

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第279回) 議事録

1. 日時 令和8年7月22日(水) 14:04～16:43

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
- ・ JPAN013株を利用して生産された α -ガラクトシダーゼ

(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

(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、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

- ・ *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

・JPAN013株を利用して生産された α -ガラクトシダーゼ

6. 議事内容

〇〇〇 それでは、皆様、定刻をちょっと過ぎてしまいましたが、ただいまから第279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。それから、〇〇〇と〇〇〇は後ほど入られるかと思います。

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、継続審議となっていた「*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」、新規品目である「JPAN013株を利用して生産された α -ガラクトシダーゼ」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」及び机上配付資料となります。

資料の不足等はありませんでしょうか。

また、本日は、申請者であるDSM株式会社、ダニスコジャパン株式会社及び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いたします。

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、継続審議品目である「*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 会場にいらっしゃる先生方は、ファイルにはとじていないのですが、クリップ留めしてある回答書を御準備ください。Webで参加の先生方は、260721差し替え2というフォルダの中の回答書を御準備ください。

それでは、継続品目である *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でございます。

本件については、本年3月の専門調査会で御審議いただいた際、指摘事項が出されておりました、継続となった品目でございます。

回答書の1ページを御覧ください。

指摘事項の1でございます。申請品の残存タンパク質分析においてタンパク質が検出されている。提出された資料からは、「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の安全性確認の考え方」を準用し、改めて「遺伝子組換え食品（微生物）安全性評価基準」による評価を行う必要がないとは判断できなかった。

ついでには、ブラッドフォード法以外の分析方法や供試試料から事前に2'-フコシルラクトースを除いてからタンパク質を定量する方法を検討し、改めてタンパク質が検出されないことを示すことという指摘事項でございます。

回答としましては、御指摘を踏まえ、第三者機関において、限外ろ過膜を用いてタンパク質を濃縮した後、ブラッドフォード法により再測定を実施しましたということで、結果がここにはないのですが、申請要旨の21ページを御確認ください。

申請要旨の21ページ、3.3.残存タンパク質分析結果という項目でございます。検出限界1ppmを達成するため、限外ろ過膜（3kDa）を用いてタンパク質を●●●濃縮するとともに、糖類等の低分子成分を除去し、発色反応への影響を低減した上で測定を行った。その結果、タンパク質は検出されなかったという結果でございます。

回答書のほうにお戻りいただきまして、指摘事項の2番目、5ページでございます。比較対象とした従来の2'-フコシルラクトースについて、流通年度、流通国、流通量、世界に流通する2'-フコシルラクトースの流通量のうちどれぐらいのシェアを占めるのか。安全性懸

念に関連する報告の有無などの説明を補足することという指摘事項でございます。

こちらについて、従来品の流通想定期間が2018年の1月から2019年の10月までとなっていて、想定流通量は●●●で市場のシェアは●●●ということでございます。

こちらにつきましても、申請要旨の15ページを御確認いただきたいと思います。

申請要旨の15ページに行きまして、5行目あたりですけれども、SCR6株を利用して生産された2'-FLは、申請品と同様にEUの新食品制度の規格に適合しており、複数の国及び地域において2018年から約1年にわたる販売流通実績がある。当時の2'-FLの流通量の●●●を当社の製品が占めたということです。

申請品であるMAP1001h株由来の2'-FLも従来品と同じ国及び地域において承認され、2019年より販売されており、申請者からの供給は全ての国において申請品へ切り替わった。同年以降、市場における最終製品についても、順次申請品への置き換えが進んだものと推察される。

申請品のこれまでの累計販売量は●●●に達している。申請者は世界の乳児用調製乳メーカー上位5社のうち●●●に2'-FLを供給しており、このうち●●●世界のベビーフード・乳児用調整乳市場において約20.7%の市場シェアを有する最大手企業である。申請品はこれら主要メーカーの製品に採用され、広く消費されている。ともに、主に乳児用調製粉乳の成分として使用され、ヒトに摂食されるものであり、これまでにいずれの製品についても健康被害等は確認されていないと記載がございます。

指摘事項は2点でございます、それに続いて修正事項がございますけれども、修正事項は適切に修正がされているということを確認いたしました。

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、指摘事項に対する回答について順次確認を進めたいと思います。

まず指摘事項の1番ですけれども、残存タンパク質の分析ですが、高度精製品というものに準じて審査を行うためには、タンパク質が検出されないことを求めるということになっておりまして、前回、その点がクリアされなかったということで、今回限外ろ過膜を使って低分子を除いて、それで実験をしたところ、ありませんでしたという結果で、私としては、この方法自体はほかの申請でも扱われている方法でもございますので、方法全体としては問題ないかなと考えております。

この点について、委員の先生方からコメントがもしあるようでしたらお願いいたします。一番大事なところと言えば一番大事なところかと。

〇〇〇 書いてあるのは検出されないことというのですけれども、実際のところ、どの程度鋭敏であれば十分注意義務を果たしたとみなせるかということとして、1 ppmというのはどちらかというと辛過ぎるかなというくらいの基準でして、この基準はクリアしてきましたし、また方法としては一般的だと思いますので、私はこれでいいかなと思います。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

1 ppmという形でやっておりますので、ほとんどの場合にこの1 ppmの検出限界を出すためにはそれなりに試料が溶けないといけないのですけれども、それが大体溶けなくてという形になりますので、溶かした後で濃縮するというステップがないとなかなか1 ppmにたどり着かないというような事情があるかと思えますけれども、そこら辺はだんだん理解が進めばよりスムーズに審査されるものかなとは思ってはおります。

それでは、指摘事項2ですけれども、こちらは流通量等と安全性の懸念に関する報告の有無などについて補足してくださいということで、〇〇〇と私からとなっております。

〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 数字を出していただきまして、●●●、結構流通しているのですねというのが正直なところで、これだけ無事に流通していて事故等の報告がないということであれば十分かと思えます。

以上でございます。

〇〇〇 私も〇〇〇と同じ意見でございます。この手のことに詳しい人に聞いたところ、フコシルラクトースはやはり需要は結構高いという話のようでして、実際に高いのだなということが分かるような数字かなと思いました。

それから、適宜修正事項はあるのですけれども、今回のこの2'フコシルラクトースは食品ですので、自主規格で運用されるということになりますので、自主規格のところについて少し確認をしたほうがよろしいのではないかと思いますので、●●●〇〇〇、自主規格のところについてもコメントがありましたらよろしくお願いいたします。

〇〇〇 適切に修正されていると思います。

あと、追加で標準品について質問を行ったのですが、しっかりとトレーサビリティが取れた標準品で行っているので、定量についても問題はないものと考えています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございました。

それでは、自主規格についても特にこの形であればということですので、ただ一点、自主規格の中にタンパク質の検出限界が日本の現在の基準よりはEUの基準に従っているようでして、少し緩い形になっていますので、その点について一応申請者のほうに確認をしたほうがよろしいのではないかと思いますので、一応申請者を今日お呼びできますので、申請者をお呼びして、もしほかに質問がありましたら、そのときに委員の先生方から聞いていただくということにして、その点だけ確認をしたいと考えております。よろしいでしょうか。

ほかにこの際だから聞いておきたいということがあるという委員の先生方がもしいらっしゃいましたら、お願いいたします。

よろしいですか。

それでは、1点だけですけれども、申請者の方をお呼びして質疑応答をしたいと思えます

ので、このままお待ちください。

(説明者入室)

〇〇〇 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 DSM株式会社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DSM株式会社の〇〇〇でございます。どうぞよろしくお願いいたします。

〇〇〇 (英語で発言)

〇〇〇 それでは、1点だけ確認させていただきたいことがございます。今回の申請品は食品でございますので、自主規格で運用されるということになります。今回の審査自体は高度精製品の枠内で審査を行って、安全性の評価を行っているということになっていまして、高度精製品が高度精製品であるということについては、タンパク質が検出されないことということが附帯事項についております。自主規格で運用されるということなのですから、その点について実際に流通するものについて、自主規格と日本での高度精製に当たる部分と少し離れている部分、タンパク質の検出について少し合っていないところがございますので、その点について確認させていただきたいということでございます。いかがでしょうか。

〇〇〇 まず弊社の品目ですが、経緯をお話ししますと、2022年よりリスク管理機関への相談を開始しておりました。当時は平成17年の高度精製添加物の安全性評価の考え方が準用されて各社様の評価が行われていたものと理解しております。当時はこちらの考え方には残存タンパク質に関する具体的な基準値は示されておりましたので、そのため、本品目についても残存タンパク質については個別に評価される可能性があるかと御説明いたしまして、それを基にして弊社としては高度精製の枠組みで申請を進めてまいりました。

その後、令和6年に考え方が改訂されまして、非タンパク質性の判断基準としては1 ppmということが明記されたと理解しております。今回の御指摘はその考え方の改訂の内容を踏まえてのものと理解しております。

弊社は、自社規格ではお示ししておりますように、100 ppmとして残存タンパク質を規定しておりますが、この規格値は製造工程のばらつきですとか分析法の特性など考慮して、製品品質を適切に管理するために設定した規格となっております。この規格は安全性の観点からも十分に低い水準であって、国際的にも本品目のみならず同種の競合製品についても同様の管理水準の下で承認等が各国で得られておりますので、その実績を踏まえて、グローバルな品質管理基準としては妥当なものとして運用しております。

一方で、今回の御指摘のとおり、日本では現在の非タンパク質性の基準に基づく高度精製品への適合性というのは判断できません。今回追加でお示ししました残存タンパク質分析では、本品目について●●●でタンパク質が検出されないこと、1 ppm未満であるということを確認しております。

本製品は、今後も今回もお示ししました製造工程と同一のもので品質管理体系の下で継

続して製造されていきますので、当社としては今後製造するロットについても申請品と同等の高度なレベルでの精度が維持されるものと考えております。そのため、今後は高度精製品の適合性を継続的に確認する方法としては、定期的に残存タンパク質の分析を行って、1 ppm未満であるということを確認していく運用を行う予定でおります。必要に応じて、またこの内容は申請資料の概要にも追記する予定でおります。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

日本の考え方について御理解いただいているようですので、今後ともぜひその点については御配慮いただいて、規格といいますか、実際の製品の製造の運用をよろしく願いたいところだと思っております。

そのほか、委員の先生方でこの際聞いておきたいということがありましたら、よろしくお願いします。

よろしいですか。

それでは、委員の先生からは追加のコメントはないようですので、こちらからの質疑応答は以上となります。

これから審議に戻りますので、御退室をお願いいたします。

(説明者退室)

〇〇〇 以上で、一応製造に当たっては日本の高度精製に当たることを念頭に置いて運用していただけたという回答でしたので、よろしいかなと思います。なかなか会社によってはここに抵抗されるところもあるのですけれども、考え方を尊重していただけたようですので、この委員会としては問題ないかなと判断してもよろしいかなと思いました。

以上の点について、全体として何かコメントがある先生がいらっしゃいましたら、よろしくお願いいたします。

よろしいですか。

それでは、全体を通して指摘事項はないということになりましたので、本件については安全性上問題ないという判断をしたいと思えますけれども、皆様の御意思の表示をお願いいたします。丸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 取りあえず全員大丈夫そうですね。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は問題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いたします。

〇〇〇 資料1の食品健康影響評価に関する資料の①フコシルラクトースを御準備ください。

2ページ、評価対象食品の概要でございます。本食品は、*Escherichia coli* K-12株の派生株を宿主として、2'-フコシルラクトース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 *E. 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であります。

E. coli K-12 DH1 MDO MAP1001h株の宿主の親株である *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2及び3に分類されておらず、多くの食品用・医療用のアミノ酸及び生理活性物質の工業生産に使用されています。

なお、*E. coli* K-12 DH1 MDO MAP1001h株の作製に用いられた挿入DNA及びその遺伝子産物、作製工程等は明らかにされています。

II. 食品健康影響評価については記載のとおりでございます。

第1.1.製造方法、比較対象とした従来食品の2'-フコシルラクトースは、欧州委員会（European Commission）の新食品（Novel Food）制度の下で新食品として認められたものであり、微生物培養により生産され、複数の国及び地域において流通実績がある。なお、*E. 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は、自主規格により管理されます。

用途、使用形態ですが、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あり、タンパク質ではありません。2'-フコシルラクトースは、食品分野では食品素材としての使用が期待され、栄養補助食品として用いられます。なお、比較対象とした従来食品は、主に乳児用調製粉乳の成分としてヒトに摂食されており、当該製品による健康被害等は確認されていません。

摂取量ですが、栄養補助目的の従来2'-フコシルラクトースの子供（0～6歳）及びその他の集団（7歳以上）の推定一日摂取量は、それぞれ最大約5.3 g/人及び約7.0 g/人です。

第2.精製方法及びその効果ですが、*E. 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は、製造工程において生産菌及び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ます。

非有効成分の安全性ですが、*E. 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非有効成分について、最終製品において以下の事項を確認しています。

- (1) タンパク質は検出限界未満となっています。
- (2) 高純度品が流通する従来製品のEU規格を参考とすることは妥当であると考えられた。これらの規格に準じて設定された自主規格に適合していることが確認されている。
- (3) HPLC法（親水性及び疎水性）による分析を行った。比較対象とした従来食品は、欧米等における流通品である *E. coli* K-12 DH1 MDO MAP1001h株の構築中間株に別途2'-フコシルラクトース生合成関連遺伝子の挿入等を行い構築された遺伝子組換え体である *E. coli* K-12 DH1 MDO SCR6株を利用して生産された2'-フコシルラクトースとなっています。その結果、従来食品に存在しない非有効成分は検出されなかった。

また、従来食品に存在する非有効成分についても、その含有量が安全上問題となる程度にまで有意に増加しているものはなかった。なお、海外では比較対象とした従来食品が複数の国及び地域で販売・利用されており、これまでに有害事象等の報告はないことから、比較対象とした従来食品に含まれるこれら非有効成分による安全上の懸念は発生しないと考えられる。

以上のことから、従来の2'-フコシルラクトース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に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います。

その他、生産株である *E. coli* K-12 DH1 MDO MAP1001h株の作製過程で使用した抗生物質耐性マーカー遺伝子は最終的に除去され、生産株には存在していません。

上記並びに1及び2から、最終産物である2'-フコシルラクトースの安全性評価に必要な知見は得られている。なお、遺伝子組換え体である *E. coli* K-12 DH1 MDO MAP1001h株についても、提出された資料からは安全性が懸念される事項は認められなかったとしております。

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、評価書案について御意見と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いたしたいと思っております。

今回は、皆様にも一度きれいに見ていただきたいところがございます、59行目から64行目までですけれども、比較対象とした従来食品の書きぶり、それから、94行目から105行目までの不純物のところですが、その部分の書きぶりについて皆様ぜひ一度御覧いただいて、御意見等あるかどうかお願いしたいと思っております。

ポイントは、これまで比較対象は国内で流通しているものを基本としていまして、今回は国内流通品がありませんので海外流通品を比較対象としている点、それから、従来は比較対象品は基本的にNon-GMか、もしくはGMであってもこの委員会で承認したものを比較対象にしているのですけれども、海外流通品でこの委員会では直接は承認していないものを比較対象としている点がございます。もちろんその点などを踏まえて、こちらと事務局とで相談して、こういった書きぶりではいかがかという形で提案しているものになります。ぜひ一度見ていただいて、この書きぶりでよろしいかどうか御判断いただけたらと思います。いかがでしょうか。

〇〇〇、いかがですか。

〇〇〇 見た感じ、無難に書けているかなという感じで、EUと日本の規格品を比較対象とすることは妥当であるという納得のいく書き方であると思っておりますし、また、内容も精査してちゃんと比較もしておりますので、日本のほうで重金属とかそういうところもチェックしておりますので、私はこれでよろしいかと思っておりますし、これが公表されてもいいのでは

ないかなと考えます。

〇〇〇 パブコメにかかると、一部の非常に詳しい先生方は、これを見ると結構今までにはない事例だなと思う方もいらっしゃるようなものではあるのですが、今回のこの申請品が通ると、国内で流通していないものについても申請できるのだというような道が開けたという形にもなります。

よろしいでしょうか。特によろしいですかね。

それでは、一応意思確認を行わせていただきたいと思います。この評価書案について皆様の同意をいただけますでしょうか。

(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、この評価書案をもって食品安全委員会のほう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2'-フコシルラクトースの審議は終了となります。

〇〇〇はこちらで御退室となりますので、どうもありがとうございました。

〇〇〇 ありがとうございます。

(〇〇〇退室)

〇〇〇 それでは、続きまして継続審議品目である「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。

事務局から説明をお願いいたします。

〇〇〇 会場にお越しの先生方はクリアファイルにとじられた回答書を御準備ください。
Webで御参加の先生方は260715差し替え2というフォルダを御確認ください。

それでは、継続品目であるH-ELP株を利用して生産された α -アミラーゼについてございます。本件については、本年3月の専門調査会で御審議いただいた際に指摘事項が出されておりまして、継続となっていたものでございます。

では、回答書の説明に行きたいと思います。

指摘事項1でございますが、H-ELP株 α -アミラーゼにアレルギー誘発性の懸念がないことを示すための表13等において、H-ELPタンパク質と相同性を示した既知のアレルゲンについて、「食物アレルゲンではない」と記載するだけでなく、例えば「評価済みの過去の品目と比較して、当該アレルゲンへの相同性が上がっていない」など、アレルギー誘発性を否定する情報を追記することという指摘事項でございます。

回答につきましては、2パラ目になりますが、御指示のような過去の相同性解析の結果を今般の結果と比較するような方法を試みましたが、配列が判明している近縁の α -アミラーゼで比較可能なものが見当たりませんでしたので、懸念を払拭することは困難であると結論しましたということでございます。

しかし、以下の考え方により、その懸念は十分にリスクが低いものと考えますということで、次のページに行きまして①～③が記載されております。①連続8アミノ酸の一致の解

析では問題となる相同性がヒットしなかった。②*B. megaterium*及び*B. licheniformis*について、経口ばく露によるアレルギー誘発性の報告はない。③H-ELPタンパク質はペプシン消化に対して感受性であり、小腸に到達しない可能性が高いと考えられるということでございます。

指摘事項の2番目ですが、図20、図21において示されているH-ELPタンパク質の人工腸液処理試験の結果について、パンクレアチンを加えた後の試料の高分子領域に見られる凝集体と思われるバンドの説明がなされていない。ついては、当該試験のやり直しを含めて、当該バンドに関する具体的な考察を行い、凝集に伴うアレルギー誘発性の上昇可能性等に関して詳しく説明を記載することという指摘事項でございます。

試験のやり直しはされておりませんで、回答の2パラ目ですが、高分子領域のシグナルは反応0分のレーンやH-ELPタンパクを含まないレーンでは観察されず、反応後のみに観察されることから、再検討した結果、「高分子領域に薄く広がるシグナルはH-ELPあるいはその分解物が様々なサイズの凝集体を形成したものである可能性が高い」と考察し直しました。タンパク質の凝集では、一部の条件において、免疫原生やIgE依存性アレルギー反応の誘発強度が影響を受けること等が報告されています。仮にH-ELP酵素タンパク質がアレルゲンを持つと仮定した場合、H-ELPタンパク質は凝集しパンクレアチン消化を免れる可能性が示唆されましたので、アレルギー性増強の懸念を人工腸液消化試験の結果で払拭することはできないと考えられます。しかしながら、H-ELPタンパク質は①対ペプシン感受性及び②相同性検索の結果でアレルゲン性の懸念は十分に低いと判断されたという2つの理由から、H-ELPのアレルゲン性の懸念は十分に低いものと考えますという回答でございます。

指摘事項3となっておりますが、こちらは修正事項ですので、修正事項については適切に修正されていることを確認しております。

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、こちらの指摘事項に対する回答について確認をしたいと思います。

指摘事項の1番、遺伝子産物のアレルギー誘発性についての相同性が少し一部認められたということについてでございますけれども、こちらの指摘を出されたのは〇〇〇となっております。〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 ありがとうございます。

私としましては、この対応はいかがなものかなと思っているところでして、比較対象がないとおっしゃっていますけれども、もともとの α -アミラーゼの酵素のH-ELP遺伝子を作製するに当たり、 α -アミラーゼの遺伝子発現を行っていると思うのですけれども、その際の遺伝子配列というものは多分あるのかなと思っています。もともと使っている既存の α -アミラーゼのアレルゲン性との評価ということを行いまして、それよりも増えていなければ特に問題ないですし、そこの辺りの検討をちゃんとされているかどうかというところ

ろがこの回答についてはいささか不明な感じがいたしました。

〇〇〇 今朝届いたものは皆さんには配られているのですでしたか。配られていないですか。

今朝、一部比較検討しましたというものが事務局のほうに届いたようでして、ただ、今回のアミラーゼは人工的に配列を作り直しているということ、*B. megaterium*には一番近いのですけれども、人工的に作ったということもあって、●●●という非常に高い値を示すようなアミラーゼはなかったというような結果で、●●●台だったかと思えますけれども、*B. megaterium*と比べて●●●で、*B. licheniformis*とも比べていたようでしたけれども、十分比較できるほどの高い相同性を示すものはなかったというような回答だったかと思えます。

〇〇〇 回答としましては、*B. megaterium*と*B. licheniformis*それぞれに由来するα-アミラーゼ間の相同性について解析した結果、●●●比較的高い相同性を示しましたと記載されております。

〇〇〇 なので、本当はそちらの配列をデータベースに当ててもらってということもやってももらってもいいのかもしれないのですけれども、多分申請者としては人工遺伝子なのであまり既存のものと比べてもという気持ちが強いのだと私としては推察しております。

もしどうしてもほかに何か理由が必要であるということであれば、〇〇〇、やはり何か追加のデータは必要でしょうか。

〇〇〇 そもそもこちらのお話というのは、たしかよくある感作経路の問題のお話だったような記憶をしております。これが吸入ばく露アレルゲンであるからアレルゲン性はないよというような論理の構築について、この場で指摘があったと記憶しているのですけれども、なので、そういった理由ではなくて、もうちょっと科学的にアレルゲンとして機能する可能性が低い、あるいは既存のものと比べたらアレルゲン性が高くなっていることは無いというような理由づけが欲しいというような意味合いでしたので、言葉の問題だとは思いますが、違ふ表現でアレルギー性がないというようなことをお伝えいただけるのであれば問題ないのかなとは思います。

〇〇〇 今回の申請品は既存のアレルゲンのα-アミラーゼ等に36%ぐらいの相同性を示して、これが35%以上というあれに引っかかっているという状況になっております。なので、アミラーゼのエピトープというのは分からないのですかね。〇〇〇か〇〇〇か、もしお分かりになるようであれば。

〇〇〇 先生、アミラーゼの何とおっしゃられたのでしょうか。

〇〇〇 エピトープです。

〇〇〇 アミラーゼのエピトープは幾つか知られていると思うのですけれども。

〇〇〇 〇〇〇です。

今、ADFS、アレルゲンデータベースを開きながら見ているのですけれども、アミラーゼで検索する限りでは、エピトープはADFSには載ってなさそうですね。なので、ひょっとすると分かっているのかもしれないです。

〇〇〇、どうですか。

〇〇〇 すみません。糖鎖でしかないですね。特に今、挙がっているものはないのかなというところかと思います。あとはコンフォメーションエピトープですかね。

ということで、エピトープがないというようなお話の進め方というのができない状態かもしれないです。あるいはエピトープがないということを理由に、そういった申請資料もあったかとも思うのですけれども。

〇〇〇 おそらくアミノ酸置換と入れた場合は、元になったアミノ酸配列と比べてアレルゲン性が上がっているか上がっていないかというのを過去に求めた事例は幾つかあって、そういう議論もした記憶はございますけれども、今回みたいに人工でとなると、申請者としてはベースになるものはないのですという言い方に多分になってしまうのだろうと推察するので、ホモロジーが上がったかどうかだけという形で求めるのは押し問答になってしまう可能性が高いかなと私としては考えているのですけれども、連続する8アミノ酸の一致自体ではヒットはなかったということなので、アミラーゼのエピトープが分かっているとなると一致しないよねという話になってしまうので、そこも根拠として薄くなってしまうのですけれども、あとは全体として**Weight of Evidence**で判断するしかないかなという感じに私としては今捉えているところなのですが、〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 そもそも35%からちょっと毛の生えているぐらいのもので、それほどアレルゲン性が高いというわけではないのですけれども、申請書の話の進め方として、吸入ばく露のものだから問題ないというような記載のところが前面に出ないような形で修正いただけたらという思惑がありまして、それが難しいようであれば、〇〇〇がおっしゃるように**Weight of Evidence**に従って、実際のところ、35%にほぼほぼ近いというところでアレルゲン性を持つ可能性は低いと考えるというようなことで問題ないかなとも思っております。そもそもが本当に最初のばく露源のところの話だったかと記憶しておりますので、それに対してのコメントでございました。

〇〇〇 ありがとうございます。

36%で35%に近いから大丈夫という書き方は絶対できないのですけれども、それはそれで認めた上で、全体として安全性は確保できているみたいな形で、評価書のほうでそれが読み取れるような形になっているようであればよろしいかなとは思っている次第です。

〇〇〇、そのような考え方でいかがでしょうか。

〇〇〇 私は大丈夫です。

〇〇〇 ありがとうございます。

では、また評価書のところでそのような感じで読み取れるかどうか確認したいと思います。

続きまして指摘事項2ですけれども、こちらがやや面倒くさいところではございますが、物理化学的処理に対するSDS-PAGE等のデータについて、高分子量のところに凝集体と思われるバンドが出てくるという点でございますけれども、こういった回答になっておりま

すが、この指摘は私と〇〇〇になっております。〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 こちらもたしか絶対ではなくてあったほうがいいですよという形での議論だったような気がするのですが、確かにペプシンでの消化によって持ち込みがなく少なくなっているかとは思いますが、実際にそれを科学的に証明していただけると非常にありがたいといったところをお願いさせていただいたものかと思います。どうしてもできないというようなことであれば、現状のデータに基づいて評価することも可能ではあるかなとは考えております。

〇〇〇 私も一応もう一度データを見ていまして、申請書の46ページ、47ページにSDS-PAGEとウェスタンブロットの結果が出ておりますけれども、今回のポリクローナル抗体はちゃんとしたポリクローナル抗体のようでして、SDS-PAGEのほうを見ていただくと、H-ELPの上の高分子のところにバンドがクリアに2本と、さらにその上に薄いバンドっぽいところがあるのですが、そちらは引っかかっていなくて、H-ELPのところから低分子に向けてバンドが引っかかっているようなウェスタンブロットになっております。なので、ポリクローナル抗体としてはある程度信頼性できるかなみたいに読み取れるかなと見られるバンドパターンかなと思いました。

しかも、ポリクローナル抗体のほうで●●●kDaとか●●●kDaのところまでバンドが見えていますので、かなり感度もいいかなと思われまして、その点を考えると、ペプシンのほうの低分子のところ、SDS-PAGEで●●●kDaから●●●kDaのところにややバンドが見えますけれども、そちらのほうは全く見えませんので、もしかすると、このバンドはH-ELPではなくて高分子量のところに由来するバンドと思ってもいいのかなと。特にこれらの結果を総合すると、ペプシンで切れ残りが出ていると判断するほどではないかなと私自身は思ったのですが、皆さんがそうではないよとおっしゃるのであればまたそれで考えますが、いかがでしょうか。

〇〇〇、いかがですか。

〇〇〇 〇〇〇、ちなみにこのデータは新しいウェスタンになっているということなのですか。

〇〇〇 新しいというか、最初からありましたよね。

〇〇〇 私も可能性としてこのパンクレアチンの処理の影響というものが本当にないというか、連続消化したときに全くこれが見えなければ安心して大丈夫だと言えますので、それで依頼させていただいた感はありましたが、この今のデータをもってしても判断することは可能かとは思いますが、大丈夫だろうという判断をすることは可能かと思しますので、このままでも大丈夫かとは思いますが。

〇〇〇 ありがとうございます。

今回のアミラーゼは一応醸造用アルコールの製造に使うという目的になっておりますけれども、事務局が調べたところ、パンの製造でアミラーゼを使うこともあり得ることだったので、熱安定性とかは大丈夫かなということなのですが、熱安定性も80℃でかな

り失活しますので、80℃だとパンは生焼けの一手手前までのところですので、生焼けも生焼けになるので、まあ大丈夫かなと。熱変性もきちんとかかるかなと考えました。

そういったところを踏まえますと、全体としてはペプシンで切れ残りが出ていると確実に判断されるほどでもないかなということと、ポリクローナル抗体できれいになくなっているということを考えると、ペプシンである程度切れているかなと。それから、使用目的等を考えまして、全体としてはこれで安全性を確認してもいいかなと私としては考えた次第です。〇〇〇も一応これで判断してもよろしいでしょうということでしたので、全体として当調査会としてはこれで安全性を判断するという流れにしたいと思います。

指摘事項2つについては以上になるのですけれども、このほか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。

よろしいでしょうか。

それでは、書きぶり等、申請書についても43ページのアレルゲンのところの書きぶりについては、回答書のようなものを列挙してもらう形で少し修正はお願いしたいと思います。それについては一応私と〇〇〇のほうで確認をしてという形にさせていただきたいと思います。

一応そういう修正は入れるということを前提にしまして、全体としてこちらの α -アミラーゼについて安全性上の問題はないと判断してもよろしいでしょうか。皆様の御意思をお願いいたしたいと思います。

(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、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 資料1の食品健康影響評価に関する資料の②の α -アミラーゼを御用意ください。

5ページの評価対象添加物の概要でございます。本添加物は *Bacillus licheniformis* BRA7株を宿主として、タンパク質工学的手法を用いて設計された α -アミラーゼをコードする遺伝子を導入して作製したH-ELP株を利用して生産された α -アミラーゼであります。本添加物は、デンプンの α -1,4グリコシド結合を加水分解し、デキストリンやオリゴ糖を生成する酵素であり、穀物デンプン原料の加水分解のため、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、醸造アルコールの製造を目的として使用されるものです。

第1.1. (1) は記載のとおりでございます。

(2) 製造方法ですが、 α -アミラーゼは、培養、ろ過、製剤化等の工程を経て製造されます。生産菌は除菌ろ過により除去されます。

用途、使用形態ですが、 α -アミラーゼは醸造アルコール（酒類用醸造アルコール）の製造を目的として使用される。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

の後の液化工程でデンプンの加水分解のために添加されます。醸造アルコール製造工程においては、液化工程の終了までに α -アミラーゼは失活しています。

摂取量ですが、 α -アミラーゼが全ての醸造アルコールの製造に使用され、最終製品中に100%残存すると仮定した場合、推定一日摂取量は0.16 mg TOS/kg体重/日となっております。

2.宿主に関する事項、(1) 宿主は*B. licheniformis* BRA7株となっております。

(2) から (5) につきまして記載のとおりでございます。

(6) *Bacillus*属微生物のうち、*B. anthracis*と*B. cereus*の2種が、哺乳動物に対する病原体として知られていますが、EPAはそれらと*B. licheniformis*とは明確に区別されるとしております。このことは、16S rRNA遺伝子の配列に基づいた系統発生的な分類上、*B. licheniformis*とこれら2種との距離が離れていることから確認できるということでございます。

3の(1) 挿入DNAに関する事項ですが、7ページに行きまして、*H-ELP*遺伝子はファミリーシャッフリング法と呼ばれるタンパク質工学的手法を用いて設計された α -アミラーゼであるH-ELP酵素をコードする遺伝子であります。特定の供与体由来のものではありません。加えて、宿主である*B. licheniformis* BRA7株由来のH-ELPタンパク質の収量を高める遺伝子が投入されております。

(2) *H-ELP*遺伝子は、 α -アミラーゼであるH-ELPをコードします。宿主ゲノム上の複数の遺伝子を欠失させ、これを中間株としています。当該中間株にコンピテント細胞化ベクターを一時的に導入し、*B. licheniformis* BRA7株由来のH-ELPタンパク質の収量を高める遺伝子を発現するコンストラクト、セリン生合成酵素発現型*H-ELP*遺伝子発現コンストラクト及びリジン生合成酵素発現型H-ELP遺伝子発現コンストラクト直鎖化・精製したDNA断片として直接導入することで、各コンストラクト中の遺伝子発現カセットを相同組換えにより宿主ゲノムの標的遺伝子座に導入しております。

4 (1) は記載のとおりでございます。

(2) から (5) につきましても記載のとおりでございます。

5 (1) 遺伝子組換え添加物と従来の添加物の相違点ですが、H-ELPと従来の α -アミラーゼとの相違点は、生産菌、至適温度、至適pH、熱安定性及び酵素活性となっております。

(2) H-ELP株と宿主との相違点は、H-ELP株には*H-ELP*遺伝子が2コピー導入され、H-ELP産生能を獲得している点になります。

第2の1.ベクターの名称、由来ですが、宿主に対し、*H-ELP*遺伝子発現コンストラクトを直鎖化・精製したDNA断片として導入しており、遺伝子導入用ベクターは用いられておりません。

2の(1) から (5) までは記載のとおりでございます。

3に行きまして、*H-ELP*遺伝子は、第1の3. (1) に記載のとおり、特定の供与体由来のものではない。また、*B. licheniformis* BRA7株由来のH-ELPタンパク質の収量を高める

遺伝子が導入されております。

4. *H-ELP*遺伝子は α -アミラーゼであるH-ELPをコードします。H-ELPタンパク質は従来の添加物である α -アミラーゼと同様に、デンプンの α -1,4グリコシド結合を加水分解し、デキストリンやオリゴ糖を生成する酵素になります。加えて、*B. licheniformis* BRA7株由来のH-ELPタンパク質の収量を高める遺伝子が導入されております。

5につきましては記載のとおりでございます。

6. (1) *H-ELP*遺伝子は、第1の3. (1) に記載のとおり、 α -アミラーゼであるH-ELP酵素をコードするよう合成されております。

(2) 宿主へ導入したコンストラクトは、セリン生合成酵素発現型*H-ELP*遺伝子発現コンストラクト、リジン生合成酵素発現型*H-ELP*遺伝子発現コンストラクト及び*B. licheniformis* BRA7株由来のH-ELPタンパク質の収量を高める遺伝子を発現するコンストラクトでありまして、それぞれ導入遺伝子、標的遺伝子座近傍配列、プロモーター、ターミネーター等の断片を結合することにより作製されております。

7.構築されたコンストラクトですが、セリン生合成酵素発現型*H-ELP*遺伝子発現コンストラクト、リジン生合成酵素発現型H-ELP遺伝子発現コンストラクト及び*B. licheniformis* BRA7株由来のH-ELPタンパク質の収量を高める遺伝子を発現するコンストラクトの塩基数及び塩基配列は明らかになっております。

(2) 意図する挿入領域は、セリン生合成酵素発現型*H-ELP*遺伝子発現コンストラクト、リジン生合成酵素発現型H-ELP遺伝子発現コンストラクト及び*B. licheniformis* BRA7株由来のH-ELPタンパク質の収量を高める遺伝子を発現するコンストラクトとなっております。

(3) H-ELP株を中間株から構築する際には、遺伝子導入用ベクターは用いられておりません。H-ELP株の染色体に組み込んだ各遺伝子発現カセットは、いずれもPCR増幅したDNA断片を電気泳動で分離した目的のゲル片から抽出・精製して用いており、目的外の遺伝子が混入しないように純化されております。

第3.遺伝子組換え体に関する事項ですが、1.H-ELP株はセリン生合成酵素発現型*H-ELP*遺伝子発現コンストラクト、リジン生合成酵素発現型*H-ELP*遺伝子発現コンストラクト及び*B. licheniformis* BRA7株由来のH-ELPタンパク質の収量を高める遺伝子を発現するコンストラクトが導入され、また、7遺伝子を欠失している点で宿主と異なります。

2.遺伝子導入に関する事項ですが、(1) H-ELP株の複数の標的遺伝子座にセリン生合成酵素発現型*H-ELP*遺伝子発現コンストラクト、リジン生合成酵素発現型*H-ELP*遺伝子発現コンストラクト及び*B. licheniformis* BRA7株由来のH-ELPタンパク質の収量を高める遺伝子を発現するコンストラクトが組み込まれていることを次世代シーケンシングによる全ゲノム解析により確認しております。

11ページに行きまして、(2) ORFの有無ですが、H-ELP株の染色体上のセリン生合成酵素発現型*H-ELP*遺伝子発現コンストラクト、リジン生合成酵素発現型*H-ELP*遺伝子発現

コンストラクト及び*B. licheniformis* BRA7株由来のH-ELPタンパク質の収量を高める遺伝子を発現するコンストラクト並びにその接合領域を含む隣接する配列に関し、6通り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30アミノ酸以上のオープンリーディングフレームを検索した結果、41個のORFが検出されています。

検出されたORFについて、アレルギー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アミノ酸配列以上で35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは2つ検出されております。これらはいずれもWHO/IUISデータベースでは食物アレルゲンとして収載されていません。また、連続する8アミノ酸配列が一致する既知のアレルゲンは検出されていません。

さらに、検出されたORFについて、タンパク質データベースを用いてE-value 0.1未満を指標としてBLAST解析を行っております。その結果、ムカデの一種由来の毒性タンパク質との相同性が1件検出されましたが、ペアワイズ同一性とクエリーカバレッジが十分な値ではなかったということでございます。

3.H-ELP株構築の過程で選択マーカーとして各種の抗生物質耐性遺伝子（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及びスペクチノマイシン耐性遺伝子）を用いていますが、これら抗生物質耐性遺伝子はH-ELP株のゲノム上に残存していないことは次世代シーケンシングによる全ゲノム解析により確認しております。

4. (1) から (2) につきましては記載のとおりでございます。

(3) ①a.人工胃液に対する感受性ですが、H-ELPの人工胃液中における消化性について確認するために、SDS-PAGE（タンパク質染色）分析を行った結果、H-ELPの完全長のバンドは試験開始30秒後には消失しております。また、SDS-PAGEでは14 kDa以下の位置に複数のバンドが確認されましたが、ウェスタンブロット分析では開始30秒後にはバンドは消失しております。

人工腸液に対する感受性ですが、H-ELPの人工腸液中における消化性について確認するために、SDS-PAGE分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、H-ELPは試験開始後6時間を経過しても消化されなかったということです。

加熱処理に対する感受性ですが、H-ELPをpH5.8の条件下で、各温度帯で30分間処理した後、活性を測定しております。その結果、H-ELPは50℃付近で活性が減少し始め、90℃の処理ではほぼ完全に失活することが示されております。

その他、*B. licheniformis* BRA7株由来のH-ELPタンパク質の収量を高める遺伝子が導入されておりますが、同じアミノ酸配列のタンパク質を発現する遺伝子が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についても導入された事例があることから、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す。

(4) H-ELP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、80アミノ酸残基で35%以上一致する既知のアレルゲンが2つ一致しましたが、その一致はWHO/IUISデータベースでは食物ア

レルゲンとして収載されていないものでありました。

また、連続する8アミノ酸配列が一致する既知のアレルゲンは検出されなかったということでございます。

第4の1、2は記載のとおりです。

第5.1.H-ELPはデンマークにおいて承認されております。

2.生産菌は除菌ろ過により、H-ELP原体中から分離除去される。H-ELP原体中に遺伝子組換え体の由来のDNAの残存のないことをPCR分析により確認しております。

3から5につきましては記載のとおりでございます。

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、評価書案について御意見やコメントを賜りたいと思います。

細かい字句等の修正につきましては、後ほど修正箇所を事務局にお伝えください。

それでは、先ほどの議論によりますと、ここら辺が大事なかなと思うのですが、247行目くらいからの書きぶりになるかと思いますが、〇〇〇、いかがでしょうか。何か付け足しましょうか。

〇〇〇 ここは、IUISデータベースで食物アレルゲンとして収載されていないというものは特に不要かなと思ひして、それ以外に先ほどの議論の中でありましたタンパク分解であるとか熱分解の影響があつてアレルゲン性が出ないとかというような結論になるように変更されたほうがよろしいのではないかなと思います。

〇〇〇 そうしますと、アレルゲンが2つ検出されて、ただし、8アミノ酸の一致はなくて、さらに人工胃液で分解される熱処理において変性することが確認されているみたいな感じの文章ということでしょうか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 事務局、そういう修正は大丈夫ですか。

〇〇〇 はい。修正いたします。

〇〇〇 では、この修正箇所については、事務局での修文が出来上がりましたら私と〇〇〇で確認するということにしたいと思います。

それから、289行目ですけれども、ここはウェスタンブロット分析では開始30秒後にはバンドは消失したとあるのですけれども、どういうバンドがよく分からないので、例えば検出可能なバンドは全て消失したとかでいかがですか。

〇〇〇 はい。修正いたします。

〇〇〇 そのほか、委員の先生方で。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 ありがとうございます。

今のところですけれども、せっかくポリクローナル抗体のデータを取り直していただいたのですよね。であれば、これはポリクローナル抗体を用いたウェスタンブロットとする

のはいかがでしょうか。

〇〇〇 そのほうがよろしいかと思います。

〇〇〇 より保守的な方法でやっているということを書かれたほうがいいかなと思いました。

以上です。

〇〇〇 では、事務局、そのように修文をお願いいたします。

そのほか、先生方からございますでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、こちらについては、評価書案については修正がございますので、後ほど私と〇〇〇で確認をいたしまして、その後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。

それでは、 α -アミラーゼの審議についてはこれで終了とさせていただきます。

皆さんお疲れだと思いますが、今日は3つあって、次々やっていけないといけませんので、すみませんが、お休みなしで次に行きたいと思います。

それでは、新規品目である「JPAN013株を利用して生産された α -ガラクトシダーゼ」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。

〇〇〇 それでは、申請書につい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、青いファイルを御確認ください。Webで御参加いただいている先生方におかれましては、御連絡しておりますフォルダのうち、260714差し替え2のフォルダ内の申請要旨を御確認いただければと思います。

早速ですが、申請要旨の1ページ目、「はじめに」から御説明させていただきます。本遺伝子組換え添加物につきましては、*Aspergillus niger* JPAN013株を利用して生産された α -ガラクトシダーゼでございます。

本組換え添加物につきましては、*A. niger* BO-1株由来の α -ガラクトシダーゼ *aglC* 遺伝子をBO-1株に導入することでJPAN013株を作製し、*aglC*を大量に発現させることを目的として作製されたものとなります。

2ページ目にお進みください。

第1 安全評価における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の相違についてです。

9行目、第1-1 (1) につきましては、比較対象とする従来の添加物につきましては α -ガラクトシダーゼ、基原につきましては*A. niger*となっております。

22行目の(3) 用途、使用形態につきましては、既存の α -ガラクトシダーゼは植物性発酵乳の製造工程で加工助剤として添加され、ラフィノース族オリゴ糖を単糖や二糖に分解するために用いられているということでございます。

次のページ、3ページ目にお進みください。

20行目、第1-2 宿主及び導入DNAについて、(1) の宿主につきましては、宿主である

A. niger BO-1株は、自然界からグルコアミラーゼ生産菌として分離された*A. niger* C40-1株の突然変異株になっております。BO-1株はDSMZによって*A. niger*と同定されたとのことでございます。

31行目、(2) DNAの供与体についてですが、BO-1株に導入された遺伝子は、目的遺伝子(*aglC*遺伝子)及び選択マーカーの*amdS*遺伝子になります。そのほかに部位特異的組換え関連因子を挿入する際にともに挿入された*pyrG*遺伝子のターミネーターが残存しております。

挿入遺伝子の詳細につきましては、次のページの表1にまとめられております。

続いて5ページ目にお進みいただきまして、第1-2の(3) 挿入DNAの性質及び導入方法についてですが、こちらにつきましてはその下にございます図1に記載されているとおりでございます。

また、8ページ目の表3等に詳細がまとめられておりますが、遺伝子の欠失も生じているとのことでございます。こちらにつきましては記載のとおりでございます。

少し飛ばしていただきまして、9ページ目にお進みください。

5行目、第1-3 宿主の添加物製造への利用経験または食経験に関する資料、第1-4 宿主の構成成分等に関する資料、また、25行目、第1-5 遺伝子組換え添加物の性質及び用途に関する資料につきましては記載のとおりでございます。

また、製造方法等も記載のとおりでございます。

続きまして、11ページの9行目、第1-6 遺伝子組換え添加物と従来添加物及び組換え体と宿主等の相違点につきましては、以下の表4及び表5にまとめられております。こちらについても記載のとおりでございます。

次に13ページ目にお進みください。

第2 宿主に関する事項でございます。

6行目から、前述のとおり、宿主菌株は*A. niger* BO-1株でございます。

12行目、BO-1株の元株は*A. niger* C40-1株でございます。BO-1株につきましては、C40-1株の突然変異体であり、グルコアミラーゼ生産性向上及び夾雑酵素である α -1,6トランスグルコシダーゼ生産能を欠失しているとのことでございます。

19行目、BO-1株は宿主として様々な食品用酵素の生産菌の作製に用いられており、安全性に懸念を生じるような報告等はこれまでなされていないとのことでございます。

14ページ目、第2の病原性や有害生理活性物質等の生産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。

少し飛ばしまして、17ページ目のベクターに関する事項ですが、遺伝子導入用ベクターpJPV062の構築に用いたベクターにつきましては、pBluescript SK(-)プラスミドでございます。

性質等につきましては記載のとおりでございます。

19ページ目にお進みいただければと思います。

第4 挿入DNA等に関する事項でございます。

8行目、第4-1- (1) 、10行目から目的遺伝子の *aglC* 遺伝子の供与体は *A. niger* BO-1株でございます。また、マーカー遺伝子の *amdS* 遺伝子の供与体につきましては *A. nidulans* Glasgow野生株でございます。また、 *aglC* 遺伝子の供与体は *A. nidulans* NRRL1092株でございます。

20行目、 (2) 安全性に関する事項ですが、26行目から、 *A. niger* 及び *A. nidulans* は国立感染症研究所の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の2、3に分類されていないものとされております。また、これらはヒトまたは動物に疾病を起こす見込みがないものと考えられるため、病原体等のリスク分類のリスク群1に分類されているものでございます。

続きまして、20ページ目にお進みいただければと思います。

第4-2- (3) 挿入遺伝子の機能に関する事項でございます。

まず目的遺伝子の *aglC* の機能についてですが、 *aglC* 遺伝子は α -ガラクトシダーゼ活性を有する *aglC* をコードするものでございます。

28行目ほど、 *aglC* のアミノ酸配列につきましては、既存の α -ガラクトシダーゼの基原として用いられている *A. niger* 由来の α -ガラクトシダーゼと100%の相同性を示しているとのことでございます。

アミノ酸配列につきましては図7のとおりでございます。

次に、22ページ目にお進みいただければと思います。

aglC 遺伝子のアレルギー誘発性についての考察でございます。

- 1) 挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性につきまして、 *A. niger* はほかの糸状菌と比べて特にアレルギー誘発性で問題となる菌種ではないとされております。したがって、挿入遺伝子の供与体がアレルギー誘発性を有するとは考え難いということでございます。
- 2) 遺伝子産物についてのアレルギー誘発性については、遺伝子産物である *aglC* 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これまでないとのことでございます。

また、 *A. niger* 由来の α -ガラクトシダ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、ヒットする文献は得られなかったとのことでございます。

16行目、3) 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すが、①人工胃腸液に対する感受性について、20行目、 *A. niger* は既存の α -ガラクトシダーゼの主要な生産菌の一つであり、世界中で30年以上の使用経験があること、また、 *aglC* のアミノ酸配列は、既存の α -ガラクトシダーゼの基原として用いられている *A. niger* 由来の α -ガラクトシダーゼと100%相同性を示したこと、さらに、 *A. niger* は *aglC* 遺伝子を導入した宿主でもあることから、JPAN013株から生産される *aglC* の胃腸液に関する感受性は、既存の α -ガラクトシダーゼと同等だと考えられ、人工胃腸液での消化試験は実施しなかったとのことござ

ざいます。

29行目、②加熱処理に対する感受性ですが、次のページの図8に記載のとおり、aglCをpH7.0の各温度帯で10分処理した後、活性を測定した結果、aglCは60℃までは活性が保持されるが、70℃で急速に失活することが明らかになっております。

次のページにお進みいただきまして、6行目、4) 遺伝子産物と既知のアレルゲンの構造相同性に関する知見ですが、aglCと既知のアレルゲンとの相同性検索を行った結果について①、②にまとめられております。

①ですが、80アミノ酸残基で35%以上一致するアレルゲン検索を行った結果、相同性を示す既知のアレルゲンは検出されなかったとのことでございます。

また、②aglCと連続する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いて検索を行った結果、検出されなかったとのことでございます。

上記1) から4) の結果を総合的に検討した結果、aglCアレルギー誘発性を有することは考え難いとのことでございます。

24ページ目以降に、マーカー遺伝子の*amdS*遺伝子及び*pyrG*遺伝子についても同様の考察がされておりますが、いずれもアレルギー誘発性を有するとは考え難いとされております。詳細につきましては記載のとおりでございます。

26ページ目の第4-3から30ページ目の第4-7までのプロモーターに関する事項等につきましては記載のとおりでございます。

少し飛ばしまして、31ページ目にお進みいただければと思います。

第5の組換え体に関する事項ですが、11行目、第5-2 遺伝子導入に関する事項については、32ページ目以降に記載の図10～13、また、表8～11に記載のとおり、次世代シーケンス解析により目的の●●●遺伝子座に目的遺伝子などが設計どおり導入されていることが確認されております。

少し飛ばしまして、36ページ目にお進みいただければと思います。

第5-2- (2) ORFの有無に関する事項ですが、6行目から、ORFの確認につきましては、目的の●●●遺伝子座に挿入されたDNA配列及びこれらの断片に隣接する近傍配列を含む配列、また、欠失導入用ベクターを用いた相同組換えにより欠失した遺伝子の中で異種遺伝子断片が染色体上に残存する配列、また、これらの挿入配列と隣接する近傍配列を含む配列を用いてORF検索が行われております。

これらの結果につきましては、14行目から詳細が記載されております。

これらのORF検索につきましては、6通りの読み枠（表3通り、裏3通り）で終止コドンから終止コドンに挟まれた長さ30アミノ酸以上の領域をORFと定義して検索を行っており、その結果につきましては35行目から記載されております。

検出されたORFのアレルギー誘発性及び毒性の可能性を調べるために、既知のアレルゲン及び毒性タンパク質の相同性検索を行い、それぞれ37ページ目以降に結果が記載されております。

37ページ目にお進みいただければと思います。

1) 検出されたORFと既知のアレルゲンとの相同性検索について、6行目、①80アミノ酸残基で35%以上一致するアレルゲンの検索の結果についてですが、10行目から、どの遺伝子座についても、宿主ゲノムと挿入配列をまたぐORFと80アミノ酸残基で35%以上が一致するアレルゲンは検出されなかったとのことでございます。

なお、●●●遺伝子座において検出されたORFが既知のアレルゲンと相同性を示しているとのことでございますが、これらのORFにつきましては宿主染色体の塩基配列から検出されたORFであり、遺伝子導入により新たに生じたものではないとのことでございます。

16行目、②連続した8アミノ酸配列が完全に一致するアレルゲンの検索についてですが、21行目から、結果については●●●遺伝子座の*pyrG*遺伝子のプロモーター配列から検出されたORFである●●●においてアレルゲンとしてACT37323.1が検出されたとのことでございます。

29行目から、検出されたACT37323.1につきましては、クロカビの機能不明なタンパク質であり、ヒトやヤギ、マウスに抗原性を持つものとのことでございます。また、本タンパク質の機能やばく露経路につきましては不明であるとのことでございます。そのため、アレルゲンデータベース（ADFS）で8アミノ酸のエピトープ検索を行った結果、ヒットしなかったとのことでございます。また、前述のとおり、80アミノ酸残基で35%以上一致するアレルゲン検索においてもヒットしなかったことから、ACT37323.1が食物アレルギーであることは考え難いとされております。

次のページにお進みいただきまして、2) 検出されたORFと既知の毒性タンパク質との相同性検索についてですが、NCBIデータベースを用い、検索を行った結果、18行目ほどに書いていますが、●●●において検出されたORFの幾つかがNCBIデータベースの毒性タンパク質と相同性を示したとのことでございます。しかし、こちらのORFにつきまして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とのことでございます。

40ページ目、第6 組換え体以外の製造原料、製造器材に関する事項については記載のとおりでございます。

次の41ページ目にお進みいただければと思います。

第7-1 諸外国における認可、食用等に関する事項ですが、5行目から、本製品についてはこれまで2024年から米国で販売されているとのことでございます。こちらにつきましては米国FDAのGRAS自己認証済みであるとのことでございます。

申請書の説明については以上になります。

〇〇〇 ありがとうございました。

それでは、申請資料の審議に入りたいと思います。

申請書の2ページから18ページ、第1から第3 ベクターに関する事項のところまでで、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。

私のほうから1点、16ページの12行目かな。この申請書は「節」という言葉が出てくるのですけれども、「*A. niger*と同じ*Aspergillus* 節 *Nigri*に属する属種のうち」という表現が出てきますけれども、〇〇〇、この「節」はなくてもいいのではないかというさっきのお話だったかと思えますけれども。

〇〇〇 現在では属の下は全て種で、その下で亜種の扱いのものとかそういった考えになっておりまして、節はかなり前はこれで分類したこともございますが、最近こういう見直し等を行っておりませんので、最近の分類とこの節が一致しているかどうかというのも誰も最近調べていないと思えますので、ここでは全て削ってしまったほうが誤解がないかと思って見ておりました。

以上でございます。

〇〇〇 こちらのほうは安全性云々ではないのですけれども、申請者に「節」を抜くように御指示いただけたらと思います。

〇〇〇 承知しました。

〇〇〇 そのほかございますでしょうか。

それでは、後から戻っても構いませんので、申請書の19ページから30ページ、第4の挿入DNA、遺伝子産物並びに発現ベクター、導入ベクターの構築に関する事項でコメント等がございましたらよろしく願いいたします。

今回は既存添加物、既存添加物というのは添加物の制度がきちんと決まる前から添加物として使われていたものに対して使われる言葉でございますけれども、既存添加物のガラクトシダーゼということで、そこで使われていた菌種とも一緒のものということでございます。ですので、長らく既存添加物、もともとあった添加物として使われて、現在もそれが流通しているものと同じガラクトシダーゼのコピー数を単純にいくと増やしたというような遺伝子操作になろうかと思えます。その点で、図7にアミノ酸配列がこれまでの既存添加物のガラクトシダーゼと一緒にすることが書かれております。そういった背景であるということを御理解いただけたらと思います。

よろしいですか。

それでは、申請書の31ページから43ページ、組換え体に関する事項から最後までということになりますけれども、こちらのほうで御意見やコメント等ありましたらお願いいたします。

コピー数を増やすために遺伝子操作をしているわけですが、こちらのほうの遺伝子操作についてはいかがでしょうか。微生物の専門の先生方が3人いらっしゃいますけれども、コメントをいただけたらお願いいたします。

〇〇〇 このノボザイムズのグループがこれまでに多用している方法でして、今回導入している●●●遺伝子座についても、過去にこの食品安全委員会で審議したのと同じもので、同じ方法で同じ座に入れているものでございますので、この点については問題ないかと考えます。

以上でございます。

〇〇〇 私も〇〇〇と同じで、既にこの委員会等でも取り扱ったことがあるというところで、見た感じ、特におかしなところはなかったと判断いたします。

以上です。

〇〇〇 〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 私も特におかしなところはないと思います。

ちょっと細かいところなのですが、今回のこの α -ガラクトシダーゼの表記なのですが、小文字のaで始まって*aglC*と書かれています。この酵素が真菌由来ということで、バクテリアとは表記の仕方は違うかもしれないのですが、しかし、このガラクトシダーゼの遺伝子が小文字の*aglC*でイタリックにして表記がされているのですが、バクテリアの分野では、これをタンパク質として捉えるときは一番最初の文字は大文字にして立てるといふのがあるのです。そこは問題にはならないのかなとちょっと気になったぐらいです。

以上です。

〇〇〇 〇〇〇、〇〇〇、いかがでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

実はそこはとても気にはなっておりまして、これで安全性が特にどうこうという問題ではないのですが、真菌であれば、〇〇〇のおっしゃるとおり、タンパク質であれば最初のaは大文字にしてAglCにしてイタリックにはしない。遺伝子であれば*aglC*、最初のaも小文字にしてイタリックにするという形で、少なくとも*Aspergillus*属ではそのように表記するのがほぼ世界標準だと思いますので、そこから考えるととても違和感があります。ただ、だからといって指摘して直させる必要があるかという、どうかなというので黙っていたのですが、違和感としては全く〇〇〇のおっしゃるとおりです。

以上です。

〇〇〇 私も全く同じなのですが、私も書類上こうしているのかなと判断してスルーしてしまったのですが、違和感があるのは確かなのですが、大文字で始めてほしいという要望を出して直してもらってもよろしいかなというところではあると思います。

以上です。

〇〇〇 安全性上の話ではないので、修正は僕は今回はいいかなと思うのですが、一応違和感があるということはお伝えしてもいいかなと。申請者をお呼びできますので、ちょっと違和感があるので、今後、申請に当たってのときに少し配慮というか、検討していただけないかみたいな形でお伝えするだけはしておきましょうか。なかなかそういうのを伝える機会はないので、お伝えするだけ伝えて、修正は今回は求めませんという形にしたいと思いますけれども、それでよろしいでしょうか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 全然本質的なところではないのですが、文献検索をPubMedでしていると

いうところで、*A. nidulans* Glasgowというのとフードアレルギーというのを入れたと書いてあるのですけれども、それをPubMedで僕自身もやってみてみたのですけれども、フードアレルギーを入れなくても30件しかもと出てこないというところで、フードアレルギーと入れても入れなくてもそれは引っかかりがないよなと思ったのですけれども、それでいて、Glasgowという単語を除くと、それだけで6,000件ぐらい出てくるというのがあって、こういう場合というのは何々株みたいなのを全部きっちり入れてやるのが普通なのか、スタンダードなのかということをお伺いしたいなと思ったところなのですけれども、いかがでしょうか。

〇〇〇 アレルゲン検索ということですので、〇〇〇と〇〇〇の御意見も伺いたいと思いますけれども、いかがでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

アレルゲン検索のときは、その種によってももちろんアレルゲン性があるものとないものがあったりするので、種までをやってもいいのですけれども、大体的な場合、同じものがあるとなると思います。種まで入れなくてもアレルゲン性があるというものになるかと思えます。基本的にアレルゲン性があるものは結構サブファミリーを作っているものが多くございますので、そういう結果となるので、特段入れなくてもいいかなとは思っているのですけれども、入れて6,000件となってしまった場合、その評価をどうするのかというところは難しいところかなとはお伺いして思いました。

すみません。自分で検索をしたことがなかったので、それぐらいしかお答えできないのですけれども、いかがでしょうか。

〇〇〇 分かりました。お答えありがとうございます。

PubMed検索なので、Glasgowがないとたくさん出るけれどもというところの話を伺いたかっただけなので、ありがとうございます。

〇〇〇 〇〇〇、何か追加でございますか。

〇〇〇 特に追加するほどのことではないのですが、全く〇〇〇のおっしゃるとおりかなと思っております。基本的にはあまりそこまで細かく検索してもしょうがないかなという気はしますけれども、特にデータベース検索もこれは合わせてやっていますので、データベースのほうで多分、種まで出てくると思いますから、そちらのほうでも問題になっていないというデータと併せて考えれば、結果的には種まで併せて検索したことになってはいるのかなと。結局、アレルギーを起こしやすいタンパク質の性質を知りたいという目的であれば、Glasgowまで指定する必要はないだろうと私も思いますけれども、今回に限ってはデータベースまで見えていますので、該当するタンパク質がないのであれば、その結論は動かないでしょうし、特に問題視する必要はないのかなとは思います。

〇〇〇のようなこの検索方法に何か問題があるということまで考えが及ばなかったものですから、そこまでヒットするのだとむしろ今知って驚いたというところではありますけれども、答えになっていないかもしれませんが、評価上さほど問題はないかなという感じ

です。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 〇〇〇、取りあえずよろしいですか。ここら辺、ルールを決めていないと言えば決めていないので。

〇〇〇 全然大丈夫なのですけども、あまり出てほしくないなとか、そういうときにちょっと条件をいじるだけで大分変わってきてしまうものなのだなと思ったので、発言させていただきました。

〇〇〇 特に何か問題が含有されているような案件の場合は、ここら辺をもう少し細かく見ていく必要があるということが今回〇〇〇にやっていただいたおかげで私たちも認識できたので、今後に生かしたいなと思っております。

そのほか、今回最後までということですので、既存添加物とアミノ酸配列も一緒なものをコピー数を増やしたという形になっているということで、物理化学的試験をスキップしております。この点について、私はそれでいいのではないかなとは思いますが、コピー数を増やしたことについて、そういったところをスキップしてよろしいかどうかというところなのですが、何か御意見がある方がもしいらっしゃいましたらよろしく願います。

特にコピー数を増やしたことで何か問題が起きるということはないのではないかなと思うのですが、いかがでしょうか。

〇〇〇 *Aspergillus*のよく使われている株ですし、●●●コピー、この程度であれば産物にどうこうとか糖鎖の負荷がどうこうとかということは知られていないと思いますし、物理化学試験をスキップしても問題はないと私は思います。

以上です。

〇〇〇 多分このガラクトシダーゼは糖鎖で修飾されているのでしょうね。

〇〇〇 ちょっと数えてみたら、糖鎖付加部位が7つほどあるので、そこに1個つくと2 kDaくらいになりますから、そうすると元が●●●kDaで●●●kDaくらいになってもよさそうなものなのだけけれども、ここでは●●●kDaと評価してしまっていて、全ての糖鎖付加部位に必ずつくというものでもないし、また、元のSDS-PAGEのデータを見てみても結構太いバンドで、そこから推定しているので、そこまで細かいところまではチェックしていないかと思いますが、だからといって問題はないと思います。糖鎖付加は当然されていると思います。

以上です。

〇〇〇 物すごくコピー数が増えれば糖鎖付加が追いつかないという形になる可能性はあるのですか。

〇〇〇 それも聞いたことはないのですが、*Aspergillus*であれば糖鎖付加は結構旺盛に行いますので、数十コピーに増やすとかそういうのを普通にやって普通に生産量を上げるという

ことをやっていますけれども、それでもペプチドができて糖鎖付加が追いついていないとか、そのようなことは聞いたことありませんし、そのような報告も多分ないと思いますので、そこは心配しなくてよろしいかと思います。

以上です。

〇〇〇 ということで、コピー数を増やしたことによる影響は恐らくないであろうということですので、そういった点も考えると、物理化学試験はスキップしてもよろしいのではないかと思います。念のため、〇〇〇、〇〇〇、御意見をいただけたらと思います。

〇〇〇 私としても特に問題はないだろうと思っております。

〇〇〇 私も同意見です。これまでの使用経験もありますので、特に問題もないかなと思っています。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、最後までですけれども、全体を通して何か御意見、コメント等ありましたらよろしくお願いいたします。

よろしいでしょうか。

それでは、皆様のお話を聞く限り、安全性上の問題はないと判断してよろしいかと思えますので、申請者を呼ぶかどうかですけれども、表記のところがありましたね。安全性上の話ではないのですけれども、今後のことを含めて指摘だけしたいということですので、申請者の方をお呼びしたいと思います。

4時6分まで休憩とさせていただきます。

(休 憩)

(説明者入室)

〇〇〇 それでは、申請者の方の入室、ありがとうございます。

それでは、説明者の方、自己紹介お願いいたします。会社名と名前が結構です。

〇〇〇 ノボザイムズ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 同じく〇〇〇と申します。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 同じく〇〇〇です。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 それでは、1点なのですけれども、意見がございましたので、その意見をお伝えするだけしたいということでしたので、その意見を出された〇〇〇と〇〇〇のほうからコメントがございます。

〇〇〇、よろしくお願いいたします。

〇〇〇 〇〇〇です。

評価書を拝見しまして、今回 *A. niger* 由来の α -ガラクトシダーゼの表記なのですけれども、遺伝子のほうを *aglC* でイタリックで表記されておまして、タンパク質である酵素のほうをそのままイタリックではない形で表記されているのですけれども、通常、アカデミックのほうでは、タンパク質の表記をするときは最初の文字を大文字にして、大文字の

AglCとするのが通例でありまして、少し違和感を感じたということです。

それで、今回の安全性の評価には全く問題ないので、修正は求めないということなのですけれども、今後、もし同様の提案がありますときは表記に気をつけていただけたらと思っております。

以上です。

〇〇〇 先生、御意見ありがとうございます。

ちょっとお聞きしたいのですが、通常の表記では最初の1文字だけ大文字という感じなのですか。それとも、これは全部を大文字にしたほうがいいのか、そういうのはあるのですか。

〇〇〇 おそらく生物種によってルールが違うと思うのですが、バクテリアの場合は最初の文字だけを大文字にいたします。一方で、たしか酵母などは全てを大文字にされていたような気もするので、それは生物種によって少し表記を注意されたいいかもしれません。

かびの場合は〇〇〇のほうが詳しいかもしれないのですが、お願いできたら。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

酵母の場合は、全部を大文字にしてしまうと、酵母の場合は大文字が優性の遺伝子で小文字が劣性の遺伝子を示すという協会の慣例もございますので、かえって分かりにくくなります。

タンパク質の場合は最初の文字だけ大文字で、それから、最後のCも大文字で、あとの2つが小文字が挟まるという形にしていただけると、特に*Aspergillus*とかかび、真菌のアカデミアではほぼその形になっています。また、そういうふうにしていただけると、遠目でぱっと一目で分かりやすくて助かりますので、少し申請書が読みやすくなりますので、御配慮いただけると誠にありがたいです。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 今回は修正は求めませんので、このまま受け取りますけれども、もし社内上問題がなくて御配慮いただけるようであれば、次回以降御配慮いただきたいというのが今回のお呼びした趣旨になります。

〇〇〇 次回以降は全てそろえた表記で、御指摘のとおり修正をして記載したいと思っております。ありがとうございます。

〇〇〇 今回は意見をお伝えするだけでしたので、以上となります。

ありますか。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

今回、安全性についてどうこうというものではございませんが、この酵素は糖鎖がどの程度ついているのかは調べたりしておりますでしょうか。ざっと見て糖鎖付加サイトが●●●ありそうなので、フルにつくと●●●kDaくらい大きくなりそうにも思うのですけ

れども、必ずしも全部のサイトに糖鎖がつくとは限りませんので、ワイルドタイプと同じ形ということであれば問題はないと思うのですけれども、糖鎖の負荷状況について調べたことはおありでしょうか。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

糖鎖の付加状況は、可能性はあるのですけれども、厳密にどのサイトに全てついているかというのは調べておりません。

〇〇〇 補足させていただくと、SDS-PAGEの分析でも予想される分子量で確認できているところもあるので、そこまで大きな糖鎖はついていないのではないかと考えておりますが、そこら辺は詳しくは調べてはいないというところでございます。

〇〇〇 ありがとうございます。よろしいかと思います。*Aspergillus*属ですので、N糖鎖のつくアスパラギンのところにコア糖鎖だけがついた形になるのが一般的ですので、そうすると糖が●●●個つくのかな。そうすると、おおむね1個に2kDaでほぼ定型的に増えていくことになります。

でも、今回について、調べてくれとか、そのようなデータを出せというようなことを申し上げているわけではございませんで、分子量が少し増えている点が全て糖鎖ということではよろしいかと思うけれども、全てついているのかどうか、この辺についてちょっとだけ聞いてみただけです。

以上でございます。先ほどのお答えで十分です。

〇〇〇 それでは、ほかの先生方、もしないようでしたら質疑応答は以上となります。よろしいでしょうか。

それでは、審議に戻りますので、御退室をよろしくお願いいたします。

(説明者退室)

〇〇〇 それでは、審議のほうに戻りたいと思います。

今回は安全性上の問題は特にないということになっているかと思いますけれども、全体を踏まえまして何かコメント等がございましたらよろしくお願いいたします。

よろしいですか。

それでは、安全性上の問題はないと思いますが、一応意思確認をしたいと思いますので、よろしくお願いいたします。

(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、本件につきましては安全性上の問題は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いたします。

〇〇〇 評価書について御説明させていただきます。

食品健康影響評価に関する資料1の③を御確認ください。

5ページ目からでございます。

I.評価対象添加物の概要についてですが、21行目から、本添加物は*Aspergillus niger* BO-1株を宿主として、*A. niger* BO-1株に由来する α -ガラクトシダーゼ遺伝子を導入することにより作製されたJPAN013株を利用して生産された α -ガラクトシダーゼでございます。本添加物は、糖類の非還元末端の α -D-ガラクトシド結合を加水分解する酵素であり、植物性食品の製造工程で添加され、ガラクトオリゴ糖等を分解して単糖や二糖を生成することを目的として使用されるとしております。

28行目、II.食品健康影響評価についてですが、第1、31行目の1.従来の添加物の性質、用途に関する事項ですが、(1)従来の添加物につきましては、名称は α -ガラクトシダーゼ、生産菌は*A. niger*としております。

35行目、(2)製造方法についてですが、*A. niger*は培養工程、培養液から抽出、除菌、精製等の工程を経て製造されるとしております。

続いて、(3)用途及び使用形態についてですが、 α -ガラクトシダーゼは植物性発酵乳の製造に用いられるとしております。その酵素活性によりガラクトオリゴ糖が分解され、単糖や二糖が生成するとしております。なお、製造工程には低温殺菌工程があり、 α -ガラクトシダーゼは熱変性により失活するとしております。

(4)摂取量については記載のとおりでございます。

続いて、6ページ目にお進みいただければと思います。

2の宿主に関する事項ですが、(1)宿主である*A. niger* BO-1株は自然界からグルコアミラーゼ生産菌として分離された*A. niger* C40-1株の突然変異体である。*A. niger* BO-1株はドイツの微生物細胞培養コレクションによって*A. niger*と同定されているとしております。

続いて(2)宿主の添加物製造への利用経験、食形態に関する事項ですが、*A. niger*は食品用酵素や有機酸の生産菌として長年安全に使用されてきた実績があり、*A. niger*が生産する α -アミラーゼ等の酵素は、日本では従来食品添加物として使用されている。*A. niger*の菌株は焼酎、食酢等の発酵食品の製造に広く用いられるとしております。

次いで(3)宿主の構成成分等に関する事項ですが、*A. niger*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に分類されておらず、病原体のリスク分類のリスク群1に分類されるとしております。

また、*A. niger*は自然界に広く存在しており、ほかの糸状菌に比べて特にアレルギー誘発性や病原性で問題となる菌種ではないとされております。*A. niger*はアフラトキシン類産生能を有していないが、オクラトキシンAを産生するという報告はあり、また、全ゲノム配列が解析された結果、*A. niger*はマイコトキシンの一種であるフモニシンの合成遺伝子クラスターが発見されているとしております。

(4)から(6)については記載のとおりでございますが、先ほど御指摘があったとおり、84行目の*Aspergillus*属*Fumigati*節については「節」の部分は削除したいと思っております。

続いて、7ページ目の3.挿入DNAに関する事項についてですが、(1) *aglC*遺伝子の供与

体については*A. niger* BO-1株でございます。*amdS*遺伝子の供与体は*A. nidulans* Glasgow 野生株であり、*pyrG*遺伝子の供与体は*A. nidulans* NRL1092株としております。

(2) 挿入DNAの性質及び導入方法についてですが、*aglC*遺伝子は α -ガラクトシダーゼ活性を有するaglCをコードする。 α -ガラクトシダーゼは、糖類の非還元末端の α -D-ガラクトシド結合を加水分解する酵素としております。

また、*amdS*遺伝子はアセトアミダーゼをコードし、生産株の選択マーカーとして用いられるもの、また、*pyrG*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、宿主に欠失導入用ベクターを導入する過程で選択マーカーとして用いられるものとしております。

17ページ目の下のほう、4.遺伝子組換え添加物の性質、用途に関する事項についてですが、次のページにお進みいただければと思います。

(1) 本添加物の製品名等についてですが、製品名はaglC、有効成分は α -ガラクトシダーゼでございます。

(2) から (5) につきましては、従来の添加物と同じ記載となっております。

8ページ目真ん中付近の5.食品健康影響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遺伝子組換え体と宿主との相違点に関する事項についてですが、

(1) 遺伝子組換え添加物と従来の添加物の相違点については、aglCと従来の α -ガラクトシダーゼとの相違点は生産菌が異なることであるとのことでございます。

(2) 遺伝子組換え体と宿主の相違点ですが、JPAN013株には*aglC*遺伝子、*amdS*遺伝子及び*pyrG*遺伝子が複数コピー導入されており、一方で複数の遺伝子等が欠失している点が相違点であるとしております。

8ページ目の下のほう、第2の遺伝子導入に関する塩基配列に関する事項についてですが、9ページ目にお進みいただければと思います。

1.ベクターの名称及び由来に関する事項についてですが、遺伝子導入用ベクターはpJPV062でございます。このベクターの構築に用いたプラスミドはpBluescript SK(-)でございます。

また、2のベクターの性質に関する事項についてですが、pBluescript SK(-)プラスミドの塩基数、塩基配列は明らかになっております。

以下 (2) から (5) については記載のとおりでございます。

続いて真ん中付近、3の挿入DNAの供与体に関する事項についてですが、*aglC*遺伝子の供与体は*A. niger* BO-1株でございます。

179行目から、*A. niger*はアフラトキシン類産生能は有していないが、オクラトキシンA、また、マイコトキシンの一種であるフモニシンの合成遺伝子クラスターが発見されておりますが、JPAN013株はこれらのマイコトキシンを産生しないことが確認されているとしております。

*amdS*遺伝子の供与体は*A. nidulans* Glasgow野生株であり、特にアレルギー誘発性で関

題となる菌種ではないと考えられるとしております。また、*pyrG*遺伝子の共同体は*A. nidulans* NRLL1092株でございますが、両遺伝子の供与体である*A. nidulans*は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2及び3に分類されておらず、病原体等のリスク分類のリスク群1に分類されるものとしております。

続いて、4の導入遺伝子及びその遺伝子産物の性質に関する事項についてですが、10ページ目にお進みいただければと思います。

(1) *aglC*遺伝子についてですが、*aglC*遺伝子は α -ガラクトシダーゼ活性を有する*aglC*をコードするとしております。また、*aglC*のアミノ酸配列は従来の α -ガラクトシダーゼの基原としても用いられており、*A. niger*由来の α -ガラクトシダーゼと100%の相同性を示すとしております。

(2) *amdS*遺伝子についてですが、*amdS*遺伝子はアセトアミラーゼをコードします。アセトアミダーゼではアセトアミドを分解する酵素であり、アセトアミド唯一の窒素源として含む培養液中では、本遺伝子が挿入された菌株のみが選択的に生育できることから、選択マーカーとして用いられるとしております。

(3) *pyrG*遺伝子につきましては、オロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼをコードするものであり、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クとして用いられるものとしております。

5から7につきましては記載のとおりでございます。

11ページ目以降の第3.遺伝子組換え体に関する事項についてですが、12ページ目にお進みいただければと思います。

2の遺伝子導入に関する事項についてですが、(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項について、JPAN013株の次世代シーケンサーによる全ゲノム解析を行った結果、目的遺伝子等は設計どおり複数の遺伝子座に挿入されていると推定されているとしております。

(2) ORFの有無に関する事項についてですが、JPAN013株の染色体上の*aglC/amdS*遺伝子発現コンストラクトと複数の標的遺伝子座におけるその接合部位を含む近傍配列及びDNA欠失の際の異種遺伝子断片が挿入された遺伝子座におけるその接合部位を含む近傍配列に関し、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30アミノ酸以上のORFを検出し、アレルゲン性とタンパク質の毒性についてデータベースを用いて評価をしております。

a. 既知のアレルゲンとの構造相同性についてですが、検出されたORFについて、アレルゲンデータベースにおいて相同性検索を行ったところ、宿主ゲノムと挿入配列をまたぐORFと連続する80アミノ酸配列以上で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とのことでございます。なお、複数の遺伝子座において検出された既知のアレルゲンと相同性を示すORFがありましたが、これらについては宿主染色体の塩基配列から検出されたもので、遺伝子導入により新たに生じたものではなかったとしております。

また、連続する8アミノ酸配列が既知のアレルゲンと一致する配列をアレルゲンデータ

ベースで相同性検索を行ったところ、一つの遺伝子座において *pyrG* 遺伝子のプロモーター配列が検出された ORF である ●●● が既知のアレルゲンであるクロカビ由来のアレルゲン ACT37323.1 との相同性を示したとされております。しかし、この ●●● と ACT37323.1 との間で一致した 8 アミノ酸配列について、アレルゲンデータベースでエピトープ検索を行ったところ、一致するエピトープはなかった。また、●●● については、前述のとおり、80 アミノ酸配列以上で 35% 以上の相同性を示す既知のアレルゲンが検出されなかったことから、●●● が食物アレルゲンをコードしている可能性は低いと考えられるとしております。

b. 既知の毒性タンパク質との構造相同性でございます。

13 ページ目にお進みください。

検出された ORF について、NCBI データベースを用いて相同性検索を行った結果、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しております。なお、一つの遺伝子座において検出された ORF の幾つかが NCBI データベースの毒性タンパク質と相同性を示しましたが、これらの 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かったとのことでございます。

3. 遺伝子組換え体の選抜に関わる安全性に関する事項については、記載のとおりでございます。

319 行目、4. 遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する事項についてですが、(1) 導入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性については記載のとおりでございます。

(2) 遺伝子産物のアレルギー誘発性についてですが、*aglC* を有効成分とする酵素製品について、これまでにアレルギー誘発性を示唆する報告はないとのことでございます。加えて、*A. niger* 由来の α -ガラクトシダ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を行った結果、該当する文献はなかったとしております。

また、*amdS* 遺伝子は選択マーカーとして長年利用されてきた実績があるが、当該遺伝子由来のアセトアミダーゼについては、アレルギー誘発性及び毒性を示唆する報告はない。加えて、アセトアミダーゼのアレルギー誘発性を示唆する文献は得られなかったとしております。

14 ページ目にお進みいただきまして、*pyrG* 遺伝子は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が、当該遺伝子由来のオロチジン 5'-リン酸デカルボキシラーゼについてアレルギー誘発性及び毒性を示唆する報告を得られなかった。加えて、*A. nidulans* 由来のオロチジン 5'-リン酸デカルボキシラ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を行った結果、該当する文献は得られなかったとしております。

その下、(3) 遺伝子産物の物理化学的处理に関する感受性に関する事項についてですが、① *aglC* について、a. 人工胃液及び人工腸液に対する感受性ですが、*aglC* をコードする *aglC* 遺伝子を生産する JPAN013 株は、*A. niger* BO-1 株を宿主として作製されること。また、*aglC* のアミノ酸配列は、従来の α -ガラクトシダーゼである *A. niger* 由来の α -ガラクトシ

ダーゼの100%の相同性を示すことから、JPAN013株から生産されるaglCは*A. niger*由来の従来の α -ガラクトシダーゼと同等であり、胃腸液に対する感受性は従来の α -ガラクトシダーゼと同等であると考えられるため、人工胃腸液での消化試験は実施しなかったとしております。

b.加熱処理に対する感受性についてですが、aglCをpH7.0の各温度において10分間処理した後、活性を測定した結果、aglCは70℃では活性を失ったとしております。

②のアセトアミダーゼについてですが、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しております。

③のオロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼについても、同様に物理化学的処理に関する感受性試験は実施しなかったとしております。

15ページ目にお進みいただければと思います。

(4) 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事項についてですが、aglCと既知のアレルゲンとの構造相同性について、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アミノ酸配列以上で35%以上の相同性を示す既知のアレルゲン及び連続する8アミノ酸の配列が一致する既知のアレルゲンは検出されなかったとしております。

また、アセトアミダーゼをコードする*amdS*遺伝子は、アセトアミドが唯一の窒素源といった限られた条件でのみ誘導されるため、通常の培地では発現することはない。また、*amdS*遺伝子を含むDNA挿入領域から同定されたORFの中に既知のアレルゲンと相同性を示すものは検出されなかったとしております。

また、*pyrG*遺伝子がコードするオロチジン5'-リン酸デカルボキシラーゼのアレルギー誘発性誘発性について、既知のアレルゲンとの相同性検索を行った結果、設定された閾値を超えて相同性を示す既知のアレルゲンは検出されなかった。

以上から、aglC、アセトアミダーゼ及びオロチジン5'-リン酸デカルボキシラ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るとしております。

第4については記載のとおりでございます。

第5.遺伝子組換え添加物に関する事項についてですが、1.諸外国における認可、食用等に関する事項について、aglCについては、FDAにおけるGRASの自己認証済みであり、米国では2024年以降販売されているとしております。

2から6については記載のとおりでございます。

評価書案については以上になります。

〇〇〇 ありがとうございました。

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につきましては、後ほど修正箇所を事務局までお伝えいた

きたいと思います。

全体を通してコメント等がありましたらよろしくお願いいたします。

よろしいでしょうか。

それでは、コメント等はないようですので、この案をもって食品安全委員会に報告しまして、パブリックコメント等の手続に入りたいと思います。

それでは、 α -ガラクトシダーゼの審議は以上となります。

それでは、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 事務局から２点ほど御提案がございます。

まず１点目になりますが、食品安全委員会では、食品安全基本法第２１条第１項に規定する基本的事項に基づきまして、食品健康影響評価の公平性・透明性の確保の観点も考慮しまして、各評価対象に関する食品健康影響評価についての指針を策定してきております。また、コーデックス委員会において、遺伝子組換え食品の安全性評価の実施に関するガイドラインが作成されたものについて順次指針を策定しておりますが、近年、遺伝子組換え動物の細胞を使用した新たな食品の開発が進められているということもございますので、遺伝子組換え食品（動物）に関する食品健康影響評価指針の策定を行うことを提案させていただきたいと思います。

〇〇〇 事務局から遺伝子組換え食品（動物）に関する食品健康影響評価指針の策定の提案がございましたが、いかがでしょうか。ついに作るという提案でございます。まず、この点につきまして御意見、コメントがございましたらお願いいたします。

実際に大学レベル、企業レベルいろいろございますが、作られつつあるという状況であることは間違いないと。遅かれ早かれやってくる可能性があるということですので、あと、培養肉等もありましてそちらのほうでも組換え培養細胞を使った培養肉というのも、すぐには来ないとは思いますが、可能性としては結構あるということです。

そういったことも鑑みまして、今までなかったわけですが、遺伝子組換え食品（動物）という指針を作りたいということなのだと思いますが、よろしいでしょうか。特に反対する意見はないと思いますが、今のこのタイミングで作らなくてもいいのではないかと思います。意見はございませんか。

それでは、私も若干気が重いと言えば重いのだと思いますが、遺伝子組換え食品（動物）に関する食品健康影響評価指針の策定を行うということにしたいと思います。

本専門調査会の専門委員の方々から、いわゆる最初のドラフト作り、起草委員というのをお願いして起草作業を行うことになるのですが、こちらは座長の特権というわけではないと思いますが、私のほうから指名をさせていただきたいと思います。

これを見越して新たに委員としてお願いしております、〇〇〇。

それから、アレルギー関係の議論も含むということで、〇〇〇、〇〇〇。

あと、微生物の起草委員の経験がございます〇〇〇。

それから、植物のほうの起草委員を務めました私ということで、以上のメンバーで起草委員をお願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

起草委員の先生方には早速その作業を進めていただきたいと思いますけれども、特にこれは会合を開いてということではなくて、起草委員の先生方同士で電話あるいはメール等で適宜連絡を取っていただいて御検討いただければと思います。

ということですので、起草委員の先生方、非常に御苦勞をおかけするかと思いますけれども、どうぞよろしくをお願いしたいと思います。

それでは、事務局のほうにお戻しします。

〇〇〇 ありがとうございます。

続きまして、2点目の御提案になります。本日お配りしている机上配付資料を御用意ください。Webで参加の先生方は、調査会資料のフォルダの一番上に机上配付資料のワードファイルが入っております。

遺伝子組換え食品等専門調査会におきましては、申請者から提出があった申請要旨について全体の項目を説明しております。今後は、より議論を深めることを目的に、申請要旨の説明事項を配付資料にありますとおり、以下の項目に植物、添加物で高度精製とそれぞれ項目がございますけれども、そこに記載のある項目を説明するということにしたいと思います。加えて、事前に専門委員の方からコメントをいただき、整理した事項について説明をするということにしたいと思いますので、御理解をいただきますようよろしくお願いいたします。

〇〇〇 事務局から説明があったとおり、今後は申請要旨の説明を簡略化するということですが、もともと専門委員の先生方は事前に申請要旨をお読みいただいていると思っておりますので、支障はないかと思います。調査会ではポイントを絞って説明があるということですので、特に問題はないかと思いますので、今後はその方針でよろしくお願いいたします。

意見はないと思いますけれども、何かございますか。

それでは、そのようにお願いいたします。

それでは、ほかに事務局から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。

本日も3件こなしましたけれども、この委員会是非常に申請数が多くて、それもあって申請要旨の説明も簡略化したいということですので、今後とも皆様よろしくお願いいたします。

それでは、本日の議題についてはこれで終了とさせていただきます。

以上をもちまして、第279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。適宜御退室ください。