

平成 27 年 9 月 30 日

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋 殿

遺伝子組換え食品等専門調査会
座長 澤田 純一

遺伝子組換え食品等に係る食品健康影響評価に関する審議結果について

平成 27 年 7 月 2 日付け厚生労働省発食安 0702 第 3 号をもって厚生労働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耐性アルファルファ J101 系統及び低リグニンアルファルファ KK179 系統を掛け合わせた品種」に係る食品健康影響評価について、当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりです。報告します。

遺伝子組換え食品等評価書

除草剤グリホサート耐性アルファルファ
J101 系統及び低リグニンアルファルファ
KK179 系統を掛け合わせた品種

2015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

| | 頁 |
|--|----|
| <審議の経緯> | 3 |
| <食品安全委員会委員名簿> | 3 |
| <食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿> | 3 |
| 要 約 | 4 |
| Ⅰ. 評価対象食品の概要 | 5 |
| Ⅱ. 食品健康影響評価 | 5 |
| 第1. 安全性評価において比較対象として用いる宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項 | 5 |
| 1. 宿主及び導入 DNA に関する事項 | 5 |
| 3. 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項 | 6 |
| 4. 宿主と組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項 ... | 6 |
| 5. 宿主以外のものを比較対象に追加して用いる場合、その根拠及び食品としての性質に関する事項 | 7 |
| 第2. 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項 | 7 |
| 第3. 宿主に関する事項 | 7 |
| 1. 分類学上の位置付け等（学名、品種名及び系統名等）に関する事項 | 7 |
| 2. 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項 | 7 |
| 3. 有害生理活性物質の生産に関する事項 | 8 |
| 4. アレルギー誘発性に関する事項 | 8 |
| 5. 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項 . | 8 |
| 6. 安全な摂取に関する事項 | 8 |
| 7. 近縁の植物種に関する事項 | 8 |
| 第4. ベクターに関する事項 | 9 |
| 1. 名称及び由来に関する事項 | 9 |
| 2. 性質に関する事項 | 9 |
| 第5. 挿入 DNA、遺伝子産物、並びに導入用ベクターの構築に関する事項 | 9 |
| 1. 挿入 DNA の供与体に関する事項 | 9 |
| 2. 挿入 DNA 又は遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物の性質に関する事項 | 9 |
| 3. 挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現に関わる領域に関する事項 | 9 |
| 4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項 | 10 |
| 5. 構築された発現ベクターに関する事項 | 10 |
| 6. DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項 | 12 |
| 第6. 組換え体に関する事項 | 12 |
| 1. 遺伝子導入に関する事項 | 12 |
| 2. 遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項 | 12 |
| 3. 遺伝子産物（タンパク質）が一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否かに関 | |

| | |
|---|----|
| する事項 | 12 |
| 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 | 12 |
| 5. 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項 | 12 |
| 6. 遺伝子産物（タンパク質）の代謝経路への影響に関する事項 | 13 |
| 7. 宿主との差異に関する事項 | 13 |
| 8. 諸外国における認可、食用等に関する事項 | 15 |
| 9. 栽培方法に関する事項 | 15 |
| 10. 種子の製法及び管理方法に関する事項 | 15 |
| 第7. 第2から第6までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要 事項 | 15 |
| Ⅲ. 食品健康影響評価結果 | 15 |
| <参照> | 15 |

<審議の経緯>

- 2015年7月2日 厚生労働大臣から遺伝子組換え食品等の安全性に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安0702第3号）、関係書類の接受
- 2015年7月7日 第569回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2015年7月24日 第139回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2015年8月18日 第573回食品安全委員会（報告）
- 2015年8月19日から9月17日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2015年9月30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へ報告

<食品安全委員会委員名簿>

佐藤 洋（委員長）
山添 康（委員長代理）
熊谷 進
吉田 緑
石井克枝
堀口逸子
村田容常

<食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿>

澤田純一（座長）
小関良宏（座長代理）
宇理須厚雄 手島玲子
岡田由美子 中島春紫
橘田和美 飯 哲夫
児玉浩明 和久井信
近藤一成

要 約

「除草剤グリホサート耐性アルファルファ J101 系統及び低リグニンアルファルファ KK179 系統を掛け合わせた品種」について、申請者提出の資料を用いて食品健康影響評価を実施した。

本品種は、除草剤耐性の形質が付与された系統と低リグニン含量の形質が付与された系統を親系統として、従来の手法で掛け合わせて得られた品種である。なお、本品種の親系統については、安全性評価は終了しており、いずれもヒトの健康を損なうおそれはないと判断されている。

本品種は、挿入された遺伝子によって、除草剤耐性の形質が付与されるものと宿主の代謝系が改変され特定の成分の含量を変化させる形質が付与されるものとを掛け合わせた品種である。したがって、「遺伝子組換え植物の掛け合わせについての安全性評価の考え方」（平成 16 年 1 月 29 日食品安全委員会決定）における、安全性の確認を必要とするものに該当し、「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」（平成 16 年 1 月 29 日食品安全委員会決定）に基づき評価した結果、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断した。

I. 評価対象食品の概要

名 称：除草剤グリホサート耐性アルファルファ J101 系統及び低リグニンアルファルファ KK179 系統を掛け合わせた品種

性 質：除草剤グリホサート耐性、リグニン含量の低減

申請者：日本モンサント株式会社

開発者：Monsanto Company（米国）、Forage Genetics International LLC（米国）

本品種は、除草剤グリホサート耐性アルファルファ J101 系統（以下「J101」という。）及び低リグニンアルファルファ KK179 系統（以下「KK179」という。）を親系統とし、これらを従来の手法で掛け合わせて得られた品種（以下「J101×KK179」という。）である。

J101 には、改変 *cp4 epsps* 遺伝子が導入されており、改変 CP4 EPSPS タンパク質が発現することで、除草剤グリホサートの影響を受けずに生育することができるとしている。KK179 には、*CCOMT* 遺伝子断片が導入されており、転写産物による RNAi が誘導され、内在性の *CCOMT* 遺伝子の発現が抑制される。その結果、地上部におけるリグニンの含量が減少するとしている。いずれの親系統も、既に安全性の評価は終了し、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断されている。

J101×KK179 は、挿入された遺伝子によって、除草剤耐性の形質が付与されるものと宿主の代謝系が改変され特定の成分の含量を変化させる形質が付与されるものとを掛け合わせた品種であることから、「遺伝子組換え植物の掛け合わせについての安全性評価の考え方」（平成 16 年 1 月 29 日食品安全委員会決定）における安全性の確認を必要とするものに該当する。したがって、「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」（平成 16 年 1 月 29 日食品安全委員会決定）に基づき安全性の評価を行った。

なお、掛け合わせに使用した系統の特性から、同基準における「ベクターに関する事項」等についての安全性に関する知見は、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価の際に得られており、J101×KK179 の安全性評価に当たっては、掛け合わせにより新たに生じ得る有害成分の増大などのリスク及び主要栄養成分などの変化を主要な評価事項として、毒性学的及び栄養学的な観点から総合的に安全性評価を行うことが妥当であると考えられた。

II. 食品健康影響評価

第 1. 安全性評価において比較対象として用いる宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項

1. 宿主及び導入 DNA に関する事項

(1) 宿主の種名及び由来

宿主は、マメ科 *Medicago* 属に属するアルファルファ (*Medicago sativa* L.) の従来品種 R2336 系統である。

(2) DNA 供与体の種名及び由来

親系統である J101 に含まれている改変 *cp4 epsps* 遺伝子の供与体は *Agrobacterium* sp. CP4 株である。

また、親系統である KK179 に含まれている *CCOMT* 遺伝子断片の供与体は、アルファルファ (*M. sativa* L.) である。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

親系統である J101 に含まれている改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、除草剤グリホサートに耐性を付与する改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現する。

CCOMT 遺伝子は、リグニン生合成経路の主要な酵素である *CCOMT* タンパク質 (カフェオイル CoA 3-*O*-メチルトランスフェラーゼ) をコードする。親系統である KK179 には、*CCOMT* 遺伝子断片が逆方向反復配列となるように導入されており、転写産物による RNAi が誘導され、内在性の *CCOMT* 遺伝子の発現が抑制される。その結果、地上部におけるリグニン含量が減少する。

J101×KK179 は、J101 と KK179 を従来の交配育種法により掛け合わせて作出されたものである。

2. 宿主の食経験に関する事項

アルファルファは、古くから牧草として栽培されてきたものであり、食用としては、播種後 3～7 日後の幼苗がスプラウトとして食される。また、アルファルファは、栄養補助食品等の原料としても利用されている。

3. 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項

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

アルファルファの主要栄養組成 (対乾燥重量) は、タンパク質 15.3～25.8%、総脂質 1.3～3.2%、灰分 8.4～15.3% である (参照 1)。

また、スプラウトの主要栄養組成 (対乾燥重量) は、タンパク質 45.0%、総脂質 7.8%、灰分 4.5% である (参照 1)。

(2) 宿主に含まれる毒性物質・栄養阻害物質等の種類及びその量の概要

アルファルファの有害生理活性物質 (対乾燥重量) は、サポニン 1.6～2.4% (参照 2)、クメステロール (フィトエストロゲン的一种) 3.0～104.4 ppm (参照 1) 及びカナバニン 1.3～2.4% (参照 3) である。

また、スプラウトの有害生理活性物質 (対乾燥重量) は、サポニン 87 mg/g (参照 4) 及びカナバニン 1.3～2.7% である (参照 3)。

4. 宿主と組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項

(1) 収穫時期 (成熟程度) と貯蔵方法

J101×KK179 の収穫時期及び貯蔵方法は、従来のアルファルファと変わらない。

(2) 摂取（可食）部位

J101×KK179 の摂取部位は、従来のアルファルファと変わらない。

(3) 摂取量

J101×KK179 の摂取量は、従来のアルファルファと変わらない。

(4) 調理及び加工方法

J101×KK179 の調理及び加工方法は、従来のアルファルファと変わらない。

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

宿主と従来品種以外に、必要に応じて、親系統である J101 及び KK179 を比較対象として用いた。

6. 安全性評価において検討が必要とされる相違点に関する事項

J101×KK179 は、改変 *cp4 epsps* 遺伝子の導入により改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現すること、また、*CCOMT* 遺伝子断片を導入することで、RNAi が誘導され、内在性の *CCOMT* 遺伝子の発現が抑制されてリグニン含量が減少することが宿主との相違点である。

以上、1～6 から、J101×KK179 の安全性評価においては、既存のアルファルファとの比較が可能であると判断した。

第2. 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

J101×KK179 は、改変 *cp4 epsps* 遺伝子が改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現することで、除草剤グリホサートの影響を受けずに生育することができるとされている。また、リグニンの含量を低減させることで、飼料の品質を低下させることなく収穫期間を拡大することができるとされている。

第3. 宿主に関する事項

1. 分類学上の位置付け等（学名、品種名及び系統名等）に関する事項

J101×KK179 の作出に用いた J101 及び KK179 の宿主は、マメ科 *Medicago* 属に属するアルファルファ (*Medicago sativa* L.) の従来品種 R2336 系統である。

2. 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項

アルファルファの起源はイランと考えられ、飼料として生産される植物としては最も古い歴史がある。飼料としての重要性から世界中で生産されている（参照

5)。

アルファルファが属する *Medicago* 属は 80 種以上の種からなり、現在、商業栽培が行われているアルファルファは、*Medicago sativa* L.subsp.*sativa* (紫花アルファルファ) 及び *Medicago sativa* L.subsp.*falcata* (黄花アルファルファ) の 2 つの亜種とこれらの交雑種である。栽培種の多くは、*M. sativa* L.subsp.*sativa* に属する。

3. 有害生理活性物質の生産に関する事項

アルファルファは、サポニン、フィトエストロゲン、カナバニンといった有害物質を産生することが報告されている (参照 1)。

サポニンのうち、毒性を示す可能性があるのは、ザンハ酸及びメジカゲン酸であると考えられており、口腔及び消化管の炎症、膜透過性の上昇及び溶血などを引き起こす可能性がある (参照 6)。また、サポニンの特性である泡立ち (参照 7) により、反芻胃の鼓脹をもたらす。

クメステロール及びイソフラボノイドなどのフィトエストロゲンは、反芻動物等の生殖機能に影響を及ぼすとの報告がある (参照 8、9)。

カナバニンは、多くのマメ科植物の種子及びスプラウトに貯蔵される二次代謝産物であり、L-カナバニンとして存在する。カナバニンは、全身性紅斑性狼瘡を誘発する可能性があるとの報告がある (参照 10、11)。

縮合タンニンは、飼料に含まれるタンパク質に結合能を持つものであるが、アルファルファ中の含量は一般的な牧草と比較して少ない (参照 1)。

なお、アルファルファの通常の食品としての摂取量において、これらの有害生理活性物質がヒトに対して影響を及ぼすとの報告はないとしている。

4. アレルギー誘発性に関する事項

これまでに、ヒトにおけるアルファルファに対するアレルギー誘発性の報告はない (参照 12)。

5. 病原性の外来因子 (ウイルス等) に汚染されていないことに関する事項

他の植物と同様に、アルファルファの病害は多く知られているが、それらがヒト、家畜等に対し病原性を持つとの報告はない。

6. 安全な摂取に関する事項

食用としては、スプラウトとして食されるほか、栄養補助食品等として利用されている。なお、アルファルファ消費量の 95%以上がスプラウトである。

7. 近縁の植物種に関する事項

アルファルファの近縁種において、有害生理活性物質の生産に関する報告はない。

第4. ベクターに関する事項

1. 名称及び由来に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

2. 性質に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

第5. 挿入 DNA、遺伝子産物、並びに導入用ベクターの構築に関する事項

1. 挿入 DNA の供与体に関する事項

(1) 名称、由来及び分類に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

(2) 安全性に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

2. 挿入 DNA 又は遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物の性質に関する事項

(1) 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

親系統における挿入 DNA の構成要素は表 1 及び表 2 のとおりである。

(2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

3. 挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現に関わる領域に関する事項

(1) プロモーターに関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

(2) ターミネーターに関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

(3) その他

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

5. 構築された発現ベクターに関する事項

(1) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

(2) 原則として、最終的に宿主に導入されると考えられる導入用ベクター内の配列には、目的以外のタンパク質を組換え体内で発現するオープンリーディングフレームが含まれていないこと

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

(3) 宿主に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域が導入用ベクター上で明らかであること

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

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

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

表1 J101 系統への挿入 DNA

| 構成 DNA | 由来及び機能 |
|-------------------------------|--|
| RB | T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む <i>Rhizobium radiobacter</i> (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) 由来の DNA 領域 |
| (改変 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子カセット) | |
| P-eFMV | プロモーター領域 ゴマノハモザイクウイルス由来の重複エンハンサー-35S プロモーター |
| HSP70-Leader | ペチュニアの熱ショックタンパク質遺伝子の 5'非翻訳リーダー配列 |
| <i>CTP2</i> | シロイヌナズナの <i>epsps</i> 遺伝子の葉緑体輸送ペプチド配列 (CP4 EPSPS タンパク質を芳香族アミノ酸合成部位である葉緑体へ輸送するのに必要な配列) |
| 改変 <i>cp4 epsps</i> | <i>Agrobacterium</i> sp.CP4 株由来の合成 <i>epsps</i> 遺伝子配列 |
| E9 3' | ターミネーター領域 エンドウの ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit(<i>rbcS</i>)E9 遺伝子の 3'非翻訳領域 |
| LB | T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む <i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) 由来の DNA 領域 |

表2 アルファルファ KK179 への挿入 DNA

| 構成 DNA | 由来及び機能 |
|---------------------|---|
| LB | T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む <i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) 由来の DNA 領域 |
| (CCOMT 遺伝子発現抑制カセット) | |
| <i>Pal2</i> プロモーター | プロモーター領域 インゲンマメ (<i>P. vulgaris</i>) のフェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) 遺伝子由来のプロモーター |
| CCOMT断片 | アルファルファ (<i>M. sativa</i> L.) のカフェオイル CoA 3-Oメチルトランスフェラーゼをコードする CCOMT 遺伝子のコード配列の断片 (アンチセンス) |
| CCOMT断片 | アルファルファ (<i>M. sativa</i> L.) のカフェオイル CoA 3-Oメチルトランスフェラーゼをコードする CCOMT 遺伝子のコード配列の断片 (センス) |
| <i>nos</i> ターミネーター | ターミネーター領域 <i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) pTi 由来のノパリン合成酵素 (<i>nos</i>) の 3'非翻訳領域 |

| | |
|----|--|
| RB | T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む <i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) 由来の DNA 領域 |
|----|--|

6. DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項

改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットを有する J101 と *CCOMT* 遺伝子発現抑制カセットを有する KK179 を交配することにより、J101×KK179 を作出した。

第6. 組換え体に関する事項

1. 遺伝子導入に関する事項

(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

(2) オープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている。

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

親系統である J101 において、改変 CP4 EPSPS タンパク質が発現していることが確認されている (参照 13)。親系統である KK179 において、内在性 *CCOMT* 遺伝子の RNA 発現量が抑制されていることが確認されている。また、KK179 に導入された *CCOMT* 遺伝子発現抑制カセットにより、タンパク質が産生されることはないと考えられる (参照 14)。

J101×KK179 において、改変 CP4 EPSPS タンパク質の発現及び内在性 *CCOMT* 遺伝子の発現を抑制する siRNA の生成が確認されている。

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

親系統である J101 において発現する改変 CP4 EPSPS タンパク質が日本人一人当たりのタンパク質摂取量に占める割合は最大で 4.7×10^{-4} である。

したがって、一日蛋白摂取量の有意な量を占めることはないと判断される。

4. 遺伝子産物 (タンパク質) のアレルギー誘発性に関する事項

当該事項については、親系統である J101 及び KK179 の安全性評価において、その安全性に関する知見は得られている (参照 13、14)。

5. 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項

親系統である J101 及び KK179 において、導入された遺伝子が複数世代にわたり安定して遺伝していることが確認されている (参照 13、14)。

J101×KK179の地上部における改変 CP4 EPSPS タンパク質の発現量を ELISA 法により分析した結果、J101 と同程度であることが確認されている（参照 15）。また、J101×KK179 の地上部及び根における *CCOMT* 遺伝子発現抑制カセット由来の転写産物をノーザンブロット法により分析した結果、KK179 と同様に siRNA の生成が確認されている（参照 16）。

したがって、J101×KK179 においても、親系統に導入された遺伝子が安定して遺伝していると考えられる。

6. 遺伝子産物（タンパク質）の代謝経路への影響に関する事項

・改変 CP4 EPSPS タンパク質

改変 CP4 EPSPS タンパク質は、シキミ酸合成経路（芳香族アミノ酸合成経路）の律速酵素ではなく、EPSPS 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。また、改変 CP4 EPSPS タンパク質は、基質であるホスホエノールピルビン酸塩（PEP）及びシキミ酸-3-リン酸塩（S3P）と特異的に反応することが知られている。したがって、改変 CP4 EPSPS タンパク質の作用機作は独立しており、植物の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられる。

・ *CCOMT* 遺伝子断片

CCOMT 遺伝子は、リグニンの生合成経路においてカフェオイル CoA をフェルロイル CoA にメチル化する酵素である *CCOMT* タンパク質をコードする。*CCOMT* 遺伝子断片の逆方向反復配列からなる *CCOMT* 遺伝子発現抑制カセットを導入し、RNAi 機構を介してジーンサイレンシングを誘導して内在性 *CCOMT* 遺伝子の発現を特異的に抑制する。その結果、G リグニンの生合成経路が阻害され、G リグニン含量が低下し、総リグニン含量が低下することとなる。また、バイオインフォマティクス解析により、*CCOMT* 遺伝子発現抑制カセットは、標的である *CCOMT* 遺伝子の発現を特異的に抑制していると考えられた。

以上のことから、いずれの形質も、その作用機作は独立しており、評価対象食品である掛け合わせ品種において互いに影響し合わないと考えられる。

7. 宿主との差異に関する事項

米国のほ場で栽培された J101×KK179 と対照の非組換えアルファルファの地上部及びスプラウトについて、主要構成成分、アミノ酸組成、ミネラル類、二次代謝産物及び有害生理活性物質の分析を行い、統計学的有意差について検討が行われた。さらに、スプラウトについては、ビタミンの分析が行われた。なお、商業品種も含め実測値の過半数が定量限界値未満であった項目については、統計解析を行っていない（参照 17、18、19、20）。

(1) 主要構成成分

地上部及びスプラウトの水分、タンパク質、灰分、炭水化物、酸性デタージ

ェントリグニン、酸性デタージェント繊維、中性デタージェント繊維及び総脂質について分析を行った。その結果、J101×KK179 の地上部の酸性デタージェントリグニン（総リグニン）の平均値は、意図したとおり対照に用いた非組換えアルファルファと比較して統計学的有意に減少していたが、一般の商業品種の分析結果に基づく許容区間の範囲内であった。その他の項目については、統計学的有意差は認められなかった。なお、スプラウトの総脂質については、実測値の過半数が定量限界値未満であった。

(2) アミノ酸組成

地上部及びスプラウトのアミノ酸 18 種類について分析を行った結果、対照に用いた非組換えアルファルファとの間に統計学的有意差が認められないか、統計学的有意差が認められた場合であってもその平均値は一般の商業品種の分析結果に基づく許容区間の範囲内であった。

(3) ミネラル類

地上部及びスプラウトのカルシウム、銅等の主要なミネラル 9 種類の分析を行った結果、スプラウトのマンガンを除き、対照に用いた非組換えアルファルファとの間に統計学的有意差が認められないか、統計学的有意差が認められた場合であってもその平均値は一般の商業品種の分析結果に基づく許容区間の範囲内であった。スプラウトのマンガンの平均値は、対照に用いた非組換えアルファルファと比較して有意に増加しており、一般の商業品種の分析結果に基づく許容区間の範囲を超えていたが、文献値を下回っていた（参照 21、22）。

(4) 二次代謝産物

地上部のフェルラ酸、遊離フェニルアラニン、総ポリフェノール及び p -クマル酸について分析を行った結果、対照に用いた非組換えアルファルファとの間に統計学的有意差が認められないか、統計学的有意差が認められた場合であってもその平均値は一般の商業品種の分析結果に基づく許容区間の範囲内であった。なお、地上部のシナピン酸及びスプラウトの総ポリフェノールについては、実測値の過半数が検出限界値未満であった。

(5) 有害生理活性物質

地上部及びスプラウトのカナバニン及びサポニン（総バヨゲニン、総ヘデラゲニン、総メジカゲン酸、総ソヤサポゲノール B、総ソヤサポゲノール E、総ザンハ酸及び総サポニン）について分析を行った結果、対照に用いた非組換えアルファルファとの間に統計学的有意差は認められないか、統計学的有意差が認められた場合であってもその平均値は一般の商業品種の分析結果に基づく許容区間の範囲内であった。なお、地上部及びスプラウトのダイゼイン、グリシテイン、ゲニステイン、クメステロール、フォルモノネチン及びビオカイニン A については、実測値の過半数が検出限界値未満であった。

(6) ビタミン

スプラウトの葉酸及びビタミン C について分析を行った結果、対照に用いた非組換えアルファルファとの間に統計学的有意差は認められなかった。なお、ビタミン A については、実測値の過半数が検出限界値未満であった。

8. 諸外国における認可、食用等に関する事項

米国、カナダ及びオーストラリア・ニュージーランドにおいては、本掛け合わせ品種に関して安全性審査は必要ないとされている。

9. 栽培方法に関する事項

J101×KK179 の栽培方法については、雑草防除に除草剤グリホサートを使用できることを除いて、従来のアルファルファと同じである。

10. 種子の製法及び管理方法に関する事項

J101×KK179 の種子の製法及び管理方法については、従来のアルファルファと同じである。

第7. 第2から第6までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要な事項

第2から第6までにより、安全性の知見が得られている。

Ⅲ. 食品健康影響評価結果

「除草剤グリホサート耐性アルファルファ J101 系統及び低リグニンアルファルファ KK179 系統を掛け合わせた品種」については、「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」（平成 16 年 1 月 29 日食品安全委員会決定）に基づき評価した結果、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断した。

<参照>

1. OECD. 2005. Consensus document on compositional considerations for new varieties of alfalfa and other temperate forage legumes: Key feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. ENV/JM/MONO(2005)13. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
2. Tava, A., W. Oleszek, M. Jurzysta, N. Berardo and M. Odoardi. 1993. Alfalfa saponins and sapogenins: Isolation and quantification in two different cultivars. *Phytochemical Analysis* 4: 269-274.
3. Rosenthal, G.A. and P. Nkomo. 2000. The natural abundance of L-canavanine, an active anticancer agent, in alfalfa, *Medicago sativa* (L.). *Pharmaceutical Biology* 38: 1-6.

4. Lásztity, R., M. Hidvégi and Á. Bata. 1998. Saponins in food. *Food Reviews International* 14: 371-390.
5. Michaud, R., W.F. Lehman and M.D. Rumbaugh. 1988. World distribution and historical development. Pages 25-91 in *Alfalfa and Alfalfa Improvement*. A.A. Hanson, D.K. Barnes, and R.R. Hill (eds.). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin.
6. Oleszek, W. 1996. Alfalfa saponins: Structure, biological activity, and chemotaxonomy. Pages 155-170 in *Saponins Used in Food and Agriculture*. Volume 405. G.R. Waller and K. Yamasaki (eds.). Plenum Press, New York, New York
7. Marston, A., J.-L. Wolfender and K. Hostettmann. 2000. Analysis and isolation of saponins from plant material. Pages 1-12 in *Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal Plants*. W. Oleszek and A. Marston (eds.). Kluwer Academic Publishers, Amsterdam, The Netherlands.
8. Howarth, R.E. 1988. Antiquality factors and nonnutritive chemical components. Pages 493-514 in *Alfalfa and Alfalfa Improvement*. A.A. Hanson, D.K. Barnes, and R.R. Hill (eds.). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin.
9. Stob, M. 1983. Naturally occurring food toxicants: Estrogens. Pages 81-100 in *CRC Handbook of Naturally Occurring Food Toxicants*. M. Rehcígl (ed.). CRC Press, Inc., Boca Roton, Florida
10. Akaogi, J., T. Barker, Y. Kuroda, D.C. Nacionales, Y. Yamasaki, B.R. Stevens, W.H. Reeves and M. Satoh. 2006. Role of non-protein amino acid L-canavanine in autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* 5: 429-435.
11. Malinow, M.R., E.J. Bardana, B. Pirofsky, S. Craig and P. McLaughlin. 1982. Systemic lupus erythematosus-like syndrome in monkeys fed alfalfa sprouts: Role of a nonprotein amino acid. *Science* 216: 415-417.
12. EFSA. 2009. Opinion on the safety of 'Alfalfa protein concentrate' as food. *The EFSA Journal* 997:1-19.
13. ラウンドアップ・レディー・アルファルファ J101 系統の安全性評価 ー要旨ー (社内報告書)
14. 低リグニンアルファルファ KK179 系統 ー要旨ー (社内報告書)
15. Assessment of CP4 EPSPS Protein Levels in Alfalfa Forage Tissue Collected from KK179 × J101 Produced in United States Field Trials during 2010-2012 (MSL0025345) (社内報告書)
16. Demonstration of the Presence or Absence of LMW *CCOMT* Transcripts from the *CCOMT* suppression cassette in KK179 x J101 and KK179 Alfalfa (RAR-2014-0492) (社内報告書)

17. Composition Analyses of Forage from KK179 × J101 Alfalfa Grown in the United States during the 2011 Growing Season (MSL0023848) (社内報告書)
18. Composition Analyses of Sprouts from KK179 × J101 Alfalfa Grown in a Greenhouse in the United States during 2011 (MSL0024079) (社内報告書)
19. Analyses of Saponin Levels of Forage from KK179 × J101 Alfalfa Grown in the United States during the 2011 Growing Season (MSL0023981) (社内報告書)
20. Analyses of Saponin Levels of Sprouts from KK179 × J101 Alfalfa Grown in a Greenhouse in the United States during 2011 (MSL0023986) (社内報告書)
21. USDA. 2015. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27. USDA, Washington, D.C. <http://ndb.nal.usda.gov/> [Accessed 31 March 2015].
22. Food Standards Agency. 2002. McCance and Widdowson's Composition of Foods (CoF) Integrated Dataset. Food Standards Agency. London, United Kingdom. <http://tna.europarchive.org/20110116113217/http://www.food.gov.uk/science/dietarysurveys/dietsurveys/> [Accessed 31 March 2015].

除草剤グリホサート耐性アルファルファ J101 系統及び低リグニンアルファルファ KK179 系統を掛け合わせた品種に係る食品健康影響評価に関する審議結果（案）についての意見・情報の募集について

1. 実施期間 平成 27 年 8 月 19 日～平成 27 年 9 月 17 日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 除草剤グリホサート耐性アルファルファ J101 系統及び低リグニンアルファルファ KK179 系統を掛け合わせた品種に係る食品健康影響評価に関する審議結果（案）について、上記のとおり意見・情報の募集を行ったところ、期間中に意見・情報はありませんでした。