

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 *cry1F*, *pat*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *cry1Ab*,
 改変 *cp4 epsps*, 改変 *cry3Aa2*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)
 (1507×59122×MON810×NK603×MIR604, OECD UI:
 DAS-Ø15Ø7-1×DAS-59122-7×MON-ØØ81Ø-6×MON-ØØ6Ø3-6×SYN-IR6Ø4-5)
 (*B.t.* Cry1F maize line 1507、*B.t.* Cry34/35Ab1 Event DAS-59122-7、
 MON810、NK603 及び MIR604 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5
 - (1) 供与核酸に関する情報5
 - (2) ベクターに関する情報15
 - (3) 遺伝子組換え生物等の調製方法16
 - (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 ...24
 - (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 26
 - (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違26
- 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報35
 - (1) 使用等の内容35
 - (2) 使用等の方法35
 - (3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法35
 - (4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置35
 - (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35
 - (6) 国外における使用等に関する情報36
- 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価37
- 1 競合における優位性37
- 2 有害物質の産生性38
- 3 交雑性41
- 4 その他の性質42
- 第三 生物多様性影響の総合的評価43
- 参考文献45
- 緊急措置計画書49
- 添付資料51

第一種使用規程承認申請書

平成 23 年 10 月 3 日

5

農林水産大臣 鹿野 道彦 殿
環境大臣 細野 豪志 殿

10

氏名
デュポン株式会社
代表取締役社長 天羽 稔
申請者
住所

15

東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

20

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	チョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性トウモロコシ (改変 <i>cry1F</i> , <i>pat</i> , <i>cry34Ab1</i> , <i>cry35Ab1</i> , <i>cry1Ab</i> , 改変 <i>cp4 epsps</i> , 改変 <i>cry3Aa2</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (1507×59122×MON810×NK603×MIR604, OECD UI: DAS-Ø15Ø7-1×DAS-59122-7×MON-ØØ81Ø-6×MON-ØØ6Ø3-6×SYN-IR6Ø4-5) (<i>B.t.</i> <i>Cry1F</i> maize line 1507、 <i>B.t.</i> <i>Cry34/35Ab1</i> Event DAS-59122-7、MON810、NK603 及び MIR604 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	—

25

生物多様性影響評価の概要

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

① 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.) Ittis

15

② 宿主の品種名又は系統名

親系統の宿主は、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。親系統の作出に使った品種名は以下のとおりである。

20

DAS-01507-1 : Hi-II

DAS-59122-7 : Hi-II

MON-00810-6 : A188×B73

MON-00603-6 : AW×CW

SYN-IR604-5 : NP2499/NP2500

25

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

トウモロコシの原産地は、メキシコ、中米又は南米等と考えられている(OECD, 2003)。現在、自然環境下でトウモロコシが自生している既知の地域は、国内外のいずれにおいても無い。

30

(2) 使用等の歴史及び現状

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

35

トウモロコシは、9000年前にメキシコ南部で栽培植物化され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)。

40

トウモロコシの栽培には、我が国においても長い歴史がある。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、四国や本州で栽培されるようになった。明治時代、北海道開拓使によって近代的品種が米国から輸入されるようになり、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)。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

栽培地域：

5 我が国における 2010 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 2,200ha で、主な栽培地域はいずれも北海道である（農林水産省, 2011）。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（FAOSTAT, 2011）。

10 栽培方法：

15 米国を代表とする、大規模で機械化を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、種子を手で播く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、培土等の管理を行う。子実用トウモロコシは、水分含量が 26～28%になった時期に収穫するのが好ましく、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：

20 コメ、コムギとともに世界三大穀物の一つとされている。2009 年の世界総生産量は約 8 億 1,710 万トンであり、最大の生産国は米国で、世界総生産量の 41%を占めている（FAOSTAT, 2011）。デント種が生産の主流である（戸澤, 2005）。貿易統計（財務省貿易統計, 2011）によると、2010 年に我が国は約 1,620 万トンを入力しており、その 89%にあたる約 1,440 万トンは米国からである。

25 用途：

30 種子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。スイートコーンは生食用又は缶詰用となる（菊池, 1987）。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

35 ー

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

40 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（農業技術大系, 2004）。トウモロコシは古くから栽培植物化され、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、自然環境中で定着しない。凍結による損傷度は、温度の低さ、土壌の状態、植物体の残余部分、凍結温度にさらされた時間、風の動き、相対湿度、植物の発育程度で決まるが、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。温帯域で軽い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が確保されれば良く生育する (OECD, 2003)。

5 ハ 捕食性又は寄生性

—

ニ 繁殖又は増殖の様式

10

① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

15

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い (OECD, 2003)。また、種子の休眠性は極めて低い (CFIA, 1994)。種子の寿命は、種子水分 12%、温度 10℃、相対湿度 55%以下の条件で 6~8 年である (農業技術大系, 2004)。

20

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

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。

25

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

30

典型的な風媒花で、他殖率は 95~99%である (農業技術大系, 2004)。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。テオシントはメキシコ及びグアテマラに自生し、トウモロコシと近接する場合、自然環境下で交雑する。*Tripsacum* 属は米国、中米及び南米に自生するが、自然環境下でトウモロコシと交雑することはない (OECD, 2003)。テオシント及び *Tripsacum* 属が我が国において自生することは報告されていない。アポミクシスの特性を有するとの報告はない。

35

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

40

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、好適条件下では長くなる (CFIA, 1994)。花粉は球形で、直径は約 90~100 μm である (Pleasant *et al.*, 2001)。受粉は主に風媒によって行われる (OECD, 2003)。

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、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)。

ホ 病原性

—

へ 有害物質の産生性

トウモロコシに、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

—

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

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 *cry1F*, *pat*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *cry1Ab*, 改変 *cp4 epsps*, 改変 *cry3Aa2*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)

(1507×59122×MON810×NK603×MIR604, OECD UI:

DAS-Ø15Ø7-1×DAS-59122-7×MON-ØØ81Ø-6×MON-ØØ6Ø3-6×SYN-IR6Ø4-5) (以下、「本スタック系統」という) は、下記の 5つ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て育成した品種である。

本スタック系統は、一代雑種品種 (F1) として商品化されるため、収穫される種子には、遺伝的分離により本スタック系統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。

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

- (c) チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ(*cry1Ab*, *Zea mays* L.)(MON810, OECD UI: MON-00810-6) (以下、「MON-00810-6」という)
- (d) 除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(*cp4 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)(NK603, OECD UI: MON-00603-6) (以下、「MON-00603-6」という)
- (e) コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ(改変 *cry3Aa2*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)(MIR604, OECD UI: SYN-IR604-5) (以下、「SYN-IR604-5」という)

5

10

本スタック系統の親系統である DAS-01507-1 (添付資料 1) 及び DAS-59122-7 (添付資料 2) 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 (添付資料 3 及び USDA (1996)) 及び MON-00603-6 (添付資料 4 及び USDA (2000)) は米国モンサント社、SYN-IR604-5 (添付資料 5 及び USDA (2006)) 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。

15

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

20

DAS-59122-7: コウチュウ目害虫抵抗性を付与するための *cry34Ab1* 遺伝子及び *cry35Ab1* 遺伝子、並びに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

MON-00603-6: 除草剤グリホサート耐性を付与するための改変 *cp4 epsps* 遺伝子

25

SYN-IR604-5: コウチュウ目害虫抵抗性を付与するための改変 *cry3Aa2* 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

イ 構成及び構成要素の由来

30

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 5(7～11ページ) に示した。

ロ 構成要素の機能

35

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

供与核酸の各構成要素の機能を表 1～表 5 (7～11ページ) に示した。

40

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

発現カセット	構成要素	サイズ (kbp)	由来及び機能
改変 <i>cry1F</i> 遺伝子	<i>UBIZM1(2) Promoter</i>	1.98	トウモロコシ由来のユ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 var. aizawai</i> 由来の改変 <i>Cry1F</i> 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塩基配列が改変され、アミノ酸配列の604番目のフェニルアラニンがロイシンに置換されている。
	<i>ORF25PolyA Terminator</i>	0.72	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> pTi5955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	<i>CAMV35S Promoter</i>	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> 由来のホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ (PAT蛋白質) をコードする遺伝子。 植物における発現を高めるため塩基配列が改変されている。改変によるアミノ酸配列の変化はない。
	<i>CAMV35S Terminator</i>	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。

5

10

15

20

表 2 DAS-59122-7 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

発現カセット	構成要素	サイズ (kbp)	由来及び機能
<i>cry34Ab1</i> 遺伝子	<i>UBI1ZM PRO</i>	1.98	トウモロコシ由来のユ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)。
	<i>cry34Ab1</i>	0.37	<i>B. thuringiensis</i> PS149B1株由来のCry34Ab1蛋白質をコードする遺伝子。
	<i>PIN II TERM</i>	0.32	ジャガイモ由来の転写を停止するためのプロテアーゼインヒビターIIターミネーター。
<i>cry35Ab1</i> 遺伝子	<i>TA Peroxidase PRO</i>	1.30	<i>Triticum aestivum</i> 由来のペルオキシダーゼプロモーター。構成的プロモーター。
	<i>cry35Ab1</i>	1.15	<i>B. thuringiensis</i> PS149B1株由来のCry35Ab1蛋白質をコードする遺伝子。
	<i>PIN II TERM</i>	0.32	ジャガイモ由来の転写を停止するためのプロテアーゼインヒビターIIターミネーター。
<i>pat</i> 遺伝子	<i>35S PRO</i>	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>S. viridochromogenes</i> 由来のホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ (PAT蛋白質) をコードする遺伝子。 植物における発現を高めるため塩基配列が改変されている。改変によるアミノ酸配列の変化はない。
	<i>35S TERM</i>	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。

5

10

15

20

表 3 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

発現カセット	構成要素	サイズ (kbp)	由来及び機能
cry1Ab 遺伝子	E35S	0.61	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。全組織中に構成的に目的遺伝子を発現させる。
	hsp70 イントロン	0.80	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。
	cry1Ab	3.47	土壌中に存在する <i>B. 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'	0.26	<i>A. 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 cp4 epsps 遺伝子 *	E35S	0.61	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。全組織中に構成的に目的遺伝子を発現させる。
	hsp70 イントロン	0.8	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。
	CTP 2	0.22	<i>Arabidopsis</i> の <i>epsps</i> 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 cp4 epsps	1.4	<i>Agrobacterium</i> 由来の、5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) 遺伝子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。
gox 遺伝子発現カセット *	E35S	0.61	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。全組織中に構成的に目的遺伝子を発現させる。
	hsp70 イントロン	0.80	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。
	CTP 1	0.16	<i>A. thaliana</i> 由来の rubisco の small subunit 1A 遺伝子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。
	gox	1.3	<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'	0.26	<i>A. tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子の 3'非翻訳領域で、転写ターミネーター及び mRNA のポリアダニル化シグナルを含む。

*挿入遺伝子の解析の結果、MON-00810-6 中には挿入されていない

表 4 MON-00603-6 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

発現カセット	構成要素	サイズ(kbp)	由来及び機能
改変cp4 epsps遺伝子①	P-ract1	0.9	イネ由来のアクチン1遺伝子のプロモーター領域。 目的遺伝子を構成的に発現させる。
	ract1 intron	0.5	イネ・アクチン遺伝子のイントロン。 目的遺伝子の発現を活性化させる。
	CTP2	0.2	シロイヌナズナのepsps遺伝子の中で、EPSPS蛋白質のN末端側に存在する葉緑体輸送ペプチド部分をコードする配列である。 目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
	改変cp4 epsps	1.4	<i>Agrobacterium</i> CP4菌株由来の5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子。 植物中での発現量を高めるために野生型CP4 EPSPS蛋白質のN末端から二番目のセリンがロイシンに改変されている。
	NOS 3'	0.3	<i>A. 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cp4 epsps遺伝子②	E35S	0.6	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。 全組織中に構成的に目的遺伝子を発現させる。
	ZmHsp70 Intron	0.8	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。 ZmHsp70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	0.23	シロイヌナズナのepsps遺伝子の中で、EPSPS蛋白質のN末端側に存在する葉緑体輸送ペプチド部分をコードする配列である。 目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
	改変cp4 epsps	1.37	<i>Agrobacterium</i> CP4菌株由来の5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子。 植物中での発現量を高めるために野生型CP4 EPSPS蛋白質のN末端から二番目のセリンがロイシンに改変されている。
	NOS 3'	0.25	<i>A. 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。

表 5 SYN-IR604-5 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

発現カセット	構成要素	サイズ (kbp)	由来及び機能
害虫抵抗性遺伝子	<i>MTL</i>	2.56	このプロモーターはトウモロコシのメタロチオネイン遺伝子由来で、標的とするコウチュウ目害虫であるコーンルートワームがトウモロコシの根を食害するため、根での目的遺伝子の転写の開始を誘導するのに適したプロモーターとして用いた。
	改変 <i>cry3Aa2</i>	1.80	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>tenebrionis</i> 由来で改変 <i>Cry3Aa2</i> 蛋白質をコードしている。 コーンルートワームに対する活性を高めるように、 <i>Cry3Aa2</i> 蛋白質の108～110番目のアミノ酸配列であるバリン-セリン-セリンに相当する部分が、カテプシンGプロテアーゼ認識配列であるアラニン-アラニン-プロリン-フェニルアラニンの4アミノ酸となるように改変されている。 なお、植物における発現量を高めるためにGC含量を変更している。
	<i>Nos</i>	0.25	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター領域で、転写を終結させてポリアデニル化を誘導する。
選抜マーカー遺伝子	<i>ZmUbiInt</i>	1.99	このプロモーターはトウモロコシのポリユビキチン遺伝子由来で、単子葉植物の植物体全体で目的遺伝子の転写開始を誘導する。
	<i>pmi</i>	1.18	この遺伝子は大腸菌(<i>Escherichia coli</i>)由来の遺伝子で、PMI 蛋白質(phosphomannose isomerase)をコードする。 PMI 蛋白質はマンノース6-リン酸とフルクトース6-リン酸を可逆的に相互変換する酵素であり、本酵素の導入によりマンノースを炭素源として利用できるようになる。 形質転換細胞の選抜のために用いられた。
	<i>Nos</i>	0.25	<i>A. tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター領域で、転写を終結させてポリアデニル化を誘導する。
その他の領域	<i>Spec</i>	0.79	大腸菌(<i>Escherichia coli</i>)のトランスポゾンTn7 由来のストレプトマイシンアデニル酸転移酵素遺伝子 <i>aadA</i> 。 この遺伝子は、エリスロマイシン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン耐性を与えるため、バクテリア選抜マーカーとして使用。
	<i>VS1 ori</i>	0.41	<i>Pseudomonas</i> 属細菌のプラスミドpVS1 由来で、複製起点共通配列。 <i>A. tumefaciens</i> 中でプラスミドの複製開始点として機能する。
	<i>ColE1 ori</i>	0.81	バクテリア中でプラスミドの複製を開始させる複製起点。
	LB	0.03	<i>A. tumefaciens</i> ノパリンTi-プラスミド由来のT-DNA レフトボーダー領域。
	RB	0.03	<i>A. tumefaciens</i> ノパリンTi-プラスミド由来のT-DNA ライトボーダー領域。
	<i>VirG</i>	0.73	<i>A. tumefaciens</i> 由来、T-DNA の転移に関与する領域。
<i>RepA</i>	1.07	<i>Pseudomonas</i> 属細菌由来のpVS1 複製蛋白質で、植物に寄生するグラム陰性菌中でpVS1 複製の一端を担う。	

- ② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及び当該蛋白質がアレルギー性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 改変 Cry1F 蛋白質、Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Cry3Aa2 蛋白質を含む殺虫性結晶蛋白質（Bt 蛋白質）は、一般に害虫の中腸細胞で特異的受容体に結合して細胞に小孔を形成し、中腸細胞を破壊することにより殺虫活性を示す（Schnepf *et al.*, 1998）。Bt 蛋白質は、殺虫対象とする昆虫相に特異性を有する（白井, 2003）。

15

改変 Cry1F 蛋白質：

改変 Cry1F 蛋白質は、*B. thuringiensis* var. *aizawai* 由来 δ-エンドトキシンである。

20

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*）、ビートアーミーワーム（Beet armyworm、*Spodoptera exigua*）等のチョウ目昆虫に高い殺虫活性を有し、チョウ目昆虫以外のコウチュウ目、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、魚類等の非標的生物に対する毒性は認められていない（EPA, 2005a）。

25

Cry1Ab 蛋白質：

Cry1Ab 蛋白質は、*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* 由来 δ-エンドトキシンである。本蛋白質の機能は改変 Cry1F 蛋白質と同じであるが、害虫の中腸細胞における受容体が異なる（Hua *et al.*, 2001）。

30

Cry1Ab 蛋白質は、ヨーロッパアワノメイガ、サウスウエスタンコーンボーラー（Southwestern corn borer、*Diatraea grandiosella*）、サザンコーンストークボーラー（Southern cornstalk borer、*Diatraea crambidoides*）、サトウキビコーンストークボーラー（Sugarcane cornstalk borer、*Diatraea saccharalis*）、コーンイヤーク（Corn earworm、*Helicoverpa zea*）、フォールアーミーワーム、ストークボーラー（Stalk borer、*Papaipema nebris*）等のチョウ目昆虫に殺虫活性を有し、チョウ目以外のコウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目等の昆虫、並びに哺乳類、鳥類、魚類等の非標的生物に対する毒性は認められていない（USDA, 1995）。

35

Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質：

40

Cry34Ab1 蛋白質及び Cry35Ab1 蛋白質はいずれも *B. thuringiensis* PS149B1 株由来 δ-エンドトキシンである。Cry34Ab1 蛋白質は、コーンルートワーム（corn rootworm、*Diabrotica* spp.）に対して殺虫活性を有するが、Cry35Ab1 蛋白質は、

単独では殺虫活性を示さない。両者を同時に作用させた場合、殺虫活性は Cry34Ab1 蛋白質単独の場合に比べ最大で約 8 倍を示す。その作用機作は、Cry34Ab1 蛋白質がリン脂質膜に対する細孔形成蛋白質として働き、その細孔を Cry35Ab1 蛋白質が拡大し、膜の透過性を増大させると考えられている。

5 Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質は、ノーザンコーンルートワーム (Northern corn rootworm、*Diabrotica barberi*) とウエスタンコーンルートワーム (Western corn rootworm、*Diabrotica virgifera virgifera*) の 2 種のコウチュウ目昆虫に殺虫活性を示し、コウチュウ目昆虫以外のチョウ目昆虫、ハチ目昆虫、アミメカゲロウ目、カメムシ目等の昆虫、並びに哺乳類、鳥類、魚類等の非標的生物に対する毒性は認められていない (EPA, 2005b)。

改変 Cry3Aa2 蛋白質 :

改変 Cry3Aa2 蛋白質は、*B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* 由来 δ -エンドトキシンである。

15 ウエスタンコーンルートワーム、ノーザンコーンルートワーム、コロラドポテトビートル(コロラドハムシ)(Colorado Potato Beetle、*Leptinotarsa decemlineata*)、バンデッドキューカンバービートル(Banded Cucumber Beetle、*Diabrotica balteata*)の 4 種のコウチュウ目に高い殺虫活性を有し、コウチュウ目以外のチョウ目及びハエ目等の昆虫、並びに哺乳類、鳥類、魚類等の非標的生物に対する毒性は認められていない (生物多様性影響評価書の概要, 2009 ; USDA, 2006) 。

【除草剤耐性蛋白質】

25 PAT 蛋白質 :

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。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)。

30

改変 CP4 EPSPS 蛋白質 :

除草剤グリホサートは、植物中の芳香族アミノ酸合成経路であるシキミ酸経路中の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(EPSPS)(E.C.2.5.1.19)の活性を阻害するため、植物中に芳香族アミノ酸が合成されず、植物を枯死させる。

35 改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサート存在下でも活性を有し、シキミ酸経路が阻害されないため、植物に除草剤グリホサートに対する耐性を付与する。

【選抜マーカー】

40 PMI 蛋白質 :

トウモロコシはマンノースを炭素源として利用できない。本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し、炭素源としてマンノースを利用することを可能とする。このため、本蛋白質を選抜マーカーとして利

用した。PMI 蛋白質はトウモロコシには存在しないが、ヒトの消化器官及びダイズ等の植物に広く存在することが確認されている。

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

5

データベースを用いて、改変 Cry1F 蛋白質、PAT 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質、改変 CP4 EPSPS 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び PMI 蛋白質と既知アレルゲンとのアミノ酸配列相同性を検索した¹⁾。その結果、これら蛋白質と既知のアレルゲンとの間に、相同性はないことが確認された。

10

③ 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：

15

改変 Cry1F 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Cry3Aa2 蛋白質は、いずれも酵素活性を有するとの報告はない。

PAT 蛋白質：

20

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 *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 (OECD, 1999)。

改変 CP4 EPSPS 蛋白質：

25

改変 CP4 EPSPS 蛋白質は EPSPS 蛋白質と同一の機能を有する。EPSPS 蛋白質は、芳香族アミノ酸を合成するシキミ酸経路における律速酵素ではなく、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が産生されることにより、EPSPS 活性が高まったとしても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている (添付資料 4 ; Ridley *et al.*, 2002 ; Padgett *et al.*, 1996) 。実際、除草剤グリホサート耐性遺伝子組換え作物(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の芳香族アミノ酸含量は非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。

30

EPSPS蛋白質は、基質であるホスホエノールピルビン酸塩(PEP)及びシキミ酸-3-リン酸塩(S3P)と特異的に反応する(Gruys *et al.*, 1992)。S3Pの類似体であるシキミ酸とも反応することが知られているが、反応の起こり易さを示す特異性係数 k_{cat}/K_m の値で比較すると、EPSPS蛋白質のシキミ酸との反応特異性は、S3Pとの反応特異性の200万分の1に過ぎず、シキミ酸がEPSPS蛋白質の基質として反応する可能性は低い(添付資料4 ; 生物多様性影響評価書, 2011)。

35

¹⁾ 改変 Cry1F 蛋白質、PAT 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質及び Cry35Ab1 蛋白質：データベース NCBI Release 177.0、2010 年 6 月検索。

Cry1Ab 蛋白質：データベース NCBI Release 181.0、2011 年 2 月検索。

改変 CP4 EPSPS 蛋白質：データベース AD_2010、TOX_2010 及び PRT_2010、2010 年 2 月検索。

改変 Cry3Aa2 蛋白質及び PMI 蛋白質：データベース FARRP 10.0、2010 年 3 月検索。

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。

10

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

15

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：大腸菌 (*Escherichia coli*) プラスミド pUC19 から構築されたプラスミド PHP8999 (図 1、17ページ)。

DAS-59122-7：アグロバクテリウム (*A. tumefaciens*) プラスミド pSB1 から構築されたプラスミド PHP17662 (図 2、18ページ)。

20

MON-00810-6：大腸菌 (*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 (図 3、19ページ)。

MON-00603-6：大腸菌 (*E. coli*) プラスミド pUC119 から構築されたプラスミド PV-ZMGT32 (図 4、20ページ)。

25

SYN-IR604-5：大腸菌 (*E. coli*) プラスミド pUC19 から構築された pZM26 (図 5、21ページ)。

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

30

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 (PHP8999) : 9,504 bp

DAS-59122-7 (PHP17662) : 50,321 bp

MON-00810-6 : PV-ZMBK07 は 7,800 bp、PV-ZMGT10 は 9,447 bp

35

MON-00603-6 (PV-ZMGT32) : 9,308 bp

SYN-IR604-5 (pZM26) : 13,811 bp

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

40

親系統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。

DAS-01507-1：カナマイシン/ネオマイシン耐性遺伝子 (*nptII* 遺伝子)

DAS-59122-7：テトラサイクリン耐性遺伝子 (*tet* 遺伝子) 及びスペクチノマイ

シン耐性遺伝子 (*spc* 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)

5 MON-00603-6 : カナマイシン/ネオマイシン耐性遺伝子 (*nptII* 遺伝子)

SYN-IR604-5 : 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遺伝子 (*spec* 遺伝子)

③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

10

これらベクターに感染性はない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

15 イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

親系統 DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5 の作出に用いた供与核酸の構成及び制限酵素による切断部位を、図 1～図 5 (17～21ページ) に示した。

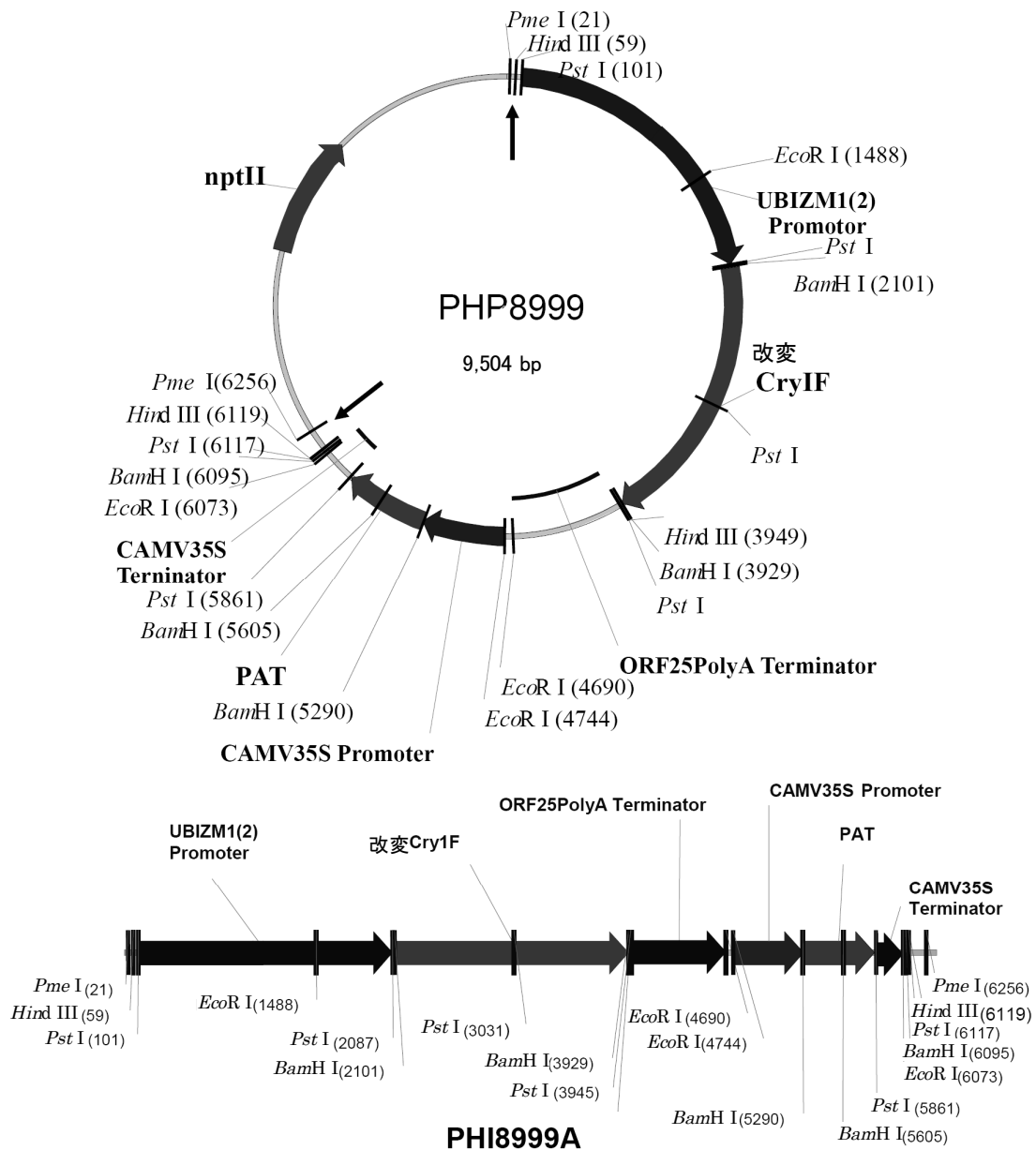
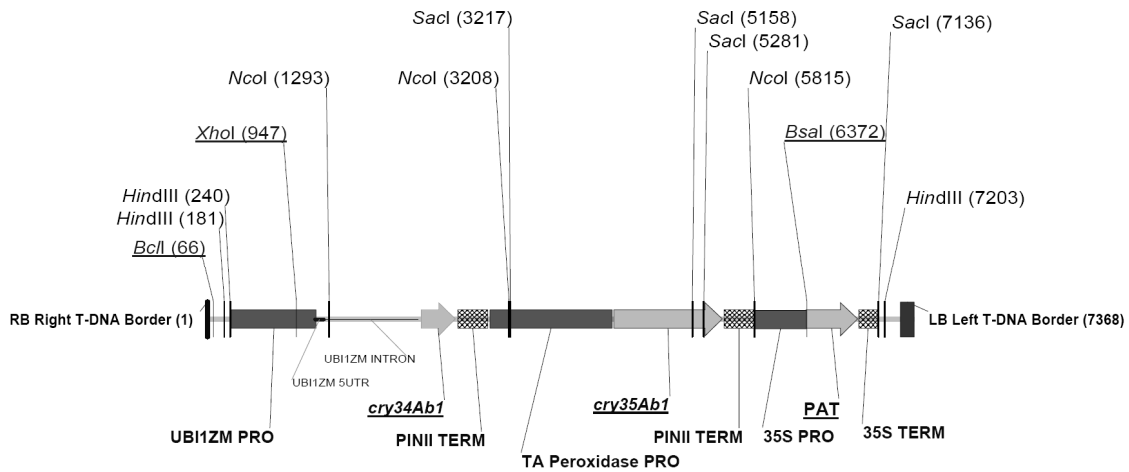
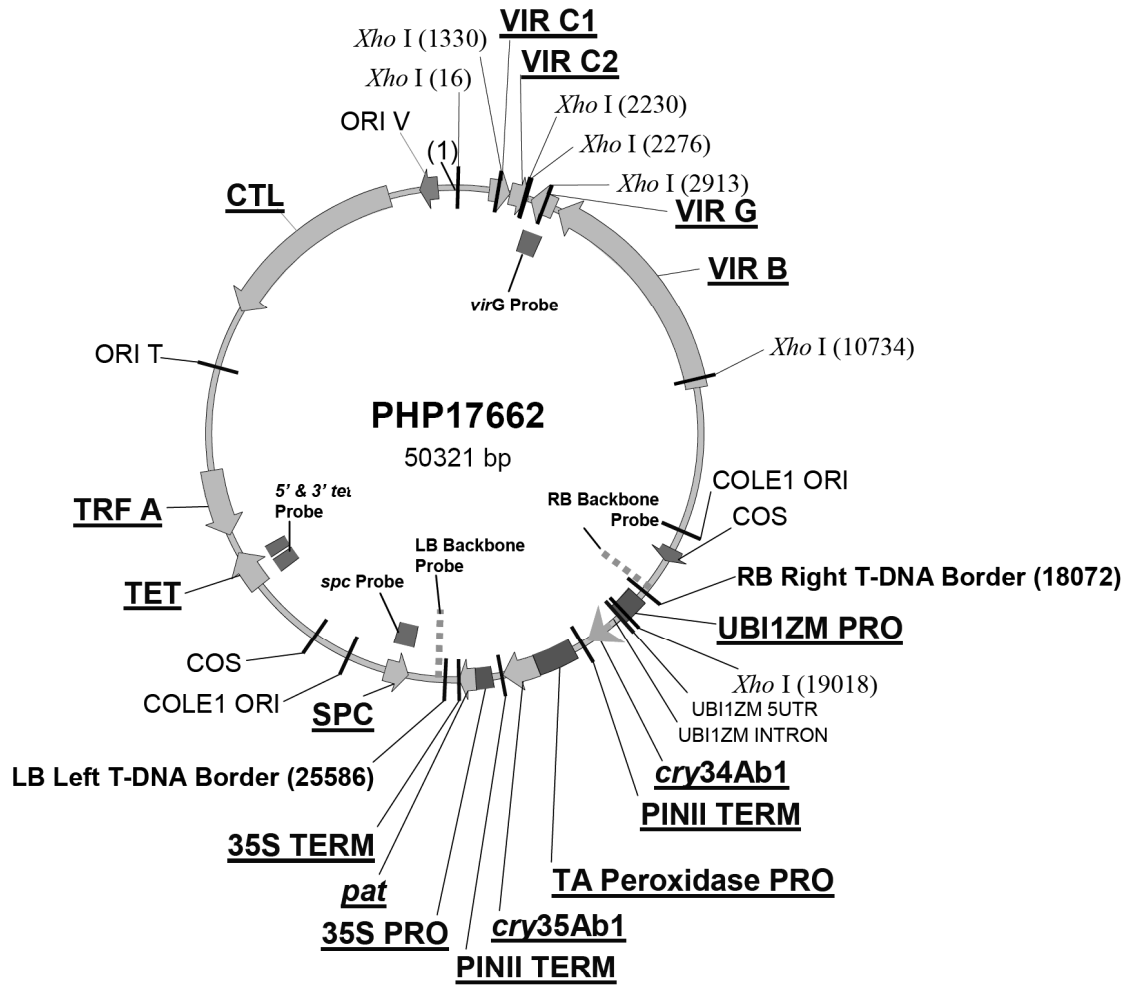


図 1 プラスミド PHP8999* (上図) 及び挿入 DNA 領域 PHI8999A (下図) の構成
 * DAS-01507-1 の作出に用いたベクター

5 プラスミド PHP8999 を制限酵素 *Pme* I で処理し (上図 2 箇所) の矢印の位置で切断、直鎖状 DNA 断片である PHI8999A (下図) を調製し、宿主への遺伝子導入に用いた。



PHP17662 T-DNA
7515 bp

図 2 プラスミド PHP17662*及び T-DNA 領域の構成
* DAS-59122-7 の作出に用いたベクター

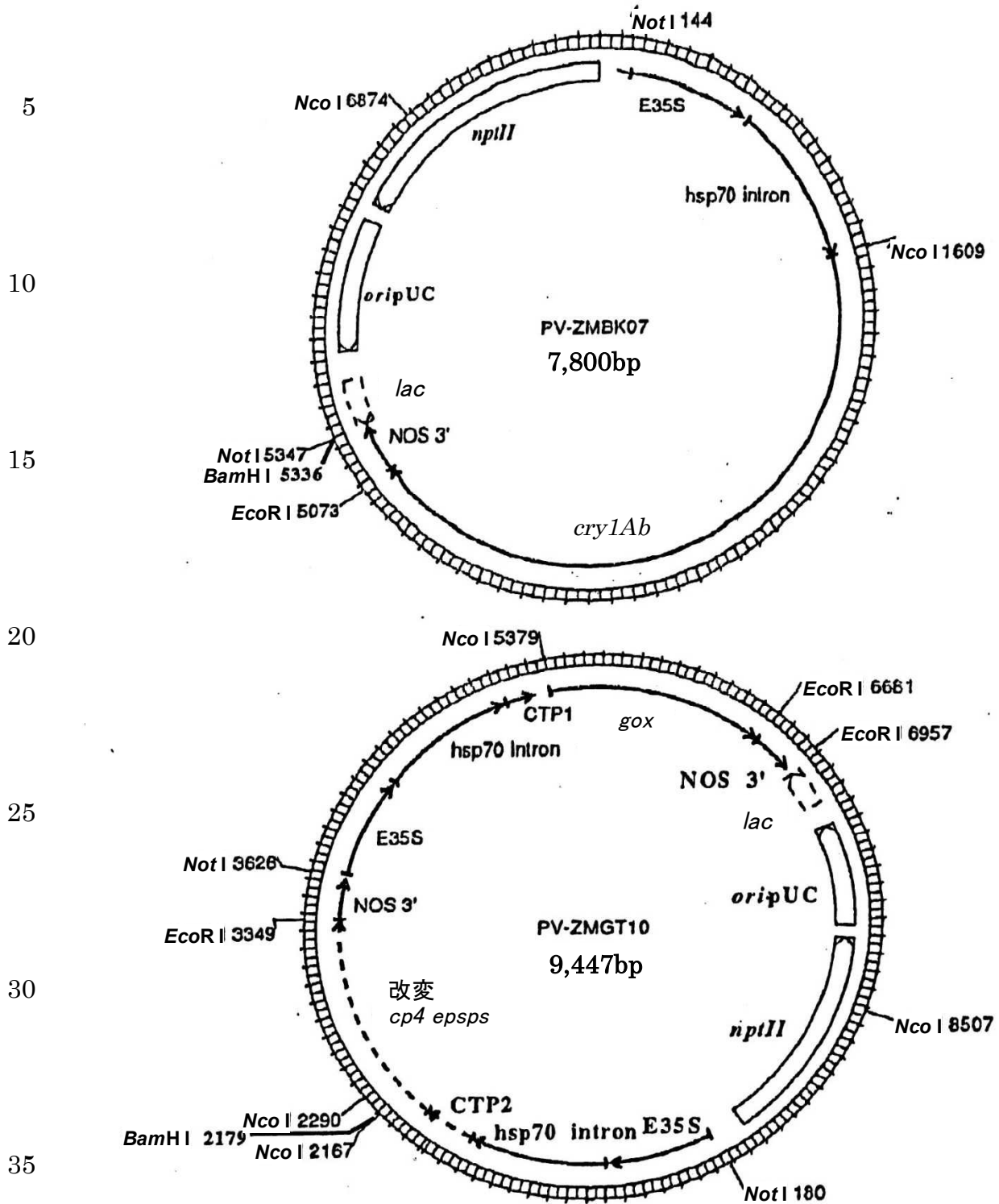


図 3 プラスミド PV-ZMBK07 及び PV-ZMGT10* の構成

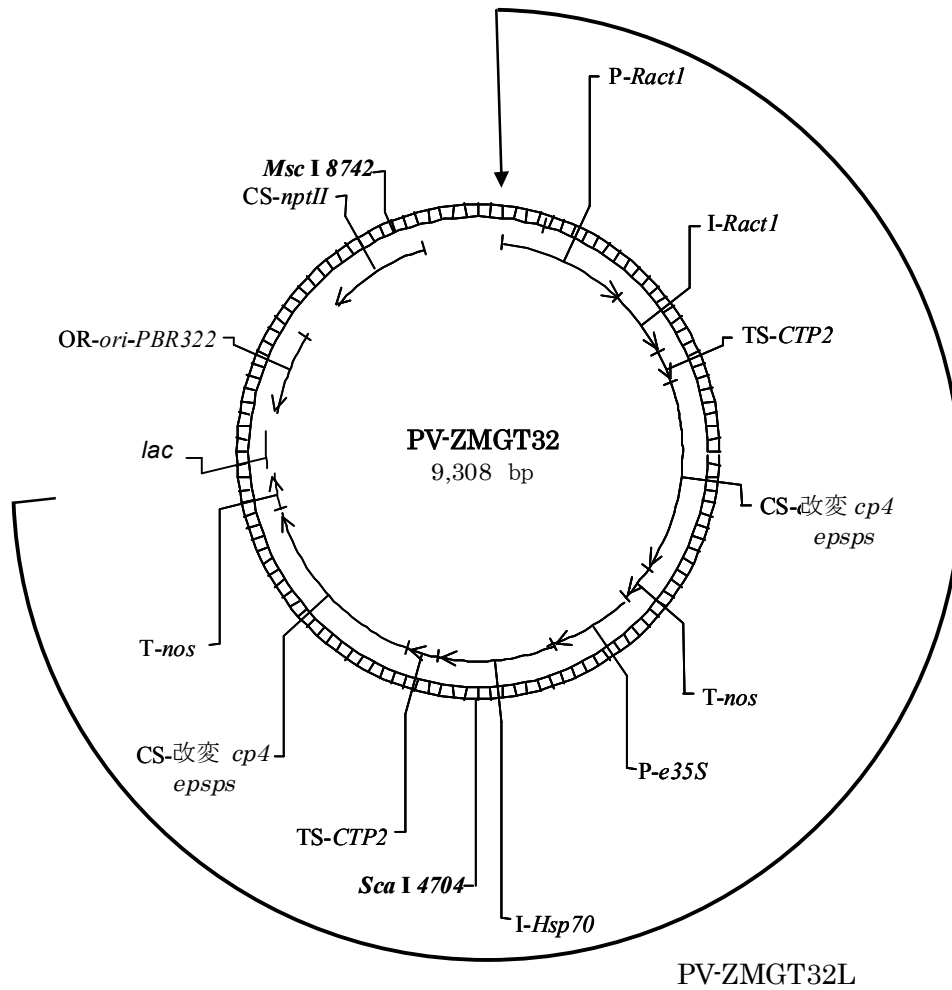
* MON-00810-6 の作出に用いたベクター

5

10

15

20



PV-ZMGT32L

25

図 4 プラスミド PV-ZMGT32*の構成

* MON-00603-6 の作出に用いたベクター

30

プラスミド PV-ZMGT32 を制限酵素 *MluI* で処理し、直鎖状 DNA 断片である PV-ZMGT32L を調製し、宿主への遺伝子導入に用いた。

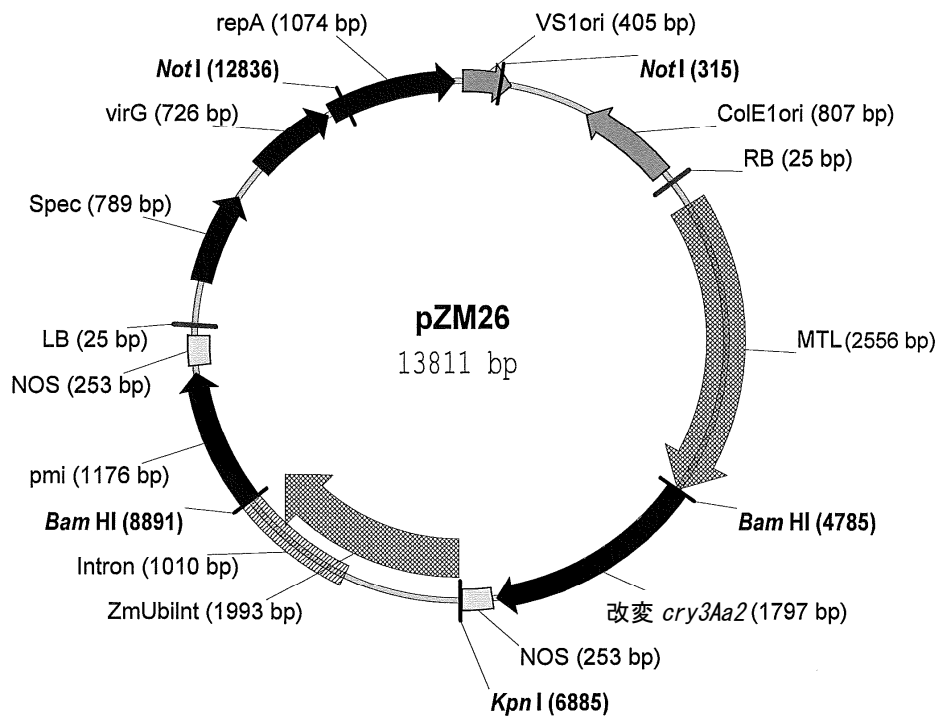


図 5 プラスミド pZM26 の構成

* SYN-IR604-5 の作出に用いたベクター。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

5 宿主内への核酸の移入は、DAS-01507-1、MON-00810-6 及び MON-00603-6 ではパーティクルガン法、DAS-59122-7 及び SYN-IR604-5 についてはアグロバクテリウム法が用いられた。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

10 ① 核酸が移入された細胞の選抜方法

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。

15 DAS-01507-1 及び DAS-59122-7 : 除草剤グルホシネート
MON-00810-6 及び MON-00603-6 : 除草剤グリホサート
SYN-IR604-5 : マンノース

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

アグロバクテリウム法を用いて作出した DAS-59122-7 については、グルホシネート培地にカルベニシリンを添加し、アグロバクテリウムを除去した。

25 また、SYN-IR604-5 については、マンノース培地にセフトキシシンを添加し、アグロバクテリウムを除去した。その後、再分化した植物体を用いて PCR 法により個体を選抜したことから、菌体の残存はないと考えられる。

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

35 本スタック系統は、交雑育種法により DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5 を交配して作出した。その経過を図 6(22 ページ、社外秘情報につき非開示) 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 6 (23 ページ) のとおりである。

(社外秘情報につき非開示)

図 6 本スタック系統の育成例

表 6 我が国における親系統及び本ストック系統の承認状況

系 統	食 品	飼 料	環 境
DAS-01507-1	2002年 7月 8日	2003年 3月 27日	2005年 3月 2日
DAS-59122-7	2005年 10月 25日	2006年 3月 31日	2006年 4月 10日
MON-00810-6	2001年 3月 30日	2003年 3月 27日	2004年 6月 1日
MON-00603-6	2001年 3月 30日	2003年 3月 27日	2004年 11月 22日
SYN-IR604-5	2007年 8月 17日	2007年 8月 22日	2007年 8月 23日
本ストック系統	2012年申請予定	2012年申請予定	2011年申請

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

5

DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5 の形質はメンデルの法則に従って伝達され、移入された核酸の複製物は、トウモロコシ染色体ゲノム上に存在することが確認されている。

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

DAS-01507-1 :

15 サザンブロット分析の結果、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ゲノムに挿入され、後代に安定して遺伝することが確認されている。

20 なお、導入 DNA の塩基配列解析により、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、また、3'末端領域に *ORF25PolyA Terminator* 配列の一部が含まれていることが確認されたが、ノーザンブロット解析により、mRNA への転写は行われておらず、これらの遺伝子断片は機能していないことが確認されている。

DAS-59122-7 :

25 サザンブロット分析の結果、それぞれ 1 コピーの *cry34Ab1* 遺伝子発現カセット、*cry35Ab1* 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ゲノムに挿入され、後代に安定して遺伝することが確認されている。

MON-00810-6 :

30 サザンブロット分析の結果、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ゲノムに挿入され、後代に安定して遺伝することが確認されている。

35 なお、トウモロコシのゲノム中に挿入されたのはPV-ZMBK07 由来のCry1Ab 蛋白質発現に必要な領域のみで、*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た。核酸が移入された細胞がグリホサートを添加した培地で選抜されたにもかかわらず（第一.2.(3).ハ.①、22ページ）、サザンブロット分析で改変*cp4 epsps*遺伝子が挿入されていなかったのは、再分化個体の次世代で挿入遺伝子の分離が起きたためである可能性が考えられた。

40 MON-00603-6 :

サザンブロット分析の結果、1 コピーの PV-ZMGT32L (2つの改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットから成る) がトウモロコシゲノムに挿入され、後代に安定して遺伝することが確認されている。

5 なお、挿入遺伝子の3'末端近傍に *P-ract1* の 217bp の断片が逆方向に移入されているが、この断片が新たな蛋白質の産生に関与していないことがウエスタンブロット分析により確認されている。また、*E35S*により誘導される改変 *cp4 epsps* 遺伝子の塩基が MON-00603-6 作出時に変化し、改変 CP4 EPSPS 蛋白質を構成するアミノ酸の1つが変化している。しかしながら、このアミノ酸は EPSPS 蛋白質ファミリーの活性に必須の7つのアミノ酸には含まれていないこと、この変化は蛋白質の活性部位及び三次元構造に影響を及ぼさないこと、元の蛋白質と酵素活性や免疫反応性が同等であることより、蛋白質の構造と機能は変化していないと考えられた。

10

SYN-IR604-5 :

 サザンブロット分析の結果、それぞれ1コピーの改変 *cry3Aa2* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子がトウモロコシゲノムに挿入され、後代に安定して遺伝することが確認されている。

15

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

20

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

25

本スタック系統の親系統の発現安定性は、以下の方法で確認した。

DAS-01507-1 : ELISA 法による改変 Cry1F 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現確認、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

30

DAS-59122-7 : ELISA 法による Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現確認、コウチュ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

MON-00810-6 : チョウ目害虫抵抗性の生物検定

MON-00603-6 : 除草剤グリホサート散布試験

35

SYN-IR604-5 : ELISA 法による改変 Cry3aA2 蛋白質及び PMI 蛋白質の発現確認、コウチュウ目害虫抵抗性の生物検定

40

⑤ ウイルスの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ため、ウイルスの感染その他の経路を經由して野生動植物等に伝達されるおそれはない。

(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：

5 各親系統 (DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5) のリアルタイム定量 PCR 法による系統特異的検出方法が、European Commission ウェブサイトに公開されている (Joint Research Centre, 2005~2007, 2010)。

10 感度：

定量限界は、DAS-01507-1 は $\leq 0.08\%$ 、DAS-59122-7、MON-00810-6 及び MON-00603-6 はいずれも 0.1% 、SYN-IR604-5 は $< 0.09\%$ である。

信頼性：

15 DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5 の検出方法については、European Network of GMO Laboratories 加盟のそれぞれ 14、14、14、12 及び 14 ヶ所の試験機関において、それぞれ 2、4、3、2 及び 4 反復で試験が行われ、信頼性が確認されている。

20 本スタック系統の検出及び識別は、1つの種子又は植物体を上述の方法で分析する。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

25

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

30 本スタック系統に付与された特性は、DAS-01507-1 由来の改変 *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、DAS-59122-7 由来の *cry34Ab1/cry35Ab1* 遺伝子によるコウチュ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 由来の *cry1Ab* 遺伝子によるチョウ目害虫抵抗性、MON-00603-6 由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子による除草剤グリホサート耐性、並びに SYN-IR604-5 由来の改変 *cry3Aa2* 遺伝子によるコウチュウ目害虫抵抗性である。

35

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、害虫抵抗性蛋白質及び除草剤耐性蛋白質間の各観点から検討した。

40 害虫抵抗性蛋白質間での機能的な相互作用について

改変 *Cry1F* 蛋白質及び *Cry1Ab* 蛋白質はチョウ目害虫に、*Cry34Ab1/Cry35Ab1* 蛋白質及び改変 *Cry3Aa2* 蛋白質はコウチュウ目害虫に殺虫効果を示す (第一. 2. (1).ロ.②、12ページ)。害虫抵抗性蛋白質が持つ殺虫効果の特異性には、蛋白質

の構造が関与しており、そのような特異性に関与する領域に変化が生じなければ、標的害虫に対する効果に影響を及ぼすことはないと考えられる。

5 以上に加え、これまでに承認されたスタック系統において、害虫抵抗性蛋白質が相乗的な効果を示したとの報告はない。これらのことから、本スタック系統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難い。

除草剤耐性蛋白質間での機能的な相互作用について

10 PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質のいずれも酵素活性を有する。前述のように、PAT 蛋白質は *L*-グルホシネート、改変 CP4 EPSPS 蛋白質は PEP 及び S3P と各蛋白質の基質は異なり、しかもそれぞれの基質と特異的に反応することが知られている。また、関与する代謝経路も互いに独立している（第一. 2. (1). 15 口.③、14ページ）。したがって、両蛋白質が相互に作用して予期しない代謝物が生じることは考え難い。

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について

20 害虫抵抗性蛋白質と除草剤耐性蛋白質は、それぞれの有する機能が異なるため、相互に影響を及ぼす可能性は考え難い。なお、これまでにスタック系統において、害虫抵抗性蛋白質と除草剤耐性蛋白質が相互作用を示したとの報告はない。

25 実際に、親系統由来発現蛋白質の本スタック系統における相互作用について検討するため、本スタック系統、親系統及び非組換えトウモロコシを用い、チョウ目害虫であるヨーロッパアワノメイガに対する抵抗性、コウチュウ目害虫であるウエスタンコーンルートワームに対する抵抗性、並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性を調査した。

30 なお、SYN-IR604-5 には選抜マーカーとして *pmi* 遺伝子も導入されているが、本遺伝子により産生される 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。その活性はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的で、他の代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。上述の害虫抵抗性蛋白質及び除草剤耐性蛋白質とは機能が異なるため、これら蛋白質が相互に作用する可能性は考え難い。

35

ヨーロッパアワノメイガに対する抵抗性

5 本スタック系統、親系統 DAS-01507-1、親系統 MON-00810-6 及び非組換えトウモロコシの葉でヨーロッパアワノメイガの幼虫を飼育し、食害率を観察した(添付資料 6、社外秘情報につき非開示)。その結果、葉の食害率に、本スタック系統と親系統との間で統計学的有意差は認められなかった(表 7、28ページ)。

表 7 ヨーロッパアワノメイガ幼虫による葉の食害率

供試植物*	食害率
本スタック系統	0.0065 b ± 0.0402
対照 親系統 DAS-01507-1	0.0283 b ± 0.0370
対照 親系統 MON-00810-6	0.0280 b ± 0.0398
(参考) 非組換えトウモロコシ	0.7114 a ± 0.1717

n=20、平均値±標準偏差。

10 * 遺伝的背景は全て PHEF09×SYNZLL6011

試験条件: 2010年に米国のグロースチャンバーで各系統を栽培、6葉期(V6期)の葉を採取し、葉片で孵化したてのヨーロッパアワノメイガの幼虫を48時間飼育。1反復につき2植物体から各2サンプル、5反復実施。

15 評価方法: デジタル画像により葉片ごとの食害の程度を測定。食害を受けていない組織をピクセル数で表し、そのピクセル数を全対照(幼虫を飼育していない)葉片の平均ピクセル数で除し、1から引いて算出した値を食害率とした。

20 異なる英文字間に統計学的有意差あり(分散分析及び Tukey 法による一対比較、P<0.05)。

ウエスタンコーンルートワームに対する抵抗性

5 本スタック系統、親系統 DAS-59122-7、親系統 SYN-IR604-5 及び非組換えトウモロコシを用い、ウエスタンコーンルートワームによる根の食害程度を観察した（添付資料 6、社外秘情報につき非開示）。その結果、根の食害程度に、本スタック系統と親系統との間で統計学的有意差は認められなかった（表 8、29ページ）。

表 8 ウエスタンコーンルートワームによる根の食害程度

供 試 植 物 *	根部食害スコア
本スタック系統	0.242 b ± 0.218
対照 親系統 DAS-59122-7	0.230 b ± 0.174
対照 親系統 SYN-IR604-5	0.368 b ± 0.315
(参考) 非組換えトウモロコシ	1.638 a ± 0.483

n=20、平均値±標準偏差。

10 * 遺伝的背景は全て PHEF09×SYNZLL6011

試験条件：2010年に米国のグロースチャンバーで各系統を3葉期（3期）まで栽培、根元にウエスタンコーンルートワームの卵を接種し、孵化後、根の食害程度を観察。1反復につき2植物体、10反復実施。

15 評価方法：各節ごとに根の総数及び茎から約3.8cmの範囲に食害を受けている根数を数え、食害スコア（食害を受けた根数/根の総数）を算出。

スコア 0.00：食害なし

スコア 1.00：1つの節で全ての根が食害を受けている状態

20 スコア 2.00：2つの節で全ての根が食害を受けている状態

スコア 3.00：3つ以上の節で全ての根が食害を受けている状態
なお、複数の節において食害を受けている場合は、各節の食害スコアを加算（上限3.00）。

25 異なる英文字間に統計学的有意差あり（分散分析及び Tukey 法による一対比較、P<0.05）。

除草剤グルホシネート耐性

5 本スタック系統、親系統 DAS-01507-1、親系統 DAS-59122-7 及び非組換えト
ウモロコシに除草剤グルホシネートを散布し、薬害を観察した（添付資料 7、社外
秘情報につき非開示）。その結果、薬害に、本スタック系統と親系統 DAS-01507-1
との間に統計学的有意差は認められなかった（表 9、30ページ）。32 倍量散布に
10 において、本スタック系統と親系統 DAS-59122-7 の間に統計学的有意差が認められ
たが、これは、本スタック系統において、親系統 DAS-01507-1 及び親系統
DAS-59122-7、双方由来の PAT 蛋白質が産生されたため、耐性に相加的効果が観
察されたものと考えられた。通常量及び 16 倍量散布においては、いずれの結果に
おいても本スタック系統と親系統との間に統計学的有意差は認められなかった。

表 9 除草剤グルホシネート散布による本スタック系統と親系統の薬害

供試植物 ¹⁾	薬害程度 (%)			
	非散布	通常量 ²⁾	16 倍量	32 倍量
本スタック系統	0 ± 0	0 b ³⁾ ± 0	0 b ± 0	3.33 c ± 4.88
対照 親系統 DAS-01507-1	0 ± 0	0 b ± 0	1.33 b ± 5.16	10.7 bc ± 25.5
対照 親系統 DAS-59122-7	0 ± 0	6.67 b ± 12.3	8.00 b ± 13.2	40.7 b ± 30.3
(参考) 非組換えトウモロコシ	0 ± 0	27.3 a ± 20.5	100 a ± 0	100 a ± 0

n=15、平均値±標準偏差。

15 試験条件 : 2010 年から 2011 年にかけて米国の温室で各系統を栽培、2 葉期 (V2 期) に
除草剤を散布。1 反復につき 5 個体、3 反復で実施。

評価方法 : 散布後 12 日目、0% (健全) から 100% (完全枯死) まで 10%刻み、計 11 段
階のスケールで薬害程度 (葉のクロロシス、ネクロシス又は白化の程度) を目
視判定。

20 1) 遺伝的背景は全て PHEF09×SYNZLL6011

2) 散布量(実測値)は、通常量 : 0.498 kg active ingredient (活性主成分 : a.i.)/ha、16 倍量 :
7.96 kg a.i./ha、32 倍量 : 15.9 kg a.i./ha。16 倍以上における散布は、除草剤耐性レベ
ルを評価する目的で実施、商業栽培では想定されない。

25 3) 同一薬量散布のうち、異なる英文字間に統計学的有意差あり (分散分析及び除草剤散布
量ごとの Sidak 法 (Westfall *et al.*, 2006) による多重検定を実施、P<0.05)。

除草剤グリホサート耐性

5 本スタック系統、親系統 MON-00603-6、参考として親系統 MON-00810-6、親系統 SYN-IR604-5 及び非組換えトウモロコシに除草剤グリホサートを散布し、薬害を観察した（添付資料 7、社外秘情報につき非開示）。その結果、薬害に、本スタック系統と親系統との間に統計学的有意差は認められなかった（表 10、31ページ）。

表 10 除草剤グリホサート散布による本スタック系統と親系統の薬害

供試植物 ¹⁾	薬害程度 (%)			
	非散布	通常量 ²⁾	16 倍量	32 倍量
本スタック系統	0 ± 0	0 c ³⁾ ± 0	0 b ± 0	0 b ± 0
対照 親系統 MON-00603-6	0 ± 0	0 c ± 0	0 b ± 0	0 b ± 0
(参考) 親系統 MON-00810-6	0 ± 0	83.3 a ± 6.17	100 a ± 0	100 a ± 0
(参考) 親系統 SYN-IR604-5	0 ± 0	76.7 b ± 4.88	100 a ± 0	100 a ± 0
(参考) 非組換えトウモロコシ	0 ± 0	80.0 ab ± 0	100 a ± 0	100 a ± 0

10 n=15、平均値±標準偏差。

試験条件：2010 年から 2011 年にかけて米国の温室で各系統を栽培、2 葉期（V2 期）に除草剤を散布。1 反復につき 5 個体、3 反復で実施。

15 評価方法：散布後 12 日目、0%（健全）から 100%（完全枯死）まで 10%刻み、計 11 段階のスケールで薬害程度（葉のクロロシス、ネクロシス又は白化の程度）を目視判定。

1) 遺伝的背景は全て PHEF09×SYNZLL6011

2) 散布量(実測値)は、通常量：1.33 kg acid equivalent (グリホサート遊離酸等量：a.e.)/ha、16 倍量：20.3 kg a.e./ha、32 倍量：41.6 kg a.e./ha。16 倍以上における散布は、除草剤耐性レベルを評価する目的で実施、商業栽培では想定されない。

20 3) 同一薬量散布のうち、異なる英文字間に統計学的有意差あり（分散分析及び除草剤散布量ごとの Sidak 法（Westfall *et al.*, 2006）による多重検定を実施、P<0.05）。

25 以上、本スタック系統中で発現する蛋白質の機能的な相互作用について、各蛋白質の特性に基づいて考察した結果、これらの蛋白質が相互に影響する可能性は低いと考えられた。また、このことは、確認のために行った害虫抵抗性試験及び除草剤散布試験で、親系統に付与された形質が本スタック系統においても変化していないことから示された。これらのことから、それぞれの親系統で発現する蛋白質間で相互作用はなく、導入した遺伝子によって新たに獲得されたそれぞれの性質は、本スタック系統において変化していないと結論された。

30 したがって、本スタック系統と宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシとの生理学的又は生態学的な相違について、各親系統の承認時の評価（添付資料 1～5）等に基づき評価した。

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

5 a 形態及び生育の特性

形態及び生育の特性として、表 11 (33ページ) に記載した項目について親系統 (DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5) と非組換えトウモロコシを用いて調査した。その結果、
10 DAS-01507-1 の発芽率及び雌穂径、DAS-59122-7 及び MON-00810-6 の稈長、並びに MON-00603-6 の百粒重についてだけ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が、有意差が認められたのは供試した遺伝的背景の異なる 2 品種のうち 1 品種であった。

15 b 生育初期における低温又は高温耐性

DAS-01507-1、MON-00603-6、DAS-59122-7、MON-00810-6 及び SYN-IR604-5 は、生育初期における低温処理によって、非組換えトウモロコシと同様に萎縮又は枯死したことが確認されている。

20

c 成体の越冬性又は越夏性

トウモロコシは夏型一年生植物であり、結実後、冬季には枯死し越冬することは知られていない。また、収穫後に再成長して栄養繁殖したり、種子を生産することはない。実際に、DAS-01507-1 及び DAS-59122-7 を米国のほ場で栽培し収穫時に観察した結果、いずれも枯死したことが確認されている。また、
25 MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5 についても、隔離ほ場試験の試験終了時には結実後の枯死が始まったことが観察されている (生物多様性影響評価書の概要, 2009)。

30

d 花粉の稔性及びサイズ

DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5 の花粉を染色し観察した結果、花粉の稔性、サイズ又は形態において、非組換えトウモロコシとの間に相違がないことが確認されている。
35

表 11 形態及び生育の特性調査項目

調査項目	DAS-01507-1	DAS-59122-7	MON-00810-6	MON-00603-6	SYN-IR604-5
発芽率	○*	○	○	○	○
発芽揃い	○	○	○	○	○
雄穂抽出期	○	○	○	○	○
絹糸抽出期	○	○	○	○	○
開花始期	○	○	○	—	—
開花終期	○	○	○	—	—
開花期間	○	○	○	—	—
成熟期	○	○	○	○	○
草姿又は草型	○	○	○	○	○
分けつ数	○	○	○	○	○
雌穂(総)数	○	—	○	○	○
有効雌穂数	○	○	○	—	○
粒色及び粒形	○	○	○	○	○
稈長	○	○*	○*	○	○
着雌穂高	○	○	○	○	○
雌穂長	○	○	○	○	○
雌穂径	○*	○	○	○	○
粒列数	○	○	○	○	○
一列粒数	○	○	○	○	○
百粒重	○	○	○	○*	○
地上部生体重	○	○	○	○	○
花器の形状	—	○	—	—	—

○：調査を行った項目

—：調査を行わなかった項目

- 5 *：試験に用いた同一系統の2種類のハイブリッド品種のうち、1品種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項目

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

10 種子の生産量：②. a (32ページ) に示した調査において、雌穂長、雌穂径、粒列数、一列粒数及び百粒重を調査した。その結果、DAS-01507-1 の雌穂径及び MON-00603-6 の百粒重については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が、有意差が認められたのは供試した2品種のうち1品種であった。

15 脱粒性：トウモロコシの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い(OECD, 2003)。DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5 に自然条件での脱粒性は観察されていない。

20

5 休眠性及び発芽率：トウモロコシ種子の休眠性は極めて低い（CFIA, 1994）。
DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5
から収穫した種子の発芽率調査の結果、いずれの発芽率も高く、非組換えトウモ
ロコシとの間で相違のないことが確認されている。

f 交雑率

10 宿主であるトウモロコシと自然交雑可能な近縁野生種（テオシント）は、我が
国においては自生していないため、交雑率試験は行われなかった。

g 有害物質の産生性

15 DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び
SYN-IR604-5 について、鋤込み試験、後作試験及び土壌微生物相試験が行われた。
その結果、DAS-01507-1 の鋤込み試験及び後作試験におけるレタスの生体重に非
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が、有意差が認められ
たのは供試した 2 品種のうち 1 品種であった。また、レタスの発芽率には有意差
が認められなかった。

20

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

5 DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5 の国外における承認状況は、表 12 (36ページ) のとおりである。

表 12 国外における親系統及び本スタック系統の承認状況

申請国	申請先	目的	承認年					本スタック系統
			DAS-01507-1	DAS-59122-7	MON-00810-6	MON-00603-6	SYN-IR604-5	
米 国	農務省 (USDA)	無規制栽培	2001	2004	1996	2000	2007	—
	食品医薬品庁 (FDA)	食品、飼料	2001*	2004	1996	2000*	2007*	—
	環境保護庁(EPA)	環境	2001	2005	1995	2000	2007	2011 申請予定
カナダ	食品検査庁 (CFIA)	環境、飼料	2002	2005	1997	2001	2007	2011 通知予定
	保健省 (HC)	食品	2002	2005	1997	2001	2007	2011 通知予定
E U	食品安全機関 (EFSA)	食品、飼料 (輸入)	2006	2007	1998	2004	2009	2012 以降 申請予定
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	2005	2000	2002	2006	2012 以降 申請予定

* 確認終了年。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

5 本スタック系統は、交雑育種法により DAS-01507-1、DAS-59122-7、
MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5 を交配して作出した。改変
Cry1F 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変
10 Cry3Aa2 蛋白質には、酵素活性がないと考えられる。また、PAT 蛋白質、改変
CP4 EPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質は酵素活性を有するが、いずれも基質特異性
を有し、また機能及び基質が異なっている。したがって、これら親系統由来の改
15 変 Cry1F 蛋白質、Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質、改変 Cry3Aa2
蛋白質、PAT 蛋白質、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質が、本スタック系
統において相互に影響を及ぼすことは考え難い。

15 実際に、本スタック系統の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の特性は、いずれも親系統(DAS-01507-1、
DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 又は SYN-IR604-5) と同程度で
あった(第一. 2.(6).①、26ページ)。

20 したがって、本スタック系統については、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ため、生物多様性影響の評価は、
親系統の諸形質を個別に調査した結果を基に実施した。

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

25

従来、トウモロコシが我が国において野生化したという報告はない。

30 本スタック系統の親系統を用いた隔離ほ場試験において、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、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)を指標として評価が行われた。その
結果、一部の特性(DAS-01507-1 の発芽率及び雌穂径、DAS-59122-7 及び
35 MON-00810-6 の稈長、並びに MON-00603-6 の百粒重)において、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が、有意差が認められたのは供
試した遺伝的背景の異なる 2 品種のうち 1 品種だけであった(第一. 2.(6).②. a
~e、32~34ページ)。したがって、これらの相違により競合における優位性が高
まる可能性は低いと考えられた。

40 本スタック系統には、チョウ目及びコウチュウ目害虫に対する抵抗性が付与され
ているが、我が国の自然環境下でチョウ目及びコウチュウ目害虫による食害は、
トウモロコシが自生することを困難にさせる主な要因ではない。したがって、こ
れらの形質の付与が栽培作物であるトウモロコシを自生させ、競合における優位
性を高めるとは考え難い。

また、本スタック系統には、*pat* 遺伝子及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子により除草剤グルホシネート及びグリホサートに対する耐性が付与されているが、これら除草剤が散布されることが想定され難い自然環境下では、除草剤耐性形質が本スタック系統の競合における優位性を高めるとは考えにくい。さらに、本スタック系統には炭素源としてマンノースを利用することを可能とする PMI 蛋白質も産生されているが、マンノースは主たる炭素源ではないことから、我が国の自然条件下において、この形質を有することにより競合における優位性が高まるとは考えられない。

10 以上のことから、本スタック系統に関して、競合における優位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。

(2) 影響の具体的内容の評価

15 —

(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

25 影響を受ける可能性のある野生動植物が特定されなかったことから、本スタック系統により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判断された。

2 有害物質の産生性

30 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

トウモロコシが野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼすような有害物質を産生するとの報告はない。

35 実際、本スタック系統の親系統 (DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5) を用いた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した結果、有害物質の産生性が高まっていることを示すような相違は認められなかった (第一.2.(6).②. g、34ページ)。したがって、本スタック系統においても、意図しない有害物質が産生されることは
40 考え難い。

本スタック系統で発現する改変 Cry1F 蛋白質及び Cry1Ab 蛋白質はチョウ目害虫に対して殺虫活性を有し、Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質及び改変 Cry3Aa2 蛋白

質は、コウチュウ目害虫に対して殺虫活性を有する。そこで、これら蛋白質が影響を及ぼす可能性のある我が国の野生動植物等について検討を行った。

Bt 蛋白質による影響を受ける可能性のある野生動植物等

5 改変Cry1F蛋白質は、ヨーロッパアワノメイガ、フォールアーミーワーム、ビートアーミーワーム等のチョウ目昆虫に、Cry1Ab蛋白質は、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、サザンコーンストークボラー、サトウキビコーンストークボラー、コーンイヤールーム、フォールアーミーワーム、
10 ストークボラー等のチョウ目昆虫に高い殺虫活性を有し、チョウ目以外のコウチュウ目、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、魚類等の非標的生物に対する毒性は認められていない。

15 Cry34Ab1/Cry35Ab1蛋白質は、ノーザンコーンルートワーム及びウエスタンコーンルートワームの2種のコウチュウ目昆虫に、改変Cry3Aa2蛋白質は、ウエスタンコーンルートワーム、ノーザンコーンルートワーム、コロラドポテトビートル、バンデッドキューカンバービートルの4種のコウチュウ目昆虫に高い殺虫活性を有し、コウチュウ目以外のチョウ目及びハエ目等の昆虫、並びに哺乳類、鳥類、魚類等の非標的生物に対する毒性は認められていない。

20 本スタック系統を栽培した場合、ほ場周辺に生息するチョウ目及びコウチュウ目昆虫が、本スタック系統を直接摂食する可能性、又はその飛散花粉を食餌植物とともに摂食する可能性がある。したがって、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として、チョウ目及びコウチュウ目昆虫が特定された。

25 なお、本スタック系統に産生される改変 Cry1F 蛋白質、PAT 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質、改変 CP4 EPSPS 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び PMI 蛋白質に、既知アレルゲン蛋白質との間でアミノ酸配列の相同性は認められていない（第一.2.(1).ロ.②、12ページ）。

30

(2) 影響の具体的内容の評価

改変 Cry1F 蛋白質及び Cry1Ab 蛋白質によるチョウ目昆虫に対する影響

35 改変 Cry1F 蛋白質を混餌投与した結果、標的害虫であるヨーロッパアワノメイガ、フォールアーミーワーム及びビートアーミーワームに対する LC₅₀（半数致死濃度）は、それぞれ 0.58 μg/g、2.49 μg/g 及び 7.8 μg/g であった。一方、農業上の害虫とはされていないオオカバマダラ（monarch butterfly、*Danaus plexippus*）についても試験を行ったが、LC₅₀ は試験を行った最高濃度である 30 μg/g より大きいと判断された。また、DAS-01507-1 の花粉を採集や飼育が容易なヤマトシジミに摂食させて生存率を調査した結果、LC₅₀（半数致死花粉密度）は 100 粒/cm² であった（添付資料 1）。

40

次に、Cry1Ab 蛋白質を産生する MON-00810-6 の花粉では、ヤマトシジミに対する LC₅₀（半数致死花粉密度）は、2,300 粒/cm² であった（添付資料 3）。

Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質及び改変 Cry3Aa2 蛋白質によるコウチュウ目昆虫に対する影響

5 Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質を混餌投与した結果、標的害虫であるノーザンコーンルートワーム及びウエスタンコーンルートワームに対する LC₅₀ (半数致死蛋白質量) は、それぞれ 5.56 μg/cm² 及び 44.5 μg/cm² であった。同じコーンルートワームの一種であるサザンコーンルートワームに対する LC₅₀ は 343 μg/cm² であった (添付資料 2)。なお、同じコウチュウ目に属するテントウムシ (*Hippodamia convergens* 成虫及び *Coleomegilla maculata* 幼虫) に対しては、試験を行った最高濃度 (280 μg/mL 及び 902 μg/g) でも死亡例はなかった。

10 次に、改変 Cry3Aa2 蛋白質では、標的害虫であるウエスタンコーンルートワームに対する LC₅₀ (半数致死濃度) は、1.4 μg/ml であった。しかしながら、SYN-IR604-5 の花粉における改変 Cry3Aa2 蛋白質の発現量を ELISA 法により調査した結果、改変 Cry3Aa2 蛋白質は検出されなかった (検出限界値 0.01 μg/g) (添付資料 5)。

20 本スタック系統を用いた生物検定の結果、ヨーロッパアワノメイガ及びウエスタンコーンルートワームによる葉又は根の食害は、本スタック系統と DAS-01507-1 との間、本スタック系統と DAS-59122-7 との間、本スタック系統と MON-00810-6 の間、及び本スタック系統と SYN-IR604-5 の間で、いずれも相違がなかった (表 8 及び表 9、29 及び 30 ページ)。したがって、チョウ目及びコウチュウ目昆虫が本スタック系統により受ける影響は、親系統 DAS-01507-1、DAS-59122-7、MON-00810-6 及び SYN-IR604-5 と同程度であると考えられた。

25 (3) 影響の生じやすさの評価

30 本スタック系統栽培ほ場の周辺に生息する非標的チョウ目昆虫種及び非標的コウチュウ目昆虫種が、本スタック系統の飛散花粉を摂食する可能性について、トウモロコシほ場周辺の植物の葉に堆積した花粉量の調査結果を基に検討した。

35 通常の気象条件下ではこれ以上の堆積はないというモデル式から推定すると、飛散花粉の堆積推定量は、ほ場から 10m で最大 4,000 粒/cm²、20m で最大 2,000 粒/cm² とされている (添付資料 3)。しかしながら、我が国においてトウモロコシほ場周辺のヒマワリとイヌホウズキ葉上に堆積する花粉量を測定した結果では、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)。また、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、3m で 5~20 粒/cm²、4~5m で 8.1 粒/cm²、10m では 1 粒/cm² であった (Hansen-Jesse and Obrycki, 2000; Pleasants *et al.*, 2001)。

40 上述のトウモロコシほ場周辺の堆積花粉実測量を基に考察すると、トウモロコシ栽培ほ場から 10m 地点における堆積花粉量は 10 粒/cm² 以下で、DAS-01507-1

花粉及び MON-00810-6 花粉のヤマトシジミに対する LC₅₀ (半数致死花粉密度) より小さい値であった。同様に DAS-59122-7 の場合 (添付資料 2)、10m 地点における花粉に含まれる予想蛋白質量は 0.000502 μg/cm² 以下となり、ノーザンコーンルートワームに対する LC₅₀ (半数致死蛋白質量) の約 1 万分の 1 以下となる²⁾。

5

以上のことから、ほ場から 10m 以上離れた場合、本スタック系統から飛散した花粉をチョウ目昆虫種及びコウチュウ目昆虫種が摂食し影響を受ける可能性は低いと考えられた。また、チョウ目昆虫種及び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するとの報告もない。したがって、チョウ目昆虫種及びコウチュウ目昆虫種が個体群レベルで本スタック系統による影響を受ける可能性は低いと考えられた。

10

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

15

以上のことから、本スタック系統の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判断された。

20 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

25

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、また自然交雑可能な近縁野生種であるテオシントの自生も報告されていない。このため、本スタック系統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。

(2) 影響の具体的内容の評価

30

—

(3) 影響の生じやすさの評価

35

—

²⁾ 実測値から 10m 地点における花粉量を 10 粒として、予想蛋白質量を計算した。

$$\begin{aligned} & (\text{花粉粒数} / \text{cm}^2) \times (\text{g} / 1,500,000 \text{ 粒}) \times (\text{花粉中発現量 } 75.29 \text{ } \mu\text{g/g}) \\ & = (10 \text{ 粒} / \text{cm}^2) \times (\text{g} / 1,500,000 \text{ 粒}) \times 75.29 \text{ } \mu\text{g/g} = 0.000502 \text{ } \mu\text{g/cm}^2 (\text{予想蛋白質量}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \text{予想蛋白質量 } (0.000502 \text{ } \mu\text{g/cm}^2) / \text{ノーザンコーンルートワームに対する LC}_{50} (\text{半数致死蛋白質量}) \\ & (5.56 \text{ } \mu\text{g/cm}^2) \approx 1/11,000 \end{aligned}$$

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

5 影響を受ける可能性のある野生動植物が特定されなかったことから、本スタックシステムにより交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

4 その他の性質

10

上記の他に、本スタックシステムにおいて、生物多様性影響の評価を行うことが適切であると考えられる性質はないと判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

5 本スタック系統は、交雑育種法により DAS-01507-1、DAS-59122-7、
MON-00810-6、MON-00603-6 及び SYN-IR604-5 を交配して作出した。改変
Cry1F 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変
Cry3Aa2 蛋白質には、酵素活性がないと考えられる。また、PAT 蛋白質、改変
10 CP4 EPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質は酵素活性を有するが、いずれも基質特異性
を有し、また機能及び基質が異なっている。したがって、これら親系統由来の改
変 Cry1F 蛋白質、Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質、改変 Cry3Aa2
15 蛋白質、PAT 蛋白質、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PMI 蛋白質が、本スタック系
統において相互に影響を及ぼすことは考え難い。

15 本スタック系統の親系統それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであ
って本スタック系統から分離した後代のスタック系統においても同様に、発現蛋白
質の機能的な相互作用はなく、新たに獲得されたそれぞれの性質は変化しないと
考えられた。

20 したがって、本スタック系統については、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ため、生物多様性影響の評価は、
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。

25 トウモロコシ (*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) は、我が国において長年にわ
たり使用されてきた。これまでに我が国においてトウモロコシが野生化し、野生
動植物の生息又は生育に影響を及ぼしたという報告はない。

30 競合における優位性に関し、親系統の諸特性の評価を行ったが、競合における優
位性を高めるような相違は認められていない。

35 本スタック系統には、チョウ目及びコウチュウ目害虫に対する抵抗性が付与され
ているが、チョウ目及びコウチュウ目害虫による食害は、トウモロコシが我が国の
自然環境下で自生することを困難にさせる主な要因ではない。さらに、本スタック
系統には、除草剤グルホシネート及びグリホサートに対する耐性が付与されてい
るが、自然環境下でこれら除草剤が散布されることは想定され難い。したがって、こ
れら形質が本スタック系統の競合における優位性を高めるとは考えにくい。

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

トウモロコシが野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼすような有害物質を産
生するとの報告はない。

なお、本スタック系統に産生される改変 Cry1F 蛋白質、PAT 蛋白質、Cry34Ab1

蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質、改変 CP4 EPSPS 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質及び PMI 蛋白質に、既知アレルゲンとの間で相同性は認められなかった。また、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験の結果、有害物質の産生性が高まっていることを示唆するような相違は認められていない。

5

本スタック系統で発現する改変 Cry1F 蛋白質及び Cry1Ab 蛋白質はチョウ目害虫に対して、Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質及び改変 Cry3Aa2 蛋白質は、コウチュウ目害虫に対して殺虫活性を有する。このことから、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として、チョウ目及びコウチュウ目昆虫を特定した。しかしながら、ほ場から 10m 以上離れた場合、特定されたチョウ目昆虫種及びコウチュウ目昆虫種が本スタック系統から飛散した花粉を摂食し影響を受ける可能性は低いと考えられた。本スタック系統を直接摂食する、又はその飛散花粉を摂食する可能性のあるチョウ目昆虫種及びコウチュウ目昆虫種が本スタック系統栽培ほ場周辺に局所的に生息するとは考え難いため、個体群レベルで本スタック系統の影響を受ける可能性は低いと考えられた。

10

15

20

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

25

我が国にトウモロコシと自然交雑可能な野生植物は自生していない。したがって、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

30

以上のことから、本スタック系統及び本スタック系統の親系統それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統の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、我が国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断した。

参考文献

- 5 CFIA (Canadian Food Inspection Agency). 1994. The biology of *Zea mays* (L.).
(<http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dir/dir9411e.pdf>). Accessed
on March 30th, 2011.
- 10 EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2005a. Biopesticide Registration
Action Document. *Bacillus thuringiensis* Cry1F Corn.
([http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_0064
81.pdf](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_006481.pdf)). Accessed on March 30th, 2011.
- 15 EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2005b. Biopesticide Registration
Action Document. *Bacillus thuringiensis* Cry34Ab1 and Cry35Ab1 Proteins
and the Genetic Material Necessary for Their Production in Event
DAS-59122-7 Corn.
([http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_0064
90.pdf](http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_006490.pdf)). Accessed on Aug 22nd, 2011.
- 20 FAOSTAT, 2011. (<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#anchor>). Accessed on
January 5th, 2011.
- 25 FARRP(Food Allergy Resource and Resource Program), 2010. Protein
AllergenOnline database, version 10.0.(<http://www.allergenonline.org/>).
Accessed in March 2010.
- 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 Gruys, K.J., Walker, M.C., and Sikorski, J.A. 1992. Substrate synergism and the
steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from
Escherichia coli. *Biochem.* 31: 5534-5544
- 35 Hansen-Jesse, L.C., and J.J. Obrycki. 2000. Field deposition of Bt transgenic corn
pollen: lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia*, 125: 241-248.
- 40 Hua, G., Masson, L., Jurat-Fuentes, J. L., Schwab, G., and Adang, M. J. 2001.
Binding analyses of *Bacillus thuringiensis* Cry δ -endotoxins using brush
border membrane vesicles of *Ostrinia nubilalis*. *Appl. Environ. Microbiol.*
67: 872-879.

- Joint Research Centre. 2005~2007, 2010.
(<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/TC1507-WEB-Protocol-Validation.pdf>,
<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/59122-Protocol%20Validation.pdf>,
5 http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/Mon810_validation_report.pdf,
<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/NK603-WEB-Protocol%20Validation.pdf>,
http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/MIR604_validated_Method_correctedversion1.pdf). Accessed on March 30th, 2011.
- 10 菊池一徳. 1987. トウモロコシの生産と利用. 株式会社 光琳.
- NCBI. 2010~2011. The BLASTP 2.2.13 algorithm against Release 177.0 and
181.0 (4/15/10) of the NCBI Entrez Protein dataset.
15 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) Accessed in June 2010 and February 2011.
- 農業技術大系 作物編第 7 巻 2004. 社団法人 農山漁村文化協会.
- 農林水産省. 2011. 農林水産施策について (統計) 作付面積・生産量、家畜の頭数な
20 ど
(http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/sakkyou_kome/pdf/syukaku_siryuu_10.pdf) . Accessed on May 19th, 2011.
- OECD. 1999. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology,
25 No. 11: Consensus document on general information concerning the genes
and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide.
ENV/JM/MONO(99)13.
([http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(99\)13&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(99)13&doclanguage=en)). Accessed on March 30th, 2011.
- 30 OECD. 2002. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology,
No. 25. MODULE II: PHOSPHINOTHRICIN. ENV/JM/MONO(2002)14.
([http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2002\)14&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2002)14&doclanguage=en)). Accessed on March 30th, 2011.
- 35 OECD. 2003. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology,
No. 27: Consensus Document of the Biology of *Zea mays* subsp. *mays*
(Maize).
([http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2003\)11&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2003)11&doclanguage=en)). Accessed on March 30th, 2011.
- 40

- Padgett, S.R., Taylor, N.B., Nida, D.L., Bailey, M.R., MacDonald, J., Holden, L.R., and Fuchs, R.L. 1996. The Composition of Glyphosate-Tolerant Soybean Seeds is Equivalent to That of Conventional Soybeans. *J. of Nutrition*. 126(3): 702-716.
- 5
- 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. *PNAS*, 98: 11919-24.
- 10 Ridley, W.P., Sidhu, R.S., Pyla, P.D., Nemeth, M.A., Breeze, M.L., and Astwood, J.D. 2002. Comparison of the Nutritional Profile of Glyphosate-Tolerant Corn Event NK603 with That of Conventional Corn (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food. Chem.*, 50(25)7235-7243
- 15 生物多様性影響評価書. 2011. 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(改変 *cp4 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)(MON87427, OECD UI: MON-87427-7) に関する生物多様性影響評価書の概要
(http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/H23_11_17_MON87427ap3.pdf).
- 20
- 生物多様性影響評価書の概要. 2009. 耐熱性 α -アミラーゼ産生並びに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 *cry3Aa2*, *pat*, *mEPSPS*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (3272×Bt11×MIR604×GA21, OECD UI : SYN-E3272-5×SYN-BT011-1×SYN-IR604-5×MON-00021-9) (3272, Bt11, MIR604 及び GA21 それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のもの(既に第一種使用規程の承認を受けたものを除く。)を含む。) 申請書等の概要
(<https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenSearch.do>) .
- 25
- 30
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D.R. and Dean, D.H. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62 (3) : 775-806.
- 35
- 白井 洋一. 2003. 害虫抵抗性遺伝子組換え作物が非標的昆虫に及ぼす影響：現在までの研究事例. *日本応用動物昆虫学会誌* 47: 1-11.
- 40
- Shirai, Y. and Takahashi, M. 2005. Effects of transgenic Bt corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudozizeeria maha*. *Appl. Entomol. Zool.* 40(1) : 151-159.

戸澤 英夫. 2005. トウモロコシー歴史・文化、特性・栽培、加工・利用－. 社団法人
農山漁村文化協会.

5 USDA. 1995. Petition for Determination of Nonregulated Status for Insect
Protected Corn (*Zea mays* L.) with the *cryIA(b)* Gene from *Bacillus*
thuringiensis subsp. *kurstaki*.
(http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/95_09301p.pdf). Accessed on
10 August 23rd, 2011.

USDA. 1996. Petitions for Determination of Nonregulated Status Granted :
Additional YieldGuard™ Corn (*Zea mays* L.) Lines with the *cryIA(b)* Gene
from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*.
(http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/96_01701p.pdf). Accessed on
15 August 23rd, 2011.

USDA. 2000. Request for Extension of Determination of Nonregulated Status to
the Additional Regulated Article : Roundup Ready Corn Line NK603.
(http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/00_01101p.pdf). Accessed on
20 March 30th, 2011.

USDA. 2006. Petition for the Determination of Non-Regulated Status. Corn
Rootworm Protected Transformation Event MIR604.
(http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/04_36201p.pdf). Accessed on
25 March 30th, 2011.

Westfall, P.H., Tobias, R.D., Rom, D., Wolfinger, R.D. and Hochberg, Y. 2006.
Concepts and basic methods for multiple comparisons and tests. *Multiple*
Comparisons and Multiple Tests Using the SAS System. Cary, NC, USA:
30 SAS Institute Inc., 13-40.

財務省貿易統計. 2011. (<http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>).
Accessed on January 14th, 2011.

35

緊急措置計画書

平成 23 年 10 月 3 日

5 氏名 デュポン株式会社
代表取締役社長 天羽 稔
住所 東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

10

15

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 *cry1F*, *pat*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *cry1Ab*, 改変 *cp4 epsps*, 改変 *cry3Aa2*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Itis) (1507×59122×MON810×NK603×MIR604, OECD UI: DAS-Ø15Ø7-1×DAS-59122-7×MON-ØØ81Ø-6×MON-ØØ6Ø3-6×SYN-IR6Ø4-5) (以下、「本スタック系統」という。) について、今後、科学的根拠に基づき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には、当該影響を効果的に防止するため、第一種使用規程に従った使用が承認された後であっても、以下の措置をとることとする。

20

1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者

25

弊社内に緊急措置に適切に対応するための危機対策本部を速やかに設置する。危機対策本部は、社長を本部長、副社長を副本部長とし、各部門の部門長等から構成される (下表、個人情報につき非開示)。危機対策本部が、本スタック系統の開発者である米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社との円滑な連絡を確保する。

(個人名・所属は個人情報につき非開示)

30

2 第一種使用等の状況の把握の方法

35

弊社は、本スタック系統の開発者である米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社と連絡をとり、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

40

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

米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社は、米国における本スタック系統種子の購入者及び穀物取扱い業者、トウモロコシの栽培者が加入する団体に対して、広く情報を提供するための連絡体制を保有している。したがって、今後、科学

的根拠に基づき、本スタック系統が我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると認められた場合には、米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社は、これらの連絡体制を使い、関係各者と連絡を取る。

5 また必要に応じて、弊社のホームページ等、日本国内の適切な媒体を通して、本件について通知する。

10 4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置をとり、その使用等を継続するための具体的な措置の内容

15 科学的根拠に基づき、本スタック系統が我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると認められた場合には、弊社は、米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社とともに、日本向けに輸出している穀物取扱い業者及び種子取扱い業者に対して本件を通知する。また、我が国の栽培者等に対して本件を通知する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

20 科学的根拠に基づき、本スタック系統が我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると認められた場合には、弊社は、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連絡するとともに、緊急措置対応のための体制及び連絡窓口を報告する。

25

30

35

40

添付資料

- 5 添付資料 1 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-01507-1)申請書等の概要
(<https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenSearch.do>)
- 10 添付資料 2 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
(*cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (*B.t.*
Cry34/35Ab1 Event DAS-59122-7, OECD UI : DAS-59122-7) 申請書等の概要
(<https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenSearch.do>)
- 15 添付資料 3 チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ(*cry1Ab*, *Zea mays* L.) (MON810,
OECD UI:MON-00810-6)申請書等の概要
(<https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenSearch.do>)
- 20 添付資料 4 除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(*cp4 epsps*, *Zea mays* subsp.
mays (L.) Iltis) (NK603, OECD UI: MON-00603-6)申請書等の概要
(<https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenSearch.do>)
- 25 添付資料 5 コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ(改変 *cry3Aa2*, *Zea mays* subsp.
mays (L) Iltis) (MIR604, OECD UI:SYN-IR604-5)の申請書等の概要
(<https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenSearch.do>)
- 添付資料6 (社外秘情報につき非開示)
- 添付資料7 (社外秘情報につき非開示)
- 30