

組換え DNA 技術応用飼料の安全性確認

アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減 ジャガイモ（SPS-00E12-8）

**平成 29 年 3 月 15 日
農林水産省消費・安全局
畜水産安全管理課**

目次

I	はじめに	3
II	確認対象飼料の概要	3
III	審議内容	3
	1 生産物の既存のものとの同等性に関する事項	4
5	(1) 遺伝的素材に関する事項	4
	(2) 家畜等の安全な飼養経験に関する事項	4
	(3) 飼料の構成成分等に関する事項	4
	(4) 既存種と新品種との使用方法の相違に関する事項	4
	2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項	5
10	3 宿主に関する事項	5
	(1) 学名、品種、系統名等の分類学上の位置付けに関する事項	6
	(2) 遺伝的先祖に関する事項	6
	(3) 有害生理活性物質の生産に関する事項	6
	(4) 寄生性及び定着性に関する事項	6
15	(5) ウイルス等の病原性の外来因子に汚染されていないことに関する事項	6
	(6) 自然環境を反映する実験条件の下での生存及び増殖能力に関する事項	6
	(7) 有性生殖周期及び交雑性に関する事項	7
	(8) 飼料に利用された歴史に関する事項	7
	(9) 飼料の安全な利用に関する事項	7
20	(10) 生存及び増殖能力を制限する条件に関する事項	7
	(11) 近縁種の有害生理活性物質の生産に関する事項	7
	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
25	(3) 薬剤耐性に関する事項	8
	(4) 伝達性に関する事項	8
	(5) 宿主依存性に関する事項	8
	(6) 発現ベクターの作成方法に関する事項	8
	(7) 発現ベクターの宿主への挿入方法及び位置に関する事項	8
30	5 挿入遺伝子に関する事項	8

	(1) 供与体に関する事項.....	8
	(2) 遺伝子の挿入方法に関する事項.....	9
	(3) 構造に関する事項.....	9
	(4) 性質に関する事項.....	10
35	(5) 純度に関する事項.....	12
	(6) コピー数に関する事項.....	12
	(7) 安定性に関する事項.....	12
	(8) 発現部位、発現時期及び発現量に関する事項.....	13
	(9) 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項.....	13
40	(10) 外来の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.....	13
	6 組換え体に関する事項.....	13
	(1) 組換えDNA操作により新たに獲得された性質に関する事項.....	13
	(2) 遺伝子産物の毒性に関する事項.....	14
45	(3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する事項.....	14
	(4) 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項.....	14
	(5) 宿主との差異に関する事項.....	15
	(6) 外界における生存及び増殖能力に関する事項.....	16
	(7) 生存及び増殖能力の制限に関する事項.....	16
50	(8) 不活化法に関する事項.....	17
	(9) 外国における認可等に関する事項.....	17
	(10) 作出、育種及び栽培方法に関する事項.....	17
	(11) 種子の製法及び管理方法に関する事項.....	17
55	7 2から6までに掲げる資料により飼料の安全性に関する知見が得られていない場合は、次に掲げる試験のうち必要な試験の成績に関する事項.....	17
	IV 審議結果.....	17
	V 参考文献及び参考資料.....	17

「アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）」 に係る安全性確認

I はじめに

60 アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）（以下「ジャガイモ SPS-00E12-8」という。）について、平成 26 年 2 月 19 日付けで遺伝子組換え飼料としての安全性確認の申請があったことから、「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」（平成 14 年 11 月 26 日農林水産省告示第 1780 号）に基づき審議を行った。

65

II 確認対象飼料の概要

飼料名 : アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ（SPS-00E12-8）
性 質 : アクリルアミド産生及び打撲黒斑形成の低減
申請者 : J.R.シンプロット社
開発者 : J.R.シンプロット社

70 ジャガイモ SPS-00E12-8 は、ジャガイモを食品として高温加熱加工する過程においてアスパラギン及び還元糖から生成するアクリルアミドを低減するため、アスパラギンの合成に関わるアスパラギン合成酵素-1 遺伝子並びに還元糖の合成に関わるデンプン関連 R1 たん白質遺伝子及びホスホリラーゼ-L 遺伝子の発現を抑制することを目的に、アスパラギン合成酵素-1 遺伝子、デンプン関連 R1 たん白質遺伝子のプロモーター領域及びホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター領域の各部分配列が導入されている。アクリルアミドは、ヒトに対して神経毒性を持ち、発がん性物質である可能性が高いとされている（食品安全, 2015）。

75 また、ジャガイモが物理的衝撃を受けるとジャガイモ内部でフェノール類の酸化重合が進むことで、ジャガイモの品質の低下につながる黒斑が形成される（Hunt et al., 1993）。この黒斑の形成を低減するため、フェノール類の酸化重合に関わるポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の発現を抑制するため、ポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の 3' 非翻訳領域の部分配列が導入されている。

80 その結果、ジャガイモ SPS-00E12-8 は、非組換えジャガイモと比較し、高温加熱加工によるアクリルアミドの生成量が抑制されるとともに、物理的衝撃による打撲黒斑の形成が抑制される。

85 ジャガイモ SPS-00E12-8 と非組換えジャガイモを比較したところ、遺伝子組換え技術を用いて付与されたこれらの性質を除き、差異は認められなかった。このため、ジャガイモ SPS-00E12-8 に付与された性質について安全性を評価したところ、飼料として安全上問題となる点は認められなかった。したがって、飼料として摂取する家畜等の健康に影響を及ぼすおそれはないと考えられた。

90 なお、ジャガイモ SPS-00E12-8 は、米国の特定の圃場で栽培され、特定の工場でフライドポテト用に加工利用される予定であり、栽培用や飼料用とし

て日本に輸入される予定はない。

III 審議内容

95 1 生産物の既存のものとの同等性に関する事項

(1) 遺伝的素材に関する事項

ジャガイモ SPS-00E12-8 の宿主植物は、ナス科ナス属に属する *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* の非組換えジャガイモ品種 Russet Burbank である。

100 ジャガイモ SPS-00E12-8 には、ジャガイモに由来するアスパラギン合成酵素-1 遺伝子、デンプン関連 R1 たん白質遺伝子のプロモーター領域及びホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター領域並びにジャガイモ近縁種 (*S. verrucosum*) に由来するポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の 3' 非翻訳領域のそれぞれの部分配列が導入されている。

105 この導入された各部分配列の転写産物によって生じる RNAi により、ジーンサイレンシング¹が誘導され、ジャガイモ内在性の各遺伝子の発現が抑制されている。

(2) 家畜等の安全な飼養経験に関する事項

110 ジャガイモは、牛や豚の飼料として長年にわたって利用されてきた歴史がある。豚には蒸したジャガイモが与えられ、牛等の反芻動物には主に生のジャガイモが与えられる (OECD, 2002)。

(3) 飼料の構成成分等に関する事項

115 ジャガイモ SPS-00E12-8 及び非組換えジャガイモの構成成分等の分析値及び文献値は明らかとなっており、比較が可能である (Horton and Anderson, 1992、Lisinska and Leszczynski, 1989、Rogan *et al.*, 2000、Talbert and Smith, 1987、新編農学大辞典, 2004、Sinden, 1987、山本, 2008、van Gelder, 1990)、OECD, 2002、参考資料 6)。

(4) 既存種と新品種との使用方法の相違に関する事項

120 ジャガイモ SPS-00E12-8 では、アスパラギン合成酵素-1 遺伝子、デンプン関連 R1 たん白質遺伝子のプロモーター領域、ホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター領域及びポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の 3' 非翻訳領域の各部分配列による RNAi により、ジーンサイレンシング¹が誘導され、ジャガイモ内在性の各遺伝子の発現が抑制されることにより高温加熱加工によるアクリルアミドの生成及び物理的衝撃による打撲黒斑の形成が低減している。この点を除けば、ジャガイモ SPS-00E12-8 は非組換えジャガイモと差異はなく、①収穫時期 (成熟程度)、②家畜等の摂取 (可食) 部位、③家畜等の摂取量、④調製及び加工方法についても非組換えジャガイモとの相違はない。

130 (1) ～ (4) により、ジャガイモ SPS-00E12-8 の飼料としての安全性評価にお

¹ 内在性遺伝子とホモロジーのある外来遺伝子を植物の核ゲノムに導入した時、組換え体において導入遺伝子及び内在性遺伝子の発現がいずれも抑制される現象 (森野と島本, 1996)

いては、非組換えジャガイモとの比較が可能であると判断された。

2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

ジャガイモ SPS-00E12-8 は、アクリルアミド生成に関わるアスパラギン及び還元糖の蓄積を抑制することにより、メイラード反応を介したアクリルアミド生成（図1）（Gokmen and Palazoglu, 2008）の低減が図られ（Rommens *et al.*, 2008）、摂取した人体への健康影響を低減させることが期待される。アクリルアミドは、神経毒性を持ち、発がん性物質の可能性が高いとされている（NTP, 2012）。

また、ジャガイモ SPS-00E12-8 は、フェノール類の酸化を抑制することにより、物理的衝撃を受けた際のフェノール類の酸化重合による黒色色素の形成（Hunt *et al.*, 1993）を抑制されることで、打撲黒斑の感受性の低減が図られ、品質低下の防止が期待される。

ジャガイモ SPS-00E12-8 は、米国の特定の圃場で栽培され、特定の工場でフライドポテト用に加工利用されることを予定されており、栽培用や飼料用として日本に輸出される予定はない。

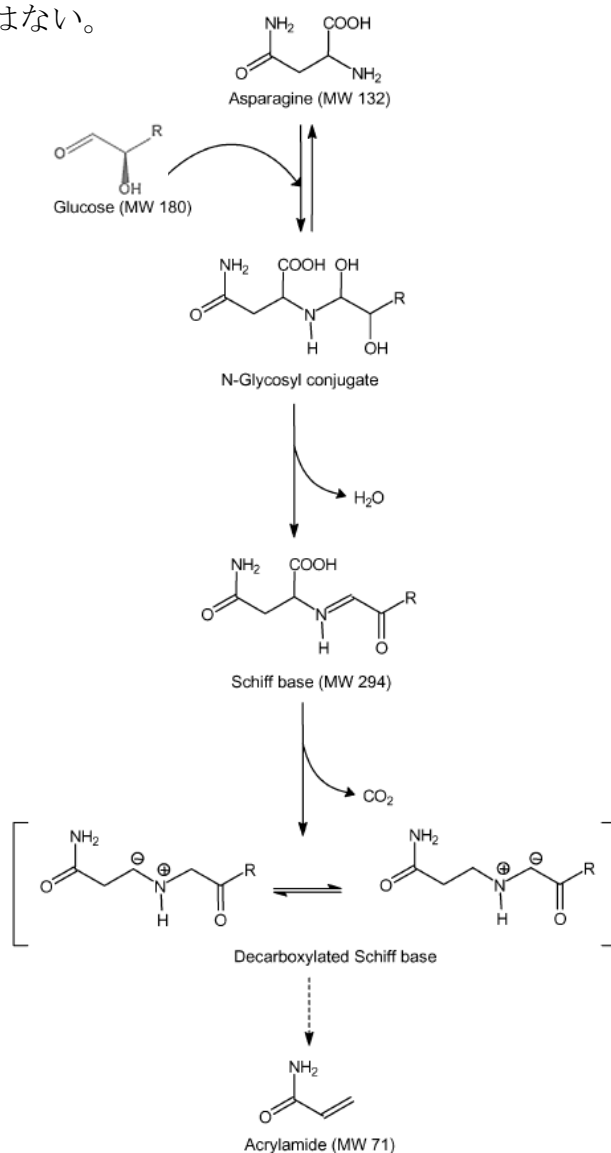


図 1 アクリルアミドの生成 (Gokmen and Palazoglu, 2008)

3 宿主に関する事項

(1) 学名、品種、系統名等の分類学上の位置付けに関する事項

175 ジャガイモ SPS-00E12-8 の宿主植物は、ナス科ナス属に属する *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* の非組換えジャガイモ品種 Russet Burbank である。

(2) 遺伝的先祖に関する事項

180 ジャガイモの原産地は南米アンデス地方であり、ナス属 *petota* 節に属する 200 種以上のジャガイモ近縁種の多くが、メキシコ高原とアンデス高地に分布している。ジャガイモの栽培は約 7,000 年前にペルー南部で始まり、最初に栽培化されたのは、*potatoe* 亜節 *tuberosa* 系の *Solanum stenotomum* であると考えられている。*S. stenotomum* から *S. tuberosum* の亜種の一つである subsp. *andigena* (アンディジェナジャガイモ) が育成され、これから *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* が育成された (ジャガイモ辞典, 2012)。

(3) 有害生理活性物質の生産に関する事項

190 ジャガイモは、有害生理活性物質としてグリコアルカロイド、プロテアーゼインヒビター及びレクチンを含む。

190 ウサギ等を用いた動物試験においては、グリコアルカロイドの摂取により、下痢、体重減少、脱毛等の症状が報告されている (JECFA Monographs)。グリコアルカロイドはジャガイモ塊茎周辺部や緑化した部分及び芽生えに多く含まれているが、発芽したジャガイモであっても芽の部分を取り除かれていれば、家畜等に対する有害な影響はないとされている (OECD, 2002)。

195 また、プロテアーゼインヒビターは、トリプシン、キモトリプシン等の消化酵素の活性を阻害し、消化率の低下等を引き起こす。レクチンは、炭水化物含有化合物に結合するたん白質で、血液凝固の原因となる赤血球凝集素としての作用が知られている。プロテアーゼインヒビター及びレクチンはいずれも加熱により不活化されるため、加熱処理したジャガイモを飼料として用いる場合、家畜等の健康に影響を与える可能性は低いとされている (OECD, 2002)。

200

(4) 寄生性及び定着性に関する事項

ジャガイモの家畜等に寄生性及び定着性は知られていない。

(5) ウイルス等の病原性の外来因子に汚染されていないことに関する事項

205 ジャガイモには、ウイルス、細菌及び菌類による各種病害が知られている (新編農学大辞典, 2004) が、これらが動物に対して病原性を示すことは知られていない。

(6) 自然環境を反映する実験条件の下での生存及び増殖能力に関する事項

210 ジャガイモは栽培作物であり、雑草性はない (OECD, 1997)。

(7) 有性生殖周期及び交雑性に関する事項

215 ジャガイモは、栄養繁殖により増殖する場合が多く、多くの品種で種いもが生
産され販売されている。また、ジャガイモ品種の中には、花成誘導しにくいもの
や雄性不稔のものがあるが、機能する完全花を形成するものも多数ある。開花期
220 間は 10 日から 50 日と品種によって開きがあり、早生品種は短く、晩生品種は長
く、また、冷涼な地域では開花期間が長くなる傾向がある。交雑性については、
ニュージーランド、英国、スウェーデンで行われた試験では、植物同士が 20 m 以
上離れると、交雑はなかったことが報告されている。また、わが国において、ジ
ャガイモと交雑可能な近縁野生種が自生しているという報告はない（ジャガイモ
事典, 2012、農業技術体系, 2010、OECD, 1997）。

(8) 飼料に利用された歴史に関する事項

225 18 世紀から 19 世紀のヨーロッパにおいて、ジャガイモは穀物に代わる食糧とし
て見直され広まったが、それまでは主に家畜の飼料として利用されていた（山本,
2008）。現在においても、ジャガイモは主に補助飼料として広く利用されている。
豚には蒸したジャガイモが与えられ、牛等の反芻動物には主に生のジャガイモが
230 与えられる（OECD, 2002）。

(9) 飼料の安全な利用に関する事項

ジャガイモは、塊茎周辺部、緑化した部分及び芽生えにグリコアルカロイドを
多く含んでいるが、適切な管理の下、牛や豚の飼料として安全に利用されている。

(10) 生存及び増殖能力を制限する条件に関する事項

235 ジャガイモの塊茎は、 -3°C 以下では生育することができず、植物体も -4°C で
枯死する。また、ジャガイモは乾燥に弱く、水分によっても増殖の制限を受ける。
一般的に、土中に残ったジャガイモが長く生き残る可能性は低く（OECD, 1997）、
仮に土中に生き残ったとしても、除草剤や耕起等の従来からの方法により防除で
240 きる。

(11) 近縁種の有害生理活性物質の生産に関する事項

245 ジャガイモ近縁野生種やジャガイモの祖先であるアンディジェナジャガイモに
は、毒性物質であるグリコアルカロイドが高濃度で含まれているものが多いが、
現在、一般に栽培されているジャガイモは、育種の過程でグリコアルカロイド含
量が低くなっている（ジャガイモ事典, 2012）。

4 ベクターに関する事項

(1) 名称及び由来に関する事項

250 ジャガイモ SPS-00E12-8 の作出に用いた導入用プラスミド pSIM1278 は、プ
ラスミド pSIM108 を基本骨格として構築されている。プラスミド pSIM108 の構成
要素とその由来及び機能は明らかとなっている。

(2) 性質に関する事項

255 プラスミド pSIM108 の塩基数は 11,252 bp である。プラスミド pSIM108 の全塩基配列、制限酵素切断部位及び構成要素の性質は明らかになっており（参考資料 1）、既知の有害なたん白質を産生する塩基配列は含まれていない。

(3) 薬剤耐性に関する事項

260 プラスミド pSIM108 には、カナマイシン耐性を付与する *npt II* 遺伝子(Chen *et al.*, 2003)及び *npt III* 遺伝子 (Courvalin *et al.*, 2003) が含まれており、カナマイシンを用いることで同プラスミドを含む微生物及び植物を選抜・維持することができる。なお、形質転換に用いた導入用プラスミド pSIM1278 の構築の過程で、*npt II* 遺伝子は除去され、*npt III* 遺伝子は外骨格領域に含まれていることから、
265 植物に挿入される挿入 DNA 領域には、これらカナマイシン耐性遺伝子は含まれない。

(4) 伝達性に関する事項

270 プラスミド pSIM108 には、プラスミドの伝達を可能とする配列は含まれていない。

(5) 宿主依存性に関する事項

275 プラスミド pSIM108 には、含まれる全ての構成要素の性質は明らかにされており、植物や動物での増殖を可能とする配列を含まない。

(6) 発現ベクターの作成方法に関する事項

280 プラスミド pSIM108 を基に、アスパラギン合成酵素-1 遺伝子及びポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の 3' 非翻訳領域の各部分配列を含む第 1 カセット並びにデンプン関連たん白質遺伝子のプロモーター領域及びホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター領域の各部分配列を含む第 2 カセットからなる挿入 DNA 領域を導入し、導入用プラスミド pSIM1278 を作製した。

(7) 発現ベクターの宿主への挿入方法及び位置に関する事項

285 ジャガイモ SPS-00E12-8 はアグロバクテリウム法により導入用プラスミド pSIM1278 の T-DNA 領域を非組換え品種 Russet Burbank に導入している。

5 挿入遺伝子に関する事項

(1) 供与体に関する事項

① 名称、由来及び分類に関する事項

290 ジャガイモ SPS-00E12-8 に導入された、アスパラギン合成酵素-1 遺伝子、デンプン関連 R1 たん白質遺伝子のプロモーター領域及びホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター領域の各部分配列はジャガイモ (*S.tuberosum*) に由来し、ポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の 3'非翻訳領域の部分配列はジャガイモ近縁種 (*S. verrucosum*) に由来する。

② 安全性に関する事項

アスパラギン合成酵素-1 遺伝子、デンプン関連 R1 たん白質遺伝子のプロモーター領域及びホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター領域の各部分配列の供与体ジャガイモ (*S.tuberosum*) は、古くから食品や飼料として安全に利用されている。また、ポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の 3'非翻訳領域の部分配列の供与体であるジャガイモ近縁種 (*S.verrucosum*) は、育種において利用されている (Jansky and Hamernik, 2009)。これらの部分配列は、その転写産物によって生じる RNAi によるジーンサイレンシングを誘導するために利用されることから、新たなたん白質の発現はなく有害物質等を産生する可能性は低い。

(2) 遺伝子の挿入方法に関する事項

播種してから約 4 週目のジャガイモの節間断片を切り出し、導入用プラスミド pSIM1278 を導入したアグロバクテリウムを用いて形質転換を行った。その後、抗生物質であるチメンチンを含む培地に移すことにより (Richael *et al.*,2008)、アグロバクテリウムを排除した上で再生培地にて育成し、発達不全な幼植物体を除去することで、外骨格領域にある ipt 遺伝子(Smigocki and Owens 1988)由来の表現型を示す植物体を除去した。その後複数回の PCR 試験により、挿入 DNA を含む個体を選抜し、その茎頂を摘出し再度チメンチンを含む培地上で発根させることにより、アグロバクテリウムを除く選抜を継続して行った。

上記で選抜した個体からシュートを切り出し再生育させた後、PPO 活性(カテコール) 試験により *Ppo5* 遺伝子の均一な発現抑制が認められた個体に対し、pSIM1278 の外骨格 DNA 領域がないこと及び T-DNA 領域の挿入数をサザンプロット分析により確認し、最終的には場での能力評価の結果に基づき、最終的な商業化系統としてジャガイモ SPS-00E12-8 を選抜した。

なお、ジャガイモは栄養繁殖性の作物であるため、全ての植物体は単一起源である。ジャガイモ SPS-00E12-8 の幼植物体を培養して塊茎を生産し、その塊茎を栽培し塊茎を得ることを繰り返すことで増殖される。

(3) 構造に関する事項

① プロモーターに関する事項

ジャガイモ SPS-00E12-8 に導入された第 1、第 2 カセットには、それぞれジャガイモ (*S.tuberosum*) 由来の ADP グルコースピロホスホリラーゼ遺伝子のプロモーター領域及び顆粒結合型デンプン合成酵素遺伝子のプロモーター領域の二つのプロモーターが使用されており、これらのプロモーターはジャガイモの塊茎での発現を誘導する。

② ターミネーターに関する事項

第 1 カセット及び第 2 カセットには、ターミネーターが使用されていない。

③ 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 pSIM1278 の各構成要素の機能は既に明らかになっており、

既知の有害塩基配列は含まない。

(4) 性質に関する事項

340

導入用プラスミド pSIM1278 の挿入 DNA の各構成要素の由来及び機能について表 1 に示した。アスパラギン合成酵素-1 遺伝子、デンプン関連 R1 たん白質遺伝子、ホスホリラーゼ-L 遺伝子及びポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の機能については詳細を表外に記載した。

345

表 1 挿入 DNA の各構成要素、由来及び機能

構成要素	由来及び機能
第 1 カセット	
pAgp	ジャガイモ (<i>S.tuberosum</i>) 由来の ADP グルコースピロホスホリラーゼ遺伝子のプロモーター領域であり、ジャガイモ塊茎での発現に関与する。
fAsn1 (アンチセンス方向)	ジャガイモ (<i>S.tuberosum</i>) 由来のアスパラギン合成酵素-1 遺伝子の部分配列であり、同遺伝子の発現抑制に関与する。
tPpo5 (アンチセンス方向)	ジャガイモ近縁野生種 (<i>S. verrucosum</i>) 由来のポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の 3'末端の非翻訳領域の部分配列であり、同遺伝子の発現抑制に関与する。
tPpo5 (センス方向)	ジャガイモ近縁野生種 (<i>S. verrucosum</i>) 由来のポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の 3'末端の非翻訳領域の部分配列であり、同遺伝子の発現抑制に関与する。
fAsn1 (センス方向)	ジャガイモ (<i>S.tuberosum</i>) 由来のアスパラギン合成酵素-1 遺伝子の部分配列であり、同遺伝子の発現抑制に関与する。
pGbss	ジャガイモ (<i>S.tuberosum</i>) 由来の顆粒結合型デンプン合成酵素遺伝子のプロモーター領域であり、ジャガイモ塊茎での発現に関与する。
第 2 カセット	
pAgp	ジャガイモ (<i>S.tuberosum</i>) 由来の ADP グルコースピロホスホリラーゼ遺伝子のプロモーター領域であり、ジャガイモ塊茎での発現に関与する。
pPhL (アンチセンス方向)	ジャガイモ (<i>S.tuberosum</i>) 由来のジャガイモのホスホリラーゼ-L (PhL) 遺伝子のプロモーターの部分配列であり、同遺伝子の発現抑制に関与する。
pR1 (アンチセンス方向)	ジャガイモ (<i>S.tuberosum</i>) 由来のデンプン関連 R1 たん白質 (α -グルカン-水ジキナーゼ) 遺伝子のプロモーターの部分配列であり、同遺伝子の発現抑制に関与する。

p <i>R1</i> (センス方向)	ジャガイモ (<i>S.tuberosum</i>) 由来のデンプン関連 R1 たん白質 (α -グルカン-水ジキナーゼ) 遺伝子のプロモーターの部分配列であり、同遺伝子の発現抑制に関与する。
p <i>PhL</i> (センス方向)	ジャガイモ (<i>S.tuberosum</i>) 由来のホスホリラーゼ-L (PhL) 遺伝子のプロモーターの部分配列であり、同遺伝子の発現抑制に関与する。
p <i>Gbss</i>	ジャガイモ (<i>S.tuberosum</i>) 由来の顆粒結合型デンプン合成酵素遺伝子のプロモーター領域であり、ジャガイモ塊茎での発現に関与する。

① アスパラギン合成酵素-1 遺伝子の機能

350 アスパラギン合成酵素は、アスパラギン合成経路におけるグルタミンから
アスパラギンへのアミノ基転移を触媒する酵素であり、ジャガイモでは、主
に塊茎で発現するアスパラギン合成酵素-1 遺伝子と主に葉で発現するアスパ
ラギン合成酵素-2 遺伝子がある。ジャガイモ SPS-00E12-8 の塊茎において、
f*Asn1* の転写産物によって生じる RNAi により内在性のアスパラギン合成酵素-1
355 遺伝子の発現を抑制することで、ジャガイモ塊茎における遊離アスパラギン
の蓄積が抑制されることが確認されている (Chawla, *et al.*, 2012)。

② デンプン関連 R1 たん白質遺伝子の機能

360 デンプン関連 R1 たん白質は、ジャガイモのデンプン顆粒に結合し、デンプ
ンのリン酸化を触媒する。デンプンは、デンプン関連 R1 たん白質によりリン
酸化されると、親水性が高まり、アミラーゼによる分解を受けやすくなると
考えられている (Ritte *et al.*, 2002)。ジャガイモ SPS-00E12-8 の塊茎にお
いて、p*R1* の転写産物によって生じる RNAi により内在性の R1 たん白質遺伝子
の発現を抑制することで、リン酸化デンプン量が著しく減少するとともに、
デンプンの分解が抑制されることが確認されている (Lorberth *et al.*, 1998)。

③ ホスホリラーゼ-L 遺伝子の機能

370 ホスホリラーゼは、デンプンの加リン酸分解を触媒する酵素であり、本遺伝
子の発現抑制により、デンプンの糖への分解が抑制される。ジャガイモ SPS-
00E12-8 の塊茎において、p*PhL* の転写産物によって生じる RNAi により内在性
のホスホリラーゼ L 遺伝子の発現を抑制することで、デンプンの分解が抑制さ
れることが確認されている (Yan *et al.*, 2006)。

④ ポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の機能

375 ポリフェノール酸化酵素-5 (Ppo5) は、モノフェノール類、 σ -ジフェノール
類を酸化して o -キノン類を形成する反応を触媒する酵素であり、ジャガイモ
塊茎においては、遊離チロシン、クロロゲン酸、カフェイン酸を主な基質とし
ている。ポリフェノール酸化酵素-5 は、アミロプラストに局在しているが、物

理的衝撃により基質との接触が可能となり、フェノール類の酸化が触媒される。
Ppo5 によりフェノール類が酸化されることで生じる o-キノン類は、さらに非
酵素的な酸化・縮合反応により、最終的にたん白質と結合し、黒褐色のたん白
性ポリマーとなり、黒斑が形成される (Stevens, 1997)。ジャガイモ SPS-
00E12-8 の塊茎において、tPpo5 の転写産物によって生じる RNAi により内在性
のポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の発現を抑制することでポリフェノール類
の酸化・縮合反応による黒斑形成が低減されることが確認されている
(Bachem et al., 1994)。

(5) 純度に関する事項

導入用プラスミド pSIM1278 の挿入 DNA に目的外の遺伝子の混入がないこと
は、塩基配列解析により確認されている。

(6) コピー数に関する事項

ジャガイモ SPS-00E12-8 に導入された遺伝子のコピー数を決定し、挿入 DNA
領域及び導入用プラスミド由来の外側骨格配列の有無を確認するため、サザンブ
ロット分析を行った。その結果、ジャガイモ SPS-00E12-8 はゲノム中の 1 か所に
1 コピーの挿入 DNA 領域を持ち、導入用プラスミドの外側骨格配列が存在しない
ことが確認された (参考資料 2,3)。このことは、シーケンスキューチャ法及び
次世代シーケンシング(NGS)解析を用いた標的シーケンシング解析によっても確認
している (参考資料 11)。また、塊茎の 3 つの組織層をサンプルとして Droplet
Digital PCR (ddPCR) 試験及び PPO 活性測定法によりジャガイモ SPS-00E12-8
の全てのタイプの細胞に挿入 DNA が 1 コピー入っていることを確認した (参考資
料 9、11)。PPO 活性測定法は、ポリフェノール酸化酵素の活性を測定する方法
であり、ジャガイモの塊茎の切片にカテコールを塗布することで、カテコールの
酸化による褐色化を観察する。ジャガイモ SPS-00E12-8 の塊茎の切片では、褐変
が見られなかったことから、塊茎組織の全ての細胞が形質転換されており、ポリ
フェノール酸化酵素-5 遺伝子の発現が抑制されていると考えられた。

さらに、ジャガイモ SPS-00E12-8 への挿入 DNA の構成及び近傍配列を確認す
るため、Michigan State University(MSU) genome database(v4.03)を用いて挿入
DNA 及び近傍配列の塩基配列解析を行った。非組換えジャガイモ中の塩基配列と
比較した結果、挿入 DNA の 3'末端において 17bp が欠失していること及び 5'末端
において 92bp が欠失していること並びに挿入 DNA の導入部位において、ジャガ
イモ内在性配列に 736 bp の欠損が認められた。しかし、近傍及び欠損配列の
BLASTn 及び BLASTx 解析の結果、挿入 DNA の導入により既知の内在性遺伝子
の破壊はないと考えられた (参考資料 8)。

(7) 安定性に関する事項

ジャガイモは、塊茎による栄養生殖であるため、減数分裂を伴う有性生殖を行
う植物と比べ、挿入 DNA は安定的と考えられる。確認のため、ジャガイモ SPS-
00E12-8 から得られた DNA を用いて、サザンブロット分析を行った結果、挿入

DNA が安定して引き継がれていることが確認された（参考資料 5）。

420 また、ジャガイモ SPS-00E12-8 の栄養繁殖を繰り返しても、導入された各部分
配列の転写産物によって生じる RNAi によりアスパラギン合成酵素及びポリフェ
ノール酸化酵素の活性が低下していることを確認するため、ジャガイモ SPS-
00E12-8 の栄養繁殖により得られた塊茎部を用いて、高温加熱加工時のアクリル
425 アミド生成量の測定及び PPO 活性測定法によるポリフェノール酸化酵素活性を測
定した結果、いずれも安定して低下していることが確認された（参考資料
5,6,9,10）。なお、ポリフェノール酸化酵素活性については、ジャガイモのサイズや
採集地に関わらず安定して活性が低下していることも合わせて確認されている。

（8）発現部位、発現時期及び発現量に関する事項

430 ジャガイモ SPS-00E12-8 の各部位における、内在性のアスパラギン合成酵素-1
遺伝子、デンプン関連 R1 たん白質遺伝子、ホスホリラーゼ-L 遺伝子及びポリフ
ェノール酸化酵素-5 遺伝子の発現への影響を確認するため、ジャガイモ SPS-
00E12-8 の塊茎、ふく枝、茎、葉、花及び根を用いてノーザンブロット分析によ
り測定した。その結果、塊茎を除く部位においては、発現が抑制されていない遺
435 伝子もあったが、飼料としての安全性に対しては影響を及ぼさないと考えられた。
塊茎においては、温室栽培又は圃場栽培の栽培条件にかかわらず、目的とするす
べての遺伝子について発現が抑制されていることが確認された（参考資料 4）。

（9）抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

440 導入用プラスミド pSIM1278 には、カナマイシン耐性を付与する *nptIII* 遺伝子
が挿入 DNA 領域の外側に存在しているが、ジャガイモ SPS-00E12-8 中に *nptIII*
遺伝子が導入されていないことは、サザンブロット分析によって確認されている
（参考資料 2）。

445 （10）外来の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

 ジャガイモ SPS-00E12-8 の挿入 DNA とその両近傍配列の境界領域におけるオ
ープンリーディングフレーム（ORF）検索を行った。終止コドンから終止コドン
までの配列を 6 フレーム全てについて検索した結果、20 以上のアミノ酸がアミノ
450 酸が連続する ORF が 232 個検出された（参考資料 8）。これらの ORF について、
既知の毒性たん白質との相同性検索を行った結果、相同性は認められなかった。

6 組換え体に関する事項

（1）組換え DNA 操作により新たに獲得された性質に関する事項

455 ジャガイモ SPS-00E12-8 では、導入されたアスパラギン合成酵素-1 遺伝子、デ
ンプン関連 R1 たん白質遺伝子のプロモーター領域、ホスホリラーゼ-L 遺伝子の
プロモーター領域及びポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の 3' 非翻訳領域の各部分
配列によって生じる RNAi により、ジーンサイレンシング が誘導される。その結

460 果、ジャガイモ内在性の各遺伝子の発現が抑制されることにより、高温加熱加工
によるアクリルアミドの生成並びに物理的衝撃による打撲黒斑の形成が低減して
いる。この点を除けば、ジャガイモ SPS-00E12-8 は非組換えジャガイモと性質の
相違は認められず、飼料としての利用方法も変わらない。

(2) 遺伝子産物の毒性に関する事項

465 ジャガイモ SPS-00E12-8 には、アスパラギン合成酵素-1 遺伝子、デンプン関連
R1 たん白質遺伝子のプロモーター領域、ホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター
領域及びポリフェノール酸化酵素-5 遺伝子の 3' 非翻訳領域の各部分配列が導入さ
れているが、宿主植物と比較して新たなたん白質が産生されることは考えにくく、
470 本項に関する検討は必要ないと判断された。なお、挿入 DNA 及びその両近傍配列
において、検出された ORF に関しては、既知の毒性たん白質との相同性は認めら
れなかった。

(3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

475 ジャガイモ SPS-00E12-8 では、宿主植物と比較して新たなたん白質が産出され
ることは考えにくいため、本項に関する検討は必要ないと判断された。

(4) 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項

480 ジャガイモ SPS-00E12-8 では、ジーンサイレンシングを誘導するためにアスパ
ラギン合成酵素-1 遺伝子、デンプン関連 R1 たん白質遺伝子のプロモーター領域及
びホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター領域及びポリフェノール酸化酵素-5 遺
伝子の 3' 非翻訳領域の各部分配列が導入されており、各遺伝子の発現が抑制され
ている。

485 アスパラギン合成酵素-1 遺伝子から発現されるアスパラギン合成酵素は、アス
パラギン酸、グルタミン及び ATP を基質としてアスパラギンの合成を触媒する。
同遺伝子の発現が抑制されると、アスパラギン含量が減少するとともに基質である
グルタミン含有量は増加すると予測される。実際、アスパラギン及びアスパラギン
酸含量の合計値は統計学的に有意に減少し、グルタミン及びグルタミン酸含量の合
計値は統計学的に有意に増加したが、いずれも商業品種の分析値及び文献値の範囲
内であった。また、アスパラギン合成酵素について、アスパラギン合成以外の作用
490 は知られていない。

デンプン関連 R1 たん白質及びホスホリラーゼ-L は、それぞれデンプンの加リン
酸分解及びデンプンのリン酸化に関わり、これらの酵素を発現する遺伝子を抑制
することでデンプンの分解が抑制される。両酵素について、デンプンの分解以外の
作用は知られていない。

495 また、ポリフェノール酸化酵素は、アミロプラスト中に存在しているが、細胞
が物理的衝撃を受けることで基質であるフェノール類と接触し、これらを酸化重合
することで、打撲黒斑が形成される。同酵素の活性を増減することで、病害抵抗性
が変化した報告 (Li and Steffens, 2002、Hakimi *et al.*, 2006) もあるが、その影
響は明確ではなく、その他の作用は知られていない。実際ジャガイモ SPS-00E12-

500 8 について、ジャガイモの重要病害である葉枯れ病及び軟腐病に対する抵抗性試験を行った結果、非組換えジャガイモとの差は認められなかった（参考資料 7）。

第 1 カセット（*fAsn1* 及び *tPpo5*）及び第 2 カセット（*pPhL* 及び *pRI*）から生じる全ての siRNA が、目的外の遺伝子の発現に影響を及ぼしていないことを確認するために、ジャガイモ転写産物データベースを用いて相同性検索を行った（参考資料 12）。その結果、第 2 カセットから生じる siRNA と相同性を示す転写産物配列が 15 個認められたが、そのうち RNAi を誘導する可能性があるのは、シロイヌナズナで存在が報告されているテトラスパニン遺伝子の 1 つであり、当該遺伝子の 1 つには、葉や根の形態形成に関与していることが報告されている(Wang *et al.* 2012)。しかし、ジャガイモ SPS-00E12-8 の形態に異常は認められていない。さらに、第 2 カセットについて、目的外のプロモーターに影響を及ぼしていないことを確認するために NCBI (National Center for Biotechnology Information) のゲノムデータベースを用いて相同性検索を行ったところ、90%以上の相同性を示す配列は検出されなかった。

510 以上のことから、ジャガイモ SPS-00E12-8 において、これらの部分配列の転写産物によって生じる RNAi は、各遺伝子の発現を特異的に抑制していると考えられ、目的外の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

(5) 宿主との差異に関する事項

520 ジャガイモ SPS-00E12-8 及び非組換えジャガイモとの構成成分の同等性を評価するため、米国のほ場において栽培されたジャガイモ SPS-00E12-8、対照の非組換えジャガイモ及び非組換え商業品種²の塊茎部を用いて、①主要構成成分、②ビタミン及びミネラル、③アミノ酸、④遊離アミノ酸、⑤有害生理活性物質の分析を行った（参考資料 6）。さらに、ジャガイモ SPS-00E12-8 及び対照の非組換えジャガイモについて、高温加熱加工した塊茎部（ポテトチップス）中のアクリルアミドを分析するとともに、デンプン分解の抑制の程度を確認するために、塊茎部中の主な還元糖（果糖及びブドウ糖）及びショ糖の分析を行った。

① 主要構成成分

530 塊茎部の粗たん白質、粗脂肪、灰分、粗繊維、炭水化物、水分について分析した結果、いずれの成分も対照の非組換えジャガイモと同等であった。

② ビタミン及びミネラル

535 塊茎部の各ビタミンについて分析した結果、いずれのビタミンも対照の非組換えジャガイモと同等であった。

③ アミノ酸

塊茎部の各アミノ酸について分析した結果、Asp+Asn（アスパラギン酸＋アスパラギン）と Glu+Gln（グルタミン酸＋グルタミン）については統計学的有

²商業品種とは、Snowden 種、Chieftain 種、Red Norland 種、Ida Rose 種、Russet Burbank 種、Ranger Russet 種、Atlantic 種、G 種、H 種を指す。

意差が見られた。しかし、いずれも従来品種の範囲内であり、安全性に影響を与えとは考えにくいとされた。

④ 遊離アミノ酸

塊茎部 9 つの遊離アミノ酸について分析した結果、いずれの遊離アミノ酸も対照の非組換えジャガイモと同等又は商業品種の分析値の範囲内であった。なお、意図したとおり Asn (アスパラギン) の減少、Gln (グルタミン) の増加が見られたが、宿主植物である Russet Burbank と比較して統計的有意差は見られなかった。

⑤ 有害生理活性物質

塊茎部の有害生理活性物質として、グリコアルカロイド (α -ソラニン及び α -チャコニン) について分析した結果、対照の非組換えジャガイモと同等であった。

⑥ 還元糖及びショ糖

塊茎部の還元糖 (果糖及びブドウ糖) 及びショ糖について保存期間別 (1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月) に分析した結果、全ての保存期間のジャガイモ SPS-00E12-8 の果糖及びブドウ糖の濃度の平均値は、対照の非組換えジャガイモより低く、統計学的有意差は 1 ヶ月保存の場合にのみ認められた。なお、いずれの場合も従来品種の値及び文献値³の範囲内であった。ショ糖は 1 ヶ月保存の場合のみ統計学的有意差が見られたが、1 ヶ月保存の場合も含めて従来品種の値の範囲内であった。

⑦ アクリルアミド

フライドポテト業界の標準的な加工手順で高温加熱加工した塊茎部のアクリルアミドについて様々な保存期間の条件 (収穫すぐ、1 ヶ月～7 ヶ月) 下で分析した結果、いずれの保存期間においても対照の非組換えジャガイモと比較し、アクリルアミド量が約 1/4～1/2 となり、統計学的に有意に低下した。

(6) 外界における生存及び増殖能力に関する事項

2009 年～2011 年の間に、ジャガイモ SPS-00E12-8 のほ場試験が米国の 3-4 か所で行われているが、生存及び増殖能力は非組換えジャガイモと同等であることが確認されている。

(7) 生存及び増殖能力の制限に関する事項

ジャガイモ SPS-00E12-8 の生存・増殖能力は非組換えジャガイモと同等であり、生存・増殖能力の制限要因にも両者の間に変化はないと考えられる。

³ 参考文献は Blenkinsop et al. (2002); Matsuura Blenkinsop et al. (2002); Menendez 2002) Endo et al. (2006)

(8) 不活化法に関する事項

580 ジャガイモ SPS-00E12-8 は、耕起による土壌中への鋤き込みや除草剤の散布により不活化される(OECD, 1997)。

(9) 外国における認可等に関する事項

2014 年 11 月 米国農務省 (USDA) から無制限栽培 (商業栽培) の承認を得た
585 2015 年 3 月 米国食品医薬局 (FDA) において食品・飼料としての安全性確認が終了した
2016 年 3 月 カナダ保健省 (Health Canada) に食品としての、また、カナダ食品検査庁 (CFIA) に環境・飼料としての安全性確認が終了した。
590 2017 年 2 月 オーストラリア・ニュージーランド食品基準局 (FSANZ) において食品としての安全性確認が終了した。

(10) 作出、育種及び栽培方法に関する事項

595 ジャガイモ SPS-00E12-8 の栽培方法は非組換え品種と同様である。

(11) 種子の製法及び管理方法に関する事項

ジャガイモ SPS-00E12-8 の種いもの製法及び管理方法は非組換えジャガイモと同等である。ジャガイモ SPS-00E12-8 の種いものは、Simplot 社の種子保管庫で専用容器に入れられ保管されている。
600

7 2 から 6 までに掲げる資料により飼料の安全性に関する知見が得られていない場合は、次に掲げる試験のうち必要な試験の成績に関する事項該当しない。

605 IV 審議結果

アクリルアミド産生低減及び打撲黒斑低減ジャガイモ (SPS-00E12-8) について、「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」に基づき審議した結果、飼料として摂取する家畜等への安全上の問題はないと判断した。

610 V 参考文献及び参考資料

参考文献

1. Bachem, CWB, Speckmann G-J, van der Linde PCG, Verheggen FTM, Hunt MD, Steffens JC and Zabeau M (1994) Antisense Expression of Polyphenol Oxidase Genes Inhibits Enzymatic Browning in Potato Tubers. *Nature Biotechnology*, 12: 1101-1105.
2. Benjamini Y, Hochberg Y (1995) Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B (Methodological)*, 57: 289-300.
3. Chawla, R., Shakya, R. and Rommens, C.M. (2012) Tuber-specific silencing of *asparagine*

- synthetase-1* reduces the acrylamide-forming potential of potatoes grown in the field without affecting tuber shape and yield. Plant Biotechnology Journal, 10: 913-924
4. Chen, PY, Wang, CK, Soong, S.C To, KY (2003) Complete sequence of the binary vector pBI121 and its application in cloning T-DNA insertion from transgenic plants. Mol. Breed. 11: 287-293.
 5. Courvalin P, Weisblum B, Davies J (1977) Aminoglycoside-modifying enzyme of an antibiotic-producing bacterium acts as a determinant of antibiotic resistance in *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci USA, 74: 999-1003.
 6. Gokmen, V and Palazoglu, T.K. (2008) Acrylamide in foods during thermal processing with a focus on frying. Food Bioprocess Technol. 1, 35-42.
 7. Hakimi SM, Krohn BM, Stark DM: Monsanto Technology LLC (2006) United States Patent: Method of imparting disease resistance to plants by reducing polyphenol oxidase activities. Patent No.: US 7,122,719 B2.
 8. Horton DE and Anderson JL (1992) Potato production in the context of the world and farm economy. In: The potato crop: the scientific basis for improvement (Ed. Harris PM) Chapman and Hall, London, pp. 803
 9. Hunt MD, Eannetta NT, Yu H, Newman SM, Steffens JC (1993) cDNA cloning and expression of potato polyphenol oxidase. Plant Mol Biol, 21: 59-68.
 10. Jansky S and Hamernik A (2009) The introgression of 2 x 1 EBN solanum species into the cultivated potato using *Solanum verrucosum* as a bridge. Genet Resour Crop Evol 56, 1107-1115.
 11. Lisinska G, Leszczynski W (1989) Potato science and technology. Chapter 2: Potato tubers as a raw material for processing and nutrition (pp 11-128). Elsevier Applied Science, London.
 12. Lorberth R, Ritte G, Willmitzer L, Kossmann J (1998) Inhibition of a starch-granule-bound protein leads to modified starch and repression of cold sweetening. Nat Biotechnol, 16: 473-477.
 13. Menendez CM, Ritter E, Schafer-Pregl R, Walkemeier B, Kalde A, Salamini F, Gebhardt C (2002) Cold sweetening in diploid potato: mapping quantitative trait loci and candidate genes. Genetics, 162: 1423-1434.
 14. OECD (1997) Organization for Economic Co-Operation and Development, Consensus document on the biology of *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* (potato), 38 pages.
 15. OECD (2002) Consensus Document on Compositional Considerations For New Varieties of Potatoes: Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Toxines, 22 pages.
 16. Richael CM, Kalyaeva M, Chretien RC, Yan H, Adimulam S, Stivison A, Weeks JT, Rommens CM. (2008) Cytokinin vectors mediate marker-free and backbone-free plant transformation. Transgenic Res., 17: 905-917.
 17. Ritte G., Lloyd J.R., Eckermann N., Rottmann A., Kossmann J., Steup M. (2002) The starch-related R1 protein is an alpha -glucan, water dikinase. Proc Natl Acad Sci USA. 99, 7166-71.
 18. Rogan GJ, Bookout, JT, Duncan DR, Fuchs RL, Lavrik PB, Love SL, Mueth M, Olson T, Owens ED, Raymond PJ, Zalewski J (2000) Compositional analysis of tubers from insect

- and virus resistant potato plants. *J. Agric. Food.*, 48:5936-5945
19. Rommens CM, Yan H, Swords K, Richael C, Ye J (2008) Low-acrylamide french fries and potato chips. *Plant Biotechnol J.*, 6: 843-853.
 20. Sinden SL. (1987) Potato glycoalkaloids. *Acta Hortic.*, 207: 41-48.
 21. Smigocki AC, Owens LD (1988) Cytokinin gene fused with a strong promoter enhances shoot organogenesis and zeatin levels in transformed plant cells. *P Natl Acad Sci USA*, 85: 5131 -5135.
 22. Stevens HL and Davelaar E (1997) Biochemical Potential of Potato Tubers To Synthesize Blackspot Pigments in Relation to Their Actual Blackspot Susceptibility. *J. Agric. Food Chem.* 45:4221-4226.
 23. Talburt WF, Schwimmer S, Burr HK (1987) Structure and Chemical Composition of the Potato. In *Potato processing*. Edited by Talburt WF and Smith O, Van Nostrand Reinhold Company, New York.
 24. Van Gelder WMJ (1990) Chemistry, toxicology, and occurrence of steroidal glycoalkaloids: potential contaminants of the potato (*Solanum tuberosum* L.) In: *Poisonous plants and contamination of edible plants* (Rizk AM, Ed.), CRC Press: 117-156.
 25. Yan H, Chretien R, Ye J, Rommens CM (2006) New construct approaches for efficient gene silencing in plants. *Plant Physiol*, 141: 1508-1518.
 26. 新編農学大事典 2004. 山崎耕宇、久保祐雄、西尾敏彦、石原邦 監修. 株式会社 養賢堂発行.
 27. ジャガイモ事典 財団法人いも類振興会編集・発行 2012.
 28. 食品安全 2015. 43 2 -3.
 29. 農業技術大系 作物編 第5巻 2010. 農村漁村文化協会編.
 30. 森野和子 ,島本功 1996. 植物の相同性依存型ジーンサイレンシング、ゲノムサイエンス： 遺伝子・染色体から生機能を解明する. 大山莞爾、飯田滋、島本功 監修 . 秀潤社発行、 p161 -169
 31. 山本紀夫 2008. ジャガイモのきた道—文明・飢饉・戦争 岩波新書

参考資料（申請者提出 社外秘）

1. Construction of pSIM1278, Allergen and Open Reading Frame Assessment for E12
2. Characterization of Inserted DNA
3. Evidence for the Absence of Vector Backbone DNA
4. Efficacy and Tissue-Specificity of Gene Silencing
5. Evidence for Stability of the Inserted DNA
6. Compositional Analyses
7. Disease Susceptibility
8. Bioinformatics Evaluation of the Insert Site and Flanking Sequences
9. Black Spot Bruise Tolerance
10. PPO Activity Analysis of Russet Burbank E12 tubers
11. Assessment of Insert Number in SPS-00E12-8
12. Analysis of pSIM1278 siRNA targets and specificity

