

府食第343号
令和5年5月31日

厚生労働大臣
加藤 勝信 殿

食品安全委員会
委員長 山本 茂貴

食品健康影響評価の結果の通知について

令和5年1月10日付け厚生労働省発生食0110第3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添加物「*Geobacillus stearothermophilus* TP7株を利用して生産されたプロテアーゼ」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1のとおりです。

また、本件に関して行った国民からの意見・情報の募集において、貴省に関連する意見・情報が別添2のとおり寄せられましたので、お伝えします。

記

「*Geobacillus stearothermophilus* TP7株を利用して生産されたプロテアーゼ」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、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。

以上のことから、「*Geobacillus stearothermophilus* TP7株を利用して生産されたプロテアーゼ」は、人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

Geobacillus stearothermophilus
TP7 株を利用して生産された
プロテアーゼ

令和5年（2023年）5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	7
4. 宿主の構成成分等に関する資料	7
5. 遺伝子組換え添加物の性質及び用途等に関する資料	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	8
1. 分類学上の位置付け（種名（学名）・株名等）に関する事項	8
2. 病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項	8
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	9
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	10
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	11
4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項	12
5. 構築された発現ベクターに関する事項	12
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	13
1. 宿主との差異に関する事項	13
2. 遺伝子導入に関する事項	13
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	14

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	14
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.....	14
第7. 遺伝子組換え添加物に関する事項.....	14
1. 諸外国における認可、食用等に関する事項.....	14
2. 組換え体の残存に関する事項.....	14
3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項.....	14
4. 精製方法及びその効果に関する事項.....	14
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	15
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	15
Ⅲ. 食品健康影響評価結果	15
<参照>	16

<審議の経緯>

- 2023年1月10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0110第3号）、関係書類の接受
- 2023年1月17日 第885回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2023年2月17日 第233回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2023年4月18日 第896回食品安全委員会（報告）
- 2023年4月19日から5月18日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2023年5月24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
- 2023年5月30日 第900回食品安全委員会（報告）
（5月31日付け厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

- 山本 茂貴（委員長）
- 浅野 哲（委員長代理 第一順位）
- 川西 徹（委員長代理 第二順位）
- 脇 昌子（委員長代理 第三順位）
- 香西 みどり
- 松永 和紀
- 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）
- 山川 隆（座長代理）
- 安達 玲子 近藤 一成
- 岡田 由美子 佐々木 伸大
- 小野 道之 樋口 恭子
- 小野 竜一 藤原 すみれ

<第233回遺伝子組換え食品等専門調査会専門参考人名簿>

- 児玉 浩明（千葉大学大学院園芸学研究科教授）
- 手島 玲子（岡山理科大学獣医学部教授）

要 約

「*Geobacillus stearothermophilus* TP7 株を利用して生産されたプロテアーゼ」について、食品健康影響評価を実施した。

本添加物は、*Geobacillus stearothermophilus* TP1 株由来の変異育種株 TP5 株を宿主として、*G. stearothermophilus* TP1 株由来の変異育種株 TP3 株由来のプロテアーゼ遺伝子を導入することで作製した *G. stearothermophilus* TP7 株を利用して生産されたプロテアーゼである。本添加物は、タンパク質のペプチド結合をエンド型で加水分解し、ペプチドやアミノ酸を生成する酵素であり、食品加工に使用される。

「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、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、「*Geobacillus stearothermophilus* TP7 株を利用して生産されたプロテアーゼ」は、人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

(申請内容)

名称：*Geobacillus stearothermophilus* TP7 株を利用して生産されたプロテアーゼ

用途：タンパク質の分解

申請者：天野エンザイム株式会社

本添加物は、*Geobacillus stearothermophilus* TP1 株由来の変異育種株である *G. stearothermophilus* TP5 株を宿主として、*G. stearothermophilus* TP3 株由来のプロテアーゼ遺伝子を導入することで作製した *G. stearothermophilus* TP7 株を利用して生産されたプロテアーゼである。本添加物は、金属プロテアーゼの一種であるサーモリシンであり、動植物及び微生物由来のタンパク質及びペプチドをエンド型で加水分解する酵素として食品加工に使用される。

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 of 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：プロテアーゼ（サーモアーゼ）

生産菌：*Geobacillus stearothermophilus*

有効成分：サーモリシン

EC No.：EC 3.4.24.27

CAS No.：9073-78-3

(2) 製造方法

サーモアーゼは、培養工程、ろ過等の製造工程を経た上で、製剤化される。なお、生産菌及び菌体成分は、ろ過等の精製工程を経て除去される。

(3) 用途及び使用形態

サーモリシンは、動植物及び微生物由来のタンパク質及びペプチドをエンド型で加水分解する、金属プロテアーゼの一種である。

サーモリシンは、加工食品の製造に用いられるタンパク質加水分解物（ペプチド、アミノ酸液等）を生産する際には、製造工程の加熱処理において酵素は失活する。

(4) 摂取量

既存のプロテアーゼ製品（サモアーゼ PC10F）が全て本添加物を用いた製品に置き換わり、全ての「乳加工食品、卵加工食品、肉加工食品、魚加工食品、豆類加工食品、酵母エキス、植物蛋白分解物、動物蛋白分解物、植物代替肉、乳蛋白及びパン」^aの製造に使用され、最終製品中に 100% 残存すると仮定した場合、推定一日摂取量は 0.243 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、*G. stearothermophilus* TP1 株を由来とする変異育種株である *G. stearothermophilus* TP5 株である。*G. stearothermophilus* TP1 株は、自然界から分離された菌株である。（参照 2）

(2) DNA 供与体の種名、株名又は系統名等及び由来

サーモリシン (*TLN*) 遺伝子の供与体は、*G. stearothermophilus* TP1 株を由来とする変異育種株である *G. stearothermophilus* TP3 株である。
クロラムフェニコール耐性遺伝子の供与体は、*Staphylococcus aureus* である。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

TLN 遺伝子は、*G. stearothermophilus* TP3 株由来のプロテアーゼをコードする。クロラムフェニコール耐性遺伝子は、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (CAT) をコードする。

クロラムフェニコール耐性遺伝子及び *TLN* 遺伝子発現カセットを含む遺伝子導入用ベクター pTI3 を電気穿孔法により宿主に導入して得られた株に対して、N'-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (NTG) を用いた変異育種によりランダムに変異が導入されることで、クロラムフェニコール感受性を獲得した株が得られ、さらに、NTG を用いた変異育種によりプロテアーゼ生産性が向上した *G. stearothermophilus* TP7 株（生産株）が得られた。（参照 3）

^a 令和元年国民健康・栄養調査報告（厚生労働省、公表 2020 年）。第 5 表の 1（食品群別摂取量－食品群，年齢階級別，平均値，標準偏差，中央値－総数，1 歳以上）「乳類（食品群番号 71～75 番）」、「卵類（食品群番号 70 番）」、「肉類（食品群番号 61～69 番）」、「魚類（食品群番号 48～60 番）」、「豆類（食品群番号 18～23 番）」、「その他調味料（食品群番号 97 番）」、「その他乳製品（食品群番号 74 番）」、「パン類・菓子パン類（食品群番号 4 番、5 番）」に該当する。

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

G. stearothermophilus TP5 株は、食品や食品用酵素の製造において、長年にわたり安全に使用されている。また、*G. stearothermophilus* TP5 株は、プロテアーゼの生産菌として用いられている。

4. 宿主の構成成分等に関する資料

G. stearothermophilus が有害生理活性物質及び栄養阻害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 4）

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。

名 称：サモアーゼ（便宜上「新サモアーゼ製品」という。）

生 産 菌：*Geobacillus stearothermophilus* TP7 株

有効成分：サーモリシン

EC No.：EC 3.4.24.27

CAS No.：9073-78-3

(2) 製造方法

新サモアーゼ製品は、従来の添加物と同様に、培養工程、ろ過等の製造工程を経た上で、製剤化される。生産菌及び菌体成分は、ろ過や精製工程を経て除去される。さらに、組換え体の不活化工程が加えられる。

(3) 用途及び使用形態

新サモアーゼ製品は、従来の添加物と同様に、食品加工において、加工助剤として使用される。

(4) 有効成分の性質及び従来の添加物との比較

新サモアーゼ製品は、従来の添加物と同様に、タンパク質を加水分解する。

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

遺伝子組換えサーモリシンと従来のサーモリシンのアミノ酸配列は同一である。（参照 5）

(2) 組換え体と宿主

G. stearothermophilus TP7 株と宿主 *G. stearothermophilus* TP5 株との相違点は、*G. stearothermophilus* TP7 株にはプロテアーゼ遺伝子が導入され、プロテアーゼの高生産能を獲得している点である。

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、*G. stearothermophilus* TP5 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

G. stearothermophilus が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い。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 4）

3. 寄生性及び定着性に関する事項

G. stearothermophilus 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

G. stearothermophilus 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

Geobacillus 属の細菌にバクテリオシンを産生する菌株があることが、近年報告されている（参照 6）。バクテリオシンには抗菌活性があるが、新サモアゼ製品に抗菌活性は認められないことを確認している。（参照 7）

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 pTI3 の作製には、*Escherichia coli* 由来のプラスミド pDK1 が用いられた。pDK1 の作製には、*E. 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 pDK1 の塩基数及び塩基配列は、明らかになっている。(参照 8)

(2) 制限酵素による切断地図に関する事項

プラスミド pDK1 の制限酵素による切断地図は、明らかになっている。(参照 9)

(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 pDK1 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 pDK1 には、クロラムフェニコール耐性遺伝子が含まれている。(参照 9)

(5) 伝達性に関する事項

プラスミド pDK1 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 pDK1 の複製開始配列は、大腸菌及び近縁種である *Salmonella* 属及び *Serratia* 属で機能する。(参照 10)

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

TLN 遺伝子の供与体は、*G. stearothermophilus* TP3 株である。
クロラムフェニコール耐性遺伝子の供与体は、*S. aureus* である。

(2) 安全性に関する事項

G. stearothermophilus は、長年の使用経験があり、ヒトに対する病原性及び毒素産生性は知られていない。また、*G. stearothermophilus* TP3 株及びその菌株系統は、プロテアーゼの生産菌として長年にわたり安全に使用されている。

S. aureus は、国立感染症研究所病原体等安全管理規程における BSL2 に相当するが、*S. aureus* のクロラムフェニコール耐性遺伝子が毒素産生性を示す報告はない。また、その遺伝子産物であるクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼに病原性を示す報告はない。

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

（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

TLN 遺伝子は、*G. stearothermophilus* TP3 株より PCR 法により得られた。

クロラムフェニコール耐性遺伝子は、*S. aureus* 由来のクロラムフェニコール耐性遺伝子である。

（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

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 11）

（3）挿入遺伝子の機能に関する事項

① *TLN* 遺伝子

TLN 遺伝子がコードする TLN は、タンパク質のペプチド結合をエンド型で加水分解し、ペプチドやアミノ酸を生成させる酵素である。

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

G. stearothermophilus のアレルギー誘発性の可能性を調べるために文献検索^b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

G. stearothermophilus 由来のサーモリシンのアレルギー誘発性の可能性を調べるために文献検索^b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。

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

遺伝子組換えサーモリシンの人工胃液中での消化性を調べる目的で、SDS-PAGE（CBB 染色）を行った。その結果、試験開始後 30 秒以内にバンドが消失したため、分解されることが示された。（参照 12）

（b）人工腸液に対する感受性

遺伝子組換えサーモリシンの人工腸液中での消化性を調べる目的で、SDS-PAGE（CBB 染色）を行った。その結果、2 時間の処理によって分解されることが示された。（参照 13）

（c）加熱処理に対する感受性

遺伝子組換えサーモリシンの加熱処理に対する感受性を調べる目

^b PubMed（検索：2022 年 10 月）

的で、pH8.0 の各温度帯で処理した後の活性を測定した。その結果、80℃で 20 分間処理することで、完全に失活することが示された。(参照 14)

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

遺伝子組換えサーモリシンと既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を調べるため、アレルゲンデータベース^c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認められなかった。(参照 15)

一方、連続する 8 アミノ酸配列が完全に一致する既知のアレルゲンとして、ジャガイモ由来の Sola t2 が認められた(参照 15)。ジャガイモ由来のアレルゲンとして Sola t1～t4 が知られているが、主要なアレルゲンは Sola t1 とされている(参照 16)。詳細は、第 5-2-(2) に記載のとおりである。

以上の結果及び *G. stearothermophilus* 由来サーモリシンを有効成分とする既存食品用酵素の使用実績から、遺伝子組換えサーモリシン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

TLN 遺伝子のプロモーターは、*G. stearothermophilus* TP3 株由来のプロテアーゼ遺伝子のプロモーターである。クロラムフェニコール耐性遺伝子のプロモーターは、*S. aureus* 由来である。

(2) ターミネーターに関する事項

TLN 遺伝子のターミネーターは、*G. stearothermophilus* TP3 株由来のプロテアーゼ遺伝子ターミネーター配列である。クロラムフェニコール耐性遺伝子のターミネーターは、*S. aureus* 由来である。

(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
該当する配列はない。

^c Allergen Online、SDAP (Structural Database of Allergenic Proteins) 及び Allermatch (検索：2022 年 10 月)

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、*S. aureus* 由来のクロラムフェニコール耐性遺伝子を挿入することにより、プラスミド pDK1 を作製した。プラスミド pDK1 に、*G. stearothermophilus* TP3 株由来のプロテアーゼ遺伝子断片を挿入することにより、遺伝子導入用ベクター pTI3 を作製した。（参照 3）

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 pTI3 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 17、18）

(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

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 pTI3 上の意図する挿入領域は、プロテアーゼ遺伝子発現カセットとクロラムフェニコール耐性遺伝子を含む pTI3 上の全配列である。（参照 19）

(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 pTI3 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

電気穿孔法を用いて遺伝子導入用ベクター pTI3 を宿主に導入後、クロラムフェニコール含有培地にて選抜し、NTG 処理による複数段階の変異育種を経て、*G. stearothermophilus* TP7 株を得た。（参照 3）

7. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

生産菌株である *G. stearothermophilus* TP7 株は変異育種の過程でクロラムフェニコール耐性を喪失し、クロラムフェニコール感受性となっていることが確認された。

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

G. stearothermophilus TP7 株は、プロテア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

G. stearothermophilus TP7 株の染色体上の遺伝子挿入領域の各構成要素及び制限酵素による切断地図は明らかになっており、*TLN* 遺伝子は 1 コピー挿入されている。(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

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。）の有無を調べる目的で、各標的遺伝子導入座における挿入 DNA の 5'近傍配列領域を含む領域及び 3'近傍配列を含む領域について、ORF 検索を行った。その結果、6 つの読み枠において、終始コドンから終止コドンまでで終結する連続する 30 アミノ酸以上の ORF を検索した。導入された遺伝子により新たに生じる 91 種類の ORF が確認された。(参照 21)

上記の ORF と既知のアレルゲンとの相同性の有無を調べる目的で、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。その結果、連続する 80 アミノ酸配列に対して 35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは認められなかった。また、連続する 8 アミノ酸配列が完全に一致する既知のアレルゲンとして、第 4-2-(3)に記載の *Sola t2* が認められた。しかしながら、このアレルゲンに対して相同性を示した ORF は、宿主ゲノム DNA の一部であり、遺伝子導入によって新たに生じたものではないことから、アレルギー誘発性を有する可能性は従来の添加物と同等に低いと考えられた。(参照 21)

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調べる目的で、タンパク質データベース^eを用いて E-value<10 を指標として相同性検索を行った。その結果、1 個の ORF において既知のタンパク質との相同性が認められたが、同タンパク質はプラスミドベクター pUC19 の配列の一部であり、pUC19 が毒性を有するタンパク質を産生することは知られていないことから、毒性を有する可能性は低いと考えられた。(参照 21)

^d 国立医薬品食品衛生研究所アレルゲンデータベース (ADFS: Allergen Database for Food Safety) (検索: 2023 年 2 月)

^e NCBI データベース (検索: 2023 年 1 月)

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

新サモアーゼ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にわたり安全に利用されているものである。

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

新サモアーゼ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にわたり安全に利用されており、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

新サモアーゼ製品は、海外において認可を受けていない。

2. 組換え体の残存に関する事項

新サモアーゼ製品中に組換え体の残存がないことを培養法により確認している。（参照 22）

また、製造工程における処理により、組換え体の 99.9%以上が不活化することを確認している。（参照 23）

新サモアーゼ製品中に組換え DNA の残存がないことをドットプロット解析により確認している。（参照 24）

一方、PCR 解析では、新サモアーゼ製品中に極微量の組換え DNA が残存することが認められた（参照 25）。しかしながら、本 PCR 解析による DNA 検出量は、欧州食品安全機関（EFSA）が示している検出限界 10 ng/g 以下（参照 26）に比べて低い濃度であった。製造工程における処理により組換え体は死滅することから、死滅した菌体から溶出した DNA の一部が残存した可能性が考えられる。

3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項

新サモアーゼ製品は、the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives（JECFA）の食品用酵素の規格値及び食品添加物公定書の規格基準を満たしている（参照 27）。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は含まれることはないと考えられる。

4. 精製方法及びその効果に関する事項

新サモアーゼ製品は、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

新サモアーゼ製品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

「*Geobacillus stearothermophilus* TP7 株を利用して生産されたプロテアーゼ」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、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。

以上のことから、「*Geobacillus stearothermophilus* TP7 株を利用して生産されたプロテアーゼ」は、人の健康を損なうおそれはないと判断した。

<参照>

1. 1日当たりの推定摂取量の計算（社内文書）
2. 井上國世. 酵素化学ことはじめ ～酵素の機能を解析し、創出し、産業へ応用する～Management & Technology for Creative Kyoto 2017.11, 15-16
3. *Geobacillus stearothermophilus* TP7 株の構築方法（社内文書）
4. 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」
5. プロテアーゼのアミノ酸配列比較（社内文書）
6. Zebrowska J, Witkowska M, Struck A, Laszuk PE, Raczuk E, Ponikowska M, et al. Antimicrobial potential of the genera *Geobacillus* and *Parageobacillus*; as well as endolysins biosynthesized by their bacteriophages. *Antibiotics* 2022; 11: 242
7. 抗菌活性の測定（社内文書）
8. pDK1の塩基配列（社内文書）
9. pDK1の制限酵素地図及び構成要素（社内文書）
10. Schäfer A, Tauch A, Jäger W, Kalinowski J, Thierbach G, Pühler A. Small mobilizable multi-purpose cloning vectors derived from the *Escherichia coli* plasmids pK18 and pK19: selection of defined deletions in the chromosome of *Corynebacterium glutamicum*. *Gene*, 1994; 145: p.69-73
11. 挿入遺伝子の制限酵素地図および塩基配列（社内文書）
12. 人工胃液による消化試験（社内文書）
13. 人工腸液による消化試験（社内文書）
14. 失活条件（社内文書）
15. プロテアーゼと既知アレルゲンとの相同性検索（社内文書）
16. Schmidt HHM, Raulf-Heimsoth M, Posch A. Evaluation of patatin as a major cross-reactive allergen in latex-induced potato allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002; 89(6): 613-8.
17. pTI3 の塩基配列（社内文書）
18. pTI3 の制限酵素地図（社内文書）
19. *Geobacillus stearothermophilus* TP7 株の全ゲノム配列解析（社内文書）
20. プロテアーゼ遺伝子の挿入領域の構成要素と制限酵素地図（社内文書）
21. 遺伝子挿入により生じる新規オープンリーディングフレーム（ORF）の確認（社内文書）
22. 生産菌の非生存確認試験報告書（社内文書）
23. 製造工程でのpH11 処理における死滅率（社内文書）
24. 組換え体の残存に関する確認試験（ドットブロット法）（社内文書）
25. 製品中の組換え体由来のDNA 残存確認（PCR による確認）（社内文書）
26. Scientific Guidance for the submission of dossiers on Food Enzymes.

<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2021.6851>
27. 申請品目のJECFA 規格項目の測定結果（社内文書）

「*Geobacillus stearothermophilus* TP7 株を利用して生産されたプロテアーゼ」に係る食品健康影響評価に関する審議結果（案）についての意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 令和5年4月19日～令和5年5月18日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 1件
4. 意見・情報及び食品安全委員会の回答

意見・情報※	食品安全委員会の回答
<p>遺伝子組換えについては、あまりに歴史が短く、科学的知見も蓄積していない状態で、「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」と言われても、信じられない。また参照資料も、大半が社内文書なので、なおさらあてになりません。</p>	<p>この食品健康影響評価は、食品安全基本法第11条第3項に基づき、その時点において到達されている水準の科学的知見に基づいて行ったものです。</p> <p>本添加物については、組換えDNA技術の応用に起因する新たな有害成分が含まれていないことを確認することが重要であり、「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が確認されていること、具体的には、挿入遺伝子の供与体、挿入される塩基配列が明らかであること、目的外の遺伝子の挿入がないこと等を確認しました。</p> <p>また、遺伝子挿入によって産生されるタンパク質の毒性やアレルギー誘発性についてデータベースや文献検索で確認されていること、アレルギー誘発性については、人工胃腸液試験で分解すること及び加熱</p>

	<p>によって生産されたプロテアーゼが完全に失活すること、その他に、製造原料又は製造器材について食品用酵素の製造に安全に使用されてきた経験がある等を確認しました。</p> <p>これらの結果、本添加物は非組換えプロテアーゼ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ことから、人の健康を損なうおそれはないと判断しました。</p> <p>また、食品健康影響評価は、申請者の提出した資料をもとに行いますが、これまでの科学的知見や海外での評価結果も踏まえ、資料の内容についての問題点、疑問点については説明や再提出を求めるとともに、調査会の審議において、資料の内容が不足していると判断された場合は、追加試験等のデータを含め必要な追加資料の提出を求めています。</p>
--	---

※ 頂いた意見・情報はそのまま掲載しています。