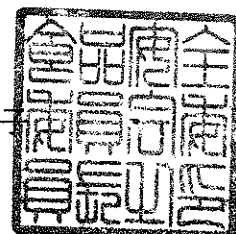




府食第180号
平成22年3月11日

厚生労働大臣
長妻 昭 殿

食品安全委員会
委員長 小泉 直子



食品健康影響評価の結果の通知について

平成21年4月28日付け厚生労働省発食安第0428001号をもって貴省から当委員会に意見を求められた食品「高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1」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

「高オレイン酸含有ダイズ DP-3054231-1」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ものと判断した。

遺伝子組換え食品等評価書

高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1

2010年3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	7
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	7
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	8
4. アレルギー誘発性に関する事項	8
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	8
6. 安全な摂取に関する事項	8
7. 近縁の植物種に関する事項	8
第4. ベクターに関する事項	9
1. 名称及び由来に関する事項	9
2. 性質に関する事項	9
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	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. 挿入遺伝子及び薬剤耐性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	12
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	13
1. 遺伝子導入に関する事項	13

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	18
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	19
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	19
5. 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項	20
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	20
7. 宿主との差異に関する事項	21
8. 諸外国における認可、食用等に関する事項	22
9. 栽培方法に関する事項	23
10. 種子の製法及び管理方法に関する事項	23
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	23
Ⅲ. 食品健康影響評価結果	23
<参照>	23

<審議の経緯>

2009年4月28日	厚生労働大臣より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（厚生労働省発食安第0428001号）、関係書類の接受
2009年4月30日	第284回食品安全委員会（要請事項説明）
2009年5月19日	第70回遺伝子組換え食品等専門調査会
2009年6月19日	第71回遺伝子組換え食品等専門調査会
2009年9月14日	第73回遺伝子組換え食品等専門調査会
2010年1月18日	第78回遺伝子組換え食品等専門調査会
2010年2月4日	第319回食品安全委員会（報告）
2010年2月4日より3月5日	国民からの御意見・情報の募集
2010年3月9日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2010年3月11日	第323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>

2009年6月30日まで	2009年7月1日から
見上 彪（委員長）	小泉直子（委員長）
小泉直子（委員長代理）	見上 彪（委員長代理*）
長尾 拓	長尾 拓
野村一正	野村一正
畑江敬子	畑江敬子
廣瀬雅雄	廣瀬雅雄
本間清一	村田容常
	*：2009年7月9日から

<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>

2009年9月30日まで	2009年10月1日から
澤田純一（座長）	澤田純一（座長）
鎌田 博（座長代理）	鎌田 博（座長代理）
五十君静信	丹生谷博
石見佳子	飯 哲夫
宇理須厚雄	山川 隆
小関良宏	山崎 壮
橘田和美	和久井信
澁谷直人	渡邊雄一郎
手島玲子	
	五十君静信
	澁谷直人
	手島玲子
	中島春紫
	飯 哲夫
	山崎 壮
	和久井信

要 約

「高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1」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行った。

「高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1」は、ダイズに由来する脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の一部の領域からなる遺伝子 (*gm-fad2-1* 遺伝子) を導入して作製されており、ジーンサイレンシングにより、種子中のオレイン酸の含有量が高まるとされている。なお、本品種には、選択マーカーとして、ダイズに由来する改変アセト乳酸合成酵素遺伝子 (*gm-hra* 遺伝子) が導入されている。

導入した遺伝子により、目的としたモノ不飽和脂肪酸であるオレイン酸が、非組換えダイズと比較して有意に増加しており、オリーブ油等の高オレイン酸含有油と同程度のオレイン酸が含まれている。また、非組換えダイズと比較して、ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の含有量が有意に増加し、リノール酸が有意に減少しているが、日本人が摂取するダイズ又はダイズ油をすべて本組換えダイズに置き換えて試算した場合であっても、ヒトの健康を損なうおそれはないと考えられた。

これらのことから、「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、「高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1」はヒトの健康を損なうおそれはないものと判断した。

I. 評価対象食品の概要

名称：高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1

性質：高オレイン酸含有

申請者：デュポン株式会社

開発者：Pioneer Hi-Bred International, Inc. (米国)

「高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1」（以下「ダイズ DP-305423-1」という。）は、ダイズ由来の脂肪酸不飽和化酵素（ ω -6 デサチュラーゼ）をコードする遺伝子（*FAD2-1* 遺伝子）の一部の領域からなる *gm-fad2-1* 遺伝子を導入して作製されている。本遺伝子によりジーンサイレンシングが誘導され、ダイズ内在性の *FAD2-1* 遺伝子がコードする ω -6 デサチュラーゼの発現が抑制される。その結果、 ω -6 デサチュラーゼが触媒するオレイン酸からリノール酸への生合成が阻害され、種子中のオレイン酸含有量が高まるとされている。なお、選択マーカー遺伝子としてダイズ由来のアセト乳酸合成酵素遺伝子（*gm-als* 遺伝子）を改変した *gm-hra* 遺伝子が導入されている。

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.）の商業品種 Jack である。

(2) DNA 供与体の種名及び由来

gm-fad2-1 遺伝子及び *gm-hra* 遺伝子の供与体は、ダイズである。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

gm-fad2-1 遺伝子は、ダイズ内在性の *FAD2-1* 遺伝子（参照1）の一部の領域からなる遺伝子である（参照2）。*gm-fad2-1* 遺伝子は、ジーンサイレンシングを誘導し、ダイズ内在性の *FAD2-1* 遺伝子がコードする ω -6 デサチュラーゼの発現を抑制され、 ω -6 デサチュラーゼが触媒するオレイン酸からリノール酸への生合成が阻害されることによって、種子中のオレイン酸含有量が高まるとされている。

また、*gm-hra* 遺伝子は、ダイズ内在性の *gm-als* 遺伝子を改変したもので、アセト乳酸合成酵素を阻害する除草剤に耐性を付与するタンパク質を発現する。

これらの挿入 DNA を含む、それぞれの直鎖状 DNA 断片をパーティクルガン法により宿主に導入した。

2. 宿主の食経験に関する事項

ダイズの出産地は中国で、紀元前 11 世紀頃の周時代にはすでにダイズが栽培されていたとされている（参照3, 4）。ダイズが我が国へ伝来した時期は約 2,000 年前と推定され、我が国においても古くから食品として利用されている（参照5）。

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

ダイズ種子中の主要栄養組成はタンパク質 32～45.5%（乾燥重量）（以下、(DW)と記載）、脂質 8.10～24.7%(DW)、灰分 3.89～6.99%(DW)、炭水化物 29.6～50.2%(DW)、粗繊維 4.12～13.9%(DW)と報告されている（参照 6, 7）。

(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

宿主であるダイズの種子には、毒性物質・栄養阻害物質として、トリプシンインヒビター、レクチン、イソフラボン類、ラフィノース、スタキオース及びフィチン酸が含まれている（参照7）。

ダイズ種子中のトリプシンインヒビター含有量は 20～119 TIU^a/mg(DW)、レクチン含有量は 0.1～9.0 HU^b/mg(DW)、イソフラボン類のうち、最も多く含有しているマロニル体の含有量は、マロニルグルコシドダイゼインが 62～558mg/kg (DW)、マロニルグルコシドゲニステインが 136～603 mg/kg(DW) 及びマロニルグルコシドグリシテインが 6.6～71.2 mg/kg(DW)である。また、ラフィノース含有量は0.21～0.66%(DW)、スタキオース含有量は1.21～3.50% (DW)、フィチン酸含有量は 0.63～2.74%(DW)である（参照 6, 7, 8）。

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 DP-305423-1 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 DP-305423-1 の可食部位は、従来のダイズと変わらない。

(3) 摂取量

ダイズ DP-305423-1 は、オレイン酸を多く含むダイズ油を得る目的で開発されたダイズである。このため、従来のダイズ油がダイズ DP-305423-1 を用いて製造した油に置き換わることが考えられる。

(4) 調理及び加工方法

^a TIU : trypsin inhibitor unit

^b HU : hemagglutinating unit

ダイズ DP-305423-1 の調理及び加工方法は、従来のダイズ油と変わらない。

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

ダイズ DP-305423-1 は、*gm-fad2-1* 遺伝子発現カセットの導入により、種子中のオレイン酸含有量が増加していることから、主要な脂肪酸組成については、オレイン酸を多く含有する油を比較対象とした。これ以外については、宿主を比較対象とした。

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 DP-305423-1 は、*gm-fad2-1* 遺伝子発現カセットの導入により、種子中のオレイン酸含有量が増加し、リノール酸の含有量が減少していること、*gm-hra* 遺伝子発現カセットの導入により、GM-HRA タンパク質が発現すること、並びに、種子中のヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の含有量が有意に増加していることが宿主との相違点である。

以上、1～6により、ダイズ DP-305423-1 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された。

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 DP-305423-1 は、種子中のモノ不飽和脂肪酸であるオレイン酸の含有量が高まり、多価不飽和脂肪酸であるリノール酸の含有量が減少している。オレイン酸は、ヒト血中の LDL コレステロールを低下させるが HDL コレステロールを低下させないことが報告されている（参照 9, 10）。また、多価不飽和脂肪酸の含有量の減少により、水素を添加しなくても油の熱安定性を保つことができる。さらに、水素添加量が減少した場合、油中のトランス脂肪酸の生成が抑制され、ヒトにおけるトランス脂肪酸の摂取量が減少することが期待されている。

なお、ダイズ DP-305423-1 には選択マーカーとして利用するために *gm-hra* 遺伝子の導入によって除草剤であるアセト乳酸合成酵素阻害剤に対する耐性が付与されている。

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* 属のダイズ (*G. max* (L.) Merr.) の商業品種 Jack 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

ダイズの出産地は、中国であり、祖先は野生種のツルマメ (*Glycine soja*) と考えられている。紀元前 11 世紀頃の周時代にはすでにダイズの栽培が行われ、

食用に供されていたと考えられている（参照 3, 4）。ダイズは、約 2,000 年前に日本に渡来したと推定され、今日では栽培地域や用途に適した品種が開発され、全国的に栽培されている（参照 5, 11）。

一方、米国には 1765 年に伝えられて栽培が普及し（参照 4）、現在、世界最大のダイズ生産国となっている（参照 12）。

3. 有害生理活性物質の生産に関する事項

宿主であるダイズの種子には、毒性物質・栄養阻害物質として、トリプシンインヒビター、レクチン、イソフラボン類、ラフィノース、スタキオース及びフィチン酸が含まれている（参照 7）。

ダイズ種子中のトリプシンインヒビター含有量は 20~119 TIU/mg(DW)、レクチン含有量は 0.1~9.0 HU/mg(DW)、イソフラボン類のうち、最も多く含有しているマロニル体の含有量は、マロニルグルコシドダイゼインが 62~558mg/kg(DW)、マロニルグルコシドゲニス테인が 136~603 mg/kg(DW)及びマロニルグルコシドグリシテインが 6.6~71.2 mg/kg(DW)である。また、ラフィノース含有量は 0.21~0.66%(DW)、スタキオース含有量は 1.21~3.50%(DW)、フィチン酸含有量は 0.63~2.74%(DW)である（参照 6, 7, 8）。

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（参照 13）。代表的なアレルゲンとして、種子貯蔵タンパク質である β -コングリシンの α -サブユニット、ダイズ液胞タンパク質及びビシリン様糖タンパク質等が知られている（参照 14）。

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、ウイルス、細菌及び糸状菌が原因の各種病害が知られているが（参照 4, 15）、それらが人や動物に感染することは知られていない。

6. 安全な摂取に関する事項

ダイズは紀元前 11 世紀頃から栽培が行われ、食用に供されてきたと考えられている（参照 3, 4）。現在、ダイズは様々な食品に加工されており、約 75%は搾油用、残りの約 25%は豆腐、味噌、納豆、醤油、豆乳等の原料として利用されている（参照 16）。

2006 年における世界総生産量は約 2 億 2,000 万トンであり、米国は総生産量の約 40%を占めている。我が国の 2006 年の生産量は約 22.9 万トンであり、輸入量は約 404 万トンである。そのうち約 80%が米国からの輸入である（参照 17, 18）。

7. 近縁の植物種に関する事項

ダイズの近縁種には、ツルマメ（*G. soja* Sieb. and Zucc.）が存在する（参照

3, 4)。しかし、ツルマメは食用に供されることはない。

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

ダイズ DP-305423-1 の作出に用いた直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A は、プラスミド pSP72 (参照 19) を基に構築された。

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 pSP72 の全塩基数は 2,462bp であり、その塩基配列は明らかとなっている。

(2) 制限酵素による切断地図に関する事項

プラスミド pSP72 の制限酵素切断地図は明らかとなっている。

(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 pSP72 の塩基配列は明らかにされており、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

プラスミド pSP72 には、アンピシリン耐性マーカーである *amp* 遺伝子が含まれているが、直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A には含まれない。

(5) 伝達性に関する事項

プラスミド pSP72 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

gm-fad2-1 遺伝子及び *gm-hra* 遺伝子の由来は、ダイズである。

(2) 安全性に関する事項

gm-fad2-1 遺伝子及び *gm-hra* 遺伝子の供与体であるダイズは、古くから食用に供されている。

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

・ *gm-fad2-1* 遺伝子

gm-fad2-1 遺伝子は、ダイズ内在性の *FAD2-1* 遺伝子の一部の領域を制限酵素で処理することにより得た。

• *gm-hra* 遺伝子

gm-hra 遺伝子は、これまでに発見されているアセト乳酸合成酵素阻害剤に耐性を有する植物のアセト乳酸合成酵素のアミノ酸配列（参照 20）を参考に、*gm-als* 遺伝子の 2 箇所のアミノ酸を置換させるよう改変を加えることにより作製した。この改変により、アセト乳酸合成酵素阻害剤に対する耐性が付与された。

挿入 DNA の構成要素は表 1 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

ダイズ DP-305423-1 に導入された挿入 DNA の塩基数及び塩基配列は明らかであり、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

• *gm-fad2-1* 遺伝子

gm-fad2-1 遺伝子は、*FAD2-1* 遺伝子（参照 1）の一部の領域からなる遺伝子である（参照 2, 21）。*FAD2-1* 遺伝子は、種子中でオレイン酸からリノール酸への生合成を触媒する ω -6 デサチュラーゼをコードする。*gm-fad2-1* 遺伝子の導入によって、内在性の *FAD2-1* 遺伝子との相互作用により、双方の遺伝子の発現が抑制される現象（ジーンサイレンシング）が起こる。その結果、内在性の ω -6 デサチュラーゼが産生されず、オレイン酸からリノール酸への生合成が阻害されることによって、種子中のオレイン酸含有量が高まる。

gm-fad2-1 遺伝子の発現を確認するためにノーザンブロット法による分析を行った結果、微弱なバンドが認められたが、一般にジーンサイレンシングでは、mRNA は分解されることが報告されていることから（参照 22, 23）、*gm-fad2-1* 遺伝子がタンパク質に翻訳される可能性は低いと考えられた（参照 24）。

なお、*gm-fad2-1* 遺伝子を含む直鎖状 DNA 断片 PHP19340A について、オープンリーディングフレーム（ORF）検索を行った結果、4 つの ORF が検出されたが、これらの ORF がコードするアミノ酸配列と既知毒性タンパク質との間に構造相同性は認められなかった（参照 25、5（2）参照）。

• *gm-hra* 遺伝子

gm-hra 遺伝子は、GM-HRA タンパク質を発現し、この GM-HRA タンパク質によって、アセト乳酸合成酵素の活性を阻害する除草剤の存在下でも酵素活性を示し、 α -アセト乳酸及び α -アセトヒドロキシ酪酸の合成を経て、ロイシン、バリン及びイソロイシンの分岐アミノ酸が合成される。その結果、ダイズ DP-305423-1 は、アセト乳酸合成酵素を阻害する除草剤に対する耐性を有することとなる。

GM-HRA タンパク質と既知の毒性タンパク質との間に構造相同性がないこ

とを確認するために、National Center for Biotechnology Information (NCBI) から入手可能なタンパク質アミノ酸配列データベースに対し、blastp (version2.2.13) を用いてアミノ酸相同性検索を行った結果、相同性を有する既知の毒性タンパク質は見いだされなかった (参照 26)。

(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項

プラスミド PHP19340 及び PHP17752 を構築する過程で、プラスミド pSP72 由来の *amp* 遺伝子を除去し、ハイグロマイシン耐性マーカーである *hyg* 遺伝子を挿入したが、宿主に導入した直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A には含まれていない。

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

gm-fad2-1 遺伝子発現カセットのプロモーターは、ダイズ由来の KTi3 プロモーターである (参照 27, 28)。

gm-hra 遺伝子発現カセットのプロモーターは、ダイズ由来の S-アデノシル-L-メチオニンシンテターゼ (SAMS) 遺伝子のプロモーターである (参照 28, 29)。

(2) ターミネーターに関する事項

gm-fad2-1 遺伝子発現カセットのターミネーターは、ダイズ由来の KTi3 ターミネーターである (参照 27, 28)。

gm-hra 遺伝子発現カセットのターミネーターは、ダイズ由来の *als* 遺伝子のターミネーターである (参照 28, 29)。

(3) その他

gm-hra 遺伝子発現カセットには、*gm-hra* 遺伝子の転写効率を増強するために SAMS プロモーターの下流に、ダイズ由来の SAMS 遺伝子の 5'非翻訳領域内のイントロン領域が挿入されている (参照 29)。

4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

(1) 直鎖状 DNA 断片 PHP19340A

プラスミド pSP72 に *hyg* 遺伝子発現カセットを挿入後、*amp* 遺伝子を除去し、次いで KTi3 プロモーター、KTi3 ターミネーター及び *gm-fad2-1* 遺伝子を挿入して構築した PHP19340 を制限酵素で処理することにより、*gm-fad2-1* 遺伝子発現カセットからなる直鎖状 DNA 断片 PHP19340A を得た。

(2) 直鎖状 DNA 断片 PHP17752A

プラスミド pSP72 に *hyg* 遺伝子発現カセットを挿入後、*amp* 遺伝子を除去し、次いで FRT1、SAMS プロモーター、SAMS イントロン、*gm-hra* 遺伝子、*gm-als*

ターミネーター、FRT1 及び FRT6 を挿入して構築したプラスミド PHP17752 を制限酵素で処理することにより、*gm-hra* 遺伝子発現カセットからなる直鎖状 DNA 断片 PHP17752A を得た。

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

ダイズ DP-305423-1 の作出に用いた直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A の塩基数はそれぞれ 2,924bp 及び 4,512bp であり、塩基配列、制限酵素による切断地図は共に明らかとなっている。

(2) 原則として、最終的に宿主に導入されると考えられる発現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

①直鎖状 DNA 断片 PHP19340A

遺伝子解析ソフト Vector NTI 10.3 Sequence analysis software を用いて連続する 20 アミノ酸以上のオープンリーディングフレーム (ORF) 検索を行った結果、4つの ORF が検出された。これらの ORF がコードするアミノ酸配列について、NCBI タンパク質データベースを用いて 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やアレルゲンは見いだされなかった。

また、アレルゲンデータベース (FARRP) を用いて、既知のアレルゲンとの相同性検索を行った。その結果、80 個以上のアミノ酸について 35%以上の相同性を示すアミノ酸配列は見いだされなかった。抗原決定基の存在の可能性を確認するために、FARRP を用いて、連続する 8 アミノ酸について検索を行った結果、一致する配列は見いだされなかった (参照 24)。

②直鎖状 DNA 断片 PHP17752A

①と同様に遺伝子解析ソフトを用いて ORF 検索を行った結果、目的以外のタンパク質を発現する ORF は検出されなかった (参照 24)。

(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、直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A 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

直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A は、プラスミド PHP19340 及び PHP17752 を制限酵素で処理した後、アガロースゲル電気泳動によって分離した。

第6の1の(1)の③のとおり、組換え体における分析の結果、PHP19340の外骨格領域の一部が導入されていることが確認されたが、これはアガロースゲル電気泳動による分離の際に断片が混入したものと考えられている。なお、導入された外骨格領域の一部には、*hyg* 遺伝子及び DNA 複製起点が含まれていないことが確認されている(参照30)。

表1 ダイズ DP-305423-1 への挿入 DNA

<i>gm-fad2-1</i> 遺伝子発現カセット	
KTi3 プロモーター	プロモーター領域 (遺伝子の転写に必要な配列) ダイズのクニツトリプシンインヒビター3 遺伝子のプロモーター領域
<i>gm-fad2-1</i>	ダイズの <i>FAD2-1</i> 遺伝子の一部の領域からなる遺伝子
KTi3 ターミネーター	ターミネーター領域 (遺伝子の発現を終結させるための配列) ダイズのクニツトリプシンインヒビター3 遺伝子のターミネーター領域
<i>gm-hra</i> 遺伝子発現カセット	
FRT1	酵母由来の Flp 組換え酵素認識配列
SAMS プロモーター	プロモーター領域 (遺伝子の転写に必要な配列) ダイズ由来の S-アデノシル-L-メチオニンシンテターゼ (SAMS) 遺伝子のプロモーター
SAMS	エンハンサー領域 (翻訳を促進する配列) ダイズ由来の SAMS 遺伝子の 5'非翻訳領域内のイントロン領域
<i>gm-hra</i>	ダイズ由来の GM-HRA タンパク質をコードする遺伝子
<i>gm-als</i> ターミネーター	ターミネーター領域 (遺伝子の発現を終結させるための配列) ダイズ由来のアセト乳酸合成酵素遺伝子のターミネーター
FRT1	酵母由来の Flp 組換え酵素認識配列
FRT6	FRT1 と 94%の相同性を持つ改変 FRT1 配列で、Flp 組換え酵素の認識配列

6. DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項

直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A をパーティクルガン法により、宿主に導入後、アセト乳酸合成酵素阻害剤クロロスルフロンを含む培地で形質転換したカルスを選抜して再生個体を得た。得られた個体についてサザンブロット分析を行い、挿入遺伝子の確認を行った後、一般的な育成プロセスに従い、ダイズ DP-305423-1 を得た。

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 DP-305423-1 のゲノム中に挿入された *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット及び *gm-hra* 遺伝子発現カセットのコピー数及び完全性並びに中間ベクターの外骨格配列が挿入されているかを明らかにするため、サザンブロット分析、塩基配列の解析及び PCR 分析を行った。その結果、次の 4 つの DNA 領域が 1 コピーずつ宿主ゲノムに挿入されていることが確認された。

- 完全長の *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット、3 つの *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット断片及び完全長の *gm-hra* 遺伝子発現カセットから構成される領域 (挿入領域 1)
- *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット断片領域 (挿入領域 2)
- *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット断片及び中間ベクターの外骨格から構成される領域 (挿入領域 3)
- 2 つの *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット断片から構成される領域 (挿入領域 4)

① 挿入領域 1

完全長の *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット、K_{Ti}3 ターミネーターの 3'末端 27bp が欠損した *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット断片、K_{Ti}3 ターミネーター及び *gm-fad2-1* 遺伝子の 3'末端 558bp が欠損した *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット断片、K_{Ti}3 ターミネーター、*gm-fad2-1* 遺伝子の 3'末端 411bp 及び K_{Ti}3 プロモーターの 5'末端 1,839bp が欠損した *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット断片並びに完全長の *gm-hra* 遺伝子発現カセットから構成される領域が挿入されていることが確認された (図 1 参照、参照 30)。

挿入領域 1 の近傍配列がダイズゲノム由来であることを確認するため、5'末端近傍配列及び 3'末端近傍配列にプライマーを設計し、PCR 分析を行った。その結果、ダイズ DP-305423-1 及び非組換えダイズの両方で同じ大きさの PCR 産物が増幅された (参照 31)。さらに、挿入領域 1 の 5'末端近傍配列 (600bp) 及び 3'末端近傍配列 (600bp) について、データセット^cを用いて blastn 検索を行った結果、既知のダイズゲノムと高い相同性が認められた (参照 32)。これらのことから、挿入領域 1 の近傍配列はダイズゲノム由来であると考えられた。

挿入領域 1 の挿入によって、既知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、上述の blastn 検索を行った結果、5'末端近傍配列と相同性を示すダイズ EST 配列の一部が 1 個、3'末端近傍配列と相同性を示すダイズ EST 配列の一部が 4 個検索された。これらの相同性が認められた EST 配列の全長について、blastn 検索を行った結果、いずれの EST 配列も挿入領域 1 の 5'末端近傍配列及び 3'末端近傍配列とは異なるダイズゲノムに由来す

^c ①Draft Soybean Genome Assembly (DOE-JGI) データセット、②DOE-JGI から作成された推定 mRNA 候補及び推定コーディング領域候補データセット、③ヒトとマウスを除く Genbank EST データセット、④パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社所有ダイズゲノム配列及び EST 配列から構成されるデータセットから構成されるデータセット

ることが確認された（参照 32）。さらに、5'末端近傍配列及び3'末端近傍配列について、DOE-JGI タンパク質候補データセット及び NCBI タンパク質データセットを用いて blastx 検索を行った。その結果、既知のタンパク質と相同性のあるアミノ酸配列は見いだされなかった（参照 32）。これらのことから、挿入領域 1 の挿入により、ダイズの既知の内蔵性遺伝子が損なわれている可能性は低いと考えられた。

② 挿入領域 2

KTi3 プロモーターの 5'末端 573bp が欠損した *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット断片が挿入されていることが確認された（図 2 参照、参照 30）。

挿入領域 2 の近傍配列がダイズゲノム由来であることを確認するため、5'末端近傍配列及び3'末端近傍配列にプライマーを設計し、PCR 分析を行った。その結果、ダイズ DP-305423-1 及び非組換えダイズの両方で同じ大きさの PCR 産物が増幅された（参照 31）。さらに、挿入領域 2 の 5'末端近傍配列（600bp）及び3'末端近傍配列（600bp）について、データセットを用いて blastn 検索を行った結果、既知のダイズゲノムと高い相同性が認められた（参照 32）。これらのことから、挿入領域 2 の近傍配列はダイズゲノム由来であると考えられた。

挿入領域 2 の挿入によって、既知の内蔵性遺伝子が損なわれていないことを確認するために、上述の blastn 検索を行った結果、5'末端近傍配列と相同性を示すダイズ由来の推定 mRNA 配列の一部が 3 個、ダイズ EST 配列の一部が 7 個検索された。これらの推定 mRNA 配列及び EST 配列の全長について、blastn 検索を行った結果、いずれの推定 mRNA 配列及び EST 配列も挿入領域 2 の 5'末端近傍配列とは異なるダイズゲノムに由来することが確認された（参照 32）。さらに、5'末端近傍配列及び3'末端近傍配列について、DOE-JGI タンパク質候補データセット及び NCBI タンパク質データセットを用いて blastx 検索を行った。その結果、5'末端近傍配列と相同性を示すダイズゲノム断片及びエンドウマメ等由来の断片が検索された（参照 32）。しかし、これらは一般に植物ゲノムに見られるレトロトランスポゾン因子由来の繰り返し配列の多い領域で、機能を有する遺伝子である可能性は低いと考えられた（参照 33）。これらのことから、挿入領域 2 の挿入により、ダイズの既知の内蔵性の遺伝子が損なわれている可能性は低いと考えられた。

③ 挿入領域 3

3'末端 534bp が欠損した KTi3 プロモーター及び中間ベクターの外骨格 495bp から構成される領域が挿入されていることが確認された（図 3 参照、参照 30）。

挿入領域 3 の近傍配列がダイズゲノム由来であることを確認するため、5'末端近傍配列及び3'末端近傍配列にプライマーを設計し、PCR 分析を行った。その結果、ダイズ DP-305423-1 及び非組換えダイズの両方で同じ大きさ

の PCR 産物が増幅された (参照 31)。さらに、挿入領域 3 の 5'末端近傍配列 (600bp) 及び 3'末端近傍配列 (600bp) について、データセットを用いて blastn 検索を行った結果、既知のダイズゲノムと高い相同性が認められた (参照 32)。これらのことから、挿入領域 3 の近傍配列はダイズゲノム由来であると考えられた。

挿入領域 3 の挿入によって、既知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、上述の blastn 検索を行った結果、5'末端近傍配列と相同性を示すダイズ由来の推定 mRNA 配列の一部が 1 個、3'末端近傍配列と相同性を示すダイズ由来の推定 mRNA 配列の一部が 3 個及びダイズ EST 配列の一部が 2 個検索された。これらの推定 mRNA 配列及び EST 配列の全長について、blastn 検索を行った結果、いずれの推定 mRNA 配列及び EST 配列も挿入領域 3 の 5'末端近傍配列及び 3'末端近傍配列とは異なるダイズゲノムに由来することが確認された (参照 32)。さらに、5'末端近傍配列及び 3'末端近傍配列について、DOE-JGI タンパク質候補データセット及び NBCI タンパク質データセットを用いて blastx 検索を行った。その結果、5'末端近傍配列と相同性を示すダイズゲノム断片が検索された (参照 32)。しかし、これらは一般に植物ゲノムに見られるレトロトランスポゾン因子由来の繰り返し配列の多い領域又は仮想タンパク質の一部であることから、機能を有する遺伝子である可能性は低いと考えられた (参照 33)。これらのことから、挿入領域 3 の挿入により、ダイズの既知の内在性の遺伝子が損なわれている可能性は低いと考えられた。

④ 挿入領域 4

KTi3 プロモーターの 5'末端 642bp が欠損した *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット断片及び KTi3 プロモーターの 5'末端 150bp が欠損した *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット断片から構成される領域が挿入されていることが確認された (図 4 参照、参照 30)。

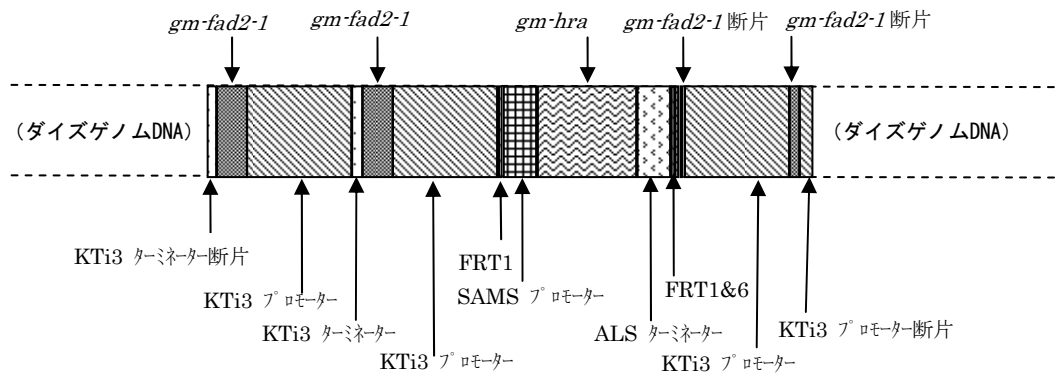
挿入領域 4 の近傍配列がダイズゲノム由来であることを確認するため、5'末端近傍配列及び 3'末端近傍配列にプライマーを設計し PCR 分析を行った。その結果、ダイズ DP-305423-1 及び非組換えダイズの両方で同じ大きさの PCR 産物が増幅された (参照 31)。さらに、挿入領域 4 の 5'末端近傍配列 (600bp) 及び 3'末端近傍配列 (600bp) について、データセットを用いて blastn 検索を行った結果、既知のダイズゲノムと高い相同性が認められた (参照 32)。これらのことから、挿入領域 4 の近傍配列はダイズゲノム由来であると考えられた。

挿入領域 4 の挿入によって、既知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、上述の blastn 検索を行った結果、3'末端近傍配列と相同性を示すダイズ由来の推定 mRNA 配列が 1 個及びダイズ EST 配列が 1 個検索された。これらの推定 mRNA 配列及び EST 配列の全長について、blastn 検索を行った結果、いずれの配列も挿入領域 4 の 3'末端近傍配列とは異なる

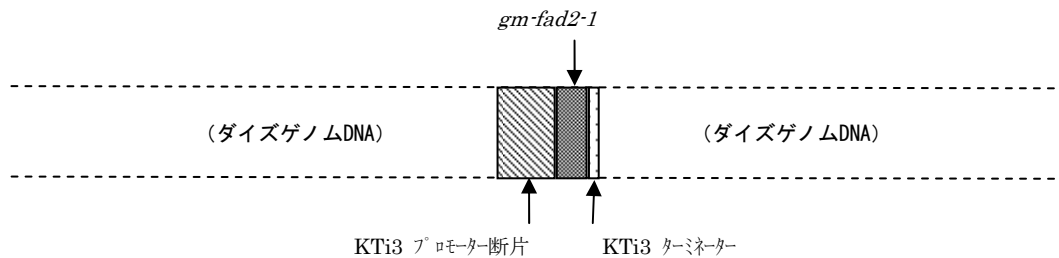
ダイズゲノムに由来することが確認された（参照 32）。さらに、5'末端近傍配列及び 3'末端近傍配列について、DOE-JGI タンパク質候補データセット及びNCBIタンパク質データセットを用いてblastx検索を行った。その結果、既知のタンパク質と相同性のあるアミノ酸配列は見いだされなかった（参照 32）。これらのことから、挿入領域4の挿入により、ダイズの既知の内在性の遺伝子が損なわれている可能性は低いと考えられた。

・ 組換えダイズ「ダイズ DP-305423-1」に挿入された DNA（模式図）

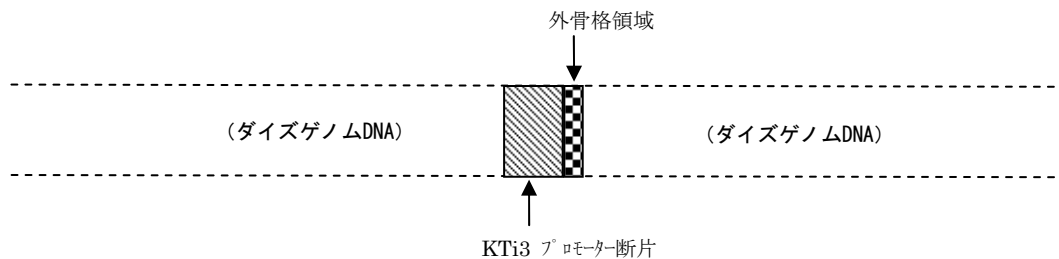
（図 1：挿入領域 1）



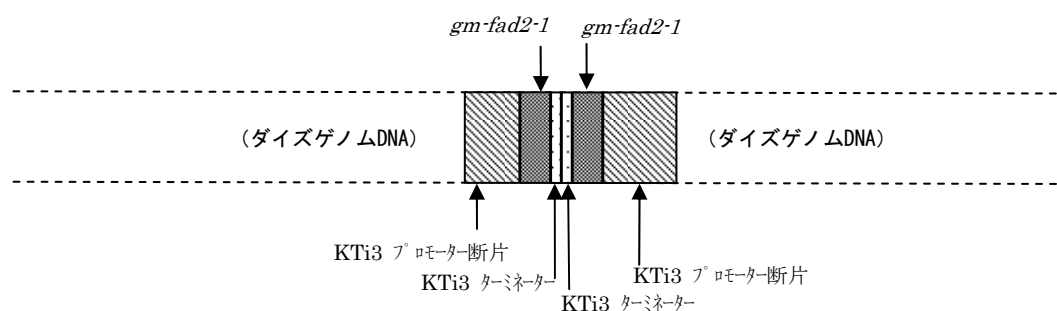
（図 2：挿入領域 2）



（図 3：挿入領域 3）



(図 4 : 挿入領域 4)



(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

各挿入領域と 5'末端近傍配列及び 3'末端近傍配列 (各 600bp) との接合部並びに各挿入領域における遺伝子発現カセット断片の接合部において、意図しないオープンリーディングフレーム (ORF) が生じていないことを確認するために、遺伝子解析ソフト Vector NTI 10.3 Sequence analysis software を用いて、6つの読み枠において連続する 20 アミノ酸以上の ORF を分析した。その結果、挿入領域 1 については 24 個、挿入領域 2 については 7 個、挿入領域 3 については 11 個、挿入領域 4 については 11 個の合計 53 個の ORF が検出された (参照 34)。

これらの ORF がコードするアミノ酸配列について、NCBI タンパク質データセットを用いて 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やアレルゲンは見いだされなかった (参照 34)。また、アレルゲンデータベース (FARRP) を用いて、既知アレルゲンとの相同性検索を行った結果、80 残基以上のアミノ酸について 35%以上の相同性を示す配列は見いだされなかった。また、抗原決定基の存在の可能性を確認するために、FARRP を用いて、連続する 8 アミノ酸について検索を行ったが、一致する配列は見いだされなかった (参照 34)。

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

・ *gm-fad2-1* 遺伝子転写産物

米国で栽培されたダイズ DP-305423-1 の葉及び種子における *gm-fad2-1* 遺伝子の mRNA の発現量をノーザンブロット法により測定した結果、微弱なバンドが認められたが (参照 25)、一般にジーンサイレンシングでは mRNA は分解されることが報告されていることから (参照 22, 23)、*gm-fad2-1* 遺伝子がタンパク質に翻訳される可能性は低いと考えられた (参照 24)。

・ GM-HRA タンパク質

米国の 4 箇所の圃場で栽培されたダイズ DP-305423-1 の葉、地上部植物体、根及び種子における GM-HRA タンパク質の発現量を、ELISA 法を用いて測定した。結果は表 2 のとおりである。

表2 ダイズ DP-305423-1 における GM-HRA タンパク質の発現量
(単位は ng/mg 乾燥重)

分析組織*	GM-HRA タンパク質
茎葉	1.2~2.4
地上部植物体	4.5
根	0.18
種子	2.7

*茎葉は2葉期～着莢期、地上部植物体及び根は着莢期、種子は収穫期の値を示した。

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

ダイズ DP-305423-1 における遺伝子産物（タンパク質）については、日本人1人が1日あたりに摂取するダイズ及びダイズ加工品 59.8g（参照 36）をすべてダイズ DP-305423-1 に置き換えて試算すると、GM-HRA タンパク質の1人1日当たりの最大摂取量は 161 μ g となり、1人1日当たりのタンパク質平均摂取量 70.8g（参照37）に占める割合は 2.3×10^{-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

gm-hra 遺伝子の供与体であるダイズは、ヒトに対するアレルギー誘発性について一般によく知られており、研究も多く行われている（参照 13, 14）。

(2) 遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性

GM-HRA タンパク質は、ダイズのアセト乳酸合成酵素タンパク質の改変型であるが、これまでにアセト乳酸合成酵素がアレルギー誘発性を持つという知見は報告されていない。

(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

Escherichia coli で発現させた GM-HRA タンパク質の人工胃液中における消化性を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS-PAGE) 法及びウェスタンブロット法による分析を行った結果、いずれの方法においても試験開始後 30 秒以内に消化された（参照 38）。

② 人工腸液に対する感受性

E. coli で発現させた GM-HRA タンパク質の人工腸液中における消化性を SDS-PAGE 法及びウェスタンブロット法による分析を行った結果、SDS-PAGE 法において試験開始後 30 秒以内に、ウェスタンブロット法において試験開始後 2 分以内に消化された（参照 39）。

③ 加熱処理に対する感受性

E. coli で発現させた GM-HRA タンパク質について、加熱による酵素活性の変化を測定した結果、50°C、15 分間の加熱処理で失活することが確認された（参照 40）。

また、70°C、15 分間加熱処理し、ウェスタンブロット法による分析を行った結果、熱処理に対して不安定であることが確認された（参照 41）。

(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。）との構造相同性に関する事項

GM-HRA タンパク質について、アレルゲンとの構造相同性を確認するために、アレルゲンデータベース（FARRP）を用いて相同性検索を行った。その結果、80 残基以上のアミノ酸について 35%以上の相同性を示すアミノ酸配列は見いだされなかった（参照 42）。また、アミノ酸配列中の抗原決定基の存在の可能性を確認するために、FARRP を用いて、連続する 8 つのアミノ酸の相同性検索を行った結果、一致するものは見いだされなかった（参照 42）。

上記、(1)～(4) 及び前項 3 から総合的に判断し、GM-HRA 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 DP-305423-1 の挿入遺伝子について、後代における安定性を確認するために、3 世代のゲノム DNA について、サザンブロット法による分析を行った。その結果、各世代において共通のバンドが確認された（参照 30）。

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

・ *gm-fad2-1* 遺伝子

ダイズ内在性の *FAD2-1* 遺伝子がコードする ω -6 デサチュラーゼは、種子中のオレイン酸からリノール酸への生合成を触媒する酵素である。*gm-fad2-1* 遺伝子の導入によって、ジーンサイレンシングを誘導し、ダイズ内在性の *FAD-2-1* 遺伝子がコードする ω -6 デサチュラーゼが産生されなくなり、オレイン酸からリノール酸への生合成が阻害される。この結果、種子中のリノール酸の含有量が減少し、オレイン酸の含有量が高まることとなる。

・ GM-HRA タンパク質

GM-HRA タンパク質は、分枝アミノ酸合成において共通経路となるアセト乳酸合成を触媒する酵素であるアセト乳酸合成酵素にアミノ酸変異が導入された酵素であり、アセト乳酸合成酵素を阻害する除草剤に耐性を示す特徴がある。一方、内在性のアセト乳酸合成酵素は、このような除草剤によって阻害される。一般的に、分枝アミノ酸合成経路のうち、バリン・ロイシン合成経路においては、バリンによってアセト乳酸合成酵素がフィードバック制御を受け、また、

イソロイシン合成経路においては、初発段階の触媒酵素であるトレオニンデヒドラターゼがイソロイシンによってフィードバック制御されていることが知られている（参照 43）。

また、ダイズ DP-305423-1 のバリン、ロイシン及びイソロイシンの含有量は非組換えダイズと比較して有意に変化していないことから、仮に GM-HRA タンパク質によりアセト乳酸合成酵素の触媒活性が高まっていたとしても、これらのフィードバック制御が働いていると推定できる。これらのことから、ダイズ DP-305423-1 における GM-HRA タンパク質は、宿主の持つアミノ酸合成経路に大きな影響を及ぼさないと考えられた。

他方、ダイズ DP-305423-1 においてヘプタデカン酸とヘプタデセン酸の含有率が非組換えダイズと比較して有意に増加している。この増加は、GM-HRA タンパク質が有するアセト乳酸合成酵素を阻害する除草剤への耐性を付与するために導入されたアセト乳酸合成酵素のアミノ酸変異により、基質の1つである α -ケト酪酸に対する GM-HRA タンパク質の基質親和性が低下し、ヘプタデカン酸等奇数鎖脂肪酸の合成の基となる α -ケト酪酸が蓄積し、それら奇数鎖脂肪酸への合成量が増加した可能性があるかと推察された（参照 44）。

7. 宿主との差異に関する事項

2005年に米国の6箇所の圃場で栽培されたダイズ DP-305423-1 と非組換えダイズについて、主要構成成分、脂肪酸組成、アミノ酸組成、ミネラル類、ビタミン類及び栄養阻害物質等の分析を行い、ダイズ DP-305423-1 と非組換えダイズとの間の統計学的有意差について検討した（参照 45）。

(1) 主要構成成分

主要構成成分（タンパク質、脂質、粗繊維、灰分、炭水化物）の分析を行ったところ、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非組換えダイズの分析結果に基づく許容値又は文献値の範囲内であった。

(2) 脂肪酸組成

脂肪酸（25種類）の分析を行ったところ、オレイン酸、ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸が有意に増加し、リノール酸が有意に減少した。これら以外の脂肪酸については、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いか、統計学的有意差が認められた場合であっても非組換えダイズの分析結果に基づく許容値又は文献値の範囲内であった。

有意な増加が認められたオレイン酸、ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸並びに有意な減少が認められたリノール酸のヒトへの健康影響について考察を行った。

ダイズ DP-305423-1 のオレイン酸含有率は、オリーブ油等の高オレイン酸含有油のオレイン酸含有率（参照 46）と同程度である。

ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸は、種々の食品に含有されており（参照 46）、日常的に摂取されている。また、日本人1人が1日当たりに摂取するダ

イズ油をダイズ DP-305423-1 に置き換えた場合のヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の摂取の増加量について、総脂質摂取量に対する割合を算出した結果、それぞれ 0.041%、0.072%であった。

リノール酸等の必須脂肪酸欠乏症は、少量の摂取により予防可能とされており（参照 47）、日本人 1 人が 1 日当たりに摂取するダイズ油をダイズ DP-305423-1 に置き換えた場合のリノール酸の摂取量は、日本人が一般に摂取している摂取量の範囲内だった。

これらのことから、オレイン酸、ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の有意な増加並びにリノール酸の有意な減少に関し、ヒトの健康を損なうおそれはないと考えられた。

(3) アミノ酸組成

アミノ酸（18 種類）の分析を行ったところ、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非組換えダイズの分析結果に基づく許容値又は文献値の範囲内であった。

(4) ミネラル類

カルシウム、銅などの主要なミネラル 9 種類の分析を行ったところ、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非組換えダイズの分析結果に基づく許容値あるいは文献値の範囲内であった。

(5) ビタミン類

ビタミン B1、葉酸などの主要なビタミン類 8 種類の分析を行ったところ、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非組換えダイズの分析結果に基づく許容値又は文献値の範囲内であった。

(6) 栄養阻害物質等

栄養阻害物質及び二次代謝産物として、レクチン、フィチン酸、トリプシンインヒビター、ショ糖、スタキオース、ラフィノース及びイソフラボン類（13 種類）の分析を行ったところ、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非組換えダイズの分析結果に基づく許容値又は文献値の範囲内であった。

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、米国食品医薬品庁（FDA）に安全性審査のための申請を行い、2009 年 1 月に確認が終了した。また、米国農務省（USDA）に無規制栽培許可の申請を行い、2009 年 1 月に承認を得た。

カナダにおいては、カナダ保健省（HC）及びカナダ食品検査庁（CFIA）に安全性審査の申請を行い、2009 年 5 月に承認を得た。

EU においては、欧州食品安全機関（EFSA）に 2007 年 6 月に安全性審査の申請を行っている。

9. 栽培方法に関する事項

ダイズ DP-305423-1 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 DP-305423-1 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

「高オレイン酸含有ダイズ DP-305423-1」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ものと判断した。

<参照>

- 1 Kinney, A.J. Genetic modification of the storage lipids of plants. Curr. Opin. Biotechnol. 1994, 5, 144-151.
- 2 Heppard, E.P., Kinney, A.J., Stecca, K.L. and Miao, G.H. Developmental and Growth Temperature Regulation of Two Different Microsomal omega-6 Desaturase Genes in Soybeans. Plant Physiol. 1996, 110, 311-319.
- 3 野口弥吉, 川田信一郎 監修. 農学大事典. 第2次増訂改版, 養賢堂, 1994, 537-541.
- 4 OECD. Consensus Document on the Biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology. 2000, 15.
[http://www.oilis.oecd.org/oilis/2000doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono\(2000\)9](http://www.oilis.oecd.org/oilis/2000doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono(2000)9)
- 5 “ダイズ・アズキ・ラッカセイ”. 農業技術体系 作物編. 最終追補年度. 社団法人 農山漁村文化協会. 2002. 第6巻.
- 6 ILSI. Crop Composition Database Version 3.0. International Life Sciences Institute, Washington, DC. 2006. <http://www.cropcomposition.org/>
- 7 OECD. Consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean: Key food and feed nutrients, and anti-nutrients. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds No. 2. Organization for Economic Co-operation and Development, 2001, ENV/JM/MONO, 15.
- 8 Kim. S.H., Jung. W.S., Ahn. J.K., Chung. I.M. Analysis of isoflavone concentration and composition in soybean [*Glycine max*(L.)] seeds between the cropping year and storage for three years. European Food Research and

- Technology. 2005; 220(2): 207-214.
- 9 Wollet, L.A., Dietschy, J.M. Effect of long-chain fatty acids on low-density-lipoprotein-cholesterol metabolism. *Am. J. Clin. Nutri.* 1994, 60, 991-996.
 - 10 Olive Oil and Health. Eurosciences Communications. 2007.
http://www.aceitesborges.es/univ/eur_uk.htm, (Accessed on Sep 19th, 2007).
 - 11 農林水産省. “国産大豆品種の事典”, 大豆のホームページ. 2007. 大豆のホームページ. http://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/daizu/d_ziten/index.html, (Accessed on June 11, 2007).
 - 12 FAOSTAT. FAO Statistical Database. 2007.
<http://faostat.fao.org/site/526/default.aspx>, (Accessed on June 11, 2007).
 - 13 Metcalfe, D.D., Astwood, J.D., Townsend, R., Sampson, H.A., Taylor, S.L. and Fuchs, R.L. Assessment of the allergenic potential of foods from genetically engineered crop plants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1996, 36, S165-186.
 - 14 Ogawa T., Samoto, M. and Takahashi K. Soybean allergens and hypoallergenic soybean products. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 2000, 46, 271-279.
 - 15 University of Illinois. Field Crop Diseases, 2007,
<http://cropdisease.cropsci.uiuc.edu/index.html> (Accessed on June 11, 2007).
 - 16 大久保一良 “大豆の食品学”. 大豆の科学. 山内文男, 大久保一良編. 朝倉書店. 1992, 76-90.
 - 17 農林水産省. 平成 18 年度産大豆の収穫量の確定について. 農林水産統計データ. 2007,
<http://www.maff.go.jp/toukei/sokuhou/data/daizu-syukaku2006-k/daizu-syukaku2006-k.xls>, (Accessed on June 11, 2007).
 - 18 財務省貿易統計. 2007. <http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm> (Accessed on June 11, 2007).
 - 19 Krieg, P.A. and Melton, D.A. *In vitro* RNA synthesis with SP6 RNA polymerase. *Methods Enzymol.* 1987, 155, 397-415.
 - 20 Tan S., Evans, R. and Singh, B. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. *Amino Acids.* 2006, 30, 195-204.
 - 21 Okuley, J., Lightner, J., Feldmann, K., Yadav, N., Lark, E., and Browse, J. Arabidopsis FAD2 gene encodes the enzyme that is essential for polyunsaturated lipid synthesis. *Plant Cell.* 1994, 6, 147-158.
 - 22 Baulcombe, D. RNA silencing in plants. *Nature.* 2004, 431, 356-363.
 - 23 Waterhouse, P.M. and Helliwell C.A. Exploring plant genomes by RNA-induced gene silencing. *Nat Rev Genet.* 2003, 4, 29-38.
 - 24 PHP19340A and PH17752A Open Reading Frame Analysis. (社内報告書)
 - 25 Gene Expression Studies on DP-305423-1 by Northern Blot Analysis on Leaf Tissue and Developing Seed. (社内報告書)
 - 26 Evaluation of the Amino Acid Sequence Similarity of the GM-HRA Protein to

- the NCBI Protein Sequence Datasets . (社内報告書)
- 27 Jofuku, K.D. and Goldberg, R.B. Kunitz Trypsin Inhibitor Genes Are Differentially Expressed during the Soybean Life Cycle and in Transformed Tobacco Plants. *Plant Cell*. 1989, 1, 1079-1093.
 - 28 Jofuku, K.D., Schipper, R.D. and Goldberg, R.B. A Frameshift Mutation Prevents Kunitz Trypsin Inhibitor mRNA Accumulation in Soybean Embryos. *Plant Cell*. 1989, 1, 427-435.
 - 29 Falco, S.C. and Li, Z. S-adenosyl-L-methionine synthetase promoter and its use in expression of transgenic genes in plants. United States Patent Application Publication. No 2003/0226166 A1. 2003-12-4.
 - 30 Molecular Characterization of DP-305423-1 Soybean. (社内報告書)
 - 31 Sequence Characterization of Inserts and Genomic Border Regions of Soybean Event DP-305423-1 . (社内報告書)
 - 32 BLASTn/BLASTx Analysis of the Flanking Border Sequences Comprising Soybean Event DP-305423-1. (社内報告書)
 - 33 Bennetzen J.L. Transposable element contributions to plant gene and genome evolution. *Plant Mol. Biol.* 2000, 42, 251-269.
 - 34 Reading Frame Analysis of Novel Junctions within Soybean Event DP-305423-1 using a 20 Amino Acid Length Cutoff. (社内報告書)
 - 35 Quantitative ELISA of a Soybean Progenitor Line Containing Event DP-305423-1: U.S. Locations. (社内報告書)
 - 36 厚生労働省 健康・栄養情報研究会編. 平成 16 年 国民健康・栄養調査報告. 2006. 第一出版株式会社発行.
 - 37 US Pharmacopoeia, The National Formulary. USP XXIV, NF XIX, US Pharmacopoeia Convention, Inc., Mack Printing Co., Easton, PA, 2000, 2235.
 - 38 Characterization of the *In Vitro* Pepsin Resistance of GM-HRA using Western Blot Analysis. (社内報告書)
 - 39 Characterization of the *In Vitro* Pancreatin Resistance of GM-HRA. (社内報告書)
 - 40 Characterization of the Thermal Stability of GM-HRA Enzyme Activity. (社内報告書)
 - 41 Characterization of the Effect of Heat Treatment on the Immunoreactivity of the GM-HRA Protein using Western Blot Analysis. (社内報告書)
 - 42 Comparison of the Amino Acid Sequence Identity between the GM-HRA Protein and Known Protein Allergens. (社内報告書)
 - 43 今堀和友, 山川民夫監修. 生化学辞典. 第 3 版, 東京化学同人, 1998, 67.
 - 44 ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の含有量の増加に関する考察 (社内報告書)
 - 45 Nutrient Composition Analysis of Soybean Line DP-305423-1: U.S. and Canada Locations. (社内報告書)
 - 46 文部科学省. “脂肪酸組成”. 五訂増補日本食品標準成分表. 2005 年版, http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/gijyutu/gijyutu3/toushin/05031801.htm,

(Accessed on September 03, 2007).

- 47 メルクマニュアル. 18 版, 日本語版, 2007
<http://merckmanual.jp/mmpej/index.html>