

(案)

## 遺伝子組換え食品等評価書

除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性  
ダイズ DBN9004 系統  
(食品)

令和8年（2026年）5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
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. 既存品種の栽培及び流通過程において、健康に影響を及ぼす外来因子に関する事項 .....	7
8. 既存品種の安全な摂取に関する事項 .....	7
第2. 遺伝子組換え体の利用目的、利用方法及び既存品種との相違に関する事項 .....	7
1. 新たに付加される形質又は改変される形質 .....	7
2. 利用目的 .....	7
3. 利用方法 .....	7
4. 安全性において検討が必要とされる相違点 .....	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 .....	11
6. ベクターへの挿入 DNA の組込方法等に関する事項 .....	11
7. 構築されたコンストラクトに関する事項 .....	12
第4. 遺伝子組換え体の作出及び遺伝子組換え栽培系統に関する事項 .....	13
1. 遺伝子導入に関する事項 .....	13

2. 遺伝子産物の遺伝子組換え栽培系統における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項 .....	15
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	16
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。） .....	17
5. 遺伝子組換え栽培系統の代謝経路への影響に関する事項（既存品種及び既存品種に近縁な種に含まれる基質と反応する可能性に関する事項を含む。） .	19
6. 既存品種との差異に関する事項及び遺伝子組換え栽培系統に付与される形質の分類に関する事項 .....	19
7. 諸外国における認可、食用等に関する事項 .....	20
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 .....	20
Ⅲ. 食品健康影響評価結果 .....	20
<参照> .....	22

### <審議の経緯>

- 2026年3月26日 内閣総理大臣から遺伝子組換え食品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153号）、関係書類の接受
- 2026年3月31日 第1020回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2026年4月27日 第276回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2026年5月26日 第1026回食品安全委員会（報告）

### <食品安全委員会委員名簿>

- 祖父江 友孝（委員長）
- 浅野 哲（委員長代理 第一順位）
- 頭金 正博（委員長代理 第二順位）
- 春日 文子（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 爲廣 紀正
- 小野 竜一 中島 春紫
- 角田 茂 中村 亮介
- 古園 さおり 藤原 すみれ
- 柴田 識人

### <第276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（東京大学名誉教授）

## 要 約

「除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ DBN9004 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 Jack を既存品種とし、*Rhizobium radiobacter* CP4 株に由来する改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *Streptomyces viridochromogenes* に由来する *pat* 遺伝子を導入して作出されており、改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現することで除草剤グリホサートに対する耐性が、PAT タンパク質を発現することで除草剤グルホシネートに対する耐性が付与される。

改変 CP4 EPSPS タンパク質は、既に安全性評価のなされた除草剤グリホサート系統ダイズ MON89788 系統において発現する改変 CP4 EPSPS タンパク質と同一のアミノ酸配列を有している。また、PAT タンパク質は、*S. viridochromogenes* から得た野生型の *pat* 遺伝子から発現する PAT タンパク質と同一のアミノ酸配列を有している。「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結果、非遺伝子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、「除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ DBN9004 系統」については、人の健康を損なうおそれはないと判断した。

## I. 評価対象食品の概要

(申請内容)

名称：除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズDBN9004系統

性質：除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性

申請者：Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd.

開発者：Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd. (中国)

「除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ DBN9004 系統」(以下「ダイズ DBN9004」という。)は、*Rhizobium radiobacter* CP4 株に由来する改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *Streptomyces viridochromogenes* に由来する *pat* 遺伝子を導入して作出されており、改変 CP4 EPSPS タンパク質を発現することで除草剤グリホサートに対する耐性が、PAT タンパク質を発現することで除草剤グルホシネートに対する耐性が付与される。

## 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 *G. max* (L.) Merr. の商業品種 Jack 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、現在では世界中で食品や飼料等に広く利用されている(参照1)。

#### 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

ダイズの摂食(可食)部位は種子である。

##### (3) 摂取量

日本人の「大豆・加工品」<sup>a</sup>(大豆油は含まない)の摂取量平均値は、54.4 g である。大豆油の摂取量に関しては、「植物性油脂」<sup>a</sup>、「マーガリン」<sup>a</sup>及び「その他の油脂」<sup>a</sup>に包含されており、日本人の植物性油脂の摂取量は 9.5 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。

また、「調味料・香辛料類」<sup>a</sup>に分類される「味噌」<sup>a</sup>及び「しょうゆ」<sup>a</sup>の日本人の一人一日当たりの摂取量平均値は、9.5 g 及び 10.9 g である。

---

<sup>a</sup> 令和5年「国民健康・栄養調査報告」食品群別摂取量の食品分類

#### (4) 調理及び加工方法

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2)。

#### 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3)。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3)。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 29.51-46.80%、粗脂質 6.97 - 25.00%、灰分 3.73 - 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4)。

##### (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。また、有害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、コレステロール低下等の生化学的活性や、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2)。

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 (Trypsin Inhibitor Unit) /mg、レクチン 0.78~9.35mg/g、フィチン酸 0.29~2.86%、スタキオース 0.62~6.89%、ラフィノース 0.18~1.85%並びに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4)。

## 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 2）。

## 7. 既存品種の栽培及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 3）、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 2）。

以上 1.～8. より、ダイズ DBN9004 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。

## 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 DBN9004 は、除草剤グリホサート及び除草剤グルホシネートに対する耐性が付与される。

### 2. 利用目的

ダイズ DBN9004 は、除草剤グリホサート及び除草剤グルホシネートによる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 DBN9004 の栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法は、その生育期に雑草防除のために除草剤グリホサート及び除草剤グルホシネートを使用できることを除いて、従来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 DBN9004 の可食部位、調理及び加工方法は、従来ダイズと変わらない。

(3) 摂取量

ダイズ DBN9004 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 DBN9004 は、改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子を導入して作出されており、改変 CP4 EPSPS タンパク質及び PAT 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 DBN9004 の作出に使用した導入用プラスミド pDBN4003 のベクターバックボーンは、*Escherichia coli*、*R. radiobacter* 及び *Pseudomonas aeruginosa* 由来のバイナリーベクター12000<sup>b</sup>を基に作製された。

**2. ベクターの性質に関する事項**

(1) ベクターの塩基数及びその塩基配列を示す事項

導入用プラスミド pDBN4003 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 pDBN4003 のベクターバックボーン的全塩基配列、構成要素、その由来及び機能は明らかとなっており、既知の有害なタンパク質を生産する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 pDBN4003 のベクターバックボーンには、スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する *SpeC* 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 pDBN4003 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。

---

<sup>b</sup> Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd.により作製された独自のバイナリーベクター

### 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

DBN9004 系統に導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子は、それぞれ *R. radiobacter* CP4 株及び *S. viridochromogenes* に由来する。

#### (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。）

*R. radiobacter* CP4 株は土壤中に遍在しており、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（参照 6）。

また、*S. viridochromogenes* は土壤中に生息し、ヒトや家畜等に対するアレルギー誘発性、病原性及び毒素産生性を有しているとの報告はない（参照 7）。

### 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. 改変 *cp4 epsps* 遺伝子

改変 *cp4 epsps* 遺伝子から発現する改変 CP4 EPSPS タンパク質は、*R. radiobacter* CP4 株由来の CP4 EPSPS タンパク質の N 末端配列から 2 番目のセリンがロイシンに改変されている。除草剤グリホサートは、植物において芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素（EPSPS タンパク質）と特異的に結合しその活性を阻害することで細胞死を引き起こすが（参照 6）、この改変 CP4 EPSPS タンパク質は、除草剤グリホサート存在下でも活性阻害を受けないためシキミ酸経路が正常に機能することにより、本組換えダイズは除草剤グリホサートへの耐性を示す。

##### b. *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、N-アセチル-L-グルホシネートに変換して無毒化することで、グルホシネートに対する耐性を植物体に付与する（参照 8）。

##### c. 遺伝子産物のその他の性質

ダイズ DBN9004 において改変 *cp4 epsps* 遺伝子から発現した改変 CP4 EPSPS タンパク質及び *pat* 遺伝子から発現した PAT 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 DBN9004 において、上記 a. 及び b. の 2 つの遺伝子発現に伴う代謝物は、他の除草剤グリホサート及び除草剤グルホシネートの農薬耐性をもつ作物と同様である。

## ② 発現タンパク質と既知毒性タンパク質との構造相同性

改変 CP4 EPSPS タンパク質及び PAT 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<sup>c</sup>を用いて、E-value < 10<sup>-5</sup>を指標として検索を行った。その結果、改変 CP4 EPSPS タンパク質は既知の毒性タンパク質及びその他のヒトに有害なタンパク質と相同性のある配列は検出されなかったが、PAT タンパク質は 28 の GNAT ファミリータンパク質と相同性を示した。GNAT ファミリータンパク質は N-アセチルトランスフェラーゼ活性を持つタンパク質であり、これまでにヒトの健康に影響を及ぼしたとの報告はない（参照 9）。また、PAT タンパク質は、安全性が評価された多くの除草剤グルホシネート耐性遺伝子組換え作物で発現しており、安全であることが示されている（参照 10）。

## (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 pDBN4003 のベクターバックボーンにはスペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する *SpeC* 遺伝子が含まれているが、ベクターバックボーンはダイズ DBN9004 には導入さ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) 導入遺伝子及び遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子の発現に関わる領域に関する事項

### ① プロモーターに関する事項

改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、ダイズ (*G. max*) 由来の *tefS1* 遺伝子のプロモーター領域で、恒常的な発現を誘導する Gm17g *Tsf1* プロモーターである(参照 11)。

*pat* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、35S Cauliflower mosaic virus (CaMV)由来の *35S RNA* 遺伝子のプロモーター領域で、恒常的な発現を誘導する（参照 12、参照 13）。

### ② ターミネーターに関する事項

改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットのターミネーターは、エンドウ (*Pisum sativum*) のリブローズ-1, 5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニット RbcS2 をコードする E9 遺伝子のターミネーターである（参照 14）。

*pat* 遺伝子発現カセットのターミネーターは、CaMV 由来の *35S RNA* 遺伝子のターミネーターである（参照 15、参照 16）。

### ③ その他

ダイズ DBN9004 には、①及び②以外に、導入遺伝子の発現制御に関わる塩

---

<sup>c</sup> ToxDB 3.8

基配列は含まれていない。

## 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

改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットには、改変 CP4 EPSPS タンパク質を葉緑体へ輸送する目的でシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)由来の *ShkG* 遺伝子の葉緑体輸送ペプチド (参照 17) が導入されている。

## 6. ベクターへの挿入 DNA の組込方法等に関する事項

### (1) 挿入 DNA のクローニング又は合成方法に関する事項

改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、*R. radiobacter* CP4 株からクローニングされた遺伝子配列を基に合成された。改変 CP4 EPSPS タンパク質は、野生型 EPSPS タンパク質の N 末端配列から 2 番目のセリンがロイシンに改変されている。本改変 CP4 EPSPS タンパク質のアミノ酸配列は、除草剤グリホサート耐性ダイズ MON89788 系統において発現する改変 CP4 EPSPS タンパク質と上述の改変部位も含めて同一であり、CP4 EPSPS タンパク質としての機能に変化がないことが確認されている。

*pat* 遺伝子は、*S. viridochromogenes* の野生型 *pat* 遺伝子配列を基に植物中での発現が最適となるように塩基配列を改変して合成された。この *pat* 遺伝子が発現した PAT タンパク質のアミノ酸配列は野生型と同一である。

### (2) ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

導入用プラスミド pDBN4003 は、バイナリーベクター12000 を基に作製された。

pDBN4003 はベクターバックボーン及び境界配列 (B-Right Border Region 及び B-Left Border Region) により構成される中間プラスミドのマルチクローニングサイトに T-DNA 領域を挿入することにより構築された。導入用プラスミド pDBN4003 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 pDBN4003 の挿入 DNA 領域 (T-DNA 領域) の構成要素 (一部省略)

構成 DNA	由来及び機能
Right Border Region	<i>R. radiobacter</i> 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む配列 (参照 18)。
(改変 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子発現カセット)	
Gm17g <i>Tsf1</i> プロモーター	eEF-1 $\alpha$ をコードするダイズ ( <i>G. max</i> ) <i>tefS1</i> 遺伝子由来のプロモーターで目的遺伝子の植物体内での恒常発現を誘導する (参照 19)。
At <i>CTP2</i>	シロイヌナズナ ( <i>Arabidopsis thaliana</i> ) の <i>ShkG</i> 遺伝子由来の配列で、コードする葉緑体輸送ペプチドは目的タンパク

	質を葉緑体へ輸送する (参照 17)。
改変 <i>cp4 epsps</i>	<i>R. radiobacter</i> CP4 株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子のコドンを変更したコード配列 (参照 20) で、除草剤グリホサート耐性を付与する。
Ps <i>E9</i> ターミネーター	エンドウ ( <i>Pisum sativum</i> ) リブロース-1, 5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニット RbcS2 をコードする <i>E9</i> 遺伝子の 3' 末端非翻訳領域 (参照 14) でターミネーターとして働く。
(pat 遺伝子発現カセット)	
35S プロモーター	CaMV 由来のプロモーター配列 (参照 21) で目的遺伝子の植物体内での恒常発現を誘導する。
<i>pat</i>	<i>S. viridochromogenes</i> 由来のホスフィノスリシン・アセチルトランスフェラーゼ ( <i>pat</i> ) 遺伝子を植物での発現を高めるためにコドン最適化した遺伝子で、除草剤グルホシネートへの耐性を付与する (参照 22)。
35S ターミネーター	CaMV 由来のターミネーター配列。mRNA のポリアダニル化を誘導する (参照 23、参照 16)。
Left Border Region	<i>R. radiobacter</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配列 (参照 18)。

## 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 pDBN4003 の塩基数及び塩基配列並びに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。

意図する挿入領域は、導入用プラスミド pDBN4003 の右境界領域 (Right Border Region) と左境界領域 (Left Border Region) に挟まれた T-DNA 領域である (表 1)。

### (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 pDBN4003 は、抗生物質耐性マーカーによる選抜を通じて純化されており、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 pDBN4003 の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入した後、形質転換後の子葉節を除草剤グリホサートを含む培地上で再分化させて T<sub>0</sub> 世代の植物体を得た。T<sub>0</sub> 世代から自殖により得られた T<sub>1</sub> 世代において、定量的 PCR 分析法により、導入遺伝子をホモ接合体で有する 1 個体を選抜した。得られた個体を自殖することで、T<sub>12</sub> 世代まで作出した。ここで安全性評価の対象とするダイズ DBN9004 は T<sub>5</sub> 世代及び T<sub>5</sub> 世代から派生する全ての後代交配種である。

#### (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 DBN9004 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 DBN9004 のゲノムに挿入された遺伝子のコピー数及びベクターバックボーンの有無を確認するために、ゲノム DNA のサザンブロット解析を実施した。DBN9004 系統の複数世代 (T<sub>3</sub>、T<sub>5</sub> 及び T<sub>7</sub> 世代)の葉及び既存品種であるダイズ品種 Jack の葉から抽出したゲノム DNA を *EcoRI*、*EcoRV* 又は *NheI* にて制限酵素処理し、導入用プラスミド pDBN4003 の T-DNA にまたがるプローブ T1~T6 を用いたサザンブロット分析を行った。

その結果、DBN9004 系統の 3 世代及び既存品種の全てで予想に対応するサイズのバンドが得られた。これらの結果から、DBN9004 系統には T-DNA 配列 (改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子を含む。) が 1 コピー導入されており複数世代 (T<sub>3</sub>、T<sub>5</sub> 及び T<sub>7</sub>) において DBN9004 系統のゲノムに安定的に組み込まれ伝達されることが示された (参照 24)。

DBN9004 系統において導入用プラスミド pDBN4003 のベクターバックボーン配列が存在する可能性について調べるため、複数世代 (T<sub>3</sub>、T<sub>5</sub> 及び T<sub>7</sub> 世代)の葉から抽出したゲノム DNA を *EcoRI* 及び *EcoRV* にて制限酵素処理し、導入用プラスミド pDBN4003 のベクターバックボーンにまたがるプローブ B1~B5 を用いたサザンブロット分析を行った。

プローブ B1~B5 を用いたサザンブロット分析及び 3 世代全ての DBN9004 系統のサザンブロット分析の結果、ベクターバックボーン配列は検出されなかった。

DBN9004 系統の T<sub>6</sub> 世代の 8 系統の葉から DNA を抽出し、T-DNA 領域及び近傍配列をカバーするプライマーを使用して PCR 増幅をした。増幅した PCR 産物の塩基配列をサンガー法を用いて解析し、得られた 5' 末端及び 3' 末端近傍配列とレファレンスとして用いたダイズゲノム (品種 Williams 82) の塩基

配列を比較した結果、1 コピーの T-DNA 領域が第 13 番染色体上の 26,853,931-26,855,477 bp の間に挿入されたことが確認された (図 1、参照 25)。

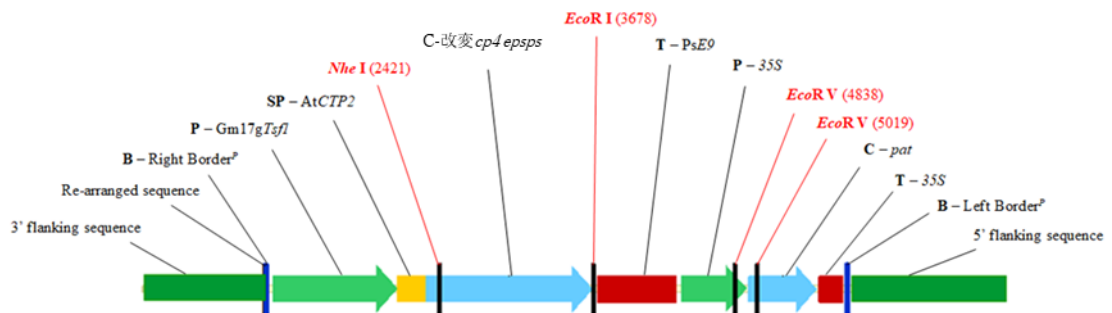


図 1 ダイズ DBN9004 のゲノム DNA 中に挿入された DNA (模式図)

#### (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、複数世代 (T3、T5 及び T7 世代) のダイズ DBN9004 及び既存品種の葉から抽出されたゲノム DNA を用いてサザンブロット解析を行った。その結果、DBN9004 系統の 3 世代及び既存品種の全てで予想に対応するサイズのバンドが得られたことから、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 24)。

また、2 つの生育段階における根、茎及び葉並びに 1 つの生育段階における花及び種子から DBN9004 系統 (T4、T5 及び T6 世代) 及び対照の非遺伝子組換えダイズ Jack の改変 CP4 EPSPS タンパク質及び PAT タンパク質を抽出し、ELISA 法を用いて測定した。その結果、DBN9004 系統の導入遺伝子が、複数世代にわたり安定して発現していることが示された。

#### (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 DBN9004 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 12 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<sup>d</sup>を用いて相同性検索を行った。その結果、連続する 80 アミノ酸配列当たり 35%以上の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 26)。

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

<sup>d</sup> Allergen Online database version 23 及び Comprehensive Protein Allergen Resource (COMPARE 2025 database)

ク質データベース<sup>c</sup>を用い、E-value < 10<sup>-5</sup>を閾値として BLASTP 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 26)。

## ② 導入遺伝子領域における ORF の解析

ダイズ DBN9004 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どうかを評価するため、導入された DNA 領域の 6 通りの読み枠 (表 3 通り、裏 3 通り) において ORF 検索を行った。確認された ORF について、既知のアレルゲン機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか調査するために、アレルゲンデータベース<sup>d</sup>に登録されている既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を確認した。その結果、連続する 80 アミノ酸配列に関して 35% 以上のアミノ酸相同性を共有する配列及び連続する 8 アミノ酸との相同性を示す配列は検出されなかった。

さらに、確認された ORF について、毒素データベース<sup>e</sup>に登録された既知の配列に対して E-value < 10<sup>-5</sup>を閾値として BLASTP 検索を行った (参照 27)。その結果、PAT 発現カセットの 35S プロモーターの一部、PAT 配列及び両者の間の配列からなる領域において 28 個の ORF が、GNAT ファミリータンパク質と相同性を示した。GNAT ファミリーシステムは、通常、毒素と毒性タンパク質の活性を打ち消す抗毒素からなる小さな遺伝子モジュールである。これらのシステムは、DNA の安定化に対する持続性又は可動遺伝因子からの保護という機能を持ち、細菌及び古細菌のゲノムに広く存在している。GNAT ファミリーの毒素は N-アセチルトランスフェラーゼ活性を持つタンパク質であり、これまでにヒトの健康に影響を及ぼしたとの報告はない (参照 27)。また、PAT タンパク質は、多くの承認済みの除草剤グルホシネート耐性遺伝子組換え作物で発現しており、安全であることが示されている (参照 10)。

これらのことから、導入用プラスミド pDBN4003 中の導入された領域に既知のアレルゲン及び毒性タンパク質と相同性をもつ目的外の ORF は存在しないことが確認された。

以上のことから、仮にダイズ DBN9004 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 DBN9004 の根、葉、種子及び地上部における改変 CP4 EPSPS タンパク質及び PAT タンパク質の発現量を ELISA 法により測定した。結果は表 2 のとおりである。

表 2 ダイズ DBN9004 中に産生される遺伝子産物の組織・生育段階別発現量  
( $\mu\text{g/g}$  乾物重)

遺伝子産物	組織	生育段階	処理 1 <sup>1</sup> (除草剤散布区)	処理 2 <sup>1</sup> (無処理区)
			平均値 $\pm$ SD <sup>2</sup> 範囲*	平均値 $\pm$ SD <sup>2</sup> 範囲*
改変 CP4 EPSPS タンパク質	葉	5 葉期	680.1 $\pm$ 75.3 505.4~953.4	652.9 $\pm$ 76.3 470.4~1001.9
	葉	莢伸長初期	550.6 $\pm$ 50.4 394.0~747.5	540.6 $\pm$ 52.4 380.6~775.7
	葉	子実肥大期	621.5 $\pm$ 36.7 480.3~757.4	629.2 $\pm$ 46.1 469.2~782.4
	根	子実肥大期	233.1 $\pm$ 23.1 177.1~308.7	235.8 $\pm$ 20.4 182.7~289.0
	地上部	子実肥大期	466.1 $\pm$ 37.1 345.3~627.6	464.0 $\pm$ 28.2 350.2~567.3
	種子	成熟期	186.3 $\pm$ 18.2 112.8~237.3	185.8 $\pm$ 22.3 112.3~248.1
PAT タン パク質	葉	5 葉期	94.3 $\pm$ 14.8 52.6~146.8	91.0 $\pm$ 13.8 63.1~132.1
	葉	莢伸長初期	97.2 $\pm$ 16.5 55.2~174.2	95.7 $\pm$ 14.7 59.4~163.4
	葉	子実肥大期	50.8 $\pm$ 8.1 18.4~70.8	48.0 $\pm$ 10.5 22.6~73.5
	根	子実肥大期	2.2 $\pm$ 0.4 0.9~4.6	2.2 $\pm$ 0.4 1.0~4.2
	地上部	子実肥大期	19.3 $\pm$ 2.9 11.2~38.0	18.5 $\pm$ 2.3 11.2~31.9
	種子	成熟期	1.1 $\pm$ 0.1 0.6~1.6	1.2 $\pm$ 0.2 0.6~2.0

<sup>1</sup> 処理 1: 3 葉期に除草剤グルホシネート (400 g ai/ha) を散布し、その 7 日後に除草剤グリホサート (1350 g ai/ha) を散布、処理 2: 除草剤散布なし。

<sup>2</sup>SD: 標準偏差

### 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

日本人一人が一日に摂取する「大豆・加工品」<sup>a</sup> (大豆油は含まれない) の平均摂取量 54.4 g、「味噌」<sup>a</sup> の平均摂取量 9.5 g 及び「しょうゆ」<sup>a</sup> の平均摂取量 10.9 g の合計 74.8 g の原料を全てダイズ DBN9004 に置き換えて改変 CP4 EPSPS タ

ンパク質及び PAT タンパク質の推定摂取量を計算すると、それぞれ 13.94 mg 及び 82 µg であり、その摂取が一人一日当たりのタンパク質摂取量平均値 70.4 g に占める割合は改変 CP4 EPSPS タンパク質が 0.02% 及び PAT タンパク質が  $1.2 \times 10^{-4}$  % 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。

改変 *cp4 epsps* 遺伝子の供与体は *R. radiobacter* CP4 株、*pat* 遺伝子の供与体は *S. viridochromogenes* であり、*R. radiobacter* CP4 株及び *S. viridochromogenes* のアレルギー誘発性は確認されなかった。

(2) 遺伝子産物（タンパク質）についてそのアレルギー誘発性に関する知見が明らかであること。

改変 CP4 EPSPS タンパク質及び PAT 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

##### ① 改変 CP4 EPSPS タンパク質

###### a. 人工胃液に対する感受性

*E.coli* で発現させた改変 CP4 EPSPS 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）分析及びウエスタンブロット分析を行った結果、改変 CP4 EPSPS タンパク質と考えられるバンドは、いずれの分析においても試験開始 15 秒後には消失した（参照 28）。

###### b. 人工腸液に対する感受性

*E.coli* で発現させた改変 CP4 EPSPS 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、SDS-PAGE（タンパク質染色）分析及びウエスタンブロット分析を行った結果、改変 CP4 EPSPS タンパク質と考えられるバンドは、いずれの分析においても試験開始 15 秒後には消失した（参照 29）。

###### c. 加熱処理に対する感受性

*E.coli* で発現させた改変 CP4 EPSPS 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、タンパク質を各温度帯で 30 分間加熱処理

した後、免疫反応活性及び酵素活性を評価した（参照 30）。その結果、改変 CP4 EPSPS タンパク質の免疫反応活性は 55°C 以上で 30 分処理したところ検出限界以下となった。CP4 EPSPS タンパク質の相対酵素活性は、75°C 以上では検出限界以下となった。

## ② PAT 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 PAT 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）分析及びウエスタンブロット分析を行った結果、PAT タンパク質と考えられるバンドは、いずれの分析においても試験開始 15 秒後には消失した（参照 28）。

### b. 人工腸液に対する感受性

*E.coli* で発現させた PAT 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、SDS-PAGE（タンパク質染色）分析及びウエスタンブロット分析を行った結果、PAT タンパク質と考えられるバンドは、いずれの分析においても試験開始 15 秒後には消失した（参照 29）。

### c. 加熱処理に対する感受性

*E.coli* で発現させた PAT 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、タンパク質を各温度帯で 30 分間加熱処理した後、免疫反応活性及び酵素活性を評価した（参照 30）。その結果、PAT タンパク質の免疫反応活性は 55°C 以上で 30 分処理したところ、検出限界以下となった。PAT タンパク質の相対酵素活性は、55°C 以上では検出限界以下となった。

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

改変 CP4 EPSPS タンパク質及び PAT タンパク質と既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を確認するために、アレルゲンデータベース<sup>d</sup>を用いて相同性検索を行った。検索方法については、連続する 80 アミノ酸配列当たり 35% 以上の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、連続する 80 アミノ酸配列に関して 35% 以上のアミノ酸相同性を共有する配列及び連続する 8 アミノ酸との相同性を示す配列は検出されなかった（参照 27）。

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

## 5. 遺伝子組換え栽培系統の代謝経路への影響に関する事項（既存品種及び既存品種に近縁な種に含まれる基質と反応する可能性に関する事項を含む。）

### （1）改変 CP4 EPSPS タンパク質

改変 CP4 EPSPS タンパク質と機能的に同一である EPSPS タンパク質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素であるが本経路における律速酵素ではなく、EPSPS タンパク質の活性が増大しても、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（参照 31、参照 32）ことから、既存品種の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられた。

### （2）PAT タンパク質

PAT タンパク質は、L-ホスフィノスリシンによりその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 33、参照 34）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。

## 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

中国の 8 カ所のは場で栽培されたダイズ DBN9004 と非遺伝子組換えダイズの種子について、主要構成成分、アミノ酸組成、脂肪酸組成、無機物、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 35）。

#### 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、対照の非遺伝子組換えダイズとの間で統計学的有意差は認められず、また、参考品種の範囲内に収まっていた。

##### 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、対照の非遺伝子組換えダイズとの間で統計学的有意差は認められず、また、参考品種の範囲内に収まっていた。

##### c. 脂肪酸

種子の脂肪酸 8 成分について分析を行った結果、C16:0 パルミチン酸、C18:0 ステアリン酸、C18:2 n-6 リノール酸、C18:3 n-6 リノレン酸、C20:0

アラキジン酸、C22:0 ベヘン酸及び C20:1 n-9 エイコセン酸において、対照の非遺伝子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。一方、C18:1 n-9 オレイン酸において対照の非遺伝子組換えダイズとの間には統計学的有意差が確認されたが、参考品種の範囲内に収まっていた。

d. 無機物

種子の無機質（カルシウム、リン、銅、亜鉛、セレン、鉄、マグネシウム、カリウム、ナトリウム、マンガン）について分析を行った結果、対照の非遺伝子組換えダイズとの間で統計学的有意差は認められず、また、参考品種の範囲内に収まっていた。

e. ビタミン類

種子のビタミン E ( $\alpha$ -トコフェロール)、ビタミン B2 (リボフラビン)、ビタミン B1 (チアミン) 及びビタミン K1 (フィロキノン) について分析を行った結果、対照の非遺伝子組換えダイズとの間で統計学的有意差は認められず、また、参考品種の範囲内に収まっていた。

f. 栄養阻害物質

種子の栄養阻害物質等（ダイゼイン、ゲニステイン、レクチン、フィチン酸、ラフィノース、スタキオース、トリプシンインヒビター）について分析を行った結果、対照の非遺伝子組換えダイズとの間で統計学的有意差は認められず、また、参考品種の範囲内に収まっていた。

(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 DBN9004 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

中国においては、2020 年 6 月に中華人民共和国農業農村部 (MARA) から食品・飼料としての安全性承認を受けている。

## 第 5. 第 1 から第 4 までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要事項

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

「除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ DBN9004 系統」につい

では、「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. FAO. 1992. FAO Agricultural Services Bulletin No.97. Technology of production of edible flours and protein products from soybeans. Chapter 1: The soybean. <http://www.fao.org/docrep/t0532e/t0532e00.HTM> (Accessed March 22, 2023).
2. 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.
3. OECD. 2000. CONSENSUS DOCUMENT ON THE BIOLOGY OF GLYCINE MAX (L.) MERR. (SOYBEAN). Paris: OECD Environmental Health and Safety Publications.
4. AFSI. 2023. Crop Composition Database, Version 9.1 <http://www.cropcomposition.org> (Accessed March 2, 2023).
5. Sequence of Genetic Element in pDBN4003 (社内文書)
6. OECD. 1999a. CONSENSUS DOCUMENT ON GENERAL INFORMATION CONCERNING THE GENES AND THEIR ENZYMES THAT CONFER TOLERANCE TO GLYPHOSATE HERBICIDE. Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development.
7. OECD. 1999b. CONSENSUS DOCUMENT ON GENERAL INFORMATION CONCERNING THE GENES AND THEIR ENZYMES THAT CONFER TOLERANCE TO PHOSPHINOTHRICIN HERBICIDE. Paris, France: OECD Environmental Health and Safety Publications.
8. Block, M. D., J. Botterman, M. Vandewiele, J. Dockx, C. Thoen, V. Gossele, N. R. Movva, C. Thompson, M. V. Montagu & J. Leemans. 1987. Engineering herbicide resistance in plants by expression of a detoxifying enzyme. *EMBO J*, 6, 2513-8.
9. Assessment of Amino Acid Sequence Homology of PAT Protein with Known Toxins (社内文書)
10. Herouet, C., D. J. Esdaile, B. A. Mallyon, E. Debruyne, A. Schulz, T. Currier, K. Hendrickx, R. J. van der Klis & D. Rouan. 2005. Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regul Toxicol Pharmacol*, 41, 134-49.
11. Aguilar, F., P. E. Montandon & E. Stutz. 1991. Two genes encoding the soybean translation elongation factor eEF-1 alpha are transcribed in seedling leaves. *Plant Mol Biol*, 17, 351-60.
12. Coutu, C., J. Brandle, D. Brown, K. Brown, B. Miki, J. Simmonds & D. D. Hegedus. 2007. pORE: a modular binary vector series suited for both monocot and dicot plant transformation. *Transgenic Research*, 16, 771-781.

13. Kay, R., A. M. Y. Chan, M. Daly & J. McPherson. 1987. Duplication of CaMV 35S Promoter Sequences Creates a Strong Enhancer for Plant Genes. *Science*, 236, 1299.
14. Coruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards & N. H. Chua. 1984. Tissue-specific and light-regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *The EMBO journal*, 3, 1671-1679.
15. Franck, A., H. Guilley, G. Jonard, K. Richards & L. Hirth. 1980. Nucleotide sequence of cauliflower mosaic virus DNA. *Cell*, 21, 285-94.
16. Pietrzak, M., R. D. Shillito, T. Hohn & I. Potrykus. 1986. Expression in plants of two bacterial antibiotic resistance genes after protoplast transformation with a new plant expression vector. *Nucleic Acids Res*, 14, 5857-68.
17. Klee, H. J., Y. M. Muskopf & C. S. Gasser. 1987. Cloning of an Arabidopsis thaliana gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. *Mol Gen Genet*, 210, 437-442.
18. Yadav, N. S., J. Vanderleyden, D. R. Bennett, W. M. Barnes & M. D. Chilton. 1982. Short direct repeats flank the T-DNA on a nopaline Ti plasmid. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 79, 6322-6.
19. Aguilar, F., P. E. Montandon & E. Stutz. 1991. Two genes encoding the soybean translation elongation factor eEF-1 alpha are transcribed in seedling leaves. *Plant Mol Biol*, 17, 351-60.
20. Barry, G. F., G. M. Kishore, S. R. Padgett & W. C. Stallings. 1997. Glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. U.S. Patent, 5633435.
21. Odell, J. T., F. Nagy & N. H. Chua. 1985. Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature*, 313, 810-2.
22. Wohlleben, W., W. Arnold, I. Broer, D. Hillemann, E. Strauch & A. Puhler. 1988. Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tu494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene*, 70, 25-37.
23. Franck, A., H. Guilley, G. Jonard, K. Richards & L. Hirth. 1980. Nucleotide sequence of cauliflower mosaic virus DNA. *Cell*, 21, 285-94.
24. Southern Blot Analyses to Determine Copy Number of the Insert in DBN9004 (社内文書)
25. Chromosome location analysis of T-DNA insertion in DBN9004 soybean (社内文書)
26. Genome-to-insert junction reading frame analysis without a minimum size threshold in DBN9004 and Assessment of amino acid sequence homologies with known toxins and allergens (社内文書)
27. T-DNA region reading frame analysis in DBN9004 and Assessment of amino

- acid sequence homologies with known toxins and allergens (社内文書)
28. Digestive Stability Analysis of EPSPS Protein in Simulated Gastric Fluid (社内文書)
  29. Digestive Stability Analysis of PAT Protein in Simulated Gastric Fluid (社内文書)
  30. Effect of Heat Treatment on a Recombinant EPSPS Protein (社内文書)
  31. Padgett, S. R., D. L. Taylor Nb Fau - Nida, M. R. Nida Dl Fau - Bailey, J. Bailey Mr Fau - MacDonald, L. R. MacDonald J Fau - Holden, R. L. Holden Lr Fau - Fuchs & R. L. Fuchs. 1996. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *The journal of nutrition*, 126, 702-716.
  32. Ridley, W. P., R. S. Sidhu, P. D. Ryla, M. A. Nemeth, M. L. Breeze & J. D. Astwood. 2002. Comparison of the Nutritional Profile of Glyphosate-Tolerant Corn Event NK603 with That of Conventional Corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7235-7243.
  33. Thompson, C. J., N. R. Movva, R. Tizard, R. Cramer, J. E. Davies, M. Lauwereys & J. Botterman. 1987. Characterization of the herbicide-resistance gene bar from *Streptomyces hygroscopicus*. *Embo j*, 6, 2519-23.
  34. Wehrmann, A., A. V. Vliet, C. Opsomer, J. Botterman & A. Schulz. 1996. The similarities of bar and pat gene products make them equally applicable for plant engineers. *Nature Biotechnology*, 14, 1274-1278.
  35. Grain compositional analysis report for the GM soybean events DBN9004 harvested from the 2020 China field trials (社内文書)