

## 遺伝子組換え食品等専門調査会における審議結果について

## 1. 審議結果

厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた BML780 MDT06-221 株を利用して生産された  $\alpha$ -アミラーゼに係る食品健康影響評価（令和 2 年 10 月 30 日付け厚生労働省発生食 1030 第 2 号）については、令和 2 年 12 月 18 日に開催された第 206 回遺伝子組換え食品等専門調査会において審議され、審議結果（案）が取りまとめられた。

2. BML780 MDT06-221 株を利用して生産された  $\alpha$ -アミラーゼに係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果（案）」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

## 1) 募集期間

令和 3 年 3 月 23 日（火）開催の食品安全委員会（第 809 回会合）の翌日の令和 3 年 3 月 24 日（水）から令和 3 年 4 月 22 日（木）までの 30 日間。

## 2) 受付体

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

## 3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、遺伝子組換え食品等専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。



(案)

遺伝子組換え食品等評価書

BML780 MDT06-221 株を利用して  
生産された $\alpha$ -アミラーゼ

2021年3月

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 目次

	頁
<審議の経緯>.....	3
<食品安全委員会委員名簿>.....	3
<食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿>.....	3
要 約.....	4
I. 評価対象添加物の概要.....	5
II. 食品健康影響評価.....	5
第1. 安全性評価において比較対象として用いる添加物及び宿主等の性質並びに遺 伝子組換え添加物及び組換え体との相違.....	5
1. 従来 of 添加物の性質及び用途等に関する資料.....	5
2. 宿主及び導入 DNA.....	5
3. 宿主の添加物製造への利用経験又は食経験に関する資料.....	6
4. 宿主の構成成分等に関する資料.....	6
5. 遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料.....	6
6. 安全性評価において検討が必要とされる遺伝子組換え添加物と従来 of 添加物 及び組換え体と宿主等の相違点.....	7
第2. 宿主に関する事項.....	7
1. 分類学上の位置付け（種名（学名）・株名等）に関する事項.....	7
2. 病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項.....	7
3. 寄生性及び定着性に関する事項.....	7
4. 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項.....	8
5. 宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項.....	8
第3. ベクターに関する事項.....	8
1. 名称及び由来に関する事項.....	8
2. 性質に関する事項.....	8
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.....	9
1. 挿入 DNA の供与体に関する事項.....	9
2. 挿入 DNA 又は遺伝子（抗生物質耐性マーカーを含む。）及びその遺伝子産物 の性質に関する事項.....	9
3. 挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカー遺伝子の発現に関わる領域に関する事 項.....	9
4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項.....	10
5. 構築された発現ベクターに関する事項.....	10
6. DNA の宿主への導入方法に関する事項.....	11
7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項.....	11
第5. 組換え体に関する事項.....	11
1. 宿主との差異に関する事項.....	11
2. 遺伝子導入に関する事項.....	11

第6. 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項.....	12
1. 添加物の製造原料又は製造器材としての使用実績があること.....	12
2. 添加物の製造原料又は製造器材としての安全性について知見が得られていること.....	12
第7. 遺伝子組換え添加物に関する事項.....	12
1. 諸外国における認可、食用等に関する事項.....	12
2. 組換え体の残存に関する事項.....	12
3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項.....	12
4. 精製方法及びその効果に関する事項.....	12
5. 含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動に関する事項.....	12
第8. 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ない場合に必要事項.....	13
Ⅲ. 食品健康影響評価結果.....	13
<参照>.....	14

### <審議の経緯>

2020年11月2日 厚生労働大臣から遺伝子組換え食品等の安全性に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発生食1030第2号）、関係書類の接受

2020年11月10日 第796回食品安全委員会（要請事項説明）

2020年12月18日 第206回遺伝子組換え食品等専門調査会

2021年3月23日 第809回食品安全委員会（報告）

### <食品安全委員会委員名簿>

佐藤 洋（委員長）

山本 茂貴（委員長代理）

川西 徹

吉田 緑

香西 みどり

堀口 逸子

吉田 充

### <食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿>

中島 春紫（座長）

児玉 浩明（座長代理）

安達 玲子                      近藤 一成

飯島 陽子                      手島 玲子

岡田 由美子                      樋口 恭子

小関 良宏                      山川 隆

小野 竜一                      吉川 信幸

橘田 和美

## 要 約

「BML780 MDT06-221 株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼ」について、申請者提出の資料を用いて食品健康影響評価を実施した。

本添加物は、*Bacillus licheniformis* BRA7 株を宿主として、*Geobacillus stearothermophilus* C599 株由来の改変 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子を導入して作製された BML780 MDT06-221 株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼである。本添加物は、デンプンの $\alpha$ -1,4-グルコシド結合を加水分解して低分子化する酵素である。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、パン製造における品質維持に使用される。

本添加物について、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」（平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定）に基づき、挿入遺伝子の安全性、挿入遺伝子から産生されるタンパク質の毒性、アレルギー誘発性等について確認した結果、従来の添加物と比較して新たに安全性を損なうおそれのある要因は認められなかった。

したがって、「BML780 MDT06-221 株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼ」については、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断した。

## I. 評価対象添加物の概要

品 目：BML780 MDT06-221 株を利用して生産された  $\alpha$ -アミラーゼ  
用 途：パン製造における品質維持  
申請者：ダニスコジャパン株式会社  
開発者：Danisco US, Inc. (米国)

本添加物は、*Bacillus licheniformis* BRA7 株を宿主として、*Geobacillus stearothermophilus* C599 株由来の改変  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子を導入して作製された BML780 MDT06-221 株を利用して生産された  $\alpha$ -アミラーゼである。本添加物は、デンプンの  $\alpha$ -1,4-グルコシド結合を加水分解する酵素である。パン製造における品質維持を目的として使用される。

## II. 食品健康影響評価

### 第1. 安全性評価において比較対象として用いる添加物及び宿主等の性質並びに遺伝子組換え添加物及び組換え体との相違

#### 1. 従来の添加物の性質及び用途等に関する資料

##### (1) 名称、基原及び有効成分

従来の添加物の名称、基原、有効成分等は以下のとおりである。

名 称 :  $\alpha$ -アミラーゼ

基 原 : *Geobacillus stearothermophilus*

有効成分 :  $\alpha$ -アミラーゼ

IUB 番号 : EC 3.2.1.133 (マルトース産生性  $\alpha$ -アミラーゼ)

CAS 番号 : 160611-47-2 (グルカン-1,4- $\alpha$ -マルトヒドロラーゼ)

##### (2) 製造方法

$\alpha$ -アミラーゼは、培養、ろ過、製剤化等の工程を経て製造される。生産菌は、除菌ろ過により除去される。

##### (3) 用途及び使用形態

$\alpha$ -アミラーゼは、 $\alpha$ -1,4-グルコシド結合を加水分解して低分子化する酵素である。パン製造における品質維持を目的として使用される。

##### (4) 摂取量

$\alpha$ -アミラーゼが菓子パンを除くパン類の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、0.003 mg TOS (Total Organic Solids) /kg 体重/日である。

#### 2. 宿主及び導入 DNA

##### (1) 宿主の種名 (学名)、株名等及び由来

宿主は、*B. licheniformis* BRA7 株である。

(2) DNA 供与体の種名、株名又は系統名等及び由来

$\alpha$ -アミラーゼ (*AmylaseNCC*) 遺伝子の供与体は、*G. stearothermophilus* C599 株である。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

*AmylaseNCC* 遺伝子は、*G. stearothermophilus* 由来の野生型  $\alpha$ -アミラーゼをコードする。

クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (*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た。

*Amylase NCC* 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 pICatH-LAT-AmylaseNCC を、プロトプラスト法で導入し、予め欠失させた宿主ゲノムの *catH* 遺伝子座に、相同組換えにより遺伝子導入用ベクターの目的とする領域を挿入した。

なお、生産菌の作製に当たり、 $\alpha$ -アミラーゼ (*amy*) 遺伝子、*catH* 遺伝子、孢子形成 (*spoIIAC*) 遺伝子、アルカリプロテアーゼ (*aprL*) 遺伝子及びグルタミン酸特異的プロテアーゼ (*mpr*) 遺伝子について、それぞれの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いる (参照 1)。

### 3. 宿主の添加物製造への利用経験又は食経験に関する資料

*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る。*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 BML780PULm104 株を利用して生産されたプルラナーゼ (2019 年 8 月 16 日官報掲載)、MDT06-228 株を用いて生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ (2017 年 6 月 6 日官報掲載) 等の宿主として用いられている。

### 4. 宿主の構成成分等に関する資料

*B. licheniformis* は、ヒト、動物及び植物に対して非病原性であり、有害生理活性物質を生産するという報告はない (参照 2、3、4)。

### 5. 遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料

(1) 製品名及び有効成分

本添加物の製品名、有効成分等は以下のとおりである。

製品名 : 未定 (以下「MAA」という。)

有効成分 :  $\alpha$ -アミラーゼ

IUB 番号 : EC 3.2.1.133

CAS 番号 : 160611-47-2

(2) 製造方法

MAA は、BML780 MDT06-221 株を生産菌として、従来の  $\alpha$ -アミラーゼと同様に、培養、ろ過、製剤化等の工程を経て製造される。生産菌は、除菌ろ過等により除去される。

(3) 用途及び使用形態

MAA は、従来の  $\alpha$ -アミラーゼと同様に、パン製造における品質保持を目的に使用される。

(4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較

MAA は、従来の  $\alpha$ -アミラーゼと同様に、デンプンの  $\alpha$ -1,4-グルコシド結合を加水分解する。

**6. 安全性評価において検討が必要とされる遺伝子組換え添加物と従来の添加物及び組換え体と宿主等の相違点**

(1) 遺伝子組換え添加物と従来の添加物

MAA と従来の  $\alpha$ -アミラーゼとの相違点はない。

(2) 組換え体と宿主

BML780 MDT06-221 株と宿主との相違点は、BML780 MDT06-221 株には *AmylaseNCC* 遺伝子が複数コピー導入され、MAA 生産能を獲得している点並びに  $\alpha$ -アミラーゼ生産能、孢子形成能、アルカリプロテアーゼ生産能及びグルタミン酸特異的プロテアーゼ生産能を欠失している点である。

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、以下の各事項について評価を行った。

**第2. 宿主に関する事項**

**1. 分類学上の位置付け（種名（学名）・株名等）に関する事項**

宿主は、*B. licheniformis* BRA7 株である。

**2. 病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項**

*B. licheniformis* が病原性を有する又は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程においてバイオセーフティレベル 1 に該当する（参照 5）。

**3. 寄生性及び定着性に関する事項**

*B. licheniformis* には、腸管内への寄生性及び定着性の報告はない。

#### 4. 病原性の外来因子(ウイルス等)に汚染されていないことに関する事項

*B. licheniformis* BRA7 株には、病原性の外来因子の存在を示唆する報告はない。なお、*B. licheniformis* BRA7 株に外来の DNA は存在していないことを確認している（参照 6）。

#### 5. 宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項

*B. licheniformis* は、哺乳動物の病原体として知られている *B. cereus* や *B. anthracis* とは明確に区別されている（参照 7）。

### 第 3. ベクターに関する事項

#### 1. 名称及び由来に関する事項

遺伝子導入用ベクター pICatH-LAT-AmylaseNCC の作製には、pICatH が用いられた。pICatH の構築には *Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 が用いられた。

#### 2. 性質に関する事項

##### (1) DNA の塩基数及びその塩基配列を示す事項

プラスミド pICatH の塩基数及び塩基配列は明らかになっている。

##### (2) 制限酵素による切断地図に関する事項

プラスミド pICatH の制限酵素による切断地図は明らかになっている。

##### (3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

プラスミド pICatH の塩基配列は明らかになっており、既知の有害塩基配列は含まれていない。

##### (4) 薬剤耐性に関する事項

プラスミド pICatH には、クロラムフェニコール耐性遺伝子及びネオマイシン耐性遺伝子が含まれている。

##### (5) 伝達性に関する事項

プラスミド pICatH には、伝達を可能とする塩基配列は含まれていない。

##### (6) 宿主依存性に関する事項

プラスミド pICatH の複製開始配列は、*Staphylococcus aureus*、*E. coli* 及び *B. licheniformis* を含む *Bacillus* 属で機能する。

## 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

### 1. 挿入DNAの供与体に関する事項

#### (1) 名称、由来及び分類に関する事項

*AmylaseNCC* 遺伝子の供与体は、*G. stearothermophilus* C599 株であり、*catH* 遺伝子の供与体は *B. licheniformis* BRA7 株である。

#### (2) 安全性に関する事項

*G. stearothermophilus* は、我が国において GILSP 遺伝子組換え微生物とされている（参照 8）。また、この旧分類名である *B. stearothermophilus* は、第9版食品添加物公定書に $\alpha$ -アミラーゼの生産菌として掲載されている。

*B. licheniformis* は、食品用酵素の生産菌として使用されている。

### 2. 挿入DNA又は遺伝子（抗生物質耐性マーカを含む。）及びその遺伝子産物の性質に関する事項

#### (1) 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法に関する事項

*AmylaseNCC* 遺伝子は、*G. stearothermophilus* C599 株由来の $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子の公開されている塩基配列に基づきコドンの最適化を行い、合成した遺伝子である。また、宿主由来 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子（*LAT*）の分泌シグナル配列が付加されている。

*catH* 遺伝子は、*B. licheniformis* BRA7 に由来する *catH* 遺伝子を含む領域を制限酵素処理して得られた。

#### (2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

*AmylaseNCC* 遺伝子発現カセットの塩基数、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る（参照 9）。

#### (3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

*AmylaseNCC* 遺伝子がコードする MAA は、デンプンの $\alpha$ -1,4-グルコシド結合を加水分解する酵素である。また、安全性審査が終了している $\alpha$ -アミラーゼ TS-25（2001年3月30日官報掲載）とアミノ酸配列は同一である。

*G. Stearothermophilus* は、既存添加物 $\alpha$ -アミラーゼの生産菌として記載され使用経験があること、及び TS-25 にアレルギー誘発性の知見はないとする報告から（参照 10）MAA はアレルギー誘発性を有する可能性は低いと考えられる。

### 3. 挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカ遺伝子の発現に関わる領域に関する事項

#### (1) プロモーターに関する事項

*AmylaseNCC* 遺伝子のプロモーターは、*B. licheniformis* BRA7 株に由来する *LAT* 遺伝子のプロモーター配列である。

*catH* 遺伝子のプロモーターは、*B. licheniformis* BRA7 株に由来する *catH*

遺伝子のプロモーター配列である。

(2) ターミネーターに関する事項

*AmylaseNCC* 遺伝子のターミネーターは、*B. licheniformis* BRA7 株に由来する *LAT* 遺伝子のターミネーター配列である。

*catH* 遺伝子のターミネーターは、*B. licheniformis* BRA7 株に由来する *catH* 遺伝子のターミネーター配列である。

(3) その他、挿入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列を組み込んだ場合には、その由来、性質等が明らかであること

*AmylaseNCC* 遺伝子に *LAT* 分泌シグナルペプチド配列を付加した。

#### 4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

ベクター pICatH に *AmylaseNCC* 遺伝子発現カセット及び *catH* 遺伝子発現カセットを制限酵素処理で挿入することにより、遺伝子導入用ベクター pICatH-LAT-*AmylaseNCC* を作製した。

#### 5. 構築された発現ベクターに関する事項

(1) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

遺伝子導入用ベクター pICatH-LAT-*AmylaseNCC* の塩基数、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る（参照 9）。

(2) 原則として、最終的に宿主に導入されると考えられる発現ベクター内の配列には、目的以外のタンパク質を組換え体内で発現するオープンリーディングフレームが含まれていないこと

第 5-2-(2) に記載のとおりである。

(3) 宿主に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域が発現ベクター上で明らかであること

遺伝子導入用ベクター pICatH-LAT-*AmylaseNCC* 上の意図する挿入領域は、*AmylaseNCC* 遺伝子発現カセット及び *catH* 遺伝子発現カセットである。

(4) 導入しようとする発現ベクターは、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていること

遺伝子導入用ベクター pICatH-LAT-*AmylaseNCC* は、全長塩基配列を解析した結果、その配列は構築したとおりであることが確認され、精製されたものが用いられていることから、目的外の遺伝子の混入がないように純化されている。

## 6. DNAの宿主への導入方法に関する事項

相同組換えにより pICatH-LAT-AmylaseNCC の目的とする領域を宿主ゲノムの欠失された *catH* 遺伝子座に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、*AmylaseNCC* 遺伝子発現カセットを増幅させた株を BML780 MDT06-221 株とした。

## 7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

遺伝子導入用ベクター pICatH-LAT-AmylaseNCC はネオマイシン耐性遺伝子を持ち、宿主に導入されるがグループアウトにより脱落しているため、BML780 MDT06-221 株には残存しない。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。

## 第5. 組換え体に関する事項

### 1. 宿主との差異に関する事項

BML780 MDT06-221 株は、*AmylaseNCC* 遺伝子発現カセット及び *catH* 遺伝子発現カセットが導入され、また、複数遺伝子を欠失している点で宿主と異なる。

### 2. 遺伝子導入に関する事項

#### (1) 制限酵素による切断地図に関する事項

*AmylaseNCC* 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クエンス解析を行った結果、1箇所複数コピー挿入されたことが確認された（参照 11）。

#### (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

挿入 DNA と宿主ゲノムの接合部位に生じるオープンリーディングフレーム（以下「ORF」という。）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。その結果、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 が新たに 34 個検出された。

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<sup>a</sup>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として TAKA アミラーゼを含む 6つのアレルゲンが検出された。これらのアレルゲンは従来の  $\alpha$ -アミラーゼでも同様に検出されたことから、アレルギー誘発性の懸念は従来の添加物と同等であると考えられた。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なかった。

---

<sup>a</sup> AllergenOnline v20

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<sup>b</sup>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なかった（参照 12）。

## **第 6. 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項**

### **1. 添加物の製造原料又は製造器材としての使用実績があること**

MAA 製剤の製造原料及び製造器材は、食品用酵素の製造に安全に使用されてきた実績がある。

### **2. 添加物の製造原料又は製造器材としての安全性について知見が得られていること**

MAA 製剤の製造原料及び製造器材は、上記のとおり安全に使用されてきた実績を有し、また本製品の原料は Food Chemicals Codex (FCC) の規格に適合していることから、有害性はないと考えられる。

## **第 7. 遺伝子組換え添加物に関する事項**

### **1. 諸外国における認可、食用等に関する事項**

MAA 製剤は、デンマーク、フランス及びカナダにおいて、承認されている。

### **2. 組換え体の残存に関する事項**

MAA に生産菌が検出されないことが、培養を用いた手法により確認された（参照 13）。また、PCR 法により、MAA 製剤からは生産菌に由来する DNA 断片は検出されないことが確認された（参照 14）。

### **3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項**

MAA を有効成分とする酵素製剤は、JECFA の食品用酵素の規格値（参照 15）を満たしている。また、製造原料は食品用酵素への使用が認められた品質のものが用いられ、適切な製造管理の下で製造が行われるならば、安全性に問題のある非有効成分が含まれるとは考えにくい。

### **4. 精製方法及びその効果に関する事項**

MAA 製剤は、生産菌の培養液を除菌ろ過等の工程を経て製造され品質管理を経て顆粒製剤とされ、適切な製造管理の下で製造が行われるならば、安全性に問題のある物質が混入するとは考えにくい。なお、酵素原体を用いて精製の効果を確認している（参照 16）。

### **5. 含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動に関する事項**

MAA 製剤の製造原料及び製造方法は、従来の食品用酵素の製造に使用されて

---

<sup>b</sup> UniProtKB(UniProt release 2020\_1)

いるものであり、適切な製造管理の下で製造が行われるならば、含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動はないと考えられる。

**第8. 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ない場合に必要な事項**

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。

**Ⅲ. 食品健康影響評価結果**

「BML780 MDT06-221 株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼ」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」（平成16年3月25日食品安全委員会決定）に基づき評価した結果、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断した。

## <参照>

1. Danisco, AmylaseNCC 遺伝子組み込み方法と欠失遺伝子の作製方法, (社内文書)
2. National Institutes of Health, “NOTICE PERTINENT TO THE MAY 2011 REVISIONS OF THE NIH GUIDELINES FOR RESEARCH INVOLVING RECOMBINANT DNA MOLECULES (NIH GUIDELINES).”, 2011.
3. D. J. PASNIK, “Bacillus licheniformis isolated during a fish kill is non-pathogenic.”, *FISHERIES SCIENCE*, pp. Vol. 74, pp. 1351–1353., 2008.
4. J. F. Bradbury, “Guide To Plant Pathogenic Bacteria.”.
5. 国立感染症研究所, 国立感染症研究所 病原体等安全管理規程 平成 22 年
6. “BRA7 株のプラスミド DNA 及びファージ DNA の有無の検証,” (社内文書)
7. “TSCA Section 5(H)(4) Exemption for Bacillus licheniformis, 2011, EPF Final Document.”.
8. 経済産業省, 遺伝子組換え生物等の第二種使用等のうち産業上の使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令別表第一号の規定に基づき経済産業大臣が定める G I L S P 遺伝子組換え微生物, 経済産業省, 2016.
9. DuPont, “The sequence of the catH gene, LAT promoter, LAT signal sequence, the Amylase NCC gene and the LAT terminator (社内文書)”.
10. N. L. Krutz, "Proteomic and Bioinformatic Analyses for the Identification of Proteins With Low Allergenic Potential for Hazard Assessment," *TOXICOLOGICAL SCIENCES*, vol. 170, no. 1, pp. 210-222, 2019.
11. DuPont Nutrition & Biosciences, “全ゲノム解析報告書,” (社内文書)
12. DuPont Nutrition & Biosciences, “ORF 解析報告書,” (社内文書)
13. DuPont IB QA-QC Department, “Certificate of Analysis JECFA for Concentrate,” (社内文書)
14. DuPont Nutrition & Biosciences, “MAA rDNA Test Report,” (社内文書)
15. JECFA, “General JECFA specifications,” 2004.
16. DuPont Industrial Biosciences, “MAA Chemical Composition Analysis,” (社内文書)