



参考資料1

府食第640号  
平成21年7月6日

食品安全委員会  
委員長 小泉 直子 殿

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会  
座長 澤田 純一

遺伝子組換え食品等に係る食品健康影響評価に関する審議結果について

平成18年1月26日付け厚生労働省猪食安第0126001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「パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ55-1系統」に係る食品健康影響評価について、当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりですので報告します。

# 遺伝子組換え食品等評価書

パパイヤリングスポットウイルス抵抗性  
パパイヤ 55-1 系統

2009年7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> .....                      | 4  |
| 要 約 .....  | 5  |
| I. 評価対象食品の概要 .....                                       | 6  |
| II. 食品健康影響評価 .....                                       | 6  |
| 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 .....      | 6  |
| 1. 宿主及び導入DNAに関する事項 .....                                 | 6  |
| 2. 宿主の食経験に関する事項 .....                                    | 6  |
| 3. 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項 .....                             | 7  |
| 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 .....                 | 7  |
| 5. 宿主以外のものを比較対象に追加して用いる場合、その根拠及び食品としての性質に関する事項 .....     | 7  |
| 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 .....                     | 7  |
| 第2. 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項 .....                          | 8  |
| 第3. 宿主に関する事項 .....                                       | 8  |
| 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 .....                  | 8  |
| 2. 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項 .....                           | 8  |
| 3. 有害生理活性物質の生産に関する事項 .....                               | 8  |
| 4. アレルギー誘発性に関する事項 .....                                  | 8  |
| 5. 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項 .....                | 9  |
| 6. 安全な摂取に関する事項 .....                                     | 9  |
| 7. 近縁の植物種に関する事項 .....                                    | 9  |
| 第4. ベクターに関する事項 .....                                     | 9  |
| 1. 名称及び由来に関する事項 .....                                    | 9  |
| 2. 性質に関する事項 .....  | 9  |
| 第5. 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項 .....                 | 10 |
| 1. 挿入DNAの供与体に関する事項 .....                                 | 10 |
| 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 ..... | 10 |
| 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 .....                   | 11 |
| 4. ベクターへの挿入DNAの組込方法に関する事項 .....                          | 12 |
| 5. 構築された発現ベクターに関する事項 .....                               | 12 |
| 6. DNAの宿主への導入方法及び交配に関する事項 .....                          | 13 |
| 第6. 組換え体に関する事項 .....                                     | 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   | 17 |
| 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 | 17 |
| 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            | 17 |
| 5. 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項                | 19 |
| 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            | 19 |
| 7. 宿主との差異に関する事項                           | 20 |
| 8. 諸外国における認可、食用等に関する事項                    | 21 |
| 9. 栽培方法に関する事項                             | 21 |
| 10. 種子の製法及び管理方法に関する事項                     | 21 |
| 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  | 21 |
| III. 食品健康影響評価結果                           | 21 |
| <参照>                                      | 22 |

### <審議の経緯>

|                   |   |
|-------------------|---|
| 2006年1月26日        | 厚生労働大臣より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（厚生労働省発食安第0126001号）、関係書類の接受<br>第129回食品安全委員会（要請事項説明） |
| 2006年2月2日         | 第37回遺伝子組換え食品等専門調査会  |
| 2006年2月27日        | 第60回遺伝子組換え食品等専門調査会  |
| 2008年3月17日        | 第70回遺伝子組換え食品等専門調査会  |
| 2009年5月19日        | 第287回食品安全委員会（報告）  |
| 2009年5月28日        | 国民からの御意見・情報の募集  |
| 2009年5月28日より6月26日 | 遺伝子組換え食品等専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告   |
| 2009年7月6日         |   |

### <食品安全委員会委員名簿>

| (2006年6月30日まで) | (2006年12月20日まで) | (2009年6月30日まで) |
|----------------|-----------------|----------------|
| 寺田雅昭（委員長）      | 寺田雅昭（委員長）       | 見上彪（委員長）       |
| 寺尾允男（委員長代理）    | 見上彪（委員長代理）      | 小泉直子（委員長代理*）   |
| 小泉直子           | 小泉直子            | 長尾拓            |
| 坂本元子           | 長尾拓             | 野村一正           |
| 中村靖彦           | 野村一正            | 畠江敬子           |
| 本間清一           | 畠江敬子            | 廣瀬雅雄**         |
| 見上彪            | 本間清一            | 本間清一           |

\* : 2007年2月1日から

\*\* : 2007年4月1日から

(2009年7月1日から)

小泉直子（委員長）

長尾拓

野村一正

畠江敬子

廣瀬雅雄

見上彪

村田容常

<食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿>

(2007年9月30日まで)

早川堯夫（座長）

澤田純一（座長代理）

五十君靜信

池上幸江

今井田克己

宇理須厚雄

小関良宏

橘田和美\*\*

澁谷直人

手島玲子

丹生谷博

日野明寛\*

室伏きみ子

山川 隆

山崎 壮

渡邊雄一郎

(2007年10月1日から)

澤田純一（座長）

鎌田 博（座長代理）

五十君靜信

石見佳子

宇理須厚雄

小関良宏

橘田和美

澁谷直人

手島玲子

丹生谷博

飯 哲夫

山川 隆

山崎 壮

和久井信

渡邊雄一郎

\* : 2006年7月31日まで

\*\* : 2006年10月1日から

## 要 約

「パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 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。

「パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統」は、パパイヤリングスポットウイルス (PRSV) HA5-1 株に由来する *PRSV CP* 遺伝子を導入して作製されており、PRSV の感染による影響を受けずに生育できるとされている。なお、本品種には選択マーカーとして、*Escherichia coli* に由来するカナマイシン耐性遺伝子及びβ-グルクロニダーゼ遺伝子が導入されている。

PRSV は、多くのパパイヤに自然感染しており、また、強毒の PRSV の感染を防ぐために、弱毒化した PRSV を人工感染させたパパイヤが販売されている。導入した *PRSV CP* 遺伝子は、感染した PRSV の *PRSV CP* 遺伝子との相互作用により、双方の *PRSV CP* 遺伝子の発現が抑制されるという現象（転写後遺伝子サイレンシング）により、PRSV に抵抗性を有する。

「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）に基づき評価した結果、「パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統」はヒトの健康を損なうおそれはないものと判断した。

## I. 評価対象食品の概要

名 称 : パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統  
性 質 : パパイヤリングスポットウイルス抵抗性  
申請者 : ハワイパパイヤ産業協会  
開発者 : コーネル大学、ハワイ大学、アップジョン社

「パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ 55-1 系統」（以下、「パパイヤ 55-1」という。）は、弱毒化したパパイヤリングスポットウイルス（PRSV）HA5-1 株に由来する *PRSV CP* 遺伝子を導入して作製されており、PRSV の感染による影響を受けずに生育できるとされている。なお、パパイヤ 55-1 には選択マークとして *Escherichia coli* に由来するカナマイシン耐性遺伝子（*nptII* 遺伝子）及びβ-グルクロニダーゼ遺伝子（*uidA* 遺伝子）が導入されている。

## 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、スミレ目（Violales）、パパイヤ科（Caricaceae）に属するパパイヤ（*Carica papaya L.*）の栽培品種 Sunset である。

##### (2) DNA 供与体の種名及び由来

*PRSV CP* 遺伝子の供与体は、弱毒化した PRSV HA5-1 株であり、*nptII* 遺伝子及び *uidA* 遺伝子の供与体は *E. coli* である。

##### (3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

*PRSV CP* 遺伝子は、転写後遺伝子サイレンシングの働きによりパパイヤに PRSV 抵抗性を付与する。選択マークー遺伝子である *nptII* 遺伝子はネオマイシンフォスフォトランスクフェラーゼ（NPTⅡタンパク質）を発現し、カナマイシン等の抗生物質に対する耐性を付与し、*uidA* 遺伝子は酵素β-グルクロニダーゼ（GUS タンパク質）を発現し、インドール誘導体とβ-グルクロン酸の配糖体（X-GlcA）を加水分解し、色素を生成する。

これらの挿入 DNA を含む発現ベクター pGA482GG/cpPRV-4 をパーティクルガン法により宿主に導入した。

#### 2. 宿主の食経験に関する事項

パパイヤは中南米を原産とする熱帯果樹であり（参照 1）、1,500 年代にフィリピンやインドへ運ばれ、その後、熱帯アジア、アフリカ、南太平洋地域に普及したとされている。現在、中南米、東南アジアなどの多くの熱帯及び亜熱帯地域

で栽培されており、重要な商業作物とされ、長期にわたり食品として摂取されている（参照 2, 3, 4）。我が国においても沖縄県を中心に商業栽培されている（参照 5）。

### 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

完熟パパイヤの果実の主要構成成分はタンパク質約 0.6%、脂質約 0.2%、灰分約 0.5%、炭水化物約 13%、水分約 86%と報告されている（参照 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

パパイヤには、毒性物質・栄養阻害物質等として、ベンジルイソチオシアニ酸塩 (BITC)、パパイン及びカルパインが含まれる。果実中の含有率は、BITC は 0.4~1.4 ppm、パパインは 50.9~67.4 µg/g 生重であり、カルパインは葉に存在し、果実からは検出されていない（参照 6, 7）。

### 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

パパイヤ 55-1 の収穫時期及び貯蔵方法は、従来のパパイヤと変わらない。

#### （2）摂取（可食）部位

パパイヤ 55-1 の可食部位は、従来のパパイヤと変わらない。

#### （3）摂取量

パパイヤ 55-1 の摂取量は、従来のパパイヤと変わらない。

#### （4）調理及び加工方法

パパイヤ 55-1 の調理及び加工方法は、従来のパパイヤと変わらない。

### 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

パパイヤ 55-1 は、*PRSV CP* 遺伝子発現カセット、*nptII* 遺伝子発現カセット及び *uidA* 遺伝子発現カセットの導入により、*PRSV CP* mRNA、NPT II タンパク質及び GUS タンパク質を発現することが、宿主との相違点である。

以上、1～6 により、パパイヤ 55-1 の安全性評価においては、既存のパパイヤとの比較が可能であると判断された。

## 第2. 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

パパイヤ 55-1 は、挿入された *PRSV CP* 遺伝子による転写後遺伝子サイレンシングの働きにより、*PRSV* の感染による影響を受けずに生育することが可能であるとされている。

## 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、スミレ目 (Violales) パパイヤ科 (Caricaceae) に属するパパイヤ (*C. papaya* L.) の栽培品種 Sunset 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

パパイヤの原産地は、熱帯アメリカの熱帯果樹であり、比較的早い時期に近縁とされている南アメリカの *Vasconcellea* 種と分岐し、中央アメリカで独自に進化していったと考えられている（参照 8）。その後、南部メキシコと北部ホンジュラス間の地域で、長期間にわたる選抜の繰り返しにより栽培種になったとされている（参照 2）。

### 3. 有害生理活性物質の生産に関する事項

パパイヤには、毒性物質・栄養阻害物質等として、BITC、パパイン及びカルパインが含まれている。

このうち BITC は、哺乳類の様々な器官の機能障害を引き起こすとされており（参照 11）、酵素のミロシナーゼが基質のグルコシノレートを触媒することにより产生される。ミロシナーゼは種子を覆う肉質種子に含まれており、グルコシノレートは内胚乳に含まれているため、種子が碎かれるか、傷をつけられない限り、多量の BITC が产生されることはない（参照 9）。また、基質のグルコシノレートは、植物体の乳液にも含まれているが、乳液成分は成熟と共に減少するため、果実における BITC の濃度も減少することが知られている（参照 10）。

パパインはタンパク質分解酵素であり、妊娠中の胎児への影響や皮膚の炎症が懸念されている（参照 12, 13）。しかし、パパインを含む乳液成分は、成熟と共に減少するため、完熟果実におけるパパイン濃度は極めて低いとされている（参照 14）。

アルカロイドの一種であるカルパインは、生理活性を有するとの報告があるが（参照 15, 16）、この成分はパパイヤの葉に存在するものであり、果実からは検出されていない（参照 15, 17, 18）。

パパイヤ果実中の BITC 含有量は 0.4~1.4 ppm、パパインの含有量は 50.9~67.4 µg/g 生重、カルパイン含有量は検出限界（20 ng/g 生重）以下である（参照 6, 7）。

### 4. アレルギー誘発性に関する事項

パパイヤの果肉及びその果汁によってアレルギーが発症すると報告されている。

このアレルギーは、パパイン等のシステインタンパク質分解酵素によって引き起こされるとされている（参照 19）。

## 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

パパイヤには、PRSV 等の各種病害が知られているが（参照 20）、それらが人や動物に感染することは知られていない。

## 6. 安全な摂取に関する事項

パパイヤは中南米を原産とする熱帯果樹であり（参照 1）、1,500 年代にフィリピンやインドへ運ばれ、その後、熱帯アジア、アフリカ、南太平洋地域に普及したとされている。現在、中南米、東南アジアなどの多くの熱帯及び亜熱帯地域で栽培されており、重要な商業作物とされ、長期にわたり食品として摂取されている（参照 2, 3, 4）。我が国においても沖縄県を中心に商業栽培されている（参照 5）。

成熟パパイヤは主に生食用として利用され、また、未熟なパパイヤの乳液から抽出したパパインは、食肉軟化剤や消化薬としても利用されている（参照 20）。

パパイヤは、2007 年では約 700 万トンが生産されており（参照 21）、我が国でも 2007 年度には約 4 千トンが輸入されている（参照 22）。

## 7. 近縁の植物種に関する事項

パパイヤは、パパイヤ属に属する唯一の種であるため、同じ属の近縁種は存在しない。

## 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

パパイヤ 55-1 の作出に用いた発現ベクター pGA482GG/cpPRV-4 は、プラスミド pGA482GG を用いて作成された（参照 23, 24）。

### 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 pGA482GG の塩基数は 17.5kb であり、その塩基配列は明らかとなっている。

#### (2) 制限酵素による切断地図に関する事項

プラスミド pGA482GG の制限酵素切断地図は明らかとなっている。

#### (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 pGA482GG の塩基配列は明らかにされており、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 pGA482GG には、*nptII* 遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子 (*tetA* 遺伝子) 及びゲンタマイシン耐性遺伝子 (*aacC3* 遺伝子) が含まれている。

これら遺伝子の宿主ゲノムへの挿入の有無及び発現を確認するため、サザンプロット分析及びノーザンプロット分析を行った。その結果、*tetA* 遺伝子の断片が挿入されていたが発現は認められず、また、*aacC3* 遺伝子は挿入されていないことが確認された（参照 25, 26, 27）。

#### (5) 伝達性に関する事項

プラスミド pGA482GG 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

*PRSV CP* 遺伝子の由来は *Potyviridae* 科 *Potyvirus* 属に属するパパイヤリングススポットウイルス (PRSV) HA5-1 株である。また、*nptII* 遺伝子及び *uidA* 遺伝子の由来は *E. coli* である。

##### (2) 安全性に関する事項

*PRSV CP* 遺伝子の供与体である PRSV は、多くのパパイヤに自然感染しており、これまで病徵があまり現れていない個体は食用に供されており、また、強毒の PRSV の感染を防ぐために、弱毒化した PRSV を人工感染させたパパイヤが販売されている。これまでこれらのパパイヤによる健康被害は報告されておらず、また、PRSV がヒトに対して病原性等を示す報告はない。

*nptII* 遺伝子及び *uidA* 遺伝子の供与体である *E. coli* は、ヒトの腸管内に存在する一般的な細菌である（参照 28）。

#### 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

###### ・ *PRSV CP* 遺伝子

PRSV の強毒株である PRSV HA 株を亜硝酸処理し、弱毒化した PRSV HA5-1 株よりクローニングした。

###### ・ *nptII* 遺伝子及び *uidA* 遺伝子

*nptII* 遺伝子及び *uidA* 遺伝子は、いずれも *E. coli* に由来し、プラスミド pGA482GG に含まれている。

插入 DNA の構成要素は表のとおりである。

#### (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

パパイヤ55-1に導入された挿入DNAの塩基数及び塩基配列は明らかであり、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

##### ・*PRSV CP* 遺伝子

*PRSV CP* 遺伝子は、感染した PRSV の *PRSV CP* 遺伝子との相互作用により、双方の *PRSV CP* 遺伝子の発現が抑制されるという現象（転写後遺伝子サイレンシング）が起きる。その結果、パパイヤ 55-1 は PRSV に抵抗性を有することとなる（参考 29）。

##### ・*npt II* 遺伝子

*npt II* 遺伝子がコードする NPTⅡタンパク質は、カナマイシンやネオマイシン等の抗生物質のリン酸化を触媒する酵素である。このリン酸化により、これらの抗生物質によるミトコンドリアや葉緑体のリボソームサブユニットへの作用を抑制することができることから（参照 30）、選択マーカーとして使用された。

##### ・*uidA* 遺伝子

*uidA* 遺伝子がコードする GUS タンパク質は、インドール誘導体とβ-グルクロン酸の配糖体（X-GlcA）を加水分解し、青色色素を生成することから、選択マーカーとして使用された。

PRSV タンパク質、NPTⅡタンパク質及び GUS タンパク質が既知の毒性タンパク質との間に構造相同性がないことを確認するため、NCBI の ORF finder を用いてオープンリーディングフレーム（ORF）検索を行い、検出された ORF について、NCBI データベースに対し、blastp を用いてアミノ酸相同検索を行った。その結果、相同性を有する既知の毒性タンパク質は見いだされなかった（参照 32）。

#### (4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項

パパイヤ 55-1 には、抗生物質耐性マーカーである *npt II* 遺伝子が挿入されている。*npt II* 遺伝子が発現する NPTⅡタンパク質は、哺乳動物の胃で消化されること、酵素活性に不可欠な補助因子であるアデノシン-3-リン酸（ATP）は酸性下では不安定なこと、ATP の濃度は NPTⅡタンパク質の酵素活性に必要とされる濃度より低いこと、また、マウスを用いた急性毒性試験の結果、有害な影響は認められていないことから、安全性に問題ないことが示されている（参考 33）。

### 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

*PRSV CP* 遺伝子発現カセット及び *uidA* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、CaMV 由来の 35S プロモーターであり、*npt II* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、CaMV 由来の 35S プロモーターである。

ロモーターは、*Agrobacterium tumefaciens*Ti プラスミド由来のノパリン合成酵素遺伝子のプロモーター領域である（参照 34, 35, 36）。

(2) ターミネーターに関する事項

*PRSV CP* 遺伝子発現カセットのターミネーターは、CaMV 由来の 35S ターミネーターである。*npt II* 遺伝子発現カセット及び *uidA* 遺伝子発現カセットのターミネーターは、*A. tumefaciens*Ti プラスミド由来のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター領域である（参照 34, 36）。

(3) その他

上記のプロモーター及びターミネーター以外、挿入遺伝子の発現制御に関する塩基配列は組み込まれていない。

#### 4. ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

発現ベクター pGA482GG/cpPRV-4 は、*npt II* 遺伝子発現カセット及び *uidA* 遺伝子発現カセットを含むプラスミド pGA482GG に、*PRSV CP* 遺伝子発現カセットを挿入して構築した。

#### 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

発現ベクター pGA482GG/cpPRV-4 の塩基数は 19,567bp であり、塩基配列、制限酵素による切断地図は明らかとなっている。

(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ドィングフレームが含まれていないこと

・発現ベクター pGA482GG/cpPRV-4 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れていない（参照 32）。

(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、発現ベクターの *npt II* 遺伝子発現カセットの *nos* プロモーターから *uidA* 遺伝子発現カセットの *nos* ターミネーターまでの領域で、*npt II* 遺伝子発現カセット、*PRSV CP* 遺伝子発現カセット及び *uidA* 遺伝子発現カセットが含まれる。

(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

意図する挿入領域内には、目的外の遺伝子の混入はない。