

**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）の生物多様性影響評価書の概要**

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	3
第1 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	3
1. 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	3
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	3
(2) 使用等の歴史及び現状	3
(3) 生理学的及び生態学的特性	5
2. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	7
(1) 供与核酸に関する情報	7
(2) ベクターに関する情報	11
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	12
(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	14
(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	15
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	15
3. 遺伝子組換え生物等の使用に関する情報	18
(1) 使用等の内容	18
(2) 使用等の方法	18
(3) 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	19
(4) 国外における使用等に関する情報	19
第2 項目ごとの生物多様性影響評価	20
1. 競合における優位性	20
2. 有害物質の産生性	21
3. 交雑性	24
4. その他	24
第3 生物多様性影響の総合的評価	25
引用文献	27
緊急措置計画書	28

第一種使用規程承認申請書

平成 19 年 2 月 28 日

農林水産大臣 松岡 利勝 殿
環境大臣 若林 正俊 殿

氏名 シンジェンタ シード株式会社
申請者 代表取締役社長 大伴 秀郎
住所 千葉県香取郡多古町高津原向ノ台 401-2

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トウモロコシ(改変 <i>vip3A</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (MIR162, OECD UI: SYN-IR162-4)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	隔離ほ場における栽培、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	所在地：静岡県島田市神座138番地 名称：シンジェンタ ジャパン株式会社研究部中央研究所神座試験センター隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 21 年 3 月 31 日まで 1 隔離ほ場の施設： (1) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。 (2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。

	<p>(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えトウモロコシの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該トウモロコシの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。</p> <p>(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるための防風網を設置している。</p> <p>2 隔離ほ場での作業要領：</p> <p>(1) 本遺伝子組換えトウモロコシ及び比較対照のトウモロコシ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。</p> <p>(2) 本遺伝子組換えトウモロコシを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該トウモロコシが漏出しない構造の容器に入れる。</p> <p>(3) (2)により運搬又は保管する場合を除き、本遺伝子組換えトウモロコシの栽培終了後は、当該トウモロコシ及び比較対照のトウモロコシを隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。</p> <p>(4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えトウモロコシが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。</p> <p>(5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。</p> <p>(6) (1)から(5)までに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。</p> <p>(7) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。</p>
--	--

生物多様性影響評価書の概要

第1 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

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

イ、和名、英名及び学名

和名：トウモロコシ

英名：maize、corn

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

ロ、宿主の品種又は系統名

宿主は、イネ科トウモロコシ属のデント種に属する F1 品種 (NP2499/NP2500) である。

ハ、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 1)、国内及び国外の自然環境における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) とトリプサカム (*Tripsacum* 属) の存在が知られている (文献 2)。テオシントとトリプサカムはメキシコとグアテマラを中心に、米国南部から南米にかけて自生しているが (文献 2)、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

イ、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、メキシコ及び中央アメリカの複数地域説、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 2)。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 年頃には本格的な栽培が始まったと考えられている。また、南北アメリカ大陸の各地に伝播する過程で人為的な選抜が行われ、デント、

ポップ、スイート、フリントのような変異種が生じたと考えられる。1492年のコロンブスのアメリカ大陸発見によってヨーロッパに導入され、その後、ヨーロッパから中東、アフリカ及びアジアの各地域に伝播した。現在、トウモロコシを主食としている地域は中南米とアフリカの東南部に見られる。トウモロコシの大部分は飼料として使用されている（文献2）。

日本へは天正年間（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、江戸時代には主食の代用あるいは間食として、主に関東以南の山間地で栽培が行われていた（文献1）。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1）。

ロ、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。国連食糧農業機関の統計（文献3）に基づくと、2005年におけるトウモロコシの世界総栽培面積は1億4,758万ヘクタールで、その上位3カ国は米国（3,040万ヘクタール）、中国（2,622万ヘクタール）及びブラジル（1,147万ヘクタール）で、また、同年の世界総生産量は7億0,167万トンで、その上位3カ国は栽培面積と同じく、米国（2億8,226万トン）、中国（1億3,515万トン）及びブラジル（3,486万トン）であった。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、その大部分がイリノイ、インディアナ、アイオワ、カンザス、ミシガン、ミネソタ、ミズーリ、ネブラスカ、オハイオ、サウスダコタ及びウィスコンシン州のコーンベルトと呼ばれる地域で栽培されている。2005年における米国でのトウモロコシの利用用途の内訳は、56%が飼料、17%が輸出、15%が燃料用エタノール製造で、残りはコーンシロップ等の食品製造であった（文献33）。

一方、我が国における2005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8万5,300ヘクタール、生食用の未成熟トウモロコシ（スイート種）が2万5,900ヘクタールで（文献4）、子実収穫を目的とした栽培はほとんど行われていない。このうち、青刈りのサイレージ用トウモロコシの栽培面積における上位3都道府県は、北海道（3万5,600ヘクタール）、宮崎県（7,010ヘクタール）及び岩手県（5,370ヘクタール）で、また、生食用の未成熟トウモロコシでは、北海道（8,780ヘクタール）、千葉県（2,000ヘクタール）及び長野県（1,550ヘクタール）であった。

貿易統計(文献 37)に基づくと、我が国は 2005 年に約 1,666 万トンのトウモロコシ子実を輸入しており、米国からの輸入がその 9 割以上(94%)を占めている。また、輸入トウモロコシ子実のうち約 1,221 万トンは飼料用で、残りの約 445 万トンが食用油、コーンスターチ、コーンシロップ等の食品製造用と考えられる。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 34)。

以上のように米国及び日本におけるトウモロコシの主な利用用途は、飼料及び食品・工業用原材料である。世界的に見ると 2003 年における総生産量の約 18%が食品として消費されている(文献 3)。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ、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り(文献 2)、その栽培は温暖な気温と適度な降水量のある地域に適している(文献 35)。

栽培可能地域は低温と無霜期間によって設定され、夏の平均気温が 21~27℃で無霜期間が 120~180 日の地域が最適であり、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 1)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 1)。なお、トウモロコシの種子の発芽適温は 33℃程度で、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 1)。

ロ、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

トウモロコシの種子は雌穂に着生し、また、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く、ヒトの介在なしに種子が自然条件下で広範囲に散布されることはない(文献 2)。種子の休眠性は極めて低く、収穫時に種子が地上に落下しても、土壌温度が 10℃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 36)。

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

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または器官を持たない(文献2)。

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

トウモロコシは風媒受粉植物で一般に95%程度のお他殖率を示すが、自家不和合性はないので自殖も行う(文献1)。トウモロコシは近縁野生種であるテオシントと交雑することが報告されているが、我が国にはトウモロコシと交雑可能な野生種が自生しているという報告はない(文献36)。また、アポミクシスについての報告はない。

花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

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4)。

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 μm程度である(文献1)。受粉は風媒によって行われ、ほとんどの場合は他花受粉であるが、自家不和合性はないので自殖もわずかに生じる(文献1)。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5)。

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、花粉の飛散日数は4~10日間であり、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1)。花粉は開花後に風によって飛散し、その飛散距離は300~500 mとされるが、大部分はほ場内に落下する(文献6)。一般に花粉の寿命は環境条件によって大きく異なるが、トウモロコシの場合、盛夏のほ場条件下で24時間以内である(文献6)。

八、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生性は知られていない。

2. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

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、本組換え体と記す。）は、導入された改変 *vip3A* 遺伝子によってチョウ目昆虫に殺虫活性を示す改変 Vip3A 蛋白質を発現し、米国のトウモロコシ栽培で発生するチョウ目害虫に対して殺虫活性を示す。Vip3A 蛋白質は、*Bacillus thuringiensis* の栄養生長期に産生されて殺虫活性を有する蛋白質（Vegetative Insecticidal Protein）であり、産生後は細胞外に分泌される。同じく *Bacillus thuringiensis* に由来し従来から利用されている Cry 蛋白質は、*Bacillus thuringiensis* の芽胞形成期に産生されて細胞内に内在しているという点が異なるものの、標的チョウ目昆虫の消化管でペプチドに分解されて殺虫活性を示すという作用機作は同様である。Vip3A 蛋白質はトウモロコシのチョウ目害虫に対し、これまでに広く用いられている Cry1Ab 蛋白質等と類似の殺虫スペクトラムを示すが、一部異なる殺虫スペクトラムを示すことから、一方の蛋白質で殺虫効果が認められないチョウ目害虫に対して、もう一方の蛋白質により殺虫活性を補うことが可能である。また標的となるチョウ目害虫における受容体が異なると考えられることから（文献 7）抵抗性害虫の発生を防ぐ手段としての活用が考えられる。

(1) 供与核酸に関する情報

イ、構成及び構成要素の由来

本組換え体の作出に用いた供与核酸の構成及び構成要素の由来は表1 に示すとおりである。

表1 本組換え体の作出に用いた供与核酸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 (<i>Zea mays</i>) の <i>polyubiquitin</i> 遺伝子由来のプロモーターで第一イントロン領域を含み、単子葉植物の植物体全体で目的遺伝子の転写 (mRNA 合成) を誘導する (文献 8)。

表 1 (続き) 本組換え体の作出に用いた供与核酸の構成要素の由来及び機能

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 (文献 9) を、植物における発現に適したコドン (文献 10) に改変した遺伝子で、改変 Vip3A 蛋白質を発現させる。アミノ酸配列に関しては、284 番目のリシンが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 (<i>Zea mays</i>) 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第 9 イントロンで、転写効率を高める働きをもつ (文献 11)
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 由来のターミネーター配列で、転写を終結させる (文献 12)
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	大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) 由来の PMI 蛋白質 (Phosphomannose isomerase) をコードする遺伝子で、マンノース 6-リン酸とフルクトース 6-リン酸との異性化を可逆的に触媒することで、形質転換細胞の選抜を可能とする (文献 13)
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 (文献 14)。ポリアデニル化により、mRNA の転写を終結させる (文献 15)
その他の領域 (以下、外骨格領域と記す。)		
<i>spec</i>	789	大腸菌のトランスポゾン Tn7 (文献 14) 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>)。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付与するため、バクテリアの選抜マーカーとして使用された (文献 16)
cos	432	大腸菌へのプラスミドの移入及び大腸菌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 (文献 17)
ColE1 ori	807	大腸菌中でのプラスミドの複製に必要なプラスミド pUC19 由来の複製起点 (文献 18)

表 1 (続き) 本組換え体の作出に用いた供与核酸の構成要素の由来及び機能

LB	25	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> のノパリン Ti-プラスミド (文献 14) 由来の T-DNA レフトボーダー領域 (文献 19)
RB	25	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> のノパリン Ti-プラスミド (文献 14) 由来の T-DNA ライトボーダー領域 (文献 20)

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

本組換え体の作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能を表 1 に示した。

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

改変 Vip3A 蛋白質

Bacillus thuringiensis 由来で殺虫活性を示す Cry 蛋白質は、*Bacillus thuringiensis* の芽胞形成期に産生されて細胞内に内在しているのに対し、本組換え体において発現する改変 Vip3A 蛋白質が属する Vip 蛋白質は、*Bacillus thuringiensis* の栄養成長期に産生されて細胞外に分泌され、殺虫活性を有している (文献 9)。よって、両蛋白質ともに *Bacillus thuringiensis* によって産生されるものの、産生時期及び存在部位が異なっている。Vip 蛋白質としてはこれまでに Vip1、Vip2 及び Vip3 蛋白質が知られており、*Bacillus thuringiensis* nomenclature committee (*Bacillus thuringiensis* 分類委員会) により 3 群、7 節に分類されている。また、Vip1 及び Vip2 蛋白質がコウチュウ目昆虫に対して殺虫活性を示すのに対して、Vip3 蛋白質はチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す。

Vip3A 蛋白質の全長は 88kDa であるが、Vip3A 蛋白質が標的チョウ目昆虫の幼虫に摂取されると、その消化管内において 62kDa のコア蛋白質へと部分分解される。このコア蛋白質が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が破壊され、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 7 ; 文献 21)。また、Lee *et al.* (文献 7) は、Vip3A 蛋白質と Cry1Ab 蛋白質が互いに競合せずに中腸上皮刷子縁膜小胞 (brush border membrane vesicles ; BBMV) へと結合することを示した。さらに、Vip3A 蛋白質によって影響を受けるタ

バコスズメガ (Tobacco hornworm ; *Manduca sexta*) の BBMV を用い Cry1A 蛋白質の受容体として知られるタバコスズメガのアミノペプチダーゼ様及びカドヘリン様分子に Vip3A 蛋白質が結合しないことを明らかにした(文献7)。以上のことから、Vip3A 蛋白質の作用機作は Cry 蛋白質と同様に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することで消化プロセスを阻害して殺虫活性を示すと考えられるものの、Vip3A 蛋白質と Cry1Ab 蛋白質ではその受容体が異なると考えられる(文献7)。

Vip3A蛋白質とCry1Ab蛋白質それぞれのアミノ酸配列を比較した結果、Vip3A蛋白質のアミノ酸配列がCry1Ab蛋白質と一致した割合は、全長では19.5%、コア蛋白質部分では11.7%であった。また、配列情報に基づくVip蛋白質及びCry蛋白質について、現在の知見では系統進化における両蛋白質の関係は不明である。なお、どちらの蛋白質においても、同じ分類に属する場合には相同性が高く、異なる分類に属する場合には相同性が低い傾向が見られる。

Vip3A蛋白質は、米国のトウモロコシ栽培で発生するチョウ目害虫のヨーロッパアワノメイガ (European corn borer ; *Ostrinia nubilalis*) や、オオカバマダラ (*Danaus plexippus*) には殺虫活性を示さないが(文献7)、米国のトウモロコシ栽培で発生するチョウ目害虫であるツマジロクサヨトウ (Fall armyworm ; *Spodoptera frugiperda*)、アメリカタバコガ (Corn earworm ; *Helicoverpa zea*)、及びタマナヤガ (Black cutworm ; *Agrotis ipsilon*) 等に対して高い殺虫活性を示すことが確認されている。Vip3A蛋白質が殺虫活性を示すチョウ目昆虫の一部にCry1Ab蛋白質は殺虫活性を示さず、Cry1Ab蛋白質が殺虫活性を示すチョウ目昆虫の一部に対してVip3Aは活性を示さない。

改変vip3A遺伝子は土壌に生息するグラム陽性細菌である*Bacillus thuringiensis* AB88株由来のvip3A遺伝子(文献9)を、植物における発現に適したコドン(文献10)に改変した遺伝子で、本組換え体で発現される改変Vip3A蛋白質では、2アミノ酸が置換されている。

また、改変 Vip3A 蛋白質のアミノ酸配列が既知アレルゲンや毒素と有意な相同性を持たないことを、公的に利用可能なデータベース (SWISS-PROT、FARRP 等) を用いた相同性検索によって確認した。

PMI 蛋白質

大腸菌由来の PMI 蛋白質 (Phosphomannose isomerase) をコードする遺伝子で、マ

マンノース 6-リン酸とフルクトース 6-リン酸との異性化を可逆的に触媒することで、形質転換細胞の選抜を可能とする（文献 13）。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、目的遺伝子が *pmi* 遺伝子とともに細胞内に導入されたことが確認できる（文献 13）。PMI 蛋白質はヒトの消化器官も含めて自然界に広く存在し（文献 22；文献 23；文献 24；文献 25）、植物においてはトウモロコシでは確認されていないが、ダイズ等において存在が確認されている（文献 26；文献 27；文献 28）。

なお、植物の *pmi* 遺伝子が産生する PMI 蛋白質は微生物が産生する PMI 蛋白質と同等であると米国環境保護庁（EPA）により評価され、*pmi* 遺伝子が産生する PMI 蛋白質は植物及び微生物のいずれの場合であっても EPA の残留基準規制から除外されている（2005 年 5 月 14 日）。

また、PMI 蛋白質が既知アレルゲンや毒素と有意な相同性を持たないことを、公的に利用可能なデータベース（SWISS-PROT、FARRP 等）を用いた相同性検索によって確認した。

宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

改変 *vip3A* 遺伝子によって発現する改変 Vip3A 蛋白質が酵素活性を持つとは考えにくく、よって宿主の代謝系とは独立して機能すると考えられる。また、PMI 蛋白質は、マンノース 6-リン酸とフルクトース 6-リン酸との異性化を可逆的に触媒する触媒酵素蛋白質であり、その反応はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的で、他の天然基質は知られていない（文献 29）。

以上のことから、導入された遺伝子が宿主の持つ代謝経路を変化させる可能性は極めて低いと考えられる。

(2) ベクターに関する情報

イ、名称及び由来

本組換え体の作出に用いたベクターは pNOV1300 である。このベクターは大腸菌由来のプラスミド等を基に構築された。

ロ、特性

ベクターの塩基数及び塩基配列

ベクターの塩基数は14,405bpである。

特定の機能を有する塩基配列がある場合はその機能

ベクターには、微生物中でベクターを増殖する際の選抜マーカーとして、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を発現する*spec*遺伝子が含まれるものの、本組換え体中にこの遺伝子は導入されていない。

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

本組換え体の作出に用いたベクターpNOV1300には、大腸菌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、ラムダファージの大腸菌以外の宿主は知られていない。また、これ以外に感染性に関与する配列はない。

(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

本組換え体の作出に用いたベクターpNOV1300の構成、各要素の位置及び方向並びに制限酵素による切断部位を図1に示した。これらのうち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）が宿主に移入された。

ロ、宿主内に移入された核酸の移入方法

アグロバクテリウム法によって、pNOV1300のT-DNA領域をトウモロコシの未熟胚に移入した。

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の方法

ベクターpNOV1300と*vir*領域を有しpNOV1300のT-DNA領域を宿主へ挿入する役割を持つヘルパープラスミドを含むアグロバクテリウムを、トウモロコシの未熟胚と共存培養接種し、その後、未熟胚をマンノース添加培地で培養することによって形質転換細胞を選抜した。

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菌体の残存の有無

遺伝子導入後、培地中に抗生物質セフトキシンを添加してアグロバクテリウムを除去したことから、菌体の残存は無いと考えられる。

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及び系統樹

遺伝子導入後に選抜した細胞から植物体を再分化、馴化した後、温室で栽培した。その後、植物体を TaqMan PCR で解析することで改変 *vip3A* 遺伝子の存在を確認して T0 植物体を選抜した。なお承認申請の対象となるのは、[社外秘]及び[社外秘]に由来する後代系統である。

本組換え体については、食品として安全性審査のための申請を厚生労働省に、飼料としての安全性審査のための申請を農林水産省に、順次行う予定である。

(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

イ、移入された核酸の複製物が存在する場所（染色体上、細胞小器官内、原形質内の別）

分離比による安定性評価の結果より、本組換え体の挿入遺伝子である改変 *vip3A* 遺伝子、*pmi* 遺伝子はどちらもメンデルの法則に従い、複数世代にわたって伝達されたことから、改変 *vip3A* 遺伝子、*pmi* 遺伝子は染色体上に存在すると考えられる。

ロ、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

本組換え体における挿入遺伝子のコピー数に関して、本組換え体の葉組織から抽出したゲノム DNA を、制限酵素処理により切断し、改変 *vip3A* 遺伝子、*pmi* 遺伝子あるいは外骨格領域をプローブに用いたサザンブロット解析を行なった。その結果、本組換え体には改変 *vip3A* 遺伝子と *pmi* 遺伝子がそれぞれ 1 コピー、ゲノムの 1 箇所に挿入されており、ベクター pNOV1300 の外骨格領域は存在しないことが示された。

また、本組換え体の 2 つの異なる世代を用い、各世代の植物体における改変 *vip3A* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子の有無をサザンブロット解析によって確認した。その結果、改変 *vip3A* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子をプローブとしたサザンブロット解析の両方において、検出されたバンドは 2 つの異なる世代間で一致しており、このことから改変 *vip3A* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子が安定して後代へ伝達されていることが示された。

以上の結果から、本組換え体の挿入遺伝子は染色体ゲノム上に 1 コピー存在し、後代へ安定して伝達されていることが確認された。

ハ、(6)のイ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

2006年に米国シンジェンタ社の温室において本組換え体の複数の世代を栽培し、葉のサンプルを用いて改変 Vip3A 蛋白質及び PMI 蛋白質の発現量を ELISA 法により測定した。その結果、両蛋白質が植物体において複数の世代にわたって安定して発現していることが示された。なお、非組換え体における改変 Vip3A 蛋白質及び PMI 蛋白質の発現量は定量限界値以下であった。

また、2006年に米国のほ場で本組換え体を栽培し、生育ステージに応じて各組織別にサンプルを採取し、改変 Vip3A 蛋白質及び PMI 蛋白質の発現量を ELISA 法により測定した。その結果、異なる 2 つの世代において、生育期間を通じて改変 Vip3A 蛋白質及び PMI 蛋白質

質が植物体の各組織において発現していることが示された。例えば、改変Vip3A蛋白質の2世代間の開花期における花粉での平均発現量の範囲は、38.57～47.85 µg/g新鮮重であった。一方、PMI蛋白質の開花期における花粉での平均発現量の範囲は、3.67～6.06 µg/g新鮮重であった。

以上のことから、本組換え体における改変Vip3A蛋白質及びPMI蛋白質の発現は、個体間及び世代間で安定して発現していることが確認された。

ホ、ウイルス感染その他の経路を經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

移入された核酸は伝達を可能とする配列を含まない。よって、野生動植物等に伝達されるおそれはないと推定される。

(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

サザンブロット解析による特異的な検出及び識別が可能であり、その検出感度については約 7.5 µg のゲノム DNA を用いれば検出可能である。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ、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

本組換え体に付与された特性は、改変 *vip3A* 遺伝子によって発現する改変 Vip3A 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性と、*pmi* 遺伝子によって発現する PMI 蛋白質による選抜マーカー特性である。改変 Vip3A 蛋白質を発現する本組換え体は、米国のトウモロコシ栽培で発生するチョウ目害虫であるツマジロクサヨトウ (Fall armyworm ; *Spodoptera frugiperda*)、アメリカタバコガ (Corn earworm ; *Helicoverpa zea*) 及びタマナヤガ (Black cutworm ; *Agrotis ipsilon*) 等に対して抵抗性を示す。

ロ、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

形態及び生育の特性

本組換え体及び非組換え体の発芽率、初期生育程度、無穂率 (注1)、50%絹糸抽出までの積算温度、50%開花までの積算温度、開花後の倒伏率、後期生育程度、着雌穂高、稈長、茎裂損度、収穫個体数、穀粒中の水分含量、試料重量 (注2)、収量につい

て、2005年に米国の4箇所のほ場及び2006年に米国の4箇所のほ場で調査を行なった。本組換え体及び非組換え体の脱穂率（注3）について、2005年に米国の2箇所のほ場及び2006年に米国の2箇所のほ場で調査を行った。

その結果、2005年のほ場試験では、1箇所のほ場の発芽率及び収穫個体数または異なる1箇所のほ場における試料重量以外に、本組換え体と非組換え体との間に有意差は認められなかった。また、2006年のほ場試験については1箇所のほ場において後期生育程度及び穀粒中の水分含量、またそれぞれ異なる1箇所のほ場における収量、穀粒中の水分含量または後期生育程度以外に本組換え体と非組換え体との間に有意差は認められなかった。したがって、すべての栽培年度及び栽培ほ場に共通して見られる差異は認められなかった。

（注1） 無穂率：結実しなかった個体の割合（％）

（注2） 試料重量：標準的な水分含量（15.5％）とした場合の1リットルあたりの穀粒重量（kg/l）

（注3） 脱穂率：収穫前に雌穂が脱落した個体の割合（％）

生育初期における低温又は高温耐性

米国シンジェンタ社の温室において幼植物体を生育後、冬季を想定した設定の人工気象器中に置き、低温ストレスによる障害程度を比較した。その結果、本組換え体と非組換え体はいずれも低温条件下への移動後に萎凋・倒伏しており、その程度に相違は観察されなかった。

成体の越冬性

これまで米国で実施されたほ場試験において、本組換え体は非組換え体と同様に成熟後に枯死することが観察されている。

花粉の稔性及びサイズ

2006年に米国シンジェンタ社の温室において栽培した植物体の花粉をヨウ素ヨウ化カリウム溶液で染色して顕微鏡下で観察した結果、直径はどちらも約100µmであった。また、形状に差は見られず、どちらもほぼすべての花粉が染色されたことから、花粉の稔性は同程度であると考えられた。本組換え体と非組換え体の花粉の稔性及びサイズには、有意差あるいは相違は認められなかった。

種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

2年間(2005年及び2006年)にわたり合計8箇所の米国のほ場において本組換え体と非組換え体の種子の生産量（収量）を調査した。その結果、2006年の1箇所のほ場の

みで有意差が見られたが、残りの試験区では有意差は見られなかった。

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、雌穂は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2)。本組換え体も非組換え体と同様に、収穫時の雌穂は苞皮に覆われていることが観察されており、このことから、自然条件下での脱粒性に関して本組換え体と非組換え体との間に相違はないと判断された。

発芽率に関して、2005年の米国におけるほ場試験において有意差が見られたものの、2006年の米国におけるほ場試験において有意差は見られなかった。栽培年度間で発芽率の差異に一貫した傾向は見られなかったことから、発芽率に関して本組換え体と非組換え体とは実質的に同等であると考えられた。

休眠性に関して、調査は行っていないものの、本組換え体と非組換え体との発芽率は同程度であると考えられ、このことから本組換え体と非組換え体の休眠性は同程度である可能性が示唆された。

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ことから、交雑率の試験は行わなかった。

有害物質の産生性

米国シンジェンタ社の温室において本組換え体及び非組換え体を絹糸抽出期まで栽培し、以下のような評価試験を実施した。

後作試験：

植物体栽培後の各土壌にハツカダイコンを播種し、発芽率及び乾燥重量を調査した。その結果、本組換え体と非組換え体との間でハツカダイコンの発芽率、乾燥重量に有意差は認められなかった。

鋤込み試験：

各植物体の地上部(葉及び茎)を収穫し、乾燥、粉末化した後に、土壌と混和してハツカダイコンを播種し、発芽率及び乾燥重量を調査した。その結果、本組換え体と非組換え体との間でハツカダイコンの発芽率、乾燥重量に有意差は認められなかった。

なお、確認のため、隔離ほ場試験において後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を実施する予定である。

本組換え体において発現しているVip3A蛋白質の殺虫活性については、米国のトウモロコシ栽培で発生するチョウ目害虫のツマジロクサヨトウ (Fall armyworm ; *Spodoptera frugiperda*)、アメリカタバコガ (Corn earworm ; *Helicoverpa zea*) 及びタマナヤガ (Black cutworm ; *Agrotis ipsilon*) 等に対して抵抗性を示すことが確認されている。また複数のチョウ目昆虫にVip3A蛋白質を与えて影響を調査した結果、最も高い感受性を示したのは、タマナヤガ (Black cutworm ; *Agrotis ipsilon*) で、LC50値は17.1 ng/cm²であった (文献7)。一方、Cry1Ab蛋白質が殺虫活性を示すチョウ目昆虫のヨーロッパアワノメイガ (European corn borer ; *Ostrinia nubilalis*) や、オオカバマダラ (*Danaus plexippus*) に対しては殺虫活性を示さないことが確認されている。

3. 遺伝子組換え生物等の使用に関する情報

(1) 使用等の内容

隔離ほ場における栽培、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

所在地：静岡県島田市神座138番地

名称：シンジェンタ ジャパン株式会社研究部中央研究所神座試験センター隔離ほ場

使用期間：承認日から平成 21 年 3 月 31 日まで

隔離ほ場の施設：

- 1) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。
- 2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。
- 3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えトウモロコシの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該トウモロコシの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。
- 4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるための防風網を設置している。

隔離ほ場での作業要領：

- 1) 本遺伝子組換えトウモロコシ及び比較対照のトウモロコシ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
 - 2) 本遺伝子組換えトウモロコシを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該トウモロコシが漏出しない構造の容器に入れる。
 - 3) 2)により運搬又は保管する場合を除き、本遺伝子組換えトウモロコシの栽培終了後は、当該トウモロコシ及び比較対照のトウモロコシを隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。
 - 4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えトウモロコシが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
 - 5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。
 - 6) 1)から 5)までに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。
 - 7) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。
- (3) 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

添付の「緊急措置計画書」を参照。

(4) 国外における使用等に関する情報

本組換え体に関して、1999 年から米国においてほ場試験が実施されている。なお、米国において、米国環境保護庁 (EPA) に対して 2006 年 6 月に Vip3A 蛋白質の残留基準値設定の免除申請を行っており、米国農務省 (USDA) 動植物検疫局 (APHIS) に対して 2007 年 5 月に無規制裁培 (商業栽培) の許可申請を、また、2007 年 7 月に米国食品医薬局 (FDA) に対して食品及び飼料としての利用許可申請を、それぞれ行なう予定である。

我が国においては、本組換え体については、食品として安全性審査のための申請を厚生労働省に、飼料としての安全性審査のための申請を農林水産省に、順次行なう予定である。

第2 項目ごとの生物多様性影響評価

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

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。

本組換え体の形態及び生育特性に関して、米国のほ場試験において、発芽率、初期生育程度、無穂率、脱穂率、50%絹糸抽出までの積算温度、50%開花までの積算温度、開花後の倒伏率、後期生育程度、着雌穂高、稈長、茎裂損度、収穫個体数、穀粒中の水分含量、試料重量、収量について調査を行なった。その結果、2005年のほ場試験では1箇所のほ場における発芽率及び収穫個体数、異なる1箇所のほ場における試料重量以外に、本組換え体と非組換え体との間に有意差は認められなかった。2006年のほ場試験については、1箇所のほ場における後期生育程度及び穀粒中の水分含量、またそれぞれ異なる1箇所のほ場における収量、穀粒中の水分含量、後期生育程度以外に、本組換え体と非組換え体との間に有意差は認められなかった。なお、有意差が認められた2005年の発芽率、収穫個体数及び試料重量、2006年の後期生育程度、収量及び穀粒中の水分含量については、栽培年度間及び栽培ほ場間での一貫性は見られず、これらの差異が挿入遺伝子に起因する可能性は低いと考えられた。また、生育初期の低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ並びに脱粒性に関して非組換え体との相違は認められなかった。したがって、本組換え体が我が国の自然環境中で自生する可能性は極めて低いと考えられる。

また、本組換え体には改変Vip3A蛋白質の発現によるチョウ目害虫抵抗性が付与されているため、本組換え体を摂食した一部のチョウ目昆虫には殺虫活性を示すが、チョウ目害虫による食害は、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、この形質は競合における優位性を高める主な要因とはならないと考えられる。

さらに、本組換え体では、導入された*pmi*遺伝子の発現によりPMI蛋白質を発現してマンノースを炭素源として利用することができるが、我が国の自然条件下においてはマンノース以外の炭素源も存在することから、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にくい。

以上のことから、本組換え体を、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場において使用する範囲内では、競合における優位性に関して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

—

(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

以上のことから、本組換え体は、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらの付随する行為の範囲内では、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がないと判断された。

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の特定

宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシに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及ぼす有害物質の産生性は知られていない。

有害物質の産生性については、米国において、後作試験及び鋤込み試験を実施したが、本組換え体と非組換え体との間で有意差は認められなかった。

本組換え体において改変 *vip3A* 遺伝子によって発現する改変 Vip3A 蛋白質が酵素活性を持つとは考えにくい。また、選抜マーカーとして導入された *pmi* 遺伝子によって発現する PMI 蛋白質はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的で他の天然基質は知られていない。よって、本組換え体において産生される改変 Vip3A 蛋白質や PMI 蛋白質が宿主の代謝経路に影響を及ぼし、有害物質を産生するおそれはないと考えられた。なお、改変 Vip3A 蛋白質及び PMI 蛋白質のアミノ酸配列が既知アレルギーや毒素と有意な相同性を持たないことを確認している。

本組換え体において発現する改変 Vip3A 蛋白質はチョウ目昆虫種に殺虫活性を示すことから、我が国に生息するチョウ目昆虫種が生育している本組換え体を直接食餌し

た場合、生存に影響を及ぼす可能性が想定される。しかしながら、トウモロコシの植物体を摂食するチョウ目昆虫はトウモロコシの害虫とみなされるため、ここでは対象としない。

本組換え体の隔離ほ場における利用は、植物残さや花粉のほ場外への漏出が制限された条件下で、所定の作業要領に基づいて実施されるため、本組換え体の隔離ほ場における利用によって、我が国に生息するチョウ目昆虫種の生存に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられた。

しかしながら、可能性は少ないが、本組換え体を我が国の隔離ほ場で栽培した場合、飛散した花粉が周辺の食餌植物に堆積し、それを摂食したチョウ目昆虫の幼虫が本組換え体の花粉で発現する改変 Vip3A 蛋白質によって、生存上何らかの影響を受ける可能性は否定できない。したがって、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が特定された。

(2) 影響の具体的内容の評価

米国で行った試験において、本組換え体の花粉中での改変 Vip3A 蛋白質の発現量を測定した結果、38.57 ~ 47.85 µg/g 新鮮重であった。

また、改変 Vip3A 蛋白質に最も高い感受性を示すタマヤナガ (Black cutworm) に、改変 Vip3A 蛋白質を異なる濃度で人工食餌の表面に塗布し 5 日間与えた結果、タマヤナガの LC50 値は、改変 Vip3A 蛋白質の表面塗布濃度が 17.1 ng/cm² の場合であることが示された。

以上より、本組換え体の殺虫活性を最大限に見積もった場合の影響を評価するために、本組換え体の花粉における発現量を 47.85 µg/g 新鮮重と想定し、また、一般的な花粉 1 粒あたりの重量を約 6.4x10⁻⁷ g であるとする (文献 30)、本組換え体に高い感受性を示すチョウ目昆虫であるタマヤナガは、本組換え体の約 558 粒/cm² の花粉に曝露されると毒性影響を受けると考えられた。

{ 影響を与える花粉粒数/cm² = [LC50 改変 Vip3A 蛋白質量 = 17.1 ng/cm²] / [花粉 1 粒あたりの改変 Vip3A 蛋白質量 = (花粉 1 g あたりの改変 Vip3A 蛋白質量 = 47.85 µg/g 新鮮重) x (花粉 1 粒重量 = 6.4x10⁻⁷ g)] }

(3) 影響の生じやすさの評価

以下に、我が国において本組換え体が仮に栽培された場合に、花粉飛散によって非

標的チョウ目が影響を受ける可能性について考察した。

トウモロコシ花粉飛散について、開花期間中、風向や風速が花粉飛散に好適な条件であった場合の堆積花粉数については、測定した堆積花粉数並びに風向及び風速などを基に、Kawashimaらにより導かれた推定式から、ほ場端から10 mで約4,000粒/cm²、20 mで約2,000粒/cm²、30 mで約950粒/cm²、50 mで約550粒/cm²と推定されている(文献31)。この値は開花期間中、ほ場に一定方向に強い風速の風(3 m/s)が吹き続けると仮定した場合のものであり、花粉の捕集にワセリンを塗布したスライドグラスを使用している。また、トウモロコシほ場周辺でヒマワリ及びイヌホウズキ葉上に堆積するトウモロコシの花粉数を測定したShiraiらの研究によると、開花から12日間の累積の堆積花粉数はほ場端から1 mで最大約160粒/cm²、5 mでは約20粒/cm²、10 mでは約10粒/cm²以下であり、野外では葉上への堆積花粉数が少ないことから、花粉飛散による広範囲での非標的チョウ目昆虫への影響はほとんど起こらないものと考察されている(文献32)。これら2つの報告にみられる堆積花粉数の差については、前者の報告では、花粉飛散に好適な風速条件とするとともに、花粉の捕集にワセリンを塗布したスライドグラスを使用したことが関与していると考えられる。

本組換え体花粉の場合、すでに述べたように、現在知られているチョウ目昆虫の中で本組換え体に対して高い感受性を持つタマナヤガは、約558粒/cm²の密度の本組換え体の花粉を摂取した場合に毒性影響を受けると考えられた。Kawashimaらのモデルに基づいて試算すると、最大で本組換え体からおおよそ50 mの範囲で、我が国に生息するチョウ目昆虫が本組換え体から飛散する花粉によって何らかの影響を受ける可能性があることが推定された。Shiraiらの報告に基づいて試算した場合、トウモロコシ栽培ほ場から1 m以内においても本組換え体の花粉がチョウ目昆虫の死亡率に何らかの影響を与える可能性は低いと推定された。いずれにしても、チョウ目昆虫がトウモロコシの花粉飛散により影響を受けるほ場周辺の範囲内だけに生息するとは考えられないことから、ほ場から飛散した本組換え体の花粉によって、チョウ目昆虫種が個体レベルで影響を受ける可能性は極めて低く、その個体群や種の存続レベルで影響を受ける可能性は考えられず、本組換え体の花粉飛散が特定のチョウ目昆虫種又はその個体群の維持に支障を及ぼすおそれはないと判断された。

以上のことから、本組換え体の隔離ほ場における利用に際し、本組換え体が非標的チョウ目昆虫の個体群に影響を与える可能性はないと考えられた。

(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、本組換え体は、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ

場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらの付随する行為の範囲内では、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がないと判断された。

3. 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

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、交雑性によって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

—

(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

以上のことから、本組換え体は交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれがないと判断された。

4. その他

上記の他に、本組換え体に関して生物多様性影響の評価を行うことが適当であると考えられる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

宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシについては長期の使用経験があり、我が国の自然環境下で自生したという例は報告されていない。本組換え体の形態及び生育特性に関して、2005年のほ場試験では、発芽率、収穫個体数及び試料重量以外に、2006年のほ場試験では、後期生育程度、収量及び穀粒中の水分含量以外に、本組換え体と非組換え体との間に有意差は認められなかった。また、有意差の認められた項目についても栽培年度間及び栽培ほ場間での一貫性は認められず、これらの差異が挿入遺伝子に起因する可能性は低いと考えられた。我が国での本組換え体の隔離ほ場における利用は、制限された条件下で所定の作業要領に基づいて実施されるため、仮にこれらの差異が本組換え体にあつたとしても競合における優位性が高まることは考えにくい。また、本組換え体は、改変 Vip3A 蛋白質及び PMI 蛋白質を産生するが、これらの形質の付与が競合における優位性を高めるとは考えにくい。したがって、制限された条件下で所定の作業要領に基づいて実施される本組換え体の隔離ほ場における利用に際し、競合における優位性に起因して影響を受ける野生動植物等は特定されず、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

有害物質の産生性に関して、宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシについては長期の使用経験があり、野生動植物等に対して影響を与える有害物質の産生は知られていない。本組換え体の有害物質の産生性について、米国において栽培土壌の後作への影響及び植物体の鋤込みの影響が評価されたが、いずれも非組換え体との間で差異は認められず、意図しない有害物質の産生はないと考えられた。本組換え体に導入された改変 Vip3A 蛋白質は酵素蛋白質とは考えにくく、さらに、選抜マーカーとして導入された *pmi* 遺伝子によって発現する PMI 蛋白質はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的で他の天然基質は知られておらず、よって本組換え体において産生される改変 Vip3A 蛋白質や PMI 蛋白質が宿主の代謝経路に影響を及ぼし、有害物質を産生するおそれはないと考えられた。また、我が国においてチョウ目昆虫に対する本組換え体の花粉の飛散による影響を考察したが、本組換え体の花粉が影響する範囲は、本組換え体から周辺およそ 50 m 以内と推定された。自然生態系に生息している非標的チョウ目昆虫がほ場周辺 50 m 以内の範囲だけに生息するとは考えられないことから、個体群に影響を与えるものではないと考えられた。したがって、本組換え体の隔離ほ場における利用に際し、有害物質の産生性に起因して影響を受ける野生動植物等は特定されず、生物多様性影響が生じるおそれはないと判断された。

交雑性に関しては、我が国にはトウモロコシと交雑可能な近縁野生種の自生は報告されていないことから、交雑性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

以上のことから、本組換え体を第一種使用規程に従い当該隔離ほ場で第一種使用等を行う限りにおいて、我が国において生物多様性影響を生ずるおそれはないと総合的に判断された。

引用文献

社外秘につき非開示

緊急措置計画書

平成 19 年 2 月 28 日

氏名 シンジェンタ シード株式会社
代表取締役社長 大伴 秀郎
住所 千葉県香取郡多古町高津原向ノ台 401-2

第一種使用規程の承認を申請している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、本組換え体という。)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定のために関係機関への協力等を必要に応じて行う。更に、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。

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。

2 第一種使用等の状況の把握の方法

試験栽培の担当者から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

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

本組換え体の使用に伴い生物多様性影響を生ずるおそれがあると認めた場合には、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使用等をしている者に連絡するとともに、弊社のホームページにおいて情報提供を行い、問い合わせ専用窓口を設置する。

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

具体的な措置として、特定された問題に応じ、本組換え体の環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本組換え体があった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること等、必要な措置を実施する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

本組換え体が我が国において生物多様性影響を及ぼすおそれがあると認められた場合は、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。

チヨウ目害虫抵抗性トウモロコシ
(改変 *vip3A*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Ilitis)(MIR162, OECD UI : SYN-IR162-4)

生物多様性影響評価書

添 付 資 料

- 別紙 1 Vip3A 蛋白質の殺虫スペクトラム
- 別紙 2 pNOV1300 の塩基配列
- 別紙 3 Molecular Characterization of Event MIR162 Maize: Amended Report No.1
- 別紙 4 ELISA による蛋白質の発現量測定
- 別紙 5 形態及び生育の特性
- 別紙 6 花粉の稔性およびサイズ
- 別紙 7 有害物質産生性の確認
- 別紙 8 Quantification of Vip3Aa20 and Phosphomannose Isomerase (PMI) in Tissues of Maize Derived from Transformation Event MIR162
- 別紙 9 MIR162 : Vip3A 蛋白質の殺虫活性
- 別紙 10 隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画書
- 別紙 11 MIR162 : Vip3A 蛋白質と Cry1Ab 蛋白質のアミノ酸配列の比較
- 別紙 12 MIR162 : 配列情報に基づく Vip 蛋白質及び Cry 蛋白質の系統樹
- 別紙 13 生育初期における低温耐性

社外秘情報につき非開示

シンジェンタ シード株式会社