資料２

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コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP915635）に係る食品健康影響評価(令和４年３月16日付け厚生労働省発生食0316第５号)については、令和６年７月25日に開催された第252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。

２．コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP915635）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

令和６年９月３日（火）開催の食品安全委員会（第953回会合）の翌日の令和６年９月４日（水）から令和６年10月３日（木）までの30日間。

２）受付体

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・情報等をとりまとめ、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、審議結果をとりまとめ、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

コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP915635）（食品）

令和６年（２０２４年）９月

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

目　次

＜審議の経緯＞

2022 年 3 月 16 日	厚生労働大臣から遺伝子組換え食品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 0316 第 5 号）、関係書類の接受
2022 年 3 月 29 日	第 853 回食品安全委員会（要請事項説明）
2022 年 4 月 22 日	第 224 回遺伝子組換え食品等専門調査会
2024 年 7 月 25 日	第 252 回遺伝子組換え食品等専門調査会
2024 年 9 月 3 日	第 953 回食品安全委員会（報告）

＜食品安全委員会委員名簿＞

2024 年 6 月 30 日まで	2024 年 7 月 1 日から
山本 茂貴（委員長）	山本 茂貴　（委員長）
浅野　哲　（委員長代理　第一順位）	浅野　哲　（委員長代理　第一順位）
川西　徹　（委員長代理　第二順位）	祖父江 友孝（委員長代理　第二順位）
脇　昌子（委員長代理　第三順位）	頭金　正博　（委員長代理　第三順位）
香西 みどり	小島 登貴子
松永 和紀	杉山 久仁子
吉田　充	松永 和紀

＜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＞

2023 年 9 月 30 日まで		2024 年 4 月 1 日から	
中島 春紫（座長）		児玉 浩明（座長）	
山川 隆（座長代理）		佐々木 伸大（座長代理）	
安達 玲子	近藤 一成	伊藤 政博	手島 玲子
岡田 由美子	佐々木 伸大	小野 道之	樋口 恭子
小野 道之	樋口 恭子	小野 竜一	藤原 すみれ
小野 竜一	藤原 すみれ	柴田 識人	百瀬 愛佳
		爲廣 紀正	

＜第 224 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）

＜第 252 回遺伝子組換え食品等専門調査会専門参考人名簿＞

山川　隆（国立大学法人東京大学大学院）

要　約

「コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP915635）」について食品健康影響評価を実施した。

本系統は、トウモロコシ（*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis）のデント種 PHR03 系統を既存品種とし、*Ophioglossum pendulum* に由来する *ipd079Ea* 遺伝子、*Streptomyces viridochromogenes* に由来する *pat* 遺伝子及び *Escherichia coli* に由来する *pmi* 遺伝子を導入して作出されており、IPD079Ea タンパク質を発現することでコウチュウ目害虫抵抗性が、PAT タンパク質を発現することで除草剤グルホシネート耐性が、PMI タンパク質を発現することで形質転換体の選抜マーカーが付与される。

IPD079Ea タンパク質は選択的殺虫タンパク質であり、ウェスタンコーンルートワーム（*Diabrotica virgifera virgifera*）等のコウチュウ目昆虫に摂食されると、昆虫の中腸上皮細胞膜上の受容体と結合して中腸組織を損傷させることにより殺虫活性を発揮する。

PAT タンパク質は、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートをアセチル化し、除草活性のない *N*-アセチル L-グルホシネートを生成するため、遺伝子組換え体は、除草剤グルホシネートの影響を受けずに生育することが可能となる。

「遺伝子組換え食品（種子植物）に関する食品健康影響評価指針」（平成 16 年 1 月 29 日食品安全委員会決定）に基づき、導入遺伝子の供与体の安全性、導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、導入遺伝子の塩基配列等の解析、交配後の世代における導入遺伝子の安定性、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。その結果、本系統には、非組換えトウモロコシ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、「コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP915635）」については、人の健康を損なうおそれはないと判断した。

Ⅰ．評価対象食品の概要

（申請内容）

名　称：コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP915635）

性　質：コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性

申請者：コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社

開発者：Pioneer Hi-Bred International, Inc., Member of Corteva Agriscience Group of Companies（米国）

「コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（DP915635）」（以下「トウモロコシ DP915635」という。）は、*Ophioglossum pendulum* に由来する *ipd079Ea* 遺伝子、*Streptomyces viridochromogenes* に由来する *pat* 遺伝子及び *Escherichia coli*（K-12 株）に由来する *pmi* 遺伝子を導入して作出されており、IPD079Ea タンパク質を発現することでコウチュウ目害虫抵抗性が、PAT タンパク質を発現することで除草剤グルホシネート耐性が、PMI タンパク質を発現することで形質転換体の選抜マーカーが付与される。

Ⅱ．食品健康影響評価

第１．食品健康影響評価において比較対象として用いる既存品種の性質に関する事項

１．既存品種の分類学上の位置付けに関する事項

既存品種は、イネ科トウモロコシ属に属するトウモロコシ（*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis）のデント種 PHR03 系統である。

２．既存品種の食経験に関する事項

トウモロコシは、古くから多くの食経験があり（参照 1）、現在では世界中で食品や飼料等に広く利用されている。

３．既存品種の食品としての利用方法に関する事項

（１）収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法

一般にトウモロコシの収穫は秋季に行われ、乾燥後、常温で貯蔵される。

（２）摂取（可食）部位

トウモロコシの摂取（可食）部位は雌穂に形成される子実である。

（３）摂取量

日本人の「とうもろこし・加工品」[a]の一日平均摂取量は、1.0 g である。

[a] 令和元年「国民健康・栄養調査報告」食品群別摂取量の食品分類

（４）調理及び加工方法

デント種は主に飼料用として栽培されているが、コーンスターチの原料として利用されるほか、食用油やスナック菓子に加工される。

４．既存品種の遺伝的先祖及び育種開発の経緯並びに近縁の植物種に関する事項

トウモロコシの遺伝的先祖は、同属のテオシントで、人為的選抜を経て栽培化したと言われている。原産地は、中米、南米等と考えられている（参照 2)。栽培適性の異なる多くの品種が育成された結果、現在では北緯 60 度から南緯 40 度辺りまで栽培地域が拡大し、世界的に広く栽培される作物となった（参照 1)。

トウモロコシの近縁種には、テオシント及びトリプサクム属が知られているが（参照 2)、わが国において食用に供されることはない。

５．既存品種由来の食品の構成成分等に関する事項

（１）既存品種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

トウモロコシの子実の主要栄養素組成（対乾燥重量）は、粗食物繊維 5.8～35.3%、粗タンパク質 5.7～17.3%、粗脂質 1.4～7.8%、粗繊維 0.5～5.5%、酸性デタージェント繊維 1.4～11.3%、中性デタージェント繊維 4.3～24.3%、灰分 0.6～6.3%、炭水化物 77.4～89.7%である（参照 3)。

（２）既存品種に含まれる毒性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質。例えば、トリプシンインヒビター、フィチン酸等）等の種類及びその量の概要

トウモロコシには、ヒトの健康に悪影響を与える毒性物質の産生性は知られていない。栄養阻害物質として、フィチン酸、ラフィノースが知られている。トリプシンインヒビターも含まれているが、含有量が少なく、栄養学的に問題にならないとされている（参照 4)。

対乾燥重量の含有量については、フィチン酸定量限界未満～1.9%、ラフィノース定量限界未満～0.47%、トリプシンインヒビター定量限界未満～8.4%である（参照 3)。

６．既存品種のアレルギー誘発性等に関する事項

トウモロコシの脂質輸送タンパク質（Lipid Transfer Protein）と呼ばれる分子量 9 kDa のタンパク質、16 kDa のトリプシンインヒビター、26 kDa の α-ゼイン前駆体、30 kDa のキチナーゼ-A 及び 50 kDa の γ-ゼインが食物アレルゲンである可能性が示唆されている（参照 5、6、7）が、一般的にトウモロコシはアレルギー誘発性のある食品とは考えられていない（参照 4)。

７．既存品種の栽培及び流通過程において、健康に影響を及ぼす外来因子に関する事項

トウモロコシには、ウイルス、細菌及び糸状菌による各種病害が知られている（参照 2）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。

８．既存品種の安全な摂取に関する事項

トウモロコシは世界の主要穀物の一つで、古くから多くの食経験がある。デント種は、食品分野においてコーン油、コーンスターチ等の原料として幅広く利用されている。

以上１～８より、トウモロコシ DP915635 の安全性評価においては、既存のトウモロコシが比較対象であると判断した。

第２．遺伝子組換え体の利用目的、利用方法及び既存品種との相違に関する事項

１．新たに付加される形質又は改変される形質

トウモロコシ DP915635 では、IPD079Ea タンパク質、PAT タンパク質及び PMI タンパク質が産生される。

２．利用目的

トウモロコシ DP915635 は、ウェスタンコーンルートワーム（*Diabrotica virgifera virgifera*、以下「WCR」という。）等のコウチュウ目害虫に殺虫活性を有することにより抵抗性を示す。また、除草剤グルホシネートの影響を受けずに生育することができる。

３．利用方法

（１）栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法

トウモロコシ DP915635 の栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法は、従来のトウモロコシと変わらない。

（２）可食部位、調理及び加工方法

トウモロコシ DP915635 の可食部位、調理及び加工方法は、従来のトウモロコシと変わらない。

（３）摂取量

トウモロコシ DP915635 の摂取量は、従来のトウモロコシと変わらない。

４．安全性において検討が必要とされる相違点

トウモロコシ DP915635 は、*ipd079Ea* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子を導入して作出されており、IPD079Ea タンパク質、PAT タンパク質及び PMI タンパク質を産生することが既存品種との相違点である。

５．既存品種以外のものを比較対象とする場合の理由

既存品種以外のものは比較対象としていない。

第３．挿入DNA、遺伝子産物及びコンストラクトの構築に関する事項

１．ベクターの名称及び由来に関する事項

トウモロコシ DP915635 の作出に使用した導入用プラスミド PHP83175 のベクターバックボーン（挿入 DNA 領域を除く部分）は、アグロバクテリウム（*Rhizobium radiobacter*（*Agrobacterium tumefaciens*））等に由来するプラスミド pSB1 を基に作製された。

２．ベクターの性質に関する事項

（１）ベクターの塩基数及びその塩基配列を示す事項

導入用プラスミド PHP83175 のベクターバックボーンの塩基数及び塩基配列は明らかになっている（参照 8)。

（２）既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

導入用プラスミド PHP83175 のベクターバックボーン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。

（３）遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子に関する事項

導入用プラスミド PHP83175 のベクターバックボーンにはスペクチノマイシン及びテトラサイクリンに対して耐性を付与する *spc* 遺伝子及び *tetA* 遺伝子が含まれている。

（４）伝達性等に関する事項

導入用プラスミド PHP83175 のベクターバックボーンには伝達を可能とする塩基配列は含まれていない。

３．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

ipd079Ea 遺伝子、*pat* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子の供与体は、*O. pendulum*、*S. viridochromogenes* 及び *E. coli*（K-12 株）である。

（２）安全性に関する事項（アレルギー誘発性、毒素産生性を含む。）

O. pendulum は、シダ植物のハナヤスリ属（*Ophioglossum*）に分類され、若葉は野菜として食されることが知られている（参照９）。また、*O. pendulum* がヒトに対する毒性及びアレルギー誘発性を有しているとの報告はない。

S. viridochromogenes は、土壌中に広く存在し、ヒトに対する病原性及びアレルギー誘発性は報告されていない（参照 10)。

E.coli（K-12 株）は、哺乳類の腸に広く存在し、ヒトに対する病原性、毒素産生性及びアレルギー誘発性は報告されていない（参照 11)。

４．導入遺伝子（遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物（RNA 及びタンパク質）の性質に関する事項

（１）導入遺伝子の機能に関する事項

①　遺伝子の機能並びに発現タンパク質の性質及び機能

ａ．*ipd079Ea* 遺伝子

シダ植物の抽出物を用いた標的害虫に対する殺虫活性を指標としたスクリーニングを行い、相同性検索により *O. pendulum* のトランスクリプトームから IPD079Ea タンパク質を同定した。IPD079Ea タンパク質は、選択的殺虫タンパク質である。IPD079Ea タンパク質は、小孔形成タンパクとして知られている MACPF（Membrane Attack Complex/Perforin）スーパーファミリーに属していることが予測された。MACPF スーパーファミリーに属するタンパク質は、様々な生物に広く分布しており、その多様な機能が発生等に関連する（参照 12)。イネ科植物においては、MACPF ドメインを有するタンパク質が発生や環境ストレスに対する応答において機能することが示唆されている（参照 13)。MACPF タンパク質は標的細胞の細胞膜上の受容体に結合し、環状複合体を形成し小孔を形成する（参照 14)。IPD079Ea タンパク質はこれまでに報告されている MACPF タンパク質と同等のサイズの環状複合体を形成することが確認されている（参照 14、15)。IPD079Ea タンパク質は、WCR の中腸上皮細胞に存在する受容体に特異的に結合して作用すると考えられた。

また IPD079Ea タンパク質の WCR の中腸上皮刷子縁膜小胞（brush border membrane vesicles:BBMV）に対する結合活性は、WCR に殺虫活性を示す２種の Bt タンパク質によって阻害されなかったことから、IPD079Ea タンパク質とこれらの Bt タンパク質は WCR の中腸において異なる受容体と結合することが示唆された（参照 16)。

IPD079Ea タンパク質の殺虫活性について、コウチュウ目、チョウ目、ハチ目、トビムシ目及びアミメカゲロウ目の５目 18 種の生物種に対して評価した結果、標的昆虫である WCR 及びその近縁種に特異的であると考えられた。

ｂ．*pat* 遺伝子

pat 遺伝子がコードする PAT タンパク質は、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートをアセチル化し、除草活性のない *N*-アセチル L-グルホシネートを生成する。その結果、トウモロコシ DP915635 は、除草剤グルホシネートの影響を受けずに生育することが可能となる（参照 10)。

c．*pmi* 遺伝子

pmi 遺伝子は PMI タンパク質をコードし、マンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸を可逆的に変換する酵素である。トウモロコシはマンノースを炭素源として利用できないが、PMI タンパク質の産生により炭素源としてマンノースを含む培地において生長することが可能になるため、組換え植物の選抜マーカーとして用いた（参照 17）。

d. IPD079Ea タンパク質のヒトへの影響の考察

IPD079Ea タンパク質のヒトへの影響を考察するために、ヒト腸管上皮細胞株である T84 及び Caco-2 を用いて、IPD079Ea タンパク質ばく露による細胞の生存率への影響を分析した。0.1 µg/ml、1.0 µg/ml 及び 10 µg/ml の IPD079Ea タンパク質溶液に両細胞株を 48 時間ばく露した結果、T84 については、いずれの濃度の IPD079Ea タンパク質のばく露においても生存率への影響は認められなかった。Caco-2 については、1.0 µg/ml 及び 10 µg/ml の IPD079Ea タンパク質へのばく露により、テトラゾリウム塩による還元反応において陰性対照との統計学的有意差が認められた。しかしながら、ばく露時の平均値が典型的な用量反応関係を示さず、加えて、それぞれの平均値と陰性対照の平均値との差は陽性対照の平均値と陰性対照の平均値との差と比較して軽微であったことから、Caco-2 の生存率への影響において認められた統計学的有意差は、IPD079Ea タンパク質へのばく露に起因する有意な細胞毒性を示すものではないと考えられた。

IPD079Ea タンパク質の一日平均摂取量は、日本人一人が一日に摂取する「とうもろこし・加工品」[b]（参照 18）の原料を全てトウモロコシ DP915635 に置き換えて推定摂取量を計算すると、0.18 µg 程度となる（第４の３参照）。また、IPD079Ea タンパク質は胃液及び腸液により速やかに消化されると考えられる（第４の４の（３）参照）。これらのことから、食品の摂取を通じて、ヒトの腸管上皮が未消化の IPD079Ea タンパク質に、0.1 µg/ml を超える濃度[c]で長時間連続してばく露される可能性は極めて低いと考えられる。

② 発現タンパク質と既知毒性タンパク質との構造相同性

IPD079Ea タンパク質、PAT タンパク質及び PMI タンパク質と既知毒性

[b] 令和元年国民健康・栄養調査報告（厚生労働省令和２年 12 月）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）穀類、その他の穀類・加工品、とうもろこし・加工品（食品群番号 11）における１人１日当たり摂取量の平均値

[c] 空腹時の人の胃液は最低で 20 ml 程度とされていることから、人の胃液中の IPD079Ea タンパク質の最大濃度は 0.009 µg/ml と推定される。ただし、１日あたりの胃液の分泌量は約 1000～2000 ml（南山堂医学大辞典第 20 版 p. 90）、腸液の分泌量は約 2400 ml（南山堂医学大辞典第 20 版 p. 1618）とされ、実際にはさらに低濃度になるものと考えられる。なお、胃の切除を行った人は、一度に摂取する食物の量を減らすよう指導されることから、健康成人に比べ IPD079Ea タンパク質の摂取量はより少ないと推定される。

タンパク質の相同性の有無を確認するため、毒性タンパク質データベース[d]を用いて、*E*-value＜1×10^{-4}を指標として検索を行った結果、既知毒性タンパク質との間に相同性は認められなかった（参照 19、20、21）。

（２）遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子のうち、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 PHP83175 のベクターバックボーンにはテトラサイクリン耐性（*tetA*）遺伝子及びスペクチノマイシン耐性（*spc*）遺伝子が含まれているが、ベクターバックボーンはトウモロコシ DP915635 中に導入されていない。

（３）導入遺伝子及び遺伝子組換え体の選抜に関わる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

ipd079Ea 遺伝子発現カセットのプロモーターは、トウモロコシ（*Z. mays*）由来の *zm*-PCOa 遺伝子のプロモーター配列である。

pat 遺伝子発現カセットのプロモーターは、イネ（*O. sativa*）由来の *os*-actin 遺伝子のプロモーター配列である。

pmi 遺伝子発現カセットのプロモーターは、トウモロコシ（*Z. mays*）由来の *ubi*ZM1 遺伝子の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

ipd079Ea 遺伝子発現カセットのターミネーターは、ソルガム（*S. bicolor*）由来の *sb-SCI-1B* 遺伝子のターミネーター配列である。

pat 遺伝子発現カセットのターミネーターは、カリフラワーモザイクウイルス由来の CaMV35S 遺伝子のターミネーター配列である。

pmi 遺伝子発現カセットのターミネーターは、ジャガイモ（*S. tuberosum*）由来の *pin*Ⅱターミネーター配列である。

③　その他

目的遺伝子の発現を高めるため、以下の配列を含む。

ipd079Ea 遺伝子発現カセットには、ソルガム（*S. bicolor*）由来の *sb*-RCc3 エンハンサー及びトウモロコシ（*Z. mays*）由来の *zm*-HPLV9 イントロンを、*pat* 遺伝子発現カセットには、イネ（*O. sativa*）由来の *os*-actin イントロンを、*pmi* 遺伝子発現カセットには、トウモロコシ（*Z. mays*）由来の *ubi*ZM1 5’UTR 及び *ubi*ZM1 イントロンを含む。

[d] UniprotKB/Swiss-Prot（https://www.uniprot.org/）に登録されている既知毒性タンパク質のみで構成されたデータベース（2020 年 1 月更新）（検索日 2020 年 7 月及び 9 月）

5．そのほか導入遺伝子の機能並びに発現タンパク質の性質及び機能に関する事項

中間系統作出のために既存品種の細胞に挿入されたプラスミド PHP70605 は *cas9* 遺伝子及びガイド RNA 発現カセットを含んでいるため、挿入に伴いエンドヌクレアーゼである Cas9 タンパク質及びガイド RNA が一過的に産生される。Cas9 タンパク質は、ガイド RNA を介して既存品種のゲノム DNA 中で隣接する内在性 *zm*-SEQ158 及び *zm*-SEQ159 の間で特異的な二重鎖切断を引き起こし、植物が元来有する DNA 修復機構により相同組換えが誘導され、内在性 *zm*-SEQ158 及び *zm*-SEQ159 の間に LP 配列（Landing Pad sequence）が挿入される。さらに、トウモロコシ DP915635 作出のためにその中間系統の細胞に挿入されたプラスミド PHP83175 は、*Flp* 遺伝子発現カセットを含んでいるため、挿入に伴いリコンビナーゼである FLP タンパク質が一過的に産生される。FLP タンパク質は挿入 DNA 領域を中間系統のゲノム中の LP 配列に部位特異的組換えにより挿入するための相同組換えを誘起する。

これらの遺伝子はいずれもトウモロコシ DP915635 のゲノムに挿入されていないことを確認している（参照 22）。

6．ベクターへの挿入 DNA の組込方法等に関する事項

（１）挿入 DNA のクローニング又は合成方法に関する事項

導入された遺伝子は、それぞれの供与体のゲノム DNA 又は cDNA から PCR 法によってクローニングされた。

（２）ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

導入用プラスミド PHP83175 は、プラスミド pSB1 等より構成されたベクターバックボーンと *pmi* 遺伝子発現カセット、*pat* 遺伝子発現カセット及び *ipd079Ea* 遺伝子発現カセットを含む挿入 DNA 領域より作製された。各遺伝子発現カセットの構成 DNA は表１のとおり。

7．構築されたコンストラクトに関する事項

（１）塩基数及び塩基配列並びに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 PHP83175 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 8）。

（２）既存品種に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域がコンストラクト上で明らかであること。

導入用プラスミド PHP83175 の意図する挿入領域は、T-DNA 領域のうち FRT1 から FRT6 までである。

（３）導入しようとするコンストラクトは、目的外の遺伝子が混入しないよう純化されていること。

導入用プラスミド PHP83175 は、スペクチノマイシンによる選抜を通じて

目的外の遺伝子の混入がないよう純化されている。

表１　導入用プラスミドPHP83175の挿入DNA領域の構成要素（遺伝子発現カセット以外省略）

構成DNA	由来及び機能
（*pmi* 遺伝子発現カセット※）	
pmi	大腸菌（*E. coli*）　由来のマンノースリン酸イソメラーゼ(PMIタンパク質)をコードする。
*pin*II ターミネーター	ジャガイモ（*S. tuberosum*）由来のプロテアーゼインヒビターII 遺伝子（*pin*II）のターミネーター領域。
（*pat* 遺伝子発現カセット）	
os-actin プロモーター	イネ（*Oryzae sativa*）由来のアクチン遺伝子のプロモーター領域。
os-actin イントロン	イネ（*O. sativa*）由来のアクチン遺伝子のイントロン領域。
pat	*S. viridochromogenes* 由来のホスフィノスリシンアセチルトランスフェラーゼ（PATタンパク質）をコードする。
CaMV 35S ターミネーター	カリフラワーモザイクウイルス由来の 35S ターミネーター領域。
（*ipd079Ea* 遺伝子発現カセット）	
sb-RCc3 エンハンサー	ソルガム（*S. bicolor*）由来の *sb*-RCc3 遺伝子のエンハンサー領域。
zm-PCOa プロモーター	トウモロコシ(*Z. mays*)由来のmRNA配列であるPCO118362上流のプロモーター領域。
zm-HPLV9 イントロン	トウモロコシ（*Z. mays*）由来の *zm*-HPLV9 遺伝子オーソログのイントロン領域。
ipd079Ea	*O. pendulum* 由来の IPD079Ea タンパク質をコードする。
sb-SCI-1B ターミネーター	ソルガム（*S. bicolor*）由来サブチリシン-キモトリプシンインヒビター *1B* 遺伝子のターミネーター領域。

※*pmi* 遺伝子発現カセットのプロモーターは予め *zm*-SEQ158/159 系統（中間系統）に移入されている。挿入DNA領域が当該プロモーターの下流に部位特異的組換えにより挿入され、*pmi* 遺伝子と当該プロモーターが接続される。

第４．遺伝子組換え体の作出及び遺伝子組換え栽培系統に関する事項

１．遺伝子導入に関する事項

（１）遺伝子の既存品種への導入方法に関する事項

トウモロコシ DP915635 の作出は、２回の形質転換を経て行われた。

１回目の形質転換は、非組換えトウモロコシ PHR03 系統に、*cas9* 遺伝子及びガイド RNA 発現カセットを含むプラスミド PHP70605、プラスミド PHP73878 及びヘルパープラスミドをパーティクルガン法により導入した。プラスミド PHP70605 より一過性にエンドヌクレアーゼである Cas9 タンパク質及びガイド RNA が発現し、既存品種ゲノムの内在性 *zm*-SEQ158 及び *zm*-SEQ159 配列間で特異的に二重鎖を切断する。プラスミド PHP73878 はリコンビナーゼである FLP タンパク質の標的配列（FRT1 及び FRT6）を含む挿入標的配列（LP 配列）、並びに LP 配列の両端に *zm*-SEQ158 及び *zm*-SEQ159 配列を有している。同一配列である既存品種ゲノム中の *zm*-SEQ158 及び *zm*-SEQ159 配列との間で相同組換えが生じ LP 配列がゲノム DNA に挿入される。その結果、1 コピーの LP 配列がゲノム DNA に挿入された個体を選抜し *zm*-SEQ158/159 系統とした（参照 23）。

２回目の形質転換は、*zm*-SEQ158/159 系統の細胞に、アグロバクテリウム法により導入用プラスミド PHP83175 を導入した。導入用プラスミド PHP83175 の T-DNA 領域内の *Flp* 遺伝子が発現して FLP タンパク質が産生される結果、T-DNA 領域中の FRT1 及び FRT6 と LP 配列中の FRT1 及び FRT6 との間で部位特異的組換えが誘導され、T-DNA 領域のうち挿入 DNA 領域のみが *zm*-SEQ158/159 系統に導入された（参照 23）。

（２）遺伝子組換え栽培系統に関する事項（系統の考え方に基づいた記述、育成図）

炭素源としてマンノースを添加した培地で胚を生育させることにより選抜を行い、得られたカルスから植物体を再生し、T_0 世代とした。一般的なトウモロコシの育成プロセスに従って、自殖及び既存の品種との交配を行い、トウモロコシ DP915635 が得られた。

（３）コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

トウモロコシ DP915635 のゲノムに挿入された挿入 DNA のコピー数及びベクターバックボーンの有無を確認するために、Southern by Sequencing（SbS）分析[e]を行った。その結果、平均リード深度（カバレッジ）が 900 から 1,168 の範囲であったことから、信頼性に問題はなかった。LP 配列の 5’末端及び 3’末端とトウモロコシ DP915635 ゲノムとの接合領域がそれぞれ 1 箇所特定され、また、挿入 DNA 領域の 5’末端及び 3’末端はそれぞれ LP 配列と接合しており部位特異的組換えによって挿入 DNA 領域が LP 配列中の意図した位置に挿入されたことが確認された（参照 22）。したがって、トウモロコシ

[e] キャプチャー技術と次世代シーケンシングを組み合わせた解析手法

DP915635 ゲノム中に挿入 DNA 領域が 1 コピー導入されていることが確認された。導入用プラスミド PHP83175 のベクターバックボーン及び *zm*-SEQ158/159 系統の作出に用いたプラスミドに由来する DNA 断片の混入のないことを SbS 分析にて確認した（参照 22）。さらに、トウモロコシ DP915635 に挿入された DNA 全体及びその近傍の塩基配列を解析した結果、*pmi* 遺伝子のプロモーター領域での 1 塩基置換を除き、挿入 DNA 領域が意図したとおり LP 配列中に挿入されたことが確認された（参照 23）。

また、トウモロコシ DP915635 の挿入 DNA の近傍配列の由来を確認するために、上記の塩基配列解析により、トウモロコシ DP915635 の LP 配列挿入部位の 5’側近傍配列及び 3’側近傍配列の塩基配列を決定し、これらの近傍配列をトウモロコシのゲノム DNA 配列データベース[f]と blastn を用いて照合した。その結果、挿入 DNA の近傍配列はトウモロコシ 1 番染色体由来であると考えられた（参照 24）。

さらに、トウモロコシ DP915635 作出に用いた *zm*-SEQ158/159 系統において、LP 配列を挿入することにより既存品種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’側近傍配列及び 3’側近傍配列について、データベース[g]を用いて blastn 及び blastx 検索を行った。その結果、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 24）。

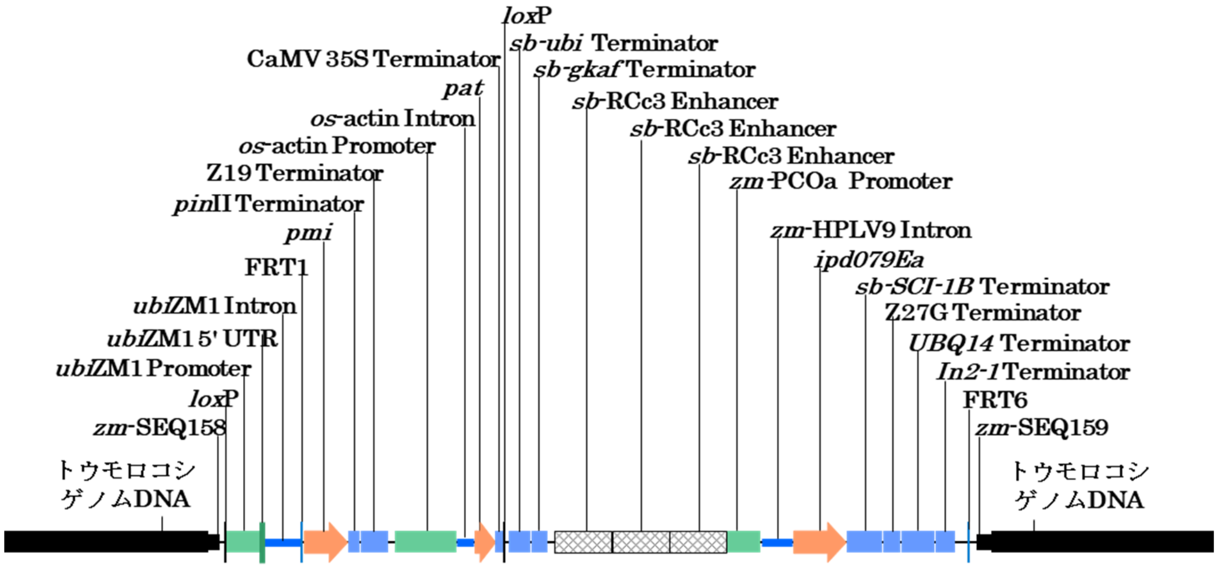

図 1　トウモロコシ DP915635 のゲノム DNA 中に挿入された DNA（模式図）

（4）遺伝子組換え栽培系統における導入遺伝子の安定性に関する事項

導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 世代のトウモロコシ DP915635 の葉から抽出されたゲノム DNA を用いてサザンブロット分

f Maize (B73) Public Genome Assembly, version 5、2020 年 6 月公表。
g NCBI（核酸データセット（2020 年 4 月公表）、EST データセット（2018 年 12 月公表）、非重複タンパク質データセット（2020 年 4 月公表））（検索日：2021 年 6 月）

析を行った結果、各世代において想定された共通のバンドが検出され、導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 25）。

（５）ORF の有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

トウモロコシ DP915635 に導入された DNA の全体及びその 5’末端近傍配列及び 3’末端近傍配列との接合部位において目的遺伝子をコードする ORF を除く意図しない ORF が生じていないことを確認するために、6 つの読み枠において ORF 検索を行った。その結果、終止コドンから終止コドンまでの連続する 30 アミノ酸以上の ORF が 378 個検出された（参照 26）。

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確認するため、毒性タンパク質データベース[h]を用いて E-value<1×10^{-4} を指標として blastp 検索を行った。その結果、既知毒性タンパク質との相同性は認められなかった。

また、既知アレルゲンとの相同性については、アレルゲンデータベース[i]を用いて、E-value<1×10^{-4} を指標として連続する 80 アミノ酸以上の配列に対して 35%以上の相同性を有する配列及び連続する 8 アミノ酸以上の配列が一致する配列を検索した。その結果、既知アレルゲンと連続する 8 アミノ酸以上の一致を有する ORF が 1 個検出された。この ORF は *pat* 遺伝子発現カセット中の *os*-actin プロモーター及び *os*-actin イントロンの接続領域の相補鎖に位置し、8 個及び 12 個のグリシンが連続する 2 ヶ所の配列が既知のアレルゲンであるトウモロコシ由来エンドキチナーゼ A のアミノ酸配列と一致していた。当該 ORF の上流にはプロモーターがなく、開始コドンも含まれていないことから翻訳される可能性は低いと考えられた（参照 25）。

２．遺伝子産物の遺伝子組換え栽培系統における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項

トウモロコシ DP915635 の根、葉、花粉、地上部及び子実について、IPD079Ea タンパク質、PAT タンパク質及び PMI タンパク質の発現量を、ELISA 法を用いて分析を行った。結果は表２のとおりである（参照 27）。

[h] UniprotKB/Swiss-Prot（https://www.uniprot.org/）に登録されている既知毒性タンパク質のみで構成されたデータベース（2020 年 1 月更新）（検索日：2020 年 12 月）

[i] Comprehensive Protein Allergen Resource（COMPARE）（2020 年 1 月公表）（検索日：2020 年 11 月）

表２　トウモロコシ DP915635 中に産生される遺伝子産物の部位、時期別産生量

（ng/mg 乾物重）

遺伝子産物	採取部位	採取時期	定量下限値	平均値	最小値 - 最大値
IPD079Ea タンパク質	根	6 葉期	0.069	16	9.9 － 26
		9 葉期	0.069	9.2	0.72 － 30
		糊熟期*	0.069	1.2	0.28 － 2.7
	葉	9 葉期	0.14	0.83	0.33 － 1.6
		糊熟期	0.14	<0.14	<0.14
	花粉	開花期	0.28	0.95	0.58 － 1.3
	地上部植物体	糊熟期	0.046	0.25	0.086 － 0.46
	子実	完熟期	0.069	0.18	0.075 － 0.36
PAT タンパク質	根	6 葉期	0.054	14	6.3 － 23
		9 葉期	0.054	7.3	3.6 － 14
		糊熟期*)	0.054	1.4	0.57 － 2.7
	葉	9 葉期	0.11	4.4	2.6 － 8.4
		糊熟期	0.11	3.8	1.9 － 5.4
	花粉	開花期	0.22	80	47 － 110
	地上部植物体	糊熟期	0.036	9.3	3.6 － 14
	子実	完熟期	0.054	6.4	3.9 － 9.9
PMI タンパク質	根	6 葉期	0.27	6.1	3.6 － 9.6
		9 葉期	0.27	4.8	1.8 － 9.6
		糊熟期*	0.27	2.3	1.2 － 4.2
	葉	9 葉期	0.54	6.6	3.4 － 11
		糊熟期	0.54	27	20 － 38
	花粉	開花期	1.1	23	17 － 26
	地上部植物体	糊熟期	1.8	8.2	5.4 － 11
	子実	完熟期	0.27	3.1	1.5 － 5.7

N=24

* 凍結乾燥中に 4 サンプルが失われたため N=20 で算出した。

３．遺伝子産物のタンパク質摂取量が有意な量を占めるか否かに関する事項

（１）遺伝子産物がヒトのタンパク質一日摂取量において有意な量を占めるかについて

日本人一人が一日に摂取する「とうもろこし・加工品」の平均摂取量 1.0 g（参照 28）の原料を全てトウモロコシ DP915635 に置き換えて IPD079Ea タンパク質、PAT タンパク質及び PMI タンパク質の推定摂取量を計算すると、それぞれ 0.18、6.4 及び 3.1 μg となり、一人一日当たりのタンパク質摂取量 69.4 g（参照 28）に占める割合はそれぞれ 0.3×10^{-6}、9.2×10^{-6} 及び 4.5×10^{-6}%となる。したがって、一日のタンパク質の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（遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子を用いている場合にはその遺伝子産物についても評価すること。）

（１）導入遺伝子の供与体（遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子の供与体を含む。）のアレルギー誘発性（グルテン過敏性腸炎誘発性を含む。以下同じ。）に関する知見が明らかであること。

ipd079Ea 遺伝子の供与体である *O. pendulum* についてデータベース[j]で検索を行った結果、*O. pendulum* 由来のアレルゲンはこれまでに報告されていない。

pat 遺伝子の供与体である *S. viridochromogenes* のアレルギー誘発性の報告はない（参照 10)。

pmi 遺伝子の供与体である *E.coli* のアレルギー誘発性の報告はない（参照 11)。

（２）遺伝子産物（タンパク質）についてそのアレルギー誘発性に関する知見が明らかであること。

IPD079Ea タンパク質、PAT タンパク質及び PMI タンパク質がヒトに対しアレルギー誘発性を有するとの報告はない。

（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 IPD079Ea タンパク質

ａ．人工胃液に対する感受性

E. coli で発現させた IPD079Ea 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に、SDS-PAGE 分析を行った結果、IPD079Ea タンパク質の完全長と考えられるバンドは試験開始 30 秒後には消失したが、10 kDa 以下の複数のバンドが試験開始 60 分後まで検出された（参照 29)。そこで、IPD079Ea タンパク質を人工胃液で 10 分間処理後連続して人工腸液で処理を行った結果、10 kDa 以下の複数のバンドは人工腸液処理開始 30 秒以内に消失した（参照 30)。ウェスタンブロット分析では、試験開始 30 秒後でいずれのバンドも検出されなかった（参照 29)。

ｂ．人工腸液に対する感受性

E. coli で発現させた IPD079Ea 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に、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、両試験において、試験開始 60 分後まで完全長と考えられるバンドが検出されたが、経時的に減少することが確認された（参照 31)。

---

[j] COMPARE（2021 年 1 月公表）及び Allergen Online（ネブラスカ大学の食物アレルギー研究資源プログラムによるデータベース）（2021 年 2 月公表）

c．加熱処理に対する感受性

E. coli で発現させた IPD079Ea 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に、各温度帯で約 30 分間加熱した後、WCR に混餌投与し致死率を測定した。その結果、50℃以上の加熱処理により致死率は IPD079Ea タンパク質を投与しなかった場合の致死率と同程度まで低下することが確認された（参照 32）。

また、ELISA 分析を行った結果、75℃以上、30 分間の加熱処理により免疫反応性は非加熱対照の 0.1%未満に低下した。

このことから、IPD079Ea タンパク質は、加熱処理により殺虫活性及び免疫反応性が低下することが確認された。

② PMI タンパク質

a．人工胃液に対する感受性

E. coli で発現させた PMI 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に、SDS-PAGE 分析を行った結果、PMI タンパク質の完全長と考えられるバンドは試験開始 30 秒後には消失したが、約 3 kDa 以下の複数のバンドが試験開始 60 分後まで検出された（参照 33）。そこで、PMI タンパク質を人工胃液で 1 分間処理後連続して人工腸液で処理を行った結果、約 3 kDa 以下の複数のバンドは人工腸液処理開始 30 秒以内に消失した（参照 34）。ウェスタンブロット分析では、試験開始 30 秒後でいずれのバンドも検出されなかった（参照 33）。

b．人工腸液に対する感受性

E. coli で発現させた PMI 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に、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 分析では試験開始 20 分以内に、ウェスタンブロット分析では試験開始 60 分以内に消失した（参照 35）。

c．加熱処理に対する感受性

E. coli で発現させた PMI 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に、各温度帯で約 30 分から 35 分間加熱した後、ホスホマンノースイソメラーゼ活性を測定した。その結果、25℃及び 50℃で処理した場合、非加熱対照と比較し酵素活性の低下は観察されなかったが、75℃以上の加熱処理を加えた場合（75℃及び 95℃）、酵素活性は検出されなかった（参照 36）。

このことから、PMI タンパク質は、加熱処理により酵素活性が低下することが確認された。

③　PAT タンパク質

PAT タンパク質は、既に承認を受けている DP-004114-3 等に導入された遺伝子がコードするタンパク質と同一であり、①人工胃液中で 30 秒以内に消化されること（SDS-PAGE 分析）、②人工腸液中で 30 秒以内に消化されること（ウェスタンブロット分析）、③90℃、60 分間の加熱処理により免疫反応性が認められたが酵素活性は失われること（SDS-PAGE 分析及び *N*-アセチルトランスフェラーゼ活性分析）が学術的に確認されている（参照 37）。なお、OECD 公表文書において、PAT タンパク質がアレルギー誘発性を示す可能性は低いとされている（参照 10）。

（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与するタンパク質を含む。以下「アレルゲン等」という。）との構造相同性に関する事項

IPD079Ea タンパク質、PAT タンパク質及び PMI 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に、アレルゲンデータベース[k]を用いて相同性検索を行った。検索方法については、*E*-value<1×10^{-4} を指標として連続する 80 アミノ酸以上の配列に対して 35%以上の相同性を有する配列及び連続する 8 アミノ酸以上の配列が一致する配列を検索した。

その結果、IPD079Ea タンパク質及び PAT タンパク質について、既知のアレルゲンとの相同性は認められなかった（参照 38、39）。

PMI タンパク質については、カエル由来のα-パルブアルブミンとの間に 8 アミノ酸の一致（DLSDKETT）が認められた（参照 40）。しかしながら、当該 8 アミノ酸は、カエル由来のα-パルブアルブミンと交差反応性を有する魚のパルブアルブミンで同定されたエピトープの外側に位置すること、PMI タンパク質がパルブアルブミンのアレルギー誘発性に重要な立体構造を有していないこと、PMI タンパク質のように 8 アミノ酸の一致を示しながら 80 アミノ酸以上について 35%より大きい相同性を有さない例は、交差反応性を示す既知のアレルゲンの組み合わせとして知られていないこと（参照 40、41）、さらに、PMI タンパク質が食品としてこれまでに安全に使用されていることなどから、PMI タンパク質がアレルギー誘発性を示す可能性は低いと考えられる。

上記（１）から（４）まで及び前項３から総合的に判断し、IPD079Ea タンパク質、PAT タンパク質及び PMI タンパク質については、アレルギー誘発性を示す可能性は低いことを確認した。

---

[k] COMPARE　（2020 年１月公表）（検索日：2020 年７月及び 10 月）

５．遺伝子組換え栽培系統の代謝経路への影響に関する事項（既存品種及び既存品種に近縁な種に含まれる基質と反応する可能性に関する事項を含む。）

IPD079Ea タンパク質に、既知の酵素タンパク質のモチーフ等との相同性は認められなかった（参照 16）ことから、IPD079Ea タンパク質が酵素活性を有する可能性は低く、DP915635 栽培系統の代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

PAT タンパク質は除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートの遊離アミノ基をアセチル化する反応を触媒する酵素である。高い基質特異性を有し、他のアミノ酸や D-グルホシネートを基質としない（参照 10）ことから DP915635 栽培系統のそのほかの代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

PMI タンパク質はマンノース 6-リン酸とフルクトース 6-リン酸との異性化を触媒する酵素である。高い基質特異性を有しており、他の天然基質は知られていない（参照 42）ことから DP915635 栽培系統のそのほかの代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

６．既存品種との差異に関する事項及び遺伝子組換え栽培系統に付与される形質の分類に関する事項

（１）既存品種との差異に関する事項

米国及びカナダのほ場で栽培されたトウモロコシ DP915635 と既存品種である非組換えトウモロコシについて、子実中の主要構成成分、脂肪酸組成、アミノ酸組成、ミネラル類、ビタミン類、栄養阻害物質及び二次代謝産物の分析を行い、統計学的有意差について検討を行った（参照 43）。トウモロコシ DP915635 には除草剤グルホシネートの散布を行った。

① 主要構成成分

主要構成成分（総食物繊維、粗タンパク質、粗脂質、粗繊維、酸性及び中性デタージェント繊維、灰分、炭水化物）について分析を行った結果、対照に用いた非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められなかった。

② 脂肪酸組成

脂肪酸 15 成分について分析を行った結果、対照に用いた非組換えトウモロコシとの間でパルミトレイン酸及びリグノセリン酸に統計学的有意差が認められたが、個々の測定値は商業品種変動[1]の範囲内であった。

③ アミノ酸組成

アミノ酸 18 成分について分析を行った結果、対照に用いた非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められなかった。

[1] 非組換え商業品種 167 品種の分析結果に基づき、信頼度 95%で分析値の 99%を含むよう設定した範囲。

④ ミネラル類

ミネラル類（カルシウム、銅、鉄、マグネシウム、マンガン、リン、カリウム、ナトリウム、亜鉛）について分析を行った結果、対照に用いた非組換えトウモロコシとの間で鉄に統計学的有意差が認められたが、個々の測定値は商業品種変動の範囲内であった。

⑤ ビタミン類

β-カロチン、ビタミン B1（チアミン）、ビタミン B2（リボフラビン）、ビタミン B3（ナイアシン）、ビタミン B5（パントテン酸）、ビタミン B6（ピリドキシン）、ビタミン B9（葉酸）及びトコフェロール類について分析を行った結果、対照に用いた非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められなかった。

⑥ 栄養阻害物質及び二次代謝産物

フィチン酸、ラフィノース、トリプシンインヒビター、*p*-クマル酸、フェルラ酸、フルフラール及びイノシトールについて分析を行った結果、対照に用いた非組換えトウモロコシとの間で *p*-クマル酸に統計学的有意差が認められたが、個々の測定値は商業品種変動の範囲内であった。

（２）遺伝子組換え栽培系統に付与される形質の分類に関する事項

トウモロコシ DP915635 は、導入された遺伝子によって、既存品種の代謝系には影響なく、害虫抵抗性及び除草剤耐性の形質が付与されるものである。

７．諸外国における認可、食用等に関する事項

欧州においては、欧州食品安全機関（EFSA）に対して食品及び飼料としての安全性審査の申請が 2020 年 12 月に行われた。

このほか、4 カ国・地域で安全性審査の申請等が行われ、そのうち 3 カ国・地域で承認等されている。

第５．第１から第４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１から第４までの事項により、安全性の知見が得られている。

（参考）

マウスを用いた急性経口毒性試験（5,000 mg/kg の IPD079Ea タンパク質を強制経口投与）、マウスを用いた飼料混入投与（100、300、1,000 mg/kg/日の IPD079Ea タンパク質を混餌投与）による 28 日間反復経口投与毒性試験及びラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験（飼料へのトウモロコシ DP915635（穀粒）の配合率 50%又は 33%）を行った結果、いずれの試験においても IPD079Ea

タンパク質又はトウモロコシ DP915635 に起因する異常は認められなかった（参照 44、45、46)。

Ⅲ．食品健康影響評価結果

「コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ DP915635 系統」については、「遺伝子組換え食品（種子植物）に関する食品健康影響評価指針」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. 戸澤英男. (2005). トウモロコシー歴史・文化、特性・栽培、加工・利用ー.農山漁村文化協会. pp.2-4, pp.56-59, p.127.
2. OECD. Consensus document on the biology of Zea mays subsp. mays (Maize). (2003)
3. トウモロコシ子実中の構成成分文献値一覧（社内文書）.
4. OECD. Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (Zea mays): Key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites (ENV/JM/MONO (2002) 25). (2002)
5. Pastorello E A, Farioli L, Pravettoni V, Scibilia J, Conti A, Fortunato D, et al. Maize food allergy: lipid-transfer proteins, endochitinases, and alpha-zein precursor are relevant maize allergens in double-blind placebo-controlled maize-challenge-positive patients. Anal Bioanal Chem. 2009, 395(1), p. 93-102
6. Volpicella M, Leoni C, Fanizza I, Distaso M, Leoni G, Farioli L, et al. Characterization of maize chitinase-A, a tough allergenic molecule. Allergy. 2017, 72(9), p. 1423-1429
7. Lee S H, Benmoussa M, Sathe S K, Roux K H, Teuber S S and Hamaker B R. A 50 kDa maize gamma-zein has marked cross-reactivity with the almond major protein. J Agric Food Chem. 2005, 53(20), p. 7965-7970
8. Description and Sequence of the T-DNA Region from Plasmid PHP83175（社内文書）.
9. Ong, H.C. and Aguilar, N.O. (2003). Cryptogams: Ferns and Fern Allies. Plant Resources of South-East Asia. 15(2). De Winter, W.P. and Amoroso, V.B. eds. pp. 151–153.
10. OECD. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide (ENV/JM/MONO(99)13). (1999)
11. US EPA. (1997). ATTACHMENT I--FINAL RISK ASSESSMENT OF ESCHERICHIA COLI K-12 DERIVATIVES. https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/fra004.pdf
12. Anderluh, G., Kisovec, M., Krasevec, N. and Gilbert, R. (2014). MACPF/CDC Proteins – Agents of Defense, Attack and Invasion. *Distribution of MACPF/CDC Proteins,* eds Anderluh G, Gilbert R (Springer, Dordrecht, The Netherlands), pp 7-30.
13. Yu L, Liu D, Chen S, Dai Y, Guo W, Zhang X, et al. Evolution and Expression of the Membrane Attack Complex and Perforin Gene Family in the Poaceae. Int J Mol Sci. 2020, 21(16), p.
14. Cajnko M M, Mikelj M, Turk T, Podobnik M and Anderluh G. Membrane Interactions and Cellular Effects of MACPF/CDC Proteins. In Anderluh G

and Gilbert R (eds.). MACPF/CDC Proteins - Agents of Defence, Attack and Invasion Springer, 2014; p. 119-144
15. Summary - Transmission Electron Microscopy Study of IPD079Ea Pore-like Structures（社内文書）.
16. Summary - IPD079EA Protein Mode of Action（社内文書）.
17. Negrotto D, Jolley M, Beer S, Wenck A R and Hansen G. The use of phosphomannose-isomerase as a selectable marker to recover transgenic maize plants (Zea mays L.) via Agrobacterium transformation. Plant Cell Rep. 2000, 19(8), p. 798-803
18. 厚生労働省. 令和元年国民健康・栄養調査報告. (2019)
19. Comparison of the IPD079Ea Protein Sequence to the Protein Sequences in the Internal Toxin Database（社内文書）.
20. Comparison of the PAT Protein Sequence to the Protein Sequences in the Internal Toxin Database（社内文書）.
21. Comparison of the PMI Protein Sequence to the Protein Sequences in the Internal Toxin Database（社内文書）.
22. Southern-by-Sequencing Analysis of the T1 Generation of DP-915635-4 Maize（社内文書）.
23. Description of Transformation Method and Familiarity of PAT and PMI Proteins for Maize Event DP-915635-4（社内文書）.
24. Sequence Characterization of Insert and Flanking Genomic Regions of DP-915635-4 Maize（社内文書）.
25. Characterization of the Genomic Border Regions of Maize Event DP-915635-4（社内文書）.
26. Characterization of DP-915635-4 Maize for Insertion Stability in Five Generations using Southern Blot Analysis（社内文書）.
27. Reading Frame Analysis at the Insertion Site of Maize Event DP-915635-4（社内文書）.
28. Expressed Trait Protein Concentrations of a Maize Line Containing Event DP-915635 4_U.S. and Canada（社内文書）.
29. Characterization of the In Vitro Pepsin Resistance of IPD079Ea Using SDS-PAGE and Western Blot Analysis（社内文書）.
30. Characterization of IPD079Ea Following In Vitro Pepsin and Sequential Pancreatin Digestion Using SDS-PAGE Analysis（社内文書）.
31. Characterization of the In Vitro Pancreatin Resistance of IPD079Ea Using SDS-PAGE and Western Blot Analysis（社内文書）.
32. Determination of the Biological Activity of Heat-Treated IPD079Ea Protein Incorporated in an Artificial Diet and Fed to Diabrotica virgifera virgifera（社内文書）.
33. Characterization of the In Vitro Pepsin Resistance of PMI Using SDS-PAGE

and Western Blot Analysis (STUDY NUMBER: PHI-2021-141)（社内文書）.
34. Characterization of PMI Following In Vitro Pepsin and Sequential Pancreatin Digestion Using SDS-PAGE Analysis (STUDY NUMBER: PHI-2021-143)（社内文書）.
35. Characterization of the In Vitro Pancreatin Resistance of PMI Using SDS-PAGE and Western Blot Analysis (STUDY NUMBER: PHI-2021-142)（社内文書）.
36. Determination of the Enzymatic Activity of Heat-Treated PMI Protein (STUDY NUMBER: PHI-2021-174)（社内文書）.
37. Hérouet C, Esdaile DJ, Mallyon BA, Debruyne E, Schulz A, Currier T, Hendrickx K, van der Klis R-J, Rouan D (2005). Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. Regulatory Toxicology and Pharmacology 41: 134-149.
38. Comparison of the Amino Acid Sequence of the IPD079Ea Protein to the Amino Acid Sequences of Known and Putative Protein Allergens（社内文書）.
39. Comparison of the Amino Acid Sequence of the PAT Protein to the Amino Acid Sequences of Known and Putative Protein Allergens（社内文書）.
40. Comparison of the Amino Acid Sequence of the PMI Protein to the Amino Acid Sequences of Known and Putative Protein Allergens（社内文書）.
41. Herman RA, Song P, Mirsky HP, Roper JM (2021). Evidence-based regulations for bioinformatic prediction of allergen cross-reactivity are needed. Regulatory Toxicology and Pharmacology 120: 104841.
42. Freeze H H. Phosphomannose isomerase. In Taniguchi N, Honke K and Fukuda M (eds.). Handbook of glycosyltransferases and related genes (Edition 1). Springer-Verlag, 2002; p. 595-599
43. Nutrient Composition of an Herbicide-Treated Maize Line Containing Event DP-915635-4_U.S. and Canada Test Sites（社内文書）.
44. Carlson, A.B., Mathesius, C.M., Ballou, S., Fallers, M.N., Gunderson, T.A., Hession, A., Mirsky, H., Stolte, B., Zhang, J., Woods, R.M., Herman, R.A. and Roper, J.M. (2022). Safety assessment of the insecticidal protein IPD079Ea form the fern, Ophioglossum pendulum. Food and Chemical Toxicology. 166:113187.
45. A 28-Day Study of IPD079Ea by Oral Administration (Dietary) in Mice (STUDY NUMBER: PHI-2019-236)（社内文書）.
46. 90-Day Rat Feeding Study with Grain from Maize Containing Event DP-915635-4 (STUDY NUMBER: PHI-2020-002)（社内文書）.