

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第107回会合議事録

1. 日時 平成24年8月29日（水） 10：00～11：52

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

(1) 食品健康影響評価について意見を求められた遺伝子組換え食品等の安全性評価について

- ・除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ T304-40 系統（食品・飼料）
- ・LYS-No.2F 株を利用して生産された塩酸L-リジン
- ・*Aspergillus oryzae* MT2181 株を利用して生産されたキシラナーゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、五十君専門委員、宇理須専門委員、鎌田専門委員、橘田専門委員、  
児玉専門委員、澁谷専門委員、手島専門委員、中島専門委員、飯専門委員、  
和久井専門委員

(食品安全委員会委員)

熊谷委員長、佐藤委員、三森委員

(事務局)

栗本事務局長、本郷事務局次長、坂本評価課長、前田評価調整官、北村課長補佐、  
小倉係員、松井技術参与

5. 配布資料

資料 食品健康影響評価に関する資料

- ①除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ T304-40 系統（食品）
- ②除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ T304-40 系統（飼料）
- ③LYS-No.2F 株を利用して生産された塩酸 L-リジン
- ④*Aspergillus oryzae* MT2181 株を利用して生産されたキシラナーゼ

参考資料 1 食品健康影響評価に係る指摘事項

- ①除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ T304-40 系統

② *Aspergillus oryzae* MT2181 株を利用して生産されたキシラナーゼ  
参考資料 2 遺伝子組換え食品等評価書  
LYS-No.1F 株を利用して生産された塩酸L-リジン

6. 議事内容

○澤田座長 それでは、定刻になりましたので、ただ今から第 107 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」に基づきまして、非公開で行います。

本日の議題であります、継続の品目であります除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ T304-40 系統、これは食品と飼料。新規の品目であります LYS-No.2F 株を利用して生産された塩酸 L-リジン。それから継続の品目であります *Aspergillus oryzae* MT2181 株を利用して生産されたキシラナーゼの安全性についての審議となります。

それでは、お手元の資料の確認をいたしたいと思います。事務局からお願いします。

○北村課長補佐 それでは、議事次第に基づきまして配布資料の確認をさせていただきます。

配布資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿、資料といたしまして食品健康影響評価に関する資料、参考資料 1 として安全性評価に係る指摘事項、参考資料 2 として遺伝子組換え食品等評価書となっております。こちらは2つ目の品目の塩酸 L-リジンの御参考にしていただければと思います。

なお、これら以外の参考資料につきましては、ファイルに綴じまして委員の皆様の机の上に置かせていただいております。本ファイルについては、調査会終了後、回収させていただきます、次回また配布します。

不足等ございましたら事務局までお願いいたします。

○澤田座長 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、御報告をお願いします。

○北村課長補佐 本日の議事に関します専門委員の調査審議等への参加に関する事項につきまして、御報告いたします。

本日の議事に関しましては、専門委員の先生方からいただいております確認書を確認しましたところ、平成 15 年 10 月 2 日委員会決定の 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。

以上でございます。

○澤田座長 既に提出いただいております確認書について、その後、相違はございませんでしょうか。

それでは、議題（1）の審議に入らせていただきたいと思います。

まず、除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ T304-40 系統についての審議を行いたいと思います。

この品目は、昨年 4 月の専門調査会において審議を行いまして、指摘事項が出されたものであります。

指摘事項に対する回答について、事務局から御説明をお願いします。

○北村課長補佐 それでは、回答について御説明いたします。

お手元に、黄色いファイルの「回答書」をお願いいたします。

めくっていただきまして、仕切りの次、1 ページ目から回答になってございます。

まず、指摘事項 1 になりますけれども、要旨 18 ページの図 5.3 に関して、こちらは 2 ページの図 5.3 になっておりますけれども、ワタ T304-40 系統の T0 世代の個体数を回答すること。なお、個体数が 1 でない場合は、試験が適切な世代で実施されていないことになることから、改めて再検討してくださいということ。また、T0 世代に関する本文中の記述と図に矛盾が生じているため、適切に修正すること、という指摘事項になってございます。

回答といたしましては、T304-40 系統の T0 世代は 1 個体だということで、要旨の文章が 1 ページの下に修正前がございましてけれども、2 ページの修正後のおりに修正がされているところでございます。また、要旨 18 ページの図 5.3、2 ページ目に育成図がございましてけれども、「優良系統の選抜」は、誤解を招く表現であると判断して削除したということ。さらに、T304-40 系統は T0 世代以降すべてであるため、本申請の対象として囲った枠の上に記載していた「T304-40 系統」を削除したという回答になってございます。

2 ページ目に修正後の要旨がございましてけれども、「これらの株についてさらにグルホシネート耐性及び殺虫活性を確認して 1 個体を選抜し、T304-40 系統の組換え当代（T0 世代）とした。」という修正になってございます。

図 5.3 につきましては、「優良系統の選抜」というところが削除されておまして、濃い線で囲った部分が本申請の対象だということに修正がされてございます。

3 ページ目にまいりまして、指摘事項 2 になります。

要旨 42 ページの「2. 遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期、発現量に関する事項」において、約 2300 nt 及び約 2000 nt のバンドについて「改変 *cry1Ab* 遺伝子産物の分解物」という記載があるけれども、「分解物」であれば一定の長さを有するバンドとなることはなく、スメアになるのが一般的であるということで、本申請において、改変 *cry1Ab* 遺伝子産物の「分解物」が約 2300 nt 及び約 2000 nt と長さが一定になる理由について、その理由を記載し、必要に応じて要旨を修正すること、という指摘になってございます。

回答ですが、再度、ノーザンブロット分析及び RT-PCR 解析を行ってございます。前回の分析の結果では、約 3000、2500、2000 のバンドが 4-6 葉期の茎と根から検出され

ておりまして、約 3000、2500、2300 のバンドがその他の組織から検出されていたという結果になってございます。

今回新たにノーザンブロット分析を行いまして、本システムの 4-6 葉期及び成熟期の葉、茎、根を用いまして、改変 *cry1Ab* をプローブとしてノーザンブロット分析を行っております。その結果、すべてのサンプルにおいて、2300、2500、3000、3100 nt のバンドが認められてございます。この図が 4 ページの図 2 に示されてございます。

再試験におきましては、この指摘にございました 2300 nt のバンドは、すべてのサンプルにおいて認められておりまして、これは改変 *cry1Ab* 遺伝子由来の転写産物であると考えられるということでございます。

なお、前回認められました茎 4-6 葉期の茎、根のサンプルにおいてのみ認められました 2000 nt のバンドは、今回の再試験では認められなかったということです。その理由としましては、このバンドは改変 *cry1Ab* 由来の転写産物ではなく、多量のリボソーム RNA が改変 *cry1Ab* プローブとの非特異的なハイブリダイズを高めて、その部分のバックグラウンドシグナルが上昇したことによりバンドが生じたものと考えられる、ということでございます。

また、前回認められた 2500 と 3000 のバンドに加えまして、再試験では 3100 のバンドも認められておりますけれども、前回の解析結果を改めて検討した結果、3100 のバンドもかすかに認められていたということでございます。

これによりまして、この改変 *cry1Ab* 由来の転写産物は、約 2300、2500、3000、3100 の 4 本であるということが確認されてございます。

5 ページにまいりまして、RT-PCR 解析について説明がされております。先ほどのノーザンブロットにおいて認められました 4 つの転写産物について、さらに詳しく調べるために、2 つの RT-PCR 解析を行ってございます。

まず試験 1 になりますけれども、6 ページの図 3 に解析に用いましたプライマーの略図がございまして、その図の点線の上のほうが試験 1 のプライマーになりまして、一番上の MDB640、KVM203 と、その下側のものの組み合わせで解析を行ってございます。その結果が 7 ページの図 4 になってございまして、プライマーの MDB640 と KVM203 と MAE137、NEL187 との組み合わせにおいて増幅産物が認められてございます。7 ページのパネル A とパネル B の左側の図になります。

この結果から、改変 *cry1Ab* 遺伝子の転写は、開始コドンのアデニンから約 2100 nt の位置で終結しているということが示唆されたという結果になってございます。

試験 2 のほうは、3'側の改変 *cry1Ab* 遺伝子の読み過ぎにより生じた転写の終結の位置を確認するために行われてございまして、6 ページの図 3 の点線から下のほうのプライマーを用いて確認が行われております。

その結果が 8 ページの図 5 に示されてございまして、一番離れております逆方向のプライマー DPA313 を除くすべての組み合わせにおいて増幅産物が認められてございます。

よりまして、3'側の改変 *cry1Ab* 遺伝子コピーの転写は、開始コドンのアデニンから約 2800 nt であります DPA313、MAE116 の間まで読み過ぎが生じていることが確認されたということです。

また、陽性となったすべての PCR 結果におきまして、予測されたサイズとそれよりもやや短い 2 本の増幅産物が認められてございます。6 ページにまいりまして、これらの増幅産物の塩基配列を決定して、T304-40 系統の挿入 DNA 配列と比較してございます。その結果、短い転写産物では、3'me1 領域上の 139 bp が欠失していることが確認されてございます。この配列については、5'側の改変 *cry1Ab* 遺伝子コピーにも存在するということが、5'側の改変 *cry1Ab* 遺伝子コピーの転写産物の一部にもこの欠失が生じていることが考えられるということになってございます。

9 ページにまいりまして、まとめになりますけれども、9 ページの図 6 に転写産物の概略図が記載されてございます。5'側につきましては、改変 *cry1Ab* コード領域から 3'me1 上の転写終結点までの約 2100 nt 及び 139 nt が欠失しました 1961 nt の配列に、polyA 鎖及び 5'非翻訳領域を付加しました 2500nt と 2300nt の転写産物が生じているということです。

3'側につきましては、コード領域から完全長の 3'me1 上の転写終結点までの約 2800 nt と 139 nt が欠失しました 2661 nt の配列に、polyA 鎖と非翻訳領域を付加しました 3000nt と 3100nt の転写産物が生じているという説明です。

また、3'側の改変 *cry1Ab* 遺伝子からも、同じく 2500nt と 2300nt の転写産物が生じていると考えられるということでございます。

なお、いずれの転写産物におきましても、改変 *cry1Ab* 遺伝子コード領域下流の 3'me1 において、長さあるいは欠失の多型があるものの、改変 *cry1Ab* 遺伝子コード領域に変化はなく同一でありまして、翻訳産物には影響していないと考えられるということです。このことは、ウェスタンブロット分析においても、タンパク質が確認されなかったということでございます。

9 ページの下のほうから要旨の修正になっておりまして、10 ページ、11 ページのとおり記載を修正しましたということです。

12 ページにまいりまして、指摘事項 3 になります。

要旨 70 ページの「加熱処理」に関しまして、これはアレルギー誘発性に関する事項のところでございますけれども、加熱処理による Cry1Ab タンパク質の免疫反応性への影響について、ELISA 法等を用いて検討し、要旨を適切に修正すること、という指摘になってございます。

回答でございますけれども、加熱処理を施しました改変 Cry1Ab タンパク質について、ELISA 法を用いて検討を行ったということです。

*E. coli* で生産しました改変 Cry1Ab タンパク質の溶液を 60、75、90℃でそれぞれ 30 分、60 分処理しまして、ELISA 法により検討が行われてございます。

その結果が表 1 に示されているとおりになりまして、60℃で 30 分、60 分処理した場合におきましては、加熱していないタンパク質と比べまして 58.2%、18.2%が検出され、それ以上の処理温度ではいずれも検出限界未満となっております。よりまして、改変 Cry1Ab タンパク質の免疫反応性は、60℃・30 分の加熱処理により半減し、75℃・30 分以上の加熱処理により失われると考えられたという回答になってございます。

この試験につきましては、ファイルの一番後ろの添付資料 33 がこの試験の報告書になってございます。

13 ページが要旨の修正になってございまして、今回実施しました ELISA 分析の結果が記載されてございます。

14 ページからが修正事項への対応になりまして、修正事項 1 は、Cry1Ab の総抽出タンパク質中の含有量の表の記載ミスの修正になります。

修正事項 2 につきましては、「(3) 遺伝子産物 (タンパク質) の物理化学的処理に対する感受性に関する事項」において、改変 Cry1Ab タンパク質の分子量について異なる数値が記載されていることから確認をして修正してくださいという修正事項になります。こちらは、マーカーが違うということと、分子量の理論値で書かれている数値があり、それぞれ数値が異なっているということで、記述について若干の修正がされてございます。

16 ページの修正事項 3 は、諸外国における許可等の事項のリバイスになりまして、17 ページは、結論部分のアレルギー誘発性についての考察の修正になります。

それ以外に、17 ページに 4 点ほど修正がされてございます。

説明は以上です。

○澤田座長 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関しまして、項目ごとに先生方からの御意見をいただきたいと思っております。

まず、順番に指摘事項 1、これは要旨の図に関して、T0 世代の個体数、それから本文中の記述について適切に修正するよという事で、これは鎌田先生の御指摘ですか。

○鎌田専門委員 質問に対する回答はわかりました。その上で、修正の 2 ページ目のところに、どれを対象と、この系統の名前で対象とするかというので、T0 とそれ以降なので、この太線の枠で囲ったのは、図が直っていないと言わなければならないのか、本当は T0 を含めて全部囲ってほしいと、名称が実は合わないということになるので、ちゃんとしていただきたいというのが 1 つです。

それから、なぜ 1 個体かどうかを聞いたかというのは、外骨格とかが入っていないのか、どういう形に入っているかを正式なデータをどこでとるかという問題だと思うのですが、これはどう見ても、ここには記号しかないのですが、外骨格が入っているかどうかをチェックしているのは (b) なので、●●●のほうでだけやっています。だから、●●●でやったかというの、結局何も無いのですね、データが。

それから、どういう形に入っているか調べたサザンのデータは、(a)でやっているので、

それをまた全然違うところでやっていて、●●●というところでやっています。それでいて、構成成分分析をやっているのが(i)なので、●●●でやっています。それ以外、一切やっておりません。導入遺伝子の安定性の中でそれが見えるかなと思ったのですが、導入遺伝子の安定性の試験はあちこちで、いろいろな列のところをやっているのですが、プローブはすべて *cry1Ab* でしかやっていないという。全体を見ると、ぼつぼつとはやっているのだけれども、統一されて全体を理解するような設計に相変わらずなっていない。1 個体であったとしたら、多分、●●●のどこかで、一度やってあればそれで済んだのですが、そういうふうにはなっていないので。さて、一番問題なのは●●●だと思うのですが、●●●が、実はちゃんとした入り方を全然、結局見ていないことになる。例えば外骨格が変なのが入っているということを●●●では全く否定されていないので、もともと●●●はヘテロの状態が入っていて、●●●なので、それはいいのかなと。●●●を外してくればまだ理解できるのですが、ただ●●●を外してしまうと構成成分のデータがなくなってしまうので、さてどうしたものでしょうか。

○澤田座長 ほかの先生方、御意見いかがでしょうか。

●●●に関しては、まあ何とかということですので。

○鎌田専門委員 そうですね。一応●●●があって、その下のほうで何か所かで見ている格好になるので、そこは大丈夫だと思うのですが、●●●が、そういう意味できちっとしたデータがどこにもないという。

○澤田座長 そうしますと、●●●で何か追加でデータを出してもら必要がありますね。

○鎌田専門委員 そうですね。本当は●●●でサザンのデータと、だから (a) のデータと外骨格が入っていないことの (b) のデータがあれば、一番すっきりしているかなと思うのですが。

○澤田座長 手間としてはそれほど難しい問題ではないと思うのですが、もし●●●を削除すると、ちょっと構成成分の……

○鎌田専門委員 はい。構成成分データが使えなくなってしまうので。

○澤田座長 それでは、追加で、今おっしゃったようなサザンのデータ等を追加していただくということにしたいと思います。

それでは、次の指摘事項 2 で、これは遺伝子産物のメッセンジャーRNA のノーザンの問題ですけれども、分解物についての御指摘で、これは小関先生が指摘なされたわけでありまして、今いらっしゃらないので、かわりにどなたか、鎌田先生でもよろしいですけれども。

○鎌田専門委員 読ませていただいて、後ろのほうの記載もそうなのですが、間違っていないのだけれども、要するに演繹的に、間接的にしか言っていないというのはどんなものなのだろうと。一番きちっとしたデータとしては、配列を見てしまったほうが絶対早いと思うのに、そういうことを一切しないで、長さがどうのこうのという書き方をされているので、この書き方で、だめとは言えない書き方にはなっているのだけれども、本当はど

うなのでしょうね……。

○澤田座長 配列は一応見ているのですね。

○鎌田専門委員 長さはいろいろ変わりますよね。そういうのについて可能性がこうだ、こうだとはおっしゃっているのだけれども、長さが変わったものが短いもの、長いもの、配列が確かにこうでしたと言ってくだされれば単純だったのですが。

○澤田座長 6 ページの 2 行目に「塩基配列を決定し」と書いてあるのですが。

○鎌田専門委員 たしかこれは 1 つだけだったような気がしたのですが……。

○澤田座長 少なくとも 2 つはやってあるのですね。

○鎌田専門委員 そこだけはやってあったのでしたっけ。

○北村課長補佐 事務局ですけれども、添付資料 32 の 37 ページに、ちょっと見にくいのですけれども、塩基配列が示されています。

○鎌田専門委員 わかりました。何か変なところが欠けている、真ん中の変なところが欠けているようにも見えますが。

○児玉専門委員 よろしいですか。一応、短いやつは、短く RT-PCR をやって、2 本バンドが出てきたところはシーケンスしているようで、それを 139 nt の欠失というふうに表現しているのですけれども、配列を見ると、スプライシング認識サイトがあって、ちょうどスプライシングされ得る配列になっているので、転写産物で欠失というのは普通なかなかないので、「欠失」という表現をされてしまうと、欠失されたゲノム DNA がどこかにあるのではないかという話になってしまうので、可能性としてとしか書けないかもしれませんが、スプライシング認識サイトがあってスプライシングされたことによって、短い転写産物ができたものと予想されるとか推測されるとか、そういう表現をつけていただければ、この内容でよろしいのではないかと思います。

○澤田座長 そうしますと、スプライシングバリエントの可能性が高いということで。表現を微修正したほうが良いということですね。

○児玉専門委員 「欠失」という表現はよくない。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

○北村課長補佐 そうしましたら、6 ページの 4 行目の「欠失」という表現を直したほうが良いということでしょうか。

○児玉専門委員 そうですね。そことか、あとほかにも何か所かちらちら「欠失」という言葉が出てくるのですけれども、スプライシングバリエントであると予測されたとか何とか、認識サイトはありましたので、認識サイトから言うと、添付資料 32 の塩基配列の合わせ方、ちょっとずれているので、1 ベースずらしていただいで、認識サイトが見えてくるようにずらしていただかないといけないのですけれども。

○澤田座長 それは修正していただくことにしたいと思います。

ほかはよろしいでしょうか。

それでは、次の指摘事項 3 で、これは加熱処理をした Cry1Ab タンパク質の免疫反応



性への影響について、ELISA を追加でやってくださいということで、手島先生の御指摘ですが。

○手島専門委員 以前はウェスタンブロットだけでしたということでしたので、ELISA をやってくださいということで、今回、ELISA はやってもらっています。サンドイッチ ELISA という形でやられていたということで、その点に関してはよろしいかと思うのですが、あと表 1 の結果からすれば、この回答、修正後の文章のとおりなのですけれども、ただ、添付資料 33 を見てみますと、特に 33 の Figure 1 とかを見てみますと、75℃以上の加熱処理で、かなり沈殿が出てきているということがございますので、ELISA の結果というのが完全に定量的なデータかということになりますと、その部分が正確でないと思いますので、修正後の文章の 6 行目以降、「ELISA 法による改変 Cry1Ab タンパク質の免疫反応性は、60℃・30 分以上の加熱処理により減少すると考えられた」というような形で、定量的な表現というのは取ったほうがよろしいかと思いました。

以上でございます。

○澤田座長 ありがとうございます。修正が 2 カ所ありまして、ほぼ同じ文章ですけれども、「75℃・30 分」以下の言葉を取ってしまって、「加熱処理により減少すると考えられた」と。

○手島専門委員 はい。

○澤田座長 宇理須先生、よろしいでしょうか。

○宇理須専門委員 それでいいと思うのですけれども、僕も読んでいて、免疫反応性は ELISA のデータですとかなり落ちるという結果にもかかわらず、ウェスタンブロッティングや SDS-PAGE では、90℃でかなり免疫反応は低下しますが、75℃だと軽度低下する程度という結果でした。方法が違うので、このような一見矛盾するような結果でもよいのかもしれませんが。多分、熱処理で沈殿物ができたせいかもしれません。結果が異なる理由を説明して頂きたいと思います。

○澤田座長 ちょっと書きぶりがなかなか難しいので、また後で修正したものを見ていただければと思います。恐らく個体の違いもあり得るのですが、ELISA は市販のキットを使っているみたいなので。

ほかはよろしいでしょうか。

ほかに記載に関する指摘が出ておりましたけれども、ここら辺は修正したものでよろしいでしょうか。

それでは、サザンを追加でやる必要がありますので、それを含めまして、いただきました意見を指摘事項としてもう一度出す必要がありますので、先生方に御確認いただいて、厚生労働省を通じて申請者に指摘を出したいと思います。

そうしますと、飼料のほうは次回になりますか。

それでは、次に LYS-No.2F 株を利用して生産された塩酸 L-リジンについての審議に入りたいと思います。

事務局から御説明をお願いします。

○小倉係員 それでは、LYS-No.2F 株を利用して生産された塩酸 L-リジンについて御説明いたします。

お手元に青い紙ファイルをお願いいたします。

資料に「本文」というタグがございます、目次の次が 1 ページ目になっております。「塩酸 L-リジンの飼料添加物としての概要」となっておりますので、こちらから御説明いたします。

1-1 にまいりまして、塩酸 L-リジンは、飼料添加物の成分規格等収載書に収載された飼料添加物に該当し、下の図にあるような化学構造、分子式、分子量、含量、性状を有するとなっております。確認試験、純度試験により物理化学的性質を確認できるとされております。

次のページにまいりまして、2 ページです。塩酸 L-リジンの用途についてですが、「飼料の有効成分の補給として家畜用飼料に混合添加する。」とされております。

ページをめくっていただきまして、3 ページ目にまいります。「塩酸 L-リジンの製造方法の概要」となっております。本申請品の LYS-No.2F 株でございますが、平成 23 年に安全性審査された「LYS-No.1F 株を利用して生産された塩酸 L-リジン」における塩酸 L-リジン生産菌 LYS-No.1F 株の構築途中株である●●●株を基にさらに改変した菌株でございます。

下の図にまいりまして、もともとの菌株が *Escherichia coli* の K-12 株でしたが、そこから改変いたしまして、MLFN29 株となっております。こちらは平成 13 年に安全性が確認されたもので、さらに改変をいたしまして●●●株、LYS-No.1F 株はそこから改変したものでございまして、今回申請された LYS-No.2F 株については、●●●株からさらに改変したものでございます。

その下にまいりまして、●●●株の作製方法でございますが、こちらは、No.1F 株の資料で提出されたものと同様となっております。

次のページにまいりまして、4 ページ目でございます。LYS-No.2F 株の作製方法について記載されてございます。親株は●●●株でございます、組込まれたベクターは mini-Mu を用いております。

次のページにまいりまして、5 ページ目となります。組込み方法は、mini-Mu を使ったものと、相同組換えを使ったものがございまして、相同組換えのほうではベクターを使用しなかった、構築途中においては一時的にヘルパープラスミドを使用しておりますが、最終的にヘルパープラスミドは除去されているとなっております。

(3) 挿入遺伝子にまいります。挿入された遺伝子は、●●●遺伝子、●●●遺伝子、●●●遺伝子、●●●遺伝子、●●●遺伝子、●●●遺伝子となっておりまして、こちらは、すべて L-リジン生合成に関与する遺伝子あるいは●●●遺伝子であり、L-リジンの生産効率を高めることを目的として挿入されたとなっております。

(4) プロモーターにまいります。プロモーターは、*E. coli* K-12 株由来の DNA よりなるものでございます。

(5) LYS-No.2F 株についてでございますが、内在性の●●●遺伝子（●●●遺伝子）上流に●●●プロモーターを挿入してございます。さらに、●●●遺伝子、●●●遺伝子を欠失するとなっております。なお、構築途中において一時的に抗生物質耐性マーカーを使用しておりますが、最終的には除去されており有さないととなっております。

6 ページにまいります。「LYS-No.2F 株の構築について」ということで、●●●株の構築が 6 ページに、次のページに LYS-No.2F 株の構築についての概要が示されております。

ページをめくっていただきまして、9 ページにまいります。こちらが塩酸 L-リジンの製造方法となっております。図 2 にフロー図がございまして、●●●晶析・分離することで結晶を取得し、最終的に塩酸 L-リジンを得られるとなっております。

10 ページにまいりまして、「申請品目と現行製品の品質の比較」となっております。

(1) 飼料添加物成分規格値分析結果となっております。

次のページ、11 ページにまいりまして、(2) 塩酸 L-リジン製品の不純物プロファイル比較結果となっております。こちらでは 3 つの分析方法、アミノ酸自動分析計、HPLC 法 2 モードで不純物プロファイルの比較を実施したとなっております。

i) アミノ酸自動分析計による比較でございます。真ん中に表が示されておりますが、解析の結果、検出限界以上の不純物は申請品目中には観察されなかったとなっております。

ii) にまいりまして、不純物検出 HPLC-1 法による比較となっております。こちらでは親水性の不純物を検出することを目的としておりまして、次の 12 ページに表が示されております。検出限界以上の新規不純物は、申請品目中には観察されませんでした。検出された既存不純物量は現行製品と比較して、アデニンのみ微量増加したということでございます。

iii) 不純物検出 HPLC-2 法による比較となっております。こちらの方法では疎水性の不純物を検出することを目的としております。12 ページ下に表が示されておりますが、解析の結果、新規不純物は検出されず、既存不純物は現行製品の含量の最大値を超えるものはなかったということでございます。

以上、i) から iii) の結果より、申請品目中には新規不純物は検出されず、既存不純物はアデニンのみ微量増加となっております。

そして、このアデニンについて、これ以降、国内流通しているものを調べております。13 ページ下のほうになりまして、国内で流通している飼料添加物塩酸 L-リジンのアデニン含量を測定・調査したところ、HPLC-2 法による分析・定量では最大で 0.040% であり、本申請品（最大 0.011%）よりも多く含まれていたものもあったということでございます。

さらに、飼料添加物として、塩酸 L-リジンと同様に使用される硫酸リジンの国内流通品のアデニン含量も測定したところ、ページをめくっていただきまして上の表になります

が、HPLC-2 法による分析・定量では最大で 0.117%であったということでございます。硫酸リジンと塩酸 L-リジンは、ともに同じリジン量が給餌されるように使用されておりますので、本申請品（最大 0.011%）よりアデニンが多く摂取される添加物が流通していると記載されてございます。

説明は以上でございます。よろしくお願ひいたします。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、申請書につきまして、先生方から御意見をいただきたいと思ひます。

短ひので 2 つに分けまして、まず飼料添加物の概要と製造方法の概要で、9 ページまででコメント、御意見、ありましたらお願ひしたいと思ひます。

○児玉専門委員 細かいことですが、4 ページ目の上から 3 行目の遺伝子の名前のところで、●●●遺伝子（●●●）、●●●遺伝子（●●●）と出てくるのですが、これは通常は●●●で、普通はそう呼ばれているものらしいので、「●●●」と入れていただいたほうが遺伝子名と合うかなというふうにお考えしますので、そこだけ修正していただいたほうがいいかと思ひます。

○澤田座長 「●●●」という言葉を上追加するということですね。

○児玉専門委員 はい。

○澤田座長 ほかは、よろしいでしょうか。

○澁谷専門委員 やはり文章表現なので、6 ページのところの No.2F 株をつくること目的ですが、これは余りに言葉を省き過ぎていて、(2) 内在性遺伝子上流にプロモーター配列を挿入し、(3) さらに内在性遺伝子を欠失導入することと言われても、内在性遺伝子もいっぱいあるので、これは違うものを扱っているわけですね。前のほうはリジンの生合成にかかわる遺伝子のところをプロモーターで強化して、後ろはその蓄積に邪魔になるものを欠失させているわけですね。余りに雑で、もちろん前後にいろいろ書いてあるのですが、もうちょっと言葉を補っていただかないと、何だかわからないと思ひます。ちょっと修文をお願ひしたいと思ひます。

○澤田座長 説明が余りにも不足で、追記ということで。

ほかは、よろしいでしょうか。

○飯専門委員 最初に出てくるのは 4 ページの (5) ●●●株の作製のところなのですが、これは既に前に評価されているところではあるのですが、3 行目の右端のところに●●●遺伝子（●●●）というのがあるが、この表現は、よくわからないからこうなっているのかと思ひたのですが、添付資料のほうの 4 ページ目を見ますと、その最後には●●●遺伝子の欠損は効率的にリジンを生産させることを目的として行ったと書いてあり、そうすると、この遺伝子の機能が認識されていて、それで欠失させたというふうにも読めるので、その辺、ほかの遺伝子については全部、どういう酵素かわかる表記になっていますので、この遺伝子についても確認していただき、もう少し具体的に書けるのであれば書いていただきたほうがいいかなと思ひます。

○澤田座長 これは遺伝子をもうちよっと具体的に明示していただくということで。

○飯専門委員 ええ。わかる範囲において書いていただければと思います。

○澤田座長 ほかは、よろしいでしょうか。

それでは、次の 10 ページから最後まででコメント、御意見、ありましたらお願いしたいと思います。

○児玉専門委員 12 ページ目の HPLC-1 法で調べたチャートが添付資料 2 のところに載っていて、添付資料 2 の 5 ページ目のところが申請品目のチャートで、6 ページ目に現行製品のチャートが載っているのですが、アデニンしか申請者のほうは変わっていないというふうに主張しているのですが、チャートだけ見ると、例えば●●●ちょっとのところにちょこっとピークが申請品目のほうに見えていまして、現行製品のほうにはそのピークはないです。あと、例えば●●●のところにもちょこっとピークがあつて、それに相当するピークは現行品目のところにはほとんどないので、定量限界以下なのかどうか分かりませんが、これはこのまま見過ごしてもいいのかどうかというのはわからないのですけれども、一度聞いてみてもらったほうがいいかなというふうには思います。

○澤田座長 これの同定まで求めなくても。まず量的な問題で、非常に少ないのであれば問題がないので。それからアデニンの前にもピークがあるのですけれども、これは説明がないですが、追加ありますか。

○北村課長補佐 12 ページの上の表に●●●という数値がありますので、これではないかと思われませんが、定量限界未満という表記になっております。

○澁谷専門委員 そうだと思うのです。ただ、これは現行品にはあつて、そのとき余り議論しなかったのかと思うので黙っていたのですが、これはちょっと問題がありまして、結局、全部●●●しているのですね。ところが、クロマトを見るとわかりますけれども、ピークの大きさだけで見ると、0.01%よりはるかに大きいように見えるのですね。それが何でこうなるかというのは、これは●●●で検出していて、●●●は共役二重結合があるので感度が全然違うのですね、リジンと。だから見かけピークが大きくても存在比が小さくなるのです。

それはいいのですけれども、アデニンの前のピークも含めてみんな同じように●●●でいいかというのは、本当はあるのですね。だから、感度が違っていると実は検出限界を超えてしまうはずなのです。だからそこら辺が、こういう換算の妥当性がいいのかというのは、本当は聞いていただけるといいかと思います。見たところ、やはり目立つのですね、ピーク。

○澤田座長 ほかは、よろしいですか。

波長の問題について、何らかの説明をしていただいたほうがいいのかと思いますけれども。

○澁谷専門委員 つまり検出限界以下というのの妥当性ですね。

○澤田座長 問題は 2 つありまして、検出限界の問題と、それからあとピークが 2~3 あ

るといふことで、ここら辺、両方関係してきますけれども、非常に量的に少ないということがきちんと言えるかどうかというのを説明していただく必要はあると思います。

○澁谷専門委員 あともう一つは、これは飼料添加物ですよ。ですので、結局、これを食べた家畜からくるものに問題が起こり得るかどうかということなので、その意味では、直接食べる食品と違うところは少しあるかなと思いますが。

○児玉専門委員 今の澁谷先生の意見と同じで、飼料添加物ですので、量的に非常に少ないものであれば、同定まではしなくてもいいのではないかとこのふうには考えています。

○澤田座長 そうしますと、恐らく、量的に少ないであろうという結論は予想されまして、そのために安全上の問題が出てくるということは考えにくいということでもありますので、説明を出していただいて、委員の先生に見ていただくということによろしいでしょうか。

それでは、評価書（案）の審議のほうに入りたいと思います。

事務局から説明をお願いします。

○小倉係員 お配りしている資料の 27 ページ、右上に③と書かれている LYS-No.2F 株を利用して生産された塩酸 L-リジンをお願いいたします。

ページをめくっていただきまして、30 ページをお願いいたします。

30 ページの 25 行目、I. 評価対象飼料添加物の概要の記載をしております。名称、用途、申請者、開発者につきましては、記載のとおりとなっております。

31 行目からでございますが、本飼料添加物は、L-リジンの生産性を高めるため、*Escherichia coli* K-12 株由来の MLFN29 株を宿主として、L-リジン生合成に関与する遺伝子を導入した LYS-No.2F 株を用いて発酵生産された塩酸 L-リジンである。塩酸 L-リジンは、飼料添加物としての使用が認められており、成分規格が飼料添加物の成分規格等収載書に記載されている。なお、LYS-No.2F 株は、平成 23 年に安全性審査を終了した LYS-No.1F 株の構築途中株をさらに改変したものであると記載しています。

37 行目にまいりまして、LYS-No.2F 株の宿主である *E. coli* MLFN29 株は、これまでも飼料添加物生産に利用されており、*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、経済協力開発機構では優良工業製造規範が適用できる微生物として認定されている。なお、LYS-No.2F 株は、抗生物質耐性マーカー遺伝子を有さないとしております。

43 行目にまいりまして、II. 食品健康影響評価の記載をしております。

1. 製造工程において、使用微生物及び発酵副生成物が除去され、晶析により結晶として高度に精製されている。また、飼料添加物の成分規格等収載書の含量規格を満たしているとしております。

2 番にまいりまして、本飼料添加物に含まれる非有効成分については、最終製品において、飼料添加物の成分規格を満たしていること。分析の結果、従来品に存在しない不純物は検出されなかったが、従来品に存在する非有効成分であるアデニンが従来品の含量の実測値を超えて検出されたこと。アデニンは、プリン塩基の一つの生体内物質であり、核酸

や ATP などの補酵素の構成成分である。なお、本申請品よりも多いか又は同程度のアデニンを含む飼料添加物塩酸 L-リジン及び硫酸 L-リジンが国内で流通している、としております。したがって、従来品と比較して、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記載しております。

以上のことから、本飼料添加物につきましては、「遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方」に基づきまして、「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」に準じまして、その附則「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」を適用して評価した結果、当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物の安全上の問題はないものと判断したと記載しております。

以上でございます。

○澤田座長 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、コメントをいただきたいと思います。なお、細かい字句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だければと思います。

これは短いので、最初から最後まで一括で、コメント、御意見ございましたらお願いしたいと思います。

特によろしいでしょうか。

それでは、追加の説明をいただいて、もし修文の必要がある場合にはまた先生方に御意見をいただくということにしたいと思います。それで、それが終わった後に食品安全委員会に御報告しまして、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、まだ時間がありますので、もう一つの *Aspergillus oryzae* MT2181 株を利用して生産されたキシラナーゼについての審議に移りたいと思います。

この品目は、一昨年、大分前でありますけれども、1 月の専門調査会において審議が行われまして、指摘事項がかなり出されているものであります。

それでは、指摘事項に対する回答について、事務局から御説明をお願いしたいと思います。

○北村課長補佐 もしお手元に資料がございません先生がいらっしゃいましたら、お知らせ願います。よろしいでしょうか。

それでは、区切らせていただいて、回答の 3 番ぐらいまでまず御説明させていただきたいと思います。

ファイルを開いていただきまして、冊子が 2 つほど分かれておりますが、後ろのほうの薄い冊子が回答書になりますので、そちらをお願いいたします。

まず、指摘事項 1 になりますけれども、審議資料 9 ページ「(1) 宿主の種名、株名等及び由来」について、本生産菌の作製に使用した宿主の分離源を回答の上、追記すること。

という指摘になってございます。

回答ですが、「指摘に従い、以下のとおりに文章を書き換え、参考文献 18 を追加いたしました。」ということで、その下のところに見え消しで審議資料が修正されてございます。1 行目から 3 行目までは削除されておりまして、修正事項は、「使用した宿主菌株は、大阪発酵研究所から入手した *A. oryzae* IFO4177 である。この菌株は、坂口謹一郎博士等によって京都の酒蔵で清酒麴から分離された。」ということで、参考文献 18 が添付されております。「この菌株は当初、東京大学農学部で S-4-17 として登録されたが、その後 IFO4177 として大阪発酵研究所に移管され、現在では製品評価技術基盤機構、生物遺伝資源部門において NBRC4177 として登録、保管されている。」ということでございます。

指摘事項 2 になりますけれども、審議資料 11 ページ「4. 宿主の構成成分等に関する資料」について、*Aspergillus* 属が生産する酵素とアレルゲンの関係について、引用されている文献以外についても再調査を行った上で、記載内容を改めることという指摘でございます。

回答ですが、*Aspergillus* 属が生産する酵素とアレルゲンの関係について文献の再調査を行ったということ、その結果を基に文章を追加しまして、また、検索で得られました 7 つの文献を参考文献に添付して、その要約を表 3 として示しましたという回答になってございます。

以下は、審議資料の修正になります。下線の部分が新しく追記された文章になっております。これは審議資料の 11 ページの 5 行目、12 ページの下から 12 行目に該当しますが、**「一方、*Aspergillus* 属由来の  $\alpha$ -アミラーゼやプロテアーゼはアレルゲンデータベースに収録されている。そのため、*Aspergillus* 属の酵素による食物アレルギーの可能性を調べるため、*Aspergillus* 属が生産する酵素とアレルゲンに関する文献検索を行った。ヒットした 7 つの文献の要旨を表 3 に示す。」**ということで、下に表 3 が追記されてございます。これが文献の要約になります。

19 という番号がついていますのが参考文献 19 ですけれども、職業的に  $\alpha$ -アミラーゼ粉末を扱う 83 名に対して試験を行い、26 名が  $\alpha$ -アミラーゼに感作されていることが判明した。この 26 名でさらに試験を行ってもよいという同意が得られた 14 名に気管支誘発試験を行った結果、6 名が陽性だった。また、同様の 11 名の中で、鼻粘膜誘発試験では 6 名が陽性という結果が得られた。26 名の患者の中の 5 名に経口誘発試験を行った結果、1 名が陽性だったが、この患者はパンを食することによってアレルギー症状を引き起こすことはなかった。という文献になってございます。

20 番の文献は、パンを食する被験者のうち、健常者以外の 2~3 名が  $\alpha$ -アミラーゼに若干感作していることが判明したということと、パン職人について、この酵素に関する IgE 抗体に反応したということで、限られた条件において、 $\alpha$ -アミラーゼや小麦アレルゲンが若干の感作を起こす可能性があると考えられるという文献。



21 番が、職業性の感作を起こしている女性について、パンを食することによって小麦アレルゲン、*Asp o 2* に関する IgE 抗体レベルが上昇したという文献。

22 番が、喘息の方が製パン工場で働くことによってその症状が悪化、原因が *Aspergillus oryzae* の  $\alpha$ -アミラーゼであることが判明したという文献。

23 番が、皮膚プリックテストで陽性だった 17 名に  $\alpha$ -アミラーゼまたは hemicellulase を添加して焼成したパンを摂食させたが、食物アレルギーの症状を示す被験者はいなかったということ。

24 番が、パン生地に  $\alpha$ -アミラーゼを添加して焼いた食パンとロールパンの中に、 $\alpha$ -アミラーゼに関する抗体結合能が残存するかどうかを調べた結果、どちらのパンにも、バッチによって抗体結合能が残存するものがあったということで、パン中の  $\alpha$ -アミラーゼがアレルギーを引き起こす可能性は否定できないというもの。

25 番が、18 名の職業アレルギー患者が通常の 2 倍量の  $\alpha$ -アミラーゼを添加して焼成したパンを摂食したときに、だれからも食物アレルギー反応は認められなかったということと、任意の 1,000 名の中で、 $\alpha$ -アミラーゼに関する IgE に感作しているかどうかを調べたが、感作している者は 1 人もいなかったという文献になっております。

23 番に hemicellulase の記載がある以外は、すべて  $\alpha$ -アミラーゼに関するものでありまして、これらは、 $\alpha$ -アミラーゼの吸入による感作の事例を示したものでありまして、 $\alpha$ -アミラーゼを用いたパンを食することによって食物アレルギーを生じた事例はなかったということです。パンを食することにより *Asp o 2* に対する IgE 抗体レベルが上昇した例は 1 例ありましたが、これは被験者が既に職業性の感作を起こしていたケースでありまして、 $\alpha$ -アミラーゼを用いたパンの中に、バッチによって皮の部分にこの酵素に対する抗体結合反応が残存するという文献がございましたけれども、この文献も  $\alpha$ -アミラーゼがパンに残存した場合にアレルギーを引き起こす可能性を否定できないと述べただけで、実際の食物アレルギーの事例は示していない、ということです。

以上の知見から、*Aspergillus* 由来の酵素による食物アレルギーの可能性は低いと考えられる、という結論になってございます。

指摘事項 3 になりますけれども、審議資料 11 ページ「4. 宿主の構成成分等に関する資料」及び 19 ページ「(3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項」について、「病原体等安全管理規程」の最新版を確認の上、必要に応じて記載内容を改めることという指摘になってございます。

「病原体等安全管理規程」の最新版が平成 22 年度のものでありますので、この資料を差し替えまして、文章も以下のとおりに書き換えたということでございます。

見え消しの修正事項がございましたけれども、「*A. oryzae* は、国立感染症研究所の「病原体等安全管理規程 別冊 1「病原体等の BSL 分類等」」（平成 22 年 6 月）の真菌の項目において BSL2 及び 3 には属さないことから、BSL 1 に属する真菌と考えられる。」という修正がなされております。

ここまででお願いできますか。

○澤田座長 それでは、時間の関係もありますから、できるところまでということで、まず指摘事項 1 で宿主の *origin* でありますけれども、これは中島先生の御指摘ですか。

○中島専門委員 期待どおりの答えが返ってきております。坂口謹一郎先生が全国行脚でとってきた株だろうと思っていましたけれども、そのとおりなので、これでよろしいと思います。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、次の指摘事項 2 で、これはアレルゲンに関する調査をもう一度やり直してくださいという御指摘で、これは手島先生ですか。

○手島専門委員 *Aspergillus* の  $\alpha$ -アミラーゼに対するアレルギーの文献を集めてもらって、これで文献としての調査はよろしいかと思えます。最後のまとめの部分、3 ページのまとめの部分になるのですけれども、確かに *Aspergillus* の  $\alpha$ -アミラーゼは、職業性、吸入による感作の事例を示したものがほとんどであったということなのですが、まとめの文章の 3 行目ですか、「 $\alpha$ -アミラーゼを用いたパンを食することによる感作を示す事例はないものと思われる」というふうな表現のほうがよろしいかと思いました。

それから、まとめの最後の行になるのですけれども、「以上の知見から、*Aspergillus* 由来の酵素による経口摂取による感作の可能性は低いと考えられる」というふうな表現のほうがよろしいかと思いました。

以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。確かに職業病では随分アレルギーが起きているわけですね。ただ、摂取した場合の例は余り報告がないと書いてありますけれども。

○宇理須専門委員 *Aspergillus* 由来の酵素によってアレルギー症状が惹起されたと疑われる症例や、あきらかな症例の報告はあるようです。これらは文献としては引用されていますので、これでよいと思えます。宿主の安全性に関しては、ここに記載しなくてもよろしいでしょうか。要旨のほうに、*Aspergillus fumigatus* だとか *Aspergillus oryzae* だとか *Aspergillus* 属の宿主に関する文章が出てきます。17 ページですね。*fumigatus* だとか *oryzae* に関する記述を詳細にした方がよいと感じました。ここでは問題にしなくてもよいでしょうか。

○澤田座長 手島先生、アレルギーの話は宿主のところに今まで書いていましたか。

○手島専門委員 今までは……。

○澤田座長 後のほうでは必ず出てくるのですね。

○宇理須専門委員 次の冊子の 17 ページのところを読んでいたら、文章の内容に不足を感じたのですけれども、それはそのときに指摘すればよろしいですか。

○澤田座長 食品添加物の場合、書く場所が決まっていたか。宿主のアレルゲン性は特にないのですか。挿入された遺伝子の産物は書く欄が後のほうで出てくるのですが、その供与体の話は出てくるのですけれども、宿主自身の話は確かに書く欄が余りないです

ので、17 ページのあたりに追加していただいたほうがいいかもしれませんね。

ほかはよろしいでしょうか。

それでは、指摘事項 3 で、これは感染研の病原体等安全管理規程の最新版の確認ということで、これは私が出したものでありますけれども、平成 22 年のもので、たしか最新版だったと思います。ただ、その下の文章で、BSL2 及び 3 に属さないから BSL 1 であるとは言えないので、なおかつ、たしかヒトと動物に病原性を示さないとか、そういう文が管理規程の別冊に書いてあったと思いますので、それを参考にちょっと追加していただいたほうがいいと思います。

指摘事項 3 までは以上ですけれども。

○北村課長補佐 そうしましたら、指摘事項 4 にまいります。

「審議資料 13 ページ「(4) 有効成分の性質及び従来への添加物との比較」について、エンドグルカナーゼ活性及びβ-グルカナーゼ活性の内容を正確に回答の上、修正すること。また表 3 に記載の比活性値の確認を行い、必要に応じて記載内容を改めること。」という指摘になってございます。指摘の表 3 というのは、5 ページの表になりまして、新たな審議資料では表 4 に変更がされてございます。

4 ページをお願いいたします。回答でございませうけれども、当社では、エンドグルカナーゼはカルボキシメチルセルロースを加水分解する活性として定義し、β-グルカナーゼは大麦由来のβ-グルカンを加水分解する活性として定義をしているということです。この基質名を表 3 に書き加えたということで、5 ページの表 4 に修正されたものについて、括弧書きで、基質として、エンドグルカナーゼのところにはカルボキシメチルセルロース、β-グルカナーゼのところには大麦由来β-グルカンという記載がされてございます。

4 ページに戻りまして、旧審議資料の表 3 において、比活性という表記そのものに誤りがあったということで、表に示された値は酵素製品 1 g あたりの活性値であり、比活性とは異なるということです。表題の比活性を削除しまして、表中にある比活性は酵素活性ということで修正し、また、示された値が酵素製品 1 g あたりの活性値であることを文章中に付け加えたということです。

ビスコザイムにつきましては、複数の酵素活性を有してございまして、キシラナーゼ以外にβ-グルカナーゼ等を含んでいるものです。キシラナーゼの効果を期待してビスコザイムを使用する例として穀類のデンプン加工がありまして、この工程にビスコザイムを添加することによって、デンプン懸濁液の粘度を低下させることができます。この効果を示す資料（アプリケーションシート）とビスコザイムが他の酵素活性を示す資料として添付資料が追加されてございます。第 1-1 のビスコザイムに関する記載もこれにあわせて説明を付け加えました、ということです。ビスコザイムというのは、審議資料の 6 ページになりますけれども、比較対象として用いております添加物の製品名になります。

回答書の 4 ページに戻りまして、4 パラ目になりますけれども、当社のキシラナーゼ活性測定用の基質は小麦アラビノキシランでありまして、その測定方法は PAHBAH (p-ヒド

ロキシベンゾイックアシッドヒドラジド)法が用いられております。さらに、 $\beta$ -グルカナーゼ活性測定方法はソモギネルソン法ではなく、やはり PAHBAH 法です。よって、これらの活性測定方法の記述も修正したということでございます。

なお、表 3—5 ページの表 4 になりますけれども——は 4 種類の酵素活性を示していますけれども、この表の直前には「キシラナーゼの活性を示した」と記載されていたので、この文章は削除されております。また、表 3 中のビスコザイムの酵素活性値の元データが添付資料として追加されておまして、表中のデータの数値が修正されてございます。さらに、酵素活性測定の概要を示す箇所に各活性単位を併記しておまして、表の脚注になりますが、また、4 種類の酵素活性の測定方法の詳細を添付資料として追加されてございます。

以下が審議資料の修正になりまして、5 ページの表 4 に SP578——これが申請品でございますけれども——とビスコザイムの酵素活性の比較の表がでございます。こちらを見ていただくとわかりますように、本申請品ではキシラナーゼの活性が主ですけれども、ビスコザイムはそれ以外のエンドグルカナーゼ、プロテアーゼの活性があるということでございます。

5 ページの真ん中以下が、表 4 に示されております酵素の活性方法の概要になります。

(i) 番がキシラナーゼ活性ということで、これは小麦アラビノキシランを基質とする PAHBAH 法により測定をしたものでございまして、方法が以下のとおりになります。吸光度を測定して酵素活性値を算出してございます。

(ii) 番がエンドグルカナーゼ活性でございまして、これはカルボキシメチルセルロースを基質として、この酵素を加えて反応させて酵素活性値を算出してございます。

(iii) 番が  $\beta$ -グルカナーゼ活性になりまして、大麦由来の  $\beta$ -グルカンを基質にしたもので測定をしてございます。

5 ページの一番下の (iv) 番がプロテアーゼ活性になってございまして、6 ページにまいりまして、変性ヘモグロビンを基質として測定が行われてございます。

次が新審議資料の修正事項になってございまして、これは審議資料の本体の 6 ページの第 1-1 の従来の添加物の性質と用途等に関する事項の修正の部分になりますけれども、ビスコザイムは複数の酵素活性を有する酵素剤でありまして、キシラナーゼのほかに  $\beta$ -グルカナーゼ、ヘミセルラーゼなどの活性を持つということです。キシラナーゼの効果を期待してビスコザイムを使用する例に穀類のデンプン加工がありまして、キシラナーゼの基質となるキシランは、穀類、特に小麦に多く含まれているということです。このキシランによって加工工程中のデンプン懸濁液の粘度が上昇するという問題があったのですけれども、ビスコザイムを添加することによってキシランが加水分解され、この問題を解決することができるという説明になってございます。

4 番の説明は以上です。

○澤田座長 次の指摘事項も関連するので、ついでにもう 1 個よろしいでしょうか。

○北村課長補佐 はい。それでは、指摘事項 5 を説明いたします。

審議資料 14 ページ「(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、従来の添加物と同等であることを示す根拠について回答すること。また、宿主として従来の添加物の生産菌と異なる種類の菌種を使用していることから、菌種が異なることによる従来の添加物との相違点について回答の上、追記することという指摘になってございます。

SP578、この申請品でございますけれども、これは従来の添加物であるビスコザイムの生産菌が持つキシラナーゼ遺伝子を宿主菌に導入して発現させたものであるため、SP578 は従来の添加物と同じキシラナーゼだということです。このようにビスコザイムと SP578 が同等であるということを資料に明記したということです。また、SP578 の宿主は *A. oryzae* でありまして、ビスコザイムの生産菌 *A. aculeatus* とは種が異なるため、産生する酵素も異なると考えられます。しかしながら、SP578 の生産菌は主な夾雑酵素の生産能を欠落させておりまして、ビスコザイムと同等の SP578 を高い純度で産生するというです。SP578 が酵素タンパク質としてほとんどキシラナーゼのみを産生することを示すデータが添付資料 32 として追加がされてございます。

以下が審議資料の修正になっておりまして、この SP578 がほとんどキシラナーゼのみを含むということと、宿主は *A. oryzae* ですけども、ビスコザイムの生産菌とは、同じ *Aspergillus* 属ではあっても種が異なることから、産生する酵素も異なると考えられますけれども、SP578 の生産菌は主な夾雑酵素の生産能を欠落させているため、純度が高いということになってございます。

SP578 は、ビスコザイムの生産菌であります *A. aculeatus* のキシラナーゼ遺伝子が組み込まれた *A. oryzae* によって産生されるキシラナーゼであるため、SP578 とビスコザイムが産生するキシラナーゼは同じという説明がされてございます。

以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

指摘事項 4 と 5 は関連がありまして、いずれもエンドグルカナーゼと  $\beta$ -グルカナーゼがまじっている問題をより明確にしてほしいということと、従来の添加物とこの添加物の相違、同等性をもうちょっと詳しく述べてほしいということで、両方ほぼ同じ内容ですので、これは澁谷先生と児玉先生から御指摘いただきましたけれども、まず澁谷先生、いかがでしょうか。

○澁谷専門委員 最初のほうですけども、例えばエンドグルカナーゼというと、 $\alpha$ -アミラーゼもみんな入ってきてしまうのですね。何をみているかということですが、セルラーゼを見ているということで、中身は明確になったのでいいと思います。

ただ、ちょっと気になるのは、新しい表 4 のほうの値ですけども、ビスコザイムの値が非常に前のと変わっていて、よくわからないのですが、エンドグルカナーゼが 313 が 404 になっている。その下の  $\beta$ -グルカナーゼは、100 が 111 になったということでもいいのか。それからその下は、これで見ると、20 が 900 になっていることに見えるのですけ

れども、これでいいのか確認、誤差にしてもすごく適当だなという感じのデータになっていて、これはちょっと見にくいのもあって確認をお願いしたいと思います。

あともう 1 個、ここに関しては、この前の指摘事項とも関係するのですが、これは  $\alpha$ -アミラーゼの欠失操作をやっているの、出ないと思うのですが、さっきのアレルゲンとの関係もあって、 $\alpha$ -アミラーゼの活性をチェックする必要があるのかどうか、これはむしろ御意見を聞かせていただければと思うのですが、欠失操作をやっているということによければいいです。

○澤田座長 ありがとうございます。

児玉先生、追加で何か。よろしいでしょうか。

○児玉専門委員 前半の活性の部分については、今、澁谷先生の御指摘のとおりでよろしいかと思います。

ただ、後ろの 5 番の相違点について追記することですが、最後の締めが、「SP578 とビスコザイムは同じキシラナーゼであり、両者は同等である。」と言われてしまうと、同等ではないですよということになってしまうので、この表現はちょっと受け入れがたいと思います。

○澤田座長 よろしいでしょうか。

○澁谷専門委員 今の点、後ろのほうは、発現させている酵素が同じでも、バックグラウンドが全然違った菌になっているので、これを言ってしまうと何でもいいということになってしまうので、これはまずいと思うのです。

それからもう一つは、ほとんどキシラナーゼだけをつくっているというデータを添付 32 で出していると言っているのですが、このデータを見ると、非常に変な、今どき珍しい免疫電気泳動をやっているのですね。二次元と免疫電気泳動を組み合わせて見ているのですが、免疫電気泳動というのは使う抗体の特異性によって何が検出できるか全然違ってくるので、こういう目的には非常に不向きのように思います。

それから、それですらほかの小さいピークも出ているのですね。だから、普通こういう議論をするときには、通常の二次元電気泳動で、例えば CBB で染めるとか、そういうのをタンパクの純度であれば普通やることを、わざわざ非常に珍しい方法でやっているの、ここはこのままこれが、キシラナーゼだけつくっているデータとしては受け入れられないと思います。

○澤田座長 ちょっと確認したいのですが、免疫電気泳動のところは……

○澁谷専門委員 添付、CD のほうの。

○澤田座長 CD のほうですか。ここには入っていない。

○澁谷専門委員 入っていないです。

○澤田座長 まず、ビスコザイムに 3 つか、プロテアーゼも入れて少なくとも 4 つの酵素が入っている製剤であると。それで、これは遺伝子も違うし、全く違うものが混在しているという説明はこれでいいのかと思います。

それで、従来のビスコザイムですか、これがキシラナーゼの活性があるがゆえにキシラナーゼとして使う場合があると、これはよろしいでしょうか。そうすると、一応比較対照にはしてもよいということになりますけれども、ただその場合、安全性を考えていろいろなことを追加でチェックしなければいけないということになるかと思います。

それで、もちろん同等ではないですね。だから、そこら辺の表現はもうちょっと修正していただく必要があるかと思います。

挿入した遺伝子は使った経験のあるものでありますけれども、宿主は一応は添加物としての使用経験はあるわけですね。だから、食品添加物の考え方に沿って言えば外れているわけではない。あとは安全性の問題を考えて、あと追加で何か必要かどうかということをしちんとチェックしていけばよろしいのではないかと思います。

何か他に御意見ありますでしょうか。

○児玉専門委員 読んでいて非常に迷ったのですけれども、比較対象って一体何が本当の比較対象になるのかというのは、どうもいま一つ読んでいても見えてこないというか、私自身も何が比較対象になるのかがよくわからないのですけれども、ビスコザイムで本当にいいですか。

○澤田座長 普通の食品の場合の比較対象というのはかなり明確なのですけれども、食品添加物の場合、必ずしも比較対象が常に適したものであるとは限らない場合があります。それで食経験とかいろいろ考慮して、従来のものとかいろいろ比較して安全性が担保されるかどうかを見ていくということが1つと、あとはプロダクトベースの考え方で、それで問題がないかという、2つの点から安全性をチェックしていくことになるかと思いません。だから、食品と微妙にずれてくる場合があります。

例えばキモシンなどの場合だと、あれは動物の遺伝子なのですけれども、バクテリアでつくる場合、本来の比較対象というのが本当はないわけですね。だから、それに類したケースかなというふうに考えられます。

○澁谷専門委員 難しいと思うのは、この前のリジンみたいなやつだと精製していますから、本当にバックグラウンドの影響はほとんど見られないですけれども、今度の場合は、つくり方を見ても、培養濾液の菌体を除いて濃縮して高分子画分をとっただけですよ。だから、培養濾液中の高分子画分もみんな入ってくる。そうすると、使っている生産菌が全然違ってしまえばバックグラウンドが全然違ってきますよね。だから、そのときに比較対象というのをどう考えるのか、すごく難しい。

○澤田座長 多分、比較対象は宿主の安全性を考えて変わっていないということを言う必要があるかと思えます。そういう意味で、この菌の使用経験があるかというのは非常にポイントになってきます。

ほかに御意見ありますか。

○五十君専門委員 今、この件に関して遺伝子組換え微生物食品のガイドラインもあることから、適用する場合の線引きが結構難しいかなというイメージを持っています。添加物

にあるということなので、遺伝子組換え添加物のガイドラインで検討し、比較対象も考えていくべきなのか迷います。精製度とかいろいろな問題からいったら、むしろ遺伝子組換え微生物食品の組換え体が生きていないカテゴリーとして検討していくほうがいいのか、そのあたりも議論していただければと思います。

○澤田座長 おっしゃるとおり、微生物でつくった食品の考え方がありまして、そこでいろいろ要求されていることで、今回もし追加で必要があるものがあれば、それもやってもらったほうがいいのかと思います。

○北村課長補佐 今の微生物のガイドラインといいますのが、お配りしております緑の冊子の中の評価基準のタグの 6 のところにファイルしているものになりまして、微生物を利用して生産された添加物でなくて食品のほうのガイドラインになります。

あと、先ほど表 4 のデータについて御指摘をいただいておりますけれども、添付資料 42 ということで、申請者のほうから、きちんとしたデータではなくファクスの写しのようなものが提出されておまして、ビスコザイムというのはいろいろな種類がありまして、ビスコザイム 120 というものについては表 4 に記載のデータだということです。エンドグルカナーゼについては 404、 $\beta$ -グルカナーゼについては 111、プロテアーゼについては 900 という数値がこのペーパー上では記されておりますが、ビスコザイムもいろいろなロットなどがあるということです。

○澤田座長 時間が余りないので、指摘事項の審議はここまでにしまして、続きはまた次にやりたいと思いますけれども、それまでにもう一度委員の先生にも見直していただきまして、まだ追加で何か懸念がある件がもしありましたら、御連絡いただきたいと思います。

結局、先ほどの食品的な発想も入れなければいけないということでありまして、宿主自身の安全性に情報をもうちょっと追加していただいたほうがいいのかと思われま

す。ほかにコメント、重要なことで次に議論するまでに必要と思われるデータがあるとか、そういうことがありましたらお願いしたいと思います。

それでは、もし気が付かれましたらメール等で御連絡いただきたいと思います。

それでは、議題 (1) については、途中でありますけれども、これで終わりたいと思います。

議題 (2) のその他でありますけれども、私のほうから御報告がありまして、6 月の専門調査会で審議いたしましたイミダゾリノン系除草剤耐性ダイズ BPS-CV127-9 に関しましては、申請書等の修正の指摘を出したところでありまして、この品目の取り扱いにつきましては、御担当の先生に御協力いただきまして、ということで座長預かりとなっていたところでもあります。指摘に基づき修正されたことが確認されましたので、評価書(案)を食品安全委員会に御報告しました。なお、現在はパブリックコメントの募集中であると聞いております。

私からの御報告は以上です。

ほかに、事務局から何かありますでしょうか。



○北村課長補佐 特にございません。

○澤田座長 ありがとうございました。

以上をもちまして、第 107 回遺伝子組換え食品等専門調査会を閉会いたします。

どうもありがとうございました。