

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第238回) 議事録

1. 日時 令和5年7月27日(木) 14:00~16:22

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

- ・チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(DAS1131)(食品・飼料)
- ・JPBL011株を利用して生産された飼料添加物 α -アミラーゼ

(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、
佐々木専門委員、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)

中事務局長、及川事務局次長、前間評価第二課長、井上評価情報分析官、
奥藤課長補佐、神津評価専門職、山口係長、今村技術参与

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

- ①チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(DAS1131)(食品)
- ②チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(DAS1131)(飼料)
- ③JPBL011株を利用して生産された飼料添加物 α -アミラーゼ

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238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、所用によりまして、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、Web会議システムを併用して行います。

本日の議題は、新規品目である「チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ（DAS1131）」及び「JPBL011株を利用して生産された飼料添加物 α -アミラーゼ」の安全性についての審議でございます。

では、事務局から資料の確認をお願いいたします。あと、たしか紹介しないといけない人がいるのでしたね。それも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。

配付資料の確認を行います前に、7月4日付けで事務局内の人事異動がありましたので、御紹介いたします。

新たに食品安全委員会事務局長に着任いたしました、〇〇〇でございます。

〇〇〇 先生方、いつもお世話になっております。

私、2年間次長として勤めさせていただきましたが、このたび、7月4日付で事務局長に就任いたしました。今後ともどうぞよろしくお願いいたします。

〇〇〇 続きまして、食品安全委員会事務局次長に着任いたしました〇〇〇でございます。

〇〇〇 7月4日付で事務局次長に就任いたしました、〇〇〇でございます。今後、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。

それでは、議事次第に基づきまして、配付資料の確認をいたします。

配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿、資料として食品健康影響評価に関する資料、机上配布資料といたしまして、机上配布資料1-1、1-2、2-1、2-2となっております。

資料の不足等はありませんでしょうか。不足等がございましたら、事務局まで御連絡ください。

また、本日は「チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ（DAS1131）」の申請者でございますコルテバ・アグリサイエンス日本株式会社の方、「JPBL011株を利用して生産された飼料添加物 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をお呼びしております。申請品目の審議の際に質疑応答に対応していただく予定となっております。

〇〇〇 それでは、事務局から、今度は「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調査審議等への参加に関する事項について、御報告をお願いいたします。

〇〇〇 事務局において、専門委員の皆様にご提出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日付け委員会決定の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。

本日、会場にお越しになっている委員もいらっしゃいますが、Webで会議に参加されている専門委員もいらっしゃいますので、審議に入る前に、Web会議における注意事項について、例によって事務局のほうから説明をお願いいたします。

〇〇〇 Web会議形式の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してください。

2点目、発言の際は赤い挙手カードを提示していただくか、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、音声接続不良時や通信環境に問題がある場合は、カメラをオフにしたり、再入室することにより改善する場合があります。

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、事務局までお電話ください。

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、青い同意カードを挙げていただくか、手で丸をつくるなど、意思表示をお願いいたします。

以上がWeb会議における注意事項となります。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。

こちらから皆さんの顔は見えているのですけれども、御発言があるときには遠慮なくアピールしていただくようお願い申し上げます。

それでは、新規品目である「チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ (DAS1131)」について審議を行いたいと思います。

まず、事務局から説明をお願いいたします。

〇〇〇 それでは、お手元にピンク色の紙ファイルを御準備ください。あと、机上配布資料1-1を使いますので、そちらも御準備ください。

まず、ピンク色の紙ファイルの要旨の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B104系統です。

(2) DNA供与体と (3) 挿入DNAの性質及び導入方法ですが、今回2つの遺伝子が組み込まれております。まず1つ目がチョウ目害虫抵抗性を付与する改変Cry1Da2タンパク質を発現する改変cry1Da2遺伝子で、供与体が*Bacillus thuringiensis*となっています。2つ目が除草剤グリホサート耐性を付与するにDGT-28 EPSPSタンパク質を発現するdgt-28 epsps遺伝子で、こちらの供与体は*Streptomyces sviveus*でございます。これらの遺伝子は

アグロバクテリウム法を用いて宿主に導入されております。

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。

8ページの図1を御覧ください。DAS1131の作出に使用した導入用プラスミドの外骨格領域は、アグロバクテリウム等由来のプラスミドに基づき作成されており、抗生物質スペクチノマイシン耐性遺伝子が存在します。

9ページの(4)を御覧ください。ベクターにスペクチノマイシン耐性遺伝子が含まれていますので、この導入用プラスミドを有する微生物を選抜、維持することができます。

10ページを御覧ください。

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。

(2) 供与体の安全性に関する事項です。*B. thuringiensis*は生物農薬としてこれまで安全に使用されており、*S. sviveus*は人に対する病原性は報告されていません。

2の(1)のクローニング方法です。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。また、改変*cry1Da2*遺伝子は、*cry1Da2*遺伝子に由来するコアタンパク質コード領域とC末端側の改変*cry1Ab*遺伝子の小断片から構成されており、トウモロコシでの発現を最適化するために塩基配列が改変されています。

*dgt-28 epsps*遺伝子は*S. sviveus*由来のEPSPSをコードする遺伝子に*Brassica napus*及び*Brassica rapa*由来のキメラ葉緑体輸送ペプチドをコードする配列が連結されており、こちらもトウモロコシでの発現を最適化するために塩基配列が改変されております。

続きまして、12ページからが(3)挿入遺伝子の機能に関する事項です。

表4に挿入DNAの機能等がまとめられておりますが、12ページの一番下及び13ページの上から3つ目にあるELP配列について、事前確認で〇〇〇から簡単な説明をしてほしいとの御意見がありました。

そこで、申請者から追記がございましたので、机上配布資料1-1の12ページ、13ページを御覧ください。

赤字で追記されておりますが、ジンクフィンガーヌクレアーゼを介した部位特異的挿入のために設計された標的領域である旨の記載がされてございます。

このまま机上配布資料1-1の14ページを御覧ください。

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、改変*cry1Da2*遺伝子です。この遺伝子がコードする改変Cry1Da2タンパク質は*B. thuringiensis*由来のCryタンパク質から構成されるキメラタンパク質で、図3のとおり、Cry1Da2タンパク質に由来するドメインIからIIIを含むコアタンパク質領域とC末端側の改変Cry1Abタンパク質の小断片から構成されております。このタンパク質は感受性のあるチョウ目昆虫に摂食されると腸管内のプロテアーゼにより一部が消化され、殺虫活性のあるプロテアーゼ抵抗性コアタンパク質となります。このコアタンパク質は昆虫の中腸上皮細胞膜上の特定の受容体と結合し、細胞膜に細孔を形成して細胞溶解を引き起こし、中

腸組織を損傷させることにより殺虫活性を發揮するものでございます。

この箇所につきまして、事前確認で〇〇〇からこれまでに承認されている代表的なCryタンパク質との相互作用の有無について説明してほしいとの御意見をいただき、申請者から赤字のとおり追記と追加添付資料として机上配布資料1-2が提出されております。

改変Cry1Da2タンパク質を用いた結合試験の結果から、このタンパク質は代表的なCryタンパク質である4つのタンパク質とは異なる受容体に結合することが示唆されているという追記がされてございます。

図3の下からの記載になります。この改変Cry1Da2タンパク質の殺虫スペクトラムについて、5目16種の生物種に対する生物検定により評価した結果、特定のチョウ目昆虫のみが感受性を示すことが確認されたという記載でございましたが、こちらにつきましても、事前確認で〇〇〇から殺虫スペクトラムは申請要旨に記載し、どのチョウ目に効果を發揮するのかを追記すべきであるという御意見をいただき、14ページの赤字のとおり、ヤガ科及びタテハチョウ科に属する昆虫で感受性が確認されたという追記がされるとともに、15ページの表5のとおり、殺虫スペクトラムの詳細を追記してございます。

続きまして、そのまま机上配布資料1-1の16ページを御覧ください。

*dgt-28 epsps*遺伝子でございます。まず、植物がもともと持っていますEPSPSタンパク質についてですが、このタンパク質は植物が芳香族アミノ酸などの二次代謝産物を生合成することに関与しており、色素体内に局在してございます。除草剤グリホサートは、このタンパク質のホスホエノールピルビン酸に対する可逆的競合阻害剤であるため、植物の芳香族アミノ酸生合成経路であるシキミ酸経路の反応を阻害することでタンパク質合成が妨げられ、植物が枯死するという仕組みでございます。

最後のパラグラフの記載になりますけれども、今回の組換え体で生産されるDGT-28 EPSPSタンパク質は、ホスホエノールピルビン酸と3-ホスホシキミ酸から5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸への特異的な変換を触媒します。また、DGT-28 EPSPSタンパク質はグリホサートに対して非感受性であり、グリホサートによる競合阻害を受けずにシキミ酸合成が機能することから、グリホサートの存在下でも本組換えトウモロコシが生育できるようになるものでございます。また、DGT-28 EPSPSタンパク質の触媒効率は既知のグリホサート非感受性のEPSPSタンパク質と同程度以上であるということでございます。

その下の②既知の毒性タンパク質との構造相同性でございます。両タンパク質についてデータベースを用いて、E-valueの閾値を 10^{-4} として相同性検索を行った結果、いずれのタンパク質についても相同性は認められませんでした。

それでは、ピンク色の紙ファイルに戻っていただきまして、15ページ目を御覧ください。

真ん中辺りからの記載になります。(4)抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項です。導入用プラスミドの外骨格領域にはスペクチノマイシン耐性遺伝子が含まれていますが、この外骨格領域はDAS1131には導入されておられません。

続きまして、18ページを御覧ください。

6、導入方法及び交配に関する事項です。DNAの宿主への導入はアグロバクテリウム法で行っております。交配過程は19ページの図4のとおりでございます。

20ページからが第6、組換え体に関する事項です。

①挿入遺伝子のコピー数及び外骨格領域の有無の確認です。T₁世代の葉から抽出したDNAを断片化し、導入用プラスミド由来の配列を含む断片の塩基配列を確認するため、SbS分析を行った結果、いずれの組換え体においてもT-DNA領域由来の配列とゲノムとの接合部が2つ特定され、そのそれぞれがT-DNA領域由来の5'及び3'末端とゲノムとの接合部であることが確認できました。このことから、DAS1131のゲノム中に1コピーが移入されていることが確認できたとしております。このSbS分析では、平均カバレッジ深度が2449から4318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ございます。

続きまして、②挿入DNAの完全性です。T₃世代のゲノムDNAを用いて挿入DNA全体とその近傍配列についてSanger法で塩基配列を確認した結果、左右の境界領域にそれぞれ390塩基と27塩基の欠損と改変*cry1Da2*遺伝子の上流のプロモーター内で1塩基置換が認められています。そのほかの塩基配列は導入用プラスミドのT-DNA領域配列と一致しておりまして、各遺伝子発現カセットの構成要素に欠損がなかったことを確認してございます。

21ページ目を御覧ください。

③挿入DNAの由来でございます。挿入DNAの5'及び3'側の配列についてデータベース検索を行った結果、挿入DNAの近傍配列はトウモロコシ1番染色体由来であると考えられたとしております。

続きまして、④DNA挿入により宿主の遺伝子配列に変化が生じる可能性についてですが、こちらは机上配布資料1-1の23ページを御覧ください。

もともとの記載では、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、挿入DNAの3'及び5'末端近傍配列にトウモロコシ内在性遺伝子が存在していないと考えられ、挿入された部分に内在性の遺伝子は存在しないと考えられたといった趣旨の説明が記載されていましたが、事前確認におきまして、〇〇〇から相同性が検出されているが、内在性遺伝子が破損されていないと判断できる根拠を説明してほしいと御意見をいただいております。その御意見を踏まえて申請者から追記がされておりました、評価においてこれら近傍配列と推定遺伝子の配列のアライメントが有意であること、同一データベース内またはデータベース間において当該遺伝子について複数のアライメントがあること、当該遺伝子の機能が実験的に確認されていること及びアライメントされた配列と挿入部位との距離を考慮し、検索結果がこれらの基準を満たさない場合は挿入部位が遺伝子配列中である可能性は低いと考えられると追記がされてございます。

このまま机上配布資料1-1の24ページを御覧ください。

(2) ORFの有無等の事項でございます。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つの読み枠で終止コドンから終止コドンまでの8アミノ酸以上のORF検索を行

った結果、723個のORFが検出されました。

次のパラグラフからの記載ですが、これらのORFについて毒性タンパク質データベース及びNCBI非重複タンパク質データベースを用いて、E-valueの閾値を 1×10^{-4} として検索を行った結果、既知毒性タンパク質との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、E-valueの閾値を100として連続する8アミノ酸以上で完全に一致する配列及び80アミノ酸以上について35%を超えて一致する配列を検索した結果、6つのORFで80アミノ酸以上について35%を超えて一致する配列として、ここに記載した2つが検出されましたが、いずれのアライメントも有意な相同性ではなく、エピトープとの一致が見られなかったことから擬陽性であると考えられたと考察してございます。

続きまして、ピンク色の紙ファイルに戻っていただきまして、24ページ目を御覧ください。

2、発現部位、発現時期、発現量については、DSA1131株中の改変Cry1Da2タンパク質及びDGT-28 EPSPSタンパク質の生産量をELISA法で測定しており、結果は表5のとおりとなっております。

続きまして、26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ございます。まず、改変Cry1Da2タンパク質ですが、*Pseudomonas fluorescens*で生産したものと分子量、免疫反応性、グリコシル化の有無、アミノ酸配列が同じであること、*P. fluorescens*で生産する改変Cry1Da2タンパク質には、N末端に2つのアミノ酸変異が導入されていますが、この変異がペプシンによる消化性に影響を及ぼさないことを*in silico*解析で確認していることから、*P. fluorescens*で生産した改変Cry1Da2タンパク質を用いて確認を行っております。

また、DGT-28 EPSPSタンパク質は、*E. coli*で生産したものとN末端においてHis-tag配列がついているかどうかという違いがございますが、免疫反応性、グリコシル化の有無においてDAS1131株で生産されるものと同等であること、そして、N末端に付加されたこのHis-tag配列がペプシンによる消化性に影響を及ぼさないことを*in silico*解析で確認していることから、*E. coli*で生産したものを使用して確認を行ってございます。

27ページ目を御覧ください。

①人工胃液試験でございます。改変Cry1Da2タンパク質のSDS-PAGEの結果が28ページの図6に示されていますが、反応開始30秒後であるレーン5では改変Cry1Da2タンパク質の全長に当たる約68kDaのバンドは検出されなくなっていますが、反応開始60分まで5kDa以下に複数の微弱なバンドが検出されております。そこで、29ページの図7になりますが、改変Cry1Da2タンパク質を人工胃液で1分間処理した後に引き続き人工腸液で処理した結果がレーン5から12になります。申請者は、レーン6のとおり、人工腸液での反応開始30秒で5kDa以下の複数のバンドも消失したとしています。

続きまして、30ページの図8がウェスタンブロットの結果です。反応開始30秒後である

レーン5までは約68kDaよりわずかに小さいところにバンドが認められていますが、試験開始1分後であるレーン6では68kDa付近のバンドは消失し、試験開始30秒後のレーン5から現れた約15kDaのバンドも反応開始5分後であるレーン8では消失していることが確認できたとしております。

続きまして、31ページからがDGT-28 EPSPSタンパク質のSDS-PAGEとウェスタンブロットの結果です。32ページの図9がSDS-PAGEの結果になります。反応開始30秒後であるレーン5では、DGT-28 EPSPSタンパク質である約45kDaのバンドは消失しますが、約5kDa付近にバンドが現れ、反応開始60分後でも消失しませんでした。

そこで、33ページ、図10になりますが、DGT-28 EPSPSタンパク質を人工胃液で2分間処理した後に引き続き人工腸液で処理した結果がレーン5から12になります。申請者は、人工腸液での反応開始30秒であるレーン6では、人工胃液処理後に認められた5kDa以下の複数のバンドも消失したと考察をしております。

続きまして、34ページの図11がウェスタンブロットの結果です。試験開始30秒後であるレーン5でいずれのバンドも消失していると考察をしております。

続きまして、35ページからが②人工腸液試験でございます。まず、Cry1Da2タンパク質のSDS-PAGEの結果が図12に、ウェスタンブロットの結果が36ページの図13に示されております。申請者は、いずれも反応開始30秒後であるレーン4では改変Cry1Da2タンパク質の約68kDaのバンドが消失し、68kDaよりわずかに小さいバンドと約20kDa以上の複数のバンドが反応開始60分でも検出されたとしております。

37ページからがDGT-28 EPSPSタンパク質の結果ですが、図14がSDS-PAGE、38ページの図15がウェスタンブロットの結果になります。申請者は、いずれも分子量約45kDaのDGT-28 EPSPSタンパク質のバンドが反応開始30秒以内に消失したと考察をしております。

続きまして、39ページを御覧ください。

③加熱処理試験でございます。表6を御覧ください。改変Cry1Da2タンパク質を25℃及び50℃で処理した場合は、非加熱のものと比較して有意な殺虫活性の低下は見られず、75℃以上の加熱処理を加えた場合に殺虫活性が検出できなくなることから、加熱処理により殺虫活性が低下することが確認されたとしてございます。

表7を御覧ください。DGT-28 EPSPSタンパク質を25℃で処理した場合は、非加熱のものと比較して同等の酵素活性を示しましたが、37℃の加熱処理を加えた場合は酵素活性が34%まで低下し、50℃以上の加熱処理で酵素活性が検出できなくなることから、加熱処理により酵素活性が低下することが確認されたとしてございます。

続きまして40ページ、(4) 既知のアレルゲンとの構造相同性に関する事項でございます。COMPAREデータベースを用いてE-valueの閾値を100に設定して連続する8アミノ酸以上で完全に一致する配列及び連続する80アミノ酸残基以上で35%を超えて一致する配列を検索したところ、両タンパク質に既知のアレルゲンとの相同性は認められませんでした。

た。

41ページの5、安定性については、5世代の葉の組織から抽出したゲノムDNAを用いてサザンブロット分析を行った結果、いずれの世代においても想定どおりのDNA断片が検出されたことから、挿入遺伝子は後代に安定して遺伝していることが確認されたとしております。

続きまして、44ページからが6、代謝経路への影響でございます。

こちらは机上配布資料1-1の46ページ目を御覧ください。

1つ目のパラグラフですが、Cryタンパク質は酵素活性を有することを示す報告がないことから、改変Cry1Da2タンパク質が宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性も低いと考えられるとしてございます。

次のパラグラフですが、DGT-28 EPSPSタンパク質がコードするEPSPSタンパク質は、ホスホエノールピルビン酸及びシキミ酸-3-リン酸と特異的に反応する酵素であり、通常の40倍のEPSPSタンパク質を生成する植物培養細胞において、最終生成物の芳香族アミノ酸が過剰に生成されないことが報告されております。

今回のDGT-28 EPSPSタンパク質は、除草剤グリホサートに非感受性である以外は、構造的にも機能的にもEPSPSタンパク質と類似しておりまして、同一の作用機作を持つとされています。このことから、当該タンパク質により宿主の代謝系が変化することはないと考えられるとしてございます。

この説明につきまして、事前の確認で〇〇〇からGriffinの論文を基にこれまでのCP4 EPSPSやトウモロコシのEPSPSなどと構造や基質特異性などの特徴について詳細に記述し、代謝系に本酵素が影響しないことを説明することの御指摘をいただき、申請者から追記がございました。

まず、机上配布資料1-1の16ページに少し戻っていただきまして、この16ページの*dgt-28 epsps*遺伝子の説明の一番最後に、DGT-28 EPSPSタンパク質の触媒効率は既知のグリホサート非感受性EPSPSタンパク質と同程度以上であるという旨の記載をしております。

それとともに、46ページ目に戻っていただきまして、46ページ目の中ほどに、赤字になっておりますが、DGT-28 EPSPSタンパク質の触媒効率は、トウモロコシが有する内在性DGT-28 EPSPSタンパク質の触媒効率の4分の1程度であることから、DGT-28 EPSPSタンパク質の導入により芳香族アミノ酸が過剰に生成する可能性は低いと考えられると追記がされてございます。

続きまして、ピンク色の紙ファイルに戻っていただきまして、45ページ目を御覧ください。

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、栄養阻害物質等でございます。組換え体と宿主品種を2020年にアメリカの8ほ場で栽培し、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有意差は認められなかったか、自社商業品種変動また

は文献値の範囲内であったとしてございます。

少し飛びますが、57ページを御覧ください。

57ページに8として諸外国における認可の状況が記載されております。表15にまとめられておりますが、EU等で申請が進められております。事前の確認で、これは2021年、22年の情報ですけれども、その後新たに認可状況に進展等はないかという質問がございまして、そちらを申請者に確認したところ、●●●という回答でございました。

申請書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、先生方の御意見をいただきたいと思えます。

チョウ目害虫抵抗性に*B.thuringiensis*由来のCryタンパク質を使うところ、それから、グリホサート耐性のところで土壌バクテリアの*Streptomyces*属由来のEPSPSを使うところは定番中の定番ではあるのですけれども、今回使われておりますcry1Da2、dgt-28 epsps、どちらもそれなりにいろいろと細工されておまして、いろいろな点が改変されております。これについて、殺虫スペクトラム、人工胃液、人工腸液の対象など、それから、アレルギーについてデータが提出されておるわけですが、こういった点が提出されているデータで十分確認できるかどうかというところが今回の申請のところでは大きなポイントかと私は考えておまして、この辺について特に御意見をいただければありがたいと思えます。申請書のどこからでも結構ですので、御意見がありましたらぜひお願いいたします。

〇〇〇から事前に聞いていただきまして、改変cry1Da2遺伝子の改変について、机上配布資料1-1の14ページの赤いところ、なお、改変Cry1Da2タンパク質を用いた結合試験の結果から、改変Cry1Da2タンパク質は代表的なCry1タンパク質が結合する受容体とは異なる受容体に結合することが示唆されているとございまして、添付資料を見てみると、競合阻害しないという理由で異なる受容体なのだと。

単純に気になるのが、異なる受容体ということは、この抗菌スペクトラム、要するにこの毒素がどういう生物に効くのかということところがとても気になるわけですし、これにつきましては5目16種の生物に関する生物検定により評価したとありまして、一覧表、チョウ目、コウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目、トビムシ目のタンパク質の殺虫スペクトラムが提出されております。

これでいいのかということなのですが、先生方、御意見をいただけるとありがたいのですが。

〇〇〇、お願いできますか。

〇〇〇 ここで代表的なCryタンパク質とは違うものを使っているということなのですが、やはり気になるのは、受容体が異なるというだけでそのメカニズムが分からないということだと思えるのですが、そういう意味で、もう少し安全性を確かめたほうがいいのかなと思えます。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

異なる受容体ということであれば、こういった受容体に結合するのか、それとももう少し殺虫スペクトラムについて、スペクトラムはここでは昆虫にだけ調べていますけれども、受容体が異なるということは、私も直感的にはそれ以外の動物に効くのか効かないのか、具体的には哺乳類についてはどうなのか。その辺も気になるところなのですが、先生方、この辺についてはいかがでしょうか。

〇〇〇あたり、御意見をいただけますか。

〇〇〇 私は、このような形で殺虫スペクトラムをきちんと示していただいているので、それでよいのではないかなと思っております。

以上でございます。

〇〇〇 どうもありがとうございます。

〇〇〇はどうお感じ。

〇〇〇 今回Cry1で、Cry1シリーズのものはこの委員会でもかなり初期の頃は新しいCry1については何らかの形で安全性を示すようなデータを要求していたりもしていたようですが、一応一般的にはCryで示されるBtタンパク質については、哺乳類でこれまでに結合するとか、哺乳類の腸管に穴を開けるような作用が見つかったという事例はないということになっていまして、大枠ではCry1というシリーズに入るので、ということから考えると、Btタンパク質についてはこれ以上求めなくてもいいかなとは考えております。

もし何か特に気になる点があれば、*in vitro*の細胞を使ったような試験を前にもコルテバさんには求めたことがあるかと思えますけれども、そういった試験を求めることが妥当かなとは思いますが、Btタンパク質はすごく開発が進んでいますので、もしここで要求することになると、ここから恐らく新規のBtタンパク質は結構出てくる見込みのようですので、全部やらなくてはいけないということにもなりかねないかなと。これまでBtタンパク質で哺乳類にくっついた例はないということになっていきますので、作用スペクトラムを見て特に気になることがなければ、必要はないかなとは思っております。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

Cryタンパク質については、このタンパク質もCry1タンパク質のカテゴリーに入るということは、相同性、また、これを作成したデータ等から明らかかなようですので、そうなのかなと。

この点については十分議論をしておきたいと思えますので、先生方、ぜひご意見等を御発言いただければと思います。

〇〇〇、いかが。

〇〇〇 〇〇〇のおっしゃるところも理解できる部分は確かにあるのですが、では、どういうことをやればいいのかというのははっきり知見があるわけではないのですが、今までのと違うところに結合する、ではどの辺に結合するのかとか、もうちょっと何か情

報が出ないものかなとは思いました。競合試験の結果だけではなくて、もう少しダイレクトな情報が何かあるといいなと思いました。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇はいかが。

〇〇〇 競合試験とあとは立体構造からの類推ということだろうと思うのですけれども、こういうちょっと違うタンパク質があるときに、例えば動物細胞の抽出液と混ぜて何と相互作用するかとか、そういうような実験を要求したことがある、そういうことを調べることがあるのであればやったほうがいいかなとは思っているのですけれども、多分急に今までやったことのないことを要求するというわけにはいかないだろうと思しますので、手に入る情報では多分このぐらいではないかなという気がいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

では、もう一人ぐらい。〇〇〇。

〇〇〇 ここまでの話というか歴史的な流れということでは、哺乳類に毒性があるというのはやはり考えにくいのかなと思いますが、新しいものに関しては慎重になってもいいのかなとも思います。ただ、先ほど〇〇〇からあったように、ここで一回課してしまった場合、この後の影響がどれぐらいかというのは考えるべきなのかなと。考えておく必要があるのかなと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

表5の殺虫スペクトラムを見てみますと、改変Cry1Da2タンパク質のスペクトラムは非常に明快でして、チョウ目の中でもヤガ科とタテハチョウ科にはきちんとクリアカットに効いていて、同じチョウ目でもツトガ科、トモエガ科には全然効いていないという感じで、この辺の宿主特異性と申しますか、このスペクトラムの特異性についてはかなりはっきりしているものなので、Cryタンパク質特有の非常に限定的な殺虫スペクトラムというものは保たれていると評価してもいいのではないかなと。その点は私も思います。

この点につきまして、ほかの先生方、また、申請者も来ておりますので、この際聞いておきたいかなと思うようなことなどがございましたら、忌憚なくお願いできればと思います。

それでは、申請者をお呼びしたときに、特異性なり結合性なりについてもっとデータを持っているかどうかくらいは尋ねてみようかなとは思いますが、現時点でどうしてもこれは聞いておかなければいけないとか、そういったことがございましたらぜひお願いしたいのですが。

私もこれは既存のCryタンパク質に対して公表されているデータ、もしくはこの会社のデータでもいいのですけれども、これと表5の改変Cry1Da2との殺虫スペクトラムで分かりやすく並べていただけると確認しやすいかなと思うので、そういうデータを問題なく作れるのであればお願いできればと思って、その辺は申請者に尋ねてみていいかなと考

えています。

ほかの先生方、ございますでしょうか。

このトウモロコシについては、中に入れる遺伝子のいじくっているところがポイントですので、もう一つの遺伝子が *dgt-28 epsps* ですね。これは *P.fluorescens* ではなくて、*P.fluorescens* で作ったのは *cry1Da2* ですね。これで評価しておりまして、また *cry1Da2* でもう少し先ですが、生産は *P.fluorescens* でやっていて、このときにアミノ酸が2か所変異しています。19番目のリジン、それから、27番目のアルギニン、いずれにも塩基性のアミノ酸がグルタミンに変換されております。これは *in silico* ではオーケー、分解性等には影響しないということで説明されておりますが、これは *in silico* でオーケーならよろしいと考えていいもののでしょうか。この点につきまして、先生方の御意見を聞いてみたいかと思えます。

先生方、どなたか。

いつもお聞きして申し訳ありませんが、〇〇〇、御見解をお願いできますか。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

導入されたアミノ酸がペプシンによる消化性に影響を及ぼさないことを *in silico* 解析により確認したというところなのですけれども、実際に胃液試験のほうを見ますと、これまでの Cry タンパクと同じような形の結果になっておりますので、ここに関しては *in silico* 解析で確認したということで問題はないのではないかと思います。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

Cry1 はいつもパターンが決まっていて、人工腸液だけだとなかなか分解できなくてとかで、今回のパターンも見慣れたパターンと同じと言えば同じなので、違和感はないといった捉え方でよろしいでしょうか。

〇〇〇 はい。おっしゃるとおりです。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇。

〇〇〇 非常に難しいところで、最近やはり *in silico* で大丈夫なのではないかとか、今後は動物実験とかも要らなくなってくるのではないかとかいろいろ言われていますけれども、今回の件に関してはよろしいのではないのかなとは思えます。

〇〇〇 ありがとうございます。

先生方、ほかに。

それでは、もう一つのタンパク質、DGT-28 EPSPS の評価のところ、これは例によって N 末端に His-tag をつけた形で生産しておりまして、*in silico* ではオーケーということでした。His-tag をつけて生産するパターンはこれまでもあったかと思えますけれども、本件についてもこの形で解析しておりますが、これでよろしいでしょうか。

この点、〇〇〇、よろしい。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

先ほどのCryタンパクと同様で、こちらも特に問題はないのではないかと思います。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

もうお一方ぐらい、〇〇〇、この見解で違和感はございませんか。

〇〇〇 私のほうも違和感はございません。

〇〇〇 ありがとうございます。

今回のところ、新規ですので、挿入遺伝子の導入の結果とか、それから、次世代シーケンサーの結果、サザンハイブリダイゼーションもやっております、1バンドということを確認されております。それから、次世代シーケンサーの結果等もそろっております。

この辺、定番のデータが並んでございますが、この辺については何か御意見はございますでしょうか。

それでは、申請者の方に、少なくとも今回新しくいろいろ細工して作られたCryDa2の結合性等に関するデータで何かもう少し補強するようなデータをお持ちかどうかとか、そういった点について少し尋ねてみたいかと思います。ほかにここでぜひ申請者に尋ねておくべきと思うような事項等はございますでしょうか。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 今回、EPSPSがこれまでにない新規のものを自然界から多分見つけ出してきて使ってきているのですけれども、従来はCP4 EPSPSという土壌細菌のアグロバクテリウムから取ってきたものを入れているケースがほとんどだったのですが、今回DGT-28のEPSPSを新たに採用した、簡単に言うと理由と伺いますか、これは要するにコルテバさんで特許を持っていて、今後はこれでいくのかとか、そこら辺、ざっくばらんに少し伺いできたらお聞きしたいなと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

実は私もその辺は少々気にはなっているところで、安全性に直接関係するかどうかは別ですので、企業機密等があったら絶対に答えてもらわなくてはいけないというものでもないかとは思いますが、実は私もその辺は聞いてみたいかなとは思っておりました。

ほかにございますでしょうか。

〇〇〇。

〇〇〇 少し似ていますけれども、Cry1Aの構造がどうしてキメラにしなくてはいけなかったのかという必然性がもし聞けるようだったら聞いていただけたらと思うのですが、あまりにも人工的なので、できれば天然の形のほうがよりよいような感じはしますけれども、どうしてこんな形を今回取られたのか、もし聞けるようであればと思いました。

〇〇〇 それも気になるところですよね。それは申請者に直接尋ねていただけますか。

〇〇〇 分かりました。

〇〇〇 ほかにございますでしょうか。

では、申請者をお呼びしていただけますでしょうか。

すぐにはつかまらないようなので、今、慌てて申請者に連絡を取り直しているところのようです。少しだけお待ちください。

(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。

自己紹介をお願いいたします。会社名とお名前だけで結構です。

〇〇〇 コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社の〇〇〇と申します。本日はよろしくをお願いいたします。

〇〇〇 同じく〇〇〇です。よろしくお祈いします。

〇〇〇 同じく〇〇〇です。よろしくお祈いいたします。

〇〇〇 今回の申請ではチョウ目害虫抵抗性、除草剤グリホサート耐性をトウモロコシに付与するのに、チョウ目のほうは*B.thuringiensis*由来のCry1タンパク質、除草剤のほうは土壌細菌由来のEPSPSという点は王道中の王道なのですけれども、今回導入されている遺伝子はそこそこに改変されておりまして、その改変の分の影響について安全性が確認できるかどうかという点がポイントになっております。

まず改変Cry1Da2タンパク質について、本日、机上配布資料で見させていただいているのですけれども、殺虫スペクトラムについて、それから、発現タンパク質の性質及び機能の追記のところを見させていただいております。今回、改変Cry1Da2タンパク質を用いた結合試験の結果から、代表的なCryタンパク質、Cry1Ab、Cry2Ab、Vip3A、Cry1Fタンパク質、これとは異なる受容体に結合することが示唆されているとございまして、データを見てみると、要するに競合阻害しないからということかなと思います。

そういうことでありますと、この基質特異性といいますか、スペクトラムが気になるところなのですが、スペクトラムを見させていただくと非常にクリアカットで、チョウ目害虫の中でヤガ科、タテハチョウ科についてのみクリアに効いていて、それ以外には全く効かないというのが明らかに示されております。

異なる受容体ということですが、それで何が起こるのかというところが気になる場所ではあるのですが、ここに提出されているデータ以外にも例えば培養細胞等で結合試験などの、つまり、こういった基質特異性に関するデータは何かお持ちで、出せるもの等はございますでしょうか。

〇〇〇 培養細胞というのは具体的にどういったものでしょうか。

〇〇〇 要はこれが人に全く毒がないということが分かればいいわけで、だからといってマウスで実験しろとまでは申しませんが、受容体が違うとおっしゃっているのであれば、このタンパク質を用いた生化学試験などでお持ちのデータ、改変Cry2の性質というか特異性というか、それから、結合性等について参考になるようなデータはお持ちかとお尋ねしているのですが。

〇〇〇 失礼いたしました。

今のところ、結合様式に関するデータで、添付資料で新たに提出したもの以外は、私が知る限りないと思います。

ただ、受容体は異なるのですけれども、Cryタンパク質なので、通常のCryタンパク質と同様の作用機構を有するとは考えています。

〇〇〇 Cryタンパク質についてほかの哺乳動物に効いたとか、そういう文献は今までございませんので、まあ大丈夫かなとは思いますが、受容体が違うと言われてしまうと、ではどこにくっつくのかとか、それはほかのものに効かないのかというところを確認せざるを得ないので、何か補強できるようなデータをお持ちかと聞いているのですが、それは絶対に何もやっていないということですか。

〇〇〇 先ほどおっしゃったようなマウスの試験とかは全部提出されていると思いますので、やっていると思うのですけれども、培養細胞を用いたような試験等はありません。

〇〇〇 マウスの試験をもしやっているということであれば、そのデータを提出していただくことは可能でしょうか。

〇〇〇 この場で確約はできませんが、していると思いますので、可能だと思います。

〇〇〇 その辺、これから新しくやれとまでは申しませんが、マウスと少なくとも哺乳動物、もしくは哺乳動物由来の細胞に用いた試験等のデータがあったら、これを提出いただきたいとは考えています。それはよろしいでしょうか。

〇〇〇 例えば今回スペクトラムは昆虫に対してどういったものが効くのかという御指摘でしたので、昆虫のみのスペクトラムを作成しておりますけれども、添付している資料の添付資料3の中には、全体的な試験結果ですので、標的生物は鳥類なども含まれています。例えばマウスも含めてなのですが、そういった試験結果も追加すればいいですか。

〇〇〇 5目16種と最初あった、この表だったと思いますけれども、テーブル1、テーブル2で最初に添付されていたものですよね。ほかにいろいろ昆虫以外でも調べたものがあったら、哺乳動物、もしくは鳥類でも何でも、また、昆虫以外の近縁の例えば関係動物なりなんなりでもデータお持ちだったら出せるだけ出していただけるとありがたいというのが正直なところなのですが。

〇〇〇 そうしましたら、一応今出しているのは昆虫のみというか、要旨に記載しているものは昆虫に限ったものです。それ以外について出せるデータを本社と確認して、その後に提出させていただきたいと思います。

〇〇〇 ぜひよろしく願いいたします。

それでは、どうぞ。

〇〇〇 今の昆虫のことでもう少しお伺いしたいのですけれども、トウモロコシというところとアワノメイガとかネキリムシとかが心配だと思うのですが、このスペクトラムでいうと、アワノメイガは学名でいうとオストリニアになるとは思いますけれども、これにはほとんど効かないということではよろしいのでしょうか。オストリニアの仲間についても、もう少し

アメリカのものとか日本のものとかいろいろな種類の昆虫がいると思うのですが、そういうものの詳しいデータというのはあるのでしょうか。

〇〇〇 アワノメイガについては、今回、昆虫のスペクトラムの中に含まれているものが全てですので、それについてデータは今のところ持っていないというのが現状で、効くかどうかは分かりません。

〇〇〇 もう一点よろしいですか。あと、今回Cry1Da2が高度なキメラタンパク質になっていらっしゃるわけですが、その理由をお聞かせいただけたらなと少し思ったのですが、もちろん天然のままのタンパク質がよいというわけではないとは思いますが、耐性の昆虫が出にくいというわけでは、それが例えば殺虫作用が強いのか、耐性の昆虫が出にくいのか、あるいは摂食した場合に分解が早いのか、どういうことを考えられているのか分からないのですが、分かる程度の範囲で明らかにしていただけたいと思います。

〇〇〇 すみません。一個戻っていいですか。ヨーロッパアワノメイガは効かないです。

〇〇〇 ヨーロッパアワノメイガには効かない。

〇〇〇 効かないです。申し訳ありません。これはツトガ科の今回新たに掲載しているオストリニア・ヌビラリスという学名になるのですが、影響濃度3,000ppm以上与えても無影響ということです。

あと、キメラタンパク質につきましては、いろいろな理由があるとは思いますが、もともとのCryタンパク質を用いるよりもキメラにしたほうが、標的の害虫に対する効率ですとか、発現の世代間の安定性ですとか、そういったものを向上させるものを目的として、総合的にいろいろなものを試して結果的にこういった形になっているということです。

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。

それでは、もう一つの挿入タンパク質のDGT-28 EPSPS、既存でよく使われているのはCP4 EPSPSで、それとは別の微生物から取ったのだと思うのですが、こういうものを採取した理由と違い等について、従来のものとの差異について差し支えない範囲でお願いできれば。我々、守秘義務は守りますので、明かしていただくとありがたく思います。

〇〇〇 採取した理由は、今、守秘義務とおっしゃいましたが、会社の社外秘情報も含まれるとは思いますが、一つの理由としましては、EPSPSは基本的にグリホサートに、例えばトウモロコシが持っているEPSPSはグリホサートに対して感受性を示します。今おっしゃったCP4 EPSPSに関しては感受性を示しません。こういった違いがあるのですけれども、その違いは基質ポケットのアミノ酸の変異で比較的明らかにされておりまして、今回CP4 EPSPSではない新規のEPSPSを単離するポイントとしては、●●●という経緯がございます。

あとは、活性としては、CP4 EPSPSは内在性のものと比べると少し活性が低いというの

もあったので、要旨にも記載してはいますが、今回は既存のCP4 EPSPSと同等以上の活性を持っているものというところも新たに単離してきた理由の一つだと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。大変参考になりました。

〇〇〇、よろしい。

〇〇〇 単離してきた経緯等がよく分かりましたので、それ以上お伺いすることはありません。

以上です。

〇〇〇 ほかの先生方、せっかく申請者に来ていただいていますので。

〇〇〇、お願いできますか。

〇〇〇 ありがとうございます。

先ほどのCry1の受容体の話なのですが、修正いただいた文章の赤字のこれまでに知られている代表的なCryタンパク質が結合する受容体とは異なる受容体に結合することという文章が論理を難しくしている文章なのではないかなと思うのです。それ以外全てということをしてしまっているのもう少しこの書きぶりを直して、全てのデータをかき集めてこなくてもいいような書きぶりに工夫をされたらいいのではないかなと思ったのですが、いかがでしょうか。

〇〇〇 おっしゃられたように少し複雑になってしまっているのもうポイントが分かりやすくなるよう修正いたします。ありがとうございます。

〇〇〇 先生方、ほかにございますでしょうか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 私はあくまで参考までにとということでお聞かせいただきたいのですが、御社で新しく今申請されているこれについて、グリホサートの代謝物、グリホサートがこのトウモロコシでどう代謝されるかというようなデータはお持ちなのでしょうか。

〇〇〇 少なくともこのトウモロコシでどういった代謝になるかに関しては、多分データはないと思います。でも、今回のグリホサートの非感受性のEPSPSなのですが、グリホサートが結合できないというだけなので、両者のタンパク質で相互作用はありませんので、理論的にEPSPSの発現によってグリホサートの代謝が変化するというのは考えにくいと考えているからです。

〇〇〇 分かりました。では、通常はそういうデータは開発に当たっては取っていないという理解でよろしいですか。

〇〇〇 タンパク質によると思います。例えば違うタンパク質でグリホサートを無毒化するような酵素はほかにもあると思うのですが、単純にグリホサートの構造自体を何かしら修飾なり変換なりすることで無毒の物質に変えるというタンパク質も知られているかと思うのですが、そういった場合には代謝の変化が予想されますので、そういった場合はデータを取る必要があるかだと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 先生方、ほかによろしいでしょうか。

よろしいですね。

お疲れさまでした。ありがとうございました。退室していただいて結構です。

(申請者退室)

〇〇〇 退室が確認されましたので、審議を再開したいと思います。

これ以外にも出していただけるデータはあるようですので、それを確認してもいいのだけれども、現状では特にそれほど大きな問題は指摘されてはいない。ただ、やはり異なる受容体に結合するといった辺りについて確認できるかどうかという、もう少しデータを求めたほうがいいのかという意見が大勢だったと思います。それについて、特に何のデータを出せとまで要求したわけではございませんが、マウス等、それから、ほかの多種類、様々な昆虫等のデータも出していただけるということなので、それを見て決めたのもいいかなと私は考えるのですけれども、先生方、いかがでしょうか。それとも、この場で潔く認めてしまってもいいと考えるのか。それもありませんかとも思いますので、最終判断について御意見をいただければと思います。

〇〇〇、お願いできますか。

〇〇〇 私たちが評価しているのは、人への安全性という部分が非常に大きい。そういうデータが必須かという、これは考え方なのですけれども、添付書類を見ても、マウスでやっているというのは先ほど口頭ではおっしゃっていたような気がするのですけれども、データは見つからないのですよね。いろいろな昆虫類はやっている。これはどちらかという、有効性の視点というか、それから、もちろん環境への影響というのがあるから非常に重要なのですけれども、一方で新しいタンパク質の場合はマウスぐらいに食べさせてみてほしいなという気がしないでもないのですが、その辺はいかがですか。

〇〇〇 扱い方としては、例えばそれを要求して出していただいたのを今度はきっちり評価書案に書いてしまいますと、次からそれは確実に要求されると取られても、それはまた違うと思いますので、これの扱い方についてはまた御相談させていただければとは思いますが、いかがでしょうか。従来と異なる受容体にとっているということもありますので、出していただけるデータを見させていただいて、慎重に考えたいかなと思うのですけれども、先生方、いかがでしょうか。

〇〇〇、お願いできますか。

〇〇〇 やはり僕は最初から新規のキメラタンパクということでもうちょっと見たほうがいいかなというところはあったのですけれども、動物実験の結果があるということもおっしゃっていただいたので、それらの結果を見てからでいいのではないのかなと思います。あと、スペクトラムがありましたけれども、その結果が昆虫以外を見たときに別の種類で実は効いているとか、そういうのがもしあるのだとしたら、それはもちろんヒトで効いてしまう可能性も高くなるわけだから、とにかくそういうのを総合的に見てからでい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した。

マウスの実験の結果を最終的な評価書に反映させるかどうかというのもまた御相談させていただかないといけないかなとは思いますが、この点について、先生方、ほかに。

〇〇〇、どうお考えになりますか。

〇〇〇 いわゆる動物実験という形ではなくて、同じなのですけれども、いわゆるスペクトラムを調べたという形でデータは出してもらえenと思いますので、皆さんそれを見て判断されたらい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した。そういうデータはお持ちのようですし、そこは出していただいて見させていたいただきたいかと思ひます。

ということで、こう結論したいのですが、先生方、よろしいでしょうか。それはそれで御意思の表明をお願いいたします。

(委員より同意の意思表示あり)

〇〇〇 では、そういうことで。

ということなので、飼料のほうの申請もござひますが、これも食品のほうが済んだときに、またデータを出していただいたときに一緒に審議するという形にしたいと思ひます。

では、2番目の案件、これも新規の品目ですが、「JPBL011株を利用して生産された飼料添加物 α -アミラーゼ」、食品ではなく飼料の添加物です。これについて審議を行いたいと思ひます。

では、事務局のほうから説明をお願いいたします。

〇〇〇 それでは、飼料添加物「JPBL011株を利用して生産された α -アミラーゼ」について御説明をさせていただきます。

緑色の冊子を御用意いただければと思ひます。よろしいでしょうか。

それでは、冊子2ページを御覧ください。

まず、従来の添加物の性質及び用途に関する事項でござひます。今回、改変amySという製品なのですけれども、比較対象となる従来の添加物は既存の飼料添加物である α -アミラーゼ、これ以降、「従来のamyQ製品」と呼称いたしますが、こちらになります。

こちらの従来のamyQ製品の名称、基原及び有効成分に関してでござひます。基原は非遺伝子組換えの*Bacillus amyloliquefaciens*でござひます。反応特異性につきましては、デンプンのグルコシド結合を加水分解してオリゴ糖や二糖類を産生するというものでござひます。

続きまして、製造方法でござひます。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にござひます。

続いて、用途及び使用形態でござひます。飼料中のデンプンの利用促進を目的として、 α -アミラーゼは対象動物の飼料に添加されるということにござひます。 α -アミラーゼを混合した飼料を対象動物に摂取させることにより、消化管内でのデンプンの消化が促進され、エネルギーの消化効率が上昇し、その結果、対象動物の成長が促進されるといったも

のでございます。

続きまして、宿主の種名、株名等及び由来でございます。今回使用された宿主の菌株は *B.licheniformis* Ca63株ということでございます。

続いて、DNA供与体の種名、株名及び系統名等及び由来でございますが、こちらは表1として3ページに横の表でまとめられてございます。挿入遺伝子につきましては、改変 *amyS* 遺伝子、*prsA* 遺伝子の2つが挿入されております。

まず改変 *amyS* 遺伝子についてでございますが、供与体は *Geobacillus stearothermophilus* ATCC7953株ということでございます。性質としては、本申請品目の有効成分である *amyS* をコードするというところでございます。

prsA 遺伝子ですけれども、これは *Bacillus licheniformis* Ca63株が由来となっております。本タンパク質は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。PrsA タンパク質は菌体外分泌タンパク質の分泌量を増加させる働きがあるということでございまして、その目的で挿入されたものということでございます。

4ページをお願いいたします。

挿入DNAの性質及び導入方法でございます。本菌株 *B.licheniformis* JPBL011株の作成工程については、こちらの4ページ図1に概略が示されてございます。

これについての詳しい説明につきましては6ページに記載がございまして、DNAの挿入、置換及び欠失方法ということでまとめられてございます。

まず、プロモーター及びmRNA安定化配列の挿入でございます。遺伝子導入用ベクターをCa63株に導入する前に、相同組換えによってCa63株の染色体にプロモーターですとかmRNA安定化配列、*amyL* RBS配列をそれぞれ目標の遺伝子座に挿入されております。

その後、4つの遺伝子導入用ベクター pJPV043、pJTV044、pJPV045、pJPV035を作成いたしまして、それを本宿主菌株へ導入しております。

その後、相同組換えによってCa63株の染色体にそれぞれの遺伝子座において *amyS* 遺伝子及びターミネーター配列、または *prsA* 遺伝子及びターミネーター配列が挿入されております。

その後、それぞれの遺伝子導入用ベクターは抗生物質耐性マーカー遺伝子 (*ermC*) を有するため、エリスロマイシンへの感受性を示す形質転換体を選抜することで、かつさらにシーケンス解析によって適切な領域に適切なDNAが挿入されていることを確認するという選抜がされてございます。

続きまして、8ページをお願いいたします。

遺伝子組換え添加物の性質及び用途に関する資料でございます。

遺伝子組換え添加物としての製品名でございますが、こちらは記載のとおり、Ronozyme HiStarch、そして、Ronozyme RumiStar、この2つが記載されてございます。

反応特異性につきましては、組換え、非組換えのものと同じでございます。

製造方法につきましては、製品製造の概略図が図4として9ページに示されております。

この図に示すように、培養液は数段階の工程を経て製品化され、生産菌は除菌ろ過によって生産物から分離除去されるということでございます。

そして、9ページをお願いいたします。

用途及び使用形態でございます。本改変amyS製品については、飼料中のデンプンの利用促進を目的として対象動物の飼料に添加されるというものでございます。用途及び使用形態については、従来のamyQ製品と変わらないということでございます。添加量につきましては、鶏・豚用の飼料においては140～560でんぷん糖化力/kg飼料、牛用の飼料においては1,050～1,400でんぷん糖化力/kg飼料などであるということでございます。

続きまして、10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でございます。

本遺伝子組換え添加物と従来の添加物の有効成分の相違点については、表3にまとめられているとおりでございます。

続いて、組換え体と宿主の相違点でございますが、その相違点につきましては表4にまとめられているとおりでございます。

続いて、11ページをお願いいたします。

宿主に関する事項でございます。

宿主菌株については*B.licheniformis* Ca63株でございます。このCa63株については、申請者において1972年以降食品用の α -アミラーゼの生産菌株として利用されてきた実績がある菌株であるということでございます。

そのほか、第2-2から第2-5につきましては記載のとおりでございます。

少々飛びまして、14ページをお願いいたします。

挿入DNAの供与体に関する事項でございます。

まず改変amyS遺伝子の供与体でございますが、これは*G.stearothermophilus* ATCC7953株ということございまして、こちらに記載のとおり、安全面に懸念がないとされていると報告されてございます。

そして、*prsA*遺伝子の供与体につきましては*B.licheniformis* Ca63株ということでございます。これは宿主菌株ですので、先ほど御説明をさせていただいたとおりでございます。

続いて、15ページをお願いいたします。

挿入遺伝子のクローニングもしくは合成方法に関する事項でございます。挿入遺伝子のうち、改変amyS遺伝子につきましては、*G.stearothermophilus* ATCC7953株由来の α -アミラーゼ遺伝子をPCRで増幅することによって、まず野性型の配列が取得されております。当該遺伝子がコードするアミノ酸配列で2アミノ酸残基の欠失、そして、1アミノ酸残基の置換を行っておりまして、それが起こるようにPCRを用いた位置特異的変異導入法によってamyS遺伝子に改変が加えられております。

このamySへの改変はどういった目的で行ったのかについて、事前に申請者に対して質問を行っております。その回答につきましては、机上配布資料としてお配りさせていただ

いておりますものの中の机上配布資料2-1の2ページ目を御覧ください。

⑥というところでございます。回答といたしましては、酸性領域の安定性が高まるということございまして、家畜に摂食された際に家畜体内の消化管でより長く効果を発揮することができるようになるということを示されております。

また申請資料に戻らせていただきます。申請資料の16ページをお願いいたします。

挿入遺伝子の機能に関する事項でございます。挿入遺伝子のうち、改変*amyS*遺伝子については、 α -アミラーゼ活性を有する改変*amyS*をコードいたします。 α -アミラーゼはデンプンのグルコシド結合を加水分解して、オリゴ糖や二糖類を産生する酵素であるということございまして、改変*amyS*を飼料に添加することで、対象家畜の消化管でのデンプンの消化が促進されるものということでございます。これは家畜・家禽に対して有害性を持つということではなく、その機能が明らかになっているということでございます。

改変*amyS*のアミノ酸配列については図6に記載がされてございます。改変*amyS*のアミノ酸配列は従来の*amyQ*製品と●●●%の相同性を示すものということでございます。また、改変*amyS*は分泌シグナル配列を除くと●●●アミノ酸残基で構成されておりまして、これから推定される分子量については約●●●kDaであるということでございます。一方、本製品をサンプルとして供試し、SDS-PAGE分析を行うと、改変*amyS*の分子量は●●●kDa程度ということを確認がされるということでございます。

このことにつきましては、前もって〇〇〇から分子量の差について御質問をいただいております。その回答につきましては、机上配布資料2-1の1ページの①に回答が記載されてございます。回答といたしましては、本製品の質量分析を行った結果、●●●番目のアミノ酸残基が成熟タンパク質のC末端として確認されているということですので、C末端側が切れて●●●kDaよりもこのタンパク質は低くなっているデータもあるということございまして、こうすると、SDS-PAGEで認められた分子量が●●●kDa程度ということであって、少々低いというのがこのためであるのではないかと考えられると回答がされているところでございます。

また、〇〇〇からもう一問同箇所にていただいております。また、*amyQ*とのアミノ酸配列の相同性とアミラーゼの触媒残基を示した図を追加することという御指摘を事前にいただいております。この回答といたしましては、机上配布資料2-2の17ページというページ番号が入っているページに御指摘の図が追加されたということでございます。

それでは、緑色の冊子に戻りまして、緑色の冊子のほうの17ページをお願いいたします。

*prsA*遺伝子についてでございます。*prsA*遺伝子がコードするPrsAタンパク質は細胞膜タンパク質の一つでございます。菌体外へのタンパク質の分泌機構の一部を成しているものということでございます。細胞のPrsAタンパク質が増加するほど、菌体外へのタンパク質の分泌が促進されるということが報告されております。また、*amyS*の分泌量を増加させるために*prsA*遺伝子を挿入しております。

PrsAタンパク質の毒性については、示唆する報告がないということでございます。

少々ページが飛びまして、25ページをお願いいたします。

最終的に構築された発現ベクターにおけるオープンリーディングフレームに関する事項でございます。最終的に構築された発現ベクターであるpJPV043、pJPV044、pJPV045については、改変*amyS*遺伝子の発現カセットを宿主ゲノム上の標的遺伝子座に、また、pJPV035については*prsA*遺伝子発現カセットをこちらの標的遺伝子座に挿入するための遺伝子導入用ベクターということでございます。これらの遺伝子導入用ベクターにおいて、相同組換えによって宿主に導入される領域というのが明らかになっておりまして、それらそれぞれの遺伝子座におけるシーケンス解析も行われていて、確認がされているところでございます。したがって、これらの導入遺伝子導入用ベクターの全配列を対象としたORF検索は実施されていないということでございます。

続きまして、26ページをお願いいたします。

制限酵素による切断地図に関する事項でございます。JPBL011株の挿入領域の模式図については、27ページから30ページに記載されております図12から15、そして、その構成の詳細につきましては表9から表12にそれぞれ示されております。

それぞれ挿入領域の塩基配列については次世代シーケンスによるシーケンス解析によって確かめられておりまして、制限酵素切断部位についてもそこから明らかになっているところがございます。

続きまして、31ページをお願いいたします。

それぞれ挿入領域における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す。

JPBL011株のそれぞれの挿入領域並びにこれらに隣接する宿主内在配列においてオープンリーディングフレームの有無を調べるための検索が行われております。本検索については6通りの読み枠（表3通り、裏3通り）終止コドンと終止コドンに挟まれた長さ30アミノ酸以上の領域をORFと定義して検索が行われております。その結果、以下に示されるORFが検出されてございます。

それぞれのORFについて既知の毒性タンパク質の相同性検索が行われておりまして、その結果が32ページに記載されております。NCBIデータベースを用いまして、E-value 10^{-5} 未満を指標として検索が行われておりまして、その結果については、こちらに記載のとおり、それぞれの遺伝子座において検索がされておりまして、いずれの遺伝子座についてもNCBIデータベースのタンパク質にヒットしたORFはなかったと結論されております。

続きまして、34ページをお願いいたします。

諸外国における認可、食用等に関する事項でございます。改変*amyS*製品については、北米及び欧州の各国などで10年以上にわたって飼料が含有している栄養成分の有効な利用促進を目的として使用されているということでございます。

それぞれの承認状況につきましては、まず米国についてはFDAのGRAS自己認証済みということでございます。欧州につきましては、EFSAにおいて評価され、2015年に乳牛用

飼料添加物として認められたということでございます。

続きまして、35ページをお願いいたします。

組換え体の残存に関する事項でございます。生産菌の有無につきましては、改変amySの製品中に組換え体由来のDNAの残存がないことについてPCR解析によって確認がされております。その結果につきましては、検出限界1ng/g製品においてDNAが残存しないことが確認されたと記されてございます。

最後、37ページをお願いいたします。

結論でございます。「遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性の考え方」の3によると、遺伝子組換え飼料の安全性評価を行うに当たっては、遺伝子組換え添加物中に組換え体由来の新たな有害物質が生成され、これが肉、乳、卵等の畜産物に移行する可能性、遺伝子組換え飼料添加物中の遺伝子組換えに由来する成分が畜産物中で有害物質に変換・蓄積される可能性、遺伝子組換え飼料添加物中の遺伝子組換えに起因する成分が家畜の代謝系に作用し、新たな有害物質を産生する可能性があるかどうかを考慮し、そのような可能性が想定される場合に、当該飼料添加物に由来する畜産物を摂食することによりヒトの健康に影響を及ぼす可能性がないかどうかについて評価することとされているところでございまして、以下の(a)、(b)の場合を考慮し、判断を行うと記載されてございます。

まず(a)でございますが、これまで御説明をさせていただいた第1から第7までの事項によって、遺伝子組換え微生物を利用して製造された本飼料添加物については、当該遺伝子組換え技術によって生成された微生物が有害な物質を産生するとは考えられず、本飼料添加物は安全であると考えられるとされてございます。

続きまして、(b)本飼料添加物が肉、乳、卵等の畜産物中に移行する可能性についてでございますが、まずα-アミラーゼそのものについては長年飼料添加物として利用されてきておりまして、摂取した家畜等またはこれらの家畜由来の畜産物を摂食したヒトの健康に悪影響を及ぼしたという報告はないということでございます。

続きまして、本飼料添加物である改変amyS製品については、改変amyS遺伝子からコードされる改変amySは、改変amySが肉、乳、卵等の畜産物中に移行するという報告がないということございまして、したがって、本飼料添加物を摂食した家畜に由来する畜産物については、通常、安全上の新たな問題は生じないと考えられると結論されてございます。

こちらの記載のうち、改変amySが肉、乳、卵等の畜産物に移行するという報告もないという部分に関しましてどのように確認したかについて、事前に申請者に対して確認をしてございます。その回答につきましては、机上配布資料2-1の3ページ、4ページ目、⑦にございます。

どう確認したかということにつきましては、文献調査を行っているということございまして、PubMedのデータベースで行った改変amyS、そして、amyQ製品、改変amyS及びamyQが畜産物に移行するという報告はないということでございます。

また、既に海外において販売されているものでございますので、販売されている各国に

において安全性に関する問題の報告の有無について確認したところ、ないということで記載がされているところがございます。

また、本文において、こちらの黄色マーカーのとおり修正がされているということでございました。

本品目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、申請書につきまして先生方から御意見をいただきたいと思えます。

B.licheniformis、この株は今まで何度も使われておる株で、*G.stearothermophilus*は好熱菌でして、これから取ったアミラーゼはデンプンの加水分解に普通は使われていまして、要するにデンプンは水にあまり溶けませんけれども、お湯だとよく溶けますので、耐熱性の高い酵素のほうが当然有利です。

今回の申請ではこれを家畜の飼料添加物として流用するという事なので、だから、液化能とかそういうのではなくて、今回の家畜の飼料添加物として使うのにはあまり益はないといった記載があるのはそういったところかなと思えます。

一つポイントになったのは、〇〇〇からも御指摘いただいたとおり、推定分子量としては●●●Daだけれども、どう考えてもそんなにはないだろうということで、これについては説明がございまして、●●●アミノ酸のところでは質量分析をかけたらここで切れているというデータがあって、それだと分子量としてはおおむね合っているという説明でした。

*Bacillus*で作るとこのようなセカンドプロセッシングは間々あることなので、それ自体はいいかなと思うのですが、私が思うに、●●●アミノ酸で切れるという社内文書があって、これが確定しているのであれば、この申請の記述も●●●アミノ酸にしていたかかないとつじつまが合わないかなと思うわけで、それ以外の点は安全性についてはあまり問題はないかなと思うのですが、やはり当初の●●●アミノ酸のところではカットされるという社内データを持っているのであれば、最終製品が何アミノ酸でどういうものなのかということは非常に重要なポイントでして、ここは直していただかないとまずいのではないかと私は思うのですけれども、この点、先生方、いかがでしょうか。

事務局的にはどう。

〇〇〇 おっしゃるとおりかと思えます。

〇〇〇 ほかに、先生方で。

〇〇〇、この点については。

〇〇〇 座長のおっしゃるとおりかと思うので、例えば図6のところに少し矢印でも入れてもらって、ここで切れますよとかというのを本文に書いていただければいいのかなと思っていました。

〇〇〇 私もそう思います。そのくらいで、図6で実際にここでセカンドプロセッシングが起きているとかそういう記述でも、それが分かるように修正していただければいいかなと私も思います。

先生方、ほかに。

〇〇〇。

〇〇〇 従来のamyQ製品とamySでありますけれども、QとSというのは相同遺伝子だと考えていいのですか。

〇〇〇 何をもって相同遺伝子というかと問題ですね。どちらも *Bacillus* 属細菌のアミラーゼ遺伝子という意味では相同といえるでしょう。この程度のアミノ酸配列の相同性で、*Bacillus stearothermophilus* 由来ということなので、基本的には同じもの、すなわち相同遺伝子と考えてよいと思います。基本同じものだと考えていいと思います。

〇〇〇 タンパクレベルでアイデンティティーが●●●%というのは低いなど思いまして、それだけです。

〇〇〇 飼料ですしとは思いますが、〇〇〇、この見解を。

〇〇〇 これは、我々が評価しているものの中では●●●%はむしろ高いほうだと思います。そのぐらいのものを我々はいつも評価していると考えたほうが、この品目はアミノ酸配列は比較的きちんと分析している方だし、そういう前提の中で我々がどう見たらいいかというのは考えたほうがいいのではないかなと私は思います。

〇〇〇 ありがとうございます。実は似たようなことを考えていましたよ。

〇〇〇、いい。

〇〇〇 了解です。

先生方、ほかに。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 これは飼料添加物で、背景を皆さんに知っておいていただきたい。前にも一度言ったことはあると思うのですが、●●●。

もう一つあるのは、もともと餌のほうではアレルゲンの試験はORF検索とかそういうのは求めない。というのは、家畜は種類がたくさん多様にありますし、家畜のアレルギーはよく分かっていないのです。なので、アレルギーの試験というのはもともとガイドライン上の評価項目にないです。ただ、毒性タンパク質は一応求めるという形で、毒性はアレルギーと違って汎用性が高い。汎用性が高いというのは言い方が悪いですが、毒性なのでそれは見ておきましょうという形で見るという形で来ていますので、飼料添加物についてはそれに基づいてこちらのFSCのほうに上がってきます。なので、今回もORF検索に相当する部分で毒性タンパク質は出ているのだけれども、アレルギーは出ていないというのはそういう経緯になっています。

なので、この委員会としてはそういうものが上がってくるというのが前提で、それでいいかというのを一度議論しておいてほしいと思いまして、要するにアレルギーの検索はないよ、餌のほうでは求めていないよという事情で、だけれども、食品のほうはORF検索でそれぐらいはやってほしいというリクエストは出るなら出てもいいと思うのです。ただ、そういう議論をした上で、何か委員会として少し考えておいてもらったほうがいいなと思

いますので、皆さんで一度考えてみていただければありがたいなと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

厚生労働省なり、農水省なりの議論では、やはり厚生労働省でもちゃんと効き目があるのかどうかというところが確認されて、その上で回ってきますけれども、我が食品安全委員会では効き目があろうがなかろうがそれはどうでもよくて、要するに食べても大丈夫かというところさえ見れば、それが我々の仕事となっています。それもあって、まず実務官庁から我々に食べて安全かどうかだけ見てくれという諮問が来ておりますので、そういった事情があるかと思えます。

家畜の飼料の場合は、従来も例えそれにアレルゲンになるような配列があっても、それを家畜に食わせて、その肉なりなんなりを食べて、それで人間がアレルギーになるか。そのようなことは報告もありませんので、従来から我々は飼料添加物についてはアレルゲンをチェックしておりません。今回もわざわざアレルゲン検索をする必要があるとは私にはあまり思えないのですけれども、〇〇〇あたり、どう思う。

〇〇〇 直接人間の口に入れるものではないということがはっきりしているのであれば、家畜の餌としての審査を通過しているのであれば、それで問題ないかと思えます。

〇〇〇 ありがとうございます。

私もそう思いますし、ということで、〇〇〇、ありがとうございます。いろいろな事情がありましたので。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 今回これを持ち出した理由は、ORF検索でいわゆる毒性タンパク質が出てくるのですよね。だけれども、今のロジックでいくと、家畜が食べたものを人が食べてどうなのかという議論だったら、私から見ると、本来はこちらも要らないのです。だから、通常、GMのほうだといわゆるORF検索はアレルゲンと毒性といつもセットでやっていますよね。セットでやっているのだけれども、餌のほうになってしまうと、いわゆる毒性しか出てこないという形になっていて、そのGMとのバランスというわけではないのですけれども。見比べてきたときに何で毒性だけなのかなというふうに見えなくもないなど。ロジックが家畜が食べたものを人が食べてということなので、それを持ち越して人が摂取することはないよというロジックであるのだったら、毒性タンパク質との相同性検索も別になくていいじゃんと考えられなくもないなど。あともう一つは、毒性タンパク質の相同性検索があるのだったら、アレルゲンタンパク質の相同性検査があってもいいよねと捉えられなくもないなど。

だから、そこら辺がやや何となくアンバランスに見えていて、僕から言わせると気持ちが悪いです。気持ちが悪いので一度議論してほしいというリクエストだったということです。

以上です。

〇〇〇 何が本意であるかの御説明ありがとうございました。

先生方、この点について。

私は何らかの理由で毒性なりアレルゲンが人に移行する可能性が示唆されるような場合とか、チェックしたほうがいい何らかの理由があるときだけきっちりチェックすればいいのではないかなとは思うのですけれども、先生方、この点については何か御意見はいかがでしょうか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 ありがとうございます。

今のお話ですけれども、餌に添加されたものが家畜の中で完全に分解されてしまって、元の構造、機能を保つかどうかにかかっていると思うのです。もしそれが完全に分解されてしまって、元の構造、機能を維持していないとなれば、そもそもここで安全性を審査する必要がないということになるのではないかと思うのですけれども、きっちり安全性の審査を必要とするのか、しないのかということがどこかできちんと選別される必要があるのではないかなと思うのです。こういった家畜の餌の添加物が家畜の中でどこまで分解されるのか、元の形のまま残留しないのかというのは、どこかでチェックがなされているのでしょうか。私、その辺は全然詳しくないので分からないのですけれども、教えていただければと思います。

〇〇〇 それを言い出すと切りはないと思うのですが、線引きはこれが肉なり乳なりを通じて人に害を及ぼす可能性があるかないかというところになっておりますので、要は家畜で完全に分解されなくて、腸の中、もつの中に残っていても、それが人の健康に影響を与えるレベルで肉や乳に混入し得るかかどうかという点がポイントでして、その可能性がないということを確認するために家畜への添加物の審査を行っているとは私は理解しているのですけれども、事務局的には基本それでいいのだよね。

〇〇〇 ありがとうございます。

最近だとフィターゼで、魚類はやはり消化機能が弱くて、腸内に残っている内容物を直接食べる可能性があるのではというような議論がちょうどあったように記憶しておりますので、今、座長がお話しいただいたような形で、もしそういう直接食べてアレルゲン性の評価というのは必要があれば、その部分はやるというようなスタンスでこれまで評価いただいていたかなと理解はしております。

以上です。

〇〇〇 ということで、もつも、しかも、腸の中身を洗わないで食べるような可能性がある場合は考えなくてはいけない、完全に分解されているかどうかチェックしなくてはいけない。大体そういう見解になろうかと思いますが、〇〇〇、こんな感じでいい。

〇〇〇 座長がおっしゃることはもっともだと思います。ただ、そうすると、今の提出してもらっている安全性評価についての必要な項目がそれに合致しているようにはあまり思えないのですけれども、そういう議論とは違うことがたくさん記載しなければいけないよ

うになっているので、やはりこの評価書だと直接人間が食べてどうかということの評価するような感じになっているのだと思うのですが。

〇〇〇 ではあっても、やはり遺伝子組換えで作っているものである以上、どういう宿主でどうやって作ってアミノ酸配列はどうなっているか、これは確認せざるを得ないので、これは当然かと思えます。だから、実際に見なければいけないところはそんなに多くはないと言えないのですけれども、整理はしたいと思えますが、そんなに削れないかなとも思っています。

〇〇〇 削るというよりも、先ほど座長がおっしゃっていた、分解されずに人に直接入ってくる可能性があるのかどうかということを確認している項目はありますか。

〇〇〇 それは一番最後、結論のところにも肉、牛などを通じて人に健康被害を与える可能性は低いといういつもの最終結論はそうなっていますので、これに尽きるかと私は考えています。

〇〇〇 そう判断できる根拠を示す項目というのはあちこちに分散しているということでしょうか。

〇〇〇 要するに、肉とか乳とかを通じて人の口に届くかということが最終的に確認できるようになっているかということなので、いろいろな段階で確認できると思いますので、要はこの最終結論が支持できるかどうかということがポイントなので、申請してもらったデータで最終結論である肉、乳を通じて人に健康被害を与える可能性はないと結論して差し支えないということならいいかなと私は思っています。

〇〇〇 すみません。私の読解力がないのかもしれないかもしれません。分かりました。

〇〇〇 でも、今、ちょうど評価の基準の見直しの時期でもありますので、今のことはできれば簡単なメモにまとめて送っていただけると、今回の改正のときにとても重要な参考資料になりますので、忌憚のないところを寄せていただけるとありがたいなと思えますが、それはお願いできますか。

〇〇〇 分かりました。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。

それでは、セカンドプロセッシングが起こっているということは明記していただくということで、これは飼料添加物としては安全性に懸念はないと判定したいと思えますが、先生方、よろしいでしょうか。御意思の表明をお願いいたします。

(委員より同意の意思表示あり)

〇〇〇 ありがとうございます。

全員オーケーになりましたので、評価書案の審議に入りたいと思えます。よろしく願いいたします。

〇〇〇 では、「食品健康影響評価に関する資料」という評価書の束を御用意ください。

そちらの31ページをお願いいたします。

評価書案③でございます。

では、34ページをお願いいたします。

評価対象飼料添加物の概要でございます。

品目はJPBL011株を利用して生産された α -アミラーゼでございます。

用途につきましては、家畜飼料のデンプン利用性の向上ということでございます。

本添加物は、*Bacillus licheniformis* Ca63株を宿主として、*Geobacillus stearothermophilus* ATCC7953株由来の α -アミラーゼ遺伝子に改変を加えた改変 α -アミラーゼ (*amyS*) 遺伝子を導入することで作成したJPBL011株を利用して生産された α -アミラーゼでございます。

比較対象とした従来の飼料添加物は、非組換え*Bacillus amyloliquefaciens*を利用して生産された α -アミラーゼでございます。飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令によってその成分規格が設定されているものでございます。

改変*amyS*遺伝子発現カセットは、*B.licheniformis* Ca63株などに由来する3つのプロモーターを連結したP3プロモーター及び*B.licheniformis* Ca63株に由来する*amyL*ターミネーターを含みまして、そのほか、改変*amyS*遺伝子には、その産物の酸性及び低カルシウムイオン濃度領域での安定性の向上を目的とした改変が加えられているものでございます。

導入された改変*amyS*遺伝子発現カセットは宿主ゲノムの●●●か所に組み込まれたほか、別に導入された菌体外分泌タンパク質の分泌量を高める働きのある*prsA*遺伝子の発現カセット、こちらは宿主ゲノムの●●●か所に組み込まれております。これらの挿入領域には抗生物質耐性遺伝子が無いことが確認されてございます。

本添加物は、デンプンのグリコシド結合を加水分解し、オリゴ糖と及び二糖類を生成させる酵素でございます。鶏、豚及び牛の飼料に添加して、消化管でのデンプンの消化促進と利用性の向上の目的で使用されるタンパク質でございます。

食品健康影響評価についてでございます。

宿主である*B.licheniformis* Ca63株は、食品用 α -アミラーゼの生産菌として50年以上使用されてきた実績がございます。*B.licheniformis*は自然界に広く分布し、動物や人間の食べ物の中にも存在しておりまして、長年にわたって食品や食品用酵素の製造に安全に使われてきた経験がございます。有害生理活性物質及び栄養阻害物質等を生産するという報告はなく、国立感染症研究所病原体等安全管理規程におけるBSL 2及びBSL3の病原体に分類されておらず、病原体のリスク群分類のリスク群1に分類されているものでございます。

改変*amyS*遺伝子の供与体であります*Geobacillus stearothermophilus* ATCC7953株につきましては、病原体及び有害物質の産生が知られておらず、欧州食品安全機関が提供する安全性適格推定(QPS)のステータスに認定されているものでございます。改変*amyS*遺伝子は、*G.stearothermophilus* ATCC7953株由来の α -アミラーゼで遺伝子の塩基配列に人工的に改変を加えて合成されてございます。

改変*amyS*製造用原体には生産菌株由来の導入遺伝子が含まれていないことが確認されてございます。改変*amyS*は、飼料添加物として北米及び欧州等で既に10年以上にわたっ

で使用されているものでございます。

JPBL011株は、遺伝子導入部位の制限酵素による切断地図が明らかになっております。また、挿入DNA及び接合領域において既知の毒性タンパク質との構造相同性について検索した結果から、新たな有害物が生産される可能性は考えられないとしてございます。

一般的に、挿入された遺伝子または挿入遺伝子によって産生されるタンパク質が肉、牛、卵等の畜産物に移行するということは報告されておらず、本飼料添加物が肉、乳、卵等の畜産物に移行し、有害物質に変換・蓄積されることは想定されないとしております。また、家畜の代謝系に作用し新たな有害物質が産生される可能性は考えられないとしてございます。

以上のことから、本飼料添加物については、「遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方」に基づき評価した結果、改めて「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」に準じて評価する必要はなく、当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物については、人の健康を損なうおそれはないと判断したとこの記載については改めさせていただければと思います。

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。

ただいまの評価書案につきまして御意見、御指摘等はございますでしょうか。細かい字句の修正につきましてお気づきになりましたら、後ほど事務局のほうまで伝えていただければと思います。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 細かい字句の修正かもしれないのですが、35ページ目の(2)、(3)のところ、今まで使われているという中で、この資料で見ると北米及び欧州各国であって、「等」ではない。細かいのだけれども、これは事実なので、割と重要なのではないかなと思うので。

それから、10年以上というのが、これも概要を見る限りでは、上に20年以上と、これは米国でGRAS、欧州は2015年になっていますよね。とすると、GRASが10年以上前なのですかね。

その辺は、こういう具体的な数字なので、最終的に確認して、それを書いたほうがいいと思います。

〇〇〇 承知いたしました。

〇〇〇 これは何度も言っていますけれども、私たちの遺伝子組換えの調査会で外部にオープンにしているものはこの評価書だけです。樋口先生が発言された内容も、我々が外部に公開しているものは、この評価書案の34ページ、35ページあたりのことになるので、この辺に間違いがあると困ると思い指摘させていただきました。ありがとうございます。

〇〇〇 もっともだと思いますので、確認の上、修正をお願いします。

〇〇〇 承知いたしました。

〇〇〇 ほかにございますでしょうか。

それでは、本申請につきましては、セカンドプロセッシングの件について申請者に修正をいただくということで、その点は〇〇〇と事務局とで確認した上で、また、評価書案につきましては〇〇〇の指摘に従って、確認の上、修正するというので、これも〇〇〇のチェックにお付き合いをお願いします。した上で手続を進めていきたいと思ひます。

よろしいでしょうか。

それでは、議題（1）については終わりたいと思ひます。

議題（2）その他ですが、事務局から何かございますでしょうか。

〇〇〇 特にございません。

〇〇〇 ありがとうございます。

本日の議題につきましては、これで終了でございます。

では、以上をもちまして第238回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。