

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
 (*cry1Ac, bar, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (DBT418, OECD UI: DKB-89614-9)
 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書	1
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	5
(1) 供与核酸に関する情報	5
(2) ベクターに関する情報	6
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	7
(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	17
(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	20
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	20
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	27
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	29
引用文献	32
緊急措置計画書	33

第一種使用規程承認申請書

平成 16 年 8 月 18 日

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

氏名 日本モンサント株式会社
申請者 代表取締役社長 山根 精一郎 印
住所 東京都中央区銀座 4 丁目 10 番 10 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>cry1Ac, bar, Zea mays subsp. mays (L.) Ittis</i>) (DBT418, OECD UI: DKB-89614-9)
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、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	-

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

イ．一般にトウモロコシの学名は *Zea mays* L. であるが、近年、トウモロコシの近縁種である一年生テオシントが *Z. mays* に分類された結果、トウモロコシはその亜種として *Z. mays* subsp. *mays* (L.) Iltis として分類されるようになった(文献 1)。

ロ．宿主はイネ科(*Gramineae*)トウモロコシ属(*Zea*)に属するトウモロコシ(*Zea mays*)で、デント種に属し、胚培養カルスに由来する再生系統である[社外秘]を用いた。

ハ．原産地については、ほぼ米国の南西部、メキシコ、中米あるいは南米にかけての地域と考えられるが、決定的な説はなく、これら複数地域がそれぞれ独立した起源であるとする説と、メキシコ南部単独を起原とする説がある(文献 1)。なお、わが国における自然分布の報告はない。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ．トウモロコシの最古の栽培起源は今から 9,000 年前とされている(文献 1)。その後、原住民の手により育種、品種改良が行われ、紀元前 3000 年～1500 年頃には、現代の栽培型に近いトウモロコシが本格的に栽培されるようになり、南北アメリカ大陸の各地に伝播し、その伝播の過程でさらにデント、ポップ、スイート種などの多数の変異種が生じたと考えられている(文献 2)。わが国へは天正年間(1579 年)に長崎か四国に伝来したのが最初であるとされ、栽培の歴史は長い。

ロ．現在、飼料としての利用が主流であるが、食用、食用油、澱粉などの食品としての用途も多岐にわたる(文献 2; 文献 1)。現在、トウモロコシは世界で最も広く栽培されている穀物で、米国、中国、ブラジル、アルゼンチン及びヨーロッパ諸国などを中心に、北緯 58 度から南緯 40 度に至る範囲で栽培可能である(文献 3; 文献 1)。国連文献 4 の統計情報に基づくと、2005 年における全世界のトウモロコシの栽培面積は約 1 億 5 千万 ha であり、上位国を挙げると米国が 3,000 万 ha、中国が 2,600 万 ha、ブラジルが 1,100 万 ha、メキシコが 800 万 ha、インドが 740 万 ha、ナイジェリアが 460 万 ha、南アフリカが 340 万 ha となっている(文献 4)。なお、同統計情報に基づく 2005 年のわが国における栽培面積は 2 万 8,000ha であった。

わが国は海外から約 1,600 万トンのトウモロコシを飼料用、食品用、栽培用として

輸入している。飼料用は約 1,100 万トン、食品用は約 500 万トンで主な用途は澱粉、異性化糖である。

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

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

(3) 生理的及び生態学的特性

イ 基本的特性

-

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

トウモロコシ種子の発芽適温は32~36℃、最低発芽温度及び最低生育温度は6~10℃であり、実際には13~14℃以上の時期が播種適期とされ、品種や地域によって栽培時期は多少異なるが、主に春に播種されて秋に収穫される一年生の作物である(文献3)。また、もともと短日植物であり、その感光性は晩生種ほど敏感で、早生品種ほど鈍感である(文献3)。これら温度条件等の他、デント種の場合は種子重量の70%の水を吸うと発芽する(文献5)。また、トウモロコシの栽培には腐植に富む土壤が適し、pH5.5~8.0の範囲で栽培可能である(文献5)。

現在のトウモロコシは栽培作物として高度に人為的に作られた作物であり、自然条件下で野生種として繁殖し、生存するための能力は失われている(文献6; 文献1)。

ハ 捕食性又は寄生性

-

ニ 繁殖又は増殖の様式

完熟した種子は雌穂の苞皮で覆われており、脱粒性はない(文献1)。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、野生として生き残る能力を失っており、その種子を分散させるためには人間の仲介が必要である。種子の休眠性は極めて低い。また、収穫時に種子が地上に落下しても、土壌温度が 10 に達するまで発芽せず、腐敗し枯死する(文献 2; 文献 3)。また、仮に発芽しても生長点が地上部に出る初期生育時(5~7 葉期)に、0 以下で 6~8 時間以上の条件下におかれると生存できない(文献 1)。種子の寿命は常温保存では短く、2 年目から発芽率が低下する。

トウモロコシは栄養繁殖はせず、種子繁殖する。自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性があるという報告はこれまでのところない。

トウモロコシは雌雄同株植物の一年生作物で、典型的な風媒花であり、ほとんどは他家受粉によって作られた種子により繁殖するが、自家不和合性がないため自家受粉も可能である(文献 1; 文献 7)。トウモロコシの近縁の野生植物は、トウモロコシと同種の *Zea mays* に分類されるテオシントと *Tripsacum* 属であるが、トウモロコシと自然交雑可能なのはテオシントのみで、*Tripsacum* 属との自然交雑は知られていない(文献 1)。テオシントはメキシコとグアテマラにのみ自然分布しており、一方、*Tripsacum* 属の分布地域は北アメリカ東南部、コロンビアからボリビアにかけてのアンデス東側の低地、そして、この属の中心地と考えられるメキシコ、グアテマラの 3 地域に大別されている(文献 2; 文献 3; 文献 1; 文献 8)。我が国では、テオシント及び *Tripsacum* 属の野生種は報告されていない(文献 9; 文献 3)。

トウモロコシの一本の雄穂には 1,200~2,000 個の小穂があり、1,600 万~3,000 万個の花粉粒を形成する。花粉の寿命は盛夏のほ場条件下では 24 時間以内であるが、環境により 2 時間から 8 日までの幅がある(文献 10)。花粉は球形で、直径は 90-100 μm である(文献 11)。風媒による他家受粉が主であるが普通のほ場で 1~5%の自家受粉が起きる。雄穂の開花によって飛散した花粉は、雌穂から抽出した絹糸に付着して発芽し、24 時間以内に受精を完了する(文献 1)。また、トウモロコシ花粉が飛散する距離は、林、山などの遮蔽物の有無、風向きなどで異なるが、およそ 300~500m とされている(文献 3)。

ホ 病原性

-

ヘ 有害物質の産生性

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

ト その他の情報

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

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

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(*cry1Ac*, *bar*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (DBT418, OECD UI: DKB-89614-9) (以下、「本組換えトウモロコシ」という)の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は図 1～図 3(p8～10)及び表 1～表 3(p11～13)に示したとおりである。

なお、供与核酸の構成要素の塩基配列は、別添資料 1 に記載した。

ロ 構成要素の機能

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は表 1～表 3 (p11～13)に示した。

【*cry1Ac* 遺伝子】

チョウ目害虫抵抗性を付与するための目的遺伝子である *cry1Ac* 遺伝子は、*Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73 株由来である。*Cry1Ac* 蛋白質は米国でのトウモロコシ栽培における主要チョウ目害虫であるアワノメイガ(*Ostrinia nubilalis*)を中心としたチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す。*Cry1Ac* 蛋白質を含めた *B.t.* 菌の産生する *B.t.* 蛋白質は、標的昆虫の中腸上皮の特異的受容体と結合して陽イオン選択的小孔を形成し、その結果、消化プロセスを阻害して殺虫活性を示す(文献 12; 文献 13)。*B.t.* 蛋白質は酵素活性を持たず、宿主の代謝系とは独立して機能しており、宿主の生理・生態学的特性への影響はないと考えられる。

Cry1Ac 蛋白質が、既知のアレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベース(GenPept, PIR, SwissProt)を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有していなかった。

【*bar* 遺伝子】

作物は窒素代謝の過程で、硝酸塩の還元、アミノ酸の分解、光呼吸等によりアンモニアを生成する。生成されたアンモニアの無毒化にはグルタミン合成酵素が中心的役割を果たしているが、除草剤グルホシネートを散布すると、グルタミン合成酵素が阻害されてアンモニアが蓄積し、作物は枯死に至る。

導入された*bar*遺伝子が産生するホスフィノトリシン・アセチル基転移酵素(PAT蛋白質)は、グルホシネートをアセチル化してN-アセチルグルホシネートとし、グルホシネートのグルタミン合成酵素への阻害作用を不活性化する。これによりアンモニアは蓄積されず、除草剤グルホシネートを散布しても作物が枯死しない。

PAT蛋白質は、グルホシネートに高い親和性を示す。グルホシネートはL-アミノ酸に分類されるが、各種アミノ酸にアセチル基を転移することはなく、特に構造が類似しているグルタミン酸にも親和性はほとんどなく、生体内において実質的に転移反応を生じさせることはない(文献14)。また、過剰の各種アミノ酸の存在下においても、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は阻害されることはなかった(文献15)。これらのことから、PAT蛋白質がグルホシネートに対して高い基質特異性を有すると考えられる。

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

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

本組換えトウモロコシの作出に用いられたプラスミドベクターはいずれも、大腸菌(*Escherichia coli*)由来のプラスミド pUC 19 (文献 16)などに由来する。

ロ 特性

プラスミドベクターの全塩基数は、pDPG165 が 4,609 bp、pDPG320 が 6,006 bp、pDPG699 が 6,309 bp である。いずれも大腸菌における構築ベクターの選抜マーカー遺伝子として *bla* 遺伝子(*amp* 遺伝子)を持つ。これらプラスミドベクターの感染性は知られていない。なお、構成要素の塩基配列は、別添資料 1 に記載されている。

(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

宿主内に移入された本プラスミドベクターの構成要素は表 1～表 3 (p11～13)に記載した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置と制限酵素による切断部位に関しては、図 1～図 3 (p8～10)に示した。

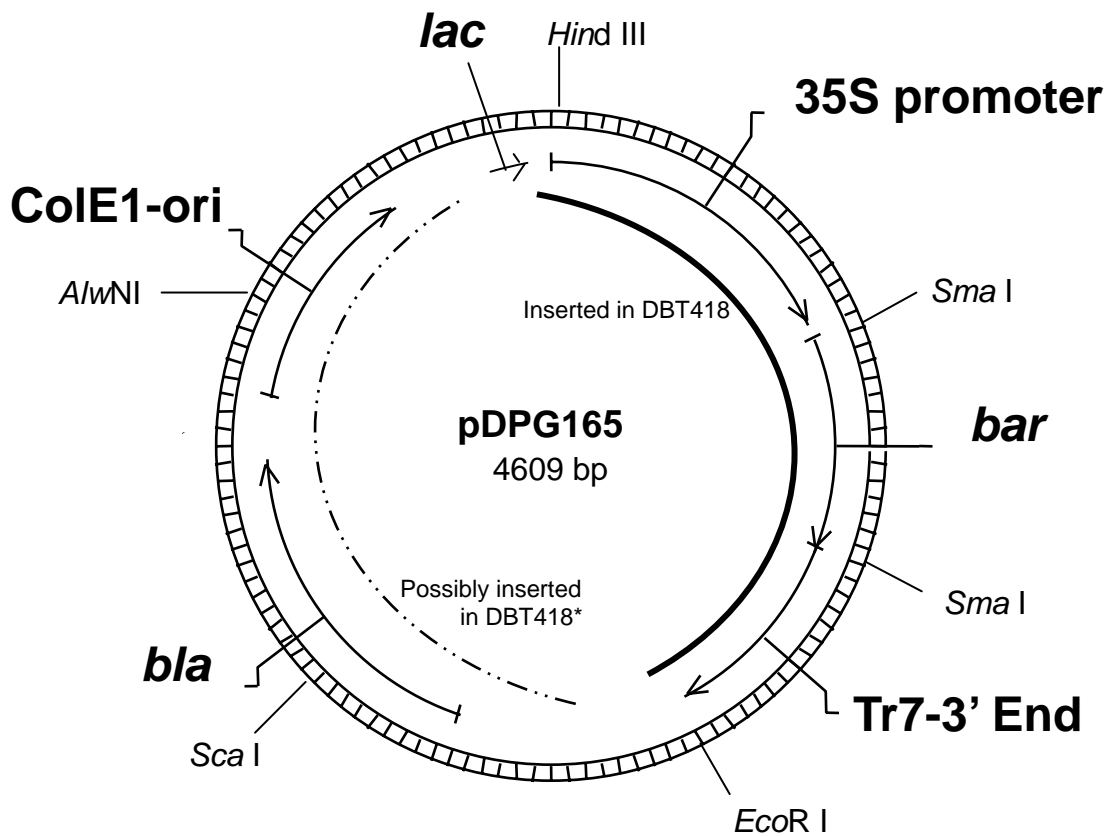


図 1 プラスミドベクター-pDPG165¹

**bla* 及び ColE1 は本組換えトウモロコシの作出の際に用いた 3 つのプラスミド pDPG165, pDPG320, pDPG699 に共通の構成要素であるため、本組換えトウモロコシに挿入されているこれらの要素がどのプラスミド由来であるかを特定することはできない。

¹ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

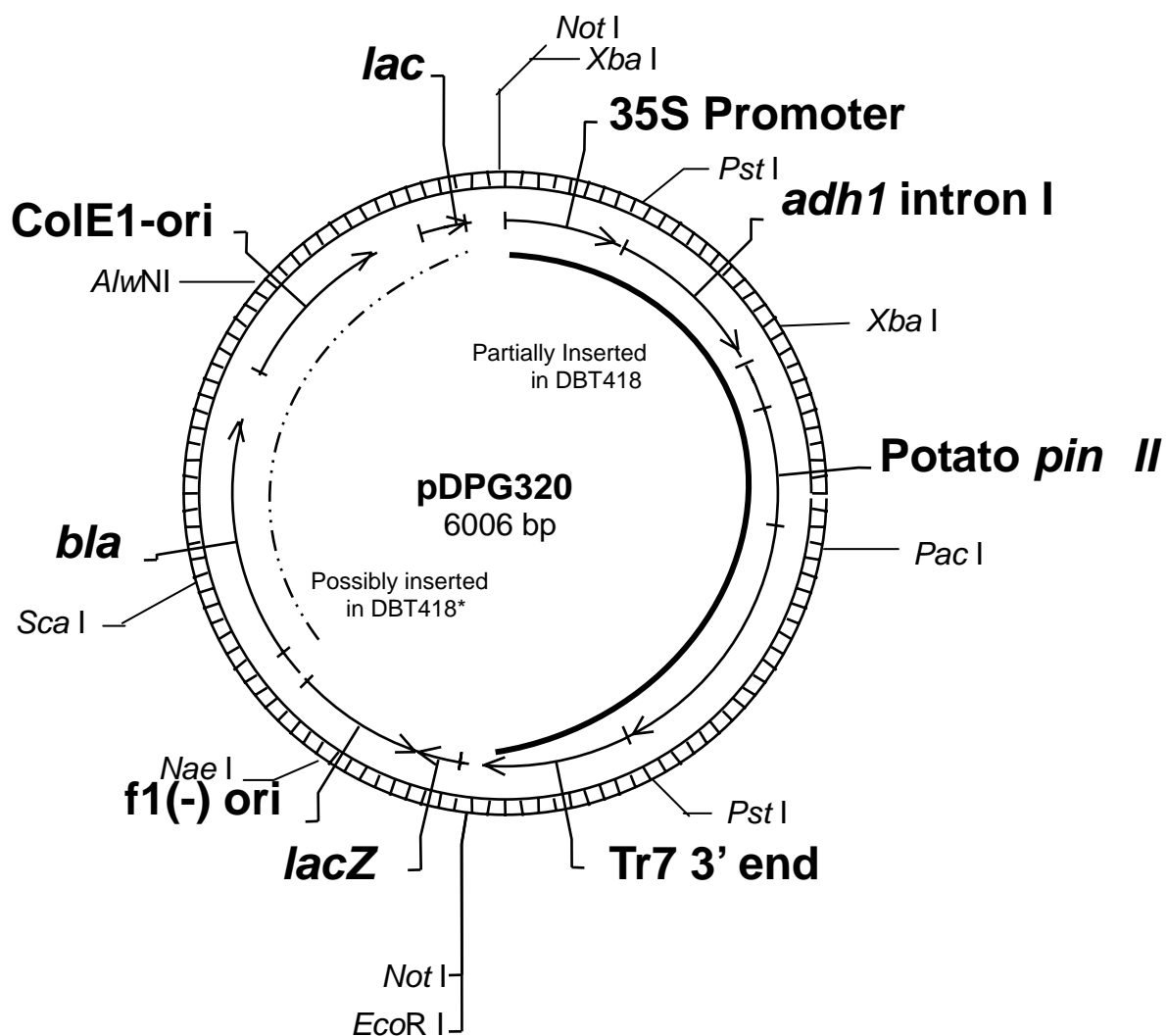


図 2 プラスミドベクター-pDPG320²

**bla* 及び ColE1 は本組換えトウモロコシの作出の際に用いた 3 つのプラスミド pDPG165, pDPG320, pDPG699 に共通の構成要素であるため、本組換えトウモロコシに挿入されているこれらの要素がどのプラスミド由来であるかを特定することはできない。

² 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

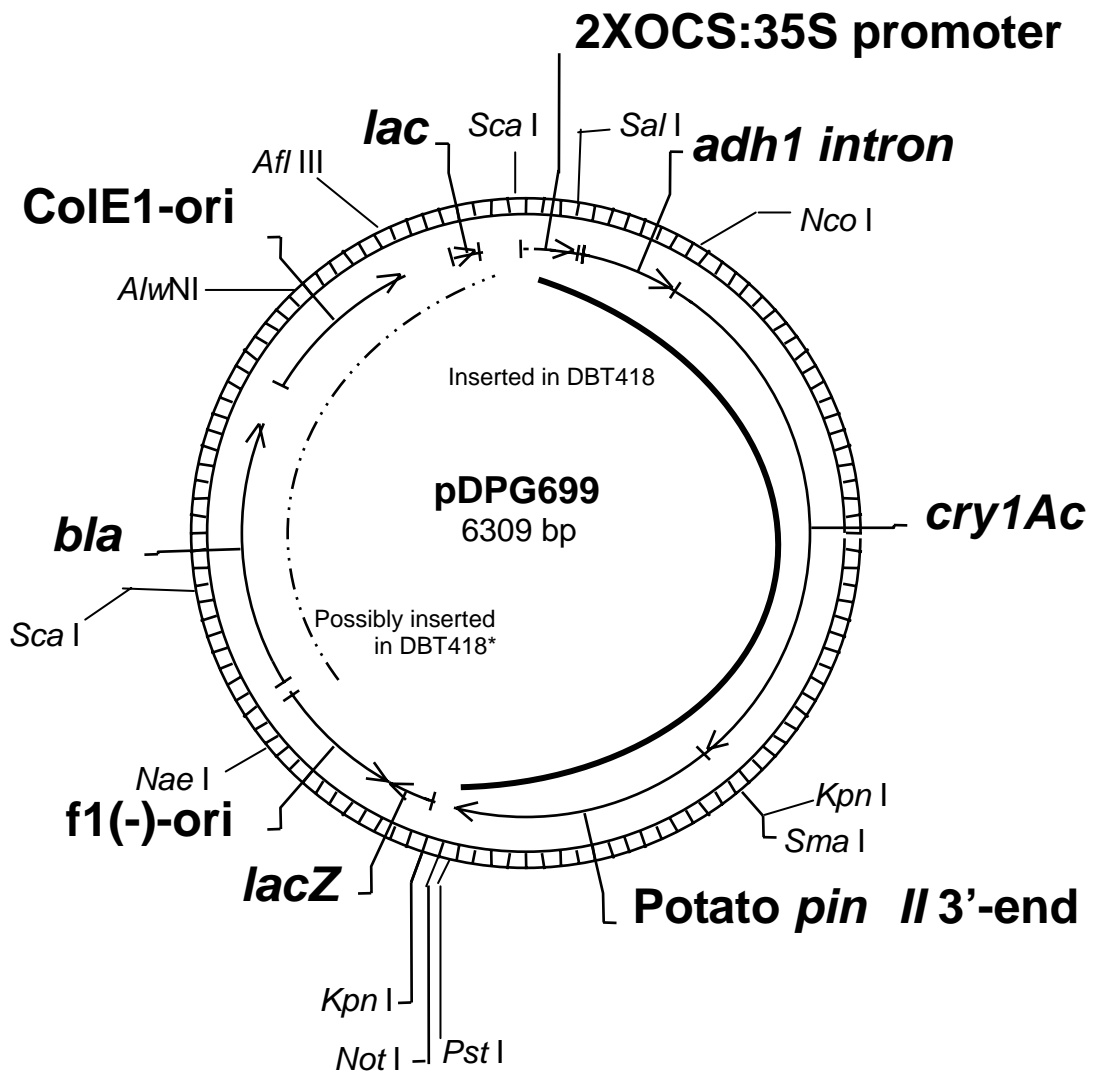


図 3 プラスミドベクター-pDPG699³

**bla* 及び ColE1 は本組換えトウモロコシの作出の際に用いた 3 つのプラスミド pDPG165, pDPG320, pDPG699 に共通の構成要素であるため、本組換えトウモロコシに挿入されているこれらの要素がどのプラスミド由来であるかを特定することはできない。

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

表 1 導入に用いた pDPG165 の各構成要素、由来及び機能⁴

構成要素	由来及び機能
<i>bar</i> 遺伝子発現カセット	
35S promoter	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)のプロモーター(文献 17)。全組織中に目的遺伝子を恒常的に発現させる機能を持つ。
<i>bar</i>	<i>Streptomyces hygroscopicus</i> 由来の遺伝子で、ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ(PAT)をコードする(文献 14)。本遺伝子の発現により、植物体に除草剤グルホシネート耐性が付与される。
Tr7 3' end	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA 転写産物 7 由来の非翻訳 3'領域(文献 18)。転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する。
挿入された可能性のある要素*	
<i>bla</i>	大腸菌プラスミド pBR322 由来の遺伝子で、 β -ラクタマーゼをコードする(文献 19; 文献 16)。細菌にアンピシリンなどのペニシリン類に対する耐性を付与する。
ColE1-ori	大腸菌プラスミド pBluescript SK[-]由来の複製開始領域。大腸菌においてベクターに自律増殖能を付与する(Stratagene)。
その他の構成要素	
<i>lac</i>	<i>lac</i> リプレッサーをコードする部分配列、 <i>lac</i> プロモーター、ガラクトシダーゼをコードする部分配列よりなる(文献 16)。大腸菌でのクローニング時の選抜マーカーとして使用される。細菌プロモーターによってコードされるため、本組換えトウモロコシでは発現しない。

* *bla* 及び ColE1 は本組換えトウモロコシの作出の際に用いた 3 つのプラスミド pDPG165, pDPG320, pDPG699 に共通の構成要素であるため、本組換えトウモロコシに挿入されているこれらの要素がどのプラスミド由来であるかを特定することはできない。

⁴ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

表 2 導入に用いた pDPG320 の各構成要素、由来及び機能⁵

構成要素	由来及び機能
<i>Pin II</i> 遺伝子発現カセット	
35S promoter	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)のプロモーター(文献 17)。全組織中に目的遺伝子を恒常的に発現させる機能を持つ。
<i>adh1</i> intron I	トウモロコシの <i>adh1</i> 遺伝子の第 1 イントロン。目的遺伝子の発現量を高める(文献 20)。
Potato <i>pin II</i>	ジャガイモ由来の非翻訳領域、イントロン付きプロテアーゼインヒビター-II 蛋白質のコード領域及び転写終結領域からなる配列(文献 21)。チョウ目害虫に対する Cry1Ac 蛋白質の殺虫活性を高める(文献 22)。本遺伝子は本組換え体では発現していない。
Tr7 3' end	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA 転写産物 7 由来の非翻訳 3' 領域(文献 18)。転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する。
挿入された可能性のある要素*	
<i>bla</i>	大腸菌プラスミド pBR322 由来の遺伝子で、 β -ラクタマーゼをコードする(文献 19; 文献 16)。細菌にアンピシリンなどのペニシリン類に対する耐性を付与する。
ColE1-ori	大腸菌プラスミド pBluescript SK[-]由来の複製開始領域。大腸菌においてベクターに自律増殖能を付与する(Stratagene)。
その他の構成要素	
<i>lacZ</i>	β -ガラクトシダーゼ蛋白質(LacZ 蛋白質)の一部をコードする配列。大腸菌でのクローニング時の選抜マーカーとして使用される。
f1(-) ori	f1 バクテリオファージ由来のファージミドである pBluescript SK[-]の複製開始領域。大腸菌においてベクターに自律増殖能を付与する。
<i>lac</i>	<i>lac</i> リプレッサーをコードする部分配列、 <i>lac</i> プロモーター、 β -ガラクトシダーゼをコードする部分配列よりなる(文献 16)。大腸菌でのクローニング時の選抜マーカーとして使用される。細菌プロモーターによって制御されるため、本組換えトウモロコシでは発現しない。

* *bla* 及び ColE1 は本組換えトウモロコシの作出の際に用いた 3 つのプラスミド pDPG165, pDPG320, pDPG699 に共通の構成要素であるため、本組換えトウモロコシに挿入されているこれらの要素がどのプラスミド由来であるかを特定することはできない。

⁵ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

表 3 導入に用いた pDPG699 の各構成要素、由来及び機能⁶

構成要素	由来及び機能
<i>cryI</i> Ac 遺伝子発現カセット	
2xOCS:35S promoter	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来の OCS エlement 2 つとカリフラワーモザイクウイルス由来の 35S プロモーターの一部が連結したキメラプロモーター (文献 23; 文献 17)。全組織中に目的遺伝子を恒常的に発現させる機能を持つ。
<i>adh1</i> intron VI	トウモロコシの <i>adh1</i> 遺伝子の第 6 イントロン。目的遺伝子の発現量を高める(文献 20)。
<i>cryI</i> Ac	土壌中に存在する <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> HD-73 株の CryIAc 蛋白質をコードする遺伝子。機能の詳細については p5 に記載した。
Potato <i>pin II</i> 3' end	ジャガイモ由来のプロテアーゼインヒビターII 遺伝子の 3' 末端領域 (文献 21)。転写を終結させる。
挿入された可能性のある要素*	
<i>bla</i>	大腸菌プラスミド pBR322 由来の遺伝子で、 β -ラクタマーゼをコードする(文献 19; 文献 16)。細菌にアンピシリンなどのペニシリン類に対する耐性を付与する。
ColE1-ori	大腸菌プラスミド pBluescript SK[-]由来の複製開始領域。大腸菌においてベクターに自律増殖能を付与する(Stratagene)。
その他の構成要素	
<i>lacZ</i>	-ガラクトシダーゼ蛋白質(LacZ 蛋白質)の一部をコードする配列。大腸菌でのクローニング時の選抜マーカーとして使用される。
f1(-) ori	f1 バクテリオファージ由来のファージミドである pBluescript SK[-]の複製開始領域。大腸菌においてベクターに自律増殖能を付与する。
<i>lac</i>	<i>lac</i> リプレッサーをコードする部分配列、 <i>lac</i> プロモーター、ガラクトシダーゼをコードする部分配列よりなる(文献 16)。大腸菌でのクローニング時の選抜マーカーとして使用される。細菌プロモーターによってコードされるため、本組換えトウモロコシでは発現しない。

* *bla* 及び ColE1 は本組換えトウモロコシの作出の際に用いた 3 つのプラスミド pDPG165, pDPG320, pDPG699 に共通の構成要素であるため、本組換えトウモロコシに挿入されているこれらの要素がどのプラスミド由来であるかを特定することはできない。

⁶ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

プラスミドベクターpDPG165、pDPG320、pDPG699 を混合し、パーティクルガン法によって、[社外秘](デント種に分類される胚培養カルスに由来する再生系統)の胚細胞に導入した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

核酸が移入された細胞の選択の方法

上記3つのプラスミドを導入した[社外秘]のカルスをグルホシネート添加培地で培養して導入遺伝子が発現している組換え体を選抜し、植物体を再生させ、Cry1Ac 蛋白質の発現を解析した。

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

本組換えトウモロコシではパーティクルガン法によってプラスミドを導入しているため、アグロバクテリウムの残存性の確認は行わなかった。

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及び系統樹

グルホシネート添加培地上で再生させた個体の中から DBT418(R₀)を選抜し、これを生育させた後、従来品種[社外秘]と交配させて[社外秘]世代を作出した。この[社外秘]を戻し交配あるいは従来品種と掛け合わせるにより、きょうだい系統を作出した。これらきょうだい系統を戻し交配及び自殖を繰り返すことにより作出した後代、及び従来品種と掛け合わせるにより作出された一代雑種をほ場試験や遺伝子解析に供試した(試験に用いた世代の詳細についてはp16の図4参照)。なお、各育成過程における選抜はグルホシネート耐性とCry1Ac蛋白質のバイオアッセイによって行った。

本組換えトウモロコシのわが国における認可の状況は以下の通りである。

1997年12月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)及び栽培について、後代のDBT418-DK566は同指針

- に適合していることが確認された。
- 1999年6月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)は同指針に適合していることが確認された。
- 1999年11月 厚生労働省(当時厚生省)より「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品利用について、同指針に適合していることが確認された。
- 2000年9月 農林水産省より「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用について、同指針に適合していることが確認された。
- 2001年3月 厚生労働省より「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性審査の手続きを経て安全性が確認された。
- 2003年3月 農林水産省より「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」に基づき、飼料利用としての安全性が確認された。

[社外秘につき非開示]

図 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 DBT418 の育成図

(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

DBT418の挿入遺伝子による形質は複数世代にわたりメンデルの法則にしたがって優性一遺伝子座に適合する分離比を示したことから、移入された遺伝子が染色体上の一箇所に存在すると判断される(別添資料4, p27)。

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

本組換えトウモロコシは挿入遺伝子として、*cry1Ac* 遺伝子カセット 2 コピー、*bar* 遺伝子発現カセット 1 コピー、*bla* 遺伝子 3 コピー、不完全な *bar* 遺伝子 4 コピー、不完全な *pinII* 遺伝子 2 コピー、*ColE1* 領域 3 コピー等を含んでおり、*bar* 遺伝子は 2 つの *cry1Ac* 遺伝子の間に位置している。各遺伝子カセットの位置関係の詳細は p19 図 5 の挿入遺伝子地図に記載されている。なお、本組換えトウモロコシは 3 つのプラスミドを用いて作出されているが、これらの遺伝子はゲノム上の 1 箇所にあることがサザンプロット分析、PCR 分析、シーケンス分析によって確認されている。

本組換えトウモロコシには完全長 *pinII* 遺伝子は導入されておらず、*pinII* 遺伝子断片が存在するため、ウエスタンプロット分析により PinII 蛋白質の分析を行ったところ、本組換えトウモロコシから PinII 蛋白質は検出されなかった(別添資料 2 の p34 の図 4)。

また、本組換えトウモロコシ中には大腸菌におけるプラスミド構築の際の選抜マーカーとして使用した *bla* 遺伝子が導入されているが、この遺伝子のプロモーターは細菌中で機能する。実際にウエスタンプロット分析により、本組換えトウモロコシからは *bla* 遺伝子産物である - ラクタマーゼは検出されないことが確認された(別添資料 2 の p36 の図 5)。

挿入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数の後代(p16 の図 4 の*印のついた世代)におけるサザンプロット分析によって示された(別添資料 2 の p39 の図 6)。また、各育成過程における選抜は Cry1Ac 蛋白質のバイオアッセイとグルホシネート耐性によって行い、チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性は複数世代で安定して発現していることを選抜の過程で確認している。

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

cryIAc 遺伝子、*bla* 遺伝子及び ColE1 は複数コピー存在しているが、交雑後代の解析及び挿入遺伝子の解析の結果、これらはゲノム中の一箇所に隣接して存在していることが明らかとなった。

ニ (6)のイ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

本組換えトウモロコシの挿入遺伝子が後代で安定して発現していることが複数世代における ELISA 法によって示された(p16 の図 4、別添資料 2 の p29~32)。また、チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性は複数世代で安定して発現していることを選抜の過程で確認している。

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生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

本組換えトウモロコシの作出に用いられたプラスミド pDPG165, pDPG320, pDPG699 はいずれも、複製開始点が ColE1 であることから自律増殖可能な宿主域が *E. coli* や *A. tumefaciens* などのグラム陰性菌に限られており、自然条件下において野生動植物に対する伝達性はない。

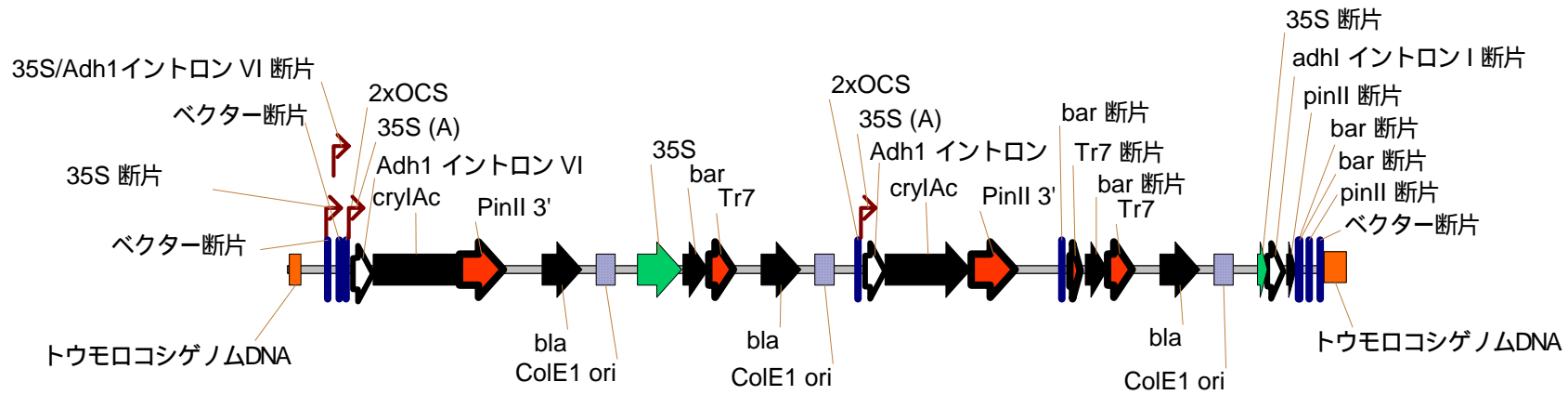


図 5 DBT418 系統の挿入遺伝子地図 (22.7kb)⁷

⁷ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

(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

本組換えトウモロコシを検出及び識別するための方法としては、挿入遺伝子及びその周辺の植物ゲノムのDNA配列をプライマーとして用いることにより、DBT418を特異的に検出可能である(別添資料5)。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ．本組換えトウモロコシには、*bar* 遺伝子によってコードされる PAT 蛋白質が植物体の各部位で恒常的に発現することによって(別添資料2のp31~32)除草剤グルホシネートに対する耐性が付与される。実際に確認したところ、非組換えトウモロコシが除草剤グルホシネートの影響を受けて枯死したのに対して、本組換えトウモロコシは正常に生育した(別添資料2のp10の写真1と2)。また *cry1Ac* 遺伝子によってコードされる Cry1Ac 蛋白質が発現することにより(別添資料2のp29~30)、トウモロコシ栽培の主要チョウ目害虫であるアワノメイガに対する抵抗性が付与され、本組換えトウモロコシにおけるアワノメイガによる食害が、対照の非組換えトウモロコシと比べて減少した(別添資料2のp12の表1~3)。なお、Cry1Ac蛋白質の花粉での発現量は検出限界(6.7ng/g dry wt.)以下であった(別添資料4のp35)。

ロ。⁸ 本組換えトウモロコシの[社外秘]系統の自殖系統[社外秘](p16の図4中の ; [社外秘])、並びにその対照系統として[社外秘]系統と遺伝的に同等な非組換えトウモロコシの自殖系統を供試して1998年に農業環境技術研究所にて隔離ほ場試験を行った。本組換えトウモロコシとその宿主である対照の非組換えトウモロコシとの相違は、主にこの1998年の試験結果に基づいて検討しているが(別添資料2)、1997年に同じく農業環境技術研究所にて行われた隔離ほ場試験の結果(別添資料3のp7~22)、及び1993年から1996年にかけて米国及びカナダの20の地域で行った野外試験の結果も用いて総合的に考察している(別添資料2のp40~47)。

形態及び生育の特性

本組換えトウモロコシとその対照である非組換えトウモロコシとの間で、発芽率、発芽揃い、雄穂抽出期、絹糸抽出期、稈長(cm)、草姿または草型、分げつ数、着雌穂高(cm)、成熟期、有効雌穂数、雌穂径(cm)、粒列数、一列粒数、粒色、百粒重(g)、粒形(デント型、フリント型)及び収穫期の生体重(kg)について調査した(別添資料2のp14の表4)。

⁸ 本項目中の以下に続く ~ に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

その結果、着雌穂高、雌穂径、雌穂長、及び百粒重を除く全ての項目で差異は認められなかった(別添資料2のp16~18の表5~10)。有意差の認められた着雌穂高の平均値は、本組換えトウモロコシで84.0cm、対照の非組換えトウモロコシでは96.0cmだった(別添資料2のp16の表6)。また、同様に有意差の認められた雌穂径の平均値は、本組換えトウモロコシで3.59cm、対照の非組換えトウモロコシでは3.86cmであった(別添資料2のp18の表9)。雌穂長においては、本組換えトウモロコシで14.89cm、対照の非組換えトウモロコシでは13.99cmであった(別添資料2のp18の表9)。さらに、百粒重において、本組換えトウモロコシの百粒重の平均値は27.57gで、対照の非組換えトウモロコシは24.55gであった(別添資料2のp18の表10)。

なお、1997年に同じく農業環境技術研究所にて行われた隔離ほ場試験の結果では、着雌穂高、雌穂径、雌穂長、及び百粒重を含む全ての形質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に有意な差は認められなかった(別添資料3のp8,9の第2~4表)。さらに1993年から1996年にかけて米国及びカナダの20の地域で行った野外試験では、着雌穂高に関する調査を行っているが本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間で統計学的に有意な差は認められなかった(別添資料2のp40の表8)。

生育初期における低温又は高温耐性

本隔離ほ場試験で生育初期における低温耐性試験は行っていないが、1993年から1996年にかけて米国及びカナダの20の地域で行った野外試験や、1997年から1999年にかけて米国で行われた商業栽培期間において、収穫時にほ場内でこぼれ落ちた後に幼植物まで生育した本組換えトウモロコシが、越冬して春先まで生存していたという報告はされていない。

成体の越冬性又は越夏性

トウモロコシは夏型一年生植物であり、結実後、冬季には通常自然に枯死する。再成長して栄養繁殖したり、種子を生産することはない。実際に、本組換えトウモロコシにおいて、隔離ほ場試験の試験終了時には結実後の枯死が始まっていることを観察した。以上のことから、成体の越冬性試験は行わなかった。

花粉の稔性及びサイズ

本隔離ほ場試験で花粉の稔性及びサイズは調べていない。

種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

第一(6)で述べたとおり、本組換えトウモロコシできょうだい交配して収穫した雌穂の雌穂長、雌穂径、粒列数、1列粒数、百粒重を調査したが、雌穂径、雌穂長、及び百粒重を除く全ての項目において、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差は認められなかった(別添資料2のp18の表9、10)。有意差の認められた雌穂径に関しては、本組換えトウモロコシの雌穂径の平均値は3.59cmで、対照の非組換えトウモロコシは3.86cmであった(別添資料2のp18の表9)。雌穂長においては、本組換えトウモロコシで14.89cm、対照の非組換えトウモロコシでは13.99cmであった(別添資料2のp18の表9)。同じく有意差の認められた百粒重に関しては、本組換えトウモロコシの百粒重の平均値は27.57gで、対照の非組換えトウモロコシは24.55gであった(別添資料2のp18の表10)。

なお、1997年に同じく農業環境技術研究所にて行われた隔離ほ場試験の結果では、雌穂径及び百粒重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に有意な差は認められなかった(別添資料3のp9の第3~4表)。

脱粒性については、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシは共に、収穫時雌穂は苞皮に覆われており、自然条件での脱粒性は観察されなかった。

本隔離ほ場試験で収穫種子の発芽率の調査は行っていないが、1993年から1996年にかけて米国及びカナダの20の地域で行った野外試験や、1997年から1999年にかけて米国で行われた商業栽培において、組換え体と従来品種の間に種子の発芽率に目立った違いがあったとは報告されていないことから、本組換えトウモロコシの種子の休眠性と発芽率は対照の非組換えトウモロコシと同程度であると考えられた。

交雑性

わが国には交雑可能な近縁野生種は生育していないため、本組換えトウモロコシでは交雑性の試験は行わなかった。

有害物質の産生性

本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間で、後作試験、土壤微生物相試験を行ったが、全ての項目で本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に差異は認められなかった(別添資料2のp19の表11及びp20の表12)。また、1997年に行った隔離ほ場試験において、本組換えトウモロコシ栽培区及び対照の非組換えトウモロコシ栽培区との間で、雑草植生を観察したが差異は認められなかった(別添資料3のp16の第11表)。さらに、1997年の隔離ほ場試験では後作試験及び土壤微生物相試験も行っているが、全ての項目で本組換えトウモロコシと対照の非組

換えトウモロコシとの間に差異は認められなかった(別添資料3のp14の第9表及びp15の第10表)。なお、米国のほ場において本組換えトウモロコシを1999年に収穫後、本組換えトウモロコシの植物体を鋤き込み、翌年同じほ場でダイズやコムギを栽培したが、生育阻害が認められたという報告はなかった。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

食用又は飼料用に供するための使用、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

-

(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

-

(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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

(5) 実験室等での使用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

-

(6) 国外における使用等に関する情報

本組換えトウモロコシは1993年から1996年にかけて米国、カナダ等の20の地域で野外試験を行い、形態・生育に関する特性、収量に関わる特性、自生性に関する特性、病害虫の感受性について観察が行われているが、標的とする害虫への感受性を除き、対照の非組換えトウモロコシとの間で明確な差異は認められていない(別添資料2のp40~45)。

なお、本組換えトウモロコシの諸外国における認可状況は以下の通りである。

- 1997年3月 米国食品医薬品局(FDA)より食品の安全性認可を受けた。
- 1997年3月 米国農務省(USDA)より無規制裁培の認可を受けた。
- 1997年3月 米国環境省(EPA)は Cry1Ac 蛋白質に対し、残留基準値の設定の免除を認めた。
- 1997年3月 カナダ食品検査局(CFIA)より飼料及び環境の安全性認可を受けた。
- 1997年4月 カナダ厚生省(HC)より食品の安全性認可を受けた。

本組換えトウモロコシの商業栽培は、[社外秘]において1997年より1999年までの3年間行われたが、いずれの国においても2000年以降は商業栽培は行われていない。過去の本組換えトウモロコシの栽培面積を表4(p24)に示した。その商業栽培面積は極めて小さく、[社外秘情報につき非開示]であった。

なお、本組換えトウモロコシの種子生産は[社外秘]において1996年と1997年に行われ、カナダでは行われていない。また、本組換えトウモロコシはデカルブ社が開発から品種育成、種子生産まで独占的に行っており、商業栽培が終了した時点でデカルブ社が所有していた本組換えトウモロコシの種子はすべて焼却処分された。したがって、現在モンサント社は本組換えトウモロコシの種子を保有していない。商品化が終了した2000年以降にモンサント社のトウモロコシ育成系統に本組換えトウモロコシ系統の種子が混入していないことは、毎年行われる種子品質管理プログラムにより確認している。今後、本組換えトウモロコシの商業栽培を再開する計画はない。

表 4 海外における本遺伝子組換えトウモロコシの栽培面積(ha)

栽培年 栽培国								

なお、参考として本組換えトウモロコシのわが国における承認状況を以下に示した。

- 1997年12月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用として

- の利用)及び栽培について、後代の DBT418-DK566 は同指針に適合していることが確認された。
- 1999年6月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)は同指針に適合していることが確認された。
- 1999年11月 厚生労働省(当時厚生省)より「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品利用について、同指針に適合していることが確認された。
- 2000年9月 農林水産省より「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用について、同指針に適合していることが確認された。
- 2001年3月 厚生労働省より「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性審査の手続きを経て安全性が確認された。
- 2003年3月 農林水産省より「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」に基づき、飼料利用としての安全性が確認された。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価⁹

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

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

本組換えトウモロコシにおいて競合における優位性に関わる諸形質(第一、2-(6)～を参照)を比較検討したが、着雌穂高、雌穂長、雌穂径及び百粒重を除く全ての項目で差異は認められなかった(別添資料2のp16～18の表5～10)。有意差の認められた着雌穂高の平均値は、本組換えトウモロコシで84.0cm、対照の非組換えトウモロコシでは96.0cmだった(別添資料2のp16の表6)。また、同様に有意差の認められた雌穂径の平均値は、本組換えトウモロコシで3.59cm、対照の非組換えトウモロコシでは3.86cmであった(別添資料2のp18の表9)。雌穂長においては、本組換えトウモロコシで14.89cm、対照の非組換えトウモロコシでは13.99cmであった(別添資料2のp18の表

⁹ 本項目中で、第一の2-(6)の～に記載された試験結果に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。また、本項目の2.(1)の第二パラグラフ及び第三パラグラフに記載された生物検定の結果に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

9)。さらに、百粒重において、本組換えトウモロコシの百粒重の平均値は 27.57g で、対照の非組換えトウモロコシは 24.55g であった(別添資料 2 の p18 の表 10)が、トウモロコシは自然条件下で自生かすることが困難であることから、これらの形質により競合において優位になるとは考えにくい。なお、1997 年に農業環境技術研究所で行われた別のほ場試験においては、いずれの項目においても差異が認められなかった(別添資料 3 p8, 9 の表 2~4)。さらに 1993 年から 1996 年にかけて米国及びカナダの 20 の地域で行った野外試験では、着雌穂高に関する調査を行っているが、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間で統計学的に優位な差は認められなかった(別添資料 2 の p40 の表 8)。以上のことから、本隔離ほ場試験において認められた差異によって競合における優位性が高まるとは考えにくい。

本組換えトウモロコシは除草剤グルホシネートに対する耐性とチョウ目害虫であるアワノメイガに対する抵抗性が付与されているが、グルホシネートを散布されることが想定しにくい自然条件下においてグルホシネート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。さらにチョウ目害虫抵抗性についても、チョウ目害虫による食害は、トウモロコシの自然条件下での生育を困難にさせる主な要因ではないことから、自然条件下で優占化するほど競合における優位性を高めるとは考えられない。

さらに、本組換えトウモロコシの商業栽培は 2000 年に中止されてから既に 6 年が経過しているため、本組換えトウモロコシの種子が輸入穀物に混入する割合は極めて低いと考えられる。

したがって、競合における優位性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

-

(3) 影響の生じやすさの評価

-

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上から、本組換えトウモロコシは、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生じるおそれはないと判断された。

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

トウモロコシにおいて有害物質の産生性は報告されておらず、また、わが国に導入された1579年以来、長期間の使用経験がある。

有害物質の産生性の有無に関して後作試験、土壤微生物相試験を行ったが、全ての項目で本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に差異は認められなかった(別添資料2のp19の表11及びp20の表12)。また、1997年に行った隔離ほ場試験において、本組換えトウモロコシ栽培区及び対照の非組換えトウモロコシ栽培区との間で、雑草植生を観察したが、差異は認められなかった(別添資料3のp16の第11表)。さらに、1997年の隔離ほ場試験では後作試験及び土壤微生物相試験も行っているが、全ての項目で本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に差異は認められなかった(別添資料3のp14の第9表及びp15の第10表)。

なお、本組換えトウモロコシの地上部における有害物質の産生性についての鋤込み試験は行っていないが、米国及びカナダのほ場試験において本組換えトウモロコシを1999年に収穫後、本組換えトウモロコシの植物体を鋤き込み、翌年同じほ場でダイズやコムギを栽培したが、これらの作物において生育障害が認められたという報告はなかった。さらに、米国とカナダにおける商業栽培(穀粒の収穫を目的として行われるため、青刈り用で栽培される我が国と比較して鋤き込まれる地上部の量は多い。)の間に、本組換えトウモロコシを栽培した後のほ場で他作物を栽培して生育障害が認められたという報告もなかった。

本組換えトウモロコシは除草剤グルホシネートに対する耐性を付与するPAT蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、第一の2-(1)-ロ-に記載したように、PAT蛋白質がグルホシネートに対して高い基質特異性を有することから、本蛋白質が宿主の代謝経路に影響を及ぼすとは考えにくい。したがって、PAT蛋白質の発現が原因で、本組換えトウモロコシ中に有害物質が産生されるとは考えにくいと判断された。

本組換えトウモロコシで発現するCry1Ac蛋白質は、他の*B.t.*蛋白質と同様に酵素活性を持たず、宿主の代謝系とは独立して機能しており、宿主の代謝系への影響はないと考えられる。

また、本組換えトウモロコシにはCry1Ac蛋白質の発現によってトウモロコシのチョウ目害虫に対する抵抗性が付与されているため、影響を受ける野生動植物等としてはトウモロコシの植物体を摂食するアワノメイガ(*Ostrinia nubilalis*)等

のチョウ目昆虫が想定された。しかしながら、本組換えトウモロコシは2000年以降商業栽培されておらず、現在では本組換えトウモロコシの種子は存在しない。また、過去の米国・カナダの商業栽培実績において本組換えトウモロコシが総栽培面積に占める割合はわずかであったため、食用または飼料用として輸入されたトウモロコシに本組換えトウモロコシが混入している可能性は極めて低く、混入があったとしてもごく微量であると考えられる。仮に輸入穀物への混入が認められ、本組換えトウモロコシが輸送中にこぼれ落ちたとしても、栽培作物として高度に人為的に作られた現在のトウモロコシが我が国の自然環境下において生育或いは自生する可能性は極めて低いと考えられた。実際、これまで運搬等においてこぼれ落ちたトウモロコシが畑以外で生育したという報告はない。また、万一、こぼれ落ちたトウモロコシが生育し、花をつけて花粉の飛散が起こったとしても、その数は限られていることと、花粉中のCry1Ac蛋白質の生産量はELISA分析の検出限界以下であることから、本組換えトウモロコシの花粉による非標的チョウ目昆虫への影響は極めて低いと考えられた。

以上のことから、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

-

(3) 影響の生じやすさの評価

-

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上から、本組換えトウモロコシは有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生じるおそれはないと判断された。

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

トウモロコシの近縁種は *Tripsacum* 属と *Zea* 属に分類されるテオシントであるが、トウモロコシと自然交雑可能なのはテオシントのみである。我が国では、テオシント及び *Tripsacum* 属の野生種は報告されておらず、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

-

(3) 影響の生じやすさの評価

-

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上から、本組換えトウモロコシは、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

4 その他の性質

生物多様性影響の評価を行うことが適当であると考えられる本組換えトウモロコシの性質は、上記の他にはないと判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

宿主のトウモロコシは、わが国において長期間の使用経験がある。また、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる諸形質を比較検討したところ、着雌穂高、雌穂長、雌穂径及び百粒重を除く全ての項目で差異は認められなかった。着雌穂高、雌穂長、雌穂径及び百粒重において統計学的有意差が認められたがトウモロコシは自然条件下で自生化することが困難であることから、これらの形質により競合において優位になるとは考えにくい。なお、1997年に農業環境技術研究所で行われた別のほ場試験においては、いずれの項目においても差異が認められなかった(別添資料3 p8, 9)ことから、本隔離ほ場試験において認められた差異によって競合における優位性が高まるとは考えにくい。さらに、本組換えトウモロコシの商業栽培は2000年に中止されてから既に6年が経過しているため、本組換えトウモロコシの種子が輸入穀物に混入する割合は極めて低いと考えられる。以上から、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

有害物質の産生性の有無に関して後作試験、土壌微生物相試験を行ったが、全ての項目で本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に差異は認められなかった。また、1997年に行った隔離ほ場試験において、本組換えトウモロコシ栽培区及び対照の非組換えトウモロコシ栽培区との間で、雑草植生を観察したが、差異は

認められなかった。さらに、1997年の隔離ほ場試験では後作試験及び土壌微生物相試験も行っているが、全ての項目で本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に差異は認められなかった。なお、本組換えトウモロコシの地上部における有害物質の産生性についての鋤込み試験は行っていないが、これまでに本組換えトウモロコシの植物体を鋤き込み、翌年同じほ場でダイズやコムギを栽培したが、生育阻害が認められたという報告はなかった。また、米国とカナダにおける商業栽培(穀粒の収穫を目的として行われるため、青刈り用で栽培される我が国と比較して鋤き込まれる地上部の量は多い)の間に本組換えトウモロコシを栽培した後のほ場で他作物を栽培して生育阻害が認められたという報告もなかった。

本組換えトウモロコシにおいて発現しているPAT蛋白質が、有害物質であるとする報告はこれまでのところなく、PAT蛋白質は高い基質特異性を有するために、他の代謝経路に影響を及ぼして有害物質が産生されることも考えにくい。また、本組換えトウモロコシで発現するCry1Ac蛋白質は、他の*B.t.*蛋白質と同様に酵素活性を持たず、宿主の代謝系とは独立して機能しており、宿主の代謝系への影響はないと考えられる。

また本組換えトウモロコシにはCry1Ac蛋白質の発現によってトウモロコシのチョウ目害虫に対する抵抗性が付与されているため、影響を受ける野性動植物等としてはトウモロコシの植物体を摂食するアワノメイガ(*Ostrinia nubilalis*)等のチョウ目昆虫が想定された。しかしながら、本組換えトウモロコシは2000年以降商業栽培されておらず、現在では本組換えトウモロコシの種子は存在しない。また、過去の米国・カナダの商業栽培実績において本組換えトウモロコシが総栽培面積に占める割合はわずかであったため、食用または飼料用として輸入されたトウモロコシに本組換えトウモロコシが混入している可能性は極めて低く、混入があったとしてもごく微量であると考えられる。仮に輸入穀物への混入が認められ、本組換えトウモロコシが輸送中にこぼれ落ちたとしても、栽培作物として高度に人為的に作られた現在のトウモロコシが我が国の自然環境下において生育或いは自生する可能性は極めて低いと考えられた。実際、これまで運搬等においてこぼれ落ちたトウモロコシが畑以外で生育したという報告はない。また、万一、こぼれ落ちたトウモロコシが生育し、花をつけて花粉の飛散が起こったとしても、その数は限られていることと、花粉中のCry1Ac蛋白質の生産量はELISA分析の検出限界以下であることから、本組換えトウモロコシの花粉による非標的チョウ目昆虫への影響は極めて低いと考えられた。

以上のことから、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

わが国ではトウモロコシの近縁種であるテオシント及び *Tripsacum* 属の野生種

は報告されておらず、交雑性に起因する生物多様性影響を生じるおそれはないと判断された。

よって、総合的評価として、本組換えトウモロコシを第一種使用規程に従って使用した場合に生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

【引用文献】

[社外秘につき非開示]

緊急措置計画書（食用・飼料用に供する場合）

平成16年8月18日

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根精一郎

住所 東京都中央区銀座4丁目10番10号

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (*cry1Ac, bar, Zea mays subsp. mays* (L.) Iltis) (DBT418, OECD UI: DKB-89614-9)(以下、「本組換えトウモロコシ」という)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。尚、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合とは、本組換えトウモロコシに関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者は以下に示す通りである。

[個人名・所属は個人情報につき非公開]

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は種子会社等から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

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

生物多様性影響に関して必要に応じて生産国の生産農家や関連団体に情報提供を行い、厳密な使用方法の周知徹底等に努める。

4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続するため の具体的な措置の内容

具体的措置として、特定された問題に応じ、輸入された本組換えトウモロコシの環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本組換えトウモロコシがあった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること、必要に応じて本組換えトウ

モロコシが日本に輸入されないようにすること等、必要な措置を実行する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省や環境省に報告する。

緊急措置計画書 (栽培目的の場合)

平成16年8月18日

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根精一郎

住所 東京都中央区銀座4丁目10番10号

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (*cryIAc, bar, Zea mays subsp. mays* (L.) Iltis) (DBT418, OECD UI: DKB-89614-9) (以下、「本組換えトウモロコシ」という)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。尚、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合とは、本組換えトウモロコシに関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者は以下に示す通りである。

[個人名・所属は個人情報につき非公開]

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は種子会社等から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

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

生物多様性影響に関して必要に応じて生産農家や関連団体に情報提供を行い、厳密な使用方法の周知徹底等に努める。

4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続するため の具体的な措置の内容

具体的措置として、特定された問題に応じ、本組換えトウモロコシの環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本組換えトウモロコシがあった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること等、必要な措置を実行する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省や環境省に報告する。