

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第161回) 議事録

1. 日時 平成29年6月23日(金) 14:00～16:26

2. 場所 食品安全委員会大会議室

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

- ・PRF株を利用して生産されたホスホリパーゼC
- ・OYC-GM1株を利用して生産された酸性ホスファターゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

澤田座長、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、
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)

山添委員

(事務局)

東條事務局次長、鋤柄評価第二課長、井上課長補佐、内海評価専門官、
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

- ①PRF株を利用して生産されたホスホリパーゼC
- ②OYC-GM1株を利用して生産された酸性ホスファターゼ

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161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。

本日は、所用により岡田専門委員、樋口専門委員が御欠席です。

本日の議題であります。継続の品目でありますPRF株を利用して生産されたホスホリパーゼC、新規の品目でありますOYC-GM1株を利用して生産された酸性ホスファタ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 それでは、資料の確認の前に事務局より、内海評価専門官の御紹介をさせていただきます。

○内海評価専門官 内海と申します。この4月に事務局に異動で参っておりましたが、今回から遺伝子組換え食品等専門調査会のほうも担当させていただくことになりました。よろしくお願いたします。

○井上課長補佐 それでは、議事次第に基づきまして、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。

机上配布資料として、OYC-GM1株を利用して生産された酸性ホスファターゼに関する補足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、調査会終了後に回収させていただきます、次回また配付いたします。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、本日は申請企業であるオリエンタル酵母工業株式会社をお呼びしております。新規品目でありますOYC-GM1株を利用して生産された酸性ホスファターゼの審議の際に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い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。

○澤田座長 既に御提出を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。

(「はい」と声あり)

○澤田座長 それでは、継続の品目でありますPRF株を利用して生産されたホスホリパーゼCについての審議を行いたいと思います。この品目は平成28年11月の専門調査会において審議を行いまして、指摘事項が出されていたものであります。事務局から御説明をお願いします。

○井上課長補佐 それでは、申請者から提出されています回答書について説明をいたします。薄いファイルを御準備ください。PRF株を利用して生産されたホスホリパーゼCの回答書についてでございます。それでは、順を追って指摘事項に対する回答を説明させていただきます。

まず1ページ、指摘事項1でございます。こちらは宿主で、本生産菌の宿主は *Pichia pastoris* SMD1168株という記載であったのですが、この生産菌の作成の過程で遺伝子組換え操作により *PEP4* 遺伝子を不活化した旨が記載されておりました。この内容について、以下の点を確認し、追記等を行うことという指摘事項に関しまして、まず1つ目は、この不活化操作についてはセルフクロニングもしくはナチュラルオカレンスのどちらに該当するか。2つ目は、上記このセルフ、ナチュラルに該当しない場合は宿主をGS115株とし、宿主に関する記載を再検討することという内容でございました。

その回答につきまして、申請者のほうからは、まず *PEP4* 遺伝子の不活化はセルフクロニングに該当するという旨の回答が得られています。その内容に即しまして、黄色くマーキングをしている部分が申請者からの追記修正案として提示されているものでございます。

続きまして、ページをめくっていただきまして、指摘事項2でございます。指摘事項2ですが、こちらの内容は不要な情報の削除、情報精査をするという観点で出しておりました。具体的には「第1-1 従来の添加物の性質及び用途等に関する資料」において、従来の添加物としてホスホリパーゼA2というものについての情報が記載されていたのですが、今回のものはホスホリパーゼCということから、比較の上での不要な記載が見受けられたため、評価に必要な内容のみを記載することという指摘を出しておりました。

この内容について、回答では、ホスホリパーゼA2の推定摂取量の記載は削除すること。また、ホスホリパーゼCの用途である脱ガム用途での使用における一日最大摂取量のみ記載をしたという旨の回答が得られています。

続きまして、指摘事項3です。この3は細かく5点について指摘を出しておりました。具体的にはホスホリパーゼC遺伝子の機能についてです。

まずは(1)ですが、土壌から採取されたDNAより単離され、この遺伝子そのものの供与体については同定されていないのですが、塩基配列やこの遺伝子がコードするアミノ酸配列については明らかになっております。これらの配列に対して相同検索を行った上、相同性が示されたタンパク質や由来する生物等についての情報を申請書に追記することという旨が指摘として出されておりました。

この内容の回答書ですが、3ページの黄色く囲っている部分が回答になります。まず、

ホスホリパーゼ遺伝子の塩基配列について検索を行った結果、特に相同性を示すものはなかったということ。この遺伝子がコードするアミノ酸配列についても検索を行ったところ、*Streptococcus pneumoniae*や*Bacillus*属などの種のホスホリパーゼCと78～85%の相同性を示すものが認められたこと。また、*Streptococcus pneumoniae*のホスホリパーゼCと同種の病原性との関係は報告されていないことが示されています。また、*Bacillus cereus*由来の溶血毒とホスホリパーゼCとの相同性は示されていますが、当該のホスホリパーゼCについては溶血活性を持たない旨が記載されております。

続きまして、(2)の指摘です。このホスホリパーゼC以外の活性があるかどうか。それについて確認をすることという指摘に対して、申請者からは結論としましては、ホスホリパーゼC以外の酵素活性はないと考えているという答えが返ってきています。この結果に至るまでですが、まず1つ目がホスホリパーゼC活性を指標にしたスクリーニングによって得られたのが今回の遺伝子であること。また、先に説明しましたように、本遺伝子をコードするアミノ酸配列というものは*Bacillus*属などのホスホリパーゼCと高い相同性を持つことが認められたという、この2つの理由からホスホリパーゼC以外の活性はないという回答が出てきております。その下には、その回答に基づいての申請書の修正案が黄色く囲っている部分となります。

続きまして、次のページをお願いします。(3)の指摘の内容ですが、今回のホスホリパーゼCは分泌シグナルでありますα接合因子の分泌シグナルが切断された後に菌体外へ分泌されると説明していたのですが、前回の申請書では、このウェスタンブロットの分析結果と*in silico*の結果で分子量に違いがあったということ。そのため、この違いというものがまずは分子量の齟齬というものは何であるかということについての考察と、通常、分泌シグナルが切断されている設計図どおりの場所、目的とする部位できちんと切断が行われているのかもあわせて確認をする旨の指摘が出されておりました。

この指摘に対する回答ですが、申請者のほうからMS分析の結果のデータが出されております。そのMS分析の結果、分子量のまとめですが、4ページの下表3にまとめられております。確かにホスホリパーゼCには分子量の差があったのですが、その差について申請者のほうからはグリコシル化が行われているのではないかとこの考察が出されています。その差については分子量として●●●という、その残基でもって、この差についてはほぼ一致するというので、このグリコシル化が行われているのではないかとこの考察が1つ。もう一つが、ホスホリパーゼCの●●●がなければ、今回の活性は発現されないということが既知の事実であるということから、きちんと切断というものは目的とする場所で行われているということが回答として出てきております。

次のページの(4)になります。こちらは指摘としましては、人工胃液、腸液の試験を行い、その旨の考察を行うことという内容でございます。申請者のほうからは、人工胃液のデータは出されているのですが、人工腸液については分析を行っていないという回答が出てきています。まず、人工胃液ですが、30秒以内に速やかな分解が認められたというこ

と。もう一つが熱変性のデータもあわせて出てきておりまして、そこでは90℃2分で完全に失活しているという結果が得られています。また、*in silico*のアレルゲンのデータベースで検索した結果、既知のアレルゲンとの相同性は認められなかった。これらの観点から総合的に判断して、申請者は人工胃液の試験は行わなくても安全性には問題ないと判断したという回答が出てきております。

次にめくっていただきまして、(5)です。こちらはアレルゲンデータベースを用いた相同性検索について、きちんと80アミノ酸残基で35%以上一致するアレルゲンの検索や連続した8アミノ酸の配列が完全に一致するアレルゲンの検索結果をきちんと行った上、結果として提出することが指摘として出されておりました。これらについては申請者のほうから検索結果ともに、結果としては相同性を示すアレルゲンは検出されなかったという回答が得られています。

続きまして、指摘事項4になります。こちらは「第4-6 DNAの宿主への導入方法に関する事項」のところで、ホスホリパーゼC発現カセットが●●●コピーであるという判断をした根拠について詳細に説明することという指摘でございました。こちらについては、申請者のほうからサザンブロット解析とゲノムシーケンス解析のデータが提出されておりまして、その結果に基づいて申請者からは●●●コピー、●●●セットであることと、あわせてタンデムに挿入されている旨の回答が出てきております。

ページが飛びますが、9ページをお願いします。最後に指摘事項の5つ目です。こちらは毒性試験の中の1つ、亜急性毒性試験に関する試験のところでも4つほど指摘を出しておりました。

まず(1)ですが、試験の名称を実施した時代での名称に修正すること。(2)は、死亡した動物3匹について、こちらはどの投与群での死亡例なのか、きちんと修正をすること。

(3)は、一過性の体重増加の低値が投与による影響ではないということについて、そのように考えた根拠を追記すること。(4)は、最後のNOAELの表現ぶりなのですが、本試験における無毒性量は、雌雄ともに2,000 mg/kg体重/日であったという修正をすることという指摘を出しておりました。

(1)の名称変更ですが、こちらは申請者のほうからは試験名を90日間経口投与毒性試験に変更する旨の回答でした。(2)ですが、一過性の3匹の動物の死亡例ですが、500 mg/kgの雌で1例、2,000 mgで雌雄各1例であるということで、いずれも投与の過誤によるものと考えられたという修正案が出てきております。(3)ですが、一過性の体重増加低値と被験物質投与の毒性影響ではないという関連のことですが、こちらは考察として、投与開始1週間で有意な低値が見られていますが、それはあくまで雄のみで認められたもので、その後の2週目からは逆に有意な体重の高値が認められており、その後、体重については投与群と対照群で有意な差は認められなかったということから、一過性の投与による影響ではないという考察がなされておりました。(4)については、こちらの指摘に対して修正をいたしますという回答が得られております。

その他の修正事項については、こちらから発出した内容について修正案が出されておりますので、説明のほうは割愛させていただきます。

指摘事項に対する回答書についての説明は以上です。

○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。まず指摘事項の1で、これは宿主が適切かどうかという話で、一応セルフクロニングに該当するというので、これは私が指摘を出したのですが、セルフクロニング該当でよろしいかなと思えます。

指摘事項の2は、ホスホリパーゼA2の情報が余分であるので適切に除いてくださいということで、これも私が指摘を出しまして、余分なところはとったということでよろしいかなと思えます。ほかの先生方で何か追加でよろしいでしょうか。

それでは、指摘事項の3は何点かありまして、まず(1)が、PLCは土壌からとって由来がよくわからないので、その由来する生物名がわかるかどうかということと、酵素活性等の情報を申請書に追加してくださいということで、児玉先生から御指摘があったと思えますけれども、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 BLAST検索ですけれども、アミノ酸のほうでは一応出てきまして、ほとんど*Bacillus*属のホスホリパーゼCと80~85、86%くらいの相同性が出てきますので、こちらのような回答でよろしいのではないかなと思えます。

○澤田座長 続きまして、(1)も児玉先生の御指摘で、ホスホリパーゼC以外の活性の有無があるかどうか追加することということで、これはいかがでしょうか。

○児玉専門委員 結局ほかの活性は調べていないので、ホスホリパーゼC以外の活性があるかどうかはわからないというのが本当のところかなと思えますので、最後の「ホスホリパーゼC以外のホスホリパーゼ酵素活性を持たないと考える」というのは言い過ぎかなと考えます。ホスホリパーゼCと高い相同性を持つことで、しかも、それは*Bacillus*属のものであったで止めておくしかないのかなと考えます。

○澤田座長 最後の結論が言い過ぎなので、これはなくしてしまってもいいか。

○児玉専門委員 なくすしかないですね。

○澤田座長 書かない方がむしろいいですかね。あとは適切に書きかえるかどちらかで、それは後でチェックしていただければと思えます。

(3)は4ページで、分泌シグナルで α MFを使っております、それが菌体外へ分泌されると説明しておりますけれども、ウェスタンブロットの結果と*in silico*の分子量が一致していないので、この齟齬について説明をしてくださいということで、これは児玉先生と私もちらっと申し上げましたけれども、いかがでしょうか。

○児玉専門委員 質量分析していただきまして、脱グリコシル化した後では推定される分子量と一致するというので、この説明自体はこれでよろしいかなと思えますが、1点、よくわからないのは、●●●と●●●が何個と何個で、この間の分子量がそれに相当する

みたいな推定が書かれているのですけれども、これは根拠があって書かれているのかどうか。というのは、例えば、成分分析をして●●●と●●●が検出されていてとか、大体その質量比が何対何くらいで検出されているので、それとあわせて計算すると、こうではないかという根拠なのか。それとも単純に分子量の差で一生懸命に計算して、こうではないかと言っているのか。そこはよくわからなかったもので、もし事務局のほうでわかれば教えていただきたいです。

○澤田座長 わかりますか。これは枯草菌の可能性が高いのですね。そうすると枯草菌の大体の概要から予測されることがあるのでしょうか。そこら辺は私にもわからないですけれども、●●●がコアに2つ並んでいて、そこに●●●がついている糖鎖はよくあるので、あり得る話ではあるかなと思いますけれども、それを実際に分子量から、そうだと切り切れるかどうかはよくわかりません。本当の推論にすぎないのでしたら、糖鎖の種類はとってしまってもいいのかなと。

○児玉専門委員 根拠がないのであれば、糖鎖であって、その分子量の差は糖鎖であったとどめておいたほうがよろしいのではないかと。

○井上課長補佐 一度、申請者のほうにそこを確認した後、もし確認していないのであれば、具体的な糖鎖の部分は削除するということがよろしいでしょうか。

○澤田座長 それでは、そういうことにしてもらいまして、次の(4)は人工胃液と腸液の処理を行って考察を行うということで、これは手島先生と柘植先生のほうから御指摘がありました、いかがでしょうか。

○手島専門委員 まず人工胃液のデータが出ているということで、これはほぼ30秒以内に消化されるというのはデータからの読み取れると思いますので、こちらは問題ないと思いましたが。人工腸液の実験を行っていないということは、やるようにと投げかけたという意味で、若干悩ましいところではあるのですけれども、食品添加物であるということと、人工胃液でまず分解されるということが示されているので、よろしいかなと思います。ただ、黄色で書いているところの下から2行目の「人工胃液における速やかな」のところの文章は入れなくてもいいのではないかと思います。

○澤田座長 柘植先生、何か追加でよろしいでしょうか。

○柘植専門委員 はい。

○澤田座長 腸液のデータはないのですけれども、胃液でかなりきれいに切れてしまうということで、安全性上の問題はそんなにないだろうということで、よろしいということにしたいと思います。

次の(5)もアレルギーで、これは結果が具体的に書かれていないというところで、それは記載してもらったようすけれども、これは中島先生から御指摘をいただいたのですが、この記載はよろしいでしょうか。

○中島専門委員 このくらい書いていただければ、よろしいかと思います。

○澤田座長 それでは、指摘事項4で、これは●●●コピーの発現カセットがあるという

ことが書いてあります。その根拠がどうしてそうなったのかということの説明をいただきたいということで、これは私と児玉先生から指摘がありまして、児玉先生はいかがでしょうか。

○児玉専門委員 サザンハイブリダイゼーションとゲノムシークエンスのデータが提示されておりますが、厳密に言えば、これで●●●コピーかと言うと、それはよくわからないというのが本当のところではあるのです。ただ、ゲノムシークエンスもこういうタンデムに並んでいるものは基本的にはほとんどよくわからない形になりますので、サザンハイブリダイゼーションのデータが重要ということになるのですが、サザンハイブリダイゼーションも●●●と言われれば、そうかなという感じで、ただ、コピー数が安全上はそんなに極めて重要かと言うと、そうでもないだろうと考えられるところもありますので、説明としては、構造ははっきりとはわからないけれども、恐らくそれに近い数のコピー数が入っているのではないかという形に変えていただければ、それでいいのかなとはちょっと。構造は結局わかりませんので。

○澤田座長 これはたしか●●●タンデムに並んでいるのが●●●だから、●●●という単純な計算ですよ。

○児玉専門委員 ただ、*HIS4*は●●●ということなので、何らかのちぎれた形に入っているのか、ちょっとわけのわからない形に入っていると推定はされるのですけれども、もうそれはゲノムシークエンスからでももうわからない形になっているので、きちんとした構造が結局わからない。

○澤田座長 私はちょっと教えていただきたいことがあったのですけれども、図8の冗長性のところはどういうふうに読めばいいのですか。この黄色いところですか。

○児玉専門委員 黄色いところはリードなので実際に読んだ断片がずらっと書かれていて、それを足して上にカバレッジになる。大ざっぱに言えば、そういう形になっているのだと思います。

○澤田座長 場所が決まらない可能性がありますよね。適当に振り分けてしまっているだけですか。

○児玉専門委員 実はそういう意味で言うと、ここの●●●コピーのところにかバレッジが全部振ってあるのが私にはちょっと理解できないのですけれども、本当にこう振れるのかと10~20分くらいひたすら悩んでいたのですが、本当のところはこう振れないのではないかと。

○澤田座長 微妙にシークエンスが違う場所があって、それで振り分けられたとか、そういうことはあり得るのですか。それは余り考えにくいのか。

○児玉専門委員 ただ、カバレッジのところを見ると、ただの単純な繰り返しの波形になっていないので、微妙に配列が違うのかなと思ったりもしたのですけれども、本当にタンデムにきれいに並んでいて、タンデムにそれをゲノムシークエンスすると波形がきれいな繰り返しになるので、そうすると、それは単純に繰り返しですよということになるので

すけれども、波形がどうも繰り返しになっているように見えないので、微妙に配列が違うのかなと思いながら見ていたのです。これ以上の説明を求めても多分データは追加では出てこないと思うので、少し表現を変えていただければ、よろしいかなと思います。

○澤田座長 データとしては、これ以上はもうしようがないということで、よろしいのではないのでしょうかということですね。

それでは、次の指摘事項5で、これは毒性試験に関する御指摘で和久井先生から御指摘いただいたところですが、いかがでしょうか。

○和久井専門委員 ほとんど問題ないと思いますが、名前のところで何でこんなに引っかかってしまっているのかなというところですが、90日間反復経口投与毒性試験で、これはこれでいいのではないかと思っていたのですが、英語のタイトルをそのまま直訳して90日間経口投与で、これは90日間反復経口投与毒性試験のほうが誤解がなくいいのではないかと思うのですけれども、何で変えてしまったのかな。

○澤田座長 特にもうこれでよろしいですか。

○和久井専門委員 はい。

○澤田座長 それでは、本件につきましては、特に安全上の問題がないということでありますので、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。

○井上課長補佐 それでは、評価書案を束ねています冊子の6ページから説明に入らせていただきます。

「I. 評価対象添加物の概要」です。品目はPRF株を利用して生産されたホスホリパーゼC。用途ですが、リン脂質の加水分解(植物性油脂の工業的精製における脱ガムにて使用)。申請者、開発者はこちらに記載のとおりでございます。

本添加物は、ホスホリパーゼCの生産性を高めるため、*Pichia pastoris* SMD1168株を宿主とし、土壌中より単離したホスホリパーゼC遺伝子に*Saccharomyces cerevisiae*由来のα接合因子分泌シグナル遺伝子を付加し、PRF株を利用して生産されたホスホリパーゼCでございます。用途ですが、油脂精製に使われるということでございます。

「II. 食品健康影響評価」です。

第1の1. 「(1) 名称、基原及び有効成分」については、こちらに記載のとおりでございます。

「(2) 製造方法」ですが、*Aspergillus niger* PLA-54株の培養液から抽出、除菌及び精製工程を経て製造されたもの。

「(3) 用途及び使用形態」ですが、主に小麦粉や卵黄中のレシチン分解に使用されております。

「(4) 摂取量」ですが、ホスホリパーゼCにつきましては、まず工業的植物油精製の脱ガム工程のみに使用されるということから、推奨される使用量が純酵素量として10 ppm、原油に添加した場合の残存酵素量は検出限界である1 ppb以下となることがわかっております。一般消費者が通常の食品経由で植物油の脱ガム工程で使用されたホスホリパーゼ

Cを摂取する可能性は低いと考えられること。なお、ホスホリパーゼCが脱ガム推奨使用量で添加された原油を摂取したと仮定した場合の一日最大摂取量は、0.083 mg/人/日であることが記載されております。

「2. 宿主及び導入DNA」です。

「(1) 宿主の種名(学名)、株名等及び由来」ですが、宿主は*P. pastoris* SMD1168株でありまして、野生株のヒスチジン生合成酵素(*HIS4*)遺伝子及びプロテイナーゼA遺伝子を不活化された株でございます。

「(2) DNA供与体の種名、株名又は系統名等及び由来」ですが、まずホスホリパーゼCの遺伝子は、土壌から単離されているため、その供与体は同定されておりません。そのほか、 α 接合因子分泌シグナルですが、*S. cerevisiae*で、ほかにヒスチジン生合成関与酵素の遺伝子の供与体は、宿主の*P. pastoris*でございます。

「(3) 挿入DNAの性質及び導入方法」です。ホスホリパーゼC遺伝子及び α 接合因子分泌シグナル遺伝子は融合タンパク質として発現した後、菌体内の分解酵素によって分泌シグナル部分が切断され、その後、成熟型タンパク質となって菌体外に分泌されます。そのほか、*HIS4*遺伝子はヒスチジン生合成関与酵素をコードし、選択マーカーとして用いられております。

そのほか、*PLC*遺伝子発現カセットの構成ですが、まずアルコールオキシダーゼ遺伝子のプロモーターを含む5'上流配列、分泌シグナルとホスホリパーゼC遺伝子、アルコールオキシダーゼ遺伝子のターミネーターより構成されております。挿入DNAの断片は相同組換えにより、アルコールオキシダーゼ遺伝子座の下流に挿入されております。

「3. 宿主の添加物製造への利用経験又は食経験に関する資料」です。*P. pastoris*は医薬品、飼料用タンパク質の生産に広く使用されていること。また、アメリカでは飼料用タンパク質源としてプロイラー用飼料に10%までの使用が認められております。

「4. 宿主の構成成分等に関する資料」です。*P. pastoris*は、有害生理活性物質を生産するという報告例はなく、バイオセーフティーレベル1に相当すると考えられております。

ページをめくっていただきまして、「5. 遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料」です。

「(1) 製品名及び有効成分」は記載のとおり、「(2) 製造方法」も記載のとおりでございます。

「(3) 用途及び使用形態」ですが、この製品でありますPurifine® PLCは、植物性油脂の工業的精製における脱ガム工程に使用されて、不純物であります非水溶性リン脂質をジアシルグリセリドと水溶性リン化合物物に加水分解する性質がございます。また、このPurifine® PLCによる脱ガム工程は非水溶性リン脂質を水溶性リン脂質のみ変換するホスホリパーゼAによる脱ガム工程と比較しまして、原油中のジアシルグリセリド量を増加させ、収率を高めることができるとしております。

(4) は記載どおりでございます。

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

「(1) 遺伝子組換え添加物と従来の添加物」の相違点ですが、反応特異性が異なる点でございます。

「(2) 組換え体と宿主」との相違点ですが、ホスホリパーゼC遺伝子カセットが複数コピー導入され、*HIS4*遺伝子も導入されている点が相違点でございます。

次のページに行きまして、「第2. 宿主に関する事項」です。第2の1. ～5. につきましては記載のとおりでございますので、説明は割愛させていただきます。

「第3. ベクターに関する事項」も同じく「1. 名称及び由来に関する事項」は記載のとおりでございます。

2. (1) ～ (3) につきましては記載のとおりでございますので、説明は割愛させていただきます。

「(4) 薬剤耐性に関する事項」ですが、このプラスミドには β -ラクタマーゼ遺伝子が含まれていることがわかっております。

「(5) 伝達性に関する事項」ですが、伝達を可能とする塩基配列は含まれておりません。

「(6) 宿主依存性に関する事項」ですが、プラスミドの複製開始配列は、*E.coli*で機能するということでございます。

第4の1. の「(1) 名称、由来及び分類に関する事項」ですが、こちらは記載のとおりでございますので、説明のほうは割愛させていただきます。

「(2) 安全性に関する事項」ですが、ホスホリパーゼC遺伝子の供与体が不明であるため、供与体の安全性については確認できませんが、そのほか、*P. pastoris*や*S. cerevisiae*については病原体等のバイオセーフティーレベル1に相当すると考えられております。

「2. 挿入DNA又は遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物の性質に関する事項」です。

「(1) 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法に関する事項」ですが、土壌から精製したDNAをベクターに挿入しライブラリーに構築し、そのホスホリパーゼC遺伝子を含むDNA断片が得られています。この断片から塩基配列を決定し、ORFに相当する配列をPCRにて取得し、ホスホリパーゼC遺伝子が得られております。そのほかの遺伝子につきましては、プラスミドから得られております。

(2) は記載のとおりでございます。

「(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項」です。

「① *PLC*遺伝子」についてですが、この遺伝子はホスホリパーゼC活性を指標にスクリーニングされたことから、ホスホリパーゼC以外の酵素活性を持たないと考えられるという表記になっておりますが、先ほど先生方から御意見をいただきましたので、こちらについてはこの表現でなく、もう少し表現を検討したいと考えております。

「a. 遺伝子産物の有害タンパク質との構造相同性に関する知見」でございます。まず、*PLC*遺伝子の塩基配列についてBLAST検索を行った結果、相同性を示す配列は認められませんでした。同じく、アミノ酸配列についてBLAST検索を行った結果、*Streptococcus pneumoniae*や*Bacillus*属のさまざまな種のホスホリパーゼCと相同性78～85%を示す結果が得られておりました。*B. cereus*由来の溶血毒とホスホリパーゼCとの相同性は示されておりましたが、本ホスホリパーゼCについては溶血活性は有しないことが認められております。

「b. 遺伝子産物と既知のアレルゲンとの行動相同性に関する知見」でございます。こちらは80アミノ酸以上、35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンと8アミノ酸配列が一致する既知のアレルゲンについては検出されておりました。

「c. 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する知見」ですが、こちらは人工胃液中での消化性を確認した結果、SDS-PAGE分析を行った結果、30秒以内に分解されることが確認され、また、90℃にて2分間の加熱により酵素活性が失活されることが認められておりました。

「② α MF遺伝子」についてです。このシグナルは分泌シグナルとリーダー配列をコードするものでございまして、この後、 α 分泌シグナルが切断後のPLCタンパク質の分子量をマスマスペクトロメトリーを用いた解析した結果、期待された値が示されたことから、切断は正しく行われていると考えられたという、先ほどの回答に基づいての評価書案の文章をこちらに入れさせていただきました。そのほか、分泌シグナルを含むPLC遺伝子発現カセット領域に同定されましたORFには、既知のアレルゲンや毒性タンパク質との相同性を示すものがないことが確認されております。

「③ *HIS4*遺伝子」についてですが、この遺伝子を含む導入領域に同定されたORF検索は、先ほどと同じように、毒性やアレルゲンの相同性を示すものがないことが確認されております。

ページをめくっていただきまして、「3. 挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカー遺伝子の発現に関わる領域に関する事項」ですが、こちらは(1)～(3)については記載のとおりでございます。

「4. ベクターの挿入DNAの組込方法に関する事項」ですが、こちらは記載のとおりですので、説明のほうは割愛させていただきます。

「5. 構築された発現ベクターに関する事項」ですが、(1)～(4)まではこちらに記載のとおりですので、御参照いただければと思います。

次のページに移っていただきまして、「6. DNAの宿主への導入方法に関する事項」です。挿入DNA断片を形質転換により宿主ゲノムに導入し、ヒスチジン非要求性をマーカーとしてPRF株を選抜しております。このPRF株のサザンブロット分析やゲノムシーケンズの解析の結果、複数コピーのPLC遺伝子発現カセットが挿入されていることが推察されております。

「7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項」です。こちらはプラスミドにはアンピシリン遺伝子が含まれておりますが、生産菌にはゲノムシーケンスの解析結果から含まれていない旨が記載されております。

「第5. 組換え体に関する事項」です。

「1. 宿主との差異に関する事項」でございますが、*PLC*遺伝子発現カセットが複数コピー導入されていること。また、ホスホリパーゼCの高生産能を有している点に加えて、*HIS4*遺伝子が挿入されている点が相違点でございます。

「2. 遺伝子導入に関する事項」ですが、(1) はこちらの記載どおりでございます。

(2) オープンリーディングフレームの有無についての内容ですが、挿入DNA断片と接合部位に新たに生じるORFの有無について調べるために、まず5'近傍配列、3'近傍配列を含む領域と、*PLC*遺伝子発現カセット領域、*PLC*遺伝子発現カセットと*HIS4*遺伝子の接合部におけるORF検索を行っております。その結果、155のORFが検出されましたが、そのうち挿入DNA断片と宿主ゲノムの境界にかかるORFは17個であったこと。この17のORF検索と既知のアレルゲンとの相同性の有無を確認した結果、既知のアレルゲンについては認められませんでした。また、毒性タンパク質についても確認した結果、2つのORFがヒットしました。

その結果ですが、次のページに移っていただきまして、テトラサイクリン耐性タンパク質と *Bacillus cereus*由来のホスホリパーゼCであるということ。これら2つに高い相同性が示されておりますが、このテトラサイクリン系の耐性タンパク質についてはベクター由来のものであり、相同領域が49%であったこと。また、*Bacillus*由来のホスホリパーゼCについては溶血性活性が示されているのですが、今回の本生産菌株でありますPRF株で生産されたホスホリパーゼCには溶血性活性がないことが確認されております。

「第6. 組換え体以外の製造原料や製造器材に関する事項」でございます。

1. と2. につきましては、こちらに記載のとおりでございます。

「第7. 遺伝子組換え添加物に関する事項」ですが、諸外国での許可状況は表1のとおりでございます。

「2. 組換え体の残存に関する事項」ですが、DNAの残存を定量PCRによって分析した結果、検出限界である0.1~1 ng/mL以下であったという結果が得られております。

「3. 製造に由来に対する非有効成分の安全性に関する事項」ですが、こちらは記載のとおりでございます。

「4. 精製方法及びその効果に関する事項」ですが、発酵工程で、ホスホリパーゼC酵素のタンパク質は培養液中に分布されること。この回収工程においてバイオマスを沈殿させ、除去し、●●●、除菌ろ過を●●●行っております。次に、●●●、限外ろ過し、最終的には不純物を取り除くための透析が行われて、最終的に製剤化がされております。これらの工程から安全性に問題のある物質が含まれるとは考えられないという旨が記載されております。

「5. 含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動に関する事項」についてですが、こちらは記載のとおりでございます。

「第8. 第2から第7までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要な事項」として、申請者のほうから提出がなされております。こちらにつきましては、第8を参考扱いとするのか、しないのかという点について御議論をいただければと考えております。

説明のほうは簡単にさせていただきますが、*PLC*遺伝子というものは土壌から単離したため供与体の生物は同定されていないため、Purifine® *PLC*を用いた反復投与毒性試験や変異原性試験に関するデータが申請者のほうから提出されております。

「1. 90日間反復経口投与試験」と書いてあるのですが、先ほどの回答書からですと、こちらは90日間経口投与毒性試験という修正になるかと考えております。試験の結果ですが、SDラットを被験物質で0、500、1,000、2,000 mg投与し、90日間強制経口投与した結果、最終的には一過性の体重増加低値が認められたのですが、それは被験物質の投与との毒性影響ではないということ。そのほかにも幾つか所見は見受けられているのですが、いずれの投与群でも被験物質に起因する毒性影響によるものではないということで認められております。したがって、本試験のNOAELは雌雄ともに最高用量の2,000 mg/kg体重/日であったという修正案になるかと考えております。

続きまして、「2. 変異原性試験」です。

変異原性は2つ実施されておまして、「(1) 復帰突然変異試験」は*Salmonella*と大腸菌を使った試験でして、S9 mix存在、非存在下、いずれにしても復帰変異コロニー数や有意な上昇や用量相関性は認められておらず、代謝活性化系の存在、非存在にかかわらず、試験した菌株においては変異原性を示す結果は認められませんでした。

続きまして、「(2) *in vitro*染色体異常試験」です。こちらは*in vitro*ヒトリンパ球細胞に対して最高用量群5,000 µg/mLとして数濃度で代謝活性の存在下及び非存在下で試験を実施したところ、代謝活性の存在、非存在下にかかわらず、*in vitro*のヒトリンパ球細胞においては染色体異常及び倍数体の誘発性は認められなかったという結果が得られております。

評価書案の説明は以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、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きたいと思います。少し長いので、13ページの第5の402行まででコメント等がございましたらお願いしたいと思います。よろしいでしょうか。

○児玉専門委員 その境目に当たる場所なのですが、394～396行目までサザンブロットとゲノムシーケンスで挿入されていることが推察されたという文章があるのですが、この文章は410～412行目に入れたほうが多分いいのではないかと思います。ゲノムシーケンスで挿入された全塩基数は推定されていると言ってもタンデムで並んでいるの

で、全塩基数はそんなに推定と言っても精度が高くないので、余りこの文章はよろしくありませんし、制限酵素による切断地図なのでサザンブロットのことは書いたほうが多分よろしいので、394～396行の文章はそこには入れないで、こちらに入れたほうがしっくりくるのではないかと考えました。

○澤田座長 これは平行移動でよろしいですね。ほかはいかがでしょうか。

それでは、最後までで御意見がありましたらお願いしたいと思います。先ほど事務局から御意見をいただきたいというところがありまして、第8の毒性試験と変異原性試験が2つあるのですけれども、これを参考までに見る必要があるかどうかというところで、これは低分子が余り入ってこないようでしたら、毒性試験と変異原性試験をやっても余り意味がないと言えば、意味がないので、この最終製品がタンパクしかなくて、低分子がかなり混じってきていないようでしたら、要らないのかなという気がします。製剤としてはそんなにきれいではないのだったら、やる価値はあるかなと思います。そこがポイントになるのかなと思います。

ほかに何か御意見はありますでしょうか。

○東條事務局次長 1点よろしいですか。事務局から申しわけありません。資料の434～436行目にある「ホスホリパーゼCは植物性油脂の精製工程で除去され、最終製品より取り除かれていることが確認されている」という文章があるのですが、これはひょっとして、むしろ331行目のあたりの遺伝子産物のところの人工胃液の後くらいに入れておいたほうが適切かなと思ったのですが、いかがでしょうか。何かORFのところの最後にこれが入っているのですけれども。

○澤田座長 これは何かついでに関係があるから乗っかっている話ですけれども、確かに溶血活性がないところまではあってもいいのかなと。その後は要らないかもしれないです。

○東條事務局次長 その後はむしろ遺伝子産物のところのなお書きくらいかなと思います。人工胃液の後くらいのところに。

○澤田座長 それはどういうふうにするか検討しようと思います。

今のお話で気になったのですけれども、ホスホリパーゼの溶血活性がないことを毒性試験で安全性で問題がないということは、やる価値はあるのかもしれないですが、どこまでやらなければいけないと言われると、よくわからないところがあります。山添先生はいかがですか。

○山添委員 基本的に精製工程がきちんと行われていれば、ないはずで、万が一、タンパクが一部入ってきたとしても、このホスホリパーゼCには溶血活性はないという二段構えではないかなと思います。

○澤田座長 精製工程をもう一度確認して、タンパク以外の成分がほとんど残っていないようでしたら、毒性試験の項目は多分要らないのかなと思いますので、そこを確認の上、最終的に判断したいと思いますけれども、いかがでしょうか。

○井上課長補佐 では、一度確認をいたします。

○澤田座長 ほかにコメント、御意見はいかがでしょうか。少し宿題がありますけれども、いただきました修正点等につきましては、事務局と私のほうで確認して修正したいと思います。その後で食品安全委員会に御報告して、パブリックコメント等の手続に入りたいと思います。ありがとうございました。

それでは、続きまして、新規の品目でありますOYC-GM1株を利用して生産された酸性ホスファターゼについて審議を行いたいと思います。事務局から御説明をお願いします。

○井上課長補佐 それでは、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、本日申請者のオリエンタル酵母工業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、申請者に対する質問事項等がありましたら整理していただきたいと思います。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。

それでは、申請者から提出されています申請書を説明させていただきます。分厚いドッジファイルを御準備ください。こちらはタグがついておりまして、申請概要のタグからになります。申請概要のタグの6ページから説明を始めさせていただきます。

「1-1 従来の添加物の性質及び用途等に関する資料」でございます。

「1-1- (1) 名称、基原及び有効成分」ですが、名称は酸性ホスファターゼ、基原は *Aspergillus oryzae* です。

(2) 製造方法ですが、糸状菌であります *A. oryzae*、*A. niger* の培養液より、抽出、除菌し、濃縮、エタノールもしくは含水エタノールで処理することによって製造されているものでございます。

(3) 用途及び使用形態ですが、この酸性ホスファターゼというものは積極的に利用されてはいないものではございますが、フィターゼ製剤にこのホスファターゼが混在していること。そして、このフィチン酸を分解する処理にフィターゼとともに作用することがあります。例えば、醤油や酢などの調味料を加工する場合に、このフィチンに由来する澱が発生し、この澱の発生を抑制する作用があるとされております。

(4) 摂取量ですが、従来のホスファターゼにつきましては、先ほど説明しました醤油などの調味料の製造工程中の澱の防止など加工助剤として使用されているのですが、最終製品中に残存することは考えにくく、ヒトが摂取する可能性は低いと推定されております。今回の品目でありますホスファターゼにつきましてはの摂取量であります、●●●と推定されています。

続きまして、「1-2 宿主及び導入DNA」です。

まず宿主ですが、*E. coli* BL21 (DE3) 株というもので、こちらは *E. coli* B株の染色体DNAにphage由来のλ DE3遺伝子が組み込まれた大腸菌株であります。2009年には、この宿主菌であります *E. coli* BL21株の全ゲノム構造が明らかにされております。

(2) DNA供与体ですが、挿入DNAが今回は3つございまして、それぞれの供与体については表1にまとめられております。SD配列では *E. coli* 由来でありまして、Kozak配列とい

うものはヒト由来のものでございます。*HIGM1*遺伝子というものは*Haemophilus influenzae*由来のものでございます。

(3) 挿入DNAの性質及び導入方法ですが、この表1に挙げられています3つの配列をベクターに挿入することによって発現ベクターが構築されています。この発現ベクターを用いて塩化カルシウム法により宿主であります*E.coli* BL21株を形質転換しております。また、この発現ベクターはプラスミドDNAとして、生産菌の*E.coli* OYC-GM1株の細胞内に保持されている旨が記載されております。

1-3、宿主の添加物製造への利用経験ですが、日本では食添として認められている酵素の生産宿主としての利用はありませんが、アメリカではβ-ガラクトシダーゼの生産宿主としての申請がありまして、GRAS指定がされております。

1-4につきましては、こちらに記載のとおりでございます。

1-5につきましては、当該GMの添加物の性質などが記載されております。

説明ですが「1-5-(1) 製品名及び有効成分」はこちらに記載のとおりで、製品名はHIGM1、有効成分は酸性ホスファターゼ、基原は*Haemophilus influenzae*、系統名、CAS No.につきましては、こちらに記載のとおりでございます。

「1-5-(2) 製造方法」ですが、HIGM1は*E.coli* OYC-GM1株から生産されており、図1に示されるように培養工程、精製工程を経て製造され、生産菌はろ過除菌によりHIGM1から分離除去されております。

次のページ、「1-5-(3) 用途及び使用形態」ですが、●●●を製造する際の加工助剤に限定されていることと、最終製品には●●●で除去されていることが確認されているものです。

(4) 有効成分の性質の比較でございます。従来の酸性ホスファターゼと同様にリン酸モノエステルの加水分解活性を有することに加えて、●●●を持つ点で従来の添加物と異なっております。

1-6といたしまして、従来品との比較でございます。

(1) 遺伝子組換え添加物との相違点ですが、●●●も有している点が挙げられております。

(2) 組換え体と宿主との相違点ですが、酸性ホスファターゼ産生能、アンピシリン耐性を有する点が相違点でございます。

次のページに移っていただきまして、第2の項目として、宿主に関する内容が記載されております。

2-1につきましては、こちらに記載のとおりでございます。

2-2、病原性、有害生理活性物質の生産に関する項目です。*E.coli* B株というものはバイオセーフティーレベル1に分類されていること。有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は知られていない旨が記載されております。

2-3、寄生性、定着性については知られていないという旨が記載されており、2-4、病原

性の外来因子についてはこれまでウイルス感染などの例は報告されていない旨が記載されております。

2-5、宿主の近縁株の病原性、有害生理活性物質の生産に関する事項です。*E.coli*は環境中に存在するバクテリアの主要な種の一つであることと、この菌は腸内細菌であり、特にヒトの大腸に生息する旨が記載されております。ただし、大半の*E.coli*というものは多くは無害であります。中には激しい下痢が腹痛を引き起こす*E.coli*があり、それとともに知られていますが5つ、病原性大腸菌として、下に1~5が記載されております。

11ページ、「3. ベクターに関する事項」でございます。

まず、名称についてはこちらに記載のとおりでございます。

3-2- (1) についてはこちらに記載のとおりで、薬剤耐性につきましてはアンピシリン耐性遺伝子を持つこと。また、伝達性については他の菌株へみずから移動するという伝達性の報告はなく、伝達能を有することは考えにくい旨が記載されております。

次のページに移っていただきまして、(6) 宿主の依存性ですが、宿主の依存性は高い旨が記載されております。

13ページ、4. 挿入DNAに関する項目になります。

4-1- (1) 名称、由来ですが、先ほど説明させていただきました表1と同じ内容ですので、こちらは割愛させていただきます。

4-1- (2) 安全性に関する事項です。まずSD配列ですが、多くの種に共通して見られる配列であり、食品として利用される菌体にも多く存在するため、安全であると考えられております。

2つ目のKozak配列ですが、ヒトが有している配列であるため、安全であること。

次に*H. influenzae*ですが、非病原性の実験室株としてバイオセーフティーレベル1に分類されていることが挙げられております。ただし、野生株でありますものはバイオセーフティーレベル2に分類されている旨が記載されております。

14ページをお願いします。4-2、挿入DNA、遺伝子及びその産物の性質に関する事項です。

まず、挿入遺伝子の合成方法です。挿入遺伝子であります*HIGM1*遺伝子は、*H. influenzae*由来の●●●の遺伝子配列を参考にして、DNAを合成し、ベクターに挿入されたものでございます。

4-2- (2) 塩基数、塩基配列、制限酵素、切断地図に関する事項ですが、こちらは記載のとおり、図3を参照していただければと思います。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する内容です。まず1つ目、*HIGM1*の機能ですが、リン酸モノエステルの加水分解活性と合わせて、●●●を有しております。そして、この*HIGM1*遺伝子産物の安全性ですが、●●●の製造工程中の使用限定であること。また、最終食品には残存しない。●●●ということが推定されており、安全上問題はないという旨が記載されているのですが、あえて申請者のほうからは、アレルギー誘発性に関して検討が行わ

れております。

その1つ目がPubMedを使つての文献検索ですが、こちらはアレルギー誘発性に関する知見は得られておりません。

もう一つ、*HIGM1*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、公共データベースを使って検索を行った結果、2つの候補が得られております。その1つ目が、*Tabanus yao*由来のものと、もう一つがネッタイシマカ由来のものでございます。それぞれ合致したアミノ酸領域については、このページ以降に記載がされております。その結果ですが、ページが飛びまして、20ページをお願いします。

20ページの下からですが、こちらはデータベースによるとプリックテストの試験で、アレルゲン性があるという結果が得られております。ただし、Food Allergenについては該当しないという結果が得られておりまして、食品として考えた場合は皮膚接触でなく経口摂取ということから、この2つの候補についてはアレルギー誘発性の可能性は低いという考察がなされております。

続きまして、21ページ、物理化学的性質に関する感受性についての内容です。

まず1つ目、人工胃液試験データです。こちらは結果としましては、*HIGM1*は人工胃液処理により30秒以内に分解されている結果が得られております。

続きまして、人工腸液の試験ですが、こちらは6時間まで行った結果、6時間後で人工腸液の処理によって84.2%まで分解されることが確認されております。

続きまして、熱安定性試験ですが、こちらは60℃で10分間処理することによって残存活性が5%以下になることが得られております。

以上のことから、構造相同性が確認されておりますが、*HIGM1*に関するアレルギー誘発性の報告がないこと、また、人工胃液や人工腸液により速やかに分解されているということから、*HIGM1*のアレルギー誘発性は極めて低いという考察が申請者から出されております。

ページが飛びまして、25ページをお願いします。25ページからは「4-3 挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカー遺伝子の発現に関わる領域に関する事項です。

4-3- (1) のプロモーターと (2) ターミネーターですが、こちらはT7 phage由来のプロモーター由来のもので、プロモーターとターミネーターを用いられております。

(3) につきましては記載のとおりでございますので、説明のほうは割愛させていただきます。

少し飛びまして、27ページをお願いします。27ページですが、4-5- (2) 目的以外のタンパク質を組換え体内で発現するORFの有無についてですが、こちらは組換え体内で発現するORFの安全性を検討するために挿入遺伝子でございます*HIGM1*遺伝子のORF検索を検討しております。30アミノ酸以上のORFについて検証した結果、21候補が挙げられております。この21候補について、こちらは申請書ではDDBJのBLAST検索と書いてあるのですが、これは昨日、申請者のほうから連絡がありまして、DDBJではなくNCBIの

BLASTP検索を行ったという報告を受けておりますので、こちらは後ほど申請書のほうは修正させていただきたいと思っております。この相同性検索を実施した結果、4つのORF検索が得られているのですが、いずれも既知の毒性タンパク質ではないということが認められております。

本日、机上配布資料でお配りしております資料を御準備ください。机上配布資料ですが、こちらは昨日、申請者のほうからORF検索を行ったということで提出を受けております。4-5- (2) につきましても、毒性タンパク質しか調べておりませんので、あわせてアレルゲンについても申請者に確認をしたところ、検索結果がこのように提出されております。こちらの補足資料を使いまして、説明のほうをさせていただきます。

申請概要、補足1ですが、*HIGM1*遺伝子の各翻訳フレームでORF検索については既知の毒性タンパク質を検証した結果、毒性のタンパク質が産生されることは考えにくい旨は報告していますが、既知のアレルゲンについても構造相同性検索について検証した結果、いずれもORF検索は検出されなかったという結果が得られております。

あわせて次のページをお願いします。補足2です。こちらは生産菌株で維持されております発現ベクターの全配列についてもORF検索を行っておりまして、その結果がこの補足2になります。開始コドンから始まり、終始コドンで終結されます連続する30アミノ酸以上のORF検索を行った結果、ラクトースオペロンリプレッサー遺伝子とアンピシリン耐性遺伝子以外に33候補の新たなORFが得られています。その結果、最終的には既知のアレルゲンの相同検索を行っておりまして、80残基で35%以上の相同性を示すもの、もしくは連続した8残基が完全に一致するORFというものは検出されなかったという結果が得られております。

補足1と2の説明については以上でございます。

もう一度、申請書のほうに戻っていただきまして、申請書概要の27ページの説明は以上でございます。

続きまして、28ページの4-5- (3) と (4) につきましても、こちらに記載のとおりでございます。

29ページから説明に入らせていただきます。4-6、DNAの宿主への導入方法ですが、発現ベクターを用いて塩化カルシウム法により宿主を形質転換しております。この生産菌であります*E.coli* OYC-GM1株では、発現ベクターは染色体外にプラスミドとして存在し、維持されている旨が記載されております。

4-7、抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性です。

「4-7- (1) 遺伝子及び産物の特性に関する事項」ですが、ベクターにはアンピシリン耐性遺伝子が含まれており、その遺伝子配列は明らかになっていること。アンピシリン耐性マーカー遺伝子の産物につきましても、既知の有害物質または既知のアレルゲン物質との相同性は認められていないとの報告がございまして、このアンピシリン耐性遺伝子というものは、GILSP遺伝子組換え微生物の別表第二に挿入DNAとしても記載されている旨がここ

では記載されております。

「4-7- (2) 遺伝子及び遺伝子産物の摂取に関する事項」でございます。こちらはHIGM1の安定生産を目的として、発現ベクターの脱落を防止するため、*E.coli* OYC-GM1株の培養液中にアンピシリンを添加しています。この最終製品、製剤中にアンピシリン耐性遺伝子の存在量を分析した結果、検出限界未満である2.5 pg/μL未満であるということが算出されております。

次のページに移っていただきまして、図9にはドットプロットの試験の結果が示されております。このHIGM1製剤を用いて製造されました最終製品●●●は混入タンパク質についても検出されていないことが確認されており、以上のことから、●●●にアンピシリン耐性遺伝子産物が含まれている可能性は低いと考察づけられています。

31ページ「5. 組換え体に関する事項」ですが、5-1の宿主との差異は先ほど説明させていただきましたので、割愛させていただきます。

5-2につきましても、こちらは記載のとおりでございますので、説明のほうは割愛させていただきます。

32ページをお願いします。6といたしまして、製造原料などに関する事項に着いてでございます。

「6-1 添加物の製造原料又は製造器材としての使用実績があること」です。こちらは製造に用いる培養器材その他の設備については弊社において添加物の製剤器材としての実績はありませんが、体外診断用医薬品原料の製造に長年安全に使用されているという旨が記載されています。実際に製造原料、器材については、こちらに記載のとおりでございます。

6-2、添加物の製造原料、製造器材としての安全性についての知見ですが、こちらは記載のとおりでございます。

33ページ、「7. 遺伝子組換え添加物に関する事項」です。

諸外国における認可状況ですが、本品につきましては、欧米等での認可はされていないことが報告されております。

組換え体の残存ですが、まず2通りの方法で確認されております。1つ目がプレート塗布法でございます。この結果から薬剤耐性菌は検出されなかったこと。2つ目がドットプロット法ですが、こちらはHIGM1製剤中の生産菌の混入を確認するため実施されており、その結果としましては生産菌の存在量はゲノムDNA換算では検出限界である0.5 ng/μL未満と算出されております。

「7-3 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項」です。こちらは製造に由来する非有効成分は、*E.coli* OYC-GM1株の培養工程に使用する製造原料及び*E.coli* OYC-GM1株の代謝産物が考えられております。生産菌の培養工程に使用する製造原料は6-1に記載されているとおりでございますが、これらの精製工程を経て、製造原料を除去されていると考えられていること。また、*E.coli*の宿主の株はGILSP遺伝子組換え微生物に分類されている菌株であり、有害生理活性物質を生産する報告はないこと。また、生産菌はアンピシ

リン耐性とHIGM1生産能以外のものは公知の*E.coli* BL21株と同じ菌学的に性質が同じであるということ。また、挿入DNAについては、有効成分以外のタンパク質をコードしていないため、非有効成分の生成には寄与していない。これらの理由から、安全性に問題がある非有効成分や代謝産物が製剤中に含まれているということは考えにくいという結果が得られています。

7-4につきましては、こちらに記載のとおりでございます。

7-5、含有量の変動、有害性につきましては、酸性ホスファターゼの含有量の変動によって、有害性が示唆される常成分の変動があるということは考えにくいという旨が記載されております。

8につきましては、記載のとおりでございます。

申請書の説明は以上です。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、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います。まず、申請書の「3. ベクターに関する事項」で、6～12ページまででコメント、御意見がありましたらお願いします。

○中島専門委員 8ページの製造方法のところですが、これでは何をやっているのかがよくわからなくて、●●●というのとは何か。一番最後に除菌ろ過をやっているということは、その前に●●●のところでは菌が除かれていないというふうにも読めます。最後に確かに0.2 μmのフィルターで濾しているから菌は通っていないという説明はあるのだけれども、多分それが除菌ろ過のところなのでしょうが、いずれにしても、ここに書いてあるだけで添付資料等々にもありませんので、この辺のところは少々聞きたいと思います。

せっかく来ていただいているのであれば、聞きたいと思いますが、もう少しわかるように記述していただかないと、これでは。最後に確認のところは我々でよろしいので、安全性はそんなに問題ないだろうとは思いますが、それにしても、もう少しきちんとわかるように書いていただかないと、これでは、と思います。

○澤田座長 ほかはいかがでしょうか。

○児玉専門委員 今のコメントとも若干関係するのですけれども、確認ですが、酸性ホスファターゼはベクターに入れて発現させたときにHis-tagはついた形で産生されてくるのかどうかという点については。

○松井技術参与 確認しておりまして、精製にHis-tagを使っているという答えは受けています。

○児玉専門委員 ですから、このクロマトグラフィーはHis-tagを使ったクロマトグラフィーなのですかね。それは企業秘密で言えませんということかもしれませんけれども。

○澤田座長 His-tagをつけたということはキレートクロマトグラフィーをやっているということに間違いはないと思いますけれども。

○児玉専門委員 もう一点、添付資料1に●●●、これは胃液だったか腸液だったかの試

験でも見えてきているので、これは何かというのを確認していただければと思います。

○澤田座長 ●●●。

○児玉専門委員 ついでに多分誤植だと思うのですけれども、●●●、間違えて書いているのではないか。

○澤田座長 ●●●。

○児玉専門委員 ●●●。どちらしても、そこは齟齬があるように見えるので確認をしていただきたいと思います。

○澤田座長 ●●●、理解しました。

○手島専門委員 ●●●。

○澤田座長 こちら辺はもう一度きちんと確認をしたいと思います。ほかはよろしいでしょうか。

○飯専門委員 まず、このタンパク質を酸性ホスファターゼと言い切っているのかというところが少し気になる点なのですけれども、整理としては添加物として酸性ホスファターゼということによろしいという判断でいいのですか。

○澤田座長 そこが微妙なところで、アシッドホスファターゼは添加物のリストに載っているのですね。

○飯専門委員 参考資料とかを見ても *Aspergillus* しか出ていなかったし、ここも比較対象はそうになっているのですけれども、これは由来が全然違うので、その辺の扱いはもう既に整理されているのかということなのだと思います。

○澤田座長 私もよく理解できなかったところがありまして、アシッドホスファターゼが●●●の製造に使われている実績があったのであれば、問題はないかなと思ったのですけれども、●●●がアシッドホスファターゼの分類に入らないというのであれば、ちょっと問題が生じてくるかなと思います。

○飯専門委員 どちらかと言うと、ここに上がってくるときにどういうカテゴリで審査するかという話なのかなという気もしたのでお尋ねをしたところです。

○澤田座長 それは厚労省の判断で、これでオーケーですよということであればいいと思うのです。

○飯専門委員 その辺はちゃんとした確認がされたのか。

○内海評価専門官 一応この基原になっている●●●は酸性ホスファターゼの一種という位置づけで今回申請が上がってきていると認識をしています。後ほど申請者にお聞きいただいてもいいかと思いますが、今回この●●●の製造用途に限定した形で、この組換えの酸性ホスファターゼをつくっていますが、これは初の試みであって、既存の非組換えの酸性ホスファターゼを使った●●●の製造の実績はないと聞いております。

○飯専門委員 多分、申請者に質問してもわからないかなという気がしたので、どちらかと言うと厚労の整理かなという気はしています。ただ、申請書の記載という意味では、酸性ホスファターゼというよりは、やはりこれはあくまで●●●ではないのかなという気が

どうしてもしまして、9ページの上のほうの2つのところが、このタンパク質の活性についての記述かなと思うのですが、例えば、リン酸モノエステルを加水分解する。そして、●●●と言え、●●●も基質になっておかしくないですね。ここで主目的としている反応が●●●、それは本来のここで記述されている性質とは違う使い方をしていることになるのです。その辺がここの記述だと●●●、モノエステルを加水分解することに加えて、●●●とか書いてあるのですけれども、説明の仕方としては、ここの文だけを読むと何か矛盾を残してしまうような記述になっているので、もう少し丁寧に説明してほしいなと思います。

また、引用文献がここの記述に関しては一切ついていないのです。例えば、インフルエンザ菌とアシッドホスファターゼと言って検索をかけると全然違うタンパクが出てくる。●●●とかけて初めて、ああこれかなというのがわかったのです。そうすると●●●を基質にするのだったら当然ですけれども、恐らくは●●●も基質にしますし、その辺の基質特異性について。それから、立体構造の解析はもう終わっているみたいなので、構造的な意味でタンパク質の性質としては調べられていることは結構ありそうだったので、その辺は書き込んでおいてもらう必要があるかと思いました。読んでいくと、これがアシッドホスファターゼでいいのですかみたいな気が若干してきたものですから。ただ、その部分に関してはどちらかと言うと厚労の整理のような気もしたので、最初の質問はそういうことです。

○澤田座長 最終的には、この酵素は酸性ホスファターゼの一種だと認められれば、オーケーです。ただ、使い方が従来の使い方とちょっとずれていますね。

○飯専門委員 そうなのです。広い意味でそこにカテゴライズしてしまうということなのかもしれないのですけれども、あくまでここではこのタンパク質の性質はしっかりと記載してもらうほうがいいのか。用途は極めて限定されているし、最終的に●●●を実際には製造するときには入ってこないというのはわかるのですけれども、その原材料の中にこの酵素タンパクが基質とするような別の化合物が入っているのかどうかということは全くわからないわけです。ですから、一応、基質特異性に関してわかっている範囲では、記述はやはりあったほうがいいのかと感じたところです。

○澤田座長 他の酸性ホスファターゼを使って、この●●●をつくった例はないのですかね。それがあれば、まず、酸性ホスファターゼとみなしましょう。その酵素の活性としてはメインの活性ではなくて、違う活性のほうを利用していますと、そういう説明ができます。そうでない場合には、これは新規の添加物になってしまうので、最初から全部やり直しになりますから、ちょっと大変です。

○東條事務局次長 申請書の9ページの上から3行目、HIGM1は、従来の酸性ホスファターゼよりも●●●と書いてあるので、従来のものと何か比べたのはあるのでしょうかけれども、それは実際に生産していたのが実験なのかはよくわかりませんが、ここは聞いておく手はあるかなと思います。

○澤田座長 これは今日いらっしゃっているので聞いてみます。

○小関専門委員 勉強不足で確認させていただきたいのですが、●●●は添加物ではないですね。

○内海評価専門官 食品扱いです。

○小関専門委員 そうすると、●●●の製造方法ということに関しては、規格はないということでもいいのですよね。そこを確認したかったのです。要するに安全性の問題ではなくて、ちょっと外れてしまっているのですけれども。

○澤田座長 これは加工助剤としての添加物としての酵素の申請です。

○小関専門委員 わかりました。

○飯専門委員 よくわからないのですけれども、ここは本質とは違う質問ですが、サプリメントとして販売する場合は審査を受けるのですか。食品は今みたいなお話でしたが。

○東條事務局次長 特保以外はない。

○飯専門委員 特保申請をしない限りは、この酵素を使って食べるものとして売れるということ。オリエンタル酵母は●●●を試薬品として売っているのです、それを食べるものとして売れるようにということなのかなと想像していたのですけれども、ここを通過したら、あとは自由という話になる。

○澤田座長 よろしいですか。この問題はこれ以上やると議論が終わらない可能性があります。

ほかに宿主、ベクターのところがいかがでしょうか。宿主なのですけれども、これはDEとあり、 λ phage (DE)の溶原菌なのです。そこら辺をもうちょっときちんと書いていただいたほうがいいのか。宿主依存性ですけれども、大腸菌以外の宿主で複製することはないというのは、大腸菌の類縁の菌でもふえるので、特定の宿主以外と書いたほうがいいのかと思います。ほかによろしいでしょうか。

それでは、続きまして、4の13~30ページまででコメント、御意見をいただきたいと思っています。

○中島専門委員 そんな本質的な問題ではないのですが、これは大腸菌で発現させるものなので、なぜKozak配列をわざわざ入れているのか。これがよくわかりません。別になくてもいいと、意味がないように思いました。それだけです。

○澤田座長 これは私も不思議に思ったのです。間違っって入れてしまったのかもしれない。

○中島専門委員 そう思います。いけなくはないのですけれども。

○澤田座長 どうぞ。

○手島専門委員 16ページからの相同性の検索の結果なのですけれども、16ページにまず1つのタンパクがヒットしたと。これは80残基で35%の一致とあるのですが、これは恐らくスライド方式の80残基ずつスライドしていくという方法だと思うのですが、ここでどのデータベースでやったかというのをはっきり書かれていないので、データベースを示していただきたいということと、この80残基でヒットしたのは1つなのですかね。これが1個だ

けヒットして、17ページになって、その配列のうちの黄色で示しているのが8アミノ酸の一致を示しているのですけれども、これは80残基でスライドをさせたときにヒットしたのは1つなのかというところと、17ページに書いてある8アミノ酸の1カ所だけが一致したということによろしいのでしょうか。

17ページのほうの●●●と書いてあるのですけれども、これは本タンパク質を構成する全アミノ酸●●●個を対象とすると、●●●個のアミノ酸が同一ということで、すなわち全体の●●●ということで、そんなに高くはないので、部分的なところで高いということかと思います。16ページ、17ページ、それぞれ1個だけ合致したのかが聞きたいところで、同様に18～19ページにかけても、1個合致しているのみかを質問したいと思います。

17ページと19ページで黄色で書いてあるところが8アミノ酸が一致したところですが、これは全く配列が一緒で、この相同性の見られた2つのタンパク質はハエ又は蚊のアピラーゼで酵素活性を持つということのようですので、恐らくはこの8残基一致した部分は、酵素活性に絡む部分と思われ、エピトープではないと思うのですが、この8アミノ酸の存在する位置がどういう領域なのかというところ、またはエピトープとして知られていない。そのあたりのところを知りたいと思います。

○澤田座長 それは今日いっちゃっているので確認したいと思います。

○手島専門委員 あと細かいところで21ページですけれども、人工腸液のところですが、人工腸液で下から7行目です。レーン4と比べてレーン11のバンドは84.2%減少しているのか。図から見ると84.2%減少していると思うのですが、その下の行では84.2%まで分解するというので、これは落ちたのが84.2%なのか、どちらかというのを確認したいです。図5でいくと、かなり落ちているようには見えるのです。

○澤田座長 これは「まで」をとったほうがいいかもしれない。

○手島専門委員 はい。細かくて済みません。

○澤田座長 ほかはよろしいですか。

○飯専門委員 今の御質問に関して教えてほしいのですが、8アミノ酸のところについては私も気になったのですけれども、20ページの最後の書き方で、2つのアレルゲンというのは蚊とアブでしたか。

○手島専門委員 ハエと蚊のアピラーゼですね。

○飯専門委員 それは皮膚接触ではなくて経口摂取になるのですが、もともと口に入れるようなものではないですよ。それで20ページの一番最後の一文ですけれども、この記述は専門的にオーケーなのかという質問なのですから。

○手島専門委員 そうですね。今までは食品かそうでないかというのは余り区別しないで書いていたと思うので、食品でないからということ余り強調しないほうがいいと思うのですが、柘植先生。

○柘植専門委員 多分刺されて感作されておるのだらうと思うので、その場合は食べ物では余り考えなくてもいいのではないのでしょうかという発想だと思いますけれども、消化性

も加味すれば、その主張でいいのかなと思います。

○澤田座長 食品アレルギーとしての記載がないから云々という書きぶりは変えていただいたほうがいいですね。

○手島専門委員 そうですね。刺されて感作されている人が食品として摂った場合に誘発するという可能性もありますので。

○飯専門委員 何かが入っている石けんで問題になった例があったので、この書き方で大丈夫かなと。書き方の問題です。

○澤田座長 これは表現をどう直したらいいか、後でまた。

○飯専門委員 専門の先生にチェックして頂くということで。

○澤田座長 最終的に口に入らないから問題はないだろうという結論はおっしゃったようにいいかと思いますが、論理の進め方としては記載が変なので直していただいたほうがいいかもしれません。

ほかはよろしいでしょうか。

○飯専門委員 もう一つ、29ページの4-7-(2)のところで、ふやすのにアンピシリンを添加していると明確に書いてあるのですけれども、これはこのままだと製造の際の大量培養のときも入っているということでよろしいのですか。

○澤田座長 これはアンピシリンが入ったまま培養ですよ。

○飯専門委員 最後まで入っているというように読めましたが。

○澤田座長 最後まで入っていて、その後になくなっていることをどこかで確認していましたね。

○飯専門委員 それの記載がどこにもないような気がしたものですから。

○澤田座長 たしか後ろのほうには、どこかに書いてありませんでしたか。アンピシリンではないのか。

○飯専門委員 遺伝子については確認されています。

○澤田座長 今日は聞いてみますか。アンピシリンはアレルギーなので、余り残っているとまずいです。たしかペニシリン系でしたよね。

○飯専門委員 そうです。

○澤田座長 ほかによろしいですか。それでは、5から最後までで御意見、コメントをお願いしたいと思います。よろしいですか。

大腸菌で添加物をつくった例は、高度に精製されたもの以外では今回初めてで、大腸菌の菌体成分を食べることになるので、問題となるかなと思うのですけれども、これは加工助剤だし、油と水の相でかなり分離されて、ほとんど残らないという話がありますので、大腸菌でつくったからと言って問題には余りならないのかなと思います。この点は御意見がもしありましたらお願いしたいと思います。この品目に関してはよろしいでしょうか。あと質問をしたいこととかがありましたらお願いしたいと思いますけれども、よろしいですか。

それでは、1つだけ、ORFの検索で終始から終始までではなくて、開始から終止でやっているのですけれども、この品目に関してはそれでよろしいかということだけ確認をしたいと思います。大腸菌なのでイントロンがないので、開始から終止でも問題はないかなと思います。

それでは、先生方からの御意見は大体以上かと思えますけれども、何点か質問がありまして、かなりありましたので、思い出した順番に言っていきたいと思えますので、もし忘れていましたら、また後で追加をお願いしたいと思います。まずは説明者に入室していただくということにしたいと思えますけれども、ここで5分くらい休憩ということにしたいと思えます。

(休 憩)

○澤田座長 それでは、再開したいと思います。

まず、説明者の方のほうから自己紹介をお願いしたいと思います。会社名と名前だけで結構です。

○説明者（内田） オリエンタル酵母工業株式会社の内田浩二と申します。

○説明者（榎本） 同じく、オリエンタル酵母工業株式会社の榎本哲郎と申します。よろしくお願いたします。

○澤田座長 ありがとうございます。

それでは、質疑応答に入りたいと思えます。何点か先ほどの議論で質問が出ていまして、この場で答えられないこともあり得ると思えますので、その場合は持ち帰って、またお返事をいただければ結構ですので、よろしくお願いたします。

できるだけ申請書の順番に行きたいと思えますけれども、ときどき順不同になるかもしれません。このアシッドホスファターゼが●●●の製造に使われるということで、これは従来のアシッドホスファターゼがこの製造に使われた経験というのはあるのでしょうか。

○説明者（榎本） ただいまの質問に対して、お答えいたします。従来のホスファターゼということで、6ページに記載しております*A. oryzae*由来の酸性ホスファターゼを使って製造というか、反応を試みたことはございます。

○澤田座長 それは実際の製品に使われた例はないわけですか。

○説明者（榎本） 製品ではございません。

○澤田座長 わかりました。確認だけですけれども、●●●というのはサプリメントとして、これから販売する予定なわけですね。

○説明者（榎本） そのとおりです。

○澤田座長 現在はまだ世の中には出ていないのですか。

○説明者（榎本） サプリメントとしては出ていないです。

○澤田座長 同じものは出ていないのですか。

○説明者（榎本） 研究用試薬として弊社で販売しているというのがございます。サプリメントとしては他社から出ているものもございますが、こういったものかは私どももちゃんと把握できておりません。

○澤田座長 わかりました。次は8ページの製造方法の図がありますけれども、これは説明がなくて、実際にどういことをやるのか。今わかりましたら、もうちょっと御説明いただければと思います。

○説明者（榎本） 製造方法の部分につきましては、社内に持ち帰りまして、社内の社内文書等を確認しまして、後日、文書等で答えさせていただければと思います。よろしいでしょうか。

○澤田座長 このクロマトグラフィーというのは例えば、His-tagをつけていますので、それを精製するためと我々は理解をしているのですけれども、それでよろしいですか。

○説明者（榎本） そのとおりです。

○澤田座長 ただ、製法としては余り込み入ったことをやっていませんので、純度はそれほどきれいではないという理解ですけれども、それはいかがでしょうか。

○説明者（榎本） そうですね。

○澤田座長 それから、大腸菌に入れるプラスミドにSD配列とKozak配列を両方わざわざ入れているとありまして、そのKozak配列は本来必要ないのではないかと思うのですけれども、何か理由があって入れているのでしょうか。

○説明者（榎本） この配列に関しましては、開発の工程の中で、それは食品用酵素ではないのですけれども、開発の工程の中で発現系を大腸菌もしくは動物細胞でリーズナブルに行えるようにということで入れているという理解でございます。

○澤田座長 最初は両方で使えるようにということで入れたわけですね。この申請では必要ないですね。

○説明者（榎本） この申請においては必要ございません。

○澤田座長 製造するときアンピシリンを入れっぱなしになさっていると思いますけれども、最終的な検体を得るときに大部分は除かれるわけですね。

○説明者（榎本） 培地等を取り除きますので、大部分は取り除かれていると認識しています。

○澤田座長 ただ、微量が混じってきていますけれども、最終的にはそれほど残らないという理解でよろしいですか。アンピシリンに関しては最終的な残存量のデータが探しても見つかりませんでしたので、もしデータがあったら、後でまた教えていただければと思います。

○説明者（榎本） 承知しました。社内で確認してみます。

○澤田座長 次に分子量の話ですけれども、我々の理解としては●●●ということでしたか。

○児玉専門委員 補足します。添付資料1の2ページ目に結論とあって、HIGM1は●●●

とあるのですけれども、これは間違いではないかということです。●●●ではないかなど。

○説明者（榎本） こちらに関しましては、●●●ということだと思いますけれども、社内の文書等を確認して最終的なコメントをさせていただければと思います。すみませんでした。

○澤田座長 それはそれでよろしくて、次の3ページのところで●●●が見られるのですけれども、その由来とといいますか、その性質がわかっているかどうかということです。単なる不純物なのか、それとも分解物なのかということです。

○説明者（榎本） こちらに関しても社内のデータ等を精査したいと思いますけれども、●●●だと考えております。また確認して報告させていただきます。

○澤田座長 最後にアレルゲンの問題のアレルゲンのデータベースで相同性検索をしたとか、何ページでしたか。これは手島先生から説明をしていただいたほうがいいですね。

○手島専門委員 15ページから既知アレルゲンとの構造相同性を調べたデータが出ていますけれども、データベースはここでFAO/WHO Allergenicity Rulesに基づいたとあるのですが、具体的なデータベースの名前ですね。アレルゲンオンラインとか、そういった名前があると思うのですが、それを示していただきたいということ。

16ページ、17ページで、1つのタンパク質が構造相同性があったと示して、18～19ページに関してはもう一つのタンパクの相同性の結果が出ているのですけれども、まず16ページのほうの80残基で35%の一致というのは恐らく80アミノ酸のスライド方式で35%一致したものと思うのですが、この一致した例が1つだけ書かれているのですけれども、この一致したものが1つだったのか、数ですね。それから、17ページの8アミノ酸が一致したものの例が書かれているのですが、これも1つだけ書かれているのですけれども、8アミノ酸が一致したのが1つだけだったのかということの数を示していただきたいということ。

ここで17ページの黄色で書いてある8アミノ酸が一致した部分の配列が、このタンパクの中で酵素活性があるとか、どういうところに一致するのか。あるいはエピトープとして知られているかということをお教えしていただきたいと思いました。以上です。

○説明者（榎本） 承知しました。社内文書等を確認して、数の件を含めて確認します。最初の質問だけ確認させていただきたいのですけれども、アレルゲンのデータベースの名前という質問だったかと理解しているのですが、それは15ページの一番下の記載ではなく、それよりさらに。

○手島専門委員 これはFAO/WHO Allergenicity Rulesの原理に基づいたとまでしか書かれていないことになりますので、原理に基づいた具体的なデータベースの名前があると思いますので、そのあたりを。

○説明者（榎本） 承知いたしました。確認して記載するようにいたします。

○澤田座長 大体以上かと思いますが、ほかにもし私が忘れていたことがありましたら、追加をお願いしたいと思います。

○飯専門委員 一番最初に質問があった点ですけれども、*Aspergillus*の酸性ホスファター

ぜでも●●●を基質にして反応したことがあると言われたのですが、それで結果としてはうまくいくのですか。切断されて●●●はできたのですか。

○説明者（榎本） 反応性は悪かったのですけれども、●●●は一部できたというような結果だと覚えております。

○飯専門委員 そうすると、この比較対象にしているものにも一応その活性はあったと考えていいですか。

○説明者（榎本） 比較対象としたものに●●●をつくる酵素活性がありました。

○飯専門委員 単純に考えると、もっと先に反応が進んでしまうのではないかという気もするのですけれども、●●●というような。

○澤田座長 活性はありましたけれども、低かったので、よりよいものを求めて開発を進めましたということになるのですか。

○説明者（榎本） そのとおりでございます。

○澤田座長 どうぞ。

○児玉専門委員 追加で、言える範囲でもいいのですけれども、これは実際に●●●をつくるときの反応の基質は●●●だと思うのですが、そのときの反応に使う基質としては●●●以外のものは入っていないような条件で反応させるのでしょうか。それとも何か割と不純物が多く入った状態で反応をかけて、そこから最終的に●●●をとってくるような形になっているのでしょうか。

○説明者（榎本） 基本的には純度の高いものを使用しております。

○児玉専門委員 基質としては●●●以外は、程度の差はあるのでしょうかけれども、ほとんど入っていないような条件で反応させると。

○説明者（榎本） はい。

○澤田座長 ほかはよろしいでしょうか。

○飯専門委員 せっかくなので、本質的ではないのですけれども、HIGM1という名前になっているのですが、これはどういう理由ですか。これでサーチをかけても何も出てこない。

○説明者（榎本） こちらは弊社でつくった造語というか単語ではあるのですが、ヘモウイルス・インフルエンザ由来のジーンモディフィケーションエンザイムということでHIGMという形で通称としてつけさせていただきました。

○飯専門委員 商品としてはそれで構わないと思うのですが、記載の一部では●●●という名前で何かが見つからなかったとか、そういうような書き方にしていただかないと、このタンパクでサーチしても何も引っかかってこないのは当たり前になってしまうので、その辺は読んでいて気になったということで、修正を後でしていただけたらと思います。

先ほど児玉先生が言われたのと同じことですが、●●●が非常に純度が高いものを使って、今回の製品で●●●をつくるということが本当に保証されているのであれば、基質としては非常に限定されると思うのですけれども、そこに不純物が混ざっているのだとすれば、やはりここで用意されるものも、後ろのほうにたしか●●●と書いてあったと思いま

すので、その組み合わせの中でつくられるものとして、安全性に問題が生じるようなものがないということは、どこかで担保するような記載があるとありがたいなと思ったのです。

○説明者（榎本） 記載のほうを検討してみます。

○澤田座長 そこら辺の記載に関しましては、また事務局と厚労省とも相談をしたほうがいいかもしれませんので、追って御連絡ということでよろしいですか。

○井上課長補佐 では、厚労省とも検討した上で、先生方にはメールか何かで御連絡をするという形でよろしいでしょうか。

○澤田座長 はい。ほかはよろしいですか。

それでは、たくさんの御質問をいたしましたけれども、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。ただいまの回答を踏まえた上で追加の御意見、コメント等がございましたらお願いしたいと思います。

いろいろと情報を追加で出していただく必要があるということで、次回にもう一回やるということにします。

それでは、議題（1）については終わりたいと思います。議題（2）の「その他」ですが、事務局からありますでしょうか。

○井上課長補佐 特にございませぬ。

○澤田座長 ありがとうございます。

本日の議題についてはこれで終了ということで、今後の予定等につきまして、事務局からお願いします。

○井上課長補佐 日程を調整させていただいた結果、次回は7月26日水曜日の午前が一番御都合がよろしいかと思えます。委員の先生の皆様にはお忙しいところを恐縮ですが、日程の確保をよろしく願いいたします。

○澤田座長 それでは、次回は7月26日の朝ですね。いつもと違いまして、朝になるということでもよろしく願いいたします。

以上をもちまして、第161回遺伝子組換え食品等専門調査会を閉会いたします。