

## 生物多様性影響評価検討会における検討の結果

名称：線虫抵抗性及び 4 ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性ダイズ

(*cry14Ab-1.b*, *hppdPf-4Pa*, *Glycine max* (L.) Merr.)

(OECD UI: BCSGM151-6)

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

申請者：BASF ジャパン株式会社

農作物分科会は、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ダイズ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

本組換えダイズは、大腸菌由来のプラスミド pGSC1700 をもとに構築されたプラスミド pSZ8832 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。本組換えダイズには、*Bacillus thuringiensis* 由来の Cry14Ab-1 蛋白質をコードする *cry14Ab-1.b* 遺伝子及び *Pseudomonas fluorescens* A32 株由来の改変 4 - ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ（以下「HPPD-4 蛋白質」という。）をコードする *hppdPf-4Pa* 遺伝子の発現カセットが染色体上に 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、次世代シーケンス解析および相同性検索により確認されている。また、目的の遺伝子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

宿主であるダイズは、我が国において長期にわたり栽培されているが、自然環境下において自生化しているとの報告はなされていない。

本組換えダイズの導入遺伝子である *cry14Ab-1.b* 遺伝子により発現する Cry14Ab-1 蛋白質は酵素活性を有しないため、植物の代謝系に影響を及ぼすものではないと考えられる。一方、*hppdPf-4Pa* 遺伝子により発現する HPPD-4 蛋白質は、HPPD 蛋白質を植物体で発現させた従来の知見により、植物の代謝系を変化させることはないと考えられる。

本組換えダイズは、Cry14Ab-1 蛋白質により線虫に対して抵抗性を示すが、植物が自然環境下において、他の野生植物と競合し、生存及び増殖するためには、休眠性や長期に渡る大量の種子生産などいくつかの特性を合わせ持つことが必要であることが知られており、本組換えダイズに付与された線虫抵抗性のみにより、我が国の自然環境下において競合における優位性が高められることはないと考えられた。また、本組換えダイズには HPPD-4 蛋白質により HPPD 阻害型除草剤

耐性が付与されているが、HPPD 阻害型除草剤が散布されることが想定され難い自然環境下において、付与された除草剤耐性形質によって競合における優位性が高まることはないと考えられた。

以上より、本組換えダイズは、本申請の範囲内では、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、競合における優位性に起因する生物多様性影響が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

宿主の属する生物種であるダイズについて、野生動植物等に影響を及ぼす有害物質を産生するという報告はなされていない。

本組換えダイズが産生する Cry14Ab-1 蛋白質及び HPPD-4 蛋白質と既知アレルゲンとの間で、アミノ酸配列の相同性は認められていないことが確認されている。また、Cry14Ab-1 蛋白質は酵素活性を持たず、宿主の代謝系に作用して有害物質を産生することはないと考えられた。さらに、HPPD-4 蛋白質は酵素活性を有するが、高い基質特異性を示すため、宿主の代謝系に影響して新たな有害物質を産生することはないと考えられた。

本組換えダイズに産生される Cry14Ab-1 蛋白質は、殺線虫活性を示すが、地上部、水中及び土壌中に生息する非標的生物に対しては活性を持たないことが確認されている。このため、本組換えダイズを隔離ほ場で栽培した場合に、影響を受ける可能性のある野生動植物等として、土壌中に生息する線虫のみが特定された。線虫への影響については、

本組換えダイズを線虫が直接食餌する場合

本組換えダイズから土壌中へ移行した Cry14Ab-1 蛋白質を摂取した場合

本組換えダイズが交雑によりツルマメと雑種を形成し、線虫抵抗性を獲得した雑種及びその後代を線虫が食餌する場合の3つのケースについて評価を行った。

その結果、<sup>1)</sup>については、線虫の持つ生物学的特性から、影響を受ける線虫は基本的に隔離ほ場の土壌中に生息する個体に限られると考えられること。<sup>2)</sup>については、根から土壌中へ移行する Cry14Ab-1 蛋白質は微量であり、また土壌中での cry14Ab-1 蛋白質の分解速度も速いことから、土壌中の線虫群集に影響を及ぼすとは考えにくいこと。<sup>3)</sup>については、本組換えダイズと交雑したツルマメの雑種及びその後代において、仮に本組換えダイズの Cry14Ab-1 蛋白質が発現したとしても、

で述べたように Cry14Ab-1 蛋白質の曝露量は微量であり、土壌中の線虫に対して毒性を示す可能性は低いと推察され、さらにはダイズとツルマメの交雑率は極めて低いことから、線虫群集の多様性に影響が生じる可能性は低いと考えられた。

以上より、本組換えダイズは、本申請の範囲内では、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が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

ダイズの近縁野生種としてはツルマメが知られており、影響を受ける可能性のある野生植物としてツルマメが特定された。

本組換えダイズは、ツルマメと交雑して雑種が形成され、*cry14Ab-1.b* 遺伝子及び *hppdPf-4Pa* 遺伝子が野生のツルマメ集団に浸透することにより、ツルマメの個体群の維持に影響を及ぼす可能性がある。

しかしながら、ダイズとツルマメは自殖性植物であり、かつ我が国において開花期が重複することは稀であること、ツルマメの開花期と重複する晩生のダイズ品種をツルマメと交互に植栽した場合であっても、その交雑率は 0.73%にすぎないとの報告があること、米国で行ったほ場試験で調査した結果、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの交雑率は 0.03%であったことなどから、本組換えダイズとツルマメとの交雑性はこれまでの通常のダイズとツルマメとが交雑する確率と同様に低く、*cry14Ab-1.b* 遺伝子及び *hppdPf-4Pa* 遺伝子がツルマメの集団に浸透していく可能性は極めて低いと考えられる。

以上より、本組換えダイズは、本申請の範囲内では、交雑性に起因する生物多様性響が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を踏まえた結論

以上より、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を踏ま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に付随する行為の範囲内では、我が国における生物多様性に影響が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  
( *ipd079Ea, pat, Zea mays* subsp. *mays* ( L. ) Iltis )  
( DP915635, OECD UI: DP-915635-4 )

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

申請者：コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社

農作物分科会は、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 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( *Agrobacterium tumefaciens* )等由来のプラスミド pSB1 をもとに構築されたプラスミド PHP83175 をアグロバクテリウム法により導入し、一過的に発現した FLP 蛋白質の機能により T-DNA 領域のうち FLP 蛋白質の標的配列で挟まれた領域を中間系統の LP 配列中の対応する配列と置換した。

本組換えトウモロコシは、

*Escherichia coli* 由来の PMI 蛋白質をコードする *pmi* 遺伝子

*Streptomyces viridochromogenes* 由来の PAT 蛋白質をコードする *pat* 遺伝子

*Ophioglossum pendulum* 由来の IPD079Ea 蛋白質をコードする *ipd079Ea* 遺伝子を有する発現カセットが、染色体上に組み込まれていることが遺伝子の分離様式により、LP 配列中に1コピー組み込まれていることが Southern by Sequence 解析を用いた境界領域の塩基配列解析により、確認されている。また複数世代にわたり安定して伝達されていることが PCR 法により確認されている。さらに、目的の遺伝子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、我が国において長年栽培されてきた歴史があるが、これまでに自然環境下で自生したとの報告はない。

本組換えトウモロコシには、IPD079Ea 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、いずれも種子の脱粒性及び休眠性等に関与する形質ではない。このことから、これらの形質を有すること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ことはなく、したがって競合における優位性が高まることもないと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、本申請の範囲内では、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生じ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、我が国において長年栽培されてきた歴史があるが、これまでにトウモロコシが有害物質を産生したとの報告はない。

本組換えトウモロコシに産生される IPD079Ea 蛋白質、PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質の作用は特異的であり、宿主の代謝経路に作用して有害物質を産生することはないと考えられた。また、IPD079Ea 蛋白質、PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質と既知アレルゲンとの間にアミノ酸配列の類似性は認められなかった。

また、除草剤グルホシネート散布時、PAT 蛋白質により *N*-アセチル- *L*-グルホシネートが産生される。しかしながら、本代謝産物の動物に対する毒性はグルホシネートより低く、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トウモロコシにおける残留基準値が定められ、既に安全性は評価されている。

一方、本組換えトウモロコシ中に産生される IPD079Ea 蛋白質は、ウェスタンコーンルートワーム等のコウチュウ目害虫に対して殺虫活性を示すことから、本組換えトウモロコシを隔離ほ場で栽培した場合に、花粉の飛散により影響を受ける可能性のある野生動植物等として、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 4 種を特定した。しかしながら、これらコウチュウ目昆虫種の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が本隔離ほ場周辺に局所的に生息していることはないと考えられた。

また、トウモロコシのほ場周辺に堆積する花粉量は、ほ場から 10m 離れると 10 粒/cm<sup>2</sup> 以下になると報告されている。さらに、本隔離ほ場における栽培では、除雄を行うことにより、花粉をほ場外に飛散させない措置をとる。加えて、本隔離ほ場における栽培では播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網の設置を行い、栽培終了後には鋤込みを行うため、植物体及び種子がほ場外に漏出する可能性はないと考えられた。したがって、花粉の飛散又は植物体を腐植質と一緒に食餌することにより、特定された 4 種のコウチュウ目昆虫種が個体群レベルで本組換えトウモロコシによる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、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に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

トウモロコシは、近縁野生種であるテオシント及び *Tripsacum* 属と交雑可能であるが、我が国において、これらの自生は報告されていない。このため、本組換えトウモロコシの交雑性に起因して生物多様性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が交雑性に起因する生物多様性影響を生じ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を踏まえた結論

以上より、本組換えトウモロコシは、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に付随する行為の範囲内では、我が国における生物多様性に影響を生じ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  
( *DvSSJ1*, *ipd072Aa*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis )  
( DP23211, OECD UI: DP-Ø23211-2 )

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

農作物分科会は、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 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 (*Agrobacterium tumefaciens*) 等由来のプラスミド pSB1 をもとに構築されたプラスミド PHP74643 をアグロバクテリウム法により導入し、一過的に発現した FLP 蛋白質の機能により T-DNA 領域のうち FLP 蛋白質の標的配列で挟まれた領域を中間系統の LP 配列中の対応する配列と置換した。

本組換えトウモロコシは、

*Escherichia coli* 由来の PMI 蛋白質をコードする *pmi* 遺伝子

*Streptomyces viridochromogenes* 由来の PAT 蛋白質をコードする *pat* 遺伝子

RNA 干渉効果をもたらす二本鎖 RNA (dsRNA) が産生されるように設計したウェスタンコーンルートワーム (*Diabrotica virgifera virgifera*) 由来の *DvSSJ1* 遺伝子断片

*Pseudomonas chlororaphis* 由来の IPD072Aa 蛋白質をコードする *ipd072Aa* 遺伝子

を有する発現カセットが、染色体上に組み込まれていることが遺伝子の分離様式により、LP 配列中に1コピー組み込まれていることが Southern by Sequence 解析および Sanger 法による塩基配列解析により確認されている。また複数世代にわたり安定して伝達されていることがサザンプロット解析により確認されている。さらに目的の遺伝子や遺伝子断片が複数世代にわたり安定して発現していることが、 および については ELISA 法により、 については QuantiGene Plex2.0 法を用いた産生 RNA 量の測定により、確認されている。

## (1) 競合における優位性

トウモロコシは、我が国において長年栽培されてきた歴史があるが、これまでに自然環境下で自生したとの報告はない。

本組換えトウモロコシには、*DvSSJ1*dsRNA 及び 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、いずれも種子の脱粒性及び休眠性等に関与する形質ではない。このことから、これらの形質を有すること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ことはなく、したがって競合における優位性が高まることもないと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシが競合における優位性に起因する生物多様性影響を生じ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、我が国において長年栽培されてきた歴史があるが、これまでにトウモロコシが有害物質を産生したとの報告はない。

本組換えトウモロコシにより産生される *DvSSJ1*dsRNA、IPD072Aa 蛋白質、PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質の作用は特異的であり、宿主の代謝経路に作用して有害物質を産生することはないと考えられた。また、IPD072Aa 蛋白質、PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質と既知アレルゲンとの間にアミノ酸配列の類似性は認められなかった。

実際に、鋤込み試験及び後作試験を行ったところ、ハツカダイコンの発芽率及び乾物重について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との間に統計学的有意差は認められなかった。また、土壤微生物相試験を行ったところ、細菌、放線菌及び糸状菌数について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との間に統計学的有意差は認められなかった。

また、除草剤グルホシネート散布時、PAT 蛋白質により *N*-アセチル-*L*-グルホシネートが産生される。しかしながら、本代謝産物の動物に対する毒性はグルホシネートより低く、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トウモロコシにおける残留基準値が定められ、また農薬登録により安全な使用方法が定められ、人畜及び環境に対する安全性が確保されている。

一方、本組換えトウモロコシ中に産生される *DvSSJ1*dsRNA 及び IPD072Aa 蛋白質は、ウェスタンコーンルートワーム等のコウチュウ目害虫に対して殺虫活性を示すが、その他の野生動植物等に対して有害性は認められていない。このため、影響を受ける可能性が否定できない野生動植物等として、我が国に生息する絶滅危惧又は準絶滅危惧種に指定されているコウチュウ目昆虫 4 種が特定された。しかしながら、トウモロコシのほ場周辺に蓄積する花粉量は、ほ場から 10m 以上離れると 10 粒/cm<sup>2</sup> 以下になると報告されていること、また本組換えトウモロコシの花粉又は植物体を摂食する可能性のあるコウチュウ目昆虫が栽培ほ場周辺に局所的に生息するとは考え難いことから、特定されたコウチュウ目昆虫 4 種が個体群レベルで本組換え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考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシが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

トウモロコシは、近縁野生種であるテオシント及び *Tripsacum* 属と交雑可能であるが、我が国において、これらの自生は報告されていない。このため、本組換えトウモロコシの交雑性に起因して生物多様性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が交雑性に起因する生物多様性影響を生じ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 農作物分科会の結論

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に影響が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：雄性不稔及び稔性回復性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性セイヨウナタネ

( 改変 *barnase*, *barstar*, 改変 *bar*, 改変 *cp4 epsps*, *Brassica napus* L. )

( MS11 × RF3 × MON88302, OECD UI: BCS-BNØ-12-7 × ACS-BNØØ3-6 × MON-883Ø2-9 )並びに当該セイヨウナタネ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：BASF ジャパン株式会社

農作物分科会は、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雄性不稔及び稔性回復性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性セイヨウナタネ(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、

改変 PAT 蛋白質をコードする改変 *bar* 遺伝子及び BARNASE 蛋白質(雄性不稔を誘導)をコードする *barnase* 遺伝子及び BARSTAR 蛋白質(稔性回復を誘導)をコードする *barstar* 遺伝子が導入された除草剤グルホシネート耐性及び雄性不稔セイヨウナタネ (MS11)

改変 PAT 蛋白質をコードする改変 *bar* 遺伝子及び BARSTAR 蛋白質をコードする *barstar* 遺伝子が導入された除草剤グルホシネート耐性及び稔性回復性セイヨウナタネ (RF3)

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耐性セイヨウナタネ (MON 88302)

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。

本スタック系統に導入された遺伝子により産生される除草剤耐性蛋白質である改変 PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質は酵素活性を有するが、基質特異性が高く、関与する作用機作も互いに独立していることから、宿主の代謝系を変化させたり、予期しない代謝物が生じたりする可能性は低いと考えられた。また、BARNASE 蛋白質と BARSTAR 蛋白質は花粉の稔性に関して相互に特異的な作用を示し、発現は薬に限定される。このため、除草剤耐性蛋白質（改変 PAT 蛋白質、改変 CP4 EPSPS 蛋白質）と花粉の稔性に関与する蛋白質（BARNASE 蛋白質、BARSTAR 蛋白質）との形質間で相互作用が生じることは考え難い。

以上のことから、各親系統由来であるこれら蛋白質が、花粉の稔性に作用する以外は、本スタック系統の植物体内において形質間の相互作用を示す可能性は低く、親系統が有する形質を合わ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。

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<sup>1)</sup>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に影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価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

\* 各親系統の検討の結果は以下より閲覧可能

MS11

[http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=1813&ref\\_no=2](http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=1813&ref_no=2)

RF3

[http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=908&ref\\_no=2](http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=908&ref_no=2)

MON88302

[http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=1534&ref\\_no=2](http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=1534&ref_no=2)

## 2 生物多様性影響評価を踏まえた結論

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に影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価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トウモロコシ

(*cry1B.868*, 改変 *cry1Da*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)  
(MON95379, OECD UI: MON-95379-3)

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： バイエルクロップサイエンス株式会社

農作物分科会は、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、*Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築されたプラスミド PV-ZMIR522223 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には、*Bacillus thuringiensis* 由来の *cry1Be* 遺伝子、*cry1Ca* 遺伝子及び *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 *cry1B.868* 遺伝子 (*Cry1B.868* 蛋白質をコード) 及び改変 *Cry1Da* 蛋白質をコードする改変 *cry1Da* 遺伝子が組み込まれている。これら 2 つの遺伝子を含む 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されていることが、遺伝子の分離様式及び次世代シーケンス解析により確認されている。また、目的の遺伝子が複数世代にわたり安定して発現していることが、ウエスタンブロット分析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、我が国において長年栽培されてきた歴史があるが、これまでに自然環境下で自生したとの報告はない。

本組換えトウモロコシには、*Cry1B.868* 蛋白質及び改変 *Cry1Da* 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性の形質が付与されているが、種子の脱粒性及び休眠性等に関与する形質ではない。このことから、この形質を有すること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ことはなく、したがって競合における優位性が高まることもないと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生じ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、我が国において長年栽培されてきた歴史があるが、これまでにトウモロコシが有害物質を産生したとの報告はない。

本組換えトウモロコシにより産生される Cry1B.868 蛋白質及び改変 Cry1Da 蛋白質は酵素活性を持たないため、宿主の代謝系に作用して有害物質を産生することはないと考えられる。また、Cry1B.868 蛋白質及び改変 Cry1Da 蛋白質と既知アレルゲンとの間にアミノ酸配列の類似性は認められなかった。

実際に、鋤込み試験及び後作試験を行ったところ、ハツカダイコンの発芽株数、草丈及び乾燥重について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との間に統計学的有意差は認められなかった。また、土壤微生物相試験を行ったところ、土壤微生物の菌数について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との間に統計学的有意差は認められなかった。

一方、本組換えトウモロコシ中で発現する Cry1B.868 蛋白質及び改変 Cry1Da 蛋白質は、チョウ目昆虫に対して殺虫活性を示すことから、本組換えトウモロコシ中で発現する Cry1B.868 蛋白質及び改変 Cry1Da 蛋白質により何らかの影響を受ける可能性のある野生動植物等として、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 30 種が特定された。しかしながら、トウモロコシのほ場周辺に蓄積する花粉量は、ほ場から 10m 以上離れると 10 粒/cm<sup>2</sup> 以下になると報告されていること、またこれらチョウ目昆虫種がトウモロコシほ場周辺に局所的に生息しているとは考え難いことから、特定されたチョウ目昆虫 30 種が集団のレベルで本組換え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考えられた。

以上のことから、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

宿主であるトウモロコシが、我が国において野生化した事例はなく、また交雑可能な近縁野生種であるテオシント及び *Tripsacum* 属の自生も報告されていない。このため、本組換えトウモロコシの交雑性に起因して生物多様性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が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を踏まえた結論

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に影響が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：耐熱性 - アミラーゼ産生、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 *amy797E*, 改変 *cry1Ab*, 改変 *vip3A*, 改変 *cry3Aa2*, 改変 *cry1F*, *ecry3.1Ab*, *pat*, *mEPSPS*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis )  
( 3272 × Bt11 × MIR162 × MIR604 × B.t. Cry1F maize line 1507 × Event 5307 × GA21, OECD UI : SYN-E3272-5 × SYN-BT011-1 × SYN-IR162-4 × SYN-IR604-5 × DAS-01507-1 × SYN-05307-1 × MON-00021-9 ) 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：シンジェンタジャパン株式会社

農作物分科会は、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耐熱性 α - アミラーゼ産生、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 ( 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、

改変 AMY797Eα - アミラーゼをコードする改変 *amy797E* 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耐熱性 α - アミラーゼ産生トウモロコシ (3272)

改変 Cry1Ab 蛋白質をコードする改変 *cry1Ab* 遺伝子及び PAT 蛋白質をコードする *pat* 遺伝子が導入された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 (Bt11)

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)

改変 Cry3Aa2 蛋白質をコードする改変 *cry3Aa2* 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コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ (MIR604)

改変 Cry1F 蛋白質をコードする改変 *cry1F* 遺伝子及び PAT 蛋白質をコードする *pat* 遺伝子が導入された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 (*B.t. Cry1F maize line 1507*)

eCry3.1Ab 蛋白質をコードする *ecry3.1Ab* 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コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ (Event 5307)

mEPSPS 蛋白質をコードする *mEPSPS* 遺伝子が導入された除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (GA21)

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。

本スタック系統に導入された遺伝子により産生される害虫抵抗性蛋白質（改変 Cry1Ab 蛋白質、改変 Vip3A 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質、改変 Cry1F 蛋白質及び eCry3.1Ab 蛋白質）は、標的害虫に対して特異的に作用し、独立して殺虫活性を示すと考えられる。従って、互い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。また、害虫抵抗性蛋白質には酵素活性が無いため、宿主の代謝系を変化させる可能性は低い。さらに、改変 AMY797E $\alpha$  - アミラーゼ、除草剤耐性蛋白質である PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質及び選抜マーカーである 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考え難い。

以上のことから、本スタック系統の植物体において形質間の相互作用を示す可能性は低く、親系統が有する形質を合わ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。

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<sup>1)</sup>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に影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価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

\* 各親系統の検討の結果は以下より閲覧可能

- 3272

[http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=330&ref\\_no=2](http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=330&ref_no=2)

- Bt11

[http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=906&ref\\_no=2](http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=906&ref_no=2)

- MIR162  
[http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=933&ref\\_no=2](http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=933&ref_no=2)
- MIR604  
[http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=329&ref\\_no=2](http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=329&ref_no=2)
- *B.t.* Cry1F maize line 1507  
[http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=138&ref\\_no=2](http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=138&ref_no=2)
- Event 5307  
[http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=1494&ref\\_no=2](http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=1494&ref_no=2)
- GA21  
[http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=1763&ref\\_no=2](http://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=1763&ref_no=2)

## 2 生物多様性影響評価を踏まえた結論

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に影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価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トウモロコシ

( *mpp75Aa1.1*, *vpb4Da2*, *DvSnf7.1*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis )  
( MON95275, OECD UI: MON-95275-7 )

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

申請者：バイエルクロップサイエンス株式会社

農作物分科会は、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いる。第1段階として、大腸菌由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築された PV-ZMIR525664 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を作出している。第2段階として、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し、T-DNA 領域から選抜マーカーカセット及び *loxP* 配列の1つを除去した。

本組換えトウモロコシは、

*Brevibacillus laterosporus* 由来の *Mpp75Aa1.1* 蛋白質をコードする *mpp75Aa1.1* 遺伝子

*Bacillus thuringiensis* 由来の *Vpb4Da2* 蛋白質をコードする *vpb4Da2* 遺伝子  
RNA 干渉効果をもたらす二本鎖 RNA ( dsRNA ) が産生されるように設計した  
ウエスタンコーンルートワーム ( *Diabrotica virgifera virgifera* ) 由来の *DvSnf7.1*  
遺伝子断片

を有する発現カセットが、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されていることが、遺伝子の分離様式及び次世代シーケンス解析により確認されている。また、目的の遺伝子が複数世代にわたり安定して発現していることが、ウエスタンプロット分析およびノーザンプロット分析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、我が国において長年栽培されてきた歴史があるが、これまでに自然環境下で自生したとの報告はない。

本組換えトウモロコシには、*Mpp75Aa1.1* 蛋白質、*Vpb4Da2* 蛋白質及び *DvSnf7* dsRNA によるコウチュウ目害虫抵抗性の形質が付与されているが、種子の脱粒性及び休眠性等に関与する形質ではない。このことから、これらの形質を有すること

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ことはなく、したがって競合における優位性が高まることもないと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシが競合における優位性に起因する生物多様性影響を生じ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、我が国において長年栽培されてきた歴史があるが、これまでにトウモロコシが有害物質を産生したとの報告はない。

本組換えトウモロコシにより産生される Mpp75Aa1.1 蛋白質、Vpb4Da2 蛋白質及び DvSnf7 dsRNA の作用は特異的であり、宿主の代謝経路に作用して有害物質を産生することはないと考えられた。また、Mpp75Aa1.1 蛋白質及び Vpb4Da2 蛋白質と既知アレルゲンとの間にアミノ酸配列の類似性は認められなかった。

一方、本組換えトウモロコシ中で発現する Mpp75Aa1.1 蛋白質及び Vpb4Da2 蛋白質を食餌させた生物検定の結果、コウチュウ目、チョウ目、ハエ目、アミメカゲロウ目及びハチ目の幼虫に対する殺虫活性が認められた。しかしながら、これら 5 つの昆虫目に対して想定される曝露経路を検討した結果、「(a) ほ場内(地上)で植物体や花粉を食餌(植食者)」、「(b) 植物体や花粉を食餌した昆虫を捕食(天敵)」、「(c) ほ場外へ飛散した花粉への曝露(植食者及び天敵)」の曝露経路における影響は、慣行農業による殺虫剤散布等の防除の影響を超えるものではないと考えられ、また「(d) ほ場外へ飛散した花粉への曝露(植食者及び天敵)」、「(e) ほ場で採集され、ほ場外の巣に持ち帰られた花粉を食餌(花粉媒介者のハナバチ)」の曝露経路に関しては、本組換えトウモロコシの花粉における Mpp75Aa1.1 蛋白質及び Vpb4Da2 蛋白質の発現量が定量限界値未満であることから、これらの曝露経路において悪影響が生じるとは考えにくい。このことから、本組換えトウモロコシで発現する Mpp75Aa1.1 蛋白質及び Vpb4Da2 蛋白質により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。

一方で、本組換えトウモロコシにおいて発現する DvSnf7 dsRNA については、上述した潜在的な曝露経路のうち(a) (b) (c) に関して慣行農業の影響を越えないという点は Mpp75Aa1.1 蛋白質及び Vpb4Da2 蛋白質と同様であるが、DvSnf7 抑制カセットの転写産物の発現が花粉において確認されている。また、DvSnf7 dsRNA はコウチュウ目ハムシ科ヒゲナガハムシ亜科に属する昆虫に活性を示す。このことから、本組換えトウモロコシ中で発現する DvSnf7 dsRNA により影響を受ける可能性のある野生動植物等として、わが国に生息するコウチュウ目昆虫の絶滅危惧種及び準絶滅危惧種(計4種)を特定した。

トウモロコシ栽培ほ場周辺に堆積する花粉量は、ほ場から離れるほど低下し、10 m 離れると 10 粒/cm<sup>2</sup> 以下となることが報告されている。したがって、特定されたコウチュウ目昆虫の生存に影響を与えうる量の花粉に継続的に曝露される可能性は、トウモロコシほ場の周辺数 m 以内に限定され、10 m を超えると花粉への曝露はほとんど無くなると考えられた。また、生態的知見を鑑みれば、特定されたコウチュウ目昆虫がトウモロコシほ場周辺に局所的に生息しているとは考えがたい。これらのことから、特定されたコウチュウ目昆虫が、本組換えトウモロコシ由来の

DvSnf7 dsRNA により集団のレベルで影響を受ける可能性は極めて低いと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシの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

わが国において、トウモロコシと自然交雑可能な近縁野生種の自生について報告はないため、影響を受ける可能性のある野生動植物種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が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を踏まえた結論

以上より、本組換えトウモロコシは、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に付随する行為の範囲内では、我が国における生物多様性影響を生じ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。