

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*) 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書..... 1

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況.....	2
(2) 使用等の歴史及び現状.....	2
(3) 生理学的及び生態学的特性.....	3
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	
(1) 供与核酸に関する情報.....	4
(2) ベクターに関する情報.....	7
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	8
(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.....	11
(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法ならびにそれらの感度及び信頼性.....	12
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	12
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.....	15
(2) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置.....	15
(3) 国外における使用等に関する情報.....	15

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1 競争における優位性.....	17
2 有害物質の産生性.....	18
3 交雑性.....	21

第三 生物多様性影響の総合的評価.....	22
-----------------------	----

緊急措置計画書..... 24

第一種使用規程承認申請書

平成 16 年 6 月 11 日

農林水産大臣 亀井 善之 殿
環境大臣 小池 百合子 殿

申請者 氏名 デュポン株式会社
代表取締役社長 小林 昭生
住所 東京都千代田区永田町 2 丁目 11 番 1 号
山王パークタワー

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 (<i>cry1F</i> , <i>pat</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (<i>B.t.</i> Cry1F maize line 1507, OECD UI : DAS-Ø15Ø7-1)
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り収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

イ 分類学上の位置付け

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

ロ 宿主の品種名又は系統名

宿主には Hi- カルス (A188xB73) を用いた。Hi- はトウモロコシ A188 及び B73 に由来する。

ハ 国内及び国外の自然環境における自生地域

自然環境において、トウモロコシが自生している地域は、国内・国外ともに知られていない。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ 国内及び国外における第一種使用等の歴史

現在トウモロコシの原産地について決定的な説はないが、一般的には紀元前 5,000 年頃の中南米が起源と考えられている。また、植物学的起源についても決定的な説はないが、育種過程で、メキシコ、グアテマラ、ホンジュラス地域で雑草として生育しているテオシント (teosinte、*Zea mays* subsp. *mexicana* (Schrader) Iltis) から派生したとする説が有力とされている。1492 年のコロンブスの新大陸発見を機に、ヨーロッパ、アフリカ大陸そしてアジアへと伝播し、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。

トウモロコシは、我が国においても長い栽培の歴史がある。我が国への伝来は、天正年間 (1580 年頃) に、ポルトガル人が四国に伝えたのが最初であると言われており、その後、九州や本州でも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、近代的品種が米国から輸入されるようになり、現在では、北海道から九州まで、広く栽培されている。

ロ 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

トウモロコシの主な栽培地域は北海道、岩手県、熊本県、宮崎県等である。栽培面積が最も大きいのは北海道で、全体の約 40% を占める。国外においては、米国、中国、ブラジル、ロシア等を中心に、北緯 55 度から南緯 40 度に至る広い範囲で栽培されている。

トウモロコシは、米国を代表的な例とする、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なわれているような原始的な方法まで、多種多様な

方法で栽培されている。

トウモロコシはコメ、コムギと共に世界三大穀物の一つと言われている。2002年の世界総生産量は約6億441万トンである。最大の生産国は米国で、全世界の生産量の38%を占めている。2002年の統計によれば、我が国は約1,642万トンのトウモロコシを輸入しており、ほぼ100%がデント種である。輸入量の92%にあたる約1,518万トンが米国からの輸入である。輸入されたトウモロコシは、そのほとんどが、ベルトコンベアでそのまま港に隣接している食品・飼料の加工工場に運ばれる。

トウモロコシは、大きく分けてスイートコーンとデント種トウモロコシに分類することができる。スイートコーンは、生食用及び缶詰用として利用されている。デント種トウモロコシは、大きく分けて飼料用及び加工用として利用されている。2002年に我が国に輸入されたトウモロコシのうち、約1,230万トンが飼料として用いられ、残りが澱粉や油等の原料に加工されている。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 生息又は生育可能な環境の条件

トウモロコシは、温暖で適度な降水量があり、日射量の多い気候に適する。生育最適温度は20～30とされている。気温が10に下がるとほとんど生長せず、生育後期に零下3以下になると枯死する。出穂前後の1ヶ月間は最も水分の消費量が多く、干ばつによる害を受けやすい。

基本的に、どのような土壌でも栽培が可能であるが、肥沃で、透水性、通気性に優れた土壌を最も好む。最適土壌pHは6.0～6.5で、pHの調整のために炭酸カルシウムが施肥されている。

ロ 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

トウモロコシの雌穂は苞皮で覆われているため、自然に種子が脱粒し、拡散する可能性は極めて低い。

トウモロコシ種子には休眠性はない。発芽の最低温度は6～11で、最高は42～43、最適温度は33とされている。上述のように、自然に種子が脱粒する可能性は極めて低く、仮に脱粒した場合でも、土壌中での種子の寿命は短く、翌年の春に発芽する可能性は極めて低い。

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

トウモロコシには、これらの特性は知られていない。

自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無及び近縁野生種との交雑性

トウモロコシは種子繁殖を行い、98～99%が他家受粉である。自家不和合性は知られていない。また、我が国ではトウモロコシと交雑可能な近縁野生種(テオシント)は知られていない。

花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

雄穂あたりの花粉の生産量は、およそ 1,800 万粒と推定されている。花粉は球形で、直径はおよそ 90 ~ 100 μm である。受粉は風媒によって行なわれる。花粉の飛散距離は、最大で 200 ~ 800 m とされている。トウモロコシ花粉の堆積密度を調べたいいくつかの研究によれば、トウモロコシの開花期間中、同一方向に絶えず秒速 3 m の風が吹き続けたと仮定した時の風下における最大堆積花粉数の累積値は、ほ場から 10m 離れた場所では約 4,000 粒/ cm^2 と推計され、畑端の約 15,000 粒/ cm^2 の約 1/4 となる。この値は、ほ場からの距離別に堆積する花粉密度の推定最大値で、調査対象地域において、確率的に 20 年に一度の頻度でしか起こりえないような風速条件下での推定値であり、これ以上の堆積はないという限界値を示している。実際に、野外において花粉の飛散・堆積程度を調べた実験では、Hansen & Obrycki (2000) は葉上に堆積した花粉密度は、ほ場から 3m 離れると最大 35 粒/ cm^2 (累積) になり、Pleasantら (2001) は 2m 離れると 14.2 粒/ cm^2 になると報告している。さらに、トウモロコシ畑から 10m 離れると、花粉のヒマワリ葉上における堆積密度は、畑内の 81.7 粒/ cm^2 から 0.3 粒/ cm^2 (約 1/270) へと激減することが示されている。

花粉は通常、乾燥、高温に弱く、水分を失うと稔性に影響するため、開花後は速やかに受粉する必要がある。晴天の場合、午前 10 時 ~ 11 時頃が花粉の放出が最も盛んとなり、午後になると激減する。

トウモロコシの花粉の寿命は、通常 10 ~ 30 分程度であるが、気温及び湿度の条件が整えば、30 分以上と言われている。

八 有害物質の産生性

自然条件下で、周囲の野生動植物等の生息又は生育に支障を及ぼすような有害物質の産生は知られていない。

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (*cry1F*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (*B.t. Cry1F maize line 1507*, OECD UI : DAS-Ø15Ø7-1) (以下、*Cry1F line 1507* と表記) には、チョウ目害虫に対する抵抗性を付与するための *cry1F* 遺伝子及び、除草剤グルホシネートに対する耐性を付与するための *pat* 遺伝子が導入されている。

(1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

供与核酸の構成及び構成要素の由来を表 1 (5 ページ) に示した。

表 1 供与核酸の構成及び構成要素の由来

構成要素	サイズ(kbp)	由来及び機能
<i>cry1F</i> 遺伝子発現カセット		
<i>UBIZM1(2) Promoter</i>	1.98	<i>Zea mays</i> 由来のユビキチン構成的プロモーター ¹⁾ (イントロン及び5'非翻訳領域を含む)。
<i>cry1F</i>	1.82	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 由来の 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。
<i>ORF25PolyA Terminator</i>	0.72	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> pTi5955 由来の転写を停止するためのターミネーター。
<i>pat</i> 遺伝子発現カセット		
<i>CAMV35S Promoter</i>	0.53	カリフラワーモザイクウイルス由来の 35S構成的プロモーター ¹⁾ 。
<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。
<i>CAMV35S Terminator</i>	0.21	カリフラワーモザイクウイルス由来の転写を停止するための 35S ターミネーター。

1) 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。

□ 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

供与核酸の各構成要素の機能を表 1 に示した。

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. Cry1F 蛋白質

Cry1F 蛋白質は、土壤中に普遍的に存在するグラム陽性菌である *Bacillus thuringiensis* (以下 *B.t.*) が産生する、 δ -エンドトキシンとして知られる殺虫性結晶蛋白質 (*B.t.*蛋白質) の一種である。*B.t.*蛋白質は、その殺虫活性に基づいて分類されており、Cry1F 蛋白質は、European corn borer (ヨーロッパアワノメイガ、*Ostrinia nubilalis*) 等のチョウ目害虫に対して殺虫効果を示す。Cry1F 蛋白質は、他の *B.t.*蛋白質と同様に、標的害虫が経口摂取すると、害虫の中腸細胞に存在する特異的受容体に結合し、細胞に小孔を形成することでイオンチャンネルを破壊し、結果的に中腸細胞を破壊し、殺虫効果を示す。

ヨーロッパアワノメイガは、米国のトウモロコシ栽培において、最も被害を与えて

いる害虫の一つである。ふ化した幼虫は葉を食べて成長し、やがて葉のつけ根から茎に入る。いったん茎の中に入ると、通常散布する薬剤が届きにくいために駆除が難しく、そのまま雄穂を中から食害し、空洞にする。さらに雌花に侵入した幼虫は、生育中の雌穂を食害する。本害虫の防除にかかる費用の総額は、毎年約 10 億ドルにものぼると考えられている。

Cry1F line 1507 の栽培により、チョウ目害虫に対し効果的な防除を行なうことが可能となり、農家に対し、チョウ目害虫防除のための新たな選択肢を提供するものと期待されている。

Cry1F 蛋白質の殺虫効果を調べるため、蛍光菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 中で産生させた Cry1F 蛋白質を人工飼料に混合し、米国において農業上の害虫と見なされている 15 種類のチョウ目昆虫に混餌投与した。15 種類のチョウ目昆虫のうち、6 種は米国でのトウモロコシ栽培において、9 種はワタ、ダイズ、カノーラ等、その他の作物栽培において害虫と見なされている。上記 6 種のトウモロコシ栽培における害虫のうち、Cry1F line 1507 の標的害虫である European corn borer (ヨーロッパアワノメイガ) 及び Fall armyworm、Beet armyworm に対する LC₅₀ 値 (半数致死濃度) は、それぞれ 0.58 µg/g 及び 2.49 µg/g、7.8 µg/g であったが、残り 3 種の害虫 (Southwestern corn borer 及び Black cutworm、Bollworm) に対する LC₅₀ 値は 50 µg/g を超えていた。一方、農業上の害虫とはされていないオオカバマダラ (*Danaus plexippus*) についても試験を行なったが、LC₅₀ 値は試験を行なった最高濃度である 30 µg/g より大きかった。これらの結果から、他の *B.t.* 蛋白質と同様に、Cry1F 蛋白質の殺虫効果は特異性が高く、一部の昆虫にのみ効果を持つことが示された。

チョウ目昆虫以外にも、哺乳類、鳥類、魚類、コウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目、トビムシ目昆虫等について試験を行なったが、Cry1F 蛋白質は、試験を行なったすべての非標的生物に対し毒性を持たないことが確認された。

なお、Cry1F 蛋白質は、既知のアレルゲン蛋白質に対して構造相同性は認められなかった。

b. PAT 蛋白質

PAT 蛋白質 (ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ) は、除草剤グルホシネートに対する耐性を付与する。除草剤グルホシネートは、グルタミン酸とアンモニアからグルタミンを合成するグルタミン合成酵素を阻害し、その結果、植物体内にアンモニアが蓄積して植物を枯死させる。PAT 蛋白質は、除草剤グルホシネートをアセチル化し、無毒なアセチルグルホシネートに変えることで、植物体にグルホシネートに対する耐性を付与する (図 1)。除草剤グルホシネートは非選択性の除草剤で、1 剤で幅広い雑草に対して防除効果を示す。日本、米国を始め、世界中で安全に使用されている。*pat* 遺伝子の導入により、トウモロコシ畑でも本除草剤を雑草防除に使用することが可能となり、農家に雑草防除のための選択肢を提供することが期待されている。なお、PAT 蛋白質がヒトにアレルギー誘発性を示す可能性は、極めて低いと結論されており、既知のアレルゲン蛋白質に対して構造相同性は認められなかった。

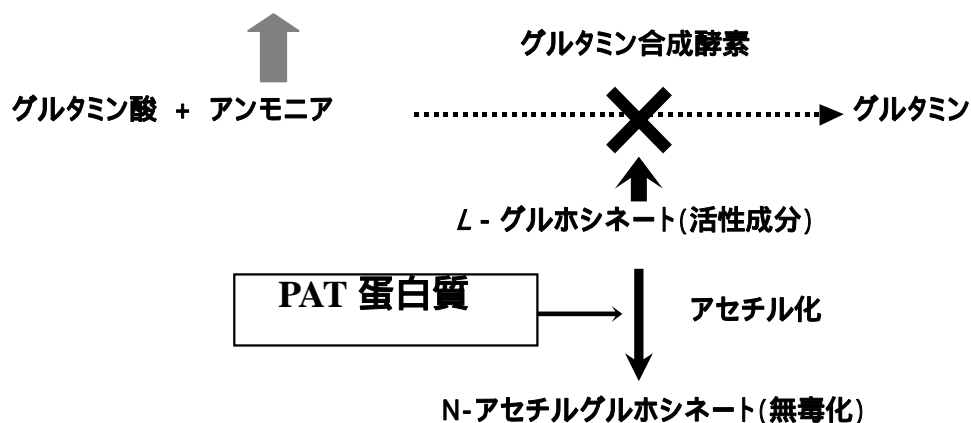


図 1 PAT 蛋白質の作用機作

除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートにより、グルタミン合成酵素が阻害されると、アンモニアが蓄積し、植物は枯死する。PAT 蛋白質により L-グルホシネートがアセチル化され、N-アセチルグルホシネートになると、グルタミン合成酵素は阻害されないようになり、アンモニアが蓄積されず、植物は成長を続けることができる。PAT 蛋白質は、D、L、-グルホシネートのうち、L-グルホシネートのみを基質とすることが報告されている。

宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

Cry1F 蛋白質は、他の Cry 蛋白質と同様に、植物体内で酵素として働くことは報告されていない。PAT 蛋白質は、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートに対して、極めて高い基質特異性を有し、L-グルホシネートの光学異性体である D-グルホシネートをも基質としないことが報告されている。このように、いずれの蛋白質も、宿主の代謝系には関与していない。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

各遺伝子発現カセットが導入されたプラスミド PHP8999 の基となったベクターの名称及び由来は以下の通りである。

名称：プラスミド pUC19

由来：大腸菌 (*Escherichia coli*) K12 株

ロ 特性

ベクターの塩基数及び塩基配列

プラスミド PHP8999 の塩基数は 9,504 bp である。

特定の機能を有する塩基配列の種類

プラスミド PHP8999 の挿入遺伝子領域外には、微生物中でベクターを増殖する際に、形質転換プラスミドを含む微生物を選抜するための抗生物質耐性マーカー (*nptII* 遺伝子) が含まれている。*nptII* 遺伝子は、カナマイシン (kanamycin) 抗生物質に対する耐性を付与する。植物細胞に遺伝子を導入する際には、プラスミド PHP8999 を制限酵素 *Pme* I で処理し、*nptII* 遺伝子を含む領域を除いた直鎖状 DNA 断片 (PHI8999A) を用いているため、本抗生物質耐性遺伝子は、宿主には導入されていない。

ベクターの感染性の有無

プラスミド PHP8999 は、プラスミドの感染を可能にする配列を含んでいない。したがって感染性はない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

ベクター内の供与核酸の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を図 2 (9 ページ) に示した。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

核酸の宿主内への導入は、パーティクルガン法により行なった。詳細は図 3 (10 ページ) に示した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

Cry1F line 1507 は、米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社によって共同開発された。

核酸が移入された細胞の選抜の方法

詳細を図 3 に示した。

アグロバクテリウムの菌体の残存の有無

宿主への核酸の導入はパーティクルガン法により行ない、アグロバクテリウムは用いていない。

育成の経過及び系統樹

Cry1F line 1507 とデント種に分類されるトウモロコシの優良自殖系繁殖株を交配し、選抜育種を行なった。

我が国においては、2002 年 6 月に「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」(以下「指針」)に基づき、Cry1F line 1507 の開放系における利用計画が、「指針」に適合していることが確認されている。また、2002 年 7 月に食品としての安全性の承認が、さらに、2002 年 5 月に飼料としての安全性の承認が得られている。

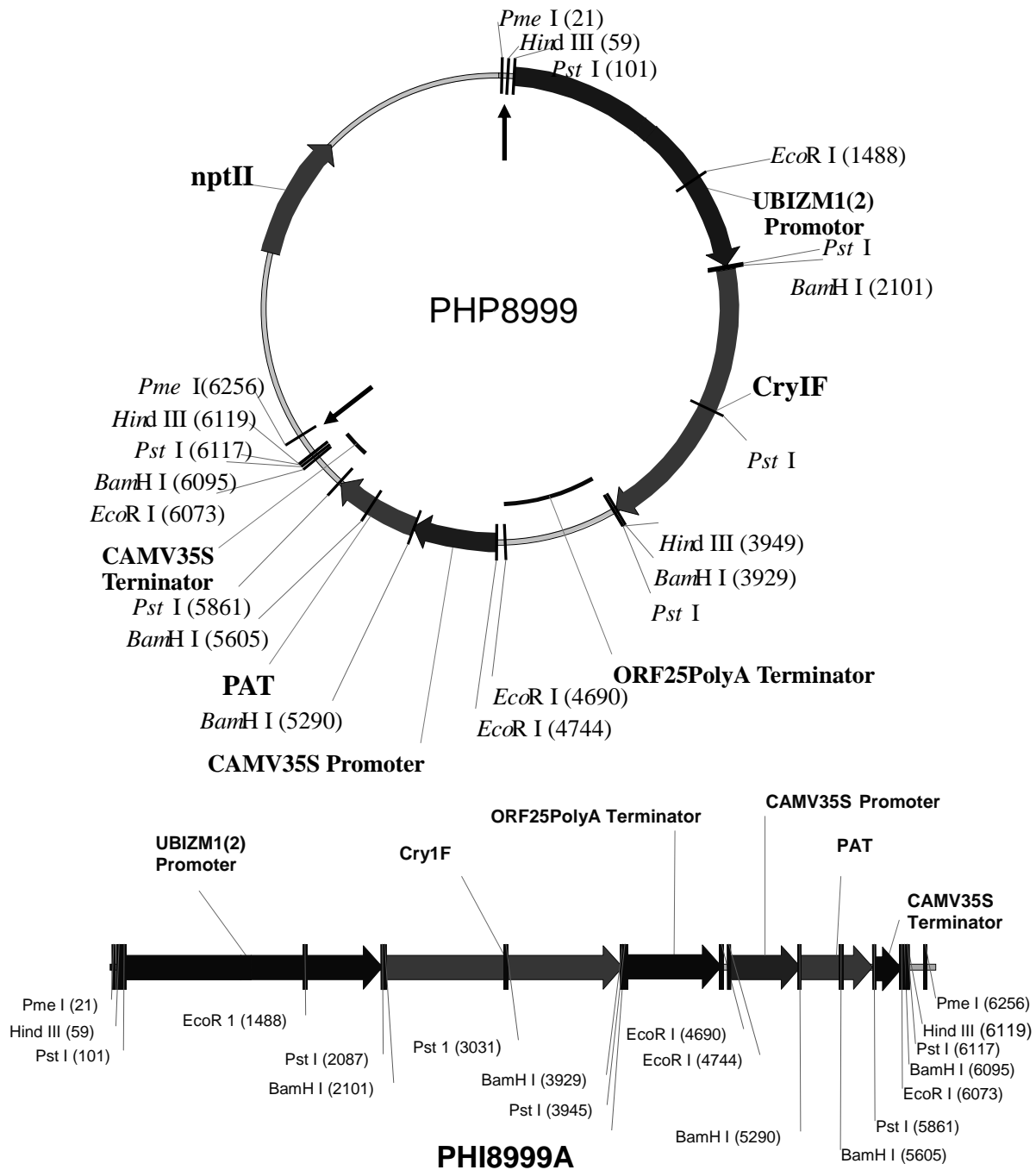


図 2 プラスミド PHP8999 (上図) 及び挿入 DNA 領域 PHI8999A (下図) の構成

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

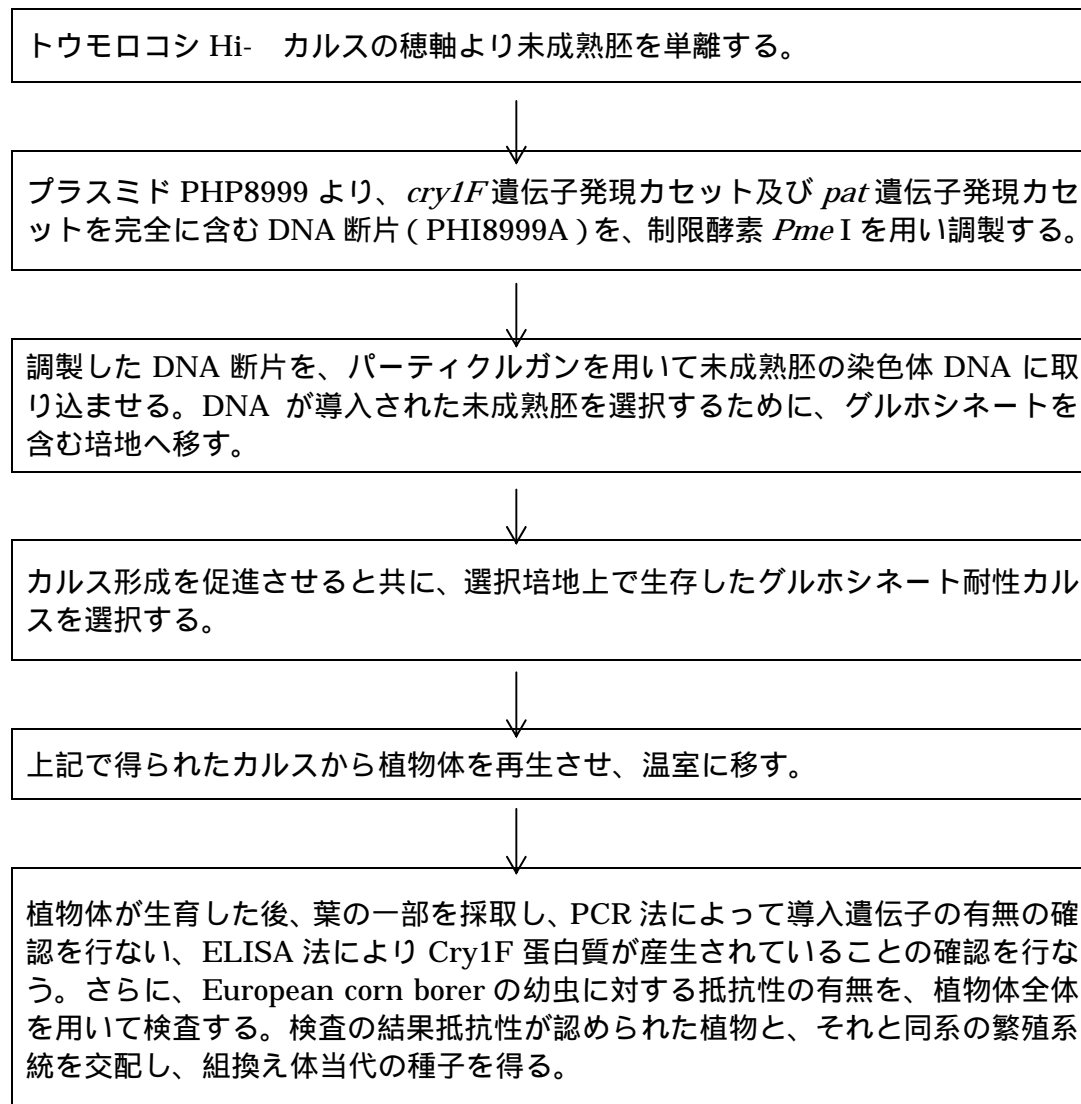


図 3 核酸の宿主への導入手順

(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

イ 移入された核酸の複製物が存在する場所

Cry1F line 1507 の T1S1 世代及び BC4F1 世代の葉より、ゲノム DNA 抽出キットを用いて抽出した DNA サンプルを供試し、移入された核酸の複製物がトウモロコシゲノム上に導入されたことを確認した。

ロ 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

Cry1F line 1507 に導入された核酸のコピー数を、Cry1F line 1507 の葉から抽出したゲノム DNA サンプルを供試し、サザンプロット分析により調べた。分析の結果、*cry1F* 遺伝子発現カセット及び *pat* 遺伝子発現カセットともに、1 コピーずつ、インタクトな形でトウモロコシゲノム上に挿入されたことが確認された。

導入されたすべての遺伝子が、後代品種に安定的に伝達されることを確認するために、複数世代の Cry1F line 1507 の葉から抽出した DNA サンプルを供試して、サザンプロット分析を行なった。その結果、いずれの世代においても、*cry1F* 遺伝子発現カセット及び *pat* 遺伝子発現カセットともに、1 コピーずつ、インタクトな形でトウモロコシゲノム上に挿入されていることが示され、当該遺伝子発現カセットが、安定的に伝達されることが確認された。

なお、導入された核酸の塩基配列解析を行なった結果、導入された核酸の 5'末端領域に *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、3'末端領域に *ORF25PolyA Terminator* 配列の一部が含まれていることが確認されたが、ノーザンプロット解析により、mRNA への転写は行なわれておらず、これらの遺伝子断片は機能していないことが確認されている。

ハ 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

本項目は該当しない。

ニ 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

Cry1F line 1507 中に導入された各遺伝子の発現により、本組換えトウモロコシ中に産生される Cry1F 蛋白質及び PAT 蛋白質が、後代品種中でも安定して産生されることを ELISA 法により確認した。分析には、Cry1F line 1507 の複数世代の葉及び植物体全体、穀粒から抽出したサンプルを供試した。

分析を行なったすべての供試試料中に、Cry1F 蛋白質が検出された。本結果より、Cry1F line 1507 中に産生される Cry1F 蛋白質が、後代品種中でも安定して産生されることが確認された。なお、PAT 蛋白質は全般に産生量が低かった。

Cry1F 蛋白質は、チョウ目害虫に対する抵抗性を付与する。Cry1F line 1507 の育成過程において、組換え体を選抜する際に、チョウ目害虫に対する抵抗性の有無の確認を行なった(図 3、10 ページ参照)。さらに、後代がチョウ目害虫に対して抵抗性を有することを、チョウ目害虫を用いた生物検定により確認した。以上のことから、

複数世代において、Cry1F 蛋白質の産生により、Cry1F line 1507 がチョウ目害虫に対する抵抗性を有することが示された。

PAT 蛋白質は、除草剤グルホシネートに対する耐性を付与する。Cry1F line 1507 の育成過程において、組換え体を選抜する際に、除草剤グルホシネートに対する耐性の有無の確認を行なった（図 3、10 ページ）。さらに、後代が除草剤グルホシネートに対して耐性を有することを、グルホシネートを散布した試験により確認した。以上のことから、複数世代において、PAT 蛋白質の産生により、本組換えトウモロコシが除草剤グルホシネートに対する耐性を有することが示された。

ホ 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がある場合は、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。よって伝達性はない。

(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

Cry1F line 1507 の検出及び識別の方法として、Cry1F line 1507 に特異的な塩基配列をプライマーとして用いた、RT (Real Time) -PCR 法による定量キットが GeneScan Europe 社 (ドイツ、フライブルグ) によって販売されている (カタログ番号: 512 12023 10)。本定量キットの検出感度 (測定下限値) は、PCR 増幅物 40 コピーである。さらに、Cry1F 蛋白質の検出用キットが、Strategic Diagnostics 社 (米国デラウェア州、ニューワーク) によって (カタログ番号: 7000018)、PAT 蛋白質の検出用キットが、EnviroLogix 社 (米国メイン州、ポートランド) によって (カタログ番号: AP 014)、それぞれ販売されている。Cry1F 蛋白質検出キットは、トウモロコシ穀粒 600 粒中、Cry1F 蛋白質を含む 1 粒を検出する。また、PAT 蛋白質検出キットは、トウモロコシ穀粒 500 粒中、PAT 蛋白質を含む 1 粒を検出する。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ 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内容

チョウ目害虫抵抗性

Cry1F line 1507 には、*Bacillus thuringiensis* (以下 *B.t.*) var. *aizawai* 由来の *cry1F* 遺伝子の導入により、Cry1F 蛋白質が産生されており、その結果、European corn borer (ヨーロッパアワノメイガ、*Ostrinia nubilalis*) 等のトウモロコシを食害するチョウ目害虫に対して抵抗性を示す。

除草剤グルホシネートに対する耐性

Cry1F line 1507 には、*Streptomyces viridochromogenes* 由来の *pat* 遺伝子の導入により、除草剤グルホシネートに対する耐性も付与されている。*pat* 遺伝子の発現により産生される PAT 蛋白質は、除草剤グルホシネートをアセチル化し、無毒なアセチルグルホシネートに変えることで、植物体にグルホシネートに対する耐性を付与する (図 1、6 ページ)。実際に、隔離ほ場試験において、除草剤グルホシネートを散布した非組換えトウモロコシが完全に枯死したのに対し、Cry1F line 1507 はグルホシネートに対して耐性を示すことが確認された。

ロ 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

形態及び生育の特性

Cry1F line 1507 について、我が国の自然条件の下で生育した場合の特性を評価するために、2001 年に独立行政法人 農業環境技術研究所（茨城県、つくば市）において隔離ほ場試験を実施し、非組換えトウモロコシと比較して観察を行なった。

形態及び生育の特性として、発芽率、発芽揃い、雄穂抽出期、絹糸抽出期、開花始期、開花終期、開花期間、成熟期、草型、分けつ数、雌穂総数、有効雌穂数、粒色及び粒形、稈長、着雌穂高、雌穂長、雌穂径及び収穫時の地上部生体重について評価した。発芽率について、供試した 2 品種のハイブリッド品種のうち、1 品種で Cry1F line 1507 と非組換え体との間に統計学的有意差が認められたが（ $p=0.033$ ）、両者の発芽率はそれぞれ 96.7% 及び 92.8% を示し、一般のトウモロコシ栽培品種の発芽率 90% を超える値であった。また、他の 1 種類のハイブリッド品種においては有意差は認められなかった。さらに、雑種第 2 世代種子では組換え体と非組換え体の発芽率に差は認められなかった。また、雌穂径について、1 品種で統計学的有意差が認められたが（ $p=0.033$ ）、平均の差はわずかであり（Cry1F line 1507：4.60 cm、非組換え体：4.32 cm）、もう一方のハイブリッド品種においては有意差は認められなかった。

発芽率及び雌穂径以外は、評価を行なったすべての項目について、Cry1F line 1507 と非組換えトウモロコシとの間で差は認められなかった。

生育初期における低温耐性

約 3 葉期の植物体を、陽光ランプ点灯下 12~14 時間、12 時間、暗黒下で 2 時間、12 時間に設定したグロースキャビネットに搬入し、生育状態を観察した。搬入後約 3 週間で、すべての展開葉が全面的に葉緑素を失い萎縮した。萎縮の進行について Cry1F line 1507 と非組換えトウモロコシの間で差は認められなかった。

成体の越冬性又は越夏性

トウモロコシは夏型一年生植物であり、結実後、冬季には通常自然に枯死し、越冬することは知られていない。実際に、米国において行なった Cry1F line 1507 の栽培試験に用いたほ場を、翌年に観察したところ、残存している植物体はないことが確認されている。

花粉の稔性及びサイズ

隔離ほ場試験において、開花期に花粉を採取し、ニュートラルレッドまたはヨードヨードカリにより染色し、顕微鏡下において稔性及びサイズについて調査を行なった。染色の結果、Cry1F line 1507 及び非組換えトウモロコシのいずれの花粉も原形質が染色され、充実していることが確認された。またサイズについても、Cry1F line 1507 と非組換えトウモロコシとの間で差は認められなかった。

種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量に係る項目として、隔離ほ場試験において、粒列数、1 列粒数及び 100 粒重について調査を行なった結果、すべての項目において Cry1F line 1507 と非組換えトウモロコシとの間で差は認められなかった。また、Cry1F line 1507 及び非組換えトウモロコシの双方とも、雑種第 2 世代（F₂）種子の発芽率は良好であったため

(供試したすべての品種で94%以上)休眠性はないと結論された。F2種子の発芽率及び脱粒性にもCry1F line 1507と非組換えトウモロコシの間で差は認められなかった。

交雑率

宿主であるトウモロコシと交雑可能な近縁野生種は、我が国においては生育していないため、本項目については調査を行なわなかった。

有害物質の産生性

トウモロコシについては、周辺の植物や土壌微生物に影響を与えるような有害物質を、根から分泌することは知られていない。また、枯死した後に他の植物に影響を与えるような他感物質が産生されることも知られていない。Cry1F line 1507中には、*cry1F*遺伝子及び*pat*遺伝子の導入により、新たにCry1F蛋白質及びPAT蛋白質が産生されている。Cry1F蛋白質については、他の*B.t.*のCry蛋白質と同様に、植物体内で酵素として働くことは示されておらず、またPAT蛋白質については基質特異性が極めて高いことが報告されている。また、実際に形態・生育・繁殖特性を調べたほ場試験、並びに主要及び微量構成成分の分析試験においても、評価を行なった全ての項目においてCry1F line 1507と非組換えトウモロコシの間に意図しない有意な差異は認められず、当該遺伝子の導入及び蛋白質が宿主トウモロコシの代謝経路に関与して、非意図的变化を起こした可能性は示唆されなかった。

念のため、Cry1F line 1507中に、根から分泌されて周辺の植物に影響を与えるような他感物質が新たに産生されていないことを確認するために、Cry1F line 1507及び非組換えトウモロコシを栽培した隔離ほ場試験の栽培残土を用いてレタスを栽培し、発芽率及び生育を調査した。その結果、発芽率については、供試した2品種のハイブリッドのいずれにおいても、組換え体と非組換え体の間で統計学的有意差は認められなかった。レタスの生体重については、1品種で有意差($p = 0.033$)が認められた(組換え体:0.63g、非組換え体:0.43g)が、発芽率について有意差が認められなかったこと、組換え体におけるレタスの生育が悪かった訳ではないこと、さらに、他の1品種について有意差は認められなかったことから、導入遺伝子により意図しない有害物質が産生されたとは考えられなかった。確認のため、サンドイッチ法により、Cry1F line 1507及び非組換えトウモロコシの根が、レタスの発芽率及び幼根長、胚軸長に与える影響について調査した結果、すべての項目について、組換え体と非組換え体の間で統計学的有意差は認められなかった。

これらの結果より、Cry1F line 1507中に、根から分泌されて周辺の植物に影響を与えるような他感物質は産生されていないことが確認された。

Cry1F line 1507及び非組換えトウモロコシを栽培した土壌中の糸状菌及び細菌、放線菌数を調査した結果、Cry1F line 1507と非組換えトウモロコシの間で差は認められなかった。本結果より、Cry1F line 1507中に、根から分泌されて土壌微生物に影響を与えるような有害物質は産生されていないことが確認された。

枯死したトウモロコシの他の植物への影響については、我が国で行なった隔離ほ場試験、及びサンドイッチ法による試験、並びに46の米国での野外試験における結果に基づいて検討を行なった。隔離ほ場試験において、Cry1F line 1507及び非組換え

トウモロコシを栽培した残土に、Cry1F line 1507 又は非組換えトウモロコシ植物体の残渣を鋤込んだ土壌を用いてレタスを栽培し、発芽率及び生育を調査した。その結果、発芽率については、供試した2品種のハイブリッドのいずれにおいても組換え体と非組換え体の間で統計学的有意差は認められなかった。レタスの生体重については、1品種で有意差($p = 0.033$)が認められた(組換え体:0.77g、非組換え体:0.43g)が、発芽率について有意差が認められなかったこと、組換え体におけるレタスの生育が悪かった訳ではないこと、さらに、他の1品種について有意差は認められなかったことから、導入遺伝子により意図しない有害物質が産生されたとは考えられなかった。確認のため、サンドイッチ法により、Cry1F line 1507 及び非組換えトウモロコシの葉及び茎が、レタスの発芽率及び幼根長、胚軸長に与える影響について調査した結果、すべての項目について、組換え体と非組換え体の間で統計学的有意差は認められなかった。さらに、米国において行なった46の野外試験では、育種家が栽培の翌年にはほ場を訪れて観察を行なっているが、Cry1F line 1507 の栽培を行なっただけのほ場においても、目視による観察の結果、後作物の生育に、本組換えトウモロコシの栽培に起因すると考えられる明らかな影響は認められなかった。

以上の結果より、Cry1F line 1507 中に、枯死した後に他の植物へ影響を与えるような、意図しない有害物質は産生されていないことを確認した。

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

食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

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

別添の緊急措置計画書を参照。

(3) 国外における使用等に関する情報

国外における Cry1F line 1507 の安全性に係る承認の状況については、表2(16ページ)に示した。なお、2003年に米国とカナダにおいて商品化されている。

表 2 国外における Cry1F line 1507 の安全性に係る承認の状況

国名	安全性の承認の種類	承認時期
米国	食品及び飼料としての安全性	2000 年
	Cry1F 蛋白質の植物農薬登録申請	2001 年
	無規制裁培許可	2001 年
カナダ	環境に対する安全性	2002 年
	食品としての安全性	2002 年
	飼料としての安全性	2002 年
オーストラリア/ ニュージーランド	食品としての安全性	2003 年
韓国	食品としての安全性	2002 年
台湾	食品としての安全性	2003 年
フィリピン	環境に対する安全性	2003 年
中国	食品としての安全性	2004 年

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

トウモロコシ(*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) は、長年にわたり食品・飼料への加工用として海外より輸入されてきた。また、生食用やサイレージ用として我が国でも栽培されている。我が国における長い栽培の歴史の中で、トウモロコシが雑草化し、野生動植物の生育に支障を及ぼしたという報告はないことから、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、Cry1F line 1507 と非組換え体において相違が見られた点について考慮することとする。

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

トウモロコシについては、これまで我が国において栽培等がなされてきているが、我が国において雑草化したという報告はされていない。平成 13 年に、茨城県つくば市の独立行政法人農業環境技術研究所内で行なった隔離ほ場試験において、野生植物との競合における優位性に寄与すると考えられる雑草性に関する特性（種子の生産量及び脱粒性、発芽率及び発芽揃い期、休眠性、生育初期の低温耐性、花粉の稔性等）について調査を行なった。発芽率及び雌穂径については、供試した 2 品種のうち 1 品種で有意差が認められたが、その差は極めてわずかであり、雑草性を高めるものとは考えられない。それ以外の項目については、Cry1F line 1507 と非組換えトウモロコシの間で差は認められなかった。以上の結果より、Cry1F line 1507 は従来トウモロコシと同様に雑草化することはないと考えられる。

Cry1F line 1507 は、*Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* 由来の *cry 1 F* 遺伝子の導入により、European corn borer (ヨーロッパアワノメイガ、*Ostrinia nubilalis*) 等のトウモロコシを食害するチョウ目害虫に対して抵抗性を示す。しかし、上述のとおり、Cry1F line 1507 は従来トウモロコシと同様に雑草化することはないと考えられる。したがって、本特性により競合における優位性が高まるとは考えられない。また、Cry1F line 1507 は *pat* 遺伝子の導入により除草剤グルホシネートに耐性を持つが、自然環境下で本除草剤が使用されることはなく、除草剤グルホシネートに対する耐性が Cry1F line 1507 に野生植物との競合における優位性を与えることもない。

以上のことより、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されないと判断された。

(2) 影響の具体的内容の評価

-

(3) 影響の生じやすさの評価

-

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上の結果より、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかったため、Cry1F line 1507 の競合における優位性に起因して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

トウモロコシには、野生動植物等に対して影響を与える有害物質の産生性は知られていない。導入遺伝子により、意図しない有害物質が産生されていないことを、後作試験、土壌微生物の評価、鋤込み試験等を行なって検討した。いずれの試験においても、Cry1F line 1507 と非組換えトウモロコシとの間に、導入遺伝子により生じたと考えられる差は認められなかった。

以上の結果に基づき、Cry1F line 1507 中には、意図しない有害物質は産生されていないと結論された。

Cry1F line 1507 中には、Cry1F 蛋白質及び PAT 蛋白質が産生されている。このうち、PAT 蛋白質については、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。したがって、Cry1F 蛋白質について、以下に検討を行なった。

Cry1F 蛋白質は *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* に由来する。他の *B.t.* 蛋白質と同様に、その殺虫効果は特異性が高く、ヨーロッパアワノメイガ等、トウモロコシを食害するチョウ目害虫に対して殺虫効果を持つが、コウチュウ目及びハチ目、アミメカゲロウ目、トビムシ目の昆虫に対しては、試験を行なった最高投与量でも、死亡した個体は認められなかった。また、哺乳類及び鳥類、魚類に対しても評価を行なったが、試験を行なったすべての生物に対し毒性は示さなかった。したがって、何らかの影響を受ける可能性のある野生動植物として、我が国に生息するチョウ目昆虫が考えられた。

チョウ目昆虫が当該蛋白質に曝露される経路としては、トウモロコシ植物体を直接食餌する可能性と、トウモロコシ花粉の飛散により曝露される可能性が考えられる。トウモロコシを食害するチョウ目昆虫は、トウモロコシ栽培の際には、殺虫剤等による防除が行なわれるので、ここでは考察の対象にはしない。したがって、チョウ目昆虫が、Cry1F line 1507 から飛散した花粉を食餌植物と共に摂食した場合には、何らかの影響を受ける可能性を完全に否定することはできない。そこで、今日、種としての存続が危惧されているチョウ目昆虫について、花粉の飛散により当該蛋白質に曝露される可能性を以下に考察した。

「環境省レッドリスト、2000 年改訂版」に記載された絶滅危惧種のチョウ目昆虫 74 種のうち、トウモロコシの栽培が可能な低地から山地にかけて生育し、トウモロコシの開花時期に幼虫生育期間が重なるのは、以下の 12 種である。

絶滅危惧 I 類：タイワンツバメシジミ、シルビアシジミ、ウスイロヒョウモンモドキ、ヒョウモンモドキ、ミツモンケンモン

絶滅危惧 II 類：ヒメシロチョウ、ツマグロキチョウ、ミヤマシジミ、コヒョウモンモドキ、ヒメヒカゲ、ウラナミジャノメ

準絶滅危惧：ヒョウモンチョウ

これら 12 種の中で、産卵が年に 1 回のみで、その幼虫の生育期間がトウモロコシの開花時期と重なる種は、7 種(タイワンツバメシジミ、ウスイロヒョウモンモドキ、

ヒョウモンモドキ、コヒョウモンモドキ、ヒメヒカゲ、ウラナミジャノメ、ヒョウモンチョウ)である。このうち4種(タイワンツバメシジミ、ウスイロヒョウモンモドキ、ヒョウモンモドキ、コヒョウモンモドキ)は、食草がそれぞれマメ科やオミナエシ科、キク科、ゴマハノグサ科で、さらに幼虫が主に蕾の内部や葉の裏面を摂食するか、あるいは集団でネット状の巣を作りその中の葉しか食べないため、Cry1F line 1507の花粉に感受性が高いと考えられる若齢幼虫が、その生存に影響する量の花粉を摂食する可能性はほとんど無い。残り3種(ヒメヒカゲ、ウラナミジャノメ、ヒョウモンチョウ)については、幼虫が食餌植物の葉の表面を摂食するが、ヒメヒカゲとウラナミジャノメについては、食草がカヤツリグサ科やイネ科で、葉が細くほぼ直立しており、花粉が葉上に堆積しにくいいため、その生存に影響するような量の花粉を摂食する可能性はほとんどないと考えられる。またヒョウモンチョウは、食草がバラ科で、さらに主な生息地がトウモロコシ栽培に適さない湿原であることから、トウモロコシ畑周辺に生息する可能性はほとんどないと考えられる。

以上のことから、Cry1F line 1507の栽培がこれら絶滅危惧種の種としての存続に影響を与える可能性は無視できるほど低いと考えられた。しかしながら、我が国に生息するチョウ目昆虫の中には、当該蛋白質に曝露された場合、何らかの影響を受けるものがある可能性を完全に否定することはできないため、チョウ目昆虫が影響を受ける濃度で当該蛋白質に曝露される可能性が、現実的にどの程度想定されるのかについて、検討を行なった。

(2) 影響の具体的内容の評価

Cry1F line 1507の花粉を用いて、ヤマトシジミ(*Zizeeria maha argia*)を供試し生物検定を行なった。ヤマトシジミは、*B.t.*蛋白質に対して感受性であることに加えて、集団飼育がし易く採集や継代飼育が容易である等の理由により検定に用いられた。Cry1F line 1507の花粉と非組換えトウモロコシの花粉をヤマトシジミ1齢幼虫に摂食させて生存率を比較したところ、 LC_{50} 値(半数致死花粉密度)は100粒/cm²であることが示された。

Cry1F蛋白質の殺虫効果を調べるため、蛍光菌(*Pseudomonas fluorescens*)中で産生させたCry1F蛋白質を人工飼料に混合し、米国において農業上の害虫と見なされている15種類のチョウ目昆虫に混餌投与した。15種類のチョウ目昆虫のうち、6種は米国でのトウモロコシ栽培において、9種はワタ、ダイズ、カノーラ等、その他の作物栽培において害虫と見なされている。上記6種のトウモロコシ栽培における害虫のうち、Cry1F line 1507の標的害虫であるEuropean corn borer(ヨーロッパアワノメイガ)及びFall armyworm、Beet armywormに対する LC_{50} 値(半数致死濃度)は、それぞれ0.58 µg/g及び2.49 µg/g、7.8 µg/gであったが、残り3種の害虫(Southwestern corn borer及びBlack cutworm、Bollworm)に対する LC_{50} 値は50 µg/gを超えていた。一方、農業上の害虫とはされていないオオカバマダラ(*Danaus plexippus*)についても試験を行なったが、 LC_{50} 値は試験を行なった最高濃度である30 µg/gより大きかった。これらの結果から、*B.t.*蛋白質は殺虫活性の特異性が高いことが知られているが、Cry1F蛋白質も殺虫効果の特異性が高く、一部の昆虫にのみ効果を持つことが示された。

(3) 影響の生じやすさの評価

前述のように、トウモロコシを食害するチョウ目昆虫については、トウモロコシ裁

培の際には、殺虫剤等による防除が行なわれるので、ここでは考察の対象にはしない。したがって、チョウ目昆虫がトウモロコシ花粉の飛散により当該蛋白質に曝露される可能性についてのみ、考察を行なうこととする。

食品・飼料加工としての加工用に輸入されたトウモロコシは、こぼれ落ちによるロスの防止のため及び風雨にあたらぬように、周囲を覆われたベルトコンベアで、パナマックス船から直接港に隣接している食品・飼料加工工場に運ばれるか、あるいは四方を完全に覆われたトラックで山間の工場まで輸送されている。このため、運搬途中で道路際等にこぼれ落ちが生ずる可能性は極めて低い。トウモロコシは、長年ヒトの手により改良された作物で、ヒトが手をかけなければ育つことはできない。実際に、港やその隣接する工場内、道路端でトウモロコシが雑草化したという報告はなく、チョウ目昆虫が、こぼれ落ちにより生育したトウモロコシの花粉に曝露される可能性はないと考えられた。

以下に、我が国において Cry1F line 1507 を栽培した際にトウモロコシ畑の周辺にチョウ目昆虫がいた場合を想定し、実際にどの程度花粉に曝露される可能性があるのかを、野外において花粉の飛散・堆積程度を調べた実験の結果に基づき考察した。

表 3 に示すように、ヒマワリの葉を用いて、トウモロコシ畑周辺での花粉の飛散・堆積程度を調べた実験によると、トウモロコシ畑内での花粉密度は 81.7 粒/cm²であった。畑から 5m 離れると花粉の堆積密度は 5.2 粒/cm²と大きく減少し、10m 離れた場合の花粉密度は、畑内の約 270 分の 1 の 0.3 粒/cm²まで減少した。5m 地点における花粉堆積密度は、ヤマトシジミに対する LC₅₀ 値 (100 粒/cm²) の約 20 分の 1、10m 地点では約 334 分の 1 である。

また、5m 地点での予想 Cry1F 蛋白質濃度は、高めに見積もって 0.000111 μg/cm²、10m 地点では 0.000006 μg/cm² となる。5m 地点における蛋白質濃度は、オオカバマダラに対する LC₅₀ 値 (> 27.7 μg/cm²) の約 25 万分の 1、10m 地点では約 460 万分の 1 となる。

表 3 ほ場端からの距離と花粉蓄積数

ほ場端からの距離	花粉密度 (粒/cm ²)	予想蛋白質量 ¹⁾ (Cry1F μg/cm ²)
0m	81.7	0.001743
1m	136.5	0.002912
2m	33.5	0.000715
5m	5.2	0.000111
10m	0.3	0.000006
20m	0.3	0.000006
50m	0.1	0.000002

1) 花粉飛散期に昆虫が曝露されると予想される蛋白質濃度の幅の中で、高い方の値 (HEEE: High End Exposure Estimate) を示した。
(花粉粒数 / cm²) × (g / 1,500,000 粒) × (花粉中発現量 32.0 μg/g) として計算した。

以上の結果より、仮にトウモロコシ畑の周辺にチョウ目昆虫の幼虫が生息している場合でも、影響を受ける濃度で Cry1F line 1507 の花粉に曝露される可能性はほとんどないと考えられた。このため、Cry1F line 1507 の栽培が、我が国に生息するチョウ

ウ目昆虫の、種としての存続に影響を与える可能性は極めて低いと結論された。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上の検討結果に基づき、Cry1F line 1507 を輸入または栽培した場合に、有害物質の産生性に関して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

宿主であるトウモロコシは、我が国において雑草化した事例がなく、また交雑可能な近縁野生種（テオシント）が自生していることは知られていない。このため、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されないと判断した。

以上のことより、Cry1F line 1507 の交雑性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

Cry1F line 1507 は、*Bacillus thuringiensis var. aizawai* 由来の *cry1F* 遺伝子の導入により、ヨーロッパアワノメイガ等のトウモロコシを食害するチョウ目害虫に対して抵抗性を示す。また、*pat* 遺伝子の導入により除草剤グルホシネートに耐性を示す。項目ごとに生物多様性影響の評価を行なった。

我が国の自然環境下で行なった隔離ほ場試験の結果、Cry1F line 1507 は、宿主であるトウモロコシと生育特性・生殖特性について有意な差のないことが示された。Cry1F line 1507 は、Cry1F 蛋白質の産生により、トウモロコシを食害するヨーロッパアワノメイガ等のチョウ目昆虫に対して殺虫効果を示す。これらの昆虫は農業上の害虫であり、トウモロコシ栽培においては殺虫剤等により防除されるため、本特性が Cry1F line 1507 に競合における優位性を付与することはない。また、PAT 蛋白質の産生により、除草剤グルホシネートに対する耐性が付与されているが、自然環境下で除草剤グルホシネートが使用されることはないため、本除草剤に対する耐性が Cry1F line 1507 に野生植物との競合性における優位性を与えることもない。以上のことから、Cry1F line 1507 は、宿主トウモロコシと同様、野生植物との間の競合の優位性を示すことはないと判断された。

トウモロコシには、野生動植物等に対して影響を与える有害物質の産生性は知られていない。導入遺伝子により、意図しない有害物質が産生されていないことを、後作試験、土壌微生物の評価、鋤込み試験等を行なって検討した。いずれの試験においても、Cry1F line 1507 と非組換えトウモロコシとの間に、導入遺伝子により生じたと考えられる差は認められなかった。

以上の結果に基づき、Cry1F line 1507 中には、意図しない有害物質は産生されていないと結論された。

Cry1F蛋白質が我が国に生息する非標的生物の種としての存続に与える影響について考察を行なった。一般的に、*B.t.*蛋白質の殺虫効果は非常に特異性が高いことが知られている。実際に、殺虫効果を調べた試験において、Cry1F蛋白質は、標的昆虫であるヨーロッパアワノメイガに対しては高い殺虫効果を示したが（ LC_{50} 値：0.58 μ g/g）、非標的チョウ目昆虫であるオオカバマダラに対しては試験した最高濃度（30 μ g/g）でも効果は認められなかった。さらに、コウチュウ目昆虫、ハチ目昆虫、アミメカゲロウ目昆虫、トビムシ目昆虫、ミジンコ目及び、哺乳類、鳥類、魚類に対しても評価を行なったが、試験を行なったすべての非標的生物に対し当該蛋白質が毒性を持たないことが確認された。以上の結果より、Cry1F蛋白質に曝露された場合に何らかの影響を受ける可能性のある野生動物は、チョウ目昆虫のみであると考えられた。このため、絶滅危惧種を例にして考察を行なったが、繁殖様式、食餌植物の種類、生息場所及び様式から考えて、我が国に生息する絶滅危惧種のチョウ目昆虫が、トウモロコシ畑から飛散する花粉に曝露される可能性はほとんどないと結論された。

しかしながら、我が国に生息するチョウ目昆虫の中には、当該蛋白質に曝露された場合に、何らかの影響を受けるものがある可能性を完全に否定することはできないため、チョウ目昆虫が影響を受ける濃度の当該蛋白質に曝露される可能性が、現実的にどの程度想定されるのかについて考察を行なった。トウモロコシ畑周辺の花粉堆積密度を調査した実験によると、トウモロコシ畑から 10m離れた場合の花粉密度は畑中の約 270 分の 1 である

0.3 粒/cm²にまで減少することが示されているが、本密度はヤマトシジミを用いた生物検定におけるLC₅₀値(100 粒/cm²)の約 334 分の 1 である。さらに、10m離れた場合の当該蛋白質の予想曝露濃度は、オオカバマダラに対する生物検定におけるLC₅₀値(>27.7 μg/cm²)の約 460 万分の 1 より低いと推計された。以上のことから、我が国に生息するチョウ目昆虫が、影響を受ける濃度で当該蛋白質に曝露される可能性は無視できるほど低いと考えられた。なお、PAT蛋白質については、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。以上のことから、Cry1F line 1507 を輸入または栽培した場合に、有害物質の産生性に関して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

宿主であるトウモロコシは、我が国において雑草化した事例がなく、また交雑可能な近縁野生種が自生していることは知られていない。したがって、Cry1F line 1507 が我が国の環境下で野生植物と交雑することはないと判断された。

以上の考察結果より、Cry1F line 1507 を第一種使用規程に従って使用した場合に、Cry1F line 1507 の競合における優位性及び有害物質の産生性、交雑性に起因して、我が国において生物多様性影響が生ずるおそれはないと結論された。

緊急措置計画書（食用、飼料用に供する場合）

平成 16 年 6 月 11 日

氏名 デュポン株式会社
代表取締役社長 小林 昭生
住所 東京都千代田区永田町 2 丁目 11 番 1 号
山王パークタワー

チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（*cry1F*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis）（*B.t.* *Cry1F* maize line 1507, OECD UI : DAS-Ø15Ø7-1）（以下、*Cry1F* line 1507 と表記）について、我が国において生物多様性影響が生ずるおそれはないとして、第一種使用規程に従った使用が承認された場合においても、今後、科学的根拠に基づき、生物多様性影響が生ずるおそれがあると立証された場合には、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

デュポン株式会社内に、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、社長を本部長とし、広報部を含む管理部門の部門長から構成される。同時に、当該管理部門（農業製品事業部）内に、本措置に適切に対応するための組織を設置し、危機対策本部並びに、*Cry1F* line 1507 の開発者である米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国パイオニア・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。本組織は、農業製品事業部長が責任者となる。

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は、*Cry1F* line 1507 の開発者である米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社と連絡をとり、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内容を周知するための方法

米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社は、米国における *Cry1F* line 1507 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、*Cry1F* line 1507 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根拠に基づき立証された場合には、米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社は、これらの連絡体制を使って、関係各者と連絡を取る。

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

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

今後、*Cry1F* line 1507 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根拠に基づき立証された場合には、弊社は、米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社とともに、日本向けに輸出している穀物取扱い業者及び種子取扱い業者に対して本件を通知する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

科学的正当性のある根拠に基づき、Cry1F line 1507 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農産安全管理課及び環境省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。

緊急措置計画書 (栽培目的の場合)

平成 16 年 6 月 11 日

氏名 デュポン株式会社
代表取締役社長 小林 昭生
住所 東京都千代田区永田町 2 丁目 11 番 1 号
山王パークタワー

チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (*cry1F*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (*B.t.* *Cry1F* maize line 1507, OECD UI : DAS-Ø15Ø7-1) (以下、*Cry1F* line 1507 と表記) について、我が国において生物多様性影響が生ずるおそれはないとして、第一種使用規程に従った使用が承認された場合においても、*Cry1F* line 1507 については、我が国で商業栽培を行なう予定は当面ない。商業栽培を行なうことを決定し、今後、科学的根拠に基づき、*Cry1F* line 1507 の栽培によって生物多様性影響が生ずるおそれがあると立証された場合には、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

デュポン株式会社内に、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、社長を本部長とし、広報部を含む管理部門の部門長から構成される。同時に、当該管理部門 (農業製品事業部) 内に、本措置に適切に対応するための組織を設置し、危機対策本部並びに、*Cry1F* line 1507 の開発者である米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国パイオニア・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。本組織は、農業製品事業部長が責任者となる。

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は、*Cry1F* line 1507 の開発者である米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社と連絡をとり、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内容を周知するための方法

米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社は、販売した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、*Cry1F* line 1507 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根拠に基づき立証された場合には、米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社は、これらの連絡体制を使って、関係各者と連絡を取る。

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

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

今後、*Cry1F* line 1507 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根拠に基づき立証された場合には、弊社は、種子取扱い業者及び国内の *Cry1F* line 1507 の栽培者に対して本件を通知する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

科学的正当性のある根拠に基づき、Cry1F line 1507 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農産安全管理課及び環境省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。