

## 遺伝子組換え食品等専門調査会における審議結果について

## 1. 審議結果

厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた「BR151 (pUMQ1) 株を利用して生産された 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ」に係る食品健康影響評価(平成 23 年 11 月 8 日付け厚生労働省発食安 1108 第 1 号)については、平成 23 年 11 月 25 日に開催された第 98 回遺伝子組換え食品等専門調査会(座長: 澤田純一)において審議され、審議結果(案)が取りまとめられた。

審議結果(案)については、幅広く国民に意見・情報を募った後に、食品安全委員会に報告することとなった。

2. 「BR151 (pUMQ1) 株を利用して生産された 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ」の食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果(案)」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

## 1) 募集期間

平成 24 年 1 月 12 日(木)開催の食品安全委員会(第 414 回会合)終了後、平成 24 年 2 月 10 日(金)までの 30 日間。

## 2) 受付体制

電子メール(ホームページ上)、ファックス及び郵送

## 3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、遺伝子組換え食品等専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

遺伝子組換え食品等評価書

BR151 (pUMQ1) 株を利用して生産された  
4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ

2012年1月

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 目次

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

第6	組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項	12
1	添加物の製造原料又は製造器材としての使用実績があること	12
2	添加物の製造原料又は製造器材としての安全性について知見が得られていること	12
第7	遺伝子組換え添加物に関する事項	13
1	諸外国における認可、食用等に関する事項	13
2	組換え体の残存に関する事項	13
3	製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項	13
4	精製方法及びその効果に関する事項	13
5	含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動に関する事項	13
第8	第2から第7までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要事項	13
Ⅲ.	食品健康影響評価結果	13
<参照>		14

### <審議の経緯>

2011年11月8日

厚生労働大臣から遺伝子組換え食品等の安全性に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安1108第1号）、関係書類の接受

2011年11月10日

第406回食品安全委員会（要請事項説明）

2011年11月25日

第98回遺伝子組換え食品等専門調査会

2012年1月12日

第414回食品安全委員会（報告）

### <食品安全委員会委員名簿>

小泉直子（委員長）

熊谷 進（委員長代理）

長尾 拓

野村一正

畑江敬子

廣瀬雅雄

村田容常

### <食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿>

澤田純一（座長）

鎌田 博（座長代理）

五十君静信                      手島玲子

宇理須厚雄                      中島春紫

橘田和美                         飯 哲夫

児玉浩明                         和久井信

澁谷直人

## 要 約

「BR151 (pUMQ1) 株を利用して生産された 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ」について申請者提出の資料を用いて食品健康影響評価を行った。

本添加物は、4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼの生産性及び品質を高めるために、*Bacillus subtilis* BR151 株を宿主として、*Thermus thermophilus* ATCC33923 株由来の 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子を含む発現プラスミド pUMQ1 を導入して作製した BR151 (pUMQ1) 株を利用して生産された 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼである。本添加物は、デンプンの  $\alpha$ -1,4-D-グルコシド結合を切断し、新たに  $\alpha$ -1,4-D-グルコシド結合を形成する反応を触媒する酵素であり、高分子糖質を製造するために使用される。

「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」（平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定）に基づき、挿入遺伝子の安全性、挿入遺伝子から産生されるタンパク質の毒性及びアレルギー誘発性、遺伝子の導入後の塩基配列の解析等について確認した結果、従来 of 添加物と比較して新たに安全性を損なうおそれのある要因は認められなかった。

したがって、本添加物については、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断した。

## I. 評価対象添加物の概要

品 目：BR151(pUMQ1)株を利用して生産された 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ

用 途：デンプンの  $\alpha$ -1,4-D-グルコシド結合を切断し、新たに  $\alpha$ -1,4-D-グルコシド結合を形成する反応を触媒する酵素であり、高分子糖質を製造するために使用される。

申請者：江崎グリコ株式会社

開発者：江崎グリコ株式会社

本添加物は、4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼの生産性を高めるために *Bacillus subtilis* BR151 株を宿主として、*Thermus thermophilus* ATCC33923 株由来の 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子を含む発現プラスミド pUMQ1 を導入して作製した BR151(pUMQ1)株を利用して生産された 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼである。

## II. 食品健康影響評価

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

#### 1 従来の添加物の性質及び用途等に関する資料

##### (1) 名称、基原及び有効成分

従来の添加物の名称、基原及び有効成分は、以下のとおりである。

名 称： $\alpha$ -グルコシルトランスフェラーゼ

基 原：*T. thermophilus* ATCC33923 株

有効成分：4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ

IUB 分類命名法による系統名及び酵素番号並びに CAS 番号は以下のとおり。

IUB 分類名：4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ

系 統 名：

1,4- $\alpha$ -D-Glucan:1,4- $\alpha$ -D-glucan 4- $\alpha$ -D-glycosyltransferase

IUB No. : 2.4.1.25

CAS No. : 9032-09-1

##### (2) 製造方法

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼは、*T. thermophilus* ATCC33923 株を生産菌として用い、培養工程、精製工程を経て製造される。

生産菌は、精製工程におけるろ過により、除去される。

##### (3) 用途及び使用形態

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼは、デンプンの  $\alpha$ -1,4-D-グルコシド結合を切断し、同時に生じた末端を非還元末端に連結して新たな  $\alpha$ -1,4-D-

ーグルコシド結合を合成する反応を触媒する酵素であり、高分子糖質を製造するために使用されている。

#### (4) 摂取量

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼは、デンプンの加工に使用されるが、最終製品である高分子糖質の製造工程において失活し、除去され、最終製品には残存しない。

## 2 宿主及び導入 DNA

### (1) 宿主の種名（学名）、株名等及び由来

宿主は、*B. subtilis* 168 株の突然変異株 *B. subtilis* BR151 株であり、芽胞形成能を失っている。

### (2) DNA 供与体の種名、株名又は系統名等及び由来

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子の供与体は、*T. thermophilus* ATCC33923 株である。

### (3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子は、評価対象添加物である 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼを発現する。

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子を含む発現プラスミド pUMQ1 を宿主に導入した。

## 3 宿主の添加物製造への利用経験又は食経験に関する資料

*B. subtilis* は、食品製造用酵素の生産菌として数多くの利用経験があり、長期にわたり食品製造に安全に使用されている。また、経済開発協力機構（OECD）において、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る。

## 4 宿主の構成成分等に関する資料

*B. subtilis* が有害生理活性物質を生産するという報告はない。

## 5 遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料

### (1) 製品名及び有効成分

本添加物の製品名及び有効成分は以下のとおりである。

製品名：TaqAM

有効成分：4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ

IUB 分類命名法による系統名及び酵素番号並びに CAS 番号は以下のとおり。

IUB 分類名：4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ



系 統 名 :

1,4- $\alpha$ -D-Glucan:1,4- $\alpha$ -D-glucan 4- $\alpha$ -D-glycosyltransferase

IUB No. : 2.4.1.25

CAS No. : 9032-09-1

## (2) 製造方法

TaqAM は、*B. subtilis* BR151(pUMQ1)株が生産菌として用いられ、製造される。製造方法は、従来の添加物と基本的には同様であり、培養工程及び精製工程を経て製造される。

生産菌は、精製工程におけるろ過により、除去される。

## (3) 用途及び使用形態

TaqAM は、従来の添加物と同様にデンプンの加工に使用され、用途及び使用形態は、従来の添加物と変わらない。

## (4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較

TaqAM は従来の添加物と同じ反応を触媒する酵素である。

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

本添加物と従来の添加物のアミノ酸数及びアミノ酸配列、反応至適温度、反応至適 pH は変わらない (参照1)。

BR151(pUMQ1)株と宿主との相違点は、BR151(pUMQ1)株に 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子を含む発現プラスミド pUMQ1 が導入され、4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ産生性を獲得している点並びにカナマイシン及びブレオマイシン耐性を獲得している点である。

以上 1～6 より、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、第 2 以下の各事項について評価を行った。

## 第 2 宿主に関する事項

### 1 分類学上の位置付け (種名 (学名) ・株名等) に関する事項

宿主は、*B. subtilis* 168 株の突然変異株 *B. subtilis* BR151 株である。

*B. subtilis* は、広く自然界に存在し、食品製造用酵素の生産菌として数多くの利用経験があり、ヒトは納豆等の食品を通じて多くの食経験がある。

また、経済開発協力機構 (OECD) において、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る。

### 2 病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項

*B. subtilis* の病原性は知られておらず、有害生理活性物質を生産するという報

告はない。また、国立感染症研究所病原体管理規程のバイオセーフティレベル1に該当する。

### 3 寄生性及び定着性に関する事項

*B. subtilis* が腸管内に定着する可能性はあるが、ヒトは納豆等の食品を通じて食経験を有することから、安全上問題はないと考えられる。

### 4 病原性の外来因子(ウイルス等)に汚染されていないことに関する事項

*B. subtilis* BR151 株には、病原性の外来因子の存在を示唆する事実は認められていない。

### 5 宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項

*B. subtilis* の近縁種である *Bacillus cereus* 及び *Bacillus anthracis* は、毒性物質を生産することが知られているが、*B. subtilis* とは明確に区別されている。

## 第3 ベクターに関する事項

### 1 名称及び由来に関する事項

発現プラスミド pUMQ1 の作製には *Staphylococcus aureus* 由来のプラスミド pUB110 が用いられた。pUB110 は、食品用酵素の製造等に長年安全に利用されており、ヒトに対する有害性は知られていない（参照2）。

### 2 性質に関する事項

#### (1) DNA の塩基数及びその塩基配列を示す事項

プラスミド pUB110 の塩基数及び塩基配列は明らかになっている。

#### (2) 制限酵素による切断地図に関する事項

プラスミド pUB110 の制限酵素による切断地図は明らかになっている。

#### (3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

プラスミド pUB110 の塩基配列は明らかになっており、既知の有害塩基配列は含まれていない。

#### (4) 薬剤耐性に関する事項

プラスミド pUB110 にはカナマイシン耐性遺伝子及びブレオマイシン耐性遺伝子が含まれている。

#### (5) 伝達性に関する事項

プラスミド pUB110 には伝達を可能とする塩基配列は含まれていない。

#### (6) 宿主依存性に関する事項

プラスミド pUB110 の複製開始配列は、*Staphylococcus* 属菌及び *Bacillus* 属菌で機能することが知られているが、それら以外の菌で機能することは知られていないことから、宿主依存性は高いと考えられる。

#### 第4 挿入 DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項

##### 1 挿入 DNA の供与体に関する事項

###### (1) 名称、由来及び分類に関する事項

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子の供与体は、*T. thermophilus* ATCC33923 株である。

###### (2) 安全性に関する事項

*T. thermophilus* ATCC33923 株は、好熱性、好気性の独立栄養化学合成細菌であることから、ヒトへの寄生性又は感染性を有するとは考えられない（参照3）。また、*T. thermophilus* は「研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令」（平成 16 年文部科学・環境省令第 1 号）に基づく告示（平成 16 年文部科学省告示第 7 号）においてクラス 1 に分類され、ヒトに対する病原性はないとされている。

##### 2 挿入 DNA 又は遺伝子（抗生物質耐性マーカを含む。）及びその遺伝子産物の性質に関する事項

###### (1) 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法に関する事項

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子は *T. thermophilus* ATCC33923 株の染色体 DNA から単離した遺伝子である。

###### (2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子の塩基数、塩基配列及び制限酵素による切断地図は明らかになっている。

###### (3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子が発現する 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼは、デンプンの  $\alpha$ -1,4-D-グルコシド結合を切断し、新たに  $\alpha$ -1,4-D-グルコシド結合を形成する反応を触媒する酵素である。アミノ酸数及びアミノ酸配列は、従来の添加物の有効成分である 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼと同じである。

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼと既知の毒性タンパク質との相同性の有無を確認するために、Swiss Plot protein データベースを用いて blastp 検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は見いだされなかった（参照4）。

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼと既知のアレルゲンとの相同性の有無を確認するために、Allergen Database for Food Safety (ADFS) データベー

スを用いて、相同性検索を行った結果、80 アミノ酸以上で 35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは見いだされなかった（参照5）。また、抗原決定基の有無を確認するために、ADFS 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 8 アミノ酸配列が既知のアレルゲンと一致するものは見いだされなかった（参照 5）。

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

#### (1) プロモーターに関する事項

プラスミド pUB110 上の配列がプロモーターとして機能していると考えられる。

#### (2) ターミネーターに関する事項

プラスミド pUB110 上の配列がターミネーターとして機能していると考えられる。

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

4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子上流に、翻訳に必要となる Shine-Dalgarno 配列 (SD 配列) として、*B. subtilis* 由来の rRNA を基に人工合成した SD 配列を付加した。

### 4 ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

プラスミド pUB110 に 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子及び SD 配列を挿入することによって、発現プラスミド pUMQ1 を作製した。

### 5 構築された発現ベクターに関する事項

#### (1) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

発現プラスミド pUMQ1 の塩基数、塩基配列及び制限酵素による切断地図は明らかになっている。

#### (2) 原則として、最終的に宿主に導入されると考えられる発現ベクター内の配列には、目的以外のタンパク質を組換え体内で発現するオープンリーディングフレームが含まれていないこと

発現プラスミド pUMQ1 の全塩基配列について、6 つの読み枠においてオープンリーディングフレーム (ORF) 検索を行った結果、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 87 個見いだされた。これらの ORF と既知の毒性タンパク質との相同性の有無を確認するために、Swiss Plot protein sequences データベースを用いて blastp 検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は見いだされなかった（参照6）。

また、これらの ORF と既知のアレルゲンとの相同性の有無を確認するために、ADFS データベースを用いて、相同性検索を行った結果、既知のアレルゲンであるヨモギ属の多年草 *Artemisia vulgaris* 由来の Art v 1 のアミノ酸配列と 80 アミノ酸以上で 35%以上の相同性を示す ORF が 1 個見いだされたが、この ORF は 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子の相補鎖の一部に相当し、遺伝子供与体である *T. thermophilus* に本来存在するものであった。さらに、この ORF に対して機能しうる SD 配列は存在しなかったことから、タンパク質に翻訳される可能性は低いと考えられ、この ORF のアミノ酸配列には Art v 1 の抗原決定基が存在する領域は含まれていないことから（参照7）、仮にタンパク質に翻訳されたとしてもアレルゲンとなる可能性は低いと考えられる。次に、抗原決定基の有無を確認するために、ADFS 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 8 アミノ酸配列が既知のアレルゲンと一致するものは見いだされなかった（参照 6）。

(3) 宿主に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域が発現ベクター上で明らかであること

意図する挿入遺伝子である 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子の発現プラスミド pUMQ1 上の位置は明らかになっている。

(4) 導入しようとする発現ベクターは、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていること

発現プラスミド pUMQ1 は目的外の遺伝子の混入がないように構築され、宿主に導入されている。

## 6 DNA の宿主への導入方法に関する事項

発現プラスミド pUMQ1 を宿主に導入後、カナマイシンを含む培地で選抜することによって BR151(pUMQ1)株を得た。

## 7 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

(1) 遺伝子及び遺伝子産物の特性に関する事項

BR151(pUMQ1)株には、カナマイシン耐性遺伝子及びブレオマイシン耐性遺伝子が存在し、カナマイシンヌクレオチジルトランスフェラーゼ (KAN) 及びブレオマイシン耐性タンパク質 (BRP) を発現する。これらの遺伝子は、プラスミド pUB110 に由来する。

KAN は、カナマイシンのアミノ糖残基中の水酸基にヌクレオチドを付加することによってその活性を不活化する（参照8）。BRP は、ブレオマイシンに結合することで、ブレオマイシンの DNA 鎖切断作用を阻害する（参照9）。

(2) 遺伝子及び遺伝子産物の摂取に関する事項

KAN 及び BRP は、TaqAM の製造工程における加熱により失活し、ろ過によ

り除去されると考えられる。さらに、TaqAM を利用した高分子糖質の製造工程における精製により、最終製品に残存する可能性は低いと考えられる。

さらに、TaqAM に発現プラスミド pUMQ1 由来の DNA が含まれていないことを確認するために、サザンハイブリダイゼーション分析を行った結果、pUMQ1 由来の断片は検出されなかったことから、TaqAM にカナマイシン耐性遺伝子及びブレオマイシン耐性遺伝子は含まれていないことが確認されている（参照10）。

また、pUB110 は、食品用酵素の製造等に長年安全に利用されてきており、これらの抗生物質耐性遺伝子を保持したまま使用されている場合もあるが、安全上の懸念はないとされている（参照11,12）。

以上のことから、これらの抗生物質耐性遺伝子及び遺伝子産物については、安全上問題ないものと考えられる。

## **第5 組換え体に関する事項**

### **1 宿主との差異に関する事項**

BR151(pUMQ1)株に導入された発現プラスミド pUMQ1 中の 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ遺伝子が 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼを発現すること、並びにカナマイシン耐性遺伝子及びブレオマイシン耐性遺伝子の導入によってカナマイシン耐性及びブレオマイシン耐性を獲得していることが宿主との差異である。

### **2 遺伝子導入に関する事項**

#### **(1) 制限酵素による切断地図に関する事項**

BR151(pUMQ1)株に導入された発現プラスミド pUMQ1 の制限酵素による切断地図は明らかになっている。

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

BR151(pUMQ1)株に導入された発現プラスミド pUMQ1 において確認された目的以外の ORF については、既知のタンパク質との相同性は認められなかった。

## **第6 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項**

### **1 添加物の製造原料又は製造器材としての使用実績があること**

TaqAM の製造原料は食品又は食品添加物製造用として一般的に用いられているものを使用し、製造器材は、従来から食品用酵素剤の製造に用いられているものを使用する。

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

TaqAM の製造原料は食品又は食品添加物製造用として一般的に用いられてい

るものを使用し、製造器材は、従来から食品用酵素剤の製造に用いられているものを使用する。

## **第7 遺伝子組換え添加物に関する事項**

### **1 諸外国における認可、食用等に関する事項**

TaqAM は、2010 年に米国において GRAS として認定されている。

### **2 組換え体の残存に関する事項**

TaqAM に生産菌の残存がないことを培養法で確認している（参照13）。また、pUMQ1 に由来する DNA 断片は、サザンハイブリダイゼーション分析を行った結果、検出されなかった（参照 10）。

### **3 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項**

TaqAM は、JECFA の食品用酵素剤に対する一般規格を満たしている。また、宿主である *B. subtilis* は、食品製造用酵素の生産菌として数多くの利用経験があり、長期にわたり食品製造に安全に使用されており、有害な物質を生産するという報告はないことから、製造に由来する非有効成分の安全性に問題はないと考えられる。

### **4 精製方法及びその効果に関する事項**

TaqAM の精製方法及びその効果は明らかであり、有害物質が混入することは考えられない。

### **5 含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動に関する事項**

TaqAM の製造原料及び製造方法は従来食品用酵素の製造に使用されているものであり、TaqAM は、JECFA の食品用酵素剤の純度規格を満たしている。

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

第2から第7までの事項により安全性の知見が得られている。

## **Ⅲ. 食品健康影響評価結果**

「BR151(pUMQ1)株を利用して生産された4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼ」については、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」（平成16年3月25日食品安全委員会決定）に基づき評価した結果、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断した。

## <参照>

- 1 添付 4 :従来の 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼと TaqAM の反応至適温度、反応至適 pH の比較 (社内報告書)
- 2 IFBC. 1990. Chapter 4: Safety evaluation of foods and foods ingredients derived from microorganisms. Regul Toxicol Pharmacol. 12(3, Part 2):S114-S128.
- 3 Saiki T, Kimura R, and Arima K. Isolation and characterization of extremely thermophilic bacteria from hot springs. Agr Biol Chem, 1972, 36, 2357-2366.
- 4 添付 8 : *Thermus thermophilus* 由来 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼの既知タンパク質との相同性検索結果 (社内報告書)
- 5 添付 9 : *Thermus thermophilus* 由来 4- $\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼと既知のアレルゲンとの構造相同性検索 (社内報告書)
- 6 添付 10 : 組換えプラスミド pUMQ1 におけるオープンリーディングフレーム (ORF) の検索 (社内報告書)
- 7 Dedic, A., Gadermaier, G., Vogel, L., Ebner, C., Vieths, S., Ferreira, F., Egger, M. 2009. Immune recognition of novel isoforms and domains of the mugwort pollen major allergen Art v 1, Mol Immunol, 46, 416-421.
- 8 Sadaie Y, Burtis KC, and Doi RH. Purification and characterization of a kanamycin nucleotidyltransferase from plasmid pUB110-carrying cells of *Bacillus subtilis*. J Bacteriol. 1980, 141, 1178-1182.
- 9 Brouns SJ, Wu H, Akerboom J, Turnbull AP, de Vos WM, and van der Oost J. Engineering a selectable marker for hyperthermophiles, J Biol Chem. 2005, 280, 11422-11431.
- 10 添付 11 : 実験報告書 TaqAM 製剤中の組換え DNA の分析 (社内報告書)
- 11 食品衛生調査会バイオテクノロジー特別部会 部会長 首藤 紘一, 平成 12 年 12 月 25 日, 食調第 8 4 号, 組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査に関する部会報告書
- 12 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品衛生バイオテクノロジー部会 会長 首藤 紘一, 平成 13 年 12 月 17 日, 薬食審第 2 9 8 号, 組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査に関する部会報告書
- 13 添付 12 : Certificate of Analysis (Product name: Amylomaltase (MQ-01)) (社内報告書)