

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第179回) 議事録

1. 日時 平成30年10月26日(金) 14:00~16:14

2. 場所 食品安全委員会中会議室(赤坂パークビル22階)

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

- ・カイマックスM(CHY-MAX M)
- ・pCHC株を利用して生産されたキチナーゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

中島座長、岡田専門委員、小関専門委員、橘田専門委員、児玉専門委員
鈴木専門委員、手島専門委員、山川専門委員

(食品安全委員会)

佐藤委員長、川西委員

(事務局)

小平事務局次長、吉岡評価第二課長、池田評価情報分析官、飯塚課長補佐、
森山評価専門官、山口係長、松井技術参与

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

- ①カイマックスM(CHY-MAX M)
- ②pCHC株を利用して生産されたキチナーゼ

6. 議事内容

〇〇〇 それでは、定刻になりましたので、ただいまから、第179回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催いたします。

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

本日、所用により、〇〇〇、〇〇〇、〇〇〇、〇〇〇が御欠席です。

本日の議題ですが、継続品目であるカイマックスM及び新規品目であるpCHC株を利用して生産されたキチナーゼの安全性についての審議です。

それでは、お手元の資料の確認をいたします。事務局のほうからお願いいたします。

〇〇〇 それでは、議事次第に基づきまして、配付資料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、食品健康影響評価に関する資料、机上配付資料1としてカイマックスMの申請資料の差しかえ、机上配付資料2として遺伝子組換え飼料添加物の安全性評価に係る申請資料の提出について（案）となっております。

なお、これら以外の参考資料については、ファイルにとじまして、委員の皆様の上に置かせていただいております。本ファイルについては調査会終了後に回収させていただきます、次回、また配付いたします。不足等がございましたら、事務局までお知らせください。

〇〇〇 それでは、事務局から「食品安全委員会における調査審議方法等について」に基づき、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、報告をお願いいたします。

〇〇〇 本日の議事に関する専門委員の調査審議等への参加に関する事項について、御報告いたします。

本日の議事に関しましては、専門委員の先生方からいただいた確認書を確認したところ、平成15年10月2日委員会決定の2（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。

〇〇〇 ありがとうございます。

既に御提出いただいております確認書につきまして、先生方、その後の相違等はございませんでしょうか。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、まず、継続の審議品目であるカイマックスMのうち、食品について審議を行いたいと思います。本品目は平成29年3月の専門調査会において審議を行ったもので、もう1年半ほどたっておりますが、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、説明させていただきます。本件につきましては、昨年3月に御審議いただいた際に、申請者に対して先生方から幾つか御質問や指摘をいただいたところですが、今般、その内容を踏まえました申請資料の修正がなされておりますので、該当部分の御説明をいたします。

お手元にカイマックスMと記載されておりますピンク色のファイル及びそれに挟んでおります透明のクリアファイルの回答書の準備をお願いいたします。クリアファイルに入っております回答書のほうに基づきまして、御説明をさせていただきます。

指摘事項は全部で11ございまして、それぞれ順に説明いたします。まず、回答書の1ページをお願いいたします。指摘事項1といたしまして、黒麹菌の学名に関して、黒麹菌は *Aspergillus niger* とは別の種であり、その学名は *Aspergillus luchuensis* とすることが妥

当であるとされている。したがって、要旨全般について、該当する宿主及び生産菌の分類・名称を全て修正することといった内容でございました。これに対する回答内容といたしまして、改訂要旨では、指摘事項に従い、*A. luchuensis*に全て修正したということでございます。また、CBS番号及びNRRL番号は変わっていないということでございます。指摘を受けまして、*A. kawachii*は白麴菌に訂正されております。

続きまして、指摘事項2、回答書の2ページの下をお願いいたします。要旨中にあるキモシン、ラクダキモシン、ウシキモシン、粗製ラクダレンネットの名称についての区別を明確にし、要旨の中で書き分けるとともに、食経験を整理して説明することという内容でございます。その回答内容として、総論として記載する場合はキモシンとしておりますが、個別の反芻動物が産生するキモシンの場合はその前に動物名を記載しております。回答書及び要旨中では表1のとおりまとめられております。食経験については、回答書の下半分ほどになりますが、要旨のほうでは第1-1に相当しまして、ラクダの乳を原料としたチーズについて記載されております。

続いて、4ページに移りまして、指摘事項3でございます。ラクダキモシンとウシキモシンのアミノ酸配列の相同性は85%であるとしておりますが、そのアミノ酸配列を示すこと。その際、両酵素の活性サイト、それから、指摘事項6にも関連してきますが、クモノスカビと相同性を示した領域及び糖鎖化されると考えられるサイト等の情報をあわせて記載することといった内容でございました。

アミノ酸配列につきましては、まず、回答書の5ページをお願いいたします。図3にあるとおりでございますが、同一のアミノ酸については青色のハイライトで示しております。活性サイトは赤のアスタリスク。ラクダキモシンのN-グリコシル化が生じる残基は赤の太字。クモノスカビのaspartyl endopeptidaseアミノ酸配列中の連続する8アミノ酸残基と同一の配列は黒の下線。それから、イノシシのpepsin Aアミノ酸配列中の連続する8アミノ残基と同一の配列は赤の下線で示されております。

続いて、6ページに移りまして、ラクダキモシンとウシキモシンの分子量について考察がされております。それぞれの酵素のN-グリコシル化される部位について生じる可能性がある箇所及びそのグリコシル化の割合が異なることから、見かけの分子量に差が生じているという旨が記載されております。

6ページの下からは指摘事項4についてでございますが、キモシンが何を指すか不明瞭であるということで、次の7ページの一番上の部分です。ウシキモシンであるという旨が記載されております。

続いて、指摘事項5は（ア）と（イ）の2つがございます。まず、（ア）についてですが、申請書には添付資料として導入遺伝子の塩基配列しか示されていないため、アミノ酸配列として示し、グルコアミラーゼ領域、シグナル配列のアミノ酸領域及びラクダプロキモシンのアミノ酸領域を明らかにすること。このとき、融合されているグルコアミラーゼが全長であるか否かがわかるように示すことという内容でございます。改編資料の8番に

なるのですけれども、この資料を見ていただくとわかりますとおり、塩基配列の下にアミノ酸配列を記載しております。また、融合されているグルコアミラーゼは全長であり、ラクダプロキモシンとグルコアミラーゼは直接結合しており、付加配列は存在しないということでございます。

次に、(イ)でございます。グルコアミラーゼ遺伝子の下流にラクダプロキモシン遺伝子が来るよう設計されており、それらは最初に融合タンパク質として産生され、pHを1.7にすることで、融合タンパク質はプロ配列とキモシン配列との間で切断され、グルコアミラーゼとプロ配列が連結したタンパク質と活性ラクダキモシンに分離するとされております。切断部位については資料8にあるとおりでございますが、切断メカニズムについては、8ページの上から10行目ほどになります。申請者のほうでは、現在のところ明確には解明されていないが、切断効率については、カイマックスMのHPLCの分析の結果から、装置由来の小さなピーク以外にはキモシンの大きなピークが1つしか検出されておらず、融合タンパク質は完全に切断されることが示されていると記載しております。

続いて、指摘事項6でございます。キモシンが胃腸管で分解されることを述べているが、データが示されていないので削除することというものでございまして、回答内容としましては、9ページに移りまして、当該箇所は削除されております。また、人工胃腸液のデータについては後ほど指摘事項8で御説明いたします。

指摘事項7はアレルギー誘発性に関する指摘として、①から⑦まででございます。①は文章の修正、②は添付の文献について、論文全体を添付し、根拠に基づかない記載は削除することといった内容でございまして、申請者のほうで適切に修正をまいりました。

10ページに移りまして、一番上の7-②でございますが、論文ではアレルギー発症を報告しておりまして、しかしながら、東南アジアにおいてはクモノスカビを使用した発酵食品が日常で広く飲食されていることを記載した論文を追加した旨の記載がございまして、③は文章の削除、④につきましては指摘事項の3番の回答をしている図の中で示されております。⑤、⑥については文章の削除でございます。これも申請者のほうで修正をまいりました。

11ページに移りまして、⑦ですが、8個の連続するアミノ酸の配列の一致については表に記載しております。これは回答書のほうにはないのですが、申請書の改訂版の24ページに修正された表が入っております。

続いて、指摘事項8でございます。人工胃液及び腸液処理試験を行ってきておりますので、その結果について説明させていただきます。まず、人工胃液試験でございますが、11ページの下からありますとおりでして、結果については12ページをお願いします。SDS-PAGE分析の図が示されておまして、その下の結果として、120分後にはバンドが消失する結果となりました。また、それに伴い、両酵素、カイマックスMとカイマックスでございますが、さまざまなサイズの低分子のバンドが出現しており、ポリペプチドに分解されたとしております。

人工腸液の試験の結果は、続く13ページにございます。40 kDa付近のバンドは2時間の反応で完全に消失し、それに伴い13、30 kDa付近にバンドが出現しており、これらのバンドは種々のタンパク質分解酵素を含むパンクレアチンにより両酵素が分解されて生成したポリペプチドであると考察しております。6時間たっても消失しなかったことから、ポリペプチドの立体構造上これ以上はパンクレアチンの分解作用を受けにくい構造になっていると推察し、これは部分的にはあるが、両酵素が完全に分解されることを示唆するものとしております。さらに、250 kDa付近にもバンドが検出されておりますが、複合体である可能性などが考えられますが詳細はわかっていないということでございます。

ここで、本試験において、事前に〇〇〇から、ウェスタンブロット分析は行っていないかという御質問を受けまして、申請者に問い合わせをいたしました。確認の結果、当初の予定ではSDS-PAGE分析とウェスタンブロット分析を計画していたということでございますが、ウェスタンブロットに使用する安定した抗体を作製できないということで、今回はSDS-PAGE分析にての報告のみとなったということでございます。

続いて、指摘事項9でございます。サザンブロット分析の結果から導入遺伝子座が1カ所であること及び2コピー以上のカセットが宿主に組み込まれたと説明しているが、図が小さく不鮮明であり確認が難しい。さらに、制限酵素による切断が1種類しか行われておらず、もし別の挿入があったとしても、太いバンドに隠れて、それに由来するバンドを見落としかねないデータとなっている。ついては、導入遺伝子の挿入位置について再度検討し、その結果の詳細を説明するとともに、およそのコピー数を求め、記載することという内容でございます。回答としては、15ページになりますが、制限酵素として*EcoRV*と*HindIII*の2つの制限酵素を用いてサザンブロット解析を行っております。

16ページのほうもあわせて御参照いただきたいのですが、それぞれの制限酵素を使用した場合、まず、上段では野生型*glaA*遺伝子座、中段では*glaA*遺伝子座に複数コピーの発現カセットが組み込まれた場合、下段として、間違ったゲノム領域に複数コピーの組み込みカセットが組み込まれた場合を想定して生じる遺伝子断片のサイズを記載しております。

15ページの図13に戻りまして、こちらの解析の結果から、中段の*glaA*遺伝子座に複数コピーの発現カセットが組み込まれた場合に相当するバンドが確認されたことから、形質転換体であるラクダプロキモシン生産株には*glaA*遺伝子座に複数コピーのカセットが組み込まれているものと考えられたとしております。

また、コピー数の確認でございますが、こちらは17ページの下半分ほどのところに記載がございまして、定量PCRを実施し、コントロールに対する相対的なPCR産物量を比較したところ、形質転換体には10~12コピーの発現カセットが組み込まれていることが判明したとしております。

続いて、指摘事項10、回答書の18ページでございます。挿入DNAと宿主ゲノムとの接合領域のORF検索を行い、既知の毒性タンパク質やアレルゲンデータベースを用いた相同性検索の結果に基づく考察を記載することという内容でございます。回答としましては、ま

ず、第4-5-(2)において検出されたORFと、既知の毒性タンパク質との相同性の検索結果において、相同性を示した3つのORFについて記載されております。3つのORFに対して相同性を示したタンパク質が回答書の18ページ、19ページ、20ページのほうまで書かれておりまして、一つ一つの細かい説明は割愛いたしますが、それぞれについてヒトに毒性を示すとは考えがたいと考察をしております。

回答書の20ページの下になりますが、第5-2-(2)では、カイマックスM生産株の挿入された発現カセットDNA配列と宿主ゲノムDNA配列との接合領域について同様にORFの検索を行ったところ、両DNA配列にまたがるORFが12個検出されました。いずれも宿主*glaA*プロモーター領域内の配列と一致するものであるということから、アレルギー誘発性、毒性は有さないものと考えられたとしております。

最後に、指摘事項11でございます。ラクダキモシンとウシキモシンのHPLCのプロファイルについて、両者の精製度の同一性に関して、切断された断片や選抜マーカートの有無に関して言及し、説明を追加することといった内容でございます。回答内容としましては、カイマックスM、カイマックスともに高度の精製が行われており、これらの酵素は最終的にそれぞれのキモシンのみが結合するイオン交換樹脂で回収されるため、純度はほぼ100%となる。このため、HPLCのパターンも大きくシャープなピークが一つ観察されている。これらのピークの少し後ろに見られる小さなピークは装置由来のものであるということでございます。

22ページ、これは指摘事項ではなく修正事項になるのですが、記載場所が誤りで、文章の内容も誤りを確認したということから、全文削除したということでございます。

それから、今回、机上配付資料1としまして申請資料の一部差しかえを行いました。回答書の内容とはちょっとずれるのですが、第1-2-(3)の挿入DNAの性質及び導入方法で、下線を引いた2行でございますが、ウリジン産生遺伝子について説明を追記してもらいました。

回答書と机上配付資料1の説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、申請資料の修正箇所につきまして、先生方から御意見をいただきたいと思っております。まず、1番目の黒麹菌の学名に関するもので、これについては、こういう指摘をするのは私なのですが、ちゃんと調べていただいて、*Aspergillus niger*は、今は*Aspergillus luchuensis*、これは琉球から来ているのだそうですけれどもね。それから、*Aspergillus kawachii*は黒麹菌ではなくて白麹菌ということで、ちゃんと調べて指摘どおり直っておりますので、私はこれでよろしいかと思っております。先生方、よろしいでしょうか。ありがとうございます。

それでは、指摘事項の2番目です。この要旨、もとの要旨は少々読みづらくて、キモシン、ラクダキモシン、ウシキモシン、カイマックスとカイマックスMが入り乱れていて、とても読みにくかったということでした。ちゃんと整理してくれと、〇〇〇、〇〇〇、〇

〇〇から一斉に指摘があった件ですが、私が見たところ大分わかりやすくなっているように思うのですけれども、〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 これで大體整理がつけられているかなと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 私もこのぐらいでしようがないかなと思います。

〇〇〇 〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 大丈夫です。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、十分誠実に対応していただいたということで、指摘事項の3番目、ラクダキモシンとウシキモシンのアミノ酸配列の相同性は85%であるといっていますが、実際にアミノ酸の配列のデータをちゃんと示してくれ、活性サイト、それから、糖鎖付加サイトについての情報もちゃんと記してくれという御指摘でございました。

実は、これは〇〇〇です。

〇〇〇 まず、配列を示してもらったということでは、回答書の5ページ目にありますが、このことはそれで大丈夫だと思います。あとは8残基の同一な配列というところなのですが、注釈の4つ目のポツなのですが、黒下線部はクモノスカビの **aspartyl endopeptidase** アミノ酸配列中の連続する8アミノ酸残基と同一な配列を示しているとあって、**F29-G36**ということ。一番上の段のところが**F-29**、**T-30**、**V-31**から始まる、その8残基が一致したとあるのですけれども、これはラクダキモシンになって、32番目のアミノ酸がウシキモシンと変わったために8残基のアミノ酸配列の一致が見られるようになったということで、若干ここは気になるのですが、もとの **aspartyl endopeptidase** の中で、この部分がエピトープではないということがわかれば一致しているとしても大丈夫かと思えますので、その部分はちょっと考察を入れてもらえればと思いました。

〇〇〇 ただいまの先生の指摘は、2番と7番のほうが今の内容です。7番のほうを先に御説明していただいたので、それはそれでよろしいかと思えますけれども、議論の進め方で順々に進めていきたいと思えますので、まずは先生の御指摘の、配列をちゃんと示してくれというところ。その点はクリアでよろしいでしょうか。

〇〇〇 大丈夫です。

〇〇〇 ありがとうございます。

アレルゲンとの相同性については、また後ほど議論するところがございますので、そこでもう一度指摘していただければと思います。

〇〇〇 もう一点だけ、済みません。糖鎖の一致を示すということで、これは赤の太字のところに**N-グリコシル化**がされているということで、これはよろしいのですけれども、6ページ目の図4は、推定されるラクダキモシンのアスパラギンに結合した糖鎖が示されています。タイトルが、活性部位にグリコシル化される糖鎖となっていますが、ここは間違

いと思われます。活性部位はアスパラギン酸となっていて、これは酵素の活性部位を意味していますので、ここの部分は削除して、ラクダキモシンのアスパラギンにN-グリコシル化される糖鎖を示すことを明確にさせていただきたいと思います。ということで、タイトルが違うかなということで、そこだけは一応。

〇〇〇 ごもつともですね。

図4の、これがつくのはアスパラギンであって、アスパラギン酸ではないので、N-グリコシル化される糖鎖ではなくて、推定されるN-グリコシル化でよろしいわけですね。

〇〇〇 そうです。そこだけです。

〇〇〇 なので、事務局のほうで、「活性部位（アスパラギン酸）に」という記述を削ってください。よろしいですか。

〇〇〇 そのように修正いたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

ほかはよろしいですか。先生方、ほかにお気づきになったことはございますでしょうか。ありがとうございます。

それでは、指摘事項の4番、これは要旨の4ページで、用途及び使用形態で、キモシンは、1ミリグラム当たり460 IMCUとあるが、キモシンが何を指すのか不明瞭であるので、説明を付加してくださいということ。これはウシのキモシンである点と、原乳1リットル当たり20～50 IMCU添加して使うと。そのように記載がございます。

御指摘は〇〇〇ですが、先生、いかがでしょうか。

〇〇〇 先ほどの指摘ともかぶるのですけれども、キモシンが何を指しているかがわからなかったもので、これでよろしいかと思えます。

〇〇〇 ありがとうございます。

全体を整理していただいたので、今度はわかるように思えます。ほかに先生方、よろしいでしょうか。ありがとうございます。

それでは、指摘事項の5番ですが、要旨の17ページで、挿入遺伝子の機能に関するところ。挿入遺伝子の由来と発現物質に、ラクダプロキモシンはグルコアミラーゼとの融合タンパク質としてつくられるということで、塩基配列しか記載されていないのだけれども、アミノ酸配列としてグルコアミラーゼの配列、シグナル、プロ配列、これを明らかにしてくださいということ。それから、pH1.7で融合タンパク質が切れるけれども、その切断効率、原理等について説明してくれということ、これは私が指摘しております。

まず、アミノ酸の配列はどこからどこまでがプロ配列か、それから、切断箇所を明記していただいておりますが、この点はよろしいかと思えます。

それから、pH1.7で、これは切れるメカニズムについてはわからないけれども、とにかく完全に切れることは確認しているということで、キモシンですから、酸性になるとコンフォメーションが変化して、自動的に活性化して切れるのであろうと思うので、そのように書いてくれてもよかったのですけれども、完全に切れることを確認してくれております

ので、私はこれでよろしいかと思えます。

先生方、よろしいでしょうか。ありがとうございます。

それでは、これで、指摘事項6番です。8ページにあります。要旨の18ページ、挿入遺伝子の機能に関する事項で、遺伝子産物の毒性やアレルギー誘発性などの有害作用に関する事項です。遺伝子産物の酵素としての安全性について、2段目にキモシンが胃腸管で分解されることを述べていますけれども、データが示されていないので、ここではそれを削除してくださいということ。これはその後の指摘事項7番、8番ともかかわりますので、指摘事項6番では、言っていないことは削除せよという〇〇〇からの御指摘で、そこは素直に削除されていると思うのですが、先生、よろしいでしょうか。

〇〇〇 大丈夫です。

〇〇〇 ほかはよろしいでしょうか。ありがとうございます。

この7と8のところのアレルゲンとかそういったことについて、本格的に議論をされております。指摘事項7番、要旨の19ページから21ページ、挿入遺伝子の機能に関する事項、それから、アレルギー誘発性など有害作用に関する事項、遺伝子産物供与体のアレルギー誘発性に関する事で、この事項全般にわたって文章が明瞭ではないので、下記の指摘に基づいて修文すること。要するに、ちゃんと書き直してくれという御指摘でございまして、これが実は7つあります。

1つが要旨の19ページで、食品アレルギーとあるのはアレルゲンに直していただきたい。2番目、これはいずれも〇〇〇なので、1つずつ、直っていると思いますが、よろしいですか。

〇〇〇 大丈夫です。

〇〇〇 2番目、引用されている参考文献13では、*Rhizopus oryzae*の aspartyl endopeptidaseのアレルギー誘発性が報告されていることは記載されているけれども、その後の記載事項で同文献での記載がない。参考文献の記載事項を正しく修正していただきたい。それから、根拠に基づかない記載は削除して整理していただきたいということ。全部きっちりはこちらにくかったのですけれども、私が見る限り要求には従ってもらえたように思えたのですが、先生、いかがでしょうか。

〇〇〇 大丈夫です。指摘した内容で大体直してもらっていると思います。

〇〇〇 後で言い残したことがありましたら、またまとめて御指摘いただければと思います。

3番目の御指摘、解析1の最後の文章、この解析の結果からはラクダキモシンのアレルギー誘発性は示唆されなかった。この段階で言うのは言い過ぎということで、ここでは削除しろという先生の御指摘で、ちゃんとそのように、これでは削除されていると思いますが、よろしいでしょうか。

〇〇〇 結構です。

〇〇〇 ありがとうございます。

指摘事項の4番、クモノスカビのendopeptidaseとラクダキモシン及びウシキモシンとの間に8個の連続するアミノ酸配列との一致が3カ所で認められたとの記載がある。ラクダキモシンとウシキモシンのアミノ酸配列の中でどの位置になるのか、これを図に示すこと。これは先ほど先生が解説して御説明いただいたところですね。

〇〇〇 ここで申し上げていいのですか。先ほどの回答3の中で、8残基一致のところは黒の線で書かれているのですけれども、5ページ目の図ですね。32番目のアミノ酸がラクダキモシンで、ウシキモシンから変わってきていまして、それがゆえに aspartyl endopeptidase との8残基の連続のアミノ酸の一致というものが出てきたので、ここの部分が、もとのウシキモシンではそれが連続していなかった。連続した8残基での一致ではなかったということがありますので、aspartyl endopeptidase でこの部分がエピトープではないということが示されていれば、それで問題はないと思いますが、その部分はちょっと追加で調べてもらえればと思いました。

〇〇〇 これは、この後、考察があるかなと思うのですけれども。

〇〇〇 考察が余りされていないような気がして。

〇〇〇 この8アミノ酸の連続が生じたことについて、この点はこういう理由で余り気にしないでいい。それぞれについて考察していただければと。そういうことですね。

それは、この中にはありませんでしたか。

〇〇〇 特に書かれていなかったような気がしたのですけれども、同一の配列を示したということだけかと思しますので。

〇〇〇 そうですね。示したと。申請書にもありませんでしたか。今、慌てて探しているのです。アミノ酸の配列が少しだけ変わった分、配列が少し変わると、コンピューターで検索すると、ヒットするようになる場合、しないようになる場合があって、そういう場合は、そこが特にアレルギーになりやすいとか、そういうことは一般には示さないものなので、いつもアレルギーになるようなものであれば、それなりに保存されていたりもすると思うのです。なので、こういう点については、基本的にはそれなりの考察はいただけるとは思うのですが、やはりそれはいただかないと、そういうことですか。

〇〇〇 そうです。アミノ酸の残基が一致したということで。

〇〇〇 23ページに一致するアミノ酸配列の考察が書かれていますが、そこではないですか。

〇〇〇 どこかにあったような気がしたので、23ページで解析1、解析2とそれぞれあって、連続する8アミノ酸についてと、それから、連続した80アミノ酸の35%の相同性で、これは新しく指摘されたものについて、余り長くはありませんが、それなりに、ここに記述がございますが、これでいかがでしょうか。

〇〇〇 あと、ORFのところ、32ページにも aspartyl endopeptidase について書かれています。

〇〇〇 済みません。ちょっとここは先生、今、見ていただいて、これでよろしいかどうか

か、お待ちしておりますので、お願いします。

〇〇〇 ただ、一致したことについての考察はないので、23ページですが、一般のaspartyl endopeptidaseはアレルギー発生が報告されているというような書き方なので、一致したことに関して一言、説明を入れてもらえればと思いますけれども。

〇〇〇 お聞きしたいのですが、よろしいでしょうか。クモノスカビと同様に、イノシシのペプシンについてもウシキモシンとラクダキモシンでギャップが何個かあるようですので、考察としましては、8アミノ酸の完全な一致が見られた箇所はそれぞれの、クモノスカビとかイノシシ由来タンパク質のエピトープではなかったという考察が加わるとよろしいということですか。

〇〇〇 そうですね。

〇〇〇 そうしましたら、評価書のほうもその辺のコメントをよろしく願いいたします。

〇〇〇 イノシシのほうに関しても、最初にアミノ酸に違いが出てきていますね。後半は一緒ですけども、では、同じような形でお願いしたいと思います。

〇〇〇 クモノスカビについては、申請書の23ページで解析1の最後のところで、クモノスカビは日本以外の東南アジア全域で酒類、テンペなどの製造に使用されており、これらの発酵食品を飲食し、アレルギー誘発性を生じたことは知られていないと非常に大ざっぱな考察がございしますが、これでは不足ですか。いかがでしょうか。

〇〇〇 一致した部分についての構造的なことに関して一言、エピトープかどうかということだけ入れてもらえればそれで、出ないということ。

〇〇〇 そのように対応いただけますか。それは得られるとは思いますが、直ちに健康被害を及ぼすとはまでは考えなくてよろしいでしょうか。ありがとうございます。

この指摘の今度は⑤、解析2、解析2というのは80アミノ酸ですね。3番目の文章が意味不明なので、解析1で記述したとおり両者はラクダキモシンのアレルギー誘発性物質として知られていないという記述は、ここでは不適切だから削除することと先生の指摘がございまして、ここでは削除されていると思うのですが、これは大丈夫でしょうか。

〇〇〇 大丈夫です。

〇〇〇 6番目、要旨の20ページの14行目、「また、日本において」と記述がございまして、これは言わずもがなであると。そこから最後まで、ここでは必要ないはずなので削除せよと。これも先生の御指摘で、素直に削除されているように思います。よろしいでしょうか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 最後、要旨の21ページ、表2の番号1及び2、8個の連続するアミノ酸の配列との一致も見られているタンパク質であるため、表2にその旨がわかるよう追記してください。その修正を踏まえて表のタイトルの内容を反映したものに修正することとありまして、表は改訂されていて、私がざっと見たところ、御指摘どおり変えているように思うのですが、よろしいですか。

〇〇〇 大丈夫です。

〇〇〇 ありがとうございます。

指摘事項7はそういうことで、指摘事項8に参ります。

ラクダキモシンは従来添加物と同一ではなく、糖鎖化による修飾があると報告されている。最終製剤のアミノ酸配列も示されておらず、食品中に残留する可能性を有する添加物であることから、人工胃液、人工腸液試験を行ってくださいという御指摘で、これは〇〇〇と〇〇〇からです。

これについては、一応人工胃液試験、人工腸液試験のSDS-PAGEのデータが出てきてございまして、人工胃液では30分でおおむね分解される。人工腸液では2時間とあります。こういう場合、通常はウェスタンブロッティングのデータを示していただくのですが、ウェスタンに使える抗体が得られなかったという理由です。確かに活性のある酵素で抗体をつくるのは困難な場合がよくございまして、特に全長のプロテアーゼで、活性のある形で抗体をつくるのは難航することが多くて、結局できないというケースが、実際に私も経験がございまして、私としてはこの説明は納得がいくかなとも思うのですけれども、その結果、図7に示されているとおりで。

まず、〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇のおっしゃるとおりで、できないもの、不可能なものをやれというのはちょっとおかしいと思うので、もう仕方がないかなと思いました。

〇〇〇 〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 私も、やってもらったということで、大体のデータは出ていますのでいいかと思うのですが、特に今回の場合、ウシのキモシンとの比較ということでやられていますので、既に承認されているウシのキモシンと同程度というようなことがあるので、よろしいかと思えます。

〇〇〇 ありがとうございます。

ここではSDS-PAGEのデータのみではありますけれども、よろしいということで、ほかの先生方、ただいまの結論でよろしいでしょうか。ありがとうございます。

それでは、指摘事項9、要旨の31ページから、これはサザンブロット分析の結果で説明しているけれども、字が小さくて不鮮明で、これではわからないということで、サザン分析をやり直していただきたい。それから、挿入遺伝子の挿入位置を検討してコピー数を記載していただきたい。こういう御指摘でございました。*EcoRV*と*HindIII*を使ってサザンをやり直しております。ゲノムへの挿入位置は*glaA*の遺伝子座であり、定量PCRで10コピーから12コピーと一応答えが出てきてございます。

御指摘は〇〇〇と〇〇〇なのですが、〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 大体こんなものなのかなという感じなのですが、ちょっとマルチコピー5.1キロ、*EcoRV*で切ったものですが、この太さを例えば1としたら、5キロ以上の長いもの、16ページの図の上から2段目のところ、4.4プラス0.6以上というものです。それと4.4と

いうものがどう考えても、5.1が10~12で、5と4.4が1とは読めますか。これを見ただけで、何かおかしいと思うのです。私が何か間違っているのだろうか。赤いところがプローブの領域ですね。そうしたら、どう考えたって、これは10対1の量比ではないと普通に考えるべきで、これでいくというのだったら、では、定量PCRを本当に真面目にやってほしいと言いたくなってしまうのですけれども。

〇〇〇 サザンのデータはサザンのデータということで、コピー数については別に定量PCRをやっている、このサザンの写真で10コピーから12コピーと言っているわけではないという説明のようなのですが、いかがでしょうか。

〇〇〇 それでいったときに、これは誰が見たって10対1ではなくて50対1とかそんな感じで見えませんか。真ん中の濃いバンドに対して、これはどう考えたって、要するに、後ろでの定量PCRの結果とこのサザンの結果が合っていないというように判断したので、もう一度きちんとディスカッションしてくれと言いたくなってしまうのです。

〇〇〇 〇〇〇の御意見も聞いてみたいところですが、確かにこれは、10倍というにはもうちょっと差がついているように私にも見えますね。

〇〇〇 どう考えてもね。

〇〇〇 特にこの4.4キロと5.1キロで比べるのであれば、これは10倍ではなくて、もう一桁近く違うように見えますね。

〇〇〇 ですから、これはデータの信用度がないというふうにして突き返しておかないと、後々別の申請のときに私どもが困ってしまう事態が起こりそうな気がすごくするのです。今まで植物や何かのときにも、コピー数のところで、やはりバンドの濃さが違うということ。要するに、バンドの濃さが違うのはなぜかといったら、サザンの一番いいところはサイズと定量、半定量が両方できるということですね。サザンの一つの特徴である定量性のところを無視したデータでもいいということになると、今までの評価にしても、これからの評価にしても、非常に困ることが起こると思うので、これはちょっと余りにも無理だと私は思いました。

〇〇〇 形質転換体のコピー数のセットについて、資料17はどれでしたか。定量PCRは資料17ですね。

〇〇〇 資料はiPadの資料17、Determinationで始まるファイルと、17-1というのがその日本語訳の資料になります。

〇〇〇 どうぞ。

〇〇〇 どちらが正しいと信じたらいいのか教えてくださいという、本当にそれだけの話です。定量PCRの結果が出ていますね。今、御指摘の資料のところですか。そのデータが正しいのだとすると、このサザンはおかしい。サザンには定量性がないということを言い放てるのだったら言い放っていただきたいというように聞いてもらいたいのですけれども。

〇〇〇 どうぞ。

〇〇〇 ダイナミックレンジとの兼ね合いもあるので、飽和させるぐらいしないと薄いバ

ンドが出なかったとしてしまうと、上の黒い部分が飽和していて、こんな感じで見えるときもなくはない。

〇〇〇 やっかいなのは、これは結局5キロ以上と4キロ以上の2つ薄いものがあるではないですか。

〇〇〇 それを見せるために長時間露光、いわゆる昔で言う露光をさせた形になってしまったのかもしれない。

〇〇〇 露光させたときに、でも、10倍で、要するに、ダイナミックレンジを確実にこれは超えている。

〇〇〇 安い機械だとレンジが狭いのです。

〇〇〇 わかります。だったら、そのように言っていただかないと、後でこちらが困る。

〇〇〇 議論の参考になるかどうかはわからないのですが、添付資料13に〇〇〇と〇〇〇がコメントを出していただいたローデータのサザンの図があるのですが、iPadに出していただけますでしょうか。サザンのFigureでは、露出過度でして、説明として、シグナルが観察できるようにフィルムを露光過度にしてバックグラウンドのシグナルを明白にしているというふうには書いてあるのですね。今回、1年強、提出が遅くなった理由も、このサザンをやり直すことが理由だということを知っています。

〇〇〇 そうだとすると、ままあることとして、なので、このサザンのデータで、彼らはサザンのデータではちゃんとバンドが所定の位置に来ているということだけ言っていて、ここではサザンのデータをもってコピー数については言及していない。コピー数については改めて定量PCRをやっているということで、サザンのこのデータは定量には使っていないということは、信用しなくていいとまではあれなのですが、少なくとも彼らは、コピー数の推定にはPCRのほうのデータを使っているということは、どうも明確のようです。そういうことなら私も思うのですが。

〇〇〇 思い出してきました。それで〇〇〇と、このサザンはどう考えてもおかしいと。要するに、コピー数が全くわけがわからないからということで、はかってねと言ったものですね。だから、確かに濃いほうのはねるほど出したから、出してみてもようやく薄いものがこれだけ見えた。要するに、ダイナミックレンジの問題の話ですというふうに、明確にむしろうちの機械としてはそう出ましたというふうに言っていただけると助かるという話です。

〇〇〇 そうですね。記録として、このデータでこれを認める。明らかに10倍以上、10倍とかで見えないデータでもって認めたという記録が残るのも何なので、彼らは確かにこのバンドを検出するために切っていると言ってもおきますので、申請書のほうでそこを一言書き加えていただけるように、その要求に多分、彼らは応じると思いますので、このサザンのところの、こうやってダイナミックレンジのところをいじっていると書いてある以上、そこは従っていただけたらと思います。

コピー数については、定量PCRの10ないし12というほうの数字は信憑性がある。そうい

うことであれば納得がいきますので、それでは、その点だけ申請者に指摘して、修正をお願いできればと思います。

〇〇〇 そのようにお伝えいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

次は、指摘事項10番、要旨の34ページ、第5から、オープンリーディングフレームの有無及びその転写及び発現の可能性に関する事項で、挿入DNAと宿主ゲノムとの接合領域のオープンリーディングフレーム検索を行って、既知の毒性タンパクやアレルゲンデータベースを用いた相同性検索の結果に基づく考察を記載することです。

これは、実は〇〇〇の御指摘でございまして、やはり1年半もたつといろいろなことが起こるのです。なので、こちらは私のほうで見てみました。指摘事項10について、オープンリーディングフレームの検索、アレルゲンの検索を行っております。Mvirデータベースで照合して、これで3つヒットしたものに、オープンリーディングフレームで136とか173、184、これは長々と一生懸命考察しておりまして、このぐらいちゃんと考えて毒性を及ぼす可能性は非常に低い、毒性を及ぼすとは考えがたいと結論をしていただければいいだろうと私は思います。多分、〇〇〇もこのぐらいちゃんと対応してくれば納得していただけると思うのですけれども、先生方、いかがでしょうか。ありがとうございます。

それでは、最後、指摘事項11でございまして、要旨40ページ、製造に関する非有効成分の安全性について、ラクダキモシンとウシキモシンのHPLCのプロファイルで精製度の同一性に関して、切断された断片や選抜マーカーの有無に関して言及して、説明してくれと。HPLCのデータがございまして、ほんと1ピークになっていて、ほぼ100%に近い純度であると回答してきております。

御指摘は〇〇〇ですが、よろしいでしょうか。

〇〇〇 この説明で非常によく理解できましたので、これでよろしいかと思っております。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、全体を通じて、〇〇〇、ばたばたしてしまいましたけれども、言いたいことは全部おっしゃってください。

では、指摘事項に限らず全体を通して先生方からございましてでしょうか。

それでは、先ほどの〇〇〇の御指摘に基づく8アミノ酸の連続が生じてしまったものに関する考察の点と、〇〇〇のほうからのサザンのデータは定量性については少々問題があるという点を修正していただくということで、この点、要求どおり修正ができてきたということであれば、特に安全上の問題がないこととなりますので、その点については私と関係の〇〇〇、〇〇〇のほうで確認させていただきますので、確認できたということを前提に、評価書（案）の審議に入ってしまうと思いますが、よろしいでしょうか。ありがとうございます。

評価書（案）の審議です。事務局のほうから、評価書（案）を御説明お願いいたします。

〇〇〇 それでは、評価書（案）のほうについて御説明いたします。先ほど幾つかコメン

トを先生からいただきましたが、事務局のほうで事前に作成しております資料に基づいて説明させていただきます。

評価書（案）を束ねた冊子の1ページ目からが本品目の評価書（案）となっております、まず、6ページをお願いいたします。評価書（案）の各所に下線が引いてありますが、これは昨年3月に事務局のほうで作成したものに対して、いただいた指摘事項を踏まえて修正した箇所になります。

まず「Ⅰ．評価対象添加物の概要」でございますが、本添加物は *Aspergillus luchuensis* CBS 108914株を宿主として、ヒトコブラクダ由来のプロキモシン遺伝子を導入して作製された、*A. luchuensis* CBS 125278株を利用して生産されたキモシンでございます。本添加物は、ミルクの主なタンパク質であるカゼインの特定部位を切断して疎水的カゼインミセルを形成させ、ミルクを凝集させるプロテアーゼであり、主にチーズの製造に使用されます。

「Ⅱ．食品健康影響評価」以降には食品健康影響評価に係る個別の項目を記載しております。まず、第1の1の（1）ですが、名称はレンネット、基原は反芻動物の第4胃、有効成分はキモシンです。

（2）製造方法ですが、従来品としては、反芻動物の第4胃より抽出されたもの、酵母菌などの培養により抽出されたものがございます。仔牛由来のウシキモシンは、*A. luchuensis*にウシプロキモシン遺伝子を導入して生産菌を培養後、酸の添加、除菌及び精製を経て製造されます。

（3）用途及び使用形態についてでございますが、レンネットは、液状として原料乳に添加され、有効成分であるウシキモシンは1ミリグラム当たり460 IMCUで1リットルの牛乳当たり20～50 IMCU添加されます。

（4）摂取量でございますが、原料牛乳からのチーズの収量を10%とすると、水分含量の多いチーズの場合、6%の酵素がチーズに移行し、チーズ1キログラム当たりのレンネット使用量はキモシンに換算すると最大0.067 mgとなり、さらに、一日当たりのキモシン摂取量は0.4 µgでございます。

2の（1）は宿主の種名等でございますが、*A. luchuensis* CBS108914株でございます、2003年に遺伝子組換え添加物として安全性審査が終了したカイマックスの生産株から挿入DNAが除去され、さらに突然変異によりプロテアーゼ低産生となった株でございます。

（2）DNA供与体の種名等は、ラクダプロキモシン遺伝子の供与体は、18カ月齢のヒトコブラクダ、また、選択マーカーとして用いたウリジン産生遺伝子の供与体は、*Neurospora crassa*由来でございます。

（3）挿入DNAの性質等です。camel-*Chy*遺伝子は、プロキモシンをコードし、プロキモシンの生合成と分泌を促進させるために宿主のグルコアミラーゼ遺伝子と結合させ、融合タンパク質として発現させた後、低pH条件において、活性ラクダキモシンが分離されます。また、*pyr4*遺伝子は、オロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼを発現し、選択マー

カーとして働き、これらのDNA断片は宿主ゲノムの*glaA*遺伝子のプロモーター領域に相同組換えにて導入しております。

3の食経験、4の宿主構成成分については記載のとおりでございます。

続いて、5の組換え添加物の性質等ですが、(1) 製品名はカイマックスM、有効成分はキモシンです。

(2) 製造方法は従来の添加物と同様でございます。

(3) 用途及び使用形態は記載のとおりです。

(4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較ですが、カイマックスMは、従来の添加物と比較して、乳凝固に必須であるκ-カゼインの特定部位のアミノ酸結合を特異的に分解する活性が高く、したがって、原料乳量当たりのチーズ収量が高く、非特異的なランダム分解が生じにくいいため、苦味ペプチドが少ないということでございます。

6として、相違点でございますが、従来の添加物との相違点は、遺伝子の供与体が異なる点でございます。両添加物とも323アミノ酸残基から構成されております。また、カイマックスMの凝乳活性は、ウシキモシンの1.7倍であること、特異的タンパク質分解活性が高いために苦味ペプチドが産生されにくく、チーズの歩溜まりが高いという相違点がございます。

組換え体と宿主との相違点は、生産菌には*glaA*遺伝子、*camel-Chy*遺伝子及び*pyr4*遺伝子が導入されている点で、以上から、本品目と比較可能な既存の添加物があると記載をしております。

続いて、第2の宿主に関する事項ですが、1については記載のとおりです。

2の病原性等についてですが、宿主の*A. luchuensis* CBS 108914株は長年にわたり食用酵素の生産菌として安全に使用されており、GRASに掲載されております。また、本宿主菌株については、カイマックスMの生産条件下では、オクラトキシンA、フモニシンB₁及びB₂の産生が検出限界以下であることが示されております。

3及び4については記載のとおりです。

5、宿主の有害生理活性物質の生産に関する事項ですが、*A. niger*の一部の菌株に、オクラトキシンA及びフモニシンB₂の産生が報告されておりますが、本生産菌はオクラトキシンAを産生しないことが確認されております。

第3、ベクターに関する事項については記載のとおりでございます。

少し飛びまして、10ページをお願いいたします。193行目からが第4の挿入DNA等に関する事項でございますが、1の(1)については記載のとおりです。

(2) 安全性についてですが、ヒトコブラクダは中東及び西アフリカの一部において、飲用乳、発酵乳、チーズ及び食肉などに利用されてきた経験がある旨を記載しております。

続いて、2の(1)のクローニングに関する事項でございますが、18カ月齢のラクダ第4胃の上皮細胞よりmRNAを分離し、*camel-Chy*遺伝子をクローニングしております。*pyr4*遺伝子はプラスミドpGAMpRにクローニングされている遺伝子を用いたとしております。

(2) については記載のとおりです。

続いて、11ページは(3)の挿入遺伝子の機能に関する事項になりますが、まず、①の camel-*Chy* 遺伝子につきましては、ラクダキモシンは κ -カゼインの特定部位を切断するプロテアーゼで、乳を凝固させ、この遺伝子が発現するラクダプロキモシンは *A. luchuensis* 由来の *glaA* 遺伝子がコードするグルコアミラーゼのC-末端と結合した融合タンパク質として産出されます。その後、低pH条件において、グルコアミラーゼとプロ配列の連結したタンパク質と活性ラクダキモシンが分離されます。

続いて、aでは挿入遺伝子の供与体、bでは遺伝子産物について、それぞれアレルギー誘発性についての報告がない旨を記載しております。cは人工胃腸液試験の結果ですが、まず、人工胃液の結果です。SDS-PAGE分析の結果、120分で分解され、約10 kDaのポリペプチドが生じることが示されております。人工腸液試験では、120分で分解されたとしております。dは遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性についてですが、こちらはアレルゲンデータベースを用いた検索の結果、連続する8アミノ酸配列が一致する既知のアレルゲンとして、ペプシンA及びaspartyl endopeptidaseが検出されましたが、これらは食物アレルゲンではないこと、また、連続する80アミノ酸以上の配列に対して35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンとして、ペプシンA及びaspartyl endopeptidaseを含め6個のタンパク質が検出されましたが、これらはいずれもウシキモシンと同等の相同性を示しているか、ウシキモシンに起因するアレルギー誘発性を示す報告はない旨を記載しております。

続いて、*pyr4* 遺伝子に関してですが、マーカー遺伝子として長年使用されてきた実績があり、アレルギー誘発性を示す報告はないと記載しております。

3番ですが、(1)プロモーター、(2)ターミネーター、(3)その他については記載のとおりでございます。

4、組み込み方法でございますが、プラスミドpGAMpRのウシプロキモシン遺伝子を camel-*Chy* 遺伝子と置換するため、グルコアミラーゼをコードする遺伝子の下流に camel-*Chy* 遺伝子を組み込むことでプラスミドpCCEx3を作製し、次にpCCEx3を酵素処理して導入用DNA断片を得たとしております。

5、発現ベクターに関する事項ですが、(1)は記載のとおりです。

(2) 目的以外のORFの項目ですが、導入DNA断片領域においてORFの検索を行った結果、6つの読み枠において終止コドンから終止コドンで終結する連続する30アミノ酸以上のORFが合計187個検出される結果となりました。これらについて、アレルゲンデータベースを用いた相同性検索を行ったところ、第4-2-(3)に記載した以外には、スエヒロダケのグルコアミラーゼ、セリンプロテアーゼ及び *Blomia tropicalis* の Blo t 3 アレルゲンが検出されましたが、これらと同一性を有する配列は、それぞれ *glaA* 遺伝子及び *pyr4* 遺伝子領域に位置しており、これらの遺伝子が組み込まれた生産菌由来の食品酵素は長年使用されていることから、アレルギー誘発性の可能性は低いと考えられたとしております。次に、毒性タンパク質との相同性検索ですが、3個のORFがデータベース中のタンパク質と相同

性を示しておりますが、いずれのタンパク質もその機能から考えて、ヒトに毒性を示す可能性は低いと考えられたとしております。

(3) (4) については記載のとおりでございます。

続いて、6はDNAの導入方法についてですが、導入用DNA断片は宿主ゲノムの*glaA*遺伝子プロモーター部位に、相同組換えにより組み込まれ、ウリジン産生能を指標に形質転換体を選抜しております。サザンブロット分析を用いた解析の結果、*glaA*遺伝子座に複数コピー挿入されていることが確認され、また、定量PCRによっても複数コピー導入されていることが確認されております。

7、抗生物質耐性マーカー遺伝子については記載のとおりです。

続いて、第5の組換え体に関する事項ですが、1と14ページの2の(1)については記載のとおりでございます。

(2) ORFの有無に関する項目ですが、導入DNAの5'近傍領域及び3'近傍領域を含む領域におけるORFの検索を行った結果、6つの読み枠において終止コドンから終止コドンで終結する連続する30アミノ酸以上のORFが12個検出されましたが、これらはいずれも*glaA*遺伝子プロモーター領域の配列と一致したことから、アレルギー誘発性を有しないと考えられたとしております。また、既知の毒性タンパク質との相同性検索を行った結果、相同性を示す既知のタンパク質は認められなかったとしております。

第6、製造原料等に関する事項については記載のとおりでございます。

第7の1は諸外国における認可の状況ですが、2007年に米国においてGRASとして認定されております。デンマーク及びフランスでは、それぞれ2010年及び2011年に承認されており、カナダにおいては2010年に食品利用が許可されております。

続いて、2の組換え体の残存についてですが、PCR法により組換え体のDNAは検出されないということを確認しております。

3の非有効成分の安全性、4の精製方法、5の常成分の変動に関する事項については記載のとおりでございます。

第8としまして、第2から第7までの事項により安全性の知見は得られているとしておりますが、その下に参考としまして毒性試験についての記載をしております。まず、1として13週間強制経口投与毒性試験ですが、その結果、被験物質の投与に関連した変化は認められず、NOAELを最高投与量である24.2 mg/kg 体重/日であるとしております。また、2の変異原性試験ですが、(1) 復帰突然変異試験の結果では、代謝活性化系の有無にかかわらず被験物質に関連した異常は認められず、(2) の*in vitro*染色体異常試験では、代謝活性化系の有無にかかわらず被験物質に関連した異常は認められなかったとしております。

ここで408行目に下線を引いて追記した点があるのですが、こちらは事前に食品安全委員会委員の先生からコメントをいただきまして、これらの試験を踏まえた何かしらの結論を書いておいたほうがよいのではないかという指摘があり、今回、追記したものでございます。

評価書（案）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、評価書（案）について、御意見、コメントを承りたいと思います。なお、細かい字句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きたいと思っています。いろいろございましたが、〇〇〇、アレルゲンに関するところは、評価書（案）としてはこれでよろしいでしょうか。

〇〇〇 そうですね。11ページの246行目から248行目にかけてのところなのですが、8残基の一致のところは、248行目が「これらは食物アレルゲンではない」という結論になっているのですが、ここの一致した部分がエピトープとしては報告されていないとか、少し表現を変えていただければと思いました。調べた後にです。

〇〇〇 もっともだと思しますので、あとは〇〇〇とこの表現を詰めていただければと思います。ほかにございますでしょうか。

どうぞ。

〇〇〇 念のために確認なのですが、15ページの389行目からの参考の部分ですが、その上の文章で「安全性の知見は得られている」と書かれていて、参考が載っている。こういうケースは、前には消したことがあるような気もするのですが、どういう扱いになっていたかなと思いました。

〇〇〇 確かに消したことがありましたね。

〇〇〇 何かあるような気がするのです。

〇〇〇 事務局のほうからよろしいですか。最近の例ですと、プロテアーゼとかが今年の例になるのですけれども、そのときは消していないですね。あとは昨年例ですと、ホスホリパーゼCになるのですが、このときも消していないということになっています。

〇〇〇 では、ここまで言っても大丈夫。少なくともここまでは大丈夫と、そういうことですね。以前も消していない例があるのであればいいように思いますが、先生、よろしいですか。

〇〇〇 はっきり参考と書かれているので、それであればよろしいかと思えます。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 事務局のほうから、よろしいでしょうか。先ほどの〇〇〇にいただいた指摘にもつながるのですけれども、評価書（案）の13ページの320行目です。サザンブロットの分析法を用いた解析の結果というところなのですが、事務局案では「複数コピー挿入されていることが確認された」と書いてしまっているのですが、この部分はこのままでもよろしいでしょうか。

〇〇〇 よろしいですか。私も気がついてずっと言ったのですけれども、もうこのままでよろしいのではないかと思えます。

〇〇〇 ありがとうございます。

同感です。ここはここでいじらなくてよろしいかなと。複数だということだけがここで

わかって、その後、定量PCRで確定したということで、ストーリーとしてちゃんと成り立っていますので、いじらないほうがよろしいかと私も思います。

どうぞ。

〇〇〇 先ほど議論した参考にあたるどころ、これを入れるものと入れないものがあるということなのですけれども、どういうときにこういう記述が必要で、どういうときは必要ではないのか。何となくの考え方というか、それがあつたほうがよいと思います。私は新参者なのですが、このあたりは何となくそのときの気分でこういうものが入っている場合と入っていない場合と、外から説明を求められたときに、何となくですというのも何かちょっと、余り適当ではないかなということも思うので、何か整理はつきませんか。

〇〇〇 おっしゃるとおりかと思しますので、以前の例も見ながら整理を考えたいと思いますが、恐らく今までは、動物試験などのデータが提出されている場合は評価書にも書いてあるけれども安全性に関する知見が既にその前に得られている場合は参考と書いて評価はせずに終わりにするという扱いが比較的多かったような気がしております。そこも確認をして、余り扱いが変わらないように考えたいと思います。それと、こちらで408行目の記述を御指摘があつたので足らせていただいておりますので恐縮なのですが、参考の場合は、恐らく今まで評価的な記述はつけていなかったと思うので、そこもあわせて確認をして整理させていただきたいと思います。

〇〇〇 私自身は、これはある程度の説明は可能だと思っておりますので、またそのあたりは、この場だけではなくて、ちょっと相談したほうが、恐らく外に説明するときがいいと思います。

〇〇〇 この評価書（案）の場合は、この参考があつたほうが、説得力があつてわかりやすいものになるかと思うので、これはこれでいいのではないかと思います。確かにどういふときに参考をつけるかとか、共通認識を持つておく必要はあろうかと私も思います。折を見て議論いたしましょう。

先生方、どうぞ。

〇〇〇 削除したというときの議論は、私の記憶ですけれども、いわゆる385行目にあるように、第8で、第2から第7までに知見が得られてない場合という限定つきで、第8の項目を必要だったら起こすということで、申請者の方が親切にというか、非常に丁寧に安全性のことを見られていて、ここにあるような毒性試験とかそういうものをつけられてこられたことが過去にもあつて、そのときに評価書（案）として、第8に書いてあるように、2から7までで得られているのだから必要ないのではないかとということで、確かに入れなかったこともあつたと思います。

ただ、要するに、もう必要十分なのだからいいのではないかという意見があつて削除したことも過去はあつたと思うのですけれども、その後、やはり情報として出ているのであれば、参考としてでも入れたほうがいいのではないかとということで、参考としてつけ加わっているだけで、安全性自身については第8の387行目にあるように、第2から第7までで安全

性の知見は十分に担保されていると。このところで言っていて、なお参考という程度だと。たしかそういう認識でやってきたと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

確かにそういえばそうでしたね。なので、何なら削っても全体としては成り立っている。これは全く参考という形にしないで、第8でそのまま書いてしまうと、今度は毎回こういうデータを必要とされるというようにとられてしまいますので、だから、ここでは参考という形。たしかそういった議論もしたことがあったと思いますので、その辺は整理したいと思いますが、基本的にはばっさり削ってもいいことはいいのですけれども、せっかくのデータですので、参考という形で載せさせていただいている。少なくとも第8のところで参考が生じる場合はそういうケースであろうということで、これでよろしいでしょうか。

〇〇〇 この話は余り長引かせる必要はないと思っているのですけれども、そうならばL408のところで「以上の結果から、遺伝毒性に関する懸念はないものと考えられた」と、わざわざこれを入れるというのはどうでしょうか。全体の方針とも絡むので、別途議論するというのでいいのではないかと私個人はと思いますが。

〇〇〇 この408行目のこの1行についてはここで片をつけたいと思うのですが、これは削除したほうがいいように思うのです。

〇〇〇 多分、この一文は今まで書いていないと思うので、過去と整理をするのだったら、ここはもう書かないで参考になれると思います。

〇〇〇 先生方、御同意いただければ408行目は削除ということにしたいと思います。

では、そういうことで、これは削除してください。

ほかにございますでしょうか。

それでは、いただいた修正につきましては、手直し後、私と関係する先生方のほうで確認いたしまして、食品安全委員会に報告し、パブリックコメント等の手続きに移りたいと思います。ありがとうございました。

続きまして、新規品目であるpCHC株を利用して生産されたキチナーゼについて審議を行いたいと思います。

当該添加物について申請者は、遺伝子組換え生物等を利用して製造された添加物の安全性審査基準第3の対象とする微生物に該当しない、いわゆるナチュラルオカレンスに該当すると考えられております。これは*Streptomyces*属、放線菌同士でございまして、この申請書ではナチュラルオカレンスとして認めてよいかどうかという点が議論の焦点になるかと思っておりますので、そのようなつもりでお聞きいただければと思います。

それでは、申請者から提出されている申請書の説明を事務局のほうからお願いします。

〇〇〇 それでは、申請者から提出されている申請書を御説明させていただきます。pCHC株を利用して生産されたキチナーゼでございます。

申請書の2ページをお願いいたします。本キチナーゼの使用・開発目的でございます。既存添加物であるキチナーゼは、カニ殻やエビ殻から調製されたキチンまたはキチンオリ

ゴ糖の加水分解に使用されておりまして、その主生成物はN-アセチルグルコサミンでございます。

4ページでございます。宿主は*Streptomyces violaceoruber* 1326株でございます。宿主微生物につきましては、植物、動物に対して病原性、毒性は知られておらず、感染研の安全管理規程において、バイオセーフティレベル1に該当しております。当該宿主微生物による有害生理活性物質の生産は報告されておりませんで、抗菌活性物質を生産しないことも確認されております。

食経験でございますが、*Streptomyces*属細菌が基原となる既存添加物については既に豊富な食経験があるとしております。よって、安全な微生物と一般的に認識されておりまして、広く利用されているものでございます。

5ページはプラスミドについてですけれども、名称はpIJ702、由来は*S. violaceoruber* ATCC 35287でございます。当該プラスミドDNAの塩基数、塩基配列、制限酵素による切断地図は明らかとなっております、ヒトに対して有害ではないというものでございます。

薬剤耐性でございますが、当該プラスミドには、*S. azureus*由来のチオストレプトン耐性遺伝子が含まれておりまして、その生産物であるチオストレプトン耐性タンパク質はアミノ酸配列のみならず三次元立体構造も明らかとなっているということでございます。下に行きまして、チオストレプトン耐性タンパク質は、ヒトの消化管に存在する消化酵素群によって容易に消化されると考えられておりまして、本耐性タンパク質のアレルギー性は報告されていないということでございます。

6ページ、伝達性、宿主依存性は記載のとおりでございます。

発現プラスミドに関して、挿入遺伝子の供与体ですけれども、目的遺伝子及びその供与株を下の表に示してございます。プロモーターは*S. cinnamoneus* TH-2、本体のキチナーゼの構造遺伝子は*S. griseus* NBRC 13350、ターミネーターは*S. cinnamoneus* NBRC1 2852ということで、*Streptomyces*属が同一でございます。

挿入遺伝子供与体の安全性については、7ページに行きまして、本キチナーゼ遺伝子を取得した*S. griseus*、プロモーター領域及びターミネーター領域を取得しております*S. cinnamoneus*につきましては、病原性、毒素産生は報告されておらず、これも感染研の管理規程においてそれぞれバイオセーフティレベル1に該当するとしております。

挿入遺伝子供与体の安全な摂取経験については先ほどもございましたので、記載のとおりでございます。

発現プラスミドの性質ですが、本発現プラスミドpCHCはpIJ702プラスミドを用いて作製されておりまして、挿入配列も含めて全て*Streptomyces*属由来のものとなっております。

8ページの下の方の発現プラスミドの宿主への導入方法です。pCHCプラスミドで宿主*S. violaceoruber* 1326株をプロトプラスト法で形質転換して生産菌株pCHCを得ております。形質転換体を取得する際には、チオストレプトン薬剤耐性により選定いたしますが、選定したpCHC株培養工程には、チオストレプトンは使用していないということでござい

ます。

9ページですけれども、本製品の生産菌株が産生するキチナーゼと遺伝子供与体株のキチナーゼの同一性についてですが、本キチナーゼ遺伝子は、得られたPCR産物の遺伝子配列を*S. griseus* NBRC 13350株のキチナーゼ遺伝子と比較した結果、遺伝子配列が全て一致していることを確認したとしております。

本製品の製造については記載のとおりでございます。

*Streptomyces*属に属する微生物が自然界において遺伝子交換を行うことについて、一般的に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ますけれども、*S. violaceoruber* NBRC1 5146株、*S. griseus* NBRC 13350株、*S. azureus* ATCC 14921株の16S rRNAの塩基配列はそれぞれ高い相同性、95%以上を示しているということでございます。宿主であります*S. violaceoruber* 1326株の16S rRNA配列は報告されておりますけれども、同種である*S. violaceoruber* NBRC15146株の16S rRNA配列と100%との相同性を示すと考えられるとしております。

*Streptomyces*属間で遺伝子交換が行われることに対する遺伝学上の根拠ですけれども、*Streptomyces*属の多くが自然界において菌と菌との接合による遺伝子交換を行うことが記載されております。遺伝子交換には接合性プラスミドが関与しているとされておまして、ほとんどの*Streptomyces*属の微生物に接合性プラスミドが存在するとしております。

10ページは自然界において*Streptomyces*属間で遺伝子交換が行われる根拠です。2行目ですけれども、*Streptomyces*属に広く分布される99の菌株を土壌より分離いたしまして、これらの16S rRNA情報をもとに得られた系統樹と、芳香族ポリケタイド生合成にかかわる遺伝子情報をもとに得られた系統樹を比較しております。その結果、相同性の高い芳香族ポリケタイド生合成にかかわる遺伝子が、分類学上近縁ではない*Streptomyces*属の菌株に存在することを示しておまして、この事実は*Streptomyces*属間で広く遺伝子が交換されていることを示す証拠であると説明しております。調べた菌株の中で、*S. cinnamoneus*、*S. violaceoruber*及び*S. griseus*は菌糸の色素に関する同等の遺伝子を持っておまして、これらの間で遺伝子が交換されている証拠であることを説明しております。

諸外国の規制、認可でございますが、British Genetic Manipulation Advisory Groupでは、*Streptomyces*属の近縁性から、*Streptomyces*属の間の遺伝子組換えは全てセルフクロニングと見るべきであると主張されております。

結論ですけれども、自然界において*Streptomyces*属間で遺伝子交換が行われることは明らかであると考察されております。

開発されたキチナーゼの生産株pCHCと同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在し得ると考えられておまして、このため、本生産株より生産されるキチナーゼは、いわゆるナチュラルオカレンスに該当すると考えられると結論しております。

説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございました。

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います。いわゆるナチュラルオカレンスというものは、本来の定義は自然界に同等の遺伝子構成が存在するものというのがナチュラルオカレンスなのですが、現実的には当該微生物種の間で遺伝子交換が行われていることが確認されれば、これをもってナチュラルオカレンスと認めてきた経緯がございまして、諸外国でもナチュラルオカレンスはそのように扱われておりますので、本件に関してもそういった観点でお考えいただければと思います。

余り長い申請書ではございませんので、最初から最後までについて、一括して御意見をいただければと思います。

〇〇〇 そもそも論のところではちょっとお伺いしたいのですけれども、たしかナチュラルオカレンスはメーカーが自主確認して使ってもいいというような規定があったような気がするのですが、今回、申請してきたというのは、何かを確認したくて申請してきたということでしょうか。

〇〇〇 ナチュラルオカレンスの中で、食品安全委員会で判断したことがある菌種間のものであれば、ナチュラルオカレンスとして自主確認が可能ということになっていまして、今回使われている供与体菌種の中で、*S. griseus*だけはまだ判断されたことがないということで、それに該当しないため、その点の確認が必要という意味合いで今回出されたということでございます。

〇〇〇 ということは、そこが一番大きいポイントだということになりますね。

〇〇〇 実際にこの*Streptomyces*属の放線菌については、接合伝達のプラスミドはいろいろございまして、非常に頻繁に遺伝子交換をいたします。参考文献にあるように、*Streptomyces*属の間の遺伝子組換えは全てセルフクローニングで見べきだと。そこまでは同調しないものの、この組み合わせは非常によく出てくる組み合わせで、実際に遺伝子交換の水平伝播をしていると考えられる証拠もかなりそろっておりますので、私としては、このくらいの根拠を示していただければ、ナチュラルオカレンスと認めてよいのではないかと考えておるのですが、先生方、御意見をいただければと思います。

どうぞ。

〇〇〇 ナチュラルオカレンスでいいと思います。使っているものも全部、ベクターも*Streptomyces*由来のものですし、これはそのまま認めていいと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

先生方、御異論はございますでしょうか。今回の件については、初見の品目ではあるのですけれども、実は、申請者を呼んでおりませんので、ここで片はつくかなと考えておるのですが、御異論がないようであれば、安全上の懸念はないということで、ナチュラルオカレンスとして認定して、評価書（案）の審議に入りたいと思いますが、よろしいでしょうか。ありがとうございます。

評価書（案）の説明をお願いいたします。

〇〇〇 それでは、食品健康影響評価に関する資料の19ページからが、pCHC株を利用し

て生産されたキチナーゼの評価書（案）となっております。

22ページをお願いいたします。「Ⅰ．評価対象添加物の概要」でございますが、本添加物は *Streptomyces violaceoruber* 1326株を宿主として、*Streptomyces griseus* NBRC 13350株由来のキチナーゼ遺伝子を導入して作製したpCHC株を利用して生産されたキチナーゼでございます。キチンまたはキチンオリゴ糖を加水分解する酵素でありまして、N-アセチルグルコサミンの収率向上を目的として使用されております。

宿主、構造遺伝子、プロモーター及びターミネーターの供与体である *S. violaceoruber*、*S. cinnamoneus*、*S. azureus*及び *S. griseus*は、毒素産生性及び病原性は知られておらず、国立感染症研究所病原体等安全管理規程において、バイオセーフティレベル1に相当するとしております。

「Ⅱ．食品健康影響評価」ですけれども、挿入DNAは、*S. griseus* NBRC 13350株由来のキチナーゼ構造遺伝子に、*S. cinnamoneus* TH-2株由来のメタロエンドペプチダーゼ遺伝子のプロモーター及び *S. cinnamoneus* NBRC 12852株由来のホスホリパーゼD遺伝子のターミネーターを結合したものでございます。発現プラスミドpCHCは *S. violaceoruber* ATCC 35287株由来のプラスミドpIJ702をもとに作製されたものであり、塩基数、塩基配列及び制限酵素による切断地図は明らかになっています。

2番ですが、pCHC株が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ことについて、(1) これまでに、*S. violaceoruber*、*S. cinnamoneus*及び *S. azureus*の間では、自然に遺伝子交換が行われていると判断されている。

(2) 一般的に、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、*S. violaceoruber* NBRC 15146株、*S. cinnamoneus* NBRC 12852株、*S. azureus* ATCC 14921株及び *S. griseus* NBRC 13350株の16S rRNAの塩基配列はそれぞれ高い相同性（95%以上）を示している。

23ページですが、(3) *Streptomyces*属の多くの菌株には、接合性プラスミドが存在し、菌と菌の接合により遺伝子交換を行うことが報告されている。

(4) *S. violaceoruber*、*S. cinnamoneus*及び *S. griseus*は菌糸の色素に関する同等の遺伝子を持っていること等から *Streptomyces*属間で遺伝子交換が行われている。

以上から、pCHC株を利用して生産されたキチナーゼについては、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第1章総則第3対象となる添加物及び目的に規定する、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であることから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないと判断したとしております。

説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、評価書（案）について、御審議をいただきたいと思っております。

私から1つ、この菌は宿主が *Streptomyces violaceoruber*で、DNAが *S. cinnamoneus*と

*S. griseus*で、登場人物はこれだけ。遺伝子の交換を調べるところで*Streptomyces azureus*が出てきておるので、これでいいのですが、評価書（案）に*S. azureus*まで入れる必要があるのかどうかという点と、ここに入っていた場合、今後の自主判断のときに*azureus*絡みのものもオーケーにするのか。ここははっきりしておかないと混乱するように思うのですが、いかがでしょうか。

〇〇〇 先生、よろしいですか。たしか*azureus*は既にオーケーのグループに入っているものだったと思います。

〇〇〇 なるほど。どの組み合わせの場合でもオーケーになっている。

〇〇〇 今、ナチュラルオカレンスと認める範囲のものは*Streptomyces violaceoruber*、*cinnamoneus*、*avermitilis*、*azureus*です。その4つになっています。

〇〇〇 ただ、事実上その4つの中で全ての組み合わせでも遺伝子交換は起こると思うのですけれども、自主判断をするときは、その中で今まで審査があってオーケーになった組み合わせのみオーケーにするのか、それとも、そのリストに載っているものだったらいかなる組み合わせでもオーケーにするのか。その辺ははっきりしておく必要があるかと思えます。それはどうなっていましたか。

〇〇〇 今、この4つの中のいかなる組み合わせでもオーケーということにされているようです。

〇〇〇 *Streptomyces*の場合はそれでよろしいかと思うのですが。

〇〇〇 もう一つの例は*Bacillus*なのですけれども、*Bacillus*の場合は*Bacillus subtilis*と*Bacillus amyloliquefaciens*の間だけということになっています。これは2つです。

〇〇〇 あれは確認されている。よくあるケースですからね。もう一つの問題は、今回の評価書で*azureus*は出番がないはずなのですけれども、評価書（案）に入れておく必要があるのでしょうか。

〇〇〇 耐性で使っているというところだと思うのですけれども、一応過去に、26年5月のペプチダーゼのときに、*violaceoruber*と*cinnamoneus*と*azureus*を3つ使ったときに、評価書に*azureus*由来のチオストレプトン耐性遺伝子を含むという記載をしていたので、今回、それに倣って書いています。

〇〇〇 もとのプラスミドに乗っている、あのチオストレプトン耐性マーカ、あれは*azureus*由来ですか。

〇〇〇 そうです。

〇〇〇 そういうことであれば、入れておかないとまずいですね。ありがとうございます。

最終的には残っていないにしても、途中のプラスミドのこれがあるぐらいなのですね。失礼いたしました。このままで結構です。

先生方、ほかにございますでしょうか。

〇〇〇 1点よろしいでしょうか。ちょっとお伺いしたいのですけれども、評価書のほうで、(4)に「色素に関する」と書いてあるのですけれども、これはポリケタイドのこと

を訳したのですか。色素というのは。

〇〇〇 色素というのは芳香族ポリケタイドであると思います。

〇〇〇 そうですね。これはaromatic polyketideを色素と訳されているのだと思うのですが、食品の方々、特に食品の添加物とかそういう方から見ると、色素と言われると、何か添加物に使う色素的な誤解を、変な捉え方をすると余りよくないかなと思うので、申請書に書いてあるとおりでaromatic polyketideの生合成としておいたほうが良いような気がするのです。

〇〇〇 でも、*S. griseus*は青いというか、青みがあった茶色い色がつきますよ。大抵の放線菌は基本的には色素をつくりますので、ポリケタイドが何種類もあるうち1つや2つ色のあるものがありますので、大抵の放線菌のコロニーは色がつきますので。

〇〇〇 おっしゃるとおりです。ですから、色素というと、集合体でいうとポリケタイドの中の一部ですね。

〇〇〇 そう思いますので、ポリケタイドと書いていたほうが、私もそのほうが良いと思います。

〇〇〇 そのほうが正確で、ある意味、変な言い方ですけども、広くきちんと捉えられるのではないかと思うところですよ。

〇〇〇 そう思います。あえて言うならば二次代謝産物と書いてもいいぐらいの話。

〇〇〇 私は、それがすぐ頭に浮かぶ領域の研究を専門にしているのですが、二次代謝産物というと、悪いイメージを持っていらっしゃる方も多々いらっしゃるもので、そういうことなしに正確にポリケタイドと書いておいたほうが無難かなと思った。それだけです。

〇〇〇 そうですね。申請書にはそうなっていますからね。ポリケタイドは、私もそれがよかろうと思いますが、そのようにお願いできますか。

〇〇〇 記載の仕方を確認させていただいて、そのようにしたいと思います。

〇〇〇 先生方、ほかにございますか。

どうぞ。

〇〇〇 組換えのほうはこれが残るのですけれども、この判断をしたときのこれは残るのですか。残るとするのは、こちらだけですね。こちらは残らない。これは最後に、どこでしたか、何かに資料として残って使えますね。だけれども、これは判断してしまったら残らないですね。

〇〇〇 残します。諮問として来ているので、同じように残します。

〇〇〇 システムですけども、公開されることはないのですか。

〇〇〇 公開はない。

〇〇〇 こちらは、委員会のほうはどこでしたか、どこかに出て見えるようになりますね。小さいところは除いてですけども。

〇〇〇 取り扱いは同じで、閲覧は求めがあればできるという形になっています。

〇〇〇 そうなっていますか。では、出さないところですが、図の間違いなどのところだけは後で、そのところだけ、23ページの真ん中の輪っかですが、●●●をしたと書いてあって、どこも切れていないので、切れているところはわかりますが、切っておいてください。正確に言うところですか。リン酸化や何かも右は前のものと違うのですけれども、別にそれはわかるからいいと思うのですが、かなりラフなのです。すごいです。

〇〇〇 そうですね。精査したらもう少しほかにも出てきそうな気がしますね。それよりも、右ので●●●したらこういう形にならない気もするし。

〇〇〇 このとおりにやったらすごくとりにくいと思うのですけれども、でも、とれないとは言えないから。

〇〇〇 申請者に指摘して、図を精査するようにお伝えいただけますでしょうか。

〇〇〇 御指摘がありました点については修正を依頼したいと思います。

〇〇〇 指摘に限らずこの図全体を全部精査するように伝えていただけますか。ちょっと見て、これほど見つかるくらいということは、もっとあるように思えますので、評価書のほうはこれでよろしいでしょうか。

それでは、先ほどの修正につきましては確認させていただいて、食品安全委員会に報告し、パブリックコメント等の手続に入りたいと思います。ありがとうございました。

議題1については終わりたいと思いますが、議題2のその他ですが、きょうは事務局のほうから。

〇〇〇 本日の机上配付資料2といたしまして、遺伝子組換え飼料添加物の安全性評価に係る申請資料の提出について（案）がございます。遺伝子組換え技術を利用して製造された飼料添加物の評価に当たりましては、従前から評価基準に準じた評価を前提とした申請資料に基づきまして御審議をお願いしております。今般、飼料添加物の評価要請に当たりまして、リスク管理機関から従前の評価を前提としない内容の申請資料で十分かどうかの相談がありました。つきましては、遺伝子組換え飼料添加物の安全性評価の申請資料について、前回の調査会で委員の先生方から頂戴した御意見も考慮いたしまして、申請書に必要な事項を事務局にて取りまとめましたので、御説明させていただきます。

机上配付資料2をごらんください。簡単に内容を御説明いたします。

経緯でございますが、遺伝子組換え技術を利用して製造された飼料添加物の評価に当たりましては、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の3に記載された、以下の①から③があるかどうかを考慮いたしまして、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をしております。

この考え方は、遺伝子組換え飼料の場合も同様でございますが、遺伝子組換え種子植物の場合は例外なく食品としての評価が行われた後に、それを前提として飼料としての評価が行われております。飼料については、通例上記①から③の記載を中心とした簡略な評価書が作成されております。このため、飼料添加物の評価に当たりまして、申請者から提出される申請資料につきまして、今後の対応を検討いたしました。

今後の対応でございます。飼料添加物は、ヒトが直接摂食するものとは異なる等の観点及び一般的に挿入遺伝子もしくは当該遺伝子によって産生されるタンパク質が畜産物中に移行する報告はないことから、評価基準に準じた申請資料から以下の項目は省略しても差し支えないこととする。また、上記1、(1)の①から③についての申請者の考察を求めるものとする。

1ポツ目ですが、評価基準の第4の2の(3)、挿入遺伝子の機能に関する事項のうち、アレルギー誘発性の検討に関する項目、2ポツ目、第5の2の(2)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のうち、アレルギー誘発性の検討に関する項目、それぞれの項目は省略しても差し支えないこととしたいと考えております。

御説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

ただいまの事務局からの説明につきまして、先生方から御意見がございましたら、お願いいたします。

どうぞ。

〇〇〇 確認ですけれども、オープンリーディングフレームのところは、毒性タンパク質に対しての相同性検索はするということですか。

〇〇〇 そうです。

〇〇〇 どうぞ。

〇〇〇 〇〇〇に質問していいですか。飼料の申請のときには、毒性のことは書かれているのですか。

〇〇〇 今、飼料の添加物のガイドラインを手元に持っていないのではっきりわからないのですけれども、一応今までの飼料添加物は、全部そこら辺はやってきています。ただ、背景にあるのは、従来は食品のほうに同様の資料を出すので、食品のほうではそういうことが求められるケースが多かったのでやっているというケースが結構ありまして、本当を言うと、本来、飼料添加物は家畜が健全に育たないと使い物にならないので、**toxic protein**の相同性も要らないでしょうというのが私の個人的な意見ではあるのです。だって、家畜が育たなければ飼料添加物にならないので、彼らはどういうデータをとっているかということ、家畜がこれを食べたことによってどのくらい大きくなりましたというデータをとってくるわけです。ですから、**toxic protein**などは要らないよというのが私の個人的な意見なのですけれども、食品安全委員会のほうで欲しいということであればしようがないのかなとは思っております。

〇〇〇 そうしますと、今後の対応で、以下の項目は省略しても差し支えないというところで、これはアレルギー誘発性に関する項目等になりますけれども、飼料ですから、アレルギーは、ここは削ってもよろしいかなと。〇〇〇、よろしいですね。

ほかにごございますでしょうか。事務局案はおおむね妥当と思いますが、もうちょっと簡

略化できないこともない気もするのですけれども、当面のところこれでいいように私は思うのですが、先生方、よろしいでしょうか。

〇〇〇 私は、個人的にはもっと簡略化してほしいのですけれども、とりあえず第一歩を踏み出した。今までこちら辺があやふやで、飼料のほうの委員会でもこちら辺が非常にあやふやで、食品ではどこら辺まで求められるのでしょうかとかいうこともあって、審議されていた経緯もあります。その点、一つクリアにしてもらったことは非常にありがたいということで、あと、実質的に飼料添加物の特性を考えていただいて、またこの後、少し事例を踏んで、省略できる場所があればより省略していただければ非常にありがたいかなと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

あと、あるとすれば、ヒトの食品として評価をしてはいるのですが、飼料用としてヒトの場合よりもはるかに精製度の落ちるような飼料添加物を使う場合で、ヒトだったらきれいに結晶化までいっているけれども、飼料の場合は不純物が大量に含まれるような場合があるかと思います。それはそのときのことになりますので、飼料添加物の安全性評価の変更なりなんなりは、これで最後というわけではございませんので、一步進んだというように考えていただければと思います。よろしいでしょうか。

どうぞ。

〇〇〇 日本語の問題で、これをさっと読んだときに思ったのは、2ページ目の今後の対応で、4行あって「また」となっていますね。日本語的には「ただし」みたいな感じのほうが頭にすっきり来るかなと思いました。ただ、こういうものの書き方のお作法があるかと思いますので、その辺は参考までにとというぐらいにとどめておいて。

〇〇〇 多分、作法で「また」なのだと思います。「また」でその次が「もしくは」と、たしかこういうものの書き方のルールがあるのだらうと思いますので、先生の御希望どおりにならないかもしれませんが、事務局で確認していただければと思いますので、それでよろしいですか。

〇〇〇 役人にとって、お役所の作法は第一優先かもしれません。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、ないようですので、事務局において遺伝子組換え飼料添加物の安全性審査に関する申請資料の取り扱いについてよろしくお願いいたします。

ほかに事務局のほうから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。

それでは、本日の議題についてはこれで終了でございます。

以上をもちまして、第179回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。お疲れさまでした。