

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第277回) 議事録

1. 日時 令和8年5月25日(月) 9:58~11:23

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

- ・KN012株を利用して生産された β -ニコチンアミドモノヌクレオチド
- ・JPAo013株を利用して生産されたホスホリパーゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

児玉座長、伊藤専門委員、小野専門委員、角田専門委員、古園専門委員、
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、前間事務局次長、國保評価第二課長、刈岡評価情報分析官、
飯塚課長補佐、渡邊評価専門官、山川係長、今村技術参与、坂本技術参与

5. 配布資料

資料1 食品健康影響評価に関する資料

- ① KN012株を利用して生産された β -ニコチンアミドモノヌクレオチド
- ② JPAo013株を利用して生産されたホスホリパーゼ

6. 議事内容

〇〇〇 それでは、定刻よりも少し早いですが、皆様おそろいですので、ただいま

から第277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、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「KN012株を利用して生産されたβ-ニコチンアミドモノヌクレオチド」、継続審議となっていた「JPAo013株を利用して生産されたホスホリパーゼ」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1として「食品健康影響評価に関する資料」となります。

資料の不足等はございませんでしょうか。

また、本日は「KN012株を利用して生産されたβ-ニコチンアミドモノヌクレオチド」の申請者である株式会社カネカの方、また、「JPAo013株を利用して生産されたホスホリパーゼ」の申請者であるノボザイムズジャパン株式会社の方をお呼びしております。申請品目の審議の際に、質疑応答に対応していただく予定としております。

〇〇〇 それでは、事務局から「食品安全委員会における調査審議方法等について」に基づき、必要となる専門委員の調査審議等への参加に関する事項について報告をお願いします。

〇〇〇 事務局において専門委員の皆様に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。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 それでは、新規品目である「KN012株を利用して生産されたβ-ニコチンアミドモノヌクレオチド」について審議を行いたいと思います。

事務局から説明をお願いいたします。

〇〇〇 それでは、申請書につきまして御説明させていただきます。

会場にお越しの方々におかれましては、透明なクリアファイルのほうを御覧ください。

また、オンラインの先生方におかれましては、5月22日にご連絡しております260522差し替え2というフォルダの中の資料を御確認いただければと思います。

それでは、御説明させていただきます。

申請品目名「KN012株を利用して生産されたβ-ニコチンアミドモノヌクレオチド」、申請者は株式会社カネカになります。

申請要旨の4ページを御覧ください。

申請品目の概要につきまして、β-ニコチンアミドモノヌクレオチドにつきましては、以後「NMN」と省略させていただきますが、生体内においてビタミンB3の代謝産物として存在しております。

NMNにつきましては、厚生労働省の通知において、食品衛生法上における食品添加物には該当しないとみなされるものとされております。

本申請品につきましては、遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物、いわゆる高度精製品としての安全性審査を要望されているものになります。

5ページ目を御覧ください。

第2のNMNの用途、規格等の妥当性につきまして、第2.1の用途につきましては、NMNは食品分野では錠剤、顆粒等に添加し、栄養補助を目的として用いられるものになります。

第2.2、規格につきまして、NMNには国内公定規格がなく、自主規格を設定して品質を管理しております。日本において販売・流通されている従来品に加えて、いわゆる高度精製品に該当すると過去に判断されたL-シトルリン、L-オルニチン塩酸塩及び食品添加物公定書に記載の類縁化合物であるニコチン酸、ニコチン酸アミドの規格と比較して、同等あるいはより厳しい規格として管理されているとのことでございます。

6ページ目に移ります。

遺伝子組換え体に関する安全性評価につきまして、第1.1の宿主につきましては、宿主は*Escherichia coli* K-12株由来の突然変異株である●●●を用いているとのことでございます。

KN012株の作製に当たっては、●●●を用いております。

第1.1の(2)のDNAの供与体につきまして、生産菌KN012株に挿入されている遺伝子につきましては、以下、表4に示すとおり、4つの挿入遺伝子を入れております。表4を御覧い

ただければと思うのですけれども、●●●、続きまして●●●、●●●、●●●が挿入されているとのことでございます。

続きまして、挿入DNAの性質及び導入方法につきまして、先ほど申しました●●●されております。

こちらの導入方法につきましては、添付資料として詳細が記載されておりますので、こちらを御確認いただければと思います。

また、KN0212株において、表5に示す遺伝子を相同組換え法またはトランスダクション法によって遺伝子全体または一部を欠損させているとのことでございます。

8ページの真ん中ら辺でございますが、第1.2として宿主の食品製造への利用経験及び食経験につきまして、宿主の由来となる *E. coli* K-12株は、数十年にわたり食品・医薬品等のアミノ酸及び生理活性物質の工業生産に宿主として使用されている株とのことでございます。例えば安全性審査されたL-ロイシン、L-シトルリンをはじめ、多くの食品・添加物用のアミノ酸生産に用いられているとのことでございます。

続きまして、第1.4の製造方法、貯蔵方法につきまして、本製品の製造時につきましては菌を培養しております。高度精製品になりますので、培養終了後、培養液を殺菌し、死菌体を系外に除去した後、晶析等の精製工程を用いて最終製品としているとのことでございます。

続いて、少し飛ばしまして10ページ目、ベクターに関する事項につきまして、目的遺伝子を発現ベクターとして宿主に導入する目的として、●●●と●●●の耐性マーカーを使用しております。

11ページ目、第3.2、性質に関する事項になりますが、第3.2 (1) DNAの塩基数ですが、●●●の塩基数につきましては、それぞれ●●●となっており、それらの塩基配列も明らかとなっております。

また、第3.2 (3) に記載のとおり、こちらの塩基配列につきまして、既知の有害塩基配列を含まないことも確認されております。

切断地図も含めて、添付資料2、3に詳細が記載されております。

続きまして、飛ばして13ページ目になります。

第4.5、構築された発現ベクターまたは導入ベクターに関する事項になります。

第4.5 (1) 発現ベクターの●●●につきましては、●●●となっており、それらの塩基配列も明らかになっております。

続きまして、第4.5 (2) ORFにつきまして、KN012株の●●●につきまして、遺伝子挿入部位及びその近傍の終止コドンから終止コドンまでで25アミノ酸以上の領域をORFとして検索を行ったところ、前者●●●につきましては18個の新規ORFが、後者●●●については43個の新規ORFが同定されました。

これらのORFにつきまして、アミノ酸配列データベースで相同性検索を行ったところ、相同性を示す配列は見つからなかったとのことです。

また、ORFのうち、30アミノ酸以上のものにつきましてアレルゲンデータベースで相同性を確認したところ、35%以上のアミノ酸が一致する配列、また、連続8個のアミノ酸配列が一致する箇所は見つからなかったとのことでございます。

14ページ目、続きまして第5の組換え体に関する事項ですけれども、挿入された●●●につきましては、1コピーが置換導入されております。その他3つの挿入遺伝子につきましては、●●●に挿入されているとのことでございます。

続きまして、第5.1の(2) ORFの有無につきまして、KN012株における遺伝子破壊部位の上流下流1000bpを含む近傍配列を●●●と比較した結果、挿入された遺伝子のうち、●●●近傍配列に4個、●●●近傍配列に2個、●●●近傍配列に4個、●●●近傍配列に7個の新規ORFが同定されております。

これらのORFにつきまして相同性検索を行ったところ、一部のORFは相同性を示すタンパク質が確認されておりますが、それらにつきましてはいずれも既知の毒性タンパクではなかったとのことでございます。

また、ORFのうち、30アミノ酸以上のものにつきましてアレルゲンデータベースで相同性を確認したところ、35%以上のアミノ酸が一致する配列、また、連続する8個のアミノ酸配列が一致する箇所は見つからなかったとのことでございます。

続きまして、15ページ目の第5.3につきまして、申請品中の非有効性成分であるタンパク質の残存を確認するために、●●●により分析を行っております。その分析結果につきましては、申請品中には非有効性成分であるタンパク質は検出されないということが確認されております。

飛ばしまして17ページ、第3章、組換え体の安全性評価に移ります。

第1.1、最終製品に生きた組換え体が含まれていないことの確認に関する事項につきまして、NMN製造工程においては、生菌体は酸処理で示させた後、ろ過によって除去されております。したがって、最終製品中には生きたKN012株は存在していないことが確認されているとのことでございます。

飛ばしまして23ページ目、第3.3.2.4、不純物プロファイルの比較結果につきまして、疎水性及び親水性HPLC法による分析を行った結果、申請品には従来品に含まれていない新規不純物としてニコチンアミドリボシド（NR）が検出されておりますが、これにつきましては定量限界未満であったとのことでございます。

最後24ページ目、第3.5、諸外国の認可状況につきましては、本製品につきまして、日本国外において許認可等の手続は行っておらず、また、食品としての使用実績はないとのことでございます。

以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、申請資料の審議に入りたいと思います。

まず、第1章から第2章の第2、宿主に関する事項まで、申請書の4ページから10ページの

ところにおきまして御意見、コメントがありましたらお願いいたします。

〇〇〇 非常に細かい点なのですが、8ページの欠失遺伝子の表の中で●●●になっていますけれども、これは●●●でないといけないはずです。これは指摘して確認して訂正していただければよろしいかと思います。

〇〇〇 では、お呼びして質問するほどではないと。

〇〇〇 他になれば、わざわざ呼ぶほどのこともないかと考えます。

〇〇〇 そのほかございますでしょうか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 〇〇〇です。

細かいところだとは思いますが、6ページ目の●●●の表4の中の説明のところで、●●●となっているのは、●●●の間違いではないのでしょうか。●●●があるというのは、探したところは見当たらなかったのです。

〇〇〇 事務局でも分からないですね。

では、これはお呼びしてお聞きしましょう。

〇〇〇 はい。

以上です。

〇〇〇 では、〇〇〇のほうから質問するようにお願いいたします。

〇〇〇 分かりました。

〇〇〇 〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 5ページの自主規格の部分ですけれども、追加の資料で添付資料1ですね。HPLCの部分を足していただいたのですが、添付資料1のほうになるのですけれども、ちょっと不備があるなというので、ここは修正をしてもらいたいと思っています。

1つ目、添付資料1のグラジエントの部分でB：50%（15分）になっているのですが、これが何から何に50%にグラジエントしているのかよく分からないので、ここはどうしているのか修正をお願いしたいということ。

あと、試料調製の部分ですけれども、「試料調整」の「調整」が作るほうにしないといけないので、ここは誤字ですね。あと、この試料調製の中身の部分で、一応標準溶液と試料溶液を作っているのですが、実際にどうやって定量したのかももう少しちゃんと書いてもらいたいと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、申請者をお呼びしますので、〇〇〇のほうから御指摘いただけますでしょうか。

〇〇〇 分かりました。

〇〇〇 よろしく申し上げます。

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、続きまして申請書の10ページから17ページ、第3から第5 組換え体に関する事項までのところでコメント等がありましたらお願いいたします。

それでは、後から戻っても構いませんので、申請書の17ページから最後まで、第3章 遺伝子組換え食品に関する安全性評価のところに関しまして御意見、コメントがありましたらお願いいたします。

今回、おおむねかなり精製度が高くて、きれいなクロマトのように見えまして、1点だけNRが不純物として出てきたということで、日頃摂取する食品の中と比較しておいたほうがいだろうということで、牛乳と比較して追記していただいております。それを見ると、牛乳と同じ程度ぐらい、最大取ってもそのぐらいですかねという感じですので、この不純物については問題ないかなと思っておりますけれども、そのほか、先生方で御意見がありましたらお願いいたします。

よろしいでしょうか。

では、〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 私も先ほどの大腸菌の●●●はちょっと気になったのだけれども、これはもしかすると、●●●だけれども、●●●だったかなと思うのです。だから、いわゆる認識サイトと切断サイトの違うタイプのものではないかなと思うのですが、これで●●●ということは染色体上の●●●の遺伝子が完全に破壊されていることを確認しているということなのか。そこだけなのですけれども、これは●●●と書いてあるから、事実上、染色体上の●●●は破壊しているのかなと思うのだけれども、それはいいのかな。そこだけ何となくつらつらと考えただけです。失礼いたしました。

〇〇〇 お呼びしますので、ついでに御意見を述べていただいて。

〇〇〇 そうですね。ありがとうございます。

〇〇〇 それでは、皆さんよろしいでしょうか。

微細な修正箇所、8ページの●●●は調査会の後にでも指摘して修正ということですね。

●●●に関しては〇〇〇と〇〇〇のほうで少しお聞きしたいということです。

それから、添付資料1の表記について〇〇〇からコメントがございますので、申請者をお呼びして少し質疑応答をしたいと思います。

それでは、申請者をお呼びするまで5分間、10時28分まで休憩とさせていただきます。

(休 憩)

〇〇〇 それでは、説明者の方、入室ありがとうございます。

それでは、自己紹介をお願いいたします。会社名と名前が結構です。

〇〇〇 私、株式会社カネカの〇〇〇と申します。よろしくお願いします。

〇〇〇 同じく株式会社カネカの〇〇〇と申します。よろしくお願いします。

〇〇〇 株式会社カネカの〇〇〇と申します。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 同じく株式会社カネカの〇〇〇と申します。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 それでは、2点ほど質問といいますかコメントがございますので、質疑応答をよろしくお願いいたします。

1点目は、申請書の5ページ目の表2に関しまして、〇〇〇のほうから御意見、コメントがございますので、〇〇〇、よろしくお願いいたします。

〇〇〇 表2の自主規格の部分ですけれども、含量のところでHPLCの測定を行っているということで添付資料1をつけていただいたのですが、質問のほうはその添付資料1の部分です。

そちらを見てみますと、まずグラジエントの部分がB: 50% (15分) になっているのですが、この部分が何から何に50%にしているかというのがはっきりしないので、分かるように、どういうグラジエントをかけているのか、50にしたのがどうしたのか、何かから50にしたのがよく分からないので、ここはしっかりと修正をお願いしたいということがまず一点。

もう一つは、試料調製の部分なのですが、**「試料調整」**の**「調整」**の**「整」**の字が多分これは作るほうにしておかないといけないものなので、これは誤字だと思います。

〇〇〇 失礼いたしました。

〇〇〇 その試料調製の中身ですけれども、試料と標準試料を使って、標準溶液と試料溶液を作っているということは分かるのですが、これをもってどのように定量して含量を求めたかという部分が抜けているので、実際に再現できるように調整方法と定量方法の部分を、検量線を測っているのだと思うのですが、その方法の部分の追記をお願いしたいと思います。

以上です。

〇〇〇 承知しました。ありがとうございます。

〇〇〇 グラジエントの部分は、今すぐには分かりませんか。

〇〇〇 表記の仕方が不適切だったのですが、これはグラジエントではなくてアイソクラティックの50%、最初からA、B: 50%で分析しておりまして、なので、表記がグラジエントという書き方になっているのですが、最初から50%で15分流しております。

〇〇〇 では、15分で測定が終わっているということなのですか。

〇〇〇 はい。15分で測定が終わっております。

〇〇〇 では、そのようにグラジエントではなくてアイソでやっているというような修正をお願いします。

〇〇〇 承知いたしました。ありがとうございます。

〇〇〇 では、その修正は後ほど対応していただくようにお願いいたします。

〇〇〇 承知いたしました。

〇〇〇 もう一点は〇〇〇と〇〇〇から出ておりますけれども、6ページの表4の●●●についてです。

〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 〇〇〇です。

細かい点ではあるのですが、表4の●●●の表記に関しまして、●●●とあるのですが、●●●というのは知られているのですが、私がざっと調べたところ、●●●という表記が見当たらなかったの、どちらなのかということを確認させていただきたいと思いました。

〇〇〇 ありがとうございます。弊社のほうですぐに情報がないので、改めて確認しまして回答させていただきたいと思います。

〇〇〇 よろしく申し上げます。恐らく●●●という表記なのではないかなと思われます。

〇〇〇 承知しました。ありがとうございます。

〇〇〇 よろしく申し上げます。

〇〇〇 〇〇〇のほうも。

〇〇〇 それでは、〇〇〇でございます。

ほぼ同じ内容なのですが、これは●●●ということで、●●●もあったと思うのですが、たしか隣接していたと思いますが、これは別にいじっていないとか、変わらなかったということよろしいのですか。

〇〇〇 確認はしますが、●●●のみだと認識しております。

〇〇〇 安全性、生産性には影響しないと思いますので、一応御確認いただければ。

せっかくですから、それ以外の3つの遺伝子、●●●で入れていますが、これはそれぞれ抗生物質を入れていて、実際に培養のときには抗生物質を入れていない。一応安定と書いてあるので確認はされていると思いますし、また、●●●が落ちてても変な中間体ができないように設計もされているので、安全性は問題ないと思いますけれども、この辺、安定性とかその辺は十分高いということを確認されておりますでしょうか。

〇〇〇 申請書のほうで記載させていただいていますのは、最後、植え継いだ後の生産性が安定するということをもって、この●●●とも安定的に保持しているということを弊社のほうで確認しております。

〇〇〇 少々落ちても、たまたまプラスミドが落ちた菌体が物を作らなくなるだけなので、安全性には問題ないと思いますけれども、見ているのは生産性。それで結構です。ありがとうございました。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 そのほかの委員の先生方でこの際ですからお聞きしたいということがありましたら、お願いいたします。

よろしいですか。

それでは、後ほど少し修正していただくところがございますけれども、質疑応答についてはこれで終了となりますので、説明者の方、ありがとうございました。御退室をお願いいたします。

(説明者退室)

〇〇〇 それでは、審議に戻りたいと思います。

今の説明者からの回答を踏まえた上で、御意見、コメント等ある方がおられましたらお願いいたします。安全性上は問題ないかなと判断できるかなとは思いますが。

それでは、後ほど修正されたものが提出されてくるかと思しますので、〇〇〇、〇〇〇、〇〇〇のほうに後ほど確認をお願いしたいと思います。

本件については、全体としては安全性上問題がないと考えられますけれども、皆様の御判断をお願いいたします。丸か同意カードをお願いいたします。

(同意の意思表示あり)

〇〇〇 よろしいですか。大丈夫ですか。

ありがとうございました。

それでは、本件については安全性上問題がないという判断になりましたので、引き続き評価書案の審議に入りたいと思います。

事務局から説明をお願いいたします。

〇〇〇 評価書案の御説明をさせていただきます。

調査会資料としてお配りしている資料1「食品健康影響評価に関する資料」の①のほうを御覧ください。

評価書の3ページ目から御説明させていただきます。

まず28行目、I.評価対象食品の概要ですけれども、申請内容、名称はKN012株を利用して生産されたβ-ニコチンアミドモノヌクレオチド、用途はサプリメント等、申請者は株式会社カネカとなっております。

本食品につきましては、*Escherichia coli* K-12株の突然変異株を宿主として、β-ニコチンアミドモノヌクレオチドの生合成に関与する遺伝子等の導入を行って作製されたKN012株を利用して生産されたβ-ニコチンアミドモノヌクレオチドであります。*E. coli* K-12株は、有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は知られておらず、国立感染症研究所のバイオセーフティレベルの分類においてBSL2及び3に分類されていないものになります。また、*E. coli* K-12株及びその派生株につきましては、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いるものでございまして、これらの有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は知られていないとしております。

続きまして、44行目の食品健康影響評価になりますが、本食品につきましては、最終的に遺伝子組換え微生物が除去され、高度に精製された非タンパク質性の食品、いわゆる高度精製品であり、その安全性評価基準に従い、最終産物につきましては、従来食品との比較により安全性評価を行うことが適切であると考えられたとしております。

また、評価に当たっては、当該評価指針（別添）を準用することが可能であると判断しているとしております。

57行目、第1の比較対象の従来食品との相違ですけれども、製造方法につきまして、従来のβ-ニコチンアミドモノヌクレオチドは酵母を利用した発酵法により製造されたものになります。また、KN012株を利用して生産されるβ-ニコチンアミドモノヌクレオチドは自主規格により管理されているものになります。

また、用途及び使用形態、摂取量につきましては、従来製品と同様であるとしております。

78行目、第2の最終産物の精製度及び非有効成分等の評価につきまして、1の精製方法及びその効果ですけれども、KN012株を利用して生産されたNMNにつきましては、製造工程で産出される副生成物が除去され、晶析により結晶として高度に精製されているものとしております。

2の非有効成分の安全性につきまして、NMNの最終製品においては、タンパク質が検出限界（1μg/g）未満であること、また、従来品に加えて高度精製品に該当すると判断されたL-シトルリン、L-オルニチン塩酸塩、また、食品添加物公定書に記載の類縁化合物と比較して自主規格に適合していることが確認されていること。

また、HPLCによる分析の結果、従来食品に存在しない非有効成分であるニコチンアミドリボシドが検出されてはおりますが、定量限界未満であったこと。また、従来食品に存在する非有効成分はニコチンアミドが検出されておりますが、その含有量が安全上問題になる程度にまで有意に増加しているものはなかった。

以上のことから、従来のNMNと比較して既存の非有効成分の含有量が安全上問題となる程度までは増加しておらず、かつ、有害性が示唆される新たな非有効成分も含有していないと考えられるとしております。

3.その他ですけれども、上記1及び2から、最終産物であるNMNの安全性評価に必要な知見は得られるとしております。

最後ですけれども、Ⅲの食品健康影響評価の結果ですが、KN012株を利用して生産されたβ-ニコチンアミドモノヌクレオチドにつきましては、いわゆる高度精製品の考え方を踏まえまして、ここは調査会でご判断いただいた結果を記載させていただきます。

最後、本評価につきましては、リスクが従来品に比して増加しないことを確認したものであるとして、リスク機関において事業者に対して設定した製品規格の適合遵守に加え、消費者の健康被害事例の収集等につきまして指導を徹底することが必要であると伝達することとしております。

以上になります。

〇〇〇 それでは、評価書案について御意見、コメントを賜りたいと思います。

なお、細かい字句等の修正等につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えください。

1か所、4ページの95行目ですかね。「親水性HPLC法によって従来食品に存在しない非有効成分であるニコチンアミドリボシドが検出されたが」とあるのですけれども、ここの

従来食品が比較対象としての従来食品なので、一般的な概念の従来食品が全部、今まで食べたことがないものが入っているみたいな感じに取られると誤解を招くかと思うので、ここだけ「比較対象とした従来食品に」と一言入れておいていただけると誤解を招かないかなと思いますので、入れていただけたらと思います。

そのほか、先生方でお気づきの点がありましたらお願いいたします。

よろしいでしょうか。

それでは、この評価書案について皆さんよろしいかどうか、念のため同意カード等をお願いいたします。

(同意の意思表示あり)

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、修正箇所については後ほど私と事務局のほうで確認いたします。この評価書で食品安全委員会に報告し、パブリックコメント等の手続に入りたいと思います。

以上でこのニコチンアミドモノヌクレオチドについては審議終了となります。

〇〇〇はここで御退室になられますので、どうも御審議に参加いただきまして、ありがとうございました。

〇〇〇 ありがとうございます。お先に失礼します。

(〇〇〇退室)

〇〇〇 それでは、引き続きまして、次に継続審議品目である「JPAo013株を利用して生産されたホスホリパーゼ」について審議を行いたいと思います。

事務局から説明をお願いいたします。

〇〇〇 登庁で御参加いただいている先生方は、裏が青のファイルを御用意ください。

Webで参加の先生方は、先ほどのフォルダの中のホスホリパーゼのフォルダを御確認ください。

まず、これは昨年の2月の専門調査会で御審議いただきまして、継続品目となっていたものでございます。

このホスホリパーゼの概要をお話ししたいと思いますので、申請資料の1ページを御確認をお願いします。

本遺伝子組換え添加物でございますが、*Aspergillus oryzae* JPAo013株を利用して生産されたホスホリパーゼとなっております。pla1FVは生産性の向上を目的として*Fusarium venenatum* A3/5株由来のホスホリパーゼ遺伝子を宿主に導入した生産菌によって生産されております。ホスホリパーゼはリン脂質のエステル結合を加水分解する酵素の総称でありまして、基質の種類及び分解するエステル結合の位置によってホスホリパーゼのA1、A2、B、C、Dに分類されるということでございます。pla1FVはこのうちホスホリパーゼA1に分類され、リン脂質の1の位置にあるエステル結合を分解し、リゾリン脂質と脂肪酸を生成する酵素でございます。

pla1FVは食品分野においてチーズ等の乳製品に用いられるということで、乳に含まれる

リン脂質に作用することで乳化作用を有する生成物を遊離する。これらの生成物を含む乳はチーズ等の原料となり、最終的にチーズ等の歩留まり及び品質の向上に寄与するというものでございます。

そうしましたら、回答書のほうに行きたいと思いますので、回答書の御準備をお願いします。

今回指摘事項が3つ出されておりました、まず指摘事項の1でございますが、図4に *pla1FV* 遺伝子がコードする *pla1FV* のアミノ酸配列が示されているが、比較対象となる従来のホスホリパーゼとの比較ができるよう、それぞれのアミノ酸配列を上下に並べてその配列相同性を示すとともに、*pla1FV* の酵素活性領域を表示することという指摘でございます。

回答としましては、*pla1FV* の成熟タンパク質と比較対象となる、従来のホスホリパーゼのアミノ酸配列の比較がされておまして、それぞれのアミノ酸配列を上下に並べて配列相同性及び活性部位等が示されております。

指摘事項2ですが、*pla1FV* 製品の人工胃液による酸処理及びペプシン処理において、120分処理後も完全に消失していることを確認できていない。*pla1FV* 製品は活性がある状態で食品に残存する可能性があることから、*pla1FV* タンパク質または *pla1FV* 製品について、人工胃液処理試験及び人工腸液処理試験を連続して実施し、その結果と考察を申請書に記載することという指摘でございます。

回答としましては、*pla1FV* を用いて人工胃液処理試験及び人工腸液処理試験を連続して実施されております。最初に *pla1FV* を酵素試料液として人工胃液に加えまして、30分間の消化処理を行い、続いて人工胃液処理後の試料を人工腸液に加え、最大2時間の消化処理を行っております。処理前後の試料液を用いて SDS-PAGE を行った結果、*pla1FV* を示す ●●●● のメインバンドに加えて、●●●● 及び ●●●● の2つのマイナーバンドも人工胃液反応開始後30分で消化されたということでございます。また、人工胃液処理30分の試料において ●●●● の消化断片が検出されておりましたけれども、この消化断片は連続して行われた人工腸液の反応開始後5分で消化されたということでございます。

したがって、人工胃液処理で生じる ●●●● の消化断片を含めた *pla1FV* は、続く人工腸液の処理により完全に消化されることが確認されたということでございます。

続きまして、指摘事項3ですが、JPAo013株においては宿主である *Aspergillus oryzae* のゲノムに導入された目的遺伝子のコピー数が多いことから、これらの導入遺伝子が JPAo013株の代謝系に影響を与えていないこと及び JPAo013株における導入遺伝子の安定性について説明することという指摘でございます。

回答としましては、17行目からになります。基本的に生産菌の選抜においてはリパーゼ生産菌を指標にするため、最も高い生産性を持つ遺伝子組換え体を選抜しているということでございます。菌体の損傷や死滅は生産性低下を招くため、選抜過程で排除されと考えられる。したがって、導入遺伝子が JPAo013株の代謝系に影響を与える懸念は基本的

にはないと考えられるということでございます。

また、試験バッチ及び複数の製品バッチのSDS-PAGEによる分析により、pla1FVが供試したバッチで安定して発現していることが確認されているということでございます。加えて、当該生産菌から生産されるホスホリパーゼ製品については、規格として設定されているホスホリパーゼ活性を確認しております。以上より、海外で10年以上の販売実績から、当該生産菌には導入された目的遺伝子が安定して保持され、pla1FVが安定的に発現されてい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、9ページ目に修正事項がございます。安全性に関する事項ということで、*F. venenatum*、*A. nidulans*及び*S. cerevisiae*のそれぞれについて、病原性が知られていないことの説明を文献検索を行ったデータベースまたは根拠論文等を示して申請書に記載することという修正事項でございますが、回答のとおり修正がされております。

回答書の説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、それぞれの回答について確認したいと思います。

まず指摘事項1ですけれども、これは元は〇〇〇が指摘された内容でございますけれども、私が見た限りは大丈夫かなと思っております。

せっかくですから、〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 丁寧に分かりやすい表をつけていただいておりますので、私もこれで十分かなと考えます。多分〇〇〇もこれなら文句はおっしゃらないと思います。

〇〇〇 それでは、指摘事項の2ですけれども、連続胃腸液試験を実施してくださいと私のほうからリクエストしまして、対応していただきました。ちゃんと分解されているように見えますので、問題はないかなと思います。

〇〇〇とか〇〇〇、こんな感じのデータになりましたけれども、いかがでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

データを確認させていただきまして、しっかり分解されているようですので、私もこれで問題ないかなと考えております。

以上です。

〇〇〇 〇〇〇からも全く同じでして、十分分解されているという判断でよろしいかと思います。

以上です。

〇〇〇 では、指摘事項の2についてもこれでよろしいということで、指摘事項の3ですけれども、こちらは代謝系に影響しないことについてですが、こちらは〇〇〇と〇〇〇から御指摘いただいている内容になりますけれども、〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

私はこれで十分かと思っております。

以上です。

〇〇〇 〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 私も同様に、これで問題ないかと思います。

以上です。

〇〇〇 たしかリパーゼはたくさん発現すると細胞をやっつけてしまうのではないのという意見が出まして、そのようなものは生産性が落ちるから問題ないよという回答でございました。

それから、修正事項としてそれぞれの菌について安全性等の文献検索等をお願いしますということで修正いただいていますけれども、〇〇〇、〇〇〇、このような記載でよろしいでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

もともとこれらの特に*S. cerevisiae*と*A. nidulans*については、これまで何度も同じような遺伝子が使われておりますので、安全性については十分知見も蓄積しているかと思います。

あと、もう一つの*Fusarium*については文献を調べていただいております、このくらいの調査をしていただければよろしいかなと思います。

以上です。

〇〇〇 〇〇〇はいかがでしょうか。

〇〇〇 私も下の2つは申請書でもよく見るものですし、上のほうも最近よく見かけるかなとは思っているのですが、問題ないかと思います。

以上です。

〇〇〇 それでは、指摘事項等については十分対応いただいて、修正もされているということです、全体を通して委員の先生方から何か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、対応は十分していただいたという形になりましたので、このホスホリパーゼにつきましては安全性上の問題はないと判断してよろしいか、皆様の御判断をお願いいたします。同意カード等ですね。

(同意の意思表示あり)

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、申請者のほうはお呼びしないということになりましたので、よろしく願いいたします。

それでは、本案件については安全性上問題がないということになりましたので、引き続き評価書案の審議に入りたいと思います。

事務局から説明をお願いします。

〇〇〇 本日お配りしている資料1「食品健康影響評価に関する資料」を御準備ください。

ホスホリパーゼについては②になります。

6ページを御覧ください。

評価対象添加物の概要になりますけれども、こちらは記載のとおりでございます。

第1の1.従来の添加物の性質ですけれども、名称がホスホリパーゼ、生産菌が *Streptomyces violaceoruber*、有効成分がホスホリパーゼA1でございます。

製造方法ですが、ホスホリパーゼA1は培養工程、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ます。

用途及び使用形態ですが、ホスホリパーゼA1はリン脂質の1位のエステル結合を加水分解することにより、リゾリン脂質及び脂肪酸を生成する酵素であり、チーズ等の乳製品製造に用いられます。その酵素活性により生じたリゾリン脂質及び脂肪酸などの乳化作用により水分や脂肪の保持力が上昇し、チーズの収量が増え、熟成促進及び物性改良などの効果が期待できるということでございます。

7ページに行きまして摂取量ですけれども、最大一日摂取量は4.1μg TOS/kg体重/日でございます。

2. 宿主に関する事項ですが、宿主は *A. oryzae* IFO4177株となっております。本菌株は清酒麹から分離された野生株でありまして、NBRC4177株として登録、保管されております。

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

(3) *A. oryzae*は、国立感染症研究所病原体等安全管理規程において、バイオセーフティレベル2及び3に分類されていないというものでございます。

74行目、*A. oryzae*によるアフラトキシンの産生は確認されております。 *A. oryzae*の中にシクロピアゾン酸、コウジ酸及びβ-ニトロプロピオン酸を産生する株も報告されておりますが、JPAo013株ではシクロピアゾン酸、コウジ酸及びβ-ニトロプロピオン酸がいずれも検出限界未満であることが確認されております。

*A. oryzae*はみそ、醤油、醸造酒等の製造に長年にわたり安全に使用されてきた経緯があり、適切な環境で扱われている限り、アレルギー誘発性の可能性は低いと考えられるということでございます。

8ページの(4)から(6)につきましては記載のとおりでございます。

3.挿入DNAに関する事項ですが、ホスホリパーゼ (*pla1FV*) をコードするホスホリパーゼ (*pla1FV*) 遺伝子の供与体は、*F. venenatum* A3/5株であります。アセトアミダーゼ遺伝子及びオロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼ遺伝子の供与体はそれぞれ *Aspergillus nidulans* Glasgow野生株及び *Saccharomyces cerevisiae* FL100株となっております。

(2) ですが、*pla1FV*遺伝子はホスホリパーゼをコードいたします。*amdS*遺伝子はアセトアミラーゼ、*URA3*遺伝子はオロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼをコードし、いずれも選択マーカーとして用いられております。

*pla1FV*遺伝子、*amdS*遺伝子及び *URA3*遺伝子の遺伝子発現カセットを含む遺伝子導入用ベクターpJPV058全体をプロトプラスト法により標的となる宿主の特定の遺伝子座へ

導入しております。

遺伝子組換え添加物の性質ですが、製品名がpla1FV製品、有効成分はホスホリパーゼA1 (pla1FV) でございます。

次の(2) から9ページの(5) につきましては、記載のとおりでございます。

5 (1) ですが、ホスホリパーゼA1と従来のホスホリパーゼA1との相違点は、生産菌、アミノ酸残基数、至適温度及び至適pHとなっております。

(2) ですが、JPAo013株と宿主との相違点は、JPAo013株にはpla1FV遺伝子が複数コピー導入され、ホスホリパーゼA1の高生産能を獲得している点、amdS遺伝子及びURA3遺伝子を導入している点となっております。

第2、ベクターの名称、由来に関する事項ですが、pJPV058の作製には*Escherichia coli* 由由来のプラスミドpUC19が用いられております。

次の2.ベクターの性質に関する事項から10ページの(5) までにつきましては、記載のとおりでございます。

3.挿入DNAの供与体に関する事項ですが、pla1FV遺伝子の供与は*F. venenatum* A3/5株となっております。*F. venenatum* A3/5株は20年以上にわたり海外で食品用タンパク質の生産に利用されております。これまで*F. venenatum* A3/5株に関して、安全性に懸念を生じるような報告等は確認されておられません。

amdS遺伝子の供与体は*A. nidulans* Glasgow野生株となっております。*A. nidulans*の食経験は特に知られていないが、食品用酵素の製造等に広く使用されており、選択マーカーとして長年利用されてきた実績があります。

URA3遺伝子の供与体は*S. cerevisiae* FL100株でありまして、*S. cerevisiae*はパン酵母やアルコール発酵用酵母として長年にわたり食品製造において安全に使用されてきた実績がございます。

4 (1) pla1FV遺伝子ですが、pla1FV遺伝子はホスホリパーゼ活性を有するpla1FVをコードいたします。pla1FVは、ホスホリパーゼのうちホスホリパーゼA1に分類され、リン脂質中の1位のエステル結合を加水分解いたします。

11ページの(2) amdS遺伝子ですが、amdS遺伝子はアセトアミダーゼをコードいたします。アセトアミダーゼはアセトアミドを加水分解する酵素でありまして、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生育できることから、選択マーカーとして用いられます。

(3) URA3遺伝子ですが、URA3遺伝子は、オロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼをコードいたします。オロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼはウリジン要求性を相補する選択マーカーとして用いられております。

5 (1) プロモーター、ターミネーターに関する事項につきましては、記載のとおりでございます。

6.ベクターの挿入DNAの組み込み方法ですが、(1) pla1FV遺伝子は、*F. venenatum* A3/5

株のゲノムDNAを鋳型として、シグナル配列を含む*pla1FV*をコードする配列をPCR法により増幅して得られております。

*amdS*遺伝子は、*A. nidulans* Glasgow野生株のゲノムDNAを鋳型として、PCR法により増幅して得られております。

*URA3*遺伝子は、*S. cerevisiae* FL100株のゲノムDNAを鋳型として、PCR法により増幅して得られております。

(2) ですが、プラスミドベクターpUC19に*na2*プロモーター断片、*na2/tpi*プロモーター断片、*pla1FV*遺伝子断片、*amg*ターミネーター断片、*amdS*遺伝子断片、*URA3*遺伝子断片等を挿入し、pJPV058を作製しております。

7.構築されたコンストラクトに関する内容は記載のとおりでございます。

第3.宿主との差異に関する事項ですが、JPAo013株は、pJPV058の挿入により*pla1FV*遺伝子発現カセット、*amdS*遺伝子発現カセット及び*URA3*遺伝子発現カセットが多コピー導入されている点で宿主と異なります。

2.遺伝子導入の(1) ですが、*pla1FV*遺伝子のコピー数及びpJPV058の挿入近傍配列を確認するため、定量PCR解析及びJPAo013株の次世代シーケンサーによる全ゲノム解析を行っております。その結果、*pla1FV*遺伝子が特定の遺伝子座に複数コピー挿入されていると推定されております。

(2) *pla1FV*遺伝子発現コンストラクトですが、pJPV058について、*pla1FV*遺伝子、*amdS*遺伝子及び*URA3*遺伝子以外のORFの有無を確認するため、pJPV058全領域についてORF検索を行っております。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で終結する連続する30アミノ酸以上のORFが合計150個検出されております。

既知のアレルゲンとの構造相同性ですが、検出されたORFについて、アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った結果、連続する80アミノ酸配列に対して35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは検出されておられません。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ギーも検出されておられません。

既知の毒性タンパク質との構造相同性ですが、検出されたORFについて、NCBIデータベースを用いてE-valueが 1.0×10^{-5} 未満を指標として相同性検索を行った結果、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うことでございます。

②近傍配列との境界領域ですが、pJPV058の導入により宿主ゲノムとの接合部位に新たに生じるORFの有無を調べる目的で、遺伝子導入された標的遺伝子座における挿入DNA並びに5'近傍配列及び3'近傍配列を含む領域についてORF検索を行っております。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で終結する連続する30アミノ酸以上のORFが合計62個検出されております。

既知のアレルゲンとの構造相同性ですが、検出されたORFについて、アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った結果、宿主ゲノムと挿入領域をまたぐORFと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ておられません。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も検出されておられません。

既知の毒性タンパク質との構造相同性ですが、検出されたORFについてNCBIデータベース用いて、E-value 1.0×10^{-5} 未満を指標として相同性検索を行った結果、データベース中の既知のタンパク質と相同性を示したORFは認められなかったということでございます。

3.遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子の安全性ですが、pJPV058には抗生物質耐性マーカー遺伝子が含まれておりません。pUC19由来の機能的なアンピシリン耐性遺伝子の配列がpJPV058に残存していないということはシーケンス解析により確認しております。

4.遺伝子産物のアレルギー誘発性ですが、(1) *F. venenatum* A3/5株は、20年以上にわたり海外で食品用タンパク質の生産に使用されており、これまでアレルギーで問題となった報告はありません。*F. venenatum* A3/5株のアレルギー誘発性の可能性を確認するため文献検索を行った結果、*F. venenatum* A3/5株由来の食品用のマイコプロテインに起因すると疑われる食物アレルギーに関する報告が1件見つっておりますが、これはpla1FVとは別のタンパク質に起因する事象であることが示唆されております。したがって、*F. venenatum* A3/5株が食物アレルギーを誘発する可能性は低いと考えられたとしております。

(2) pla1FVを有効成分とする酵素製品について、アレルギー誘発性を示唆する報告はありません。また、*F. venenatum* A3/5株由来のホスホリパーゼの食物アレルギー誘発性の可能性を調べるために文献検索を行った結果、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。

15ページに行きまして、(3)①pla1FVですが、人工胃液に関するに対する感受性、pla1FV製品を人工胃液に加え、最大で3時間消化処理を行った後、SDS-PAGEで分析した結果、pla1FVのバンドは試験開始後30分以内に消失したが、反応開始30秒以降に低分子断片のバンドが認められた。低分子断片のバンドについて評価するため、人工胃液で30分間処理した後に連続して人工腸液で最大2時間処理を行った結果、低分子断片のバンドは人工腸液処理開始後5分以内に消失したということでございます。

人工腸液に対する感受性ですが、pla1FV製品を人工腸液に加え、最大で6時間消化処理を行った後、SDS-PAGEで分析した結果、pla1FVのバンドは試験開始後6時間でほぼ消化されるということが示されております。

加熱処理に対する感受性ですが、pla1FVをpH8.0で各温度帯で30分処理した後、活性を測定しております。その結果、pla1FVは約45℃で活性が50%以下になり、50℃以上の処理でほぼ失活するということが示されております。

②アセトアミダーゼは、我が国において長い使用実績があり、既に食品安全委員会の食品健康影響評価が終了している品目で発現するアセトアミダーゼとアミノ酸配列が同じで

あるということから、物理化学的処理に対する感受性試験は実施しなかったということでございます。

オロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼでは、我が国において長い使用実績があり、既に食品安全委員会の食品健康影響評価が終了している品目で発現するオロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼとアミノ酸配列が同じであることから、物理化学的処理に対する感受性試験は実施しなかったということでございます。

(4) ですが、pla1FVのアレルギー誘発性の可能性を調べるために、アレルゲンデータベースを用いて既知のアレルゲンとの相同性検索を行った結果、連続する80アミノ酸配列に対して50%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは検出されておりません。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も検出されなかったということでございます。

第4については記載のとおりでございます。

第5.諸外国における認可、食用等に関する事項ですが、pla1FV製品は、2010年頃から欧米で販売が開始され、10年以上の食経験がございます。また、米国において、FDA GRASとして認証されており、カナダ及びフランスにおいてそれぞれ食品酵素及び食品用加工助剤のポジティブリストに収載されているということでございます。

遺伝子組換え体の残存に関する事項ですが、pla1FV製品中に生産菌由来のDNAの残存がないことをPCR分析により確認しております。

3.製造に由来する非有効成分の安全性ですが、pla1FVの製品化前の酵素サンプルは食品衛生法に基づく成分規格を満たしているということでございます。

17ページに行きまして、4、5につきましては記載のとおりでございます。

食品健康影響評価結果ですが、JPAo013株を利用して生産されたホスホリパーゼについては、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物に関する食品健康影響評価指針」に基づき、導入遺伝子の供与体、導入される塩基配列が明らかであること等の導入遺伝子の安全性、導入遺伝子から産生されるタンパク質の毒性及びアレルギー誘発性等について確認した結果、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としたいと思います。

以上のことから、「JPAo013株を利用して生産されたホスホリパーゼ」は、人の健康を損なうおそれはないとしたいと考えております。

評価書案の説明は以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、評価書案につきましてコメントや御意見がありましたらお願いいたします。全体を通して何かありましたらお願いいたします。

大丈夫そうですね。

それでは、この評価書案でよろしいか、同意カード等をお願いいたします。

(同意の意思表示あり)

〇〇〇 ありがとうございました。

それでは、この評価書をもって食品安全委員会に報告いたしまして、パブリックコメント等の手続に入りたいと思います。

以上でホスホリパーゼについての審議は終了となります。

それでは、議題（１）については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した。

それでは、本日の議題についてはこれで終了となります。

〇〇〇 以上をもちまして、第277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、活発な御審議ありがとうございました。適宜御退室ください。