

遺伝子組換え食品等評価書

JPBL013 株を利用して生産された
 α -アミラーゼ

令和4年（2022年）11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	4
Ⅰ. 評価対象添加物の概要	5
Ⅱ. 安全性に係る知見の概要	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	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	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	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 な事項.....	15
Ⅲ. 食品健康影響評価.....	15
<参照>.....	16

<審議の経緯>

- 2022年6月20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0620第5号）、関係書類の接受
- 2022年6月28日 第864回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2022年8月26日 第227回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2022年12月6日 第881回食品安全委員会（報告）

<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227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）

要 約

「JPBL013株を利用して生産された α -アミラーゼ」について、食品健康影響評価を実施した。

本添加物は、*Bacillus licheniformis* Ca63株を宿主として、*Bacillus amyloliquefaciens* DSM7株由来の α -アミラーゼ遺伝子を導入することで作製したJPBL013株を利用して生産された α -アミラーゼである。本添加物は、グルコース重合体の α -1,4結合を加水分解し、デキストリン及びオリゴ糖を生成させる酵素であり、デンプン糖製造に使用される。

「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、「JPBL013株を利用して生産された α -アミラーゼ」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：JPBL013 株を利用して生産された α -アミラーゼ

用途：デンプン糖製造

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、*Bacillus licheniformis* Ca63 株を宿主として、*B. amyloliquefaciens* DSM7 株由来の α -アミラーゼ遺伝子を導入することで作製した JPBL013 株を利用して生産された α -アミラーゼである。本添加物は、グルコース重合体の α -1,4 結合を加水分解し、デキストリン及びオリゴ糖を生成させる酵素であり、デンプン糖製造のために使用される。

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： α -アミラーゼ (amyQ)

生産菌：*Bacillus amyloliquefaciens*

有効成分： α -アミラーゼ

IUB No. : EC 3.2.1.1

CAS No. : 9000-90-2

(2) 製造方法

amyQ は、培養、ろ過等の工程を経て製造される。生産菌は、除菌・ろ過により除去される。

(3) 用途及び使用形態

α -アミラーゼの一種である amyQ は、アミロースやアミロペクチン等のグルコース重合体の α -1,4-グルコシド結合のエンド型を加水分解する酵素である。

デンプン糖の製造において、主に液化する工程で amyQ を添加することで、デンプンがデキストリンまで分解されるため、デンプン糖製造を目的に、加工助剤として使用されている。なお、デンプン糖の製造工程において、amyQ は取り除かれる

(4) 摂取量

既存の α -アミラーゼ製品が全て本添加物を用いた製品に置き換わり、全ての「砂糖・甘味料類」^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、最大一日摂取量は 2.3 μg TOS (Total Organic Solids) / kg 体重/日である。

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* Ca63 株である。*B. licheniformis* Ca63 株は、自然界から分離された菌株である。

(2) DNA 供与体の種名、株名又は系統名等及び由来

α -アミラーゼ (*amyQ*) 遺伝子の供与体は、*B. amyloliquefaciens* DSM7 株である。*prsA* 遺伝子の供与体は、*B. licheniformis* Ca63 株である。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

amyQ 遺伝子は、*B. amyloliquefaciens* DSM7 株由来の α -アミラーゼ (*amyQ*) をコードする。*prsA* 遺伝子は、菌体外分泌を促進する細胞膜タンパク質である PrsA タンパク質をコードする。

amyQ 遺伝子発現カセット及び *amyQ-prsA* 遺伝子発現カセットをインテグラーゼにより宿主ゲノムのそれぞれの標的遺伝子座に導入した。その際、標的遺伝子座において遺伝子欠失が確認された。

加えて、*amyQ* 遺伝子発現カセットが相同組換えにより別の標的遺伝子座に導入された。

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

B. licheniformis 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 (参照 1)。また、*B. licheniformis* Ca63 株は、 α -アミラ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

B. licheniformis 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 1、2、3)。

^a 令和元年国民健康・栄養調査 (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) 砂糖・甘味料類 (食品群番号 17)

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：未定（便宜上「新 amyQ 製品」という。）

有効成分： α -アミラーゼ（遺伝子組換え amyQ）

IUB No. : EC 3.2.1.1

CAS No. : 9000-90-2

(2) 製造方法

新 amyQ 製品は、JPBL013 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

新 amyQ 製品は、従来の添加物と同様に、デンプン糖の製造において、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 amyQ 製品は、従来の添加物と同様に、デンプンを加水分解する。

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

本添加物の有効成分である遺伝子組換え amyQ と従来の amyQ のアミノ酸配列は同一である。

(2) 組換え体と宿主

JPBL013 株と宿主との相違点は、JPBL013 株は、*amyQ* 遺伝子が導入されており α -アミラーゼの高産生性を獲得している点、*prsA* 遺伝子を導入している点及び α -アミラーゼの生産性を高めるため複数の遺伝子を欠失している点である。

1 から 6 までから、本添加物並びに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* Ca63 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 BSL1 に相当する（参照 1、2、3）。

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

B. licheniformis 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 の近縁種には、*B. subtilis* 及び *B. pumilus* が知られているが、毒性物質を産生する *B. cereus* 等とは明確に区別されている（参照 4）。

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 pJPV049、pJPV050、pJPV051 及び pJPV052 の作製には、*Staphylococcus aureus* 由来のプラスミド pE194 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 pE194 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 pE194 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 pE194 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 pE194 には、エリスロ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 pE194 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 pE194 の複製開始配列は、*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
amyQ 遺伝子の供与体は、*B. amyloliquefaciens* DSM7 株である。
prsA 遺伝子の供与体は、*B. licheniformis* Ca63 株である。

- (2) 安全性に関する事項
B. amyloliquefaciens DSM7 株及び *B. licheniformis* Ca63 株は、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。これらは、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 1、2、3）。

2. 挿入 DNA 又は遺伝子（抗生物質耐性マーカを含む。）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
amyQ 遺伝子は、*B. amyloliquefaciens* DSM7 株より PCR 法により取得した。また、*B. licheniformis* Ca63 株由来の α -アミラーゼ遺伝子及び *B. amyloliquefaciens* DSM7 株由来の α -アミラーゼ遺伝子のシグナル配列を組み合わせた配列が分泌シグナル配列として付加されている。
prsA 遺伝子は、*B. licheniformis* Ca63 株より 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、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。

- (3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

① *amyQ* 遺伝子

amyQ 遺伝子がコードする amyQ は、デンプンの α -1,4-グルコシド結合を加水分解し、デキストリン及びオリゴ糖を生成させる酵素である（参照 5）。

- 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

B. amyloliquefaciens 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

amyQ 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。*B. amyloliquefaciens* 由来の α -アミラーゼ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) 人工胃腸液に対する感受性

amyQ は我が国において 25 年以上の使用実績があり、遺伝子組換え **amyQ** は従来の **amyQ** とアミノ酸配列が同じであることから、消化性試験は実施しなかった。

(b) 加熱処理に対する感受性

遺伝子組換え **amyQ** の加熱処理に対する感受性を調べる目的で、pH5.5 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（参照 6）。

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 **amyQ** 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として、真菌由来のアレルゲン(Asp o 21 及び Asp o 21.0101) が認められた。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は検出されなかった（参照 7～10）。

詳細は、第 5-2-(2) に記載のとおりである。

② *prsA* 遺伝子

prsA 遺伝子は、菌体外タンパク質の分泌を促進する細胞膜タンパク質である PrsA タンパク質をコードする（参照 11）。PrsA タンパク質についてアレルギー誘発性及び毒性を示唆する報告はない。また、既に安全性審査を終了した「NZYM-AV 株を利用して生産された α -アミラーゼ」の生産菌にも導入されている。

以上のことから、遺伝子組換え **amyQ** 及び PrsA タンパク質がアレルギー

^b PubMed、検索日：2021 年 6 月

^c ネブラスカ大学アレルゲンデータベース(The Food Allergy Research and Resource Program; FARRP, version 21)

一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

amyQ 遺伝子発現カセット及び *amyQ-prsA* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、*amyL4199* プロモーター、*amyQsc* プロモーター及び *cry3A* プロモーターで構成される P3 プロモーター配列である。*amyL4199* プロモーター及び *amyQsc* プロモーターは、それぞれ *B. liceniformis* Ca63 株由来の *amyL* プロモーター及び *B. amyloliquefaciens* DSM7 株由来の *amyQ* プロモーターに変異を導入したものである。*cry3A* プロモーターは、*B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* DSM5525 株に由来する *cry3A* 遺伝子の野生型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

amyQ 遺伝子発現カセット及び *amyQ-prsA* 遺伝子発現カセットのターミネーターは、*B. liceniformis* Ca63 株由来の *amyL* 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

amyQ 遺伝子発現カセット及び *amyQ-prsA* 遺伝子発現カセットにおいて、*B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* DSM5525 株由来の *cry3A* mRNA 安定化配列並びに *B. liceniformis* Ca63 株由来の *amyL* RBS 配列及び *prsA* RBS 配列を用いている。

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 pE194 に、*int* 遺伝子断片、*cry3A* mRNA 安定化配列断片、*amyL* RBS/*amyQ* 遺伝子断片又は *amyQ-prsA* 遺伝子断片等挿入することにより、遺伝子導入用ベクター pJPV049 及び pJPV050 を作製した。また、プラスミド pE194 に、標的遺伝子座領域の一部断片、*cry3A* mRNA 安定化配列断片、*amyL* RBS/*amyQ* 遺伝子断片等挿入することにより遺伝子導入用ベクター pJPV051 をプラスミド pE194 に、標的遺伝子座領域の一部断片、*cry3A* mRNA 安定化配列断片、P3 プロモーター断片等挿入することにより pJPV052 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 pJPV049、pJPV050、pJPV051 及び pJPV052

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 12～15）。

(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pJPV049、pJPV050、pJPV051及びpJPV052上の意図する挿入領域は、それぞれ *amyQ* 遺伝子発現カセット及び *amyQ-prsA* 遺伝子発現カセットを含む領域である。

(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

遺伝子導入用ベクターpJPV049、pJPV050、pJPV051及びpJPV052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

宿主ゲノムの *amyQ* 遺伝子及び *amyQ-prsA* 遺伝子導入標的遺伝子座に、あらかじめマーカー遺伝子発現カセット（P3プロモーター、*cry3A* mRNA安定化配列、マーカー遺伝子及びインテグラーゼ認識配列を含む。）を相同組換えにより導入し、マーカーにより選抜した。

その後、遺伝子導入用ベクターpJPV049及びpJPV050を導入し、インテグラーゼの作用により、*amyQ* 遺伝子発現カセット及び *amyQ-prsA* 遺伝子発現カセットを挿入し、エリスロマイシン耐性を示す形質転換体を選抜した。標的遺伝子座においては、*cry3A* mRNA安定化配列間でループアウトが生じ、マーカー遺伝子、インテグラーゼ遺伝子、インテグラーゼ認識配列及びエリスロマイシン耐性遺伝子が宿主ゲノムから脱落した。

さらに、遺伝子組換え *amyQ* の産生を促進するために、遺伝子導入用ベクターpJPV051及びpJPV052を用いて、残る標的遺伝子座に相同組換えにより *amyQ* 遺伝子発現カセットを挿入した。

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pJPV049、pJPV050、pJPV051及びpJPV052は、エリスロマイシン耐性遺伝子を持ち、pJPV049及びpJPV050では染色体に挿入されるが、ループアウトで脱落するため宿主の染色体には残存しない。pJPV051及びpJPV052のエリスロマイシン耐性遺伝子は宿主には挿

入されない。また、pJPV051ではスペクチノマイシン耐性遺伝子が染色体に導入されるが、相同組換えによって欠失した。

生産菌株にこれら抗生物質耐性マーカー遺伝子は存在しないことをシーケンス解析により確認している。

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

JPBL013株は、*amyQ* 遺伝子発現カセット及び *amyQ-prsA* 遺伝子発現カセットが導入され、また、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

JPBL013株の染色体上への *amyQ* 遺伝子発現カセット及び *amyQ-prsA* 遺伝子発現カセットの導入位置を確認する目的で、シーケンス解析を行った。その結果、設計通り各遺伝子座に全長の発現カセットが挿入されたことが確認された(参照16)。また、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。)の有無を調べる目的で、各標的遺伝子座における挿入DNA並びにこれらの5'近傍配列領域を含む領域、3'近傍配列を含む領域及び異種遺伝子断片が残存する遺伝子座領域についてORF検索を行った(参照7~10)。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までで終結する連続する30アミノ酸以上のORFが合計362個検出された。

次いで、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^cを用いて相同性検索を行った。その結果、連続する80アミノ酸配列に対して35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンAsp o 21及びAsp o 21.0101(参照7~10)並びにPin k 2.0101(参照7)が検出された。しかしながら、Asp o 21及びAsp o 21.0101は吸入をばく露経路とする呼吸器誘発性アレルゲンであり、Pin k 2.0101は宿主染色体の塩基配列から得られたORFであることから、食物アレルギー誘発性の懸念は小さいと考えられた。

なお、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は認められなかった。

^c ネブラスカ大学アレルゲンデータベース(The Food Allergy Research and Resource Program; FARRP, version 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^dを用いて $E\text{-value} < 1.0 \times 10^{-5}$ を指標として相同性検索を行った。その結果、データベース中の既知のタンパク質と相同性を示した ORF は認められなかったことから、毒性を有する可能性は低いと考えられた（参照 7～10）。

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 amyQ 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

新 amyQ 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、本製品の製造原料は、Food Chemicals Codex 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

従来の amyQ 製品は、日本を含む世界各国で 25 年以上にわたり販売され、食品用加工助剤として用いられている。新 amyQ 製品はフランスでは食品用加工助剤のポジティブリスト（参照 17）に、米国では GRAS のリストに、それぞれ収載されている。

2. 組換え体の残存に関する事項

新 amyQ 製品中に組換え DNA の残存がないことを PCR 分析により確認した（参照 18）。

3. 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項

遺伝子組換え amyQ の製品化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 19、20）。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

遺伝子組換え amyQ は、生産菌の培養物が、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

^d NCBI データベース（検索：2021 年 4 月）

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

遺伝子組換え amyQ 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は得られている。

Ⅲ. 食品健康影響評価結果

「JPBL013株を利用して生産された α -アミラーゼ」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）に基づき評価した結果、人の健康を損なうおそれはないと判断した。

<参照>

1. Chapter 4: Safety evaluation of foods and food ingredients derived from microorganisms. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 1990;12 (3Part2):S114-S128.
2. 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」
3. 国立感染症研究所病原体等安全管理規程 (改訂第三版)
4. Bacillus licheniformis TSCA Section 5(h)(4) Exemption: Final Decision Document. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/fra005.pdf> [accessed May 16, 2018]
5. 食品用酵素データ集. -取り扱い手法と実践-: 株式会社シーエムシー出版; 2013年7月31日
6. Temperature and pH activity profile and temperature stability of alpha-amylase (社内文書)
7. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL013 to allergens and toxins (社内文書)
8. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL013 to allergens and toxins (社内文書)
9. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL013 to allergens and toxins (社内文書)
10. Sequence homology of ORFs in the *** locus on the genome of JPBL013 to allergens and toxins (社内文書)
11. Kontinen VP, Sarvas M. The PrsA lipoprotein is essential for protein secretion in Bacillus subtilis and sets a limit for high - level secretion. Molecular Microbiology. 1993;8(4):727-737
12. 遺伝子導入ベクターpJPV049のDNA塩基配列並びに構成 (社内文書)
13. 遺伝子導入ベクターpJPV050のDNA塩基配列並びに構成 (社内文書)
14. 遺伝子導入ベクターpJPV051のDNA塩基配列並びに構成 (社内文書)
15. 遺伝子導入ベクターpJPV052のDNA塩基配列並びに構成 (社内文書)
16. JPBL013株の遺伝子挿入部位の塩基配列 (社内文書)
17. 仏国の食品用加工助剤ポジティブリスト

<https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000000271061>[access ed Dec 18, 2020]

18. Absence of residual DNA in the product (社内文書)
19. Characterization of Representative Batches from JPBL013 (社内文書)
20. Absence of GMM in the product (社内文書)