

令和 5 年 4 月 5 日

食品安全委員会  
委員長 山本 茂貴 殿

遺伝子組換え食品等専門調査会  
座長 中島 春紫

遺伝子組換え食品等に係る食品健康影響評価に関する審議結果について

令和 4 年 5 月 20 日付け厚生労働省発生食 0520 第 3 号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた食品添加物「ROM 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、当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりですので報告します。



(案)

遺伝子組換え食品等評価書

ROM 株を利用して生産された  
 $\alpha$ -アミラーゼ

令和5年（2023年）4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<br>伝子組換え添加物及び組換え体との相違..... | 5  |
| 1. 従来の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 ..... 6                                             | 6  |
| 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の添加物<br>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<br>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<br>項.....                   | 11 |
| 4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項.....                                  | 11 |
| 5. 構築された発現ベクターに関する事項.....                                         | 11 |
| 6. DNA の宿主への導入方法に関する事項.....                                       | 12 |
| 7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項.....                                   | 12 |
| 第5. 組換え体に関する事項.....                                               | 12 |
| 1. 宿主との差異に関する事項.....                                              | 12 |
| 2. 遺伝子導入に関する事項.....                                               | 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.....                      | 13 |
| 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.....                    | 13 |
| 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<br>こと.....       | 13 |
| 第 7. 遺伝子組換え添加物に関する事項.....                              | 13 |
| 1. 諸外国における認可、食用等に関する事項.....                            | 13 |
| 2. 組換え体の残存に関する事項.....                                  | 13 |
| 3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項.....                         | 13 |
| 4. 精製方法及びその効果に関する事項.....                               | 14 |
| 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.....                 | 14 |
| 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<br>な事項..... | 14 |
| Ⅲ. 食品健康影響評価結果.....                                     | 14 |
| <参照>.....                                              | 15 |

### ＜審議の経緯＞

2022 年 5 月 20 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 0520 第 3 号）、関係書類の接受

2022 年 5 月 31 日 第 860 回食品安全委員会（要請事項説明）

2022 年 6 月 24 日 第 225 回遺伝子組換え食品等専門調査会

2022 年 11 月 28 日 第 230 回遺伝子組換え食品等専門調査会

2023 年 2 月 14 日 第 889 回食品安全委員会（報告）

2023 年 2 月 15 日から 3 月 16 日まで 国民からの意見・情報の募集

### ＜食品安全委員会委員名簿＞

山本 茂貴（委員長）

浅野 哲（委員長代理 第一順位）

川西 徹（委員長代理 第二順位）

脇 昌子（委員長代理 第三順位）

香西 みどり

松永 和紀

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）

山川 隆（座長代理）

安達 玲子 近藤 一成

岡田 由美子 佐々木 伸大

小野 道之 樋口 恭子

小野 竜一 藤原 すみれ

### ＜第 225 回遺伝子組換え食品等専門調査会専門参考人名簿＞

児玉 浩明（千葉大学大学院園芸学研究科教授）

### ＜第 230 回遺伝子組換え食品等専門調査会専門参考人名簿＞

児玉 浩明（千葉大学大学院園芸学研究科教授）

## 要 約

「ROM 株を利用して生産された  $\alpha$ -アミラーゼ」について、食品健康影響評価を実施した。

本添加物は、*Bacillus subtilis* DS18174 株を宿主として、*Geobacillus stearothermophilus* 由来の改変  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子を導入して作製された ROM 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、デンプン等の  $\alpha$ -1,4- グルコシド結合を加水分解することにより、低分子化する酵素であり、パン製造における品質維持に使用される。

「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。

以上のことから、「ROM 株を利用して生産された  $\alpha$ -アミラーゼ」は、人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

(申請内容)

名 称：ROM 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：DSM 株式会社

開発者：DSM (オランダ)

本添加物は、*Bacillus subtilis* DS18174 株を宿主として、*Geobacillus stearothermophilus* 由来の改変  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子を導入して作製された ROM 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、デンプン等の  $\alpha$ -1,4-グルコシド結合を加水分解することにより、低分子化する酵素であり、パンの製造においてパンの老化防止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

生 産 菌：*Geobacillus stearothermophilus*

有効成分： $\alpha$ -アミラーゼ

EC No. : EC 3.2.1.133

CAS No. : 160611-47-2

##### (2) 製造方法

$\alpha$ -アミラーゼは、培養工程、ろ過等の製造工程を経た上で、製剤化される。

なお、生産菌及び菌体成分は、ろ過等の精製工程を経て除去される。

##### (3) 用途及び使用形態

$\alpha$ -アミラーゼは、デンプン等の  $\alpha$ -1,4-グルコシド結合を加水分解することにより、低分子化する酵素である。

$\alpha$ -アミラーゼは、パンの製造においてパンの老化防止を目的として生地に添加されるほか、デンプンからデンプン糖を製造するために使用される。なお、製パン工程では、焼成時の加熱により、酵素は失活する。

#### (4) 摂取量

既存の  $\alpha$ -アミラーゼ製品が全て本添加物を用いた製品に置き換わり、全ての「パン類、菓子パン類、その他の小麦加工品」<sup>a</sup>の製造に使用され、最終製品中に 100%残存すると仮定した場合、最大一日摂取量は 0.0032 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. subtilis* DS18174 株である。野生株 *B. subtilis* 168 株から変異原処理及びセルフクローニングにより構築された。

#### (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 (*amyM-1*) 遺伝子の供与体は、*G. stearothermophilus* である。

#### (3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

*amyM-1* 遺伝子は、*G. stearothermophilus* 由来の  $\alpha$ -アミラーゼをコードする。

*amyM-1* 遺伝子発現カセットを相同組換えにより宿主ゲノムに導入した。この際、ベクター配列、内在性遺伝子は除かれている。また、抗生物質耐性マーカー遺伝子は生産菌に残存していない。

## 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. subtilis* は、食品製造用酵素の製造において、長年にわたり安全に利用されている。

## 4. 宿主の構成成分等に関する資料

*B. subtilis* が有害生理活性物質を生産するという報告はない（参照 1）。American Type Culture Collection (ATCC) では、バイオセーフティーレベル（以下「BSL」という。）1 に分類されている（参照 2）。

## 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：Bakezyme Master

有効成分： $\alpha$ -アミラーゼ

EC No.：EC 3.2.1.133

CAS No.：160611-47-2

---

<sup>a</sup> 令和元年「国民健康・栄養調査報告」食品群別摂取量の食品分類

(2) 製造方法

Bakezyme Master は、ROM 株を生産菌として、培養、生産菌の不活化、ろ過等の製造工程を経て製造される。生産菌は、除菌ろ過により分離・除去される。

(3) 用途及び使用形態

Bakezyme Master は、従来の  $\alpha$ -アミラーゼと同様に、パンの製造において、パンの老化防止を目的として使用される。

(4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較

Bakezyme Master 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

Bakezyme Master と従来の  $\alpha$ -アミラーゼとの相違点は、アミノ酸配列及び至適温度及び pH が異なる点である。

(2) 組換え体と宿主

ROM 株と宿主との相違点は、ROM 株には *amyM-1* 遺伝子が導入され、Bakezyme Master 生産能を獲得している点、プロテアーゼ遺伝子及び孢子形成能関与遺伝子を欠失している点及び loxP 配列が残存している点である。

以上 1 から 6 までから、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. subtilis* DS18174 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. subtilis* が有害生理活性物質を生産するという報告はない。ATCC における BSL1 に相当する（参照 2）。

**3. 寄生性及び定着性に関する事項**

*B. subtilis* には、ヒトを含む動物及び植物に対する寄生性及び定着性を示唆する報告はない。

#### 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. subtilis* には、ヒトに対して病原性を有する外来因子の存在を示唆する報告はない。

#### 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. subtilis* は、ヒトに対して病原性を有することが知られている *B. cereus* や *B. anthracis* とは明確に区別されている。

### 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 pDSM1 amyM-1 及び pDSM4 amyM-1 の作製には、*Staphylococcus aureus* 由来のプラスミド pE194、pUB110 及び *Bifidobacterium longum* 由来の pMB1 の複製開始配列が用いられた。

#### 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 pE194、pUB110 及び pMB1 の複製開始配列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 pE194 及び pUB110 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 pE194、pUB110 及び pMB1 の複製開始配列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 pE194 にはエリスロマイシン耐性遺伝子が含まれており、プラスミド pUB110 にはネオマイシン耐性遺伝子及びブレ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 pE194 及び pUB110 の伝達を可能とする塩基配列は、遺伝子導入用ベクター pDSM1 amyM-1 及び pDSM4 amyM-1 に含まれていない。

##### (6) 宿主依存性に関する事項

プラスミド pUB110 の複製開始配列は、導入用ベクターに含まれていない。pE194 の複製開始配列は *Staphylococcus* 属及び *Bacillus* 属で、pMB1 の複製開始配列は *E. coli* 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

*amyM-1* 遺伝子の供与体は、*G. stearothermophilus* である。

#### (2) 安全性に関する事項

*G. stearothermophilus* は、ヒトに対する病原性及び毒素産生性は知られていない。ATCC における BSL1 に相当する（参照 3）。また、既存添加物  $\alpha$ -アミラーゼの基原の一つである。

### 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

#### (1) 挿入遺伝子のクローニング又は合成方法に関する事項

*amyM-1* 遺伝子は、*G. stearothermophilus* の *amyM* 遺伝子の配列に基づき、複数箇所のアミノ酸が置換するよう改変を加えて合成された。

#### (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

*amyM-1* 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 4）。

#### (3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

*amyM-1* 遺伝子がコードする  $\alpha$ -アミラーゼは、デンプンの  $\alpha$ -1,4-グルコシド結合を加水分解し、主にマルトースを生成する酵素である。コード領域内に分泌シグナル配列を含む。

#### 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

*G. stearothermophilus* のアレルギー誘発性の可能性を調べるために文献検索<sup>b</sup>を行った。その結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかった（参照 5）。

#### ②遺伝子産物についてそのアレルギー誘発性に関する知見

*G. stearothermophilus* 由来の  $\alpha$ -アミラーゼのアレルギー誘発性の可能性を調べるために文献検索<sup>b</sup>を行った。その結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかった。（参照 5）

---

<sup>b</sup> PubMed 検索日：2021 年 5 月

### ③遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する知見

#### a.人工胃液に対する感受性

Bakezyme Master の人工胃液中での消化性を調べる目的で、SDS-PAGE (Sypro Ruby 染色及び CBB 染色) を行った。

その結果、試験開始 15 分後に消化されることが示された。(参照 6)

さらに、より短い処理時間における Bakezyme Master の人工胃液中での消化性を調べたところ、試験開始 30 秒以内に消化されることが確認され、消化によって生じたアミノ酸断片は試験開始 15 分後に消化されることが示された。(参照 7)

#### b.人工腸液に対する感受性

Bakezyme Master の人工腸液中での消化性を調べる目的で、SDS-PAGE (Sypro Ruby 染色) を行った。その結果、最大処理時間である試験開始 60 分以内にほとんど分解されたが、完全には消化されないことが示された。(参照 6)

#### c.加熱処理に対する感受性

Bakezyme Master の加熱処理に対する感受性を調べる目的で、各温度帯で 15 分間処理した後の活性を測定した。その結果、96.6℃の処理によって完全に失活することが示された。(参照 8)

### ④遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相関性に関する知見

Bakezyme Master と既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を確認するため、挿入遺伝子産物についてシグナル配列を含めてアレルゲンデータベース<sup>c</sup>を用いて相同性検索を行った。その結果、連続する 80 アミノ酸配列に対して 35%以上の相同性を有する既知アレルゲンとして、*A. oryzae* 由来の TAKA アミラーゼ、スエヒロタケ由来のグリコシドヒドロラーゼファミリー 15、ネッタイシマカ由来のマルターゼ (Probable maltase) 及び *A. fumigatus* 由来のアルカリ性セリンプロテアーゼが検出された。一方、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見いだされなかった。(参照 9)

これらの結果は、従来の添加物及び同一配列を有する既存添加物 α-アミラーゼ (Bakezyme MAM) において得られた結果と同じであり、いずれの添加物においてもアレルギー誘発性の報告はない。

以上のことから、Bakezyme Master がアレルギー誘発性を有する可能性は低いと考えられた。

---

<sup>c</sup> Allergen Online version21 (検索日：2022 年 8 月 9 日)

### 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

#### (1) プロモーターに関する事項

*amyM-1* 遺伝子のプロモーターは、*B. subtilis* 由来のプロモーターである。

#### (2) ターミネーターに関する事項

*amyM-1* 遺伝子のターミネーターは、宿主の  $\alpha$ -アミラーゼ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

該当する配列はない。

### 4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

*amyM-1* 遺伝子発現カセット及び相同組換えに必要な配列を挿入することにより、遺伝子導入用ベクター pDSM1 *amyM-1* 及び pDSM4 *amyM-1* 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 pDSM1 *amyM-1* 及び pDSM4 *amyM-1* 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 4）

#### (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 pDSM1 *amyM-1* 及び pDSM4 *amyM-1* 上の意図する挿入領域は、*amyM-1* 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 pDSM1 *amyM-1* 及び pDSM4 *amyM-1* は、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されている。

## 6. DNAの宿主への導入方法に関する事項

食品健康影響評価の終了した「MAM株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼ<sup>d</sup>」の生産菌であるMAM株に変異原処理を行い、 $\alpha$ -アミラーゼを高生産する株を選抜後、プラスミドを用いて *amyM* 発現カセットを削除した。その後、相同組換えにより遺伝子導入用ベクター pDSM1 *amyM*-1 及び pDSM4 *amyM*-1 を標的遺伝子座に導入した。

## 7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

ROM株構築に用いたプラスミドは、ブレオマイシン耐性遺伝子、ネオマイシン耐性遺伝子、カナマイシン耐性遺伝子、アンピシリン耐性遺伝子、エリスロマイシン耐性遺伝子、クロラムフェニコール耐性遺伝子及びスペクチノマイシン耐性遺伝子を持つが、ROM株には残存しない。

## 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

ROM株は、*amyM*-1 遺伝子発現カセットが導入され、プロテアーゼ及び孢子形成能関与遺伝子を欠失している点、並びに loxP 配列が残存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

遺伝子挿入領域の塩基配列及び制限酵素切断地図は明らかになっている（参照 4）。シーケンス解析の結果、*amyM*-1 遺伝子発現カセットは、標的遺伝子座に挿入されたことが確認された（参照 10）。

#### (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

MAM株から改変を行った2か所の *amyM*-1 遺伝子発現カセット挿入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58個検出された。

次いで、上記のORFと既知のアレルゲンとの相同性の有無を調べる目的で、アレルゲンデータベース<sup>e</sup>を用いて相同性検索を行った。その結果、連続する80アミノ酸配列に対して35%以上の相同性を示すORFが2個検出され、既知アレルゲンとして第4-2-（3）に記載の4つのアレルゲンのほか、ネッタイタマニクダニ由来及びヤケヒョウダニ由来の $\alpha$ -アミラーゼ並びにアシプト

<sup>d</sup> MAM株を利用して生産された $\alpha$ -アミラーゼ（令和4年1月26日食品安全委員会決定）

<sup>e</sup> Allergen Online version21（検索日：2021年7月15日）

コナダニ由来の Aca s 4 の 3 つのアレルゲンが検出された。しかしながら、これら 3 つのアレルゲンに対する相同性は遺伝子導入によって新たに生じたものではないこと、いずれも食物アレルゲンではないこと、さらに連続する 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ことから、アレルギー誘発性を有する可能性は従来の添加物と同等に低いと考えられた。(参照 11)

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調べる目的で、タンパク質データベース<sup>e</sup>を用いて  $E\text{-value} < 0.01$  を指標として検索を行った。その結果、データベース中の既知のタンパク質と相同性を示した ORF は認められなかった。(参照 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

### 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

Bakezyme Master の製造原料及び製造器材は、食品用酵素の製造において長年安全に利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

Bakezyme Master の製造原料及び製造器材は、食品用酵素の製造において長年安全に利用されてきた実績を有することから、有害性はないと考えられる。また、Good Manufacturing Practice (GMP)、HACCP 及び EU の食品衛生規則に準拠して製造されている。(参照 12)

## 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

Bakezyme Master は、アルゼンチン、フランス及びデンマークにおいて食品への使用が許可されている。欧州食品安全機関 (EFSA) において、2021 年 5 月に食品用酵素としての安全性審査が終了し、安全性に問題はないとされている。

### 2. 組換え体の残存に関する事項

本酵素原体に、組換え DNA が残存しないことを PCR 分析により確認した。(参照 13)

### 3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項

Bakezyme Master の製品化前の酵素サンプルは、the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) の食品用酵素の規格値 (参照 14) 及び食品添加物公定書の規格値 (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

---

<sup>e</sup> Virulence Factor Data Base (VFDB) (検索日：2021 年 7 月 15 日)

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**

Bakezyme Master は、生産菌の培養液を、除菌ろ過等の精製工程を経ること  
で得られる。適切な製造管理の下で製造が行われるならば、これらの工程におい  
て、安全性に問題のある物質が混入することはないと考えられる。

#### **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**

Bakezyme Master 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は得られている。

### **Ⅲ. 食品健康影響評価結果**

「ROM 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、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。

以上のことから、「ROM 株を利用して生産された  $\alpha$ -アミラーゼ」は、人の健康を  
損なうおそれはないと判断した。

## <参照>

1. Anne Sietske de Boer and Berge Diderichsen, On the safety of *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens*: a review, *Applied Microbiology Biotechnology* 36, 1-4, 1991
2. *Bacillus Subtilis* Product Sheet, American Type Culture Collection
3. *Geobacillus stearothermophilus*, American Type Culture Collection  
<https://www.atcc.org/search>
4. Nucleotide sequence and restriction map of *amyM-1* expression cassette (社内文書)
5. Pubmed search results, NCBI (検索日 2021 年 5 月 18 日)
6. In vitro digestibility of ROM (社内文書)
7. Digestibility of LIMBO - ROM conc. gran. under simulated gastric and intestinal conditions (社内文書)
8. Temperature and pH profile of  $\alpha$ -amylase from ROM Bioinformatics testing for putative allergenicity (社内文書)
9. Bioinformatics testing for putative allergenicity of *Bacillus subtilis* amyM-1  $\alpha$ -amylase (社内文書)
10. Whole genome sequence analysis of strain ROM (社内文書)
11. Analysis of sequence elements introduced into *B.subtilis* strain ROM (社内文書)
12. Statement on Food Enzymes Compliance (社内文書)
13. Proof of absence of rDNA in the food enzyme glucan 1,4- $\alpha$ -maltogenihydrolase from the genetically modified *Bacillus subtilis* strain ROM (社内文書)
14. Certificate of Analysis,  $\alpha$ -amylase from ROM (社内文書)
15. JSFA Certificate of Analysis,  $\alpha$ -amylase from ROM (社内文書)

「ROM 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関する審議結果（案）についての意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 令和 5 年 2 月 15 日～令和 5 年 3 月 16 日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 1 件
4. 意見・情報及び食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会の回答

| 意見・情報※                                                                                                                                                                                                 | 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会の回答                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>どんな目的でも、悪影響が現状の科学レベルではわかっていないだけの、遺伝子組換え技術を使うことに反対ですが、とくにこれは、パンの老化防止目的です。伝統的な製法でやってください。</p> <p>目先の効率化で国民の健康をリスクに晒すのはやめてほしいです。</p> <p>評価に使った資料 15 中、11 もが申請者提出の社内文書であることも、この組換え品の評価の信頼度を落としています。</p> | <p>この食品健康影響評価は、食品安全基本法第11条第3項に基づき、その時点において到達されている水準の科学的知見に基づいて行ったものです。</p> <p>本添加物については、組換え DNA 技術の応用に起因する新たな有害成分が含まれていないことを確認することが重要であり、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加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が確認されていること、具体的には、挿入遺伝子の供与体、挿入される塩基配列が明らかであること、目的外の遺伝子の挿入がないこと等を確認しました。</p> <p>また、挿入遺伝子から産生されるタンパク質の毒性やアレルギー誘発性について確認されていること、製造原料又は製造器材について食品用酵素の製造に安全に使用されてきた経験がある等を確認しまし</p> |

|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|--|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p>た。</p> <p>これらの結果、本添加物は非組換え<math>\alpha</math>-アミラーゼ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ことから、人の健康を損なうおそれはないと判断しました。</p> <p>また、食品健康影響評価は、申請者の提出した資料をもとに行いますが、これまでの科学的知見や海外での評価結果も踏まえ、資料の内容についての問題点、疑問点については説明や再提出を求めるとともに、調査会の審議において、資料の内容が不足していると判断された場合は、追加試験等のデータを含め必要な追加資料の提出を求めています。</p> <p>遺伝子組換え添加物の使用についての御意見は、リスク管理に関するものと考えられることから、厚生労働省へお伝えします。</p> |
|--|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

※ 頂いた意見・情報はそのまま掲載しています。