

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 *cry1F*, *pat*, *cry1Ab*, 改変 *vip3A*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)
(1507×MON810×MIR162, OECD UI:

DAS-Ø15Ø7-1×MON-ØØ81Ø-6×SYN-IR162-4)

(*B.t.* *Cry1F* maize line 1507、MON810 及び MIR162 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。)
申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書	1
生物多様性影響評価書の概要	2
第一 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
(2) 使用等の歴史及び現状	2
(3) 生理学的及び生態学的特性	3
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	6
(2) ベクターに関する情報	12
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	13
(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	16
(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	17
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	18
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	20
(1) 使用等の内容	20
(2) 使用等の方法	20
(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	20
(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	20
(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	20
(6) 国外における使用等に関する情報	21
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	22
1 競合における優位性	22
2 有害物質の産生性	23
3 交雑性	23
第三 生物多様性影響の総合的評価	24
参考文献	25
提出資料一覧	28

第一種使用規程承認申請書

平成 25 年 11 月 28 日

農林水産大臣 林 芳正 殿
環境大臣 石原 伸晃 殿

氏名
デュボン株式会社
代表取締役社長 田中 能之

申請者

住所
東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

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。

遺伝子組換え生物等の種類の名称	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 <i>cry1F</i> , <i>pat</i> , <i>cry1Ab</i> , 改変 <i>vip3A</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (1507×MON810×MIR162, OECD UI: DAS-Ø15Ø7-1×MON-ØØ81Ø-6×SYN-IR162-4) (<i>B.t.</i> Cry1F maize line 1507、MON810 及び MIR162 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	

生物多様性影響評価書の概要

第一 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

和名、英名及び学名

10

和名：トウモロコシ

英名：corn, maize

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

15

宿主の品種名又は系統名

本スタック系統トウモロコシの親系統の宿主は、いずれもイネ科 (*Gramineae*) トウモロコシ属 (*Zea*) のトウモロコシ (*Z. mays*) のデント種である。各親系統及びその作出に使った品種は以下のとおりである。

20

親系統	品種
DAS-01507-1	Hi-II
MON-00810-6	A188×B73
SYN-IR162-4	NP2499/NP2500

国内及び国外の自然環境における自生地域

25

トウモロコシの原産地は、メキシコ、中米又は南米等と考えられている (OECD, 2003)。また、トウモロコシの近縁野生種であるテオシントはメキシコ及びグアテマラに、同じくトウモロコシの近縁野生種である *Tripsacum* 属は米国、中米及び南米に自生している (OECD, 2003)。

我が国において、自然環境下でトウモロコシ、テオシント及び *Tripsacum* 属が自生している地域は知られていない。

30

(2) 使用等の歴史及び現状

国内及び国外における第一種使用等の歴史

35

トウモロコシは、9000年前にメキシコ南部で栽培植物化したと考えられている。その後、コロンブスの新大陸発見を機に、ヨーロッパ、世界へと伝播し、現在では広く栽培され、食品、飼料等として利用されている (OECD, 2003)。

トウモロコシの栽培には、我が国においても長い栽培の歴史がある。我が国へは、天正年間（1580年頃）にポルトガル人が伝えたのが最初であるとされており、九州、四国及び本州で栽培されるようになった。明治時代に北海道開拓使によって、デント種及びフリント種が米国より導入され、現在では北海道から九州まで広く栽培されている（戸澤，2005）。

主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

栽培地域：

我が国における2012年の青刈りトウモロコシ（デント種又はフリント種）の栽培面積は9万2,600haで、主な栽培地域は北海道である（農林水産省，2013）。国外では、主に温暖地域で栽培され（OECD，2003）、主要生産国は、米国、中国及びブラジルである（FAO，2013）。

栽培方法：

米国を代表とする大規模な機械化された近代的方法から、古くから南米アンデス高地等で行われている手で播種するような伝統的な方法まで、様々な方法で栽培されている。我が国では、平均気温が10～14℃に達する4月上中旬～5月中下旬に、栽植密度6,500～9,000株/10アール、播種深度約3cmで播種し、発芽後に中耕、除草及び培土（土寄せ）等の管理を行う。子実用トウモロコシは、子実の水分含量が15～20%になった時期に収穫するのが理想的であり（Iowa State University，2010）、サイレージ用（青刈り）トウモロコシは、黄熟期に茎葉全体を収穫する（菊池，1987）。

流通実態：

コム、コムギとともに世界三大穀物の一つとされている。2011年の世界総生産量は約8億8,350万トンであり、最大の生産国は米国で、世界総生産量の36%を占めている（FAO，2013）。デント種が生産の主流である（戸澤，2005）。

2012年に我が国は約1,490万トンを入力しており、その75%にあたる約1,110万トンは米国からである（財務省，2013）。

用途：

子実は主に飼料として利用され、食品、工業分野では、デンプン、コーングリッツ、コーンオイル及びエタノールの原料として利用される。青刈りした茎葉は飼料として利用される。なお、スイート種は生食用又は缶詰用に利用される（菊池，1987）。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

トウモロコシの発芽最低温度は 10~11、最適温度は 33 である(中村, 2001)。トウモロコシは栽培植物化されるようになった後、自然環境で生存する能力を失った。種子が越冬し翌年に発芽することもあるが、植物体は自然環境中では定着しない。成長点が地上に出た 5~7 葉期に 6~8 時間以上、0 以下の外気にさらされると生存できない。また、遅霜により葉やけを起こすが、致命的な損傷には至らない。温帯域で、適度な湿度と霜の降りない日数等の条件が揃えば良く生育する(OECD, 2003)。

ハ 捕食性又は寄生性

ニ 繁殖又は増殖の様式

種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

雌穂は苞皮で覆われているため、種子が自然に雌穂から脱粒し散布される可能性は低く、種子の散布には人間の仲介が必要である(OECD, 2003)。また、種子の休眠性は極めて低い(CFIA, 2013)。水分含量 12%、温度 10、相対湿度 55%以下の条件で保存した場合、種子の寿命は 6~8 年である(中村, 2001)。

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

自然条件下で種子以外に植物体を再生しうる組織又は器官は知られていない。

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

典型的な風媒花で、他殖率は 95~99%である(千藤, 2001)。デント種及びフリント種は一般に自家不和合性を有しない(Kermicle, 1997)。交雑可能な近縁野生種として、テオシント及び *Tripsacum* 属がある。テオシントはトウモロコシと近接する場合、自然環境下で交雑する。*Tripsacum* 属はトウモロコシと非常に希に交雑できるが、雑種は高い確率で生殖不能で、遺伝学的にも不安定である(OECD, 2003)。なお、テオシント及び *Tripsacum* 属が我が国において自生しているとの報告はない。アポミクシスの特性を有するとの報告はない。

花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

一雄穂当たりの花粉の生産量は、約 1,800 万粒とされている(OECD, 2003)。晴天の場合、午前 10 時~11 時頃に花粉の放出が最も盛んとなり、午後になると激

減する（菊池，1987）。花粉の寿命は通常 10～30 分で、好適条件下では更に長い（CFIA, 2013）。花粉は球形で、直径は約 90～100 μm である（Pleasants *et al.*, 2001）。受粉は主に風媒によって行われる（OECD, 2003）。

5 我が国において、トウモロコシほ場周辺のヒマワリ（*Helianthus annuus*）とイヌホオズキ（*Solanum nigrum*）葉上に堆積する花粉量を測定した結果、ほ場端から 1m で約 160 粒/cm²、5m で 20 粒/cm²、10m では 10 粒/cm²以下であった（Shirai and Takahashi, 2005）。北米における試験では、トウワタ（*Asclepias syriaca*）葉上に堆積した花粉密度は、ほ場端から 1m で 35.4 粒/cm²、2m で 14.2 粒/cm²、
10 3m で 5～20 粒/cm²、4～5m で 8.1 粒/cm²、10m は 1 粒/cm²であった（Hansen-Jesse and Obrycki, 2000; Pleasants *et al.*, 2001）。また、交雑を防止するために必要な隔離距離は、周囲の林や高層建築物等の遮蔽物の有無によって異なり、200～400m とされている（千藤, 2001）。

15 ホ 病原性

へ 有害物質の産生性

20 トウモロコシにおいて、野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼすような有害物質の産生は知られていない。

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

(1) 供与核酸に関する情報

5 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 *cry1F*,
pat, *cry1Ab*, 改変 *vip3A*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (1507×MON810×
MIR162, OECD UI: DAS-Ø15Ø7-1×MON-ØØ81Ø-6×SYN-IR162-4) (以下「本ス
タック系統トウモロコシ」という。) は、下記の3系統の遺伝子組換えトウモロコ
シを、従来の交雑育種法により交配し作出した品種である。

10

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ため、
収穫される子実には、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トウモロコシが含まれる。

15

(a) 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 *cry1F*,
pat, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)(B.t. Cry1F maize line 1507, OECD
UI: DAS-Ø15Ø7-1) (以下「DAS-01507-1」という。)

(b) チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ(*cry1Ab*, *Zea mays* L.)(MON810, OECD
UI: MON-ØØ81Ø-6) (以下「MON-00810-6」という。)

20

(c) チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ(改変 *vip3A*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.)
Iltis)(MIR162, OECD UI: SYN-IR162-4) (以下「SYN-IR162-4」という。)

25

本スタック系統トウモロコシの親系統である DAS-01507-1 は、米国ダウ・アグ
ロサイエンス社と米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社が共同開
発したものであり、MON-00810-6 は米国モンサント社、SYN-IR162-4 は、スイ
スのシンジェンタ社が開発したものである。各親系統には、以下の遺伝子が導入さ
れている。

30

DAS-01507-1 : チョウ目害虫抵抗性を付与するための改変 *cry1F* 遺伝子及
び除草剤グルホシネート耐性を付与するための *pat* 遺伝子

MON-00810-6 : チョウ目害虫抵抗性を付与するための *cry1Ab* 遺伝子

SYN-IR162-4 : チョウ目害虫抵抗性を付与するための改変 *vip3A* 遺伝子及
び選抜マーカー特性を付与するための *pmi* 遺伝子

35

以下では、本スタック系統トウモロコシの作出に用いた各親系統の調製等に関す
る情報について、各親系統の生物多様性影響評価書等¹⁾に基づき記載した。

¹⁾ 各親系統の生物多様性影響評価書の概要は以下の URL から参照できる。

【DAS-01507-1】 https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=138&ref_no=1

【MON-00810-6】 https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=6&ref_no=1

【SYN-IR162-4】 https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=1493&ref_no=1

イ 構成及び構成要素の由来

親系統の作出に用いた供与核酸の構成及び構成要素の由来を表 1～表 3 (7～9 ページ) に示した。

5

ロ 構成要素の機能

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

10

供与核酸の各構成要素の機能を表 1～表 3 (7～9 ページ) に示した。

表 1 DAS-01507-1 の作出に用いた供与核酸の構成並びにその構成要素の由来及び機能

15

構成要素	サイズ (kbp)	由来 及 び 機 能
改変 <i>cry1F</i> 遺伝子発現カセット		
UBIZM1(2) Promoter	1.98	<i>Zea mays</i> 由来のコビキチン構成的プロモーター*(イントロン及び5'非翻訳領域を含む)。
改変 <i>cry1F</i>	1.82	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 由来の改変 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。
ORF25PolyA Terminator	0.72	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> pTi15955由来の転写を停止するためのターミネーター。
<i>pat</i> 遺伝子発現カセット		
CAMV35S Promoter	0.53	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*。
<i>pat</i>	0.55	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来のホスフィノスリシンアセチルトランスフェラーゼ (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。
CAMV35S Terminator	0.21	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。

* 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 2 MON-00810-6 の作出に用いた供与核酸の構成並びにその構成要素の由来及び機能

構成要素	由来及び機能
<i>cry1Ab</i> 遺伝子カセット (挿入遺伝子の解析の結果、MON-00810-6 中には NOS 3' は含まれていなかった。)	
E35S	カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) の 35S プロモーター及び二重エンハンサー領域を持つ。全組織中に恒常的に目的遺伝子を発現させる。
hsp70 イントロン	トウモロコシの熱ストレス蛋白質 (heat shock protein) 遺伝子のイントロン。hsp70 イントロンは植物における外来遺伝子の発現量を高めるために用いられる。
<i>cry1Ab</i>	土壤中に存在する <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>krustaki</i> HD-1 株の Cry1Ab 蛋白質をコードする遺伝子。
NOS 3'	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA 由来のノパリン合成酵素 (NOS) 遺伝子の 3' 非翻訳領域で、mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する。
改変 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子カセット (挿入遺伝子の解析の結果、MON-00810-6 中には挿入されていなかった。)	
E35S	カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) の 35S プロモーター及び二重エンハンサー領域を持つ。全組織中に恒常的に目的遺伝子を発現させる。
hsp70 イントロン	トウモロコシの熱ストレス蛋白質 (heat shock protein) 遺伝子のイントロン。hsp70 イントロンは植物における外来遺伝子の発現量を高めるために用いられる。
CTP2	<i>Arabidopsis thaliana</i> の EPSPS 遺伝子の葉緑体輸送ペプチド配列の N 末端配列。目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
改変 <i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> 由来の、5-エノールピルピルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) 遺伝子に基づいた合成配列。グリホサートに高い耐性を持つ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する。
NOS 3'	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA 由来のノパリン合成酵素 (NOS) 遺伝子の 3' 非翻訳領域で、mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する。
<i>gox</i> 遺伝子カセット (挿入遺伝子の解析の結果、MON-00810-6 中には挿入されていなかった。)	
E35S	カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) の 35S プロモーター及び二重エンハンサー領域を持つ。全組織中に恒常的に目的遺伝子を発現させる。
hsp70 イントロン	トウモロコシの熱ストレス蛋白質 (heat shock protein) 遺伝子のイントロン。hsp70 イントロンは植物における外来遺伝子の発現量を高めるために用いられる。
CTP1	<i>A. thaliana</i> 由来の <i>rubisco</i> 遺伝子の small subunit 1A の葉緑体輸送ペプチド配列の N 末端。目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
<i>gox</i>	<i>Achromobacter</i> sp. strain LBAA のグリホサート分解酵素 (glyphosate oxidoreductase; <i>gox</i>) に基づいた合成配列。GOX 蛋白質によりグリホサートが分解される。
NOS 3'	<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。
外骨格 (PV-ZMBK07 及び PV-ZMGT10 に共通) (挿入遺伝子の解析の結果、MON-00810-6 中には挿入されていなかった。)	
<i>lacZ</i>	β-D-ガラクトシダーゼ又は LacZ 蛋白質の部分的コード配列。基質の Xgal が β-D-ガラクトシダーゼによって分解されることにより青色を呈し、大腸菌でのクローニング時の選抜マーカーとして利用される。
<i>ori-pUC</i>	大腸菌プラスミド pUC の複製開始領域を含むセグメント。プラスミドの複製を開始する。
<i>nptII</i>	原核生物のトランスポゾン Tn5 より分離された遺伝子で、ネオマイシンフォスフォトランスフェラーゼ II をコードする。この遺伝子が微生物内で発現されるとカナマイシン耐性が付与され、形質転換の選択マーカーとして働く。

本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

表 3 SYN-IR162-4 の作出に用いた供与核酸の構成並びにその構成要素の由来及び機能

遺伝要素	サイズ (bp)	由来及び機能
害虫抵抗性遺伝子カセット		
ZmUbiInt プロモーター	1,993	トウモロコシのポリコピキチン遺伝子由来の第一イントロン領域 (1,010bp) を含むプロモーターで目的遺伝子を単子葉植物全組織で恒常的に発現させる。
改変 <i>vip3A</i> 遺伝子	2,370	一般に土壌に生息するグラム陽性細菌である <i>Bacillus thuringiensis</i> AB88 株由来の <i>vip3A</i> 遺伝子を、植物における発現に適したコドンに改変した遺伝子。チョウ目昆虫に殺虫活性を示す改変Vip3A蛋白質をコードする。改変Vip3A蛋白質では、そのアミノ酸配列の284番目のアミノ酸がリシンからグルタミンに置換されている。また、本組換え体で発現している改変Vip3A蛋白質では、形質転換体作成時に129番目のメチオニンがイソロイシンに置換されている。
iPEPC9	108	トウモロコシのホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ遺伝子由来のイントロン#9 配列。目的遺伝子の発現を高めるために用いた。
35S ターミネーター	70	カリフラワーモザイクウイルスの35S RNA由来のポリアデニル化配列。
選抜マーカー遺伝子カセット		
ZmUbiInt プロモーター	1,993	前述と同じ。
<i>pmi</i> 遺伝子	1,176	マンノースリン酸イソメラーゼ (phosphomannose isomerase) (以下「PMI 蛋白質」という。) を産出する大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) K-12 株由来の <i>manA</i> 遺伝子で、遺伝子導入された形質転換体の選抜マーカーとして用いられた。
NOS ターミネーター	253	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター配列。ポリアデニル化により、mRNA の転写を終結させる。
その他の領域 (以下「外側骨格領域」という。)		
LB	25	<i>A. tumefaciens</i> 由来のノパリンTi-プラスミド由来の T-DNA レフトボーダー領域。
<i>spec</i>	789	<i>E. coli</i> のトランスポゾンTn7 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>)。ストレプトマイシン、スペクチノマイシン耐性を付与するため、ベクターの選抜マーカーとして用いた。
<i>cos</i>	432	<i>E. coli</i> へのプラスミドの移入及び <i>E. coli</i> におけるプラスミドの自己複製に必要なラムダファージの直鎖DNA の付着末端領域。
ColE1 ori	807	<i>E. coli</i> 由来のプラスミドの複製起点。
RB	25	<i>A. tumefaciens</i> 由来のノパリンTi-プラスミド由来の T-DNA ライトボーダー領域。

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

5 a. 目的遺伝子の発現により産生される蛋白質の機能

【害虫抵抗性蛋白質】

10 DAS-01507-1 に産生される改変 Cry1F 蛋白質、MON-00810-6 に産生される Cry1Ab 蛋白質及び SYN-IR162-4 に産生される改変 Vip3A 蛋白質は、いずれも *Bacillus thuringiensis* 由来の殺虫性蛋白質(以下「Bt 蛋白質」という。)である。Bt 蛋白質は、一般に害虫の中腸細胞で特異的な受容体に結合して細胞に小孔を形成し、標的昆虫の中腸細胞を破壊することにより殺虫活性を示す(OECD, 2007)。

15 改変 Cry1F 蛋白質：

改変 Cry1F 蛋白質は、*B. thuringiensis* var. *aizawai* 由来の δ -エンドトキシンである。ヨーロッパアワノメイガ (European corn borer、*Ostrinia nubilalis*)、フォールアーミーワーム (Fall armyworm、*Spodoptera frugiperda*) 等のチョウ目昆虫に殺虫活性を有し、非標的生物であるコウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目及びトビムシ目等の昆虫、並びに哺乳類、鳥類及び魚類等のうち、試験が行われた全てについて毒性は認められていない (EPA, 2010)。

Cry1Ab 蛋白質：

25 Cry1Ab 蛋白質は、*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 株由来の δ -エンドトキシンである。ヨーロッパアワノメイガ、サウスウエスタンコーンボラー (South western corn borer、*Diatraea grandiosella*)、サザンコーンストークボラー (Southern cornstalk borer、*Diatraea crambidoides*)、コーンイヤールーム (Corn earworm、*Helicoverpa zea*)、フォールアーミーワーム、ストークボラー (Stalk borer、*Papaipema nebris*) 等のチョウ目昆虫に殺虫活性を有し、非標的生物であるコウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目及びトビムシ目等の昆虫、並びに哺乳類、鳥類及び魚類等のうち、試験が行われた全てについて毒性は認められていない (EPA, 2010)。

改変 Vip3A 蛋白質：

35 改変 Vip3A 蛋白質は、*B. thuringiensis* AB88 株に由来する細胞外分泌蛋白質である。ブラックカットワーム (Black cutworm、*Agrotis ipsilon*)、フォールアーミーワーム及びコーンイヤールーム等のチョウ目昆虫に殺虫活性を有し、非標的生物であるコウチュウ目、ハチ目、カメムシ目、アミメカゲロウ目及びトビムシ目等の昆虫、並びに哺乳類、鳥類、魚類等のうち、試験が行われた全てについて毒性は認められていない (EPA, 2009)。

【除草剤耐性蛋白質】

PAT 蛋白質：

5 除草剤グルホシネートは、その活性成分である L-グルホシネートにより、グルタミン合成酵素の活性を阻害するため、基質であるアンモニアが植物体内に蓄積し植物は枯死する。DAS-01507-1 に産生される PAT 蛋白質は、L-グルホシネートをアセチル化し無毒化することで、植物にグルホシネートに対する耐性を付与する (OECD, 2002)。

10 【選抜マーカー】

PMI 蛋白質：

15 SYN-IR162-4 に産生される 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 蛋白質を産生する細胞はマンノースを利用して生長することができる。このため、PMI 蛋白質をコードする *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 (Negrotto *et al.*, 2000)。PMI 蛋白質は
20 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。

b. アレルギー性を有することが明らかとなっている蛋白質との相同性

25 データベースを用いて、改変 Cry1F 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質、改変 Vip3A 蛋白質、PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質と既知アレルギーとのアミノ酸配列相同性を検索した²⁾。その結果、これら蛋白質と既知アレルギーとの間に相同性はないことが確認された。

30 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

Bt 蛋白質：

35 改変 Cry1F 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Vip3A 蛋白質は、いずれも *B. thuringiensis* 由来の Bt 蛋白質である。Bt 蛋白質の機能についてはこれまでに多くの研究がなされており、標的昆虫の中腸細胞に小孔を形成し、破壊することにより殺虫活性を示すと考えられているが (OECD, 2007)、酵素活性を有するとの報告はない。

²⁾ 改変 Cry1F 蛋白質及び PAT 蛋白質：データベース FARRP 13.0、2013 年 4 月検索。
改変 Vip3A 蛋白質及び PMI 蛋白質：データベース FARRP 13.0、2013 年 5 月検索。
Cry1Ab 蛋白質：データベース NCBI Release 181.0、2012 年 10 月検索。

PAT 蛋白質：

PAT 蛋白質は、除草剤グルホシネートの活性成分 L-グルホシネートの遊離アミノ基をアセチル化し、N-アセチル-L-グルホシネートを生じる。しかし、本蛋白質は L-グルホシネートの鏡像異性体である D-グルホシネート、L-グルホシネートと特に構造の類似した L-グルタミン酸及び他の L-アミノ酸を基質としない。また、過剰の各種アミノ酸の存在下でも本蛋白質による L-グルホシネートのアセチル化反応は阻害されない。以上のことから、PAT 蛋白質は L-グルホシネートに対して高い基質特異性を有すると考えられている (OECD, 1999)。

なお、N-アセチル-L-グルホシネートの動物に対する毒性はグルホシネートより低いことが確認されている (食品安全委員会, 2012)。さらに、N-アセチル-L-グルホシネートは農薬取締法の下、グルホシネートの分析対象化合物の一つとして含まれており、トウモロコシにおけるグルホシネートの残留基準値が定められ、既に安全性は評価されている (日本食品化学研究振興財団, 2013)。

PMI 蛋白質：

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 (Freeze, 2002)。

以上のことから、これら蛋白質が宿主の持つ代謝系を変化させる可能性は低い。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

親系統の作出に用いたベクターは、以下のとおりである。

DAS-01507-1 : *Escherichia coli* プラスミド pUC19 から構築されたプラスミド PHP8999。

MON-00810-6 : *E. coli* プラスミド pUC119 から構築されたプラスミド PV-ZMBK07 及び PV-ZMGT10。

SYN-IR162-4 : *E. coli* プラスミド pSB12 から構築されたプラスミド pNOV1300。

□ 特性

ベクターの塩基数及び塩基配列

5 親系統の作出に用いたプラスミドの塩基数は、以下のとおりである。

DAS-01507-1 : 9,504 bp (PHP8999)
MON-00810-6 : 7,800 bp (PV-ZMBK07) 及び 9,447 bp (PV-ZMGT10)
SYN-IR162-4 : 14,405 bp (pNOV1300)

10

特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

ベクターの選抜マーカーとして、以下の遺伝子が利用された。これらマーカー遺伝子は、親系統に導入されていないことが確認されている。

15

DAS-01507-1 : カナマイシン/ネオマイシン耐性遺伝子 (*nptII* 遺伝子)
MON-00810-6 : β -D-ガラクトシダーゼ (LacZ 蛋白質) の部分的コード配列 (*lacZ* 遺伝子) 及び
カナマイシン/ネオマイシン耐性遺伝子 (*nptII* 遺伝子)
20 SYN-IR162-4 : ストレプトマイシン/スペクチノマイシン耐性遺伝子 (*spec* 遺伝子)

20

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

25

SYN-IR162-4 の作出に用いたベクター pNOV1300 には、*E. coli* へのプラスミドの移入を可能とするラムダファージ由来の付着末端領域である *cos* が存在するが、ラムダファージの *E. coli* 以外の宿主は知られていない。また、他のベクターに感染性はない。

30

(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

35

親系統 DAS-01507-1、MON-00810-6 及び SYN-IR162-4 に移入された核酸全体の構成を、図 1~図 3 (14 ページ) に示した。

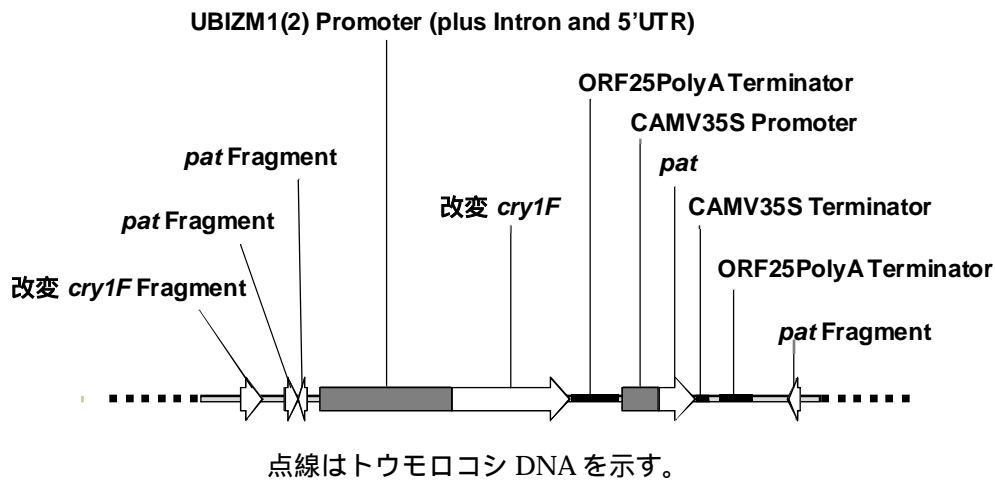
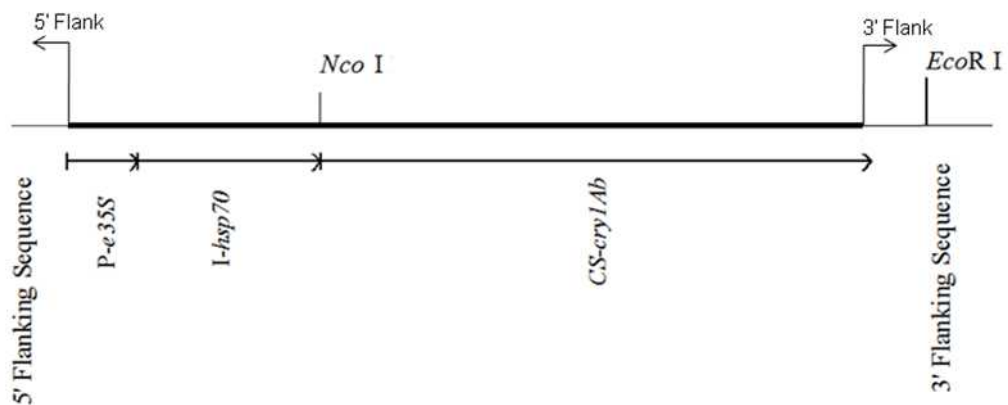


図 1 DAS-01507-1 に移入された核酸全体の構成



MON-00810-6 に移入された *cry1Ab* 遺伝子カセットに NOS 3'は含まれていなかった。

図 2 MON-00810-6 に移入された核酸全体の構成 ³⁾

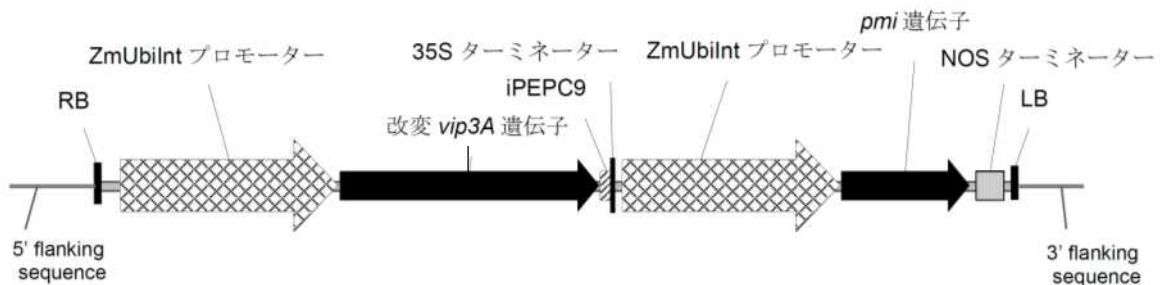


図 3 SYN-IR162-4 に移入された核酸全体の構成

5

³⁾ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

宿主内への核酸の移入は、DAS-01507-1 及び MON-00810-6 ではパーティクルガン法、SYN-IR162-4 ではアグロバクテリウム法が用いられた。

5

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

核酸が移入された細胞の選抜方法

10 核酸が移入された細胞は、以下を添加した培地で培養することにより選抜された。

DAS-01507-1 : 除草剤グルホシネート

MON-00810-6 : 除草剤グリホサート

SYN-IR162-4 : マンノース

15

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 アグロバクテリウム法を用いて作出した SYN-IR162-4 については、マンノース培地に抗生物質セフトキシムを添加し、アグロバクテリウムを除去した。確認のため、再分化した植物体から DNA を抽出し、その DNA を対象として PCR を行ったが、プラスミドの外側骨格領域に含まれる抗生物質耐性マーカー遺伝子 (*spec* 遺伝子) は検出されなかったことから、菌体の残存はないと考えられる。

25 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

30 本スタック系統トウモロコシは、交雑育種法により DAS-01507-1、MON-00810-6 及び SYN-IR162-4 を交配して作出された。その経過を図 4 (15 ページ) に示した。また、我が国におけるこれら親系統の承認状況は、表 4 (16 ページ) のとおりである。

(社外秘情報につき非開示)

図 4 本スタック系統トウモロコシの育成例

表 4 我が国における親系統及び本スタック系統トウモロコシの承認状況

系 統	食 品 ¹⁾	飼 料 ²⁾	環 境 ³⁾
DAS-01507-1	2002年 7月 8日	2003年 3月 27日	2005年 3月 2日
MON-00810-6	2001年 3月 30日	2003年 3月 27日	2004年 6月 1日
SYN-IR162-4	2010年 1月 21日	2010年 6月 1日	2010年 6月 11日
本スタック系統	2013年 1月 28日	2013年 1月 15日	2013年申請

1)食品衛生法（昭和22年法律第233号）

2)飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和28年法律第35号）

3)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（平成15年法律第97号）

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

移入された核酸の複製物が存在する場所

10

DAS-01507-1、MON-00810-6 及び SYN-IR162-4 の形質はメンデルの法則に矛盾することなく伝達され、移入された核酸の複製物は、トウモロコシ核ゲノム上に存在することが確認されている。

15

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

各親系統における導入遺伝子のコピー数及び伝達の安定性について、サザンブロット分析が行われている。

20

DAS-01507-1 :

それぞれ1コピーの改変 *cry1F* 遺伝子発現カセット及び *pat* 遺伝子発現カセットがトウモロコシ核ゲノムに挿入され、後代に安定して伝達されることが確認されている。

25

なお、導入DNAの5'末端領域に改変 *cry1F* 遺伝子配列の一部が、5'末端及び3'末端領域に *pat* 遺伝子配列の一部が、3'末端領域に ORF25PolyA Terminator 配列（表1、7ページ）の一部が含まれていることが導入DNAの塩基配列解析により確認された（図1、14ページ）。しかしながら、ノーザンブロット分析により、これらの遺伝子断片は mRNA へ転写されておらず、機能していないことが確認されている。

30

MON-00810-6 :

1コピーの *cry1Ab* 遺伝子発現に必要な PV-ZMBK07 由来のDNA断片がトウモロコシ染色体に挿入され、後代に安定して伝達されることが確認されている。

35

なお、トウモロコシの染色体中に挿入されたのは PV-ZMBK07 由来の Cry1Ab 蛋白質の産生に必要な領域だけで、*nptII* 遺伝子や PV-ZMGT10 由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子と *gox* 遺伝子の発現カセットは存在しないことがサザンブロット分析により確認されている。

5

SYN-IR162-4 :

それぞれ 1 コピーの改変 *vip3A* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子がトウモロコシ染色体に挿入され、後代に安定して伝達されることが確認されている。

10

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

15

(6)の 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

20

本スタック系統トウモロコシの各親系統に付与された特性の発現安定性は、以下の方法で確認されている。

DAS-01507-1 : チョウ目害虫抵抗性の生物検定、除草剤グルホシネート散布試験、ELISA 法による蛋白質の産生の確認

MON-00810-6 : チョウ目害虫抵抗性の生物検定

25

SYN-IR162-4 : チョウ目害虫抵抗性の生物検定、ELISA 法による蛋白質の産生の確認

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

30

移入された核酸は伝達を可能とする配列を含まないため、ウイルスの感染その他の経路を経由して野生動植物等に伝達されるおそれはない。

35

(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

検出の方法 :

European Commission ウェブサイトに公開されている各親系統(DAS-01507-1、MON-00810-6 及び SYN-IR162-4)のリアルタイム定量 PCR 法による系統特異的検出方法 (Joint Research Centre, 2013)

40

感度 :

DAS-01507-1、MON-00810-6 及び SYN-IR162-4 の系統特異的検出方法の定量

限界は、それぞれ 0.08、0.1 及び 0.08%であることが確認されている。

信頼性：

5 DAS-01507-1、MON-00810-6 及び SYN-IR162-4 の系統特異的検出方法の信頼性は、European Network of GMO Laboratories 加盟のそれぞれ 14、14 及び 12ヶ所の試験機関の共同試験により確認されている。

10 本スタック系統トウモロコシの検出及び識別は、1つの種子又は植物体を上述の方法で分析することによって行う。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

15 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は各親系統に由来する以下の特性が付与されている。

20 DAS-01507-1 : 改変 *cry1F* 遺伝子によるチョウ目害虫抵抗性及び
pat 遺伝子による除草剤グルホシネート耐性
MON-00810-6 : *cry1Ab* 遺伝子によるチョウ目害虫抵抗性
SYN-IR162-4 : 改変 *vip3A* 遺伝子によるチョウ目害虫抵抗性

25 なお、SYN-IR162-4 には選抜マーカーとして *pmi* 遺伝子が導入されている。

これら遺伝子により産生される蛋白質の機能的な相互作用の可能性について、以下に考察した。

30 害虫抵抗性蛋白質間での機能的な相互作用

改変 *Cry1F* 蛋白質、*Cry1Ab* 蛋白質及び改変 *Vip3A* 蛋白質はチョウ目害虫に殺虫効果を示す(第一.2.(1).口.、10ページ)。

35 各親系統に産生されるこれら害虫抵抗性蛋白質は、標的害虫に対して特異的に作用し、独立して殺虫効果を示すと考えられる。また、本スタック系統トウモロコシに産生されるこれら害虫抵抗性蛋白質の殺虫効果の特異性に関与する領域の構造に変化が生じているとは考え難く、標的害虫に対する効果に変化はないと考えられる。このことから、本スタック系統トウモロコシにおいて、各親系統が有する殺虫効果が相加的に高まることはあり得るが、お互いの作用に影響を及ぼし合うことによる相乗効果や拮抗作用が生じることは考えにくい。

40 害虫抵抗性蛋白質と除草剤耐性蛋白質間での機能的な相互作用

除草剤耐性蛋白質である PAT 蛋白質は酵素活性を有するが、基質である L-グルホシネートと特異的に反応する(第一.2.(1).口.、11ページ)。また、上述の害

虫抵抗性蛋白質と PAT 蛋白質の作用機作は独立していることから、相互に影響を及ぼすとは考え難い。

その他の蛋白質との機能的な相互作用

5 SYN-IR162-4 の選抜マーカーである PMI 蛋白質は酵素活性を有するが、基質であるマンノース-6-リン酸及びフルクトース-6-リン酸と特異的に反応する(第一、2.(1).口.、11 ページ)。また、上述の害虫抵抗性蛋白質及び除草剤耐性蛋白質と PMI 蛋白質の作用機作は独立していることから、相互に影響を及ぼすとは考え難い。

10 以上のことから、各親系統由来の蛋白質間で相互作用を示すことは考え難く、導入した遺伝子によって各親系統に新たに付与された性質は、本スタック系統トウモロコシにおいても変化していないと結論された。

15 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との間の生理学的又は生態学的特性の相違については、各親系統における評価結果に基づき評価した。

20 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

各親系統の生物多様性影響評価は終了しており、下記 a~g の生理学的又は生態学的特性の観点から評価した結果、各親系統はいずれも宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシの範囲にあると判断されている⁴⁾。

- 25
- a. 形態及び生育の特性
 - b. 生育初期における低温耐性
 - c. 成体の越冬性
 - d. 花粉の稔性及びサイズ
 - 30 e. 種子の生産性、脱粒性、休眠性及び発芽率
 - f. 交雑性
 - g. 有害物質の産生性

⁴⁾ 各親系統の生物多様性影響評価の参照先は、本評価書 5 ページの脚注に記載した。

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

5 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。

(2) 使用等の方法

10

(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

15

(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

20

緊急措置計画書を参照。

(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

25

(6) 国外における使用等に関する情報

DAS-01507-1、MON-00810-6 及び SYN-IR162-4 の国外における承認状況は、表 5 (21 ページ) のとおりである。

5

表 5 国外における親系統及び本スタック系統トウモロコシの承認状況
(2013 年 11 月現在)

申請国	申請先	目的	承認年			
			DAS-01507-1	MON-00810-6	SYN-IR162-4	本スタック系統
米 国	米国農務省 (USDA)	無規制栽培	2001	1996	2010	- 1)
	米国食品医薬品庁 (FDA)	食品、飼料	2001 ²⁾	1996 ²⁾	2008 ²⁾	2013 届出済
	米国環境保護庁 (EPA)	環境	2001	1995	2008	2013
カナダ	カナダ食品検査庁 (CFIA)	環境、飼料	2002	1997	2010	- 1)
	カナダ保健省 (HC)	食品	2002	1997	2010	- 1)
E U	欧州食品安全機関 (EFSA)	食品、飼料 (輸入)	2006	1998	2012	2015 申請予定
オーストラリア・ニュージーランド	オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ)	食品 (輸入)	2003	2000	2009	2013 届出済

- 1) 承認済み系統から作出されたスタック系統については、新たな承認及び届出を必要としない。
- 2) 確認終了年。

第二 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、交雑育種法により DAS-01507-1、MON-00810-6 及び SYN-IR162-4 を交配して作出された。

5 親系統に産生される各 Bt 蛋白質(改変 Cry1F 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Vip3A 蛋白質) と比較し、本スタック系統トウモロコシに産生されるこれら Bt 蛋白質の殺虫効果の特異性に関与する領域に変化が生じているとは考え難く、標的害虫に対する効果に変化はないと考えられる。加えて、各 Bt 蛋白質は互いに独立して機能することから相互作用が生じることも考え難い。また、Bt 蛋白質には酵素

10 活性がないため、宿主の代謝系に影響を及ぼすことは考え難い。

本スタック系統トウモロコシに産生される PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質は酵素活性を有するが、いずれも高い基質特異性を有し、関連する代謝経路も互いに独立していることから、宿主の代謝系に影響を及ぼしたり、予期しない代謝物が生じることは考え難い。

15 害虫抵抗性蛋白質(改変 Cry1F 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Vip3A 蛋白質)、除草剤耐性蛋白質(PAT 蛋白質) 及び選抜マーカーである PMI 蛋白質は作用機作が独立しており、相互に影響を及ぼすことは考え難い。

以上のことから、本スタック系統トウモロコシについては、親系統が有する形質を併せ持つこと以外に形質の変化はないと考えられる。

20 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各親系統の諸形質を個別に調査した結果に基づいて実施した。以下の「1 競合における優位性」、「2 有害物質の産生性」、「3 交雑性」の各項目について、資料 1~3 のとおり、各親系統において第一種使用規程に従って使用した場合に生物多様性影響が生ずるおそれはないと結論されている。このため、本スタック系統トウモロコシにより、競合における優位性、有害物質の産生性及び交雑性に起因する生物多様性影響

25 が生ずるおそれはないと判断された。

1 競合における優位性

30

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

(2) 影響の具体的内容の評価

35

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

40

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

5 (2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

10 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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 (2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

20 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

第三 生物多様性影響の総合的評価

5 親系統に産生される各 Bt 蛋白質(改変 Cry1F 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Vip3A 蛋白質) と比較し、本スタック系統トウモロコシに産生されるこれら Bt 蛋白質の殺虫効果の特異性に關与する領域に変化が生じているとは考え難く、標的害虫に対する効果に変化はないと考えられる。加えて、各 Bt 蛋白質は互いに独立して機能することから相互作用が生じることも考え難い。また、Bt 蛋白質には酵素活性がないため、宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられる。

10 本スタック系統トウモロコシに産生される PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質は酵素活性を有するが、いずれも高い基質特異性を有し、關連する代謝経路も互いに独立していることから、宿主の代謝系に影響を及ぼしたり、予期しない代謝物が生じることは考え難い。

15 害虫抵抗性蛋白質(改変 Cry1F 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Vip3A 蛋白質)、除草剤耐性蛋白質(PAT 蛋白質) 及び選抜マーカーである PMI 蛋白質は作用機作が独立しており、相互に影響を及ぼすことは考え難い。

以上のことから、本スタック系統トウモロコシについては、親系統が有する形質を併せ持つこと以外に形質の変化はないと考えられる。

20 したがって、各親系統の諸形質を個別に調査した結果に基づいて、本スタック系統トウモロコシの生物多様性影響の評価を実施した結果、本スタック系統トウモロコシ及び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当該トウモロコシから分離した後代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、我が国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと総合的に判断した。

参考文献

- CFIA. (2013). The biology of *Zea mays* (L.). Canadian Food Inspection Agency.
(<http://www.inspection.gc.ca/plants/plants-with-novel-traits/applicants/directive-94-08/biology-documents/zea-mays-l-eng/1330985739405/1330985818367>).
5 Accessed on February 20th, 2013.
- EPA. (2009). Biopesticides registration action document. *Bacillus thuringiensis*
10 Vip3Aa20 insecticidal protein and the genetic material necessary for its production (via elements of vector pNOV1300) in event MIR162 maize (OECD unique identifier: SYN-IR162-4).
(http://www.epa.gov/opp00001/chem_search/reg_actions/registration/decision_G-118_3-Apr-09.pdf).
15 Accessed on July 11th, 2013.
- EPA. (2010). Biopesticide registration action document. Cry1Ab and Cry1F
Bacillus thuringiensis (Bt) corn plant-incorporated protectants.
United States Environmental Protection Agency.
20 (<http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/pips/cry1f-cry1ab-brad.pdf>).
Accessed on January 9th, 2013.
- FAO. (2013). FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
(<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>).
25 Accessed on February 25th, 2013.
- Freeze, H. H. (2002). "Phosphomannose isomerase". Handbook of glycosyltransferases and related genes. Edition 1. Taniguchi, N., Honke, K. and Fukuda, M., Eds. Springer-Verlag, Tokyo and New York, pp. 595-599.
30
- Hansen-Jesse, L.C. and Obrycki, J.J. (2000). Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia*. 125: 241-248.
- Iowa State University. (2010). In-field drydown rates and harvest.
35 (<http://www.extension.iastate.edu/CropNews/2010/0928elmoreabendroth.htm>).
Accessed on June 13th, 2013.
- Kermicle, J. (1997). "Cross compatibility within the genus *Zea*". Proceedings of a
40 forum: Gene flow among maize landraces, improved maize varieties, and teosinte: implications for transgenic maize. Serratos, J.A., Willcox, M.C. and Castillo-González, F. (eds). CIMMYT. Mexico, D.F. pp.40-43.

- Joint Research Centre. (2013).
Quantitative PCR method for detection of maize event TC1507.
Quantitative PCR method for detection of maize event MON810.
Quantitative PCR method for detection of maize event MIR162.
5 (http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/query.do?db=gmometh&query=id%3AQT-eve-zm*).
Accessed on May 15th, 2013.
- 10 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.
- 15 OECD. (1999). Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology, no. 11. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. ENV/JM/MONO(99)13.
Organization for Economic Co-operation and Development.
(<http://www.oecd.org/science/biotrack/46815618.pdf>).
20 Accessed on January 9th, 2013.
- OECD. (2002). Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology, no. 25. Module II: Phosphinothricin. ENV/JM/MONO(2002)14.
Organization for Economic Co-operation and Development.
25 (<http://www.oecd.org/science/biotrack/46815748.pdf>).
Accessed on January 9th, 2013.
- OECD. (2003). Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology, no. 27. Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize).
30 ENV/JM/MONO(2003)11.
Organization for Economic Co-operation and Development.
(<http://www.oecd.org/science/biotrack/46815758.pdf>).
Accessed on January 9th, 2013.
- 35 OECD. (2007). Series on harmonisation of regulatory oversight in biotechnology no. 42. Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* -derived insect control protein. ENV/JM/MONO(2007)14.
Organization for Economic Co-operation and Development.
40 (<http://www.oecd.org/science/biotrack/46815888.pdf>).
Accessed on January 9th, 2013.

- Pleasants, J.M., Hellmich, R.L., Dively, G.P., Sears, M.K., D. Stanley-Horn, D.E., Mattila, H.R., Foster, J.E., Clark, P. and Jones, G.D. (2001). Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 98: 11919-11924.
- 5 Shirai, Y. and Takahashi, M. (2005). Effects of transgenic Bt corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudaeschnia maha*. *Applied Entomology and Zoology*. 40(1): 151-159.
- 10 菊池一徳. (1987). トウモロコシの生産と利用. 光琳. 東京. pp.16-17, 55, 59, 66-68.
- 財務省. (2013). 財務省貿易統計. (<http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>). Accessed on April 17th, 2013.
- 15 食品安全委員会. (2012). 農薬評価書 グルホシネート. (<http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20111118277>). Accessed on March 26th, 2013.
- 千藤茂行. (2001). “トウモロコシ トウモロコシの品種生態 IV 採種 3. 採種栽培の実際”. 転作全書第三巻 雑穀. 農文協編. 農山漁村文化協会. 東京. pp.98-99.
- 20 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. 東京. pp. 58-59, 88, 127-130.
- 25 中村茂文. (2001). “トウモロコシ 生育のステージと生理, 生態 I 種子と発芽 2. 発芽”. 転作全書第三巻 雑穀. 農文協編. 農山漁村文化協会. 東京. pp.42-43.
- 日本食品化学研究振興財団. (2013). 農薬等の基準値 品目名：グルホシネート. (http://m5.ws001.squarestart.ne.jp/zaidan/agrdtl.php?a_inq=18900)
- 30 Accessed on April 17th, 2013.
- 農林水産省. (2013). 平成 24 年産飼肥料作物の作付（栽培）面積. (<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001108528>). Accessed on Sep 27th, 2013.
- 35

提出資料一覧

緊急措置計画書

- 5 資料 1 学識経験者の意見. 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).
【総合検討会における検討日 : 2004年10月7日】.
- 10 資料 2 学識経験者の意見. チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ(*cry1Ab*, *Zea mays* L.) (MON810, OECD UI:MON-ØØ81Ø-6).
【総合検討会における検討日 : 2004年3月8日】.
- 15 資料 3 学識経験者意見. チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ(改変 *vip3A*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MIR162, OECD UI:SYN-IR162-4).
【総合検討会における検討日 : 2008年8月21日】.