

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第227回) 議事録

1. 日時 令和4年8月26日(金) 14:00～17:28
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
 - ・JPBL013株を利用して生産された α -アミラーゼ
 - ・DHA産生及び除草剤グルホシネート耐性キャノーラ(NS-B50027-4)(食品・飼料)
 - (2) その他
4. 出席者
(専門委員)
中島座長、安達専門委員、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、樋口専門委員、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、前間評価第二課長、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、今村技術参与、松田技術参与
5. 配布資料
資料 食品健康影響評価に関する資料
 - ①JPBL013株を利用して生産された α -アミラーゼ
 - ②DHA産生及び除草剤グルホシネート耐性キャノーラ(NS-B50027-4)(食品)
 - ③DHA産生及び除草剤グルホシネート耐性キャノーラ(NS-B50027-4)(飼料)
6. 議事内容

〇〇〇 皆さん、こんにちは。定刻になりましたので、ただいまから第227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「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、〇〇〇は御欠席です。

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。

本日「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会議システムを使用して行っております。

本日の議題ですが、新規品目であります「JPBL013株を利用して生産されたα-アミラーゼ」及び継続品目であります「DHA産生及び除草剤グルホシネート耐性キャノーラ（NS-B50027-4）（食品・飼料）」の安全性についての審議でございます。

お手元の資料を確認したいと思います。

事務局からお願いいたします。

〇〇〇 それでは、議事次第に基づきまして、配付資料を確認します。

配付資料は、議事次第、専門委員名簿、食品健康影響評価に関する資料となっております。

また、本日は「JPBL013株を利用して生産されたα-アミラーゼ」の申請者であるノボザイムズジャパン株式会社の方、「DHA産生及び除草剤グルホシネート耐性キャノーラ（NS-B50027-4）」の申請者であるNUSEED Nutrition US inc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。

それでは、事務局から「食品安全委員会における調査審議方法等について」に基づきまして、必要となる専門委員の先生方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いただいた確認書を確認したところ、平成15年10月2日委員会決定の2の（1）に規定する調査審議等に参加しないこととなる事由に該当する専門委員はいらっしゃいませんでした。

〇〇〇 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について、事務局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くようお願いいたします。

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。

座長より呼びいたしますので、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」と御発言していただき、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、全く入室が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の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。どうぞよろしくをお願いいたします。

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、早速ですが、新規品目であります「JPBL013株を利用して生産された α -アミラーゼ」について、審議を行いたいと思います。

事務局から説明をお願いいたします。

〇〇〇 それでは、本品目につきまして、御説明します。

お手元にピンクの冊子を御用意いただければと思います。

そうしましたら、品目が「JPBL013株を利用して生産された α -アミラーゼ」ということで、御説明します。

申請書の2ページを御覧ください。従来の添加物に関して、御説明します。

名称及び有効成分につきましては、 α -アミラーゼ（amyQ）。

反応特異性につきましては、アミロースやアミロペクチン等の α -1, 4-D-グルコシド結合をエンド型で加水分解するものということでございます。

製造方法につきましては、生産菌株の培養液から抽出、除菌及び精製などの工程を経て製造されるということでございます。

用途及び使用形態ですけれども、本添加物はデンプンからデンプン糖を製造する際、製造工程のうち液化の工程で加工助剤として用いられるということでございます。本添加物自身につきましては、精製工程にて取り除かれるということでございます。

続きまして、摂取量についてですけれども、国内のアミラーゼ製品の全てが本申請品目であり、かつ全てが残存すると仮定して算出した結果、我が国における最大摂取量は2.3 μ g TOS/kg 体重/日と推定されてございます。

同3ページですけれども、宿主等につきまして、*Bacillus licheniformis* Ca63株となっております。

導入DNA及び供与体につきましては、4ページを開いていただきまして、こちらの表1に記載されているとおりでございます。

*amyQ*遺伝子につきましては、*Bacillus amyloliquefaciens* DSM7株、*prsA*遺伝子につきましては、宿主であります*Bacillus licheniformis* Ca63株由来となっております。

そのほか、プロモーターやターミネーター等につきましても、こちらに記載がございます。

5ページを御覧ください。挿入DNAの性質及び導入方法でございます。

図1に示しておりますとおりでございます。●●●遺伝子座にP3プロモーターを挿入した後、●●●遺伝子座に対して*amyQ*遺伝子発現カセットを、そして、●●●遺伝子座に対しては、*amyQ-prsA*遺伝子発現カセットをそれぞれ挿入してございます。

さらに●●●遺伝子座に対して、*cryIIIAm*RNA安定化配列及び*amyQ*遺伝子を1コピー挿入してございます。

その際、●●●遺伝子は欠失いたしました。P3プロモーターを挿入する際に野生型に戻っているということがございます。

本項につきまして、事前に〇〇〇から御質問をいただいております。

机上配付資料1-4を御参照ください。御質問いただいた内容としては、P3プロモーター、*CryIIIAm*RNA安定化配列の導入等についての記載がなく、形質転換体の選択も不明であるため、これについて追加で説明がほしいとの御指摘をいただいております。

申請者の回答といたしましては、こちらに赤字で記載のとおり回答がございました。追加の社内文書1、机上配付資料1-2に該当するものですが、こちらを提出するとともに、要旨の該当箇所を修正するという回答が来てございます。

もう一つ、●●●遺伝子がpJPV051の挿入によって欠失し、pJPV052の挿入によって回復したといった経緯が分かりにくく、こちらで説明がほしいと御指摘がございまして、こちらにつきましても、記載のとおり回答があったところでございます。

本件については、模式図等も含めまして、要旨の該当箇所を修正するというところでございます。

用紙の御説明に戻らせていただきます。11ページをお願いいたします。製品名及び有効成分につきましては、本申請要旨において、*amyQ*という成分名ですとか、*amyQ*製品など、同じ、もしくは類似の用語が頻出してございまして、こちらの結果を従来品が指すのか、本申請品目を指すのかといったところが分かりにくくなっていたことがございました。

机上配付資料1-3の11ページを御覧ください。こちらに記載のとおり、製品名「未定（新*amyQ*製品）」というように分けて記載をいただくことで、修正をしていただいております。これにつきましては、要旨全体に反映いただくということでお願いをしております。

要旨に戻りまして、12ページをお願いいたします。遺伝子組換え添加物と従来の添加物の相違点についてでございます。

本項の記載につきましては、従来の添加物と同じアミノ酸配列であれば、その旨を記載

するように、こちらも机上配付資料1-3の12ページの黄色マーカーのとおり、事前に修正をいただいております。

また、事前に〇〇〇より、アミノ酸配列が同じであることについての根拠について、御質問をいただいております。こちらの回答につきましては、机上配付資料1-1で提出されてございます。

要旨に戻りまして、13ページをお願いいたします。組換え体と宿主の相違点につきましては、同ページの表4に記載のとおりでございます。

要旨のページが少々飛びまして、19ページをお願いいたします。挿入遺伝子の機能についてでございますが、挿入遺伝子のアミノ酸配列につきましては、こちらの図6に示してあるとおりでございます。1～29番目が分泌シグナル配列となっております。

アミノ酸配列から推定される分子量については、●●●kDaですが、SDS-PAGE分離に引き続くCBB染色による分析においては、●●●kDa前後で検出がされているということでございます。

次のページをお願いいたします。遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性についてでございます。

①人工胃腸液に関する感受性についてですけれども、こちらのamyQについては、既に日本においても25年以上の販売実績がございます。かつamyQ製品については、食物アレルギー誘発性を示唆する報告がないということがございますので、したがって、本amyQには十分な食経験があると考えられ、人工胃腸液での消化性試験は実施していないとのことでございます。

②加熱処理に対する感受性でございますが、こちらの結果は21ページの図7のとおりでございます。amyQをpH5.5で30分間処理した後、活性を測定した結果、80℃の処理で完全に失活するといったことが明らかとなっております。

21ページ、既知のアレルゲンとの構造相同性についてでございます。amyQのアレルギー誘発性の可能性を調べるために相同性検索を実施しております。この検索にはFARRP version21を用いております。検索日について別途確認したところ、2021年4月1日でございます。

検索の結果ですけれども、21ページの①80アミノ酸残基で35%以上一致するアレルゲンの検索でございますが、amyQと部分的に相同性を示す既知のアレルゲンが検出されてございますが、いずれも食物アレルギーとしては登録されておらず、吸入をばく露経路とする呼吸器感受性のアレルゲンでございました。

②の条件は、連続した8アミノ酸配列が完全に一致するアレルゲンの検索でございますが、こちらはこの条件で一致するアレルゲンは検出されませんでした。

以上のことから、amyQにつきましては、食物アレルギー誘発性についての懸念が低いものと考えられるとしてございます。

ページが飛びまして、34ページをお願いいたします。抗生物質耐性マーカー遺伝子の安

全性についてでございます。遺伝子導入ベクターpJPV049、pJPV050、pJPV051、pJPV052につきましては、エリスロマイシン耐性遺伝子を持ちますが、pJPV049及びpJPV050については、宿主の染色体に挿入後、ループアウトで脱落し、pJPV051及びpJPV052については、宿主の染色体に挿入されないということでございます。

pJPV051につきましては、スペクチノマイシン耐性遺伝子も存在いたしますが、遺伝子導入ベクターpJPV052の相同組換えによって欠失するということでございます。

したがって、本株JPBL013株には、抗生物質耐性マーカー遺伝子は存在せず、このことについては、シーケンス解析によっても確認がされてございます。

35ページをお願いいたします。組換え体に関する事項についてでございます。

5-1は記載のとおりでございます。

5-2 (1)、制限酵素による切断地図に関する事項についてでございます。挿入領域の塩基配列につきましては、シーケンス解析により確認されておりました、その結果、各遺伝子座に*amyQ*遺伝子発現カセット、*amyL*遺伝子座においては、*amyQ-prsA*遺伝子発現カセット、こちらが●●●挿入されているといったことが示されてございます。

40ページをお願いいたします。遺伝子導入におけるオープンリーディングフレームの有無についてでございます。6通りの読み枠で、終止コドンと終止コドンで挟まれた長さ30アミノ酸以上の領域をオープンリーディングフレームと定義をいたしまして、検索を行った結果、各遺伝子座でこちらの申請書に記載のとおりオープンリーディングフレームが検出されてございます。

これらのオープンリーディングフレームとアレルギー誘発性の可能性を調べるために、相同性検索を実施しました。

41ページをお願いいたします。既知のアレルゲンとの相同性検索でございますが、①の条件においては、いずれの遺伝子座においても、*amyQ*を含むオープンリーディングフレームが部分的に相同性を示す既知のアレルゲンが検出されましたが、食物アレルゲンとしては登録されておらず、吸入をばく露経路とする呼吸器感作性のものであったり、宿主染色体の塩基配列から得られたものであったりといったものが検出されたということでございます。

加えて、同ページの②の条件ですけれども、一致するORFが検出されなかったということでございます。

42ページをお願いいたします。既知の毒性タンパク質との相同性検索でございます。NCBIデータベースを用いまして、 $E\text{-value} < 1.0 \times 10^{-5}$ を指標に検索を行いました結果、ヒットしたオープンリーディングフレームはございませんでした。

以上の結果から、*amyQ*製品中にアレルギー誘発性、または毒性を有するタンパク質が含まれる可能性は低いと結論されてございます。

44ページをお願いいたします。諸外国における認可等の状況についてでございます。本申請品目につきましては、米国においてはGRASの自己認証済みでございます、フラン

スにおいては、食品用加工助剤のポジティブリストに掲載済みということでございます。

45ページ、組換え体の残存に関する事項につきましては、7-2に記載のとおり、本申請品目には生産菌株由来のDNAが残存しないことを確認されてございます。

46ページをお願いいたします。製造に由来する非有効成分の安全性についてでございますが、製品バッチの分析と我が国の食品添加物の規格基準に定める規格値をそれぞれ表13において記載してございます。いずれの項目につきましても、我が国の基準を満たしているということでございます。

47ページをお願いいたします。7-4番、精製方法及びその効果についてでございます。こちらに記載のとおり、本申請品目のamyQのタンパク質純度が高いことが確認されているとのことございまして、こちらの社内文書の5によりますと、●●●%程度の純度であるといったことでございます。

第7-5につきましては、机上配付資料1-1をお願いいたします。こちらに記載のとおり、事前に○○○より、遺伝子組換え技術で構築された生産菌であっても、生産される生産物の構成・成分の変動の範囲は、従来の酵素剤の変動の範囲内であるといったことについて、何か根拠データはお持ちでしょうかという質問がございました。

申請者のノボザイムズジャパンの回答としては「宿主を含む原料、製造方法が従来のものと同じであること及び我が国の従来の食品用酵素の成分規格を満たすことを持って、この文章を記載している」といった回答がございました。

第8につきましては、記載のとおりでございます。

申請要旨の説明につきましては、以上でございます。

○○○ ありがとうございます。

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

本件はアミラーゼ、デンプンを分解して糖をつくる工業的な工程では、お湯にするとデンプンはよく溶けるもので、高温性のアミラーゼが従来から使われておりまして、本件は*Bacillus amyloliquefaciens*、至適温度が60℃を超えるアミラーゼが従来使われておりました。

今回の件は、これをさらに生産性のいい宿主、*Bacillus licheniformis*で生産しようとしたものでして、これで生産性の向上を図っているのだと思います。

使っているものは、従来品のアミノ酸配列とは同等ということですが、遺伝子組換えに使われている手法は、少々凝った方法ですが、同社から同じような方法で何度も申請がございまして、また、*Bacillus licheniformis* Ca63株については、審査実績がございまして。

ただ、申請書の組換えのところが分かりにくくなっていると、○○○から実にごもつともな御指摘でして、この辺は事前に幾つかやり取りをさせていただきました。その辺が机上配付資料1-2、1-3、1-4になっているかと存じます。

ノボザイムズの回答について、先に話をしておくのがよろしいかと思いますが、有効成

分と同じアミノ酸配列について、これは私から本当に同じなのですかと念を押したのですが、同じであるアミノ酸配列のデータが出ております。机上配付資料1-1でございます。

従来の酵素剤の変動の範囲内であるということは、これを指摘して下さったのは、たしか〇〇〇ですか。いかがですか。

〇〇〇 第7-5のところですね。これは変動の範囲内であるという書いってしまうということは、ここに根拠がないと、この書き方はどうかということで聞いていただいたのです。

〇〇〇 こういう回答が来ていますが、先生、これでよろしいですか。

〇〇〇 この部分は「範囲内であると考えられる」という表現が妥当だと思います。ただ、「よって、含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動はないと考えられる」と考えられるが続くので、ここの書き方は多少工夫する必要があるかと思います。

従来の酵素剤の変動の範囲内であるということは、結局は原料、製造方法が従来と同じならば、ここの規格の範囲で見れば、従来の酵素剤の変動の範囲内であるというのは、ちょっと言い過ぎだと思います。だから、そこは書き方に工夫が要ると思っています。

〇〇〇 書きぶりの問題であって、安全性はよろしいですか。

〇〇〇 いいです。

〇〇〇 ありがとうございます。

先生方、この辺に御意見等はございますでしょうか。ありがとうございます。

それでは、机上配付資料の1-2と1-3は〇〇〇の御指摘でして、机上配付資料の1-4を見ていただくと分かりやすいのですが、この辺がP3プロモーターをあらかじめ導入しておいて、それからセクションして、結構手の込んだことをやっているのですが、その辺の書きぶりは、これだけ見ただけでは分かりにくいという指摘でして、机上配付資料1-2、1-3にある回答が来ております。

回答の文章は、机上配付資料1-4のとおりでございます。いちいち読み上げなくてもよろしいですか。皆さん、まず机上配付資料1-4をお目通しいただければと思います。

私の見る限りでは、大枠では最初からこのくらいちゃんと書いてくれば、分かりやすかったのという印象ではあるのですけれども、〇〇〇、ノボザイムズ社の回答はいかがででしょうか。

〇〇〇 最近、書いてくれないことが多いので、当部会は遺伝子組換えの部会なので、どいう遺伝子組換えをやってきたかということをおる程度分かるように書いていただかないと、相同性などはそういうところを全く見ていないところもあるのですけれども、こういう酵素剤の場合は、ちゃんと見ておかないといけないのではないかと思いますので、このくらい書いていただければよろしいかと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

ほか、先生方、いかがでしょうか。この資料については、私も大分分かりやすくなったと思うのですが、よろしいでしょうか。

それでは、我々の事前のやり取りについては、以上でございます。

それでは、これを除きますと、全般としてそれほど大部な資料ではございませんので、どこのページからでも御質問、御意見等がございましたら、先生方、お願いいたします。〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 45ページの組換え体の残存に関する事項のところなのですけれども、これはPCRでサンプルからは出ませんということを示しているのだと思うのですが、PCR産物の長さなどを実際の資料を見させてもらおうと、1kmを超えるようなPCR産物のディテクションを行っていたり、PCRのサイクルは、私の見た限りでは二十数サイクルと少ないところがありまして、こういう条件でPCRが走らないから、DNAは検出されませんと言っているものなのかというのは、一つ疑問に思ったところなのですけれども、いかがでしょうか。

〇〇〇 先生方、いかがでしょうか。

酵素製剤の精製の方法についてのプロトコルの記述もございまして、ろ過を行っております。それから、除菌ろ過、これが0.2ミクロンで除菌しています。精製の工程も書いてあります。

これに加えて、PCRの条件は甘いと言えば甘いし、普通このくらいと言えばこのくらいという気もしないでもないのですけれども、PCRのデータだけをもって組換え体の残存がないというわけでもございませんので、私は従来からもこのくらいでよしとしてきたと記憶しております。

先生方、御意見等はございますでしょうか。〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 ありがとうございます。

今のところに関連しているのですけれども、私の見逃しかもしれないのですが、46ページの表13に生産菌の残存を確認している試験の結果が出ているのですけれども、社内文書の15を見ますと、●●●と書いてありまして、今、それに〇〇〇がおっしゃったようなDNAの残存の試験のことが書いてあって、この文章の下に●●●というのがあって、そこで生産菌がないことを確認していると書いてあるのですけれども、●●●がどこにあるか、見つけられなかったのですが、文章が落ちているのではないかと思いました。

〇〇〇 事務局、分かりますか。

ちょっと待ってください。今、事務局が確認しています。

〇〇〇 ありがとうございます。

総生菌数は200/g出ていて、生産菌は耐性もついていないので、どういう試験をやって、陰性と確認したのかということを見たかったので、探したのですけれども、見つけられませんでした。

〇〇〇 先に〇〇〇の件です。先ほど私から従来の話をさせていただきましたけれども、そのくらいでいいですか。それとも、申請者に直接問いただしてみたいと思われませんか。

〇〇〇 一応聞いてみたいのですけれども、自分で実験をやっている感じからすると、PCR産物としては長いので、PCRの酵素などの特性にもよって、普通に検出しようとしたとしても走らないことがあるのではないかということがありまして、そのところは聞い

てみたいです。

〇〇〇 分かりました。

今、事務局に見てもらいましたが、4人がかりで見つからないので、落ちているのではないかということです。この辺は聞いてみましょう。

ほかにございますでしょうか。どうぞ。

〇〇〇 いろいろつなぎ合わせると、これでいいのかと思わないわけではないのですが、20ページの人工胃腸液に対する感受性で、この製品に関しては、「人工胃腸液での消化性試験は実施しなかった」と申請者はそう言っています。その理由として、「amyQは既に日本でも25年以上の販売使用実績があって、食物アレルギー誘発性を示唆する報告はない。したがって、amyQには十分な食経験があると考えられるので、人工胃腸液での消化性試験は実施しなかった」というロジックになっているのだけれども、これだけで本当にいいという説明になっているかといえば、私、この表現だとまずいと思います。

ただし、先ほど説明されたように、〇〇〇の御指摘に対する回答でアミノ酸配列が等しいことが確認されているということです。ロジックとしては、これも付け加えた上で消化性試験は実施しなかったということであれば、それは可としてもいいように思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

従来からどういったケースで人工胃腸液の試験をやって、どういったケースで人工胃腸液の調査をやらなかったのかということを経理で調べていただきました。我々はちゃんと矛盾なくやっているということは確認できてよかったと思うのですが、せっかくだから、事務局のほうから説明していただけますか。配付資料の一番最後です。

〇〇〇 机上配付資料としては含めていないものでございまして、大変恐縮なのですが、これまで基本的には本申請品目のように、既存の品目とアミノ酸配列等が一致するものであれば、人工胃腸液試験は特段実施しなくても問題ないと判断をしてきたということでございます。

〇〇〇 従来品と同一であるということが確認できたもの5件について、遺伝子組換えであっても、確認が取れたものについては、ここでは人工胃腸液試験をやってございません。

宿主由来の遺伝子であった場合、これは2件ございまして、そもそも遺伝子組換えではないという判断なのですが、これについても人工胃腸液試験はやってございません。

それ以外のケースでは、全て人工胃腸液試験をやってございまして、今回の同一であるという確認が取れたということで、これまでも人工胃腸液試験を実施してこなかった5件と同じケースに該当しますので、私はこれで矛盾なくちゃんとやってきているので、今回もそれでよいのではないかと考えております。

〇〇〇、これでよろしいですか。書き方の問題ですね。

〇〇〇 報告書にはアミノ酸配列が一緒だからということは追記した形で報告するという事なのではないかと思えます。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

それを評価書に反映してもらえますか。

〇〇〇 承知いたしました。

〇〇〇 ほかにありますでしょうか。

それでは、先ほどの〇〇〇と〇〇〇の件について、申請者に直接話をしてみたいと思います。

申請者をお呼びしてください。

(申請者入室)

〇〇〇 お忙しいところ、ありがとうございます。

申請者の方々、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 ノボザイムズジャパン株式会社、〇〇〇と申します。よろしく願いいたします。

〇〇〇 ノボザイムズジャパン株式会社、〇〇〇と申します。よろしく願いいたします。

〇〇〇 よろしく願いいたします。

少々声が遠いので、マイクに顔を近づけて御発言をいただけると助かります。

少々細かいことですが、少しお尋ねしたいことがございます。

PCRの件を〇〇〇から直接お願いできますか。

〇〇〇 了解しました。

資料の45ページなのですがすけれども、組換え体の残存に関する事項という部分がありまして、組換え体由来のDNAの残存はないというデータをお示しなのですが、そこに4、5、6とか、13、14、15、19、20、21とLaneの名前が書いてあって、そこが陽性のコントロールになっていると思うのですが、例えばなのですがすけれども、●●●、1ngというのがちゃんと検出できていないのではないかと思います。

PCRの条件を見てもみますと、そもそもターゲットとする長さが1kbを超えているようなことであったり、PCRのサイクルが少し少ないのではないかとこのところに疑問を感じまして、例えば●●●。

こういうデータで陽性ではきちんと検出されていますが、本製品においては、残存はないということを言い切れるのでしょうかということをお伺いしたいのですがすけれども、いかがでしょうか。

〇〇〇 背景が高い件に関しましてですが、試料中の塩濃度が高いときなどにこのようなスメアが生じるそうです。それで、このように高いバックグラウンドの中にも明らかにバンド側にあります。ちょっと難しいと思いますので、このようなものを出ささせていただきました。

〇〇〇 御意見としては、塩濃度の問題ということでよろしいですか。

〇〇〇 そうです。

〇〇〇 そうなると、●●●、塩濃度の問題でスメアを引いているということになるのだ

とすると、●●●という解釈でよろしいですか。

〇〇〇 ●●●に関しては、そういう結果を示しております。

〇〇〇 分かりました。

それと、PCRのサイクルなのですけれども、トータルで二十何サイクルということになっていると思うのですが、そのサイクル数に関しては、少し多くしたりということはないのですか。通常、DNAを検出するということだとすると、もう少しサイクル数を上げて見てみるのではないのかというところがあるのですけれども、その辺を教えてくださいませんか。

〇〇〇 サイクル数に関しましては、やり方に関して全て一貫したやり方で、*Bacillus*のほうに宿主になっているのですけれども、宿主ごとに基本的に同じやり方でずっとオペティマイズしているというか、均一化させてやっているものです。

今までそういう御指摘を受けたことはなかったので、サイクル数について妥当なのかどうかということまで確認はしていないのですけれども、基本的にはこのやり方で弊社はずっと一貫してやらせていただいております。

〇〇〇 御回答ありがとうございます。

それで、もう一点、PCR産物の長さがそもそも長くて、検出に向いていないのではないかと思うのですけれども、その辺については、より短いものにして、PCRが走りやすくするとか、そういうお考えなどはないのでしょうか。

〇〇〇 この試験をやったのが既に10年以上前のものになりまして、比較的古い製品になってしまうのですけれども、このやり方に関しては、研究開発で改善のために年々いろいろやっているところですよ。

今回、出させていただいたデータは、10年以上前のデータということで、確かに先生の御指摘のとおり、そもそもPCR産物が長いのではないかというところは、検討の余地がある点だと思います。

〇〇〇 分かりました。ありがとうございます。

〇〇〇 今の件につきまして、先生方、ほかにございますか。

●●●はいいのだけれども、●●●は、塩濃度ならバンドは出るものなのですか。出ていいのですか。

〇〇〇 バンド自体は出ておりません。

〇〇〇 出ていないのですね。ありがとうございます。

もう一つ、〇〇〇からお聞きになりますか。

〇〇〇 ありがとうございます。

今のページの次のページ、資料の46ページについてなのですが、表13で示しているらっしゃる生産菌の残存がないことが社内文書の15で示されているということなのですが、ついてきたCDの社内文書15を拝見しますと、先ほどのお話のPCRの資料が●●●として示されておりまして、この文書の4ページ目の下に●●●で示した生産菌の残存がない

ことと一致していることは書いてあるのですけれども、●●●が見つからなかったのですが、こちらは添付されるべきものではないでしょうか。

〇〇〇 ●●●と記載してしまっていて、社内文書15で提出している中身の番号が合っていないところで、こちらでそこまで目が行き届いていなかったというところで申し訳ございません。

●●●に関しましては、これがPCRの方法で生産菌を確認している方法ではなくて、弊社は製品でも同じような方法でやるのですけれども、製品を培地にまいて、生産菌が生えるかどうかというような試験をやっている試験データがありまして、それが●●●になるところです。

ただし、こういうふうにPCR法で用いた分子生物学的な方法の確認というものは、●●●だけでして、通常我々が出しているものは、分子生物学的に残存菌がないかどうかを確認しているものなので、●●●のみ提出するところです。

〇〇〇 続けて確認させていただきたいのですけれども、それでは、●●●は添付をされていないのですが、培養法によって生産菌がないことを確認していらっしゃるということですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 この菌は組換えの過程によって、最終的な生産菌には耐性はついていない、残っていない状態ですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 このバッチの総生菌数が200/gあるので、耐性のない生産菌とどのように見分けていらっしゃるのでしょうか。

〇〇〇 それは生産菌株によって、基本的に製品に関しましては、製造工程中で滅菌して酵素を取り出して抽出しています。その後、*Bacillus licheniformis*を選択的に検出できるような培地を使って、生産菌がないかどうかを培地で培養して測っているという方法になります。

ここに提出物として記載していないので、詳しい方法に関しては、今、この場で説明するのは難しいのですけれども、そういう形で生産菌を確認しています。

〇〇〇 *Bacillus*だけを選択的に増やす培地というものにぱっと心当たりがなかったものですから、知りたいと思いました。どうもありがとうございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

こちらの事務局でも●●●に書いてあるというので、探してみてもなかったから、今回、お尋ねさせてもらっているのだけれども、そこに見れば書いてあると書いてありながら、その資料がついていないというのは、明らかに申請書の形式としてまずいので、それは困ります。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 残存菌がないデータについては、●●●です。その御説明であれば、そのデータ

をお持ちなのだと思いますので、●●●と●●●を提出いただけますか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 よろしく願いいたします。

先生方、ほかにございますでしょうか。どうぞ。

〇〇〇 もう一回よろしいですか。先ほどの45ページのところの解釈なのですけれども、●●●がバンドではないと言うのだとすると、要は1ngというのは、この系だと検出できていないという解釈になると思うのですけれども、そうすると、文章中にも検出限界とは書いてありますが、これは1ngではないということによろしいですか。

〇〇〇 ほかの2製品では1ngのバンドが明らかに検出されておりますので、1ngとさせていただいているのだと思います。

〇〇〇 そういうことであれば、1ngを入れたものから確実に検出されていないと、検出限界値の1ngというのは矛盾します。

〇〇〇 持ち帰って検討させていただいてよろしいでしょうか。

〇〇〇 その辺のところ、矛盾のない記述にさせていただければと思います。

〇〇〇、これでいいですか。

〇〇〇 大丈夫です。

〇〇〇 ほかにございますでしょうか。〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 47ページの第7-5のところなのですけれども、3行目から「遺伝子組換え技術で構築された生産菌であっても、生産される生産物の構成・成分の変動の範囲は、従来の酵素剤の変動の範囲内である」と書いてあるのですけれども、事前の質問で問い合わせたら、これは別段具体的に確認したものではないという回答が来ました。

旧来の食安委の調査会では、こういう部分まで確認していなくても、適切に生産管理等々がされていればオーケーだという解釈で、データは必ずしも要求していなかったということもあるので、それはそれでいいと思うのですけれども、このように書いてあると、確認したととれてしまうので、その辺りは「考えられる」とか、そういう表現の範囲だと思いますので、今回は資料の修正をお願いするほどではないとは思っていますけれども、今後は気をつけていただきたいと思います。

以上です。

〇〇〇 承知いたしました。ありがとうございます。

〇〇〇 ほかにございますでしょうか。

あと、事前のやり取りの間で言ったと思うけれども、どのように遺伝子組換えをしたかとか、その辺のデータは、今回の修正バージョンに出てきたくらい、最初から記載してください。そうでないと、こちらは何をやったのか、一発で見られなくなりますので、その辺をよろしく願いしたいと思います。

先生方、ほかにございますでしょうか。

このくらいにしたいと思います。ありがとうございました。御退室いただいて結構です。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

(申請者退室)

〇〇〇 それでは、退室が確認できましたので、審議を再開したいと思います。

突いてみたら、細かいところがぼろぼろと出てきたので、その辺の資料は当然追加で出てくることだと思います。

全般として諸外国では、既にアメリカではGRAS認定、フランスではポジティブリストで、安全性には懸念がないということで諸外国では走っているといった事情もございます。

本件につきまして、まずこれまで議論した以外のところ、また、これまで議論したところでも結構ですが、御質問、御懸念等、先生方、ございますでしょうか。〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 ありがとうございます。

先ほど〇〇〇が質問されていたところで、会社の回答が気になったのですけれども、10年前のデータだと言っていて、10年もたつと、PCRの酵素も機械も非常に性能がよくなっていて、検出感度は相当上がっていると思います。別にこの製品の安全性に対して私は何も問題があるとは思っていないのですけれども、このデータを出して、今の2022年の時点で残存菌がありませんというのは、苦しいのではないかと。1ngの検出ができたり、できなかったり、塩が混ざっていますということは、フィルターで脱塩してくださいと言いたくなるのですけれども、この辺はあれでしょうか。過去に審査をしてきたもののスペックのまま審査をしないといけないのですか。周りの技術が向上したので、それに合わせてハードルを上げてということはないものなのでしょうか。お願いいたします。

〇〇〇 技術はどんどん進歩するものでして、過去のものでも信頼に値すると判定できれば、それでいいということなのですけれども、今回の件については、1ngと言っておきながら、1ngが見えていないとか、そういう矛盾、ぼろが出ておりますので、こちらから資料を当然要求したので、そのときに必要であれば、この実験をやり直してという一言をつけようかと思うのですけれども、あのまま文章を作文して出してくるのか、それとも新しいものでやり直してくるのか、そこまではと思うのですが、そのような対応になろうかと思えます。今回は厳しく注文はつけようと思っています。そのくらいの対応でいいですか。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 ほかにございますか。

それとこれとは別で、これ全体として安全性に懸念があるかどうかという大局についてなのですが、いかがでしょうか。資料を当然提出していただくのですが、それはともかく安全性については、私は懸念はないのではないかとと思うのですけれども、そろそろ判定したいと思うのですが、先生方、最終判定につきまして、御意見等はございますでしょうか。

それでは、残った資料については、関係される先生方に厳しく見てもらうことが当然前提とはなりますが、安全性については懸念がないと判定したいと思います。先生方、よろしいでしょうか。御意思の表示をお願いいたします。

(同意の意思表示あり)

〇〇〇 ありがとうございました。

それでは、本件につきましては、こちらから要求する資料を確認次第オーケーということにしたいと思います。

それでは、事務局から評価書案の御説明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。

配付資料のうち、食品健康影響評価に関する資料をお手元に御準備ください。

それでは、評価書の御説明に入らせていただきます。

こちらの束の6ページをお願いいたします。評価対象添加物の概要でございます。本添加物は、*Bacillus licheniformis* Ca63株を宿主として、*Bacillus amyloliquefaciens* DSM7株由来の α -アミラーゼ遺伝子を導入することで作製をしたJPBL013株を利用して生産された α -アミラーゼであるということでございます。

本添加物は、グルコース重合体の α -1,4結合を加水分解し、デキストリン及びオリゴ糖を生成させる酵素であり、デンプン糖の製造に使用されます。

1番、従来の添加物の性質及び用途に関する資料でございます。

従来の添加物の名称は α -アミラーゼ (*amyQ*)、有効成分は α -アミラーゼとなっております。

製造方法ですが、*amyQ*は培養、ろ過の工程を経て製造されます。生産菌は、除菌ろ過により除去されるということでございます。

用途及び使用形態ですけれども、 α -アミラーゼの一種である*amyQ*は、アミロースやアミロペクチン等のグルコース重合体の α -1,4-グルコシド結合のエンド型を加水分解する酵素であるということでございます。

デンプン糖の製造において、主に液化の工程で*amyQ*を添加することで、デンプンがデキストリンまで分解されるため、デンプン糖製造を目的に加工助剤として使用されております。

なお、デンプン糖製造工程において、*amyQ*は取り除かれるということでございます。

摂取量ですけれども、既存の α -アミラーゼ製品が全て本添加物を用いた製品に置き換わり、全ての砂糖・甘味料の製造に使用され、最終製品中に100%残存すると仮定をした場合、最大一日摂取量は2.3 μ g TOS/kg 体重/日ということでございます。

2番、宿主及び導入DNAでございますが、宿主は*Bacillus licheniformis* Ca63株でございます。

DNAの供与体につきましては、 α -アミラーゼ遺伝子、*amyQ*遺伝子の供与体は*Bacillus amyloliquefaciens* DSM7株でございます。

*prsA*遺伝子の供与体は、*Bacillus licheniformis* Ca63株でございます。

導入DNAの性質及び導入方法でございますが、*amyQ*遺伝子は、 α -アミラーゼ (*amyQ*) をコードいたします。

*prsA*遺伝子は、菌体分泌を促進する細胞膜タンパク質であるPrsAタンパク質をコードいたします。

*amyQ*遺伝子発現カセット及び*amyQ-prsA*遺伝子発現カセットをインテグラーゼにより宿主ゲノムそれぞれの標的遺伝子座へ導入しております。その際、標的遺伝子座において遺伝子欠失が確認されてございます。

加えて、*amyQ*遺伝子発現カセットが相同組換えにより別の遺伝子座に導入をされてございます。

8ページをお願いいたします。6番、安全性評価において検討が必要とされる遺伝子組換え添加物と従来の添加物及び組換え体と宿主等の相違点でございますが、遺伝子組換え添加物と従来の添加物につきましては、本添加物の有効成分である遺伝子組換え*amyQ*、従来の*amyQ*のアミノ酸配列は同一であるということでございます。

組換え体と宿主でございますが、JPBL013株と宿主の相違点については、JPBL013株には*amyQ*遺伝子が導入され、 α -アミラーゼの高生産性を獲得している点、*prsA*遺伝子を導入している点及び α -アミラーゼの生産性を高めるため、複数の遺伝子が欠失している点が異なっているということでございます。

10ページをお願いいたします。挿入DNAまたは遺伝子（抗生物質耐性マーカを含む）及びその遺伝子産物の性質に関する事項でございます。

挿入遺伝子のクローニングまたは合成方法に関する事項につきましては、*amyQ*遺伝子は、*Bacillus amyloliquefaciens* DSM7株よりPCR法によって獲得してございます。

また、*Bacillus licheniformis* Ca63株由来の α -アミラーゼ遺伝子及び*Bacillus amyloliquefaciens* DSM7株由来の α -アミラーゼ遺伝子のシグナル配列を組み合わせた配列が分泌シグナル配列として付加されてございます。

*prsA*遺伝子は、*Bacillus licheniformis* Ca63株よりPCR法で得られております。

挿入遺伝子の機能に関する事項につきましては、遺伝子産物の物理化学的処理の感受性に関する知見としまして、人工胃腸液試験に関する感受性については、先ほど〇〇〇より御指摘いただいておりますけれども、*amyQ*は、我が国において25年以上の使用実績があり、遺伝子組換え*amyQ*は、従来の*amyQ*とアミノ酸配列が同じであることから消化性試験は実施しなかったということでございます。

加熱処理に対する感受性につきましては、遺伝子組換え*amyQ*の加熱処理に対する感受性を調べる目的で、pH5.5の各温度帯で30分処理した後の活性を測定してございます。その結果、80℃の処理によって完全に失活することが示されております。

*prsA*遺伝子につきましては、菌体外のタンパク質の分泌を促進する細胞膜タンパク質であるPrsAタンパク質をコードするものでございます。PrsAタンパク質について、アレルギー誘発性、毒性を示唆する報告はなく、また、既に安全性審査を終了したNZYM-AV株を利用して生産された α -アミラーゼの生産菌にも導入されてございます。

12ページをお願いいたします。これら以上のことから、遺伝子組換え*amyQ*及びPrsAタ

ンパク質がアレルギー誘発性を有する可能性は低いと考えられたとしてございます。

14ページをお願いいたします。抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項でございませう。遺伝子導入用ベクターpJPV049、pJPV050、pJPV051、pJPV052につきましては、エリスロマイシン耐性遺伝子を持ちまして、pJPV049及びpJPV050では、染色体に挿入されますが、ループアウトによって脱落するため、宿主の染色体には残存しないとしております。

pJPV051及びpJPV052では、エリスロマイシン耐性遺伝子は宿主に挿入されませぬ。

pJPV051では、スペクチノマイシン耐性遺伝子が染色体に導入されますが、相同組換えによって欠失をしてございませう。

生産菌にはこれら抗生物質耐性マーカー遺伝子は存在しないということは、シークエンス解析によっても確認されてございませう。

組換え体に関する事項でございませう。このうち、オープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項でございませう。挿入遺伝子と宿主ゲノムの接合部に生じるオープンリーディングフレームの有無を調べる目的で、各種標的遺伝子座における挿入DNA並びにこれら5'近傍配列を含む領域及び3'近傍配列を含む領域及び異種遺伝子断片が残存する遺伝子座領域において、ORF検索を行っております。

その結果、こちらに記載の六つの読み枠において、終止コドンから終止コドンで連続する30アミノ酸以上のORFが合計362個検出されてございませう。

上記のORFとのアレルゲンとの相同性の有無を調べる目的で、アレルゲンデータベースを用いた相同性検索を行っております。

その結果、連続する80アミノ酸配列に対して、35%以上の相同性を示す既知アレルゲンが検出されてございませうが、それぞれ吸入ばく露とする呼吸器誘発性アレルゲンであり、もしくは宿主染色体の塩基配列から得られたORFであるといったことから、食物アレルギー誘発性の懸念は低いと考えられたとしてございませう。

連続する8アミノ酸配列が完全に一致する既知アレルゲンは認められませぬでした。

さらにこれらORFと既知の毒性タンパク質との相同性の有無を調べる目的で、タンパク質データベースを用いてE-value $<1.0 \times 10^{-5}$ を指標として相同性検索を行った結果、データベース中の既知のタンパク質の相同性を示したORFは認められなかつたことから、毒性を有する可能性は低いと考えられたとしてございませう。

15ページ下でございませうが、諸外国における認可、食用等に関する事項につきましては、従来のamyQ製品については、日本を含む世界各国で25年以上にわたり販売され、食品用加工助剤として用いられているところではございませうが、新amyQ製品につきましては、フランスでは食品用加工助剤のポジティブリストに、米国ではGRASのリストにそれぞれ収載がされてございませう。

組換え体の残存に関する事項でございませうが、新amyQ製品中に組換えDNAの残存がないことをPCR分析により確認がされてございませう。

評価書の説明につきましては、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、評価書案につきまして、御意見等はございますでしょうか。よろしいでしょうか。

後ほど細かい字句などお気づきになりましたら、事務局にお伝えいただければと思います。

それでは、少々宿題が残りましたので、これにつきましては、申請者からデータが出てきたときに関係する先生方と私と事務局とでこれを確認した上で、手続を進めていきたいと思えます。その上で食品安全委員会に報告し、パブリックコメント等々の手続を進めていきたいと思えます。ありがとうございます。

それでは、次の案件「DHA産生及び除草剤グルホシネート耐性キャノーラ（NS-B50027-4）（食品・飼料）」の食品です。

前回は令和3年6月にありまして、いっぱい指摘をさせていただいたのですが、それについての回答が主な内容になろうかと存じます。

事務局から説明をお願いいたします。

〇〇〇 それでは、DHA産生及び除草剤グルホシネート耐性キャノーラの説明をさせていただきます。

先ほど〇〇〇から御説明がありましたように、昨年6月の専門調査会で御審議いただいた際に、申請者に対して幾つか御質問や指摘をしたところで、それを踏まえて申請資料の修正がされてございますので、該当部分を説明させていただきます。

それでは、資料ですが、緑色のファイルで、DHA産生及び除草剤グルホシネート耐性キャノーラ（NS-B50027-4）の食品としての安全性評価の要旨、回答書を御準備ください。

それでは、説明をさせていただきます。

まず回答書の1ページ目をお願いいたします。指摘事項1でございますが、今回の申請品は、DHA産生に関する七つの遺伝子、不飽和化酵素のデサチュラーゼ、脂肪酸伸長酵素のエロンガーゼの遺伝子が組み込まれているといったところですが、基質特異性から主要経路以外の脂肪酸も合成される可能性というのが考えられたということでございますので、主要経路であることを示すとともに、主要な脂肪酸以外の脂肪酸についても反応経路を示してくださいといった指摘でございます。

回答ですが、発現するデサチュラーゼ及びエロンガーゼについて文献情報や脂肪酸分析からDHA産生の主要経路に加えて影響を受ける脂肪酸について考察を行い、要旨に記載、また、経路の差し替えを行いますと回答をされております。

当初、2つの図、図1はDHAまでの1本道のもの、図36はDHAと ω 6脂肪酸の合成経路の2本の道を示していましたが、今回、図2に修正しますと回答されております。

図2につきましては、回答書の8ページを御覧ください。このとおり、オレイン酸からDHAまでの経路のほか、それ以外に合成される脂肪酸の経路も付け加えているといったところ

でございます。

また、要旨の修正につきましては、1ページの最後のところから2ページ目以降にかけてでございますが、このように修正されるということで、下線部が追記されているといったところでございます。

例えば2ページ目の21行目からでございます。一つ目のデサチュラーゼ、*Lackl-Δ12d*遺伝子でございますが、下線部のところでほかの脂肪酸に対しても作用をして、不飽和化が行われるといったところが追記されてございます。

このように追記をされておまして、ほかにどういったものができるかといったところですが、6ページ、表8を御覧いただければと思います。想定される脂肪酸をまとめていただいているといったものでございます。

また、これについては、表9のところでは分析を行っているのですが、その中で、生産されるものはこれだけ生産されておりますといったことと、従来のセイヨウナタネということで、ILSIのデータベースを確認して、それぞれ範囲内であるのか、増加しているのかとか、減少しているのかとか、新しくつくられたのかといったところは確認されてございます。

以上が指摘1についてでございます。

続きまして、指摘事項2でございます。回答書は10ページをお願いいたします。指摘事項2につきましては、摂取の油と調理加工法についての指摘事項でございます。どのぐらい摂取されるのかといったところでございます。一つ目が養殖魚へ飼料を与えたときのこと、二つ目はサプリメントとして摂取されたこと、三つ目は食品材料として利用されたということで、それぞれの用途における摂取量と総計を算出しているといったものでございます。

これにつきましては、10ページ目の20行目からが修正内容でございます。28行目の「まず」というところでございますが、日本人の一日一人当たりのナタネの摂取量を推計したということで、ナタネ油として使われる量として、33行目のところ、3.34gと推定されております。

また、植物油が添加されるマヨネーズやドレッシングとして使われる量といったところで算出をしており、それについては11ページ、マヨネーズやドレッシングとして使う、あと、食用油として使うといったところを合計したところ、7行目でございますが、4.61gと推計されております。

9行目から「次に」というところでございますが、水素添加されたマーガリン等で摂取した場合を推計しているといったところでございます。その結果、18行目のところでございますが、マーガリンに由来するナタネ油の摂取量は0.3g以上になると推定されているといったところです。

また、20行目からですが、魚介類からのDHAを含むn-3系の脂肪酸の摂取量を推計したところ、男性で1.14g、女性で0.89gと報告しているといったところでございます。

最後、26行目からですが、サプリメントに由来するDHAの摂取量の推計ということで、これについては統計データがなかったということなのですが、消費者庁に届け出られてい

る機能性表示食品の情報を基に算出をしているといったところで、一日目安摂取量から算出したところ、DHAの摂取量は平均が489.7mg、最大のもので1,100mgであったとしております。

この回答書は単位がどちらも「g」と記載されていますが、これは「mg」の間違いですと連絡をいただいております。また、要旨は「mg」で修正されていることを確認いたしました。

続きまして、次のページ、指摘事項3でございます。こちらにつきましては、供与体の安全性情報についてでございます。全ての供与体について安全性情報が直近の情報でなく、十分でないので、最新のデータベースを用いて再度検索を行い、考察をしてくださいといったものでございます。

回答といたしましては、文献検索を行って、供与体に関する安全性を追記いたしましたということで、導入遺伝子が既知のアレルゲンまたは毒性タンパク質と機能上重要なアミノ酸配列を有するかどうかといったところの解析を行いました。目的外のORFがないとか、導入遺伝子と内在ゲノム配列との境界領域がないか、そういったところも最新のデータに基づき安全性を確認したと回答されております。

それに基づいて、12ページの23行目からですが、要旨が修正されているといったところで、こちらも下線部のところが追記されていまして、例えば最初の*lack1-Δ12d*については、当初は2016年の情報だけだったのですが、調べていただいて、2001年の古いものと2019年の新しい情報も調べていただいて、追記されているといったところでございます。このようにほかの遺伝子についても調べていただいているといったところでございます。

それに伴いまして、昨日お送りさせていただいた、机上配付資料2-3を御準備いただきたいのですが、最初に送られてきた回答書に添付された要旨は誤字などが認められたため、を修正していただいたものでございます。

56ページをお願いいたします。ほとんどが誤字についてですけれども、56ページ、57ページにかけて、赤い字で引いておりますが、さらに文章を追加していただいているといったところでございます。

4の(1)として、挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見が明らかにされていることにつきまして、PubMedのデータベースでも検索をしているといったところがあったので、そこを追加していただいております。

また(2)のところ、遺伝子産物についてのアレルギー誘発性に関する知見が明らかにされていることについて、個別にはそれぞれ調べていただいているのですが、ここでまとめて書いていただいているということで、Allergen Onlineのデータベース、NCBI Protein databaseで検索されたといった情報も追記されていると修正されております。

以上が指摘事項3についての回答になります。

続きまして、指摘事項4でございます。回答書の16ページをお願いいたします。指摘事項4は、遺伝子産物の生産量の測定についてでございます。この申請者については、一般的な

ELISA法等を用いているものではなくて、LC-MRM-MSスペクトル法によって定量を行っているということで、新しい方法によって定量していることから、この試験方法について分析法の利点と欠点、信頼性について、検出限界等のデータを含む情報を出してくださいといった質問となっております。

回答ですが、LC-MRM-MSスペクトルなどの質量分析に基づく同定法は、抗体の調整を不要とする。1アミノ酸の違いも検出する。類似したタンパク質の定量に適しているものである。

また、抗体を必要としないことから、今回、遺伝子導入をしてつくらせているデサチュラーゼやエロンガーゼなど、膜内在性のもので、細胞膜に埋もれていることが多く、抗体が作りにくいといった課題があるのですが、そのようなタンパク質についても定量法として用いることができることが示唆されているということで、LC-MRM-MSスペクトルの原理と従来手法との比較、今回用いた定量法を整理して、要旨を修正しましたと回答されております。

今回の試験結果については、査読文献として公表されているといったことから、社内報告書に代えて添付文献として、その論文を提出すると回答してきております。

要旨の修正については、16ページの34行目からでございます。

原理の部分につきましては、17ページの12行目からでございます。LC-MRM-MSスペクトル法による質量フィルターの上限がタンパク質の質量よりも小さいので、トリプシン等で消化をして得られたペプチド断片を特異的に検出するといったもの、内部標準として濃度既知の安定同位体標識ペプチドを添加することで定量可能となり、測定対象がタンパク質の場合は供試サンプルを事前にトリプシン消化し、対象に特異的なアミノ酸配列を検出することで定量するといったやり方で行ってございます。

従来手法との比較としては、交差反応に妨げられないこと、1アミノ酸の相違も区別できること、抗体をつくるのが困難なタンパク質にも定量できることが示唆されていると要旨も修正されております。

また、感度につきましては、18ページの7行目を御覧いただければと思います。当初のウェスタンブロット法やELISA法ではngから $\mu\text{g}/\text{mg}$ で検出可能なところ、LC-MRM-MSスペクトル法では同等の感度が得られている。例として、Pavsa- $\Delta 4\text{D}$ については7.8fmol、重量に直すと3.85ng/mgが検出限界であると確認しているものでございます。

次に定量に用いたLC-MRM-MSスペクトル法について、各デサチュラーゼ、エロンガーゼに特異的なペプチドについては、MSスペクトル分析にレスポンスがよく、次のページに参りまして、②化学修飾されやすいアミノ酸を含んでいない、③トリプシン消化を受けやすい部位を含んでいない、④測定対象のタンパク質に特異的な配列であり、LC-MSスペクトル分析に適したサイズであるといったものから選択をしてございます。

7行目、次に検量線を作成し、検出限界及び定量限界を求めていくということで、回答書の20ページを開いてください。表12でございしますが、こちらが各発現タンパクの定量に用

いた標的ペプチドの一覧となっております。

また、21ページが検出限界等の表13となっております。

11行目、発現量の解析でございますが、22ページの表14、表15のとおりでございます。オーストラリアのビクトリア州の3圃場から採取した地上部、花、根、未熟種子、成熟種子を試験にかけた結果、デサチュラーゼ、エロンガーゼについては未熟種子、成熟種子で検出し、それ以外では検出可限以下であることを確認した。

PATタンパクについては、どの段階においても検出をしている、発現を確認いたしましたといったところでございます。

以上が指摘事項4でございます。

続きまして、指摘事項5に参ります。指摘事項5につきましては、23ページになります。申請者については、今回、消化性試験を行っているのですが、消化性の試験についてもLC-MRM-MSスペクトル分析を用いて確認をしているところでございます。それによる定量を行っているのですが、その妥当性を示すエビデンスや情報を出してくださいといった指摘となっております。

それでは、回答に参ります。LC-MRM-MSスペクトル法を用いたタンパク質の定量と同じように、こちらも文献が公表されているので、社内報告書の代わりに公表文献を提出しますとまず回答されており、LC-MRM-MSスペクトルを用いた人工胃液、人工腸液に関する感受性については、Colgrave2019の文献において検証されていて、具体的にはウシ血清アルブミンを用いた試験において、ペプシン処理で標的ペプチドが検出されること、ペプシン・トリプシン処理では、ペプシン処理の時間が長くなるにつれて、標的ペプチドが減少することが確認されており、本申請のデサチュラーゼ、エロンガーゼにおいても、同様に標的ペプチドの消長を測定することで、人工胃液及び腸液に関する感受性の評価が可能になると考えて行ったといったことでございます。

Picpa- ω 3D及びPyrco- Δ 6Eを代表サンプルとして用い、LC-MRM-MSスペクトル法とSDS-PAGE及びウエスタンプロットにより確認しており、その結果、SDS-PAGE及びウエスタンプロットにおける検出限界は0.025 μ g及び0.05 μ gであり、LC-MRM-MSスペクトル法は1.61~7.52ng/mgであったことから、十分な検出感度があると回答されています。

要旨の修正については、24ページの16行目からになります。

サンプルのデサチュラーゼ及びエロンガーゼについては、30行目の表16のとおり、昆虫細胞または大腸菌、ヒスチジンタグを結合したタンパク質を用いているといったものです。さらにPicpa- ω 3Dについては蛍光タンパク質が付加されているもの、それ以外についてはプロテアーゼ消化部位が付加されているといったことでございます。

人工胃液及び腸液処理試験はLC-MRM-MSスペクトル法、加熱処理試験についてはSDS-PAGE及びウエスタンプロットにより分析が行われているとなります。

25ページに参りまして、分析による処理の評価については、先ほど回答のところでも得られたとおりです。

27ページに参ります。処理方法ですが、図9のとおり、それぞれのタンパク質についてペプシン処理を行い、0分から60分処理をして、遠心分離で落として、フィルターを通過した10kDa以上のペプチドを回収して、MSスペクトルで分析を行う。

また、フィルターに残った分画については、トリプシンを一晩処理して、それも遠心分離をして、10kDa以下の断片を回収して、LC-MRM-MSスペクトルにより分析をするといったやり方で行っていくものでございます。

28ページに参りまして、標的ペプチドの選定については、ペプシンで120分、またはトリプシンで16時間処理をして得られた配列の解析を行い、信頼性の高い、シグナル強度の強いペプチドを選定したといったところでございます。

20行目からが解析についてでございます。ペプシンの処理については、分解が進むにつれて標的ペプチドが増加することから、経時的に示すといったこと、また、ペプシン・トリプシン処理については、人工胃液処理の時間に応じて10kDaのフィルターに残存するタンパク質量が異なることが予想されるために、人工腸液の処理によって生成するペプチドの絶対量が分解性の直接的な指標とならないといったことが予想されたので、ペプシン0分後のものにトリプシン処理を行ったときの標的ペプチドの量を100%をとして、相対的な量を各処理区の値として用いているといったやり方でやっております。

結果につきましては、要旨を御覧いただければと思うのですが、60ページから73ページのとおりとなっております。

60ページがLack1-Δ12Dにおける人工胃液処理における標的ペプチドの定量となっております。

61ページが人工胃液・人工腸液処理をしたものの結果となっております。

これにつきましては、回答書の29ページに戻りまして、分析の結果としては、人工胃液処理では10分以内に標的ペプチドが検出され、60分以内に多くの標的ペプチドが平衡に達している。したがって、デサチュラーゼ及びエロンガーゼについては、人工胃液で迅速に分解されると考えられると考察しております。

人工胃液・人工腸液処理については、デサチュラーゼ及びエロンガーゼの相対生成量がペプシン5分から10分の試験区で、ペプシン0分から大きく減少しているということ、デサチュラーゼについてはペプシン60分で相対生成量は10%以下に落ちているということで、BSAと有意差はないということです。エロンガーゼについては、相対生成量は50%程度だったとしています。

申請者としては、以上のことから、人工胃液・人工腸液による処理に対する感受性を持つことが示されたという考察をしているところでございます。

以上が消化性の試験についてでございます。

続きまして、指摘事項6に参ります。30ページをお願いいたします。指摘事項6につきましては、PATタンパク質の消化性試験、加熱処理試験についてでございます。申請者は、今回、自らのところで試験をしておらず、論文を用いて資料を提出してきていたことから、

ちゃんと自分のところでも試験をしてくださいといった指摘になってございます。

これについて、申請者の回答でございますが、今回、申請者は、改めて感受性評価試験を行ってきたということでございます。

13行目からの「なお」のところですが、これまでPATタンパク質についての審査では、厚生労働省で評価が行われていた4系統を含む5系統では、当該系統による試験は実施されていなかったことから、やってこなかったということも併せて回答されてございます。

要旨の修正につきましては、31行目からでございます。

31ページに参りまして、1) 人工胃液及び腸液処理についてでございますが、人工胃液のペプシンについては0.5分以内に消化されて、CBB染色ではタンパクの分解産物と思われる15kDaとペプシンの35kDaが確認されたとなっております。

また、トリプシン処理については、60分でバンドの強度が減少するものの、薄く残っていると回答されております。

21行目、2) 加熱処理についてでございます。申請者は60℃、75℃、90℃で、10分、30分、60分の加熱処理で、それをウエスタンブロットで確認しているといったところでございます。

90℃、30分においても分解されていないといったことを確認し、Herouetの文献でも90℃、60分で分解されないことを報告している。また、Wehrmannの文献では、55℃、10分で活性を失うが、分解されていないことが報告されていることから、今回の結果は二つの文献のデータと一致をしていると確認されております。

32ページが人工胃液試験、33ページが人工腸液試験、34ページが加熱試験の結果となります。

以上が指摘事項6でございます。

続きまして、指摘事項7でございます。こちらは産生される脂肪酸に関する指摘事項でございます。本品目はDHA以外にも多くの脂肪酸が生産されて、含有量も異なっているといったことを踏まえて、従来の食品と同等であるのかということは慎重に検討が必要になってくるといったところから、さきに指摘した指摘事項2と関連して、用途も考慮しなければならないということで、指摘事項7の①～⑦について説明してくださいといったものでございます。

①は申請品及び非組換えのキャノーラ油、アマニ油、イワシ油、サケ油について、C18:2n-9等の脂肪酸含有量を追加して測定してくださいといったもの。

②はDHA以外の脂肪酸の摂取の安全性について、データと文献を検索すること。

③はω3脂肪酸の総摂取量について、申請食品以外の食品も摂取されていることから、通常の食品からの摂取量も踏まえて、一日の合計摂取量を算出すること。必要に応じて①の脂肪酸についても同じように検討すること。

④といたしまして、ω3脂肪酸について、DHA、EPA以外を含めて含有量を確認して、申請品が安全性に与える影響を考察すること。

⑤C16:1の総量のように、まとめずに個々の脂肪酸の量で表すこと。

⑥トランス脂肪酸についての安全性を説明すること。

⑦各脂肪酸の名称と構造を整理して、要旨に記載することと指摘をしております。

回答といたしましては、36ページからでございます。

①については、既に脂肪酸改変作物として評価をされているMON87769、ステアリドン酸産生ダイズでございますが、これらと同様にキャノーラに加えて、アマニ油、イワシ油、サケ油について追加をしましたということで、37ページの表5のとおりでございます。

これにつきまして、①で指摘した脂肪酸が網羅されていないといったところが一つ気になっているところでございますが、指摘事項1で回答された、回答書は7ページの表9を御覧いただければと思います。表9では検出された脂肪酸について測定されているといったところでございます。なので、種子中の脂肪酸分析については、申請品と従来品で確認されているといったところでございます。

こちらについては、表が二つに分かれて分かりにくくなったので、今回、事務局で机上配付資料2-2を作成しておりますので、こちらを御覧いただければと思います。アマニ油、サケ油、イワシ油の分析値がないところと②の関係になるとと思いますが、それぞれ申請品と従来品のセイヨウナタネの分析値は記載させていただいております。三つ目の枠で青く塗り潰しているところについて、こちらにつきましては、従来品よりも申請品のほうが高生産となっている脂肪酸ですが、他食品での含有量が分かっていないといったところから、摂取することにより安全性の考察が必要だと事務局で思ったものでございます。

また回答書に戻っていただきまして、38ページになります。38ページからは①の総脂肪酸、総一価不飽和脂肪酸、総 ω 6脂肪酸、総 ω 3脂肪酸の含有量についての考察となっております。

これにつきまして、38ページからは、ヒトが摂取する経路として、一般食品への使用方法と飼料として与えられた魚、サプリメントからの摂取を想定してそれぞれ考察が行われております。

28行目でございますが、従来品のセイヨウナタネ油が申請品のセイヨウナタネ油と置き換わったときの摂取量についてでございます。こちらは48ページの表28の(B)または(C)を用いて算出されているとなっております。

39ページに参りまして、7行目、今回のセイヨウナタネ油が魚介類の脂肪酸組成に変化を与えた場合、魚油の代替として餌が与えられた場合の脂肪酸摂取量についてというものでございます。添加される魚油の30~60%が今回申請されたセイヨウナタネ油に置き換わった場合として、n-3とn-6の不飽和脂肪酸の比率が変化をするということで、0.6~0.8だったのが0.7~1.0と高くなることが確認されたことから、n-3/n-6比が上昇するということを仮定して、推定摂取量を試算するものでございます。

養殖魚の摂取量については、国民健康・栄養調査の「魚介類」の値を用いて、また、魚種によって脂肪酸組成にばらつきが出るといったことについては、日本食品標準成分表か

ら脂肪酸総量と脂肪酸組成の値を抽出して試算に用いているといったことをございます。

また、油かすを飼料に混ぜて摂取したものについては、従来のセイヨウナタネと変化がない、同様に1%未満で影響を与えることはないと考えているということをございます。

40ページに参りまして、9行目、サプリメントに用いた場合ということで、こちらについては指摘事項2でも回答いたしました。DHAの一日摂取目安量が最大で1,100mgであるといったことから、それで摂取したときに同時に摂取するほかの脂肪酸の摂取量を試算しているといったところをございます。

こちらの結果をございますが、41ページに参ります。まず飽和脂肪酸でございます。飽和脂肪酸につきましては、17.93g/person/dayになることから、従来のセイヨウナタネ油の場合と比較して、1.03g増加すると推計されています。

日本人の飽和脂肪酸の摂取目安量の上限が全エネルギーの7~10%であり、エネルギー摂取量が1,849kcal/dayであることから、飽和脂肪酸の摂取目安量は14.38~20.54g/person/dayになり、それを基に計算すると、申請品のセイヨウナタネ油を使用した際の推定摂取量については、目安値の範囲に収まっていることから、新たな健康影響が生じることは考えにくいとしております。

17行目、一価不飽和脂肪酸についてでございます。こちらについては、摂取量が26.17g/person/dayになるということで、従来のセイヨウナタネ油と比較して5.49g増加すると推計されています。

一価不飽和脂肪酸は必須脂肪酸ではなく、摂取量と疾患の間に有意な関連は観察されていない。生活習慣への量的な影響も明らかでないといったところから、目標値は設定されていないということです。

国民健康・栄養調査では、平均が22.5g/person/day、中央値が20.68g/person/dayとなっているところをございます。

28行目に参りまして、n-3系多価不飽和脂肪酸についてでございます。DHAを含むn-3系多価不飽和脂肪酸は、7.85g/person/dayということになり、5.93g増加すると推計されております。

n-3系については、必須脂肪酸であり、過剰摂取による健康影響の報告はなく、日本人の摂取量は両性別全年齢の中央値で1.92g/person/day、15歳以上の男女で1.59~2.23g/person/dayと報告されております。

42ページでございますが、食品から摂取する主なn-3系脂肪酸はα-リノレン酸、EPA、DHAであり、約35%がEPA、DHAであることから、α-リノレン酸が1.25g/person/day、EPA、DHAが0.67g/person/dayと推察される。申請品のセイヨウナタネ油のn-3の摂取量は、従来のセイヨウナタネ油から5.93g増加し、n-3系の60%がα-リノレン酸、25%がEPA、DHAであることが確認されていることから、摂取量を試算しました。

16行目に参りまして、α-リノレン酸については、米国FDAにおいて15g/person/day摂取しても健康に懸念がないといったことが確認されているということなので、申請品におけ

る摂取量の増加が健康に影響を及ぼすことはないと考えしております。

25行目に参りまして、EPAとDHAについてでございますが、摂取量の合計は2.15g/person/dayになるということで、斎藤（2001）の報告によれば、EPA、DHAの合計が4gまでは問題ないと考察されています。

また、米国のFDAは3g/person/dayを超えない場合、懸念はないとしていること、43ページに参りまして、EFSAでは5g/person/day、FSANZでは6g/person/dayまでなら影響を及ぼすことはないとされております。

なお、n-3系の多量摂取については、脳出血との関連が示唆されており、今回の試算はその上限である6.5gを上回っているとなっており、DHAの摂取量が機能性表示食品の最大値と同様になるように試算していること、サプリメントで広く用いられている魚油と比較して、DHA、EPAの含量は低く、結果的にn-3系が多くなるという結果になっている。しかし、機能性表示食品の一日分の摂取量に占める脂質含有量は1～3g程度であるといったことを考慮すると、本申請品のセイヨウナタネ油のサプリメントから提供される際の総脂肪酸摂取量は、試算よりも低くなることが予想される。

また、酸化を受けやすい不飽和脂肪酸を多く含むので、揚げ油や調理用油、硬化油といった用途にも向いていないといったことで、実際に摂取される際にはこの試算で得られた量を継続して摂取することは考えにくく、許容上限を下回ることが想定されると考察されております。

ここまですがn-3系でございます。

44ページに参りまして、続きまして、n-6系脂肪酸でございます。n-6系脂肪酸については、リノール酸を起点とする必須脂肪酸であり、欠乏により皮膚炎等を引き起こすことが報告されている。n-6系については、98%がリノール酸であることから、その摂取量の減少が及ぼす影響について評価を行いましたといったことでございます。

日本人のn-6系の摂取量が算出したリノール酸は、7.08～12.37g/person/dayであり、申請品のセイヨウナタネ油と置き換えた際の摂取量は8.81g/person/dayであることから、範囲内に収まっていると考えているところでございます。

また、国際脂肪酸・脂質学会では、リノール酸の摂取目安量をエネルギー比の2%としていて、日本人の摂取量に当てはめると4.02g/person/dayとなっていて、上回っていることから、健康に影響を及ぼすことは考えにくいと考察をされているところでございます。

33行目に参りまして、トランス脂肪酸でございます。申請品のセイヨウナタネ油と置き換えた際のトランス脂肪酸の摂取量は0.73g/person/dayであり、摂取エネルギーの0.31%に相当すると試算されております。

また、水素添加されて、ショートニングやマーガリンに用いられた場合のトランス脂肪酸を試算したところ、21行目になりますが、0.177g/person/dayと推計されております。

30行目、これらを合計したトランス脂肪酸の摂取量について、エネルギー比と比較したところ、0.38%と推計されることから、ヒトの健康に影響を及ぼすことはないと考えられ

ると考察されているところがございます。

46ページ目に参ります。16行目でございます。総脂肪酸の摂取量でございます。

22行目から脂質の摂取量の上限についてですが、「日本人の食事摂取基準」から試算すると、60.29gとなる。申請品が、セイヨウナタネ油、養殖魚用飼料及びサプリメントに用いられた際の総脂肪酸摂取量を試算すると、62.14g/person/dayとなって、ちょっと上回ると試算されたということでございます。

しかし、n-3系と同じように、機能性表示食品の一日分摂取量に占める脂質含有量が1～3gであり、摂取のしやすさから同様の脂質含有量の製品が設計されると想定されることから、実際には今回の試算よりも総脂肪酸の摂取量は低くなると予想しているところがございます。

47ページ、8行目でございますが、まとめとして、一般食品に由来するセイヨウナタネ油の全量を申請品のセイヨウナタネ油と置き換えた場合、飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸、n-3系、n-6系のそれぞれの増減に起因して新たに健康に影響を及ぼすことはない。また、トランス脂肪酸の摂取量がヒトの健康に影響を及ぼすことはないと考察されています。

指摘事項7の⑦の脂肪酸の構造及び名称について資料を追加してくださいといったことについては、添付資料11で今回提出をされてございます。

以上が指摘事項でございますが、その他として、修正事項がございます。

回答書の52ページをお願いします。その他の修正事項1といたしまして、まず*pat*遺伝子の件でございますが、*pat*遺伝子については、コドン最適化のために塩基配列に改変を行っているということですが、アミノ酸配列自体は野生型と同じであるため、「改変」を削除し、*pat*遺伝子及びPATタンパク質と記載を修正していますということでございます。

その他の修正事項2でございます。NS-50027-4のニュージーランドにおける飼料の承認年月に誤りがあったことから、修正をいたします。

ニュージーランドにおける食品安全性審査は、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関(FSANZ)によって行われており、両国における承認年月は同一となる。一方で、ニュージーランドにおける飼料安全性審査については、第一次産業省にて個別に審査されることとなっていることから、表30のとおり修正ということでございます。

52ページ、最後のところですが、その他の修正事項3ということで、要旨全般にわたり、読みやすさ、内容の正確性を考慮し、記載を修正いたしましたといったところでございます。

指摘事項に伴う修正については以上でございます。長くなりすみませんでした。

〇〇〇 お疲れさまでした。ありがとうございました。

今回のキャノラについては、遺伝子が8個入っておりまして、一つがグルホシネート耐性のPAT、あとの七つが脂肪酸の不飽和化とエロンゲーションのものでございます。

指摘事項1は、要旨の3ページまたは24ページです。挿入DNAの性質及び導入方法について、DHA産生に関する七つの遺伝子がコードする酵素の基質特異性から、想定した主要

経路以外の脂肪酸が生合成される可能性も考えられるので、その辺をきちんと記載してください。また、図1は主要経路を示したものであることを加筆することをございます。

回答は主に8ページにございまして、これだけ遺伝子を入れていて、それなりに基質特異性もあるから、1通りではないということが想定されるので、この指摘を出ささせていただいております。

指摘したのは〇〇〇です。

この時点で生成される可能性のある脂肪酸というのは、新たに明らかにもなりますので、またそれについても安全性を確認する必要があるだろうと考えるわけでございます。

私は最初から図2みたいに、こういう図をちゃんと載せておいてくれればよかったのという感じでして、取りあえず指摘1に関する回答としては、こんなものが出てくればいいと考えます。

〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 図2がきれいに出ているので、これが最初から出ていけば分かりやすいのですが、こういうものは今まで報告がなかったというか、ほかのものでもほんの僅かであったのではないかと思うので、特にそれが多くなければ、そんなに問題はないと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、取りあえず指摘1に対する回答としてはいかがでしょうか。

〇〇〇 指摘1に関する回答としては、よく調べてあって、例えば回答書の2ページ目の21行目からの *Lack1-Δ12d* 遺伝子の基質特異性とか、 $\Delta 12$ ではなくて、 $v+3$ 活性というのは、昔、私が指摘したことがあるのですけれども、ちょっと特殊で、 $\Delta 12$ ですとは言えないのですが、一般的にはそうされているので、それで構わないのですが、よく調べてあって、修正としては非常によくできていると思っています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

ほかの先生方、指摘1に関する回答としてはいかがでしょうか。この点はこれでよろしいですね。

図2を見ていただきますと、いろんなものが出てきています。この中で例えば薄くなっているところで、エルカ酸というものがございまして、後で表を見てみると、この生産がゼロになっているので、そこを確認できたからいいと思うのですけれども、もともと天然のナタネにはエルカ酸とグルコシノレートが含まれておりまして、それぞれ心筋の壊死と甲状腺の炎症が知られているということで、アメリカでは天然のナタネ油を食用にはいけないというルールだったと思います。

キャノーラというのは、そもそもグルコシノレートとエルカ酸がほとんど生産されなくなったナタネということで、品種改良されて、現在に至っていると認識しておりまして、なので、脂肪酸の代謝系をいじったことで、エルカ酸とか、やばいものが復活してはいか

ぬだろうと思って、その辺を確認させていただいたわけでございます。

つまらない解説をさせていただきましたが、指摘事項2に行きたいと思います。これは要旨の9ページにあったもので、摂取量、調理及び加工方法です。遺伝子組換え体から得られる油は、魚油の代替品として養殖魚の飼料原料、ヒトに対する補強食材としてのサプリメント、食品材料として利用されるということなので、この辺の内容や用途について追記すること。それから、想定される摂取量とその総計をそれぞれ算出すること。おのこの調理及び加工方法についても説明していただきたい。こういったことを要求しております。

これを指摘したのは、〇〇〇でして、これについてもかなり詳しく調べてくれていて、養殖魚の飼料、サプリメント、食品材料、それぞれの推定摂取量、ナタネ油、マーガリン、魚介類、サプリメントとして考察されております。

これで十分かどうかというのは、にわかには分かりづらいのですが、このぐらいことは最初から説明していただきたかったと私は思ったのですけれども、取りあえずはこんなところだと私は思います。

〇〇〇、指摘事項2についての回答はいかがでしょう。

〇〇〇 指摘事項2そのものについての回答としては、このぐらい書いてあれば、私もいい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。

それでは、指摘事項2に対する回答として、先生方、御意見等はございますでしょうか。この点もよろしいですね。ありがとうございます。

それでは、指摘事項3、元の要旨としては21ページで、安全性に関する事項です。七つの遺伝子がそれぞれ供与させておまして、全ての供与体について直近の情報が含まれておらず、物によっては引用文献が古いと言いたいわけですが、安全性情報が十分であるとは言いがたい。最新のデータベースを用いて、きちんと検索を行った上で考察を加えること。それから、申請要旨及び資料全体に用いた全てのデータベースについても、きちっと対応していただきたい。

〇〇〇の御指摘だったと思います。もっともな指摘だと思いますし、また、それについての回答も新しく調べ直しておまして、私がざっと見たところでは、手に入る限りの新しいデータになっているのではないかと思いますので、〇〇〇、この回答についてはいかがでしょうか。

〇〇〇 大変よく改善されていると思います。

〇〇〇 ありがとうございます。やはり申請するときは、最新のもので申請してほしいものです。

ほかに先生方、指摘事項3については、いかがお考えでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、指摘事項4です。人工胃液・人工腸液試験に関して、普通はSDS-PAGEで解析するのですが、これはLC-MRM-MS分析を用いたタンパク質定量法でやられています。従

来のSDS-PAGE等と比較して、当該分析法の利点、欠点について整理し、当該分析法の信頼性について、検出限界等のデータを含む信頼性を担保する情報を添付すること。これも〇〇〇の指摘です。

新しい技術ですので、これに代替するとなると、それがどの程度の信頼性があるのか、それから、データを見てどこを確認すれば、これが信頼に値するデータなのかということを決めていかないと、次から同じような分析法が出てきたときに、我々がまた判断に迷うことになりますので、そこは議論しないといけない面倒くさいところです。

私も指摘はしたのですが、とにもかくにも原理があまりよく分かっていなくて、要は人工胃液・人工腸液で分解して、10kDa以下になった小さい断片を遠心MSで飛ばしていく。これをグラフにしている、サチュレーションまで行くということは、元の大きさのものがなくと解釈する。そのように読めたのですが、元のフルレングスのタンパク質が完全になくなっているのかとか、そういった点はこれで確認できるかどうか、私は最後までよく分からなかったです。この辺の技術、どなたか詳しい先生はいらっしゃいますでしょうか。

この技術を使って人工胃液・人工腸液の結果を検定しているわけなので、指摘事項4と指摘事項5はセットで考えないといけないということにもなります。指摘事項5は、〇〇〇が指摘しているのですが、〇〇〇がいらっしゃらないので、この辺についてもまた先生方の御意見をいただければと思うのですが、まず指摘事項4について、〇〇〇、この結果はいかがですか。

〇〇〇 質量分析を用いた方法というのは新しい方法で、ただ、論文にも一応なっているということもありますし、厳密に言うと、どこまで定量性があるかというのは、多分やっている本人でないと分からないところがあるのではないかと思いますので、取りあえず今回はかなりきちっと書いてはあるということで、これはこれで受け入れてもいい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。

私もそうなのだろうと思うので、ここについては申請者をお呼びして、その辺を質問させていただいて、確認しておこうと思っています。

指摘事項5に続きますが、これは遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性の試験で、それぞれのタンパク質の消化性を推定しています。そのエビデンス及び情報を提出すること。消化性の結論を分かりやすく明瞭に示す図表を作成するというので、特に④のPyrco-Δ6E、Pyrco-Δ5Eのペプシン・トリプシン二重消化試験の結果を記載してくださいと指摘しております。

これも結果がついていましたね。

〇〇〇 要旨の60ページからがそれぞれのタンパクの処理の結果となっております。緑色のタグからが要旨になるのですが、要旨の60ページからでございます。

〇〇〇 要旨の60ページ、61ページ、62ページ、63ページ、64ページ、65ページ、66ページ

ジ、67ページ、この辺のグラフがこれを示していて、このグラフがどういう形になっていればいいのかとか、少々分かりにくいのですが、とにかくこういう形でデータを提出していただいております。

査読文献が添付されておまして、データとしては分解される。3kDa未満のフラグメントも検出可能であるということで、そこがSDS-PAGEよりも優れている点になります。

また、抗体も不要である、複数の膜タンパク質も分析可ということで、検出限界・定量限界の確認については19ページにありますけれども、濃度既知の軽ペプチドの標準をもって検量線等を引いておまして、検出限界・定量限界が確認されております。数字を見る限り、SDS-PAGEと同等以上の精度はあると私には読めるのですけれども、この辺、どなたかお詳しい先生がいらっしゃると助かるのですが、いかがでしょうか。

それでは、物理化学試験の結果について、〇〇〇、このような記述で受け入れられるのでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

手法については、私も詳しいことは分からないのですけれども、書かれていること、参考文献でついている論文などを見ますと、きちんと定量ができるという点と、それから、検出限界等々についても、恐らく定量するという意味では問題はないのではないかと思います。

要旨の60ページ以降のタンパク分解で出てきたペプチドの定量のところも、こういう形で3kDa未満のペプチドもきちんと定量できますということは、多分問題ないのではないかと思います。

御説明がまだなかったので、先走ってしまうかもしれないのですが、机上配付資料2-1のところ、これは事務局の皆様がまとめてくださったものだと思うのですが、例えば胃液分解性（ペプシン処理）のところ、全部10分以内に標的ペプチドを検出する、60分で平衡という形で、迅速に分解という形になっています。

恐らく申請者の意図としては、例えば要旨の60ページの図10のところ、早く立ち上がって、30分以降は平らになっているようなものとか、そういうものは平衡になっている。平衡になっているということは、それ以上分解が進まない、十分分解されている状態だということ言いたいのではないかと思います。ただ、ほかの分解であるとか、そういうところを見ますと、平衡になっていないものもやはりあります。60分まで順調に量がだんだん増えていっているようなペプチドも見受けられます。物理化学的処理をやる目的としては、インタクトなタンパクがきちんと分解されていることを確認することが大事なのではないかと思います。

例えばSDS-PAGEであるとか、ウェスタンブロットであるとか、電気泳動をやった場合は、インタクトなタンパクのバンド、それから、分解されて出てきた新たなペプチドのバンドがだんだん薄くなっていくであるとか、そういうことを目で見て確認をすることができるのですけれども、LC-MRM-MSで短いペプチドだけを見ている場合というのは、短い

ペプチドがちゃんとできているということは分かるのですが、インタクトなタンパクが本当に残っていないかどうかということはきちんと確認できないのではないかと感じています。

論文では、例えば ω 3Dであるとか、 Δ 6Eであるとか、そういうもののSDS-PAGEの像とか、ウェスタンブロットの像と、それから、このMSで小さなペプチドを検出した結果、きちんと相関が見られますということは述べているのですけれども、それは電気泳動の結果があって、初めて相関があるということが確認できるものではないかと感じています。なので、小さいペプチドをきちんと検出する、定量的に数値として示すということをするためには、非常にいい方法だと思うのですけれども、大きいもの、インタクトなものが残っていないということを証明するのは、なかなか難しいのではないかとというのが私の印象でございます。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

この点については、申請者と議論して、どの程度小さいタンパクなり何なりができれば、定量できれば、インタクトなものがほぼないと判定でき得るのかとか、そういった点はきちんと検証して記述してほしいと、私もその辺は確認しないと、我々の判定が使えるのかどうか、先々議論するのは難しいと思うのですが、そのときの議論を一緒にお願ひできますか。

この点に関して、〇〇〇辺りはいかがですか。

〇〇〇 私、電気泳動でのタンパク質の分析はいつもやっているのですけれども、MSでの解析はふだんあまりやっていないもので、実感としてどうこうということを上上げるのは難しいところであります。ただ、先ほどお話があった、元のものがなくなっているということを証明するのに、細かくなった断片の量だけでというのは、やはり論理的に難しいものがあるというのは同感です。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

もう一人ぐらい、〇〇〇、どうですか。

〇〇〇 そう言われると、確かにそうなのではけれども、私自身は外注などを使ったことがあって、それは完全長のタンパクはどのぐらいの濃度があるのかということを知るには非常に感度もよくていいと思って、重宝して使っていたのですが、こういう用途だと確かに全部が分解されているのかとか、その辺は分からないというのが感想です。

〇〇〇 ありがとうございます。

この辺については、申請者と議論してみたいと思います。

ほかの先生方から御意見はございますでしょうか。〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 MSの件ですが、たしかホルモン剤とか、タンパク性の医薬品がどうなっているかということ定量しようとして、随分研究していた例があると思うので、その研究例を聞

いてみると分かるのではないかと思います。ここに獣医さんがいれば分かったかもしれないのですが、専門の方がここにはいらっしやらないので、申請者が知っていれば分かるのではないかと思います。

〇〇〇 なるほど。議論のときに加わっていただけると助かります。よろしくお願いいたします。

今回の人工腸液の試験はトリプシンだけを使って試験をしておりますが、規定ではどうなっていたのですか。トリプシンとパンクレアチンの両方を使う規定になっていましたか。パンクレアチンと書いてあるのですね。規定ではパンクレアチンを使うことになっているのですが、今回の申請書ではトリプシンを使っております。その違いとか、トリプシン単独で行った人工腸液試験は、それはそれで受け入れられるものなのかどうか、〇〇〇辺り、解説をいただけますか。

〇〇〇 解説というほどのことはできないと思うのですが、過去の例を見ますと、PATタンパク質の人工腸液処理というのは、割と短時間で分解することが分かるような実験結果が報告されております。

それから、申請書の添付資料にありました参考文献でも、PATタンパク質の人工腸液処理で30秒以内、非常に短時間で分解されるということが報告されています。

これは何が違うかという、今、おっしゃったようにパンクレアチンを使っているところなのです。パンクレアチンは膵液からつくった製剤なので、トリプシン以外にキモトリプシンであるとか、ほかのペプチダーゼであるとか、あるいはアミラーゼとか、リパーゼとか、いろんな酵素のミクスチャーになっています。今回はトリプシンだけで人工腸液試験という形で分解をして、PATタンパクの分解にかなり時間がかかっているというのは、トリプシンかパンクレアチンの違いに原因があるのではないかと私は考えております。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。ミクスチャーであるパンクレアチンに対して、トリプシン単独で使った試験というのは、そういうことを意味しているわけなのです。

この点について、先生方、よろしいでしょうか。

指摘事項6ですが、これはPATタンパク質に関する人工胃液・人工腸液試験で、自社データではない論文を根拠として、アミノ酸配列が一緒だから、これでいいだろうと言っていたのだけれども、こちらでそれはやってくださいと指摘させていただきました。

回答書などを見ると、自社試験の結果を送ってきております。他社のものではなくて、一度は自ら確認していただきたいということで、これは〇〇〇から指摘させていただきました。規定にもあるし、この辺はちゃんとやっていただきたいと思ったわけですが、〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 これは私が指摘したことになっているのですね。私は他社のデータの取扱い方について、この専門調査会で議論しておく必要がありますという形で指摘した記憶なのです。

けれども、私は実を言うと、アミノ酸配列が同じということをきちんと確認してあれば、他社データの引用で構わないのではないかと考えている立場です。この先、マイナーな会社とか、ジェネリックなものとか、同じような遺伝子を同じようにいっぱい使って新規のイベントが出てくる可能性が高いので、マイナーな会社とか、ジェネリックなもの等について、新しい会社だからやってくださいというのは、だんだん非合理的ではないかと私自身は思っているのです、何かしらのルールをつくって、他社データを使えるという形にしておかないといけないと思います。

データトランスポートビリティということになるのだと思うのですが、そういった方向性を考えておかないといけない時代が来るだろうと私自身は予測しているということで、この専門調査会でそのうち相談してくださいという形で発言した記憶があります。今回やっていただいたので、これについてこれ以上言うことは全くないのですが、今年のFSCの目標にガイドラインの改定も含まれておりますので、その際にでもここら辺の扱いについて議論していただければい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。

これは筋合いの問題ですし、また、先ほどのアミラーゼについても、アミノ酸配列が一致しているということを確認してといった手続を踏んでおりますので、その辺が審議のポイント、今後の改定のポイントにもなるかと思っております。今回については、とにもかくにもやっていただけたので、これでよろしいと思っております。

ほかの先生方、よろしいですね。どうぞ。

〇〇〇 それに関してなのですが、アミノ酸配列が一緒だったとしても、例えば使用する細胞が違ったり、動物種が違ったりということによって、できてくるものの修飾などが変わってくることによって、性質も変わってくる可能性があるのではないかと思います。なので、その辺の可能性についてもきちんと考えた上で、安全性を担保していくことが必要ではないかと思いますという意見です。

〇〇〇 その辺が議論されることになります。アミノ酸配列が同じで、宿主の生物が同じだったらいと思うのですが、確かにアミノ酸配列が同じでも宿主値が違えば糖鎖とか、そういう修飾が違う可能性もあつたりするので、この辺は当初このガイドラインが定められたときから比べると、大分知見がたまってきておりますので、その辺がガイドライン改定のときの議論のネタになろうかと思っております。とても重要なことなので、記録しておいてください。そういうことでよろしいですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 かつてヒトのバイオ医薬品の場合は、哺乳類細胞で発現させるのがほとんどでした。インシュリン類等を除いて、多くはそうで、その場合はとにかく個別の製品ごとにタンパクのプロダクト側を解析していただくということが必須の条件だったのです。

細菌は、以前、〇〇〇にお聞きして、標準的にこういうふうに使われるものだったら、遺伝子レベルというか、もともと発現するものというか、ベクターで確認しておけば、同じものができていると考えていいでしょうということをお聞きしたことがあるのですが、植物の細胞、植物での発現というのは同じだという前提で、糖タンパクはちょっと話が違ふと思うのですが、その辺はどうなのかというのがちょっと頭の中に引っかかっている、〇〇〇と同じような趣旨の質問なのですが、その辺はいかがなのでしょう。

〇〇〇 どなたかいかがでしょうか。〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 今、植物ワクチンといって、植物でワクチンをつくったりしています。ああいうときに、動物でつくるのと植物でつくるのでは糖鎖が違いますので、効いたり効かなかったり、あるいは毒性になったりすることがあるので、かなり注意されています。そういう意味での心配は〇〇〇が言うようにあります。その辺までしか私は言えないのですが、そういうところは注意していかなければいけないと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、どうですか。

〇〇〇 同感です。修飾もかなり異なっていますし、あと、イントロンの切り出しなども変わったりして、同じcDNAを入れても、部分的には違うタンパク質になってしまうこともあって、そういうところも注意すべき点ではないかと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

ちなみに、宿主が同一種の植物だったら大丈夫でしょうか。

〇〇〇 データはあまり多くないように思います。知見として、蓄積はしていないような気がします。

〇〇〇 同一種の植物であって、入る位置が違ふと、それも考慮しなければならないとなると、そうするとイベントごとにチェックしなければならなくなるのだけれども、アミノ酸配列が変わってなくて、同一の植物ならオーケーとか、そのぐらいだとガイドラインとしては組みやすいという感じになります。今、決めなくていいのだけれども、今のディスカッションを記録しておいていただいて、ガイドラインを議論するときに、たたき台として考えられればと思います。今日はこのぐらいにしたいと思います。ありがとうございました。

それでは、指摘事項7です。これは問題として、指摘事項7はキャノーラ油の安全性で、DHA以外にもいろんな種類の脂肪酸が生産されて、その含有量も異なっていることを踏まえ、従来の食品と比べて同等であると言えるかどうか、これは慎重な検討が必要である。指摘事項2にもございましたけれども、油脂の用途を十分に考慮した上で検討する。これは①②③④⑤⑥⑦とございます。

①は非組換え体、比較対象はアマニ油、イワシ油、サケ油における下記の脂肪酸含有量

を追加して測定することで、リノレン酸、ジホモ- γ -リノレン酸、ビスホモステアリン酸等々
とございます。これについては、詳しく調べてきていただいています。

①は37ページの表5にございまして、含有量については、その結果が測定されて、追記さ
れてございます。

それから、DHA以外の脂肪酸についての摂取の安全性についてのデータ及び文献を検索
すること。この辺から少々問題があります。ベヘン酸以外については、あまり測定されて
いなかったり、今回の変異株はNS-B50027-4の比較がなかったり、その辺が空いている。
この表を見ていただいても、きちんと埋まっているとは言い難いところがあります。

それから、 ω 3脂肪酸の総脂肪量は、一日3gを超えないとあるのだけれども、申請食品以
外からも ω 3脂肪酸は摂取されることがあり得ますので、上乘せについて一日の合計推定摂
取量を算出していただきたい。

これについては算出がされていて、データがあると思います。

それから、④ですが、DHAを指標として食品の配合量を定めた場合、 ω 3脂肪酸の総摂取
量が想定よりも大きくなる。DHA、EPA以外の ω 3系脂肪酸についても含有量を確認して、
申請品が安全性に与える影響について考察をすること。

これはどこに相当しますか。

〇〇〇 回答書の41ページです。

〇〇〇 これは回答書の不飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸、n-3系のものです。これが④で
す。

⑤は表27です。表27は111ページなのだけれども、組換え体及び宿主の種子の中の脂肪
酸組成です。これは総量をまとめないで、おのおのの脂肪酸の量を詳述してくださいとい
う指摘です。表22からです。これだと細かく測定されています。総量ではなくて、それぞ
れの項目について細かく調べてくださいという指摘です。

これについては一覧表になって出てきています。ページ数が変わっていて、失礼いたし
ました。

⑥全トランス脂肪酸において統計学的有意差のある増加が認められ、その考察として、
脂肪酸全体の1%未満であるので、安全性上の懸念はないとしているけれども、本当にその
考え方でいいのかということでした。

これはどうなっていますか。

〇〇〇 回答書の44ページの34行目からが要旨の修正版になるのですがけれども、45ペー
ジの30行目のところで、エネルギー比の0.38%になりますと回答されています。

〇〇〇 それは回答がそうだとということですね。

〇〇〇 回答書の中で、そう回答されているところがございます。

〇〇〇 最後の⑦は、おのおのの脂肪酸について、添付資料として名称とともに構造を示
す概要図を整理した上で、要旨にも簡潔に記載すること。

これはこの前のナタネでも同じように構造式をつくって、分かるように出してください

とお願いしていて、これは出してきています。別添の社内資料ですので、今、確認させていただきましたが、それぞれについて構造式等、たくさん書いていただいております。

そういう状況でして、これでいいかということなのですが、何しろ資料が多いので、これで十分かどうかというのは、なかなか分かりづらいのですけれども、何かお気づきの点等がございますでしょうか。これで本当に十分かと言われると、私も目が届かなくて、にわかに判断しづらいのですが、お気づきの点等がございますでしょうか。

109ページにフィトステロールが参考品種を超えている部分があって、フィトステロールは植物油に含まれていて、摂取する可能性が高いので、ここに出てくるδ-5-アベナステロール、総フィトステロールについては、安全性もしくは食経験に関する記述なり、データなりがあったほうがいいのではないかという、〇〇〇の御指摘でした。

私も言われるとそうかと思ったのですが、フィトステロール、この辺はどなたか御存じの方はいらっしゃいますか。〇〇〇、御存じですか。

〇〇〇 分かりません。申し訳ありません。

〇〇〇 〇〇〇とか、どなたかお分かりになりますか。

〇〇〇 申し訳ないのですが、フィトステロールは確かに植物でいろんなものがあるのですが、何なら危険というのは分かりません。ただ、危険なものだったら、今、分かっていると思います。それぐらいしか分かりません。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

この辺については、聞いてみましょう。

それから、セイヨウナタネの交雑性を考慮して、葉っぱでの脂肪酸、これは当然油の脂肪酸組成なのですが、ある程度葉における脂肪酸組成についても必要なのではないか。特に油の使用が予定されていて、本体を日本で栽培するとか、おひたしにして食べるとか、そういうことは想定されていないのですけれども、日本と外国と可食部位が違うという事情がございます、日本人は油だけではなくて、葉っぱも食べることがある。この場合は油だけ輸入という形になっています。そうとははっきり書かれていませんでした。油でという話でありました。この辺について、最後の山場にもなりますが、議論したいと思いません。

時間も時間でございますので、今のうちに申請者をお呼びして、聞けることは聞いたほうが良いと思います。

申請者をお呼びしている間に、机上配付資料2-2という1枚紙の大きい紙がありまして、事務局で一つ一つ精査していただいて、真ん中の行に「含有量が最大の食品(%)」とあって、ブルーになっているところがあります。これが今回の油について含まれていて、なおかつ安全性についての確認ができないというリストでして、私が見切れなかったところを事務局で頑張ってチェックしてくださって、一覧表をつくっておいていただいて助かつ

ているのですが、青いところについて、安全性に関するデータ、もしくは食経験に関する説明なり、資料をいただかないと、安全性が確認できないのではないかと考える次第でございます。

机上配付資料2-2のA3の1枚紙を見て、お気づきの点等がございましたら、後ほど議論したいと思いますので、よろしく願いいたします。

(申請者入室)

〇〇〇 お待たせいたしました。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 SCC Japanの〇〇〇と申します。よろしく願いいたします。

〇〇〇 私、SCC Japanの〇〇〇と申します。よろしく願います。

〇〇〇 お待たせいたしました。

主に議論になったのは1点でして、タンパク質の定量、また、人工胃液・人工腸液の試験を解析するのに、LC-MRM-MS法を用いております。この信頼性とか、精度についてのデータを寄せていただきました。ありがとうございました。

この試験を行う意義は、インタクトなタンパクが残るものなのか、残らないものなのか、この点が重要でして、アレルギー性について検討するためにはその辺が重要だからです。LC-MRM-MS法は原理的にこれを分解して、10kDa以下になったものを飛ばして解析するというものなので、この辺を見るには非常に精度が高い方法なのですが、これをもってインタクトなタンパクが残るものなのか、残っていないということをどの程度確実に判定できるものなのか、それについてはどのような点をチェックすると、この点が確実に検知できるものなのか、その辺について見識をお伺いしたいです。よろしく願いいたします。

〇〇〇 分かりました。

今回用いましたLC-MRM-MS法は、先ほどお話いただいたように、基本的に10kDa未満のものに切って測るといふか、切れたものを測るところが主目的の手法になります。今回は参考文献という形で、差し替えさせていただいたところではあるのですが、各タンパク質でデサチュラーゼ、エロンガーゼのアミノ酸配列をまず確認しまして、そちらの中から、定量するときに標的ペプチドをどこに設定するかという、いわゆるメソッドのところと実際に出てきた結果とのコンビネーションで見ていくという考え方で、この手法自体は構築されております。なので、まずアミノ酸配列を見まして、ペプシン・トリプシンの処理をしたときに、分解されて残るであろう箇所が、アミノ酸配列全体の中で満遍なく標的となるペプチドが取れるかどうかということを見て、取れる場合のみ適用できる形になると考えております。

実際、全体にわたるような形でペプチドを複数、この場合、最大12か所ぐらい取っている形にはなるのですが、それが12なら12、きちんと定量して蓄積されてきている、断片が出てきているということであれば、恐らく満遍なくきちんと切れてきているのだろうという形の理解ができると思っています。

例えば頭からお尻まで10か所なり、12か所なり、標的ペプチドを設定したけれども、後半の三つが全く出てこなかったということがあった場合には、その部分は分解されていないのではないか、いわゆる10kDa以下のサイズにはならず、フィルター上に残ってしまっているのではないかとということが予見されますので、この試験そのもので分解されなかった、されたということを判断するのかといえ、そういう可能性があるので、恐らく詳細な解析が必要になるという判断をする形になると考えております。

〇〇〇 従来法のSDS-PAGEであれば、検出限界は必ずしも高くはないのだけれども、それでも標的のタンパク質が分解されていく、もしくはウエスタンブロットで検出限界以下に落ちていくということは、比較的簡単に、しかも、視覚的に分かりやすく判定することができます。

今回のこの試験でそれぞれのタンパク質について、人工腸液・人工胃液試験の結果、特にインタクトのものがほとんど残っていないであろうということ、もしくはほぼ分解されているということ、残っている可能性があるかということ、結論について分かりやすく一覧表にさせていただくことはできますか。

〇〇〇 残っている可能性があるかないか、このデサチュラーゼは確実に分解されましたとか、そういうところで一覧でお示しするような形ということでしょうか。

〇〇〇 我々が安全性を判定する上で欲している情報というのは、そういう情報ですので、今回の詳細なデータをいっぱいお示しいただいているのですが、結局これをもってインタクトなタンパクが残っているのか、いないのかというのは、最後まで分からなかったもので、そこは分かりやすく、こういう根拠でもって、ほぼ完全に分解されていると考えられるとか、残っている可能性があるとか、DHA生産系の七つの酵素について、その一覧を分かりやすく作成していただくことはできますか。

〇〇〇 例えばインタクトなものが残っているか否かというのが一つのレベル、もう一つは最後まで分解されているであろうというところのレベル、2段階、3段階という形で、一覧にするという形でよろしいでしょうか。

〇〇〇 そうしていただけると助かります。また、それが分かりやすく出てきてくれると、次回以降のこの審査でも、SDS-PAGEに代わってこの方法でということで、メルクマールにもなりますので、お手数ですが、よろしく願いいたします。

その点に関しまして、先生方、ほかに付け加えることなどはございますか。〇〇〇から何かありますか。

〇〇〇 私は大丈夫です。

〇〇〇 〇〇〇が挙手されております。よろしく申し上げます。

〇〇〇 今、〇〇〇が言われた要求なのですけれども、一つのタンパクの中で幾つかターゲットの標的を決めてペプチドの変化を見ているといっても、それでプラトーになったところを見たとしても、例えば反応が途中で止まったら、元が残っているとは絶対に言えないので、現在の手法でそもそも元が残っているかという判断ができないのだったら、

別の方法を考えることを要求するほうがいいと思うのですが、いかがなのでしょう。まずそちらに聞きたいのは、今のMSの方法で、元が残っているか否かの判断はできないですね。

〇〇〇 元が残っているかどうかの判断は難しいと考えられます。

〇〇〇 添付資料の中で、一部のものはMSと併せてSDSをやっていたと思うのですけれども、SDSでやってもらったほうが早いのではないかと思います。そういうデータを出してくださいということは、可能なのでしょうか。

〇〇〇 恐らくタンパク質を合成してつくるというところからやり直す形になると思いますので、結構お時間をいただくことにはなると思います。既に試験としてはかなり前に実施をしていて、論文にしているようなものなので、一旦試験系としてクローズしてしまっていることもあると思うので、開発者に確認が必要です。すぐに対応可能ですと言うのは、今の時点では難しい状況です。

〇〇〇 膜タンパク質であったり、抗体の作製が難しいとか、そういった事情もあるようなのですが、我々がどういうデータを判定のために必要としているかということは御理解いただけたと思いますので、これに対応できるような、つまりはLC-MS法で信頼度高くそこを確認できるか、論理的にどうやっても難しいということであれば、可能な限りSDS-PAGEを実施していただくか、これを検討していただきたいと思います。よろしいですか。

〇〇〇 質問させていただきたいのですけれども、この項目自体が完全なものが残っているか、残っていないかというところを見るべき内容として求められていることは、重々理解はしているのですが、過去に残るようなもの、タンパク質があった場合にも、ほかの試験でしたり、バイオマティックス等々で、ウェイトオブエビデンス的な考え方で評価をいただいているケースもあったかと思うのですけれども、例えばこの手法で確実にインタクトなものが残らないということが証明できなかったときに、そのような説明といたしますか、論理構築という形で何か評価をいただくことは難しいのでしょうか。

〇〇〇 どのタンパクも必ずしも完全に分解できるとは限りませんし、また、そういうケースでも、特に人工腸液で分解できないものは結構ありますので、例えば90%以上は分解できているとか、その辺のところを明らかにしていただければ、我々としては判定できると考えます。ちょっとでも残存している可能性があったら直ちに駄目とか、そういうわけではございません。よろしいですか。誤解なく議論しておきたいと思いますので、御質問をどうぞ。

〇〇〇 ありがとうございます。私が理解している内容と特に齟齬はございません。

〇〇〇 ありがとうございます。

それから、今回、生合成経路の中でいろんな脂肪酸が途中でできておまして、当然といえば当然なのですけれども、その中で例えばイワシ油にはこれ以上含まれているとか、従来のキャノーラでとか、アマニ油に十分に含まれている、そういったものもございまして、そういうデータがないものも幾つかございまして、後ほど表なり何なりでお伝え

したいと思うのですが、何が言いたいかというところ、いろんな脂肪酸が生産される中で、量的なものとか、安全性が確認できていないものが幾つか残っていると言いたいわけですか。リストを見ないと分からないのですか。

〇〇〇 今回、作用機作のところでもいろいろと追記をさせていただいて、結果的に10種類、脂肪酸としては新規産生という形で定義をさせていただいたところだと思います。そのうち、大部分に関しては、日本の食品標準成分表等で一応含まれている食品群になります。ないものに関して、例えばタキソール酸とか、ドコサテトラエン酸辺りに関しては、海外の文献報告で海産物等での報告があったりするものもあるのですが、そういった情報で何かお示しをさせていただく方向性ということでしょうか。

〇〇〇 可能な限りということですか。

〇〇〇 個別の脂肪酸を具体的にどれぐらい摂取しても安全か、安全ではないのかというところに関しては、厚生労働省の報告書等々でも細かいところまでは載っていない部分があるので、食経験があるなしというところでの提示の形にはなるかと思いますが、そういった形でよろしいでしょうか。

〇〇〇 当然そういうものもあるかと思いますが、食経験上、またこういった食品にこれまで含まれていて、特に健康被害等は報告されていないとか、そういった文献の情報などでも結構です。それぞれについて安全性が分かるデータであれば、全て厚生労働省のリストに載っているわけではないと思いますが、そういう情報を集めていただければ結構です。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 それから、油についてですが、例えば葉っぱなどで、この油の含有量などのデータはお持ちですか。

〇〇〇 こちらも確認したのですが、そちらに関しては、脂肪酸の分析は行っていないということですか。

〇〇〇 使用用途としては油のみですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 飼料でもそうなるのですか。

〇〇〇 餌には、油かすは使う可能性があると思います。

魚に関しては、いわゆる魚油に代わってという形で、油を添加するような形を想定しています。

〇〇〇 ありがとうございます。

私からはこのぐらいなのですが、先生方、せっかく申請者が来ておりますので、質問したいことはございますでしょうか。よろしいですか。

それでは、お疲れさまでした。遅い時間までお付き合いありがとうございました。御退室ください。

〇〇〇 ありがとうございます。失礼いたします。

〇〇〇 失礼します。

(申請者退室)

〇〇〇 退室を確認できましたので、議論を再開したいと思います。

先ほど議論の中でもありましたけれども、新規産生で安全性が確認できていない油が幾つもございますので、その辺のデータを出していただくのと、それから、LC-MS、もしくはSDS-PAGEも可能であれば、実施していただきたいと要求しましたが、これで少なくともどの程度分解できているのか、その辺のデータを分かりやすく示していただくこと、これは要求したいと思います。

今日、これで安全性の懸念なしと判定するのは難しいと思っているのですが、この判断はよろしいでしょうか。

今日中にできる限り指摘しておきたいと思うのですけれども、今の点以外で、この点もぜひ指摘しておくべきだと思うことはございますでしょうか。

あと、葉っぱのデータは要求するべきでしょうか。微妙なのだけれども、〇〇〇、いかがお考えでしょうか。

〇〇〇 葉っぱのデータですけれども、要求して出てきているわけですが、発現量を見ると、種子特異的で栄養繁殖部位には発現していないということで、ロジック的には遺伝子発現は変わっていませんみたいな形で持っていくことはできるのですけれども、ただ、すごく精緻なガスクロをやる必要は多分ないので、簡単にできる範囲のガスクロをやってもらうとか、要するに単純なステアリン酸とか、オレイン酸とか、リノール酸とか、 α -リノレン酸とか、葉っぱでいくと、大体その四つがメジャーなのですが、メジャーなものだけのデータでもいいので、そこが大きく動いていれば、それは動いていますという話になるし、ほとんど変わりませんということであれば、DHAなどに流れている可能性はなくなりますので、すごく精緻なデータを要求するわけではないけれども、ラフでいいので、葉っぱで動いていないということが分かるぐらいのデータでいいので、要求していただければいいと思っています。

〇〇〇 ありがとうございます。

実は私も同じようなことを考えておりました。全部を詳しく調べろというのはかなり大変なのですが、メジャーなもので大きな変動がないということを確認できれば、私もいいと思いますので、これは要求してもいいと思うのですが、ほかの先生方、今の点につきまして、御意見はございますか。大きく代謝が変わっていないということを確認できる程度のデータは欲しいと要求したいと思います。

ほかに先生方から何かございますでしょうか。どうぞ。

〇〇〇 〇〇〇です。

私、脂肪酸、不飽和脂肪酸の研究をやっていたので、その経験から一つ補足というか、発言させてもらおうと、SDS-PAGEをやればいいのではないかとおっしゃっていますけれども、めちゃめちゃ難しいので、恐らくそう簡単に要求してはいけないと私自身は思ってお

ります。これは多分未熟胚から取っていると思うのですけれども、未熟胚から超遠心でミクロソーム画分を取ってきて、そこからやっているのですが、検出すること自体が極めて難しいので、よくやったという感じです。各メーカーさんは、これをやらないと通らないから一生懸命やるというぐらいの気概でやっているのです。なので、質量分析に持っているもので、要求するとすれば、ものすごく難しいことを要求するということを我々は認識しないとイケないと思います。

質量分析をやっているにもかかわらず、そんな難しいことを要求するのですかみたいな、それにどれだけの意義があるのですかという、要するにそれをやらないと絶対に通らせないというレベルならやっているといいと思うのですけれども、なくても判断できる可能性があるのであれば、要求しないほうがいいと思います。そのぐらい難しい実験だということを御理解いただければと思います。

大分昔の話ですが、 ω 3脂肪不飽和化酵素のウエスタンを出したのですけれども、当時でそれが世界初で、レビューに出したときに、よくやりましたね、すごいですと言われたぐらいですから、そういうレベルの実験だということを御理解いただければありがたいと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。脂肪酸組成を測るのは、結構厄介なのですが、そこまで大変なのですね。

ほかの先生方、よろしいでしょうか。

本来、食品について審議が終わってから、飼料は何となく形の上で行うのですが、今回の飼料は魚に与える飼料で、魚というのは、与える飼料の油が、直接魚に含まれる油に反映されるという事情がございまして、飼料に使いますと、それが魚で濃縮されて、ヒトに与える影響をそれなりに考慮しなければいけなくなります。なので、今日のうちに議論だけは始めておいてと思います。

時間が過ぎていて申し訳ないのですが、事務局からもぜひこれはやっていただきたいということなので、手早く説明をお願いします。すみません、皆さん、もう少しお付き合いください。

〇〇〇 それでは、よろしくお願いいたします。

資料は同じく緑色のファイルではございますが、「DHA産生及び除草剤グルホシネート耐性キャノーラの遺伝子組換え飼料としての安全性について」のファイルをお願いいたします。

それでは、説明をさせていただきます。

1ページは、食品と同じでございますので、省略いたします。

2ページ、3ページも同じようになっています。

3ページ目の図1につきましては、当初の食品と同じように1本道の合成経路になっているので、ここは食品の指摘事項回答書と同じような修正が必要だと思います。回答書の8ペ

ージの表に変えられると思っております。

4ページ目をお願いいたします。11行目（3）本系統の使用方法のところでございます。NS-B50027-4につきましては、導入した7種の遺伝子によりDHAを産生することができ、種子油中にDHAを含有する。近年、家畜及び水産養殖用の飼料には、DHAをはじめとする ω 3脂肪酸を添加する需要が増えてきており、一般的なDHAの供給源である魚については高価であるということ、また、別の供給源である微細藻類や酵母では、大量生産が難しいということから、代替となる供給源として本製品で添加することを想定しているといったものでございます。

また、油糧用の従来キャノーラと同様に、油かすを飼料原料として用いることも想定しているといったことでございます。

5ページ目にまいりまして、2でございます。飼料としての安全性につきましては、①、組換え体由来の新たな有害物質が生成され、肉、乳、卵等の畜産物中に移行する可能性。

②、遺伝子組換え体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、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について考慮して、可能性が想定する場合は、畜産物を摂取することにより、ヒトの健康に影響を及ぼす可能性がないかということで評価することとしております。

27行目でございますが、七つの遺伝子が種子特異的プロモーターを導入しており、これらの遺伝子産物は種子のみでの発現が確認されており、一般的に挿入されている遺伝子もしくはタンパク質が畜産物中に移行することは報告されていないということから、新たな問題は生じないと考えているということでございます。

35行目に参りまして、申請品の種子から得られたキャノーラ油ですが、宿主由来のものとは異なり、オレイン酸、リノール酸は減少する、 α -リノレン酸、DHAは増加するといった違いがございまして、従来、飼料に添加して用いられる植物油や動物油の範囲内であるといったことから、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、新たな問題は生じないと考えているということでございます。

また、PATタンパクは、植物体全体に非特異的に恒常発現するプロモーターを用いていることから、全身での発現を確認しており、除草剤グルホシネート耐性が付与されています。一般的に挿入される遺伝子、もしくはタンパクが畜産物中に移行することは報告されていないことから、新たな問題は生じないと考えているということでございます。

20行目でございますが、今回、除草剤グルホシネートを使用するといったことについては、既に認可されているほかの除草剤グルホシネート耐性のキャノーラで登録されている使用方法の範囲内であるといったことから、除草剤の残留値、散布による影響も既に認可されているグルホシネート耐性キャノーラと同等と考えられる。したがって、これらを摂取した家畜に由来する畜産物をヒトが摂取したとしても、ヒトの健康に影響に及ぼす可能性は極めて低いと考察されているところでございます。

以上により、飼料に由来する畜産物をヒトが摂取しても、健康に影響を及ぼす可能性は

低いと考えているところでございます。

3.の諸外国における認可状況については、食品と同じということでございます。

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、これまでの議論に続きまして、図1にあるDHAの生合成経路については、食品と併せて可能性のあるところを反映したものに置き換えていただくことを要求する。

飼料として、哺乳動物は食べた油がそのままということはほとんどないのですが、魚の場合はこの油が魚体の油に直接反映するということが知られておりますので、特に新規の脂肪酸、含有量が極度に大きくなっている油について、これが魚体を通じてヒトに与える影響について、個々に検討していただきたい。この2点を私は要求したいと思います。

それ以外に指摘すべき事項等はございますでしょうか。〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 油かすも飼料とすると書いてあるのですが、油かすになる部分と油の部分は成分は同じではないですね。

〇〇〇 そうでしょうね。

〇〇〇 だから、油かすのほうがちょっと心配でした。先ほどフィトステロールの話が出ていましたけれども、量的には多分問題ないと思いますが、先ほどフィトステロールのほうは毒性がありますかと聞いたときに思い出したのですが、10年以上前、コレステロールなどを上げないために、フィトステロールをいっぱい取れば、コレステロールが減ることがあって、健康食品とか、サプリメントがどんどん飲まれたときに、ステロールを取り過ぎると、ゼブラフィッシュで生殖毒性があるとか、もちろんマウスにも出たのですけれども、そういうものも見たことがあるのです。そういう意味で、今、成分がもし違っていても、それでもちゃんと出してもらわないと、魚の場合、それがそのままヒトに入ってきてしまうということがあると思いました。

〇〇〇 ありがとうございます。

飼料として使用する場合の中で、特に油かすを飼料とする場合について考慮するようにと指摘すればよろしいでしょうか。

〇〇〇 はい。お願いいたします。

〇〇〇 ほかに先生方、よろしいでしょうか。

それでは、継続審議としたいと思います。

議題（1）については、これで終わりたいと思います。

議題（2）その他ですが、事務局からございますでしょうか。

〇〇〇 その他については、特にございません。

〇〇〇 ありがとうございます。

本日の議論については、これで終了でございます。

それでは、以上をもちまして、第227回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。お時間を大幅に超過して、申し訳ございませんでした。お疲れさまです。

