

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第 68 回会合議事録

1. 日時 平成 21 年 2 月 17 日（火） 10:00～11:55

2. 場所 委員会中会議室

### 3. 議事

(1) 食品健康影響評価について意見を求められた遺伝子組換え食品等の安全性評価について

- ・ XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼ
- ・ NIA1718 株を利用して生産されたインベルターゼ
- ・ GGI 株を利用して生産された L-グルタミン

(2) その他

### 4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、五十君専門委員、小関専門委員、橘田専門委員、澁谷専門委員、手島専門委員、丹生谷専門委員、山川専門委員、山崎専門委員、和久井専門委員、渡辺専門委員

(食品安全委員会委員)

見上委員長、長尾委員、廣瀬委員

(事務局)

大谷事務局次長、猿田評価調整官、鶴身課長補佐、松尾係長

### 5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

- ① XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼ

②NIA1718 株を利用して生産されたインベルターゼ

③GGI 株を利用して生産された L-グルタミン

## 6. 議事内容

○澤田座長 それでは、定刻になりましたので、ただいまから第 68 回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催いたします。

本調査会は非公開で行います。

本日は、所用により石見専門委員、宇理須専門委員、鎌田専門委員が御欠席で、飯先生が少し遅れておられるようであります。

本日の議題ですが、新規審査品目であります XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼ、NIA1718 株を利用して生産されたインベルターゼ、GGI 株を利用して生産された L-グルタミンに関しまして、安全性の審査を行いたいと思います。

それでは、お手元の資料の確認をいたします。事務局からお願いします。

○猿田評価調整官 議事次第に基づきまして、配付資料の確認をさせていただきます。

配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿。

資料としまして「食品健康影響評価に関する資料」となっております。

なお、これら以外の参考資料につきましては、紙のファイルにとじまして、机の上に御用意させていただいております。本ファイルにつきましては、調査会終了後回収させていただきます、次回また配付させていただきます。

不足等がございましたら、事務局までお知らせください。

お手元の資料のほか、専門委員の皆様には、本日、御審査いただく予定の品目につきまして、申請者作成の資料を事前に送付させていただいております。

なお、本日、審査を行う品目につきましては、食品安全委員会の公開についてに基づきまして、座長に資料の内容の御確認をいただいて、企業の知的財産を侵害するおそれのある箇所が含まれているということで、非公開での審査となります。

また、会議は非公開となりますが、国民への説明責任、透明性の確保の観点から、開催の予定日等は公開し、会議が非公開であることを明示してございまして、今後の情報提供としまして、議事録を作成し、企業の知的財産を侵害するおそれのある箇所を削除した上で、速やかに公開いたします。

また、審議に用いた各種の試験結果の概要、評価の結果をまとめた評価書（案）を作成し、食品安全委員会へ報告して公開させていただきます。

事務局からは以上でございます。

○澤田座長 それでは、議題（１）の審査に入らせていただきたいと思いますが、今日はヘミセルラーゼから審査を行うこととなっておりますが、まずはＬ-グルタミンから審査を行いたいと思います。

それでは、赤い表紙のものがGGI株を利用して生産されたＬ-グルタミンの資料であります。本件につきましては、新規の品目でありまして、高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方に基つきまして、申請書が提出されております。安全性の確認を行い、問題が残る場合には指摘事項を出しまして、問題がないとされた場合には評価書（案）の審査を続けて行いたいと思います。

それでは、事務局から御説明をお願いします。

○松尾係長 それでは、事前にお送りいたしておりますピンク色の資料に基つきまして、御説明をさせていただきたいと思います。

まず３ページをお開けいただけますでしょうか。３ページは「１．Ｌ-グルタミンの食品添加物としての概要」についての記載がされております。

Ｌ-グルタミンは、食品添加物公定書に記載された既存添加物に該当し、下記の化学構造、分子式、分子量、性状を有しているということでございます。

４ページにまいりまして「１－２．Ｌ-グルタミンの用途」は、スポーツ栄養食品や健康食品の成分として広く利用されているということでございます。

５ページにまいりまして、ここでは「２．Ｌ-グルタミンの製造方法の概要」が記載されております。

「２－１．Ｌ-グルタミン生産菌GGI株作製の目的」でございますが、Ｌ-グルタミンの生産・蓄積能力が向上した生産菌株を構築することで、効率的なＬ-グルタミンの製造を行うことを目的としております。

「２－２．Ｌ-グルタミン生産菌GGI株作製の方法」です。

「（１）作製方法の概略」について記載がされております。本生産菌株は宿主として *Corynebacterium glutamicum* KY9002 株を用いまして、分解に関わる酵素遺伝子及び生合成に抑制的に働く遺伝子を欠損させ、また生合成に関わる酵素遺伝子を強化することによって構築されております。

（２）ですが、本生産菌の宿主菌につきましては、ATCCにおいてバイオセーフティーレベル１に分類された安全な菌株であり、有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は知られておりません。また、本菌株を親株とする突然変異株は長年にわたりまして、食品の生

産に用いられてきた菌株でございます。

「(3) 染色体遺伝子操作」に関する項ですが、各遺伝子の挿入、破壊、改変につきましては、いずれも相同組換えを利用して行われているということでございます。

「(4) 破壊、改変、挿入遺伝子」の項ですが、本生産菌株は生合成に抑制的に働く遺伝子及び分解に関与する遺伝子である●●●の遺伝子を破壊しているということでございます。

6 ページの上から 3 行目ですが、生合成に関わる遺伝子の挿入、改変によりまして、活性の強化が図られております。なお、改変につきましては、●●●の改変を行ったとのことでございます。

次の段落にいただきましたが、破壊された遺伝子につきましては、有害性等は知られておらず、機能欠損による有害性遺伝子との相同性も認められておりません。また、挿入遺伝子は宿主由来の遺伝子でありまして、これについても有害性等は知られておりません。これらの遺伝子につきましては、以下に示されております遺伝子組換えユニットを用いた組込みにより挿入、破壊、改変がされているということでございます。

以下、6 ページの後半、7 ページ、8 ページの前半までで、各遺伝子組換えユニットに関する記載がされております。

8 ページの(5) ですが、遺伝子組換えユニット 1～6 をそれぞれ順次宿主に導入することによって、生産菌株が構築されております。なお、生産菌株におきましては、抗生物質耐性マーカー及び異種の原核または真核生物に由来する配列は有していないということでございます。以下の図 2 に生産菌株の構成概念図が示されております。

9 ページにまいりまして、ここでは「2-3. L-グルタミンの製造方法」に関する記載がされております。大きく分けまして 3 つの工程がございます。

まず最初の「培養工程」におきまして、発酵生産により L-グルタミンを蓄積させます。

「粗精製工程」におきまして、●●●及びろ過を行うことによって菌体が除去され、粗精製品が作製されます。

「最終精製工程」におきまして、晶析、結晶分離をすることによりまして、高純度の L-グルタミン酸を得ることができるということでございます。

以下、次の 10 ページまで製造方法に関する記載がございます。

11 ページは「3. 申請品目と現行製品の実質的同等性の確認」の項になっております。

「3-1 L-グルタミン食品添加物公定書規格分析結果」の記載がございまして、その結果が表 2 に示されております。分析の結果、申請品目はいずれの項目につきましても、

規格を満たしているということでございます。

12 ページでは「3-2 タンパク質残存試験結果」に関する記載がされております。

ドットプロット法によりまして分析を行いました結果が、12 ページの下の方に記載されております。分析の結果、検出限界 1 ppm で、いずれの申請品目についても不検出であったということでございます。

13 ページでは「3-3 L-グルタミン製品の不純物プロファイル比較結果」の記載がございます。

「(1) アミノ酸不純物プロファイル」につきましては、アミノ酸分析計を用いまして分析が行われており、結果は 13 ページの下の方に記載されております。分析の結果、申請品目には現行製品に含まれない新規の不純物は検出されず、また検出された不純物につきましては、現行製品の振れ幅の範囲内であったということでございます。

14 ページは「(2) 親水性モード HPLC 不純物プロファイル」に関する記載がされております。ここでは親水性の不純物につきまして HPLC 法を用いて分析されております。

その結果が 15 ページの表に記載されております。分析の結果、申請品目には現行製品に存在しない新規不純物は検出されておられません。また、検出された不純物につきましては、いずれも現行製品の振れ幅の範囲内であったということでございます。

17 ページでは「(3) 疎水性モード HPLC 不純物プロファイル」に関する記載がございまして、ここでは疎水性の不純物を HPLC 法で分析されております。

その分析結果が 18 ページの表に記載されております。分析の結果ですが、申請品目に現行製品に存在しない新規不純物は検出されておらず、また検出された不純物につきましては、現行製品の振れ幅の範囲内であったということでございます。

18 ページの一番下のパラグラフにまいりまして、以上の結果を踏まえまして、申請品目は高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方を満たすと考えることとされております。

なお、以下の添付資料 1 におきましては、この生産菌株の構築及び遺伝子組換えユニットの塩基配列などが詳細に記載されております。

説明は以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして、各項目ごとに先生方から御意見を頂戴したいと思います。

順番にまいりまして、まず「1. L-グルタミンの食品添加物としての概要」で、3 ペー

ジと4ページの辺りに関しまして、コメント、御意見がございましたら、お願いします。

次に「2. L-グルタミンの製造方法の概要」で、5ページから10ページにわたりますけれども、この間で御意見、コメントはございませんでしょうか。どうぞ。

○小関専門委員 8ページの図の4行上のところに、抗生物質耐性マーカーは有しないと書いてあるんですけども、具体的なデータが出されていない。後ろの方できちんとシーケンスが菌株についてやられているのであればいいとは思うんですけども、それでも入っていないということをサザンで示されてくれればいいのではないかと。要するに、言葉だけだと、そうですかということになってしまうので、そこは確認しておいていただきたいと思います。

○澤田座長 これは染色体ですね。そこに入っていないことを言うためにシーケンスを出すのは難しいかと思われませんが。

○小関専門委員 シーケンスは後ろに出ているものだから、多分これが生産菌だということが明記されていないのでわからないんですけども、そうであるかどうかを聞いていただきたいというのと、そうであっても、ほかのところに入っていないことを示すのであれば、多分サザンなり何なりをやられたデータを研究者の方は持っていると思うので、そういう実験ごとのデータでも構わないので、出していただければ間違えがないということが確認できると思います。

○澤田座長 補足で資料を出していただければよろしいということですね。

○小関専門委員 はい。

○澤田座長 ほかにいかがでしょうか。

それでは、11ページから18ページ、申請品目と現行製品の比較のところでありませけれども、いかがでしょうか。どうぞ。

○渡辺専門委員 純度に関しては十分なデータだと思うんですが、結論を書いている文章の問題です。13ページの下から2行目に「申請品目のGlu」と書いてあるんですけども、今回はグルタミンですのでGluではまずくて、Glnにするか、外のところは片仮名でグルタミンと書いていますので、これはちょっと、ちゃんと書いていただきたいと思います。大事なところだと思います。

○澤田座長 13ページの下から2行目ですね。何か所かあるわけですね。

○渡辺専門委員 ほかにあるでしょうか。私はここで気がつきました。

○澤田座長 それはチェックしていただいて、直していただきたいと思います。

ほかによろしいでしょうか。山崎先生、いかがでしょうか。下から2行目は「Gln」で、

下から4行目は「Glu」で正しいということですね。

○山崎専門委員 そうです。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。

それでは、抗生物質の件は後でまた確認していただくということで、それ以外には特に安全性の問題はないということでありますので、引き続きまして、評価書（案）の審査に入りたいと思います。

それでは、事務局から御説明をお願いします。

○松尾係長 それでは、お手元に配付させていただいております資料の13ページからが評価書（案）になっておりますので、これに基づきまして御説明をさせていただきたいと思っております。

資料16ページをお開けになっていただけますでしょうか。

「Ⅰ. 評価対象添加物の概要」について記載をしております。「名称」、「用途」、「申請者」、「開発者」につきましては、記載のとおりでございます。

本添加物はL-グルタミンの生成効率を高めるため、*C. glutamicum* KY9002株由来の突然変異株を宿主として、L-グルタミンの分解及び生合成を抑制する遺伝子の欠失、L-グルタミンの生合成に関与する遺伝子の改変及びKY9002株由来のL-グルタミン生合成関与遺伝子の導入を行ったGGI株を用いて発酵生産されたL-グルタミンである。

L-グルタミンは、食品添加物として指定され、成分規格が食品添加物公定書に記載されている。

GGI株の宿主及び遺伝子供与体である*C. glutamicum* KY9002株は、ATTCにおいてバイオセーフティーレベル1に分類された安全な菌株であり、有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は知られておらず、全塩基配列から病原性を持たないことが確認されている。

また、本菌株の誘導株は50年以上、アミノ酸の生産菌株として安全に使用されている実績がある。

「Ⅱ. 食品健康影響評価」ですが、1. 本添加物は、製造工程において使用微生物及び発酵副生成物が除去され、晶析により結晶として高度に精製されており、食品添加物公定書規格の含量規格を満たしている。

2. 本添加物の非有効成分について、最終製品において、（1）タンパク質は検出限界（1  $\mu$ g/g）未満である。

（2）食品添加物公定書規格の成分規格を満たしている。

（3）アミノ酸分析及びHPLC法（疎水性及び親水性）による分析の結果、従来品のL-

グルタミンに存在しない不純物は検出されず、また、従来品に存在する不純物については、従来品の含有量の振れ幅の範囲内であった。

以上、(1)～(3)の結果から、従来品に比べて、既存の非有効成分の含有量が安全上問題となる程度にまで有意に増加しておらず、かつ、有害性が示唆される新たな非有効成分を含有していないと考えられる。

以上、1及び2の結果から、GGI株を利用して生産されたL-グルタミンについては、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の附則遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方にに基づき、安全性が確認されたと判断した。

したがって、本添加物については、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よる改めての評価は必要ないと判断したということでございます。

以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、ただいまの評価書(案)につきまして、御意見、コメントがございましたら、よろしく申し上げます。

なお、細かい字句等の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただければと思います。

まとめて、全体を通しまして、コメントがありましたら、よろしくお願いいたします。

○澁谷専門委員 前のときにわからなかったんですけども、このところにあるL-グルタミンの生合成に関与する遺伝子の改変というのと、生合成関与遺伝子の導入というのは、この前の方から見ると、どちらもグルタミン生合成酵素そのものだと思います。

私が理解できてないのかもしれませんが、L-グルタミンの生合成酵素遺伝子を●●●にして増やして生産性を上げている。そのときに●●●を変えているんです。だから、操作している遺伝子は同じだと思うので、同じであれば、この書きぶりだと何か違った遺伝子をやっているような感じになってしまうので、生合成酵素遺伝子そのものだと思うので、それで正しければそれにしてしまっただけで、導入と改変をしたということではないかと思うので、

ただ、わかる方がいらっしゃったら教えていただきたいんですが、私がわからなかったのは、どうして●●●を操作しているのか。そこがよく理解できませんでした。

○鶴身課長補佐 こちらの方で確認しましたら、●●●のものを改変した。●●●ものは●●●入れたということなんです。なぜ●●●していないかということを確認しますと、

●●●でも生産性が上がったので、●●●しなかったということのようです。

○澤田座長 余分な手間を省いたということですね。

○澁谷専門委員 それはそれでわかりました。

いずれにしても、そういうことであれば、同じ生合成、グルタミン生合成遺伝子そのものということなので、グルタミン生合成遺伝子の導入と改変というのは統一した方がいいのではないかと思います。

○澤田座長 そうしますと、この文章はよろしいですか。直す必要はありませんね。

○澁谷専門委員 これは●●●の遺伝子を並列に書いていますね。しかも、表現が微妙に違っているから、読む人が生合成に関係する違った遺伝子を操作したようなイメージを持ってしまうので、むしろ、L-グルタミン生合成遺伝子の改変及び導入を行ったという単純なあれでいいのではないのでしょうか。ただし、●●●改変したように受け止められてしまうかもしれません。

○澤田座長 もともとある遺伝子と導入遺伝子は、微妙に違うんですね。

○澁谷専門委員 そうなんです。どういうふうに正確に表現するんでしょうね。

○澤田座長 これは事務局と相談して適切に直して、それを先生に見ていただくことにしたいと思いますけれども、よろしいですか。

○澁谷専門委員 わかりました。

○澤田座長 ほかにございますか。どうぞ。

○丹生谷専門委員 細かい字句になってしまいますけれども、ついでに、31行目の最後は「分解及び生合成を抑制する」という書き方なんですけれども、これだと分解及び生合成の両方が抑制にかかってしまうので、本当は分解は抑制にかからないので「遺伝子」という言葉を補って「分解遺伝子及び生合成を抑制する遺伝子の欠失」とした方が正確だと思います。

○澤田座長 それは同時に修正していただくことにしたいと思います。

ほかによろしいでしょうか。

それでは、評価書（案）の字句の修正、あと追加で補足資料を出していただいて、それを確認することにします。それは座長と御発言のあった先生に見ていただくということで、本案件は一応承認ということにさせていただきます。

それでは、続きまして、今度はヘミセルラーゼに移りたいと思います。XAS株を利用して生産されたヘミセルラーゼで、これはブルーの表紙のものであります。

これも新規の審査品目でありまして、申請書が提出されておりますが、この添加物は遺

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の第3の対象添加物に該当しない、いわゆるセルフクロニングに該当すると考えると申請者が述べております。

したがいまして、まず申請書に沿って、安全性評価基準の対象添加物に該当するか否かについて御確認をいただきまして、該当しない場合には評価書（案）の審査を行いたいと思います。対象添加物に該当する場合は、安全性評価を行うため、評価基準に沿った資料を提出していただくという指摘を申請者に出したいと思います。

それでは、事務局から御説明をお願いします。

○鶴身課長補佐 先ほど座長からお話がありましたように、ブルーの「XAS株を利用して生産されたヘミセルラーゼ」というファイルになります。

ページをおめくりいただいて、1ページ「はじめに」というところから御説明をさせていただきますと思います。

*Bacillus subtilis*を由来とするヘミセルラーゼは、食品製造に広く利用されております。ヘミセルラーゼはヘミセルロースを加水分解する酵素の総称であって、既存添加物の名簿に記載されている。

今回の申請は、生産性の向上のために構築をしたヘミセルラーゼ生産菌 *B. subtilis* XAS株がいわゆるセルフクロニングにより構築された生産菌に該当し、本生産菌株が生産するヘミセルラーゼは評価基準の対象には含まれないのではないかと申請者の方では考えていることから、審議をお願いするものでございます。

生産菌 XAS株は、ドイツ微生物及び細胞培養物コレクションにおいて、*B. subtilis*と同一とされているということでございます。

4つ目のパラにまいりまして、使用したベクターですが、*Escherichia coli*由来のベクターを使用しておりますけれども、構築の過程で除去されており、そのほかは *B. subtilis* 内在性プラスミドとしてみなされているベクターが使用されているということでございます。

5つ目のパラにまいりまして、発現プラスミドには *Bacillus amyloliquefaciens* 由来の●●●遺伝子のプロモーターが使用されております。*amyloliquefaciens* は1987年に独立した種として位置づけられる以前は *subtilis* として取り扱われている。1987年以降も *subtilis* と同様に発酵分野で安全に利用されているということでございます。

最後のパラになりますけれども、なお、生産菌はオランダ当局において、セルフクロニングにより得られた菌株とみなされているということでございます。

2ページにまいりまして、構築方法の概要が記されております。簡単に概要を申し上げ

ますと、●●●が●●●までに分かれておりますが、●●●では *B. subtilis* 168 株を突然変異処理により宿主を得るとい過程になっております。

●●●では、●●●プロテアーゼ遺伝子●●●を相同組換えで欠失させておまして、最終的に融合株を作製する。

●●●では、更に●●●、●●●を欠失させております。

●●●では、発現プラスミドの構築をして、生産菌株に導入をしているものでございます。

5 ページになります。それぞれについて記載がされております。

5 ページの上●●●は、変異処理について記載がされております。

●●●についてですが、●●●遺伝子の欠失について記載がされております。

1) でベクターの構築ですが、下の図にありますベクターを用いて構築しております。左側の pUB110 というベクターが *B. subtilis* 内在性ベクターとみなされているもの。右側の pBR322 ベクターが *E. coli* 由来のベクターということでございます。

6 ページにまいりまして、先ほどのベクターを用いて●●●遺伝子、欠失用のベクターを構築しているということでございます。

7 ページにまいりまして、これを用いて相同組換えにより●●●遺伝子を欠失させる。具体的にはそこに示されている図のとおりとなっております。

8 ページにまいりまして、●●●になります。●●●で得られた株について、融合の結果、プロテアーゼの活性が回復をしていたということがありまして、プロテアーゼの活性を完全に欠損させるために、以下のように改めて●●●、●●●の遺伝子の欠失をさせております。

2) の「①●●●遺伝子欠失」となっております。図に示されているベクターの構築図です。

左の下側は pE194neo というものが構築されております。ブルーのところは pUB110 ベクター由来、オレンジのところは pE194 由来で、いずれも *subtilis* の内在性ベクターとみなされているということでございます。

これを用いて右側にいきまして、不活性プラスミド-A というものが●●●遺伝子欠失用のために作製をしたもの。

その下が不活性プラスミド-N が●●●遺伝子の欠失用のために作製をしたプラスミドということでございます。

9 ページにまいりまして、●●●遺伝子の欠失ですが、先ほどの不活性プラスミド-A

を用いて相同組換えにより欠失をさせたということでございます。

10 ページにまいりまして、②●●●遺伝子、●●●の欠失で、先ほどと同様に不活性プラスミド-Nを用いて●●●遺伝子を欠失させたということでございます。

11 ページにサザンプロットの結果が記載されておりますけれども、DB104 株が●●●で得られた株です。BS154 株が●●●で得られた株ですが、これにおいて *E. coli* 由来のプラスミドが存在していないことを確認するために、サザンプロット分析を行った。その結果、*E. coli* 由来のプラスミドが存在していないことが確認されたということでございます。

12 ページにまいりまして「生産菌 XAS 株の構築」で 1) 発現プラスミドの構築ということになっております。

本発現プラスミドは、①としまして PCR 増幅による *subtilis* 168 株由来の *xynA* 遺伝子、ヘミセルラーゼ遺伝子のクローニング、② *amyloliquefaciens* 由来である●●●遺伝子のプロモーターの導入、③として *E. coli* 由来 DNA の除去という過程で構築がされております。

下にまいりまして、①ヘミセルラーゼ遺伝子のクローニングの第 1 ステップとして図に示されておりますが、●●●にありますようにシャトルベクターを使用されております。ブルーのところは *subtilis* 由来の pUB110 由来。赤いところが *E. coli* 由来の pBR322 となっております。これに *xynA*、ヘミセルラーゼ遺伝子の上流の領域が挿入されているということでございます。

13 ページにまいりまして、第 2 ステップとしては、ターミネーターを含有する *xynA* 遺伝子の完全長の領域が導入されているということでございます。

14 ページにまいりまして、②といたしまして●●●のプロモーターの領域の導入ということで、14 ページのところは既存のプロモーターの除去という過程が記載されております。

16 ページにまいりまして、●●●由来のプロモーターの導入という記載になっております。

17 ページにまいりまして、繰り返しになりますけれども、使用した●●●遺伝子プロモーターは *amyloliquefaciens* 由来であるが、*amyloliquefaciens* は 1987 年に独立した種として位置づけられる以前は *subtilis* として取り扱われている。一般に 16S rRNA が高い相同性を持つ微生物は分類学上近縁であるとされており、*amyloliquefaciens* と *subtilis* の 16S rRNA の塩基配列は非常に高い相同性を示している。

また、*Bacillus* 族のすべてのタイプの株を用いた 16S の塩基配列の完全配列、高度可変領域配列を用いた分類においても、非常に近い種であることが報告されております。

18 ページにまいりまして、③で *E. coli* 由来 DNA の除去となっております。

下の図に示されておりますとおり、制限酵素で処理することにより、*E. coli*由来のDNAを除去して発現プラスミドを得たということでございます。

19 ページの上の図になりますけれども、発現プラスミドにおける *E. coli* 由来の DNA の断片の有無の確認が電気泳動により行われておりますが、含有していないことか確認されたということでございます。

2) で発現プラスミドの導入ですが、発現プラスミドを *subtilis* BS154 株に導入して、生産菌である XAS 株が得られた。XAS 株はオランダ当局により、セルフクローニングによって得られた生産菌株とみなされている。

以上のように生産菌 *subtilis* XAS 株には、*subtilis* 宿主株、*subtilis* 供与体株に由来する *xynA* 遺伝子及び発現プラスミド以外の DNA 配列は存在していない。

最後のパラになります。したがって、XAS 株はいわゆるセルフクローニングにより構築された生産菌に該当し、本生産菌株が生産するヘミセルラーゼは、分類学上同一の種に属する微生物の DNA のみである場合に該当する微生物を利用して製造されたものとみなされると考えられると申請者の方ではされております。

説明は以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

この生産菌は宿主のプロテアーゼ遺伝子を欠失させまして、宿主由来のヘミセルラーゼ遺伝子と *B. amyloliquefaciens* の●●●遺伝子由来のプロモーターを導入したということでもあります。

セルフクローニングの認定に当たりまして、まず問題になるのは、宿主の *B. subtilis* と *amyloliquefaciens* が評価基準の同一の種に属するかどうかという判断が問題になるかと思えます。

この点に関しまして、まず御意見をお伺いしたいと思えます。五十君先生、いかがですか。

○五十君専門委員 この資料を提出した方もおっしゃっているように、分類学が微生物とは少し変わって、ハイブリダイゼーションをベースにした尺度できちっと新しい分類が体系づけられている中で、*subtilis* から新たに新菌種として提案されたということになりますと、分類学上というお約束からいいますと、同一種と考えるのは非常に難しいと思われまます。

○澤田座長 ありがとうございます。

山川先生、いかがですか。

○山川専門委員 これは 16S の rRNA だけではなくて、そのほかのことがここに全然書いてないんですけども、当時、違うところがたくさんあるから種が分けられたんだと思います。これはやはり種が違うということで、直ちにこれだけの理由では同種とみなせるとは言えないと思います。

○澤田座長 どうもありがとうございました。

ほかに御意見がございましたら、どうぞ。

それでは、お二人の先生の御意見のように、分類学上既に分けられているということで、同一の種に属する微生物の DNA のみである場合には該当しないと、この調査会では判断することにしたいと思います。したがって、改めて資料を再提出するよう指摘をしたいと思います。

提出されました資料は、かなり遺伝子の関係の構築に関しては詳しく書いてございまして、もし御意見、コメントがありましたら、この際、併せてお願いできたらと思います。

項目ごとに順番にいきますと、まず申請書の 4 ページまでの構築方法であります。

どうぞ。

○五十君専門委員 先ほど分類学のお話をしましたけれども、以前、審査しました中で、*Streptomyces* に関して、このような菌種としては違うんだけれどもということが議論されたことがありました。このときには *Streptomyces* 属に関していいますと、多数の論文で、この属の中の遺伝子交換が自然界で非常に頻繁に行われているという資料が付けられていたことがございましたので、今回の分類学上という判断からいいますと、先ほどのような結論になるかと思いますが、もしこの *Bacillus* と当該の菌種の間非常に頻繁に遺伝子交換が行われるといった証明がはっきりと提出されれば、当該物件に関しましては考え方を変えた見方ができるのではないかといいますと、提案させていただきたいと思います。

○澤田座長 五十君先生のおっしゃられたことは、セルフでは問題があるけれども、ナチュラルオカレンスとして十分な資料が出れば、そちらでも構わないというお考えですか。

○五十君専門委員 はい。

○澤田座長 それは申請者の方の御判断というか、説明ができない場合にはフルで、できる場合にはナチュラルオカレンスでということによろしいのでしょうか。

○五十君専門委員 はい。

○澤田座長 どうぞ。

○猿田評価調整官 1 点お聞きしたいんですけども、赤痢菌と大腸菌なんですけど、16S rRNA だと 99% 以上同じ配列。しかも、ベロトキシン産性の大腸菌については、シゲラ由来

のペロトキシンから遺伝子が来て、腸管出血性大腸菌などが起きているという話もある中で、どこまで許せて、どこまで許せないのかというのを教えていただければありがたいです。

○五十君専門委員 御指摘のように、高等植物、動物の種概念と微生物の方の種概念は、考察があるないということを含めて大分違っていると思います。こうなって、定義をどうするかという議論を始めますと、恐らくこういった遺伝子組換えの分野では收拾がつかない議論になると思いますので、むしろ、分類学上の種というものを超えてというところを受けまして、お約束どおり、まず基本では判断するのが今の微生物の分類学の立場で見たときに、そういう判断をするのが一番いいのではないかと思います。

もう一つは、先ほど申しましたように、以前の調査会で、ある属に関しては自然界で遺伝子の交換が普通に起きているという、そういったものが科学的な論文が多数出されているようなものにつきましては考慮いたしまして、ナチュラルオカレンスの1つということで、通常の遺伝子交換が行われているんだならば、少し考慮しようというところで、ほぼまとまっていると思います。

○澤田座長 よろしいですか。どうぞ。

○丹生谷専門委員 ちょっと違うコメントになるんですけども、文部科学省の、文部科学省だけではないですが、カルタヘナ法では普通のK株の大腸菌と病原性大腸菌の場合、同種であるので、それは遺伝子組換えをしてもセルフクロニングで全く規制をしないということは文科省の担当官が公言している状況があります。

ですから、それはカルタヘナ法であって、一方、食品安全を評価する場合にカルタヘナ法と同じような概念のあるセルフクロニング、ナチュラルオカレンスというのは一応取り入れてはいますけれども、そのスタンスは、当然のことながら、評価する際のスタンスは異なってくるであろうと思います。それだけの話です。

○小関専門委員 起草したときに、セルフ、ナチュラルの話を植物で抜いてぼこぼこにされたんですけども、そのときにもう話題は出ていたんです。要するに、病原菌のものと普通の大腸菌との間の組換えに関しては、いわゆるカルタヘナというものだけで冷静に見てしまえば、そういう問題がある。ただ、食品安全委員会の基準の中には、それを取り入れていないんです。カルタヘナの基の文章が定義になっていて、安全性の上で微生物の場合どうしましょうかという見方をするんだといったときに、私がこれを読んでいたときに一番の疑問だったのは、まずスタンスとしては食品ごとに見ましょう。これが食品安全委員会のスタンスだと思います。そうしたときに、まずこれを見たときに、これは書いてな

いんですけれども、*xynA* 遺伝子の産物というのは既に使われているのかどうか。食経験があるのかどうかどこにも書いてなくて、まずそのところがあれっと思いました。

今まで使ってきたものを更に強めるというものであれば、安全性の上でアレルギー性とか消化性の上で変わらないのではないかとということをバックグラウンドにおいて、今のセルフクロニングの話になるはずだ。順序としては、そちらだと思います。

要するに対象とするかしないかで見たとときに、食品としてどうなのかということです。そこがこれでははっきりしないというのが一番大きなポイントなのではないか。ですから、カルタヘナ法の話ではなくて、食品の安全という意味でいったときには、その部分の記載をきちんとしていただかないとならないだろうと、私はこれを見て思いました。

○澤田座長 ありがとうございます。

山崎先生、食品添加物のリストにヘミセルラーゼはありますか。

○山崎専門委員 ヘミセルラーゼは入っているはずです。

○澤田座長 入っていると私も思います。

○小関専門委員 入っています。ただ、ここには食経験があるかどうかは一切書かれていないんです。そこが1つ大きな問題であって、食経験がないものであったとすると、幾らセルフ、ナチュラルであったとしても、少し慎重にやらなければいけないのではないかと私は思っています。そこがこの専門調査会の基準ではないかと思えます。

○山崎専門委員 1つよろしいですか。小関先生に確認したいんですが、*subtilis* 属の菌は自然界にあるんですが、生産菌株そのものに、今までの製造歴、食品製造に使った歴史があるかどうかという問題ですか。

生産菌株を作出するまでには企業がどんどん株の改変をしていますので、直近の株が本当に生産に使われたかどうかだけだと判断できないので、ある程度履歴まで含めてデータを出してもらえばわかるかもしれないのではないかと。その辺はどれぐらいをお考えなんですか。

○小関専門委員 ですから、今までどういうふうにしてこれを食経験として用いてきたか。要するに、この遺伝子由来のタンパクを大量発現したいからこうしているわけですね。そうすると使ってきたんだらうと思うので、その辺のことについて履歴、こういうことをやってきたということはわかっている部分があると思います。そうでないとすると、例えば全然違うところからとってきたのかもしれませんが、その辺のことについて、きちんとわかる範囲で記載していただきたいと思えます。

○山崎専門委員 その場合は、導入する遺伝子の側ではなくて、ホストの側にどれぐらい

使用歴があるかということですか。

○小関専門委員 ホストの側にという言い方をすると、先ほどの生物、要するに生物多様性の条約の下にという言い方になるわけです。そうではなくて、ここは先ほどから言っています食品だということでしたときに、例えば *Bacillus* 属でも病原性があるものがあるかもしれないし、そういうものときちんと区別して食品は製造されてきたわけで、その上でこれは使われてきたんですかという質問になります。

○山崎専門委員 私が言っているのは、ホストの種という意味ではなくて、ホストの株という意味です。

○小関専門委員 ですから、株というよりも、より正確に言えば遺伝子としてこれを使ってきたかということです。このタンパクの生産物を使ってきたのか、その辺について経歴を教えてくださいということです。株とかそういう問題ではなくて、食品として、ヘミセルラーゼとして使ってきたものなのかどうか。それを教えていただけないかということです。

○澤田座長 その議論はフルで出すべきであるという議論に近づいてくるわけですがけれどもナチュラルでいく場合にも、そこら辺の情報は追加で出してください。それでよろしいでしょうか。

○澁谷専門委員 恐らくこういう案件は、食品安全委員会でまな板の上に乗せるべき案件かどうかを判断する必要があるあって、例えば食品には使われないで香料だけだということになれば、恐らく食品安全委員会のあれから外れますね。だから、最低限、食品安全委員会でセルフ、ナチュラルを議論すべき案件かどうかを判断する程度の情報が必要だ。小関先生が言われたのは、そういう話ではないですか。

○小関専門委員 ですから、もう一度ここに書いてある3の対象となる食品添加物というものを読んでいただくとわかりますけれども、セルフ、ナチュラルは除外する。けれども、安全性の上で問題がある場合にはフルスペックで審査するという書き方をしているんです。ですから、セルフ、ナチュラルだからすべてOKということは言っていないわけです。

そうだとしたら、今までのものは食経験のあるものを抗発現性のプラスミドに入れたとか、そういうものが多かったように思います。ですから、そういうものと同じ並びで対象とすべきか、対象とすべきでないかという判断基準を与えてほしいということです。

○澤田座長 要は情報をきちんと出して頂く必要があり、食品添加物としての使用経験があるかないかですね。

○小関専門委員 そうです。

○澁谷専門委員 関連するかもしれないんですが、これはヘミセルラーゼと書いていますが、食品添加物のリストがヘミセルラーゼとなっているからです。だけれども、実はこれは1遺伝子で、中身が書いてないんですけれども、名前から見ると多分キシラナーゼなんです。そういうことがわかっているわけだから、どういう酵素で、ヘミセルラーゼの中に入る1つであって、これまでどういうふうここに書いてあるパンなどが使われているとか、多分そういう情報なのではないかと思います。

○小関専門委員 そうです。そういうことです。

○澤田座長 それでは、少なくともそういう情報を追加していただくことにします。

○澁谷専門委員 そうしたら、それを前提に考えられるということかと思います。

○澤田座長 どうぞ。

○五十君専門委員 先ほど私は分類学的に見て、それだけでカットして、セルフ、ナチュラルだと判断をするようなお答えをしてしまったので、多分、小関先生からそういう御指摘が出たんだと思います。

考え方は、先ほどのように、種が同じかどうかで組換えの審査ということで、セルフ、ナチュラルみたいなこととということもありますけれども、その大前提の中に、小関専門委員が指摘しましたような、食品として食べたときにセルフ、ナチュラルでも、問題もあるものについては審査をというか、各論的に審査をするということが確認されましたので、まさに今の小関専門委員からの御指摘が加わって、先ほどのように分類学的にどうだから、これで、はい、さようならというわけではないというところを多分御指摘いただいたんだと思います。

○澤田座長 わかりました。

それでは、続けてよろしいでしょうか。5ページから7ページに関しまして、コメントはありますでしょうか。

8ページから11ページにかけていかがでしょうか。

12ページから19ページ、最後までですけれども、いかがでしょうか。どうぞ。

○山崎専門委員 17ページのプロモーターなんですが、遺伝子の配列だけで見た場合、同属の菌の中でどの程度のホモロジーがあるかというデータがもしあれば、提出していただくと参考になると思います。

○澤田座長 それはプロモーターの部分だけですか。

○山崎専門委員 そうです。

○澤田座長 それは次回出していただきましょう。

○鶴身課長補佐 それは *subtilis* の中でということですか。

○山崎専門委員 *Bacillus* 属の中でということです。

○澤田座長 この際、次に出てくる前に大きな点でコメントがありましたら、あらかじめお伝えしておいた方がよろしいかと思いますが、ほかによろしいですか。

それでは、ないようですので、改めまして資料を提出するように、厚生労働省を通じて申請者に指摘したいと思います。

それでは、これはまた出し直していただくということで、次はインベルターゼです。紫の表紙でありますけれども「NIA1718 株を利用して生産されたインベルターゼ」についてであります。

この品目も新規でありまして申請書が提出されておりますけれども、この添加物は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の第3の対象添加物に該当しない、いわゆるセルフクロニングに該当すると申請者が考えて、申請書が提出されております。

したがって、申請者に沿って安全性評価基準の対象添加物に該当するか否かについて確認をしていただきまして、対象添加物に該当しない場合には評価書（案）の審査を行いたいと思います。対象添加物に該当する場合には、安全性評価を行うために評価基準に沿った資料を提出していただくことを申請者に指摘したいと思います。

それでは、事務局から御説明をお願いします。

○鶴身課長補佐 紫色の「NIA1718 株を利用して生産されたインベルターゼ」というファイルになります。

ページを2枚めくっていただいて、1ページになります。「1. 申請添加物の概要」から御説明をさせていただきたいと思います。

「品目」は、*Aspergillus niger* NIA1718 株を利用して生産されたインベルターゼ。

「性質」は、ショ糖から転移反応によってオリゴ糖を生成する。

「改変目的」は、生成するオリゴ糖組成比率の変更でございます。

*A. niger* を由来とするインベルターゼは、既存添加物の名簿に記載がされており、食品製造の際に使用されている。インベルターゼは、主としてショ糖をブドウ糖と果糖に加水分解する酵素であるが、酵素の特性、反応条件によって果糖をショ糖に結合させる転移反応を触媒することが知られており、オリゴ糖製造に利用されている。

今回の申請は、当該インベルターゼが評価基準の同一の種に属する微生物の DNA のみである場合に該当する微生物を利用して製造されたものに該当して、したがって、本基準の

対象には含まれないのではないかと考えられることから、審議をお願いするものということとでございます。

下の図に作出過程の概要が記されておりますが、簡単に申し上げますと、突然変異によって得られた *A. niger* NIA5292 株を宿主としまして、内在性のインベルターゼ遺伝子を欠損させ、元株に由来するインベルターゼ遺伝子の部位特異的変異処理によって得られた改良インベルターゼ遺伝子を導入して、生産菌株を得たというものでございます。

2 ページにまいりまして、最初のパラの下の方になりますけれども、●●●。

なお、平成 10 年に当該インベルターゼ生産菌は農林水産省によってセルフクローニングと認定されているということでございます。

3 ページにまいります。「2. 宿主及び導入 DNA」です。

(1) 宿主は野生株 *A. niger* ATCC20611 株の突然変異株を用いたということでございます。

(2) DNA の供与体は宿主の元株である 20611 株。

(3) 挿入遺伝子の性質としまして、1) 野生型インベルターゼの DNA、アミノ酸配列については、添付 3 に記されております。

2) 部位特異的変異の設計ですが、インベルターゼはショ糖を加水分解する。またはショ糖のフラクトースを他に転移させる反応を触媒する。*A. niger* の 20611 株が産生する野生型のインベルターゼは、主に転移反応を触媒し、ショ糖からの 1-ケストースへ変換するものでございます。

4 ページにまいりまして、そのため、ショ糖から 1-ケストースへの変換率が高く、1-ケストースの●●●が少ないインベルターゼが望まれたということでございます。

4 ページの第 2 段落の 3 行目になります。が、*A. niger* の 20611 株よりも望まれる特徴を持ったインベルターゼを産生する、記載の 2 つの株を選抜して、これら 3 つの菌株のインベルターゼのアミノ酸配列を比較したということでございます。

下から 2 つのパラになりますけれども、また、部位特異的変異処理によって得られたアミノ酸置換の特性の評価のためには、●●●が用いられたということでございます。

その結果が 5 ページに記載されております。

2 段目のパラになりますけれども、これらの結果から、*A. niger* 20611 株のインベルターゼの●●●番目、●●●番目、●●●番目のアミノ酸である●●●、●●●、●●●をそれぞれ●●●、●●●、●●●に置換をしたインベルターゼが優れているということが確認されたということでございます。

下のパラになりますけれども、なお、20611株のインベルターゼのアミノ酸配列について、国立遺伝学研究所のデータベースで相同性検索が行われておりますが、●●●番目の●●●への置換はもともと *A. niger* にも存在するアミノ酸残基であった。

それから、●●●番目のアミノ酸は *A. niger* では●●●のみであった。

次の行の最後になりますけれども、●●●番目のアミノ酸は *A. niger* では●●●、●●●であった。

しかし、●●●では●●●が認められることから、これらの部位は自然界では保存されていない部位のアミノ酸残基であると考えられたとされております。

6ページにまいりまして「3) 部位特異的変異遺伝子の取得」について記載がされております。

7ページの図に具体的に記載されておりますけれども、改変前後の比較が記されております。下線部が変更点となります。

四角で囲んでいたところですが、翻訳領域に6か所の塩基の置換、非翻訳領域に4か所の塩基の置換があるというものでございます。

「5) 得られた改良インベルターゼの性質」ですが、下から5行目ぐらいになりますけれども、改良インベルターゼは1-ケストースをより多く生成するように改良されている点以外は、至適 pH、安定 pH、至適温度、安定温度などの特性は野生型インベルターゼとほぼ同等であったとされております。

8ページにまいりまして「3. ベクター」について記載がされております。

「(1) ベクター pAN203」ですが、このベクターは野生型インベルターゼ遺伝子を欠失させる目的で使用がされております。

以下に構築について詳細に記載がされておりますが、最終的に11ページを御覧ください。11ページの図のようなものが構築されております。インベルターゼ遺伝子上流の近傍の非翻訳領域、下流の非翻訳領域からなるベクターを構築してあります。このベクターを用いております。

12ページにまいりまして「(2) ベクター pAN517」です。このベクターは改良インベルターゼ遺伝子を導入する目的で使用がされております。

構築方法について詳細に記載がされておりますが、最終的には14ページになります。図のとおりとなっており、上流の近傍、改良インベルターゼ遺伝子、下流の非翻訳領域というベクターの構築をしております。

15ページにまいりまして、改良インベルターゼ生産菌1718株の作出になります。

16 ページの図を御覧ください。上からいきますと、宿主である NIA5292 株から相同組換えによって野生型のインベルターゼを欠失させている。

中段になりますが、それによってインベルターゼ遺伝子欠損株 NIA1602 株を得ております。

更に相同組換えによって、改良インベルターゼ遺伝子を導入している。

一番最後のところになりますが、それによって生産菌 NIA1718 株を得たということでございます。

18 ページにまいりまして、1718 株に対する申請者の考え方ということで記載がされております。

最初のパラの下から 3 行目後半からになりますけれども、*A. niger* NIA1718 株は、野生株 20611 株に由来する遺伝子のみで構成がされていること。

2 つ目のパラになりますけれども、改良インベルターゼは部位特異的変異処理によって、3 アミノ酸残基が置換されているが、そのうち 1 つの置換は *A. niger* で認められている。残り 2 つの置換は、これまで知られてはいないがインベルターゼでは保存がされていないアミノ酸残基と考えられること。

3 つ目のパラとして、カルタヘナ法においては、セルフクローニングとしてみなされていること。

最後のパラになりますけれども、これらのことから NIA1718 株が生産する改良インベルターゼは評価基準の同一の種に属する微生物の DNA のみである場合に該当する微生物を利用して製造されたものに該当して、よって、本基準の対象には含まれないと考えられるとされております。

19 ページにまいりまして、参考として安全性について記載がされております。

「(1) 改良インベルターゼ」についてです。2 行目の後半になりますが、インベルターゼの部位特異的変異のポイントであるアミノ酸●●●番目、●●●番目、●●●番目を N 末端または C 末端とした 6～8 残基、80 残基の各 4 種のペプチドについて、アレルゲンデータベースによる相同性検索が行われていますが、相同性を示すものは認められなかったということです。

(2) 増殖様式としては、近縁種、同種内での株の交雑性はない。

「(3) 病原性」としては、*A. niger* については安全性が高い微生物として広く利用がされている。

「(4) 有害物の産生性」ですが、*A. niger* については、有毒物質を産生するという報

告がこれまではない。

(5) その他について、抗菌活性はないということがわかっている。

20 ページにまいりまして (6) 利用の状況ですが、●●●。

「(7) 最終製造物」についてですが、インペルターゼを使って製造され、製造過程においては加熱失活がなされ、最終的に除去がされるということで、最終製品、インペルターゼを使った製品、オリゴ糖に残存しないということが記載されております。

説明は以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。

時間にそれほど余裕がないわけでありまして、ポイントはアミノ酸置換が3か所あるのをどう考えるかということになろうかと思えます。時間の関係で、まず一応ざっと御意見、コメントをいただいて、その後、人工的改変を入れた場合に関しまして議論したいと思えます。

それでは、まず順番にいきまして、2 ページまででコメントはありますでしょうか。

7 ページまででいかがでしょうか。よろしいですか。

14 ページ、ベクターのところですけども、いかがでしょうか。

17 ページまででいかがでしょうか。

20 ページまでで一応終わりですので、全般的な御意見でも構いませんので、よろしくお願ひします。

○丹生谷専門委員 強いて言えば、19 ページの (2) ですが、ここの2行の文章の最後に「交雑性はない」と書いています。食品安全の議論で交雑性はあまり関係ないのかもしれませんが、ただし「不完全菌で有性世代は知られておらず」は正しいと思えます。でも、知られていないということであって、自然界で交雑性がないというのはおかしいと思いました。

○澤田座長 これは知られていないと直せばよろしいんですか。

○丹生谷専門委員 知られていないというのはよろしいんですが、交雑性はないと断言できないということです。

○澤田座長 適切に直すということですね。

○丹生谷専門委員 はい。食品の安全性とはあまり関係ないです。

○澤田座長 ほかによろしいでしょうか。どうぞ。

○手島専門委員 同じく19 ページの (1) です。細かいところなんですけど、ここの中でアミノ酸の配列の相同性検索を行っているところなんですけども、改変した部分を「N 末端

あるいはC末端とした6～8残基」という書き方なのですが、これはそういう改変部分を  
含む6～8残基のペプチドという形でやっていただく必要があると思います。

それから、あとは80残基のペプチドとあるんですが、これは80残基以上が35%の相同  
性ということなので、6～8残基という比較と80残基以上というのはちょっと違った概念  
ですので、正確な表現ではないと思いました。

○澤田座長 方法論として、もう一度やり直した方がいいという点と、あとは書き方の問  
題ですね。

○手島専門委員 ただ、これがフルの審査になるかどうかによって、また違ってくると思  
います。

○澤田座長 それでは、本格的な議論を始めたいと思いますけれども、まずセルフの認定  
としまして、アミノ酸が3つ変わっているということで、これはセルフとして認定してい  
かどうかという問題があるかと思いますが、この点は専門委員の先生方の御意  
見をお伺いしたいと思います。

○澁谷専門委員 最初は2つとして扱っていいのではないのでしょうか。1つは同一種内で  
変異が認められています。だから、少なくとも●●●番目は *niger* 由来の遺伝子、直接使  
った親とは違ってはいますが、同一種の遺伝子の中に同じ構造のものがあるから、こ  
れはいいのではないか。だから、問題にするのは2つではないのでしょうか。

○澤田座長 2つでも3つでも本質的には変わらないですね。

ほかに御意見ございますか。どうぞ。

○小関専門委員 一番気になったのが7ページの一番下の記載なんです。物理化学的性質  
は変わらない、免疫学的な性質は変わらないといっていますけれども、これは酵素として  
言っているんです。評価基準で我々が評価したところの性質というのは何かというと、要  
するに、加熱してどのぐらい分解されるか。胃液、腸液で分解が同じかどうかということ  
の方だと思います。ですから、これは物理化学的性質が同じだとは言えない。言われるデ  
ータが出てこない。

今まで部位突然変異で、結局、温度に耐熱性のものをつくっていくということが多々出  
てきていて、それはフルになっているということも含めると、ここの部分がしっかりして  
いなければ、要するにセルフ、ナチュラルという問題よりも、まずはインペルターゼその  
ものの食品としての安全性の上で、本当に変わらないんですかということを示してもら  
なければ、対象とするかどうか議論できないと思います。私はこれについてもそのように  
思いました。

○澤田座長 ほかに御意見はいかがでしょうか。どうぞ。

○丹生谷専門委員 恐いんですけれども、あえて反論させていただきますけれども、今の小関先生のお話は逆ではないかと思えます。安定性などがわからないとセルフかどうかの議論ができないとおっしゃったんですけれども、それは逆でありまして、評価の基準でセルフを定めたのは、それは入口として定めたのであって、書きぶりどおりですと、セルフであれば評価の対象としないということで、中身を問わないというのが趣旨だと思います。よしあしは別として、そういう形ではないかと思いました。

○澤田座長 よろしいですか。

○五十君専門委員 今の御発言は先ほどの繰り返しになってしまうんですが、先ほどセルフ、ナチュラルで入口でまず決めて、それで特にあとは何も要らなくて返せませうということではなくて、それがナチュラルというカテゴリーになったとしても、食べた場合に問題があるというようなものに関しては、ここではきちっと評価しましょうということだったかと思えますので、今のお話は、ちょっとその辺りが心配だという小関専門委員の意見ではないかと思えますが、いかがでしょうか。

○澤田座長 どうぞ。

○澁谷専門委員 恐らく非常にボーダーのところ、要するに完全にだれが見てもセルフなら問題はないし、ちょっと変わったらどうなんだというものはずっとあったわけです。そうすると、幾つまでならいいと決められるかという部分が多分あるわけです。要するに、タンパクによっては、ほんのわずかの変異によって性質が非常に変わるということがあり得るし、場合によってはアレルギー性につながりかねないかもしれないとなると、数の問題だけで決められるのかどうか。決められないとすると、フル評価ではないんですけれども、肝心の部分はちょっと出してもらわないと議論できないということになるのか。恐らくそういうことが気になるので、後ろでプラス $\alpha$ のアレルギー評価などを入れてきているんだと思います。

だから、こういうボーダーの場合、そこら辺はケース・バイ・ケースで考えるしかないんですかね。何を出してもらったら判断できるか。どうもそこが一律に言えるのかどうか難しいという感じを受けました。

○澤田座長 アミノ酸置換の問題は厚労省時代からずっと抱えている問題でありまして、今までの経緯を言いますと、アミノ酸置換がある場合、セルフと認定した経験は確かありません。だから、もし認定すると初めてのケースになろうかと思えます。

どうぞ。

○猿田評価調整官 ガイドラインに立ち返っていただきたいんですけども、緑色の参考資料の中のガイドライン3です。「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」の2ページ「第3 対象となる添加物及び目的」の2パラ目に「本基準において対象とする遺伝子組換え添加物は、食品衛生法で認められている添加物の範囲内であるものとし、原則として、『組換えDNA技術によって最終的に宿主に導入されたDNAが、当該微生物と分類学上の同一の種に属する微生物のDNAのみである場合』、又は『組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合』に該当する微生物を利用して製造されたものは含めないものとする。但し、当該添加物のヒトの健康に及ぼす影響の内容及び程度が明らかでないとは判断された場合には、必要に応じて、その影響を検討することとする」となっております。こういう約束であるということで、よろしいのではないかと思います。

○澤田座長 今、ガイドラインの御説明をいただきましたけれども、これで明らかでない場合に相当するかどうかを判断しないといけないことになると思います。

○猿田評価調整官 つまり「影響を検討することとする」となっているので、影響を検討しなければいけないということです。

○澤田座長 今の御意見をお聞きすると、一応、影響の内容及び程度が明らかでないという結論でよろしいでしょうか。

「影響を検討することとする」以上は、具体的に書かれておりませんので、フルで出し直していただくとするか、追加で詳しく資料をお出ししていただくかということですが、いろいろ資料を出していただくと、結局はフルと大して変わらないという気がいたしますが、この点に関して何か御意見、コメントがありましたら、お願いします。

○丹生谷専門委員 「但し」の以下に該当するかどうかは今の議論なのであって、アミノ酸が2つ変わっていることが「但し」以下に該当するということを、直ちに専門委員の皆さん全員のコンセンサスになっているのかどうかというのは、今、疑問です。

○澤田座長 どうぞ。

○山崎専門委員 私は小関先生の意見とちょっと違うんですが、この酵素に関しては、酵素力学的な特性は野生種と実質的に変わらないだろうと判断したんです。その場合はミューテーションが2つだろうと3つだろうと、野生型と実質的に同等の酵素とみなしていいように私は思います。

ですから、酵素特性が変わった場合は、小関先生がおっしゃるようにタンパク質としての物理化学的安定性も再評価しましょうという必要は当然あると私も思いますが、今回の

場合はそこまでの必要がない酵素なのではないかと思っています。

ですから、アミノ酸ベースでいうとミューテーションは入っているんだけど、それは自然界でたくさんの中から探せば出てくるような変異の範囲内だろう。ただ、探すよりも遺伝子組換え技術でつくる方が非常に効率がいいので、そちらの方法を取っただけではないかというように私はみなしていいと判断しました。

○澤田座長 ほかに御意見ありますでしょうか。どうぞ。

○小関専門委員 たくさんの中から探したという議論は、基準を作る上において出ていたはずだと思います。ですけれども、その話とは切り分けていた話だと思います。結局、人為的に手を入れた。そういう意味で、たくさんの中から探せばいいというのであれば幾ら変異がかかっていたものでも、たくさんの中から探せばいるのではないかという議論になって、堂々巡りになってしまうので、その議論は確かやめたはずだと思います。ですから、その点は的を得ていないように思います。

あと、酵素力学的なお話でいったら確かにそうだと思いますし、私もそういう意味では問題ないと思うんですけれども、それをコンファームするためのデータを変えたのであれば、出しておくというのがルールではないか。だから、タンパクの上でも変わらないのではないかと行ってくれれば、安心できるというか、健康に全く影響を与えないし、今までのものと同じであるという考え方ができるけれども、要するに、その部分が同じだろうとは思いますが、同じだというものを出されない限りは、やはり結論をつけられないところがあるのではないかとは思いますが。

○澤田座長 どうぞ。

○丹生谷専門委員 1つ確認したいんですけれども、先ほど座長がおっしゃった、今までアミノ酸が変わったものでセルフを認められているものはないというのは本当なんですか。今まで出された中では制限酵素部位をつくったために、1アミノ酸が変わったというものがあつたと記憶しているんですけれども、それがセルフとして扱われたかどうかまでは記憶がないんですが、どうなんですか。私が間違っているかもしれません。

○澤田座長 それは完璧にデータを見直さないと確実なことは言えないかと思いますがけれども、少なくともなかったような気がします。

○小関専門委員 確か制限酵素サイトを入れて、それをつぶしていたんです。ストップコドンを得た。それは認めていたんです。アミノ酸を変えたものというのは、私の記憶ですけれども、今までに確か1つも無いと思います。

そういう意味では、そのところでクローニングサイトを入れるということは認めてい

たんです。だから、塩基配列が変わるということに関してはいいでしょう。ただ、アミノ酸配列が変わるということに関しては、変えるとか付加されるとか、欠失は認めただけでも、変える、付加されるはなかったと私は記憶しているんですが、確認してもらった方がいいかもしれないです。

○猿田評価調整官 いずれにせよ、今、事務局もデータを持っていないので、その点は1点整理させていただきます。

その前に先ほどの繰り返しになってしまいますが、ただし書きの条件でございますので、ヒトへの影響について同等であるというデータを申請者に出させても、この酵素の特性として、ヒトの健康に及ぼす影響とか程度について、ただし以降に該当しないということの根拠を示せという指摘事項を出すことについては、よろしいのではないのでしょうか。

○澤田座長 前以て、そう言うと、セルフ、ナチュラルのことを認めるという判断がされたということになりませんか。

○猿田評価調整官 だから、ただし以降に該当するかしらないか。つまり、上のセルフ、ナチュラルとして除外するかしらないかの判断の材料として、ただし以降のヒトへの健康に影響を及ぼす内容についてデータを、つまり、酵素の特性について出せということです。

先ほど小関先生から指摘された耐熱性とかそういう話もあると思うんですけれども、通常の酵素と何ら変わらないということ、今、提出されたものよりも一歩でも二歩でも深くデータを出していただければ、ただし以降には該当しないということで、あとはセルフ、ナチュラルでアミノ酸なりシーケンスなりが何塩基違うかということで、また御判断いただければいいと思います。

○鶴身課長補佐 緑色のファイルの黄色いタグのところ、厚労省からいただいている過去のセルフ、ナチュラルの一覧が一応あります。厚労省時代のものは、セルフなのかナチュラルなのか区別がついていないので申し上げにくいところはあります。

おっしゃるとおり、塩基のデリベーションは確かに幾つか最後の方にもあるみたいですが、アミノ酸置換までは詳細に書かれていないという状況です。

○丹生谷専門委員 先ほど座長が言われたように、ただし以下を適用する場合に、それはその上のセルフであるという前提で、ただし、必要に応じて影響を調べるものということなのか。ただし以下というのは、セルフではないという前提での考え方なのかというのは、私はっきりしておかないといけないと思うんですけれども、いかがでしょうか。

○澤田座長 それは私にも悩ましいところで、入口の問題ですが、ただ、入口に入る段階である程度情報がないといけないというのも確かですし、それをやり出すと境目がなくな

ってくるというのも確かです。ただ、ある程度こういう場合はどう、大体はこうした方がいいという考え方自身は、この専門調査会で一応持っていた方がいいと考えます。

要はほかの省庁と同じように、入り口では完全にセルフ、ナチュラルをある意味で形式的に切り分けていますが、それで安全性をみれないことは確かで、その判断をするには情報が要る。

○丹生谷専門委員 私は12月31日にメールで専門委員の皆様にお伝えしたことがあって、それと関係するんですけども、例えばキモシンとか、要するにそういうふうに食品添加物として、きちっとフルに評価されて承認されたものは、厚労省のホームページから公表されています。

ただし、現在、例えば非タンパク質性高度精製アミノ酸については、なぜかわかりませんが、厚労省の遺伝子組換えを用いた食品添加物のリストには、厚労省のホームページには載っていないというのが現状なんです。

そうしますと、仮にこの案件ではないけれども、セルフという視点で認められたものがあつたとしたら、それは評価対象外なので、これは想像ですけども、恐らく厚労省の公表する中には載らないんだと思います。しかしながら、セルフではないということで評価した上で承認されたものであれば、恐らくキモシンと同様に厚労省から公表される。そういう違いがあるんです。

これは、今、食品安全委員会で食品の安全性を評価することとはあまり関係がないんですけども、そういうことを考えますと、今、私が座長に確認を求めたことは、ある意味では重要なことではないかと思えます。

○澤田座長 企業にとっては重要なことかと思えます。ただ、食品安全委員会としては安全性をきちんと見るのが原則であり、厚労省に戻った後は、一応厚労省の判断に委ねるということになります。

○鶴身課長補佐 いずれにしましても、安全性上セルフかどうかの認定をする話ではなくて、安全性上審査が必要かどうかという話ですので、先ほど小関先生や先生方から御意見をいただいたとおり、また事務局から御説明をしたとおり、安全性を確認するための資料を求めるといふ御指摘を出させていただくということではいかがでしょうか。

○澤田座長 ただいま御提案いただいたので、ちょっとあいまいな点もあるんですけども、一応確認できる内容の情報を出してくれという指摘になるかと思いますが、いかがでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、本件につきましては、安全性の確認ができるかどうか確認するというところで

ありまして、そのための資料を提出していただくように、厚生労働省を通じて申請者に対して指摘したいと思います。

それでは、とりあえず議題（１）については、終わりたいと思います。

議題「（２）その他」でありますけれども、事務局から何かありますでしょうか。

○鶴身課長補佐 特にございません。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、本日の議題につきましては、これで終了とさせていただきます。

今後の予定でありますけれども、事務局からお願いします。

○鶴身課長補佐 先生方の日程を調整させていただいた結果、次回は３月１０日の火曜日の午後です。次回は午後が一番御都合がよろしいかと思っておりますので、よろしく願いいたします。

○澤田座長 それでは、次回３月１０日火曜日の午後ということで、お願いします。

それでは、以上をもちまして、第６８回の「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会したいと思います。今日も熱心な御討議をいただきまして、ありがとうございます。また、もうちょっと議論を詰めないといけないかと思っておりますので、よろしく願いいたします。