

(案)

遺伝子組換え食品等評価書

JPBL006 株を利用して生産された
キシラナーゼ

2021年2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	7
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	7
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ー遺伝子を含む。）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	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	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	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>

2019年11月28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1128第1号）、関係書類の接受

2019年12月3日 第766回食品安全委員会（要請事項説明）

2019年12月20日 第196回遺伝子組換え食品等専門調査会

2021年2月16日 第805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

「JPBL006 株を利用して生産されたキシラナーゼ」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* Ca63 株を宿主とし、*Bacillus* sp. KK-1 株由来のキシラナーゼ遺伝子を導入することで作製した JPBL006 株を利用して生産されたキシラナーゼである。本添加物は、キシランの 1,4-β-D-キシロイド結合をエンド型で加水分解する酵素であり、パン生地の品質向上を目的として使用される。

「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及び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、「JPBL006 株を利用して生産されたキシラナーゼ」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：JPBL006 株を利用して生産されたキシラナーゼ
用 途：パン製造における生地品質向上
申請者：ノボザイムズ ジャパン株式会社
開発者：Novozymes A/S（デンマーク）

本添加物は、*Bacillus licheniformis* Ca63 株を宿主とし、*Bacillus* sp. KK-1 株由来のキシラナーゼ遺伝子導入することで作製した JPBL006 株を利用して生産されたキシラナーゼである。本添加物は、キシランの 1,4-β-D-キシロイド結合をエンド型で加水分解する酵素であり、パン生地の品質向上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、基原及び有効成分は、以下のとおりである。

名 称：キシラナーゼ

基 原：糸状菌、放線菌

有効成分：キシラナーゼ

IUB No. : EC 3. 2. 1. 8

CAS No. : 9025-57-4

(2) 製造方法

キシラナーゼは、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

キシラナーゼは、パンの製造工程において、原料となる小麦粉中のキシランを加水分解し可溶性糖類を生成することで、生地の弾力を向上させることを目的として使用される。

(4) 摂取量

キシラナーゼがすべてのパン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、1.7 μg TOS (Total Organic Solids) / kg 体重/日である（参照 1、2）。

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* Ca63 株である。*B. licheniformis* Ca63 株は、自然

界から分離された菌株である。

(2) DNA 供与体の種名、株名又は系統名等及び由来

キシラナーゼ (*xyn264*) 遺伝子の供与体は、*Bacillus* sp. KK-1 株である。
prsA 遺伝子の供与体は、*B. licheniformis* Ca63 株である。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

xyn264 遺伝子は、*xyn264* をコードする。

prsA 遺伝子は、宿主由来の菌体外分泌タンパク質の分泌量を高める PrsA タンパク質をコードする。

xyn264 遺伝子発現カセットはインテグラーゼにより、*prsA* 遺伝子発現カセットは相同組換えにより、宿主ゲノムのそれぞれの標的遺伝子座に導入した。その際、一部の標的遺伝子座において遺伝子欠失が確認された。

なお、生産菌の作製に当たり、*aprL* 遺伝子を含む複数種類の遺伝子を欠失導入用ベクターを用いた相同組換えにより欠失させている(参照 3)。

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、長期にわたり食品や食品用酵素の製造に安全に使用されている。*B. licheniformis* Ca63 株は、 α -アミラーゼの生産菌として使用されている。

4. 宿主の構成成分等に関する資料

B. licheniformis が有害生理活性物質及び栄養阻害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 (以下「BSL」という。) 1 に相当する (参照 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

本添加物の製品名及び有効成分は、以下のとおりである。

製品名 : *xyn264*

有効成分 : キシラナーゼ

IUB No. : EC 3.2.1.8

CAS No. : 9025-57-4

(2) 製造方法

xyn264 は、JPBL006 株を生産菌として、従来のキシラナーゼと同様に、培養、ろ過、製剤化等の工程を経て製造される。生産菌は 2 回の除菌ろ過により、分離・除去される。

(3) 用途及び使用形態

xyn264 は、従来のキシラナーゼと同様に、パンの品質を向上する目的で改良剤として用いられる。

(4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較

xyn264 は、従来のキシラナーゼと同様に、キシランの 1,4-β-D キシロイド結合をエンド型で加水分解する酵素である。

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

xyn264 と従来のキシラナーゼとの相違点は、基原並びに至適温度及び pH が異なる点である。

(2) 組換え体と宿主

JPBL006 株と宿主との相違点は、JPBL006 株には *xyn264* 遺伝子が複数コピー導入され、*xyn264* 生産性を獲得している点、*prsA* 遺伝子を導入している点及び *xyn264* の生産性を高めるため複数遺伝子を欠失している点である。

以上 1～6 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* Ca63 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 が病原性及び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ける BSL1 に相当する（参照 4）。

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 には、病原性の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. licheniformis の近縁種である *Bacillus subtilis* 及び *Bacillus pumilus* が知られているが、毒性物質を産生する *Bacillus cereus* 等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pJPV020 及び pJPV021 の作製には、*Staphylococcus aureus* 由来のプラスミド pE194 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 の塩基数及び塩基配列は明らかになっている（参照 5）。

(2) 制限酵素による切断地図に関する事項

プラスミド pE194 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 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いる。

(5) 伝達性に関する事項

プラスミド pE194 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 pE194 の複製開始配列は、*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

xyn264 遺伝子及び *prsA* 遺伝子の供与体は、それぞれ *Bacillus* sp. KK-1 株及び *B. licheniformis* Ca63 株である。

(2) 安全性に関する事項

Bacillus sp. KK-1 株は、土壌から単離された好熱性細菌であり、毒性を示唆する報告はない（参照 6）。

B. licheniformis は、食品用酵素の生産菌として長年の使用経験があり、国立感染症研究所病原体等安全管理規程における 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遺伝子を含む。）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

xyn264 遺伝子は、*Bacillus* sp. KK-1 株由来のキシラナーゼ遺伝子の配列に基づき合成した。野生型キシラナーゼのアミノ酸配列と比較して1アミノ酸が付加されている。また、*B. clausii* 由来の *aprH* 遺伝子の分泌シグナル配列が付加されている。

prsA 遺伝子は、宿主のゲノムから PCR 法により得られた。

(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

挿入 DNA の塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図は明らかになっている（参照 7、8）。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

① *xyn264* 遺伝子

xyn264 遺伝子がコードする *xyn264* は、キシランの 1,4- β -D-キシロイド結合をエンド型で加水分解する酵素である。

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

Bacillus sp. KK-1 のアレルギー誘発性の可能性を調べるために文献検索^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。

b. 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

xyn264 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唆する報告はない。

また、*Bacillus* sp. KK-1 が産生するキシラナ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^b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

xyn264 の人工胃液中での消化性について確認するために 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 30 秒以内に *xyn264* の完全長のバンドが消失したため、分解されることが示された（参照 9）。

(b) 人工腸液に対する感受性

xyn264 の人工腸液中での消化性について確認するために、SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、*xyn264* は試験

^a PubMed 検索日：2019年8月

^b PubMed 検索日：2018年8月

開始後 6 時間においても分解されないことが示された (参照 9)。

(c) 加熱処理に対する感受性

xyn264 の加熱処理に対する感受性を確認した結果、70°C・30 分にて酵素活性が消失することが示された。

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

xyn264 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、アレルゲンデータベース^c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なかった (参照 10)。

② *prsA* 遺伝子

prsA 遺伝子がコードする PrsA タンパク質は、細胞内で増加するほど、菌体外分泌タンパク質の分泌が促進される (参照 11)。PrsA タンパク質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、*xyn264* と同様の手法により相同性検索を行った結果、相同性を示す既知アレルゲンは検出されなかった (参照 12)。

以上のことから総合的に判断し、*xyn264* 及び PrsA タンパク質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

xyn264 遺伝子及び *prsA* 遺伝子のプロモーターは、*amyL4199* プロモーター、*amyQsc* プロモーター及び *cry3A* プロモーターで構成される P3 プロモーター配列である。*amyL4199* プロモーター及び *amyQsc* プロモーターは、それぞれ *B. licheniformis* Ca63 株由来の *amyL* プロモーター及び *Bacillus amyloliquefaciens* DSM 7 株由来の *amyQ* プロモーターに変異を導入したものである。*cry3A* プロモーターは、*Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* DSM 5525 株に由来する *cry3A* 遺伝子の野生型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

xyn264 遺伝子及び *prsA* 遺伝子のターミネーターは、*B. licheniformis* Ca63 株由来の *amyL* 遺伝子ターミネーター及び *B. clausii* PP159 株由来の *aprH* 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

^c ネブラスカ大学アレルゲンデータベース (FARRP version 18)

の由来、性質等が明らかであること

挿入遺伝子の翻訳に必要な *B. amyloliquifaciens* DSM 7 株由来の *aprQ*RBS 配列及び *B. licheniformis* Ca63 株由来の *amyL* RBS 配列並びに mRNA を安定化させるため *B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* DSM 5525 株由来の *cry3A* mRNA 安定化配列を用いた。*cry3A* mRNA 安定化配列は、殺虫活性を示すタンパク質をコードする遺伝子のプロモーター領域に存在する配列であるが、タンパク質をコードする領域は含まれない。

そのほか、インテグラーゼ認識配列が用いられた。

4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

プラスミド pE194 に、*cry3A* mRNA 安定化配列、*amyL* RBS/*prsA* 遺伝子断片等を挿入し、遺伝子導入用ベクター pJPV020 を作製した。同様に、インテグラーゼをコードする *int* 遺伝子、*cry3A* mRNA 安定化配列、*aprQ* RBS/*xyn264* 遺伝子断片等を挿入し、遺伝子導入用ベクター pJPV021 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 pJPV020 及び pJPV021 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 7、8）。

(2) 原則として、最終的に構築された発現ベクターには、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 pJPV020 及び pJPV021 上の意図する挿入領域は、*prsA* 遺伝子発現カセット及び *xyn264* 遺伝子発現カセットの領域である。

(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

遺伝子導入用ベクター pJPV020 及び pJPV021 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

宿主ゲノムの各標的遺伝子座に、あらかじめマーカー遺伝子発現カセット (P3 プロモーター、*cry3A* mRNA 安定化配列、マーカー遺伝子及びインテグラーゼ認識配列を含む。) を相同組換えにより導入した後、遺伝子導入用ベクター pJPV020 を導入し、相同組換えにより *prsA* 遺伝子発現カセットを宿主に挿入した。さら

に、遺伝子導入用ベクターpJPV021 を導入し、インテグラーゼの作用によって *xyn264* 遺伝子発現カセットを挿入し、各マーカーにより形質転換体を選抜した。各標的遺伝子座においては、*cry3A* mRNA 安定化配列間でループアウトが生じ、マーカー遺伝子、*int* 遺伝子及びインテグラーゼ認識配列が宿主ゲノムから脱落した。

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pJPV020 及び pJPV021 はエリスロマイシン耐性遺伝子を持つが、宿主のゲノムからループアウトにより脱落している。抗生物質耐性マーカー遺伝子は存在しないことを標的遺伝子座のシーケンス解析により確認している（参照 13～15）。

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

JPBL006 株は、*xyn264* 遺伝子及び *prsA* 遺伝子発現カセットが導入され、複数の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

xyn264 遺伝子及び *prsA* 遺伝子発現カセットの標的遺伝子座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、*xyn264* 遺伝子が複数コピー及び *prsA* 遺伝子が挿入されていることが確認された。また、遺伝子挿入領域の各構成要素及び制限酵素切断地図はシーケンス解析により明らかになっている（参照 13～15）。

(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。）の有無を調べるために、挿入 DNA の 5' 近傍配列を含む領域及び 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 が合計 222 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^d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した 8 アミノ酸配列が一致する既知のアレルゲンはなかった。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、MvirDB データベ

^d ネブラスカ大学アレルゲンデータベース (FARRP version 18)

ース。 (参照 16) を用いて E-value<0.02 を指標として検索を行った。その結果、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たが、いずれも毒性を有するとは考え難いタンパク質であった (参照 17~19)。

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

xyn264 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

xyn264 製剤の製造原料及び製造器材は、安全に使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、本製品の原料は Food Chemicals Codex (FCC) 等の規格に適合している。

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

xyn264 製剤は、フランス、カナダにおいて、食品用加工助剤のポジティブリストに記載されている。また、米国では 2014 年に GRAS として認証されている。

2. 組換え体の残存に関する事項

ドットブロット解析により、xyn264 製剤中には組換え DNA が検出されないことが確認された (参照 20)。

3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項

xyn264 製剤の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、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 (参照 21)。

4. 精製方法及びその効果に関する事項

xyn264 製剤は、生産菌の培養物を、粗ろ過、除菌ろ過、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

xyn264 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いるものと同様であり、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。

° 検索日：2018 年 7 月

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

「JPBL006 株を利用して生産されたキシラナーゼ」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」（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. Application sheet (社内文書)
2. Typical Composition Panzea 10X BG (社内文書)
3. *Bacillus licheniformis* Ca63株における欠失導入用ベクターを用いたDNA欠失の概要 (社内文書)
4. 国立感染症研究所病原体等安全管理規程 別冊1「病原体等のBSL分類等」平成28年.
5. Horinouchi S, Weisblum B. Nucleotide sequence and functional map of pE194, a plasmid that specifies inducible resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin type B antibiotics. *Journal of Bacteriology*, Article 1982;150(2):804-814.
6. Yoon KH, Yun HN, Jung KH. Molecular cloning of a *Bacillus* sp. KK-1 xylanase gene and characterization of the gene product. *Biochemistry and Molecular Biology International*, Article 1998;45(2):337-347.
7. 遺伝子導入ベクターpJPV020のDNA塩基配列並びに構成 (社内文書)
8. 遺伝子導入ベクターpJPV021のDNA塩基配列並びに構成 (社内文書)
9. Digestibility and Purity of xyn264 protein in a product formulation (社内文書)
10. Assessment of Sequence homology of xylanase expressed by JPBL006 to allergens (社内文書)
11. Kontinen VP, Sarvas M. The PrsA lipoprotein is essential for protein secretion in *Bacillus subtilis* and sets a limit for high - level secretion. *Molecular Microbiology*, Article 1993;8(4):727-737.
12. Sequence homology of PrsA expressed by JPBL006 to allergens (社内文書)
13. Sequence of the *** locus in JPBL006 (社内文書)
14. Sequence of the *** locus in JPBL006 (社内文書)
15. Sequence of the *** locus in JPBL006 (社内文書)
16. Zhou CE, Smith J, Lam M, Zemla A, Dyer MD et al. MvirDB--a microbial database of protein toxins, virulence factors and antibiotic resistance genes for bio-defence applications. *Nucleic Acids Res* 2007;35(Database issue):D391-394.
17. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL006 to proteins from MvirDB and allergens (社内文書)
18. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL006 to proteins from MvirDB and allergens (社内文書)
19. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL006 to proteins from MvirDB and allergens (社内文書)
20. The analysis of residual DNA in a xyn264 product formulation by means of dot blot hybridization (社内文書)
21. Characterization of GMM Xylanase sub- and toxbatches, Toxbatch PPQ33502 from *Bacillus licheniformis* strain (社内文書)