

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第198回) 議事録

1. 日時 令和2年2月19日（水） 13:57～16:30

2. 場所 食品安全委員会大会議室（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

・JS1252株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ

・Morph TG#626株を利用して生産された α -グルコシダーゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

小関専門委員、小野専門委員、児玉専門委員、近藤専門委員、
手島専門委員、山川専門委員、

(食品安全委員会)

川西委員

(事務局)

小平事務局次長、箴島評価第二課長、蛭田評価情報分析官、
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

①JS1252株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ

②Morph TG#626株を利用して生産された α -グルコシダーゼ

6. 議事内容

○児玉座長代理 それでは、定刻よりも少し早いようですけれども、皆様おそろいになりましたので、第198回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催したいと思います。

本日は、座長が諸事情により御欠席ということで、座長代理として初めてここに座っておりますけれども、座長代理の児玉が担当させていただきます。初めてやりますので、サ

ポートのほうをよろしくお願いいたします。

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。

本日は、所用により、安達専門委員、飯島専門委員、岡田専門委員、橘田専門委員、中島専門委員、樋口専門委員、吉川専門委員は御欠席です。

本日の議題ですが、新規品目であるJS1252株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ、Morph TG#626株を利用して生産された α -グルコシダーゼの安全性についての審議です。

それでは、お手元の資料を確認いたします。事務局からお願いいたします。

○飯塚課長補佐 それでは、議事次第に基づき、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」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、ファイルに綴じまして専門委員の皆様の机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、回収させていただきます、次回また配付いたします。

不足等ございましたら、事務局までお知らせください。

また、本日は、新規品目の申請者であるダニスコジャパン株式会社の方をお呼びしております。申請品目の審議の際に、質疑応答に対応していただくことを予定しております。

○児玉座長代理 それでは、事務局のほうから「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。

○飯塚課長補佐 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。

○児玉座長代理 既に御提出いただいております確認書について、その後、相違等はございませんでしょうか。

○児玉座長代理 相違等はないということです。

それでは、新規品目であるJS1252株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼについて、審議を行いたいと思います。事務局から説明をお願いいたします。

○山口係長 申請書の説明に入ります前に、審議の進め方について御説明いたします。冒頭で御紹介いたしました、本日は申請者のダニスコジャパン株式会社の方をお呼びしておりますので、申請書の御審議をいただいた後に、申請者に対する質問事項等があれば整理していただきたいと思います。その後に説明者に入室していただき、質疑応答を行います。質疑応答終了後、説明者には退室していただき、審議を再開していただくこととして

おります。

それではまず、ピンク色のファイルJS1252株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼのファイルの御準備をお願いいたします。

本品目ですが、似た品目といたしまして、3年前に審議を行いましたMDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼというものがあまして、それと宿主や遺伝子の供与体など、類似点がございます。本申請書中ではSAS3という表記で出てきますので、それとの違いも含めまして説明させていただきます。

5ページをお願いいたします。まず、第1の項目です。

1の(1)としまして、名称はエキソマルトテトラオヒドロラーゼ、基原は*Pseudomonas stutzeri*でございます。

(2) 製造方法ですが、図1にありますとおり、培養、除菌ろ過、限外ろ過、製剤化などの工程を経て製造されます。

次のページをお願いいたします。(3) 用途及び使用形態ですが、エキソマルトテトラオヒドロラーゼは、デンプンの α -1,4-D-グルコシド結合を、非還元末端からグルコース4分子単位で加水分解し、マルトテトラオースを生成するエキソ型の糖質加水分解反応を触媒する酵素です。

エキソマルトテトラオヒドロラーゼが生成するマルトテトラオースは、保存中のパン内部の吸湿によって生じるデンプンの再結晶を抑制し、パン保存時の品質維持、すなわちパンの老化抑制に有用であるため、パン原料と混合して使用されます。

(4) 摂取量でございます。製パン用途のみを想定しているため、パンの摂取量を基にヒト体重1kg当たり1日の推定摂取量の計算を行った結果、0.016mgTOS/kg 体重/日と算出しております。

続いて、1の(2) 宿主等の項目でございます。

(1) 宿主は *Bacillus* 属の *licheniformis* BRA7株でございます。これは野生型 *B.licheniformis* の突然変異株であり、野生型と比較して α -アミラーゼの生産性が高く、プロテアーゼの生産性が低いものです。

野生型 *B.licheniformis* は広く自然界に認められ、土壌に多く見られ、乾燥食品などにも存在しております。

(2) 挿入DNAの供与体の由来等でございます。

本申請書中では、*G+*遺伝子と記載されております。この*G+*遺伝子の開発に用いたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ遺伝子は、野生株 *P.stutzeri* IAM 1504株由来で、*P.stutzeri* は第9版食品添加物公定書にエキソマルトテトラオヒドロラーゼを生産する細菌として記載されております。

また、*G+*の菌体外への分泌に用いた、CGTase分泌シグナルペプチドをコードする遺伝子も導入されており、こちらは *Bacillus circulans* 由来でございます。

その他の導入DNAは、いずれも宿主由来でございます。

続いて、9ページに行きまして、性質等についてでございますけれども、こちらは先ほど御説明しました挿入遺伝子も含めて、その他のプロモーターやターミネーターなどの機能についても記載しております。

続いて、10ページをお願いいたします。挿入した遺伝子発現カセットは図3に示したとおりでございます、これらのDNA断片を含む遺伝子導入用ベクター pICatH-CGTss-M-NBA2062 を宿主 *B.licheniformis* BRA7 株を改変して作成した *B.licheniformis* BML780株にプロトプラスト法で導入しております。

導入した遺伝子導入用ベクターのうち両側が *catH5'* フランキンク領域に挟まれたDNA断片を標的遺伝子座である *B.licheniformis* BML780株の染色体上の欠失させた *catH* 座へ相同組換えにより挿入し、G+を生産するJS1252株を得ております。

11ページをお願いします。G+遺伝子に導入した変異は野生型のエキソマルトテトラオヒドロラーゼに対しまして、①24カ所のアミノ酸置換変異の導入、②●●●、③●●●終止コドン挿入による基質デンプンの結合部位への欠失変異の導入を目的としております。

①及び②は、具体的にはその下に書かれておりますアミノ酸の導入、置換変異の導入がありまして、枠で囲ったところがSAS3の置換変異に加えて、新たにG+で置換されたアミノ酸残基でございます。

少し下のほうに飛びまして、「一方で」という文言で始まるパラグラフですが、G+に導入したアミノ酸置換変異では、酵素反応を行うアミノ酸残基である触媒サイトは変更されておらず、G+と野生型のエキソマルトテトラオヒドロラーゼ及びSAS3の触媒反応とでは差異はないと考えられるとしております。

少し飛んで、35ページをお願いいたします。こちらのページにアミノ酸配列の比較がされておりまして、●●●となっております。アミノ酸の改変箇所や触媒の活性サイトは黄色で示されている箇所です。

それでは、戻っていただきまして、12ページをお願いいたします。欠失用ベクターをプロトプラスト法で宿主 *B.licheniformis* BRA7株へ導入して、BML780株を作製しております。それぞれの欠失型遺伝子の情報については、表2に示したとおりでございます。

続いて、隣の13ページをお願いします。第1の3、*B.licheniformis*は1972年以降、カルボヒドラーゼあるいはプロテアーゼの生産に安全に用いられており、食品用酵素の生産菌としての安全性は確立されており、また、第9版食品添加物公定書では、 α -アミラーゼ等の基原生産菌の一つとして挙げられております。

第1の4、宿主の構成成分ですが、*B.licheniformis*はヒトに対して非病原性であり、また、有害生理活性物質・栄養阻害物質の生産についても報告されておられません。

国立感染症研究所による分類では、バイオセーフティーレベル2または3には分類されておらず、1に相当すると考えられます。

続いて、5、遺伝子組換え添加物の項目です。

(1) は記載のとおりです。

(2) 製造方法の詳細ですが、従来のエキソマルトテトラオヒドロラーゼと同様でございます。

(3) 用途等ですが、パンの老化、すなわちパン保存中の食感、風味の低下を抑制するために使用されます。

(4) 有効成分等の比較ですけれども、有効成分はG+で、パンの焼成工程で小麦粉のデンプンを加水分解し、マルトテトラオースを生成します。

G+のアミノ酸配列は、SAS3と比較して、パンの焼成温度領域での耐熱性と、小麦デンプンを非還元末端から切断するエキソ型加水分解反応特異性が向上するように改変されております。

また、G+は、SAS3と置き換わる後継品ではなく、パンの原材料である小麦粉の種類や油脂などの小麦粉以外の原材料に組み合わせ、出来上がるパンのかみ心地などの官能特性や、求められる老化抑制による品質低下抑制などの要求製品品質に応じて選択するためのエキソマルトテトラオヒドロラーゼの追加を目的としております。

6の(1) 従来の添加物との相違点ですが、その下、図4にありますとおり、G+は野生型エキソマルトテトラオヒドロラーゼと比べ、パンの焼成温度の高温域での安定性が改良されております。

また、G+は野生型の欠失型エキソマルトテトラオヒドロラーゼと比較しまして、エキソ型加水分解反応特異性が向上するように、25カ所のアミノ酸変異を導入しております。

次のページをお願いします。(2) 組換え体と宿主の相違点ですが、生産菌JS1252株は、宿主である *B.licheniformis* BRA7株と比較して、G+の生産能を獲得し、BRA7株の複数の遺伝子を欠失しております。

続いて、第2の項目です。2の1、宿主は *B.licheniformis* BRA7株で、*B.licheniformis* は第9版食品添加物公定書で α -アミラーゼ等の基原生産菌の一つとして挙げられております。

2の2、病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項です。記載されておりますとおり、これまで食品安全委員会でも評価されてきたものでございます。また、広く自然界に認められております。土壌に多く見られ、乾燥食品等にも存在しており、病原性を有しているとは考えられないとしております。

日本では、国立感染症研究所の分類において、バイオセーフティーレベル1に相当すると考えられます。

続く第2の3から第2の5については記載のとおりでございます。

続いて、第3、ベクターに関する事項ですけれども、欠失用ベクターとG+遺伝子導入のために用いるベクターの基となった2種類のベクター及びG+遺伝子導入用ベクターの基となった1種類のベクターについて記載されております。

少し飛びまして、21ページをお願いいたします。

第3の2、性質に関する事項ですけれども、塩基数や塩基配列は明らかであり、既に食品安全委員会でも、過去に評価済みである旨が記載されております。

続いて、22ページをお願いいたします。

第4の項目ですけれども、挿入DNA等に関する事項です。

まず、(1)ですけれども、23ページの5行目からになります。*G+*遺伝子、プロモーター及びターミネーターの供与体についてです。

*G+*遺伝子は、*P.stutzeri* IAM 1504株由来のエキシマルトテトラオヒドロラーゼ遺伝子を改変して得られたものでございます。*G+*遺伝子発現のために*amyL*プロモーター及び*amyL*ターミネーター配列を用いておりまして、これは宿主*B.licheniformis* BRA7株が供与体でございます。

CGTase分泌シグナルペプチドをコードするDNA配列の供与体は、*B.circulans*でございます。

続いて、(2)安全性に関する事項です。

*G+*遺伝子の供与体は、*P.stutzeri* IAM 1504株で、MDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼの供与体として用いられております。

また、*P.stutzeri*は、第9版食品添加物公定書でエキソマルトテトラオヒドロラーゼの生産菌として記載されております。

日本では、国立感染症研究所のバイオセーフティーレベル1に相当すると考えられております。

*G+*遺伝子の発現には、宿主*B.licheniformis* BRA7株由来のアミラーゼを発現する*amyL*プロモーター及びターミネーター配列を用いておりまして、*B.licheniformis*は1972年以降、カルボヒドラーゼあるいはプロテアーゼの生産に安全に用いられており、食品用酵素の生産菌としての安全性は確立されております。

第9版食品添加物公定書では、*B.licheniformis*は α -アミラーゼ等の基原生産菌の一つとして挙げられております。

少し飛びまして、26ページをお願いいたします。4の2の(1)が挿入遺伝子の合成方法等に関する事項でございます。

隣の27ページから、*G+*遺伝子の作製は、*P.stutzeri* IAM 1504株培養液から染色体DNAを回収し、プライマーを設計し、染色体DNAを鋳型としてエキソマルトテトラオヒドロラーゼ遺伝子とその分泌シグナルペプチドをコードするDNA断片を増幅して、得ております。

少し飛びまして、32ページをお願いします。(2)については記載のとおりです。

33ページの下から、(3)挿入遺伝子の機能に関する説明になります。JS1252株の染色体に組み込まれた*G+*遺伝子発現カセットにより、改良されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ*G+*が生産され、この際、*B.circulans*に由来するCGTase分泌シグナルペプチドによって、*G+*は細胞外に分泌されます。このシグナルペプチドはJS1252株内でプロセッシングにより切断・除去されます。

また、*G+*遺伝子発現カセットとともに、JS1252株の染色体に組み込まれた*catH*遺伝子発現カセットにより、宿主BRA7株由来のクロラムフェニコールアセチルトランスフェラ

ーゼが生産され、生産菌の選択が可能になります。

続いて、36ページをお願いします。挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見ですが、*P.stutzeri*はエキソマルトテトラオヒドロラーゼの基原として、第9版食品添加物公定書に記載されており、*P.stutzeri* IAM 1504株は、SAS3のDNA供与体として用いられております。アレルギーデータベースあるいはPubMedで検索をしましたが、アレルギー性を示すような結果は得られませんでした。

CGTase分泌シグナルペプチドをコードするDNA配列の供与体である *B.circulans* についてです。こちらもアレルギーデータベースやPubMedで検索をしておりますが、問題となるような結果は得られておりません。

続いて、37ページ、物理化学的処理に対する感受性でございます。

まず、人工胃液でございますが、G+のバンドは人工胃液中では1分以内に消失することがSDS-PAGEにより、また、2分以内に消失することがウェスタンブロッティング分析により示されております。

人工腸液ですが、G+のバンドは360分間のパンクレアチン処理により消失しないことがSDS-PAGE及びウェスタンブロッティング分析によって示されております。

続いて、40ページをお願いします。G+の加熱処理による免疫反応性の変化を、G+ポリクロナル抗体を用いたELISA法によって評価しており、実際のパンの焼成温度を想定した可溶性デンプン存在下の緩衝溶液中の加熱処理では、30分以上の加熱でG+の免疫反応性が95%以上失われるという結果でございました。

続いて、第4の3、第4の4、第4の5については記載のとおりでして、少し飛びまして46ページ、第4の5の（3）をお願いいたします。

G+遺伝子導入用ベクターの意図する挿入領域は、中間株BML780株へG+生産能と改変型菌株を選択するために用いるクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼの生産能を回復させるDNA断片でございます。

相同組換えに用いた *catH5* フランキング領域と併せて、その遺伝子発現カセットのDNA断片の構成と長さが48ページの表5に記載されております。

（4）については記載のとおりです。

続いて、第4の6、宿主の導入方法に関する事項です。G+遺伝子導入用ベクターを *B.licheniformis* BRA7株の改良株であるBML780株にプロトプラス法により導入し、目的のG+遺伝子発現カセットを、染色体にある欠失後の *catH* 座の5'フランキング領域に相同組換えで導入しております。申請書の1から5については、評価済みのエキソマルトテトラオヒドロラーゼと同様でございまして、工程6及び7で、今回の遺伝子発現カセットを挿入しております。

続いて、51ページをお願いします。

G+遺伝子発現カセットの配列の確認として、配列解析のため、JS1252株のゲノムの全領域をリードとして増幅後、次世代シーケンサーによってDNA配列を解読し、既知の

*B.licheniformis*のゲノム配列に対してリードをマッピングして、全ゲノム配列を得ており、ゲノムの全領域における冗長さの平均値が●●●でございました。

この解析の結果、*G+*遺伝子発現カセット及び*catH*遺伝子発現カセットが1カ所に挿入されていること及び*G+*遺伝子発現カセット中に意図しない配列が導入されていないことを確認しております。

*G+*遺伝子発現カセットのコピー数の確認ですけれども、コピー数を推定するために、次世代シーケンサーから得られたデータを基に解析した結果、JS1252株には*G+*遺伝子発現カセットは●●●コピー含まれると推定しております。

続いて、第4の7、次のページをお願いいたします。JS1252株の染色体に挿入されているDNA断片には*catH*遺伝子が含まれており、これは宿主BRA7株が有している遺伝子を再導入し、改変型菌株選択時にマーカー遺伝子として使用したものでございます。

遺伝子導入用ベクターにはネオマイシン耐性遺伝子が存在しますが、生産菌であるJS1252株の選択の際にベクターpICatH由来のDNA配列がループアウトするので、JS1252株にはこの遺伝子は存在しません。

このことは、JS1252株から抽出した染色体DNAを鋳型とし、PCR法で*neo*遺伝子の非存在を確認しております。

続いて、第5の1でございます。53ページの下からですけれども、JS1252株は*G+*の生産能を獲得しており、一方で、宿主BRA7株の複数の酵素を生産しないか、または機能しないタンパク質として生産します。

次のページに行きまして、54ページの下2の(2)ですけれども、*G+*遺伝子発現カセット及び*catH*遺伝子発現カセットを組み込んで生産菌を作製した後、生産菌の染色体上の*G+*遺伝子発現カセット、*catH*遺伝子発現カセットを含むDNA配列に関し、染色体上の欠失した*catH*遺伝子座との接合領域を含む近傍DNA配列とともに終止コドンで集結する6つの読み枠でORFの検索を行っております。

これらのORFから、終止コドン間で翻訳後に30アミノ酸及びそれ以上のアミノ酸に相当するものを検出した結果、検出されたORFのうち、*G+*遺伝子発現カセット及び*catH*遺伝子など宿主BRA7株由来の配列を含むDNA断片の挿入によって新たに生じたもの、すなわち同DNA断片挿入前の染色体配列と一致しなかった62個のORFを相同性検索の対象として、既知のアレルゲンとの相同性検索を行ったところ、連続する80アミノ酸配列で35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンの数、また、連続する8アミノ酸配列が既知アレルゲンと一致する配列の数をそれぞれ評価したところ、いずれについても該当するアレルゲンは見出されませんでした。

さらに、有害タンパク質との相同性について、既知毒性タンパク質との相同性を検索したところ、E-value 0.1を設定して検索した結果、条件に該当するORFは見出されなかったということでございます。

続いて、第6といたしまして、製造原料等に関する事項が記載されておりますが、製造

原料等は全て長年使用実績がある旨が記載されております。

続いて、56ページから第7、遺伝子組換え食品添加物に関する事項です。

まず、第7の1、諸外国における認可等の状況ですが、カナダ、デンマーク、フランス、米国で承認されております。

続いて、第7の2、組換え体の残存に関する事項ですけれども、最終製品3バッチについてJECFAの食品用酵素剤の一般規格に照らした確認試験を行い、生産菌が検出されないことを確認し、また、生産菌に由来する組換えDNA断片が残存しないことの確認として、PCRによって増幅されたDNA断片が観察されなかったことから、生産菌に由来する組換えDNA断片が残存しないと考えられるということでございます。

続いて、60ページをお願いいたします。第7の3、非有効成分についての記載がございしますが、G+を有効成分として含む酵素製剤はJECFAの食品用酵素剤の一般規格に準拠している。また、FCCの酵素製剤の一般規格の要求事項も満たす結果となっております。

第7の4、精製方法等ですけれども、62ページをお願いします。SDS-PAGE分析チャートをデンストメトリーで解析したところ、G+の純度は●●●%という結果でございました。

第7の5については記載のとおりです。

第8ですが、第2から第7までの事項により、安全性の知見が得られているとしております。

申請書の説明は以上でございます。

○児玉座長代理 ありがとうございます。

それでは、今回の申請は先行品がありまして、MDT06-228株で作られた同じ酵素になりますけれども、それは当委員会で審議されていまして、基本的にベクターと宿主等は同じというものになっております。

それでは、申請書につきまして、専門委員の先生方からの御意見をいただきたいと思っております。

とりあえず第1から第3、申請書の5ページから22ページまでで質問と御意見等ありましたら、お願いいたします。

前にも一度言っていますけれども、組換えの審査は既存品との比較で安全性審査を行いますので、先行品でもいいのですけれども、できれば既存品と比べて、何が同じで何が違うのか、分子量とか至適pHとか、そういう比較の表をできれば入れていただきたいと思っております。

ほか、ございませんでしょうか。

それでは、第4、挿入DNA遺伝子産物並びに発現ベクターの構築に関する事項、申請書で言いますと22ページから53ページのところについて、御意見等ありましたらお願いいたします。

人工胃液、人工腸液のところですが、人工胃液のほうでは割とすぐに分解されるようですが、人工腸液のほうでは比較的残るようです。この点について、手島先生いかが

ですか。

○手島専門委員 人工胃液で早く分解されるので、大きな問題はないと思うのですが、38ページの人工胃液のところに、●●●という表現があるのです。これがウェスタンで●●●ということにはなっておりますが、ここの純度が幾分気になるところで、37ページでは、ここで用いたのがG+の酵素原体とありまして、酵素原体というのが62ページで純度●●●%ということになると思うのです。

この原体が、5ページ目の製造工程の概略の中での5番の酵素原体でよろしいかということで、もう限外ろ過も終わらせたものというふうに考えていいかどうかというところだけ確認したいと思っています。

ここで純度として十分であれば、この内容でもよろしいかと思います。

○児玉座長代理 次のものもそうですけれども、解析している酵素がどこの部分の酵素か分かりにくいところがございますので、今日、申請者をお呼びしているということです。で直接お聞きしていただければと思います。

そのほか、ございませんでしょうか。

後でまた遡って御意見いただいても構いませんので、それでは申請書の53ページから63ページ、第5から第8、組換え体に関する事項等から最後までになりますけれども、御意見等がありましたらよろしくお願いいたします。

ちょっと遡る形になってしまうのですが、この導入遺伝子座については次世代シーケンサーを行っておりまして、冗長度は十分と思われる●●●ありますが、コピー数が推定●●●コピーということで、その後のORF検索等も実際にどのように入っているかはよく分からないという状態で実施されています。その点についてどうでしょうか。

小野専門委員、どうでしょうか。

○小野専門委員 クロラムフェニコールでしたか。*catH*遺伝子という遺伝子発現カセットが入ったままになっているということなのですから、内在性の遺伝子もあるということで、分泌型でないということで、大丈夫だろうという記載になっているというところで、そういう薬剤耐性に関するものというのは残っていて問題ないのですか。

質問になってしまってますみません。

○児玉座長代理 薬剤耐性は製造時に実際にそれを使うかどうかというところも一つのポイントにはなるのですけれども、そこは後ほど確認したいと思いますが、それが入っていたからといって、特段すぐ問題になるということではないかとは思いますが。

ただ、ORF検索等はどのように入っているか分からないので、純粹に普通のきれいなシングルコピーを前提として行われているというところではありますが、添加物の場合は、組換え体で導入遺伝子座のコピー数が非常に多いものが最近が多いですので、その点は、安全性上は問題ないだろうという形で判断していることが多いと思います。

○小野専門委員 分かりました。

あと、意見になってしまうのですが、前回の審議のときもあったのですが、今回

のものは次世代シーケンサーでシーケンスをしていて、●●●コピーということを言っていて、前はそういうことができないのかということ意見をしていたと思うので、こういうほうがクリアになっていていいのではないかと思います。

○児玉座長代理 この点は、次世代シーケンサーはかなり一般的になってきていますので、添加物の申請を考えている会社さんには、こういう方法があるので、次世代シーケンスをした場合のコピー数の推定というのは、なるべくそういう方法に準じて少し検討していただきたいみたいなことは言っていただけるとありがたいなと。

やって、ないよと言って終わりということではなくて、一応そういう解析もしましたという形で、今は割と頼めばやっていただけるはずなので、外注でもやっていただけると思っていますので、そういうことはお願いしておきたいなと思います。

全体を通して、何か御意見がありましたらお願いいたします。

○川西委員 これは申請者に聞くようなことではないかもしれませんが、今回は野生型のエキソマルトテトラオヒドロラーゼを対象にしている。

食品添加物公定書のこの酵素は、放線菌から取れるとか、幾つか菌が書かれているのだけれども、エキソマルトテトラオヒドロラーゼというのは、図8のアミノ酸配列が基本なのかどうかということをもし御存じの方がいたらご教示ください。

私はしばしばこの調査会で面食らうのは、分子量が相当違うのに同じ酵素名で議論したりすることがしばしば行われていて、例えばエキソマルトテトラオヒドロラーゼの場合は、何と比較してこういうことを言っているのかなというのは素朴な疑問として思っていて、今回の場合はアミノ酸配列がきれいに書いてあって、これはあくまで本製品というか、ダニスコジャパンの今回のJS1252株を利用して生産されたこれなのか、さもないとこれが標準的と言えるのかどうかということをもし御存じであればということなのです。

○児玉座長代理 本製品の場合は、先行品で228というのが既に審議されて、認められておりますので、それにさらにアミノ酸置換を入れたという形になっています。既に先行品で認めてしまっているというところがありまして、エキソマルトテトラオヒドロラーゼに関しては問題ないと思うのですけれども、本来は既存品と比べてどうかという話になりますので、先ほど私もコメントしましたが、既存品はこういうものです、それに対して、今回の製品はこういうものだという比較をちゃんとしていただいたほうが、一応ガイドラインに従うといえますか、そういう考え方に基づいた審議ということになりますので、そうしていただきたいというのがあります。

物によっては、本当に新規の微生物から取ってきて、配列も結構違う、分子量も至適pHも物性もかなり違うというものを同じ酵素だと言ってくるケースも実はありまして、そういった場合は、さすがにそういう酵素活性を示すという何かしらの根拠を出してくださいねというケースはあるのですけれども、今回の場合は先行品で認められているということもありまして。

○川西委員 恐らく、このことは先行品のときに聞くべきことだったのだらうなと思うの

ですけれども、評価の基準というのが、そもそもが食品添加物で認められているものを基準にして、それから次いでいくということになっていると理解していますが、食品添加物公定書は広汎な酵素を包含しているので、こういうときに何を基準に評価しているのだろうというのは、この調査会に1年半出していただいて、いまだによく分からないところです。

もう一つ、これも厚労省に聞くべきことなのかもしれないのだけれども、この場合もヒトが摂取する量はごく少量なので、ほとんど問題ないのだけれども、摂取量が製パン用途のみを想定しているということがあるので、ただ、これはこういう摂取量というか使用目的も併せて承認されるということなのではないでしょうか。

例えば、別の目的で誰かが使ってしまったらどうなのでしょう。今日はちょっと時間がありそうなので余計なことを聞いていますけれども、もしどなたかご存知なら教えていただきたいなと。

この製品はJS1252株を利用して生産されたということなので、メーカーが把握できないということはほとんどあり得ないのだけれども、多分、使用目的は法的にリンクしているわけではないですね。

○飯塚課長補佐 食品添加物で使用基準なりが特に定められていなければ、何に使ってもいいということにはなろうかと思います。

要は、既存品と比べているわけなので、既存品でそういう規制が特にないものであれば、組換えで作った添加物も同じということだと思います。

○川西委員 私自身は、これに関しては、腸液で分解しにくいということがあるのだけれども、パンで使っている間はほとんどパンの製造工程でなくなってしまうので、問題はないと思うのです。でも、市場にあるからといって、誰かがまた別の目的に使ってしまったときにどうなのかなということが、ちょっと頭の片隅においておく必要はないのか、これはリスク管理の問題ですけれども、心配になります。失礼しました。

○児玉座長代理 それはどの製品でも付きまとう問題で、基本的には作る側が、この目的でというのはラベルで書かれるのが前提になっていると思いますので、その目的外使用ということになりますと、リスク管理機関とはいえども、そこまでの管理はできないというのが本当のところかなと思います。

ほかに御意見等はありませんでしょうか。

それでは、申請者への質問事項としては、純度と分解性のところについて、手島専門委員のほうから聞いていただくということと、一応念のための確認のために、クロラムフェニコールを製造のときに使っているかどうかという点について、申請者に確認したいと思います。

それでは、説明者に入室していただくこととしますが、説明者の準備等もあるため、ここで5分間休憩することといたします。53分ですかね。

○川西委員 これは2つ一緒ではないのですか。

○児玉座長代理 中身が全然違うので、別々にやります。

それでは、5分間休憩とさせていただきます。

○児玉座長代理 それでは、説明者の方が入室されましたので、再開したいと思います。

説明者の方、自己紹介をお願いします。会社名とお名前ぐらいで結構です。

○笠井氏 ダニスコジャパンの笠井と申します。

○河原氏 ダニスコジャパンの河原と申します。

○児玉座長代理 今日は御社のほうから2品目出ていますけれども、別々に審議することになっていますので、まず1品目のテトラオヒドロラーゼのほうから行いたいと思います。

これは、宿主やベクター等は先行品の228と基本的に一緒ということで、それはよろしいですね。

○笠井氏 そのとおりでございます。

○児玉座長代理 質問ということでは2点ありまして、1点目は導入遺伝子座のコピー数が●●●コピー入っているということで、*catH*遺伝子もそれに伴ってたくさん入っているということで、確認ですけれども、これは製造のときに抗生物質のクロラムフェニコールを使っているかどうかという点について、まずお願いいたします。

○笠井氏 製造のときには全く使っておりません。菌株の構築の過程でクロラムフェニコールを培地に入れて、それで選択圧を上げつつ、所定の挿入された遺伝子が入った菌株を拾うときだけ使っておりまして、培養のときはそういったものが発現しないような培地の条件にしております。

○児玉座長代理 分かりました。

もう一点は、申請書の38ページ、39ページにあります人工腸液、人工胃液のところです。こちらは手島専門委員のほうからお願いします。

○手島専門委員 人工胃液のほうで、完全長のところは早く分解するということで分かりましたが、●●●ということがありまして、その際に、純度がどれくらいのものを使っているかが幾分気にはなりましたが、この酵素原体というのは、62ページにあります●●●%の純度のものを使っているということでよろしかったでしょうか。

○笠井氏 同じ製造方法を取っておりますので、38ページのほうの数値自体は確認していませんけれども、同等の数値とみなしていただいて構いません。

○手島専門委員 この酵素原体というのは、5ページ目の製造方法の中では5番目に相当する限外ろ過をした後の酵素原体ということでよろしゅうございますでしょうか。

○笠井氏 そのとおりでございます。

○手島専門委員 ということは、図1の5番ところを純度試験等に用いたと書いていただけると分かりやすいかなと思いました。

○笠井氏 そのように訂正します。ありがとうございました。

○児玉座長代理 よろしいですか。

それでは、少し追記していただくということで、お願いいたします。

そのほか先生方から御意見等、直接お聞きしたいことがありましたらよろしく願います。

よろしいですか。

これで、質問等はこれで終わりになります。

説明者の方、どうもありがとうございました。

○児玉座長代理 それでは、審議に戻りたいと思います。

ただいまの回答を踏まえまして、御意見、コメント等ありましたら願います。

手島先生、よろしいですか。

○手島専門委員 大丈夫です。

○児玉座長代理 私のほうも、これで特段問題はないかと思いますが、ほかに御意見がありましたら。

それでは、本件については、特に安全上、問題はないということでありますから、引き続き評価書案の審議に入りたいと思います。

事務局から説明をお願いいたします。

○山口係長 それでは、評価書案について御説明させていただきます。

評価書案を束ねた冊子の1ページからが、本品目の評価書になります。

まず、6ページをお願いいたします。Ⅰが概要でございます。

本添加物は、*Bacillus licheniformis* BRA7株を宿主として、*Pseudomonas stutzeri* IAM 1504株由来の改変エキソマルトテトラオヒドロラーゼ遺伝子を導入して作製されたJS1252株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼでございます。本添加物は、デンプンの α -1,4-D-グルコシド結合を非還元末端からグルコース4分子ごとに加水分解する酵素でございます。耐熱性が付与されていることから、高温での使用も可能となり、パンの品質維持を目的として使用されるものです。

続いて、Ⅱの食品健康影響評価に関する事項です。

まず、第1の1の（1）です。名称はエキソマルトテトラオヒドロラーゼ、基原は*Pseudomonas stutzeri*、有効成分はエキソマルトテトラオヒドロラーゼです。

（2）製造方法ですが、培養、ろ過、製剤化等の工程を経て製造されます。生産菌は、除菌ろ過により除去されます。

（3）用途及び使用形態です。デンプンの α -1,4-D-グルコシド結合を非還元末端からグルコース4分子ごとに加水分解する酵素で、パン保存時の品質維持を目的として使用されます。

（4）摂取量ですが、菓子パンを除くパン製造工程に使用され、最終製品中に100%残存すると仮定した場合の最大一日摂取量は0.016mgTOS/kg 体重/日となります。

続いて、2の（1）宿主は*B.licheniformis* BRA7株でございます。

(2) DNA供与体の種名等ですが、エキソマルトテトラオヒドロラーゼ (*G+*) 遺伝子の供与体は *P.stutzeri* IAM 1504株です。

(3) 挿入DNAの性質等ですが、「*G+*遺伝子は」の後は先日、先行してお送りしたのは「従来の」と書かせていただきましたが、児玉先生から括弧書きのほう「野生型の」としたらどうかという御意見をいただきましたので、現在のところ、そちらを括弧書きという形で書いております。

これは、C末端側領域を欠失並びに24個のアミノ酸置換及び1個のアミノ酸を挿入した *G+* をコードします。

catH 遺伝子は、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼをコードし、選抜マーカーに用いております。

G+ 遺伝子発現カセット及び *catH* 遺伝子発現カセットを含む遺伝子導入用ベクターをプロトプラスト法で導入し、相同組換えにより宿主ゲノムの欠失させた *catH* 遺伝子座に導入しております。

なお、生産菌の作製に当たり、こちらに記載の複数の遺伝子を、それぞれ欠失用ベクターをプロトプラスト法で導入し、相同組換えにより欠失させております。

3、食経験等に関する事項ですが、*B.licheniformis* は長期にわたり食品用酵素の製造に安全に使用されてきた経験があります。*B.licheniformis* BRA7株は、遺伝子組換え添加物として安全性審査を終了しているプルラナーゼやエキソマルトテトラオヒドロラーゼ等の宿主として用いられております。

4、宿主の構成成分等ですが、*B.licheniformis* が有害生理活性物質を生産するという報告はなく、国立感染症研究所病原体等安全管理規定においてバイオセーフティーレベル1に相当します。

続いて、5、組換え添加物の性質等ですが、こちらは記載のとおりでございます。

8ページ、6の(1) 添加物との相違点ですが、C末端側領域の欠失並びに24個のアミノ酸が置換及び1個のアミノ酸が挿入され、かつ高温域での熱安定性が向上している点でございます。

組換え体と宿主との相違点は、JS1252株には *G+* 遺伝子が複数コピー導入され、*G+* 生産能を獲得している点、並びに複数の酵素の生産能を欠失している点でございます。

以上から、本添加物及び本添加物の生産菌の比較対象となり得る従来の添加物及び宿主があると判断しております。

続いて、第2、宿主に関する事項については記載のとおりです。

隣の9ページの第3、ベクターに関する事項ですが、遺伝子導入用ベクター pICatH-CGTss-M-NBA2062 の作製には pICatH が用いられ、pICatH の構築には *Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 が用いられました。

続いて、2、性質については記載のとおりでございます。

次のページをお願いいたします。第4の項目、1の(1) は記載のとおりです。

(2) 安全性についてですが、*P.stutzeri* IAM 1504株は、安全性審査が終了しているMDT06-228株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼのDNA供与体として用いられております。

*P.stutzeri*及び*B.licheniformis*は、国立感染症研究所病原体等安全管理規定のバイオセーフティーレベル1に相当します。

続いて、2の(1) クローニングの項目でございます。

G+遺伝子は、*P.stutzeri* IAM 1504株由来のエキソマルトテトラオヒドロラーゼ遺伝子がコードするタンパク質のC末端領域を欠失させ、かつ24カ所のアミノ酸置換及び1個のアミノ酸を付加させるように塩基配列の改変を行った遺伝子でございます。

また、*Bacillus circulans*由来のシクロデキストリングリコシルトランスフェラーゼの分泌シグナル配列が付加されております。

(2) については記載のとおりです。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項です。

G+遺伝子がコードするG+は、デンプンの α -1,4-D-グルコシド結合を非還元末端からグルコース4分子ごとに加水分解する反応を触媒する酵素でございます。

①挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見ですが、アレルギー誘発性の可能性を調べるためにデータベース及び文献検索を行った結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はございませんでした。

②遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する知見ですが、G+を有効成分とする酵素製剤について、アレルギー誘発性を示す報告はございません。

③物理化学的処理でございます。

まず、人工胃液に対する感受性ですが、SDS-PAGE分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、SDS-PAGE分析では試験開始後1分以内に完全長のバンドが消失し、ウェスタンブロット分析では試験開始後2分以内に消失することが示されました。

b、人工腸液でございます。SDS-PAGE分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、試験開始後6時間においても分解されないことが示されております。

c、加熱処理についてですが、G+はパン生地に添加されることから、焼成条件を想定した100℃での免疫反応性をELISA法を用いて確認した結果、30分の加熱で95%以上の反応性が消失することが示されました。

4については記載のとおりです。

以上のことから総合的に判断し、G+はアレルギー誘発性を有する可能性は低いと考えられたとしております。

続いて、3、4、5については記載のとおりです。

12ページの305行目、(3)をお願いいたします。意図する挿入領域は、遺伝子導入用ベクター上のG+遺伝子発現カセット及び*catH*遺伝子発現カセットでございます。

(4) については記載のとおりです。

続いて、6、導入方法ですが、宿主ゲノムの欠失された*catH*遺伝子座に相同組換えにより目的とする領域を挿入した形質転換体を選抜後、クロラムフェニコール選択圧を上昇させ、*G+*遺伝子発現カセットを増幅させた株をJS1252株としました。

続いて、7、遺伝子導入用ベクターは、ネオマイシン耐性を持ちますが、その後、先日お送りしたものは「宿主のゲノムには導入されない」と書かせていただきましたけれども、ここも児玉先生からコメントをいただきまして、「JS1252株には残っていない」という表現に修正させていただいております。

また、クロラムフェニコール耐性遺伝子は本来、宿主に存在する遺伝子を欠失させた後に再導入したものである。したがって、新たな抗生物質耐性マーカー遺伝子は導入されていないと記載しております。

続いて、第5、組換え体に関する事項です。

1は、記載のとおりでございます。

2の(1)ですが、*G+*遺伝子発現カセット及び*catH*遺伝子発現カセットの導入位置を確認するためにシーケンス解析を行った結果、1カ所に複数コピー挿入されていることが確認されました。

(2) ORFの有無の項目ですけれども、挿入DNAと宿主ゲノムの結合部位に生じるORFの有無を確認するために、挿入DNAの5'近傍配列及び3'近傍配列を含む領域におけるORF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62個検出されました。

これらのORFと既知のアレルゲンとの相同性の有無を確認するために、アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った結果、連続する80アミノ酸配列以上で35%以上の相同性を示す既知のアレルゲン及び連続する8アミノ酸配列が一致する既知のアレルゲンは検出されませんでした。

さらに、これらのORFと既知の毒性タンパク質との相同性の有無を確認するために、データベースを用いてE-value<0.1を指標として検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は認められませんでした。

第6については、記載のとおりでございます。

続いて、第7、14ページをお願いいたします。諸外国における認可の状況です。

*G+*製剤は、米国で2009年にGRASとして認証されております。また、デンマーク、フランス、カナダにおいて、食品加工助剤のポジティブリストに収載されております。

続いて、7の2、*G+*には生産菌の残存がないことが、培養を用いた手法により確認されました。また、PCR法により確認した結果、*G+*製剤からは生産菌に由来するDNA断片は検出されないということを記載しております。

続いて、3、*G+*を有効成分とする酵素製剤は、JECFAの食品用酵素の規格値及びFCCの酵素の規格値を満たしております。

続く4、5及び第8については、記載のとおりでございます。

評価書案の説明は以上です。

○児玉座長代理 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、コメント等を賜りたいと思います。

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したいと思います。

全体を通して、まず御意見がありましたらよろしくお願いいたします。

102行目のところは私のコメントなので、私がコメントはしにくいので、小関先生はどうでしょうか。

○小関専門委員 これは野生型というのが正しいと思います。

野生型に対して、15個変えたのがSAS、さらに24プラス1が今回のものだから、この記載でいくと、これは野生型というほうが正しいのではないのでしょうか。

○山川専門委員 従来のと書いてしまうと、どれが従来なのか分からないのです。だから、野生型のほうが正しいということだと思います。

○児玉座長代理 そういことですが、事務局のほうは。

○山口係長 そのように修正いたします。

○児玉座長代理 では、そのように修正していただいて、ほかにございますでしょうか。よろしいですか。

それでは、微修正は入っておりますが、あと、申請書のほうではできれば比較の表みたいなものを入れていただきたいということと、先ほど手島先生のコメントにあった追記の部分については、後日、事務局のほうで修正していただいて、私と関係する先生方で確認をした上で、食品安全委員会に報告し、パブリックコメント等の手続等に入りたいと思います。

それでは、こちらはこれで終わりということで、よろしくお願いいたします。

引き続きまして、新規品目でありますMorph TG#626株を利用して生産された α -グルコシダーゼの審議について行いたいと思います。

事務局から説明をお願いします。

○飯塚課長補佐 審議の進め方については、先ほどと同じ形式でお願いいたします。

それでは、黄色いファイルを御用意ください。

6ページになります。従来の添加物の性質ですが、名称は α -グルコシダーゼで、既存添加物リストに掲載されているものになります。

7ページ、製造方法ですけれども、生産菌株を種培養に用いて、発酵法で酵素を生産させまして、除菌ろ過で回収した酵素溶液を限外ろ過で濃縮して、酵素原体を得ております。

(3) α -グルコシダーゼは、 α -グルコシド結合を有する基質に作用してその非還元末端からエキソ型に加水分解反応を行い、 α -グルコースを遊離させる酵素でございます。

8ページをお願いします。2パラグラフ目ですが、 α -グルコシダーゼのうち、転移反応を起こすものはイソマルトオリゴ糖の生産にも使用されております。

「そのほかに」で始まるパラグラフですが、 α -グルコシダーゼをビールの醸造工程で添加すると、非発酵性のオリゴ糖が生成されて、まろやかな味わいが付与されるので、ビールの製造にも使用されるということです。

iPad資料の2-7「水野、酒類総合研究所広報誌」という資料がございますので、そこを開けていただいて5ページ目になるのですが、こちらに α -グルコシダーゼの酒類製造への利用というものが掲載されております。図で示されておりまして、図1をごらんいただくと、麦芽のデンプンから α -アミラーゼ、 β -アミラーゼで発酵糖を生成する過程で α -グルコシダーゼの転位反応によって非発酵性のオリゴ糖が生成されるという工程がございます。

図2をごらんいただくと、非発酵性のオリゴ糖の生成と。糖化の過程で α -グルコシダーゼが入りまして、その後、煮沸の工程がありまして、その後、発酵という工程があります。

ビールの製造では、このような過程で使われております。

申請書にお戻りいただきまして、摂取量ですが、本酵素の使用が想定されている用途であるイソマルトオリゴ糖及びビールの消費量から、 α -グルコシダーゼの摂取量を試算しております。結果は10ページになります。0.15mg/kg 体重/日となっております。

2、宿主の種名ですが、宿主は*Trichoderma* 属 *reesei* RL-P37株でございます。

(2) 本申請のTrTGをコードする遺伝子は、*A.niger* AGME9株由来となっております。

11ページに行きまして、マーカー遺伝子として使用した*amdS*遺伝子は、糸状菌*Aspergillus nidulans*の由来となっております。

その他、導入遺伝子の供与体は、いずれも宿主由来でございます。

12ページをお願いします。

*TrTG*遺伝子発現カセットであるDNA断片をPCRで増幅いたしまして、宿主株を改変して作製した中間株*T.reesei* M1-1.1株の染色体へ導入しまして、*TrTG*を産生する生産菌を得たというものでございます。

最終的に、生産菌に導入されている外来の遺伝子配列は、菌体選択マーカーとして*amdS*遺伝子を含む*TrTG*遺伝子発現カセットのみからなるDNA断片ということです。

*TrTG*遺伝子にはコードするタンパク質のアミノ酸配列へ変異を導入する改変は行っておりません。

14ページをお願いいたします。5つの遺伝子を欠失しております。なお、それに用いた欠失型遺伝子が表2に載っております。各欠失型遺伝子及び*EGIII*遺伝子発現カセットを構成するDNA断片は、全て宿主由来というものです。

16ページをお願いします。

3番ですが、*T.reesei*を用いて商業的な規模で生産したセルラーゼとキシラナーゼは、食品などの用途で長年にわたって使われております。

4番ですが、*T.reesei*は国立感染症研究所による分類において、バイオセーフティーレベル1の微生物に相当しております。

下から3つ目のパラグラフですが、*T.reesei*のアレルゲン生産性について、データベース

で検索しております。「trichoderma」及び「reesei」を使って検索したところ、ヒットがなかったということでございます。

また、*Trichoderma*属についての総説の中で、マイコトキシンを生産する種及びヒトの日和見感染を起こす種について報告されておりますが、これらに*T.reesei*は含まれていないということです。

5番、遺伝子組換え添加物になりますが、有効成分は α -グルコシダーゼです。

製造方法は、従来の α -グルコシダーゼと同様ということです。

18ページ、(3) 用途及び使用形態は従来の α -グルコシダーゼと同様ということです。

19ページ、6番の(1) ですが、本申請のTrTGをコードする遺伝子は、変異を導入していない*A.niger*の α -グルコシダーゼ遺伝子です。

4パラグラフ目ですが、TrTGは*A.niger*の α -グルコシダーゼと同一のアミノ酸配列を持つため、至適温度及びpHは従来の添加物を変えないということです。

20ページにはアミノ酸配列が載っております。

21ページの(2) ですが、生産菌株は宿主株と比較しましてTrTGの生産能を獲得しているということと、複数の遺伝子を欠失している点が違います。

第2、宿主に関する事項ですが、宿主は*T.reesei* RL-P37株でございます。

2番、*T.reesei*は食品添加物酵素の製造において、主に繊維分解酵素の生産菌として広く使用されておまして、安全性について報告されております。

下から2つ目のパラグラフの真ん中以降ですが、代表的な例として確認的に*T.reesei* RL-P37株について、これらのマイコトキシンの生産能を評価しております。

次のページに行きまして、4種類の培地を使いまして、宿主を●●●日間培養したところ、いずれのマイコトキシンも検出されなかったという結果でございます。

真ん中辺りですが、このような知見から、*T.reesei*は非病原性であり、有害生理活性物質の生産はないと考えられるとしております。

31ページをお願いします。遺伝子発現カセット導入用ベクターですが、TrTG遺伝子発現カセット導入用ベクターpTrex3(AGLM51)は、ベクターpTrex3にTrTG遺伝子を組み込んで作製しております。

33ページをお願いします。第4、挿入遺伝子の供与体ですが、TrTG遺伝子は*A.niger* AGME9株由来の α -グルコシダーゼ遺伝子を変異導入することなく用いております。

*amdS*遺伝子の供与体ですが、選択マーカーとして使用した*amdS*遺伝子は、プロモーター、ターミネーターともに*A.nidulans*由来となっております。

(2) 安全性に関する事項ですが、*A.niger*は様々な酵素の生産や発酵法によるクエン酸の生産等の食品用途に用いられてきております。

34ページ、*amdS*遺伝子の供与体の安全性ですが、*A.nidulans*については、経済産業大臣が定めるGILSPのリストに収載されているものということでございます。

36ページ、挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性ですが、*A.niger*はトランスグルコ

シダーゼをはじめ、数多くの酵素の生産菌として収載されております。*A.niger*に関しまして、日本における食品産業での使用経験も含めまして、食品アレルギーとしてのアレルギー誘発性に特段の懸念はないと考えられるということです。

37ページの真ん中辺り、「また」以降のパラグラフですが、*A.nidulans*の*amdS*遺伝子は選択マーカーとして利用されており、本遺伝子を導入した組換え微生物は食品用酵素の生産菌として用いられております。

*A.nidulans*に関して、日本における食品産業での使用経験も含めまして、アレルギー誘発性に特段の懸念はないと考えられるということです。

遺伝子産物のアレルギー誘発性ですが、TrTGは2017年以降、イソマルトオリゴ糖の生産などに用いられておりますけれども、アレルギー性の懸念につながる事象は報告されております。

38ページ、遺伝子産物の物理化学的ですが、3パラグラフ目が人工胃液の結果となっております。TrTGに相当する分子量●●●のバンドが0.5分以内に消失することがSDS-PAGEによって示されております。このうち●●●のバンドのほうですが、●●●に相当するバンドと考えられるということです。

人工腸液の結果が最後のパラグラフですが、TrTGのバンドのうち、約●●●のバンドが2分以内に消失するものの、約●●●のバンドは60分まで消失しないことがSDS-PAGEによって示されております。

41ページをお願いします。図の下ですが、TrTGは約70℃以上で30分間加熱されると完全に失活することが確認されております。

イソマルトオリゴ糖の製造時には、75℃に加熱される工程があるため、TrTGは熱失活すると考えられるということです。

最後のパラグラフですが、ビール製造の工程では、TrTGが必ずしも熱失活しないことを示唆しているが、ビール賞味期限内の品質を保持するために行われる、ろ過助剤やフィルターを使ったろ過工程で、TrTGが除去されることが期待できるということです。

45ページをお願いします。(3) *TrTG*遺伝子発現カセット導入用ベクターについてです。2パラグラフ目ですが、*TrTG*遺伝子発現カセットのDNA断片の構成と長さは明らかになっております。

4パラグラフ目ですが、実際に導入された挿入DNA断片には、上記のDNA断片に加えまして、ベクターに由来する計●●●bpの●●●断片も含まれております。

(4) *TrTG*遺伝子導入用ベクターの構築に用いたDNA断片は、全て精製キットを用いて純化されたものであり、目的遺伝子以外の機能や由来が不明な遺伝子の混入はないと考えられるということです。

6番、DNAの宿主への導入方法ですが、2パラグラフ目の後半、*TrTG*遺伝子発現カセットを中間株の栄養胞子に電気穿孔法を用いて導入したということです。

48ページをお願いします。7の(1)ですが、生産菌株には、抗生物質耐性遺伝子を導入

していないということです。

(2) 生産菌株を作製する過程で使用したベクターにはアンピシリン耐性遺伝子が含まれております。しかし、この抗生物質耐性遺伝子は、改変する菌株に導入するDNA断片に含まれていないので、生産菌株には導入されないということです。

第5、組換え体に関する事項です。

宿主 *T.reesei* RL-P37株と比較して、生産菌株は染色体に導入された *TrTG* 遺伝子発現カセットにより、*TrTG* 生産能を獲得した点で異なるということです。

また、内在性の遺伝子も欠失しているという点が異なっております。

2の(1) ですが、ゲノムの全領域を次世代シーケンサーによってDNA配列を解析しております。*TrTG* 遺伝子発現カセットが1カ所に挿入されていることを確認したということです。

49ページ、次世代シーケンサーは●●●を用いておりまして、ゲノムの全領域における冗長さの平均値がそれぞれ●●●であったということです。

3パラグラフ目ですが、また、*amdS* 遺伝子発現カセットに隣接しまして、●●●が挿入されていたということ。図15では●●●で示されております。

これは、ベクターから *TrTG* 遺伝子発現カセットを●●●形成されたのではないかと考えられるということです。

50ページの(2) ですが、*TrTG* 遺伝子発現カセットを組み込んで生産菌を作製した後、生産菌の染色体上の *TrTG* 遺伝子発現カセットを含むDNA配列に関しまして、接合領域を含む近傍DNA配列とともに終止コドンから終止コドンで終結する6つの読み枠について検索しております。

検出されたORFのうち、*TrTG* 遺伝子発現カセットの挿入によって新たに生じたものが137個ありまして、これに対しまして既知のアレルゲンとの相同性を検索しております。

連続する80アミノ酸配列で35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンの数、また、連続する8アミノ酸配列が既知アレルゲンと一致する配列の数をそれぞれ評価したところ、いずれについても該当するアレルゲンは見出されなかったということです。

また、この検討では、*TrTG* 遺伝子にイントロンが含まれているため、成熟タンパク質の全長アミノ酸配列については行っていませんでしたが、成熟タンパク質の全長アミノ酸配列を用いて、これについても評価したところ、いずれについても該当するアレルゲンは見出されなかったという結果でございます。

51ページ、既知の毒性タンパク質との相同性についてですが、E-valueの閾値を0.1に設定して検索した結果、4つのORFに対して毒性タンパク質がヒットしたものの、個々に確認した結果、いずれも安全性に懸念はないと考えたということです。

その下の次のパラグラフですが、タンパク質Putative antimicrobial peptide clone 5の全73アミノ酸長のうち、39アミノ酸長の範囲において28%の相同性を示したにすぎず、生物学的に意味を持つ相同性とは考えられないということです。

その他のヒットしたタンパク質についても、全長に対する短い領域のみに相同性が見られたということで、その相同性は低かったことから、仮に発現しても有害タンパク質として機能する可能性は低いと考えられるということです。

第6の1、2については記載のとおりです。

53ページ、第7ですが、諸外国における認可状況です。デンマーク、フランス、米国において承認を受けております。

生産菌が残存していないことの確認ですが、最終製品3バッチについて培養法で生産菌が検出されていないことを確認したということです。

生産菌に由来する組換えDNA断片が残存していないことの確認についてはPCR法で行っておりまして、結果が56ページにあります。

PCRによって増幅されたDNA断片が観察されなかったことから、生産菌に由来する組換えDNA断片が残存していないと考えられるということです。

4番、精製方法の項目ですが、59ページをお願いします。図の下ですが、SDS-PAGE分析チャートをデンストメトリーで解析したところ、TrTGの酵素原体の純度は●●●%以上であったということになります。

申請書の説明は以上です。

○児玉座長代理 ありがとうございます。

それでは、今回の品目はグルコシダーゼということで、私も最初、勘違いしていたのですが、ビールの製造とオリゴ糖の製造と両方に使われるという形で書かれておりますが、ビールの製造においても、オリゴ糖の製造が目的で使用されているということで、僕はビールのほうは糖化なので、純粹に分解のほうで使っているのだろーと思っていました。すけれども、そうではなくて、酵母が使える形のオリゴ糖を作る目的で入れているということです。どちらも糖転移反応を目的として使用されているということのようです。

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

まず、申請書の6ページから33ページまで、第1、第2、第3の項目について御意見等がありましたら、よろしくお願いします。

先ほど1品目でも言いましたが、比較ということなのですが、こちらは公定書に記載されている基原のものを、全くアミノ酸も変えずにそのまま使っているということです。普通、要らないのかなと。不要と言われれば不要かなとも思いますね。こちらはこのままでよろしいかなとは思いました。

なければ、続きまして申請書の33ページから48ページ目まで、第4の挿入DNA遺伝子産物並びに発現ベクターの構築に関する事項で御意見がありましたら、よろしくお願いします。

人工胃液、人工腸液の試験で、今回、ウェスタンブロットをしていないのですけれども、

手島先生、その点は。

○手島専門委員 特にしていないのですね。附属の社内文書にもなかったということですね。

人工腸液のほうは、本当はウェスタンが欲しいとは思うのですけれども、ここでは完全長のものが切れて、●●●kDaバンドが60分まで見られているということがCBB染色で、かろうじて判別できるということでよろしいですかね。本当は欲しいのですけれども。

それから、書き方の問題なのですけれども、40ページの図11の下に、この実験結果から、TrTGは仮に非加熱のTrTGが摂取された場合にも、消化管内で分解されて免疫反応は起こさないだろうことが期待されると。この文章は通常は書かないので、これは要らないのではないか。熱処理に関しては次の項目、41ページに書かれていますね。酵素活性としての結果が出ているので、このデータの一部を40ページのほうに持ってきて、物理的な反応ということで考察するというのが普通のやり方だと思うのですが、ここで考察をするとすれば、特になくてもいいのではないかと思います。

○児玉座長代理 それは、40ページの文章は削除していただくということで。

○手島専門委員 はい。

○児玉座長代理 図11の人工腸液なのですけれども、●●●ですけれども、この記載はありましたか。

○手島専門委員 あったように思いますが、記載はされていなかったでしょうか。

○児玉座長代理 多分、●●●kDaのバンドというのは書いてあるのですけれども、●●●kDaぐらいのバンドのところは書いていないのかな。

○手島専門委員 確かに●●●kDaのバンドの考察が書かれていませんで、それに関する記述も必要ですので、●●●という文章を追記していただければと思います。

○児玉座長代理 それでは、それは追記していただくということで。

ウェスタンブロットがないのですけれども、それはまた置いておいて、次に加熱のところです。41ページの下3行、ビールのろ過助剤やフィルターのろ過工程で酵素が除去されることが期待できると書いてあるのですが、タンパク質を除去できるぐらいのフィルターを通していいのかどうかよく分からないので、ビールの製造過程では失活し切れないというのが上の文章にありまして、この文章を取ってしまうとちょっと収まりが悪いということもあります。

先ほど見ていただいた添付資料、ビールの製造過程の資料2-7を見ていただくと、糖化の過程で発酵に使われないオリゴ糖を作るのに使うということで、糖化が終わると、一旦そこでホップを煮沸するというステップが一応あるということです。これが正しければ、そういう過程で煮沸の工程が入るので、煮沸の工程で酵素の活性は失われると考えられるというような文章のほうが、フィルターでタンパク質を除くのは結構大変だと思いますので、確認の上、そのような文章に修正していただければと。

そうしますと、イソマルトオリゴ糖の製造でもビールの製造でも熱失活はするというこ

とであれば、ウェスタンブロットはよろしいですか。一応、その点を総合的に勘案して、アレルギー性の危険性はないと考えられるというまとめにさせていただくような形で、記載を修正していただくようお願いしたいと思います。

○川西委員 ちょっと理解が不十分なところで申し訳ないのですが、教えていただきたいことがあります。59ページの純度を●●●%以上と出している酵素原体の場合は、●●●ですね。人工胃液、人工腸液のときは●●●。添付資料のどこかに書いてあるのかもしれないのですけれども、それから、38ページの解説で●●●だと言っているのですけれども、59ページの酵素原体は、●●●のようです。

どうもその辺りが、酵素原体と製品との違いというのは、保存料とか安定化剤を入れた、あとは仕上げる過をしているだけということで、この辺の関係がいま一つ提出いただいている試料では理解ができなかったのだけれども、それはどう理解したらいいのでしょうか。

○児玉座長代理 その点は私も思っていて、59ページのほうを見ていただくと、●●●と書いてあるのですけれども、それを見ると、今、おっしゃったように●●●ということ。あと、イオン強度の関係ではないかと思うのですけれども、電気泳動したときに、●●●というのが私も気になっていまして、それは聞いてみようかなと。

そもそも●●●は、7ページの製造工程のどこに当たるのかというのがよく分からなかったというところもありますので、それと照らし合わせて、それぞれどこに当たるのかというのがいま一つつかみ切れなかったのもので、その点も含めて質問させていただこうと思います。

○川西委員 ありがとうございます。

私の不勉強ではないということが分かったので安心しました。

○小関専門委員 もう一点、私も全く同じところで引っかかって、何か変だなと思ったのです。胃液、腸液のものと非常にきれいだなと思ったのですけれども、一番最後に来たらあれと。●●●ではないか、分子量が違うではないかというのをすごく思った。

もう一点、これは手島先生にお聞きしたほうがいいのではないかと考えたところがあって、これは●●●ですね。要するに●●●わけですね。ここの脚注にちょろっと書いてあるのですけれども、●●●と言っているのですが、それはアレルギー性とか消化性の上で、●●●、そういうことはあるのですか。

○手島専門委員 可能性はあると思うのですが、今回のものは●●●で行っているのです。それで人工胃液ではすぐなくなり、人工腸液では●●●ということだとすると、消化性は●●●と思うのです。

○小関専門委員 もう一点よろしいですか。

その点でいったときに、ここだけではなくてほかのタンパク質についても、●●●ということについては、そんなに考えなくていいとここで判断いただけると、今後のことも考えやすくなるのです。

そこが、実は私にとっては大きなポイントになっていたのです。

○児玉座長代理 ●●●、どうなのか、本当にそうなのか、本当に基のものと変わっていないのかとか、随分ねちっこくやっているケースがありますので、それは小関先生がおっしゃるとおり、どこまで気にするかというところも一つあります。

こちらは酵素というか添加物になりますので、●●●もあるかと思うのですけれども、今回、●●●がどうも違うということです。どこまで申請者側で情報を持っているかというのはお伺いしてもいいのかなとは考えます。

●●●は、今、言われて見たのですけれども、確かにかなり違うので、これは再現性等も含めてお聞きしないといけないかなと思います。●●●という気もしなくもないですが、これは明らかに違うので、このままでは受け入れがたいということになってしまう。そこから辺は直接お聞きしたいと思います。

それから、45ページの中段の(3)の最後に意図せぬ断片の混入があったと書かれていて、(4)純化に関する事項で、機能や由来が不明な遺伝子の混入はないと考えられると書いてあるのですけれども、その上で混入しているとしながら、下で混入はないというのはちょっといかがなものかなと思います。ここに目的遺伝子以外の機能や由来が不明な遺伝子と書いてあるのは、含むところがあってそのように書いたのかなとも読み取れるのですが、さすがに混入していると言いながら、混入はないと書くのはいかがなものかなと思いますので、こちらは通常の精製キットを用いて純化をしていますということで終わりで、そのほかはもう削除ということでお願いしたいと思います。

通常の方法できれいに純化したのだけれども、入ってしまったということになりますかね。多分、アガロースゲル電気泳動をして分離するのですけれども、結構こういうことは起きるので、それはそれでしょうがないかなというところはございます。

ほかに御意見等はないでしょうか。

○山川専門委員 さっきの59ページ、●●●というのは、ウェスタンのところですか。SDSの話ですか。

○手島専門委員 そうですね。SDSの方になります。

○山川専門委員 こちらのものと同じですね。

○手島専門委員 赤い表紙の審査資料のほうですか。

○山川専門委員 赤いほうの62ページと同じ。だから、これはいいのですよね。

○手島専門委員 黄色の表紙の審査資料の40ページと59ページを比較しています。。

○児玉座長代理 39ページ、40ページと59ページの。

○手島専門委員 違いというか。

○山川専門委員 そういう意味ですね。分かりました。

○児玉座長代理 ●●●からすると、大分違うかなという気がします。

○小関専門委員 さすがにこれは違うのではないかな。

○児玉座長代理 多分●●●が違うのです。

○手島専門委員 私も●●●が違うものを使っているのではないかなと思います。

○児玉座長代理 使っている●●●が違うみたいです。

でも、これだと●●●ことになるのです。

○小関専門委員 さすがにこれだけ違うとあれで、使っている●●●が違うのと、あと、片一方はグラジエントゲルではないかな。多分、ゲルか何かが違うような雰囲気がするので、ちょっと確認してもらって、教えてくださいと聞いたほうが早いと思います。

○児玉座長代理 それでは、先行して先に進んでいますが、申請書の48ページから60ページ、第5から第8、最後までの部分につきまして、御意見がありましたらお願いいたします。

51ページですけれども、4つのORFが毒性タンパク質にヒットしたとありまして、一つは簡単に記述はあるのですけれども、ほかは可能性はないよと言って終わりなので、できれば事前に出してくださいとお願いしたのですが、その点は、事務局のほうはどうなっていますか。

○飯塚課長補佐 申請者が来たときに聞いていただければと思います。

○児玉座長代理 それから、今日は中島座長はお休みですけれども、座長のほうから、*amdS*遺伝子発現カセットに隣接して、●●●が意図せず挿入されている点について一応確認してほしいということで、ORF検索等は行っておりますけれども、この点に関して何か安全性上の懸念等が考えられるかどうか、皆様の御意見をお伺いしたいのです。

小関先生、いかがですか。

○小関専門委員 こういうことはたしか前もあったような気がするのです。●●●が入ってしまったというようなことがあって、そこで意図せずに入ったものが、既知のしかもタンパク質もコードしていないものであるケースの場合に、それを含めて毒性、アレルゲン性もとりあえず調べてみれば間違いないですねということで、要するに、安全性に懸念はないですよということであれば問題はないと思います。

ただ、別のケースとして、例えばunknownのほかの宿主由来の何かが思わず入ってしまったとか、それが何か本当に意図せず、何か分からないものが入ってしまったときというのは慎重にする必要があるかと思うのですけれども、このケースの場合にはある意味、非常にはっきりしているので、懸念があるかないかというのは判断しやすい。今回の場合は問題ないように私は思います。

○児玉座長代理 一通りORF検索等は実施されていますので、私も特段問題はないかなとは思いますが。

それでは、これから申請者のほうに入っていただいて質問等を行いたいと思いますけれども、質問事項をまとめさせていただきたいと思います。

1点目は、●●●について、まずお聞きしたいと思います。

それから、●●●というところです。

それから、59ページにあります図19ですけれども、●●●、製造工程のどこに当たるのかというのが、いま一つ分からないので、それについて。

それから、●●●、これは59ページで分かりやすいですが、●●●はどのように考える

か。

それから、中島先生のほうからは、59ページに純度が●●●%と書いてあるのですが、上の図を見ると本当に●●●%もあるのかという御意見もいただいておりますので、一応念のため聞いておきたいと思います。

私が気づいたところはそのぐらいなのですが、ほかにありましたら、直接、委員の先生の方から御意見いただければと思います。

それでは、これでよろしければ説明者に入室していただくことにしたいと思いますので、5分間休憩とさせていただきます。

○児玉座長代理 申請者の方にお入りいただきましたので、質疑応答に入りたいと思います。

こちらの案件に関しては幾つか質問等がございまして、申請書の59ページが分かりやすいかと思うのですが、59ページにSDS-PAGEのパターンが載っていますが、●●●と思うのですが、●●●ということなのですが、見え方が結構違う。●●●ということで、これはどういうことによるものなのでしょうかというのが一つです。

○笠井氏 まず、59ページの●●●をしたものです。

59ページの図にSDS-PAGEのチャートにあります●●●というのは、●●●ですけれども、●●●ということ、まずは●●●をします。

それによって●●●、そこから持ってきたデータでございます。

したがって、●●●と見ております。

○児玉座長代理 そうすると、市販化されるものは●●●ということですか。

○笠井氏 そうでございます。

○児玉座長代理 小関先生、どうぞ。

○小関専門委員 7ページのフローチャートの酵素原体と書いてある5というのと、●●●というところでいくと、ここはずれていませんか。

今、おっしゃったことがすごく矛盾しているのです。

○笠井氏 そうですね。すみません。59ページの説明の●●●というところを、私が思い込みで言っていたのですが、これが違いますね。

○小関専門委員 もう一度、マイクをオンしないで言ってしまったのですが、7ページの図1がありますね。この記載と、59ページの原体という言葉と、●●●という言葉の対応性がないということなのです。

今の御説明のところていくと、混同するような御説明だったので、これは一度差し戻して、きちんとしていただくほうがよろしいかと思うのです。

確認したいことは何かというと、皆さんが思っていることは何かというと、●●●。それが、●●●。

○笠井氏 そこまでの●●●できていないと思います。

○小関専門委員 先に、今の話の続きを言ってよろしいですか。

そうしたときに、これは●●●ですね。そうしますと、38ページのキャプションについているのですけれども、これは●●●であると。●●●。これでよろしいのですね。

そのときに、●●●ということです。

○笠井氏 これは●●●と考えております。

●●●までは恐らく見ていないと思いますので、確認させてください。

○児玉座長代理 ●●●アレルギー性にも関係するという話もございますので、もし情報がありでしたら、●●●、ある程度、情報をいただければと思います。

○笠井氏 開発チームのほうに確認を取りたいと思います。

○川西委員 38ページ、人工胃液処理の説明のほうで、分子量●●●がTrTGに相当すると書いてありますね。だから、何らか分析はしていると思うのです。

その辺りは、もう構造等の特性解析を行っている範囲で、説明していただいたほうが、曖昧なままだといつまでたってもクエスチョンマークが出ますので、よろしくお願いします。

○笠井氏 得られている情報をもう一度確認して、盛り込みたいと思いますので、そのような修正をさせてください。

あと先生方、申し訳ありません。38ページの3パラグラフ目、胃液、腸液の酵素原体と書いていたのですけれども、最終製品。最初の図1のところから持ってきたのですけれども、これが液体製剤だったものですから、液体製剤を濃縮して用いたものだったので、そのときに用いたということをここで誤記がございましたので、ここの訂正も併せてさせていただきます。

申し訳ございませんでした。

○児玉座長代理 小関先生、●●●について。

○小関専門委員 もう一点、これは非常に簡単なのですけれども、●●●あります。これに対して、59ページのところでいくと、●●●いるのです。

59ページのほうはグラジェントゲルを使われているので、その辺のこともあって記載にずれがあったのではないかと思うので、そこを御確認の上、どれが正しくてということをお願いしたい。

もう一点、非常に細かいことなのですが、59ページの●●●。さっき言われたように、●●●とかも当然考えられはするのですけれども、下にSDS-PAGEと書いてありであって、なるべく●●●電気泳動をされているので、ここまで違うと、ローディングしたサンプルに問題があったのかなという気はするのです。これは普通に見た場合には、違ってしまいますねと言われてしまうものですので、そこも確認していただければと思います。

○笠井氏 それも併せて確認をさせていただきたいと思います。よろしくお願いします。

○児玉座長代理 あと、59ページのSDS-PAGEの図で、純度が下に●●●%以上あったとあるのですが、●●●ですか。

○笠井氏 これが酵素原体ですね。

○児玉座長代理 さっきからちょっとややこしいことになっているのですけれども、この原体というのは限外ろ過が終わったもののことですか。

○笠井氏 はい。

○河原氏 59ページのデータの基になったのが、●●●です。

○笠井氏 すみません、もう一度、図1に照らし合わせて、59ページと38ページは、工程とリンクが取れるような形の訂正をさせてください。申し訳ございませんでした。

○児玉座長代理 一応念のためお聞きしますけれども、これはウェスタンブロットするのはかなり難しい、今から抗体を作らないといけない。

○笠井氏 抗体を作らなければいけないです。

○児玉座長代理 それから、40ページの人工腸液ですけれども、記載を修正してもらえばいいといえいいのですが、●●●ように見えるのですが、この●●●kDaのバンドについては、申請書本文の文章としては記載がないようですので、それについては記載をしていただくようにお願いします。

○笠井氏 今、先生がおっしゃってくださったような●●●というような書き方でよろしいですか。

○児玉座長代理 38ページの最後の文章のところに、●●●という形ですかね。

○笠井氏 ありがとうございます。そのように訂正いたします。

○小関専門委員 1点よろしいですか。そこは非常に微妙な話であって、この●●●kDaのが部分分解物であるという証明をしなくてははいけない。そうなるとする、抗体なしでどうやって証明するかというところに落ち込むのです。

○笠井氏 その辺が、酵素の最終的な安全性への影響というところが恐らくないのかなと思ってはいるのですけれども。

○児玉座長代理 これはSIFのバンドでなければ一応、部分分解物でしょうね。

○笠井氏 という推測をしているという書き方ではいかがでしょうか。

○小関専門委員 今まで推測でというのはありましたか。

○笠井氏 推測というか、考えられるというか。

○児玉座長代理 今、質量分析計は割と簡単なので、もう一度やって、ぱぱっと切って、質量分析にかけてしまえば答えは出てくると思うのです。

○小関専門委員 私もそれをお勧めします。それが一番安くて早いです。確実に出てきます。

○川西委員 19ページに、遺伝子組換え添加物と従来の添加物というところで、TrTGは*A.niger*の α -グルコシダーゼと同一のアミノ酸配列を持つため云々と書いてありますね。

こう宣言しているのに、●●●は分かりませんというのは、腑に落ちません。

○笠井氏 物としては、遺伝子が同じものを入れていきますので、出てくるものが同じなのですけれども、こういったところの分析までのところの試験というのが文献上なくて、こ

ういった試験を酵素でやるのは日本だけなところもありまして、そこから海外のところでは求められていない試験を今、新しくやったところがあったことと、私どもの書き方のところもあって、今、先生の御懸念のような表現になっているところでございます。

○川西委員 そう言われてしまうと、海外で出した書類を、こちらに出してくださいと言いたくなりますが---

○笠井氏 申し訳ございません。考察のところはまだ足りていないということをちょっと申し上げたかったところでございます。私どものほうに今いただいたところを基にまた考察を少し進めさせていただくような形で、対応を取らせていただければと思うのですけれども、いかがでしょうか。

○小関専門委員 1点よろしいですか。

同じと言ってしまったのが全ての破綻なのだと僕は思います。これは●●●です。●●●●と言っていいのですかというのは、一番最初に聞いた話です。そこからスタートしていると思っていただいたほうがいいと思うのですけれどもということです。

○川西委員 もう一度全体を整理していただいて、申請者としてどう整理するかということかなと。

○笠井氏 ありがとうございます。そういったポイントでまた整理をしてみたいと思います。

○児玉座長代理 ほかに先生方、直接お聞きしたいことがありましたら。

細かいところですが、59ページのSDS-PAGEのパターンで、純度が●●●%とあるのですが、今日御社からもう一件出ているこっちの案件の純度は●●●なのですから、それを見比べると、本当に●●●%もあるのかという意見も出ておりました。

○河原氏 見た目は確かに違うのですけれども、この●●●%というのを補足として追加させていただきます。

○児玉座長代理 ●●●のところは少し分からないというところで、我々もやや懸念が残っております。

それから、どの酵素がどの部分に当たるのかというところも統一していただいて、全体に整理し直していただければと思っております。

ほかの先生方、コメントがなければよろしいでしょうか。

では、質問のほうはこれで以上になります。どうも御苦労さまでした。

事務局から。

○飯塚課長補佐 4つのORF。

○児玉座長代理 忘れていました。私が言っていたのです。申し訳ないです。

51ページに4つのORFが検出されて、御社の基準でやった場合に毒性タンパク質と一応ヒットしたということで、一つは簡単に書いてあるのですけれども、ほかの3つは何も書いていないという状況なのですが、その点についてもう少し情報をいただきたいということで、事前に連絡が行ったかと思うのですけれども、その点はどうでしょうか。

○河原氏 書面上での御返答が間に合わなかったのですけれども、現在用紙に書いてある1例は、まずE-valueが最も低かったもののみ代表例として書いて考察しております。残りの3つに関しても、論旨は同じようなものでして、ヒットした毒性タンパク質に対して限られた部分が高くない相同性で引っかかってきたにすぎないということです。現在、4段落目に書いてあるような内容と同等のものを加えればよろしいでしょうか。

○児玉座長代理 そうですね。一応、どういうタンパク質とかどういうペプチドに引っかかって、それが全体のうちのどのくらいの割合でというのは確認したいと思いますので、その記載はお願いしたいと思います。

○河原氏 承知しました。

○児玉座長代理 これで質問は以上になります。

御苦労さまでした。

○児玉座長代理 グルコシダーゼのほうは内容を整理していただいて、追記等もありますので、次回にまた提出されましたら確認いただくということで、次回に持ち越しということにさせていただきたいと思います。よろしいですね。

(首肯する委員あり)

○児玉座長代理 では、次回に持ち越しということで。

それでは、ただいま専門委員の先生方から提出されました意見や確認事項を指摘事項案として取りまとめ、各専門委員の先生に御確認いただいた上で、厚生労働省を通じて申請者に対し指摘したいと思います。

それでは、議題(1)については終わりにしたいと思います。

議題(2)のその他ですが、事務局から何かございますでしょうか。

○飯塚課長補佐 特にございません。

○児玉座長代理 ありがとうございました。

本日の議題についてはこれで終了しました。

以上をもちまして、第198回「遺伝子組換え食品等専門委員会」を閉会いたします。

ありがとうございました。