



府食第449号  
令和2年6月16日

厚生労働大臣  
加藤 勝信 殿

食品安全委員会  
委員長 佐藤 洋



### 食品健康影響評価の結果の通知について

令和2年1月24日付け厚生労働省発生食0124第1号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた添加物「JS1252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」に係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

### 記

「JS1252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」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。

# 遺伝子組換え食品等評価書

JS1252 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

2020年6月

食品安全委員会

## 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>

- 2020年1月28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0124第1号）、関係書類の接受
- 2020年2月4日 第772回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2020年2月19日 第198回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2020年4月21日 第780回食品安全委員会（報告）
- 2020年4月22日から5月21日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2020年6月10日 遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長に報告
- 2020年6月16日 第782回食品安全委員会（報告）  
（同日付け厚生労働大臣に通知）

### <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）  
児玉 浩明（座長代理）  
安達 玲子                      近藤 一成  
飯島 陽子                      手島 玲子  
岡田 由美子                   樋口 恭子  
小関 良宏                      山川 隆  
小野 竜一                      吉川 信幸  
橘田 和美

## 要 約

「JS1252 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」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、*Bacillus licheniformis* BRA7 株を宿主として、*Pseudomonas stutzeri* IAM 1504 株由来の改変エキソマルトテトラオヒドロラーゼ遺伝子を導入して作製された JS1252 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である。本添加物は、デンプンの  $\alpha$ -1,4-D-グルコシド結合を非還元末端からグルコース 4 分子ごとに加水分解する酵素である。耐熱性が付与されていることから、高温での使用も可能となり、パン製造における品質維持に使用される。

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、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、「JS1252 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」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：JS1252 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  
用 途：パン製造における品質維持  
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、*Pseudomonas stutzeri* IAM 1504 株由来の改変エキソマルトテトラオヒドロラーゼ遺伝子を導入して作製された JS1252 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である。本添加物は、デンプンの  $\alpha$ -1,4-D-グルコシド結合を非還元末端からグルコース 4 分子ごとに加水分解する酵素である。耐熱性が付与されていることから、高温での使用も可能となり、パン製造における品質維持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、有効成分等は以下のとおりである。

名 称 : エキソマルトテトラオヒドロラーゼ  
基 原 : *Pseudomonas stutzeri*  
有効成分 : エキソマルトテトラオヒドロラーゼ  
IUB 番号 : EC 3.2.1.60  
CAS 番号 : 37288-44-1

##### (2) 製造方法

エキソマルトテトラオヒドロラーゼは、培養、ろ過、製剤化等の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

エキソマルトテトラオヒドロラーゼは、デンプンの  $\alpha$ -1,4-D-グルコシド結合を非還元末端からグルコース 4 分子ごとに加水分解する酵素である。パン製造における品質維持を目的として使用される。

##### (4) 摂取量

エキソマルトテトラオヒドロラーゼが菓子パンを除くパン製造工程に使用され、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、0.016 mg TOS (Total Organic Solids) /kg 体重/日である (参照 1)。

## 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

エキソマルトテトラオヒドロラーゼ (*G+*) 遺伝子の供与体は、*P. stutzeri* IAM 1504 株である。

### (3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

*G+*遺伝子は、野生型のエキソマルトテトラオヒドロラーゼの C 末端側領域を欠失させ並びに 24 個のアミノ酸を置換し及び 1 個のアミノ酸を挿入した *G+* をコードする。

クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (*catH*) 遺伝子は、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼをコードし、選抜マーカーに用いた。

*G+*遺伝子発現カセット及び *catH*遺伝子発現カセットを含む遺伝子導入用ベクター pICatH-CGTss-M-NBA2062 を、プロトプラスト法で導入し、欠失させた宿主ゲノムの *catH* 遺伝子座に、相同組換えにより遺伝子導入用ベクターの目的とする領域を挿入した。

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*) 遺伝子について、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 2)。

## 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製造に安全に使用されてきた経験がある (参照 3)。*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 BML780PULm104 株を利用して生産されたプルラナーゼ (2019 年 8 月 16 日官報掲載)、MDT06-228 株を用い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) 等の宿主として用いられている (参照 4)。

## 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 5)、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 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、有効成分等は以下のとおりである。



製品名 : 未定 (便宜上「G+」という。)  
有効成分 : エキソマルトテトラオヒドロラーゼ  
IUB 番号 : EC 3.2.1.60  
CAS 番号 : 37288-44-1

(2) 製造方法

G+は、JS1252株を生産菌として、従来のエキソマルトテトラオヒドロラーゼと同様に、培養、ろ過、製剤化等の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

G+は、従来のエキソマルトテトラオヒドロラーゼと同様に、パン製造における品質保持を目的に使用される。

(4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較

G+は、従来のエキソマルトテトラオヒドロラーゼと同様に、デンプンの $\alpha$ -1,4-グルコシド結合を加水分解する。

**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

G+と従来のエキソマルトテトラオヒドロラーゼとの相違点は、C末端側領域を欠失させ並びに24個のアミノ酸を置換し及び1個のアミノ酸を挿入し、かつ高温域での安定性が向上している点である(参照7、8)。

(2) 組換え体と宿主

JS1252株と宿主との相違点は、JS1252株にはG+遺伝子が複数コピー導入され、G+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、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* が病原性を有する又は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いて BSL1 に該当する（参照 6）。

### 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（参照 9）。

## 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-CGTss-M-NBA2062 の作製には、pICatH が用いられた。pICatH の構築には *Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 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 pICatH 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 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

プラスミド 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。

#### (4) 薬剤耐性に関する事項

プラスミド 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

プラスミド 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

プラスミド 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

*G+*遺伝子の供与体は、*P. stutzeri* IAM 1504 株であり、*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

*P. stutzeri* IAM1504 株は、安全性審査が終了している 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の DNA 供与体として用いられている（参照 10）。

*P. stutzeri* 及び *B. licheniformis* は、国立感染症研究所病原体等安全管理規程において BSL1 に相当する（参照 6）。

##### 2. 挿入 DNA 又は遺伝子（抗生物質耐性マーカールを含む。）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

*G+*遺伝子は、*P. stutzeri* IAM 1504 株由来のエキソマルトテトラオヒドロラーゼ遺伝子がコードするタンパク質の C 末端側領域を欠失させ、かつ 24 箇所のアミノ酸置換させ、及び 1 個のアミノ酸を付加させるように塩基配列の改変を行った遺伝子である。また、*B. circulans* 由来のシクロデキストリングリコシルトランスフェラーゼ（CGTase）の分泌シグナル配列が付加されている。

(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

*G+*遺伝子発現カセットの塩基数、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 11）。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

*G+*遺伝子がコードする *G+*は、デンプンの  $\alpha$ -1,4-D-グルコシド結合を非還元末端からグルコース 4 分子ごとに加水分解する反応を触媒する酵素である。

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

*P. stutzeri* のアレルギー誘発性の可能性を調べるためにデータベース<sup>a</sup>及び文献検索<sup>b</sup>を行った結果、アレルギー誘発性を示唆する報告はなかった。

②遺伝子産物についてそのアレルギー誘発性に関する知見

<sup>a</sup> WHO/IUIS Allergen Nomenclature (<http://www.allergen.org/index.php>)、検索日：2019年6月

<sup>b</sup> PubMed、検索日：2019年6月

G+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。

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

人工胃液中における G+の消化性について確認するために、SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、SDS-PAGE 分析では試験開始後 1 分以内に完全長のバンドが消失し、ウェスタンブロット分析では試験開始後 2 分以内に消失することが示された(参照 12)。

b. 人工腸液に対する感受性

人工腸液中における G+の消化性について確認するために、SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、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 12)。

c. 加熱処理に関する感受性

G+は、パン生地に添加されることから、焼成条件を想定した 100℃での免疫反応性について ELISA 法を用いて確認した結果、30 分の加熱で 95%以上の反応性が消失することが示された(参照 13)。

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

第 5 - 2 - (2) に記載のとおりである。

以上のことから総合的に判断し、G+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

G+遺伝子のプロモーターは、*B. licheniformis* BRA7 株に由来する *amyL* 遺伝子のプロモーター配列である。

*catH* 遺伝子のプロモーターは、*B. licheniformis* BRA7 株に由来する *catH* 遺伝子のプロモーター配列である。

(2) ターミネーターに関する事項

G+遺伝子のターミネーターは、*B. licheniformis* BRA7 株に由来する *amyL* 遺伝子のターミネーター配列である。

*catH* 遺伝子のターミネーターは、*B. licheniformis* BRA7 株に由来する *catH* 遺伝子のターミネーター配列である。

(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

G+遺伝子に *B. circulans* 由来の CGTase 分泌シグナルペプチド配列を付加

した（参照 14）。

#### 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 *G+* 遺伝子発現カセット及び *catH* 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 pICatH-CGTss-M-NBA2062 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-CGTss-M-NBA2062 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 15）。

##### (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-CGTss-M-NBA2062 上の意図する挿入領域は、*G+* 遺伝子発現カセット及び *catH* 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 pICatH-CGTss-M-NBA2062 は、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されている。

#### 6. DNA の宿主への導入方法に関する事項

相同組換えにより pICatH-CGTss-M-NBA2062 の目的とする領域を宿主ゲノムの欠失された *catH* 遺伝子座に挿入した形質転換体を選抜後、クロラムフェニコール選択圧を上昇させ、*G+* 遺伝子発現カセットを増幅させた株を JS1252 株とした。

#### 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-CGTss-M-NBA2062 はネオマイシン耐性遺伝子を持つが、JS1252 株には残存しない。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

JS1252 株は、*G+*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

*G+*遺伝子発現カセット及び *catH* 遺伝子発現カセットの導入位置を確認するためにシーケンス解析を行った結果、1 箇所に複数コピー挿入されたことが確認された (参照 11)。また、遺伝子挿入領域の各構成要素及び制限酵素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オープンリーディングフレーム (以下「ORF」という。) の有無を確認するために、挿入 DNA の 5' 近傍配列及び 3' 近傍配列を含む領域における 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 62 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に、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の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に、データベース<sup>d</sup>を用いて E-value<0.1 を指標として検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は認められなかった (参照 11)。

## 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

*G+*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

*G+*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た実績を有し、また本製品の原料は Food Chemicals Codex (FCC) 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。

<sup>c</sup> AllergenOnline v19B

<sup>d</sup> UniProtKB(UniProt release 2019\_1)

## **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**

G+製剤は、米国で2009年にGRASとして認証されている。また、デンマーク、フランス及びカナダにおいて、食品加工助剤の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**

G+に生産菌の残存がないことが、培養を用いた手法により確認された（参照16）。また、PCR法により確認した結果、G+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（参照17）。

### **3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項**

G+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18）及びFCCの酵素の規格値（参照19）を満たしている。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、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**

G+製剤は、生産菌の培養液を除菌ろ過、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**

G+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**

「JS1252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」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. 国民健康・栄養調査報告書 (H29)
2. ダニスコジャパン, G+遺伝子組込み方法と欠失型遺伝子の作製方法, 【社内資料】 .
3. de Boer, A. S., Priest, F., Diderichsen, B., "On the industrial use of *Bacillus licheniformis*: a review," Applied Microbiology and Biotechnology, vol. 40, no. 5, pp.595- 598, 1994.
4. 食品安全委員会, “BML780PULm104 株を利用して生産されたプルラナーゼ\_遺伝子組換え食品等評価書,” 2019.
5. NIH, “NIH GUIDELINES FOR RESEARCH INVOLVING RECOMBINANT OR SYNTHETIC NUCLEIC AND MOLECULES (NIH GUIDELINES).” 2016.
6. 国立感染症研究所, “病原体等安全管理規程 別冊 1「病原体等の BSL 分類等」 (抜粋版),” 平成 29 年.
7. DuPont Industrial Biosciences, “Temperature and pH optimum,” 【社内資料】 .
8. DuPont Industrial Biosciences, “Enzyme activity after heat treatment in the presence and absence of substrate,” 【社内資料】 .
9. EPA, “FINAL RISK ASSESSMENT OF BACILLUS LICHENIFORMIS,” 1997.
10. 食品安全委員会, “ 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,” 2017.
11. DuPont Industrial Biosciences, “G+ ORF report,” 【社内資料】 .
12. DuPont Industrial Biosciences, “人工胃液・腸液消化試験報告書,” 2019, 【社内資料】 .
13. DuPont Industrial Biosciences, “加熱 ELISA 試験報告書,” 2019, 【社内資料】 .
14. Lawson, C. L., van Montfort, R., Strokopytov, B., Rozeboom, H. J., Kalk, K. H., de Vries, G. E et al. "Nucleotide sequence and X-ray structure of Cyclodextrin Glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251 in a Maltose-dependent Crystal Form.," Journal of molecular biology, vol. 236, no. 2, pp. 590-600, 1994.
15. ダニスコジャパン, “G+遺伝子発現カセットの DNA 配列,” 【社内資料】 .
16. DuPont Industrial Biosciences, “CofA showing compliance with JECFA specs (3batches),” 【社内資料】
17. DuPont Industrial Biosciences, “rDNA\_report,” 【社内資料】 .
18. JECFA, “General JECFA specifications,” 2004.
19. The United States Pharmacopeial Convention, “Food Chemicals Codex,” 2008.