

除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性トウモロコシ (*mepsps*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MZHG0JG, OECD UI: SYN-000JG-2) 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	2
第1 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
① 和名、英名及び学名	2
② 宿主の品種又は系統名	2
③ 国内及び国外の自然環境における自生地域	2
(2) 使用等の歴史及び現状	2
① 国内及び国外における第一種使用等の歴史	2
② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途	3
(3) 生理学的及び生態学的特性	4
イ、基本的特性	4
ロ、生息又は生育可能な環境の条件	4
ハ、捕食性又は寄生性	5
ニ、繁殖又は増殖の様式	5
① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命	5
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	5
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	6
④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命	6
ホ、病原性	7
ヘ、有害物質の産生性	7
ト、その他の情報	7
2. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	8
(1) 供与核酸に関する情報	8
イ、構成及び構成要素の由来	8
ロ、構成要素の機能	10
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	10

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(食品としてのアレルギー性を除く)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	10
③	宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容	11
(2)	ベクターに関する情報	12
イ	名称及び由来	12
ロ	特性	12
①	ベクターの塩基数及び塩基配列	12
②	特定の機能を有する塩基配列がある場合はその機能	12
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	13
(3)	遺伝子組換え生物等の調製方法	13
イ	宿主内に移入された核酸全体の構成	13
ロ	宿主内に移入された核酸の移入方法	15
ハ	遺伝子組換え生物等の育成の経過	15
①	核酸が移入された細胞の選抜の方法	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菌体の残存の有無	15
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	15
(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	16
①	移入された核酸の複製物が存在する場所(染色体上、細胞小器官内、原形質内の別)	16
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	17
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	17
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	18
⑤	ウイルス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	18
(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	18
(6)	宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	19

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	19
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	20
a 形態及び生育の特性	20
b 生育初期における低温又は高温耐性	22
c 成体の越冬性	22
d 花粉の稔性及びサイズ	22
e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率	23
f 交雑率	24
g 有害物質の産生性	24
3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	25
(1) 使用等の内容	25
(2) 使用等の方法	25
(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	25
(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	25
(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	26
(6) 国外における使用等に関する情報	26
第2 項目ごとの生物多様性影響の評価	27
1. 競合における優位性	27
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	27
(2) 影響の具体的内容の評価	28
(3) 影響の生じやすさの評価	28
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	28
2. 有害物質の産生性	29
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	29
(2) 影響の具体的内容の評価	30
(3) 影響の生じやすさの評価	30
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	30
3. 交雑性	30
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	30

(2) 影響の具体的内容の評価	30
(3) 影響の生じやすさの評価	30
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	31
4. その他の性質	31
第3 生物多様性影響評価の総合的評価	32
引用文献	34
緊急措置計画書	40

第一種使用規程承認申請書

平成 29 年 1 月 27 日

5

農林水産大臣 山本 有二 殿
環境大臣 山本 公一 殿

10

氏名 シンジェンタジャパン株式会社
申請者 代表取締役社長 篠原 聡明
住所 東京都中央区晴海一丁目 8 番 10 号
オフィスタワー X

15

20 第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項の規定により、次のとおり申請します。

遺伝子組換え生物等の種類の名称	除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性トウモロコシ (<i>mepsps, pat, Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (MZHG0JG, OECD UI: SYN-000JG-2)
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

第1 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

5 1. 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

① 和名、英名及び学名

10

和名：イネ科 トウモロコシ属 トウモロコシ

英名：corn, maize

学名：*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis

15

② 宿主の品種又は系統名

宿主は、トウモロコシのデント種に属する自殖系統(NP2222)である。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

20

トウモロコシの野生種と見られる植物は現存せず(山田, 2001)、国外の自然環境におけるトウモロコシの自生は報告されていない。

25 なお、トウモロコシの起源に関与すると考えられる近縁種として、トウモロコシと交雑可能な *Zea* 属のテオシントと *Tripsacum* 属のトリプサクムの存在が知られている(OECD, 2003)。テオシントとトリプサクムはメキシコとグアテマラ等に広範囲に自生しており、トリプサクムはさらに米国東部、南部から南米でも認められている(山田, 2001、OECD, 2003)。

我が国の自然環境下において、トウモロコシ及びその近縁種の自生について報告はない。

30

(2) 使用等の歴史及び現状

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

35

トウモロコシの原産地がアメリカ大陸であることは間違いないが、その栽培起源地域

については諸説あり、米国南西部、メキシコ及び中央アメリカの複数地域説、メキシコと南米の複数地域説、メキシコとグアテマラの複数地域説及びメキシコ南部単独説がある(OECD, 2003)。考古学的検証に基づく、最初にトウモロコシの利用が始まったのは紀元前 7000～5000 年頃であり、紀元前 3400 年頃には栽培が始まったと考えられている(戸澤, 2005)。また、南北アメリカ大陸の各地に伝播して栽培される過程で、デント、ポップ、スイート、フリントのような変異種が生じたと考えられる(山田, 2001、戸澤, 2005)。1492 年のコロンブスのアメリカ大陸到達後、コロンブスによってスペインを通じてヨーロッパに導入され、その後、中東、アフリカ及びアジアの各地域に伝播した。

5

我が国へは 1573～1591 年頃にポルトガル人によって長崎へ伝えられたフリント種が最初とされ、主に関東以南の山間地で栽培が行われていた。また、明治時代になって北海道へ米国からデント種とフリント種が新たに導入され、全国的に栽培が普及した(戸澤, 2005)。

10

15 ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

【主たる栽培地域】

現在、トウモロコシは、北緯 58 度から南緯 40 度に至る範囲で栽培可能であり、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、全世界で広く栽培されている(OECD, 2003、戸澤, 2005)。

20

国連食糧農業機関(FAO)によると、2014 年における全世界のトウモロコシの栽培面積は約 1 億 8 千万 ha であり、上位国は、中国 3,595 万 ha、米国 3,364 万 ha、ブラジル 1,543 万 ha、インド 860 万 ha、メキシコ 706 万 ha である(FAO, 2016)。

現在、我が国で栽培されているトウモロコシは、統計上、飼料用青刈りデントコーンと生食用スイートコーンがあり、2016 年の青刈りデントコーンの作付面積は約 9 万 4,100 ha で(農林水産省, 2017a)、2015 年のスイートコーンの作付面積は約 2 万 4,100 ha である(農林水産省, 2016)。

25

【栽培方法】

海外では、米国をはじめとする主要栽培国において、大型機械を利用した大規模栽培が行われている。

30

一方、我が国では、飼料用トウモロコシを中心に栽培が行われており、慣行栽培法は次のとおりである。

北海道から九州に至る慣行播種期は 4 月中～下旬から 5 月中～下旬が最も多い。適正栽植密度は 10 a 当たり 6,000～8,000 本である。中耕、除草、土寄せは一連の作業で

35

行い、生育初期に2~3回行う。収穫期は9月下旬から10月下旬で、関東や西南暖地ではやや早く、北海道や東北、東山ではやや遅い(瀧澤, 2001)。

5 なお、国内主要種苗メーカーの品種リストに基づく、現在、栽培用として市販されているトウモロコシ種子のほとんどは、海外から輸入された一代雑種(F₁)品種であり、収穫種子を翌年に栽培用として播種することは一般的でない。

【流通実態及び用途】

10 世界第一のトウモロコシ生産国である米国では、その大部分がアイオワ州、イリノイ州、ネブラスカ州及びミネソタ州を中心としたコーンベルトと呼ばれる地域で栽培されている。2016年における米国でのトウモロコシの利用用途の内訳は、46.0%が飼料(7.6%の蒸留粕を含む)、28.9%がエタノール製造、15.3%が輸出で、残りはコーンシロップ等の食品製造であった(NCGA, 2017)。

15 我が国では、2016年に約1,534万トンのトウモロコシを輸入している。輸入トウモロコシのうちの約1,051万トンは飼料用であり、残りは食品・工業用及び栽培用と考えられる(財務省, 2017)。なお、飼料用トウモロコシの大部分は、配合・混合飼料の原料として利用されている(農林水産省, 2017b)。

また、飼料用トウモロコシは、発芽可能な状態で輸入されるものが多いが、加熱・圧

20 (3) 生理学的及び生態学的特性

イ、基本的特性

25

ロ、生息又は生育可能な環境の条件

トウモロコシは、長い年月の間に栽培植物として馴化された結果、自然条件下における自生能力を失った作物である(OECD, 2003)。

30 トウモロコシ種子の発芽の最低温度は10~11℃、最適温度は33℃とされている。実際に播種されるのは13~14℃以上である(中村, 2001)。

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(瀧澤, 2001)。

35 また、トウモロコシはもともと短日植物であり、その感光性(日長反応性)は晩生種ほど敏感で、早生品種ほど鈍感である(柿本・山田, 2001)。

これら温度条件等の他、トウモロコシは吸水により種子重が乾燥重の 1.6~2.0 倍になったときに幼根(初生根又は種子根)が抽出し、子実発芽となる(戸澤, 2005)。また、トウモロコシの栽培は腐植に富む土壌が適し、pH 5.0~8.0 の範囲で栽培可能である(戸澤, 2005)。

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

完熟した種子は雌穂の苞皮で覆われており、脱粒しない。

15 トウモロコシは長い間栽培植物として利用してきた過程で、自然条件下における自生能力を失っており、その種子を分散させるためにはヒトの仲介が必要である(OECD, 2003)。

20 種子の休眠性は知られていない。種子の寿命は、主に温度と湿度によって左右され、低温乾燥下では長く、高温多湿下では短い(戸澤, 2005)。氷点下の気温は種子の発芽に悪影響を与え、トウモロコシ種子生産に影響を及ぼす主要な要因となっている。また、45 °C以上の気温も種子の発芽に悪影響を及ぼすことが報告されている(Wych, 1988)。

25 さらに、収穫時に雌穂又は種子が地上に落下しても、土壌温度が 10 °Cに達し、適度な水分条件を伴うまで発芽しないため、その多くが自然状態では腐敗し枯死する(菊池, 1987、中村, 2001)。また、仮に発芽しても生長点が地上に出た後は 6~8 時間以上 0 °C以下の外気にさらされると生存できない(OECD, 2003)。子実の活力を 6~8 年保存するには、子実水分 12 %、温度 10 °C、相対湿度 55 %以内に保つことが必要である(中村, 2001、OECD, 2003)。

30 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

トウモロコシは栄養繁殖せず、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ない。

35

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

5 トウモロコシは雌雄同株植物の一年生作物で、主として風媒によって受粉する作物であり 95～99 %は他家受粉によって作られた種子により繁殖するが、自家不和合性は知られておらず、自家受粉も可能である(千藤, 2001、OECD, 2003)。

10 トウモロコシと交雑可能なのは、同じ *Z. mays* 種に含まれトウモロコシの近縁野生種である一年生のテオシント(*Z. mays* subsp. *mexicana*)及び *Tripsacum* 属である。トウモロコシとテオシントは近接している場合に自由に交雑するが、*Tripsacum* 属との交雑は非常に稀である(OECD, 2003)。テオシントはメキシコからグアテマラにかけて分布しており、*Tripsacum* 属の分布地域は北アメリカ東部、南部から南米となっている(山田, 2001、OECD, 2003)。

15 なお、我が国におけるトウモロコシと交雑可能なテオシント及び *Tripsacum* 属の野生種の自生について報告はない。また、受精を伴わない繁殖能力を有する種子の生産(アポミクシス)についての報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

20 トウモロコシは雌雄異花序で、雌花は葉腋に着いて 1～3 本の雌穂を形成し、雄穂は茎の先端に着く(柿本・山田, 2001、OECD, 2003)。雄穂は抽出すると 3～5 日で開花し、開花始めから終わりまでの期間は盛夏で一般に 8～9 日である(中村, 2001)。一方、雌穂の絹糸抽出は雄穂開花のおよそ 1 日後に始まり、抽出始めから抽出揃いまでの期間は 5～6 日である(中村, 2001)。一本の雄穂には 1,200～2,000 個の小穂があり、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)。

25 花粉の稔性は花粉の充実度を観察することで推定できる(西尾, 2002)。

花粉の形状は球形で、直径は 90～120 μm 程度である(中村, 2001)。

受粉は主に風媒によって行われ、ほとんどの場合は他家受粉である(戸澤, 2005)。他品種、系統の花粉の混入を防ぐため隔離距離は、林、高層建築物などの障害物の有無などにより異なるものの、200～400 m とされている(千藤, 2001)。

30 我が国でのトウモロコシほ場周辺におけるヒマワリ (*Helianthus annuus*)及びイヌホオズキ (*Solanum nigrum*)葉へのトウモロコシの花粉の堆積密度を調査した研究では、ほ場の縁(0 m)での最大花粉堆積密度はヒマワリの葉で 81.7 粒/cm²、イヌホオズキの葉では 71.1 粒/cm²であった(Shirai and Takahashi, 2005)。また、ほ場から 5 m 離れた場合の最大堆積密度は、ヒマワリの葉で 19.6 粒/cm²、イヌホオズキの葉では 22.2 粒/cm²、ほ場から 10 m 離れた場合はヒマワリの葉で 10 粒/cm²以内であった(Shirai and

35

Takahashi, 2005)。

5 また、北米でも全 7 ヲ所のトウモロコシ畑周辺で、延べ 1,700 本以上のトウワタ (*Asclepias syriaca*) を用いて花粉堆積密度の調査が行われている (Pleasant *et al.*, 2001)。調査の結果、トウモロコシ畑から 1 m、2 m、4~5 m 離れるにつれて、花粉の平均堆積密度は 35.4 粒/cm²、14.2 粒/cm²、そして 8.1 粒/cm² へと減少していくことが明らかとなっている。

さらに、カナダのトウモロコシ畑周辺のトウワタの葉上における花粉堆積密度を調査しており、ほ場の縁から 1 m 及び 5 m 離れた地点での平均堆積密度は、それぞれ平均 28 粒/cm² 及び 1.4 粒/cm² であったと報告している (Sears *et al.*, 2000)。

10 花粉の寿命は通常 10~30 分であるが、好適条件下ではさらに長い (CFIA, 2012)。平均的な花粉は大気中に飛散した 2 時間後にはその発芽能力を 100 % 失うという報告もある (Luna *et al.*, 2001)。

ホ、病原性

15

—

へ、有害物質の産生性

20 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又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。

ト、その他の情報

25 これまで、運搬等においてこぼれ落ちたトウモロコシの、我が国の畑以外での生育については、2013 年に熊本県内の港湾周辺で 1 個体、2015 年に鹿児島県内の港湾周辺で 1 個体の計 2 個体報告されている (農林水産省, 2014、農林水産省, 2017c)。

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 除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性トウモロコシ(*mepsps*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MZHG0JG, OECD UI: SYN-000JG-2) (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を表 1 (8～10 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要素の由来及び機能

構成要素 ^a	サイズ (bp)	由来及び機能
<i>mepsps</i> 遺伝子カセット		
FMV-05 エンハンサー	194	Figwort mosaic virus(FMV)由来のエンハンサー配列で、転写活性を高める(Maiti <i>et al.</i> , 1997)。
35S-05 エンハンサー	293	Cauliflower mosaic virus(CaMV)由来の 35S エンハンサー配列で、転写活性を高める(Ow <i>et al.</i> , 1987)。
Ubi158-02 プロモーター	3,988	トウモロコシのユビキチン ZmU29158-3 遺伝子由来のプロモーター配列で、トウモロコシポリユビキチン遺伝子のプロモーター(Christensen <i>et al.</i> , 1992)と塩基配列が類似している。目的遺伝子を恒常的に発現させる。
TMV-03 エンハンサー	68	Tobacco mosaic virus(TMV)由来のオメガ配列(5'末端側非翻訳リーダー配列)(Gallie <i>et al.</i> , 1987)で、植物における翻訳活性を高める(Gallie, 2002)。
OTP-02	372	ヒマワリとトウモロコシ由来の葉緑体輸送ペプチドを組み合わせて合成した N 末端最適輸送ペプチド(Optimized Transit Peptide)をコードする配列で、 <i>mepsps</i> 遺伝子によって発現する mEPSPS 蛋白質を葉緑体に輸送する働きを持つ(Lebrun <i>et al.</i> , 1996)。

<i>mepsps</i> 遺伝子 (<i>mepsps-02</i>)	1,338	トウモロコシに由来する 5-エノールピルビルシキミ酸 3-リン酸合成酵素(EPSPS 蛋白質)の変異体をコードする遺伝子。コードする mEPSPS 蛋白質では、トウモロコシの EPSPS 蛋白質の 102 番目のトレオニンがイソロイシンに、106 番目のプロリンがセリンに置換されている(Lebrun <i>et al.</i> , 2003)。mEPSPS 蛋白質は除草剤グリホサートの存在下でも活性を示し、植物に除草剤グリホサート耐性を付与する。なお、除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(<i>mEPSPS</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (GA21, OECD UI: MON-00021-9)に導入された <i>mEPSPS</i> 遺伝子から塩基配列を変更したが、コードする mEPSPS 蛋白質のアミノ酸配列は同一である。
Ubi158-02 ターミネーター	1,000	トウモロコシのエピキチン ZmU29158-3 遺伝子由来のターミネーター配列で、トウモロコシポリエピキチン遺伝子のターミネーター(Christensen <i>et al.</i> , 1992)と塩基配列が類似している。ポリアデニル化により mRNA の転写を終結させる。
<i>pat</i> 遺伝子カセット		
35S-19 プロモーター	521	Cauliflower mosaic virus(CaMV)由来のプロモーター配列(Odell <i>et al.</i> , 1985)で、植物において目的遺伝子を恒常的に発現させる。
<i>pat</i> 遺伝子 (<i>pat-09</i>)	552	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> strain Tü494 由来のホスフィンオス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で、植物での発現を高めるために野生型の塩基配列(Wohlleben <i>et al.</i> , 1988)のコドンを最適化しているが、コードする PAT 蛋白質のアミノ酸配列は変更していない。PAT 蛋白質が除草剤グルホシネートをアセチル化して不活化することで、植物に除草剤グルホシネート耐性を付与する(OECD, 1999b)。なお、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 <i>cry1Ab</i> , <i>pat</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (Bt11, OECD UI: SYN-BT011-1)に導入された <i>pat</i> 遺伝子から塩基配列を変更したが、コードする PAT 蛋白質のアミノ酸配列は同一である。
NOS-05-01 ターミネーター	253	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> のノパリン合成酵素(NOS)遺伝子由来のターミネーター配列(Bevan <i>et al.</i> , 1983)で、ポリアデニル化により mRNA の転写を終結させる。
境界領域		
LB-01-01	25	<i>A. tumefaciens</i> のノパリン Ti-プラスミド由来の T-DNA 左側境界配列で、植物ゲノムへの T-DNA の組み込みに必要(Yadav <i>et al.</i> , 1982)。
RB-01-01	25	<i>A. tumefaciens</i> のノパリン Ti-プラスミド由来の T-DNA 右側境界配列で、植物ゲノムへの T-DNA の組み込みに必要(Wang <i>et al.</i> , 1984)。

外側骨格領域（本組換えトウモロコシには存在しない）		
<i>aadA-03</i>	789	大腸菌(<i>Escherichia coli</i>)のトランスポゾン Tn7 由来のアミノグリコシドアデニルトランスフェラーゼ遺伝子(Fling <i>et al.</i> , 1985)で、ストレプトマイシン及びスペクチノマイシン耐性を付与するため、細菌の選抜マーカーとして用いた。
<i>virG-01</i>	726	<i>A. tumefaciens</i> の pAD1289 由来の VirGN54D (<i>virG</i>)遺伝子で、アグロバクテリウム法による効率的な植物の形質転換に必要な(Hansen <i>et al.</i> , 1994)。
<i>repA-03</i>	1,074	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 由来の pVS1 複製蛋白質をコードする遺伝子で、グラム陰性植物寄生細菌中で機能する最小の pVS1 レプリコンの一部(Heeb <i>et al.</i> , 2000)。
VS1-02 ori	405	<i>P. aeruginosa</i> のプラスミド pVS1 由来の複製起点と分断領域の共通配列で、 <i>A. tumefaciens</i> における複製開始点として機能する(Itoh <i>et al.</i> , 1984)。
ColE1-06 ori	807	大腸菌由来のプラスミドの複製起点(Itoh and Tomizawa, 1979)。

a : 上表の各構成要素のハイフン(-)以降の数字は、シンジェンタ社内において構成要素の機能を変えずに塩基配列のみを変更した際に、変更前の配列と区別する目的で付したものである。
(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

5 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

10 本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を、表 1 (8～10 ページ)に示した。

- 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(食品としてのアレルギー性を除く)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
- 15

【mEPSPS 蛋白質】

除草剤グリホサートは、植物において芳香族アミノ酸合成経路の一部であるシキミ酸経路の 5-エノールピルビルシキミ酸 3-リン酸合成酵素(EPSPS 蛋白質)の活性を阻害し、芳香族アミノ酸合成を止めることで植物を枯死させる(Steinrücken and Amrhein, 1980; Lebrun *et al.*, 2003)。mEPSPS 蛋白質は除草剤グリホサートの存在下でも植物

20

内在性の EPSPS 蛋白質と同様の活性を維持し、植物に除草剤グリホサート耐性を付与する(Lebrun *et al.*, 2003)。

【PAT 蛋白質】

5 除草剤グルホシネートは、植物において窒素代謝の過程で生成されたアンモニアの無毒化に関するグルタミン合成酵素の活性を阻害し、アンモニアを蓄積させることによって植物を枯死させる(OECD, 1999b)。ホスフィノスリシンアセチルトランスフェラーゼ(PAT 蛋白質)は除草剤グルホシネートをアセチル化して *N*-アセチル-L-グルホシネートへと代謝し、グルホシネートによるグルタミン合成酵素の阻害作用を不活性化することによって、植物に除草剤グルホシネート耐性を付与する(OECD, 1999b)。

また、mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質のアミノ酸配列が既知アレルゲンと相同性を持たないことを、FARRP AllergenOnline Database を用いた相同性検索によって 2016 年に確認した。

15

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

【mEPSPS 蛋白質】

20 mEPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質は、シキミ酸経路を触媒する酵素の一つであるが(della-Cioppa *et al.*, 1986)、シキミ酸経路下流で作用する EPSPS 蛋白質は律速酵素として機能しないため、EPSPS 蛋白質の活性が増大しても、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(Padgette *et al.*, 1996; Ridley *et al.*, 2002)。また、EPSPS 蛋白質は基質であるホスホエノールピルビン酸(PEP)とシキミ酸-3-リン酸塩(S3P)と特異的に反応することが知られている(OECD, 1999a)。なお、PEP と S3P 以外に S3P の類似体であるシキミ酸が EPSPS 蛋白質と反応することが知られているが、その反応性は S3P との反応性の約 25 200 万分の 1 であることから(Gruys *et al.*, 1992)、シキミ酸が生体内で基質として反応するとは考えにくい。

【PAT 蛋白質】

30 PAT 蛋白質はグルホシネートをアセチル化することで、*N*-アセチル-L-グルホシネートへと代謝する酵素である。PAT 蛋白質は、L-アミノ酸に分類されるグルホシネートに高い特異性を示すものの、他の各種アミノ酸にアセチル基を転移することはなく、過剰の各種アミノ酸の存在下でも、PAT 蛋白質によるグルホシネートへのアセチル基転移反応が阻害されることはなかった(OECD, 1999b)。

35

5 以上のように、mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質はいずれも基質特異性が高く、宿主の代謝系を変化させることはないと考えられた。また、両蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立していることから、これらの蛋白質が相互に作用して予期しない代謝物が生じることは考えにくい。

10 なお、本組換えトウモロコシと同じく mEPSPS 蛋白質を発現する除草剤グリホサート耐性トウモロコシ(*mEPSPS*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (GA21, OECD UI: MON-00021-9) (以下、「GA21」という。)や PAT 蛋白質を発現する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 *cry1Ab*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (Bt11, OECD UI : SYN-BT011-1) (以下、「Bt11」という。)が我が国ですでに承認されており(J-BCH, 2016)、その審査において mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質の作用機序が評価されている。

15 (2) ベクターに関する情報

イ、名称及び由来

20 本組換えトウモロコシの作出に用いたベクターは pSYN18857 である。このベクターは大腸菌由来の pUC19 等を基に構築された。

ロ、特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

25

ベクター pSYN18857 の塩基数は 14,262 bp であり、その塩基配列は明らかにされている(別紙 1、社外秘情報により非開示)。

② 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 pSYN18857 には、微生物中でベクターを増殖する際の選抜マーカーとして、ストレプトマイシン及びスペクチノマイシン耐性を発現する *aadA* 遺伝子が含まれるものの、本組換えトウモロコシ中にこの遺伝子は導入されていない。

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

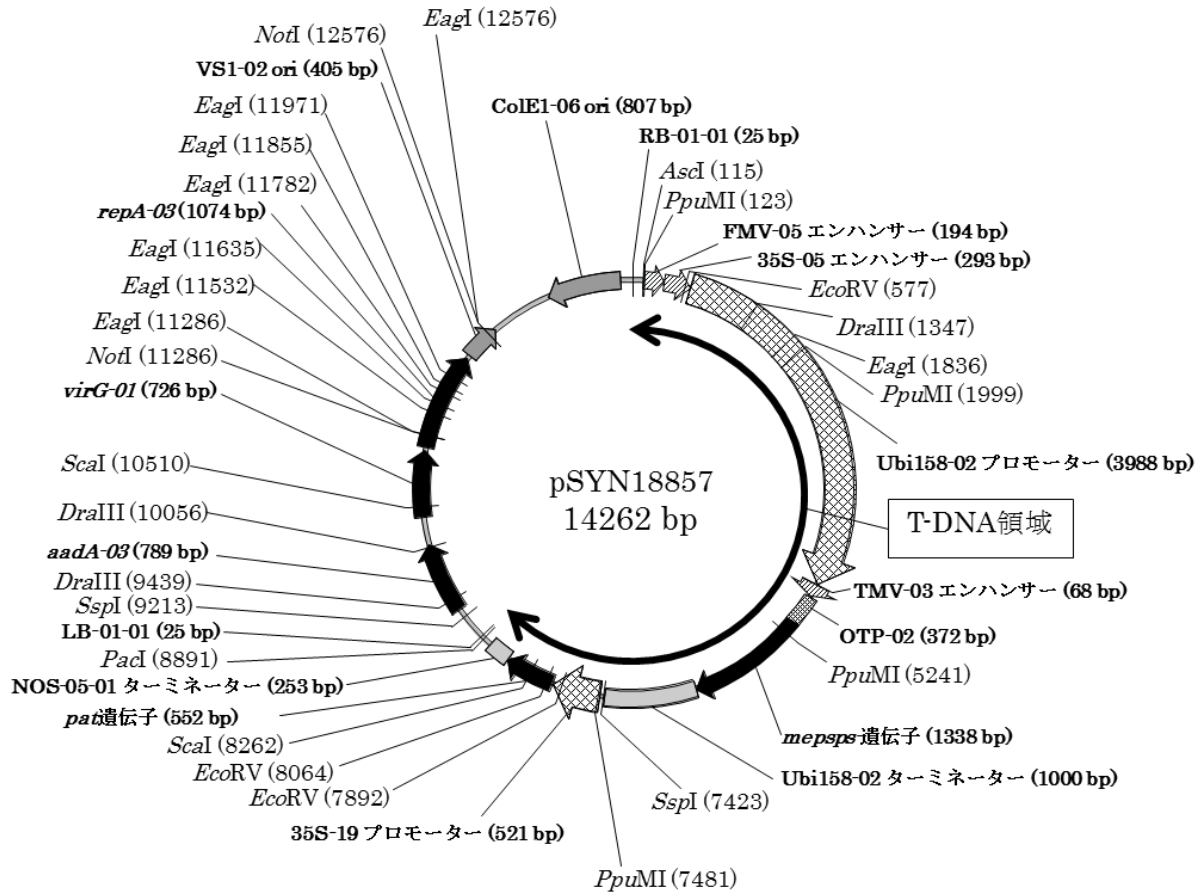
ベクターpSYN18857 中に感染性を示すような配列はない。

5 (3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

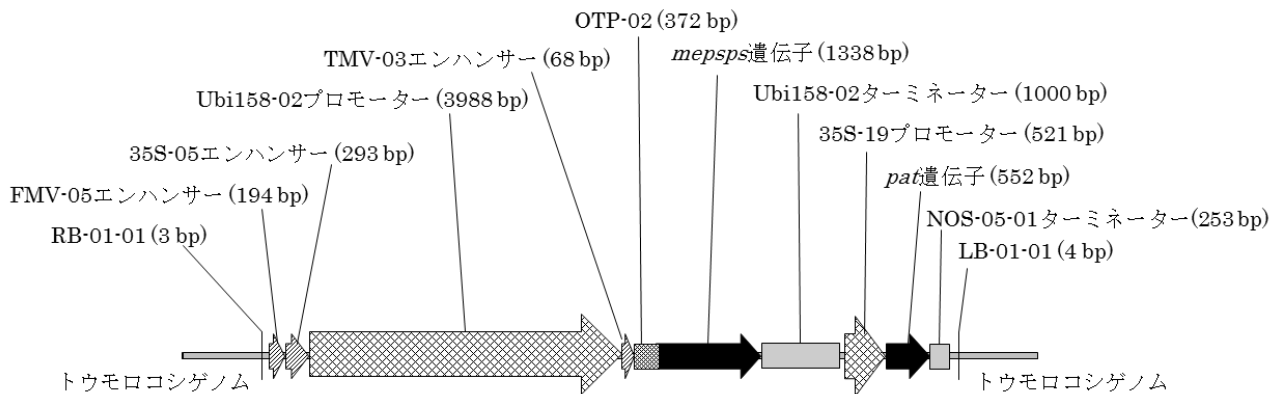
イ、宿主内に移入された核酸全体の構成

10 本組換えトウモロコシの作出に用いたベクターpSYN18857 の各構成要素の位置及び方向並びに制限酵素による切断部位、本組換えトウモロコシに移入された核酸の構成を図 1 (14 ページ)に示した。

(A)



(B)



5 図 1 ベクターpSYN18857 及び本組換えトウモロコシに移入された核酸の構成

(A) : 本組換えトウモロコシの作出に用いたベクターpSYN18857 の模式図で、RB-01-01 と LB-01-01 に挟まれた部分が T-DNA 領域である。なお、ベクターにおける核酸の構成要素は太字で、制限酵素切断部位は細字で示す。

10 (B) : 本組換えトウモロコシの挿入遺伝子の模式図。ベクターpSYN18857 の T-DNA 領域の 1 コピーがトウモロコシゲノム中の 1 ヲ所に挿入されていたが、境界領域の RB-01-01 と LB-01-01 のみ一部が欠損し、それぞれ 3 bp 及び 4 bp がトウモロコシゲノムに存在していた。挿入遺伝子及びその近傍領域の塩基配列を別紙 2(社外秘情報により非開示)に示した。(本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン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

宿主への核酸の導入はアグロバクテリウム法により行った。

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の方法

10 ベクターpSYN18857 を含むアグロバクテリウムと共存培養したトウモロコシ未熟胚を、グルホシネートを含む培地で培養することにより、形質転換細胞を選抜した。

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菌体の残存の有無

15 アグロバクテリウムを除去するために、選抜した形質転換細胞を抗生物質セフトキシムを含む培地に移し、培養した。さらに、本組換えトウモロコシ(図 2、社外秘情報により非開示)の種子 3,000 粒を用いてベクターpSYN18857 の外側骨格領域を標的とした PCR 分析を行ったところ、本組換えトウモロコシにはベクターpSYN18857 の外側骨格領域は存在しなかった(別紙 3、社外秘情報により非開示)。以上より、本組換えトウモロコシにはアグロバクテリウム菌体は残存しないことが確認された。

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

25

選抜細胞から再分化した植物体について PCR 分析を行い、*mepsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子が存在し、*aadA* 遺伝子の欠如が確認された本組換えトウモロコシの植物体を形質転換当代(T₀世代)として選抜した。

30 本組換えトウモロコシの生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために供試した世代の育成経過を図 2(16 ページ)に示した。なお、承認申請の対象となるのは、図 2(16 ページ)で示した社外秘情報により非開示である。

35 本組換えトウモロコシの我が国における申請及び承認状況は表 2 (16 ページ)のとおりである。

5

図 2 本組換えトウモロコシの育成図

表 2 我が国における申請及び承認状況 (2017 年 8 月現在)

申請先	目的	申請・承認状況
農林水産省・環境省	環境 (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) ^a	— ^b
農林水産省・環境省	環境 (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) ^a	2017 年 1 月申請
厚生労働省	食品 ^c	2017 年 8 月承認
農林水産省	飼料 ^d	2017 年 2 月申請

10

a : 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く。

b : 「農林水産大臣がその生産又は流通を所管する遺伝子組換え植物に係る第一種使用規程の承認の申請について」(平成 19 年 12 月 10 日付け 19 消安第 8999 号、環自野発第 071210001 号農林水産省消費・安全局長、農林水産省農林水産技術会議事務局長、林野庁長官、環境省自然環境局長通知)の第 3 の(6)に基づき、2015 年 6 月 23 日の農作物分科会にて、本組換えトウモロコシについて隔離ほ場での情報収集(隔離ほ場試験)は不要と判断された。また、2015 年 9 月 17 日の総合検討会での旨が報告された。

15

c : 食品衛生法に基づく。

d : 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律に基づく。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

20

(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(染色体上、細胞小器官内、原形質内の別)

25

本組換えトウモロコシの複数世代(図 2、社外秘情報により非開示)を用いて *mepsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子の有無を確認する PCR 分析を行い、挿入遺伝子の分離比評価を行った(別紙 4、社外秘情報により非開示)。その結果、*mepsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子のどちらも、各世代における実測値がメンデルの法則に基づく期待値と矛盾しないことから、移入された核酸は染色体上に存在すると考えられた(表 3、17 ページ)。

30

表 3 PCR 分析による挿入遺伝子の分離比 (別紙 4、社外秘情報により非開示)

	BC ₁ F ₁		BC ₂ F ₁		BC ₃ F ₁	
	実測値	期待値	実測値	期待値	実測値	期待値
陽性個体数 ^a	115	110	100	108	97	88.5
陰性個体数 ^a	105	110	116	108	80	88.5
合計個体数	220	220	216	216	177	177
カイ二乗値 ^b	0.455		1.185		1.633	

a : 陽性個体は *mepsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子どちらも陽性、陰性個体はどちらも陰性であった。

b : カイ二乗検定(Strickberger, 1976)により分離比 1 : 1 に対する適合度を検定した。5 %水準での棄却値は 3.84 で(Strickberger, 1976)、上記のカイ二乗値はいずれも棄却値以下なので、実測値はメンデルの分離法則に矛盾しない。

5

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

- 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

10

本組換えトウモロコシの複数世代(図 2、社外秘情報により非開示)から抽出したゲノム DNA を制限酵素処理により切断し、ベクター pSYN18857 の T-DNA 領域をプローブに用いたサザンブロット分析を行った(別紙 5、社外秘情報により非開示)。その結果、1 コピーの *mepsps* 遺伝子カセットと *pat* 遺伝子カセットからなるベクター pSYN18857 の T-DNA 領域が、本組換えトウモロコシの染色体上の 1 ヲ所に挿入され(図 1 の(B)、14 ページ)、後代へ安定して伝達していることが確認された(別紙 5、社外秘情報により非開示)。また、ベクター pSYN18857 の外側骨格領域をプローブに用いたサザンブロット分析を行い、本組換えトウモロコシに T-DNA 以外の領域は挿入されていないことを確認した(別紙 5、社外秘情報により非開示)。

15

20

- 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

25

—

- 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

2014年に米国シンジェンタ社の温室において本組換えトウモロコシの複数世代(図2、
5 社外秘情報により非開示)を栽培し、mEPSPS蛋白質及びPAT蛋白質の発現量をELISA
法により測定した(別紙6、社外秘情報により非開示)。6葉期の葉における測定結果を
表4(18ページ)に示す。その結果、本組換えトウモロコシではmEPSPS蛋白質及び
PAT蛋白質が、複数個体及び複数世代で発現していることが確認された。

10 表4 6葉期の本組換えトウモロコシ複数世代の葉におけるmEPSPS蛋白質及びPAT蛋白質の発現量(別紙6、社外秘情報により非開示)

世代		mEPSPS 蛋白質 ^{a, b} ($\mu\text{g/g}$ 乾燥重)	PAT 蛋白質 ^{a, b} ($\mu\text{g/g}$ 乾燥重)
BC ₁ F ₁	平均値±標準偏差	3,091±492	11.68±1.30
	範囲	2,767~3,964	9.91~13.26
BC ₃ F ₁	平均値±標準偏差	2,575±404	12.14±1.74
	範囲	2,047~3,091	9.56~14.07
BC ₅ F ₁	平均値±標準偏差	3,144±177	10.84±1.80
	範囲	2,944~3,368	8.93~13.68

a : 5個体の結果。

b : 非組換えトウモロコシ抽出物も分析の対照として各ELISAプレートに供試し、結果に影響がないことを確認した。

15 (本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

- ⑤ ウイルス感染その他の経路を經由して移入された核酸が野生動植物等に伝達される
おそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度

20

移入された核酸は伝達を可能とする配列を含まない。よって、野生動植物等に伝達されるおそれはないと推定される。

- (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

25

本組換えトウモロコシは、本組換えトウモロコシに特異的なプライマー及びプローブ(図3、19ページ)を用いて、PCR法による検出及び識別が可能である(別紙7及び別紙8、社

外秘情報により非開示)。本 PCR 法の検出限界値はゲノム DNA 量比で 0.04 % である(別紙 8、社外秘情報により非開示)。本 PCR 法の信頼性については、自社研究所以外に Eurofins GeneScan USA において検証され、再現性が確認されている(別紙 8、社外秘情報により非開示)。

5

社外秘情報により非開示

10 図 3 本組換えトウモロコシ特異的な PCR 法のプライマー及びプローブの結合部位

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

15 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

20 本組換えトウモロコシに付与された特性は、*mepsps* 遺伝子によって発現する mEPSPS 蛋白質による除草剤グリホサート耐性と、*pat* 遺伝子によって発現する PAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性である。本組換えトウモロコシ(図 2、社外秘情報により非開示)が除草剤グリホサート及びグルホシネートに対して耐性を示すことを、米国シンジェンタ社の温室での除草剤散布試験によって確認した(別紙 9、社外秘情報により非開示)。

25 本組換えトウモロコシに散布された除草剤グルホシネートは、PAT 蛋白質によりアセチル化され、*N*-アセチル-L-グルホシネートへと代謝されるが、動物試験の結果から、*N*-アセチル-L-グルホシネートの毒性は親化合物であるグルホシネートより低いと考えられている(食品安全委員会, 2010)。また、我が国でのトウモロコシにおけるグルホシネート(*N*-アセチル-L-グルホシネート等の代謝物も含む)の残留基準値は 0.1 ppm と定められている(食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件(平成 23 年厚生労働省告示第 52 号))。なお、本組換えトウモロコシのグルホシネートの散布時期や散布量等に既存の除草剤グルホシネート耐性トウモロコシからの変更はないことから、グルホシネートを散布した際の *N*-アセチル-L-グルホシネートの残留量は、本組換えトウモロコシと既存の除草剤グルホシネート耐性トウモロコシで同程度と考えられる。

35

- 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 本組換えトウモロコシと分類学上の種であるトウモロコシとの間の相違の有無に関して、以下の 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 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率、g 有害物質の産生性に関する試験を米国又は我が国で実施した(別紙 10、社外秘情報により非開示)。

10 a 形態及び生育の特性

10

2013年に米国8ヵ所のほ場(アイオワ州リッチランド、ネブラスカ州ヨーク、イリノイ州シーモア、アイオワ州バググリー、カンザス州ラード、イリノイ州シュワードソン、イリノイ州ワイオミング及びペンシルベニア州ジャーマンズビル)において、本組換えトウモロコシ(図2、社外秘情報により非開示)、対照の非組換えトウモロコシ及び6つの非組換えトウモロコシ商業F₁品種(以下、「参考品種」という。)を栽培した。本組換えトウモロコシについては、除草剤グリホサートとグルホシネートを散布しなかった区(以下、「無散布区」という。)及び散布した区(以下、「散布区」という。)の両方の条件下で栽培し、形態及び生育に関わる14項目(発芽苗数、初期生育程度、開花期までの日数、絹糸抽出期までの日数、着雌穂高、稈長、緑度保持性、転び型倒伏率、挫折型倒伏率、最終株数、脱落雌穂数、種子含水率、種子検定重量及び収量)について、対照の非組換えトウモロコシとの間で比較を行った(別紙10、社外秘情報により非開示)。

15

20

その結果、無散布区の本組換えトウモロコシに関しては発芽苗数及び収量を除き、対照の非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差あるいは相違は認められなかった(別紙10、社外秘情報により非開示)。統計学的有意差が認められた発芽苗数の平均値は、無散布区の本組換えトウモロコシが68.0、対照の非組換えトウモロコシが70.0であり、収量の平均値は、無散布区の本組換えトウモロコシが10.1トン/ha、対照の非組換えトウモロコシが10.6トン/haであった(表5、21ページ)。また、いずれの平均値も同時に栽培した参考品種の範囲内であった(表5、21ページ)。

25

30

表 5 無散布区の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統計学的有意差が認められた項目 (別紙 10、社外秘情報により非開示)

調査項目	本組換えトウモロコシ (無散布区) ^a	非組換え トウモロコシ ^a	<i>p</i> 値	参考品種 ^b
	平均値 (範囲)	平均値 (範囲)		平均値 (範囲)
発芽苗数	68.0 (50–75)	70.0 (53–78)	0.008 ^c	74.6 (59–81)
収量 (トン/ha)	10.1 (6.37–14.9)	10.6 (6.72–15.0)	0.029 ^c	10.4 (6.47–16.7)

a : $N=32$ (4 反復/ほ場×8 カ所のほ場)。

5 b : $N=192$ (6 つの参考品種×4 反復/ほ場×8 カ所のほ場)。

c : 一般化線形混合モデルを用いた分析を行い、 $p < 0.05$ の場合を統計学的有意差ありとして太字・イタリック体で示した。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

10

散布区の本組換えトウモロコシに関しては稈長を除き、対照の非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差あるいは相違は認められなかった(別紙 10、社外秘情報により非開示)。統計学的有意差が認められた稈長の平均値は、散布区の本組換えトウモロコシが 238 cm、対照の非組換えトウモロコシが 233 cm であり、その平均値は同時に栽培した参考品種の範囲内であった(表 6、21 ページ)。

15

表 6 散布区の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統計学的有意差が認められた項目 (別紙 10、社外秘情報により非開示)

調査項目	本組換えトウモロコシ (散布区) ^a	非組換え トウモロコシ ^a	<i>p</i> 値	参考品種 ^b
	平均値 (範囲)	平均値 (範囲)		平均値 (範囲)
稈長 (cm)	238 (171–283)	233 (153–268)	0.018 ^c	224 (131–277)

a : $N=32$ (4 反復/ほ場×8 カ所のほ場)。

20 b : $N=192$ (6 つの参考品種×4 反復/ほ場×8 カ所のほ場)。

c : 一般化線形混合モデルを用いた分析を行い、 $p < 0.05$ の場合を統計学的有意差ありとして太字・イタリック体で示した。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

25

b 生育初期における低温又は高温耐性

2016年にシンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 中央研究所 隔離ほ場
施設内の人工気象器において、本組換えトウモロコシ(図2、社外秘情報により非開示)
5 及び対照の非組換えトウモロコシを栽培し、生育初期における低温耐性について調査
した(別紙10、社外秘情報により非開示)。本組換えトウモロコシと対照の非組換えト
ウモロコシを2葉期まで生育した後、冬季を想定した条件下(10°C(明期12時間)/2°C
(暗期12時間))に移して生育を観察した。その結果、両トウモロコシともに葉の黄化、
葉先の枯れ、著しい生育抑制等の低温による障害が観察され、その程度に相違は認め
10 られなかった(別紙10、社外秘情報により非開示)。

c 成体の越冬性

トウモロコシは夏型一年生作物であり、成熟後自然に枯死する。成熟後に栄養繁殖
15 するという報告や再度結実して種子を生産するという報告はない。なお、我が国にお
ける運搬等でこぼれ落ちたトウモロコシの生育調査においても、トウモロコシの複数
年にわたる生育は確認されていない(本評価書の第1.1.(3).ト、7ページ)。

実際に2016年に米国の1ヵ所のほ場(イリノイ州エル・パソ)で本組換えトウモロ
コシ(図2、社外秘情報により非開示)及び対照の非組換えトウモロコシを栽培して収穫
20 期の植物体を観察した(別紙10、社外秘情報により非開示)。その結果、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はいずれも収穫期に褐変し枯死していた
(別紙10、社外秘情報により非開示)。なお、植物体観察日までの当該地域における最
低気温は8.9°Cであった。

25 d 花粉の稔性及びサイズ

2014年に米国の1ヵ所のほ場(ノースカロライナ州メバネ)で、本組換えトウモロコ
シ(図2、社外秘情報により非開示)、対照の非組換えトウモロコシ及び3つの参考品種
を栽培して花粉を採取し、1%ルゴール液で染色して顕微鏡下で花粉の充実度及びサ
30 イズを調査した(別紙10、社外秘情報により非開示)。その結果、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花粉の充実度及びサイズに統計学的有意差
は認められなかった(別紙10、社外秘情報により非開示)。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量：

5 本評価書の第 1. 2. (6). ②. a (20 ページ)のとおり、収量については、無散布区の本組換えトウモロコシの平均値が対照の非組換えトウモロコシの平均値よりも少なく、統計学的有意差が認められたものの、その平均値は同時に栽培した参考品種の範囲内であった(表 5、21 ページ)。一方、散布区の本組換えトウモロコシでは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(別紙 10、社外秘情報により非開示)。

10

種子の脱粒性：

15 トウモロコシの種子は雌穂に着生し、雌穂は苞皮で覆われているため、自然に脱粒することはない(本評価書の第 1. 1. (3). ニ. ①、5 ページ)。米国のほ場試験においても、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の雌穂は苞皮で覆われており、自然条件下での脱粒は認められなかった。

種子の休眠性及び発芽率：

20 2013年に米国の1ヵ所のほ場(イリノイ州ブルーミントン)で収穫した本組換えトウモロコシ(図 2、社外秘情報により非開示)、対照の非組換えトウモロコシ及び参考として3つの非組換えトウモロコシ商業 F₁ 品種の種子を用い、2014年に6つの温度条件(10 °C、25 °C、30 °C、10 °C (16 時間)/20 °C (8 時間)、10 °C (16 時間)/30 °C (8 時間)及び20 °C (16 時間)/30 °C (8 時間))における発芽率を調査した(別紙 10、社外秘情報により非開示)。その結果、25 °C 及び 20 °C (16 時間)/30 °C (8 時間)の2つの温度条件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発芽率に統計学的有意差が認められ、その平均値は本組換えトウモロコシで 97.5%と 97.3%、対照の非組換えトウモロコシでどちらも 99.8%であった(表 7、24 ページ)。なお、これら2つの温度条件における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の未発芽種子はいずれも死滅しており、休眠状態の種子は観察されなかった。また、残り4つの温度条件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発芽率に統計学的有意差は認められなかった(別紙 10、社外秘情報により非開示)。

25

30

表 7 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的有意差が認められた温度条件における種子発芽率 (別紙 10、社外秘情報により非開示)

温度条件	本組換え トウモロコシ ^a	非組換え トウモロコシ ^a	<i>p</i> 値	参考品種 ^b
	平均値 (範囲) (%)	平均値 (範囲) (%)		平均値 (範囲) (%)
25 °C	97.5 (95–99)	99.8 (99–100)	0.044 ^c	99.3 (98–100)
20 °C (16 時間) /30 °C (8 時間)	97.3 (95–99)	99.8 (99–100)	0.041 ^c	98.9 (96–100)

a : $N=4$ (4 反復)。

b : $N=12$ (3 つの参考品種×4 反復)。

5 c : 一般化線形混合モデルを用いた分析を行い、 $p < 0.05$ の場合を統計学的有意差ありとして太字・イタリック体で示した。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

10 f 交雑率

我が国には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、交雑率の試験は行わなかった。

15 g 有害物質の産生性

20 2016 年にシンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 中央研究所 隔離ほ場施設内特定網室において、本組換えトウモロコシ(図 2、社外秘情報により非開示)及び対照の非組換えトウモロコシを栽培し、その栽培土壌及び植物体を用いて後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った(別紙 10、社外秘情報により非開示)。

後作試験：

25 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各栽培区の土壌を採取してハツカダイコンを播種した。播種後 9 日目に発芽率を調査し、播種後 14 日目に収穫して乾燥重を測定した。その結果、ハツカダイコンの発芽率及び乾燥重について、本組換えトウモロコシ区と対照の非組換えトウモロコシ区との間に統計学的有意差は認められなかった(別紙 10、社外秘情報により非開示)。

鋤込み試験：

5 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茎葉部を収穫、乾燥、粉碎して調整した粉末と土壌を混和してハツカダイコンを播種した。播種後 9 日目に発芽率を調査し、播種後 14 日目に収穫して乾燥重を測定した。その結果、ハツカダイコンの発芽率及び乾燥重について、本組換えトウモロコシ区と対照の非組換えトウモロコシ区との間に統計学的有意差は認められなかった(別紙 10、社外秘情報により非開示)。

10 土壌微生物相試験：

10 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各栽培区から土壌を採取し、希釈平板法により糸状菌数、細菌数及び放線菌数を計測した。その結果、糸状菌数、細菌数及び放線菌数について、本組換えトウモロコシ区及び対照の非組換えトウモロコシ区との間に統計学的有意差は認められなかった(別紙 10、社外秘情報により非開示)。

15

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

20

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

25

—

(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

30

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

35

添付の「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

5 —

(6) 国外における使用等に関する情報

10 本組換えトウモロコシの国外における申請及び承認状況は表 8 (26 ページ)のとおりである。

表 8 国外における申請及び承認状況 (2017 年 5 月現在)

申請先	目的	申請・承認状況
米国食品医薬品庁(FDA)	食品、飼料	2016 年 2 月確認終了
米国農務省(USDA)	無規制裁培	2015 年 12 月承認
カナダ保健省(Health Canada)	食品	2016 年 5 月承認
カナダ食品検査庁(CFIA)	飼料	2016 年 5 月承認
	環境	2016 年 5 月承認
オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関(FSANZ)	食品	2016 年 4 月承認

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

15

第2 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

5 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシは、我が国において長期にわたる使用等の実績があるが、我が国の自然環境下で自生することは報告されていない。

10 本組換えトウモロコシで発現する mEPSPS 蛋白質は、除草剤グリホサート存在下でもシキミ酸経路の一酵素である EPSPS 蛋白質として機能して植物体に除草剤グリホサート耐性を付与し、PAT 蛋白質は、除草剤グルホシネートをアセチル化することで、植物体に除草剤グルホシネート耐性を付与する(本評価書の第 1. 2. (1). ロ. ②、10 ページ)。また、EPSPS 蛋白質は植物におけるシキミ酸経路の律速酵素ではなく、生体内において PEP と
15 S3P 以外の基質が想定されないこと、PAT 蛋白質は高い基質特異性を有することから、いずれも宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる(本評価書の第 1. 2. (1). ロ. ③、11 ページ)。これらの知見から、mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現が競合における優位性に関わる諸形質に影響することは考えにくい。

20 実際に競合における優位性に関わる諸形質の評価として、米国のほ場及び我が国の実験室内の人工気象器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を栽培し、形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率を調査した(本評価書の第 1. 2. (6). ②. a~e、20
25 ページ)。その結果、形態及び生育の特性では発芽苗数、収量及び稈長において、発芽率では 25 °C 及び 20 °C (16 時間)/30 °C (8 時間)の 2 つの温度条件下において、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシの間で統計学的有意差が認められたが、これら以外の項目では統計学的有意差又は相違は認められなかった。

無散布区の本組換えトウモロコシにおいて統計学的有意差が認められた発芽苗数の平均値は、対照の非組換えトウモロコシが 70.0 に対して 68.0、収量の平均値は対照の非組換えトウモロコシが 10.6 トン/ha に対して 10.1 トン/ha であり、いずれも同一ほ場内で同時に栽培した参考品種の範囲内であった。一方、散布区の本組換えトウモロコシにおいて統計学的有意差が認められた稈長の平均値は、対照の非組換えトウモロコシが 233 cm に対して 238 cm であり、こちらも同一ほ場内で同時に栽培した参考品種の範囲内であった(本評価書の第 1. 2. (6). ②. a、20 ページ)。このように、統計学的有意差が認められた形質は、
35 いずれも対照の非組換えトウモロコシと比較して差は僅かであり、また、従来のトウモロ

コシの変動の範囲内であったことから、生物学的に意味のある差とは考えられず、競合における優位性を高めるものとは考えにくい。

5 発芽率については、2つの温度条件(25°C及び20°C(16時間)/30°C(8時間))において、本組換えトウモロコシの方が対照の非組換えトウモロコシよりも低く、統計学的有意差が認められたものの、それ以外の4つの温度条件において統計学的有意差は認められなかった(本評価書の第1.2.(6).②.e、23ページ)。なお、統計学的有意差の認められた25°Cと
10 20°C(16時間)/30°C(8時間)における本組換えトウモロコシの発芽率は、97.5%及び97.3%と良好で、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ける未発芽種子はいずれも死滅しており、休眠状態の種子は観察されなかった(本評価書の第1.2.(6).②.e、23ページ)。したがって、本組換えトウモロコシの休眠性及び発芽率は対照の非組換えトウモロコシと同程度と考えられた。

15 本組換えトウモロコシは除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性を示す(本評価書の第1.2.(6).①、19ページ)が、自然条件下においてこれらの除草剤が散布されるとは想定しにくいことから、本組換えトウモロコシに付与された除草剤耐性形質によって競合における優位性が高まることはないと考えられた。

20 以上の知見から本組換えトウモロコシの競合における優位性が非組換えトウモロコシに比べて高まる可能性は考えにくく、よって、本組換えトウモロコシについて競合における優位性に起因す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。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

25

(3) 影響の生じやすさの評価

—

30 (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

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

- 5 宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシは、我が国において長期にわたる使用等の実績があるが、野生動植物等に対して影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。

有害物質の産生性を比較するため、我が国の特定網室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を栽培し、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行
10 った結果、本組換えトウモロコシ区と対照の非組換えトウモロコシ区との間に統計学的有意差は認められなかった(本評価書の第 1. 2. (6). ②. g、24 ページ)。

本組換えトウモロコシで発現する mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質は、既知アレルゲンと相同性を持たないことが確認されており、また、有害物質であるとの報告はない。

15

mEPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質は植物におけるシキミ酸経路の律速酵素ではなく、生体内において PEP と S3P 以外の基質が想定されないこと、PAT 蛋白質は高い基質特異性を有することから、いずれも宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。また、両蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立している
20 ことから、これらの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にくい(本評価書の第 1. 2. (1). ロ. ③、11 ページ)。これらの知見から、mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質が新たな有害物質を産生する可能性は極めて低いと考えられる。

本組換えトウモロコシに散布された除草剤グルホシネートは、PAT 蛋白質によってアセチル化されて *N*-アセチル-L-グルホシネートへと代謝されるが、動物試験の結果から *N*-アセチル-L-グルホシネートの毒性は親化合物であるグルホシネートより低いと考えられている。また、我が国においてトウモロコシにおけるグルホシネート(*N*-アセチル-L-グルホシネート等の代謝物も含む)の残留基準値が設定されており、本組換えトウモロコシに対するグルホシネートの散布時期や散布量等について既存の除草剤グルホシネート耐性トウモ
30 ロコシから変更がないことから、グルホシネートを散布した場合の *N*-アセチル-L-グルホシネートの残留量は、本組換えトウモロコシと既存の除草剤グルホシネート耐性トウモロコシで同程度と考えられる(本評価書の第 1. 2. (6). ①、19 ページ)。これらのことから、除草剤グルホシネートの本組換えトウモロコシへの散布によって生じる *N*-アセチル-L-グルホシネートが有害物質になるとは考えにくい。

35

以上の知見から本組換えトウモロコシが有害物質を産生する可能性は考えにくく、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性に関し、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。

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

15 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。

3. 交雑性

20

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

25 トウモロコシは近縁野生種であるテオシントと自然交雑可能であるが、*Tripsacum* 属との交雑は非常に稀である(OECD, 2003)。我が国にこれら近縁野生種は自生しておらず、自然交雑の可能性はないことから、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

30

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

35

(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。

5

4. その他の性質

上記の他に、本組換えトウモロコシに関して生物多様性影響の評価を行うことが適切であると考えられる性質はないと判断された。

10

第3 生物多様性影響評価の総合的評価

【競合における優位性】

5 宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシが、我が国の自然環境下で自生することは報告されていない。

本組換えトウモロコシで発現するmEPSPS蛋白質及びPAT蛋白質は、その作用機序から、競合における優位性に関わる諸形質に影響することは考えにくい。

10 実際に、競合における優位性に関わる諸形質として、形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率を調査した。その結果、形態及び生育の特性では発芽苗数、収量及び稈長において、発芽率では2つの温度条件下において、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が認められたが、これら以外の項目では統計学的有意差又は相違は認められなかった。また、統計学的有意差が見られた本組換えトウモロコシの発芽苗数、収量及び稈長のそれぞれの平均値は、いずれも対照の非組換えトウモロコシと比較して差は僅かであり、同一ほ場内で同時に栽培した参考品種の範囲内であったこと
15 から、生物学的に意味のある差とは考えられず、競合における優位性を高めるものとは考えにくい。発芽率については、2つの温度条件下において本組換えトウモロコシの方が対照の非組換えトウモロコシよりも有意に低かったものの、いずれも97%以上と良好で、それ以外の4つの温度条件において統計学的有意差は認められなかった。また、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ける未発芽種子はいずれも死滅しており、
20 休眠状態の種子は観察されなかった。したがって、本組換えトウモロコシの休眠性及び発芽率は対照の非組換えトウモロコシと同程度と考えられた。

本組換えトウモロコシは除草剤グリホサート及びグリホシネート耐性を示すが、除草剤が散布されるとは想定しにくい自然条件下において、両形質によって競合における優位性
25 が高まるとは考えにくい。

以上の知見に基づくと、本組換えトウモロコシの競合における優位性が非組換えトウモロコシに比べて高まる可能性は考えにくく、よって、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。

30 【有害物質の産生性】

宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシは、我が国において長期にわたる使用等の実績があるが、野生動植物等に対して影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。

本組換えトウモロコシの有害物質産生性に関し、後作試験、鋤込み試験及び土壤微生物相試験を行った結果、本組換えトウモロコシ区と対照の非組換えトウモロコシ区との間で
35 いずれも統計学的有意差は認められなかった。

本組換えトウモロコシで発現するmEPSPS蛋白質及びPAT蛋白質は、既知アレルゲンと相同性を持たないことが確認されており、有害物質であるとの報告もない。また、両蛋白質の作用機序から、宿主の代謝系を変化させたり相互作用することで新たな有害物質を産生する可能性は極めて低いと考えられる。

- 5 本組換えトウモロコシに散布された除草剤グルホシネートはPAT蛋白質によりNアセチル-L-グルホシネートへと代謝されるが、Nアセチル-L-グルホシネートの毒性はグルホシネートより低いと考えられている。また、我が国においてトウモロコシにおけるグルホシネート(Nアセチル-L-グルホシネート等の代謝物も含む)の残留基準値が設定されており、
- 10 グルホシネートの散布時期や散布量等に変更がないことから、グルホシネートを散布した場合のNアセチル-L-グルホシネートの残留量は、本組換えトウモロコシと既存の除草剤グルホシネート耐性トウモロコシで同程度と考えられる。これらのことから、除草剤グルホシネートの本組換えトウモロコシへの散布によって生じるNアセチル-L-グルホシネートが有害物質になるとは考えにくい。

- 15 以上の知見に基づくと、本組換えトウモロコシが有害物質を産生する可能性は考えにくく、よって、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。

【交雑性】

- 20 我が国にはトウモロコシと交雑可能な近縁野生種の自生は報告されていない。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。

以上のことから、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、我が国の生物多様性に影響を生ずるおそれはないと判断した。

引用文献

Bevan M, Barnes WM, Chilton MD. 1983. Structure and transcription of the nopaline synthase gene region of T-DNA. *Nucleic Acids Research* 11: 369-385.

5

CFIA (Canadian Food Inspection Agency). 2012. The biology of *Zea mays* (L.) (Maize). (<http://www.inspection.gc.ca/plants/plants-with-novel-traits/applicants/directive-94-08/biology-documents/zea-mays-l-eng/1330985739405/1330985818367>) [Accessed Feb. 25, 2014].

10

Christensen AH, Sharrock RA, Quail PH. 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.

15

della-Cioppa G, Bauer SC, Klein BK, Shah DM, Fraley RT, Kishore GM. 1986. Translocation of the precursor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher plants *in vitro*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83: 6873-6877.

20

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2016. FAOSTAT. (<http://faostat3.fao.org/home/E>) [Accessed June 7, 2016].

Fling ME, Kopf J, Richards C. 1985. Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-*O*-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* 13: 7095-7106.

25

Gallie DR, Sleat DE, Watts JW, Turner PC, Wilson TMA. 1987. The 5'-leader sequence of tobacco mosaic virus RNA enhances the expression of foreign gene transcripts *in vitro* and *in vivo*. *Nucleic Acids Research* 15: 3257-3272.

30

Gallie DR. 2002. The 5'-leader of tobacco mosaic virus promotes translation through enhanced recruitment of eIF4F. *Nucleic Acids Research* 30: 3401-3411.

35

- Gruys KJ, Walker MC, Sikorski JA. 1992. Substrate synergism and the steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from *Escherichia coli*. *Biochemistry* 31: 5534-5544.
- 5 Hansen G, Das A, Chilton MD. 1994. Constitutive expression of the virulence genes improves the efficiency of plant transformation by *Agrobacterium*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 7603-7607.
- Heeb S, Itoh Y, Nishijyo T, Schnider U, Keel C, Wade J, Walsh U, O'Gara F, Haas D.
10 2000. Small, stable shuttle vectors based on the minimal pVS1 replicon for use in gram-negative, plant-associated bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13: 232-237.
- Itoh T, Tomizawa J. 1979. Initiation of replication of plasmid ColE1 DNA by RNA
15 polymerase, ribonuclease H, and DNA polymerase I. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 43: 409-417.
- Itoh Y, Watson JM, Haas D, Leisinger T. 1984. Genetic and molecular characterization
20 of the *Pseudomonas* plasmid pVS1. *Plasmid* 11: 206-220.
- J-BCH (日本版バイオセーフティクリアリングハウス). 2016. LMO 関連情報.
(http://www.biodic.go.jp/bch/bch_3.html) [Accessed Dec. 19, 2016]
- Lebrun M, Leroux B, Sailland A. 1996. Chimeric gene for the transformation of plants.
25 Rhone-Poulenc Agrochimie, assignee. U.S. Patent No. 5,510,471. Washington, DC: U.S. Patent Office.
- Lebrun M, Sailland A, Freyssinet G, Degryse E. 2003. Mutated
5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene coding for said protein and
30 transformed plants containing said gene. Bayer CropScience S.A., assignee. U.S. Patent No. 6,566,587 B1. Washington, DC: U.S. Patent Office.
- Luna SV, Figueroa JM, Baltazar BM, Gomez RL, Townsend R, Schoper JB. 2001.
35 Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. *Crop Science* 41: 1551-1557.

Maiti IB, Gowda S, Kiernan J, Ghosh SK, Shepherd RJ. 1997. Promoter/leader deletion analysis and plant expression vectors with the figwort mosaic virus (FMV) full length transcript (FLt) promoter containing single or double enhancer domains. *Transgenic Research* 6: 143-156.

5

NCGA (National Corn Growers Association). 2017. World of Corn 2017. (<http://www.worldofcorn.com/pdf/WOC-2017.pdf>) [Accessed Apr. 21, 2017].

10 Odell JT, Nagy F, Chua NH. 1985. Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature* 313: 810-812.

15 OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). 1999a. Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology No. 10. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to glyphosate herbicide. ENV/JM/MONO(99)9.

20 OECD. 1999b. 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.

25 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.

30 Ow DW, Jacobs JD, Howell SH. 1987. Functional regions of the cauliflower mosaic virus 35S RNA promoter determined by use of the firefly luciferase gene as a reporter of promoter activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84: 4870-4874.

35 Padgett SR, Taylor NB, Nida DL, Bailey MR, MacDonald J, Holden LR, Fuchs RL. 1996. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *The Journal of Nutrition* 126: 702-716.

Pleasants JM, Hellmich RL, Dively GP, Sears MK, Stanley-Horn DE, Mattila HR, Foster JE, Clark P, Jones GD. 2001. Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States* 98: 11919-11924.

5

Ridley WP, Sidhu RS, Pyla PD, Nemeth MA, Breeze ML, Astwood JD. 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: 7235-7243.

10

Sears MK, Stanley-Horn DE, Matilla HR. 2000. Preliminary report on the ecological impact of Bt corn pollen on the Monarch butterfly in Ontario. (<http://cera-gmc.org/files/cera/GmCropDatabase/docs/articles/searsreport.pdf>) [Accessed Apr. 23, 2015].

15

Shirai Y, Takahashi M. 2005. Effects of transgenic Bt corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudaeschnia zizeeria maha*. *Applied Entomology and Zoology* 40: 151-159.

20

Steinrücken HC, Amrhein N. 1980. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimic acid-3-phosphate synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 94: 1207-1212.

25

Strickberger MW. 1976. Probability and statistical testing. *In: Genetics*, 2nd ed., New York: Macmillan Publishing Company, pp.140-163.

30

Wang K, Herrera-Estrella L, Van Montagu M, Zambryski P. 1984. Right 25 bp terminus sequence of the nopaline T-DNA is essential for and determines direction of DNA transfer from *Agrobacterium* to the plant genome. *Cell* 38: 455-462.

35

Wohlleben W, Arnold W, Broer I, Hillemann D, Strauch E, Pühler A. 1988. Nucleotide sequence of the phosphinothricin *N*-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene* 70: 25-37.

Wych RD. 1988. Production of hybrid seed corn. *In: Corn and Corn Improvement*, 3rd ed., Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Inc., pp. 565-607.

5 Yadav NS, Vanderleyden J, Bennett DR, Barnes WM, Chilton MD. 1982. Short direct repeats flank the T-DNA on a nopaline Ti plasmid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 79: 6322-6326.

柿本陽一, 山田実. 2001. トウモロコシの起源と特性. III 植物としての特性. 転作全書 第三巻 雑穀. 社団法人 農山漁村文化協会. pp. 34-37.

10

菊池一徳. 1987. トウモロコシの生産と利用. 株式会社 光琳.

財務省. 2017. 財務省貿易統計 (<http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>) [Accessed Apr. 20, 2017].

15

食品安全委員会. 2010. 農薬評価書 グルホシネート. 食品健康影響評価の結果の通知について(平成 22 年 2 月 25 日付け府食第 139 号).

20 千藤茂行. 2001. トウモロコシの品種生態. IV 採種. 転作全書 第三巻 雑穀. 社団法人 農山漁村文化協会. pp. 96-102.

瀧澤康孝. 2001. 子実用トウモロコシの栽培. 転作全書 第三巻 雑穀. 社団法人 農山漁村文化協会. pp. 103-130.

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

中村茂文. 2001. 生育のステージと生理, 生態. 転作全書 第三巻 雑穀. 社団法人 農山漁村文化協会. pp. 39-63.

30

西尾剛. 2002. IV 植物の交配実験. 新農学実験マニュアル 改訂第 3 版. 株式会社 ソフトサイエンス社. pp. 89-94.

35

- 農林水産省. 2014. 飼料用トウモロコシの流通・加工実態調査結果報告書. 平成 26 年 3 月 26 日公表. (<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/pdf/140326-01.pdf>) [Accessed Apr. 23, 2015].
- 5 農林水産省. 2016. 平成 27 年産野菜生産出荷統計. 平成 28 年 12 月 2 日公表. (<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001164543>) [Accessed Apr. 21, 2017].
- 農林水産省. 2017a. 平成 28 年耕地及び作付面積統計. 平成 29 年 3 月 7 日公表. 10 (<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001172509>) [Accessed Apr. 21, 2017].
- 農林水産省. 2017b. 飼料をめぐる情勢. 平成 29 年 3 月公表. (http://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l_siryo/attach/pdf/index-80.pdf) 15 [Accessed Apr. 20, 2017].
- 農林水産省. 2017c. 「平成 27 年度トウモロコシ生育等実態調査」の結果について. 平成 29 年 3 月 22 日公表. (<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/170322.html>) [Accessed Mar. 22, 2017]. 20
- 山田実. 2001. トウモロコシの起源と特性. 転作全書 第三巻 雑穀. 社団法人 農山漁村文化協会. pp. 21-33.

緊急措置計画書

平成 29 年 1 月 27 日

5 氏名 シンジェンタジャパン株式会社
代表取締役社長 篠原 聡明
住所 東京都中央区晴海一丁目 8 番 10 号
オフィスタワーX

10 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及びグルホシネート耐性トウモロコシ(*mepsps, pat, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MZHG0JG, OECD UI: SYN-000JG-2) (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おそれがあると科学的に認められた場合には、以下の措置を執ることとする。

15

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

シンジェンタジャパン株式会社：生物多様性影響管理委員会委員 平成 29 年 1 月現在

氏名	所属	電話番号
(管理責任者)	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 バイオテクノロジーレギュラトリー部	
	シンジェンタジャパン株式会社	
	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 バイオテクノロジーレギュラトリー部	
	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 バイオテクノロジーレギュラトリー部	

(個人名・職名・電話番号は個人情報により非開示)

20

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は米国シンジェンタ社と連絡をとり、種子、穀物生産、収穫物の状況に関し、種子生産、種子供給、販売、穀物取扱業者等の使用の可能性のある関係各者から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

10 弊社は米国シンジェンタ社と連絡をとり、生産農家や穀物取扱業者等の取引ルートへ本組換えトウモロコシの適切な管理、取扱い等の生物多様性影響のリスクとその危機管理計画について情報提供を行う。

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

20 本組換えトウモロコシの第一種使用等により、我が国における生物多様性に影響が生ずるおそれがあると科学的に認められた場合には、弊社は米国シンジェンタ社の協力のもと、本組換えトウモロコシが環境中に放出されないように必要かつ適切な措置を執るとともに、環境中に放出された本組換えトウモロコシが、環境中で生存しないように不活化するよう措置を講ずる。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

25 本組換えトウモロコシの第一種使用等により、我が国における生物多様性に影響が生ずるおそれがあると科学的に認められた場合には、直ちに農林水産省消費・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報告する。