

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 第152回会合議事録

1. 日時 平成28年7月29日（金） 15:40～17:13

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

- ・GGI株を利用して生産されたL-グルタミン
- ・NZYM-LP株を利用して生産されたホスホリパーゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、岡田専門委員、小関専門委員、橘田専門委員、児玉専門委員、  
近藤専門委員、柘植専門委員、手島専門委員、中島専門委員、樋口専門委員、  
飯専門委員、山川専門委員、和久井専門委員

(食品安全委員会)

佐藤委員長、山添委員

(事務局)

川島事務局長、東條事務局次長、鋤柄評価第二課長、池田評価情報分析官、  
井上課長補佐、勝田係員、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

- ①GGI株を利用して生産されたL-グルタミン
- ②NZYM-LP株を利用して生産されたホスホリパーゼ

6. 議事内容

○澤田座長 それでは、定刻になりましたので、ただいまから第152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。

本日の議題ですが、新規の品目であります「GGI株を利用して生産されたL-グルタミン」と「NZYM-LP株を利用して生産されたホスホリパーゼ」の安全性についての審議となります。

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

○井上課長補佐 資料の確認を行います前に、事務局の人事異動がございましたので御報告させていただきます。今年の6月17日付で姫田事務局長の後任として川島事務局長が着任しております。

○川島事務局長 川島でございます。着任しまして1カ月になりますが、まだまだでございますので、これから先生方に大変お世話になるかと思いますが、ぜひよろしく願いいたします。

○井上課長補佐 それでは、議事次第に基づき配付資料の確認をさせていただきます。

配付資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿。

資料としましては「食品健康影響評価に関する資料」となっております。

なお、これら以外の参考資料につきましてはファイルにとじまして、委員の皆様の上の机の上に置かせていただいております。本ファイルにつきましては調査会終了後、回収させていただきます。次回また配付します。不足等がございましたら、事務局までお知らせください。

また、本日は新規審議品目の申請企業でありますノボザイムズジャパン株式会社をお呼びしております。新規品目であります「NZYM-LP株を利用して生産されたホスホリパーゼ」の審議の際には質疑応答に対応していただくことを予定しております。

以上です。

○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。

○井上課長補佐 本日の議事に関する専門委員の調査審議等への参加に関する事項につ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た確認書を確認したところ、平成15年10月2日委員会決定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。

以上です。

○澤田座長 既に御提出いただいております確認書につきまして、その後、相違等はございませんでしょうか。

それでは、議題(1)の審議に移らせていただきたいと思います。「GGI株を利用して生産されたL-グルタミン」についての審議となります。事務局から御説明をお願いします。

○勝田係員 それでは、申請者から提出されております申請資料について御説明をいたします。お手元に「GGI株を利用して生産されたL-グルタミン」の緑色の紙ファイルをよろ



12ページ、最後にここでは本申請品目と現行品目との実質的同等性について比較がなされております。

4-1といたしまして、食品添加物公定規格分析結果では、当規格に適合している結果が得られております。

13ページ、4-2といたしまして、タンパク質残存試験ですが、本申請品目中に非有効成分であるタンパク質は検出されなかったとのことです。

14ページ、4-3といたしまして、不純物プロファイルとして、アミノ酸自動分析計及び2モードのHPLC法分析の計3つの分析を用いております。初めに御説明いたしましたように、今回の申請品目では前回の品目に比して精製工程の一部を変更していることに由来いたしまして、不純物が多く検出されております。検出されている不純物の多くは現行製品の範囲内あるいは用量の上限が定められていないアミノ酸でありますので問題はないのですが、1物質のみ、具体的にはL-シスタチオンinといったアミノ酸になりますが、こちらについて検討を要する物質が現行製品よりも多く検出がされております。そのため、申請者のほうでは、このL-シスタチオンinについて、その安全性の検討を行っております。

17ページ、具体的な安全性の検討につきましては、今お聞きいただいた17ページの下から2パラ目が該当いたしますが、当該物質は必須アミノ酸であるL-メチオニンがL-システインに代謝される際の間体である遊離アミノ酸であること。一般的な食品、具体的にはお手元に今ごらんいただいている資料の添付資料3というタブがあると思うのですが、こちらの98ページに一般的に食されている食品にどれくらいのL-シスタチオンinの含量が含まれているのかといった一覧表が載せられております。

こちらの今ご覧いただいている表の下の方にきこの類が掲載されているのですが、この物質についてはきこの類を初めとして多くの食品に含まれている物質であるということ。また、栄養食品等には多く含まれるものもありますが、そこから摂取する量から鑑みましても、本製品に由来する摂取量は少ないため、安全性上の懸念はないと判断した旨が記載されてございます。

申請書の方に戻っていただきまして、次に20ページをお願いしたいのですが、以上、これまで御説明した結果を総合的に考えまして、4-4のまとめとなりますが、本申請品目は「遺伝子組換え微生物を利用して製造されたアミノ酸添加物のうち、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」で規定している要件を満たしていると申請者のほうでは考えている旨が記載されております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、ただいまの申請書につきまして、先生方からの御意見をいただきたいと思えます。

まず、11ページの製造方法の概要のところまでで御意見、コメントをお願いしたいと思います。前とほぼ同じで、●●●ですか。●●●ということですので問題はないと思いま

すけれども、よろしいでしょうか。

それでは、同等性のほうで12ページ以降、20ページまでで御意見、コメントをお願いしたいと思います。

○児玉専門委員 先ほどの議論にもよるのですけれども、これは比較対照品を現行のGMではいけないのですか。

○勝田係員 評価基準上は、現行品を非組換えにきなさいということは明文化はしておりません。実際に、これまでも何度か、現行流通品として既に食品安全委員会のこの調査会において御承認いただいた高度精製品を比較対照に新たな高度精製品を比較しているというような事例もございます。その品目が上がってきた際には、その点も含めて御審議いただき、特段問題ないでしょうということで御意見をいただいていますので、そういった意味では現行流通品は非組換えに限るといったものではないとは理解しております。

○澤田座長 この●●●の件はこれでよろしいですか。先ほどの問題を考え出すと難しい点がありますね。もし非組換え品がつくられていないとすると、10年くらい前につくったものしかないことがこれから多くなるかもしれないですね。

○小関専門委員 さっきの話で完全に問題点を顕著に出したのがこれかなと思ったことなのですけれども、これは保持時間とかいろいろ書いてあるのですが、これは結局、●●●。

そうすると、●●●。もしも●●●なので、これはここで一度ある意味、先ほどの公開の話ともカップルするような話だとは思うのですけれども、こういうようなものになったときに、これから要するに先ほどのところでも出ましたが、当初のものがないし、測定条件も分析条件もかなりよくなってきて、理論段数も上がってきているから、見えてきたものがあつたとしても、それは量的に非常に少なく、ものがはっきりしているのであれば、ここに上げなくても管理側のほうで、それで十分に対処をしていただくのでいいのではないのでしょうか。

そうでないと、時代の流れで分析機器の性能アップとかがあると思うので、あとは精製にしても同じ方法で精製していますと言ったって、きっと試薬なども少しずつ、あるいは製造装置自身もリニューアルされていくだろうと私は推測するのですけれども、それごとに評価をするのが本当に正しいのかどうか、私は疑問に思えるので、先ほどの話で言ったときに、管理側さんのほうに、さっき高度精製ものは出ますという話でしたね。それと同じような扱いに、今回は来たから評価書を書くけれども、次回以降はそういうことはだめでしょうか。評価する先生方の御意見をお伺いしたいところです。

○澤田座長 今回の厚労から出てきたものが通れば、これはもう出なくなるはずです。

○小関専門委員 今後この手のものは。それでいいですよ。

○澤田座長 はい。だから、製法を変えただけの場合は一応いいのです。

○小関専門委員 製法を変えたし。

○澤田座長 あとは同じで。

○小関専門委員 ただ、もう一つのポイントになったのは、測定方法が変わったことによ

って、これは本当に●●●というくらいのもので、これは●●●ときには、ひょっとしたら出たり出なかったり、いろいろとしてもおかしくないだろうなど。冬場にやったら見えなかったけれども、夏にやったら見えてしまったとか、HPLCは●●●とそういうこともあり得るので、その辺も含めて管理側のほうで見ていただくということも含めてもらえたほうが良いような気がするのですけれども、やり過ぎですかね。済みません。

○澤田座長 それは管理側の考え方次第かと思えますけれども。先ほど問題になったように、組換えを対象にしたほうがむしろ合理的だという話があります。

○勝田係員 そうですね。前回こちらで御審議いただいたGGI株を使ったL-グルタミンというのが現行流通品としてあるはずなので。

○澤田座長 それと比較したほうが、本来はより正確なデータがとれたと。今回はこの点を言ってもしょうがないと思えますが。

○小関専門委員 先生のおっしゃるとおりで、先ほどの議論で言ったときに、要するに基準品となるものはないとしたら、基準品となるものは現行品としてやる。しかも測定条件も。そうしたら完全に一緒に現行基準品でできるから、そのほうがクリアですよという、さっきの議論でいったらそうなるので、だったら、もうこれは管理側さんのほうで見ていただくので十分だということによろしいのですよね。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。●●●やっていたということで、今までは●●●ですね。●●●理由が理解できませんでしたが、例えば、医薬品に使うのと食品を分けたのか等。

○小関専門委員 あるいは●●●なり何なり製造の機械が、実験用のものは違うではないですか。それを変えたからよくなったということもあり得るので、方法だけでは何とも言いようがないです。ここでは判断できないような気がします。

○澤田座長 どうぞ。

○勝田係員 1点だけ先ほどの議論の補足ですが、お手元の資料の17ページに表6といたしまして、HPLC法-1によるプロファイルの結果が載っているのですが、L-シスタチオンについては今回の申請品目ではそれぞれ値が出ておりますが、比較対照として用いた当社製造品の非組換えというものは全て定量限界未満となっておりますので、比較対照を当社製造品として持ってきた場合には、先ほどの厚労省からの諮問内容に関する議論で言いますと、現行流通品である非組換えのほうにはL-シスタチオンというものは含まれていなくて、今回の申請品目では出てくるというような整理、つまり、L-シスタチオンが今回の場合で言うと新規の不純物という扱いになりますので、先ほど御議論をいただいたスキームには乗ってこないようなものになります。

○澤田座長 もし同定したら、新しいものが出てきた場合は、次回以降にここに出てくる可能性もあるということですか。

○勝田係員 ケース・バイ・ケースだとは思いますが。

○小関専門委員 今の御議論で、これは科学的に言うと、彼らの書いているデータは定量

限界未満ということで、ないとは言っていないです。あったけれども、見えなかった。昔の方法だと分けられなかったということも含めている。そうすると3σの話も何なのだろうという話まで行ってしまうかもしれないのです。ですから、この辺は今回はないという話ではなくて、定量限界未満というもので今回は定量できたというところの整理で、では、管理側さんのほうでお考えくださいとお伝えをしたほうがよろしいのではないかと思いますけれども、いかがでしょうか。

○勝田係員 表現が必ずしも正しくなかった部分があって、齟齬が生じてしまったのですが、先生がおっしゃるとおりの部分もありますので、今回は先生もおっしゃいましたように申請資料が出てきましたので審議はしますが、今後の対応については情勢もふまえて厚労とも相談をした上で、また検討をしたいと思います。余りこういった品目はそんなにたくさん出てくるものではないとは思いますが。

○鋤柄評価第二課長 まさにおっしゃるとおりで、厚労省の考え方ということなのだと思います。今回はそういうことで彼らは出してきたと。

○澤田座長 ほかに御意見はよろしいですか。

それでは、安全上の問題は特にないようでありますので、評価書案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。

○勝田係員 それでは、評価書案について引き続き御説明をいたします。評価書案を束ねた冊子をお手元に御準備いただきたいのですが、こちらの1~4ページ目が本申請品目の評価書案となっております。

こちらの5ページ目をお願いいたします。Iといたしまして、本申請品目の概要でございます。L-グルタミンの生産性を高めるため、*Corynebacterium glutamicum* KY9002株を宿主といたしまして、そこにL-グルタミンの分解にかかわる遺伝子や生合成に関する遺伝子の変異導入を行ったGGI株を作製いたしまして、この株によりつくられたL-グルタミンであると記載しております。

また、本株の宿主が由来する株は毒素産生性及び病原性がなく、バイオセーフティレベル1に属するとともに、本株には抗生物質耐性マーカー遺伝子は含まれていないことも記載しております。

IIには、食品健康影響評価に係る事項を記載しております。

1といたしまして、本申請品目は高度に精製されていること。

2といたしまして、(1)では、最終製品においてタンパク質が検出限界未満であること。

(2)では、食品添加物公定書の成分規格を満たすことを記載しております。

(3)では、各種分析の結果を記載しております。分析の結果、非組換えの申請者製造品と比較し、L-アラニンの含量が増加し、グリシン、L-リジン塩酸塩及びL-ロイシンが新たな不純物として検出されたが、それらは全て用量の上限が定められていない食品添加物として広く使われているアミノ酸であり、安全性に問題はないこと。さらにL-シスタチオンについて検出されましたが、当該物質は一般的な食品にも含まれるため日常的に摂

取をしており、有害性を示す知見はないこと。経口摂取における安全性について算出されるL-シスタチオニンの一日本摂取量は最大でも3mgであり、通常の食品から摂取されるL-シスタチオニンの量と同程度であったことから、安全性に問題はないと考えられる旨を記載しております。

以上をふまえますと、本申請品目については新たな不純物は検出されないことに加え、既存の非有効成分の含有量が安全性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たことから、3といたしまして、高度精製の考え方にに基づき、安全性が確認されたと記載してございます。

最後に結論といたしまして、本申請品目については、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による評価は必要ないと結論づけております。

説明は以上になります。

○澤田座長 ありがとうございます。

では、評価書案について御意見、コメントがございましたらお願いしたいと思います。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きたいと思います。短いので一括で御意見、コメントをお願いできたらと思います。既に1回やったものをもう一回やったので、書き方が問題になるかと思いますが、このような書きぶりでもいいかどうかもあわせて見ていただければと思います。

一応、第2版と書き分けることになっているのですね。これで公表されるわけですね。

○勝田係員 公表される際には第2版という、こちらの形で公表される予定となっております。先ほど座長からもお話しいただきましたように、今回の申請品目は前回御審議いただいた宿主とか挿入遺伝子は全く変わりがなく、精製工程の変更に伴う不純物の増加というところですので、それに関する部分のみ評価書案は基本的に修正をしております、それ以外の内容、例えば宿主が何を使ったか、どういう遺伝子を欠失させているかといった基本的な記載については、前回の記載をそのまま踏襲したような形となっております。

○澤田座長 御意見はよろしいでしょうか。第2版と、第1版は並行として製品としてあり得るといえることですか。そこだけちょっと、両方が流通してもいいのかなどか。

○勝田係員 どういう流通とか管理をしているかという話になるので、確認をしてみないとわからないです。

○澤田座長 少なくとも今までつくったのがしばらく残っているはずですから、それは同時に2つのものが流通する可能性はある。将来もまた、よりきれいなほうをつくりたいと思ったら、つくれるという話になりますね。という理解でよろしいのでしょうか。

○勝田係員 はい。

○澤田座長 ありがとうございます。

○和久井専門委員 1つだけよろしいでしょうか。質問ですけれども、6ページの101の最後の「一日摂取量」、これはシスタチオニンですが、これは一日摂取許容量のことですか。それとも、フルボディーの量ですか。



○勝田係員 許容量ではなくて、一般的に算出されるものになります。この製品、L-グルタミンは基本的に栄養食品等に使われるものなのですが、それを利用してつくった栄養食品を1日大体10g程度摂るみたいなのですが、そこから摂取する量は大体3mgくらいに該当するという事です。あくまでこの物質が承認された後、この物質が使われて、スポーツ栄養食品がつくられることになるのですけれども、それを摂取すると大体1日これくらい摂取することになるというおおよその換算値になります。

○和久井専門委員 わかりました。あと、非常に参考までになのですけれども、これでもここにも有害性はなかったと書いてあるのですが、摂り過ぎると、どんな有害性があるのですか。

○澤田座長 これは毒性試験のデータがあれば、書けるのですけれども。

○和久井専門委員 有害性がないと言っているのに、わざわざやる必要があるのかなと思ったのです。

○勝田係員 ここを記載した根拠ですけれども、お手元の資料の添付資料3というタグの97ページを開いていただきたいのですが、あくまで申請者の申請資料に基づく内容なのですが、97ページの1行目の最後のほうに、L-シスタチオニンに毒性があるとの情報は見当たらなかったというところから、この有害性は見当たらなかったというところを引っ張ってきております。

○和久井専門委員 要するに有害性がないもののわけですよね。あえてそこまで持ち上げる必要性があるのか。

○勝田係員 有害性がないという報告はないというのが多分正しい表現かと思います。そういった御意図で今コメントをいただいたという理解でよろしいですか。それをどこまでここに明記させるかどうかというところですか。

○和久井専門委員 または有害性があれば、逆に教えていただきたいなと思ったのです。どこを見ても有害性がないと書いてある割に、ここだけ細かく記載しているわけなので、有害性がないのだったら、これは要らないのではないかと、ふと思ったのです。それだけです。

○勝田係員 評価書の表現については、また別途御相談をさせていただくという形でもよろしいですか。

○和久井専門委員 はい。

○勝田係員 ありがとうございます。

○澤田座長 ここはよろしいですか。

○飯専門委員 今の御指摘と全く同じ場所で私も気になったのですけれども、ここに書いてあるスポーツ栄養食品中の10gというのはいろいろある中の最大値として選ばれているのだと思うのですが、何か限定した書きぶりになっているということと、103行目の「同程度」というのも先ほどの一覧表とかを見ていると、多分日常的にはもっとたくさん摂っているような気がするのです、ここの表現は少し変えたほうがいいかなと思います。

○澤田座長 これは500ccくらいの容器ですか。

○飯専門委員 申請書の17～18ページにかけての文章のエッセンスだと思うのですが、余りにも決まった数字になり過ぎているなというのが、ここを読んだときの印象です。

○池田評価情報分析官 今のご指摘は多分言い方の問題かなと思います。例えば10gは確かにこの評価書案のほうだと限定的な書き方になっていますが、今、先生がおっしゃった17～18ページあたりだと「多いものでも」というのが入っていたりするので、そのあたりのニュアンスが入るように少し修正させていただいて、確認をさせていただくということではよろしいでしょうか。

○飯専門委員 はい。あとは「同程度」というのが、多分、実際には同程度以下に思うのですが、本当に同程度という言葉遣いでいいのかということですね。

○勝田係員 そこは表現を御相談させていただくという形でもよろしいですか。

○飯専門委員 はい。

○勝田係員 ありがとうございます。

○澤田座長 ほかはよろしいですか。

○橋田専門委員 表現を相談されるということなので、そののところにに入れて頂ければと思いますが、先ほどの添付資料を見てみると、L-グルタミンの一日推奨摂取量を10gとする製品を想定した場合とありますので、それを超えるものも可能性としてはあり得ることが読み取れるかと思います。そこも含めて表現を考えていただければと思います。

○澤田座長 ここは表現を検討させていただくということで、ほかはよろしいでしょうか。

それでは、若干修正があるかもしれませんが、私のほうと委員の先生に確認をさせていただいて、食品安全委員会に御報告したいと思います。ありがとうございます。

それでは、次に「NZYM-LP株を利用して生産されたホスホリパーゼ」の審議を行います。事務局から御説明をお願いします。

○井上課長補佐 申請書の説明に入ります前に、冒頭で御紹介いたしましたけれども、本日は申請者のノボザイムズジャパン株式会社をお呼びしております。具体的な対応ですが、申請品目の御審議をいただいた後に申請者に対する質問事項等があれば、整理していただきまして、お願いしたいと思います。その後、説明者に入室していただき、質疑応答を行います。質疑応答終了後は説明者に退室していただき、審議を再開していただくこととしております。

○勝田係員 それでは、申請者から提出されている申請資料について御説明させていただきます。お手元に「NZYM-LP株を利用して生産されたホスホリパーゼ」の橙色の紙ファイルをよろしくお願いたします。

1ページ、第1-1といたしまして、従来添加物の性質等に関する内容です。従来の同一添加物といたしましては、(1)に記載のように、様々な起源のホスホリパーゼがあります。

(3)といたしまして、その用途ですが、ホスホリパーゼには反応特異性の違いにより、

5つに分類されまして、申請品目であるホスホリパーゼはホスホリパーゼBに分類されます。ホスホリパーゼBにつきましては、デンプン加水分解物の精製用膜透過性の向上などに使用されております。

2～3ページにかけて記載のあります(4)といたしまして、摂取量に関してでございます。申請品目であるホスホリパーゼBにつきましては、現行流通品が申請者のほうでは入手できなかったということですので、ここでは摂取量の換算が可能な情報がそろっているホスホリパーゼA1を引き合いに出しまして、当該項目を検討しております。

結果としましては3ページの中段以降になりますが、ホスホリパーゼA1に比してBはその摂取割合が約3%でありまして、高い値ではないということが記載されております。

次に第1-2といたしまして、本申請品目における宿主等の情報です。

(1) 宿主等の由来につきましては、*Aspergillus niger* BO-1株でありまして、本株は自然界から分離された、*Aspergillus niger* C40-1株の突然変異株となっております。

4ページ、(2) DNA供与体等の由来につきましては表1に記載がありますが、宿主と同一株である、*Aspergillus niger* BO-1株あるいは、*Aspergillus nidulans*または*Saccharomyces cerevisiae*に由来しております。

(3) 挿入DNAの性質等ですが、生産菌であるNZYM-LP株の作製に当たりまして、DNAの挿入とともにDNAの欠失が生じており、それぞれが有する性質は6～7ページの表2～4に記載のとおりとなっております。なお、DNAの挿入につきましては、本品目ではインテグラーゼを用いておりますが、挿入の手順等はほぼこれまでの品目と同様となっておりますので、ここでの詳細な説明は割愛させていただきます。

11ページ、こちらに記載しております第1-3及び第1-4については記載のとおりです。

第1-5には、当該GM添加物の性質等が記載されております。

(1) 有効成分はホスホリパーゼで、以降はこれをLLPL2と記載しております。

12ページ、(2) 製造方法は図4に記載のとおりで、生産菌は2度の除菌ろ過により生産物である酵素から除去されているとのことです。

(3) 用途等につきましては、デンプン糖の製造工程の後、糖化の際に添加することでデンプン糖のろ過性を向上させることができるということですので。

(4) 有効成分等の比較につきましては、ホスホリパーゼはその基質や分解するエステル結合の位置により5つに分類されることが記載されております。

15ページ、第1-6といたしまして、従来品との比較についてでございます。

(1) といたしまして、従来添加物との比較については、ここでも従来品をホスホリパーゼA1としている関係上、反応特異性、至適温度及び至適pHも異なると記載しております。

16ページ、(2) といたしまして、宿主との相違点としてはLLPL2を大量に発現させるため、*llp12*遺伝子のコピー数を増やしたこと。また、それに伴いマーカー遺伝子も導入している点となっております。

17ページ、こちらでは第2の項目といたしまして、宿主に関する事項が記載されております。こちらの項目の1~4については記載のとおりです。

20ページに飛んでいただきまして、こちらには5といたしまして、有害生理活性物質の生産についてでございます。宿主菌の近縁種は有害生理活性物質であるオクラトキシンの産生能を有すると記載されております。

同じページの第3、ベクターに関する事項について、1及び2・(1)と(2)については記載のとおりです。

21ページ、(3)既知の有害塩基配列については含まれていないこと。

(4)薬剤耐性についてはアンピシリン耐性遺伝子が存在することが記載されております。

(5)及び(6)については記載のとおりです。

22ページ、第4といたしまして、挿入DNA等に関する事項になっております。

1-(2)安全性に関してでございますが、供与体である、*Aspergillus niger*及び*Aspergillus nidulans*ともバイオセーフティレベル1に分類されるため、安全性に問題がない旨がそれぞれ記載されております。

23ページの4-2・(1)いたしまして、挿入遺伝子の合成方法についてでございますが、3つの挿入遺伝子は全て供与体からPCRによってクローニングがされております。

(2)については記載のとおりです。

(3)挿入遺伝子の機能につきましては24ページに記載がございまして、ここでは、まず*llpl2*遺伝子についての検討を行っております。

1)供与体のアレルギー誘発性については、供与体である*Aspergillus niger*は適切な環境で扱われている限り、問題となる可能性は低いこと。

2)遺伝子産物のアレルギー誘発性については、そういった報告はない旨が記載されております。

25ページ、3)遺伝子産物の物理化学的処理に関する事項をお願いいたします。

①といたしまして、人工胃液処理についてでございますが、これについては3時間以内に分解されることを確認しております。

②といたしまして、人工腸液処理についてでございますが、こちらについては処理後1分以内にほぼ完全に消化されるといった結果となっております。

26ページ、4)につきましては、遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性に関してでございます。検索の結果、相同性を示す既知のアレルゲンはなかったとのこと。

27ページ、続いて残りの挿入遺伝子である*amdS*遺伝子及び*pyrG*遺伝子についてですが、それぞれについて、これまでにアレルギー誘発性等の報告はなく、かつ、ORFに関しても問題ないことから、ともに問題ないと考えている旨が記載されております。

第4-3には、遺伝子発現に関する事項が記載されております。

(1)及び(2)については記載のとおりです。

28ページ、(3)といたしまして、その他の配列についてでございます。挿入遺伝子中には*llp12*遺伝子の転写を安定化する目的で宿主由来の*payA5*´-UTR配列が挿入されており、こちらについては長年安全に使われてきた実績がある旨が記載されております。

29ページ、4及び5-(1)については記載のとおりです。

32ページ、こちらに記載の(2)といたしまして、目的外ORFの有無についてでございますが、stop to stopで30アミノ酸以上の条件で●●●遺伝子座について検索を行った結果、合計で695個のORFが検出されたものの、これらは既知のアレルゲンと比較して問題となる結果はなかったと記載がされております。

毒性タンパク質の比較についてでございますが、こちらは30ページ以降にその記載がありますように、その相同性につきましては大きく分けて5つに分類される結果が得られておりますが、そのいずれについても単独で毒性を持つ報告がないことから問題はないと説明がされております。

以降、41ページまでこういった内容が記載されております。

42ページに飛んでいただきまして、5-(3)及び(4)については記載のとおりです。

6、DNAの宿主への導入方法ですが、各遺伝子座に対して*fcy1*遺伝子を含む遺伝子発現カセットを挿入後、目的の遺伝子発現カセットを持つ遺伝子導入用ベクターを用いることでインテグラーゼが発現し、その働きによって目的の配列がおのこの遺伝子座に挿入されると説明がされております。詳細については43～46ページを御参照ください。

46ページの7になりますが、生産菌に抗生物質耐性マーカー遺伝子は存在しないことをシーケンスにより確認したとのことです。

47ページ、第5といたしまして、組換え体に関する事項ですが、1の宿主との差異に関しては記載のとおりです。

2の遺伝子導入に関してでございますが、目的の遺伝子発現カセットが複数コピー挿入されていること。挿入領域には抗生物質耐性遺伝子が存在しないことについてシーケンス解析により確認した旨が記載されております。詳細については50ページまでを御参照いただければ幸いです。

50ページ、こちらに記載のあります第5-2-(2)といたしまして、遺伝子導入におけるORFの有無についてでございますが、既知のアレルゲンとの相同性はなく、既知の毒性タンパク質に関してはデータベースにヒットしたものの、導入用に新たに生じたものではないと記載がされております。

53ページ、第6といたしまして、製造原料等に関する事項ですが、LLPL2の製造原料等は全て長年安全に使用された実績のあると記載されております。

54ページ、第7、組換え添加物に関する事項についてでございます。本品は、1にありますように、既に諸外国で販売実績があること。2にありますように、製品中に組換え体DNAが残存していないことを確認しております。

次のページに記載の3～5は記載のとおりとなっております。58ページの第8では、以

上、第7までの結果から、安全性は確認できたため、追加の事項等の記載はなく、59ページに結論として、本品目は安全であると記載がされております。

説明は以上になります。

○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御意見をいただきたいと思います。

まず、申請書の第3のベクターに関する事項で、21ページまででコメント、御意見がありましたらお願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

続きまして、第4の46ページまでで御意見、コメントをお願いしたいと思います。よろしいですか。

○飯専門委員 1つよろしいですか。どこがいいか悩むところもあるのですが、記載の仕方で、27ページに*amdS*遺伝子の機能という説明のところ、これはアセトアミドの存在下でのみ発現するという表現があるのですが、同じような表現はその前にもあるのですが、ここでこの遺伝子のプロモーターとして使っているのは恐らくエロンゲーションファクターの遺伝子のプロモーターだと思うので、**constitutive**な発現に変わっているのではないかと。そういう意味では、確認をしたほうがいいのかもかもしれませんが、誤解を招く表現になっているかなと思いますので、正確にこの組換え体ではどういう発現をしているのかということ念頭に記載してもらおうほうがよいのかなと感じたのです。

○澤田座長 今日はいらっしゃっているので、それは聞いてみますか。

○飯専門委員 そうですね。一応そのほうが。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

それでは、最後まででコメント、御意見がありましたらお願いしたいと思います。

○児玉専門委員 47ページの遺伝子導入に関する事項の5-2-(1)の параグラフの最後のところに「抗生物質耐性遺伝子に関しては、サザンロット解析によっても存在しないことが確認された」とあるのですが、データとしては出されていないですか。評価書のほうもシーケンスで確認したとしか書いていなくて、サザンで確認したというほうが、この目的からするとサザンのほうが多分望ましいのだと思うのですが、そこはどうなのかなと思いました。

○澤田座長 これはCDのほうにも入っていなかったですか。

○児玉専門委員 詳しく一個一個を開けて見てはいないです。

○松井技術参与 生データのサザン結果はございませんでした。

○児玉専門委員 そうすると、評価書に書きにくいということですかね。

○澤田座長 評価書のほうにデータは要らないですね。

○児玉専門委員 要するに抗生物質がないというのは、単純に入れたローカスにシーケンスをして、そこに入っていなかったということだけしか今のところは読めないのですが、サザンでやればゲノム全体に対して入っていないよという言い方になるので、こちらのほうが望ましいのだろうとは思ったのですが、ローデータがないということであ

れば、そういうことかなと。

○勝田係員 本日は申請者が来ていますので、生データがあるかを確認して、出させることができれば、確かに評価書にはそういったことが書けるとは思うのですが、飯先生の御質問のときにお呼びしますので、その際に併せて伺ってもよろしいですか。

○澤田座長 ほかに何か、ついでの御質問でもありましたら。

○中島専門委員 ついでであるなら、必須ではないのですが、これは製品の中に当該の酵素はどのくらいの純度なのかというのは一応気になるところで、純度が高ければ、多少あっても問題ないのだけれども、純度がすごく低いようだと、いろいろ混ざっているのかなと。必須のデータではないです。あったのかもしれないけれども。

○松井技術参与 あったように思います。

○中島専門委員 失礼しました。

○澤田座長 それは評価書に書いてありましたか。

○松井技術参与 評価書には書いておりません。

○澤田座長 それは評価書に反映したほうがいいですか。

○勝田係員 今までの経験上、純度などの細かい情報は社外秘に該当するかと思いますので、そこを記載するのは難しいかと思えます。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

○山添委員 前のほうのところですが、17ページにマイコトキシンの記載があったのですが、この菌株はゲノムのところで欠失しているとかして、もともと産生をしないということが遺伝子の配列からわかるのか。それとも、やってみただけでも、実際にマイコトキシンの検出されなかっただけということなのですか。そのどちらだったのかが、見ていないのでわからないのですが、どちらでしょうか。

○澤田座長 これは多分調べているのでしょうか。

○松井技術参与 添付資料3に、●●●というデータが一応あるのですが。

○山添委員 もう遺伝子が欠失していたり、そういうことが入っていれば、どうしたってできないので、安心なのでは。

○松井技術参与 その考察に、●●●と書いてありました。

○澤田座長 よろしいですか。それでは、お呼びしますか。

○勝田係員 今、申請者を呼んでまいりますので、少々お待ちください。

(説明者入室)

○澤田座長 それでは、始めたいと思います。

まず、説明者の方は自己紹介をお願いいたします。会社名とお名前だけで結構です。

○説明者 ノボザイムズジャパンの橋田と申します。よろしく願いいたします。

○説明者 同じく、ノボザイムズジャパンの村戸と申します。よろしく願いいたします。

○澤田座長 それでは、質疑応答に入りたいと思います。大きな問題はないのですけれども、まず要旨の27ページのアセトアミダーゼの遺伝子のことで、これは先生の御質問でプロモーターの話です。

○飯専門委員 何か所か*amdS*遺伝子の説明があるのですけれども、どれにもアセトアミドの存在下でのみ発現するという表現でしか書かれていないのですが、恐らくこの組換え体では*tef1*のプロモーターに切りかえていると思いますので、恒常的な発現に変わっているのではないかと想像したのです。

○説明者 御指摘のとおりだと思います。

○飯専門委員 例えば、宿主の挿入DNA供与体に関する事項という説明の中で、間違いではないのですけれども、説明がそこで止まってしまうと、少し誤解を招くかなと思ったので、どこかに加筆したほうがいいのかと思います。最初に出てくるのは、恐らく表2のところだと思うのですけれども、あとは*tef1*が何かなのかとか、*NA2*プロモーターが何なのかなのかというのも一言補足的に追記しておいていただくほうが、申請書としてはよりよいかと思います。

○澤田座長 これは、少し直せばいいだけですね。

○説明者 では、御指示いただいたとおりに修正させていただきます。

○澤田座長 2つ目は、47ページの真ん中辺に「抗生物質耐性遺伝子に関しては、サザンブロット解析によっても存在しないことが確認された」とありまして、これは実際にデータがとられているのですか。

○説明者 本社に確認しないとデータをすぐというわけにはいかないのですが、調べさせていただいて、御回答をいたします。

○澤田座長 CDの中には入っていなかったのですね。

○説明者 はい。

○澤田座長 「確認された」と書いてあるので、データはあるはずですね。

○説明者 はい。

○澤田座長 確認されているのだったら、そちらを主に書いたほうがより正確であるということですが。

○説明者 では、データを追加する場合は、社内文書で示させていただくという形でもよろしいでしょうか。

○澤田座長 社内文書の追加だけでよろしいですね。

○勝田係員 そうですね。それと、先生が御指摘した意図としては、ここの項目の性質上、シーケンスによって確認したというよりも、サザンブロット解析によって、ないことを確認したというふうに評価書では書きたいという意向があると思いますので、その旨を評価書に書けるのであれば、別に社内文書という形での提出でも構わないと思いますが、そこも本社に確認をとられたほうがいいのかと思いますので、あわせてお返事をいただければ幸いです。



○澤田座長 大きな点は以上ですけれども。一応確認で、その製品の純度は何パーセントでしたか。すぐに出ないようでしたら、また後でも構いません。

○説明者 それは純度のデータが入っているかどうかということですか。

○澤田座長 データがあって、数字がどのくらいかということだけ確認してください。

○説明者 承知いたしました。

○澤田座長 ほかに追加で御質問があれば。

○山添委員 マイコトキシンの関係のことですけれども、記述を見てみますと、トランスクリプションファクターをつぶしてあると書いてあるのですが、結局DNAというか、ジーンはそのまま残っていると考えていいのですか。

○説明者 社内文書3に関する御質問と理解してよろしいでしょうか。

○山添委員 そうです。資料を読ませていただきますと、●●●というところになっているのです。だから、●●●わけではなくて、●●●となっています。

○説明者 これは、この生産菌に至るまでの前段階のホストで行っている操作でして、このMZYM-LP株では、さらにもう少し踏み込んだ操作を行っておりまして、要旨の7ページの表4をごらんいただきたいのですけれども、フモニシンに関しましては表4の一番下になるのですが、*fum*遺伝子クラスターのほうは*pyrG*の遺伝子と置きかえることで遺伝子クラスターを欠損させております。

オクラトキシンのほうに関しましては、この遺伝子欠失のレベルでは操作はやっておりませんので、御指摘のとおり、基本的には●●●で物としてつくらない株をとってきたと。なので、遺伝子の破壊は相同組換えによってはしていないという形になります。

○山添委員 例えばメッセンジャーが出てくるとか、そういうことはチェックはされているのでしょうか。実際には毒性のトキシンの産生はないというのは確認されていますね。それ以外に合成酵素のメッセンジャーは出てこない。

○説明者 例えば、定量PCRのような方法で合成遺伝子のmRNA自体が存在しないかどうかという確認のことを御指摘されていると思うのですけれども、これに関しては本国のほうに問い合わせをして、そこまで確認をしているかどうかを確認させていただいてからの御回答になります。この添付のデータのレベルでは、物として検出限界以下であるということしか述べておりませんので、追加の確認をさせていただきたく思います。

○澤田座長 毒素自身が出ていないことは確かめているのですね。

○説明者 はい。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

それでは、どうもありがとうございました。

(説明者退室)

○澤田座長 それでは、審議に戻りたいと思います。

今いただきました回答に対しまして、追加で御意見、コメント等がもしありましたらお願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

幾つかコメントはいただきましたけれども、特に現時点で安全上の問題があるということではないようでありますので、時間がもう5時になりましたけれども、評価書案の審議に入りたいと思います。よろしいでしょうか。

○勝田係員 それでは、申請書案について御説明いたします。定刻を過ぎておりますので、手短かに御説明をさせていただければと思います。

評価書案を束ねた冊子の今度は7~24ページが本申請品目の評価書案となっておりますので、お手元に御準備のほうをよろしくお願いいたします。

12ページ、Iといたしまして、本申請品目の概要についてございます。ホスホリパーゼの生産性を高めるため、*Aspergillus niger* BO-1株由来のホスホリパーゼ遺伝子、*llpl2*遺伝子を宿主である*Aspergillus niger* BO-1株に導入いたしまして、NZYM-LP株を作製しております。

II以降には、食品健康影響評価に係る個別の項目を記載しております。

第1の1の(1)、(1)及び(2)については記載のとおりです。

(3)用途及び使用形態についてですが、加工助剤として植物油の製造におけるリン成分の低減及びデンプン加水分解物の精製用膜透過性の向上を目的に用いられます。

13ページ、2の(1)宿主の種名等についてですが、宿主は自然界から分離された菌株である*Aspergillus niger* BO-1株になっております。

(2)DNA供与体の種名等ですが、*llpl2*遺伝子は*Aspergillus niger* BO-1株に、*amdS*遺伝子及び*pyrG*遺伝子は、ともに*Aspergillus nidulans* Glasgow野生株に由来しております。

(3)挿入DNAの性質等ですが、*llpl2*遺伝子はLLPL2をコードいたしますが、これらは野生型とアミノ酸配列が同一のものとなっております。このほか、選択マーカーといたしまして、*amdS*遺伝子及び*pyrG*遺伝子が用いられております。これらの遺伝子の挿入にはインテグラーゼが用いられております。

なお、目的物質であるホスホリパーゼの生産性を高めるために幾つかの遺伝子を欠失させております。こちらについては前回と同様の品目であるβ-アミラーゼの記載を参考に、ホスホリパーゼBの生産性を高めるため、宿主由来のシトシンデアミナーゼ、*fcy1*遺伝子を含む9種類の遺伝子を欠失というような記載としております。

14ページ、3の宿主の食経験、4の宿主の構成成分及び5の組換え添加物等の性質については記載のとおりです。

6、相違点についてでございます。従来品であるホスホリパーゼA1との相違点については、至適温度及び至適pH、並びに反応特異性が異なること。宿主との相違点は*llpl2*遺伝子が複数コピー導入され、ホスホリパーゼBの高生産性を獲得している点及びその生産性を高めるために幾つかの遺伝子を欠失させたことが相違点で、以上から本品目と比較可能な既存添加物があると記載をしております。

15ページ、第2、宿主に関する事項につきまして、1に関しては記載のとおりです。

2、病原性等につきましては、宿主はバイオセーフティレベル1に該当いたしまして、オクラトキシン及びフモニシンを産生しない旨を記載しております。

3、4については記載のとおりで、5といたしまして、宿主の有害生理活性物質の生産に関しては、*Aspergillus niger*の近縁種である*Aspergillus carbonarius*はオクラトキシン産生能を有することが知られている旨、記載をしております。

第3、ベクターに関する事項については記載のとおりです。

16ページ、第4、挿入DNA等に関する事項についてでございますが、1の(1)については記載のとおりです。

(2) 安全性につきましては、*Aspergillus niger*及び*Aspergillus nidulans*ともバイオセーフティレベル1に該当する旨を記載しております。

2の(1) クローニングに関する事項ですが、*llp12*遺伝子、*amdS*遺伝子及び*pyrG*遺伝子とも、それぞれに遺伝子の供与体からPCRによって得られた旨を記載しております。

(2) についても記載のとおりです。

17ページ、こちらに記載の(3) 挿入遺伝子の機能等に関する事項につきまして、*llp12*遺伝子につきましては、1) 及び2) に記載のように、挿入遺伝子の供与体及び遺伝子産物について、アレルギー誘発の可能性が低いと考えられている旨を記載しております。

3) では、人工胃液試験の結果、開始後3時間以内に消化されること。人工腸液試験の結果では、開始後1分以内に消化されることを記載しております。

4) では、遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性について触れておりますが、こちらについても検索の結果、問題となるものはなかったとの結論を記載しております。

このほか、*amdS*遺伝子及び*pyrG*遺伝子については当該挿入遺伝子の導入領域で同定されたORFに既知のアレルゲン及び毒性タンパク質と相同性を示すものがないことを確認した旨を記載しております。

18ページ、3と4については記載のとおりです。

5、発現ベクターに関する事項ですが、19ページの(2) 目的外ORFの有無に係る事項をお願いいたします。遺伝子導入用ベクターについて、stop to stopの30アミノ酸以上の条件で検索を行いましたところ、合計で695個のORFが確認されました。これらについてデータベース検索を行ったところ、相同性を示す既知のアレルゲンはなかったこと。毒性タンパク質については、その相同性について大きく5つに分類される結果が得られておりますが、いずれについても毒性を持つ報告はないため、問題はないと記載をしております。

(3) 及び(4) については記載のとおりです。

6、DNAの導入方法につきましては、標的遺伝子座を遺伝子発現カセットで置換後、遺伝子導入用ベクターを用いることでインテグラーゼが発現し、その働きにより目的の配列がおのおのの遺伝子座に挿入されると記載しております。

20ページ、7といたしまして、抗生物質耐性マーカーに関しては生産菌に含まれていな

い旨を記載しております。

第5、組換え体に関する事項につきましては、2の(2)といたしまして、遺伝子導入によるORFの有無の項目をお願いいたします。本項目では、欠失遺伝子座に関して、stop to stopの30アミノ酸以上の条件で検索を行いましたところ、合計で462個のORFが確認されたものの、これらについてデータベース検索を行いましたところ、相同性を示す既知のアレルゲンはなかったこと。毒性タンパク質については相同性を示す結果が出たものの、いずれについても本操作に起因するものではないため、問題がないと記載しております。

21ページ、第6、製造原料等に関する事項及び第7の1につきましては記載のとおりです。

第7の2、組換え体の残存につきましては、ドットプロット分析の結果、組換え体DNAは検出されないことを記載しております。

3の非有効成分の安全性から、5の常成分の変動に関しては記載のとおりです。

22ページ、第8といたしましては、以上、第7までの結果から、安全性の知見は得られていると記載しております。

最後にⅢといたしまして、食品健康影響評価の結果としては、ヒトの健康を損なうおそれはないと結論づけております。

説明は以上になります。

○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、コメントを賜りたいと思います。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きたいと思います。

ちょっと長めですけれども、全体を通してコメント、御意見がございましたらお願いしたいと思います。

○児玉専門委員 346行目の表現ですけれども、「その結果、毒素タンパク質と相同性を有するORFが見つかった」と書いてあるのですが、ここはデータベースのタンパク質との相同性を有するORFが見つかったのほうがよろしいかと思えます。

○澤田座長 よろしいですか。

○勝田係員 そのように修正させていただきます。

○澤田座長 ほかは。

○手島専門委員 18ページの296行目ですけれども、アレルギー誘発性を有する可能性はないと言い切る言い方よりは、アレルギー誘発性を有さないものと考えられるとしたほうがよいかと思えます。

○澤田座長 断定的に言わないでほしいということですね。

○手島専門委員 可能性はないと言うと、絶対はないと読みとれるので。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。ちょっと急ぎ足でしたが、もし細かい点で何かありましたら、後ほどコメントをいただければと思います。

それでは、いただいた修正については事務局で直していただいて、私のほうで確認して、食品安全委員会に報告して、パブリックコメント等の手続等に入りたいと思います。あり

ありがとうございました。

それでは、議題（1）につきましては、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、事務局から何かありますでしょうか。

○井上課長補佐 特にございません。

○澤田座長 ありがとうございました。

それでは、本日の議題についてはこれで終了ということで、以上をもちまして、第152回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。きょうもありがとうございました。