

(案)

遺伝子組換え食品等評価書

DSM32805 株を利用して生産された
キモシン

2021年6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.....	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の添加物 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.....	8
1. 挿入 DNA の供与体に関する事項.....	8
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.....	9
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.....	10
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.....	13
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.....	13
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.....	14
Ⅲ. 食品健康影響評価結果.....	14
<参照>.....	15

<審議の経緯>

2020年12月1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1120第3号）、関係書類の接受

2020年12月8日 第799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6月29日 第822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

「DSM32805 株を利用して生産されたキモシン」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、*Aspergillus niger* NRRL3112 株を宿主として、ヒトコブラクダ (*Camelus dromedarius*) 由来の改変プロキモシン遺伝子を導入し作製された *A. niger* DSM32805 株を利用して生産されたキモシンである。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、主にチーズ製造に使用される酵素である。

「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及びアレルギー誘発性、遺伝子の導入後の塩基配列の解析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、「DSM32805 株を利用して生産されたキモシン」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：DSM32805 株を利用して生産されたキモシン
用 途：チーズ製造
申請者：クリスチャンハンセンジャパン株式会社
開発者：Chr. Hansen A/S（デンマーク）

本添加物は、*Aspergillus niger* NRRL3112 株を宿主として、ヒトコブラクダ (*Camelus dromedarius*) 由来の改変プロキモシン遺伝子を導入して作製された *A. niger* DSM32805 株を利用して生産されたキモシンである。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、主にチーズ製造に使用される。

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

従来添加物の名称、基原及び有効成分は、以下のとおりである。

名 称 : キモシン
基 原 : 反すう動物の第 4 胃
有効成分 : キモシン
IUB No. : EC 3. 4. 23. 4
CAS No. : 9001-98-3

(2) 製造方法

反すう動物第 4 胃の抽出物から製造される。

(3) 用途及び使用形態

キモシンは、チーズ製造の目的で、乳酸発酵後の原料乳に液状の形態で添加される。

(4) 摂取量

原料牛乳からのチーズの収量を 10% とすると、ウシキモシンは水溶性であるため、水分含量の多い（約 60%）チーズの場合、添加量の 6% の酵素がチーズに移行する。原乳 1 リットル当たりの最大添加量は、0.22mg であり、国民一人当たりのチーズ消費量（参照 1）から算出したウシキモシンの最大摂取量は、0.0008 µg/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、*A. niger* NRRL3112 株である。本菌株は米国農務省の NRRL Culture Collection から入手した。

(2) DNA 供与体の種名、株名又は系統名等及び由来

改変ラクダプロキモシン (*camChyS*) 遺伝子の供与体は、ヒトコブラクダ (*C. dromedarius*) である。

選択マーカーとして用いたウリジン産生 (*pyr4*) 遺伝子の供与体は *N. crassa* である。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

camChyS 遺伝子は、ヒトコブラクダのプロキモシン遺伝子に変異を導入し、野生型プロキモシンの複数のアミノ酸が置換するように改変した遺伝子であり、Camel Chymosin S のプロ体 (Camel Prochymosin S) をコードする。

pyr4 遺伝子は、オロチジン 5'-リン酸デカルボキシラーゼをコードし、選択マーカーとして働く。

導入 DNA 断片は宿主ゲノムに相同組換えにより導入した。

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

A. niger NRRL3112 株は、酵素製造に利用経験があり、長期にわたり安全に使用されている。本株は、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、更に突然変異によりプロテアーゼ低産生となった株である。

4. 宿主の構成成分等に関する資料

A. niger は、オクラトキシン A 及びフモニシン B₂ を産生するという報告がある (参照 2、3)。

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

本添加物の製品名及び有効成分は以下のとおりである。

製品名：カイマックス Supreme

有効成分：キモシン

IUB No. : EC 3. 4. 23. 4

CAS No. : 9001-98-3

(2) 製造方法

カイマックス Supreme は、DSM32805 株を生産菌として製造される。製造方法は従来の添加物と同様であり、培養工程、ろ過、製剤化等の工程を経て製造される。生産菌は、不活性化した後、ろ過により、除去される。

(3) 用途及び使用形態

カイマックス Supreme は、従来の添加物と同様に、凝乳酵素としてチーズの製造に使用される。使用時には液体の形態で原料乳に添加される。

(4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較

カイマックス Supreme 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加水分解する選択性が高い。したがって、原料乳量当たりのチーズ収量が高く、非特異的なタンパク質の分解が少なく、苦味ペプチドが少ない。

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

カイマックス Supreme の有効成分である Camel Chymosin S と従来の添加物との相違点は、遺伝子の供与体が異なる点及び κ -カゼインの特定部位のアミノ酸結合を加水分解する選択性が高く、非特異的なタンパク質の分解が少ない点である。

なお、Camel Chymosin S は、安全性審査の終了した *C. dromedarius* 由来のラクダキモシンである Camel Chymosin (カイマックス M: 2019年3月官報掲載) の配列に対して複数のアミノ酸置換を行っている。

(2) 組換え体と宿主

Camel Chymosin S の生産株と宿主の相違点は、生産菌には *glaA* 遺伝子、*camChyS* 遺伝子及び *pyr4* 遺伝子が導入されている点である。

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、第2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、*A. niger* NRRL3112 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

A. niger NRRL3112 株は国立感染症研究所「病原体等安全管理規定」においてバイオセーフティレベル（以下「BSL」という。）1に相当する。本宿主菌株については、オクラトキシン A 及びフモニシン B₂ を産生するという報告がある（参照2、3）。

3. 寄生性及び定着性に関する事項

A. niger には、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

*A. niger*には、ヒトに対して病原性を有するウイルスの感染の報告はない。

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

Aspergillus carbonarius がオクラトキシンを産生すること、*Aspergillus fumigatus* が日和見感染及び気管支アレルギーの原因菌であることが知られている。

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pCCEx3-CMSは、プラスミドpBluescriptII SK+を基に作製された。

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pBluescriptII SK+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pBluescriptII SK+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pBluescriptII SK+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pBluescriptII SK+はアンピシリン耐性遺伝子を含むが、宿主へは導入されない。

(5) 伝達性に関する事項

プラスミドpBluescriptII SK+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pBluescriptII SK+の複製開始配列は、大腸菌で機能する。

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

camChyS 遺伝子の供与体は、*C. dromedarius* である。*pyr4* 遺伝子の供与体は、*N. crassa* である。

(2) 安全性に関する事項

C. dromedarius は中東及び西アフリカにおいて、飲用乳、チーズなどに利用されてきた経験がある。

N. crassa の食経験は知られていないが、国立感染症研究所「病原体等安全管理規定」において BSL1 に相当する（参照 4）。

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若しくは合成方法に関する事項

camChyS 遺伝子は、*C. dromedarius* 由来のラクダプロキモシン遺伝子を基に合成された。なお、コードするラクダキモシンのアミノ酸配列に複数のアミノ酸置換が導入されている。

pyr4 遺伝子は、*N. crassa* 74A 株由来の *pyr4* 遺伝子を基に合成された。

(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

導入用 DNA 断片の塩基数、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 5）。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

① *camChyS* 遺伝子

camChyS 遺伝子は Camel Prochymosin S をコードし、*A. niger* 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る。その後、酸性条件下でプロ配列が切断・除去され活性ラクダキモシン（Camel Chymosin S）となる。Camel Chymosin S は、 κ -カゼインの特定部位を切断するプロテアーゼで、乳を凝固させる。

a. 挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見

C. dromedarius について、アレルギー誘発性を示唆する報告はない。

b. 遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する知見

カイマックス Supreme について、アレルギー誘発性を示唆する報告はない。*C. dromedarius* が産生するキモシンについて文献検索^aを行った結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかった。

c. 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

^a PubMed（検索日：2019年10月）

Camel Chymosin S の人工胃液中での消化性について確認するため、SDS-PAGE 分析を行った結果、試験開始後 6 時間でほぼ分解されることが示された（参照 6）。

(b) 人工腸液に対する感受性

Camel Chymosin S の人工腸液中での消化性について確認するため、SDS-PAGE 分析を行った結果、試験開始後 6 時間でほぼ分解されることが示された（参照 6）。

(c) 加熱処理に対する感受性

Camel Chymosin S は 60°C で活性が消失することが確認された。また、チーズ製造における低温パステライゼーション条件（72°C、15 秒）下で Camel Chymosin S は失活することが確認されている（参照 7）。

d. 遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性に関する知見

Camel Chymosin S 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に、アレルゲンデータベース^b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、Aspartyl endopeptidase 等の複数のタンパク質が検出された。これらはいずれも、Camel Chymosin においても検出され、同程度の相同性を示す事が確認されている（参照 8）。

また、連続する 8 アミノ酸配列についても同様に相同性検索を行った結果、既知のアレルゲンとして、ペプシン A など上述した複数のタンパク質と相同性が示された（参照 8）。

② *pyr4* 遺伝子

pyr4 遺伝子がコードするオロチジン 5'-リン酸デカルボキシラーゼは、ウリジン無添加培地にて形質転換体を選抜するマーカーとして働く。*pyr4* 遺伝子は、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。

以上から総合的に判断し、Camel Chymosin S 及びオロチジン 5'-リン酸デカルボキシラーゼは、アレルギー誘発性を有する可能性は低いと考えられた。

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

camChyS 遺伝子のプロモーターは、宿主由来の *glaA* 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

^b FARRP AllergenOnline ver19（検索日：2019 年 12 月）

camChyS 遺伝子のターミネーターは、宿主由来の *glaA* 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
該当する塩基配列はない。

4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

遺伝子導入用ベクター pCCEx3-CMS は、カイマックス M の生産菌作製に用いられた遺伝子導入用ベクター pCCEx3-CMM 中の *camChy* 遺伝子を *camChyS* 遺伝子に置換して構築した。その後、pCCEx3-CMS を酵素処理して導入用 DNA 断片を得た。なお、pCCEx3-CMM はプラスミド pBluescriptII SK+ を基本骨格として構築されている。

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

導入用 DNA 断片の塩基数、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。

- (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

導入 DNA 断片領域についてオープンリーディングフレーム（以下「ORF」という。）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までで終結する連続する 30 アミノ酸以上の ORF が合計 186 個検出された。

これらの ORF と既知のアレルゲンとの構造相同性をアレルゲンデータベース^cを用いて検索を行った結果、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既知のアレルゲン及び連続した 8 アミノ酸配列が一致する既知のアレルゲンとして第 4-2-(3) に記載したアレルゲンが検出された。また、それに加えて、*A. niger* 由来の Serin protease 及びスエヒロダケ由来の Glycoside hydrolase が検出されたが、宿主の *glaA* 遺伝子がコードするグルコアミラーゼと相同性が認められたことから、安全性に懸念はないと考えられた（参照 9~11）。

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^dを用いて E-value<0.01 を指標として検索を行った。その結果、7 個の ORF がデータベース中のタンパク質と相同性を示したが、いずれのタンパク質

^c FARRP AllergenOnline ver21（検索日：2021 年 4 月）

^d UniProt データベースに基づくトキシンデータベース（検索日：2021 年 4 月）

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(参照 12)。

(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

プラスミド pCCEx3-CMS の特定の制限酵素サイトに挟まれた *glaA* 遺伝子及び *pyr4* 遺伝子を含む *camChyS* 遺伝子発現カセット領域である。

(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

導入用 DNA 断片は、ゲル電気泳動で分離され、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

導入用 DNA 断片は、宿主ゲノムに、相同組換えにより組み込まれ、ウリジン産性能を指標に形質転換体を選抜した。

7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

導入用 DNA 断片には、抗生物質耐性マーカー遺伝子が含まれていない。生産菌には存在していないことを、サザンブロット分析により確認している(参照 13)。

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

A. niger に導入された DNA 断片により、Camel Chymosin S 及びグルコアミラーゼを発現し、また、選抜のために、ウリジン産性能を有することが宿主との差異である。

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

導入用 DNA 断片の制限酵素による切断地図は明らかになっている。シーケンス解析により *camChyS* 遺伝子発現カセットが複数コピー挿入されていることが確認された。

(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

シーケンス解析により遺伝子発現カセットは標的部位に挿入され、接合領域に新たな ORF が生じていないことが確認された。なお、挿入領域の ORF については、第 4-5-(2) に記載のとおりである。

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

カイマックス Supreme の製造原料は、従来の酵素の製造原料と同じものが使用されている。製造器材は、国際食品衛生基準及び国際品質基準の認証を受け、従来から食品用酵素剤の製造に用いられているものが使用される。

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

カイマックス Supreme の製造原料は、食品又は食品用酵素製造用として一般的に用いられているものを使用し、製造器材も、従来から食品酵素剤の製造に用いられているものを使用する。

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

カイマックス Supreme は、米国において GRAS として認定されている。またデンマーク及びフランスにおいては、2019 年に承認されている。

2. 組換え体の残存に関する事項

PCR 法（検出限界<0.1 ng/mL）により、カイマックス Supreme には組換え体の DNA が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

カイマックス Supreme の製造バッチをサンプルとして分析した結果、食品、添加物等の規格基準値を満たしていること並びにオクラトキシン A 及びフモニシン B2 は検出されないことを確認した。カイマックス Supreme の製造原料は食品への使用が認められた品質を有し、製造機械は国際基準の認証を受けたものであることから、適切な製造管理の下で製造が行われるならば、安全性に懸念のある非有効成分が含まれることは考えにくい。

4. 精製方法及びその効果に関する事項

カイマックス Supreme は、酸の添加、粗ろ過、イオン交換樹脂処理及び限外ろ過等の精製工程を経ることで得られる。これらの工程において、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ことは考えられない。

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

カイマックス Supreme 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と同様であり、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が変動すること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

「DSM32805株を利用して生産されたキモシン」については、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」（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. 平成29国民健康・栄養調査報告 厚生労働省
2. Frisvad J. C., Møller L.L.H., Larsen T.O., Kumar R., Arnau J. (2018): Safety of the fungal workhorses of industrial biotechnology: update on the mycotoxin and secondary metabolite potential of *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*. Appl. Microbiol. Biotechnol., published online 06 October 2018
3. Jens C. Frisvad, Thomas O. Larsen, Ulf Thrane, Martin Meijer, Janos Varga, Robert A. Samson, Kristian F. Nielsen (2011): Fumonisin and ochratoxin production in industrial *Aspergillus niger* strains. PLOS ONE, 6(8), e23496
4. 国立感染症研究所 病原体等安全管理規程 (平成 29 年11 月)
5. Map and sequence of pCCEx3-CMS *** fragment (社内文書)
6. Artificial digest of CHY-MAX Supreme (社内文書)
7. Inactivation of chymosin produced with strain DSM32805 (社内文書)
8. ORF analysis and homology search to known allergens and toxins for CHY-MAX Supreme product approval in Japan (社内文書)
9. The lists of ORFs from pCCEx3-CMS *** and pCCEx3-CMM *** (社内文書)
10. 80mer sliding window search results (ORFs from pCCEx3-CMS *** and pCCEx3-CMM ***) (社内文書)
11. The identical 8-mer analysis with ORFs from pCCEx3-CMS ***/pCCEx3-CMM *** (社内文書)
12. ORF analysis and homology search to known toxins for CHY-MAX Supreme product approval in Japan (社内文書)
13. Absence of unwanted DNA in the chymosin production strain DSM32805 (社内文書)
14. Absence of recombinant DNA in chymosin production strain DSM32805 (社内文書)