

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第233回) 議事録

1. 日時 令和5年2月17日(金) 14:50~16:15

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

・ *Geobacillus stearothermophilus* TP7株を利用して生産されたプロテアーゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

中島座長、安達専門委員、岡田専門委員、小野道之専門委員、小野竜一専門委員、
近藤専門委員、佐々木専門委員、藤原専門委員、山川専門委員

(専門参考人)

児玉専門参考人

(食品安全委員会)

山本委員長、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

① *Geobacillus stearothermophilus* TP7株を利用して生産されたプロテアーゼ

6. 議事内容

○中島座長 定刻になりましたので、ただいまから第233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、樋口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の児玉浩明教授に御出席いただいております。

本日は、「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「*Geobacillus stearothermophilus* TP7株を利用して生産されたプロテアーゼ」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。

○松原課長補佐 それでは、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「*Geobacillus stearothermophilus* TP7株を利用して生産されたプロテアーゼ」の申請者であります天野エンザイム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。

以上でございます。

○中島座長 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。

○松原課長補佐 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。

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、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等について、事務局から説明をお願いいたします。

○松原課長補佐 本日はWeb会議形式で行いますので、注意事項を申し上げます。

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の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。

座長よりお呼びいたしますので、マイクをオンにして、お名前を御発言いただいた上で、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」と御発言いただきまして、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、事務局までお電話をお願いいたします。

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、また、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「*Geobacillus stearothermophilus* TP7株を利用して生産されたプロテアーゼ」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、本品目につきまして概要を説明させていただきます。

本品目につきましては、配付済みのプラスチックのファイルのものがございますけれども、事前に専門委員各位や事務局等より多数の修正意見等がございまして、机上配付資料3のとおり修正を行ってございます。このため、机上配布資料4のとおり、要旨を大幅に修正してございますので、こちらを参照の上、こちらを基に御説明をさせていただきます。

では、机上配布資料4をお手元に御用意をお願いいたします。

それでは、6ページから7ページをお願いいたします。

従来の添加物の性質及び用途等についてでございます。*Geobacillus stearothermophilus*が生産する金属プロテアーゼの一種、サーモリシンでございまして、こちらは加工食品の製造に用いられるタンパク質加水分解物の生産に用いられるものということでございます。当該酵素を用い食品の製造工程においては、通常、加熱殺菌が行われるということでございまして、このときに失活するものと考えられるということでございます。

続いて、8ページをお願いいたします。

宿主及び導入DNAについてでございます。宿主につきましては、*G. stearothermophilus* TP1株、こちらは野生株ですけれども、こちらの変異育種株であるTP5株ということでございます。

続きまして、9ページをお願いいたします。

挿入DNAでございますが、こちらは*G. stearothermophilus* TP3株、●●●こちら由来のサーモリシン（*TLN*）遺伝子が導入されてございます。加えて、*Staphylococcus aureus* 由来のクロラムフェニコール耐性遺伝子が薬剤耐性マーカーとして導入されてございます。

続きまして、10ページをお願いいたします。

遺伝子の導入方法の概略についてこちらに記載がございます。先ほど御説明させていただいたDNAを組み込んだベクターであるpTI3を構築いたしまして、こちらをエレクトロポレーションによって宿主へ導入してございます。その後、相同組換えによって*TLN*遺伝子等が1コピー導入された株、●●●というのが構築されてございます。続いて、こちらの●●●に対しまして、ニトロソグアニジン（NTG）を用いた変異育種を行っておりまして、その結果、クロラムフェニコール耐性を喪失させた株である●●●を得ております。さら

に、こちらの●●●に対してもう一度ニトロソグアニジンを用いた変異育種を行っておりまして、プロテアーゼ生産性を増加させ、そして、クロラムフェニコール感受性を維持した株である本生産株のTP7株を取得してございます。

概略図につきましては、次の11ページから12ページに掲載されてございます。

●●● 続きまして、14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についてでございます。こちらに記載のとおり、同じアミノ酸配列であるということございまして。また、酵素活性につきましてもほぼ同等であるということでございます。

続きまして、19ページをお願いいたします。

挿入遺伝子の機能に関する事項でございます。a.挿入遺伝子の供与体、b.遺伝子産物について、それぞれアレルギー誘発性に追加する知見をPubMedにて文献検索を行っておりますが、それぞれ報告がないということでございます。

続きまして、20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関する知見ということございまして、まず、20ページに記載の人工胃液試験でございます。こちらにつきましては、こちらに記載のとおり、pH2.0、そして、30秒でプロテアーゼのバンドが消失し、人工胃液内で容易に分解されるということが確認されたとされてございます。

続きまして、21ページをお願いいたします。

人工腸液試験の結果でございます。●●●、2時間で消失したということございまして、人工腸液内で分解されることが確認されたとしてございます。

同ページ、下のほうですけれども、(3)加熱処理に対する活性につきましては、pH8.0、80℃、20分にて完全に失活するということが示されてございます。

続きまして、22ページをお願いいたします。

遺伝子産物と既知のアレルゲンの相同性検索でございます。80アミノ酸残基35%以上一致の条件においては、一致はございませんでした。続いて、8アミノ酸配列連続一致においては、Sola t2というアレルゲンと相同性が認められておりましたが、こちらに記載のとおり、アレルギー誘発性を有する可能性は低いと結論をしてございます。

続きまして、24ページをお願いいたします。

構築された発現ベクターに関する事項でございます。このうち、構築された発現ベクターにおけるオープンリーディングフレームについてでございますが、もともと先日配付しておりました修正前の資料においては、オープンリーディングフレームを開始コドンから終止コドンで構成される40アミノ酸以上のものということでオープンリーディングフレームを検索していたのですけれども、今回、終止コドンから終止コドンで終結する30アミノ酸以上のORFということで修正及び再検索をしていただいております。その結果ですけれども、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につきましては、先ほど御説明させていただいたSola t2のみが検出されたということでございます。

続いて、既知のアレルゲンと80アミノ酸残基以上で35%以上一致する相同性につきましては、認められなかったと申請資料に記載がございます。

続いて、既知の毒性タンパク質との相同性検索でございますが、タンパク質データベースとしてNCBIのデータベースを使用いたしまして、E-value<10を指標として各オープンリーディングフレームを対象とした検索を行ってございます。その結果、データベース中の毒性タンパク質と相同性を示すORFが1件検出されてございますが、こちらのタンパク質は推定として登録されていること、そして、大腸菌クローニング用プラスミドベクターであるpUC19の一部であり、同プラスミドが毒性を有するタンパク質をコードすることが知られていないということから、毒性を有するタンパク質が発現される可能性は低いと考察がされてございます。

続きまして、26ページをお願いいたします。

第7番、遺伝子組換え添加物に関する事項についてですけれども、諸外国における認可、食用等に関する事項については、海外での認可の実績はないということで報告されてございます。

以降、記載のある事項については、記載のとおりでございます。

本品目の概要につきまして以上でございます。

○中島座長 ありがとうございます。

お聞きのとおり、いろいろ要求された資料、差し替え資料、彼らはかなり誠実に対応しており、いろいろな資料が提出されてきております。

それから、アレルゲン検索についても、こちらのルールではストップコドンからストップコドンでその間を検索することとなっているのですが、それは実はこちらの事務局等も気がついたので、それから今日の会議に間に合うように検索し直せと。きっと彼らは徹夜したのではないかと思いますが、とにもかくにもこの資料が出てきて、大変だったのではないかなとは思いますが、事情は事情として、この内容について審議を行っていきたいと思います。

よくある遺伝子組換え酵素の生産の例でございますので、特に分けることなく申請書全体のどこからでも御質問いただければと思います。ございますでしょうか。

それから、アレルゲンを頑張って調べてきたようですが、これについては、アレルゲンのほうで安達先生に無理を申し上げまして、この時間までに目を通してくださいとかなりの無理を申し上げたのですが、見ていただいたとかで、安達先生、御見解をお願いいたします。

○安達専門委員 安達でございます。

24ページの記載なのですけれども、FAO/WHOの方法にのっとって、連続する8アミノ酸配列の検索、それから、80アミノ酸残基の範囲で35%以上一致の相同性検索をやっています。8アミノ酸連続のほうはその前の22ページに記載がありますように、ジャガイモのアレルゲンと既知のアレルゲンと一致するものがあったということなのですが、

これは22ページのところに書いてありますように、アレルギー誘発性を有する可能性は低いと考えられるということでよいのではないかと思います。

私からは以上でございます。

○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。

川西先生、どうぞ。

○川西委員 私は、それではないといけないとかという話ではなくて、参考までにお聞きしたいことが2点あります。

まず一つ、これはメーカーとしては加工助剤の用途を想定しているわけですが、このケースは対象食品として11個挙げられている。一方、プロテアーゼを失活させる加熱条件としては、85℃とか90℃とか、そういう条件が必要のようです。では、加熱等で失活することを確認する等、メーカーに伝えているのでしょうか。多分メーカーは使用にあたって失活しているかは確認していないと思うのですけれども。この申請自体が加工助剤の用途を想定して書いてあるので、聞いてみたいかと1点思いました。

それから、もう一点、これは念のためなのですけれども、この製品に関して、どこかでこれを旧来のものから組換えに切り換えたりしたりしているのかなという辺りの事実関係を確認のために聞きたいと思います。というのは、この申請資料では、摂取の実績があると書いているのですけれども、実際にいつからいつというのがもしわかるのだったら、伺いたいと思います。もう一つ確認したいこととしては、90日反復投与試験復帰とか染色体異常試験、これは添付文書を見るとロット番号が書いてあるので、これは2017年にやっているようですので、恐らくはこの組換え体でとは思いますけれども、どうせですからその辺を確認までに伺ってみたいと思います。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

一つは、これが食品に使われるときに確実に失活される条件で使われているかどうか。それから、この製品がもともとと同じアミノ酸配列の酵素とはいえ、元の菌を使っているとか組換え体を使い出したときがあるのか。その辺は直接聞かないと分からないと思いますので、先生から直接質問していただければと思います。

○川西委員 あくまで参考までです。

○中島座長 先生方、ほかに。

私からは、この株はクロラムフェニコール耐性遺伝子を導入していて、それで変異原処理でクロラムフェニコール耐性がなくなった株を選んでおると。どこが変わっているのかというと、●●●これで失活している。バクテリアでは実はこういう例は割とありまして、特にその領域がstem-and-loopをつくるような場合にはそれで完全に失活するような場合もあるのですが、そういうケースは割と復帰変異もしやすく、すぐ戻りますので、この辺の安定性については私から一つ聞いてみたいかなと思っております。

先生方、ほかに。

岡田先生、よろしく申し上げます。

○岡田専門委員 ありがとうございます。

川西先生がおっしゃったことと一部共通しているところがあるのですが、この資料の13ページの5の性質及び用途等に関する資料で、(1)に組換えプロテアーゼ製品の製品名などは従来のプロテアーゼ製品と同じであるということで、アスタリスクの後に菌株ロットと製造ロットによって従来と識別して管理されているということで、完全に組換え体に切り換えたのか、それとも、あまりないのではないかと思うのですが、元の組換え体ではない株と交互に製造したり、そういうことがあり得るのかというところを確認させていただきたいと思いました。

26ページにも、やはり施設について組換え体ではないものでも使ってきていると書いてありましたので、直ちに安全性にどうかではないのですが、製造が組換え体と非組換え体で日によって違うとか、そういうことがあり得るのかどうかを聞いてみたいと思っております。

以上です。

○中島座長 もっともかと思しますので、申請者をお呼びしますので直接お願いします。

ほかにございますでしょうか。

それでは、申請者をお呼びしたいと思しますので、またその質疑の中で直接申請者へお聞きしたいことでもできましたら、直接聞いていただければと思います。

では、申請書をお呼びしてください。

(申請者入室)

○中島座長 お忙しいところ、ありがとうございます。

顔が見えるように、できるだけ近づいて座っていただければと思います。もうちょっと近くに寄っていただければと思います。

自己紹介をお願いいたします。お名前と会社名だけで結構です。

○岡田氏 天野エンザイムの岡田と申します。よろしく願いいたします。

○西尾氏 同じく、天野エンザイムの西尾と申します。よろしく願いいたします。

○山口氏 同じく、天野エンザイムの山口と申します。よろしく申し上げます。

このたびはお時間をいただきまして、御審議いただきまして、ありがとうございます。よろしく願いいたします。

○中島座長 それでは、少しでも顔が見えるといいので、少し寄って着席していただければと思います。

では、川西先生、お願いいたします。

○川西委員 私から2点、確認に近い内容です。

まず1点目は、御社の資料を見ますと、この製品は加工助剤として扱われるという前提でお話をされているようなのですが、資料の7ページ目を見させていただくと、このプロテアーゼ製品については、乳加工食品から、11番目はパンまで、かなり幅広の製品に使

われている。こういうことで、加工助剤というのは普通に考えて最終製品には残らない。残ってももともとの内在性のものと同じだったりというようなことはあるけれども、基本的には残らないというようなことなのですが、加工助剤として使うといった場合に、これはそれぞれ、恐らくは御社が確認しているわけではないと思うのですけれども、使用するメーカーに対して失活を確認してくださいというようなことを言っているのか、あるいはどうせそういうふうに使われるからというのは、これは熱処理での失活の条件というのが85℃5分、90℃以上で2分というようなことで、ケースによってこれだけ過熱しないケースもひょっとしてあるかなと思わないわけでもないのですけれども、その辺り、どういうふうにされているかということをお聞きしたいのがまず第1点。

それから、もう一点お聞きしてしまいますけれども、この製品に関して、原体が組換えのものを使っていたということなのですから、この資料を見ますと、第1と関係するところとしては、海外での状況だったかな。使用実績というところで、26ページに食品添加物として利用された実績があると書かれていたり、もう一つは、恐らく一番最後にEFSAに提出したと思われるラット反復投与毒性試験とか突然変異試験、染色体異常試験、こちらのほうは組換えプロテアーゼと書いてありますから、多分そうだったと思うのですけれども、製品としては最初から原体としてはこの組換えのものを使っていたのか、あるいは途中で旧来の非組換えから切り換えたみたいなことはなかったのか、その事実関係だけ確認したいと思います。

以上2点、よろしくをお願いします。

○山口氏 山口のほうからお答えさせていただきます。

まず、後者のほうから先によろしいでしょうか。海外での状況、過去はどうだったかということに関して御説明したいと思います。

御指摘いただきましたのは26ページの第7の1のところだったと思います。よろしいですね。海外での認可の実績はないというのは、組換え酵素としての認可は取れておりません。ただ、この酵素は酵素として安全性試験、90日、Ames、染色異常を通りまして、そのデータをもって海外認可を受けておりました。それを基に食品添加物としてここに書いてある国々で販売しておりました。かなり長期間のものも10年ぐらい前から販売しておりました。そういうことでございます。

○川西委員 どのくらいの実績があるのですか。

○山口氏 今回、資料ではTP7株になりますが、このTP7株を利用し始めたのは20年前になります。

○川西委員 とすると、20年前よりもっと前は非組換えでこの製品は作った。

○山口氏 そうです。

○川西委員 それが十何年間。

○山口氏 いえ、この宿主がTP5という菌でしたよね。ですから、年代で言うと91年から5年ぐらいはまさしくNON-GMとして販売しておりました。95年か6年頃から●●●、その

後TP7に切り換えました。だから、90年代の半ばから昨年まで販売しておりました。

○川西委員 分かりました。

○中島座長 ありがとうございます。

関連した質問であります、岡田先生のほうからお願いいたします。

○岡田専門委員 ありがとうございます。岡田と申します。

お出しいただいた書類の13ページのところで、安全性というよりも製造管理として伺いたいのですが、組換えプロテアーゼの生産菌及び製品はそれぞれ菌株ロット及び製造ロットによって従来と識別して管理されているという記載がございますが、非組換えのプロテアーゼも現在も製造していらっしゃるのでしょうか。同一製品名の製品で組換え体のときと組換えではないときというものがあるということなののでしょうか。それとも、完全に組換え体に切り換えていらっしゃるのでしょうか。そこを伺えたらと思うのですが、お願いいたします。

○山口氏 引き続きまして、山口からお答えさせていただきます。

先ほど申しあげましたように、1990年代の半ばから昨年に至るまでこのTP7株をずっと使っておりました。昨年の10月以降は、TP5株に戻しました。現在は、当然のことながらTP7は使っておりません。

そういうお答えでよろしかったですか。

○岡田専門委員 では、今回の安全性評価が済んだ際には、TP7だけを製造されるという理解でよろしいでしょうか。

○山口氏 それに関しましては、今後、関係省庁と相談したり、あるいはお客様と相談しながら、両方もしくはどちらかを販売していくことになろうかと思えます。まだ決めておりません。

○岡田専門委員 分かりました。ありがとうございます。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

川西先生、どうぞ。

○川西委員 先ほど質問させていただいた者なのですが、前の加工助剤、要するに、熱安定性、それぞれ対象食品が違った場合に、これを満足する加熱条件で使われているかということに関連したことで、どの程度確認されているのかお尋ねしたいのです。

○山口氏 先ほどの御質問にお答えせずに失礼いたしました。

弊社が販売する場合に、お客様に対してこういう条件以上では失活をさせてから使ってくださいということは特に申し上げてございません。

○川西委員 分かりました。それはこの製品どうこうということではなくても全体的に使えるので、参考にさせていただきます。ありがとうございます。

○山口氏 食品用酵素は大体そういうふうに使われていると理解しております。

○中島座長 ありがとうございます。

サーモリシンは割と安定性が高いので、結構きれいに精製しているのではないかと思います。現在の最終製品の純度はどの程度でしょうか。

○西尾氏 その件に関して西尾から回答させていただきます。

15ページのSDS-PAGEの写真を見ていただきたく思います。このSDS-PAGEの結果を解析いたしますと、●●●の純度になっております。

○中島座長 ありがとうございます。

この組換えのものはクロラムフェニコール耐性の遺伝子が乗っておりまして、これを変異原処理してクロラムフェニコール耐性のない株を使っており、どこが違っているのかと調べると、●●●。これで完全に耐性としては失活しておるということでした。

○西尾氏 ●●●。ただ、抗生物質の耐性自体はなくなっていると考えております。抗生物質の耐性は●●●、そういったものが要因になっているのかなと考えております。

○中島座長 その可能性もあるかなと思うのだけれども、この申請書には●●●とディスプレイされているので、実際にそういうことはバクテリアの場合はよくあります。特にこの領域がstem-and-loop構造を取っているような場合に、●●●ことというのは間々あるのですけれども、そういうケースだとこれは割と復帰変異しやすいものなのね。お尋ねしたかったのは、クロラムフェニコールの感受性の性質というのは、安定なもので今まで扱っている中でクロラムフェニコール耐性が復活するようなケースなんていうのはなかったのでしょうかということです。要するに、この株の安定性について質問したかったわけです。お願いします。

○山口氏 その件につきまして、私、山口から御回答させていただきます。

安定性という意味で、このストレインの遺伝的な安定性についての御質問かと思いますが、生産性においてははずっと変わらず来ています。いわゆる表現型においては変わらないという認識で、生産株としてははずっと使っておりました。

○中島座長 ありがとうございます。

私からは聞きたいことをお聞きしたのですが、ほかに。

では、川西先生、どうぞ。

○川西委員 これはあくまで参考ということで、先ほど非組換えと組換えの率をおっしゃっていただいたのですが、これは非組換えと組換えは別製品として販売しているという認識でよろしいのです。

○山口氏 そうでございます。先ほど御質問がありまして、ただ、製品名はお客様に説明して、これはいわゆるTP5菌由来のものです。NON-GMOですとして販売しております。お客様の理解の上、商品名は変えずに販売しております。ただ、社内的な管理はロットでしっかり管理しております。そういうことでございます。

○川西委員 リスク管理の問題なので、状況は分かりました。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかに、先生方、せっかく申請者が来ておりますので、この場でお聞きしたいこと等は

ございますでしょうか。

児玉先生、お願いいたします。

○児玉専門参考人 参考までに教えていただきたいのですが、製造工程でいわゆる●●●という言葉が出てくるのですが、こういうサーモリシンみたいなタンパク質は●●●ということなのですか。●●●は結構難しいイメージがあるのですが、●●●という言葉が使われておられるので、どうなのかなと思った次第です。参考までに教えていただければ幸いです。

○岡田氏 岡田から回答いたします。

サーモリシン自体は●●●をこういう工程でできるぐらい可能というか、しやすいタンパクになります。こういう製品は珍しいといえますか、我が社でもごく一部の製品になります。

○山口氏 補足させていただきますと、●●●と呼んでございますが、事務局から事前に御質問いただきました。それで、現場での●●●と呼んでいるものの写真をお送りしたかと思えます。御覧いただけたかどうか分かりませんが、●●●。ですから、純度はそれなりに高くなっております。

○児玉専門参考人 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。よろしいでしょうか。

お疲れさまでした。御退室いただければと思います。

(申請者退室)

○中島座長 一生懸命対応しているかなとは思いますが、サーモリシンは実に安定性の高い酵素で、●●●は不思議ではないというのは私は知っておったのですが、それでも●●●ほどの純度で売らなければならないのかと思うので、彼らはそれなりにしっかりした製品を作って売っているのではないかと私も調書を見て思った次第ではあります。

先生方、御質問、議論、御意見等はございますでしょうか。

それでは、健康影響上の問題はないとして評価書案の審議までしてしまうか、ポイントとしてはそこかなと思います。

先生方、御意見をいただければと思います。

山川先生、お願いいたします。

○山川専門委員 特にこれはこの例だけではないのですが、先ほど会社のほうで酵素を高温にして失活させて使わなければいけないことを必ずしも言うてはいないというような表現で、しかも、それはこの酵素業界では一般的であるという話でしたけれども、だとすると、組換え添加物の場合、高温で失活するからと言っているのは必ずしも安全性のときの担保にならないのではないかと気になったのですが、大丈夫でしょうか。

以上です。

○中島座長 そこは気になりますよね。これは新規の申請であれば、まるっきり新規でこれから市場に出そうというものであれば、当然そこを問題にしたろうと思うのですがけれど

も、実質、これは既に20年以上欧州で無事に販売の実績がございまして、非組換えと本酵素とはアミノ酸配列も同じなので、それを考えると30年以上無事に使ってきたとも言えます。なので、私は本来だったらその点も問題にするべきかと思いますが、EUで安全性の審査を行われたときにはたしかマウスの試験等も行われておりますので、安全に使用された実績から考えて、今回この酵素は、TP7のこの菌については私はそこは問題にしなくて大丈夫なのではないかと考えております。

ですが、私の考えが皆さんに同意いただけるかどうかは別問題ですので、先生方、この点について御意見をいただければと思います。

山川先生。

○山川専門委員 これについては、実績があるから私も大丈夫だと思ったのですが、全般的にこの例ではなくて不安を感じましたので、発言した次第です。今回のものについては、安全だというのは分かります。しかも、高温菌ですから。

○中島座長 次からこういうものについてはまた慎重に考えないといけないということですよ。

○山川専門委員 ということちゃんとみんなに知っていただきたいと思いました。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。

川西先生、どうぞ。

○川西委員 今と関連すると、新規のものに関しては、例えばこれはパンに使えますということでオーケーという形で出ると、多分今のシステムはほかのものに使ってしまうということもある。これは、先日、指針の改訂のときに中島先生が気にされていたことなのだけれども、その辺は管理上の問題なのかもしれないけれども、実際のところ、評価にも関わることなので、頭にとめておいて、指針上でやるのか、実行上で厚労省に伝えるのか、何らか対応したほうがいいのかなどと思わないわけではありません。

○中島座長 というか、思いっきり思いますよね。要は、日本に加工助剤という最終製品に酵素、原体が残らないのが前提になっているものと、それから、酵素を直接使うものとの区別がないのがいけないので、そうすると、実際に加工助剤として最終製品に残らないのがほぼ前提で、そう考えていいものまでフルに審査しなければならない、一番危険な活性が残る可能性も考えて審査しなければならないというかなり無駄な構造になっていて、なので、この前も私も申し上げましたけれども、今から大変かもしれないけれども、海外では通用している加工助剤という概念を入れるかどうかここで議論しておかないと、この問題はまだまだ尾を引くよとは思います。

この件に関しまして、先生方、どなたか御意見を言っていただける方はいらっしゃいますか。

児玉先生、お願いします。

○児玉専門参考人 中島先生は私の講演を聞かれていますので、私の主張はよく理解されて

いると思うのですけれども、今、中島先生もおっしゃったように、摂取量という概念が実は植物も添加物も全く評価の中に入って、摂取量によって評価の基準を少し変えて評価するという考え方が入っていないで、全て可能な限り食べる条件というのを設定して、このぐらい食べるよねみたいな計算をしてやっているわけですが、海外ではそこら辺は結構ドライで、加工助剤で残らないのだったら全然構わないんじゃないという形のものが実際に結構使われていて、それで作られたものが日本に輸入されてきている実態もあるわけですし、ここら辺は食品業界の方々がそれはおかしいのではないのとよくおっしゃるところで、海外ではそうやって作ったものが製品としては日本に入ってきているのに、日本でそれを真面目にやろうと思うと、日本ですごく一生懸命申請して、許可を取って、一生懸命やらないといけない。これはおかしいのではないのでしょうか。

添加物の起草委員の先生方は非常に大変だと思いますけれども、ここら辺は考え方の根幹に関わるので、非常に大変だとは思いますが、議論をぜひしていただいて、残る可能性があるものは普通にやれば良いと思うのです。たとえ熱で欠けようが何しようが、残る可能性があるよねというものは全然普通にやっていいと思うのですけれども、異性化糖の製造とか、そこら辺は全く残らないので、そういったものに使う酵素などは今の基準は明らかにオーバースペックで、過剰規制に近い状態になっているのではないかなと思っていますので、ぜひ検討していただきたいなと思っています。

以上です。

○中島座長 ありがとうございます。私の言いたかったことを全部言ってくださって、分かりやすく解説していただきまして、感謝いたします。

先生方、ほかに。

この件はリスク管理機関である厚生労働省と連絡を密にしないと、こちらだけ基準を決めても、管理機関のほうが加工助剤と最終に残るものと残らないものと分けて管理するルールにしてくれないと全く意味がありませんので、より仕事のハードルが上がりますが、ここでやらないとというのは児玉先生のおっしゃるとおりかと思えます。

この件に関しまして、先生方、ほかにございますでしょうか。

では、結論を出したいと思うのですが、この件、安全性には問題がないと判定したいと思いますが、よろしいでしょうか。

先生方、御意思の表示をお願いいたします。

ありがとうございます。

それでは、評価書案を審議しておきたいと思えます。よろしくお願ひします。

○山口係長 それでは、評価書案の御説明をさせていただきます。

お配りしている食品健康影響評価に関する資料を御用意ください。

そうしましたら、本資料に基づいて御説明をさせていただきます。

6ページをお願いいたします。

評価対象添加物の概要でございます。本添加物は、*Geobacillus stearothermophilus* TP1

株由来の変異育種株であるTP5株を宿主としてTP3株由来のプロテアーゼ遺伝子を導入することで作成した*G. stearothermophilus* TP7株を利用して生産されたプロテアーゼであるということをごさいます。本添加物は、金属プロテアーゼの一種であるサーモリシンであり、動植物及び微生物由来のタンパク質及びペプチドをエンド型で加水分解する酵素として食品加工に使用されるということをごさいます。

続きまして、従来の添加物の性質及び用途等に関する資料をごさいます。従来の添加物、名称がプロテアーゼ（サモアーゼ）ということをごさいます、有効成分はサーモリシンということをごさいます。

続いて、(2) 製造方法をごさいます。サモアーゼは、培養工程、ろ過等の製造工程を経た上で製剤化される。なお、生産菌及び菌体成分はろ過等の精製工程を経て除去されるということをごさいます。

続いて、(3) 用途及び使用形態をごさいます。サーモリシンは加工食品の製造に用いられるタンパク質加水分解物（アミノ酸液など）を生産する際には、製造工程の加熱処理において酵素が失活するというごさいます。

(4) 摂取量をごさいます。既存のプロテアーゼ製品（サモアーゼPC10F）が全て本添加物を用いた製品に置き換わりまして、全ての乳加工食品、卵加工食品、肉加工食品、魚加工食品、豆類加工食品、酵母エキス、植物蛋白分解物、動物蛋白分解物、植物代替肉、乳蛋白及びパンの製造に使用され、最終製品中に100%残存すると仮定した場合、推定一日摂取量が0.243mg TOS/kg体重/日ということをごさいます。

続きまして、2. 宿主及び導入DNAをごさいます。宿主は*G. stearothermophilus* TP1株を由来とする変異育種株である*G. stearothermophilus* TP5株であるということをごさいます。

続いて、DNAの供与体についてですけれども、サーモリシン（*TLN*）遺伝子の供与体が*G. stearothermophilus* TP1株の変異育種の結果得られた別の株であります*G. stearothermophilus* TP3株であるということをごさいます。

続いて、クロラムフェニコール耐性遺伝子の供与体は*Staphylococcus aureus*をごさいます。

続いて、(3) 挿入DNAの性質及び導入方法をごさいます。*TLN*遺伝子は*G. stearothermophilus* TP3株由来のプロテアーゼをコードいたします。クロラムフェニコール耐性遺伝子は、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（CAT）をコードするものをごさいます。

クロラムフェニコール耐性遺伝子及び*TLN*遺伝子発現カセットを含む遺伝子導入用ベクターpTI3を電気穿孔法によって宿主に導入した株に対してニトロソグアニジンを用いた変異育種によってランダムに変異を導入させることで、クロラムフェニコール感受性を獲得した株が得られまして、さらにNTGを用いた変異育種によってプロテアーゼ生産性が向上した株でありますTP7株が得られているということをごさいます。

続きまして、8ページをお願いいたします。

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でございます。

まず、組換え添加物と従来の添加物についてですけれども、遺伝子組換えサーモリシンと従来のサーモリシンのアミノ酸配列は同一であるということでございます。

続きまして、組換え体と宿主でございますが、*G. stearothermophilus* TP7株とTP5株との相違点については、TP7株にはプロテアーゼ遺伝子が1コピー導入されておまして、プロテアーゼの高生産性を獲得しているといった点がございます。

続きまして、11ページをお願いいたします。

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性質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。*TLN*遺伝子は*G. stearothermophilus* TP3株よりPCR法によって得られております。クロラムフェニコール耐性遺伝子は*S. aureus*由来のクロラムフェニコール耐性遺伝子でございます。

続いて、挿入遺伝子の機能に関する事項でございます。まず、*TLN*遺伝子でございます。挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見でございますが、こちらは文献検索を行った結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかったということでございます。

続いて、遺伝子産物についてのアレルギー発生に関する知見でございますが、こちらも文献検索を行った結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかったということでございます。

続きまして、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でございます。まず、人工胃液に対する感受性につきましては、人工胃液中での消化性を調べる目的でSDS-PAGE（CBB染色）を行った結果、試験開始後30秒以内にバンドが消失したため、分解されることが示されたとしてございます。

続きまして、人工腸液に対する感受性については、人工腸液中での消化性を調べる目的でSDS-PAGE（CCB染色）を行った結果、2時間の処理によって分解されることが示されたとしてございます。

12ページをお願いいたします。

加熱処理に対する感受性についてでございます。加熱処理に対する感受性を調べる目的で、pH8.0の各温度帯で処理した後の活性を測定してございます。その結果、80℃で20分間処理をすることで完全に失活するということが示されたとしてございます。

続きまして、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でございます。遺伝子組換えサーモリシンと既知のアレルゲン等の構造相同性の有無を調べるため、アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行っております。その結果、連続する80アミノ酸配列で35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは認められませんでした。

一方、連続する8アミノ酸配列が完全に一致するアレルゲンとして、ジャガイモ由来の

Sola t2が認められております。ジャガイモ由来のアレルゲンとしてSola t1～t4が知られておりますが、主要なアレルゲンはSola t1とされています。

以上の結果及び*G. stearothermophilus*由来サーモリシンを有効成分とする既存の食品用酵素の使用実績から、遺伝子組換えサーモリシン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ございます。

14ページをお願いいたします。

抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項でございます。遺伝子導入用ベクターpTI3は、クロラムフェニコール耐性遺伝子を持っておりますが、生産菌株であります*G. stearothermophilus* TP7株においてはクロラムフェニコール耐性遺伝子の●●●。また、同株はクロラムフェニコール感受性となっております。このため、生産菌株に当該抗生物質耐性遺伝子は発現しないと推定されるとしてございます。

続きまして、組換え体に関する事項のうち、遺伝子導入に関する事項の中の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でございます。

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の有無を調べる目的で、各標的遺伝子座における挿入DNAの5'近傍配列付近を含む領域並びに3'近傍配列を含む領域についてORF検索を行っております。その結果、配付している資料案においては、6つの読み枠において開始コドンから終止コドンで終結する40アミノ酸以上のORFを検索したと記載がございしますが、こちらは議論を踏まえ記載させていただければと思います。

続いて、15ページをお願いいたします。

第7番、遺伝子組換え添加物に関する事項でございます。諸外国における認可、食用等に関する事項につきましては、新サモアゼ製品は海外において認可を受けていないと記載させていただいております。

続いて、組換え体の残存に関する事項でございます。新サモアゼ製品中に組換え体の残存がないことを培養法によって確認がされてございます。また、製造工程のpH処理によって、生菌の死滅率は99.99%であるということから、組換え体のほとんどが不活化することを確認してございます。

新サモアゼ製品中に組換えDNAの残存がないことはドットプロット解析によって確認がされてございます。一方、PCR解析においては、新サモアゼ製品中にごく微量の組換えDNAが残存することが認められてございます。しかしながら、本PCR解析によるDNAの検出量は、EFSAが示している検出限界である10ng/g以下に比べて低い濃度であったということでございますので、製造工程における●●●により組換え体が死滅するということから、死滅した菌体から溶出したDNAの一部が残存した可能性が考えられるとしてございます。

評価書の概要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。

評価書案につきまして、御意見、コメントを承りたいと思います。ございますでしょうか。細かい字句等の修正につきましては、後ほどでもお気づきの点を事務局まで寄せていただければと思います。

山川先生、お願いいたします。

○山川専門委員 356行目なのですが、申請書要旨25ページと赤字で書いてあるところですが、●●●とここには書いてあるのですが、申請書要旨の25ページというのはたしか書き換えられていて、最近来たものによると、25ページの7ポツのところですが、最後に黄色くなっているところが●●●と書かれてしまっているのですが、これは構わないでしょうか。

以上です。

○山口係長 ありがとうございます。

こちらの記載につきまして、内容を検討させていただきます。

○中島座長 ごもっともかと思います。それは後ほど山川先生と私で確認したいと思えます。これは確かに矛盾するとまずいので、事務局、何か考えてくださいね。

御指摘ありがとうございます。

先生方、ほかにもございますでしょうか。

では、よろしいようです。

それでは、評価書案について修正内容を確認の上、食品安全委員会に報告し、パブリックコメント等の手続を進めていきたいと思えます。

では、議題（1）についてはこれで終わりたいと思えます。

議題（2）その他ですが、事務局からございますでしょうか。

○松原課長補佐 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でございます。

以上をもちまして、第233回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。

先生方、お疲れさまでした。