

除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ(*bar*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Itis)

(DLL25, OECD UI: DKB-89790-5)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	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	6
(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	10
(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	13
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	13
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	15
(1) 使用等の内容	15
(2) 使用等の方法	15
(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後にお ける情報収集の方法	15
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多 様性影響を防止するための措置	15
(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	16
(6) 国外における使用等に関する情報	16
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	17
1 競合における優位性	17
2 有害物質の産生性	18
3 交雑性	20
4 その他の性質	21
第三 生物多様性影響の総合的評価	22

引用文献.....	23
緊急措置計画書.....	24

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

申請者 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 印
住所 東京都中央区銀座四丁目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	除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ(<i>bar</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (DLL25, OECD UI: DKB-8979Ø-5)
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	—

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)。尚、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)。国連食糧農業機関(FAO)の統計情報に基づく、2002 年における全世界のトウモロコシの栽培面積は約 1 億 4 千万 ha であり、上位国を挙げると米国が 2,800 万 ha、中国が 2,500 万 ha、ブラジルが 1,200 万 ha、メキシコが 700 万 ha、インドが 600 万 ha、ナイジェリアが 400 万 ha、南アフリカが 300 万 ha となっている。尚、同統計情報に基づく 2002 年のわが国における栽培面積は約 3 万 ha 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。2003 年における栽培用種子の輸入量は約 705 トンであり、上位国を挙げるとフランスから約 265 トン、米国から約 221 トン、オーストリアから約 142 トン輸入している(文献 4)。

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)。

尚、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、一般に短日植物であり、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壤土が適し、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、自然条件下で植物として繁殖し、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

①完熟した種子は雌穂の包皮で覆われており、自然の脱粒性はない(文献 1)。トウモロコ

シは長い間栽培植物化されていたために、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く、収穫時に種子が地上に落下しても、土壌温度が 10°C に達するまで発芽しないため、多くの場合、発芽する前に腐敗し枯死する(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°C 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。

② 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。

③ 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、*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)。

④ 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。花粉は球形で、直径は 90-100 μ m である(文献 9)。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

—

へ 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

除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ(*bar*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Itis) (DLL25, OECD UI: DKB-89790-5) (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(p7)及び表 1(p8)に示したとおりである。

尚、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(p7)に示した。

①目的遺伝子である *bar* 遺伝子によってコードされるホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ(PAT)は、除草剤グルホシネートの活性成分であるホスフィノトリシン(PPT)を不活性化し、このこと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。

bar 遺伝子は土壌微生物 *Streptomyces hygroscopicus* (ATCC21705)から単離された。*bar* 遺伝子によってコードされる PAT 蛋白質は *Streptomyces hygroscopicus* によって生成される抗生物質ピアラホス(ホスフィノトリシンアラニルアラニン)の生合成の中間段階であるジメチルホスフィノトリシンのアセチル化を触媒する酵素である。PPT の不活性化の際には、PAT 蛋白質がアセチル CoA のアセチル基を除草剤グルホシネートの活性成分 PPT のアミノ基に移す反応を触媒し、これにより PPT がアセチル化され、その結果除草剤グルホシネートの活性が失われる(文献 10)。

PAT 蛋白質は基質特異性が高いことが知られている(文献 10)。ホスフィノトリシンに対する基質親和性は、ホスフィノトリシンと構造の類似しているジメチルホスフィノトリシンに対する親和性に比べ 30 倍以上高く、同じく構造の類似しているグルタミン酸に対する親和性の 300 倍以上である(文献 10)。したがって、PAT 蛋白質がトウモロコシ細胞で天然の生成物をアセチル化する可能性は低いと考えられる。

②PAT 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pDPG165 は、大腸菌 (*Escherichia coli*)由来のプラスミド pUC 19(文献 11)に由来する。

ロ 特性

本プラスミドベクターの全塩基数は、4,609 bp である。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* 遺伝子を持つ。本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 p8 の表 1 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、p7 の図 1 に示した。

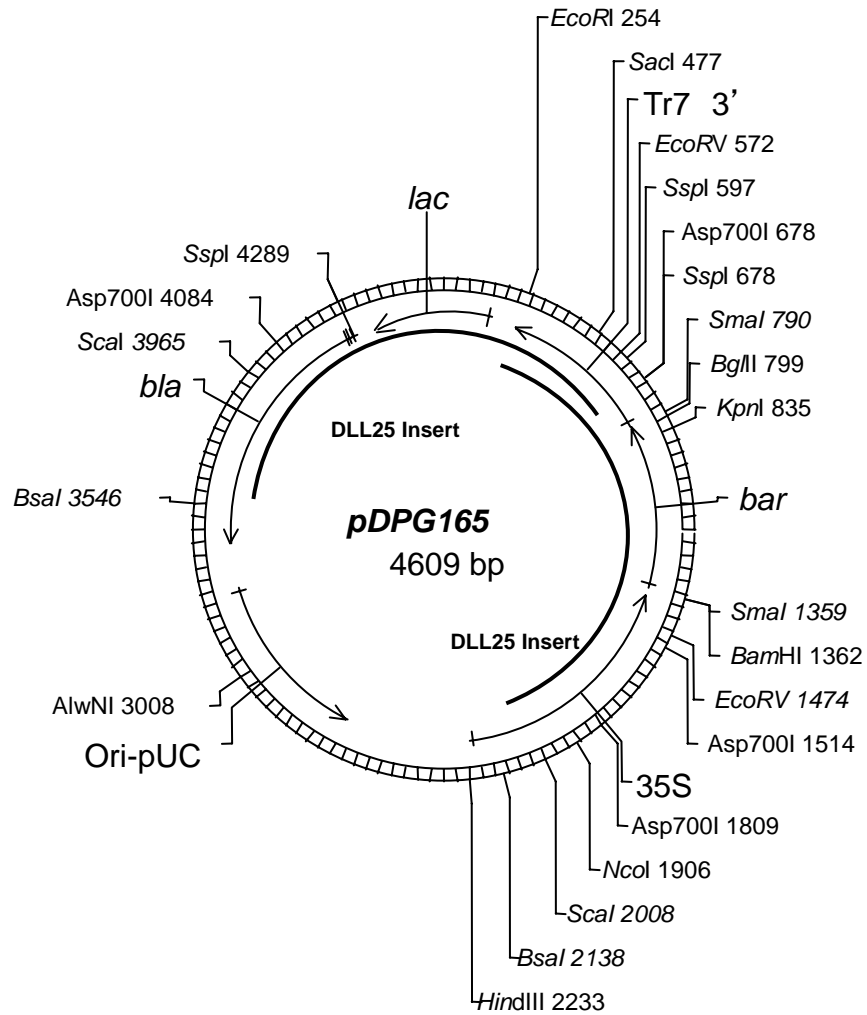


図1 プラスミドベクターpDPG165¹

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。

表 1 導入に用いた pDPG165 の各構成要素、由来及び機能²

構成要素	由来及び機能
<i>bar</i> 遺伝子発現カセット	
35S	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)のプロモーター(文献 12)。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 10)。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'	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA 転写産物7由来の非翻訳3'領域(文献 13)。転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する。
その他の構成要素	
<i>lac</i>	大腸菌由来の <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(<i>lacZ</i>)よりなる(文献 10)。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。 <i>lac</i> プロモーターは植物体では機能しないため、本組換えトウモロコシでは発現しない。
<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 13; 文献 10)。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。
ori-pUC	大腸菌プラスミド pUC19 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(文献 10)。

² 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を環状DNAの状態で、パーティクルガン法を用いて、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に導入した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

①pDPG165を導入したカルスをグルホシネート添加培地で培養して組換え体を選抜し、植物体を再生させた。

②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供与核酸を移入しているため、アグロバクテリウムの残存性の確認は行わなかった。

③1990年より系統選抜の評価を開始し、1991～1993年にかけて圃場試験を行って、最終的に優良系統を選抜した。そして、1994年に行った圃場試験において、本系統の形態及び生育特性などについて調査を行った(試験に用いた系統についてはp10の図2参照)。それらの結果に基づいて、認可を受けて1999年まで一般商業栽培が行われたが、その後栽培は行われていない。

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、指針への適合性が確認された。(後代のDLL25-DK566への指針適合性確認)

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)について、指針への適合性が確認された。

2000年3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、指針への適合性が確認された。

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認可を受けた。

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確認を受けた。

図 2 除草剤グルホシネート耐性トウモロコシDLL25の育成図

[社外秘につき非開示]

(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

染色体上

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のサザンブロット分析による挿入遺伝子の解析の結果、本組換えトウモロコシのゲノムの 1 ヶ所に 1 コピーの挿入遺伝子が組み込まれていることが確認された(別添資料 2 中の USDA petition の p28 の Figure V.1.、別添資料 3 の p22 の図 2, p23 の図 3)。挿入遺伝子は、*bar* 遺伝子カセット([35S]-[*bar*]-[Tr7])、*bla* 遺伝子断片、*lac*、Tr7(ポリアデニル化配列)よりなる(p12 の図 3、別添資料 2 中の USDA petition の p29~p32 の Figure V.2~V.4)。*bla* 遺伝子は 3' 領域が切断されており、機能を持たないと考えられた。また、ウエスタンブロット法により分析したところ、本組換えトウモロコシ中からは *bla* 遺伝子の産物である β -ラクタマーゼは検出されなかった(別添資料 3 の p27 の図 5)。*lac* は大腸菌由来の *lac* リプレッサーをコードする部分配列、*lac* 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(*lacZ*)より構成されるが、*lac* プロモーターは植物体では機能しないため、本組換えトウモロコシ中では *lacZ* は発現しない。また、挿入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代(p10 の図 2 の*印のついた世代)におけるサザンブロット分析によって示された(別添資料 3 の p31 の図 6 及び p32 の図 7)。

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

1 コピーのみなので該当しない(別添資料 2 中の USDA petition の p28 の Figure V.1.)

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(p10 の図 2 の下線を引いた世代)におけるウエスタンブロット分析によって示された(別添資料 3 の p25 の図 4)。また、除草剤グルホシネートへの耐性も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

本組換えトウモロコシには伝達を可能にする DNA 配列を持たないことが確認されているため、移入された DNA 断片が野生動植物等に伝達されるおそれは無い。

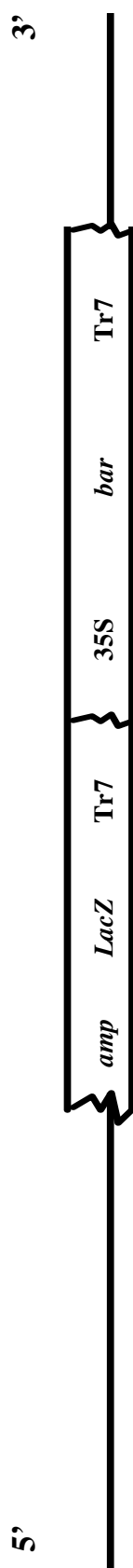


図 3 DLL25 の挿入遺伝子地図³

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

(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た定量的 PCR 法を開発しており、本法により本組換えトウモロコシを特異的に検出可能である(別添資料 4)。

(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 3 の p9 の写真 1、写真 2)。

ロ.⁴ 本組換えトウモロコシの自殖系統(p10 の図 2)、並びにその対照系統として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(別添資料 3)。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、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 2)、及び 1994 年に米国の 12 箇所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 3 の p34)。

① 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、成熟期、草型、分けつ数、雌穂総数、有効雌穂数、稈長、着雌穂高、収穫時の生体重の評価を行ったところ、着雌穂高を除く全ての項目で差異は認められなかった(別添資料 3 の p13~14 の表 2~5)。着雌穂高において本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差が認められ、本組換えトウモロコシの着雌穂高の平均値は 80.4 cm、対照の非組換えトウモロコシは 95.4 cm だった(別添資料 3 の p13 の表 3)。一方、1997 年に本組換えトウモロコシの一代雑種系統及び対照の遺伝的に同等な非組換えトウモロコシの一代雑種系統を用いて行った試験では、統計学的有意差は認められなかった(別添資料 2 の評価書の p2 の第 2 表)。

② 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、1994 年に米国の 12

⁴ 本項目中の以下に続く①~⑦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。

箇所で行われた野外試験や、1997年から1999年にかけて行われた商業栽培期間において、収穫時には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。

③ 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。

④ 花粉の稔性及びサイズ

本組換えトウモロコシに付与された形質は除草剤耐性のみであり、花粉の飛散により影響を受ける昆虫がいないこと及び交雑する近縁野生種がないことから調査していない。

⑤ 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

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、100粒重を調査したが、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3のp15の表6,7)。

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、1994年に米国の12箇所で行った野外試験や、1997年から1999年にかけて行われた商業栽培において、本組換えトウモロコシの収穫後に、こぼれ落ちた種子が発芽して生育したとみられる個体数が非組換え体とで差があったという報告はされていない。このことから、本組換えトウモロコシの種子の休眠性と発芽率も対照の非組換えトウモロコシと同様と考えられた。

⑥ 交雑率

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。

⑦ 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、土壌微生物相試験を行ったが、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に差異は認められなかった(別添資料3のp16の表8及びp17の表9)。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の後作試

験、土壌微生物相試験及び雑草植生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に差異は認められなかった(別添資料2のp7の第8表、p5の第6表及びp6の第7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。さらに、商業栽培の間に、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、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

なお、将来にわたって本組換えトウモロコシが国内外で意図的に栽培されることはない。

(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1990年から1994年にかけて米国のほ場にて試験を行い、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、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3のp34~40)。

本組換えトウモロコシの商業栽培は、1997年より1999年までの3年間行われた。2000年以降にはいずれの国においても商業栽培はされていない。その商業栽培面積は極めて小さかった。

表2 海外における本遺伝子組換えトウモロコシの栽培面積(エーカー)[社外秘]

栽培国								

なお、本組換えトウモロコシは1999年まで商業栽培されており、1996年と1997年に栽培用の種子が生産されていた。なお、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。従って、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たという事例はない。また、本組換えトウモロコシの種子生産においては本組換えトウモロコシを必ず雌親とし、花粉親としては使用していないため、種子生産現場において花粉飛散により本組換えトウモロコシが他品種に混入しているおそれは低いと考えられる。今後本組換えトウモロコシの商業栽培・販売・流通が行われることはない。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価⁵

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)-①～⑤を参照)を比較検討したが、着雌穂高を除く全ての項目で対照の非組換えトウモロコシとの間に明確な差異もしくは統計学的有意差は認められなかった(別添資料3のp13～15の表2～7)。着雌穂高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の間で統計学的有意差が認められ、本組換えトウモロコシの着雌穂高の平均値は 80.4 cm、対照の非組換えトウモロコシは 95.4 cm だった(別添資料3のp13の表3)。しかし、1997年に本組換えトウモロコシの一代雑種系統及び対照の遺伝的に同等な非組換えトウモロコシの一代雑種系統を用いて行った試験では、着雌穂高に統計学的有意差は認められなかった(別添資料2の評価書のp2の第2表)。また、1990年から1994年にかけての米国におけるほ場試験において、形態に関する特性について対照の非組換えトウモロコシとの間での差異は報告されていない(別添資料3のp34～40)

したがって、1998年の隔離ほ場試験において認められた着雌穂高における統計学的有意差は、挿入遺伝子に起因するものではないと考えられた。また、着雌穂高以外の競合における優位性に関わる諸形質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差異はみとめられなかったことから、このような差異が競合における優位性を高めることは考えにくい。

本組換えトウモロコシは除草剤グルホシネートに耐性を持つが、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。

従って、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。

⁵ 本項目中で、第一の2-(6)の①～⑦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.(2)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。

(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。

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-①に記載したように、PAT 蛋白質は基質特異性が高く、ホスフィノトリシンに対する基質親和性は、構造の類似しているジメチルホスフィノトリシンに対する親和性に比べ30倍以上高く、同じく構造の類似しているグルタミン酸に対する親和性の300倍以上であることから、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。

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、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p16の表8及びp17の表9)。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の後作試験、土壌微生物相試験及び雑草植生調査、を行っているが、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2のp7の第8表、p5の第6表及びp6の第7表)。

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は、鋤き込み試験を行っていないが、p16の第一の3の(6)で述べたとおり、現在では本組換えトウモロコシの種子は存在せず、今後国内外において商業栽培が行われることはない。従って、我が国で本組換えトウモロコシが栽培されるのは、本組換えトウモロコシ以外の栽培用トウモロコシ種子に対して、本組換えトウモロコシの過去の生産に伴う混入があった場合に限られると考えられる。しかし、過去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最大でも0.75%であったため、商業栽培が終了して5年以上が経過している現在では、栽培用種子への混入の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。仮に栽培用種子に混入して栽培されたとしても、以下に記述する理由により本組換えトウモロコシの地上部において有害物質が産生され、野生動植物に有害物質に起因する生物多様性影響を生ずる可能性は極めて低いと考えられる。

- ① 本組換えトウモロコシにおいて発現しているPAT蛋白質が野生動植物に対して有害物質であるとする報告はなく、PAT蛋白質を産生することにより野生動植物が何らかの影響を受けるとは考えにくい。また、p17の第二の1で述べたとおり、本組換えトウモロコシにおいて、形態及び生育特性等に関して宿主との差異は認められておらず、この事からも有害物質の産生性が大きく変化しているとは考えにくい。
- ② 米国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阻害が認められたという報告はなかった。さらに、海外における商業栽培（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はなかった。

以上のことから、本組換えトウモロコシにおいても地上部において有害物質が産生される可能性は極めて低く、今後国内外で商業栽培が行われることはないことから、生物多様性に影響を及ぼすとは考えられない。

さらに、これまで、我が国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。

以上のことより、本組換えトウモロコシにおいて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ず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、着雌穂高を除くすべての項目で明確な差異もしくは統計学的有意差は認められなかった。着雌穂高において統計学的有意差が認められるものの、これらの差異により競合における優位性に影響が生じるとは考えにくいと判断された。

本組換えトウモロコシは除草剤グルホシネートに耐性を持つが、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。

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、雑草植生調査を行ったが、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に差異は認められなかった。

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は、鋤き込み試験を行っていない。しかし、現在では本組換えトウモロコシの種子は存在せず、2000年以降商業栽培されていないため、本組換えトウモロコシが我が国で栽培されることがあるとすれば、本組換えトウモロコシ以外の栽培用トウモロコシ種子に対して、本組換えトウモロコシの過去の生産に伴う混入があった場合に限られると考えられる。過去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、現在では栽培用種子への混入の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。さらにPAT蛋白質が野生動植物に有毒であるとする報告は無いため、PAT蛋白質の影響で花粉飛散や土壌への鋤き込みにより影響をうける野生動植物は特定されない。また、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く、海外における商業栽培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。また、我が国ではトウモロコシの地上部を青刈りするため、ほ場にすきこまれる地上部の量は商業栽培されていた海外と比較してわずかである。また、我が国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。

以上のことから、本組換えトウモロコシにおいても地上部において有害物質が産生される

可能性は極めて低く、今後国内外で商業栽培が行われることはないことから、生物多様性に影響を及ぼすとは考えられない。

以上から、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考えられた。

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ず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された。

【引用文献】

[社外秘につき非開示]

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 東京都中央区銀座四丁目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(*bar*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (DLL25, OECD UI: DKB-8979Ø-5) (以下、本組換え体という)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、本組換え体に関して、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開示

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、本組換え体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体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。

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 東京都中央区銀座四丁目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(*bar*, *Zea mays subsp. mays* (L.) Iltis) (DLL25, OECD UI: DKB-8979Ø-5) (以下、本組換え体という)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、本組換え体に関して、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開示

- 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体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体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体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。

除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ
(*bar*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)(DLL25, OECD UI: DKB-8979Ø-5)
別添資料一覧

- 別添資料 1 Sequence of the Genetic Elements in pDPG165
[社外秘情報につき非開示]
- 別添資料 2 除草剤グルホシネートの影響を受けないトウモロコシ DLL25(B16)-DK566
の組換え植物利用計画(開放系利用)
[社外秘情報につき非開示]
- 別添資料 3 除草剤グルホシネートの影響を受けない組換えトウモロコシ(DLL25 系統)
の組換え植物利用計画(開放系利用)
[社外秘情報につき非開示]
- 別添資料 4 Sampling Protocol and General PCR Method for Determining Levels of
Unintended Event Presence
[社外秘情報につき非開示]