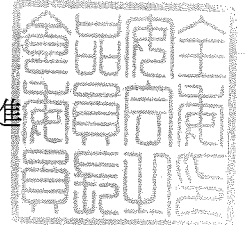




府食第896号
平成24年10月15日

厚生労働大臣
三井 辨雄 殿

食品安全委員会
委員長 熊谷 進



食品健康影響評価の結果の通知について

平成21年10月6日付け厚生労働省発食安1006第1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「イミダゾリノン系除草剤耐性ダイズ BPS-CV127-9」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

「イミダゾリノン系除草剤耐性ダイズ BPS-CV127-9」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。

遺伝子組換え食品等評価書

イミダゾリノン系除草剤耐性ダイズ
BPS—CV127—9

2012年10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
2. 宿主の食経験に関する事項.....	5
3. 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項.....	6
4. 宿主と組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項.....	6
5. 宿主以外のものを比較対象に追加して用いる場合、その根拠及び食品としての性質に関する事項.....	6
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.....	6
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.....	7
4. アレルギー誘発性に関する事項.....	7
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.....	7
6. 安全な摂取に関する事項.....	7
7. 近縁の植物種に関する事項.....	7
第4. ベクターに関する事項.....	7
1. 名称及び由来に関する事項.....	7
2. 性質に関する事項.....	8
第5. 挿入 DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項.....	8
1. 挿入 DNA の供与体に関する事項.....	8
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.....	8
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.....	11
第6. 組換え体に関する事項.....	11
1. 遺伝子導入に関する事項.....	11
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.....	13
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.....	14
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.....	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.....	15
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.....	16
7. 宿主との差異に関する事項.....	16
8. 諸外国における認可、食用等に関する事項.....	17
9. 栽培方法に関する事項.....	18
10. 種子の製法及び管理方法に関する事項.....	18
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.....	18
Ⅲ. 食品健康影響評価結果.....	18
<参照>.....	18

<審議の経緯>

- 2009年10月6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1006第1号）、関係書類の接受
- 2009年10月8日 第304回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2009年10月19日 第75回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2010年10月27日 第85回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2011年11月25日 第98回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2012年6月27日 第105回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2012年8月27日 第444回食品安全委員会（報告）
- 2012年8月28日から9月26日まで 国民からの御意見・情報の募集
- 2012年10月5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
- 2012年10月15日 第449回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

2011年1月6日まで	2011年1月7日から	2012年7月1日から
小泉直子（委員長）	小泉直子（委員長）	熊谷 進（委員長）
見上 彪（委員長代理）	熊谷 進（委員長代理*）	佐藤 洋（委員長代理）
長尾 拓	長尾 拓	山添 康（委員長代理）
野村一正	野村一正	三森国敏（委員長代理）
畑江敬子	畑江敬子	石井克枝
廣瀬雅雄	廣瀬雅雄	上安平冽子
村田容常	村田容常	村田容常

*：2011年1月13日から

<食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿>

2011年9月30日まで		2011年10月1日から	
澤田純一（座長）		澤田純一（座長）	
鎌田 博（座長代理）		鎌田 博（座長代理）	
五十君静信	澁谷直人	五十君静信	手島玲子
石見佳子	手島玲子	宇理須厚雄	中島春紫
海老澤元宏	中島春紫	橘田和美	飯 哲夫
小関良宏	飯 哲夫	児玉浩明	和久井信
橘田和美	山崎 壮	澁谷直人	
児玉浩明	和久井信		

要 約

「イミダゾリノン系除草剤耐性ダイズ BPS-CV127-9」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。

本系統は、シロイヌナズナの突然変異体に由来する改変アセトヒドロキシ酸合成酵素遺伝子を導入して作出されており、改変アセトヒドロキシ酸合成酵素を発現することで、イミダゾリノン系除草剤の影響を受けずに生育できるとされている。

「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、挿入遺伝子の供与体の安全性、挿入遺伝子が発現するタンパク質の毒性及びアレルギー誘発性、挿入遺伝子の塩基配列等の解析、交配後の世代における挿入遺伝子の安定性、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結果、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、「イミダゾリノン系除草剤耐性ダイズ BPS-CV127-9」については、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：イミダゾリノン系除草剤耐性ダイズ BPS-CV127-9

性質：イミダゾリノン系除草剤耐性

申請者：BASF ジャパン株式会社

開発者：BASF プラントサイエンス社（ドイツ）、ブラジル農業畜産研究公社（ブラジル）

「イミダゾリノン系除草剤耐性ダイズ BPS-CV127-9」（以下「ダイズ CV127」という。）は、シロイヌナズナの突然変異体に由来する改変アセトヒドロキシ酸合成酵素^a遺伝子（*csr1-2* 遺伝子）を導入して作出されており、改変アセトヒドロキシ酸合成酵素（改変 AHAS タンパク質）が発現することで、アセトヒドロキシ酸合成酵素を阻害する除草剤（イミダゾリノン系除草剤）の影響を受けずに生育できるとされている。

II. 食品健康影響評価

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

1. 宿主及び導入 DNA に関する事項

(1) 宿主の種名及び由来

宿主は、マメ科 *Glycine* 属に属するダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) の商業品種 Conquista である。

(2) DNA 供与体の種名及び由来

csr1-2 遺伝子及び *AtSEC61γ* サブユニット遺伝子 (*AtSEC61γ* 遺伝子) の供与体は、シロイヌナズナである。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

csr1-2 遺伝子は、イミダゾリノン系除草剤に耐性を付与する改変 AHAS タンパク質を発現する。*AtSEC61γ* 遺伝子は、輸送タンパク質の一つである *AtSEC61γ* タンパク質をコードする遺伝子である。

csr1-2 遺伝子及び *AtSEC61γ* 遺伝子は、パーティクルガン法によって宿主に導入された。

2. 宿主の食経験に関する事項

ダイズの起源は中国であると言われている。ダイズ栽培は 15~16 世紀までにアジア地域に広がり、種子が主要な食品として受け入れられるようになった。我が国においても製油原料、豆腐、味噌等に利用されている。

^a 別名、アセト乳酸合成酵素 (ALS) という。

3. 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項

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

ダイズ種子の主要栄養素組成（対乾燥重量）は、タンパク質 33.2～45.5%、脂質 8.1～23.6%、灰分 3.9～7.0%、炭水化物 29.6～50.2%、粗繊維 4.1～13.9% 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

ダイズ種子の有害生理活性物質（対乾燥重量）は、トリプシンインヒビター 19.6～118.7 TIU^b/mg、レクチン 0.1～9.0 HU^c/mg、ダイゼイン 6.0～245.4 mg/100g、ゲニステイン 14.4～283.7 mg/100g、グリシテイン 1.5～31.0 mg/100g、ラフィノース 0.2～0.7%、スタキオース 1.2～3.5%、フィチン酸 6.3～19.6 mg/g である（参照 1）。

4. 宿主と組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項

- (1) 収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法

ダイズ CV127 の収穫時期及び貯蔵方法は、従来のダイズと変わらない。

- (2) 摂取（可食）部位

ダイズ CV127 の摂取部位は、従来のダイズと変わらない。

- (3) 摂取量

ダイズ CV127 の摂取量は、従来のダイズと変わらない。

- (4) 調理及び加工方法

ダイズ CV127 の調理及び加工方法は、従来のダイズと変わらない。

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

宿主以外のものは比較対象としていない。

6. 安全性評価において検討が必要とされる相違点に関する事項

ダイズ CV127 は、*csr1-2* 遺伝子の導入によって、改変 AHAS タンパク質が発現すること及び *AtSEC61γ* 遺伝子が導入されていることが宿主との相違点である。

以上、1～6により、ダイズ CV127 の安全性評価においては、既存のダイズとの比較が可能であると判断した。

^b TIU : trypsin inhibitor unit

^c HU : hemagglutinating unit

第2. 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

ダイズ CV127 は、*csr1-2* 遺伝子が改変 AHAS タンパク質を発現することによって、イミダゾリノン系除草剤の影響を受けずに生育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

宿主は、マメ科 *Glycine* 属に属するダイズ (*G. max* (L.) Merr.) の商業品種 Conquista 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

Glycine 属には、*Glycine* 亜属と *Soja* 亜属がある。*Glycine* 亜属には 22 種の多年生の野生種があり、*Soja* 亜属には多くの野生ダイズ種が含まれる。

ダイズの祖先であると考えられるツルマメは、*Soja* 亜属に属している。

3. 有害生理活性物質の生産に関する事項

ダイズ種子には、トリプシンインヒビター、レクチン、イソフラボン類、スタキオース、ラフィノース及びフィチン酸が含まれている。

4. アレルギー誘発性に関する事項

ダイズは 8 大食物アレルゲンの一つとして知られている。

5. 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項

ダイズにはウイルス病、細菌及び糸状菌の各種病害が知られているが、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。

6. 安全な摂取に関する事項

ダイズ種子には、有害生理活性物質であるトリプシンインヒビター、レクチン等が含まれているが、加工、調理段階で適切な加熱を行うことにより不活化される。

7. 近縁の植物種に関する事項

ダイズの近縁種にはダイズの祖先と考えられているツルマメがあり、ロシア、中国、朝鮮半島、台湾及び日本に広く分布している。なお、ツルマメは食用に供されることはない。

第4. ベクターに関する事項

1. 名称及び由来に関する事項

ダイズ CV127 の作出に使用した直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII の構築にはプラスミド pBluescript SK (-) が用いられた。

2. 性質に関する事項

- (1) DNA の塩基数及びその塩基配列を示す事項
プラスミド pBluescript SK (-) の塩基数及び塩基配列は明らかになっている。
- (2) 制限酵素による切断地図に関する事項
プラスミド pBluescript SK (-) の制限酵素による切断地図は明らかになっている。
- (3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項
プラスミド pBluescript SK (-) 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。
- (4) 薬剤耐性遺伝子に関する事項
プラスミド pBluescript SK (-) にはアンピシリン耐性を付与する *amp* 遺伝子が含まれている。
- (5) 伝達性に関する事項
プラスミド pBluescript SK (-) には伝達を可能とする塩基配列は含まれていない。

第5. 挿入 DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項

1. 挿入 DNA の供与体に関する事項

- (1) 名称、由来及び分類に関する事項
csr1-2 遺伝子及び *AtSEC61γ* 遺伝子の供与体は、シロイヌナズナである。
- (2) 安全性に関する事項
シロイヌナズナは、全塩基配列が解読されており、ヒトに対する病原性や毒性は報告されていない。

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
イミダゾリノン系除草剤耐性を有するシロイヌナズナの突然変異体から *csr1-2* 遺伝子を含む DNA 断片が得られた。本 DNA 断片の塩基配列を解析した結果、シロイヌナズナの *AHAS* 遺伝子がコードするアミノ酸配列と比較して 653 番目のセリンがアスパラギンに変異していた。また、本 DNA 断片には *AtSEC61γ* 遺伝子が含まれていることが確認された。
挿入 DNA の構成要素は表 1 のとおりである。

(2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

挿入遺伝子の塩基数、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。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

・ *csr1-2* 遺伝子

csr1-2 遺伝子は、イミダゾリノン系除草剤の存在下でもアセトヒドロキシ酸合成酵素活性を示す改変 AHAS タンパク質を発現し、バリン、ロイシン及びイソロイシンの分岐鎖アミノ酸の生合成を触媒する。その結果、ダイズ CV127 は、イミダゾリノン系除草剤の影響を受けずに生育できるとされている。

なお、遺伝子を導入した際、*csr1-2* 遺伝子において塩基置換が起こったため、ダイズ CV127 で発現する改変 AHAS タンパク質は、導入する前の *csr1-2* 遺伝子がコードするタンパク質と比較してアミノ酸が 1 箇所置換されている。したがって、シロイヌナズナの *AHAS* 遺伝子がコードするタンパク質と比較して合計でアミノ酸が 2 箇所置換されている。

改変 AHAS タンパク質と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に、GenBank アミノ酸配列データベースを用いて blastp 検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は見いだされなかった (参照2)。

・ *AtSEC61γ* 遺伝子

AtSEC61γ 遺伝子が発現する *AtSEC61γ* タンパク質は、*AtSEC61α* タンパク質及び *AtSEC61β* タンパク質と共に複合体を形成し、小胞体膜の輸送タンパク質として働く。本タンパク質は、植物及び真核生物に広く保存されている (参照3)。

AtSEC61γ タンパク質と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に、GenBank アミノ酸配列データベースを用いて blastp 検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は見いだされなかった (参照2)。

(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項

直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII の構築に用いたプラスミド pBluescript SK (-) には *amp* 遺伝子が含まれているが、直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII には含まれていないことがサザンブロット分析により確認されている。

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

csr1-2 遺伝子のプロモーターは、シロイヌナズナの *AHAS* 遺伝子由来のプロモーターである。

AtSEC61γ 遺伝子にはプロモーター配列が含まれている。

(2) ターミネーターに関する事項

csr1-2 遺伝子のターミネーターは、シロイヌナズナの *AHAS* 遺伝子由来のターミネーターである。

AtSEC61γ 遺伝子にはターミネーター配列が含まれている。

(3) その他

上記のプロモーター及びターミネーター以外に挿入遺伝子の発現制御に関わる配列は含まれていない。

4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

イミダゾリノン系除草剤耐性を有するシロイヌナズナの突然変異体から得た *csr1-2* 遺伝子及び *AtSEC61γ* 遺伝子を含む DNA 断片をプラスミド pBluescript SK (-) に挿入することによって、プラスミド pAC321 が構築された。プラスミド pAC321 を制限酵素で処理することによって直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII が得られた。

5. 構築された発現ベクターに関する事項

(1) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII 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) 原則として、最終的に宿主に導入されると考えられる発現ベクター内の配列には、目的以外のタンパク質を組換え体内で発現するオープンリーディングフレームが含まれていないこと

直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII の塩基配列は明らかになっており、目的以外のタンパク質を発現するオープンリーディングフレーム (ORF) は含まれていない。

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

意図する挿入領域は、直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII の全領域である。

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

直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII は、アガロースゲル電気泳動によって単離し、精製している。

表1 ダイズ CV127 への挿入 DNA

構成 DNA	由来及び機能
<i>lacZ</i> promoter	<i>Escherichia coli</i> の <i>lacZ</i> 遺伝子由来のプロモーター
<i>lacZ'</i> CDS	<i>E. coli</i> のβ-ガラクトシダーゼをコードする遺伝子の一部
T3 promoter	バクテリオファージ T3 のプロモーター
シロイヌナズナゲノム Unannotated 1	シロイヌナズナ由来の配列
<i>AtSEC61γ</i> 5'UTR	シロイヌナズナ <i>AtSEC61γ</i> 遺伝子の 5'非翻訳領域
<i>AtSEC61γ</i> CDS	シロイヌナズナ <i>AtSEC61γ</i> 遺伝子のコーディング領域
<i>AtSEC61γ</i> intron1	シロイヌナズナ <i>AtSEC61γ</i> 遺伝子の第1イントロン
<i>AtSEC61γ</i> CDS	シロイヌナズナ <i>AtSEC61γ</i> 遺伝子のコーディング領域
<i>AtSEC61γ</i> 3'UTR	シロイヌナズナ <i>AtSEC61γ</i> 遺伝子の 3'非翻訳領域 (ターミネーターを含む。)
<i>AtSEC61γ</i> intron 2	シロイヌナズナ <i>AtSEC61γ</i> 遺伝子の第2イントロン
<i>AtSEC61γ</i> 3'UTR	シロイヌナズナ <i>AtSEC61γ</i> 遺伝子の 3'非翻訳領域 (ターミネーターを含む。)
<i>AtAHAS</i> 5'UTR and putative promoter	プロモーター領域 シロイヌナズナ <i>AHAS</i> 遺伝子の 5'非翻訳領域及びプロモーター
<i>csr1-2</i> 遺伝子	シロイヌナズナ由来の改変 <i>AHAS</i> タンパク質をコードする遺伝子
<i>AtAHAS</i> 3'UTR and terminator	シロイヌナズナ <i>AHAS</i> 遺伝子の 3'非翻訳領域 (ターミネーターを含む。)
シロイヌナズナゲノム Unannotated 2	シロイヌナズナ由来の配列
T7 promoter	バクテリオファージ T7 のプロモーター
<i>lacZ'</i> CDS	<i>E. coli</i> のβ-ガラクトシダーゼをコードする遺伝子の一部

6. DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項

直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII をパーティクルガン法によって宿主ゲノムに挿入した後、イミダゾリノン系除草剤イマザピルを含む培地で選抜することによって、再生個体が得られた。得られた再生個体についてイミダゾリノン系除草剤の耐性評価を行い、一般的なダイズの育成プロセスに従い、ダイズ CV127 が得られた。

第6. 組換え体に関する事項

1. 遺伝子導入に関する事項

(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

ダイズ CV127 のゲノムに挿入された直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII のコピー数を確認するため、サザンブロット分析及び塩基配列の解析を行った。その結果、5'末端領域の 1,274 bp 並びに 3'末端領域の 500 bp が欠損した直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII 及び *csr1-2* 遺伝子断片 (376 bp) が各 1 コピー挿入されていることが確認された (参照4,5)。

直鎖状 DNA 断片 LF-6.2PvuII に含まれる *csr1-2* 遺伝子に 1 箇所、シロイヌナズナゲノム (Unannotated 2) に 2 箇所の塩基置換が認められ、この塩基置換によって *csr1-2* 遺伝子がコードするタンパク質の 272 番目のアミノ酸がアルギニンからリジンに置換したことが確認された (参照 4)。また、*csr1-2* 遺伝子断片に 1 箇所の塩基置換が認められた。なお、*AtSEC61γ* 遺伝子については塩基置換は認められなかった (参照 4)。

プラスミド pAC321 の外骨格領域がダイズ CV127 のゲノムに挿入されていないことを確認するため、サザンブロット分析を行った結果、外骨格領域は挿入されていないことが確認された (参照 4)。

ダイズ CV127 の挿入 DNA の 5'末端近傍配列 (1,311 bp) 及び 3'末端近傍配列 (4,587 bp) の塩基配列を決定し、データベース^dを用いた blastn 検索を行った結果、ダイズ染色体との相同性が認められた。さらに、この近傍配列の上流約 2 kbp 及び下流約 1 kbp の塩基配列と宿主及びゲノム解読が終了しているダイズ品種 Williams82 との相同性の解析、挿入 DNA の近傍配列から設計したプライマーを用いた PCR 解析の結果等から、ダイズ CV127 は挿入 DNA の近傍配列にリアレンジメントが起こっていることが確認された (参照 4,6,7)。さらに、このリアレンジメントにより、5'末端近傍配列においては、機能未知の一つの内在性遺伝子が破壊されていることが確認されたが、本遺伝子と相同性が認められる配列がダイズ染色体中に三つ存在した (参照 4)。

リアレンジメントにより大きく欠失したと考えられるダイズ 2 番染色体上の領域において ORF の検索を行った結果、243 個の ORF が確認された。PFAM^e 及び PANTHER^fを用いてこれらの遺伝子産物のドメイン及び機能に関する相同性検索を行ったところ、既知の毒性物質、栄養阻害物質、アレルゲン等の代謝に関与する遺伝子産物は認められなかった。さらに、これらの ORF について、ゲノムデータベース (Williams82) を用いて blast 検索を行った結果、これらの遺伝子配列は重複していることが確認され、これらの遺伝子が破壊されたとしても相同性のある遺伝子が機能を相補している可能性が考えられた (参照 4)。

^d GenBank, EMBL, DDBJ, PDB 及び BASF プラントサイエンス所有データベースにダイズ品種 Williams82 のゲノムシーケンスを加えたデータベース

^e PFAM (Protein families database of alignments and HMMs,version24) 細菌からヒトまでの 10,000 以上のタンパク質ファミリーが登録されているデータベース

^f PANTHER (Protein Analysis Through Evolutionary Relationships,version6) 論文等に基づいた、細菌からヒトの遺伝子の機能が分類、登録されているデータベース

(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

ダイズ CV127 の挿入 DNA 領域と 5'末端近傍配列 (1,000 bp) 及び 3'末端近傍配列 (1,000 bp) との接合部において意図しない ORF が生じていないことを確認するために、六つの読み枠において ORF 検索を行った結果、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 ORF が 448 個見いだされた。

448 個の 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に、GenBank アミノ酸配列データベースを用いて blastp 検索を行った結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質は見いだされなかった (参照 8)。

また、既知のアレルゲンとの相同性の有無を確認するために、FARRP アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った結果、連続する 80 以上のアミノ酸配列について 35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは見いだされなかった (参照 8)。また、抗原決定基の有無を確認するために、FARRP アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った結果、連続する 8 アミノ酸配列が既知のアレルゲンと一致する配列は見いだされなかった (参照 8)。

また、挿入 DNA 領域の 3'末端に *csr1-2* 遺伝子断片 (376 bp) が挿入されており、近傍配列との接合部に 501 bp からなる ORF の形成が確認されたことから、この ORF が発現する可能性を確認するため、RT-PCR 分析を行った結果、発現は確認されなかった。(参照 4)。

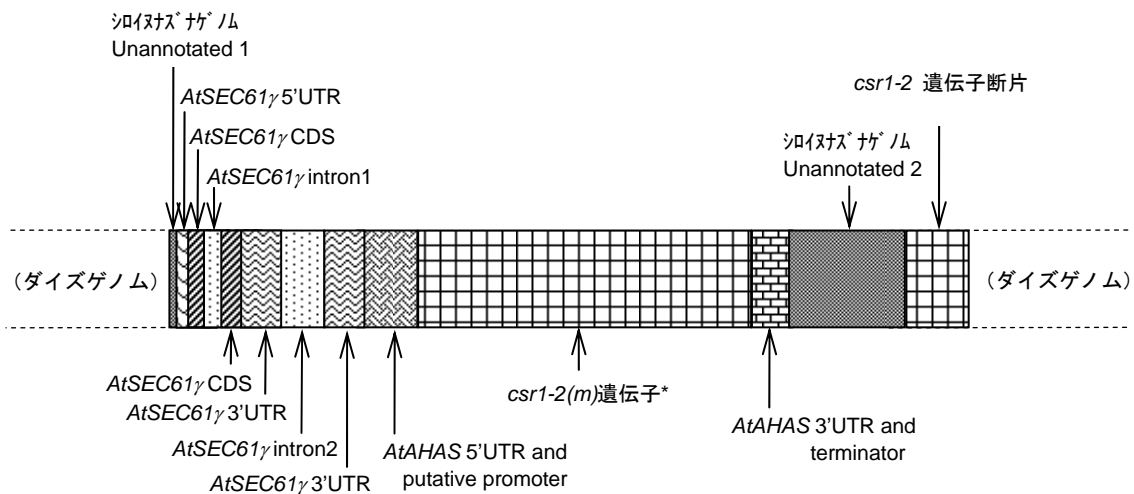


図 1 ダイズ CV127 に挿入された DNA (模式図)

* *csr1-2(m)* 遺伝子は *csr1-2* 遺伝子が 1 塩基変異したもの。

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

イミダゾリノン系除草剤イマザピルを通常量散布して栽培したダイズ CV127 の種子、葉、根、初生葉、花、さや及び植物体全体における総 AHAS タンパク質の発現量を ELISA 法によって分析を行った。結果は表 2 のとおりである (参照 9,10)。なお、AtSEC61 γ タンパク質についてはウェスタンブロット分析を行っ

た結果、検出されなかった（参照11）。

表2 ダイズ CV127における総 AHAS タンパク質の発現量
(単位は ng/g 新鮮重量)

分析組織	採取時期*	ダイズ CV127
種子	3	定量限界未満**
葉	1,2	定量限界未満～128
根	1,2,3	定量限界未満～17
初生葉	1	21～60
花	2	定量限界未満～22
さや	3	定量限界未満～26
植物全体	1,2,3	検出限界以下～61

* 1.幼苗期、2.開花期、3.成熟期

**定量限界は 14 ng/g、検出限界は 3 ng/g

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

ダイズの種子における総 AHAS タンパク質の発現量は定量限界値（14 ng/g）未満であったことから、ダイズ CV127 に定量限界値の改変 AHAS タンパク質が含まれていると仮定し、日本人一人が一日あたりに摂取するダイズ及びダイズ加工品の量 57.7 g（参照12）をすべてダイズ CV127 に置き換えて計算すると、改変 AHAS タンパク質の一人一日当たりの平均摂取量は最大で 0.8 μg となり、一人一日当たりのタンパク質平均摂取量 71.1 g（参照 12）に占める割合は最大で 1.1×10^{-8} となる。したがって、一日蛋白摂取量の有意な量を占めることはないと考えられる。

4. 遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性に関する事項

(1) 挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性

csr1-2 遺伝子及び *AtSEC61γ* 遺伝子の供与体であるシロイヌナズナに関して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）のアレルギー誘発性

改変 AHAS タンパク質及び *AtSEC61γ* タンパク質に関してアレルギー誘発性の報告はない。

(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 人工胃液に対する感受性

E. coli で発現させた改変 AHAS タンパク質の人工胃液中での消化性について確認するため、SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析を行った

結果、試験開始後 30 秒以内に消化されることが確認された（参照13）。

E. coli で発現させた AtSEC61 γ タンパク質の人工胃液中での消化性について確認するため、ウェスタンブロット分析を行った結果、試験開始後 30 秒以内に消化されることが確認された（参照14）。

② 人工腸液に対する感受性

E. coli で発現させた改変 AHAS タンパク質の人工腸液中での消化性を確認するため、SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、試験開始後 30 秒以内に消化されることが確認された（参照15）。

E. coli で発現させた AtSEC61 γ タンパク質の人工腸液中での消化性を確認するため、ウェスタンブロット分析を行った結果、試験開始後 60 分においても消化されないことが確認された（参照16）。

③ 加熱処理に対する感受性

E. coli で発現させた改変 AHAS 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、ウェスタンブロット分析を行った結果、100°C、60 分間の加熱処理においても免疫反応性は変化しないことが確認された（参照 17）。また、*E. coli* で発現させた改変 AHAS タンパク質の加熱による酵素活性の変化を測定した結果、60°C、30 分間の加熱処理で失活することが確認された（参照18）。

E. coli で発現させた AtSEC61 γ 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、ウェスタンブロット分析を行った結果、100°C、60 分間の加熱処理後においても免疫反応性は変化しないことが確認された（参照 19）。

(4) 遺伝子産物（タンパク質）と既知のアレルゲン（グルテン過敏性腸疾患に関するタンパク質を含む。以下、アレルゲン等。）との構造相同性に関する事項

改変 AHAS タンパク質及び AtSEC61 γ タンパク質と既知のアレルゲン等との構造相同性の有無を確認するため、FARRP アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った。その結果、連続する 80 以上のアミノ酸配列について 35%以上の相同性を示す既知のアレルゲンは見いだされなかった（参照 2）。

また、抗原決定基の有無を確認するため、FARRP アレルゲンデータベースを用いて相同性検索を行った結果、連続する 8 アミノ酸配列が既知のアレルゲンと一致する配列は見いだされなかった（参照 2）。

上記、(1)～(4)及び前項3から総合的に判断し、改変 AHAS タンパク質及び AtSEC61 γ タンパク質については、アレルギー誘発性を示唆するデータは確認されなかった。

5. 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項

ダイズ CV127 に挿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、4世代のダイズ CV127 についてサザンブロット分析を行った結果、各世代において共通のバンドが検出され、挿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 4)。

また、ダイズ CV127 に挿入された遺伝子の分離様式を確認するために、定量 PCR による分析及びイミダゾリノン系除草剤に対する耐性について評価した結果、挿入された遺伝子はメンデルの法則に基づいて後代に遺伝していることが確認された(参照 4,20)。

6. 遺伝子産物(タンパク質)の代謝経路への影響に関する事項

改変 AHAS タンパク質は、分岐鎖アミノ酸合成において共通経路となるアセト乳酸合成を触媒する酵素であるアセトヒドロキシ酸合成酵素にアミノ酸変異が導入された酵素であり、アセトヒドロキシ酸合成酵素を阻害する除草剤に耐性を示す特徴がある。一方、内在性のアセトヒドロキシ酸合成酵素は、イミダゾリノン系除草剤によって阻害される。

コムギではアセトヒドロキシ酸合成酵素活性が高まるとフィードバック制御が働き、アセトヒドロキシ酸合成酵素の量が調節されていることが知られている(参照21)。ダイズ CV127 及び非組換えダイズから抽出したタンパク質抽出物を用いて AHAS 酵素活性のフィードバック制御を受けるかどうか確認した結果、ダイズ CV127 は、非組換えダイズと同様にフィードバック制御を受けることが確認された(参照22)。

また、ダイズ CV127 の種子における分岐鎖アミノ酸の含有量は非組換えダイズと比較して有意な差は認められていないことから、仮に改変 AHAS タンパク質によりアセトヒドロキシ酸合成酵素の触媒活性が高まっていたとしても、これらのフィードバック制御が働いていると推定できる。これらのことから、ダイズ CV127 における改変 AHAS タンパク質は、宿主の持つアミノ酸合成経路に大きな影響を及ぼさないと考えられる。

AtSEC61 γ タンパク質は、AtSEC61 α タンパク質及び AtSEC61 β タンパク質と共に複合体を形成し、小胞体膜の輸送タンパク質として機能することが知られていること(参照23)及び AtSEC61 γ タンパク質は、RT-PCR 分析及びウェスタンブロット分析の結果、ダイズ CV127 においては発現していないことが確認されていること(参照 11,24)から、宿主の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられる。

7. 宿主との差異に関する事項

ブラジルの圃場で栽培されたダイズ CV127 と宿主である非組換えダイズの種子について、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(参照25,26,27)。

(1) 主要構成成分

水分、灰分、タンパク質、脂質、総食物繊維、炭水化物、粗繊維、酸性及び中性デタージェント繊維の分析を行った結果、対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても非組換えダイズの分析結果に基づく値又は文献値の範囲内であった。

(2) 脂肪酸組成

脂肪酸 37 種類の分析を行った結果、対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差が認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても非組換えダイズの分析結果に基づく値又は文献値の範囲内であった。

(3) アミノ酸組成

アミノ酸 18 種類の分析を行った結果、対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められなかった。

(4) ミネラル類

カルシウム、鉄などの主要なミネラル 5 種類の分析を行った結果、対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても非組換えダイズの分析結果に基づく値又は文献値の範囲内であった。

(5) ビタミン類

葉酸、 α -トコフェロールなどの主要なビタミン類 8 種類の分析を行った結果、対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても非組換えダイズの分析結果に基づく値又は文献値の範囲内であった。

(6) 有害生理活性物質

イソフラボン類（ダイゼイン、ゲニステイン、グリシテイン）、フィチン酸、ラフィノース、スタキオース、レクチン、ウレアーゼ及びトリプシンインヒビターの分析を行った結果、対照に用いた非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても非組換えダイズの分析結果に基づく値又は文献値の範囲内であった。

8. 諸外国における認可、食用等に関する事項

ブラジルにおいては、ブラジル国家バイオ安全技術委員会（CTNBio）に対する食品・飼料としての安全性審査の申請及び商業栽培の承認申請が行われ、2009年12月に安全性が確認され、商業栽培が承認された。

米国においては、2009年1月に米国農務省（USDA）に対する無規制裁培の承認申請が行われた。また、米国食品医薬品庁（FDA）に対する食品・飼料としての安全性審査の申請が行われ、2012年2月に安全性が確認された。

カナダにおいては、2009年3月にカナダ保健省（Health Canada）に対する食品としての安全性審査の申請が行われた。また、2009年3月にカナダ食品検査庁（CFIA）に対する環境への安全性審査の申請、2009年4月に飼料としての安全性審査の申請が行われた。

オーストラリア及びニュージーランドにおいては、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）に対する食品としての安全性審査の申請が行われ、2012年7月に安全性が確認された。

EUにおいては、2009年1月に欧州食品安全機関（EFSA）に対する食品・飼料としての安全性審査の申請が行われた。

そのほか、アルゼンチン及び中国において、食品・飼料としての安全性審査の申請が行われている。

9. 栽培方法に関する事項

ダイズ CV127 の栽培方法は、従来のダイズと同じである。

10. 種子の製法及び管理方法に関する事項

ダイズ CV127 の種子の製法及び管理方法は、従来のダイズと同じである。

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

第2から第6までの事項により安全性の知見は得られている。

Ⅲ. 食品健康影響評価結果

「イミダゾリノン系除草剤耐性ダイズ BPS-CV127-9」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 ILSI Soybean Database. (2006) International Life Sciences Institute Crop Composition Database. Version 3.0. <http://www.cropcomposition.org>
- 2 Bioinformatics analysis of deduced amino acid sequences of *Arabidopsis thaliana* ahas1 and SEC61y from herbicide-tolerant soybean BPS-CV127-9 for allergenicity and toxicity potential. (社内報告書)
- 3 Hartmann, E., Sommer, T., Prehn, S., Görlich, D., Jentsch, S., and Rapoport, T. A. Evolutionary conservation of components of the protein translocation complex. *Nature* 1994; 367:654-657.
- 4 Molecular characterization of cultivance soybean event 127. (社内報告書)
- 5 Molecular bridging study for herbicide-tolerant soybean BPS-CV127-9. (社内

- 報告書)
- 6 Bioinformatics analysis of the genomic area surrounding the transgene insert in herbicide-tolerant soybean BPS-CV127-9. (社内報告書)
 - 7 Supplement to “Molecular characterization of cultivance soybean event127.” (社内報告書)
 - 8 Bioinformatics analysis of deduced amino acid sequences of open reading frames contained in the transgene insert of herbicide-tolerant soybean BPS-CV127-9 and within 1000 base pairs of flanking sequence on each side of the insertion. (社内報告書)
 - 9 Analysis of expression levels of Arabidopsis acetohydroxyacid synthase (AHAS) protein, by ELISA, in the cultivance soybean event127, plants grown in Brazilian field trials during the summer 2006/2007 season. (社内報告書)
 - 10 Analysis of expression levels of Arabidopsis acetohydroxyacid synthase (AHAS) protein, by ELISA, in the BPS-CV127-9 soybean, plants grown in Brazilian field trials during the 2007 season. (社内報告書)
 - 11 Supplement to "AtSEC61 γ subunit protein expression in cultivance soybean event 127.” (社内報告書)
 - 12 健康・栄養情報研究会. 国民健康・栄養の現状－平成 17 年厚生労働省国民健康・栄養調査報告より－. 第一出版株式会社. 2008; 86.
 - 13 Digestive fate of test substance Arabidopsis acetohydroxyacid synthase and AtAHAS produced in imidazolinone herbicide tolerant soybean BPS-CV127-9. (社内報告書)
 - 14 Digestive fate of Arabidopsis SEC61 γ subunit protein. (社内報告書)
 - 15 Supplement to “Digestive fate of test substance Arabidopsis acetohydroxyacid synthase (Lot#AtAHAS-0107) and AtAHAS produces in imidazolinone herbicide tolerant soybean BPS-CV127-9.” (社内報告書)
 - 16 Supplement to “Digestive fate of Arabidopsis SEC61 γ subunit protein.” (社内報告書)
 - 17 Supplement to “Heat stability of Arabidopsis acetohydroxyacid synthase present in test substance AtAHAS-0107”. (社内報告書)
 - 18 Heat stability of Arabidopsis acetohydroxyacid synthase present in test substance AtAHAS-0107. (社内報告書)
 - 19 Heat stability of Arabidopsis SEC61 γ subunit protein. (社内報告書)
 - 20 Imidazolinone-tolerant soybean CV127: agricultural and ecological experiments in season 2006/07. (社内報告書)
 - 21 Newhouse, K.E., Smith, W.A., Starrett, M.A., Schaefer, T.J. and Singh, B.K. Tolerance of imidazolinone herbicides in wheat. *Plant Physiol.* 1992; 100: 882-886.
 - 22 Characterization of AtAHAS protein produced produced in imidazolinone-tolerant soybean BPS-CV127-9 and comparison with AtAHAS protein expressed in recombinant Escherichia coli. (社内報告書)

- 23 Hartmann, E., Sommer, T., Prehn, S., Görlich, D., Jentsch, S., and Rapoport, T. A. Evolutionary conservation of components of the protein translocation complex. *Nature* 1994; 367:654-657.
- 24 Determination of the 5'end of the *Arabidopsis thaliana* SEC61 γ subunit transcript in cultivance soybean event 127. (社内報告書)
- 25 Compositional analysis of grain from imidazolinone tolerant soybean BPS-CV127-9 produced in Brazil in 2006/2007 and comparison with that from isoline control and conventional soybean varieties. (社内報告書)
- 26 Compositional analysis of grain from imidazolinone tolerant soybean BPS-CV127-9 produced in Brazil in 2007 and comparison with that from isoline control and conventional soybean varieties. (社内報告書)
- 27 Supplement to “Compositional analysis of grain from imidazolinone tolerant soybean BPS-CV127-9 produced in Brazil in 2006/2007 and comparison with that from isoline control and conventional soybean varieties”. (社内報告書)