

府食第589号  
令和7年9月4日

内閣総理大臣  
石破 茂 殿

食品安全委員会  
委員長 山本 茂貴

### 食品健康影響評価の結果の通知について

令和7年5月8日付け消食基第306号をもって内閣総理大臣から食品安全委員会に意見を求められた食品「除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性テンサイKWS20-1系統」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

「除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性テンサイKWS20-1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」（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、人の健康を損なうおそれはないと判断した。

別添

## 遺伝子組換え食品等評価書

除草剤グリホサート、グルホシネート及び  
ジカンバ耐性テンサイ KWS20-1 系統  
(食品)

令和7年(2025年)9月

食品安全委員会

## 目 次

<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. 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 .....	5
1. 既存品種の分類学上の位置付けに関する事項 .....	5
2. 既存品種の食経験に関する事項 .....	5
3. 既存品種の食品としての利用方法に関する事項 .....	5
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 .....	6
5. 既存品種由来の食品の構成成分等に関する事項 .....	6
6. 既存品種のアレルギー誘発性等に関する事項 .....	6
7. 既存品種の栽培およ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 .....	7
8. 既存品種の安全な摂取に関する事項 .....	7
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 .....	7
1. 新たに付加される形質又は改変される形質 .....	7
2. 利用目的 .....	7
3. 利用方法 .....	7
4. 安全性において検討が必要とされる相違点 .....	7
5. 既存品種以外のものを比較対象とする場合の理由 .....	8
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 .....	8
1. ベクターの名称及び由来に関する事項 .....	8
2. ベクターの性質に関する事項 .....	8
3. 挿入 DNA の供与体に関する事項 .....	8
4. 挿入 DNA 又は遺伝子（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 .....	9
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 .....	11
6. ベクターへの挿入 DNA の組込方法等に関する事項 .....	11
7. 構築されたコンストラクトに関する事項 .....	13
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 .....	13
1. 遺伝子導入に関する事項 .....	13

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 .....	16
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	17
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。） .....	18
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。） .	19
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 .....	21
7. 諸外国における認可、食用等に関する事項 .....	22
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事項 .....	22
Ⅲ. 食品健康影響評価結果 .....	22
<参照> .....	23

### <審議の経緯>

- 2025年5月8日 内閣総理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（消食基第306号）、関係書類の接受
- 2025年5月13日 第982回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2025年5月30日 第264回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2025年7月22日 第992回食品安全委員会（報告）
- 2025年7月23日から2025年8月21日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2025年8月27日 遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長に報告
- 2025年9月2日 第996回食品安全委員会（報告）  
（9月4日付け内閣総理大臣に通知）

### <食品安全委員会委員名簿>

- 山本 茂貴（委員長）
- 浅野 哲（委員長代理 第一順位）
- 祖父江 友孝（委員長代理 第二順位）
- 頭金 正博（委員長代理 第三順位）
- 小島 登貴子
- 杉山 久仁子
- 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>

- 児玉 浩明（座長）
- 佐々木 伸大（座長代理）
- 伊藤 政博 手島 玲子
- 小野 道之 樋口 恭子
- 小野 竜一 藤原 すみれ
- 柴田 識人 百瀬 愛佳
- 爲廣 紀正

### <第264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

「除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性テンサイ KWS20-1 系統」について食品健康影響評価を実施した。

本系統は、ヒユ科フダンソウ属に属するテンサイ (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*) の育成系統 04E05B1DH05 を既存品種とし、*Agrobacterium* sp. CP4 株に由来する改変 *cp4 epsps* 遺伝子、*Streptomyces viridochromogenes* に由来する *pat* 遺伝子及び *Stenotrophomonas maltophilia* DI-6 株に由来する改変 *dmo* 遺伝子を導入して作出されており、改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現することで除草剤グリホサートに対する耐性が、PAT タンパク質を発現することで除草剤グルホシネートに対する耐性が、改変 KWS20-1 DMO タンパク質を発現することで除草剤ジカンバに対する耐性が付与される。

改変 CP4 EPSPS タンパク質は、テンサイが有する 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素とは異なり、除草剤グリホサートによる競合阻害を受けることなくシキミ酸経路が機能するため、遺伝子組換え体は、除草剤グリホサートの影響を受けずに生育することが可能となる。

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。

改変 KWS20-1 DMO タンパク質は、除草剤ジカンバを脱メチル化し、除草活性のない 3,6-ジクロロサリチル酸とホルムアルデヒドに変換する反応を触媒し除草剤ジカンバを不活性化することにより、遺伝子組換え体は、除草剤ジカンバ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テンサイ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、「除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性テンサイ KWS20-1 系統」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：除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性テンサイ  
KWS20-1系統

性質：除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性

申請者：バイエルクロップサイエンス株式会社

開発者：Bayer Group（ドイツ）及びKWS SAAT SE & Co. KGaA（ドイツ）

「除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性テンサイ KWS20-1 系統」(以下「テンサイ KWS20-1」という。)は、*Agrobacterium* sp. CP4 株に由来する改変 *cp4 epsps* 遺伝子、*Streptomyces viridochromogenes* に由来する *pat* 遺伝子及び *Stenotrophomonas maltophilia* DI-6 株に由来する改変 *dmo* 遺伝子を導入して作出されており、改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現することで除草剤グリホサートに対する耐性が、PAT タンパク質を発現することで除草剤グルホシネートに対する耐性が、改変 KWS20-1 DMO タンパク質を発現することで除草剤ジカンバに対する耐性が付与される。

## 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、ヒユ科フダンソウ属に属するテンサイ (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*) の育成系統 04E05B1DH05 である。

#### 2. 既存品種の食経験に関する事項

テンサイは、その地下部（根）は、砂糖製造用原料として使用され、精製糖、糖蜜、ビートパルプ等が製造される。精製糖は多くの食経験があり安全に使用されている。

#### 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

一般にテンサイの収穫は秋に行われ、収穫後すぐに加工工場へ運ばれる。加工能力を超えたテンサイは貯蔵施設やほ場で堆積貯蔵される。

##### (2) 摂取（可食）部位

テンサイの摂取（利用）部位は根である。

##### (3) 摂取量

日本人の「砂糖・甘味料類」<sup>a</sup>の一日平均摂取量は、6.5 g である。

<sup>a</sup> 令和5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

テンサイの根は砂糖製造用原料として使用され、精製糖が製造される。

#### 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

テンサイを含む全ての栽培ビート類の祖先種は、ハマフダンソウ (*Beta vulgaris* L. ssp. *maritima*) と考えられ、1世紀頃には食用野菜として栽培品種ができたと考えられている。根が肥大した飼料用ビートが15世紀に栽培化された後、ビートから精製糖の精製が始まった。糖度の高いホワイトシレジア品種が育成され、これが全てのテンサイ栽培種の礎となった(参照1)。

#### 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

テンサイの根の主要栄養素組成(対乾燥重量)は、粗タンパク質2.5~7.1%、粗脂肪0.4~1.7%、灰分0.9~7.5%、炭水化物88.0~96.0%、粗繊維3.3~6.0%である(参照2)。

また、テンサイの根におけるペクチン及びショ糖の含有量は、ペクチン2.0~3.8%、ショ糖54.0~91.0%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

テンサイに、毒性物質の産生性は知られていない(参照4)。栄養阻害物質として、オレアノール酸等のサポニンが知られている。サポニンは多様な生理活性をもち、テンサイを含む多くの作物(マメ類、チャ、アスパラガス、ブラックベリー等)に含まれる(参照5)。また、テンサイはカルシウムの吸収を阻害するシュウ酸を含むことが知られており、これらは主に葉に存在する(参照6)。テンサイを加工した精製糖には含まれないため、ヒトの健康に影響を及ぼすことはない。含有量(対乾燥重量)については、オレアノール酸0.08~0.36%、シュウ酸最大55g/kgである(参照2)。

#### 6. 既存品種のアレルギー誘発性等に関する事項

一般的にテンサイはアレルギー誘発性のある食品とは考えられておらず、ヒトや動物の健康に対する悪影響は報告されていない(参照4)。

## 7. 既存品種の栽培およ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

テンサイには、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が（参照 1）、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

テンサイは精製糖に加工され、多様な食品に利用される。精製糖加工の副産物であるビートパルプは、家畜等の飼料として使用され、糖蜜は様々な製品の製造に使用される（参照 7、4）。

以上 1. ～ 8. より、テンサイ KWS20-1 の安全性評価においては、既存のテンサイとの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

テンサイ KWS20-1 は、除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバに対する耐性が付与される。

### 2. 利用目的

テンサイ KWS20-1 は、除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ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

テンサイ KWS20-1 の栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法は、既存のテンサイと変わらない。

#### (2) 可食部位、調理及び加工方法

テンサイ KWS20-1 の可食部位、調理及び加工方法は、既存のテンサイと変わらない。

#### (3) 摂取量

テンサイ KWS20-1 の摂取量は、既存のテンサイと変わらない。

### 4. 安全性において検討が必要とされる相違点

テンサイ KWS20-1 は、改変 *cp4 epsps* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び改変 *dmo* 遺伝子を導入して作出されており、改変 CP4 EPSPS タンパク質、PAT タンパク質及び改変 KWS20-1 DMO 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

テンサイ KWS20-1 の作出に用いられた導入用プラスミド PV-BVHT527462 のベクターバックボーンは、*Pseudomonas aeruginosa* 由来のプラスミド pVS1、*Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 等を基に作製された。

### 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 PV-BVHT527462 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 PV-BVHT527462 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（参照 8）。

#### (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 PV-BVHT527462 のベクターバックボーンには、スペクチノマイシンやストレプトマイシンに対する耐性を付与する *aadA* 遺伝子が含まれている（参照 8）。

#### (4) 伝達性等に関する事項

導入用プラスミド PV-BVHT527462 のベクターバックボーンには、伝達を可能とする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

改変 *cp4 epsps* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び改変 *dmo* 遺伝子の供与体は、それぞれ *Agrobacterium* sp. CP4 株、*Str. viridochromogenes* 及び *Ste. maltophilia* DI-6 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。）

*Agrobacterium* sp. CP4 株は、土壤中細菌であり、ヒトに対するアレルギー誘発性及び毒素産生性やヒトや家畜等に対する病原性等を示すという報告はない（参照 9）。

*Str. viridochromogenes* は様々な環境に存在しており（参照 10）、ヒトに対する病原性（参照 11）、アレルギー誘発性及び毒素産生性を有しているとの情

報はない<sup>b</sup>。

*Ste. maltophilia*は環境中の土壌及び飲料水から検出されており（参照12、13）、免疫不全の患者に限り日和見感染を起こすが（参照14）、健康なヒトに対する病原性、アレルギー誘発性及び毒素産生性を有しているとの情報はない<sup>b</sup>。

#### 4. 挿入 DNA 又は遺伝子（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）挿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. 改変 *cp4 epsps* 遺伝子

5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素（EPSPS）は、タンパク質の合成に必須の芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路を触媒する酵素の一つである（参照 15）。

改変 *cp4 epsps* 遺伝子がコードする改変 CP4 EPSPS タンパク質は、EPSPS の活性を阻害する除草剤グリホサートの存在下でも EPSPS 活性を示すことができる。その結果、テンサイ KWS20-1 は除草剤グリホサートによる活性阻害を受けないため、シキミ酸経路が正常に機能し、除草剤グリホサートの影響を受けずに生育することが可能となる。

##### b. *pat* 遺伝子

*pat* 遺伝子は、PAT タンパク質をコードする。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酵素である。その反応の結果、テンサイ KWS20-1 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。

##### c. 改変 *dmo* 遺伝子

改変 *dmo* 遺伝子は、改変 KWS20-1 DMO タンパク質をコードする。改変 KWS20-1 DMO タンパク質は、除草剤ジカンバを脱メチル化し、除草活性のない 3,6-ジクロロサリチル酸（DCSA）とホルムアルデヒドに変換する酵素である。その反応の結果、テンサイ KWS20-1 は、除草剤ジカンバの影響を受けずに生育することが可能となる（参照 16）。

---

<sup>b</sup> AD\_2022（COMPARE（COMprehensive Protein Allergen REsource）から 2022 年 2 月 2 日にダウンロードしたアレルギー配列のデータベースで、2,463 配列を含む）及び TOX\_2022（Swiss-Prot database（URL: <https://www.uniprot.org/>、ダウンロード日: 2022 年 1 月）から抽出された毒性タンパク質配列のデータベースであり、8,131 配列を含む。）を用いた検索の結果、*Streptomyces* 及び *Stenotrophomonas* 由来の注釈が付与されたエントリは検出されなかった（検索日: 2025 年 5 月）。

d. 遺伝子産物のその他の性質

テンサイ KWS20-1 系統において改変 *cp4 epsps* 遺伝子から発現した改変 CP4 EPSPS タンパク質、*pat* 遺伝子から発現した PAT タンパク質及び改変 *dmo* 遺伝子から発現した改変 KWS20-1 DMO タンパク質は、それぞれ異なる基質に結合し、独立して作用すると考えられており、これらのタンパク質が相互作用する可能性は低い。テンサイ KWS20-1 系統の根及び葉において、上記 a.~c.の 3 つの遺伝子発現に伴う代謝物は、他の除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバの農薬耐性をもつ作物と同様である。

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

改変 CP4 EPSPS タンパク質、PAT タンパク質及び改変 KWS20-1 DMO 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、毒性タンパク質データベース<sup>c</sup>を用いて  $E\text{-score} \leq 1 \times 10^{-5}$  を指標として検索を行った。その結果、相同性を示す既知毒性タンパク質は検出されなかった（参照 17、18、19）。

(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 PV-BVHT527462 のベクターバックボーンには、スペクチノマイシン及びストレプトマイシンに対する耐性を付与する *aadA* 遺伝子が含まれているが、テンサイ KWS20-1 のゲノム中に導入されていないことがサザンブロットにより確認されている。

(3) 挿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

改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、メロン (*Cucumis melo*) の S-アデノシル-L-メチオニン合成酵素をコードする *SAM2* 遺伝子のイントロン、5'末端非翻訳領域及びプロモーター配列からなる *SAM2-Cm1* プロモーターである（参照 20）。

*pat* 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*) 由来のクロロフィル a/b 結合タンパク質 (CAB) のプロモーター及びリーダー配列からなる *Cab-At1* プロモーターである（参照 21）。

改変 *dmo* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、メロン (*C. melo*) 由来の推定ユビキチンタンパク質をコードする遺伝子プロモーター、リーダー及びイントロン配列からなる *Ubq-Cm1* プロモーターである（参照 20）。

---

<sup>c</sup> TOX\_2022 (検索日: 2022 年 5 月、2022 年 7 月、2022 年 10 月)

② ターミネーターに関する事項

改変 *cp4 epsps* 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*) の機能未知遺伝子の 3'末端非翻訳領域の *guf-Mt1* ターミネーターである (参照 22)。

*pat* 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 (*M. truncatula*) の熱ショックタンパク質をコードする推定 *Hsp20* 遺伝子の 3'末端非翻訳領域の *Hsp20-Mt1* ターミネーターである (参照 22)。

改変 *dmo* 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 (*M. truncatula*) の機能未知遺伝子の 3'末端非翻訳領域の *guf-Mt2* ターミネーターである (参照 22)。

③ その他の挿入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列に関する事項

目的遺伝子の発現を高めるため、以下の配列を含む。

改変 *dmo* 遺伝子発現カセットには、ダリアモザイクウイルス (DaMV) のプロモーター領域に由来する *DaMV-1* エンハンサー配列を挿入している (参照 23)。

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  
該当する事項はない

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

改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、*Agrobacterium* sp. CP4 株の野生型 *cp4 epsps* 遺伝子配列をもとに合成された。改変 CP4 EPSPS タンパク質は、N 末端配列から 2 番目のセリンがロイシンに改変されている。

*pat* 遺伝子は、*Str. viridochromogenes* の野生型 *pat* 遺伝子配列を基に合成された。PAT タンパク質はプロセッシングにより第一メチオニンが取り除かれる。

改変 *dmo* 遺伝子は、*Ste. maltophilia* DI-6 株の野生型 *dmo* 遺伝子配列をもとに合成された。改変 KWS20-1 DMO タンパク質は N 末端のメチオニンの直後にロイシンが挿入されている。

(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 PV-BVHT527462 は、*P. aeruginosa* 由来のプラスミド pVS1、*E. coli* 由来のプラスミド pBR322 等を基に作成したベクターバックボーンと改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット、*pat* 遺伝子発現カセット及び改変 *dmo* 遺伝子発現カセットを含む T-DNA 領域により作製された。導入用プラスミド PV-BVHT527462 の T-DNA 領域の構成 DNA は表 1 のとおり。

表1 導入用プラスミド PV-BVHT527462 の T-DNA 領域の構成要素 (一部省略)

構成 DNA	由来及び機能
Right Border Region	<i>Rhizobium radiobacter</i> ( <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ) 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む (参照 24、25)。
改変 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子発現カセット	
<i>guf-Mt1</i>	タルウマゴヤシ ( <i>M. truncatula</i> ) の機能未知遺伝子の 3'末端非翻訳領域の配列で、転写の終結及び mRNA のポリアデニル化を誘導する (参照 22)。
改変 <i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> sp. CP4 株由来の CP4 EPSPS タンパク質をコードしている <i>aroA</i> ( <i>epsps</i> ) 遺伝子のコード配列 (参照 26、27)。除草剤グリホサート耐性を付与する。
<i>CTP2</i>	シロイヌナズナ ( <i>A.thaliana</i> ) の EPSPS の葉緑体輸送ペプチド領域をコードしている <i>ShkG</i> 遺伝子のターゲティング配列 (参照 28、29)。目的タンパク質を葉緑体へと輸送する。
<i>SAM2-Cm1</i>	メロン ( <i>C. melo</i> ) の S-アデノシル-L-メチオニン合成酵素をコードする <i>SAM2</i> 遺伝子のイントロン、5'末端非翻訳領域及びプロモーター配列で、恒常的に転写を誘導する (参照 20)。
改変 <i>dmo</i> 遺伝子発現カセット	
<i>DaMV-1</i>	ダリアモザイクウイルス (DaMV) のプロモーター領域に由来するエンハンサー配列 (参照 23)。植物細胞内での転写を高める。
<i>Ubq-Cm1</i>	メロン ( <i>C. melo</i> ) 由来の推定ユビキチンタンパク質の遺伝子のプロモーター、リーダー及びイントロン配列で、恒常的な転写を誘導する (参照 20)。
<i>RbcS (Ps)</i>	エンドウ ( <i>Pisum sativum</i> ) 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 <i>RbcS</i> 遺伝子ファミリーのターゲティング配列とコード領域の最初の 27 アミノ酸。目的タンパク質を葉緑体へと輸送する (参照 30)。
改変 <i>dmo</i>	<i>Ste. maltophilia</i> DI-6 株の DMO タンパク質のコード配列 (参照 31、32)。除草剤ジカンバ耐性を付与する。
<i>guf-Mt2</i>	タルウマゴヤシ ( <i>M. truncatula</i> ) の機能未知遺伝子の 3'末端非翻訳領域の配列で、転写の終結及び mRNA のポリアデニル化を誘導する (参照 22)。
<i>pat</i> 遺伝子発現カセット	
<i>Cab-At1</i>	シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来のクロロフィル a/b 結合タンパ

	ク質 (CAB) のプロモーター及びリーダー配列で、主に緑色組織での転写を誘導する (参照 21)。
<i>pat</i>	<i>Str. viridochromogenes</i> に由来する PAT タンパク質のコード配列。除草剤グルホシネートへの耐性を付与する (参照 33、34)。
<i>Hsp20-Mt1</i>	タルウマゴヤシ ( <i>M. truncatula</i> ) の熱ショックタンパク質をコードする推定 <i>Hsp20</i> 遺伝子の 3'末端非翻訳領域の配列で、転写の終結及び mRNA のポリアダニル化を誘導する (参照 22)。
Left Border Region	<i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) 由来の DNA 領域で、T DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む (参照 35)。

## 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 PV-BVHT527462 の塩基数、塩基配列及び制限酵素切断部位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 PV-BVHT527462 上の意図する挿入領域は、T-DNA 領域の右側境界領域から左側境界領域までである。

### (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 PV-BVHT527462 は、スペクチノマイシン及びストレプト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おり、塩基配列の解析により目的外の遺伝子の混入がないことを確認している。

## 第4. 遺伝子組換え体の作出及び遺伝子組換え栽培システムに関する事項

### 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

既存品種に、導入用プラスミド PV-BVHT527462 をアグロバクテリウム法により導入した後、除草剤グルホシネート耐性をマーカーとして用いて選抜し、形質転換再生個体を選抜した。次に、自殖により得た個体について、T-DNA 領域を有し、ベクターバックボーンをもたない個体を PCR 解析及びサザンブロット分析により選抜した。得られた個体を放任受粉させることで、テンサイ KWS20-1 が得られた。

#### (2) 遺伝子組換え栽培システムに関する事項 (システムの考え方に基づいた記述、育成図)

テンサイ KWS20-1 について、形質転換個体の選抜方法、個体の継代方法及びシステムの考え方が育成図等で示されており、食品健康影響評価を実施する世代

及び系統の範囲は特定されている。

### (3) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

テンサイ KWS20-1 のゲノムに挿入された挿入 DNA 及び遺伝子のコピー数、ベクターバックボーンの有無並びに挿入近傍配列を確認するために、サザンブロット分析、PCR 法による解析及び塩基配列解析を実施した。

サザンブロットの結果、導入遺伝子は、テンサイ KWS20-1 のテンサイゲノム中の 1 か所に 1 コピー導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-BVHT527462 に由来するベクターバックボーンが存在しないことも確認された (参照 36)。

導入遺伝子領域の PCR 法による解析及び塩基配列解析の結果、テンサイ KWS20-1 中の導入遺伝子と導入用プラスミド PV-BVHT527462 の T-DNA 領域の各構成要素の塩基配列が同一であることも確認された。なお、テンサイ KWS20-1 の導入遺伝子挿入部位において、テンサイゲノム配列に連続する 7 bp の欠失が認められた (参照 36)。

近傍配列をテンサイのゲノムデータベースの塩基配列と照合した結果、導入遺伝子の挿入によりテンサイ内在性の既知の遺伝子が破壊されていないことが確認された (参照 37)。

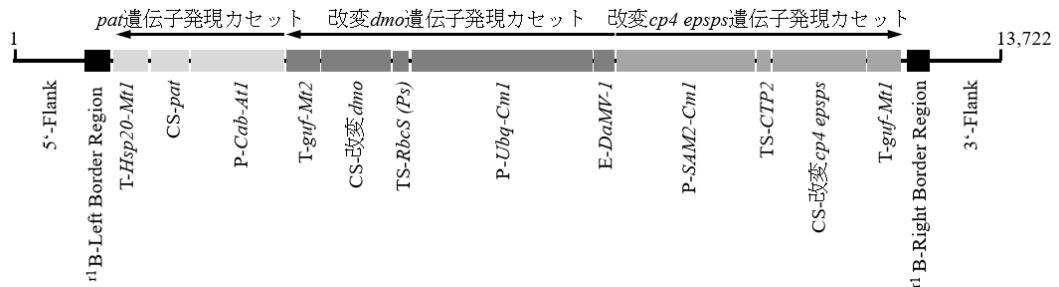


図1 テンサイ KWS20-1 系統のゲノム DNA 中に挿入された DNA (模式図)

### (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、3 世代のテンサイ KWS20-1 の葉から抽出されたゲノム DNA を用いて、サザンブロット解析を行った。その結果、各世代において導入された遺伝子は 3 世代にわたり遺伝していることが示され、導入された遺伝子が世代間で安定していることが確認された (参照 36)。

(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

① 境界領域における ORF の解析

テンサイ KWS20-1 に導入された DNA 領域の 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意図しないオープンリーディングフレーム（以下「ORF」という。）が生じていないことを確認するために、6通りの読み枠（表3通り、裏3通り）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 8 アミノ酸以上の意図しない ORF が 10 個検出された（参照 38）。

これらの ORF 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<sup>d</sup>を用い相同性検索を行った。その結果、連続する 80 アミノ酸に対して 35 %を超える相同性を示す配列及び連続する 8 アミノ酸との相同性を示す配列は検出されなかった。

また、既知の毒性タンパク質との構造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<sup>e</sup>及びタンパク質データベース<sup>e</sup>を用い、E-score $\leq 1 \times 10^{-5}$ を基準とした FASTA 型アルゴリズムにより相同性検索を行った。その結果、既知毒性タンパク質と相同性を示す配列は検出されなかった。

② 導入された DNA 領域の解析

テンサイ KWS20-1 に導入された DNA 領域において、意図しないタンパク質が産生され、それらが既知のアレルゲン及び毒性タンパク質と構造相同性を有するかを確認するため、導入された DNA 領域の 6通りの読み枠（表3通り、裏3通り）から翻訳された全てのアミノ酸配列について、相同性検索を行った。

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<sup>b</sup>を用いて相同性検索を行った。その結果、連続する 80 アミノ酸に対して 35 %を超える相同性を示す配列は検出されなかった。また、既知のアレルゲンと連続する 8 アミノ酸以上の配列が一致する配列を検索した結果、1つの読み枠においてパラゴムノキ *Hevea brasiliensis* のラテックスアレルゲンの候補 AEV41413.1 (Allergen beta-1,3-glucanase) が一致を示した。しかし、一致が確認された 8 アミノ酸は AEV41413.1 のシグナルペプチドと予測される部位であり、成熟タンパク質では切断され取り除かれる部位に当たるため、この一致はアレルギー誘発性を示すものではないと考えられる（参照 39）。

また、既知の毒性タンパク質との構造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<sup>e</sup>及びタンパク質データベース<sup>e</sup>を用い、E-score $\leq 1 \times 10^{-5}$ を指標として FASTA 型アルゴリズムにより相同性検索を行った。

<sup>d</sup> AD\_2022（検索日：2022年10月）。

<sup>e</sup> PRT\_2022: NCBI FTP server ([https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/ncbi-asn1/protein\\_fasta/](https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/ncbi-asn1/protein_fasta/)) から 2022年1月10日にダウンロードしたタンパク質配列のデータベースで、184,933,782配列を含む（検索日：2022年10月）。

その結果、既知毒性タンパク質と相同性を示す配列は検出されなかった（参照 39）。

以上のことから、仮にテンサイ KWS20-1 に導入された DNA 領域において意図しないタンパク質が産生され、又はその両末端近傍配列に跨る塩基配列に由来する領域が翻訳されたとしても、それらがアレルゲン、毒性タンパク質及び有害な生理活性タンパク質を産生する可能性は低いと考えられた。

## 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

テンサイ KWS20-1 の葉、根及び地上部における、改変 CP4 EPSPS タンパク質、PAT タンパク質及び改変 KWS20-1 DMO タンパク質の発現量を ELISA 法により測定した。結果は表 2 のとおりである。

表 2 テンサイ KWS20-1 中に産生される遺伝子産物の部位、時期別産生量<sup>1</sup>

遺伝子産物	組織	生育段階 <sup>2</sup>	平均値 (SE) 範囲 ( $\mu\text{g/g}$ FW)	平均値 (SE) 範囲 ( $\mu\text{g/g}$ DW)	LOQ/LOD ( $\mu\text{g/g}$ DW) <sup>5</sup>
改変 CP4 EPSPS タンパク質	葉	BBCH 17-18	60 (3.3) 33 - 87	590 (33) 320 - 850	1.250/0.776
	根	BBCH 17-18	52 (3.4) 32 - 81	430 (28) 270 - 680	1.250/0.460
	葉	BBCH 32-39	56 (3.0) 40 - 87	510 (27) 370 - 790	1.250/0.776
	根	BBCH 32-39	46 (3.1) 24 - 71	270 (19) 140 - 420	1.250/0.460
	地上部	BBCH 49	49 (1.9) 37 - 63	310 (12) 230 - 400	1.250/0.776
	根	BBCH 49	24 (1.3) 16 - 35	100 (5.9) 68 - 150	1.250/0.460
PAT タンパク質	葉	BBCH 17-18	2.6 (0.13) 1.7 - 3.7	25 (1.2) 16 - 36	0.313/0.113
	根	BBCH 17-18	0.029 (0.0033) 0.016 - 0.049	0.25 (0.028) 0.13 - 0.41	0.125/0.004
	葉	BBCH 32-39	2.2 (0.20) 1.0 - 3.6	20 (1.8) 9.4 - 33	0.313/0.113
	根	BBCH 32-39	<LOQ (NA) NA - NA	<LOQ (NA) NA - NA	0.125/0.004

	地上部	BBCH 49	0.80 (0.071) 0.41 - 1.3	5.1 (0.45) 2.6 - 8.3	0.313/0.113
	根	BBCH 49	<LOQ (NA) NA - NA	<LOQ (NA) NA - NA	0.125/0.004
タンパク質 改変KWS20-1 DMO	葉	BBCH 17-18	14 (0.66) 9.6 - 20	140 (6.5) 95 - 200	0.100/0.028
	根	BBCH 17-18	3.4 (0.096) 2.7 - 4.0	28 (0.80) 22 - 34	0.100/0.012
	葉	BBCH 32-39	13 (0.52) 9.1 - 18	120 (4.7) 83 - 160	0.100/0.028
	根	BBCH 32-39	3.7 (0.23) 1.9 - 5.7	22 (1.4) 11 - 34	0.100/0.012
	地上部	BBCH 49	9.3 (0.56) 4.1 - 14	59 (3.5) 26 - 88	0.100/0.028
	根	BBCH 49	2.7 (0.12) 1.7 - 3.8	12 (0.53) 7.6 - 17	0.100/0.012

<sup>1</sup> n=20

<sup>2</sup>各組織の採取時における生育段階。BBCH 17-18=7-8 葉期、BBCH 32-39=ロゼット葉が地表の20-90%を覆う生育時期、BBCH 49=収穫可能な根が発達した生育時期。

### 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

テンサイは精製糖加工のみを目的とした工芸作物であるため、テンサイの根は精製糖に加工され食品として利用されることから、テンサイの根が直接食品として使用されることはほとんどない。テンサイの加工には、石灰処理、炭酸化、ろ過、加熱、結晶化など、いくつかの工程が存在し、加工後の精製糖から、検出可能な量のテンサイ由来のタンパク質は確認されない（参照 40、41）ことから、KWS20-1 から加工される精製糖に、改変 CP4 EPSPS タンパク質、PAT タンパク質及び改変 KWS20-1 DMO タンパク質が検出可能なレベルで含まれることはないと考えられる。このことから、テンサイ KWS20-1 由来の食品を摂取した際のこれらタンパク質の摂取量は、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。

改変 *cp4 epsps* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び改変 *dmo* 遺伝子の供与体はそれぞれ *Agrobacterium* sp. CP4 株、*Str. viridochromogenes* 及び *Ste. maltophilia* DI-6 株であり、これら細菌に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）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。

改変 CP4 EPSPS タンパク質、PAT タンパク質及び改変 KWS20-1 DMO タンパク質がアレルギー誘発性をもつという報告はない。

- (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

テンサイ KWS20-1 で発現する改変 CP4 EPSPS タンパク質、PAT タンパク質及び改変 KWS20-1 DMO タンパク質のうち、改変 CP4 EPSPS タンパク質については、これまでに安全性審査の手続を経た旨の公表がなされたラウンドアップ・レディー・テンサイ H7-1 系統<sup>f</sup>において発現する改変 CP4 EPSPS タンパク質、PAT タンパク質についてはこれまでに安全性審査の手続を経た旨の公表がなされたテンサイである T120-7g<sup>g</sup>において発現する PAT タンパク質と同一のアミノ酸配列を有している。このことから、ラウンドアップ・レディー・テンサイ H7-1 系統<sup>f</sup>及び T120-7g<sup>g</sup>における評価結果を適用することが可能であり、その物理化学的処理に対する感受性に起因してアレルギーが誘発される可能性は低いと考えられた。

テンサイ KWS20-1 で発現する改変 KWS20-1 DMO タンパク質について、DMO タンパク質は、これまでに安全性審査の手続を経た旨が公表された複数の除草剤ジカンバ耐性作物（ダイズ：MON87708 系統、ワタ：MON88701 系統、トウモロコシ：MON87419 系統、ナタネ：MON94100 系統など）において存在している。

テンサイ KWS20-1 系統で発現する改変 KWS20-1 DMO タンパク質は、*Ste. maltophilia* DI-6 株由来の野生型 DMO タンパク質のアミノ酸配列と比較して、N 末端のメチオニンの直後にロイシンが挿入されており、さらに、エンドウ (*P. sativum*) 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 (RbcS) に由来するターゲティング配列等の機能を果たす 27 個のアミノ酸が N 末端側

<sup>f</sup> 平成 15 年 6 月 30 日官報掲載

<sup>g</sup> 平成 13 年 3 月 30 日官報掲載

に付加されている。これらの改変内容のうち、N末端のメチオニンの直後のロイシン挿入については、トウモロコシ MON87419 系統<sup>h</sup>において発現する DMO タンパク質のアミノ酸配列と同一であり、N末端側に付加されている 27 アミノ酸の配列は、セイヨウナタネ MON94100 系統<sup>i</sup>の N末端側に付加されている 27 アミノ酸の配列と同一である。また、KWS20-1 系統で発現する改変 KWS20-1 DMO タンパク質は、これまでに安全性審査の手続を経た旨の公表がなされた品目<sup>h</sup>と同様に糖鎖修飾に変化が生じていないと考えられる。以上のことから、テンサイ KWS20-1 系統で発現する改変 KWS20-1 DMO タンパク質は、これまでに安全性審査の手続を経た旨が公表された複数の除草剤ジカンバ耐性作物の評価結果を適用することが可能であり、その物理化学的処理に対する感受性に起因してアレルギーが誘発される可能性は低いと考えられた。

- (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關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

改変 CP4 EPSPS タンパク質、PAT タンパク質及び改変 KWS20-1 DMO 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<sup>d</sup>を用いて相同性検索を行った。検索方法については、連続する 80 アミノ酸において 35%を超えるアミノ酸相同性を有する配列の検索及び連続する 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、改変 CP4 EPSPS タンパク質、PAT タンパク質及び改変 KWS20-1 DMO 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 17、18、19）。

上記（1）から（4）まで及び前項 3 から総合的に判断し、改変 CP4 EPSPS タンパク質、PAT タンパク質及び改変 KWS20-1 DMO タンパク質については、アレルギー誘発性の可能性は低いことを確認した。

## 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。）

- (1) 改変 CP4 EPSPS タンパク質

改変 CP4 EPSPS タンパク質は、植物 EPSPS タンパク質と機能的に同一である。EPSPS タンパク質は、植物や微生物に特有の芳香族アミノ酸を生合成す

---

<sup>h</sup> 除草剤ジカンバ及びグルホシネート耐性トウモロコシ MON87419 系統（食品）（平成 29 年 1 月 17 日食品安全委員会において了承）

<sup>i</sup> 除草剤ジカンバ耐性セイヨウナタネ MON94100 系統（食品）（令和 4 年 1 月 25 日食品安全委員会において了承）

<sup>j</sup> 除草剤ジカンバ及びグルホシネート耐性ワタ MON88701 系統（食品）（平成 26 年 11 月 18 日食品安全委員会において了承）

るためのシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり（参照 15）、シキミ酸経路は植物の炭素固定の5分の1に関与する重要な代謝経路である（参照 42、43）。一方 EPSPS タンパク質は本経路における律速酵素ではないことが示唆されており、EPSPS タンパク質活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。実際に、通常の 40 倍の EPSPS タンパク質を生成する植物細胞において芳香族アミノ酸が過剰に合成されないこと（参照 44）及びテンサイ KWS20-1 と対照の非組換えテンサイとの間で芳香族アミノ酸含量に相違のないことが確認されている。

また、EPSPS タンパク質はホスホエノールピルビン酸塩（PEP）とシキミ酸-3-リン酸塩（S3P）から、EPSP と無機リン酸塩（Pi）を生じる可逆反応を触媒する酵素であり（参照 45）、これらの基質と特異的に反応する（参照 46）が、その他の物質が生体内で EPSP タンパク質の基質となることは考えにくい。

以上のことから、改変 CP4 EPSPS タンパク質が、既存品種の代謝経路に影響を及ぼす可能性はないと考えられた。

## （2）PAT タンパク質

PAT タンパク質は、L-ホスフィノスリシンにより除草剤活性を発揮するグルホシネートに高い特異性を有し、その他の L 体アミノ酸を基質としない（参照 34、47）ことから、既存品種の代謝経路に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられた。

## （3）改変 KWS20-1 DMO タンパク質

DMO タンパク質は、その触媒部位のアミノ酸が、ジカンバのカルボキシ基及び塩素原子（クロロ基）を介して高い特異性で相互作用して、ジカンバを代謝する（参照 48、49）植物等において、塩素化合物の存在は限定的である（参照 50）こと、植物に存在している化合物中で最も構造的にジカンバに類似している *o*-アニス酸（2-メトキシ安息香酸）でも DMO タンパク質によって代謝されないことが確認されている<sup>k</sup>。

また、テンサイ KWS20-1 系統で発現する改変 KWS20-1 DMO タンパク質、野生型の DMO タンパク質及び他の遺伝子組換え作物で発現する DMO タンパク質のアミノ酸配列の違いは、N 末端部位並びに N 末端側から 2 番目及び 112 番目のアミノ酸に限定されていること、これらの差異は DMO タンパク質の触媒部位から立体構造的に離れており、DMO タンパク質の基質特異性に影響を及ぼすことは考え難い（参照 48、49、51）ことから、テンサイ KWS20-1 系統で発現する改変 KWS20-1 DMO タンパク質が植物の内在性化合物を代謝することは考え難く、既存品種の代謝経路に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられた。

---

<sup>k</sup> 除草剤ジカンバ耐性ダイズ MON87708 系統（食品）（平成 25 年 8 月 26 日食品安全委員会において了承）

## 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

米国の5か所のは場で栽培されたテンサイ KWS20-1 と対照の非組換えテンサイの根について、主要構成成分、アミノ酸組成、ミネラル類及び二次代謝産物の分析を行い、統計学的について検討を行った（参照 52）。

#### ① テンサイの根における構成成分

##### a. 主要構成成分

根の主要構成成分（粗タンパク質、粗脂肪、粗繊維、灰分、炭水化物）について分析を行った結果、対照の非組換えテンサイとの間で粗脂肪、灰分に統計学的有意差が認められたが、テンサイ KWS20-1 のこれら2項目の平均値は、文献値の範囲内であった（参照 2）。

##### b. アミノ酸

根のアミノ酸 18 成分について分析を行った結果、対照の非組換えテンサイとの間でリシン、プロリン、セリン及びトレオニンに統計学的有意差が認められたが、テンサイ KWS20-1 のこれら4項目の平均値は、文献値の範囲内であった（参照 2）。

##### c. ミネラル類

根の無機質（リン、カリウム）について分析を行った結果、対照の非組換えテンサイとの間でリン、カリウムに統計学的有意差が認められたが、テンサイ KWS20-1 のこれら2項目の平均値は、本試験と同時に栽培されたテンサイの従来品種（14 品種）における含有量の範囲内に収まっていた。

##### d. 二次代謝産物

根の二次代謝産物（オレアノール酸）について分析を行った結果、対照の非組換えテンサイとの間で統計学的有意差は認められなかった。

#### ② テンサイの地上部における構成成分

地上部の粗タンパク質、粗脂肪、炭水化物、粗繊維及び灰分について分析を行った結果、対照の非組換えテンサイとの間で統計学的有意差は認められなかった。

### (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

テンサイ KWS20-1 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」（平成 16 年 1 月 29 日食品安全委員会決定）別添 1 ①「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、除草剤耐性、

ウイルス抵抗性などの形質が付与されるもの。」に分類されるものである。

## 7. 諸外国における認可、食用等に関する事項

米国においては、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を申請中である。

カナダにおいては、2023年12月にカナダ保健省により食品としての安全性が、カナダ食品検査庁により環境・飼料としての安全性が承認された。

オーストラリア・ニュージーランドにおいては、2025年4月にオーストラリア・ニュージーランド食品基準機関により食品としての安全性が承認された。

欧州においては、欧州食品安全機関（EFSA）に対して食品、飼料及び輸入の安全性審査を申請中である。

## 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. ～第4. 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

「除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性テンサイ KWS20-1 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. OECD. 2001. Consensus document on the biology of *Beta vulgaris* L. (Sugar beet). ENV/JM/MONO(2001)11. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
2. AFISI. 2020. Crop Composition Database. Version 8.0. Agriculture & Food Systems Institute, Washington, D.C. <http://www.cropcomposition.org/> [Accessed October 27, 2020].
3. Determination of Tolerance Intervals from Compositional Analyses of Sugar Beet Tops and Root from Conventional Sugar Beet Grown in the United States in 2020 (Site Codes: IDAF, IDDO, MIGR, MNGE, NDVA)(M-820196-01-1) (社内文書)
4. OECD. 2002a. Consensus document on compositional considerations for new varieties of sugar beet: Key food and feed nutrients and antinutrients. ENV/JM/MONO(2002)4. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
5. Oakenfull, D. and G.S. Sidhu. 1989. Saponins. Pages 97-141 in Toxicants of Plant Origin. Volume II - Glycosides. P.R. Cheeke (ed.). CRC Press, Inc., Boca raton, Florida.
6. Petroski, W. and D.M. Minich. 2020. Is there such a thing as "anti-nutrients"? A narrative review of perceived problematic plant compounds. *Nutrients* 12: 2929.
7. Cattanach, A.W., A.G. Dexter and E.S. Oplinger. 1991. Sugarbeets. Alternative field crops manual. University of Wisconsin, University of Minnesota. <https://hort.purdue.edu/newcrop/afcm/sugarbeet.html> [Accessed September 9, 2021].
8. Sequence of Genetic Elements in PV-BVHT527462 (社内文書)
9. OECD. 2006a. Section 2: General information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to glyphosate herbicide. Pages 351-359 in Safety Assessment of Transgenic Organisms. Volume 1. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
10. Goodfellow, M. and S.T. Williams. 1983. Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology* 37: 189-216.
11. OECD. 2006b. Section 3: General information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Pages 360-369 in Safety Assessment of Transgenic Organisms. Volume 1. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
12. Echemendia, Y. 2010. Microorganism of the month: *Stenotrophomonas maltophilia*. Environmental Microbiology Laboratory, Inc., Cherry Hill, New Jersey. <http://www.emlab.com/s/sampling/env-report-07-2007.html> [Accessed August 10, 2010].
13. Brooke, J.S. 2012. *Stenotrophomonas maltophilia*: An emerging global opportunistic pathogen. *Clinical Microbiology Reviews* 25: 2-41.
14. Lira, F., G. Berg and J.L. Martínez. 2017. Double-face meets the bacterial

- world: The opportunistic pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Frontiers in Microbiology* 8: 2190.
15. della-Cioppa, G., S.C. Bauer, B.K. Klein, D.M. Shah, R.T. Fraley and G.M. Kishore. 1986. Translocation of the precursor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher plants in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83: 6873-6877.
  16. Chakraborty, S., M. Behrens, P.L. Herman, A.F. Arendsen, W.R. Hagen, D.L. Carlson, X.-Z. Wang and D.P. Weeks. 2005. A three-component dicamba O-demethylase from *Pseudomonas maltophilia*, strain DI-6: Purification and characterization. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 437: 20-28.
  17. Updated Bioinformatics Evaluation of CP4 EPSPS Utilizing the AD\_2022, TOX\_2022, and PRT\_2022 Databases (M-814116-01-1) (社内文書)
  18. Updated Bioinformatics Evaluation of PAT Utilizing the AD\_2022, TOX\_2022, and PRT\_2022 Databases (M-816143-01-2) (社内文書)
  19. Updated Bioinformatics Evaluation of DMO in Herbicide-Tolerant Sugar Beet KWS20-1 Utilizing the AD\_2022, TOX\_2022, and PRT\_2022 Databases (M-823018-01-1) (社内文書)
  20. Hernandez-Garcia, C.M. and J.J. Finer. 2014. Identification and validation of promoters and cis-acting regulatory elements. *Plant Science* 217-218: 109-119.
  21. Ha, S.-B. and G. An. 1988. Identification of upstream regulatory elements involved in the developmental expression of the *Arabidopsis thaliana* cab1 gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85: 8017-8021.
  22. Hunt, A.G. 1994. Messenger RNA 3' end formation in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45: 47-60.
  23. Kuluev, B.R. and A.V. Chemeris. 2007. Amplification and cloning of dahlia mosaic virus and carnation etched ring virus promoters. *Russian Journal of Genetics* 43: 1413-1414.
  24. Depicker, A., S. Stachel, P. Dhaese, P. Zambryski and H.M. Goodman. 1982. Nopaline synthase: Transcript mapping and DNA sequence. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1: 561-573.
  25. Zambryski, P., A. Depicker, K. Kruger and H.M. Goodman. 1982. Tumor induction by *Agrobacterium tumefaciens*: Analysis of the boundaries of T-DNA. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1: 361-370.
  26. Padgett, S.R., D.B. Re, G.F. Barry, D.E. Eichholtz, X. Delannay, R.L. Fuchs, G.M. Kishore and R.T. Fraley. 1996. New weed control opportunities: Development of soybeans with a Roundup Ready™ gene. Pages 53-84 in *Herbicide-Resistant Crops: Agricultural, Environmental, Economic, Regulatory and Technical Aspects*. S.O. Duke (ed.). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
  27. Barry, G.F., G.M. Kishore, S.R. Padgett and W.C. Stallings. 2001.

- Glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. Patent 6,248,876, U.S. Patent Office, Washington, D.C.
28. Klee, H.J., Y.M. Muskopf and C.S. Gasser. 1987. Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: Sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. *Molecular and General Genetics* 210: 437-442.
  29. Herrmann, K.M. 1995. The shikimate pathway: Early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. *Plant Cell* 7: 907-919.
  30. Fluhr, R., P. Moses, G. Morelli, G. Coruzzi and N.-H. Chua. 1986. Expression dynamics of the pea *rbcS* multigene family and organ distribution of the transcripts. *The EMBO Journal* 5: 2063-2071.
  31. Wang, X.-Z., B. Li, P.L. Herman and D.P. Weeks. 1997. A three-component enzyme system catalyzes the O demethylation of the herbicide dicamba in *Pseudomonas maltophilia* DI-6. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 1623-1626.
  32. Herman, P.L., M. Behrens, S. Chakraborty, B.M. Chrastil, J. Barycki and D.P. Weeks. 2005. A three-component dicamba O-demethylase from *Pseudomonas maltophilia*, strain DI-6: Gene isolation, characterization, and heterologous expression. *The Journal of Biological Chemistry* 280: 24759-24767.
  33. Wohlleben, W., W. Arnold, I. Broer, D. Hillemann, E. Strauch and A. Pühler. 1988. Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene* 70: 25-37.
  34. Wehrmann, A., A.V. Vliet, C. Opsomer, J. Botterman and A. Schulz. 1996. The similarities of bar and pat gene products make them equally applicable for plant engineers. *Nature Biotechnology* 14: 1274-1278.
  35. Barker, R.F., K.B. Idler, D.V. Thompson and J.D. Kemp. 1983. Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Molecular Biology* 2: 335-350.
  36. Summary of Molecular Characterization of T-DNA Insertion in Herbicide-Tolerant Sugar Beet KWS20-1 by Southern Blot Analysis (M-811949-01-1) (社内文書)
  37. Updated Bioinformatics Evaluation of the Herbicide-Tolerant Sugar Beet KWS20-1 Insertion Site Utilizing the BVU\_2022 Database (M-823013-01-1) (社内文書)
  38. Updated Bioinformatics Evaluation of Putative Flank-Junction Peptides in Herbicide-Tolerant Sugar Beet KWS20-1 Utilizing the AD\_2022, TOX\_2022, and PRT\_2022 Databases (M-823015-01-1) (社内文書)
  39. Updated Bioinformatics Evaluation of the T-DNA in Herbicide-Tolerant Sugar Beet KWS20-1 Utilizing the AD\_2022, TOX\_2022, and PRT\_2022 Databases (M-823019-01-1) (社内文書)
  40. Klein, J., J. Altenbucher and R. Mattes. 1998. Nucleic acid and protein

- elimination during the sugar manufacturing process of conventional and transgenic sugar beets. *Journal of biotechnology* 60: 145-153.
41. Duraisam, R., K. Salelgn and A.K. Berekute. 2017. Production of beet sugar and bio-ethanol from sugar beet and its bagasse: A review. *International Journal of Engineering Trends and Technology* 43: 222-233.
  42. Haslam, E. 1974. The shikimate pathway: Biosynthesis of the aromatic amino acids. Pages 3-48 in *The Shikimate Pathway*. Butterworth & Co (Publishers) Ltd., London.
  43. Haslam, E. 1993. Introduction, commentary and overview. Pages 1-16 in *Shikimic Acid: Metabolism and Metabolites*. John Wiley and Sons, Inc., Chichester, England.
  44. Smart, C.C., D. Johanning, G. Müller and N. Amrhein. 1985. Selective overproduction of 5-enol-pyruvylshikimic acid 3-phosphate synthase in a plant cell culture which tolerates high doses of the herbicide glyphosate. *The Journal of Biological Chemistry* 260: 16338-16346.
  45. Levin, J.G. and D.B. Sprinson. 1964. The enzymatic formation and isolation of 3-enolpyruvylshikimate 5-phosphate. *Journal of Biological Chemistry* 239: 1142-1150.
  46. Gruys, K.J., M.C. Walker and J.A. Sikorski. 1992. Substrate synergism and the steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from *Escherichia coli*. *Biochemistry* 31: 5534-5544.
  47. Christ, B., R. Hochstrasser, L. Guyer, R. Francisco, S. Aubry, S. Hörtensteiner and J.-K. Weng. 2017. Non-specific activities of the major herbicide-resistance gene BAR. *Nature Plants* 3: 937-945.
  48. D'Ordine, R.L., T.J. Rydel, M.J. Storek, E.J. Sturman, F. Moshiri, R.K. Bartlett, G.R. Brown, R.J. Eilers, C. Dart, Y. Qi, S. Flasiniski and S.J. Franklin. 2009. Dicamba monooxygenase: Structural insights into a dynamic Rieske oxygenase that catalyzes an exocyclic monooxygenation. *Journal of Molecular Biology* 392: 481-497.
  49. Dumitru, R., W.Z. Jiang, D.P. Weeks and M.A. Wilson. 2009. Crystal structure of dicamba monooxygenase: A Rieske nonheme oxygenase that catalyzes oxidative demethylation. *Journal of Molecular Biology* 392: 498-510.
  50. Gribble, G.W. 2010. Occurrence. Pages 9-348 in *Naturally Occurring Organohalogen Compounds - A Comprehensive Update*. Volume 91. Springer-Verlag, New York, New York.
  51. Wang, C., K.C. Glenn, C. Kessenich, E. Bell, L.A. Burzio, M.S. Koch, B. Li and A. Silvanovich. 2016. Safety assessment of dicamba mono-oxygenases that confer dicamba tolerance to various crops. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 81: 171-182.
  52. Amended Report for TRR0000674: Compositional Analyses of Herbicide-Tolerant Sugar Beet KWS20-1 Tops and Root Tissues Grown in the United States During the 2020 Season (M-820249-01-1) (社内文書)