

チョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性  
 トウモロコシ(改変 *cry1Ab*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, 改変 *cry3Aa2*, *cry1F*, *pat*,  
*mEPSPS*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)(Bt11×*B.t. Cry34/35Ab1* Event  
 DAS-59122-7×MIR604×*B.t. Cry1F* maize line 1507×GA21, OECD UI :  
 SYN-BT011-1×DAS-59122-7×SYN-IR604-5×DAS-01507-1  
 ×MON-00021-9)(Bt11, *B.t. Cry34/35Ab1* Event DAS-59122-7, MIR604, *B.t. Cry1F*  
 maize line 1507 及び GA21 それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該  
 トウモロコシから分離した後代系統のもの(既に第一種使用規程の承認を受けたものを除  
 く。)を含む。)

## 目 次

第一種使用規程承認申請書 .....	1
生物多様性影響評価書.....	2
第 1 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報.....	2
1. 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報.....	2
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況.....	2
① 和名、英名及び学名 .....	2
② 宿主の品種名又は系統名.....	2
③ 国内及び国外の自然環境における自生地域.....	2
(2) 使用等の歴史及び現状 .....	2
① 国内及び国外における第一種使用等の歴史.....	3
② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途.....	3
(3) 生理学的及び生態学的特性.....	4
イ、基本的特性.....	4
ロ、生息又は生育可能な環境の条件.....	4
ハ、捕食性又は寄生性.....	4
ニ、繁殖又は増殖の様式.....	4
① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命.....	4
② 栄養繁殖の様式並びに自然条件において植物体を再生しうる組織又は器 官からの出芽特性.....	5
③ 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及 びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度.....	5

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命 .....	5
ホ、病原性.....	6
へ、有害物質の産生性.....	6
ト、その他の情報.....	6
2. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報.....	6
(1) 供与核酸に関する情報 .....	7
イ、構成及び構成要素の由来.....	7
ロ、構成要素の機能 .....	12
① 目的遺伝子、発現調節領域、局在化シグナル、選抜マーカー、その他の 供与核酸の構成要素それぞれの機能.....	12
② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及び 当該蛋白質がアレルギー性(食品としてのアレルギー性を除く。)を有する ことが明らかとなっている蛋白質と相同性を有する場合はその旨 .....	12
③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容.....	17
(2) ベクターに関する情報 .....	17
イ、名称及び由来.....	17
ロ、特性.....	18
① ベクターの塩基数及び塩基配列.....	18
② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能.....	18
③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する 情報.....	18
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	19
イ、宿主内に移入された核酸全体の構成.....	19
ロ、宿主内に移入された核酸の移入方法.....	19
ハ、遺伝子組換え生物等の育成の経過 .....	19
① 核酸が移入された細胞の選抜の方法.....	19
② 核酸の移入方法がアグロバクテリウム法の場合はアグロバクテリウムの 菌体の残存の有無.....	20
③ 核酸が移入された細胞から、移入された核酸の複製物の存在状態を確認 した系統、隔離ほ場試験に供した系統その他の生物多様性影響評価に必 要な情報を収集するために用いられた系統までの育成の経過.....	20
(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性 .....	21
① 移入された核酸の複製物が存在する場所.....	21
② 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複製数	

世代における伝達の安定性 .....	21
③ 染色体上に複数コピーが存在している場合は、それらが隣接しているか離れているかの別.....	22
④ (6)の①において具体的に示される特性について、自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性 .....	22
⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度 .....	22
(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性.....	22
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	23
① 移入された核酸の複製物の発現により付与された生理学的又は生態学的特性の具体的な内容 .....	23
したがって、本スタック系統トウモロコシと宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシとの生理学的又は生態学的特性の相違については、親系統である Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 を個別に調査した結果に基づき評価した。 .....	30
② 以下に掲げる生理学的又は生態学的特性について、遺伝子組換え農作物と宿主の属する分類学上の種との間の相違の有無及び相違がある場合はその程度 .....	30
a 形態及び生育の特性.....	30
b 生育初期における低温又は高温耐性.....	32
c 成体の越冬性又は越夏性.....	32
d 花粉の稔性及びサイズ.....	32
e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率.....	32
f 交雑率.....	33
g 有害物質の産生性.....	33
3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	33
(1) 使用等の内容.....	33
(2) 使用等の方法.....	33
(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法.....	33
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置.....	33
(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果.....	34

(6) 国外における使用等に関する情報.....	34
第2 項目ごとの生物多様性影響の評価.....	35
1. 競合における優位性.....	36
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	36
(2) 影響の具体的内容の評価.....	37
(3) 影響の生じやすさの評価.....	37
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	37
2. 有害物質の産生性.....	37
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	37
(2) 影響の具体的内容の評価.....	40
(3) 影響の生じやすさの評価.....	42
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	43
3. 交雑性.....	43
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	43
(2) 影響の具体的内容の評価.....	43
(3) 影響の生じやすさの評価.....	43
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	43
4. その他の性質.....	43
第3 生物多様性影響の総合的評価.....	45
引用文献.....	48
緊急措置計画書.....	54

# 第一種使用規程承認申請書

平成 23 年 1 月 5 日

農林水産大臣 鹿野 道彦 殿  
 5 環境大臣 松本 龍 殿

氏名 シンジェンタジャパン株式会社  
 申請者 代表取締役社長 村田 興文  
 住所 東京都中央区晴海一丁目 8 番 10 号  
 オフィスタワーX

10 第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項の規定により、次のとおり申請します。

15

遺伝子組換え生物等の種類の名称	チョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性トウモロコシ（改変 <i>cry1Ab</i> , <i>cry34Ab1</i> , <i>cry35Ab1</i> , 改変 <i>cry3Aa2</i> , <i>cry1F</i> , <i>pat</i> , <i>mEPSPS</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (Bt11× <i>B.t.</i> Cry34/35Ab1 Event DAS-59122-7×MIR604× <i>B.t.</i> Cry1F maize line 1507×GA21, OECD UI : SYN-BTØ11-1×DAS-59122-7×SYN-IR6Ø4-5×DAS-Ø15Ø7-1×MON-ØØØ21-9) (Bt11, <i>B.t.</i> Cry34/35Ab1 Event DAS-59122-7, MIR604, <i>B.t.</i> Cry1F maize line 1507 及び GA21 それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のもの(既に第一種使用規程の承認を受けたものを除く。)を含む。)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	ー

# 生物多様性影響評価書

## 第1 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

### 5 1. 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

#### (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

##### ① 和名、英名及び学名

10

和名：トウモロコシ

英名：maize、corn

学名：*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis

##### 15 ② 宿主の品種名又は系統名

20 チョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性トウモロコシ(改変 *cry1Ab*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, 改変 *cry3Aa2*, *cry1F*, *pat*, *mEPSPS*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (Bt11×*B.t.* Cry34/35Ab1 Event DAS-59122-7×MIR604×*B.t.* Cry1F maize line 1507×GA21, OECD UI : SYN-BT011-1×DAS-59122-7×SYN-IR604-5×DAS-01507-1×MON-00021-9) (以下「本スタック系統トウモロコシ」という。)は、以下の5つのトウモロコシを、従来の交雑育種法により掛け合わせることで作出された。

25 チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ

(改変 *cry1Ab*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (Bt11, OECD UI : SYN-BT011-1) (以下「Bt11」という。)

コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ

30 (*cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (*B.t.* Cry34/35Ab1 Event DAS-59122-7, OECD UI: DAS-59122-7) (以下「Event DAS-59122-7」という。)

コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ

(改変 *cry3Aa2*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MIR604, OECD UI : SYN-IR604-5) (以下「MIR604」という。)

チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ  
(*cry1F, pat, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (*B.t. Cry1F maize line 1507*,  
OECD UI : DAS-Ø15Ø7-1) (以下「Cry1F line 1507」という。)

除草剤グリホサート耐性トウモロコシ

- 5 (*mEPSPS, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (GA21, OECD UI :  
MON-ØØØ21-9) (以下「GA21」という。)

本評価書中に記載した内容については、各親系統の申請時に提出した情報を参照し  
ている。なお、GA21に関しては、シンジェンタ社の独自データ及び国際特許公開情  
10 報(文献 1)を参照した。

親系統である Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21  
の宿主はイネ科(*Gramineae*)トウモロコシ属(*Zea*)に属するトウモロコシ(*Z. mays*)の  
デント種である。それぞれの作出には以下の系統が使用された。

15

Bt11 : E89 系統

Event DAS-59122-7 : A188/B73 系統

MIR604 : NP2499/NP2500 系統

Cry1F line 1507 : A188/B73 系統

20

GA21 : AT 系統(文献 1)

### ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

トウモロコシの栽培起源種は現存せず(文献 2)、国内及び国外の自然環境における  
25 トウモロコシの自生は報告されていない。

なお、トウモロコシの起源に関与すると考えられる近縁種として、トウモロコシと  
交雑可能なテオシント(*Zea* 属)とトリプサクム(*Tripsacum* 属)の存在が知られている  
(文献 3)。テオシントとトリプサクムはメキシコとグアテマラを中心に、米国南部か  
30 ら南米にかけて自生しているが(文献 3、文献 4)、我が国においてこれらの近縁種が  
自生しているという報告はない。

### (2) 使用等の歴史及び現状

## ① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

トウモロコシの原産地がアメリカ大陸であることは間違いないが、その栽培起源地域については諸説あり、米国南西部、メキシコ及び中米の複数地域説、メキシコと南米の複数地域説、メキシコとグアテマラの複数地域説及びメキシコ南部単独説がある(文献 3)。考古学的検証に基づくと、最初にトウモロコシが出現したのは紀元前 6800～5000 年頃であり、紀元前 5000～3000 年頃に栽培が始まったと考えられている(文献 4)。また、南北アメリカ大陸の各地に伝播して栽培される過程で、デント、ポップ、スイート、フリントのような多数の変異種が生じたと考えられる(文献 4)。1492 年のアメリカ大陸発見後、コロンブスによってスペインを通じてヨーロッパに導入され、その後、中東、アフリカ及びアジアの各地域に伝播した(文献 5)。

我が国へは天正年間(1573～1591 年)にポルトガル人によって長崎へ伝えられたフリント種が最初とされ、主に関東以南の山間地で栽培が行われていた(文献 5)。また、明治時代になって北海道へ米国からデント種とフリント種が新たに導入され、全国的に栽培が普及した(文献 5)。

## ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

トウモロコシの栽培地域はおよそ北緯 58 度から南緯 40 度に至る範囲で、主な栽培国は、米国、中国、ブラジル、メキシコ、インド、南アフリカ、ルーマニア等である。国際連合食糧農業機関(FAO)の統計によると、2008 年におけるトウモロコシの世界総栽培面積は 1 億 6,102 万ヘクタールで、その上位 3 カ国は米国(3,183 万ヘクタール)、中国(2,988 万ヘクタール)及びブラジル(1,445 万ヘクタール)であった(文献 6)。また、同年の世界総生産量は 8 億 2,271 万トンで、その上位 3 カ国は栽培面積と同じく、米国(3 億 0,738 万トン)、中国(1 億 6,604 万トン)及びブラジル(5,902 万トン)であった(文献 6)。米国を始めとする主要栽培国では、大型機械を利用した大規模栽培が行われている。

世界第一のトウモロコシ生産国である米国では、その大部分がアイオワ州、イリノイ州、ネブラスカ州及びミネソタ州を中心としたコーンベルトと呼ばれる地域で栽培されている。2009 年における米国でのトウモロコシの利用用途の内訳は、42.5%が飼料、32.1%がエタノール製造、15.7%が輸出で、残りはコーンシロップ等の食品製造であった(文献 7)。



一方、我が国における 2009 年度のトウモロコシの栽培面積は、青刈りのサイレー  
ジ用トウモロコシ(デント種)が 9 万 2,300 ヘクタールであった(文献 8)。栽培面積に  
おける上位 3 都道府県は、北海道(4 万 5,400 ヘクタール)、宮崎県(6,820 ヘクタール)  
及び岩手県(5,260 ヘクタール)であった。

5

財務省貿易統計によると、我が国は 2009 年に約 1,629 万トンのトウモロコシを輸  
入している(文献 9)。輸入トウモロコシのうちの約 1,133 万トンは飼料用であり、残  
りは食品・工業用及び栽培用と考えられる。なお、飼料用トウモロコシの大部分は、  
配合・混合飼料の原料として利用されている(文献 10)。

10

### (3) 生理学的及び生態学的特性

#### イ、基本的特性

15 —

#### ロ、生息又は生育可能な環境の条件

トウモロコシは長い年月の間に栽培作物として馴化された結果、自然環境における  
生存能力を失った作物である(文献 3)。栽培に適しているのは、夏の平均気温が 21  
~27℃で無霜期間が 120~180 日の地域であり、夏の平均気温が 19℃以下で平均夜  
温が 13℃以下になる地域では栽培されない(文献 2)。雨量については、年間降雨量が  
250~5,000 mm の地域で、無灌漑栽培では夏季に 150 mm の降雨量が確保できる地  
域とされる(文献 2)。なお、トウモロコシの種子の発芽適温は 33℃程度、発芽の最低  
温度は 10~11℃であり、実際の栽培では 13~14℃以上で播種が行われる(文献 2)。

25

#### ハ、捕食性又は寄生性

30 —

#### ニ、繁殖又は増殖の様式

##### ① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

トウモロコシの種子は雌穂に着生するが、雌穂は苞皮で覆われているため、自然に脱粒することはない、ヒトの介在なしに種子が自然条件下で広範囲に拡散することはない(文献 3)。種子の休眠性は極めて低い。また、収穫時に種子が地上に落下しても、土壤温度が 10°Cに達するまで発芽しないため、多くの場合、発芽する前に腐敗し枯死する(文献 2)。

② 栄養繁殖の様式並びに自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性

10 トウモロコシは種子繁殖する夏作一年生植物であり、種子以外に自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官を持たない(文献 3)。

③ 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

15 トウモロコシは他殖率 95%程度であるが、自家和合性のため自家受粉も行う(文献 11)。トウモロコシは近縁野生種であるテオシント及びトリプサカムと交雑可能であり、テオシントとは自然交雑が報告されているが、トリプサカムとの交雑は極めて困難で自然交雑は報告されていない(文献 4)。なお、我が国にはトウモロコシと交雑可能なこれら野生種が自生しているという報告はない。また、アポミクシスについての報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

25 トウモロコシは雌雄異花序で、稈の頂部に雄穂を 1 本、中央側部に雌穂を 1~3 本着生する。雄穂には 1,200~2,000 個の小穂があり、1,600 万~3,000 万個の花粉粒を形成する(文献 11)。

30 トウモロコシの花粉の稔性は花粉の充実度により観察され、花粉の形状は楕円~円形で直径は 90~120  $\mu\text{m}$  程度である(文献 2)。受粉は風媒によって行われ、ほとんどの場合は他家受粉であるが、自家不和合性はないので自殖もわずかに生じる(文献 2)。受粉が風媒に依存しているため、その受粉機会の多少は種子の生産量に影響する(文献 12)。

35 一般に、雄穂の開花は出穂のおよそ 3 日後に始まり、開花期間は盛夏で 8~9 日で

ある(文献 2)。一方、雌穂の絹糸抽出は雄穂開花のおよそ 1 日後に始まり、抽出期間は 5~6 日である(文献 2)。

我が国でのトウモロコシほ場周辺におけるヒマワリ(*Helianthus annuus*)及びイヌ  
5 ホオズキ(*Solanum nigrum*)葉へのトウモロコシの花粉の堆積密度を調査した研究で  
は、ほ場の縁(0 m)での最大花粉堆積密度はヒマワリの葉で 81.7 粒/cm<sup>2</sup>、イヌホオズ  
キの葉では 71.1 粒/cm<sup>2</sup>であった(文献 13)。また、ほ場から 5 m 離れた場合の最大堆  
積密度は、ヒマワリの葉で 19.6 粒/cm<sup>2</sup>、イヌホオズキの葉では 22.2 粒/cm<sup>2</sup>、ほ場か  
10 ら 10 m 離れた場合はヒマワリの葉で 10 粒/cm<sup>2</sup>以内であった(文献 13)。花粉の寿命  
は環境条件によって大きく異なるが、盛夏のほ場条件下では 24 時間以内である(文献  
11)。

ホ、病原性

15 —

へ、有害物質の産生性

トウモロコシにおいて、野生動植物等の生育又は生息に影響を及ぼす有害物質の産  
20 生性は報告されていない。

ト、その他の情報

25 —

## 2. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

本スタック系統トウモロコシは、親系統である5つの組換えトウモロコシに由来す  
るチョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性、除草剤グルホシネート及びグリホサート耐  
30 性を有する。また、本スタック系統トウモロコシは一代雑種品種(F1)として商品化さ  
れることから、収穫される種子には遺伝的分離により本スタック系統トウモロコシの  
親系統それぞれの導入遺伝子の組合せからなるスタック系統トウモロコシが含まれ  
る。以下にBt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21の調製  
等に関する情報の概要等を記載した。

35

(1) 供与核酸に関する情報

イ、構成及び構成要素の由来

- 5 Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来を表 1～表 5 (7～11ページ)に示した。

表 1 Bt11 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の由来及び機能

チョウ目害虫抵抗性遺伝子カセット	
構成要素	由来及び機能
35S promoter	カリフラワーモザイクウイルス CM1841 株由来で、 <i>Dde I</i> ・ <i>Dde I</i> 断片として得られた。このプロモーターは全組織中で目的遺伝子(改変 <i>cry1Ab</i> )を恒常的に発現させる(文献 14)。
IVS6-ADH1	トウモロコシのアルコールデヒドロゲナーゼ 1S( <i>Adh1-S</i> )遺伝子(文献 15)由来のイントロン。 <i>Adh1-S</i> イントロンは植物における目的遺伝子(改変 <i>cry1Ab</i> )の発現量を高めるために用いられた(文献 16)。
改変 <i>cry1Ab</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> HD-1 株の <i>Cry1Ab</i> 蛋白質をコードする <i>cry1Ab</i> 遺伝子について、 <i>Cry1Ab</i> 蛋白質の有する殺虫活性に関与しない C 末端コード領域を一部欠失させ、また、GC 含量を変更し植物における発現量を高めるように塩基配列を改変した。ただし、 <i>Cry1Ab</i> 蛋白質のコア蛋白質のアミノ酸配列に変更はない。
NOS term	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子の 3'非翻訳領域で、転写ターミネーター及び mRNA のポリアダニル化シグナルを含む(文献 17、文献 18)。この配列により目的遺伝子(改変 <i>cry1Ab</i> )の転写が終結される。
除草剤グルホシネート耐性遺伝子カセット	
構成要素	由来及び機能
35S promoter	カリフラワーモザイクウイルス Cabb-s 株由来で、 <i>AluI</i> ・ <i>DdeI</i> 断片として得た。このプロモーターは全組織中で目的遺伝子( <i>pat</i> )を恒常的に発現させる(文献 19)。
IVS2-ADH1	トウモロコシのアルコールデヒドロゲナーゼ 1S( <i>Adh1-S</i> )遺伝子(文献15)由来のイントロンである。 <i>Adh1-S</i> イントロンは植物中において目的遺伝子( <i>pat</i> )の発現量を高めるために用いられた(文献 16)。
<i>pat</i>	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> の PAT 蛋白質をコードする遺伝子である。PAT 蛋白質は除草剤グルホシネート耐性を植物に付与することから、遺伝子導入の際、組換え体を選抜するためのマーカーとして使用された。 <i>pat</i> 遺伝子は GC 含量を変更し植物における発現量を高めるように塩基配列が改変された。ただし、この改変により発現する PAT 蛋白質のアミノ酸配列は変更されていない(文献 20)。

NOS term	<i>A. tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子の 3'非翻訳領域で転写ターミネーター及び mRNA のポリアデニル化シグナルを含む(文献 17、文献 18)。この配列により目的遺伝子( <i>pat</i> )の転写が終結される。
その他の領域(以下「外骨格領域」という。)	
構成要素	由 来 及 び 機 能
ColE1 ori	大腸菌( <i>Escherichia coli</i> )プラスミド pUC18(文献 21、文献 22)由来の複製開始領域で、バクテリア中でプラスミドの複製を開始させる複製起点。
<i>amp<sup>R</sup></i>	大腸菌( <i>E. coli</i> )由来で、機能は $\beta$ -ラクタマーゼをコードし、抗生物質アンピシリン耐性を付与する(文献 22)。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

表 2 Event DAS-59122-7 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の由来及び機能

5

<i>cry34Ab1</i> 遺伝子発現カセット	
構成要素	由 来 及 び 機 能
<i>UBI1ZM PRO</i>	トウモロコシ由来のコビキチン構成的プロモーター <sup>1)</sup> (イントロン及び5'非翻訳領域を含む)
<i>cry34Ab1</i>	<i>B. thuringiensis</i> PS149B1 株由来の Cry34Ab1 蛋白質をコードする遺伝子
<i>PINII TERM</i>	<i>Solanum tuberosum</i> 由来の 転写を停止するためのプロテアーゼインヒビター II ターミネーター(イントロン及び5'非翻訳領域を含む)
<i>cry35Ab1</i> 遺伝子発現カセット	
<i>TA Peroxidase PRO</i>	根における発現が知られている <i>Triticum aestivum</i> 由来のペルオキシダーゼプロモーター(GenBank X53675 の45-1342 塩基配列)
<i>cry35Ab1</i>	<i>B. thuringiensis</i> PS149B1 株由来の Cry35Ab1 蛋白質をコードする遺伝子
<i>PINII TERM</i>	<i>S. tuberosum</i> 由来の 転写を停止するためのプロテアーゼインヒビター II ターミネーター(イントロン及び5'非翻訳領域を含む)
<i>pat</i> 遺伝子発現カセット	
<i>35S PRO</i>	カリフラワーモザイクウイルス由来の 35S 構成的プロモーター <sup>1)</sup>
<i>pat</i>	<i>S. viridochromogenes</i> 由来のホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ(PAT蛋白質)をコードする遺伝子
<i>35S TERM</i>	カリフラワーモザイクウイルス由来の転写を停止するための 35S ターミネーター

<sup>1)</sup> 構成的プロモーター：植物体の全体において、目的遺伝子を発現させるプロモーター。

表 3 MIR604 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の由来及び機能

コウチュウ目害虫抵抗性遺伝子カセット	
構成要素	由来及び機能
<i>MTL</i>	このプロモーターはトウモロコシのメタロチオネイン遺伝子由来で、標的とするコウチュウ目害虫であるコーンルートワームがトウモロコシの根を食害するため、根での目的遺伝子の転写の開始を誘導するのに適したプロモーターとして用いた。
改変 <i>cry3Aa2</i>	胞子を形成する一般的なグラム陽性土壌細菌である <i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>tenebrionis</i> 由来の <i>cry3Aa2</i> 遺伝子の GC 含量を変更し植物における発現量を高めるように塩基配列を改変し、また、コーンルートワームに対する活性を高めるように、カテプシン G プロテアーゼ認識配列を導入した改変遺伝子で、改変 <i>Cry3Aa2</i> 蛋白質をコードしている。
<i>Nos</i>	<i>A. tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター領域で、転写を終結させてポリアデニル化を誘導する。
選抜マーカー遺伝子カセット	
構成要素	由来及び機能
<i>ZmUbiInt</i>	このプロモーターはトウモロコシのポリユビキチン遺伝子由来で、単子葉植物の植物体全体で目的遺伝子の転写開始を誘導する。
<i>pmi</i>	この遺伝子は大腸菌 ( <i>E. coli</i> ) 由来の遺伝子で、PMI 蛋白質 (phosphomannose isomerase) をコードする。PMI 蛋白質はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸を可逆的に相互変換する酵素であり、本酵素の導入によりマンノースを炭素源として利用できるようになる。形質転換細胞の選抜のために用いられた。
<i>Nos</i>	<i>A. tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター領域で、転写を終結させてポリアデニル化を誘導する。
その他の領域	
構成要素	由来及び機能
<i>Spec</i>	大腸菌 ( <i>E. coli</i> ) のトランスポゾン Tn7 由来のストレプトマイシンアデニル酸転移酵素遺伝子 <i>aadA</i> 。この遺伝子は、エリスロマイシン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン耐性を与えるため、バクテリア選抜マーカーとして使用。
<i>VS1 ori</i>	<i>Pseudomonas</i> 属細菌のプラスミド pVS1 由来で、複製起点共通配列。 <i>A. tumefaciens</i> 中でプラスミドの複製開始点として機能する。
<i>ColE1 ori</i>	バクテリア中でプラスミドの複製を開始させる複製起点。
LB	<i>A. tumefaciens</i> ノパリン Ti-プラスミド由来の T-DNA レフトボーダー領域。
RB	<i>A. tumefaciens</i> ノパリン Ti-プラスミド由来の T-DNA ライトボーダー領域。
<i>VirG</i>	<i>A. tumefaciens</i> 由来、T-DNA の転移に関与する領域。

<i>RepA</i>	<i>Pseudomonas</i> 属細菌由来の pVS1 複製蛋白質で、植物に寄生するグラム陰性菌中で pVS1 複製の一端を担う。
-------------	--

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

表 4 Cry1F line 1507 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の由来及び機能

チョウ目害虫抵抗性遺伝子カセット	
構成要素	由来及び機能
<i>UBIZM1(2) Promoter</i>	トウモロコシ由来のユビキチン構成的プロモーター <sup>1)</sup> (イントロン及び5'非翻訳領域を含む)(文献 23)。
<i>cry1F</i>	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 由来のCry1F 蛋白質をコードする遺伝子。植物における発現を高めるため、最適化されている(GenBank AAA22347)。
<i>ORF25PolyA Terminator</i>	<i>A. tumefaciens</i> pTi5955 由来の転写を停止するためのターミネーター(文献 24)。
除草剤グルホシネート耐性遺伝子カセット	
構成要素	由来及び機能
<i>CAMV35S Promoter</i>	カリフラワーモザイクウイルス由来の35S 構成的プロモーター <sup>1)</sup> (文献 25)。
<i>Pat</i>	<i>S. viridochromogenes</i> 由来のホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ(PAT 蛋白質)をコードする遺伝子。植物における発現を高めるため、最適化されている(文献 26)。
<i>CAMV35S Terminator</i>	カリフラワーモザイクウイルス由来の転写を停止するための35S ターミネーター(文献 25)。

5 <sup>1)</sup>構成的プロモーター：植物体の全体において、目的遺伝子を発現させるプロモーター。

表 5 GA21 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の由来及び機能

除草剤グリホサート耐性遺伝子カセット	
構成要素	由来及び機能
Act promoter + intron	植物体全体で目的遺伝子の転写開始を誘導するイネのアクチン1遺伝子のプロモーターで、転写効率を高める働きをもつ第一イントロン領域までを含む(文献 27)。
sssu+mssu (以下「OTP」という。)	ヒマワリのリブローズ-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼオキシゲナーゼ(RuBisCo)遺伝子の葉緑体輸送ペプチド配列(sssu)と、トウモロコシのRuBisCo 遺伝子の葉緑体輸送ペプチド配列(mssu)からなる optimized transit peptide(OTP)配列で、目的遺伝子である <i>mEPSPS</i> 遺伝子によって



	発現する mEPSPS 蛋白質を、その作用の場である葉緑体に輸送する働きをもつ(文献 28)。
mEPSPS	トウモロコシの 5-エノール-ピルビルシキミ酸 3-リン酸合成酵素(EPSPS) 遺伝子の突然変異によって得られた遺伝子(文献 29)で、除草剤グリホサートによって活性阻害を受けない 5-エノール-ピルビルシキミ酸 3-リン酸合成酵素(mEPSPS)をコードし、野生型 EPSPS のアミノ酸配列における 102 番目のトレオニンがイソロイシンに、また、106 番目のプロリンがセリンに変わっている(文献 1)。
NOS	<i>A. tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子のポリアデニル化配列で、転写を終結させる働きをもつ(文献 17)。
外骨格領域	
構成要素	由 来 及 び 機 能
amp	バクテリオファージ M13 由来の lacI の一部配列、プロモーターplac 及び β-ガラクトシダーゼあるいは lacZ 蛋白質をコードする一部配列からなる lac 配列(文献 22)及び大腸菌( <i>E. coli</i> )のプラスミド pBR322 由来のアンピシリン耐性を付与する β-ラクタマーゼ遺伝子( <i>bla</i> )からなり(文献 30)、β-ラクタマーゼを発現することで構築プラスミドを含む大腸菌( <i>E. coli</i> )を選抜・維持する。
ori-puc	大腸菌( <i>E. coli</i> ) のプラスミド pUC19 由来の複製開始領域で、大腸菌( <i>E. coli</i> )においてプラスミドの自律増殖能を付与する(文献 31)。

#### ロ、構成要素の機能

- ① 目的遺伝子、発現調節領域、局在化シグナル、選抜マーカー、その他の供与核酸の構成要素それぞれの機能

Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21の作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能を、それぞれ表 1～表 5(7～11ページ)に示した。

- ② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及び当該蛋白質がアレルギー性(食品としてのアレルギー性を除く。)を有することが明らかとなっている蛋白質と相同性を有する場合はその旨

#### 【害虫抵抗性蛋白質】

- 15 土壌細菌である *B. thuringiensis* から単離された殺虫活性蛋白質は、それぞれ特異的な昆虫種に対して殺虫活性を示す。感受性昆虫種が殺虫活性蛋白質を摂取して消化すると、コア蛋白質となり標的昆虫の腸管上皮細胞の受容体に結合し、イオンバラン

スを乱して腸管上皮細胞を破壊し、その結果、消化プロセスが阻害されて殺虫活性を示すことが示唆されている(文献 32)。この作用機作は Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質と Cry35Ab1 蛋白質、Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質で同様である。

5 改変 Cry1Ab 蛋白質：

改変 Cry1Ab 蛋白質とコア蛋白質のアミノ酸配列が同一の Cry1Ab 蛋白質の殺虫活性については、カナダ政府のデータベース(文献 33)に詳細な調査結果が掲載されており、トウモロコシ栽培における主要害虫であるチョウ目昆虫のヨーロッパンコーンボラー(ヨーロッパアワノメイガ) (*Ostrinia nubilalis*)、コーンイヤールーム(アメリカタバコガ) (*Helicoverpa zea*)、フォールアーミーワーム(ツマジロクサヨトウ) (*Spodoptera frugiperda*)等に殺虫活性を示す。一方、Cry1Ab 蛋白質はチョウ目以外の昆虫には殺虫活性がないか極めて低い。

Cry34Ab1 蛋白質+Cry35Ab1 蛋白質：

15 Cry34Ab1 蛋白質及びCry35Ab1 蛋白質の機能を調べるために行った試験において、Cry34Ab1 蛋白質はリン脂質膜に対する細孔形成蛋白質として働き、Cry35Ab1 蛋白質は細孔を拡大し、膜の透過性を増大させることが示唆されている(パイオニア・ハイブレット・インターナショナル社 社内データ)。in vivo試験で、Cry34Ab1蛋白質は、単独でもコーンルートワームに対して活性を持つが、  
20 Cry35Ab1 蛋白質と一緒に存在するとCry34Ab1 蛋白質を単独で用いた際の効果と比較し、最大でおよそ8 倍の効果を示すことが確認されている(文献 34)。なお、Cry35Ab1 蛋白質単独では、コーンルートワームに対して活性を示さない。Cry34Ab1 蛋白質及びCry35Ab1 蛋白質を産生している組換えトウモロコシをコーンルートワーム幼虫に摂食させ、免疫組織化学的手法により中腸組織の形態変化を  
25 観察したところ、非組換えトウモロコシを摂食した幼虫においては何ら異常は観察されなかったが、組換え体を摂食した幼虫では、中腸細胞に腫大、空胞化、細胞膜の泡状化及び溶解などの細胞死を示す現象が観察された。この結果は、他のBt 蛋白質と同様に、Cry34Ab1 蛋白質及びCry35Ab1 蛋白質の標的器官が中腸であることを示している(文献 35)。

30 一般的に、Bt 蛋白質の殺虫効果は非常に特異性が高いことが知られており(文献 36)、実際に、Cry34Ab1 蛋白質及びCry35Ab1 蛋白質の混合物を供試して行なわれた、米国のトウモロコシ栽培における6 種の害虫に対する殺虫効果を調べた試験において、当該蛋白質も特定の害虫に対してのみ殺虫効果を持つことが示されている(文献 37)。試験を行った6種の害虫の中で特に効果が高かったのは、コウチュ

ウ目害虫であるノーザンコーンルートワーム(*Diabrotica barberi*)とウエスタンコーンルートワーム(*Diabrotica virgifera virgifera*)の2種の幼虫についてで、同じコーンルートワームの仲間であるサザンコーンルートワーム(*Diabrotica undecimpunctata howardi*)に対する効果はノーザンコーンルートワームやウエスタンコーンルートワームよりも低いものであった。チョウ目害虫であるヨーロッパ  
5  
ンコーンボラー、コーンイヤワーム、ブラックカットワーム、さらにコウチュウ目害虫のウエスタンコーンルートワームの成虫については、試験を行った最高濃度でも死亡した個体は認められなかった。

コーンルートワーム以外の非標的コウチュウ目昆虫に対する影響の有無を調べるために、テントウムシ2種(*Hippodamia convergens* 及び *Coleomegilla maculata*)を供試して生物検定を行った(文献 37)。生物検定の結果、検定を行った最高濃度でも、*H. convergens* の成虫に対して何ら影響は観察されなかった。*C. maculata* の幼虫に対しては、生体重の減少が認められたものの、検定を行った最高濃度でも死亡した個体は認められなかった。

15  
コウチュウ目昆虫以外にも、哺乳類(文献 38、文献 39、文献 40)、鳥類(文献 41)、魚類(文献 42)、チョウ目昆虫(文献 37)、ハチ目昆虫(文献 37)、アミメカゲロウ目(文献 37)、カメムシ目(文献 37)等について試験を行ったが、Cry34Ab1 蛋白質及びCry35Ab1 蛋白質は、試験を行ったすべての非標的生物に対し毒性を持たないことが確認された。

20

改変Cry3Aa2蛋白質：

改変cry3Aa2遺伝子については、宿主であるトウモロコシでの発現が高まるようGC含量を変更するため塩基配列が改変されている。また、標的コウチュウ目害虫であるコーンルートワームに対する殺虫効果を高めるために、Cry3Aa2蛋白質の  
25  
108~110番目のアミノ酸配列であるバリン-セリン-セリンに相当する部分がカテプシンGプロテアーゼ認識配列であるアラニン-アラニン-プロリン-フェニルアラニンの4アミノ酸となるように塩基配列が改変されている。この改変により改変Cry3Aa2蛋白質はコーンルートワームの中腸内において、カテプシンGプロテアーゼ認識配列の4番目のアミノ酸であるフェニルアラニンのC末端側で切断され、  
30  
コア蛋白質となる。しかし、この改変部分以外のアミノ酸配列は、*Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* 由来のCry3Aa2蛋白質のアミノ酸配列と同じである。

改変Cry3Aa2蛋白質は4種のコウチュウ目昆虫(ウエスタンコーンルートワーム

(*D. virgifera virgifera*)、ノーザンコーンルートワーム(*Diabrotica longicornis barberi*)、コロラドポテトビートル(コロラドハムシ) (*Leptinotarsa decemlineata*)、バンデッドキューカンバービートル(*Diabrotica balteata*)に殺虫活性を示した。一方、それ以外のコウチュウ目昆虫であるサザンコーンルートワーム(ジュウイチホシウリハムシ)(*Diabrotica undecimpunctata*)及びコットンボールウィービル(ワタミゾウムシ)(*Anthonomus grandis*)には活性を示さなかった。また、Cry3Aa2蛋白質はコウチュウ目以外の昆虫には殺虫活性がないか極めて低い。

#### Cry1F蛋白質：

10 Cry1F 蛋白質の殺虫効果を調べるため、蛍光菌(*Pseudomonas fluorescens*)中で産生させたCry1F 蛋白質を人工飼料に混合し、米国において農業上の害虫と見なされている15 種類のチョウ目昆虫に混餌投与した。15 種類のチョウ目昆虫のうち、6 種は米国でのトウモロコシ栽培において、9 種はワタ、ダイズ、カノーラ等、その他の作物栽培において害虫と見なされている。上記6 種のトウモロコシ栽培における害虫のうち、Cry1F line 1507 の標的害虫であるヨーロッパコーンボラー(ヨーロッパアワノメイガ) (*O. nubilalis*)、フールアーミーワーム(ツマジロクサヨトウ) (*S. frugiperda*)及びビートアーミーワーム(シロイチモンジヨトウ) (*Spodoptera exigua*)に対する効果は高いものであったが、残り3 種の害虫(サウスウエスタンコーンボラー (*Diatraea grandiosella*)、ブラックカットワーム(タマナヤガ) (*Agrotis ipsilon*)及びボールワーム)に対する効果は低いものであった。一方、農業上の害虫とはされていないオオカバマダラ(*Danaus plexippus*)についても試験を行ったが、試験を行った最高濃度においてもオオカバマダラの死亡率は対照区と同等であった。これらの結果から、他のBt 蛋白質と同様に(文献 36)、Cry1F 蛋白質の殺虫効果は特異性が高く、一部の昆虫にのみ効果を持つことが示された。

25 チョウ目昆虫以外にも、哺乳類、鳥類、魚類、コウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目、トビムシ目昆虫等について試験を行ったが、Cry1F 蛋白質は、試験を行ったすべての非標的生物に対し毒性を持たないことが確認された(文献 43)。

#### 【除草剤耐性蛋白質】

30 PAT 蛋白質：

除草剤グルホシネートは植物のグルタミン酸合成酵素を阻害するため、植物は細胞内のアンモニアの蓄積によって枯死するが、PAT蛋白質が発現した場合にはグルホシネートをアセチル化し、不活性化するためにグルタミン合成酵素の阻害が起こらない。

35

#### mEPSPS 蛋白質：

除草剤グリホサートは、植物の芳香族アミノ酸合成経路の一部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)の活性を阻害し、芳香族アミノ酸合成を止めることで植物を枯死させる非選択性茎葉処理型除草剤である(文献 44)。 *mEPSPS* 遺伝子がコードする mEPSPS 蛋白質は除草剤グリホサートの存在下でも EPSPS 活性を示し、植物内在性 EPSPS に代わって芳香族アミノ酸の合成を可能とすることによって除草剤グリホサート耐性を付与する。

#### 【選抜マーカー】

#### 10 PAT 蛋白質：

除草剤グルホシネートは植物のグルタミン酸合成酵素を阻害するため、植物は細胞内のアンモニアの蓄積によって枯死するが、PAT蛋白質が発現した場合にはグルホシネートをアセチル化し、不活性化するためにグルタミン合成酵素の阻害が起こらない。

15

#### PMI 蛋白質：

*pmi* 遺伝子は PMI 蛋白質(Phosphomannose isomerase)をコードする大腸菌(*E. coli*)由来の遺伝子であり、PMI 蛋白質はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸を可逆的に相互変換する機能を有する。通常、トウモロコシを含む多くの植物はマンノースを炭素源として利用できないが、*pmi* 遺伝子を持つ細胞はマンノースを利用して成長することができる。このため、*pmi* 遺伝子を選抜マーカーとして目的遺伝子と一緒に植物細胞に導入し、マンノースを含む培地で培養することにより、*pmi* 遺伝子とともに目的遺伝子を有する形質転換細胞の選抜が可能となる(文献 45)。PMI 蛋白質はトウモロコシには存在しないが、ヒトの消化器官も含めて自然界に広く存在し、植物ではダイズ等において存在が確認されている。

25

なお、改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質、Cry1F 蛋白質、PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質が既知アレルゲンと相同性を持たないことが、公的に利用可能なデータベース(FARRP、NCBI Entrez Protein database 等)を用いた相同性検索によって確認されている(改変 Cry1Ab 蛋白質；2010 年、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質；2003 年、改変 Cry3Aa2 蛋白質；2010 年、Cry1F 蛋白質；1999 年、PAT 蛋白質；2010 年、mEPSPS 蛋白質；2010 年及び PMI 蛋白質；2010 年)。

30

### ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

5 改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質が酵素活性を持つという報告はない。よって、これらの蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

10 PAT 蛋白質は L-フォスフィノトリシン(除草剤グルホシネート)及びジメチルフォスフィノトリシンに非常に高い基質特異性を持ち、これ以外に PAT 蛋白質の基質となる他の蛋白質もしくはアミノ酸は報告されていない(文献 46)。よって、PAT 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

15 mEPSPS 蛋白質はシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり(文献 47)、ホスホエノールピルビン酸 (PEP) 及びシキミ酸-3-リン酸 (S3P) と特異的に反応することが報告されている(文献 48)。よって、mEPSPS 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

20 PMI 蛋白質は、マンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸の可逆的な相互変換を触媒する酵素蛋白質である。PMI 蛋白質による反応はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的であり、他の天然基質は報告されていない(文献 49)。よって、PMI 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

### (2) ベクターに関する情報

イ、名称及び由来

25

Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21の作出に用いられたプラスミドは以下のとおりである。

30 Bt11 : 大腸菌(*E. coli*)由来のpUC18を基に構築されたpZO1502  
Event DAS-59122-7 : *A. tumefaciens* 由来のベクターpSB1 をもとに構築された  
PHP17662  
MIR604 : 大腸菌(*E. coli*)由来のpUC19を基に構築されたpZM26  
Cry1F line 1507 : 大腸菌(*E. coli*)由来のpUC19を基に構築されたPHP8999  
GA21 : 大腸菌(*E. coli*)由来のpUC19を基に構築された pDPG434

35

ロ、特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

- 5 Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21の作出に用いられたプラスミドの塩基数は以下のとおりであり、これらのプラスミドの構成要素の塩基配列は明らかにされている。

Bt11 : pZO1502、7,240 bp

10 Event DAS-59122-7 : PHP17662、50,311 bp

MIR604 : pZM26、13,811 bp

Cry1F line 1507 : PHP8999、9,504 bp

GA21 : pDPG434、6,128 bp (文献 1)

- 15 ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21の作出に用いられたプラスミドに含まれる特定の機能を有する塩基配列は、以下の抗生物質耐性マーカー遺伝子である。なお、いずれの抗生物質耐性マーカー遺伝子も宿主には導入されていない。

Bt11 : *amp<sup>R</sup>*遺伝子、アンピシリン耐性

Event DAS-59122-7 : *tet* 遺伝子、テトラサイクリン耐性及び*spc* 遺伝子、スペクチノマイシン耐性

25 MIR604 : *spec*遺伝子、ストレプトマイシン・エリスロマイシン・スペクチノマイシン耐性

Cry1F line 1507 : *nptII* 遺伝子、カナマイシン耐性

GA21 : *amp<sup>R</sup>*遺伝子、アンピシリン耐性(文献 1)

- 30 ③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21の作出に用いられたpZO1502、PHP17662、pZM26、PHP8999及びpDPG434に感染性を示すような配列があるという報告はない。

35

### (3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

#### イ、宿主内に移入された核酸全体の構成

- 5 Bt11 : pZO1502 を制限酵素 *NotI* で切断して *amp<sup>R</sup>* 遺伝子を削除した部分  
Event DAS-59122-7 : 2 つの遺伝子発現カセット(害虫抵抗性遺伝子カセットと  
除草剤グルホシネート耐性遺伝子カセット)が Event  
DAS-59122-7 に移入された。
- 10 MIR604 : T-DNA 領域である RB と LB の間の 2 つの遺伝子発現カセット(害虫抵  
抗性遺伝子カセットと選抜マーカー遺伝子カセット)
- Cry1F line 1507 : 2 つの遺伝子発現カセット(害虫抵抗性遺伝子カセットと除草  
剤グルホシネート耐性遺伝子カセット)が Cry1F line 1507 に  
移入された。
- 15 GA21 : pDPG434 を制限酵素 *NotI* で切断して得られた、除草剤耐性遺伝子カセッ  
ト(Act promoter+intron/OTP/*mEPSPS*/NOS)のみからなる DNA 断片(文  
献 1)

#### ロ、宿主内に移入された核酸の移入方法

- 20 核酸の宿主への移入方法は、それぞれ以下のとおりである。

- Bt11 : エレクトロポレーション法  
Event DAS-59122-7 : アグロバクテリウム法  
MIR604 : アグロバクテリウム法  
25 Cry1F line 1507 : パーティクルガン法  
GA21 : パーティクルガン法(文献 1)

#### ハ、遺伝子組換え生物等の育成の経過

- 30 ① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

形質転換細胞の選抜は、それぞれ以下を添加した培地で行った。

Bt11 : グルホシネート



Event DAS-59122-7：グルホシネート

MIR604：マンノース

Cry1F line 1507：グルホシネート

GA21：グリホサート(文献 1)

5

- ② 核酸の移入方法がアグロバクテリウム法の場合はアグロバクテリウムの菌体の残存の有無

10 Event DAS-59122-7 にアグロバクテリウム菌体が残存していないことは、カルベニシリン無添加の培地にEvent DAS-59122-7を移した後に、植物体を顕微鏡下で観察することにより確認した。また、MIR604においては遺伝子導入後、培養細胞の培地中に抗生物質セフトキシシンを添加して形質転換に用いたアグロバクテリウムを除去した。その後、再分化した植物体にPCRを行い、プラスミドの外骨格領域に含まれる抗生物質耐性マーカー遺伝子を含まない個体を選抜したことから、菌体の残存はないと考えられる。

15

- ③ 核酸が移入された細胞から、移入された核酸の複製物の存在状態を確認した系統、隔離ほ場試験に供した系統その他の生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために用いられた系統までの育成の経過

20

本スタック系統トウモロコシは、チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシであるBt11、コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシであるEvent DAS-59122-7、コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシであるMIR604、チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシであるCry1F line 1507及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシであるGA21を用いて、交雑育種法により作出された。なお、我が国におけるBt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21の申請及び承認状況は表 6 (21ページ)のとおりである。

25

表 6 我が国における Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 の申請及び承認状況

系統名	食品	飼料	環境
Bt11	2001年3月 安全性確認	2003年3月 安全性確認	2007年4月 第一種使用規程承認
Event DAS-59122-7	2005年10月 安全性確認	2006年3月 安全性確認	2006年4月 第一種使用規程承認
MIR604	2007年8月 安全性確認	2007年8月 安全性確認	2007年8月 第一種使用規程承認
Cry1F line 1507	2002年7月 安全性確認	2003年3月 安全性確認	2005年3月 第一種使用規程承認
GA21	2003年3月 安全性確認	2003年3月 安全性確認	2005年11月 第一種使用規程承認
本スタック系統 トウモロコシ	2011年2月 安全性確認	2010年11月 安全性確認	2011年1月 申請

5 (4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

10 Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 の導入遺伝子は染色体上に存在することが確認されている。

② 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複数世代における伝達の安定性

15 Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604 及び Cry1F line 1507 においては、サザンブロット分析によって導入遺伝子が染色体上に1コピー存在し、複数世代において安定して伝達されることが確認されている。

20 GA21 においては、サザンブロット分析によって導入遺伝子が染色体上の1カ所に存在し、移入された除草剤耐性遺伝子カセット (Act promoter + intron/OTP/mEPSPS/NOS)断片に由来する6つの連続的領域からなること、また、これらが複数世代において安定して伝達されることが確認されている。

- ③ 染色体上に複数コピーが存在している場合は、それらが隣接しているか離れているかの別

—

5

- ④ (6)の①において具体的に示される特性について、自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性

発現の安定性については以下のように確認した。

10

**Bt11** : ELISA 法による蛋白質の発現確認、チョウ目害虫を用いた生物検定、除草剤グルホシネート散布試験

**Event DAS-59122-7** : ELISA 法による蛋白質の発現確認、及びコウチュウ目害虫を用いた生物検定と除草剤グルホシネート散布試験

15

**MIR604** : ELISA 法による蛋白質の発現確認、コウチュウ目害虫を用いた生物検定  
**Cry1F line 1507** : ELISA 法による蛋白質の発現確認、チョウ目害虫を用いた生物検定、除草剤グルホシネート散布試験

**GA21** : 除草剤グリホサート散布試験

20

- ⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度

25

**Bt11**、**Event DAS-59122-7**、**MIR604**、**Cry1F line 1507**及び**GA21**に移入された核酸に伝達を可能とする配列は含まれていない。したがって、移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれはないと考えられる。

- (5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

30

**Bt11**、**MIR604**及び**GA21**の定量的PCR法による系統特異的検出方法が、**European Commission**により公開されている。定量限界値は、ゲノムDNAの濃度比で、**Bt11**は0.08 %以上、**MIR604**は0.09 %より上、**GA21**は0.04 %以上である(文献 50、文献 51)。**Cry1F line 1507** の検出及び識別の方法として、**Cry1F line 1507** に特異的な塩基配列をプライマーとして用いた、**RT(Real Time)-PCR** 法による定量キットが、**GeneScanEurope**社(ドイツ、フライブルグ)によって販売されている。また、**Event**

DAS-59122-7の検出及び識別の方法として、Cry34Ab1 蛋白質及びCry35Ab1蛋白質、PAT 蛋白質に対するポリクローナル抗体を用いた定量ELISA 法が開発されている。

5 本スタック系統トウモロコシを検出及び識別するには、上記の方法をトウモロコシの種子 1 粒ごとに行う必要がある。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

10 ① 移入された核酸の複製物の発現により付与された生理学的又は生態学的特性の具体的な内容

本スタック系統トウモロコシに付与された特性は以下のとおりである。

15 Bt11：導入遺伝子に由来する改変 Cry1Ab 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性及び PAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性

Event DAS-59122-7：導入遺伝子に由来するCry34Ab1 蛋白質及びCry35Ab1 蛋白質によるコウチュウ目害虫抵抗性及びPAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性

20 MIR604：導入遺伝子に由来する改変 Cry3Aa2 蛋白質によるコウチュウ目害虫抵抗性及び PMI 蛋白質による選抜マーカー特性

Cry1F line 1507：導入遺伝子に由来するCry1F蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性及びPAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性

GA21：導入遺伝子に由来する mEPSPS 蛋白質による除草剤グリホサート耐性

25 改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質と Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質は、感受性昆虫種に摂取され消化されると標的昆虫の腸管上皮細胞の受容体に結合することが知られているが、Bt 由来の殺虫活性蛋白質の特異性には蛋白質の構造が関与しており、感受性昆虫の腸管上皮細胞においてそれぞれで異なる受容体に結合すると考えられる。なお、Cry34Ab1 蛋白質は、単独でもコーンルートワームに対して活性を持つが、Cry35Ab1 蛋白質と一緒に存在すると相乗効果があることが示されており、Cry34Ab1 蛋白質を単独で用いた際の効果と比較し、最大でおよそ 8 倍の効果を示すことが確認されている(文献 34)が、Cry35Ab1 蛋白質単独では、コーンルートワームに対して活性を示さない。また、改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質が

30

酵素活性を持つという報告はないことから、これらの蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。よって、本スタック系統トウモロコシにおいて改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質が発現しても新たに感受性となる昆虫種が生じることはないと考えられる。また、複数の害虫抵抗性蛋白質を発現するスタック系統が害虫抵抗性に関して相乗的効果を示した報告はない。

PAT 蛋白質は L-フォスフィノトリシン(除草剤グルホシネート)及びジメチルフォスフィノトリシンに非常に高い基質特異性を持ち、これ以外に PAT 蛋白質の基質となる他の蛋白質もしくはアミノ酸は報告されていない(文献 46)。また、mEPSPS 蛋白質はシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり(文献 47)、ホスホエノールピルビン酸 (PEP) 及びシキミ酸-3-リン酸 (S3P) と特異的に反応することが報告されている(文献 48)。さらに、PMI 蛋白質は、マンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸の可逆的な相互変換を触媒する酵素蛋白質である。PMI 蛋白質による反応はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的であり、他の天然基質は報告されていない(文献 49)。また、PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質の基質及び作用は異なり、関与している代謝経路も独立している。よって、PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

上記のように、本スタック系統トウモロコシにおいて発現している改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質と Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質は特異性が異なり、酵素活性を持つという報告はないこと、PAT 蛋白質は非常に基質特異性が高いこと、mEPSPS 蛋白質はホスホエノールピルビン酸 (PEP) 及びシキミ酸-3-リン酸 (S3P) と特異的に反応すること及び PMI 蛋白質はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的であることから、本スタック系統トウモロコシにおいてこれらの蛋白質が発現しても、相互に作用して宿主の代謝系を変化させ、予期しない代謝物が生じることはないと考えられる。よって、これらの蛋白質が機能的な相互作用を示すことはないと考えられる。

実際に、各親系統由来の発現蛋白質が機能的に相互作用を示していないことを確認するため、本スタック系統トウモロコシを供試して以下の調査を行った。なお、非組換えトウモロコシとして、試験に用いた本スタック系統トウモロコシと同じ遺伝的背景(NP2222×5XH751)を持つトウモロコシを供試した。



【チョウ目害虫を用いた生物検定】

チョウ目害虫抵抗性については、本スタック系統トウモロコシ、Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び非組換えトウモロコシを米国の3カ所のほ場(イリノイ州シャーリー、アイオワ州スレーター及びイリノイ州ワペラ)で栽培し、対象害虫であるヨーロピアンコーンボローラーをトウモロコシの6~8葉期に接種し、14~20日後に食害程度を目視で観察した。

調査の結果、本スタック系統トウモロコシとBt11及びCry1F line 1507 の間で有意差は認められなかった(表 7、26ページ)。したがって、本スタック系統トウモロコシのチョウ目害虫(ヨーロピアンコーンボローラー)に対する殺虫活性は、親系統を掛け合わせるにより変化していないと考えられた。

表 7 本スタック系統トウモロコシにおけるチョウ目害虫(ヨーロピアンコーンボローラー)による植物体の食害程度

試験ほ場	本スタック系統トウモロコシ		Bt11		Event DAS-59122-7		MIR604		Cry1F line 1507		非組換えトウモロコシ	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
イリノイ州シャーリー	1.0 b <sup>1</sup>	0.1	1.0 b	0.0	4.9 a	0.8	4.9 a	0.8	1.1 b	0.1	5.3 a	0.4
アイオワ州スレーター	1.0 b	0.0	1.0 b	0.0	4.3 a	0.4	4.2 a	0.8	1.1 b	0.1	4.8 a	0.3
イリノイ州ワペラ	1.0 b	0.0	1.0 b	0.0	6.9 a	0.1	6.8 a	0.2	1.0 b	0.0	6.9 a	0.3

食害程度の調査は、いずれも10植物体、3反復で実施した。

1: 食害程度は9段階スケール(1(食害無)~9(食害甚))に基づいて評価した(文献 52)。

2: 統計については試験場所ごとに実施しており、同じ英文字の平均値間には有意差がない(F検定後のLSD、 $p < 0.05$ )。

20 (本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

【コウチュウ目害虫を用いた生物検定】

コウチュウ目害虫抵抗性については、本スタック系統トウモロコシ、Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び非組換えトウモロコシを米国の3カ所のほ場(イリノイ州ブルーミントン、イリノイ州シャーリー及びイリノイ州トレモント)で栽培し、対象害虫であるウエスタンコーンルートワームによる根の食害程度を調査した。各ほ場にはウエスタンコーンルートワームの卵が存在し、トウモロコシが2~4葉期の時点で卵が孵化するようにトウモロコシを栽培し、絹糸抽出期に根の食害程度を目視で観察した。

10

調査の結果、イリノイ州ブルーミントンのほ場において本スタック系統トウモロコシはEvent DAS-59122-7の食害程度と比べて有意に低い食害程度を示した。これは、本スタック系統トウモロコシにおいてEvent DAS-59122-7及びMIR604がそれぞれ持つコウチュウ目害虫抵抗性蛋白質が発現したため、コウチュウ目害虫抵抗性蛋白質の量が親系統に比べ増加し、相加的な効果が観察されたものと考えられた。イリノイ州シャーリー及びイリノイ州トレモントにおいては本スタック系統トウモロコシとEvent DAS-59122-7及びMIR604の間で有意差は認められなかったものの、イリノイ州ブルーミントンと同様の傾向が観察された

20 表 8 本スタック系統トウモロコシのコウチュウ目害虫(ウエスタンコーンルートワーム)による根の食害程度

試験ほ場	本スタック系統トウモロコシ		Bt11		Event DAS-59122-7		MIR604		Cry1F line 1507		非組換えトウモロコシ	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
イリノイ州ブルーミントン	0.22 c <sup>1</sup>	0.15	2.91 a	0.05	1.26 b	0.66	0.77 bc	0.29	2.94 a	0.03	2.87 a	0.10
イリノイ州シャーリー	0.13 b	0.04	2.45 a	0.56	0.48 b	0.24	0.68 b	0.40	1.79 a	0.58	2.25 a	0.35
イリノイ州トレモント	0.05 c	0.01	2.04 a	0.69	0.07 c	0.03	0.11 c	0.06	1.84 a	0.43	1.02 b	0.22

食害程度の調査は、いずれも6植物体、3反復で実施した。

1: 根の食害程度は、ウエスタンコーンルートワームによる根の損傷程度を、0.01(損傷がないか、1つないしは2つの軽微な表面的食害が認められる)~3.00(食害が3つの根節間全てに及んでいる)の間で16段階に分類する方法で評価した(文献 53)。

2: 統計については試験場所ごとに実施しており、同じ英文字の平均値間には有意差がない(F検定後のLSD、p<0.05)。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

30

【除草剤グルホシネートを用いた生物検定】



除草剤グルホシネート耐性については、本スタック系統トウモロコシ、Bt11、Event DAS-59122-7、Cry1F line 1507 及び非組換えトウモロコシを米国の温室で栽培し、3 葉期(播種後 12 日目)に、グルホシネートを有効成分とする除草剤(製品名：イグナイト™)を散布し、散布後 22 日目に薬害程度を目視で観察した。なお、グルホシネート 467g active ingredient (a.i.)/ha は通常の散布量、3,736g a.i./ha は通常の 8 倍の散布量、7,472g a.i./ha は通常の 16 倍の散布量である。

調査の結果、本スタック系統トウモロコシの薬害程度は高濃度散布において Bt11、Event DAS-59122-7 及び Cry1F line 1507 と比べて有意に高いグルホシネート耐性が観察された(表 9、28ページ)。これは、本スタック系統トウモロコシにおいて Bt11、Event DAS-59122-7 及び Cry1F line 1507 がそれぞれ持つ PAT 蛋白質が発現したため、PAT 蛋白質の量が親系統に比べ増加し、相加的な効果が観察されたものと考えられた。

15

表 9 本スタック系統トウモロコシの除草剤グルホシネート散布による薬害程度

除草剤散布量 (g.a.i./ha)	薬害程度 (%)									
	本スタック系統 トウモロコシ		Bt11		Event DAS-59122-7		Cry1F line 1507		非組換え トウモロコシ	
	平均値	標準 偏差	平均値	標準 偏差	平均値	標準 偏差	平均値	標準 偏差	平均値	標準 偏差
467	0.0 h <sup>1</sup>	0.0	0.0 h	0.0	0.0 h	0.0	0.0 h	0.0	53.7 b	12.8
3,736	2.3 g	1.5	6.2 de	3.4	3.3 fg	2.7	4.5 ef	2.8	100 a	0.0
7,472	3.9 fg	2.3	9.4 c	3.3	6.0 de	2.6	7.7 cd	2.8	100 a	0.0

薬害程度の調査は、いずれも 10 植物体、3 反復で実施した。

- 1: トウモロコシの系統ごとに無散布区を設け、無散布区の植物体の薬害程度を 0 %(健全)として比較することで、除草剤散布区の薬害程度を 0 %(健全)から 100 %(完全枯死)と判定した。
  - 2: 同じ英文字の平均値間には有意差がない(Student-Newman-Keuls 検定、 $p<0.05$ )。
- (本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

20

【除草剤グリホサートを用いた生物検定】

除草剤グリホサート耐性については、本スタック系統トウモロコシ、GA21 及び非組換えトウモロコシを米国の温室で栽培し、3 葉期(播種後 12 日目)に、グリホサートを有効成分とする除草剤(製品名：タッチダウントータル™)を散布し、散布後 22 日目に薬害程度を目視で観察した。なお、グリホサート 840 g acid equivalent (a.e.)/ha は通常の散布量)、3,360 g a.e./ha は通常の 4 倍の散布量、6,720 g a.e./ha は通常の 8 倍の散布量である。

10 調査の結果、本スタック系統トウモロコシと GA21 の間で除草剤による薬害程度に有意差は見られなかった(表 10、29ページ)。したがって、本スタック系統トウモロコシの除草剤グリホサートに対する耐性は、親系統を掛け合わせるにより変化していないことが確認された。

15 表 10 本スタック系統トウモロコシの除草剤グリホサート散布による薬害程度

除草剤散布量 (g.a.e./ha)	薬害程度 (%)					
	本スタック系統 トウモロコシ		GA21		非組換えトウモロコシ	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
840	4.4 d <sup>1</sup>	4.3	3.2 d	5.0	100 a	0.0
3,360	23.2 c	8.4	26.7 c	7.6	100 a	0.0
6,720	34.2 b	7.8	35.3 b	10.5	100 a	0.0

薬害程度の調査は、いずれも 10 植物体、3 反復で実施した。

1：トウモロコシの系統ごとに無散布区を設け、無散布区の植物体の薬害程度を 0 %(健全)として比較することで、除草剤散布区の薬害程度を 0 %(健全)から 100 %(完全枯死)と判定した。

2：同じ英文字の平均値間には有意差がない(Student-Newman-Keuls 検定、p<0.05)。

20 (本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

25 以上のことから、一部の試験で害虫抵抗性及び除草剤耐性について本スタック系統と親系統の間に有意な差が見られたものの、それらは相加的な効果が観察されたものと考えられた。よって、それぞれの親系統で発現する蛋白質の機能的な相互作用はなく、導入した遺伝子によって新たに獲得されたそれぞれの性質は、本スタック系統トウモロコシにおいて変化していないと結論された。

したがって、本スタック系統トウモロコシと宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシとの生理学的又は生態学的特性の相違については、親系統であるBt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21を個別に調査した結果に基づき評価した。

5

② 以下に掲げる生理学的又は生態学的特性について、遺伝子組換え農作物と宿主の属する分類学上の種との間の相違の有無及び相違がある場合はその程度

a 形態及び生育の特性

10

Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21とそれぞれの対照の非組換えトウモロコシとの間で、表 11 (31ページ)に示した項目について日本の隔離ほ場で調査を行った。その結果、Event DAS-59122-7の稈長、Cry1F line 1507の発芽率及び雌穂径を除く全ての調査項目で有意差は見られないか、あるいは同程度であった。なお、Event DAS-59122-7及びCry1F line 1507について有意差は見られたものの、試験に供試した2つの品種において一貫した傾向は見られなかった(別紙1、2、4、5、6；社外秘情報につき非開示)。

15

表 11 Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21の形態及び生育の特性調査実施項目

	Bt11	Event DAS-5912 2-7	MIR604	Cry1F line 1507	GA21
発芽始め	—	—	—	—	○
発芽揃い	○	○	○	○	○
発芽率	○	○	○	○	○
雄穂抽出期	○	○	○	○	○
絹糸抽出期	○	○	○	○	○
開花始	○	○	—	—	○
開花終	○	○	—	—	○
開花期間	○	○	—	—	—
稈長	○	○	○	○	○
草型	○	○	○	○	○
分けつ数	○	○	○	○	○
着雌穂高	○	○	○	○	○
成熟期	○	○	○	○	○
雌穂数(雌穂総数)	○	—	○	○	○
有効雌穂数	○	○	○	○	○
雌穂長	○	○	○	○	○
雌穂径	○	○	○	○	○
粒列数	○	○	○	○	○
一列粒数	○	○	○	○	○
粒色	○	○	○	○	○
百粒重	○	○	○	○	○
粒形	○	○	○	○	○
収穫期の地上部新鮮重	○	○	○	○	—
収穫期の生体重(植物体の全重量)	—	—	—	—	○

○：調査を行っている。

—：調査を行っていない。

5

b 生育初期における低温又は高温耐性

5 Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 は、それぞれの対照の非組換えトウモロコシと同様に、生育初期における低温処理によって萎縮もしくは枯死した(別紙 1、2、4、5、6 ; 社外秘情報につき非開示)。

c 成体の越冬性又は越夏性

10 トウモロコシは夏型一年生作物であり、子実の成熟に伴って成体は枯れ上がり枯死する。成熟後に栄養繁殖するという報告や、再度結実して種子を生産するという報告はない。実際に隔離ほ場試験の終了時には結実後の枯死が始まっていることを確認した。

15 d 花粉の稔性及びサイズ

Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 とそれぞれの対照の非組換えトウモロコシについて、花粉を染色し顕微鏡下で観察した結果、稔性(染色による花粉の充実度)、形状及びサイズに相違は見られなかった(別紙1、2、4、5、  
20 6 ; 社外秘情報につき非開示)。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

25 種子の生産量に関して、Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 とそれぞれの対照の非組換えトウモロコシとの間で、種子の生産量に関わる諸形質を比較した結果、Cry1F line 1507 の雌穂径において有意差が認められた。なお、Cry1F line 1507 について有意差は見られたものの、試験に供試した2つの品種において一貫した傾向は見られなかった(別紙1、2、4、5、6 ; 社外秘情報につき非  
30 開示)。

脱粒性に関して、トウモロコシの種子は雌穂に着生しており、加えて、雌穂が苞皮で覆われているため、自然に脱粒することはない(文献 3)。Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 も対照の非組換えトウモロコシと同様に、収穫時の雌穂は苞皮に覆われていた。  
35

収獲種子の発芽率に関して、Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507  
及びGA21のいずれにおいても対照の非組換えトウモロコシと同程度であった(別紙1、  
2、4、5、6；社外秘情報につき非開示)。そのため、Bt11、Event DAS-59122-7、  
MIR604、Cry1F line 1507及びGA21の休眠性が非組換えトウモロコシと大きく異なる  
5 可能性は低いと考えられた。

#### f 交雑率

我が国にはトウモロコシと交雑可能な近縁野生種が自生しているとの報告はない  
10 ことから、Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21とも  
に交雑率の試験は行わなかった。

#### g 有害物質の産生性

15 Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21について、鋤込  
み試験、後作試験、土壤微生物相試験を行った結果、Cry1F line 1507を除いて、い  
ずれの試験においても対照の非組換えトウモロコシとの間で有意差は見られなかつ  
た。なお、Cry1F line 1507の後作試験及び鋤込み試験におけるレタスの生体重に有  
意差が認められたものの、試験に供試した2つの品種において一貫した傾向は見られ  
20 なかった(別紙1、3、4、5、6；社外秘情報につき非開示)。

### 3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

#### (1) 使用等の内容

25

食用又は飼料に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれら  
に付随する行為。

#### (2) 使用等の方法

30

—

#### (3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

35

—

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止する

ための措置

「緊急措置計画書」を参照。

- 5 (5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

—

- 10 (6) 国外における使用等に関する情報

Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 の諸外国における申請・承認状況は表 12(34ページ)に示したとおりである。また、本スタック系統は US EPA に 2010 年 8 月に申請した。

15

表 12 Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 の諸外国における申請・承認状況

	FDA	USDA	Health Canada	CFIA
Bt11	1996年5月 安全性確認	1996年1月 安全性確認	1996年8月 安全性確認	1996年6月 安全性確認
Event DAS-59122-7	2004年10月 安全性確認	2005年10月 安全性確認	2005年11月 安全性確認	2005年11月 安全性確認
MIR604	2007年1月 安全性確認	2007年3月 安全性確認	2007年6月 安全性確認	2007年7月 安全性確認
Cry1F line 1507	2001年5月 安全性確認	2001年6月 安全性確認	2002年10月 安全性確認	2002年10月 安全性確認
GA21	1998年2月 安全性確認	1997年11月 安全性確認	1999年5月 安全性確認	1998年7月 安全性確認

FDA：米国食品医薬品庁

USDA：米国農務省

- 20 Health Canada：カナダ保健省

CFIA：カナダ食品検査庁

なお、我が国における Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 の申請・承認状況は表 6(21ページ)のとおりである。

## 第 2 項目ごとの生物多様性影響の評価

本スタック系統トウモロコシは、Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 から、交雑育種法により作出された。

5

第 1.2 (6) ①(23～30 ページ)で述べたとおり、改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質と Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質はそれぞれ独立して作用していると考えられる。また、改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質が酵素活性を持つという報告はないことから、これらの蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。よって、本スタック系統トウモロコシにおいて改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質が発現しても新たに感受性となる昆虫種が生じることはないと考えられる。また、複数の害虫抵抗性蛋白質を発現するスタック系統が害虫抵抗性に関して相乗的効果を示した報告はない。

15

PAT 蛋白質は L-フォスフィノトリシン(除草剤グルホシネート)及びジメチルフォスフィノトリシンに非常に高い基質特異性を持ち、これ以外に PAT 蛋白質の基質となる他の蛋白質もしくはアミノ酸は報告されていない(文献 46)。また、mEPSPS 蛋白質はシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり(文献 47)、ホスホエノールピルビン酸 (PEP) 及びシキミ酸-3-リン酸 (S3P) と特異的に反応することが報告されている(文献 48)。さらに、PMI 蛋白質は、マンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸の可逆的な相互変換を触媒する酵素蛋白質である。PMI 蛋白質による反応はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的であり、他の天然基質は報告されていない(文献 49)。よって、PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

20

25

上記のように、本スタック系統トウモロコシにおいて発現している改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質と Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質は特異性が異なり、酵素活性を持つという報告はないこと、PAT 蛋白質は非常に基質特異性が高いこと、mEPSPS 蛋白質はホスホエノールピルビン酸 (PEP) 及びシキミ酸-3-リン酸 (S3P) と特異的に反応すること及び PMI 蛋白質はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的であることから、これらの蛋白質が機能的な相互作用を示すことはないと考えられる。

35



よって、本スタック系統トウモロコシにおいて、それぞれの親系統由来の発現蛋白質が宿主の代謝経路に新たな影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

5 実際には、本スタック系統トウモロコシのチョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性、除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性は、一部の試験で害虫抵抗性及び除草剤耐性について本スタック系統と親系統の間に有意な差が見られたものの、それらは相加的な効果が観察されたものと考えられた。よって、それぞれの親系統で発現する蛋白質の機能的な相互作用はなく、導入した遺伝子によって新たに獲得されたそれぞれの性質は、本スタック系統トウモロコシにおいて変化していないと結論された。したがって、各親系統由来の発現蛋白質が本スタック系統トウモロコシの植物体内で相互に  
10 影響する可能性は低く、親系統が有する形質を併せ持つ以外に評価すべき形質の変化はないと考えられた。

したがって、本スタック系統トウモロコシの生物多様性影響の評価は、**Bt11**、**Event DAS-59122-7**、**MIR604**、**Cry1F line 1507** 及び **GA21** の諸形質を個別に調査した結果に基づいて実施した。

15

## 1. 競合における優位性

### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

20 宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシは、我が国において長期にわたる使用等の実績があるが、我が国の自然環境下で自生することは報告されていない。

本スタック系統トウモロコシの親系統である**Bt11**、**Event DAS-59122-7**、**MIR604**、**Cry1F line 1507**及び**GA21**の競合における優位性に関わる諸形質として、形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率について調査を行った。その結果、**Event DAS-59122-7**の稈長、**Cry1F line 1507** の発芽率及び雌穂径で対照の非組換えトウモロコシとの間に有意差が認められたが、これらの差異は競合における優位性を高めるほどの差異ではないと考えられる。

30

本スタック系統トウモロコシには、チョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性が付与されている。しかし、チョウ目昆虫及びコウチュウ目昆虫による食害はトウモロコシが我が国の自然環境下において生育することを困難にさせる主な要因ではないことから、この形質の付与が栽培作物であるトウモロコシを自然条件下で自生させ、さらに

競合における優位性を高めるとは考えにくい。

5 本スタック系統トウモロコシには、除草剤グルホシネート及びグリホサートへの耐性が付与されているが、グルホシネート及びグリホサート散布が想定しにくい我が国の自然環境下で、この性質により競合における優位性が高まるとは考えにくい。

さらに、本スタック系統トウモロコシにはマンノースを炭素源として利用可能とする PMI 蛋白質の産生性が付与されているが、我が国の自然条件下において本スタック系統トウモロコシがマンノースのみを炭素源にすることは考えられないことから、  
10 この形質を有することにより競合における優位性が高まるとは考えられない。

したがって、これら付与された性質により競合における優位性が高まるとは考えにくい。

15 以上のことから、本スタック系統トウモロコシについて競合における優位性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

## (2) 影響の具体的内容の評価

20 —

## (3) 影響の生じやすさの評価

25 —

## (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本スタック系統トウモロコシは、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

30

## 2. 有害物質の産生性

### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシは、我が国において長期にわたる使用等の実績があるが、野生動植物等に対して影響を与える有害物質の産生性は知られていない。

5 Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507及びGA21において、鋤込み試験、後作試験、土壌微生物相試験を行った結果、いずれの試験においてもこれら親系統の有害物質の産生性が高まっていることを示唆するような差異は認められなかった。よって、本スタック系統トウモロコシにおいても意図しない有害物質の産生はないと考えられる。

10

本スタック系統トウモロコシで発現している改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質、Cry1F 蛋白質、PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質が、既知アレルゲンと相同性を持たないことが確認されている。

15

改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質と Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質はそれぞれ独立して作用していると考えられる。また、改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質が酵素活性を持つという報告はないことから、これらの蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。よって、本スタック系統トウモロコシにおいて改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質が発現しても新たに感受性となる昆虫種が生じることはないと考えられる。また、複数の害虫抵抗性蛋白質を発現するスタック系統が害虫抵抗性に関して相乗的効果を示した報告はない。

25

PAT 蛋白質は L-フォスフィノトリシン(除草剤グルホシネート)及びジメチルフォスフィノトリシンに非常に高い基質特異性を持ち、これ以外に PAT 蛋白質の基質となる他の蛋白質もしくはアミノ酸は報告されていない(文献 46)。また、mEPSPS 蛋白質はシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり(文献 47)、ホスホエノールピルビン酸 (PEP) 及びシキミ酸-3-リン酸 (S3P) と特異的に反応することが報告されている(文献 48)。さらに、PMI 蛋白質は、マンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸の可逆的な相互変換を触媒する酵素蛋白質である。PMI 蛋白質による反応はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的であり、他の天然基質は報告されていない(文献 49)。よって、PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質が宿主

の代謝系を変化させることはないと考えられる。

5 上記のように、本スタック系統トウモロコシにおいて発現している改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質と Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質は特異性が異なり、酵素活性を持つという報告はないこと、PAT 蛋白質は非常に基質特異性が高いこと、mEPSPS 蛋白質はホスホエノールピルビン酸 (PEP) 及びシキミ酸-3-リン酸 (S3P) と特異的に反応すること及び PMI 蛋白質はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的であることから、これらの蛋白質が機能的な相互作用を示すことはないと考えられる。

10

15 以上のことから、本スタック系統トウモロコシにおいて、野生動植物等に影響を及ぼす可能性のある意図しない有害物質が産生される可能性はないと考えられた。そこで、以下に本スタック系統トウモロコシで発現しているチョウ目昆虫及びコウチュウ目昆虫に殺虫活性を持つ蛋白質が、我が国の野生動植物等に影響を及ぼす可能性について検討を行った。

#### 【Bt11 及び Cry1F line 1507 の影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定】

20 Bt11 には改変 Cry1Ab 蛋白質の産生性が、Cry1F line 1507 には Cry1F 蛋白質が付与されている。Cry1Ab 蛋白質及び Cry1F 蛋白質は、米国におけるトウモロコシ栽培上の重要害虫であるヨーロッパコンボラー(ヨーロッパアワノメイガ) (*O. nubilalis*)、フォールアーミーワーム(ツマジロクサヨトウ) (*S. frugiperda*)等のチョウ目昆虫に対して高い殺虫活性及び特異性を示すことが確認されている。したがって、Bt11 及び Cry1F line 1507 を栽培した場合に、生育している植物体を直接摂食する、もしくは飛散した花粉を食餌植物とともに摂食するチョウ目昆虫に何らかの影響を与える可能性がある。

25

そこで、Bt11 及び Cry1F line 1507 によって影響を受ける可能性のある野生動植物等として、チョウ目昆虫を特定した。

30

#### 【Event DAS-59122-7 及び MIR604 の影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定】

35 Event DAS-59122-7 中で発現する Cry34Ab1 蛋白質及び Cry35Ab1 蛋白質はコウチュウ目昆虫に対して殺虫活性を示す。Event DAS-59122-7 で発現する Cry34Ab1

蛋白質及び Cry35Ab1 蛋白質は、コウチュウ目害虫であるコーンルートワームに対してのみ殺虫効果を示すことが明らかとなっている。また、MIR604 には改変 Cry3Aa2 蛋白質の産生性が付与されている。生物検定試験により、改変 Cry3Aa2 蛋白質は 4 種のコウチュウ目昆虫(ウエスタンコーンルートワーム(*D. virgifera* 5 *virgifera*)、ノーザンコーンルートワーム(*D. longicornis barberi*)、コロラドポテトビートル(コロラドハムシ) (*L. decemlineata*)、バンデッドキューカンバービートル(*D. balteata*))に殺虫活性を有することが示されている。したがって、Event DAS-59122-7 及び MIR604 を栽培した場合に、生育している植物体を直接摂食する、もしくは飛散した花粉を食餌植物とともに摂食するコウチュウ目昆虫に何らかの影響を与える可能性 10 がある。

そこで、Event DAS-59122-7 及び MIR604 によって影響を受ける可能性のある野生動物等として、コウチュウ目昆虫を特定した。

#### 15 【本スタック系統トウモロコシの影響を受ける可能性のある野生動物等の特定】

本スタック系統トウモロコシは改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質、Cry1F 蛋白質を発現することから、影響を受ける可能性のある野生動物等としては、親系統である Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604 20 及び Cry1F line 1507 の生物多様性影響評価で特定された種と同じであると考えられる。

よって、本スタック系統トウモロコシにより何らかの影響を受ける可能性のある種としては、Bt11 及び Cry1F line 1507 で特定されたチョウ目昆虫並びに Event DAS-59122-7 及び MIR604 で特定されたコウチュウ目昆虫が挙げられた。

25

#### (2) 影響の具体的内容の評価

##### 【Bt11 の影響の具体的内容の評価】

30 本スタック系統トウモロコシの親系統であり、改変 Cry1Ab 蛋白質を発現する Bt11 の隔離ほ場試験において、Bt 蛋白質に対する感受性が高く、集団飼育がしやすいチョウ目昆虫のヤマトシジミ (*Zizeeria maha argia*)1 齢幼虫に、Bt11 花粉を 500~4,000 粒/cm<sup>2</sup> の花粉密度で摂食させて死亡率を調査した。その結果、摂食開始から 7 日後までの間にヤマトシジミの半数個体の致死が観測された花粉密度は 2,000~4,000 粒 35 /cm<sup>2</sup>であった。

【Event DAS-59122-7 の影響の具体的内容の評価】

Event DAS-59122-7で発現するCry34Ab1 蛋白質及びCry35Ab1 蛋白質の混合物  
5 を供試して、3 種のコーンルートワーム幼虫に対する殺虫効果を調べた。その結果、  
Cry34Ab1蛋白質及びCry35Ab1蛋白質はノーザンコーンルートワーム及びウエスタ  
ンコーンルートワームに対して高い殺虫効果(LC<sub>50</sub> は、それぞれ5.56µg ai/cm<sup>2</sup> 及び  
44.5µg ai/cm<sup>2</sup>)を示したが、サザンコーンルートワームに対するLC<sub>50</sub> は343µg ai/cm<sup>2</sup>  
であった。

10

【MIR604 の影響の具体的内容の評価】

本スタック系統トウモロコシの親系統である MIR604 の生物検定において、改変  
Cry3Aa2 蛋白質への感受性が高いウエスタンコーンルートワームに対する殺虫活性  
15 を調査した結果、ウエスタンコーンルートワーム半数致死濃度は1.4 µg改変 Cry3Aa2  
蛋白質/ml 人工餌であった。

【Cry1F line 1507 の影響の具体的内容の評価】

20 Cry1F 蛋白質を産生するCry1F line 1507 を用いた隔離ほ場試験において、その  
花粉を用いてヤマトシジミを供試し、生物検定を行った。Cry1F line 1507 の花粉と  
非組換えトウモロコシの花粉をヤマトシジミ1 齢幼虫に摂食させて生存率を比較し  
たところ、100 粒/cm<sup>2</sup> の花粉密度において、5 日後に死亡率50%を超えることが確  
認された。

25

【本スタック系統トウモロコシの影響の具体的内容の評価】

生物検定の結果から、本スタック系統トウモロコシのヨーロッパアンコーンボーラー  
に対する抵抗性は、Bt11及びCry1F line 1507と同程度であることが確認された(表 7、  
30 26ページ)。また、本スタック系統トウモロコシのウエスタンコーンルートワームに  
対する抵抗性は、本スタック系統と親系統の間に有意な差が見られたものの、それら  
は相加的な効果が観察されたものと考えられた(表 8、27ページ)。よって、導入し  
た遺伝子によって新たに獲得されたそれぞれの性質は、本スタック系統トウモロコシ  
において変化していないと結論された。

35

### (3) 影響の生じやすさの評価

本スタック系統トウモロコシから飛散した花粉を、特定されたチョウ目昆虫及びコウチュウ目昆虫が摂食する可能性について、トウモロコシほ場からの距離と周辺に生育する植物の葉に実際に堆積する花粉量を調査することにより推定した。

我が国において、トウモロコシほ場周辺におけるヒマワリ (*Helianthus annuus*) とイヌホオズキ (*Solanum nigrum*) の葉への花粉の堆積密度の調査が行われている(文献 13)。調査の結果、トウモロコシほ場の縁(0 m)での最大花粉堆積密度はヒマワリの葉で 81.7 粒/cm<sup>2</sup>、イヌホオズキの葉では 71.1 粒/cm<sup>2</sup>であった。しかし、ほ場から 5 m 離れると花粉の最大堆積密度はそれぞれ 19.6 粒/cm<sup>2</sup> と 22.2 粒/cm<sup>2</sup> に減少していた。ヒマワリについては 5 m 以上離れた場合についても調査されているが、10 m 離れると花粉堆積密度は全て 10 粒/cm<sup>2</sup> 以内であった(文献 13)。

北米でも、トウモロコシほ場周辺のトウワタ (*Asclepias syriaca*) について、堆積した花粉密度の調査が行われている(文献 54)。調査の結果、トウモロコシほ場から 1 m、2 m、4~5 m 離れるごとに、花粉の堆積密度は平均で 35.4 粒/cm<sup>2</sup>、14.2 粒/cm<sup>2</sup>、8.1 粒/cm<sup>2</sup> へと減少することが明らかとなっている。さらに、カナダのトウモロコシほ場周辺のトウワタの葉上に堆積した花粉密度が調査され、ほ場の縁から 1m 及び 5m 離れた地点での堆積密度は、それぞれ平均で 28 粒/cm<sup>2</sup> 及び 1.4 粒/cm<sup>2</sup> であったと報告されている(文献 55)。このように、我が国で行われたトウモロコシほ場周辺での花粉堆積密度に関する調査結果と同様の結果が、北米で行われた調査からも得られている。

これらの調査結果から、トウモロコシほ場周辺に堆積する花粉量は、トウモロコシほ場から 10 m 以上離れると極めて低く、50m 以上離れるとほとんど無視できると結論された。本スタック系統トウモロコシを直接摂食する可能性のある、もしくは本スタック系統トウモロコシから飛散した花粉を食餌植物とともに摂食する可能性のあるチョウ目昆虫及びコウチュウ目昆虫が、本スタック系統トウモロコシの栽培ほ場から半径 50m の範囲に局所的に生育しているとは考えにくい。このことから、チョウ目昆虫及びコウチュウ目昆虫が個体群レベルで本スタック系統トウモロコシを直接摂食することによる影響を受ける可能性、もしくは飛散する花粉による影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。

したがって、特定されたチョウ目昆虫及びコウチュウ目昆虫が、Bt11 由来の改変

Cry1Ab 蛋白質、Event DAS-59122-7 由来の Cry34Ab1 蛋白質及び Cry35Ab1 蛋白質、MIR604 由来の改変 Cry3Aa2 蛋白質並びに Cry1F line 1507 由来の Cry1F 蛋白質に曝露されることにより、個体群レベルで影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。よって、本スタック系統トウモロコシに起因する生物多様性影響が生じるお  
5 それはないと結論された。

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本スタック系統トウモロコシは、有害物質の産生性に起因する生  
10 物多様性影響を生じるおそれはないと判断された。

### 3. 交雑性

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

15

トウモロコシは近縁野生種であるテオシントと自然交雑可能であるが、我が国にはこの近縁野生種は自生しておらず、自然交雑の可能性はないことから、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

#### 20 (2) 影響の具体的内容の評価

—

#### (3) 影響の生じやすさの評価

25

—

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

30 以上のことから、本スタック系統トウモロコシは、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

### 4. その他の性質



上記の他に、本ストック系統トウモロコシに関して生物多様性影響の評価を行うべき性質はないと判断された。

### 第3 生物多様性影響の総合的評価

本スタック系統トウモロコシは、Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 から、交雑育種法により作出された。

5

本スタック系統トウモロコシにおいて、改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質と Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質はそれぞれ独立して作用していると考えられる。また、改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質が酵素活性を持つという報告はないことから、これらの蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。よって、本スタック系統トウモロコシにおいて改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質が発現しても新たに感受性となる昆虫種が生じることはないと考えられる。また、複数の害虫抵抗性蛋白質が発現するスタック系統が害虫抵抗性に関して相乗的効果を示した報告はない。

15

PAT 蛋白質は L-フォスフィノトリシン(除草剤グルホシネート)及びジメチルフォスフィノトリシンに非常に高い基質特異性を持ち、これ以外に PAT 蛋白質の基質となる他の蛋白質もしくはアミノ酸は報告されていない(文献 46)。また、mEPSPS 蛋白質はシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり(文献 47)、ホスホエノールピルビン酸 (PEP) 及びシキミ酸-3-リン酸 (S3P) と特異的に反応することが報告されている(文献 48)。さらに、PMI 蛋白質は、マンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸の可逆的な相互変換を触媒する酵素蛋白質である。PMI 蛋白質による反応はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的であり、他の天然基質は報告されていない(文献 49)。よって、PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

25

上記のように、本スタック系統トウモロコシにおいて発現している改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質と Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質は特異性が異なり、酵素活性を持つという報告はないこと、PAT 蛋白質は非常に基質特異性が高いこと、mEPSPS 蛋白質はホスホエノールピルビン酸 (PEP) 及びシキミ酸-3-リン酸 (S3P) と特異的に反応すること及び PMI 蛋白質はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的であることから、これらの蛋白質が機能的な相互作用を示すことはないと考えられる。

30

実際に、本スタック系統トウモロコシのチョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性、除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性は、一部の試験で害虫抵抗性及び除草剤耐性について本スタック系統と親系統の間に有意な差が見られたものの、それらは相加的な効果が観察されたものと考えられた。よって、それぞれの親系統で発現する蛋白質の機能的な相互作用はなく、導入した遺伝子によって新たに獲得されたそれぞれの性質は、本スタック系統トウモロコシにおいて変化していないと結論された。したがって、各親系統由来の発現蛋白質が本スタック系統トウモロコシの植物体内で相互に影響する可能性は低く、親系統が有する形質を併せ持つ以外に評価すべき形質の変化はないと考えられた。

10 また、本スタック系統トウモロコシにおいて、各親系統由来の発現蛋白質の機能間に相互作用が認められなかったことから、本スタック系統トウモロコシの親系統それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって本スタック系統トウモロコシから分離した後代系統のスタック系統トウモロコシにおいても同様に発現蛋白質の機能的な相互作用はなく、新たに獲得されたそれぞれの性質は変化しないと考えられた。

15 したがって、本スタック系統トウモロコシの生物多様性影響の評価は、Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 の諸形質を個別に調査した結果に基づいて実施した。

20 競合における優位性：宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシが、我が国の自然環境下で自生することは報告されていない。

本スタック系統トウモロコシの親系統である Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 の競合における優位性に関わる諸形質の調査の結果、いずれも対照の非組換えトウモロコシとの間で、競合における優位性に影響を及ぼすような差異は認められなかった。

25 また、本スタック系統トウモロコシはチョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性を持つものの、これらの形質によって我が国の自然環境下で競合における優位性が高まるとは考えにくい。

30 したがって、本スタック系統トウモロコシ及び本スタック系統トウモロコシの親系統それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって本スタック系統トウモロコシから分離した後代系統のスタック系統トウモロコシは、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

有害物質の産生性：宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシにおいて、野生動植物等に対して影響を与える有害物質の産生性は知られていない。

Bt11、Event DAS-59122-7、MIR604、Cry1F line 1507 及び GA21 の鋤込み試験、後作試験、土壌微生物相試験より、本スタック系統トウモロコシにおいても意図しない有害物質の産生はないと考えられた。

5 改変 Cry1Ab 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質、Cry1F 蛋白質、PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質が既知アレルゲンと相同性を持たないことが確認されている。さらに、宿主の代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられた。よって、本スタック系統トウモロコシにおいて、野生動植物等に影響を及ぼす可能性のある意図しない有害物質が産生される可能性はないと考えられた。

10 一方、改変 Cry1Ab 蛋白質及び Cry1F 蛋白質によって影響を受ける可能性のある野生動植物等としてチョウ目昆虫を特定し、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質及び改変 Cry3Aa2 蛋白質によって影響を受ける可能性のある野生動植物等としてコウチュウ目昆虫を特定して検討を行った。しかし、本来自然生態系に生息しているチョウ目昆虫及びコウチュウ目昆虫が本スタック系統トウモロコシの栽培ほ場やその  
15 周辺に局所的に生育しているとは考えにくい。よって、特定されたチョウ目昆虫及びコウチュウ目昆虫が個体群レベルで本スタック系統トウモロコシによる影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。

したがって、本スタック系統及び本スタック系統トウモロコシの親系統それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって本スタック系統トウモロコシから分離  
20 した後代系統のスタック系統トウモロコシは、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

交雑性：我が国にはトウモロコシと交雑可能な近縁野生種は自生していないことから、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

25

以上のことから、総合的評価として、本スタック系統トウモロコシ及び本スタック系統トウモロコシの親系統それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって本スタック系統トウモロコシから分離した後代系統のスタック系統トウモロコシを第一種使用規程に従って使用した場合に、我が国において生物多様性影響を生ずるお  
30 それはないと判断した。

引用文献

- 1 WO 98/44140 (1998) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED  
UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT). International  
5 Application Number: PCT/US98/06640. Applicant: DEKALB GENETICS  
CORPORATION.
- 2 農山漁村文化協会 (1986) 農業技術体系 作物編 7, 追録第 8 号.
- 10 3 OECD (2003) CONSENSUS DOCUMENT ON THE BIOLOGY OF *ZEA  
MAYS* SUBSP. *MAYS* (MAIZE). Series on Harmonisation of Regulatory  
Oversight in Biotechnology, No. 27. ENV/JM/MONO(2003)11.
- 4 菊池一徳 (1987) トウモロコシの生産と利用, 光琳.
- 15 5 戸澤英男 (2005) トウモロコシ—歴史・文化、特性・栽培、加工・利用—, 農山  
漁村文化協会.
- 6 FAO (2008) FAOSTAT “Classic”, Food and Agriculture Organization (of the  
20 United Nations). <http://faostat.fao.org/default.aspx?alias=faostatclassic>
- 7 NCGA (2010) WORLD OF CORN. National Corn Growers Association.  
<http://ncga.com/files/pdf/WOC2010.pdf>
- 25 8 農林水産省 (2010) 農林水産統計データ.  
<http://www.maff.go.jp/j/tokei/index.html>
- 9 財務省貿易統計 (2010) <http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>
- 30 10 配合飼料供給安定機構 (2007) <http://mf-kikou.lin.gr.jp/>
- 11 農林水産省 (2008) 交雑に関する従来の科学的知見について, 第 7 回「第 1 種  
使用規程承認組換え作物栽培実験指針」検討会 参考資料 1, 農林水産省ホーム  
ページ. [http://www.s.affrc.go.jp/docs/committee/use\\_rule/07/pdf/siryou1.pdf](http://www.s.affrc.go.jp/docs/committee/use_rule/07/pdf/siryou1.pdf)
- 35 12 独立法人農業環境技術研究所編 (2003) 遺伝子組換え作物の生態系への影響,  
養賢堂.

- 13 Shirai, Y and Takahashi, M. (2005) Effects of transgenic Bt corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudaeschnia zizeeria maha*, *Appl. Entomol. Zool.* 40:151-159.
- 5 14 Gardner, R.C., Howarth, A., Hahn, P., Brown-Luedi, M., Shepherd, R.J., and Messing, J. (1981) The Complete Nucleotide Sequence of an Infectious Clone of Cauliflower Mosaic Virus by M13mp7 Shotgun Sequencing, *Nucleic Acid Res.* 9: 2871-2898.
- 10 15 Freeling, M., and Bennett, D.C. (1985) Maize Adh1, *Ann. Rev. Genet.* 19: 297-323.
- 16 Mascarenhas, D., Mettler, I.J., Pierce, D.A., and Lowe, H.W. (1990) Intron-mediated enhancement of heterologous gene expression in maize, 15 *Plant Mol. Biol.* 15: 913-920.
- 17 Depicker, A., Stachel, S., Dhaese, P., Zambryski, P., and Goodman, H.M. (1982) Nopaline Synthase: Transcript Mapping and DNA Sequence, *J. Mol. Appl. Genet.* 1: 561-573.
- 20 18 Bevan, M., Barnes, W.M., and Chilton, M.D. (1983) Structure and transcription of the nopaline synthase gene region of T-DNA, *Nucleic Acids Res.* 11: 369-385.
- 25 19 Frank A., Guilley H., Jonard K., Richards K., and Hirth L. (1980) Nucleotide Sequence of Cauliflower Mosaic Virus DNA, *Cell* 21: 285-294.
- 20 20 Wohlleben, W., Arnold, W., Broer, I., Hillemann, D., Strauch, E., and Puhler, A. (1988) Nucleotide sequence of the phosphinothricin *N*-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* TU494 and its expression in 30 *Nicotiana tabacum*, *Gene* 70: 25-37.
- 21 21 Vieira, J., and Messing, J. (1987) Production of Single Stranded Plasmid DNA, *Meth. Enzymol.* 153: 3-11.
- 35 22 Yanisch-Perron, C., Vieira, J., and Messing, J. (1985) Improved M13 phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the M13mp18 and

pUC19 vectors, *Gene* 33: 103-119.

- 23 Barker, R.F., Idler, K.B., Thompson, D.V. and Kemp, J.D. (1983) Nucleotide  
sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine  
5 Ti plasmid pTil5955. *Plant Mol. Biol.* 2: 335-350.
- 24 Christensen, A.H., Sharrock, R.A., and Quail, P.H. (1992) Maize  
polyubiquitin genes: Structure, thermal perturbation of expression and  
transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by  
10 electroporation. *Plant Mol. Biol.* 18: 675-689.
- 25 Hohn, T., Richards, K., Genevieve-Lebeurier. (1982) Cauliflower mosaic virus  
on its way to becoming a useful plant vector. *Current Topics in Microbiology  
and Immunology* 96: 194-236.  
15
- 26 Eckes, P., Vijtewaal, B., Donn, G. (1989) Synthetic gene confers resistance to  
the broad spectrum herbicide L-phosphinothricin in plants. *J. Cell. Biochem.*  
13D:334.
- 20 27 McElroy, D., Zhang, W., Cao, J. and Wu, R. (1990) Isolation of an efficient  
actin promoter for use in rice transformation. *Plant Cell* 2: 163-171.
- 28 Lebrun, M., Leroux, B. and Sailland, A. (1996) Chimeric gene for the  
transformation of plants. U.S. Patent No. 5,510,471.  
25
- 29 Lebrun, M., Sailland, A., Freyssinet, G. and Degryse, E. (2003) Mutated  
5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene coding for said protein  
and transformed plants containing said gene. Bayer CropScience S.A.  
(Lyons, FR) Patent # 6,556,587.  
30
- 30 Sutcliffe, J.G. (1978) Nucleotide sequence of the ampicillin resistance gene of  
*Escherichia coli* plasmid pBR322. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75: 3737-3741.
- 31 Wang, K., Herrera-Estrella L., Van Montagu, M. and Zambryski, P. (1984)  
35 Right 25 bp terminus sequence of the nopaline T-DNA is essential for and

determines direction of DNA transfer from *Agrobacterium* to the plant genome. *Cell* 38: 455-462.

- 32 de Maagd, R.A., Bravo, A. and Crickmore, N. (2001) How *Bacillus*  
5 *thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world, *Trends*  
*in Genet.* 17, pp 193-199.
- 33 Canadian Forest Service (2004) The *Bacillus thuringiensis* Toxin Specificity  
database. <http://www.glfc.forestry.ca/bacillus/BtResults.cfm>  
10
- 34 パイオニア・ハイブレット・インターナショナル社 社内データ
- 35 Coats, I. and Herman, R. A. (2002) Product Characterization Data for *Bacillus*  
*thuringiensis* Cry34Ab1 and Cry35Ab1 Proteins Expressed in Transgenic Maize Plants  
15 (PHP17662). Pioneer Hi-Bred International, Inc. unpublished report. Study ID:  
PHI-2002-046.
- 36 白井 洋一 (2003) 害虫抵抗性遺伝子組換え作物が非標的昆虫に及ぼす影響: 現在  
までの研究事例. 日本応用動物昆虫学会誌 47: 1-11.  
20
- 37 Poletika, N. N. (2003) Non-target Invertebrate Ecological Risk Assessment  
for Field Corn Expressing Cry34Ab1 and Cry35Ab1 Insecticidal Crystal  
Proteins in Event DAS-59122-7. Dow AgroScience LLC. unpublished  
report. Study ID: GH-C 5681.  
25
- 38 Brooks, K. J. and DeWildt, P. M. (2000a) PS149B1 14 KDA and 44 KDA  
Proteins: Acute Oral Toxicity study in CD-1 Mice. The Dow Chemical  
Company unpublished report. Study ID: 001128.
- 30 39 Brooks, K. J. and DeWildt, P. M. (2000b) PS149B1 44 KDA Protein: Acute  
Oral Toxicity Study in CD-1 Mice. The Dow Chemical Company  
unpublished report. Study ID: 001129.
- 40 Brooks, K. J. and DeWidt, P. M. (2000c) PS149B1 14 KDA Protein: Acute Oral  
35 Toxicity Study in CD-1 Mice. The Dow Chemical Company unpublished



report. Study ID: 001130.

- 41 Smith, B., McNaughton, J. and Hinds, M. (2003) Nutritional Equivalency  
Study of Maize Containing Cry34Ab1 and Cry35AB1: Poultry Feeding Study.  
5 Solution BioSciences, Inc. unpublished report. Study ID: 2001-OPT-48-BB.
- 42 Marino, T. A. and Yaroch, A. M. (2002) PS149B1 Binary Insecticidal Crystal  
Protein: An 8-Day Dietary Study with the Rainbow Trout, *Oncorhynchus*  
*mykiss*, Waldbaum. The Dow Chemical Company unpublished report.  
10 Study ID: 011193.
- 43 EPA (2001) Biopesticide Registration Action Document.  
[http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/tech\\_docs/brad\\_00648](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_00648)  
1.pdf.  
15
- 44 Steinrucken, H.C. and Amrhein, N. (1980) The Herbicide Glyphosate is a  
Potent Inhibitor of 5-Enolpyruvyl Shikimic Acid-3-Phosphate Synthase,  
*Biochem. Biophys. Res. Comm.* 94: 1207-1212.
- 20 45 Negrotto, D., Jolley, M., Beer, S., Wenck, A.R. and Hansen, G. (2000) The use  
of phosphomannose-isomerase as a selectable marker to recover transgenic  
maize plants (*Zea mays* L.) via *Agrobacterium* transformation. *Plant Cell*  
*Reports* 19: 798-803.
- 25 46 OECD Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, No.  
11 (1999) Consensus document on general information concerning the genes  
and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide.  
ENV/JM/MONO(99)13.
- 30 47 della-Cioppa, G., Bauer, S.C., Klein, B.K., Shah, D.M., Fraley, R.T. and  
Kishore, G.W. (1986) Translocation of the precursor of  
5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher  
plants *in vitro*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:6873-6877.
- 35 48 Gruys, K.J., Walker, M.C. and Sikorski, J.A. (1992) Substrate Synergism and

the Steady-State Kinetic Reaction Mechanism for EPSP Synthase from *E. coli*, *Biochem.* 31: 5534-5544.

- 49 Freeze, H.H. (2002) Phosphomannose isomerase. Handbook of  
5 glycosyltransferases and related genes. Edition 1. Taniguchi, N., Honke, K.  
and Fukuda, M., Eds; Springer-Verlag, Tokyo and New York, pp. 595-599.
- 50 European Commission (2004) Protocol for event-specific quantitation of  
Bt11 in maize, <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/Bt11-protocol.pdf>  
10
- 51 European Commission (2005) Event-specific method for the quantitation of  
maize line GA21 using real-time PCR,  
[http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/GA21-WEB-Protocol%20Validation](http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/GA21-WEB-Protocol%20Validation.pdf)  
15 .pdf
- 52 Guthrie, W.D., Diche, F.F. and Neiswander, C.R. (1960) Leaf and sheath  
feeding resistance to the Eur. Corn borer in eight inbred lines of dent corn,  
Ohio Agric. Exp. Stn. Res. Bull. 860.
- 20 53 Oleson, J.D., Park, Y., Nowatzki, T.M., and Tollefson, J.J. (2005) Node-Injury  
Scale to Evaluate Root Injury by Corn Rootworms, *J. Econ Entomol.* 98, pp  
1-8.
- 54 Pleasants, J. M., Hellmich, R. L., Dively, G. P., Sears, M. K., Stanley-Horn, D.  
25 E., Mattila, H. R., Foster, J. E., Clark, P. and Jones, G. D. (2001) Corn pollen  
deposition on milkweeds in and near cornfields, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*  
98: 11919-11924.
- 55 Sears, M. K., Stanly-Horn, D. E. and Mattila, H. (2000) Preliminary report on  
30 the ecological impact of BT corn pollen on the monarch butterfly in Ontario.  
Prepared for the Canadian Food Inspection Agency and Environment  
Canada.

## 緊急措置計画書

平成23年1月5日

5 氏名 シンジェンタジャパン株式会社  
代表取締役社長 村田 興文  
住所 東京都中央区晴海一丁目8番10号  
オフィスタワーX

10 第一種使用規程の承認を申請しているチョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性トウモロコシ（改変 *cry1Ab*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, 改変 *cry3Aa2*, *cry1F*, *pat*, *mEPSPS*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (Bt11×*B.t. Cry34/35Ab1* Event DAS-59122-7×MIR604×*B.t. Cry1F maize line 1507*×GA21, OECD UI :  
15 SYN-BT011-1×DAS-59122-7×SYN-IR604-5×  
DAS-01507-1×MON-00021-9) (以下、「本スタック系統トウモロコシ」という。) 並びに Bt11、*B.t. Cry34/35Ab1* Event DAS-59122-7、MIR604、*B.t. Cry1F maize line 1507* 及び GA21 のうち2系統、3系統や4系統の組合せからなるスタック系統トウモロコシの第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると、科学的根拠に基づき立証された場合、以下の措置を執ることとする。  
20

1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者

個人名・所属は個人情報につき非開示。

25

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は、本スタック系統トウモロコシの開発者である米国シンジェンタシード社と連絡をとり、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

30

3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内容を周知するための方法

弊社は米国シンジェンタシード社と連絡をとり、生産農家や穀物取扱業者などの取

引ルートへ本スタック系統トウモロコシ及び本スタック系統トウモロコシの親系統のうち2系統、3系統や4系統の組合せからなるスタック系統トウモロコシの適切な管理、取扱いなどの生物多様性影響のリスクとその危機管理計画について情報提供を行う。

5

#### 4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続するための具体的な措置の内容

科学的根拠に基づき、我が国において生物多様性影響を生ずるおそれがあると認められた場合には、弊社は米国シンジェンタシード社とともに、本スタック系統トウモロコシ及び後代分離系統トウモロコシが環境中に放出されないように必要かつ適切な措置を執るとともに、環境中に放出された本スタック系統トウモロコシ及び本スタック系統トウモロコシの親系統のうち2系統、3系統や4系統の組合せからなるスタック系統トウモロコシが、環境中で生存しないように不活化する。

15

#### 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

科学的根拠に基づき、我が国において生物多様性影響を生ずるおそれがあると認められた場合には、速やかに農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課に報告する。

20