行目からあるグリシンリッチの配列ですが、具体的な配列に関するデータがCDとかに掲載されていなかったもので、事前にお伺いさせていただきましたけれども、特に安全性上問題はないということについて回答をいただいておりますが、一応御説明いただければと思います。

〇〇〇 32ページの21行目にありますGEGGGDGGGという9アミノ酸の配列に関してなのですけれども、28行目からの「さらに、この9アミノ酸のグリシンリッチ配列は食経験のあるほうれん草、ピーナッツ、バナナ、ナツメヤシのような野菜や果実を含む、あらゆる生物界の多くの非アレルギー性タンパク質に遍在する」という部分に関して、文献情報があればその名前を教えてくださいという御質問をいただいております。こちらなのですけれども、この該当の情報は文献情報ではなく、弊社のほうで9アミノ酸の配列をクエリー配列としてNCBIタンパク質データベースから相同性を持つ配列を検索しております。その結果、5,000以上の一致が確認されまして、その中にこちらに記載させていただきましたほうれん草、ピーナッツ、ナツメヤシなどから複数の一致が確認されておりますので、その旨記載させていただきます。

〇〇〇 完全に一致したものが5,000以上出てきたということで、そのぐらい多数の生物種で見られるものであれば問題ないかなと思われましたので、これで納得させていただきました。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

siRNAを使って雄性不稔を誘導しているけれども、siRNAは遺伝子を導入して発現させる場合と少々発現の事情が違うところがございます、これは何代か継代してもやはり同じように雄性不稔は発現するものなのでしょうか。

〇〇〇 研究開発の段階から何世代もつくっております、その中では安定して発現しております。

〇〇〇 ありがとうございます。

先生方、ほかにございますでしょうか。よろしいでしょうか。

お疲れさまでした。ありがとうございました。

(説明者退室)

〇〇〇 それでは、審議を再開したいと思います。

67ページのSDSとウエスタンのところだけ要確認ではあるのですけれども、65ページのAから考えて、写っていても抗体が反応しないであろうことはほぼ間違いなくて、そういうことはまああることなので、その回答を求めたところで、これでこの安全性に関するデ

一タが増えるとはあまり思えないというところが実はございます。

それ以外の答えはなかなか見事できて、私はおおむね納得がいったのでいいかなと思うのですが、先生方、いかがでしょうか。

それでは、本件については安全性上懸念がないということで、評価書案の審議に入ってよろしいでしょうか。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、評価書案の審議をお願いいたします。

〇〇〇 それでは、評価書案について御説明いたします。

評価書案を束ねた冊子の2ページからが本品目の評価書になります。

まず、7ページをお願いいたします。

I が評価対象品目の概要でございます。

本トウモロコシMON87429系統でございますが、改変*dmo*遺伝子、*pat*遺伝子、*ft_t*遺伝子、改変*cp4 epsps*遺伝子を導入して作出されており、ジカンバモノオキシゲナーゼ、ホスフィノスリシン N-アセチルトランスフェラーゼ、 α -テトグルタル酸依存性非ヘム鉄依存性ジオキシゲナーゼ及び5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素を発現することで除草剤ジカンバ、グルホシネート、アリルオキシアルカノエート系及びグリホサートを散布しても、その影響を受けずに生育できるとされております。また、雄穂形成初期にグリホサートを散布することで雄性不稔を誘発し、効率的なハイブリッド種子の生産を可能にいたします。

続きまして、「II. 食品健康影響評価」です。

1の(1)は記載のとおりです。

(2)でございますが、4種類の遺伝子の供与体でございますが、記載の4つのもの由来でございます。

(3)挿入DNAの性質及び導入方法でございますが、改変*dmo*遺伝子は除草剤ジカンバ耐性を付与する改変MON87429 DMOタンパク質をコードします。*pat*遺伝子は除草剤グルホシネート耐性を付与するPATタンパク質をコードいたします。*ft_t*遺伝子はアリルオキシアルカノエート系除草剤耐性を付与するFT_Tタンパク質をコードします。最後に、改変*cp4 epsps*遺伝子は除草剤グリホサート耐性を付与する改変CP4 EPSPSタンパク質をコードいたします。

これらの遺伝子はアグロバクテリウム法を用いて宿主に導入されました。

続きまして、2から6については記載のとおりでございます。

以上より、トウモロコシMON87429の安全性評価においては、既存のトウモロコシとの比較が可能であると判断しております。

続いて、第2の項目です。

トウモロコシMON87429は除草剤ジカンバ、グルホシネート、グリホサート及びアリルオキシアルカノエート系除草剤であるキザロホップエチル及び2,4-Dの影響を受けずに生

育することができます。

また、導入されたCaMV 35Sプロモーターと雄性組織特異的に発現する内在性siRNAの標的配列を付加することにより、雄性生殖組織において改変CP4 EPSPSタンパク質は発現しないか、発現しても微量であり、本系統は除草剤グリホサート散布条件下で雄性不稔になるとされており、この形質を利用して効率的なハイブリッド種子の生産を可能にいたします。

続いて、第3、第4については記載のとおりでございます。

少し飛びまして、第5、11ページをお願いいたします。

1の(1)は記載のとおりでございます。

(2)ですが、いずれも環境中や土壌中に存在しまして、いずれの細菌及び微生物もヒトや家畜等に対する病原性を示す報告はない旨を記載しております。

続きまして、少し飛びまして12ページをお願いいたします。

「(3)挿入遺伝子の機能に関する事項」でございます。

まず、改変*dmo*遺伝子でございますが、野生型*dmo*遺伝子配列を元に合成され、改変MON87429 DMOタンパク質は野生型*dmo*タンパク質のN末端からロイシンが挿入されております。

*pat*遺伝子でございます。下線を引いておりますが、こちらは事前に〇〇〇からコメントをいただきまして、事務局のほうで修正をさせていただきました。

*pat*遺伝子がコードするPATタンパク質ですが、グルホシネートをアセチル化し、除草活性のないN-アセチルグルホシネートを生成いたします。グルタミン合成酵素は植物体内のアンモニアの蓄積に関与するとされており、グルホシネートと結合しますが、N-アセチルグルホシネートとは結合できないため、トウモロコシMON87429は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となります。

続いて、13ページ、*ft_t*遺伝子でございます。FT_Tタンパク質はアリルオキシアルカノエート基を持つ除草剤を酸化しまして、除草活性のない化合物に変換するため、トウモロコシMON87429はアリルオキシアルカノエート系除草剤の影響を受けずに生育することが可能となります。

続いて、④EPSPSタンパク質です。タンパク質の合成に必須の芳香族アミノ酸の整合性経路であるシキミ酸経路を触媒する酵素の一つでございます。

改変*cp4 epsps*遺伝子がコードする改変CP4 EPSPSタンパク質は、EPSPS活性を阻害する除草剤グリホサートの存在下でもEPSPS活性を示すことができます。その結果、トウモロコシMON87429は除草剤グリホサートの影響を受けずに生育することが可能となります。

なお、改変*cp4 epsps*遺伝子発現カセットに存在するCaMV 35Sプロモーターと雄性組織特異的に発現する内在性siRNAを付加することによって、雄性生殖組織においても改変CP4 EPSPSタンパク質は発現しないか、発現しても微量であるように制御されております。

mts-siRNAの標的配列はトウモロコシの雄穂で特異的に発現するmts-siRNAの認識配列を3'末端非翻訳領域に持つ遺伝子EU974548の部分配列でございます。

(4)、3及び4については記載のとおりでございます。

少し飛びまして、15ページ、5の(2)をお願いいたします。

導入用プラスミドT-DNA領域のORFの有無をデータベースを用いてE-score $<1 \times 10^{-5}$ を指標として相同性検索を行いました。その結果、相同性を示す既知のアレルゲン、毒性タンパク質、有害生理活性物質は検出されませんでした。

その下に行きまして、既知のアレルゲンとの相同性検索の結果、連続する80アミノ酸以上で35%以上の相同性を示す配列は検出されませんでした。連続する8アミノ酸が一致する既知のアレルゲンとしてブタクサのArt v 1が検出されました。この配列はmts-siRNAの標的配列の逆相補鎖に位置し、ストップコドン間にスタートコドンがなく発現する可能性の低いこと、及び野菜、果物などの多くの非アレルゲンタンパク質に遍在することなどから、アレルギー誘発性の可能性は低いと考えられたと記載しております。

続いて、(3)、(4)、6については記載のとおりでございます。

17ページの下をお願いいたします。

「第6. 組換え体に関する事項」でございます。

1の(1)です。トウモロコシMON87429のゲノムに挿入されたT-DNA領域のコピー数、導入用プラスミドの非意図的な配列の有無及び挿入近傍配列を確認するためにシーケンス解析及びPCR分析を行いました。

トウモロコシMON87429及び非組換えトウモロコシ両ゲノムから読まれたリードの冗長度は108及び121でございます。シーケンス解析の結果、トウモロコシMON87429では、T-DNA領域5'及び3'末端配列を含む2つの接合領域が特定され、T-DNA領域が1か所に1コピー挿入されたことが示されました。また、トウモロコシMON87429において導入用プラスミド由来の非意図的な配列は確認されませんでした。

近傍配列が宿主ゲノム由来であることを確認するために、PCR分析及び塩基配列の解析を行った。これをトウモロコシMON87429の近傍配列と比較した結果、トウモロコシMON87429のT-DNA領域の挿入部位に認められた宿主ゲノムの54bpの欠失並びにMON87429系統の導入遺伝子の5'末端とトウモロコシゲノム配列の間に29bpの付加、3'末端とトウモロコシゲノム配列の間に31bpの付加が認められたことを除き、トウモロコシMON87429の近傍配列と非組換えトウモロコシの塩基配列は一致しており、導入遺伝子の近傍配列が宿主ゲノム由来であることが確認されました。

また、トウモロコシMON87429のゲノムにDNAを挿入することにより、宿主の内在性遺伝子が損なわれていないことを確認するために、BLASTn及びBLASTx検索を行った結果、BLASTn検索においてE-score $<1 \times 10^{-6}$ かつ95%以上の相同性を有する配列が認められましたが、これらの配列は短い配列か導入遺伝子挿入部位の下流に位置しており、また、BLASTx検索においてE-score $<1 \times 10^{-8}$ の配列が確認されましたが、トウモロコシ

MON87429の導入遺伝子の挿入部位の下流に位置しておりました。したがって、導入遺伝子挿入部位においてトウモロコシ内在性の既知の遺伝子は破壊されているとは考えられないと記載しております。

続いて、隣の19ページに移りまして、(2)ORFの検索です。トウモロコシMON87429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、6つの読み枠においてORF検索を行いました。その結果、終止コドンから終止コドンまでの連続する8アミノ酸以上の接合部をまたぐORFが14個見いだされました。既知のアレルゲン及び毒性タンパク質との相同性の有無を確認するため、記載の各データベースを用いてE-score $<1 \times 10^{-5}$ を指標として相同性検索を行いました。連続する8アミノ酸以上の配列に対して35%以上の相同性を有する配列及び連続する8アミノ酸配列が一致する配列を検索した結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質及びアレルゲンは見いだされなかったと記載されています。

〇〇〇

「(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」については記載のとおりです。

「2. 遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項」については、表2に示しました数値のとおりでございます。

502行目、遺伝子産物が一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項については、一日蛋白摂取量の有意な量を占めることはないと判断されております。

4番に行きまして、アレルギー誘発性に関する事項については、FT_Tタンパク質における人工胃液と人工腸液に対する感受性のところから説明させていただきます。530行目からです。*E. coli*で発現させたFT_Tタンパク質の人工胃液中における消化性は、SDS-PAGEにおいては0.5分以内に全長は消化されますが、4kDaのフラグメントが60分後にわたり認められました。このフラグメントについては、胃液に続く腸液処理をしましたところ、0.5分以内に消化されることが確認されております。人工腸液については、試験開始後5分以内に消化されることが確認されました。

③加熱処理に対する感受性については、マルチプレックスイムノアッセイ法で行ったところ、75°C、15分間の加熱処理で免疫反応性が消失したことが示唆されました。

次の(4)タンパク質と既知のアレルゲンとの構造相同性に関する事項でございますが、ここについても今までの結果と同じでございます。アレルギー誘発性を示唆するデータがないことが確認されております。

5、組換え体に導入された遺伝子の安定性に関しましては、5世代の穀粒から抽出したゲノムでNGS解析で確認されているとともに、ウエスタンブロットにおいても各タンパク質の発現が5世代で確認されております。

6、代謝経路への影響に関する事項です。

DMOタンパク質については記載のとおりでございます。

PATタンパク質はL-ホスフィノスリシンをアセチル化することによって除草剤としての機能を失わせますが、その反応は特異的で類縁体との反応性は低く、他の宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いということでございます。

FT_Tタンパク質については、ジクロロプロップ（DCP）と構造的に相同性を有する化合物をデータベースにてスクリーニングし、それがFT_Tタンパク質の活性部位に結合するかどうかをシミュレーションによって選定同定された38化合物のうち、32化合物についてFT_Tタンパク質は活性を有しないということが確認されています。

CP4 EPSPSタンパク質については記載のとおりです。

mts-siRNAの標的配列につきましては、標的配列をクエリーとしたBLAST検索により、相同性を有する内在性遺伝子を同定した結果、EU974548遺伝子のクラスターと考えられる7つの遺伝子がヒットしました。これらについてmRNAを測定し、非組換えトウモロコシと比較した結果、差がないということでありまして、代謝経路への影響はな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」として、米国のほ場で栽培されたトウモロコシMON87429と非組換えトウモロコシについて、主要構成成分、次のページに行きまして、脂肪酸組成、アミノ酸組成、ミネラル類、ビタミン類、二次代謝産物、有害生理活性物質について測定を行った結果、対照に用いた非組換えトウモロコシ、またはILSIデータベースとの比較において、生物学的な有意な差は認められなかったということです。

8の諸外国における認可、食用等に関する事項、9栽培方法、10種子の製法及び管理方法に関する事項は記載のとおりです。

第7は第2から第6までにより安全性の知見が得られているということです。

Ⅲとしまして、除草剤グリホサート誘発性雄性不稔並びに除草剤ジカンバ、グルホシネート、アシルオキシアルカノエート系及びグリホサート耐性トウモロコシMON87429系統については、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断されたということです。

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、コメントを承りたいと思います。細かい字句等の修正につきましては、後ほど修正箇所を事務局に寄せていただければと思います。

何かございますでしょうか。

どうぞ。

〇〇〇 消化性について、21ページの(3)の①の人工胃液に対する感受性のところで、記載事項に確かに間違いはないのですが、1パラ目のウエスタンブロット分析では試験開始後0.5分以内に消化されることが確認されたとありますけれども、これはあくまで全長が消化されたということで、4kDaのフラグメントについては何の言及もしていませんし、後段のほうにつきましては、さらにウエスタンのほうでは判断がついていないにもかかわらずSDS-PAGEとウエスタンの分析の結果が確認されたという構成になっているので、ちょっと書きぶりを変えたほうがいいのではないかなと感じました。

〇〇〇 確かにちょっと気になりますね。そこは修正をお願いできますか。後で私と先生とでチェックしたいと思います。そこは私もちょっと気になりましたので、よろしく願いいたします。

ほかに。

では、よろしいでしょうか。後で何かお気づきでしたら、事務局まで寄せていただければと思います。

これはたしか飼料があるんだよね。飼料としての審議を行いたいと思います。食品のほうは通っておりますので、飼料のほうは説明を簡略をお願いいたします。

〇〇〇 透明のファイルでございます。MON87429系統に関する遺伝子組換え飼料についてです。

1ページについては、①、②、③、④で4つの導入遺伝子について説明されておりますので、説明は省かせていただきます。

2ページになります。3)本系統の使用法、トウモロコシの飼料としての利用は子実の直接利用、サイレージ、青刈りとしての直接利用、ウェットミリング、ドライミリング及びアルコール発酵の際の副産物の利用に大別されるが、このうち、子実を配合飼料原料として利用することが最も多いということで、各家畜にどのぐらい使われるかということが次に書かれております。そして、日本では2018年におよそ1127万トンのトウモロコシを飼料用として輸入しており、その約91%は米国から輸入しております。

2、としまして、遺伝子組換え飼料としての安全性についてです。これに当たっては、①当該遺伝子組換え飼料もしくは飼料添加物中に組換え体由来の新たな有害物質が生成され、これが肉、乳、卵等の畜産物に移行する可能性、②飼料もしくは飼料添加物中の遺伝子組換えに由来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、③飼料もしくは飼料添加物中の遺伝子組換えに起因する成分が家畜の代謝系に作用し、新たな有害物質を産生する可能性があるかどうかを考慮して、そのような可能性が想定される場合に当該飼料もしくは飼料添加物に由来する家畜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がないかどうかについて評価することとなっております。上記①～③に示される可能性がないと考えられた場合には影響評価は必要ないとなっております。

MON87429系統は、4つの除草剤耐性を付与されたものである。また、一般的に挿入された遺伝子もしくは当該遺伝子によって産生されるタンパク質が肉、乳、卵等の畜産物に移行するということは報告されていない。したがって、上記①のみならず②、③の可能性も考えにくく、当該飼料を摂取した家畜に由来する畜産物には安全性上の新たな問題は生じないと考えられる。

以上のことから、ヒトの健康に影響を及ぼす可能性はないと考えられるとしております。

次のページからキザロホップエチル及び除草剤2,4-Dの残留値について書かれております。

総合しまして、キザロホップPエチルが散布されたMON87429系統の穀粒及び除草剤2,4-D

が散布されたMON87429系統の穀粒を含む飼料を家畜に摂取させたとしても、その家畜に由来する畜産物に残留基準値を超過する量のこれらの農薬が残留することはなく、これらをヒトが摂取したとしても、ヒトの健康に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられたとしております。

9ページはグルホシネートとグリホサートについてですが、これは記載のとおりでして、ヒトの健康に影響を及ぼす可能性は低いとしております。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

食品でも通っておるわけで、また、代謝産物についても検討されておるのでと思います。が、先生方、御意見はございますか。

飼料としてオーケーということによろしいでしょうか。

〇〇〇 ありがとうございます。

では、評価書案について、簡略で結構です。

〇〇〇 飼料の評価書案については32ページからです。

「Ⅰ．評価対象飼料の概要」については記載のとおりです。

「Ⅱ．食品健康影響評価」については、1. トウモロコシMON87429については、除草剤グリホサート誘発性雄性不稔並びに除草剤ジカンバ、グルホシネート、アリルオキシアルカノエート及びグリホサート耐性の形質が付与されており、この遺伝子組換え作物を飼料として用いた動物の飼養試験において、挿入された遺伝子または当該遺伝子によって産生されるタンパク質が家畜に移行することは報告されていない。

2. 食品安全委員会において、食品としての安全性評価が終了しており、ヒトの健康を損なうおそれがないと判断している。

1及び2を考慮したところ、遺伝子組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、家畜の代謝系に作用し、新たな有害物質が生成される可能性は考えられないとしております。

以上のことから、トウモロコシMON87429については安全性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考えられるとしております。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、ただいまの評価書案について御意見、コメントはございますでしょうか。

では、お気づきの点がございましたら、後ほどでも修正箇所を事務局に寄せていただければと思います。

以上をもちまして、MON87429系統については審議を終わりにします。

それでは、もう一件、Ra α 3114株を利用して生産されたプロテアーゼについて、新規品目でございます。

審議を行いたいと思いますので、事務局のほうから説明をお願いいたします。

〇〇〇 こちらの資料の概要に基づき説明させていただきます。

まず、1ページ目でございます。

今回の審議する添加物でございます。プロテアーゼとして申請がされておりますが、もともとのものが耐熱性の菌から採られた耐熱性のアルカリ性のプロテアーゼでございます。用途はパンの製造や製菓の原料として使用されるものでございます。

では、申請品の比較対象について説明させていただきます。5ページ目をお願いいたします。

「1 安全性評価において比較対象として用いる添加物及び宿主等の性質並びに遺伝子組換え添加物及び組換え体」との相違でございます。

まず1.1.1といたしまして、名称、基原及び有効成分でございます。名称はプロテアーゼですが、系統名としてはその下に記載のセリンエンドペプチダーゼに該当いたします。基原としては*Aspergillus oryzae*でございます。

1.1.2、製造方法としては、*A. oryzae*を培養、ろ過、精製を経て製剤化いたします。

使用の用途及び形態につきまして、食品加工において、一般的にプロテアーゼは製パン・製菓の生地改良やみそ、しょうゆのコク等に使われますが、今回のものにつきましては、製パン・製菓において生地に生成されるグルテンを加熱のときに分解することで焼成後のサクサクした食感を得るために添加するといったものでございます。

今回の添加物の摂取量でございますが、製パン・製菓用に使用されるプロテアーゼの最大摂取量から求めたところ、下のところにあります0.163mg TOS/kg 体重/日となっております。このことから、プロテアーゼの理論最大摂取量は0.163となるということが推定されます。

続きまして、宿主について。1.2.1、宿主となるDNAの種名でございますが、今回、*Bacillus subtilis*を称しております。こちらの●●●の株を由来としているものでございます。

6ページ目に参りまして、1.2.2です。DNAの供与体でございますが、*Thermus aquaticus*という耐熱性菌でございます。米国イエローストーン国立公園の熱水泉から単離された菌でございます。この菌の●●●株から採られるプロテアーゼ遺伝子●●●を今回利用しているといったものでございます。

このタンパク質の性質ですが、先ほど申し上げましたセリンエンドペプチダーゼにはなりますが、EC番号が3.4.21.111ということで、比較対象としている*A. oryzae*から採られるエンドペプチダーゼとはEC番号が異なっているものでございます。

遺伝子の導入につきましては後ほど説明させていただきます。

1.3食経験につきまして、宿主の食経験につきましては、*B. subtilis*は食品中にも存在していて、食品用の酵素の生産に何十年も使用されてきているものでございます。

また、宿主の構成成分に関する資料として、*B. subtilis*から生成されるプロテアーゼにつきましては、米国ではGLASに登録されています。

「1.5 遺伝子組換え添加物の性質及び用途に関する資料」でございますが、次の7ページ目に行きまして、添加物の情報は先ほど申し上げたとおりでございます。製造方法といたしましては、生産菌 *B.subtilis* Ra α 3114株を用いて生産しています。

製造方法についてはこの図のとおりでございます。

用途と使用形態は、先ほど説明したとおり製パン・製菓に用いられるということで、従来の添加物との違いといたしましては、高い温度帯で活性があるために焼成時の生地の中でのタンパク質に作用するといった特徴がございます。これによって、通常の温度では作用を抑えつつ、焼成時に作用して触感の改良に寄与するといったものでございます。

8ページ目に参りまして、「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の相違点」につきましては、1.6.1の表1のとおりでございます。

また、「1.6.2 組換え体と宿主の相違点」につきましては、宿主株は *B.subtilis* ●●●を出発株として、●●●を作成しております。この株に●●●遺伝子を導入して、Ra α 3114株を作っているといったところでございます。

続きまして10ページ目、「2.2 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。

*B.subtilis*は食品添加物製造に広く用いられており、国立感染症研究所や日本細菌学会のバイオセーフティレベルについては1に相当するということが確認されております。また、FDAでは *B.subtilis*から得られるプロテアーゼはGLASに登録されています。

寄生性及び定着性に関する事項について、*B.subtilis*はヒト腸管内に寄生したり定着するといったような報告はございません。

また、外来因子に汚染されていないことについて、*B.subtilis*はウイルス感染などの報告はされていないということです。

近縁株について、近縁種である *Bacillus cereus*は食中毒の原因となるセレウリドやエンテロトキシンを生産することが知られていますが、近縁種として容易に区別が可能でございます。

また、「3 ベクターに関する事項」といたしまして、●●●でございます。具体的な導入方法は後の「4 挿入DNA」で説明させていただきます。

続きまして、「3.2 性質に関する事項」ですが、こちらについては特に該当する事項はございません。

11ページ、「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」でございます。

「4.1.2 安全性に関する事項」について、もともと熱水泉から単離された当該菌は、摂取経験については知られていません。国立感染症研究所の病原体等安全管理規程ではBSL1に相当するとされています。

次に「4.2 挿入DNAまたは遺伝子及びその遺伝子産物の性質」に関する事項でござい

ます。

4.2.1の挿入遺伝子のクローニングもしくは合成方法に関する事項について、●●●のプロテアーゼ●●●を●●●得ております。

塩基数及び塩基配列、制限酵素による切断地図に関する事項については記載のとおりでございます。

13ページに移りまして、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ございます。こちらの遺伝子産物のアレルギー誘発性に関してはPubMedで検索を行ったところ、該当する文献は見つかりませんでしたということで、アレルギー誘発性を有するとは考えられにくいということでございます。

続きまして、遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する知見でございます。今回この●●●については変異を導入していないので、SDS-PAGE及びウエスタンブロットによる分析は行っていません。公開ウェブサイトExPASyにおいて提供されているPeptide Cutterというソフトウェアを用いて、●●●遺伝子がコードしているタンパク質のアミノ酸配列に対して、タンパク質の分解シミュレーションをコンピューター上で行っております。

胃内の酸性化条件のペプシンによって分解、その後、小腸のトリプシン、キモトリプシンでさらに分解を受けるといったシミュレーションを行っております。その結果、ペプシンによって最長40アミノ酸まで分解、さらにそこからトリプシン、キモトリプシンを使った条件では、最長でも17アミノ酸まで分解されるといったことが推定されました。当該シミュレーションによる推定以外にも、実際には人体の腸内ではカルボオキシペプチダーゼ等による消化を受けることでさらに短く分解されることが想定されるといったところがございます。

また、熱による活性の失活を確認する試験等はされていないといったところがございます。

続きまして、遺伝子産物と既知のアレルゲンの構造相同性に関する知見でございます。●●●がコードするタンパク質のアミノ酸配列につきまして、80アミノ酸で35%以上一致するアレルゲン及び連続した8アミノ酸配列が一致するアレルゲンの相同性検索をアレルゲンデータベースで行ったところ、28個の既知アレルゲンとの相同性が検出されております。そのうち24個が呼吸器系アレルゲンであり、残りの4つが皮膚系アレルゲンであって、食品としての安全性に関与する食物アレルゲンに関しては一致するものはございませんでした。

また、●●●遺伝子がコードするタンパク質のアミノ酸に対して、Toxin and Toxin Target Databaseを用いて期待値0.0001でBLAST解析を行ったところ、相同性のある毒性タンパク質は見つかっていないといったところがございます。

続きまして、14ページ、「4.3 挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカーに関する事項」でございます。

まず、プロモーターにつきましては、宿主と同じ*B.subtilis* ●●●から採ってきた●●●
●●●でございます。ターミネーターは●●●のターミネーター配列を入れております。また、
タンパク質を輸送する目的のため、シグナルペプチドとして*B.subtilis*の●●●株から入れ
ているといったものでございます。

このベクターへの挿入のDNAの組込み方法に関する事項でございますが、この●●●で
つくっております。

今回つくったベクターというのが15ページ目の4.5でございますが、導入部位となるも
のを今回●●●に入れるのですけれども、導入部位の遺伝子としては●●●といったと
ころでございます。●●●するものでございまして、それぞれ導入するときにこれらと入れ
替わるように導入されるといったものでございます。

導入ベクターの配列構成要素につきましては、15ページの下の方の表3から次のページの表4、
表5となっております。

18ページに参りまして、4.5.2ですが、これらに原則として最終的に構築された発現ベク
ターについては目的以外のタンパク質を組換え体内で発現するオープンリーディングフレ
ーム (ORF) が含まれていないことについて、次のとおり確認をしております。検出され
たORFに対応するアミノ酸配列に対しては挿入遺伝子の機能に関する事項で示したも
のと同じ方法を用い、80アミノ酸で35%以上で一致する既知のアレルゲン及び8アミノ酸配
列が一致する既知のアレルゲンとの相溶性検索を行っています。また、毒性タンパク質に
ついてはToxin and Toxin Target Databaseを用い、BLAST解析によって検索を行って
います。

これについて、まず発現カセットのORFにつきましては、目的遺伝子を含めて15のORF
が検出されました。1つは挿入する遺伝子でございますので、残りの14個についてアレル
ゲン及び毒性タンパク質と相溶性検索の結果、既知のアレルゲン及び既知の毒性タンパク
質との相溶性は検出されませんでした。

19ページ目に入りまして、発現カセットと導入部位遺伝子の接合部のORFにつきまして、
●●●でORFを調べたところ、開始コドンに対応する塩基配列は新たに形成されていま
せませんでした。●●●されませんでした。

●●●にまたがるORFにおいて29種類のアレルゲンと2種類の毒性タンパク質の相溶性
が検出されました。ただし、これは*B.subtilis*の染色体にもともと存在する●●●遺伝子由
来のものと一致しているということから、新たにアレルゲン及び毒性タンパク質を相溶性
する部位は形成されていないことが確認されたということでございます。

続きまして、19ページの「4.6 DNAの宿主への導入方法に関する事項」でございます。

導入方法は、●●●にすることにより行っております。

導入の仕方につきましては次の20ページを御覧ください。●●●を作成しています。下
の図10のようにして導入をし、最終的に目的遺伝子が組込まれ、耐性遺伝子が落ちている
といったもので組換えが行われているといったこととなります。

正しく●●●入ったかどうかにつきましては、21ページ目のサザンプロットの結果を見ていただければと思います。●●●のときには無く、Ra α 3114株には●●●入っているといったことが確認でき、また、その右側の●●●したのですが、残っていることから、この部分は非常に安定しているといったものでございます。

22ページ、耐性マーカーにつきまして、それぞれ●●●を組み込んでいるものがありますが、22ページの後半から23ページ、24ページにかけてRa α 3114株には耐性遺伝子が残っていないということが確認されています。

25ページに参ります。「6 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項」でございます。

「6.1 添加物の製造原料及び製造器材としての使用実績があること」につきましては、原材料は全て食品グレードのものを使用するという事と、製造装置の材質はステンレス鋼を使っているといったものでございます。HACCPに用いた製造工程管理を行い、製品AQ1の製造に用いられる製造機材などは食品用酵素の製造に長年使用された実績がございます。

「6.2 添加物の製造原料または製造器材の安全性について知見が得られていること」についても、先ほどと同じでございます。

続きまして、「7 遺伝子組換え添加物に関する事項」として、諸外国における認可、食用等に関する事項でございますが、こちらのプロテアーゼの認可例につきましては、カナダ、フランス、アメリカでそれぞれ認可又は自己認証が行われているといったものでございます。

「7.2 組換え体の残存に関する事項」について、●●●、菌の育成は確認できなかったとしております。

26ページ、「7.3 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項」について、食品衛生法の食品添加物公定書第9版のプロテアーゼの成分規格を全て適合していることが確認されております。

「7.4 精製方法及びその効果に関する事項」ということで、生産培養後につきましては、精密ろ過と限外ろ過、滅菌ろ過を行い濃縮酵素溶液を得た後、担体添加、噴霧乾燥を行って製品となっております。

食品への使用が認められた原材料を用い、製造工程もHACCPに基づき厳格な管理が行われているので、生産菌の残存や安全性に問題のある物質の混入は考えにくいとしております。

また、「7.5 含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動に関する事項」につきましても、同様にHACCPに基づく厳格な管理が行われているため、含有量の変動による有害性が示唆される常成分の変動はないと考えられているといったところでございます。最後、27ページです。

「8 安全性試験の結果に関する事項」ですが、ここまで第2から第7までの事項によっ

て安全性の知見が十分に考えられるということで、安全性試験は実施していないといったところでございます。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、申請書につきましては、先生方から御意見をいただきたいと思っております。それほど長いものではございませんので、どこからでも。

1つ、とても素人目にも気になったところが、物理化学試験のところ、通常は人工胃液と人工腸液で試験を行っていただくのですが、ここではPeptide Cutterというシミュレーションを行ったのみになっておりまして、この点につきましては、本日欠席ですが、〇〇〇にここだけはぜひ意見を寄せてくれとお願いいたしました。返事が来ておりますので、事務局のほうから。

〇〇〇 本日の机上配布資料として配布しております「Ra α 3114株を利用して生産されたプロテアーゼへのコメント」というものがありますので、そちらを御覧ください。

読み上げさせていただきます。

13ページの「遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する知見について」ということで、1、13行目、「挿入遺伝子の●●●には変異を導入していないので、SDS-PAGE及びウエスタンブロットによる分析は行っていない」。SDS-PAGE及びウエスタンブロットによる分析を行わない理由にはなっていないように思います。

2、Peptide Cutterを用いたタンパク質分解のシミュレーションについて。従来この方法は経時変化を伴った試験でない、タンパク質分解性試験の補助的位置づけによるものとして取り扱ってきたと思っております。相当な理由がない限り、食品添加物の酵素においてもシミュレーションだけでタンパク質分解性試験を行ったと言うのは厳しいと思っております。

3、遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性に関する知見。添付資料11で既知のアレルゲンと相同性検索の結果を示していますが、通常80アミノ酸で35%以上一致するアレルゲン及び連続した8アミノ酸配列が一致するアレルゲンが検索された場合、どの部位が一致するか、8アミノ酸配列の一致では何個のペプチドが一致したのか、データ添付資料も示してもらっていましたので、追記が必要と思っております。なお、従来より相同性検索の対象とする既知アレルゲンは食物アレルゲンに限定していませんので、食物アレルゲン以外でも検出されたアレルゲンにつき、通常の資料の添付が必要と思われれます。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

実は〇〇〇ならこう言うのではないかとっておったのですけれども、結論を言うなら、Peptide Cutterでは駄目でしょう、ちゃんとやってくださいと。それから、アレルゲンも28個アレルゲンと一致していて、食物アレルゲンでなくとも、きちんとこの説明をしてくださいと言っておられます。実は私もそう思うのですけれども、先生方、いかがですか。

この辺が専門の先生方、〇〇〇、いかがですか。

〇〇〇 〇〇〇が御指摘されたとおりで、やはりこちらに関しましてはもう少々データを示していただくべきではないかなと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、いかがですか。

〇〇〇 私は専門からそれですけれども、御指摘のとおりだと思います。

〇〇〇 多分皆さん同じような印象だと思いますので、このデータはきちんと取ってくださいと要求しようと思います。

ほか、ございますでしょうか。

どうぞ。

〇〇〇 これは結局 α アミラーゼのときにも問題になっているのですけれども、パン屋のアレルギーというのが α アミラーゼではないかと昔から言われていて、ですから、今まで呼吸器系アレルゲンということでも見ていたはずなのです。あと、皮膚系アレルゲンということは、ここで作ったパンは手で持って食べないんだねということであればいいのですけれども、そういうことを考えると、これは食品のアレルギーということではなくて、パン屋のアレルギーということで α アミラーゼをやってきたので、そこもやはり見ていただかないとまずいと思いました。

〇〇〇 ありがとうございます。実は私もそういうふうに思います。

〇〇〇。

〇〇〇 このタンパク質は超好熱菌から採られているので、パンの焼成時に活性が出る。パンをこねているときは温度が低くて活性が出にくくて、そのときにはだれないので非常に使いやすいのだという説明なので、逆に言うと、パンの焼成過程、幾つかパターンがあるとは思いますが、その焼成過程で失活しないのではないかと、非常に意地悪い言い方もできなくはないのかなとちょっと思いますので、熱安定性については、どのぐらいの温度でどういうふうな、パンの焼成過程と照らし合わせてもらったような知見が望ましいとは思いますが、失活しますよというぐらいのデータは見せてもらわないと、製品としてできたパンの中に生きている酵素がいるかもしれませんということなのかどうかというところは確認してほしいというのがまず1点。

それから、8ページの1.1.6でFamily S8に分類されており、アミノ酸配列や立体構造の類似性の観点からもと書いてあるのですけれども、このAqualysin 1というものでEC番号が振られているようなので、酵素活性としては問題ないと私も思っているのですけれども、立体構造の類似性の観点からもと書かれてしまうと、立体構造の類似性を見せてよと思わざるを得ないので、そこは見せてほしいと思います。

以上です。

〇〇〇 この点は、せっかくですから申請者を呼んで直接言っていただいたほうが。直接言ったほうが多分誤解なく伝わると思いますので。多分今日は肝心なデータがないので、

今日は駄目なので、ということは、今日のうちに全ての文句をつけておくということがルールですので、直接申請者が来ますので、言えるだけ全部指摘していただければと思います。

ほかにございますでしょうか。

私のほうからも幾つか聞きたいなど。これは何で *oryzae* のプロテアーゼが比較対象でいいのかなど。これについては実は先に質問して答えをいただいております、*Bacillus* の *subtilisin* があるならそちらが適当ではないかと思ったのですけれども、*oryzae* のほうもパンを焼くのに使っている点と、実はアミノ酸配列が *oryzae* よりもこちらのほうが実は似ているといった事情があってこれを使っているようです。

あとは、精製の過程で●●●という行程がございまして、これが何のためにあるのか説明がないので聞いてみたいかと思います。実は好熱菌のタンパク質を *Bacillus* みたいな中温菌でつくる時には最初にこれをやるのがセオリーでして、そうすると、*Bacillus* 由来のタンパク質がみんな変成して沈むので一発できれいになるからと答えるとは思いますが、私が教えてやる必要はないと思うので、これは聞いてみたいと思います。

それから、19ページ、ORFの検索条件、今度はstop to stopで見てもらっておるのですけれども、聞いてみると、彼らはどうやらスタートコドンからストップコドンまでと、こちらではstop to stopで見させていただくというルールになっておりますので、そこはちゃんとそういうふうにやっていただくということで要求したいと思います。

ほか先生方、お気づきの点などはございますでしょうか。

どうぞ。

○○○ 先生のおっしゃるとおりの点で、プラスアルファなのですけれども、彼らはターミネーターのところからしか見ていなくて、これは要するに、●●●入っていますよね。そのジャンクションのところは●●●ですね。プロモーター。要するに、前後のボーダーのところをきちんと見るということと、入っていると言うけれども、シークエンスが間違いなく変わっていないということの担保は全くないですね。読んでしまったほうが早いのではないかと思いますのですけれども、そのぐらひはやってほしいなという気がしました。

以上です。

○○○ 私も、いろいろと甘いような気がしているので。

あと、特にございますか。申請者をお呼びしようと思っておりますので、その場で思いついた指摘でも結構です。今日中に全て疑問点は指摘しておきたいと思っておりますので、後から五月雨式というのはやはり気の毒ですので、ぜひにと思っております。

○○○ 2つ3つ聞きたいことがあります。

○○○ 私にはなくて、ぜひ当人に聞いてください。

では、お呼びしてください。

○○○ 御多用中、それから、新型コロナの騒ぎの中で対面のこの会議に御出席いただきましてありがとうございます。

自己紹介をお願いいたします。会社と氏名だけで結構です。

〇〇〇 今日はよろしくをお願いいたします。私、ピュラトスジャパン株式会社の〇〇〇と申します。

〇〇〇 同じくピュラトスジャパン株式会社、〇〇〇と申します。よろしくをお願いいたします。

〇〇〇 それでは、一番重要な問題なのですけれども、今回の申請で、これはパンに使うということですので、ということは、最終製品にこのタンパク質は含まれるわけですよ。そうである以上、アレルギーの可能性はかなり徹底的につぶしておかないといけないのですけれども、本実験では物理化学試験でシミュレーション、**Peptid Cutter**を使っておられて、人工胃液、人工腸液を用いた実際の試験を行っておられないのですが、これは何か理由があったのですか。

〇〇〇 これに関しましては、基本的に遺伝子に変異を行った場合に実際の手を動かす実験をするというような理解でおりますので、今回のものは遺伝子を別の菌で導入はしているのですけれども、ただ、遺伝子そのものに変異は加えていないということで、今回は**Peptid Cutter**のシミュレーションで行っております。

〇〇〇 遺伝子をいじくってようがいまいが関係ありませんので、新規系のタンパク質でございますので、アレルギーの可能性の追究のために人工胃液、人工腸液の試験をお願いしているわけです。本件はその例外に当たると考えておりませんで、シミュレーションというのはあくまでも特殊な条件の場合、補助的な手段として許容されるものでございますので、これはぜひ行っていただきたいと考えております。よろしくをお願いいたします。

〇〇〇 了解しました。

〇〇〇 あと、アレルギーとこの一致について、既知のアレルギーと相同性検索の結果、80アミノ酸以上で35%、それから、連続した8アミノ酸、この場合、どの部位が一致するのか、また、8アミノ酸の一致では何個のペプチドが一致したのかというデータもこちらでお願いしておりますので、アレルギーについては非常に慎重に見ておく必要がありますので、それはお願いいたします。それから、28個アレルギーと一致しているけれども、食品のアレルギーと一致するものがないからという説明がございしますが、食品のアレルギーと一致していなくても、アレルギーのデータベースとぶつかる以上、これでアレルギーを発症する可能性もあるわけですので、このアレルギーと一致してその可能性があるものについては、一つ一つそれが実際にヒトに健康を及ぼす可能性があるかないかという点について、きちんとディスカッションして考察していただきたいと思います。

何か付け加えることはございますか。

〇〇〇 パン屋のアレルギーというものがあって、 α -アミラーゼではないかと言われているのですけれども、この製剤を売ったときの消費者の一人はパン屋さんだということは理解していただかないと、すなわち、これは吸うわけですよ。消費者は食べる人だけではないという理解がちょっと足りていないのではないかと。あとは、皮膚に問題がないと言

うのだったら、このパンは手で持って食べないということでもよろしいのかとかという問題もあるので、ですから、当たったものは全部やれというのは、そういう意味で必要だということをお認めください。

〇〇〇 了解しました。

〇〇〇 それから、物理化学試験では、もう一つ通常お願いしているものがございまして、熱安定性に関することなのですが、本菌では好熱菌から採っている分、耐熱性の高い酵素で、その分、パンを焼くときになって効くと。そこがとても便利という売りであったと考えます。ですが、好熱菌由来で、そこまで耐熱性があるのであれば、パンを焼いた後最終的に本当に失活するのか。ひょっとしたら失活しないで、焼いている間は失活していても、温度が下がると元に戻るとかという頑丈なタンパク質は好熱菌はよくつくりますので、そういった可能性はないのか。また、もしあるのならば、それがヒトの健康に悪影響を与える可能性についてどうなっているのか。そういった点について詳細なデータと考察をいただきたいと考えるのですが、その点は今そちらから付け加えることはございませうでしょうか。

〇〇〇 現段階では、弊社、ベルギーに本社がございまして、そちらから私どもの申請に必要なデータをくださいということをお願いしておりますので、今御指摘の点はベルギー本社に確認しましてまた御連絡させていただきたいと思っております。

あと、今、1つお伺いさせていただきたいのですけれども、もし焼成後にも残るといようなことをベルギー本社が言ってきた場合に、ここに関して安全性試験としてどういった内容のものが必要になってきますでしょうか。

〇〇〇 酵素活性として生きているものを食品として摂取するということはあり得るわけで、要は、それを食べてもヒトの健康に悪影響を及ぼさないということが確認できれば。要するに、食べても安全なことさえ分かればいいわけなので、完全に失活しているタンパク質であれば、そのタンパク質の活性や構造を気にする必要はないのですけれども、酵素として生きているのであれば、そういった点も考察する必要があるということです。

〇〇〇、こんなところでよろしいですか。

〇〇〇 了解いたしました。

〇〇〇 本社に伝えるということであれば、確実に伝えていただきたいと思っておりますので、こちらの言うことで不明な点がありましたら遠慮なく質問してください。そのほうがお互いに手間が省けると思っています。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 先ほどの人工胃液、腸液の試験に関係するのですけれども、今回、Peptid Cutterということでこちらを出されてきましたけれども、これは既にヨーロッパのほうにも出しているわけではないのですか。これは日本独自。

〇〇〇 そうです。これを求められたのがほかの国ではないということで、それでどうし

ようかということベルギー本社と相談しまして、ガイドラインみたいなものを見せていただいたときに、遺伝子に変異を及ぼしたときには実際の実験が必要だということなので、それではシミュレーションでできるものは何かあるかということで相談しまして、今回はそれを用いさせていただきました。ですので、今まで海外での審査を行ったときにこれを求められたことはございませんでした。

〇〇〇 ということは、一般的なことなのですけれども、私、そんなに経験がないので確認なのですが、これをヨーロッパなり米国なりでやるときは、人工腸液というのは必須ではないということになるのですか。

〇〇〇 今まで求められたことはございません。

〇〇〇 御自身に経験があるわけですね。

〇〇〇 私自身というよりは、ベルギー本社に確認したときに、そういうものを今まで求められたことはないという返答でした。

〇〇〇 それは貴重な情報で、ほかからも確認しなくてはならない点なのですが、もう一つ、25ページに諸外国における認可、食用等に関する事項ということで、カナダ、フランス、アメリカと書いてあるのだけれども、このサーティフィケートを見ると、これは別製品ですよ。要するに、今回の製品よりもっと前の株でつくった製品で、その辺、ちょっとこれはまぎらわしいなと思って、もちろんこの基原とか株がこれだというのは1つ貴重な情報なのだけれども、今回のこれでどのぐらい承認を受けてから時間がたっているかということも参考情報としては非常に重要で、これをちょっと見ると、大分以前に使用実績があるのだと勘違いしてしまうような書き方になっているので、その辺りは確認していただいて、今回のものはどうなのかということも添えていただいたほうがいいのではないかなと思います。

〇〇〇 分かりました。御指摘ありがとうございます。この点、確認するようにいたします。

〇〇〇 ほぼ同じことなのだけれども、使用許可が出ている。では、これは既に売っているの。

〇〇〇 製品として販売しております。

〇〇〇 これとタンパク質として同じものを売っているのであれば、販売実績と、その間にこれで健康に何か悪い事故でも起こったことはないとか、その辺が確認できているのであれば、そういうことも報告していただけるとありがたいです。

これは培養液から精製するところで、精密ろ過、限外ろ過、滅菌ろ過を行って、最後に●●●粉末化している。その前に培養液を●●●しているのだけれども、これは特に説明はなかったのですが、どんな意味があるのでしょうか。

〇〇〇 推察で返答するのもあれですので、恐らくは●●●などの目的があるのではないかと思うのですけれども、それは確認させていただければと思います。

〇〇〇 確認してください。●●●ではないと思います。こういうのをやるときには常

套手段だったりしているのだけれども。

〇〇〇 そうなのですね。申し訳ございません。

〇〇〇 先生方、ほかに。

ぜひ。

〇〇〇 ついでに、今の7ページ関係で、細かいことで恐縮なのですが、製造方法で標的とする酵素は生産菌の菌体外に分泌されるというか、生産菌はないよと。その後、また、その他の菌のコンタミネーションも見られなかったと。その他の菌って何をチェックされているかというのは、それが分かれば一緒なので。

〇〇〇 これは、単純に生菌の量を調べて、何も出てきませんでしたよということです。25ページ目の7.2に関しまして、これで酵素の●●●を行いました。ここでは●●●出てこなかったので、組換え体の菌及びそのほかの菌が出てこなかったという意味で、そのような。

〇〇〇 社内資料に多分ありますから、御確認ください。

もう一つ、ステップ7に●●●と書いてあるのだけれども、要するに、プロダクトとしてはどれをこれと言っているわけですか。最後、ステップ8で製品となっているでしょう。その前に●●●わけですね。これは製剤という意味なのでしょう。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 では、公的な規格基準はどこで確認しているのでしょうか。

〇〇〇 どの点における規格基準でしょうか。

〇〇〇 食品添加物の法定書を満たしていますと書いてあるでしょう。それで、これは結局どこまでがこの製品で、どこまでが製剤かという書き方が、粉末化というのは、このままだと製品という意味合いが、●●●って、例えば小麦粉とかそういう話なのですか。

〇〇〇 ●●●とかといった。

〇〇〇 それを加えてしまうわけ。

〇〇〇 最終的な製品にはそれを加えた形になります。

〇〇〇 では、それをユーザーというかパン屋さんに合わせて加えたものを売るということなのですね。

〇〇〇 そうです。

〇〇〇 分かりました。イメージが湧きました。だけれども、本当かな。

〇〇〇 ほかはございますでしょうか。

どうぞ。

〇〇〇 19ページの中ぐらいの塩基配列のオープンリーディングフレームのところなのですが、開始コドンに対応する塩基配列とされているのですが、通常、少なくとも日本の、この評価委員会では、ATGからではなくてstop to stopのORFで解析していただくということをしていますので、これは解析をもう一度やり直していただきたいということ。

あとは、図8で見る限りは、プロモーター、●●●ですね。それと、ターミネーターの間だけなのですけれども、これは●●●のジャンクションがあるわけで、そのジャンクションの部分を含めてORF検索をするのが普通になります。というのは、プロモーターとターミネーターの横に●●●遺伝子が入った格好のコンストラクトを●●●しているということですよね。そうすると、そのところで当然ORFが出てきますよね。そこも解析していただかないと。

○○○ その解析が、ちょうど19ページ目の中段にある発現カセットと導入部位遺伝子の接合部のオープンリーディングフレームという形で導入部位の標的遺伝子というのが●●●ございまして、ここでの接合部でのオープンリーディングフレームの解析というものは行っております。

○○○ ですから、図8の書き方がよくなくて、要するに、添付資料のほうには入っているのですけれども、●●●をここに出していただくという形でやらないと誤解が生じますということなのです。

○○○ 了解しました。では、こちらのほうに図を入れるようにします。

○○○ そちらに動かしてください。

あとは、先ほどのお話のところ、変異は入っていないと言っているのですけれども、この●●●をしたときに絶対に変異は入っていませんか。その担保がどこにもないのです。●●●の際に入りますよね。入ったときにDNAは1塩基も変わっていませんと言えますか。

○○○ それは確認が必要ですね。

○○○ 普通は、今の時代でしたら簡単に●●●シーケンスできるので、読んでしまったほうが早いのですけれども、大体の人は皆さん読んでいらっしゃるというのが普通だと思うので、●●●で入れるのはあくまでも設計図で設計どおりにいったらこうなりますということであって、それは必要条件かもしれない。では、それで十分かという、十分条件ではないですよね。変わっていないという部分その担保が全く見られないので分かりませんかとか言いようがないというのが現実のところでは。

以上です。

○○○ ありがとうございます。

○○○ あと、先ほどの指摘にあった継ぎ目のところの●●●も、start to stopではなくストップコドンからストップコドンで検索をお願いいたします。

○○○ 全てstop to stopで行うということですね。

○○○ よろしくお願いいたします。

先生方、ほかはございますでしょうか。

どうぞ。

○○○ 10ページの2.4ですけれども、病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項ということで、*B.subtilis*が安全だということは分かるのですけれども、この表現が正確ではなくて、ここですと*B.subtilis*はウイルス感染などの報告はなされ

ていないと読めますけれども、今、実際にデータベースを見ますと18種類ぐらいウイルスが報告されていますので、ここを書く場合はヒトに対して病原性を示すウイルスあるいは報告はないと記載をしてください。

〇〇〇 すみませんでした。御指摘ありがとうございます。

〇〇〇 細かい点ですが、そういうところが重要なのでよろしくお願いします。

〇〇〇 了解しました。

〇〇〇 ほかにはございますでしょうか。

どうぞ。

〇〇〇 8ページの表1というのは、その下に*oryzae*のプロテアーゼと今回のAqualysinを比較対象としているというときの記述があるのですが、アミノ酸配列は立体構造の類似性の観点からもと書いてあるのですが、それに対応するデータが添付されていないようなので、実際にホモロジーとか立体構造がこのぐらい似ていますよということとか、そういうデータを次回つけていただくようにお願いします。

〇〇〇 今回、あらかじめ幾つか御質問を事務局の方を通していただいております、それに対してどういうふうに考えるかというところで少し返答させていただいております、アミノ酸配列の同一性に関してはそちらで何%ということを書かせてはいただいているのですが、それ以上に実際の比較の例みたいなものをお載せすればいいような形でしょうか。

〇〇〇 申請書も結構書き直す必要があると思いますので、申請書本体に入れてもらうようにお願いします。

〇〇〇 分かりました。

〇〇〇 アミノ酸の相同性も●●●で決して高くはないです。なので、どの辺が、活性中心の辺りがきっちり似ているとか、そういった情報は割と重要なので、そういったデータをお願いしたいと思います。

〇〇〇 了解しました。

〇〇〇 ほか、ございますでしょうか。よろしいですか。

どうぞ。

〇〇〇 ちょっとだけ、先ほど販売実績のことをおっしゃられていたのですが、これは何か量みたいなものなどを準備したほうがよろしい感じでしょうか。

〇〇〇 額でも量でも、また、それで事故が起こったか起こっていないかとかというものがあると、もう10年も安全に使っているとかそういうことであれば、こちらでも安心してちょっと細かいところはいいかなと考えることもできますし、安全に食べている、安全に使った実績というのはこちらでも結構重視しますので、そういうデータがあると、少なくともそちらに有利になります。

〇〇〇 もちろん安全なものを日本の消費者にも召し上がっていただきたいので、その点は十分留意して、もう一度こちら辺のデータを用意させていただきます。

〇〇〇 では、お疲れさまでした。これで終わります。

〇〇〇 それでは、先生方からいただいた御意見、確認事項は指摘事項案として取りまとめまして、それぞれ先生方に御確認いただいた上で、厚労省を通じて申請者に対して指摘したいと思います。御協力をよろしくお願いいたします。

では、議題(1)についてこれで終わりたいと思います。

議題「(2)その他」ですが、事務局からございますでしょうか。

〇〇〇 特にございません。

〇〇〇 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。

皆さん、お疲れさまでした。