

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-ØØ6Ø3-6)申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書..... 1

生物多様性影響評価書の概要

第一 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..... 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

(1) 供与核酸に関する情報..... 4

(2) ベクターに関する情報..... 6

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法..... 6

(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... 8

(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・ 10

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違..... 10

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..... 11

(2) 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..... 12

(3) 国外における使用等により得られた情報..... 12

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1 競合における優位性..... 12

2 有害物質の産生性..... 13

3 交雑性..... 14

第三 生物多様性影響の総合的評価..... 15

緊急措置計画書..... 16

第一種使用規程承認申請書

平成 16 年 4 月 6 日

農 林 水 産 大 臣 亀 井 善 之 殿
環 境 大 臣 小 池 百 合 子 殿

氏名 日本モンサント株式会社
申請者 代表取締役社長 山根 精一郎 印
住所 東京都中央区銀座 4-10-10
銀座山王ビル 8F

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	除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(<i>cp4 epsps, Zea mays subsp. mays (L.)</i> Ilitis) (NK603, OECD UI: MON-ØØ6Ø3-6)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	—

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

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 一般にトウモロコシの学名は *Zea mays* L. であるが、近年、トウモロコシの近縁種である一年生テオシントが *Z. mays* に分類された結果、トウモロコシはその亜種として *Z. mays* subsp. *mays* (L.) Iltis として分類されるようになった。

ロ 宿主はイネ科 (*Gramineae*) トウモロコシ属 (*Zea*) に属するトウモロコシ (*Zea mays*) で、デント種に属する。

ハ 原産地については、ほぼ米国の南西部、メキシコ、中米あるいは南米にかけての地域と考えられるが、決定的な説はなく、これら複数地域がそれぞれ独立した起原であるとする説と、メキシコ南部単独を起源とする説がある。尚、わが国における自然分布の報告はない。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ トウモロコシの最古の栽培起源は今から 9,000 年前とされている。その後、原住民の手により育種、品種改良が行われ、紀元前 3000 年～1500 年頃には、現代の栽培型に近いトウモロコシが本格的に栽培されるようになり、南北アメリカ大陸の各地に伝播し、その伝播の過程でさらにデント、ポップ、スイート種などの多数の変異種が生じたと考えられている。日本へは天正年間(1579 年)に長崎か四国に伝来したのが最初であるとされ、栽培の歴史は長い。

ロ 現在、飼料としての利用が主流であるが、食用、食用油、澱粉などの食品としての用途も多岐にわたる。現在、トウモロコシは世界で最も広く栽培されている穀物で、米国、中国、ブラジル、アルゼンチン及びヨーロッパ諸国などを中心に、北緯 58 度から南緯 40 度に至る範囲で栽培可能である。国連食糧農業機関 (FAO) の統計情報に基づくと、2002 年における全世界のトウモロコシの栽培面積は約 1 億 4 千万 ha であり、上位国を挙げると米国が 2,800 万 ha、中国が 2,500 万 ha、ブラジルが 1,200 万 ha、メキシコが 700 万 ha、インドが 600 万 ha、ナイジェリアが 400 万 ha、南アフリカが 300 万 ha となっている。尚、同統計情報に基づく 2002 年の日本における栽培面積は約 3 万 ha であった。

日本は海外から約 1,600 万トンのトウモロコシを飼料用、食品用として輸入している。飼料用は約 1,100 万トン、食品用は約 500 万トンで主な用途は澱粉、異性化糖である。

わが国での飼料用トウモロコシの慣行栽培法は以下のとおりである。播種適期は寒地から温暖地までは 5 月、一部の暖地では 4 月から 6 月までである。適正栽植密度は 10a あたり 6,000~8,000 本である。雑草防除のため、生育初期に除草剤散布や 2~3 回の中耕・培土作業を行う。雌穂の抽出より 35~45 日後の黄熟期に地上部を収穫する。

尚、国内主要種苗メーカーの品種リストに基づく、現在、一般に栽培用として市販されているトウモロコシのほとんど全ては一代雑種品種(F1)なので、収穫種子が翌年に栽培用として播種されることは一般的でない。

(3) 生理的及び生態学的特性

イ 生息又は生育可能な環境の条件

トウモロコシ種子の発芽適温は 32~36℃、最低発芽温度及び最低生育温度は 6~10℃であり、実際には 13~14℃以上の時期が播種適期とされ、品種や地域によって栽培時期は多少異なるが、主に春に播種されて秋に収穫される一年生の作物である。また、一般に短日植物であり、その感光性は晩生種ほど敏感で、早生品種ほど鈍感である。これら温度条件等の他、デント種の場合は種子重量の 70%、スイート種の場合は種子重量の 90%の水を吸うと発芽する。また、トウモロコシの栽培には腐植に富む壤土が適し、pH5.5~8.0 の範囲で栽培可能である。

現在のトウモロコシは栽培作物として高度に人為的に作られた作物であり、自然条件下で植物として繁殖し、生存するための能力は失われている。

ロ 繁殖又は増殖の様式

① 完熟した種子は雌穂の包皮で覆われており、自然の脱粒性はない。トウモロコシは長い間栽培植物化されていたために、野生として生き残る能力を失っており、その種子を分散させるためには人間の仲介が必要である。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。また、仮に発芽しても生長点が地上部に出る初期生育時(5~7 葉期)に、0℃以下で 6~8 時間以上の条件下におかれると生存できない。種子の寿命は常温保存では短く、2 年目から発芽率が低下する。

② トウモロコシは栄養繁殖はせず、種子繁殖する。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があるという報告はこれまでのところない。

③ トウモロコシは雌雄同株植物の一年生作物で、ほとんどは他家受粉によって作られた種子により繁殖するが、自家不和合性がないため自家受粉も可能である。トウモロコシの近縁種は *Tripsacum* 属と *Zea* 属に分類されるテオシントであるが、トウモロコシと自然交雑可能なのはテオシントのみで、*Tripsacum* 属との自然交雑は知られていない。テオシントはメキシコとグアテマラにのみ自然分布しており、一方、*Tripsacum* 属の分布地域は北アメリカ東南部、コロンビアからボリビアにかけてのアンデス東側の低地、そして、この属の中心地と考えられるメキシコ、グアテマラの3地域に大別されている。我が国では、テオシント及び *Tripsacum* 属の野生種は報告されていない。

④ トウモロコシは典型的な風媒花である。トウモロコシの一本の雄穂には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。花粉の寿命は盛夏のほ場条件下では24時間以内であるが、環境により2時間から8日までの幅がある。花粉は球形で、直径は90-100 μ mである。風媒による他家受粉が主であるが普通のほ場で1～5%の自家受粉が起きる。雄穂の開花によって飛散した花粉は、雌穂から抽出した絹糸に付着して発芽し、24時間以内に受精を完了する。また、トウモロコシ花粉が飛散する距離は、林、山などの遮蔽物の有無、風向きなどで異なるが、およそ300～500mとされている。

ハ 有害物質の産生性

トウモロコシにおいて、自然条件下で周囲の野生動植物等の生育または生息に影響を及ぼす有害物質の産生は報告されていない。

ニ その他の情報

これまで、運搬等においてこぼれ落ちたトウモロコシが畑以外で生育したという報告はない。

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

イ 構成及び構成要素の由来

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、「本組換えトウモロコシ」という)の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は、表1に示したとおりである。

ロ 構成要素の機能

本遺伝子組換えトウモロコシの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は表 1 に示した。

- ① グリホサートは、非選択的な除草剤であるラウンドアップの有効成分で、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸合成経路中の酵素の一つである 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) と特異的に結合してその活性を阻害する。そのため植物はグリホサートを処理すると EPSPS が阻害されることにより蛋白質合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり枯れてしまう。目的遺伝子である *cp4 epsps* 遺伝子は除草剤グリホサートに高い耐性を持つ CP4 EPSPS 蛋白質を発現する。*cp4 epsps* 遺伝子によって産生される CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサート存在下でも活性阻害を受けないため、結果として本蛋白質を発現する組換え植物ではシキミ酸合成が正常に機能して生育することができる。

尚、EPSPS は植物や微生物に特有の芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり、植物中では葉緑体または色素体に存在する。シキミ酸経路は植物の固定する炭素の 5 分の 1 に関与すると考えられる重要な代謝経路である。本経路は、その第一段階に関与する 3-デオキシ-D-アラビノ-ヘプトロソン酸-7-リン酸 (3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate, DAHP) 合成酵素によって調節を受けて制御されるが、DAHP からコリスミ酸が生成されるまでの段階では、中間代謝物質や最終生成物によって阻害されたり抑制される可能性が極めて低いことが明らかにされている。このことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを示唆しており、従って、EPSPS 活性が増大しても、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。実際に、通常の 40 倍の EPSPS を生成する植物細胞において、芳香族アミノ酸が過剰に合成されないことが報告されており、加えて、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤ラウンドアップ耐性作物(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物種子中のアミノ酸組成を調べて、芳香族アミノ酸含量に元の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。これらのことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを支持している。また、EPSPS はホスホエノールピルビン酸塩 (PEP) とシキミ酸-3-リン酸塩 (S3P) から、EPSP と無機リン酸塩 (Pi) を生じる可逆反応を触媒する酵素であり、これらの基質と特異的に反応することが知られている。これら以外に唯一 EPSPS と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸であるが、その反応性は S3P との反応性の 200 万分の 1 にすぎず、生体内で基質として反応するとは考えられない。

- ② CP4 EPSPS 蛋白質が、既知のアレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベースを用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有していなかった。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

本組換えトウモロコシの作出に用いられたベクターは、大腸菌 (*Escherichia coli*) 由来のプラスミド pUC 119 である。

ロ 特性

ベクター全塩基数は、9,307 bp である。大腸菌における構築ベクターの選抜マーカー遺伝子としてトランスポゾン Tn5 由来のカナマイシン/ネオマイシン耐性遺伝子 (*nptII* 遺伝子) を持つ。本ベクターの感染性は知られていない。

(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

本組換えトウモロコシの作出には、上記の *nptII* 遺伝子を持つ pUC119 由来のベクターを元に、二つの *cp4 epsps* 遺伝子カセット ([P-ract1]-[ract1 intron]-[CTP2]-[CP4 EPSPS]-[NOS 3']] 及び [e35S]-[Zm $hsp70$]-[CTP2]-[CP4 EPSPS]-[NOS3']]) を連結したプラスミド PV-ZMGT32 を構築し、植物細胞に遺伝子を導入する際には、この PV-ZMGT32 を制限酵素 *MluI* で処理し、*nptII* 遺伝子領域を含むプラスミド外骨格を除いた直鎖状 DNA 断片 (PV-ZMGT32L) を用いた。

表 1 導入に用いた PV-ZMGT32L の各構成要素・由来及び機能

構成要素	サイズ (Kpb)	由来及び機能
<i>cp4 epsps</i> 遺伝子カセット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。目的遺伝子を発現させる。
ract1 intron	0.5	イネ・アクチン遺伝子のイントロン。スプライシングの効率を高めることによって、目的遺伝子を発現させる。
CTP 2	0.2	シロイヌナズナの <i>epsps</i> 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。
<i>Cp4 epsps</i>	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。機能の詳細については p4-5 に記載した。
NOS 3'	0.3	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA 由来のノパリン合成酵素 (NOS) 遺伝子の 3' 非翻訳領域で、mRNA の転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する。
<i>cp4 epsps</i> 遺伝子カセット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。全組織中に恒常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	0.22	シロイヌナズナの <i>epsps</i> 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。
<i>Cp4 epsps</i>	1.36	<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。機能の詳細については p4-5 に記載した。
NOS 3'	0.26	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA 由来のノパリン合成酵素 (NOS) 遺伝子の 3' 非翻訳領域で、mRNA の転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

直鎖状 DNA 断片である PV-ZMGT32L をパーティクルガン法によって、デント種に分類されるトウモロコシ品種 AW×CW に導入した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

- ① PV-ZMGT32L を導入したカルスを、2, 4-D を含む組織培養培地上でしばらく生育させた後、グリホサートを含む培地で組換え体を選抜し、選抜されたカルスから再生個体を得て CP4 EPSPS 蛋白質の発現を解析した。
- ② 本組換えトウモロコシはパーティクルガン法によって DNA 断片を導入しているため、アグロバクテリウムの残存性の確認は行わなかった。
- ③ 1997 年より系統選抜の評価を開始し、1997～1999 年にかけて延べ 103 ヶ所の圃場試験を行って、最終的に優良系統を選抜した。これらの圃場試験において、本系統の形態及び生育特性などについて調査を行うとともに、CP4 EPSPS 蛋白質の発現及び挿入遺伝子の分析等を行った。それらの結果に基づいて、米国で必要な認可を受けて 2001 年から一般商業栽培が始められている。

わが国における認可状況は以下の通りである。

- | | |
|------------|---|
| 2001 年 3 月 | 厚生労働省より「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。 |
| 2001 年 3 月 | 農林水産省より「組換え体利用飼料の安全性評価指針 6 の(2)」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。 |
| 2001 年 5 月 | 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)及び栽培について、指針への適合性が確認された。 |
| 2002 年 3 月 | 食品、飼料、環境へ提出した挿入遺伝子に関する追加資料が、上記の安全性認可の判断を変えるものではないことの確認を受けた。 |
| 2003 年 3 月 | 農林水産省より「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。 |

(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

2002 年 3 月に安全性確認が既になされた挿入遺伝子に関する追加資料を含めた、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は以下の通りである。

サザンブロット分析による挿入遺伝子の解析の結果、本組換えトウモロコシのゲノムの 1 ヶ所に 1 コピーの挿入遺伝子が組み込まれていることが確認され、その 3' 末端近

傍にはP-ract1プロモーターの217bpの断片が挿入遺伝子の3'末端近傍に逆方向で存在していることが、サザンブロット分析及び3'末端の塩基配列を分析することにより明らかになった。また、挿入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代におけるサザンブロット分析によって示された。さらに、CP4 EPSPS 蛋白質の発現も、複数世代で安定して発現していることを選抜の過程でグリホサート散布試験により確認している。

なお、この挿入遺伝子の3'末端近傍のP-ract1プロモーターの217bpの断片に関連して、この領域で転写産物が作られているかを確認するため strand-specific RT-PCRを行ったところ、挿入遺伝子のP-ract1プロモーターまたはE35Sプロモーターのいずれかから始まってNOS 3'ターミネーターをリードスルーしていると考えられる転写産物が見つかった。しかし、本組換えトウモロコシにおけるCP4 EPSPS 蛋白質のポリクローナル抗体を用いたウエスタンブロット分析から検出されたのは約46kDaのCP4 EPSPS 蛋白質であり、これよりも大きな蛋白質は検出されなかった。ターミネーターのリードスルーは植物中では一般的に起こること、また、転写産物から翻訳されるのは停止コドンがあるため単一の蛋白質であることが報告されている。よって本組換えトウモロコシにおいてCP4 EPSPS 蛋白質のみが認められたのは、本組換えトウモロコシの挿入遺伝子でターミネーターをリードスルーする転写産物においても、転写終結シグナルの上流に停止コドンが保存されているためと考えられ、このリードスルーは安全性評価に影響を与えないと結論された。

また、本組換えトウモロコシの挿入遺伝子においてE35Sプロモーターで誘導される*cp4 epsps* 遺伝子中のコード領域の5'末端から456番目及び641番目の塩基がそれぞれ、植物発現用プラスミド中の塩基と比較してチミン(T)からシトシン(C)に変化していた。このうち、456番目の塩基の変化はアミノ酸の変化には結びつかないが、641番目の塩基の変化によりE35Sプロモーターによって発現するCP4 EPSPS 蛋白質においてN末端から214番目のアミノ酸が元のCP4 EPSPS 蛋白質ではロイシンだったのが、プロリンに変わることが判明した(この蛋白質を以下、L214Pという)。

L214Pに関して、①EPSPS 蛋白質ファミリーの活性に必須の7つのアミノ酸はL214Pにおいても保存されていてN末端から214番目のプロリンはこの7つのアミノ酸残基には含まれていないこと、②このアミノ酸の変化はEPSPS 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、③L214P 蛋白質とCP4 EPSPS 蛋白質の酵素活性や免疫反応性が同等であることより、L214P 蛋白質とCP4 EPSPS 蛋白質の構造と機能は同等であると考えられた。

L214Pが既知の接触アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベースを用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を共有していなかった。

この塩基の変化は複数の世代で確認されており、安定して後代に遺伝していることが認められた。

(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

挿入遺伝子及びその周辺の植物ゲノムの DNA 配列をプライマーとして用いることにより、本組換えトウモロコシを特異的に検出可能である。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ この *cp4 epsps* 遺伝子によってコードされる CP4 EPSPS 蛋白質が植物体の各部位で発現することによって本組換えトウモロコシには、除草剤グリホサートに対する耐性が付与される。実際に確認したところ、非組換えトウモロコシが除草剤グリホサートの影響を受けて枯死したのに対して、組換えトウモロコシは正常に生育した。

ロ 本組換えトウモロコシに属する系統である NK603-A 及び NK603-B、並びにその対照系統として Cont-A 及び Cont-B を供試して隔離ほ場試験を行った。NK603-A 及び NK603-B は、本組換えトウモロコシの初代 (R0) から異なる育種過程によって作出された F1 ハイブリッドである。対照系統である Cont-A 及び Cont-B は NK603-A 及び NK603-B と遺伝的な背景が同等となるように交配された非組換えトウモロコシの F1 ハイブリッドである。

① 形態及び生育の特性

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で、発芽揃い、発芽率、雄穂抽出期、絹糸抽出期、稈長、草姿または草型、分けつ数、着雌穂高、成熟期、雌穂数、収穫期の植物重の評価を行ったが、全ての項目で統計学的有意差は認められなかった。

② 生育初期における低温又は高温耐性

本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシの幼苗の低温感受性 (気温 4℃) を評価したが、いずれも低温遭遇後 14 日目にはほぼ完全に枯死し、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシの間で低温耐性に差異は認められなかった。

③ 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、冬季には通常自然に枯死する。再成長して栄養繁殖したり、種子を生産することはない。実際に隔離ほ場試験の試

験終了時には結実後の枯死が始まっている事を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おいて観察した。以上のことから、成体の越冬性試験は行わなかった。

④ 花粉の稔性及びサイズ

花粉の稔性と花粉の形態をヨウ素ヨウ化カリウム溶液で染色し、顕微鏡下で観察をしたが、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシの間に差異は認められなかった。

⑤ 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量としては、Sib-mating して収穫した雌穂の雌穂長、雌穂径、粒列数、1 列粒数、粒色、100 粒重、粒形を調査したが、100 粒重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で統計学的有意差は認められなかった。100 粒重において組換えトウモロコシ NK603-B と対照の非組換えトウモロコシ Cont-B の間で統計学的有意差が認められ、NK603-B の 100 粒重の平均値は 33.6g、Cont-B は 35.1g だった。一方、組換えトウモロコシ NK603-A と対照の非組換えトウモロコシ Cont-A の間で統計学的有意差は認められなかった。脱粒性については、組換え体とその対照の非組換え体は共に、収穫時雌穂は苞皮に覆われており、自然条件での脱粒性は観察されなかった。収穫種子の播種後 10 日目の発芽率において、組換え体と非組換え体との間で差はなく、種子の休眠性は認められなかった。

⑥ 交雑率

日本には交雑可能な近縁野生種は生育していないため、交雑率の試験は行わなかった。

⑦ 有害物質の産生性

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で、土壌微生物相試験、後作試験、鋤き込み試験を行ったが、全ての項目で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。

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

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) 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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

- (3) 国外における使用等に関する情報

米国において 1999 年に 17 カ所のほ場試験が行われ、形態及び生育特性、病虫害感受性、繁殖に関する特性、雑草化に関する特性について観察が行われているが、形態及び生育特性における 50%絹糸抽出積算日数及び着雌穂高を除くすべての評価項目において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。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

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 1579 年にわが国に導入されて以来、長期間の使用経験があり、これまでトウモロコシが自然環境下で自生した例は報告されていない。

競合における優位性に関わる諸形質(形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、発芽率、休眠性及び脱粒性を比較検討した。その結果、100 粒重を除く全ての項目で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。100 粒重において組換えトウモロコシ NK603-B と対照の非組換えトウモロコシ Cont-B の間で統計学的有意差が認められた。NK603-B の 100 粒重の平均値は 33.6g、Cont-B は 35.1g だった。一方、組換えトウモロコシ NK603-A と対照の非組換えトウモロコシ Cont-A の間で統計学的有意差は認められなかった。しかし、100 粒重以外の競合における優位性に関する諸形質で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で統計学的有意差は認められなかったことから、100 粒重の違いによって競合における優位性が高まるとは考えにくい。

本組換えトウモロコシは除草剤グリホサートに耐性を持つが、グリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下においてグリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。

以上のことから、競合における優位性に起因する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

—

(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

以上から、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。

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

トウモロコシは 1579 年にわが国に導入されて以来、長期間の使用経験があり、これまでにトウモロコシにおいて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は除草剤グリホサートに耐性を持つ CP4 EPSPS 蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、第一の 2-(1)-ロ-①に示したように、CP4 EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大しても、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。実際に、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤ラウンドアップ耐性作物(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物種子中のアミノ酸組成を調べて、芳香族アミノ酸含量に元の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。従って、CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、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と判断された。

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で、有害物質の産生性の有無を鋤き込み試験、後作試験、土壌微生物相試験により比較検討したが、差異は認められなかった。

以上のことから、有害物質の産生性につい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

以上から、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。

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

トウモロコシの近縁種は *Tripsacum* 属と *Zea* 属に分類されるテオシントであるが、トウモロコシと自然交雑可能なのはテオシントのみである。我が国では、テオシント及び *Tripsacum* 属の野生種は報告されておらず、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。

(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

以上から、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判断された。

4 その他

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本組換えトウモロコシの性質は、上記の他にはないと判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

宿主のトウモロコシは、わが国において長期間の使用経験がある。また、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる諸形質を比較検討したところ、100粒重を除くすべての項目で統計学的有意差は認められなかった。100粒重において統計学的有意差が認められたものの、それ以外の競合における優位性に関する諸形質で統計学的有意差は認められなかったことから、100粒重の違いのみで競合における優位性が高まるとは考えにくい。以上から、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。

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で有害物質産生性の有無を鋤き込み試験、後作試験、土壌微生物相試験により比較検討したが、差は認められなかった。以上から、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。

わが国ではトウモロコシの近縁種であるテオシント及び *Tripsacum* 属の野生種は報告されておらず、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判断された。

よって、総合的評価として、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生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

緊急措置計画書（食用・飼料用に供する栽培目的の場合）

平成16年4月6日

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根精一郎
住所 東京都中央区銀座4-10-10
銀座山王ビル8階

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(*cp4 epsps, Zea mays* (L.) Iltis) (NK603, OECD UI:MON-00603-6) (以下、「本組換えトウモロコシ」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への協力などを必要に応じて行う。さらに、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。尚、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とは、本組換えトウモロコシに関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

- 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は以下に示す通りである。
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
弊社は種子会社等から、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
生物多様性影響に関して必要に応じて生産農家や関連団体に情報提供を行い、厳密な使用方法の周知徹底等に努める。
- 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
具体的措置として、特定された問題に応じ、本組換えトウモロコシ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トウモロコシ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、必要な措置を実行する。
- 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制
生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省や環境省に報告する。

緊急措置計画書(栽培目的の場合)

平成16年4月6日

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根精一郎
住所 東京都中央区銀座4-10-10
銀座山王ビル8階

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(*cp4 epsps, Zea mays* (L.) Iltis) (NK603, OECD UI:MON-00603-6) (以下、「本組換えトウモロコシ」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への協力などを必要に応じて行う。さらに、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。尚、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とは、本組換えトウモロコシに関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

- 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は以下に示す通りである。
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
モンサント社はこれまでの種苗会社との関係を最大限活用し、各栽培国での第1種使用等の状況及び栽培者、更には日本への輸出の状況などの把握に可能な限り努める。
- 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
生物多様性影響に関して必要に応じて生産農家や関連団体に情報提供を行い、厳密な使用方法の周知徹底等に努める。
- 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
具体的措置として、特定された問題に応じ、本組換えトウモロコシ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トウモロコシ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、必要な措置を実行する。
- 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制
生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省や環境省に報告する。