

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*, *cry1Ab*, 改変 *cry3Aa2*, 改変 *cp4 epsps*, *Zea mays*
subsp. mays (L.) Iltis)
 (1507×MON810×MIR604×NK603, OECD UI:
 DAS-Ø15Ø7-1×MON-ØØ81Ø-6×SYN-IR6Ø4-5×MON-ØØ6Ø3-6)
 (*B.t. Cry1F* maize line 1507、MON810、MIR604 及び NK603 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書の概要	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	6
(1) 供与核酸に関する情報	6
(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	19
(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 ..	21
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	22
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	24
(1) 使用等の内容	24
(2) 使用等の方法	24
(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	24
(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	24
(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	24
(6) 国外における使用等に関する情報	25
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	26
1 競合における優位性	26
2 有害物質の産生性	27
3 交雑性	27
第三 生物多様性影響の総合的評価	28
参考文献	29
緊急措置計画書	32
資料一覧	34

第一種使用規程承認申請書

平成 25 年 5 月 1 日

農林水産大臣 林 芳正 殿
環境大臣 石原 伸晃 殿

氏名
デュボン株式会社
代表取締役社長 田中 能之

申請者

住所
東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

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>cry1Ab</i> , 改変 <i>cry3Aa2</i> , 改変 <i>cp4 epsps</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (1507×MON810×MIR604×NK603, OECD UI: DAS-Ø15Ø7-1×MON-ØØ81Ø-6×SYN-IR6Ø4-5×MON-ØØ6Ø3-6) (<i>B.t.</i> <i>Cry1F</i> maize line 1507、MON810、MIR604 及び NK603 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	

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

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

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.) Iltis

15

宿主の品種名又は系統名

本スタック系統トウモロコシの親系統の宿主は、いずれもイネ科 (*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。各親系統及びその作出に使った品種は以下のとおりである。

20

親 系 統	品 種
DAS-01507-1	Hi-II
MON-00810-6	A188×B73
SYN-IR604-5	NP2499/NP2500
MON-00603-6	AW×CW

国内及び国外の自然環境における自生地域

25

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)。また、トウモロコシの近縁種であるテオシントはメキシコ及びグアテマラに、同じくトウモロコシの近縁種である *Tripsacum* 属は米国、中米及び南米に自生している (OECD, 2003)。

我が国において、自然環境下でトウモロコシ、テオシント及び *Tripsacum* 属が自生している地域は知られていない。

30

(2) 使用等の歴史及び現状

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し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)。

トウモロコシの栽培には、我が国においても長い栽培の歴史がある。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、四国及び本州で栽培されるようになった。明治時代に北海道開拓使によって、デント種及びフリント種が米国より導入され、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）。

主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

栽培地域：

我が国における2012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9万2,600haで、主な栽培地域は北海道である（農林水産省, 2013）。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（FAO, 2013）。

栽培方法：

米国を代表とする大規模な機械化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、除草及び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：

コムギとともに世界三大穀物の一つとされている。2011年の世界総生産量は約8億8,350万トンであり、最大の生産国は米国で、世界総生産量の36%を占めている（FAO, 2013）。デント種が生産の主流である（戸澤, 2005）。

2012年に我が国は約1,490万トンを入力しており、その75%にあたる約1,110万トンは米国からである（財務省, 2013）。

用途：

子実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。スイート種は生食用又は缶詰用に利用される（菊池, 1987）。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

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(中村, 2001)。トウモロコシは栽培植物化されるようになった後、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、植物体は自然環境中では定着しない。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。また、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の条件が揃えば良く生育する(OECD, 2003)。

ハ 捕食性又は寄生性

ニ 繁殖又は増殖の様式

種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

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く、種子の散布には人間の仲介が必要である(OECD, 2003)。また、種子の休眠性は極めて低い(CFIA, 2013)。種子の寿命は、水分含量 12%、温度 10、相対湿度 55%以下の条件で 6~8 年である(中村, 2001)。

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。

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

典型的な風媒花で、他殖率は 95~99%である(千藤, 2001)。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* 属はトウモロコシと非常に希に交雑できるが、雑種は高い確率で生殖不能で、遺伝学的にも不安定である(OECD, 2003)。なお、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。

花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

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、好適条件下では更に長い

(CFIA, 2013)。花粉は球形で、直径は約 90~100 μm である (Pleasants *et al.*, 2001)。受粉は主に風媒によって行われる (OECD, 2003)。

5 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*)
10 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)。また、交雑を防止するために必要な
隔離距離は、周囲の林や高層建築物等の遮蔽物の有無によって異なり、200~400m
とされている (千藤, 2001)。

15 ホ 病原性

ヘ 有害物質の産生性

20 トウモロコシにおいて、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
25

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

5 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*, *cry1Ab*, 改変 *cry3Aa2*, 改変 *cp4 epsps*,
 Zea mays subsp. *mays* (L.) Iltis) (1507×MON810×MIR604×NK603, OECD UI:
 DAS-Ø15Ø7-1×MON-ØØ81Ø-6×SYN-IR6Ø4-5×MON-ØØ6Ø3-6) (以下「本スタ
10 ック系統トウモロコシ」という。)は、下記の4系統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作出した品種である。

 本スタック系統トウモロコシは、一代雑種品種(F1)として商品化されるため、
 収穫される子実には、遺伝的分離により本スタック系統トウモロコシの親系統それ
 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。

- 15
- (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(改変 *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) チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ(*cry1Ab*, *Zea mays* L.)(MON810, OECD
20 UI : MON-ØØ81Ø-6) (以下「MON-00810-6」という。)
 - (c) 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-IR6Ø4-5) (以下「SYN-IR604-5」とい
う。)
 - (d) 除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(改変 *cp4 epsps*, *Zea mays* subsp.
25 *mays* (L.) Iltis)(NK603, OECD UI : MON-ØØ6Ø3-6)(以下「MON-00603-6」
という。)

 本スタック系統トウモロコシの親系統である DAS-01507-1 は、米国ダウ・アグ
 ロサイエンス社と米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社が共同開
30 発したものであり、MON-00810-6 及び MON-00603-6 は米国モンサント社、
 SYN-IR604-5 は、スイスのシンジェンタ社が開発したものである。

 以下では、本スタック系統トウモロコシの作出に用いた各親系統の調製等に関す
 る情報について、各親系統の生物多様性影響評価書の概要¹⁾に基づき記載した。

35

¹⁾参照 URL :

【DAS-01507-1】 https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=138&ref_no=1

【MON-00810-6】 https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=6&ref_no=1

【SYN-IR604-5】 https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=938&ref_no=1

【MON-00603-6】 https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=88&ref_no=1

各親系統には、以下の遺伝子が導入されている。

- 5 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
- MON-00810-6 : チョウ目害虫抵抗性を付与するための *cry1Ab* 遺伝子
- 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
- 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

10

イ 構成及び構成要素の由来

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 4(8～11 ページ) に示した。

15

ロ 構成要素の機能

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

20

供与核酸の各構成要素の機能を表 1～表 4(8～11 ページ) に示した。

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

構成要素	サイズ (kbp)	由来 及び 機能
改変 <i>cry1F</i> 遺伝子発現カセット		
UBIZM1(2) Promoter	1.98	<i>Zea mays</i> 由来のコピ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</i> var. <i>aizawai</i> 由来の改変Cry1F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、最適化されている。
ORF25PolyA Terminator	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> 遺伝子発現カセット		
CAMV35S Promoter	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、最適化されている。
CAMV35S Terminator	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。

表 2 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

構成要素	由来及び機能
<i>cry1Ab</i> 遺伝子カセット (挿入遺伝子の解析の結果、MON-00810-6 中には NOS 3' は含まれていなかった。)	
E35S	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。
hsp70 イントロン	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。
<i>cry1Ab</i>	土壌中に存在する <i>Bacillus 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'	<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。
改変 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子カセット (挿入遺伝子の解析の結果、MON-00810-6 中には挿入されていなかった。)	
E35S	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。
hsp70 イントロン	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。
CTP2	<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 <i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> 由来の、5-エノールピルピルシキミ酸-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。
NOS 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>gox</i> 遺伝子カセット (挿入遺伝子の解析の結果、MON-00810-6 中には挿入されていなかった。)	
E35S	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。
hsp70 イントロン	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。
CTP1	<i>A. thaliana</i> 由来の <i>rubisco</i> 遺伝子の small subunit 1A 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。
<i>gox</i>	<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'	<i>Agrobacterium 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 のポリアデニル化シグナルを含む。
外骨格 (PV-ZMBK07 及び PV-ZMGT10 に共通) (挿入遺伝子の解析の結果、MON-00810-6 中には挿入されていなかった。)	
<i>lacZ</i>	β -D-ガラクトシダーゼ又は LacZ 蛋白質の部分的コード配列。基質の Xgal が β -D-ガラクトシダーゼによって分解されることにより青色を呈し、大腸菌でのクローニング時の選抜マーカーとして利用される。
<i>ori-pUC</i>	大腸菌プラスミド pUC の複製開始領域を含むセグメント。プラスミドの複製を開始する。
<i>nptII</i>	原核生物のトランスポゾン Tn5 より分離された遺伝子で、ネオマイシンフォスフォトランスフェラーゼ II をコードする。この遺伝子が微生物内で発現されるとカナマイシン耐性が付与され、形質転換の選択マーカーとして働く。

本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

表 3 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

遺伝要素	サイズ (Kbp)	由来及び機能
害虫抵抗性遺伝子カセット		
<i>MTL</i> プロモーター	2.56	このプロモーターはトウモロコシの <i>metallothionein</i> 遺伝子に由来している。Corn Rootwormはトウモロコシの根を食害するため、 <i>MTL</i> プロモーターを使って根で目的遺伝子の転写 (mRNA合成) の開始を規定する。
改変 <i>cry3Aa2</i> 遺伝子	1.80	この遺伝子は、孢子を形成する一般的なグラム陽性土壌微生物である <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>tenebrionis</i> 由来の <i>cry3Aa2</i> 遺伝子を、遺伝子の発現を高めるように改変した。この遺伝子が産生する改変 <i>Cry3Aa2</i> 蛋白質はコウチュウ目昆虫に殺虫活性を持つ。
<i>Nos</i> ターミネーター	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ターミネーター及び mRNAのポリアデニル化シグナルを含む。機能は mRNAの転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導することである。
選抜マーカー遺伝子カセット		
<i>ZmUbiInt</i> プロモーター	1.99	このプロモーターはトウモロコシの <i>polyubiquitin</i> 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 (mRNA合成) の開始を規定する。
<i>pmi</i> 遺伝子	1.18	この遺伝子はPMI 蛋白質 (Phosphomannose isomerase) をコードする <i>E.coli</i> 由来の遺伝子で、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。
<i>Nos</i> ターミネーター	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ターミネーター及び mRNAのポリアデニル化シグナルを含む。機能は mRNAの転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導することである。

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

構成要素	サイズ (Kbp)	由来及び機能
改変 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子カセット		
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。
CTP2	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。
改変 <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。
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。
改変 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子カセット		
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	0.23	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。
改変 <i>cp4 epsps</i>	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。
NOS 3'	0.25	<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。

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 DAS-01507-1 に産生される改変 Cry1F 蛋白質、MON-00810-6 に産生される Cry1Ab 蛋白質及び SYN-IR604-5 に産生される改変 Cry3Aa2 蛋白質は、いずれも *Bacillus thuringiensis* 由来の殺虫性結晶蛋白質(以下「Bt 蛋白質」という。)である。Bt 蛋白質は、一般に害虫の中腸細胞で特異的な受容体に結合して細胞に小孔を形成し、標的昆虫の中腸細胞を破壊することにより殺虫活性を示す(OECD, 2007)。

15

改変 Cry1F 蛋白質：

20 改変 Cry1F 蛋白質は、*B. thuringiensis* var. *aizawai* 由来の δ -エンドトキシンである。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*) 等のチョウ目昆虫に殺虫活性を有し、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、鳥類及び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, 2010)。

25

Cry1Ab 蛋白質：

25 Cry1Ab 蛋白質は、*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* 由来の δ -エンドトキシンである。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 (South western corn borer、*Diatraea grandiosella*)、サザンコーンストークボラー (Southern cornstalk borer、*Diatraea crambidoides*)、コーンイヤールーム(Corn earworm、*Helicoverpa zea*)、フォールアーミーワーム、ストークボラー (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、アミメカゲロウ目及びトビムシ目等の昆虫、並びに哺乳類、鳥類及び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, 2010)。

30

改変 Cry3Aa2 蛋白質：

35 改変 Cry3Aa2 蛋白質は、*B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* 由来の δ -エンドトキシンである。ウエスタンコーンルートワーム (Western corn rootworm、*Diabrotica virgifera virgifera*)、ノーザンコーンルートワーム (Northern corn rootworm、*Diabrotica longicornis barberi*)、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*) 等のコウチュウ目昆虫に殺虫活性を有し、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、鳥類及び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, 2006)。

40

【除草剤耐性蛋白質】

PAT 蛋白質：

5 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の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。DAS-01507-1 に産生される 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)。

10 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-エノールピルピルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (酵素番号：E.C.2.5.1.19、以下「EPSPS 蛋白質」という。) 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。MON-00603-6 に産生される改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサート存在下でも酵素活性を有し、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】

20 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。SYN-IR604-5 に産生される 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

データベースを用いて、改変 Cry1F 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 蛋白質と既知アレルギーとのアミノ酸配列相同性を検索した²⁾。その結果、これら蛋白質と既知アレルギーとの間に相同性はないことが確認された。

35 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：

改変 Cry1F 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Cry3Aa2 蛋白質は、いずれも *B. thuringiensis* 由来の Bt 蛋白質である。Bt 蛋白質の機能についてはこれまでに多くの研究がなされており、標的昆虫の中腸細胞に小孔を形成し、破壊することによ

²⁾ 改変 Cry1F 蛋白質、改変 Cry3Aa2 蛋白質、PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質：データベース FARRP 12.0、2012 年 3 月検索。

Cry1Ab 蛋白質：データベース NCBI Release 181.0、2012 年 10 月検索。

改変 CP4 EPSPS 蛋白質：データベース AD_2012、TOX_2012 及び PRT_2012、2012 年 1 月検索。

り殺虫活性を示すと考えられているが (OECD, 2007)、酵素活性を有するとの報告はない。

PAT 蛋白質 :

5 PAT 蛋白質は、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し、N-アセチル-L-グルホシネートを生じる。しかし、本蛋白質は L-グルホシネートの鏡像異性体である D-グルホシネート、L-グルホシネートと特に構造の類似した L-グルタミン酸及び他の L-アミノ酸を基質としない。また、
10 過剰の各種アミノ酸の存在下でも本蛋白質による L-グルホシネートのアセチル化反応は阻害されない。以上のことから、PAT 蛋白質は L-グルホシネートに対して高い基質特異性を有すると考えられている (OECD, 1999)。

15 なお、N-アセチル-L-グルホシネートの動物に対する毒性はグルホシネートより低いことが確認されている (食品安全委員会, 2012)。さらに、N-アセチル-L-グルホシネートは農薬取締法の下、グルホシネートの分析対象化合物の一つとして含まれており、トウモロコシにおけるグルホシネートとしての残留基準値が定められ、既に安全性は評価されている (日本食品化学研究振興財団, 2013)。

改変 CP4 EPSPS 蛋白質 :

20 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 蛋白質の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。実際、除草剤グリホサート耐性遺伝子組換え作物 (ナタネ、ワタ、ダイズ及びトウモロコシ) 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 (CFIA, 1995; Nida *et al.*, 1996; Padgett *et al.*, 1996; Ridley
25 *et al.*, 2002)。

30 また、EPSPS 蛋白質は、基質であるホスホエノールピルビン酸塩 (以下「PEP」という。) 及びシキミ酸-3-リン酸塩 (以下「S3P」という。) と特異的に反応する。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 (Gruys *et al.*, 1992)。

PMI 蛋白質 :

35 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)。

40 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。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

5 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 : *E. coli* プラスミド pUC19 から構築されたプラスミド PHP8999。

10 MON-00810-6 : *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。

SYN-IR604-5 : *E. coli* プラスミド pUC19 から構築されたプラスミド pZM26。

MON-00603-6 : *E. coli* プラスミド pUC119 から構築されたプラスミド PV-ZMGT32。

15

ロ 特性

ベクターの塩基数及び塩基配列

20 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 : 9,504 bp (PHP8999)

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

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

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

特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

30 ベクター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)

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

35 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/スペクチノマイシン耐性遺伝子 (*spec* 遺伝子)

MON-00603-6 : 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

40 カナマイシン/ネオマイシン耐性遺伝子 (*nptII* 遺伝子)

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

これらベクターに感染性はない。

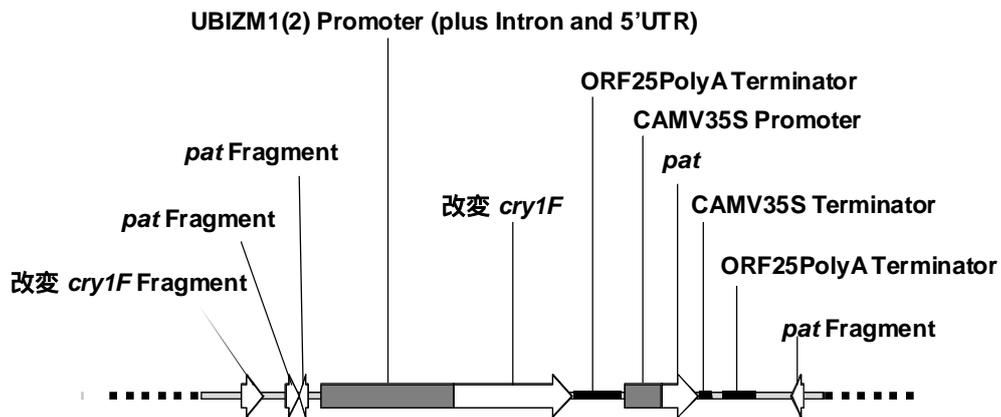
5

(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

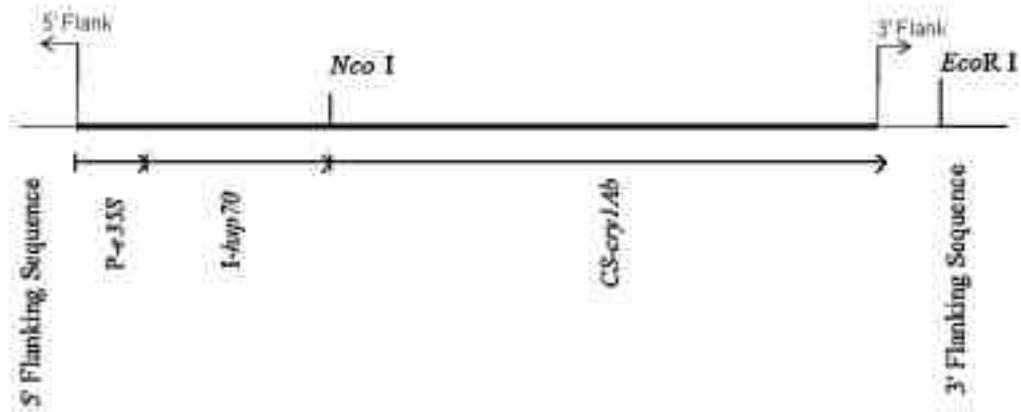
10

親系統 DAS-01507-1、MON-00810-6、SYN-IR604-5 及び MON-00603-6 に移入された核酸全体の構成を、図 1～図 4 (16～17 ページ) に示した。



点線はトウモロコシの染色体 DNA を示す。

図 1 DAS-01507-1 に移入された核酸全体の構成



MON-00810-6 に移入された *cry1Ab* 遺伝子カセットに NOS 3'は含まれていなかった。

図 2 MON-00810-6 に移入された核酸全体の構成³⁾

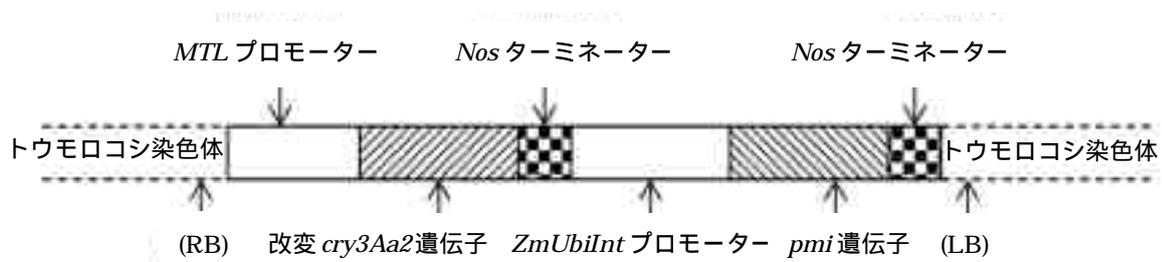


図 3 SYN-IR604-5 に移入された核酸全体の構成

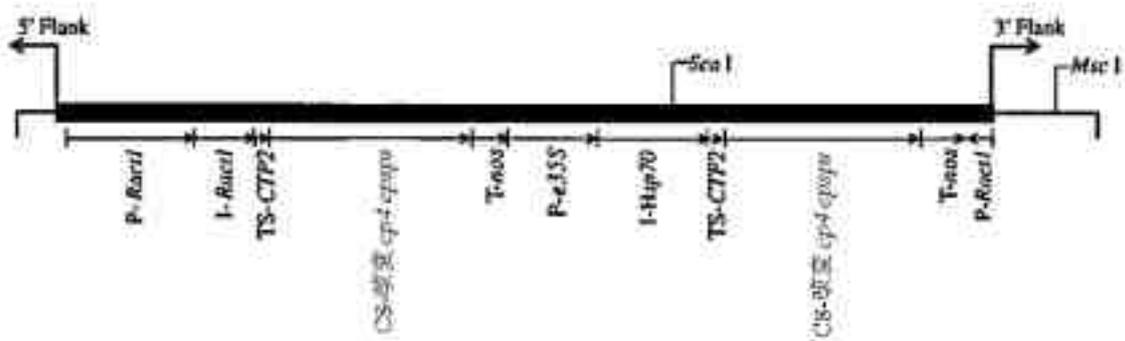


図 4 MON-00603-6 に移入された核酸全体の構成³⁾

³⁾ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

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、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 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 : 除草剤グルホシネート
MON-00810-6 : 除草剤グリホサート
SYN-IR604-5 : マンノース
MON-00603-6 : 除草剤グリホサート

20 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

25 アグロバクテリウム法を用いて作出した SYN-IR604-5 については、マンノース
培地に抗生物質セフトキシムを添加し、アグロバクテリウムを除去した。確認の
ため、再分化した植物体について PCR を行ったが、プラスミドの外側骨格領域に
含まれる抗生物質耐性マーカー遺伝子 (*spec* 遺伝子) は検出されなかったことか
ら、菌体の残存はないと考えられる。

30 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 本スタック系統トウモロコシは、交雑育種法により DAS-01507-1、
MON-00810-6、SYN-IR604-5 及び MON-00603-6 を交配して作出された。その経
過を図 5 (19 ページ) 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 5 (19 ページ) のとおりである。

(社外秘情報につき非開示)

図 5 本スタック系統トウモロコシの育成例

表 5 我が国における親系統及び本スタック系統トウモロコシの承認状況

系 統	食 品 ¹⁾	飼 料 ²⁾	環 境 ³⁾
DAS-01507-1	2002年 7月 8日	2003年 3月 27日	2005年 3月 2日
MON-00810-6	2001年 3月 30日	2003年 3月 27日	2004年 6月 1日
SYN-IR604-5	2007年 8月 17日	2007年 8月 22日	2007年 8月 23日
MON-00603-6	2001年 3月 30日	2003年 3月 27日	2004年 11月 22日
本スタック系統	2012年 4月 25日	2012年 3月 21日	2013年申請

1)食品衛生法(昭和22年法律第233号)

2)飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律(昭和28年法律第35号)

3)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(平成15年法律第97号)

5

(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

移入された核酸の複製物が存在する場所

10

DAS-01507-1、MON-00810-6、SYN-IR604-5 及び MON-00603-6 の形質はメンデルの分離法則に矛盾することなく伝達され、移入された核酸の複製物は、トウモロコシ染色体上に存在することが確認されている。

15

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

各親系統における導入遺伝子のコピー数及び伝達の安定性について、サザンブロット分析が行われている。

20

DAS-01507-1 :

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染色体に挿入され、後代に安定して伝達されることが確認されている。

5 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。しかしながら、ノーザンブロット分析により、これらの遺伝子断片は mRNA へ転写されておらず、機能していないことが確認されている。

MON-00810-6 :

10 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染色体に挿入され、後代に安定して伝達されることが確認されている。

15 なお、トウモロコシの染色体中に挿入されたのは PV-ZMBK07 由来の Cry1Ab 蛋白質の産生に必要な領域だけで、*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ている。

SYN-IR604-5 :

20 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染色体に挿入され、後代に安定して伝達されることが確認されている。

MON-00603-6 :

25 1 コピーの PV-ZMGT32 由来の DNA 断片 (2 つの改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットを含む) がトウモロコシ染色体に挿入され、後代に安定して伝達されることが確認されている。

30 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ェスタ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、変化したアミノ酸残基は EPSPS 蛋白質ファミリーの活性に必須なアミノ酸残基ではないと考えられること、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。

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

(6)の 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

5 本スタック系統トウモロコシの各親系統に付与された特性の発現安定性は、以下の方法で確認されている。

DAS-01507-1 : 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、ELISA 法による蛋白質の産生の確認
MON-00810-6 : チョウ目害虫抵抗性の生物検定
10 SYN-IR604-5 : コウチュウ目害虫抵抗性の生物検定、ELISA 法による蛋白質の産生の確認
MON-00603-6 : 除草剤グリホサート散布試験

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

20

(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：

25 European Commission ウェブサイトに公開されている各親系統(DAS-01507-1、MON-00810-6、SYN-IR604-5 及び MON-00603-6) のリアルタイム定量 PCR 法による系統特異的検出方法 (Joint Research Centre, 2012)

感度：

30 DAS-01507-1、MON-00810-6、SYN-IR604-5 及び MON-00603-6 の系統特異的検出方法の定量限界は、それぞれ 0.08、0.1、0.09 及び 0.1%であることが確認されている。

信頼性：

35 DAS-01507-1、MON-00810-6、SYN-IR604-5 及び MON-00603-6 の系統特異的検出方法の信頼性は、European Network of GMO Laboratories 加盟のそれぞれ 14、14、14 及び 12 カ所の試験機関の共同試験により確認されている。

本スタック系統トウモロコシの検出及び識別は、1 つの種子又は植物体を上述の方法で分析することによって行う。

40

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

5

本スタック系統トウモロコシには各親系統に由来する以下の特性が付与されている。

- 10
- DAS-01507-1 : 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
 - MON-00810-6 : *cry1Ab* 遺伝子によるチョウ目害虫抵抗性
 - SYN-IR604-5 : 改変 *cry3Aa2* 遺伝子によるコウチュウ目害虫抵抗性
 - MON-00603-6 : 改変 *cp4 epsps* 遺伝子による除草剤グリホサート耐性

15 なお、SYN-IR604-5 には選抜マーカーとして *pmi* 遺伝子が導入されている。

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、害虫抵抗性蛋白質間及び除草剤耐性蛋白質間の各観点から考察した。

20 害虫抵抗性蛋白質間での機能的な相互作用

改変 *Cry1F* 蛋白質及び *Cry1Ab* 蛋白質はチョウ目害虫に、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).口. 、12 ページ）。

各親系統に産生されるこれら害虫抵抗性蛋白質は、標的害虫に対して特異的に作用し、独立して殺虫効果を示すと考えられる。また、本スタック系統トウモロコシに産生されるこれら害虫抵抗性蛋白質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く、標的害虫に対する効果に変化はないと考えられる。このことから、本スタック系統トウモロコシにおいて、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にくい。

30

除草剤耐性蛋白質間での機能的な相互作用

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。PAT 蛋白質の基質は L-グルホシネート、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の基質は PEP 及び S3P であり、各蛋白質の基質は異なる。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).口. 、13 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。

35

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

40 害虫抵抗性蛋白質と除草剤耐性蛋白質の作用機作は独立しており、相互に影響を及ぼすことは考え難い。

その他の蛋白質との機能的な相互作用

SYN-IR604-5 の選抜マーカーである PMI 蛋白質は、酵素活性を有するが、基質であるマンノース-6-リン酸及びフルクトース-6-リン酸と特異的に反応する(第一. 2. (1).口. 、13 ページ)。また、上述の害虫抵抗性蛋白質及び除草剤耐性蛋白質と PMI 蛋白質の作用機作は独立していることから、相互に影響を及ぼすことは考え難い。

以上のことから、各親系統由来の蛋白質間で相互作用を示すことは考え難く、導入した遺伝子によって各親系統に新たに付与された性質は、本スタック系統トウモロコシにおいても変化していないと結論された。

したがって、本スタック系統トウモロコシと宿主の属する分類学上の種との間の生理学的又は生態学的特性の相違については、各親系統における評価結果に基づき評価した。

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

各親系統の生物多様性影響評価は終了しており、下記 a~g の生理学的又は生態学的特性の観点から評価した結果、各親系統はいずれも宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシの範囲にあると判断されている⁴⁾。

- a. 形態及び生育の特性
- b. 生育初期における低温耐性
- c. 成体の越冬性
- d. 花粉の稔性及びサイズ
- e. 種子の生産性、脱粒性、休眠性及び発芽率
- f. 交雑性
- g. 有害物質の産生性

⁴⁾ 各親系統の生物多様性影響評価の参照先は、本概要書 6 ページの脚注に記載した。

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

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

DAS-01507-1、MON-00810-6、SYN-IR604-5 及び MON-00603-6 の国外における承認状況は、表 6 (25 ページ) のとおりである。

5

表 6 国外における親系統及び本スタック系統トウモロコシの承認状況

(平成 25 年 6 月現在)

申請国	申請先	目的	承認年				本スタック系統
			DAS-01507-1	MON-00810-6	SYN-IR604-5	MON-00603-6	
米 国	米国農務省 (USDA)	無規制栽培	2001	1996	2007	2000	- 1)
	米国食品医薬品庁 (FDA)	食品、飼料	2001 ²⁾	1996 ²⁾	2007 ²⁾	2000 ²⁾	2013 届出済
	米国環境保護庁 (EPA)	環境	2001	1995	2007	2000	2012 申請済
カナダ	カナダ食品検査庁 (CFIA)	環境、飼料	2002	1997	2007	2001	2012 届出済
	カナダ保健省 (HC)	食品	2002	1997	2007	2001	- 1)
E U	欧州食品安全機関 (EFSA)	食品、飼料 (輸入)	2006	1998	2009	2004	2016 申請予定
オーストラリア・ニュージーランド	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	2000	2006	2002	2013 届出予定
韓国	韓国食品医薬品庁 (KFDA)	食品 (輸入)	2002	2002	2007	2002	2013 申請予定
	韓国農村振興庁 (RDA)	飼料 (輸入)	2004	2004	2008	2004	2013 申請予定

1) 承認済み系統から作出されたスタック系統については、新たな承認及び届出を必要としない。

2) 確認終了年。

10

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

本スタック系統トウモロコシは、交雑育種法により DAS-01507-1、MON-00810-6、SYN-IR604-5 及び MON-00603-6 を交配して作出された。

5 親系統に産生される各 Bt 蛋白質（改変 Cry1F 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Cry3Aa2 蛋白質）と比較し、本スタック系統トウモロコシに産生されるこれら Bt 蛋白質の殺虫効果の特異性に関与する領域に変化が生じているとは考え難く、標的害虫に対する効果に変化はないと考えられる。加えて、各 Bt 蛋白質は互いに独立して機能することから相互作用が生じることも考え難い。また、Bt 蛋白質には酵素活性がないため、宿主の代謝系に影響を及ぼすことは考え難い。

10 本スタック系統トウモロコシに産生される 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、関連する代謝経路も互いに独立していることから、宿主の代謝系に影響を及ぼしたり、予期しない代謝物が生じることは考え難い。

15 害虫抵抗性蛋白質（改変 Cry1F 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Cry3Aa2 蛋白質）、除草剤耐性蛋白質（PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質）及び選抜マーカーである PMI 蛋白質は作用機作が独立しており、相互に影響を及ぼすことは考え難い。

20 以上のことから、本スタック系統トウモロコシについては、親系統が有する形質を併せ持つこと以外に形質の変化はないと考えられる。

したがって、本スタック系統トウモロコシの生物多様性影響の評価は各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。以下の「1 競合における優位性」、「2 有害物質の産生性」、「3 交雑性」の各項目について、資料 1~4 のとおり、各親系統において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結論されている。このため、本スタック系統トウモロコシにより、競合における優位性、有害物質の産生性及び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 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

(2) 影響の具体的内容の評価

35

(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

40

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

5 (2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

10 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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

15 (2) 影響の具体的内容の評価

(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

第三 生物多様性影響の総合的評価

5 親系統に産生される各 Bt 蛋白質（改変 Cry1F 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Cry3Aa2 蛋白質）と比較し、本スタック系統トウモロコシに産生されるこれら Bt 蛋白質の殺虫効果の特異性に関与する領域に変化が生じているとは考え難く、標的害虫に対する効果に変化はないと考えられる。加えて、各 Bt 蛋白質は互いに独立して機能することから相互作用が生じることも考え難い。また、Bt 蛋白質には酵素活性がないため、宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられる。

10 本スタック系統トウモロコシに産生される 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、関連する代謝経路も互いに独立していることから、宿主の代謝系に影響を及ぼしたり、予期しない代謝物が生じることは考え難い。

15 害虫抵抗性蛋白質（改変 Cry1F 蛋白質、Cry1Ab 蛋白質及び改変 Cry3Aa2 蛋白質）、除草剤耐性蛋白質（PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質）及び選抜マーカーである PMI 蛋白質は作用機作が独立しており、相互に影響を及ぼすことは考え難い。

以上のことから、本スタック系統トウモロコシについては、親系統が有する形質を併せ持つこと以外に形質の変化はないと考えられる。

20 したがって、各親系統の諸形質を個別に調査した結果に基づいて、本スタック系統トウモロコシの生物多様性影響の評価を実施した結果、本スタック系統トウモロコシ及び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のスタック系統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、我が国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと総合的に判断した。

25

参考文献

- CFIA. (2013). The biology of *Zea mays* (L.). Canadian Food Inspection Agency.
(<http://www.inspection.gc.ca/plants/plants-with-novel-traits/applicants/directive-94-08/biology-documents/zea-mays-l-/eng/1330985739405/1330985818367>).
5
Accessed on February 20th, 2013.
- CFIA. (1995). Determination of environmental safety of Monsanto Canada Inc.'s
10 Roundup® herbicide-tolerant *Brassica napus* canola line GT73.
Canadian Food Inspection Agency.
(<http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dd/dd9502e.shtml>)
Accessed on January 9th, 2013.
- 15 EPA. (2010). Biopesticide registration action document. Cry1Ab and Cry1F
Bacillus thuringiensis (Bt) corn plant-incorporated protectants.
United States Environmental Protection Agency.
(<http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/pips/cry1f-cry1ab-brad.pdf>).
Accessed on January 9th, 2013.
- 20
- FAO. (2013). FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
(<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>).
Accessed on February 25th, 2013.
- 25 Freeze, H. H. (2002). "Phosphomannose isomerase". Handbook of glycosyltrans-
ferases and related genes. Edition 1. Taniguchi, N., Honke, K. and Fukuda,
M., Eds. Springer-Verlag, Tokyo and New York, pp. 595-599.
- Gruys, K.J., Walker, M.C., and Sikorski, J.A. (1992). Substrate synergism and the
30 steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from
Escherichia coli. *Biochemistry*. 31: 5534-5544.
- Hansen-Jesse, L.C., and Obrycki, J.J. (2000). Field deposition of Bt transgenic
corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia*. 125: 241-248.
- 35
- Joint Research Centre. (2012).
Quantitative PCR method for detection of maize event TC1507.
Quantitative PCR method for detection of maize event MON810.
Quantitative PCR method for detection of maize event MIR604.
40 Quantitative PCR method for detection of maize event NK603.
(http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/query.do?db=gmometh&query=id%3AQT-eve-zm*).
Accessed on December 4th, 2012.

- 5 Nida, D.L., Patzer, S., Harvey, P., Stipanovic, R., Wood, R. and Fuchs, R.L. (1996).
Glyphosate-tolerant cotton: the composition of the cottonseed is equivalent
to that of conventional cottonseed. *Journal of Agriculture and Food
Chemistry*. 44: 1967-1974.
- 10 OECD. (1999). Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology,
no. 11. Consensus document on general information concerning the genes
and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide.
ENV/JM/MONO(99)13.
Organization for Economic Co-operation and Development.
(<http://www.oecd.org/science/biotrack/46815618.pdf>).
Accessed on January 9th, 2013.
- 15 OECD. (2002). Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology,
no. 25. Module II: Phosphinothricin. ENV/JM/MONO(2002)14.
Organization for Economic Co-operation and Development.
(<http://www.oecd.org/science/biotrack/46815748.pdf>).
Accessed on January 9th, 2013.
- 20 OECD. (2003). Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology,
no. 27. Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize).
ENV/JM/MONO(2003)11.
Organization for Economic Co-operation and Development.
(<http://www.oecd.org/science/biotrack/46815758.pdf>).
25 Accessed on January 9th, 2013.
- 30 OECD. (2007). Series on harmonisation of regulatory oversight in biotechnology
no. 42. Consensus document on safety information on transgenic plants
expressing *Bacillus thuringiensis* -derived insect control protein.
ENV/JM/MONO(2007)14.
Organization for Economic Co-operation and Development.
(<http://www.oecd.org/science/biotrack/46815888.pdf>).
Accessed on January 9th, 2013.
- 35 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. *The Journal of
Nutrition*. 126(3): 702-716.
- 40 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. *Proceedings of the National
Academy of Sciences of the United States of America*. 98: 11919-11924.

- 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.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(25): 7235-7243.
- 5
- Shirai, Y. and Takahashi, M. (2005). Effects of transgenic Bt corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudozizeeria maha*. *Applied Entomology and Zoology*. 40(1): 151-159.
- 10
- 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 December 3rd, 2012.
- 15
- 菊池一徳. (1987). トウモロコシの生産と利用. 光琳. 東京. pp.16-17, 55, 59, 66-68.
- 財務省. (2013). 財務省貿易統計. (<http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>). Accessed on February 25th, 2013.
- 20
- 食品安全委員会. (2012). 農薬評価書 グルホシネート. (<http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20111118277>). Accessed on March 26th, 2013.
- 25
- 千藤茂行. (2001). “トウモロコシ トウモロコシの品種生態 IV 採種 3. 採種栽培の実際”. 転作全書第三巻 雑穀. 農文協編. 農山漁村文化協会. 東京. pp.98-99.
- 戸澤英男. (2005). トウモロコシ - 歴史・文化、特性・栽培、加工・利用 -. 農山漁村文化協会. 東京. pp. 58-59, 88, 127-130.
- 30
- 中村茂文. (2001). “トウモロコシ 生育のステージと生理, 生態 I 種子と発芽 2. 発芽”. 転作全書第三巻 雑穀. 農文協編. 農山漁村文化協会. 東京. pp.42-43.
- 35
- 日本食品化学研究振興財団. (2013). 農薬等の基準値 品目名：グルホシネート. (http://m5.ws001.squarestart.ne.jp/zaidan/agrdtl.php?a_inq=18900) Accessed on April 17th, 2013.
- 農林水産省. (2013). 平成 24 年産飼肥料作物の作付（栽培）面積. (<http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/menseki/index.html>). Accessed on February 4th, 2013.
- 40

緊急措置計画書

平成 25 年 5 月 1 日

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

10

15

20

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*, *cry1Ab*, 改変 *cry3Aa2*, 改変 *cp4 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (1507×MON810×MIR604×NK603, OECD UI: DAS-Ø15Ø7-1×MON-ØØ81Ø-6×SYN-IR6Ø4-5×MON-ØØ6Ø3-6) (以下「本スタック系統トウモロコシ」という。)及び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トウモロコシから分離した後代のスタック系統トウモロコシの第一種使用等において、今後、生物多様性影響が生ずるおそれがあると科学的に認められた場合、当該影響を効果的に防止するため、以下の措置をとることとする。

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

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(32ページ)。危機対策本部が、本スタック系統トウモロコシの開発者である米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社との円滑な連絡を確保する。

30

デュポン株式会社危機対策本部 名簿(平成 25 年 5 月現在)

(個人名・所属は個人情報につき非開示)

35

2 第一種使用等の状況の把握の方法

40

弊社は、本スタック系統トウモロコシの開発者である米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社と連絡を取り、第一種使用等の状況について情報収集を行う。

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

5 米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社は、米国における本スタック系統トウモロコシ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、本スタック系統トウモロコシ及び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トウモロコシから分離した後代のスタック系統トウモロコシが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的に認められた場合、米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社は、
10 本連絡体制により、関係各者と連絡を取る。

また必要に応じて、弊社のホームページ等、国内の適切な媒体を通して一般に広く知らせる。
15

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

20 本スタック系統トウモロコシ及び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トウモロコシから分離した後代のスタック系統トウモロコシが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的に認められた場合、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、我が国向けに輸出している穀物取扱い業者、種子取扱い業者及び我が国の栽培者等に対して本件を連絡する等の適切な措置を講ずる。
25

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

30 本スタック系統トウモロコシ及び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トウモロコシから分離した後代のスタック系統トウモロコシが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的に認められた場合、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。
35

資料一覧

- 5 資料 1 学識経験者の意見. 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).
【総合検討会における検討日 : 2004 年 10 月 7 日】
- 10 資料 2 学識経験者の意見. チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ(*cry1Ab*, *Zea mays* L.) (MON810, OECD UI:MON-ØØ81Ø-6).
【総合検討会における検討日 : 2004 年 3 月 8 日】
- 15 資料 3 学識経験者意見. 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-IR6Ø4-5).
【総合検討会における検討日 : 2006 年 10 月 5 日】
- 20 資料 4 学識経験者の意見. 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).
【総合検討会における検討日 : 2004 年 5 月 28 日】

1 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

(*cry1F*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (*B.t.* Cry1F maize line 1507, OECD UI: DAS-Ø15Ø7-1)

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：デュポン（株）

(1) 生物多様性影響評価の結果について

競合における優位性

宿主が属する生物種であるトウモロコシ (*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis.) は、我が国において長期間にわたり栽培されてきたが、自生しているとの報告はされていない。

本組換えトウモロコシには、移入された *cry1F* 及び *pat* によりそれぞれチョウ目昆虫への抵抗性及びグルホシネートへの耐性が付与されている。しかし、チョウ目害虫による食害はトウモロコシが我が国の自然環境下で生育することを困難にさせる主な要因ではなく、また、グルホシネートが自然環境下で選択圧になることはないと考えられることから、これらの性質により本組換えトウモロコシが自生化することはないと考えられる。

また、我が国の隔離ほ場における調査の結果、発芽率及び雌穂径において非組換えトウモロコシとのわずかな差が認められたことを除き、競合における優位性に関わる諸形質に有意差はないことが確認されている。

以上より、影響を受ける可能性のある野生動植物は特定されず、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。

有害物質の産生性

ア 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

宿主が属する生物種であるトウモロコシについては、野生動植物等に影響を与える有害物質を産生するとの報告はされていない。

本組換えトウモロコシはグルホシネートを不活性化するホスフィノトリシン・アセチル基転移酵素 (PAT 蛋白質) を産生するが、本蛋白質は基質特異性が極めて高く、植物の生長に悪影響を及ぼさないこと及び動物に対して毒性を持たないことが報告されている。

また、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性 (根から分泌され他の植物に影響を与えるもの、根から分泌され土壌微生物に影響を与えるもの、植物体が内部に有し他の植物に影響を与えるもの) の調査が行われており、非組換えトウモロコシ

との有意差は認められていない。

しかしながら、本組換えトウモロコシはチョウ目昆虫への殺虫活性を有する Cry1F 蛋白質を産生することから、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チョウ目昆虫が特定される。

イ 影響の具体的内容の評価

BT 蛋白質に対する感受性が高く、採集・継代飼育が容易であるヤマトシジミ (*Zizeeria maha* subsp. *argia* Menetries) の孵化後 12 時間以内の 1 齢幼虫に、葉片上に載せた本組換えトウモロコシの花粉を摂食させてその死亡率を調査したところ、100 粒/cm² の花粉密度において、3 日後から死亡率が上昇し始め、5 日後には死亡率 50 % を越えることが確認されている。

ウ 影響の生じやすさの評価

農業害虫以外のチョウ目昆虫の幼虫への Cry1F 蛋白質の曝露経路としては、ほ場で栽培され又は運搬の途中でこぼれ落ちた本組換えトウモロコシから飛散する花粉を食草と共に摂食する経路が考えられる。

トウモロコシ畑周辺のヒマワリ葉表面におけるトウモロコシの花粉堆積密度を調査した実験によれば、ほ場内で 81.7 粒/cm²、ほ場から 2m 離れた場所で 33.5 粒/cm² の花粉堆積密度が確認されている。本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシの花粉飛散に関する特性に差異はないことが確認されていることから、本組換えトウモロコシが圃場で栽培された場合は、その周辺に同程度の花粉が堆積すると考えられる。

このため、Cry1F 蛋白質に対してヤマトシジミと同程度の高い感受性を有するチョウ目昆虫の個体については、圃場から 2m 以内に 3 日以上留まるようなことがあれば影響を受ける可能性があると考えられるが、種又は個体群レベルでこのような条件に当てはまるチョウ目昆虫は存在しないと考えられる。

本組換えトウモロコシの種子が運搬の途中でこぼれ落ち生育した場合は、その個体数は栽培の場合と比較して極めて少なく、周辺に堆積する花粉の密度も極めて少ないと考えられることから、栽培される場合と同じように、影響を受けるチョウ目昆虫は存在しないと考えられる。

なお、本組換えトウモロコシの花粉の飛散量が系統毎に異なることにより、チョウ目昆虫の死亡が懸念される圃場からの距離がある程度増えたとしても、上記の結論に影響を及ぼすことはないと考えられる。

エ 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上より、本組換えトウモロコシが産生する Cry1F 蛋白質が我が国に生息するチョウ目昆虫の種又は個体群の維持に支障を及ぼすおそれはないと考えられ、従って、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。

交雑性

我が国の自然環境中にはトウモロコシと交雑可能な野生植物は生育していないことから、影響を受ける可能性のある野生植物は特定されず、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書を踏まえた結論

以上を踏まえ、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。

学識経験者の意見

専門の学識経験者により、「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」に基づき申請のあった下記の遺伝子組換え生物等に係る第一種使用規程に従って使用した際の生物多様性影響について検討が行われ、別紙のとおり意見がとりまとめられました。

記

- 1 青紫色カーネーション 123.2.2
(*F3'5'H*、*DFR*、*Dianthus caryophyllus* L.) (OECD UI:FLO-40619-7)
- 2 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)
- 3 コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ
(*cry3Bb1*、*Zea mays* L.) (MON863,OECD UI:MON-00863-5)

(別 紙)

- 1 (略)
- 2 名称：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)
申請者：日本モンサント株
第一種使用等の内容：食用、飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬、
廃棄及びこれらに付随する行為

(1) 生物多様性影響評価の結果について

① 競合における優位性

競合における優位性に関わる諸形質を比較検討した結果、稈長において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統計的有意差が認められた。

また、本組換えトウモロコシはチョウ目害虫抵抗性を有する。そのことによつて一時的に生存率が高まることが考えられる。しかし、稈長の違いとチョウ目害虫抵抗性以外の競合における優位性に関わる諸形質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で意味のある差異は認められなかったことから、これらの形質だけで競合における優位性が高まるとは考えられない。

上記を踏まえ、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した生物多様性影響評価書の記述は妥当と考える。

② 有害物質の産生性

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、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、差異は認められなかった。

また、本組換えトウモロコシには Cry1Ab 蛋白質の発現によってトウモロコシのチョウ目害虫であるアワノメイガ (*Ostrinia nubilalis*) に対する抵抗性が付与されている。このことから、わが国に生息するチョウ目昆虫が幼虫の時期に、本組換えトウモロコシから飛散した花粉を食餌植物と共に摂食して影響を受ける可能性がある。

このため、「環境省レッドリスト(2000年改訂版)」から、チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ栽培の影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧及び準絶滅危惧に区分されているチョウ目昆虫を、1) 幼虫の活動期(摂食期)と本遺伝子組換えトウモロコシの開花期の関係、2) 幼虫の食餌植物と花粉の接触の可能性、の2点から絞込みを行い11種(2亜種を含む)が特定された。

本組換えトウモロコシの花粉により影響を受ける可能性が否定できないチョウ目昆虫が特定されたことから、その影響の具体的内容を評価した。その実施に当たっては、農業環境技術研究所が生物検定用の昆虫として選定しているヤマトシジミ (*Zizeeria maha argia*) (①Btトウモロコシ花粉への感受性が高い、②集団飼育しやすい、③採集や継代飼育が容易、④チョウ目害虫用Btトキシンの様々なタイプに対して感受性であること、などの条件を満たしている等の理由により選定)を用いて行った。

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花粉を生物検定用昆虫ヤマトシジミ1齢幼虫に摂食させて生存率を比較したところ、有意な差が2,000~4,000粒/cm²の花密度で認められ、花粉摂食開始5日後のLC50(半数致死濃度)は2,300粒/cm²であった。

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間で、花粉の量、花粉の大きさについて比較した結果、統計学的有意差は認められなかった。

ヤマトシジミの生存率に影響の出た花粉密度2,000~4,000粒/cm²を、ほ場からの距離とトウモロコシ花粉の落下数(最大堆積花粉数)の関係を表す川島らのモデル式に入れ、花粉飛散が影響を与える距離を計算した。なお、このモデル式は通常的气象条件下ではこれ以上の堆積はないという最大値を示している。その結果、本遺伝子組換えトウモロコシの花粉が4,000粒/cm²の濃度で堆積するのは最大10m、2,000粒/cm²の濃度で堆積するのは最大20mと推定された。

また、本組換えトウモロコシの影響を受ける可能性のあるチョウ目昆虫として特定された11種(2亜種を含む)の幼虫の食餌植物は、文献情報によると、野原、山地など広範な地域で生育しており、トウモロコシが栽培されるほ場やその近辺を主な生育域としていないことが判明した。

以上の結果から本組換えトウモロコシの花粉による影響の生じやすさについて検討したところ、組換えトウモロコシの花粉の飛散が影響を与えると推定される範囲及び特定されたチョウ目昆虫11種(2亜種を含む)の幼虫の食餌植物の生育域からの判断に基づいて、花粉の飛散により種又は個体群の維持に支障を及ぼす可能性は極めて低いと結論された。

上記を踏まえ、有害物質の産生性に起因す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記述は妥当と考える。

③ 交雑性

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いない。

上記を踏まえ、交雑性に起因して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記述は妥当と考える。

(2) 生物多様性影響評価書を踏まえた結論

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じるおそれはないとした生物多様性影響評価書の内容は適正であると判断した。

3 (略)

留意事項等

青紫色カーネーション、チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ、コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシの生物多様性影響評価の内容は、適正であると判断した上で、今後の科学的知見の充実の観点から下記のとおり情報収集等を求めることとした。

1 申請者に対する要請

- ① ウイルス由来の配列を含む核酸を導入している場合、導入遺伝子の水平伝達について必要な知見を得るための情報収集を行っていくこと。
- ② B t 遺伝子を導入した害虫抵抗性の組換え体については、植物体の体内で発現している B t 蛋白質について、土壌中での残存性、分解速度等についての情報収集を行い報告すること。
- ③ 申請者による生物多様性影響を把握するための試験を実施するに当たって、生物多様性影響の有無を判断するための試験結果が得られるよう試験設計に更に注意すること。

2 今後の課題

遺伝子組換え生物等による生物多様性影響に関しては、科学的知見の充実に向けて、さらなる試験研究が必要である。

生物多様性影響評価検討会での検討結果

1 (略)

2 名称：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)

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)

(1) 生物多様性影響評価の結果について

ア 競合における優位性

宿主が属する生物種であるトウモロコシ (*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) は、我が国において長期間にわたり栽培等がなされてきたが、自生しているとの報告はなされていない。

本組換えトウモロコシには、移入された改変 *cry3Aa2* によりコウチュウ目昆虫への抵抗性が付与されている。しかし、コウチュウ目昆虫による食害はトウモロコシが我が国の自然環境下で生育することを困難にさせる主な要因ではないと考えられる。

また、移入された *pmi* 遺伝子により PMI 蛋白質を発現しマンノースを炭素源として利用する機能を持つが、この形質により競合における優位性が高まることはないと考えられる。

さらに、我が国の隔離ほ場において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形質が調査されており、非組換えトウモロコシとの有意差は認められていない。

以上より、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。

イ 有害物質の産生性

(ア) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

宿主が属する生物種であるトウモロコシについては、野生動植物等に影響を与える有害物質を産生するとの報告はなされていない。

本組換えトウモロコシには、移入された *pmi* 遺伝子により、マンノース 6-リン酸とフルクトース 6-リン酸を相互変換するホスホマンノースイソメラーゼ (PMI 蛋白質) の産生性が付与されているが、その反応は特異的で、PMI 蛋白質が反応する他の天然基質は知られていない。このため、PMI 蛋白質が宿主の他の代謝経路に影響を及ぼし、有害物質を産生するおそれはないと考えられる。

また、本組換えトウモロコシの有害物質(根から分泌され他の植物へ影響を与えるもの、根から分泌され土壌微生物に影響を与えるもの、植物体が内部に有し枯死した後に他の植物に影響を与えるもの)の産生性が隔離ほ場において調査されているが、非組換えトウモロコシとの間で有意差は認められていない。一方、本組換えトウモロコシはコウチュウ目昆虫への殺虫活性を有する改変 Cry3Aa2 蛋白質を産生することから、影響を受ける可能性のある野生動植物種として、我が国に生息するコウチュウ目昆虫が特定される。

(イ) 影響の具体的内容の評価

改変 Cry3Aa2 蛋白質に最も高い感受性を示した Western Corn Rootworm に、改変 Cry3Aa2 蛋白質を 1.4 μ g/ml の濃度で含む、寒天でゲル化した食餌を 144 時間与えた結果、約半数の個体が致死という結果が得られている。

(ウ) 影響の生じやすさの評価

農業害虫以外のコウチュウ目昆虫への改変 Cry3Aa2 蛋白質の曝露経路としては、

a 本組換えトウモロコシが直接食害される場合

b 土壌中に鋤込まれた植物体やそこから溶出した蛋白質が鋤込まれた植物体と共に摂食される場合

c 花粉飛散により食餌植物と共に摂食される場合
が考えられる。

しかしながら、我が国に生息するコウチュウ目昆虫のうち防除すべき害虫以外の種の主な生息地は、トウモロコシほ場及びその周辺ではないことから、上記 a 及び b の経路によりコウチュウ目昆虫が個体群で影響を受ける可能性は極めて低いと考えられた。

また、本組換えトウモロコシの花粉中における改変 Cry3Aa2 蛋白質の発現量は、調査に用いた ELISA 法の検出限界(0.01 μ g/g)以下であり、(イ)で述べた Cry3Aa2 蛋白質に最も感受性の高い Western Corn Rootworm における致死濃度と比較しても、自然条件下において本組換えトウモロコシの花粉がコウチュウ目昆虫に影響を与えるほど堆積するとは考えにくく、c の経路によりコウチュウ目昆虫が影響を受ける可能性は極めて低いと考えられた。

よって、本組換えトウモロコシが有する改変 Cry3Aa2 蛋白質に起因してわが国に生息するコウチュウ目昆虫の種又は個体群の維持に支障を及ぼすおそれはないと考えられた。

また、我が国の隔離ほ場において、落とし穴法により集まった節足動物の個体数を調べた結果、本組換え体と対照の非組換え体との間に差は認められていない。

(I) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上より、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。

ウ 交雑性

我が国の自然環境中にはトウモロコシと交雑可能な野生植物は生育していないことから、影響を受ける可能性のある野生植物は特定されず、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書を踏まえた結論

以上を踏まえ、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。

3 (略)

(資料4)

- 1 名称：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)

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：日本モンサント(株)

(1) 生物多様性影響評価の結果について

競合における優位性

宿主が属する生物種であるトウモロコシ (*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis.) については、これまで我が国において第一種使用等がなされているが、我が国において自生化するとの報告はされていない。

本組換えトウモロコシについては、移入された *cp4 epsps* により除草剤であるグリホサートへの耐性が付与されているが、グリホサートが自然環境下で選択圧になるとは考えにくい。また、我が国の隔離ほ場における調査の結果、100粒重において非組換えトウモロコシとのわずかな差が認められたことを除き、競合における優位性に関わる諸形質に有意差はないことが確認されている。これらのことから本組換えトウモロコシが非組換えトウモロコシよりも競合において優位になるとは考えにくい。

このことから、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。

有害物質の産生性

宿主が属する生物種であるトウモロコシについては、野生動植物等に影響を与える有害物質を産生するとの報告はされていない。

本組換えトウモロコシは、グリホサートへの耐性を有する CP4 EPSPS 蛋白質を産生するが、本蛋白質が有害物質であるとする報告はされていない。また、EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を合成するシキミ酸経路を触媒する酵素であるが、当該経路の律速要素ではないことが明らかになっており、*cp4 epsps* を移入された他の遺伝子組換えトウモロコシでは芳香族アミノ酸含量に変化がないことが確認されていることから、本組換えトウモロコシにおいて芳香族アミノ酸が過剰に産生されることはないと考えられる。更に、EPSPS 蛋白質は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酵素であることから、CP4 EPSPS 蛋白質が他の物質の反応を触媒して異なる物質が産生されることはないと考えられる。

また、我が国の隔離ほ場試験において、有害物質の産生性（根から分泌され他の植物に影響を与えるもの、根から分泌され土壤微生物に影響を与えるもの、植物体が内部に有し他の植物に影響を与えるもの）を調査しているが、非組換えトウモロコシとの有意差は認められていない。

これらのことから、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、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。

交雑性

我が国の自然環境中にはトウモロコシと交雑可能な野生種は生育していない。このことから、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書を踏まえた結論

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。