

承認申請一覧

名称：チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ
(改変 *cry1Da2*, *dgt-28 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)
(DAS1131, OECD UI: DAS-Ø1131-3)

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

申請者：コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社

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
(*cry1B.34*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)
(DP910521, OECD UI: DP-910521-2)

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

申請者：コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社

名称：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
(*ipd072Aa*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)
(DP51291, OECD UI: DP-Ø51291-2)

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

申請者：コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社

名称：半矮性トウモロコシ
(*GA20ox_SUP*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)
(MON94804, OECD UI: MON-94804-4)

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

申請者：バイエルクロップサイエンス株式会社

名称：除草剤グリホサート誘発性雄性不稔、除草剤グリホサート耐性並びにチョウ目
及びコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ
(改変 *cp4 epsps*, *cry1A.105*, 改変 *cry2Ab2*, 改変 *vip3A*, *mpp75Aa1.1*, *vpb4Da2*,
DvSnf7.1, 改変 *cry3Bb1*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MON87427 ×
MON89034 × MIR162 × MON95275 × MON88017, OECD UI: MON-87427-7 ×
MON-89034-3 × SYNIR162-4 × MON-95275-7 × MON-88017-3) 並びに当該
トウモロコシの分離系統に包含される組合せ (既に第一種使用規程の承認を受け
たものを除く。)

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

申請者：バイエルクロップサイエンス株式会社

生物多様性影響評価検討会における検討の結果

名称：チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ

(改変 *cry1Da2*, *dgt-28 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)

(DAS1131, OECD UI: DAS-Ø1131-3)

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

申請者：コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社

生物多様性影響評価検討会は、申請者から提出された生物多様性影響評価書に基づき、第一種使用規程に従って本組換えトウモロコシの第一種使用等をする場合の生物多様性影響に関する申請者による評価の内容について検討を行った。主に確認した事項は以下のとおりである。

1 生物多様性影響評価の結果について

本組換えトウモロコシは、アグロバクテリウム (*Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*)) 由来のプラスミド pBin19 をもとに構築されたプラスミド PHP88492 の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入し作出されている。

本組換えトウモロコシは、*Bacillus thuringiensis* 由来の *cry1Da2* 遺伝子及び改変 *cry1Ab* 遺伝子のそれぞれ一部塩基配列を組み合わせで作製された改変 *cry1Da2* 遺伝子 (改変 *Cry1Da2* 蛋白質をコード) 並びにその N 末端にセイヨウナタネ (*Brassica napus*) 及びアブラナ (*B. rapa*) 由来のキメラ葉緑体輸送ペプチド (TraP8) が連結された *Streptomyces sviveus* 由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (DGT-28 EPSPS 蛋白質) をコードする遺伝子の発現カセットを含む T-DNA 領域が、染色体上に 1 コピー組み込まれ、複数世代にわたり安定して伝達していることが遺伝子の分離様式、Southern by Sequencing 分析及びサザンブロッティングにより確認されている。また、目的の蛋白質が複数世代にわたり安定して発現していることが、ELISA 法及び除草剤グリホサート耐性の有無により確認されている。

(1) 競合における優位性

トウモロコシは、栽培化の過程で雑草性や自生能力を失っており、我が国においても、自然環境下で自生した例は報告されていない。栽培作物であるトウモロコシが自生能力を獲得するには、自生能力に不可欠な特性である種子の脱粒性及び休眠性の変化が必要と考えられている。

本組換えトウモロコシには改変 *Cry1Da2* 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性及び DGT-28 EPSPS 蛋白質による除草剤グリホサート耐性が付与されているが、いずれも上記特性に関与する形質ではない。したがって、これら付与された特性により本組換えトウモロコシが我が国の自然環境下で自生するようになるとは考え難い。

米国のほ場における栽培結果等をもとに、本組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる諸特性 (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、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率) について評価を行った結果、形態及

び生育の特性における子実の含水率、花粉の長径及び収穫種子の発芽率に非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差が認められた。しかしながら、本組換えトウモロコシの子実の含水率の測定値は、コルテバ・アグリサイエンスの商業品種における変動の範囲内であった。花粉の長径についても、本組換えトウモロコシの測定値は従来のトウモロコシの花粉の長径の文献値と異なるものではなかった。また、収穫種子の発芽率についても、本組換えトウモロコシにおける平均値は98.5%と高く、休眠性は認められなかった。よって、本組換えトウモロコシのこれらの特性が競合における優位性を高める可能性は低いと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 有害物質の産生性

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及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

本組換えトウモロコシ中に産生される改変Cry1Da2蛋白質は特定のチョウ目昆虫に対して特異的に殺虫活性を示す。また、DGT-28 EPSPS蛋白質については、野生動植物等に対する有害性は報告されていない。

これらの蛋白質のうち、改変Cry1Da2蛋白質が酵素活性を有するとの報告はない。また、酵素であるDGT-28 EPSPS蛋白質は他の5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素（以下「EPSPS蛋白質」という。）と同様の基質特異性を有し、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中においてホスホエノールピルビン酸及びシキミ酸-3-リン酸と特異的に反応すると考えられた。加えて、EPSPS蛋白質は同経路における律速酵素ではないことが示唆されており、DGT-28 EPSPS蛋白質の産生により芳香族アミノ酸の生成量が増加する可能性も低い。さらに、改変Cry1Da2蛋白質及びDGT-28 EPSPS蛋白質それぞれの作用機作は独立していることから、相互に影響する可能性は低い。よって、これらの蛋白質が宿主の代謝経路に作用して意図しない有害物質を産生するとは考え難い。

実際に、米国ほ場において後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った結果、いずれの調査においても本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められなかった。

これらのことから、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性に起因し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。さらに、我が国に生息する絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に指定されているチョウ目昆虫のうち、自然環境下で本組換えトウモロコシの花粉を摂食することにより影響を受ける可能性のある100種を特定した。

トウモロコシの花粉の飛散量はほ場からの距離に応じて減少することから、特定されたチョウ目昆虫が本組換えトウモロコシの花粉に暴露されるのはほ場周辺に限られると考えられた。一方、生息地及び食草の点から、特定された100種のチョウ目昆虫種がトウモロコシ栽培ほ場周辺に局所的に生息しているとは考え難い。また、ほ場周辺であっても、特定された100種のチョウ目昆虫が、本組換えトウモロコシの花粉の摂食を介して致死濃度の改変Cry1Da2蛋白質に暴露される可能性は低い。よって、

本組換えトウモロコシの花粉の飛散により、特定されたチョウ目昆虫種が個体群レベルで影響を受ける可能性は低いと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(3) 交雑性

我が国において、トウモロコシと交雑可能な近縁野生種の自生について報告はないため、交雑性に起因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。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

2 生物多様性影響評価検討会の結論

以上より、本組換え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、我が国における生物多様性影響を生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。

生物多様性影響評価検討会における検討の結果

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

(*cry1B. 34*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)

(DP910521, OECD UI: DP-910521-2)

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

申請者：コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社

生物多様性影響評価検討会は、申請者から提出された生物多様性影響評価書に基づき、第一種使用規程に従って本組換えトウモロコシの第一種使用等をする場合の生物多様性影響に関する申請者による評価の内容について検討を行った。主に確認した事項は以下のとおりである。

1 生物多様性影響評価の結果について

本組換えトウモロコシは、2段階の配列の挿入により目的の遺伝子を導入して作出されている。第1段階として、パーティクルガン法を用いてリコンビナーゼであるFLP蛋白質の標的配列をもつLanding pad (LP) 配列を導入した中間系統を作出している。第2段階として、大腸菌 (*Escherichia coli*) 等由来のプラスミド pUC19 をもとに構築され挿入 DNA 領域を持つプラスミド PHP79620 及び *Flp* 遺伝子発現カセットを持つプラスミド PHP5096 等のヘルパープラスミドをパーティクルガン法により導入した後、一過的に発現したFLP蛋白質の機能により、FLP蛋白質の標的配列で挟まれた挿入 DNA 領域を中間系統のLP配列中の対応する配列と置換している。

本組換えトウモロコシは、*E. coli* 由来のマンノースリン酸イソメラーゼ (PMI 蛋白質) をコードする *pmi* 遺伝子、*Streptomyces viridochromogenes* 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 *pat* 遺伝子並びに *Bacillus thuringiensis* 由来の *cry1B* 遺伝子、*cry1Ca1* 遺伝子及び *cry9Db1* 遺伝子のそれぞれ一部塩基配列を組み合わせで作製された *cry1B. 34* 遺伝子 (*Cry1B. 34* 蛋白質をコード) の発現カセットを含む挿入 DNA 領域が、染色体上に1コピー組み込まれ、複数世代にわたり安定して伝達していることが遺伝子の分離様式、Southern by Sequencing 分析及びサザンブロッティングにより確認されている。また、目的の蛋白質が複数世代にわたり安定して発現していることが、ELISA 法により確認されている。

(1) 競合における優位性

トウモロコシは、栽培化の過程で雑草性や自生能力を失っており、我が国においても、自然環境下で自生した例は報告されていない。栽培作物であるトウモロコシが自生能力を獲得するには、自生能力に不可欠な特性である種子の脱粒性及び休眠性の変化が必要と考えられている。

本組換えトウモロコシには *Cry1B. 34* 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性、PAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性及び PMI 蛋白質による選抜マーカー特性が付与されているが、いずれも上記特性に関与する形質ではない。したがって、これら付与

された特性により本組換えトウモロコシが我が国の自然環境下で自生するようになるとは考え難い。

米国のは場における栽培結果等をもとに、本組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる諸特性（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、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率）について評価を行った結果、形態及び生育の特性における発芽苗数、雄穂開花までの日数、稈長並びに花粉の充実度に非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差が認められた。しかしながら、発芽苗数、雄穂開花までの日数及び稈長について、本組換えトウモロコシの測定値はコルテバ・アグリサイエンスの商業品種における変動の範囲内であった。また、花粉の充実度についても本組換えトウモロコシの平均値は99%と高く、稔性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。よって、本組換えトウモロコシのこれらの特性が競合における優位性を高める可能性は低いと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 有害物質の産生性

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及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

本組換えトウモロコシ中に産生されるCry1B. 34蛋白質は特定のチョウ目昆虫に対して特異的に殺虫活性を示す。また、PAT蛋白質及びPMI蛋白質については、野生動植物等に対する有害性は報告されていない。

これらの蛋白質のうち、Cry1B. 34蛋白質が酵素活性を有するとの報告はない。また、酵素であるPAT蛋白質は基質特異性を有し、除草剤グルホシネートの活性成分であるL-グルホシネートの遊離アミノ基をアセチル化する反応を触媒するが、他のアミノ酸やD-グルホシネートを基質としない。PMI蛋白質も基質特異性を有し、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触媒するが、他の天然基質は知られていない。さらに、これらの蛋白質の作用機作は互いに独立していることから、相互に影響する可能性は低い。よって、これらの蛋白質が宿主の代謝経路に作用して意図しない有害物質を産生するとは考え難い。

実際に、米国は場において後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った結果、いずれの調査においても本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められなかった。

これらのことから、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性に起因し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。さらに、我が国に生息する絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に指定されているチョウ目昆虫のうち、自然環境下で本組換えトウモロコシの花粉を摂食することにより影響を受ける可能性のある100種を特定した。

トウモロコシの花粉の飛散量はは場からの距離に応じて減少することから、特定されたチョウ目昆虫が本組換えトウモロコシの花粉に暴露されるのはは場周辺に限られると考えられた。一方、生息地や食草の点から、特定された100種のチョウ目昆虫種がトウモロコシ栽培は場周辺に局所的に生息しているとは考え難い。また、は場周

辺であっても、特定された100種のチョウ目昆虫が、本組換えトウモロコシの花粉の摂食を介して致死濃度のCry1B. 34蛋白質に暴露される可能性は低い。よって、本組換えトウモロコシの花粉の飛散により、特定されたチョウ目昆虫種が個体群レベルで影響を受ける可能性は低いと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(3) 交雑性

我が国において、トウモロコシと交雑可能な近縁野生種の自生について報告はないため、交雑性に起因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。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

2 生物多様性影響評価検討会の結論

以上より、本組換え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、我が国における生物多様性影響を生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。

生物多様性影響評価検討会における検討の結果

名称：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
(*ipd072Aa*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)
(DP51291, OECD UI: DP-051291-2)

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

申請者：コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社

生物多様性影響評価検討会は、申請者から提出された生物多様性影響評価書に基づき、第一種使用規程に従って本組換えトウモロコシの第一種使用等をする場合の生物多様性影響に関する申請者による評価の内容について検討を行った。主に確認した事項は以下のとおりである。

1 生物多様性影響評価の結果について

本組換えトウモロコシは、2段階の配列の挿入により目的の遺伝子を導入し作出されている。第1段階として、アグロバクテリウム法及びパーティクルガン法を用いてリコンビナーゼである FLP 蛋白質の標的配列をもつ Landing pad (LP) 配列を導入した中間系統を作出している。第2段階として、アグロバクテリウム (*Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*)) 等由来のプラスミド pSB1 から作製されたプラスミド PHP74638 の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入した後、一過的に発現した FLP 蛋白質の機能により、T-DNA 領域に存在する FLP 蛋白質の標的配列で挟まれた挿入 DNA 領域を、中間系統の LP 配列中の対応する配列と置換している。

本組換えトウモロコシは、大腸菌 (*Escherichia coli*) 由来のマンノースリン酸イソメラーゼ (PMI 蛋白質) をコードする *pmi* 遺伝子、*Streptomyces viridochromogenes* 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 *pat* 遺伝子及び *Pseudomonas chlororaphis* 由来の殺虫性蛋白質 (IPD072Aa 蛋白質) をコードする *ipd072Aa* 遺伝子の発現カセットを含む挿入 DNA 領域が、染色体上に1コピー組み込まれ、複数世代にわたり安定して伝達していることが、遺伝子の分離様式、Southern by Sequence 分析及びサザンブロッティングにより確認されている。また、目的の蛋白質が複数世代にわたり安定して発現していることが、ELISA 法により確認されている。

(1) 競合における優位性

トウモロコシは、栽培化の過程で雑草性や自生能力を失っており、我が国においても、自然環境下で自生した例は報告されていない。栽培作物であるトウモロコシが自生能力を獲得するには、自生能力に不可欠な特性である種子の脱粒性及び休眠性の変化が必要と考えられている。

本組換えトウモロコシには IPD072Aa 蛋白質によるコウチュウ目害虫抵抗性、PAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性及び PMI 蛋白質による選抜マーカー特性が付

与されているが、いずれも上記特性に関与する形質ではない。したがって、これら付与された特性により本組換えトウモロコシが我が国の自然環境下で自生するようになるとは考え難い。

実際に、米国のほ場における栽培結果等をもとに、本組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる諸特性（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、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率）について評価を行った結果、非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差や違いは認められなかった。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 有害物質の産生性

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及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

本組換えトウモロコシ中に産生される IPD072Aa 蛋白質は特定のコウチュウ目昆虫に対して特異的に殺虫活性を示す。また、PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質については、野生動植物等に対する有害性は報告されていない。

これらの蛋白質のうち、IPD072Aa 蛋白質はコウチュウ目昆虫の中腸上皮細胞に存在する受容体に特異的に結合し、当該細胞を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、酵素として機能するとの報告はない。加えて、IPD072Aa 蛋白質は既知の酵素蛋白質のモチーフ又はドメイン等との相同性を有しておらず、酵素活性を有する可能性は低い。また、酵素である PAT 蛋白質は基質特異性を有し、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートの遊離アミノ基をアセチル化する反応を触媒するが、他のアミノ酸や D-グルホシネートを基質としない。PMI 蛋白質も基質特異性を有し、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触媒するが、他の天然基質は知られていない。さらに、これらの蛋白質の作用機作は互いに独立していることから、相互に影響する可能性は低い。よって、これらの蛋白質が宿主の代謝経路に作用して意図しない有害物質を産生するとは考え難い。

実際に、米国のほ場において後作試験、鋤込み試験及び土壤微生物相試験を行った結果、いずれの調査においても本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められなかった。

これらのことから、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性に起因し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が特定された。さらに、我が国に生息する絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に指定されているコウチュウ目昆虫のうち、本組換えトウモロコシの花粉又は鋤込まれた植物体を腐植質とともに摂取することにより影響を受ける可能性のある野生動植物等として4種が特定された。

トウモロコシの花粉の飛散数はほ場から 10 m 離れると極めて少なく(<10 粒/cm²)、植物体は栽培後の鋤込みによりほ場及びその周辺の土壌中で分解されるため、本組換えトウモロコシの花粉や植物体の暴露は、ほ場周辺に限られる。一方、生息地や食草の点から、特定された4種のコウチュウ目昆虫種がトウモロコシ栽培ほ場周辺に局所的に生息している可能性は低いと考えられた。したがって、本組換えトウモロコシの花粉の飛散又は植物体を腐植質とともに摂食することにより、特定されたコウチュウ

目昆虫種が個体群レベルで影響を受ける可能性は低いと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(3) 交雑性

我が国において、トウモロコシと交雑可能な近縁野生種の自生について報告はないため、交雑性に起因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。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

2 生物多様性影響評価検討会の結論

以上より、本組換え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、我が国における生物多様性影響を生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。

生物多様性影響評価検討会における検討の結果

名称：半矮性トウモロコシ

(*GA20ox_SUP*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)

(MON94804, OECD UI: MON-94804-4)

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

申請者：バイエルクロップサイエンス株式会社

生物多様性影響評価検討会は、申請者から提出された生物多様性影響評価書に基づき、第一種使用規程に従って本組換えトウモロコシの第一種使用等をする場合の生物多様性影響に関する申請者による評価の内容について検討を行った。主に確認した事項は以下のとおりである。

1 生物多様性影響評価の結果について

本組換えトウモロコシは、複数の段階を経て目的の遺伝子が導入されている。最初に、大腸菌 (*Escherichia coli*) 由来のプラスミド pBR322 等を基に構築された PV-ZMAP527892 の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入した中間系統が作出されている。次に、Cre リコンビナーゼ発現カセットを持つ組換えトウモロコシ系統と交配させた後、Cre/lox 法により、T-DNA 領域から選抜マーカーカセット及び loxP 配列の 1 つが除去された領域（導入遺伝子）のみを有する個体が選抜されている。その後、選抜された個体を自殖して得られた世代において、Cre リコンビナーゼ発現カセットを持たない個体が選抜されている。

本組換えトウモロコシは、トウモロコシ内在性のジベレリン (GA) 20 酸化酵素 3 及び同 5 をそれぞれコードする *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の配列に由来する 21 塩基長配列並びにその逆方向反復配列、イネ (*Oryza sativa*) 由来の 3 つの Osa-miR1425 フラグメント等により構成される *GA20ox_SUP* 抑制カセットを含む導入遺伝子が、染色体上に 1 コピー組み込まれ、複数世代にわたり安定して伝達していることが、バイオインフォマティクス解析、次世代シーケンシング並びに導入遺伝子領域の PCR 及び塩基配列解析により確認されている。また、*GA20ox_SUP* 抑制カセットの転写産物である *GA20ox_SUP* の pri-miRNA 及び *GA20ox_SUP* の成熟 miRNA が、複数世代にわたり安定して産生されていることが、ノーザンブロットティングにより確認されている。

(1) 競合における優位性

トウモロコシは、栽培化の過程で雑草性や自生能力を失っており、我が国においても、自然環境下で自生した例は報告されていない。栽培作物であるトウモロコシが自生能力を獲得するには、自生能力に不可欠な特性である種子の脱粒性及び休眠性の変化が必要と考えられている。

本組換えトウモロコシには、*GA20ox_SUP* 抑制カセットから産生される *GA20ox_SUP* の成熟 miRNA により半矮性（短稈）が付与されているが、半矮性は上記特性に関与す

る形質ではない。このことから、この半矮性を付与されたことのみが要因で、これまで栽培作物として品種改良されてきたトウモロコシが、我が国の自然環境下で複数世代にわたり安定して自生することが可能になるとは考えにくい。

実際に、競合における優位性に関わる諸形質として、本組換えトウモロコシの形態及び生育の特性、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、休眠性及び発芽率を我が国の隔離ほ場において調査した結果、本組換えトウモロコシへの付与を意図した形質である短稈及びそれに伴う着雌穂高の低下が認められた。一方で、意図した形質に関連しないそれ以外の項目に関して本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差や違いは認められなかった。また、生育初期における低温耐性を人工気象室にて調査した結果、処理前、低温処理後 11 日目及び低温処理後 19 日目の草丈は、いずれも本組換えトウモロコシの方が低かったものの、導入した *GA20ox_SUP* 抑制カセットの発現による栄養組織での活性型 GA 含有量の低下に起因すると考えられた。加えて、乾燥重においては本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められなかった。

よって、本隔離ほ場試験及び人工気象室での調査においては、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に、本組換えトウモロコシの競合における優位性が高まっていることを示す差異は確認されなかった。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 有害物質の産生性

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及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

GA20ox_SUP 抑制カセットから産生される *GA20ox_SUP* の成熟 miRNA は、RNAi 機構を通じて、標的遺伝子であるトウモロコシ内在性の *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の発現を特異的に抑制するように設計されているため、標的となる代謝系は、両遺伝子が関与する内在性の GA 生合成経路であると考えられた。

また、本組換えトウモロコシにおいて産生される *GA20ox_SUP* の成熟 miRNA については、上記標的遺伝子の転写産物を除き、トウモロコシ内在性転写産物の配列との間に相同性が認められなかったことから、宿主であるトウモロコシにおいて、標的遺伝子以外の遺伝子の発現を抑制して標的以外の代謝系を変化させることはないと考えられた。

以上のことから、*GA20ox_SUP* の成熟 miRNA の産生により、新規の代謝産物が生じるものではないと考えられた。

よって、導入した *GA20ox_SUP* 抑制カセットから産生される *GA20ox_SUP* の成熟 miRNA が原因で、本組換えトウモロコシ中に有害物質が産生されるとは考えにくい。

実際に、本組換えトウモロコシ及び対照の非組換えトウモロコシについて、有害物質の産生性の有無を比較検討するため、土壌微生物相試験、鋤込み試験及び後作試験を行った結果、鋤込み試験におけるハツカダイコンの発芽率を除く全ての項目において、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められず、加えて、鋤込み試験で認められた統計学的有意差についても、本組換え

トウモロコシの地上部を鋤き込んだ土壌の方が、対照の非組換えトウモロコシを鋤き込んだ土壌に比べて高い発芽率を示したことから、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性が高まっていることを示すものではないと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(3) 交雑性

我が国において、トウモロコシと交雑可能な近縁野生種の自生について報告はないため、交雑性に起因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。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

2 生物多様性影響評価検討会の結論

以上より、本組換え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、我が国における生物多様性影響を生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。

生物多様性影響評価検討会における検討の結果

名称：除草剤グリホサート誘発性雄性不稔、除草剤グリホサート耐性並びにチョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ

(改変 *cp4 epsps*, *cry1A. 105*, 改変 *cry2Ab2*, 改変 *vip3A*, *mpp75Aa1. 1*, *vpb4Da2*, *DvSnf7. 1*, 改変 *cry3Bb1*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)

(MON87427×MON89034×MIR162×MON95275×MON88017, OECD UI: MON-87427-7×MON-89034-3×SYN-IR162-4×MON-95275-7×MON-88017-3) 並びに当該トウモロコシの分離系統に包含される組合せ (既に第一種使用規程の承認を受けたものを除く。)

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

申請者：バイエルクロップサイエンス株式会社

生物多様性影響評価検討会は、申請者から提出された生物多様性影響評価書に基づき、申請に係る第一種使用規程に従って除草剤グリホサート誘発性雄性不稔、除草剤グリホサート耐性並びにチョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ (以下「本スタック系統」という。) の第一種使用等をする場合の生物多様性影響に関する申請者による評価の内容について検討を行った。

スタック系統については、親系統の特性のみが付与されることが一般的だが、導入されている遺伝子の発現によって産生される蛋白質等の相互作用により、親系統の範囲を超えた新たな特性が付与され、その結果、親系統には見られない生物多様性影響をもたらす可能性がある。このことから、スタック系統の検討に当たっては、親系統に移入された遺伝子の発現による形質間の相互作用の有無を検討し、形質間の相互作用がないと判断される場合には、親系統の生物多様性影響評価情報を用いて、当該スタック系統の生物多様性影響評価を行うことが可能である。一方、形質間に相互作用がないと判断されない場合には、親系統の生物多様性影響評価情報及び当該スタック系統の形質間の相互作用に関する情報を用いて生物多様性影響評価を行う必要がある。

以上のことから、主に確認した事項は以下のとおりである。

1 生物多様性影響評価の結果について

本スタック系統は、

- ① 改変 CP4 EPSPS 蛋白質をコードする改変 *cp4 epsps* 遺伝子が導入された除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ (MON87427)
- ② Cry1A. 105 蛋白質をコードする *cry1A. 105* 遺伝子及び改変 Cry2Ab2 蛋白質をコードする改変 *cry2Ab2* 遺伝子が導入されたチョウ目害虫抵抗性トウモロコシ (MON89034)
- ③ 改変 Vip3A 蛋白質をコードする改変 *vip3A* 遺伝子及び PMI 蛋白質をコードする *pmi* 遺伝子が導入されたチョウ目害虫抵抗性トウモロコシ (MIR162)
- ④ Mpp75Aa1. 1 蛋白質をコードする *mpp75Aa1. 1* 遺伝子及び Vpb4Da2 蛋白質をコー

ドする *vpb4Da2* 遺伝子並びに *DvSnf7* 遺伝子の部分配列に対応した二本鎖 RNA (*DvSnf7* dsRNA) が産生されるよう同遺伝子の部分配列が逆方向反復で導入されたコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ (MON95275)

- ⑤ 改変 CP4 EPSPS 蛋白質をコードする改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び改変 Cry3Bb1 蛋白質をコードする改変 *cry3Bb1* 遺伝子が導入された除草剤グリホサート耐性及びコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ (MON88017)

を用いて、複数の系統による交雑育種法により作出されたものである。

本スタック系統では、MON87427 及び MON88017 由来の除草剤耐性蛋白質である改変 CP4 EPSPS 蛋白質が発現していることから、その発現量が親系統より高まる可能性がある。しかし、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が触媒する反応は、芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路における律速段階ではないため、その発現量が親系統より高まったとしても、親系統由来の性質が変化することはないと考えられる。

また、本スタック系統で発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び選抜マーカー蛋白質 (PMI 蛋白質) は、いずれも酵素活性を有するが、基質特異性が高い上に、各蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立していることから、これらの蛋白質が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。

さらに、本スタック系統で発現するチョウ目害虫抵抗性蛋白質 (Cry1A. 105 蛋白質、Cry2Ab2 蛋白質、改変 Vip3A 蛋白質) 及びコウチュウ目害虫抵抗性蛋白質 (Mpp75Aa1. 1 蛋白質、Vpb4Da2 蛋白質、改変 Cry3Bb1 蛋白質) は標的昆虫に特異的に作用し、独立して殺虫効果を示すと考えられるとともに、それぞれ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いことから、各殺虫性蛋白質の殺虫スペクトラムに変化はないと考えられる。加えて、これらの殺虫性蛋白質が酵素活性を持つとの報告はないことから、相互に作用して宿主の代謝系を変化させ、予期しない代謝物を生じさせることはないと考えられる。

また、本スタック系統で発現してコウチュウ目害虫抵抗性を付与する転写産物 *DvSnf7* dsRNA は、上述の殺虫性蛋白質の作用機作とは全く異なる RNAi 機構を通して殺虫活性を示すことから、殺虫性蛋白質と *DvSnf7* dsRNA は、それぞれ独立して殺虫効果を示すとともに、相互に作用することで、殺虫スペクトラムが親系統の範囲を超えて広がることはないと考えられる。さらに、*DvSnf7* dsRNA から蛋白質が翻訳されることは考え難いことから、殺虫性蛋白質と相互に作用して宿主の代謝系を変化させ、予期しない代謝物を生じさせることはないと考えられる。

したがって、上述の除草剤耐性蛋白質、選抜マーカー蛋白質、害虫抵抗性蛋白質及び *DvSnf7* dsRNA は、それぞれが有する機能は異なり作用機作も独立していることから、相互に作用して宿主の代謝系を変化させ、予期しない代謝物を生じさせることや、互いの作用に影響を及ぼし合う可能性は低いと考えられる。

以上のことから、本スタック系統及びその分離系統に包含される組合せ (既に第一種使用規程の承認を受けたものを除く。) において、各親系統由来の蛋白質により親系統の範囲を超えた新たな特性が付与されることは考え難く、親系統が有する形質を併せ持つこと以外に評価すべき形質の変化はないと考えられる。

なお、各親系統の次に掲げる評価項目については検討が既に終了¹⁾しており、当該検討の結果では、各親系統を第一種使用規程に従って使用した場合、我が国における生物多様性影響を生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断されている。

- (1) 競合における優位性
- (2) 有害物質の産生性
- (3) 交雑性

1) 各親系統の検討の結果は以下より閲覧可能

● MON87427

https://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=1612&ref_no=2

● MON89034

https://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=1002&ref_no=2

● MIR162

https://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=1493&ref_no=2

● MON95275

<https://www.affrc.maff.go.jp/docs/committee/diversity/attach/pdf/240306-12.pdf>

● MON88017

https://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=727&ref_no=2

2 生物多様性影響評価検討会の結論

以上より、本スタック系統を第一種使用規程に従って使用した場合に、我が国における生物多様性影響を生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。