

XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼの申請概要

1. 申請品目（XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼ）の概要

本申請品目は、ヘミセルラーゼの生成効率を高めるため、*Bacillus subtilis* 168 株由来の突然変異株を宿主とし、ヘミセルラーゼの分解に関与する遺伝子（プロテアーゼ遺伝子）を欠失させた後に、*B. subtilis* 168 株由来のヘミセルラーゼ遺伝子と *Bacillus amyloliquefaciens* 由来のプロモーターを導入して構築した XAS 株より生産されたヘミセルラーゼである。

なお、最終菌株 XAS 株においては、ネオマイシン及びブレオマイシン耐性遺伝子を有するが、ともに遺伝子伝達性は有していない。

2. 申請品目の利用目的及び利用方法

ヘミセルラーゼはヘミセルロースを加水分解する酵素の総称であり、XAS 株より生産されたヘミセルラーゼと従来のヘミセルラーゼには利用目的や利用方法に関して相違はない。

3. 備考

申請者は、XAS 株構築の過程において用いた *B. subtilis* 以外に由来する DNA については、

- ・ベクターに用いた大腸菌由来の DNA は、形質転換以前に除去されており XAS 株に含まれていないこと
- ・*B. amyloliquefaciens* は、独立した種として位置づけられる以前は *B. subtilis* として取り扱われていたこと

から、XAS 株には異種の微生物に由来する DNA は導入されておらず、本申請品目は、「組換え DNA 技術によって最終的に宿主に導入された DNA が、当該微生物と分類学上の同一の種に属する微生物の DNA のみである場合」に該当する微生物を利用して生産されたものと考えられるとしている。

NIA1718 株を利用して生産されたインベルターゼの申請概要

1. 申請品目（NIA1718 株を利用して生産されたインベルターゼ）の概要

インベルターゼは、主としてショ糖をブドウ糖と果糖に加水分解する酵素であるが、酵素の特性及び反応条件によってショ糖に果糖を結合させる転移反応を触媒することが知られており、オリゴ糖製造にも利用されているものである。

本申請品目は、ショ糖にインベルターゼを作用させることにより生成するオリゴ糖の一つである 1-ケストースの生成効率を高めるため、宿主 *Aspergillus niger* NIA5292 株の内在性インベルターゼ遺伝子を欠失させた後に、宿主の元株である *A. niger* ATCC20611 株由来のインベルターゼ遺伝子を 3 アミノ酸改変した改良インベルターゼ遺伝子を導入して構築した NIA1718 株より生産されたインベルターゼである。

なお、最終菌株 NIA1718 株においては、選抜マーカー遺伝子を有さない。

2. 申請品目の利用目的及び利用方法

本申請品目は、ショ糖に果糖を結合させる転移反応の触媒に用いられるものであり、1-ケストースの生成効率が高まること以外は、従来のインベルターゼと相違はない。

3. 備考

申請者は、NIA1718 株構築の過程において用いた *A. niger* 以外に由来する DNA については、形質転換以前に除去されており NIA1718 株に含まれていないことから、本申請品目は、「組換え DNA 技術によって最終的に宿主に導入された DNA が、当該微生物と分類学上の同一の種に属する微生物の DNA のみである場合」に該当する微生物を利用して生産されたものと考えられるとしている。

GGI 株を利用して生産された L-グルタミンの申請概要

1. 申請品目（GGI 株を利用して生産された L-グルタミン）の概要

本申請品目は、L-グルタミンの生成効率を高めるため、*Corynebacterium glutamicum* KY9002 株を宿主とし、L-グルタミンの分解、生合成の抑制に関与する遺伝子等を欠失させた後に、同株由来の L-グルタミンの生合成関与遺伝子及び改変 L-グルタミンの生合成関与遺伝子を導入して構築した GGI 株より生産された L-グルタミンである。

なお、最終菌株 GGI 株においては、選抜マーカー遺伝子を有さない。

2. 申請品目の製造方法の概要

培養工程により得られた L-グルタミン発酵液から、粗精製工程において生産菌及び発酵副生物を系外に除去した後、最終精製工程において晶析、分離などの工程を経て高度に精製された L-グルタミン結晶を取得する。この精製結晶を乾燥、包装することで食品添加物である L-グルタミンを得る。

3. 申請品目の品質

①GGI 株から得られた L-グルタミンは食品添加物公定書規格を満たしている

②GGI 株から得られた L-グルタミンの非有効成分の分析の結果、最終製品において、

- a) ドットプロット法でタンパク質は検出されなかった。
- b) アミノ酸アナライザー法で新規不純物は検出されず、検出された既存不純物含量は現行製品の振れ幅の範囲内であった。
- c) 不純物 HPLC 法-1 で親水性の新規不純物は検出されず、検出された既存不純物含量は現行製品の振れ幅の範囲内であった。
- d) 不純物 HPLC 法-2 では疎水性の新規不純物は検出されず、検出された既存不純物含量は現行製品の振れ幅の範囲内であった。

以上 a) ~ d) の結果から、申請品目について、既存の非有効成分の含有量が安全性上問題となる程度まで有意に増加しておらず、また、有害性が示唆される新たな非有効成分を含有していることは考えられない。

申請者は、以上①及び②の結果より、GGI 株を利用して生産された L-グルタミンは「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」の要件を満たしていると考えられるとしている。