

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耐性
 トウモロコシ (改変 *cry1F*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *pat*, *Zea mays* subsp.
mays (L.) Iltis) (4114, OECD UI: DP-004114-3) 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
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	6
(1) 供与核酸に関する情報	6
(2) ベクターに関する情報	10
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	11
(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	14
(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	16
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	16
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	23
(1) 使用等の内容	23
(2) 使用等の方法	23
(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	23
(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	23
(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	23
(6) 国外における使用等に関する情報	23
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	25
1 競合における優位性	25
2 有害物質の産生性	26
3 交雑性	28
4 その他の性質	29
第三 生物多様性影響の総合的評価	30
参考文献	32
緊急措置計画書	38
添付資料	40

第一種使用規程承認申請書

平成 25 年 6 月 21 日

農林水産大臣 林 芳正 殿
環境大臣 石原 伸晃 殿

氏名

デュポン株式会社

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耐性トウモロコシ (改変 <i>cry1F</i> , <i>cry34Ab1</i> , <i>cry35Ab1</i> , <i>pat</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (4114, OECD UI: DP-004114-3)
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

5

(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.) Iltis

② 宿主の品種名又は系統名

15

宿主は、イネ科 (*Poaceae*) トウモロコシ属 (*Zea*) のトウモロコシ (*Z. mays*) のデント種で、系統名は PHWWE である。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

20

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)。

25

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。

(2) 使用等の歴史及び現状

30

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)。

40

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）。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

5 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）。

10

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 15～20%になった時期に収穫するのが望ましく（Iowa State University, 2010）、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）。

15

20

流通実態：

コメ、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）。

25

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。なお、スイート種は生食用又は缶詰用に利用される（菊池, 1987）。

30

(3) 生理学的及び生態学的特性

35

イ 基本的特性

—

40

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)。

5

ハ 捕食性又は寄生性

—

10

ニ 繁殖又は増殖の様式

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)。

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 (千藤, 2001)。デント種及びフリント種は一般に自家不和合性を有しない (Kermicle, 1997)。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。

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、好適条件下では更に長い (CFIA, 2013)。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)。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)。

5

10

ホ 病原性

—

15

へ 有害物質の産生性

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。

20

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

5

イ 構成及び構成要素の由来

10 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耐性トウモロコシ(改変 *cry1F*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *pat*, *Zea mays subsp. mays* (L.) Iltis) (4114, OECD UI: DP-004114-3) (以下「本組換えトウモロコシ」という。)における供与核酸の構成及び構成要素の由来を表 1 (7ページ) に示した。また、塩基配列を添付資料 1 (社外秘情報につき非開示) に示した。

15

ロ 構成要素の機能

- 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

20

供与核酸の構成要素それぞれの機能を表 1 (7ページ) に示した。

表 1 本組換えトウモロコシ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 (bp)	由来及び機能
Right Border (RB)	25	アグロバクテリウム (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) 由来のTiプラスミド (pTi) のT-DNA領域の右側境界領域。
改変 <i>cry1F</i> 遺伝子 発現カセット	<i>ubiZM1</i> プロモーター	900 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子のプロモーター領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。植物体内での構成的な発現を誘導する。
	<i>ubiZM1</i> 5' UTR	83 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子の5'非翻訳領域 (UTR) (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。
	<i>ubiZM1</i> イントロン	1,010 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子のイントロン領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。
	改変 <i>cry1F</i>	1,818 <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塩基配列が改変され、また、コードする蛋白質の604番目のアミノ酸がフェニルアラニンからロイシンに置換されている (USDA, 2000)。
	ORF25 ターミネーター	714 アグロバクテリウム (<i>A. tumefaciens</i>) 由来のpTi15955のターミネーター領域 (Barker <i>et al.</i> , 1983)。転写を停止する。
<i>cry34Ab1</i> 遺伝子 発現カセット	<i>ubiZM1</i> プロモーター	900 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子のプロモーター領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。植物体内での構成的な発現を誘導する。
	<i>ubiZM1</i> 5' UTR	83 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子の5'非翻訳領域 (UTR) (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。
	<i>ubiZM1</i> イントロン	1,010 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子のイントロン領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。
	<i>cry34Ab1</i>	372 <i>B. thuringiensis</i> PS149B1株由来のCry34Ab1蛋白質をコードする遺伝子 (Moellenbeck <i>et al.</i> , 2001; Ellis <i>et al.</i> , 2002; Herman <i>et al.</i> , 2002)。
	<i>pin II</i> ターミネーター	310 ジャガイモ (<i>Solanum tuberosum</i>) 由来のプロテイナーゼインヒビターII遺伝子のターミネーター領域 (Keil <i>et al.</i> , 1986; An <i>et al.</i> , 1989)。転写を停止する。
<i>cry35Ab1</i> 遺伝子 発現カセット	TA Peroxidase プロモーター	1,298 コムギ (<i>Triticum aestivum</i>) 由来のペルオキシダーゼプロモーター領域 (Hertig <i>et al.</i> , 1991)。植物体内での構成的な発現を誘導する。
	<i>cry35Ab1</i>	1,152 <i>B. thuringiensis</i> PS149B1株由来のCry35Ab1蛋白質をコードする遺伝子 (Moellenbeck <i>et al.</i> , 2001; Ellis <i>et al.</i> , 2002; Herman <i>et al.</i> , 2002)。
	<i>pin II</i> ターミネーター	310 ジャガイモ (<i>S. tuberosum</i>) 由来のプロテイナーゼインヒビターII遺伝子のターミネーター領域 (Keil <i>et al.</i> , 1986; An <i>et al.</i> , 1989)。転写を停止する。

表 1 本組換えトウモロコシ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（続き）

構成要素		サイズ (bp)	由来及び機能
pat 発現カセット	CaMV 35S プロモーター	530	カリフラワーモザイクウイルス由来の35Sプロモーター領域 (Franck <i>et al.</i> , 1980; Odell <i>et al.</i> , 1985; Pietrzak <i>et al.</i> , 1986)。植物体内での構成的な発現を誘導する。
	pat	552	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来のPAT蛋白質をコードする遺伝子。
	CaMV 35S ターミネーター	192	カリフラワーモザイクウイルス由来の35Sターミネーター領域 (Franck <i>et al.</i> , 1980; Pietrzak <i>et al.</i> , 1986)。転写を停止する。
Left Border (LB)		25	アグロバクテリウム (<i>A.tumefaciens</i>) 由来のpTiのT-DNA領域の左側境界領域。

- 5 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

a 目的遺伝子の発現により産生される蛋白質の機能

10

Bt 蛋白質

15 改変 Cry1F 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質及び Cry35Ab1 蛋白質を含む殺虫性結晶蛋白質 (Bt 蛋白質) は、一般にチョウ目及びコウチュウ目等の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、中腸細胞を破壊することで殺虫活性を示す (Schnepf *et al.*, 1998)。Bt 蛋白質は、殺虫対象の昆虫相に特異性を有する (白井, 2003)。

なお、Cry34Ab1 蛋白質及び Cry35Ab1 蛋白質の機能について記述する場合には、以降、「Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質」と表記する。

20 改変 Cry1F 蛋白質：

25 改変 *cry1F* 遺伝子は、改変 Cry1F 蛋白質 (アミノ酸配列：USDA, 2012) をコードする。改変 *cry1F* 遺伝子は、植物体内での発現を高めるため、*Bacillus thuringiensis* 由来の遺伝子の GC 含量を高めたものである。また、制限酵素切断部位 *Xho* I を追加するために塩基配列を改変したため、コードする蛋白質の 604 番目のアミノ酸がフェニルアラニンからロイシンに置き換わった (USDA, 2000)。本蛋白質は、チョウ目害虫であるヨーロッパアワノメイガ (European corn borer: *Ostrinia nubilalis*) 等を標的とする。ヨーロッパアワノメイガに対する本蛋白質の LC₅₀ 値 (半数致死濃度) は 0.58 µg/g であった (添付資料 2；社外秘情報につき非開示)。

30

他の Bt 蛋白質と同様、改変 Cry1F 蛋白質の殺虫効果も特異性が高く、標的と

するヨーロッパアワノメイガ等のチョウ目害虫にのみ効果を示す。実際に、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に対する殺虫活性、並びに哺乳類、鳥類、魚類等の非標的生物に対する毒性を示さない (EPA, 2010a)。

5 Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質：

10 *cry34Ab1/cry35Ab1* 遺伝子は、Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質 (アミノ酸配列：USDA, 2012) をコードする。これら蛋白質は、コウチュウ目害虫であるノーザンコーンルートワーム (Northern corn rootworm: *Diabrotica barberi*) 及びウエスタンコーンルートワーム (Western corn rootworm: *D. virgifera virgifera*) 等を標的とする。Cry34Ab1 蛋白質は、コーンルートワーム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の殺虫活性は、Cry34Ab1 蛋白質単独の場合に比べ最大で約 8 倍である (Herman *et al.*, 2002)。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 値は、それぞれ 5.56 µg/cm² 及び 44.5 µg/cm² (Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質合計) であった (添付資料 3 ; 社外秘情報につき非開示)。

20 他の Bt 蛋白質と同様、Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質の殺虫効果は特異性が高く、標的とするコーンルートワーム等のコウチュウ目害虫にのみ効果を示す。実際に、チョウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目及びカメムシ目等の昆虫に対する殺虫活性、並びに哺乳類、鳥類、魚類等の非標的生物に対する毒性を示さない (EPA, 2010b)。

PAT 蛋白質

25 *pat* 遺伝子は、PAT 蛋白質 (アミノ酸配列：USDA, 2012) をコードする。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-グルホシネートに変え無毒化することで、植物体にグルホシネートに対する耐性を付与する (OECD, 2002)。

30

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

35 ネブラスカ大学 Food Allergy Research and Resource Program (FARRP) の既知アレルゲンデータベース (Release 13 - 2013 年 2 月版) を用いて、アミノ酸配列相同性検索を行った¹⁾。その結果、改変 Cry1F 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質及び PAT 蛋白質と相同性を示す既知及び推定アレルゲンは認められなかった (添付資料 4、5 及び 6 ; 社外秘情報につき非開示)。

¹⁾ 改変 Cry1F 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質及び Cry35Ab1 蛋白質：2013 年 3 月検索。
PAT 蛋白質：2013 年 2 月検索。

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

5 改変 Cry1F 蛋白質及び Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質はいずれも Bt 蛋白質である。Bt 蛋白質は、標的昆虫の中腸細胞にある特異的な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と考えられているが (OECD, 2007; Schnepf *et al.*, 1998)、酵素活性を有するとの報告はない。

10 PAT 蛋白質

PAT 蛋白質は基質特異性を有し、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートの遊離アミノ基をアセチル化する反応を触媒するが、他のアミノ酸や D-グルホシネートを基質としない (OECD, 1999)。

15 以上より、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

20 イ 名称及び由来

本組換えトウモロコシの作出に用いたベクターはプラスミド PHP27118 であり (図 1、12ページ)、アグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens*) LBA4404 株由来のプラスミド pSB1 (Komari *et al.*, 1996) から作製された。

25

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

30 プラスミド PHP27118 の塩基数は 54,910 bp であり、T-DNA 領域塩基数は 11,978 bp で、その塩基配列は添付資料 1 (社外秘情報につき非開示) に示したとおりである。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

35

プラスミド PHP27118 の外側骨格領域には、選抜マーカーとして抗生物質スペクチノマイシン耐性 (*spc*) 遺伝子及びテトラサイクリン耐性 (*tetA*) 遺伝子が含まれる。これら遺伝子は、微生物中でベクターを増殖させる際、形質転換プラスミドを含む微生物を選抜するために必要なマーカーとして機能する。しかしながら、これら抗生物質耐性遺伝子は、宿主に導入される T-DNA 領域ではなく、外側骨格領域に存在するため、宿主には導入されない。実際、抗生物質耐性遺伝子を含む外側骨格領域が導入されていないことをサザンブロット分析により確認している (添付資料 7 ; 社外秘情報につき非開示)。

40

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

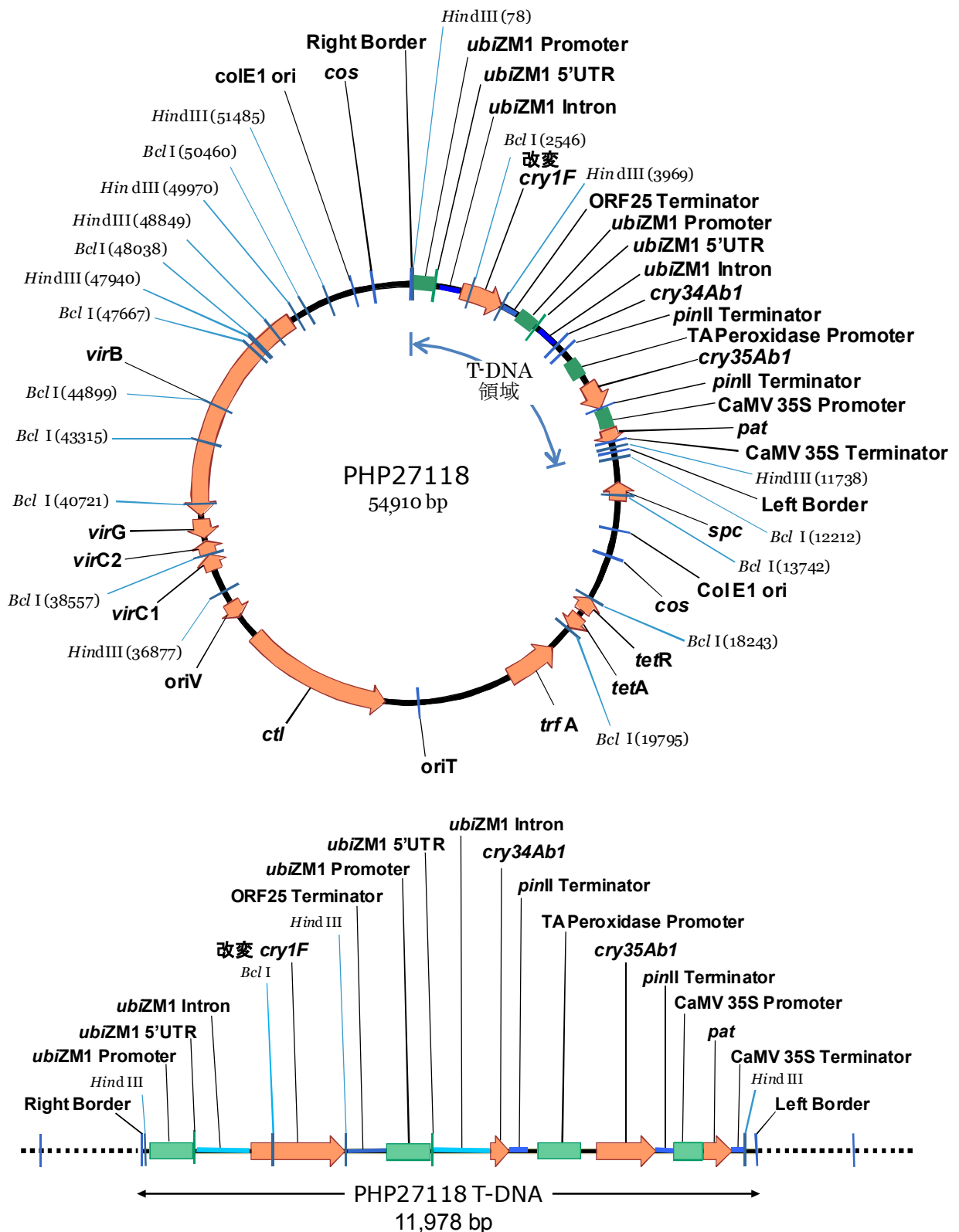
5 宿主に導入される T-DNA 領域に感染を可能とする配列は含まれておらず、感染性はない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

10 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 (12ページ) に示した。

15



5

上図：プラスミド PHP27118。
 下図：本組換えトウモロコシにおける挿入 DNA の模式図。
 点線はトウモロコシの染色体 DNA を示す。

図 1 プラスミド PHP27118 における供与核酸の構成及び制限酵素による切断部位

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

宿主内への核酸の移入には、アグロバクテリウム法を用いた。

5

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

① 核酸が移入された細胞の選抜方法

10 核酸が移入された細胞は、除草剤ビアラホスを添加した培地で胚を生育させることにより選抜した。なお、PAT 蛋白質を産生する細胞の選抜には除草剤ビアラホス及びグルホシネートのいずれも利用可能であるが、除草剤ビアラホスは、より効果的に目的とする細胞を選抜することができる (Dennehey *et al.*, 1994)。

15 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

20 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。さらに、プラスミド PHP27118 の外側骨格領域は本組換えトウモロコシのゲノムには導入されていないことが確認されており (添付資料 7; 社外秘情報につき非開示)、アグロバクテリウムの菌体の残存はないと考えられる。

25 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

本組換えトウモロコシの育成経過は図 2 (13ページ; 社外秘情報につき非開示) のとおりである。なお、承認対象の範囲は、T1 世代以降である。

30

(社外秘情報につき非開示)

図 2 本組換えトウモロコシの育成経過

35

(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

移入した核酸は、植物染色体に取り込まれると、メンデルの法則に従い分離する。各導入遺伝子の分離比を検討するため、2010年、米国アイオワ州の温室で本組換えトウモロコシの F1*1、BC2F1*1、BC3F1*1、BC2F1*2及び BC3F1*2世代 (図 2、13ページ；社外秘情報につき非開示) を栽培した (添付資料 8；社外秘情報につき非開示)。2葉期の葉からゲノム DNA を抽出し、改変 *cry1F* 遺伝子、*cry34Ab1* 遺伝子、*cry35Ab1* 遺伝子及び *pat* 遺伝子の遺伝子特異的プライマーごとに PCR 分析を行った。

10

その結果、いずれのプライマーにおいても、導入遺伝子が共分離していた。

15

全プライマーにおける結果を一括して表 2 (14ページ) に記載した。F1*1、BC2F1*1、BC3F1*1及び BC2F1*2世代の分離比は、期待される分離比 1:1 に適合した。BC3F1*2世代の 99 個体 (サンプル A) では統計学的有意差 ($P<0.05$) が認められたため、更に 96 個体 (サンプル B) 及び別ロットの 73 個体 (サンプル C) について 2011 年に調べた。その結果、サンプル B 及びサンプル C のいずれにも統計学的有意差 ($P<0.05$) は認められなかったため、サンプル A で認められた有意差は、採取サンプル中に偶発的に陰性個体が多く含まれたために生じたと考えられた。

20

以上のように、各導入遺伝子はメンデルの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た。

25

表 2 PCR 分析を指標とした導入遺伝子の分離比

世代	個体数	期待値 ¹⁾		分析結果 ²⁾		P 値
		陽性	陰性	陽性	陰性	
F1*1	98	49	49	52	46	0.545
BC2F1*1	100	50	50	48	52	0.689
BC3F1*1	100	50	50	47	53	0.549
BC2F1*2	100	50	50	53	47	0.549
BC3F1*2						
サンプル A ³⁾	99	49.5	49.5	38	61	0.0208 ⁴⁾
サンプル B ³⁾	96	48	48	49	47	0.838
サンプル C ⁵⁾	73	36.5	36.5	39	34	0.558

統計解析：カイ二乗検定。

1) 期待される分離比は 1:1。

2) 陽性個体は 4 種の全プライマーにおいて陽性、陰性個体は全プライマーにおいて陰性。

3) ロット番号 C10T-31399377。

4) 統計学的有意差 ($P<0.05$) あり。

5) ロット番号 C11T-39367876。

30

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

5 本組換えトウモロコシの T1、F1*1、BC3F1*1、BC2F1*2、T2 及び BC3F1*3 世代 (図 2、13ページ; 社外秘情報につき非開示) の葉を用いたサザンブロット分析の結果、各遺伝子発現カセットが 1 コピー移入され、複数世代に安定して伝達されていることが確認された (添付資料 7 及び 9; 社外秘情報につき非開示)。

10 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

—

15 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

20 2010 年に米国アイオワ州の温室で栽培した本組換えトウモロコシ BC3F1*1 世代 (図 2、13ページ; 社外秘情報につき非開示) の 9 葉期の葉、2010 年に北米 5 ヶ所 (米国アイオワ州 2 ヶ所、イリノイ州、ネブラスカ州及びカナダ・オンタリオ州各 1 ヶ所) のほ場で栽培した F1*5 世代 (図 2、13ページ; 社外秘情報につき非開示) の 9 葉期の葉、根及び絹糸抽出期の花粉を用い、ELISA 法による分析を行った (添付資料 10 及び 11; 社外秘情報につき非開示)。その結果、改変 Cry1F 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質及び PAT 蛋白質のいずれも 9 葉期の葉で世代間の発現の安定性が確認された (表 3、15ページ)。

表 3 各蛋白質の産生量

平均値 (最小値-最大値) (ng / mg 乾物重)

世代	組織	改変 Cry1F 蛋白質	Cry34Ab1 蛋白質	Cry35Ab1 蛋白質	PAT 蛋白質
BC3F1*1 ¹⁾	葉	10 (9 - 11)	31 (26 - 35)	22 (20 - 23)	14 (14 - 14)
F1*5 ²⁾	葉	9.7 (5.3 - 14)	26 (22 - 31)	33 (28 - 39)	9.8 (4.8 - 15)
	根	5.0 (1.3 - 7.5)	21 (13 - 28)	13 (7.8 - 19)	0.65 (0.39 - 0.90)
	花粉	35 (19 - 49)	9.2 (4.7 - 16)	0.34 (<0.32 ³⁾ - 0.53)	<0.28 ³⁾ (<0.28 ³⁾)

1) 本組換えトウモロコシ (陽性個体) n = 2。

30 2) 本組換えトウモロコシ (陽性個体) n = 20。

3) 定量下限値未満。

⑤ 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

5 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。

(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

検出及び識別の方法：

以下のプライマー対を用いるリアルタイム定量 PCR 分析（添付資料 12；社外秘情報につき非開示）。

15

・本組換えトウモロコシ特異的プライマー対：挿入遺伝子及びその 5'側トウモロコシの境界領域を増幅（添付資料 12 の 49 ページ Table 1；社外秘情報につき非開示）

・内在性遺伝子プライマー対（対照）：トウモロコシ内在性 *hmgA* 遺伝子を増幅（添付資料 12 の 44 ページ Table 3；社外秘情報につき非開示）

20

特異的プライマー対を用いた場合の増幅産物のサイズは 90 bp、内在性遺伝子プライマー対の場合、79 bp。

非組換えトウモロコシ及び本組換えトウモロコシのいずれも、内在性遺伝子プライマー対により増幅産物が確認される。これに対し、特異的プライマー対の場合は、本組換えトウモロコシのみに増幅産物が確認される。したがって、両プライマー対を用いることにより本組換えトウモロコシを識別することができる。

25

感度（本組換えトウモロコシゲノム DNA / トウモロコシゲノム DNA × 100）：

・定量限界：0.08 %

・検出限界：0.04 %

30

信頼性：

本組換えトウモロコシを用いた 2 施設（ドイツ Eurofins GeneScan GmbH 及び米国 Pioneer Hi-Bred International, Inc.）での分析により、再現性が認められた（添付資料 12 の 51～72 ページ；社外秘情報につき非開示）。

35

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

40

本組換えトウモロコシに付与された特性は、改変 *cry1F* 遺伝子によるチョウ目害虫抵抗性、*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である。

5 チョウ目害虫抵抗性については、2008年に米国ネブラスカ州のほ場で F1*6 及び F1*7 世代 (図 2、13ページ; 社外秘情報につき非開示) を栽培し、ヨーロッパアワノメイガによる葉の食害を調査した。コウチュウ目害虫抵抗性については、
 2008年に米国ミネソタ州のほ場で F1*6 及び F1*7 世代 (図 2、13ページ; 社外秘情報につき非開示) を栽培し、ウエスタンコーンルートワームによる根の食害程度を調査した。除草剤グルホシネート耐性については、2010年に米国アイオワ州の温室で BC3F1*1 世代 (図 2、13ページ; 社外秘情報につき非開示) を栽培し、除草剤散布後の耐性を調査した (添付資料 13; 社外秘情報につき非開示)。

10 その結果、本組換えトウモロコシがこれら特性を有することが確認された (表 4、17ページ)。

表 4 本組換えトウモロコシに付与された特性の調査結果

調 査 項 目	非組換え トウモロコシ	本組換え トウモロコシ
ヨーロッパアワノメイガ (チョウ目) に対する抵抗性 ¹⁾ [平均値 (最小値-最大値)]	4.4 (3.0 - 6.0)	9.0 (9.0 - 9.0)
ウエスタンコーンルートワーム (コウチュウ目) による根の食害程度 ²⁾ [平均値 (最小値-最大値)]	1.1 (0.3 - 2.7)	0.1 (0.0 - 0.6)
除草剤グルホシネート耐性 ³⁾ [耐性個体数 / 供試個体数]	0 / 194	47 / 47

1) 本組換えトウモロコシ (陽性個体) n=48、非組換えトウモロコシ n=48。

試験条件: 5葉期にヨーロッパアワノメイガ幼虫を1株当たり計300匹接種。1反復1世代につき8株、3反復。

評価基準: 接種の約3週間後に葉の食害を、1 (ほとんどの葉に2.5cm以上の食害あり) ~ 9 (食害なし又は数枚の葉に針穴程度の食害) の基準で目視判定 (添付資料 13の4ページ Table1 参照 (社外秘情報につき非開示); Guthrie *et al.*, 1960)。

2) 本組換えトウモロコシ (陽性個体) n=30、非組換えトウモロコシ n=30。

試験条件: 2葉期にウエスタンコーンルートワームの卵を1株当たり約1,000個接種。1反復1世代につき5株、3反復。

評価基準: 水熟期 (子実が白色で膨れた状態の時期) に根を目視判定。各節ごとに、根の総数及び食害を受けた根数を数え、食害スコア (食害を受けた根数 / 根の総数) を算出。食害により長さが約5cm未満になった根を、食害を受けた根とした。複数の節において食害を受けている場合は、それぞれのスコアを加算。食害なしの場合のスコアは0.00となり、1、2又は3つ以上の節の全ての根が食害を受けている場合、それぞれスコアは1.00、2.00及び3.00 (上限) となる (添付資料 13の5ページ Table2 参照 (社外秘情報につき非開示); Oleson *et al.*, 2005)。

3) 本組換えトウモロコシ (陽性個体) n=47、非組換えトウモロコシ n=194。

評価基準: 播種13日後に除草剤グルホシネート 0.45 kg active ingredient (活性主成分: a.i.)/ha (通常量) を散布、散布7日後に耐性の有無を目視判定。

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 次の a~g の項目を指標として、本組換えトウモロコシと宿主の属する分類学上の種との間の相違が認められるか検討するため、2011~2012 年、デュポン株式会社 宇都宮事業所 隔離ほ場で調査を行った（添付資料 14；社外秘情報につき非開示）。本組換えトウモロコシとして F1*5 世代（図 2、13 ページ；社外秘情報につき非開示）を、非組換えトウモロコシとして本組換えトウモロコシと同様の遺伝的
10 背景を有する PHNAR×PHTFE 系統を用いた。

a 形態及び生育の特性

15 発芽率、発芽揃い日、雄穂の抽出期、絹糸の抽出期、葉の着生角度²⁾、分げつ数、雌穂の数、着雌穂高、稈長（雄穂の穂首までの長さ）、地上部重、雌穂の長さ、雌穂の直径、粒質及び粒の色について調査した（添付資料 14 の 9~11 ページ；社外秘情報につき非開示）。

20 その結果、発芽揃い日は非組換えトウモロコシより 1 日早かった。また、稈長に非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差（ $P<0.05$ ）が認められたが、その他の調査項目に本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間で相違はなかった（表 5、18 ページ）。

表 5 形態及び生育特性

項目	非組換えトウモロコシ		本組換えトウモロコシ		P 値
	平均値	95%信頼区間	平均値	95%信頼区間	
発芽率 ¹⁾	98.6	—	99.3	—	0.6859
発芽揃い日	5月16日	—	5月15日	—	—
雄穂の抽出期 ²⁾	7月16日	—	7月16日	—	—
絹糸の抽出期 ²⁾	7月16日	—	7月16日	—	—
葉の着生角度 ²⁾	3.1	—	3.1	—	—
分げつ数 ²⁾	0.9	0.3 - 1.5	0.9	0.3 - 1.5	0.9295
雌穂の数 ³⁾	1.7	—	1.8	—	0.5850
着雌穂高 (cm) ²⁾	142.7	134.2 - 151.1	151.9	143.5 - 160.3	0.1040
稈長 (cm) ²⁾	288.2	281.1 - 295.3	298.2	291.2 - 305.3	0.0493 ⁴⁾
地上部重 (kg) ²⁾	1.728	1.639 - 1.817	1.687	1.598 - 1.777	0.4017
雌穂の長さ (cm) ²⁾	22.82	22.13 - 23.51	22.57	21.88 - 23.26	0.5406
雌穂の直径 (cm) ²⁾	5.13	5.05 - 5.21	5.06	4.98 - 5.13	0.1405
粒質 ²⁾	中間	—	中間	—	—
粒の色 ²⁾	黄白	—	黄白	—	—

25 1) 各系統計 288 粒播種。統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

2) 各系統計 32 株調査。統計解析：線形混合モデル。

3) 各系統計 32 株調査。統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

4) 統計学的有意差（ $P<0.05$ ）あり。

²⁾ 主茎に対する葉身の角度（ $3=\pm 25^\circ$ 、 $5=\pm 50^\circ$ 、 $7=\pm 75^\circ$ の 3 区分）。

b 生育初期における低温耐性

2011年11月25日に、各系統をポットに播種し、ビニールハウス内で2週間栽培後（12月9日；2葉期）にポットを露地に移した。露地栽培13日後（12月22日）に観察した結果、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシともに枯死していた（添付資料14の12ページ；社外秘情報につき非開示）。

c 成体の越冬性

5月に播種した本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシについて、成熟後の10月18日に観察した結果、いずれも枯死していた（添付資料14の9～11ページ；社外秘情報につき非開示）。

d 花粉の稔性及びサイズ

花粉の充実度（ヨード・ヨードカリ液染色率）及び長径を調査した結果、いずれも非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差（ $P < 0.05$ ）は認められなかった（表6、19ページ；添付資料14の16ページ（社外秘情報につき非開示））。

表6 花粉調査結果

項目	非組換えトウモロコシ		本組換えトウモロコシ		P値
	平均値	95%信頼区間	平均値	95%信頼区間	
充実度 (%) ¹⁾	99.8	—	99.8	—	1.0000
長径 (μm) ²⁾	96.95	91.12 - 102.79	97.07	91.24 - 102.91	0.9704

1) 各系統計400粒観察。統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

2) 各系統計32粒測定。統計解析：線形混合モデル。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量：

雌穂の粒列数、一列粒数及び百粒重を調べた結果、非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差（ $P < 0.05$ ）は認められなかった（表7、19ページ；添付資料14の9～11ページ（社外秘情報につき非開示））。

表7 種子の生産量

項目	非組換えトウモロコシ		本組換えトウモロコシ		P値
	平均値	95%信頼区間	平均値	95%信頼区間	
雌穂の粒列数	15.8	14.9 - 16.6	15.4	14.5 - 16.2	0.4540
雌穂の一列粒数	47.3	46.2 - 48.5	46.9	45.8 - 48.0	0.5468
百粒重 (g)	39.66	38.63 - 40.69	39.16	38.13 - 40.19	0.4180

各系統計32株調査。統計解析：線形混合モデル。

脱粒性：

収穫時における種子の脱粒は、非組換えトウモロコシと同様に認められなかった（添付資料 14 の 9～11 ページ；社外秘情報につき非開示）。

5 休眠性及び発芽率：

収穫当日の種子を播種し発芽率を調査した結果、発芽率は高く、非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差（ $P<0.05$ ）は認められなかった（表 8、20 ページ；添付資料 14 の 12 ページ（社外秘情報につき非開示））。

10 表 8 収穫直後に播種した種子の発芽率

項目	非組換え トウモロコシ	本組換え トウモロコシ	P 値
発芽率 (%)	97.8	97.8	1.0000

各系統計 400 粒播種。

統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

f 交雑率

15

我が国にトウモロコシと交雑可能な近縁野生種が自生しているとの報告はないことから、交雑率の調査は行わなかった。

g 有害物質の産生性

20

本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシの有害物質の産生性を比較するため、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験により検討した。

後作試験：

25 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシを栽培した後の土壌を用いて検定作物のハツカダイコンを栽培し、発芽率及び乾物重を調査した（添付資料 14 の 13 ページ；社外秘情報につき非開示）。

その結果、いずれにおいても、本組換えトウモロコシ栽培後土壌と非組換えトウモロコシ栽培後土壌との間に統計学的有意差（ $P<0.05$ ）は認められなかった（表 9、20 ページ）。

30

表 9 後作試験におけるハツカダイコンの発芽率及び乾物重

項目	非組換えトウモロコシ 栽培後土壌		本組換えトウモロコシ 栽培後土壌		P 値
	平均値	95%信頼区間	平均値	95%信頼区間	
発芽率 (%) ¹⁾	99.0	—	99.0	—	1.0000
乾物重 (mg) ²⁾	407.0	175.2 - 638.8	369.5	137.7 - 601.3	0.5750

1) 各系統計 96 粒播種。統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

2) 各系統計 32 株測定。統計解析：線形混合モデル。

35

鋤込み試験：

5 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの葉身及び葉鞘を培土に添加した土壌で検定作物のハツカダイコンを栽培し、発芽率及び乾物重を調査した（添付資料 14 の 14 ページ；社外秘情報につき非開示）。

その結果、いずれにおいても、本組換えトウモロコシ鋤込み土壌と非組換えトウモロコシ鋤込み土壌との間に統計学的有意差 ($P < 0.05$) は認められなかった（表 10、21 ページ）。

10 表 10 鋤込み試験におけるハツカダイコンの発芽率及び乾物重

項目	非組換えトウモロコシ 鋤込み土壌		本組換えトウモロコシ 鋤込み土壌		P 値
	平均値	95%信頼区間	平均値	95%信頼区間	
発芽率 (%) ¹⁾	94.8	—	92.7	—	0.7670
乾物重 (mg) ²⁾	178.2	147.9 - 208.4	172.2	141.9 - 202.4	0.7337

1) 各系統計 96 粒播種。統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

2) 各系統計 32 株測定。統計解析：線形混合モデル。

土壌微生物相試験：

15 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシを栽培した後の土壌における微生物数（細菌数、放線菌数及び糸状菌数）を計測した（添付資料 14 の 15 ページ；社外秘情報につき非開示）。

20 25 その結果、放線菌数に、非組換えトウモロコシ栽培後土壌との間で統計学的有意差 ($P < 0.05$) が認められたが（表 11、22 ページ）、最小及び最大値のいずれの値も、過去の同ほ場において通常の肥培管理を行ったときの放線菌数の変動の範囲内（表 12、22 ページ）にあった。また、これまでに承認された同様の遺伝子を導入した系統³⁾において、土壌微生物相への影響は認められていない。以上のことから、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシ栽培後の放線菌数に認められた統計学的有意差は、採取サンプル中の放線菌数の変動が偶発的に小さかったために生じたと考えられた。

³⁾ ・ 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) (平成17年3月2日承認)
 ・ 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) (平成 18 年 4 月 10 日承認)

表 11 土壤微生物相試験における菌数

項 目	非組換えトウモロコシ 栽培後土壌		本組換えトウモロコシ 栽培後土壌		P 値
	平均値	最小値 - 最大値	平均値	最小値 - 最大値	
細菌数 (×10 ⁵)	969	658 - 1,252	714	346 - 992	0.1111
放線菌数 (×10 ⁴)	276	246 - 317	238	209 - 260	0.0320 *
糸状菌数 (×10 ³)	130	94 - 145	125	101 - 158	0.7858

4 反復、1 反復は 5 シャーレの平均値。n=20。

菌数：cfu / 1g 乾土。

5

統計解析：線形混合モデル。

* 統計学的有意差 (P<0.05) あり。

表 12 同隔離ほ場における過去の土壌中放線菌数

栽培年	最小値 - 最大値
2007 年	388 - 717
2011 年	547 - 1,047
2012 年	12 - 64

10

菌数：×10⁴ cfu / 1g 乾土。

各年の作物栽培前における計測値。

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

30

本組換えトウモロコシの国外及び我が国における申請状況は、表 13及び表 14 (24ページ) のとおりである。

表 13 国外における申請状況

申請先		申請・承認年月	目的
米国	米国農務省 (USDA)	2013年6月承認	栽培 食品・飼料としての利用 発現蛋白質の許容値設定免除
	米国食品医薬品庁 (FDA)	2013年3月 確認終了	
	米国環境保護庁 (EPA)	2012年6月承認	
カナダ	カナダ食品検査庁 (CFIA)	2013年6月承認	環境安全性、 飼料としての利用 食品としての利用
	カナダ保健省 (HC)	2013年6月承認	
韓国	韓国農村振興庁 (RDA)	2012年11月申請	飼料としての利用

2013年8月現在。

5

表 14 我が国における申請状況

申請先	申請・承認年月	目的
農林水産省・環境省	2011年9月承認	第一種使用等（隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為） ¹⁾
厚生労働省	2013年7月申請	食品としての利用 ²⁾
農林水産省	2013年7月申請	飼料としての利用 ³⁾

2013年8月現在。

1) 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）。

10 2) 食品衛生法（昭和22年法律第233号）。

3) 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）。

15 なお、本組換えトウモロコシの導入遺伝子を有するトウモロコシ 1507 系統、59122 系統及び 1507×59122 系統⁴⁾が既に第一種使用等（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）の承認を受けている。

4) ・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) (平成17年3月2日承認)
 ・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) (平成18年4月10日承認)
 ・チョウ目及び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(*cry1F, cry34Ab1, cry35Ab1, pat, Zea mays subsp. mays* (L.) Iltis) (1507×59122, OECD UI: DAS-Ø15Ø7-1×DAS-59122-7) (平成18年4月10日承認)

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

5 宿主であるトウモロコシは、我が国において長年にわたる使用実績がある。したがって、本生物多様性影響評価においては、生物多様性影響評価実施要領の別表第三に基づき、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの比較により、影響が生ずる可能性について考察した。

10 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

従来、トウモロコシが我が国において自生することは報告されていない。

15 本組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる諸特性（形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率）について隔離ほ場で調査した結果、発芽揃い日及び稈長を除き、非組換えトウモロコシとの間で相違は認められなかった（第一.2.(6).②、18ページ）。発芽揃い日では非組換えトウモロコシに相違が、また稈長で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、発芽揃い日の差は1日であり、稈長の差も10 cm（割合として3%）であったため、これらが本組換えトウモロコシを自生させる要因になるとは考え難い。

25 本組換えトウモロコシ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。しかしながら、これらの昆虫による食害は、トウモロコシが自然環境下で生育することを困難にしている主な要因ではない。したがって、本特性の付与が本組換えトウモロコシを自然環境で自生させる要因になるとは考え難い。また、除草剤グルホシネートに対する耐性も付与されているが、自然環境下では本除草剤が散布されることは想定され難い。

30 したがって、これら付与された特性により、本組換えトウモロコシの競合における優位性が高ま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よる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。

35 (2) 影響の具体的内容の評価

—

40 (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

5 以上のことから、本組換えトウモロコシの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

10 (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。

15 隔離ほ場において後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った（第一.2.(6).②.g、20ページ）。その結果、後作試験及び鋤込み試験のいずれの調査においても、統計学的有意差は認められなかった。土壌微生物相試験においては糸状菌数及び細菌数に統計学的有意差が認められなかったが、放線菌数において非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差が認められた。しかしながら、測定
20 された放線菌数は最小及び最大値のいずれの値も、過去の同ほ場において通常の肥培管理を行ったときの放線菌数の変動の範囲を超えるものではなかった。また、これまでに承認された同様の遺伝子を導入した系統において、土壌微生物相への影響は認められていない。以上のことから、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシ栽培後の放線菌数に認められた統計学的有意差は、採取サンプル中
25 の放線菌数の変動が偶発的に小さかったために生じたものと考えられた。したがって、本組換えトウモロコシにおいて有害物質の産生性が高まっているとは考え難い。

30 本組換えトウモロコシ中には改変 Cry1F 蛋白質、Cry34Ab1 蛋白質、Cry35Ab1 蛋白質及び PAT 蛋白質が産生される。これら蛋白質と既知アレルゲンとの間でアミノ酸配列の相同性は認められていない（第一.2.(1).ロ.②.b、9ページ）。

35 PAT 蛋白質が野生動植物に対して有害性を示すとの報告はない（ILSI, 2011; OECD, 1999）。また、除草剤グルホシネート散布時、本組換えトウモロコシ中の PAT 蛋白質により *N*-アセチルグルホシネートが産生されるが、*N*-アセチル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）。

40 改変 Cry1F 蛋白質及び Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質は、それぞれチョウ目害虫及びコウチュウ目害虫に対して殺虫活性を有するが、その他の動物種に対しての毒性を持たない（第一.2.(1).ロ.②.a、8ページ）。

5 チョウ目昆虫のうち、環境省第4次レッドリスト（2012）に絶滅危惧種及び準絶滅危惧種として掲載されているものは196種である。このうち、本組換えトウモロコシの花粉を幼虫期に摂取して影響を受ける可能性がある種を特定するため、山本ほか（2003）の評価手法を参考に、農耕地帯周辺で幼虫期に植物を摂取し、かつ幼虫の活動期がトウモロコシの開花期（5月下旬から10月下旬）と重複する可能性がある種を検討した。その結果、これらの条件を満たすチョウ目昆虫として、30種が特定された。残りの166種中69種については生息域又は幼虫の活動期に関する情報が不足していた。したがって、これらを合わせ、影響を受ける可能性のあるチョウ目昆虫として99種が特定された（添付資料15）。

10 コウチュウ目昆虫については、山本ほか（2003）の評価手法を参考に、同レッドリスト上の絶滅危惧種及び準絶滅危惧種275種のうち、生息域が農耕地帯周辺で、トウモロコシの花粉又は鋤込んだ植物体を摂取する可能性がある種として4種が特定された（添付資料16）。

15 (2) 影響の具体的内容の評価

20 改変Cry1F蛋白質の標的害虫であるヨーロッパアワノメイガに対するLC₅₀値（半数致死濃度）は、0.58 µg/gである（添付資料2；社外秘情報につき非開示）。また、Cry34Ab1/Cry35Ab1蛋白質の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値は、5.56 µg/cm²及び44.5 µg/cm²である（添付資料3；社外秘情報につき非開示）。

25 (3) 影響の生じやすさの評価

(1)で特定されたチョウ目昆虫99種及びコウチュウ目昆虫4種が、本組換えトウモロコシの花粉又は植物体を摂取することにより影響を受ける可能性について評価した。

30 害虫抵抗性トウモロコシの花粉が昆虫（チョウ目オオカバマダラ：*Danaus plexippus*）の幼虫に与える影響については、トウモロコシほ場内と同程度の花粉堆積濃度では死亡等の影響が生ずる可能性があるという報告がある一方、個体群に対する影響は無視できる程度であるという報告もある（添付資料17及び18）。

35 花粉の暴露に対する該当チョウ目及びコウチュウ目昆虫の幼虫に影響を与える条件として、本組換えトウモロコシの花粉が飛散により、トウモロコシ栽培ほ場周辺に分布している当該幼虫の食草である植物体に付着し、それを当該幼虫が摂食した場合が想定される。

40 トウモロコシ栽培ほ場周辺に堆積する花粉量は、ほ場から10m離れると低い値となることが報告されている（≤10粒/cm²；Shirai and Takahashi, 2005；Hansen-Jesse and Obrycki, 2000）。また、栽培後の鋤込みにより、植物体はほ場及びその周辺の土壌中で分解されるため、本組換えトウモロコシの花粉や植物体の暴露は、ほ場周辺に限られる。

5 特定された 99 種のチョウ目昆虫のうち小蛾類のツトガ亜科及びミズメイガ亜科については、トウモロコシ栽培地という限定された環境を主要な生息地とする種はない。一方、大蛾類のマエアカヒトリについては、トウモロコシを摂食するが、生息数の増加がみられるにも関わらず、栽培地で近年の加害報告がないことを考慮すると、トウモロコシを優先的に摂食するものではないと考えられる。したがって、影響を受ける可能性は限定的である。その他のチョウ目昆虫の生息地や食草がトウモロコシの栽培ほ場周辺に限定されることも考え難い。

10 また、特定された 4 種のコウチュウ目昆虫のうちアオノネクイハムシ、アカガネネクイハムシ及びキンイロネクイハムシは生息環境が湿地や池等の水際であり、オキナワサビカミキリは竹類以外のイネ科から得られた記録がない。したがって、いずれもトウモロコシ栽培地という限定された環境を主要な生息地とする種ではないと考えられる。

15 以上のことから、特定されたチョウ目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している可能性は低いと考えられ、個体群レベルで本組換えトウモロコシによる影響を受ける可能性は低いと考えられた。

20 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

25 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

30 宿主であるトウモロコシが我が国において野生化した事例はなく、また交雑可能な近縁野生種であるテオシント及び *Tripsacum* 属の自生も報告されていない。このため、交雑性による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。

35 (2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

40

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

5 以上のことから、本組換えトウモロコシの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 —

第三 生物多様性影響の総合的評価

5 トウモロコシは、我が国において長年にわたり栽培されてきたが、これまでに我が国において野生化して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。

10 本組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる諸特性（形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率）について評価を行った結果、発芽揃い日は非組換えトウモロコシより早く、稈長に非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差が認められた。しかしながら、種子の生産量や休眠性等、その他の調査項目に相違はなく、発芽揃い日及び稈長に認められた相違も本組換えトウモロコシを自生させる要因になるとは考え難い。

15 本組換えトウモロコシ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。しかしながら、これらの昆虫による食害は、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している主な要因ではないため、本特性の付与が本組換えトウモロコシを自然環境で自生させる要因になるとは考え難い。また、除草剤グルホシネートに対する耐性も付与されているが、自然環境下では本除草剤が散布されることは想定され難い。

20 したがって、本組換えトウモロコシの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。

25 従来、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。

30 後作試験、鋤込み試験において、統計学的有意差は認められなかった。土壤微生物相試験の放線菌数において統計学的有意差が認められたが、最小及び最大値のいずれの値も、過去の同ほ場において通常の肥培管理を行ったときの放線菌数の変動の範囲を超えるものではなかった。また、これまでに承認された同様の遺伝子を導入した系統において、土壤微生物相への影響は認められていない。以上のことから、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシ栽培後の放線菌数に認められた統計学的有意差は、採取サンプル中の放線菌数の変動が偶発的に小さかったために生じたものと考えられた。したがって、本組換えトウモロコシにおいて有害物質の産生性が高まっているとは考え難い。

35 本組換えトウモロコシ中に産生される改変 Cry1F 蛋白質及び Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質は、チョウ目害虫及びコウチュウ目害虫に対してそれぞれ殺虫活性を有するが、その他の動物種に対しては毒性を持たない。また、PAT 蛋白質について、野生動植物に対する有害性は報告されていない。

40 本組換えトウモロコシの花粉又は鋤込んだ植物体を摂取することにより影響を受ける可能性のある野生動植物等として、チョウ目昆虫 99 種及びコウチュウ目昆虫 4 種が特定された。トウモロコシほ場周辺に堆積する花粉量は、ほ場から 10m 離れると極めて低く (≤ 10 粒/cm²)、また、栽培後の鋤込みにより、植物体はほ場及びその周辺の土壌中で分解されるため、本組換えトウモロコシの花粉や植物体

の暴露は、ほ場周辺に限られる。特定された昆虫種がトウモロコシ栽培ほ場周辺に局所的に生息している可能性は低いと考えられることから、個体群レベルで本組換えトウモロコシによる影響を受ける可能性は低いと考えられた。

5 以上のことから、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

我が国にトウモロコシと交雑可能な野生植物はない。したがって、本組換えトウモロコシの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。

10

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、我が国における生物多様性に影響が生ずるおそれはないと結論された。

参考文献

- 5 An, G., Mitra, A., Choi, H.K., Costa, M.A., An, K., Thornburg, R.W. and Ryan, C.A. (1989). Functional analysis of the 3' control region of the potato wound-inducible proteinase inhibitor II Gene. *The Plant Cell*. 1: 115-122.
- 10 Barker, R.F., Idler, K.B., Thompson, D.V. and Kemp, J.D. (1983). Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Molecular Biology*. 2: 335-350.
- 15 CFIA. (2013). The Biology of *Zea mays* (L.) (Maize). 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>)
Accessed on February 20th, 2013.
- 20 Christensen, A.H., Sharrock, R.A. and Quail, P.H. (1992). Maize polyubiquitin genes: structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. *Plant Molecular Biology*. 18: 675-689.
- 25 Dennehey, B.K., Petersen, W.L., Ford-Santino, C., Pajean, M. and Armstrong, C.L. (1994). Comparison of selective agents for use with the selectable marker gene *bar* in maize transformation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 36: 1-7.
- 30 Ellis, R.T., Stockhoff, B.A., Stamp, L., Schnepf, H.E., Schwab, G.E., Knuth, M., Russell, J., Cardineau, G.A. and Narva, K.E. (2002). Novel *Bacillus thuringiensis* binary insecticidal crystal proteins active on western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(3): 1137-1145.
- 35 EPA. (2010a). Biopesticides Registration Action Document: Cry1Ab and Cry1F *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) Corn plant-incorporated protectants. United States Environmental Protection Agency. pp.58-94.
(<http://www.epa.gov/opp00001/biopesticides/pips/cry1f-cry1ab-brad.pdf>).
Accessed on January 9th, 2013.

- 5 EPA. (2010b). Biopesticides Registration Action Document: *Bacillus thuringiensis* Cry34Ab1 and Cry35Ab1 proteins and the genetic material necessary for their production (PHP17662 T-DNA) in event DAS-59122-7 corn (OECD Unique Identifier: DAS-59122-7). PC Code: 006490. United States Environmental Protection Agency. pp.70-84.
(<http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/pips/cry3435ab1-brad.pdf>).
Accessed on August 13th, 2012.
- 10 FAO. (2013). FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
(<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>).
Accessed on February 15th, 2013.
- 15 Franck, A., Guilley, H., Jonard, G., Richards, K. and Hirth, L. (1980).
Nucleotide sequence of cauliflower mosaic virus DNA. *Cell*. 21: 285-294.
- Guthrie, W.D., Dicke, F.F., Neiswander, C.R. (1960). Leaf and sheath feeding resistance to the European corn borer in eight inbred lines of dent corn. Ohio Agricultural Experiment Station, Research Bulletin. 860: 1-38.
- 20 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.
- 25 Herman, R.A., Scherer, P.N., Young, D.L., Mihaliak, C.A., Meade, T., Woodsworth, A.T., Stockhoff, B.A. and Narva, K.E. (2002). Binary insecticidal crystal protein from *Bacillus thuringiensis*, strain PS149B1: Effects of individual protein components and mixtures in laboratory bioassays. *Journal of Economic Entomology*. 95(3): 635-639.
- 30 Hertig, C., Rebmann, G., Bull, J., Mauch, F. and Dudler, R. (1991). Sequence and tissue-specific expression of a putative peroxidase gene from wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Molecular Biology*. 16: 171-174.
- 35 ILSI. (2011). A Review of the Environmental Safety of the PAT Protein. Center for Environmental Risk Assessment, ILSI Research Foundation.
(http://cera-gmc.org/docs/cera_publications/pub_05_2011.pdf)
Accessed on August 1st, 2012.
- 40 Iowa State University. (2010). In-field drydown rates and harvest.
(<http://www.extension.iastate.edu/CropNews/2010/0928elmoreabendroth.htm>)
Accessed on March 11th, 2013.

- Keil, M., Sanchez-Serrano, J., Schell, J. and Willmitzer, L. (1986). Primary structure of a proteinase inhibitor II gene from potato (*Solanum tuberosum*). *Nucleic Acids Research*. 14: 5641-5650.
- 5 Kermicle, J. (1997). "Cross compatibility within the genus *Zea*". Proceedings of a forum: Gene flow among maize landraces, improved maize varieties, and teosinte: implications for transgenic maize. Serratos, J.A., Willcox, M.C. and Castillo-González, F. (eds). CIMMYT. Mexico, D.F. pp.40-43.
- 10 Komari, T., Hiei, Y., Saito, Y., Murai, N. and Kumashiro, T. (1996). Vectors carrying two separate T-DNAs for co-transformation of higher plants mediated by *Agrobacterium tumefaciens* and segregation of transformants free from selection markers. *The Plant Journal*. 10(1): 165-174.
- 15 Moellenbeck, D.J., Peters, M.L., Bing, J.W., Rouse, J.R., Higgins, L.S., Sims, L., Nevshemal, T., Marshall, L., Ellis, R.T., Bystrak, P.G., Lang, B.A., Stewart, J.L., Kouba, K., Sondag, V., Gustafson, V., Nour, K., Xu, D., Swenson, J., Zhang, J., Czaplá, T., Schwab, G., Jayne, S., Stockhoff, B.A., Narva, K., Schnepf, H.E., Stelman, S.J, Poutre, C., Koziel, M. and Duck, N. (2001).
20 Insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* protect corn from corn rootworms. *Nature Biotechnology*. 19(7): 668-672.
- Odell, J.T., Nagy, F. and Chua, N-H. (1985). Identification of DNA sequences
25 required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature*. 313: 810-812.
- 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.
30 ENV/JM/MONO(99)13. Organization for Economic Co-operation and
Development.
(<http://www.oecd.org/science/biotrack/46815628.pdf>)
Accessed on February 6th, 2013.
- 35 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>)
40 Accessed on February 6th, 2013.

- 5 OECD. (2003). Series on harmonisation 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>)
Accessed on February 6th, 2013.
- 10 OECD. (2007). Series on harmonisation of regulatory oversight in biotechnology number 42. Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* - Derived insect control proteins. ENV/JM/MONO(2007)14. Organization for Economic Co-operation and Development.
(<http://www.oecd.org/science/biotrack/46815888.pdf>)
15 Accessed on February 20th, 2013.
- Oleson, J.D., Park, Y.-L., Nowatzki, T.M. and Tollefson, J.J. (2005). Node-injury scale to evaluate root injury by corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*. 98(1): 1-8.
20
- Pietrzak, M., Shillito, R.D., Hohn, T. and Potrykus, I. (1986). Expression in plants of two bacterial antibiotic resistance genes after protoplast transformation with a new plant expression vector. *Nucleic Acids Research*. 14: 5857-5868.
25
- Pleasants, J.M., Hellmich, R.L., Dively, G.P., Sears, M.K., 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(21): 11919-11924.
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. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 62(3): 775-806.
35
- 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.
- 40 USDA (2000). Petition for determination of non-regulated status *B.t.* Cry1F insect-resistant, glufosinate-tolerant maize line 1507.
(http://www.aphis.usda.gov/biotechnology/ea/pdf/aphisdocs/00_13601p.pdf).

- USDA (2012). Petition for the determination of nonregulated status for insect-resistant and herbicide-tolerant 4114 maize.
(http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/11_24401p.pdf).
Accessed on May 28th, 2013.
- 5
- 環境省. (2012). 昆虫類 第4次レッドリスト. pp.12-33.
(http://www.biodic.go.jp/rdb/rl2012/RL2012siryo7_1.pdf)
Accessed on February 13th, 2013.
- 10
- 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 15th, 2013.
- 15
- 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.
- 20
- 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.
- 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.
- 25
- 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.
- 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.
- 30
- 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.
- 35
- 農林水産省. (2013). 平成24年産飼肥料作物の作付(栽培)面積. 農林水産統計. (平成25年1月29日公表)
(http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/menseki/pdf/menseki_siryou_12.pdf)
Accessed on February 8th, 2013.
- 40

山本勝利、大黒俊哉、松村雄. (2003). わが国における鱗翅目のレッドリスト掲載種への Bt トウモロコシ花粉の影響評価. 独立行政法人農業環境技術研究所 (編) 農業環境研究叢書 第 14 号. 独立行政法人農業環境技術研究所. pp.62-81.

5

緊急措置計画書

平成 25 年 6 月 21 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

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耐性トウモロコシ(改変 *cry1F*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *pat*, *Zea mays subsp. mays* (L.) *Illis*) (4114, OECD UI: DP-004114-3) (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、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。

15

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

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 (38ページ)。危機対策本部が、本組換えトウモロコシの開発者である米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社との円滑な連絡を確保する。

25

デュポン株式会社危機対策本部 名簿 (平成 25 年 2 月現在)

30

(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

弊社は、本組換え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

5 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、米国における本組換え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、科学的根拠に基づき、本組換え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認められた場合には、米国パイオニア・ハイブ
10 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。

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、本件
15 について通知する。

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 本組換え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

科学的根拠に基づき、本組換え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
30 措置対応のための体制及び連絡窓口を報告する。

添付資料

1.～14. (社外秘情報につき非開示)

5

15. 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫

10

16. 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているコウチュウ目昆虫

17. Losey, J.E., Rayor, L.S. and Carter, M.E. (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*. 399(6733): 214.

15

18. Sears, M.K., Hellmich, R.L., Stanley-Horn, D.E., Oberhauser, K.S., Pleasants, J.M., Mattila, H.R., Siegfried, B.D. and Dively, G.P. (2001). Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 98(21): 11937-11942.

20