

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

(第182回) 議事録

1. 日時 平成31年1月25日(金) 13:59~15:12

2. 場所 食品安全委員会大会議室(赤坂パークビル22階)

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

・LU17257株を利用して生産されたフィターゼ

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

中島座長、小関専門委員、橘田専門委員、児玉専門委員、近藤専門委員、
鈴木専門委員、柘植専門委員、手島専門委員、山川専門委員、吉川専門委員

(食品安全委員会)

川西委員

(事務局)

小平事務局次長、吉岡評価第二課長、池田評価情報分析官、飯塚課長補佐、
森山評価専門官、山口係長、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

①LU17257株を利用して生産されたフィターゼ

6. 議事内容

○中島座長 では、皆さんおそろいのようなので、ただいまから第182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」に基づき非公開で行います。

本日、所用により岡田専門委員、樋口専門委員が御欠席です。

本日の議題ですが、新規品目であるLU17257株を利用して生産されたフィターゼの安全

性についての審議です。

では、お手元の資料を確認いたします。事務局からお願いいたします。

○飯塚課長補佐 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、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いては、ファイルにとじまして委員の皆様の上机に置かせていただいております。

本ファイルについては、調査会終了後、回収させていただきます、次回また配付いたします。

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、本日は新規品目でありますLU17257株を利用して生産されたフィターゼの申請者である、BASFジャパン株式会社の方をお呼びしております。申請品目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。

○中島座長 それでは、事務局のほうから「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への参加に関する事項について報告をお願いいたします。

○飯塚課長補佐 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日委員会決定の2（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。

○中島座長 ありがとうございます。

既に御提出いただいております確認書について、その後、相違等ございませんでしょうか。

○中島座長 それでは、新規品目であるLU17257株を利用して生産されたフィターゼについて審議を行いたいと思います。事務局のほうから説明をお願いいたします。

○山口係長 申請書の説明に入ります前に、審議の進め方について御説明いたします。

冒頭で御紹介いたしました、本日は申請者のBASFジャパン株式会社の方をお呼びしておりますので、申請書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たいと思います。その後に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、説明者には退室していただき、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おります申請書を説明させていただきます。

お手元に水色の紙のファイルを御用意ください。

まず、3ページをお願いいたします。第1でございますが、本飼料添加物は、フィチン酸

を分解して無機リン酸を遊離させる酵素である6-フィターゼを主成分としており、家畜飼料におけるリンの利用効率の向上を目的として使用されます。

フィターゼは、3-フィターゼ群と6-フィターゼ群とに分類され、3-フィターゼはフィチン酸のイノシトール環の第3位にあるリン酸エステル結合を最初に加水分解し、6-フィターゼは第6位にあるリン酸エステル結合を最初に加水分解します。ただし、商業的な仕様条件下においては、フィチン酸を分解するという機能の点で、この分類には明確な差がないとされております。

隣の4ページに移りまして、申請者は比較対象の選択に当たりまして、①高い塩基配列の相同性は認められないものの、その活性中心の立体構造には類似性があり、同等のフィチン酸分解力を示すことが確認されていること。

②6-フィターゼの宿主は、ナツフォスの主成分である3-フィターゼの生産に用いた宿主ISO-500と同様に親株*Aspergillus niger* GAM-53から7つの*glaA*遺伝子座を欠失させた菌株であること。

③ナツフォスと同様の製造原料、製造器材を用いて製造される。

以上のことから、同じBASF社製品であります、長年の使用歴のある従来品ナツフォスを既存の比較対象とするのが適切であると考えられるとしております。

以降、1より従来の添加物の性質に関する記載がされております。

まず、従来の添加物としまして、(1) 名称はナツフォス。基原は*A. niger*に属する菌株を宿主としたフィターゼ生産組換え体。有効成分は3-フィターゼでございます。

(2) 製造方法についてですが、野生株*A. niger* GAM-53の7つの*glaA*遺伝子座を欠失した菌株であります、ISO-500株に3-フィターゼ遺伝子を導入して作成した菌株から、発酵法により生産されます。その後、生産されたフィターゼ濃縮物を適切な賦形剤とともに加工することにより、顆粒剤及び液体製剤として製造されます。

(3) 用途及び使用形態ですが、ナツフォスはフィチン酸の分解を助けて、家畜飼料のリンの利用効率を向上させ、さらに、リンの環境中への排出を低減させるために、飼料添加物として使用されております。

(4) 摂取量ですが、家畜が摂取したフィターゼは、その消化管中で分解されるため、そのままの形で体内に吸収されることはなく、食肉、乳、卵を通してヒトに摂取されることは考えられないということでございます。

続いて、第1の2、本申請品目における宿主等の項目になります。

(1) 宿主の由来等ですが、宿主は*A. niger* ISO-502株でありまして、*A. niger* GAM-53株を親株として、組換えDNA操作を用いてグルコアミラーゼ遺伝子の欠失及びアスペルギロペプシンA遺伝子の不活性化を行った株です。

(2) DNA供与体等の由来ですが、LU17257株に挿入された構成要素の供与体は、親株であります*A. niger* GAM-53株、親株の類縁株であります*A. niger* NRRL3135株、それに腸内細菌科に属する*Hafnia sp.* LU11047株、*Yersinia mollaretii* ATCC43969株及び

Buttiauxella gaviniae DSM18930株の3つでございます。詳細は次の7ページの表2に記載されております。

さらに選抜マーカーとして用いた構成要素及びその供与体については、その下の表3に記載されておりますが、*A.nidulans*由来の*amdS*遺伝子が用いられております。

(3) 挿入DNAの性質については、続く表4及び表5に記載されているとおりでございます。導入方法ですが、第4の6に記載されておりますので、後ほど御説明いたします。

続いて第1の3、利用経験や食経験に関する事項ですが、*A.niger*は20世紀初頭より、食品酵素や有機酸の商業生産に利用されてきた歴史がございます。実際に日本においても、10ページ右下の表8に示しておりますとおり、ISO-502株を宿主として作成された生産菌による日本で認可された食品添加物酵素というものがございます。

11ページ、第1の4、構成成分等についてですが、ISO-502株は国立感染症研究所の病原体安全管理規程によるバイオセーフティレベルは1に該当いたします。

第1の5は、当該GM添加物の性質等についての記載になります。

(1) 製品名はナツフォスE。有効成分はフィターゼでございます。

(2) 製造方法の詳細については、13ページの図1もあわせて御参照いただきたいのですが、発酵、滅菌工程後に菌を除去し、その後、フィターゼを濃縮いたします。

14ページに移りまして、用途及び使用形態ですが、ナツフォスEの有効成分である6-フィターゼは、フィチン酸を分解して無機リン酸を遊離させる酵素でありまして、ナツフォスと同様にフィチン酸の分解を助けて、家畜飼料のリンの利用効率を向上させ、さらにリンの環境中への排出を低減するために、飼料添加物として使用されます。

(4) 有効成分等の比較ですが、フィチン酸の分解力を確認したところ、ナツフォスE及びナツフォスのフィチン酸分解力は、表9にありますとおり同等であったということでございます。

続いて、15ページにいきまして、イではプロテアーゼ耐性を確認しておりまして、家畜の胃を模した試験条件下でフィターゼの活性を測定しております。図2に示しておりますとおり、既存の3-フィターゼと比較しまして、30分後ですとか60分後でも高い活性を維持しております。

15ページの下、ウでございますが、ペレット調整時の熱安定性についても確認しておりまして、その結果が16ページの上にある表10になります。こちらに記載されておりますとおり、加工後の活性割合はナツフォスEのほうが高くなっており、耐熱性が向上する結果となりました。

続いて、第1の6ですが、従来品との比較でございます。

(1) として、従来品の添加物との比較については、繰り返しになりますが、相違点は本申請品ナツフォスEの有効成分である6-フィターゼは第6位にあるリン酸エステル結合を最初に加水分解し、既存のフィターゼの有効成分である3-フィターゼは、フィチン酸のイノシトール環の第3位にあるリン酸エステル結合を最初に加水分解いたしますが、両者のフ

イチン酸分解力は同等ということでございます。

一方で、ナツフォスEはナツフォスと比べ、プロテアーゼ耐性や耐熱性が向上しております。

続いてアミノ酸配列の比較ですが、相同性は約10%と低いものの、両者はいずれもRHGxRxPモチーフ及びHDモチーフを有しており、これらのモチーフはともに活性中心を形成することが知られております。

17ページにいきまして、立体構造の比較ですが、全体的な立体構造はよく似ており、18ページの図4及び19ページの図5にその比較がされております。

(2) としまして、組換え体と宿主との相違点でございますが、HF586遺伝子を含むフィターゼ発現ユニットが導入されることによる6-フィターゼ生成能が付与されている点でございます。

続いて、20ページからが第2 宿主に関する事項です。

第2の1ですが、分類学上の位置づけについて記載しております。ISO-502株はGAM-53株を親株として、組換えDNA操作を用いてグルコアミラーゼ遺伝子の欠失及びアスペルギロペプシンA遺伝子の不活性化を行った株でございます。

第2の2は病原性についてでございますが、ISO-502株は国立感染症研究所の病原体等安全管理規程によるバイオセーフティレベルの分類では1に該当いたします。

続く、第2の3、第2の4については記載のとおりでございます。

第2の5といたしまして、*A.niger*は自然界に広く発生・拡散しており、ヒトは日常的にこの菌に暴露されると考えられております。また、輸血や血液病で免疫不全状態にある患者に対しては病原性を有することが知られておりますが、アレルギーや菌類病の問題を生じるという点ではほかの菌類よりも際立つことはなく、一般的に非病原性の安全な微生物であると考えられております。

22ページ、第3 ベクターに関する事項です。

発現ベクターpGBTOP-HF586及び選抜マーカーベクターpGBAAS-1の2種類のベクターを作成しておりますが、これらのベクターの基本骨格には*E.coli*由来のプラスミドpTZ18Rが用いられております。

2 性質に関する事項は記載のとおりでございます。

続いて、24ページをお願いいたします。

第4挿入DNA等に関する事項です。表11ではフィターゼ発現ユニットの構成要素をまとめております。

続いて、25ページの表12では、選抜マーカーの構成要素についてまとめております。

その下(2)安全性に関する事項ですが、腸内細菌科に属する3つの菌株について、まずドイツと米国の分類について記載しております。さらにその下では、国立感染症研究所病原体等安全管理規程ではバイオセーフティレベル1に相当する旨を記載しております。

続いて、2の(1)といたしまして、挿入遺伝子の合成方法に関する事項ですが、ナツフ

オスEの主成分であります6-フィターゼをコードするHF586遺伝子は、腸内細菌科に属する3つの天然型フィターゼ由来する配列を有しております。本6-フィターゼは天然型フィターゼの遺伝子情報をもとに変異を導入した断片が複数融合したDNA断片がコードするハイブリッド酵素でありまして、そのアミノ酸配列は次の27ページの図6に記載されております。

まず、これは*Hafnia sp.* LU11047及び*Yersinia mollaretii* ATCC43969のゲノムDNAからPCRで増幅したフィターゼ遺伝子断片を融合し、さまざまな変異を導入した後に、*Buttiauxella gaviniae* DSM18930のフィターゼ遺伝子情報をもとに合成DNA断片を一部に導入しております。

これらの異なるタイプのアミノ酸変異を持つさまざまなハイブリッド酵素を発現する形質転換微生物を作製し、その中から高温安定性、従来品に対して幅広いpH範囲での活性維持といった性能をもとに、商業化に用いる酵素としてHF586を選抜しております。

最終的に選抜したアミノ酸配列については、コドン最適化したDNA配列を設計し、ハイブリッド酵素のHF586をコードする遺伝子を構成しております。

(2) については記載のとおりでございます。

続いて、隣の28ページの(3)挿入遺伝子の機能に関する事項です。

まず、ペレット調整時の安定性試験ですが、ペレット加工前と加工後のサンプルについて、フィターゼ活性を測定し残存活性を算出しております。その結果は29ページの表13に記載されておりますが、ナツフォスEは85℃の加熱処理に対して安定性を示すことが明らかとなっております。

ペプシン処理試験については、先ほど御説明したとおりなので割愛させていただきます。

続いて、第4の3、第4の4、第4の5の(1)は記載のとおりでございます。

少し飛びまして、35ページをお願いいたします。

(2) 目的外のORFの有無についての項目でございますが、2種類の発現ベクターを導入したそれぞれの*E.coli*を増殖し、プラスミドを抽出したのち、フィターゼ発現用ベクター及び選抜マーカーベクターをおのおのの制限酵素で消化し、アガロースゲル電気泳動を用いて分離・精製、そして、2種類のDNA断片を得ております。その後、細胞壁を酵素処理によって取り除いた宿主のプロトプラストにこれらのDNA断片を導入し、精製した遺伝子発現ユニットのみをゲノム上の特定の配列との相同組換えを行っていることから、目的以外のタンパク質が発現する可能性は考えにくいとしております。

相同性検索については、後ほど第5の2のほうで御説明いたします。

続いて、(3)、(4)については記載のとおりでございます。

第4の6、DNAの宿主への導入方法についてでございますが、宿主ISO-502株のプロトプラストを用いて精製した2種類の遺伝子発現ユニットを取り込ませ、ゲノム上の特定の配列との相同組換えによる遺伝子導入を行っております。

ステップ2でございますが、アセトアミドを唯一の炭素源とする寒天培地上に菌をまき、

生育可能な組換え体を選抜し、さらにフィターゼ発現ユニットがゲノム中で組み込まれているかどうかを確認しております。

ステップ4では、*amdS*遺伝子を含む選抜マーカー発現ユニットが自然発生的な相同組換えにより欠失した自然変異株を選抜しております。

第二段階の遺伝子導入として、残りの Δ *glaA*遺伝子座にできるだけ多くのフィターゼ発現ユニットを導入するため、先ほどと同様に2種類のDNA断片を用いて、同じ遺伝子導入プロセス、そして、二段階選抜を繰り返し実施しております。これらのことは図12のほうにもまとめられております。

続いて、39ページの第4の7ですが、抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性についてです。発現ベクター及び選抜マーカーベクターは、アンピシリン耐性遺伝子を含んでおりますが、電気泳動を用いた分離・精製過程により、この耐性遺伝子を含むベクター外骨格は除かれております。

続いて、41ページをお願いいたします。第5 組換え体に関する事項です。

まず、第5の1、宿主との差異については記載のとおりでございます。

第5の2、遺伝子導入に関してですが、(1) としまして、フィターゼ発現ユニットの挿入位置及びコピー数の確認を行っております。宿主ISO-502株は、7つの*glaA*欠失領域を持ち、ナツフォスE生産株として選抜されたLU17257株には、これらの*glaA*欠失領域のいずれかに、相同組換えにより複数個のフィターゼ発現ユニットが導入されております。

コピー数確認のため、サザンブロット解析を実施したところ、結果は隣の42ページの図14にありますとおり、2本のバンドが検出され、●●●コピー含まれると推定しております。

続いて、43ページでございますが、フィターゼ発現ユニット内部に切断部位がない制限酵素4種類を使用して、それぞれ切断して泳動し、サザンブロット解析を実施した結果、どのレーンにもサイズが●●●kb異なる2本のバンドが検出されたことから、●●●フィターゼ発現ユニットが、*glaA*欠失領域の2カ所に導入されていることが確認されたとしております。

以上のことから、7カ所の Δ *glaA*遺伝子座のうち2カ所に●●●コピーのフィターゼ発現ユニットが反復して導入されており、合計で●●●のフィターゼ発現ユニットを有することが確認されたとしております。

続いて、その下から第5の2の(2)、遺伝子導入におけるORFの有無について記載されております。HF586フィターゼのDNAについて、6つの読み枠でstop to stopでORFを検索したところ、161個のORFが検出されました。これらに対して既知の毒性タンパク質との相同性検索を行ったところ、相同性を示すものは見られませんでした。

また、このハイブリッド酵素であるHF586の遺伝子は、複数の外来生菌に由来する合成配列で、コドンの最適化を行っております。そこで、既知の有害塩基配列を含まないことを確認するため、BLASTを用いて既知のタンパク質データベース及び既知の毒性タンパク

質塩基配列とのホモロジー検索に基づくバイオインフォマティクス解析を行った結果、既知である有害タンパク質の配列及び塩基配列は含まれておらず、したがって、潜在的なORFから有害なタンパク質が精製される可能性は低いとしております。

続いて、45ページをお願いいたします。

第6といたしまして、製造原料等に関する事項が記載されております。製造原料は全て長年安全に使用された実績があるという旨が記載されております。

第7 遺伝子組換え添加物に関する事項ですが、第7の1では諸外国における認可等について記載しております。米国、EU、アジア、オセアニア等の各国では既にナツフォスEは飼料添加物として登録がなされております。

第7の2では、まず「ア 濃縮物に生産菌の混入がないこと」、そして、47ページですが、「イ 濃縮物に組換えDNAの混入がないこと」については、それぞれサンプルの培養ですとか、PCRにより確認がなされております。

49ページをお願いいたします。第7の3、非有効成分についての記載ですが、50ページの表17ではGとありますとおり、顆粒剤について、それから、51ページのほうではLとある液剤でございますが、こちらは表18にあるとおり、従来品であるナツフォスの製剤と分析結果が同等であるとしております。

第7の4ですが、SDS-PAGEを用いた産生タンパク質の確認を行っております。

53ページの図18も御参照いただきたいのですが、レーン1を見ますと、バンドが1つ見られ、申請者はこれについて●●●kDaに検出されたとしております。

その考察でございますが、HF586は●●●アミノ酸残基からなり、その分子量は●●●kDaと計算されます。HF586には●●●個のN型糖鎖付加モチーフが存在しており、宿主*A.niger*における産生過程で糖鎖修飾が行われると考えられたとしております。

申請者の引用した論文と同様の修飾が生じると仮定すると、HF586の場合、分子量が●●●kDa増加し、アミノ酸配列から算出した分子量の●●●kDaと合わせて●●●kDa前後の分子量になることが見込まれ、実験結果と一致したとしております。

53ページですが、第7の5については記載のとおりでございます。

最後に、55ページの第8ですが、第2から第7までの事項により、安全性の知見が得られているとしております。

申請書の説明は以上でございます。

○中島座長 ありがとうございます。

本申請品目は食品ではなく飼料添加物ということで来ておりますので、先生方、そのような観点から御審議をお願いしたいと思います。

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が、23ページのベクターに関する事項までのところで何かございますでしょうか。

どうぞ。

○柘植専門委員 つまらないことなのですけれども、21ページ、*A.niger*の病原性に関する

記述の中で、輸血や血液病で免疫不全状態にある場合に病原性があると書いてありますが、輸血では免疫不全状態にならないので、これは造血幹細胞移植の間違いだろうと思いますので、訂正を。

○中島座長 そういうことだろうと思うので、これは申請者に連絡して確認をして、必要であれば修正するように御指示願えればと思います。

この点は特に申請者に直接聞かなくても、ちゃんと調べていただければそれでよろしいですよ。ありがとうございます。

どうぞ。

○手島専門委員 5ページの下から3行目の摂取量のところなのですが、家畜が摂取したフィターゼは、その消化管中で分解されるため、そのままの形でということが書かれているのですけれども、出された資料の中では、15ページにペプシンで分解されにくいというデータしか出されていないので、その後は人工腸液等で分解されるのだらうと思うのですけれども、この表現は正確ではないかと思うので、その部分は何か説明をしていただければと思いました。

○中島座長 でも、これは飼料添加物なので、家畜に食われたフィターゼがそのままの形であって、さらにそれを食べるヒトにそれがそのまま摂取されることはないという意味だと思うのですけれども、それでももう少し慎重に書いていただいたほうがいいということでしょうか。

○手島専門委員 そうですね。消化管での分解を経るためとか、少し慎重な書きぶりということをお願いできればと。

○中島座長 これは飼料なので、食品だったらもう少し細かいところを問いたいところなのですが、あくまでも飼料ということ考えると、確かに非常に簡潔な記述なので、これを裏づける資料等があればというぐらいでよろしいですか。

○手島専門委員 はい。

○中島座長 これも申請者に連絡して、できればもう少し説明していただきたいと。ただ、飼料ですので、そんなにたくさん書かなくてもよろしいかとは思いますが、そのような指摘があったと御指摘いただければと思いますが、それでよろしいですか。

○手島専門委員 はい。

○中島座長 ありがとうございます。

ほかにございますか。

いつでも、どこでもよろしいかとは思いますが、40ページの挿入DNA、遺伝子産物、発現ベクターの構築等に関するところまでも含めて、御質問等がございますでしょうか。

特にこれは、挿入遺伝子産物については3つの微生物から合成してつくっておりまして、それが27ページにあって黒いラインで引いてあるのですけれども、これでどの部分をどういうふうに継ぎはいだかはわかりますが、それにさらにこの変異を●●●に入れていて、随分いじくり回しておる。それでも全体の構造と活性についてのデータはございまして、

飼料ということであればいいのかなとも思うのですけれども、これについても先生方、御意見等ございますでしょうか。

私も、これについては随分いじくり回しているのですが、これが食品であればどのような思想でどういうアミノ酸の変化を行ったのかとかというところを、もう少し根掘り葉掘り聞くところではあるのですけれども、飼料ということを考えると、毒性についてのそういう配列と直接のアレルゲンに関するところは見ておるようなので、私はこの程度でいいかなとも思っているのですが、先生方、この点はいかがでしょうか。吉川先生、いかがですか。

○吉川専門委員 よろしいと思います。

天然型6-フィターゼとどの程度耐熱性とかが変わっているのかなというところは、ちょっと興味があるところです。

○中島座長 申請者を呼んでもおりますので、認可はともかく、聞くのは構わないと思いますが、先生、いかがされますか。お聞きになりますか。

○吉川専門委員 特にあれですけれども、聞いてみたいなどは思います。

○中島座長 せっかくだから聞くというぐらいになるかと思いますが、ほかに先生方、橋田先生、いかがですか。

○橋田専門委員 いえ。

○中島座長 それほど大部なものではないので、全体を通して御質問等があればと思います。

○手島専門委員 これもそれほど大きな問題ではないのですけれども、53ページのフィターゼの純度なのですが、SDS-PAGEでやって、主なバンド以外に顕著なバンドは認められないということで、このマイナーなほうもフィターゼ由来だろうということなのですが、この電気泳動以外に例えばウエスタンブロットとかのデータがあるのかといったことがあれば聞ければと思ったのです。

○中島座長 私も、これがもし食品だったらうるさく聞くところなのですけれども、飼料だということを考えると、もっとバンドは汚くてもオーケーかなと思っているくらいなので、せっかくだから申請者をお呼びしますので、これも先生のほうから聞いていただければと思います。別に特にデータは必須ではないですよ。

○手島専門委員 はい。

○中島座長 これは36ページのあたりとか、遺伝子導入のところはみんな相同組換えとあるので、アスペルギルス属の場合は相同組換えで入る確率は実はそんなに高くなくて、2割とか3割ぐらいで、その中からどこに入って、相同で入っているのかということを確認する操作というものが普通は必要です。

非相同組換えのために必要な遺伝子というのは*Ku70*、*A. oryzae*であれば*ligD*とかが知られておって、これが変異しておればほとんど確実にこの相同組換えで入ることになっているのですが、この親株はそうではないので、少なくとも導入のところは多分相同でないものもあったのだらうと思いますので、だからこれが問題というわけではなくて、最

終的に入ったものについては相同で入っているということを確認しておくようなので、そこはよろしいかとは思いますが、せっかく来ていただくなら聞こうかなと思います。

あと、ほかに先生方、よろしいでしょうか。

どうぞ。

○川西委員 これは私が今まで経験がないからこういう見方でいいのだろうかということ、この場での質問ということになると思うのですが、全体のロジックとしては、この製品で、従来の添加物とこの遺伝子組換え添加物の比較というところを、この評価書でいくと16～19ページあたりでやって、一応比較のデータは出している。

その上で考えると、これは活性中心の構造は似通った部分もあるけれども違うよねと。そうなのだけでも、大体飼料添加物の場合はこれでとりあえずフィターゼとしての活性はあるし、有害物質はできていないからいいということと感じたのですがそれでよいのでしょうか。

○中島座長 申請が6-フィターゼとか何とかと書いてあったら、その辺の基質特異性といったところをもうちょっとちゃんと議論して、それが妥当かどうかということも議論すべきかと思うのですが、フィターゼはフィターゼですし、また、とにかくにも飼料ということを見ると、よろしいかなと。そこで特に問題にするようなことではないかなと考えます。

○川西委員 わかりました。一応確認させていただきました。

○中島座長 どうぞ。

○児玉専門委員 フィターゼは6-フィターゼとか3-フィターゼがありますけれども、反応をずっとやっていると順次切り離していきますので、ただ順番がちょっとずつ違うというだけなのです。ですから、活性部位が微妙に違うのは、どこの部分から切り始めるかというぐらいの違いなので、どこから切るから全然違うとかということは、フィターゼの場合は余り意味がないとおいたほうがよろしいかと思います。

○中島座長 これがホスホリパーゼとかだと全然違いますが、これはまるっきり別物になりますけれども、フィターゼだからということ。

○川西委員 これは厚労省レベルの問題かもしれませんが、分子としてそもそも違っているといういろいろ違った特性が出るので、組換え医薬品の評価の経験からすると、既存のものかどうかで、既存のものと似ているからいいよということでも、このレベルになると、活性は似ているかもしれないけれども、分子としては違うよねということになると思います。

ただ、これは飼料添加物であるということ、そこはそんなにうるさく言わないということはよくわかりますので。

○中島座長 これが食品添加物であれば、相当いじくり回したこのフィターゼについて、タンパク質について動物試験なりのデータを要求せざるを得ないかなとは思いますが、従来品とアミノ酸が数個違うからほぼ同等とかということは通用するレベルではない

ように思います。でも、ほかでは比較対象があったのかということを見ると、申請者としてもこのくらいで、諸外国でも既にオーケーになっているところを見ると、そういった議論でみんな納得されているのではないかと考えます。

先生方、また何かあったら、その場で思いついた質問でもよろしいので、せっかくですから申請者をお呼びしたいと思います。

準備ができるまで休憩にいたします。

(休 憩)

○中島座長 本日はお忙しいところをお越しいただきまして、ありがとうございます。

説明者の方、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。

○BASFジャパン株式会社（小林氏） BASFジャパン株式会社の小林と申します。申請の登録業務の担当をしております。

○株式会社三菱ケミカルリサーチ（早川氏） コンサルティングをしております、三菱ケミカルリサーチの早川と申します。

○株式会社三菱ケミカルリサーチ（松村氏） 三菱ケミカルリサーチの松村と申します。よろしくをお願いいたします。

○中島座長 本日、安全性等に直接寄与しそうな重大な御指摘等があるわけではございませんが、幾つか、できればお答えいただければといったところです。

まず、36ページ、38ページの宿主に遺伝子を導入するところで、相同遺伝子組換えによりとありますが、アスペルギルス属の場合、通常相同で組み換わる場合と非相同で入る場合と両方ございまして、その中から後でちゃんと相同で入っているかどうか確認するというステップが普通は入るのですけれども、それを防ぐためには、例えば *Ku70* とか、*A.oryzae* であれば *ligD* という非相同組換えに必要な遺伝子の破壊株を使うと、ほとんどが相同組換えになります。

この宿主の株はその変異が入っているようには見えないので、非相同組換えもあるかと思うのですが、そういう情報は何かお持ちですか。

○株式会社三菱ケミカルリサーチ（早川氏） 今ここでお答えできる情報は持ち合わせておりませんので、もし御必要でしたら後でまた事務局のほうにお伝えしたいと思います。

○中島座長 最終的にちゃんと相同で組み換わっているということを確認しておるようなのでよろしいかとは思いますが、最初の組み換わる場所も相同組換えと断定しておりますので、そこは多分普通に非相同もあろうかと思っておりますので、もう少し慎重に書き直して行って、相同組換えのものは恐らく選抜のステップもあったのか、それともこの株がもともと非相同組換えはほとんど起こらない株を使っているのかを確認して、書き加えていただければと思います。

それから、挿入遺伝子産物は3つの腸内細菌の遺伝子を見事に継ぎはぎしてございまして、

その上、さらに●●●に変異を導入しておると。それはそうやって少しでも使い勝手のいいものを選んだかと思うのですけれども、選ぶときの基準、もしくは●●●もランダムに入れたわけではなくて、恐らくは狙って入れているのではないかと思うのですけれども、どういう思想で、また、どういうものを選びたくてこういった変異を導入しておったのか、できれば教えていただけるとありがたいです。

○BASFジャパン株式会社（小林氏） 思想ですけれども、私どもはこの商品をつくるときのデザインコンセプトとして、耐熱性というものが一つポイントでございました。今、餌をつくる時、より熱に耐え得るものを使いたいというデマンドがございまして、それに答えたいということがありまして、繰り返して恐縮ですが、耐熱性というものが大きくポイントでございました。

○中島座長 耐熱性を上げるための変異であれば、よくあるのが、表面のソルトブリッジの数をふやすことと、それから、内部の疎水効果の安定度を高くするといったことが大体考えられるのですけれども、その辺は何か御存じのことはございますか。

○株式会社三菱ケミカルリサーチ（早川氏） アミノ酸の変異等、どういうやり方でやったかというのは特許等を出しておるのですけれども、割とランダムにやって、その中から選んだという感じがしておりまして、ここを狙って変えたというようなやり方はしていなかったと思います。

○中島座長 ランダムなのですね。わかりました。ありがとうございます。

では、先生方、お聞きになりたいことをどうぞ。

○吉川専門委員 今の質問と関連がありますけれども、具体的には、天然型と3種類のキメラ酵素の活性の違いというのは、例えば耐熱性に関してはどのぐらいあるものなのでしょうか。

○株式会社三菱ケミカルリサーチ（早川氏） そこまでは調べていなかったような気がします。今、少なくともお答えは持ち合わせておりません。

○手島専門委員 5ページの下から3行目なのですけれども、このフィターゼは家畜で摂取された後、消化管で分解されるためと断言されているのですけれども、15ページではペプシン耐性が上がったというデータだけしか出されていなくて、最終的には消化管の中で分解されるということを裏づけるような資料というものはございますでしょうか。お持ちであれば。

○BASFジャパン株式会社（小林氏） 消化管の中で分解されたことを裏づける資料は持ち合わせてはおりません。申しわけございません。

○手島専門委員 もう一点なのですけれども、53ページにタンパク質の純度、SDS-PAGEの結果が書かれているのですが、この中では微量のバンドが見えるとあるのですけれども、これが例えばこのフィターゼ由来だということのウエスタンブロットのデータとか、ほかのデータをもしお持ちであれば。

○BASFジャパン株式会社（小林氏） ほかのデータも持ち合わせておりません。申しわけ

ございません。

○手島専門委員 ありがとうございます。

○中島座長 先生方、ほかはよろしいですか。

お疲れさまでした。ありがとうございます。

(説明者退室)

○中島座長 それでは、審議に戻ります。

問題ないと思いますので、よろしいですね。ありがとうございます。

では、安全上問題がないということなので、評価書案の審議に入りたいと思います。事務局のほうからお願いいたします。

○山口係長 それでは、評価書案のほうについて御説明させていただきます。

「食品健康影響評価に関する資料」の①としまして、フィターゼの評価書案です。

下のほうにページを記載しておりますが、4ページをお願いいたします。

「Ⅰ. 評価対象飼料添加物の概要」でございますが、本飼料添加物は *Aspergillus niger* ISO-502株を宿主として、*Hafnia sp.* LU11047株、*Yersinia mollaretii* ATCC43969株及び *Buttiauxella gaviniae* DSM18930株由来の各フィターゼ遺伝子を融合させ人工合成した遺伝子を導入して作製した *Aspergillus niger* LU17257株を利用して生産された6-フィターゼでございます。

*HF586*遺伝子発現カセットはDNA断片として宿主ゲノムに複数コピーに組み込まれております。

「Ⅱ. 食品健康影響評価」でございます。

1の(1) 宿主であります *A.niger* ですが、食品添加物の製造に使用されており、また、国立感染症研究所病原体等安全管理規程におけるバイオセーフティレベル1に相当します。

(2) *HF586*遺伝子の供与体である3つの株でございますが、腸内細菌科に属し、こちらもバイオセーフティレベル1に相当いたします。

(3) 本飼料添加物(ナツフォスE)ですが、製造工程において生産菌は除去されております。また、飼料添加物として米国、欧州等で既に認可されており、安全性上の問題はこれまでに報告されておられません。

続いて、2. 本フィターゼですが、飼料添加物として家畜飼料に添加して使用される酵素です。一般的に、挿入された遺伝子もしくは挿入遺伝子によって産生されるタンパク質が肉、乳、卵等の畜産物中に移行するということは報告されておらず、本飼料添加物では、新たな有害物質が生成されることはないため、肉、乳、卵等の畜産物中に新たに有害物質が移行することは考えられない。また、遺伝子組換えに起因する成分が畜産物中で有害物質に変換・蓄積される可能性や家畜の代謝系に作用し、新たな有害物質が生成される可能性は考えられないとしております。

以上のことから、当該飼料添加物は、当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物について、安全性上の問題はないと判断したとしております。

また、116行目からになるのですけれども、本フィターゼは、「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律」に基づく、飼料添加物の基準及び規格等の改正が必要であることから、次の部分は下線部で修正をしたのですけれども、「農林水産省から別途同改正に係る食品健康影響評価の要請がなされる予定であり、農林水産省における本飼料添加物の取扱いについては、飼料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」と記載しております。この部分は現時点では予定と記載しておりますが、今後、状況が変わることがあれば、この下線部の部分を適宜現状に合わせて修正したいと考えております。

評価書案の説明は以上でございます。

○中島座長 評価書案につきまして、御意見、コメントを承りたいと思います。よろしくお願いたします。

評価書案そのものではないのですけれども、この農林水産省における規格の改正は、どういう話になっているのですか。

○山口係長 まだ具体的には聞いていないのですが、こういう要請がなされた後は、食品安全委員会の別の調査会で審議することになります。

○中島座長 その前に、飼料添加物の基準及び規格等の改正が必要であるということは、何か問題になっているところがあるのかなど。実際にこの改正になるのかどうかもまた向こうで考えるのだと思うのですけれども、そういう情報は何か御存じですか。

○山口係長 今のフィターゼの規格が幾つかあるのですけれども、その規格に今回の申請品目が該当しないことから、規格を新たに作成するということになるものと思われます。

○池田評価情報分析官 今まで幾つかご評価いただいたフィターゼも、大体的場合は遺伝子組換えの調査会と飼料添加物の調査会に対して要請がそれぞれあって、それぞれの評価結果をお返しして、それに従って規格基準が改正されているということなのですけれども、飼料添加物のほうの評価要請がまだ準備できていないというだけだと聞いています。

特段何か問題があるということではなくて、今回のものは今までの規格にはまらないので、これを新たに公定書に載せようとする、新たな規格のものについて評価しないということだと思います。

○中島座長 何か健康上の問題があったとかということではなくて、要するに、手続上の話のようなので、私は現時点ではそのぐらいの説明でいいかなと思います。ありがとうございました。

どうぞ。

○川西委員 実は、この報告書というか影響評価が出ると、私は本委員会への報告をする係なので、こういう表現のときのことを確認というか、こういうつもりで書いているのですよねということを確認したい点があります。事務局が案をつくったときに、103行目から109行目で2というところがあって、先ほど事務局が説明したとき、最後の109行目に、「新たな有害物質が生成される可能性は考えられない」と、この会社は主張したというような言葉を継いだと思うのですよね。この健康影響評価の報告書は、それを全部ここの委

員会で認めたということですね。

前半部分は、「本フィターゼ」はというところが報告されておらず、それから、107行目の「考えられない」というところまでは、この申請者は書いていないですよ。それから、後半は申請者が書いていると思うのだけれども、その辺はこの本委員会が、前半部分がそういうこともあるから、後半部分は申請者も言っているからということではないですか。

○山口係長 先ほどおっしゃったところなのですから、申請書ですと56ページに結論というところがあるのですが、そこの最後に記載されております。

○川西委員 だから、結局言いたいのは、2番目を説明したときに、最後に申請者がこう言ったということを書いたわけですか。そうではなくて、この2番目の結論はこの本委員会の結論ですよ。

○山口係長 そうです。

○川西委員 神経質になって、済みません。

○中島座長 本委員会の結論は、111行目から後のところということ。

○川西委員 健康影響評価というものはそういう読み方ですか。

○中島座長 ということによろしいかと思うのですが。

○川西委員 いつもそうやって書いている。

○中島座長 こういう申請をもとに議論して、111行以下の結論に我々は達したということかなと思うのですが。

○川西委員 それはそれで、わかりました。

○中島座長 評価書案については、先生方、これでよろしいでしょうか。よろしいですよ。

○中島座長 ありがとうございます。

食品安全委員会に報告し、パブリックコメント等の手続に入りたいと思います。

議題1についてはこれで終わりたいと思います。

議題2、その他ですが、事務局からございますでしょうか。

どうぞ。

○飯塚課長補佐 1点確認をよろしいでしょうか。

申請書の修正の点で、手島先生のほうからいただいた5ページの摂取量のところなのですが、今、その消化管内で分解されるためとなっておりますけれども、ここは何かしらつけ足してということだったと思うのですが、もしそういうことであれば、具体的に申請者のほうに指摘事項を出したいと思いますので、何かございましたらお願いしたいです。

もしこのままでよろしいということであれば、そうさせていただきたいと思います。

○中島座長 どうされますか。データを持っていないとおっしゃったので、ここで曖昧なことを要求してしまうと、また余計なことがかかると思いますので、私はこれならこれでよろしいかなとも思うのですが、先生、いかがですか。

○手島専門委員 わかりました。

○中島座長 いいですか。

○手島専門委員 はい。

○飯塚課長補佐 承知いたしました。

○中島座長 では、そういうことで。一応指摘はして、彼らのほうからまた何か足してくれるということであればそれで、そうでなかったら、多分彼らは持っていないようなので、きっとこのままということになろうかと思いますが、それでよろしいかと思えます。

ほかに何かございますか。

○飯塚課長補佐 特にございませぬ。

○中島座長 では、議題1について終わりたいと思えます。

議題2、その他、事務局、何かございますでしょうか。

○飯塚課長補佐 特にございませぬ。

○中島座長 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いたしました。

以上をもちまして、第182回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたします。ありがとうございました。