

表 パパイヤ 55-1 への挿入 DNA

<i>npt II</i> 遺伝子発現カセット	
<i>nos</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） <i>A. tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子のプロモーター
<i>npt II</i> 遺伝子	<i>E. coli</i> のトランスポゾン Tn5 由来の NPT II タンパク質をコードする遺伝子
<i>nos</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） <i>A. tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター
<i>PRSV CP</i> 遺伝子発現カセット	
CaMV 35S 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） CaMV 由来の 35S プロモーター
<i>PRSV CP</i> 遺伝子	PRSV HA5-1 株から得られた PRSV の外被タンパク質をコードする遺伝子。なお、 <i>PRSV CP</i> 遺伝子の N 末端には、CMV の外被タンパク質をコードするアミノ酸の最初の 16 個が融合している。
CaMV 35S 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） CaMV 由来の 35S ターミネーター
<i>uidA</i> 遺伝子発現カセット	
CaMV 35S 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） CaMV 由来の 35S プロモーター
<i>uidA</i> 遺伝子	<i>E. coli</i> 由来の GUS タンパク質をコードする遺伝子
<i>nos</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） <i>A. tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター

6. DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項

発現ベクター pGA482GG/cpPRV-4 をパーティクルガン法により、宿主に導入した後、カナマイシン添加培地で選択培養し、GUS 活性を指標に選抜した個体を植物体に分化させた。得られた個体について挿入遺伝子及びタンパク質の発現を確認し、PRSV HA 株の接種試験により、PRSV 抵抗性の個体を選抜した（参照 38）。選抜個体の自殖を重ね、また、その後の交配によりパパイヤ 55-1 を得た。

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

パパイヤ 55-1 のゲノムに挿入されたそれぞれの遺伝子発現カセットのコピー数及び完全性並びに発現ベクターの外骨格配列が挿入されているかを明らかにするため、サザンブロット分析、塩基配列の解析及び PCR 分析等を行った。その結果、次の 3 つの DNA 領域が 1 コピーずつ宿主ゲノムに挿入されていることが確認された。

- ・ *bla* 遺伝子断片、*oriColE1*、*uidA* 遺伝子発現カセット、*PRSV CP* 遺伝子発現カセット、*npt II* 遺伝子発現カセット及び *oriV* 断片から構成される領域 (挿入領域 A)
- ・ *npt II* 遺伝子断片領域 (挿入領域 B)
- ・ *tetA* 遺伝子断片及び発現ベクターの外骨格より構成される領域 (挿入領域 C)

① 挿入領域 A

目的の挿入領域 (*uidA* 遺伝子発現カセット、*PRSV CP* 遺伝子発現カセット、*npt II* 遺伝子発現カセット) に加え、発現ベクター pGA482GG/cpPRV-4 において目的の挿入領域と隣接する *bla* 遺伝子断片、*oriColE1* 及び *oriV* 断片が挿入されていることが確認された。(図 1 参照)

挿入領域 A の全塩基配列を解析した結果、*PRSV CP* 遺伝子発現カセットを含む領域で塩基の変異が認められたが (参照 37)、*PRSV CP* 遺伝子のコード領域中では変異は起こっておらず、PRSV CP タンパク質の発現に影響を及ぼすものではないことが確認された。また、*npt II* 遺伝子発現カセット及び *uidA* 遺伝子発現カセットはそれぞれ完全な形で挿入されていた。

挿入領域 A の近傍配列がそれぞれパパイヤゲノム由来であることを確認するため、パパイヤ 55-1 の配列に基づいて、5'末端近傍配列、挿入領域 A 及び 3'末端近傍配列にプライマーを設計し、PCR 分析を行った。その結果、近傍配列内のプライマー対を用いた PCR では、パパイヤ 55-1 及び非組換えパパイヤの両方で同じ大きさの PCR 産物が増幅された。一方、近傍配列及び挿入領域 A のプライマー対を用いた PCR では、パパイヤ 55-1 のみに特異的な PCR 産物が増幅された (参照 43, 44, 45)。これらのことから、挿入領域 A の近傍配列はパパイヤゲノム由来であると考えられた。

挿入領域 A の挿入により、既知の内在性の遺伝子が損なわれていないことを確認するために、挿入領域 A の 5'末端近傍配列 (1,501bp) 及び 3'末端近傍配列 (1,500bp) について、NCBI データベースを用いて blastn 検索を行った (参照 37, 46)。その結果、パパイヤの葉緑体ゲノムに由来する遺伝子 (*trnS* 遺伝子、*trnL* 遺伝子、*trnF* 遺伝子及び *ycf3* 遺伝子) と高い相同性を示した。しかし、核ゲノムに存在する葉緑体ゲノムの遺伝子は、今日の葉緑体と植物核ゲノムが形成された DNA 移入の過程で残ったものと考えられていること (参照 39, 40)、葉緑体ゲノムの遺伝子は、葉緑体に特有の転写・翻訳システムにより発現するため、葉緑体のみで機能すること (参照 41, 42)、挿入領域 A は葉緑体ゲノムには挿入されていないこと、パパイヤの成分分析や生育特性にお

いて非組換えパパイヤとの間で生物学的に意味のある差異は認められていないことから、相同性が認められた遺伝子は機能を有している可能性は低いと考えられた（参照 43）。これらのことから、挿入領域 A の挿入により、機能を有する既知の内在性の遺伝子を破壊している可能性は低いと考えられた。

② 挿入領域 B

nptII 遺伝子の断片 290bp が挿入されていることが確認された。（図 2 参照）

挿入領域 B の近傍配列がそれぞれパパイヤゲノム由来であることを確認するため、パパイヤ 55-1 の配列に基づいて、5'末端近傍配列、挿入領域 B 及び 3'末端近傍配列にプライマーを設計し、PCR 分析を行った。その結果、近傍配列内のプライマー対を用いた PCR では、パパイヤ 55-1 及び非組換えパパイヤの両方で同じ大きさの PCR 産物が増幅された。一方、近傍配列及び挿入領域 B のプライマー対を用いた PCR では、パパイヤ 55-1 のみに特異的な PCR 産物が増幅された（参照 43, 44, 45）。これらのことから、挿入領域 B の近傍配列はパパイヤゲノム由来であると考えられた。

挿入領域 B の挿入により、既知の内在性の遺伝子が損なわれていないことを確認するために、挿入領域 B の 5'末端近傍配列（363bp）及び 3'末端近傍配列（828bp）について、NCBI データベースを用いて blastn 検索を行った。その結果、パパイヤの葉緑体ゲノムに由来する遺伝子（*ndhG* 遺伝子、*atpB* 遺伝子及び *atpE* 遺伝子）と高い相同性を示した（参照 46, 47）。しかし、核ゲノムで相同性が認められたこれらの葉緑体ゲノムの遺伝子は、前述の①のとおり、機能を有している可能性は低いと考えられた（参照 44）。これらのことから、挿入領域 B の挿入により、機能を有する既知の内在性の遺伝子を破壊している可能性は低いと考えられた。

③ 挿入領域 C

tetA 遺伝子の断片 222bp が発現ベクター pGA482GG/cpPRV-4 の外骨格配列に挟まれた形で挿入されていることが確認された（図 3 参照）。

tetA 遺伝子断片が発現しているかをノーザンブロット分析により確認した結果、*tetA* 遺伝子断片は発現していないことが確認された。

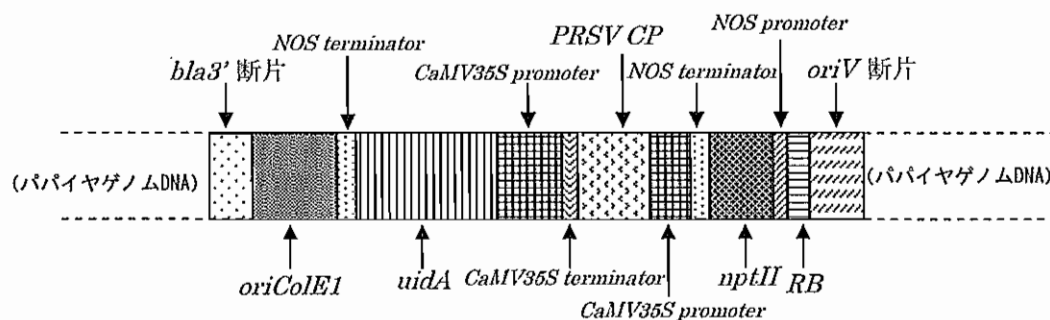
挿入領域 C の近傍配列がそれぞれパパイヤゲノム由来であることを確認するため、パパイヤ 55-1 の配列に基づいて、5'末端近傍配列、挿入領域 C 及び 3'末端近傍配列にプライマーを設計し、PCR 分析を行った。その結果、近傍配列内のプライマー対を用いた PCR では、パパイヤ 55-1 及び非組換えパパイヤの両方で同じ大きさの PCR 産物が増幅された。一方、近傍配列及び挿入領域 C のプライマー対を用いた PCR では、パパイヤ 55-1 のみに特異的な PCR 産物が増幅された（参照 43, 44, 45）。これらのことから、挿入領域 C の近傍配列はパパイヤゲノム由来であると考えられた。

挿入領域 C の挿入により、既知の内在性の遺伝子が損なわれていないことを確認するために、挿入領域 C の 5'末端近傍配列（1,372bp）及び 3'末端近傍配

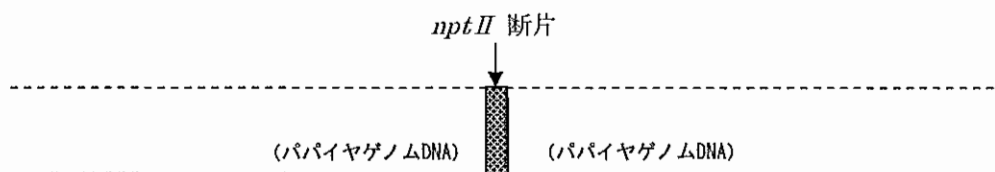
列 (1,706bp) について、NCBI データベースを用いて blastn 検索を行った (参照 46, 48)。その結果、パパイヤの葉緑体ゲノムに由来する遺伝子 (*ycf2* 遺伝子) と高い相同性を示した。しかし、核ゲノムで相同性が認められたこの遺伝子は、前述の①のとおり、機能を有している可能性は低いと考えられた (参照 45)。これらのことから、挿入領域 C の挿入により、機能を有する既知の内在性の遺伝子を破壊している可能性は低いと考えられた。

・組換えパパイヤ「パパイヤ 55-1」に挿入された DNA (模式図)

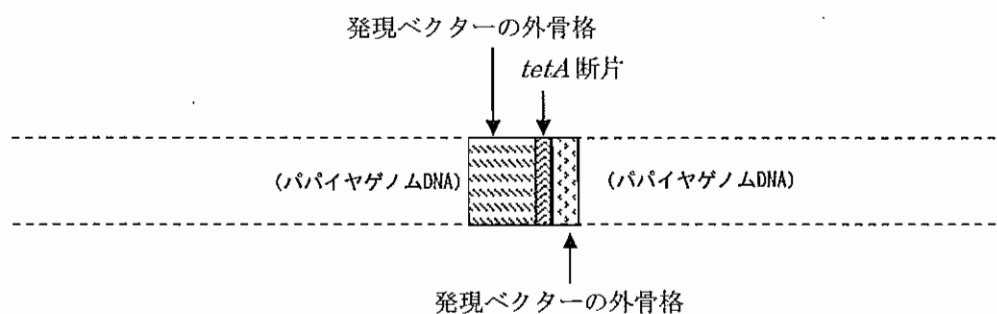
(図 1 : 挿入領域 A)



(図 2 : 挿入領域 B)



(図 3 : 挿入領域 C)



(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

挿入領域 A と 5'末端近傍配列 (1,501bp) 及び 3'末端近傍配列 (1,500bp) との接合部において、挿入領域 B と 5'末端近傍配列 (363bp) 及び 3'末端近傍配列 (828bp) との接合部において、挿入領域 C と 5'末端近傍配列 (1,372bp) 及び 3'末端近傍配列 (1,706bp) 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、6 つの読み枠について ORF を分析した結果、相同性を示す既知の毒性タンパク質及びアレルゲンは見いだされなかった (参照

32, 49, 50)。

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

パパイヤ 55-1 の果実における PRSV CP タンパク質、NPT II タンパク質及び GUS タンパク質の発現量を ELISA 法により測定した。

その結果、PRSV CP タンパク質の平均発現量は、Rainbow 品種で約 6.3 µg/g 生重、SunUp 品種では検出されなかった。なお、PRSV に感染した非組換えパパイヤでは 48.5µg/g 生重であった（参照 51）。

NPT II タンパク質の平均発現量は、Rainbow 品種で約 72 ng/g 生重、Sunup 品種で 396ng/g 生重だった（参照 52）。GUS タンパク質の発現量の範囲は、Rainbow 品種で 8.43～890.30ng/g 生重だった（参照 53）。

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 1 人が 1 日に摂取するパパイヤの摂取量を 1 個（平均果実重量 567.0g）と仮定し、全てをパパイヤ 55-1 として計算すると、1 人 1 日当たりの PRSV CP タンパク質、NPT II タンパク質及び GUS タンパク質の摂取量はそれぞれ、3.57 mg、40.82µg 及び 504.80µg となり、日本人 1 人が 1 日に摂取するタンパク質量 70.8 g（参照 54）に占める割合はそれぞれ、 $5.0 \times 10^{-3}\%$ 、 $5.74 \times 10^{-5}\%$ 及び $7.1 \times 10^{-4}\%$ となる。したがって、これらのタンパク質が一日蛋白摂取量の有意な量を占めないと判断される。

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

(1) 挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性

PRSV CP 遺伝子の供与体である PRSV 並びに *uidA* 遺伝子及び *npt II* 遺伝子の供与体である *E.coli* について、ヒトに対する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

PRSV CP タンパク質、NPT II タンパク質及び GUS タンパク質がアレルギー誘発性を持つという知見は報告されていない。

なお、PRSV は多くのパパイヤに自然感染しており、病徴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とから、PRSV CP タンパク質はパパイヤとともに食されていると考えられており、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いない。

(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

・ PRSV CP タンパク質

E. coli で発現させた PRSV CP タンパク質を人工胃液中で処理し、

SDS-PAGE 法及びウェスタンブロット法により分析を行った結果、いずれの方法においても、試験開始後 5 秒以内に消化された（参照 55）。

- ・ NPTII タンパク質

NPTII タンパク質は、人工胃液との反応開始後 10 秒以内に消化されたこと、人工胃液中において NPTII タンパク質の酵素活性は 2 分後に消失することが報告されている（参照 33, 56）。

- ・ GUS タンパク質

GUS タンパク質は、人工胃液中で 15 秒以内に消化されることが報告されている（参照 57）。

② 人工腸液に対する感受性

- ・ PRSV CP タンパク質

E. coli で発現させた PRSV CP タンパク質を人工腸液中で処理し、ウェスタンブロット法により分析を行った結果、試験開始後 10 分以降から分解産物が認められ、15 分後には当該タンパク質の 50%以上が分解された（参照 55）。

- ・ NPTII タンパク質

NPTII タンパク質は、人工腸液との反応開始後 2 分から 5 分後に 50%が消化されることが報告されている（参照 33, 56）。

- ・ GUS タンパク質

GUS タンパク質を発現する *uidA* 遺伝子は、これまで我が国で安全性が確認された遺伝子組換え作物においても挿入されており、人工腸液中で GUS タンパク質の免疫反応性は、240 分後にほぼ検出されなくなり、その酵素活性の約 90%が消失するとされている（参照 58）。

(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

- ・ PRSV CP タンパク質

PRSV CP タンパク質について、既知アレルゲンとの構造相同性を確認するため、アレルゲンデータベース^{1,2}を用いて相同性検索を行った。その結果、80 残基以上のアミノ酸について、35%以上の相同性を有するアミノ酸配列は見いだされなかった。また、アミノ酸配列中の抗原決定基の存在の可能性を確認するため、連続する 8 つのアミノ酸配列の相同性検索を行った結果、相同性を有するアミノ酸配列は見いだされなかった（参照 32, 61）。

- ・ NPTII タンパク質

¹ The Protein Information Resource (PIR)、the Central Science Laboratory (UK)、the National Center for Food Safety and Technology database 及び Allergen Online

² Structural Database of Allergenic Proteins (SDAP)

NPTII タンパク質について、既知アレルゲンとの構造相同性を確認するため、アレルゲンデータベース²を用いて相同性検索を行った。その結果、80 残基以上のアミノ酸について、35%以上の相同性を有するアミノ酸配列は見いだされなかった。また、アミノ酸配列中の抗原決定基の存在の可能性を確認するため、連続する 8 つのアミノ酸配列の相同性検索を行った結果、相同性を有するアミノ酸配列は見いだされなかった（参照 32）。

・ GUS タンパク質

GUS タンパク質について、既知アレルゲンとの構造相同性を確認するため、アレルゲンデータベース²を用いて相同性検索を行った。その結果、80 残基以上のアミノ酸について、35%以上の相同性を有するアミノ酸配列は見いだされなかった。また、アミノ酸配列中の抗原決定基の存在の可能性を確認するため、連続する 8 つのアミノ酸配列の相同性検索を行った結果、相同性を有するアミノ酸配列は見いだされなかった（参照 32）。

上記、（1）～（4）及び前項 3 から総合的に判断し、PRSV CP タンパク質、NPTII タンパク質及び GUS 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

パパイヤ 55-1 の挿入遺伝子について、後代における安定性を確認するために、4 世代のゲノム DNA について、サザンブロット分析を行った。その結果、各世代において共通のバンドが確認された（参照 27）。

また、PRSV CP タンパク質、NPTII タンパク質及び GUS タンパク質が安定して発現していることを確認するために、ELISA 法及び呈色反応による分析を行った結果、複数世代にわたって安定して発現していることが確認された（参照 66）。

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

・ PRSV CP タンパク質

PRSV CP タンパク質は、ウイルスの核酸を包み込み、保護するための構造タンパク質である（参照 67, 68）。これまでに PRSV CP タンパク質が何らかの酵素活性を有することは報告されていないことから、PRSV CP タンパク質が宿主の代謝経路へ影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

・ NPTII タンパク質

NPTII タンパク質は、アミノグリコシド系抗生物質のアミノ配糖分子の水酸基をリン酸化する反応を触媒する酵素である（参照 69）。NPTII タンパク質は、ネオマイシン、カナマイシン、パロモマイシン、リボスタマイシン、ブチロシン等のアミノグリコシド系抗生物質のリン酸化反応にのみ関与することが報告されており（参照 70, 71）、NPTII タンパク質は高い基質特異性を持つことが示唆されている（参照 70）。これまで、パパイヤには、アミノグリコシド系抗生物質に構造的に類似した化合物が含まれているという報告がないことか

ら、NPT II タンパク質の発現が宿主の代謝経路へ影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

・ GUS タンパク質

GUS タンパク質は β -グルクロニドを加水分解する酵素である。植物における β -グルクロニドの生理活性は明らかではないが、グルクロニドは水に易溶性の二次代謝物として液胞やアポプラストへ移送されることが知られている（参照 72）。このことから、GUS タンパク質の発現が宿主の代謝経路へ影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

7. 宿主との差異に関する事項

1996 年から 2005 年にかけて米国ハワイ州の圃場で栽培されたパパイヤ 55-1 と非組換えパパイヤの果実について、主要構成成分、アミノ酸組成、無機物、ビタミン類、BITC、カルパイン及びパパインの分析を行い、パパイヤ 55-1 と非組換えパパイヤとの間で比較を行った（参照 6）。

(1) 主要構成成分

主要構成成分（水分、灰分、タンパク質、総脂質、炭水化物、粗繊維）の分析を行ったところ、対照に用いた非組換えパパイヤとの間に統計学的有意差は認められなかった。

(2) アミノ酸組成

遊離アミノ酸 18 種類の分析を行ったところ、対照に用いた非組換えパパイヤとの間に統計学的有意差は認められなかった。

(3) 無機物

無機物（リン、カリウム、カルシウム、マグネシウム、ナトリウム、鉄、銅、亜鉛）の分析を行ったところ、対照に用いた非組換えパパイヤとの間に差は見られなかった。

(4) ビタミン類

ビタミン A の分析を行ったところ、対照に用いた非組換えパパイヤとの間では、果肉が赤色種か黄色種かという栽培種の影響と果実の熟し方の程度による影響が見られたものの、これまでに報告されている文献値（参照 73, 74, 75, 76, 77）の範囲内であった。

また、ビタミン C の分析を行ったところ、同じ遺伝子型の果実でも含量に個体差が大きく、対照に用いた非組換えパパイヤとの間に統計学的有意差は認められなかった。

(5) BITC

BITC の分析を行ったところ、対照に用いた非組換えパパイヤとの間に統計学的有意差は認められなかった。

(6) カルパイン

カルパイン（カルパイン、ジデヒドロカルパイン、テトラデヒドロカルパイン）の分析を行ったところ、分析値はいずれも検出限界（20 ng/g 生重）以下であった。

(7) パパイン

パパインの分析を行ったところ、一部の組換え品種と非組換え品種との間で統計学的有意差が認められたものの、対照に用いた全ての非組換えパパイヤの品種における測定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、1996年9月に米国農務省（USDA）より無規制裁培の許可を受け、1997年9月に食品医薬品局（FDA）より食品としての安全性認可を受けている。

カナダでは、2003年1月にカナダ保健省（Health Canada）より食品としての安全性認可を受けている。

1998年5月よりパパイヤ 55-1 の栽培が開始され、1999年5月以降、米国内で販売されている。

9. 栽培方法に関する事項

パパイヤ 55-1 の栽培方法については、従来のパパイヤ品種と同じである。

10. 種子の製法及び管理方法に関する事項

パパイヤ 55-1 の種子の製法及び管理方法については、従来のパパイヤ品種と同じである。

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は得られており、次に示された試験は必要ないと判断される。

1. 急性毒性に関する試験
2. 亜急性毒性に関する試験
3. 慢性毒性に関する試験
4. 生殖に及ぼす影響に関する試験
5. 変異原性に関する試験
6. がん原性に関する試験
7. その他必要な試験（腸管毒性試験、免疫毒性試験、神経毒性試験、栄養試験等）

Ⅲ. 食品健康影響評価結果

「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」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ものと判断された。

<参照>

- 1 久保 祐雄. 農学大事典. 養賢堂, 1987.
- 2 Singh, I.D. Papaya. Oxford and IBH Publishing, New Delhi. 1990, 224
- 3 Ferrão, J.E.M. A ventura das Plantas e os Descobrimentos Portugueses. Tropical, Lisbon, Portugal, Instituto de Investigação Científica Comissão Nacional para as Comemorações dos Descobrimentos Portugueses, and Fundação Berardo, 1992, 247
- 4 土橋 豊. 熱帯の有用果実. トンボ出版, 2003.
- 5 沖縄県農林水産部農林水産企画科統計資料,
<http://www3.pref.okinawa.jp/site/view/contview.jsp?cateid=108&id=9477&page=1>
- 6 Data comparing transgenic line 55-1 and nontransgenic papaya (社内報告書)
- 7 Papain levels in GM and non-GM papaya fruits at different stages of ripening (社内報告書)
- 8 Aradhya, KM, RM Manshardt, F Zee, and CW Morden. A phylogenetic analysis of the genus *Carica* L. (*Caricaceae*) based on restriction fragment length variation in a cpDNA intergenic spacer region. Gen. Resour. Crop Evol. 1999, 46, 579-586
- 9 Kermanshai R, McCarry BE, Rosenfeld J, Summers PS, Weretilnyk EA, Sorger GJ. Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extracts. Phytochemistry. 2001, 57, 3, 427-435
- 10 Tang CS. Localization of benzyl glucosinolate and thioglucosidase in *Carica papaya* fruit. Phytochemistry. 1973, 12, 769-773
- 11 Adebiyi A, Ganesan Adaikan P, Prasad RN. Tocolytic and toxic activity of papaya seed extract on isolated rat uterus. Life Sci. 2003, 19, 74(5), 581-592
- 12 Adebiyi A, Adaikan PG, Prasad RN. Papaya (*Carica papaya*) consumption is unsafe in pregnancy: fact or fable? Scientific evaluation of a common belief in some parts of Asia using a rat model. Br J Nutr. 2002, 88(2), 199-203
- 13 Samson, JA. Tropical fruits. 2nd ed., Essex, UK. Longman Scientific & Technological, 1986.
- 14 Thomas and Beckly (1923) cited in Traub, H.P., T.R. Robinson and H.E. Stevens. Latex test for maturity of papaya fruits. Science. 1935, 2137(82), 569-570
- 15 Burdick E. Carpaine: An alkaloid of *Carica papaya*-Its chemistry and pharmacology. Economic Botany. 1971, 24, 363-5
- 16 Hornick CA, Sanders LI, Lin YC. Effect of carpaine, a papaya alkaloid, on the circulatory function in the rat. Res Commun Chem Pathol Pharmacol.

- 1978, 22(2), 277-289
- 17 Tang CS. New macrocyclic delta1-piperideine alkaloids from papaya leaves: dehydrocarpaine I and II. *Phytochemistry*. 1979, 18, 651-652
 - 18 Tang CS. Macrocyclic piperideine and piperideine alkaloids in *Carica papaya* In: *Tropical Foods, Chemistry and Nutrition*. Academic Press NY, 1979, 1, 55-68
 - 19 Gall, H., K.J.: Kalveram, G. Forck and U. Tuemmers. Cross-allergenicity between kiwi fruit and thiol proteinases, pollen and foodstuffs. *Allergologie*. 1990, 13, 447-451
 - 20 H.Y. Nakasone and R.E. Paull. *Tropical Fruits*, Oxford University Press, 2009, (Crop Production Science in Horticulture Series), 239-269
 - 21 FAO. 統計資料, 2007, <http://faostat.fao.org/faostat/collections?subset=agriculture>
 - 22 財務省貿易統計. 2006, <http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>
 - 23 Reconstructed genealogical history of plant transformation vector pGA482GG, and its predicted transmissibility (社内報告書)
 - 24 55-1 系統パパイアの形質転換に用いたプラスミド・ベクター pGA482GG/cpPRV-4 の構築手順 (社内報告書)
 - 25 Southern blot analysis to show T-DNA and non T-DNA binary sequences integrated into papaya lines 55-1 and 63-1 (社内報告書)
 - 26 Tetracycline resistance gene (*tetA*) expression in transgenic Rainbow and SunUp papayas resistant to *Papaya ringspot virus* (社内報告書)
 - 27 Southern analysis of papaya line 55-1 (社内報告書)
 - 28 Jefferson, R.A., T.A. Kavanagh, and M.W.: Bevan. β -Glucuronidase from *Escherichia coli* as a gene-fusion marker. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1986, 83, 8447-8451
 - 29 Tennant, P., G. Fermin, M.M. Fitch, R.M. Manshardt, J.L. Slightom and D. Gonsalves. Papaya ringspot virus resistance of transgenic Rainbow and SunUp is affected by gene dosage, plant development, and coat protein homology. *European Journal of Plant Pathology*. 2001, 107, 645-653
 - 30 Dickie, P., L.E. Bryan and M.A.: Pickard. Affect of enzymatic adenylation on dihydrostreptomycin accumulation in *Escherichia coli* carrying an R-factor: model explaining aminoglycoside resistance by inactivating mechanisms. *Antimicrob. Agents Chemother*. 1978, 14, 569-580
 - 31 Davis, B.D. The lethal action of aminoglycosides. *J. Antimicrob. Chemother*. 1988, 22, 1-3
 - 32 Analysis for potential expression of toxic or allergenic proteins from the functional insertion region of 55-1. (社内報告書)
 - 33 Safety assessment of the neomycin phosphotransferase II (NPTII) protein. (社内報告書)

- 34 Depicker, A., S. Stachel, P. Dhaese, P. Zambryski and H.M. Goodman. Nopaline synthase: Transcript Mapping and DNA sequence. J. Mol. Appl. Genet. 1982, 1, 561-573
- 35 Benfey and Chua 1990 Benfey, P.N. and N-H. Chua. The cauliflower mosaic virus 35S promoter: combinatorial regulation of transcription in plants. Science 1990, 250, 959-966
- 36 Franck, A., H. Guilley, G. Jonard, K. Richards and L. Hirth. Nucleotide sequence of cauliflower mosaic virus DNA. Cell. 1980, 21, 285-294
- 37 DNA sequence determination of the coat protein (functional transgene) insertion site and flanking papaya genomic DNA in hemizygous 55-1 line, Rainbow. (社内報告書)
- 38 Maureen M. M. Fitch¹, Richard M. Manshardt¹, Dennis Gonsalves, Jerry L. Slightom and John C. Sanford. Virus resistant papaya plants derived from tissues bombarded with the coat protein gene of papaya ringspot virus. Nature Bio Technology. 1992, 10, 1466 – 1472
- 39 Timmis, J.N., M.A. Ayliffe, C.Y. Huang and W. Martin. Endosymbiotic gene transfer: organelle genomes forge eukaryotic genomes. Nature Rev. Genet. 2004, 5, 123-135
- 40 Ayliffe, M.A., N.S. Scott and J.N. Timmis. Analysis of plastid DNA-like sequences within the nuclear genomes of higher plants. Mol. Biol. Evol. 1998, 15, 738-745
- 41 Toyoshima, Y., Y. Onda, T. Shiina and Y. Nakahira. Plastid transcription in higher plants. Crit. Rev. Plant Sci. 2005, 24, 59-81
- 42 Sugiura, M., T. Hirose and M. Sugita. Evolution and mechanism of translation in chloroplasts. Annu. Rev. Genetics. 1998, 32, 437-459
- 43 PCR analysis for characterization of the functional transgene insertion and flanking papaya genomic DNA in homozygous and hemizygous 55-1. (社内報告書)
- 44 Protein Determination Report. (社内報告書)
- 45 PCR analysis for characterization of the *tetA* fragment/vector insertion and flanking papaya genomic DNA in homozygous 55-1 line, SunUp. (社内報告書)
- 46 Ming R, Hou S, Feng Y, Yu Q, Dionne-Laporte A, Saw JH, et al., The draft genome of the transgenic tropical fruit tree papaya (*Carica papaya* Linnaeus). Nature. 2008, 452(7190), 991-996
- 47 DNA sequence determination of the non functional *NPTII* fragment insertion site and flanking papaya genomic DNA of 55-1 line, SunUp. (社内報告書)
- 48 DNA sequence determination of the *tetA* insertion fragment and flanking papaya genomic DNA in hemizygous 55-1 line, Rainbow. (社内報告書)

- 49 Analysis for potential expression from the *tetA* fragment insertion region of 55-1 and its derivatives. (社内報告書)
- 50 Analysis for potential expression of toxic or allergenic proteins from the nonfunctional *nptII* fragment insertion region of 55-1. (社内報告書)
- 51 PRSV coat protein levels of homozygous and hemizygous and line 55-1 transgenic papayas in Hawaii. (社内報告書)
- 52 Expression of NPTII in Transgenic Papaya. (社内報告書)
- 53 Quantification of expressed GUS protein in two generations (R7 & R8) of 55-1 line, transgenic papaya. (社内報告書)
- 54 健康・栄養情報研究会 編, 国民健康・栄養の現状~平成 17 年構成労働省国民健康・栄養調査報告より~, 第一出版, 2008.
- 55 Susceptibility of *Papaya ringspot virus* coat protein expressed in transgenic papaya 55-1 to enzymatic digestion in simulated gastric (SGF) and intestinal (SIF) fluids. (社内報告書)
- 56 Nap, J.P., J. Bijvoet and W.J. Stikema. Biosafety of kanamycin-resistant transgenic plants: an overview. *Transgenic Crops*. 1992, 1, 239-249.
- 57 Fuchs RL, Astwood JD. Allergenicity assessment of foods derived from genetically modified plants. *Food Technol*. 1996, 50, 83-88
- 58 Ream, J.E. "Assessment of the *In vitro* digestive fate of β -glucuronidase." Monsanto of Technical Report: MLS-14607, St. Louis, MO, 1996.
- 59 PRSV coat protein heat stability in papaya. (社内報告書)
- 60 Jefferson, R.A. and K.J. Wilson: The GUS gene fusion system. *Plant Mol. Biol. Manual B*. 1991, 14, 1-33
- 61 Homology analysis of recombinant PRSV HA CP to predict its potential allergenicity in transgenic 'Rainbow' papaya. (社内報告書)
- 62 Kleter GA, Peijnenburg AA. Screening of transgenic proteins expressed in transgenic food crops for the presence of short amino acid sequences identical to potential, IgE binding linear epitopes of allergens. *BMC Struct. Biol*. 2002, 12(2), 8
- 63 Segal, D. M., J. D. Taurog and H. Metzger. Dimeric immunoglobulin E serves as a unit signal for mast cell degranulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1977, 74, 2993-2997
- 64 Aalberse RC. Structural biology of allergens. *J Allergy Clin. Immunol*. 2000, 106(2), 228-238
- 65 Paterson JC, Garside P, Kennedy MW, Lawrence CE. Modulation of a heterologous immune response by the products of *Ascaris sum*. *Infect Immun*. 2002, 70(11), 6058-6067
- 66 Stability of transgene expression in transgenic 55-1 papaya. (社内報告書)
- 67 Hull R. *Matthew's Plant Virology*. 4th Edition. Academic Press. 2002, 1001
- 68 Dolja VV, Haldeman R, Robertson NL, Dougherty WG, Carrington JC.

- Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of tobacco etch potyvirus in plants. *EMBO J.* 1994, 15, 13(6), 1482-1491
- 69 Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol Rev.* 1993, 57(1), 138-163
- 70 Price KE, Godfrey JC. Effect of structural modifications on the biological properties of aminoglycoside antibiotics containing 2-deoxystreptamine. *Adv Appl Microbiol.* 1974, 18(0), 191-307
- 71 Davies J, Smith DI. Plasmid-determined resistance to antimicrobial agents. *Annu Rev Microbiol.* 1978, 32, 469-518
- 72 Luckner M. Secondary Metabolism in Plants and Animals. London, UK, Chapman and Hall.
- 73 Wilberg, V. C. and D.B. Rodriguez-Amaya. HPLC quantitation of major carotenoids of fresh and processed Guava, Mango and Papaya. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 1995, 28, 474-480
- 74 Mutsuga, M., H. Ohta, M. Toyoda and Y. Goda. Comparison of carotenoid components between GM and non-GM papaya. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi.* 2001, 42(6), 367-73
- 75 Chandrika, U.G., E.R. Jansz, S.M.D.N. Wickramasinghe and N.D. Warnasuriya. Carotenoids in yellow- and red-fleshed papaya (*Carica papaya L.*). *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2003, 83(12) 1279-1282
- 76 Yano, M., M. Kato, Y. Ikoma, A. Kawasaki, Y. Fukazawa, M. Sugiura, H. Matsumoto, Y. Oohara, A. Nagao and K. Ogawa. Quantitation of carotenoids in raw and processed fruits in Japan. *Food Science and Technology Research* 2005, 11, 13-18
- 77 Wall, M.M.: Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa sp.*) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis.* 2006, 19, 434-445

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関する審議結果（案）についての御意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 平成 21 年 5 月 28 日～平成 21 年 6 月 26 日

2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送

3. 提出状況 1 通

4. 御意見・情報の概要及び遺伝子組換え食品等専門調査会の回答

	御意見・情報の概要	遺伝子組換え食品等専門調査会の回答
1	1996 年より USDA から栽培許可を受け、97 年に FDA から食品としての安全認可を受け、1999 年以降米国内で販売されていること等に鑑みれば、これだけの期間にわたって流通しており、健康被害などの大きな問題が生じていないことを考慮すべきではないか。	評価書（案）にも記載しているとおり、米国における状況等も踏まえ、総合的に評価を行っています。
2	リスク評価を適性に行うことは当然ですが、むしろリスクコミュニケーション、リスク管理の面で、政府にしっかりとした対応をとるよう要望します。食品安全委員会としては、消費者等に対する十分な説明責任を有していることを自覚し、リスク管理機関との適切な役割分担・連携を図ることを求めます。	今回食品健康影響評価を行ったパパイヤのみならず、遺伝子組換え食品全般について、意見交換会の実施や季刊誌で特集するなど、安全性について情報提供を行っているところですが、今後とも、いろいろな機会を利用してリスクコミュニケーションに努めて参りたいと考えています。
3	日系人、日本人が多いハワイにおいて、GMO パパイヤが出回り、それなりに人気を得ていることを認識すべき。 専門調査会としては長期間にわたって審査を続け、アメリカ側の関係者に厳しい資料の再提出を求めるなど、厳正な姿勢で臨んできたと言えるのではないかと。 実際に、「パパイヤリングスポットウイルス抵抗性パパイヤ」を食してみた印象としては、non-GMO パパイヤとなんら変わることもなく、大変おいしく感じられた。問題があるものとの印象は得られなかった。	御意見をいただき、ありがとうございました。