

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第224回) 議事録

1. 日時 令和4年4月22日(金) 14:00～16:35

2. 場所 食品安全委員会中会議室(赤坂パークビル22階)
(Web会議システムを利用)

3. 議事

(1) 遺伝子組換え食品等に係る食品健康影響評価について

・ コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ
(DP915635) (食品・飼料)

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

中島座長、岡田専門委員、小野道之専門委員、小野竜一専門委員、近藤専門委員、
佐々木専門委員、藤原専門委員、山川専門委員

(専門参考人)

児玉専門参考人

(食品安全委員会)

川西委員、脇委員

(事務局)

鋤柄事務局長、中事務局次長、石岡評価第二課長、井上評価情報分析官、
松原課長補佐、奥藤評価専門官、山口係長、松田技術参与

5. 配布資料

資料1 令和4年度食品安全委員会運営計画

資料2 食品健康影響評価に関する資料

① コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (DP915635)
(食品)

② コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (DP915635)
(飼料)

資料3 「食品安全委員会における調査審議方法等について(平成15年10月2日食品安全

委員会決定)」にかかる確認書について

6. 議事内容

〇〇〇 それでは、皆さん、定刻になりましたので、ただいまから第224回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催いたします。

本調査会は、議事次第にありますように「食品安全委員会の公開について」に基づきまして、非公開で行います。

本日、所用により、〇〇〇、〇〇〇は御欠席でございます。

また、専門参考人として、〇〇〇に御出席いただいております。ありがとうございます。

また、「テレビ会議又はWeb会議システムを利用した食品安全委員会等への出席について」に基づきまして、Web会議システムを利用して行います。

本日の議題ですが、1つだけ。新規品目である「コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP915635）」、食品・飼料両方出ておりますが、この安全性についての審議でございます。

それでは、お手元の資料を確認いたしたいと思います。事務局からお願いいたします。

〇〇〇 資料の確認を行います前に、本年4月1日付けで専門委員の改選が行われましたので、事務局より紹介いたします。

このたび再任され、引き続き審議に加わっていただきます〇〇〇でございます。よろしくをお願いいたします。

また、新たに専門委員として任命され、審議に加わっていただきます〇〇〇でございます。

新しく加わっていただきます〇〇〇からは、自己紹介をいただきたいと思います。よろしくをお願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。〇〇〇でございます。

私、学位を東京農工大学の小関先生のところで取得しまして、その後しばらく農工大で助教をしております、その後岩手の生物工学研究センター、東洋大を経て、今年度4月から大阪公立大に着任しております。

専門は植物の色素の生合成経路の研究ということで、代謝工学的な研究と遺伝子組換え等の研究に従事してまいりました。

不慣れな点もあるかと思いますが、どうぞよろしくお願い申し上げます。

〇〇〇 ありがとうございます。

また、事務局にも人事異動がありましたので御報告いたします。

係長の〇〇〇が異動いたしまして、4月1日付で後任として〇〇〇が着任しております。

〇〇〇 4月1日付で着任いたしました〇〇〇と申します。

不慣れな点は多々あるかと存じますが、どうぞよろしくお願い申し上げます。

〇〇〇 それでは、議事次第に基づき、配付資料の確認をさせていただきます。

配付資料は、議事次第、専門委員名簿、資料1として「令和4年度食品安全委員会運営計画」。

資料2として「食品健康影響評価に関する資料」。

資料3として「『食品安全委員会における調査審議方法等について』にかかる確認書について」となっております。

また、本日は、「コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ(DP915635)」の申請者であるコルテバ・アグリサイエンス日本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等に対応していただくことを予定しております。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

事務局は〇〇〇から〇〇〇に変わっているのね。よろしくお願いいたします。

次に、事務局から、4月、年度初めですので、例によって今年度の運営計画についての説明があると伺っておりますので、よろしくお願いいたします。

〇〇〇 事務局でございます。

資料1を御覧ください。

本日、令和4年度最初のワーキングでございますので、令和4年度食品安全委員会運営計画について御説明させていただきます。

おめくりいただきまして、目次でございますが、全体の構成としては、第1は令和4年度における委員会の運営の重点事項を記載しております。第2は委員会の運営全般を記載しておりまして、第3以降に個別の内容を記載しているという構成でございます。

次の1ページでございますが、審議の経緯についてお示ししてございます。

続いて、2ページでございます。「第1 令和4年度における委員会の運営の重点事項」でございます。

(2) 重点事項を御覧ください。①から次のページにかけまして④の4点掲げております。

最初の1点目でございますが、①食品健康影響評価の着実な実施ということで、この中でaのところでございますが、食品健康影響評価の調査審議の透明性及び一貫性確保に資する評価ガイドラインの見直しということで、今回、遺伝子組換え食品等に関する安全性評価基準の改正を検討するというのを記載してございます。そのほか、評価ガイドラインの見直しの可否を検討するという記載をしてございます。

続きまして、2点目でございます。②のリスクコミュニケーションの戦略的な実施。

次のページでございますが、③として研究・調査事業の活用。

④海外への情報発信、国際会議等への参加及び国際機関との連携強化でございます。

同じく3ページ、「第2 委員会の運営全般」の部分でございます。

(3) といったしまして、食品健康影響評価に関する専門調査会の開催とありまして、「食品健康影響評価を的確に実施するため、専門調査会を開催する」といった記載をしてござ

います。先生方におかれましては、お忙しいことと思いますけれども、引き続きよろしく
お願いいたします。

続いて、4ページを御覧ください。

「第3 食品健康影響評価の実施」についてでございます。

1の(1)として、リスク管理機関から食品健康影響評価を要請された案件につきまして、
早期に評価を終了するよう、計画的・効率的な調査審議を行うとしております。

また、(2)として、企業からの申請に基づき、リスク管理機関から要請を受けて行う食
品健康影響評価につきましては、標準処理期間内に評価結果を通知できるよう、計画的な
調査審議を行うとしていただいております。

続いて、「2 評価ガイドライン等の策定」におきましては、先ほどもございましたが、
今後、改正に向けた検討を予定している評価基準または指針を記載しているところでござ
います。

次の5ページ以降でございますが、先ほどの重点事項で取り上げられている項目などを
より詳細に記載しているところでございます。後ほど御覧いただければと思います。

簡単ではございますが、令和4年度運営計画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。

ただいまの説明につきまして御質問等はございますでしょうか。

種子植物の安全性評価基準の見直しというのが文言に入っていたと思いますが、これは
国際的動向を踏まえてのこと、それから、最近、次世代シークエンサーとかサザンバイシ
ークエンスみたいな新しい技術が次々に導入されていまして、これの精度はどうかと。
以前に安全性評価基準を定めた頃にはなかった技術が次々に明らかになっていまして、こ
れは次に使われることになりますので、この辺の新技术に対応した評価基準の見直しを行
いたいといったお話を聞いておりますので、確かにそれはやっていただいたほうがいいか
なと思います。

私、個人的には、アミノ酸の高度精製品について、最近、この審議はいろいろスタック
しておりまして、特に微量不純物の扱いについてもうちょっと整理しないと審議が進まな
いないつも思っておるので、特に安全性の確認された宿主を用いて代謝系を活用して生
産するようなものであれば、ごく微量でそれこそ最新鋭の分析装置でちょこっとしたピー
クが出てくる。ちょこっとしているものだから、それが同定できないというようなことが
かなり問題になっておりまして、この辺も整理すると随分前から言っているのですけれど
も、今年こそこれをやっていただきたいと私としては要望したいと思っております。

先生方、御質問等はございますでしょうか。

それでは、運営方針については以上ということで、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」に基づきまして、必要となる専門委員の先生方の本日
の調査審議等への参加に関する事項について、例によっ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いただきまし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の（1）に規定する調査審議等に参加しないこととなる事由に該当する専門委員はいらっしゃいませんでした。

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、審議に入ります前に、例によってWeb会議における注意事項もございまして、事務局のほうから説明をお願いいたします。

〇〇〇 本日はWeb会議形式で行いますので、注意事項をお伝えいたします。

1点目、発言者の音質向上のため、発言しないときはマイクをオフにさせていただきようをお願いいたします。

2点目、発言の際は赤い挙手のカードを提示してください。またはWeb会議画面の挙手ボタンを押してください。

座長より呼びかけますので、マイクをオンにしてお名前を発言いただいた上で御発言をお願いいたします。座長より指名がない場合は直接マイクから呼びかけてください。

発言の最後には「以上です」と御発言いただき、マイクをオフにしてください。

3点目、音声接続不良時、通信環境に問題がある場合は、カメラをオフにすることや再入室することにより改善する場合もございます。

マイクが使えない場合はWeb会議システムのメッセージ機能によりお知らせください。

万が一、全く入室できなくなった場合は、事務局までお電話をお願いいたします。

4点目、議事中、意思確認をお願いすることがございますが、事前にお送りさせていただきました青い同意カードを挙げていただく、もしくは手で丸をつくるなど、意思が伝わるようお願いいたします。

以上がWeb会議における注意事項となります。どうぞよろしくお願いいたします。

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、本日唯一の案件でございます、新規品目「コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP915635）」について審議を行いたいと思います。

それでは、事務局のほうから説明をお願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、説明させていただきます。

お手元にピンク色の紙ファイルの資料を御準備ください。

コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP915635）の食品としての安全性評価の資料になります。

要旨の1ページ目を御覧ください。

第1の「1 宿主及び導入DNAに関する事項」です。

(1) 宿主はトウモロコシのデント種PHR03系統です。

(2) のDNA供与体と(3)の挿入DNAの性質及び導入方法ですが、今回、3つの遺伝子が組み込まれております。まず1つ目がIPD079Eaタンパク質を発現する*ipd079Ea*遺伝子で供与体は*Ophioglossum pendulum*です。2つ目がPATタンパク質を発現する*pat*遺伝子で、供与体が*Streptomyces viridochromogenes*になります。3つ目がPMIタンパク質を発現する*pmi*遺伝子で、供与体は*E.coli* K-12株です。

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ています。

第1の2から3ページの6までは記載のとおりでございます。

4ページ目を御覧ください。

「第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項」です。IP079Eaタンパク質は、コウチュウ目害虫に特異的な殺虫活性を有します。また、PATタンパク質は除草剤グルホシネート耐性を付与します。PMIタンパク質は形質転換体の選択マーカーとして利用しています。

5ページ目から第3は記載のとおりでございます。

7ページ目を御覧ください。

「第4 ベクターに関する事項」です。今回のベクターの構成は8ページの図1に記載されています。T-DNA領域のうち、実際にゲノムに挿入されるのは、緑の矢印で提示されているFRT1からFRT6に挟まれた領域です。

12ページ目を御覧ください。

「第5 挿入DNA、遺伝子産物並びに発現ベクターの構築に関する事項」です。

(1) は記載のとおりです。

(2) の安全性に関する事項ですが、供与体である*O.pendulum*はシダ植物で若葉は野菜として食べられることが知られていますが、ヒトや家畜に対して毒性を有するとの報告はないとしております。

この記載につきまして、机上配付資料1-1としてお配りしているものをお手元に御準備ください。

机上配付資料1-1の2ページ目、指摘事項2と書かれているところですが、事前の確認において、〇〇〇から、食経験が豊富なタンパク質というわけではないことから、ホモログタンパク質も含めた食経験を記載するようにとの御意見をいただいております。申請者から、IPD079Eaタンパク質のホモログタンパク質は、主にヒカゲノカズラ目に分類される植物で同定されている。その中でもホモログタンパク質のIPD079Eaタンパク質との相同性が43.2～63.4%である*Huperzia phlegmaria*は食用としての利用が報告されているとの回答を得ております。

要旨の12ページ目にお戻りください。

*S.viridochromogenes*は土壌に広く存在しているもので、食品としての利用は知られていませんが、ヒトへの病原性は認められていません。*E.coli* K-12株も食品としての利用は

知られていませんが、研究、産業用途で安全に使用されており、ヒトへの病原性は認められていません。

下から3行目、2 (1) のクローニング方法ですが、導入された遺伝子は、それぞれの供与体のゲノムDNA等からPCR法でクローニングされています。

(2) は記載のとおりです。

続きまして、18ページ目を御覧ください。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項の①遺伝子の機能並びに発現タンパク質の性質及び機能です。

まず *ipd079Ea* 遺伝子です。この遺伝子は、選択的殺虫タンパク質である IPD079Ea タンパク質をコードします。「タンパク質の同定及び機能」の2パラ目に記載がされていますが、本タンパク質は結晶構造解析から立体構造はN末端に小孔形成領域である MACPF ドメインを、C末端に既知の受容体認識ドメインに似た β -trefoil 構造を有しています。

MACPF スーパーファミリーに属するタンパク質は、標的細胞の細胞膜状の受容体に結合した後、環状複合体を形成し、小孔を形成します。IPD079Ea タンパク質を、コウチュウ目害虫である ウェスタンコーンルートワーム、以下の説明では WCR と言いますが、この WCR の中腸抽出液と混合した後に電子顕微鏡で観察した結果、これまでに報告されている MACPF タンパク質と同等のサイズの環状複合体を形成することが確認されました。

また、本タンパク質が WCR の中腸上皮刷子縁膜小胞 (BBMV) に結合することも試験で確認されましたが、18ページの下から3行目から記載している3種類のチョウ目昆虫の BBMV への結合は認められなかったことから、WCR の中腸上皮細胞に存在する受容体に特異的に結合して作用すると考えられたとしております。

また、この結合活性は WCR に殺虫活性を示す、19ページの1行目に記載されている Bt タンパク質によって阻害されなかったことから、本タンパク質とこれらの Bt タンパク質は WCR の中腸において異なる受容体と結合することが示唆されたとしております。

19ページの5行目からになりますが、実際に本タンパク質を混餌投与した WCR の中腸上皮細胞は、図3の右側のとおり、膨潤・破裂し、細胞残渣が内腔内で確認され、微絨毛が破壊され、周辺の筋細胞の集積や幹細胞の増加が観測されました。

また、図3の下に記載ですが、コウチュウ目昆虫9種類及びチョウ目昆虫4種類に本タンパク質を混餌投与した結果、WCR 以外のコウチュウ目昆虫については2種で生存率への影響が認められたのに対し、チョウ目昆虫については試験に用いた本タンパク質の最大濃度でも生存率への影響は認められませんでした。

このことから、本タンパク質の殺虫活性が標的昆虫である WCR 及びその近縁種に特異的であると考えられたとしております。

20ページの *pat* 遺伝子と *pmi* 遺伝子については記載のとおりでございます。

21ページ、②既知の毒性タンパク質との構造相同性は、いずれのタンパク質についても相同性は認められないという結果でした。

(4) は記載のとおりでございます。

22ページ目からの3から5は記載のとおりでございます。

続きまして、24ページ目を御覧ください。

6、導入方法及び交配に関する事項です。

DP915635は、2段階の形質転換工程を経て作出されています。1回目の形質転換は宿主である非組換えトウモロコシPHR03系統に4つのプラスミドをパーティクルガン法で挿入することで標的配列を導入します。この4つのプラスミドのうち、挿入標的配列を有するのがPHP73878で、この構成要素が25ページの図4に示されております。赤字でLP配列と記載された挿入標的配列の両端に隣接して、*zm*-SEQ158と159という宿主ゲノム内在性の配列を配置しております。太い黒線で記載されている部分になります。残りの3つのプラスミドのうち、1つは*cas9*遺伝子及びガイドRNA発現カセットを含んでおります。

27ページの図5を御覧ください。一過的に産生されるCas9タンパク質がガイドRNAを介して宿主ゲノムDNA中で内在性の*zm*-SEQ158と159間の特異的な二重鎖切断を引き起こします。この切断によって生じる2つの末端DNA配列は、導入プラスミドPHP73878中の挿入標的配列の両端にございます*zm*-SEQ158と159と同一の配列であるため、植物が元来有するDNA復元機構により相同組換えが誘導され、宿主に標的配列が挿入されるということになっております。

机上配付資料1-1の2ページ目を御覧ください。

この説明につきまして、事前の確認で、〇〇〇から、指摘事項3になりますけれども、Cas9のガイドRNAの特異性を明確に記載するようにとの御意見をいただいております。

申請者からは、「ガイドRNAは宿主のゲノムDNAの組換えが生じる箇所のみの特異的に結合するよう設計されており」という追記が行われております。

要旨の24ページ目にお戻りください。

下から11行目の記載からになりますが、残りの2つのプラスミドは形質転換における植物体の再生率を向上させるために導入されております。このようにして得られた形質転換体のうち、LP配列が1コピー挿入されており、かつ作出に用いたプラスミド由来の意図しない断片が含まれていない個体を選抜し、中間系統としております。

続きまして、28ページ目からが2回目の形質転換についての説明になります。

29ページの図9のとおり、中間系統の未熟胚にアグロバクテリウム法により導入用プラスミドを導入し、マンノース添加培地で選抜を行い、得られたカルスから植物体を生成しております。

30ページに育成図が記載されております。

机上配付資料1-1の3ページを御覧ください。

事前の確認で、〇〇〇から、中間系統の作出に用いた世代からの育成図にすべきとの御意見をいただいております、回答のとおり修正されてございます。

続きまして、要旨の31ページにお戻りください。

第6の1の（1）遺伝子に挿入されたコピー数及び近傍配列に関する事項です。

①ですが、挿入DNAのコピー数及び外骨格領域の有無を確認するため、SbS分析を行った結果、組換え体に挿入標的配列の5'及び3'末端とトウモロコシゲノムDNAとの接合領域がそれぞれ1か所特定されたことから、組換え体中に挿入標的配列が1コピー含まれることが確認されたとしております。また、5'及び3'末端は、それぞれ挿入標的配列と接合しており、部分特異的組換えによって挿入DNA領域が挿入標的配列中の意図した配置に挿入されたことが確認されたとしております。挿入DNA領域由来の配列とトウモロコシゲノムDNAとの接合は認められなかったことから、挿入標的配列以外の場所への非意図的な挿入は生じていないことが確認されたとしてございます。このSbS分析では平均カバレッジ深度が900から1168だったということで、十分な信頼性を確保しているとしております。

次に、32ページの中ほど、②ですが、組換え体の挿入DNA領域についてSanger法で塩基配列を確認した結果、*pmi*遺伝子のプロモーター領域での1塩基配列置換を除き、意図したとおり挿入されていることが確認されたとしております。

続いて、③ですが、組換え体の挿入DNAの近傍配列がトウモロコシ由来であるかどうかを確認するため、5'及び3'末端近傍配列をトウモロコシゲノム配列データベースと照合した結果、挿入DNAの近傍配列がトウモロコシ由来であることが確認されました。

続きまして、33ページの④を御覧ください。DNAを挿入することにより、宿主内在性遺伝子が損なわれていないことを確認するため、データベースを用いてBLASTN及びBLASTX検索を行った結果、既知の内在性遺伝子は損なわれていないと考えられたとしております。

続きまして、34ページの（2）ORFの有無等の事項です。組換え体の挿入DNA領域と5'及び3'末端近傍配列の接合部において、6つの読み枠でORF検索を行った結果、終止コドンから終止コドンまでの連続する30アミノ酸以上のORFが378個検出されました。

これらのORFについて、毒性タンパク質データベースを用いてE-valueが 1×10^{-4} 未満を指標として検索を行った結果、相同性は認められませんでした。

また、アレルゲンデータベースを用いて、同様の指標で連続する80アミノ酸以上の配列に対して35%以上及び8アミノ酸以上の配列が一致する配列を検索した結果、8アミノ酸以上の位置を有するORFが1つ見つかりました。このORFは*pat*遺伝子発現カセット中の*os-actin*プロモーターと*os-actin*イントロンの接合領域の相補鎖に位置し、8個及び12個のグリシンが連続する2か所の配列が既知のアレルゲンであるトウモロコシ由来のエンドキナーゼAのアミノ酸配列と一致していましたが、当該ORFの上流にはプロモーターがなく、開始コドンも含まれていないことから、翻訳される可能性は低いと考えられました。

次のページの2、発現部位、発現時期、発現量に関する事項ですが、こちらは表7にまとめられているとおりでございます。

3、4の（1）、（2）については記載のとおりです。

続いて、38ページ目を御覧ください。

(3) 物理化学的処理に対する感受性に関する事項です。

まず、IPD079Eaタンパク質についてです。

①人工胃液試験です。39ページの図9がSDS-PAGEの分析結果ですが、反応開始30秒後であるレーン4では、IPD079Eaタンパク質の全長に当たる約52kDaのバンドは検出されなくなっていますが、10kDa以下に複数の微弱なバンドが検出され、60分後でも消失しませんでした。

そこで、40ページの図10になりますが、IPD079Eaタンパク質を人工胃液で10分間処理した後、連続して人工腸液で処理を行った結果、10kDa以下の複数のバンドは、人工腸液処理後30秒以内に消失したとしております。

また、ウェスタンブロットの結果が41ページの図11になりますが、試験開始30秒後にはいずれのバンドも検出されませんでした。

続きまして、42ページからが②人工腸液試験です。図12がSDS-PAGE、43ページの図13がウェスタンブロットの結果ですが、いずれも試験開始60分まで全長と考えられるバンドが検出されましたが、経時的に減少することが確認されたとしています。

続いて、44ページが③加熱処理試験です。

表8を御覧ください。50℃以上の加熱処理を加えた場合、その致死率はIPD079Eaタンパク質を投与しなかった場合の致死率と同程度まで低下したとしております。

表8の下からPATタンパク質とPMIタンパク質について記載されていますが、両者は既に承認を受けている品目で生産されるものとアミノ酸配列が同一であり、これらのタンパク質を生産するそれぞれのトウモロコシは既に商業化され安全に使用されていること、及びPATタンパク質及びPMIタンパク質の安全性に関する情報が公開されていることから、両者の物理化学的性質に起因した新たなアレルギー誘発の可能性は極めて低いと考えられるとしております。

続きまして45ページ目、(4) 既知のアレルゲンとの構造相同性に関する事項です。今回はCOMPAREデータベースを用いて検索をしたところ、PMIタンパク質がカエル由来の α -パルブアルブミンと8アミノ酸で一致することが確認されましたが、包括的な解析を行ったところ、交差反応を示す可能性は低いと考えられたとしております。

46ページの5、安定性については、5世代についてサザンブロット分析を行い、各世代で想定された共通のバンドが検出され、挿入遺伝子が世代間で安定していることが確認されたとしております。

続きまして、50ページを御覧ください。

6、代謝経路への影響です。

こちらにも修正が入っております。机上配付資料の1-1の4ページ、指摘事項6を御覧ください。

事前の確認で、〇〇〇から、IPD079Eaタンパク質はドメイン単位ではMACPFドメイン構造をとっているなどの記載があり、これは要旨の18ページの記載になりますけれども、

このような記載があることから、既知のドメインとの相同性がないという記載は修正すべきとの御意見をいただいております。

申請者からは、この意見に対しての対応として修正が入っておりまして、IPD079Eaタンパク質のアミノ酸配列について、既知の酵素タンパク質のモチーフあるいはドメイン等との相同性が認められなかったことから、影響を及ぼす可能性が低いとしてございます。

要旨の50ページにお戻りください。

PATタンパク質は、除草剤グルホシネートの活性成分であるL-グルホシネートの遊離アミノ基をアセチル化する反応を触媒する酵素ですが、基質特異性を有しているため、他のアミノ酸は等を基質とはいたしません。

PMIタンパク質も基質特異性を有しており、他の天然基質は知られておりません。

続きまして、7、宿主との差異でございます。分析項目は子実中の主要構成成分、脂肪酸組成、アミノ酸組成、ミネラル類、ビタミン類、栄養阻害物質等です。

2パラ目の4行目から記載されておりますが、組換え体と宿主品種を2019年に米国の8圃場で栽培し、完熟期の子実を用いて比較した結果、いずれも組換え品種と従来品種との間で統計学的な有意差は認められなかった、もしくは自社商業品種変動の範囲内であったとしております。

この植物の代謝系のところで、事前に〇〇〇から御意見をいただいております。机上配付資料1-1の4ページ目を御覧ください。

指摘事項5になりますが、MACPFドメインを有するホモログタンパク質をコードする遺伝子の欠損株の中には、植物体が小さくなったり、病徴が現れるなどの表現型を示すものがあるため、外来遺伝子として導入した場合にトウモロコシに与える影響、代謝系への相互作用について考察をするようにというものでございます。

申請者からの回答は、2019年に米国及びカナダの圃場で行われた栽培試験において、DP915635の生存及び増殖能力が宿主であるトウモロコシと同等であったことから、IPD079Eaタンパク質の導入により殺虫活性以外の意図しない形質が付与される可能性は低いと考えられるとしております。

加えまして、DP915635の子実中の構成成分が宿主であるトウモロコシの範囲内であったことから、IPD079Eaタンパク質の導入により代謝系への相互作用が生じる可能性は低いと考えられるとしてございます。

要旨にお戻りいただきまして、63ページ目を御覧ください。

8の諸外国における認可の状況ですが、表16に示した国で●●●ます。

9の栽培方法、10の種子の製法及び管理方法は記載のとおりでございます。

最後に64ページの第7ですが、以上のことから、DP915635の食品としての安全性の知見が得られているとしてございます。

申請要旨の説明は以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、申請者資料について審議を行いたいと思います。

本件に関して、経験の浅い先生方もいらっしゃると思いますので、少々説明させていただきますと、本件にはタンパク質、遺伝子が3つ導入されておりますけれども、このうちPATタンパク質とPMIタンパク質はこれまでに既に何回も審議されて安全性等を確認しておりますので、今回重要なのはIPD079Eaというタンパク質になります。これは全く新しいものでして、これが入っているこの株について、先ほど諸外国についての御説明があったと思いますけれども、●●●。

それから、これは新しい遺伝子も1つなのですが、もう一つ、遺伝子を導入するだけであれば、アグロバクテリウム法を使えば染色体はどこかに普通に導入されていくのですが、今回は少々変わった方法を用いております、ゲノム編集を兼ねた方法でやっているように見えるのですが、要するに染色体上の特定の位置に導入するという手を使っております。

実は今回と同じような導入方法を用いた株について、同じコルテバ・アグリサイエンスから2021年、昨年3月に同じような導入方法を行った例が審議されておまして、そのときには導入方法について詳しく書いていなかったの、ちゃんと書いてくださいと指摘を出しているのですが、その回答はまだ返ってきていないという状況です。

ということは、この導入方法についても新しいので、これは前回も指摘もしておりますけれども、今回、その分いろいろ詳しく書いてくれているのだと思うのですが、その点についてこの書きぶりはこういった書き方で問題ないのかといった点が本日の重要な審議ポイントになるかと考えております。

申請者をお呼びしておりますので、後ほど直接やり取りできればと思いますし、それから、先ほどの事務局からの説明でございましたとおり、既に申請者と幾つか、特に〇〇〇の御指摘に基づいてやり取りが行われておまして、この回答も来てもおります。これを踏まえまして、本日この審議を進めていきたいと考えております。

〇〇〇、いろいろありがとうございました。おかげで少し見えやすくなったようにも思います。

まず、書き方の問題なのですが、こういった申請資料で新規のものにつきましては、これはトウモロコシなので、一般にはトウモロコシの世界生産高とか主要用途、それから、今回のこの組換え体の用途の予定などもあれば普通は記載していただいたりもするのですが、その辺が、この要旨はもう少し分厚くなってもいいので、もう少し書いていただければなと少し思いました。

12ページ、*O.pendulum*は日本名ではコブラン、シダ植物のハナヤスリ属でして、ここにあるとおり、インド、オーストラリア、アメリカ、アフリカ、東南アジアなどで自生している。樹上のウロなどでそこに葉っぱが腐ったものとか堆肥みたいなものがたまりますと、そこからぶら下がって生えてくるというものでして、幅4センチ長さ1メートルぐらいの帯状の葉っぱがカーテンのようにぶら下がってくるというもので、それこそ東南アジア、

インドなどではよく見かけるのだそうですが、日本ではかなりまれでして、小笠原諸島と沖縄で見られるようです。

なので、食経験についてももう少し資料を寄せてくれと〇〇〇から言っていただきまして、それで先ほどの机上配付資料1・2が来ております。これで少しは詳しくなったかなと思うのですけれども、これはハワイではたしか葉っぱの搾り汁をせき止めに使うなんていうこともあったりするようですので、これは食経験だけではなくて薬用有効成分なども分かる限り聞いておきたいなと私も思うのですが、この辺、植物の先生方、いかがでしょうか。

〇〇〇あたり、いかがですか。

〇〇〇 〇〇〇です。

私が読みまして気になりましたのは、食経験はあるということですが、若い葉と書かれていたところがちょっと思いました。それで、使われるのは、このタンパク質の量が若い頃にはあまりなくて、例えば年を取ってからだとたくさん入るとかというような、製造段階における量が違ってくるとそういうことも影響するのかなという気もしましたので、その辺りの情報が欲しいなと思いましたが、それ以外は特に毒性がないような特徴しているということに関しては、食経験ありのものならばそうなのかなという感じはいたしております。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

植物に詳しい〇〇〇、御見解をお聞かせいただけますか。

〇〇〇 これはシダでハナヤスリでしたか。これ自体は食経験というか、日本にほとんどなくても、類似のものが有りますよね。類似というか同じ属の近縁種が、日本では食べてはいないにしても、漢方薬といいますか薬用に使われていたり、中国、朝鮮半島から日本の辺りには薬用に使われているということがあるので、外用だそうですが、成分はフラボノイドなのだそうです。そういうものもあるので、確かに特に毒性はないということは分かります。だから、食べたという経験がなくても、人間がこういうふうに使っていると人間の体につけるといことがもう少し分かっていたら、なるべく資料をつけてもらえるとこういうのは助かるなと思います。

今のところ、悪いようなものは出ていないですし、資料1にありました類似のタンパク質、2ページの指摘事項にホモログタンパク質がありますということで、その中でも *Huperzia phlegmaria* のタンパク質と相同性がかなり高くて、食用として利用が報告されているなんていうのは私も見たことがあります。これも調べたら出てきました。

そういう意味では、結構分かっているというところがあるので、なるべくそれを出してもらって審査しやすいと思いました。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

食経験に限らず、いろいろヒトとの関わりについてできるだけ資料を出していただきました

いといったことでよろしいですね。

〇〇〇 そうです。

〇〇〇 ありがとうございます。

早速ですが、〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

今、お二方の先生からお話があったようなところで、特段というところはないのかなと思うのと、後から添付されている今日の机上配付資料1-2にある中で、食経験があるものということで、多分*Ophioglossum*の同じ属の植物が2種あって、これらも食べられていると載っていますので、属が違うので絶対とは言えませんが、この辺も一つの傍証としては情報としてあったらいいのかなと思いました。

私からは以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、〇〇〇、先生の御要望で先方のほうから一応回答は返ってきておるのですが、分かりやすい資料とそれなりに一生懸命調べてきたのかなという気もするのですが、先生、これはいかがお考えですか。

〇〇〇 多分、食経験がすごく豊富なタンパク質というわけでもなかろうということで、ただ、食経験というのは今の世界の評価基準から言うと非常に重要視される傾向にあります。要するに、食経験の部分がやや薄いという判断になると、何かしらの追加の試験が必要になるかもしれないなと思っております。

今回、ホモログタンパク質の相同性というものを出示してもらったのですが、あまり高くないなというのが正直な感想なのですが、属が一緒のものも食べられているということなのですが、先ほど〇〇〇からもあったように、若い組織でのタンパク質の含有量が十分あるということであれば、食経験があると言っても判断できるかなと思うのですが、もしそういう定量値があれば、判断するに当たっては我々にとってはかなりありがたい資料になるのだらうなと思っております。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

私もこれは自分なりにいろいろ調べてみたのですが、やはり食経験が厚いとは言いがたいという感じです。

さらに、〇〇〇の御指摘にございましたとおり、食うのは若いものということで、実際に今回の標的のタンパク質をこれまで人類がどの程度口にしていたかということの評価するのはなかなか難しいのではないかなと感じておるのですが、この件に関しまして、ほかの先生方、どなたか御意見はいかがですか。

〇〇〇、いかがですか。

〇〇〇 先ほども御意見が出ていましたけれども、やはりタンパクの相同性というところで決して高くないというのがあって、その辺も一つの判断材料になるのではないかな

と思いました。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

この件についてほかに。

でも、あまり厚くなさそうだとということだと、〇〇〇のおっしゃったとおり、このタンパクそのものの安全性をもうちょっと辛く見ないといけないということにならざるを得ないかなという気もしております。

もう一つのポイントでございまして、この株は組換え体をつくる時に4種類のプラスミドを使っていて、要するにゲノム編集をやって一定のところに、今までの遺伝子組換えですと染色体のどこに組み込まれるか分からないというところがあったのを、狙ったところに入れるための技術として今回のこれは行っておるのですが、私、植物の専門でない分だけこれはなかなか分かりにくくて、分かっているような分からないような、しかも、4つあるプラスミドのうち、残りの2つは形質転換の頻度を上げるためだとぼっそり切られておりまして、そこの説明が全然なかったり、私的にはこれでいいのかと実は思っているのですけれども、この書きぶりでよろしいでしょうか。それとも、要求するとしたらどういったことを記載していただくように要求すべきかと。

この辺、また植物の先生方に御負担をおかけしますが、御見解をいただければと思います。

〇〇〇からお願いできますか。

〇〇〇 まず、4つのプラスミドのうち2つを頻度を上げるために使ったというのが、私はこれを使ったことないから分からないのですが、どういうふうな機構で上げるのに使って、サイドエフェクトと言うのですか。ほかに何か起こらないのかどうかということを知りたいです。

〇〇〇 やはり説明してほしいですね。

〇〇〇 大丈夫と出たのはいいのですが、そのほかに悪いことが起こっているのではないかというおそれがないか検討してほしい。

それから、当然のことながら、入れる場所を決めれば精度が上がるといふか効率が上がるのは確かなので、そういうことをやっていったときに、新しい技術なので、これはゲノム編集に限らずですけれども、新しい技術をやったときに予期せぬよくないことが起こるか起こらないかというデータをちゃんと示していただくと、安心して受け入れられますということです。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。私だけが分からないのではなさそうということが分かって安心いたしました。

〇〇〇、御意見をいただけますでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇です。ありがとうございます。

実は、方法については私もきちんとした説明をいただけたらありがたいなと思いました。

その点と、もう一つは、*zm-SEQ158*、*159*を選ばれた理由と言うのでしょうか。もしこれがこれまで使われたことがないものだとする、という経緯なのかが知りたいかなという感じはしました。この場所に組み込むことで組換え遺伝子の安定性が増すとか、あるいは発現が安定するとか、そういうことに関する何か情報があるようでしたら、それが明らかになると、今後、同じローカスに組み込んだ、ほかのこの後続くような組換えのものに対する評価も非常に楽になると思いますし、最初ですということでありましたら説明をいただけたらなと思います。その意味で、簡単にどういう原理でここに組み換えられるのかというのをそれぞれのプラスミドの役割とともにもう少し説明がいただけたらなと思いました。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

実は私もそんなふうに感じたのですが、この後申請者を呼びますので、〇〇〇、〇〇〇直接今の質問をぶつけていただいて、分かりやすく要求していただけると助かります。私はあまり植物に詳しくないので、よろしくお願いします。

〇〇〇、何か御見解を。

〇〇〇 ありがとうございます。

例えば32ページの図8にあるような全体図なのですけれども、*loxP*という配列が実は入っていて、これが使われているのか使われていないのかよく分からないなと思いながら、今お話があった2種類、形質転換の再生率を上げるというところの参考文献を読むと、*loxP*が使われているのです。やはり何か物足りないというか隠されているような雰囲気にも見えてしまうので、そこはもう少し丁寧に説明してほしいかなというところがありました。

もう一点は2回目の形質転換のところなのですが、可能性は低いのかもしれないのですけれども、これはFRT1と6のところでの相同組換えを起こさせているのですが、これは可能性としては単純にライトボーダーとレフトボーダーの間の別のところに挿入される可能性はありませんか。ないですか。これはヘルパープラスミドは入っていないのですか。分からないのですが、可能性としては低いのでしょうかけれども、もう少しこの辺も詳しく書く必要があるのかなと思いました。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。申請者を呼びますので、必要だと思ったら直接申請者に質問して要求していただければと思います。

〇〇〇、この組換え方法についてはいかがでしょう。

〇〇〇 私自身はさほど気になっていないのですけれども、ヘルパープラスミド、この領域も実はこのPHP83175のプラスミドを持っているので、恐らくこいつ単独で行ってしまうのではないかなと思ってまして、T-DNA領域が全部入ったのもいろいろなイベントの中ではあると思うのですけれども、恐らくそういうものを全部はねて、きれいに入ったも

のだけを選抜しているのだと私は個人的には理解しています。

先ほど、どなたか忘れてしまいましたけれども、このローカスにほかの遺伝子を入れるというのに使うのではないかという話も、私も当初はそう考えたのですが、このローカスは非常に便利で、ここにいろいろな遺伝子を次から次と簡単に放り込めるので、非常に安定した形質転換体を次から次へと簡単につくれるのではないかという意図でつくったのだろうと思ったのですが、皆さんがよく分からないということであれば、それは記載を整備していただいたほうが絶対いいので、要求して記載整備するようにしていただいたらいいかと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 入れたときにちゃんと入るべきところが入っているか、あるいは破片が入っているのではないか。特にひどいのは、今のとは別ですけども、パーティクルガンを使ったものが後のほうもありますが、目的のものだけが入っているものを選んでというのも後のほうにもありましたけれども、どうやって選んだかとか、どうやってこの目的だけが入るかという説明が全体にないのです。分かりきっている、使われている技術だったらそれでオーケーなのですが、新たに使われ始めた技術ですので、それがどのぐらい目的のものがあって、余計なものが入ったり、破片が入ったりというのをうまく取り除いているかということが分かると安心して読んでいけると思いました。昔、破片が入っていて後から騒ぎになったことがあるので、そういうのはやはり大事ななと思いました。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

やはりパーティクルガンと聞いてしまうと心穏やかではなくなるところが私もございますので、この確認についてはSbS法、サザンバイシーケンス法を用いております、ここではデプスは100以上でやって平均カバレッジ900から1186と十分な安全性を取っていると記載されています。元来は遺伝子組換えに関係する隣接の領域、それから、組換え体遺伝子全てについてサザンハイブリダイゼーションの結果を要求していたのですが、次世代シーケンサーがはやるようになりますと、サザンを一々やるのは大変なので次世代シーケンサーでばさっと決めてきて、これでどうだというのが出てくるようになりました。そのときに大体基準ができて、基準としては平均カバレッジがデプスが75以上で、挿入配列と宿主の配列の継ぎ目の領域がきちんと確認できることで、大体この2点がポイントになってございます。

サザンバイシーケンスはまた新しい方法でございます、これについてどの程度の精度で行えば従来のサザン、次世代シーケンサーによる全ゲノム解析と同等以上の精度が得られるのかということについては、まだ実はきちんとした基準ができておりませんで、サザンバイシーケンスは最近の技術だと思いますが、私も植物はよく分からないので、

本申請で言っている900から1168で一応十分だと考えられるのかという点と、サザンバイシーケンスを使って挿入DNAについて解析するときにはどの程度のカバレッジがあれば、また、どういった点があれば信頼してもいいのではないかという基準になろうかと。実はこの辺についても、今日この基準を決めてしまおうというわけではないのですけれども、御意見をいただけるとありがたいです。

次々に申し訳ありませんが、〇〇〇、お願いできますか。

〇〇〇 御指名ですけれども、それぞれの区別が私はまだ理解できておりません。申し訳ありません。

とにかく全ゲノムをシーケンスすることでもいいわけでしょうか。その辺りの区別を勉強します。すみません。

〇〇〇 今回の件は全ゲノムで見ているのではなくて、SbS、サザンバイシーケンスで見えておるので、もしこの御経験があればということにして、無理を申し上げました。すみません。

〇〇〇 申し訳ありません。

〇〇〇 御経験のある方、もしかして〇〇〇、御経験か、それともこんなものを審査した経験などはございますか。

〇〇〇 いえ、これは使った経験もなければ、審査というのは近いのはありますけれども、直接はないです。

サザンバイシーケンスだと、挿入のものはいいのですけれども、変な小さい破片が入ったときにはこれにひっかかるのかというのは、私、不安を持っています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

これ、どなたか詳しいと助かるのだけれども、〇〇〇、この辺、やったことか、それともこういった論文を見たとか、そういった御経験とかは何かございますでしょうか。

〇〇〇 今回の件に関して言うと、先ほどの話で、1回目はパーティクルガンで入っているわけですね。今回、SbSで調べたものというのは、おとりというか2回目のコンストラクトですね。PHP83175系統ですね。問題なのは、1回目のほうが別のところに入っているとかということはこれでは見えないということになってしまいますので、その辺をどう考えるのかなと思ったところです。

どれぐらいのカバレッジかというのは非常に難しい問題だと思います。全ゲノムとかを読むときも、どれぐらいカバレッジしていたらいいのかというのはまだ確定されているようなものではないと思いますので、状況を見ながらとしか言いようがないのかなと思っております。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

サザンバイシーケンスは原理的にどこかに破片でも入っていればそれは検出できるの

ではないかという気もするのですけれども、〇〇〇、この辺は御経験とかはございますでしょうか。

〇〇〇 SbSは前回もこの件は多分質問されていて、今回の件で行くと、1回目のトランスフォーメーションで使ったコンストラクトもプローブに使っていますので、1回目のものを漏らすということはないと説明してくると思います。

SbSは結局サザンなので、従来のサザンでひっかからないレベル、私の記憶だと大体30塩基ぐらいより短い断片はサザンではひっかからないよという記憶があるのですけれども、そういったものは従来もひっかけていないので、要するにプライマーにちょっと毛が生えたような長さの断片は従来もひっかけていないわけです。ですので、そういったものは今回のサザンバイシークエンスでも当然ひっかからない。結局、ハイブリダイゼーションです。ひっかからないということになります。その部分に関しては従来のサザンとある意味変わらないこととして理解するしかないと思っています。デプスに関しては、これは全ゲノムを読むよりもデプスをたくさん深く取れるというのがメリットになるので、全ゲノムで75のデプスという形であれば、少なくともその数倍のデプスはないとSbSのメリットが出てこないということになりますので、そこら辺がポイントかなと思っています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

サザンバイシークエンスによる信頼性についても申請者のほうにデータ等を要求しているところがございますので、その辺をまた見させていただいて、我々も追々その基準を決めていけばいいのではないかと思います。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 ありがとうございます。

僕自身も植物では実際に実験はしていませんけれども、哺乳類では同様の実験を結構やったことがあります。サザンバイシークエンスに近いメソッドで行うとやはり哺乳類だと2倍体であったりというのがヘテロになっていたり、3倍体になっていたり、そういうものは非常に感度よく検出できるので、これ自体の形というのは感度は結構高いのではないのかなと思うのですが、やはり弱点としてはプローブとして設計した部分しか見られないということがあるので、今回は、例えばプラスミドを何種類かというのをプローブに使っているのですけれども、もしそのほかの混入があった場合はもちろん検出できませんし、非常にピュアなプラスミドを使っているということなのですが、そのホストで使ったような大腸菌のゲノムだったり、そういうものが入っている可能性はもちろんありますし、実際に僕は哺乳類でやっていてそのような過程で大腸菌のゲノムが入っていたりという経験もございますので、そこまで見なくていいのかという問題もあるかと思います。

そして、オンターゲットのところなのですけれども、オンターゲットのところでは異常というのはすごい頻度で起こる。それで、例えば2倍体でいうと、片側のほうは実は大きく数メガベースにわたって削れてしまっている。それによってPCRとか走るすべがないと

というようなことで全く検出できなくて、もう片方だけ検出して正常ですねと判断されているケースは非常に多いというような問題もありますので、ここの1回目の組換えのところはすごく慎重に判断したほうがいいのではないのかなと私は思っております。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

我々の審議のポイントとしては、従来のサザンと同等以上であればというふうに、先ほど〇〇〇の御説明にあったとおり、その辺のところによしとするしかないのではないかなとも思っておるのですが、その辺はまた後ほど議論したいと思います。

それでは、いよいよ本命のタンパク質IPD079Eaの安全性について、これも丸っきり新規のタンパク質ですが、彼らもそれなりにいろいろなデータを出してくれていて、このデータを見る限り、中腸の細胞に特異的な細胞のどれかが受容体に特異的に結合して穴を開ける。従来の *Bacillus thuringiensis* のCryタンパク質とほぼ同様な殺虫の効果であることがおおむね推察できるようなデータは得られているように私は思うのです。ただ、受容体については確定しているわけではない点と、近縁の昆虫は非常に特異性が高そうだなというのは分かるのですが、チョウ目の害虫に関しての安全性試験のデータしか示されておりません。これで安全性が確認できたと考えていいのか。そうではないのであれば、どのようなこのデータを要求するべきか。この辺について審議したいと思います。

退出時間が限られておるということで、〇〇〇から最初に。先生のほうから実は書面ではデータをいただいてもおるのですが、先生、いらっしゃる間に直接口頭でお願いできるとありがたいです。

〇〇〇 特異性が高いというところで証拠があったのですが、ほかの生物種で全く見ていないというところがやはり気になっていて、それで言うと、このIPD079Eaというタンパクの構造がMACPF Perforinスーパーファミリーと書いてあるので、そうするとPerforinは重要な細胞種、例えばウイルス感染した細胞をやっつけるためにT細胞から出てくるPerforinという物質が細胞に穴を開けるので、多分アミノ酸と比べると全然相同性はないのだけれども、コンフォメーションとか3次元のコンフィズという機能から見ると、いろいろな生物が持っているPerforinというタンパクと作用が近いのではないかと考えて、そうすると、Perforinは構造が同じで、N末端にMACPFドメインがあって、C末端に何かを認識する部位がある。そういうことからすると、IPD079EaというタンパクがPerforinのような作用を哺乳類に対してしないのかというところが非常に気になっていて、まず、少なくともIPD079Eaが哺乳類の細胞の細胞膜に認識、くっつかないかというところのデータぐらいを出していただけないかとひとつ思っています。

それから、メーカーとしてはマウスの動物実験とかをされていると思うので、そうすると、そのときの摂取させた後の腸管上皮はどうだったのかというぐらいのデータは出していないのかなと。そういうところがあると、哺乳類に対しても、そこで組織的に何もなかったら、少しプラスのデータになるのかなということで、少なくともマウスの

実験しているのだったら、腸管上皮の影響とか、あるいはヒトの細胞とか細胞株を使って実験を何かやられたら、そのデータをきちんと出していただいて、ヒトを含めた哺乳類の細胞膜への影響というところを考察するようなデータが欲しいかなと思っています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

この申請書にはマウスの実験のデータはついていなかったと思いますので、そもそもやっていない。やっていればつけていると思うので、ついていないと思います。なので、動物で哺乳類でこのタンパク質の影響についてのデータが必須ということであれば当然要求していくということになるのですが、〇〇〇、マウスの実験をやれと要求すべきとお考えですか。

〇〇〇 もしマウスの長期とか短期、亜急性とかを見ている実験をやっているのだったら、そのときに上皮とかのデータを取っていないかというところを尋ねていただけるといいかなと思います。もしそれをやっていないのだったら、せめてヒトの細胞培養株でそういう実験をしてもらえないかなと思っています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

私もそのデータは実は欲しいな、見させていただきたいと強く思っているのですけれども、〇〇〇、御見解をお願いできますか。

〇〇〇 〇〇〇のおっしゃったことはそのとおりだと私も思いますし、動物実験も見たいというところもあります。あと、ヒトのほうだと腸管のオルガノイドとかも最近できてきているので、そういった意味で実際のヒトの安全性はかなり言えるのではないのかなと思っています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

考えられる実験として、マウスの実験か、それともヒトの培養細胞を用いた実験などが考えられるのですけれども、両方必要とお考えですか。それとも、少なくともこちらは絶対とか、重きなど御意見があればお願いしたいです。

〇〇〇 よりよいという意味では動物のほうがいいのかなと思うのです。腸管まで届くまでのほかの吸収とかもいろいろありますので、それができないと言うのだったらヒトの培養細胞という選択肢なのかなと考えております。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、御見解をお願いできますか。

〇〇〇 私も、先生方がおっしゃったように、やはり全く新しいものということですので、〇〇〇がおっしゃることに賛同するのですけれども、ヒトのほうも動物種差というものもあるので、できれば両方見てもらえるといいかなと思っておりました。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、お願いできますか。

〇〇〇 私もほかの先生方と同じというか、ほかの昆虫類への影響ですとか、そうであればマウスでの試験及びヒトの培養細胞での試験があったほうが、新規のものということなので、よりよいのではないかと考えます。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

ほかの先生方、これは実はコウチュウ目とチョウ目の害虫に対してのみデータが提出されておりまして、その中で効くのは1種類だけ、標的となるコーンルートワーム、WCRにしか効かない。あとはみんなMAXの800以上、800でも効かないというかなり特異性が認められるデータを出してきてはいるのですが、それでもこれ以外の昆虫、それから、例えばミミズなりなんなりとか、その辺の動物に関してもう少し広い範囲でこの毒が効かないというデータを要求する必要があるとお考えでしょうか。私はそれはあつてしかるべきだと思うのですが、この点に関して〇〇〇あたり、いかがお考えでしょうか。

〇〇〇 今のコーンルートワームだけというのはすごく特別なので、では、ほかの種ではどうなのですかと。ほかの種でも特別な種だけどこか相同性があればひっかかってしまうのですかというのは気になるので、知りたいと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。やはり気になりますよね。

この点、調べるべき動物の範囲とかスペクトラム等について、〇〇〇、この辺はいかがお考えでしょうか。

〇〇〇 動物種に関してはメーカーのほうでたしかデータを持っているので、出せと言えば出てくると思います。ただ、その中にマウスのデータもあったような気がするのですが、出てくるとは思うのですが、動物試験を要求するというのは軽々しくはやってほしくなくて、ガイドラインには1から何番までのもので安全性が確認できないときは動物試験を要求するとなっているので、この委員会で動物試験を要求した場合は、上の評価項目で確認できなかったよということになりますので、それでいいのですかと自問自答して、その上で、確認できなかったので動物試験を要求するというスタンスにしないと、ガイドラインに準拠していないことになるので、そこはよく考えて実施していただきたいと思います。

前回の *Pseudomonas* の似たようなタンパク質の場合には私のほうから意見を出しまして、培養細胞での実験をやってくれと。ヒトの腸管上皮細胞での結合試験みたいなものができるだろうから、それは培養細胞を使って、割ときれいなタンパク質を使ってモデル実験的に実施できるはずであろうから、それをやってみてくれというリクエストした経緯があるかと思うのですが、そういう試験は十分要求して構わないと思うのですが、動物試験に関しては委員会としてきちんとガイドラインに準拠してやっていく形を守らない

といけないと思うので、そこはよく考えて進めていただきたいなと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

動物試験を要求するのは簡単だけれども、実際にやるのは相当大変だし、また、先ほどもちっと申し上げたとおり、本当に必要かどうかというのは、実はそこは含みがあったということもあります。でも、本当に必要と判断するのであれば、遠慮なく要求していいとも思うのですけれども、この辺についても後ほど議論して何を要求するかというのは明確にしていきたいと思います。

ただ、このタンパク質は特異性は高そうなのだけれども、実際に結合する受容体が確認されていない点と元のタンパク質の食経験はどうもあまりなさそうということを見ると、少なくともヒトの培養細胞を用いた試験くらいは要求しておかないと、安全性を確認するのは難しいのではないかなと私も思うのですけれども、この辺については、例えば〇〇〇、いかがお考えですか。

〇〇〇 そのような御意見を今伺いまして、ガイドラインにのっというのは非常に重要ですので、それはそうなのかなとは思いますが。でも、既に動物実験の結果はあるだろうということだったので、あるものを見せていただくというのは、それはしたほうがいいのではないのかなと思いました。

それで、ヒトの培養細胞を使うというのは重要なことだと思うので、その結果が得られればそのほうが望ましいと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

これは申請者を呼びますので、そのデータは持っているの、あるなら出してよぐらいのことは言ってもいいと思いますし、ないと言って一から始めなくてはならないという見解だった場合に、これを要求するかどうかはまた後で議論して決めていきたいと思いますが、それでいいですね。

〇〇〇 そういう方針でいいかと思います。

〇〇〇 ほかの先生方、この件に関しまして御意見等はございますでしょうか。

あと、本日欠席の〇〇〇から、これは物理化学試験で加熱処理においては殺虫活性のみでなくELISA等の試験も行なってタンパクの加熱に関する感受性も検討する必要があるのではないかと指摘がございました。その結果を人工胃腸液試験の結果と考慮して、これでIPD079Eaタンパク質のヒトへの安全性の影響についてきちんと考察していただきたいという指摘がございました。

もう一つ、やはり〇〇〇のほうから、PMIタンパク質とカエルの α -パルブアルブミンとの間の8アミノ酸の位置について、包括的な解析を行ったところ、交差反応性を示す可能性は低いと考えられたとなっておりまして、これは添付資料23にその記載がある。ところが、添付資料23ではPMIタンパク質とカエル及び魚類のパルブアルブミンのアミノ酸配列や立体構造に関する議論のみとなっておりまして、過去の食品安全委員会の評価書「コウチ

ユウ目害虫抵抗性トウモロコシEvent5307系統」等を引用して、 α -パルブアルブミンの感受性患者の血清IgGとの結合能の検討結果についても考察させて議論すべきではないかという指摘が来てございます。

要するに、血清との交差試験が必要ではないかといった〇〇〇からの御見解なのですが、これについては要求したほうがよろしいかどうか。判断するにはこれが必要と考えるかどうかということについて、ここは議論して結論を出したいと思うのですけれども、〇〇〇、この点についてはいかがでしょうか。要するに、血清とのクロスマッチを要求するかどうかということです。

〇〇〇 私は〇〇〇と同じで、この辺のデータはあったほうがいいかなと考えています。

以上です。

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 〇〇〇のコメントで、こちらの会社の別の審議品目には同様の検討がなされているということです、実施可能なものだと思いますので、私もそのデータを追加していただいたらいいかかもしれないと思っております。

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 今の〇〇〇と同じですけれども、新しいタンパク質ということで、もし会社の方ができる試験があるのであれば、やっていただいたほうがいいのではないかと考えます。

以上です。

〇〇〇 〇〇〇がいれば、この試験を要求するというのはどのくらい大変なことなのかと、実は私も分かっているか分かっていないか微妙なのですけれども、血清は手に入るものなので要求してもいいかなと思うのですけれども、〇〇〇、この辺、何か事情を御存じのことはございますか。

〇〇〇 これは、机上配付資料2を読むと、209回調査会で審議された同社のトウモロコシDP2321資料に記載がありますということなので、その記載を転載するだけでいいのではないかと私は理解しているのですけれども、新たに実験を要求するのではなくて、その資料に載っているものをここにも書いてねということだと理解しているのですけれども、そうではないのですか。

〇〇〇 前回の資料で、ここに今、事務局の方に探していただいたのですが、物はPMIタンパク質で今回の新規のタンパク質ではないので、これの一致に関しては前回の資料に載っておりますので、ここにもちゃんと載せてという〇〇〇の御理解でよろしいと思います。

そこは今、事務局に確認していただきました。ありがとうございました。

それから、植物の代謝系との相互作用のところ、MACPFドメインを有するホモログタンパク質をコードする遺伝子の欠損株の中には、植物体が小さくなったり、病徴が現れたりするなどの表現型を示す可能性がございまして、外来遺伝子として導入した場合にこのト

ウモロコシに与える影響についての考察、代謝系への相互作用についての考察をしてほしいと。これは〇〇〇からの御意見でございまして、こういうものも確かに代謝系全体に関する影響、生育とか、それは大きな影響はないということなのですが、少なくともこの辺の考察をしていただくのは必要かなと感じるのですけれども、この辺、〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇です。

同感です。新しいもので、食べるということが入りますので、代謝系に関してはある程度の考察をちゃんといただきたいと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、この辺はいかがお考えです。

〇〇〇 同じです。新しいものだから書いてくださいということです。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

あらかじめ審議のポイントとしてこちらでそれなりの数をリストアップしていて、また、事前にこのやり取りしていたものなどについて、先生方から御意見を聞く前に、まず先に洗い出していたものについて今審議させていただきました。

そこは大体終わって、申請者にどういう話をしようか大体まとめたところでございますが、これ以外に、申請書の最初から最後までどこでも結構ですので、この辺はぜひ問いただしておきたいとか、疑問等がございましたらぜひ御指摘等お願いいたします。

まず〇〇〇からお願いいたします。

〇〇〇 細かいことなのかもしれないのですけれども、今の代謝経路の話に絡んでくるかと思うのですが、第1点は、16ページの表4に挿入遺伝子の*sb-RCc3*から*zm-PCOa*、プロモーター領域なのなのですが、これは「根特異的な活性を示す」と書いてあるのですが、発現量を調べたところによると、全草で発現しているような気がするのです。これは単純な書き間違いとか、根で特異的な活性というのはどういう意味なのかなというのが気になったところです。

〇〇〇 これは根っこをかじる虫をやっつけるためのタンパクだから、根で発現すればいいのかなと私は単純に思っていたのですけれども、違うのかな。

〇〇〇 これは、部位特異的というのは根だけになっていましたか。

〇〇〇 発現特異性に関しては申請者に直接聞いていただければと思うのですけれども、これはコーンルートワームの抵抗性なので根っこで発現してくれるのでよくてと思ったのです。

〇〇〇 35ページの遺伝子産物の部位を見ると、根っこだけではないような気が。

〇〇〇 根特異的と言っていながら、葉っぱとかそんなところにもそこそこ発現しているという点ですね。

〇〇〇　そうです。だから、もし本当に根特異的というのであれば、当然子実などのところはあまり発現しないでしょうから、そこは安全材料になるのかなと思うのですが、ということかなというのが気になったところです。

あと、書き方の問題かもしれないのですけれども、18ページの4段落目、MACPFスーパーファミリーに属するタンパク質は細菌、哺乳類、菌類及び植物を含む様々な生物にと書いてあって、その多様な機能は免疫発生及び病原性等に関連すると書いてあるのです。そうすると、これを発現させたら病害応答とかが出てもおかしくないような雰囲気書き方になってしまっていて、先ほどの〇〇〇からの御指摘であったところに対する返事の中で相同性は低いと書いてあるのですが、自分でそういうところに関係するよと言って、そこに関しての担保がないというか、書き方の問題かもしれないのですけれども、ちょっと気になるなと思いました。大きなところでの変化は多分ないのでしょうけれども、BBMVに関しては何とも言えないところだと思いますので、違和感を覚えたところがあります。

以上です。

〇〇〇　これは単にこのタンパクを説明していて、どこをどうしたらいいのか今の御説明で分かりにくかったのですが、どこがどう明確になればいいのかな。

〇〇〇　先ほど〇〇〇とかからお話があったように、この物自体はヒトでは免疫に関連しているわけですね。このファミリー自体、Perforin自体は。ですから、食するということではそこに関連するでしょうし、あるいは植物については病原応答とかにも関連しているということだと思うのですけれども、関連すると書いてあるので、その可能性が否定されていないところが、大きなところで見たら栄養素に変化はないと思うのですけれども、代謝が変化していないということにはならないのかなと。

〇〇〇　ごめんなさい。まだよく分からないのだけれども、要するに、このタンパクは割と多様でいろいろなところで顔を出しているということが記載されていて、それはそれでいいと思うのだけれども、どこが問題なのかよく分からない。

〇〇〇　書き方として、酵素ではないからという書き方になっているのかな。

酵素タンパク質のモチーフではないから代謝に与える影響は少ないとなっているのですけれども、どちらかというと酵素というよりは転写活性調節因子的な働きなのだと思うので、書き方なのだと思うのですけれども、代謝に影響がないと言うときに、本当に代謝経路の酵素だというのであれば酵素活性がない。だから、代謝には影響がないですよというのはいいと思うのですけれども、酵素以外の作用があるような感じがするので。

〇〇〇　要するに、MACPFドメインが少なくとも本件に関してはどういうところに関与しているのかとか、このドメインを持っているタンパク質をいじることで代謝に実際に影響し得るのか、今回に関してしているのか。その点を分かりやすく書いてくれということによろしいのですか。

〇〇〇　そうです。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、お待たせしました。

〇〇〇 細かいところなのですが、32ページの下のほうに挿入DNAの近傍配列の由来というところがあるのですが、3'側近傍が染色体の配列と92%一致していたと書いてあるのですが、結構低いなというのが感想でして、それで、この領域はそんなにゲノム情報が登録されているものと配列が違うのだとすると、ガイドRNAの配列自体だって20ベースあるうちの何ベースか実際は異なっているかもしれないしとかいろいろなことを考えてしまって、そういう意味で、LP配列を入れるのだとするともっと配列の完全に決まっているような場所にやったほうがいいのではないのかなと思った次第です。

〇〇〇 ありがとうございます。

書き直しを要求するかどうかということでもあるのだけれども、そこは何かポイントになりますか。

〇〇〇 いえ、植物はこういうものなのですか。92%ぐらいでいいものなのですか。

〇〇〇 どなたか植物の先生で。

〇〇〇、何か知らないですか。

〇〇〇 場所によってはこれぐらいになってしまうところもあるのかなというのが正直な感想ですが、トウモロコシという栽培植物全体を考えたときには思い浮かばないです。

以上です。私としてはそんなものということもあるのかなというぐらいです。

〇〇〇 ありがとうございます。

この辺で申請者を呼びたいと思いますので、直接議論していただいて、明らかにできることは明らかにして、要求するところは要求してということでもとめる方向に行きたいなと思いますので、申請者を入れていただけますでしょうか。

(申請者入室)

〇〇〇 お忙しいところ、長らく待機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 コルテバの〇〇〇と申します。よろしくお願いします。

〇〇〇 コルテバの〇〇〇と申します。よろしくお願いします。

〇〇〇 コルテバの〇〇〇と申します。よろしくお願いします。

〇〇〇 今回、完全に新規のタンパク質となりますIPD079Eaが含まれておりますので、こちらもいろいろ議論させていただいております。

この遺伝子の宿主となる *O.pendulum* は日本名ですとコブランという名前がついていたりもして、これがどの程度食経験があるかということについては追加の質問をさせていただいております。これの近縁種はいろいろ食べられてもいるのですが、それでもそんなにあちこちで食経験が厚いとは言えない状況にも思いますし、また、これは実際に食べるときには若芽のところを食しますので、若芽にこのタンパク質

は十分含まれているのかといった点など、分かっていることがありましたらお願いしたいです。

〇〇〇 現時点でコブランの葉っぱでどれだけ発現しているかといった正確な情報は得られておりません。

〇〇〇 ありがとうございます。

そういうことであれば、これは物によってはハワイなどで葉っぱの搾り汁をせき止めにするとか、食用以外に薬用といった目的でも使われていることなどもありまして、これの安全性、それから、一番重要な食経験がある程度確認できるのが一番いいのですけれども、それに準ずる方法として、この植物の食経験以外にも薬用等のヒトとの関わりについてできる限り情報を集めていただきたいと思うのですが、もう一踏ん張り情報収集をお願いできますでしょうか。

〇〇〇 こちらは文献の調査などを通して、このコブランという植物がそういった薬用の用途も含めて利用されているかという情報をもう少しということでしょうか。

〇〇〇 ヒトとの関わりについてということで、どの程度利用されているかといったことも分かると、こちらも食経験等に準ずる関係について考えやすくなりますので、厄介な文献調査になろうかと思いますが、ぜひお願いしたいと思います。

〇〇〇 承知しました。

一方で、既に今回御対応させていただいている追加の情報に関しましても、調査に時間が結構かかってしまっておりまして、もちろん検討はさせていただきたいと思うのですが、これ以上新たな情報が見つかるかはまだ保証はできないという状況です。検討はもちろんさせていただきます。

〇〇〇 これ以上確認できなかったというのも十分回答になりますので、よろしくお願いします。

〇〇〇 承知しました。

〇〇〇 それから、遺伝子を宿主に導入する方法は、遺伝子を1組組み込むだけであればアグロバクテリウム法で入れてしまうのが普通なのですが、この場合、ゲノム編集に用いられる方法を準用していて、少々手の込んだ方法を行っております。これに関して、特にプラスミドを4つ使っていて、残り2つのプラスミドについては遺伝子組換えの効率を上げるために使用したとだけ書いてあって、そのため、使った4つのプラスミドのうち2つだけがちゃんと説明してあって、残り2つについては簡単に流されておるのですけれども、それぞれどういうプラスミド、どういう遺伝子を使って、どのような原理で組換えの頻度が上昇するのか、それぞれの機構と構造についての情報はぜひいただきたいのですが、これはよろしくお願いしますか。

〇〇〇 承知しました。

〇〇〇 この2つ、機構と構造について〇〇〇からは機構の説明、副作用等について直接質問していただけますか。

〇〇〇 〇〇〇です。

読ませていただきました。この方法は私は直接やったことないので、分からないところがあったのですが、この2つの効率を上げるプラスミドを使うと、導入効率がよくなるのですが、そのほかのことは起こらないわけでしょうか。安全性の観点から気になったのです。

〇〇〇 今のところ、確認はされておられません。植物体の再生率を向上するという目的のみで使用しております。

〇〇〇 再生率ですね。

それから、これはゲノム編集を組み合わせる特定の場所に入るのですが、入る場所は1か所なのですか。

〇〇〇 そうです。

〇〇〇 ローカスが幾つかあってどこかに入ったのを選んでいるのでしょうか。それとも1か所ということでしょうか。

〇〇〇 あらかじめターゲットをゲノム中で決めて、その上でやっております。実際に形質転換した後も、目的の組換えが生じていると確認しております。後者については評価書のほうに詳細を記載しております。

〇〇〇 ありがとうございます。

私は以上です。

〇〇〇 これは、最初はボンバードメントで入れていて、それで目的のものを選んでいると記載がございました。これは目的のものを選抜するのにそれなりに大変だったろうと思うのですが、どうやって目的のものを選抜したのか、また、その頻度とか、それから、この方法はパーティクルガンですと余分な破片がたたき込まれること等もございましたので、そういったものがないということをどういう方法で確認していたのかとか、その辺について差し支えない限りで開示していただけるとありがたいです。

〇〇〇 中間系統の選抜方法ということですか。

〇〇〇 そういうことです。

〇〇〇 今、詳細を把握できておりませんので、確認させていただきます。

〇〇〇 比較的新しい技術でもございますので、加えるものを選ぶときにどのような点が重要であったか。それから、パーティクルガンですので目的外の破片が飛び込むこともあると思いますが、そうでないものをどのように選んで育種する株を選抜していったかといった経過について、何もかもとまでは申しませんが、差し支えない限りで開示いただけるとありがたいと思います。よろしいですか。

〇〇〇 分かりました。確認次第、評価書のほうに情報を追加させていただきたいと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

この表、IPD079Eaタンパク質の作用記載については従来よく使われておる *Bacillus thuringiensis* のCryタンパク質とかなり似たような機構になっていて、特定の昆虫の中腸

の細胞に結合して穴を空けるといったところ、これはきれいな写真で示されておりますので、その辺は間違いないかと思いますが、これは直接結合する受容体についてはまだ明らかになっていないということではよろしかったでしょうか。

〇〇〇 間違いありません。

〇〇〇 このタンパク質の特異性がまさしく安全性を確認する上でも重要なのですけれども、そのためのデータとしてはチョウ目の昆虫とコウチュウ目の昆虫数種類について見て、標的のルートワームにしか効いていないという実に明快な結果が示されております。ですが、この昆虫しか見ておらなくて、示されていないくて、重要なのはこれを我々が食べて大丈夫かということです。もう少し広いスペクトラムで動物等も含めた毒性試験を確認したいと考えるのですけれども、そういったもう少し広いスペクトラムの各種の動物についての毒性試験等のデータはお持ちでしょうか。

〇〇〇 動物が対象になりますと、哺乳類ですとマウス、鳥類ですとコリンウズラに対して経口の急性毒性の試験を実施しております。こちらの結果としては、いずれも毒性は認められなかったのですけれども、その結果を新たに追加することは可能です。

〇〇〇 マウスの結果をお持ちなのね。お持ちということであれば、それを御開示いただけるとこちらでも非常に判断しやすくなりますので、よろしくお願いいたします。

〇〇〇 承知しました。既に評価書の中には記載しております。殺虫スペクトルの部分に新たに追加して、タンパク質の基質特異性として議論させていただきたいと思います。

〇〇〇 ぜひよろしくお願いいたします。

ついでながら、これはヒト細胞を用いた試験などは行っておりますでしょうか。

〇〇〇 ヒトの細胞を用いた試験は行っておりません。

〇〇〇 差し支えなければ、そのデータもいただけますと。

〇〇〇 現時点でまだ行っておりません。

〇〇〇 ヒト細胞の試験は行っていない。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 マウスの試験はあるということですね。

〇〇〇 そうです。

〇〇〇 ありがとうございます。

それから、サザンブレイクエンズでシークが入っているところを確認していて、平均カバレッジ900から1168、ざっと見てなかなかのカバレッジだと思うのですけれども、これも従来よく行われる方法の一つとしては全ゲノムショットガンで全ゲノムを決めてくる方法がございまして、それに比べてこの領域については非常にカバレッジを深く見ていると思いますが、これで信頼性としては一般的に十分でしょうか。これで確認したような前例等の文献等は出ておりますよね。

〇〇〇 今回、バックグラウンドを35以下としておりまして、それを考えた上でも今回の平均カバレッジは十分に高いという結果となっております。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、先生方、せっかく申請者が見えておりますので、疑問の点等を直接質問していただければと思います。

〇〇〇、〇〇〇、先ほどの議論のところで直接質問していただければと思いますが、よろしく願いいたします。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 失礼します。

既に出ている指摘事項3でCas9のガイドRNAの特異性を明確に記載してくださいとあって、お答えいただいているのですけれども、ここは重要なところであると思いますので、具体的に配列が20ベースとかあったところで、3ヌクレオチド異なるというのはどの部分なのか。ハイブリに重要な部分のシード配列にかかっているのかどうかとか、そのような情報も含めて記載しておいてもらったほうがいいかなと思うので、お願いしますというところが一点です。

まずはそれでお願いします。

〇〇〇 今の点、よろしく願いできますでしょうか。

〇〇〇 求められた情報が現在あるかどうかは、本社に確認が必要になります。一方で検討はさせていただきます。

ありがとうございます。

〇〇〇 今の御質問なのですけれども、3塩基違う配列について、それがどういう配列かというのを具体的に記載していただきたいというコメントでしょうか。

〇〇〇 はい。通常よく論文とかでございますとおり、ガイドRNAが設計しますと、それに対するオフターゲットとしてどれだけあると。1塩基違う場合、2塩基違う場合、3塩基違う場合というのが出されていると思うのですけれども、そのような情報をお示してくださいということです。

〇〇〇 承知いたしました。

補足いたしますと、今回は回答で最も似ているものでも3塩基異なると記載しておりますけれども、ガイドRNAを設計するときの文献調査で植物ではガイドRNAと1塩基または2塩基違う場合にはその配列にオフターゲットの変異が入ることもあり得るけれども、3塩基入った場合にはオフターゲットは基本的には入らないということを確認した上で、少なくとも3塩基未満の違いのあるもののような類似した配列がないガイドRNAとして設計しているということで、3塩基以上違うものしかありませんという趣旨の回答をさせていただきました。

〇〇〇 了解です。

そうなのですけれども、要は植物のほうでインブリードの植物でゲノムが単一ではないというような多様性があるという部分で、1塩基、2塩基というのは物によって変わってくる可能性もございますので、そういった意味で、リストは当然あると思うので、それをお

示してくださいという趣旨です。

〇〇〇 ありがとうございます。承知いたしました。

〇〇〇 先ほどの3塩基以上はないというのは、今説明していただいてよく理解できましたので、そうしますと、その点についても大規模な想定外の変異はないという大きな傍証になりますので、それは申請書にちゃんと書いておいていただけますでしょうか。

〇〇〇 承知しました。

〇〇〇 MACPFドメインはいろいろな働きのあるドメインのようで、この遺伝子をコードする遺伝子をいじりますと、植物体にも小さくなったり、病徴が現れたり、いろいろな表現型を示すものもあったり、なので、これは外来遺伝子として導入した場合に、トウモロコシに与える影響について、大規模な栽培もしていて、特にそういったおかしいことが起こっていないというのを確認しておると思うのですけれども、その辺、代謝系の相互作用に関して大きな影響を及ぼすことはないというきちんとした考察をお願いしたいのですけれども、それはできますよね。

〇〇〇 文章を追加するということですよ。

〇〇〇 実験をやれと申し上げているわけではなくて、外来で入れたMACPFドメインを導入していて、これでこの宿主に特に悪いことが起こる可能性は非常に少ないとかといったことがある程度の説得力を持った考察が可能であればしていただきたいということでございます。

〇〇〇 承知しました。明記するようにいたします。

〇〇〇 先生方、ほかに

〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 ゲノム編集を行っているときのガイドRNAの位置なのですけれども、その選択理由があるのかということと、LP配列を入れた挿入体をほかの組換えにもどんどん使っていく予定があるのかということについて教えていただきたいというところです。

〇〇〇 今の質問なのですけれども、前者については現在把握できておりませんので、別途本社に確認する必要があります。

後者については、●●●。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 組換えの標的としてこの遺伝子を選んだのには何か明確な理由等はございますか。

〇〇〇 ●●●を選んだ明確な理由というのは私のほうで現在把握できておりませんで、理由があるか確認が必要になります。

〇〇〇 幾つかの条件をクリアしていれば基本的にはどこでもよかったのか、それとももし積極的な理由でもあるのであれば、差し支えなければ御開示いただきたいということでございます。

〇〇〇 いえ、特に私のほうでそういった積極的な理由というのは存じておりません。

〇〇〇 ありがとうございます。

ほかの先生方、よろしいですか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 できるかできないか分からないので、持ち帰りになるとは思いますが、このMACPFドメインを持っているタンパク質について、いろいろな植物を含めて系統樹の解析みたいなものを行って、系統樹解析と食経験を照らし合わせたような図が描けるかどうかというのをできれば検討していただきたいのです。

というのは、Btタンパク質などですと、系統樹解析をすると、ここのクレードは大体コウチュウ目にスペシフィックですよとか、ここのクレードは線虫にスペシフィックですよという形で結構きれいにできるというのがあります。そういうものと照らし合わせる。それを考えると、MACPFドメインを持っているタンパク質についても系統樹を作っただいて、ここはもう食経験があるのですとか、そういうものがあると判断するのに役に立つ可能性があるかなと思ったのですけれども、そういったことができるかどうか御検討いただけたらありがたいなと思います。

〇〇〇 系統樹に関してなのですが、このタンパク質に限らず、MACPFドメインを持っているタンパク質というのが結構幅広い。植物に限らず、評価書に記載しているとおり、様々な生物で保存されておりまして、配列の多様性がかなり高いというのがまず一つありますので、そういった中でこのMACPFドメインにタンパク質を絞って仮に系統樹を作成したとしても、機能と明確に結びつくようなツリーを構築することは恐らくできないというか、実際に既に試しておるのですけれども、なかなかそういった機能と密接に結びついたような結果は得られておりません。

ですので、系統樹を作成することで食経験との関連性といったものがより分かりやすくなるとは恐らくないと現段階で言えます。

よろしいでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇、いいですか。

〇〇〇 分かりました。かなり多様性に富むということで、実際に試しておられるということなので、そういう説明で納得いたしました。特別作れという形では要求しなくてよろしいかと思います。

以上です。

〇〇〇 〇〇〇。

〇〇〇 事前に調査会のほうで議論していた中で、本日ご欠席の委員から御指摘があったことなのですが、遺伝子産物の物理化学的処理に関する感受性に関する事項についてお尋ねしたいことがあります。

一つは今お聞きしていて、どうやら食経験はどうもはっきりとしたものは少なそうです。それから、もう一つ、毒性の確認ということからいくと、マウスの試験はあるけれども、ヒトの細胞のデータもどうもないと私は聞きました。

そういう上で、ヒトで安全だというような答えが何となく欲しいなと思うという前提で

お聞きするのですけれども、遺伝子産物が消化管で分解したり、加熱すれば分解するということをもうちょっとはっきり言っているのと、我々、これを見させていただくものにとっても精神安定剤になるわけなのですが、そういう意味でいくと、概要書の44ページ、加熱処理のところで殺虫活性で有意に分解していますというデータは示されているわけですが、有意に分解するということがそれで十分なのかどうかということとはなかなか難しいところです。もう一つとして、ELISAなどの試験も行って、特にIPD079Eaタンパク質の加熱に対する感受性を検討していただくと、もう一つ我々評価する側としては、これは加熱で十分分解してくれるなということが分かるのではないかなと思うのです。そういう意味で、前回、御社のトウモロコシDP23211資料ではもう少し詳細にこの辺のディスカッションをしていただいたと思うので、その辺り、今のELISAの試験なども検討していただければなと思うところです。

これは今日欠席されている委員の御意見をお伝えしたというだけなのですが、その点は、まずELISAのデータは胃液、腸液も含めて出せるのかどうかということを書いてみたいと思います。

それから、もう一つとしては、この中で、PATタンパクとPMIタンパクですか。PMIタンパク質に関しては、御社のDP23211のトウモロコシの資料では、 α -バルブアルブミン感受患者の血清IgEとの結合能の検討結果にも記載していただいているので、これにも加えていただくといいなというサジェスションが今日欠席の委員から出ていることをお伝えします。

以上2点、いかがでしょうか。

〇〇〇 ELISAの胃液、腸液というのは人工胃液、人工腸液を処理した後にELISAで確認するということですか。

〇〇〇 ウェスタン抗体をお持ちであれば。

〇〇〇 既に胃液、腸液処理後のウェスタンはやっております。

〇〇〇 加熱のほうで、活性だけではなくてタンパク質としてある程度形がなくなっているのかということを確認できるようなデータはお持ちかということなのです。

〇〇〇 そもそも今回殺虫活性を記載している意図としては、昆虫に対して毒性を示すタンパク質ですので、ELISAでそのタンパク質が分解しているというよりも、実際に殺虫活性がしっかりとなくなっているということを確認したほうが経営者としてはより安全なのではないかと考えて、今回、殺虫活性を記載しているのですけれども、ELISAの解析も行ってはおりますし、例えば今回ですと50℃で殺虫活性がなくなっているのですが、ELISAでも免疫反応性は50℃で完全になくなっているという結果を得ておりますので、今回は殺虫活性のほうを提示しているという経緯がございます。

ですので、答えとしては、データはありますので掲載は可能でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

ELISAのデータをここに出していただくと殺虫活性も出してときっと言ったと思います

すけれども、いずれにしても、ELISAのデータがあるのだったら、それを追加していただければと思います。

以上です。

〇〇〇 承知しました。

あとは、PMIのアレルゲンの話ですか。

〇〇〇 これは御社の前の申請で検討してあるはずなので、これでも載せておいていただくと、我々、ちょっとどうかなと思う部分が、判断としては、このぐらいだったら大丈夫かなと判断できるかもしれませんので、その辺り、補強するということで追加していただきたいと今日欠席の委員から希望が出ていますので、対応をお願いします。

〇〇〇 DP23211のトウモロコシのときにつけていただいたデータですので、同じデータを本申請にも添付していただければと。それだけのことでございます。

これはよろしく願いできますね。

〇〇〇 状況としては理解できるのですけれども、こちらは本社に別途確認が必要です。申し訳ありません。今、この場では。検討はさせていただきます。

〇〇〇 ほかに申請者に尋ねるべきことはございますでしょうか。よろしいでしょうか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 御説明ありがとうございました。

まだ時間があればということで、最初に座長からお話しいただいたことではあるのですけれども、もう少しだけすみません。

コブランとヒトとの関わりについてなのですけれども、野菜として食べられることがあるということなのですけれども、コブランは生で食べられているのか、加熱して食べられているのかということを調べていただけないでしょうか。食べられるのが若い葉だというところはやはりどうしても気になっていて、若い葉においてはこのタンパク質がある程度発現して蓄積しているのかどうかということも分かったら情報としてはいただきたいと思うのですけれども、それがあれば、加熱して普通に食べられているもので、これぐらいの量が入っているものを人類は食べてきたのだということを胸を張って言えるかなという気がいたします。

もちろん、カーネルの中にどれぐらいタンパク質が含まれているのかというデータをいただいていますので、それよりは十分に高い量が入っていればと思いますけれども、可能でしょうか。

以上です。

〇〇〇 文献調査に関しましても、冒頭でも申し上げましたように検討させていただきます。

〇〇〇 先生、御質問ありがとうございます。

冒頭でも申し上げたのですけれども、こちらはシダ類ということで、本来あまり世界的に食用されているようなものではない中で、このコブランというものもそれほど広く世界

中で食べられている記録があるものではないですが、今回こちらのIPD079Eaの安全性におきましては、ふだん提出している試験結果によってヒトへの安全性を担保するような結果を出しているところではあるのですけれども、その中で少しでも安全性のサポートになればということで、なるべく我々もいろいろな文献を探して、あるものを何とか絞り出して今ここに記載しているところでございます。決してコブランの近縁種等がほかの国とかで食用に供されているということを安全性を担保する主なものとして我々は掲示しているわけではなく、あくまでも参考としてこういうものもあるというところで今回提示させていただいているところです。

今、御指摘いただいたように、またもう少し乾いた雑巾を絞るように何とか文献調査を、英語でないものもあつたりしますので、そういうところも含めての調査になると、例えば中国語だったり、いろいろあつたりするかと思うのですけれども、それでももう少し踏ん張って調べてみますので、どうぞよろしくお願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。どうぞよろしくお願いします。

私たちもあまりよく食べるものではないけれども、コゴミみたいなシダ類を軽く調理して食べたりしていますので、そういう関係なのかなと思いますけれども、こういう科学的なものの裏側のほうで人間の食の文化として食べてきたのかどうかというところは少し重要なポイントかと思いましたので、くどいでしたけれども加えさせていただきました。どうぞよろしくお願いします。

〇〇〇 もう少し頑張って調べてみます。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 先生方、ほかによろしいですか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 先ほど〇〇〇から質問があつたプロモーターの特異性の話はお聞きしなくてよろしいのですか。

〇〇〇 お願いします。

では、〇〇〇のほうから質問していただけますか。

〇〇〇 結局、加食部にどれぐらい蓄積しているというデータがあるので、小さなことかもしれないのですけれども、今回使われたプロモーターについて、評価書だと16ページの表4に「根特異的な活性を示す」と記載されているのですが、実際の発現を見ると、比較的それ以外のところでも発現しているなというところがありまして、この辺に関してどのようにお考えかというか、本当に根特異的なのかどうかということも含めてなのですが、お聞かせ願えればと思います。

〇〇〇 特異的という言葉が少し強いニュアンスであつたかもしれません。根優先的に発現するよう意図としてこのプロモーターを用いておりまして、おっしゃるように、実際に根以外の組織においても、オーダーは違うのですけれども、少し発現が確認されておりますので、そういった御懸念があるようであれば書き方は修正させていただきたいと考えて

おります。

〇〇〇 むしろ、本当に特異的だと可食部に入ってなくいいねという話になっていたのではないかなという思うのですけれども、そうでもなさそうかなというところがあったので。

〇〇〇 ありがとうございます。記載を修正させていただきます。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 このプロモーターで期待される根とそれ以外のところの特異性と本タンパク質の実際の発現量とがおおむね見合うものなのか、それとももうちょっと特異性があるはずだったのだけれども、そこまでいかなかったのか。そういったところも少々書き加えていただけるとありがたく思います。根以外のところで全く発現してはいかぬというわけではないのですけれども、その辺について、プロモーターの特徴等について、書き方の問題と、ちょっとだけ情報をお願いできればと思います。

〇〇〇 承知いたしました。

〇〇〇 〇〇〇、気がつきませんで、ありがとうございました。

ほかにございますでしょうか。よろしいでしょうか。

お付き合いありがとうございました。以上でございます。御退室いただければと思います。

(申請者退室)

〇〇〇 今の議論の中で大体要求すべき項目は明らかになっていて、あと一つ残っているのがヒト細胞での試験を要求するかどうか。ここだけ未決で、事務局、それ以外はいいですよね。

という点で、ここだけ決めておかないといけないと思うのですが、マウスでの動物細胞のデータは出していただけるということを踏まえて、それでもヒト細胞を用いた試験がひとつ必要かどうかについて御意見をいただければと思います。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 これの特異性が昆虫の中でも属によって変わってくることがありますので、マウスでは大丈夫でもヒトではアウトとかという可能性もあるので、私としてはヒトもできるのだったらやっておいてもらったほうが安心かなというのがあります。

〇〇〇 〇〇〇は。

〇〇〇 私も今の〇〇〇の御発言に同意いたします。実際になかなか会社でやるのは難しいかもしれないのですけれども、外部委託とかも可能なことだと思いますので、本当に食経験がかなり少ないものですので、十分に検討したと胸を張って言えるためにも、できればこのデータが見たいと思っております。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇は。

〇〇〇 今まで出た御意見に賛同で、できる限りのことは見ていただいたほうが安心なのではないかと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

この点、〇〇〇はどうお感じになりますか。

〇〇〇 これは委員の先生方の同意の下で進めていただければよいかと思うのですが、前回の*Pseudomonas*の場合は完全に食経験がないので、動物、ヒト細胞の結合試験みたいなものがあつたほうが絶対に我々の判断はしやすいでしょうという形で要求する形にしたかと思うのですが、今回はメーカー側が食経験はあるよねという形で持ってきたものなので、そこら辺のバランスの取り方がポイントになるところかなと思っています。だから、熱で分解するよねとか、胃液で分解するよねというのを見た上で、なおかつ要求するかどうかというところを、委員の先生方がそれでもやはり欲しいよねということであれば、ヒト腸管上皮細胞への結合能をぜひ見てくださいという形で要求されるのは、それはそれでありだと私自身は思っております。

皆さんがどう考えるかというところで、同意を集められたらよろしいのではないかなと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

では、現在の全員の意見を聞きたいと思います。

〇〇〇、どう思いますか。

〇〇〇 難しいところですよ。先ほどかなり強めに食経験をお願いしました。現地で軽くゆでたぐらいでよく食べていることもあるようなものであつて、そこにタンパク質がある程度入っているのだったら、受容体もよく分かっている中なので、打つ手はないのではないかなという気がして、培養細胞でやったことがどれぐらい意義が出るかということは分からないですよ。培養細胞で出たことがどうという評価は。だから、どうなのかなとちょっと思うのです。

ですから、私としては、もう少し食経験についてちゃんと資料がいただけるようであればいいのではないかなという気もするのです。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇。

〇〇〇 私、逆に質問があるのですが、例えばヒトの腸管上皮細胞でやるデータとマウスの給餌試験とどちらがデータとして優位なのでしょう。食経験はあまりないということから、そういう試験が必要だとなったときに、ヒトの細胞でやっていないということで動物試験があるからいいとなるのか、でも、動物試験よりヒトの腸管上皮細胞への結合性のほうが重要だと言うのだったらやはり必要になりますけれども、その辺もぎりぎりのところかなという感じがいたします。

〇〇〇は今、ぎりぎりどちらかなとおっしゃっていましたが、そんな感じが

たします。

食経験のデータがもうちょっと出てきたらやらなくてもいいのかなという気もするのですけれども、動物の方あるいは毒性学の方、どうなのでしょう。

〇〇〇 実は私はまさしくそこを聞きたかったんですけども、〇〇〇、その辺は感覚的にどうなのでしょう。

〇〇〇 もちろん種差があるものというのは存在しますというところなのではすけれども、今回ののは特に昆虫の中での種差も大きいということなので、そういった意味でマウスとヒトと両方あったほうがより安心できるかなというのが私の意見です。

〇〇〇 ありがとうございます。

そろそろ答えを出そうと思うのだけれども、私は現時点ではっきりヒト細胞を用いた結合試験をお願いすると要求したほうがすっきりするし、また、そのほうが筋が通って分かりやすくてよろしいのではないかと考えるのですけれども、先生方、いかがでしょうか。御賛同いただけますか。

ありがとうございます。

では、ということなので、これで疑問点は全部解消ですね。

ということなので、この件についてはこれで、食品でこういう状況なので、議題1についてはこれで終わりたいと思います。お疲れさまでした。

議題をこれ1個だけにしてもらえたおかげでじっくり議論ができて、全部洗い出せて、私はこれでよかったかなと思います。

先生方、お付き合いありがとうございました。

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。

〇〇〇 特にございません。

〇〇〇 ということなので、以上をもちまして第224回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。

先生方、お疲れさまでした。