

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

内閣総理大臣から食品安全委員会に意見を求められた除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ MON94313 系統に係る食品健康影響評価（令和 7 年 2 月 10 日付け消食基第 101 号）については、令和 7 年 7 月 31 日に開催された第 266 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. 除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ MON94313 系統に係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

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

1) 募集期間

令和 7 年 9 月 30 日（火）開催の食品安全委員会（第 998 回会合）の翌日の令和 7 年 10 月 1 日（水）から令和 7 年 10 月 30 日（木）までの 30 日間。

2) 受付体制

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

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

(案)

遺伝子組換え食品等評価書

除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性

ダイズ MON94313 系統

(食品)

令和7年（2025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＞	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
＜第 262 回遺伝子組換え食品等専門調査会専門参考人名簿＞	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	7
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	8
4. 安全性において検討が必要とされる相違点	8
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	9
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	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	12
6. ベクターへの挿入 DNA の組込方法等に関する事項	12
7. 構築されたコンストラクトに関する事項	14
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	15

1. 遺伝子導入に関する事項.....	15
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	17
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	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（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。）	19
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。） .	21
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	23
7. 諸外国における認可、食用等に関する事項	24
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	24
Ⅲ. 食品健康影響評価結果	24
<参照>	25

<審議の経緯>

- 2025年2月10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101号）、関係書類の接受
- 2025年2月18日 第972回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2025年2月28日 第262回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2025年7月31日 第266回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2025年9月30日 第998回食品安全委員会（報告）

<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262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）

<第266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

「除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ MON94313 系統」について食品健康影響評価を実施した。

本系統は、ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) の商業品種 A3555 を既存品種とし、*Streptomyces viridochromogenes* に由来する *pat* 遺伝子、*Stenotrophomonas maltophilia* に由来する改変 *dmo* 遺伝子、*Sphingobium herbicidovorans* に由来する *ft_t.1* 遺伝子及びイネ (*Oryza sativa*) に由来する *tdo* 遺伝子を導入して作出されており、PAT タンパク質を発現することにより除草剤グルホシネートに対する耐性が、改変 DMO タンパク質を発現することにより除草剤ジカンバに対する耐性が、FT_T.1 タンパク質を発現することによりアリルオキシアルカノエート系除草剤に対する耐性が、TDO タンパク質を発現することによりトリケトン系除草剤に対する耐性が付与される。

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 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。

FT_T.1 タンパク質は、 α -ケトグルタル酸及び酸素の存在下で、除草剤 2,4-D (アリルオキシアルカノエート系除草剤) を除草活性の無い 2,4-ジクロロフェノール (2,4-DCP) 及びグリオキシル酸へ分解するため、遺伝子組換え体は、アリルオキシアルカノエート系除草剤の影響を受けずに生育することが可能となる。

TDO タンパク質は、トリケトン系除草剤であるメソトリオンを酸化し、オキシメソトリオンを生成することで、メソトリオンの 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ (HPPD) 阻害活性を消失させるため、遺伝子組換え体は、トリケトン系除草剤メソトリオン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ダイズと比較して新たに安全性を損なうおそれのある要因は認められなかった。

したがって、「除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ MON94313 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：除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系
及びトリケトン系耐性ダイズMON94313系統

性 質：除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系
及びトリケトン系耐性

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)

「除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ MON94313 系統」(以下「ダイズ MON94313」という。)は、*Streptomyces viridochromogenes* に由来する *pat* 遺伝子、*Stenotrophomonas maltophilia* に由来する改変 *dmo* 遺伝子、*Sphingobium herbicidovorans* に由来する *ft_t.1* 遺伝子及びイネ (*Oryza sativa*) に由来する *tdo* 遺伝子を導入して作出されており、PAT タンパク質を発現することにより除草剤グルホシネートに対する耐性が、改変 DMO タンパク質を発現することにより除草剤ジカンバに対する耐性が、FT_T.1 タンパク質を発現することによりアリルオキシアルカノエート系除草剤に対する耐性が、TDO タンパク質を発現することによりトリケトン系除草剤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、マメ科ダイズ属 *Soja* 亜属に属するダイズ *Glycine max* (L.) Merr. の商業品種 A3555 である。

2. 既存品種の食経験に関する事項

ダイズは、古くから多くの食経験があり (参照 1、2)、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

一般にダイズの収穫は秋期に行われ、乾燥後、常温で貯蔵される。

(2) 摂取 (可食) 部位

ダイズの摂取 (可食) 部分は種子である。

(3) 摂取量

日本人の「大豆及び大豆加工品」^a（大豆油は含まない）の摂取量平均値は、59.2 g である。大豆油の摂取量に関しては、「植物性油脂」^a、「マーガリン」^a及び「その他の油脂」^aに包含されており、日本人の植物性油脂の摂取量は 8.8 g、マーガリンの摂取量は 1.0 g、その他の油脂の摂取量は 0.0 g である。

(4) 調理及び加工方法

ダイズ種子の主要な用途は、種子全粒、油、大豆油かすの 3 つに大別される。種子は、豆もやし、いり豆、全脂大豆粉、伝統的大豆食品（味噌、豆乳、しょう油、とうふ）等の原料に利用される。大豆油は食用の他に、さらに精製されて多様な用途に供される（グリセロール、脂肪酸、ステロール、レシチン等）。大豆油かすは、家畜飼料の重要な栄養補給源である（参照 4）。

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

ダイズ (*G. max*) は、*Soja* 亜属に属している。ツルマメ (*Glycine soja*) は、中国、北朝鮮、韓国、日本、台湾、ロシア等に広く自生しており、細胞学的、形態学的及び分子生物学的な証拠から、ダイズの祖先野生種であると考えられている（参照 1）。ダイズは紀元前 17-11 世紀に中国で最初に栽培化されたことが示唆されており、今日ではそれぞれの地域に適応した生態型の品種が分化・成立し、赤道近くから北緯 45°の広い地域において、実用品種が栽培されている（参照 1）。なお、ツルマメは現在では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

ダイズの種子の主要栄養素組成（対乾燥重量）は、粗タンパク質 29.51～46.60%、粗脂質 6.97～25.00%、灰分 3.75～10.90%、炭水化物 25.2～55.8%、酸性デタージェント繊維 4.60～35.30%及び中性デタージェント繊維 7.38～31.90%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

ダイズには、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。ダイズ種子に含有される栄養阻害物質として、トリプシンインヒビター、レクチン、フィチン酸、スタキオース及びラフィノースが知られている。ダイズには生理活性物質であるイソフラボン類も含まれており、哺乳動物に対するエストロゲン、抗エストロゲン及びコレステロール低下等の生化学的活性や、

^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

動物が多量に摂取した場合の生殖への悪影響が知られている（参照 4）。

対乾燥重量の含有量については、トリプシンインヒビター 3.23～118.68 TIU/mg、レクチン 0.96～6.72mg/g、フィチン酸 0.29～2.68%、スタキオース 0.62～6.89%、ラフィノース 0.18～1.85%及びイソフラボン類としてダイゼイン 60～3,061 µg/g、ゲニステイン 36～2,837 µg/g 及びグリシテイン 14～1,630 µg/g 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

ダイズには、ダイズ疎水性タンパク質、トリプシンインヒビター、P34 タンパク質、β-コングリシニン、グリシニン等がアレルゲンとして同定されている（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

ウイルス、細菌及び糸状菌によりダイズの植物体には各種の病害が発生し、可食部の種子にも数種類の重要な病害（ダイズモザイクウイルス病、茎疫病、紫斑病等）が発生するが（参照 1）、これらはヒトや家畜等に対して病原性を持つ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

ダイズの主要用途は、種子全粒、油、大豆油かすの 3 つに大別される。種子全粒は、豆もやし、いり豆、全脂大豆粉、伝統的大豆食品（味噌、しょう油、とうふ）等の原料に利用され、油は食用として、さらに精製されて多様な用途に供される（グリセロール、脂肪酸、ステロール、レシチン等）。大豆油かすは、家畜飼料として利用されている（参照 4）。

以上 1.～8.より、ダイズ MON94313 の安全性評価においては、従来のダイズ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

ダイズ MON94313 は、除草剤グルホシネート、除草剤ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系除草剤及びトリケトン系除草剤に対する耐性が付与される。

2. 利用目的

ダイズ MON94313 は、除草剤グルホシネート、除草剤ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系除草剤及びトリケトン系除草剤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

ダイズ MON94313 の栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法は、従来のダイズと変わらない。

(2) 可食部位、調理及び加工方法

ダイズ MON94313 の可食部位、調理及び加工方法は、従来のダイズと変わらない。

(3) 摂取量

ダイズ MON94313 の摂取量は、従来のダイズと変わらない。

4. 安全性において検討が必要とされる相違点

ダイズ MON94313 は、*pat* 遺伝子、改変 *dmo* 遺伝子、*ft_t.1* 遺伝子及び *tdo* 遺伝子を導入して作出されており、PAT タンパク質、改変 DMO タンパク質、FT_T.1 タンパク質及びTDO タンパク質を発現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

ダイズ MON94313 の作出に使用した導入用プラスミド PV-GMHT529103 のベクターバックボーンは、*Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 を基に作製された（参照 5）。

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-GMHT529103 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 5）。

(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-GMHT529103 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 5）。

(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-GMHT529103 のベクターバックボーンには、ネオマイシン及びカナマイシンに対して耐性を付与する *nptII* 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 PV-GMHT529103 のベクターバックボーンは、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

pat 遺伝子、改変 *dmo* 遺伝子、*ft_t.1* 遺伝子及び *tdo* 遺伝子の供与体は、それぞれ *Str. viridochromogenes*、*Ste. maltophilia* DI-6 株、*Sp. herbicidovorans* 及びイネ *O. sativa* ジャポニカ亜種である。

(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。）

Str. viridochromogenes は様々な環境に存在しており（参照 6）、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報告はない。

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 7、8）、免疫不全の患者に限り日和見感染を起こす（参照 9）が、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報告はない。

Sp. herbicidovorans は土壌中に広く存在する（参照 10）が、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報告はない。

イネ (*O. sativa*) は食品及び飼料としての安全に使用されてきた歴史があり、世界人口のおよそ半数以上に主食として供されている重要な作物である。イネは一般的なアレルギー誘発性食品とはみなされておらず（参照 29）、ヒトに対する病原性及び毒素産生性を有しているとの報告はない。

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. *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、ダイズ MON94313 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 11、12）。

b. 改変 *dmo* 遺伝子

改変 *dmo* 遺伝子がコードする改変 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を生成する。その結果、ダイズ MON94313 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 13、14）。

c. *ft_t.1* 遺伝子

ft_t.1 遺伝子がコードする FT_T.1 タンパク質は、 α -ケトグルタル酸及び酸素の存在下でアリルオキシアルカノエート系除草剤 2,4-D を除草活性の無い 2,4-ジクロロフェノール (2,4-DCP) 及びグリオキシル酸へ分解し、コハク酸及び二酸化炭素を生成する。その結果、ダイズ MON94313 は、アリルオキシアルカノエート系除草剤 2,4-D の影響を受けずに生育することが可能となる (参照 15)。

d. *tdo* 遺伝子

tdo 遺伝子がコードする TDO タンパク質は、トリケトン系除草剤メソトリオンを酸化し、オキシメソトリオンを生成することでメソトリオンの 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ (HPPD) 阻害活性を消失させる。その結果、ダイズ MON94313 は、トリケトン系除草剤メソトリオンの影響を受けずに生育することが可能となる (参照 16)。

e. 遺伝子産物のその他の性質

ダイズ MON94313 において *pat* 遺伝子から発現した PAT タンパク質、改変 *dmo* 遺伝子から発現した改変 DMO タンパク質、*ft_t.1* 遺伝子から発現した FT_T.1 タンパク質及び *tdo* 遺伝子から発現した TDO 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。ダイズ MON94313 において、上記 a. ~ d. の 4 つの遺伝子発現に伴う代謝物は、他の除草剤グルホシネート、ジカンバ、除草剤 2,4-D 及びメソトリオン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

PAT タンパク質、改変 DMO タンパク質、FT_T.1 タンパク質及び TDO タンパク質と既知毒性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^bを用いて、E-value $\leq 1 \times 10^{-5}$ 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。

(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-GMHT529103 のベクターバックボーンにはネオマイシン及びカナマイシンに対する耐性を付与する *nptII* 遺伝子が、T-DNA II 領域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

^b TOX_2024 : Swiss-Prot database (URL : <https://www.uniprot.org/>、ダウンロード日 : 2024 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、7,338 配列を含む。(検索日 : 2024 年 4 月)

aadA 遺伝子が含まれているが、これらがダイズ MON94313 のゲノム中に導入されていないことが次世代シーケンス解析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

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*) 由来の複数のプロモーター及び 5' 末端非翻訳領域の配列を基に作成されたプロモーター等の配列を有する GSP579 プロモーター配列である (参照 17)。

改変 *dmo* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、シロイヌナズナ (*A. thaliana*) 由来の *ubq3* 遺伝子のプロモーター、リーダー及びイントロンからなる *ubq3-At1* プロモーター配列である。

ft_t.1 遺伝子発現カセットのプロモーターは、シロイヌナズナ (*A. thaliana*) 由来の *ubq10* 遺伝子のプロモーター、リーダー及びイントロンからなる *ubq10-At1* プロモーター配列である。

tdo 遺伝子発現カセットのプロモーターは、シロイヌナズナ (*A. thaliana*) 由来の複数のプロモーター、5' 末端非翻訳領域の配列を基に作成されたプロモーター及び 5' 末端非翻訳領域の配列からなる GSP576 プロモーター配列である (参照 17)。

② ターミネーターに関する事項

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 (*Medicago 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* ターミネーター配列である。

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*) のアルミニウム誘導性遺伝子 *sali3-2* の 3' 末端非翻訳領域の *sali3-2-Mt1* ターミネーター配列である。

ft_t.1 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' 末端非翻訳領域の配列 *guf-Mt2* ターミネーター配列である。

tdo 遺伝子発現カセットのターミネーターは、トウモロコシ (*Zea mays*) 由来の複数の 3' 末端非翻訳領域の配列を基に作成された 3' 末端非翻訳領域の *GST7* ターミネーター配列である。

③ その他

pat 遺伝子発現カセットには、シロイヌナズナ (*A. thaliana*) 由来の複数のイントロン配列を基に作成された *GSI102* イントロン配列を挿入している (参照 17)。

改変 *dmo* 遺伝子発現カセットには、シロイヌナズナ (*A. thaliana*) 由来

の熱ショックタンパク質 (Hsp101) ホモログ (*Apg6*) 遺伝子の *apg6-At1* ターゲティング配列を挿入している (参照 18)。

tdo 遺伝子発現カセットには、シロイヌナズナ (*A. thaliana*) 由来の複数のイントロン配列を基に作成された *GSII7* イントロン配列を挿入している (参照 17)。

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

一時的に既存品種のゲノムに導入された *R. radiobacter* (*A. tumefaciens*) C58 株由来の *splA* 遺伝子はスクロースフォスホリラーゼを (参照 19)、トランスポゾン Tn7 由来の *aadA* 遺伝子は 3''(9)-O-ヌクレオチジルトランスフェラーゼ (アミノグリコシド改変酵素) を (参照 20) それぞれ産生する。

スクロースフォスホリラーゼは、スクロースをフルクトース及びグルコース-1-リン酸に変換する酵素であり、種皮の委縮という表現型を付与し、遺伝子組換え体の選抜に利用された。

3''(9)-O-ヌクレオチジルトランスフェラーゼ (アミノグリコシド改変酵素) は、抗生物質である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し、形質転換された細胞の選抜に利用された。

これらの遺伝子は、いずれもダイズ MON94313 の作出の過程において一時的に既存品種に導入された後にゲノムから除去されるため、ダイズ MON94313 には残存しない。

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

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。

改変 *dmo* 遺伝子は、*Ste. maltophilia* DI-6 株の野生型 *dmo* 遺伝子配列を基に合成された。改変 DMO タンパク質は、野生型 DMO タンパク質の N 末端側から 2 番目にロイシンが挿入されている。

ft_t.1 遺伝子は、*Sph. herbicidovorans* の R-2,4-ジクロロフェノキシプロピオン酸ジオキシゲナーゼ (*Rdpa*) 遺伝子配列を基に、酵素活性及び栽培地域における夏季の高温に対する安定性を向上させるための改変を加え合成された (参照 15)。FT_T.1 タンパク質は、野生型 *Rdpa* タンパク質のアミノ酸配列と比較して 31 箇所のアミノ酸が置換されている。

tdo 遺伝子は、イネ (*O. sativa*) の *tdo* 遺伝子配列を基に合成された。

(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 PV-GMHT529103 は、プラスミド pBR322 等により構成されたベクターバックボーンと *pat* 遺伝子発現カセット、改変 *dmo* 遺伝子発現カセット、*ft_t.1* 遺伝子発現カセット及び *tdo* 遺伝子発現カセットを含む T-DNA I 領域、選抜マーカーを含む T-DNA II 領域より作製された。導入用プラ

スミド PV-GMHT529103 の挿入 DNA 領域の構成要素は表 1 のとおりである。

表 1 導入用プラスミド PV-GMHT529103 の挿入 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 領域を伝達する際に利用される右側境界配列を含む（参照 21、22）。
(pat 遺伝子発現カセット)	
GSP579 プロモーター	シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) 由来の複数のプロモーター及び 5' 末端非翻訳領域の配列を基に作成されたプロモーター及び 5' 末端非翻訳領域の配列からなる（参照 17）。
GSI102 イントロン	シロイヌナズナ (<i>A. thaliana</i>) 由来の複数のイントロン配列を基に作成されたイントロン配列（参照 17）。
pat	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> に由来するホスフィノスリシン N-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（参照 11、12）。
Hsp20-Mt1 ターミネーター	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 Hsp20 遺伝子の 3' 末端非翻訳領域の配列からなるターミネーター（参照 23）。
(改変 dmo 遺伝子発現カセット)	
ubq3-At1 プロモーター	シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子 <i>ubq3</i> のプロモーター、リーダー及びイントロンからなる（参照 24）。
apg6-At1 ターゲティング	シロイヌナズナ (<i>A. thaliana</i>) 由来の熱ショックタンパク質 (Hsp101) ホモログをコードしている <i>Albino and pale green 6</i> (<i>ApG6</i>) 遺伝子のターゲティング配列であり、目的タンパク質を葉緑体へと輸送する（参照 18）。
改変 dmo	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 由来のジカンバモノオキシゲナーゼ (DMO) をコードする（参照 13、14）。
sali3-2-Mt1 ターミネーター	タルウマゴヤシ (<i>Medicago truncatula</i>) のアルミニウム誘導性遺伝子 <i>sali3-2</i> の 3' 末端非翻訳領域の配列からなるターミネーター（参照 23）。
(ft_t.1 遺伝子発現カセット)	
ubq10-At1 プロモーター	シロイヌナズナ (<i>A. thaliana</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子 <i>ubq10</i> のプロモーター、リーダー及びイントロンからなる（参照 24）。
ft_t.1	<i>Sphingobium herbicidovorans</i> に由来する <i>rdpA</i> 遺伝子の

	改変型から発現する FOPs 及び 2,4-D ジオキシゲナーゼ (FT_T.1) をコードする (参照 15)。
<i>guf-Mt2</i> ターミネーター	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からなるターミネーター (参照 23)。
(tdo 遺伝子発現カセット)	
<i>GSP576</i> プロモーター	シロイヌナズナ (<i>A. thaliana</i>) 由来の複数のプロモーター及び 5' 末端非翻訳領域の配列を基に作成されたプロモーター及び 5' 末端非翻訳領域の配列からなる (参照 17)。
<i>GSI17</i> イントロン	シロイヌナズナ (<i>A. thaliana</i>) 由来の複数のイントロン配列を基に作成されたイントロン配列 (参照 17)。
<i>tdo</i>	イネ (<i>Oryza sativa</i>) 由来のトリケトンジオキシゲナーゼ (TDO) をコードする (参照 16)。
<i>GST7</i> ターミネーター	トウモロコシ (<i>Zea mays</i>) 由来の複数の 3' 末端非翻訳領域の配列を基に作成された 3' 末端非翻訳領域の配列からなるターミネーター (参照 17)。
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 25)。

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-GMHT529103 の塩基数、塩基配列及び制限酵素による切断地図は明らかになっている。

(2) 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-GMHT529103 の意図する挿入領域は、T-DNA I 領域の右側境界領域 (RB) から左側境界領域 (LB) までである。なお、T-DNA II 領域は遺伝子組換え体を作成する過程で一時的に既存品種のゲノムに導入された後に除去されるため、ダイズ MON94313 には残存しない。

(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-GMHT529103 は、ネオマイシン及びカナ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

既存品種に、導入用プラスミド PV-GMHT529103 の T-DNA I 領域及び T-DNA II 領域をアグロバクテリウム法により導入した後、スペクチノマイシン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得た。次に、自殖により得た個体について、T-DNA II 領域を持たず T-DNA I 領域をホモで有する個体を *splA* 遺伝子の表現型解析及び *aadA* 遺伝子の PCR 法並びに定量的 PCR 法により選抜した。得られた個体を自殖することで、ダイズ MON94313 が得られた。

(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)

ダイズ MON94313 について、形質転換個体の選択方法、個体の継代方法及び系統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

ダイズ MON94313 のゲノムに挿入された遺伝子のコピー数、ベクターバックボーンの有無及び挿入近傍配列を確認するために、次世代シーケンス解析、PCR 分析及び塩基配列解析を実施した。

ダイズ MON94313 のシーケンス解析で得た塩基配列(リード)の平均リード深度は 136 であった。得られたリードの全てを導入用プラスミド PV-GMHT529103 と照合した結果、ダイズ MON94313 では、導入された DNA 領域の 5' 末端配列及び 3' 末端配列を含む 2 つの接合領域が特定され、目的の DNA 領域が 1 箇所に 1 コピー導入されたことが示された(図)。また、ダイズ MON94313 において導入用プラスミド PV-GMHT529103 に由来する非意図的な配列は確認されなかった(参照 26)。

さらに、ダイズ MON94313 に導入された DNA の近傍配列が既存品種のゲノム由来であることを確認するために、ダイズ MON94313 に導入された DNA の 5' 末端近傍配列及び 3' 末端近傍配列に特異的なプライマーを作成し、既存品種を用いて PCR 分析及び塩基配列の解析を行った後、これをダイズ MON94313 の近傍配列と比較した。その結果、ダイズ MON94313 の近傍配列において、既存品種のゲノムと比較して 40 bp の欠失が認められた。このことを除き、ダイズ MON94313 近傍配列と既存品種の塩基配列は一致しており、導入された DNA 領域の近傍配列が既存品種のゲノム由来であることが確認された(参照 26)。

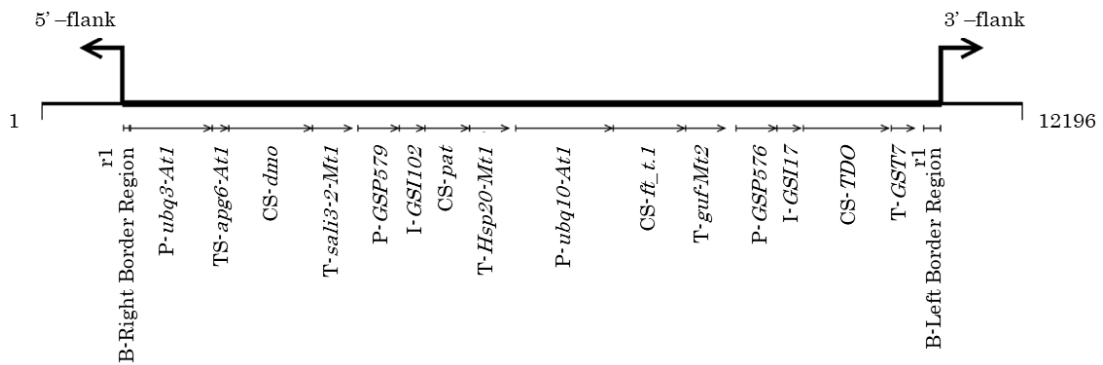


図 ダイズ MON94313 のゲノム DNA 中に挿入された DNA (模式図)

(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 世代のダイズ MON94313 の種子から抽出されたゲノム DNA を用いて次世代シーケンス解析を行った。その結果、各世代において導入された DNA 領域に起因する 2 つの接合領域のみが検出され、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 26)。

(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

ダイズ MON94313 に導入された遺伝子の 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 8 個検出された。

これらの ORF と既知アレルゲンとの相同性の有無を確認するため、アレルゲンデータベース^cを用いて相同性検索を行った。その結果、連続する 80 アミノ酸配列当たり 35%を超える相同性を示す配列及び連続する 8 アミノ酸配列との相同性を示す配列は検出されなかった (参照 27)。

また、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^b及びタンパク質データベース^d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 (参照 27)。

^c AD_2024 : COMPARE (COMprehensive Protein Allergen REsource) から 2024 年 2 月にダウンロードしたアレルゲン配列のデータベースで、2,748 配列を含む。(検索日 : 2024 年 4 月)

^d PRT_2024 : NCBI から 2024 年 1 月にダウンロードしたタンパク質配列のデータベースで、286,068,982 配列を含む。(検索日 : 2024 年 4 月)

② 導入遺伝子領域における ORF の解析

ダイズ MON94313 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^aを用いて相同性検索を行った。その結果、連続する 80 アミノ酸配列当たり 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 アミノ酸配列との相同性を示す配列を検索した結果、6 通りの読み枠のうち、1 つの読み枠におけるアミノ酸配列が、パンコムギ *Triticum aestivum* のアレルゲン AKJ77987.1 (Allergen Tri a 43; unknown) との一致を示した。しかしながら、このアミノ酸配列は、上流に適切な開始コドンが存在しないこと、PAT タンパク質、改変 DMO タンパク質、FT_T.1 タンパク質及び TDO タンパク質のいずれをコードする領域とも読み枠が異なることから、タンパク質を発現しないと考えられた。

さらに、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^b及びタンパク質データベース^dを用い、E-score $\leq 1 \times 10^{-5}$ を指標として相同性検索を行った。その結果、タンパク質データベースを用いた相同性検索において、5 つの読み枠から相同性を示す配列が検出された。このうち、2 つの読み枠において相同性を示したアミノ酸配列については、複数のストップコドンを含んでおり、残る 3 つの読み枠において相同性を示したアミノ酸配列は、導入された DNA 領域中の意図したタンパク質を産生する配列 (*dmo* 遺伝子、*ft_t.1* 遺伝子及び *tdo* 遺伝子) であり、非意図的な翻訳により有害な生理活性を有するタンパク質が生じるものではないと考えられる (参照 43)。

以上のことから、仮にダイズ MON94313 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

ダイズ MON94313 の根、葉、種子及び地上部における PAT タンパク質、改変 DMO タンパク質及び FT_T.1 タンパク質の発現量をマルチプレックスイムノアッセイにより、TDO タンパク質の発現量を ELISA 法により測定した (参照 28)。結果は表 2 のとおりである。

表2 ダイズ MON94313 中に産生される遺伝子産物の組織・生育段階別生産量
($\mu\text{g/g}$ 乾物重)

遺伝子産物	組織	生育段階	平均値 (SE) 範囲	LOQ/LOD
PAT タンパク質	地上部	子実肥大期	12 (0.74) 6.7-18	0.007/0.003
	種子	子実の収穫	3.8 (0.14) 2.6-4.6	0.007/0.003
	葉	3~4 葉期	19 (1.1) 12-29	0.014/0.007
	根	子実肥大期	3.7 (0.25) 1.7-5.4	0.007/0.003
改変 DMO タンパク質	地上部	子実肥大期	150 (7.4) 100-230	0.007/0.004
	種子	子実の収穫	40 (1.2) 32-49	0.007/0.004
	葉	3~4 葉期	68 (3.7) 45-100	0.007/0.004
	根	子実肥大期	20 (1.1) 10-27	0.007/0.004
FTI タンパク質	地上部	子実肥大期	11 (0.48) 7.5-15	0.046/0.028
	種子	子実の収穫	6.1 (0.16) 4.7-7.2	0.023/0.014
	葉	3~4 葉期	20 (0.60) 14-25	0.023/0.014
	根	子実肥大期	4.1 (0.25) 2.3-6.0	0.023/0.014
TDO タンパク質	地上部	子実肥大期	12 (0.58) 8.8-17	1.0/0.421
	種子	子実の収穫	5.0 (0.36) 2.8-8.1	0.50/0.312
	葉	3~4 葉期	41 (1.9) 25-53	1.0/0.413
	根	子実肥大期	<LOQ	0.50/0.341

*n=20、SE=標準誤差、LOQ = limit of quantitation (定量限界)、LOD = limit of detection (検出限界)

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「大豆及び大豆加工品」(大豆油は含まれない)の平均摂取量 59.2 g^aの原料を全てダイズ MON94313 に置き換えて PAT タンパク質、改変 DMO タンパク質、FT_T.1 タンパク質及び TDO タンパク質の推定摂取量を計算すると、それぞれ 225 µg、2,368 µg、361 µg 及び 296 µg でありその合計は 3,250 µg となり、その合計が一人一日当たりのタンパク質摂取量平均値 71.4 g に占める割合は $4.6 \times 10^{-3}\%$ となる。したがって、一日のタンパク質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

pat 遺伝子、改変 *dmo* 遺伝子及び *ft_t.1* 遺伝子の供与体はそれぞれ、*Str. viridochromogenes*、*Ste. maltophilia*、及び *Sp. herbicidovorans* であり、これら細菌にアレルギー誘発性の報告はない。

tdo 遺伝子の供与体は、イネ (*O. sativa*) であり、イネは一般的なアレルギー誘発性食品であるとみなされていない(参照 29)。

- (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

PAT タンパク質、改変 DMO タンパク質、FT_T.1 タンパク質及び TDO 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

ダイズ MON94313 で産生される PAT タンパク質、改変 DMO タンパク質、FT_T.1 タンパク質及び TDO タンパク質のうち、PAT タンパク質については、既に安全性審査の手続を経た旨の公表がなされたダイズ A5547-127 系統^eに導入された遺伝子がコードするタンパク質と同一のアミノ酸配列である。このことから、ダイズ A5547-127 系統^e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試験の結果から、アレルギーが誘発される可能性は低いと考えられた。

ダイズ MON94313 で産生される改変 DMO タンパク質については、トウモ

^e 2002年7月8日官報掲載

ロコシ MON87429 系統^fに導入された遺伝子がコードするタンパク質と同一のアミノ酸配列である。また、これらの改変 DMO タンパク質は同様の分子量を持ち（参照 42）、糖鎖修飾が大きく変わらないことが確かめられている。このことから、ダイズ MON94313 で産生される改変 DMO タンパク質については、トウモロコシ MON87429^f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試験の結果から、アレルギーが誘発される可能性は低いと考えられた。

① FT_T.1 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 FT_T.1 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（タンパク質染色）分析を行った結果、FT_T.1 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 3.5 kDa から 6 kDa の位置に試験開始 20 分後までバンドが確認され、試験開始 30 分後には消失した。ウエスタンブロット分析では、FT_T.1 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、約 3.5 kDa から 6 kDa の位置のバンドも検出されなかった（参照 30）。

b. 人工腸液に対する感受性

E. coli で発現させた FT_T.1 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、ウエスタンブロット分析を行った結果、FT_T.1 タンパク質の完全長と考えられるバンドは、試験開始 5 分以内に消失した（参照 30）。

c. 加熱処理に対する感受性

E. coli で発現させた FT_T.1 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 15 分間又は 30 分間加熱処理した後、機能活性分析を行った。その結果、55°C、30 分以上及び 75°C、15 分以上の加熱処理により失活することが確認された（参照 31）。

② TDO 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 TDO 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（タンパク質染色）分析を行った結果、TDO 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

^f 除草剤グリホサート誘発性雄性不稔並びに除草剤ジカンバ、グルホシネート、アリルオキシアルカノエート系及びグリホサート耐性トウモロコシ MON87429 系統（食品）（令和 3 年 6 月 29 日食品安全委員会において了承）

したが、約 3.5 kDa のバンドが試験開始 5 分後まで検出され、試験開始 10 分後には消失した。ウェスタンブロット分析では、TDO 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、約 3.5 kDa のバンドも検出されなかった（参照 32）。

b. 人工腸液に対する感受性

E. coli で発現させた TDO 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、ウェスタンブロット分析を行った結果、TDO タンパク質の完全長と考えられるバンドは、試験開始 5 分以内に消失した（参照 32）。

c. 加熱処理に対する感受性

E. coli で発現させた TDO 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 15 分間又は 30 分間加熱処理した後、機能活性分析を行った。その結果、55°C、15 分以上の加熱処理により失活することが確認された（参照 33）。

(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

PAT タンパク質、改変 DMO タンパク質、FT_T.1 タンパク質及び TDO 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 アミノ酸配列当たり 35 %を超える相同性を有する配列及び連続する 8 アミノ酸配列の一致を示す配列を検索した。その結果、PAT タンパク質、改変 DMO タンパク質、FT_T.1 タンパク質及び TDO タンパク質のいずれについても、既知のアレルゲンとの相同性を示す配列は検出されなかった（参照 34、35）。

上記（1）から（4）まで及び前項 3 から総合的に判断し、PAT タンパク質、改変 DMO タンパク質、FT_T.1 タンパク質及び TDO 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) 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 12、36）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。

(2) 改変 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、ジカンバのフェニル環上のカルボキシ基及び塩素原子（クロロ基）を介して DMO タンパク質の触媒部位のアミノ酸と相互作用して、ジカンバを代謝する（参照 37、38）。植物等において、クロロ基を含むフェニル環からなる化合物の存在は限定的であり（参照 39）、ジカンバのようにカルボキシ基、メトキシ基及びクロロ基を有するフェニル環からなるダイズ内在性化合物は知られていないこと、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^g。

また、ダイズ MON94313 で発現する改変 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 37、38、40）ことから、ダイズ MON94313 で発現する改変 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。

(3) FT_T.1 タンパク質

ダイズ MON94313 で発現する FT_T.1 タンパク質は、除草剤 2,4-D に対する活性を向上させる目的で、安全性審査の手続を経た遺伝子組換えトウモロコシ MON87429 系統で発現する FT_T タンパク質に対して、3 ヲ所のアミノ酸置換が導入された結果として除草剤 2,4-D に対する高い活性を有するが、これらのアミノ酸置換は基質特異性には影響していない（参照 15）。

FT_T タンパク質が内在性化合物を代謝して宿主の代謝経路に影響を及ぼすことはない判断されていること、FT_T タンパク質と FT_T.1 タンパク質のアミノ酸配列がほぼ同一であること及び両者での除草剤に対する特異性が一致していることから、FT_T.1 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極めて低いと考えられる。

(4) TDO タンパク質

TDO タンパク質の潜在的な基質となりうる植物内在性化合物を *in silico* スクリーニングにより探索し、その結果得られた化合物に対する TDO タンパク質の特異性を生化学的解析により評価した結果、TDO タンパク質はいずれの植物内在性化合物に対しても活性を示さず、トリケトン系除草剤（メソトリオン、テンボトリオン、スルコトリオン）に対して特異的な活性を示した。この

^g 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）

ことから、TDO タンパク質が内在性化合物を代謝して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る。

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ヵ所のは場で栽培されたダイズ MON94313 と非組換えダイズの種子及び地上部について、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 41）。

① ダイズ種子における栄養素の含有量

a. 主要構成成分

種子の主要構成成分（粗タンパク質、粗脂質、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、対照の非組換えダイズとの間で炭水化物に統計学的有意差が認められたが、ダイズ MON94313 の平均値は、文献値の範囲内であった（参照 3）。

b. アミノ酸

種子のアミノ酸 18 成分について分析を行った結果、対照の非組換えダイズとの間でシスチン/システイン及びトリプトファンに統計学的有意差が認められたが、ダイズ MON94313 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 3）。

c. 脂肪酸

種子の脂肪酸 13 成分について分析を行った結果、対照の非組換えダイズとの間でパルミチン酸及びリノレン酸に統計学的有意差が認められたが、ダイズ MON94313 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 3）。

d. ミネラル類

種子の無機質（カルシウム、リン、鉄、マグネシウム、カリウム）について分析を行った結果、対照の非組換えダイズとの間で統計学的有意差は認められなかった。

e. ビタミン類

種子のビタミン E (α -トコフェロール)、ビタミン K₁ (フィロキノン)、ビタミン B₂ (リボフラビン) 及びビタミン B₉ (葉酸) について分析を行った結果、対照の非組換えダイズとの間でビタミン K₁ (フィロキノン) に統計学的有意差が認められたが、ダイズ MON94313 の平均値は、文献値の

範囲内であった（参照 3）。

f. 栄養阻害物質

種子の栄養阻害物質及びイソフラボン類（8 項目）について分析を行った結果、対照の非組換えダイズとの間でグリシテインに統計学的有意差が認められたが、ダイズ MON94313 の平均値は、文献値の範囲内であった（参照 3）。

② 地上部における栄養素の含有量

地上部の粗タンパク質、粗脂質、炭水化物、酸性デタージェント繊維、中性デタージェント繊維及び灰分について分析を行った結果、対照の非組換えダイズ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

ダイズ MON94313 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、2024 年 9 月に米国食品医薬品庁（FDA）での食品及び飼料としての安全性審査が終了した。

オーストラリア・ニュージーランドにおいては、2024 年 5 月にオーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）から食品としての安全性認可を受けた。

欧州においては、2022 年 9 月に欧州食品安全機関（EFSA）に対して食品、飼料及び輸入のための安全性審査の申請が行われた。

カナダにおいては、2023 年 10 月にカナダ保健省（HC）から食品としての安全性認可を受け、カナダ食品検査庁（CFIA）から環境・飼料としての安全性認可を受けた。

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

「除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ MON94313 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. 2000. Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean). ENV/JM/MONO(2000)9. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No.15. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
2. FAO. 1992. FAO Agricultural Services Bulletin No.97. Technology of production of edible flours and protein products from soybeans. Chapter 1: The soybean. <https://www.fao.org/3/t0532e/t0532e00.htm>.
3. AFSI. 2020. Crop Composition Database, Version 8.0. Agriculture & Food Systems Institute. <https://www.cropcomposition.org/> [Accessed April 20, 2021]. .
4. OECD. 2012. Revised Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]: Key Food and Feed Nutrients, Anti-Nutrients, Toxicants and Allergens. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds No. 25.
5. Sequence of Genetic Elements in PV-GMHT529103 (社内文書)
6. Goodfellow, M. and S.T. Williams. 1983. Ecology of actinomycetes. Annual Review of Microbiology 37: 189-216.
7. Echemendia, Y. 2010. Microorganism of the month: *Stenotrophomonas maltophilia*. Environmental Microbiology Laboratory, Inc. <http://www.emlab.com/s/sampling/env-report-07-2007.html> [Accessed August 10, 2010].
8. Brooke, J.S. 2012. *Stenotrophomonas maltophilia*: An emerging global opportunistic pathogen. Clinical Microbiology Reviews 25: 2-41.
9. 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.
10. Chaudhary, D.K., S.-W. Jeong and J. Kim. 2017. *Sphingobium naphthae* sp. nov., with the ability to degrade aliphatic hydrocarbons, isolated from oil-contaminated soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 67: 2986-2993.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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. *Journal of Biological Chemistry* 280: 24759-24767.
15. Larue, C.T., M. Goley, L. Shi, A.G. Evdokimov, O.C. Sparks, C. Ellis, A.M. Wollacott, T.J. Rydel, C.E. Halls, B. Van Scoyoc, X. Fu, J.R. Nageotte, A.M. Adio, M. Zheng, E.J. Sturman, G.S. Garvey and M.J. Varagona. 2019. Development of enzymes for robust aryloxyphenoxypropionate and synthetic auxin herbicide tolerance traits in maize and soybean crops. *Pest Management Science* 75: 2086-2094.
 16. Maeda, H., K. Murata, N. Sakuma, S. Takei, A. Yamazaki, M.R. Karim, M. Kawata, S. Hirose, M. Kawagishi-Kobayashi, Y. Taniguchi, S. Suzuki, K. Sekino, M. Ohshima, H. Kato, H. Yoshida and Y. Tozawa. 2019. A rice gene that confers broad-spectrum resistance to β -triketone herbicides. *Science* 365: 393-396.
 17. To, J.P.C., I.W. Davis, M.S. Marengo, A. Shariff, C. Baublite, K. Decker, R.M. Galvão, Z. Gao, O. Haragutchi, J.W. Jung, H. Li, B. O'Brien, A. Sant and T.D. Elich. 2021. Expression Elements Derived From Plant Sequences Provide Effective Gene Expression Regulation and New Opportunities for Plant Biotechnology Traits. *Frontiers in Plant Science* 12.
 18. Myouga, F., R. Motohashi, T. Kuromori, N. Nagata and K. Shinozaki. 2006. An *Arabidopsis* chloroplast-targeted Hsp101 homologue, APG6, has an essential role in chloroplast development as well as heat-stress response. *The Plant Journal* 48: 249-260.
 19. Piper, K.R., S. Beck Von Bodman, I. Hwang and S.K. Farrand. 1999. Hierarchical gene regulatory systems arising from fortuitous gene associations: controlling quorum sensing by the opine regulon in *Agrobacterium*. *Mol Microbiol* 32: 1077-1089.
 20. Fling, M.E., J. Kopf and C. Richards. 1985. Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-O-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* 13: 7095-7106.
 21. 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.
 22. 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.
 23. Hunt, A.G. 1994. Messenger RNA 3' end formation in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45: 47-60.
 24. Norris, S.R., S.E. Meyer and J. Callis. 1993. The intron of *Arabidopsis thaliana* polyubiquitin genes is conserved in location and is a quantitative determinant of chimeric gene expression. *Plant Molecular Biology* 21: 895-906.
 25. 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.
26. Amended from TRR0001418: Molecular Characterization of Herbicide Tolerant Soybean MON 94313 (M-815764-02-1) (社内文書)
 27. Updated Bioinformatics Evaluation of Putative Flank-Junction Peptides in MON 94313 Utilizing the AD_2024, TOX_2024, and PRT_2024 Databases (M-855268-01-1) (社内文書)
 28. Assessment of DMO, PAT, FT_T.1, and TDO Protein Levels in Herbicide Treated Soybean Forage, Grain, Leaf, and Root Tissues Collected from MON 94313 Produced in United States Field Trials During 2020 (TRR0001494) (社内文書)
 29. OECD. 2016. Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of rice (*Oryza sativa*): Key food and feed nutrients, anti-nutrients and other constituents. Organization for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
 30. In vitro Digestibility of *E. coli*-produced FT_T.1 Protein by Pepsin and Pancreatin (TRR0000874) (社内文書)
 31. The Effect of Heat Treatment on the Functional Activity of *Escherichia coli*-produced FT_T.1 Protein (TRR0001512) (社内文書)
 32. Amended Report for TRR0001315: In vitro Digestibility of *E. coli*-produced TDO Protein by Pepsin and Pancreatin (TRR0001573) (社内文書)
 33. The Effect of Heat Treatment on the Functional Activity of *Escherichia coli* (*E. coli*)-produced TDO Protein (TRR0001400) (社内文書)
 34. Updated Bioinformatics Evaluation of PAT Utilizing the AD_2022, TOX_2022, and PRT_2022 Databases (M-816143-01-2) (社内文書)
 35. Updated Bioinformatics Evaluation of DMO, FT_T.1, and TDO in MON 94313 Utilizing the AD_2022, TOX_2022, and PRT_2022 Databases (M-826109-01-1) (社内文書)
 36. 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.
 37. 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.
 38. 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.
 39. Gribble, G.W. 2010. Occurrence. Pages 9-348 in *Naturally Occurring Organohalogen Compounds - A Comprehensive Update*. Volume 91. Springer-Verlag, New York, New York.

40. 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.
41. Amended Report for TRR0001366: Compositional Analyses of Soybean Grain and Forage Harvested from MON 94313 Grown in United States During the 2020 Season (TRR0001412) (社内文書)
42. Wang, C., J. Calcaterra, B. Anderson, T. Rydel, R. Wang, L. Bertho, S.A. Saracco, K. Hodge-Bell, L. Burzio, T. White and B. Li. 2024. Risk assessment of homologous variants of biotech trait proteins using a bridging approach. *GM Crops & Food* 15: 336-351.
43. Updated Bioinformatics Evaluation of the T-DNA in MON 94313 Utilizing the AD_2024, TOX_2024, and PRT_2024 Databases (M-855267-01-1) (社内文書)