

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第255回) 議事録

1. 日時 令和6年9月30日(月) 10:00~12:11

2. 場所 食品安全委員会中会議室(赤坂パークビル22階)
(Web会議システムを利用)

3. 議事

(1) 遺伝子組換え食品等に係る食品健康影響評価について

・ *Bacillus subtilis* NTI06 (pHYT2PsBG) 株を利用して生産されたβ-グルコシダーゼ

・ JPAo010株を利用して生産されたポリフェノールオキシダーゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

児玉座長、伊藤専門委員、小野道之専門委員、小野竜一専門委員、佐々木専門委員、柴田専門委員、爲廣専門委員、手島専門委員、藤原専門委員

(食品安全委員会)

頭金委員、祖父江委員

(事務局)

中事務局長、及川事務局次長、古田評価第二課長、今井評価情報分析官、奥藤課長補佐、岩瀬評価専門職、山口係長、今村技術参与、坂本技術参与

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

① *Bacillus subtilis* NTI06 (pHYT2PsBG) 株を利用して生産されたβ-グルコシダーゼ

② JPAo010株を利用して生産されたポリフェノールオキシダーゼ

6. 議事内容

〇〇〇 それでは、定刻になりましたので、ただいまから第255回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催いたします。

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、所用により〇〇〇は御欠席です。

また、本日はWeb会議システムを併用して行います。

本日の議題は、新規品目である「*Bacillus subtilis* NTI06 (pHYT2PsBG) 株を利用して生産されたβ-グルコシダーゼ」と継続品目である「JPAo010株を利用して生産されたポリフェノールオキシダーゼ」の安全性についての審議です。

それでは、事務局から資料の確認をお願いします。

〇〇〇 配付資料を確認いたします。

配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿、資料といたしまして「食品健康影響評価に関する資料」、そして、机上配布資料1及び2でございます。

資料の不足等はありませんでしょうか。不足等がございましたら、事務局まで御連絡ください。

また、本日は*Bacillus subtilis* NTI06株を利用して生産されたβ-グルコシダーゼの申請者である日本食品化工株式会社の方、JPAo010株を利用して生産されたポリフェノールオキシダーゼの申請者であるノボザイムズ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予定としております。

以上です。

〇〇〇 それでは、事務局から「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します。

〇〇〇 事務局において専門委員の皆様へ提出いただきました確認書を確認したところ、平成15年10月2日付け委員会決定の2の(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でした。

〇〇〇 本日はWeb会議で参加される専門委員もいらっしゃいますので、審議に入る前に、Web会議における注意事項について事務局から説明をお願いします。

〇〇〇 Web会議形式の注意事項をお伝えいたします。

1点目、発言者の音質向上のため、発言しないときはマイクをオフにしてください。

2点目、発言の際は赤い挙手カードを提示いただくか、Web会議画面の挙手ボタンを押してください。座長よりお呼びしますので、マイクをオンにして、お名前を発言いただいた上で御発言をお願いいたします。座長より指名がない場合は直接マイクから呼びかけてください。発言の最後には「以上です」と御発言いただき、マイクをオフにしてください。

3点目、音声接続不良時や通信環境に問題がある場合は、カメラをオフにしたり再入室することにより改善する場合があります。マイクが使えない場合はWeb会議システムのメッセージ機能によりお知らせください。万が一全く入室できなくなった場合は、事務局までお電話ください。

4点目、議事中、意思確認をお願いすることがございますが、青い同意カードを挙げていただくか、手で丸をつくるなど意思表示をお願いします。

以上がWeb会議における注意事項となります。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 それでは、新規品目である「*Bacillus subtilis* NTI06 (pHYT2PsBG) 株を利用して生産されたβ-グルコシダーゼ」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します。

〇〇〇 ありがとうございます。

Bacillus subtilis NTI06株を利用して生産されたβ-グルコシダーゼの申請要旨をお手元に御準備ください。

1ページ目を御覧ください。

第1の1、ここは比較対象とする従来の添加物について記載する箇所でございます。しかし、今回、申請者は(1)の名称、起源及び有効成分と(2)の製造方法について、添加物公定書に記載されているβ-グルコシダーゼに関する事項を記載しております。本年2月に開催した第245回の当専門調査会で審議したα-ガラクトシダーゼでも同様に添加物公定書の記載をしていたことから、専門調査会の指摘事項として、「添加物公定書の記載ではなく、今回比較対象とした従来の添加物の実際の起源を記載すること。また、従来の添加物との比較についても今回の比較対象とした添加物に基づく記載に修正し、要旨全体を見直すこと」との指摘を出しておりましたので、事前に事務局から申請者に対して確認をさせていただきました。

机上配付資料1をお手元に御準備ください。

机上配付資料1の1ページ、①の青字が申請者からの回答でございます。申請者の会社では、従来からβ-グルコシダーゼ活性を有する酵素製剤を用いた食品製造を行っており、そこで使用している酵素製剤は他社の製品であるため、アミノ酸配列や諸性質等の情報を得ることが困難であり、申請上の具体的な比較対象とすることが難しいことから、本申請においては添加物公定書に記載された広義のβ-グルコシダーゼを記載しているという回答でございます。

しかし、6月に新たに改正いたしました指針におきまして、指針の第2章第2の5の食品健康影響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の相違点といたしまして、通常、名称であるとか至適pH、至適温度、起源、アミノ酸残基数、反応特異性などを確認しております。そのため、比較対象とする従来の添加物を明確にしておく必要があるのではないかと事務局としては考えておりますので、後ほど御議論いただければと思います。

続きまして、(3)用途及び使用形態を御覧ください。β-グルコシダーゼは、糖類のβ-D-グルコシド結合の加水分解反応を触媒する酵素●●●を触媒します。

(4)摂取量です。既存の全てのβ-グルコシダーゼが本申請品目に置き換わったと推定して、砂糖・甘味料類の製造に使用され、最終製品中に全量残存すると仮定した場合、

0.96mg/kg体重/日としております。

こちらにつきましても、事前の確認で〇〇〇から御意見をいただき、申請者に確認しておりますので、机上配付資料1をもう一度お手元に御準備ください。

2ページ目の②です。酵素は濃縮工程によって重量が変動することから、酵素量を示す際には原則として総有機固形分を用いて算出してもらいたいという意見でございます。

申請者からは、青字のとおり、過去に申請し、食品健康影響評価が終了している品目においてもこの単位で算出をしているということで、修正が行われておりません。

ちなみに、現在、当専門調査会で議論をしております技術的文書案におきましても、現時点では、酵素等のタンパク質の場合、濃縮の程度によって重量が変動することから、酵素量を示す際には原則として総有機固形分（TOS）を用いることとするという記載が入っております。

続きまして、2の（1）宿主のところでございます。宿主は*Bacillus*属の*subtilis* Marburg 168株を起源とする*B. subtilis* ISW1214株です。

2ページ目を御覧ください。

生産菌株の作成工程が（A）から（C）に分けて記載されております。

まず（A）では、芽胞形成能を欠損した株の取得を目的として、2回の相同組換えが行われております。

図1を御覧ください。1回目の相同組換えが図1の（A）の①に当たる部分です。

図1の（C）を御覧ください。赤い矢印が芽胞形成関連遺伝子である*spoIIAC*遺伝子でございます。この*spoIIAC*遺伝子を欠失させるため、まず準備として、*spoIIAC*遺伝子の●●●、青く色づけされた部分になりますけれども、これを赤点線のように二重交差相同組換えにより導入しております。

次に、図1の（A）の②に当たる部分ですが、先ほど作製した中間株の*spoIIAC*遺伝子と●●●の部分、青点線のように二重交差相同組換えにより芽胞形成関連遺伝子欠失用直鎖DNA断片を導入することで*spoIIAC*遺伝子と●●●を欠失させ、 Δ *spoIIAC*株を得ています。

一度、5ページ目の図3を御覧ください。この操作が、図3の一番上の（A）の2つの矢印の操作になります。この（A）の操作はこれから説明する（B）と（C）で行う操作のパーツを作ったという形になります。

2ページ目に戻っていただきまして、続いて、図1の下から記載されている（B）でございます。ここは先ほどの（A）の操作とは全く別と考えていただきまして、スタートはまた何もしていない宿主のISW1214株でございます。今回の組換え体は宿主にプラスミドの形で目的遺伝子を導入しています。イメージといたしましては、4ページの図2の一番右の下から2番目のd)になるかと思えます。

2ページに戻っていただきまして、このようにプラスミドの形で導入しますと、抗生物質無添加条件で発現プラスミドが脱落してしまうことがあるということで、それを防止する

ための操作を行っております。

まず、宿主が生育するためには、トリプトファンtRNA合成酵素遺伝子というものが必要でございます。ここでは *trpS* 遺伝子と呼んでおります。まず、宿主のゲノムDNA上からこの *trpS* 遺伝子を欠失させ、このままでは生育できませんので、*trpS* 遺伝子を挿入したプラスミドを宿主に導入することで *trpS* 遺伝子を補完します。

5ページ目の図3の (B) を御覧ください。まず、宿主である ISW1214 株に対して pUC19 ベクターに宿主のゲノムDNAを鋳型として増幅させた *trpS* 遺伝子の周辺領域と人工合成遺伝子を鋳型に用いて増幅したスペクチノマイシン耐性遺伝子を導入して作製した欠失用プラスミドを導入し、相同組換えにより宿主ゲノムに導入することで *trpS* 遺伝子欠失株である TKC01 株を取得します。これが1つ目の矢印になります。

次に、この株に pUB110 ベクターに由来するカナマイシン耐性遺伝子及び宿主に由来する *trpS* 遺伝子を導入したプラスミドを導入することで、4ページの図2の左から2つ目のb) を作製しています。これが2つ目の矢印です。

そうしますと、このb) の中でゲノム内相同組換えが起こり、宿主のゲノムDNA上の *trpS* 遺伝子及びその周辺領域がうまく欠失したd) の株を得ることができます。これが3つ目の矢印になります。

次に、この株に対して、図3の一番上の●●●を行うことで●●●を導入します。これが (B) の上から4つ目の矢印になります。

●●●を導入しましたので、この株に●●●を行うことで、ゲノム上の●●●と *spoIIAC* 遺伝子を欠失した株を得ています。これが (B) の上から5つ目の矢印になります。

ここまでで作製したのは芽胞形成能が欠失している株です。この株に目的タンパク質であるβ-グルコシダーゼを発現する遺伝子を組み込まなければなりませんので、その操作が (C) になります。文章での説明は4ページの下5行になります。

一度、15ページを御覧ください。

図9が目的遺伝子を導入するためのプラスミドになります。このプラスミドには、左上に目的遺伝子である *Paenibacillus stellifer* 由来のβ-グルコシダーゼをコードする *psbgI* 遺伝子が、左下にトリプトファンtRNA合成酵素遺伝子である *trpI* 遺伝子が、一番下にテトラサイクリン耐性遺伝子である *tetR* 遺伝子が導入されています。

5ページに戻っていただきまして、先ほどの発現プラスミドを (B) で作成した株に導入することで、今まであった *trpS* 補完用プラスミドが脱落し、目的のβ-グルコシダーゼを生産し、かつ芽胞形成能が欠失している株を取得しております。

続きまして6ページ、(2) 挿入DNAの供与体の由来ですが、β-グルコシダーゼ遺伝子の供与体は *Paenibacillus stellifer*、*trpS* 遺伝子の供与体は *B. subtilis* ISW1214 株です。

(3) 挿入DNAの性質及び導入方法です。*psbgI* 遺伝子はβ-グルコシダーゼを、シグナル配列はβ-グルコシダーゼの菌体外分泌を促進するシグナルペプチドを、*trpS* 遺伝子はトリプトファンtRNA合成酵素をコードします。これらのDNAを挿入した発現プラスミドを

プロトプラスト法により導入し、生産株を作成しています。この挿入DNAの性質については、机上配付資料1の3ページの④として一覧表にまとめてもらっています。

3、4は記載のとおりでございます。

5.遺伝子組換え添加物の性質及び用途等について、(1)製品名はT2-PsBGL、有効成分はβ-グルコシダーゼです。

(2)製造方法は、液体培地で培養後、得られた培養液から●●●等の工程を経て製造されます。生産菌に用いた組換え体はろ過等の精製工程で分離・除去されます。

7ページを御覧ください。

(3)用途及び使用形態は、従来の添加物と同様、●●●酵素として、●●●の製造に用いられます。●●●の製造工程で、本申請添加物は酵素を失活処理した上で、活性炭吸着、イオン交換処理等の精製工程により除去されております。

(4)有効成分の性質及び従来の添加物との比較です。有効成分はβ-グルコシダーゼであり、従来の添加物と同様に、β-D-グルコシド結合の加水分解反応●●●酵素として、β-グルコオリゴ糖含有糖化品の製造に用いられております。●●●、本申請品目はより基質特異性が高く、●●●を特異的に認識して作用する点が従来の添加物と異なる点でございます。

6の(1)従来の添加物との相違点では、有効成分であるβ-グルコシダーゼの基原及び基質特異性が異なる点という説明しか書いてございません。

(2)組換え体と宿主との相違点は、組換え体は*Paenibacillus stellifer*由来のβ-グルコシダーゼ産生能及びテトラサイクリン耐性を有している点でございます。

8ページを御覧ください。

第2、宿主に関しては記載のとおりでございます。

第3、ベクターに関する事項です。

1の由来ですが、今回の目的遺伝子の発現プラスミドの構築には、平成26年に安全性審査が終了している品目の発現プラスミドを使用しています。このプラスミドはpHY300PLKプラスミドを起源に設計されています。pHY300PLKプラスミドの制限酵素切断地図が9ページの図5に記載されてございます。

9ページの第3の2の(1)と(2)は記載のとおりです。

(3)既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項についてですが、このpHY300PLKプラスミドは、プラスミド複製時にDNA鎖の二次構造形成を阻害する複製タンパク質Rep-α1遺伝子やアンピシリン耐性遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子を含みますが、これらの遺伝子により産生されるタンパク質はいずれも有害タンパク質であるという報告がないことから、当該プラスミドに有害塩基配列は含まれないと考えられると考察しています。

(4)薬剤耐性に関する事項について、当該プラスミドはアンピシリン耐性遺伝子とテトラサイクリン耐性遺伝子を持ち、*B. subtilis*中ではアンピシリン耐性遺伝子は発現しないとされているとのことです。

(5)、(6)は記載のとおりです。

続きまして10ページ、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を御覧ください。

1の(1)は記載のとおりです。

(2)安全性に関する事項です。*Paenibacillus stellifer*、*B. subtilis* ISW1214株、*Bacillus* 属のJAMB750株及び*Thalassomonas*属JAMB-A33株は、病原性や毒素産生能などのヒトに対する有害性は知られておりません。また、国立感染症研究所の病原体等安全管理規程のバイオセーフティレベル1に該当します。JAMB750株の16s rRNA遺伝子をblastnで検索すると、*Alkalihalobacillus alcalophilus*の遺伝子と相同性が最も高くなりましたが、この菌についても病原性や毒素産生能に関する報告はないことから、JAMB750株及びその近縁種は、ヒトへの危険性を有さないものと推測されたと考察しております。

続きまして、2の(1)挿入遺伝子の合成方法に関する事項です。シグナル配列及び目的のタンパク質を発現する*psbgl*遺伝子は、●●●し、既に審議を終了している品目の発現プラスミドの遺伝子と置換することで、*Paenibacillus stellifer*由来のβ-グルコシダーゼを発現するプラスミドを作成しています。

*trpS*遺伝子は宿主からPCR法によりクローニングされており、●●●の変異をPCR法により部位特異的に導入しております。

プロモーター配列及びシグナル配列は、JAMB750株のマンナナーゼ遺伝子上流に存在する領域を一部改変し、使用しております。

(2)は記載のとおりでございます。

11ページを御覧ください。

(3)挿入遺伝子の機能に関する事項は、これまで説明してきたことと重複するので割愛させていただきます。

本申請品目は加工助剤として使用される前提であり、最終的に一般食品への混入は極めて少ないと考えられるとしておりますが、そのアレルギー誘発性について検討してございます。

1) *Paenibacillus stellifer*について、アレルギー誘発性があることは知られていません。

2) 遺伝子産物であるβ-グルコシダーゼのアレルギー誘発性について文献検索を行った結果、草本花粉アレルギー特異的IgEと交差反応性を示すアレルギーとしてコムギ由来のβ-グルコシダーゼが同定されたとの報告が認められましたが、*Paenibacillus stellifer*等の微生物に由来するβ-グルコシダーゼについては、アレルギー誘発性を示唆する報告は見当たらなかったと考察されております。

続きまして、3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性です。こちらですが、12ページの図6が人工胃液試験、図7が人工腸液試験の結果になっております。どちらもレーンPがポジティブコントロールで、今回の申請品目のバンドになります。レーンPでは複数のバンドが確認できますが、申請者は●●●kDa付近がT2-PsBGL製品の有効成分であるβ-

グルコシダーゼのバンドであると説明をしております。

そのように判断した理由が本申請書の中にはありませんでしたので、事前に確認をさせていただきます。

机上配付資料1の3ページを御覧ください。

⑤のとおり、アミノ酸配列から算出された推定量から判断したという回答が返ってきてございます。

それでは、まず人工胃液試験の結果を御説明させていただきます。SDS-PAGE及びウェスタンブロットで分析を行っております。

12ページの図6を御覧ください。

左側のSDS-PAGEにおいては、消化処理5秒以内であるレーン2で遺伝子産物であるβ-グルコシダーゼのバンドが消失しております。

また、右側のウェスタンブロットにおいては、消化処理15秒間のレーン3で●●●kDa付近のβ-グルコシダーゼ由来のバンドが消失しております。

続いて、人工腸液試験の結果について図7を御覧ください。6時間まで処理したところ、●●●kDaのバンドはSDS-PAGE、ウェスタンブロットともに消失しませんでした。

続きまして、13ページを御覧ください。

③加熱処理についてです。今回の申請品目の使用用途といたしまして想定しております糖化品の製造工程では、●●●においてpH4~6の条件で80~90℃で●●●の処理を行うということで、加熱処理条件を80℃でpH4及びpH6として活性を測定したところ、糖化製品製造時に想定される基質の非存在下においては、1時間の加熱処理により失活しました。また、基質の存在下においては、加熱処理時間に従い活性の低下が認められ、pH4.0では6時間、pH6.0では12時間の加熱処理により失活したということが確認できたとしております。

続いて、4) 既知のアレルゲンとの構造相同性ですが、アレルゲンオンラインデータベースを用いた80アミノ酸残基ごとの既知のアレルゲンとの相同性検索において、同一性が35%より大きい80アミノ酸残基セットは認められなかったこと、8アミノ酸残基ごとの一致検索を行った結果、既知アレルゲンと一致する領域は認められなかったことから総合的に判断し、アレルギー誘発性は極めて低いと判断されると考察しております。

続きまして、第4の3、14ページの第4の4、第4の5の(1)は記載のとおりでございます。

15ページを御覧ください。

(2) 目的外のORFの有無の確認でございます。発現プラスミド上の90塩基以上で構成されるORF検索を行った結果、135個のORFが認められ、このうち、プラスミド由来のORFが70個、挿入DNA領域を含むORFが65個ありました。プラスミド由来の70個のORFがコードするタンパク質については、発現プラスミドのもととなっているpHY300PLKプラスミドが相補配列を含めて有害性の報告がないことから、当該ORFが有害タンパク質を産生する可能性は低いと推察されるとしております。

一方、挿入DNA領域を含む65個のORFについては、これらがコードするアミノ酸配列について、相同性検索及びアレルギー誘発性について調査しております。NCBIのblastpによる相同性検索を行った結果、25個のORFがコードする推定アミノ酸配列について相同性を有する配列が認められたものの、その中に毒性タンパク質は含まれていませんでした。

続いて、アレルゲンオンラインデータベースを用いてアレルギー誘発性の調査を行った結果、80アミノ酸残基ごとの相同性検索にて同一性が35%を超えるアミノ酸配列は認められませんでした。8アミノ酸残基ごとの一致検索においては*Bacillus licheniformis*由来のサブチリシンと一致するORFが検出されました。当該ORFは発現プラスミド上の*psbgl*遺伝子に由来するものでした。当該既知アレルゲンのエピトープ部位についてアレルゲンデータベース検索をした結果、ここで検出されたORFがコードするアミノ酸配列との重複は認められませんでした。また、当該既知のアレルゲンは吸入性のアレルゲンであり、食物性アレルゲンではないことから、発現ベクター上に存在する目的以外のタンパク質を発現する可能性のあるORFについて、毒性及びアレルギー誘発性を有するタンパク質が産生されることは考えにくいと考察しております。

続きまして、16ページの(3)を御覧ください。意図する挿入領域は、発現プラスミドの全塩基配列であり、宿主においてプラスミドの状態で保持されています。

(4)は記載のとおりです。

続いて、6.DNAの宿主への導入方法です。発現プラスミドの導入はプロトプラスト法により行い、テトラサイクリン耐性かつカナマイシン感受性となった形質転換体を選抜しています。

4の7は記載のとおりです。

続きまして、17ページを御覧ください。

第5、組換え体に関する事項です。

1.宿主との差異は、ゲノム上の*trpS*遺伝子及び*spoIIAC*遺伝子が欠失されるとともに、発現プラスミドpHYT2PsBGが導入されており、この発現プラスミドの導入により、β-グルコシダーゼ生産能及びテトラサイクリン耐性を獲得している点でございます。

2の(1)は記載のとおりです。

(2)ORFの有無並びに転写及び発現の可能性についてですが、発現プラスミド上には90塩基以上で構成されるORFが135個存在し、これらの中で宿主により転写及び翻訳される可能性が高いORFは、宿主内で働くプロモーターの下流に位置する複製タンパク質Rep-α1遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子、*psbgl*遺伝子及び*trpS*遺伝子であるとしています。

続いて、第6でございます。こちらは記載のとおりでございます。

続きまして、第7の1でございます。申請品目であるβ-グルコシダーゼ製品は、諸外国において販売、使用された実績はございません。

続いて、第7の2.組換え体の残存でございますが、製品の製造では、●●●を実施することから、組換え体の残存はないと考えられるとしており、組換え体の残存確認試験をプレ

ート培養法により実施し、製品中に組換え体が認められなかったことを確認しております。

3.非有効成分の安全性に関する事項ですが、培地用原料は従来の食品添加物の製造に用いられてきた原料であり、宿主の合いISW1214株も有害生理活性物質を生産するという報告はないこと、今回の遺伝子組換え操作によって組換え体が有害生理活性物質を生産することは考え難いことから、製造に由来する非有効成分に安全性の問題はないと考えられると考察しております。

18ページを御覧ください。

4でございます。こちらの「また」で始まる第2パラグラフですが、本申請品目の酵素製剤サンプルをSDS-PAGEで解析した結果、酵素製剤サンプルにおけるβ-グルコシダーゼの純度は●●●%であると見積もっております。

7の5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たと申請者のほうでは考察しております。

申請資料の説明は以上になります。

○○○ ありがとうございます。

それでは、申請資料の審議に入りたいと思います。

まず第1から第3、申請書の1ページから10ページにつきまして、御意見、御質問がありましたらよろしく申し上げます。

どうぞ。

○○○ 事務局から失礼いたします。

今回、事前に座長と相談いたしまして、専門参考人として○○○に来ていただくというお話をしていたのですが、今回、○○○は御都合が悪くて専門参考人として参加することができませんでした。そこで、○○○から文章で事前に確認したい事項等をいただいておりますので、事務局から説明をさせていただきたいと思います。

申請要旨の5ページ目を御覧ください。

5ページ目のプロトコルのところでございます。こちらの図3のプロトコルですけれども、上から4行目のところに「●●●」と記載がございます。こちらの記載につきまして、どのような●●●を用いて●●●したのか説明をしてほしいという御意見をいただいております。*Bacillus*などでは、一般的な●●●としては●●●が有名だということで、この実験ではどのような遺伝子を用いているのかを確認したいということでございました。

以上です。

○○○ その点については実際に申請者に確認したいと思います。

それから、今回、比較対象がきちんと書かれていないということになっております。比較対象は遺伝子組換え添加物の審査に当たって必ず求めることになっておりますので、この点について事前に確認したのですけれども、申請者からはこれ以上の情報はありませぬというような感じの回答になっておりますが、一応この点については比較対象をきちんと

設定してもらおうということを申請者に直接もう一度お願いしたいと思っております。

それから、要旨1ページの第1の4ですけれども、こちらはTOSでやってもらわなければいけなくなりそうなので、これも新しい指針なのでということをお願いしたいと思っております。

皆様からは何かありますでしょうか。よろしいですか。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 この申請書を読んだときに、過去に似たような申請があるのかなと思って探してみたところ、過去にもβ-グルコシダーゼの申請が同じ会社から出されていて、そのときの宿主のスタートもISW1214で、そのときは中性プロテアーゼ遺伝子とかアルカリプロテアーゼ遺伝子を欠損させた株で申請がなされていたのですけれども、今回は特に中性プロテアーゼとかアルカリプロテアーゼを欠損させないような方法で製造するという事になっているようなのですが、この点について、どうして今回プロテアーゼ欠損株を使わないのかというところを聞けたらなと思っております。

以上です。

〇〇〇 では、その点については〇〇〇から直接お聞きください。

事務局にお聞きしたいのですけれども、今、〇〇〇がおっしゃった、似たような申請というのは以前にあったのでしょうか。

〇〇〇 同じ申請者から申請しているものはございます。やり方も似たようなものはあるのですが、それはβ-グルコシダーゼではなくてシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼのことではないかと思われま。

〇〇〇 ということなので、同じ菌株というか同じ宿主でやられているものだと思いますけれども、その点については後で〇〇〇のほうから。

〇〇〇 私が見つけたのだとネットで見つかるのですけれども、これはそうなのかな。令和6年は今年か。すみません。間違えたかもしれません。どこかで見つけたのですけれども、すぐには見つからないので、伺うだけ伺ってみます。

〇〇〇 ありがとうございます。

恐らく2022年に*B. subtilis*のNTI05株を用いて製造しておりますシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼが似ているのではないかなと思います。

〇〇〇 そのほかありますでしょうか。

私のほうからは、この生産菌の作成に当たって欠失を何か所かやっているのですけれども、欠失に用いたDNA断片とかコンストラクトが残っていないかどうかというのは事前に聞いたのですが、欠失は確認したという回答だったので、私の意図はゲノム上にほかに散らばって残っていないかということをお聞きしたかったので、その点については後ほど申請者に直接聞いてみようかと思っております。

そのほか、先生方で1から10ページぐらいまでの間でお聞きしたいことがありましたらお願いいたします。

どうぞ。

〇〇〇 すみません。〇〇〇からの御意見が10ページでもう一点ございました。

10ページ目を御覧ください。

2の挿入DNAまたは遺伝子のところでございます。シグナル配列という記載が何度か出てきます。このシグナル配列は分泌シグナル配列のことと思われませんが、この記述では発現プラスミドpHYT2G由来なのか、JAMB750株由来のマンナナーゼ遺伝子上流に由来するのかが分かりにくくなっているため、きちんと整理した記載にしてほしいというところでございます。

〇〇〇 それも後ほど申請者に確認したいと思います。

それでは、続きまして第4です。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、10ページから16ページについて御意見がありましたらお願いいたします。

お願いします。

〇〇〇 11ページなのですけれども、先ほどの質問事項への回答の中で、PsBGLのアミノ酸配列で分子量●●●kDaで消失したとあるのですが、これは抗体を使っていると思いますので、これはペプチド抗体を作っているということが書かれていますので、その旨の説明が必要になってくるかと思えます。

それから、もう一点、12ページ目でやっている人工胃液の試験ですが、完全長が30秒以内に無くなるのは分かるのですけれども、低分子のほうではどこまで分子量の低いところを見ているのか、それを知りたいと思いました。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。では、その点については〇〇〇のほうから後ほど直接お聞きいただくということでお願いいたします。

ここは〇〇〇からもありますよね。14ページとか。

〇〇〇 14ページで〇〇〇から御意見をいただいております。申し訳ありません。

14ページの3行目を御覧ください。*Bacillus*属細菌はシグナル配列が長めで、30アミノ酸前後の場合が多いということでございます。ただ、この3行目には「PsBGL用シグナル配列は、N末端側から」という記載があって、●●●アミノ酸をコードしているという記載になっております。一般に分泌シグナル配列として機能する長さを下回っているように思うということで、この点について間違いがないか申請者に確認をしてほしいというところでございました。

〇〇〇 その点については後ほど確認したいと思います。

ほかにもございますでしょうか。

私のほうからですけれども、SDS-PAGEのところではバンドが複数出てくるので、ウェスタンのところですね。高分子量と低分子量と出てきますので、それについて何か情報を持っていないかというのはお聞きしたいと思っております。

ほかはよろしいでしょうか。また後ほどでも構いませんので、それでは、先に進みたい

と思います。

それでは、申請書の17ページから19ページ、最後までですけれども、組換え体に関する事項等について御意見がありましたらお願いいたします。

〇〇〇からございますよね。

〇〇〇 こちらも〇〇〇から御意見が出されております。

18ページでございます。PsBGL製品時の各工程サンプルの解析では、PsBGLの純度が●●●%と見積もられておりますが、工業製品としては純度が低めだということでございます。市販品もこの純度であるのか申請者に確認してほしいという御意見でございます。

〇〇〇 それについては後で確認したいと思います。

そのほか、皆様からございますでしょうか。

〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 よろしく申し上げます。

さっきのところなのですけれども、ちょっと前になってしまうのですが、10ページのところなのです。菌株のことなのですけれども、常識がなくて申し訳ありません。第4の(2)の安全性に関する事項の5行目ぐらいなのですけれども、*Bacillus*の16s rRNA遺伝子をblastnで検索すると、別の菌と相同性が最も高かった。98.94%。それで、その菌は問題ないからということなのですけれども、菌が入れ替わってしまっているのですか。これはどういうふうにと考えたらよろしいのでしょうか。

〇〇〇 一般的な話しかできませんけれども、*Bacillus*はすごく分類が密でして、16s、かなり近い関係でも別種になっているケースが多くて、あと、名前が結構頻繁に変わるので。多分*Alkalihalobacillus*も*Bacillus*の名前で言っていたと思うのですけれども、伊藤先生、この辺り、何か情報をお持ちでしたら申し上げます。

〇〇〇 *Bacillus*は今再分類が始まっていて、*Bacillus alcalophilus*は*Alkalihalobacillus*になったり、ハロアルカリという属もできたり、今、非常に分かれているところで、98%よりも低ければもっと違うものと見ることはできると思うのですけれども、98.94%ですから、そういうのが引っかかってきたと言っても別におかしくないのかなと私は思っています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。問題なければ。

〇〇〇 そのほかございますでしょうか。

要旨15ページのORF検索のところなのですけれども、表裏6通りとは書かれていないようですが、検索条件は満たされていますか。

〇〇〇 要旨中には書かれていないのですが、添付資料で表裏6通りでやっていることが確認できているものです。

〇〇〇 記載は足してもらったほうがいいですね。

あと、私からですけれども、実はこの酵素は●●●というふうになっておりまして、一

体何ができるのですかというのを事前にお聞きした点がございます。

それは机上配付資料ということで、その回答によりますと、●●●になりますという形で回答が来ておりまして、●●●ということにして、これは多分マスキングしたいのでしようけれども、申請書に入れるべきなのかどうかというところがあるかなとは感じております。

それから、実は●●●摂取量の計算が甘味料で書かれているので、摂取量の計算もそれでいいのかなと思っているところがありまして、申請者に聞いてみたいなと思っております。

先生方、ほかにありますでしょうか。

なければ申請者をお呼びしてお聞きしたいと思しますので、5分ほど休憩いただいて、11時から再開ということをお願いいたします。

(休 憩)

〇〇〇 それでは、ただいまから申請者への質問事項について質疑応答に入りたいと思います。

説明者の方、自己紹介をお願いします、会社名と名前ぐらいで結構です。

〇〇〇 日本食品化工株式会社の〇〇〇と申します。よろしくお願いします。

〇〇〇 同じく日本食品化工の〇〇〇と申します。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 それでは、質疑応答に入りたいと思います。

今回、質問等が多いのですけれども、まず要旨1ページ目の第1の1ですが、ここは公定書の内容が書かれておりますけれども、一応組換え添加物の審議においては指針で従来の添加物というのを必ず置いてもらうということになっておりますので、公定書そのままでは困るということで、なかなか情報が取れないというお話も伺ってはおりますけれども、何とか置いていただくということをお願いしたいのですけれども、どうでしょうか。

〇〇〇 これは、置いた場合にどれぐらいの情報感が記載されると十分という判断がされるのでしょうか。比率とか、至適パラメーターであるとか。

〇〇〇 一般的には何から取られてきたかとか、それから、至適pHとか至適温度、分子量といったものを並べていただいて、それに対して同じ、いわゆる比較対象となり得るというのを示していただくということになるかと思えます。

〇〇〇 これは、要は今回の申請は既に弊社で使っているβ-グルコシダーゼ活性を持つ製剤があって、それと同様の用途で組換えを行いますよという立てつけで構成しているのですけれども、実際に弊社が使っているものとは違うものを引き合いに出してもこの1の1項については構わないという理解でよろしいでしょうか。情報を取れる既存添加物であれば、それを引っ張ってくれば十分だという理解で合っていますでしょうか。

〇〇〇 御社で使われている従来のβ-グルコシダーゼがありまして、その情報を出して

いただけるのであれば、その情報で結構だと思います。

〇〇〇 それを出せない場合はいずれでもいいということですか。現状では持つてくることは難しいので、今、こういう立てつけをある意味仕方なく取っているみたいな部分がありまして。

〇〇〇 もっとも、取りにくい場合は文献等からこういうグルコシダーゼとして使われているということが分かっているグルコシダーゼについて文献等からそれを抽出して従来品としていただくということもできると思います。

〇〇〇 承知しました。書き方については検討させていただきます。

〇〇〇 事務局から少し補足をさせていただきます。

ここの従来品の記載が、指針の第2章第2の5にございますように、従来品の添加物と今回組換え体から製造した添加物の比較のところにつながってきますので、そういった比較ができる情報が取れるものを置いていただきたいと思います。

〇〇〇 ということで、なるべく頑張って従来品の比較対象品を置いていただきたいと思います。

それから、起源の定義のところですが、ちょっと分かりにくいので、改訂するときに生産菌という形で書いていただくと助かります。

それから、次は要旨の1ページの第1の1の(4)です。摂取量のところですが、今年の夏から新しい指針になりまして、その指針に基づいて現在評価を行っておりまして、現在その指針の中でTOSでここのところは摂取量を計算してほしいということになっておりますので、大変申し訳ありませんが、それに従ってTOSで計算して記述を出していただくことはお願いしてよろしいでしょうか。

〇〇〇 こちらについても、1の1の(1)の起源のものを使った場合のことになりますでしょうか。それとも申請品目である組換え体の使用に基づいたTOSの算出ということになりますでしょうか。

〇〇〇 事務局から回答させていただきます。

今、新指針上では、まず今の添加物の推定摂取量と組換え体から用いた添加物の推定摂取量を両方記載していただくようになっております。もし従来品の添加物と使い方、摂取量が同じであれば、組換え体からの新しい添加物についても摂取量は従来品のものと同じであるという一言でいいのですが、もし違うのであれば両方書いていただく必要があるかと思っております。

〇〇〇 承知いたしました。

〇〇〇 それから、摂取量のところですが、今回、実際には●●●の製造に使っているのではないかとおもうのですが、●●●は私が調べたところだと●●●、甘味料として使っているという認識でよろしいのですか。

〇〇〇 ●●●というよりは、御認識のとおり、●●●ですので、●●●というよりはそこに●●●というか●●●という広い意味合いで取っていただければと思います。

〇〇〇 ●●●とは何ですか。

〇〇〇 使用例で言いますと、●●●などは相性がすごくよくて、例えば●●●すると、●●●したり、そういう効果を持っている製品になるのですけれども、●●●することによって、よりおいしさが増すというものです。

〇〇〇 分かりました。

では、一応砂糖・甘味料類の計算でよろしいということで、こちらとしては了解いたしました。

その近くの部分について、〇〇〇からたしか質問があったかと思います。〇〇〇、よろしいでしょうか。

〇〇〇 では、私のほうから質問させていただきたいのですけれども、以前、同様の枯草菌を使ってですかね。シクロデキストリンのグルカノトランスフェラーゼというのを申請されたことがあったと思うのですけれども、そのときの宿主は中性プロテアーゼ遺伝子やアルカリプロテアーゼ遺伝子を欠損させた株での生産だったと思うのですけれども、今回は欠損株ではないものを使われているのですけれども、今回は何で中性とアルカリのプロテアーゼを残した株を宿主として使っているのでしょうか。

〇〇〇 恐らく今おっしゃられているシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼについては2011年とか。

〇〇〇 12年とか13年ぐらいですね。

〇〇〇 昔のものだと思うのですけれども、その当時使っていたものとは全く別のもので作直したものになるのですけれども、生産の過程では特にプロテアーゼがあっても生産量とか生産効率に対して悪影響がなかったものですから、わざわざ欠失という操作を行っていないということになります。

〇〇〇 分かりました。ありがとうございます。

〇〇〇 続きまして、申請資料の4ページなののですけれども、ここで欠失操作をしていると思うのですが、欠失操作に●●●を使っていると思うのですけれども、この●●●が目的どおりに動いていればそれでいいのですけれども、基本的にバクテリアなのでその可能性が高いとは思いますが、それがゲノム上に残存していないということを確認してほしいということで事前に出したのですけれども、出てきた説明だと欠失は確認していますと。欠失はきちんと確認しているというのが回答ではあったのですが、●●●がゲノム上に残っていませんということについては確認されていますでしょうか。

〇〇〇 欠失しているので残っていないということなのですが、その確認はしていますという回答にはなるのですけれども、欠失しているイコール残存していないという意味合いになるのですが。

〇〇〇 ●●●の部分を確認するようなプライマーで例えばPCRして出てこないとか、そういうデータは取っていないということですか。

〇〇〇 少なくとも挿入に関しましてはシーケンスで読んでおりますので、少なくとも●

●●領域が変なものが抜けているというのは確認しています。

○○○ 分かりました。指摘事項として出すかどうかはこちらで検討して、また後ほど御連絡いたします。

それから、10ページですか。○○○から御質問があったと思います。

○○○ 11ページになるのですが、11ページの最後の行なのですが、PsBGLの分子量が●●●Daとあるのですが、これは抗体を使って確認しているということだと思のですが、机上配付の中で質問に答えた中では、アミノ酸配列から算出したとあるのですが、これは抗体から確認したということかと思しますので、ここのところに抗体の情報というのを入れてほしいと思いました。

○○○ 抗体の情報というのは、どういうものをイメージされているか具体的にお聞きしてもよろしいでしょうか。

○○○ 11ページの人工胃液による処理というところの中でウェスタンでも調べたとあるのですが、そこにどういう抗体で調べたというところを入れてもらって、そして、●●●Daというのは抗体でバンドを検出したということが分かるように。

○○○ 例えばこの試験は実際の酵素配列の一部分のペプチドを認識にするような抗体を作って、それで認識させているのですが、要はこういうペプチドを抗体に使用したとか、そういう話でいいということですか。

○○○ そうということです。抗体の説明を入れておいてもらえれば。

○○○ 承知しました。

○○○ それから、12ページの人工胃液でのSDS-PAGEなのですが、これですと、標準のタンパクが17kDaまでの検出になっているのですが、17kDaよりも小さい断片は確認したかどうかということだけお聞きしたいと思いました。

○○○ 試験としてはこれまでですので、この分子量、マーカーのスケール感で見ているという回答になります。

○○○ これよりゲル濃度を変えたということは特にやっていないと。

○○○ 特にはやっておりません。直近の弊社の品目も同じような泳動幅で見ているので、同じグレードとさせていただいたという形になります。

○○○ 分かりました。

○○○ 今のところですが、*Bacillus*属はシグナル配列数が長めで30アミノ酸前後が多いということなのですが、今回●●●アミノ酸でシグナル配列になっているということで、ここは本当に●●●アミノ酸配列で大丈夫ですかという質問が来ているのですが、その点についてはいかがでしょうか。

○○○ 少なくとも記載上は記載どおりの設計になっておりますので、●●●アミノ酸の配列として設計して、そのまま配列として出しておりますという回答になるのですが。

○○○ 今回、アミノ酸配列とかシグナル配列がどこで、アミノ酸配列が全体としてどうなっているかという図がなく、それで実際に●●●kDaになるのかとか、それが分かり

にくくなっていますので、そういった情報を図にして少し説明を足していただくことをお願いしたいのですけれども、よろしいでしょうか。

〇〇〇 承知しました。

〇〇〇 それから、ウェスタンのところで行きますと、今回ペプチド抗体を使われているということで、結構認識する部分は狭めではないかなと思うのですけれども、12ページのウェスタンの図を見ると、●●●kDaちょい超えたぐらいと●●●kDaぐらいのところですかね。バンドが2つ見えるのですけれども、これについて情報をお持ちでしょうか。

〇〇〇 結合して出てきてしまっているものかなというような回答にはなってしまいますけれども、少なくともアミノ酸配列から計算したものとして捉えているのはこの●●●kDa付近のものであるという意味合いで矢印を引いていますという回答になります。

〇〇〇 ということは、特別確認はしていないということですね。

〇〇〇 いずれにせよ消化されているので、確認はしていないというのが正直な回答になります。

〇〇〇 分かりました。

それから、最後の純度のところですが、今回申請書の18ページのところに純度が●●●%という形で書かれていますが、ちょっと低めではないかなと思うのですけれども、実際にこの純度で製品として使っていくということでもよろしいでしょうか。

〇〇〇 今、申請に使っているものは、申請資料にも記載しているのですけれども、あくまでもラボスケールで調整したものでして、精製操作というのも実際に例えばタグ精製などして純度の数字を上げていくような操作をしているわけではなくて、あくまでも性状をきれいにするような精製操作になっていますので、実機に持っていたときにはこの●●●とはまた違う純度になる可能性はあるかなと思います。

〇〇〇 あと、このグルコシダーゼですが、目的からすると、●●●。

〇〇〇 それは●●●という質問ですか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 ●●●。

〇〇〇 ●●●ということですか。

〇〇〇 そうです。●●●になります。

〇〇〇 承知しました。

あと、申請書の5ページのところに●●●と書かれておりますけれども、どのような●●●を用いて●●●するように構築したのか、説明が欲しいということです。その点についてはいかがでしょうか。

〇〇〇 後日回答ということでもよろしいでしょうか。

〇〇〇 分かりました。では、その点は後日回答でお願いいたします。

それから、こちらにも記載整備なので、次に出されるときに記載整備していただければよろしいかと思っておりますけれども、申請書の10ページの2.挿入DNAまたは遺伝子のところでは

が、シグナル配列というところですが、このシグナル配列の記述が発現プラスミドのpHYT2G由来なのか、JAMB7502株由来のマンナナーゼ遺伝子上流に由来するのか、由来が分かりにくいということなので、こちら記載整備をよろしくお願いいたします。

〇〇〇 承知しました。

〇〇〇 そのほか、先生方で追加の質問とかはありますでしょうか。

事務局からも大丈夫ですか。

それでは、質問は全部出たようですので、質疑に戻りますので、申請者のほうは御退室をお願いいたします。

(申請者退室)

〇〇〇 それでは、審議に戻りたいと思います。

幾つか回答し切れていないところがございますので、今回、評価書まで行くということはないかと思っておりますけれども、まず〇〇〇、低分子量のところは見切れていないということなのですが。

〇〇〇 加工助剤ということでもありますので、仕方がないかと思っております。

〇〇〇 ここは技術的文書にも関わるかなと思うのですが、●●●ということ、●●●ということですので、その点を加味すると、低分子量は見られていなくても仕方ないかなと感じておりますけれども、よろしいでしょうか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 それから、純度が低いのと余分なバンドが2本出ていますけれども、余分なバンドについては何も検討していないということでしたが、一応ペプシンできれいに切れて、タンパク質が残らないものを作っているということですので、仕方がないかなとは思っております。

この点について、委員の先生方から何か追加でコメントがありましたらお願いいたします。

あと、大体は決めたかと思っておりますけれども、よろしいでしょうか。

純度については、この純度でよく製品として使うなと思うことは思うのですが、ペプシンできれいに切れていますし、それから、●●●ということですので、これで仕方がないかなと思っております。

〇〇〇 ●●●が残っているのかという質問に対して、きちんと答えられていなかったように思いました。

〇〇〇 そうですね。ここはどうしますか。PCRぐらいは求めたほうがいいですか。

〇〇〇、どうお考えになりますでしょうか。バクテリアのほうで大体ちゃんと正確にくもものですということであれば、求めなくてもいいのかなとも思いますが。

〇〇〇 基本的に確認されていると思うので、データは持っているはず。多分PCRか何かで確認しているのだと思うのですよね。普通だったらそういうことでやらないと。PCRでやる場合もあるかもしれないですが、データは持っていらっしゃるのではないかな

と思うのですが、もし持っていないようだったら確認のためにやってくださいというのは、そんなに難しい実験ではないので、やっていただいてもいいのかなと思います。

〇〇〇 もし確認されていないようであれば、これはPCRでチェックするぐらいはすごく簡単な実験ですので、一応残っていないというのを確認してもらうようにしましょう。どうせもう一回審査するということになるかと思いますが。

〇〇〇 事務局からすみません。

先ほどの純度のところにも関係するのですが、指針上、製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項を確認することになっております。今回は使っている培地が食品で使っているものですよとか、あと、宿主が安全ですよという説明になっているのですが、通常、よくこれまでの申請では添加物公定書で示されている例えば鉛とかヒ素とかそういう物質についてぐらいは検査したデータを確認していたのですが、今回そういったものがないのですが、これは大丈夫でしょうか。追加で求めたほうがよろしいでしょうか。

〇〇〇 前回のグルカノトランスフェラーゼはどうだったのでしょうか。

〇〇〇 前回のグルカノトランスフェラーゼの際は、このときも培地原料の話と宿主の話だけです。今回とほぼ同じ記載でした。ただ、前回のグルカノトランスフェラーゼは純度が●●●%ということで、そこが少し違うかなと思います。

〇〇〇 そこは正直今結論を出しにくいのですが、技術的文書の書き方にもよるかと思うので、今回はそれであれば、取りあえず今はこのままの形ということにしておきましょう。

〇〇〇 了解しました。

〇〇〇 そのほかよろしいでしょうか。

そういうことで、今回は全部質問等に答えられておりませんので、指摘事項を取りまとめて申請者に指摘したいと思います。

ということで、この形でグルコシダーゼは一旦終了ということにしたいと思います。

続きまして、それでは、継続品目である「JPA010株を利用して生産されたポリフェノールオキシダーゼ」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。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、お手元にJPAo010株を利用して生産されたポリフェノールオキシダーゼの回答書と安全性審査資料を御準備ください。

まず、当該品目は令和4年10月に開催された第229回の当専門調査会で一度御審議いただき、指摘事項をいただいたものでございます。

まず、申請品目の概要を御説明いたします。

安全性審査資料の3ページ目を御覧ください。よろしいでしょうか。

24行目、宿主は*Aspergillus oryzae* IFO4177株です。

17ページ目まで進んでいただきまして、17ページ目を御覧ください。

9行目からの記載ですが、この宿主に *Thermothelomyces thermophilus* CBS117.65株由来のポリフェノールオキシダーゼlacMTをコードするlacMT遺伝子と、選択マーカー遺伝子として、宿主と同じIFO4177株由来の *pyrG* 遺伝子と *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae* CBS 1171T株由来の *LEU2* 遺伝子等を導入して作って作出したものでございます。

18ページを御覧ください。

10行目の中ほどからの記載ですが、今回の申請品目であるlacMTは、ポリフェノールオキシダーゼのうち、ラッカーゼでございます。このラッカーゼは酸素を水に還元し、フェノール類をキノン体に酸化する反応を触媒する構造でございます。ポリフェノールなどのキノン体は反応性が高く、硫黄化合物などを含む臭気成分と反応して、消臭効果を発揮いたします。

今回の申請品目も植物抽出物とともに菓子等に配合し、植物抽出物中のフェノール類の酸化により生じたキノン体が口の中の臭気成分と反応することで消臭効果を発揮することを目的に、酵素活性を保持した状態でガム等の菓子類に添加されております。

20ページを御覧ください。

酵素活性を保持した状態で摂取するという点で、人工胃腸液試験に対する感受性も説明しておきたいと思っております。

図7を御覧ください。図7のとおり、lacMTは人工胃液で反応開始30秒以内に消化されますが、21ページの図8のとおり、人工腸液では6時間処理でも消化されないということが示されているものでございます。

それでは、前回の審議で出された指摘事項に対する申請者からの回答について、順番に説明をさせていただきたいと思っております。回答書をお手元に御準備ください。

まず、回答書の1ページ目を御覧ください。

指摘事項の1でございます。前回の専門調査会の審議では、当該ポリフェノールオキシダーゼが活性を有した状態で摂取されるということが議論になりました。当該ポリフェノールオキシダーゼは腸液では難分解性だということもあり、どの程度摂取されるのかということで、lacMTの摂取量について、既存のラッカーゼが置き換わること、あと、想定される需要及び摂取量の変化等を踏まえて、最大摂取量を推定することという指摘でございます。

回答の30行目を御覧ください。現在、日本では既存添加物であるペルオキシダーゼ及びポリフェノールオキシダーゼがlacMTで予定されている目的と同様の目的で一部のガム製品に添加されているということでございます。当該品目で摂取される可能性としては、(i)の既存製品の有効成分の置き換え、そして、(ii)の当該効果が用いられていない製品への応用が拡大する可能性が考えられるとしてございます。

前回の専門調査会に提出された資料では、この(i)と(ii)の可能性について将来的に摂取される可能性のある食品を網羅するために、現時点での用途よりも過大な算出をし

ていたということで、摂取量推計をやり直しております。

2ページ目を御覧ください。

厚生労働省の国民健康・栄養調査の報告等に基づきまして、現実的に添加される可能性がある食品として錠菓とガムに絞って再検討した結果、体重1kg当たりの最大摂取量を0.515 μ g TOS/kg体重/日と算出しております。

また、既にlacMT製品が添加された最終製品が上市されている米国などでは、最終食品の1日当たりの摂取目安量を●●●錠としており、1錠当たりlacMTの含有量から計算いたしますと、体重1kg当たりの最大摂取量は45.4 μ g TOS/kg体重/日となるという報告でございます。

これらの算出値は、個人差による摂取量の変動を考慮したとしてもばく露マージンが十分に大きいことから、lacMTの摂取による健康への懸念は低いと考えると申請者は考察しております。

続きまして、4ページを御覧ください。

指摘事項2でございます。諸外国における認可、食用等に関する事項について、酵素活性を有した状態で菓子等へ展開されるlacMTについて、食経験があることを示す数値等を提出することという指摘でございます。

回答として、米国での最終製品の販売形態等を調べた結果、販売形態はタブレット食品で1錠●●●g中に●●●mgが添加されているということでございます。

販売量については、ノボザイムズ社から米国の食品製造者へのlacMT製品の販売量から算出しております。製品のパッケージ数にすると●●●パッケージが米国において販売されるとしております。

なお、現在までに酵素活性を有した状態で菓子等へ添加されているlacMTによる健康被害などは報告されていないということでございます。

続きまして、5ページの指摘事項3を御覧ください。前回の専門調査会の審議において、酵素活性を保持したままの形でそれなりの量を摂取した場合の健康影響についてやり取りがございました。申請者から、酵素原体は試験バッチ等で様々な毒性試験をやっていることと、どの程度まで安全なのかというところを付け足すようなデータを提出するといった話がございます。それを受けて、本品目の安全性の評価に資するデータが何かあれば提出してくださいという指摘を出しているものでございます。

この指摘を受けまして、申請者から、①として微生物を用いる復帰突然変異試験、②ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験、③ラットを用いた13週間反復投与毒性試験のレポートが提出されております。

回答の13行目からの記載ですが、これらの試験に供試されたサンプルは今回のJPAo010株ではありませんが、JPAo010株と同じ宿主である*A. oryzae*にlacMTと同じアミノ酸配列を有するポリフェノールオキシダーゼを発現する遺伝子を導入した遺伝子組換え菌株から得られたサンプルだということでございます。

20行目を御覧ください。OECDガイドラインに従い、微生物を用いる復帰突然変異試験を実施した結果、変異原性を有しないと結論したとしております。

続いて23行目からですが、こちらもOECDガイドラインに従い、ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験を実施した結果、染色体異常誘発性を示唆する結果は得られなかったとしております。

続きまして27行目からですが、こちらもOECDガイドラインに従い、ラットを用いる13週間反復投与毒性試験を実施した結果、lacMTの投与に関連する毒性所見は認められないことから、本試験のNOAELは最大投与量の●●● TOS/kg体重/日であるとしております。

6ページ目を御覧ください。

先ほど説明した内容は、申請要旨の第8の第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の項目に、第2から第7までの事項で安全性の知見は得られているがという前提で、lacMTが酵素活性を有した状態で菓子類に添加されることから、参考情報として記載するという形で詳細が記載されております。

回答書の説明は以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

ただいまの指摘事項が3つございますけれども、この3つの指摘事項を出されたのは〇〇〇〇ということで、〇〇〇からコメントをいただいているかと思しますので、事務局からお願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇からは、今回いただいたこの回答の内容について、特段これで問題がないという回答をいただいております。

一部、要旨に事実誤認がございましたので、その修正も併せて意見としていただいております。要旨は修正されております。

以上です。

〇〇〇 今回、珍しく活性のあるものをそのまま食べるというタイプの酵素添加物ということで、その点について少し懸念があるということで指摘事項を出したということになっております。それに対して、結果としては動物試験の結果を参考資料として出されてきたということになっております。

全体としては私もこれでよろしいかなと思うのですが、委員の先生方で何かコメントや質問がありましたらお願いいたします。

よろしいでしょうか。

特にコメントや質問がないようであれば、皆様、これで安全性評価は終了することですのでよろしいかどうか、意思表示をいただきたいと思います。よろしいでしょうか。

(首肯する専門委員あり)

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、本件については特に安全性上問題がないということですので、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。

〇〇〇 ありがとうございます。

評価書案について御説明させていただきます。右上に「資料」と記載した評価書案を束ねた冊子をお手元に御準備ください。

17ページ目からが本ポリフェノールオキシダーゼの評価書案になります。

22ページ目を御覧ください。

I. 評価対象添加物の概要です。本添加物は *Aspergillus oryzae* IFO4177株を宿主として、*Thermothelomyces thermophilus* CBS 117.65株に由来するポリフェノールオキシダーゼ遺伝子を導入して作成したJPAo010株を利用して生産されたポリフェノールオキシダーゼです。ポリフェノールオキシダーゼは、ポリフェノールの水酸基を酸化する酵素の総称であり、本添加物はポリフェノールオキシダーゼのうち、フェノール類をキノン体へ酸化するラッカーゼです。本添加物は、キノン体が硫黄化合物等を含む臭気成分と反応することにより、口内の消臭効果を付与する目的でガム等の菓子類に添加されます。

続いて、II. 食品健康影響評価です。

第1の1 (1) 比較対象として用いる従来の添加物は *Trametes versicolor*で産生したポリフェノールオキシダーゼ（ラッカーゼ）です。

(2) 製造方法は、培養、抽出、除菌及び精製などの工程を経て製造されます。

(3) 用途及び使用形態です。ポリフェノールオキシダーゼは、ポリフェノールの水酸基を酸化させる酵素です。ポリフェノールオキシダーゼのうち、ラッカーゼは酸素を水に還元し、フェノール類をキノン体に酸化する反応を触媒する銅含有酵素です。キノン体は電子受容性が高く、硫黄化合物などを含む臭気成分と反応し、消臭効果を発揮することが知られています。

ポリフェノールオキシダーゼは、植物抽出物とともに菓子類に配合し、植物抽出物中のフェノール類の酸化により生じたキノン体が口内の臭気成分と反応することで消臭効果を発揮することを目的に、活性を有した状態でガム等の菓子類に添加されています。

海外では、ビール製造におけるオフフレーバー及びワイン製造におけるコルク臭を防ぐこと、果実・果汁飲料の保管におけるおり及び沈殿を抑制すること及び茶飲料の着色を向上させること等を目的に使用されています。

23ページの86行目から (4) 摂取量です。摂取量は、ポリフェノールオキシダーゼ製品が全ての錠菓、板ガム、糖衣ガム及び風船ガムの製造に使用されると仮定した場合、最終食品における含有率を加味すると、最大一日摂取量が0.515 μ g TOS/kg体重/日です。

94行目から2の (1) 宿主は *A. oryzae* IFO4177株です。

(2) *A. oryzae*は、食品用酵素の生産菌として長年にわたり安全に使用されています。

(3) *A. oryzae*によるアフラトキシンの産生は確認されていませんが、シクロピアゾン酸、コウジ酸及び β -ニトロプロピオン酸を産生する株も報告されています。

*A. oryzae*は、みそ、醤油、醸造酒等の製造に長年にわたり安全に使用されてきた経緯があり、適切な環境で扱われている限り、アレルギー誘発性の可能性は低いと考えられます。なお、*A. oryzae*由来の酵素のうち、Asp o 13及びAsp o 21がアレルギーとしてデータベースに登録されていますが、これらは吸入性アレルギーとして整理されています。

(4) から (6) は記載のとおりです。

24ページ、130行目から3.挿入DNAに関する事項です。

(1) *lacMT*遺伝子の供与体は、*T. thermophilus* CBS 117.65株、*pyrG*遺伝子及び*LEU2*遺伝子の供与体はそれぞれ*A. oryzae* IFO4177株と*S. cerevisiae* CBS1171T株です。

(2) *lacMT*遺伝子はポリフェノールオキシダーゼをコードします。*pyrG*遺伝子はオロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼを、*LEU2*遺伝子はロイシン合成酵素をコードし、いずれも選択マーカーとして用いています。

*lacMT*遺伝子、*pyrG*遺伝子及び*LEU2*遺伝子の遺伝子発現カセットを含む遺伝子導入用ベクターpJPV047全体を部位特異的相同組換えにより標的となる宿主の特定の遺伝子座へ導入しています。

4.遺伝子組換え添加物の性質、用途等に関する事項です。

(1) 製品名は*lacMT*製品、有効成分はポリフェノールオキシダーゼ(ラッカーゼ、*lacMT*)です。

(2) は記載のとおりです。

25ページ、153行目から (3) 用途、使用形態です。*lacMT*製品は従来のポリフェノールオキシダーゼ(ラッカーゼ)と同様で、植物抽出物とともに菓子類に配合し、植物抽出物中のフェノール類の酸化により生じたキノン体が口内の臭気成分と反応することで消臭効果を発揮することを目的に、活性を有した状態でガム等の菓子に添加されます。

(4) 推定摂取量ですが、従来のポリフェノールオキシダーゼ製品が全て本申請添加物を用いた製品に置き換わったと仮定して、全ての錠菓、板ガム、糖衣ガム及び風船ガムの製造に使用され、最終製品中に100%残存した場合、最大一日摂取量は0.515µg TOS/kg体重/日になります。

また、米国などにおいて既に上市されている*lacMT*製品が添加された最終食品(錠菓)について、一日当たりの摂取目安、最終食品(錠菓)のポリフェノールオキシダーゼ含有量及び日本人の平均体重を加味した場合、体重1kg当たりの最大一日摂取量は45.4µg TOS/kg体重/日となっています。

(5) は記載のとおりです。

175行目から5.食品健康影響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遺伝子組換え体と宿主の相違点に関する事項です。

(1) *lacMT*と従来のポリフェノールオキシダーゼの相違点は、生産菌、アミノ酸残基数、至適温度及び至適pHです。

(2) JPAo010株と宿主との相違点は、JPAo010株には*lacMT*遺伝子が複数コピー導入さ

れポリフェノールオキシダーゼの高生産能を獲得している点、*pyrG*遺伝子及び*LEU2*遺伝子を導入している点です。

以上のことから、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をし、以下の事項について評価を行っています。

189行目から第2.遺伝子導入に用いる塩基配列に関する事項です。

191行目からの1と9ページの195行目からの2のベクターに関する事項は記載のとおりです。

26ページの212行目から3.挿入DNAの供与体に関する事項です。*lacMT*遺伝子の供与体である*T. thermophilus*は土壌や堆肥に生息する子嚢菌であり、この菌由来のラッカーゼは、食品、繊維及び紙・パルプ分野において産業利用の実績があります。海外では、ビール製造におけるオフフレーバー及びワイン製造におけるコルク臭を防ぐこと、果実・果汁飲料の保管におけるおり及び沈殿を抑制すること及び茶飲料の着色を向上させること等を目的に使用されます。

*pyrG*遺伝子の供与体である*A. oryzae*と*LEU2*遺伝子の供与体である*S. cerevisiae*は記載のとおりです。

226行目からの記載ですが、これらの菌は、いずれも国立感染症研究所の病原体等安全管理規程のバイオセーフティレベル2及び3に分類されておらず、*A. oryzae*と*S. cerevisiae*は病原体等のリスク群分類のリスク群1に分類されると考えられます。

27ページの4、5は記載のとおりです。

28ページ、273行目、6.ベクターへの挿入DNAの組込方法等に関する事項です。

(1)挿入DNAのクローニングまたは合成方法です。*lacMT*遺伝子は*T. thermophilus* CBS 117.65株のゲノムDNAを鋳型として、シグナル配列を含む*lacMT*をコードする配列をPCR法により増幅して得られました。

*pyrG*遺伝子は*A. oryzae* IFO4177株のゲノムDNAを鋳型として、*LEU2*遺伝子は*S. cerevisiae* CBS1171T株のゲノムDNAを鋳型として、PCR法により増幅して得られました。

(2)は記載のとおりです。

288行目からの7は記載のとおりになります。

302行目から第3.遺伝子組換え体に関する事項です。

1.宿主との差異は、JPAo010株は、pJPV047の挿入により*lacMT*遺伝子発現カセット、*pyrG*遺伝子発現カセット及び*LEU2*遺伝子発現カセットが多コピー導入されている点です。

2.遺伝子導入に関する事項の(1)*lacMT*遺伝子のコピー数及びpJPV047の挿入近傍配列を確認するため、ddPCR解析及びJPAo010株の全ゲノムシーケンス解析を行った結果、*lacMT*遺伝子が特定の遺伝子座に複数コピー導入されていると推定されました。

29ページの316行目から(2)ORFの有無に関する事項です。

318行目、まず①コンストラクトについてです。pJPV047全領域について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が合計213個検出されました。

aとして既知のアレルゲンとの構造相同性です。検出されたORFについて、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アミノ酸配列に対して35%以上の相同性を示すアレルゲンとして、*lacMT*をコードする塩基配列の一部で検出された5つのORFがウシ、コムギ、スズキ目アカメ科に属する魚の一種及びタイセイヨウサケ由来のアレルゲンと相同性を示しました。しかしながら、これらのORFは*lacMT*をコードする塩基配列の本来の読み枠ではありませんでした。さらに、既知のアレルゲンとの間に連続する8アミノ酸の一致はありませんでした。

また、連続する8アミノ酸配列が完全に一致する既知のアレルゲンとして、*lacMT*をコードする塩基配列の一部で検出された1個のORFが、*A. fumigatus*及びアスペルギルスフミガータス*A. fumigatus* var. RP-2014由来の既知のアレルゲンと相同性を示しましたが、当該ORFは*lacMT*をコードする塩基配列の本来の読み枠で検出されたORFではないことに加え、相同性を示した既知のアレルゲンは吸入をばく露経路とするアレルゲンであり、食物アレルゲンとして登録されていません。また、当該ORFと相同性を示した既知のアレルゲンは80アミノ酸残基で35%以上の条件では相同性を示していませんでした。さらに、アレルゲンデータベースによるエピトープ検索を行ったところ、一致するアレルゲンエピトープは認められませんでした。

以上のことから、これらのORFについて、食物アレルギー誘発性の懸念は小さいと考えられました。

30ページの354行目からb.既知の毒性タンパク質の構造相同性です。検出されたORFについて、NCBIデータベースを用いて*E*-valueが 1.0×10^{-5} 未満を指標として相同性検索を行った結果、1個のORFがデータベース中の既知のタンパク質と相同性を示しました。このタンパク質は、細胞分裂関連タンパク質であるDivICへの毒性を有する可能性があるタンパク質として登録されています。DivICは細菌などで増殖または芽胞の膜形成に必須のタンパク質であるとされますが、ヒトではなく、細菌中の細胞分裂関連タンパク質であることに加え、当該ORFとPotential toxin to DivICの配列間に複数のギャップが存在することが認められました。また、*lacMT*遺伝子の部分配列ではありますが、本来の*lacMT*遺伝子のORFとは逆方向の読み枠で検出されたORFであったため、当該ORFがPotential toxin to DivICのような毒性をヒトに対して有するとは考えにくく、実際に転写される可能性も低いと考えられました。

以上のことから、pJPV047にはアレルギー誘発性または毒性を有するタンパク質をコードするORFが含まれる可能性は低いと考えられたとしております。

375行目から②近傍配列との境界領域です。遺伝子導入された標的遺伝子座における挿入DNA並びに5'近傍配列及び3'近傍配列を含む領域について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

が合計71個検出されました。

382行目からa.既知のアレルゲンとの構造相同性です。31ページ目の冒頭から、検出されたORFについて、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、宿主ゲノムと挿入配列をまたぐORFと80アミノ酸残基で35%以上が一致するアレルゲンは検出されませんでした。また、連続する8アミノ酸配列が完全に一致する既知のアレルゲンは検出されませんでした。

391行目からb.既知の毒性タンパク質との構造相同性です。検出されたORFについて、NCBIデータベースを用いてE-valueを 1.0×10^{-5} 未満を指標として検索を行った結果、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は認められませんでした。

以上のことから、遺伝子導入によって新たに生じたORFが発現したとしても、本酵素製剤中に食物アレルギー誘発性または毒性を有するタンパク質が含まれる可能性は低いと考えられたとしております。

400行目から3.遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子の安全性に関する事項です。pJPV047には抗生物質耐性マーカー遺伝子が含まれていません。遺伝子欠失ベクターに用いられたアンピシリン耐性遺伝子がJPAo010株のゲノム上に残存していないことはシーケンス解析により確認をしています。

pJPV047には、ほかに遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子が複数含まれています。また、pJPV047全体が染色体に挿入されると、欠失していた宿主の標的遺伝子が完全長となり、選択マーカーとして機能します。ほかの選抜に利用された遺伝子も含め、これらは*A. oryzae*及び*S. cerevisiae*由来のものです。

410行目から4.遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する事項です。

(1) 導入遺伝子の供与体に関する知見です。*T. thermophilus*は、以前、*Myceliophthora thermophila*との名称で言われており、この両方に関してアレルギー誘発性で問題となった報告はありません。なお、これらのアレルギー誘発性の可能性について文献検索を行った結果、該当する文献は得られなかったことから、アレルギー誘発性を有するとは考えにくいとしております。

32ページ、*A. oryzae*と*S. cerevisiae*は記載のとおりです。

428行目から(2、遺伝子産物(タンパク質)について、そのアレルギー誘発性に関する知見です。lacMTを有効成分とする酵素製品について、アレルギー誘発性を示唆する報告はありません。また、*T. thermophilus*及び*M. thermophila*に加え、*T. versicolor*が有するラッカーゼの食物アレルギー誘発性の可能性を調べるために文献検索を行った結果、該当する文献は得られませんでした。したがって、lacMT遺伝子産物がアレルギー誘発性を有するとは考えにくいとしております。

オロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼ及びロイシン合成酵素については記載のとおりです。

451行目から(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事項です。①

lacMTについて、a.人工胃液に対する感受性です。lacMT製品を人工胃液で処理後、SDS-PAGE及びウェスタンブロットで分析した結果、反応開始後30秒以内に完全に消化されました。

33ページ、458行目からb.人工腸液に対する感受性です。lacMT製品を人工腸液で処理後、SDS-PAGE及びウェスタンブロットで分析した結果、6時間の処理では顕著に消化されませんでした。

463行目、c.加熱処理に対する感受性です。lacMTをpH6.0で各温度帯で30分処理した後、活性を測定した結果、lacMTは50℃を超える処理で残存活性が急激に低下し、70℃の処理でほぼ失活しました。

②オロチジン5'-リン酸カルボキシラーゼ、③ロイシン合成酵素は記載のとおりでございます。

481行目から（4）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事項です。lacMTのアレルギー誘発性の可能性を調べるために、アレルゲンデータベースを用いて既知のアレルゲンとの相同性について80アミノ酸残基で35%以上一致する条件において相同性検索を行った結果、一致する既知のアレルゲンは検出されませんでした。また、連続する8アミノ酸配列が完全に一致する条件において相同性検索を行った結果、lacMTと連続する8アミノ酸配列で完全に一致する既知のアレルゲンは検出されませんでした。

以上のことから、lacMT、オロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼ及びロイシン合成酵素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としております。

34ページの第4は記載のとおりでございます。

507行目から第5.遺伝子組換え添加物に関する事項です。

1.諸外国における認可、食用等に関する事項です。lacMT製品は、2000年代から欧米で食品用加工助剤として販売されています。米国において菓子類へ添加した製品が2020年に販売され、lacMTはGRASとして認証されており、これは酵素活性を有した状態で菓子類へ添加されていますが、lacMT製品による健康被害などは報告されていません。

518行目から2.遺伝子組換え体の残存に関する事項です。lacMT製品中に生産菌由来のDNAの残存がないことをPCR分析により確認しています。

3.製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項について、lacMTの製品化前の酵素サンプルは、食品衛生法に基づく成分規格（非有効成分）を満たしています。

4、5は記載のとおりです。

35ページの539行目から第6ですが、第1から第5までの事項により安全性の知見は得られているとしております。

また、543行目から参考として細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験、ラットを用いた13週間反復投与毒性試験を行った結果、いずれの試験においてもlacMTと同じアミノ酸配列を有するポリフェノールオキシダーゼに起因する異常は認められなかったことを記載してございます。

評価書の説明は以上になります。

〇〇〇 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、コメントを賜りたいと思います。

なお、細かい字句等の修正等については、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいただきたいと思います。

いかがでしょうか。

私から1か所、456行目なのですがすけれども、人工胃液に対する感受性のところで30秒以内に完全に消化されると書いているのですがすけれども、こちらは完全でいいのですね。失礼しました。私の間違いです。

ほかにございますでしょうか。

それでは、細かいところがありましたら、また後ほど事務局にお寄せいただきたいと思っています。もしありましたら私のほうで確認いたしまして、その後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に入りたいと思います。

以上をもちまして、JPAo010株ポリフェノールオキシダーゼの審議については終了したいと思います。

議題（2）の「その他」ですけれども、事務局から何かございますでしょうか。

〇〇〇 特にございません。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、本日の議題についてはこれで終了いたします。

多少時間を超過いたしましたけれども、皆様、御協力ありがとうございました。

以上をもちまして第255回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。

御退室をよろしく願いいたします。ありがとうございました。