

遺伝子組換え食品等専門調査会における審議結果について

1. 審議結果

厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたチョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87751 系統に係る食品健康影響評価（平成 28 年 4 月 19 日付け厚生労働省発生食 0419 第 1 号）については、平成 28 年 5 月 16 日に開催された第 148 回遺伝子組換え食品等専門調査会において審議され、審議結果（案）が取りまとめられた。

審議結果（案）については、幅広く国民に意見・情報を募った後に、食品安全委員会に報告することとなった。

2. チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87751 系統に係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果（案）」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

1) 募集期間

平成 28 年 7 月 12 日（火）開催の食品安全委員会（第 614 回会合）の翌日の平成 28 年 7 月 13 日（水）から平成 28 年 8 月 11 日（木）までの 30 日間。

2) 受付体制

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、遺伝子組換え食品等専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

遺伝子組換え食品等評価書

チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87751 系統

2016年7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. 評価対象食品の概要	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宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項	5
1. 宿主及び導入 DNA に関する事項	5
2. 宿主の食経験に関する事項	5
3. 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項	6
4. 宿主と組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項	6
5. 宿主以外のものを比較対象に追加して用いる場合、その根拠及び食品としての性質に関する事項	6
6. 安全性評価において検討が必要とされる相違点に関する事項	6
第 2. 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項	7
第 3. 宿主に関する事項	7
1. 分類学上の位置付け等（学名、品種名及び系統名等）に関する事項	7
2. 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項	7
3. 有害生理活性物質の生産に関する事項	7
4. アレルギー誘発性に関する事項	7
5. 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
6. 安全な摂取に関する事項	7
7. 近縁の植物種に関する事項	7
第 4. 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 5. 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	8
3. 挿入遺伝子及び薬剤耐性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	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及び交配に関する事項	13
第 6. 組換え体に関する事項	14
1. 遺伝子導入に関する事項	14

2. 遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項	15
3. 遺伝子産物（タンパク質）が一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項	15
4. 遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性に関する事項	16
5. 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項	18
6. 遺伝子産物（タンパク質）の代謝経路への影響に関する事項	18
7. 宿主との差異に関する事項	18
8. 諸外国における認可、食用等に関する事項	19
9. 栽培方法に関する事項	19
10. 種子の製法及び管理方法に関する事項	20
第7. 第2から第6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	20
Ⅲ. 食品健康影響評価結果	20
<参照>	20

<審議の経緯>

- 2016年4月19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0419第1号）、関係書類の接受
- 2016年4月26日 第604回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2016年5月16日 第148回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2016年7月12日 第614回食品安全委員会（報告）

<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）
熊谷 進
吉田 緑
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>

澤田 純一（座長）
小関 良宏（座長代理）
岡田 由美子 中島 春紫
橘田 和美 樋口 恭子
児玉 浩明 飯 哲夫
近藤 一成 山川 隆
柘植 郁哉 和久井 信
手島 玲子

要 約

「チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87751 系統」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。

本系統は、*Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* に由来する *cry1Ab* 遺伝子及び *cry1Ac* 遺伝子並びに *Bacillus thuringiensis* ssp. *aizawai* EG6346 株に由来する *cry1Fa1* 遺伝子を基に作製された *cry1A.105* 遺伝子並びに *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* 由来の改変 *cry2Ab2* 遺伝子を導入して作出されており、Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質を発現することで、チョウ目害虫による影響を受けずに生育できるとされている。なお、選択マーカーとして、一時的に *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*) C58 株由来の *splA* 遺伝子が導入されるが、育成過程において分離されるためダイズ MON87751 には含まれていない。

「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」（平成 16 年 1 月 29 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及びアレルギー誘発性、遺伝子の導入後の塩基配列等の解析、交配後の世代における挿入遺伝子の安定性、植物の代謝経路への影響、植物の栄養成分及び有害成分の比較の結果等について確認した結果、非組換えダイズ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、「チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87751 系統」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. 評価対象食品の概要

名称：チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87751 系統

性質：チョウ目害虫抵抗性

申請者：日本モンサント株式会社

開発者：Monsanto Company（米国）

「チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87751 系統」（以下「ダイズ MON87751」という。）は、*Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* に由来する *cry1Ab* 遺伝子及び *cry1Ac* 遺伝子並びに *Bacillus thuringiensis* ssp. *aizawai* EG6346 株に由来する *cry1Fa1* 遺伝子を基に作製された *cry1A.105* 遺伝子並びに *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* 由来の改変 *cry2Ab2* 遺伝子を導入して作出されており、Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質を発現することで、チョウ目害虫による影響を受けずに生育できるとされている。

なお、選択マーカーとして、一時的に *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*) C58 株由来の *splA* 遺伝子が導入されるが、育成過程において分離されるためダイズ MON87751 には含まれていない。

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宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項

1. 宿主及び導入 DNA に関する事項

(1) 宿主の種名及び由来

宿主は、マメ科 *Glycine* 属に属するダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) の A3555 である。

(2) DNA 供与体の種名及び由来

cry1A.105 遺伝子は、*B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* に由来する *cry1Ab* 遺伝子及び *cry1Ac* 遺伝子並びに *B. thuringiensis* ssp. *aizawai* EG6346 株に由来する *cry1Fa1* 遺伝子の一部を基に作成された。改変 *cry2Ab2* 遺伝子の供与体は、*B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* である。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

cry1A.105 遺伝子及び改変 *cry2Ab2* 遺伝子がコードする Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質は、チョウ目害虫に対して殺虫活性を示す。*cry1A.105* 遺伝子及び改変 *cry2Ab2* 遺伝子は、アグロバクテリウム法を用いて宿主に導入された。

2. 宿主の食経験に関する事項

ダイズの起源は中国であると言われている。日本には約 2000 年前に伝来、栽培が始まったと考えられており、古くから食品として利用されている。

3. 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項

(1) 宿主の可食部分の主要栄養素等（タンパク質、脂質等）の種類及びその量の概要

ダイズ種子の主要栄養組成（対乾燥重量）は、タンパク質 29.51～46.00%、総脂質 6.97～25.00%、灰分 3.75～10.90%及び炭水化物 25.2～55.8%である（参照 1）。

(2) 宿主に含まれる毒性物質・栄養阻害物質等の種類及びその量の概要

ダイズ種子の有害生理活性物質（対乾燥重量）は、トリプシンインヒビター 3.23～118.68 TIU^a/mg、レクチン 0.10～61.30 H.U.^b/mg（対新鮮重量）、ダイゼイン 60.0～3,061.2 mg/kg、ゲニステイン 39.44～2,837.2 mg/kg、グリシテイン 14.10～1,630.0 mg/kg、スタキオース 0.79～6.89%、ラフィノース 0.18～1.85%及びフィチン酸 0.29～2.68%である（参照 1）。

4. 宿主と組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項

(1) 収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法

ダイズ MON87751 の収穫時期及び貯蔵方法は、従来のダイズと変わらない。

(2) 摂取（可食）部位

ダイズ MON87751 の摂取部位は、従来のダイズと変わらない。

(3) 摂取量

ダイズ MON87751 の摂取量は、従来のダイズと変わらない。

(4) 調理及び加工方法

ダイズ MON87751 の調理及び加工方法は、従来のダイズと変わらない。

5. 宿主以外のものを比較対象に追加して用いる場合、その根拠及び食品としての性質に関する事項

宿主と従来品種以外のものは、比較対象としていない。

6. 安全性評価において検討が必要とされる相違点に関する事項

ダイズ MON87751 は、*cry1A.105* 遺伝子及び改変 *cry2Ab2* 遺伝子の導入によって、Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質を発現することが宿主との相違点である。

^a TIU : trypsin inhibitor unit

^b H.U. : hemagglutinating unit

以上、1～6から、ダイズ MON87751 の安全性評価においては、既存のダイズとの比較が可能であると判断した。

第2. 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

ダイズ MON87751 は、導入された *cry1A.105* 遺伝子及び改変 *cry2Ab2* 遺伝子が Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質を発現することによって、チョウ目害虫の影響を受けずに生育できるとされている。

第3. 宿主に関する事項

1. 分類学上の位置付け等（学名、品種名及び系統名等）に関する事項

宿主は、マメ科 *Glycine* 属に属するダイズ (*G. max*(L.) Merr.) の A3555 である。

2. 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項

中国を中心とするアジア地域では栽培の歴史が長い。*Glycine* 属は、*Glycine* 亜属と *Soja* 亜属に分かれる。*Soja* 亜属にはダイズのほかに、ダイズの祖先である野生ダイズの一つであるツルマメが含まれている。

3. 有害生理活性物質の生産に関する事項

ダイズ種子には、有害生理活性物質であるトリプシンインヒビター、レクチン、イソフラボン類、スタキオース、ラフィノース及びフィチン酸が含まれている。

4. アレルギー誘発性に関する事項

ダイズはアレルギー誘発性が知られている主要食物の一つである。代表的なアレルゲンとして、ダイズ疎水性タンパク質、ダイズプロフィリン、ダイズ液胞タンパク質、グリシニン、 β -コングリシニン及びトリプシンインヒビターが知られている。

5. 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

ダイズには、真菌類、寄生虫及び細菌による各種病害が知られているが、これらがヒトに対して病原性を示すことは知られていない。

6. 安全な摂取に関する事項

ダイズは、豆腐、味噌などの様々な食品に加工されており、これらを通じてヒトに摂取されている。

7. 近縁の植物種に関する事項

ダイズの近縁種であるツルマメには、トリプシンインヒビター、フィチン酸、ラフィノースなどの有害生理活性物質が含まれている。

第4. ベクターに関する事項

1. 名称及び由来に関する事項

導入用プラスミド PV-GMIR13196 の外骨格領域の構築には、*E. coli* 由来のプラスミド pBR322 などが用いられた。

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

外骨格領域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

外骨格領域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

外骨格領域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) 薬剤耐性遺伝子に関する事項

外骨格領域には、ネオマイシン及びカナマイシン耐性を付与する *nptII* 遺伝子並びにストレプトマイシン及びスペクチノマイシン耐性を付与する *aadA* 遺伝子が含まれている。

(5) 伝達性に関する事項

外骨格領域には、伝達を可能とする塩基配列は含まれていない。

第5. 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

cry1A.105 遺伝子は、*B.thuringiensis* ssp. *kurstaki* から単離された *cry1Ab* 遺伝子及び *cry1Ac* 遺伝子並びに *B.thuringiensis* ssp. *aizawai* EG6346 株から単離された *cry1Fa1* 遺伝子の一部分を基に作製されたものである。また、改変 *cry2Ab2* 遺伝子は、*B.thuringiensis* ssp. *kurstaki* から単離された *cry2Ab2* 遺伝子の塩基配列に改変を加えたものである。

(2) 安全性に関する事項

B. thuringiensis は、ヒト及び家畜等への病原性及びアレルギー性は報告されていない。

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

cry1A.105 遺伝子は、*cry1Ab* 遺伝子のドメイン I 及び II と *cry1Ac* 遺伝子のドメイン III 及び C 末端ドメインを結合させて合成 *cry1Ac* 遺伝子とし、さらにドメイン III 領域を *cry1Fa1* 遺伝子のドメイン III 領域に置き換えることによって作製された。なお、*cry1A.105* 遺伝子の塩基配列は、植物中での発現を高めるためにコドンが最適化されている。

改変 *cry2Ab2* 遺伝子は、野生型の *cry2Ab2* 遺伝子の塩基配列を基に植物中での発現を高めるために最適化されている。ダイズ MON87751 で発現する改変 Cry2Ab2 には制限酵素部位挿入により N 末端から 2 番目にアスパラギン酸が付加されている。

挿入 DNA の構成要素は、表 1 及び表 2 のとおりである。

(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 である T-DNAI 領域及び T-DNAII 領域の塩基数、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

cry1A.105 遺伝子及び改変 *cry2Ab2* 遺伝子は、Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質をコードする。いずれも *B. thuringiensis* に由来するチョウ目害虫等に殺虫活性を示すタンパク質 (Bt タンパク質) の一種である。Bt タンパク質は、標的昆虫に摂取されると消化されて活性コアタンパク質となり、これが中腸に作用し、上皮細胞膜に小孔を形成して殺虫活性を示すことが報告されている (参照 2)。

Cry1A.105 タンパク質は、Cry1Ab タンパク質又は Cry1Ac タンパク質由来のドメイン I 及び II、Cry1Fa1 タンパク質由来のドメイン III 並びに Cry1Ac タンパク質由来 C 末端ドメインから成るキメラタンパク質である。なお、Cry1Ab タンパク質及び Cry1Ac タンパク質のドメイン I 及び II は同じアミノ酸配列である。標的であるチョウ目害虫に対する殺虫効果を高めるため、異なる Bt タンパク質のドメインを組み合わせて作製された (参照 3、4)。Cry1A.105 タンパク質には、発現タンパク質を葉緑体に移動させる目的で N 末端側に RbcS4 配列を付加している。RbcS4 は、葉緑体へ Cry1A.105 タンパク質前駆体を移動後、切断され分離される。ダイズ MON87751 で発現する Cry1A.105 タンパク質の N 末端アミノ酸配列解析の結果、平成 19 年 11 月に安全性審査が終了した「チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MON89034 系統」(以下「トウモロコシ MON89034」という。) で発現する Cry1A.105 タンパク質と比較して、N 末端に 4 アミノ酸が付加されていることが確認された。N 末端に付加された 4 アミノ酸は、殺虫活性及び特異性に関わるコアドメインに含まれておらず、殺虫活性に影響はないことが確認されている (参照 5)。

改変 Cry2Ab2 タンパク質は、発現タンパク質を葉緑体に移動させる目的で C 末端側に CTP2 を付加している。ダイズ MON87751 で発現する改変 Cry2Ab2 タンパク質の N 末端アミノ酸配列解析の結果、野生型 Cry2Ab2 タン

パク質と比較してから N 末端より 15 アミノ酸が CTP2 とともにプロセッシングを受け、切断されていることが確認された。また、トウモロコシ MON89034 で発現する改変 Cry2Ab2 タンパク質は、野生型 Cry2Ab2 タンパク質の N 末端に 3 アミノ酸が付加されている。したがって、本系統で発現する改変 Cry2Ab2 タンパク質は、トウモロコシ MON89034 で発現する改変 Cry2Ab2 タンパク質と比較して、18 アミノ酸短いものである。N 末端のこの領域は、トリプシン耐性コアドメインに含まれないために殺虫活性に影響はないことが確認されている（参照 6）。

Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質と既知の毒性タンパク質との相同性の有無を確認するために、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見いだされなかった（参照 7、8）。

splA 遺伝子は、SPLA タンパク質をコードし、スクロース代謝を阻害する機能を有し、選抜マーカーとして用いられている。なお、*splA* 遺伝子は、T-DNAII 領域に含まれ、ダイズ MON87751 の育成過程において分離されるため、ダイズ MON87751 に含まれていない。

（4）抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項

導入用プラスミド PV-GMIR13196 には、外骨格領域に *nptII* 遺伝子が含まれているが、ダイズ MON87751 には検出されないことが次世代シーケンシング技術及びバイオインフォマティクスによる接合領域の解析（Next Generation Sequencing/Junction Sequence Analysis: NGS/JSA）により確認されている。また、T-DNAII 領域に選抜マーカーとして *aadA* 遺伝子が含まれているが、育成過程において分離されるため、ダイズ MON87751 に含まれていない。

3. 挿入遺伝子及び薬剤耐性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

cry1A.105 遺伝子発現カセットのプロモーターは、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) のリブローズ-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする *ats1A* 遺伝子の *RbcS4* プロモーターである（参照 9）。

改変 *cry2Ab2* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、シロイヌナズナのアクチンサブクラス2タンパク質をコードする *act2* 遺伝子の *Act2* プロモーターである（参照 10）。

splA 遺伝子発現カセットのプロモーターは、ソラマメ (*Vicia faba*) 種子タンパク質をコードする *Usp* 遺伝子の *Usp* プロモーターである（参照 11）。

^c TOX_2013:GenBank (GenBank protein database, 193 版、2013 年 1 月 24 日)に登録されているタンパク質配列から構成されるタンパク質データベース(PRT_2013)を基に作成したデータベースで、8,881 配列のサブセット。

(2) ターミネーターに関する事項

cry1A.105 遺伝子発現カセットのターミネーターは、タルウマゴヤシ (*Medicago truncatula*) のリン酸トランスポーターをコードする *Pt1* 遺伝子の 3' 非翻訳領域である (参照 12)。

改変 *cry2Ab2* 遺伝子発現カセットのターミネーターは、イネ (*Oryza sativa*) のメタロチオネイン様タンパク質をコードする *Mt* 遺伝子の 3' 非翻訳領域である。

splA 遺伝子発現カセットのターミネーターは、*R. radiobacter* (*A. tumefaciens*) pTi のノパリン合成酵素 (*nos*) 遺伝子の 3' 非翻訳領域である (参照 13)。

(3) その他

cry1A.105 遺伝子発現カセットには、シロイヌナズナ (*A. thaliana*) のリブローズ-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする *ats1A* 遺伝子の *RbcS4* ターゲティング配列が挿入され、タンパク質を葉緑体へ輸送する (参照 14)。

改変 *cry2Ab2* 遺伝子発現カセットには、シロイヌナズナ (*A. thaliana*) の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) をコードする *ShkG* 遺伝子の葉緑体輸送ペプチドをコードする *CTP2* ターゲティング配列が挿入され、タンパク質を葉緑体へ輸送する (参照 15)。

4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

外骨格領域、境界配列及び T-DNA II 領域から構成される中間ベクターに、T-DNA I 領域を挿入することによって、導入用プラスミド PV-GMIR13196 が得られた。

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

導入用プラスミド PV-GMIR13196 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。

(2) 原則として、最終的に宿主に導入されると考えられる導入用ベクター内の配列には、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

導入用プラスミド PV-GMIR13196 の T-DNA I 領域には、目的以外のタンパク質を発現するオープンリーディングフレーム (ORF) は含まれていない。

(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導入用ベクター上で明らかであること

導入用プラスミド PV-GMIR13196 の意図する挿入領域は、T-DNA I の右側

境界領域 (RB) から左側境界領域 (LB) までである。

(4) 導入しようとする導入用ベクターは、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていること

導入用プラスミド PV-GMIR13196 は、抗生物質耐性マーカーによる選抜及び塩基配列の解析を通じて純化されている。

表1 ダイズ MON87751 への挿入 DNA ① (T-DNAI)

構成 DNA	由来及び機能
RB	T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む <i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) 由来の DNA 領域
(改変 <i>cry2Ab2</i> 遺伝子遺伝子発現カセット)	
<i>Act2</i> プロモーター	シロイヌナズナのアクチン 2 タンパク質をコードする <i>act2</i> 遺伝子のプロモーター、リーダー及びイントロン配列
<i>CTP2</i>	シロイヌナズナの EPSPS タンパク質をコードする <i>ShkG</i> 遺伝子の葉緑体輸送ペプチドをコードする配列
改変 <i>cry2Ab2</i>	<i>B. thuringiensis</i> 由来の改変 <i>Cry2Ab2</i> タンパク質をコードする遺伝子
<i>Mt</i> ターミネーター	ターミネーター領域 イネのメタロチオネイン様タンパク質をコードする <i>Mt</i> 遺伝子の 3' 非翻訳領域
(<i>cry1A.105</i> 遺伝子発現カセット)	
<i>RbcS4</i> プロモーター	シロイヌナズナのリブロース-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする <i>ats1A</i> 遺伝子のプロモーター及びリーダー配列
<i>RbcS4</i>	シロイヌナズナのリブロース-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする <i>ats1A</i> 遺伝子の <i>RbcS4</i> ターゲティング配列
<i>cry1A.105</i>	<i>B. thuringiensis</i> 由来の <i>Cry1Ab</i> 、 <i>Cry1Fa1</i> 及び <i>Cry1Ac</i> タンパク質からなる <i>Cry1A.105</i> キメラタンパク質をコードする。
<i>Ptl</i> ターミネーター	ターミネーター領域 タルウマゴヤシのリン酸トランスポーターをコードする <i>PT1</i> 遺伝子の 3' 非翻訳領域
LB	T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む <i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) 由来の DNA 領域

表2 ダイズ MON87751 への挿入 DNA ② (T-DNAII : 選択マーカーとして一時的に導入)

構成 DNA	由来及び機能
LB	T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む <i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) 由来の DNA 領域
(splA 遺伝子発現カセット)	
<i>nos</i> ターミネーター	ターミネーター領域 <i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) pTi 由来のノパリン合成酵素遺伝子 (<i>nos</i>) の 3' 非翻訳領域
<i>splA</i>	<i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) C58 株由来のスクロースホスホリラーゼをコードする遺伝子
<i>Usp</i> プロモーター	ソラマメ由来の種子タンパク質をコードする遺伝子のリーダー配列、5' 非翻訳領域、プロモーター及びエンハンサー配列
(aada 遺伝子発現カセット)	
<i>E9</i> ターミネーター	ターミネーター領域 エンドウ由来のリブロース-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする <i>RbcS2</i> 遺伝子の 3' 非翻訳領域
<i>aada</i>	トランスポゾン Tn7 由来の 3' (9)- <i>O</i> -ヌクレオチジルトランスフェラーゼのコード配列。スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する。
<i>CTP2</i>	シロイヌナズナの EPSPS タンパク質をコードする <i>shkG</i> 遺伝子の葉緑体輸送ペプチドをコードする配列
<i>EF-1 α</i> プロモーター	シロイヌナズナの伸長因子タンパク質をコードする <i>EF-1 α</i> 遺伝子のプロモーター、リーダー及びイントロン配列
<i>FMV</i>	Figwort Mosaic Virus (FMV) 35S RNA のエンハンサー配列
RB	T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む <i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) 由来の DNA 領域

6. DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項

導入用プラスミド PV-GMIR13196 の T-DNA I 及び II 領域をアグロバクテリウム法によって宿主に導入した後、スペクチノマイシンを含む培地で選抜して再生個体が得られた。次に、再分化個体の自殖により得られた個体に対して、PCR 分析を行い、T-DNA II 領域を持たず、T-DNA I 領域をホモで有する個体が選抜された。その後、選抜した個体の自殖及び商業品種との掛け合わせによってダイズ MON87751 が得られた。

第6. 組換え体に関する事項

1. 遺伝子導入に関する事項

(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

ダイズ MON87751 のゲノムに挿入された T-DNA I 領域のコピー数を確認するために、NGS/JSA を行った結果、T-DNA I 領域が1コピー挿入されていることが確認された。また、導入用プラスミド PV-GMIR13196 の外骨格領域及び T-DNAII 領域がゲノム中に存在しないことが確認された（参照 16）。

導入された T-DNA I 領域の PCR 分析及び塩基配列解析を行った結果、3' 末端の 1 bp の挿入及び 5' 末端の 7 bp の欠失を除き、導入用プラスミド PV-GMIR13196 の T-DNA I 領域の塩基配列と同一であることが確認された。

ダイズ MON87751 の挿入 DNA 近傍配列と宿主ゲノムを比較した結果、導入 DNA の挿入部位より 349 bp 上流のダイズゲノム内在性配列の 16 bp の欠失を除き塩基配列は一致しており、挿入 DNA の近傍配列はダイズゲノム由来であることが確認された（参照 16）。

DNA 挿入によってダイズの内在性遺伝子が損なわれていないことを確認するために、5'末端近傍配列（1,335 bp：欠失した 16 bp を含む。）、5' 末端の欠失した 7 bp 及び 3'末端近傍配列（1,189 bp）について、公的に利用できる核酸データベース（GeneBank）^dを用いて blastn 及び blastx 検索を行った。その結果、1 個の BAC クローン配列と 100%の相同性を示したが、遺伝子を特定する情報は含まれておらず、EST とも対応しないことから、機能するタンパク質がコードされているとは考えられなかった。したがって、DNA の挿入によって既知の内在性遺伝子は損なわれていないと考えられた（参照 17）。

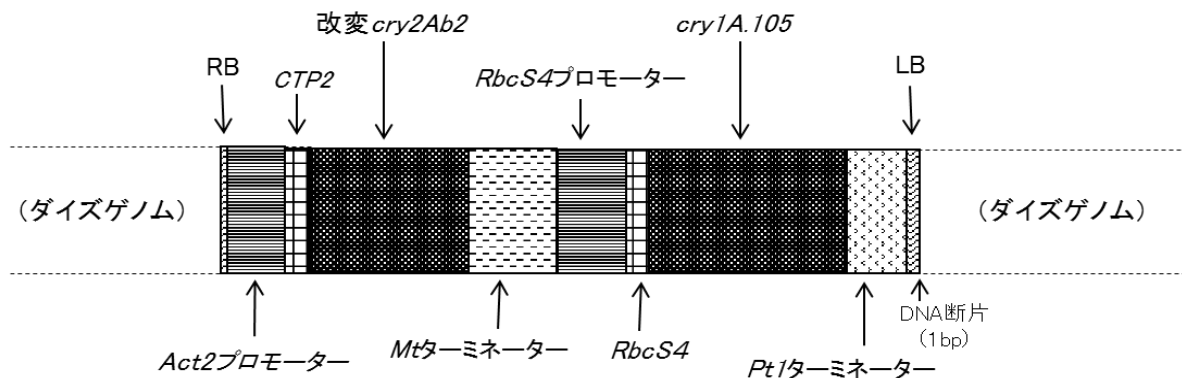


図1 ダイズ MON87751 に挿入された DNA（模式図）

(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

ダイズ MON87751 の挿入 DNA 領域と 5'末端近傍配列（1,334 bp）及び 3'末端近傍配列（1,187 bp）の接合部において意図しない ORF が生じていない

^d EST_2014, NT_2014, NR_2014：EST データベース（75,091,877 配列）、塩基配列データベース（20,846,064 配列）及びアミノ酸配列データベース（34,985,996 配列を含む。）

ことを確認するために、六つの読み枠において ORF 検索を行った結果、連続する 8 アミノ酸以上の ORF が 12 個見いだされた。12 個の ORF と既知の毒性タンパク質及びアレルゲンとの相同性の有無を確認するため、アレルゲンデータベース (AD_2013^e)、毒性タンパク質データベース^c及びタンパク質データベース (PRT_2013^f) を用いて FASTA 検索を行った結果、80 以上のアミノ酸について 35%以上の相同性を有する相同性を示す既知の毒性タンパク質及びアレルゲンは見いだされなかった。さらに、抗原決定基の有無を確認するために、アレルゲンデータベース^eを用いて相同性検索を行った結果、連続する 8 アミノ酸配列が既知のアレルゲンと一致する配列は見いだされなかった (参照 18)。

ダイズ MON87751 の挿入 DNA 領域において、六つの読み枠についてアレルゲンデータベース (AD_2013)、毒性タンパク質データベース^c及びタンパク質データベース (PRT_2013) を用いて FASTA 検索を行った結果、既知の毒性タンパク質及びアレルゲンとの相同性は見られなかった (参照 19)。

2. 遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項

ダイズ MON87751 の葉、根、地上部、種子及び花粉/葯の Cry1A.105 及び改変 Cry2Ab2 タンパク質の発現量を ELISA 法によって分析した。その結果は、表 3 のとおりである (参照 20)。

表 3 ダイズ MON87751 における Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質の発現量

(単位は $\mu\text{g/g}$ 新鮮重量)

分析組織*	Cry1A.105 タンパク質	改変 Cry2Ab2 タンパク質
葉	79~230	5.2~6.9
根	検出限界以下**	4.6
地上部	62	3.9
種子	2.1	3.6
花粉/葯	11	7.7

* 葉は 3 葉期~子実肥大期、根及び地上部は子実肥大期、種子は成熟期、花粉/葯は開花期の値を示した。

**検出限界は $0.322\mu\text{g/g}$ (Cry1A.105 タンパク質) である。

3. 遺伝子産物 (タンパク質) が一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項

^eAD_2013: Food Allergy Research and Resource Program Database (FARRP)から得られた配列を基に作成されたデータベース。

^fPRT_2013: GenBank (GenBank protein database, 193.0 版、2013 年 1 月 24 日)に登録されているタンパク質配列から構成されるデータベース。

日本人一人が一日に摂取するダイズ加工品及び味噌・醤油の摂取量 81g (参照 21) を全てダイズ MON87751 に置き換えて Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質の摂取量を計算すると、ダイズ MON87751 の成熟種子における両タンパク質の発現量平均から、それぞれ 170 µg 及び 291 µg となり、一人一日当たりのタンパク質摂取量 68.0 g (参照 21) に占める割合は合計して 6.8×10^{-6} となる。

したがって、一日蛋白摂取量の有意な量を占めることはないと判断される。

4. 遺伝子産物 (タンパク質) のアレルギー誘発性に関する事項

(1) 挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性

cry1A.105 遺伝子及び改変 *cry2Ab2* 遺伝子の供与体である *B. thuringiensis* に関して、アレルギー誘発性の報告はない。

(2) 遺伝子産物 (タンパク質) のアレルギー誘発性

Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質に関して、アレルギー誘発性の報告はない。

(3) 遺伝子産物 (タンパク質) の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

① 人工胃液に対する感受性

・ Cry1A.105 タンパク質

E. coli から精製した Cry1A.105 タンパク質の人工胃液中における消化性について確認するため、SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析を行った。その結果、SDS-PAGE 分析では、完全長の Cry1A.105 タンパク質は試験開始後 30 秒以内に消化されたが、30 秒後に約 60kDa 及び約 5kDa の断片が検出された。約 60kDa の断片は 2 分後に、約 5kDa の断片は 30 分後に検出されなくなった。ウェスタンブロット分析では、試験開始後 30 秒以内に Cry1A.105 タンパク質は検出されなくなった。

さらに、人工胃液処理中に観察された断片の消化性について確認するため、人工胃液で 2 分間処理後に人工腸液で消化を行った。SDS-PAGE 分析の結果、人工胃腸液処理中に観察された約 5kDa の断片は人工腸液処理開始後 30 秒以内に消化されることが確認された (参照 22)。

・ 改変 Cry2Ab2 タンパク質

E. coli から精製した改変 Cry2Ab2 タンパク質の人工胃液中における消化性について確認するため、SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析を行った。その結果、SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析とも、試験開始後 30 秒以内に消化されることが確認された (参照 23)。

② 人工腸液に対する感受性

・ Cry1A.105 タンパク質

E. coli から精製した Cry1A.105 タンパク質の人工腸液中における消化性について確認するため、ウェスタンブロット分析を行った結果、完全長の Cry1A.105 タンパク質は試験開始後 5 分以内に検出限界値以下に消化されたが、試験開始後 24 時間までコアタンパク質と考えられるバンドが確認された（参照 22）。

・ 改変 Cry2Ab2 タンパク質

E. coli から精製した改変 Cry2Ab2 タンパク質の人工腸液中における消化性について確認するため、ウェスタンブロット分析を行った結果、完全長の改変 Cry2Ab2 タンパク質は試験開始後 5 分以内に検出限界値以下に消化されたが、試験開始後 24 時間までコアタンパク質と考えられるバンドが確認された（参照 23）。

③ 加熱処理に対する感受性

・ Cry1A.105 タンパク質

E. coli から精製した Cry1A.105 タンパク質の加熱処理に対する感受性について確認するため、ELISA 分析を行った結果、Cry1A.105 タンパク質は、75°C 以上、15 分間及び 30 分間の加熱処理により免疫反応性を失うことが確認された（参照 24）。

・ 改変 Cry2Ab2 タンパク質

E. coli から精製した改変 Cry2Ab2 タンパク質の加熱処理に対する感受性について確認するため、ELISA 分析を行った結果、改変 Cry2Ab2 タンパク質は、55°C 以上、15 分間及び 30 分間の加熱処理により免疫反応性を失うことが確認された（参照 25）。

(4) 遺伝子産物（タンパク質）と既知のアレルゲン（グルテン過敏性腸疾患に関するタンパク質を含む。以下アレルゲン等。）との構造相同性に関する事項

Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質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、アレルゲンデータベース^{1e}を用いて相同性検索を行った結果、80 以上のアミノ酸について 35%以上の相同性を有する既知のアレルゲン等は見いだされなかった。

また、抗原決定基の有無を確認するため、アレルゲンデータベース^eを用いて連続する 8 アミノ酸の相同性検索を行った結果、既知のアレルゲンとの一致は認められなかった（参照 7、8）。

上記（1）～（4）及び前項 3 から総合的に判断し、Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質については、アレルギー誘発性を示唆するデータがないことを確認した。

5. 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項

ダイズ MON87751 に挿入された遺伝子の後代における安定性を確認するために、5 世代のダイズ MON87751 について、ゲノム DNA を用いて NGS/JSA を行った結果、各世代において導入遺伝子との接合領域が 2 個検出され、挿入遺伝子が世代間で安定していることが確認された（参照 16）。

Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質の発現の安定性を確認するために、5 世代のダイズ MON87751 の葉から抽出した試料を用いてウェスタブロット分析を行った結果、いずれの世代においても Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質が発現していることが確認された（参照 26）。

ダイズ MON87751 に挿入された遺伝子の分離様式を確認するため、3 世代のダイズ MON87751 について、挿入遺伝子の期待分離比と実測値を比較した。その結果、導入遺伝子は、メンデルの分離の法則に基づいて後代に遺伝していることが示された（参照 27）。

6. 遺伝子産物（タンパク質）の代謝経路への影響に関する事項

Cry1A.105 タンパク質及び改変 Cry2Ab2 タンパク質は、いずれも *B. thuringiensis* に由来する殺虫性タンパク質（Bt タンパク質）である。Bt タンパク質は、殺虫以外の機能を有することは知られていない。したがって、これらの Bt タンパク質が酵素活性を持つことはないと考えられることから、植物の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられる。

7. 宿主との差異に関する事項

米国のほ場で栽培されたダイズ MON87751 と宿主である非組換えダイズについて、主要構成成分、ビタミン類、ミネラル類、アミノ酸組成、脂肪酸組成及び有害生理活性物質の分析を行い、統計学的有意差について検討を行った（参照 28、29）。

(1) 主要構成成分

種子及び地上部の主要構成成分（水分、タンパク質、総脂質、灰分、炭水化物、酸性デタージェント繊維及び中性デタージェント繊維）について分析を行った結果、対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差が認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても ILSI データベースの範囲内であった。

(2) 脂肪酸組成

種子の脂肪酸 22 種類について分析を行った結果、8 種類は対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差が認められなかった。なお、14 種類の脂肪酸については、定量限界値未満のサンプルが多いため、統計学的処理から除外した。

(3) アミノ酸組成

種子のアミノ酸 18 種類について分析を行った結果、対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差が認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても ILSI データベースの範囲内であった。

(4) ミネラル類

種子のカルシウム、銅、鉄、マグネシウム、マンガン、リン、カリウム及び亜鉛について分析を行った結果、対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても ILSI データベースの範囲内であった。

(5) ビタミン類

種子のビタミン E (α -トコフェロール)、ビタミン B 群及びビタミン K₁ について分析を行った結果、対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても ILSI データベースの範囲内であった。

(6) 有害生理活性物質

種子のレクチン、フィチン酸、ラフィノース、スタキオース、トリプシンインヒビター及びイソフラボン類(ダイゼイン、ゲニステイン及びグリシテイン)について分析を行った結果、対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても ILSI データベースの範囲内であった。

8. 諸外国における認可、食用等に関する事項

米国においては、米国農務省 (USDA) に対して無規制裁培の承認申請が行われ、2014 年 10 月に安全性確認が終了した。また、米国食品医薬品庁 (FDA) に対して食品・飼料としての安全性審査の申請が行われ、2015 年 5 月に安全性確認が終了した。

欧州においては、2014 年 9 月に、欧州食品安全機関 (EFSA) に対する食品・飼料及び輸入のための安全性審査の申請が行われた。

カナダにおいては、カナダ保健省 (Health Canada) に対して食品として、カナダ食品検査庁 (CFIA) に対して環境・飼料としての安全性審査の申請が行われ、2014 年 10 月に承認を得た。

オーストラリア及びニュージーランドにおいては、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ) に対して食品としての安全性審査の申請が行われ、2016 年 1 月に安全性確認が終了した。

9. 栽培方法に関する事項

ダイズ MON87751 の栽培方法については、従来のダイズと同じである。

10. 種子の製法及び管理方法に関する事項

ダイズ MON87751 の種子の製法及び管理方法については、従来のダイズと同じである。

第7. 第2から第6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6までにより、安全性の知見が得られている。

Ⅲ. 食品健康影響評価結果

「チョウ目害虫抵抗性ダイズ MON87751 系統」については、「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」（平成16年1月29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. ILSI. 2016. Crop Composition Database, Version 5.1. International Life Sciences Institute, Washington, D.C.
2. English, L. and S.L. Slatin. 1992. Mode of action of delta-endotoxins from *Bacillus thuringiensis*: A comparison with other bacterial toxins. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 22: 1-7.
3. Baum, J.A. 1998. Transgenic *Bacillus thuringiensis*. *Phytoprotection* 79: 127-130.
4. Gao, Y., K.J. Fencil, X. Xu, D.A. Schwedler, J.R. Gilbert and R.A. Herman. 2006. Purification and characterization of a chimeric Cry1F δ -endotoxin expressed in transgenic cotton plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 829-835.
5. Comparison of the Functional Activity of two *E. coli*-Produced Cry1A.105 Protein Lots (10000776 and 11349124) Against a Susceptible Lepidopteran Species (社内報告書)
6. Comparison of the Functional Activity of two *E. coli*-Produced Cry2Ab2 Protein Lots (11346423 and 11351673) Against a Susceptible Lepidopteran Species (社内報告書)
7. Bioinformatics Evaluation of the Cry1A.105 Protein in MON87751 Utilizing the AD_2013, TOX_2013 and PRT_2013 Databases (社内報告書)
8. Updated Bioinformatics Evaluation of the Cry2Ab2 Protein Utilizing the AD_2013, TOX_2013 and PRT_2013 Databases (社内報告書)

9. Krebbers, E., J. Seurinck, L. Herdies, A.R. Cashmore and M.P. Timko. 1988. Four genes in two diverged subfamilies encode the ribulose-1,5-biphosphate carboxylase small subunit polypeptides of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology* 11: 745-759.
10. An, Y.-Q., J.M. McDowell, S. Huang, E.C. McKinney, S. Chambliss and R.B. Meagher. 1996. Strong, constitutive expression of the *Arabidopsis ACT2/ACT8* actin subclass in vegetative tissues. *The Plant Journal* 10: 107-121.
11. Bäumllein, H., W. Boerjan, I. Nagy, R. Bassüner, M. Van Montagu, D. Inzé and U. Wobus. 1991. A novel seed protein gene from *Vicia faba* is developmentally regulated in transgenic tobacco and *Arabidopsis* plants. *Molecular and General Genetics* 225: 459-467.
12. Liu, H., A.T. Trieu, L.A. Blaylock and M.J. Harrison. 1998. Cloning and characterization of two phosphate transporters from *Medicago truncatula* roots: Regulation in response to phosphate and to colonization by arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11: 14-22.
13. Bevan, M., W.M. Barnes and M.-D. Chilton. 1983. Structure and transcription of the nopaline synthase gene region of T⁻ DNA. *Nucleic Acids Research* 11: 369-385.
14. Wong, E.Y., C.M. Hironaka and D.A. Fischhoff. 1992. *Arabidopsis thaliana* small subunit leader and transit peptide enhance the expression of *Bacillus thuringiensis* proteins in transgenic plants. *Plant Molecular Biology* 20: 81-93.
15. Herrmann, K.M. 1995. The shikimate pathway: Early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. *The Plant Cell* 7: 907-919.
16. Molecular Characterization of Insect Protected Soybean (MON87751) (社内報告書)
17. Bioinformatics Evaluation of the DNA Sequences Flanking the Insertion Site in MON87751: BLASTn and BLASTx Analyses (社内報告書)
18. Bioinformatics Evaluation of DNA Sequences Flanking the 5' and 3' Junctions of Inserted DNA in MON87751: Assessment of Putative Polypeptides (社内報告書)
19. Bioinformatics Evaluation of the Transfer DNA Insert in MON87751 Utilizing the AD_2013, TOX_2013 and PRT_2013 Databases (社内報告書)
20. Assessment of Cry1A.105 and Cry2Ab2 Protein Levels in Soybean Tissues Collected from MON 87751 Produced in U.S. Field Trials during 2012 (社内報告書)
21. 厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室 2014 平成 24 年国民健康・栄養調査報告 厚生労働省
22. Assessment of the *in vitro* Digestibility of Cry1A.105 Protein in Simulated Gastric and Simulated Intestinal Fluids (社内報告書)

23. Assessment of the *in vitro* Digestibility of Cry2Ab2 Protein in Simulated Gastric and Simulated Intestinal Fluids (社内報告書)
24. Effect of Heat Treatment on the Immunodetection of *Escherichia coli*-Produced MON87751 Cry1A.105 Protein (社内報告書)
25. Effect of Heat Treatment on the Immunodetection of *Escherichia coli*-Produced MON87751 Cry2Ab2 Protein (社内報告書)
26. Demonstration of the Presence of Cry1A.105 and Cry2Ab2 Proteins in Soybean Leaf Samples across Multiple Generations of MON87751 (社内報告書)
27. Segregation Analysis of the Coding Sequences Present in Insect Protected Soybean MON87751 Across Multiple Generations (社内報告書)
28. Compositional Analyses of Soybean Forage and Seed Harvested from MON87751 and the Control Grown in the United States During the 2012 Season (社内報告書)
29. Analyses of Minerals and B Vitamins of Seed Collected from MON 87751 Grown in the United States During the 2012 Season (社内報告書)