

府食第477号
令和6年7月26日

内閣総理大臣
岸田 文雄 殿

食品安全委員会
委員長 山本 茂貴

食品健康影響評価の結果の通知について

令和6年2月7日付け厚生労働省発健生0207第7号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた食品添加物「JPBL015株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ」に係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

「JPBL015株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ」について、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」（平成16年3月25日食品安全委員会決定）に基づき食品健康影響評価を実施した。具体的には、挿入遺伝子の供与体、挿入される塩基配列が明らかであること等の挿入遺伝子の安全性及び挿入遺伝子から産生されるタンパク質の毒性、アレルギー誘発性等について確認した。その結果、従来の添加物と比較して新たに安全性を損なうおそれのある要因は認められなかった。

以上のことから、「JPBL015株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ」は、人の健康を損なうおそれはないと判断した。

遺伝子組換え食品等評価書

JPBL015 株を利用して生産された
トランスグルタミナーゼ

令和6年（2024年）7月

食品安全委員会

目 次

	頁
<審議の経緯>	3
<食品安全委員会委員名簿>	3
<食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿>	3
要 約	4
Ⅰ. 評価対象添加物の概要	5
Ⅱ. 安全性に係る知見の概要	5
第 1. 安全性評価において比較対象として用いる添加物及び宿主等の性質並びに 遺伝子組換え添加物及び組換え体との相違	5
1. 従来 of 添加物の性質及び用途等に関する資料	5
2. 宿主及び導入 DNA	6
3. 宿主の添加物製造への利用経験又は食経験に関する資料	6
4. 宿主の構成成分等に関する資料	7
5. 遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料	7
6. 安全性評価において検討が必要とされる遺伝子組換え添加物と従来 of 添加 物及び組換え体と宿主等の相違点	7
第 2. 宿主に関する事項	8
1. 分類学上の位置付け（種名（学名）・株名等）に関する事項	8
2. 病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項	8
3. 寄生性及び定着性に関する事項	8
4. 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項 ...	8
5. 宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項	8
第 3. ベクターに関する事項	8
1. 名称及び由来に関する事項	8
2. 性質に関する事項	8
第 4. 挿入 DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項	9
1. 挿入 DNA の供与体に関する事項	9
2. 挿入 DNA 又は遺伝子（抗生物質耐性マーカを含む。）及びその遺伝子産 物の性質に関する事項	9
3. 挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカ遺伝子の発現に関わる領域に関する 事項	10
4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項	11
5. 構築された発現ベクターに関する事項	11
6. DNA の宿主への導入方法に関する事項	12
7. 抗生物質耐性マーカ遺伝子の安全性に関する事項	12
第 5. 組換え体に関する事項	12
1. 宿主との差異に関する事項	12
2. 遺伝子導入に関する事項	12
第 6. 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項	13

1. 添加物の製造原料又は製造器材としての使用実績があること	13
2. 添加物の製造原料又は製造器材としての安全性について知見が得られてい ること	14
第7. 遺伝子組換え添加物に関する事項	14
1. 諸外国における認可、食用等に関する事項	14
2. 組換え体の残存に関する事項	14
3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項	14
4. 精製方法及びその効果に関する事項	14
5. 含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動に関する事項	14
第8. 第2から第7までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要 な事項	14
Ⅲ. 食品健康影響評価	15
<参照>	16

<審議の経緯>

- 2024年2月7日 厚生労働大臣から遺伝子組換え食品等の安全性に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発健生0207第7号）、関係書類の接受
- 2024年2月13日 第929回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2024年2月28日 第245回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2024年6月11日 第942回食品安全委員会（報告）
- 2024年6月12日から7月11日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2024年7月17日 遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長に報告
- 2024年7月23日 第948回食品安全委員会（報告）
（7月26日付け内閣総理大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

2024年6月30日まで	2024年7月1日から
山本 茂貴（委員長）	山本 茂貴（委員長）
浅野 哲（委員長代理 第一順位）	浅野 哲（委員長代理 第一順位）
川西 徹（委員長代理 第二順位）	祖父江 友孝（委員長代理 第二順位）
脇 昌子（委員長代理 第三順位）	頭金 正博（委員長代理 第三順位）
香西 みどり	小島 登貴子
松永 和紀	杉山 久仁子
吉田 充	松永 和紀

<食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿>

2024年3月31日まで	2024年4月1日から
児玉 浩明（座長）	児玉 浩明（座長）
佐々木 伸大（座長代理）	佐々木 伸大（座長代理）
伊藤 政博 柴田 識人	伊藤 政博 手島 玲子
岡田 由美子 手島 玲子	小野 道之 樋口 恭子
小野 道之 樋口 恭子	小野 竜一 藤原 すみれ
小野 竜一 藤原 すみれ	柴田 識人 百瀬 愛佳
	爲廣 紀正

<第245回遺伝子組換え食品等専門調査会専門参考人名簿>

中島 春紫（明治大学農学部農芸化学科教授）

要 約

「JPBL015 株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ」について、食品健康影響評価を実施した。

本添加物は、*Bacillus licheniformis* Ca63 株を宿主として、*Streptomyces mobaraensis* NBRC 13819 株由来のトランスグルタミナーゼ遺伝子を導入することで作製した JPBL015 株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼである。本添加物は、タンパク質間で架橋構造を形成することによるゲル化及び接着等の性質から、蒲鉾のような水産加工品、ハム・ソーセージなどの畜肉加工品などのタンパク質を含む多くの食品で食感の改良、保水性向上、歩留まり向上などの多岐にわたる目的のために用いられる。

「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」（平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定）に基づき食品健康影響評価を実施した。具体的には、挿入遺伝子の供与体、挿入される塩基配列が明らかであること等の挿入遺伝子の安全性及び挿入遺伝子から産生されるタンパク質の毒性、アレルギー誘発性等について確認した。その結果、従来 of 添加物と比較して新たに安全性を損なうおそれのある要因は認められなかった。

以上のことから、「JPBL015 株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ」は、人の健康を損なうおそれはないと判断した。

I. 評価対象添加物の概要

(申請内容)

名称：JPBL015 株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ

用途：タンパク質を含む食品の食感の改良、保水性向上、歩留まり向上など

申請者：ノボザイムズ ジャパン株式会社

開発者：Novozymes A/S (デンマーク)

本添加物は、*Bacillus licheniformis* Ca63 株を宿主として、*Streptomyces mobaraensis* NBRC 13819 株由来のトランスグルタミナーゼ遺伝子を導入することで作製した JPBL015 株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼである。本添加物は、タンパク質又はペプチド中のグルタミン残基の γ -カルボキシアミド基をアシル供与体とし、アミン化合物の第 1 級アミノ基又はタンパク質若しくはペプチド中のリジン残基の ϵ -アミノ基をアシル受容体とするアシル転移反応を触媒する酵素であり、タンパク質を含む食品の食感の改良、保水性向上、歩留まり向上などのために使用される。

II. 食品健康影響評価

第 1. 安全性評価において比較対象として用いる添加物及び宿主等の性質並びに遺伝子組換え添加物及び組換え体との相違

1. 従来の添加物の性質及び用途等に関する資料

(1) 名称、基原及び有効成分

従来の添加物の名称、基原及び有効成分は、以下のとおりである。

名称：トランスグルタミナーゼ

生産菌：*Streptomyces mobaraensis*

有効成分：トランスグルタミナーゼ

IUB No.：EC 2.3.2.13

CAS No.：80146-85-6

(2) 製造方法

トランスグルタミナーゼは、培養、ろ過等の工程を経て製造される。生産菌は、除菌ろ過により除去される。

(3) 用途及び使用形態

トランスグルタミナーゼは、タンパク質又はペプチド中のグルタミン残基の γ -カルボキシアミド基をアシル供与体とし、アミン化合物の第 1 級アミノ基又はタンパク質若しくはペプチド中のリジン残基の ϵ -アミノ基をアシル受容体とするアシル転移反応を触媒する酵素である。

トランスグルタミナーゼは、タンパク質間で架橋構造を形成することによるゲル化及び接着等の性質から、蒲鉾のような水産加工品、ハム・ソ

ソーセージなどの畜肉加工品などのタンパク質を含む多くの食品で食感の改良、保水性向上、歩留まり向上などの多岐にわたる目的のために用いられる。なお、加熱を伴う食品の製造工程において、トランスグルタミナーゼは活性を失うが、従来の添加物と同様に、失活した酵素タンパク質は最終食品に残存する。

(4) 摂取量

既存のトランスグルタミナーゼ製品が全て本添加物を用いた *tgsSM-1* 製品に置き換わり、かつ最終製品中に 100%残存すると仮定した場合^a、最大一日摂取量は 36 µg TOS (Total Organic Solids) / kg 体重/日である。

2. 宿主及び導入 DNA

(1) 宿主の種名 (学名)、株名等及び由来

宿主は、*B. licheniformis* Ca63 株である。*B. licheniformis* Ca63 株は、自然界から分離された菌株である。

(2) DNA 供与体の種名、株名又は系統名等及び由来

トランスグルタミナーゼ (*tgsSM-1*) 遺伝子の供与体は、*S. mobaraensis* NBRC 13819 株である。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

tgsSM-1 遺伝子は、*S. mobaraensis* NBRC 13819 株由来のトランスグルタミナーゼをコードする。

宿主ゲノムの標的遺伝子座に相同組換えにより FRT-F/FRT-F3 配列を含むマーカー遺伝子発現カセットをあらかじめ挿入した。そして *tgsSM-1* 遺伝子発現カセットをインテグラーゼにより宿主ゲノムのこれら標的遺伝子座に相同組換えにより導入した。その際、標的遺伝子の欠失が確認された。

3. 宿主の添加物製造への利用経験又は食経験に関する資料

B. licheniformis は、食品や食品用酵素の製造において、長年にわたり安全に使用されている (参照 1)。また、*B. licheniformis* Ca63 株は、50 年以上にわたり食品用酵素の生産菌として安全に用いられている。

^a 令和元年国民健康・栄養調査 (厚生労働省、公表 2020 年) 第 5 表の 1 (食品群別摂取量—食品群、年齢階級別、平均値、標準偏差、中央値—総数、1 歳以上) 魚介 (練り製品)、魚肉ハム及びソーセージ、畜肉ハム及びソーセージ (食品群番号 59、60、63)

4. 宿主の構成成分等に関する資料

B. licheniformis が有害生理活性物質及び栄養阻害物質を生産するという報告はなく、国立感染症研究所病原体等安全管理規程におけるバイオセーフティレベル（以下「BSL」という。）1に相当する（参照 1、2、3）。

5. 遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料

(1) 製品名及び有効成分

本添加物の製品名及び有効成分は、以下のとおりである。

製品名：tgsSM-1

有効成分：トランスグルタミナーゼ

IUB No.：EC 2.3.2.13

CAS No.：80146-85-6

(2) 製造方法

tgsSM-1 製品は、JPBL015 株を生産菌として、培養、ろ過、製剤化等の工程を経て製造される。生産菌は、除菌ろ過により分離・除去される。

(3) 用途及び使用形態

tgsSM-1 製品は、従来の添加物と同様に、タンパク質を含む多くの食品で食感の改良、保水性向上、歩留まり向上などの多岐にわたる目的のために用いられる。

(4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較

tgsSM-1 製品は、従来の添加物と同様に、食品用加工助剤として用いられる。

6. 安全性評価において検討が必要とされる遺伝子組換え添加物と従来の添加物及び組換え体と宿主等の相違点

(1) 遺伝子組換え添加物と従来の添加物

tgsSM-1 と従来のトランスグルタミナーゼの相違点は、生産菌である。なお、tgsSM-1 と従来のトランスグルタミナーゼのアミノ酸配列は同一である。

(2) 組換え体と宿主

JPBL015 株と宿主との相違点は、JPBL015 株は、*tgsSM-1* 遺伝子が導入されておりトランスグルタミナーゼの高産生性を獲得している点及び *tgsSM-1* 遺伝子導入の過程で複数の遺伝子を欠失している点である。

1 から 6 までから、本添加物並びに本添加物の生産菌の比較対象となり得る従来の添加物及び宿主があると判断し、以下の各事項について評価を行っ

た。

第2. 宿主に関する事項

1. 分類学上の位置付け（種名（学名）・株名等）に関する事項

宿主は、*B. licheniformis* Ca63 株である。

2. 病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項

B. licheniformis が有害生理活性物質及び栄養阻害物質を生産するという報告はなく、国立感染症研究所病原体等安全管理規程における BSL1 に相当する（参照 1、2、3）。

3. 寄生性及び定着性に関する事項

B. licheniformis には、腸管内への寄生性及び定着性を示唆する報告はない。

4. 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項

B. licheniformis には、病原性の外来因子の存在を示唆する報告はない。

5. 宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項

B. licheniformis の近縁種には、*Bacillus subtilis* 及び *Bacillus pumilus* が知られているが、毒性物質を産生する *Bacillus cereus* 等とは明確に区別されている（参照 4）。

第3. ベクターに関する事項

1. 名称及び由来に関する事項

遺伝子導入用ベクター pJPV057 の作製には、*Staphylococcus aureus* 由来のプラスミド pE194 が用いられた。

2. 性質に関する事項

(1) DNA の塩基数及びその塩基配列を示す事項

プラスミド pE194 の塩基数及び塩基配列は明らかになっている。

(2) 制限酵素による切断地図に関する事項

プラスミド pE194 の制限酵素による切断地図は明らかになっている。

(3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

プラスミド pE194 の塩基配列は明らかになっており、既知の有害塩基配列は含まれていない。

- (4) 薬剤耐性に関する事項
プラスミド pE194 には、エリスロマイシン耐性遺伝子が含まれている。
- (5) 伝達性に関する事項
プラスミド pE194 には、伝達を可能とする塩基配列は含まれていない。
- (6) 宿主依存性に関する事項
プラスミド pE194 の複製開始配列は、*Bacillus* 属で機能する。

第4. 挿入 DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項

1. 挿入 DNA の供与体に関する事項

- (1) 名称、由来及び分類に関する事項
tgsSM-1 遺伝子の供与体は、*S. mobaraensis* NBRC 13819 株である。
- (2) 安全性に関する事項
S. mobaraensis は、放線菌である *Streptomyces* 属の一種であり（参照 5）、従来の食品添加物であるトランスグルタミナーゼの生産菌として知られている（参照 6）。

2. 挿入 DNA 又は遺伝子（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

- (1) 挿入遺伝子のクローニング又は合成方法に関する事項
tgsSM-1 遺伝子は、*S. mobaraensis* NBRC 13819 株より PCR 法により取得した。また、*B. licheniformis* Ca63 株由来の α -アミラーゼのシグナル配列をコードする遺伝子配列が付加されている。
- (2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項
挿入 DNA の塩基数、塩基配列及び制限酵素による切断地図は、明らかになっている。
- (3) 挿入遺伝子の機能に関する事項
- *tgsSM-1* 遺伝子
tgsSM-1 遺伝子がコードする *tgsSM-1* は、タンパク質又はペプチド中のグルタミン残基の γ -カルボキシアミド基をアシル供与体とし、アミン化合物の第 1 級アミノ基又はタンパク質若しくはペプチド中のリジン残基の ϵ -アミノ基をアシル受容体とするアシル転移反応を触媒する酵素である（参照 7）。
 - a. 挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見
S. mobaraensis のアレルギー誘発性の可能性を調べるために文献

検索^bを行った。その結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかった。

b. 遺伝子産物についてそのアレルギー誘発性に関する知見

tgsSM-1を有効成分とする酵素製剤について、アレルギー誘発性を示唆する報告はない。*S. mobaraensis*由来のトランスグルタミナーゼのアレルギー誘発性の可能性を調べるために文献検索^bを行った。その結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかった。

c. 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する知見

(a) 人工胃腸液に対する感受性

tgsSM-1 と同一のアミノ酸配列を有する従来のトランスグルタミナーゼは我が国において 20 年以上の使用実績があることから、tgsSM-1 の消化性試験は実施しなかった。

(b) 加熱処理に対する感受性

tgsSM-1 の加熱処理に対する感受性を調べる目的で、pH6.0、7.0 及び 8.0 の 3つの条件で、各温度帯で 30 分処理した後の活性を測定した。その結果、70℃の処理によって完全に失活することが示された。

d. 遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性に関する知見

遺伝子組換え tgsSM-1 タンパク質と既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を調べるため、アレルゲンデータベース^cを用いて相同性検索を行った。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検出されなかった。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なかった。

以上のことから、遺伝子組換え tgsSM-1 タンパク質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。

3. 挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカー遺伝子の発現に関わる領域に関する事項

(1) プロモーターに関する事項

tgsSM-1 遺伝子発現カセットのプロモーターは、*amyL4199* プロモーター、*amyQsc* プロモーター及び *cryIIIA* プロモーターで構成される P3

^b PubMed、検索日：2022年12月

^c ネブラスカ大学アレルゲンデータベース(The Food Allergy Research and Resource Program; FARRP, version 21)

プロモーター配列である。*amyL4199* プロモーター及び *amyQsc* プロモーターは、それぞれ *B. licheniformis* Ca63 株由来の *amyL* プロモーター及び *Bacillus amyloliquefaciens* DSM7 株由来の *amyQ* プロモーターに変異を導入したものである。*cryIIIA* プロモーターは、*Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* DSM5525 株に由来する *cryIIIA* 遺伝子の野生型プロモーター配列である。

(2) ターミネーターに関する事項

tgsSM-1 遺伝子発現カセットのターミネーターは、*Bacillus clausii* DSM 8716 株由来の *aprH* ターミネーター配列及び *B. licheniformis* Ca63 株由来の *amyL* ターミネーター配列である。

(3) その他、挿入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列を組み込んだ場合には、その由来、性質等が明らかであること

tgsSM-1 遺伝子発現カセットにおいて、*B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* DSM5525 株由来の *cryIIIA* mRNA 安定化配列、*B. subtilis* ATCC6051a 株の 16S rRNA 由来の RBS 配列及び *B. amyloliquefaciens* DSM 7 株由来の *aprQ* 遺伝子に存在する RBS 配列を用いている。

4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

プラスミド pE194 に、*aprQ* RBS/*tgsSM-1* 遺伝子断片並びに FRT-F 及び FRT-F3 配列断片を挿入することにより、遺伝子導入用ベクター pJPV057 を作製した。

5. 構築された発現ベクターに関する事項

(1) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

遺伝子導入用ベクター pJPV057 の塩基数、塩基配列及び制限酵素による切断地図は明らかになっている（参照 8）。

(2) 原則として、最終的に構築された発現ベクターには、目的以外のタンパク質を組換え体内で発現するオープンリーディングフレームが含まれていないこと

pJPV057 において、相同組換えにより宿主に導入される領域は明らかであり、挿入遺伝子座のシーケンス解析により確認されている。pJPV057 の全配列を対象としたオープンリーディングフレーム（以下「ORF」という。）解析は実施していない。宿主ゲノムとの境界部位を含む遺伝子導入座位の ORF 解析については、第 5-2-(2) に記載のとおりである。

- (3) 宿主に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域が発現ベクター上で明らかであること
遺伝子導入用ベクターpJPV057上の意図する挿入領域は、明らかである。
- (4) 導入しようとする発現ベクターは、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていること
遺伝子導入用ベクターpJPV057は、構築の過程において精製されていることから、目的外の遺伝子の混入がないように純化されている。

6. DNAの宿主への導入方法に関する事項

宿主ゲノムの標的遺伝子座及び特定の遺伝子座に、それぞれマーカ－遺伝子発現カセット（P3プロモーター、改変 *cryIII A* mRNA 安定化配列、マーカ－遺伝子（*dsRED* 遺伝子、*YFP* 遺伝子、*GFP* 遺伝子、*neo* 遺伝子）、*amyL* もしくは *aprH* ターミネーターを含む）を相同組換えにより挿入し、形質転換体を選抜した。

次に、欠失導入用ベクターを菌体内に導入することにより、特定の遺伝子座のマーカ－遺伝子を除去した。さらに、標的遺伝子座のマーカ－遺伝子を部位特異的組換えにより別のマーカ－遺伝子及び FRT-F/FRT-F3 配列に置換した。最後に、*tgsSM-1* 遺伝子発現カセットをもつ遺伝子導入用ベクターpJPV057を菌体内に導入し、インテグラーゼの作用により、標的遺伝子座に *tgsSM-1* 遺伝子発現カセットを挿入した。

7. 抗生物質耐性マーカ－遺伝子の安全性に関する事項

遺伝子導入用ベクターpJPV057は、エリスロマイシン耐性遺伝子を持つが、生産菌株の染色体には存在しない。生産菌株に抗生物質耐性マーカ－遺伝子は存在しないことをシーケンス解析により確認している。

第5. 組換え体に関する事項

1. 宿主との差異に関する事項

JPBL015株は、*tgsSM-1* 遺伝子発現カセットが導入され、また、複数の遺伝子を欠失している。

2. 遺伝子導入に関する事項

(1) 制限酵素による切断地図に関する事項

JPBL015株の染色体上への *tgsSM-1* 遺伝子発現カセットの導入位置を確認する目的で、シーケンス解析を行った。その結果、標的遺伝子座に全長の発現カセットが挿入されたことが確認された（参照9）。また、挿入領域の各構成要素及び制限酵素による切断地図は明らかになっている。

(2) オープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

挿入 DNA と宿主ゲノムの接合部位に生じる ORF の有無を調べる目的で、各標的遺伝子座における挿入 DNA 並びにこれらの 5'近傍配列領域を含む領域、3'近傍配列を含む領域及び異種遺伝子断片が残存する遺伝子座領域について ORF 検索を行った（参照 10～14）。その結果、6 つの読み枠において、終止コドンから終止コドンまでで終結する連続する 30 アミノ酸以上の ORF が合計 306 個検出された。

次いで、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^cを用いて相同性検索を行った。その結果、新たに生じる ORF の中で、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既知のアレルゲンは検出されなかった（参照 10～14）。なお、一つの ORF が、マツの一種である *Pinus koraiensis* が有する既知のアレルゲンと相同性を示した。しかしながら、当該 ORF は宿主染色体の塩基配列から得られた ORF であり、遺伝子導入により新たに生じたものではないことから、食物アレルギー誘発性の懸念は小さいと考えられた。

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認められなかった（参照 10～14）。

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、タンパク質データベース^d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った。その結果、新たに生じる ORF の中で、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ことから、毒性を有する可能性は低いと考えられた（参照 10～14）。なお、特定の遺伝子座において 1 つの ORF が、硝酸細菌の一種であるシノリゾビウム属由来のトキシノーアンチトキシン系タンパク質に相同性を示した。しかしながら、当該 ORF は宿主染色体の塩基配列から得られた ORF であり、遺伝子導入により新たに生じたものではない（参照 13）。

第 6. 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項

1. 添加物の製造原料又は製造器材としての使用実績があること

tgsSM-1 製品の製造原料及び製造器材は、食品用酵素の製造において長年安全に利用されてきた実績がある。

^d NCBI データベース（検索：2021 年 12 月）

2. 添加物の製造原料又は製造器材としての安全性について知見が得られていること

tgsSM-1 製品の製造原料及び製造器材は、食品用酵素の製造において長年安全に利用されてきた実績を有することから、有害性はないと考えられる。

第7. 遺伝子組換え添加物に関する事項

1. 諸外国における認可、食用等に関する事項

トランスグルタミナーゼ製品は、日本を含む世界各国で20年以上にわたり販売され、食品用加工助剤として用いられている。tgsSM-1 製品は欧州で販売が開始されており、デンマークで食品用加工助剤として承認されている。

2. 組換え体の残存に関する事項

tgsSM-1 製品中に組換え DNA の残存がないことを PCR 分析により確認した（参照 15）。

3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項

tgsSM-1 の製品化前の酵素サンプルは、食品衛生法の規格基準を満たしている（参照 6、16）。また、製造原料は、食品用酵素への使用が認められた品質のものが用いられ、適切な製造管理の下で製造が行われるならば、安全性に問題のある非有効成分が含まれるとは考えにくい。

4. 精製方法及びその効果に関する事項

tgsSM-1 は、生産菌の培養物が、粗ろ過、除菌ろ過、限外ろ過等の精製工程を経ることで得られる。適切な製造管理の下で製造が行われるならば、これらの工程において、安全性に問題のある物質が混入することはないと考えられる。

5. 含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動に関する事項

tgsSM-1 の製造原料及び製造方法は、従来の食品用酵素の製造に使用されているものと同様であり、適切な製造管理の下で製造が行われるならば、含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動はないと考えられる。

第8. 第2から第7までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要事項

第2から第7までの事項により安全性の知見は得られている。

Ⅲ. 食品健康影響評価結果

「JPBL015 株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ」について、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」（平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定）に基づき食品健康影響評価を実施した。具体的には、挿入遺伝子の供与体、挿入される塩基配列が明らかであること等の挿入遺伝子の安全性及び挿入遺伝子から産生されるタンパク質の毒性、アレルギー誘発性等について確認した。その結果、従来の添加物と比較して新たに安全性を損なうおそれのある要因は認められなかった。

以上のことから、「JPBL015 株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ」は、人の健康を損なうおそれはないと判断した。

<参照>

1. Chapter 4: Safety evaluation of foods and food ingredients derived from microorganisms. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 1990;12 (3Part2):S114-S128.
2. 国立感染症研究所病原体等安全管理規程 別冊1 「病原体等のBSL分類等」
3. 国立感染症研究所病原体等安全管理規程 (改訂第三版)
4. Bacillus licheniformis TSCA Section 5(h)(4) Exemption: Final Decision Document. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/fra005.pdf> [accessed May 16, 2018]
5. Zhang DM, Koreishi M, Imanaka H, Imamura K, Nakanishi K. Cloning and characterization of penicillin V acylase from Streptomyces mobaraensis. Journal of Biotechnology 2007;128(4):788-800.
6. 第9版食品添加物公定書.
http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoushokuhin/syokuten/kouteisho9e.html [accessed May 16, 2018].
7. 食品用酵素データ集－取り扱い手法と実践－: 株式会社シーエムシー出版; 2013年7月31日.
8. 遺伝子導入用ベクターpJPV057のDNA塩基配列並びに構成 (社内文書)
9. JPBL015株の遺伝子挿入部位の塩基配列 (社内文書)
10. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL015 to allergens and toxins (社内文書)
11. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL015 to allergens and toxins (社内文書)
12. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL015 to allergens and toxins (社内文書)
13. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL015 to allergens and toxins (社内文書)
14. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL015 to allergens and toxins (社内文書)
15. Absence of recombinant DNA from the production strain (社内文書)

16. Characterization of Representative Batches from JPBL015 (社内文書)