

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 JPAo003 株を利用して生産されたリパーゼに係る食品健康影響評価（令和元年 5 月 20 日付け厚生労働省発生食 0520 第 5 号）については、令和 3 年 4 月 23 日に開催された第 210 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. JPAo003 株を利用して生産されたリパ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 3 年 6 月 22 日（火）開催の食品安全委員会（第 821 回会合）の翌日の令和 3 年 6 月 23 日（水）から令和 3 年 7 月 22 日（木）までの 30 日間。

2) 受付体

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

JPAo003 株を利用して生産された
リパーゼ

2021年6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	3
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. 従来の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	5
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の添加物 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遺伝子を含む。）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	12
7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項	12
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	13
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	13
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	13
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	14
<参照>	15

<審議の経緯>

- 2019年5月23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0520第5号）、関係書類の接受
- 2019年5月28日 第743回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2019年6月14日 第189回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2021年4月23日 第210回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2021年6月22日 第821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>

2019年9月30日まで		2019年10月1日から	
中島 春紫（座長）		中島 春紫（座長）	
小関 良宏（座長代理）		児玉 浩明（座長代理）	
児玉 浩明（座長代理）		安達 玲子	近藤 一成
飯島 陽子	手島 玲子	飯島 陽子	手島 玲子
岡田 由美子	樋口 恭子	岡田 由美子	樋口 恭子
橘田 和美	山川 隆	小関 良宏	山川 隆
近藤 一成	吉川 信幸	小野 竜一	吉川 信幸
柘植 郁哉		橘田 和美	

要 約

「JPAo003 株を利用して生産されたリパーゼ」について、申請者提出の資料を用いて食品健康影響評価を実施した。

本添加物は、*Aspergillus oryzae* IFO4177 株を宿主とし、*Fusarium oxysporum* DSM2672 株由来のリパーゼ遺伝子を導入することで作製した JPAo003 株を利用して生産されたリパーゼである。本添加物は、トリアシルグリセロールのエステル結合を加水分解して脂肪酸を遊離させる酵素であり、製パンに使用される。

「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」（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、従来の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、「JPAo003 株を利用して生産されたリパーゼ」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

品 目：JPAo003 株を利用して生産されたリパーゼ
用 途：製パンにおける生地強度等の付加
申請者：ノボザイムズ ジャパン株式会社
開発者：Novozymes A/S（デンマーク）

本添加物は、*Aspergillus oryzae* IFO4177 株を宿主とし、*Fusarium oxysporum* DSM2672 株由来のリパーゼ遺伝子を導入することで作製した JPAo003 株を利用して生産されたリパーゼである。本添加物は、トリアシルグリセロールのエステル結合を加水分解して脂肪酸を遊離させる酵素であり、製パン工程に使用される。

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. 従来の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：リパーゼ（NOVOZYM677）

基 原：*Thermomyces lanuginosus* CBS 586.94 株

有効成分：リパーゼ

IUB No.：EC 3. 1. 1. 3

CAS No.：9001-62-1

(2) 製造方法

NOVOZYM677 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、菌体成分の除去等の処理を行った後、ろ過により除去される。

(3) 用途及び使用形態

NOVOZYM677 は、パンの製造工程において乳化剤の代替として直接パン生地に添加され、パン生地の強度及び弾性の付加を目的として使用される（参照 1）。

(4) 摂取量

NOVOZYM677 が全てのパン類に含まれ、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、0.0004 mg TOS/kg 体重/日である（参照 1、2）。

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、*A. oryzae* IFO4177 株である。*A. oryzae* IFO4177 株は、清酒麹か

ら分離された野生株である。

(2) DNA 供与体の種名、株名又は系統名等及び由来

リパーゼ (*lipFO*) 遺伝子の供与体は、*F. oxysporum* DSM2672 株である。
amdS 遺伝子の供与体は、*A. nidulans* Glasgow 野生株である。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

lipFO 遺伝子は、リパーゼ (*lipFO*) をコードする。*amdS* 遺伝子は、アセト
アミダーゼをコードし、選択マーカーに用いた。

A. oryzae IFO4177 株の α -アミラーゼをコードする *amyC* 遺伝子を含む複
数種類の遺伝子を欠失導入用ベクターを用いた相同組換えにより欠失させ (参
照 3)、*lipFO* 遺伝子及び *amdS* 遺伝子を含む遺伝子断片 (*lipFO/amdS* 遺伝
子発現カセット) をプロトプラスト法により宿主のゲノム DNA に導入した。
さらに、 γ 線照射による *cpa* 遺伝子クラスター及び *afl* 遺伝子クラスターの欠
失により、シクロピアゾン酸及びアフラトキシン生産能が欠失している (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

A. oryzae は、食品製造用酵素の製造に長年安全に利用されている (参照 5)。
国内では、*A. oryzae* は、麹菌として味噌、醤油、醸造酒などの発酵食品製造に広
く用いられている。

4. 宿主の構成成分等に関する資料

A. oryzae IFO4177 株では、マイコトキシンであるシクロピアゾン酸及び抗菌
性物質であるコウジ酸の産生が極めて低値であることが確認され、また、マイコ
トキシンである β -ニトロプロピオン酸及びアフラトキシンは検出限界未満であ
ることが確認されている (参照 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

(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 : *lipFO*

有効成分 : リパーゼ

EC No. : EC 3.1.1.3

CAS No. : 9001-62-1

(2) 製造方法

lipFO は、JPAo003 株を生産菌として、培養、ろ過、製剤化等の工程を経て
製造される。生産菌は、2 回の除菌ろ過により、分離・除去される。

(3) 用途及び使用形態

lipFO は、一般的なりパーゼの基質であるトリアシルグリセロール以外に、リン脂質及びガラクト脂質のエステル結合を加水分解する。lipFO は、乳化剤の代替として製パン工程で使用される。

(4) 有効成分の性質及び従来への添加物との比較

NOVOZYM677 は、トリアシルグリセロールの 1 及び 3 位のエステル結合を加水分解する。lipFO は、従来への活性に加えて、ガラクト脂質及びリン脂質の 1 位のエステル結合も加水分解することができる（参照 7）。

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へ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への添加物

lipFO と従来への NOVOZYM677 との相違点は、アミノ酸残基数、至適温度及び反応特異性が異なる点である。

(2) 組換え体と宿主

JPAo003 株と宿主との相違点は、JPAo003 株には *lipFO* 遺伝子が複数コピー導入され lipFO の産生性を獲得している点、*amdS* 遺伝子を導入している点及び *amyC* 遺伝子を含む複数の内在性遺伝子を欠失している点である。

以上 1 から 6 までから、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への添加物及び宿主があると判断し、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、*A. oryzae* IFO4177 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

A. oryzae は、一般的に非病原性であり（参照 5）、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（以下「BSL」という。）1 に相当する（参照 8）。また、*A. oryzae* IFO4177 株は、シクロピアゾン酸及びコウジ酸については極めて低値ではあるが、その産生が確認され、 β -ニトロプロピオン酸及びアフラトキシンは検出限界未満であることが確認された（参照 6）。

A. oryzae 由来の酵素であるアルカリ性セリンプロテアーゼ及び TAKA アミラーゼは、アレルゲンデータベース（参照 9）に記載されており、いずれも呼吸器系感作が報告されているが、これは特定職種での高頻度ばく露が起因と考えられる。*A. oryzae* IFO4177 株は食品添加物の生産菌として長年使用され、安全性に問題を生じる事例は報告されておらず、アレルギーを誘発する可能性は低いと考

えられる。

3. 寄生性及び定着性に関する事項

*A. oryzae*には、腸管内への寄生性及び定着性を示唆する報告はない。

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

*A. oryzae*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

*A. oryzae*の近縁種である*A. fumigatus*は、日和見感染により肺炎の原因菌となることが知られている。また、*A. flavus*、*A. parasiticus*、*A. nomius*、*A. pseudotamarii*及び*A. bombycs*は、有害生理活性物質であるアフラトキシンを産生することが知られている。

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pJPV012の作製には、*Escherichia coli*由来のプラスミドpUC19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

プラスミドpUC19の塩基数及び塩基配列は、明らかになっている。

(2) 制限酵素による切断地図に関する事項

プラスミドpUC19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

プラスミドpUC19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。

(4) 薬剤耐性に関する事項

プラスミドpUC19には、アンピシリン耐性遺伝子が含まれている。

(5) 伝達性に関する事項

プラスミドpUC19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

プラスミドpUC19の複製開始配列は、*E. coli*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

lipFO 遺伝子の供与体は、*F. oxysporum* DSM2672 株である。*amdS* 遺伝子の供与体は、*A. nidulans* Glasgow 野生株である。

(2) 安全性に関する事項

F. oxysporum は、土壌中などに普遍的に生育しており、植物病原菌として知られているが、病原性が見られるのは本菌種の分化型であり、かつ限られた宿主植物種に対して病原性を示す（参照 10）。

A. nidulans の食経験は認められていないが、*amdS* 遺伝子は選択マーカーとして長年利用されてきた実績を有する。

F. oxysporum 及び *A. nidulans* は、いずれも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 8）。

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

(1) 挿入遺伝子のクローニング又は合成方法に関する事項

lipFO 遺伝子は、*F. oxysporum* DSM2672 株のゲノム DNA を鋳型として、PCR 法により得られた。

amdS 遺伝子は、*A. nidulans* Glasgow 野生株のゲノム DNA を鋳型として、PCR 法により得られた。

(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

挿入 DNA の塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図は、明らかにになっている。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

① *lipFO* 遺伝子

lipFO 遺伝子がコードする lipFO は、トリアシルグリセロールの 1 及び 3 位のエステル結合並びにガラクト脂質及びリン脂質の 1 位にあるエステル結合を加水分解する。

a. 挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性に関する知見

F. oxysporum のアレルギー誘発性の可能性を調べるために文献検索^aを行った。その結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかった。

b. 遺伝子産物についてそのアレルギー誘発性に関する知見

lipFO 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

^a PubMed 検索日：2018 年 3 月

る報告はない。

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

(a) 人工胃液に対する感受性

lipFO の人工胃液中での消化性を調べる目的で、SDS-PAGE 分析を行った。その結果、試験開始後 30 秒以内に消化されることが示された (参照 11)。

(b) 人工腸液に対する感受性

lipFO の人工腸液中での消化性を調べる目的で、SDS-PAGE 分析を行った。その結果、試験開始後 6 時間においても分解されないことが示された (参照 11)。

(c) 加熱処理に対する感受性

lipFO の加熱処理に対する感受性を調べる目的で、pH6 の各温度帯で 30 分処理した後の活性を測定した。その結果、80°C の処理によって完全に失活することが示された。

d. 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

lipFO 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^bを用いて相同性検索を行った。その結果、連続する 80 アミノ酸配列で 35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは検出されなかった。また、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見いだされなかった (参照 12)。

② *amdS* 遺伝子

amdS 遺伝子がコードするアセトアミダーゼは、アセトアミドを加水分解し、アセトアミドを唯一の窒素源として含む培養液中では、本遺伝子が導入された菌株のみが生育できることから、選択マーカーとして使用された。アセトアミダーゼがアレルギー誘発性及び毒性を示す報告はない。

以上のことから、lipFO 及びアセトアミダーゼが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

lipFO 遺伝子のプロモーターは、*A. niger* BO-1 株の中性アミラーゼ II をコードする *na2* 遺伝子のプロモーター断片に、*A. nidulans* Glasgow 野生株のトリオースリン酸異性化酵素をコードする遺伝子のプロモーター断片を連結させた *na2/tpi* プロモーター配列である。*amdS* 遺伝子のプロモーターは、*A.*

^b ネブラスカ大学アレルゲンデータベース (FARRP version 16)

nidulans の *amdS* 遺伝子の野生型プロモーター配列である（参照 13）。

(2) ターミネーターに関する事項

lipFO 遺伝子のターミネーターは、*A. niger* BO-1 株に由来する *amg* ターミネーター配列である。*amdS* 遺伝子のターミネーターは、*A. nidulans* Glasgow 野生株由来のターミネーター配列である（参照 13）。

(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

(1) 及び (2) の他に挿入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列は組み込まれていない。

4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

プラスミド pUC19 に、*na2/tpi* プロモーター断片、*lipFO* 遺伝子断片、*amg* ターミネーター断片及び *amdS* 遺伝子断片から構成される *lipFO/amdS* 遺伝子発現カセットを挿入することにより、遺伝子導入用ベクター pJPV012 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 pJPV012 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 13）。

(2) 原則として、最終的に構築された発現ベクターには、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

遺伝子導入用ベクター pJPV012 の全配列を対象としたオープンリーディングフレーム（以下「ORF」という。）検索は実施していない。

遺伝子導入座における ORF 検索は、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 pJPV012 上の意図する挿入領域は、*lipFO/amdS* 遺伝子発現カセットである。

(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 pJPV012 は、構築の過程において精製されていることから、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

lipFOIamdS 遺伝子発現カセットを宿主ゲノムへプロトプラスト法を用いて導入した（参照 14、15）。

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 pJPV012 はアンピシリン耐性遺伝子を有するが、宿主ゲノムに導入されない。このことは、サザンブロット分析により確認している（参照 16）。

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

JPAo003 株は、*lipFOIamdS* 遺伝子発現カセットが導入され、リパーゼの生産性を高めるために複数の遺伝子を欠失している。

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

JPAo003 株の染色体上での *lipFOIamdS* 遺伝子発現カセットの導入位置を調べる目的でシークエンス解析を行った。その結果、1 か所に複数コピーがタンデムに挿入されていることが確認された。さらに、定量 PCR 法を用いた解析により、複数コピーの *lipFOIamdS* 遺伝子発現カセットが導入されていることが確認された（参照 17）。また、挿入領域近傍の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) 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 ORF の有無を調べる目的で、挿入 DNA の 5' 近傍配列を含む領域及び 3' 近傍配列を含む領域について、ORF 検索を行った。また、欠失導入用ベクターを用いた相同組換えにおいて、異種遺伝子断片の残存した *amyC* 遺伝子座で、同様に 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 が合計 478 個検出された。

これらの ORF と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²⁾を用いて相同性検索を行った結果、連続する 80 アミノ酸配列で 35% 以上の相同性を示す既知のアレルゲン及び連続した 8 アミノ酸配列が完全に一致する既知のアレルゲンはなかった（参照 18、19）。

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に、MvirDB データベース（参照 20）を用いて E-value<0.02 を指標として検索を行った。その結果、6 個の ORF が 3 個のタンパク質と相同性を示したが、いずれも毒性を有する可能性は低いと考えられた。

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

lipFO 製品の製造原料及び製造器材は、食品用酵素の製造に長年安全に利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

lipFO 製品の製造原料及び製造器材は、食品用酵素の製造において長年安全に利用されてきた実績を有することから、有害性はないと考えられる。また、本製品の原料は、Food Chemicals Codex (FCC) 等の規格に適合している。

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

lipFO 製品は、2001 年に販売が開始され、欧州、北米等を中心にし使用されている。lipFO 製品は、フランス、カナダにおいて、食品添加物のポジティブリストに掲載されている（参照 21、22）。

2. 組換え体の残存に関する事項

lipFO 製剤中に組換え DNA の残存がないことをドットブロット分析により確認した（参照 23）。

3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項

lipFO 製剤前の酵素サンプルは食品衛生法の規格基準を満たしている（参照 24）。また、製造原料は、食品用酵素への使用が認められた品質のものが用いられ、適切な製造管理の下で製造が行われるならば、安全性に問題のある非有効成分が含まれるとは考えにくい。

4. 精製方法及びその効果に関する事項

lipFO 製剤は、生産菌の培養物を、粗ろ過、除菌ろ過、限外ろ過等の精製工程を経ることで得られる。適切な製造管理の下で製造が行われるならば、これらの工程において、安全性に問題のある物質が混入することはないと考えられる。

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

lipFO 製剤の製造原料及び製造方法は、従来の食品用酵素の製造に使用されているものと同様であり、適切な製造管理の下で製造が行われるならば、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

「JPAo003 株を利用して生産されたリパーゼ」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. Baking: Dough strengthening (Application sheet) (社内文書)
2. Product Data Sheet: *** (社内文書)
3. 欠失導入用ベクターを用いた DNA 欠失の概要 (社内文書)
4. Characterization of the deletion of *CPA* and *AFL* clusters in NZYM-PH (社内文書)
5. Barbesgaard P, Heldt-Hansen HP, Diderichsen B. On the safety of *Aspergillus oryzae*: a review. *Appl Microbiol Biotechnol* 1992;36(5):569-572.
6. Analysis of selected strains derived from *A. oryzae* A1560 for production of mycotoxins
Analysis of selected strains derived from *A. oryzae* A1560 for production of mycotoxins (社内文書)
7. Mustranta A, Forsell P, Aura A-M, Suortti T, Poutanen K. Modification of Phospholipids with Lipases and Phospholipases. *Biocatalysis* 1994;9:181-194.
8. 国立感染症研究所病原体等安全管理規程
9. WHO/IUIS Allergen Nomenclature.
<http://www.allergen.org/search.php?allergenSource=Aspergillus+oryzae>
[accessed 1-Jun 2018].
10. Mehrabi R, Bahkali AH, Abd-Elsalam KA, Moslem M, Ben M'barek S et al. Horizontal gene and chromosome transfer in plant pathogenic fungi affecting host range. *FEMS Microbiol Rev* 2011;35(3):542-554.
11. Digestability of lipFO protein in a test batch *** (社内文書)
12. Sequence homology of triacylglycerol lipase expressed by JPAo003 to allergens (社内文書)
13. 遺伝子導入ベクターpJPV012 の DNA 塩基配列並びに構成 (社内文書)
14. 五味 勝. カビの形質転換系の開発とその利用. *化学と生物* 1990;28:91-100.
15. Kelly JM, Hynes MJ. Transformation of *Aspergillus niger* by the *amdS* gene of *Aspergillus nidulans*. *EMBO J* 1985;4(2):475-479.
16. Confirmation of the absence of *amp* gene (社内文書)
17. 定量PCRによる *lipFO* 遺伝子/ *amdS* 遺伝子発現カセットコピー数の推定 (社内文書)
18. Sequence homology of ORFs in the integration locus of the inserted expression plasmid on the genome of JPAo003 to proteins from MvirDB and allergens (社内文書)
19. Sequence homology of ORFs in the *AmyC* locus on the genome of JPAo001 to proteins from MvirDB and allergens (社内文書)
20. Zhou CE, Smith J, Lam M, Zemla A, Dyer MD et al. MvirDB--a microbial database of protein toxins, virulence factors and antibiotic resistance genes for bio-defence applications. *Nucleic Acids Res* 2007;35(Database issue):D391-394.
21. 仏国の食品用加工助剤ポジティブリスト.
<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexteArticle.dojsessionid=C6DC55863474>

9131B4329F1EE10D53C1.tplgfr34s_1?idArticle=LEGIARTI000035757865&cidTexte=LEGITEXT000020667468&dateTexte=20180516 [accessed May 16, 2018].

22. List of Permitted Food Enzymes (Lists of Permitted Food Additives). <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/food-safety/food-additives/lists-permitted/5-enzymes.html> [accessed May 16, 2018].
23. The analysis of residual DNA in lipFO's product formulation by means of dot blot hybridization (社内文書)
24. Characterization of toxbatch, *** Lipopan F from *Aspergillus oryzae* strain *** (社内文書)