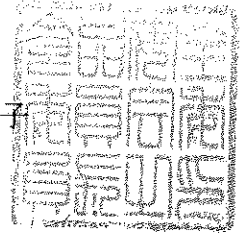




府食第453号
平成24年4月26日

厚生労働大臣
小宮山 洋子 殿

食品安全委員会
委員長 小泉 直子



食品健康影響評価の結果の通知について

平成22年7月5日付け厚生労働省発食安0705第5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「アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ40278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

「アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ40278系統」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

アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性
トウモロコシ 40278 系統

2012年4月

食品安全委員会

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.....	5
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.....	6
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.....	7
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.....	9
5. 構築された発現ベクターに関する事項.....	9
6. DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項.....	10
第6. 組換え体に関する事項.....	10
1. 遺伝子導入に関する事項.....	10
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.....	13
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.....	13
5. 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項.....	14
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.....	14
7. 宿主との差異に関する事項.....	14
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.....	16
10. 種子の製法及び管理方法に関する事項.....	16
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.....	16
Ⅲ. 食品健康影響評価結果.....	16
<参照>.....	16

<審議の経緯>

2010年7月5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0705第5号）、関係書類の接受
2010年7月8日	第339回食品安全委員会（要請事項説明）
2010年7月23日	第83回遺伝子組換え食品等専門調査会
2011年3月7日	第89回遺伝子組換え食品等専門調査会
2012年1月13日	第100回遺伝子組換え食品等専門調査会
2012年2月17日	第101回遺伝子組換え食品等専門調査会
2012年3月15日	第423回食品安全委員会（報告）
2012年3月15日から4月13日	国民からの御意見・情報の募集
2012年4月24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4月26日	第429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
小泉直子（委員長）	小泉直子（委員長）
見上 彪（委員長代理）	熊谷 進（委員長代理*）
長尾 拓	長尾 拓
野村一正	野村一正
畑江敬子	畑江敬子
廣瀬雅雄	廣瀬雅雄
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	五十君静信
石見佳子	手島玲子
海老澤元宏	宇理須厚雄
小関良宏	中島春紫
橘田和美	飯 哲夫
児玉浩明	和久井信
	和久井信
	山崎 壮
	澁谷直人

要 約

「アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ 40278 系統」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行った。

本系統は、*Sphingobium herbicidovorans* MH 株に由来する改変アリルオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ-1 遺伝子を導入して作出されており、改変アリルオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ-1 タンパク質が発現することで、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、挿入遺伝子の安全性、挿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、遺伝子の導入後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等の比較等について確認した結果、非組換えトウモロコシと比較して新たに安全性を損なうおそれのある要因は認められなかった。

したがって、本系統については、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：アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ 40278 系統
性質：アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性
申請者：ダウ・ケミカル日本株式会社
開発者：Dow AgroSciences（米国）

「アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ 40278 系統」（以下「トウモロコシ 40278」という。）は、*Sphingobium herbicidovorans* MH 株に由来する改変アリルオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ-1 遺伝子（改変 *aad-1* 遺伝子）を導入して作出されており、改変アリルオキシアルカノエートジオキシゲナーゼ-1 タンパク質（改変 AAD-1 タンパク質）が発現することで、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、イネ科トウモロコシ属に属するトウモロコシ (*Zea mays* L.) のデント種である。

(2) DNA 供与体の種名及び由来

改変 *aad-1* 遺伝子の供与体は、*S. herbicidovorans* MH 株である。

(3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

改変 *aad-1* 遺伝子は、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性を付与する改変 AAD-1 タンパク質を発現する。

改変 *aad-1* 遺伝子を含む直鎖状 DNA 断片は、シリコンカーバイドウィスカー法を用いて宿主に導入された。

2. 宿主の食経験に関する事項

トウモロコシはコーンスターチ、食用油、スナック菓子などに加工されて摂取されており、長い食経験がある。

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

トウモロコシ種子（デント種）の主要栄養組成（対乾燥重量）は、タンパク質 6～17.26%、脂質 1.2～18.8%、粗繊維 8.85～35.31%、灰分 0.616～6.282%、炭水化物 63.3～89.8%である（参照1,2,3,4）。

(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

トウモロコシ種子（デント種）の有害生理活性物質（対乾燥重量）は、フィチン酸 0.11～1.57%、ラフィノース 0.02～0.32%及びトリプシンインヒビター 1.09～7.18 TIU^a/mgである（参照 3,4）。その他、イノシトール 0.0089～0.3765%、フルフラール 0.000300～0.000634%、p-クマル酸 0.003～0.058%及びフェルラ酸 0.02～0.39%が含まれる（参照 3,4）。

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

トウモロコシ 40278 の収穫時期及び貯蔵方法は、従来のトウモロコシ（デント種）と変わらない。

(2) 摂取（可食）部位

トウモロコシ 40278 の摂取部位は、従来のトウモロコシ（デント種）と変わらない。

(3) 摂取量

トウモロコシ 40278 の摂取量は、従来のトウモロコシ（デント種）と変わらない。

(4) 調理及び加工方法

トウモロコシ 40278 の調理及び加工方法は、従来のトウモロコシ（デント種）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

トウモロコシ 40278 は、改変 *aad-1* 遺伝子の導入によって、改変 AAD-1 タンパク質が発現することが宿主との相違点である。

以上、1～6 から、トウモロコシ 40278 の安全性評価においては、既存のトウモロコシ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

トウモロコシ 40278 は、導入された改変 *aad-1* 遺伝子が改変 AAD-1 タンパク

^a TIU : Trypsin Inhibitor Unit

質を発現することによって、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、イネ科トウモロコシ属に属するトウモロコシ (*Z. mays* L.) のデント種である。

2. 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項

トウモロコシの植物学的起源は、テオシントまたはトリプサカムであると推測されている。原産地については、メキシコ、ペルー、ボリビア及びグアテマラのうちいずれか2箇所以上の地域であるとの説が有力であるとされている。

3. 有害生理活性物質の生産に関する事項

トウモロコシは、フィチン酸、ラフィノース及びトリプシンインヒビターを産生することが知られている。

4. アレルギー誘発性に関する事項

トウモロコシは、主要なアレルギー誘発性食品であるとは考えられていない。

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

トウモロコシには、ウイルス、細菌及び糸状菌による各種病害が知られているが、これらがヒトに対して病原性を持つことは知られていない。

6. 安全な摂取に関する事項

トウモロコシはコーンスターチ、食用油、スナック菓子などに加工されて摂取されており、長い食経験がある。

7. 近縁の植物種に関する事項

トウモロコシの近縁種には、テオシント及びトリプサカムがあるが、これらが食用に供されることはなく、また、有害生理活性物質の産生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

トウモロコシ 40278 の作出に使用された直鎖状 DNA 断片の構築には、プラスミド pUC19 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 pUC19 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 pUC19 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 pUC19 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 pUC19 には、アンピシリン耐性遺伝子 (*ap^r* 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 pUC19 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

改変 *aad-1* 遺伝子の供与体は、*S. herbicidovorans* MH 株である。

(2) 安全性に関する事項

S. herbicidovorans は、ヒトや家畜に対して病原性を有するという報告はない。

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

改変 *aad-1* 遺伝子は、*S. herbicidovorans* MH 株からクローニングされた *aad-1* 遺伝子の塩基配列に基づき、発現タンパク質のアミノ酸配列を改変せずに、宿主のトウモロコシでの発現が最適となるように塩基配列を改変し、更にクローニングサイトが導入された遺伝子である。クローニングサイトの導入によって発現タンパク質に 1 アミノ酸が付加されている。

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

改変 *aad-1* 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

改変 *aad-1* 遺伝子がコードする改変 AAD-1 タンパク質は、アシルオキシア

ルカノエート基をもつ化合物のうち、光学異性体のないもの及び R 体の特異的に酸化する反応を触媒する酵素である（参照5）。トウモロコシ 40278 では、改変 AAD-1 タンパク質の作用によって、アリルオキシアルカノエート系除草剤は酸化され、除草活性のない化合物に変換される。その結果、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できるとされている。

改変 AAD-1 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に、タンパク質データベース（non-redundant GenBank CDS translation, SWISS-PROT, PIR, PRF, PDB）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6）。

（4）抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項

直鎖状 DNA 断片を構築する過程で作製された中間プラスミドには、*ap^r* 遺伝子が含まれているが、直鎖状 DNA 断片には含まれていない。

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

改変 *aad-1* 遺伝子のプロモーターは、トウモロコシ由来のユビキチン 1 プロモーター（*ZmUbi1*）である（参照7）。

（2）ターミネーターに関する事項

改変 *aad-1* 遺伝子のターミネーターは、トウモロコシ由来のパーオキシダーゼターミネーター（*ZmPer5 3'UTR*）である（参照8）。

（3）その他

改変 *aad-1* 遺伝子の発現を安定させるために、*ZmUbi1* の上流及び *ZmPer5 3'UTR* の下流にタバコ（*Nicotiana tabacum*）由来の核マトリックス結合領域である RB7 Matrix Attachment Region（*RB7 MAR*）が使用された（参照9）。

4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

改変 *aad-1* 遺伝子発現カセットを含む DNA 断片をプラスミド pUC19 に挿入することによってプラスミド pDAS1740 が構築された。次にプラスミド pDAS1740 を制限酵素で処理することによって、改変 *aad-1* 遺伝子発現カセットを含む直鎖状 DNA 断片が得られた。

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 断片の塩基配列は明らかになっており、目的外の遺伝子の混入はない。

表 1 直鎖状 DNA 断片の構成要素

構成要素	由来及び機能
<i>RB7 MAR v3</i>	タバコ由来の核マトリックス結合領域 (RB7 Matrix Attachment Region)
(改変 <i>aad-1</i> 遺伝子発現カセット)	
<i>ZmUbi1</i> プロモーター	プロモーター領域 (遺伝子の転写に必要な配列) トウモロコシ由来のユビキチン 1 プロモーター
改変 <i>aad-1</i>	<i>S. herbicidovorans</i> MH 株由来の改変 AAD-1 タンパク質をコードする遺伝子
<i>ZmPer5 3'UTR</i> ターミネーター	ターミネーター領域 (遺伝子の発現を終結させるための配列) トウモロコシのパーオキシダーゼターミネーター
<i>RB7 MAR v4</i>	タバコ由来の核マトリックス結合領域 (RB7 Matrix Attachment Region)

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 断片をシリコンカーバイドウィスカー法を用いて宿主に導入した後、アリルオキシアルカノエート系除草剤であるハロキシホップを含む培地で形質転換したカルスを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アリルオキシアルカノエート系除草剤であるキザロホップを用いて選抜した後、一般的なトウモロコシの育成プロセスにしたがって既存の優良品種との交配及び自殖を行うことによってトウモロコシ 40278 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

トウモロコシ 40278 のゲノムに挿入された改変 *aad-1* 遺伝子発現カセットのコピー数を確認するため、サザンブロット分析を行った結果、改変 *aad-1* 遺伝子発現カセットが 1 コピー挿入されていることが確認された (参照10,11)。

プラスミド pDAS1740 の外骨格領域がトウモロコシ 40278 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、外骨格領域が挿入されていないことが確認された (参照 10)。

トウモロコシ 40278 の挿入 DNA の塩基配列を決定し、直鎖状 DNA 断片の塩基配列を比較した結果、5'末端領域の 1,081 bp (non coding 領域及び *RB7 MAR v3* 領域の一部) の欠失及び DNA 断片 (21bp) の挿入並びに 3'末端領域の 339 bp (non coding 領域及び *RB7 MAR v4* 領域の一部) の欠失及び DNA 断片 (1 bp) の挿入を除き、塩基配列は一致することが確認された。また、改変 *aad-1* 遺伝子発現カセットの *ZmPer5* 3'UTR ターミネーター領域に 1 箇所の塩基置換が認められた (参照 12)。なお、新たに挿入が確認された DNA 断片 (21 bp) の由来は、*RB7 MAR v3* (8 bp) 及び *ZmUbi1* プロモーター (13 bp) の塩基配列と一致することが確認された。

トウモロコシ 40278 の挿入 DNA の近傍配列が宿主ゲノム由来であることを確認するために、5'末端近傍配列 (1,852 bp) 及び 3'末端近傍配列 (1,868 bp) の塩基配列を決定し、宿主ゲノムの塩基配列と比較した結果、DNA 挿入時に欠失した配列 (2 bp) を除き、一致していることが確認された (参照12)。

トウモロコシ 40278 のゲノムに DNA を挿入することによって宿主の内在性遺伝子が損なわれていないことを確認するため、5'末端近傍配列 (1,852 bp) 及び 3'末端近傍配列 (1,868 bp) について、タンパク質データベース (non-redundant GenBank CDS translation, SWISS-PROT, PIR, PRF, PDB) を用いて blastx 検索を行った。その結果、5'末端近傍配列においては機能未知のトウモロコシタンパク質と、3'末端近傍配列においてはトウモロコシの仮想 gag-pol 前駆体タンパク質との相同性が認められたが、いずれの配列も挿入位置をまたがっていなかった。さらに、宿主における挿入部位を含む領域 (2,212 bp) 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 30 アミノ酸以上の ORF が 4 個見いだされた。これら 4 個の ORF と既知のトウモロコシタンパク質との相同性の有無を確認するために、タンパク質データベースを用いて blastp 検索を行った結果、相同性を示すトウモロコシタンパク質は見いだされなかった。したがって、DNA の挿入によって宿主の既知の内在性遺伝子が損なわれていないと考えられる (参照13)。

(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

トウモロコシ 40278 の挿入 DNA 領域と 5'末端近傍配列 (1,852 bp) 及び 3'末端近傍配列 (1,868 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。その結果、終止コドンから終止コドンまでの連続する 30 アミノ酸以上の ORF が 7 個見いだされた（参照 13）。7 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、タンパク質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。さらに、既知のアレルゲンとの相同性の有無を確認するために、Food Allergy Research and Resource Program (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。

また、抗原決定基の有無を確認するために、前述の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ものは見いだされなかった（参照 13）。

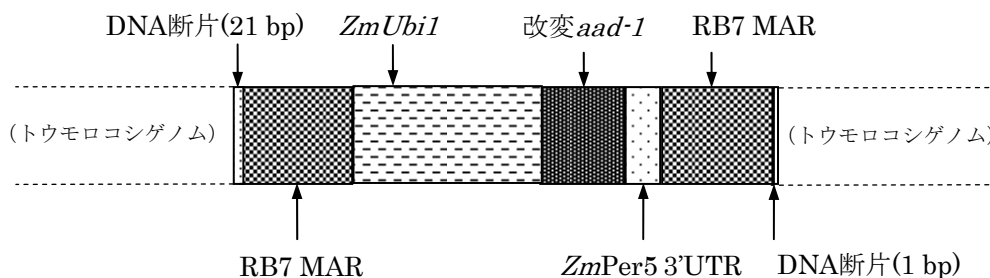


図1 トウモロコシ 40278 の挿入 DNA (模式図)

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

通常量のアリルオキシアルカノエート系除草剤 (2,4-D 及びキザロホップ) を散布及び無散布で栽培したトウモロコシ 40278 の葉、茎葉、根、種子、花粉及び全植物体における改変 AAD-1 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 14）。

表 2 トウモロコシ 40278 における改変 AAD-1 タンパク質の発現量

(単位は $\mu\text{g/g}$ 乾燥重)

分析組織*	散布農薬名			
	無散布	2,4-D	キザロホップ	2,4-D 及び キザロホップ
葉	5.57~13.4	5.99~14.2	5.38~13.3	6.06~12.3
茎葉	6.87	7.32	7.16	6.84
根	2.92	3.92	3.09	2.87
種子	5.00	4.98	4.63	4.61
花粉	127	113	108	112
全植物体	4.53	5.16	4.61	4.55

* 葉は 2 葉期から出穂期、花粉及び根は出穂期、茎葉は糊熟期、全植物体及び種子は完熟

期の値を示した。

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

日本人一人が一日あたりに摂取するトウモロコシ及びトウモロコシ加工品の平均摂取量 0.5 g (参照15) をすべてトウモロコシ 40278 に置き換えて計算すると、改変 AAD-1 タンパク質の一人一日あたりの予想平均摂取量は 2.5 µg となり、一人一日あたりのタンパク質平均摂取量 69.8 g (参照 15) に占める割合は 3.6×10^{-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

改変 *aad-1* 遺伝子の供与体である *S. herbicidovorans* 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

AAD-1 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

Pseudomonas fluorescens で発現させた改変 AAD-1 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に、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16)。

② 人工腸液に対する感受性

P. fluorescens で発現させた改変 AAD-1 タンパク質の人工腸液中での消化性について確認するために、SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析を行った結果、試験開始後 1 分以内に消化されることが確認された (参照17)。

③ 加熱処理に対する感受性

P. fluorescens で発現させた改変 AAD-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、加熱による免疫反応性及び酵素活性の変化について分析を行った。その結果、50°C、30 分の加熱処理で免疫反応性及び酵素活性が失われることが確認された (参照18)。

(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 AAD-1 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等は見いだされなかった（参照19）。

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等と一致するものは見いだされなかった（参照 19）。

上記、（1）～（4）及び前項 3 から総合的に判断し、改変 AAD-1 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がないことを確認した。

5. 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項

トウモロコシ 40278 に挿入された遺伝子の安定性を確認するために、6 世代のトウモロコシ 40278 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 10,11）。

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 AAD-1 タンパク質が植物の代謝経路に与える影響について、植物体中に存在する化合物のうちアリルオキシアルカノエート基を持つ化合物と構造及び生理機能が類似する化合物等が改変 AAD-1 タンパク質と反応するか否かについて検討を行った。コハク酸測定法による酵素活性の測定を行った結果、植物ホルモン及びフェニルプロパノイド中間体でわずかな反応が見られたが、その活性は AAD-1 タンパク質濃度に依存していなかった。そのため、フーリエ変換質量分析 (FT/MS) による酸化物の測定を行った結果、酸化物が検出された化合物が見いだされたが、その反応速度は非常に遅いことが確認された（参照20）。

なお、植物の代謝経路においてアリルオキシアルカノエート基をもつ化合物の存在は知られていない（参照21）。

以上のことから、改変 AAD-1 タンパク質が宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

7. 宿主との差異に関する事項

米国及びカナダのほ場で栽培されたトウモロコシ 40278 の種子及び非組換えトウモロコシの種子について、主要構成成分、ミネラル類、ビタミン類、アミノ酸組成、脂肪酸組成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 14）。

（1）主要構成成分

主要構成成分（タンパク質、脂質、灰分、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粗繊維）について分析を行った結果、対照に用いた非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差が認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても文献値の範囲内であった。

(2) ミネラル類

ミネラル類 13 種類について分析を行った結果、モリブデン含有量が非組換えトウモロコシと比較して除草剤無散布区のみで有意に減少したが、各除草剤散布区においては有意な変化が認められなかったことから、挿入遺伝子による影響とは考えにくい。その他のミネラル類については、対照に用いた非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差が認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても文献値の範囲内であった。

(3) ビタミン類

ビタミン類 11 種類について分析を行った結果、ビタミン C 含有量が非組換えトウモロコシと比較して 2,4-D 散布区及びキザロホップ散布区で有意に減少したが、除草剤無散布区及び 2,4-D 及びキザロホップ散布区においては有意な変化が認められなかったことから、挿入遺伝子による影響とは考えにくい。その他のビタミン類については、対照に用いた非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差が認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても文献値の範囲内であった。

(4) アミノ酸組成

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トウモロコシ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文献値の範囲内であった。

(5) 脂肪酸組成

脂肪酸 22 種類について分析を行った結果、対照に用いた非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差が認められないか、統計学的有意差が認められた場合であっても文献値の範囲内であった。

(6) 有害生理活性物質及び二次代謝産物

フィチン酸、トリプシンインヒビター、ラフィノース、イノシトール、フルフラール、p-クマル酸及びフェルラ酸について分析を行った結果、対照に用いた非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差が認められないか、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

米国においては、2009 年 10 月に米国食品医薬品庁 (FDA) に対する食品・飼料としての安全性審査のための申請が行われ、2011 年 4 月に安全性が確認された。また、2009 年 8 月に米国農務省 (USDA) に対する無規制栽培のための申請が行われた。

カナダにおいては、2009 年 11 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。

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、2011年10月に安全性が確認された。

台湾においては、台湾行政院衛生署 (DOH) に対する食品としての安全性審査の申請が行われ、2011年7月に安全性が確認された。

9. 栽培方法に関する事項

トウモロコシ 40278 の栽培方法は、生育期の雑草防除にアリルオキシアルカノエート系除草剤を使用できる点を除いて、従来のトウモロコシ (デント種) と同じである。

10. 種子の製法及び管理方法に関する事項

トウモロコシ 40278 の種子の製法及び管理方法は、従来のトウモロコシ (デント種) 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が得られている。

III. 食品健康影響評価結果

「アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ 40278 系統」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 Watson S.A. Corn : Amazing Maize. General Properties. pp.3-29. *In* CRC Handbook of Processing and Utilization in Agriculture, Vol. II : Part 1 Plant Products. I.A. Wolff(ed). CRC Press, Inc., Florida. 1982.
- 2 Watson S.A. Structure and Composition. *In* Corn : Chemistry and Technology, S.A. Watson and P.E. Ransted (eds). American Association of Cereal Chemists, Inc., Minnesota. 1987, pp. 53-82.
- 3 OECD 'Consensus Document on compositional considerations for new varieties of Maize (Zea Mays) : Key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites.' (OECD, Paris) 2002.
- 4 ILSI 2006. <http://www.cropcomposition.org>
- 5 Wright T.R., Lira J.M., Merlo D.J., and Hopkins N. Novel Herbicide Resistance

- Genes. U.S. Patent#2009/0093366. 2009.
- 6 Larrinua I., Herman R. 'AAD1 Amino-Acid Homology Search for Similarity to Toxins' (社内報告書)
 - 7 Christensen AH, Sharrock RA, Quail PH. (1992) Maize polyubiquitin genes: Structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. *Plant Molecular Biology* 1992; 18: 675-689.
 - 8 Ainley, M., Armstrong, K., Belmar, S., Folkerts, O., Hopkins, N., Menke, M.A., Paredy, D., Petolino, J. F., Smith, K., Woosley, A. Regulatory Sequences from Transgenic Plants. U.S. Patent US6384207. 2002.
 - 9 Hall G., Allen G.C., Loer D.S., Thompson W.F., Spiker S. Nuclear scaffolds and scaffold-attachment regions in higher plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1991; 88(20): 9320-9324.
 - 10 Zhuang M., Mo J., Poorbaugh J.D., Richey K.A., Cruse J., Thomas A. 'Molecular Characterization of AAD-1 Corn Event DAS-40278-9.' (社内報告書)
 - 11 Bryan J. and Zhuang M. 'Supplemental Molecular Characterization of AAD-1 Corn Event DAS-40278-9 for Submission in Japan' (社内報告書)
 - 12 Mo. J., Zhou N., Poorbaugh J. 'Cloning and Characterization of DNA Sequence in the Insert and the Flanking Border Regions of AAD-1 Corn Event DAS-40278-9' (社内報告書)
 - 13 Song P. 'Bioinformatics Analysis of the Insert and Its Flanking Border Sequences in Maize Event DAS-40278-9' (社内報告書)
 - 14 Phillips A., Herman R., Thomas A., Sosa M. 'Field Expression, Nutrient Composition Analysis and Agronomic Characteristics of a Hybrid Maize Line Containing Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 (AAD-1) - Event DAS-40278-9' (社内報告書)
 - 15 厚生労働省、平成 19 年度国民健康・栄養調査結果の概要、2010、p.71-105.
 - 16 Embrey S., Korjagin V. (2008a) '*In Vitro* Simulated Gastric Fluid Digestibility of Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 (abbreviation AAD-1)' (社内報告書)
 - 17 Embrey S., Korjagin V. (2008b) '*In Vitro* Simulated Intestinal Fluid Digestibility Study of Recombinant Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 (AAD-1)' (社内報告書)
 - 18 Schafer B. (2010) 'Summary of the Effect of Heat Treatment on a Recombinant Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 Protein' (社内報告書)
 - 19 Herman R. (2007) 'AAD1 Amino-Acid Homology Search for Similarity to Allergens' (社内報告書)
 - 20 Cicchillo R., Godbey J., Wright T. (2010) 'Substrate Specificity of Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 (AAD-1)' (社内報告書)

21 Roche Applied Science “Biochemical Pathways - Metabolic Pathways”
http://www.expasy.ch/cgi-bin/show_thumbnails.pl