

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第248回) 議事録

1. 日時 令和6年4月25日(木) 14:00～17:07
2. 場所 食品安全委員会中会議室(赤坂パークビル22階)
(Web会議システムを併用)
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
 - ・ *Streptomyces mobaraensis* TTG-1株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ
 - ・ PRO-No.1株を利用して生産されたL-プロリン
 - (2) その他
4. 出席者
 - (専門委員)
児玉座長、伊藤専門委員、小野道之専門委員、小野竜一専門委員、佐々木専門委員、柴田専門委員、爲廣専門委員、手島専門委員、樋口専門委員
 - (専門参考人)
杉本専門参考人、中島専門参考人
 - (食品安全委員会)
川西委員、脇委員
 - (事務局)
中事務局長、及川事務局次長、前間評価第二課長、今井評価情報分析官、奥藤課長補佐、岩瀬評価専門職、山口係長、今村技術参与
5. 配布資料
 - 資料1 令和6年度食品安全委員会運営計画
 - 資料2 食品健康影響評価に関する資料
 - ① *Streptomyces mobaraensis* TTG-1株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ
 - ② PRO-No.1株を利用して生産されたL-プロリン
 - 資料3 「食品安全委員会における調査審議方法等について(平成15年10月2日食品安全

委員会決定)」にかかる確認書について
参考資料 「食品安全委員会における調査審議方法等について」の一部改正について

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248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。

また、4月1日付で専門委員の改選が行われ、新たに〇〇〇と、〇〇〇に審議に加わっていただくことになりました。

後ほど新任の先生から御挨拶を賜りたいと思います。

本日は、所用により、〇〇〇と〇〇〇は御欠席です。

また、専門参考人として、〇〇〇、〇〇〇に御出席いただいております。

また、本日は、Web会議システムを併用して行います。

それでは、最初に〇〇〇から御専門などを含めて一言御挨拶をお願いいたします。

〇〇〇 初めまして。〇〇〇と申します。よろしくお願いいたします。

今回は、遺伝子組換え食品等の審議の場に参加することができまして、非常に光栄に思っております。

私の所属する部では、食品や医薬品のアレルギーに関する試験研究業務を進めておりますので、専門はアレルギーの評価ということになります。

リスク評価の全般としてはまだまだいろいろと至らない点も多いかと思いますが、専門分野等につきましては審議等で有意義なコメントが出せるように努めてまいりたいと思いますので、どうぞよろしくお願いいたします。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇は本日御欠席ですので、次回御参加いただいた際に御挨拶をお願いしたいと思います。

本日の議題は、新規品目である「*Streptomyces mobaraensis* TTG-1株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ」及び「PRO-No.1株を利用して生産されたL-プロリン」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 事務局から配付資料を確認いたします。

今回、専門調査会直前に資料の差し替え等が発生してしまい、大変御迷惑をおかけして申し訳ございませんでした。

配付資料は、議事次第、専門委員名簿、資料1として令和6年度食品安全委員会運営計画、資料2として食品健康影響評価に関する資料、資料3として「食品安全委員会における調査審議方法等について」に係る確認書について、参考資料として「食品安全委員会における

調査審議方法等について」の一部改正について、そして、机上配付資料が差し替え版の机上配付資料1、差し替え版机上配付資料2、机上配付資料3、机上配付資料4となっております。

資料の不足等はありませんでしょうか。不足等がございましたら、事務局まで御連絡ください。

また、本日は、「*Streptomyces mobaraensis* TTG-1株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ」の申請者である天野エンザイム株式会社の方、「PRO-No.1株を利用して生産されたL-プロリン」の申請者である味の素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。

また、事務局でも人事異動がございまして、4月1日付けで評価専門職として〇〇〇が着任しております。

一言御挨拶をさせていただきます。

〇〇〇 2月までおりました〇〇〇の後任といたしまして、4月1日付けで着任させていただきました〇〇〇でございます。

至らぬところもあると思いますが、どうぞよろしく願いいたします。

〇〇〇 事務局からは以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

次に、事務局から今年度の運営計画についての説明があると伺っております。説明をお願いいたします。

〇〇〇 事務局でございます。

食品安全委員会におきましては、毎年度、運営計画を策定しておりまして、年度当初の各専門調査会及びワーキンググループで内容について御説明をさせていただいております。

本専門調査会につきましては、今年度最初の会合でございますので、令和6年度食品安全委員会運営計画について御紹介をさせていただきます。

資料1を御覧ください。

ページをおめくりいただきまして、目次を御覧ください。

全体の構成といたしましては、第1が令和6年度における委員会の事業運営方針、第2が委員会の運営全般、第3以降に個別の内容を記載しているという構成でございます。

次の1ページでございますが、審議の経緯についてお示ししております。

続きまして、2ページでございます。

「第1 令和6年度における委員会の事業運営方針」でございますが、国民の健康の保護を最優先に、委員会の所掌事務を円滑かつ着実に実施するとともに、委員会の業務改善を進めていくとしております。

第2が委員会の運営全般についてでございます。

「(3) 食品健康影響評価に関する専門調査会の開催」のとおり、食品健康影響評価を的確に実施するため、専門調査会を開催することとしております。先生方には、お忙しいこ

とと存じますが、引き続きよろしくお願ひいたします。

「(6) 委員会におけるDXの取組について」でございますが、食品健康影響評価書及び委員会が保有する毒性評価結果等について、知的財産上の配慮を講じつつ、オープンデータ化の構築に向けた調査・検討の結果を踏まえたリスク評価業務の効率化や評価技術の高度化を図るため、デジタル技術の活用可能性について検討を進めることとしております。

続きまして、3ページの「第3 食品健康影響評価の実施」についてでございます。

1の(1)でございますが、リスク管理機関から食品健康影響評価を要請された案件につきましては、早期に食品健康影響評価が終了するよう、計画的・効率的な調査審議を行うこととしております。

また、(2)でございますが、企業からの申請に基づきリスク管理機関から要請を受けて行う食品健康影響評価につきましては、標準事務処理期間内に評価結果を通知できるよう、計画的な調査審議を行うとしているところでございます。

続きまして、「2 評価ガイドライン等の策定等」におきましては、最後の行からでございますが、本年度においては、養殖水産動物に係る薬剤耐性菌の評価の考え方等を反映するために評価指針の改正に向けた調査審議を行うとしております。

また、4ページの上から2つ目の段落でございますが、食品健康影響評価に関する長期的な課題を整理するとともに、対応の方向性について検討を行うこととしております。

続きまして、5ページの「第5 食品の安全性の確保に関する研究・調査事業の推進」についてでございます。「食品の安全性の確保のための研究・調査の推進の方向性について」と題する食品安全委員会の決定文書、これは「ロードマップ」と表記していますが、このロードマップなどを踏まえ、研究・調査を計画的に実施し、その成果を食品健康影響評価に活用するとございます。

次の6ページの「4 ロードマップの改正」でございますが、ロードマップの改正を行うこととしており、改正後のロードマップにおいては、委員会が取り組まなければならない今後の長期的な課題を整理し、その課題解決に向け、研究事業及び調査事業を戦略的に実施していくための方針を示すものとするとしております。

その下から「第6 リスクコミュニケーション・情報発信の促進」の記載がございまして、7ページの中ほどでございますが、様々な手段を通じた情報の発信や、9ページに記載がございまして、「食品の安全」に関する科学的な知識の普及啓発などを記載しております。

続きまして、11ページにお進みいただきまして、「第9 国際協調の推進」につきまして、次の12ページでございますが、海外の食品安全機関等との連携強化や海外への情報発信などを記載しております。

簡単ではございますが、令和6年度の運営計画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。

ただいまの御説明に対しまして、御質問等がありますでしょうか。

よろしいでしょうか。我々としては、着々と粛々と審議をしていくということになります。

す。

それでは、個別品目の審議に入る前に、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 本日の議事に関す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御報告します。

「食品安全委員会における調査審議方法等について」につきましては、本年1月16日に開催されました第925回食品安全委員会会合において、より一層の中立性、公平性の確保のため、一部改正を決定しております。

改正内容につきましては、参考資料を御参照ください。

改正後の委員会決定に基づき、昨年10月1日付で改選のあった先生方も含めて、資料3で配付しております専門委員の先生方から御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項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 御提出いただいた確認書について、相違等はございませんでしょうか。

ありがとうございます。

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等について事務局から説明をお願いいたします。

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していただくか、Web会議画面の挙手ボタンを押してください。座長より呼びかけますので、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「*Streptomyces mobaraensis* TTG-1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 ありがとうございます。

「*Streptomyces mobaraensis* TTG-1株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼ」と記載されました、少し濃い水色の紙ファイルをお手元に御用意ください。

6ページ目を御覧ください。

第1 比較対象として用いる従来の添加物の項目です。

1 (1) 名称、有効成分はトランスグルタミナーゼです。生産菌は*Streptomyces mobaraensis*です。反応特異性はタンパク質また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級アミノ基またはタンパク質も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します。

(2) 製造方法は、生産菌株の培養液から抽出、除菌及び精製などの工程を経て酵素原体が製造されます。

7ページを御覧ください。

(3) 用途及び使用形態です。トランスグルタミナーゼは、タンパク質中のグルタミン残基とリジン残基の間で架橋反応を触媒する酵素であり、肉団子等の食肉加工、蒲鉾等の水産加工、チーズ・アイスクリーム製造等の乳製品加工、茶わん蒸し等のその他食品加工に用いられています。当該酵素を用いた食品の製造工程では、通常、殺菌工程として加熱処理が行われるため、当該酵素は失活すると考えられるとしております。

8ページを御覧ください。

(4) 摂取量について、こちらに記載した①から⑦に使用されると仮定して算出しており、9ページの表1の下の記載になりますが、推定一日摂取量は26.2 μ gTOS/kg体重/日となっております。

続いて、2.宿主及び導入DNAに関する項目です。

(1) 宿主は*Streptomyces mobaraensis* ●●●の変異育種株であるBTG-5株で、従来のトランスグルタミナーゼの生産菌としても用いられているものでございます。

10ページを御覧ください。

(2) DNA供与体も*Streptomyces mobaraensis* BTG-5株となっております。

(3) 挿入DNAの性質及び導入方法ですが、挿入DNAは改変トランスグルタミナーゼ遺伝子であるTTG遺伝子のみで、これは11ページの図3のとおり、宿主であるBTG-5株由来のトランスグルタミナーゼの構造遺伝子中に部位特異的変異を導入して、●●●アミノ酸置換を行ったものです。本遺伝子は●●●からなっており、分子量●●●のタンパク質をコードしています。

12ページを御覧ください。

宿主への目的遺伝子の導入は接合伝達により行っております。

13ページの図4を御覧ください。宿主上のトランスグルタミナーゼ遺伝子と、その上流、下流領域の3つのDNAをクローニングし、遺伝子導入用ベクターを構築します。

14ページの図5を御覧ください。構築したベクターを*E.coli* ●●●に形質転換し、形質

転換した●●●を用いて、宿主であるBTG-5株に導入用ベクターを導入しています。この導入用ベクター上にはカナマイシン耐性遺伝子があり、カナマイシン耐性の形質が付与された形質転換株の中からカナマイシン感受性を指標として相同組換えによりトランスグルタミナーゼ以外のベクター由来のDNAが脱落したTTG-1株を取得しております。得られたTTG-1株の全ゲノム配列は解析されており、カナマイシン耐性遺伝子を含むベクター由来のDNAが脱落していることを確認しております。さらに、カナマイシン耐性遺伝子が欠落していることをPCR法でも確認をしております。

続いて15ページ、3.宿主の添加物製造への利用経験または食経験についてです。宿主である*Streptomyces mobaraensis* BTG-5株は、天野エンザイム株式会社において約3年間使用されてきた既存添加物酵素トランスグルタミナーゼ生産株であり、現在も生産菌として使用されています。また、本菌株の育種系統株である●●●は、食品添加物酵素トランスグルタミナーゼの生産菌として、日本及び海外において●●●、その間健康上の懸念があったという事例、報告はございません。

4.宿主の構成成分等です。*Streptomyces mobaraensis*は、国立感染症研究所の病原体等安全管理規程のバイオセーフティレベル1に相当し、有害生理活性物質及び栄養阻害物質に関する報告もありません。

5.組換え添加物の項目です。

(1) 製品名はトランスグルタミナーゼTTGで、有効成分は従来 of トランスグルタミナーゼと同様です。

製造方法は16ページのとおり、培養工程、ろ過工程等の製造工程を経た上で製剤化されます。

(3) 用途、使用形態、(4) 有効成分の性質は既存のトランスグルタミナーゼと変わりませんが、17ページの表2のとおり、従来 of トランスグルタミナーゼと比べて高温下での反応性が向上しております。

17ページの6を御覧ください。

(1) 遺伝子組換え添加物と従来 of 添加物との相違点は、●●●のアミノ酸が置換されている点です。性質においては、高温下での反応性が向上し、耐熱性が向上しているという点が異なっているとしております。

19ページ目を御覧ください。

(2) 組換え体と宿主との相違点は、生産するトランスグルタミナーゼにアミノ酸●●●の置換が生じている点です。形質転換に用いた選択マーカー遺伝子を含むベクターDNAは、相同組換えにより完全に脱落させてあるとのことです。このことは、全ゲノム解析及びサザンブロット解析の結果から明らかになっているとしております。

続いて、20ページから第3 ベクターに関する事項です。

21ページの(4)のとおり、プラスミドにはカナマイシン耐性遺伝子が含まれています。

22ページから第4 挿入DNA等に関する事項です。

2の(1)挿入遺伝子のクローニングもしくは合成方法に修正が入っておりますので、机上配付資料2をお手元に御準備ください。

こちらの22ページと記載されたページを御覧ください。

*TTG*遺伝子は宿主由来のトランスグルタミナーゼ構造遺伝子をクローニングし、PCRによる部位特異的変異法を用いてアミノ酸置換を導入したものです。まず、トランスグルタミナーゼ構造遺伝子を含むプラスミドをテンプレートとして、以下に示しました手順で部位特異的変異を導入しているということでございます。

そのまま机上配付資料2で御説明いたします。1枚めくっていただきまして、24ページ目を御覧ください。

(3)でございます。挿入遺伝子の機能に関する事項です。*TTG*遺伝子がコードするタンパク質は、トランスグルタミナーゼ活性を有します。*TTG*遺伝子には、高温での反応性向上を目的としてアミノ酸置換が導入されています。

続きまして、aの記載ですが、挿入遺伝子の供与体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ており、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかったとしております。

b.遺伝子産物のアレルギー誘発性について、こちらでも文献検索をしており、その結果、●●●されていましたが、トランスグルタミナーゼを用いて加工した食品を摂取することでアレルギーが誘発されるとの報告はなかったことから、遺伝子産物を摂食することによるアレルギー誘発性は低いと考えられるとしております。

それでは、水色の紙ファイルの24ページにお戻りください。

cでございます。遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性についてです。

1)人工胃液に対する感受性について、SDS-PAGE分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、両試験において試験開始後30秒以内に分解されることが示されたとしております。図8のSDS-PAGEの結果では、人工胃液のバンドと*TTG*のバンドが一部重なっており、完全に消失していることを判断するのは難しいのですが、図9のウェスタンブロットでは試験開始30秒後のレーン4で*TTG*のバンドが完全に消失していることが確認できます。

続きまして、25ページを御覧ください。

2)人工腸液に対する感受性についてSDS-PAGE分析を行った結果、60分間の処理においても完全には分解されなかったという結果が得られています。

26ページを御覧ください。

3)加熱処理に対する感受性について、図11のとおり、pH6.0において各処理温度帯における活性の経時変化を確認した結果、80℃3分以上の処理で失活するという結果が得られています。

続きまして、dの遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性についてです。アレルゲンとの相同性を確認するために、1)、2)の条件でデータベース検索を行った結果、どちらも相同性を示すアレルゲンは検出されませんでした。これらの結果から、*TTG*がアレル

ギー誘発性を有する可能性は低いと考えられたとしております。

続きまして、28ページを御覧ください。

5の(2) 目的外のORFの有無に関してです。TTG-1株では、宿主の●●●に●●●1コピーのTTG遺伝子が挿入されたことが全ゲノム解析から確認されています。遺伝子配列解析の結果、TTG遺伝子上流と下流領域は、宿主のTG遺伝子上流と下流領域と差異がないことが確認されており、ORF検索は挿入遺伝子のその上流下流1000bpの配列で行っているということでございます。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17個検出され、これらについて既知のアレルゲンと既知の毒性タンパク質との相同性検索を実施しています。

まず、1) で既知のアレルゲンとの相同性検索の結果、①の条件では相同性を示すものは検出されませんでした。

②については修正が入っておりますので、机上配付資料2の29ページと記載のあるページを御覧ください。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が1つのORFで一致したという結果になっております。このアレルゲンは呼吸器誘発性であり、食物アレルギー誘発性の懸念は小さいと考察されています。

また、追記されている黄色のマーカがついた部分ですが、一致した8アミノ酸配列は導入したTTG遺伝子のターミネーターに位置する領域であり、宿主であるBTG-5株においてもトランスグルタミナーゼ遺伝子のターミネーターとして存在しているということでございます。また、今回の解析では、連続する8アミノ酸配列が既知のアレルゲン1種類と一致することが確認されましたが、仮に1か所だけ抗体が結合してもアレルギー反応は起きないと考えられるという記載がされてございます。

水色の紙ファイルの28ページにお戻りください。

下から8行目、2) 既知の毒性タンパク質との相同性の確認でございます。NCBIデータベースでE-valueが10未満を指標として検索を行った結果、一致する毒性タンパク質はありませんでした。

29ページの第4の7を御覧ください。遺伝子導入用ベクターにはカナマイシン耐性遺伝子が含まれますが、今回のTTG-1株はTTG遺伝子以外のベクター領域が相同組換えにより脱落しているため、抗生物質耐性マーカー遺伝子を有していません。このことは全ゲノム解析データで確認をしております。

30ページの第5の2(1)を御覧ください。制限酵素による切断地図に関する事項です。TTG-1株の遺伝子導入領域の構成要素及び制限酵素切断地図は、全ゲノム配列解析により明らかにされています。

(2) ORFの有無について、TTG遺伝子は遺伝子ゲノムのTG遺伝子座に相同組換えで置換しているため、挿入遺伝子と宿主ゲノムの境界領域を定義しにくく、導入されたDNAにより新規に生じ得るORFについて、全ゲノム配列解析の結果を用いて検索した結果、遺伝子導入により新規に生じ得る17個のORFについて、既知のアレルゲン及び既知の毒性タン

パク質の相同性は確認されなかったとしております。

続いて、第6 製造原料、製造器材は、全て長年安全に使用された実績があるものだと
しています。

31ページ、第7の1.諸外国における認可等の状況ですが、海外での認可実績はないという
ことでございます。

第7の2.組換え体の残存に関する事項ですが、製造工程中に組換え体の不活化、珪藻土ろ
過による除菌工程があるため、組換え体は残存しないとしており、製品中の組換え体由来
のDNAの残存についてもPCR法で試験をしています。その結果、TTG遺伝子の特異的なバ
ンドの増殖は見られず、組換え体由来のDNAは残存していないとしています。

続きまして32ページ、3.非有効成分に関する事項を御覧ください。表4のとおり、食品添
加物等の規格基準及びJECFA規格を満たすことを確認しています。

4.精製方法及びその効果に関する事項ですが、食品添加物の製造管理、品質管理及び安
全性確保に関する自主基準にのっとり、従来のトランスグルタミナーゼと同じ方法で製
造され、FSSC22000認証取得品質システムによって品質が確保されているため、これらの
工程において安全性に問題があるものが混入するとは考えられないとしております。

8でございます。以上の第2から第7までの事項により、安全性の知見は得られたと記載
されております。

説明は以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、申請資料の内容について皆様から御意見等を賜りたいと思います。

まず、申請資料の審議の第1から第3、申請書の6ページから21ページまででお気づきの
点がありましたらお願いいたします。

最初に、皆様に少し補足しておきたいといひますか、言っておきたいことがありまして、
5ページの文章の一番最後のところに「外来遺伝子を何ら保持していない」とか、17ページ
の一番最後に「自然界で起こりうる範囲内と考えられた」というようなことが書かれてお
りまして、セルフクロニングみたいなものをかなり意識して作られた評価書になってお
ります。

もともとのTG遺伝子を改変、TTG遺伝子にそのまますっぱり置き換えただけという形
ですので、申請者としてはセルフクロニングでしょうみたいな、非常にそういうふうに
強く思っている節がかいま見えるのですけれども、これまで〇〇〇が座長のときも何回か
ありましたが、どこまでがセルフクロニングで、どこまでが遺伝子組換えに相当するの
かというところは、カルタヘナ法では実は定義がありまして、セルフクロニングは遺伝
子組換えに入れないみたいな定義があるのですけれども、こちらの食品安全委員会のガイ
ドライン上では、試験管の中でいじった遺伝子を入れた場合は遺伝子組換えに相当する
という形になっておりまして、セルフクロニング、ナチュラルオカレンスの定義が入って
おりません。なので、これまで何点かやり取りがありましたけれども、天然から取れた配

列を入れている場合は考慮するけれども、人為的に操作を加えた配列を入れた場合は、基本的には今のところ遺伝子組換えとして扱うというような形で審議しております。

ただ、ゲノム編集が始まりまして、ゲノム編集では数塩基の置換とか欠失とかは遺伝子組換えには入れないという形になっておりまして、そちらとの整合性が今取れていない形が考えられます。なので、非常に厄介な問題なのですけれども、今回は遺伝子組換え食品添加物として審議いたしますけれども、何らかの形で少し検討せざるを得ないかなとは考えております。

〇〇〇、補足することがありましたら、もしコメントいただけたらお願いします。

〇〇〇 今の〇〇〇の説明ではほぼ尽きていると思います。長期的に考えたら、今まで試験管内ではなくて、普通の突然変異処理とか、そんなので取れたものだけを含んでいるアミノ酸の置換であればいいと思うのですけれども、今回のアミノ酸置換については、もともとどういう文献、どこから取れてきたとか、このアミノ酸の置換の由来とかそういったものについての説明がなくて、●●●変異を導入しているということなので、今回のところは遺伝子組換えとして扱わざるを得ないかなと思いますけれども、安全性を考えるのであれば、やはり最終的なプロダクトベースで考えるのであれば、このくらいの線はゲノム編集との兼ね合いも考えて、セルフクローニングのうちと認めるようなガイドラインを考える必要があるかなと思います。

●●●というのはいささか多いので、もし申請者とお話しするのであれば、このアミノ酸の置換はどこから取ってきて、どういう意図でこのアミノ酸の置換を入れたのかと聞いてみたいところではありますけれども、安全性そのものについては問題ないかと考えています。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 この製品だけではない問題かもしれないのだけれども、これは結果的に見ると、特に私が一番気になるのは、温度安定性がこれだけ変わっていることです。確かに自然界でもこのぐらいのことが起きていて、実際にはそういうものも既存添加物としてはあったかもしれない。だけれども、既存添加物には食経験があり、その既存添加物と評価対象添加物が同等であるので問題ないというロジックとすると、これだけ温度安定性が既存添加物と違っているということであると、それは使用目的とか使用方法ということを含めて評価しないと、単純にこれは今までの理屈でいったらセルフクローニングと言って、そういう評価をしなくていいよと言ってしまうのは、やはり適切ではないのではないかと私は感じるのですけれども、いかがでしょうか。

〇〇〇 実はセルフクローニングと判定している場合でもかなり綿密な審査はやっていまして、やった上で、セルフクローニングとしてこちらとしては承諾するみたいな流れを取っていまして、要するに、遺伝子組換え添加物の扱いになるか、セルフクローニングと認

定されて、その範囲から外れるかというフォローの違いであって、実際の審議過程ではセルフクロニングも相当慎重に審査はしています。

なので、御懸念の点は、実際に運用してもさほどそこで何か問題が起きるということは実は考えづらいのではないかなと思っています。ただ、メーカー側からすると、遺伝子組換え添加物として扱うのか、そうでないものとして扱うのかが具体的に言うとは違うという形になりまして、そこが扱う業者さんにとってはメリットが出てくるのかなと想像していますけれども、セルフクロニングだからそういうところは見ないよというわけでは決してないと思っています。

〇〇〇 私自身は、プロダクトベースで見なくてはならない部分はやはり見るということで、その辺がなかなか、日本では例えばパブコメでは、遺伝子組換えは嫌いだという話から批判がされがちなのだけれども、私自身はサイエンティフィックに言ったらプロダクトの違いということをきちんと評価しないとやはりまずいのではないかなというのが言いたいことの意図です。

以上です。

〇〇〇 カナダなどだと新規食品の審査フレームがあるので割とやりやすいのかなと思うのですが、今のところ、日本で新規食品の審査フレームはないので、非常にそこら辺が悩ましいところかなとは思っております。

これは将来的な話なので、皆様の頭の中に入れておいてもらって、事務局は嫌がるかもしれませんが、今のガイドラインの改定が一段落した段階で少し何か考えてみたいかなと思っております。

ちょっと脱線しましたけれども、なので、今言った5ページ目とか17ページ目のところの表現は、外来遺伝子が入っていないのに審査した形になってしまうので、ちょっと文章の改変をお願いしたいと。

それでは、先ほど言いましたように、6ページから21ページ目までに関して何か御意見等がありましたらお願いいたします。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 摂取量に関してなのですが、8ページのところに摂取量の推計を書いているのですが、分からないことがいっぱいあり過ぎてどうしたものかと思うのですが、まず5行目、6行目ぐらいでトランスグルタミナーゼ原体（粉末、●●●）となっているのですが、この値がどうやって求めたかまず分からない。それに対してTOSを求めているのですが、そもそもこの●●●をどうやって求めたか分からないということと、まずそこがないのですよね。だから、●●●を用いてTOSを換算して行って、最終的に23行目ぐらいの●●●の値を出しているのですが、本当にこれでいいのかなというのが疑問です。要するに、●●●のもので換算しているのだけれども、実際に流通しているものが、流通させるものと言ったほうがいいですかね。この●●●のものかどうか分からない状態でこの計算を出してしまっているのかなというのが疑問です。だから、規格が決まっていないのに

●●●で計算しているというのはどうなのだろうなというのが疑問に思っています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

そこは、今日申請者をお呼びしていますので、〇〇〇のほうから後ほどお聞きいただいでよろしいでしょうか。

〇〇〇 はい。

〇〇〇 そのほか、何かコメントはありますか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 これもまたこの調査会だけの話ではなくて、そもそもが酵素添加物の話でも関係することなのですけれども、先ほどの温度安定性というのを見ると、80℃以上だとあっという間に分解する。それで、安全性について本当に考えるとすると、使うときに最終的な食品を80℃近辺で加熱しているか加熱していないかというのは、物が残るか残らないかという視点から見ると、結構安全性評価上は考慮したほうがいい話。これはアレルギー性という問題がもう一つありますけれども、いずれにしても摂取量との兼ね合いもあるのだけれども、その辺り、もともとの比較に置いた既存物質は60℃ぐらいで壊れてしまう。これは80℃。温度安定性が優れているということは、使いやすいということにはなるのかもしれないけれども、実際に使ったときに加工助剂的に使われているのか、そうではなくて、口の中に入ってしまうのか。これは幸いにも胃酸で分解してくれるので、胃をちゃんと通るもの場合は恐らくは大丈夫だろうと総合的な判定はなるのだけれども、いずれにしても、私たちがこういうものを評価する過程の中では考慮する一つの要素なので、実際に例えば肉団子に用いる場合、肉団子だとさすがに加熱しているのではないかと思うけれども、アイスクリームとかその辺になると、これはどういう状態で使っているのだろうかというのは気になる部分です。アイスクリームだって加熱してから冷やしているかもしれないし、いずれにしても、この辺、遺伝子組換えの酵素添加物だけの話では本来ないのだけれども、将来的にはリスク評価するときには考えるべき要素の一つかなと思って見させていただいたので、結局この評価の中にそういう視点を入れるかどうかは別として、将来的な問題として、申請者に80℃で分解するよということを言って売っているのかどうかみたいなことは聞いてみたいと思います。

〇〇〇 事務局から事前に、使用すると想定している食品の殺菌等について確認をしておりますので、お手元に差し替え版の机上配付資料1を御準備ください。

この差し替え版机上配付資料1の確認事項1というところになります。一応申請者のほうは、食品の製造では一般的に殺菌工程があり、加熱処理が行われる。この酵素は殺菌工程より上流の工程で使用されるというもので、本工程、殺菌する工程において失活すると考えているということです。

食品製造における殺菌を目的とした加熱殺菌工程の温度なのですけれども、一般的に殺菌を目的とするのであれば、100℃前後はかけるという想定で書かれております。

今、アイスクリームの話がありましたけれども、ここでゼリーとかそういったものも使われる食品として例に挙がっているのですけれども、実際に菓子類に使うかどうかということにつきましては、確認事項の1の2つ目にありますけれども、現時点での実際の使用はないということで、今後広く使用されるものを考えたときに入れたものですよという回答を得ています。

これだけでは十分ではないということがあるのであれば、申請者に確認することになると思うのですが、一応今の段階でも申請者からはこの回答をいただいております。

以上です。

〇〇〇 よろしいですか。

加えて、先ほどの机上配付資料1の申請者の回答では、例えば豆腐製造の加熱工程は100℃前後まで加熱されますとあるのですけれども、豆腐製造の加熱工程のことしか書かれていないので、例えば今回だと肉団子とか蒲鉾とかがあると思うのですけれども、これに実際に使う場合の加熱に関しても情報があれば、提供してほしいと思います。

〇〇〇 私もアイスクリームは気になりまして、昨日、アイスクリームの製造はどうやっているのかなと思って調べたら、一応工場レベルで作っているアイスクリームは冷やす前に殺菌工程が入るといふうにはなっているようです。ただし、農家さんが作っているようなアイスクリームは当然そんな工程はないと思うので、ただ、農家さんには多分こういう酵素は売らないとは思いますが。

ただ、この点については、申請者を呼んでいますので、〇〇〇のほうから直接聞いていただいて、あと、もうちょっと肉団子とかそういうものの殺菌温度を増やす点については、後ほど資料を提出してもらいたい形にしたいと思います。

そのほか、ございますでしょうか。

それでは、申請書でいいますと22ページから29ページ、第4の挿入DNA、ベクターの構築等のところにつきまして、何か御意見がありましたらお願いいたします。

今回、ポイントミュレーションの入れ方を私のほうで事前に聞きまして、回答が寄せられまして、読んだところ、大学の実験室でもよくやるような手法で入れていますので、恐らくアミノ酸がどこをどう変えたらどうなるというのは知っていて入れているので、それが先ほどの〇〇〇の御質問にもなるので、それもついでだから聞いてみたらいいかなと思っております。

よろしいでしょうか。

そうしたら、続きまして第5から第8、最後まで、申請書の30ページから33ページ、その前に、30ページに行く前に物理的消化性試験のところがありますので、今回、ペプシンですすぐ切れますけれども、トリプシンとかパンクレアチンでは切れが悪いという結果になっておりますが、〇〇〇、何かコメントはありますか。

〇〇〇 ペプシンで切れるということで、そこで消化性というのはまずは担保されるかなと思います。ということで、消化はされやすいというような考え方でよろしいかと。

〇〇〇 よろしいですか。

〇〇〇、もしコメントがありましたらお願いいたします。

〇〇〇 今は消化性のところの話題ですね。

〇〇〇 はい。消化性のところですよ。

〇〇〇 これに関しては特段問題はないかなと思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

では、最後、申請書の30ページ目から最後までということで、第5から第8につきましてコメントがありましたらお願いいたします。

〇〇〇、どうぞよろしく申し上げます。

〇〇〇 多分ここは自分が説明しないといけないところだと思うのですが、まず、さっきの話にも関連するのですが、TOSの話です。31ページのところで、今日議論しているものが遺伝子組換え体とするか、セルフクロニングか、どちらで考えるかにも関係してくるのですが、遺伝子組換えだから食経験がないと判断するのだったら、しっかりと力価とTOSと摂取量推計はできるようになっていないと、評価としてはおかしいと考えています。

32ページからは第9版の食品添加物公定書の規格に合っているかどうかということを確認していますが、そもそもの話、既存添加物の酵素のほうは平成7年から8年の頃に食べていたという酵素について規格を立てたものですから、今の9版の規格というのは、この表4の書いていないのですが、活性があるということを確認するだけの試験になっているはずですよ。そういうふうな規格にした理由というのが、力価はいろいろなものが流通しているものにあるでしょうということで、規格の中に力価を入れていないのです。その規格に合っているというのはどうなのだろうかと。本来であれば、遺伝子組換えをしたものか、新規の酵素については、やはり力価を表して、あと、TOSを表して、実際の摂取量推計をするべきだと。そこまでやって安全性評価ができるはずと自分自身は考えます。

ですので、規格の中に力価を入れないにしても、ユニットか力価を求める試験法と、摂取量がどうやって、実際に流通しているものがどれだけの力価かというのは示してもらわないと、摂取量が分からない以上は、あと、TOSの値もはっきり分からないということであれば、その中に含まれている有効成分以外のものの量というのは計算できない。結果として、どれだけ食べて大丈夫かというのも分からないということになりますから、やはり評価書の中にそういうことを示すべきだとは考えています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

この点は結構難しいところでして、たしか前にも事務局のほうに確認したのですが、遺伝子組換えで作った添加物は、遺伝子組換え食品のこの調査会を通ると、そのまま添加物の調査会を経ずに流通できるという理解でよろしいのでしょうか。

〇〇〇 現在はそのようになっております。前回か前々回か、添加物公定書に規定されて

いない微生物を使って、公定書に規定されている添加物を作るときにお話ししたのですが、食品衛生法のもとでは、この遺伝子組換え食品等専門調査会を通った酵素については、新たに生産菌が変わったとかそういったことがあったとしても、添加物の新規指定はなされずに市場流通させることができると認識しています。

〇〇〇 今、〇〇〇がおっしゃったように、添加物の委員会を通らない可能性が高いというか、通らないのですよね。なので、それを考えると、添加物の委員会で本来見ているような項目を、全部ではないでしょうけれども、今、〇〇〇がおっしゃったような力価の部分とか、そういった部分というのは今のガイドラインには入っていないのです。添加物の調査会のほうでは、そういうところは今考えていないのですよね。それは〇〇〇に聞いたほうがよろしいのですかね。

〇〇〇 〇〇〇のほうがよく御存じだと思いますけれども。

〇〇〇 〇〇〇がおっしゃった、添加物の公定書の内容をどうするかということについては、この場で議論し切れない部分です。食品安全委員会では、問題意識としてはきちんと認識して、さっき私が申し上げた温度安定性みたいなことに関しても似たような話の一環なので、その辺は問題意識としては持っているということで、また後日、少し頭の整理をしてから議論をスタートするならば。

これは恐らく添加物から独立してこちらだけでやれることではなくて、リスク管理機関での規格基準と絡んでいますから、リスク管理機関は今度消費者庁に移ったわけですが、そこでの調整が必要です。

〇〇〇 複雑な事情があるということで、私も前から少し気になっているところですが、確かにこの調査会でできることは非常になくて、今、消費者庁に移った管理機関側との調整が非常に重要です。

そういう事情があるということなのですから、〇〇〇、この32ページの表について、少なくともこれは入れてくださいよということがありましたらお伺いしたいと思います。

〇〇〇、お願いします。

〇〇〇 要は、〇〇〇が全部しゃべってくれたところではあるのだけれども、法律的に遺伝子組換えの酵素というのはここで安全性を評価するしかない状態なのですよね。新規指定の添加物、あと、組換えではない添加物の場合は、完全に新規指定の添加物、酵素になってしまうので、その場合というのは力価もしっかり求めているし、あと、TOSも求めているし、そういう資料をつけて食安委のほうに出ていると思います。なのに、遺伝子組換えの酵素になった瞬間にそういうデータがなくてもいいというのはどうなのだというのが一番の問題なのです。

話が逸れましたけれども、表4に行くと、結局のところ、ここの中に力価を求める項と力価を示す項がないのですよね。せめてそれぐらいは、評価書の中だけで規格に示せとは言わないので、そこに示してもらわないと、安全性について議論するにおいて、摂取量推計もちゃんとできていない状態で、この酵素が危ないということは多分ないとは思うのだけ

れども、形上は全部そろっていないとおかしいのではないのかなと考えています。

以上です。

〇〇〇 それでは、申請者のほうに、32ページのところに力価と、もう一つは何でしたか。

〇〇〇 TOSぐらいを求めたデータ、求め方とその値はどうだったのだというのを、従来品というか、あと、流通させるものがどうなのかというのは示してもらいたいですよね。

〇〇〇 それは、先ほど最初に〇〇〇がおっしゃった8ページ目の摂取量の計算のところ
で書いてもいいということになりますか。

〇〇〇 摂取量の推計をするところも、やはりこの原体が●●●になった理由も分からないし、実際に流通しているものがどれだけの幅を持っているものかも分からないというのはちょっと問題なのではないのかなと思いますので、こちらの8ページに示すか、表4にどれぐらいの幅があるものが流通しているかというのを示すべきではないかと思います。

〇〇〇 分かりました。

では、事務局的にはどうですか。

〇〇〇 ありがとうございます。

規制官庁が定めています食品衛生法での「安全性審査の経た旨の公表がなされた酵素については、当該酵素の定義の基原に係る規定を適用しない。」という規定も含め、規格基準は、規制官庁の判断の下、定められているものと理解しております。

事務局としまして、当専門調査会は遺伝子組換えによる人の健康への影響を見ている専門調査会ということになりますので、遺伝子組換えをしたことで何か人の健康に影響を与えるようなことがあるかというところを今までも確認しているという認識でございます。

先ほど〇〇〇の御発言の中で一部ございましたけれども、これが酵素として新規指定されないから、通常、添加物の専門調査会で確認する内容をこの遺伝子組換えの専門調査会で全て確認するということとは少し違っているのかなと思います。なので、安全性評価基準の中ではそういったところを求めていないというものでございます。

以上です。

〇〇〇 どちらにしても、TOSの求め方とかについてはよく分からない、説明が足りないのは間違いないので、少なくともそこについては少し補足してもらおうという形にしたいと思います。

〇〇〇 事務局としまして、摂取量推計に当たり、このトランスグルタミナーゼ原体の活性値がどういう値なのかと。この根拠を確認するところは問題ないかと思います。

〇〇〇 どうぞ。

〇〇〇 私自身は、〇〇〇がおっしゃることはもっともな部分もあるのだけれども、旧来、この調査会がやってきたこととはちょっと、例えば32ページのここは、規格に用いた既存のものとは比べたときに既存のものの規格を満足するかというお話なので、それだけのロジックでいったら、ここに活性は別段入れる必要はないということになると思います。

公定書の成分規格・保存基準各条のトップのところ、食安委が安全性評価をしたもの

は、「当該酵素の定義の基原に係る規定を適用しない」ということを入れた意味合いとしては、日本の規格基準からいって、これがトランスグルタミナーゼだと言うということにおいての規格基準は、別に活性は定義されていないので、入れる必要はない。ただし、何度も繰り返しますけれども、〇〇〇が「安全性を議論するときにはそういう議論はしなくていいのですか」と言うのはもっともだと思って聞いています。だから、逃げるようだけれども、やはりこれからリスク管理機関と一緒に、その辺はどうやるのが一番合理的かというのは解決していったほうが私自身はいいと思っています。こちら側だけでパッチワークでやっても、結局やれたことは限界があると個人的には考えています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

途中音声が切れてしまったのですかね。大丈夫ですか。

〇〇〇 すみません。機器トラブルがあったのですが、先ほどの〇〇〇の音声は届いておりましたでしょうか。特にWebで参加されている先生方、途中で切れたようなことはなかったでしょうか。

〇〇〇 途中で切れました。でも、分かりはしました。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 要約すると、32ページの表のところに力価を入れるというのは、この調査会としてはこれまでやってこなかったこともあるので、今回は特に求めなくてもいいのではないかと。その代わり、簡単に言いますと、摂取量計算のところのTOSの計算等はまだ説明が足りないようなので、今回は少し求めましょうという説明があったところです。

そのほか、皆様からコメントはありますか。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 ありがとうございます。

31ページで、そんな大層な問題ではないと思うのですけれども、組換え体の残存をPCRで調べて、泳動図があるのですが、検出感度に関わる記載が一切ありません。今までもあまりこういう格好で残存性を調べたというのはなかったような気がするのですが、残存性を調べるときに検出感度を何がしか示すような情報は今まで全然なかったでしょうか。ないことはないような気がしたのですが、うろ覚えで申し訳ありません。

〇〇〇 実は今までもこのぐらいの量ではこのぐらい検出されますみたいなのは一応書いてもらっているはずなので、それは指摘して少し補足してもらいたいと思います。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、ありますか。よろしいですか。

それでは、幾つか申請者に確認したいことがございますので、ここで申請者に入室していただきたいと思います。

まとめますけれども、お聞きしたいのは、〇〇〇のほうからTOSに関して。それから、

〇〇〇のほうからアイスクリーム等も含めて加熱処理の条件について。それから、〇〇〇のほうからアミノ酸の置換について。〇〇〇のほうから検出感度についてという形で、以上が質問事項かなと思っております。

それでは、申請者が入るまで5分間休憩したいと思いますので、後が詰まっているので、15時18分入室でお願いいたします。それまで休憩としたいと思います。

(休 憩)

〇〇〇 それでは、審議を再開したいと思います。審議といいますか、質問のタイムに入りたいと思います。

説明者の方、自己紹介をお願いします。会社名と名前ぐらいで結構です。

〇〇〇 天野エンザイムの〇〇〇と申します。よろしくお願いします。

〇〇〇 私、天野エンザイムの〇〇〇と申します。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 私も天野エンザイムの〇〇〇と申します。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 同じく天野エンザイムの〇〇〇と申します。よろしくお願いいたします。

このたびは弊社案件につきまして御審議いただき、ありがとうございます。よろしくお願いいたします。

〇〇〇 それでは、質疑応答に入りたいと思います。

まず、申請資料の8ページ、摂取量のところですか。この点について〇〇〇のほうから質問がありますので、〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 8ページのところで質問なのですが、5行目、6行目のところからトランスグルタミナーゼ原体●●●になっているのですが、この活性値の求め方はどうやって求めたのかというのがよく分からない。あと、原体にどれぐらいの活性値の幅があるかというのが示されていないので、その後続くTOSの計算、あと、製剤にして換算していつているのですが、この計算の値がどれだけ幅があるかということが分かりません。ですので、この活性の求め方と実際の原体のユニット数と、実際に製剤として売るときユニット数はどういうものを流通させるのかというのが情報として知りたいところです。お願いします。

〇〇〇 〇〇〇からお答えいたします。

まず、トランスグルタミナーゼの原体の活性測定なのですが、活性測定の方法自体は既存添加物の活性測定法と全く同じもので算出しております。

実際の原体の活性につきましては、活性測定法の振れの範囲という意味でしょうか。お答えさせていただくというのは、どういう。

〇〇〇 原体として●●●としてその後の摂取量を計算していつているのですが、流通するものは●●●だけなのですか。

〇〇〇 原体という形では流通いたしません。この●●●というものは、実際の流通はな

いです。

〇〇〇 ●●●と書いているのですけれども、実際の原体として生産しているものはどれだけ幅があるのですかという質問です。

〇〇〇 実際の幅と申し上げますと、具体的には大体●●●ぐらいの幅はございます。最終的な製剤として、この活性をベースにして、最終的には製剤としては●●●のものが流通しているという状況でございます。

〇〇〇 ●●●ぐらい上下に揺れるということですか。

〇〇〇 さようです。

〇〇〇 これを実際に製剤で売られるときには●●●にしている。

〇〇〇 そのとおりです。

〇〇〇 そうすると、やはりこの一日摂取量というのは、最後の下から3行目、4行目のところの●●●という値はプラマイ●●●ぐらいですか。

〇〇〇 振れ幅というか、TOSとしてということですか。

〇〇〇 はい。ここがよく分からないので。

〇〇〇 実際に製品の活性としては一定のものを供給することになっているのですけれども、この場合はTOSは一定と理解しておりますが。

〇〇〇 製剤のほうが一番ということ、●●●のものしかないということ。

〇〇〇 そこは振れないです。

〇〇〇 けれども、原体のほうは●●●ぐらい揺れている。

〇〇〇 製造場ロットごとに●●●程度振れますが、最終の製剤はその値の振れはございません。ほぼ一定の活性のもの、すなわちTOSのものを供給しております。

〇〇〇 けれども、原体の活性値が揺れているということは、TOSも揺れるということではないのかな。

〇〇〇 原体のところでは実際それです。原体のロットごとでは振れます。ただ、ここで活性に用いている最終的な製剤については、ほとんど振れはございません。

〇〇〇 結局、摂取量のところでは全く揺れないと。

〇〇〇 摂取量としては揺れないと考えております。

〇〇〇 ちょっと考えてみないと分からないので、その活性試験のところですけども、実際にあった方法は、9版の活性試験法のとおりやって、9版の活性試験法については、32ページの表4のところにはやったよということは書いていないし、9版の活性試験法というのは確認試験法で活性値を求める方法になっていないから、9版のとおりでやったというのはよく意味が分からないのですけれども、9版のとおりやっても活性値は出せないですよ。

〇〇〇 活性値を出せないというのは、すみません。

〇〇〇 9版の方法は比較試験法になっていて、活性値を出す方法は9版の規格の中に入っていないのです。だから、9版のとおりやっても活性値の値は出せないのですよね。だから、

その辺りが不明瞭で、一体何をやっているのだろうということがはっきりしないということが質問なのです。

〇〇〇 9版の一応の位置づけは確認試験法ということになっております。試験法について、確認試験法で定量するということがユニットの求め方としてそぐわないのではないかと御指摘でしょうか。

〇〇〇 だから、今の説明だと、9版の反応試験を使って何をどうやって対応を求めたというのが、9版と一緒にと言われても分からないですよということ。定量するのだったら、定量法は入れておかないと、9版のほうには入っていないので、ちゃんとそこは説明しておかないと、この●●●からそもそも何なのか分からない値になっていますよということです。

〇〇〇 こちらは確かにこの資料中には含まれておりませんので、かしこまりました。

〇〇〇 今の活性測定法とかTOSのところですけども、●●●ぐらいのぶれがあるということなので、〇〇〇がおっしゃるように、●●●ぶれると多分最終的なTOSの●●●というところもぶれるはずなので、こういう方法で活性を測定し、例えば3ロット測ってその平均値がこれでしたとか、そういう補足的な資料を用意していただくことは可能でしょうか。

〇〇〇 かしこまりました。用意いたします。

〇〇〇 後ほどそれを〇〇〇のほうに御確認いただいて、もし申請資料のほうの修正が必要であれば少し修正していただくようなことにしたいと思います。

〇〇〇 かしこまりました。

〇〇〇 次に、今回のTTG-1ですけども、少し温度安定性が上がっているということで、その点について〇〇〇のほうから御質問があるということです。

〇〇〇 どうも御説明ありがとうございます。

まず1点、きちんとおっしゃるけれども、既存添加物の酵素というのは、活性は定義されていないです。

私のほうから質問したいのは、ただ確認なのですけども、これはいろいろな対象食品で使うことになっていきますけれども、一方で、温度というのが、これは温度安定性を高めているという一つの特徴を打ち出しているときに、結局、人の口に入る量ということを考えたときに、9ページ目に肉団子からグミキャンディーというのがありますけれども、これは製造工程中で、大体確実なのは80℃ぐらいで、1時間処理とは言わずとも、大体分解されているような製造工程をみんな含むことになっているのか、あるいはこれを販売するとき、これを使って食品を製造する方たちにそういうことを一応言っているのか、その辺り、今の仕組みだと必ずしもそれを徹底しろということにはなっていないかもしれませんが、どういうふうにして、これは対象最終食品中では確実に分解されていると言えるような加工工程が含まれているのかどうか確認しているのか、しないのか、その辺りを確認させてください。

以上です。

〇〇〇 御質問ありがとうございます。〇〇〇から回答いたします。

各工程でそのような分解工程が全て含まれているかどうかというところなのですが、こちらを今お使いいただいているお客様が全てそのように対応しているかどうかというところまでは分かりませんが、ここに挙げたような各製品等と言いますと、一般的にはそういう生物制御の目的で、ここに今回挙げたような失活温度以上の温度で処理は何らかの形で入れられていると考えております。

このトランスグルタミナーゼも含めてなのですけれども、こういう食品加工に使われている酵素が活性が残りますと、要は過反応みたいなことが当然起こりますので、そういった観点からも、もし活性が残った場合に保存中に過大な物性変化等が起こる可能性がありますので、ユーザー様の観点でもあまり好ましくないことが起こるといえることがございますので、恐らくそういう失活工程というのは、失活といいますか、活性が残らない形で流通されているものと推測しております。

一方、お客様に対して失活を確認してくださいだとか、そういったことをこちらから申し上げているということはありません。

〇〇〇 分かりました。

その辺りが、今、比較として置いた既存のほうとこれとは20℃ぐらい違うということもあるので、これは御社の製品だけの問題ではないのかもしれませんが、そういう違いのときに、一体リスク管理機関はどういうふうに対応したらよいのかということの問題も将来的な課題としては感じているところもあるので、参考までに聞かせていただきました。やはりできたら温度の特性みたいなことは、実際にこれを食品加工に使われる方たちに知らせたほうがいいのかと個人的には思いますけれども、それは私の感想です。

以上です。

〇〇〇 次は〇〇〇から、今回アミノ酸置換を入れていますけれども、その点について質問がありますので、お願いいたします。

〇〇〇 〇〇〇でございます。

今回、●●●アミノ酸置換を入れている、自然界で起こり得るなんていう記述もあつたりするけれども、これは●●●入れているので、このアミノ酸の置換は全て意図的に入れたものだと思いますので。どういう発想でこのアミノ酸の置換を入れたのかということで、このアミノ酸の置換はこれまでに自然界で、もしくは遺伝子組換えの手法を使わない方法で見いだされたことのあるアミノ酸の置換であるのか。それとも、●●●がありますので、このタンパク質の立体構造をじっと眺めて、タンパク質工学的に●●●と考えて作ったのか、どちらですか。よろしく申し上げます。

〇〇〇 天野エンザイムの〇〇〇と申します。よろしく申し上げます。

結論から申し上げますと、自然の構造を見ながら、ここに変異を入れて●●●ば熱安定性が向上するものだとすることを想定しながら変異導入を行っております。ただ、入れた

変異につきましては、自然界でも起こり得るような変異だとは考えております。

以上でございます。

〇〇〇 ありがとうございます。自然界で起こり得るものかどうかと、それから、これまでに自然界で見いだされたことのある変異かどうかという点を知りたくて質問させていただいたわけで、ただいまのお答えで十分です。ありがとうございました。

〇〇〇 最後に、菌体が入っているか、残っているかどうかの判定、申請資料の31ページになりますけれども、ここでPCRを行っていますけれども、その点について〇〇〇のほうから質問がありますので、よろしくお願いたします。

〇〇〇 〇〇〇です。よろしくお願いたします。

31ページのPCRなのですが、テンプレートにするDNAは、どのぐらいの量から抽出して、どのぐらい希釈されたものがテンプレートとされているか。また、このPCRの条件では一体何個ぐらい遺伝子があると検出されるのか等、検出感度についての情報が全くありませんので、薄めれば当然何でも検出されなくなるという手法ですから、検出感度について何らかの情報をいただきたいと思いますが、いかがでしょうか。

〇〇〇 天野エンザイムの〇〇〇です。

御質問ありがとうございます。

PCRの感度につきましては、添付資料の24の2ページ目にPCRの図があるのですが、こちらが感度検定の試験になっておりまして、PCRでありますと、およそ●●●のDNAがあると検出されると考えております。

〇〇〇 分かりました。

添付資料のほうに詳しく記載していただくのでよろしいかと思うのですが、やはり本文のほうにも簡潔にこのぐらいの検出感度でやっていますということを一言書き添えていただいたほうがよろしいかと思ます。よろしくお願いたします。

〇〇〇 ありがとうございます。かしこまりました。

〇〇〇 そのほか、委員の先生方から何か御意見等がありましたらお願いたします。

大丈夫ですかね。

では、質疑応答は以上とさせていただきます。説明者の方、どうもありがとうございます。これから審議に戻りますので、御退室をお願いたします。

(申請者退室)

〇〇〇 それでは、審議に戻りたいと思ます。

質問の残った点としましては、活性の測定法とTOSの求め方のところのところが残っております。どうしましょうか。安全性上の問題はないかなと考えます。

〇〇〇 活性の測定法に関しては、公定法の中のトランスグルタミナーゼの確認試験法という中に入っている方法がありますけれども、この方法で行ったということによろしいかとは思のですが。

〇〇〇 どこですか。

〇〇〇 既存添加物に関する食品添加物公定書の第9版の中に成分規格というのがあって、その中に確認試験があって。

〇〇〇 確認試験なので、定量ではないのです。

〇〇〇 ここは確認ということですね。活性試験法とありますけれども、あくまで。

〇〇〇 だから、活性は定義されていないのです。

これは皆さんちゃんと自覚してほしいと思うのだけれども、既存添加物は、公定書を御覧になってくれると、第9版から収載されて、とにかく今まで公定規格がなかった酵素添加物を公定規格として収載したからしょうがないのだけれども、活性は定義されていないのです。また、定量法はないのです。確認試験には、活性試験法と書いてありますけれども、これはトランスグルタミナーゼの基質に当たるものをいろいろ準備して、反応させると色がつくといった試験を用意して、この試験に合格だったら確認されたという試験であって、定義された活性に基づいた定量法、及びそれに伴う純度規格はないのです。

〇〇〇 ちょっと補足しますと、既存添加物と指定添加物というのは若干違いまして、既存添加物というのは平成7年の法改正時点で使われていたものでして、いわゆる審査を通過していないということなので、今言ったように、どちらかという定量ではなくて定性的な面が強いというような認識だと思えます。

〇〇〇 酵素添加物はずっと昔から、食品衛生法などができる前からこういう類いのもものは食品加工に使われていて、食品衛生法を戦後つくって、これから規制しようといったときに、使用実績のあるものを、既存添加物としてリストの中に載せていたのを、添加物の公定書の第9版に新たに規格設定をして収載したものです。私自身これは大きな進歩だと思うのですが、規格基準としては未完成だと思っています。

以上です。

〇〇〇 そういう状況がバックグラウンドにあるということで御理解ください。

全体としては、安全性上は問題ないという判断で考えますけれども、皆さん、その点についてはどうでしょうか。賛同いただける場合は意思表示をお願いしたいのですが、

〇〇〇 ちょっといいですか。

〇〇〇の言うとおりで、天野エンザイムさんは絶対に活性の求め方は定量法も持っているし、今、この9版の方法でやりましたと言うけれども、9版の方法は面倒くさいのです。だから、本当にこれでやっているのというのもあるし、ちゃんと天野エンザイムというのは酵素の第一メーカーなわけなのだから、組換えだろうが何だろうが、やはりこの値を摂取量推計するとか、あと、安全性を評価するためには、ちゃんとしたデータを出してもらって、適当なデータを出してこれでいいだろうという前例をつくってくるというのはどうかと自分は思っているのです。だから、ここの力価の求め方にしても、やはりしっかりと持っている情報を出してもらうのが筋ではないのかなとは思っています。

以上です。

〇〇〇 その点については追加で出してもらおうとは思っておりますので、それを出していただいて、今回は皆様に全員追加して出された資料を配付して、内容を確認していただくということを後日お願いしたいと思います。ただ、摂取量推計のところですので、その点、大きなぶれがあった場合はもう一回考えますけれども、今計算している数値から大きくはずれませんというふうに皆さんが納得できる形になっていれば、安全という形で判定ということにしたいと思いますけれども、よろしいでしょうか。

では、そういう形で、安全上は一応問題ないということにしたいと思いますので、評価書のほうに進みたいと思います。よろしくお願ひします。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、評価書案を説明いたします。右上に資料2と記載した冊子をお手元に御準備ください。

1ページ目からが本品目の評価書案になります。

6ページ目を御覧ください。

I. 評価対象添加物の概要でございます。本添加物は、*Streptomyces mobaraensis* BTG-5株を宿主として、BTG-5株由来のトランスグルタミナーゼ遺伝子に変異を導入した遺伝子を導入することで作成された*S.mobaraensis* TTG-1株を利用して生産されたトランスグルタミナーゼです。本添加物は、タンパク質中のグルタミン残基とリジン残基の間で架橋反応を触媒する酵素であり、肉団子等の食肉加工、蒲鉾製造等の水産加工、チーズ・アイスクリーム製造等の乳製品加工、茶わん蒸し製造等その他食品の加工に用いられます。

続いて、31行目からII. 食品健康影響評価です。

まず第1の1.従来添加物について、(1)の名称はトランスグルタミナーゼ、生産菌は*Streptomyces mobaraensis*です。

(2)製造方法は、培養、ろ過等の工程を経て製品化され、生産菌は除菌ろ過により除去されます。

(3)用途及び使用形態は、タンパク質中のグルタミン残基とリジン残基の間で架橋反応を触媒する酵素であり、タンパク質を含む多くの食品で用いられます。肉団子等の食肉加工、蒲鉾製造等の水産加工、チーズ・アイスクリーム等の乳製品加工、茶わん蒸し製造等その他食品加工に用いられます。なお、当該酵素を用いた食品の製造工程では、通常、殺菌工程として加熱処理が行われ、その加熱処理でトランスグルタミナーゼは活性を失います。

7ページの52行目から(4)摂取量ですが、従来トランスグルタミナーゼ製品が最終製品中に100%残存すると仮定した場合、推定一日摂取量は26.2μg TOS/kg体重/日となります。こちらにつきましては、新たに出されてくる申請資料等を基に修正の可能性がございます。

続いて、57行目から2の(1)宿主及び(2)DNA供与体は、*S.mobaraensis* BTG-5株になります。

(3) 挿入DNAの性質及び導入方法ですが、*TTG*遺伝子はBTG-5株由来のトランスグルタミナーゼ遺伝子に部位特異的変異が導入され、複数箇所のアミノ酸が置換された改変トランスグルタミナーゼをコードします。

宿主ゲノムの標的遺伝子座に*TTG*遺伝子が接合伝達と相同組換えの手法により挿入されています。

宿主ゲノムの*TTG*遺伝子の上流領域と下流領域に挟まれた*TTG*遺伝子とカナマイシン耐性遺伝子を持つ遺伝子導入用ベクターが構築され、これによって形質転換された*E.coli*をBTG-5株に接合させることにより、pK18mob-ttg1が伝達・導入されています。2回の相同組換えを経て*TTG*遺伝子以外のベクター由来のDNAが脱落したTTG-1株が取得され、TTG-1株にカナマイシン耐性遺伝子が存在しないことは全ゲノム配列解析で確認されています。

3.宿主の利用ですが、BTG-5株は土壌から単離された *S.mobaraensis* ●●●株由来の変異育種株であり、食品用酵素トランスグルタミナーゼの製造における生産菌として、日本において使用実績があります。

8ページの88行目を御覧ください。4.構成成分ですが、*S.mobaraensis*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1に相当します。

93行目から5.組換え添加物の性質の(1)、(2)は記載のとおりです。

102行目から(3)用途及び使用形態は、従来の添加物と同様に、タンパク質を多く含む食品で用いられ、肉団子等の食肉加工、蒲鉾製造等の水産加工、チーズ・アイスクリーム製造等の乳製品加工、茶碗むし製造等その他食品加工に用いられます。

(4)有効成分の比較ですが、TTG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ますが、従来と比べて高温下での反応性が向上しています。

続いて、115行目から6の(1)今回の改変トランスグルタミナーゼと従来のトランスグルタミナーゼの相違点は、成熟体タンパク質のアミノ酸残基中の複数残基のアミノ酸が置換されている点と、高温下での反応性が向上し耐熱性が向上している点としております。

9ページの121行目から、(2)TTG-1株と宿主との相違点は、TTG-1株には*TTG*遺伝子が導入されており、生産するトランスグルタミナーゼにアミノ酸複数残基の置換が起きている点としております。

以上から、本添加物及び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ております。

続いて、130行目から第2.宿主に関する事項です。

1は記載のとおりです。

2、*S.mobaraensis*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1に相当します。宿主であるBTG-5株は、開発者において食品用酵素トランスグルタミナーゼの製造におけ

る生産菌として使用されてきており、その育種系統株は食品用酵素トランスグルタミナーゼの製造における生産菌として日本及び海外において長年使用され、その間健康上の懸念があったという報告はございません。

続いて、3から5については記載のとおりです。

156行目から第3.ベクターに関する事項ですが、遺伝子導入用ベクターK18mob-ttg1の作成には、*E.coli*及び*Pseudomonas aeruginosa*由来のプラスミドpK18mobが用いられています。

10ページの161行目からの2.性質については、記載のとおりでございます。

184行目から第4の項目です。

1の(1)は記載のとおりです。

(2)の安全性に関する事項です。*S.mobaraensis*は、人に対する病原性及び毒素生産性は知られていません。BTG-5株及びその系統菌株は、従来の食品添加物トランスグルタミナーゼの生産菌として、日本及び海外で長年の使用実績があり、その間健康上の懸念があったという事例、報告はありません。

198行目から2の(1)挿入遺伝子のクローニングまたは合成方法です。*TTG*遺伝子は、BTG-5株よりクローニングしたトランスグルタミナーゼ遺伝子に、PCRによる部位特異的変異法により複数残基のアミノ酸置換が導入された改変遺伝子です。

(2)は記載のとおりです。

207行目から(3)挿入遺伝子の機能です。*TTG*遺伝子がコードする改変トランスグルタミナーゼは、タンパク質また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級アミノ基またはタンパク質も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す。

214行目から、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です。*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を行った結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はありませんでした。

219行目から、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です。*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を行った結果、トランスグルタミナーゼを用いて加工した食品を摂取することでアレルギーが誘発されるとの報告はありませんでした。

225行目から、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です。

(a)人工胃液に対する感受性について、*TTG*の人工胃液中での消化性を調べる目的でSDS-PAGE分析及びウェスタンブロット分析が行われた結果、試験開始後30秒以内に消化されることが示されたとしています。

(b)*TTG*の人工腸液中での消化性を調べる目的でSDS-PAGE分析が行われた結果、試験開始後60分においても完全には分解されないことが示されたとしております。

(c)加熱処理に対する感受性について、*TTG*の加熱処理に対する感受性を調べる目的で、

pH6.0において各温度帯で各時間熱処理した後、残存活性を確認した結果、80℃3分の処理で完全に失活することが示されたとしています。

12ページの240行目から、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です。TTGと既存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を用いて相同性検索が行われた結果、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及び連続する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ませんでした。

247行目からの記載ですが、以上のことから、TTGがアレルギー誘発性を有する可能性は低いと考えられたとしています。

続きまして、3、4、5の(1)については記載のとおりです。

13ページから、(2)目的外のORFの確認については、pK18mob-ttg1が接合伝達された宿主に相同組換えにより導入される領域は明らかであり、TTG遺伝子は宿主に存在するトランスグルタミナーゼ遺伝子を置換するように導入されていることがTTG-1株の全ゲノムのシーケンス解析により確認されています。挿入遺伝子配列であるTTG遺伝子の塩基配列と、その上流下流のそれぞれ1000bpの配列についてORF検索を行った結果、6つの読み枠において終止コドンから終始コドンで終結する連続する30アミノ酸以上のORFが合計17個検出され、これらのORFについて、既知のアレルゲンと既知の毒性タンパク質との相同性検索が実施されています。

その結果、連続する80アミノ酸配列で35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは検出されませんでした。

次の記載なのですが、現在は「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、1つのORFで一致したが、呼吸器誘発性アレルゲンであり、食物アレルギー誘発性の懸念は小さいと考えられた」というだけの記載にしておりますが、本日、申請者のほうから提出されました追加の説明を踏まえ、一致した8アミノ酸配列が導入したTTG遺伝子のターミネーターに位置する領域であり、宿主であるBTG-5株においても存在することなどを追記したほうがよいかどうかということ、後ほど御意見をいただければと思います。

続きまして、評価書案の289行目に戻ります。以上の結果から、17個のORFが翻訳されたとしても、それらの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ました。また、データベース中の既知の毒性タンパク質と相同性を示すORFは検出されませんでした。以上の結果より、導入されたDNAにより新規に生じ得るORFは、既知の食物アレルゲン及び毒性タンパク質との相同性はないものと考えられるとしております。

続いて14ページの309行目、6.DNAの宿主への導入方法です。宿主ゲノムの標的遺伝子座にTTG遺伝子が以下のように接合伝達と相同組換えの手法を用いて挿入されています。

宿主のTG遺伝子の上流領域、TTG遺伝子、宿主のTG遺伝子の下流領域の3つのDNAが結合されてカナマイシン耐性遺伝子を持つプラスミドに挿入され、遺伝子導入用ベクター

が構築されています。そして、pK18mob-ttg1で形質転換された*E.coli*をBTG-5株に接合させることにより、pK18mob-ttg1がBTG-5株に伝達・導入されています。計2回の相同組換えにより、ゲノムTTG遺伝子が挿入されて、TTG遺伝子以外のベクター由来のDNAが脱落したTTG-1株が取得されています。TTG-1株にはカナマイシン耐性遺伝子は残存しておらず、抗生物質耐性遺伝子が含まれないとしています。

7.抗生物質耐性マーカー遺伝子に関して、遺伝子導入用ベクターはカナマイシン耐性遺伝子を持ち、宿主染色体に一旦挿入されるが、生産菌株であるTTG-1株を取得する過程で脱落するため、宿主染色体には残存しておらず、生産菌株に抗生物質耐性マーカー遺伝子は残存しないことがシーケンス解析により確認されているとしています。

続きまして、331行目から第5.組換え体に関する項目です。

1は記載のとおりです。

336行目から2の(1)制限酵素による切断地図に関する事項です。TTG-1株ではBTG-5株の標的遺伝子座に1コピーのTTG遺伝子が挿入されたことが全ゲノム配列解析から確認されました。TTG遺伝子の挿入領域の構成要素及び制限酵素切断地図は明らかになっています。

続いて、343行目から(2)ORFの有無の項目です。TTG-1株の染色体上へのTTG遺伝子の導入により新規に生じ得るORFについて、全ゲノムシーケンス解析の結果を用いて検索が行われた結果、挿入遺伝子配列により新規に生じ得るORFは17個検出されました。これらのORFについて、既存のアレルゲン及び毒性タンパク質との相同性検索が行われた結果、相同性は見られませんでした。

15ページの355行目から、第6.製造原料等に関する事項については記載のとおりです。

366行目、第7の1.諸外国における認可、食用等に関する事項ですが、TTG製品は海外での認可の実績はありません。

続いて、第7の2.組換え体の残存については、PCR法によりDNAの残存がないことを確認しています。

3、4、5及び第8については記載のとおりでございます。

評価書案の説明は以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、評価書について、全体を通して意見、コメント等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います。

途中の8アミノ酸一致のところですが、ここは追記はしてください。

〇〇〇 了解しました。追記をして、また確認をお願いしたいと思います。

〇〇〇 全体を通して、何か皆様のほうからコメント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、〇〇〇、お願いいたします。

〇〇〇 〇〇〇です。

先ほどのアレルゲンの記載のところなのですけれども、追記することで私もいいと思うのですが、追記するのであれば、その前の呼吸器誘発性アレルゲンであり、食物アレルギーの誘発の懸念性は低いと考えられたというようなところを落としてしまってもいいのかなと思うのですが、その根拠としては、ここで見つかっている8アミノ酸の完全一致の配列というのがブタクサ由来のアレルゲンの配列となっていて、それが食物アレルギーの誘発性の懸念が低いというような考えに至るのは少し文章的に違うのかなと思った次第です。

最後の最後で言ってしまって申し訳ないのですけれども、以上です。

〇〇〇 今日いただいた資料で、差し替えの机上配付資料1の確認事項5というところで、今回の一致したアミノ酸配列は導入した *TTG* 遺伝子のターミネーターに一致する領域であり、宿主 *BTG-5* 株においてもトランスグルタミナーゼ遺伝子のターミネーターとして存在するというので、そもそもこの部分が発現していないということで報告されているので、ということであれば、アレルゲンとしての懸念というのはないのではないかと思います。昨日までと情報が変わってきましたので、そのように思います。

〇〇〇 ありがとうございます。

〇〇〇 今、〇〇〇がおっしゃった、上の文章を取ってはということなのですけれども、そこについてはいかがでしょうか。

〇〇〇 取ってしまっても。

〇〇〇 では、取ってしまいましょう。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、ここの修文案を考えまして、また確認をお願いしたいと思います。

〇〇〇 そのほかに御意見はありますか。よろしいですか。

では、〇〇〇の御指摘のところは申請資料を少し変えてもらうということによろしいですよ。

〇〇〇 はい。申請資料を併せて変えさせていただきます。外来遺伝子が含まれていないとかそういったところについても修正を依頼するようにいたしますので、併せて修正させていただきます。

〇〇〇 それでは、今回は酵素活性の測定法とか *TOS* とか後で確認する事項が残っておりますので、全員と専門参考人の先生方に配付していただきまして、大きくずれていないとか問題がないということが分かりましたら、メール審議という形になるかと思いますけれども、それを確認していただいて、その後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。

〇〇〇 了解いたしました。

〇〇〇 それでは、ちょっと時間はかかりましたけれども、続きまして、新規品目である「*PRO-No.1*株を利用して生産されたL-プロリン」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 ありがとうございます。

それでは、お手元に薄いほうの水色の紙ファイルを御準備ください。

審議資料の2ページ目を御覧ください。

申請品目であるL-プロリンの食品添加物としての概要です。本添加物は既存添加物に該当し、化学構造、分子式、分子量、含量、性状等についてはこちらに記載のとおりでございます。

3ページ目を御覧ください。

用途は、食品添加物として調味料や栄養強化を目的とした強化剤の用途で用いられます。

4ページを御覧ください。

製造方法等の概要です。

2-1を御覧ください。生産菌である *E.coli* PRO-No.1株は、*E.coli* K-12株由来の突然変異株である240-18株を宿主として作成されています。

(1) 宿主は *E.coli* K-12株由来の突然変異株240-18株を使用しています。

(2) 遺伝子の組み込みに際しては、2つのベクターが用いられております。一つはmini-Muベクターで、もう一つが●●●の仕組みを利用して *E.coli* 染色体への遺伝子組み込みが行える、こちらに記載しております●●●ベクターでございます。

(3) 挿入遺伝子についてです。PRO-No.1株の構築においては、L-プロリン生合成関連遺伝子の●●●を増加させることにより、L-プロリンの生成効率を高めることを目的として、宿主染色体に *E.coli* K-12株を由来とするL-プロリン生合成経路に関与する●●●が挿入されています。これらの遺伝子は●●●して、(2) で説明した2つのベクターのいずれかを用いて染色体に組み込まれます。

●●●は宿主から単離したものですが、●●●されています。ただし、●●●ということで、●●●による新たな安全性の懸念がある産物の生成は想定されないと考察しております。また、生産菌であるPRO-No.1株が保有している●●●は、●●●で、●●●ということで、今回の●●●と考察しております。

5ページを御覧ください。

(4) プロモーターはK-12株由来の配列から成っているもので、mini-Muベクターを用いて組み込まれた●●●の下に発現するように構成されております。

(5) 今回の生産菌であるPRO-No.1株は、目的遺伝子の種染色体への組み込み●●●行うことで構築されており、抗生物質耐性マーカーは有していません。

7ページを御覧ください。

L-プロリンの製造工程です。発酵により得られたL-プロリン発行液から組成工程で生産菌を系外に除去し、●●●により発酵副産物も系外に除去した後に、晶析することで高純度のL-プロリンを取得しております。

8ページ目を御覧ください。

3.申請品目と現行製品の品質の比較になります。L-プロリンの食品添加物公定書に記載された規格分析結果が表に示されております。規格分析結果から、申請者は今回の申請品目の品質は現行品と同等と考えるとしております。

9ページを御覧ください。

製品の不純物プロファイルの比較結果でございます。

まず、i) アミノ酸自動分析計による比較です。こちらに記載された条件で分析をした結果、検出限界以上の不純物は観察されなかったとしています。

10ページ目を御覧ください。

ii) 不純物検出HPLC-1法による親水性不純物の比較です。これもこちらに記載された条件で分析をした結果、検出限界以上の不純物は観察されなかったとしています。

続きまして、iii) HPLC-2法により疎水性不純物の比較をした結果、こちらも検出限界以上の不純物は観察されておりません。

一番下の記載ですが、これらの結果から、申請品に新規不純物や増加不純物は検出されず、安全上問題となる不純物はないと考えられたと考察をしております。

11ページを御覧ください。

製品のタンパク質の残存量を膜濃縮ブラッドフォード法により測定しており、表のとおり、いずれも検出限界未満という結果でした。

(4) まとめの記載になりますが、以上のことから、本申請品目であるL-プロリンは、高度に精製した非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方の要件1及び2を満たすと考えられるという考察になっております。

申請書の説明は以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

今回はアミノ酸等の高度精製品という形で申請書が作成されております。

それでは、皆様の御意見を伺いたいと思います。

まず、1ページ目から7ページ目までの製造方法の概要までに関しまして、何かコメント等がありましたらお願いいたします。

今回、導入遺伝子がどこに入っているかとか何コピー入っているかについては詳しくは書かれていなかったもので、事前に私のほうから分かる範囲で教えてくださいという形でお聞きしてありまして、それは机上配付資料4という形で配られております。

こちら辺の遺伝子操作のところについて、〇〇〇、何かコメントがありましたらお願いいたします。

〇〇〇 いずれの方法も大腸菌の系でよく使われる系で、問題はないと考えております。

ただ、気になったのは、6ページのところで、●●●を、●●●ですかね。それを●●●するとき●●●というところの実際の説明が抜けていたかなど。特にさらっと書かれていて、どうやって●●●したのかというのがよく分からなかったのですけれども、こういうところは追求したほうがよろしいのでしょうか。それがちょっと気になったところです。

以上です。

〇〇〇 それは、後ほど申請者をお呼びしますので、お聞きください。

ほかにコメント等はありませんでしょうか。よろしいですか。

それでは、申請資料の8ページ目から最後までということで、HPLC等での品質確認のところですけども、今回不純物ピークは基本的に検出されませんでしたという形で、非常に晶析がうまくいくのか、ほとんど何も入ってこないという形になっておりますけれども、ここら辺の検出感度等について、もし〇〇〇のほうから何かコメントをいただけましたらお願いしたいのですけれども。

〇〇〇 8ページからですけども、公定書の規格に合うのは当たり前で、合っていなかったら流通できないので、それはいいのですが、この後のアミノ酸自動分析計による分析では、他のアミノ酸が入っていないことを確認して、大丈夫だよということが9ページで示されています。

10ページでは、HPLCの1と2のところ、それ以外の不純物についてUVの210nmで検出できるものを確認しているの、その検出波長で確認できるものはなかったという判断になります。

ほかのUVがないものとか、そういうものの不純物については確認していませんが、多分大丈夫だろうとは思っています。

あと1つ言うならば、今の時代、プロリンの標準物質もちゃんと売られていますから、これとの比較をして、ちゃんと定量をして定量値を出すべきなのではないかと思っています。

以上です。

(接続確認)

〇〇〇 復旧できたと思います。

〇〇〇、すみません。アミノ酸自動分析計によるところというところで切れてしまいました。もう一度そこから御説明いただいてもよろしいでしょうか。

〇〇〇 はい。何ページですか。

〇〇〇 9ページになります。

〇〇〇 9ページのところで、アミノ酸分析計でプロリン以外のアミノ酸は見られないということが確認できているということ。あと、10ページのところで、アミノ酸以外の不純物について、疎水性と親水性のカラムHPLC1と2の方法を用いて、UV210nmで検出できるものを確認しています。

ですので、一応不純物はないと思われるのですけれども、UVがないものはこの方法では検出できないわけですから、念のためと言え、本当のところは、今の時代でしたらプロリンの標準物質というのは売られていますから、それを用いてこの申請品の含量も一応出しておいたほうがよかったのだらうとは思っています。ここにはそういう資料はないのですが、裏づけるという意味で、標準物質を用いた純度の確認というのはやっておいたほうがいいのだらうとは思っています。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

従来、現行製品と比較してという形で運用してきていますので、標準物質との比較という形では取ってきてはおりませんので、今回、非常にきれいだとは思っているので、一応そこまでは求めなくてもいいかなとは感じるのですけれども。

〇〇〇 できれば次から求めてもらいたいです。今回はよしとしても、今の9版の方法というのはかなり古い方法、滴定法ですので、混ざっていても全部出てしまうのですよね。だから、今の時代だったら、現行製品と申請品目の両方について標準物質との比較というのはしておいてもらいたいとは思っています。

今回については、ほかにピークが見えているわけでもないのいいとは思っているのですけれども、次からはその辺りも考えていただきたいなと思います。

〇〇〇 1つお伺いしたいのですけれども、標準物質というのは、全てのアミノ酸というわけではないのですけれども、添加物で使うようなアミノ酸では全部用意されているようなものなのでしょうか。

〇〇〇 現在においてはほぼ全部そろっていると思うので、確認したわけではないのですが、プロリンについてはちゃんと売っているはずですし、最近そのアミノ酸分析計においても定量値がばらつくということがないように標準物質が供給されています。それを用いた定量というのはできるようになっていますから、そういう試験は、例えば現行製品を、標準物質を用いて、この規格に合わなくてもいいわけですよ。両方とも98、98とか97、97になっていたら同等品ということが確認できるわけなので、そういう試験は入れておいてもいいかなと思います。

〇〇〇 分かりました。

この点については、技術的文書のほうで少し検討してみましようか。今、評価指針のほうを改定してしまして、添加物のほうでも技術的文書というのをこれからやるのですよね。

〇〇〇 そのとおりです。

〇〇〇 そちらのほうで少し検討してみて、何かしら対応ができるかどうか考えてみたいと思います。

標準物質がそろっているものについては、標準物質もやってくださいというのは一つの考え方だとは思っているので、技術的文書で考えるときに少し検討してみたいと思います。

〇〇〇 よろしくお願ひします。

〇〇〇 1つだけすみません。

お金で買える標準物質はどのぐらいの純度なのでしょうか。現在の最も鋭敏な分析装置でかけても全く不純物が出ないレベルの標準物質というのがそろっておるものなのでしょうか。私、その辺を知らないなので、教えていただくとありがたいのですが。

〇〇〇 標準物質ですけれども、今、Webで検索したら出てくると思うのですが、富士フイルム和光さんとか、普通の試薬メーカーで今、そんなに高くない値段で売られていると

思います。

純度については、国際体系に基づいたと言えいいのですかね。妥当な手続で純度がつけられているので、例えば99%という値がついていたら、それに対して不確かさがプラマイ0.5%ありますよと。そういう不確かさも含めた値がつけられたものが、よく使われるものは流通するようになってきています。アミノ酸は、特に昔からアミノ酸分析というのはばらつくよというのがあったので、標準物質が3~4年前ぐらいからそんなに高くない価格で売られるようになっていました。それを基準にして定量すれば、国際体系にひもづいた値、しっかりとした値が出せるようになってきているかと思います。

以上です。

〇〇〇 現行でその辺のメーカーが出しているアミノ酸というのも相当な純度でして、結構鋭敏な装置で測ってもほぼ100%とか100.01%とかになったりするようなレベルなので、これに比べて明らかに純度が高くなければ標準物質として役に立たないというレベルまで現在来ているように私は認識していたのですけれども、そんな鋭敏な装置で測っても全く不純物のピークが出てこないほどの標準物質というのが普通に手に入るものなのでしょうか。重ねての質問で申し訳ないです。

〇〇〇 というか、昔から100%ぐらいのものが流通していたのですけれども、100%なのか99%なのかということ、妥当な手続をちゃんとやってみて、絶対量が99なのか100なのかというのがちゃんと値づけられたものが流通しているという意味です。

先生の言うところの100%ぐらいのものが流通していたというのは、単純に試薬メーカーのほう勝手にそう言っているだけで、ではなくて、ちゃんとした計量法に基づいて求めてみたら100だったというものが今流通しているようになっているということです。

意味は分かりましたでしょうか。分かりにくいかもしれない。

〇〇〇 ごめんなさい。ちょっとよく分からない。

〇〇〇 昔の100というのは、本当かどうか分からなかったのですよ。液クロをかけてみたら、ピークが1本しか見えなかったとかということだったのですけれども、今はそれだけではなくて、水分測定をしたり、あと、液クロ以外の試験をして、それを全部差し引いていって純度を求めているから、100と言ったら本当にほかに全く不純物がないことが確認されたというものが流通しているようになっているということです。昔のは単純に液クロで1ピークだったとか、あとは滴定してみたら100だったと試薬メーカーが勝手に言っているだけのものだったのです。今は妥当な手続で100を証明しているという意味です。

〇〇〇 先生のおっしゃりたいことは大体分かりました。

でも、現行で申請者らが出しているアミノ酸は、既にほとんどそのレベルに達していて、標準物質と比べてもほとんど遜色ないのではないかと思うのですけれども、それでも標準物質と比較したデータを毎回求めるべきだと先生はお考えでしょうか。

〇〇〇 もしそうではなかったら、少なくとも現行のものと同じ条件で同じ量に溶かしたものを比較して、同じ面積になるという確認はしておいたほうがいいと思います。それぐ

らいはやっておいていいと思います。

〇〇〇 例えば食安委のほかの添加物とかそういうものというのは、規格基準はリスク管理機関で設定する。その審議過程のデータを我々が受け取って、仮にこういう規格基準で管理した製品についての安全性を我々が確認するということが旧来の役割分担。

それで、どうも組換えは規格基準から我々がオーソライズするのだと取られがちなのだけれども、今の〇〇〇がおっしゃったレベルのことは、私は規格基準の側がやるべきことで、安全性ということで言うと、やはり我々は不純物のほうを主体に評価すると個人的には考えます。

あと、組換えの技術を持って製造したときに生じるリスクももちろんあるのだけれども、その辺り、私、何となく、管理に関わる詳細な話は、今後はリスク管理機関の消費者庁でデータを要求して考えてねというレベルかなと思います。いずれにしてもこれを今議論しても長い議論になりそうなので、今般作成中の技術的文書に我々がそういうふうに今度急に書き込んでしまうと、我々が見るデータはそうせねばならないとなるけれども、私、そこはやはり規格基準側の問題で、リスク管理の担当ではないかなという気がして聞かせていただきました。

この議論をやっているとまた長くなるから、いずれにしても、さっきの問題と同じように、その延長線みたいにして、どこか別の機会にやったほうが良いように聞いていて思いました。どうでしょう。

〇〇〇 同意いたします。

〇〇〇 リスク管理の部分と公定書の部分も含めて、それはリスク管理側のほうの占める部分が大きいので、確かにこちら側でどうこうというところでもないかとは思いますが、ただ一方で、この%の意味づけは本当にどうなのですかと。単純にその部分もあるので、そこは技術的文書のときにもう一度検討してみたいなとは思いますが。要するに、昔ながらの100%の求め方でいいのですかというところもあるのかと思うので、そこは少し検討してみたいと思います。

そのほか、ありますでしょうか。

それでは、たしか1か所質問事項がありましたよね。●●●のところですね。

では、申請者をお呼びしてください。45分まで休憩したいと思います。

(休 憩)

〇〇〇 それでは、質疑応答に入りたいと思います。

まず、説明者の方は自己紹介をお願いします。会社名と名前ぐらいで結構です。

〇〇〇 味の素株式会社のアミノ酸部という部署に所属しております、〇〇〇と申します。よろしく願いいたします。

〇〇〇 そうしましたら、いつもお世話になっております。味の素株式会社品質保証部の

レギュラートリーサイエンスグループ、〇〇〇と申します。よろしくお願いいたします。

〇〇〇さん、お願いします。

〇〇〇 味の素株式会社バイオ・ファイン研究所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、1点質問がございますので、〇〇〇の方からお願いいたします。

〇〇〇 よろしくお願いいたします。

申請書の6ページの株の構築のところなのですが、2.構築方法の●●●のところです。●●●ということなのですが、これは●●●という記載が上の2つの説明よりは省略されているかなと思ったのでお聞きしたいのですが、いかがでしょうか。

以上です。

〇〇〇 もう一度すみません。手元に資料は用意してあったのですが、添付資料1でしょうか。

〇〇〇 〇〇〇、すみません。添付資料ではなくて、申請要旨のほうです。

〇〇〇 要旨のほうでございますね。失礼しました。

〇〇〇 6ページ、「PRO-No.1株の構築について」というページになります。

〇〇〇 例えば添付資料に記載されている●●●のところの●●●ということでお間違いないでしょうか。

〇〇〇 そちらの部分で、申請書のほうに●●●というところが抜けていたので、お聞きしたのですが。

〇〇〇 これに関しましては、●●●というような形で御説明をさせていただいているという理解しております。

もしかいたしますと、こちらの手違いでページ数にずれ生じてしまっている可能性がございますが、添付資料1の図5のところに●●●という形で、細かい図になってしまいますので、お手元の資料で御確認いただければと思いますが、御確認いただけますでしょうか。

〇〇〇 こちらのほうで資料を見させていただきまして、添付資料のほうは分かったのですが、もしよろしければ、こちらの申請書の要旨のほうにも、●●●というところを記載していただいたほうがより分かりやすいかなと思うのですが。

〇〇〇 承知いたしました。すみません。

今、確認が取れまして、●●●に関しましては、●●●いたしまして、●●●というのが●●●となります。

〇〇〇 ありがとうございます。

先ほどの繰り返しになりますけれども、申請書のほうにも少し記載をいただけるとありがたいです。

〇〇〇 承知いたしました。大変失礼しました。ありがとうございます。

〇〇〇 このほか、委員の先生方から追加で何か。

〇〇〇、どうぞ。

〇〇〇 せっかくそのページがあるようなので、プロリンを合成するのに●●●と何でプロリンの生合成が増えるのか。プロリンはグルタミン酸からで、●●●、全然経路が違うのだけれども、特許とかにもなっていて、●●●とプロリンとかその辺の生産量が上がるというのはあるのだけれども、原理が分からないので、もしすぐお分かりでしたら教えていただけるととてもありがたいです。興味本位なので、すぐ分からなければ結構です。

〇〇〇 少々お待ちください。

〇〇〇 一応●●●にすると、発酵の不利を生じたとそのときの開発者の話で聞いてはいるのですけれども。

〇〇〇 ありがとうございます。

特許のほうにもそこまでしか書いていなくて、原理が書いていなかったのを知りたかっただけです。本件の安全性には直接関係ございませんので、結構です。

〇〇〇 またここは開発したものに問い合わせまして、分かり次第、先生のほうにお知らせできればと思います。ありがとうございます。

〇〇〇 そのほかありませんでしょうか。

よろしいですね。

それでは、質疑応答のほうはこれで終了とさせていただきます。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。

(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。

今の回答を踏まえまして、皆様からコメント等がありましたらお願いいたします。

よろしいですか。

〇〇〇 今回の申請は、不純物のところでほとんどプロリンのピーク以外は、1個小さいピークがちょこっと見られるのがあるのですけれども、ほとんどない。

過去のプロリンの申請の不純物の確認をしているのを見ると、プロリンの場合はどうも、他社のものに関してほとんど類似の形のクロマトなので、プロリンの場合は不純物はそんなに出ないのかなど。そこは確認しました。

以上です。

〇〇〇 ありがとうございます。

私もプロリンはきっと晶析が極めてうまくいくのだらうなと思っております。

それでは、安全性上の問題はないと思いますので、ないということで判断してもよろしいでしょうか。御意思をお願いします。

よろしいでしょうか。皆さん、丸かの同意か意思表示をしていただけるとありがたいです。

ありがとうございます。

それでは、評価書のほうに進みたいと思います。よろしくをお願いします。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、評価書案を説明いたします。資料2と書かれた冊子をお手元に御準備ください。

19ページからが本品の評価書案になっております。

22ページを御覧ください。

I. 評価対象添加物の概要です。24行目から、本添加物は、*E.coli* K-12株由来の突然変異株である240-18株を宿主として、L-プロリンの整合性に関与する遺伝子等の挿入を行って作製されたPRO-No.1株を利用して生産されたL-プロリンです。

L-プロリンは、食品添加物として使用が認められており、成分規格が食品添加物公定書に収載されています。

PRO-No.1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、経済協力開発機構（OECD）では優良工業製造規範（GILSP）が適用できる宿主微生物として認定されています。また、PRO-No.1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。

なお、PRO-No.1株は抗生物質耐性マーカー遺伝子を有していません。

72行目からII. 食品健康影響評価です。

1.本添加物は、製造工程において使用微生物及び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おり、食品添加物公定書の含量規格を満たしています。

2.本添加物の非有効成分につきましては、最終製品において、（1）タンパク質は検出限界（1μg/g）未満である。（2）食品添加物公定書の成分規格を満たしている。（3）アミノ酸分析及びHPLC法（親水性及び疎水性）による分析の結果、検出限界以上の非有効成分は従来品と同様に認められなかったということでございます。

54行目からの記載です。以上から、従来品と比較して非有効成分の含有量は安全上問題となる程度にまで増加しておらず、かつ、有害性が示唆される新たな非有効成分を含有していないと考えられるとしております。

23ページを御覧ください。

本日の議論を踏まえまして、3として、1及び2の結果から、本添加物については、「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評価の考え方」に基づき、安全が確認されたと判断した。したがって、本添加物については、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」による評価は必要ないと判断したという記載にしたいと考えます。

説明は以上になります。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、評価書について御意見、コメントをお願いしたいと思います。

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。

全体を通して何かありますでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、評価書について、後ほど細かいところで気づいたところがありましたら、また事務局のほうにお伝えください。

申請書については、修正箇所というか、●●●のところの記載については私と〇〇〇と事務局で確認しておきたいと思います。

また、●●●というのも多分上がってくるかと思いますが、その点については〇〇〇に御確認いただくということにしたいと思います。

その確認が終わった後、今回の案件について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。

時間をオーバーしておりますけれども、それでは、議題（1）についてはこれで終わりたいと思います。

議題（2）のその他ですけれども、事務局から何かありますでしょうか。

〇〇〇 特にございませぬ。

〇〇〇 ありがとうございます。

それでは、本日の議題についてはこれで終了いたしたいと思います。

以上をもちまして、第248回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。

活発な御議論、大変ありがとうございました。適宜御退室をお願いいたします。