



府食第728号
平成29年10月31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

平成29年5月30日付け厚生労働省発生食0530第2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食品「OYC-GM1株を利用して生産された酸性ホスファターゼ」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

「OYC-GM1株を利用して生産された酸性ホスファターゼ」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

OYC-GM1 株を利用して生産された
酸性ホスファターゼ

2017年10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.....	7
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.....	7
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.....	7
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.....	8
1. 挿入 DNA の供与体に関する事項.....	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.....	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.....	10
5. 構築された発現ベクターに関する事項.....	10
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.....	12
1. 諸外国における認可、食用等に関する事項.....	12
2. 組換え体の残存に関する事項.....	12
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>

- 2017年5月30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0530第2号）、関係書類の接受
- 2017年6月6日 第652回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2017年6月23日 第161回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2017年8月30日 第163回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2017年9月19日 第666回食品安全委員会（報告）
- 2017年9月20日から10月19日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2017年10月27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
- 2017年10月31日 第671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）
山添 康（委員長代理）
吉田 緑
山本 茂貴
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

<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>

2017年9月30日まで		2017年10月1日より	
澤田 純一（座長）		中島 春紫（座長）	
小関 良宏（座長代理）		小関 良宏（座長代理）	
岡田 由美子	中島 春紫	児玉 浩明（座長代理）	
橘田 和美	樋口 恭子	岡田 由美子	手島 玲子
児玉 浩明	飯 哲夫	橘田 和美	樋口 恭子
近藤 一成	山川 隆	近藤 一成	山川 隆
柘植 郁哉	和久井 信	鈴木 秀幸	吉川 信幸
手島 玲子		柘植 郁哉	

要 約

「OYC-GM1 株を利用して生産された酸性ホスファターゼ」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、酸性ホスファターゼの生産能を保有させるために、*Escherichia coli* BL21(DE3)株を宿主として、*Haemophilus influenzae* 由来の酸性ホスファターゼ遺伝子を含む発現ベクターpET-21(+)-HIGM1 を導入して作製した OYC-GM1 株を利用して生産された酸性ホスファターゼである。本添加物は、リン酸モノエステルを加水分解するほか、特定の基質に対して高い反応特異性を有する酵素であり、サプリメント原料の製造に使用される。

「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、挿入遺伝子により発現す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、「OYC-GM1 株を利用して生産された酸性ホスファターゼ」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：OYC-GM1 株を利用して生産された酸性ホスファターゼ
用 途：サプリメント原料の製造
申請者：オリエンタル酵母工業株式会社
開発者：オリエンタル酵母工業株式会社

本添加物は、酸性ホスファターゼの生産能を保有させるために、*Escherichia coli* BL21 (DE3)株を宿主として、*Haemophilus influenzae* 由来の酸性ホスファターゼ遺伝子を含む発現ベクターpET-21(+)-HIGM1を導入して作製した OYC-GM1 株を利用して生産された酸性ホスファターゼである。本添加物は、リン酸モノエステルを加水分解するほか、特定の基質に対して高い反応特異性を有する酵素であり、サプリメント原料の製造に使用される。

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：酸性ホスファターゼ

基 原：*Aspergillus oryzae*

有効成分：酸性ホスファターゼ

IUB No.：EC 3. 1. 3. 2

CAS No.：9001-77-8

(2) 製造方法

酸性ホスファターゼは、糸状菌の培養液から抽出され、除菌及びエタノール処理により製造される。

(3) 用途及び使用形態

酸性ホスファターゼは、積極的に産業利用されていないが、フィターゼ製剤中に混在しており、米、麦、大豆等の穀類から醤油等を醸造加工する際に用いられ、フィターゼとともにフィチンをイノシトール及びリン酸に加水分解することで、澱の発生を抑制する（参照 1）。

(4) 摂取量

フィターゼ製剤が醤油等の製造工程における加工助剤として用いられる場合の最終製品中の酸性ホスファターゼの残存量に関するデータはない。

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、*E. coli* B 株の誘導体である *E. coli* BL21(DE3)株である。*E. coli* BL21(DE3)株は、λファージ DE3 の溶原菌である（参照 2）。

(2) DNA 供与体の種名、株名又は系統名等及び由来

本酸性ホスファターゼ遺伝子の供与体は、*H. influenzae* である。SD 配列は、*E. coli* の配列を基に合成されている。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

本酸性ホスファターゼ遺伝子は、特定の基質に対して高い反応特異性を有する酸性ホスファターゼ（HIGM1）を発現する。SD 配列は、目的遺伝子の発現を高める目的で用いられた。これら遺伝子を挿入した発現ベクター pET-21(+)-HIGM1 を、塩化カルシウム法により宿主に導入した。

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

E. coli BL21(DE3)株は、GRAS 認定された β-ガラクトシダーゼの生産菌として用いられている（参照 3）。

4. 宿主の構成成分等に関する資料

E. coli B 株及びその由来株は、有害生理活性物質を生産するという報告はない。

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：HIGM1

有効成分：酸性ホスファターゼ

IUB No.：EC 3. 1. 3. 2

CAS No.：9001-77-8

(2) 製造方法

HIGM1 は、OYC-GM1 株を生産菌として、培養、濃縮、ろ過等の工程を経て製造される。生産菌は、除菌ろ過により、分離・除去される。

(3) 用途及び使用形態

HIGM1 は、サプリメント原料を製造する際の加工助剤として使用され、製造工程において検出限界（3 ppm）未満に除去される（参照 4）。サプリメント製品の摂取量を 1 日当たり 500 mg と仮定するとともに、当該製品中に HIGM1 が最大 3 ppm 残存すると仮定した場合の一日最大摂取量は、0.027 µg/kg 体重/日と試算されている。

(4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較

HIGM1 は、従来の酸性ホスファターゼと同じくリン酸モノエステルを加水分解する酵素であるが、特定の基質に対して高い反応特異性を有する点が従来の添加物と異なる（参照 5、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

(1) 遺伝子組換え添加物と従来の添加物

HIGM1 と従来の添加物である酸性ホスファターゼとの相違点は、構造遺伝子の基原が異なり、特定の基質に対する反応特異性が異なる点である。

(2) 組換え体と宿主

E. coli OYC-GM1 株と宿主との相違点は、*E. coli* OYC-GM1 株には発現ベクター pET-21(+)-HIGM1 が導入されており、HIGM1 を発現する点及びアンピシリン耐性を有する点である。

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、*E. coli* BL21(DE3)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

E. coli B 株の病原性や毒素の産生性等は知られておらず、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（BSL）1 に該当する（参照 7）。*E. coli* B 株に組み込まれた λファージ DE3 は、*E. coli* を宿主とするバクテリオファージであるため、ヒトの細胞に感染することはなく、病原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

E. coli B 株が腸管内に定着することは知られていない。

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

E. coli B 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

E. coli は、環境中に存在する細菌の主要な種の 1 つであり、ヒトなどの腸内細菌でもある。*E. coli* の多くは無害であるが、病原性大腸菌の存在が知られている（参照 8）。

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

発現ベクターpET-21(+)-HIGM1の作製には、pBR322に由来するプラスミドpET-21(+)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pET-21(+)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pET-21(+)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pET-21(+)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pET-21(+)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pET-21(+)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pET-21(+)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

本酸性ホスファターゼ遺伝子の供与体は、*H. influenzae*である。SD配列は、*E. coli*の配列を基に合成されている。

(2) 安全性に関する事項

本酸性ホスファターゼ遺伝子の供与体である *H. influenzae* は、病原性を引き起こす非莢膜株で共通してみられるアドヘシンを欠損した株として、BSL1に該当する。全遺伝子配列が解読されており、*H. influenzae*の研究に有用であるとの報告がある（参照9、10）。なお、野生型の *H. influenzae* はBSL2に分類されている（参照11）。

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若しくは合成方法に関する事項

本酸性ホスファターゼ遺伝子は、*H. influenza* 由来の酸性ホスファターゼ遺伝子の塩基配列に基づいて合成されている。SD 配列は、*E. coli* の SD 配列に基づいて合成されている。

(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

挿入 DNA 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 12）。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

本酸性ホスファターゼ遺伝子が発現する HIGM1 は、リン酸モノエステルを加水分解するほか、特定の基質に対して高い反応特異性を有する。なお、本酸性ホスファターゼ遺伝子は、GILSP 遺伝子組換え微生物の挿入 DNA として掲載されている（参照 13）。

① 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

HIGM1 について、アレルギー誘発性の可能性を調べるために文献検索^aを行った結果、アレルギー誘発性を示唆する文献はなかった。

② 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

HIGM1 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に、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結果、連続する 80 アミノ酸配列で 35%以上の相同性を示すとともに、連続する 8 アミノ酸以上の配列が一致したアレルゲンとして、ウシアブ (*Tabanus yao*) 由来の Tab y 1.0101 及びネッタイシマカ (*Aedes aegyptii*) 由来の Aed a 1 が、両条件において検出された（参照 14）。また、連続する 8 アミノ酸以上の配列が一致したアレルゲンとして、ナミテントウ (*Harmonia axyridis*) 由来 Har a 2.0101 が検出された。ただし、いずれの連続する 8 アミノ酸もエピトープとして報告されておらず、アレルギー誘発性の可能性は低いと考えられた（参照 15、16、17）。

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

HIGM1 の人工胃液中での消化性について確認するために、SDS-PAGE 分析を行った結果、試験開始後 0.5 分以内に分解されることが示された（参照 18）。

^a データベース : PubMed

^b Structural Database of Allergenic Proteins (SDAP) based on FAO/WHO Allergenicity Rules (検索日 : 2016 年 9 月)

b. 人工腸液に対する感受性

HIGM1 の人工腸液中での消化性について確認するために、SDS-PAGE 分析を行った結果、試験開始後 6 時間で 84.2%が分解されることが示された（参照 18）。

c. 熱安定性試験

HIGM1 の熱安定性を確認するために、25°C~70°Cにて 10 分間加熱処理後の酵素活性を測定した結果、60°C10 分間の熱処理で、95%以上の活性を失うことが示された。

以上のことから総合的に判断し、HIGM1 はアレルギー誘発性を有する可能性は低いものと考えられた。

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

本酸性ホスファターゼ遺伝子のプロモーターは、T7 phage 由来の T7 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

本酸性ホスファターゼ遺伝子のターミネーターは、T7 phage 由来の T7 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

本酸性ホスファターゼ遺伝子の翻訳効率を向上させるために、SD 配列を本遺伝子上流に挿入した。

4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

発現ベクター pET-21(+)-HIGM1 は、プラスミド pET-21(+) に本酸性ホスファターゼ遺伝子及び SD 配列を挿入することによって作製された（参照 19）。

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

発現ベクター pET-21(+)-HIGM1 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（参照 20）。

(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

発現ベクター pET-21(+)-HIGM1 の酸性ホスファターゼ遺伝子領域について、目的以外のオープンリーディングフレーム (ORF) の有無を調べるため、5'近傍配列を含む領域及び 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が合計21個見いだされた。これらのORFについてタンパク質データベース^cを用いてblastp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21)。また、アレルゲンデータベース^dを用いて相同性検索を行った結果、80アミノ酸残基で35%以上の相同性を示すORF及び連続した8アミノ酸配列が完全に一致するORFは検出されなかった(第4-2-(3)-②に示すORFを除く)。

発現ベクターpET-21(+)-HIGM1の全配列についてORF検索を行った結果、6つの読み枠において開始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36個見いだされた。これらのORFについてタンパク質データベース^cのblastp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22)。また、アレルゲンデータベース^dを用いて相同性検索を行った結果、80アミノ酸残基で35%以上の相同性を示すORF及び連続した8アミノ酸配列が完全に一致するORFは検出されなかった。

(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

意図する挿入領域は、発現ベクターpET-21(+)-HIGM1の全領域である。

(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

発現ベクターpET-21(+)-HIGM1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

発現ベクターpET-21(+)-HIGM1を用いて、塩化カルシウム法により*E. coli* BL21(DE3)株を形質転換した。アンピシリン耐性を示すクローンを選抜し、HIGM1の発現を確認後、OYC-GM1株を選抜した。OYC-GM1株では、pET-21(+)-HIGM1は染色体外にプラスミドとして存在し、維持されている。

7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

(1) 遺伝子及び遺伝子産物の特性に関する事項

発現ベクターpET-21(+)-HIGM1には、アンピシリン耐性遺伝子が存在するが、宿主染色体には導入されていない。アンピシリン耐性遺伝子は、GILSP遺伝子組換え微生物の挿入DNAとして掲載されている(参照13)。

^c NCBI: Non-redundant protein sequences(nr) (検索日: 2017年3月及び6月)

^d Structural Database of Allergenic Proteins (SDAP) based on FAO/WHO Allergenicity Rules (検索日: 2017年6月)

(2) 遺伝子及び遺伝子産物の摂取に関する事項

OYC-GM1 株での HIGM1 の安定生産を目的として、培養液中に 50 µg/mL のアンピシリンを添加している。HIGM1 製剤中のアンピシリンの残存試験を行った結果、定量限界 (0.01 mg/kg) 未満であった (参照 23)。また、HIGM1 製剤中のアンピシリン耐性遺伝子の混入を調査するために、アンピシリン耐性遺伝子をプローブとしたドットブロット分析を行った結果、検出限界 (2.5 pg/µL) 未満であった (参照 24)。

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

OYC-GM1 株は、発現ベクター pET-21(+)-HIGM1 をプラスミド DNA として有し、アンピシリン耐性及び HIGM1 生産能を有す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

発現ベクター pET-21(+)-HIGM1 の塩基配列及び制限酵素地図は明らかになっている (参照 20)。

(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

第 4-5-(2) に記載のとおりである。

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

HIGM1 の製造原料及び製造器材は、体外診断用医薬品原料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

HIGM1 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があることから、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

HIGM1 は、欧米等において認可されていない。

2. 組換え体の残存に関する事項

プレート塗布法により、HIGM1 の製剤中にアンピシリン耐性菌が検出されないことが確認された。また、ドットブロット分析により、HIGM1 の製剤中に生産菌の染色体 DNA が残存しないことが確認された。

3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項

HIGM1 の生産菌株及び製造原料の安全性は確認されており、HIGM1 に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

HIGM1 は、生産菌の培養物を菌体破碎、精製、濃縮、脱塩、ろ過等の工程を経ることで得られる。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

HIGM1 において、含有量の変動により有害性が示唆される常成分は知られていない。

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は得られている。

Ⅲ. 食品健康影響評価結果

「OYC-GM1 株を利用して生産された酸性ホスファターゼ」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. 食品用酵素データ集 (シーエムシー出版) 第5編 第26章 酸性ホスファターゼ p.211-212
2. Studier FW *et al.*, Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes. *J Mol Biol.*, 189(1):113-130 (1986)
3. Agency Response letter GRAS Notice No. GRN 000485 2014
4. HIGM1 の残存量確認試験 (社内文書)
5. HIGM1 の酵素活性に関する報告書 (社内文書)
6. *** *Biochem. J.*, ***
7. 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」2010 6月
8. 山崎伸二 密接にかかわる腸管出血性大腸菌の病原性と生存戦略 *Jpn. J. Food Microbiol.*, 31(3):139-143 (2014)
9. Fleischmann RD, *et al.*, Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science*, 269: 496-512 (1995)
10. Daines DA *et al.*, *Haemophilus influenzae* Rd KW20 has virulence properties. *J Med Microbiol.*, 52(Pt 4):277-282 (2003)
11. 日本細菌学会ホームページ 平成28年11月現在「病原細菌のBSL」 (抜粋)
12. 挿入DNAの塩基配列とアミノ酸配列 (社内文書)
13. 遺伝子組換え生物等の第二種使用等のうち産業上の使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令別表第一号の規定に基づき経済産業大臣が定める GILSP 遺伝子組換え微生物 平成28年11月24日 経済産業省告示第283号
14. FAO/WHO Allergenicity Rules based on Sequence Homology FASTA alignments for an 80 amino acids sliding window -Full FASTA alignment- (社内文書)
15. 中村亮介ら 新規統合型アレルギーデータベース Allergen Database for Food Safety (ADFS) の構築. *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, 123, 32-36 (2005)
16. ALLERGEN NOMENCLATURE Allergen Details: Tab y 1, Aed a 1 (社内文書)
17. ALLERGEN NOMENCLATURE Allergen Details: Har a 2 (社内文書)
18. HIGM1 の安全性評価に関わる報告書 (人工胃液試験、人工腸液試験) (社内文書)
19. 発現ベクターの作製方法 (社内文書)
20. pET21(+)-HIGM1 塩基配列 (社内文書)
21. HIGM1 遺伝子の各フレームの BLAST 検索結果 (社内文書)
22. pET21(+)-HIGM1 の各フレームの BLAST 検索結果 (社内文書)
23. 分析報告書 (HIGM1 のアンピシリン残留試験) (社内文書)
24. HIGM1 の安全性評価に関わる報告書 (ドットブロット試験) (社内文書)