資料１

（案）

遺伝子組換え食品（種子植物）に関する技術的文書

~~（仮称）~~

令和〇年〇月〇日

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

目　次

１　目的 **4**

２　遺伝子組換え食品（種子植物）の全部又は一部を食品として用いる場合の食品健康影響評価について **4**

（１）食品健康影響評価において比較対象として用いる既存品種等の性質に関する事項【指針第２章第２関係】 4
ア　既存品種の分類学上の位置付け及び食経験【指針第２章第２の１及び２関係】 4
イ　既存品種の食品としての利用方法に関する事項【指針第２章第２の３関係】 5

（２）遺伝子組換え体と既存品種との相違に関する事項【指針第２章第３関係】 .. 5
ア　利用方法（栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法）【指針第２章第３の３（１）関係】 5
イ　安全性において検討が必要とされる相違点【指針第２章第３の４関係】 .. 5
ウ　既存品種以外のものを比較対象とする場合の理由【指針第２章第３の５関係】 ..... 5~~6~~

３　挿入 DNA、遺伝子産物及びコンストラクトの構築に関する事項 **6**

（１）ベクターの名称及び由来に関する事項【指針第２章第４の１関係】 6

（２）ベクターの性質に関する事項【指針第２章第４の２関係】 6
ア　ベクターの塩基数及びその塩基配列を示す事項 6
イ　既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項 7
ウ　遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子に関する事項 7
エ　伝達性等に関する事項 7

（３）挿入 DNA の供与体に関する事項【指針第２章第４の３関係】 7
ア　名称、由来及び分類に関する事項 7
イ　安全性に関する事項（アレルギー誘発性、毒素産生性を含む） ..... 8~~7~~

（４）挿入 DNA 又は遺伝子（遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物の性質に関する事項【指針第２章第４の４関係】 8
ア　挿入遺伝子の機能に関する事項 8
イ　遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子のうち、抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項 8

（５）その他導入遺伝子の機能並びに発現タンパク質の性質及び機能に関する事項【指針第２章第４の５関係】 ..... 9~~8~~

（６）ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項【指針第２章第４の６関係】 9

（７）構築されたコンストラクトに関する事項【指針第２章第４の７関係】..... 9

４　組換え体の作出及び遺伝子組換え栽培系統に関する事項..... 10~~9~~

（１）遺伝子導入に関する事項..... 10~~9~~
ア　遺伝子の既存品種への導入方法に関する事項【指針第２章第５の１（１）関係】..... 10~~9~~
イ　遺伝子組換え栽培系統に関する事項（系統の考え方に基づいた記述、育成図）【指針第２章第５の１（２）関係】..... 10
ウ　コピー数及び挿入近傍配列に関する事項【指針第２章第５の１（３）関係】..... 11~~10~~
エ　遺伝子組換え栽培系統における導入遺伝子の安定性に関する事項【指針第２章第５の１（４）関係】..... 12
オ　ORF の有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項【指針第２章第５の１（５）関係】..... 13

（２）遺伝子産物の遺伝子組換え栽培系統における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項【指針第２章第５の２関係】..... 16

５　遺伝子産物のタンパク質が一日摂取量に有意な量を占めるか否かに関する事項【指針第２章第５の３関係】..... 17~~16~~

６　遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性に関する事項【指針第２章第５の４関係】..... 17

（１）導入遺伝子の供与体（遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子供与体を含む。）のアレルギー誘発性（グルテン過敏性腸炎誘発性を含む。以下同じ。）等に関する事項..... 18

（２）遺伝子産物（タンパク質）についてそのアレルギー誘発性に関する事項. 19~~18~~

（３）遺伝子産物（タンパク質）の物理化学的処理に対する感受性に関する事項..... 19~~18~~
ア　人工胃液による酸処理及び酵素（ペプシン）処理..... 19~~18~~
イ　人工腸液によるアルカリ処理及び酵素（パンクレアチン）処理..... 21~~20~~
ウ　人工胃腸液試験の連続処理..... 22~~21~~
エ　加熱処理試験..... 23~~22~~
オ　その他..... 25~~24~~

（４）遺伝子産物（タンパク質）と既知のアレルゲン（グルテン過敏性腸炎誘発性に関与するタンパク質を含む。以下「アレルゲン等」という。）との構造相同性に関する事項..... 25~~24~~

（５）遺伝子産物（タンパク質）の IgE 結合能の検討..... 28~~27~~

７　遺伝子組換え栽培系統の代謝経路への影響に関する事項（既存品種及び既存品種に近縁な種に含まれる基質と反応する可能性に関する事項を含む。）【指針第２章第５の５関係】..... 29~~28~~

８　既存品種との差異に関する事項及び遺伝子組換え栽培系統に付与された形質の

分類に関する事項【指針第２章第５の６関係】 ..... 30~~28~~
９　諸外国における認可、食用等に関する事項【指針第２章第５の７関係】 ... 30~~29~~
１０　安全性の知見が得られていない場合に必要な事項【指針第２章第６関係】 ..... 31~~29~~
１１　その他 ..... 31~~30~~
別添１　大規模並列 DNA シーケンシングに係る解析データを評価する際の留意点 ..... 43~~31~~
別添２　遺伝子組換え植物の安全性評価における系統の考え方について ..... 49~~37~~
別添３　食品健康影響評価済みの遺伝子組換え植物を掛け合わせた品種の食品健康影響評価に関する事項（「遺伝子組換え食品（種子植物）に関する食品健康影響評価指針」の附則）の２（１）a）の解釈について ..... 52~~40~~
別添４　既存品種の代謝系の改変が行われた遺伝子組換え植物の掛け合わせ品種の安全性評価について ..... 54~~42~~
参考：既存品種情報（例） ..... 57~~45~~
参考文献 ..... 67~~55~~

１　目的

内閣府食品安全委員会において、「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」（平成 16 年 1 月食品安全委員会決定）に基づき、これまで評価を行ってきた事例を踏まえ、個別評価の中で積み重ねた評価の考え方を整理するとともに、科学技術の進歩に即した新たな解析技術や評価手法への対応を明示的に示すことを目的として、~~改正後の~~「遺伝子組換え食品（種子植物）に関する食品健康影響評価指針」（令和 ~~56~~ 年〇月食品安全委員会決定、以下「指針」という。）を補完する文書として、本文書を作成することとする。

なお、最新の科学的知見や国際的な評価基準の動向等をはじめ、新たな育種技術の研究開発が急速に進められており、これらの技術を応用した食品の評価結果などを踏まえ、適宜、見直しを行うこととする。

２　遺伝子組換え食品（種子植物）の全部又は一部を食品として用いる場合の食品健康影響評価について

（１）食品健康影響評価において比較対象として用いる既存品種等の性質に関する事項【指針第２章第２関係】

指針の第１章第４遺伝子組換え食品（種子植物）の食品健康影響評価に際しての原則と基本的な考え方で示されているとおり、遺伝子組換え体と既存品種等との比較において、新たに意図的に付加・改変・欠失された形質、新たに生じ得る有害成分の増大などのリスク及び主要栄養成分などの変化が及ぼすヒトへの健康影響などの相違点を明らかにした上で、安全性評価を行うことが合理的である。

以下の事項について明確にした上で、比較対象となり得る既存品種等があると判断されれば、それとの比較において食品健康影響評価を行う。指針第２章第２関係の申請概要の記載例については、~~別添１~~「参考：既存品種情報（例）」を参照すること。

ア　既存品種の分類学上の位置付け及び食経験【指針第２章第２の１及び２関係】

既存品種について、食品として潜在的な懸念（自然毒、アレルゲンの有無等）を有するか否かを判断するため、学名並びに~~と、~~遺伝子を導入する既存品種名及び系統名が明らかであり、その食品又は構成成分が食品として利用されてき

た歴史（食文化）及び広範囲なヒトでの安全な食経験があることを確認する。

佐々木先生：意味を読み取りやすいように加筆。 事務局：公用文の記載方法に合わせました。

イ　既存品種の食品としての利用方法に関する事項【指針第２章第２の３関係】

収穫時期と貯蔵方法、摂取（可食）部位、摂取量、調理及び加工方法が明らかであること。摂取量は、厚生労働省の国民健康・栄養調査結果のほか、~~厚生労働省、農林水産省などの各種資料~~行政機関が公表している食品摂取量データやその他の文献情報を基礎とした算定であることを確認する。

（２）遺伝子組換え体と既存品種との相違に関する事項【指針第２章第３関係】

ア　利用方法（栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法）【指針第２章第３の３（１）関係】

指針第２章第３、３（１）④（遺伝子組換え体の開発に用いた既存品種の種子とともに、遺伝子組換え後の各世代における種子が保存されていること。）に関し、組換え前の既存品種の種子とともに、組換え後の後代において、安全上の懸念が生じた際に育種系統をさかのぼって確認できるよう、各世代における種子が保存されていること。ただし、種子の保存について、組換え後の全ての世代では行わないと判断する場合、その判断の根拠について合理的な理由が示されていることが重要である。

事務局：種子の保存について、指針における規定の趣旨を明確化しました。 ご確認をお願いいたします。

~~ア~~イ　安全性において検討が必要とされる相違点【指針第２章第３の４関係】

安全性評価において、遺伝子導入により生じる意図的な変化について明らかにするとともに、比較対象となる既存品種との相違点を確認する。

~~イ~~ウ　既存品種以外のものを比較対象とする場合の理由【指針第２章第３の５関

係】

比較対象として既存品種の選定が困難又は十分でない場合には、評価対象の遺伝子組換え植物に由来する食品とそれに対応する従来から流通している食品との比較により、安全性の評価を行うことも可能である。比較対象として特定の食品を追加して用いる場合には、その根拠や考え方について明らかにされていることを確認する。

３　挿入 DNA、遺伝子産物及びコンストラクトの構築に関する事項

（１）ベクターの名称及び由来に関する事項【指針第２章第４の１関係】

遺伝子導入のために利用された導入用ベクター及び遺伝子発現カセットの名称や由来、構造についてマップが示されていることを確認する。

（２）ベクターの性質に関する事項【指針第２章第４の２関係】

ア　ベクターの塩基数及びその塩基配列を示す事項

~~導入用プラスミド~~ベクターの塩基数、構成遺伝子要素、由来及び機能、塩基配列、制限酵素による切断地図~~、DNA シーケンシングによる配列情報~~などが明らかであり、図として示されていることを確認する。

事務局：「塩基配列」と「DNA シーケンシングによる配列情報」は同じものを指していると思われたので「DNA シーケンシングによる配列情報」を削除しました。

なお、サザンブロッティングを行った場合には、ベクターの切断地図が明らかであり、~~制限酵素による切断地図を示す場合には、~~用いた制限酵素の名称のほか、断片の数、サイズ及び電気泳動パターンが明らかにされていることを確認する。

事務局：指針第２章第４の「２　ベクターの性質に関する事項」の「（１）ベクターの塩基数及びその塩基配列を示す事項」における記載（サザンブロッティングを行った場合には、ベクターの切断地図が明らかであること。

この場合、用いた制限酵素の名称のほか、断片の数、サイズなどが明らかであること。）を踏まえ、文章を修正し、明確化しました。

イ　既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

~~導入用プラスミド~~ベクターや導入遺伝子の供与体の情報から、~~ベクター~~導入用コンストラクト配列に有害生理活性物質を産生する塩基配列が含まれていないことを確認する。

ウ　遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子に関する事項

導入用コンストラクト中に遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子が導入されている場合には、その導入遺伝子について、例えば、抗生物質耐性遺伝子、農薬耐性遺伝子又は蛍光色素タンパク質遺伝子のような性質が明らかであり、機能の概略が示されているか確認する。

エ　伝達性等に関する事項

遺伝子の導入に用いられるプラスミドは、原則として、複数の生物種間で自ら移動ができる性質を有していないことを確認する。伝達性を有するプラスミドが用いられている場合には、その伝達域が明らかにされていることを確認する。

また、プラスミドが、トランスポゾンといった自律的可動性を示す配列を有する可能性がある場合には、その詳細について明らかにされていることを確認する。

（３）挿入 DNA の供与体に関する事項【指針第２章第４の３関係】

ア　名称、由来及び分類に関する事項

挿入 DNA の各構成要素の~~が複数ある場合には、申請資料において、各~~供与体に関して、名称、由来及び分類等の情報が表形式で示されていることを確認する。

児玉先生：「挿入 DNA が複数ある場合には、各供与体に関して」（原文）⇒「挿入 DNA の各構成要素の供与体に関して」（案）
事務局：修正しました。

イ　安全性に関する事項（アレルギー誘発性、毒素産生性を含む）

挿入 DNA ごとの供与体の安全性が明らかであることを確認する。供与体に関するアレルゲン性及び毒性について、これまでに遺伝子組換えに用いられた実績や文献等の情報を整理した上で、安全性に関する懸念がない旨が明らかにされていることを確認する。

（４）挿入 DNA 又は遺伝子（遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物の性質に関する事項【指針第２章第４の４関係】

ア　挿入遺伝子の機能に関する事項

挿入遺伝子の機能が適切な文献や資料により明らかにされていることを確認する。また、~~遺伝子産物に毒性タンパク質（殺虫性タンパク質など）がある~~標的生物に対して毒性を示す場合には、毒性スペクトラム、作用機序~~、~~及びヒトに毒性を示さないと考えられる根拠~~及び既知のアレルゲンとの類似性の有~~無が明らかであることを確認する~~こと~~。

児玉先生：正しい内容に修正。

事務局：挿入遺伝子から産生されるタンパク質と既知のアレルゲンとの類似性の有無につきましては、技術的文書の中で、後述の、指針第２章第５の４（遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性に関する事項）に該当する部分にまとめました。

イ　遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子のうち、抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項

遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子には、従来の抗生物質耐性マーカー遺伝子等に加え、栄養要求性遺伝子、農薬耐性遺伝子などに関する事項が整理して示されていることを確認する~~こと~~。

佐々木先生：従来の抗生物質耐性マーカー遺伝子等、栄養要求性遺伝子に加え、「農薬耐性遺伝子」を加えてはどうか。

（５）その他導入遺伝子の機能並びに発現タンパク質の性質及び機能に関する事項【指針第２章第４の５関係】

既存品種の細胞に導入してもゲノムに挿入されない遺伝子から産生されるのタンパク質がある場合は、その由来、機能及び安全性等が明らかであることを確認すること。

佐々木先生：正しい内容に修正。

（６）ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項【指針第２章第４の６関係】

既存品種へ導入するコンストラクトについて、具体的な作成方法や手順挿入 DNA のクローニングまたは合成方法が明らかであることを確認すること。導入用プラスミドコンストラクト及び発現カセットの各構成要素から構築について、多段階で行われている場合には、各段階で作成方法や手順の詳細どのように最終的なコンストラクトを作成したか、その方法が明らかであり、図等を用いてわかりやすく整理されていることを確認すること。

児玉先生：正しい内容に修正。

なお、各段階の詳細な説明は、コンストラクト名、カセット名、プラスミド名などで明確に区別されていることを確認すること。

（７）構築されたコンストラクトに関する事項【指針第２章第４の７関係】

ベクター原則として、導入用コンストラクトの構成要素ごとに略号、ベクターコンストラクト上の位置、サイズ、配列、由来及び機能について、主に表形式で整理されており、完成したコンストラクトの全体構成が把握できる記載となっていることを確認すること。コンストラクトの構成要素ごとの配列及び機能が記載されていれば、その由来等の確認は省略できる場合[1]もある。略号については、原則として学術的及び一般的に広く用いられているものがある場合には、それが記載されていることを確認すること。なお、サザンブロッティングを行った場合に

[1] 例えば、環境から直接単離される DNA 断片等が使用される場合。

は、制限酵素の名称、断片の数及びサイズなどが明らかにされていることを確認する~~こと~~。

> 児玉先生：最終的なコンストラクトで、各要素の配列及び機能などを確認できれば、由来は省略しても良いのではないか。
>
> 事務局：ご意見を踏まえ、修正案を作成しました。

４　組換え体の作出及び遺伝子組換え栽培系統に関する事項

（１）遺伝子導入に関する事項

ア　遺伝子の既存品種への導入方法に関する事項【指針第２章第５の１（１）関係】

遺伝子を既存品種に導入する際に用いた方法が明らかであることを確認する~~こと~~。例として、アグロバクテリウム法、~~ショットガン~~パーティクルガン法などが挙げられる。複数の導入方法が用いられる場合は、その詳細が示されていることを確認する。

> 小野道之先生：パーティクルガン法の方が用語として正しい。ショットガンは、ショットガンクローニングなどで使われる。
> 児玉先生：パーティクルガン法が正しい。

また、導入用~~プラスミド~~コンストラクトを用いて宿主を形質転換する際の宿主の部位（子葉など）、培養態様形態（カルス、不定芽など）、形質転換個体の選択方法、個体の継代方法、世代数などについて明らかであることを確認する~~こと~~。

> 児玉先生：「培養態様」という用語はあるのか。
> 事務局：「培養の状態」に修正しました。「培養形態」等、他に適切な用語があればご意見ください。
> 藤原先生：「培養の状態」でも問題ないが、「培養形態」がより望ましい。

イ　遺伝子組換え栽培系統に関する事項（系統の考え方に基づいた記述、育成図）

【指針第２章第５の１（２）関係】

既存品種の分類学上の位置づけ及び遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項が明らかであることを前提として、育種過程を示す樹形図（育成図）により、食品健康影響評価の対象となる世代や系統の範囲が明確に示されていることを確認する~~こと~~。その際、形質転換~~固体~~個体の選択方法、個体の継代方法及び系統の考え方について合理的な説明がされていることを確認する。

ウ　コピー数及び挿入近傍配列に関する事項【指針第２章第５の１（３）関係】

組換え体に係る安全性の評価においては、挿入配列及びその近傍配列について、原則としてすべての塩基配列が明らかにされており、導入遺伝子の構造、コピー数、大きさ及びオープンリーディングフレーム（以下「ORF[2]」という。）~~（ORF）~~解析により目的外のタンパク質を組換え体内で発現する ORF が含まれないこと等を明らかにしていることを確認する~~こと~~。

樋口先生：ORF の注釈の文章中の「様々な翻訳開始の可能性を考え、終止コドンから終止コドンの領域とする。」について、一般的に ORF と認識される領域よりも広いということを明確にするため、例えば、「必ずしも開始コドンから翻訳が開始されるとは限らない可能性を考え、終止コドンから終止コドンの領域とする。」とするのはどうか。

その際の解析技術の例として、最新の手法等を用いた DNA シーケンシングによる、全ゲノム塩基配列解析、導入遺伝子及び近傍領域の塩基配列解析、PCR（~~ポリメレース~~ポリメラーゼ連鎖反応）法を応用した~~様々なプロトコールで利用した~~導入遺伝子領域の解析、サザン~~ブロット~~ブロッティング法やその原理を取り入れた解析（Southern-by-Sequencing（SbS）解析等）などがある。

佐々木先生：「…その原理を取り入れた解析」について、現時点で既に食品健康影響評価に利用されている Southern-by-Sequencing（SbS）解析等の具体的な例示を加えても良いのではないか。

[2] ORF とは、終止コドン（タンパク質合成行程の終了を指定する塩基配列）に中断されずにタンパク質へと転写・翻訳される可能性のある塩基配列。遺伝子組換え食品等に関する食品健康影響評価指針では、様々な翻訳開始の可能性を考え、終止コドンから終止コドンの領域とする。（出典：食品安全委員会「食品の安全性に関する用語集」）

佐々木先生：サザンブロット法をサザンブロッティング法に記載を統一。

事務局：修正しました。

藤原先生：「…導入遺伝子の構造」について、遺伝子だけでなくプロモーターやターミネータ等も含まれることから、「挿入配列内の遺伝子及びその他周辺配列の構造」としてはどうか。

事務局：「遺伝子」の説明を新たに食品安全委員会の「食品の安全性に関する用語集」に掲載する予定であり、「遺伝子」にはプロモーター領域等が含まれます。

（用語集に掲載する説明案）

「遺伝子」：DNA 上で遺伝情報を担う機能的・物理的構造。転写・翻訳される構造遺伝子とその発現を調節する調節遺伝子等がある。遺伝子は、多くの場合、単一の機能を持つタンパク質をコードするオープンリーディングフレームと発現を制御するプロモーター領域等からなる。

実施した各解析について、そのプロトコール、データ処理方法と結論が明らかであることを確認する~~こと~~。DNA シーケンシングによる解析については、使用した機器名、プロトコール、生データを評価解析データに変換する際に用いたアルゴリズムの概略やバージョン、解析対象ゲノム領域が明らかであることに加えて、解析結果の信頼性に関する説明が妥当であることを確認する~~こと~~（詳細は別添~~2~~ 1 参照）。

エ　遺伝子組換え栽培系統における導入遺伝子の安定性に関する事項【指針第２章第５の１（４）関係】

遺伝子組換え栽培系統における導入遺伝子の安定性を判断するに足りる複

数の後世代（通常は５世代、少なくとも３世代）において、栽培試験の結果、DNA シーケンシング、サザンブロッティング、ウェスタンブロッティング等により、導入された遺伝子の構造、発現部位及び発現量が変化しないことをもって、安定性を確認~~することが~~できること~~を確認すること~~。

柴田先生：「安定性を確認できること」で良いのではないでしょうか。

事務局：修正しました。

また、育種過程のどの系統の何世代目の組換え体について、これらの試験が実施されたかが明らかであり、安定性を判断するのに足りるとした根拠や考察等が適切になされているか確認する~~こと~~。

藤原先生：「育種過程の…ついて、これらの…」における「、」を削除すべきでないか。もしくは、「これらの試験が育種過程のどの系統の何世代目の組換え体について実施されたかが明らかであり、」などとして修正すべきでないか。

オ　ORF の有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項【指針第２章第５の１（５）関係】

挿入配列及びその近傍配列において、既知のアレルゲン、毒性タンパク質及び有害な生理活性タンパク質と相同性のある新規 ORF が形成されていないことを確認する~~こと~~。ORF 検索では、当該領域について６通りの読み枠（表３通り、裏３通り）について終止コドンと終止コドンに挟まれた領域を検索していることを確認する~~こと~~。ORF 検索の結果、確認された ORF について、Allergen Online[3]や Comprehensive Protein Allergen Resource (COMPARE) [4]等のデータベースの最新版（最新バージョン）~~Version~~を用いて FASTA~~3~~アルゴリズム等を用いて相同性検索を行うこと（35%以上[5]の相同性を示す 80 アミノ酸以上の配

[3] Allergen Online データベースは、ネブラスカ大学食品科学技術学部の食物アレルギー研究資源プログラム（FARRP）によって開発され、管理されているもの。
Allergen Online の URL: http://www.allergenonline.org/

[4] Comprehensive Protein Allergen Resource (COMPARE) の URL: https://comparedatabase.org/

[5] FAO/WHO: Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods _Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology 22 - 25 January 2001

列及び８つの連続するアミノ酸配列[6,7]との相同性）。また、NCBI protein database[8]等のデータベースを用いて、「allergy」、「toxicity」および栄養阻害物質に関連するキーワードを用いて BLASTP 検索等で確認すること。

事務局：これまで、アレルギー性の検索に関して、「35%以上の相同性を示す 80 アミノ酸以上の配列」で相同性を確認しているが、CODEX(2009)の記載では「35%を超える相同性を示す 80 アミノ酸以上の配列」と記載されている。「35%以上の相同性」は「35%を超える相同性」とすべきではないか。

IgE cross-reactivity between the newly expressed protein and a known allergen should be considered a possibility when there is more than 35 percent identity in a segment of 80 or more amino acids (FAO/WHO, 2001) or other scientifically justified criteria. P.21 from CODEX (2009)

https://www.fao.org/3/a1554e/a1554e.pdf

手島先生：相同性検索の条件として 80 残基『35%以上の相同性』という表現が、more than 35%に由来しているので、確かに通常の文字通り訳すと 35%を超えるとなります。ただ、(FAO/WHO, 2001)の p10 の下から 7 行目のところに、1) more than 35% identity - と記した後の下から 2 行目のところで、”If any of the identity scores equals or exceeds 35% --“とあり、さらに、p11 で、上から 4 行目に、”below 35 %. In this case significant cross-reactivity is unlikely.”という説明があることから、FAO/WHO, 2001 では、”more than “は、”以上”と解釈していると考えられますので、35%以上という表現になったのではないかと思います。

また、FAO/WHO, 2001 に準拠したアレルゲン検索の行えるアレルゲ

[6] JECFA 第 80 回会合報告書である WHO Technical Report Series 995(2016)において、8 アミノ酸配列の連続一致検索が推奨されている。

[7] 連続アミノ酸の一致検索を行うことで、IgE 抗体との結合に関与する B 細胞エピトープに加えて、感作性に関与する T 細胞エピトープとの相同性についても確認を行うことが可能である。

[8] NCBI protein database の URL： https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/

ンデータベースで、（たとえば、SDAP においても）閾値で 35%、アミノ酸数 80 を用いていている。

従って、more than の解釈は、従来通り 35%以上という解釈でよいように考えるが、どうか。

樋口先生：ORF の確認について、遺伝子組換え食品の審査における意味合いなどが分かりやすくなるよう、説明を追記してはどうか。アレルゲンとしての可能性を調べる場合、どれ位の長さの ORF を検索するのが適当か。

児玉先生：ORF の長さは明示はしていないが、目安としては、例えば、30 アミノ酸以上がある。

事務局：ご意見を踏まえ、ORF が最初に出てくる箇所に脚注を付し、ORF の説明を追記しました。

事務局：検索する ORF の長さの目安を記載するかどうかについては、ご意見をお願いいたします。

児玉先生：ORF の長さの目安は、同意がとれるなら、「連続する 30 アミノ酸以上の ORF」と明記してもよいのではないか。

佐々木先生：技術的文書ですので、目安があるのであれば記載する方が申請者にはわかりやすいかと思いますが、過去の事例をみると、「30 アミノ酸」以外にも、「連続する 8 アミノ酸」、「連続する 20 アミノ酸」「3 アミノ酸」等も存在しています。ORF 検索は ORF として 30 アミノ酸以上について検索をして、そのうち、連続する 8 アミノ酸がヒットした場合には、何らかの説明が必要ということのように思います。Line 210 に「連続する 8 アミノ酸」という記載があるので、ORF も 8 アミノ酸以上で検索しないとならないようにも思います。

事務局：ORF と既知のアレルゲンや毒性タンパク質との相同性検索に用いるデータベース及び検索方法について、特定のものに限定せず、例示と同

等のものも含まれるよう、修正いたしました。そのほか、例示したデータベースの URL を脚注に記載するなど、記載を整備しました。

また、ベクターのうち導入遺伝子以外の領域（ベクターバックボーン[9]~~と称される領域~~）が宿主のゲノムに挿入されているかどうか~~の有無~~に関して解析を行い、その結論が明らかであること。

藤原先生：「導入遺伝子以外の領域」について、挿入されるのは導入遺伝子だけではないから、「導入遺伝子等の想定挿入領域以外の配列」とすべきでないか。

事務局：ご意見を踏まえ、ベクターバックボーンの説明を脚注に記載しました。当該説明は、食品安全委員会の「食品の安全性に関する用語集」への掲載案文を引用しております。

~~仮に、~~これらの領域に目的以外のタンパク質を発現する可能性のある ORF が含まれる場合は、当該遺伝子及びその遺伝子が発現するタンパク質の安全性に問題ないと判断できる合理的な理由があること。

小野道之先生：（ベクターバックボーンの解析について）分かりやすい記載にするため、段落を分けず、「これらの領域に」でつなげてはどうか。

（２）遺伝子産物の遺伝子組換え栽培系統における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項【指針第２章第５の２関係】

導入遺伝子由来の遺伝子産物の分析に用いられた検体について、遺伝子組換え栽培系統がどこで、いつ、どのように栽培された、どの世代から調製された検体か、また、その検体の採取部位が発現部位として適切か確認する~~こと~~。検体数としては、原則として、統計処理が可能な３以上とする。さらに異なる栽培条件で収穫された検体があるか確認する~~こと~~。

[9] ベクターバックボーンとは、遺伝子組換え体作製に使われたベクターに存在する塩基配列またはベクターに挿入された塩基配列であって、導入を目的とする遺伝子発現機能を有する領域の外側部分に存在する配列。（注）これまで、食品安全委員会の遺伝子組換え食品等評価書において「外骨格領域」と記載していたものと同一。（出典：食品安全委員会「食品の安全性に関する用語集」）

遺伝子産物であるタンパク質の検出、同定、定量方法としては、抗体を用いたウェスタンブロッティングやELISA法、タンパク質の質量分析情報に基づく質量分析法、などの中で、利用可能であり、特異性、定量性と感度に優れた方法を用いていることを確認すること。

> 佐々木専門委員：「タンパク質の質量分析情報」について、正しくは「タンパク質の質量情報」と記載すべきでないか。

５　遺伝子産物のタンパク質が一日摂取量に有意な量を占めるか否かに関する事項【指針第２章第５の３関係】

遺伝子産物のタンパク質の摂取量推計の最初のステップは、食品として利用される部分における発現量を求めることである。そのデータをもとに、主な可食（摂取）部における遺伝子産物タンパク質の一日摂取量について算出されていることを確認する。

副次的な可食（摂取）部位や可食（摂取）形態がある場合には、それらもすべて遺伝子産物タンパク質の一日摂取量について算出されていることを確認する。

> 柴田先生：「確認すること」でないか。
>
> 事務局：全体を通して、「確認する」と修正しました。

６　遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性に関する事項【指針第２章第５の４関係】

遺伝子組換え食品（種子植物）で新たに発現した遺伝子産物（タンパク質）は、そのアレルギー誘発性について評価を行う必要がある。その際、新たに発現したタンパク質は、特定個人が既に感受性を持つ可能性があるかどうか、また食品を介して摂取することで、アレルギー反応を引き起こす可能性が高いかどうかを考慮する。

新たなに発現したタンパク質のヒトへのアレルギー反応の予測において、以下の（１）から（４）までの事項に関して、総合的でかつ段階的に安全性を判断することは、根拠となる情報の重要性に基づいて評価を行うWOE（weight of evidence）の考えに基づいている。これは、単一の情報や実験方法からではアレルギー誘発性を予測するための十分な証拠が得られないからである。従って、（１）から（４）ま

での事項により安全性が判断できない場合には、（５）の事項を含め、総合的に判断して安全性を確認する必要がある。一方で、合理的な理由がある場合には、（１）から（４）までの事項の一部を省略することができる。

児玉先生：合理的な理由について、再利用の場合は、アミノ酸配列に相違がないことを条件に書くべきではないか。

事務局：後述の（３）の「オ　その他」の箇所で対応し、次のとおり記載しました。

（該当箇所抜粋）

オ　その他

遺伝子産物（タンパク質）の物理化学的処理は省略可能であると判断する場合、その判断の根拠について合理的な理由が示されていることが重要である。

例えば、既に食品健康影響評価を終了し、安全性が確認された遺伝子産物と同一であることが明らかである場合が該当する。

（１）導入遺伝子の供与体（遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子供与体を含む。）のアレルギー誘発性（グルテン過敏性腸炎誘発性を含む。以下同じ。）等に関する事項

導入遺伝子の供与体に関して、アレルギー反応を誘発することが知られているかどうかを明らかにすることが重要である。当該情報が得られれば、アレルギー誘発性の評価において考慮すべき方法や関連データが明らかになる。例えば、スクリーニングを目的とする血清の利用可能性、アレルギー反応の種類・程度・頻度に関する情報、タンパク質の構造的な特徴及びアミノ酸配列、供与体に由来する既知のアレルギー誘発性タンパク質の物理化学的特性等などがあげられる。

なお、複数の導入遺伝子がある場合には、各々の供与体について安全性に関する事項が明らかであることが求められる。

（２）遺伝子産物（タンパク質）についてそのアレルギー誘発性に関する事項

遺伝子産物（タンパク質）について、そのアレルギー誘発性に関する知見を文献検索等により収集した情報をもとに明らかにする。

（３）遺伝子産物（タンパク質）の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

ア　人工胃液による酸処理及び酵素（ペプシン）処理

いくつかの食品アレルゲンでは、ペプシン処理に対する耐性が認められており、ペプシン処理（消化に対する安定性）~~とは、~~アレルギー誘発性の指標の一つになる~~は相関関係がある~~とされている[10]。適切な条件下でペプシンが存在する場合に分解に対するタンパク質の耐性が認められれば、新たに発現したタンパク質がアレルギー誘発性である可能性を調べるために更なる検討を行う必要がある。

手島先生：ペプシン処理（消化に対する安定性）の記載について、 EFSA では“indicator”（ EFSA J 2010 8(7), 1700 p116, 下から 9 行目）という言葉が使われているので、「ペプシン処理とアレルギー誘発性は相関関係がある」ではなく、「ペプシン処理は、アレルギー誘発性の指標の一つになる」とを修正すべきではないか。

人工胃液試験の結果生じたタンパク質断片の分子量を電気泳動等の分析結果によって確認する~~こと~~（例：酵素処理後の試料の SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）による分離に続くタンパク質染色（CBB 染色など）又は免疫反応性による可視化（特異的抗体を用いたウェスタンブロッティング法~~等）~~、ELISA 法等）、あるいはこれらと同等または類似の方法によって示されていること）[11]~~によって確認すること~~。

[10] 近年、ペプシン耐性試験に加えて、ヒトの生理学的条件を模倣した他の *in vitro* 消化性試験を用いて、新規発現タンパク質の消化に対する耐性を評価することが推奨されている（EFSA 2010）。現在使用されているペプシン耐性試験は、胃消化の生理学的条件を模倣するように設計された *in vitro* 消化性試験ではないが、ペプシンに対する感受性/耐性の識別の指標の一つであり、証拠の重み付けアプローチによる安全性評価の一部として、無傷の発現タンパク質による潜在的なばく露の最も有用な評価法として残っている（EFSA 2022）

~~[11] 近年、ペプシン耐性試験に加えて、ヒトの生理学的条件を模倣した他の *in vitro* 消化性試験を用いて、新規発現タンパク質の消化に対する耐性を評価することが推奨されている（EFSA 2010）。現在使用されているペプシン耐性試験は、胃消化の生理学的条件を模倣するように設計された *in vitro* 消化性試験ではないが、ペプシンに対する感受性/耐性の識別の指標の一つであり、を区別することができ、証拠の重み付けアプローチによる安全性評価の一部として、無傷の発現タンパク質による潜在的なばく露の最も有用な評価法として残っている（EFSA 2022）~~

その際、試験に供したタンパク質試料の初期量が示されているとともに、消化による試料タンパク質及びその低分子化断片（分子量約 3.5kDa 以上[12,13]）の~~量の~~経時的変化等が定性的又は定量的に示されていることが望ましい[14]。なお、本試験における酵素と基質の濃度や pH などの反応条件が試験結果に大きく影響する場合には、実施した試験条件と結果を明示してあること。

手島先生：分解性試験で、断片化の定量的な経時変化の値まで求めるのは厳しいと思う。タンパク質の純度が十分でない場合も多いので、求めたとしても定性的な経時変化を示すことでよいのではないか。また、Codex ガイドライン Annex1「アレルギー誘発性評価」(2001)に書かれているように、分子量 3.5kDa の断片まではモニターするのが望ましい等、低分子断片の分子量の目安を示した方がよいのではないか。

【低分子断片の分子量の目安】

Huby-RDJ らの論文(Toxicol.Sci 55, 235, 2000__p237, line 10)では、架橋形成に 3kDa （1 つの抗体の IgE に結合する抗原側の抗原決定基（エピトープ）に位置するアミノ酸の数が約 15 個で、受容体の架橋形成に最低必要となる 2 つ目の抗原決定基 15 個とあわせて 30 個が必要で、アミノ酸 1 個の分子量を 100 と考えると、3000Da(3kDa))が必要となると一般に考えられている。私達の論文(Takagi-K et al; Biol.Oharma.Bull 26, 969, 2003__p970 の右段の 16 行目)にも消化性試験において 3kDa 以上の分子量の残存を調べている旨のことを述べている。ただし、エピトープ部位を構成するアミノ酸の種類によって、アミノ酸 30 個といっても分子量が変わるため、Codex ガイドラインに従って、3.5kDa としても問題ないと考える。

[12] Codex_CAC/GL 45-2003_GUIDELINE FOR THE CONDUCT OF FOOD SAFETY ASSESSMENT OF FOODS DERIVED FROM RECOMBINANT-DNA PLANTS

[13] Report of Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology (2001): Section "6.4 Pepsin Resistance"

[14] EFSA2010 において、ペプシン耐性試験では、被験タンパク質の無傷性に加えて、安定なタンパク質断片の発生もリスクファクターとして考慮する必要がある。そのため、ゲル電気泳動などの検出方法では、低分子化したタンパク質の断片の検出が不十分な~~を検出できない~~場合は、HPLC や LC-MS などの代替方法を実施する必要があるとされている。

イ　人工腸液によるアルカリ処理及び酵素（パンクレアチン）処理

児玉先生：人工胃腸液試験を連続で実施することを必須とするべきかどうかについて、アレルギーをご専門とする先生のご意見を伺いたい。

手島先生：人工胃腸液試験を連続で実施することを必須としなくてもよいと考える。ただ、必須項目でなく、例えば欄外に、”人工腸液での消化がほとんどおこなわれず、人工胃液での消化も比較的遅く、断片が所定の時間内でも観察される場合は、オプションで、人工胃腸液試験を連続して実施することを推奨する”旨を記し、選択項目とすることでよいのではないか。

安達先生：人工胃液及び人工腸液の両方で、タンパク質断片が残る等、消化性が明確でなかった場合は、人工胃腸液試験の連続した実施を求めるのがよいのではないか。

事務局：新たにウとして「人工胃腸液試験の連続処理」を追記しました。

FAO/WHO(2001)及びCodex(2003)において、ペプシン処理以外にその他の酵素感受性試験も用いても良いとされており、人工腸液単独による感受性試験を実施してあるか確認する。酵素として、一般的なパンクレアチン又はトリプシンが使用されており、その試験条件と結果の詳細が明示されていること。

人工腸液試験の結果生じたタンパク質断片の分子量や量を電気泳動等など の分析結果によって確認すること（例：SDS-PAGE による分離に続くタンパク質染色（CBB 染色など）又は免疫反応性による可視化（特異的抗体を用いたそウェスタンブロッティング法、ELISA 法等）、あるいはこれらと同等又は類似の方法によって示されていること）。

その際、試験に供したタンパク質試料について、胃液処理前及び胃液処理後、腸液処理前のそれぞれの初期量が示されているとともに、消化による試料タンパク質及びその低分子化断片（分子量約 3.5kDa 以上）の量の経時的変化が定

性的又は定量的に示されていることが望ましい。

手島先生：イは、人工胃液試験の項目であることから、試験に供したタンパク質試料の初期量等について、「腸液処理前」だけでよいのではないか。

事務局：「胃液処理前及び胃液処理後」を削除するとともに、人工胃液処理試験の項目に記載をあわせましました。

事務局：人工胃液試験の記載に合わせて低分子化断片の分子量目安を追記しました。

ウ　人工胃腸液試験の連続処理

ア~~及びイ~~で試験に供したタンパク質及び低分子化断片が所定の時間内でも観察される場合には、人工胃腸液試験を連続して実施することを推奨する。

その際には、試験に供したタンパク質試料について胃液処理前及び胃液処理後並びに腸液処理前のそれぞれの初期量が示されているとともに、消化による試料タンパク質及びその低分子化断片（分子量約 3.5kDa 以上）の経時的変化が定性的または定量的に示されていることが望ましい。

児玉先生：「ア及びイで試験に供した」（原文）について、ペプシンで低分子が残った場合なので、「アで試験に供した」でいいと思います。

事務局：修正しました。

事務局：どのような状況の時に人工胃腸液試験の連続処理を行うのが妥当でしょうか。

手島先生：人工胃液で処理を行って、通常数分以内に低分子（3.5 kDa 以下）化すれば、消化性がよいと判断し、連続処理は必要ないと考えます。ただし、人工胃液での消化の際に、断片を伴って消化される時、その断片が 30 分以上残る時は、人工胃液での消化性は低いと考えますが、この際に、その断片の人工腸液での消化を知るために、人工腸液の連続処理を行えば、断片についても消化性を判断できることになります。これは、実際の生体での消化の流れを模していることにもなります。

エウ　加熱処理試験[15]

タンパク質のアレルギー誘発性に影響を与える項目~~関する判断項目~~の一つとして、加熱・加工に対する安定性がある。被験試料~~資料~~を適切な温度、処理状態（溶液 pH、湿度、粉末など）、時間などの条件で処理し、その後の試料の状態を、物理化学的及び生物学的又はいずれかの方法で確認する~~こと~~。試料の状態が、温度によってどのように変化したのかが確認できるデータであること~~温度依存性のデータがあることが望ましい。~~なお、加熱処理試験の条件にはヒトが経口摂取する際に処理される場合と同等の条件を含むことを確認する~~こと~~。

児玉先生：Ara h 1 は加熱した方がアレルゲン性が高まるようだが、これが凝集することが理由だとすると、ELISA 法などで検出できなくなることをもって、変性したと判断し、健康影響を評価するのは不十分である可能性があるのではないか。厳密に運用するのであれば、加熱試験で凝集が疑われた場合には、逆に、ペプシンやパンクレアチンで完全消化されていることを確認すべきか。加熱した場合の消化性とエピトープの残存については、少し検討した方が良いのではないか。 手島先生：タンパク質を加熱後、消化性を調べた論文として、私達((Takagi-K et al; Biol.Pharma.Bull 26, 969, 2003)及び Okunuki-H et al; J.Food Hyg. Soc. Japan 43, 68, 2002)の行った、加熱（100℃、5min）後のいくつかのタンパク質の SGF, SIF による消化性を調べた論文がある。奥貫らの論文では、遺伝子組換え植物の挿入タンパク質である CP4-EPSPS 及び Cry1Ab の加熱前処理を行うことで、SIF による消化性が著しく上昇したことが述べられている。また、高木らの論文では、アレルゲンタ

[15] 食品の加工、特に熱処理は化学的/物理的修飾を誘発し、酵素消化の安定性に影響を与える可能性があり、その結果、時間と温度に応じてさまざまな程度で食物タンパク質のアレルギー誘発性に影響を与える可能性があるとされている。一部のアレルゲン（牛乳カゼイン、Ara h 1 など）の物理的安定性（凝集能力）は、それらのアレルゲン能力を説明するパラメーターである（EFSA 2022）。

ンパク質の OVA では、加熱前処理により構造変化がおき SGF 及び SIF の消化性が大きく上昇したこと、一方、BSA や OVM（オボムコイド）では、加熱の影響がほとんどみられなかったことを述べている。一般に、タンパク質の構造変化を起こしやすいものは、アレルゲン性が低く、消化性も上昇する傾向にある。

ただ､今回の児玉先生の御質問にある Ara h 1 に関しては､Koppelman-SJ らの論文(J. Biol. Chem. 274, 4770, 1999)4)にあるように、加熱により、部分的に構造変化が起きて安定な 3 量体になるが、IgE 抗体との反応性は 50 - 140℃の間で温度によってほとんどかわらないこと(table 1)等が報告されている。従って、Ara h 1 の場合は、加熱で構造変化がおきてもアレルゲン性の低下のみられないケースで、IgE 抗体との結合部位は､加熱処理にあまり影響を受けない部位に限局されている可能性などが述べられている。IgE 抗体との結合活性は、100ug/ml 程度以下の濁りのそれほど大きくない濃度で調べられており、native Ara h 1 を固相とした競合 ELISA 法で調べられている。

以上より、Ara h 1 の場合、加熱してアレルゲン性が上昇するというよりは、加熱によってもアレルゲン性が低下しないということが正確で、凝集することが理由というよりは、凝集しても活性が低下しないという表現が正確である。また、明らかに不溶性の凝集がみられ、濁りが生じるようになるのは、タンパク質濃度が 0.5mg/ml 以上の時で、100ug/ml 程度以下では大きな濁りは生じていないとの報告もされているため、サンドイッチ ELISA で Ara h 1 を測定するのであれば、濁りによる影響はほとんどないのではないか。

今後、加熱によって、凝集体を生じる案件がでてきた場合に、凝集体の生成の程度等により､抗体との反応性をどのような条件で調べたかを詳しく記載する等､何らかの対応が必要かどうかを検討するのがよいのではないか。

安達先生：加熱による凝集が疑われた場合は、加熱後の消化性について検討する

のがよいのではないか。

事務局：評価上の位置付けについてご意見をください。

手島先生：加熱処理試験を、ヒトが経口摂取する際に処理される場合と同等の条件で行うとする時には、熱安定性があるタンパク質はアレルギーを誘発しやすいというアレルゲンとしての性質を問うのではなく、食品としての加工の過程が、タンパク質のアレルギー誘発性を含むタンパク質の機能や構造に与える影響について調べるというスタンス（食品添加物の酵素の場合にこの判断をしていると思料。）でよいのではないか。

~~エ~~オ　**その他**

遺伝子産物（タンパク質）の物理化学~~科学~~的処理は省略可能であると判断する場合、その判断の根拠について合理的な理由が示されていることが重要である。

例えば、既に食品健康影響評価を終了し、安全性が確認された遺伝子産物と同一であることが明らかである場合が該当する。

（４）**遺伝子産物（タンパク質）と既知のアレルゲン（グルテン過敏性腸炎誘発性~~グルテン過敏症腸疾患~~[16]に関与するタンパク質を含む。以下「アレルゲン等」という。）との構造相同性に関する事項**

遺伝子産物（タンパク質）と既知のアレルゲン等の一次構造を比較し、既知のアレルゲン等と構造相同性を有しないことを確認する。抗原決定基（エピトープ）を示す可能性のある配列を明らかにするためには、アミノ酸配列に関する相同性検索などを実施する必要がある。遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子等）を用いている場合にはその遺伝子産物についても既知のアレルゲン等と構造相同性を有しないことを確認する。

[16] （EFSA2022） グルテン過敏性腸症またはセリアック病は、もともと遺伝的にその素因をもっている患者がグルテン（グリアジン）に反応して引き起こされるＴ細胞性免疫反応である。この疾患で顕著なのは小腸の炎症で、罹患すると吸収不良を起こし体力消耗・貧血・下痢・骨痛その他の症状が現れる。患者は、一生を通じて小麦・ライ麦・大麦などの穀物に含まれるグルテンの摂取を避けなくてはならない。

小野道之先生：抗生物質耐性マーカー遺伝子について、除草剤耐性遺伝子等、抗生物質耐性遺伝子以外の選抜に関わる遺伝子を想定して、「等」を入れるべきではないか。

遺伝子産物（タンパク質）と既知のアレルゲン等の一次構造の比較について、Allergen Online ~~(http://www.allergenonline.org/)~~ や Comprehensive Protein Allergen Resource（COMPARE~~: https://comparedatabase.org/~~）等のデータベースの最新版（最新バージョン）を用いて FASTA~~3~~ アルゴリズム等により相同性検索（35%以上の相同性を示す 80 アミノ酸以上の配列~~[17]~~及び 8 つの連続するアミノ酸配列~~[18],[19]~~との相同性検索）を行っていることを確認する~~こと~~。

さらに、遺伝子導入用コンストラクトに含まれる挿入予定配列が宿主ゲノムに予定通りに整然と挿入されなかった等の理由により目的とする遺伝子産物以外の遺伝子産物の存在が否定できない場合、~~遺伝子導入用ベクター（遺伝子導入用ベクター）に含まれる~~遺伝子導入用コンストラクトの挿入により生じた目的外の ORF ~~オープンリーディングフレーム（以下「ORF」という。）~~から産生される可能性のあるタンパク質についても、既知のアレルゲンとの相同性検索を行っていることを確認する。

藤原先生：「遺伝子導入用コンストラクトの挿入により生じた目的外の ORF…」について「遺伝子導入用コンストラクト等由来の DNA 断片の挿入により生じた目的外の ORF…」としてはどうか。

加えて、挿入遺伝子配列と宿主ゲノムとの境界領域に生じ得る ORF 産物についても、既知のアレルゲンとの相同性検索を行っていることを確認する。

藤原先生：　「挿入遺伝子」でなく「挿入配列」としてはどうか。

~~[17] FAO/WHO(2001)。なお、既知のアレルゲンとの一次構造との比較に関するバイオインフォマティクス評価手法は、科学技術の進歩に応じ、その時点での適切な手法に基づくものとする。~~

~~[18] JECFA 第 80 回会合報告書であるの WHO Technical Rreports Sseries 995(2016)において、8 アミノ酸配列の連続一致検索が推奨されている。~~

~~[19] 連続アミノ酸の一致検索を行うことで、IgE 抗体との結合に関与する B 細胞エピトープに加えて、感作性に関与する T 細胞エピトープとの相同性についても確認を行うことが可能である。~~

391

事務局：検索対象として、①挿入遺伝子産物、②遺伝子導入用コンストラクト（遺伝子導入用ベクター）の挿入による目的外 ORF 産物、③挿入遺伝子とゲノムとの境界領域に生じ得る ORF 産物、の３種があり全てを検索することが理想。②は技術的な理由により実施できない場合がある。このような現状を踏まえて、記載内容をご検討ください。

児玉先生： 植物では、遺伝子が多コピーで挿入される場合、タンデムにきれいに挿入されることが珍しいので、構造を明らかにする必要があることから、きれいなタンデムで多コピー挿入される微生物のように、挿入遺伝子の構造が分からないような場合には、安全性が確認できない。従って、構造がわからないものは、安全性を評価できないので、②は不要ではないか。

手島先生：細胞に遺伝子を挿入する場合に、目的タンパク質（挿入）遺伝子をベクターに組み込んで挿入するが、細胞には、目的タンパク質遺伝子に加えて、遺伝子を発現するためのベクター由来のプロモーター及びターミネータなどが一緒に挿入遺伝子として組み込まれることになる。従って、細胞ゲノムとの境界領域は、(5’末端は、ベクター由来のプロモーターや 3’末端はベクター由来のターミネータ）ということになり、挿入遺伝子とゲノムの境界領域は、ベクターの 5‘及び 3’末端の近傍配列をさすことになり、③はそのことを指していると思う。②もベクターの挿入部位をさすとすると、③でのべていることに含まれると思ったが、②がベクターの挿入で、目的タンパク質を発現させるための full genome でなく一部が欠損したものが挿入されることなどを想定しているとすると、③とは異なるため、②と③は別のものとして考えるという当初の案の方に賛同。

392

事務局：「35%以上の相同性を示す 80 アミノ酸以上の配列」の記載については、

「４（１）オ　ORF の有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項」の議論を踏まえて対応。

その際、検索に用いたデータベースとそのバージョンが示されており、最新の検索結果であることが明確であること。審査期間中にデータベースの更新があれば、それを用いて再検索を行っていることを確認すること。

~~（例）Allergen Online データベースは、ネブラスカ大学食品科学技術学部の食物アレルギー研究資源プログラム（FARRP）によって開発され、管理されている。~~

また、上記の遺伝子産物（タンパク質）及び~~30 アミノ酸以上からなる~~ ORF 産物（タンパク質又はペプチド）~~オープンリーディングフレーム（以下「ORF」という。）~~について、NCBI protein database~~（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/）~~等のデータベースを用いて、BLASTP 検索等により相同性のあるタンパク質の検索を行うとともに、「allergy」、「toxicity」及び栄養阻害物質に関連するキーワードを用いてデータベース検索を行っていることを確認する。

事務局：記載を整備しました。 ORF の検索条件の記載（例えば、ORF の検索条件は 30 アミノ酸以上又はそれより厳しい条件とするなど。）については、「４（１）オ　ORF の有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項」の議論を踏まえて対応。

（５）遺伝子産物（タンパク質）の IgE 結合能の検討

（１）～（４）までの事項を総合的に確認した結果、人の健康を損なうおそれがないと判断できない場合は、遺伝子産物（タンパク質）の IgE 結合能を検討する。

当該遺伝子産物（タンパク質）および類似性の高いタンパク質のアレルゲン性が既知であり、そのアレルゲンに反応する IgE が患者血清などから利用可能である場合は、BAT（好塩基球活性化試験）など細胞を用いた in vitro 試験を実施し

ていること[20]。

使用するアレルギー患者血清の選択は、下記の①から④のいずれかで行っていること。

① 挿入遺伝子の供与体がアレルギー誘発性を持つ場合は、その供与体に対する特異的 IgE 抗体価が高値な血清

② 既知のアレルゲンとの構造相同性が認められた場合は当該アレルゲンを含む生物に対する特異的 IgE 抗体価が高値な血清

③ 既知のアレルゲンとの構造相同性が示されないが、上記（１）から（３）の項目で、アレルギー誘発性を否定しきれない場合は、遺伝子供与体の近縁種生物に対して特異的 IgE 抗体価が高値な血清

④ ①から③で適切な血清が得られない場合は、優先的なアレルゲン[21]（卵、乳、大豆、米、小麦、そば、たら、えび、かに及び落花生）に対して特異的 IgE 抗体価が高値な血清

挿入遺伝子の供与体がアレルギー誘発性を持つ場合で、遺伝子産物（タンパク質）に対するアレルギー患者血清を用いた IgE 結合能の検討で陰性結果が得られたものの、なお安全性の証明が十分ではないと考えられた場合は、好塩基球活性化試験又は皮膚テストや経口負荷試験などの臨床試験データも考慮して総合的に判断することが必要である。

７　遺伝子組換え栽培系統の代謝経路への影響に関する事項（在来種中の既存品種及び既存品種に近縁な種に含まれる基質と反応する可能性に関する事項を含む。）【指針第２章第５の５関係】

導入した遺伝子から生産されるタンパク質が酵素である場合は、その基質特異性

[20] (EFSA 2021)要件を満たすために、よく特徴付けられたアレルギー患者から血清を収集する必要がある。これらの個人は、特定の食品に対するアレルギーの病歴と、その食品の消費との因果関係を提示する必要がある。またプールされた血清ではなく、個々の血清を使用する必要がある(EFSA GMO Panel, 2010, 2011)。このような研究に要求される血清は、常に利用できるとは限らない。

[21] 優先的な食物アレルゲン（Priority Allergen List）に含まれる、非公式に「Big 8」と呼ばれる品目は以下の品目群である（FAO/WHO2022)。1.グルテンを含む穀類、すなわち小麦、ライ麦、大麦、オート麦、スペルト小麦、またはそれらの雑種系統およびこれらの製品、2.甲殻類およびこれらの製品、3.卵および卵製品、4.魚および魚製品、5.落花生、大豆およびこれらの製品、6.牛乳および乳製品（乳糖を含む)、7.木の実および木の実製品、8.10mg/kg 以上の濃度の亜硫酸塩。

が明らかにされており、遺伝子組換え栽培系統の代謝経路への影響について合理的な説明がされていること。

また、遺伝子産物が酵素として組換え体内の代謝系に働き、関与成分が変化した場合は、その変化について、安全性に問題ないと認める合理的な理由があること。

８　既存品種との差異に関する事項及び遺伝子組換え栽培系統に付与された形質の分類に関する事項【指針第２章第５の６関係】

遺伝子組換え栽培系統と既存品種における構成成分の分析、構成成分の栄養学的評価について、表と文章で確認する。

~~宿主~~既存品種以外のものを比較対象に追加して用いる場合、その根拠及び食品としての性質に関する事項が明らかにされていること。

佐々木先生：「宿主」について、「既存品種」でしょうか。

事務局：修正しました。

~~栄養改変等を目的としている場合には、意図したもの以外について有意な差がないことや、意図した成分等については安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があることを確認すること。~~

事務局：評価指針（案）における第５の６の（２）の記載と同じ記載であるため、技術的文書からは削除しました。先生方で、補完すべき内容がございましたら、ご意見をお願いいたします。

~~別添３~~指針の別添「食品健康影響評価済みの遺伝子組換え植物~~の~~を掛け合わせた品種の食品健康影響評価に関する事項」に基づき、遺伝子組換え植物に付与される形質について、遺伝子組換え栽培系統の分類（カテゴリー１～３）がされており、その理由が明らかであること。

９　諸外国における認可、食用等に関する事項【指針第２章第５の７関係】

海外当局における申請・認可、食用等に関する事項が明らかであること。また、海外当局へ申請中である場合には、申請年や審査状況について、可能な範囲で明ら

かにされていること。

１０　安全性の知見が得られていない場合に必要な事項【指針第２章第６関係[22,23]】

上記２から９までの事項から、安全性の知見が得られていないと判断される場合には、当該遺伝子組換え体の安全性を確認するためのに必要と考えられる試験を実施し、その結果から食品として安全性が確認できること。

１１　その他

新たな育種技術（New plant Breeding Techniques: NBT）として、①従来の突然変異育種法による変異体の作出効率を高めることを目的としたもの（ゲノム編集技術による点変異導入や数塩基対欠損等、オリゴヌクレオチド誘発突然変異導入技術等）、②従来の交雑育種法等による育種年限の短縮を目的としたもの（果樹類の世代促進法、アグロインフィルトレーション等）など様々な技術の開発が進められている。NBT の特徴としては、育種の一部過程で遺伝子組換え技術を利用するが、最終的に商品化される農作物には組換えに用いた外来の遺伝子が存在せず、自然界の多様性からの選抜や従来の交雑育種法及び突然変異育種法によっても同等のものが作出される点である。

佐々木先生：①には、ゲノム編集技術の中には長い遺伝子を相同組換えによって導入する方法（いわゆる SDN-3）も含まれる。ゲノム編集技術という単語ではこの辺が曖昧になってしまうことから「ゲノム編集技術による点変異導入や数塩基対欠損等」と追記すべきではないか。

NBT は、現在も開発途中であることからにより作出された農作物由来の食品の評価では、特に●●、●●について重点的に評価を行うなど、最新の科学的知見に基づいた評価を実施できるよう、適宜、技術的文書を改正していく手法の検討が必要がである。

[22] Codex_CAC/GL 45-2003_GUIDELINE FOR THE CONDUCT OF FOOD SAFETY ASSESSMENT OF FOODS DERIVED FROM RECOMBINANT-DNA PLANTS

[23] EFSA Journal 2011; 9(5):2150_ SCIENTIFIC OPINION Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO)

佐々木先生：GM 台木等を利用した接ぎ木についての記載は必要か。現時点では不要とも思うが議論はしておいても良いのではないか。

事務局より：NBT により作出された農作物由来の食品の評価に関して、特に評価手法の検討が必要と考えられるものについてご意見をお伺いできますでしょうか。

山川先生：NBT は、まさに開発途中の技術であることから、今後開発される技術に適切に対応した安全性評価ができるよう、技術的文書を適宜改正することを明記すべき。

484

485

事務局：別添１の既存品種情報の例は、参考情報となりますので、参考と記した上で、別添資料の後に移動しました。

~~別添１　既存品種情報（例）~~

~~○トウモロコシ（デント種）~~

~~１　既存品種の分類学上の位置付け（学名、遺伝子を導入する既存品種名及び系統名等）に関する事項~~

~~遺伝子を導入する既存品種は、イネ科トウモロコシ属のトウモロコシ（*Zea mays* subsp. *Mays*（L.）Iltis）のデント種 YYY 系統である。~~

~~２　既存品種の食経験に関する事項~~

~~トウモロコシの栽培は、紀元前 2000 年頃に中央アメリカ全域で既に行われていたと考えられ、食品としての利用の歴史は古い（戸澤，2005）。1492 年のコロンブスの新大陸発見を契機にヨーロッパへ伝播し、その後アフリカやアジアへ伝えられ、現在では世界中で食品や飼料等に広く利用されている。我が国へは、16 世紀末にヨーロッパからポルトガル人によって運ばれたと考えられている。稲作の困難な山間部で栽培されることが多く、九州山地、四国山地及び富士山麓等では、長期にわたり主食にされた（戸澤，2005）。~~

~~３　既存品種の食品としての利用方法に関する事項~~

~~（１）収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法~~

~~一般にトウモロコシの収穫は秋季に行われ、乾燥後、常温で貯蔵される。WWW 系統の収穫時期や貯蔵方法は、従来のトウモロコシと相違ない。~~

~~（２）摂取（可食）部位~~

~~トウモロコシの摂取部位は雌穂に形成される子実である。WWW 系統の摂取部位は、従来のトウモロコシと相違ない。~~

~~（３）摂取量~~

WWW 系統の摂取量は、従来のトウモロコシと相違ない。

（４）調理及び加工方法

WWW 系統の調理及び加工方法は、従来のトウモロコシと相違ない。

４　既存品種の遺伝的先祖及び育種開発の経緯並びに近縁の植物種に関する事項

トウモロコシの遺伝的祖先は同じ *Zea* 属のテオシントで、人為的選抜を経て栽培化したと言われている（OECD, 2003）。原産地は、メキシコ、中米又は南米等と考えられている（OECD, 2003）。

紀元前 5000 年頃のトウモロコシ野生種の穂軸と考えられる遺物が、メキシコのテワカン渓谷の洞窟住居跡で発見されている。その後、紀元前 3400 年頃までに、栽培化したトウモロコシが現れたと考えられている（戸澤, 2005）。栽培適性の異なる多くの品種が育成された結果、現在では北緯 60 度～南緯 40 辺りまで栽培地域が拡大し、世界で最も広く栽培されている作物となっている（戸澤, 2005）。

トウモロコシの近縁種として、テオシント及びトリプサクム属が知られているが（OECD, 2003）、わが国において自生についての報告はなく、食用としての利用はない。

５　既存品種由来の食品の構成成分等に関する事項

（１）既存品種の可食部分の主要栄養素等（タンパク質、脂質等）の種類及びその量の概要

トウモロコシの可食部分は子実であり、主要構成成分の種類及びその含有量（OECD, 2002; ILSI, 20xx; その他 xxx）は以下のとおりである。

粗タンパク質（○○-○○）、粗脂質（××-××）、総食物繊維（○○-○○）、灰分（××-××）、淡水化物（○○-○○）である。

（２）既存品種に含まれる毒性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質。例えば、トリプシンインヒビター、フィチン酸等）等の種類及びその量の概要

トウモロコシには、ヒトの健康に悪影響を与える毒性物質の産生性は知られて

~~いない。栄養阻害物質として、フィチン酸、ラフィノースが知られている（OECD, 2002）。トリプシンインヒビターも含まれているが、含有量が低く、栄養学的に問題にならないとされている（OECD, 2002）。文献に基づくこれらの含有量（OECD, 2002; ILSI, 20xx; その他 xxx）は以下のとおりである。~~

~~フィチン酸（○○-○○）、ラフィノース（××-××）、トリプシンインヒビター（○○-○○）である。~~

~~6　既存品種のアレルギー誘発性等に関する事項~~

~~トウモロコシ中に含まれる 9 kDa の脂質輸送タンパク質（Lipid Transfer Protein）及び 16 kDa のトリプシンインヒビター（Pastorello et al., 2000）、26 kDa のα-ゼイン前駆体（Pastorello et al., 2009）、30 kDa のキチナーゼ-A（Volpicella et al., 2017）並びに 50 kDa のγ-ゼイン（Lee et al., 2005）が食物アレルゲンである可能性が示唆されている。しかしながら、トウモロコシは一般的にアレルギー誘発性食品とはみなされておらず（Codex Alimentarius, 1999; OECD, 2002）、わが国のアレルギー表示対象品目（消費者庁, 2020）及び国際的な食物アレルギー表示規制の対象品目ではない（Allen et al., 2014）。~~

~~7　既存品種の栽培および流通過程において、健康に影響を及ぼす外来因子に関する事項~~

~~トウモロコシには、ウイルス、細菌及び糸状菌による各種病害が知られているが（OECD, 2003）、これらがヒトに対して病原性を持つことは知られていない。~~

~~8　既存品種の安全な摂取に関する事項~~

~~トウモロコシは、コメ、コムギとともに、世界の主要穀物の一つで、古くから食されている。デント種は主に飼料用として栽培されているが、コーンスターチの原料として利用されるほか、食用油やスナック菓子に加工されて摂取されており、安全な食品としての長い利用の歴史をもつ。~~

㊀ダイズ既存品種情報

１　既存品種の分類学上の位置付け（学名、遺伝子を導入する既存品種名及び系統名等）に関する事項

遺伝子を導入する既存品種は、マメ科（*Leguminosae*）ダイズ属（*Glycine*）*Soja* 亜属に属するダイズ *Glycine max*（L.）Merr. の商業品種 AAA（又は AAA 系統）である。

２　既存品種の食経験に関する事項

紀元前 2838 年の中国の文献にダイズが記録されている。また、歴史的及び地理的な証拠から、紀元前 17-11 世紀には中国で最初に栽培化が始まり、その後朝鮮、日本、アジア地域へ伝播したことが示唆されている（OECD, 2000）。日本への渡来は約 2000 年前（FAO, 1992）、アメリカへは西暦 1765 年に導入された（OECD, 2000）。このような栽培化の過程において、人類はダイズに関する長い食経験を有している。

３　既存品種の食品としての利用方法に関する事項

（１）収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法

BBB 系統の収穫時期および貯蔵方法は、従来のダイズと相違ない。

（２）摂取（可食）部位

BBB 系統の可食部位は、従来のダイズと相違ない。

（３）摂取量

BBB 系統の摂取量は、従来のダイズと相違ない。

（４）調理及び加工方法

食品としての利用に関する（２）及び（３）などから、BBB 系統の調理及び加工方法に関しても、従来のダイズと相違ない。

４　既存品種の遺伝的先祖及び育種開発の経緯並びに近縁の植物種に関する事項

Soja 亜属に属するダイズの野生種として、ツルマメ（*G. soja*）が知られている。*G. soja* は、我が国を含め朝鮮、台湾、中国北東部とロシア国境周辺に自生しており、細胞学的、形態学的、分子生物学的な証拠から、ダイズの祖先野生種であると考えられている（OECD, 2000）。また、紀元前 2838 年の中国の文献にダイズが記録されており、歴史的及び地理的な証拠から、紀元前 17–11 世紀に中国で最初にダイズが栽培化されたことが示唆されている（OECD, 2000）。今日ではそれぞれの地域に適応した生態型の品種が分化・成立し、赤道近くから北緯 45° の広い地域において、実用品種が栽培されている（OECD, 2000）。

ツルマメはダイズと同様、有害活性物質としてトリプシンインヒビターを含むことも報告されている（Natarajan *et al.*, 2007）。なお、ツルマメの過去の食経験についての詳細は不明だが、現在では食用に供されることはない

5 既存品種由来の食品の構成成分等に関する事項

（1）既存品種の可食部分の主要栄養素等（タンパク質、脂質等）の種類及びその量の概要

ダイズの可食部分は種子である。その主要栄養素の含有量は以下の通りである。

粗タンパク質（〇〇–〇〇）、粗脂質（××–××）、灰分（〇〇–〇〇）、炭水化物（〇〇–〇〇）、酸性デターゼント・ファイバー（ADF）（〇〇–〇〇）及び中性デターゼント・ファイバー（NDF）（〇〇–〇〇）である（OECD, 2001 or 2012; ILSI, 2014）。

（2）既存品種に含まれる毒性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質。例えば、トリプシンインヒビター、フィチン酸等）等の種類及びその量の概要

ダイズ種子に含有される栄養阻害物質として、トリプシンインヒビター、レクチン及びフィチン酸が知られている（OECD, 2001; OECD, 2012）。・トリプシンインヒビターは、タンパク質分解酵素阻害物質であり、消化酵素であるトリプシンを不活性化し、結果として摂取したタンパク質の消化を阻害する。レクチンは炭水化物含有化合物に結合するタンパク質で、動物の成長を抑制する。また、血液

凝集の原因となる赤血球凝集素として作用することが知られている。トリプシンインヒビター及びレクチンは、十分加熱することによって失活する。フィチン酸は、カルシウム、マグネシウム、カリウム、鉄、亜鉛などとキレート化合物を形成し、反芻動物以外の動物において、これらのミネラルの吸収を阻害することが知られている(OECD, 2001;OECD, 2012)。

上記以外にもダイズにはスタキオース、ラフィノース及びイソフラボン類といった有害生理活性物質が含まれていることが知られている(OECD, 2001; OECD, 2012)。スタキオース及びラフィノースは低分子量の炭水化物で、腸内でガス化し、腹部を膨満させる原因物質である。イソフラボンは、植物エストロゲンの一種であり、ダイゼイン、ゲニステイン、グリシテインの３種類の非配糖体（イソフラボンアグリコン）と、それぞれに３種類の配糖体（ダイジン、ゲニスチン、グリシチン）、配糖体のアセチル化体及びマロニル化体が知られている。これらは、哺乳動物に対してエストロゲン、抗エストロゲン及びコレステロール低下などの生化学的活性を示すことやしたり、動物が多量に摂取した場合の生殖への悪影響が知られている。一方で、抗発癌作用の効果があることも報告されている(OECD, 2001;OECD, 2012)。

ダイズ種子中の栄養阻害物質の含有量は以下の通りである。

トリプシンインヒビター(〇〇-〇〇)、レクチン(〇〇-〇〇)、フィチン酸(〇〇-〇〇)である(OECD, 2001 or 2012; ILSI, 2014)。

これら以外にもダイズは、スタキオース(××-××)、ラフィノース（××-××)及びイソフラボン類としてダイゼイン(××-××)、ゲニステイン(××-××)及びグリシテイン(××-××）などの有害生理活性物質を含む(OECD, 2001 or 2012; ILSI, 2014)。

6　既存品種のアレルギー誘発性等に関する事項

ダイズは８大食物アレルゲンの一つとして知られている(OECD, 2012)。これまでに、ダイズ疎水性タンパク質、トリプシンインヒビター、P34 タンパク質、β-コングリシニン、グリとシニンなどがアレルゲンとして同定されている(OECD, 2012)。

~~7　既存品種の栽培および流通過程において、健康に影響を及ぼす外来因子に関する事項~~

~~ダイズ植物体には、ウイルス、細菌及び糸状菌により各種の病害が発生する。可食部の種子でも同様な微生物により、数種類の重要な病害（ダイズモザイクウイルス病、茎疫病、紫斑病など）が発生する(OECD, 2000)。しかし、これらの病原体のヒトや家畜に対する病原性は報告されていない。~~

~~8　既存品種の安全な摂取に関する事項~~

~~ダイズ種子の主要用途は、種子全粒、油、大豆油かすの三つに大別される。種子は、豆もやし、いり豆、全脂ダイズ粉、伝統的ダイズ食品（味噌、しょう油、とうふ）などの原料に利用される。ダイズ油は食用としての利用の他に、さらに精製されて多様な用途に供される（グリセロール、脂肪酸、ステロール、レシチンなど）。大豆油かすは、家畜飼料の重要な栄養補給源である(OECD, 2001)。~~

○ワタ（陸地ワタ）既存品種情報

1　既存品種の分類学上の位置付け（学名、遺伝子を導入する既存品種名及び系統名等）に関する事項

宿主は、アオイ科(Malvaceae)ワタ属(*Gossypium*)に属する *Gossypium hirsutum* L. の従来品種 YYY である。

2　既存品種の食経験に関する事項

ワタの実綿（綿毛のついた種子）から得られる綿毛が繊維原料として利用されている。綿毛を取り除いた綿実（種子）から油、綿実粕、外皮及びリンターが得られ、このうち油及びリンターが食用に利用される（OECD, 2009）。なお、食用のリンターは高度に加工されているため、99%以上がセルロースである(Nida et al., 1996)。

ワタの日本国内における商業栽培はほとんど行われておらず、主に観賞用などの目的で栽培されているのみである。

3　既存品種の食品としての利用方法に関する事項

（1）収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法

WWW 系統の収穫時期や貯蔵方法は、従来のワタと相違ない。

（2）摂取（可食）部位

WWW 系統の摂取部位は、従来のワタと相違ない。

（3）摂取量

WWW 系統の摂取量は、従来のワタと相違ない。

（4）調理及び加工方法

WWW 系統の調理及び加工方法は、従来のワタと相違ない。

4　既存品種の遺伝的先祖及び育種開発の経緯並びに近縁の植物種に関する事項

ワタは熱帯及び亜熱帯において広く分布している約 50 種を有するワタ属に属している(OECD, 2008)。ワタ属のうち全世界で広く栽培されている４つの栽培種は、アフリカからアジアの旧大陸を起源とする二倍体の *G. arboreuni* 及び *G. herbaceum*、メソアメリカ及び南米を起源とする異質四倍体の *G. barbadense* 及び *G. hirsutum* である(OECD, 2008)。陸地綿、アメリカ綿、メキシコ綿又はアカラ綿と呼ばれる *G. hirsutum* がワタの栽培種における全生産量の 90%を占めている(OECD, 2008)。

G. barbadense 及び *G. hirsutum* を含むワタは長い栽培の歴史を持つ(Lee, 1984; OECD, 2009; USDA-NASS, 2012)。*G. barbadense* の超長繊維は *G. hirsutum* とは区別され、主に高級な織物や繊糸の製造に使用される(Lee, 1984)。しかし、一般に綿実及び綿実の副産物（綿実油及び綿実粕など）は区別されることなく流通している。

Gossypium 属に属する種では、種子中にゴシポール及びシクロプロペン脂肪酸を生産していると考えられている。わが国において *G. hirsutum* の近縁種であるワタ属の自然分布は報告されていない。

5　既存品種由来の食品の構成成分等に関する事項

（１）既存品種の可食部分の主要栄養素等（タンパク質、脂質等）の種類及びその量の概要

食用として用いられるワタの綿実における主要栄養素の含有量は粗タンパク質　(〇〇-〇〇)、粗脂質　(××-××)、灰分（△△-△△)、炭水化物　(口口-口口）である。

（２）既存品種に含まれる毒性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質。例えば、トリプシンインヒビター、フィチン酸等）等の種類及びその量の概要

綿実は有害生理活性物質であるゴシポール及びシクロプロペン脂肪酸を含むことが知られている。これらの物質は種子などの植物組織に存在する(OGTR, 2008)。ゴシポールは単胃動物に対し毒性があり、食欲減退、体重減少、呼吸困難

等の症状を起こす(OECD, 2008)。また、ゴシポールは代謝経路におけるリシンの利用を妨げ、ミトコンドリアの正常機能に影響を与える(OECD, 2008)。シクロプロペン脂肪酸は飽和脂肪酸の代謝を妨げること及び鶏の卵黄の変色や孵化率の減少を引き起こすことが報告されている(OECD, 2009)。

ゴシポール及びシクロプロペン脂肪酸は加工により著しく量が減少するため(OECD, 2009)、高度に精製された油及びリンターのみが食用に適している。

ワタの綿実における有害生理活性物質の含有量は、総ゴシポール(〇〇-〇〇)、遊離ゴシポール(××-××)及びシクロプロペン脂肪酸であるマルバリン酸(△△-△△)、ステルクリン酸(□□-□□)及びジヒドロステルクリン酸(▽▽-▽▽)である。

6　既存品種のアレルギー誘発性等に関する事項

ワタは主要なアレルギー誘発性食品とは考えられていない。

7　既存品種の栽培および流通過程において、健康に影響を及ぼす外来因子に関する事項

ワタには、ウイルス、細菌及び糸状菌による各種病害が知られているが(OECD, 2008)、これら病原菌は、ヒトや家畜等への病原性を持たないことが知られている。

8　既存品種の安全な摂取に関する事項

ワタは、綿実から得られる油及びリンターが食用として利用される。綿実油は、天ぷら油、サラダ油、調理用油、ショートニング、マーガリンなどに利用されている。リンターはソーセージ類のケーシングや、アイスクリーム及びサラダドレッシングの増粘剤として用いられる(OECD, 2009)。

別添1 ~~2~~　大規模並列 DNA シーケンシングに係る解析データを評価する際の留意点

1　概要

遺伝子組換え植物（種子植物）の安全性審査に係る申請において、近年、最新の技術[24]を用いた大規模並列 DNA シーケンシングによる解析結果が提出されることが多くなっており、本文書は、導入遺伝子領域の解析データを評価する際に考慮されるべき留意点を示すものである。

なお、最新の手法等を用いた DNA シーケンシングによる、全ゲノム、導入遺伝子及び近傍領域の塩基配列解析、PCR（ポリメラーゼ~~ポリメレース~~連鎖反応）法を様々なプロトコールで利用した導入遺伝子領域の解析、サザンブロッティングやその原理を取り入れた解析などがあり、標的の DNA 配列又は遺伝子領域の特性に応じて、単独又は複数の解析手法が用いられる。

2　データセットの品質

各実験で生成されたリード（読み取り配列）の数及び品質統計情報、データ生成に使用したシーケンスプラットフォームに関する情報が必要である。この情報は、リードがリファレンスゲノムに~~アライン~~マッピングされていない場合に特に重要である。FASTQC は、データセットの品質をチェックするために広く使用されているツールである。

FASTQC：http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/

各シーケンスランの生のリード数の提出が必要であり、シーケンストリミングやクオリティフィルタリングを実施する際に、トリミング戦略や破棄リード数等についての説明が求められる。

柴田先生：「アライン」について、後の文章と合わせるならば「マッピング」ではないでしょうか。

[24] DNA 配列の解析技術（DNA シーケンシング法）は、日進月歩であり、今後とも新規技術の研究開発と実用化が進むと考えられるが、現時点での網羅的配列解析技術としては、NGS（次世代シーケンシング、大規模並列シーケンシング）、MPS（超並列シーケンシング）、同原理を使った全ゲノムシーケンシング（WGS）などと呼ばれる技術がある。また、これを補完する特定配列解析技術としては、PCR 法を利用した quantitative PCR（real-time PCR）に加え digital PCR やサザンブロット法の原理を取り入れた Southern-By-Sequencing 法などが挙げられる。

事務局：修正しました。

3　ライブラリーの調製と配列決定戦略

各ライブラリーの構築方法の詳細な説明が必要であり、配列捕捉法を用いる場合は、すべての実験手順やプローブデザインとそれらによる補足効率等について確認することが重要である。

4　リード深度

現在、導入遺伝子領域の配列解析に利用可能なシーケンシング技術では、さまざまな品質と長さのシーケンスリード（以後リードと表す）が生成される。

最終的に確度の高いシーケンス情報を得るために特定の配列をカバーすべきリードの数（リード深度）は、リードの品質、長さ及びシーケンス実験の目的により異なる。提出されたデータを評価するために、リード深度に関する情報や全ゲノムシーケンス（WGS）の場合、平均リード深度とその変動に関する情報が提供されるべきである[25]。

5　挿入 DNA 及び近傍領域の特定と解析のための配列決定

挿入 DNA の配列及び近傍領域の特定と解析においては、ショートリードシーケンシングのみによる配列決定が難しい標的に対して、ロングリードシーケンシング又は配列決定前に標的 DNA 断片を濃縮する配列捕捉法~~配列キャプチャーアプローチ~~などを使用することもできる（Ekblom and Wolf, 2014; Inagaki et al. 2015）。例えば、遺伝子座内の配列の重複の存在、配列内に特定の配列の長い繰り返し配列

[25] 大規模並列シーケンシング技術が挿入 DNA およびベクター由来配列に起きている可能性のある挿入の同定に使用される場合、全ゲノムにわたる平均リード深度を推定することが必要。参照ゲノムがある場合は、リードを全配列にアラインメントして、平均リード深度を算出する。ゲノムリソースが存在しない場合、以下の Lander-Waterman 式（Lander and Waterman, 1988）を用いる。
カバレッジ（平均リード深度）＝　リード数　×　リード長　／　推定ゲノムサイズ
Lander-Waterman 式については、プラットフォームや配列固有のバイアスを考慮しておらず（Ross et al., 2013）平均リード深度の推定値を提供するが、リード深度は必ずしもゲノム全体で均一ではないため限界がある（Sims et al.,2014）。また、使用する技術や各 GM 植物のゲノムが平均リード深度の計算に影響を与える可能性があるため、申請者はミトコンドリアやプラスチド DNA に対応するリード数の評価や核 DNA のリード深度の正当化を検討する必要がある（Lutz et al.）。
~~最小~~最浅リード深度は、使用されるアプローチを含む様々な要因に依存するため、一律の閾値を適用するのは困難であるが、EFSA（2018）では、現在の NGS 技術で、挿入 DNA 及びその周辺領域の配列決定にショートリード技術が使用される場合、~~最小~~最浅リード深度は 40 未満であってはならないとの記載がある。

の存在を含む場合などでは、ウルトラロングリード、クローン化されたゲノム断片や PCR アンプリコンの配列決定などのアプローチを組み合わせることも考慮する必要がある。申請者は、使用するアプローチとその理由について詳細な説明を求められる。

決定された配列の確実性を担保することは安全性評価上、大変重要である。一方、新規シーケンス技術を用いた配列決定においては、標的とする DNA 試料の生物的特性、純度、用いる技術の種類や解析原理などによって、確実性担保のために必要な条件を一律に定めることは困難である。そこで、大枠として、~~最小~~最浅リード深度に関する説明に加え、

> 柴田先生：「最小リード深度」について、のちに「最浅リード深度」という表現が出てきますが、これとは違う意味なのでしょうか。
>
> 事務局：修正しました。

・「△倍体の植物ゲノムのショートリードによる NGS 解析である。測定したクリーンリードが××~~以上~~、平均カバレッジが○~~以上~~、最浅リード深度が○~~以上~~である」

・「DNA シーケンス解析で生成されるデータの品質管理が以下のように行われており、その品質が保証されている：プロトコール△△による DNA フラグメント調製とサイズ分布確認、機器□□によるリードデータ生成、プロトコール××によるデノボアセンブリと全ゲノムアセンブリ、ゲノム全体における平均カバレッジが○~~以上~~、最浅リード深度が○~~以上~~であり、挿入 DNA 及びその周辺領域における平均カバレッジが○~~以上~~、最浅リード深度が○~~以上~~である」

などの、解析結果の確実性を担保する記載を行うことにより、決定された配列の確からしさを確認できると考えられる。

> 柴田先生：何かの基準があるなら「XX 以上」という表現は可能だと思いますが、ある NGS 結果を説明するだけであれば、「以上」という表現は違和感があります。
>
> 事務局：「以上」という文言を削除しました。

６　検出可能な挿入部位、その数及び挿入コピー数の決定

検出可能なすべての挿入 DNA のゲノムへの挿入部位、その数及び挿入コピー数を決定することは、遺伝子組換え植物の評価の中で重要であり、多くの方法で達成できる。

（１）挿入部位及びその数の決定

挿入部位及びその数を決定するためのアプローチは、挿入 DNA 又はベクター配列と宿主ゲノムとの配列の同一性を示す接合リード（キメラリード）を計算的に同定するものであり、これらのリードは、挿入 DNA~~／~~又はベクターと既存品種のゲノムの両方に部分的に一致するため、接合部位を正確に同定するには、十分な長さのリード（約 100 bp）が必要である。

柴田先生：「／」について、「又は」を指しているのでしょうか。そうであれば「又は」と記載した方が良いかと思います。

事務局：修正しました。

近傍配列の解析のためのリードの深さは、データの質を評価するための重要な要素である。申請者は、（平均）リード深度に関する詳細な情報を記載するべきである。これは、ゲノムの特性や使用したシーケンス技術に依存するが、接合リードを検出するためにリード深度は十分に高く、その正当性について確認が必要である。Willems ら（2016）は、意図的に挿入された DNA と既存品種のゲノムの間の接合部にまたがる接合リードの配列決定確率を推定する統計的アプローチを提案しており、これを考慮することも有用である。また、複数のアプローチを組み合わせて使用することも可能である。

（２）挿入コピー数の決定

挿入 DNA の宿主ゲノムへの挿入コピー数を決定するためには、様々なアプローチがある。しばしば宿主ゲノム上の１部位に複数の挿入 DNA が挿入されることが起こり、その場合には、大規模並列 DNA シーケンシングによる解析結果のみによる挿入 DNA のコピー数の決定は困難であることが多い。このような場合、PCR（~~ポリメレース~~ポリメラーゼ連鎖反応）法を様々なプロトコールで利用した導入遺伝子領域の解析結果等を用いて補完し、挿入コピー数を決定する方法を用いること

が可能であり、その際には、解析対象となる配列を標的とするプローブ、コントロールとして用いた遺伝子の詳細など、解析方法の詳細について説明を求め、その正当性を確認する。

7　提出データ

挿入DNAや近傍配列の解析において、データを表や図にどのように表示するかは、標的となる配列の特性によって異なる。申請の際に提出するデータは、結論を支持し、その根拠を説明するものでなければならず、以下のような情報がある。

① ~~read quality~~ リードの品質の分布図
② ~~library~~ ライブラリー調製法と ~~library~~ ライブラリー（~~insert size~~ インサートサイズ）の分布と ~~read length~~ リードの長さ
~~（例）Insert size インサートサイズ = 600 bp、pair-end ペアエンド 150 bp~~
③ ~~coverage~~ カバレッジの分布図
④ 統計情報一覧
⑤ 解析ソフトと使用したパラメーター
⑥ マッピング IGV 図と表示設定
⑦ 用いた参照ゲノム（~~version~~ バージョンなど）

なお、審査の中で、必要に応じて、生データの要求があった場合には、提出できるよう適切に記録・保存が求められる。

柴田先生：read, library, coverage など他の箇所ではカタカナ表記のものがここでは英語になっていますが、統一しなくて良いのでしょうか。
事務局：修正しました。ご確認をお願いいたします。

柴田先生：「Insert size = 600 bp、pair-end 150 bp。」について、これは例示だと思いますが、「例えば」などと付記しても良いのではないでしょうか。ここだけ例示が必要な理由は何かあるのでしょうか。
事務局：修正しました。

８　その他

DNA シーケンシングのデータの取扱いなどに関しては、必要に応じて、以下の技術的文書も参考にすることができる。

・EFSA, 2011 Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. EFSA Journal 2011; 9(5):2150

・EFSA, 2018. Technical Note on the quality of DNA sequencing for the molecular characterization of genetically modified plants. EFSA Journal 2018;16(7):5345

・OECD, 2016. High-throughput DNA sequencing in the safety assessment of genetically engineered plants: proceedings of the OECD workshop (April 2016), OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on the Safety of Novel Foods and Feeds No.29

・ISO/DIS 20397-2　(旧：2016 JRC Technical Reports の ″Guideline for the submission of DNA sequences and associated annotations within the framework of Directive 2001/18/EC and Regulation (EC) No 1829/2003″)

（参考資料）

１　食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会（第 231 回）資料３「次世代シークエンスについて」(近藤専門委員提供資料)

２　食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会（第 231 回）参考資料２「遺伝子組換え食品等（種子植物）に係るリスク評価における次世代シークエンサーの取り扱いに関する資料」

３　平成 28 年度食品安全確保総合調査「次世代シークエンサーの活用状況等に関する調査」報告書（平成 29 年 3 月一般財団法人化学物質評価研究機構）

別添２～~~３~~　遺伝子組換え植物の安全性評価における系統の考え方について

事務局：「遺伝子組換え植物の安全性評価における系統の考え方について」（平成30年４月23日遺伝子組換え食品等専門調査会決定）を整理して記載しました。

１．経緯

（１）遺伝子組換え食品（種子植物）に関する食品健康影響評価指針~~の安全性評価基準~~（平成16年１月29日食品安全委員会決定（最終改正：令和○年○月○日））においては、宿主に導入されたDNAの構造、コピー数及びその近傍配列を明らかにするとともに、遺伝子導入によって宿主の遺伝子配列に変化が生じる可能性がないことを可能な限り明らかにすることを求めている。

（２）また、その一環として、宿主への遺伝子導入に用いたベクター上の挿入DNA領域の断片化配列や挿入DNA領域外の配列等の目的外のDNAが宿主に挿入されていないことの確認を求めている。

（３）他方、組換え体の作製においては、宿主及び挿入遺伝子が同一であっても、遺伝子導入の際に宿主における挿入位置等が異なる様々な組換え体（以下、各々を「系統」という。）が生じる可能性があることから、遺伝子組換え植物の安全性評価は、系統毎に実施してきている。

（４）しかしながら、~~これまでの~~審議の中で、申請者が安全性評価を受けようとしている系統（以下、「申請系統」という。）の起点となる世代（必ずしも組換え当代をいうものではない。）ではなく、その後代世代における分析結果をもって（１）及び（２）を推定している事例が散見され~~ているた~~ことから、当専門調査会における基本的な考え方として「遺伝子組換え植物の安全性評価における系統の考え方について」（平成30年４月23日遺伝子組換え食品等専門調査会決定）を示~~すこととする~~した。

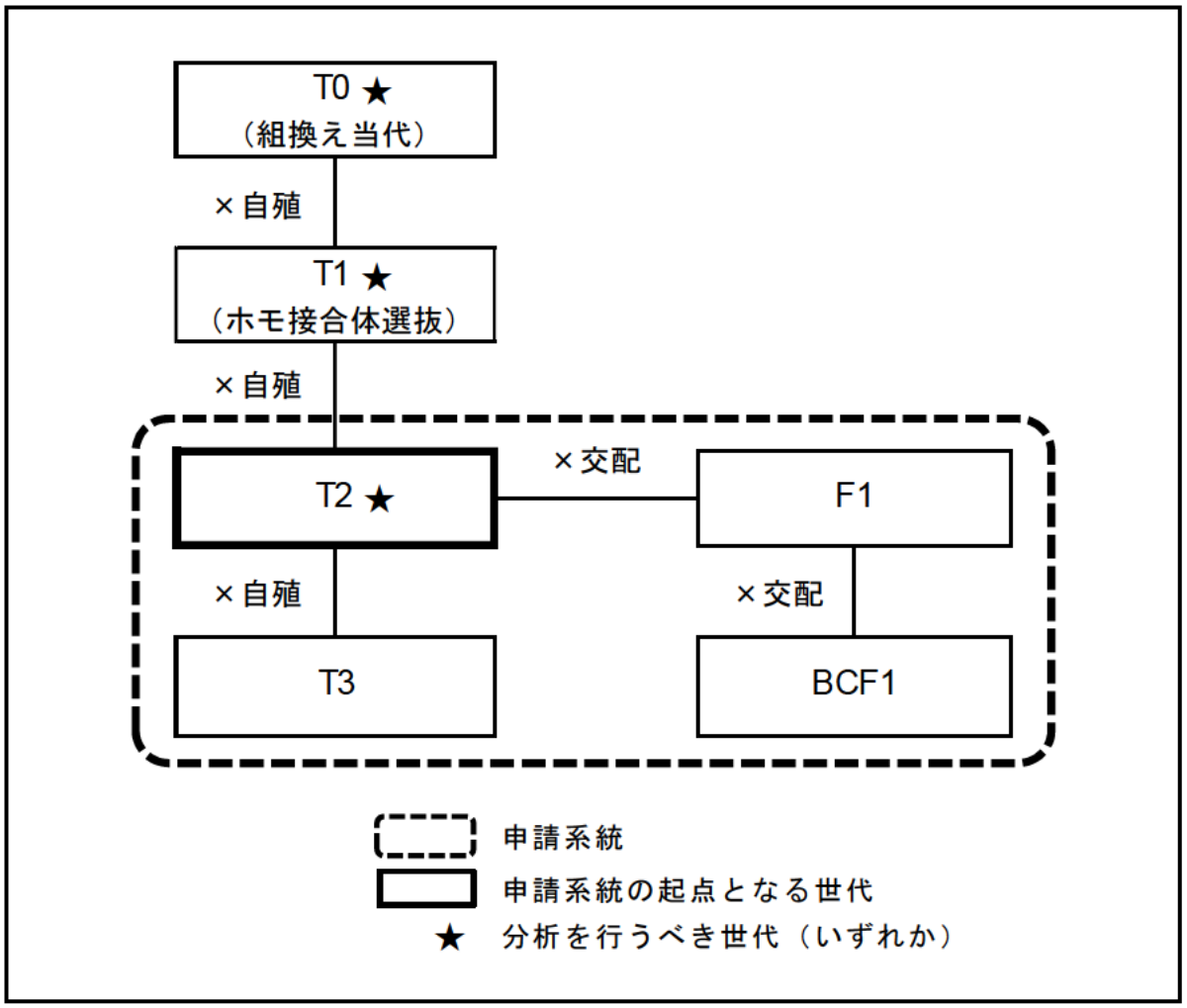
（５）今般、平成30年の当専門調査会決定の内容を整理して、技術的文書の別添２として示すこととする。

２．基本的な考え方

（１）遺伝子組換え植物の安全性評価は、１の（１）及び（２）により明らかにされた事象が同一である組換え体を一つの系統として、系統毎に実施する。

（２）１の（１）及び（２）の確認は、申請系統の起点となる世代又はその上流の世代における分析結果によることを原則とする（参考）。なお、分析に供した世代が遺伝的に均一であることが確認されていない場合にあっては、当該分析に供した個体を後代の育種に用いるものとする。

（３）（２）の原則に拠らず、後代世代における分析結果による場合にあっては、宿主の倍数性及び自殖又は交配による分離比を考慮の上、１の（１）及び（２）を十分な信頼度をもって推定するために必要な数の個体が分析に供されているか否かを勘案して、その妥当性を判断することとする。



（参考）申請系統において導入された DNA の構造、コピー数及び近傍配列並びに目的外 DNA 断片の有無の確認に必要な分析を行うべき世代（例）

別添３~~４~~　食品健康影響評価済みの遺伝子組換え植物を掛け合わせた品種の食品健康影響評価に関する事項（「遺伝子組換え食品（種子植物）に関する食品健康影響評価指針」の別添）の２（１）a）の解釈について

事務局：「遺伝子組換え植物の掛け合わせについての安全性評価の考え方」（平成16年1月29日食品安全委員会決定）及び「遺伝子組換え植物の掛け合わせについての安全性評価の考え方（《遺伝子組換え植物の掛け合わせについて》（1）、a)の「当面の間」の解釈）」（令和元年11月13日遺伝子組換え食品等専門調査会決定）を整理して記載しました。

１．経緯

第192回遺伝子組換え食品等専門調査会での「除草剤ジカンバ、グルホシネート及びグリホサート耐性ピマワタ MON88701×MON88913 系統」の審議において、以下の審議結果となった。

- 亜種のレベル以上での交配（ワタ（*Gossypium hirsutum*）とピマワタ（*Gossypium barbadense*））によって得られた植物について、同じワタ属の別の種に分類されるが、共通の染色体構造をもつ複2倍体であり、遺伝的類似性も高く、自然界においても容易に交配することが知られている。また、食品としての安全性としては、摂取量、加工法、摂取部位、有害生理活性物質等に相違がなく、同一種として扱うのが妥当である。

２．従前の取扱

亜種のレベル以上での交配によって得られた植物については、~~安全性評価の考え方~~食品健康影響評価済みの遺伝子組換え植物を掛け合わせた品種の食品健康影響評価に関する事項（「遺伝子組換え食品（種子植物）に関する食品健康影響評価指針」の別添）中の２（１）~~、「~~ａ）、「亜種のレベル以上での交配によって得られた植物については、当面の間、安全性の確認を必要とする。」に従い、食品健康影響評価を実施している。

３．亜種のレベル以上での交配によって得られた植物の食品健康影響評価~~今後の対応~~

亜種のレベル以上での交配によって得られた植物に関する事項~~に関する~~食品健康影響評価の考え方は２．のとおりであるが、遺伝子組換え食品等専門調査会での審議を踏まえ、当該専門調査会において、同種として扱うことが適当と判断された植物の交配については、~~「当面の間」の解釈を以下のとおりとし、ただし書きに該当する場合には、~~食品健康影響評価は不要として取扱うこととする~~された~~[26]。

~~《遺伝子組換え植物の掛け合わせについて》~~

~~（１）上記の①，②，③と従来品種との掛け合わせ、若しくは上記の①同士の掛け合わせについて：~~

~~ａ）亜種のレベル以上での交配によって得られた植物については、当面の間、安全性の確認を必要とする。ただし、専門調査会において、以下の交配については同種として扱うことが適当と判断された。~~

➢ 遺伝子組換え食品等専門調査会において同種として扱うことが適当と判断された交配

・ワタ（*Gossypium hirsutum*）とピマワタ（*Gossypium barbadense*）

児玉先生：掛け合わせで、今後、検討したほうが良い可能性があるのが、デントコーンとスイートコーンの交配である。現状、フル審査になっているが、植物の代謝系に関与しない導入遺伝子の場合、発現量の確認くらいで承認できるようなスキームがあるのが望ましいのではないか。

[26] 遺伝子組換え植物の掛け合わせについての安全性評価の考え方（《遺伝子組換え植物の掛け合わせについて》（１）、ａ）の「当面の間」の解釈）（令和元年１１月１３日 遺伝子組換え食品等専門調査会決定）

別添4~~5~~　既存品種の代謝系の改変が行われた遺伝子組換え植物の掛け合わせ品種の安全性評価について

事務局：「宿主の代謝系の改変が行われた遺伝子組換え植物の掛け合わせ品種の安全性評価について」（平成 29 年 12 月 22 日遺伝子組換え食品等専門調査会決定）を整理して記載しました。

１．経緯

（１）安全性評価済みの遺伝子組換え植物の掛け合わせ品種については、「食品健康影響評価済みの遺伝子組換え植物を掛け合わせた品種の食品健康影響評価に関する事項」~~遺伝子組換え植物の掛け合わせについての安全性評価の考え方~~」（「遺伝子組換え食品（種子植物）に関する食品健康影響評価指針」（平成 16 年１月 29 日食品安全委員会決定（最終改正：令和〇年〇月〇日））の別添）（以下「掛け合わせの考え方」という。）に基づき、親系統に付与される形質を以下３つに分類し（以下、それぞれ「①」、「②」又は「③」という。）、安全性評価を行っている。

①　~~挿入~~導入された遺伝子によって、宿主の代謝系には影響なく、害虫抵抗性、除草剤耐性、ウイルス抵抗性などの形質が付与されるもの。

②　~~挿入~~導入された遺伝子によって、宿主の代謝系が改変され、特定の代謝系を促進又は阻害して、特定の栄養成分を高めた形質や細胞壁の分解などを抑制する形質が付与されるもの。

③　~~挿入~~導入された遺伝子によって、宿主の代謝系における一部の代謝産物が利用され、宿主が有していない新たな代謝産物を合成する形質が付与されるもの。

（２）このうち①同士の掛け合わせ品種については、掛け合わせの考え方に基づき、

・①同士の掛け合わせであること

・亜種レベル以上の交配でないこと

・摂取量・食用部位・加工法等に変更がないこと

の３点を確認することで、「改めて安全性の確認を必要とするものではない」と判断しており、平成 26 年６月以降は、リスク管理機関において上記に該当すると判断されたものは「安全性審査を経たもの」として取り扱われている。

（３）他方、①と②の掛け合わせ品種及び①と③の掛け合わせ品種については、掛け合わせの考え方において「当面の間、安全性の確認を必要とする」とされている。これまで当専門調査会において~~６件の~~①と②の掛け合わせ品種について「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」（平成 16 年１月 29 日食品安全委員会決定。~~以下「本則」という。~~）に基づき安全性評価を行ったところ、いずれも掛け合わせによる意図せざる影響は認められていない。

（４）今般、「宿主の代謝系の改変が行われた遺伝子組換え植物の掛け合わせ品種の安全性評価について」（平成 29 年 12 月 22 日遺伝子組換え食品等専門調査会決定）の内容を整理して、技術的文書の別添４として示すこととする。

２．①と②の掛け合わせ品種の安全性評価

（１）上記の経緯をふまえ、今後、①と②の掛け合わせ品種については、①同士の掛け合わせ品種の確認事項（以下のア）に加え、~~本則~~「遺伝子組換え食品（種子植物）に関する食品健康影響評価指針」（平成 16 年１月 29 日食品安全委員会決定。（最終改正：令和〇年〇月〇日））の評価項目のうち、~~第２章の第６－５から第６－７の項目（~~以下のイからエ~~の項目）~~について安全性を確認することで、安全性評価を行うこととする。

ア．安全性評価において検討が必要とされる基本的事項

親系統に導入された遺伝子により新たに付与された形質を特定した上で、亜種レベル以上の交配でないこと、摂取量・食用部位・加工法等に変更がないことを確認する。

イ．~~組換え体~~遺伝子組換え栽培系統における導入~~された~~遺伝子の安定性に関する事項

親系統に導入した遺伝子により付与された形質が、掛け合わせ品種において安定に維持されていることを、その塩基配列、遺伝子産物又は表現型の解析結果により確認する。

ウ．遺伝子組換え栽培系統~~遺伝子産物（タンパク質）~~の代謝経路への影響に関する事項

親系統に導入した遺伝子が関与する代謝系の作用機作がそれぞれ独立しており、掛け合わせ品種において互いに影響し合わないことの合理的根拠を確認する。

エ．~~宿主~~既存品種との差異に関する事項

親系統と宿主の間で差異が認められた構成成分等（意図して改変を行った栄養成分等はイの表現型に含まれる。）について、親系統と掛け合わせ品種との間で有意な変化が生じていないことを確認する。

（２）アからエ以外の項目については、基本的には親系統の評価の際に既に安全性の確認が終了していることを前提として、当該掛け合わせ品種の申請書類中の記載は省略して差し支えないこととする。

３．その他

（１）上記の取扱いは、①のうち「宿主の代謝系には影響しないが、特定の栄養成分等の含有量に有意な変動が見られるもの」の掛け合わせ品種の評価においても適用可能とする。

（２）本決定は、あくまで①と②の掛け合わせ品種を評価する際の基本的な考え方を示すものであり、本専門調査会において必要と認めた場合には、追加資料の提出を求めた上で、詳細な調査審議を行うこととする。

参考

参考：既存品種情報（例）

○トウモロコシ（デント種）

１　既存品種の分類学上の位置付け（学名、遺伝子を導入する既存品種名及び系統名等）に関する事項

遺伝子を導入する既存品種は、イネ科トウモロコシ属のトウモロコシ（*Zea mays* subsp. *Mays*（L.）Iltis）のデント種 YYY 系統である。

２　既存品種の食経験に関する事項

トウモロコシの栽培は、紀元前 2000 年頃に中央アメリカ全域で既に行われていたと考えられ、食品としての利用の歴史は古い（戸澤，2005）。1492 年のコロンブスの新大陸発見を契機にヨーロッパへ伝播し、その後アフリカやアジアへ伝えられ、現在では世界中で食品や飼料等に広く利用されている。我が国へは、16 世紀末にヨーロッパからポルトガル人によって運ばれたと考えられている。稲作の困難な山間部で栽培されることが多く、九州山地、四国山地及び富士山麓等では、長期にわたり主食にされた（戸澤，2005）。

３　既存品種の食品としての利用方法に関する事項

（１）収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法

一般にトウモロコシの収穫は秋季に行われ、乾燥後、常温で貯蔵される。WWW 系統の収穫時期や貯蔵方法は、従来のトウモロコシと相違ない。

（２）摂取（可食）部位

トウモロコシの摂取部位は雌穂に形成される子実である。WWW 系統の摂取部位は、従来のトウモロコシと相違ない。

（３）摂取量

WWW 系統の摂取量は、従来のトウモロコシと相違ない。

（４）調理及び加工方法

WWW 系統の調理及び加工方法は、従来のトウモロコシと相違ない。

４　既存品種の遺伝的先祖及び育種開発の経緯並びに近縁の植物種に関する事項

トウモロコシの遺伝的祖先は同じ *Zea* 属のテオシントで、人為的選抜を経て栽培化したと言われている（OECD, 2003）。原産地は、メキシコ、中米又は南米等と考えられている（OECD, 2003）。

紀元前 5000 年頃のトウモロコシ野生種の穂軸と考えられる遺物が、メキシコのテワカン渓谷の洞窟住居跡で発見されている。その後、紀元前 3400 年頃までに、栽培化したトウモロコシが現れたと考えられている（戸澤, 2005）。栽培適性の異なる多くの品種が育成された結果、現在では北緯 60 度～南緯 40 辺りまで栽培地域が拡大し、世界で最も広く栽培されている作物となっている（戸澤, 2005）。

トウモロコシの近縁種として、テオシント及びトリプサクム属が知られているが（OECD, 2003）、わが国において自生についての報告はなく、食用としての利用はない。

５　既存品種由来の食品の構成成分等に関する事項

（１）既存品種の可食部分の主要栄養素等（タンパク質、脂質等）の種類及びその量の概要

トウモロコシの可食部分は子実であり、主要構成成分の種類及びその含有量（OECD, 2002; ILSI, 20xx; その他 xxx）は以下のとおりである。

粗タンパク質（○○-○○）、粗脂質（××-××）、総食物繊維（○○-○○）、灰分（××-××）、淡水化物（○○-○○）である。

（２）既存品種に含まれる毒性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質。例えば、トリプシンインヒビター、フィチン酸等）等の種類及びその量の概要

トウモロコシには、ヒトの健康に悪影響を与える毒性物質の産生性は知られていない。栄養阻害物質として、フィチン酸、ラフィノースが知られている（OECD, 2002）。トリプシンインヒビターも含まれているが、含有量が低く、栄養学的に問題にならないとされている（OECD, 2002）。文献に基づくこれらの含有量（OECD,

2002: ILSI, 20xx; その他 xxx）は以下のとおりである。

フィチン酸（〇〇-〇〇）、ラフィノース（××-××）、トリプシンインヒビター（〇〇-〇〇）である。

６　既存品種のアレルギー誘発性等に関する事項

トウモロコシ中に含まれる 9 kDa の脂質輸送タンパク質（Lipid Transfer Protein）及び 16 kDa のトリプシンインヒビター（Pastorello et al., 2000）、26 kDa のα-ゼイン前駆体（Pastorello et al., 2009）、30 kDa のキチナーゼ-A（Volpicella et al., 2017）並びに 50 kDa のγ-ゼイン（Lee et al., 2005）が食物アレルゲンである可能性が示唆されている。しかしながら、トウモロコシは一般的にアレルギー誘発性食品とはみなされておらず（Codex Alimentarius, 1999; OECD, 2002）、わが国のアレルギー表示対象品目（消費者庁, 2020）及び国際的な食物アレルギー表示規制の対象品目ではない（Allen et al., 2014）。

７　既存品種の栽培および流通過程において、健康に影響を及ぼす外来因子に関する事項

トウモロコシには、ウイルス、細菌及び糸状菌による各種病害が知られているが（OECD, 2003）、これらがヒトに対して病原性を持つことは知られていない。

８　既存品種の安全な摂取に関する事項

トウモロコシは、コメ、コムギとともに、世界の主要穀物の一つで、古くから食されている。デント種は主に飼料用として栽培されているが、コーンスターチの原料として利用されるほか、食用油やスナック菓子に加工されて摂取されており、安全な食品としての長い利用の歴史をもつ。

○ダイズ既存品種情報

１　既存品種の分類学上の位置付け（学名、遺伝子を導入する既存品種名及び系統名等）に関する事項

遺伝子を導入する既存品種は、マメ科(*Leguminosae*)ダイズ属(*Glycine*)*Soja* 亜属に属するダイズ *Glycine max* (L.) Merr. の商業品種 AAA（又は AAA 系統）である。

２　既存品種の食経験に関する事項

紀元前 2838 年の中国の文献にダイズが記録されている。また、歴史的及び地理的な証拠から、紀元前 17-11 世紀には中国で最初に栽培化が始まり、その後朝鮮、日本、アジア地域へ伝播したことが示唆されている（OECD, 2000)。日本への渡来は約 2000 年前(FAO, 1992)、アメリカへは西暦 1765 年に導入された(OECD, 2000)。このような栽培化の過程において、人類はダイズに関する長い食経験を有している。

３　既存品種の食品としての利用方法に関する事項

（１）収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法

BBB 系統の収穫時期および貯蔵方法は、従来のダイズと相違ない。

（２）摂取（可食）部位

BBB 系統の可食部位は、従来のダイズと相違ない。

（３）摂取量

BBB 系統の摂取量は、従来のダイズと相違ない。

（４）調理及び加工方法

食品としての利用に関する（２）及び（３）などから、BBB 系統の調理及び加工方法に関しても、従来のダイズと相違ない。

４　既存品種の遺伝的先祖及び育種開発の経緯並びに近縁の植物種に関する事項

Soja 亜属に属するダイズの野生種として、ツルマメ(*G. soja*)が知られている。*G. soja* は、我が国を含め朝鮮、台湾、中国北東部とロシア国境周辺に自生しており、細胞学的、形態学的、分子生物学的な証拠から、ダイズの祖先野生種であると考えられている(OECD, 2000)。また、紀元前 2838 年の中国の文献にダイズが記録されており、歴史的及び地理的な証拠から、紀元前 17-11 世紀に中国で最初にダイズが栽培化されたことが示唆されている(OECD, 2000)。今日ではそれぞれの地域に適応した生態型の品種が分化・成立し、赤道近くから北緯 45° の広い地域において、実用品種が栽培されている(OECD, 2000)。

ツルマメはダイズと同様、有害活性物質としてト リプシンインヒビターを含むことも報告されている(Natarajan *et al.*, 2007)。なお、ツルマメの過去の食経験についての詳細は不明だが、現在では食用に供されることはない

５　既存品種由来の食品の構成成分等に関する事項

（１）既存品種の可食部分の主要栄養素等（タンパク質、脂質等）の種類及びその量の概要

ダイズの可食部分は種子である。その主要栄養素の含有量は以下の通りである。

粗タンパク質(○○-○○)、粗脂質(××-××)、灰分(○○-○○)、炭水化物(○○-○○)、酸性デタージェント・ファイバー(ADF)(○○-○○)及び中性デタージェント・ファイバー(NDF)(○○-○○)である(OECD, 2001 or 2012; ILSI, 2014)。

（２）既存品種に含まれる毒性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質。例えば、トリプシンインヒビター、フィチン酸等）等の種類及びその量の概要

ダイズ種子に含有される栄養阻害物質として、トリプシンインヒビター、レクチン及びフィチン酸が知られている(OECD, 2001; OECD, 2012)。トリプシンインヒビターは、タンパク質分解酵素阻害物質であり、消化酵素であるトリプシンを不活性化し、結果として摂取したタンパク質の消化を阻害する。レクチンは炭水化物含有化合物に結合するタンパク質で、動物の成長を抑制する。また、血液凝

集の原因となる赤血球凝集素として作用することが知られている。トリプシンインヒビター及びレクチンは、十分加熱することによって失活する。フィチン酸は、カルシウム、マグネシウム、カリウム、鉄、亜鉛などとキレート化合物を形成し、反芻動物以外の動物において、これらのミネラルの吸収を阻害することが知られている(OECD, 2001;OECD,2012)。

上記以外にもダイズにはスタキオース、ラフィノース及びイソフラボン類といった有害生理活性物質が含まれていることが知られている(OECD, 2001; OECD, 2012)。スタキオース及びラフィノースは低分子量の炭水化物で、腸内でガス化し、腹部を膨満させる原因物質である。イソフラボンは、植物エストロゲンの一種であり、ダイゼイン、ゲニステイン、グリシテインの３種類の非配糖体（イソフラボンアグリコン）と、それぞれに３種類の配糖体（ダイジン、ゲニスチン、グリシチン)、配糖体のアセチル化体及びマロニル化体が知られている。これらは、哺乳動物に対してエストロゲン、抗エストロゲン及びコレステロール低下などの生化学的活性を示すことや、動物が多量に摂取した場合の生殖への悪影響が知られている。一方で、抗発癌作用の効果があることも報告されている(OECD, 2001;OECD, 2012)。

ダイズ種子中の栄養阻害物質の含有量は以下の通りである。

トリプシンインヒビター(○○-○○)、レクチン(○○-○○)、フィチン酸(○○-○○)である(OECD, 2001 or 2012; ILSI, 2014)。

これら以外にもダイズは、スタキオース(××-××)、ラフィノース （××-××)及びイソフラボン類としてダイゼイン(××-××)、ゲニステイン(××-××)及びグリシテイン(××-××）などの有害生理活性物質を含む(OECD, 2001 or 2012; ILSI, 2014)。

6　既存品種のアレルギー誘発性等に関する事項

ダイズは８大食物アレルゲンの一つとして知られている(OECD,2012)。これまでに、ダイズ疎水性タンパク質、トリプシンインヒビター、P34 タンパク質、β-コングリシニン、グリシニンなどがアレルゲンとして同定されている(OECD, 2012)。

7　既存品種の栽培および流通過程において、健康に影響を及ぼす外来因子に関する事項

ダイズ植物体には、ウイルス、細菌及び糸状菌により各種の病害が発生する。可食部の種子でも同様な微生物により、数種類の重要な病害（ダイズモザイクウイルス病、茎疫病、紫斑病など）が発生する(OECD, 2000)。しかし、これらの病原体のヒトや家畜に対する病原性は報告されていない。

8　既存品種の安全な摂取に関する事項

ダイズ種子の主要用途は、種子全粒、油、大豆油かすの三つに大別される。種子は、豆もやし、いり豆、全脂ダイズ粉、伝統的ダイズ食品（味噌、しょう油、とうふ）などの原料に利用される。ダイズ油は食用としての利用の他に、さらに精製されて多様な用途に供される（グリセロール、脂肪酸、ステロール、レシチンなど)。大豆油かすは、家畜飼料の重要な栄養補給源である(OECD, 2001)。

○ワタ（陸地ワタ）既存品種情報

1　既存品種の分類学上の位置付け（学名、遺伝子を導入する既存品種名及び系統名等）に関する事項

宿主は、アオイ科(Malvaceae)ワタ属(*Gossypium*)に属する *Gossypium hirsutum* L. の従来品種 YYY である。

2　既存品種の食経験に関する事項

ワタの実綿（綿毛のついた種子）から得られる綿毛が繊維原料として利用されている。綿毛を取り除いた綿実（種子）から油、綿実粕、外皮及びリンターが得られ、このうち油及びリンターが食用に利用される（OECD, 2009）。なお、食用のリンターは高度に加工されているため、99%以上がセルロースである(Nida et al., 1996)。

ワタの日本国内における商業栽培はほとんど行われておらず、主に観賞用などの目的で栽培されているのみである。

3　既存品種の食品としての利用方法に関する事項

（1）収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法

WWW 系統の収穫時期や貯蔵方法は、従来のワタと相違ない。

（2）摂取（可食）部位

WWW 系統の摂取部位は、従来のワタと相違ない。

（3）摂取量

WWW 系統の摂取量は、従来のワタと相違ない。

（4）調理及び加工方法

WWW 系統の調理及び加工方法は、従来のワタと相違ない。

4　既存品種の遺伝的先祖及び育種開発の経緯並びに近縁の植物種に関する事項

ワタは熱帯及び亜熱帯において広く分布している約 50 種を有するワタ属に属している(OECD, 2008)。ワタ属のうち全世界で広く栽培されている４つの栽培種は、アフリカからアジアの旧大陸を起源とする二倍体の *G. arboreuni* 及び *G. herbaceum*、メソアメリカ及び南米を起源とする異質四倍体の *G. barbadense* 及び *G. hirsutum* である(OECD, 2008)。陸地綿、アメリカ綿、メキシコ綿又はアカラ綿と呼ばれる *G. hirsutum* がワタの栽培種における全生産量の 90%を占めている(OECD, 2008)。

G. barbadense 及び *G. hirsutum* を含むワタは長い栽培の歴史を持つ(Lee, 1984; OECD, 2009; USDA-NASS, 2012)。*G. barbadense* の超長繊維は *G. hirsutum* とは区別され、主に高級な織物や繊糸の製造に使用される(Lee, 1984)。しかし、一般に綿実及び綿実の副産物（綿実油及び綿実粕など）は区別されることなく流通している。

Gossypium 属に属する種では、種子中にゴシポール及びシクロプロペン脂肪酸を生産していると考えられている。わが国において *G. hirsutum* の近縁種であるワタ属の自然分布は報告されていない。

５　既存品種由来の食品の構成成分等に関する事項

（１）既存品種の可食部分の主要栄養素等（タンパク質、脂質等）の種類及びその量の概要

食用として用いられるワタの綿実における主要栄養素の含有量は粗タンパク質　(○○-○○)、粗脂質　(××-××)、灰分（△△-△△)、炭水化物　(□□-□□）である。

（２）既存品種に含まれる毒性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質。例えば、トリプシンインヒビター、フィチン酸等）等の種類及びその量の概要

綿実は有害生理活性物質であるゴシポール及びシクロプロペン脂肪酸を含むことが知られている。これらの物質は種子などの植物組織に存在する(OGTR, 2008)。ゴシポールは単胃動物に対し毒性があり、食欲減退、体重減少、呼吸困難

等の症状を起こす(OECD, 2008)。また、ゴシポールは代謝経路におけるリシンの利用を妨げ、ミトコンドリアの正常機能に影響を与える(OECD, 2008)。シクロプロペン脂肪酸は飽和脂肪酸の代謝を妨げること及び鶏の卵黄の変色や孵化率の減少を引き起こすことが報告されている(OECD, 2009)。

ゴシポール及びシクロプロペン脂肪酸は加工により著しく量が減少するため(OECD, 2009)、高度に精製された油及びリンターのみが食用に適している。

ワタの綿実における有害生理活性物質の含有量は、総ゴシポール(○○-○○)、遊離ゴシポール(××-××)及びシクロプロペン脂肪酸であるマルバリン酸(△△-△△)、ステルクリン酸(□□-□□)及びジヒドロステルクリン酸(▽▽-▽▽)である。

6　既存品種のアレルギー誘発性等に関する事項

ワタは主要なアレルギー誘発性食品とは考えられていない。

7　既存品種の栽培および流通過程において、健康に影響を及ぼす外来因子に関する事項

ワタには、ウイルス、細菌及び糸状菌による各種病害が知られているが(OECD, 2008)、これら病原菌は、ヒトや家畜等への病原性を持たないことが知られている。

8　既存品種の安全な摂取に関する事項

ワタは、綿実から得られる油及びリンターが食用として利用される。綿実油は、天ぷら油、サラダ油、調理用油、ショートニング、マーガリンなどに利用されている。リンターはソーセージ類のケーシングや、アイスクリーム及びサラダドレッシングの増粘剤として用いられる(OECD, 2009)。

参考文献

EFSA Journal 2010; 8(7):1700
Scientific Opinion on the assessment of allergenicity of GM plants and microorganisms and derived food and feed

EFSA Journal 2022;20(1):7044
Scientific Opinion on development needs for the allergenicity and protein safety assessment of food and feed products derived from biotechnology
(ADOPTED: 2 December 2021 doi: 10.2903/j.efsa.2022.7044)

FAO/WHO, 2001. Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. Report of a Joint FAO, WHO Expert
Consultation on Allergenicity of Food Derived from Biotechnology, 22-25, January 2001. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Italy, Rome.

FAO/WHO MEETING REPORT 2022
RISK ASSESSMENT OF FOOD ALLERGENS
PART 1: REVIEW AND VALIDATION OF CODEX ALIMENTARIUS PRIORITY ALLERGEN LIST THROUGH RISK ASSESSMENT
(FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS
WORLD HEALTH ORGANIZATION)
ROME, 2022

FAO/WHO MEETING REPORT 2022
RISK ASSESSMENT OF FOOD ALLERGENS
PART 2: REVIEW AND ESTABLISH THRESHOLD LEVELS IN FOODS FOR THE PRIORITY ALLERGENS
(FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS

WORLD HEALTH ORGANIZATION)
ROME, 2022

Codex Alimentarius, 2003-2009.
Foods derived from modern biotechnology. Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rome.

Willems ら、Food Chemistry 2016;192:788-798
Statistical framework for detection of genetically modified organisms based on Next Generation Sequencing.