



府食第151号
平成19年2月15日

厚生労働大臣
柳澤 伯夫 殿

食品安全委員会
委員長 見上



食品健康影響評価の結果について

平成17年9月30日付け厚生労働省発食安第0930005号をもって貴大臣から当委員会に対し意見を求められた添加物「ジェランガム K3B646」(申請者:三栄源エフ・エフ・アイ株式会社)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)の評価対象ではないと判断しました。

なお、審議結果については、別添のとおりです。

遺伝子組換え食品等評価書

ジェランガム K3B646

2007年2月

食品安全委員会

目次

	頁
審議の経緯	1
食品安全委員会委員名簿	1
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	1
遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物「ジェランガム K3B646」に係る食品健康影響評価に関する審議結果	2
. はじめに	2
. 申請添加物の概要	2
. 対象添加物に該当するか否かについて	2
1 生産菌 <i>S. elodea</i> GBAD-1 株の構築について	2
2 「組換え体株 GBAD-1」が「組換え DNA 技術によって最終的に宿主に導入された DNA が、当該微生物と分類学上同一の種に属する微生物の DNA のみである場合」に該当することについて	3
食品健康影響評価について	4
引用文献	4

審議の経緯

平成17年9月30日	厚生労働大臣から遺伝子組換え食品の安全性確認に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の受理
平成17年10月6日	第114回食品安全委員会（要望事項説明）
平成17年11月21日	第34回遺伝子組換え食品等専門調査会
平成18年3月24日	第38回遺伝子組換え食品等専門調査会
平成18年11月21日	第42回遺伝子組換え食品等専門調査会
平成18年12月18日	第43回遺伝子組換え食品等専門調査会
平成19年1月11日	第173回食品安全委員会（報告）
平成19年1月11日～2月9日	国民からの意見・情報の募集
平成19年2月14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へ報告
平成19年2月15日	第178回食品安全委員会（報告） 同日付で食品安全委員会委員長から厚生労働大臣へ通知

食品安全委員会委員

平成18年6月30日まで	平成18年12月20日まで	平成18年12月21日から
委員長 寺田雅昭	委員長 寺田雅昭	委員長 見上 彪
委員長代理 寺尾允男	委員長代理 見上 彪	委員長代理*1 小泉直子
小泉直子	小泉直子	長尾 拓
坂本元子	長尾 拓	野村一正
中村靖彦	野村一正	畑江敬子
本間清一	畑江敬子	本間清一
見上 彪	本間清一	*1：平成19年2月1日から

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

座長 早川堯夫	
座長代理 澤田純一	
五十君静信	手島玲子
池上幸江	丹生谷博
今井田克己	日野明寛*2
宇理須厚雄	室伏きみ子
小関良宏	山川隆
橘田和美*1	山崎壮
澁谷直人	渡邊雄一郎

*1：橘田専門委員は平成18年10月1日から

*2：日野専門委員は平成18年7月31日まで

遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物「ジェランガム K3B646」 に係る食品健康影響評価に関する審議結果

はじめに

食品安全委員会は食品安全基本法に基づき、厚生労働省より、「ジェランガム K3B646」の安全性の審査に係る食品健康影響評価について意見を求められた。(平成 17 年 9 月 30 日、関係書類を受理)

申請添加物の概要

品 目 : ジェランガム K3B646
性 質 : 品質向上
申請者 : 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
開発者 : CP Kelco 社

ジェランガム K3B646 は、*Sphingomonas elodea* S60 株由来のアリルスルファターゼ及び β -グルクロニダーゼをコードする *atsA* 遺伝子及び *gusA* 遺伝子のコード領域のほとんどを欠失させた DNA を、*S. elodea* S60 のサブクローンである *S. elodea* S60wtc 株に、相同組換え法を用いて導入して得られた GBAD-1 株を生産菌として製造されるジェランガムである。ジェランガム K3B646 の製造方法は、従来からの生産菌株を用いた場合と同様な方法で抽出・精製される。

ジェランガムは、*S. elodea* の培養液から得られたグルコース・グルクロン酸・グルコース・ラムノースの四つの糖を繰り返した構造をもつ直鎖上の多糖類であり、食品添加物（増粘安定剤）として幅広い食品に使われている。ジェランガムは食品添加物公定書に記載され、成分規格が設定されている。(引用文献)

現行の生産株(*S. elodea* S60 株)から生産されるジェランガムは微量のアリルスルファターゼ及び β -グルクロニダーゼを産出するため、乳製品等(例：ミルクプリン、ハードヨーグルト)の乳タンパクの安定化・分散や食感の改良等に用いた際に UHT(超高温)殺菌処理を行うと、乳製品中の p -クレゾール硫酸抱合体及び p -クレゾールグルクロン酸抱合体から、アリルスルファターゼ及び β -グルクロニダーゼの作用により p -クレゾールが生成し、異臭味の原因となっている。この問題を解決するために、アリルスルファターゼ及び β -グルクロニダーゼをコードする *atsA* 遺伝子及び *gusA* 遺伝子を不活性化することを目的として GBAD-1 株が開発された。GBAD-1 株は、アリルスルファターゼ活性及び β -グルクロニダーゼの活性を欠失している。

GBAD-1 株の宿主は、現在のジェランガム生産株の *S. elodea* S60 株の接合効率を高めた(プラスミド DNA の取り込み能を向上させた)自然単離株 *S. elodea* S60wtc であり、*S. elodea* については、動物やヒトに対する毒素や病原性を持つことは知られていない。(引用文献)

また、2 つの挿入 DNA の供与体は、現行のジェランガム生産株の *S. elodea* S60 株である。

対象添加物に該当するか否かについて

1. 生産菌 *S. elodea* GBAD-1 株の構築について

宿主は、*S. elodea* S60wtc 株である。

S. elodea S60 株から *atsA* 遺伝子及び *gusA* 遺伝子のコード領域のほとんどをそれぞれ欠失させた DNA を調製し、*E. coli* 由来のプラスミド pL02 に組み込み、発現ベクター pL02 - *AsdeI*n 及び pL02 - *BglucdeI*n を調製した。両プラスミドには、目的外の遺伝子の存在は確認されていない。

第一段階は pL02 - *AsdeI*n を用いて宿主 *S. elodea* S60wtc 株を相同組換え法で形質転換し、*atsA* 遺伝子欠失の菌株を選抜した。第二段階は pL02 - *BglucdeI*n を用いて、第一段階で選抜された *atsA* 遺伝子欠失の菌株を相同組換え法で形質転換し、*atsA* 遺伝子及び *gusA* 遺伝子が欠失したジェランガム K3B646 の生産菌株 *S. elodea* GBAD-1 株を選抜した。

2. 「組換え体株 GBAD-1」が「組換え DNA 技術によって最終的に宿主に導入された DNA が、当該微生物と分類学上同一の種に属する微生物の DNA のみである場合」に該当することについて

(1) 組換え体株 GBAD-1 中から遺伝子挿入に用いたベクターが除去されていることの確認について

PCR 分析法により組換え体株 GBAD-1 中からベクター由来の DNA が除去されているかを確認するために、pL02 由来の 2 種類のプライマーを用いて確認したところ、組換え体株 GBAD-1 中にはベクター由来の DNA が存在していないことが確認された。(引用文献)

サザンプロット分析により組換え体株 GBAD-1 中からベクター由来の DNA が除去されているかを確認するために、pL02 ベクターの線状化 DNA をプローブとして用いて確認したところ、組換え体株 GBAD-1 中にはベクター由来の DNA が存在していないことが確認された。(引用文献) また、pL02 ベクターの *ori* 付近を増幅するプライマーを用いて PCR を行った結果でも、ベクター由来の DNA は検出されなかった。(引用文献)

(2) 組換え体株中における目的遺伝子(*アリルスルファターゼ*遺伝子及び *-グルクロニダーゼ*遺伝子)の欠失数及び欠失サイズについて

部分欠失 *atsA* 遺伝子について

atsA 遺伝子の欠失状態を確認するために、*atsA* 遺伝子の DNA 配列を含むプローブを用いて、組換え体株 GBAD-1 のサザンプロット分析を行った結果、*atsA* 遺伝子及び近傍の塩基配列より想定される塩基サイズと同じサイズのバンドが観察され、染色体の正しい位置の 1 箇所のみで欠失が起きていることが確認された。(引用文献)

部分欠失 *gusA* 遺伝子について

gusA 遺伝子の欠失状態を確認するために、*gusA* 遺伝子の DNA 配列を含むプローブを用いて、組換え体株 GBAD-1 のサザンプロット分析を行った結果、*gusA* 遺伝子及び近傍の塩基配列より想定される塩基サイズと同じサイズのバンドが観察され、染色体の正しい位置の 1 箇所のみで欠失が起きていることが確認された。(引用文献)

(3) 既存生産株と組換え体株の塩基配列の比較について

atsA 遺伝子について

GBAD-1 株の *atsA* 遺伝子断片を含む周辺領域の塩基配列を決定した結果、*atsA* 遺伝子断片の終止コドンを含む 24bp のみを残し、開始コドンを含む 1,632bp が欠失されていることが確認された。(引用文献)

また、*atsA* 遺伝子欠失部位の近傍配列が、既存の生産株と一致していることが確認された。
(引用文献)

gusA 遺伝子について

GBAD-1 株の *gusA* 遺伝子断片を含む周辺領域の塩基配列を決定した結果、*gusA* 遺伝子の終止コドンの 3bp のみを残し、開始コドンを含む 1,860bp が欠失されていることが確認された。

また、*gusA* 遺伝子欠失部位の近傍配列が、既存の生産株と同一であることが確認された。(引用文献)

以上に示された科学的知見から、本組換え体生産株 GBAD-1 株は遺伝子挿入に用いたベクターを含んでいないこと、*atsA* 遺伝子と *gusA* 遺伝子のほとんどを欠失していること、遺伝子の欠失部位の近傍塩基配列が宿主である *S. elodea* S60wtc 株と一致していることが確認された。

食品健康影響評価について

「GBAD-1 株由来のジェランガム K3B646」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」の第 1 章 総則 第 3 対象となる添加物及び目的のうち、「組換え DNA 技術によって最終的に宿主に導入された DNA が、当該微生物と分類学上同一の種に属する微生物の DNA のみである場合」に該当することから、本基準の対象ではないと判断される。

引用文献

第 7 版 食品添加物公定書 厚生省復刻版 日本食品添加物協会 PP:272.

第 7 版 食品添加物公定書解説書 廣川書店 D-565-D570.

遺伝子組換え *Sphingomonas elodea* GBAD-1 株により製造されるジェランガムの食品添加物としての GRAS に関する専門家研究班の見解 *Sphingomonas elodea* 及びジェランガムに対し懸念される毒性に関する文献調査 (社内報告書)

遺伝子組換え *Sphingomonas elodea* GBAD-1 株により製造されるジェランガムの食品添加物としての GRAS に関する専門家研究班の見解 *Sphingomonas elodea* GBAD-1 株のマウスにおける毒性試験 (社内報告書)

遺伝子組換え *Sphingomonas elodea* GBAD-1 株により製造されるジェランガムの食品添加物としての GRAS に関する専門家研究班の見解 UHT 殺菌乳製品におけるジェランガムに起因する *p*-クレゾール発生を減少させる *Sphingomonas elodea* 欠失株の構築 (社内報告書)

遺伝子組換え *Sphingomonas elodea* GBAD-1 株により製造されるジェランガムの食品添加物としての GRAS に関する専門家研究班の見解 サザン分析による被験菌 GAS-1、PAS-1、GBAD-1 及び PBAD-1 株におけるベクター DNA 存在 / 非存在の検査 (社内報告書)

GBAD-1 株の *atsA* 欠失部位近傍の塩基配列 (CP Kelco 社資料)

Supplementary sequencing of *atsA* deletion region of GBAD1 (CP Kelco 社資料)

GBAD-1 株の *gusA* 欠失部位近傍の塩基配列 (CP Kelco 社資料)

サザンプロットによる遺伝子欠失のサイズ及び領域の確認 (CP Kelco 社資料)