

## 遺伝子組換え食品等専門調査会における審議結果について

### 1. 審議結果

厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた BML780PULm104 株を利用して生産されたプルナーゼに係る食品健康影響評価（平成 31 年 2 月 13 日付け生食 0213 第 2 号）については、平成 31 年 3 月 7 日に開催された第 183 回遺伝子組換え食品等専門調査会において審議され、審議結果（案）が取りまとめられた。

### 2. BML780PULm104 株を利用して生産されたプルナーゼに係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果（案）」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

#### 1) 募集期間

令和元年 5 月 14 日（火）開催の食品安全委員会（第 741 回会合）の翌日の令和元年 5 月 15 日（水）から令和元年 6 月 13 日（木）までの 30 日間。

#### 2) 受付体制

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

#### 3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、遺伝子組換え食品等専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

## 遺伝子組換え食品等評価書

BML780PULm104 株を利用して生産された  
プルナーゼ

2019年5月

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

## 目次

	頁
<審議の経緯>.....	3
<食品安全委員会委員名簿>.....	3
<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>.....	3
要 約.....	4
I. 評価対象添加物の概要.....	5
II. 食品健康影響評価.....	5
第1. 安全性評価において比較対象として用いる添加物及び宿主等の性質並びに遺 伝子組換え添加物及び組換え体との相違.....	5
1. 従来 of 添加物の性質及び用途等に関する資料.....	5
2. 宿主及び導入 DNA.....	6
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.....	6
4. 宿主の構成成分等に関する資料.....	6
5. 遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料.....	6
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 of 添加物 及び組換え体と宿主等の相違点.....	7
第2. 宿主に関する事項.....	7
1. 分類学上の位置付け（種名（学名）・株名等）に関する事項.....	7
2. 病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項.....	7
3. 寄生性及び定着性に関する事項.....	8
4. 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項.....	8
5. 宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項.....	8
第3. ベクターに関する事項.....	8
1. 名称及び由来に関する事項.....	8
2. 性質に関する事項.....	8
第4. 挿入 DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項.....	9
1. 挿入 DNA の供与体に関する事項.....	9
2. 挿入 DNA 又は遺伝子（抗生物質耐性マーカーを含む。）及びその遺伝子産物 の性質に関する事項.....	9
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.....	10
4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項.....	11
5. 構築された発現ベクターに関する事項.....	11
6. DNA の宿主への導入方法に関する事項.....	11
7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項.....	11
第5. 組換え体に関する事項.....	12
1. 宿主との差異に関する事項.....	12
2. 遺伝子導入に関する事項.....	12

第6. 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項.....	12
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.....	12
2. 添加物の製造原料又は製造器材としての安全性について知見が得られていること.....	12
第7. 遺伝子組換え添加物に関する事項.....	13
1. 諸外国における認可、食用等に関する事項.....	13
2. 組換え体の残存に関する事項.....	13
3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項.....	13
4. 精製方法及びその効果に関する事項.....	13
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.....	13
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事項.....	13
Ⅲ. 食品健康影響評価結果.....	13
<参照>.....	14

### <審議の経緯>

- 2019年2月14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（厚生労働省発生食0213第2号）、関係書類の接受
- 2019年2月19日 第731回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2019年3月7日 第183回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2019年5月14日 第741回食品安全委員会（報告）

### <食品安全委員会委員名簿>

佐藤 洋（委員長）  
山本 茂貴（委員長代理）  
川西 徹  
吉田 緑  
香西 みどり  
堀口 逸子  
吉田 充

### <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>

中島 春紫（座長）  
小関 良宏（座長代理）  
児玉 浩明（座長代理）  
岡田 由美子            手島 玲子  
橘田 和美              樋口 恭子  
近藤 一成              山川 隆  
鈴木 秀幸              吉川 信幸  
柘植 郁哉

## 要 約

「BML780PULm104 株を利用して生産されたプルラナーゼ」について、申請者が提出した資料を用いて食品健康影響評価を実施した。

本添加物は、*Bacillus licheniformis* BRA7 株を宿主として、*Bacillus deramificans* T89.117D 株由来の改変プルラナーゼ遺伝子を導入して作製した BML780PULm104 株を利用して生産されたプルラナーゼである。本添加物は、アミロペクチン等の  $\alpha$ -1,6-グルコシド結合を加水分解する酵素であり、ビール及びデンプン糖の製造において糖化効率の向上を目的として使用される。

本添加物について、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」（平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定）に基づき、挿入遺伝子の安全性、挿入遺伝子から産生されるタンパク質の毒性及びアレルギー誘発性等について確認した結果、従来 of 添加物と比較して新たに安全性を損なうおそれのある要因は認められなかった。

したがって、「BML780PULm104 株を利用して生産されたプルラナーゼ」については、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断した。

## I. 評価対象添加物の概要

名称：BML780PULm104 株を利用して生産されたプルラナーゼ  
用途：ビール及びデンプン糖製造時の糖化効率の向上  
申請者：ダニスコジャパン株式会社  
開発者：Danisco US, Inc. (米国)

本添加物は、*Bacillus licheniformis* BRA7 株を宿主として、*Bacillus deramificans* T89.117D 株由来の改変プルラナーゼ遺伝子を導入して作製した BML780PULm104 株を利用して生産されたプルラナーゼである。本添加物は、アミロペクチン等の  $\alpha$ -1,6-グルコシド結合を加水分解する酵素であり、ビール及びデンプン糖製造時の糖化効率の向上を目的として使用される。

## II. 食品健康影響評価

### 第 1. 安全性評価において比較対象として用いる添加物及び宿主等の性質並びに遺伝子組換え添加物及び組換え体との相違

#### 1. 従来添加物の性質及び用途等に関する資料

##### (1) 名称、基原及び有効成分

従来の添加物の名称、基原及び有効成分は、以下のとおりである。

名称：プルラナーゼ

基原：*Bacillus licheniformis* BML139 株

有効成分：プルラナーゼ

系統名：Pullulan 6- $\alpha$ -glucanohydrolase

IUB 番号：EC 3.2.1.41

CAS 番号：9075-68-7

##### (2) 製造方法

プルラナーゼは、培養工程、ろ過等の製剤化工程を経て製造される。生産菌は、除菌ろ過により除去される。

##### (3) 用途及び使用形態

プルラナーゼは、アミロペクチン等の  $\alpha$ -1,6 グルコシド結合を加水分解する酵素であり、ビール及びデンプン糖の製造において、デンプンを分解する糖化酵素として使用される。

##### (4) 摂取量

プルラナーゼが全てのビール製造に使用され、最終製品中に 100%残存すると仮定した場合の最大一日摂取量は、1.12 mg TOS (Total Organic Solids) / 人/日とされている (参照 1)。また、プルラナーゼが全ての異性化糖製造に使用され、最終製品中に 100%残存すると仮定した場合の最大一日摂取量は、0.438 mg TOS/人/日とされている (参照 2)。したがって、推定されるプルラ

ナーゼの最大一日摂取量の合計値は、0.028 mg TOS /kg 体重/日である。

## 2. 宿主及び導入 DNA

### (1) 宿主の種名（学名）、株名等及び由来

宿主は、*B. licheniformis* BRA7 株である。

### (2) DNA 供与体の種名、株名又は系統名等及び由来

プルラナーゼ (*PULm104*) 遺伝子の供与体は、*B. deramificans* T89.117D 株である。

### (3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

*PULm104* 遺伝子は、従来の全長型プルラナーゼの N 末端側 104 アミノ酸領域を欠失したプルラナーゼ (*PULm104*) をコードする。*PULm104* は、欠失がプルラナーゼの触媒サイトに影響を及ぼさず、プルラナーゼ活性を示すことを確認している（参照 3）。

*PULm104* 遺伝子発現カセット及びクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (*catH*) 遺伝子発現カセットを含む遺伝子導入用ベクターを、プロトプラスト法で導入し、相同組換えにより宿主ゲノムの *catH* 遺伝子座に導入した。

なお、生産菌の作製に当たり、 $\alpha$ -アミラーゼ (*amyL*) 遺伝子、*catH* 遺伝子、孢子形成 (*spoIIAC*) 遺伝子、アルカリプロテアーゼ (*aprL*) 遺伝子及びグルタミン酸特異的プロテアーゼ (*mpr*) 遺伝子を、それぞれの欠失用ベクターをプロトプラスト法で導入し、相同組換えにより欠失させている（参照 4）。

## 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

*B. licheniformis* は、長期にわたり食品用酵素の生産菌として安全に使用されている。*B. licheniformis* BRA7 株は、遺伝子組換え添加物として安全性審査を終了している Optimax プルラナーゼ（2001 年 3 月 30 日官報掲載）、SPEZYME FRED™（有効成分： $\alpha$ -アミラーゼ、2007 年 4 月 12 日官報掲載）及び MDT06-228 株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ（2017 年 6 月 6 日官報掲載）の宿主として用いられている（参照 5～7）。

## 4. 宿主の構成成分等に関する資料

*B. licheniformis* が有害生理活性物質を生産するという報告はなく（参照 8）、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（以下「BSL」という。）1 に相当する（参照 9）。

## 5. 遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料

### (1) 製品名及び有効成分

本添加物の製品名及び有効成分は、以下のとおりである。



製品名 : 未定 (便宜上「PULm104」という。)

有効成分 : プルラナーゼ

系統名 : Pullulan 6- $\alpha$ -glucanohydrolase

IUB 番号 : EC 3.2.1.41

## (2) 製造方法

PULm104 は、BML780PULm104 株を生産菌として、従来の添加物と同様に、培養工程、ろ過等の製剤化工程を経て製造される。生産菌は、除菌ろ過により除去される。

## (3) 用途及び使用形態

PULm104 は、ビール及びデンプン糖の製造において、アミロペクチン等の $\alpha$ -1,6-グルコシド結合を加水分解し、糖化効率向上の目的で使用される。

## (4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較

PULm104 は、従来の添加物と同じくアミロペクチン等の $\alpha$ -1,6 グルコシド結合を加水分解する。また、PULm104 は、従来の添加物と比較して高次構造が安定しており、精製工程における活性の低下が少ない。

## 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

### (1) 遺伝子組換え添加物と従来の添加物

PULm104 は従来の全長型プルラナーゼの N 末端側 104 アミノ酸領域を欠失し、かつ、コドンを最適化している点が異なる。

### (2) 組換え体と宿主

BML780PULm104 株と宿主との相違点は、BML780PULm104 株には *PULm104* 遺伝子が複数コピー導入され PULm104 生産能を獲得している点、並びに $\alpha$ -アミラーゼ生産能、孢子形成能、アルカリプロテアーゼ生産能及びグルタミン酸特異的プロテアーゼ生産能を欠失している点である。

以上 1. ～ 6. から、本添加物及び本添加物の生産菌の比較対象となり得る従来の添加物及び宿主があると判断し、第 2 以下の各事項について評価を行った。

## 第 2. 宿主に関する事項

### 1. 分類学上の位置付け (種名 (学名) ・株名等) に関する事項

宿主は、*B. licheniformis* BRA7 株である。

### 2. 病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項

*B. licheniformis* の病原性及び有害生理活性物質を生産するという報告はなく、

国立感染症研究所病原体等安全管理規程における BSL1 に相当する（参照 9）。

### 3. 寄生性及び定着性に関する事項

*B. licheniformis* には、腸管内への寄生性及び定着性の報告はない。

### 4. 病原性の外来因子(ウイルス等)に汚染されていないことに関する事項

*B. licheniformis* BRA7 株には、病原性の外来因子の存在を示唆する報告はない。

### 5. 宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項

*B. licheniformis* は、哺乳動物の病原体として知られている *B. cereus* や *B. anthracis* とは明確に区別されている。

## 第3. ベクターに関する事項

### 1. 名称及び由来に関する事項

遺伝子導入用ベクター pICatH-PULm104 Ori1 の作製には、pICatH が用いられた。

### 2. 性質に関する事項

#### (1) DNA の塩基数及びその塩基配列を示す事項

pICatH の塩基数及び塩基配列は、明らかになっている（参照 10）。

#### (2) 制限酵素による切断地図に関する事項

pICatH の制限酵素による切断地図は、明らかになっている。

#### (3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

pICatH の塩基配列は、明らかになっており、既知の有害塩基配列は含まれていない（参照 10）。

#### (4) 薬剤耐性に関する事項

pICatH には、クロラムフェニコール耐性遺伝子及びネオマイシン耐性遺伝子が含まれている。

#### (5) 伝達性に関する事項

pICatH には、伝達を可能とする塩基配列は含まれていない。

#### (6) 宿主依存性に関する事項

pICatH の複製開始配列は、*Staphylococcus aureus*、*E. coli* 及び *B. licheniformis* を含む *Bacillus* 属で機能する。

## 第4. 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項

### 1. 挿入DNAの供与体に関する事項

- (1) 名称、由来及び分類に関する事項

*PULm104* 遺伝子の供与体は、*B. deramificans* T89.117D 株である。  
*catH* 遺伝子の供与体は、*B. licheniformis* BRA7 株である。

- (2) 安全性に関する事項

*B. deramificans* は、安全性審査が終了している Optimax プルラナーゼの DNA 供与体として用いられている。

*B. licheniformis* 及び *B. deramificans* は、病原性及び有害生理活性物質を生産するという報告はなく、国立感染症研究所病原体等安全管理規程の BSL1 に相当する（参照 9）。

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

- (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

*PULm104* 遺伝子は、*B. deramificans* T89.117D 株由来の全長型プルラナーゼ遺伝子の N 末端の 104 アミノ酸領域に相当する塩基配列を欠失させ、かつ、コドン最適化させる改変を行った遺伝子である。

- (2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

*PULm104* 遺伝子の塩基数、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（参照 4、11）。

- (3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

*PULm104* 遺伝子がコードする PULm104 は、アミロペクチン等の  $\alpha$ -1,6-グルコシド結合を加水分解する酵素である。

- ① 挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見

*B. deramificans* のアレルギー誘発性の可能性を調べるため、データベース<sup>a</sup>を用いて検索した結果、*B. deramificans* に由来する既知のアレルゲンはなかった。また、文献検索<sup>b</sup>も行った結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかった。

- ② 遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する知見

PULm104 を有効成分とする酵素製剤について、アレルギー誘発性を示唆する報告はない。

---

<sup>a</sup> WHO/IUIS Allergen Nomenclature (<http://www.Allergen.org/index.php>) 検索日：2018年1月26日

<sup>b</sup> Google scholar 及び PubMed、検索日：2018年1月26日

③ 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

a. 人工胃液に対する感受性

PULm104 の人工胃液中での消化性について確認するため、SDS-PAGE 分析を行った結果、完全長鎖は試験開始後 1 分以内に、約 6 kDa のバンドは、試験開始後 5 分以内に、それぞれ分解されることが示された。

b. 人工腸液に対する感受性

PULm104 の人工腸液中での消化性について確認するため、SDS-PAGE 分析を行った結果、試験開始 0.5 分以内に分解されることが示された。

c. 加熱処理に対する感受性

PULm104 は、ビールの低温加熱殺菌条件である 62°C・20 分の加熱では、酵素活性が残存するが、ろ過により除去される。同条件の 72°C・0.5 分の加熱では、酵素活性が消失することが示された。

④ 遺伝子産物と既知のアレルゲンとの構造相同性に関する知見

PULm104 と既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を確認するため、アレルゲンデータベース<sup>c</sup>を用いて相同性検索を行った結果、連続する 80 アミノ酸配列以上で 35%以上の相同性を示す既知アレルゲン及び連続する 8 アミノ酸配列が一致する既知のアレルゲンは検出されなかった。

以上のことから総合的に判断し、PULm104 はアレルギー誘発性を有する可能性は低いと考えられた。

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

(1) プロモーターに関する事項

PULm104 遺伝子のプロモーターは、*B. licheniformis* BRA7 株由来の  $\alpha$ -アミラーゼ (*amyL*) のプロモーターである。

*catH* 遺伝子のプロモーターは、*B. licheniformis* BRA7 株由来の *catH* プロモーターである。

(2) ターミネーターに関する事項

PULm104 遺伝子のターミネーターは、*B. licheniformis* BRA7 株由来の *amyL* ターミネーターである。

*catH* 遺伝子のターミネーターは、*B. licheniformis* BRA7 株由来の *catH* ターミネーターである。

(3) その他、挿入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列を組み込んだ場合には、その由来、性質等が明らかであること

---

<sup>c</sup> AllergenOnline version17、検索日：2018 年 1 月 11 日

*PULm104* 遺伝子に *B. licheniformis* BRA7 株由来の *amyL* 分泌シグナルペプチド配列を付加した。

#### 4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

ベクター pICatH に *PULm104* 遺伝子発現カセットを挿入することにより、導入用ベクター pICatH-*PULm104 Ori1* を作製した。

#### 5. 構築された発現ベクターに関する事項

##### (1) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

遺伝子導入用ベクター pICatH-*PULm104 Ori1* の塩基数、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。

##### (2) 原則として、最終的に宿主に導入されると考えられる発現ベクター内の配列には、目的以外のタンパク質を組換え体内で発現するオープンリーディングフレームが含まれていないこと

第5-2-(2)に記載のとおりである。

##### (3) 宿主に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域が発現ベクター上で明らかであること

遺伝子導入用ベクター pICatH-*PULm104 Ori1* 上の意図する挿入領域は、*catH* 遺伝子発現カセットの *catH* プロモーター配列から *PULm104* 遺伝子発現カセットの *amyL* ターミネーター配列までの領域である。

##### (4) 導入しようとする発現ベクターは、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていること

遺伝子導入用ベクター pICatH-*PULm104 Ori1* は、目的外の遺伝子の混入がないように純化されている。

#### 6. DNA の宿主への導入方法に関する事項

宿主ゲノムの *catH* 遺伝子座に、相同組換えにより pICatH-*PULm104 Ori1* の目的とする領域を挿入した。形質転換体を、クロラムフェニコール耐性とネオマイシン耐性をマーカーとして選択した後、クロラムフェニコール選択圧を上昇させ、*PULm104* 遺伝子発現カセットを増幅させた株を BML780*PULm104* 株とした。

全ゲノム解析により、*PULm104* 遺伝子発現カセット及び *catH* 遺伝子発現カセットが複数コピー挿入されていることが推定された。

#### 7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

遺伝子導入用ベクター pICatH-*PULm104 Ori1* はネオマイシン耐性遺伝子を持つが、宿主のゲノムには導入されない。また、クロラムフェニコール耐性遺伝子

は、本来宿主に存在する遺伝子を欠失させた後に再導入したものである。したがって、新たな抗生物質耐性マーカー遺伝子は導入されていない。

## 第5. 組換え体に関する事項

### 1. 宿主との差異に関する事項

BML780PULm104 株は、*PULm104* 遺伝子発現カセット及び *catH* 遺伝子発現カセットが導入され、また、複数遺伝子を欠失している点で宿主と異なる。

### 2. 遺伝子導入に関する事項

#### (1) 制限酵素による切断地図に関する事項

BML780PULm104 株に遺伝子導入用ベクター pICatH-PULm104 Ori1 の挿入領域外の配列が存在しないこと及び生産菌が *PULm104* 遺伝子発現カセットを有することを PCR 法及びシーケンス解析により確認した。

#### (2) オープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

挿入 DNA と宿主ゲノムの接合部位に生じるオープンリーディングフレーム（以下「ORF」という。）の有無を調べるため、*catH* 遺伝子座への *PULm104* 遺伝子発現カセット及び *catH* 遺伝子発現カセットの挿入により新たに生じる ORF 検索を行った。その結果、6つの読み枠において終止コドンから終止コドンで終結する連続する 30 アミノ酸以上の ORF が 40 個検出された。

これらの ORF に対して既知のアレルゲンとの相同性の有無を確認するため、アレルゲンデータベース<sup>c</sup>を用いて相同性検索を行った結果、連続する 80 アミノ酸配列以上で 35%以上の相同性を示す既知のアレルゲン及び連続する 8 アミノ酸配列が一致する既知アレルゲンは検出されなかった。

さらに、これらの ORF と既知の毒性タンパク質との相同性の有無を確認するため、データベース<sup>d</sup>を用いて E-value < 10.0 を指標として検索を行った結果、相同性を示す複数のタンパク質が認められたが、いずれのタンパク質も毒性を有する可能性は低いと考えられた（参照 12）。

## 第6. 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項

### 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

PULm104 製剤の製造原料及び製造器材は、食品用酵素の製造に安全に使用されてきた実績がある。

### 2. 添加物の製造原料又は製造器材としての安全性について知見が得られていること

PULm104 製剤の製造原料及び製造器材は、上記のとおり安全に使用されてき

---

<sup>d</sup> UniProtKB（検索日：2017年12月）

た実績を有しており、また、本製品の原料は Food Chemicals Codex (以下「FCC」という。) 等の規格に適合していることから、有害性はないと考えられる。

## **第7. 遺伝子組換え添加物に関する事項**

### **1. 諸外国における認可、食用等に関する事項**

PULm104 製剤は、フランス及びデンマークにおいて、食品加工助剤ポジティブリストに記載されている。

### **2. 組換え体の残存に関する事項**

PCR 法により確認した結果、PULm104 製剤からは生産菌に由来する DNA 断片は検出されなかった。

### **3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項**

PULm104 を有効成分とする酵素製剤は、JECFA の食品用酵素の規格値 (参照 13) 及び FCC の規格値 (参照 14) を満たしている。

### **4. 精製方法及びその効果に関する事項**

PULm104 製剤は、生産菌の培養液を除菌ろ過及び限外ろ過等の工程を経て製造されるものであり、安全性に問題のある物質が混入するとは考えにくい。

### **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**

PULm104 製剤の製造原料及び製造器材は、従来の食品用酵素の製造に使用されているものであり、含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動はないと考えられる。

## **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**

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。

## **III. 食品健康影響評価結果**

「BML780PULm104 株を利用して生産されたプルラナーゼ」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)に基づき評価した結果、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断した。

## <参照>

1. ダニスコジャパン 2018、平成28年厚生労働省国民健康・栄養調査に基づくビールの消費試算
2. 農林水産省 2017、平成29砂糖年度における砂糖及び異性化糖の需給見通し（第1回（平成29年9月））
3. Danisco, CofA showing compliance with JECFA specs (3 batches)（社内文書）
4. Danisco, PULm104 遺伝子組込み方法と欠失型遺伝子の作製方法（社内文書）
5. 厚生労働省、安全性審査の手続を経た旨の公表がなされた遺伝子組換え食品及び添加物一覧、2017年12月22日現在。
6. 食品安全委員会 2007、遺伝子組換え食品等評価書 SPEZYME FRED(TM)
7. 食品安全委員会 2017、遺伝子組換え食品等評価書 MDT06-228 株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ
8. D. J. Pasnik 2008, *Bacillus licheniformis* isolated during a fish kill is non-pathogenic *FISHERIES SCIENCE*, vol. 74, 1351–1353.
9. 国立感染症研究所、(A)国立感染症研究所 病原体等安全管理規程 平成22年、(B)国立感染症研究所 病原体等安全管理規定 別冊 1「病原体等のBSL分類等」
10. ダニスコジャパン、pICatH のDNA 塩基配列（社内文書）
11. ダニスコジャパン、PULm104 コンストラクト (XhoI 断片)（社内文書）
12. DuPont Industrial Biosciences,PULm104\_ORF 解析報告書（社内文書）
13. JECFA 2004 ,General JECFA specifications
14. The United States Pharmacopeial Convention 2008 ,Food Chemicals Codex