

# 食品安全委員会遺伝子組換え食品専門調査会

## 第43回会合議事録

1. 日時 平成18年12月18日(月) 14:00～15:11

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

(1) 食品健康影響評価について意見を求められた遺伝子組換え食品等の安全性評価について

- ・ ジェランガム K3B646
- ・ SPEZYME FRED™
- ・ L-バリン
- ・ L-ロイシン

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

早川座長、五十君専門委員、池上専門委員、今井田専門委員、宇理須専門委員、小関専門委員、橘田専門委員、澤田専門委員、澁谷専門委員、手島専門委員、丹生谷専門委員、山川専門委員、山崎専門委員、渡邊専門委員

(事務局)

齊藤事務局長、日野事務局次長、國枝評価課長、中山評価調整官、吉富課長補佐、浦野係長

5. 配布資料

資料1 食品健康影響評価に関する資料

- ・ 「ジェランガム K3B646」
- ・ 「L-バリン」
- ・ 「L-ロイシン」

参考資料1 安全性評価に係る指摘事項について

- ・ SPEZYME FRED™

6. 議事内容

○早川座長 それでは、定刻になりましたので、ただいまから、第43回「遺伝子組換え食品等専門調査会」を開催いたします。本調査会は非公開で行います。

本日は所用により、室伏専門委員が御欠席でございます。

食品安全委員会の委員の先生方にも御出席いただいております。審議の状況によりましては、御発言いただくこともあるかと思っておりますので、御了承いただきますようお願いいたします。

本日の議題であります。議題1として、12月5日に厚生労働省から添加物として申請のありましたL-バリン、L-ロイシン及び継続審査品目でありますジェランガム K3B646、SPEZYME FRED™ について、安全性の審査を行いたいと思っております。

それでは、お手元の資料の確認をいたします。事務局からお願いいたします。

○中山評価調整官 それでは、議事次第に基づきまして、配付資料の確認をさせていただきます。

配付資料ですが、議事次第が1枚ものでございます。続いて、座席表、専門委員の名簿。

資料1としまして「食品健康影響評価に関する資料」がございました。

参考資料1としまして、安全性評価に係る指摘事項について。これが1枚紙でございます。

机の上に紙ファイルにとじまして、参考資料としまして、先生方の机の上に置かせていただいております。このファイルにつきましては、調査会終了後に回収させていただきます。また後日、次回に配付させていただきたいと思っております。乱丁、落丁等ございましたら、事務局までお知らせいただきますよう、お願い申し上げます。

委員の先生方には、お手元の資料のほかに、本日御審査いただきます予定の品目につきまして、申請者作成の審査資料等を事前に送付させていただいております。

なお、本日審査を行う品目につきましては「食品安全委員会の公開について」に基づきまして、座長に資料内容の確認をいただき、企業の知的財産を侵害するおそれがある箇所が含まれているということで、非公開で審査を行っております。

また、会議は非公開となりますが、国民への説明責任や透明性の確保の観点から、開催予定日時等は公開し、会議が非公開である旨を明示しており、今後の情報提供として議事録を作成し、企業の知的財産を侵害するおそれがある箇所などを削除した上で速やかに公開する予定としております。

審議に用いました各種試験結果概要及び評価結果をまとめた評価書案を作成し、食品安全委員会に報告して公開していく予定としております。

以上でございます。

○早川座長 ありがとうございます。

それでは、早速審査を始めたいと思っております。議事次第では、ジェランガム K3B646 からの審査ということになっておりますが、アミノ酸類、すなわちL-バリンとL-ロイシンが新規品目として2品目申請されておりますので、まずはその2品目の審査を行いたいと思

ます。

この両品目につきましては、新規の審査品目でありますので、概要書に基づきまして、安全性を確認する。安全性について問題が残る場合は指摘事項を出す。一方、安全性に問題がないとされた場合は、評価書案の審査を行いたいと思います。

それでは、事務局、御説明をお願いいたします。

○浦野係長 それでは、申請者であります味の素から提出されております概要書につきまして、説明させていただきます。

お手元に「ID142 L-バリン」と「ID143 L-ロイシン」というピンクの表紙の資料を御用意いただければと思います。

まず「ID142 L-バリン」の方から御説明をさせていただきます。2ページほどめくっていただきますと、そこに目次が出ております。

「1. L-バリンの食品添加物としての概要」ということをごさいます、L-バリンにつきましては、指定添加物に該当してございまして、分子量等は以下のとおりと定められております。

「1-2 L-バリンの用途」といたしましては、食品分野では栄養補給を目的とするスポーツ栄養食品、飲料及び調味料等に用いられているということをごさいます。

「2. L-バリンの製造方法の概要」をごさいます。まずその生産菌であります VAL-No. 1 株の作製方法をごさいます、宿主といたしましては *Escherichia coli* K-12 株の突然変異株を用いているということをごさいます。この *E. coli* K-12 株は有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性等は知られておりません、OECD では優良工業製造規範が適用できる宿主微生物として定められております。

用いましたベクターといたしましては、mini-Mu ベクターを使用したということをごさいます。

「(3) 挿入遺伝子」。生産菌であります VAL-No. 1 株に挿入された遺伝子は、そこに書いてあるとおり A ~ I の 9 個の遺伝子を挿入したということをごさいます、いずれもその遺伝子の有害性等は知られていないということをごさいます。

この遺伝子につきましては、スクロースから L-バリンへの生産効率を高めることを目的として入れられたということをごさいます。これら 9 つの遺伝子につきましては 2 個のユニット、A、B、C、D が 1 ユニット、もう一つは E、F、G、H、I がもう一つのユニットということをごさいます。

(4) のプロモーター等につきましては、すべて *E. coli* 由来のものでございまして、これらの配列が有害な影響を及ぼす可能性は低い、生理活性を有さない配列であると考えております。

生産菌株といたしましては、これらのユニット 1 と 2 を宿主に導入し、生産菌株を得たということをごさいます。なお、生産菌株においては抗生物質耐性マーカーを有さないということです。

5 ページが「VAL-No.1 株構築について」ということをごさいますして、組み込みユニットの目的遺伝子のそれぞれの働き等につきましては、その四角のところに書いてあるとおりでございます。

「2-2 L-バリンの製造方法」でございます。発酵により得られたL-バリンの発酵液から、粗製工程において生産菌を系外に除去した結果、晶析、分離等を行うことで高純度のL-バリンを得ているということでございます。最終製品の純度は食品添加物の規格書を満足しているということでございます。

7 ページの「3. 申請品目と現行製品の実質的同等性の確認」でございます。L-バリンの規格書に基づく分析結果は下表のとおりでありまして、従来品と同等性を示しているということでございます。

「(2) L-Val 製品の不純物プロファイル比較結果」でございます。こちらは3つの分析方法で、アミノ酸自動分析計と液クロ法2モードを使って分析した結果、それぞれのプロファイル比較において不純物等を検知することはなかったということが結果としてまとめられております。

L-バリンについては、以上でございます。

○早川座長 それでは、ここで一旦切ってやりますか。

○浦野係長 はい。

○早川座長 それでは、次も同じようなものではあるんですが、これは、①アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性の添加物については、製品の精製度が指定添加物として告示されているアミノ酸と同等、もしくはそれ以上の高度な精製度であるということ。それから、②従来の添加物に比べ、既存の有効成分の含有量が当該添加物中で安全性上問題となる程度にまで有意に増加しておらず、かつ有害性が示唆される新たな非有効成分を含有しないこと。この2つの要件に該当するものではないかということでございますので、そういう観点から、もしコメント、御議論がございましたら、お願いいたします。いかがでしょうか。特にございませんか。

それでは、これについては先ほど申しました、正式には「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方」にのっとり、一般に安全性が確認されたと判断されるというカテゴリーに属するものであるということ、次に進めていきたいと思っております。

次のL-ロイシンについて、お願いします。

○浦野係長 では、次に「ID143 L-ロイシン」について御説明をさせていただきます。こちらの方も資料構成といたしましては、先ほどのL-バリンと同じ資料構成でございます。資料本文の1ページ目をめくっていただきますと、既存添加物として指定をされているということで、その内容を化学式等が記載されております。

こちらも使用目的といたしましては、先ほどのものと同じような飲料や調味料等に用いられるということでございます。

「2-1 L-ロイシン生産菌 LEU-No.1 株の作製方法」ですが、こちらもやはり同じように *E. coli* の K-12 株を用いているということでございます。

ベクターにつきましては、先ほど同じ mini-Mu ベクターを用いているということです。挿入遺伝子といたしましては、A ~ H のそれぞれ 8 個の挿入遺伝子を用いているということでございます。これらにつきましては、それぞれユニットごとにつくっているということでございます。

ユニットとしては 4 つのユニットで遺伝子の組換えを行っているということでございます。プロモーターやターミネーターにつきましては、先ほどと同じような *E. coli* 由来のものであるということでございます。

4 ページ目「(5) L-ロイシン生産菌株」といたしましては、その 1 ~ 4 のユニットを宿主に導入して生産菌の LEU-No.1 株を得ているということでございます。また、この株につきましても抗生物質耐性マーカーは有さないということでございます。

5 ページにそれぞれ組み込んだ遺伝子の目的等が記載されております。

「2-2 L-ロイシンの製造方法」につきまして、こちら先ほどと同じように発酵によって得られた L-ロイシンの発酵液から、粗製工程において生産菌を系外に抜いた後、晶析、分離等を行うことで高度に精製をしているということございまして、最終製品は食品添加物の規格書を満足しているということでございます。

7 ページが「3. 申請品目と現行製品の実質的同等性の確認」であります。そこに規格書の分析結果が載せられております。

「(2) L-ロイシン製品の不純物プロファイル比較結果」です。先ほどと同じように、アミノ酸自動分析と液クロ法の 2 モードで現行品と申請品目の不純物のプロファイル比較を行ったところ、不純物は検出されなかったということでございます。

以上でございます。

○早川座長 ありがとうございます。

これも申請者としては、先ほど読み上げました要件の①と②に該当するものではないかという申請でございますが、いかがでございましょうか。何か御意見、コメントがございましたら、お願いいたします。よろしゅうございますか。

それでは、それぞれ先ほど申し上げました「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方」の①、②の要件を満たすものであるということでもありますので、そういった意味で安全性上問題がないということでもあります。これについては資料 1 に評価書案がございます。その審査に早速入りたいと思います。

事務局から評価書案について御説明をお願いいたします。

○浦野係長 それでは、資料 1 といたしまして、L-バリンと L-ロイシンの評価書を御用意させていただきましたので、御説明をさせていただきます。

1 枚めくっていただきまして、そこに「審査の経緯」から専門委員の先生方のお名前と

いうことをごさいます。

2 ページ目から読み上げさせていただきます。

「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物『L-バリン』に係る食品健康影響評価に関する審議結果

#### I 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、『L-バリン』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 18 年 12 月 5 日、関係書類を受理）

#### II 対象添加物の概要

添加物：L-バリン

用途：栄養補給を目的とする食品、飲料及び調味料等

申請者：味の素株式会社

開発者：味の素株式会社

本添加物は、L-バリンの生成効率を高めるため、*Escherichia coli* K-12 株由来の突然変異株を宿主として、*E. coli* K-12 由来の L-バリン生合成関与遺伝子を導入して作製された VAL-No. 1 株を用いて発酵生産される L-バリンである。

L-バリンは、既存添加物として食品添加物公定書に記載されている。

なお、*E. coli* K-12 は、有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は知られておらず、OECD では優良工業製造規範（GILSP）が適用できる宿主微生物として認定されている。

また、VAL-No. 1 株は、最終菌株においては抗生物質耐性マーカー遺伝子を有さない。

#### III 食品健康影響評価について

① VAL-No. 1 株から得られた L-バリンについて、使用微生物及び発酵副成物は製造工程で除去され、また、最終産物は晶析により結晶として高度に精製されており、かつ、食品添加物公定書規格の含量規格を満たしている。

② VAL-No. 1 株から得られた L-バリンの非有効成分については、最終製品において、

(a) タンパク質は検出限界（アミノ酸重量換算で  $1 \mu\text{g/g}$ ）以下である。

(b) 食品添加物公定書の規格を満たしている。

(c) アミノ酸自動分析及び HPLC 法（疎水性及び親水性）による残存非有効成分のプロファイル比較では、従来品の L-バリンに存在しない不純物は検出されず、また、従来品の L-バリンに存在する不純物については、従来品の振れ幅の範囲内かほぼ同量である。

以上 (a) ~ (c) の結果から、当該添加物について、有害性が示唆される新たな非有効成分を含有していることは考えられない。

以上①及び②の結果から、『*E. coli* K-12 株由来の突然変異株を宿主とした VAL-No. 1 株由来の L-バリン』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』の附則『遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方』に基

づき、安全性が確認されたと判断される。

なお、『*E. coli* K-12 株由来の突然変異株を宿主とした VAL-No.1 株由来の L-バリン』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』（本則）による評価の必要はないと判断される」。

続きまして、L-ロイシンの方でございます。こちらも 1 ページほどめくっていただきますと、同じような構成でございます。

「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物『L-ロイシン』に係る食品健康影響評価に関する審議結果

#### I 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、『L-ロイシン』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 18 年 12 月 5 日、関係書類を受理）

#### II 対象添加物の概要

添加物：L-ロイシン

用途：栄養補給を目的とする食品、飲料及び調味料等

申請者：味の素株式会社

開発者：味の素株式会社

本添加物は、L-ロイシンの生成効率を高めるため、*Escherichia coli* K-12 株由来の突然変異株を宿主として、*E. coli* K-12 由来の L-ロイシン生合成関与遺伝子を導入して作製された LEU-No.1 株を用いて発酵生産される L-ロイシンである。

L-ロイシンは、既存添加物として食品添加物公定書に記載されている。

なお、*E. coli* K-12 は、有害な影響を及ぼす毒素の産生性や病原性は知られておらず、OECD では優良工業製造規範（GILSP）が適用できる宿主微生物として認定されている。

また、LEU-No.1 株は、最終菌株においては抗生物質耐性マーカー遺伝子を有さない。

#### III 食品健康影響評価について

① LEU-No.1 株から得られた L-ロイシンについて、使用微生物及び発酵副成物は製造工程で除去され、また、最終産物は晶析により結晶として高度に精製されており、かつ、食品添加物公定書規格の含量規格を満たしている。

② LEU-No.1 株から得られた L-ロイシンの非有効成分については、最終製品において、

(a) タンパク質は検出限界（アミノ酸重量換算で  $1 \mu\text{g/g}$ ）以下である。

(b) 食品添加物公定書の規格を満たしている。

(c) アミノ酸自動分析及び HPLC 法（疎水性及び親水性）による残存非有効成分のプロファイル比較では、従来品の L-ロイシンに存在しない不純物は検出されず、また、従来品の L-ロイシンに存在する不純物については、従来品の振れ幅の範囲内かほぼ同量である。以上 (a) ~ (c) の結果から、当該添加物について、有害性が示唆される新たな非有効成分を含有していることは考えられない。

以上①及び②の結果から、『*E. coli* K-12 株由来の突然変異株を宿主とした LEU-No. 1 株由来の L-ロイシン』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』の附則『遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方』に基づき、安全性が確認されたと判断される。

なお、『*E. coli* K-12 株由来の突然変異株を宿主とした VLEU-No. 1 株由来の L-ロイシン』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』（本則）による評価の必要はないと判断される」。

○早川座長 ありがとうございます。

それでは、今、L-バリン及び L-ロイシンの評価書案について御説明いただいたわけですが、何かコメントはございますでしょうか。これは両方同じような書きぶりでありますので、何かありましたら、どちらからでもいいです。

○小関専門委員 「II 食品健康影響評価について」の①の行の一番終わりの方に「発酵副成物」とあるんですけども、これは何かおかしいかなという気がするんです。発酵副生産物とかの方がいいのかなという気がします。副成物というと誤解が生じるかもしれないので、そこだけは直した方がいいかと思いました。

○早川座長 前の例はどうなっていますか。正確に言えば先生のおっしゃるとおりだと思います。どうぞ。

○浦野係長 同じような例で、今年の 2 月ごろに評価をしていただきました、L-グルタミンの評価書を見てみますと、やはりそこは同じように「発酵副成物」という表現になっております。

○早川座長 発酵副成物でも間違いではないので、そうさせていただきたいと思います。

ほかにいかがでしょうか。先生、どうぞ。

○五十君専門委員 表現の問題かと思うのですが、バリンの 2 ページの 24 行目にある表現です。「VAL-No. 1 株は、最終菌株においては」という表現なのですが、株はもう決まっておりますので、最終菌株と限定するよりは、むしろ例えば製品製造に用いる何々株はといった表現にした方がよろしいのではないかと思います。

同様にしてロイシンについても、その表現に統一した方がいいのではないかと思います。

○早川座長 この「最終菌株においては」という言葉が要らないのではないかとということです。この VAL-No. 1 株自体が最終菌株だからということですね。

○五十君専門委員 強いて最終というところを強調したいようでしたら、製造に用いる株はとか、そういう表現が適当に思います。

○早川座長 そうですね。前にもってくるというか、最終菌株である VAL-No. 1 株はと、あえて言うならば、そういうことですね。

○五十君専門委員 はい。

○早川座長 なくてもいいと思います。その前に 20 行目に「VAL-No. 1 株を用いて発酵生

産される L-バリンである」ということが入っていますから、特段、最終菌株と言わなくてもいいのかなと思います。

ここはいかがですか。取りましょう。

○浦野係長 はい。

○早川座長 ほかにいかがですか。どうぞ。

○澤田専門委員 1つ確認だけなんですけれども、前回「既存添加物（既 139）」という言葉が入ってまして、これは入れる必要が本来なかったということですか。L-グルタミンの場合の添加物の欄にです。

○浦野係長 「II 対象添加物の概要」のところですか。L-グルタミンのところには、添加物として L-グルタミンということだけであって、番号は入っていません。

○澤田専門委員 L-グルタミンの申請書概要の申請品目の添加物の欄で「L-グルタミン、既存添加物（既 139）」という記載があるのですが。

○早川座長 これは厚生労働省から、こういうのを評価してくださいという。今、澤田先生がおっしゃっているのは、資料で言うとファイルのナンバー 16 ですね。私もこれを見ていたんですが、申請書概要ということで、申請書にこう書いてあったという意味。

○吉富課長補佐 済みません。今どの資料を御覧になっているかが私どもで把握できていないんです。

○早川座長 この緑の表紙で、ここに今までの申請の代表例というか前例が例示で出ているんですね。評価依頼書です。その評価依頼書で一番最初は 18 年 2 月 16 日ということでまずあって、その次に L-グルタミンの申請書概要というのがありますね。ただ、これは審議結果ではないですね。私もさっきここを見ながら、同じような書きぶりかなと思ってチェックしていたんですが、どうやらこれは申請書の方の申請概要の話をここに書いてあるだけですね。

○吉富課長補佐 評価依頼概要書のタグ 22 の方に 16 と同じ申請書概要が入っていないということでもよろしいですか。そういう意味ではないですか。

○早川座長 番号ですね。グルタミンに既 139 というのが既存添加物の後に書いてあって、今回はその番号が書いていないけれども、いいんですかという意味ですね。

○澤田専門委員 違いは何かあるんでしょうかということですか。

○早川座長 私はとっさに、これは申請者の方がというか、厚労省の方がこうやってきて、我々の評価としては別にそんなことを書かなくてもいいと理解したんです。

○吉富課長補佐 そもそも厚労省の説明資料である概要の方を今ここにとじ忘れていましたので、次の会議までに確認させていただきます。

○早川座長 要するに科学的議論とは全く関係なくて、形式の話ですので、そこは整合を取っておいていただければいいと思います。

○澤田専門委員 これは山崎委員に聞いた方がいいと思うんですけれども、公定書の中では既存添加物として高純度の規格があるという書き方ですか。それとも二本立てになって

いるのですか。

○山崎専門委員 食品添加物公定書は指定添加物と既存添加物を区別して収載をしていません。どちらかわからないような状態で収載されています。

○早川座長 ほかに何かございますか。よろしいですか。よろしければ、この評価書案、すなわち審議結果に関して、先ほど五十君先生から御指摘いただいた「最終菌株においては」というのを取ってしまうということで、これをこの専門調査会の評価書とさせていただきたいんですが、それでよろしゅうございますか。

(「はい」と声あり)

○早川座長 ありがとうございます。

それでは、この2つのアミノ酸については、これで御了承いただいたということで、次にジェランガム K3B646 の評価書案の審査に入りたいと思います。

本品目につきましては、前回の調査会で、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基準の第3に対象となる添加物及び目的の中に書かれている組換え DNA 技術によって最終的に宿主に導入された DNA が当該微生物の DNA のみである場合、いわゆるセルフクロニングに該当することから、本評価基準に定める添加物に該当しないという結論を得たと思います。

それを受けて、本日は資料1にその評価書案を用意してございますので、それについて審査を行いたいということでございます。事務局から評価書案の説明をお願いいたします。

○吉富課長補佐 それでは、資料1の「(案) 遺伝子組換え食品等評価書 ジェランガム K3B646」をお手元に御用意いただけますでしょうか。事務局から用意している資料の方でございます。よろしいでしょうか。

1 ページに「審議の経緯」と専門委員等の名簿が記載されております。

2 ページを御覧ください。「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」。

「I 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 (*Sphingomonas elodea* S60wtc 株由来のジェランガム 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」。

「II 申請添加物の概要」。品種は先ほどと同じでございます。性質は品質向上、申請者が三栄源エフ・エフ・アイ株式会社、開発者は CP Kelco 社です。

「ジェランガム K3B646 は、*S. elodea* S60 株由来のアリルスルファターゼ及びβ-グルクロニターゼをコードする *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①②）

現行の生産株（*S. elodea* S60 株）から生産されるジェランガムが微量のアリルスルファターゼ及びβ-グルクロニタ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-グルクロニターゼの作用により 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-グルクロニターゼをコードする *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-グルクロニタ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、動物やヒトに対する毒性や病原性を持つことは知られていない。（引用文献③④）

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。

### III 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-Asd<sub>deln</sub> 及び pL02-Bgluc<sub>deln</sub> 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-Asd<sub>deln</sub> を用いて宿主 *S. elodea* S60wtc 株を相同組換え法で形質転換し、*atsA* 遺伝子欠失の生産菌株を選抜した。第二段階は pL02-Bgluc<sub>deln</sub> を用いて、第一段階で選抜された *atsA* 遺伝子欠失の生産菌株を相同組換え法で形質転換し、ジェランガム K3B 646 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 中にベクター由来の 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 GBA

D-1 中にベクター由来の DNA が混入されていないことが確認された。(引用文献⑤)  
サザンブロット分析により組換え体株 GBAD-1 中にベクター由来の 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 中にベクター由来の DNA が混入されていないことが確認された。(引用文献⑥) 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⑤)

(2) 組換え体株中における目的遺伝子 (アリスルファターゼ遺伝子及び  $\beta$ -グルクロニターゼ遺伝子) の欠失数及び欠失サイズについて

① 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 のサザンブ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⑩)

② 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 のサザンブ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⑩)

(3) 既存生産株と組換え体株の塩基配列の比較について

① *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⑦)

また、*atsA* 遺伝子断片の近傍配列が、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⑦⑧)

② *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* 遺伝子断片の近傍配列が、既存の生産株と同一であることが確認された。(引用文献⑨)

以上に示された科学的知見から、本組換え体生産株 GBAD-1 株は発現ベクターを含んでいないこと、*atsA* 遺伝子と *gusA* 遺伝子を欠失していること、欠失遺伝子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。

#### IV 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」。

以上です。

○早川座長 ありがとうございます。

それでは、ただいまの評価書案について、御意見、コメントをお願いしたいと思います。いかがでしょうか。先生、どうぞ。

○小関専門委員 文言の話で申し訳ないんですけども、一番最後の 99 行の「本基準の対象ではないと判断される」という書き方は今までどおりなんでしょうか。前のアミノ酸のものではあれでしたか。

○吉富課長補佐 第3 対象となる添加物及び目的の方に該当しないというのは、今までの評価書ファイルの6ですね。

○小関専門委員 今までと同じ書きぶりですか。

○吉富課長補佐 今までと同様の書きぶりにしております。

○小関専門委員 わかりました。

○早川座長 ほかにいかがでございましょうか。どうぞ。

○山崎専門委員 中身の問題ではなくて表現上の問題なんですけど、8 行目「*eIodea*」と「S60wtc」の間にスペースを挿入してください。

48 行目と 49 行目の最初の方に「生産菌株」とあるんですが、ここはまだ生産菌株ではないので、単に菌株だけでいいと思います。「生産」を取ってしまった方がよいと思いますが、いかがでしょうか。

○早川座長 菌株ですね。

○山崎専門委員 そうです。

○早川座長 「生産」を取ってしまうという、今の御指摘はよろしゅうございますか。

ほかにいかがですか。先生、どうぞ。

○丹生谷専門委員 それでは、細かいことをもう一つ。例えば 18 行目に「β-グルクロニターゼ」と出てきて、以下にもたくさんあるんですけども、β-グルクロニダーゼというのが普通だと思います。

○早川座長 濁ってくださいということです。それだけでよろしゅうございますか。

ほかにいかがでしょうか。どうぞ。

○手島専門委員 細かいところで済みません。113 行目なんですけれども、「発生を現象させる」の「現象」は減らす方の減少です。

○早川座長 113 とか 114 とか 115 の辺りに⑤というのがありますね。この3行目の「発生を現象させる」は減る減少ですね。

○手島専門委員 はい。

○早川座長 ということでございます。ほかにいかがでしょうか。どうぞ。

○澁谷専門委員 細かい「てにをは」なんですけれども、56行目と59行目にそれぞれ「組換え体株 GBAD-1 中にベクター由来の DNA が除去されている」で、中に除去されているというのはおかしいので、この GBAD-1 中の DNA が除去されている。だから、それぞれ「に」を「の」にした方がいいかと思います。

○早川座長 よろしいですか。「に」より「の」の方がいいのではないか。「で」や「において」の方でもいいかもしれない。

○澁谷専門委員 「に」というのはおかしいです。

○早川座長 「の」でよろしいですか。では、「の」ということです。

ほかにいかがでしょうか。これは最終評価書ということでございますので、細かいことでも。

それでは、今、御指摘いただいた点を修正の上でよろしいということであれば、それをもってこの専門調査会での結論ということで、この評価書を御了承いただいたということにさせていただきたいと思います。どうもありがとうございました。

それでは、引き続きまして、SPEZYME FRED™の安全性に関する審査に入らせていただきたいと思います。本品目につきましては、継続審査品目でありまして、調査会での指摘事項に対する回答が提出されてきておりますので、回答書に基づき安全性を確認する。安全性について問題が残ります場合は、もう一度指摘事項を出す。問題がないとされた場合は、次回以降の調査会で評価書案の審査を行いたいと思います。

それでは、事務局から説明をお願いいたします。

○浦野係長 では、申請者でございますジェネンコア協和から提出されております回答書。このブルーのファイルに基づきまして、説明をさせていただきます。

まず回答書を提出する前に、一番最初のところに会社のメーカーの方から、今回の SPEZYME FRED™につきましては、一応ナチュラルオカレンス／セルフクロニングとしての評価を依頼しているということでございます。

その理由といたしましては、そこに下線部が引いてあるところでございますが「EU の定義におきましては、遺伝子の欠失はナチュラルオカレンス／セルフクロニングとされておりますことから、遺伝子を欠失させただけの改良株 BML612 の造成過程はナチュラルオカレンス／セルフクロニングに該当するものである」と考えております。

また「宿主株 BRA7 由来の  $\alpha$ -アミラーゼに 4 アミノ酸（遺伝子上では 10 塩基）の変異を導入した FRED について、ナチュラルオカレンス／セルフクロニングに該当するかを検討いただきたいと考えております。

なお、4 アミノ酸の変異につきましても、概要書本文 P14 にて説明しておりますとおり、NCBI のデータベースに登録されている 10 種の *B. licheniformis* の  $\alpha$ -アミラーゼのアミノ酸配列及び遺伝子塩基配列を比較した結果、FRED における変異は自然界での多様性の範囲であることが示されましたことから、ナチュラルオカレンス／セルフクロニングに

該当すると考えております」ということをごさいます。これに基づきまして、回答書の御説明に入らせていただきます。

まず回答書の指摘事項の①として、FREDの発現株 BML730の宿主を改良株 BML162としていたとしても、野生株 BRA7とし概要書を作成することということをごさいます。これにつきましては BRA7を宿主として概要書が作成し直されております。

続きまして、指摘事項の②でございます。BRA7から発現の BML730までの改良株について、それぞれのステップごとの解析結果を提出しなさいということをごさいます。回答といたしましては、BRA7から BML612株造成までの宿主改良株造成では、欠失ベクター導入による目的株の選択を、遺伝子の解析ではなくて、株の性質表現型で行われているため、そのサザンブロットの解析結果はないということをごさいます。

欠失につきましては、amyについてはアミラーゼ活性の欠失、CATについては CAT 活性の欠失、spoについては胞子形成能力の欠失に基づいて行っているということをごさいます。

次のページでございますけれども、更にその改良段階ではサザンブロット解析は行っていないけれども、結局、最終的にその安全性が問題となる FREDの生産株 BML730の解析により欠失過程で用いられたベクター由来の配列が存在しないことが明らかになっているということをごさいます。

また、そこにごさいますように pUCtsKanをプローブとしてサザンブロット解析を行って解析をした結果、BML730株には宿主 BRA7と同様のシグナルが見られなかったことから、改良株造成過程で使用した欠失用ベクターも FRED 生産株に残存しないことが示されたということをごさいます。

また、その発現ベクターが BML612株の染色体に挿入された BML720株において発現ベクター内部で制限酵素で切断した場合、検出されるシグナルは1種類のみであることから、BML612株に欠失ベクター由来の配列は存在しなかったことが示唆されますということをごさいます。

指摘事項の③といたしましては、80アミノ酸残基またはそれよりも広い領域で検索をなささいということと、その検索した結果及び当該製品の使用実態を総合的に考察した結果を回答することということです。

回答といたしましては、80アミノ酸との相同性検索を行ったところ、条件に該当するアレルゲンはありませんでしたということ。また、使用実態から見て、FREDに導入したアミノ酸変異によるアレルゲン性の顕著な増加は予測されず、また、海外諸国で8年間の使用実績からもアレルギー誘発性報告は1件もないことから、本申請品目がアレルギーを誘発する可能性は低いと考えられるということをごさいます。

指摘事項の④といたしましては、自社製品株を示すとともに JECFA等の規格と同一である場合、その旨を回答することということ、自社製品規格といたしまして、資料1-2ということ添付されておまして、その中に、その規格は JECFA及び Food Chemical

Codexによる食品用酵素の規格を満たしておりますということが記載されております。

以上でございます。

○早川座長 ありがとうございます。

それでは、ただいまの回答につきまして、各先生方からの御意見をいただきましたと思いますが、まずその前にジェネンコアの方からは、この SPEZYME FRED™については、弊社ではナチュラルオカレンス／セルフクローニングとしての評価を依頼しているという申し出がございます。

これにつきましては、私の記憶によりますと前回の専門調査会でいろいろ議論もいたしました。その結果、テクニカルな観点からのみ言えば、セルフナチュラルでという議論も成り立つかもしれませんが、このケース、調査会としては食品添加物としての安全性の観点から見えていくというのが本来の仕事であろうということで、この生産株の問題についてはセルフ的なものであるということを十分念頭に置きながらも、添加物そのものについての安全性評価という面からも考えていきたいと思います。

ということで、この最初の申し出についてはそういう取扱いとさせていただいて、回答書の方に移りたいと思いますが、それでよろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○早川座長 それでは、回答書の①から御意見、コメントをいただきたいんですが、たしかこれについては、小関先生から主にいろいろ御意見をいただいたと思うんですが、いかがでしょうか。

○小関専門委員 ちゃんと野生株の方からスタートした格好になっているので、これはこれでよろしいのではないかと思います。

○早川座長 これは宿主をはっきりしてくださいということでしたので、それについてはこれでよろしいということですね。

次に2番目の回答についてでございます。これにつきましても関連することですが、小関先生でしたか。

○小関専門委員 BRA7 から各種ステップでこういうふうやってきているわけですが、今まで結構そのところでちゃんと抜けたかどうかとか、そういう各ステップでサザンをするなり何なりということを要求していたような記憶もあるんですけども、確かにここに書かれているとおり、遺伝子系ではなくて表現系の上、きちんとこうなっているということであれば、微生物の場合であれば、このとおりきちんと行っているという判断は可能ではないかと思います。

最後にベクターのバックボーンは全部なくなっているということもありますし、最終的なサザンで見たときに間違いなく物ができているということから、私としてはこれ以上言うというのは、ある意味で言った場合にむごいかなというような気がします。

○早川座長 ほかにいかがですか。今の御意見は宿主も一応はっきりしている。それから、最終的にこのものを生産する株についてのディテールは明解なので、途中の非常に詳細な

組換えについて、どうしてもなければいけないものではないだろうということだったと理解します。

この委員会でこれからもケース・バイ・ケースになるんでしょうけれども、こういうケースについては最終生産株について、きっちりした解析がなされていれば、それはそれとして見ていくということの合意が得られれば、この答えでいいのではないかと思います、その点についてよろしゅうございますか。

特に御異論がなければ、そういう扱いにして、回答としては了承できるということでもよろしゅうございますか。

(「はい」と声あり)

○早川座長 それでは、3番目のアレルゲンとの問題でございますが、これはたしか手島先生からですね。

○手島専門委員 6残基以上の連続するアミノ酸の相同性に加えて、80アミノ酸残基はまたそれ以上の相同性検索を行うようにということだったんですが、44ページに `allermatch` でその相同性検索を行った結果が出されていて、この中で433アミノ配列に対して相同性は見つからなかった結果が出されていますので、このデータでよろしいかと思いません。

あとは記載の方の仕方も「天然の $\alpha$ -アミラーゼと同じ」という記載をアレルゲン性の顕著な増加は予測されず、という表現。それから、アレルギー誘発をする可能性は極めて低いと考えられますという表現に変えられていますので、この結果でよろしいかと思いません。

○早川座長 ありがとうございます。ほかに何か追加の御意見、コメントはございますでしょうか。よろしいですか。

それでは、第3につきましても了承をいただいたということにさせていただきたいとおす。

④の回答について、これはどなたでしたでしょうか。山崎先生。

○山崎専門委員 今回の回答で一応満足できるデータが出ていると思います。このデータを見る限り、最終産物の品質としては特に問題はないと思いました。

○早川座長 ありがとうございます。あと、この回答に関連して、概要書に変更を加えた部分を青字で示しているということではありますが、それについて何か特にこのところはどうかという御意見、コメントがございましたら、承りたいと思います。

先生、どうぞ。

○丹生谷専門委員 49ページです。多分ミスタイプだと思いますので、訂正だけかと思いますが、①の一番最後の行「BML17amy - #17」というのは、次の②を見ますとわかるんですけれども、17ではなく#1の間違いだと思います。

以上です。

○早川座長 17の代わりに#1ということですね。それでは、これは事務局の方で確認し

て訂正ということをお願いいたします。

ほかにいかがでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、特に概要についても追加のコメントがないということでもありますので、これにつきましてはセルフナチュラル論で入ったわけではなくて、添加物として評価して、いろいろな指摘事項を出して、それで回答をいただいて今まで審議してきたということの中で、この $\alpha$ -アミラーゼ FRED そのものについて、これで安全性に問題がないとみなしてもよいかどうかということですが、いかがでしょうか。よろしいですか。

(「はい」と声あり)

○早川座長 それでは、本件につきましては、特に安全性上問題がないということでもありますので、次回以降の調査会で評価書案の審査に入りたいと思います。また、たたき台をつくって、次回、評価書案について御検討をお願いしたいということでございます。議題1につきましてはこれで終了としたいと思います。

それで、議題2の「その他」に入りたいと思います。事務局、何かございますでしょうか。

○浦野係長 特にございません。

○早川座長 それでは、本日の議題については、これで終了ということでもあります。

今後の予定等について、事務局からお願いいたします。

○浦野係長 委員の先生方の日程を調整させていただきました結果、来年の1月の調査会につきましては1月16日火曜日の14時からが一番御都合がよろしいかと思っておりますので、委員の先生方につきましては、大変お忙しいところを恐縮でございますが、日程の方を確保させていただければと、確保方をよろしくお願いいたします。

○早川座長 それでは、次回の1月16日火曜日につきましては、継続審査品目について指摘に対する回答等、これは何か今ございますか。

○浦野係長 近々出てくるものがあるかのように聞いておりますので、かけられれば1月16日に御審議いただければと思っております。具体的に言うと、そろそろ高リシンが少し進むように見ております。

○早川座長 それから、今日、安全性上に問題がないとされました $\alpha$ -アミラーゼ FRED についての評価書案の精査も行いたいと思います。

それでは、全般を通じて結構でございますが、何か御意見、御質問等はございますでしょうか。よろしゅうございますか。

ないようですので、以上をもちまして、第43回「食品安全委員会 遺伝子組換え食品等専門調査会」を閉会いたしたいと思っております。

熱心なご討議をいただき、どうもありがとうございました。