

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第229回) 議事録

1. 日時 令和4年10月24日(月) 14:30~16:22

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

- ・JPAo009株を利用して生産されたグルコースオキシダーゼ
- ・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)

中島座長、小野道之専門委員、小野竜一専門委員、佐々木専門委員、
樋口専門委員、藤原専門委員、山川専門委員

(専門参考人)

児玉専門参考人、手島専門参考人

(食品安全委員会)

川西委員、脇委員

(事務局)

鋤柄事務局長、中事務局次長、前間評価第二課長、井上評価情報分析官、
松原課長補佐、奥藤評価専門官、山口係長、今村技術参与、松田技術参与

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

- ①JPAo009株を利用して生産されたグルコースオキシダーゼ
- ②JPAo010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

○中島座長 それでは、定刻になりましたので、ただいまから第229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「食品安全委員会の公開について」に基づきまして、非公開で行います。

本日、所用により、安達専門委員、岡田専門委員、近藤専門委員は御欠席でございます。

また、専門参考人として、千葉大学大学院園芸学研究院、児玉浩明教授、岡山理科大学獣医学部食品衛生講座、手島玲子教授に御出席いただいております。

本日、「テレビ会議又はWeb会議システムを利用した食品安全委員会等への出席について」に基づきまして、Web会議システムを使用して行います。

本日の議題ですが、新規品目である「JPAo009株を利用して生産されたグルコースオキシダーゼ」「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」の安全性についての審議です。

お手元の資料を確認いたします。

事務局からお願いいたします。

○奥藤評価専門官 配付資料を確認いたします。

配付資料は、議事次第、専門委員名簿、食品健康影響評価に関する資料となります。

また、本日は審議品目である「JPAo009株を利用して生産されたグルコースオキシダーゼ」及び「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等に対応していただく予定としております。

○中島座長 ありがとうございます。

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」に基づきまして、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、報告をお願いいたします。

○奥藤評価専門官 事務局におきまして、専門委員の皆様にご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。

○中島座長 ありがとうございます。

では、皆様、よろしくお願いいたします。

審議に入ります前に、例によってWeb会議における注意事項について、事務局からお願いいたします。

○奥藤評価専門官 本日はWeb会議形式で行いますので、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していただくか、Web会議画面の挙手ボタンを押してください。

座長よりお呼びいたしますので、マイクをオンにして、お名前を発言していただいた上で、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もございます。

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、青い同意のカードを挙げていただくか、手で丸をつくるなど、意思表示をお願いいたします。

以上がWeb会議における注意事項となります。どうぞよろしくをお願いいたします。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、新規品目であります「JPAo009株を利用して生産されたグルコースオキシダーゼ」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。

○山口係長 それでは、説明に入らせていただこうと思いますが、申請書類の説明に入ります前に、本日の進め方について事務局から提案がございます。

本日御審議いただく2品目につきましては、どちらもノボザイムズジャパン株式会社からの申請となっております。宿主も共通したものを使用しております。

そこで、こちらの2品目について、それぞれ先に御説明をさせていただきますので、御審議及び申請者への質疑等につきましてはその後まとめて行うのがよろしいかと存じますが、いかがでしょうか。

○中島座長 もっともだと思います。申請者は同じですし、麹菌、宿主も一緒に、酵素は全然違うものですが、それほど大部ではございませんので、両方一気に説明していただいたほうが私も効率的かと存じます。

先生方、よろしいでしょうか。

(首肯する委員あり)

○中島座長 では、事務局からよろしくをお願いいたします。

○山口係長 ありがとうございます。

それでは、申請書について説明をさせていただきます。

お手元にJPAo009株を利用して生産されたグルコースオキシダーゼの申請書を御用意ください。

それでは、御説明いたします。

2ページをお願いいたします。

1-1 従来の添加物についてでございます。名称及び有効成分につきましてはグルコースオキシダーゼ (goxAN) となっております。

反応特異性につきましては、グルコースを酸化するものとなっております。

製造方法につきましては、生産菌株の培養液から抽出、除菌及び精製などの工程を経て製造されるものということでございます。

用途及び使用形態につきましては、製パン用の小麦粉等へ添加することによって、パン

生地中のグルテンネットワークを強化し、より多くのガスを保持できるよう、生地の物性の改良に働くということでございます。

なお、製パンの焼成の工程において本添加物は失活するというところでございます。

続いて、3ページを御覧ください。

摂取量についてでございます。国内で流通するグルコースオキシダーゼ製品が本申請品目に置き換わり、かつ全てが残存すると仮定して算出した結果、我が国における最大摂取量は8.7 μ g TOS/日/kg体重ということでございます。

続いて、1-2 宿主等についてでございます。宿主につきましては*A.oryzae* IFO4177株、こちらは後に御説明をさせていただきますJPAo010株のものと同じものとなっております。

続いて、挿入DNA及び供与体につきましては、次の4ページ、表1に記載されておりますとおりでございます。こちらの*goxAN*遺伝子は*A.niger* BO-1株、*amdS*遺伝子は*Aspergillus nidulans* Glasgow野生株由来ということでございます。そのほか、プロモーター、ターミネーター等についてもこちらの表に記載がございます。

続きまして、5ページをお願いいたします。

挿入DNAの性質及び導入方法についてでございます。*goxAN*遺伝子及び*amdS*遺伝子をpUC19プラスミドに組み込んだベクターであるpJPV046を構築後、●●●によって処理し、*goxAN/amdS*遺伝子発現カセットを作成しております。その後、プロトプラスト法によって同カセットは宿主染色体へ多コピーで導入されてございます。

少々飛びまして、8ページをお願いいたします。

遺伝子組換え添加物と従来の添加物の相違点についてでございます。本遺伝子組換え添加物と従来の添加物の相違点につきましては、こちらの表2に記載のとおりでございます。従来の添加物と比べてアミノ酸配列については同一であるということで報告がございました。

続いて、組換え体と宿主の相違点につきましては、同ページ表3に記載のとおりでございます。

続きまして、16ページをお願いいたします。

挿入遺伝子の機能についてでございます。アミノ酸配列につきましては、次のページの図5に示しておりますとおりです。●●●までが分泌シグナル配列となっております。また、アミノ酸配列から推定される分子量につきましては●●●kDaとなっておりますが、SDS-PAGE分離に引き続くCBB染色による分析においては●●●kDa前後で検出されてございます。

なお、従来品がグリコシル化されているかにつきましては、事前に兎玉専門参考人から質問をいただいております。申請者より、従来品でも同様にグリコシル化はされており、同程度の分子量を示すバンドが認められているといった回答がございました。

続いて、18ページをお願いいたします。

遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性についてでございます。

①人工胃腸液に対する感受性につきましては、本goxANにつきましては日本でも15年以上の販売実績があるものでございまして、goxAN製品について食物アレルギーの誘発性を示す報告はなく、したがって、goxANには十分な食経験があると考えられますので、人工胃腸液での消化性試験は実施していないという報告がございました。

続いて、②加熱処理に対する感受性についてでございますが、結果は図6に示しているとおりでございます。goxANをpH5.0で30分間処理した後、活性を測定した結果、80℃の処理で完全に失活するということが明らかとなっております。

続いて、19ページをお願いいたします。

既知のアレルゲンとの構造相同性についてでございます。goxANへのアレルギー誘発性の可能性を、調べるために構造相同性検索を実施してございます。この検索にはFARRPのversion 21を用いております、社内文書4における報告日については令和2年8月9日となっております。

同ページ①の条件においては、goxANと部分的に相同性を示す既知のアレルゲンが検出されてございますが、食物アレルゲンとしては登録されておらず、接触をばく露経路とするアレルゲンだったと報告されてございます。

続いて、②の条件におきましては、goxANと8アミノ酸配列で完全に一致するアレルゲンは検出されておりませんでした。

以上のことから、goxANは食物アレルギー感作性についての懸念が低いものと考えられると報告がございました。

こちらのアレルゲンとの構造相同性検索に関しましては、事前に小野竜一専門委員より、次に御説明をさせていただくJPAo010株のもの共通するアレルゲンへの相同性が示されて、かつJPAo009株において接触、JPAo010株においては吸入をそれぞればく露経路として説明をされているため、食物アレルゲンでもあり得るのではないかとの御質問をいただいております。

回答といたしましては、①でヒットしたアレルゲンにつきましては食物アレルゲンではないということに加えて、goxANとの配列間においては連続する8アミノ酸配列の一致が認められなかったということから、アレルゲン性を有する可能性が低いことを示唆しているといった回答が来てございまして、あわせて、こちらの申請要旨を机上配付資料1のとおり修正しております。

続きまして、25ページをお願いいたします。

第4-7 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性についてでございます。遺伝子導入ベクターpJPV046はアンピシリン耐性遺伝子を持っておりますが、遺伝子導入の前段階で制限酵素●●●によって除去されてございます。したがって、このJPAo009株には抗生物質耐性マーカー遺伝子が存在せず、このことがシーケンス解析によって確認されてございます。

続きまして、第5 組換え体に関する事項についてでございます。

5-1は記載のとおりでございまして、5-2の(1)制限酵素による切断地図に関する事項についてでございます。pJPV046の導入にはプロトプラスト形質転換法が用いられておりまして、*goxAN/amdS*遺伝子発現カセットは●●●消化末端を末端として1から複数コピーがタンデムに導入されると考えられております。

26ページをお願いいたします。

挿入位置につきましては、次世代シーケンサーによる全ゲノム解析によって特定がされてございます。

また、qPCR解析による遺伝子コピー数の推定をいたしましたところ、●●●コピーであると推定がされてございます。

続きまして、28ページをお願いいたします。

第5-2・(2) 遺伝子導入におけるORFの有無についてでございます。6通りの読み枠で終止コドンと終止コドンで挟まれた長さ30アミノ酸以上の領域をORFとして検索を行いました結果、申請書に記載のとおりORFが検出されてございます。これらのORFとアレルギー誘発性及び毒性の可能性を調べるために、相同性検索を実施してございます。

既知のアレルゲンとの相同性検索でございまして、同ページの①の条件においては、*goxAN/amdS*遺伝子発現カセットの挿入箇所において、宿主ゲノムと挿入配列をまたぐORFと一致する既知のアレルゲンは検出されてございません。

続きまして、29ページをお願いいたします。

②の条件につきましては、同箇所において宿主ゲノムと挿入配列をまたぐORFと一致する既知のアレルゲンは検出されてございませんでした。

続いて、(2) 既知の毒性タンパク質との相同性検索でございまして、NCBIデータベースを用いてE-value<1.0×10⁻⁵を指標にして検索を行いました結果、ヒットしたORFはございませんでした。

以上の結果から、*goxAN*製品中に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結論されてございます。

続いて、31ページをお願いいたします。

第7-1 諸外国における認可等の状況についてでございます。本申請品目は、米国ではGRASの自己認証、フランス及びカナダでは食品用加工助剤のポジティブリストに記載されていると報告がされてございます。

こちらに記載の各国の申請状況につきましては、JPAo009株から生産された*goxAN*製品のものであるかどうかについて、座長より事前に御質問をいただいております。

回答といたしましては、これらの承認状況につきましては、JPAo009株から生産された*goxAN*製品、本申請品目のものであるといったことが申請者から回答されてございます。

続いて、32ページをお願いいたします。

第7-2 組換え体の残存に関する事項でございます。記載のとおり、本申請品目には生産菌株由来のDNAが残存しないということが確認されてございます。

続いて、32ページをお願いいたします。

第7-3 製造に由来する非有効成分の安全性についてでございます。試験バッチ分析と我が国の食品添加物の規格基準に定める規格値をそれぞれ表6で記載をしてございます。いずれの品目についても、我が国の基準は満たしているということで報告がでございます。

34ページをお願いいたします。

精製方法及びその効果についてでございます。こちらは記載のとおり、本申請品目のgoxANタンパク質の純度については高いことが確認されてございます。社内文書3によれば●●●%程度の純度であるということでございます。

第8については、こちらに記載のとおりでございます。

JPAo009株を利用して生産されたグルコースオキシダーゼについては、御説明は以上となります。

続いて、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説明に入ります。こちらはグレーの資料を御用意ください。

2ページから3ページをお開きください。

まず、従来の添加物についての説明でございます。

名称及び有効成分につきましては、ポリフェノールオキシダーゼ（ラッカーゼ）ということでございます。

反応特異性につきましては、ポリフェノールの水酸基を酸化するものということございまして、用途及び使用形態につきましては、海外ではビール醸造で生じるオフフレーバーやワインのコルク臭を防ぐ目的等で利用されるということでございます。我が国においては、息をさわやかにするガムなどに用いられるということございまして、ガム等の用途におきましては活性を有した状態で添加されるものということでございます。

なお、このことに関しまして、反応の際、口腔内で失活するのかといったことにつきまして、脇委員より事前に御質問をいただいておりますが、申請者からの回答としましては、口腔内で失活する要因はなく、活性を有したまま摂取されると考えられるといった回答がございました。

続きまして、摂取量についてでございます。国内で流通するポリフェノールオキシダーゼ製品が本申請品目に置き換わり、かつ全てが残存すると仮定して算出しました結果、我が国における最大摂取量は83.5µg TOS/日/kg体重ということでございます。

こちらの一日最大摂取量の計算につきましては、計算の詳細等につきまして兎玉専門参考人より事前に御質問をいただいております。

本件に関する回答につきましては、まず、菓子類の摂取量が少ないのではないかと御質問もいただいておりますが、菓子類の摂取量の推定に用いた根拠の資料としましては、机上配付資料2-1及び2-2に示した資料を引用し、計算をしていたと回答がございました。

また、本推定につきましては、菓子類全てを、lacMTを含む製品ということで仮定して

計算をしているということをごさいますして、このとき、実際に想定されているlacMTの製品が、lacMTの製剤ではなく、タブレット状の菓子に直接lacMTを添加したものであるという回答がございまして、推定の際に菓子類に含有量を直接乗じているという回答がございました。

あわせて、机上配付資料2-3、2ページから3ページにまたがった部分、黄色マーカーのとおり、要旨を修正したものの提出が改めてございまして、御確認いただければと存じます。

続きまして、同3ページの宿主等について御説明をさせていただきます。

宿主につきましては、先ほどと共通の*A.oryzae* IFO4177株となっております。

挿入DNA及び供与体につきましては、4ページ表1に記載されているとおりでございます。こちらの*lacMT*遺伝子につきましては、*Thermothelomyces thermophiles* CBS 117.65株、*pyrG*遺伝子は*Aspergillus oryzae* IFO4177株、*LEU2*遺伝子は*Saccharomyces cerevisiae* CBS 1171T株が由来となっております。そのほか、プロモーター、ターミネーターについても記載がございまして。

5ページから6ページを御覧ください。

挿入DNAの性質及び導入方法でございます。図1に示すとおり、●●●によって当該ベクター全体が同遺伝子座に挿入されてございます。このとき、●●●ということでございます。

続いて、10ページをお願いいたします。

遺伝子組換え添加物と従来の添加物の相違点についてでございます。

本遺伝子組換え添加物と従来の添加物の相違点につきましては、表2に記載のとおりでございます。

また、組換え体と宿主の相違点につきましては、表3に記載のとおりでございます。

今回、当該比較対象を選定した理由等につきましては、座長等より事前に質問をいただいております。

こちらの回答につきましては、机上配付資料2-4に記載のとおり、回答がございまして、また、追加の参考資料として机上配付資料2-5及び2-6が提出されております。

こちらの回答に合わせまして、机上配付資料2-3のとおり、要旨も修正されてございます。続きまして、18ページをお願いいたします。

第4-2-（3）挿入遺伝子の機能についてでございます。アミノ酸配列は図6に示したとおりでございます。●●●が分泌シグナル配列となっております。アミノ酸配列から推定される分子量は●●●kDaとなっておりますが、SDS-PAGE分析では●●●kDa前後で検出されてございます。

続いて20ページ、遺伝子産物の物理化学的処理に関する感受性についてでございます。人工胃液に対する感受性につきましては図7に示すとおりでございます。開始30秒以内に●●●kDa付近のバンドが消失していることから、胃液中では直ちに消化されるという

ことが確認されてございます。

続いて、人工腸液に対する感受性ですが、図8に示すとおり、消化されないということが確認されてございます。

続いて21ページ、加熱処理に対する感受性についてでございます。こちらは図9に示すとおりでございます。lacMTをpH6.0で30分処理した後、活性を特定した結果、70℃の処理でほぼ失活するということが明らかとなっております。

続きまして、26ページをお願いいたします。

構築された発現ベクターに含まれるORFに関してでございます。

ここにつきまして、事前に小野竜一専門委員より、先に御説明したJPAo009株のものと共通するアレルゲンの相同性が示された件について、こちらにも共通する部分として事前に質問をさせていただいております。共通するアレルゲンがあるのではないかとということでございますが、申請者より、こちらについても回答が来てございまして、当該ORFが検出された2アレルゲンの計3つのアミノ酸配列間において、1つの連続した8アミノ酸配列が存在していたものではございますが、当該ORFについては80アミノ酸残基で35%以上といった条件では当該アレルゲンに対して相同性を示していないこと、加えて、この8アミノ酸を食物アレルギーに関する安全性研究のためのアレルゲンデータベースAFDSで登録されているアレルゲンエピトープと比較したところ、一致するアレルゲンエピトープは認められなかったといったことから、当該ORFの食物アレルギー誘発性について懸念は低いものと考えられるといった回答がございました。これに合わせまして、机上配付資料2-3のとおり要旨が修正されてございます。

続きまして、28ページをお願いいたします。

第4-7 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性についてでございます。遺伝子導入ベクターpJPV047には抗生物質耐性マーカー遺伝子は存在しないということでございます。欠失導入用ベクターに含まれるアンピシリン耐性遺伝子につきましては、ゲノム上に残存していないということございまして、これについてはシーケンス解析によって確認されてございます。

続きまして、29ページをお願いいたします。

組換え体に関する事項についてでございます。

5-1につきましては記載のとおりでして、5-2-（1）制限酵素による切断地図に関する事項についてでございます。pJPV047の挿入には●●●が用いられてございまして、●●●と考えられてございます。このことにつきましては、次世代シーケンサーによる全ゲノム解析によって特定されてございます。

30ページに記載のddPCR解析による遺伝子コピー数の推定によりまして、●●●コピーであると推定されてございます。

また、こちらの遺伝子が多コピーで挿入されてラッカーゼが大量に生産することに関して、児玉専門参考人から念のためとして事前に御質問をいただいておりますが、申請者

からは、lacMT製品の製造の工程において本生産菌は十分に生育しておりまして、かつ製品開発時に抗菌作用の有無も確認してございますが、抗菌作用が認められなかったといった回答がございました。

続きまして32ページ、第5-2- (2) 遺伝子導入におけるオープンリーディングフレームの有無についてでございます。

6通りの読み枠で終止コドンと終止コドンで挟まれた長さ30アミノ酸以上の領域をORFと定義して検索を行いました結果、各遺伝子座で申請書に記載のと通りのORFが検出されてございます。これらのORFとアレルギー誘発性及び毒性の可能性を調べるために、相同性検索を実施してございます。

1) 既知のアレルゲンとの相同性検索についてでございますが、同ページの①及び②の条件につきましては、*lacMT/pyrG*遺伝子発現カセット挿入箇所において、宿主ゲノムと挿入配列をまたぐORFと一致する既知のアレルゲンは両条件において検出されてございませんでした。

続いて、既知の毒性タンパク質の相同性検索でございますが、NCBIデータベースを用いてE-value $<1.0 \times 10^{-5}$ を指標にして検索を行いました結果、ヒットしたORFはございませんでした。

以上の結果から、lacMT製品中にアレルギーを誘発する、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結論されてございます。

なお、こちらの毒性タンパク質の相同性について、Potential toxin to DivICへの相同性に関しまして、児玉専門参考人より事前に御質問をいただいております。

これにつきましては、机上配付資料2-3の27ページに記載のあるとおり、要旨を修正してございます。

続きまして、35ページをお願いいたします。

諸外国における認可等の状況についてでございます。本申請品目につきましては、米国ではGRASのリストに記載されていると報告がでございます。

諸外国における認可等の状況の記載事項が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ものであるか等につきましては、座長より事前に御質問をいただいております。

申請者からの回答としましては、2003年に*Aspergillus oryzae*にlacMTを導入して生産されるラッカーゼとしてGRAS認証を得ているところでございますが、●●●ということと回答がございました。

続きまして、36ページをお願いいたします。

第7-2 組換え体の残存に関する事項でございます。こちらは記載のとおり、本申請品目には、生産菌株由来のDNAが残存しないということが確認されてございます。

続いて、37ページをお願いいたします。

第7-3 製造に由来する非有効成分の安全性についてでございます。製品バッチの分析と

我が国の食品添加物の規格基準に定める規格値をそれぞれ表6で記載してございます。いずれの項目についても我が国の基準を満たしているということでございます。

続きまして、38ページをお願いいたします。

第7-4 精製方法及びその効果についてでございます。こちらに記載のとおり、本申請品目のlacMTタンパク質純度については高いということが報告されてございます。社内文書5を確認いたしますと、●●●kDa付近にバンドが1つ確認されるのみであるということ記載がございました。

当該●●●kDa付近のバンドがブロードであるといったことにつきましては、川西委員より事前に御質問をいただいております。

申請者からの回答といたしましては、lacMTのグリコシル化が原因であるということございまして、実際にlacMTを脱グリコシル化した試験、同社内文書5においては、lacMTがほぼ予想された分子量でバンドが観察されておまして、この結果もlacMTの●●●kDa付近のバンドがグリコシル化したlacMTであることを示しているということと回答がございました。

あわせて、机上配付資料2-3に記載のとおり、要旨を修正しているということでございます。

以上、申請要旨の説明とさせていただきます。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、先生方に御意見をいただきたいと思っております。

今回の株、JPAo009株と010株はどちらも*Aspergillus oryzae*として、*Aspergillus oryzae*にプロトプラスト法で標的遺伝子を導入しますと、ほとんどの場合、1コピーで入ります。たまにこれがきれいにタンデムリピートで1か所に入ることがございまして、そういうものは生産性が大変高くなりますので、この手の申請で出てくるものはみんな複数コピー、10コピーとかなんとか入っているものばかり申請に出てきますけれども、実際はこういうものはめったに取れるものではございません。なので、かなり頑張って生産性の高いものを取ったのだと思います。

009株についてはそうやって取れたのだと思いますが、010株についてはそれで簡単には取れなかったのだと思われます。というのも、この株ではマーカーで使っているプロモーター、*pyrG*遺伝子のプロモーターで●●●を使っておまして、●●●という仕掛けで、どの程度効くのかということもあるのですが、そういうことをして●●●コピーのものを取ったといった事情があると思います。麴菌の場合はコピー数というのは直接生産量に影響しますので、多コピー体を取るの生産的、工業的には非常に重要かと思っております。

それから、麴菌では、遺伝子を導入したときにそれが相同組換えで標的どおりのところに入る場合と非相同組換え、どこか適当なところに入る場合の両方がございまして、非相同のほうが確率としては高いのですが、相同のもの、通常はそういうものを選んで確認するのが常識でして、やるべきことはやっているなど私は見させていただきました。

それでは、009株について、グルコースオキシダーゼですが、これは、従来は*Aspergillus niger*で作られていたgoxANを*Aspergillus oryzae*で作直しているという申請です。これは純粋に生産上の問題だろうと思います。従来品で*Aspergillus niger*で作っているものと本品とアミノ酸配列は同一であって、途中で変異などは入っていないことは確認されております。

それから、分子量が本来●●●kDaぐらいのものが●●●kDaになっている。これは通常アスパラギン結合糖鎖のせいかなと思うのですが、ざっと探してみたら●●●か所ほど結合サイトがあります。そこに糖鎖がつけば大体このくらい分子量は大きくなるかなと私も思います。この辺は真核生物共通ですので、*niger*であるものは*oryzae*でも同じようにつきます。

というくらいで、少々余計な解説させていただきました。それから、この酵素はパンの製造工程で用いますが、パンは焼いて作りますので、そこで完全に失活すると考えられます。加熱による失活という事情が009株と010株の違うところですので、まずは009株、グルコースオキシダーゼについて御意見をいただければと思います。

こちらは実際に販売もされておりますし、また、全く同一のアミノ酸配列のものが作られているということ、それから、分子量の点等も質問に対してちゃんと回答が返ってきておりますので、私はよろしいのではないかと思います。先生方、よろしいでしょうか。

手島先生、どうぞよろしく申し上げます。

○手島専門参考人 手島です。

安全性には問題ないと思います。

表現ですけれども、アレルギー性に関してはそんなに不安はないだろうということなのですが、感作性という言葉と誘発性という言葉が混在していますので、この中では誘発性ということで統一してもらいたいと思いました。

以上です。

○中島座長 誘発性でよろしいのですね。

○手島専門参考人 はい。

○中島座長 ありがとうございます。では、その点は訂正させていただきます。

ほかによろしいでしょうか。

小野道之先生、よろしく申し上げます。

○小野道之専門委員 糖鎖で修飾されて大きくなっているということですが、糖鎖の構造みたいなものというのは慣例として解析しないものではないでしょうか。全く同じ糖鎖が違う生物でついているかどうか、分からないなと感じたものですから。

以上です。

○中島座長 これは私の知識なのですが、*Aspergillus niger*、*oryzae*どちらも真菌類で近縁の真菌類ですので、構造としてはアスパラギン結合型糖鎖は共通してしまっていて、GlcNAcが2個ついて、その上にマンノースが9つ乗っかってという感じで、マンノースは少々刈り

込みにかかりますけれども、ゴルジ体でまた多少マンノースが追加されるという形で、高等生物の動物の複合型のN結合糖鎖とはちょっと違う形です。*nidulans*と*oryzae*は糖鎖の構造としては同一と知られております。

そのくらいなのですが、よろしいですか。

○小野道之専門委員 ありがとうございます。

○中島座長 ほかにございますでしょうか。

私はこの酵素については糖鎖については問題ないのではないかと考えております。

それでは、009株については、健康に問題はないと判定したいと思いますが、先生方、意思表示をお願いできますか。

(専門委員同意)

○中島座長 ありがとうございます。皆さん同意いただきましたので、009株につきましては安全性に問題はないと判定したいと思います。

それでは、もうちょっとだけややこしい010株についてです。本株の生産物である酵素はお菓子に使うということで、活性を有したまま食品に添加される。タブレットみたいなもので、口の中で活性を発揮して、息がさわやかになるということかと思えます。

糖鎖修飾についても009株と同じような事情がございまして、●●●kDaが●●●kDaになっている。N結合糖鎖の結合サイトは数えたら●●●か所ほどありましたので、分子量的にはつじつまは合うかなと思います。申請者は脱グリコシル化の酵素で糖鎖を落として確認もしております。そうすると、糖鎖のない形とほぼ同じ分子量まで落ちるということを確認しておりますので、いいのかなと。

それから、ddPCRで染色体のコピー数は●●●コピーであることを確認している。

それから、本申請書でははじめ、GRASステータスがどうなっているか読み取りづらい状況だったので、確認させていただきました。その結果、先ほど説明でございましたとおり、2003年に一度導入してGRASステータスを取ったけれども、●●●ということでした。ということで、本株で、つまり*Aspergillus oryzae*で生産したものを実際にアメリカで売っていることを確認しました。

この申請につきまして、そもそもラッカーゼということで、比較対象はアミノ酸配列が●●●%しか似ていないので、こんなもので比較対象になるのかということで質問しました。その回答が、先生方のお手元に机上配付資料として配布しております。要するにラッカーゼはラッカーゼと言っているということです。これは人工胃液では30秒で消化されるけれども、人工腸液では消化されないということなどがデータとして提出されております。

それでは、010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、先生方、御質問、御意見等はございますでしょうか。また、本日は申請者をお呼びしておりますので直接質問していただければと思います。

川西先生、どうぞ。

○川西委員 担当委員の川西でございます

いろいろ御議論ありがとうございます。

35ページ目で、こういうもので食経験と言ったときに、これは日本では主にガム等ということで菓子類に添加される。一方で、35ページ目には、lacMT製品は欧米で2000年代から食品の加工助剤として販売されているとある。その後、先ほどからGRASに関しては2003年からどうこうという話があったのですが、この説明だと、菓子類へ付与した製品は2020年に米国で販売が開始されている。これについては、GRASとカップルしているのかもしれませんが、それ以前のものが加工助剤として販売されているとされています。2ページ目の用途というところには、ビール製造で生じるオフフレーバー及びワインのコルク臭などの防臭のためとか、その後、果物ジュースの保管中のオリ発生の抑制とか書いてあるのですが、加工助剤は普通最終製品には入らないというような用語と理解しています。そういうことで言うと、これを今回ガムに入れるとすると、経口で少なくとも胃までは行く。それで、胃酸が分泌されている人だったら胃で分解するけれども、もし腸に直接行けば腸ではあまり分解しない。それから、これは摂取量を相当過大に計算しているので、この数字は結構高いということになると、今までの経験を踏まえて安心できる数字だと思います。いずれにせよ、「加工助剤として販売されている」ということは何を意味しているのかを聞いてみたいと思います。

○中島座長 ありがとうございます。よろしく申し上げます。

ここは、アメリカのこの販売形態で添加したときに、活性のある形で口に入る形で添加されているのか、焼くなりなんなりして失活して添加されているのか、それとも最後は除かれているのか、それをどうカウントしているのかというところは、実は私はそこも問いただしたいと思っておりました。なので、やはり同じところが気になるのですね。よろしく申し上げます。

先生方、ほかにございますでしょうか。せっかくですからいろいろ聞いてみようと思いますので、聞きたくなくなった場合には積極的に聞いていただいてよろしいかと存じます。

小野道之先生。

○小野道之専門委員 また基本的なことで恐縮です。

この食品安全委員会としては、活性が残っていても残ってなくても評価できるということでもよろしいのでしょうか。要するに、先ほど質問された方がいらっしゃいますが、菓子の中で活性を有しているかいないかということに関するエビデンスがないような気がしたのです。その辺りはなくても添加物として認可される、安全性の審査には機能はあまり関係ないのでしょうか。

○中島座長 要は、食べて大丈夫かと我々が納得するかどうかという問題でございますので、活性があったら駄目とかという基準ではありません。ただ、やはり活性があるのならあるで、その活性でもって人の健康に影響があるかどうかというのを当然考えないといけないわけです。活性がなければただ単にタンパク質の残骸だから、アレルゲンだけ見ればいいのですが、活性があるのであれば、特にラッカーゼに必要な酸素が、口の中に

ありますので、これで何か起こらないかなとかということは当然考慮した上で判定しないといけないことになります。だから先ほどの質問があったわけで、口の中で失活しないよという答えだったら、では安全なのか、という質問は当然してよろしいかと思えます。

摂取量の問題ですけれども、例えば厚生労働省でお菓子みたいな嗜好品に加える添加物であれば、平均よりも例えば10倍、いっぱい食べたがる人まで考慮します。だから、これはもともとガムに入れるものですがけれども、酵素として効くというのが酵素活性として効くということであれば、それなりの量を投入しないといけないわけです。それをさらにぼりぼり食べる人がいても大丈夫か、量的にどのくらいのレベルまで摂取して大丈夫なのか、どの程度まで確認しているのか、というのは私も聞いてみたいかと思っております。

先生方、ほかに。

川西先生、どうぞ。

○川西委員 今の座長のおっしゃったことと関連して、私、添加剤調査会の担当委員でもあるのですが、添加剤の摂取量はリスク評価の段階では少なくとも過小には見積もらないということが前提になっています。そのため、過大に見積もることが通常行われます。この場合は全部がこの製品に置き換わるということなので、実際に摂取する量よりは相当大きい数字が3ページ目で計算されているのは確かです。その辺、全体を見渡して、やはりこれで心配だなということがあれば、最後の手段で、動物に摂取させてみるべきといった指摘もひょっとしたらあるのかもしれませんが。それが合理的であるかどうかは置いて、その辺はこの摂取量をもうちょっときちんと見積もってくれないかという指摘も一つはあるかもしれないと思います。ただ、その根拠はなかなか難しいと思うので、添加物の経験を踏まえて、いろいろなバランスを考えて指摘していくということになるのかなと思っております。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

そこも、申請者をお呼びしますので議論していただければと思います。というのも、この酵素は*oryzae*で作りますと、かなり単価が下がって大量に作れるようになります。そうになると今までの既存のものが入れ替わるということで評価することになります。ここでは、新たな需要が生み出されるとかということを考えていないわけです。だから、そこが現状の推定摂取量とそれだけ摂取して大丈夫かということの穴にもなっております。これは、それに該当するケースなのではないかとかこの前打合せのときにも申し上げたことです。これで今まで想定していなかった人で、口が臭いぞと言われて気にしている人などがぼりぼり食べるという可能性がございます。ですから、どの程度摂取量まで安全性を見ているのかというのは、川西先生もおっしゃるとおり、見逃せない点なのではないかと考えます。

ほかの先生方、よろしいでしょうか。

小野先生、どうぞ。

○小野竜一専門委員 同様の議論ですけれども、確かにそういうふうに関が臭いと言われ

てばりばり、というケースも考えられると思います。そうなると、本当に胃で分解されればいいですが、中には胃液がちゃんと効いていないという人も少数ですけれどもいますので、腸に行くと難分解性になるということになります。そういう意味で、毒性が出るということはあり得ると思いますので、そこは本当に聞いてみたいところです。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかに。

胃液では分解されるけれども、腸液で分解されない遺伝子組換えのタンパク質は結構ございまして、確かに胃を切除した人などはどうなるのだと毎回議論にはなるのですけれども、その辺は摂取量やレベルなどの兼ね合いとなっています。

そんなこんなもありますので、少々複雑な判断を最後に迫られる可能性があるかなと思います。ただ、実際にアメリカでそれなりに販売されておりまして、それで特に事故等が報告されていないという点もまた大きな安心材料かと思います。ですので、実際にアメリカで量的にどのぐらい販売されているか、実績の何年からの時間ではなくて、量的なものも私は聞いてみたいと思っております。

先生方、ほかにございますでしょうか。

では、この辺で申請者をお呼びしていただけますか。

準備ができるまで少々休憩にいたします。

(休 憩)

○中島座長 お忙しいところ、お越しいただきましてありがとうございます。

自己紹介を簡単にお願いたします。お名前と御所属だけで結構です。

○高橋氏 ノボザイムズの高橋と申します。よろしくお願いいたします。

○井上氏 ノボザイムズの井上と申します。よろしくお願いいたします。

○中島座長 お二人、大体聞こえるのですけれども、顔の向いている方向によってこちらの音声の聞こえ方も大分変わるようなので、その辺、よろしくお願いいたします。

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について少々お聞きしたいことがございます。

こちらは最終製品が活性を有したまま食品に添加されるということ、ガムに入れるとかといったことが想定されているというお話だと思います。この酵素について、これまでのこの食経験など、申請書を見させていただきまして、何年だったかな。加工助剤として使われていた経験、それから、お菓子に添加されているという記載がございます。加工助剤というと、最終製品には含まれていないというのが前提になったりもしますので、申請書から読み取れなかったことをお聞きしたいのです。これまでの実績で最終製品には含まれていない形での販売実績、最終製品には含まれているけれども加熱などによって失活して

いる場合の実績、最終製品に活性を保持されている形で出荷されている形それぞれどのくらいの期間でどのくらいの量になっておるのか教えていただけますでしょうか。

○高橋氏 こちらは要旨の35ページにございまして、諸外国における認可状況というところで簡単にお示ししているところがあるかと思えます。

加工助剤としては、欧米のほうで2000年代から販売されてきました。これに関しては、基本的には最終的に活性を保持したまま食品に添加されるというものではなくて、あくまでも食品の加工助剤で使われるものですので、基本的に活性を有したまま食品に添加されることはなかったものでございます。

ただ、2020年にこの申請の用途と同じ同様の食品、いわゆるタブレット状のガムという菓子に、植物由来の素材と一緒にこのラッカーゼを活性を有したまま入れて含有させて、タブレット状にした菓子を2020年から米国で販売しているというところですよ。

量につきまして、今、手元にどのくらいの量を出しているのかというのはございませんで、確認させていただきたいと思えます。

○中島座長 ありがとうございます。

それから、推定摂取量についてなのですが、本申請では推定摂取量について計算の仕方のルールがございまして、それに沿って一生懸命計算してくださったのだと思えます。ですけれども、これがガムに詰めてという形ですと、新製品にもなりますし、また、*oryzae*で作るようになると単価が下がるのかなという気もするのですけれども、そうすると、従来使われていた既存添加物が全部入れ替わった場合というのが、実際に消費者が消費するのが想定される量を反映し得るものなのか。要するに、もっと食べる人がいるのではないかということが考えられるわけです。

なので、またタブレットの形で、しかも酵素活性がある程度効いてくれないとお口の臭いがすっきりしないということを考えますと、そこその量を添加されるのだと思うのですけれども、お聞きしたいことは2つでございまして、まずは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に健康影響についてどの程度の試験をやってデータをお持ちなのかということ。

それから、量的にどのくらいの最大の摂取量まで想定最大摂取量、つまり、ガムをぼりぼり一気にかじる人などは十分考えられると思うのですけれども、そういう量も十分に想定して安全性の試験等を行っておるのか、どのようなデータをお持ちなのかということ。

だから、販売実績についても量的にどのくらいこれは売れているのかというのをこちらとしても気になるのですけれども、だから、実はこれがもう結構いっぱい売っていて全然問題が起こっていないということであれば、こちらもそんなに細かいこと言わなくても済むのかなとも思えますので、その辺、差し支えなければお持ちのデータを教えていただくとありがたいです。

○高橋氏 摂取量に関しましては、確かにおっしゃるようにタブレット状のものだけを食べている方というのものなかなかいらっしゃらないというところと、ガムなどは食べない方

もいらっしやいまして、恐らく子供、年齢が低い層の方のほうが摂取量は高くなるということも考えられました。基本的にそれで一応データをいろいろ探しまして、ガムであったり、チューインガムであったりというのも全部丸ごとひっくるめた量で一日摂取量を計算しまして、それが全てこのポリフェノールオキシダーゼを含有した菓子になると考えた状態で計算をさせていただきました。

実際にポリフェノールオキシダーゼを含んだ菓子というのが販売されていたこともあるものですから、その点、かなり非現実的なのではけれども、全てそれになったというような摂取量で計算をさせていただきました。

最終製品は既にタブレット状の菓子を想定しておりまして、その中にTOS換算で1%のポリフェノールオキシダーゼが含有されていますので、それを一日摂取量に乗じたような形でコンサバに摂取量は計算させていただきました。

ただ、その点、御指摘のとおり、かなり大ざっぱな計算にはなっているかと思しますので、少し確認をさせていただいて、正しい摂取量であったり、検討したいと思えます。

また、おっしゃっていた、いわゆるどのぐらい食べても大丈夫なのかというところは、酵素原体は試験バッチで様々な毒性試験をやっておりまして、どのくらいまでがNOAELなのかという試験をやっております。ですので、この要旨の中では毒性試験についてあまり触れておらず、アレルギー性をメインに記載をさせていただいたのですけれども、おっしゃるとおり、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させていただきたいと思えます。

○中島座長 私どももその辺はかなり気になっておりますので、よろしくお願ひいたしたいと思えます。

私もこんなガムが売っているのだったら、会議の前に気合いを入れようと焼肉丼を食べて、それでお前口におうぞと言われたらいけないと思って1瓶がりがりかんで会議に臨むと思えますので、きっとそういう使い方をする人はいると思えますので、当然その辺は想定されて安全性試験等を行っておるだろうと思えますので、その辺のデータをよろしくお願ひいたします。

先生方、ほかにございませんか。せつかく申請者がお越しになっていますので、この際と思えます。

川西先生、どうぞ。

○川西委員 同じような線での質問になるのですけれども、ガムに入れるというこの使用方法自体、これを読んでいくと、2020年以降で米国と、次に日本、ヨーロッパとなってくるのですが、米国以外には今まであまりそういう使い方はされていないという理解でよろしいのですか。

○高橋氏 そこら辺のところは詳細をずっと詰めて確認はしていないのですけれども、その国々でというところで、おっしゃるとおり、2020年、正確には2003年頃のGRASでは実際にこの用途で用いた申請というか届出をさせてもらってまして、その頃からこの用途

については検討、使われていた部分があると思います。

ただ、歴史的な背景は分からないのですけれども、あまり売れ行きがよくなかったのか分からないのですが、あまり大々的なヒットにならなかったのか、継続してそういう製品が作られなかったという背景がありまして、どこかでは既存の添加物ではGMに関する安全性が要らない国もありまして、既存の添加物の範囲の中で使われているところはあると思うのですけれども、そういう形で、大々的にヒットする商品が今まで見られなかったので、もしかしたらどこかで製品化されていた可能性はありますが、特に日本でも実際にそういう製品はありましたけれども、言い方が悪いのであれですが、私自身もあまり知らなかったというぐらいな感じで、どこかでは商品化されていたけれども、あまりヒットしなかったというところがあるので、今まで絶対に売られていなかったかというところ、ちょっと分からないということです。

昨今、コロナのマスクをするという風潮というか、日本人はずっとしてはいましたけれども、海外でも流行ってきまして、その中で口臭というのが一つ重要な問題というか、口臭に対応するような商品が求められているというところで、過去ずっとそういうものは検討なり散発的に開発されてきたものがあったのですけれども、ここに来て米国で一気に商品化という形で、弊社のほうも作ったというところではあります。

○中島座長 よろしいですか。

○川西委員 今回のケースは、私はこの調査会の担当委員になる前のことは知らないのですけれども、それ以降は、組換え酵素添加物を活性があるままという前提で私たちの口の中に入れてゆくという例は、少なくとも私は今まであまり経験していないと思います。その点、既に食経験があるものだと、それはそれでいいと判断してもよいと思います。

だから、その辺りのバランスを考えるとちょっと気になるなというところがあるので、その辺り、もう少しデータなりなんなり集められて、できるなら教えていただければ、大変助かります。ありがとうございます。

○中島座長 先生方、ほかにございますか。よろしいでしょうか。

それでは、お付き合いありがとうございました。御退室いただいて結構です。

○高橋氏 ありがとうございます。失礼いたします。

(申請者退室)

○中島座長 申請者の退室が確認されましたので、審議を再開したいと思います。

今回は割と珍しい、活性を持ったまま酵素を添加するというケースですので、この量的なことと安全性のデータを少し見させていただかないと今日は判定できないかなと思うのですけれども、先生方、よろしいでしょうか。これでオーケーしてしまっていていいという先生がいらっしゃると思うのですが。

それでは、この点をもって、本日はこの件は保留にしたいと思いますが、先生方、よろしければ意思表示をお願いします。

(専門委員同意)

○中島座長 ありがとうございます。

求める内容としては、先ほど議論になったくらいでよろしいでしょうか。安全性の量的なこと、それから、GRASステータスを申請しておりますので、多分そのときにデータを取っておると思いますので、最終的な判定の参考にするのか、これをもって判定したことにするのか、またその辺も議論しないといけなくなるような気もするのですけれども、本日のところはこうしたいと思います。

それでは、009株については皆様の同意を得られておりますので、評価書案について審議したいと思います。

事務局、よろしく願いいたします。

○山口係長 ありがとうございます。

それでは、評価書案につきまして、私のほうから御説明をさせていただきます。

食品健康影響評価に関する資料を御用意ください。

それでは、JPAo009株を利用して生産されたグルコースオキシダーゼの評価書について御説明をさせていただきます。

評価書の説明に入ります前に、本専門調査会の前に、事前に児玉専門参考人より何点か評価書について修正の御意見をいただいておりますので、それについても御説明をさせていただきますつつ、こちらに反映させていただきたく存じます。

では、早速6ページからお願いいたします。

評価対象添加物の概要でございます。

本添加物は *Aspergillus oryzae* IFO4177株を宿主として、*Aspergillus niger* BO-1株由来のグルコースオキシダーゼ遺伝子を導入して作製したJPAo009株を利用して生産されたグルコースオキシダーゼでございます。本添加物は、グルコースを酸化し、D-グルクノ-1,5-ラクトンと過酸化水素を生じる酵素であり、パンの製造においてパン生地品質向上を目的として使用されるものでございます。

続きまして、Ⅱの第1の1. 従来の添加物の性質及び用途に関する資料でございます。

名称はグルコースオキシダーゼ (goxAN)、有効成分はグルコースオキシダーゼとなっております。

(2) 製造方法でございますが、goxANは培養工程、ろ過や製剤化工程を経て製造される。生産菌と菌体成分については、ろ過や精製工程を経て除去されるということでございます。

続いて、(3) 用途及び使用形態でございますが、パンの製造において。グルコースオキシダーゼの一種であるgoxANを添加することで、反応生成物である過酸化水素が酸化剤として働き、グルテンネットワークの形成が強化されるため、パン生地の粘弾性を向上する目的で製パン改良剤として使用される。なお、製パン工程に添加する用途では、焼成工程の加熱によって酵素反応は停止し、酵素は失活するということでございます。

続いて、摂取量でございます。既存のグルコースオキシダ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8.7 μ g TOS/kg体重/日ということでございます。

続いて、2. 宿主及び導入DNAについてでございます。

宿主は、*A.oryzae* IFO4177株でございます。

続いて、DNAの供与体についてでございますが、グルコースオキシダーゼ (*goxAN*) 遺伝子の供与体は*A.niger* BO-1株、アセトアミダーゼ (*amdS*) 遺伝子の供与体は*A.nidulans* Glasgow野生株ということでございます。

(3) 挿入DNAの性質及び導入方法でございますが、*goxAN*遺伝子はグルコースオキシダーゼをコードいたします。アセトアミダーゼ遺伝子はアセトアミダーゼをコードし、選択マーカーとして用いられてございます。

セルフクローニングに該当しない一部の遺伝子座では、オープンリーディングフレーム検索を行い、安全性を検討してございます。

*goxAN*遺伝子及び*amdS*遺伝子を含む遺伝子導入ベクターpJPV046をプロトプラスト形質転換法を用いて宿主のゲノムDNAに導入したということでございます。

8ページをお願いいたします。

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の相違点についてでございます。

本添加物の有効成分である遺伝子組換え*goxAN*と従来の*goxAN*のアミノ酸配列は同一であるということでございます。

続いて、組換え体と宿主についてでございますが、JPAo009株と宿主の相違点は、JPAo009株には*goxAN*遺伝子が複数コピー導入され、グルコースオキシダーゼ高産能を獲得している点、*amdS*遺伝子を導入している点が異なっているということでございます。

続いて9ページ、こちらは修正に関してコメントがございました。9ページの183行目の中ほどでございますが、菌株においてアフラトキシン生合成遺伝子が転写機能を失っていると元は記載してございますが、こちらの菌株というところにつきまして、具体的にIFO4177株と修正させていただければと思っております。

続きまして、10ページをお願いいたします。

第4の2. 挿入DNAまたは遺伝子（抗生物質耐性マーカーを含む）及びその遺伝子産物の摂取に関する事項でございます。

まず、挿入遺伝子のクローニングまたは合成方法に関する事項でございますが、*goxAN*遺伝子につきましては、*A.niger* BO-1株のゲノムDNAを鋳型といたしまして、PCR法によって得られてございます。

*amdS*遺伝子は、*A.nidulans* Glasgow野生株のゲノムDNAを鋳型として、PCR法によって得られてございます。

続きまして、(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項でございます。

cの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ということでございませ

て、人工胃腸液に対する感受性についてでございます。goxANは我が国において15年以上の使用実績がございまして、従来のグルコースオキシダーゼとアミノ酸配列が同じであることから、消化性試験は実施しなかったということでございます。

続いて、加熱処理に対する感受性につきましては、goxANの加熱処理に対する感受性を調べる目的で、pH5.0の各温度帯で30分間処理した後の活性を測定してございます。その結果、80℃の処理によって完全に失活するということが示されております。

続きまして、12ページをお願いいたします。

amdS遺伝子についてでございます。amdS遺伝子がコードするアセトアミダーゼにつきましましては、アセトアミドを加水分解する酵素であるということございまして、アセトアミドを唯一の窒素源として含む培養液中では、本遺伝子が導入された菌株のみが生育できるといったことから、選択マーカーとして使用されております。アセトアミダーゼがアレルギー誘発性及び毒性を示す報告はございません。

以上のことから、goxAN及びアセトアミダーゼがアレルギー誘発性を有する可能性は低いと考えられてございます。

続きまして、13ページをお願いいたします。

13ページにつきましては、児玉先生より複数箇所の修正の御意見をいただいております。

(2)、320行目のパラグラフからでございますが、このうち326行目、「それぞれ接触及び吸入をばく露経路とするアレルゲンであるが、」というところにつきまして、これ以降について次のとおり修正意見をいただいております。「それぞれ接触及び吸入をばく露経路とするアレルゲンである。Mala s 12.0101はgoxANのアミノ酸配列と部分的に相同性を示したが、連続する8アミノ酸配列の一致はなかった。Der p 15.0102とSal s 6はgoxANをコードする配列上の異なる読み枠で検出された」。326行目から328行目の記載をたゞいま読み上げた内容に置き換えるということで修正をさせていただければと思います。

○中島座長 修正後の文章は、今、私はここで手元で確認させてもらっているのですけれども、確かにこう直したほうがいいと思いきり思っているのですけれども、後ほど事務局のほうから皆さんに修正後の文章をお示ししてください。よろしく申し上げます。

○山口係長 後ほど配付させていただきます。

同ページにもほかに数か所修正箇所がございまして、続いての修正箇所についても、修正後のものは配付させていただきますけれども、336行目に記載の「pJPV046を制限酵素消去した際に」のところにつきましても、「pJPV046から遺伝子発現カセットを制限酵素処理によって調製した際」等修正をさせていただきます。

加えて、次の14ページですけれども、6番から先の記載におきまして、「遺伝子導入用ベクターpJPV046を宿主ゲノムへプロトプラスト形質転換法を用いて導入した」と記載ございますけれども、導入されたものはこちらのpJPV046を●●●で消化したgoxAN/amdS遺伝子発現カセットになりますので、御指摘いただいたとおり修正をさせていただきます。

7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項につきましても同様に、こちらの

評価書案においては、遺伝子導入用ベクターpJPV046はアンピシリン耐性遺伝子を持ちますが、宿主の染色体には導入されないという記載がございますけれども、このことについては、●●●消化によって調製した消化断片には含まれないと修正させていただければと思います。

その下の第5. 組換え体に関する事項につきましても、1. 宿主との差異に関する事項において、JPAo009株は、pJPV046の挿入により *goxAN* 及び *amdS* 遺伝子が導入されているとございますが、こちらにつきましても、pJPV046を *goxAN/amdS* 遺伝子発現カセットと修正をさせていただければと思います。

続いての2. 導入に関する事項につきましても、「JPAo009株の染色体上でのpJPV046の導入位置を確認する目的で」と記載がございますが、こちらもpJPV046を *goxAN/amdS* 遺伝子発現カセットと修正させていただければと思っております。

内容の説明に戻らせていただきますが、同第5の2 (2) について説明をさせていただきます。

オープンリーディングフレームの有無及びその転写及び発現の可能性に関する事項でございます。挿入DNAと宿主ゲノムの接合部位に生じるORFの有無を調べる目的で、標的遺伝子導入座における挿入DNA、及びこれら5'近傍の配列領域を含む領域及び3'近傍配列を含む領域についてORF検索を行った結果、6つの読み役において終止コドンから終止コドンで連続する30アミノ酸以上のORFが合計で58個検出されております。

続いて、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を用いて相同性検索を行いました。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アレルゲン、並びに連続する8アミノ酸配列が完全に一致する既知のアレルゲンはいずれも検出されませんでした。

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調べる目的で、NCBIデータベースを用いて $E\text{-value} < 1.0 \times 10^{-5}$ を指標として相同性検索を行いました結果、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は認められなかったといったことから、毒性を有する可能性は低いと考えられてございます。

続きまして、第7の1. 諸外国における認可、食用等に関する事項でございます。 *goxAN* 製品は、日本で15年以上前から食品用加工助剤として用いられてございます。新 *goxAN* 製品は2002年から世界各国で販売されておまして、フランス及びカナダでは食品用加工助剤のポジティブリストに掲載されております。米国ではGRASとして認証されてございます。

その次ですけれども、組換え体の残存に関する事項でございますが、こちらの製品中に組換えDNAが残存していないということをPCR分析によって確認してございます。

評価書の説明につきましては以上でございます。

○中島座長 ありがとうございます。

それでは、評価書案につきましても御意見等はございますでしょうか。

先ほどの修正案につきまして、私、今ここで確認させていただきましたけれども、先生方、後ほど見え消し版で送っていただきますので、これをもって御確認いただければと思います。

ほかにございますでしょうか。

細かい字句の修正など、お気づきになりましたら、後ほど事務局まで寄せていただければと思います。その辺、先生方に御意見をいただきましたら、また私と事務局のほうで確認して、修正した後に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が、よろしいでしょうか。

ありがとうございます。

竜一先生、どうぞ。

○小野竜一専門委員 事前に質問させてもらったのですけれども、アレルギー性に関するところで、皮膚感作性だったり呼吸器系のアレルギーだったりというのであって、食品のアレルギーにはならないというような書きぶりだったので指摘をさせてもらったのですけれども、そういう意味で、皮膚で接触のアレルギーだということであれば、それはまた食品として扱った場合でもなり得るのではないかなというところがあったので、そこが気になったところなので、そこは見解としてはどうなのでしょうというのを伺いたいです。

○中島座長 手島先生、よろしくお願いします。

○手島専門参考人 手島です。

組換え食品のときもそうなのですけれども、アレルギーになり得るということであれば、皮膚感作性であっても吸入性アレルギーでもアレルギーという立場で捉えて、この場合はあくまでアレルギーの誘発性というものを調べているので、吸入でアレルギーに感作されている人が食品として摂取したときにアレルギー症状を起こすかもしれない。そういったことがあって、交差性というのは、食物アレルギーとして知られているものだけではなくて、他の経路でアレルギーになる場合でも比較するという立場で審査していると思います。

○小野竜一専門委員 ありがとうございます。

○中島座長 ありがとうございます。

だから、結局アレルギーとして報告されているものは、たとえハウスダストだろうが、食品で報告されているものだろうが、まずチェックはして、だけれども、食品としてアレルギーと確認されているものは厳戒体制できっちり見るけれども、ハウスダストみたいなものであるという説明であれば、これが実際に食品として人に健康被害を及ぼすかどうかというところではまた考慮するというふうにはたしか今までやっていますよね。ちょっとでもヒットしたら何が何でも全部駄目というわけではなくて、全てチェックはするけれども、その由来によって、人への健康影響評価についてはまた我々のほうで評価するという立場だったと思います。

小野先生、大体こんなように今までやってきているのですが、よろしいですか。

○小野竜一専門委員 最初に提示された書きぶりが、とにかく食品ではないから大丈夫な

のだよというふうに説明されていたので、そこはちょっと違うと思って指摘させてもらったところなので、説明いただいてとてもよく納得しました。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかにございますでしょうか。よろしいですね。

それでは、修正案についてははしかるべき手続をよろしく願いいたします。

それでは、議題（1）については、これで終わりたいと思います。

議題（2）その他ですが、事務局のほうからございますでしょうか。

○奥藤評価専門官 ありがとうございます。

事務局から1点御報告がございます。

本年7月28日に開催した、第226回当専門調査会で審議いただきましたコウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP23211）についての御報告になります。

机上配付資料3をお手元に御準備ください。

まず、少し思い出していただくために簡単に概要を説明したいので、5ページ目の要約を御覧ください。

60行目になります。こちらのトウモロコシ（DP23211）は、IPD072Aaタンパク質を発現することでコウチュウ目害虫抵抗性を付与していますが、このタンパク質がこれまで使われてきた実績や食経験がないものであることから、人への安全性を確認するため、当調査会からの指摘事項としてヒト培養細胞を用いた*in vitro*試験の実施を求め、申請者は、この*in vitro*試験とともに、自主的に実施した*in vivo*試験の結果を提出してきたものでございます。

第226回専門調査会では、*in vitro*試験及び*in vivo*試験の結果を評価書にどのように反映させるのかということが事務局に宿題として出されておりました、今般、その書きぶりについて修正をいたしましたので、御報告させていただきたいと思います。

13ページ目を御覧ください。

今回記載を修正及び追加したところには、黄色マーカーを入れてございます。

350行目からの記載になりますが、ここは第5. 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の2. 挿入DNA又は遺伝子及びその遺伝子産物の性質に関する事項、（3）挿入遺伝子の機能に関する事項のうちの⑥として、IPD072Aaタンパク質のヒトへの影響の項目になります。

前回の案では*in vitro*試験の結果のみを記載しておりましたが、デント種のトウモロコシ及びトウモロコシ加工品の日本人の一日摂取量や胃液、腸液の情報を追記するとともに、申請者が参考として提出した哺乳類を用いた反復経口投与毒性試験でも影響が認められなかった旨を追記いたしました。

続きまして、19ページ目を御覧ください。

19ページ目の508行目からの3. 遺伝子産物が一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否か

に関する事項につきましても、当該申請品目がコーンスターチ等の原料となるデント種であるということを明記しております。

続きまして、23ページ目を御覧ください。

23ページ目の675行目からの第7になります。第7では、参考といたしまして、*in vivo*試験の結果についてその詳細を記載するという事で対応してございます。

説明は以上になります。

○中島座長 ありがとうございます。

なかなか重い宿題で、事務局としてもかなり頭を絞ったことと思いますけれども、このデータを基に判定したという記録が残ってしまいますと、以後、この動物試験を必ず実施しなければいけないということになります。これはあくまでも彼らが参考データとして自主的に出してくれたものでして、我々がこれを要求したのであれば話は別だったのですけれどもというような議論をいたしましたよね。

ということで、事務局としては参考の扱いということで、そして、申請者が参考として提出したデータに基づき、こういった書きぶりになっております。私も、よくできているようには思います。

先生方、黄色で書かれたこの修正案につきまして、御意見等はございますでしょうか。

竜一先生、どうぞ。

○小野竜一専門委員 動物実験に関してなのですけれども、毒性試験で2,000mg/kgということで動物実験上の最大量をやっているの、そういう観点からすると、これに関してはいいのかなと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

我々の仕事は安全性を確認することであって、その内容が外に出ていくのはこの評価書ですから、*in vivo*試験の結果が参考扱いで出ていくのか、これに基づいて判定したという形で出ていくのかというところが論点であったわけです。

今回、参考扱いということで記載して、それから、申請者から参考として自主的に提出されたということで、これを書き込むことによって、その辺の経緯についてもさりげなく説明しているという形で収めようということでございます。

先生方、これでよろしいでしょうか。

特に御異論はないようですので、事務局、御苦労さまでした。では、これでいいと思います。

それでは、この件も終了ということで、事務局からほかに何かございますでしょうか。

○奥藤評価専門官 特にございません。

○中島座長 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した。

以上をもちまして、第229回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。

皆様、お疲れさまでした。