

遺伝子組換え食品等評価書
(セルフ・クローニング、ナチュラル・オカレンス)

	区 分		品 目 名
	食品 添加物		
①	食品 添加物	セルフ	ジェランガムK3B646
②	食品 添加物	セルフ	プロテアーゼ
③	食品 添加物	セルフ	LU11439株を利用して生産されたリボフラビン
④	食品 添加物	セルフ	<i>Aspergillus niger</i> ASP-72株を利用して生産されたアスパラギナーゼ
⑤	食品 添加物	ナチュラル	PLA2(ホスホリパーゼA2)
⑥	食品 添加物	ナチュラル	<i>Streptomyces violaceoruber</i> (pNAG)株を利用して生産されたキチナーゼ
⑦	食品 添加物	ナチュラル	XAS株を利用して生産されたヘミセルラーゼ
⑧	食品 添加物	ナチュラル	pCHI株を利用して生産されたキチナーゼ
⑨	食品 添加物	ナチュラル	pGlu株を利用して生産されたグルカナーゼ
⑩	食品 添加物	ナチュラル	pCol株を利用して生産されたプロテアーゼ
⑪	食品 添加物	ナチュラル	pLPL株を利用して生産されたホスホリパーゼ
⑫	食品 添加物	ナチュラル	pPDN株を利用して生産されたホスホリパーゼ

遺伝子組換え食品等評価書

ジェランガム K3B646

2007年2月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯	1
○ 食品安全委員会委員名簿	1
○ 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	1
○ 遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物「ジェランガム K3B646」に係る食品健康影響評価に関する審議結果	2
I. はじめに	2
II. 申請添加物の概要	2
III. 対象添加物に該当するか否かについて	2
1 生産菌 <i>S. elodea</i> GBAD-1 株の構築について	2
2 「組換え体株 GBAD-1」が「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」に該当することについて	3
IV 食品健康影響評価について	4
V 引用文献	4

〈審議の経緯〉

平成17年9月30日	厚生労働大臣から遺伝子組換え食品の安全性確認に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の受理
平成17年10月6日	第114回食品安全委員会（要望事項説明）
平成17年11月21日	第34回遺伝子組換え食品等専門調査会
平成18年3月24日	第38回遺伝子組換え食品等専門調査会
平成18年11月21日	第42回遺伝子組換え食品等専門調査会
平成18年12月18日	第43回遺伝子組換え食品等専門調査会
平成19年1月11日	第173回食品安全委員会（報告）
平成19年1月11日～2月9日	国民からの意見・情報の募集
平成19年2月14日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
平成19年2月15日	第178回食品安全委員会（報告） 同日付で食品安全委員会委員長から厚生労働大臣へ通知

〈食品安全委員会委員〉

平成18年6月30日まで	平成18年12月20日まで	平成18年12月21日から
委員長 寺田雅昭	委員長 寺田雅昭	委員長 見上 彪
委員長代理 寺尾允男	委員長代理 見上 彪	委員長代理*1 小泉直子
小泉直子	小泉直子	長尾 拓
坂本元子	長尾 拓	野村一正
中村靖彦	野村一正	畑江敬子
本間清一	畑江敬子	本間清一
見上 彪	本間清一	*1：平成19年2月1日から

〈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〉

座長 早川堯夫	
座長代理 澤田純一	
五十君静信	手島玲子
池上幸江	丹生谷博
今井田克己	日野明寛*2
宇理須厚雄	室伏きみ子
小関良宏	山川隆
橘田和美*1	山崎壮
澁谷直人	渡邊雄一郎

*1：橘田専門委員は平成18年10月1日から

*2：日野専門委員は平成18年7月31日まで

遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物「ジェランガム K3B646」 に係る食品健康影響評価に関する審議結果

I はじめに

食品安全委員会は食品安全基本法に基づき、厚生労働省より、「ジェランガム K3B646」の安全性の審査に係る食品健康影響評価について意見を求められた。（平成 17 年 9 月 30 日、関係書類を受理）

II 申請添加物の概要

品 目 : ジェランガム K3B646
性 質 : 品質向上
申請者 : 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
開発者 : CP Kelco 社

ジェランガム K3B646 は、*Sphingomonas elodea* S60 株由来のアリルスルファターゼ及びβ-グルクロニダーゼをコードする *atsA* 遺伝子及び *gusA* 遺伝子のコード領域のほとんどを欠失させた DNA を、*S. elodea* S60 のサブクローンである *S. elodea* S60wtc 株に、相同組換え法を用いて導入して得られた GBAD-1 株を生産菌として製造されるジェランガムである。ジェランガム K3B646 の製造方法は、従来からの生産菌株を用いた場合と同様な方法で抽出・精製される。

ジェランガムは、*S. elodea* の培養液から得られたグルコース・グルクロン酸・グルコース・ラムノースの四つの糖を繰り返した構造をもつ直鎖上の多糖類であり、食品添加物（増粘安定剤）として幅広い食品に使われている。ジェランガムは食品添加物公定書に記載され、成分規格が設定されている。（引用文献①②）

現行の生産株（*S. elodea* S60 株）から生産されるジェランガムは微量のアリルスルファターゼ及びβ-グルクロニダーゼを産出するため、乳製品等（例：ミルクプリン、ハードヨーグルト）の乳タンパクの安定化・分散や食感の改良等に用いた際に UHT（超高温）殺菌処理を行うと、乳製品中の *p*-クレゾール硫酸抱合体及び *p*-クレゾールグルクロン酸抱合体から、アリルスルファターゼ及びβ-グルクロニダーゼの作用により *p*-クレゾールが生成し、異臭味の原因となっている。この問題を解決するために、アリルスルファターゼ及びβ-グルクロニダーゼをコードする *atsA* 遺伝子及び *gusA* 遺伝子を不活性化することを目的として GBAD-1 株が開発された。GBAD-1 株は、アリルスルファターゼ活性及びβ-グルクロニダーゼの活性を欠失している。

GBAD-1 株の宿主は、現在のジェランガム生産株の *S. elodea* S60 株の接合効率を高めた（プラスミド DNA の取り込み能を向上させた）自然単離株 *S. elodea* S60wtc であり、*S. elodea* については、動物やヒトに対する毒素や病原性を持つことは知られていない。（引用文献③④）

また、2 つの挿入 DNA の供与体は、現行のジェランガム生産株の *S. elodea* S60 株である。

III 対象添加物に該当するか否かについて

1. 生産菌 *S. elodea* GBAD-1 株の構築について

宿主は、*S. elodea* S60wtc 株である。

S. elodea S60 株から *atsA* 遺伝子及び *gusA* 遺伝子のコード領域のほとんどをそれぞれ欠失させた DNA を調製し、*E. coli* 由来のプラスミド pL02 に組み込み、発現ベクター pL02-Asdcln 及び pL02-Bglucdcln を調製した。両プラスミドには、目的外の遺伝子の存在は確認されていない。

第一段階は pL02-Asdcln を用いて宿主 *S. elodea* S60wtc 株を相同組換え法で形質転換し、*atsA* 遺伝子欠失の菌株を選抜した。第二段階は pL02-Bglucdcln を用いて、第一段階で選抜された *atsA* 遺伝子欠失の菌株を相同組換え法で形質転換し、*atsA* 遺伝子及び *gusA* 遺伝子が欠失したジェランガム K3B646 の生産菌株 *S. elodea* GBAD-1 株を選抜した。

2. 「組換え体株 GBAD-1」が「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」に該当することについて

(1) 組換え体株 GBAD-1 中から遺伝子挿入に用いたベクターが除去されていることの確認について

PCR 分析法により組換え体株 GBAD-1 中からベクター由来の DNA が除去されているかを確認するために、pL02 由来の 2 種類のプライマーを用いて確認したところ、組換え体株 GBAD-1 中にはベクター由来の DNA が存在していないことが確認された。(引用文献⑤)

サザンブロット分析により組換え体株 GBAD-1 中からベクター由来の DNA が除去されているかを確認するために、pL02 ベクターの線状化 DNA をプローブとして用いて確認したところ、組換え体株 GBAD-1 中にはベクター由来の DNA が存在していないことが確認された。(引用文献⑥) また、pL02 ベクターの *ori* 付近を増幅するプライマーを用いて PCR を行った結果でも、ベクター由来の DNA は検出されなかった。(引用文献⑤)

(2) 組換え体株中における目的遺伝子(アリルスルファターゼ遺伝子及びβ-グルクロニダーゼ遺伝子)の欠失数及び欠失サイズについて

① 部分欠失 *atsA* 遺伝子について

atsA 遺伝子の欠失状態を確認するために、*atsA* 遺伝子の DNA 配列を含むプローブを用いて、組換え体株 GBAD-1 のサザンブロット分析を行った結果、*atsA* 遺伝子及び近傍の塩基配列より想定される塩基サイズと同じサイズのバンドが観察され、染色体の正しい位置の 1 箇所のみで欠失が起きていることが確認された。(引用文献⑩)

② 部分欠失 *gusA* 遺伝子について

gusA 遺伝子の欠失状態を確認するために、*gusA* 遺伝子の DNA 配列を含むプローブを用いて、組換え体株 GBAD-1 のサザンブロット分析を行った結果、*gusA* 遺伝子及び近傍の塩基配列より想定される塩基サイズと同じサイズのバンドが観察され、染色体の正しい位置の 1 箇所のみで欠失が起きていることが確認された。(引用文献⑩)

(3) 既存生産株と組換え体株の塩基配列の比較について

① *atsA* 遺伝子について

GBAD-1 株の *atsA* 遺伝子断片を含む周辺領域の塩基配列を決定した結果、*atsA* 遺伝子断片の終止コドンを含む 24bp のみを残し、開始コドンを含む 1,632bp が欠失されていることが確認された。(引用文献⑦))

また、*atsA* 遺伝子欠失部位の近傍配列が、既存の生産株と一致していることが確認された。
(引用文献⑦⑧)

② *gusA* 遺伝子について

GBAD-1 株の *gusA* 遺伝子断片を含む周辺領域の塩基配列を決定した結果、*gusA* 遺伝子の終止コドンの 3bp のみを残し、開始コドンを含む 1,860bp が欠失されていることが確認された。

また、*gusA* 遺伝子欠失部位の近傍配列が、既存の生産株と同一であることが確認された。(引用文献⑨)

以上に示された科学的知見から、本組換え体生産株 GBAD-1 株は遺伝子挿入に用いたベクターを含んでいないこと、*atsA* 遺伝子と *gusA* 遺伝子のほとんどを欠失していること、遺伝子の欠失部位の近傍塩基配列が宿主である *S. elodea* S60wtc 株と一致していることが確認された。

IV 食品健康影響評価について

「GBAD-1 株由来のジェランガム K3B646」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」の第 1 章 総則 第 3 対象となる添加物及び目的のうち、「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」に該当することから、本基準の対象ではないと判断される。

V 引用文献

- ① 第 7 版 食品添加物公定書 厚生省復刻版 日本食品添加物協会 PP:272.
- ② 第 7 版 食品添加物公定書解説書 廣川書店 D-565-D570.
- ③ 遺伝子組換え *Sphingomonas elodea* GBAD-1 株により製造されるジェランガムの食品添加物としての GRAS に関する専門家研究班の見解 *Sphingomonas elodea* 及びジェランガムに対し懸念される毒性に関する文献調査 (社内報告書)
- ④ 遺伝子組換え *Sphingomonas elodea* GBAD-1 株により製造されるジェランガムの食品添加物としての GRAS に関する専門家研究班の見解 *Sphingomonas elodea* GBAD-1 株のマウスにおける毒性試験 (社内報告書)
- ⑤ 遺伝子組換え *Sphingomonas elodea* GBAD-1 株により製造されるジェランガムの食品添加物としての GRAS に関する専門家研究班の見解 UHT 殺菌乳製品におけるジェランガムに起因する *p*-クレゾール発生を減少させる *Sphingomonas elodea* 欠失株の構築 (社内報告書)
- ⑥ 遺伝子組換え *Sphingomonas elodea* GBAD-1 株により製造されるジェランガムの食品添加物としての GRAS に関する専門家研究班の見解 サザン分析による被験菌 GAS-1、PAS-1、GBAD-1 及び PBAD-1 株におけるベクター DNA 存在/非存在の検査 (社内報告書)
- ⑦ GBAD-1 株の *atsA* 欠失部位近傍の塩基配列 (CP Kelco 社資料)
- ⑧ Supplementary sequencing of *atsA* deletion region of GBAD1 (CP Kelco 社資料)
- ⑨ GBAD-1 株の *gusA* 欠失部位近傍の塩基配列 (CP Kelco 社資料)
- ⑩ サザンプロットによる遺伝子欠失のサイズ及び領域の確認 (CP Kelco 社資料)

遺伝子組換え食品等評価書

プロテアーゼ

2007年7月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯	1
○ 食品安全委員会委員名簿	1
○ 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	1
○ 要約	2
○ プロテアーゼに係る食品健康影響評価に関する審議結果	3
I. はじめに	3
II. 申請添加物の概要	3
III. 対象添加物に該当するか否かについて	3
1 組換え体 <i>A. niger</i> GEP-44 株の構築について	3
2 「組換え体株 GEP-44 株」が「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」に該当することについて	4
IV 食品健康影響評価結果	4
V 参考文献	4

〈審議の経緯〉

平成19年1月29日	厚生労働大臣から遺伝子組換え食品の安全性確認に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の受理
平成19年2月1日	第176回食品安全委員会（要請事項説明）
平成19年2月13日	第45回遺伝子組換え食品等専門調査会
平成19年5月25日	第48回遺伝子組換え食品等専門調査会
平成19年6月7日	第193回食品安全委員会（報告）
平成19年6月7日～7月6日	国民からの意見・情報の募集
平成19年7月10日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
平成19年7月12日	第198回食品安全委員会（報告） 同日付で食品安全委員会委員長から厚生労働大臣へ通知

〈食品安全委員会委員〉

平成18年12月21日から
委員長 見上 彪
委員長代理*1 小泉直子
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄*2
本間清一

*1：平成19年2月1日から

*2：平成19年4月1日から

〈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〉

座長	早川堯夫	
座長代理	澤田純一	
	五十君静信	手島玲子
	池上幸江	丹生谷博
	今井田克己	室伏きみ子
	宇理須厚雄	山川隆
	小関良宏	山崎壮
	橘田和美	渡邊雄一郎
	澁谷直人	

要 約

I はじめに

食品安全委員会は食品安全基本法に基づき、厚生労働省より、「プロテアーゼ」(*Aspergillus niger* GEP-44 株由来のプロテアーゼ)の安全性の審査に係る食品健康影響評価について意見を求められた。

II 申請添加物の概要

品 目 : プロテアーゼ (*A. niger* GEP-44 株由来のプロテアーゼ)
性 質 : 生産性向上
申請者 : DSM ニュートリション ジャパン株式会社
開発者 : DSM 社

A. niger GEP-44 株由来プロテアーゼは、*A. niger* GAM-53 株由来の 7 箇所のグルコアミラーゼをコードする *glaA* 遺伝子を欠失させ、欠失させた箇所に、プロテアーゼをコードする *gepA* 遺伝子を相同組換え法を用いて導入して得られた GEP-44 株を生産菌として製造されるプロテアーゼである。*A. niger* GEP-44 株由来プロテアーゼの製造方法は、従来からの生産菌株を用いた場合と同様な方法で抽出・精製される。

III 食品健康影響評価結果

「GEP-44 株由来のプロテアーゼ」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)の第 1 章 総則 第 3 対象となる添加物及び目的のうち、「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」に該当することから、本基準の対象ではないと判断される。

遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物「プロテアーゼ」 に係る食品健康影響評価に関する審議結果

I はじめに

食品安全委員会は食品安全基本法に基づき、厚生労働省より、「プロテアーゼ」(*Aspergillus niger* GEP-44 株由来のプロテアーゼ)の安全性の審査に係る食品健康影響評価について意見を求められた。(平成 19 年 1 月 29 日、関係書類を受理)

II 申請添加物の概要

品 目 : プロテアーゼ (*A. niger* GEP-44 株由来のプロテアーゼ)
性 質 : 生産性向上
申請者 : DSM ニュートリション ジャパン株式会社
開発者 : DSM 社

A. niger GEP-44 株由来プロテアーゼは、*A. niger* GAM-53 株由来の 7 箇所グルコアミラーゼをコードする *glaA* 遺伝子を欠失させ、欠失させた箇所に、プロテアーゼをコードする *gepA* 遺伝子を相同組換え法を用いて導入して得られた GEP-44 株を生産菌として製造されるプロテアーゼである。*A. niger* GEP-44 株由来プロテアーゼの製造方法は、従来からの生産菌株を用いた場合と同様な方法で抽出・精製される。

従来からの生産菌株を用いたプロテアーゼは、*A. niger* の培養液から得られる酵素であり、各種たん白質の分解等に用いられ、食品添加物（既存添加物）として幅広い食品に使われている。（参考文献 1）

GEP-44 の宿主は、*A. niger* 野生株 NRRL3122 から化学的変異処理により、グルコアミラーゼをコードする *glaA* 遺伝子のコピー数を多重化(7 コピー)させた *A. niger* GAM-53 株である。なお、*A. niger* GAM-53 株は、オランダ菌株コレクション Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS) (菌類培養中央研究所)において、*A. niger* と同定されている。（参考文献 2）

また、挿入 DNA の供与体は、従来型プロテアーゼ生産株の *A. niger* G-306 株である。（参考文献 3）

III 対象添加物に該当するか否かについて

1. 組換え体 *A. niger* GEP-44 株の構築について

宿主は、*A. niger* 野生株 NRRL3122 由来の GAM-53 株である。

宿主 *A. niger* GAM-53 株から、同株由来の 7 箇所グルコアミラーゼをコードする *glaA* 遺伝子及びプロモーターのコード領域のほとんどを欠失させた Δgla 座を有する 502 株を構築した。（参考文献 4, 5）これらの 7 箇所の Δgla 座は、各々異なる制限酵素部位で標識した。（参考文献 6）この 7 箇所の Δgla 座は、「プラグ部位」とよばれ、種々の遺伝子を含む発現ユニットを組み込むことが可能である。得られた 502 株を化学的に処理し 508 株を構築した。

構築された 508 株に、プロテアーゼをコードする *gepA* 遺伝子カセット及びアセトアミダーゼをコードしている *amdS* 遺伝子カセットを混合した DNA 溶液を混合し形質転換を行った。得られた形

質転換株の中から、*Bam*HI- Δ *gla* 座に *amdS* と *gpaA* 遺伝子カセットが直列に組み込まれている状態で多重化して存在する株を *gla* 及び Δ *gla* の特異的プライマーを用いる PCR 分析により選抜し、712-1 株を構築した。

構築された 712-1 株を 1 回交差相同組換えすることにより、*amdS* 遺伝子が除去された 712-2 株を構築した。

構築された 712-2 株に存在する多重化した *gpaA* 遺伝子カセットを有する *Bam*HI- Δ *gla* 座全体が、更に菌体内で自然に起こった遺伝子変換により、他の制限酵素部位を有する Δ *gla* 座を置換していき、結果として *gpaA* 遺伝子が更に多重化され、生産株である GEP-44 株が得られた。(参考文献 6)

2. 「組換え体株 GEP-44 株」が「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」に該当することについて

(1) 712-2 株中から遺伝子挿入に用いたベクター由来の DNA 及び *amdS* 遺伝子が除去されていることの確認について

サザンブロット分析により、712-2 株から、発現ベクターである pTZ18R ベクター由来の DNA 及び *amdS* 遺伝子が除去されているかを確認するために、pTZ18R ベクターの線状化 DNA 及び *amdS* 遺伝子をプローブとして用いて確認したところ、712-2 株中にベクター由来の DNA 及び *amdS* 遺伝子が含まれていないことが確認された。

(2) 組換え体株 GEP-44 株に存在する塩基配列について

712-2 株に存在する多重化した *gpaA* 遺伝子カセットを有する *Bam*HI- Δ *gla* 座全体が、更に菌体内で自然に起こった遺伝子変換により、他の制限酵素部位を有する Δ *gla* 座を置換していき、結果として *gpaA* 遺伝子が更に多重化され、生産株である GEP-44 株が得られた。(参考文献 6)

従って、その塩基配列は全て *A. niger* 由来である。また、目的以外のタンパク質を組換え体株内で発現するオープンリーディングフレームは含まれていない。

以上に示された科学的知見から、本組換え体生産株 GEP-44 株は発現ベクター及び *amdS* 遺伝子を含んでいないこと、宿主及び挿入遺伝子の供与体は、いずれも *A. niger* 由来であることが、オランダ菌株コレクション(CBS)により確認された。

IV 食品健康影響評価結果

「GEP-44 株由来のプロテアーゼ」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)の第 1 章 総則 第 3 対象となる添加物及び目的のうち、「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」に該当することから、本基準の対象ではないと判断される。

V 参考文献

1. 既存添加物名簿収載品目リスト注解書. 日本食品添加物協会(1999)

2. Identification service statement:Centraalbureau Voor Schimmelcultures(1994)
3. Identification service statement:Centraalbureau Voor Schimmelcultures(2000)
4. Boel E, Hjort I, Svensson B, Norris F, Norris KE, Fill NP. Glucoamylases G1 and G2 from *Aspergillus niger* are synthesized from two different but closely related mRNAs. *The EMBO Journal*(1984)3:1097-1102.
5. Nunberg JH, Meade JH, Cole G, Lawyer FC, McCabe P, Schweickart V, Tal R, Wittman VP, Flatgaard JE, Innis M. Molecular Cloning and Characterization of the Glucoamylase Gene of *Aspergillus awamori*. *Molecular and Cellular Biology*(1984)4:2306-2315.
6. van Dijk PWM, Selten GCM, Hempenius RA. On the safety of a new generation of DSM *Aspergillus niger* enzyme production strain. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*(2003)38:27-35.

遺伝子組換え食品等評価書

LU11439 株を利用して生産された
リボフラビン

2012年4月

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

<審議の経緯>

2012年1月6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0106第2号)、関係書類の接受
2012年1月12日	第414回食品安全委員会(要請事項説明)
2012年1月13日	第100回遺伝子組換え食品等専門調査会
2012年2月17日	第101回遺伝子組換え食品等専門調査会
2012年2月23日	第420回食品安全委員会(報告)
2012年2月23日から3月23日	国民からの御意見・情報の募集
2012年4月3日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2012年4月5日	第426回食品安全委員会(報告) (同日付け厚生労働大臣に通知)

<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

(専門参考人)

小関良宏(第100回遺伝子組換え食品等専門調査会)

要 約

「LU11439 株を利用して生産されたリボフラビン」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、リボフラビンの生産性を高めるため、*Ashbya gossypii* LU3178 株の突然変異株 LU8907 株を宿主として、*A. gossypii* ATCC10895 株由来のリボフラビンの生合成に関与する遺伝子の導入を行った LU11439 株を利用して生産されたリボフラビンである。

本添加物を生産する LU11439 株には遺伝子挿入に用いられたベクター由来の DNA は検出されず、導入された目的遺伝子は宿主と同じ *A. gossypii* に由来する。

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」（平成 16 年 3 月 25 日 食品安全委員会決定）の第 1 章 総則 第 3 対象となる添加物及び目的に規定される「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」に該当することから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないと判断した。

I. 評価対象添加物の概要

名 称：LU11439 株を利用して生産されたリボフラビン
用 途：栄養強化剤及び着色料
申請者：BASF ジャパン株式会社
開発者：BASF SE（ドイツ）

本添加物は、リボフラビンの生産性を高めるため、*Ashbya gossypii* LU3178 株の突然変異株 LU8907 株を宿主として、*A. gossypii* ATCC10895 株由来のリボフラビン生合成に関与する遺伝子を導入して作製された LU11439 株を利用して生産されたリボフラビンである。

リボフラビンは、食品添加物として指定され、成分規格が食品添加物公定書に記載されている。

A. gossypii 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、*A. gossypii* は、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 に該当し、リボフラビンの生産菌として工業的に用いられている。

また、LU11439 株は、抗生物質耐性マーカー遺伝子を有さない。

II. 食品健康影響評価

1. *A. gossypii* LU11439 株の作製について

宿主は *A. gossypii* LU3178 株由来の LU8907 株である。

挿入 DNA は *A. gossypii* ATCC10895 株由来のリボフラビン生合成に関与する *rib* 遺伝子群である。これにプロモーター及びターミネーターを含む遺伝子群並びにカナマイシン耐性遺伝子を結合した DNA 断片を作製した。DNA 断片をエレクトロポレーション法で宿主に導入し、REMI (Restriction Enzyme-Medicated Integration) 法及び相同組換え法により宿主ゲノムに挿入した後、相同組換え法でカナマイシン耐性遺伝子を除去し、*A. gossypii* LU11439 株を得た。

構築された DNA 断片の塩基数及び塩基配列は明らかになっている。

2. LU11439 株が「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」に該当することについて

(1) LU11439 株中から遺伝子挿入に用いたベクター由来の DNA が除去されていることの確認について

LU11439 株に挿入 DNA 断片の作製に用いたベクタープラスミド由来の DNA が混入していないことを確認するために、サザンブロット分析により、ベクターとして用いられた pBluescript KS(-)及び pUC18 を認識するプローブを用いて確認したところ、これらの配列由来の DNA は検出されなかった。

(2) LU11439 株に存在する塩基配列について

LU11439 株に導入された目的遺伝子の塩基配列は *A. gossypii* 由来である。

LU11439 株には、挿入 DNA 断片の作製に用いられたマルチクローニングサイト等に由来する配列が複数残存しており、ノーザンブロット分析及び挿入 DNA 等の塩基配列の情報を検討した結果が提出された。ノーザンブロット分析が行われた配列については、転写されていないことが確認されており、塩基配列の情報等も含めて検討した結果、問題はないと判断した。

以上、1 及び 2 の結果から、「LU11439 株を利用して生産されたりボフラビン」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）の第 1 章 総則 第 3 対象となる添加物及び目的に規定される「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」に該当することから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないと判断した。

遺伝子組換え食品等評価書

Aspergillus niger ASP-72 株を利用して
生産されたアスパラギナーゼ

2013年9月

食品安全委員会

<審議の経緯>

- 2012年9月27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0926第1号）、関係書類の接受
- 2012年10月1日 第448回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2012年11月2日 第109回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2013年8月5日 第484回食品安全委員会（報告）
- 2013年8月6日から9月4日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2013年9月9日 遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長に報告
- 2013年9月30日 第489回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

熊谷 進（委員長）
佐藤 洋（委員長代理）
山添 康（委員長代理）
三森国敏（委員長代理）
石井克枝
上安平冽子
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

「*Aspergillus niger* ASP-72 株を利用して生産されたアスパラギナーゼ」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実施した。

本添加物は、アスパラギナーゼの生産性を高めるため、*Aspergillus niger* NRRL3122 株由来の GAM-53 株を宿主として、*A. niger* GAM-8 株由来のアスパラギナーゼ遺伝子を導入して作製された ASP-72 株を利用して生産されたアスパラギナーゼである。アスパラギナーゼは、アクリルアミド生成の起因となるアスパラギンをアスパラギン酸とアンモニアに加水分解する酵素であり、食品の加熱加工におけるアクリルアミドの生成を抑制することができるとされている。

本添加物の生産菌である ASP-72 株には、宿主である *A. niger* に由来する DNA のみが導入されていることを確認した。

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」（平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定）の第 1 章総則第 3「対象となる添加物及び目的」に規定する「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製造されたものであることから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないと判断した。

なお、アスパラギナーゼは食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 10 条に基づく食品添加物としての指定がなされていないことから、厚生労働省から同指定に係る食品健康影響評価の要請もなされており、厚生労働省における本添加物の取扱いについては、添加物としての食品健康影響評価の結果も踏まえる必要がある。

I. 評価対象添加物の概要

名称：*Aspergillus niger* ASP-72 株を利用して生産されたアスパラギナーゼ
用途：アクリルアミドの生成抑制
申請者：DSM ニュートリションジャパン株式会社
開発者：DSM 社（オランダ）

本添加物は、アスパラギナーゼの生産性を高めるため、*Aspergillus niger* NRRL3122 株由来の *A. niger* GAM-53 株を宿主として、*A. niger* GAM-8 株由来のアスパラギナーゼ遺伝子 (*aspA* 遺伝子) を導入して作製された ASP-72 株を利用して生産されたアスパラギナーゼである。

アスパラギナーゼは、アクリルアミド生成の起因となるアスパラギンをアスパラギン酸とアンモニアに加水分解する酵素であり、食品の加熱加工におけるアクリルアミドの生成を抑制することができるかとされている。

また、*A. niger* 由来の α -アミラーゼやプロテアーゼ等が既存添加物として幅広い食品に安全に使用されている。

II. 食品健康影響評価

1. ASP-72 株の構築について

ASP-72 株の宿主は、*A. niger* GAM-53 株である。

ASP-72 株に導入された DNA 断片は、*Escherichia coli* 由来のプラスミド pTZ18R に *A. niger* GAM-8 株由来の *aspA* 遺伝子、*A. niger* GAM-53 株の *glaA* 遺伝子由来のプロモーター領域及びターミネーター配列を含む領域を組み込むことによって作製されたプラスミドから、プラスミド pTZ18R に由来する塩基配列を除去することによって作製された。

本 DNA 断片をプロトプラスト法を用いて *A. niger* GAM-53 株のゲノムに挿入し、自然遺伝子多重化により *aspA* 遺伝子が多重化された菌株 (ASP 528-17 株) を大量培養することによって、本添加物の生産菌である ASP-72 株が作製された。

なお、ASP-72 株の作製過程において選択マーカーとして利用するために *Aspergillus nidulans* NRRL194 株由来のアセトアミダーゼ遺伝子 (*amdS* 遺伝子) が導入されたが、ASP-72 株は *amdS* 遺伝子を有さない。

2. ASP-72 株が「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」に該当することについて

(1) ASP-72 株において遺伝子導入に用いたベクター由来の DNA 及び *amdS* 遺伝子が除去されていることの確認について

DNA 断片の作製に使用した *E. coli* 由来のプラスミド pTZ18R の塩基配列及び *A. nidulans* 由来の *amdS* 遺伝子が含まれていないことが確認された。

(2) ASP-72 株に存在する塩基配列について

ASP-72 株に導入された遺伝子は、*A. niger* GAM-8 株及び GAM-53 株に由来し、GAM-8 株に由来する *aspA* 遺伝子を多重化したものである。

したがって、その塩基配列は、全て *A. niger* 由来である。

以上の1及び2から、「*Aspergillus niger* ASP-72 株を利用して生産されたアスパラギナーゼ」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）の第1章総則第3「対象となる添加物及び目的」に規定する「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製造されたものであることから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないと判断した。

なお、アスパラギナーゼは、食品衛生法（昭和22年法律第233号）第10条に基づく食品添加物としての指定がなされていないことから、厚生労働省から同指定に係る食品健康影響評価の要請もなされており、厚生労働省における「*Aspergillus niger* ASP-72 株を利用して生産されたアスパラギナーゼ」の取扱いについては、添加物としての食品健康影響評価の結果も踏まえる必要がある。

組換えDNA技術を利用して製造された添加物「PLA2」（ホスホリパーゼ A2） に係る食品健康影響評価

I はじめに

食品安全委員会は食品安全基本法に基づき、厚生労働省より、「PLA2」（*Streptomyces violaceoruber* AS-10 株由来のホスホリパーゼ A2）の安全性の審査に係る食品健康影響評価について意見を求められた。（平成 15 年 10 月 30 日、関係書類を接受）

II 対象添加物の概要

品 種 : PLA2 (*Streptomyces violaceoruber* AS-10 株由来のホスホリパーゼ A2)
性 質 : リン脂質加水分解酵素
申請者 : ナガセケムテックス株式会社
開発者 : ナガセケムテックス株式会社

本 PLA2 は、宿主 *Streptomyces violaceoruber* 1326 株に、プロトプラスト法を用いて、*Streptomyces violaceoruber* IF015146 株由来の *pla2* 遺伝子のコーディング領域に、*Streptomyces cinamoneus* IF012852 株由来のホスホリパーゼ D 遺伝子 (*pld* 遺伝子) のプロモーター及びターミネーター領域を結合した遺伝子を導入して得られた *Streptomyces violaceoruber* AS-10 株から得られるホスホリパーゼ A2 である。

ホスホリパーゼ A2 は、ホスファチジルコリンを加水分解して 1-acylglycerophosphocholine と脂肪酸を生成する酵素である。用途は、卵黄の改質及びレシチンの加水分解であり、液体又は粉末のホスホリパーゼ A2 を卵黄液またはレシチン液に一定量添加して用いられている。

なお、宿主菌株が有害生理活性物質を生産することは知られていない。宿主、供与体に用いられた *Streptomyces* 属が基原となる添加物については、 β -アミラーゼ、キチナーゼ、グルコースイソメラーゼ、ビタミン B₁₂、トランスグルタミナーゼ、リパーゼ等があり（引用文献①）、いずれも既に豊富な食経験または食品添加物としての使用経験があるものである。

Streptomyces 属はグラム陽性芽胞形成性土壌細菌（放線菌）であり、ヒトによる直接的な食経験はないが、病原性等の問題は報告されていない。また、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株、*Streptomyces violaceoruber* IF015146 株、*Streptomyces cinamoneus* IF012852 株には、病原性、毒素産生は報告されていない。（引用文献②、③、④）

III 対象添加物に該当するか否かについて

1. 生産菌 *Streptomyces violaceoruber* AS-10 株の構築について

宿主は、Streptomycetaceae 科 *Streptomyces* 属 *violaceoruber* 種(旧名: *lividans*) の 1326 株である。

挿入 DNA は、*Streptomyces violaceoruber* IF015146 株から分離されたホスホリパーゼ A2 の遺伝子のコーディング領域に、その転写に必要なプロモーター及びターミネーター領域として、ホスホ

リパーゼ D を産生する *Streptomyces cinnamoneus* IF012852 株から分離された *pld* 遺伝子のプロモーター領域及びターミネーター領域を結合したものである。

発現ベクター pIJ702-EX-PLA2 は、これら挿入 DNA を *Streptomyces violaceoruber* ATCC35287 株由来のプラスミド pIJ702 にプライマー由来の *Sph* I のリンカーとともに導入したものであり、pIJ702 及び発現ベクター pIJ702-EX-PLA2 の塩基数、塩基配列及び制限酵素切断地図は明らかとなっており、目的外の遺伝子の混入はない。

この pIJ702-EX-PLA2 を用いて宿主 *Streptomyces violaceoruber* 1326 株をプロトプラスト法で形質転換し、PLA2 の生産菌株 *Streptomyces violaceoruber* AS-10 株を選抜した。

2. 自然界における *Streptomyces* 属間での染色体 DNA の交換について

一般的に、16S rRNA が高い相同性を持つ微生物は分類学上近縁であるとされているが、*Streptomyces violaceoruber* と *Streptomyces cinnamoneus* の 16S rRNA の塩基配列は高い相同性 (>95%) を示している。(引用文献⑤)

Streptomyces 属の多くの菌株は、自然界において接合により遺伝子の交換を行うことが知られている。このプロセスでは、細胞と細胞が接触した結果として、大きな染色体断片が取り込まれることが示されている。(引用文献⑥)

また、寒天培地及び土壌環境中において *Streptomyces violaceoruber* 由来の接合プラスミド及び派生プラスミドは、*Streptomyces* 属間で転移することが知られている。(引用文献⑦)

土壌中で、*Streptomyces violaceolatus* と *Streptomyces lividans* (= *Streptomyces violaceoruber*) の生活環を追跡し、プラスミドと Phage-Born 遺伝子の推移を調べたところ、自然界において、プラスミドの転移、ファージの感染及び細胞の接合が生じていることが確認されている。(引用文献⑧)

滅菌土壌において、水銀耐性遺伝子をエンコードする 2 つの *Streptomyces* 由来巨大線型プラスミド (pRJ3L (322kb)、pRJ28 (330kb)) が、プラスミドを含有しない水銀感受性菌である *Streptomyces lividans* (*Streptomyces violaceoruber*) TK24 株に転移することが確認されている。(引用文献⑨)

土壌より分離された 99 株の *Streptomyces* 属菌株 (*Streptomyces cinnamoneus* と *Streptomyces violaceoruber* の系統が含まれている) について、これらの 16S rRNA 情報の元に得られた系統樹を比較したところ、芳香ポリケチド生合成に関わる遺伝子が分類学上近縁でない *Streptomyces* 属に存在することが示されている。(引用文献⑩)

ストレプトマイシン生合成に関わる遺伝子を持つと思われる 2 種類の菌株を土壌より分離したところ、そのうちの 1 つの菌株は、ストレプトマイシン生合成に関わる遺伝子クラスターを構成する全遺伝子を持ち、もう一つの菌株は同じクラスターを構成する遺伝子の一部分を持っていたが、これら 2 種の菌株は分類学上近縁でないことが示されている。(引用文献⑪)

以上に示される既報の科学的知見から、*Streptomyces violaceoruber* と *Streptomyces cinnamoneus* との間では自然に遺伝子の交換がなされていると考えられ、本件の *Streptomyces violaceoruber* AS-10 株について、自然界に存在しうると考えることは妥当である。

IV 結果

「*Streptomyces violaceoruber* AS-10 株由来のホスホリパーゼ A2」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」の第1章 総則 第3 対象となる添加物及び目的のうち、「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではないと判断される。

V 引用文献

- ①・・・既存添加物名簿収載品目リスト
- ②・・・国立感染症研究所病原体等安全管理規定（平成16年7月）. 国立感染症研究所.
- ③・・・Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition, 667-669.
- ④・・・The Prokaryotes Second Edition, 934-941. Springer-Verlag.
- ⑤・・・WITT, D. & STACKEBRANDT E.: Unification of the Genera *Streptoverticillum* and *Streptomyces*, and Amendment of the *Streptomyces*. Waksman and Henrici 1943, 339. System. Appl. Microbiol. 13, 361-371.
- ⑥・・・Current Topics in Microbiology and Immunology, Vol. 96 1982. Springer-Verlag.
- ⑦・・・Fatemeh Rafii, Don L. Crawford 1988. Transfer of conjugative plasmids and mobilization of a nonconjugative plasmid between *Streptomyces* strains on agar and in soil. Appl. Environ. Microbiol. 54(6), 1334-1340.
- ⑧・・・Wellington E. M. H., N. Cresswell and P. R. Herron 1992. Gene transfer between *Streptomyces* in soil. Gene 115:193-198.
- ⑨・・・Ravel J., E. M. H. Wellington and R. T. Hill 2000. Interspecific transfer of *Streptomyces* Giant Linear in sterile amended soil microcosmos. Appl. Environ. Microbiology 66(2):529-534.
- ⑩・・・Metsä-Ketela M., L. Halo, E. Munukka, J. Hakala, P. Mantsala and K. Ylihonko 2002. Molecular evolution of aromatic polyketides and comparative sequence analysis of polyketide ketosynthase and 16S ribosomal DNA genes from various *Streptomyces* species. Appl. Environ. Microbiology 68(9):4472-4479.
- ⑪・・・S. Egan, P. Wiener, D. Kallifidas & E. M. H. Wellington 2001. Phylogeny of *Streptomyces* species and evidence for horizontal transfer of entire and partial antibiotic gene clusters. Antonie van Leeuwenhoek 79:127-133.

遺伝子組換え食品等評価書

Streptomyces violaceoruber (pNAG) 株を利用して
生産されたキチナーゼ

2008年8月

食品安全委員会

<審議の経緯>

2008年1月29日	厚生労働大臣より遺伝子組換え食品等の安全性確認に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省食安発第0129001号）、関係書類の接受
2008年1月31日	第224回食品安全委員会（要請事項説明）
2008年2月18日	第58回遺伝子組換え食品等専門調査会
2008年6月20日	第63回遺伝子組換え食品等専門調査会
2008年7月3日	第245回食品安全委員会（報告）
2008年7月3日より2008年8月1日	国民からの御意見・情報の募集
2008年8月5日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2008年8月7日	第250回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

見上 彪（委員長）
小泉直子（委員長代理）
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
本間清一

<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	丹生谷博
石見佳子	飯 哲夫
宇理須厚雄	山川 隆
小関良宏	山崎 壮
橘田和美	和久井信
澁谷直人	渡邊雄一郎
手島玲子	

要 約

食品安全委員会は、食品添加物「*Streptomyces violaceoruber* (pNAG) 株を利用して生産されたキチナーゼ」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、その品質を高めるため、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株を宿主として、*Streptomyces avermitilis* ATCC31267 株由来のキチナーゼ構造遺伝子 (*nag* 遺伝子) に *Streptomyces cinnamoneus* IFO12852 株由来のホスホリパーゼ D 遺伝子のプロモーター及びターミネーター領域を結合した遺伝子をプロトプラスト法で形質転換して作製された *S. violaceoruber* (pNAG) 株により生産されたキチナーゼである。

本添加物の評価では、*S. avermitilis*、*S. cinnamoneus* 及び *S. violaceoruber* との間において、自然に遺伝子交換がなされていると考えられることから、*S. violaceoruber* (pNAG) 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在すると考えられた。

以上の結果から、「*Streptomyces violaceoruber* (pNAG) 株を利用して生産されたキチナーゼ」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) の第 1 章総則第 3 対象となる添加物及び目的のうち、「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではないと判断される。

I. 評価対象遺伝子組換え添加物の概要

添加物	: <i>Streptomyces violaceoruber</i> (pNAG) 株を利用して生産されたキチナーゼ
用途	: キチン又はキチンオリゴ糖の加水分解酵素
申請者	: 長瀬産業株式会社
開発者	: 長瀬産業株式会社

本添加物は、その品質を高めるため、*S. violaceoruber* 1326 株を宿主として、*S. avermitilis* ATCC31267 株由来のキチナーゼ構造遺伝子 (*nag* 遺伝子) に *S. cinnamoneus* IFO12852 株由来のホスホリパーゼ D 遺伝子のプロモーター及びターミネーター領域を結合した遺伝子を導入して作製された *S. violaceoruber* (pNAG) 株により生産されたキチナーゼである。

キチナーゼは、カニ殻やエビ殻から調製されたキチン又はキチンオリゴ糖の加水分解に使用されている既存添加物である。

宿主である *S. violaceoruber* 及び挿入遺伝子の供与体である *S. avermitilis* 及び *S. cinnamoneus* は、植物、動物に対する病原性、毒性は知られておらず、国立感染症研究所病原体等安全管理規定において、バイオセーフティレベル 1 に相当する (参照 1, 2, 3)。また、*S. violaceoruber* による有害生理活性物質の生産は知られておらず、抗菌活性物質を生産しないことも確認されている (参照 4, 5)。

宿主、供与体が属する *Streptomyces* 属を基原とする食品添加物については、既に豊富な食経験又は使用経験がある (参照 6)。

II. 食品健康影響評価

1. 生産株 *S. violaceoruber* (pNAG) 株の構築について

宿主は、*S. violaceoruber* 1326 株である。

挿入 DNA は、*S. avermitilis* ATCC31267 株由来のキチナーゼ構造遺伝子 (*nag* 遺伝子) に *S. cinnamoneus* IFO12852 株由来のホスホリパーゼ D 遺伝子のプロモーター及びターミネーター領域を結合したものである。

発現プラスミド pNAG は、*S. violaceoruber* ATCC35287 由来のプラスミド pIJ702 (参照 7) を基に作成されたものであり、塩基数、塩基配列、制限酵素による切断地図は明らかとなっている。

上記で得られた発現プラスミド pNAG を用いて宿主 *S. violaceoruber* 1326 株をプロトプラスト法で形質転換し、生産株 *S. violaceoruber* (pNAG) 株を得た (参照 8, 9, 10)。

2. 評価対象添加物に該当するか否かについて

- (1) 一般的に、16S rRNA が高い相同性を持つ微生物は分類学上近縁であるとされており、*S. cinnamoneus* IFO12852 株、*S. violaceoruber* 1326 株及び *S. avermitilis* ATCC31267 株の 16S rRNA の塩基配列は高い相同性（96%以上）を示している（参照 11）。
- (2) *Streptomyces* 属の多くの菌株には、接合性プラスミドが存在し、菌と菌の接合により遺伝子交換を行うことが報告されている。このプロセスでは、菌と菌が接触した結果として、大きな染色体断片が取り込まれることが示されている（参照 12）。
- (3) 寒天培地及び土壌環境中において、*S. violaceoruber*（旧名 *S. lividans*）由来の接合プラスミド pIJ101 及びその派生プラスミド pIJ211 は、*Streptomyces* 属間で転移することが示されている。このような転移は、通常、自然に起こることが報告されている（参照 13）。
- (4) 土壌中の *S. violaceolatus* と *S. violaceoruber*（旧名 *S. lividans*）の生活環を調査し、特定の段階でプラスミドの転移、ファージの感染及び細胞の接合が生じていることが確認されている（参照 14）。
- (5) 滅菌土壌において、水銀耐性遺伝子をエンコードする *Streptomyces* 由来巨大線型プラスミドが、プラスミドを含有しない水銀感受性菌である *S. violaceoruber*（旧名 *S. lividans*）に転移することが確認されている（参照 15）。
- (6) 土壌より分離された *Streptomyces* 属の 99 株（*S. cinnamoneus* 及び *S. violaceoruber* の系統を含む。）について、これらの 16S rRNA 情報を元に得られた系統樹を比較したところ、芳香ポリケチド生合成に関わる遺伝子が分類学上近縁でない *Streptomyces* 属に存在することが示されている。また、*S. cinnamoneus*、*S. violaceoruber* 及び *S. avermitilis* は、菌糸の色素に関する同等の遺伝子を持っていることが示されている（参照 16）。
- (7) ストレプトマイシン生合成に関わる遺伝子を持つと思われる 2 種類の菌株を土壌より分離したところ、そのうちの 1 つの菌株は、ストレプトマイシン生合成に関わる遺伝子クラスターを構成する全遺伝子を持ち、もう一つの菌株は同じクラスターを構成する遺伝子の一部分を持っていたが、これら 2 種の菌株は分類学上近縁でないことが示されている（参照 17）。

(1)～(7)に示される科学的知見から、*S. cinnamoneus*、*S. violaceoruber* 及び

*S. avermitilis*の間では、自然に遺伝子交換がなされていると考えられ、*S. violaceoruber* (pNAG) 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在しうると考えることは妥当である。

以上の結果から、「*Streptomyces violaceoruber* (pNAG) 株を利用して生産されたキチナーゼ」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)の第1章総則第3 対象となる添加物及び目的のうち、「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではないと判断される。

<参照>

1. 国立感染症研究所病原体等安全管理規定(平成19年6月); 国立感染症研究所
2. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition Group 25. 667-669
3. The Prokaryotes Second Edition Chapter 41. 934-941
4. 抗菌活性分析(長瀬産業株式会社資料)
5. Specification for identity and purity of certain food additive, APPENDIX A TO ANNEX 1: Determination of Antibiotic Activity.
6. 食品添加物総覧2004; 既存添加物名簿収載品目リスト
7. Katz E, Thompson CJ, Hopwood DA. Cloning and expression of the tyrosinase gene from *Streptomyces antibioticus* in *Streptomyces lividans*. J Gen Microbiol. 1983 Sep;129(9):2703-14.
8. 発現プラスミド pNAG の構築(長瀬産業株式会社資料)
9. 発現プラスミド pNAG の確認(長瀬産業株式会社資料)
10. 挿入遺伝子の遺伝子配列比較(長瀬産業株式会社資料)
11. 16S rRNA の塩基配列の相同性比較(長瀬産業株式会社資料)
12. K.F. Chater, D.A. Hopwood, T. Kieser, and C.J : Thompson. Gene Cloning in Strptomyces. Current Topics in Microbiology and Immunology 1982 ; 96: 69-93
13. Fatemeh Rafii, and Don L : Crawford. Transfer of Conjugative Plasmids and Mobilization of a Nonconjugative Plasmid between *Streptomyces* Strains on Agar and in Soil. Appl. Environment. Microbiol. 1988 ; 54: 1334-1340
14. Elizabeth M.H. Wellington, Neil Cresswell, and Paul R. Herron : Gene Transfer between Streptomyces in Soil. Gene 1992 ; 115: 193-198
15. Jacques Ravel, Elizabeth M.H. Wellington, and Russell T. Hill : Interspecific Transfer of *Streptomyces* Giant Linear Plasmids in Sterile Amended Soil Microcosms. Appl. Environment. Microbiol. 2000. ; 66: 529-534
16. Mikko Metsä-Ketelä, Laura Halo, Eveliina Munukka, Juha Hakala, Pekka Mäntsälä, and Kristiina Ylihpnko : Molecular Evolution of Aromatic Polyketides and Comparative Sequence Analysis of Polyketide Ketosynthase and 16S Ribosomal

DNA Genes from Various *Streptomyces* Species. Appl. Environment. Microbiol. 2002 ; 68: 4472-4479

17. S. Egan, P. Wiener, D. Kallifidas, and E.M.H Wellington : Phylogeny of *Streptomyces* Species and Evidence for Horizontal Transfer of Entire and Partial Antibiotic Gene Clusters. Antonie van Leeuwenhoek 2001 ; 79: 127-133

遺伝子組換え食品等評価書

XAS 株を利用して生産された ヘミセルラーゼ

2009年7月

食品安全委員会

＜審議の経緯＞

2009年2月3日	厚生労働大臣より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（厚生労働省発食安第0202005号）、関係書類の接受
2009年2月5日	第272回食品安全委員会（要請事項説明）
2009年2月17日	第68回遺伝子組換え食品等専門調査会
2009年6月19日	第71回遺伝子組換え食品等専門調査会
2009年6月25日	第291回食品安全委員会（報告）
2009年6月25日より7月24日	国民からの御意見・情報の募集
2009年7月28日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2009年7月30日	第296回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣に報告）

＜食品安全委員会委員名簿＞

2009年6月30日まで

見上 彪（委員長）
小泉直子（委員長代理）
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
本間清一

2009年7月1日から

小泉直子（委員長）
見上 彪（委員長代理*）
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
村田容常

*：2009年7月9日から

＜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	丹生谷博
石見佳子	飯 哲夫
宇理須厚雄	山川 隆
小関良宏	山崎 壮
橘田和美	和久井信
澁谷直人	渡邊雄一郎
手島玲子	

要 約

食品添加物である「XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼ」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、ヘミセルラーゼの生産効率を高めるため、*Bacillus subtilis* Marburg 168 株由来の突然変異株を宿主として、ヘミセルラーゼの分解に関与するプロテアーゼ遺伝子を欠失させ、*B. subtilis* Marburg 168 株由来のヘミセルラーゼ遺伝子 (*xynA* 遺伝子) 及びヘミセルラーゼ遺伝子のターミネーター (*xynAt*) 並びに *Bacillus amyloliquefaciens* 由来の α -アミラーゼ遺伝子のプロモーター (*PamyQ*) を導入して作製された XAS 株により生産されたヘミセルラーゼである。

本添加物の評価では、*B. subtilis* 及び *B. amyloliquefaciens* の間において、自然に遺伝子交換がなされていると考えられることから、XAS 株と同等の遺伝子構造を持つ生細胞が自然界に存在すると考えられた。

以上の結果から、「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) の第 1 章 総則、第 3 対象となる添加物及び目的のうち、「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないものと判断した。

I. 評価対象添加物の概要

名称：XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼ
用途：パン生地の改良、コーヒー抽出率の向上など
申請者：DSM ニュートリションジャパン株式会社
開発者：DSM（オランダ）

本添加物は、ヘミセルラーゼの生産効率を高めるため、*Bacillus subtilis* Marburg 168 株由来の突然変異株（1-85 株及び DB102 株）を宿主として、ヘミセルラーゼの分解に関与する 2 種類のプロテアーゼ遺伝子を欠失させ、*B. subtilis* 168 株由来のヘミセルラーゼ遺伝子（*xynA* 遺伝子）及びヘミセルラーゼ遺伝子のターミネーター（*xynAt*）並びに *Bacillus amyloliquefaciens* 由来の α -アミラーゼ遺伝子のプロモーター（*PamyQ*）を導入して作製された XAS 株により生産されたヘミセルラーゼである。

ヘミセルラーゼは食品添加物であり、既存添加物名簿に記載されている。

XAS 株の宿主の由来である *B. subtilis* 及び挿入遺伝子の供与体である *B. subtilis* 及び *B. amyloliquefaciens* は、発酵分野で安全に利用されてきた微生物であり、また、*B. subtilis* を基原とする食品添加物についても、豊富な食経験及び使用経験がある（参照 1）。

II. 評価対象添加物に該当するか否かについて

1. 生産菌株 XAS 株の構築について

宿主は、*B. subtilis* 168 株の突然変異株である DB102 株及び 1-85 株である。

挿入遺伝子は、*B. subtilis* 168 株由来のヘミセルラーゼ遺伝子（*xynA* 遺伝子）及びヘミセルラーゼ遺伝子のターミネーター（*xynAt*）並びに *B. amyloliquefaciens* 由来の α -アミラーゼ遺伝子のプロモーター（*PamyQ*）である。

宿主である DB102 株のプロテアーゼ遺伝子を相同組換えにより欠失させ、1-85 株と融合した後、更にプロテアーゼ遺伝子を相同組換えにより欠失させ、BS154 株を構築した。

発現ベクター pGBB01XAS-10 は、*B. subtilis* 由来のプラスミド pUB110 及び *Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 を基に作製したベクター pBHA1 に、挿入遺伝子を導入し、最終的に *E. coli* に由来する塩基配列を除去して作製された。

作製した発現ベクター pGBB01XAS-10 を BS154 株に導入し、生産菌株 XAS 株を得た。

2. 評価対象添加物に該当する否かについて

(1) 一般的に 16S rRNA が高い相同性を持つ微生物は分類学上近縁であるとされており、*B. subtilis* 及び *B. amyloliquefaciens* の 16S rRNA の塩基配列は高い相同性 (>99%) を有している（参照 2）。

(2) 1998 年までに *International Journal of Systematic Bacteriology* に掲載された *Bacillus* 属の菌株について、16S rRNA の全塩基配列及び高度可変領域の

配列 (HV region) を用いた分類の結果、*B. subtilis* と *B. amyloliquefaciens* は非常に近い種であることが報告されている (参照 3)。

- (3) *B. subtilis* は、報告されている細菌の中でも特に高い自然形質転換能 (Natural competence) を有しており、物理化学的な処理を施すことなく、細胞外 DNA を取り込むことが広く知られている (参照 4)。
- (4) *B. subtilis* を用いた種間形質転換実験で、*B. amyloliquefaciens* から単離した DNA を使用し、*B. subtilis* の栄養要求性を相補する形質転換株が得られることが示されている (参照 5)。
- (5) *B. amyloliquefaciens* のプロトプラスト溶菌液を用いた種間形質転換実験で、高い頻度で *B. subtilis* の栄養要求性を相補する形質転換株を得られることが示されている。このプロセスでは、大きな染色体断片が取り込まれ、16kb 離れている 2 つの形質を同時に形質転換できることが示されている (参照 6)。
- (6) *B. subtilis* 及び *B. licheniformis* の種間において、プロトプラスト融合による遺伝子交換が報告されており (参照 7, 8)、*B. licheniformis* よりも *B. amyloliquefaciens* の方が、*B. subtilis* と近種であることが報告されている (参照 3)。
- (7) 土壌環境中において 2 種類の遺伝的形質の異なる *B. subtilis* を混合し、培養した結果、コロニーの 79% が、2 種類の表現形質を合わせ持つことが示されている。また、単独の菌株に DNA を添加して土壌中で培養した場合、高い頻度で形質転換株が得られることも示されている (参照 9)。

以上、(1) ~ (7) に示される科学的知見から、*B. subtilis* 及び *B. amyloliquefaciens* の間では、自然に遺伝子交換がなされていると考えられ、XAS 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在しうると考えられることは妥当である。

Ⅲ. 食品健康影響評価結果

「XAS 株を利用して生産されたヘミセルラーゼ」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) の第 1 章 総則、第 3 対象となる添加物及び目的のうち、「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないものと判断した。

〈参照〉

- 1 Anne Sietske de Bore, and Borge Diderichsen. On the safety of *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens* : a review: Applied Microbiology Biotechnology. 1991; 36: 1-4.
- 2 Wang, L-T. et al., Comparison of *gyrB* gene sequences. 16S rRNA gene sequences and DNA-DNA hybridization in the *Bacillus subtilis* group: International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.

- 2007; 57: 1846-1850.
- 3 Goto, K., et al. Application of the partial 16S rDNA sequence as an index for rapid identification of species in the genus *Bacillus*: *The Journal of General and Applied Microbiology*. 2000; 46: 1-8.
 - 4 Simon MC and Philip Y. "Gene Transfer in Gram-Positive Bacteria". *Methods for general and molecular bacteriology*. P. Gerhardt, R. G. E. Murray, W. A. Wood, Noel R. Krieg. 2nd ed, American Society for Microbiology. 1994; 348-364.
 - 5 Wilson G.A., and Young F.E. Intergenetic Transformation of the *Bacillus subtilis* Genospecies: *Journal of Bacteriology*. 1972; 111: 705-716.
 - 6 Akamatsu T., and H. Taguchi. Interspecific Transformation of *Bacillus subtilis* Competent Cells by Chromosomal DNA in Lysates of Protoplasts of *Bacillus amyloliquefaciens*: *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2000; 64: 275-279.
 - 7 Akamatsu T., and J. Sekiguchi. Selection methods in bacilli for recombinants and transformants of intra- and interspecific fused protoplasts: *Archives of Microbiology*. 1993; 134: 303-308.
 - 8 Iaroslavtseva NG, et al. Fusion of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* protoplasts. Interspecies recombination resulting from protoplast fusion: Antibiotics and medical biotechnology (Antibiotiki imeditsinskaia biotekhnologiya). 1985; 30: 643-649.
 - 9 Graham, J. B., and C. A. Istock. Mol. Genetic exchange in *Bacillus subtilis* in soil: *Molecular & General Genetics*. 1978; 166: 287-290.

遺伝子組換え食品等評価書

pCHI 株を利用して生産されたキチナーゼ

2009年9月

食品安全委員会

<審議の経緯>

2009年4月28日	厚生労働大臣より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（厚生労働省発食安第0428001号）、関係書類の接受
2009年4月30日	第284回食品安全委員会（要請事項説明）
2009年5月19日	第70回遺伝子組換え食品等専門調査会
2009年7月23日	第295回食品安全委員会（報告）
2009年7月23日より8月21日	国民からの御意見・情報の募集
2009年9月1日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2009年9月3日	第300回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

2009年6月30日まで

見上 彪（委員長）
小泉直子（委員長代理）
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
本間清一

2009年7月1日から

小泉直子（委員長）
見上 彪（委員長代理*）
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
村田容常

*：2009年7月9日から

<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	丹生谷博
石見佳子	飯 哲夫
宇理須厚雄	山川 隆
小関良宏	山崎 壮
橘田和美	和久井信
澁谷直人	渡邊雄一郎
手島玲子	

要 約

食品添加物である「pCHI 株を利用して生産されたキチナーゼ」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、キチンの加水分解を触媒するキチナーゼの生産性を高めるため、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株を宿主として、*S. violaceoruber* NBRC 15146 株由来のキチナーゼ構造遺伝子 (*chi* 遺伝子) に *Streptomyces cinnamoneus* TH-2 株由来のメタロエンドペプチダーゼ遺伝子のプロモーター領域及び *S. cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のホスホリパーゼ D 遺伝子のターミネーター領域を結合した遺伝子をプロトプラスト法で形質転換して作製された pCHI 株により生産されたキチナーゼである。

本添加物の評価では、*S. violaceoruber* 及び *S. cinnamoneus* との間において、自然に遺伝子交換がなされていると考えられることから、pCHI 株と同等の遺伝子構造を持つ生細胞が自然界に存在すると考えられた。

以上の結果から、「pCHI 株を利用して生産されたキチナーゼ」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）の第 1 章総則第 3 対象となる添加物及び目的のうち、「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではないと判断した。

I. 評価対象添加物の概要

名称：pCHI 株を利用して生産されたキチナーゼ
用途：キチンの加水分解
申請者：長瀬産業株式会社
開発者：長瀬産業株式会社

本添加物は、キチンの加水分解を触媒するキチナーゼの生産性を高めるため、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株を宿主として、*S. violaceoruber* NBRC 15146 株由来のキチナーゼ構造遺伝子 (*chi* 遺伝子) に *Streptomyces cinnamoneus* TH-2 株由来のメタロエンドペプチダーゼ遺伝子のプロモーター領域及び *S. cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のホスホリパーゼ D 遺伝子のターミネーター領域を結合した遺伝子を導入して作製された pCHI 株により生産されたキチナーゼである。

キチナーゼは、カニ殻やエビ殻から調製されたキチン又はキチンオリゴ糖の加水分解に使用されている既存添加物である。

宿主である *S. violaceoruber* 及び挿入遺伝子の供与体である *S. violaceoruber* 及び *S. cinnamoneus* は、植物、動物に対する病原性、毒性は知られておらず、国立感染症研究所病原体等安全管理規定において、バイオセーフティレベル 1 に相当する (参照 1, 2, 3)。また、*S. violaceoruber* による有害生理活性物質の生産は知られておらず、抗菌活性物質を生産しないことも確認されている (参照 4, 5)。

宿主、供与体が属する *Streptomyces* 属を基原とする食品添加物については、既に豊富な食経験又は使用経験がある (参照 6)。

II. 食品健康影響評価

1. 生産株 pCHI 株の構築について

宿主は、*S. violaceoruber* 1326 株である。

挿入 DNA は、*S. violaceoruber* NBRC 15146 株由来のキチナーゼ構造遺伝子 (*chi* 遺伝子) に *S. cinnamoneus* TH-2 株由来のメタロエンドペプチダーゼ遺伝子のプロモーター領域及び *S. cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のホスホリパーゼ D 遺伝子のターミネーター領域を結合したものである。

発現プラスミド pCHI は、*S. violaceoruber* ATCC35287 株由来のプラスミド pIJ702 (参照 7) を基に作成されたものであり、塩基数、塩基配列、制限酵素による切断地図は明らかとなっている。

上記で得られた発現プラスミド pCHI を用いて宿主 *S. violaceoruber* 1326 株をプロトプラスト法で形質転換し、生産株 pCHI 株を得た (参照 8, 9, 10)。

2. 評価対象添加物に該当するか否かについて

- (1) 一般的に、16S rRNA が高い相同性を持つ微生物は分類学上近縁であるとされており、*S. cinnamoneus* TH-2 株、*S. violaceoruber* NBRC 15146 株及び *S. violaceoruber* NBRC 12852 株の 16S rRNA の塩基配列は高い相同性 (96%

以上)を示している(参照11)。

- (2) *Streptomyces* 属の多くの菌株には、接合性プラスミドが存在し、菌と菌の接合により遺伝子交換を行うことが報告されている(参照12)。
- (3) 寒天培地及び土壌環境中において、*S. violaceoruber* (旧名 *S. lividans*) 由来の接合プラスミド pIJ101 及びその派生プラスミド pIJ211 は、*Streptomyces* 属間で転移することが示されている。このような転移は、通常、自然に起こることが報告されている(参照13)。
- (4) 土壌中の *S. violaceolatus* と *S. violaceoruber* (旧名 *S. lividans*) の生活環を調査し、特定の段階でプラスミドの転移、ファージの感染及び細胞の接合が生じていることが確認されている(参照14)。
- (5) 滅菌土壌において、水銀耐性遺伝子をエンコードする *Streptomyces* 由来巨大線状プラスミドが、*S. violaceoruber* (旧名 *S. lividans*) に転移することが確認されている(参照15)。
- (6) 土壌より分離された *Streptomyces* 属の99株 (*S. cinnamoneus* 及び *S. violaceoruber* の系統を含む。) について、これらの16S rRNA 情報を元に得られた系統樹を比較したところ、芳香ポリケチド生合成に関わる遺伝子が分類学上近縁でない *Streptomyces* 属に存在することが示されている。また、*S. cinnamoneus* 及び *S. violaceoruber* は、菌糸の色素に関する同等の遺伝子を持っていることが示されている(参照16)。
- (7) ストレプトマイシン生合成に関わる遺伝子を持つと思われる2種類の菌株を土壌より分離したところ、そのうちの1つの菌株は、ストレプトマイシン生合成に関わる遺伝子クラスターを構成する全遺伝子を持ち、もう一つの菌株は同じクラスターを構成する遺伝子の一部分を持っていたが、これら2種の菌株は分類学上近縁でないことが示されている(参照17)。

以上、(1)～(7)に示される科学的知見から、*S. violaceoruber* 及び *S. cinnamoneus* の間では、自然に遺伝子交換がなされていると考えられ、pCHI株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在しうると考えることは妥当である。

以上、1及び2の結果から、「pCHI株を利用して生産されたキチナーゼ」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)の第1章総則第3 対象となる添加物及び目的のうち、「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではないと判断した。

<参照>

1. 国立感染症研究所病原体等安全管理規定(平成19年6月);国立感染症研究所
2. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition Group 25. 667-669

3. The Prokaryotes Second Edition Chapter 41. 934-941
4. 抗菌活性分析 (社内報告書)
5. Specification for identity and purity of certain food additive, APPENDIX A TO ANNEX 1: Determination of Antibiotic Activity.
6. 既存添加物名簿収載品目リスト
7. Katz E, Thompson CJ, and Hopwood DA. Cloning and expression of the tyrosinase gene from *Streptomyces antibioticus* in *Streptomyces lividans*. J Gen Microbiol. 1983 Sep;129(9):2703-2714
8. pCHI プラスミドの構築 (社内報告書)
9. pCHI プラスミドの確認 (社内報告書)
10. 挿入遺伝子の遺伝子配列比較 (社内報告書)
11. 16S rRNA の塩基配列の相同性比較 (社内報告書)
12. K.F. Chater, D.A. Hopwood, T. Kieser, and C.J. Thompson. Gene Cloning in Strptomyces. Current Topics in Microbiology and Immunology 1982; 96: 69-93
13. Fatemeh Rafii, and Don L Crawford. Transfer of Conjugative Plasmids and Mobilization of a Nonconjugative Plasmid between *Streptomyces* Strains on Agar and in Soil. Appl. Environment. Microbiol. 1988 ; 54: 1334-1340
14. Elizabeth M.H. Wellington, Neil Cresswell, and Paul R. Herron. Gene Transfer between Streptomycetes in Soil. Gene 1992 ; 115: 193-198
15. Jacques Ravel, Elizabeth M.H. Wellington, and Russell T. Hill. Interspecific Transfer of *Streptomyces* Giant Linear Plasmids in Sterile Amended Soil Microcosms. Appl. Environment. Microbiol. 2000 ; 66: 529-534
16. Mikko Metsä-Ketelä, Laura Halo, Eveliina Munukka, Juha Hakala, Pekka Mäntsälä, and Kristiina Ylihpnko. Molecular Evolution of Aromatic Polyketides and Comparative Sequence Analysis of Polyketide Ketosynthase and 16S Ribosomal DNA Genes from Various *Streptomyces* Species. Appl. Environment. Microbiol. 2002 ; 68: 4472-4479
17. S. Egan, P. Wiener, D. Kallifidas, and E.M.H Wellington. Phytogeny of *Streptomyces* Species and Evidence for Horizontal Transfer of Entire and Partial Antibiotic Gene Clusters. Antonie van Leeuwenhoek 2001 ; 79: 127-133

遺伝子組換え食品等評価書

pGlu株を利用して生産された
グルカナーゼ

2010年11月

食品安全委員会

<審議の経緯>

2010年8月24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0824第1号）、関係書類の接受
2010年8月26日	第345回食品安全委員会（要請事項説明）
2010年9月6日	第84回遺伝子組換え食品等専門調査会
2010年10月7日	第350回食品安全委員会（報告）
2010年10月7日から11月5日	国民からの御意見・情報の募集
2010年11月22日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2010年11月25日	第357回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

小泉直子（委員長）
見上 彪（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 渋谷直人
石見佳子 手島玲子
海老澤元宏 中島春紫
小関良宏 飯 哲夫
橘田和美 山崎 壮
児玉浩明 和久井信

要 約

食品添加物である「pGlu 株を利用して生産されたグルカナーゼ」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、グルカナーゼの品質を高めるために、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株を宿主として、*S. violaceoruber* NBRC 15146 株由来のグルカナーゼ構造遺伝子に *Streptomyces cinnamoneus* TH-2 株由来のメタロエンドペプチダーゼ遺伝子のプロモーター領域及び *S. cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のホスホリパーゼ D 遺伝子のターミネーター領域を結合した挿入 DNA を含む発現プラスミドを導入して作製した pGlu 株を利用して生産されたグルカナーゼである。

S. violaceoruber 及び *S. cinnamoneus* との間において、自然に遺伝子交換が行われていると考えられることから、pGlu 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在すると考えられる。

「pGlu 株を利用して生産されたグルカナーゼ」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）の第 1 章総則第 3 対象となる添加物及び目的のうち、「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではないと判断した。

I. 評価対象添加物の概要

名 称：pGlu 株を利用して生産されたグルカナーゼ

用 途： β -D-グルカンの加水分解

申請者：長瀬産業株式会社

開発者：長瀬産業株式会社

本添加物は、グルカナーゼの品質を高めるために、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株を宿主として、*S. violaceoruber* NBRC 15146 株由来のグルカナーゼ構造遺伝子に *Streptomyces cinnamoneus* TH-2 株由来のメタロエンドペプチダーゼ遺伝子のプロモーター及び *S. cinnamoneus* NBRC12852 株由来のホスホリパーゼ D 遺伝子のターミネーターを結合した挿入 DNA を含む発現プラスミドを導入して作製した pGlu 株を利用して生産されたグルカナーゼである。

グルカナーゼは、 β -D-グルカンの加水分解に使用されている既存添加物である。

宿主及び構造遺伝子の供与体である *S. violaceoruber* 並びにプロモーター及びターミネーターの供与体である *S. cinnamoneus* は、毒素産生性及び病原性は知られておらず、国立感染症研究所病原体等安全管理規定においてバイオセーフティレベル 1 に分類されている。

II. 食品健康影響評価

1. pGlu 株の作製について

宿主は、*S. violaceoruber* 1326 株である。

挿入 DNA は、*S. violaceoruber* NBRC15146 株由来のグルカナーゼ構造遺伝子に、*S. cinnamoneus* TH-2 株由来のメタロエンドペプチダーゼ遺伝子のプロモーター及び *S. cinnamoneus* NBRC12852 株由来のホスホリパーゼ D 遺伝子のターミネーターを結合したものである。

発現プラスミド pGlu は、*S. violaceoruber* ATCC35287 株由来のプラスミド pIJ702 を基に作製されたものであり、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。

pGlu 株は、発現プラスミド pGlu をプロトプラスト法を用いて *S. violaceoruber* 1326 株を形質転換することによって作製された。

2. 評価対象添加物に該当するか否かについて

S. violaceoruber 及び *S. cinnamoneus* の間では、自然に遺伝子交換が行われていると考えられる。この根拠となる科学的知見については、「pCHI 株を利用して生産されたキチナーゼ」の評価において既に確認されている（平成 21 年 9 月 3 日府食第 853 号）。

したがって、pGlu 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在すると考えられる。

以上、1 及び 2 の結果から、「pGlu 株を利用して生産されたグルカナーゼ」に

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）の第 1 章総則第 3 対象となる添加物及び目的のうち、「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではないと判断した。

遺伝子組換え食品等評価書

pCol 株を利用して生産された
プロテアーゼ

2011年6月

食品安全委員会

<審議の経緯>

2011年2月22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0221第2号）、関係書類の接受
2011年2月24日	第368回食品安全委員会（要請事項説明）
2011年3月7日	第89回遺伝子組換え食品等専門調査会
2011年4月14日	第378回食品安全委員会（報告）
2011年4月14日から5月13日	国民からの御意見・情報の募集
2011年6月28日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長に報告
2011年6月30日	第388回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣に通知）

<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 渋谷直人
石見佳子 手島玲子
海老澤元宏 中島春紫
小関良宏 飯 哲夫
橘田和美 山崎 壮
児玉浩明 和久井信

要 約

「pCol 株を利用して生産されたプロテアーゼ」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、プロテアーゼの品質を高めるために、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株を宿主として、*S. violaceoruber* NBRC 15146 株由来のプロテアーゼ構造遺伝子に *Streptomyces avermitilis* ATCC31267 株由来のプロモーター及び *Streptomyces cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のターミネーターを結合した挿入 DNA 並びに *Streptomyces azureus* 由来のチオストレプトン耐性遺伝子を含む発現プラスミドを導入して作製された pCol 株を利用して生産されたプロテアーゼである。

S. violaceoruber、*S. avermitilis*、*S. cinnamoneus* 及び *S. azureus* との間において、自然に遺伝子交換が行われていると考えられることから、pCol 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在すると考えられる。

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」（平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定）の第 1 章総則第 3 対象となる添加物及び目的のうち、「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないと判断した。

I. 評価対象添加物の概要

名 称：pCol 株を利用して生産されたプロテアーゼ
用 途：タンパク質の加水分解
申請者：長瀬産業株式会社
開発者：長瀬産業株式会社

本添加物は、プロテアーゼの品質を高めるために、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株を宿主として、*S. violaceoruber* NBRC 15146 株由来のプロテアーゼ構造遺伝子に *Streptomyces avermitilis* ATCC31267 株由来のプロモーター及び *Streptomyces cinnamoneus* NBRC12852 株由来のターミネーターを結合した挿入 DNA 並びに *Streptomyces azureus* 由来のチオストレプトン耐性遺伝子を含む発現プラスミドを導入して作製された pCol 株を利用して生産されたプロテアーゼである。

宿主及び構造遺伝子の供与体である *S. violaceoruber*、プロモーターの供与体である *S. avermitilis*、ターミネーターの供与体である *S. cinnamoneus* 並びにチオストレプトン耐性遺伝子の供与体である *S. azureus* は、毒素産生性及び病原性は知られておらず、国立感染症研究所病原体等安全管理規程においてバイオセーフティレベル 1 に該当する。

II. 食品健康影響評価

1. pCol 株の作製について

宿主は、*S. violaceoruber* 1326 株である。

挿入 DNA は、*S. violaceoruber* NBRC15146 株由来のプロテアーゼ構造遺伝子に、*S. avermitilis* ATCC31267 株由来のプロモーター及び *S. cinnamoneus* NBRC12852 株由来のターミネーターを結合したものである。

発現プラスミド pCol は、*S. azureus* 由来のチオストレプトン耐性遺伝子を含む *S. violaceoruber* ATCC35287 株由来のプラスミド pIJ702 を基に作製されたものであり、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。なお、プラスミド pIJ702 は、ヒトに対して有害ではないことが知られている。

pCol 株は、発現プラスミド pCol をプロトプラスト法を用いて *S. violaceoruber* 1326 株に導入し、形質転換することによって作製された。

2. pCol 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在するか否かについて

pCol 株の作製に使用された *S. violaceoruber*、*S. avermitilis*、*S. cinnamoneus* 及び *S. azureus* の間では、自然に遺伝子交換が行われていると考えられる。この根拠となる科学的知見については、「*Streptomyces violaceoruber* (pNAG) 株を利用して生産されたキチナーゼ」の評価において既に確認されている（平成 20 年 8 月 7 日府食第 867 号）。

したがって、pCol 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在すると

考えられる。

以上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安全性評価基準」(平成16年3月25日食品安全委員会決定)の第1章総則第3対象となる添加物及び目的のうち、「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないと判断した。

遺伝子組換え食品等評価書

pLPL 株を利用して生産された
ホスホリパーゼ

2012年9月

食品安全委員会

<審議の経緯>

2012年6月11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0608第1号）、関係書類の接受
2012年6月14日	第435回食品安全委員会（要請事項説明）
2012年6月27日	第105回遺伝子組換え食品等専門調査会
2012年7月9日	第439回食品安全委員会（報告）
2012年7月10日から8月8日	国民からの御意見・情報の募集
2012年8月29日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長に報告
2012年9月3日	第445回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

2012年6月30日まで	2012年7月1日から
小泉直子（委員長）	熊谷 進（委員長）
熊谷 進（委員長代理）	佐藤 洋（委員長代理）
長尾 拓	山添 康（委員長代理）
野村一正	三森国敏（委員長代理）
畑江敬子	石井克枝
廣瀬雅雄	上安平冽子
村田容常	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

「pLPL 株を利用して生産されたホスホリパーゼ」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、ホスホリパーゼの品質を高めるために、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株を宿主として、*Streptomyces avermitilis* ATCC31267 株由来のホスホリパーゼ構造遺伝子に *S. avermitilis* ATCC31267 株由来のプロモーター及び *Streptomyces cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のターミネーターを結合した挿入 DNA 並びに *Streptomyces azureus* 由来のチオストレプトン耐性遺伝子を含む発現プラスミドを導入して作製された pLPL 株を利用して生産されたホスホリパーゼである。

S. violaceoruber、*S. avermitilis*、*S. cinnamoneus* 及び *S. azureus* の間において、自然に遺伝子交換が行われていると考えられることから、pLPL 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在すると考えられる。

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」（平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定）の第 1 章総則第 3「対象となる添加物及び目的」に規定する「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないと判断した。

I. 評価対象添加物の概要

名称：pLPL 株を利用して生産されたホスホリパーゼ
用途：リン脂質の加水分解
申請者：長瀬産業株式会社
開発者：長瀬産業株式会社

本添加物は、ホスホリパーゼの品質を高めるために、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株を宿主として、*Streptomyces avermitilis* ATCC31267 株由来のホスホリパーゼ構造遺伝子に *S. avermitilis* ATCC31267 株由来のプロモーター及び *Streptomyces cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のターミネーターを結合した挿入 DNA 並びに *Streptomyces azureus* 由来のチオストレプトン耐性遺伝子を含む発現プラスミドを導入して作製された pLPL 株を利用して生産されたホスホリパーゼである。

宿主である *S. violaceoruber*、構造遺伝子の供与体である *S. avermitilis*、プロモーターの供与体である *S. avermitilis*、ターミネーターの供与体である *S. cinnamoneus* 並びにチオストレプトン耐性遺伝子の供与体である *S. azureus* は、毒素産生性及び病原性は知られておらず、国立感染症研究所病原体等安全管理規程においてバイオセーフティレベル 1 に該当する。

II. 食品健康影響評価

1. pLPL 株の作製について

宿主は、*S. violaceoruber* 1326 株である。

挿入 DNA は、*S. avermitilis* ATCC31267 株由来のホスホリパーゼ構造遺伝子に、*S. avermitilis* ATCC31267 株由来のプロモーター及び *S. cinnamoneus* NBRC12852 株由来のターミネーターを結合したものである。

発現プラスミド pLPL は、*S. azureus* 由来のチオストレプトン耐性遺伝子を含む *S. violaceoruber* ATCC35287 株由来のプラスミド pIJ702 を基に作製されたものであり、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。なお、プラスミド pIJ702 は、ヒトに対して有害ではないことが知られている。

pLPL 株は、発現プラスミドをプロトプラスト法を用いて *S. violaceoruber* 1326 株に導入し、形質転換することによって作製された。

2. pLPL 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在するか否かについて

pLPL 株の作製に使用された *S. violaceoruber*、*S. avermitilis*、*S. cinnamoneus* 及び *S. azureus* の間では、自然に遺伝子交換が行われていると考えられる。この根拠となる科学的知見については、「*Streptomyces violaceoruber* (pNAG) 株を利用して生産されたキチナーゼ」の評価において既に確認されている（平成 20 年 8 月 7 日府食第 867 号）。

したがって、pLPL 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在すると

考えられる。

以上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安全性評価基準」(平成16年3月25日食品安全委員会決定)の第1章総則第3「対象となる添加物及び目的」に規定する「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないと判断した。

遺伝子組換え食品等評価書

pPDN 株を利用して生産された
ホスホリパーゼ

2012年9月

食品安全委員会

<審議の経緯>

2012年6月11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0608第1号）、関係書類の接受
2012年6月14日	第435回食品安全委員会（要請事項説明）
2012年6月27日	第105回遺伝子組換え食品等専門調査会
2012年7月9日	第439回食品安全委員会（報告）
2012年7月10日から8月8日	国民からの御意見・情報の募集
2012年8月29日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長に報告
2012年9月3日	第445回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

2012年6月30日まで	2012年7月1日から
小泉直子（委員長）	熊谷 進（委員長）
熊谷 進（委員長代理）	佐藤 洋（委員長代理）
長尾 拓	山添 康（委員長代理）
野村一正	三森国敏（委員長代理）
畑江敬子	石井克枝
廣瀬雅雄	上安平冽子
村田容常	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

「pPDN 株を利用して生産されたホスホリパーゼ」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、ホスホリパーゼの品質を高めるために、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株を宿主として、*Streptomyces cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のホスホリパーゼ構造遺伝子に *S. cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のプロモーター及び *S. cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のターミネーターを結合した挿入 DNA 並びに *Streptomyces azureus* 由来のチオストレプトン耐性遺伝子を含む発現プラスミドを導入して作製された pPDN 株を利用して生産されたホスホリパーゼである。

S. violaceoruber、*S. cinnamoneus* 及び *S. azureus* の間において、自然に遺伝子交換が行われていると考えられることから、pPDN 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在すると考えられる。

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」（平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定）の第 1 章総則第 3「対象となる添加物及び目的」に規定する「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないと判断した。

I. 評価対象添加物の概要

名 称：pPDN 株を利用して生産されたホスホリパーゼ
用 途：リン脂質の加水分解及び転移反応の触媒
申請者：長瀬産業株式会社
開発者：長瀬産業株式会社

本添加物は、ホスホリパーゼの品質を高めるために、*Streptomyces violaceoruber* 1326 株を宿主として、*Streptomyces cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のホスホリパーゼ構造遺伝子に *S. cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のプロモーター及び *S. cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のターミネーターを結合した挿入 DNA 並びに *Streptomyces azureus* 由来のチオストレプトン耐性遺伝子を含む発現プラスミドを導入して作製された pPDN 株を利用して生産されたホスホリパーゼである。

宿主である *S. violaceoruber* 及び構造遺伝子、プロモーター、ターミネーターの供与体である *S. cinnamoneus* 並びにチオストレプトン耐性遺伝子の供与体である *S. azureus* は、毒素産生性及び病原性は知られておらず、国立感染症研究所病原体等安全管理規程においてバイオセーフティレベル 1 に該当する。

II. 食品健康影響評価

1. pPDN 株の作製について

宿主は、*S. violaceoruber* 1326 株である。

挿入 DNA は、*S. cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のホスホリパーゼ構造遺伝子に、*S. cinnamoneus* NBRC 12852 株由来のプロモーター及び *S. cinnamoneus* NBRC12852 株由来のターミネーターを結合したものである。

発現プラスミド pPDN は、*S. azureus* 由来のチオストレプトン耐性遺伝子を含む *S. violaceoruber* ATCC35287 株由来のプラスミド pIJ702 を基に作製されたものであり、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。なお、プラスミド pIJ702 は、ヒトに対して有害ではないことが知られている。

pPDN 株は、発現プラスミドをプロトプラスト法を用いて *S. violaceoruber* 1326 株に導入し、形質転換することによって作製された。

2. pPDN 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在するか否かについて

pPDN 株の作製に使用された *S. violaceoruber*、*S. cinnamoneus* 及び *S. azureus* の間では、自然に遺伝子交換が行われていると考えられる。この根拠となる科学的知見については、「*Streptomyces violaceoruber* (pNAG) 株を利用して生産されたキチナーゼ」の評価において既に確認されている（平成 20 年 8 月 7 日府食第 867 号）。

したがって、pPDN 株と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在すると考えられる。

以上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安全性評価基準」(平成16年3月25日食品安全委員会決定)の第1章総則第3「対象となる添加物及び目的」に規定する「組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合」に該当することから、本基準の対象ではなく、安全性評価は必要ないと判断した。