

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第 275 回) 議事録

1. 日時 令和 8 年 3 月 25 日 (水) 10:02~12:22
2. 場所 食品安全委員会第二会議室 (虎ノ門アルセアタワー13 階)
(Web 会議システムを併用)
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
 - ・ *Escherichia coli* K-12 DH1 MDO MAP1001h 株を利用して生産された 2'-フコシルラクトース
 - ・ H-ELP 株を利用して生産された α -アミラーゼ
 - (2) その他
4. 出席者
 - (専門委員)
児玉座長、伊藤専門委員、佐々木専門委員、柴田専門委員、爲廣専門委員、
中島専門委員、中村専門委員、藤原専門委員
 - (専門参考人)
杉本専門参考人
 - (食品安全委員会)
祖父江委員長、頭金委員
 - (事務局)
中事務局長、前間次長、古田評価第二課長、澁岡評価情報分析官、飯塚課長補佐、
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 *Escherichia coli* K-12 DH1 MDO MAP1001h 株を利用して生産された 2'-フコシルラクトース
 - ② H-ELP 株を利用して生産された α -アミラーゼ
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 275 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。

〇〇〇は後ほど遅れて入られるとのことでした。

また、専門参考人として〇〇〇に御出席いただいております。ありがとうございます。

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「*Escherichia coli* K-12 DH1 MDO MAP1001h 株を利用して生産された 2'-フコシルラクトース」、「H-ELP 株を利用して生産された α-アミラーゼ」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いたします。

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、資料として「食品健康影響評価に関する資料」となります。

資料の不足等はありませんでしょうか。

また、本日は「*Escherichia coli* K-12 DH1 MDO MAP1001h 株を利用して生産された 2'-フコシルラクトース」の申請者である DSM 株式会社の方、「H-ELP 株を利用して生産された α-アミラーゼ」の申請代行者であるプロペルフードコンサルティング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。

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いたします。

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 で会議に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御提示いただくか、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。よろしくお願ひいたします。

〇〇〇 それでは、新規品目である「*Escherichia coli* K-12 DH1 MDO MAP1001h 株を利用して生産された 2'-フコシルラクトース」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。

お手元に「*Escherichia coli* K-12 DH1 MDO MAP1001h 株を利用して生産された 2'-フコシルラクトース」の概要書を御準備ください。

登庁で出席いただいている先生方は、透明なプラスチックファイルでございます。Web で御出席いただいている先生は、3 月 18 日に再送させていただいております概要書 20260306 という PDF ファイルをお開きください。

3 ページ目をお開きください。

1. 2'-フコシルラクトースの食品としての概要です。

2'-フコシルラクトースはヒトの母乳に最も多く含まれるヒトミルクオリゴ糖です。

2'-フコシルラクトースは栄養補助のため、そのものの摂食を目的としており、食品添加物ではなく、一般に食品として食されているほかのオリゴ糖と同様に食品に該当するとされております。

2'-フコシルラクトースは L-フコース、D-ガラクトース及び D-グルコースからなる三糖類で、構造式、分子式、分子量は表 1 のとおりでございます。

4 ページを御覧ください。

自社規格の設定方法について説明がなされております。まず、2'-フコシルラクトースは食品であり、国内の公定規格はございません。そのため、申請者は自社規格を設定し、品質管理を行っております。当該規格は、欧州委員会の Novel Food 制度下の規格及びアイルランド食品安全庁により評価を受けた際の規格を基に設定しているとのことでございます。

黄色のマーカー箇所ですが、検査法について、EFSA の審査を受けた方法から基本原理は変更したものではないとのことを追記いただいております。

このページの下から 4 行ほど上の記載になるのですが、この EU 規格に合致する自社製品がアジア、ヨーロッパ、ラテンアメリカ、北アメリカを含む世界の異なる地域の 70 か国以上で乳児及びフォローアップミルクの成分として商業化されており、2017 年の市場参入以来、ヒトミルクオリゴ糖に関連する重大な副作用の報告はないとのことでございます。

5 ページから 6 ページにかけての表 2 が本品の自主規格でございます。この自主規格は

EU 公定規格と比べて同等もしくはそれ以上の含有量及び純度を規定する内容となっております。

6 ページの下段から 1.2.母乳におけるヒトミルクオリゴ糖の種類と割合でございます。ヒトミルクオリゴ糖はラクトースを核として、N-エチルグルコサミン、ガラクトース、フコース、シアル酸の 4 種の単糖のうち 1 つまたは複数が特定の結合性で結合したもので、次の 7 ページの表 3 に記載の 3 グループに分類されます。それぞれの割合は記載のとおりでございます。今回申請する 2'-フコシルラクトースは Neutral Fucosylated HMO に分類され、母乳に最も多く含まれるヒトミルクオリゴ糖であるとのことでございます。

その下から 8 ページにかけて、表 4 に正期産後の母乳中の 2'-フコシルラクトースの濃度の記載がございますが、1L 当たりで換算しますと、産後授乳期間中 1~4 日目の初乳が 3.2g/L と最も高いとのことでございます。

8 ページの 1.3.用途及び使用形態でございます。2'-フコシルラクトースは母乳に含まれるオリゴ糖であることから、栄養補助を目的とした使用が期待され、乳児用調製粉乳及び調製液状乳へ添加することによって、母乳に近い成分組成を実現できるとのことでございます。国内では現時点で主に表 5 に示す用途と最大添加量を想定しているとのことです。

9 ページの 1.4.摂取量ですが、前項の 1.3.に示す主な用途に使用されたと仮定して、これらの食品の摂取量から本品の推定摂取量を算出したところ、表 6 及び表 7 のとおり、0~6 歳の子供で最大約 5.3g/人、その他の 7 歳以上の集団で約 7.1g/人となっております。

10 ページから 2. 2'-フコシルラクトースの製造方法の概要でございます。

本生産菌株は、より効率的に 2'-フコシルラクトースを製造することを目的に作成されました。MAP1001h 株の作成方法ですが、宿主である *E.coli* K-12 株由来の突然変異株 DH1 株から各種オリゴ糖を生産性向上を目的に関与する遺伝子を欠損し、2'-フコシルラクトース生合成に関与する遺伝子の発現強化を目的にプロモーターを挿入します。その後、2'-フコシルラクトース生合成に関与する遺伝子を挿入し、2'-フコシルラクトース生産性向上を目的に関与する遺伝子を欠損することで本生産菌株は構築されます。

本生産菌株の宿主ですが、*E.coli* K-12 株由来の突然変異株である DH1 株でございます。

11 ページにお進みいただき、*E.coli* K-12 株及びその派生株は、食品・医療用等のアミノ酸や生理活性物質の工業的な生産に長年にわたり生産菌の宿主として用いられてきたこと、国立感染症研究所病原体等安全管理規程のバイオセーフティレベル分類において、BSL1 の細菌と規定されております。

2.2.3.ベクターに関してですが、菌株の構築過程において、プラスミドベクター●●●、●●●、●●●を使用しております。これらのベクターはそれぞれ●●●していますが、いずれも最終的に菌体から除去されており、MAP1001h 株はベクターを有しておりません。

2.2.4.挿入遺伝子は、表 8 に記載のとおりでございます。

表の 1 行目に記載の●●●遺伝子は、●●●目的に挿入されており、供与体は●●●です。

11 ページの最下段に記載の●●●遺伝子は●●●を目的に挿入されており、供与体は●

●●でございます。

その他の導入遺伝子の供与体は、宿主である *E.coli* K-12 DH1 株です。

12 ページの表 8 の下から記載がございますが、●●●●遺伝子の供与体である●●●●は BSL1 の細菌と規定されている菌です。●●●●遺伝子は●●●●由来の野生型●●●●遺伝子の塩基配列を基に合成したもので、宿主である *E.coli* で発現が最適となるよう改変しておりますが、●●●●遺伝子がコードする推定アミノ酸配列は野生型●●●●遺伝子のアミノ酸配列と同一とのことです。

●●●●遺伝子は、供与体である●●●●由来の野生型●●●●遺伝子の塩基配列を宿主である *E.coli* で発現が最適となるよう改変しておりますが、●●●●遺伝子がコードする推定アミノ酸配列は野生型●●●●遺伝子のアミノ酸配列と同一とのことです。●●●●は BSL2 の細菌と規定されていますが、●●●●遺伝子は供与体の遺伝子配列を基に合成したものであり、病原性に関する配列は含まれておらず、また、遺伝子自体及びその産物に病原性等は知られていないとのことでございます。

2.2.5.プロモーター等ですが、プロモーター及びターミネーターは *E.coli* 由来の塩基配列とのことでございます。

2.2.6.申請品である MAP1001h 株の概要でございますが、相同組換え法により表 8 に記載の遺伝子を *E.coli* K-12 DH1 株の染色体に相同組換え法により挿入しております。また、内在性の●●●●遺伝子の 5'上流側に●●●●プロモーターを相同組換えにより挿入し、さらに 13 ページの表 9 に示す遺伝子を相同組換え法により遺伝子全体または一部を欠損させたとのことでございます。

2.3.製造方法ですが、14 ページに記載の図 2 のフローチャートのとおり、生産菌を培養後、発酵液をろ過し、生産菌を除去します。●●●●晶析し、得られた結晶を●●●●乾燥して製造されるとのことです。

続いて 3.1.自社規格分析結果でございます。比較対象として置いた従来品は、*E.coli* K-12 DH1 MDO SCR6 株という遺伝子組換え菌由来の 2'-フコシルラクトースでございますが、日本での安全性評価が行われておらず、日本国内での流通はございません。しかし、EU、アメリカ等の複数国、地域において販売・流通実績があるものとのことでございます。

分析結果をまとめたものが 15 ページの表 10 でございます。表 10 のすぐ上に記載がございますが、自社規格において申請品の品質は従来品のものと同等と考えるとのことでございます。

続いて、16 ページの 3.2.不純物プロファイル比較結果でございます。2つの分析方法により、申請品と従来品の不純物プロファイルを比較しております。

1つ目の方法が親水性 HPLC 法による比較でございます。分析条件は表 11 に記載のとおりでございます。分析結果が次の 17 ページの表 12 のとおりでございます。目的の 2'-フコシルラクトース以外に●●●●されておりますが、申請品に従来品にはない新規の不純物はなく、また、従来品における含有量を超える量の既存の不純物は検出されなかったと

のことでございます。

続いて、2つ目の方法が3.2.2.疎水性 HPLC 法による比較でございます。分析方法は表13に記載のとおりで、結果が次の18ページ表13の下に記載がございますが、申請品に検出限界以上の不純物は検出されなかったとのことでございます。

同ページの3.2.3.不純物プロファイルの比較結果のまとめですが、親水性及び疎水性 HPLC 法による分析の結果、申請品に新規の不純物及び従来品における含有量を超える量の既存の不純物が検出されなかったとのことでございます。

続いて3.3.残存タンパク質分析結果でございます。申請品中のタンパク質残存量をブラッドフォード法により分析した結果が19ページの表14、15でございます。●●●分析しております。●●●分析結果が表14で、定量下限値●●●で分析を行った結果、●●●タンパク質は定量下限未満となっております。●●●分析が表15で、定量下限●●●で分析を行った結果、●●●定量下限以上のタンパク質が検出しております。

説明は以上となります。よろしくお願いたします。

○○○ 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。皆さん読んでお分かりかと思えますけれども、高度精製品としての申請書の作り方になっておりますので、本日は高度精製品としての審議の観点で見たいと思っております。

申請資料の3ページから10ページ、2'-フコシルラクトースの食品としての概要のところまで御意見、コメントがありましたらよろしくお願いいたします。

5ページの表2に自社規格とEU規格というのが載ってまして、EUはNovel Food扱いの規格になっているようですけれども、微生物試験のところでは病原性のある *Enterobacter* とか *Salmonella* とかそこら辺がEU規格のほうがマイナスのハイフン(ー)になってまして、これが何を意味するのか少し分からないので、こちらは申請者のほうに聞いてみたいと思います。

それから、目立ったところでは、「検出せず」というのが多いのですが、*Bacillus cereus* はグラム当たり50 CFU 以下であることとなっているところ等、気になるところも少しございます。

ここら辺の規格に関しまして、何かコメントがある方がいらっしゃいましたら。

○○○、この規格の中に重金属とかが入っていないのですが、その点、どのようにお考えになりますでしょうか。少し御意見をいただけましたらありがたいと思います。

○○○ 入っていたほうが良いと思うのですが、入っていないですね。この製造方法で重金属が入ってくる可能性は少ないので、設定していないのかなと思えますけれども、どうでしょうね。普通はと言ったらあれだけでも、一応は重金属の試験を入れますけれどもねというぐらいですかね。

○○○ 後ほど申請者をお呼びすると思っておりますので、そこら辺、○○○のほうから聞いていただけますでしょうか。

○○○ 分かりました。

○○○ それから、これは後ほども出てきますけれども、タンパク質が 0.01%以下であることとなっていて、実際に後ろのほうに、先の 19 ページになってしまいますけれども、タンパク質の定量結果が載っていて、●●●でやってみたら●●●ppm という形でタンパク質が検出されてしまっているというところが現在の高度精製の基準を満たしていないという形になっております。

ですので、結論から言ってしまうと、これは現状通せないのですけれども、取りあえずこの形での指摘事項を出してどういうふうに答えてくるかというのを今回は見たいと思いますので、その点を皆さん頭の中に入れて見ていただけたらと思います。

これは Novel Food としては EU の基準と、多分アメリカの GRAS とかも似たような感じのようなのですけれども、このくらいのタンパク質含量ならいいよということになっているようなのですけれども、日本だと現状ではこれを通すというのはかなり難しいという形になっております。

後で戻っても構いませんので、それでは、申請書の 10 ページから 14 ページ、製造方法の概要のところコメントがありましたらお願いいたします。

14 ページのところに製造方法は載っているのですけれども、●●●ろ過をやっているようでして、もしかすると添付資料にあるのかもしれないのですけれども、この●●●ろ過の排除限界といたしますか、どのくらいの分子量で切っているのかというのは、私、時間がなくて確認し切れなかったもので、後で聞いてみたいと思います。

ほかの先生方でここまでで何か御意見やコメントがある方がいらっしゃいましたら。よろしいですか。

では、申請書の 14 ページから 19 ページ、最後までということ、従来品と申請品との品質の比較というところでコメントや質問がありましたらお願いいたします。

まず、タンパクの定量のところですが、今回ブラッドフォード法でやっていますが非常にポピュラーな方法ですが、ブラッドフォードは結構還元剤に弱いので、こちらの添付資料のほうを見ると、還元性を持っているために 2'-フコシルラクトースがほかのタンパク質の定量法が適用できないので、ブラッドフォード法でやったという記載がありまして、とはいえ、ブラッドフォードも結構還元には弱いのだよなと思って、この定量法でいいのかなというのは結構思うところではございます。

あと、定量限界といたしますか、検出限界を 1ppm ぐらいまでに下げようと思うと、恐らく調べる試料溶液を濃縮しないとそのぐらいの ppm にたどり着かないので、今回読む限りでは濃縮はしていないようなのですよね。なので、恐らく 2'-フコシルラクトースを●●●ろ過か何かで抜いてタンパク質を残して定量するみたいな方法が本当は望ましいのではないかなとは思いますが、これで EU には通っているからいいわということなのだろうと思いますが、そこら辺、タンパクの定量でほかに何かコメントがある先生がいらっしゃいましたら。

〇〇〇 〇〇〇です。

タンパクというか、残存ペプチドというか、その辺りなのですけれども、添加物の場合だったら総窒素で規定することが多いです。総窒素であれば元素分析法とかいろいろ幾つかの方法はあるので、それで総窒素を求めてタンパクに換算するというやり方もなくはないのですけれども、どうなのでしょうね。この量ではやはり入っていると思います。このタンパク量だと。

〇〇〇 現状、入っているなどしか言いようがないのですけれども、総窒素からタンパクに換算したケースは多分この委員会ではないかなと思うので、私、存じないのでけれども、そのやり方というのはポピュラーなのですかね。

〇〇〇 タンパクもそうですけれども、アミノ基が入っているものはやはり危ないかもというので窒素量を測って、それで換算するというのが添加物のほうはポピュラーですね。

〇〇〇 総窒素量の定量だと、ケルダール法なんていうのはいいのかどうか知りませんが、幾つかあるかとは思いますが。

〇〇〇 ケルダール法も普通に使われていますね。

〇〇〇 ここが一番この品目でネックになっているところなので、タンパク質は実質的に本当に入っているのですか、入っていないのですかというところは、研究者の我々からすると、ブラッドフォード法ではなというものが正直あるので、別な方法でもう少し確認できませんかねというの聞いてみたいと思って、その中で総窒素量という測定法というの今御提案いただきましたので、そういうのも聞いてみたいなと思っていました。

それからもう一つ、親水性、疎水性の HPLC で不純物の検出を行っているのですけれども、こちらが非常に厄介なのは、国内流通品がなくて、海外での流通品を従来品としてやっていますということなのですが、この扱いが、しかも、従来品が組換え体由来の二重に我々としては面倒くさい考え方になってしまうのですけれども、そのようなものを従来品にしてやっているということになっていまして、まずそれがどうなのかというのが実はこの委員会で議論したことがないので、この際少し皆さんと議論しないといけないかなと思っております。

このように、日本で初上陸するようなタイプのもは国内流通品がないということになりますので、今後も恐らく精密発酵が進行していくとこういうケースは出てくるかと思うのですけれども、その場合どうするかということになります。

考え方としては、広く海外で流通している先行品があるのであれば、それを従来品とせざるを得ないとは思っておりまして、ただし、広くというところがポイントかなと思っておりまして、非常にある特定の国で狭い範囲でしか流通していませんみたいなものだと問題はあかなと思うのですけれども、EU、アジア、諸外国で結構流通していますというものがあるのであれば、それを従来品としてもしようがないかなとは考えるところなのですけれども、この点について先生方でコメントがありましたらお願いしたいと思います。

〇〇〇、いかがですか。

〇〇〇 まず、どこかで何かと比べないといけないわけなので、海外の流通品で認めざるを得ないと思うのだけれども、やはりここで一度議論をしておいて、どの程度流通しているものであればいいのではないかという共通認識を持っておけばよろしいのではないかと思います。我々が先陣を切って安全性を保障する義務までではないので、どの程度使われているか、やはり1国や2国ではと思いますし、また、そのシェアも勘案して、十分に流通していると考えにはどのくらいのレベルをもって十分に流通していると認めるかというのを議論して共通認識を持っておけばよろしいのではないかと考えます。

以上です。

〇〇〇 今、〇〇〇がおっしゃったことしかないかなと思います。どうしても先行品も組み換え体しかありませんとなってしまうと、2'-フコシルラクトースは恐らくそれしかないと思うのですけれども、それを従来規格品として見るというのもしょうがないかなというか、このケースでは仕方がないかなとは思いますが。

今回、少し説明がございましたけれども、改めてもう一度先行品について、申請者のほうにどのくらい流通していてどのくらいシェアがあるものか分かりますかということをお聞きしたいと思います。

それから、不純物が出てくるわけですが、●●●とか、専門の先生からすればすぐ分かるのかもしれませんが、各不純物の安全性の記載が少ないかなとは思ってまして、それについては少し記載を足していただく必要があるかなとは思っております。

そのほか、先生方からコメント等がありましたら、よろしいですか。

どうぞ。

〇〇〇 5ページの自主規格のところ、タンパク質の定量方法の中でもう一つ、UV-001と書いてありまして、今回のオリゴ糖にはUV吸収がないので、UV吸収があれば、タンパク質などそういう不純物が考えられる。そういうことなのだと思うのですけれども、どなたかUVのこの方法で検出限界はどの程度のものか御存じの方が。これで検出できないということであれば、タンパク質が実際にどの程度含まれているかという話なのですけれども、だから、これが本当にないのかどうかという点、その一つの考え方にもなりますので、私、実はこの方法でUVでどの程度の検出限界があるのかよく知らないのですけれども、〇〇〇あたり、もしかして御存じだったら教えていただけるとありがたいです。

〇〇〇 具体的な検出限界がどの辺りになるのかというのはよく分からないのですけれども、今までの遺伝子組換えのものでも同じような試験が行われていて、これでいいのでは？というところでやっちゃっているところはありますよね。結局のところ、ピークが見えていないからという判断しかやはりできないのですよね。これ以上もっと厳密に不純物を特定しましょうというか、どれだけ入っていますかという話になってくると、クロマトだけではやはり足りない。あとは、差数法というか、いろいろな分析をしてみないと絶対量は分からないので、この辺りは限界というか、できることをやって判断している状態だと思っています。だから、本当にピークが見えたときには、それは完全に不純物だろうけれ

ども、見えていないからといって不純物がないとは言えないというのが現状だとは思っています。

〇〇〇 ありがとうございます。

そうすると、あとほどの程度の注意義務を払えば十分かという点が最後には議論になるところかと思うのですけれども、大変ありがとうございました。

〇〇〇 あと、規格のところで見ると、例えば 15 ページなのですけれども、含量ですね。この含量というのが恐らく HPLC 含量だったと思うのですが、標準品との比較で多分含量を出しているのです。一番左側の●●●というものが 2'-FL の含量で●●●となっていますが、市販標準品との比較で●●●あったのだろうと解釈出来ると思います。それ以外の不純物がその下の●●●とか幾つかあるのですけれども、全部足し合わせて 100 になるというのですかね。ならないといけないのですよね。それ以外が不純物になるわけだから、そもそもこの●●●は、現状でできることでやって●●●なのですよ。これが本当に正確かと言われると、多分絶対定量をしないとイケなくて、そこまで時代が追いついていないというのが現状だと思います。

だから、医薬品でも同じように HPLC とか GC とかそういうクロマト法で分析するケースが多いのですけれども、前提条件としては、標準物質のほうが純度 100% で検量線を作成してそれとの比較で測っているはずで、1%、2% ぐらいの測定値のばらつきと、使用した市販標準品の純度が例えば 98% だとしたら、98% の製品は、98 対 98 となり 100% になってしまいますから、常にこの分析結果の中には誤差やばらつきが残っています。なので、もっともっと正確に分析値を出しなさいと言うとできなくはないですが、過剰要求になってしまうというのが現実的なところだとは思っています。

〇〇〇 ありがとうございます。大変勉強になりました。

〇〇〇 そのほかの先生方でコメントがある方はいらっしゃいますか。

では、申請者の方をお呼びして少し質疑応答をしたいと思いますので、今、40 分ですか。45 分開始で、休憩を挟みたいと思います。

(休憩)

〇〇〇 (音声不良) それでは、幾つか質問やコメント等がありますので、少し質疑応答をしたいと思います。

まず、申請書の 5 ページの 2'-FL の自主規格のところですが、まず 1 点目、この自主規格に重金属等の規格がないことについて、〇〇〇から御質問というかコメントがございました。

〇〇〇 〇〇〇です。

自主規格の中で重金属の規格が設定されていないのですが、これはなぜでしょうか。普通、添加物とかいろいろなものでは重金属の規格を設定して、変な重金属が入ってこない

ようにするのですけれども、ここで設定していないというのは何か理由があるのですか。

〇〇〇 （英語で発言）

弊社のほうでも一応設定はありまして、鉛とヒ素について設定がございますので、こちらの自主規格のほうに含めることは可能とのことですよ。

〇〇〇 ということは、鉛とヒ素については社内での規格はあるという理解でよろしいですか。

〇〇〇 そのとおりですよ。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、よろしいでしょうか。

〇〇〇 はい。では、追加してもらえればいいと思います。

〇〇〇 同じこの自主規格の Table でタンパク質のところは UV-001 というのが出てくるのですけれども、こちらについて〇〇〇のほうから質問を。

〇〇〇 本申請は高度精製品ということで申請されておりますので、高度精製品ではタンパク質は検出されてはならないということになっておりまして、その辺が議論の対象になっております。

ということで、5 ページのタンパク質の検出方法で Glycom 法で UV-001 (Bradford) とありますが、具体的にどういう方法で検出していて、検出限界はいかほどのものなのか。また、実際にこれで検出されたのかどうかという点について、詳しく御説明いただけますでしょうか。

〇〇〇 （英語で発言）

弊社が利用しております方法が Modified Bradford、弊社の試験方法として多少改定しているブラッドフォード法になります。こちらの定量下限として●●●で、●●●試験結果が表 15 にお示ししております●●●ppm と、●●●は定量下限未満ということになっております。

試験法の詳細については以前の事務局レビューの段階でもお渡ししているのですけれども、必要があれば詳細を追記等いたします。

〇〇〇 ここに UV-001 と書いてあるのですけれども、これが何を意味するのか。それから、実際に御社の製品でどの程度のタンパク質が検出されたのかという点も併せて説明いただけるとありがたいです。

〇〇〇 申し訳ありません。弊社の製品でどの程度のタンパク質が検出されたかというのは、お示ししている表の結果ではないところということでしょうか。

〇〇〇 この表だけではなくてトータルとして、今回の申請ではタンパク質が含まれていたのかどうか、また、どの程度含まれていたのかという点がポイントになっております。

なので、まず一つ説明してほしいのは、この表の UV-001 が何を意味しているのか。これが検出器のことなのか、何なのか。まず第 1 点がこれ。

それから、一番肝心のポイントは、この製品について、タンパク質は実際のところ検出

されたのか。また、その量はどの程度であったと評価しているのか。ここがいささか分かりにくかったので、これをあなたの口から説明していただけるとありがたいです。

〇〇〇 申し訳ありません。タンパクがどの程度というところの御質問が私が多分理解できていないのですけれども。

〇〇〇 御社のほうでは表 14、表 15 で示しているのがデータですという言い方でよろしいですか。

〇〇〇 そのとおりでございます。

〇〇〇 こちらの質問は、恐らくこの表 14、表 15 はブラッドフォード法で測っていると思うのですけれども、規格のほうに UV-001 というのが出てきますよね。ブラッドフォードは多分 UV では測らないので、可視光で測るので、この UV-001 とは何ですかというのが質問と思っていただければいいのですけれども。

〇〇〇 承知しました。

(英語で発言)

〇〇〇 (英語で発言)

UV-001 というのはそもそも弊社の試験法の名称として使っているものでして、試験法のリファレンスの名前になります。UV でのディテクションがというところで、今、〇〇〇から説明があったのですけれども、クマシーブルー染色でちゃんと結合させてというところで、私の理解が追いついていないところがあるので、今、ここを詳しく御説明できないところまであります。表 2 でお示ししているタンパクの分析としては、●●●の定量限界で測定をしております、常時この定量限界未満ということを確認しております。

〇〇〇 よろしいですか。

ありがとうございます。大体理解しました。

それから、今回タンパク質が表 14、15 でロットによっては検出されているという形になっていまして、これが高度精製品の基準に今のところ合っていないという形になっているのですけれども、今回のものは 2'-フコシルラクトースに還元性があって、ほかのタンパク質の定量法が使えないと添付資料のほうにはあったのですけれども、その場合、●●●ろ過とかそういうのを使って 2'-フコシルラクトースを抜いてタンパク質を回収してくるようなやり方というものもあるかと思うのですけれども、そういったことを試されたり、あと、場合によっては総窒素量みたいなのを窒素として測ってしまったり、その総窒素量からタンパク質を計算するみたいなやり方もあるようなので、別な方法で、ブラッドフォード法は我々研究者にとってはすごくポピュラーで、皆さんやったことがありますので、ブラッドフォード法は厳しいのだよなと皆さん率直に思っているところがありまして、別な検出法を少し検討してもらうことはできませんでしょうかというのが次の質問なのですが、いかがでしょうか。

〇〇〇 (英語で発言)

現時点でほかの方法でのタンパク分析は行っておりません。

ブラッドフォードの選択の理由としては、以前に提出した資料にあるとおりなのですが、実績として、こちらの製品は 2019 年から既に日本以外の国では広く使われております。特に健康被害の報告等もございません。アレルギー等の御報告等もございません。

あとは、毒性試験等を GRAS の評価、EU の評価のほうで提出してございまして、そこらは評価済みということで、あとはクリニカルトライアル、実際の乳幼児用の粉乳に添加して、4,000、5,000 といったかと思うのですけれども、そういうような乳幼児への摂取の実績もあり、こちらも特に安全性の懸念なしという結論になっておりますので、そこらをベースにということで、特にこれ以上のタンパクの分析というのは今は検討しておりません。○○○ 分かりました。

それから、次は申請書の 14 ページの図 2 ですけれども、製造工程で●●●ろ過というステップが入ってくるのですけれども、ここの●●●ろ過のサイズ、●●●のサイズがもしお分かりでしたら教えてほしいのですけれども。

○○○ (英語で発言)

サイズは確認して御回答申し上げます。

○○○ ありがとうございます。では、それは後ほどお知らせください。

それから、先行品といいますか、従来品ですが、こちらも遺伝子組換えのものになるようでは、日本国内で流通しているものがないので、この形で比較検討するしかないのかなとは思いますが、この従来品がどのくらい流通しているのか、シェアとか、実際に流通している量とか、そういった情報をもう少し詳しく提出いただくことというのは可能でしょうか。

○○○ 今御回答できる範囲ですと、国は概要書にリストしたような国になりまして、●●●販売実績がございまして、こちらも特に安全性の懸念等の報告はありません。

○○○ 2'-フコシルラクトース全体としては、世界的に見て量としてはどのくらい流通しているのですか。

○○○ ○○○のほうから回答を申し上げます。

○○○ 製造が始まって、製品の粉ミルクの流通が始まったのが 2014~15 年、10 年以上前からなのでは、それ以降ずっと国々、地域は広がってございまして、すみませんが正確な数量は控えさせていただきます。●●●、在庫販売というのを年に何度もやるようなレベルでございまして。

○○○ 分かりました。

○○○ よろしく申し上げます。

○○○ それから、不純物プロファイルで検出されているものを見せていただいておりますけれども、その中に出てくる●●●とか、ほかにも●●●ですかね。幾つかあるのですけれども、こちらの安全性についての記載がいま一つ申請書のほうにないので、個別の検出されたものについてそれぞれどういう食経験があって、このぐらいの量は普通に食べられていますとか、こういう試験で安全性が調べられていますとか、そういう情報を少し足し

ていただきたいと思っております。

〇〇〇 表 12 にお示した不純物について、それぞれの不純物についての食経験等の追記ということよろしいでしょうか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 承知しました。

〇〇〇 それから、6 ページの表で *Salmonella* とか *Listeria* とかは EU のほうの規格だとハイフンになっているかと思うのですけれども、これは EU の規格にないということですか。

〇〇〇 そのとおりです。

〇〇〇 そうすると、EU は 3,000 CFU 以下という菌数と酵母、かびの 100 CFU の 3 つしかないという理解ですか。

〇〇〇 たしかそのとおりです。

〇〇〇 分かりました。

それから、●●●で晶析しているので、生きている菌は入ってこないと思いますけれども、DNA の検出はされたことはございますでしょうか。

〇〇〇 そちらも確認しておりますので、後ほどデータを提出いたします。

〇〇〇 結論としては、生産菌に由来する DNA というのは。

〇〇〇 検出されないという結果になっておりました。

〇〇〇 分かりました。

そのほかの先生方で御意見、御質問がある方がいらっしゃいましたら。よろしいでしょうか。

それでは、審議のほうに戻りますので、説明ありがとうございました。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。

今、回答がございましたけれども、重金属等の規格等は実はあるということで、皆さんの質問のところは大体は答えられたかなと思っております。

ただ、先ほども冒頭にも言いましたように、現在の指針上では高度精製に当たらないという判断にならざるを得ないので、結論からいくと、今日はこれは安全性上の問題はないとはできない形になろうかと思っております。

ただ、ブラッドフォード法はやはりどうかと思うところはございますので、少し別なタンパク質の検出法、例えばフコシルラクトースを抜いてから定量するとか、総窒素量でいくとか、別な検出法でどのぐらいタンパク質が入っているかどうかというのを検討してもらおうということは指摘事項としては書いてもいいかなとは思っております。

そのほか、先生方のほうからコメントがもしございましたらお願いしたいと思います。

よろしいですか。この品目はこれに尽きるのですけれどもね。

従来品については、先ほどの説明だとざっくりし過ぎているので、もうちょっと世界流通している量がこのぐらいで、従来品はこのぐらいで、シェアとしては何%ぐらいありますぐらいの回答はいただきたいと思っていますので、それは要求したいと思っております。

あとは、規格については、これは食品ですので、こちらで規格をこういうふうにつくれというのはなかなか要求しづらいところがございますので、現実に即して対応せざるを得ないかなとは思っておりますけれども、タンパク質 0.01%というのでアメリカや EU は通ってしまっているの、きちんとロットで定量してこのぐらいタンパクが入っているのを確認した上で、通常の自主規格としてはそのぐらいで運用してもらおうというのはしよがないのかなと思いますが、それだと遺伝子組換えの高度精製にならないよという強い御意見をお持ちの先生がもしいらっしゃったら、お願いしたいとは思っています。

〇〇〇、どうでしょうか。

〇〇〇 アミノ酸みたいにきれいに結晶するものと、それから、糖みたいなものでどこまで精製できるかは難易度に差が結構あって、アミノ酸みたいなものだったらタンパクを除くのはそんなに難しくないのだけれども、今回、糖なので、これは個人的にはほぼ技術の粋は尽くされていると私は実は思っています。

なので、今回のも高度精製ではなくてフルスペックで出てきたら問題なかったのではないかなと実は思うところもあるのですけれども、ただ、タンパクは検出されてはならないとは言いつつ、どの程度までだったら十分な注意義務を果たしたと認めていいのかというのは議論しておきたいなと思っておりますし、あと、1ppm 以下という数字はどこから出てきたのか。一応事務局のほうでも以前の過去のデータ等を見ていただいて、その根拠がどうなっていたのかというところを洗い直した上で、現実的にはどのぐらいの線までであればとか、どのぐらいの検出感度のある方法で調べていけばオーケーとするかというのを合意しておくのが現実的かなと考えています。

以上です。

〇〇〇

そのほか、微生物のところの病原菌、*cereus* とかそういうところ、検出せずとしなくていいのかとかというところも意見としては挙がっておりまして、ただ、食品で自主規格なので、どこまでそれをこちらから求めることができるかというところもございますが、実際には彼らは 50 CFU という形でやっていますけれども、どのくらい本当に検出されているものなのかというのは、実際には検出されませんという回答になると思うのですけれども、少し聞いてもいいかなと。これは自主規格なので、ロットごとにやっているはずなので、ロット間の *Bacillus cereus* のデータは出せませんかみたいなのは聞いてもいいかなと思っております。

あと、酵母とかかびとか、酵母、かびというのは多分空気中から浮いているものが落ちてくるのではないかなと思っておりますけれども、どうしても粉の製品なので、袋詰めするところとか、そういうところから入ってくる可能性は否定し切れないので、検出されずで

は恐らく乗り越えられないのかもしれませんが、データとしてどのくらいのものかというのは聞いてみてもいいかなと思います。

ということで、今、専門委員の先生から、この議論の中からもいろいろ意見が出ましたので、それらについては確認事項とか指摘事項案として事務局のほうで取りまとめていただいて、皆様に御確認いただいた上で、消費者庁を通じて申請者に対して指摘するというようにしたいと思います。

〇〇〇、最後に何かコメントはございますでしょうか。

〇〇〇 いえ、大丈夫です。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、これで2'-フコシルラクトースのほうの審議は終了といたします。

〇〇〇はここで御退室ということですので、ありがとうございました。

〇〇〇 ありがとうございました。

では、退室します。

(〇〇〇退室)

〇〇〇 それでは、時間が押していますけれども、新規品目である「H-ELP 株を利用して生産された α -アミラーゼ」について審議を行いたいと思います。

〇〇〇から説明をお願いします。

〇〇〇 H-ELP 株を利用して生産された α -アミラーゼでございます。

概要書を御準備ください。

概要書の7ページをお願いいたします。

従来の添加物になりますけれども、従来品の α -アミラーゼは *Bacillus licheniformis* を宿主とする生産菌から生産されております。

第10版の食品添加物公定書の α -アミラーゼの成分規格には、起源の一つとして *B. licheniformis* が記載されております。

製造方法ですけれども、従来品の α -アミラーゼの製造工程の概要が8ページの図1にございます。生産菌株を培養いたしまして、ろ過で濃縮して酵素原体を得ております。

用途、使用形態ですけれども、従来品の α -アミラーゼは酒類用の醸造アルコールの製造において使用されております。原料の穀物デンプンに水を加えてスラリー化する工程及びその後の液化工程で添加されておまして、液化工程の終了までに α -アミラーゼは失活するというところでございます。

9ページの摂取量ですけれども、国内全量の醸造アルコールに従来品の α -アミラーゼが用いられて、最終製品中に100%残存すると仮定した場合の摂取量が試算されておまして、10ページの9行目ですけれども、0.16mg TOS/kg 体重/日と試算されております。

宿主に関する事項ですが、宿主は *B. licheniformis* BRA7 株となっております。

11ページ、宿主の添加物製造への利用経験ですが、*B. licheniformis* はカルボヒドラーゼあるいはプロテアーゼの生産にも安全に用いられておまして、菌株の安全性は広範囲

にわたって検証されているということでございます。

12 ページをお願いします。

宿主の構成成分に関する事項です。*B. licheniformis* はヒトに対して非病原性であり、有害生理活性物質・栄養阻害物質の生産についての報告もないということでございます。

13 ページの挿入 DNA の供与体ですが、*H-ELP* 遺伝子は複数の細菌の α -アミラーゼのアミノ酸配列を基にタンパク質工学的手法を用いて設計した α -アミラーゼをコードする合成遺伝子ということでございます。

14 ページの頭にありますが、*H-ELP* 株には●●●遺伝子の●●●が挿入されておりまして、●●●タンパク質は●●●の重要な因子ということでございます。

15 ページの遺伝子組換え添加物ですが、第 10 版の食品添加物公定規格に適合している *H-ELP* 酵素原体を用いて製造した α -アミラーゼということ、日本へ輸入して販売する予定ということでございます。製造方法は従来の α -アミラーゼと同様ということ、

用途、使用形態ですが、 α -アミラーゼ液体製剤の販売が予定されておりまして、醸造アルコールの製造工程での添加が想定されているということ、

推定摂取量ですが、従来の添加物 α -アミラーゼの摂取量の試算と同様に、日本における *H-ELP* 酵素摂取量を推定しておりまして、一番下で 0.014mg TOS/kg 体重/日となっております。

16 ページに参りまして、有効成分の性質ですが、6 行目の *H-ELP* 酵素と従来品のいずれについてもデンプン等の α -1,4 グルコシド結合を活性分解して低分子化する酵素活性を示しておりまして、食品添加物公定規格に適合するというところでございます。

表 1 に従来品と申請品の比較がございます。変わっている部分は至適温度、熱安定性と酵素活性となっております。

19 ページをお願いします。

遺伝子導入に用いる塩基配列に関する事項ですが、*H-ELP* 株は宿主 BRA7 株の 7 つの遺伝子を欠失しておりまして、●●●タンパク質工学的手法を用いて設計した α -アミラーゼ *H-ELP* 遺伝子 2 コピーが挿入された構成を持つということでございます。

ちょっと飛びまして、28 ページをお願いします。

ベクターの性質に関する事項で 10 行目ですが、菌株の構築には 8 種類のベクターが使用されておりまして、これらの配列は全て明らかとなっております、有害な配列は含んでいないということです。いずれのベクターも最終菌株から取り除かれ、*H-ELP* 株中には残っていないということと、ORF 検索でも安全性を懸念させる配列は見つからなかったということでございます。

遺伝子組換え体の選抜に関わる事項ですが、*H-ELP* 株構築工程においてカナマイシン耐性遺伝子、クロラムフェニコール耐性遺伝子、スペクチノマイシン耐性遺伝子を用いておりまして、一時的に菌体内に遺伝子が持ち込まれますけれども、*H-ELP* 株には残留していないということでございます。

32 ページをお願いします。

構築されたコンストラクトに関する事項で、コンストラクトとして3つがゲノムに挿入されております。●●●遺伝子発現コンストラクトが①でありまして、33 ページ、②*H-ELP-serA* 発現コンストラクトで、こちらは H-ELP 遺伝子が *serA* 遺伝子座に挿入されるようデザインされているということでございます。

35 ページ、③に *lysA-H-ELP* 発現コンストラクトがありまして、*H-ELP* 遺伝子が *lysA* 遺伝子座に配置されるようデザインされているということでございます。

37 ページに参りまして、遺伝子組換え体に関する事項ですが、H-ELP 株は宿主 BRA7 株の7つの遺伝子を不活性化しまして、●●●遺伝子の●●●と H-ELP 遺伝子2コピーが挿入された結果、H-ELP 酵素の生産性が高められた菌株ということでございます。

遺伝子導入に関する事項ですが、28 行目からです。コピー数は全ゲノム解析により確認されておりまして、ORF 検索によって導入遺伝子との近傍配列周辺には安全性に問題のある配列が生じていないということを確認しております。

42 ページに参りまして、ORF の有無の事項です。H-ELP 株ゲノムへの遺伝子導入によって生じた30アミノ酸以上の ORF を検索した結果、●●●、合計41個の ORF が得られたということです。

この得られた41個の ORF と既知の毒素や有害物質の相同性を調べる BLAST 検索を行った結果、1 件、ムカデの一種由来の毒性タンパク質との相同性があるという結果がヒットしましたが、ペアワイズ同一性とかクエリーカバレッジで十分な値ではなかったということと、当該 ORF は α -アミラーゼ遺伝子と一部の核酸配列を重複し、 α -アミラーゼ遺伝子とは異なる逆向きのフレームとして存在しているということから転写される可能性は低いと考えられることなどから、問題となる配列ではないと判断されております。

20 行目がアレルゲン検索ですが、査読済みのアレルゲンを含むデータベース上で新規の41種類の ORF と既知の食物アレルゲンとの相同性を検索しておりまして、アレルゲン性関連の情報が知られる配列と35%以上の同一性を持つ配列が4つ特定されております。いずれも WHO/IUIS データベース上では食物アレルゲンとしてリストされていないということ及び「連続8アミノ酸残基が一致する配列のサーチ」についてはヒットした配列はなかったということから、安全性を懸念させるものではないと判断されております。

45 ページに参りまして、遺伝子産物についてのアレルギー誘発性ですが、H-ELP 酵素タンパク質につきまして、既知のアレルゲンと一致する連続する80アミノ酸残基長で35%以上の相同性を示す配列を検索したところ、H-ELP 酵素と35%以上の同一性を有する2つのペプチド配列がヒットいたしました。それらは WHO/IUIS のデータベース上で食物アレルゲンと無関係と記されていたということと、連続する同一アミノ酸8個の検索では一致するものはなかったということでございます。

46 ページに参りまして、遺伝子産物の物理化学的処理ですが、人工胃液による処理が行われておりまして、SDS-PAGE の結果、H-ELP 酵素に相当するバンド(54.6kDa)は30

秒間の処理により消失しております。反応 30 秒後（レーン 4）から反応 60 分にかけて 14kDa 以下のエリアに分解産物ペプチドに由来すると思われるバンド様の薄いシグナルが確認されております。

ウェスタンブロットの結果が 47 ページにございまして、6 行目からですが、人工胃液処理開始後、速やかに H-ELP タンパク質は消化されたと考えられたということでございます。

人工腸液の結果ですが、SDS-PAGE の結果、20 行目からですが、人工腸液処理 1 分後にタンパク質のシグナル強度は大きく低下したが、その後、360 分に至るまでシグナル強度が維持されたということでございます。

ウェスタンブロットの結果ですが、49 ページの 6 行目からです。H-ELP タンパク質の 55kDa 付近のシグナルは人工腸液処理後も消失せず、パンクレアチン消化に抵抗性があることが示唆されたということでございます。

③の加熱処理の結果が 50 ページの 4 行目からですが、30 分間の加熱処理後、残存 α -アミラーゼ活性は 90°C 加熱処理で完全に消失していたということで、醸造アルコール製造工程におけるアルコールの蒸留時温度が一般的には常圧でのアルコールの沸点 78°C と水の沸点 100°C の間にあるということからも、実際に蒸留工程で H-ELP 酵素は失活するものと考えられるということでございます。

続きまして、52 ページをお願いします。

遺伝子組換え添加物の事項ですが、諸外国における認可といたしまして、デンマークで酵素として H-ELP 酵素が認可されております。

組換え体の残存に関する事項ですが、H-ELP 酵素原体の中に組換え DNA 断片の残留のないということを PCR 法によって確認されております。

53 ページの 11 行目ですが、生きた H-ELP 株菌体が H-ELP 酵素原体に残存していないということも確認されております。

54 ページになりますが、H-ELP 酵素原体について、JECFA の食品添加物の一般規格にある純度、鉛、サルモネラ、大腸菌群、大腸菌、抗菌活性、並びにマイコトキシン産生性について分析されておまして、いずれも安全性の懸念につながる結果は確認できなかったということでございます。

55 ページの 3 行目からですが、H-ELP 酵素（約 50kDa）のタンパク質純度をデンストメトリー法で評価したところ、●●●であったということでございます。

概要書の説明は以上でございます。

○○○ ありがとうございます。

それでは、審議に入りたいと思います。

まず申請書の 7 ページから 18 ページ、第 2 のところです。比較対象としている添加物宿主及び遺伝子組換え添加物、それから、遺伝子組換え体との相違に関する事項のところコメント等ありましたらお願いいたします。

〇〇〇 今回の *B. licheniformis* のこの株は実績のあるものですし、それから、挿入方法についても結構手の込んだことをやっていますけれども、従来からある方法で一般的です。

そうすると、今回のポイントになるのはやたらに非活性の高い H-ELP という人工アミラーゼの安全性と、それからもう一つ、足した遺伝子についてだと思いますので、一つは●●●という遺伝子を足していますので、これはあまり今まで例がなかったので、何をやっている、何のために入れたのかという説明はありますけれども、これは足しても安全性に問題がないという点について、彼らにできれば説明していただきたいかなと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。後ほどお呼びしますので、よろしく願いいたします。

ほかにございますでしょうか。よろしいですか。

それでは、戻っても構いませんので、申請書の 19 ページから 36 ページ、第 3 遺伝子導入に用いる塩基配列等に関する事項のところコメント等がありましたらお願いいたします。

かなりいろいろ作業はしていますけれども、〇〇〇のお話ですと問題ないでしょうということなのですが、〇〇〇、どうでしょうか。

〇〇〇 今、〇〇〇がおっしゃったように、これは一般的に *licheniformis* とかで使われる遺伝子操作なので、私のほうも特にその点に関しては問題ないと思っております。

以上です。

〇〇〇 それでは、戻っても構いませんので、次は申請書の 37 ページから最後までということで、遺伝子組換え体に関する第 4 から第 7 の部分で御意見、御質問がある方はよろしく願いいたします。

〇〇〇、〇〇〇、アレルゲンオンラインデータベースだとやや引かかるものもございますけれども、記載ぶりはこれでよろしいでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇ですけれども、よろしいでしょうか。

まさしくそこはちょっと気になっていたところでした、前回は確認させていただいたことなのですが、ヒットしたアレルゲンがあった場合も、それが食物アレルゲンでない場合は特に問題視しないというのがこれまで従来の考え方であったということで、一定の納得はしているところではあるのですが、 α -アミラーゼはいわゆる Baker's asthma というパン屋さんのぜんそくの割と問題になっているアレルゲンの一つでして、それは大体混入している真菌、*Aspergillus* とか由来の α -アミラーゼが原因だと言われているものなのです。これが似たような使われ方をするとすると、結局、同じような症状が起こることが懸念されるのですが、アレルゲンが食物由来ではないということで、やはりこれは問題ないという判断でよろしいのかなというのは気になるころではありました。

〇〇〇 私もとある工場に視察に行ったときに聞いた話ですけれども、酵素は製造工程で最終的に粉末化するので、粉末化したときに、そこで働いた人は昔はほぼ確実にアレルギーになりましたという話を聞いておりました、吸入アレルゲンですかね。摂触

アレルギーなのかもしれませんが、結局、大量に特定のタンパク質の粉末等に触れるとアレルギーになってしまうということで、今はそういうことが起こらないようにすごく気を使っていますみたいなお話でした。

その点を考えると、確かにパン屋さんで扱う方は原末といいますか、小麦粉を扱う可能性が高いので、そういうことも起きるといえるか、アミラーゼで感作されてしまうというのはそういうことなのだろうかと最近では理解した気になっているのですが、この委員会としては多分食物アレルギーでないというところで、摂食アレルギーとか吸入アレルギーはあり得るけれども、食品として扱っているもので、そういった形で消費者が触れることはないでしょうという理解で一応当たっていると最近では理解しております。

〇〇〇 分かりました。

であれば、確かに食品として摂取する分には問題ないというような考えであれば了解いたしましたので、私からこれ以上はコメントはございません。ありがとうございます。

〇〇〇 私もその点について補足的なところなのですが、今、〇〇〇のほうから小麦アレルギーにパン屋の方がなる、ぜんそくになるというようなお話で御説明があったと思うのですが、アミラーゼは小麦のアミラーゼだけではなくて、例えばハウスダストですね。ダニのアレルギーの中でも一つの大きなアレルギーとして登録されているものですので、何かの職業的なばく露を受けているような方々のみではなく、実際に御家庭で普通に生活されている方が食品として摂取した場合に発症する可能性があるものということになります。

なので、この場合、アミラーゼ画食物アレルギーではないからというような判断はちょっと難しいのかなというところで、これまでも指摘をさせていただいたときは、対象として相同性の高かった部分がエピトープとして認識されるようなものでないとか、あとはORFでも発現するようなものでないというようなことがサジェストできるようなことであれば問題ないのではないかなというようなことをお伝えしてきているかと思うのですが、今回の場合は、恐らくこの対象としているものについては、相同性が上がってきているものというものは実際のH-ELP遺伝子そのものになっているかと思えます。

そこで、一つの提案としては、これまでこの会社で実際に受理されてきている α -アミラーゼと相同性がその部分がどれぐらいあったのか。あとは、この申請書の中でも●●●が作っているアミノ酸ベースのところとどれぐらいの相同性があるのか。その位置が相同性がある、全く同じような相同性のあるようなものであれば、これまで実際に使われているものとして使用経験があるとするところができるのかなとは思いますが、その辺り、実際に比較したようなデータというものを追加で出していただければいいのかなと思っています。

あともう一点ですが、パンクレアチンを処理しているデータがあったかと思うのですが、これはすごく汚くて、何が起きているのかなと。普通の胃液処理の場合だと、特にウェスタンをした場合はあまり特異的なバンドは見えないのですが、今

回の場合はパンクレアチンに結合しているものがある、しかも、それが高分子側に出ているようなもの、アグっているような形のようなものが見えると。これが実際にアグってしまっているものとするとは少し怖いなというのは実際のところ懸念がありまして、というのは、アレルゲンというのはそういったアグったりするようなもののほうが実際のアレルゲン活性が高くなる。今回、アミラーゼのアレルゲンとしての活性があるというようなところでこのようなデータが出てくること自体が非常に判断が難しいところですので、できればここはきれいなデータに出し直していただく。そもそもウェスタンではなくてクマシーのほうの染色でもすごく汚いものですので、この辺り、お願いできればなと思っているところです。

以上です。

〇〇〇 今の御指摘、まず最初のほうの御指摘は、従来品とのホモロジーと比べてアレルゲンとのホモロジーが上がっているか上がっていないかという議論は確かにこれまでもこの委員会で何度かそういう記述をさせてもらったことはございますので、それは可能であればいいなと思ったのですけれども、今の 16 ページ従来品の比較表、表 1 を見ると、アミノ酸残基数とかは非公開になっていまして、従来品のパーセンテージが取れないのではないかなと思っている次第です。ほかで取れるものがあればいいのですけれども、そこは取れないと言われてしまうと、取れないですねという話で終わってしまうかもしれません。一応聞くだけは聞いてみてもいいかと思っておりますので、後ほど〇〇〇から御質問いただけたらと思います。

それから、人工腸液のほうですかね。特に私も汚いなとは思ったのですけれども、これはどうですか。皆さん、やり直してもらったほうがよろしいですか。SDS-PAGE のほうもよく見ると、上のほうに少し凝集したような感じのパターンになっているので、確かにちょっとねという感じはあります。しかも、これは人工腸液なので、pH 中性付近でやっているはずなので、何でアグるかなとは思ったのですけれども、ただ、これは用いる目的が醸造用なので、アルコール醸造用なので、そこは求めなくてもいいのではないかと私は個人的には思っているのですけれども、SDS-PAGE のほうは一応見られるかなという形では載っていますので、少し凝集したパターンとか、私もここは質問してまして、後ろの純度検定とここのパターンと結構泳動パターンは違いますよねと聞いたら、ロット間の差ですという回答だったので、それ以上は突っ込めないなと思ったところですので、醸造用アルコールの製造に使うということなので、ちょっとウェスタンは汚いですが、やり直せというほどではないかなとは思っております。

ほかの先生方、いかがでしょうか。

〇〇〇 ちなみに申し上げますと、なぜ高分子以外にアグったものが悪いかというと、一つは加水分解小麦という昔ちょっと話題になったものがありまして、あれは、普通、加水分解した小麦を使うと、分解されているのでエピトープとかも残らず、アミノ酸として活用できるというようなところで、せっけんに使った場合は泡立ちがよくなるからとかといっ

て使われていたのですけれども、それを製造する過程でアレルギーが起こってしまったのは、アグってしまって高分子側の分子量のものができてしまっていた。その高分子側の分子量のものが入っているがゆえに新しい抗原となって、その後で小麦にもアレルゲンとなるようになったというような経緯がありまして、この辺の規格というようなものが非常に高分子側でアグったようなものについてはアレルゲン性になりやすいというようなところがあつてのコメントでした。

確かに〇〇〇のおっしゃったように、添加されていたけれども、この後に発酵するのですよね。なので、入れたものと分解されるのかなんてことは思っただけなんですけれども、ただ、リスクとしてこの辺りはあり得るので、データとして出し直していただけるのであれば、そのほうがいいのかなど。安心してオーケーと言えるのかなと思ってコメントさせていただきました。

〇〇〇 恐らくこの試験項目はほぼ日本しか要求していなくて、国内のどこかの会社さんが請け負ってやっているのではないかと想像しているのですけれども、出し直せるかどうか、もうちょっときれいなパターンはないのかどうかは聞くだけは聞いてみましょうか。

そのほかございますでしょうか。よろしいですか。

それでは、質問事項としては2点ありますので、申請者の方をお呼びして質疑応答をしたいと思います。今は55分ですので、12時まで少し休憩とさせていただきます。

(休憩)

〇〇〇 説明者の方、御入室ありがとうございます。

それでは、自己紹介をお願いします。会社名と名前が結構です。

〇〇〇 では、私、〇〇〇のほうから自己紹介させていただきます。

プロペルフードコンサルティングという名称で、●●●。今回、ダニスコジャパンさんの立場で同席させていただきます。よろしくお願いします。

〇〇〇 ダニスコジャパンの〇〇〇と申します。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 ダニスコジャパンの〇〇〇です。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 それでは、大枠でいくと2点質問がございますので、まず最初は〇〇〇のほうから。

〇〇〇 今回の非活性の高い人工アミラーゼと●●●の遺伝子を増やしていますが、●●●については何をやっている遺伝子なのか説明はありますが、あまり例のない遺伝子ですので、これを増強しても安全性に問題はないという点を少し分かりやすくせず御説明いただくとありがたいです。

以上です。

〇〇〇 まず、今回、御理解いただいているとおり、 α -アミラーゼの *H-ELP* 遺伝子のほかに●●●遺伝子というのを導入しまして発現させております。最終製品の中には特に●

●●●遺伝子の最終的なタンパク質を増やすということには着目しておりませんので、私ども、最終製品中の●●●遺伝子の残留量はそれほど多くはないとは認識しておりますけれども、実際に分析値でどれぐらいということは残念ながら把握しておりません。

その代わりではございませんけれども、●●●遺伝子自体を検出した品質の評価というのは行っておりませんが、●●●遺伝子がもし仮に挿入によって何らかのタンパク質、ペプチドが発現しているとすれば、安全性に影響があるのかどうかということについて ORF を同定しまして検索を行った結果、問題となる配列は認められなかったという結論を得ておりますので、そういう意味では、●●●遺伝子が安全性に影響を及ぼすものではないと考えております。

直接的な証明ではございませんけれども、●●●遺伝子を用いた酵素タンパク質の生産というのは、今回の H-ELP α-アミラーゼだけではなくて、弊社の過去の申請、それから、他社さんでも●●●遺伝子を使った酵素の生産ということを行われていますので、そういった意味では、既に汎用的に使われている技術であると理解しております。

○○○ ●●●を増やしたからって、代謝系に大きな影響を与えるとかそういうことは考えにくいということによろしいですか。

○○○ ●●●遺伝子を挿入したことによって二次的、三次的に影響が起こるということを示すような、積極的にそういうことを説明できるような情報はないと考えております。

○○○ ありがとうございます。

○○○ 1つ確認ですけれども、ダニスコジャパンさんのほうで過去に承認された品目の中に●●●を使ったものはおありですか。

○○○ すみません。私、先ほど弊社の過去の申請にあると申しあげましたけれども、不明確でした。必要であれば、確認して後日お返事いたします。他社さんの申請では使用されているということは確認しております。

○○○ ポイントは2つありまして、他社さんのものとアミノ酸配列が全く同じかどうかということか、もしくはこの●●●遺伝子は、申請書のほうには書いてありますけれども *B. licheniformis* 由来ということで、いわゆる外来遺伝子に相当しないという形のものであるかと。そこら辺がポイントかなと思っているのですけれども、いかがですか。

○○○ 私どもが用いました●●●遺伝子は、ダニスコの菌株の●●●のタンパク質です。他社の申請で用いられた●●●遺伝子は、●●●という記載はあるようですけれども、そのアミノ酸配列がダニスコのものと同じかどうかということの確認は残念ながら取れませんでした。

○○○ 今、宿主で使っている株由来であることは間違いのないということによろしいですか。

○○○ はい。

○○○ 分かりました。

よろしいですか。

もう一点は〇〇〇からございます。〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 私のほうからはアレルギーについての質問になります。2点あります。

まず一点が、ORF 検索でアレルギー性ありと推定された配列なのですけれども、こちらの配列の情報というのがこれまで使用されているアミラーゼに含まれている範囲ですと同じものであって、相同性がこのものよりも増えているかどうかというようなところがまず1点目の質問になります。

申請書の中には●●●の α -アミラーゼと、御社の中でたしかこれまでに申請されているものが幾つかあって、今回の *H-ELP* 遺伝子はそれのプラスアルファのバラエティーを増やすためのものだとなっていたかと思うのですけれども、それらと比べてどれぐらいアレルギー性が増加しているのかという比較がもしできるのであればしていただきたいというのが一点。

あと、もう一点につきましては、消化管のアレルギー性の低下、パンクレアチン処理をした後の SDS-PAGE とウェスタンの結果なのですけれども、こちらの結果からだが高分子のほうに凝集しているようなものが反応後認められております。これが本当に入れたもの由来のものが凝集しているのかどうかということが画像が粗くてよく分かりませんでしたので、もう一度やり直していただけることは可能かどうかということが2点目になります。

以上になります。

〇〇〇 まず、1点目の ORF 検索によってヒットした相同性というものが過去のダニスコの申請で認められたものとどれぐらい違うのかという相同性検索のデータがあるかということですね。それについては現在手元にございませんで、確認して御連絡するとともに、必要であれば相同性検索を再度行うという対応をしたいと思っております。それは、相同性を過去の申請したものと比較したデータがなければ、改めて相同性検査を行ってくださいという御指示ということで理解してもよろしいでしょうか。

〇〇〇 現状においては、今回対象とされている *H-ELP* 遺伝子というものがアレルギー性がないというような証明とはなっていない状態ですので、そこを確認していただきたいと。従来のもよりもアレルギー性が増えているかどうかというようなところで確認をしていただければいいのかなと思っております。

申請書の中では、これは食物アレルギーではないからというような書きぶりとして申請されておりますが、実際に感作系統として食品から入っていない場合でも、このアミラーゼに感作されてしまっている場合、食品として摂取したらアレルギーを発症する可能性があるということで今回質問させていただいております。

〇〇〇 理解いたしました。確かに表 13 のほうには食物アレルギーではないことを理由に安全性に問題ないというような表現をしておりますので、承知しました。

それから、ウェスタンブロッティングで高分子の領域に凝集のようなものが認められるということで、これが果たしてそのとおりかどうかについて分析を再度やり直す、凝集で

あることを示すデータがあるかどうかを確認しつつ、再分析が可能かどうかというのを社内で検討しますので、これは高分子の凝集のことを説明するデータがなければ再分析をしてくださいという御指示であるということによろしいですか。

〇〇〇 はい。やっただけだと、安心して審査に挑めるということになります。

〇〇〇 先生、〇〇〇ですけれども、これは培養から出てくるものなので、出てきているものはバンドが大きいものであったとしても *B. licheniformis* 由来のタンパク質の凝集したものだとして理解しておりますので、宿主からの安全性ということで一つは御検討の材料にしていいただければと思います。

〇〇〇 こちらのデータを見てみますと、インプットのアミラーゼの酵素だと高分子側にならないようなものがパンクレアチン処理の後に高分子側のほうに出てくる。パンクレアチンのみのものだと上に凝集するものは出てこないというようなところで、恐らくアミラーゼの製品はパンクレアチンと反応したものである可能性が高いような気がするのですけれども、こちらは実験的な処理のエラーのものなのか、それともそういう性質のものなのかというところは明確にさせていただきたいかなと思います。

〇〇〇 了解いたしました。いただいた課題を社内で検討したいと思います。ありがとうございます。

〇〇〇 そのほか、委員の先生方からコメント等ございましたらお願いいたします。
どうぞ。

〇〇〇 〇〇〇ですけれども、1点だけよろしいですか。

申請書の 30 ページの 10 行目のところなのですが、当酵素の至適 pH は●●●、至適温度は●●●である（表 1）と書かれているのですが、これで 16 ページの表 1 に戻ると、同じような書きぶりになっていないのが気になりました。表 1 だと●●●と書かれていて、表記が違うなというところが非常に気になったのですけれども、また、図 5 参照、図 6 参照と書かれているのですが、実際はこれは図 3 と図 4 のことを指していると思いますので、ここを統一していただくとありがたいのです。よろしいでしょうか。

〇〇〇 大変失礼いたしました。何かの転記ミスか、ひな形にした書類の修正のミスである可能性が高いと思いますので、すみません。図幾つと最後におっしゃったのは何ページの。

〇〇〇 表 1 のところですか。至適 pH と至適温度のところ●●●、●●●とその後に出ていますよね。だけれども、実際は下に下がったすぐ次のページにある図 3 と図 4 のことを指しているのかなと思うのですけれども。

〇〇〇 分かりました。これは修正のミスでございます。失礼しました。

〇〇〇 以上です。よろしく申し上げます。

〇〇〇 では、それは修正をお願いします。

ほかにごございますでしょうか。よろしいですか。

それでは、審議のほうに戻りますので、申請者の方、御説明ありがとうございました。御退室をお願いいたします。

(申請者退室)

〇〇〇 それでは、審議のほうに戻りたいと思います。

まず、●●●に関しては、一応宿主由来ということをも明言していただいたので、今回は外来遺伝子扱いというよりは内在性の遺伝子のコピー数を増やしたということで、物理化学的試験等をスキップしてもよろしいと判断したいと思うのですけれども、委員の先生方、よろしいでしょうか。

(首肯する専門委員あり)

〇〇〇 では、その点についてはそのような扱いとさせていただきます。

それから、2番目のほうです。まずホモロジーのほうですけれども、 α -アミラーゼなので、アミラーゼのアレルゲンデータベースに載っているアミラーゼとホモロジーが出てくるのは当然と言えば当然なのですけれども、従来品と過去の申請品との比較というのは過去にもこの委員会で何回か求めたこともございますので、今回はそれは求めてもいいかなと思っております。少し出していただいて、相同性が36.29%なので、そんなに劇的に上がっていることはないだろうと思うのですけれども、アレルゲン性が非常に上がっているわけではないというような表現の文章を最終的には追記していただくような形にしたいと思いますので、こちらはデータを確認してということになるかと思っております。

それから、問題はウェスタンでして、確かにウェスタンを見ると、図21ですか。処理すると上にバンドが出てくるのですよね。しかも、これは微妙にSDS-PAGEと分子量が違う感じになって見えてきてまして、これはパンクレアチンの中の何かと複合体を作るという理解のほうがいいのですかね。

〇〇〇、もし何かコメントがありましたらお願いします。

〇〇〇 その可能性があると思います。ただ、そこは今のこのデータだけだと、何とも結論は出ないかなとは思っているのですけれども、パンクレアチンのみでは出ませんので、恐らくそういったことになるかなと思います。どちらか片一方では出ませんので。

〇〇〇 申請者は一応検討するというお話でしたので、もう一度トライするかどうか分かりませんが、一応指摘事項としては出して、パンクレアチンの中の成分と複合体を形成しているようにも見えるみたいな形で、もう一度試験していただいて少し議論してほしいみたいな形の指摘事項として取りまとめることでよろしいでしょうか。

確かにこういった例はあまりないので、少し議論しておいてもいいかなと私も思いましたので指摘事項として、確かにこのウェスタンは汚いので、できればやり直していただけたらと思います。無理と言われたら無理で、それはそれではないかなとは思いますが、一応出すだけは出してみたいと思います。無理だった場合は、このデータでそういう議論をしてもらおうということですね。複合体を形成するかもしれないけれども、例えばペプシンのほうではすごくきれいに切れるので、実質的にはリスクとしては非常に

低いでしょうみたいなのを足してもらおうとか、そういった工夫を少ししていただくようにしていただけたらなと思います。できなかった場合はですね。

そのほか、全体を通して委員の先生方からもしコメントがありましたらお願いいたします。よろしいですか。

それでは、本件については指摘事項がございましたので、その指摘事項を取りまとめた上で、確認事項、指摘事項として事務局のほうで取りまとめていただいて、各専門委員の先生皆さんに御確認いただいた上で、消費者庁を通じて申請者に対して指摘したいと思います。

ということで、こちらのほうも評価書には行かないということですので、議題（1）については以上で終わりたいと思います。

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。本日は時間を押しまして大変申し訳ありませんでした。本日の議題についてはこれで終了といたします。

最後に、本日御欠席でいらっしゃいますけれども、〇〇〇が3月末日をもって御退任されます。2年間精力的な御審議をいただきましたことを心より御礼申し上げます。

〇〇〇 時間が押して申し訳ありませんでした。

以上をもちまして、第275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、ありがとうございます。適宜御退室をお願いいたします。